

Wojciech Schilf

BADANIE RÓWNOWAG TAUTOMERYCZNYCH BENZOAZOLI
METODAMI JĄDROWEGO REZONANSU MAGNETYCZNEGO.

Praca doktorska wykonana
w Instytucie Chemii Organicznej
Polskiej Akademii Nauk.
Promotor: doc.dr hab.
Lech Stefaniak.

Biblioteka Instytutu Chemii Organicznej PAN

Warszawa 1985

O-B.155/85

<http://rcin.org.pl>



8000000097020

Promotorowi

Panu Docentowi dr habil. Lechowi Stefaniakowi
serdeczne podziękowania za wskazanie tematu
i cenne wskazówki, oraz
Doktorowi Sławomirowi Szymańskiemu,
za bezinteresowną pomoc, składa

Autor.



B Org 155/85

SPIS TREŚCI.

I.	Wstęp	1
II.	Rodzaje równowag tautomerycznych	4
III.	Metody badania równowag tautomerycznych	6
III.1.	Metody chemiczne	7
III.2.	Metody fizykochemiczne	10
III.2.1.	Badania równowag tautomerycznych za pomocą pomiarów stałych pK_a	10
III.2.2.	Zastosowanie momentów dipolowych w badaniach równowag tautomerycznych	15
III.2.3.	Spektrometria masowa	20
III.2.4.	Spektroskopia w podczerwieni	23
III.2.5.	Spektroskopia UV-VIS	26
III.2.6.	Obliczeniowe metody wyznaczania położenia równowagi tautomerycznej	29
III.2.7.	Jądrowy rezonans magnetyczny	34
III.2.7.1.	1H NMR.	34
III.2.7.2.	Węglowy rezonans magnetyczny (^{13}C NMR)	42
III.2.7.3.	Magnetyczny rezonans jądrowy ^{14}N i ^{15}N	49
IV.	Wpływ rozpuszczalnika na położenie równowagi tautomerycznej	59
IV.1.	Benzoazole i ich pochodne	60
IV.2.	Azole i ich niektóre tlenowe pochodne	64
V.	Przedmiot i metodyka badań	70
VI.	Wyniki i dyskusja	78
VI.1.	Badanie równowag tautomerycznych 1-hydroksybenzotriazolu i jego nitrowych pochodnych metodą ^{15}N NMR	78

VI.2.	Badanie tautomerii 1-hydroksybenzimidazolu i jego fenylowej pochodnej metodą ^{15}N NMR	90
VI.3.	Badanie tautomerii niepodstawionych benzoazoli metodą ^{15}N NMR	95
VI.4.	Badanie tautomerii 3-hydroksyindazolu i jego pochodnych metodą ^{15}N NMR	100
VI.5.	Badanie tautomerii 3-hydroksyindazolu i jego pochodnych metodą ^{13}C NMR	108
VI.6.	Badanie tautomerii benzimidazolonu i 1-metylobenzimidazolonu metodą ^{15}N NMR	117
VI.7.	Badanie tautomerii benzimidazolonu i 1-metylobenzimidazolonu metodą ^{13}C NMR	122
VI.8.	Badanie kinetyki procesów tautomerii metodami ^{14}N , ^{15}N i ^{13}C NMR	129
VII.	Podsumowanie i wnioski	137
VIII.	Literatura	142

I. W S T Ę P

Fakt występowania pewnych związków organicznych w postaci mieszanin izomerów tautomerycznych spowodował duże zamieszanie we wczesnej chemii organicznej.

Wynikało to przynajmniej częściowo z niedoskonałości metod analitycznych jakimi dysponowano w tamtych czasach. Tym samym spowodowało to poszukiwania nowych optymalnych metod badania równowag tautomerycznych ze szczególnym uwzględnieniem ilościowego opisu tego zjawiska.

Obecnie dzięki szybkiemu rozwojowi metod analitycznych, głównie spektralnych, duża część tych problemów została w zadowalający sposób wyjaśniona. Pewne niejasności jednak pozostały i celem tej pracy jest zrobienie dalszego kroku w kierunku ich wyjaśnienia.

Podstawową techniką jaką tu zastosowano jest heterojądrowy rezonans magnetyczny, a ściślej mówiąc rezonans węgla ^{13}C i azotu ^{15}N . Metody te, obecnie jeszcze dość rzadko stosowane do tego typu badań pozwalają uzyskiwać wiarygodne rezultaty ilościowe.

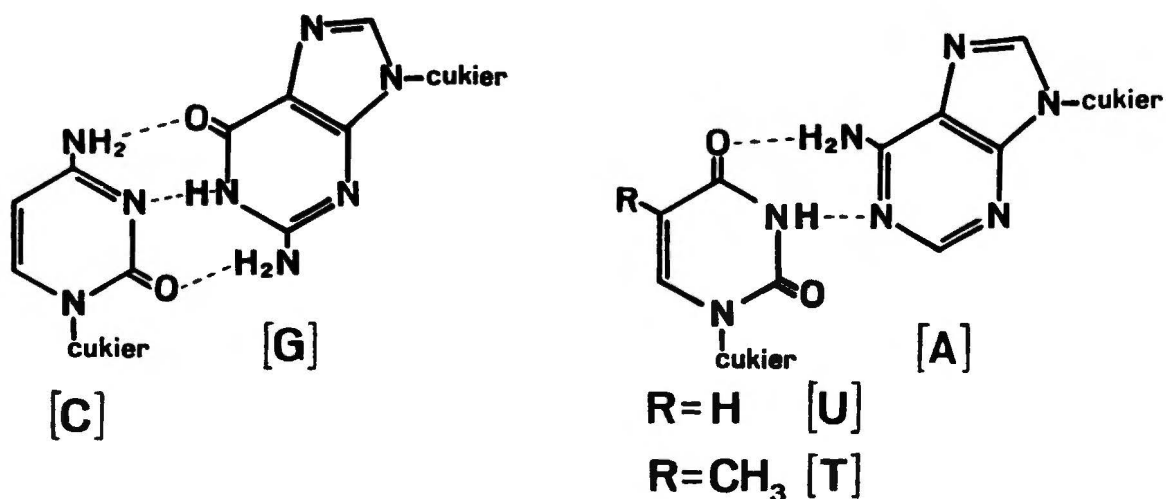
Dzięki temu można przypuszczać, że zastosowanie heteronuklearnego NMR-u w tego typu badaniach ma dużą przyszłość, szczególnie wobec szybkiego rozwoju nowoczesnej elektroniki i metod otrzymywania pól magnetycznych o dużym natężeniu.

Badanie równowag tautomerycznych ma nie tylko ściśle teoretyczne znaczenie ale również i doniosłe praktyczne.

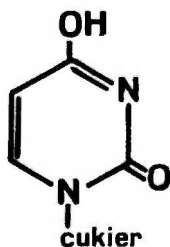
Przykładem tego może być teoria wyjaśniająca pewne aspekty spontanicznej mutacji występowaniem zjawiska tautomerii w aminokwasach wchodzących w skład kwasów nukleinowych.

Kwasy nukleinowe będące podstawowym nośnikiem informacji

genetycznych zawierają długie łańcuchy cukrowo-fosforanowe, w których każdy fragment cukrowy związany jest z heterocykliczną zasadą azotową. Dwie cząsteczki kwasu nukleinowego tworzą poprzez wiązania wodorowe podwójną helisę, w której cytozyna (C) jest zawsze związana z guaniną (G) natomiast tymina (T) lub uracyl (U) wiążą się z adeniną (A). Sposób połączenia obu łańcuchów w helisę określony jest przez tautomeryczne formy zasad biorących udział w wiązaniach wodorowych:



Jeżeli natomiast na skutek zmian właściwości środowiska uracyl lub tymina wystąpią w innej formie tautomerycznej np.



to wtedy możliwe się staje utworzenie wiązań wodorowych z guaniną, a tym samym zajęcie miejsca cytozyny w łańcuchu kwasu nukleinowego. Taki "błąd" w replikacji DNA będzie powodował spontaniczną mutację, która jest podstawowym elementem ewolucji. Przykład ten, jakkolwiek trochę oderwany

od głównego nurtu moich zainteresowań wskazuje na bardzo dużą wagę badań nad poszukiwaniem optymalnych metod określania położenia równowagi tautomerycznej związków heterocyklicznych.

Wskazuje on również na konieczność szukania czynników środowiskowych mających wpływ na tę równowagę.

Niezwykle korzystnym byłoby znalezienie ścisłej korelacji między parametrami określającymi te czynniki a położeniem równowagi tautomerycznej.

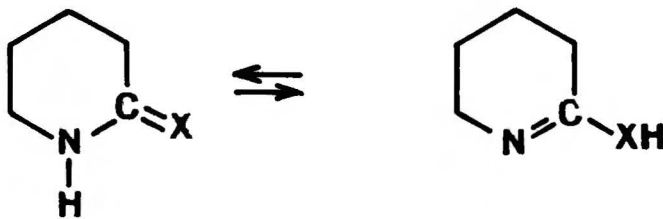
I ten właśnie problem chciałbym przynajmniej częściowo wyjaśnić na przykładzie kilku benzoazoli za pomocą spektroskopii ^{13}C i ^{15}N NMR.

II. RODZAJE RÓWNOWAG TAUTOMERYCZNYCH

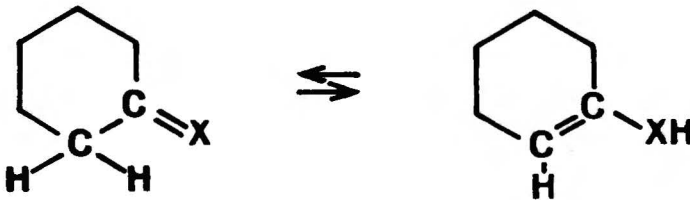
Rozróżnienie głównych typów tautomerii związków cyklicznych może być przeprowadzone według charakteru oraz pozycji atomów zaangażowanych w wymianę tautomerycznego protonu.

A.R.Katritzky i J.M.Lagowski¹ wyróżniają sześć podstawowych typów tautomerii:

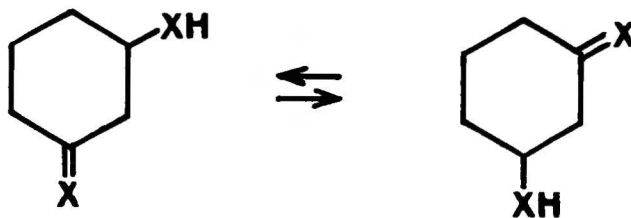
1. Wymiana protonu między pierścieniowym atomem azotu a heteroatomem związanym z pierścieniem



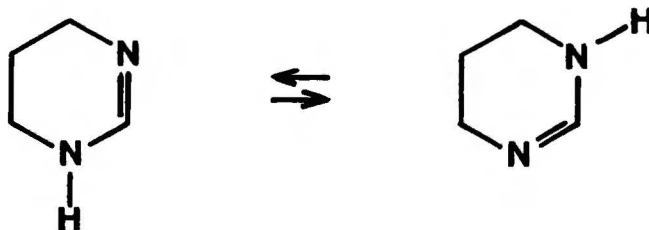
2. Wymiana protonu między pierścieniowym atomem węgla a heteroatomem związanym z pierścieniem



3. Wymiana protonu między dwoma heteroatomami związanymi z pierścieniem



4. Wymiany protonu między dwoma atomami azotu w pierścieniu



5. Wymiana protonu między dwoma atomami węgla w pierścieniu



6. Wymiana protonu między atomem azotu w pierścieniu a atomem węgla w pierścieniu



Z tych podstawowych typów tautomerii najczęściej spotykanymi są pierwszy oraz drugi.

W pracy tej natomiast zajęto się głównie typem pierwszym, z którym mamy do czynienia w przypadku związków z grupą hydroksylową, oraz z typem czwartym, który występuje w niepodstawionych benzoazolach, np. benzotriazol, benzimidazol i indazol.

III. METODY BADANIA RÓWNOWAG TAUTOMERYCZNYCH.

Jak wynika z przedstawionego uprzednio zestawienia typów tautomerii, zjawisko to występuje w bardzo wielu klasach związków organicznych. Wiąże się z tym duża różnorodność grup funkcyjnych zaangażowanych w wymianę protonu. Ta różnorodność obiektów badań spowodowała powstanie całego szeregu metod badawczych przydatnych w rozwiązywaniu problemów związanych z tautomerią.

Bardzo wyczerpujący przegląd tych metod, jak również problemów związanych z teorią i mechanizmami zjawiska tautomerii znajduje się w pracy L. Skulskiego², dotyczącej niektórych amidów i ich pochodnych. Praca ta zawiera również dokładny opis szeregu efektów ubocznych takich jak: wiązania wodorowe, izomeria cis-trans, które towarzyszą zjawisku tautomerii i często powodują trudności w interpretacji wyników.

Tak więc, omawiając metody badawcze stosunkowo mniej miejsca poświęcono metodom klasycznym na rzecz technik współcześnie częściej stosowanych.

Przeгляд ten ma na celu zaprezentowanie metod badawczych i ich możliwości a nie wyliczanie układów tautomerycznych badanych nimi, co jest niecelowe z powodu ogromu materiału w światowej literaturze chemicznej. Podane w tekście przykłady mają służyć jedynie optymalnemu przedstawieniu zakresu stosowania danej metody, jak również wykazaniu jej wad i zalet, nie wyczerpują natomiast całości materiału z tym związanego.

Najszerzej omówione będzie zastosowanie jądrowego rezonansu magnetycznego ponieważ wiąże się to bezpośrednio z tematem prezentowanych badań a także dlatego, że jest to najczęściej obecnie stosowana metoda badania równowag tautomerycznych.

III.1. METODY CHEMICZNE

Analizując rozmaite metody badania równowag tautomerycznych należy podzielić je na dwie grupy, są to mianowicie metody chemiczne i fizykochemiczne.

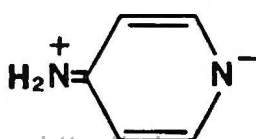
Metody chemiczne w przeszłości należały do najczęściej stosowanych i niestety, jak wiemy obecnie okazały się stosunkowo mało wiarygodne. Metody te oparte są albo na obserwacji reaktywności układów tautomerycznych w stosunku do odczynników testujących, albo polegają na analizowaniu produktów pewnych reakcji i ich wzajemnych stosunków ilościowych.

Typową reakcją, która była stosowana jako test reaktywności jest miareczkowanie bromem. Test ten stosowano głównie do związków zawierających grupę hydroksylową i opierał się na założeniu, że okso-związki reagują z bromem wolno, podczas gdy hydroksylowe tautomery reagują w tych warunkach szybko.

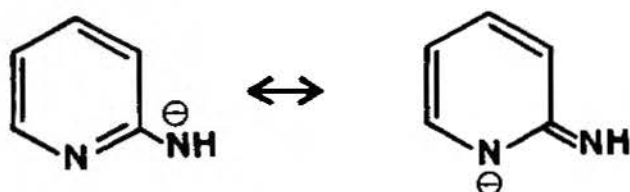
Duża jednak liczba wyjątków od tej prostej reguły dyskwalifikuje tę reakcję jako wiarygodny test.

Inną reakcją będącą jakościowym testem jest powstawanie głębokiego zabarwienia w reakcji związków enolowych z chlorkiem żelazawym. Tą drogą na przykład stwierdzono, że 2-hydroksytiofen przynajmniej częściowo występuje w formie hydroksylowej.

Na podstawie opornego dwuazowania niektórych amin heterocyklicznych sugerowano również, że występują one (np. 4-amino-pirydyna) w postaci iminowej³. Późniejsze badania⁴ wykazały jednak, że związek ten występuje w postaci aminowej, przy czym grupa $-NH_2$ wykazuje deficyt elektronów związany z udziałem w hybrydzie rezonansowej struktur typu:



co powoduje obniżenie typowej reaktywności amin aromatycznych. Drugą z chemicznych metod badania tautomerii jest wyciąganie wniosków odnośnie położenia równowagi na podstawie struktury produktów pewnych reakcji modelowych. Najczęściej stosowaną reakcją jest tu alkirowanie związku w równowadze tautomerycznej za pomocą różnych odczynników alkilujących. Metoda ta, pozornie klarowna, daje często mylne wyniki. Na przykład, powstawanie 1-metylo pochodnej w reakcji 2-aminopirydyny z MeI miało być dowodem na występowanie substratu w postaci iminowej⁵. Późniejsze badania⁶ wykazały, że związek ten reaguje w postaci aminowej tworząc mezomeryczny anion jako produkt przejściowy:



Struktura tego anionu wyjaśnia taki a nie inny kierunek metylowania 2-aminopirydyny w tych warunkach.

Skład mieszaniny tautomerycznej określano również na podstawie struktury produktów metylowania mieszaniny tautomerycznej eterowym roztworem dwuazometanu⁷. Metoda ta oparta jest na założeniu, że jeżeli związek teoretycznie może występować w formie NH lub OH i w reakcji z dwuazometanem daje jedynie N-CH₃ pochodną, to oznacza to, że występuje on wyłącznie w formie NH. Występowanie pochodnej O-CH₃ w produktach reakcji interpretowane jest jako dowód istnienia znaczącej domieszki formy OH w mieszaninie tautomerycznej. Obecnie metoda ta nie jest stosowana ze względu na stwierdzenie, że różnice w proporcjach obu metylowych pochodnych są związane raczej

z odmiennymi mechanizmami metylowania atomu tlenu i azotu, niż ze składem mieszaniny tautomerycznej.

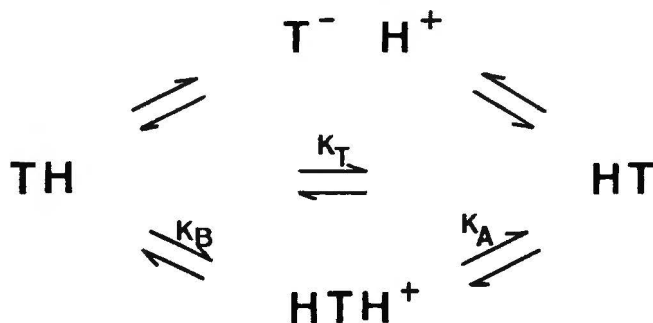
Ten krótki przegląd klasycznych, chemicznych sposobów badania składu mieszaniny tautomerycznej wykazuje, iż możliwości stosowania tych metod w nowoczesnej chemii są stosunkowo niewielkie. Metody te pozwalają jedynie orientacyjnie, jakościowo oszacować położenie równowagi tautomerycznej.

Jeżeli natomiast potrzebny jest ilościowy obraz tego zjawiska, należy odwołać się do metod fizykochemicznych.

III.2. METODY FIZYKOCHEMICZNE.

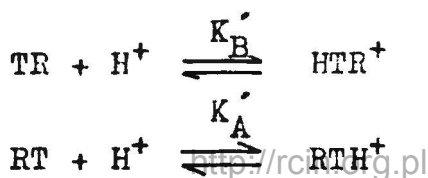
III.2.1. Badania równowag tautomerycznych za pomocą pomiarów stałych pK_a .

Istotą tej metody jest założenie, że wymiana protonu, która jest podstawą zjawiska tautomerii, przebiega poprzez stany jonowe¹:



Z teoretycznego punktu widzenia możliwe są dwa stany jonowe: kationowy i anionowy a ich występowanie lub niewystępowanie jest związane z indywidualnymi właściwościami badanych związków i z charakterem środowiska.

Praktycznie w środowiskach protonowych przyjmuje się istnienie kationu HTH^+ jako stanu przejściowego równowagi tautomerycznej. Ponieważ izomery tautomeryczne TH i HT występują zawsze w postaci mieszaniny, nie można zmierzyć wartości stałych K_A i K_B i zachodzi konieczność stosowania tak zwanych związków modelowych. Są to alkilowe, najczęściej metylowe pochodne poszczególnych struktur tautomerycznych i w tego typu badaniach aproksymują one właściwości tych izomerów. Dla związków modelowych TR i RT stałe K'_A i K'_B zdefiniowane na schemacie poniżej są możliwe do zmierzenia i są one dość dobrym przybliżeniem stałych K_A i K_B .



O błędzie, jaki popełniamy przy takim podejściu, można przekonać się na przykładzie hydroksyanilin i ich odpowiednich metylowych pochodnych⁹:

	orto	meta	para
metoksyanilina	$pK_a = 4,49$	4,20	5,29
hydroksyanilina	$pK_a = 4,72$	4,17	5,20

Jak wynika z tego zestawienia, wpływ metylowania na wartość pK_a jest zmienny i trudny do oszacowania. Jest to szczególnie istotne w przypadku związków o strukturze bardziej skomplikowanej niż hydroksyanilina.

Stałe jonizacji indywidualnych izomerów tautomerycznych są związane ze stałą równowagi prostą zależnością:

$$K_T = \frac{K_A}{K_B} \quad \text{III.1}$$

W przypadku zastosowania związków modelowych otrzymujemy zależność przybliżoną:

$$K_T = \frac{K'_A}{K'_B} \quad \text{III.2}$$

Dla związków modelowych, które są słabymi zasadami S.P.Mason¹⁰ podaje inne równanie:

$$\log K_T = \Delta \left(\frac{H_o^{1/2}}{n_o} \right) \quad \text{III.3}$$

gdzie $H_o^{1/2}$ jest wartością tzw. funkcji kwasowej H_o ¹¹, dla której stężenia wolnej zasady i sprzężonego z nią kwasu są jednakowe, n_o jest natomiast współczynnikiem korelacji,

którego sens będzie wyjaśniony w dalszej części rozdziału. Równanie to jest szczególnie przydatne gdy równowaga tautomeryczna jest mocno przesunięta w stronę jednej z form. Stosunkowo mniej dokładne wyniki otrzymuje się dla wartości K_T bliskich jedności.

Stałe jonizacji związków na ogół wyznaczamy na podstawie równania:

$$pK_a = pH + (\log [kation] - \log [zasada]) \quad \text{III.4}$$

Równanie to jest wspólne dla wszystkich metod stosowanych do oznaczania wartości pK_a . Różne są tylko sposoby oznaczania wartości stosunku stężenia formy zjonizowanej do stężenia wolnej zasady. Stosunek ten może być wyznaczany metodą miareczkowania, polarograficznie, potencjometrycznie, spektrofotometrycznie lub konduktometrycznie¹². Najczęściej stosuje się oznaczanie spektrofotometryczne, prawdopodobnie z powodu prostoty pomiaru i powszechnej dostępności aparatury UV/VIS. W pewnych szczególnych przypadkach poza równaniem III.4 stosuje się jego zmodyfikowaną wersję. Modyfikacja ta polega na zastosowaniu funkcji kwasowych H_O i H_A ¹¹:

$$pK_a = H_O + n_O (\log [kation] - \log [zasada]) \quad \text{III.5a}$$

$$pK_a = H_A + n_A (\log [kation] - \log [zasada]) \quad \text{III.5b}$$

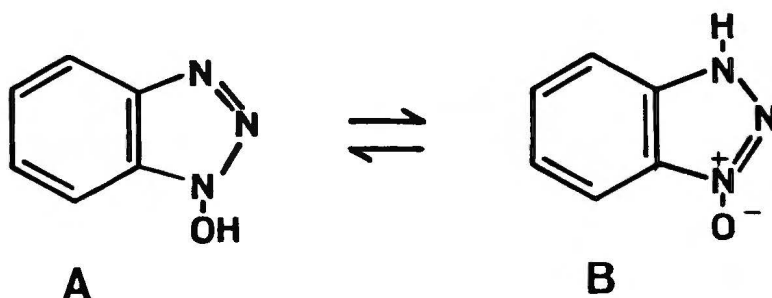
W równaniach tych n_O i n_A są współczynnikami korelacji odpowiednio między wielkością $\log [kation] - \log [zasada]$ a H_O i H_A , wyznaczamy je metodą najmniejszych kwadratów¹¹. Wartości tych współczynników są źródłem cennych informacji na temat mechanizmu protonowania badanej cząsteczki.

Dobra korelacja z funkcją H_0 tj. wartość n_0 bliska jedności, oznacza zwykle protonowanie atomu azotu w badanej cząsteczce.

Związane jest to z faktem, że funkcja H_0 zdefiniowana jest właśnie przy użyciu jako wskaźników zasad azotowych.

W przypadku funkcji H_A jako wskaźników używa się amidów lub N-tlenku pirydyny i stąd wartości n_A bliskie jedności oznaczają protonowanie atomu tlenu.

Szczególnie wyraźnie widoczne jest to w przypadku tautomerii typu $N-OH \rightleftharpoons N-O$ 1-hydroksybenzotriazoli¹¹:



1-Metoksybenzotriazol użyty jako związek modelowy formy (A) wykazuje $n_0 = 0,94$, co świadczy o protonowaniu atomu azotu N-3, natomiast 1-tlenek-3-metylobenzotriazolu (związek modelowy formy (B)) ma $n_0 = 1,4$ i $n_A = 1,06$, co oznacza protonowanie atomu tlenu w grupie N-tlenkowej (bliższa jedności jest tu wartość n_A). Jeżeli porównamy teraz wartości tych współczynników dla związku w równowadze tautomerycznej ($n_0 = 1,33$ oraz $n_A = 1,06$) to możemy stwierdzić, że protonowanie zachodzi na atomie tlenu grupy N-tlenkowej.

Wynika stąd, że 1-hydroksybenzotriazol w roztworze wodnym występuje w postaci N-tlenkowej.

Tak więc, podsumowując ten krótki przegląd zastosowania oznaczeń pK_a do badania równowag tautomerycznych, należy stwierdzić, że jest to stosunkowo prosta metoda dająca

wiarygodne wyniki ilościowe oraz pozwalająca wyciągać pewne wnioski dotyczące mechanizmu zjawiska. Nie wymaga ona również skomplikowanej aparatury badawczej.

Podstawową niedogodnością tej metody jest jednak ograniczenie jej zastosowania tylko do roztworów wodnych.

III.2.2. Zastosowanie momentów dipolowych w badaniach równowag tautomerycznych.

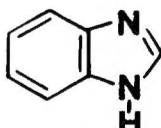
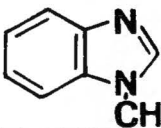
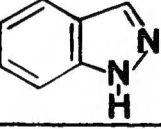
Wyznaczanie położenia równowagi tautomerycznej za pomocą pomiarów momentów dipolowych jest stosunkowo rzadko stosowaną metodą analityczną. Metoda ta pozwala otrzymywać głównie wyniki jakościowe, często co najmniej dyskusyjne. Istnieją zasadniczo dwa sposoby zastosowania tej techniki do oznaczania położenia równowagi tautomerycznej:

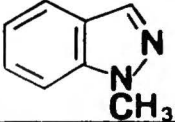
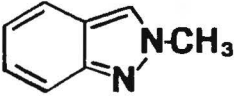
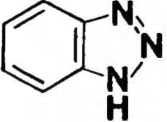
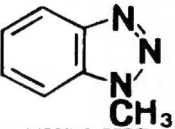
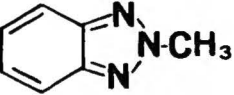
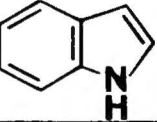
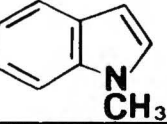
- pomiar momentu dipolowego związku tautomerycznego i jego pochodnych, jako związków modelowych, a następnie na podstawie tych danych wyciąganie wniosków dotyczących równowagi,
- porównanie zmierzonego momentu dipolowego związku tautomerycznego z obliczonymi momentami indywidualnych izomerów.

Pierwszą z tych metod zastosowano do określenia struktury niepodstawionych benzoazoli¹³. Na podstawie pomiarów (Tabela III.1) stwierdzono, że indol, benzimidazol, indazol oraz benzotriazol występują głównie w postaci struktur 1-H.

Tabela III.1.

Momenty dipolowe benzoazoli i ich pochodnych.

Związek	Wartość momentu dipolowego (D).			
	3,96 ^a	4,06 ^a	4,11 ^a	3,97 ^a
	4,07 ^a	3,37 ^b	3,74 ^a	
	1,85 ^b	1,60 ^b		

	1,5 ^b	
	3,4 ^b	
	4,10 ^a	4,15 ^b
	4,10 ^b	3,95 ^b
	0,49 ^b	
	2,06 ^b	
	2,11 ^b	

a- roztwór w dioksanie

b- roztwór w benzenie

Wniosek ten wynika z dobrej zgodności momentów dipolowych związków w równowadze tautomerycznej i ich 1-metylopodstawionych pochodnych. Natomiast w przypadku związków 2-metylopodstawionych występują bardzo duże rozbieżności wskazujące na znikomy lub żaden udział tych izomerów w mieszaninie tautomerycznej.

Inny sposób rozwiązania problemu tautomerii benzoazoli przedstawiają A.Escaude i współpracownicy¹⁴. Na podstawie badań rentgenowskich założyli oni, że indazol, benzimidazol oraz benzotriazol podobnie jak w ciele stałym tak

i w roztworze występują w postaci izomerów 1-H. Opierając się na tym założeniu obliczyli oni metodami CNDO/2 i CNDO/S momenty dipolowe układów tautomerycznych i porównali je z danymi eksperymentalnymi. (Tabela III.2.)

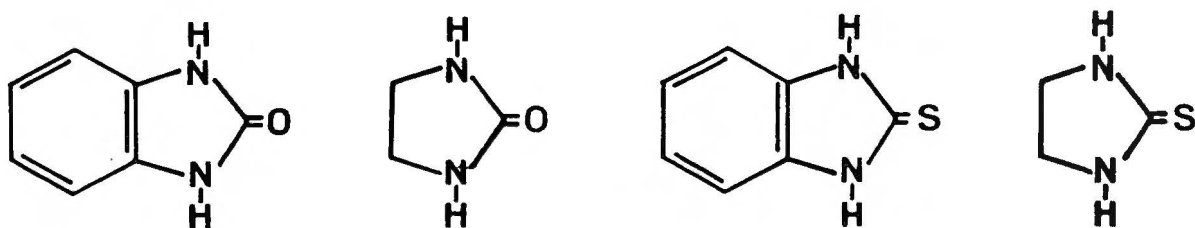
Tabela III.2.

Momenty dipolowe badanych benzoazoli.

	Obliczone		Zmierzone
	CNDO/S	CNDO/2	
Indazol	2,09	1,67	1,85
Benzimidazol	3,90	3,84	4,03
Benzo-triazol	4,34	3,89	4,15

Dobra zgodność wyników obliczeń i pomiarów podawana jest przez autorów jako dowód słuszności założonej struktury 1-H.

Obydwie metody zastosowania momentów dipolowych zostały użyte przez C.W.N.Cumpera¹⁵ do badania tautomerii pochodnych imidazolonu. W pracy tej przebadano cztery układy tautomeryczne:

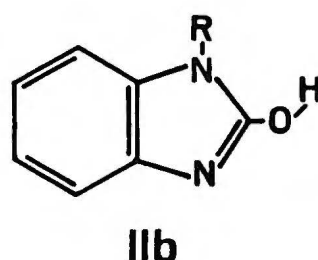
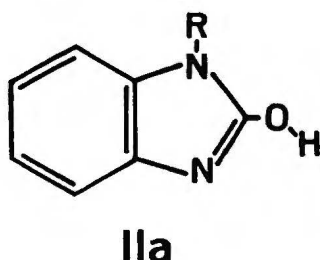
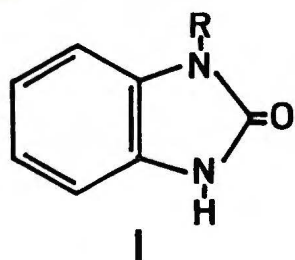


oraz odpowiednie związki z całkowicie lub częściowo zablokowaną wymianą tautomeryczną jako związki modelowe.



Przedstawię tę metodę na przykładzie benzimidazolonu.

Benzimidazon teoretycznie może występować w postaci mieszaniny trzech izomerów tautomerycznych:



R=H lub CH₃

Dla tych trzech struktur modelowych obliczono momenty dipolowe i porównano je z danymi doświadczalnymi.

Tabela III.3.

Momenty dipolowe benzimidazolonu i jego pochodnych

	Zmierzone		Obliczone dla struktur		
			I	IIa	IIb
	1,90	benzen	2,15	0,96	2,79
	2,46	dioksan			
	1,77	benzen	2,33	0,87	3,15
	2,49	dioksan			
	2,49	benzen	2,44		
	2,51	dioksan			
	2,80	benzen		0,91	2,80
	2,91	dioksan			

Wyznaczono również zależność momentu dipolowego benzimidazolonu od składu mieszaniny dioksan-benzen:

80% benzenu	$\mu = 2,00$ D
60% "	$\mu = 2,15$ D
40% "	$\mu = 2,29$ D
20% "	$\mu = 2,35$ D
100% dioksanu	$\mu = 2,46$ D

Na podstawie tych wszystkich danych autorzy wnioskują, że oba związki mogące występować w postaci mieszanin tautomerycznych to znaczy (A) i (B) w dioksanie przyjmują strukturę ketonową I. Fakt ten wyjaśniają oni silną stabilizacją tej formy poprzez wiązania wodorowe z dioksanem.

W roztworze benzenowym pojawiają się pewne domieszki formy enolowej II, przy czym w przypadku 1-metylobenzimidazolu domieszka ta jest większa.

Analogiczne związki siarkowe badane tą samą metodą wykazują bardzo podobne właściwości.

Oceniając możliwości zastosowania momentów dipolowych do badania położenia równowagi tautomerycznej należy stwierdzić, że jest to wartościowa metoda pomocnicza, dająca jakościowy obraz zjawiska.

Wnioski ilościowe wyciągane jedynie w oparciu o tę metodę nie są całkowicie wiarygodne ze względu na zmienny i trudny do oszacowania wpływ metylowania na wartość momentów dipolowych przy przechodzeniu do związków modelowych.

Metoda ta jest również bardzo czuła na zmiany konformacyjne cząsteczki i na tworzenie się agregatów z rozpuszczalnikiem co powoduje zaciemnienie obrazu zjawiska i utrudnia interpretację otrzymanych wyników.

III.2,3. Spektrometria masowa.

Spektrometria masowa jest bardzo wygodnym i wiarygodnym źródłem informacji dotyczących równowagi tautomerycznej, z jednym tylko zastrzeżeniem: uzyskane rezultaty odnoszą się ściśle tylko do fazy gazowej, to znaczy do takich warunków w jakich przeprowadzany jest pomiar. Jednak mimo tego ograniczenia pewne wnioski, szczególnie w połączeniu z wynikami otrzymanymi na innej drodze, można przetransponować na pozostałe stany skupienia. Podstawową zaletą spektrometrii masowej jest możliwość precyzyjnego określenia struktury badanego związku oraz jego konformacji na podstawie analizy fragmentacji jonów. Niezwykle pomocne w tym są technika wysokiej rozdzielczości i analiza jonów metastabilnych.

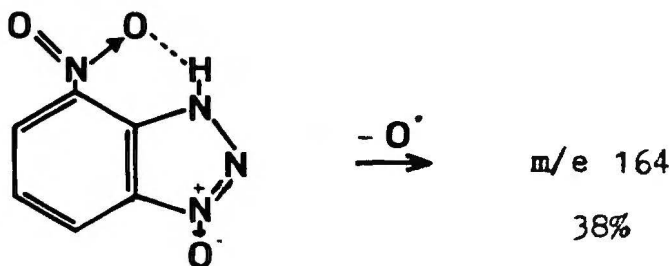
Spektrometria masowa była stosowana do badania większości z interesujących mnie związków z grupy benzoazoli. Na podstawie widm MS 1-hydroksybenzotriazolu i jego 6-nitropochodnej stwierdzono, że związki te w fazie gazowej występują w postaci 1-hydroksylowej. Głównym argumentem przemawiającym za tym jest występowanie w widmie MS jonu M^+-28 , który powstaje w wyniku utraty cząsteczki azotu, co jest charakterystyczne dla 1-podstawionych benzotriazoli (np. 1-metoksybenzotriazol). Dla związków z grupą N^+-O^- charakterystycznym jest jon M^+-30 związany z utratą fragmentu N-O.

Odmiennie niż związek niepodstawiony i jego 6-nitrowy analog zachowuje się 4-nitrowa pochodna. W widmie MS tego związku jon M^+-28 ma intensywność tylko 13% wobec 80-90% w przypadku poprzednio omówionych przykładów.

Fakt ten wyjaśniono możliwością tworzenia się cyklicznego

jonu molekularnego:

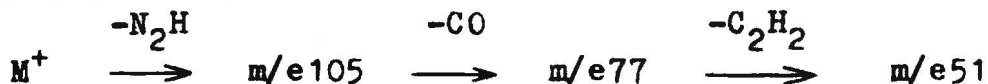
7⁺



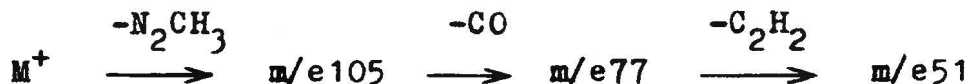
który ulega odmiennej fragmentacji.

Za pomocą spektrometrii masowej badano również struktury indazolonu oraz jego 1- i 2-metylopochoodnych¹⁷.

Podstawową fragmentacją jaką zaobserwowano w przypadku indazolonu jest:



Podobną fragmentację wykazuje 1-metyloindazoln:



Odmienne przebiega fragmentacja 2-metyloindazolonu, w której podstawowym procesem jest utrata fragmentu CHO. Proces ten nie występuje w przypadku indazolonu i jest znacznie słabszy dla 1-metyloindazolonu. Dla wszystkich postulowanych dróg fragmentacji obserwowano odpowiednie jony metastabilne, które potwierdzają przyjęte wnioski dotyczące struktur badanych związków. Wszystkie te argumenty przemawiają za tym, że indazoln i 1-metyloindazoln w fazie gazowej mają strukturę enolową podczas gdy 2-metyloindazoln występuje w postaci ketonowej.

Znacznie łatwiejszy problem mieli M.L.Thomson i D.C.Dejongh, którzy badali fragmentację benzimidazolonu¹⁸.

Podstawowym procesem jest tutaj utrata fragmentu CO prowadząca do jonu $m/e = 106$, a następnie oderwanie cząsteczki HCN dające w wyniku jon $m/e = 79$. Mechanizm fragmentacji poparty został przez analizę produktów pyrolizy tego związku w warunkach zbliżonych do panujących w spektrometrze. Otrzymany w ten sposób przebieg fragmentacji świadczy o tym, że benzimidazolone występuje w postaci symetrycznego związku z grupą karbonylową w położeniu 2.

Przedstawione tu przykłady mogą świadczyć o dużej przydatności spektrometrii masowej w badaniach równowag tautomerycznych, pomimo ograniczeń wynikających z samych zasad przeprowadzania eksperymentu MS.

Wnioski wynikające z badań masowych mogą służyć jako użyteczne założenia wstępne przy określaniu struktury związku w roztworach aprotycznych, takich jak DMSO czy THF. Przbliżenie to w przypadku wielu związków należących do badanej klasy okazuje się być dostatecznie precyzyjne i często bardzo użyteczne w dalszych badaniach.

III.2.4. Spektroskopia w podczerwieni.

Spektroskopia IR podobnie jak UV należą do "szybkich" metod spektralnych, to znaczy takich, w których cząsteczka pozostaje w stanie wzbudzonym znacznie krócej niż średni czas życia indywidualnego izomeru tautomerycznego będącego w równowadze dynamicznej z innym izomerem. Konsekwencją tego jest fakt, że w obu tych spektroskopiach widmo mieszaniny tautomerycznej jest zwykłą superpozycją widm izomerów obecnych w mieszaninie.

Odmienną sytuację mamy w przypadku technik NMR, w których na ogół w temperaturze pokojowej obserwujemy widmo uśrednione.

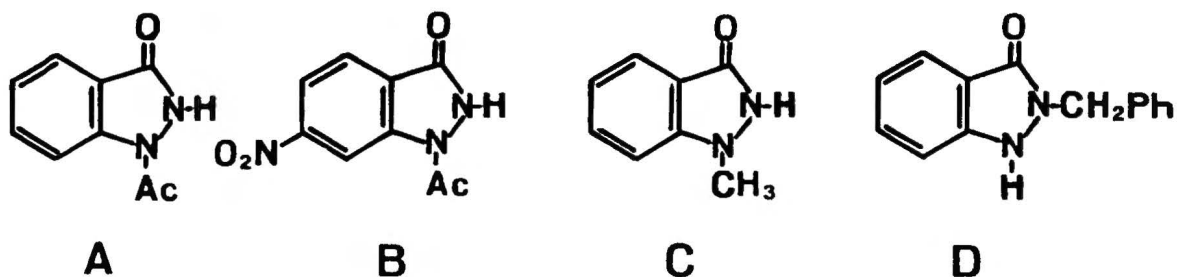
Fakt występowania w widmie IR pasm pochodzących od wszystkich obecnych tautomerów implikuje jako pierwszy krok w stosowaniu tej techniki konieczność możliwie dokładnej analizy widm. Często w bardziej skomplikowanych problemach wymaga to syntezy związków znaczonych izotopowo w celu wykorzystania efektów izotopowych występujących w widmie. Stosuje się tu powszechnie deuterowanie, ale także spotykamy się ze znaczeniem izotopem ^{15}N ¹⁹.

Skład mieszaniny tautomerycznej można określić jakościowo na podstawie pewnych charakterystycznych pasm.

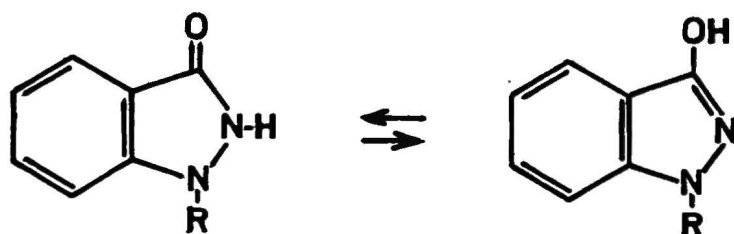
Do jakościowego badania tautomerii benzoazoli spektroskopia IR była stosowana wielokrotnie^{20,21,22} dając na ogół powtarzalne i zadowalające wyniki.

Badania ilościowe równowag tautomerycznych w oparciu o widma w podczerwieni są raczej rzadkością, a w grupie benzoazoli zastosowano je jedynie do pewnych pochodnych indazolonu¹⁹.

Przedmiotem tych badań były następujące związki:



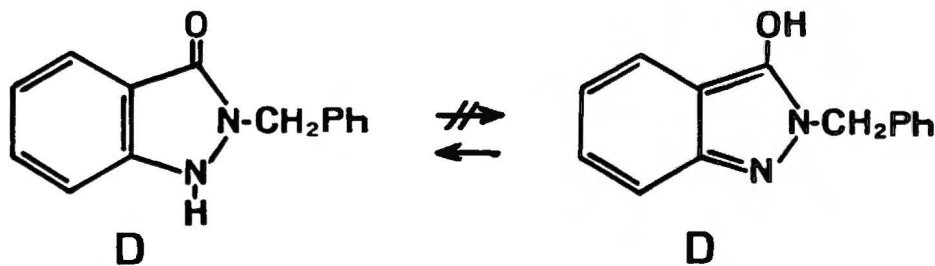
Wszystkie te związki są potencjalnie tautomeryczne ponieważ zawierają labilny atom wodoru w cząsteczce. Założenie to jest słuszne w przypadku trzech pierwszych związków A,B,C, które rzeczywiście wykazują tautomerię typu laktam-laktim:



forma laktamowa

forma laktimowa

Związek (D) natomiast nie jest tautomeryczny i ma ustaloną strukturę laktamową. Fakt ten związany jest z koniecznością przyjęcia przez ten związek struktury chinoidowej w przypadku przeniesienia protonu z pozycji 1 w pozycję 3 (forma D')



co jest procesem energetycznie niekorzystnym z powodu utraty stabilizacji rezonansowej występującej w przypadku struktury (D). Korzystając z tego autorzy omawianej pracy przyjęli związek (D) za modelowy dla formy laktamowej a wartość ekstynkcji grupy karbonylowej tego związku przy 1637 - 1684 cm^{-1} przyjęto za charakterystyczną dla czystej formy

laktamowej. Następnie dokonano oznaczeń w kilku bardzo różniących się właściwościami rozpuszczalnikach. Zawartości formy laktamowej w % molowych w badanych układach tautomerycznych podaje Tabela III.4.

Tabela III.4.

Zawartości izomerów C=O związków (A)-(D) w roztworach.

Związek	Izopropanol	CHCl ₃	DMSO	THF	Nujol
(A)	51,5	16,9	16,8	11,7	19,7
(B)	47,1	12,3	11,8	10,4	10,1
(C)	85,6	17,4	15,8	9,3	8,1
(D)	100	100	100	100	100

Charakterystycznym w tym zestawieniu jest fakt przewagi mniej polarnej formy laktimowej w roztworach obojętnych, takich jak : DMSO, THF, CHCl₃ natomiast w izopropanolu, który jest znacznie bardziej kwaśnym rozpuszczalnikiem, przeważa forma laktamowa. Szczególnie dobrze jest to widoczne w przypadku 7-metyloindazolonu. Fakt ten autorzy tłumaczą stabilizowaniem bardziej polarnej formy laktamowej przez wiązania wodorowe z rozpuszczalnikiem.

Podany przykład nie zmienia jednak faktu, że spektroskopia IR jest metodą dającą głównie interesujące rezultaty jakościowe. Próby ilościowej analizy są rzadkością, a podawanie zawartości izomerów tautomerycznych z dokładnością do 0,1% świadczy o zbyt optymistycznym podejściu autorów i o niezbyt krytycznym podejściu do zebranych danych.

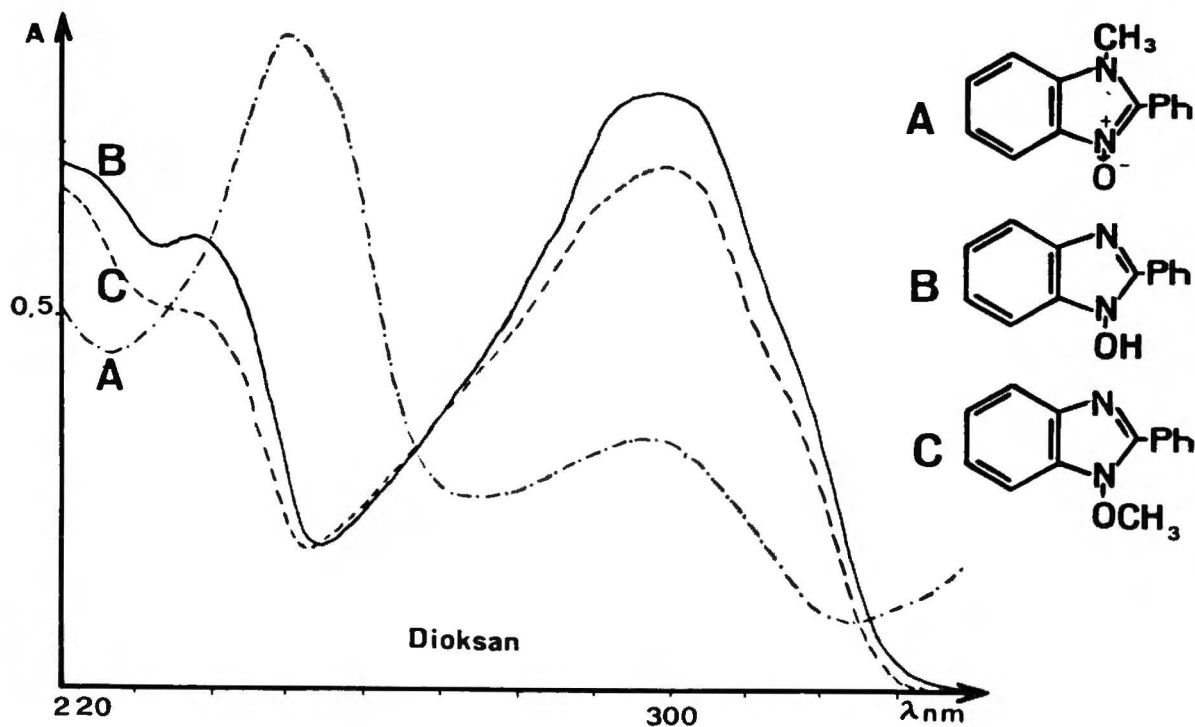
III.2.5. Spektroskopia UV-VIS.

Analiza widm w ultrafiolecie i w świetle widzialnym jest najczęściej obok IR stosowaną metodą badania równowagi tautomerycznej. Szczególnie w przeszłości chętnie sięgano po tę metodę. Obecnie jej znaczenie zmalało ze względu na szerokie stosowanie jądrowego rezonansu magnetycznego.

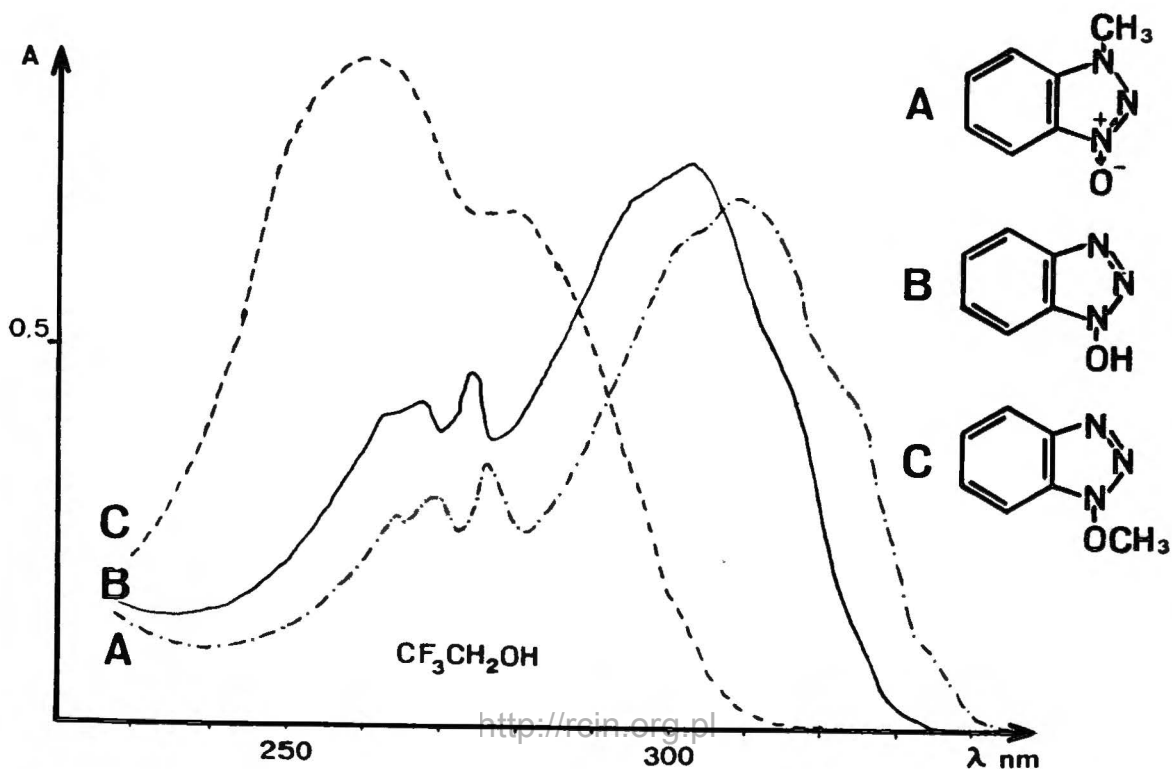
Spektroskopia UV-VIS pozwala w pierwszym przybliżeniu łatwo i szybko oszacować położenie równowagi tautomerycznej na podstawie widm (głównie części krótkofalowej) układu tautomerycznego oraz jego blokowanych związków modelowych.

Szacunku tego dokonuje się na podstawie oceny podobieństwa widm mieszaniny tautomerycznej i związków modelowych (kryteriami podobieństwa są położenia oraz natężenia odpowiednich pasm absorpcyjnych). Szacunek taki daje dobre rezultaty jedynie wtedy, gdy równowaga jest przesunięta zdecydowanie w jedną stronę. Poważne problemy pojawiają się wtedy, gdy K_T jest bliska jedności. Innym wymogiem jaki stawia takie podejście do problemu jest istotna odmiennosc widm obu związków modelowych reprezentujących izomery tautomeryczne.

Przykładem problemów związanych z takim potraktowaniem zagadnienia może być 2-fenyl-1-hydroksybenzimidazol i jego metylowe pochodne jako związki modelowe. Widma związków modelowych różnią się nieznacznie położeniem pasm (w tym wypadku jest to parametr mało diagnostyczny) oraz wzajemnym stosunkiem natężeń obu występujących sygnałów. Stosunek ten jest charakterystyczny dla danej formy tautomerycznej i może być podstawą szacunkowych obliczeń.



W widmach mieszaniny tautomerycznej w różnych rozpuszczalnikach (etanol, woda, dioksan, trifluoroetanol (TFE)) stosunek ten ulega zmianie i pozwala wyznaczyć położenie równowagi. Całkowicie odmienną sytuację mamy w przypadku 1-hydroksybenzotriazolu i jego związków modelowych, widma ich różnią się tak bardzo, że nie ma najmniejszych wątpliwości, która forma przeważa w mieszaninie tautomerycznej.



Oprócz jakościowego podejścia do badania równowag tautomerycznych spektroskopia UV pozwala wyznaczać ilościowo skład mieszaniny tautomerycznej. F.T.Boyle i R.A.Y.Jones¹¹ wykorzystują do tego celu równanie podane przez E.Spinnera²³:

$$K_T = \frac{[N^+-O^-]}{[N-OH]} = \frac{\epsilon^T - \epsilon^O}{\epsilon^N - \epsilon^T}$$

gdzie:

$[N^+-O^-]$, $[N-OH]$ - stężenia obu izomerów tautomerycznych
 ϵ^T - współczynnik ekstynkcji mieszaniny tautomerycznej
 ϵ^O - " " " O-metylowej pochodnej
 ϵ^N - " " " N-metylowej pochodnej

Współczynniki ekstynkcji wyznaczane są przy tej samej długości fali, najczęściej tej, przy której występuje maksimum absorpcji dla mieszaniny tautomerycznej. Mimo prostoty tej metody obliczania K_T , spektroskopię UV stosuje się zwykle tylko do jakościowego oszacowania zjawiska^{24,25}

Spowodowane jest to prawdopodobnie tym, że rezultaty ilościowe otrzymywane tą metodą są często mało wiarygodne.

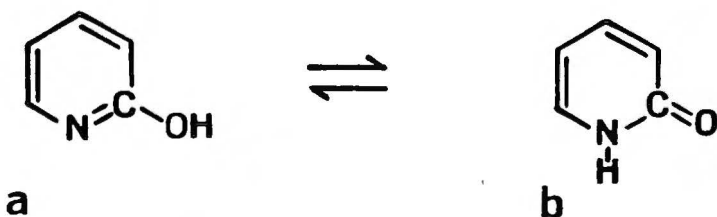
Przyczyną tego jest trudny do oszacowania wpływ alkilowania związku tautomerycznego oraz pewne dodatkowe efekty takie jak wiązania wodorowe. Wiązania te powodują przesunięcia położenia pasm absorpcyjnych co w przypadku dość wąskich sygnałów wprowadza znaczny błąd w określaniu współczynników ekstynkcji badanych związków. Pomimo tych trudności spektroskopia UV jest wygodną metodą analityczną pozwalającą szybko przebadać dany układ tautomeryczny w wielu stosowanych w UV rozpuszczalnikach, w których badane związki rozpuszczają się niedostatecznie dla oznaczeń innymi technikami np. NMR.

III.2.6. Obliczeniowe metody wyznaczania położenia równowagi tautomerycznej.

Teoretyczne metody wyznaczania stałej równowagi tautomerycznej są najnowszymi stosowanymi obecnie sposobami rozwiązywania tego problemu. Pierwszym etapem tego typu obliczeń jest zwykle wyznaczenie stałej równowagi wymiany w fazie gazowej, tzn. dla cząsteczki izolowanej. Istnieje kilka powszechnie stosowanych metod obliczeniowych wykorzystywanych do tego celu. Metody te stanowią oddzielny problem i tym samym wykraczają poza ramy tego przeglądu. Następnym etapem obliczeń jest wprowadzenie na podstawie różnych modeli środowiska solwatuującego poprawek, które określają wpływ środowiska (rozpuszczalnika) na położenie równowagi. Dotychczas w oparciu o te metody obliczono stałe równowagi dla kilku hydroksylowych pochodnych pirydyny i innych heterocykli, a mianowicie²⁶:

2-hydroksypirydyny (I), 4-hydroksypirydyny (II), 2-hydroksypirymidyny (III), 4-hydroksypirymidyny (IV), 2-hydroksy-6-metoksypirydyny (V), 3-hydroksyizochinoliny (VI), 2-hydroksychinoliny (VII), 1-hydroksyizochinoliny (VIII), oraz 4-hydroksychinoliny (IX).

We wszystkich tych związkach mamy do czynienia z tautomerią laktamowo-laktimową:



charakteryzowaną przez stałą tautomerii

$$K_T = \frac{[a]}{[b]}$$

związaną z energią swobodną reakcji, $\Delta_R G^\circ$, równaniem:

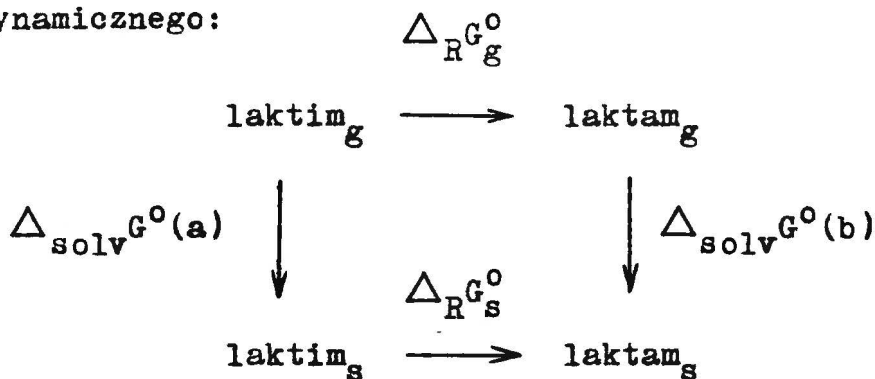
$$\Delta_R G^{\circ} = G^{\circ}_{(b)} - G^{\circ}_{(a)} = -RT \ln K_T$$

Wpływ rozpuszczalnika określany jest przez $\Delta_{\text{solv}}(\Delta_R G^{\circ})$.

$$\Delta_{\text{solv}}(\Delta_R G^{\circ}) = \Delta_R G^{\circ}_S - \Delta_R G^{\circ}_g$$

Gdzie $\Delta_R G^{\circ}_S$ jest różnicą energii swobodnej tautomeryzacji w roztworze, natomiast $\Delta_R G^{\circ}_g$ w fazie gazowej.

Cały proces tautomerii można przedstawić w postaci cyklu termodynamicznego:



w którym:

$$\Delta_R G^{\circ}_S = \Delta_R G^{\circ}_g + \Delta_{\text{solv}} G^{\circ}(b) - \Delta_{\text{solv}} G^{\circ}(a)$$

a stąd:

$$\Delta_{\text{solv}}(\Delta_R G^{\circ}) = \Delta_{\text{solv}} G^{\circ}(b) - \Delta_{\text{solv}} G^{\circ}(a)$$

czyli można wyznaczyć wpływ rozpuszczalnika na równowagę za pomocą wpływu rozpuszczalnika na energię swobodną poszczególnych izomerów tautomerycznych.

Energię swobodną solwatacji przedstawia się zwykle jako sumę trzech składników^{27,28}:

$$\Delta_{\text{solv}} G^{\circ} = G_{\text{cav}} + G_{\text{vdW}} + G_{\text{el}}$$

G_{cav} - energia swobodna kawitacji

G_{vdW} - oddziaływania van der Waalsa

G_{el} - oddziaływania elektrostatyczne między cząsteczką

a rozpuszczalnikiem <http://rcin.org.pl>

Dwa pierwsze składniki mają zwykle niewielki wpływ na $\Delta_{\text{solv}} G^0$ i dlatego są często pomijane. Do obliczania członu elektrostatycznego energii swobodnej stosuje się dwie teorie: teorię solwatonową oraz teorię pola reakcji^{30,31}. Według teorii solwatonowej w ujęciu klasycznym wzór na energię oddziaływań elektrostatycznych, E_{el} , ma postać:

$$E_{\text{el}} = - \frac{D-1}{2D} \left[\sum_A \frac{Q_A^2}{r_{AA'}} + \sum_{A \neq B} \sum \frac{Q_A Q_B}{r_{AB'}} \right]$$

W równaniu tym:

D oznacza efektywną stałą dielektryczną środowiska,

Q_A, Q_B są to ładunki atomów w rozpuszczonej cząsteczce,

$r_{AA'}$ jest odległością między danym atomem a jego solwatonem i

$r_{AB'}$ oznacza odległość między danym atomem a solwatonem związanym z innym atomem.

W ujęciu kwantowym oddziaływanie to przedstawia się następującym hamiltonianem:

$$\hat{H}_S = \frac{D-1}{2D} \left[\sum_A \sum_B \frac{Z_A q_{B'}}{r_{AB'}} - \sum_i \sum_A \frac{q_{A'}}{r_{iA'}} \right]$$

przy czym:

Z_A oznacza tu ładunek jądra,

$q_{A'}$ oznacza ładunek solwatonu,

$r_{AB'}$ -- odległość między solwatonem a innym jądrem, a wielkość

\hat{r} oznacza operator odległości między solwatonem a elektronem.

Według teorii pola reakcji odpowiednie zależności: klasyczne i kwantowomechaniczne mają postać:

$$E_{\text{el}} = - \frac{\mu^2}{R^3} \frac{D-1}{2D+1} \left[1 - \frac{2(D-1)}{2D+1} \frac{(n^2-1)}{(n^2+2)} \right]^{-1}$$

$$\hat{H}_B = - \frac{D-1}{2D} \frac{Q^2}{R} - \frac{D-1}{2D+1} \frac{\hat{\mu}^2}{R^3} + \dots$$

W równaniu tym:

μ oznacza moment dipolowy cząsteczki rozpuszczonej,

n - refrakcję cząstki rozpuszczonej,

R - promień leja kawitacyjnego cieczy,

Q - całkowity ładunek cząsteczki oraz

$\hat{\mu}$ jest operatorem momentu dipolowego wyznaczanym z równania

$$\hat{\mu} = \sum_A Z_A R_A - \sum_i \hat{r}_i .$$

Wyniki obliczeń dla roztworu wodnego podaje Tabela III.5.

Tabela III.5

Energia swobodna solwatacji w roztworze wodnym równowag tautomerycznych I-IX (kJ/mol)

Równowaga	Dane eksp.	Teoria solwatonowa		Teoria pola reakcji	
		Klasyczna	Kwantowa	Klasyczna	Kwantowa
I	20,3	63,4	97,9	22,9	27,0
II	50,3	64,9	98,6	52,0	61,7
III	16,2	56,9	93,4	44,8	45,7
IV	1,1	58,4	89,6	7,7	13,2
V	10,6	57,6	86,7	19,3	15,6
VI	23,0	86,6	132,7	21,3	28,9
VII	25,7	47,2	76,0	12,3	14,2
VIII	21,3	43,7	68,7	7,8	5,6
IX	-	46,9	77,8	22,2	19,8

Stosując teorię pola reakcji obliczono również wpływ zmiany rozpuszczalnika z CHCl_3 na wodę na położenie równowagi tautomerycznej ($\Delta \Delta_{\text{solv}}(\Delta_R^{G^\circ})$).

$$\Delta \Delta_{\text{solv}}(\Delta_R^{G^\circ}) = \Delta_R^{G^\circ} \text{CHCl}_3 - \Delta_R^{G^\circ} \text{H}_2\text{O}$$

Tabela III.6.

Zmiana różnicy energii swobodnej tautomeryzacji

$\Delta \Delta_{\text{solv}}(\Delta_R^{G^\circ})$ przy zmianie rozpuszczalnika z CHCl_3 na H_2O

Równowaga	Dane eksp.	Model klasyczny	Model kwantowy
I	12,5	8,3	7,4
II	18,2	18,7	17,0
V	5,6	3,7	4,3
VI	14,2	7,7	7,9
IX	14,7-17,7	8,0	5,4

Analizując dane w Tabelach można stwierdzić, że wszystkie omawiane teorie przewidują przesunięcie równowagi tautomerycznej w kierunku formy laktamowej w przypadku przejścia od roztworu mniej polarnego do bardziej polarnego. Jest to zgodne z danymi doświadczalnymi, co świadczy o przyjęciu w omawianych teoriach prawidłowego modelu procesu. Na ogół lepszą zgodność z rezultatami doświadczalnymi otrzymujemy w przypadku teorii pola reakcji. Podane przykłady pozwalają sądzić, że w miarę rozwoju metod komputerowych teoretyczne obliczenia będą zyskiwały na dokładności i staną się cennym uzupełnieniem danych eksperymentalnych.

III.2.7. Jądrowy rezonans magnetyczny.

III.2.7.1. ¹H NMR.

Jądrowy rezonans magnetyczny we wszystkich powszechnie stosowanych odmianach, a więc protonowy, węglowy, azotowy, jest obecnie najczęściej stosowaną metodą wyznaczania położenia równowagi tautomerycznej. Można powiedzieć, że na dzisiejszym poziomie rozwoju tej techniki jest to najbardziej uniwersalna metoda pozwalająca uzyskiwać jakościowy, a często również ilościowy, obraz badanego zjawiska.

Najwcześniej zastosowano do badań tautomerii rezonans protonowy ze względu na powszechność tej metody, jak również ze względu na łatwość interpretacji wyników.

W przypadku rezonansu protonowego zwykle mamy do czynienia z szybką wymianą spełniającą warunek $\delta \nu \ll k$ ($\delta \nu$ - różnica częstości rezonansowych sygnałów izomerów tautomerycznych). Wynika to z niższych w porównaniu z rezonansem węglowym czy azotowym wartości $\delta \nu$ i z wysokich na ogół wartości stałych szybkości wymiany (k). W takim wypadku obserwujemy widmo uśrednione. Niestety, często zdarza się, że nie obserwujemy najbardziej interesującego sygnału labilnego protonu tautomerycznego. Spowodowane jest to nakładaniem się kilku efektów powodujących poszerzenie tego sygnału, w skutek czego ginie on w szumach. Poza możliwymi efektami wymiany protonu czynnikami poszerzającymi sygnały są także wszelkie procesy solwatacyjne. W przypadku związków azotowych, zawierających ponad 99% izotopu ¹⁴N dodatkowym czynnikiem poszerzającym może też być niecałkowicie uśrednione oddziaływania spinowo-spinowe omawianego protonu z jądrem azotu. Ma to miejsce w przypadku dostatecznie powolnej relaksacji jąder ¹⁴N.

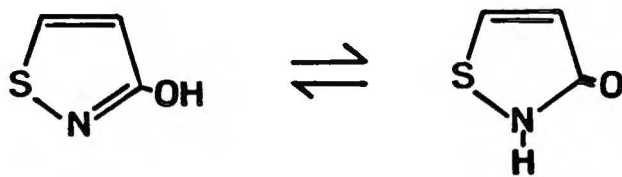
W pewnych szczególnych przypadkach, również w grupie benzazoli mamy do czynienia z wymianą powolną w skali czasu ^1H NMR, np. pochodne 1-hydroksyindolu^{32,33}.

Spowodowane jest to nakładaniem się dwóch efektów. Są nimi: dość duża w porównaniu z innymi związkami wartość δ_{O} oraz obniżenie szybkości wymiany na skutek podwyższenia energii aktywacji procesu.

W takim przypadku oznaczenie stałej równowagi tautomerii sprowadza się praktycznie do wyznaczenia stosunku powierzchni odpowiednich sygnałów.

Na ogół jednak pracując w temperaturze pokojowej otrzymujemy widma uśrednione. Jednym ze sposobów rozwiązywania tego typu problemu jest obniżenie temperatury w celu spowolnienia wymiany, a tym samym przejście do obszaru wymiany powolnej³⁴. Innym sposobem analizy widm uśrednionych, w przypadku braku sygnału tautomerycznego protonu, jest zbadanie efektów występujących w przesunięciach chemicznych i stałych sprzężenia innych protonów, bezpośrednio nie zaangażowanych w wymianę tautomeryczną.

Te właśnie parametry spektralne analizowali A.W.K.Chan i współpracownicy w pracy dotyczącej tautomerii 3-hydroksyizotiazolu³⁵. Związek ten wykazuje tautomerię typu laktim-laktam:



charakteryzowaną przez:

$$K_T = \frac{[\text{laktim}]}{[\text{laktam}]}$$

Wnioski dotyczące położenia równowagi tautomerycznej autorzy wysuwają na podstawie analizy przesunięć chemicznych protonów H-4 i H-5 oraz stałej sprzężenia $^3J_{4,5}$ w związku znajdującym się w równowadze tautomerycznej i w związkach modelowych, którymi były odpowiednie O- i N-metylowe pochodne.

Tabela III.7.

Dane spektralne ^1H NMR 3-hydroksyizotiazolu i pochodnych

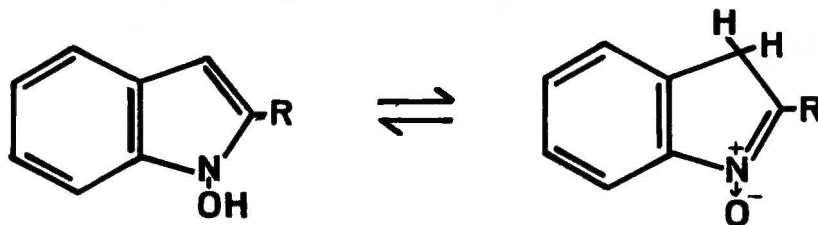
	CDCl_3			DMSO			CH_3OH		
	$\delta_{\text{H-4}}$	$\delta_{\text{H-5}}$	$^3J_{45}$	$\delta_{\text{H-4}}$	$\delta_{\text{H-5}}$	$^3J_{45}$	$\delta_{\text{H-4}}$	$\delta_{\text{H-5}}$	$^3J_{45}$
O- CH_3	3,31	1,53	4,6	3,25	1,12	4,7	3,38	1,31	4,6
N- CH_3	3,73	1,95	6,1	3,81	1,55	6,3	3,76	1,55	6,2
Tauto- mer	3,32	1,54	4,6	3,41	1,22	5,1	3,47	1,37	5,0
K_T	40	40	-	2,5	3,3	3,0	3,8	3,6	3

Wartości K_T podane w Tabeli III.7 obliczono przyjmując założenie, że wielkość danego parametru (δ lub J) dla związku w równowadze tautomerycznej jest średnią ważoną wartości tego parametru dla struktur izomerycznych występujących w tej mieszaninie. Właściwości izomerów tautomerycznych aproksymowane są przez związki modelowe. W pracy tej autorzy nie uwzględniają wpływu metylowania na wartości przesunięć chemicznych i stałych sprzężenia oraz pomijają wszelkie wpływy środowiskowe. Pomimo przyjęcia tak prostego modelu zjawiska otrzymane wyniki wykazują dobrą powtarzalność i są wiarygodne.

Sygnały ^1H NMR uzyskane w tej pracy są ostre, co świadczy, że jest to proces wymiany szybkiej.

Przypadkiem powolnej (w skali czasu NMR) tautomerii zajmowali się M.Mousserou-Canet i współpracownicy^{32,33}.

Badali oni tautomerię typu $N-OH \rightleftharpoons N-O$:



gdzie: $R=H, CH_3, Ph$.

Widma 1H NMR tych związków zawierają sygnały obu form tautomerycznych. Sygnały te można zidentyfikować na podstawie multipletowości i integracji. Na podstawie takiej analizy widm stwierdzono wyraźną zależność stałej K_T od użytego rozpuszczalnika.

Tabela III.8.

Skład mieszaniny tautomerycznej w roztworach

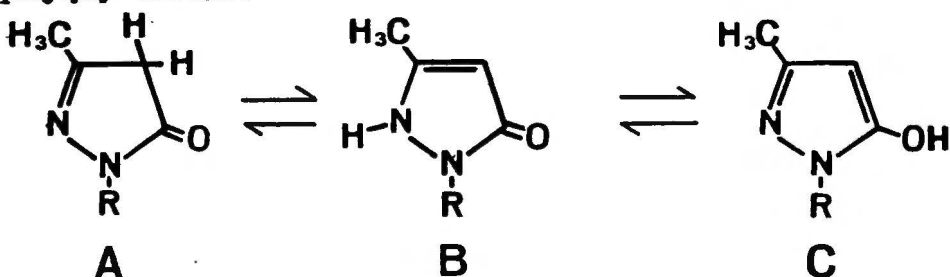
R	Rozpuszczalnik	Zawartość N-O
H	$CDCl_3$	40%
Ph	$CDCl_3$	40%
Ph	DMSO	0%
Ph	pirydyna	0%
CH_3	pirydyna	0%
CH_3	CH_3CN	0%
CH_3	CH_3NO_2	20%

Tabela III.8. c.d.

CH ₃	CCl ₄	33%
CH ₃	CDCl ₃	37%
CH ₃	CDCl ₃ +C ₂ H ₅ OH	60%
CH ₃	C ₆ H ₅ OH	100%

Podstawą do wyznaczania zawartości izomerów tautomerycznych były: dla R=H i R=Ph porównanie integracji sygnałów OH, $\alpha\text{-H}$ ($\beta\text{-H}$ lub $=\text{CH}_2$ (tam gdzie one występują) oraz dla R=CH₃ porównanie całek sygnałów grup metylenowych (sygnał CH₃ formy $\overset{\dagger}{\text{N}}\rightarrow\bar{\text{O}}$ występuje zawsze przy wyższym polu).

Podobnym pod względem szybkości wymiany protonu typem tautomerii zajmowali się L.N.Kurkowskaja i inni³². Badali oni następujący układ:

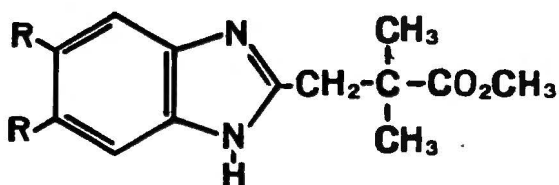


W temperaturze pokojowej dla R=CH₃ widmo protonowe składa się z trzech sygnałów: dwóch grup metylowych i jednej metylenowej co świadczy o występowaniu praktycznie tylko izomeru (A). Gdy obniżymy temperaturę to pojawiają się sygnały CH, NH oraz dwa nowe sygnały grup CH₃. Jest to dowodem znajdowania się w mieszaninie tautomerycznej znaczącej domieszki formy (B).

Odmienny sposób wykorzystania widm ¹H NMR prezentują E.A. Fruchier i E.Alcade^{36,37}. Przedmiotem ich badań są indazol

oraz 3-azydoindazol. Na podstawie widm protonowych autorzy ci stwierdzają, że sygnał protonu H-3 indazolu jest dubletem o stałej sprzężenia $J=1,11$ Hz co odpowiada sprzężeniu z protonem H-7, natomiast nie daje sprzężenia z protonem w pozycji 1 ani w pozycji 2. Fakty te są dowodem ruchliwości protonu związanego z atomem azotu, ale nic nie mówią o położeniu równowagi tautomerycznej. Interesujące jest natomiast porównanie zachowania się 3-azydoindazolu. Związek ten wykazuje sprzężenie J_{H1-H4} co oznacza zmniejszenie szybkości wymiany protonu do tego stopnia, że staje się ona procesem powolnym w NMR-owskiej skali czasu. Wniosek ten potwierdza również obserwacja sprzężeń węgiel-wodór w widmie ^{13}C NMR. Sygnał węgla C-8 indazolu jest mocno poszerzony i nie wykazuje sprzężeń z wodorem co jest spowodowane odsprzęgającym wpływem sąsiedniego atomu azotu zaangażowanego w wymianę tautomeryczną. Ten sam atom węgla w 3-azydoindazolu jest sprzężony odpowiednimi stałymi z protonami 1,4,6 i 7. Szybkość wymiany protonu w 3-azydoindazolu można zwiększyć przez dodanie D_2O co powoduje zanik sprzężenia C-3-H-1.

Szybkość wymiany tautomerycznej w temperaturze pokojowej jest zwykle na tyle duża, że obserwujemy widmo uśrednione natomiast J.Elguero³⁸ zajął się przypadkiem kiedy na skutek czynników zewnętrznych lub wewnątrzcząsteczkowych szybkość wymiany została zmniejszona. Badano następujące związki:



gdzie: I R=H lub II R=CH₃

Związek II w roztworze CDCl_3 w temperaturze pokojowej daje w części aromatycznej widma singlet $\delta = 7,3$ ppm, natomiast w temperaturze 198K dublet o stałej sprzężenia $J = 18,5$ Hz.

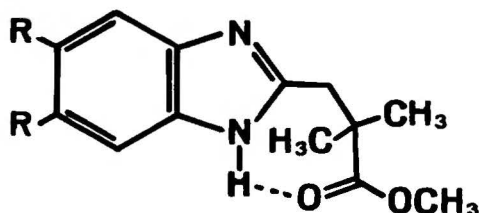
Dla tego procesu wymiany obliczono energię aktywacji

$$\Delta G_{208\text{K}}^\ddagger = 44 \text{ kJ/mol w warunkach koalescencji w 208K.}$$

Podobnie tylko w innym zakresie temperatur zachowuje się związek I. W temperaturze pokojowej w CDCl_3 w widmie występuje multiplet H-5 i H-6 w zakresie 7,14 do 7,24 ppm i dwa szerokie sygnały H-4 i H-7 o $\delta = 7,45$ ppm i $\delta = 7,7$ ppm.

Dodanie do roztworu śladowych ilości kwasu powoduje powstanie układu AA'BB' w miejscu dotychczasowego układu ABCD.

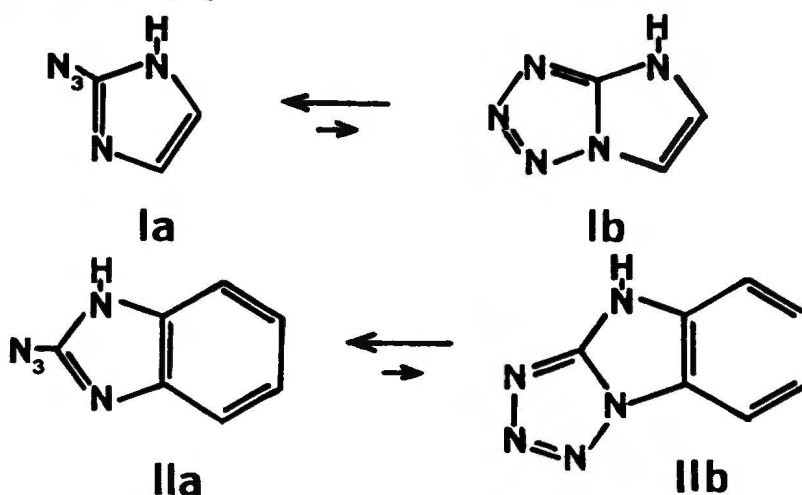
Podobny efekt daje podwyższenie temperatury do 383K. w roztworze pirydyny d_5 . Zjawisko spowolnienia wymiany tautomerycznej spowodowane jest prawdopodobnie stabilizującym działaniem wewnątrzcząsteczkowego wiązania wodorowego typu:



dzięki czemu następuje podwyższenie energii aktywacji procesu. Efekt ten jest likwidowany przez dodanie kwasu lub przez podniesienie temperatury i otrzymujemy wtedy typowe widmo uśrednione. Analogiczne efekty obserwujemy w widmie ^{13}C NMR: widmo związku niesymetrycznego po dodaniu kwasu wykazuje koalescencję sygnałów C-5 i C-6 oraz atomów węgla mostkowych i poszerzenie sygnałów C-4 i C-7.

Innym jeszcze typem tautomerii badanym za pomocą ^1H NMR jest tautomeria walencyjna azydek \rightleftharpoons tetrazol³⁹.

Przedmiotem badań były:



a także acetylowe pochodne obu związków. Położenia tych równowag określano na podstawie analizy widm ^1H NMR.

Widmo związku I jest układem A_2 natomiast związku II jest układem $AA^{\circ}BB^{\circ}$ co świadczy o występowaniu I i II w postaci azydku. Odmiennie wyglądają widma anionów generowanych z tych związków: widmo anionu I jest układem AB o stałej sprzężenia $J_{AB}=1,2$ Hz natomiast widmo anionu II jest układem ABCD.

Ciekawym jest fakt, że pochodne acetylowe zachowują się odmiennie. W roztworze DMSO_{d6} obie pochodne występują w postaci mieszaniny izomerów o stosunku azydek/tetrazol = 3/2 przy czym wzrost temperatury powoduje wzrost zawartości azydku. W roztworze CDCl_3 acetylozwiązek I występuje w formie azydku natomiast pochodna II jest mieszaniną o stosunku składników azydek/tetrazol = 10/1.

III.2.7.2. Węglowy rezonans magnetyczny (^{13}C NMR).

Spektroskopia ^{13}C NMR, podobnie jak rezonans protonowy, jest metodą uniwersalną we wszelkich badaniach strukturalnych, a tym samym również w zagadnieniach związanych z problemami tautomerii. W zależności od tego, do jakiego układu tautomerycznego ją zastosujemy oraz jakich parametrów spektralnych użyjemy do analizy, możemy otrzymać albo jakościowy, orientacyjny opis zjawiska, albo w miarę dokładne ilościowe rozwiązanie problemu.

W rezonansie węglowym, z powodu dość niskiej bariery energetycznej wymiany protonu, najczęściej otrzymujemy widma uśrednione. W widmach tych wszystkie występujące parametry spektralne są średnią ważoną z wartości tych parametrów dla izomerów tautomerycznych obecnych w mieszaninie równowagowej.

Jeżeli posługujemy się alkilowymi pochodnymi jako związkami modelowymi izomerów tautomerycznych to można wyznaczyć skład takiej mieszaniny.

Dla przykładowej równowagi tautomerycznej typu $\text{NH} \rightleftharpoons \text{OH}$ odpowiednie równanie ma postać:

$$x = \frac{a_{\text{N-Me}} - \Delta_{\text{NH}} - a_{\text{T}}}{(a_{\text{N-Me}} - \Delta_{\text{NH}}) - (a_{\text{O-Me}} - \Delta_{\text{OH}})} \quad \text{III.6}$$

W równaniu tym x oznacza ułamek molowy izomeru OH w mieszaninie równowagowej, $a_{\text{N-Me}}$, $a_{\text{O-Me}}$ i a_{T} są wartościami analizowanego parametru odpowiednio dla N-Me i O-Me pochodnych oraz dla mieszaniny tautomerycznej, Δ_{NH} i Δ_{OH} są to poprawki uwzględniające zmiany wynikające z wprowadzenia do cząsteczki grupy metylowej.

Poprawki te w zależności od analizowanego parametru spektralnego przyjmują różne wartości. Często ich wielkość jest nieznaczna w porównaniu z wielkościami mierzonymi i trudna do oszacowania. W takich przypadkach poprawki te często pomijamy. Pozwala to wprawdzie znacznie uprościć oznaczenia ale wprowadza również pewien błąd systematyczny.

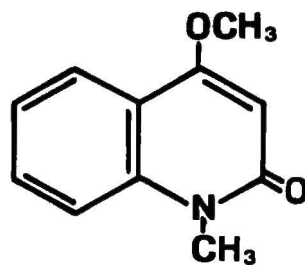
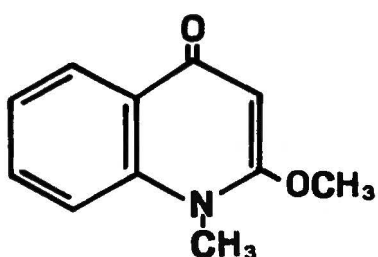
Dosyć charakterystyczny jest fakt, że w przypadku szybkich procesów wymiany wykorzystanie przesunięć chemicznych ^{13}C NMR związku tautomerycznego w celu porównania ich z przesunięciami alkilowych związków modelowych bardzo często nie prowadzi do zadowalających wniosków. Spowodowane jest to nakładaniem się kilku efektów o porównywalnych amplitudach. Są to efekty wymiany tautomerycznej, alkilowania oraz efekty rozpuszczalnikowe.

J. Elguero⁴⁰ na podstawie widm ^{13}C NMR pirolu i N-metylopirolu próbuje określić wielkość efektów rozpuszczalnikowych i alkilowania. Jako rozpuszczalnika wzorcowego używa on normalnego heksanu.

Efekty te są bardzo różne i zmieniają się od -1,8 ppm w CH_2Cl_2 do +2,6 ppm w DMSO i praktycznie na obecnym etapie badań trudno ująć je w jakieś uniwersalne reguły. W pracy tej wyznaczono również efekt metylowania na węglu α . Wynosi on od 8,5 do 9,2 ppm w kierunku pola o mniejszym natężeniu. Efekty wyższego rzędu (β , γ) są znacznie mniejsze i zbliżone wartością do analogicznych efektów na atomie azotu.

Interesujące jest porównanie wielkości efektów wymiany tautomerycznej z efektami podstawienia.

Dokonano tego na przykładzie dwóch związków modelowych⁴¹:



Porównanie przesunięć chemicznych poszczególnych atomów tych związków pozwala stwierdzić zmienny i trudny do usystematyzowania wpływ omawianych czynników na właściwości spektralne atomów węgla.

Skutki tych efektów można obserwować w pracy L.Stafaniaka⁴², w której autor wyznacza położenie równowagi tautomerycznej trzech hydroksypyrydyn opierając się na pomiarach ¹⁴N i ¹³C NMR. Pomiary ¹⁴N NMR prowadzą do wiarygodnych wyników ilościowych natomiast węglowe jedynie do wniosków jakościowych.

Krytycznym parametrem w tego typu oznaczeniach jest wielkość przedziału spektralnego, wyznaczanego przez związki modelowe $\Delta_{(NMe-OMe)}$.

$$\Delta_{(NMe-OMe)} = \delta_{NCH_3} - \delta_{OCH_3} \quad \text{III.7}$$

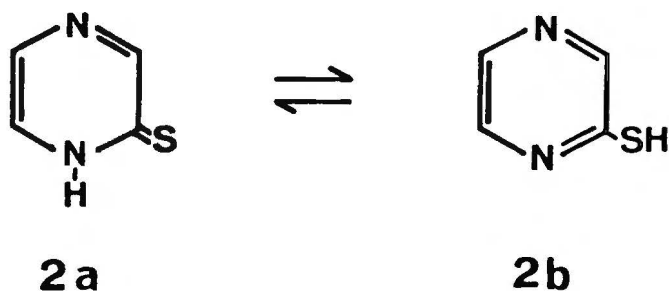
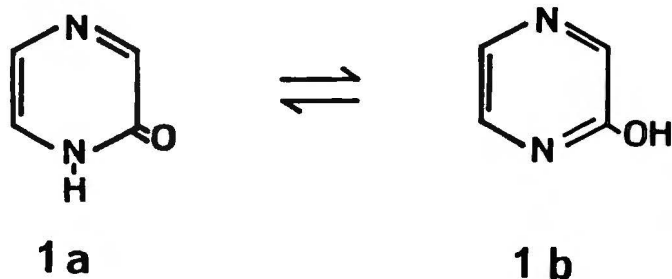
W rezonansie azotowym przedział ten często przekracza 100 ppm podczas gdy dla ¹³C jest on bardzo zmienny i rzadko przekracza 10 ppm.

Dodatkowym utrudnieniem jest fakt, że na skutek dość znacznych efektów związanych z wprowadzeniem do cząsteczki grupy metylowej przesunięcie chemiczne mieszaniny tautomerycznej znajduje się poza wspomnianym przedziałem. Uniemożliwia to wprawdzie badania ilościowe ale w pewnych przypadkach, szczególnie wtedy gdy równowaga jest mocno przesunięta w kierunku jednego z izomerów, możliwe jest wskazanie dominującego tautomeru.

W ten właśnie sposób P.Bouchet⁴³ określił strukturę indazolu w roztworze DMSO jako formę benzenoidową a nie chinoidową.

Również porównanie przesunięć chemicznych związków modelowych i mieszaniny tautomerycznej tworzonej przez 1-hydroksybenzotriazol pozwoliło jednoznacznie przesądzić strukturę 1-H tego związku jako dominującą w roztworze DMSO⁴⁴.

Innymi parametrami spektralnymi użytecznymi w badaniach tautomerii są wartości stałych sprzężenia, głównie węgiel-wodór. Porównanie wartości tych stałych dla widma uśrednionego badanej równowagi tautomerycznej oraz dla odpowiednich związków modelowych posłużyło S.Tobiasowi i H.Günterowi⁴⁵ do wyznaczenia położenia równowagi tautomerycznej hydroksylowych i tiolowych pochodnych pirazyny.



Przykładowo dla równowagi $1a \rightleftharpoons 1b$ wyznaczono stałą sprzężenia $^1J_{C5-H5}$ równą dla związków modelowych N-CH₃ i O-CH₃ odpowiednio 188,9 Hz i 184,6 Hz oraz dla związku w równowadze tautomerycznej 188,9 Hz. Dla stałej sprzężenia $^2J_{C5-H6}$ odpowiednie wartości wynoszą 5,0 Hz, 9,9 Hz i 5,4 Hz.

Oznacza to zdecydowaną przewagę izomeru -NH w mieszaninie równowagowej.

Podobne wnioski wyciągają autorzy odnośnie równowagi $2a \rightleftharpoons 2b$.

W pewnych układach o wyższej symetrii stałe sprzężenia węgiel-wodór mogą być źródłem bardziej precyzyjnych danych dotyczących położenia równowagi tautomerycznej.

W pracy⁴⁶ autorzy opierając się na stwierdzonym braku wpływu metylowania azotu w sąsiednim położeniu na wartość stałej sprzężenia $^1J_{C-H}$ stosują ten parametr do wyznaczenia stałej K_T 1,2,3-triazolu.

Stwierdzili, iż 1,2,3-triazol w roztworach występuje w postaci mieszaniny o stosunku zawartości izomeru 2-H do 1-H równym 2:3.

Stosowaną metodę przetestowano na przykładach imidazolu i pirazolu, gdzie stałe równowagi są znane. Otrzymane wyniki odtwarzały te dane z bardzo dobrą dokładnością. Potwierdza to pośrednio wiarygodność danych uzyskanych dla 1,2,3-triazolu.

Pozostając przy ilościowych wnioskach wynikających z widm ^{13}C NMR, należy wspomnieć o zastosowaniu tej techniki do badania równowag powolnych, to znaczy takich, w których jednocześnie obserwujemy sygnały obu izomerów.

Dobrym przykładem takiej równowagi jest acetyloaceton i jego pochodne wykazujące równowagę ketonowo-enolową⁴⁷.

Podstawą oznaczeń ilościowych w takim przypadku jest całkowanie odpowiednich sygnałów obu izomerów. Otrzymane tą drogą wyniki są w dobrej zgodności z rezultatami otrzymanymi na innej drodze np. IR lub 1H NMR.

Dokonując przeglądu zastosowania spektroskopii ^{13}C NMR nie można pominąć wykorzystania jej w różnorodnych badaniach mechanistycznych wiążących się z tautomerią.

Przykładem tego typu badań może być praca omawiająca me-

chanizm przeniesienia protonu w pirazolu⁴⁸.

W widmie ¹³C NMR pirazolu w temperaturze -118°C mamy trzy dobrze rozdzielone sygnały, w -100°C występuje koalescencja natomiast w -40°C obserwuje się już widmo całkowicie uśrednione, składające się z dwóch wąskich sygnałów.

Na wykonanym wykresie Arrheniusa $\log K = f(1/T)$ występuje charakterystyczne zakrzywienie linii, które świadczy, iż poniżej -105°C dominującym mechanizmem przeniesienia protonu staje się tunelowanie.

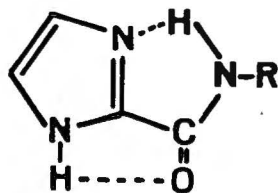
Innym typem badań mechanistycznych są prace nad tautomerią 2-podstawionych imidazoli i benzimidazoli^{49,50}.

Autorzy stwierdzają, że w przypadku prostych podstawników w pozycji 2, takich jak -CH₃ oraz dla związków niepodstawionych proces wymiany protonu jest szybki i otrzymujemy widmo uśrednione o ostrych sygnałach.

Sytuacja się zmienia, gdy w pozycji 2 znajduje się podstawnik typu -CONHR, gdzie R= n-Bu, fenyl, m-chlorofenyl.

W takich przypadkach w temperaturze pokojowej najczęściej obserwuje się widmo świadczące o niesymetrycznej budowie cząsteczki. Efekty dynamiczne występują tu dopiero powyżej 100°C.

Tak znaczne spowolnienie wymiany protonu tłumaczone jest powstawaniem wewnątrzcząsteczkowego wiązania wodorowego podwyższającego energię aktywacji procesu:



Zahamowanie wymiany może być usunięte poprzez dodanie śladowych ilości KOH lub CF_3COOH , które to czynniki powodują szybkie międzycząsteczkowe przeniesienie protonu poprzez sta-ny anionowe lub kationowe.

Uzupełniając ten krótki i z konieczności niepełny przegląd zastosowań spektroskopii ^{13}C NMR do badania tautomerii należy przynajmniej wspomnieć o rozwijającej się dynamicznie w ostatnich latach technice NMR ciała stałego.

Spektroskopia ^{13}C NMR ciała stałego była stosowana do badania tautomerii pirazolu i imidazolu⁵¹.

W obu tych przypadkach otrzymano po trzy dobrze rozdzielone sygnały świadczące o braku wymiany protonu w ciele stałym.

Wniosek ten jest zgodny z dotychczasowymi danymi otrzymanymi innymi drogami np. IR czy badania rentgenowskie i stanowi wartościowe uzupełnienie naszych wiadomości na temat tautomerii tych związków.

III.2.7.3. Magnetyczny rezonans jądrowy ^{14}N i ^{15}N .

Spektroskopia NMR azotu, zarówno izotopu ^{14}N jak również ^{15}N , od najwcześniejszych lat stosowania jej w praktyce chemicznej jest bardzo użyteczną metodą badania równowag tautomerycznych. Początkowo doświadczenia tego typu opierały się na pomiarach rezonansowych izotopu ^{14}N ze względu na jego wysoką, 99,63% zawartość naturalną.

Jednak pewne właściwości tego jądra, a mianowicie niezerowy moment kwadrupolowy, a co za tym idzie, stosunkowo duże szerokości połówkowe sygnałów ograniczają zastosowanie tej techniki⁵².

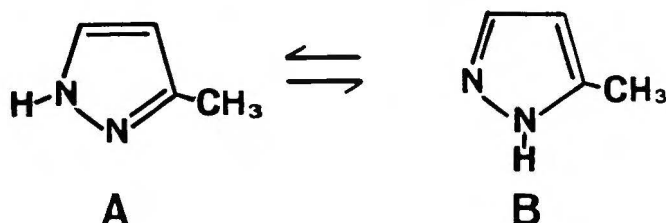
Jądro ^{15}N nie ma tych niedogodności (liczba spinowa 1/2), ale niska zawartość naturalna tego izotopu powoduje konieczność długotrwałego sumowania widm w celu uzyskania odpowiedniego stosunku natężenia sygnału do szumu.

Innymi czynnikami wydłużającymi pomiary ^{15}N NMR są stosunkowo długie czasy relaksacji tego jądra, przy czym próby skracania ich poprzez dodawanie paramagnetycznych odczynników np. $\text{Cr}(\text{acac})_3$ czasami powoduje poszerzenie sygnałów, a tym samym pogorszenie stosunku natężenia sygnału do szumu.

Mimo tych trudności eksperymentalnych spektroskopia ^{14}N i ^{15}N NMR jest stosowana do badania zjawiska tautomerii, na ogół z bardzo dobrymi rezultatami.

Ponieważ większość danych na ten temat z lat wcześniejszych jest dokładnie omówiona w monografiach^{52,53,54}, to w tym przeglądzie chciałbym skoncentrować się na ostatnich pracach, natomiast ze starszych opracowań omówię krótko tylko dwa artykuły^{42,55}, oba bazujące na pomiarach ^{14}N NMR.

Pierwszy z nich⁵⁵ omawia tautomerię 3(5)-metylopirazolu:



Związkami modelowymi dla obu izomerów tautomerycznych były odpowiednie pochodne metylowe.

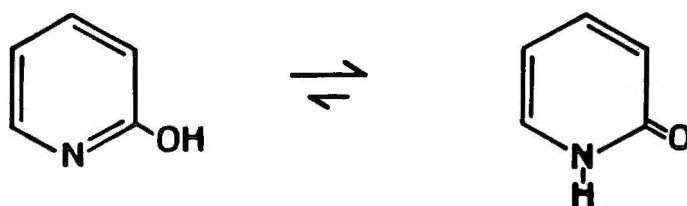
Na podstawie pomiarów przesunięć chemicznych jądra ¹⁴N wyznaczono stałą równowagi tautomerycznej dla tego związku.

Otrzymana wartość $K_T = [A] / [B] = 0,154$ świadczy o przewadze izomeru B w mieszaninie tautomerycznej.

Warto wspomnieć, że zastosowanie tej metody dla pirazolu, dla którego stała K_T jest oczywiście równa 1, pozwala odtworzyć wartość tej stałej z dużą dokładnością. Świadczy to o wiarygodności omawianej metody.

Druga ze wspomnianych prac⁴² zajmuje się układami sześcioczłonowymi, a konkretniej hydroksylowymi pochodnymi pirydyny.

Na podstawie pomiarów ¹⁴N NMR stwierdzono następujące zawartości izomerów tautomerycznych w mieszaninach równowagowych w różnych rozpuszczalnikach:

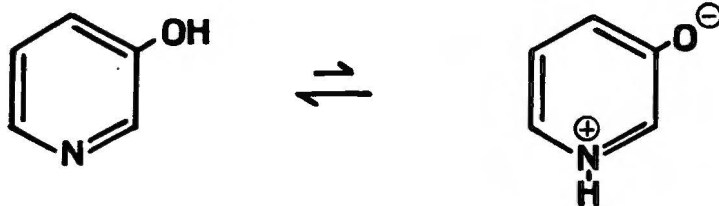


aceton: $8 \pm 4\%$

$92 \pm 4\%$

metanol: $4 \pm 4\%$

$96 \pm 4\%$



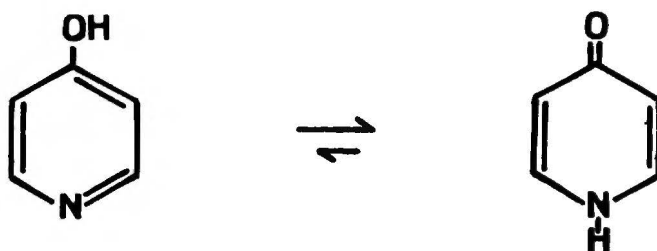
aceton-

metanol (2:1): 96±3%

4±3%

metanol: 97±3%

3±3%



aceton: 17±4%

83±4%

metanol: 10±4%

90±4%

Podstawą obliczeń zawartości tautomerów jest równanie III.6, przy czym mierzonym parametrem spektralnym jest tu przesunięcie chemiczne atomów azotu.

Istotną wartością tej pracy jest również porównanie możliwości analitycznych trzech metod spektralnych, a mianowicie ^1H , ^{13}C i ^{14}N NMR, w rozwiązywaniu problemów tautomerii. Z porównania tego wynika, że rezonans azotowy jest metodą najskuteczniejszą, dającą najdokładniejsze wyniki.

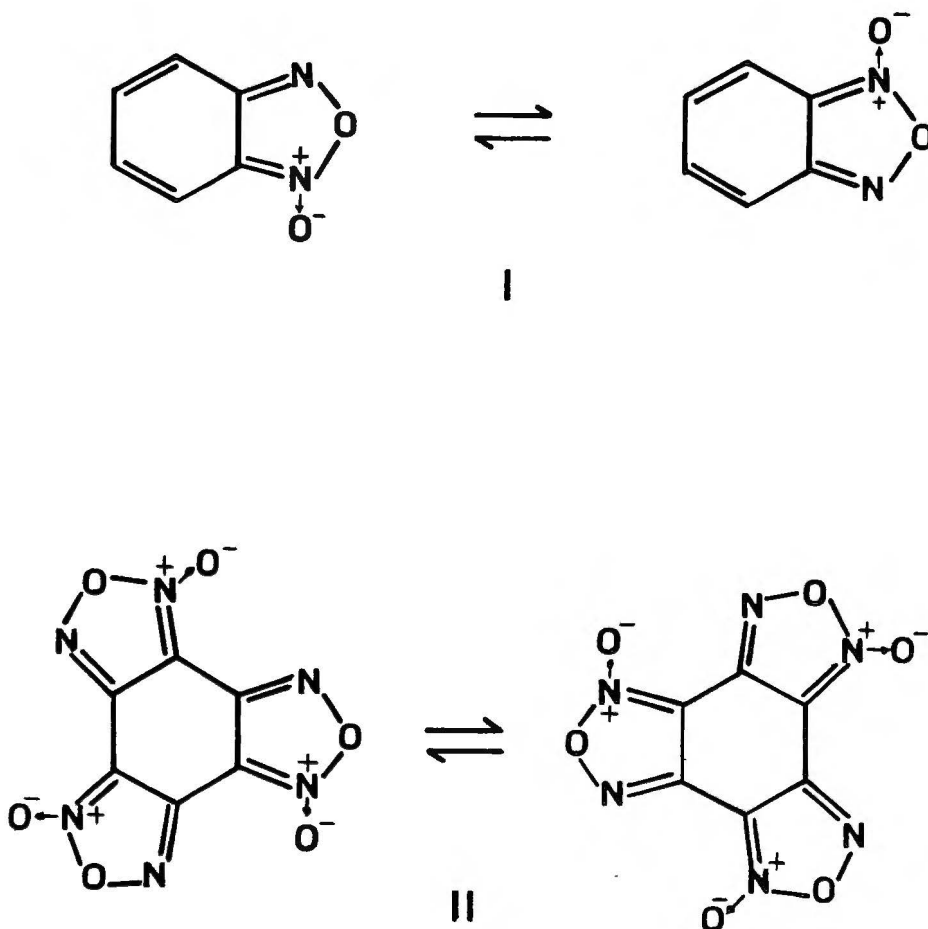
Związane jest to z faktem, że zmiany przesunięć chemicznych związane z przeniesieniem protonu są w przypadku ^{14}N NMR o rząd wielkości większe niż dla ^{13}C NMR i o dwa rzędy większe niż dla ^1H NMR.

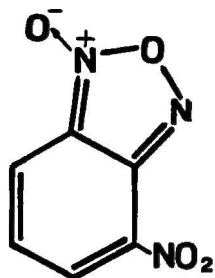
Niestety, nie zawsze mamy do czynienia z tego typu korzystnym układem. W przypadku N-tlenków hydroksypirydyny zmiany te są tego samego rzędu co efekty podstawienia grupą metylową, co dyskwalifikuje tę metodę jako wiarygodny sposób badania równowagi tautomerycznej w grupie N-tlenków.

Rezonans azotowy, szczególnie w ujęciu kompleksowym, z wykorzystaniem widm ^{14}N i ^{15}N , daje duże możliwości badania pewnych układów tautomerycznych, niemożliwych do przebadania innymi technikami.

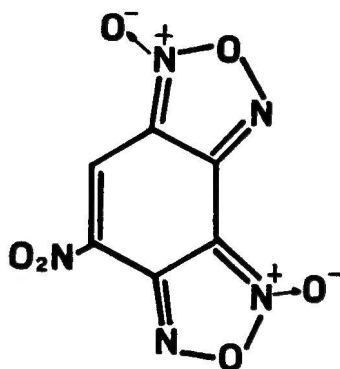
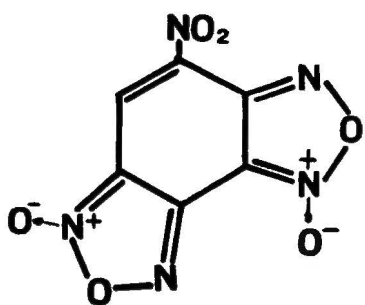
M.Witanowski i L.Stefaniak⁵⁶ badali w ten sposób tautomerię walencyjną benzofuroksanu i jego nitrowych pochodnych.

Wytępują tu następujące równowagi:





III



IV

Spośród tych czterech związków jedynie niepodstawiony benzofuroksan występuje w temperaturach wyższych od pokojowej w postaci mieszaniny izomerów tautomerycznych. W pozostałych przypadkach zjawiska tautomerii nie obserwujemy.

Poza wymienionym już uprzednio pirazolem badano również równowagi tautomeryczne wielu innych azoli i benzoazoli: indazolu^{58,59} oraz benzotriazolu, imidazolu, 1,2,4-triazolu i tetrazolu⁶⁰.

We wszystkich tych związkach mamy do czynienia z równowagą

typu: azot pirolowy \rightleftharpoons azot pirydynowy, w której różnica przesunięć chemicznych azotu w poszczególnych izomerach jest rzędu 100 ppm, dzięki czemu można wyznaczyć ilościowo odpowiednie stałe równowagi K_T .

W cytowanych pracach⁵⁸⁻⁶⁰ stwierdzono, że w przypadku benzotriazolu i indazolu równowaga jest silnie przesunięta w kierunku izomerów 1-H z nieznaczną tylko domieszką formy 2-H. Imidazol natomiast podobnie jak 1,2,4-triazol i tetrazol występuje w postaci równomolowej mieszaniny obu symetrycznych izomerów.

Odmienne zachowuje się 1,2,3-triazol: w roztworze DMSO zawartość izomeru 2-H wynosi $55 \pm 5\%$ natomiast w $CDCl_3$ tylko $34 \pm 1\%$.

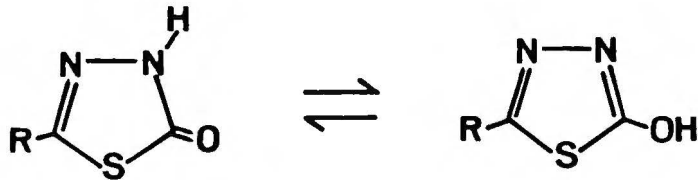
Przydatność badań z wykorzystaniem rezonansu azotowego w porównaniu z innymi metodami spektralnymi wykazano w pracy W.Kornackiego i współpracowników⁶¹. Przedmiotem badań była tautomeria acetamidu i N-metyloacetamidu.

Stosunkowo duża czułość przesunięcia chemicznego badanych związków na zmiany rozpuszczalnika nie pozwala na precyzyjne określenie położenia równowagi tautomerycznej ale podane wyniki umożliwiają stwierdzenie zdecydowanej przewagi formy amidowej w badanych mieszaninach nad formą izoamidową. Zawartość formy izoamidowej szacowana jest na maksymalnie 10%.

Podane równolegle przez autorów dane ^{13}C NMR wykazują nieprzydatność rezonansu węglowego do oceny badanej równowagi. Przesunięcia chemiczne ^{13}C karbonylowego atomu węgla jak również atomu $C-CH_3$ mieszaniny tautomerycznej są bliskie dimetyloacetamidu ale jednak leżą poza przedziałem wyznaczonym przez związki modelowe. Dlatego też niemożliwe jest ilościowe obliczenie stałej równowagi i zadowolić się trzeba

szacunkiem tylko jakościowym.

Interesująco przedstawiają się natomiast badania nad tautomerią 1,3,4-tiadiazol-2(3H)-onu i jego 5-podstawionych pochodnych⁶² w roztworze DMSO.

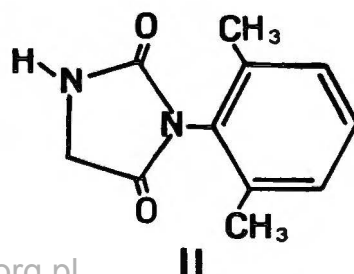
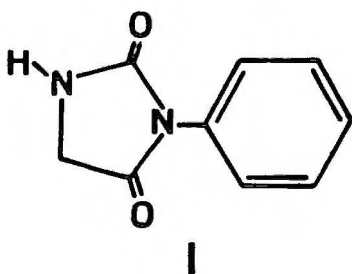


Związkami modelowymi były odpowiednie N- i O- pochodne metylowe.

W roztworach tych przesunięcie chemiczne atomu azotu N-3 jest bardzo czułym i diagnostycznym parametrem spektralnym, o który można oprzeć obliczenia ilościowe, natomiast atom azotu N-4 nie spełnia tych warunków. Spowodowane jest to mniejszym zakresem zmian oraz zmiennym i trudnym do wyznaczenia efektem metylowania sąsiedniego atomu azotu.

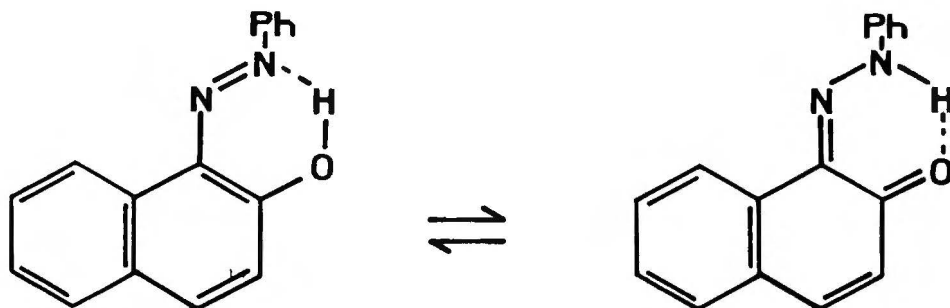
Ciekawie przedstawiają się również dane dotyczące stałych sprzężenia $^1J_{N3-H3}$. Jedyne w przypadku związku niepodstawionego $R=H$ i aminowej pochodnej $R=NH_2$ udało się zmierzyć te stałe. Oznacza to, że proces wymiany protonu jest powolny a równowaga jest silnie przesunięta w kierunku izomeru $C=O$.

Podobne wnioski można wyciągnąć na temat tautomerii następujących związków⁶³:



Oba te związki wykazują stałe sprzężenia $^1J_{N3-H3}$ równe 98 Hz dla (I) i 92 Hz dla (II). Świadczy to o braku szybkiej wymiany protonu pomiędzy atomem azotu a grupą karbonylową.

Odmienny typ tautomerii, a mianowicie równowagę azo-hydrazonową badali A.Lička i współpracownicy⁶⁴:



Na podstawie pomiaru przesunięć chemicznych atomów azotu N- α i N- β wyznaczono zawartość formy hydrazonowej w mieszaninie tautomerycznej w zależności od temperatury:

	N- α	N- β
temperatura 330K	64,7%	65,7%
temperatura 230K	82,9%	83,9%

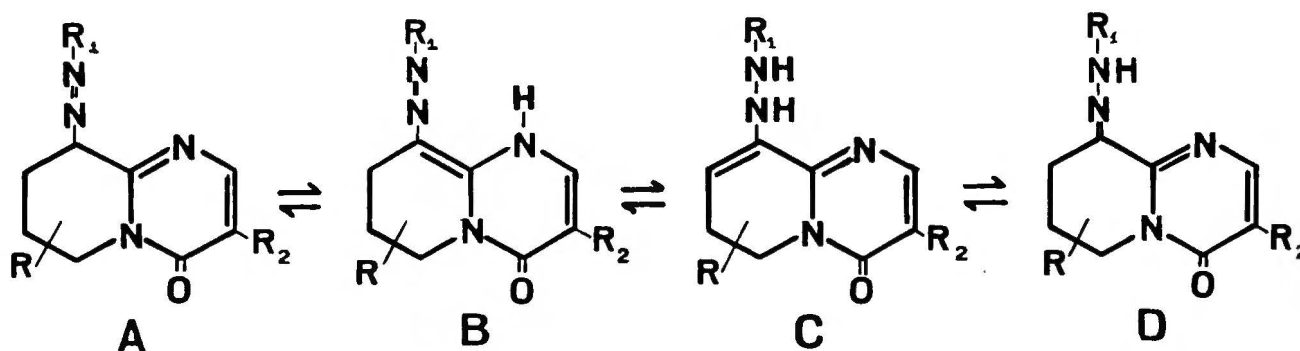
Dobra zgodność tych danych dla obu atomów azotu świadczy o prawidłowej metodyce pomiarów i obliczeń.

Ten sam typ tautomerii był badany na przykładzie kilkunastu barwników azowych z różnymi podstawnikami przy ugrupowaniu azowym⁶⁵.

Przesunięcia chemiczne ^{15}N NMR badanych związków znajdują się w przedziałach: dla atomu N- α od -146 do -106 ppm, natomiast dla atomu N- β od -150 do -65 ppm.

Na podstawie tych danych autorzy twierdzą, że strukturą przeważającą jest forma hydrazonowa. Jest to zgodne z wnioskami wynikającymi z poprzednio omawianej pracy⁶⁴.

Z równowagą azowo-hydrazonową związana jest również praca G.Tótha⁶⁶. Opierając się na pomiarach ¹H, ¹³C i ¹⁵N NMR badano następujący układ tautomeryczny:

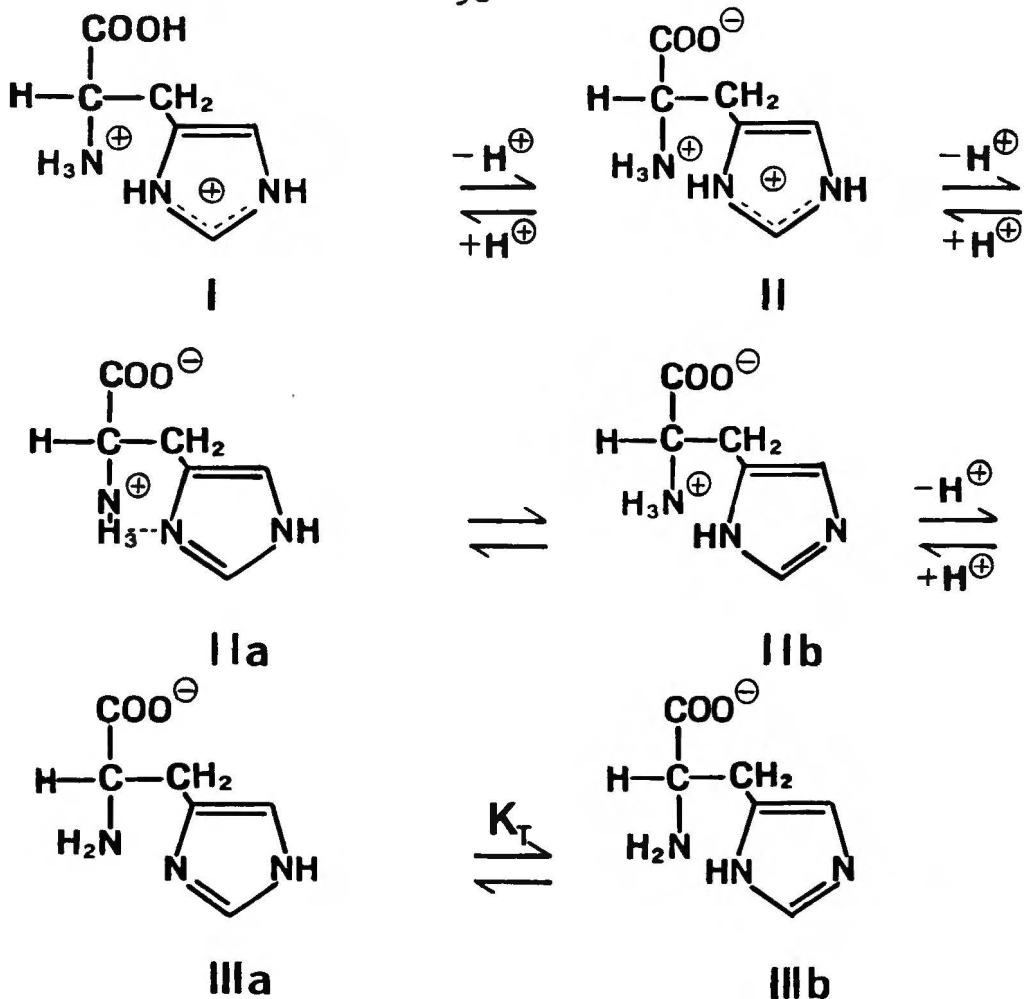


Na podstawie widm ¹H i ¹³C NMR wykluczono obecność struktur A, B i C w mieszaninie tautomerycznej i stwierdzono, że jedyny występujący izomer D jest mieszaniną izomerów geometrycznych E i Z. Izomery te znajdują się w równowadze dynamicznej katalizowanej przez protony.

W większości badanych przypadków w chloroformie przeważa izomer Z natomiast w DMSO położenie tej równowagi mocno zależy od podstawników.

Niezwykle ciekawy problem poruszają prace M.Munowitza⁶⁷ i J.D.Roberts⁶⁸. Omawiają one równowagi kwasowo-zasadowe i tautomeryczne imidazolu i jego pochodnych, głównie histydyny. Pierwsza z tych prac bazuje na pomiarach ¹⁵N NMR ciała stałego badając próbki otrzymane w wyniku liofilizowania roztworów o odpowiednich pH, druga natomiast zajmuje się roztworami o określonych wartościach pH.

W zależności od kwasowości badanej próbki histydyny mamy następujący ciąg równowag:



Schemat ten znajduje pełne potwierdzenie w wynikach otrzymanych obydwoma metodami, które w tym wypadku wykazują bardzo dobrą zgodność.

J.D.Roberts⁶⁸ badał również równowagi innych pochodnych imidazolu podstawionych w pozycji 4.

Dla wszystkich przebadanych związków oznaczono wartości stałych równowag poszczególnych etapów jonizacji jak również wartość stałej równowagi tautomerycznej anionu III.

Bardzo istotną wartością obu tych prac jest pokazanie komplementarności metod ¹⁵N NMR roztworu i ciała stałego w tego typu badaniach o dużym znaczeniu w biochemii i pokrewnych naukach.

IV. WPŁYW ROZPUSZCZALNIKA NA POŁOŻENIE RÓWNOVAGI TAUTOMERYCZNEJ.

Systematyczne badania dotyczące wpływu rozpuszczalnika na położenie równowagi tautomerycznej pochodnych azoli i benzoazoli są w literaturze chemicznej niestety rzadkością.

Można zaryzykować nawet twierdzenie, że benzoazole i ich pochodne nie były w wyczerpujący sposób badane pod tym kątem.

Jedynie istniejące na ten temat prace zajmują się badaniem położenia równowagi najwyżej w dwóch bardzo różniących się rozpuszczalnikach, bez próby skorelowania stałej równowagi z właściwościami rozpuszczalnika.

Trochę lepiej przedstawia się sytuacja w przypadku związków monocyklicznych, mamy tutaj kilka prac omawiających dość szeroko te zależności.

Mimo tego, problem zależności położenia równowagi tautomerycznej od właściwości rozpuszczalnika jest daleki od zadawalającego rozwiązania.

IV.1. Benzoazole i ich pochodne.

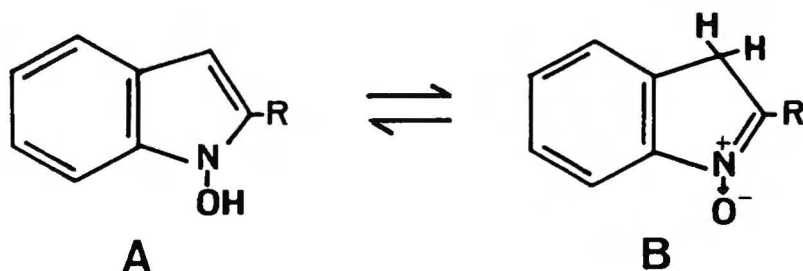
Badanie równowag tautomerycznych niepodstawionych benzoazoli, to znaczy benzimidazolu, indazolu i benzotriazolu, jest stosunkowo prostym zadaniem.

Wiąże się to z bardzo silnym przesunięciem położenia równowagi w stronę izomeru 1-H w indazolu i benzotriazolu oraz z występowaniem symetrycznych izomerów tautomerycznych w przypadku benzimidazolu.

Stosunkowo duża ilość danych doświadczalnych zgromadzonych w monografiach^{52,53,54} sugeruje względną niezależność stałej równowagi tautomerycznej od użytego rozpuszczalnika.

Poniżej będą omówione ciekawsze przypadki dotychczas zbadanych podstawionych benzoazoli, wykazujących znaczną zależność stałej równowagi tautomerycznej od rodzaju rozpuszczalnika.

Z tlenowych pochodnych benzoazoli wykazujących tautomerię typu $N-OH \rightleftharpoons N=O$ najlepiej zbadana jest równowaga pochodnych indolu^{34,35}:



Dla $R=CH_3$ cytowani autorzy stwierdzają w roztworze acetonitrylu 100% formy hydroksylowej (A), której zawartość w mieszaninie tautomerycznej maleje w miarę zmiany rozpuszczalnika: CH_3NO_2 - 80%, CCl_4 - 67%, $CDCl_3$ - 63% i C_6H_5OH - 0%.

Związek podstawiony w pozycji 2 podstawnikiem fenylowym

badano w CDCl_3 i stwierdzono 40% formy N-tlenkowej, natomiast w DMSO i pirydynie jest 100% formy N-hydroksylowej.

Na podstawie tych danych autorzy wyciągają wniosek, że w rozpuszczalnikach donorowych przeważa forma N-tlenkowa, natomiast w akceptorowych pojawiają się znaczne domieszki formy N-OH.

Zależność położenia równowagi tautomerycznej 1-hydroksybenzimidazolu od rozpuszczalnika badano tylko w układzie dwuskładnikowym woda-etanol^{25,69}.

Na podstawie analizy widm UV stwierdzono, że w wodzie związek ten występuje w postaci N-tlenkowej, podczas gdy w etanolu w postaci N-hydroksylowej.

Wyniki te uściślili S.O.Chua i współpracownicy⁶⁹ na drodze pomiarów pK_a . Wyznaczona tą drogą wartość $K_T = 12$ świadczy o zdecydowanej przewadze izomeru N-O w roztworze wodnym. W mieszaninie etanol-woda zawartość formy N-O oszacowano na 75%, natomiast w 95% etanolu forma ta stanowi tylko 35% składu mieszaniny tautomerycznej.

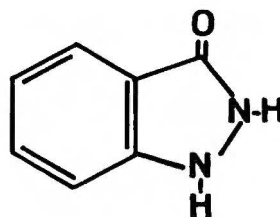
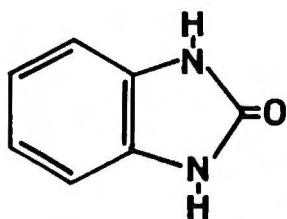
W innych rozpuszczalnikach takich jak cykloheksan, acetonitryl, dioksan i chloroform zdecydowanie przeważa forma mniej polarna, to znaczy N-hydroksylowa.

Nieomal identyczna sytuacja jest w przypadku 1-hydroksybenzotriazolu, który w etanolu^{11,24} występuje w postaci hydroksylowej, natomiast w wodzie zdecydowanie przeważa forma N-tlenkowa.

Podane przykłady, jakkolwiek wyrywkowe, pozwalają wyciągnąć ogólny wniosek, że w przypadku tautomerii typu $\text{N-OH} \rightleftharpoons \text{N-O}$ rozpuszczalniki o charakterze donorowym preferują formę N-tlenkową, prawdopodobnie na skutek stabilizacji poprzez wiązania wodorowe z rozpuszczalnikiem.

Rozpuszczalniki o słabszych właściwościach donorowych stabilizują mniej polarną formę N-hydroksylową.

Podobnie przedstawia się sytuacja w grupie pochodnych benzimidazoli zawierających ugrupowanie karbonylowe zaangażowane w wymianę tautomeryczną:



Odnosnie pierwszego z nich, benzimidazolonu, są w literaturze⁷⁰ wzmianki mówiące o możliwości występowania pochodnej 2-hydroksylowej.

Wniosek ten wynika z przebiegu reakcji chlorowania za pomocą POCl_3 .

Jednak dotychczasowe badania fizykochemiczne (pomiary momentów dipolowych¹⁵) w zasadzie nie potwierdzają znacniejszego udziału formy 2-hydroksylowej w mieszaninie tautomerycznej. Wniosek ten dotyczy oczywiście tylko tych rozpuszczalników, w których były robione oznaczenia momentów dipolowych, to znaczy benzenu i dioksanu.

Nieco lepiej zbadano zależność stałej K_T 1-podstawionych indazoloniów w różnych rozpuszczalnikach¹⁹.

Jednak ogólnie wiadomo, że zastosowana w tej pracy technika, mianowicie spektroskopia IR, nie daje wiarygodnych wyników, szczególnie w przypadkach gdy izomery tautomeryczne znajdują się w porównywalnych ilościach.

Jedynym wiarygodnym wnioskiem wynikającym z tej pracy jest stwierdzenie przewagi formy C-OH w ciele stałym oraz przewaga

formy C=O w roztworze izopropanolu. Natomiast dokładne dane liczbowe podawane przez autorów nie wydają się wiarygodne.

Na podstawie tego przeglądu dotychczasowych rezultatów osiągniętych w dziedzinie badania zależności położenia równowagi tautomerycznej od użytego rozpuszczalnika i jego właściwości należy stwierdzić, że brak jest wyczerpujących i zadowalających danych mających ogólniejsze znaczenie.

Brak jest również prób uogólnienia otrzymanych wyników w postaci zależności stałej K_T od parametrów fizykochemicznych rozpuszczalnika.

IV.2. Azole i ich niektóre tlenowe pochodne.

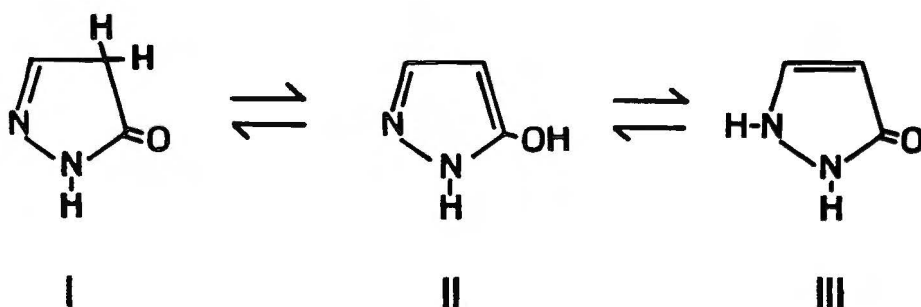
Zależność położenia równowagi tautomerycznej azoli i ich pochodnych od rozpuszczalnika jest zbadana znacznie lepiej niż w przypadku analogicznych związków dwupierscieniowych.

Cytowana już uprzednio praca D.S.Wofforda⁶⁰ omawia fragmentarycznie, bo tylko w dwóch rozpuszczalnikach, tautomerię prostych azoli. Dane te uzupełniają prace E.Bojarskiej-Olejek i L.Stefaniaka^{71,72}.

Najbardziej interesujący z tych związków, a mianowicie 1,2,3-triazol wykazuje bardzo duże zmiany składu mieszaniny tautomerycznej przy zmianie środowiska.

W chloroformie mamy 34_±5% izomeru 2-H, w DMSO 55_±5% tego izomeru natomiast w czystej cieczy (bez rozpuszczalnika) jest 86_±5% formy 2-H. Jest to specyficznym zjawiskiem wśród prostych azoli, które na ogół nie wykazują istotnych zmian położenia równowagi przy zmianie rozpuszczalnika.

Znacznie bardziej skomplikowane równowagi tautomeryczne występują wśród tlenowych pochodnych pirazolu. Ponieważ w wymianie biorą udział dwa protony i są możliwe cztery pozycje, które mogą one zająć, istnieje szereg możliwych struktur tautomerycznych. W przypadku 2-niepodstawionego pirazolonu-5 mamy trzy, wykrywalne praktycznie izomery tautomeryczne^{73,74}:



Analiza danych w omawianych pracach^{73,74} pozwala stwierdzić że:

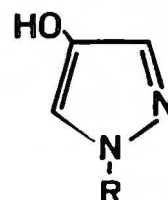
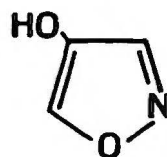
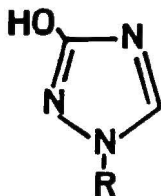
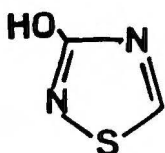
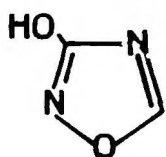
- w rozpuszczalnikach o umiarkowanych właściwościach akceptorowych takich jak pirydyna i acetonitryl na ogół występuje czysty izomer (II),
- w chloroformie i CCl_4 występuje prawie zawsze czysta forma (I),
- w obojętnym C_6H_{12} jest równowaga $\text{I} \rightleftharpoons \text{II}$ z przewagą (I),
- w środowisku silnych akceptorów takich jak etanol i woda występuje równowaga $\text{II} \rightleftharpoons \text{III}$ o zmiennym składzie izomerów. Zablokowanie pozycji 2 grupą metylową^{73,74} lub arylową⁷⁶ powoduje uproszczenie omawianego układu tautomerycznego.

W roztworach o umiarkowanych właściwościach akceptorowych przeważa wtedy zdecydowanie mniej polarna forma hydroksylowa, natomiast w silnych akceptorach pojawiają się znaczne ilości bardziej polarnej formy N-H. Zawartość tego izomeru zależy od podstawników w związku i zmienia się od 10 do 30% w etanolu i od 69 do 100% w wodzie.

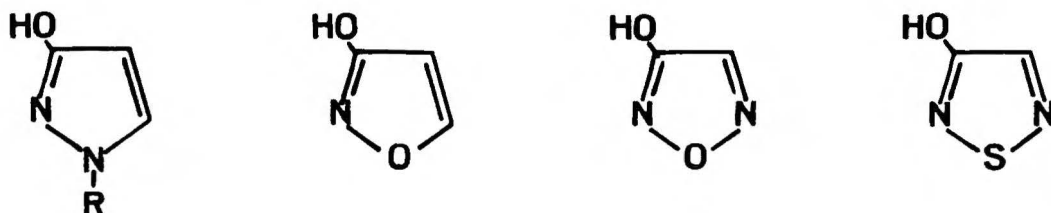
J.Elguero i współpracownicy^{73,74} badali również szereg innych związków z omawianej klasy oraz ich tlenowych i siarkowych analogów

Równowagi tautomeryczne w tych związkach są na ogół bardzo mocno przesunięte w stronę głównego izomeru tautomerycznego.

Mianowicie, związki:

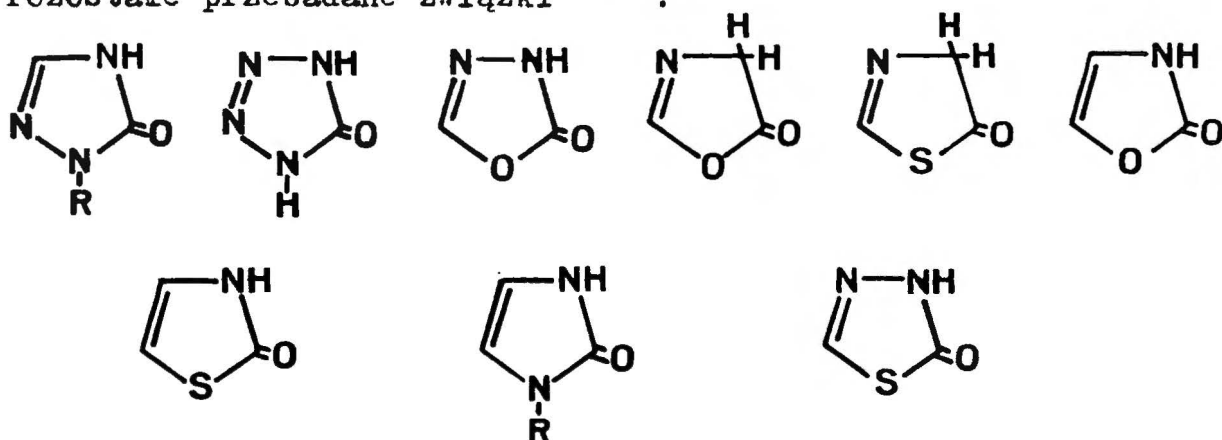


występują w postaci -OH we wszystkich badanych środowiskach, natomiast w związkach:



obserwuje się ponadto pewną domieszkę formy ketonowej.

Pozostałe przebadane związki^{73,74}:

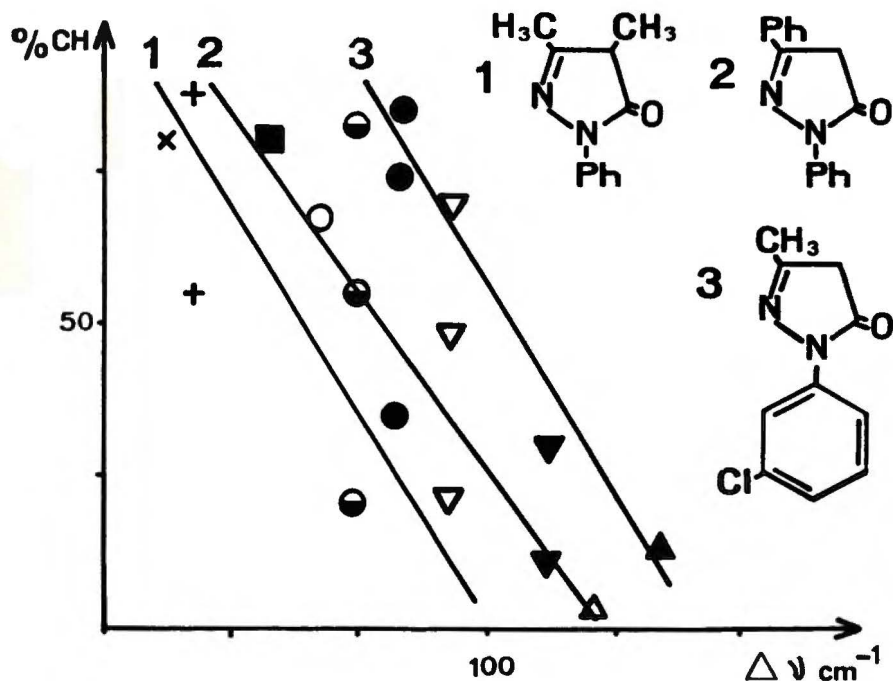


występują w czystej postaci ketonowej.

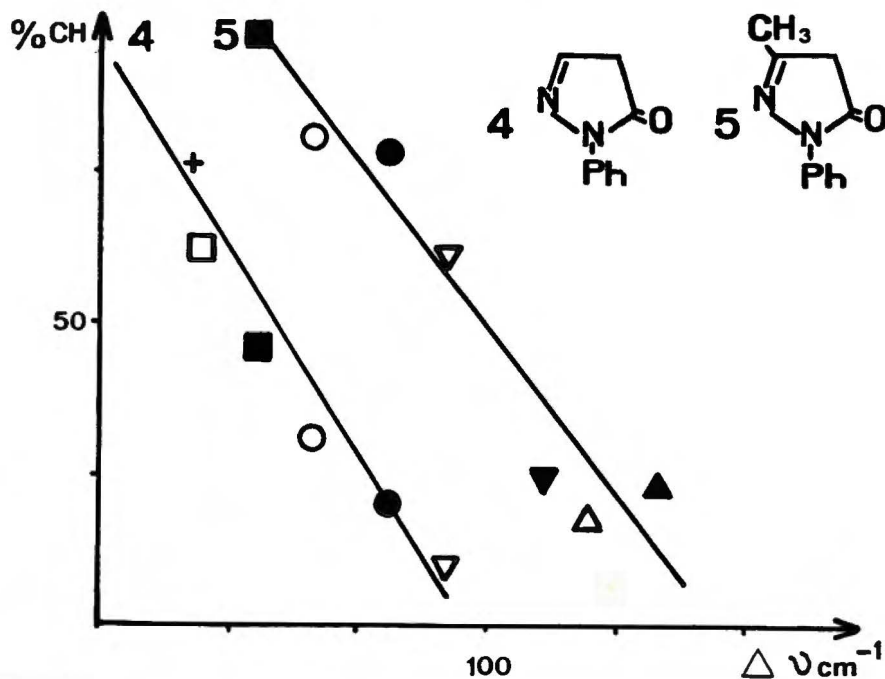
Jedyną jak się wydaje próbę skorelowania położenia równowagi tautomerycznej z właściwościami rozpuszczalników podjęli A.Maquestian i współpracownicy⁷⁵.

Parametrem, za pomocą którego charakteryzują oni właściwości rozpuszczalników jest przesunięcie pasma IR $\equiv\text{C-H}$ acetyleny ($\Delta\nu_{\equiv\text{C-H}}$ (cm^{-1})) w danym rozpuszczalniku w stosunku do heksanu jako rozpuszczalnika wzorcowego.

Zależność zawartości izomeru C-H w mieszaninie tautomerycznej badanych związków od tego parametru przedstawiają wykresy na rysunkach IV.1. i IV.2.



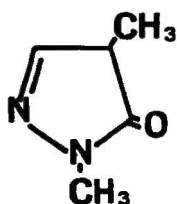
Rys.IV.1. Zawartość izomeru -CH w mieszaninach tautome-
rycznych związków 1,2,3 w zależności od $\Delta\nu$ rozpuszczalnika.



Rys.IV.2. Zawartość izomeru -CH w mieszaninach tautome-
rycznych związków 4,5 w zależności od $\Delta\nu$ rozpuszczalnika.

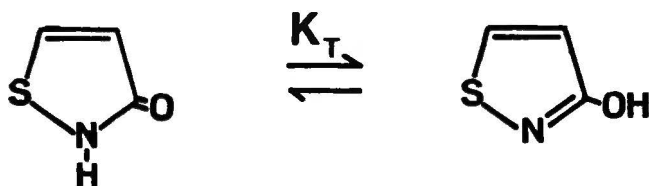
- | | | | | | | | |
|---|--------------------|---|---------------------------------|---|---|---|---------|
| x | benzen | + | CH ₃ NO ₂ | □ | C ₆ H ₅ NO ₂ | ● | dioksan |
| ■ | CH ₃ CN | ○ | TMSO | ◐ | aceton | ● | |
| ▼ | DMF | △ | pirydyna | ▲ | DMSO | ▽ | THF |

W bardziej skomplikowanych równowagach typu $-C-H \rightleftharpoons O-H \rightleftharpoons N-H$, przebadanych w omawianej pracy dla związków:



charakterystycznym jest wzrost zawartości izomeru N-H kosztem form O-H i C-H w miarę zwiększania kwasowości rozpuszczalnika.

Interesująco przedstawiają się również rezultaty wyznaczania położenia równowagi tautomerycznej następującego związku:

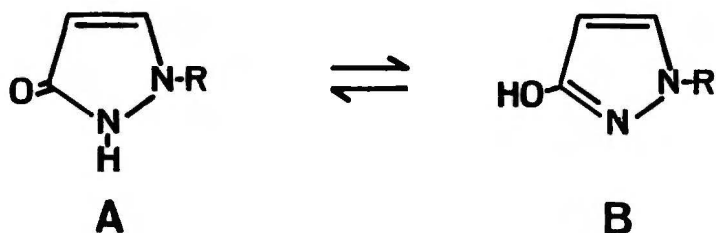


W układzie etanol-woda³³ stała $K_T = [O-H] / [N-H]$ zmienia się tu w przedziale $4 \pm 0,3$ przy przechodzeniu od czystego etanolu do roztworu wodnego.

Mamy tu więc drastyczną zmianę składu mieszaniny tautomerycznej przy zmianie rozpuszczalnika, od przewagi formy laktamowej w jednym do przewagi izomeru laktimowego w drugim roztworze.

Podobną prawidłowość obserwował H.Dorn⁷⁷ dla szeregu podstawionych azoli.

Z rezultatów ilościowych otrzymanych w cytowanej pracy⁷⁷ interesująco przedstawiają się wnioski z oznaczeń równowagi tautomerycznej:



w układzie woda-metanol.

Obserwujemy tu taką samą prawidłowość jak w cytowanej poprzednio pracy³³, to znaczy większa zawartość wody powoduje większą zawartość bardziej polarnej, dobrze stabilizowanej przez wiązania wodorowe formy laktamowej (A).

Szczególnie jest to widoczne w przypadku związku niepodstawionego (R=H).

Wszystkie przedstawione w tym przeglądzie przykłady wskazują, że równowaga tautomeryczna badanych związków jest bardzo czuła na zmiany środowiska.

Jeżeli poszczególne izomery tautomeryczne różnią się polarnością, wówczas za pomocą zmiany rozpuszczalnika można w wielu przypadkach dość dowolnie sterować położeniem równowagi tautomerycznej.

Prace nad tego typu problemami, jakkolwiek mocno zaawansowane, dalekie są od pełnego sukcesu.

Przyczyną tego jest w dużej mierze niedoskonałość stosowanych obecnie systemów opisywania właściwości rozpuszczalników. Mimo istnienia szeregu empirycznych i półempirycznych parametrów rozpuszczalników brak jest takiego, który byłby zadowalający w tego typu badaniach.

V. PRZEDMIOT I METODYKA BADAŃ.

Podstawowym celem tej pracy było stwierdzenie przydatności ^{15}N NMR do badania ilościowego mieszanin tautomerycznych. Metodę testowano na przykładzie szeregu benzoazoli i ich tlenowych pochodnych. Przebadane układy tautomeryczne oraz ich odpowiednie pochodne metylowe, stosowane jako związki modelowe, zamieszczone są w Tabeli V.1 wraz z odnośnikami literaturowymi, według których związki te były otrzymane.

Tabela V.1.

Badane układy tautomeryczne i związki modelowe.

No.	Nazwa związku	Literatura
11	1-metoksybenzotriazol	11
12	1-hydroksybenzotriazol	78
13	1-tlenek 3-metylobenzotriazolu	11
14	1-metoksy-4-nitrobenzotriazol	11
15	1-hydroksy-4-nitrobenzotriazol	79
16	1-tlenek 3-metylo-4-nitrobenzotriazolu	11
17	1-metoksy-6-nitrobenzotriazol	11
18	1-hydroksy-6-nitrobenzotriazol	79
19	1-tlenek 3-metylo-6-nitrobenzotriazolu	11
21	1-metoksybenzimidazol	25
22	1-hydroksybenzimidazol	80

23	1-tlenek 3-metylobenzimidazolu	25
24	2-fenylo-1-metoksybenzimidazol	81
25	2-fenylo-1-hydroksybenzimidazol	82
26	1-tlenek 2-fenylo-3-metylobenzimidazolu	83
31	benzotriazol	produkt handlowy
32	1-metylobenzotriazol	84
33	2-metylobenzotriazol	84
34	indazol (benzopirazol)	85
35	1-metyloindazol	86
36	2-metyloindazol	87
37	benzimidazol	88
38	1-metylobenzimidazol	89
41	3-metoksy-1-metyloindazol	90
42	3-metoksyindazol	91
43	3-hydroksyindazol (indazon)	92
44	3-hydroksy-1-metyloindazol	91
45	2-metyloindazon	91
46	1,2-dimetyloindazon	90
61	1,3-dimetylobenzimidazon-2	15

62	benzimidazol-2	93
63	1-metylobenzimidazol-2	94
64	2-metoksy-1-metylobenzimidazol	94
65	2-metoksybenzimidazol	95

Czystość otrzymanych związków sprawdzano za pomocą klasycznych metod takich jak pomiar temperatury topnienia i analiza elementarna, oraz metodami spektralnymi jak IR i ^1H NMR.

Widma IR wykonano na aparatach Acculab-1 i IR-4240 firmy Beckman, widma ^1H NMR na aparatach Varian EM-360 pracującym z częstotliwością 60 MHz oraz Jeol JNM-4H-100, 100 MHz, w niektórych przypadkach, w celu pełnej analizy widm wykonano pomiary na aparacie Bruker WH-300 o częstotliwości rezonansowej 300 MHz.

Technikami analitycznymi, za pomocą których uzyskano dane do wyznaczenia położenia równowag tautomerycznych były jądrowy rezonans magnetyczny ^{15}N oraz ^{13}C .

W celu otrzymania wartości stałych ekranowania azotu oraz przesunięć chemicznych węgla wykonano widma badanych związków na naturalnej zawartości izotopów ^{15}N i ^{13}C .

Wyjątkiem są tylko związki 11, 12 i 13, gdzie stosowano również selektywne wzbogacanie izotopem ^{15}N w pozycji 3. Związki wzbogacone otrzymano według tej samej metody co związki nieznaczone, używając jako substratu aniliny- ^{15}N .

Widma ^{15}N NMR wykonano głównie na aparatach WH-18C i WH-400 w standardowych warunkach:

- częstotliwość rezonansowa 18,24 MHz (WH-180) i 40,55 MHz (WH-400),
- szerokopasmowe odsprzęgnięcie protonów,
- standaryzacja stałych ekranowania w stosunku do zewnętrznego nitrometanu (ppm), przy czym przesunięciu sygnału w kierunku silniejszego pola odpowiada dodatnia wartość stałej ekranowania,
- zakres spektralny -50 do +350 ppm,
- długość pulsu 15 μ s,
- czas akwizycji danych 1,5 s,
- przerwa relaksacyjna około 3 s,
- liczba zsumowanych widm od 4000 do 500000 w zależności od właściwości próbki,
- temperatura pomiaru pokojowa, to znaczy około 30°C.

Widma ^{13}C NMR wykonano głównie na aparacie Bruker WH-90 o częstotliwości rezonansowej 22,63 MHz jako widma odsprzęgnięte szerokopasmowo. Standardem przesunięcia chemicznego węgla był wewnętrzny TMS. Pozostałe warunki pomiarów standardowe, temperatura pokojowa około 30°C.

Do oznaczeń używano roztworów o stężeniu 0,5 mol/l z wyjątkiem tych związków, kiedy na skutek słabej rozpuszczalności użyto roztworów nasyconych (związki 25, 43, 62).

Do większości próbek badanych metodą ^{15}N NMR dodano $\text{Cr}(\text{acac})_3$ w ilości 0,01 mola odczynnika na jeden atom azotu w cząsteczce, w celu skrócenia czasów relaksacji jądrowej. Pozwala to skrócić czas pomiarów nie powodując wyraźnego zafałszowania wartości stałych ekranowania.

W prawie wszystkich przypadkach pomiarów ^{15}N NMR związków będących w równowadze tautomerycznej otrzymano widma uśrednione o na ogół ostrych sygnałach, co świadczy o dużej szybkości

wymiany tautomerycznej w skali czasu NMR. W niektórych przypadkach występowały dość znaczne poszerzenia sygnałów, świadczące o znacznym spowolnieniu badanych procesów. W tych przypadkach można było dość dokładnie oszacować szybkość wymiany protonu.

W dwóch przypadkach, raz widmo ^{13}C NMR, a drugi raz ^{15}N NMR związku w równowadze tautomerycznej wystąpiło rozdzielenie sygnałów w temperaturze pokojowej, dzięki czemu można było wyznaczyć szybkość procesu tautomerii z dużą dokładnością.

Dla ułatwienia interpretacji widm azotowych wykonano również serię obliczeń stałych ekranowania atomów azotu półempiryczną metodą INDO-S/SOS. Obliczone tą drogą stałe ekranowania są bardzo pomocne w interpretacji widm, w tym sensie, że sekwencja stałych ekranowania obliczonych i znalezionych eksperymentalnie zawsze była identyczna.

Postępowanie takie jest zwłaszcza użyteczne w przypadkach gdy w cząsteczce znajduje się kilka tego samego typu atomów azotu.

Zawartości izomerów tautomerycznych obliczano na podstawie widm związków będących w równowadze tautomerycznej, które są widmami uśrednionymi dynamicznie. To znaczy, że parametry spektralne (stałe sprzężenia, przesunięcia chemiczne lub stałe ekranowania) są średnimi, ważonymi przez populacje, odpowiednich parametrów spektralnych w widmach poszczególnych tautomerów.

Ponieważ, jak to zostało stwierdzone w części literaturowej, izomery tautomeryczne nie mogą występować w postaci czystej to nie można zmierzyć ich parametrów spektralnych. Zachodzi zatem konieczność zastosowania związków modelowych, które aproksymują te wielkości.

Błąd jaki popełniamy przy takim podejściu jest na ogół niewielki i mieści się w zakresie kilku ppm.

Efekty podstawienia można przedstawić za pomocą efektu α oraz efektów wyższego rzędu β i γ . Istotne znaczenie mają efekty α i β podczas gdy efekt γ i wyższe są bliskie zeru i można je zaniedbać.

Wielkość efektu α w kilku rozpuszczalnikach oszacowano na podstawie widm pirolu, imidazolu i indolu. Z zestawienia danych literaturowych^{53,60,96} wynika, że wielkość efektu α jest zależna od struktury badanej cząsteczki oraz od użytego rozpuszczalnika. Wielkość tego efektu rzadko przekracza ± 1 ppm i praktycznie jedynie w roztworach DMSO wyraźnie wykracza poza granice błędu eksperymentalnego w metodzie ^{15}N NMR. Na przykład, stwierdzono, że w przypadku pirolu^{60,96} podstawienie azotu grupą metylową powoduje zmianę stałej ekranowania tego atomu w roztworze DMSO o $+5,5$ ppm. Jest to największa dotychczas zaobserwowana wartość efektu α .

Brak wyraźnej prawidłowości w wartościach efektu α nie pozwala stosować jakiegoś uniwersalnego systemu poprawek i najlogiczniejszym wydaje się być pominięcie tego efektu w obliczeniach, godząc się z wprowadzaniem w ten sposób błędem. W większości równowag tautomerycznych omawianych w niniejszej pracy mamy do czynienia z izomerami tautomerycznymi różniącymi się hybrydyzacją atomów azotu. W takim przypadku różnice stałych ekranowania odpowiednich atomów azotu osiągają nawet 150 ppm. W porównaniu z tą wielkością błąd bezwzględny związany z efektem α jest niewielki.

Nieco inaczej przedstawia się sytuacja w przypadku efektu β . Jest on zwykle nieco większy od efektu α , a przede wszystkim jest bardzo zmienny i trudny do oszacowania.

Na podstawie danych literaturowych ^{60,100} stwierdzono, że sięga on 4 ppm i podobnie jak efekt α silnie zależy od rozpuszczalnika.

W przypadku wystąpienia w cząsteczce atomów azotu w sąsiednich położeniach mamy do czynienia z nakładaniem się efektów α i β .

Na przykład, łączny efekt $\alpha + \beta$ zawiera się w granicach od -5,1 ppm w roztworze TFE do -6,9 ppm w roztworze MeCOOH⁵⁴.

Pominięcie takiego łącznego efektu w obliczeniach położenia stanu równowagi powoduje błąd rzędu $\pm 5\%$.

Do obliczania składu mieszanin tautomerycznych w przypadku równowag o dwóch obecnych w układzie izomerach stosuje się omówione wcześniej ogólne równanie III.6. Parametrami spektralnymi jakich użyto są przesunięcia chemiczne atomów węgla w przypadku pomiarów ¹³C NMR oraz stałe ekranowania atomów azotu w pomiarach ¹⁵N NMR. Poprawki uwzględniające efekty metylowania pominięto godząc się z popełnianym w takim wypadku błędem osiagającym maksymalnie $\pm 5\%$.

Jak już wspomniano w przeglądzie literatury, dotychczasowe badania sugerują, iż zasadniczym czynnikiem powodującym stabilizację lub destabilizację izomerów tautomerycznych jest zdolność środowiska do tworzenia wiązań wodorowych.

W przypadku różnej polarności występujących w układzie izomerów tautomerycznych, a różnica taka występuje prawie zawsze gdy w wymianę zaangażowane są grupy funkcyjne zawierające tlen, możliwość tworzenia wiązań wodorowych lub jej brak wyraźnie faworyzuje pewne struktury. Mianowicie, generalnie przyjmuje się zasadę, że izomery bardziej polarne są preferowane w rozpuszczalnikach mogących tworzyć wiązania wodorowe. I odwrotnie, mniej polarne formy przeważają w roztworach

o mniejszej zdolności do tworzenia tych wiązań.

Zdolność rozpuszczalnika do tworzenia wiązań wodorowych związana jest z tym co intuicyjnie określana jest jako jego kwasowość, która może być charakteryzowana przez stałą pK_a .

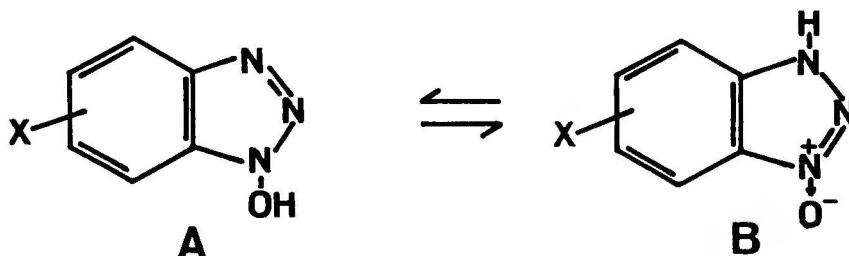
Bardziej ogólnie zdolność rozpuszczalnika do stabilizacji pewnych form za pomocą oddziaływań donorowo-akceptorowych, których szczególnym przypadkiem są właśnie wiązania wodorowe, charakteryzowana jest przez liczbę akceptorową AN zdefiniowaną przez V.Gutmanna⁹⁷.

Tak więc, w celu ilościowego scharakteryzowania właściwości fizykochemicznych używanych rozpuszczalników i ich mieszanin w niniejszej pracy zastosowano głównie liczbę akceptorową AN, a w niektórych przypadkach także stałą pK_a .

VI. WYNIKI I DYSKUSJA

VI.1. Badanie równowag tautomerycznych 1-hydroksybenzotriazolu i jego nitrowych pochodnych metodą ^{15}N NMR.

W przypadku 1-hydroksybenzotriazolu i jego pochodnych mamy do czynienia z tautomerią typu $\text{N-OH} \rightleftharpoons \text{N=O}$ na atomie N-1, a ponadto, $-\text{N}=\rightleftharpoons \underset{|}{-\text{NH}}$ na atomie N-3.



$\text{X} = 6\text{-NO}_2, 4\text{-NO}_2$

Dotychczas równowaga ta badana była fragmentarycznie za pomocą pomiarów pK_a ¹¹ oraz ^{13}C NMR⁴⁴. Na drodze pomiarów pK_a stwierdzono, że w wodzie przeważającą strukturą jest izomer N-tlenkowy, natomiast w etanolu przeważa forma N-hydroksylowa.

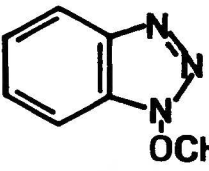
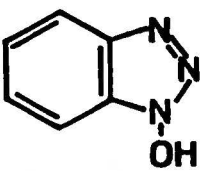
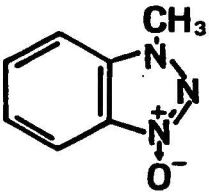
Podobnie jak w etanolu, w DMSO przeważającym izomerem jest struktura N-hydroksylowa⁴⁴.

W tej pracy równowagę tę badano metodą ^{15}N NMR w kilku bardzo różniących się właściwościami rozpuszczalnikach.

Wartości stałych ekranowania atomów azotu, oznaczone za pomocą ^{15}N NMR i rezultaty obliczeń odpowiednich absolutnych stałych ekranowania metodą INDO-S/SOS podaje Tabela VI.1.

Tabela VI.1.

Zmierzone i obliczone stałe ekranowania związków 11-13 (ppm).

Związek	Atom	Rozpuszczalnik					Obliczenia INDO-S/SOS ^a
		DMSO	Aceton	HCONH ₂	CH ₃ OH	TFE	
	N-3	50,9	52,9	53,3	63,2	65,7	- 9,0
	N-2	14,7	16,8		20,2	18,7	-23,9
	N-1	112,3	116,1		116,7	110,6	59,7
	N-3	60,3	70,5	81,0	100,9	192,0	-10,8
	N-2	14,4	18,3		27,1	61,1	-25,7
	N-1	123,7	127,0		120,3	111,7	58,3
	N-3	208,0	215,5	204,4	205,7	195,5	52,6
	N-2	44,7	48,0		47,5	40,2	-27,9
	N-1	74,8	76,9		88,6	87,6	-16,7

a- Absolutne stałe ekranowania (ppm) obliczone dla struktur przeważających w roztworze DMSO.

b- Struktura przeważająca w roztworze DMSO.

Dla celów dalszej dyskusji celowe jest tu wprowadzenie uprzednio zaproponowanej nomenklatury heterocyklicznych atomów azotu jak atomów typu pirydynowego lub pirolowego⁵²:



atom pirydynowy



atom pirolowy

R=H, alkil

Przypisanie sygnałów odpowiednim atomom azotu w cząsteczce w związkach modelowych przeprowadzono na podstawie kilku eksperymentów pomocniczych i ogólnie obowiązujących prawidłowości^{52,53}.

Widmo związku 11 można zinterpretować na podstawie następujących obserwacji:

1. Ogólną prawidłowością w związkach heteroaromatycznych zawierających kilka atomów azotu bezpośrednio związanych jest występowanie przy najsłabszym polu sygnału centralnego atomu. W przypadku 1-metoksybenzotriazolu jest to atom N-2.
2. Inną ogólną zasadą jest występowanie sygnałów atomów azotu typu pirolowego przy silniejszym polu niż sygnały atomów azotu pirydynowego. W omawianym związku 11 atomem pirolowym jest N-1 i jemu należy przypisać sygnał położony przy najsilniejszym polu.
3. Obliczenia INDO-S/SOS dla związku 11 podają sekwencję stałych ekranowania $N-1 > N-3 > N-2$, co całkowicie potwierdza powyższe przypisanie sygnałów.

Znacznie trudniejszym problemem była interpretacja widm N-tlenku 13. Trudno tu zastosować reguły 1-3 przedstawione powyżej gdyż dokładna charakterystyka stałych ekranowania N-tlenkowego atomu azotu nie jest dotychczas opracowana. Tego typu atomy azotu w 5-członowych związkach heterocyklicznych badane były tylko w benzofuroksanach⁵⁶ a więc w układach zdecydowanie różnych od omawianego związku 13.

W celu rozstrzygnięcia tego problemu wykonano widmo ^{14}N NMR związku 13 w roztworze DMSO. W widmach ^{14}N NMR N-tlenkowe atomy azotu dają sygnały o względnie małej szerokości połówkowej⁵². W widmie ^{14}N NMR związku 13 najmniejszą szerokość połówkową posiada sygnał o $\delta = 80,4$ ppm i stąd wniosek,

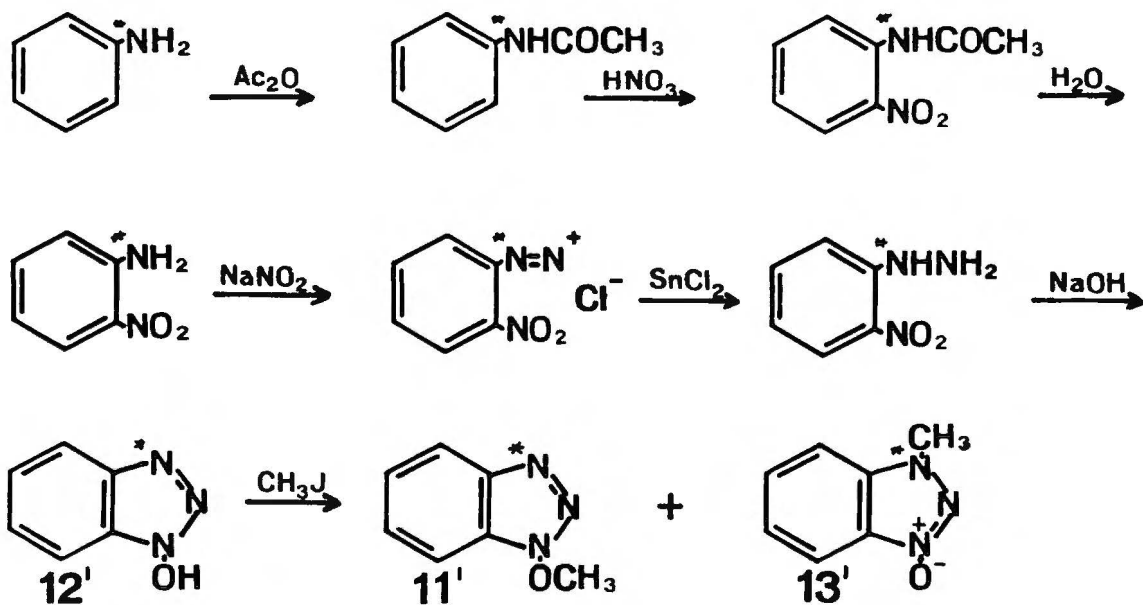
że jest to sygnał atomu N-tlenkowego. Konsekwencją tego jest przypisanie sygnału położonego przy najsilniejszym polu,

$\delta = 208$ ppm w DMSO atomowi N-3, a położonego przy najsłabszym polu atomowi N-2, zgodnie z ogólnymi prawidłowościami podanymi przy interpretacji widma związku 11.

W celu potwierdzenia tego przypisania otrzymano związek 13 wzbogacony izotopem ^{15}N selektywnie w pozycji N-3.

Substratem do syntezy była anilina znaczone izotopem ^{15}N firmy M.S.D. o wzbogaceniu wynoszącym 99%.

Syntezę przeprowadzono według schematu:



W widmie ^{15}N NMR związku 13 w DMSO otrzymano sygnał atomu znaczonego o wartości $\delta = 208$ ppm co w sposób ostateczny przesądziło przyjętą interpretację widma. Przeprowadzone również obliczenia stałych ekranowania potwierdzają przyjętą kolejność sygnałów.

Przechodząc do problemów związanych z wyznaczaniem położenia równowagi tautomerycznej należy stwierdzić, że z teoretycznego punktu widzenia można dokonywać tych obliczeń w oparciu o stałe ekranowania dowolnych atomów azotu w cząsteczce.

Praktycznie wybiera się ten atom, który ulega największym zmianom przy przejściu od jednej do drugiej struktury izomerycznej. Amplitudę tych zmian określa się na podstawie stałych ekranowania odpowiednich atomów w związkach modelowych. W przypadku omawianej równowagi różnice stałych ekranowania wynoszą odpowiednio dla atomu N-1 37,5 ppm, atomu N-2 30 ppm, podczas gdy dla atomu N-3 jest ona równa 157,1 ppm (w DMSO).

Porównanie tych trzech wielkości wyraźnie preferuje atom N-3 w tego typu badaniach. Związane jest to z faktem, że błędy bezwzględne spowodowane metylowaniem w przypadku wszystkich atomów są tego samego rzędu, natomiast błąd względny jest najmniejszy tam gdzie przedział, do którego go odnosimy jest największy, to znaczy dla atomu N-3.

Warto tu podkreślić, że takie duże zmiany stałych ekranowania atomu N-3 spowodowane są faktem, iż przeniesienie protonu związane jest tu ze zmianą typu tego atomu z pirydynowego na pirolowy.

Innym argumentem przemawiającym za wyborem atomu N-3 jest występowanie na nim "czystego" efektu α przy przejściu do odpowiednich struktur modelowych. Wielkość tego efektu jest w miarę stała i niewielka, podczas gdy atomy N-1 i N-2 podlegają różnego rodzaju efektom wyższego rzędu, o wielkościach trudnych do oszacowania.

Występowanie tych ostatnich efektów, jak również efektów rozpuszczalnikowych w połączeniu ze stosunkowo niewielką amplitudą zmian stałych ekranowania wywołanych przeniesieniem protonu powoduje, że sygnały atomów N-1 i N-2 mieszaniny tautomerycznej czasami leżą poza przedziałem wyznaczonym przez związki modelowe.

Fakt nieprzydatności atomu N-tlenkowego (N-1) do wyznaczania

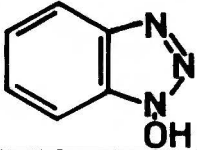
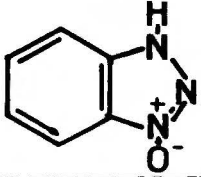
położenia równowagi tautomerycznej był już wcześniej stwierdzony przez L.Stefaniaka⁵⁷ na przykładzie związków 6-członowych (azyn) a obecne wnioski na ten temat potwierdzają ten fakt w odniesieniu do związków heteroaromatycznych 5-członowych (azoli).

Do obliczania składów mieszanin tautomerycznych zastosowano omawiane już poprzednio równanie III.6 w wersji uproszczonej przez pominięcie poprawek na efekty metylowania.

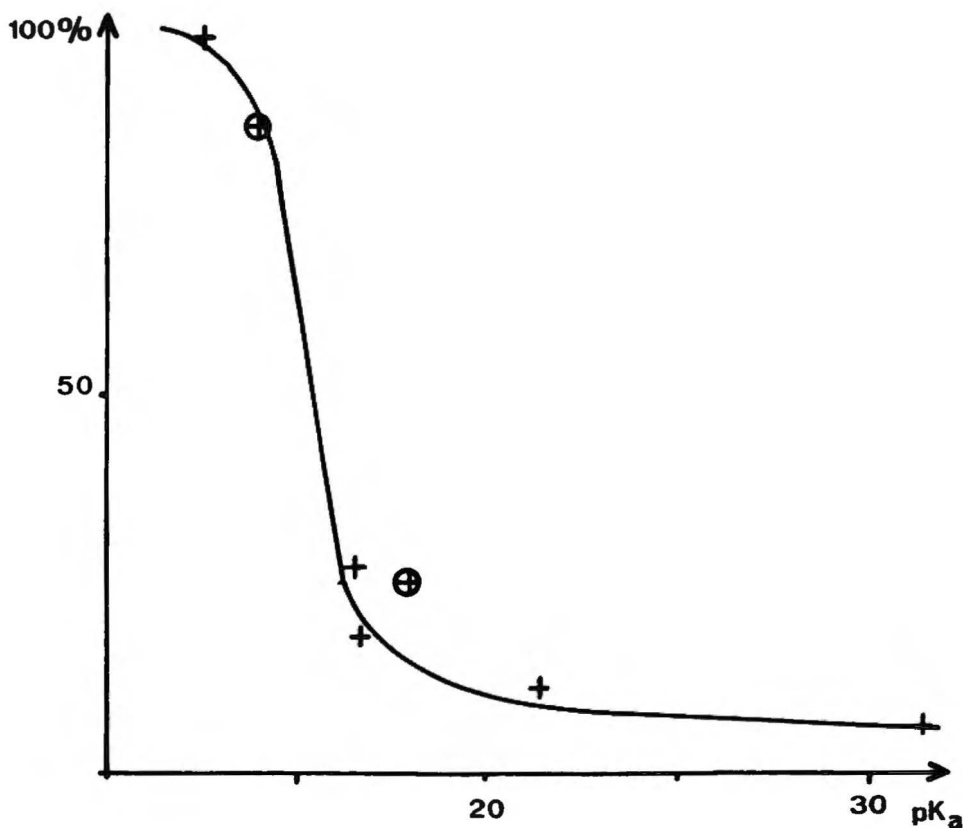
Wyznaczone zawartości obu izomerów w mieszaninach tautomerycznych 1-hydroksybenzotriazolu w zależności od rozpuszczalnika podane są w Tabeli VI.2.

Tabela VI.2.

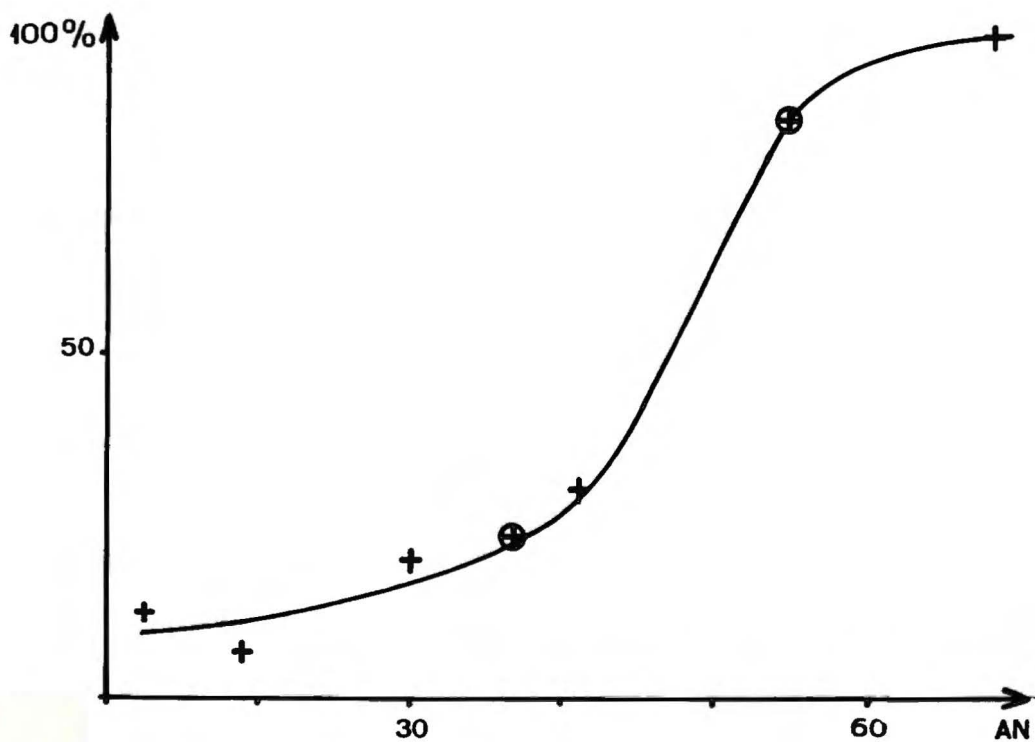
Składy mieszanin tautomerycznych 1-hydroksybenzotriazolu.

Rozpuszczalnik	pK _a	AN		
DMSO	31,3	19,3	94±3%	6±3%
Aceton	21,5	12,5	89±3%	11±3%
HCONH ₂	16,7	30,0	82±3%	18±3%
MeOH	16,6	41,3	73±3%	27±3%
CF ₃ CH ₂ OH (TFE)	12,5	68,0	3±3%	97±3%

Dane te można przedstawić za pomocą wykresów zależności zawartości izomerów w mieszaninie tautomerycznej od pK_a lub AN (liczby akceptorowej) rozpuszczalnika (Rys.VI.1 i Rys.VI.2).



Rys.VI.1. Zawartość formy N-O w 1-hydroksybenzotriazolu w zależności od pK_a rozpuszczalnika.



Rys.VI.2. Zawartość formy N-O w 1-hydroksybenzotriazolu w zależności od AN rozpuszczalnika

⊕ - Dane z pracy¹¹ wyznaczone na drodze pomiarów pK_a .

Wykresy na rysunkach VI.1 i VI.2 wyraźnie świadczą, że rozpuszczalniki o niskich wartościach pK_a , to znaczy bardziej kwaśne i posiadające silniejsze właściwości akceptorowe (wysokie AN), preferują formę N-tlenkową, bardziej polarną.

Elementem stabilizującym tę formę są prawdopodobnie wiązania wodorowe z rozpuszczalnikiem. W rozpuszczalnikach mniej kwaśnych i posiadających słabsze właściwości akceptorowe przeważa mniej polarna forma N-hydroksylowa.

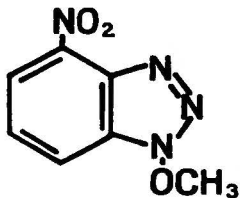
Jest to całkowicie zgodne z dotychczasowymi opiniami na ten temat cytowanymi w części literaturowej.

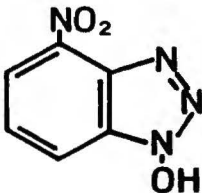

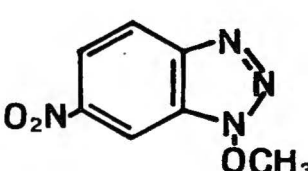
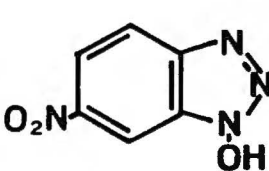
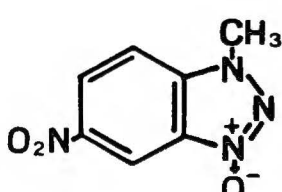
Przeprowadzono również oznaczenia położenia równowag tautomerycznych 4- i 6-nitrowych pochodnych 1-hydroksybenzotriazolu w roztworze DMSO.

Położenia sygnałów badanych układów tautomerycznych i odpowiednich związków modelowych oraz obliczenia stałych ekranowania metodą INDO-S/SOS podaje Tabela VI.3.

Tabela VI.3.

Eksperymentalne i obliczone stałe ekranowania nitrowych pochodnych 1-hydroksybenzotriazolu (ppm).

Związek	Atom	Roztwór w DMSO	Obliczenia INDO-S/SOS ^a
	N-3	53,1	- 6,2
	N-2	7,4	-17,6
	N-1	108,2	64,0
	NO ₂	13,1	-

15 ^b		N-3	78,2	- 7,1
		N-2	12,0	-19,0
		N-1	116,0	62,4
		NO ₂	14,0	-
16		N-3	208,1	71,2
		N-2	40,2	14,5
		N-1	74,8	18,7
		NO ₂	15,6	-
17		N-3	50,1	2,6
		N-2	11,8	- 9,6
		N-1	108,6	65,1
		NO ₂	1,9	-
18 ^b		N-3	58,7	0,9
		N-2	11,3	-11,1
		N-1	118,4	63,6
		NO ₂	1,4	-
19		N-3	205,2	74,5
		N-2	37,9	13,2
		N-1	71,1	14,6
		NO ₂	12,6	-

- a- Absolutne stałe ekranowania (ppm) obliczone dla struktur przeważających w roztworze DMSO.
- b- Struktura przeważająca w roztworze DMSO.

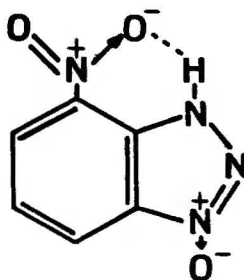
Interpretacja widm związków 15 i 18 oraz wszystkich odpowiednich struktur modelowych oparta jest na bardzo dużym podobieństwie wartości stałych ekranowania badanych związków i 1-hydroksybenzotriazolu oraz jego metylowych pochodnych. W niemal wszystkich nitrowych pochodnych 1-hydroksybenzotriazolu obserwujemy niewielki odsłaniający wpływ grupy nitrowej w pierścieniu benzenowym na atomy azotu w pierścieniu triazolowym.

Jedynym elementem wątpliwym interpretacji podanej w Tabeli VI.3 jest rozróżnienie sygnałów grupy nitrowej i atomu N-2. Takie przypisanie jak w Tabeli VI.3 zostało dokonane na podstawie danych spektralnych szeregu analogicznych związków zamieszczonych w monografiach^{52,53,54}. Jednak wobec bardzo nieznacznych niekiedy różnic stałych ekranowania atomu N-2 i grupy nitrowej może okazać się w wyniku dalszych badań, że należy zmienić kolejność tych sygnałów.

Obliczenia stałych ekranowania metodą INDO-S/SOS w tym wypadku niestety zawodzą. Zastosowane w tych obliczeniach założenia sprawdzają się w przypadku atomów pierścieniowych, natomiast dla egzocyklicznych grup zawierających azot często pojawiają się błędy zmieniające sekwencję sygnałów co uniemożliwia pełne wykorzystanie tej metody. W takich przypadkach musimy zadowolić się prawidłowo obliczoną sekwencją sygnałów atomów pierścieniowych, natomiast pozycję sygnału grupy nitrowej określamy na innej drodze.

Obliczenia składu mieszaniny tautomerycznej wykonane w opar-

ciu o stałe ekranowania atomu N-3 dają następujące rezultaty: 1-hydroksy-4-nitrobenzotriazol zawiera 84% formy N-hydroksylowej natomiast 1-hydroksy-6-nitrobenzotriazol składa się w 95% z tej struktury tautomerycznej. Charakterystycznym w tych wynikach jest fakt ponad trzykrotnie większego udziału bardziej polarnej formy N-tlenkowej w związku 4-nitro niż w 6-nitro. Spowodowane jest to najprawdopodobniej stabilizującym tę formę wpływem wewnątrzcząsteczkowego wiązania wodorowego typu:



Ten typ stabilizacji izomeru N-tlenkowego może wystąpić jedynie w przypadku związku 15 i stąd tak znaczna różnica składu mieszaniny równowagowej w porównaniu ze związkami 12 i 18.

Podane powyżej przykłady równowag, szczególnie zaś związku niepodstawionego 12 pokazują, jak drastycznie zmienia się skład mieszaniny tautomerycznej w zależności od użytego rozpuszczalnika. Korzystając z odpowiednich zależności przedstawionych na rysunkach VI.1 i VI.2 można, dobierając rozpuszczalniki o odpowiednich pK_a lub AN, uzyskać mieszaninę tautomeryczną o wymaganym składzie. Zakres, w którym takie sterowanie jest możliwe jest bardzo szeroki i wynosi od kilku procent zawartości izomeru N-O w rozpuszczalnikach neutralnych (wysokie pK_a i niskie AN) do nieomal 100% tej formy w rozpuszczalnikach o silnych właściwościach kwasowo-akceptorowych.

Szczególnie przydatnym parametrem do określania właściwości rozpuszczalnika wydaje się być liczba akceptorowa

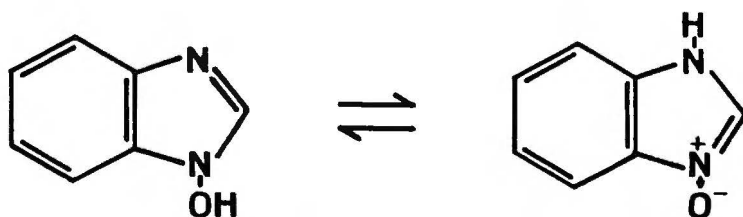
ze względu na jej addytywność w mieszaninach rozpuszczalników .

Korzystając z tego można uzyskać mieszaninę tautomeryczną o określonym składzie dobierając odpowiednią mieszaniną dwóch rozpuszczalników: jeden o wysokiej AN a drugi o niskiej.

Może to być szczególnie przydatne w przypadku związków trudno rozpuszczalnych w niektórych, interesujących rozpuszczalnikach.

VI.2. Badanie tautomerii 1-hydroksybenzimidazolu i jego fenyłowej pochodnej metodą ^{15}N NMR.

Na podstawie dotychczasowych badań przeprowadzonych za pomocą spektroskopii UV-VIS i pomiarów pK_a ^{25,69} stwierdzono w przypadku 1-hydroksybenzimidazolu występowanie tego samego typu tautomerii jaki występuje w 1-hydroksybenzotriazolu. Jest to zatem kolejny przykład tautomerii typu $\text{N-OH} \rightleftharpoons \text{N=O}$ na atomie N-1 i $=\text{N} \rightleftharpoons \text{-NH}$ na atomie N-3.



Stwierdzono również⁶⁹ w ograniczonym zakresie (układ woda - etanol) występowanie silnego wpływu użytego rozpuszczalnika na położenie omawianej równowagi.

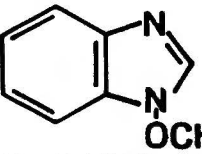
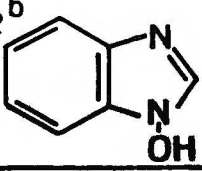

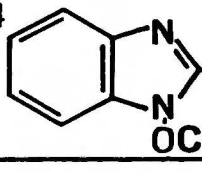
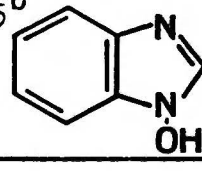
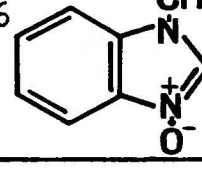
Prezentowane obecnie wyniki rozszerzają i uściślają ilościowo cytowane badania⁶⁹.

Podstawą oznaczeń składu mieszanin tautomerycznych były stałe ekranowania atomów azotu wyznaczone metodą ^{15}N NMR.

Wyniki tych oznaczeń oraz rezultaty obliczeń INDO-S/SOS podaje Tabela VI.4.

Tabela VI.4.

Zmierzone i obliczone stałe ekranowania 1-hydroksybenzimidazolu i jego pochodnych (ppm).

Związek	Atom	Rozpuszczalnik				Obliczenia INDO-S/SOS ^a
		DMSO	Aceton	MeOH	TFE	
	N-3	145,0	145,6	145,0	145,1	8,5
	N-1	174,0	174,3	174,0	167,6	80,3
	N-3	190,8		198,0	237,0	18,9
	N-1	153,4		167,8	159,5	80,9
	N-3	261,8		255,1	254,0	79,1
	N-1	140,5		155,9	156,0	27,8
	N-3	148,9	147,6	161,3	163,0	45,0
	N-1	179,4	179,4	179,4	176,6	106,9
	N-3	192,8	191,2 ^c	-	-	36,3
	N-1	184,5	186,6 ^c	182,0	170,0	88,7
	N-3	260,0		256,1	254,1	107,2
	N-1	149,2		160,5	160,3	46,9

a- Absolutne stałe ekranowania (ppm) obliczone dla struktur przeważających w roztworze DMSO.

b- Struktura przeważająca w roztworze DMSO.

c- Dane uzyskane z widma roztworu w mieszaninie DMSO-fenol 3:1.

Przypisanie sygnałów wykonano na podstawie omawianych już poprzednio reguł dotyczących wzajemnego położenia sygnałów atomów pirydynowych i pirolowych, jak również opierając się na wynikach obliczeń. Obliczenia te dotyczą struktur przedstawionych wzorami w pierwszej kolumnie Tabeli VI.4 (przeważające izomery tautomeryczne w DMSO).

W oparciu o wyznaczone eksperymentalnie wartości stałych ekranowania atomów azotu obliczono składy mieszanin tautomerycznych występujących w badanych roztworach.

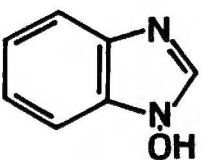
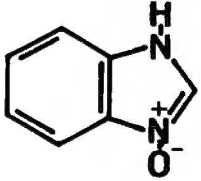
Tak, jak dla związków omawianych w paragrafie VI.1 do obliczeń tych użyto stałych ekranowania atomów azotu w położeniu 3 ze względu na dużą czułość tego parametru na zmiany położenia równowagi (zmiana struktury pirydynowej na pirolową).

Związkami modelowymi były tu związki 21 i 23 dla 1-hydroksybenzimidazolu oraz 24 i 26 dla 2-fenilo-1-hydroksybenzimidazolu.

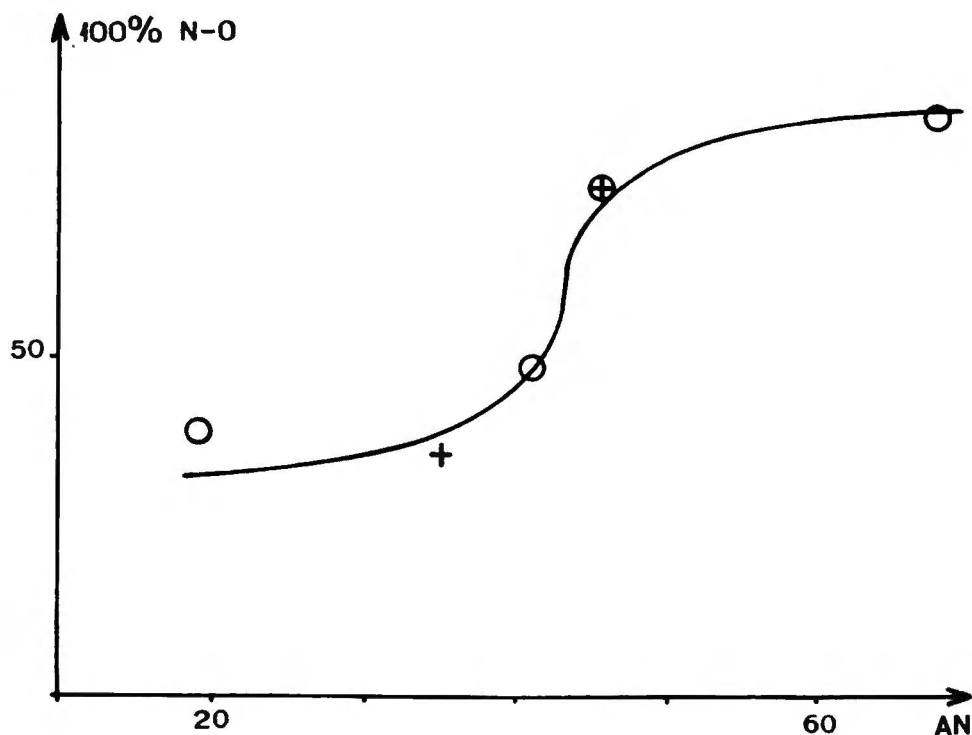
Wyznaczone składy mieszanin równowagowych przedstawione są w Tabeli VI.5.

Tabela VI.5.

Składy mieszanin tautomerycznych 1-hydroksybenzimidazolu.

Rozpuszczalnik	AN	pK _a		
DMSO	19,3	31,3	61±3%	39±3%
MeOH	41,3	16,6	52±3%	48±3%
TFE	68,0	12,5	16±3%	84±3%

Na podstawie danych z Tabeli VI.5 wykonano wykres zależności $x_{N-O} = f(AN)$ (Rys.VI.3).



Rys. VI.3. Zależność składu mieszaniny tautomerycznej 1-hydroksybenzimidazolu od liczby akceptorowej (AN) rozpuszczalnika.

Punkty oznaczone + i ⊕ odnoszą się odpowiednio do etanolu (AN= 35) i roztworu etanol-woda 1:1 (AN= 46). Oba te wyniki otrzymano w pracy⁶⁹ na drodze oznaczeń pK_a układu tautomerycznego 22 i związków modelowych 21 i 23.

Zależność na rysunku VI.3 ma przebieg bardzo zbliżony do analogicznej krzywej otrzymanej dla 1-hydroksybenzotriazolu (Rys.VI.2). Zasadniczą różnicą między nimi jest jedynie bardziej spłaszczony przebieg wykresu dla 1-hydroksybenzimidazolu w porównaniu z 1-hydroksybenzotriazolem.

2-Fenyl-1-hydroksybenzimidazol, ze względu na ograniczoną rozpuszczalność sprawia duże trudności eksperymentalne ograniczające możliwości ilościowego określenia składu mieszaniny tautomerycznej jedynie do roztworu w DMSO.

W tym rozpuszczalniku uzyskano w wyniku obliczeń zawartość izomeru N-hydroksylowego równą 60%.

Jest to wynik bardzo bliski otrzymanemu dla pochodnej niepodstawionej 22.

W pozostałych roztworach, to znaczy w metanolu i TFE w widmach ^{15}N NMR udało się oznaczyć jedynie sygnały atomów N-1. Stałej ekranowania tego sygnału niestety nie można użyć do obliczeń z tych samych powodów jak w przypadku atomów N-1 w 1-hydroksybenzotriazolu i jego pochodnych.

Widmo związku 22 w mieszaninie DMSO-fenol 3:1 zawiera dwa sygnały o stałych ekranowania bardzo bliskich tym, które otrzymano dla roztworu w czystym DMSO. Można stąd sądzić, że skład mieszaniny tautomerycznej będzie również zbliżony do wyznaczonego dla DMSO.

W świetle stwierdzonej uprzednio silnej zależności położenia równowagi tautomerycznej od stałej AN rozpuszczalnika wniosek powyższy jest raczej nieoczekiwany. Dla użytej mieszaniny rozpuszczalników parametr AN obliczony na podstawie założenia o ważonej addytywności⁹⁷ wynosi około 30, a więc jest zdecydowanie większy niż dla DMSO (AN= 19,3). Przesunięcie równowagi w stosunku do DMSO powinno być więc również znaczne. Brak takiego przesunięcia może wskazywać iż w przypadku tak silnie oddziaływujących substancji jakimi są fenol i DMSO, założenie o addytywności AN nie jest spełnione.

Rzeczywiście, bezpośrednie wyznaczenie AN tej mieszaniny przeprowadzone cytowaną metodą ^{13}C NMR⁹⁹, prowadzi do wartości AN= 22 bliskiej odpowiedniej wartości dla DMSO, co wyjaśnia zaobserwowany brak zmiany położenia równowagi.

Zatem wynik ten, pozornie nieoczekiwany, potwierdza wcześniejsze wnioski mówiące, że skład mieszaniny tautomerycznej tego typu zależy od właściwości akceptorowych rozpuszczalnika oraz, że parametr AN pozwala dobrze korelować tego typu zależności.

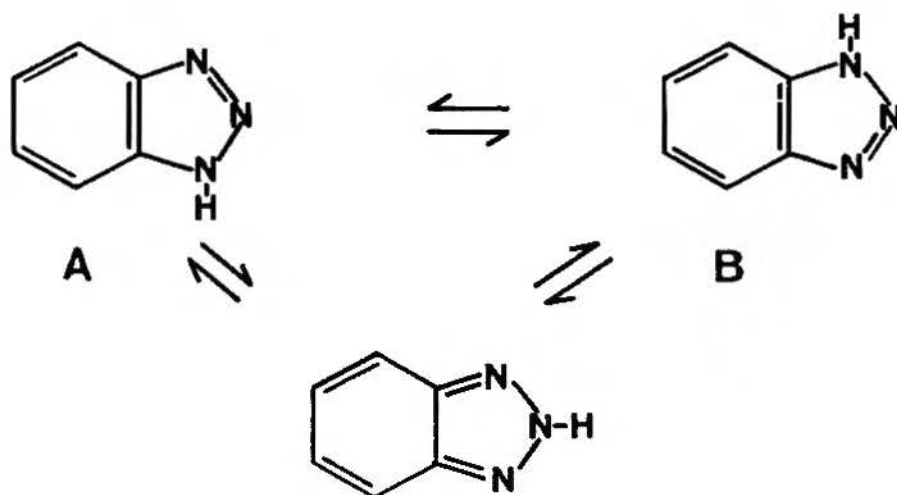
VI.3. Badania tautomerii niepodstawionych benzoazoli
metodą ^{15}N NMR.

W odróżnieniu od omówionych poprzednio związków tzn. 1-hydroksylowych pochodnych benzotriazolu i benzimidazolu, niepodstawione benzoazole były już wcześniej badane metodą ^{15}N NMR. W literaturze można znaleźć dane spektralne ^{15}N NMR benzotriazolu i indazolu^{58,60}.

Jednak dane te są niekompletne i obecnie prezentowane wyniki pozwalają je uzupełnić. Celem tego uzupełnienia jest przebadanie równowag tautomerycznych tworzonych przez te związki pod kątem zależności położenia tych równowag od użytego rozpuszczalnika.

Najwygodniejszym związkiem do tego typu badań jest benzotriazol ze względu na łatwość otrzymania tego związku jak również jego metylowych pochodnych jako związków modelowych. Dobra rozpuszczalność tych związków w większości interesujących rozpuszczalników jest dodatkowym argumentem za wyborem właśnie benzotriazolu.

Benzotriazol podobnie jak indazol tworzy równowagę form benzenoidowych i chinoidowej (A, B, C):



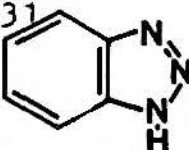
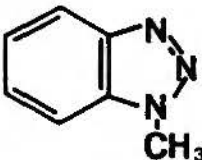
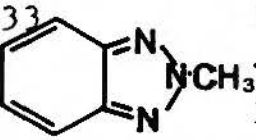
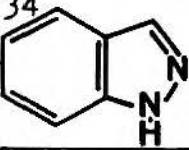
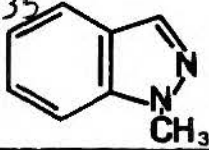
Struktury benzenoidowe A i B jako równocenne chemicznie występują oczywiście w takim samym stężeniu.

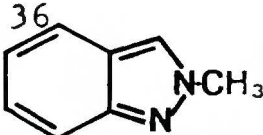
W przypadku indazolu równowaga tautomeryczna upraszcza się do dwóch izomerów analogicznych do A i C.

Podstawą do wyznaczania położenia równowagi tautomerycznej były stałe ekranowania układów tautomerycznych i związków modelowych zamieszczone w Tabeli VI.6.

Tabela VI.6.

Stałe ekranowania badanych benzoazoli i ich metylowych pochodnych (ppm).

Związek	Atom	DMSO	CDCl ₃	Aceton	MeOH	
31 	N-1,3	96,7	96,7 ^a	103,4 ^a	102,0	108,7
	N-2	7,9	7,5 ^a	11,6 ^a	10,3	14,5
32 	N-1	161,5	161,8 ^a	164,1 ^a	164,7	167,0
	N-2	1,1	0,9 ^a	2,2 ^a	1,5	7,8
	N-3	41,0	40,8 ^a	42,4 ^a	41,1	55,0
33 	N-1,3	62,6	62,5 ^a	63,1 ^a	66,1	69,5
	N-2	116,8	117,0 ^a	119,2 ^a	121,9	123,6
34 	N-1	196,5	194,4 ^a	194,4 ^b		
	N-2	66,1	65,6 ^a	65,6 ^b		
35 	N-1	203,8	202,8 ^a	202,7 ^b		
	N-2	57,6	56,5 ^a	56,6 ^b		

	N-1	92,3	92,6 ^a	91,2 ^b
	N-2	162,1	160,9 ^a	160,9 ^b

a- dane z pracy⁶⁰.

b- dane z pracy⁵⁸.

Obliczenia składu mieszaniny tautomerycznej indazolu przeprowadzono na podstawie równania III.6 natomiast dla trójskładnikowego układu tautomerycznego benzotriazolu zastosowano równanie z pracy⁵².

Wyniki tych obliczeń dla benzotriazolu, otrzymane na podstawie stałych ekranowania atomów N-1,3 i N-2 znajdują się w Tabeli VI.7.

Tabela VI.7.

Zawartości izomeru 1-H w benzotriazolu (%).

Rozpuszczalnik	Atom	Zawartość izomeru 1-H
CDCl_3	N-1,3	97 \pm 3
CDCl_3	N-2	92 \pm 3
Aceton	N-1,3	98 \pm 3
Aceton	N-2	93 \pm 3
DMSO	N-1,3	88 \pm 3
DMSO	N-2	94 \pm 3
MeOH	N-1,3	95 \pm 3
MeOH	N-2	94 \pm 3

Dla indazolu w roztworze DMSO otrzymano na podstawie stałych ekranowania atomu N-1 zawartość izomeru 1-H równą 93% oraz dla atomu N-2, 92%.

Bardzo dobra zgodność tych wyników jak również odpowiednich danych z Tabeli VI.7 oznaczają, że w przypadku tych związków nie ma istotnej różnicy, których atomów azotu stałe ekranowania przyjmiemy za podstawę obliczeń. Jest to logiczny wniosek, ponieważ wszystkie atomy azotu w badanych związkach zmieniają swoją strukturę z pirydynowej na pirolową w wyniku przeniesienia protonu.

Analiza danych z Tabeli VI.7 wskazuje, że równowaga tautomeryczna benzoazoli jest praktycznie niezależna od rozpuszczalnika. Jest to wniosek dość nieoczekiwany wobec wyników z dwóch poprzednich rozdziałów. Hydroksylowe pochodne benzoazoli wykazywały bardzo silną zależność położenia równowagi od użytego rozpuszczalnika podczas gdy niepodstawione benzoazole nie wykazują takiej zależności.

Na podstawie tego można sądzić, że przyczyną występowania takiego a nie innego składu mieszaniny tautomerycznej nie jest polarność izomerów wyrażana wartościami momentów dipolowych a raczej podatność danej struktury na tworzenie wiązań wodorowych z rozpuszczalnikiem.

W przypadku niepodstawionych benzoazoli izomery tautomeryczne różnią się dość znacznie wartościami momentów dipolowych (Tabela III.1), nie różnią się natomiast jeżeli chodzi o występujące w nich grupy funkcyjne (odpowiednie fragmenty strukturalne występują w obu formach w różnych tylko pozycjach).

Ten ostatni fakt, na podstawie dotychczasowych badań wydaje się być najbardziej wiarygodnym wyjaśnieniem nieczułości położenia równowagi tautomerycznej tych związków na właściwości

rozpuszczalnika.

W przeciwieństwie do niepodstawionych benzoazoli izomery tautomeryczne 1-hydroksybenzotriazolu i 1-hydroksybenzimidazolu różnią się bardzo znacznie występującymi w nich grupami funkcyjnymi. Występująca tam forma N-tlenkowa jest znacznie bardziej podatna na tworzenie wiązań wodorowych z rozpuszczalnikiem niż forma N-hydroksylowa.

To powoduje, że rozpuszczalniki będące dobrymi donorami wiązania wodorowego preferują formę N-tlenkową, podczas gdy słabiej stabilizowana wiązaniem wodorowym forma N-OH przeważa w roztworach o wyższych liczbach akceptorowych.

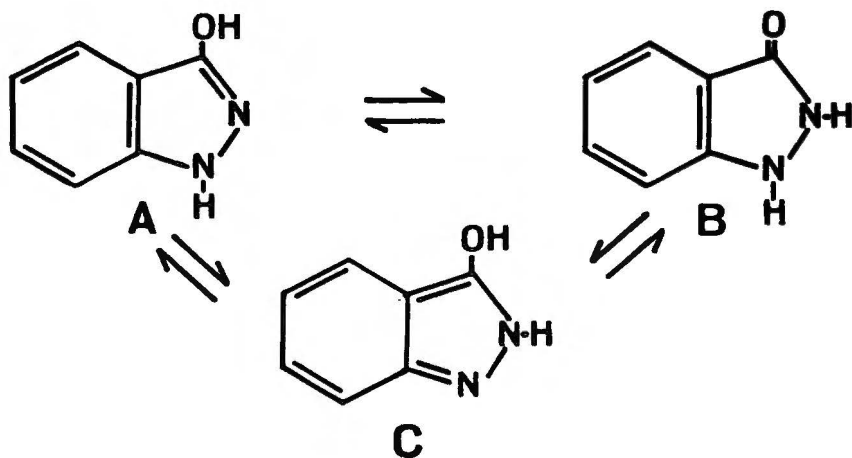
Innym wnioskiem wynikającym z tych faktów jest sugestia, że proces wymiany protonu w pochodnych N-hydroksylowych jest procesem wielocząsteczkowym, w którym biorą udział cząsteczki rozpuszczalnika. Natomiast w przypadku niepodstawionych benzoazoli jest to prawdopodobnie proces wewnątrzcząsteczkowy.

VI.4. Badania tautomerii 3-hydroksyindazolu i jego pochodnych metoda ^{15}N NMR.

Dotychczasowe badania równowag tautomerycznych związków z tej grupy są bardzo rzadkie i fragmentaryczne. Najczęściej ograniczają się one do określenia struktury badanych związków w fazie stałej^{19,20} lub gazowej (pomiar MS¹⁷).

W roztworach badania przeprowadzono jedynie za pomocą spektroskopii UV-VIS²⁰ oraz IR¹⁹. Otrzymane wyniki, jakkolwiek niekompletne i budzące pewne wątpliwości ze względu na przyjętą metodę pomiarową, wskazują na bardzo istotny wpływ użytego rozpuszczalnika na położenie badanej równowagi.

Najbardziej skomplikowany typ równowagi występuje w przypadku związku niepodstawionego, tzn. 3-hydroksyindazolu. Ze względu na obecność w cząsteczce dwóch atomów wodoru mogących ulegać wymianie, mogą tu wystąpić trzy izomery tautomeryczne:




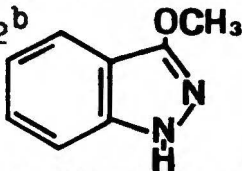
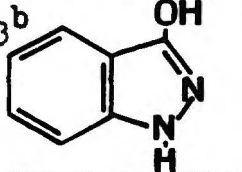

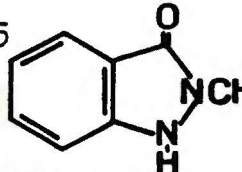
W świetle dotychczasowych badań wyklucza się występowanie struktury C w znaczniejszych ilościach ze względu na utratę stabilizacji rezonansowej pierścienia benzenowego. Występująca w formie C struktura chinoidowa jest stabilizowana w znacznie mniejszym stopniu niż struktury benzenoidowe A i B.


Celem omawianych obecnie badań było potwierdzenie na drodze doświadczalnej faktu niewystępowania struktury chinoidowej, jak również określenie ilościowe składu mieszanin tautomerycznych w kilku bardzo różnych rozpuszczalnikach.

Podstawą tych badań była analiza stałych ekranowania azotu w widmach ^{15}N NMR. Stałe te, jak również wyniki obliczeń INDO-S/SOS przedstawione są w Tabeli VI.8.

Tabela VI.8.

Zmierzone i obliczone stałe ekranowania 3-hydroksyindazolu i jego pochodnych (ppm).

Związek	Atom	Rozpuszczalnik			Obliczenia INDO-S/SOS ^a
		DMSO	MeOH	TFE	
 <chem>CN1C=NC2=CC=CC=C12OC</chem>	N-2	104,8	108,9	116,6	-37,6
	N-1	232,7	232,4	235,5	54,3
 <chem>CN1C=NC2=CC=CC=C12OC</chem>	N-2	115,4	121,4	129,4	-41,8
	N-1	226,1	226,8	232,1	48,1
 <chem>CN1C=NC2=CC=CC=C12O</chem>	N-2	132,6	190,1	-	-43,4
	N-1	237,1	252,9	257,4	47,2
 <chem>CN1C=NC2=CC=CC=C12O</chem>	N-2	112,0	161,4	161,4	-41,9
	N-1	237,1	247,4	248,5	52,1
 <chem>CN1COC2=CC=CC=C12</chem>	N-2	229,2	-	-	19,8
	N-1	255,0	-	-	60,4

	N-2	217,8	216,0	214,4	19,7
	N-1	260,1	259,1	258,0	66,3

a- Absolutne stałe ekranowania (ppm) obliczone dla struktur przeważających w roztworze DMSO.

b- Struktura przeważająca w roztworze DMSO.

Przypisanie sygnałów w związkach 41, 42, 43, 44 (Tabela VI.8) nie budzi większych wątpliwości gdyż oparte jest na powszechnie obowiązującej zasadzie, że pirolowy atom azotu ma sygnały położone zawsze przy silniejszym polu niż sygnały atomów pirydynowych.

Przypisanie sygnałów w związkach 45 i 46 dokonane jest na podstawie odsłaniającego wpływu grupy C=O na sąsiedni atom azotu, co powoduje występowanie sygnału tego ostatniego przy słabszym polu niż sygnał atomu N-1.

Wszystkie przytoczone argumenty dotyczące przypisania sygnałów znajdują potwierdzenie w rezultatach obliczeń INDO-S/SOS.

Poza rezultatami zamieszczonymi w Tabeli VI.8 wykonano również dodatkowe widma 3-hydroksyindazolu w innych rozpuszczalnikach i otrzymano: w CF_3COOH 250,3 i 214,9 ppm, w DMSO+MeOH (1:1) 240,2 i 152,7 ppm, w TFE+DMSO (1:2) 238,9 i 162,2 ppm, odpowiednio dla atomów N-1 i N-2.

Ze wszystkich sześciu badanych związków strukturami modelowymi w pełnym tego słowa znaczeniu (nieposiadającymi labilnych atomów wodoru) są tylko pierwsza i ostatnia tzn. 41 i 46. Wszystkie pozostałe przynajmniej teoretycznie mogą tworzyć układy tautomeryczne.

3-Metoksyindazol 42 może tworzyć równowagę formy benzenoidowej A i chinoidowej C. Położenie tej ewentualnej równowagi

tautomerycznej możemy ocenić na podstawie porównania wartości stałych ekranowania związku 42 z odpowiednimi stałymi struktury modelowej formy A (związek 41).

Odpowiednie wartości tych stałych obu rozpatrywanych związków we wszystkich badanych roztworach różnią się między sobą w bardzo podobny sposób. Przy czym generalnie dwumetylowa pochodna 41 wykazuje wyższe wartości w stosunku do monometylowej 42. Jeżeli teraz uwzględnimy fakt, że efekty metylowania α i β , z jakimi mamy do czynienia w tym wypadku, są rzędu kilku ppm, to różnice między parametrami spektralnymi spowodowane ewentualną obecnością formy chinoidowej są bardzo nieznaczne.

Wynik z tego, że forma chinoidowa w mieszaninie tautomerycznej praktycznie nie występuje; oczywiście w granicach dokładności metody pomiarowej, tzn. kilku procent.

Wniosek ten potwierdza również nieodsprężone widmo 3-metoksyindazolu w roztworze TFE+DMSO 1:2. W widmie tym sygnał atomu N-1 o $\delta = 225,6$ ppm występuje w postaci dubletu o stałej sprzężenia $^1J_{\text{NH}} = 105,7$ Hz, charakterystycznej dla sprzężenia N-H przez jedno wiązanie.

Analogiczną sytuację mamy w przypadku porównania stałych ekranowania atomów azotu w związkach 45 i 46. Wniosek wynikający z porównania tych stałych jest identyczny jak w poprzednio omawianym przypadku.

Na podstawie tych faktów można pokusić się o uogólnienie, że we wszystkich omawianych przypadkach związków potencjalnie tautomerycznych należących do badanej grupy struktura chinoidowa występuje najwyżej w postaci znikomej, możliwej do pominięcia domieszki.

Tym samym omawiane równowagi tautomeryczne upraszczają się do typowego układu dwuskładnikowego, w którym mamy do czynienia z formami benzenoidowymi umownie nazwanymi enolową A i ketonową B.

Wśród omawianych związków równowagę taką wykazują dwa związki tzn. 3-hydroksyindazol 43 i 3-hydroksy-1-metyloindazol 44.

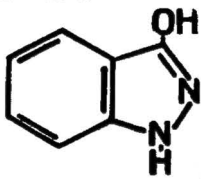
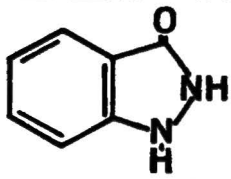
Stosując dwumetylowe pochodne 41 i 46 jako związki modelowe i omawiane już poprzednio równanie III.6 wyznaczono składy mieszanin tautomerycznych tworzonych przez te związki.

Podstawą do obliczeń były stałe ekranowania atomów N-2. Wybór ten wiąże się z faktem, że zmiany jakim ulega ten atom przy przejściu od struktury enolowej do ketonowej wynoszą ponad 100 ppm, podczas gdy analogiczne zmiany dla N-1 wynoszą tylko około 30 ppm więc, także i w tym przypadku dogodnym do badań jest ten atom azotu, który skutkiem przeniesienia protonu przechodzi z formy pirolowej w pirydynową.

Wyniki zestawione są w Tabeli VI.9.

Tabela VI.9.

Składy mieszanin tautomerycznych 3-hydroksyindazolu.

Rozpuszczalnik	AN		
DMSO	19,3	75 \pm 3%	25 \pm 3%
DMSO+MeOH 1:1	30,0	73 \pm 3%	27 \pm 3%
DMSO+TFE 2:1	35,0	49 \pm 3%	51 \pm 3%
MeOH	41,3	24 \pm 3%	76 \pm 3%
TFE ^a	68,0	3 \pm 10%	97 \pm 10%


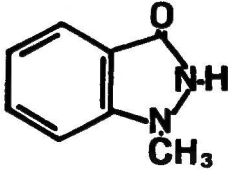
a- Wartości obliczone na podstawie stałych ekranowania atomu N-1 z powodu trudności otrzymania w widmie 3-hydroksyindazolu w TFE sygnału atomu N-2.

W związku z niewielką czułością atomu N-1 na przeniesienie protonu (odpowiednia różnica stałych ekranowania wynosi tu tylko 32,5 ppm) wynik ten obdarzony jest większym błędem rzędu $\pm 10\%$. Na podstawie tych danych można jedynie stwierdzić, że w roztworze w TFE mamy do czynienia z czystą formą ketonową.

Podobne zestawienie składów mieszanin tautomerycznych dla 3-hydroksy-1-metyloindazolu przedstawione jest w Tabeli VI.10.

Tabela VI.10.

Skład mieszanin tautomerycznych 3-hydroksy-1-metyloindazolu.

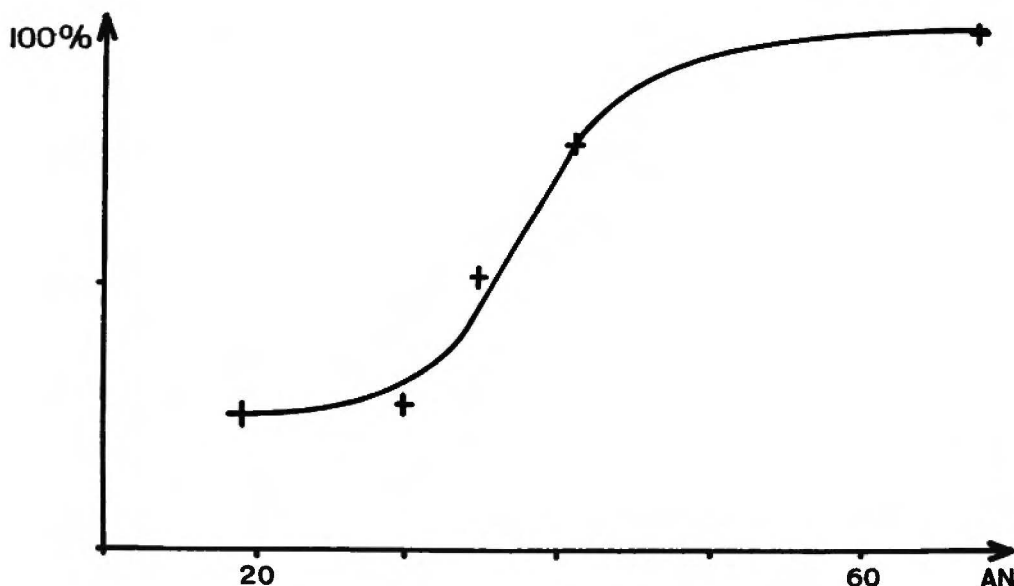
Rozpuszczalnik	AN		
DMSO	19,3	94 \pm 3%	6 \pm 3%
MeOH	41,3	51 \pm 3%	49 \pm 3%
TFE	68,0	54 \pm 3%	46 \pm 3%

Zależność składu mieszaniny tautomerycznej od liczby akceptorowej rozpuszczalnika dla 3-hydroksyindazolu można przedstawić również na wykresie (Rys.VI.4).

Niestety nie można wykreślić dla tego związku zależności $x_{C=O} = f(pK_a)$ z powodu trudności zdefiniowania parametru pK_a dla mieszanin rozpuszczalników, które w tym wypadku stanowią istotną część badanych układów.

Nie można również wykreślić zależności od liczby akceptorowej dla 3-hydroksy-1-metyloindazolu z powodu zbyt małej

ilości punktów pomiarowych (tylko trzy wobec pięciu dla 3-hydroksyindazolu).



Rys.VI.4. Zależność zawartości izomeru C=O 3-hydroksyindazolu od AN rozpuszczalnika.

Zależność na rysunku VI.4 ma charakter bardzo podobny do analogicznej krzywej wyznaczonej dla 1-hydroksybenzotriazolu (Rys.VI.2), co wskazuje na podobny mechanizm wymiany protonu w obu związkach.

Porównując dane dotyczące zawartości izomerów tautomerycznych w związkach 43 i 44 można zaobserwować, tak w DMSO jak i w metanolu wyższe zawartości formy ketonowej w przypadku związku niepodstawionego 43 niż jego metylowej pochodnej 44.

Fakt ten można tłumaczyć zawadą przestrzenną powodowaną przez grupę metylową. Wobec postulowanej ¹⁹ stabilizacji formy C=O przez wiązania wodorowe z rozpuszczalnikiem obecność tej grupy może powodować osłabienie tego mechanizmu, a tym samym obniżyć zawartość tego izomeru w mieszaninie tautomerycznej.

Innym elementem różnicującym związki 43 i 44 pod względem mechanizmu wymiany tautomerycznej jest obecność w 3-hydroksyindazolu dwóch labilnych atomów wodoru biorących udział

w wymianie wobec tylko jednego takiego atomu w pochodnej metylowej.

Fakt udziału w wymianie tautomerycznej obu atomów wodoru 3-hydroksyindazolu potwierdza poszerzenie sygnału N-1 w widmie ^{15}N NMR tego związku w DMSO.

Poszerzenie to wskazuje również, że szybkość wymiany tego atomu (w pozycji 1) jest znacznie mniejsza niż protonu w pozycji 2.

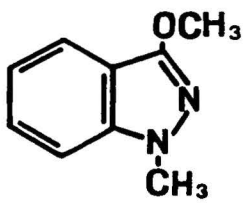
VI.5. Badania tautomerii 3-hydroksyindazolu i jego pochodnych
metodą ^{13}C NMR.

Dla porównania możliwości analitycznych dwóch metod rezonansu magnetycznego tzn. azotowego i węglowego przeprowadzono oznaczenia ^{13}C NMR 3-hydroksyindazolu i jego pochodnych w celu ilościowego wyznaczenia składu mieszanin tautomerycznych tworzonych przez niektóre z tych związków.

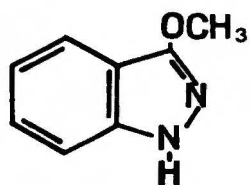
Wartości przesunięć chemicznych ^{13}C NMR badanych związków przedstawia Tabela VI.11.

Tabela VI.11.

Przesunięcia chemiczne ^{13}C 3-hydroksyindazolu i jego pochodnych.^a

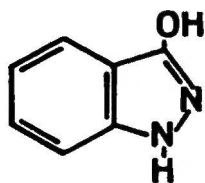
Związek	Atom	Rozpuszczalnik		
		DMSO	MeOH	TFE
	C-3	155,5	157,5	158,4
	C-4	119,4	120,7	121,5
	C-5	119,0	120,1	121,2
	C-6	127,3	128,7	130,0
	C-7	109,4	109,8	110,4
	C-8	141,8	143,5	144,1
	C-9	111,5	113,3	113,6
	N-CH ₃	34,9	35,0	35,0
	O-CH ₃	55,9	56,7	58,0

42



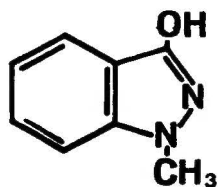
C-3	156,6	158,7	160,0
C-4	119,2	120,5	121,9
C-5	119,0	120,4	121,3
C-6	127,1	128,7	130,3
C-7	110,2	110,9	111,7
C-8	142,1	143,9	144,7
C-9	111,2	112,9	114,0
O-CH ₃	55,8	56,7	57,4

43



C-3	156,4	162,7	167,0
C-4	120,3	123,1	124,6
C-5	118,8	121,5	124,2
C-6	127,5	131,7	134,8
C-7	110,4	112,2	114,1
C-8	142,7	147,2	149,8
C-9	112,8	116,2	117,6

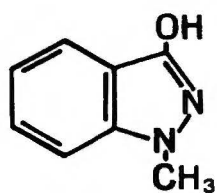
44



C-3	154,3	157,7	162,3
C-4	129,5	122,6	124,3
C-5	118,6	121,7	123,8
C-6	127,3	131,7	134,8

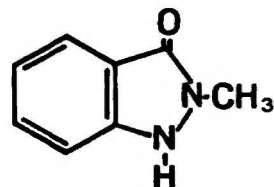
44

C-7	109,1	111,0	112,1
C-8	141,9	145,5	148,5
C-9	112,5	113,8	115,3
N-CH ₃	34,8	35,5	36,5



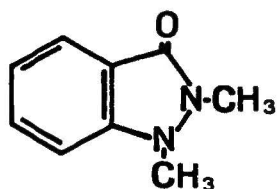
45

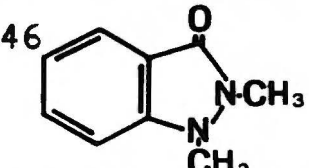
C-3	160,7	163,0	163,8
C-4	122,8	123,8	124,1
C-5	120,9	122,6	124,1
C-6	131,1	132,9	134,0
C-7	112,0	112,8	113,4
C-8	145,8	147,1	147,2
C-9	117,5	118,1	118,2
N-CH ₃	30,3	31,0	31,7



46

C-3	162,1	164,0	164,3
C-4	123,2	124,1	124,5
C-5	122,2	123,3	124,1
C-6	132,2	133,5	134,5
C-7	112,4	112,8	112,7
C-8	150,3	151,0	150,3
C-9	118,1	118,4	117,8



	N-1-CH ₃	37,2	37,0	36,3
	N-2-CH ₃	28,6	29,0	29,4

a- (ppm), względem TMS jako wzorca wewnętrznego.

Przypisanie sygnałów w widmach przeprowadzono na podstawie widma 3-hydroksyindazolu w DMSO, a następnie otrzymane wnioski przeniesiono przez analogię na pozostałe badane związki.

Pierwszym etapem analizy widma ¹³C NMR 3-hydroksyindazolu była interpretacja widma protonowego tego związku. W widmie tym w obszarze aromatycznym mamy trzy multiplety pochodzące od czterech atomów: H-4, H-5, H-6 i H-7. Przesunięcia chemiczne tych atomów wynoszą odpowiednio: $\delta_4 = 7,7$ ppm, $\delta_5 = 7,0$ ppm, $\delta_6 = 7,3$ ppm i $\delta_7 = 7,3$ ppm.

Zidentyfikowano również szereg stałych sprzężenia J_{H-H} : $^3J_{H4-H5} = 8$ Hz, $^3J_{H5-H6} = 4$ Hz, $^3J_{H6-H7} = 10$ Hz i $^4J_{H5-H1} = 1$ Hz. W oparciu o te dane przeprowadzono komputerową symulację widma, która potwierdziła prawidłowość dokonanego przypisania sygnałów ¹H NMR.

Kolejnym etapem interpretacji danych było odsprężone widmo ¹³C NMR związku 43. Najbardziej odsłanianym atomem węgla w tym związku jest atom C-3 i sygnał położony przy najsłabszym polu $\delta = 157,3$ ppm przypisano temu właśnie atomowi. Pozostałe dwa sygnały, o najmniejszej intensywności w widmie należy przypisać mostkowym atomom C-8 i C-9. Atom azotu N-1 powoduje efekt odsłaniania sąsiedniego atomu węgla³⁶ i stąd sygnał przy słabszym polu $\delta = 143,3$ ppm przypisano atomowi C-8, a sygnał $\delta = 113,2$ ppm atomowi C-9.

W celu przypisania pozostałych sygnałów przeprowadzono

szereg eksperymentów selektywnego odsprzęgania protonów. Odsprzęgając w widmie węglowym kolejno wszystkie cztery aromatyczne protony stwierdzono, które atomy wodoru związane są z którymi atomami węgla.

W efekcie takiego postępowania powstało takie przypisanie jakie podaje Tabela VI.11.

Uzupełniając te dane wykonano nieodsprzężone widmo ^{13}C NMR 3-hydroksyindazolu. Stałe sprzężenia węgiel-wodór uzyskane w wyniku jego analizy zestawione są w Tabeli VI.12.

Tabela VI.12.

Stałe sprzężenia węgiel-wodór w 3-hydroksyindazolu.

Stała sprzężenia	Wartość (Hz)
$^1J_{\text{C4-H4}}$	161,75
$^1J_{\text{C5-H5}}$	160,39
$^1J_{\text{C6-H6}}$	158,50
$^1J_{\text{C7-H7}}$	163,79
$^2J_{\text{C4-H5}}$	2,8
$^2J_{\text{C5-H4}}$	3,0
$^2J_{\text{C5-H6}}$	3,0
$^2J_{\text{C6-H7}}$	2,97
$^2J_{\text{C6-H5}}$	2,97
$^3J_{\text{C4-H6}}$	7,6
$^3J_{\text{C5-H7}}$	6,7

$^3J_{C5-H4}$	7,99
$^3J_{C7-H5}$	7,71

Pozostałe stałe sprzężenia dalszego zasięgu są bliskie zera.

Najbardziej interesującym sygnałem w widmie nieodsprężonym jest sygnał atomu C-3. Podczas gdy wszystkie pozostałe sygnały wykazują bardzo skomplikowaną strukturę multipletową związaną ze sprzężeniami dalekiego zasięgu, sygnał C-3 nie wykazuje żadnych sprzężeń. Przyczyną tego jest szybka wymiana tautome-ryczna obejmująca bezpośrednio ten atom i powodująca skuteczne odsprężanie wszelkich oddziaływań węgiel-wodór.

Na podstawie danych z Tabeli VI.11 można stwierdzić, które z badanych związków tworzą równowagę tautomeryczną, a które nie. Jeżeli porównamy amplitudy zmian przesunięć chemicznych związanych ze zmianą rozpuszczalnika z DMSO na TFE

($\delta_{TFE} - \delta_{DMSO}$) to możemy podzielić wszystkie związki na dwie grupy. Do pierwszej należy zaliczyć związki 43 i 44 do drugiej natomiast pozostałe związki tzn. 41, 42, 45 i 46.

Związki z pierwszej grupy wykazują zmiany przesunięć chemicznych na poszczególnych atomach węgla około dwukrotnie większe niż związki z grupy drugiej. Oznacza to, że związki 43 i 44 tworzą równowagi tautomeryczne o składzie zmieniającym się ze zmianą rozpuszczalnika, podczas gdy pozostałe związki wykazują tylko typowe efekty rozpuszczalnikowe powodujące wzrost przesunięć chemicznych ze wzrostem kwasowości rozpuszczalnika. Wielkości tych efektów są zgodne z podawanymi w literaturze⁴⁰.

Efekty tautomeryczne pojawiające się w przypadku związków 43 i 44 są tego samego rzędu i mają ten sam kierunek tzn.

ze wzrostem kwasowości rozpuszczalnika rośnie zawartość struktury mającej wyższe wartości przesunięć chemicznych.

Jeżeli teraz pominiemy efekty metylowania i zastosujemy równanie analogiczne do stosowanego dla danych ^{15}N NMR (równanie III.6) to możemy obliczyć składy mieszanin równowagowych.

Pominięcie efektów metylowania jest dopuszczalne, gdyż na podstawie badań J.Elguero i współpracowników⁴⁰ stwierdzono, że są one dość proste do oszacowania na podstawie ich rzędowości. Największą wartość rzędu kilkunastu ppm mają efekty pierwszorzędowe (przez jedno wiązanie), które w omawianych związkach nie występują. Efekty wyższych rzędów zgodnie z tą pracą są podobnej wielkości, jak w przypadku rezonansu azotowego.

Podobne wnioski dotyczące wielkości efektów metylowania wynikają z pracy P.Boucheta⁴³ dotyczącej indazolu i jego pochodnych.

Ponieważ w omawianych związkach mamy do czynienia z efektami wyższych rzędów, bez większego błędu możemy wpływy te zaniedbać.

Oczywiście w związku ze znacznie mniejszą amplitudą zmian przesunięć chemicznych spowodowaną przeniesieniem protonu błąd względny obliczeń zwiększa się do około $\pm 10\%$, co stanowi wzrost przeszło trzykrotny w porównaniu z danymi z rezonansu azotowego.

Korzystając z powyższych przybliżeń, na podstawie równania III.6 obliczono składy mieszanin tautomerycznych tworzonych przez związki 43 i 44. Związkami modelowymi do obliczeń były dwumetylowe pochodne 41 i 46. Obliczenia przeprowadzono wykorzystując przesunięcia chemiczne wszystkich atomów węgla w cząsteczce.

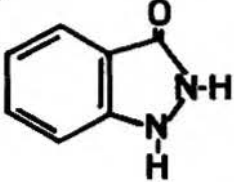
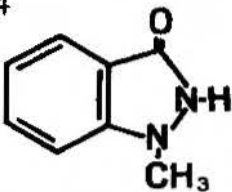
W większości przypadków, gdy sygnał mieszaniny tautomerycznej leży pomiędzy sygnałami związków modelowych otrzymano

zawartości procentowe izomerów obecnych w mieszaninie równowagowej. Natomiast gdy sygnał mieszaniny leży poza tym przedziałem przyjęto jako wyniki wartości 0 lub 100% zawartości tej struktury, odpowiedniemu przesunięciu której bliższa jest wartość δ mieszaniny.

Cząstkowe wyniki obliczeń (dla poszczególnych atomów węgla) oraz wartości średnie podaje Tabela VI.13.

Tabela VI.13.

Zawartość izomeru C=O w mieszaninach tautomerycznych (%).

Związek	Rozpuszczalnik	Atom węgla							Wartość średnia ^a
		C-3	C-4	C-5	C-6	C-7	C-8	C-8	
43 	DMSO	15	25	0	5	34	11	20	18
	MeOH	81	70	44	62	80	76	56	69
	TFE	100	100	100	100	100	93	97	95
44 	DMSO	0	29	0	1	34	1	15	12
	MeOH	4	55	50	64	40	27	10	40
	TFE	66	94	88	100	73	71	42	74

a- Wartość średnią policzono jako średnią ważoną przez błędy oznaczeń na poszczególnych atomach. W efekcie takiej procedury wyniki obarczone większym błędem mają odpowiednio mniejszy udział w wartości średniej.

Analizując dane zawarte w Tabeli VI.13 można stwierdzić duży rozrzut wyników obliczeń, który jest wykładnikiem przydatności stosowanej metody analitycznej do ilościowego określania składu

mieszanin tautomerycznych. Mimo tego dużego rozrzutu tendencje zmian, jakie obserwujemy w wynikach obliczonych w oparciu o poszczególne atomy węgla są zgodne ze zmianami występującymi w wartościach średnich. Jest to ta sama tendencja, z jaką mieliśmy do czynienia w wynikach otrzymanych na drodze pomiarów ^{15}N NMR, tzn. ze wzrostem kwasowości użytego rozpuszczalnika występuje wzrost zawartości formy $\text{C}=\text{O}$ 3-hydroksyindazolu.

Odmienne przedstawia się sytuacja odnośnie 3-hydroksy-1-metyloindazolu 44. Rezultaty oznaczeń ^{15}N NMR wykazują, że począwszy od metanolu (AN= 41,3) w miarę wzrostu liczby akceptorowej rozpuszczalnika do AN= 68 w TFE zawartość izomeru $\text{C}=\text{O}$ utrzymuje się praktycznie na stałym poziomie (około 50%) podczas gdy dane ^{13}C NMR nie wykazują takiego zjawiska.

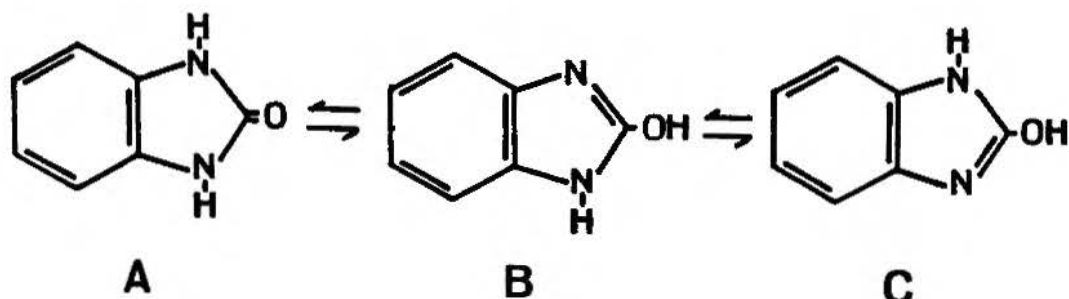
Oczywiście, za bardziej wiarygodne należy uważać tu dane uzyskane z analizy widm ^{15}N NMR.

Innym elementem różnicującym możliwości analityczne ^{15}N i ^{13}C NMR jest niemożliwość rozstrzygnięcia problemu istnienia lub nieistnienia struktury chinoidowej w mieszaninie tautomerycznej za pomocą rezonansu węglowego. Natomiast na podstawie pomiarów ^{15}N NMR można problem ten rozwiązać stosunkowo łatwo i wiarygodnie.

Podsumowując, można powiedzieć, że metoda ^{13}C NMR jest eksperymentalnie wygodniejszą niż rezonans azotowy (dostępność aparatury, niższy limit stężeń, krótszy czas pomiarów) ale daje wyniki głównie o charakterze jakościowym. Wyniki te pozwalają prześledzić główne tendencje zmian występujących w układzie, nie dając pełnego ilościowego obrazu zjawiska.

VI.6. Badania tautomerii benzimidazolonu i 1-metylobenzimidazolonu metodą ^{15}N NMR.

Wymienione w tytule związki mogą tworzyć równowagę ketonowo-enolową. Dla benzimidazolonu w skład tej równowagi wchodzi trzy izomery tautomeryczne:



1-Metylobenzimidazolone z racji posiadania tylko jednego labilnego atomu wodoru tworzy prostszy układ równowagowy, składający się tylko z dwóch izomerów analogicznych do A i B.

Dotychczasowe badania równowagi tautomerycznej benzimidazolonu obejmują analizę reaktywności tego związku⁷⁰, pomiary momentów dipolowych¹⁵ w benzenie i dioksanie oraz pomiary MS.

W wyniku tych badań stwierdzono obecność w mieszaninie tautomerycznej pewnych nieznaczących ilości formy enolowej.

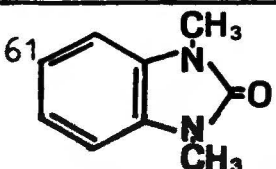
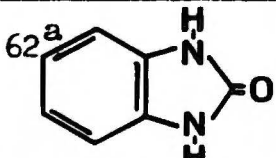
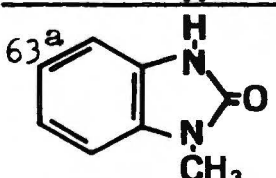
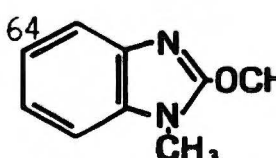
W pracy niniejszej podjęto próbę uściślenia i rozszerzenia tych danych w oparciu o pomiary ^{15}N NMR.

Przedmiotem badań były tautomeryczne związki: benzimidazolone i 1-metylobenzimidazolone oraz 1,3-dimetylobenzimidazolone i 2-metoksy-1-metylobenzimidazolone jako związki modelowe.

Wyniki pomiarów ^{15}N NMR w postaci stałych ekranowania atomów azotu oraz rezultaty obliczeń półempirycznych metodą INDO-S/SOS podaje Tabela VI.14.

Tabela VI.14.

Stałe ekranowania azotu w benzimidazoloni i pochodnych (ppm).

Związek	Atom	DMSO	MeOH	TFE	INDO-S/SOS ^b
61 	N-1,3	269,7	269,2	268,7	76,3
62 ^a 	N-1,3	259,9	259,5	256,9	69,4
63 ^a 	N-1	268,5	265,1	266,2	73,1
	N-3	262,7	261,0	263,0	66,2
64 	N-1	264,5	261,8	263,2	81,4
	N-3	186,8	195,5	200,8	21,7

a- Struktura przeważająca w DMSO

b- Absolutne stałe ekranowania (ppm) obliczone dla struktury przeważającej w roztworze DMSO.

Przypisanie sygnałów odpowiednim atomom w związku 64 opiera się na powszechnej prawidłowości według, której pirolowy atom azotu (N-1) ma zawsze sygnał przy polu o wyższym natężeniu niż sygnał atomu pirydynowego (N-3).

W przypadku związku 63 podstawą przypisania sygnałów jest charakterystyczny efekt metylowania, który powoduje niewielkie ale wyraźne przesunięcie sygnału N-CH₃ w kierunku silniejszego pola w porównaniu do sygnału N-H. Dodatkowym argumentem potwierdzającym takie przypisanie jest wystąpienie w widmie nie-odsprężonym (roztwór DMSO+TFE 1:2) stałej sprzężenia


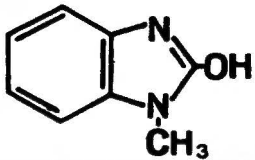
$^1J_{N-H} = 97,4$ Hz rozszczepiającej sygnał przy słabszym polu, czyli sygnał atomu N-3.

Wszystkie te wnioski dotyczące przypisania sygnałów znajdują potwierdzenie w obliczeniach INDO-S/SOS.

W celu wyznaczenia składu mieszanin równowagowych 1-metylobenzimidazolonu 63 przeprowadzono obliczenia stosując równanie III.6. Podstawą obliczeń były stałe ekranowania atomu N-3. Wyniki tych oznaczeń zestawione są w Tabeli VI.15.

Tabela VI.15.

Składy mieszanin tautomerycznych 1-metylobenzimidazolonu (%).

Rozpuszczalnik		
DMSO	92 \pm 5	8 \pm 5
MeOH	89 \pm 5	11 \pm 5
TFE	92 \pm 5	8 \pm 5

W przypadku niepodstawionego benzimidazolonu, związek 62 w mieszaninie obecne są trzy izomery tautomeryczne A, B i C. Stężenia izomerów C i B są oczywiście takie same.

Do obliczania składu takich mieszanin trójskładnikowych zastosowano równanie z pracy⁵² uwzględniające ten fakt.

Dla trzech badanych roztworów przeprowadzono takie obliczenia, a uzyskane rezultaty zamieszczono w Tabeli VI.16.

Tabela VI.16.

Składy mieszanin tautomerycznych benzimidazolonu (%).

Rozpuszczalnik		
DMSO	78 \pm 5	22 \pm 5
MeOH	76 \pm 5	24 \pm 5
TFE	68 \pm 5	32 \pm 5

Poza rezultatami podanymi w Tabeli VI.14 wykonano widmo benzimidazolonu w roztworze DMSO+fenol 2:1 i otrzymano jeden sygnał $\delta = 259,5$ ppm. W tym wypadku trudno precyzyjnie wyznaczyć skład mieszaniny tautomerycznej z powodu braku widm związków modelowych w takich samych warunkach (rozwpuszczalnik). Jednak można sądzić, że zawartość izomerów będzie zbliżona do wartości obliczonych dla roztworu w MeOH ($\delta = 259,5$ ppm). Wniosek ten jest tym bardziej słuszny, że liczba akceptorowa takiej mieszaniny DMSO z fenolem wynosi około AN= 49, co jest wartością zbliżoną do wartości AN metanolu.

Tak więc w przypadku badanych równowag tautomerycznych benzimidazolonu obserwujemy podobną zależność składu mieszaniny tautomerycznej od właściwości rozpuszczalnika jak w innych układach zawierających atom tlenu w cząsteczce.

TFE posiadający najwyższą liczbę akceptorową preferuje izomer bardziej polarny z tym, że w przypadku benzimidazolonu bardziej polarną jest forma hydroksylowa (większy moment dipolowy¹⁵).

Rezultatu tego nie można wytłumaczyć proponowaną w przypadku 1-hydroksybenzotriazolu i 3-hydroksyindazolu stabilizacją formy N-tlenkowej czy ketonowej poprzez wiązania wodorowe z rozpuszczalnikiem gdyż, niewątpliwie struktura C=O benzimidazolonu jest bardziej podatna na tworzenie tych wiązań niż forma enolowa.

Jednak niewielka amplituda zmian składu mieszaniny tautomerycznej benzimidazolonu związana ze zmianą rozpuszczalnika z DMSO na TFE (około 10%) w porównaniu z analogicznymi zmianami dla 1-hydroksybenzotriazolu (około 91%), 3-hydroksyindazolu (około 72%) i 1-hydroksybenzimidazolu (około 45%) wskazuje, że mamy tu do czynienia z innym mechanizmem procesu wymiany protonu. Na tym etapie badań trudno określić ten mechanizm, ale podobieństwo zachowania się położenia równowagi benzimidazolonu i benzotriazolu przy zmianach rozpuszczalnika wskazuje, że może to być proces wewnątrzcząsteczkowy. To ostatnie stwierdzenie jest oczywiście tylko hipotezą wymagającą dalszych badań.

Odmienne zachowuje się 1-metylobenzimidazon. We wszystkich trzech badanych roztworach skład mieszaniny tautomerycznej praktycznie się nie zmienia. Zawartość izomeru C-OH równa około 9% jest stała i jest ona 2-3-krotnie mniejsza niż w związku niepodstawionym.

Jest to związane z obecnością tylko jednego labilnego atomu wodoru w cząsteczce 1-metylobenzimidazolonu wobec dwóch takich atomów w benzimidazolonie. Należy spodziewać się również pewnego wpływu grupy metylowej w położeniu 1 na mechanizm wymiany protonu.

VI.7. Badania tautomerii benzimidazolonu i 1-metylobenzimidazolonu metodą ^{13}C NMR.

Analizę zjawiska tautomerii benzimidazolonu i jego pochodnych podzielono na dwie części ze względu na różne typy równowag z jakimi mamy do czynienia.

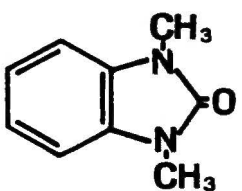
W tym rozdziale przedmiotem badań będą benzimidazon i 1-metylobenzimidazon, które wykazują tautomerię typu keton \rightleftharpoons enol.

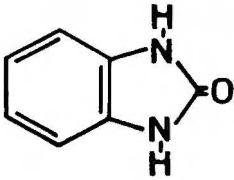
Trzeci, interesujący pod względem równowagi tautomerycznej związek, 2-metoksybenzimidazol będzie omówiony w rozdziale VI.8 z uwagi na inny charakter badań (badania dynamiczne).


Podstawą analizy położenia równowag tworzonych przez benzimidazon i jego 1-metylową pochodną były przesunięcia chemiczne ^{13}C badanych mieszanin tautomerycznych oraz odpowiednich związków modelowych. Wartości tych przesunięć w trzech badanych roztworach podaje Tabela VI.17.

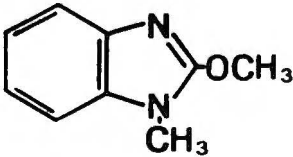
Tabela VI.17.

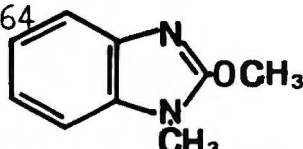
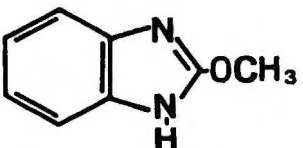
Przesunięcia chemiczne benzimidazolonu i pochodnych. (^{13}C)

Związek	Atom	Rozpuszczalnik		
		DMSO	MeOH	TFE
	C-2	154,0	156,1	157,3
	C-4,7	107,6	108,8	109,8
	C-5,6	120,9	122,6	123,7
	C-8,9	129,8	131,0	131,3
	CH ₃	26,8	27,4	27,8

62		C-2	155,2	158,0	158,9
		C-4,7	108,5	110,4	111,8
		C-5,6	120,3	122,5	124,2
		C-8,9	129,7	130,8	130,6

63		C-2	154,7	157,0	157,9
		C-4	108,7	110,3	111,6
		C-5	120,6	122,5	123,7
		C-6	120,9	122,7	124,0
		C-7	107,6	108,9	110,0
		C-8	131,2	132,3	132,4
		C-9	128,4	129,5	129,2
		CH ₃	26,4	27,0	27,4

64		C-2	157,9	159,3	160,1
		C-4	117,1	117,8	117,9
		C-5	120,6	122,4	123,3
		C-6	121,1	122,7	123,5
		C-7	108,7	109,5	110,1
		C-8	134,6	135,4	135,6
		C-9	139,8	140,4	140,3

 64	O-CH ₃	57,0	57,9	58,5
	N-CH ₃	27,8	28,2	28,4
65	C-2	158,9	160,6	161,0
	C-4,7	113,3	114,3	114,8
	C-5,6	120,6	122,4	123,5
	C-8,9	138,0	137,5	137,5
	CH ₃	56,5	57,5	58,3

Wszystkie prezentowane widma otrzymano w temperaturze 30°C. Wyjątkiem jest jedynie 2-metoksybenzimidazol, którego widmo otrzymano w temperaturze 35°C gdyż dopiero w tej temperaturze mamy widmo dynamicznie uśrednione o ostrych sygnałach.

Przypisanie sygnałów w widmach przeprowadzono na podstawie analizy wszystkich widm oraz pewnych danych literaturowych.

Najbardziej odsłanianym atomem we wszystkich badanych związkach jest atom C-2 i dlatego przypisano mu sygnały leżące przy najsłabszym polu, w obszarze charakterystycznym dla atomów karbonylowych i enolowych.

Następnie atomom mostkowym C-8 i C-9 przypisano sygnały o najmniejszych względnych intensywnościach.

Rozróżnienie sygnałów C-4 i C-5 w symetrycznych związkach 61 i 62 przeprowadzono na podstawie cytowanego w literaturze widma pochodnej 61 w CDCl₃¹⁰² i stąd otrzymano sygnały C-4 przy silniejszym polu.

Widma 63 można łatwo zinterpretować przez porównanie ich z widmami związków 61 i 62.

W ten sam sposób przypisano sygnały w widmach związku 64.

Rozróżnienie sygnałów C-4 i C-7 oraz C-8 i C-9 wykonano na podstawie silniejszego efektu odsłaniającego atomu azotu pirydynowego na atomy węgla w omawianych pozycjach w porównaniu z wpływem atomu pirolowego. W pozycjach 5 i 6 obserwujemy słaby efekt przeciwny. Oba omawiane wpływy atomów azotu można wywnioskować z porównania widm związków 61 lub 62 z widmami związku 65.

Rozróżnienie grup metylowych w związku 64 wynika bezpośrednio z porównania położenia sygnałów CH_3 w widmach związków 61 i 65.

W celu wyboru atomów węgla, których przesunięcia chemiczne pozwalają przeprowadzić obliczenia składu mieszaniny tautomerycznej wyznaczono różnice między wartościami δ poszczególnych atomów węgla w związkach modelowych 61 i 64.

Parametr ten $\Delta_{\text{mod}} = \delta_{64} - \delta_{61}$ (δ_{64} i δ_{61} są to przesunięcia chemiczne odpowiednich atomów węgla w związkach modelowych 64 i 61) określa nam przydatność przesunięć chemicznych danego atomu do obliczeń ilościowych. Najbardziej przydatne są te atomy, których Δ_{mod} jest największa.

W roztworze DMSO Δ_{mod} przyjmuje wartości od około 10 ppm (C-4 i C-9) poprzez około 4 ppm (C-2 i C-8) do 0,1 ppm (C-6). Z wielkości tych wynika, że do obliczeń praktycznie można użyć jedynie przesunięć chemicznych atomów C-2, C-4, C-8 i C-9. W pozostałych przypadkach obliczenia takie nie mają sensu z powodu niskiej czułości przesunięć chemicznych tych atomów na zmiany składu mieszanin tautomerycznych.

W omawianych związkach tzn. 62 i 63 również przesunięcia chemiczne atomów C-9 nie nadają się do przeprowadzenia obliczeń ze względu na położenie sygnału mieszaniny tautomerycznej

poza przedziałem wyznaczonym przez związki modelowe.

Do obliczania składu mieszanin równowagowych zastosowano w przypadku 1-metylobenzimidazolonu równanie III.6 oraz dla benzimidazolonu (trzy izomery tautomeryczne obecne w mieszaninie) równanie z pracy⁵².

Efekty metylowania pominięto podobnie jak w przypadku pochodnych 3-hydroksyindazolu z powodów omówionych już poprzednio. Błąd jakim obarczone są wyniki tego typu obliczeń jest równy $\pm 10\%$, to znaczy tyle samo co w poprzednio omawianych równowagach ocenianych na podstawie pomiarów ^{13}C NMR.

W wyniku przeprowadzonych obliczeń otrzymano następujące zawartości izomerów C=O w badanych mieszaninach równowagowych:

Tabela VI.18.

Zawartość izomeru C=O (%) w benzimidazolonie.

Rozpuszczalnik	Podstawa obliczeń			Wartość średnia ^a	^{15}N NMR
	C-2	C-4	C-8		
DMSO	69	83	100	79	77
MeOH	41	67	100	61	79
TFE	43	52	100	50	68

a- średnia ważona przez błędy oznaczeń na poszczególnych atomach węgla.

Tabela VI.19.

Zawartość izomeru C=O w 1-metylobenzimidazolonie (%).

Rozpuszczalnik	Podstawa obliczeń				Wartość średnia ^a	¹⁵ N NMR
	C-2	C-4	C-8	C-9		
DMSO	82	88	71	100	80	91
MeOH	72	83	70	100	72	91
TFE	79	78	74	100	76	92

a- średnia ważona przez błędy oznaczeń na poszczególnych atomach.

W ostatnich kolumnach Tabel VI.18 i VI.19 podano wyniki otrzymane na podstawie pomiarów ¹⁵N NMR w celu porównania obu metod.

100% zawartości izomeru C=O oznacza położenie sygnału mieszaniny tautomerycznej poza przedziałem wyznaczonym przez związki modelowe.

Uwzględniając fakt większego błędu występującego w przypadku pomiarów węglowych można stwierdzić dobrą zgodność wyników otrzymanych obydwiema metodami.

W przypadku benzimidazolonu obserwujemy taką samą tendencję zmian składu mieszaniny równowagowej ze zmianami rozpuszczalników tzn. faworyzowanie bardziej polarnej struktury C-OH w rozpuszczalnikach o charakterze kwaśnym.

Można również stwierdzić nieczułość położenia równowagi tautomerycznej 1-metylobenzimidazolonu na zmiany rozpuszczalnika.

Jedynym istotnym elementem różniącym wyniki uzyskane obiema metodami są wyższe zawartości izomeru C-OH obliczone na podstawie widm ^{13}C NMR we wszystkich badanych mieszaninach tautomerycznych. Związane jest to prawdopodobnie z relatywnie większym błędem spowodowanym pominięciem w obliczeniach efektów metylowania, które w przypadku widm węglowych są większe niż analogiczne błędy w metodzie ^{15}N NMR.

Mimo tego wyniki te w granicach popełnianego błędu wykazują dobrą zgodność.

VI.8. Badania kinetyki procesów tautomerii metodami

^{14}N , ^{15}N i ^{13}C NMR.

Poza możliwością określenia położenia równowagi tautomerycznej, widma ^{15}N NMR dostarczają często cennych danych dotyczących kinetyki badanych procesów.

W przypadku równowag o szybkościach mieszczących się w odpowiednich skalach czasu NMR efekty kinetyczne uwidaczniają się w postaci poszerzeń sygnałów atomów azotu biorących udział w wymianie.

Tego typu poszerzenia występują w większości omawianych układów tautomerycznych. Niestety nie dla wszystkich takich układów możliwe było przeprowadzenie obliczeń kinetycznych; mianowicie, w przypadku widm o wysokim poziomie szumów nie można było wyznaczyć poszerzeń sygnałów z dostateczną dokładnością.

Na podstawie dających się oznaczyć poszerzeń przeprowadzono obliczenia stałych szybkości wymiany k_{AB} (dla przejścia formy A w formę B) oraz energii swobodnej aktywacji ΔG^\ddagger . Podstawą obliczeń stałej k_{AB} było równanie¹⁰¹:

$$k_{AB} = \frac{4\pi x_A x_B^2 \nu_0^2}{\Delta_a} \quad (\text{VI.1})$$

w którym x_A i x_B są to ułamki molowe izomerów tautomerycznych obecnych w mieszaninie, ν_0 oznacza różnicę stałych ekranowania izomerów tautomerycznych (Hz), (wielkość ta jest aproksymowana na podstawie odpowiednich widm związków modelowych) a Δ_a jest poszerzeniem sygnału spowodowanym wymianą (jest to różnica między rzeczywistą szerokością połówkową sygnału a szerokością sygnału standardu).

Równanie VI.1 stosuje się do przypadku szybkiej wymiany, tzn. gdy w odpowiednim widmie obserwuje się tylko poszerzone, uśrednione sygnały.

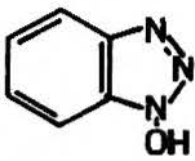
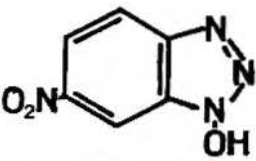
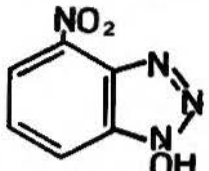
Wartości energii swobodnej aktywacji obliczono na podstawie równania Eyringa¹⁰¹:

$$\Delta G_T^\ddagger = 8,31 T (23,76 - \ln k_{AB}/T) \quad (\text{J/mol}) \quad (\text{VI.2})$$

Wyniki obliczeń zamieszczono w Tabeli VI.20.

Tabela VI.20.

Wartości stałych k_{AB} i ΔG_{303}^\ddagger badanych pochodnych benzoazoli.

Związek	Rozpuszczalnik	SF ^a (MHz)	Δ_a (Hz)	k_{AB} (1/s)	ΔG_{303}^\ddagger (kcal/mol)	pK _a
	DMSO	18,25	25,6	13700	12,0	31,3
	Aceton	18,25	19	62300	11,1	20,3
	HCONH ₂	9,12	7,6	83500	10,9	16,7
	MeOH	18,25	25	180900	10,5	16,6
	TFE	30,4	30	367000	10,0	12,5
	DMSO	18,25	6	40000	11,4	
	DMSO+TFE	40,55	18	65000	11,37	
	DMSO	18,25	25	86000	10,9	
	DMSO+TFE	40,55	10	84000	10,92	

a- częstotliwość rezonansowa spektrometru.

Poza wymienionymi w Tabeli VI.20 związkami efekty dynamiczne zaobserwowano również w widmach benzotriazolu i 3-hydroksyindazolu. W przypadku benzotriazolu poszerzone są sygnały atomów N-1, N-3. W DMSO $\Delta_a = 28$ Hz przy SF = 18,25 MHz i w MeOH $\Delta_a = 12,5$ Hz przy tej samej częstotliwości rezonansowej spektrometru.

Ponieważ w mieszaninie tautomerycznej benzotriazolu występują trzy izomery, na podstawie równania (VI.1) nie można obliczyć stałych szybkości wymiany. Jedynie z porównania poszerzeń można przypuszczać, że wymiana w MeOH jest znacznie szybsza niż w DMSO. Taki sam efekt występuje również dla 1-hydroksybenzotriazolu (patrz Tabela VI.20).

W przypadku 3-hydroksyindazolu z powodu wysokiego poziomu szumów nie można oznaczyć szerokości połówkowej sygnałów na tyle rzetelnie aby przeprowadzić obliczenia. Można jedynie stwierdzić, że w DMSO sygnał atomu N-2 jest wyraźnie poszerzony, podczas gdy dla roztworu w MeOH sygnał ten jest ostry. Wynika stąd, że również w tym przypadku w roztworze MeOH wymiana jest szybsza niż w DMSO.

Analizując zaprezentowane dotychczas dane dotyczące szybkości wymiany tautomerycznej można stwierdzić dość wyraźną zależność tej szybkości od użytego rozpuszczalnika.

Przy czym w prawie wszystkich omawianych układach szybkość wymiany protonu rośnie wraz z kwasowością rozpuszczalnika. Wyjątkiem jest jedynie 1-hydroksy-4-nitrobenzotriazol, w którym efektu takiego nie zaobserwowano (Tabela VI.20).

Można zatem sądzić, że we wszystkich przypadkach gdzie omówiona zależność została stwierdzona mamy do czynienia

z pewnego rodzaju katalizą kwasową.

W przypadku 1-hydroksy-4-nitrobenzotriazolu mechanizm przeniesienia protonu jest najwidoczniej inny niż w pozostałych omawianych przypadkach. Fakt ten może być wyjaśniony tym, że w omawianym związku występuje wewnątrzcząsteczkowe wiązania wodorowe, podczas gdy w pozostałych związkach element ten nie występuje.

Osobnego potraktowania pod kątem badań dynamicznych wymaga benzimidazol. Związek ten tworzy układ dwóch równocennych chemicznie izomerów tautomerycznych pozostających w równowadze dynamicznej. W związku z tą równocnością stała równowagi tautomerycznej jest oczywiście równa jedności.

Wykonano trzy widma azotowe tego związku, wszystkie w temperaturze 30°C, przy trzech różnych częstotliwościach rezonansowych spektrometru (SF).

Dzięki temu można było obserwować tę samą wymianę (jednakowa temperatura) w trzech różnych skalach czasu NMR.

Widmo ^{14}N NMR wykonane przy częstotliwości rezonansowej równej 4,334 MHz zawiera jeden uśredniony sygnał obu atomów azotu o $\delta = 190,3 \pm 0,8$ ppm.

Widmo ^{15}N NMR przy SF = 18,25 MHz pomimo długotrwałego sumowania nie pozwala zaobserwować żadnego sygnału.

Trzecie widmo, również ^{14}N NMR przy SF = 28,92 MHz zawiera dwa sygnały, jeden stosunkowo ostry, o $\delta = 229 \pm 10$ ppm, a drugi bardzo szeroki, o trudnym do określenia położeniu. Można jedynie stwierdzić, że ten ostatni sygnał znajduje się w okolicach 100 ppm.

Zatem w zależności od częstotliwości użytego spektrometru mamy w tych trzech widmach przejście od wymiany

szybkiej (widmo uśrednione) poprzez widmo koalescencji (niemożliwość wyodrębnienia tak szerokiego sygnału z szumów) do wymiany powolnej (dwa sygnały).

Przy założeniu, że widmo ^{15}N NMR przy $SF = 18,25$ MHz jest widmem koalescencji obliczono wartość stałej szybkości i energię aktywacji. Stosując równanie¹⁰¹:

$$k_{\text{koal}} = \pi \nu_0 / \sqrt{2} \quad (\text{VI.3})$$

otrzymano $k_{\text{koal}} = 4058$ 1/s oraz $\Delta G_{303}^{\ddagger} = 12,75$ kcal/mol.

Wartość ν_0 aproksymowano na podstawie odpowiednich danych z widma związku modelowego, 1-metylobenzimidazolu

($\delta_{\text{N-1}} = 236,4$ i $\delta_{\text{N-3}} = 136,3$ ppm).

Kinetykę wymiany protonu w 2-metoksybenzimidazolu prześledzono za pomocą spektroskopii ^{13}C NMR. Wykonano trzy widma tego związku w roztworze DMSO w temperaturach 25° , 30° i 35°C .

W temperaturze 35°C mamy typowe widmo uśrednione składające się z pięciu sygnałów, z których dwa przy $\delta = 137,0$ (C-8 i C-9) i przy $\delta = 113,9$ ppm (C-4 i C-7) są poszerzone w stosunku do standardu o $\Delta_a = 13$ Hz.

Obniżenie temperatury do 30°C powoduje dalsze bardzo znaczne poszerzenie tych sygnałów i osiągają one $\Delta_a = 100$ Hz (C-4, C-7) oraz $\Delta_a = 109$ Hz (C-8, C-9).

W wyniku dalszego obniżenia temperatury do 25°C zamiast sygnału $\delta = 113,9$ ppm pojawiają się dwa: przy $\delta = 116,75$ (C-4) i przy $\delta = 109,77$ ppm (C-7) o szerokościach połówkowych

$\Delta_a = 18,5$ Hz, oraz w miejsce sygnału $\delta = 137,0$ ppm mamy dwa sygnały o $\delta = 140,96$ (C-9) i $\delta = 132,96$ ppm (C-8), również o szerokościach połówkowych $\Delta_a = 18,5$ Hz.

Jest to zatem widmo wymiany powolnej.

Na podstawie tych danych obliczono parametry kinetyczne procesów przeniesienia protonu w 2-metoksybenzimidazolu. Wyniki zamieszczono w Tabeli VI.21,

Tabela VI.21.

Stałe szybkości wymiany i energie swobodne aktywacji 2-metoksybenzimidazolu.

Podstawa obliczeń	Temperatura (°C)	k_{AB} (1/s)	ΔG_T^\ddagger (kcal/mol)
C-4, C-7, C-8, C-9	25 ^a	55	15,08
C-4, C-7	30	395	14,15
C-8, C-9	30	475	14,04
C-8, C-9	35	4280	12,94

a- dla wymiany powolnej $k_{AB} = \pi \Delta_a$

Następnie metodą najmniejszych kwadratów wyznaczono, z zależności $\Delta G_T^\ddagger = f(T)$, entropię aktywacji procesu wymiany $t_{\text{automerycznej}}$. Otrzymano $\Delta S^\ddagger = 213 \pm 17 \text{ cal/mol K} = 890 \pm 71 \text{ J/mol K}$.

Wysoka wartość entropii aktywacji pozwala sądzić, że wymiana protonu w 2-metoksybenzimidazolu jest procesem wielocząsteczkowym, w który zaangażowane są cząsteczki rozpuszczalnika. Gdyby proces ten był typowym procesem wewnątrzcząsteczkowym, wartość ΔS^\ddagger powinna być rzędu najwyżej kilkudziesięciu J/mol K¹⁰¹.

Jak wiadomo, błędy parametrów aktywacji obliczone w metodzie najmniejszych kwadratów nie uwzględniają możliwych

błędów popełnianych przy pomiarze temperatury. Przy tak wąskim zakresie temperatur, (około 10°C) jak w badanym przypadku, błąd pomiaru temperatury ma jednak zasadnicze znaczenie dla wiarygodności wyznaczonych parametrów aktywacji. Ponieważ wielkość tego błędu jest trudna do oszacowania, przytoczona wartość entropii aktywacji jest najprawdopodobniej obciążona znacznie większym błędem niż ± 71 J/ mol K.

Tym niemniej, fakt iż zakres temperatur odpowiadający zmianom dynamicznym badanego widma jest tak wąski, sugeruje, że wartość entropii aktywacji jest znacznie różna od zera, a więc powyższe wnioski co do mechanizmu przeniesienia protonu wydają się być dobrze uzasadnione.

Stwierdzenie o wielocząsteczkowym mechanizmie równowagi tautomerycznej znajduje potwierdzenie również w analizie danych z Tabeli VI.20. Można tam zaobserwować dość wyraźny wpływ użytego rozpuszczalnika na szybkość wymiany protonu, co świadczy o udziale cząsteczek rozpuszczalnika w wymianie.

Wniosek ten potwierdzają również widma ^{13}C NMR 2-metoksybenzimidazolu w metanolu i w TFE.

W roztworze metanolu uśredniony sygnał atomów C-4 i C-7 ma szerokość połówkową $\Delta_{\text{a}} = 27$ Hz (sygnał atomów C-8, C-9 z powodu małej intensywności uniemożliwia analogiczny pomiar) co odpowiada stałej $k_{\text{AB}} = 1500$ 1/s i $\Delta G^{\ddagger} = 13,3$ kcal/mol. W TFE natomiast wszystkie sygnały są ostre.

Podsumowując te rozważania można stwierdzić, że mimo iż badania kinetyczne nie były podstawowym celem tej pracy otrzymane wyniki o charakterze szacunkowym pozwalają uznać metody rezonansowe ^{15}N i ^{13}C NMR za bardzo wygodne w rozwiązywaniu tego typu problemów.

Dotychczas rezonans azotowy był stosowany jedynie sporadycznie do tego typu badań z powodu pewnych niedogodności eksperymentalnych (czasochłonność pomiarów). Ale można mieć nadzieję, że wraz z rozwojem tej techniki stanie się ona cennym uzupełnieniem innych obecnie szeroko stosowanych w takich badaniach metod takich jak: ^1H czy ^{13}C NMR.

VII. PODSUMOWANIE I WNIOSKI.

Jak wynika z danych literaturowych, w chwili obecnej nie dysponujemy uniwersalną metodą analizy ilościowej zjawiska tautomerii. Większość ze znanych metod pozwala jedynie jakościowo oszacować położenie równowagi, natomiast nieliczne techniki ilościowe dają wyniki tylko w ograniczonym zakresie i często o problematycznej wiarygodności.

Podstawowym celem tej pracy było stwierdzenie, czy jądrowy rezonans magnetyczny azotu, głównie izotopu ^{15}N jest tą poszukiwaną metodą pozwalającą na precyzyjne oznaczenia ilościowe.

Wybór ^{15}N NMR jako przedmiotu badań wiąże się z faktem, że wiele układów tautomerycznych o dużym znaczeniu w biochemii i naukach pokrewnych zawiera atomy azotu znajdujące się w centrum tautomerii, tzn. są bezpośrednio zaangażowane w wymianę protonu. Stąd też pojawiła się sugestia, że może to być metoda uniwersalna spełniająca stawiane wymagania.

Dotychczas wypróbowano rezonans azotowy na układach sześcioczłonowych, tworzących równowagi mocno przesunięte w kierunku dominującego izomeru i uzyskano bardzo obiecujące rezultaty.

W niniejszej pracy przetestowano ^{15}N NMR na kilku benzoazolach, tak niepodstawionych, jak i zawierających podstawniki potencjalnie hydroksylowe, gdzie występują bardziej skomplikowane równowagi tautomeryczne.

Wybór tej a nie innej klasy związków podyktowany był dwoma względami.

Pierwszym z nich jest brak w literaturze chemicznej charakterystyki spektralnej ^{15}N NMR tej grupy związków,

szczególnie widoczny na tle dobrze zbadanych związków sześciocłonowych. Pod tym względem praca ta, przynajmniej częściowo wypełnia tę lukę.

Drugą przyczyną takiego wyboru jest szerokie zastosowanie związków pochodnych benzimidazolu i indazolu, jako składników emulsji fotograficznych. Lepsza znajomość położenia równowagi tautomerycznej tych układów, jak również znajomość zależności jej od czynników środowiskowych może przyczynić się do dokładniejszego poznania procesów zachodzących podczas fotografowania i w efekcie poprawić jakość stosowanych materiałów fotograficznych.

Badane związki, dla których otrzymano w większości przypadków pozytywne wyniki oznaczeń wykazują różne typy równowag tautomerycznych, związanych z różnymi grupami funkcyjnymi obecnymi w cząsteczkach. Jednak wspólnym elementem wiążącym te układy jest obecność w każdej cząsteczce takiego atomu azotu, który ulega zmianie typu z pirydynowego na pirolowy podczas wymiany protonu.

I ten właśnie atom okazał się najlepszym wskaźnikiem położenia równowagi tautomerycznej. Wynika to z tego, że stałe ekranowania tego atomu wykazują największą amplitudę zmian przy przejściu od jednej do drugiej struktury tautomerycznej.

Pozostałe atomy ulegają innym procesom i nie wykazują tak dobrej przydatności albo są całkowicie nieprzydatne (jak na przykład atom N-tlenkowy) do wyznaczania położenia równowagi tautomerycznej.

Tak więc, na podstawie tych wszystkich układów, gdzie uzyskano pozytywne, o dużej dokładności wyniki można stwierdzić, że dla równowag tautomerycznych typu azot pirydynowy-azot pirolowy, ^{15}N NMR jest najlepszą metodą badawczą,

i to metodą dającą rezultaty ilościowe.

W celu porównania z rezonansem azotowym, przeprowadzono oznaczenia metodą ^{13}C NMR tych związków, które zawierają grupę karbonylową bezpośrednio zaangażowaną w wymianę tautomeryczną (3-hydroksyindazol i dwa benzimidazolony).

Uzyskane rezultaty mają charakter jakościowy, wskazujący jedynie główne tendencje zmian zachodzących w układach. Wyniki oznaczeń stałych równowagi tautomerycznej otrzymane tą drogą obarczone są błędem $\pm 10\%$, czyli dwu a czasem nawet trzykrotnie większym niż w ^{15}N NMR. Dyskwalifikuje to rezonans węglowy jako precyzyjną metodę ilościową.

Nie można jednak wykluczyć, że w przypadku równowagi tautomerycznej zachodzącej bezpośrednio na atomie węgla (np. 1-hydroksyindol), ^{13}C NMR okaże się metodą znacznie dokładniejszą.

Innym bardzo istotnym aspektem prezentowanej pracy jest zbadanie szeregu równowag tautomerycznych pod kątem zależności położenia tych równowag od użytego rozpuszczalnika. Stwierdzono, że tlenowe pochodne benzoazoli tworzą równowagi, których położenie silnie zależy od właściwości fizykochemicznych rozpuszczalnika, przy czym roztwory o silniejszych właściwościach kwasowych (niskie pK_a i wysokie AN) preferują bardziej polarne struktury.

Niepodstawione benzoazole tworzą natomiast równowagi praktycznie nieczułe na zmiany rozpuszczalnika.

Na podstawie zaobserwowanych faktów można wyciągnąć wniosek, że czynnikiem stabilizującym izomery tautomeryczne są wiązania wodorowe. Dlatego też struktury podatne na tworzenie takich wiązań przeważają w rozpuszczalnikach będących dobrymi donorami wiązań wodorowych (wysokie wartości AN).

Mechanizm ten nie występuje w niepodstawionych benzoazolach gdyż w tym przypadku wszystkie izomery tautomeryczne mają podobną podatność na tworzenie wiązań wodorowych.

Niejako na marginesie oznaczeń stałych równowag tautomerycznych powiodło się uzyskanie wielu cennych danych dotyczących kinetyki badanego procesu.

Na podstawie analizy kształtu sygnałów rezonansowych wyznaczono stałe szybkości wymiany protonu oraz energie swobodne aktywacji.

W większości badanych układów tautomerycznych stwierdzono wyraźną zależność szybkości wymiany protonu od rozpuszczalnika. Rozpuszczalniki o niższych wartościach pK_a (wyższa kwasowość) powodują przyspieszenie procesu.

Można na podstawie tego sądzić, że równowaga tautomeryczna jest katalizowana przez kwasy, a tym samym potwierdza to koncepcję wielocząsteczkowego mechanizmu wymiany protonu.

Fakt ten najwyraźniej widać w przypadku 2-metoksybenzimidazolu, dla którego oznaczono metodą ^{13}C NMR wartość entropii aktywacji. Wysoka wartość ΔS^\ddagger wyklucza wewnątrzcząsteczkowy przebieg wymiany protonu.

Omawiając zalety jądrowego rezonansu magnetycznego azotu w poznawaniu zjawiska tautomerii należy również zwrócić uwagę na pewne niedogodności związane ze stosowaniem tej metody. W większości wynikają one z niskiej zawartości naturalnej izotopu ^{15}N . Konsekwencją tego jest czasochłonność eksperymentów i stosunkowo niewielki, w porównaniu z innymi metodami rezonansowymi, stosunek natężenia sygnału do szumu. Jest to szczególnie kłopotliwe w przypadku sygnałów poszerzonych w skutek wymiany.

Innym elementem utrudniającym zastosowanie ^{15}N NMR w szerokiej praktyce chemicznej jest ujemna wartość stosunku żyromagnetycznego tego jądra. Wynika z tego, że współczynnik wzmocnienia sygnału związany z efektem Overhausera może przyjmować wartości od -3,93 do +1 z zerem włącznie. W skutek czego, dla wartości tego współczynnika bliskich zera następuje zanik sygnału w widmie.

Z takim zjawiskiem mamy do czynienia najprawdopodobniej w przypadku 2-fenylo-1-hydroksybenzimidazolu, w którego widmie w MeOH i w TFE brak najbardziej interesującego sygnału atomu N-3.

Poza wymienionymi niedogodnościami metody ^{15}N NMR należy zwrócić uwagę na jeszcze jeden, a mianowicie dość długie czasy relaksacji jąder ^{15}N . W związku z tym, aby uniknąć przesylenia układu spinowego konieczne jest stosowanie długiej przerwy relaksacyjnej, co w efekcie dodatkowo wydłuża czas pomiarów.

Innym sposobem likwidowania tej niedogodności jest dodawanie paramagnetycznych związków, jak np. $\text{Cr}(\text{acac})_3$, które przyspieszają relaksację nie powodując istotnych błędów w wynikach.

Tak więc podsumowując wszystkie wady i zalety metody ^{15}N NMR należy stwierdzić, że nawet na obecnym poziomie rozwoju jest to najlepszy sposób badania problemów związanych z tautomerią.

Należy mieć również nadzieję, że w miarę rozwoju nowych technik impulsowych, takich jak INEPT czy DEPT metoda ta będzie sprawiała coraz mniej trudności przy zachowaniu swych bezspornych zalet.

VIII. LITERATURA.

1. A.R.Katritzky i J.M.Lagowski, "Advances in Heterocyclic Chemistry," Academic Press, New York and London, 1963.
2. L.Skulski, "Badanie struktury oraz widm absorpcji i tautomerii pewnych monoamidów i ich winylogów", Politechnika Warszawska, Zeszyty Naukowe Nr 140, Chemia, Zeszyt 5, Wydawnictwa Politechniki Warszawskiej, Warszawa, 1966.
3. G.T.Morgan i L.P.Walls, J.Chem.Soc., 2225 (1932).
4. S.J.Angyal i C.L.Angyal, J.Chem.Soc., 1461 (1952).
5. E.A.Steck i G.W.Ewing, J.Am.Chem.Soc., 70, 3397 (1948).
6. A.R.Katritzky i J.M.Lagowski, "Heterocyclic Chemistry", Methnen, London, 1960.
7. F.Arndt, Angew.Chem., 61, 397 (1949).
8. R.Gompper, Ber., 93, 187 (1960).
9. A.Albert i J.N.Phillips, J.Chem.Soc., 1294 (1956).
10. S.F.Mason, J.Chem.Soc., 674 (1958).
11. F.T.Boyle i A.Y.Jones, J.Chem.Soc., Per.Trans.II, 160 (1973).
12. A.Albert i E.P.Serjeant, "The Determination of Ionisation Constants", Chapman and Hall Ltd., London, 1971.
13. P.Manret, J.P.Fayet i M.Fabre, Bull.Soc.Chim.France, 7-8, 1675 (1975).
14. A.Escande, J.Lapasset, R.Faure, E.J.Vincent i J.Elguero, Tetrahedron, 30, 2903 (1974).
15. C.W.N.Cumper i G.D.Pickering, J.Chem.Soc, Per.Trans.II, 2045 (1972).
16. J.L.Aubagnac, R.Jacquier i M.J.Ramos, Bull.Soc.Chim. France, 12, 3049 (1974).
17. J.M.Desmarchelier i R.B.Johns, Org.Mass Spectrometry, 2, 37 (1969).

18. M.L.Thomson i D.C.Dejengh, *Can.J.Chem.*, 51,3313 (1973).
19. J.Klicnar, B.Olbrachtová-Nyklová, J.Šlosar, P.Šlosar i M.Večeřa, *Coll.Czech.Chem.Comm.*, 42,327 (1977).
20. J.Schmutz, F.Hunziker i W.Michaelis, *Helv.Chim.Acta*, 47,1986 (1964).
21. R.Janssen, "Advances in Molecular Spectroscopy", p.820, Pergamon Press, Oxford (1962).
22. D.B.O'Sullivan, *J.Chem.Soc.*, 3278 (1960).
23. E.Spinner i G.B.Yeogh, *J.Chem.Soc.*, (B), 279 (1971).
24. A.K.Macbeth i J.R.Price, *J.Chem.Soc.*, 111 (1936).
25. S.Takahashi i H.Kanō, *Chem.Pharm.Bull.*, 11,1375 (1963).
26. C.Krebs, W.Forster i C.Weiss, *J.prakt.Chem.*, 324,369 (1982).
27. R.Daudel, "Quantum Theory of Chemical Reactivity", D.Reidel, Dorchecht, 1979.
28. F.Birnstock, H-J.Hofmann i H-J.Kohler, *Teoret.Chim.Acta*, 42,311 (1976).
29. G.Klopman, *Chem.Phys.Lett.*, 1,200 (1967).
30. J.G.Kirkwood, *J.Chem.Phys.*, 2,351 (1934).
31. F.H.Westheimer, J.G.Kirkwood, *J.Chem.Phys.*, 6,513 (1938).
32. M.Mousseron-Canet i J.P.Boca, *C.R.Acad.Sci.*, 260,2851 (1965).
33. M.Mousseron-Canet i J.P.Boca, *Bull.Soc.Chim.France*, 1296 (1967).
34. L.N.Kitko, J.J.Kurkowskaja i N.N.Szapietko, *Zh.Org.Khim.*, 9(4),821 (1973).
35. A.W.K.Chan, W.P.Crow i J.Gosney, *Tetrahedron* 26,2497 (1970).
36. E.A.Fruchier, E.Alcade i J.Elguero, *Org.Mag.Reson.*, 9,235 (1977).

37. C.Rüchardt i V.Hassmann, Liebigs Ann.Chem. 1980,908 (1980).
38. J.Elguero, G.Llonquet i C.Marzin, Tetrahedron Lett., 46,4085 (1975).
39. E.Alcalde, R.M.Claramunt, Tetrahedron Lett., 18,1523 (1975).
40. J.Elguero, C.Marzin i J.D.Roberts, J.Org.Chem., 39,357 (1974).
41. G.M.Coppola, A.D.Kahne i M.J.Shapiro, Org.Mag.Reson., 17,242 (1981).
42. L.Stefaniak, Tetrahedron, 32,1065 (1976).
43. P.Bouchet, A.Fruchnier, G.Joucheray i J.Elguero, Org.Mag.Reson., 9,716 (1977).
44. A.Fruchier, J.Elguero, A.E.Hegarty i D.G.McCarty, Org.Mag.Reson., 13,339 (1980).
45. S.Tobias i H.Günter, Tetrahedron Lett., 23(46),4785 (1982).
46. M.Begtrup, J.Chem.Soc.Chem.Comm., 17,702 (1974).
47. J.H.Billman, S.A.Sojka, P.R.Taylor, J.Chem.Soc. Per.Trans.II, 2034 (1972).
48. A.N.Nesmeyanov, E.B.Zavelovich, V.N.Babin i N.S.Kochetkova, Tetrahedron, 31,1461 (1975).
49. V.A.Lopyriev, L.I.Larina i T.I.Vakulskaya, Org.Mag.Reson., 15,219 (1981).
50. E.P.Papadopoulos i U.Hollstein, Org.Mag.Reson., 19,188 (1982).
51. J.Elguero, A.Fruchier i V.Pellegrin, J.Chem.Soc.Chem. Comm., 23,1207 (1981).
52. M.Witanowski i G.A.Jebb, "Nitrogen NMR", Plenum Press, London, 1973.

53. M.Witanowski, L.Stefaniak i G.A.Webb, w "Annual Reports on NMR Spectroscopy", t.7, Academic Press, London 1977.
54. M.Witanowski, L.Stefaniak i G.A.Webb, "Annual Reports on NMR Spectroscopy", t.11B, Academic Press, London 1981.
55. M.Witanowski, L.Stefaniak, H.Januszewski i J.Elguero, J.Chim.Phys.Physicochim.Biol., 70,697 (1973).
56. M.Witanowski, L.Stefaniak, S.Biernat i G.A.Webb, Org.Mag.Reson., 14,356 (1980).
57. L.Stefaniak, M.Witanowski i G.A.Webb, Bull.Pol.Ac.:Chem., 30,1 (1983).
58. A.Fruchier, V.Pellegrin, R.Schimpf i J.Elguero, Org.Mag.Reson., 18,10 (1982).
59. L.Stefaniak, Org.Mag.Reson., 11,385 (1978).
60. D.S.Wofford, D.M.Forkey i J.G.Russell, J.Org.Chem., 47,5132 (1982).
61. W.Kornacki, L.Stefaniak i M.Witanowski, Bull.Pol.Ac.: Chem., 30,7 (1982).
62. H.Fritz, H.Kristinsson i T.Winkler, Helv.Chim.Acta, 66,1755 (1983).
63. R.Buchman i R.A.Komoroski, J.Heterocycl.Chem., 17,1089 (1980).
64. A.Lyčka, D.Šnobl i V.Machaček, Org.Mag.Reson., 16,17 (1981).
65. A.Lyčka, Coll.Czech.Chem.Comm., 48,3104 (1983).
66. G.Tóth, A.Szöllösy, A.Almasy, B.Podáyi, I.Hermecz, T.Braining i Z.Mészáros, Org.Mag.Reson., 21,687 (1983).
67. M.Munowitz, W.W.Bachovchin, J.Herzfeld, C.M.Dobson i R.G.Griffin, J.Am.Chem.Soc., 104,1192 (1982).
68. J.D.Roberts, Chun Yu, C.Flanagan i T.R.Birdseye, J.Am.Chem.Soc., 104,3945 (1982).
69. S.O.Chua, M.J.Cook i A.R.Katritzky, J.Chem.Soc.(B), <http://rcin.org.pl>

- 2350 (1971).
70. L.C.Efros, A.W.Elcov, Zh.Obs.Khim., 27,684 (1957).
71. E.Bojarska-Olejnik, L.Stefaniak, M.Witanowski i G.A.Webb, Org.Mag.Reson., w druku.
72. E.Bojarska-Olejnik, dane niepublikowane.
73. J.Elguero, R.Jacquier i G.Tarrago, Bull.Soc.Chim.France, 3772 (1967).
74. J.Elguero, R.Jacquier i G.Tarrago, Bull.Soc.Chim.France, 3780 (1967).
75. A.Maquestian, Y.van Haverbeke i R.Jaquerye, Bull.Soc. Chim.Belg., 82,215 (1973).
76. D.F.O'Brien i J.W.Gates, J.Org.Chem., 31,1538 (1966).
77. H.Dorn, J.prakt.Chem., 315,382 (1973).
78. T.Zinke i W.Schwarz, Liebigs Ann.Chem., 311,332 (1900).
79. W.Borsche i D.Rantscheff, Liebigs Ann.Chem., 379,171 (1911).
80. S.von Niementowski, Ber., 43,3012 (1910).
81. Ger.Offen. 1950785.
82. US.Pat. 3431274.
83. G.W.Stacy, T.E.Wollner i T.R.Oakes, J.Heterocycl.Chem., 3,51 (1966).
84. F.Krollpfeiffer, A.Rosenberg i C.Mühlhausen, Liebigs Ann.Chem., 515,124 (1935).
85. E.F.M.Stehenson, Org.Syntheses, Coll.Vol.III,475 (1955).
86. K.V.Amvera i M.Dürberg, Ber., 53 II,1179 (1920).
87. B.Schad, Ber., 26,218 (1893).
88. A.I.Vogel, "Preparatyka organiczna", WNT, Warszawa 1964.
89. O.Fischer, Ber., 22,644 (1889).
90. G.Palazzo i G.Corsi, Ann.Chim.(Rome), 55,583 (1965).
91. H.Arold, J.prakt.Chem., 23,329 (1964).

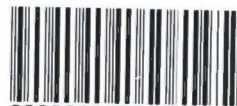
92. R.Huisgen i K.Bast, Org.Syntheses, Coll.Vol.V, 650 (1973).
93. C.Efros i B.A.Poraj-Koszcic, Zh.Obs.Khim., 23, 1691 (1953).
94. D.Harrison i J.T.Ralph, J.Chem.Soc., 236 (1965).
95. S.Takahashi i H.Kanō, Chem.Pharm.Bull., 12, 282 (1964).
96. M.Witanowski, S.Biernat, L.Stefaniak, A.J.Mikhalewa i G.A.Webb, Bull.Pol.Ac.:Chem., 29, 17 (1981).
97. V.Gutmann, "The Donor-Acceptor Approach to Molecular Interactions", Plenum Press, N.York, London 1978.
98. U.Mayer, W.Gerger i V.Gutmann, Mh.Chem., 108, 489 (1977).
99. G.E.Maciel, J.Chem.Phys., 42, 2752 (1965).
100. B.Ch.Chen, W.Philipsborn i K.Nagorajan, Helv.Chim.Acta, 66, 1537 (1983).
101. H.Günter, "Spektroskopia magnetycznego rezonansu jądrowego" PWN, Warszawa 1983.
102. H.O.Kalinowski i H.Kessler, Org.Mag.Reson., 6, 305 (1974).



B Org. 155/85

Biblioteka Instytutu Chemii Organicznej PAN

O-B.155/85



8000000097020