

Zakład Chemii Farmaceutycznej. Instytut Analizy i Technologii Farmaceutycznej.
Akademia Medyczna w Lublinie
Kierownik: prof. dr Eugenia Domagalina

Stanisław ZARĘBA

2-Fenoloazoimidazole jako czynniki chelatujące.

Część IV. Badania analityczne kwasu 2,6-dihydroksy-3-(benzoimidazolilo-2'-azo)-benzoesowego (BIAREZ- γ)

2-Фенолоазоимидазолы как хелатные факторы. Часть IV. Аналитические исследования 2,6 -дигидрокси-3-(бензоимидазолило-2'-азо)-бензойной кислоты (BIAREZ- γ).

2-Phenoloazoimidazole as Chelating Agents. Part IV. Analytical Investigations of 2,6-Dihydroxy-3-(benzimidazolyl-2'-azo)-benzoic Acid (BIAREZ- γ)

W poprzednich publikacjach opisano metody otrzymywania i własności chelatotwórcze barwników azowych szeregu benzoimidazolu: naftoloazobenzimidazolu (BIAN) [3], pirokatechinoazo- i rezorcynoazobenzimidazolu (BIAP, BIAR, BIAREZ- β) [9]. Kontynuując badania tego szeregu, przedstawiam obecnie wyniki badań nowego nie opisanego dotąd związku: kwasu 2,6-dihydroksy-3-(benzoimidazolilo-2'-azo)-benzoesowego (BIAREZ- γ) w porównaniu z jego izomerem — kwasem 2,4-dihydroksy-5-(benzoimidazolilo-2'-azo)-benzoesowym (BIAREZ- β).

CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

Odczynniki, roztwory i aparatura

Stosowano odczynniki cz.d.a. produkcji POCh i Merck. Przygotowano podstawowe roztwory metanolowe barwników o stężeniu $c=3 \times 10^{-4}$ M, podstawowe wodne roztwory azotanów, siarczanów, chlorków lub octanów metali o stężeniu $c=2 \times 10^{-4}$ M (sole żelazawe z 2% dodatkiem kwasu askorbowego), bufony octanowe o pH 2,7—6,5 i boranowe o pH 7,2—12,2. Pehametr PHM-22 firmy Radiometer—Copenhagen z elektrodą szklaną typ G-200B i kalomelową typ K-401. Spektrofotometr Spektronom 201 produkcji węgierskiej z kiuwetami szklanymi 10 mm.

Synteza i charakterystyka barwnika

Oziębiony roztwór 0,7 g NaNO_2 w 23 cm^3 70% H_2SO_4 wkraplano przy mechanicznym mieszaniu do 1,34 g 2-aminobenzimidazolu (otrzymanego z o-fenylendwuaminy i bromocyjanu) [6] w 15 cm^3 dwumetyloformamidu (DMF), utrzymując temperaturę mieszaniny reakcyjnej w granicach $0-5^\circ\text{C}$. Do wytrąconej soli dwuazoniowej dodano 2 g mocznika w celu rozłożenia nadmiaru kwasu azotawego i wkraplano roztwór 1,54 g kwasu γ -rezorcylowego w 15 cm^3 DMF.

Po dodaniu 60 g octanu sodowego rozpuszczonego w 100 cm^3 wody, mieszaninę reakcyjną pozostawiono w lodówce przez 12 godz. Wydzielony barwnik odsączono, odmyto wodą i po wysuszeniu krystalizowano z etanolu z dodatkiem węgla aktywnego. Wydajność czystego produktu (igły) 10,8%, temp. rozkładu (bez topienia) od 150°C . Związek zawiera 1 cząsteczkę wody krystalizacyjnej, którą traci przy suszeniu w 120°C .

Dla wzoru $\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (m.cz. 316,28)

obliczono: % C=53,17; % H=3,82; % N=17,71;

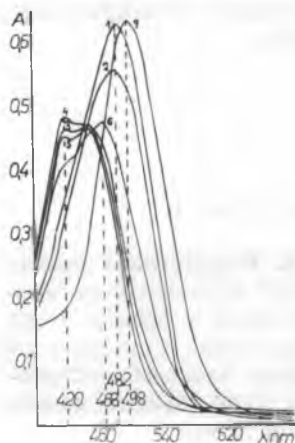
znaleziono: % C=53,21; % H=4,02; % N=17,60.

Dla wzoru $\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_4$ (m.cz. 298,26)

obliczono: % C=56,38; % H=3,38; % N=18,78;

znaleziono: % C=56,05; % H=3,75; % N=18,59.

Związek łatwo rozpuszcza się w DMF, wodorotlenkach i węglanach litowców, słabo w metanolu, etanolu (dobrze po ogrzaniu), w alkoholu n-amylowym, dioksanie, acetonie, bardzo słabo w wodzie, eterze etylowym, chloroformie, czterochlorku węgla, benzenie. Nasycony roztwór wodny posiada $\text{pH}=4,67$. Maksimum absorpcji roztworu metanolowego $\lambda_{\text{max}}=448 \text{ nm}$ $^A\lambda_{\text{max}}=0,523$, a molowy współczynnik absorpcji $\epsilon_{\lambda_{\text{max}}}=26250$. Zależność absorpcji od pH roztworu o stężeniu $c=2 \times 10^{-5} \text{ M}$ (1 cm^3 roztworu o $c=2 \times 10^{-4} + 4 \text{ cm}^3$ metanolu + bufor do



Ryc. 1. Zależność absorpcji BIAREZ- γ od pH roztworu: 1 — 2,74, 2 — 3,17, 3 — 5,20, 4 — 7,20, 5 — 9,23, 6 — 10,10, 7 — 12,06

Dependence of BIAREZ- γ absorptivity on the pH the solution: 1 — 2,74, 2 — 3,17, 3 — 5,20, 4 — 7,20, 5 — 9,23, 6 — 10,10, 7 — 12,06

10 cm³) przedstawiono na ryc. 1. Z wykresu wynika istnienie czterech różnic absorbujących form barwnika:

pH = 2,70—3,17 forma obojętna LH₃ barwa żółtopomarańczowa;

pH = 5,20—7,20 forma LH₂⁻ barwa żółta;

pH = 9,23—10,10 forma LH²⁻ barwa pomarańczowa;

pH = 10,10—12,20 forma L³⁻ barwa czerwona.

Stałe dysocjacji, oznaczone (przy stałej sile jonowej $\mu=0,1$) metodą spektrofotometryczną [1] oraz miareczkowania potencjometrycznego [2], wyrażone są następującymi średnimi wartościami liczbowymi podanymi w tab. 1.

Tab. 1. Wartości stałych dysocjacji BIAREZ- γ
Values of BIAREZ- γ dissociation constants

	Oznaczone metodą		
	λ	spektrofotometryczną	potencjometryczną
pK ₁	420	4,91 \pm 0,30	4,87 \pm 0,20
pK ₂	468	9,93 \pm 0,25	10,52 \pm 0,30
pK ₃	498	11,28 \pm 0,20	11,91 \pm 0,30

Reakcje jakościowe BIAREZ- γ z jonami metali

Barwę kompleksu utworzonego po zmieszaniu 1 cm³ roztworu metalolowego barwnika ($c=2 \times 10^{-4}$ M) z 1 cm³ roztworu metalu o tym samym stężeniu i 2 cm³ buforu (pH 2,7—12,2) porównywano z barwą wzorca, w którym roztwór soli zastąpiono wodą. Wśród przebadanych jonów: Ag⁺, Tl⁺, Hg⁺, Zn²⁺, Cd²⁺, Mg²⁺, Ca²⁺, Sr²⁺, Hg²⁺, Ba²⁺, Pb²⁺, Mn²⁺, Co²⁺, Ni²⁺, Cu²⁺, Sn²⁺, Fe²⁺, Fe³⁺, Al³⁺, Cr³⁺, As³⁺, Sb³⁺, Bi³⁺, szybko i wyraźną zmianę zabarwienia roztworu w stosunku do wzorca obserwowano dla jonów: Co²⁺, Cu²⁺, Ni²⁺, Zn²⁺, Pb²⁺, Fe²⁺, Fe³⁺. Pozostałe kationy reagowały bardzo słabo lub w ogóle nie dawały reakcji z badanym związkiem. Wyniki zestawiono w tab. 2.

Silne zakwaszenie lub zalkalizowanie roztworu poreakcyjnego, dodatków EDTA, cyjanków, żelazo- i żelazicyjanków, siarczków powoduje rozkład kompleksów. Reakcje kompleksowania nie przeszkadzają: fluorki, chlorki, bromki, jodki, siarczany, tiosiarczany, fosforany, chlorany, nadchlorany, rodanki, azotany, trójetanoloamina, szczawiany, winiany, cytroniany, kwas askorbowy.

Z wybranymi do badań ilościowych kompleksów BIAREZ- γ z jonami Co²⁺, Ni²⁺, Fe²⁺, Fe³⁺ przeprowadzono próby ekstrakcji rozpuszczalnikami organicznymi, stwierdzając, że tylko alkohol n-amyłowy ekstrahuje (ale nie ilościowo) kompleksy z powyższymi metalami.

Tab. 2. Reakcje barwnika z jonami metali
Reactions of the dye with metal ions

Barwa roztworu wzorcowego	Jon metalu	pH reakcji	Barwa kompleksu
	Co ²⁺	2,7- 3,2	barwa wzorca
		4,4- 7,2	fioletowa
		8,4-12,2	niebieskofioletowa
	Ni ²⁺	2,7-4,4	barwa wzorca
		4,4-12,2	czerwonofioletowa
	Fe ²⁺	2,7- 4,4	barwa wzorca
		5,4- 9,2	różowofioletowa
		10,3-12,2	fioletowa
	Fe ³⁺	2,7- 6,4	czerwonobrunatna
		7,2-12,2	czerwonofioletowa
pH 2,7-4,4 pomarańczowa	Cd ²⁺	2,7- 4,4	barwa wzorca
		5,4- 7,2	pomarańczowa
		8,4-12,2	barwa wzorca
pH 5,4-7,2 żółta	Zn ²⁺	2,7- 5,4	barwa wzorca
		6,4-10,3	czerwona
		11,7-12,2	czerwonofioletowa
	Cu ²⁺	2,7- 3,7	fioletowoniebieska
		4,4- 9,2	fioletowa
		10,3-12,2	fioletowoczerwona
pH 8,4-9,2 pomarańczowa	Pb ²⁺	2,7- 4,4	barwa wzorca
		5,4- 6,4	czerwona
		7,2-12,2	fioletowoniebieska
pH 10,3-12,2 czerwona	Bi ³⁺	2,7- 9,2	fioletowa
		10,3-12,2	czerwona
	Al ³⁺	2,7- 3,7	barwa wzorca
		4,4- 9,2	pomarańczowa
		10,3-12,2	barwa wzorca
	Mn ²⁺	2,7- 8,4	barwa wzorca
		9,2-12,2	fioletowoczerwona
	Cr ³⁺	2,7-10,3	barwa wzorca
		11,7-12,2	czerwonofioletowa
	Mg ²⁺	2,7-10,3	barwa wzorca
		11,7-12,2	czerwonofioletowa
	Hg ²⁺	2,7- 4,4	różowofioletowa
		5,4-12,2	barwa wzorca
	Hg ⁺	2,7- 9,2	czerwona
		10,3-12,2	barwa wzorca
	Tl ⁺	2,7-12,2	barwa wzorca
	Ca ²⁺		
	Ba ²⁺		
	Sr ²⁺		
	Sb ³⁺		
	As ³⁺		
	Sn ²⁺		

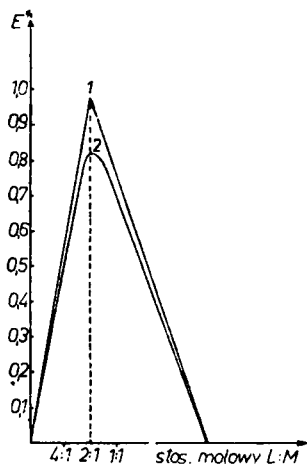
Skład i stałe dysocjacji kompleksów

Do wyznaczenia stosunku, w jakim jony Co²⁺, Ni²⁺, Fe²⁺, Fe³⁺ reagują w środowisku zasadowym (metanolo-wodnym 1 : 1), przy stałej sile jonnej $\mu=0,1$ (1 M KNO₃), z ligandami, a także do oznaczenia stałych dysocjacji kompleksów zastosowano metodę spektrofotometryczną. Pomiar absorpcji przeprowadzono według opisu podanego w poprzedniej publikacji [4].

W oznaczeniach składu według zmian ciągłych Joba [5], w każdej próbie o objętości końcowej 20 cm^3 suma stężeń wynosiła $1 \times 10^{-4} \text{ M}$. Otrzymane wyniki potwierdzono miareczkowaniem spektrofotometrycznym Yoego-Jonesa [8] (stałe stężenie ligandu $c_L = 3,5 \times 10^{-5} \text{ M}$ i zmienne stężenie jonów metali $c_M = 2 \times 10^{-6} - 8 \times 10^{-5} \text{ M}$).

W oznaczeniach stałych dysocjacji według nieekwimolowej metody Joba [5] z zastosowaniem do obliczeń wzoru przystosowanego do układów jednordzeniowych [7], stężenia roztworów soli metali były stałe we wszystkich seriach i wynosiły $c_M = 5 \times 10^{-5} \text{ M}$, a stężenia ligandów zmieniły się od 1×10^{-4} do $3 \times 10^{-4} \text{ M}$.

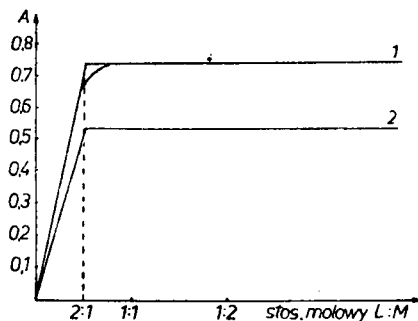
Zgodne, według obu metod (zmian ciągłych Joba i stosunków mowych Yoego-Jonesa), wyniki wykazały, że stosunki molowe $L : M$ wynoszą $2 : 1$ (ryc. 2 i 3). Dane widmowe oraz wyniki oznaczeń stałych trwałości kompleksów ($\lg K$) zestawiono w tab. 3.



Ryc. 2. Krzywe zmian ciągłych Joba dla układu:

Curves of continuous Job variations method for the system:

1 — BIAREZ- γ — Co^{2+} , 2 — BIAREZ- γ — Fe^{3+}



Ryc. 3. Krzywe miareczkowania spektrofotometrycznego:

Curves of spectrophotometric titration method:

1 — BIAREZ- γ — Ni^{2+} , 2 — BIAREZ- γ — Fe^{2+}

Wykresy kalibracyjne do kolorymetrycznego oznaczenia jonów Co^{2+} , Ni^{2+} , Fe^{2+} i Fe^{3+}

Do 25 cm^3 zbuforowanego roztworu BIAREZ- γ (pH wg tab. 3) o stężeniu $2 \times 10^{-4} \text{ M}$ (z Fe^{2+} i Fe^{3+}) lub $1 \times 10^{-4} \text{ M}$ (z Ni^{2+} i Co^{2+}) dodawano $0,5 - 13,0 \text{ cm}^3$ roztworu oznaczanego jonu o tym samym stężeniu co ligand

i uzupełniano wodą redestylowaną do objętości 50 cm³. Pomiar absorbancji wykonane przy analogicznej długości fali (tab. 3) wobec roztworu (roztwór jak wyżej, ale bez soli metalu) wykazały prostoliniowy przebieg wykresów kalibracyjnych w zakresie stężeń: od 0,06 do 2,60 µg/cm³ dla Fe³⁺; od 0,06 do 2,80 µg/cm³ dla Fe²⁺; od 0,06 do 1,41 µg/cm³ dla Ni²⁺ oraz od 0,06 do 1,34 µg/cm³ dla Co²⁺.

Tab. 3. Dane widmowe oraz stałe trwałości kompleksów
Spectral data and stability constants of complexes

Związek	pH	λ_{\max} nm	$\epsilon_{\lambda_{\max}}$	λ_{anal} nm	lg K
BIAREZ- γ	9,23	480	27250		
L ₂ Co	9,23	476 570	16350 15150	580	12,97
L ₂ Fe/III/	9,23	490	20800	570	11,65
L ₂ Fe/II/	9,23	494	20950	570	11,38
L ₂ Ni	9,23	514	24200	570	9,98

Wpływ obcych jonów na wyniki oznaczeń

W badaniach przeprowadzonych w takich samych warunkach jak przy wyznaczaniu wykresów kalibracyjnych z 1 µg/cm³ Co²⁺ i Ni²⁺, a dla Fe²⁺ i Fe³⁺ z 2 µg/cm³ i z dodatkiem jonu obcego stwierdzono, że oznaczeniom (we wszystkich przypadkach) nie przeszkadza nawet 100-krotnie wyższe stężenie: halogenków, chloranów, nadchloranów, azotanów, siarczanów, fosforanów, tiosiarczanów, rodanków, szczawianów, cytrynianów, winianów, kwasu askorbowego, trójetanoloaminy oraz Na⁺, K⁺, Ca²⁺, Ba²⁺, Mg²⁺, Sr²⁺, 5-krotnie Ag⁺, Tl⁺, As³⁺, Cr³⁺. Ewentualne tworzenie się wodorotlenków metali eliminowano dodatkiem: cytrynianu, winianu i fluorku sodowego lub trójetanoloaminy. Oznaczeń nie można wykonać wobec cyjanków, żelazo- i żelazicyjanków, EDTA, siarczków, jonów metali, które z powyższym barwnikiem tworzą barwne kompleksy, oraz wobec jonów Sn²⁺.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

W niniejszej pracy opisano metodę otrzymywania i właściwości chelatotwórcze kwasu 2,6-dihydroksy-3-(benzoimidazoliloazo-2')-benzoowego (BIAREZ- γ) z uwzględnieniem wpływu położenia grupy -COOH (pozycja C₃ w stosunku do grupy azowej i orto- do obu grup -OH) na własności fizykochemiczne związku oraz trwałość kompleksów w porównaniu z jego izomerem BIAREZ- β (grupa -COOH w pozycji C₅ w stosunku do grupy azowej, a orto- i para- do grup -OH) [9].

Związek jest trójzasadowym słabym kwasem, którego wyższe wartości stałych dysocjacji ($pK_1=4,91 \pm 0,3$; $pK_2=9,93 \pm 0,25$; $pK_3=11,28 \pm 0,2$) w stosunku do BIAREZ- β ($pK_1=3,87 \pm 0,2$; $pK_2=9,73 \pm 0,16$; $pK_3=11,41 \pm 0,17$) można wytłumaczyć położeniem orto- grupy $-\text{COOH}$ w stosunku do obu grup $-\text{OH}$ (w BIAREZ- β — orto- i para-) utrudniającym dysocjację tych grup funkcyjnych.

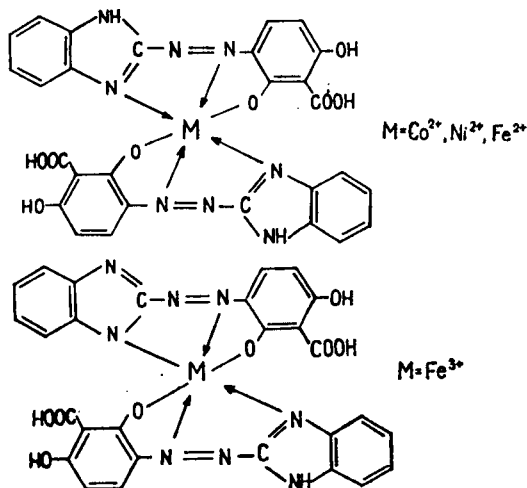
W środowisku alkalicznym tworzy barwne połączenia chelatowe z jonami Cd^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} oraz w środowisku kwaśnym z Hg^{2+} i Bi^{3+} . Utworzone rozpuszczalne kompleksy z jonami Co^{2+} , Ni^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} mają skład L/M 2 : 1.

Grupa karboksylowa w pozycji orto- do obu grup $-\text{OH}$ rezorcyny (BIAREZ- γ) zamiast orto- i para- (BIAREZ- β) powoduje wzrost wartości absorbancji, molowego współczynnika absorbancji BIAREZ- γ i połączeń chelatowych z badanymi jonami metali, a także ich stałych trwałości w porównaniu do izomerycznego BIAREZ- β .

Trwałość kompleksów BIAREZ- γ z jonami metali można uszeregować następująco: $\text{L}_2\text{Co} > \text{L}_2\text{Fe(III)} > \text{L}_2\text{Fe(II)} > \text{L}_2\text{Ni}$.

Z uwagi na stosunek reagujących składników 2 : 1 strukturę utworzonych kompleksów można przedstawić jak na schemacie 1.

Schemat 1



Ogólnie należy stwierdzić, że BIAREZ- γ jest lepszym kompleksotwórczym ligandem niż BIAREZ- β . Oznaczenia jonów Co^{2+} , Ni^{2+} , Fe^{2+} i Fe^{3+} , wykonane również wobec innych kompleksotwórczych anionów i niektórych kationów, wskazują na przydatność tego związku do oznaczeń tych metali.

PIŚMIENNICTWO

1. Albert A., Sergeant E.: Konstanty jonizacji kwasów i osnowanij [przekład ros. z angielskiego], Moskwa 1964.
2. Back E., Steenberg B.: Simultaneous Determination of Ionization Constant, Solubility Product and Solubility for Slightly Soluble Acids and Bases. Electrolytic Constants for Abietic Acid. *Acta Chem. Scand* **4**, 810, 1950.
3. Domagalina E., Zaręba S.: 2-Fenoloazoimidazole jako czynniki chelatujące. Część I. Badania analityczne 2-(2-hydroksynaftylazo-1)-benzimidazolu (BIAN). *Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska, Lublin, Sectio AA* **34**, 141, 1979.
4. Domagalina E., Zaręba S.: Pochodne tiadiazoliloazowe jako odczynniki analityczne. V. Badania kompleksów Ni^{2+} , Co^{2+} , Fe^{2+} , Cu^{2+} i Cd^{2+} z barwnikami azowymi szeregu 1,3,4-tiadiazolu. *Chem. Anal.* **21**, 411, 1976.
5. Job P.: Recherches sur la formation de complexes minéraux en solution, et sur leur stabilité. *Ann. Chim. (Paris)* **9**, 113, 1928.
6. Leonard N. J., Curtin D. Y., Beck K. M.: Sulfonate Salls of Substituted Benzimidazoles. *J. Am. Chem. Soc.* **69**, 2459, 1947.
7. Sommer L.: Analytische Reaktionen einiger o-Diphenole und spektrophotometrische Untersuchung der Komplexe des Titans mit Brenzcatechin und Tiron. *Collection Czechoslov. Chem. Commun* **22**, 414, 1957.
8. Yoe J. H., Jones A. L.: Colorimetric Determination of Fe with Disodium 1,2-Dihydroxybenzene-3,5-disulfonate. *Ind. Eng. Chem. Ed.* **16**, 111, 1944.
9. Zaręba S.: 2-Fenoloazoimidazole jako czynniki chelatujące. Część II. Badania analityczne pirokatechinoazo- i rezorcynoazobenzimidazolu (BIAP, BIAR, BIA-REZ- β). *Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska, Lublin, Sectio D* **37**, 209, 1982.

Otrzymano 21 XI 1982.

РЕЗЮМЕ

Разработано условия синтеза 2,6-двугидрокси-3-(бензоимидазолилоазо-2')-бензойной кислоты (BIAREZ- γ).

Обозначено физико-химические свойства этого соединения, а именно: растворимость, pH насыщенного водянго раствора (4,67), молярный коэффициент абсорбации ($\epsilon_{\lambda_{max}}=26\ 250$), абсорбацию в зависимости от длины волны и pH среды, а также постоянные дисоциации спектрофотометрическим методом ($pK_1=4,91 \pm 0,3$; $pK_2=9,93 \pm 0,25$; $pK_3=11,28 \pm 0,2$) и потенциометрическим ($pK_1=4,87 \pm 0,2$; $pK_2=10,52 \pm 0,3$; $pK_3=11,91 \pm 11,91 \pm 0,3$).

В исследованиях с металлами подтверждено безосадочную реакцию комплексообразования (быстрое и интенсивное изменение цвета лиганда), пригодную для использования в микрообозначениях ионов Co^{2+} , Ni^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , а также в присутствии чужих ионов.

Обозначено состав этих комплексов $L/M=2:1$, а их постоянные прочности (выраженные lgK $L_2Co=12,97$, $L_2Ni=9,98$, $L_2Fe^{2+}=11,38$, $L_2Fe^{3+}=11,65$) обсуждено в аспекте строения лиганда и металла.

SUMMARY

The conditions for the synthesis of 2,6-dihydroxy-3-(benzimidazolylazo-2')-benzoic acid (BIAREZ- γ) have been worked out. Physicochemical properties of this compounds have been determined, e.g. its solubility, pH of saturated aqueous solution (4.67), molar absorption coefficient ($\epsilon_{\lambda_{max}}=26\ 250$), the relation of absorbance to wave length and pH of the medium, and dissociation constants using spectrophotometric method ($pK_1=4.91 \pm 0.3$; $pK_2=9.93 \pm 0.25$; $pK_3=11.28 \pm 0.2$) and by potentiometric method ($pK_1=4.87 \pm 0.2$; $pK_2=10.52 \pm 0.3$; $pK_3=11.91 \pm 0.3$).

In the course of the experiments with metals, a precipitate-free reaction of complexation (fast and strong change of ligand colour) was observed, which was adequate for use in microdeterminations Co^{2+} , Fe^{2+} , Ni^{2+} , Fe^{3+} ions, also in the presence of other ions. The composition of these complexes $L/M=2:1$ and their stability constants (formulated: $Lg K : L_2Co=12.97$, $L_2Ni=9.98$, $L_2Fe^{2+}=11.38$, $L_2Fe^{3+}=11.65$) have been determined and discussed in the aspect of ligand and metal structure.

