

COMPARAISON DE L'ACTION CATALYTIQUE DE THIOLS MONOFONCTIONNELS ET DE CERTAINS THIOLS BIFONCTIONNELS (LES MERCAPTOALCOYL-2 BENZIMIDAZOLES) SUR L'HYDROLYSE DE L'ACETATE DE *p*-NITROPHENYLE

P. LOCHON* et J. SCHOENLEBER

Laboratoire de Chimie-Physique Macromoléculaire, C.N.R.S.-E.R.A. No. 23, Ecole Nationale Supérieure des Industries Chimiques 1. rue Grandville-54042, Nancy Cedex, France

(Received in France 17 February 1976; Received in the UK for publication 25 May 1976)

Résumé—Synthèse de thiols bifonctionnels (les mercaptoalcoyl-2 benzimidazoles) et l'étude cinétique de la catalyse de l'hydrolyse de l'acétate de *p*-nitrophényle par ces composés, et par sept thiols simples, montre une forte activité de la forme neutre des mercaptoéthyl-2 benzimidazoles, interprétée comme un effet concerté de catalyse nucléophile par la fonction thiol non ionisée et de catalyse générale basique due à l'hétérocycle.

Abstract—Synthesis of bifunctional thiols (2-alkylmercaptobenzimidazoles) and kinetic studies of the catalysis of the hydrolysis of *p*-nitrophenylacetate by these compounds, and by seven thiols indicates high activity of the 2-mercaptomethylbenzimidazoles in their neutral form, interpreted as the result of nucleophilic catalysis by the thiol function in its neutral state combined with general basic catalysis by the heterocycle.

Depuis une vingtaine d'années, de nombreuses recherches ont été entreprises pour mettre en évidence des effets catalytiques sur l'hydrolyse des esters. Les catalyses observées sont de type acide-base ou nucléophile selon la nature de l'ester étudié et c'est le second mode d'action qui prédomine avec les esters activés, comme l'acétate de *p*-nitrophényle car ils possèdent un bon groupe nucléofuge.

C'est également dans ce cas que les accélérations sont les plus fortes à condition, d'après Bender^{1,2} que le catalyseur soit un très bon nucléophile (supérieur à H₂O) et que les intermédiaires qu'il forme avec le substrat avant d'être régénéré soient très réactifs vis-à-vis de l'eau. Les deux propriétés: bon groupe entrant et bon groupe partant sont difficiles à réunir.

L'imidazole et ses dérivés sont les composés les plus étudiés¹⁻⁸ car le cycle est un des meilleurs catalyseurs au voisinage de la neutralité. En effet, il se forme très rapidement des ions acylimidazolium qui réagissent immédiatement avec l'eau en régénérant l'hétérocycle.

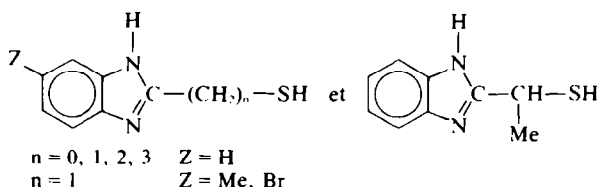
Parallèlement Whitaker⁹ a démontré que les ions thiolates avaient un pouvoir catalytique plus élevé car il apparaît un intermédiaire thiol ester très instable au-dessus de pH 7. Des essais sur plusieurs thiols aliphatiques effectués par Jencks⁸ et surtout Ogilvie¹⁰ indiquent cependant qu'en pratique ils ont une efficacité au plus égale à celle de l'imidazole vers pH 7 à cause de leur faible taux de dissociation (pK_a > 8). Cette différence subsiste lorsqu'on les associe avec des micelles.^{11,12}

Il est remarquable que les deux groupements fonctionnels précédents se retrouvent dans les enzymes hydrolytiques, comme la papaine, par l'intermédiaire de l'histidine et de la cystéine.

Or certains auteurs ont avancé l'idée que dans les mécanismes biochimiques, le noyau imidazole intervenait comme catalyseur basique^{1,2,8,13,14} en captant le proton d'un groupement nucléophile (—OH ou —SH par ex.). Cette hypothèse montre l'intérêt de placer les deux fonctions dans la même molécule. Des tentatives ont été faites en synthétisant des peptides contenant l'histidine et la cystéine, mais sans résultats catalytiques importants.¹⁵⁻²⁰ Une idée plus originale de Schneider¹⁷⁻¹⁹ est de réunir un noyau imidazole à une chaîne alcoylthiol en position 4 de l'hétérocycle. Les résultats obtenus conduisent les auteurs à avancer l'hypothèse d'une catalyse bifonctionnelle, mais il subsiste une ambiguïté due au fait que le cycle et l'anion thiolate ont des pouvoirs catalytiques voisins aux pH examinés.

C'est une des raisons qui nous ont conduits à étudier les benzimidazoles thiols parce que l'hétérocycle y est beaucoup moins nucléophile que dans les homologues imidazoliques (20–30 fois moins). Il n'entre donc pas directement en compétition avec l'ion sulfure ce qui facilite l'interprétation cinétique, mais il reste néanmoins un bon accepteur de proton.

Les nouveaux composés sont formés d'une chaîne alcoylthiol fixée en position 2 d'un cycle benzimidazole, situation qui favorise l'échange protonique entre le groupe mercaptan et les atomes d'azote de l'hétérocycle. Le pK de la fonction thiol dépend de la longueur de la chaîne aliphatique intermédiaire et ainsi de l'effet inducteur que le noyau imidazole exerce sur le carbone 2. En outre, en introduisant en position 5 un substituant convenablement choisi, il est possible de modifier la basicité de l'azote hétérocyclique. Les différents mercapto-2 benzimidazoles préparés ont la structure suivante:

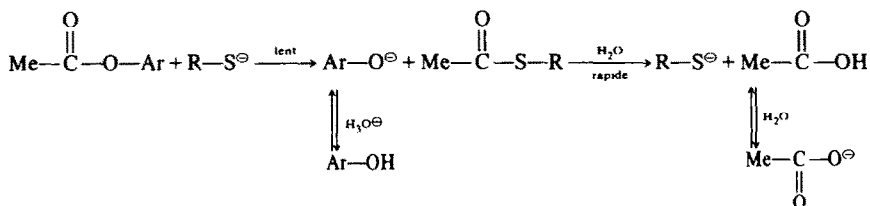


Cependant, pour les interpréter convenablement, il est nécessaire de replacer les résultats expérimentaux dans une étude plus générale des mercaptans. Dans ce but nous avons tout d'abord examiné une série de thiols simples sans autre site à activité catalytique éventuelle et présentant une similitude structurale ($-\text{CH}_2-\text{SH}$) au voisinage du groupe fonctionnel.

Propriétés catalytiques des thiols simples

Les mercaptans (symbole R-SH) ont été sélectionnés de manière à constituer une gamme étendue de pK_a (Tableau 1) et permettre ainsi une éventuelle corrélation entre l'activité catalytique et le pK_a (corrélation de Brönsted).

L'activité catalytique est observée sur l'hydrolyse de l'acétate de p-nitrophenyle, à un pH donné, en déterminant par spectrométrie UV la quantité d'ion p-nitrophenolate libérée en fonction du temps:



Whitaker⁹ a démontré que la première étape du processus (étape lente) est l'attaque nucléophile de l'ion thiolate sur le groupe carbonyle de l'ester avec formation d'un thiol ester via un intermédiaire tétraédrique d'addition. Le thiol ester est ensuite hydrolysé très rapidement si le pH est supérieur à 6.9 et il n'est alors plus possible de déceler une quantité appréciable de ce composé dans le milieu réactionnel. Pour obtenir un ordre 1 par rapport à l'ester il n'est donc pas nécessaire d'utiliser le thiol en excès. En effet comme pour les imidazoles,⁴ on observe un pseudo 1er ordre pour des concentrations en catalyseur égales et même inférieures à celles du substrat (Fig. 1). Ce comportement a été vérifié pour certains composés jusqu'à un taux de conversion de 50% mais dans la pratique les essais sont limités à 25% d'avancement afin d'analyser principalement le début de la réaction. En effet, par la suite, l'oxydation du catalyseur intervient de manière non négligeable.

Dans ce cas, on peut écrire

$$V = -\frac{d[\text{Ar-O}^-]}{dt} = k_{\text{obs}} [\text{Ester}]$$

et comme aux pH utilisés la vitesse d'hydrolyse ne peut pas être négligée, on définit les deux constantes de second ordre de la manière suivante:

Constante apparente de 2^e ordre:

$$k'_2 = \frac{k_{\text{obs}} - k_{\text{hydr}}}{[\text{R-SH}]_i},$$

elle caractérise l'efficacité du catalyseur à un pH donné.

Constante spécifique du 2^e ordre:

$$k_{\text{R-S}^-} = \frac{k_{\text{obs}} - k_{\text{hydr}}}{[\text{R-S}^-]}$$

rapportée à l'anion (catalyseur réel).

Les résultats consignés dans le Tableau 1 permettent de dégager les conclusions suivantes: (a) l'invariance de $k_{\text{R-S}^-}$ montre que, même à des pH où $[\text{R-S}^-]$ est faible, la forme non ionique du groupe thiol ou le reste de la molécule n'ont pas d'action décelable; (b) le diagramme $\log k_{\text{R-S}^-}$ vs pK_{SH} (Fig. 2) est formé d'un alignement général des points représentatifs des thiols à l'exception de deux valeurs assez nettement à l'écart. Celle de la thio-1 glycérine s'explique, peut-être, par un encombrement stérique de nature différente car il est difficile d'admettre une passivation de l'anion par liaison hydrogène interne dans le milieu fortement protique utilisé. La déviation négative du phénylpropanethiol 7 est également anormale, mais peut provenir d'erreurs expérimentales systématiques dues à sa forte tendance à l'oxydation. Les cinq autres points sont bien alignés et la méthode des moindres carrés conduit à la relation: $\log k_{\text{R-S}^-} = 0.85 \text{pK}_a - 4.74$.

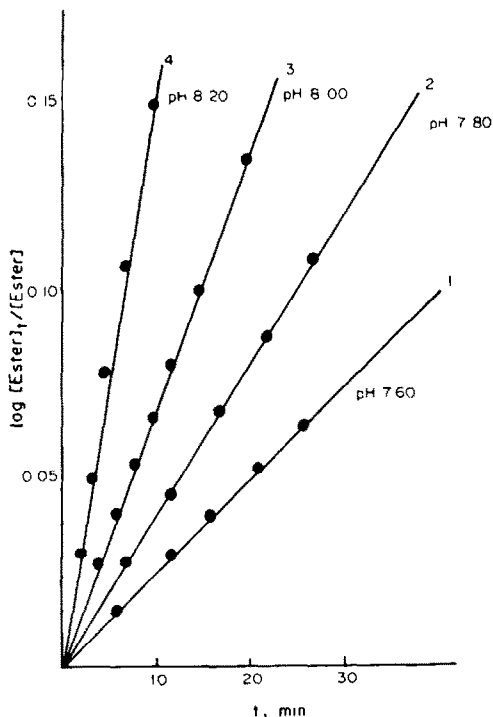


Fig. 1. Représentation de l'avancement de la réaction d'hydrolyse de l'acétate de p-nitrophenyle (2×10^{-4} M) catalysée par le chloro-4 benzylmercaptan à différentes concentrations et à différents pH. Température: 30°C , Solvant: eau-éthanol (90.5-9.5 vol/vol), Tampon: phosphates (0.134 M) $\mu = 0.268$; 1— $c = 1.16 \times 10^{-4}$ M; 2— $c = 1.469 \times 10^{-4}$ M; 3— $c = 1.380 \times 10^{-4}$ M; 4— $c = 2.088 \times 10^{-4}$ M.

Cette expression est assez nettement éloignée de celle d'Ogilvie ($0.38\text{pK}_a - 0.75$) mais elle est voisine de celle trouvée pour les imidazoles sur le même substrat ($0.8\text{pK}_a - 4.3$).⁶ La réactivité est donc du même ordre et on peut remarquer que la pente de la droite est sen-

Tableau 1. Constantes de vitesse de premier et second ordre pour la réaction d'hydrolyse de l'acétate de p-nitrophényle (2×10^{-4} M) catalysée par les thiols simples. Solvant: eau-éthanol (90.5-9.5 vol/vol) température: 30°C. Tampon phosphates (0.134 M) $\mu = 0.268$

Thiol	pK _{SH}	pH ±0.02	[R-SH] _i 10 ⁴ M	[R-S] ⁻ 10 ⁴ M ±3-5%	k _{obs} - k _{hydr} 10 ⁴ min ⁻¹ ±1 à 2%	k ₂ M ⁻¹ min ⁻¹ ±1 à 2%	k _{R.S} M ⁻¹ min ⁻¹ ±5%
1 cystéamine	8.17	7.60	{ 3.09 20	{ 0.65 4.24	{ 124-11 761-11	{ 36 37	{ 172 177
		7.80	{ 3.06 3.46	{ 0.91 1.40	{ 165-18 263-30	{ 51 68	{ 167 167
		8.00	{ 10 20	{ 4.03 8.07	{ 708-30 1445-30	{ 68 71	{ 168 175
							171 (log: 2.23)
2 furfuryl- mercaptan	8.82	7.60	3.68	0.21	138-11	34	609
		7.80	2.26	0.197	134-18	51	587
		8.00	1.75	0.23	165-30	77	590
		8.20	2.76	0.53	358-45	113	588
3 p-chlorobenzyl mercaptan	9.25	7.60	{ 1.167 2.34	{ 0.025 0.051	{ 52-11 91-11	{ 35 34	{ 1614 1559
		7.80	{ 1.469 0.77	{ 0.050 0.026	{ 99-18 60-18	{ 55 55	{ 1606 1602
		8.00	{ 1.38 3.80	{ 0.073 0.20	{ 147-30 368-30	{ 85 89	{ 1598 1672
		8.20	2.088	0.17	313-45	128	1567
							1603 (log: 3.20)
4 Benzyl- mercaptan	9.33	7.20	3.50	0.026	41-5	10	1421
		7.40	6.99	0.080	131-8	18	1544
		7.60	1.70	0.031	59-11	28	1537
		8.00	2.02	0.090	170-30	69	1547
5 p-méthoxy benzyl- mercaptan	9.44	7.60	1.59	0.0226	56-11	28	2000
		7.80	1.27	0.028	80-18	49	2193
		8.00	1.71	0.060	148-30	69	1966
		8.20	3.38	0.184	408-45	107	1973
							2033 (log: 3.31)
6 thioglycérol	9.50	7.60	2.96	0.037	38-11	9	717
		7.80	6.61	0.129	119-18	15	784
		8.00	2.04	0.062	76-30	23	736
		8.20	3.54	0.168	169-45	35	730
7 phényl-3 propane thiol	9.95	7.60	2.018	0.088	34-11	11	2571
		7.80	1.247	0.0087	43-18	20	2919
		8.00	1.05	0.0116	62-30	30	2723
		8.20	1.68	0.0293	126-45	48	2768

siblement la même que dans le cas des imidazoles et des ions phénolates.^{6,8} La différence avec Ogilvie est difficile à expliquer par les conditions expérimentales car le seul thiol utilisé en commun, la cystéamine, donne des valeurs assez proches.

La cause de ce désaccord provient vraisemblablement de la nature des mercaptans utilisés, la nucléophilie de ce type d'anion paraissant très sensible à l'environnement.

Propriétés catalytiques des mercaptoalcoyl-2 benzimidazoles

Il est normal de s'attendre à ce que l'activité catalytique principale de ces composés provienne encore de l'ion thiolate car un noyau imidazole condensé avec un cycle benzénique n'a plus qu'une faible activité catalytique (k spécifique $\approx 1-6$ l. mol⁻¹ min⁻¹).² (Tableau 2 F.)

En opérant comme précédemment l'avancement de la réaction s'exprime par la relation de pseudo premier ordre, mais celle-ci n'est linéaire que pour une durée d'hydrolyse plus courte (7-18 min) les différentes valeurs se plaçant ensuite en-dessous de la droite initiale. Ce comportement est indépendant de la valeur du taux de transformation de l'ester (10-50%) et semble dû, non pas à l'apparition d'un

autre mécanisme comme nous le pensions précédemment²¹ mais plutôt à la sensibilité à l'oxydation de ces nouveaux composés. Par ailleurs les résultats obtenus ne dépendent pas de la nature du tampon utilisé (phosphate ou borates) ni de sa concentration.

Le Tableau 2 rassemble les valeurs des constantes de vitesse à différents pH de ces nouveaux thiols et d'un composé de référence symbolisé BIM-CH₂-S-CH₃, représentant l'activité d'un benzimidazole sans autre site catalytique.

La comparaison des constantes de second ordre apparent k'_2 montre que, comme prévu, l'activité des benzimidazolethiols est nettement supérieure à celle du noyau benzimidazole, si l'on excepte le dérivé n = 0 = A en partie sous la forme tautomère benzimidazolinethione.²²

Pour BIM-(CH₂)₂-SH, BIM-(CH₂)₃-SH et le composé ramifié BIM-CH(CH₃)-SH le pouvoir catalytique augmente avec le pH et la constante k'_2 a une valeur de l'ordre de grandeur de celle d'un thiol simple de pK_a voisin comme le benzylmercaptan, l'hétérocycle n'intervenant que pour une part très faible. Par contre, les composés à un seul groupe méthylène Z-BIM-CH₂-SH (Z = H, CH₃, Br) se distinguent par une constante k'_2

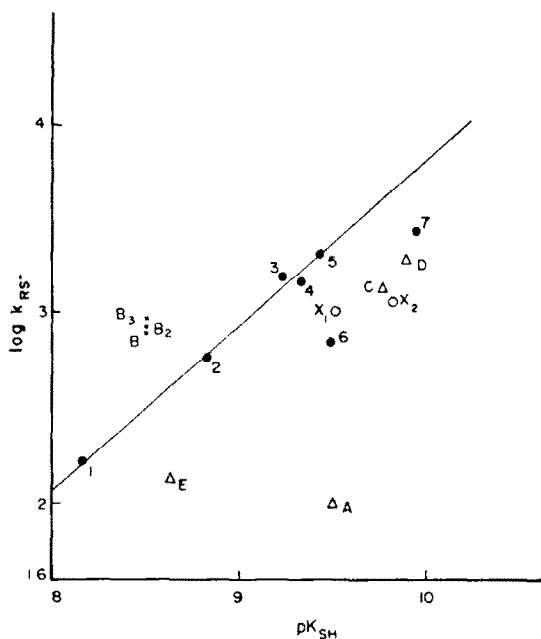
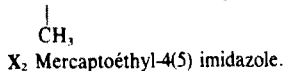


Fig. 2. Corrélation type Brønsted pour la réaction des anions thiolates avec l'acétate de p-nitrophényle dans un mélange eau-éthanol (90.5-9.5 vol/vol) à la température de 30°. 1 cystéamine, 2 furfurylmercaptan, 3 p-chlorobenzylmercaptan, 4 benzylmercaptan, 5 p-méthoxybenzylmercaptan, 6 thio-1 glycérol, 7 phényl-3 propanethiol. A BIM-SH, B, BIM-CH₂-SH, B₂ CH₃-5-BIM-CH₂-SH, B₃ Br-5-BIM-CH₂-SH, C BIM-(CH₂)₂-SH, D BIM-(CH₂)₃-SH, E BIM-CH-SH, X₁ Mercaptoéthyl-4(5) imidazole,



anormalement élevée les plaçant parmi les meilleurs catalyseurs synthétiques. Pour un pH donné, elle est environ 10 fois supérieure à celle du benzimidazolethiol le plus nucléophile ($n = 3$) bien que l'anion correspondant soit le moins basique de tous ($\text{pK}_a = 8.5$). Des mesures effectuées à pH 7 donnent pour k'_2 (70-80 l. mol⁻¹ min⁻¹) une valeur 35 fois supérieure à celle du benzimidazole et approximativement 6-10 fois celle de thiols simples de pK_a voisin. Dans ce même domaine, le pouvoir catalytique est double de celui trouvé couramment pour l'imidazole sans substituant et bien supérieur à celui des composés synthétisés par Schneider *et al.* (4-5 fois en utilisant les données de la référence¹⁹) qui sont comparables à des imidazoles substitués par des groupes alcoyles.

Une tentative d'interprétation est plus compliquée que précédemment car, en solution aqueuse, les mercaptoalcoylbenzimidazoles peuvent exister sous les formes suivantes: BIM-SH: forme neutre réagissant par le cycle benzimidazole (constante spécifique k_{im}) et éventuellement la fonction thiol (constante spécifique k_{im-SH}) couplée avec l'hétérocycle. BIM-S⁻: réagissant par l'anion (constante spécifique k_{R-S^-}) et le cycle. BIM-SH: forme protonée certainement inactive et très peu abondante au-dessus de pH 7. BIM-S⁺: pratiquement inexistante dans le cas d'un cycle benzimidazole car les deux pK (de la fonction thiol et de l'ion imidazolium) ont des valeurs très éloignées l'une de l'autre.

Les différentes espèces ayant une action normalement

additive, l'expression de la vitesse prend la forme suivante:

$$\begin{aligned} \frac{V}{[\text{Ester}]} &= k'_2 [\text{BIM-SH}]_t \\ &= k_{im-S^-} [\text{BIM-S}^-] + k_{im} [\text{BIM-SH} + \text{BIM-S}^-] \\ &\quad + k_{im-SH} [\text{BIM-SH}] \end{aligned} \quad (1)$$

avec

$$[\text{BIM-SH}]_t = [\text{BIM-SH}] + [\text{BIM-S}^-] + [\text{BIM-SH}]^{\oplus} \quad (2)$$

$t = \text{total}$

En combinant les relations 1 et 2 avec celles donnant les constantes d'équilibre acide-base (partie expérimentale) on obtient l'expression suivante en négligeant le terme a_H/K_{im} toujours faible aux pH utilisés:

$$Y \equiv k'_2 \left[1 + \frac{K_{SH}}{a_H} \right] = \frac{K_{SH}}{a_H} [k_{im-S^-} + k_{im}] + k_{im} + k_{im-SH}$$

Le diagramme $Y = f(1/a_H)$ se compose de droites (Fig. 3). Pour les composés A ($n = 0$), C ($n = 2$), D ($n = 3$), E, elles passent pratiquement par l'origine et, par conséquent, $k_{im} + k_{im-SH} \approx 0$. Le cycle benzimidazole a donc une activité négligeable, ainsi que l'ensemble de la molécule à l'état neutre et l'effet catalytique est uniquement dû à l'ion thiolate. Il est caractérisé par la constante spécifique k_{im-S} (Tableau 2) déterminée à partir de la pente de la

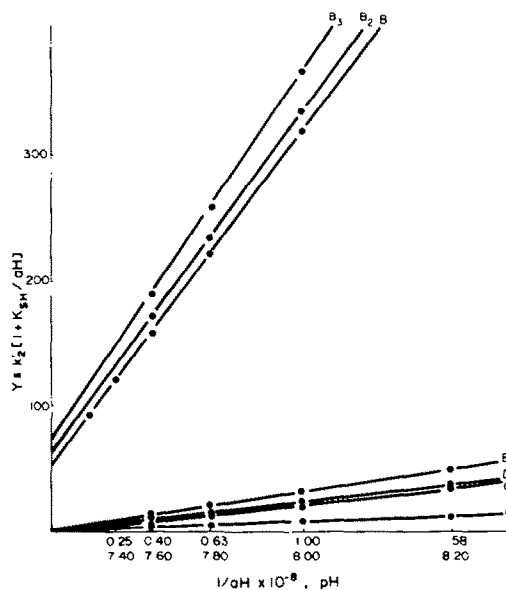


Fig. 3. Représentation de

$$Y \equiv k'_2 \left[1 + \frac{K_{SH}}{a_H} \right] = \frac{K_{SH}}{a_H} [k_{im-S^-} + k_{im}] + k_{im} + k_{im-SH}$$

pour l'hydrolyse de l'acétate de p-nitrophényle catalysée par les mercaptoalcoylbenzimidazoles à la température de 30°C dans le mélange eau-éthanol (90.5-9.5 vol/vol). Tampon: phosphates (0.134 M) $\mu = 0.268$. A BIM-SH, C BIM-(CH₂)₂-SH, D BIM-(CH₂)₃-SH, E BIM-CH-SH, B, BIM-CH₂-SH, B₂ CH₃-5-BIM-

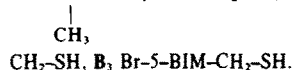


Tableau 2. Constantes de vitesse de premier et second ordre pour la réaction d'hydrolyse de l'acétate de p-nitrophényle (2×10^{-4} M) catalysée par les mercaptoalcoylbenzimidazoles. Solvant: eau-éthanol (90.5–9.5 vol/vol). Température: 30°C Tampon phosphates (0.134 M) $\mu = 0.268$ BIM = benzimidazole

Composé	[Cat], 10 ⁴ M	$k_{\text{obs}} - k_{\text{hydr}}$ 10 ⁴ min ⁻¹ ± 1 à 2%	k'_2 M ⁻¹ min ⁻¹ ± 1 à 2%	$k_{\text{R-S}} - \text{M}^{-1} \text{min}^{-1}$ ± 5%	$k_{\text{Im}} + k_{\text{ImSH}}$ M ⁻¹ min ⁻¹ ± 5%
BIM-SH A	7.60	2	5.7	2.8	
	7.80	2	8.5	4.3	95
	8.00	2	13	6.5	(log: 1.98)
	8.20	2	20	10	
BIM-CH ₂ -SH B ₁	7.20	2	110	92	
	7.40	2	223	112	
	7.60	{ 1.98 0.516	137 71	140 138	834
	7.80	2	365	182	(log: 2.92)
	8.00	{ 2 0.408	477 96	238 234	55
	8.20	2	590	295	
	8.20	2	590	295	
CH ₃ -5-BIM-CH ₂ -SH B ₂	7.60	2	303	151	
	7.80	2	390	195	862
	8.00	2	508	254	(log: 2.93)
Br-5-BIM-CH ₂ -SH B ₃	7.60	2	337	169	929
	7.80	2	430	215	(log: 2.97)
	8.00	2	557	279	73
BIM-(CH ₂) ₂ -SH C	7.60	{ 2 3.324	18 30	9 9	
	7.80	2	28	14	1290
	8.00	{ 2 6.10	45 134	22 22	(log: 3.11)
	8.20	2	71	36	< 0.5
	8.20	2	71	36	
BIM-(CH ₂) ₃ -SH D	7.60	{ 2 3.09	18.5 29	9.3 9.5	
	7.80	2	29	14.5	1796
	8.00	{ 2 0.431	45 10	22 23	(log: 3.26)
	8.20	2	71	36	< 0.5
	8.20	2	71	36	
BIM-CH(CH ₃)-SH E	7.60	2	23	11.5	
	7.80	2	33	16.5	
	8.00	2	51	25	130
	8.20	2	72	36	(log: 2.11)
BIM-CH ₂ -S-CH ₃ F	7.60	2	9.8	5	
	7.80	2	9	4.5	
	8.00	2	10	5	
	8.20	2	9.6	4.8	

droite correspondante; cependant, sur le diagramme de corrélation de Brönsted (Fig. 2) les points représentatifs sont placés en-dessous de la droite des thiols simples. En mettant à part le mercapto-2 benzimidazole A ($n=0$) sous forme thione, la position du composé ramifié BIM-CH-SH E est évidemment due à un encombrement

stérique important. Pour BIM-(CH₂)₂-SH C et BIM-(CH₂)₃-SH D la diminution de nucléophilie de l'anion n'a pas une origine évidente.

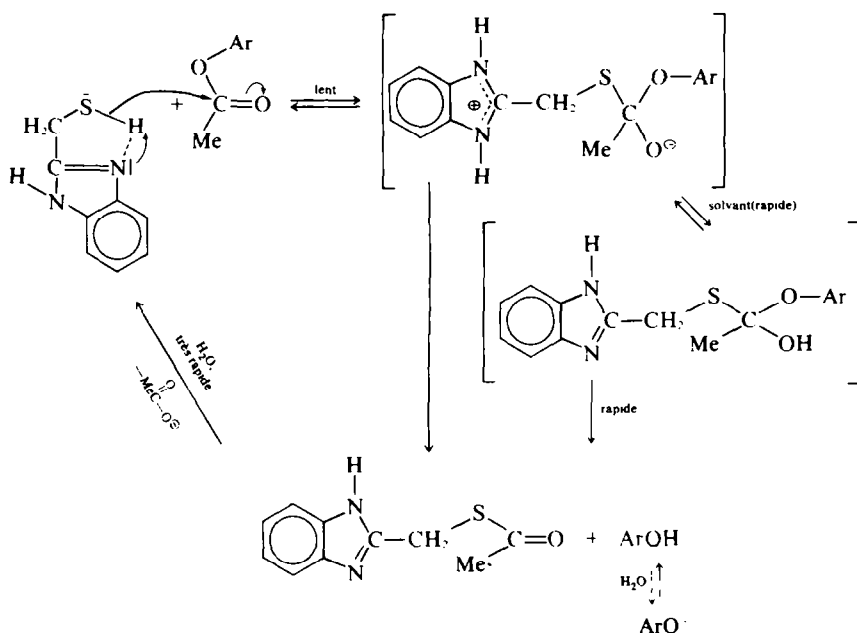
Le résultat remarquable est celui des mercaptométhyl-2 benzimidazoles (B, $n=1$) qui présentent une forte activité catalytique. La représentation $Z(1/a_H)$ se traduit par 3 droites ne passant pas par l'origine et pratiquement

parallèles (Fig. 3). L'ordonnée à l'origine prend une valeur importante bien au-delà de toute imprécision expérimentale. Elle se situe entre 50 et 75 M⁻¹ min⁻¹ et si l'on néglige k_{Im} (au maximum égal à 5) on aboutit à une constante $k_{\text{Im-SH}}$ de valeur dépassant largement celle de l'imidazole alors qu'il s'agit d'un benzimidazole. Il existe donc pour ces composés un effet catalytique particulier dû à la molécule neutre.

La pente des droites permet de calculer $k_{\text{Im-S}}$ et on trouve une valeur sensiblement égale pour les trois composés (qui ont même pK_{SH}) mais supérieure à ce que prévoit la relation de Brönsted. L'anion de ces composés est donc, apparemment plus nucléophile que celui d'un thiol simple de même pK_a ce qui va en sens inverse de l'observation faite pour les autres benzimidazoethiols.

En ce qui concerne l'effet catalytique de la molécule neutre, l'explication logique pour un composé possédant deux fonctions très peu actives ($-\text{SH}$ et benzimidazole) lorsqu'elles sont isolées est celle d'un effet coopératif dans une catalyse multiple du type nucléophile générale basique (2). Le terme de catalyse bifonctionnelle est, également, vraisemblable car le catalyseur porte les deux groupes actifs intervenant simultanément dans l'état de transition.

Le schéma suivant montre un processus réactionnel possible:



L'étape initiale serait l'attaque nucléophile de la fonction thiol sur le carbone sp^2 de l'ester avec assistance basique simultanée du cycle benzimidazole captant le proton de l'atome de soufre et le rendant ainsi plus nucléophile. L'intermédiaire tétraédrique généralement admis, qui en résulterait se transforme en thiol ester hydrolysé, ensuite, rapidement.

Il est normal d'avancer, par comparaison avec l'action des ions thiolates, que la première étape est lente car la fonction thiol même assistée ne peut pas être plus nucléophile que l'anion correspondant. Le comportement particulier de ces molécules pourrait être favorisé par une conformation cyclique initiale de la molécule maintenue par liaison hydrogène. Cependant, ce n'est pas l'aptitude stérique à former un cycle qui paraît responsable de l'activité car les composés BIM- $(\text{CH}_3)_2\text{-SH}$ (cycle à 6) et BIM- $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{-SH}$ (cycle à 5, en principe plus stable) ne présentent pas cette propriété.

Le point important semble être une bonne concordance entre la basicité du cycle et l'acidité du groupe thiol, l'assistance de l'azote benzimidazole n'étant efficace que pour les thiols relativement acides. Cependant d'autres facteurs doivent intervenir car l'effet des substituants du cycle benzénique en modifiant la basicité (au sens Brönsted) de l'hétérocycle ne va pas dans le sens désiré, le site le moins basique ($\text{Z} = \text{Br}$) donnant la plus forte activité.

Comparaison avec les mercaptoalcoylimidazoles

Schneider *et al.*¹⁷⁻¹⁹ décrivent les propriétés catalytiques des mercapto-4(5) méthylimidazoles et du mer-

capto-4(5) éthylimidazole. Ces composés portent une fonction thiol de pK_a élevé (>9.5) et un cycle imidazole à la fois très basique et très nucléophile. Au-dessous de pH 8.5 l'hétérocycle a un pouvoir catalytique supérieur à l'ion thiolate.

Il était intéressant de comparer ces composés aux mercaptoalcoylimidazoles à l'aide du traitement décrit précédemment. Nous avons pris les valeurs de Schneider comprises entre pH 7 et 8.5, domaine où l'on a le maximum de précision.

Les points $\text{Y} = f(1/a_H)$ s'alignent assez bien et il est

possible de définir pour chacun de ces composés une constante $k_{\text{Im-S}}$ et une constante k_{Im}

X_1 Mercaptoéthyl-4(5) imidazole

$$\log k_{\text{Im-S}} = 3.02 \text{ pK}_{\text{SH}} = 9.5$$

$$k_{\text{Im}} + k_{\text{Im-SH}} = 25 \text{ l. M}^{-1} \text{ min}^{-1}$$

X_2 Mercaptoéthyl-4(5) imidazole

$$\log k_{\text{Im-S}} = 3.06 \text{ pK}_{\text{SH}} = 9.8$$

$$k_{\text{Im}} + k_{\text{Im-SH}} = 32 \text{ l. M}^{-1} \text{ min}^{-1}$$

Sur le diagramme de Brönsted (Fig. 2) les valeurs caractéristiques des anions se placent en-dessous de la droite, mais dans la même région que les benzimidazolethiols ne catalysant que par l'anion sulfure.

D'autre part, les valeurs trouvées pour $k_{\text{Im}} + k_{\text{Im-SH}}$ correspondent aux constantes spécifiques de 2^e ordre habituellement mesurées dans le cas des imidazoles substitués par des groupes alcoyles. Ces composés semblent donc agir par un mécanisme résultant de l'addition des catalyses nucléophiles par l'ion thiolate et l'hétérocycle.

CONCLUSION

La prise en considération des différentes espèces présentes en solution permet de faire une tentative d'explication de l'activité exceptionnelle des dérivés mercaptoéthylés en position 2 de l'hétérocycle.

On peut avancer l'hypothèse d'un effet coopératif par attaque nucléophile de la fonction thiol non ionisée sur le carbonyle de l'ester, le noyau imidazole aidant simultanément le départ du proton par catalyse basique générale. Cette interprétation peut être rapprochée d'un des mécanismes proposés pour rendre compte de l'activité de la chymotrypsine^{1,2,13} dans lequel un cycle imidazole de l'histidine aide l'attaque nucléophile du groupe OH d'un résidu sérine. C'est un processus du même genre qui est également envisagé dans les essais de représentation du site actif de la papaine^{1,2,23} avec peut-être l'intervention d'un troisième groupement de type carboxylate.

Cependant, le schéma que nous avons proposé demande des confirmations ultérieures car le comportement anormal de certains ions thiolates simples ou bifonctionnels rend nécessaire une étude très approfondie de cette fonction, notamment en relation avec la structure du reste de la molécule.

PARTIE EXPERIMENTALE

Thiols simples

Ils proviennent du commerce et sont purifiés immédiatement avant utilisation par bidistillation sous vide d'azote pour les liquides et par cristallisation pour les solides.

Synthèse des mercaptoalcoyl-2 benzimidazoles

A l'exception du mercapto-2 benzimidazole ($Z = H$, $n = 0$) qui est un produit courant, les dérivés étudiés ont été synthétisés avec de bons rendements, en ayant recours à la méthode générale de Phillips.²⁴ Les composés obtenus sont très sensibles à l'oxydation surtout en solution. Ils ont été contrôlés par analyse élémentaire. Les points de fusion sont pris au microscope à platine chauffante Reichert (Tableau 3).

On porte à reflux, au bain d'huile à 130–140°C et sous courant d'azote 10 mmoles de l'o-phénylènediamine convenablement substituée, 13 ml d'HCl 4N et 10 ml de l'acide thiol nécessaire pour obtenir le produit désiré. Au bout de 3 h on précipite, toujours sous azote, le produit dans de l'eau ammoniacale. Rendement 60–80%.

Les acides thiols utilisés existent pour la plupart dans le commerce: acide thioglycolique, acide mercapto-3 propionique, acide mercapto-2 propionique.

L'acide mercapto-4 butyrique nécessaire à la synthèse de BIM-(CH₂)₄-SH est préparé selon la méthode de Schotte²⁵ par action en quantités équimoléculaires de la γ -butyrolactone sur la thiourée à reflux pendant 12 h en présence d'acide bromhydrique à 48% (20% d'excès). Eb: 128–129°C/11 mm. Rendement: 66%.

L'acide méthylmercaptoacétique utilisé pour le composé BIM-CH₂-S-CH₃ provient de la méthylation de l'acide thioglycolique à l'aide du sulfate de méthyle en milieu basique et à froid. Eb: 118°C/1 mm. Rendement: 70% (RMN) $n_D^{20} = 1.496$.

Caractérisation des mercaptoalcoyl-2 benzimidazoles

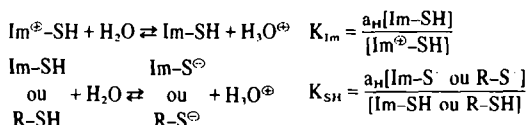
Spectroscopie infra-rouge. Les spectres IR ont été enregistrés par les spectromètres Perkin-Elmer 421 et Unicam SP 1200. On observe les bandes caractéristiques des benzimidazoles qui, avec un échantillon solide, apparaissent à 1620, 1600, 1550 et 1500 cm⁻¹. La position du maximum attribué à la déformation γ_{CH} est conforme à la substitution du noyau aromatique. Une absorption liée au mouvement d'élongation ν_{SH} des groupes thiols se manifeste vers 2550 cm⁻¹ mais elle est trop peu intense pour qu'on puisse la considérer comme déterminante.

Spectroscopie de RMN (proton). Les caractéristiques sont obtenues à partir d'un appareil JEOL PS 100. Les benzimidazolethiols sont peu solubles dans les solvants moyennement polaires comme le chloroforme. Dans les milieux protiques, ils subissent un échange chimique rapide. Les spectres de RMN ne peuvent donc être convenablement tracés qu'en opérant en solution dans les liquides aprotiques polaires comme la pyridine dont le caractère aromatique est gênant et surtout l'hexadéutériodiméthylsulfoxyde.

On reconnaît les signaux qui caractérisent la fonction thiol, la chaîne aliphatique intermédiaire et parfois le proton imidazolique (9–9.6 ppm). La position du signal attribué au groupe mercaptan dépend de la nature du composé examiné (4.30–1.90 ppm, Tableau 3). Elle varie avec la distance qui sépare ce groupe du noyau hétérocyclique électroattracteur. On n'observe de couplage avec le segment hydrocarboné adjacent que dans le cas des dérivés BIM-(CH₂)_n-SH peu acide et BIM-CH(Me)-SH.

Colorimétrie. La méthode choisie est celle de Rohrbach *et al.*²⁶ utilisant les propriétés du bis p-diméthylaminodiphénylméthane. Nous avons eu recours à cette technique pour contrôler nos produits et évaluer leur taux en fonction thiol avant les essais cinétiques.

Etude acidimétrique. Les fonctions thiols incluses dans les réactifs examinés peuvent être dosées par acidimétrie. Dans le cas des composés bifonctionnels, il est nécessaire, en outre de déterminer le pK_a du site imidazolium. Cela correspond aux équilibres:



avec $a_{\text{H}} \approx [\text{H}_3\text{O}^{\oplus}]$ les solutions étant très diluées (10^{-3} à 10^{-4} M).

Les pK correspondants (Tableaux 1 et 3) sont obtenus à partir des courbes de neutralisation des produits étudiés (pris sous

Tableau 3. Caractéristiques physiques des mercaptoalcoylbenzimidazoles

No.	Composé	F°C Solvant Cristallisation	pK _{Im}	pK _{SH}	δ ppm du groupe SH dans DMSO D6
A	BIM-SH		4.28	9.12	
B ₁	BIM-CH ₂ -SH	164 benzène	4.95	8.50	4.20 singulet
B ₂	CH ₃ -5-BIM-CH ₂ -SH	126 heptane	5.10	8.50	4.33 singulet
B ₃	Br-5-BIM-CH ₂ -SH	147 benzène	4.30	8.50	
C	BIM-(CH ₂) ₂ -SH	205 EtOH/H ₂ O 50/50	5.45	9.77	3.3 singulet
D	BIM-(CH ₂) ₃ -SH	170 EtOH	5.60	9.90	2–2.1 multiplet
E	BIM-CH(CH ₃) ₂ -SH	197 EtOH/H ₂ O	5.10	8.65	1.90 doublet
F	BIM-CH ₂ -S-CH ₃	162 éther	5.00		

forme de chlorhydrates) en les analysant par la fonction classique $pK = pH + \log [AH]/[A^-]$ (moyenne sur 7-8 points de part et d'autre de la demi neutralisation). Les pH sont mesurés au moyen d'un appareil Tacussel TS 70/N, couplé avec une burette automatique et un enregistreur Tacussel. On opère à 30°C, sous atmosphère d'azote, dans le mélange eau-éthanol (90.5-9.5 vol/vol). La précision est estimée à ± 0.02 .

Mesures cinétiques

Elles sont effectuées à l'aide d'un spectrophotomètre UV Visible Beckman DK 2A à une température maintenue constante à $30^\circ\text{C} \pm 0.5^\circ$. Les mesures de DO sont faites à 405 nm, maximum d'absorption du p-nitrophénolate. La formation de l'ion est reliée à la disparition de l'ester par la relation $[Ester] = [Ester]_0 - D/\epsilon_{app} \times l$ avec $l = 1$ cm, $D =$ densité optique à 405 nm; ϵ_{app} est le coefficient d'extinction molaire apparent à 405 nm et au pH considéré. Il est déterminé directement sur le p-nitrophénol et varie de 1.16 à 1.89×10^4 l. M⁻¹ cm⁻¹ dans la zone de pH utilisée.

La concentration en ester est 2×10^{-4} M dans un mélange eau-éthanol (90.5-9.5 vol/vol) tamponné juste avant l'essai. C'est la concentration en ester qui donne le maximum de précision pour doser le p-nitrophénol libéré entre les premiers instants de la réaction et au taux de conversion maximum de 30% (D entre 0 et 1.2). Les tampons normalement utilisés sont des solutions aqueuses de K_2HPO_4 et Na_2HPO_4 selon Clark et Lubs à la concentration totale de 0.134 M et la force ionique 0.268. On n'observe pas de différence notable par utilisation du tampon borate selon Kolthoff.²⁷

La concentration initiale en catalyseur est, en général, égale ou voisine de 2×10^{-4} M donc proche de celle de l'ester ce qui n'empêche pas d'observer pour les raisons déjà indiquées une cinétique de pseudo 1^{er} ordre. En outre, il ne nous est pas possible de mettre un fort excès de catalyseur à cause de sa solubilité ou parce que la réaction devient trop rapide (cas de $n = 1$). Lorsque l'on peut opérer avec une quantité plus importante, on n'observe pas de changement notable des constantes catalytiques (k'_2 et k_{R-S} ou k_{im-S^-}). Par contre, cette méthode évite la présence en trop grande quantité d'impuretés à forte activité catalytique et permet de déceler une éventuelle association catalyseur-substrat.

Avant chaque essai, on mélange intimement sous forme de poudre l'ester et le catalyseur que l'on dissout, ensuite, dans la quantité nécessaire d'alcool à 95% (très rapide). On complète alors au volume désiré (100 ml) par la solution aqueuse tampon à 30°C, le pH final étant vérifié par potentiométrie (précision à ± 0.02). Le temps $t = 0$ est pris au moment où l'on atteint le volume final: une partie de la solution est alors transvasée dans la cellule de mesure. La réaction ne modifie pas le pH.

Remerciements—Nous remercions Mme Laloi-Diard (Lab. de chimie organique biologique-Centre d'Orsay) pour ses conseils judicieux et les discussions fructueuses auxquelles elle a aimablement participé.

BIBLIOGRAPHIE

- ¹M. L. Bender, *Chem Rev.* **60**, 78 (1960).
- ²M. L. Bender, *Mechanisms of Homogeneous Catalysis from Protons to Proteins*, Wiley-Interscience, New-York (1971).
- ³M. L. Bender et B. W. Turnquest, *J. Am. chem. Soc.* **79**, 1652 (1957).
- ⁴T. C. Bruice et B. I. Schmir, *Ibid.* **79**, 1663 (1957).
- ⁵T. C. Bruice et G. I. Schmir, *Ibid.* **80**, 148 (1958).
- ⁶T. C. Bruice et B. Lapinski, *Ibid.* **80**, 2265 (1958).
- ⁷S. L. Johnson, *Advan. Phys. Org. Chem.* Vol. 5, p. 237. Academic Press, New York (1967).
- ⁸W. P. Jencks, *Catalysis in Chemistry and Enzymology*, McGraw-Hill, New York (1969) Chap. 2 et 3 et réf.
- ⁹J. R. Whitaker, *J. Am. Chem. Soc.* **84**, 1900 (1962).
- ¹⁰J. W. Ogilvie, J. T. Tildon et B. S. Strauch, *Biochemistry* **3**, 754 (1964).
- ¹¹W. Tagaki, T. Amada, Y. Yamashita et Y. Yano, *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* 219 (1972).
- ¹²W. Tagaki, T. Amada, Y. Yamashita et Y. Yano, *Ibid.* 1131 (1972).
- ¹³R. M. S. Smellie, *Chemical Reactivity and Biological Role of Functional Groups in Enzymes*. Academic Press, London (1970).
- ¹⁴K. J. Laidler et P. S. Bunting, *The Chemical Kinetics of Enzyme Action*, Chap. 10. Clarendon Press, Oxford (1973).
- ¹⁵J. C. Sheehan, G. B. Bennett et J. A. Schneider, *J. Am. Chem. Soc.* **88**, 3455 (1966).
- ¹⁶F. Schneider, *Z. Physiol. Chem.* **388**, 131 (1964).
- ¹⁷F. Schneider, *Ibid.* **348**, 1034 (1967).
- ¹⁸F. Schneider, E. Schaich et H. Wenck, *Ibid.* **349**, 1525 (1968).
- ¹⁹F. Schneider et H. Wenck, *Ibid.* **350**, 1653 (1969).
- ²⁰V. Rossbach, F. Schneider et H. Wenck, *Z. Naturforsch.* **26b**, 1144 (1971).
- ²¹J. Schoenleber et P. Lochon, *C. R. Acad. Sci. Paris* **278C**, 1294 (1974).
- ²²K. Hofmann, *Imidazole and Its Derivatives*, Part I, Interscience, New York (1953).
- ²³G. Lowe, *Tetrahedron* **32**, 291 (1976).
- ²⁴M. A. Phillips, *J. Chem. Soc.* 172, 2393 et 3134 (1928); *J. Chem. Soc.* 1143 (1931).
- ²⁵L. Schotte, *Arkiv Kemi.* **8**, 457 (1955).
- ²⁶M. S. Rohrbach, B. A. Humphries, F. J. Yost, W. G. Rhodes, S. Boatman, R. Ghiskey et J. H. Harrison, *Anal. Biochem.* **52**, 127 (1973).
- ²⁷J. Kolthoff, *J. Biol. Chem.* **63**, 135 (1925).