

**СПЕЦИАЛИЗИРАН НАУЧЕН СЪВЕТ
ПО ОРГАНИЧНА ХИМИЯ И ОРГАНИЧНА ТЕХНОЛОГИЯ
ПРИ ВАК**

Надежда Василева Маркова

**Теоретични изследвания на тавтомерни
равновесия в органични молекули с
отчитане на специфичното влияние
на разтворителя**

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

на дисертация за присъждане на образователна и научна степен
“Доктор” по научната специалност “Теоретична химия”, 01.05.01

Научен ръководител: ст.н.с. II ст. д-р Венелин Енчев

Рецензенти: 1. проф. дхн Борис Гълъбов
2. ст.н.с. I ст. дхн Хозе Канети

София, 2005

Защитата на дисертацията ще се състои на 12.12.2005 г. от 14 ч. в аудитория 111 на Института по органична химия с център по фитохимия при БАН, ул. “Акад. Г. Бончев”, бл. 9, на разширено заседание на СНС по органична химия и органична технология при ВАК.

Материалите по защитата са на разположение на интересуващите се в канцеларията на ИОХЦФ при БАН, бл.9, ет. 2.

Дисертационният труд е обсъден и насочен за защита на разширено заседание на Колоквиума “Строеж и реакционна способност” при Института по органична химия с център по фитохимия при БАН, състояло се на 28. 06. 2005 г.

Изследванията от дисертационния труд са извършени в Лаборатория “Физична органична и изчислителна химия” към Института по органична химия с център по фитохимия при БАН.

Данни за дисертацията: съдържа 123 печатни страници, 33 фигури, 22 таблици и 3 схеми. Цитирани са 240 литературни източника.

Номерацията на фигурите и таблиците в автореферата са същите, както в дисертацията.

Увод

Тавтомерията при органични съединения и свързаните с нея реакции с пренос на протон са предмет на интензивни изследвания поради тяхната значимост в много химични и биологични процеси, например ензимни реакции и транспорт в биологични мембрани. Реакциите с пренос на протон са основни за поддържане живота на клетката - те са част от процесите на метаболизъм, протичащи на клетъчно ниво (в извън- и вътреклетъчна среда). Преносът на протон с участието на вода в базите на нуклеиновите киселини е важен динамичен процес, извършващ се в ДНК и РНК.

Тъй като описаните по-горе процеси често се извършват в разтвор (в много случаи воден), изследванията, свързани с влиянието на разтворителя върху тавтомерното равновесие и реакциите с пренос на протон придобиват съществено значение.

През последните години изследванията, касаещи възможността за междумолекулно свързване на различни органични молекули с вода получават все по-голямо внимание, дължащо се на все по-бързото развитие на компютърното моделиране на водни системи. Моделирането на водно обкръжение изисква познания върху междумолекулното свързване на различните взаимодействащи молекули. Квантовата химия е мощно средство за адекватно изследване на взаимодействията между молекулите на разтворените вещества и разтворителя във водна среда.

Солватацията е един от физичните и химични фактори, играещи съществена роля при равновесието между тавтомерните форми. Изследването ѝ е важно поради факта, че структурата и реактивоспособността на молекулите е доста различно в среда на разтворител. Подобно изследване се оказва доста трудно, тъй като изисква детайлно разглеждане на взаимодействията между разтворителя и молекулите на разтвореното вещество.

Взаимодействията молекула на разтвореното вещество-разтворител биха могли да влияят не само върху относителните стабилности на тавтомерите, но така също и върху механизма на вътрешно превръщане. Протонните разтворители (вода, алкохол) могат да приемат протон от донорната част на молекула на разтвореното вещество и да пренасят друг протон към акцепторната страна на същата молекула. Изследванията върху преноса на протон, подпомогнат от водата показват, че участието на водна молекула значително понижава енергетичната бариера на реакциите с пренос на протон. От друга страна електростатичното взаимодействие между молекулите на разтвореното вещество и разтворителя, представено чрез непрекъснат модел слабо влияе върху активационните бариери на реакциите с пренос на протон,

т.е. влиянието на електростатичните взаимодействия с непрекъснатата среда са от по-малко значение.

Разтворителят може да контролира динамиката на реакцията на пренос на протон, посредством два различни типа взаимодействия молекула на разтвореното вещество-разтворител. Първият тип взаимодействия са „макроскопски” ефекти (“long-range” effects), включващи поляризация на разтворителя, а вторият тип са ефекти на специфична солватация (“short-range” effects). В последния случай взаимодействието с определен брой молекули на разтворителя би могло да повлияе върху целия реакционен път чрез понижаване на енергетичната бариера. Това се дължи на директното участие на молекулите на разтворителя в преноса на протон.

Цели на дисертацията:

1. Изследване на:

- тавтомерното превръщане чрез реакции на пренос на протон от азотен атом към: кислороден, серен, селенов и азотен атом в органични молекули (някои от тях с биологична активност), съдържащи тези атоми.
- влиянието на базисния набор и електронната корелация върху относителните стабилности на тавтомерните форми и височината на енергетичната бариера.

2. Подбор на подходящ модел за адекватно описание на механизма на тавтомерно превръщане във водна среда.

За реализирането на тези цели бяха разгледани тавтомерните превръщания във водна среда на:

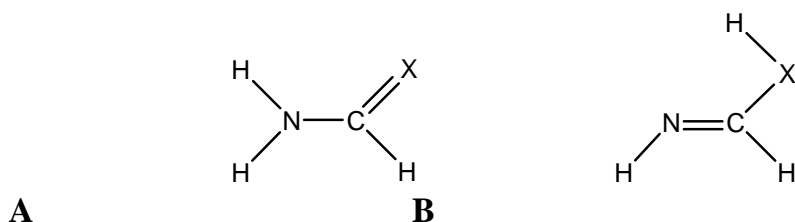
- Формамид и негови халкогенни аналози – тиоформамид и селеноформамид
- Петчленните хетероциклични съединения – 2-амино-тиазолидин-4-он и 4-амино-тиазолидин-2-он
- 5-флуороурацил

Специална част

1. Амино-иминна тавтомерия при формамид, тиоформамид и селеноформамид във водна среда

При изследване физико-химията на биологични молекули във вода, формамид често служи като моделна система. Това е така, вероятно защото той е не само най-простата молекула, съдържаща пептидна връзка, но също и най-малката молекула, която съдържа две функционални групи ($-\text{CO}$ и $-\text{NH}_2$), осъществяващи свързването между двойките нуклеобазы в ДНК. Процесът на превръщане от формамид до неговата енолна форма - формамидинова киселина, може да се разглежда като модел за тавтомерия на по-големи биомолекули, като базите на нуклеиновите киселини, например. Предполага се, че този процес на тавтомеризация при този тип съединения лежи в основата на спонтанните точкови мутации при ДНК и РНК.

Формамид и неговите тимо- и селено аналози теоретично могат да съществуват в две тавтомерни форми – аминок А и имино В (фиг. 1).



Формамид	(1)	$\text{X}=\text{O}$
Тиоформамид	(2)	$\text{X}=\text{S}$
Селеноформамид	(3)	$\text{X}=\text{Se}$

Фигура 1. Тавтомерни форми на формамид (1), тиоформамид (2) и селеноформамид (3).

В този раздел ние разглеждаме влиянието на междумолекулните водородни връзки, образувани между молекулата на разтвореното вещество и молекулите на разтворителя върху:

- Енергетичната разлика между аминок и имино тавтомерите на формамид, тиоформамид и селеноформамид.
- Енергетичната бариера на тавтомерно превръщане. Теоретичните изчисления са проведени на три различни нива: MP2/6-31G(d,p), MP2/6-31+G(d) и MP2/6-31+G(d,p), като за сравнение са представени изчисления за изолирани молекули и директен пренос на протон на същите теоретични нива.

1.1. Реакции на директен и подпомогнат от водна молекула пренос на протон

За изследване влиянието на хидратацията върху тавтомерното превръщане на формамид и неговите халкогенни аналози ние разглеждаме два модела на микрохидратация. При първия една водна молекула, участваща в преноса на протон се намира между amino- и карбонилната (тиокарбонилната и селенокарбонилната) групи. При втория модел са добавени още две молекули вода, образуващи водородни връзки с молекулите на формамид, тиоформамид и селеноформамид – от другата страна на amino и карбонилната (тиокарбонилната и селенокарбонилната) групи.

1.1.1. Формамид

На базата на молекулните геометрии, получени при пълна оптимизация на нива MP2/6-31G(d,p), MP2/6-31+G(d) и MP2/6-31+G(d,p) за всички структури, са проведени еднократни изчисления на енергията на ниво MP4 с разширени базисни набори: 6-311G(d,p) и 6-311++G(3df,2p). Целта е изследване влиянието на базисния набор и електронната корелация. За получаване на действителната енергия е добавена вибрационна корекция (нулева вибрационна енергия, ZPE) към пълната енергия. Изчислени са пълните енергии и енергетичните разлики (Таблица 2). Изчисленията предсказват формамид като по-стабилната структура, в сравнение с формамидиновата киселина с 12.81, 14.43 и 12.94 kcal mol⁻¹, съответно на нива MP2/6-31G(d,p), MP2/6-31+G(d) и MP2/6-31+G(d,p). Подобряването на базисния набор на нива MP2 и MP4 води до намаляване на енергетичната разлика.

Подобна зависимост се наблюдава при комплексите на формамид с една и три молекули вода. Енергетичната разлика за монохидратирания комплекс е по-малка отколкото за изолираните тавтомери, докато при трихидратираните комплекси нараства. На теоретично ниво MP4/6-311++G(3df,2p)//MP2/6-31+G(d) + ZPE изчислените енергии на тавтомеризация са съответно 11.73, 10.75 и 13.97 kcal mol⁻¹ за изолираните тавтомери, монохидратираните и трихидратираните комплекси.

Таблица 2. Изчислени разлики в енергията ΔH_0 и енергетични бариери ΔH^\ddagger в kcal mol⁻¹ на формамид, тиоформамид и селеноформамид и техните комплекси с една и три водни молекули. Имагинерните честоти са представени в cm⁻¹.

Изчислително ниво	ΔH_0	ΔH^\ddagger	ν^\ddagger	ΔH_0	ΔH^\ddagger	ν^\ddagger	ΔH_0	ΔH^\ddagger	ν^\ddagger
Формамид									
MP2/6-31G(d,p)//MP2/6-31G(d,p)	12.81	43.97	1822 <i>i</i>	10.90	19.27	1562 <i>i</i>	13.74	20.86	1526 <i>i</i>
MP4/6-31G(d,p)//MP2/6-31G(d,p)	12.13	47.12		10.73	22.76		13.65	24.31	
MP2/6-31+G(d)//MP2/6-31+G(d)	14.43	46.34	1844 <i>i</i>	12.60	23.11	1660 <i>i</i>	15.76	24.21	1610 <i>i</i>
MP4/6-31+G(d)//MP2/6-31+G(d)	13.59	49.47		12.23	26.89		15.35	27.89	
MP2/6-31+G(d,p)//MP2/6-31+G(d,p)	12.94	44.58	1932 <i>i</i>	11.33	20.14	1655 <i>i</i>	14.50	21.40	1600 <i>i</i>
MP4/6-31+G(d,p)//MP2/6-31+G(d,p)	12.30	47.77		11.10	23.62		14.19	24.73	
Тиоформамид									
MP2/6-31G(d,p)//MP2/6-31G(d,p)	10.96	38.75	1624 <i>i</i>	11.70	19.86	1218 <i>i</i>	7.44	20.25	953 <i>i</i>
MP4/6-31G(d,p)//MP2/6-31G(d,p)	9.29	41.54		10.43	23.12		6.42	23.42	
MP2/6-31+G(d)//MP2/6-31+G(d)	11.61	40.51	1665 <i>i</i>	11.87	22.56	1325 <i>i</i>	11.88	20.71	963 <i>i</i>
MP4/6-31+G(d)//MP2/6-31+G(d)	10.00	43.38		10.66	26.39		10.86	24.50	
Селеноформамид									
MP2/6-31G(d,p)//MP2/6-31G(d,p)	9.50	35.58	1506 <i>i</i>	12.83	19.30	1009 <i>i</i>	14.56	18.86	845 <i>i</i>
MP4/6-31G(d,p)//MP2/6-31G(d,p)	7.62	37.95		11.36	22.09		13.16	21.49	
MP2/6-31+G(d)//MP2/6-31+G(d)	12.28	38.39	1553 <i>i</i>	14.05	22.22	1097 <i>i</i>	17.15	23.72	878 <i>i</i>
MP4/6-31+G(d)//MP2/6-31+G(d)	10.59	41.06		12.66	25.48		15.69	26.83	

$$\Delta H_0 = \Delta E_T(A-B) + 0.945x\Delta ZPE(A-B);$$

$$\Delta H^\ddagger = \Delta E_T(A-TS) + 0.945x\Delta ZPE(A-TS)$$

Изчисленията на ниво MP2/6-31+G(d) дължини на връзки във формамид са близки до експериментално установените чрез микровълнова спектроскопия стойности. Нашите MP2 изчисления предсказват непланарна структура на формамид. Според изчисленията на ниво MP2/6-31+G(d), амино групата е завъртяна на 5.5° спрямо формилната част от молекулата на формамида. Известно е, че резултатите са чувствителни към вида на базисните набори и електронната корелация. Докато изчисленията на ниво HF могат да определят както планарна, така и непланарна структура, включването на електронна корелация в рамките на пертурбационна теория от втори порядък води до преимуществено определяне на непланарност на структурата.

Образуването на комплекс с една молекула вода предизвиква промени в геометричните параметри на формамид. Според изчисленията на ниво MP2/6-31+G(d) връзките N–C (1.3517 Å) и C–H (1.1011 Å) са скъсени съответно с 0.0113 и 0.0020 Å, докато карбонилната връзка C=O (1.2396 Å) е удължена с 0.0104 Å. Образуването на междумолекулна водородна връзка в комплекса **A** + **H₂O** води до удължаване на връзката N–H (1.0205 Å), разкъсваща се при преноса на протон с 0.0072 Å, докато другата връзка N–H (1.0105 Å) не търпи никакви изменения.

Изчисленията предсказват разстоянието O...H между кислородния атом от водната молекула и водородния атом от амино групата да бъде по-голямо от разстоянието O...H между кислородния атом от карбонилната група на формамид и водородния атом от водната молекула с 0.0908 Å. За комплекса **A** + **3H₂O** скъсяването на връзките N–C и C–H и удължаването на връзката C=O са по-силно изразени. Връзките N–H също са с по-голяма дължина, поради образуването на междумолекулни водородни връзки. Изчисленията на ниво MP2/6-31+G(d) предсказват скъсяване на разстоянията H...O (т.е. по-здрави междумолекулни водородни връзки), в сравнение с тези, изчислени на ниво MP2/6-31G(d,p).

Изчислени са структурите на преходните състояния (TS), отговарящи на директен и с участието на вода пренос на протон. Изчисленията бариери на тавтомеризация за изолираната молекула на формамид и неговите монохидратирани и трихидратирани комплекси, както и съответните имагинерни честоти, изчислени на различни теоретични нива са представени в Таблица 2. Към стойностите на енергетичните бариери са прибавени вибрационни корекции (ZPE), получени на нива MP2/6-31G(d,p) и MP2/6-31+G(d). Изчисленията хармонични вибрационни честоти са скалирани с фактор 0.945.

В Таблица 2 е показано, че директният пренос на протон се характеризира с висока активационна енергия. Включването на водна молекула (монохидратиран комплекс) драстично редуцира активационната енергия. За трихидратирания комплекс активационната енергия на преноса на протон е по-висока отколкото при монохидратирания комплекс с 1–1.5 kcal mol⁻¹ за различните нива на изчисление. На най-високото теоретично ниво MP4/6-311++G(3df,2p)//MP2/6-31+G(d) + ZPE, ΔH^\ddagger е изчислено да бъде съответно 23.54 и 24.89 kcal mol⁻¹ за моно- и трихидратираните комплекси.

1.1.2. Тиоформамид и селеноформамид

Процесите на тавтомеризация в тио- и селено аналозите на формамид теоретично могат да протичат чрез директен или с участието на вода пренос на протон. И двата механизма са изследвани на нива MP2/6-31G(d,p) и MP2/6-31+G(d). Изчислени са пълните енергии и са добавени вибрационни корекции за amino и imino тавтомерните форми, както и TS на **2** и **3** (Фиг. 1). В Таблица 2 са представени енергетичните разлики между отделните тавтомери и бариерите на тавтомеризация в газова фаза и водна среда. Еднократните изчисления на енергията на теоретични нива MP4/6-31G(d,p)//MP2/6-31G(d,p) и MP4/6-31+G(d)//MP2/6-31+G(d) са направени за всички изследвани структури.

Amino тавтомерните форми **2A** и **3A** са по-стабилни от съответните imino форми **2B** и **3B** на всички изчислителни нива. Енергетичните разлики между amino и imino формите на **3** са 9.50 kcal mol⁻¹ на ниво на оптимизация MP2/6-31G(d,p) и 12.28 kcal mol⁻¹ на ниво MP2/6-31+G(d). Тези разлики в енергиите за **2** са 10.96 kcal mol⁻¹ на теоретично ниво MP2/6-31G(d,p) и 11.61 kcal mol⁻¹ на ниво MP2/6-31+G(d). Същата зависимост се наблюдава при монохидратираните и трихидратираните комплекси на **2** и **3**. Разликите в енергиите за комплексите на **3** с една водна молекула са по-малки от тези, с три молекули вода на всички нива на изчисление. Обратната тенденция се наблюдава на теоретично ниво MP2/6-31G(d,p) при монохидратирания комплекс на **2**, в сравнение с трихидратирания. При отчитане на електронната корелация на по-високо ниво, бяха проведени еднократни изчисления на ниво MP4, като са използвани и двата базисни набора. Това води до намаляване на разликите в енергията между тавтомерите **A** и **B** на тиоформамид и селеноформамид с 1–1.6 kcal mol⁻¹ за изолираните молекули и хидратираните комплекси.

Локализирани са също преходните състояния при реакциите на тавтомеризация в газова фаза и воден разтвор на тиоформамид и селеноформамид.

Изчислените бариери на тавтомеризация на тиоформамид и селеноформамид и техните моно- и трихидратирани комплекси, пресметнати на нива MP2/6-31G(d,p) и MP2/6-31+G(d) са представени в Таблица 2. Директният пренос на протон се характеризира с нарастване на реакционната бариера в реда: формамид, тиоформамид и селеноформамид. Това се наблюдава на всички теоретични нива, използвани при изследването. Такава зависимост не съществува, когато се реализира пренос на протон с участието на вода.

Разликите в бариерите на тавтомеризация на тиоформамид за директен и подпомогнат от една молекула вода (монохидратиран комплекс) пренос на протон на нива MP2/6-31G(d,p) и MP2/6-31+G(d) са съответно 18.89 kcal mol⁻¹ и 17.95 kcal mol⁻¹. Включването на водна молекула към молекулата на **3** редуцира енергетичната бариера на теоретични нива MP2/6-31G(d,p) и MP2/6-31+G(d) съответно с 16.28 kcal mol⁻¹ и 16.17 kcal mol⁻¹. Активационната енергия, характеризираща преноса на протон при трихидратирания комплекс на **2** и **3** е по-висока, отколкото при монохидратирания комплекс. Това показват изчисленията, проведени на ниво MP2/6-31G(d,p) за тиоформамид и на ниво MP2/6-31+G(d) за селеноформамид. На най-високото теоретично ниво MP4/6-31+G(d)//MP2/6-31+G(d), изчислената бариера на тавтомеризация за монохидратирания комплекс на **2** е по-висока от тази при трихидратирания комплекс с 1.89 kcal mol⁻¹. За разлика от това, активационната бариера, характеризираща преноса на протон с участие на вода в монохидратирания комплекс на селеноформамид е по-ниска, отколкото при трихидратирания комплекс с 1.35 kcal mol⁻¹.

Изчислените структурни параметри за тиоформамид са в добро съгласие с експерименталните резултати, получени чрез микровълнова спектроскопия. Установено е, че всички структури са планарни. Предсказаните дължини на връзки азот–водород (1.0143 Å и 1.0120 Å) от amino групата в **2A** са удължени, в сравнение с експериментално установените съответно с 0.0137 Å и 0.0119 Å. Изчислената дължина на връзката C=S (1.6358 Å) е по-дълга с 0.0272 Å в сравнение с експериментално установената. Намерените от нас дължини на връзките C–N и C–H са в много добро съгласие с експерименталните резултати.

Образуването на комплекс с три водни молекули води до промени в геометричните параметри на тиоформамид. Според MP2/6-31+G(d) изчисленията връзките N–C (1.3307 Å) и C–H (1.0920 Å) са скъсени съответно с 0.0208 Å и 0.0011 Å, докато тиокарбонилната връзка C=S (1.6630 Å) е удължена с 0.0272 Å. Връзките N–H също са удължени. Тези промени са по-силно изразени за комплекса на селеноформамид **A** + **3H₂O**. Връзката N–C (1.3242 Å) е по-къса с 0.0228 Å, а връзката C=Se (1.8009 Å) е по-дълга с 0.0329 Å.

За разлика от формамид, където водните молекули са разположени в равнината на молекулата, при **2** и **3** двете водни молекули образуват клъстер, който при тиоформамид е в равнината на молекулата, а при селеноформамид се намира над тази равнина.

В трихидратираните комплекси на **2A** и **3A** се образуват междумолекулни водородни връзки O...H между молекулите на **2** и **3** и двете водни молекули, разположени от двете страни на амино групата. Изчислените разстояния H...O, H...S и H...Se между молекулите на **1**, **2** и **3** и водната молекула, участваща в преноса на протон са 1.9333, 2.4574 и 2.5374 Å. Следователно междумолекулна водородна връзка съществува само в комплекса формамид-вода. Вероятно по тази причина двете водни молекули извън активния център образуват клъстер. Разстоянието O...H между двете молекули вода, които не участват в процеса на пренос на протон в трихидратираните комплекси **A** + **3H₂O** на формамид, тиоформамид и селеноформамид, намерено на ниво MP2/6-31+G(d) е съответно 6.7296, 5.4808 и 1.9107 Å. Следователно при **3** се образува водородна връзка между двете водни молекули в клъстера.

Двете водни молекули, намиращи се извън реакционния център са разположени в равнината на молекулата формамид при комплекса **A** + **3H₂O**, в равнината на комплекса на преходното състояние **TS** + **3H₂O** и в равнината на молекулата формамидинова киселина **B** + **3H₂O**. При тиоформамид и селеноформамид обаче, двете молекули вода образуват клъстер, както беше споменато по-горе. В преходното състояние **TS** + **3H₂O** този клъстер е разположен над равнината на разтворената молекула.

1.2. Реакции на мултипротонен пренос

В тази част изследваме друг модел на реакциите с пренос на протон във водна среда на формамид и неговите халкогенни аналози с три водни молекули. При него трите водни молекули са разположени около

тавтомерните форми (**A** и **B**) на съединенията и съответните им преходни структури, като две от тях образуващи клъстер, се намират между групите N-H и C=O (C=S, C=Se). Третата водна молекула образува междумолекулна водородна връзка с другия азотен атом от аминок групата.

Стойностите на относителните свободни енергии (ΔG_{298}), получени за трихидратираните комплекси на изследваните съединения са изчислени на нива MP2/6-31+G(d,p) и MP4/6-31+G(d,p)/MP2/6-31+G(d,p).

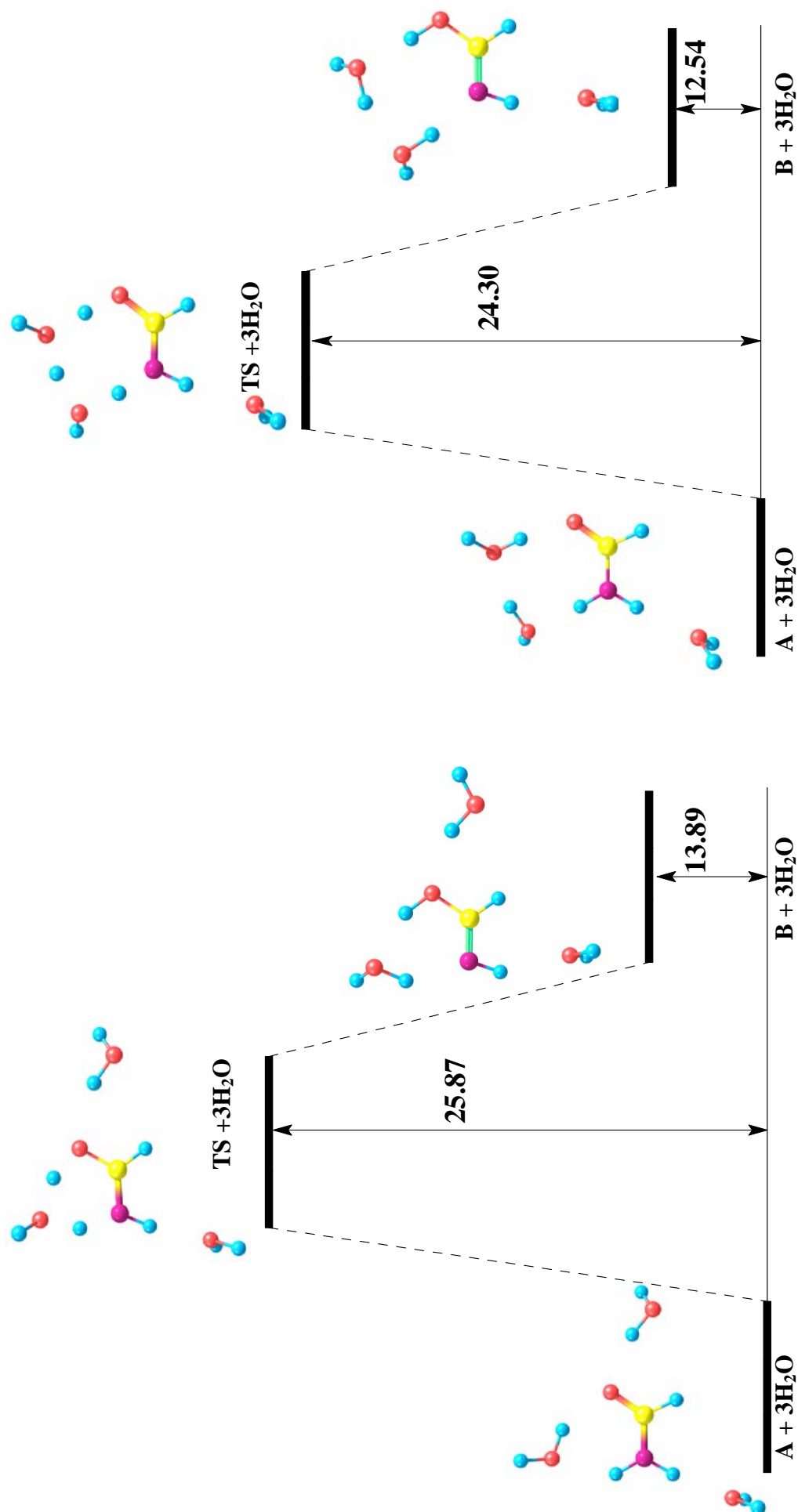
1.2.1. Формамид

Изчислени са пълните енергии (E_T), енталпии (H_0) и свободни енергии (G_{298}) за два различни модела на трихидратиран комплекс на формамид. При първия от тях се реализира пренос на протон с участието на една водна молекула, а във втория – мултипротонен пренос (Фиг. 10). В първия случай изчислените стойности за E_T , H_0 , G_{298} на тавтомерните форми **A**, **B** и съответните преходни структури са винаги по-високи, в сравнение с тези за втория модел. Това показва, че конфигурациите при които може да се реализира мултипротонен пренос са енергетически по-изгодни. Освен това при този механизъм бариерата на тавтомерно превръщане е по-ниска с $1.57 \text{ kcal mol}^{-1}$, в сравнение с тази, при който преносът се осъществява с помощта само на една водна молекула (Фиг.10).

Отчитането на електронната корелация и електростатичното влияние на разтворителя не променят съществено енергетичните разлики между двете тавтомерни форми.

1.2.2. Тиоформамид и селеноформамид

Разглеждайки в този раздел тавтомерното превръщане при халкогенните аналози на формамид – тиоформамид и селеноформамид по механизма на подпомогнат от воден клъстер пренос на протон, трябва да се отбележи, че по отношение на енергетиката на тези реакции се наблюдават някои промени, в сравнение със случая на формамид. Причината е замяната на кислородния атом със серен и селенов. Добавянето на воден клъстер, състоящ се от две водни молекули в областта, където протича преносът на протон води до повишаване стойностите за относителните стабилности (ΔH_0) при тиоформамид и особено при селеноформамид (с $0.66\text{-}2.89 \text{ kcal mol}^{-1}$ за тиоформамид и с $1.37\text{-}4.44 \text{ kcal mol}^{-1}$ за селеноформамид) в сравнение с процеса в газова фаза.



Фигура 10. Енергетичен профил на два различни механизма на реакцията $A + 3H_2O \rightarrow B + 3H_2O$ при формамид, изчислен на теоретично ниво MP4/6-31+G(d,p)/MP2/6-31+G(d,p). Свободните енергии на Gibbs (ΔG_{298}) и активационните бариери (ΔG_{298}^\ddagger) са представени в kcal mol⁻¹

За разлика от тях, както вече споменахме, при формамид добавянето на воден клъстер предизвиква обратен ефект. Освен това отчитането на електронната корелация намалява енергетичните разлики във воден разтвор доста по-силно, отколкото при формамид (с около 1 kcal mol⁻¹). Когато се отчете и електростатичното влияние на разтворителя също се получава картина, различна от тази при формамид – стойностите за ΔH_0 и ΔG_{298} се повишават съответно с 0.40-0.61 kcal mol⁻¹ при тиоформамид и с 1.85–1.97 kcal mol⁻¹ при селеноформамид.

Барьерите на тавтомеризация (за изолираните молекули на трите изследвани съединения, монохидратираните и трихидратираните им комплекси и съответните имагинерни честоти, изчислени на нива MP2/6-31+G(d,p), MP4/6-31+G(d,p)/MP2/6-31+G(d,p), PCM/MP2/6-31+G(d,p) и PCM/MP4/6-31+G(d,p) са представени в Таблица 7. Като цяло може да се направи извода, че за разлика от формамид, при неговите халкогенни аналози реакциите на мултипротонен пренос се характеризират с по-високи енергетични бариери, в сравнение с преноса, асистиран от една водна молекула – с 1.12–1.84 kcal mol⁻¹ и при двете съединения, като при селеноформамид тази разлика е по-отчетлива. Това се наблюдава на всички използвани изчислителни нива за тиоформамид. При селеноформамид, отчитането на влиянието на непрекъснатата среда води до понижаване на барьерите с 0.34-1 kcal mol⁻¹.

В Таблица 7 са представени също и скоростните константи, характеризиращи директния, с участието на една водна молекула и мултипротонния пренос. Скоростните константи за мултипротонния пренос са по-ниски от тези, характеризиращи преноса с участието на една водна молекула с един порядък.

Може да се направи извод, че реакциите с пренос на протон (директен или с участие на вода) при формамид и неговите халкогенни аналози не биха могли да протекат, поради високите енергетични бариери (от порядъка на 37-45 kcal mol⁻¹ за директния и 20-26 kcal mol⁻¹ за асистирания от вода пренос на протон) и ниските стойности на скоростните константи: от порядъка на 10⁻¹⁸-10⁻²⁶ s⁻¹ за директния пренос и 10⁻⁶-10⁻¹⁰ s⁻¹ за асистирания и мултипротонния пренос.

Таблица 7. Изчислени енергетични бариери $\Delta H_0^\#$ и $\Delta G_{298}^\#$ (в kcal mol⁻¹) на тавтомерното превръщане във формамид, тиоформамид и селеноформамид и техните водни кълстери. Имагинерните честоти са в cm⁻¹, а скоростните константи – в s⁻¹.

Изчислително ниво	A→B				A+1H ₂ O→B+1H ₂ O				A+3H ₂ O→B+3H ₂ O			
	$\Delta H_0^\#$	$\Delta G_{298}^\#$	k	$\nu^\#$	$\Delta H_0^\#$	$\Delta G_{298}^\#$	k	$\nu^\#$	$\Delta H_0^\#$	$\Delta G_{298}^\#$	k	$\nu^\#$
Формамид												
MP2/6-31+G(d,p)	44.58	44.91	7.4x10 ⁻²⁴	1932 <i>i</i>	20.14	21.56	9.7x10 ⁻⁷	1655 <i>i</i>	18.41	20.32	7.9x10 ⁻⁶	1352 <i>i</i>
MP4/6-31+G(d,p)//MP2/6-31+G(d,p)	47.77	48.09	3.5x10 ⁻²⁶		23.62	25.04	2.7x10 ⁻⁹		22.40	24.30	9.5x10 ⁻⁹	
PCM/MP2/6-31+G(d,p)	45.31	45.64	2.2x10 ⁻²⁴		21.88	23.30	5.2x10 ⁻⁸		19.40	21.29	1.5x10 ⁻⁶	
PCM/MP4/6-31+G(d,p)	45.86	46.19	8.6 x10 ⁻²⁵		23.31	24.73	4.6x10 ⁻⁹		21.15	23.05	7.9x10 ⁻⁸	
Тиоформамид												
MP2/6-31+G(d,p)	38.52	38.79	2.3x10 ⁻¹⁸	1735 <i>i</i>	19.97	21.30	1.5x10 ⁻⁶	1419 <i>i</i>	21.09	22.49	2.0x10 ⁻⁷	1263 <i>i</i>
MP4/6-31+G(d,p)//MP2/6-31+G(d,p)	41.42	41.70	1.7x10 ⁻²¹		23.49	24.82	4.0x10 ⁻⁹		25.34	26.73	1.6x10 ⁻¹⁰	
PCM/MP2/6-31+G(d,p)	42.34	42.62	3.5x10 ⁻²²		21.59	22.92	9.8x10 ⁻⁸		23.01	24.40	8.1x10 ⁻⁹	
PCM/MP4/6-31+G(d,p)	42.80	43.08	1.6x10 ⁻²²		23.02	24.35	8.8x10 ⁻⁹		24.86	26.26	3.5x10 ⁻¹⁰	
Селеноформамид												
MP2/6-31+G(d,p)	37.22	37.40	2.4x10 ⁻¹⁸	1598 <i>i</i>	20.50	21.68	7.9x10 ⁻⁷	1128 <i>i</i>	21.66	23.16	6.5x10 ⁻⁸	707 <i>i</i>
MP4/6-31+G(d,p)//MP2/6-31+G(d,p)	39.86	40.04	2.8x10 ⁻²⁰		23.60	24.78	4.2x10 ⁻⁹		25.33	26.83	1.3x10 ⁻¹⁰	
PCM/MP2/6-31+G(d,p)	42.82	42.99	1.9x10 ⁻²²		23.36	24.55	6.3x10 ⁻⁹		22.36	23.85	2.0x10 ⁻⁸	
PCM/MP4/6-31+G(d,p)	43.16	43.33	1.1x10 ⁻²²		24.66	25.84	7.1x10 ⁻¹⁰		24.00	25.50	1.3x10 ⁻⁹	

2. Амино-иминна тавтомерия при азолидини във водна среда

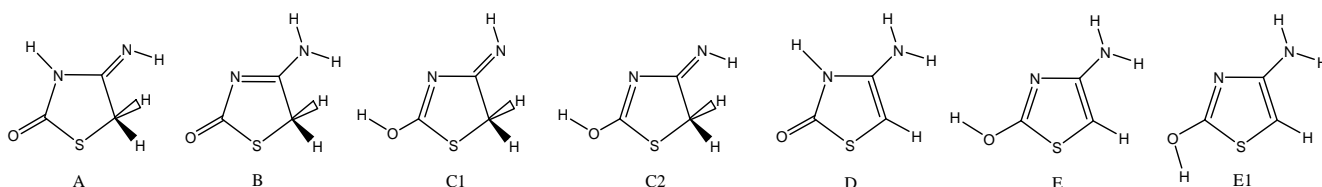
Тавтомерията при хетероцикличните съединения е подробно изследвана през изминалите три десетилетия поради тяхното биологично значение и силната им зависимост от природата на разтворителя. Показано е, че взаимодействията разтворена молекула-разтворител могат да влияят върху относителната стабилност на тавтомерните форми.

За изследваните от нас азолидини досега не са провеждани теоретични изследвания, а съществуващите експериментални данни са противоречиви.

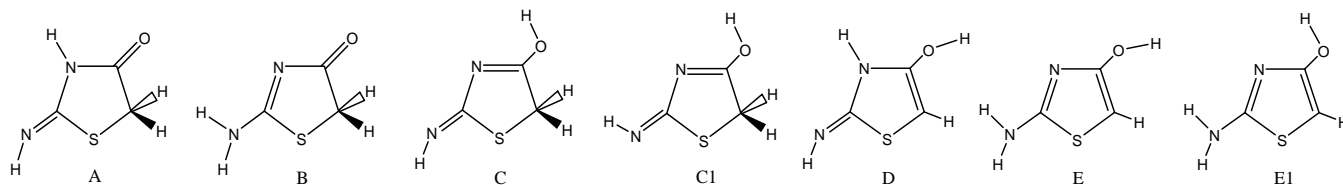
2.1. Относителни стабилности в газова фаза

Разгледани са всички пет тавтомера и техните ротамерни структури на съединенията 2-амино-тиазолидин-4-он (2АТ) и 4-амино-тиазолидин-2-он (4АТ) (Фиг. 11).

4АТ



2АТ



Фигура 11. Възможни тавтомерни и ротамерни форми на 2АТ и 4АТ.

Геометричната оптимизация е проведена на теоретично ниво HF/6-31G(d,p). Изчисленията показват, че за 2АТ най-стабилен е тавтомер **A**, докато за 4АТ най-стабилната тавтомерна форма е **B**.

Структурите на най-стабилните тавтомерни форми (**A** и **B**) за съединенията 2АТ и 4АТ са реоптимизирани на ниво MP2/6-31+G(d,p). На теоретично ниво MP2/6-31+G(d,p) са изчислени бариерите на вътрешномолекулен пренос на протон между тавтомерите **A** и **B** за двете съединения. И в двата случая стойностите за бариерите на пренос на протон са доста високи и тавтомерен процес не протича.

На теоретично ниво MP2/6-31+G(d,p) са изчислени пълните енергии и относителните стабилности в газова фаза и в разтвор на най-ниско

енергетичните тавтомери на 2АТ и 4АТ, с помощта на РСМ метода за разтворители CHCl_3 ($\epsilon = 4.9$) и DMSO ($\epsilon = 46.7$).

Тавтомерната форма **В** и за двете изследвани съединения е намерена като най-стабилна. Енергетичните разлики между двата тавтомера, изчислени за газова фаза нарастват в разтвор на CHCl_3 и особено в по-полярният разтворител DMSO . Това е в съгласие с очакванията, че полярните съединения се стабилизират повече в полярни разтворители, отколкото в неполярни. За 4АТ amino формата е предсказана като по-стабилна в газова фаза и в разтворителите CHCl_3 и DMSO .

2.2. Относителни стабилности във воден разтвор

За да се моделира преносът на протон при 2АТ и 4АТ във воден разтвор, подобно на разглежданията в предишната глава се използва подходът на супермолекулата, при който към разтворената молекула се добавят една или няколко водни молекули.

В този раздел представяме резултати, касаещи геометриите и енергетиката на комплексите на 2АТ и 4АТ с една и три водни молекули, като сравняваме два възможни механизма на реакциите с пренос на протон.

Влиянието на хидратацията е симулирано чрез подхода на супермолекулата, при който една или три водни молекули се намират около имино **А** и amino **В** тавтомерните форми. В такива системи, водните молекули са разположени специфично около местата, където има възможност за протичане на междумолекулен пренос на протон. Изчислени са пълните енергии за **А** и **В** на 2АТ и 4АТ и техните моно- и трихидратирани комплекси.

В монохидратирания комплекс на 2АТ и 4АТ водните молекули са разположени между N-H от amino групата и азотния атом в петчленния хетероцикъл.

Комплексът **В+H₂O** на 4АТ е предсказан като по-стабилен на всички разглеждани изчислителни нива. Същите резултати са получени и за монохидратирания комплекс на 2АТ на нива MP2/6-31+G(d,p) и РСМ/MP2/6-31+G(d,p)//MP2/6-31+G(d,p). Добавянето обаче на корелационни ефекти от високо ниво (MP4/6-31+G(d,p)//MP2/6-31+G(d,p)), предсказва комплекса **А+H₂O**, като по-стабилен.

Разглеждайки трихидратирания комплекс на 2АТ и 4АТ ние приемаме, че две от водните молекули се намират между N-H от amino групата и азотния атом в петчленния хетероцикъл, докато третата молекула вода е разположена от другата страна на същата amino група. Стойностите за относителните енталпии и свободните енергии, изчислени на нива MP2 и

MP4, за трихидратираните комплекси показват, че комплекса **B+3H₂O** е по-стабилен. Според получените резултати, разликите в стабилностите на трихидратираните комплекси на тавтомерите **A** и **B** за 2АТ и 4АТ нарастват значително, спрямо тези при монохидратираните комплекси.

Получените с *ab initio* методи резултати, касаещи геометричните параметри на тавтомер **B** са в добро съгласие с наличните кристалографски данни.

Както би могло да се очаква, формирането на трихидратиран комплекс индуцира главно промени в геометричните параметри на **A** и **B** в областта на образуване на водородни връзки. Според изчисленията на ниво MP2/6-31+G(d,p) за тавтомер **B** на 2АТ, измененията във връзките N-H и C-N са съществени. Образуването на междумолекулна водородна връзка в комплекса **B+3H₂O** води до удължаване на връзките N-H в amino групата с 0.0068 Å и 0.0159 Å. Удължаването на връзката C-N (1.3203 Å) от хетероцикъла в близост до amino групата е по-силно изразено (+0.0169 Å), отколкото скъсяването с 0.0117 Å на другата връзка N-C (1.3864 Å). Подобни са и промените, наблюдавани в тавтомер **B** на 4АТ. Наблюдава се удължаване на връзките N-H от amino групата съответно с 0.0062 Å и 0.0145 Å. Екзоцикличната връзка C-N също силно се скъсява: -0.0242 Å при 2АТ и -0.0227 Å при 4АТ.

Формирането на междумолекулна водородна връзка в комплекса **A + 3H₂O** води до удължаване на връзката N-H (1.0338 Å) между азотния атом от хетероцикъла и водородния атом с 0.0210 Å, докато връзката N-C от петчленния пръстен, в близост до карбонилната група почти не се променя. Връзката N-H (1.0207 Å) от имино групата, както и екзоцикличната C-N (1.2835 Å) също се удължават, поради образуването на междумолекулна водородна връзка съответно с 0.0020 Å и 0.0050 Å, а тази C-N (1.3835 Å) от хетероцикъла, в близост до имино групата се скъсява с 0.0085 Å, в сравнение с изолираната молекула **A**. При 4АТ се наблюдават някои различия, свързани с геометричните параметри на тавтомер **A**. Добавянето на три водни молекули предизвиква удължаване на връзката N-H (1.0332 Å) между азотния атом от хетероцикъла и водороден атом, както и на тази C-S (1.7926 Å), в близост до карбонилната група съответно с 0.0202 Å и 0.0044 Å. Изчисленията на ниво MP2/6-31+G(d,p) за тавтомер **A** на 4АТ на дължините на връзката C-N (1.3760 Å), намираща се до имино групата, както и на другата връзка C-S (1.8158 Å), показват удължаване съответно с 0.0102 Å и 0.0045 Å. Според изчисленията на същото теоретично ниво тези връзки не се променят при 2АТ. Водните молекули в трихидратираните комплекси на 2-амино-

тиазолидин-4-он и 4-амино-тиазолидин-2-он лежат в една равнина с хидратираната молекула.

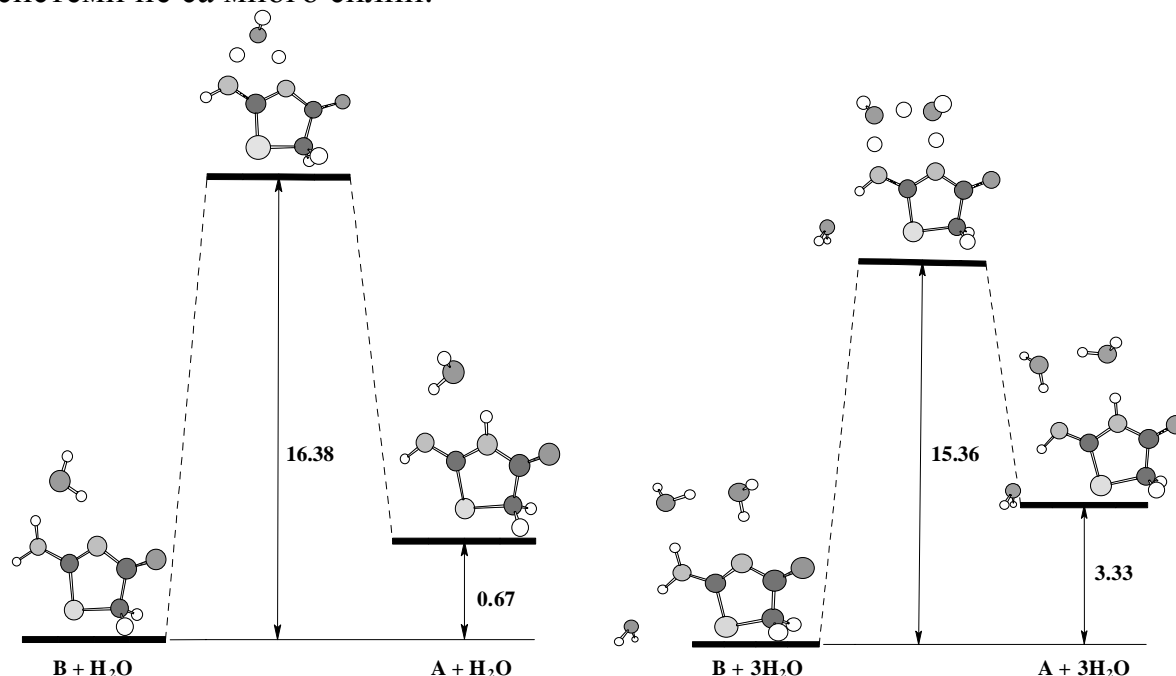
2.3. Пренос на протон с участие на една или две водни молекули

В тази част са представени изчисления за бариерите на реакциите с пренос на протон в разглежданите изолирани, монохидратирани и трихидратирани тавтомерни форми на 2АТ и 4АТ. Разглеждат се два различни реакционни механизма на тавтомеризация в монохидратирани и трихидратирани комплекси. В първия случай преносът на протон от аминок групата до азотния атом от хетероцикълa се подпомага само от една молекула вода. Във втория случай, водородният атом от аминок групата мигрира към водната молекула. Протон от тази молекула се пренася до втората водна молекула, която от своя страна предава протон на азотния атом в петчленния хетероцикличен пръстен – мултипротонен пренос.

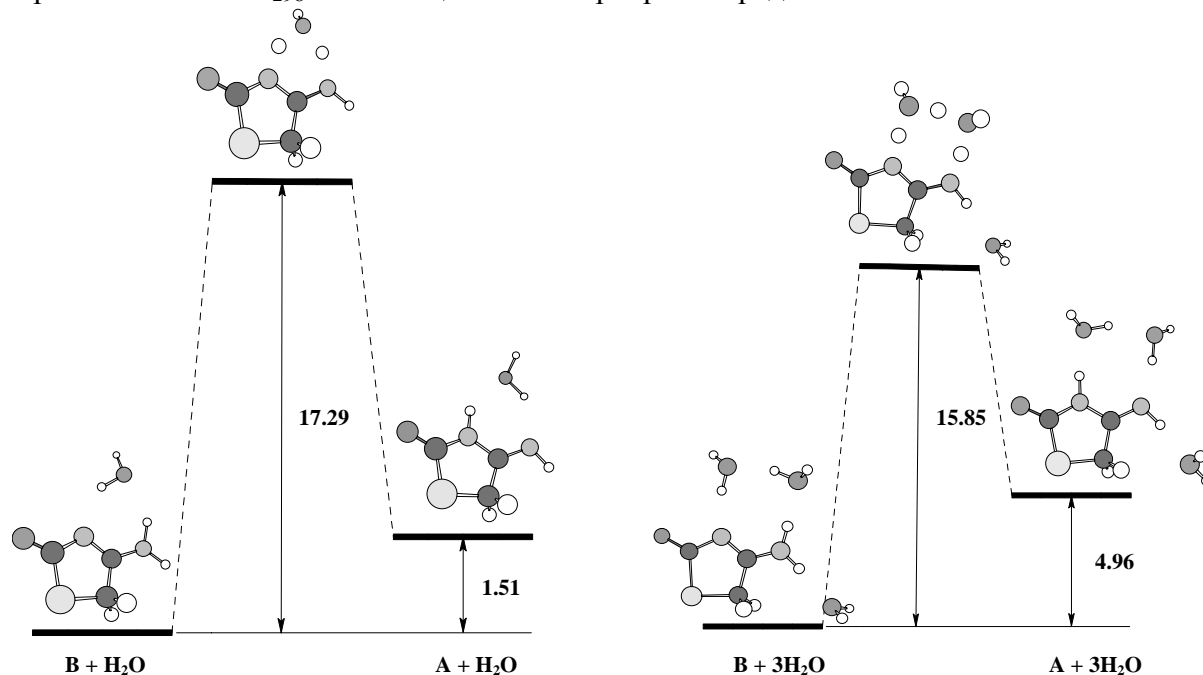
Локализирани са структурите на преходните състояния, отговарящи на директния и с участието на вода пренос на протон. Изчислените бариери на тавтомеризация за изолираните (**В**→**А**), моно- и трихидратирани молекули на 2АТ и 4АТ и съответните имагинерни честоти, изчислени на ниво MP2/6-31+G(d,p) са представени в Таблица 14.

За определяне на скоростните константи k на процеса **В** → **А** е приложена класическата теория за преходното състояние, използвайки уравнението на Eyring. Изчислените класически скоростни константи k за реакцията на пренос на протон в 2АТ и 4АТ са представени в Табл. 14. Според получените на всички нива на изчисление стойности за скоростните константи, мултипротонният пренос може да се осъществи, макар и бавно ($k_{relay\ PT} = 10^1\text{-}10^{-2}\text{ s}^{-1} \gg k_{direct\ PT} = 10^{-21}\text{-}10^{-26}\text{ s}^{-1}$). Активационната енергия на реакцията на тавтомеризация **В** → **А** чрез директен пренос на протон е много висока и тавтомеризационен процес не може да протече. Включването на водни молекули значително намалява активационната енергия – при трихидратирания комплекс на 2АТ и 4АТ тя е съответно с 28.65-29.75 kcal mol⁻¹ и 30.45-32.49 kcal mol⁻¹ по-ниска, отколкото при изолираната молекула на различните изчислителни нива. Разликата между енергетичните бариери за подпомогнатия от една водна молекула пренос на протон и за мултипротонния пренос е по-голяма при 4АТ (1.44 kcal mol⁻¹), отколкото при 2АТ (1.02 kcal mol⁻¹). По този начин участието на две водни молекули в реакциите с пренос на протон би трябвало да е предпочетено, в сравнение с тези, при които участва само една молекула вода (Фигури 17 и 18). Възможно обяснение би могло да се даде на базата на сравнение на междумолекулните

водородни връзки и съответните валентни ъгли в реакционния център на клъстера разтворена молекула-разтворител. Въз основа на изчислените геометрични параметри на моно- и трихидратираните тавтомерни форми на 2АТ и 4АТ, предсказаните междумолекулни водородни връзки за тези системи не са много силни.



Фигура 17. Енергетичен профил на реакциите на тавтомеризация $B + H_2O \rightarrow A + H_2O$ и $B + 3H_2O \rightarrow A + 3H_2O$ на 2АТ, изчислен на теоретично ниво MP2/6-31+G(d,p). Свободните енергии на Gibbs ΔG_{298} и активационните бариери са представени в kcal mol^{-1} .



Фигура 18. Енергетичен профил на реакциите на тавтомеризация $B + H_2O \rightarrow A + H_2O$ и $B + 3H_2O \rightarrow A + 3H_2O$ на 4АТ, изчислен на теоретично ниво MP2/6-31+G(d,p). Свободните енергии на Gibbs ΔG_{298} и активационните бариери са представени в kcal mol^{-1} .

Валентните ъгли N-H-O, образувани с водните молекули и монохидратирания комплекс на 2АТ и 4АТ са от порядъка на 139.9°-144.1°. В трихидратирания комплекс същите стават почти линейни - 166.8°-175.7°. Освен това разстоянията на пренос на протон (разстоянието между началната и крайната позиция на протона) d_{H14} и d_{H11} в монохидратирания молекула на 2АТ съответно са 1.1531 Å и 1.1394 Å, докато в трихидратирания комплекс те са по-къси: $d_{H14} = 0.9081$ Å и $d_{H11} = 0.9216$ Å. Протонното отместване $d_{H11} = 1.1586$ Å в монохидратирания молекула на 4АТ се намалява до 0.9356 Å в трихидратирания комплекс, докато стойността за d_{H14} е 1.2147 Å и 1.3736 Å съответно за моно- и трихидратирания комплекс.

Ако разгледаме трихидратирания комплекс на 2АТ и 4АТ, поставени в непрекъсната поляризуема среда, активационните енталпии ($\Delta H_0^\#$), изчислени на ниво MP2/6-31+G(d,p) нарастват съответно с 0.71 и 1.49 kcal mol⁻¹, спрямо стойностите за клъстера в газова фаза (Таблица 14). Свободните активационни енергии ($\Delta G_{298}^\#$) също се увеличават: с 0.96 kcal mol⁻¹ при 2АТ и с 1.77 kcal mol⁻¹ при 4АТ.

2.4. Възможно ли е разграничаване на отделните тавтомерни форми на 2АТ и 4АТ с помощта на ЯМР и УВ спектроскопски методи?

Според изчисленията на ниво PCM/MP2/6-31+G(d,p) разлики в свободните енергии на Gibbs за двете тавтомерни форми **A** и **B** на разглежданите съединения във всички случаи тавтомерът **B** е предпочетен. Разликите в свободните енергии на Gibbs за трихидратирания молекула на 2АТ и 4АТ съответно са 3.57 и 6.18 kcal mol⁻¹. На основата на тези разлики са пресметнати процентните концентрации за тавтомер **A** - 0.24 % за 2АТ и 0.003 % за 4АТ.

При изследване поведението на структури **A** и **B** в разтвор, са направени ¹³C ЯМР спектри. Ние допускаме, че поради много ниската концентрация на тавтомер **A**, негови сигнали не могат да се наблюдават в ЯМР спектрите на 2АТ и 4АТ, съответно в D₂O и D₂O/CD₃OD.

В този случай би могла да се използва УВ спектроскопията. УВ абсорбционният спектър на 2АТ и 4АТ се състои от два абсорбционни максимума, като в този на 4АТ максимумите са с по-ниска интензивност. Проведени са TD DFT изчисления на ниво B3LYP/aug-cc-pVTZ, предсказващи абсорбционните максимуми на тавтомерните форми **A** и **B** на 2АТ и 4АТ. И при двете съединения абсорбционните максимуми за двата тавтомера са изчислени да попадат в една област. Това би могло да обясни, защо не е възможно да се определи експериментално съществуването на тавтомерната форма **A**.

3. Оксо-хидроксидна тавтомерия при 5-флуороурацил във водна среда

5-флуороурацилът (5FU) е цитотоксичен аналог на тимина, с доказано приложение в химиотерапията на различни видове рак, особено при колоректалните видове тумори. Включването на 5FU на мястото на тимидин в нуклеиновите киселини може да доведе до структурни или функционални отклонения, които все още не са достатъчно изследвани.

3.1. Реакции на директен и подпомогнат от водна молекула пренос на протон

3.1.1. Относителни стабилности и структури на тавтомерните форми на 5-флуороурацил

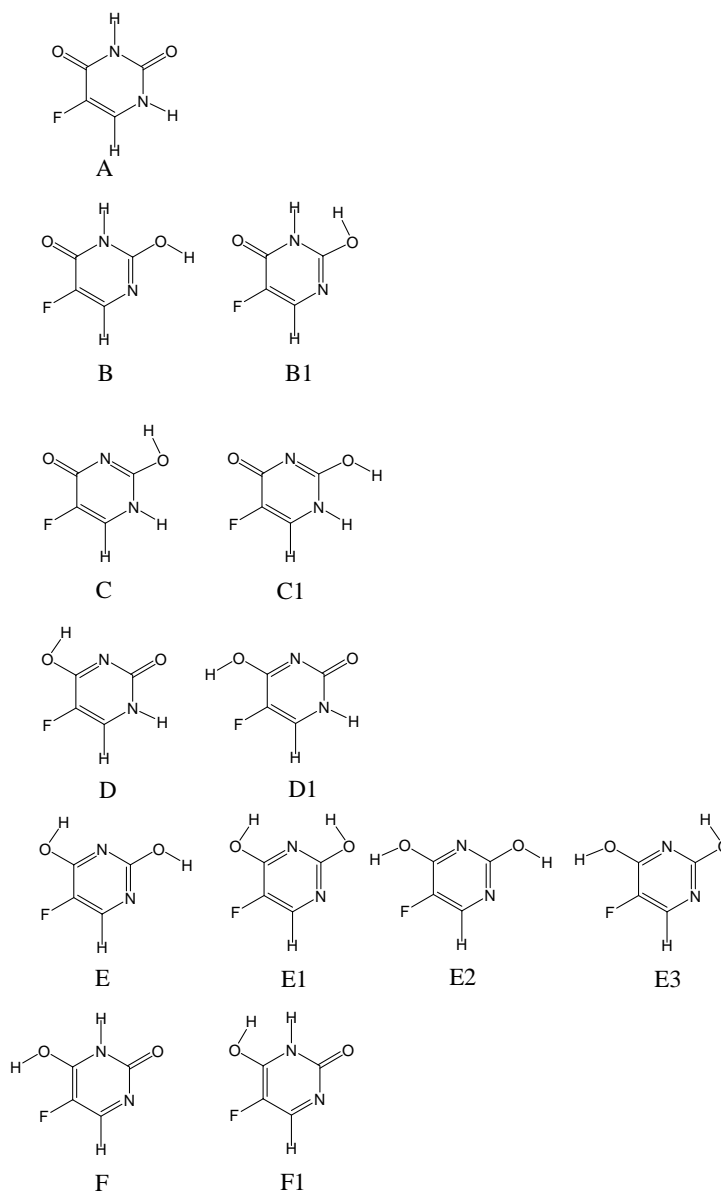
Симулиран е модел на хидратацията на 5FU, при който водните молекули са разположени в близост до местата, където могат да се образуват водородни връзки между разтворената молекула и молекулите на разтворителя. Целта е да се изследва влияе ли хидратацията на енергетичната разлика между отделните тавтомери и активационните бариери на реакциите на тавтомеризация.

Шестте възможни тавтомерни форми на 5FU, както и техните ротамери са представени на Фиг. 21. Всички структури са оптимизирани на ниво HF/6-31+G(d,p). Изчислени са пълните енергии на диоксо тавтомера **A** и различните хидроксидни тавтомери **B-F** на 5FU в газова фаза. Избрани структури са реоптимизирани на теоретично ниво MP2/6-31+G(d,p). Изчислените енергии на тавтомерите на същото ниво показват, че най-стабилната тавтомерна форма е 2,4-диоксо формата **A**, следвана от 2-хидроксид-4-оксо **B**, 2-хидроксид-4-хидроксид **E** и 2-оксо-4-хидроксид **D**.

Тавтомерните форми **C** и **F** имат енергетична разлика с **A** повече от 16 kcal mol⁻¹, и по тази причина няма да бъдат разглеждани по нататък. Ако се сравнят резултатите, получени на нива HF/6-31+G(d,p) и MP2/6-31+G(d,p), може да се заключи, че по-високото ниво на изчисление увеличава енергетичната разлика между тавтомерите, но редът на относителна стабилност остава непроменен.

Разглежда се ефектът на хидратацията, използвайки приближението за супермолекулата, където три водни молекули се намират около тавтомерите **A**, **B**, **D** и **E** на 5FU. В нашия модел ние приемаме, че свързването между водата и 5FU е трихидратиран комплекс, в който две от водните молекули се намират между групите N-H и C=O, докато третата молекула вода е между групите C-F и C-H. На теоретично ниво MP2/6-31+G(d,p) са

изчислени стойностите за относителните енергии, получени за трихидратирани комплекси. Както вече беше споменато, редът в който се подреждат тавтомерите по своята стабилност е **A** > **B** > **E** > **D**. При образуване на водните комплекси относителните стабилности на тавтомерните форми се променят: **A** > **B** > **D** > **E**. Докато в газова фаза тавтомер **A** е с $8.55 \text{ kcal/mol}^{-1}$ от **B**, при образуване на комплекс с три водни молекули тази стойност става $7.42 \text{ kcal mol}^{-1}$. За тавтомерната форма **D** промяната е по-силно изразена: $12.54 \text{ kcal mol}^{-1}$ преди и $8.92 \text{ kcal mol}^{-1}$ след образуването на комплекса. Енергетичната разлика между тавтомерите **A** и **E** почти не се променя при образуването на комплекса. Трихидратираният комплекс на тавтомер **E**, който е с най-висока енергия и не може да бъде получен директно от **A**, няма да се разглежда по-нататък.



Фигура 21. Тавтомерни и ротамерни форми на 5-флуороурацил.

След включването на вибрационната поправка ZPE на ниво MP2/6-31+G(d,p), енергията на тавтомеризация ΔH_0 за водните комплекси на **B** и **D** нараства слабо; енергетичните разлики стават съответно 7.55 и 9.08 kcal mol⁻¹. При поставяне на трихидратираните комплекси на 5FU в непрекъсната водна среда, тавтомерните форми **B** и **D** стават почти равни по енергия, с малък превес на **B**.

За отчитане възможността за образуване на междумолекулни водородни връзки между тавтомерите **A**, **B** и **D** на 5FU и водата, като разтворител, се разглеждат енергиите на взаимодействие (E_{int}) за трихидратираните комплекси:

$$E_{\text{int}} = E_{5\text{FU}} + 3 E_{\text{water}} - E_{\text{complex}}$$

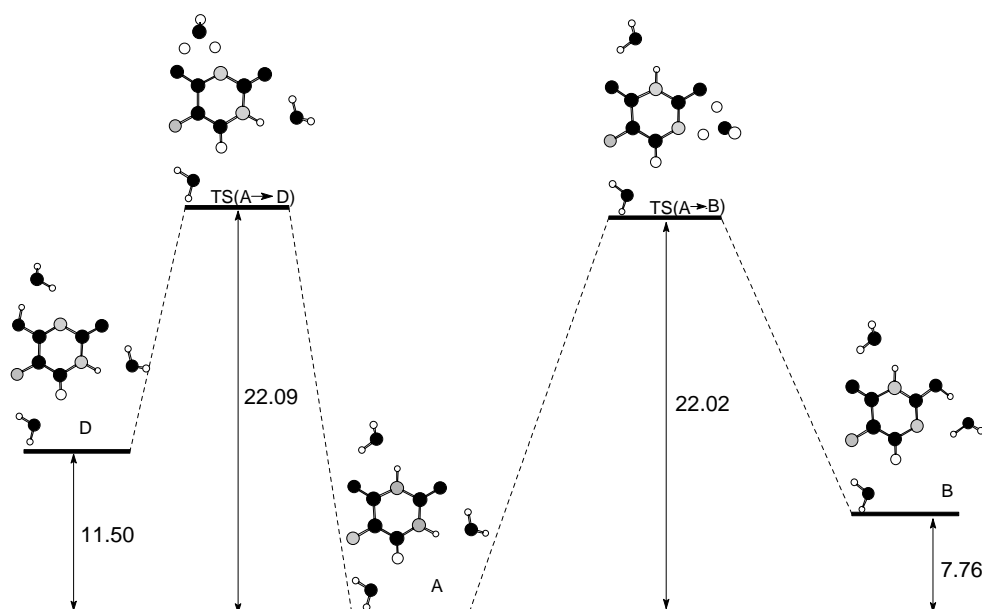
където $E_{5\text{FU}}$, E_{complex} , и E_{water} са съответно енергиите, изчислени на теоретично ниво MP2/6-31+G(d,p) за всеки тавтомер на 5FU, неговия трихидратиран комплекс и водната молекула. Получените стойности за енергиите на взаимодействие E_{int} на **A**, **B**, и **D** са съответно 25.43, 26.14, и 28.48 kcal mol⁻¹. Водният комплекс на **D** има най-голяма енергия на взаимодействие и затова не е изненадващо, че във воден разтвор енергетичната разлика между тавтомерите **A** и **D** се изменя съществено, в сравнение с тази при изолираните молекули.

Стойностите за относителните свободни енергии ΔG на изолираните тавтомерни форми, претърпяват малки изменения за сметка на члена $T\Delta S$. По-съществени промени се наблюдават при хидратираните тавтомери на **A**, **B**, и **D**: по-значителни са различията между техните стабилности. Равновесните константи са изчислени с помощта на израза $K = e^{-\Delta G/RT}$. Получените стойности за трихидратираните тавтомерни форми са $K_{\text{A} \rightarrow \text{B}} = 1 \times 10^{-6}$ и $K_{\text{A} \rightarrow \text{D}} = 3.9 \times 10^{-10}$. Тези стойности предполагат, че тавтомерите **B** и **D** попадат в границите на изследваните честоти за спонтанни мутации (10^{-8} – 1×10^{-11}).

Според относителните стабилности на **A**, **B**, и **D**, изчислени на теоретично ниво MP4/6-31++G(d,p)/MP2/6-31+G(d,p), населеността на тавтомерната форма **D** е пренебрежима (3.9×10^{-8} %), тъй като тя има енергия, по-висока от тази на **A** с 11.50 kcal mol⁻¹ (Фиг. 22). Въпреки това, присъствието на енолната форма **B** не би могло да бъде изключено, поради това, че този тавтомер е с 7.76 kcal mol⁻¹ по-висока енергия от най-стабилния тавтомер **A** и населеността му във воден разтвор е 1×10^{-4} %.

3.1.2. Геометрични параметри на изолирани и хидратирани молекули на трите тавтомерни форми на 5-флуороурацил

Междумолекулните водородни връзки O...H, образувани между молекулата на 5FU и водната молекула в областта между групите C=O и N-H в трихидратирания комплекс на **A** са по-дълги от същите връзки в трихидратирания комплекс на **D** съответно с 0.078 и 0.003 Å, а разстоянието между кислородния атом от молекулата на 5FU (тавтомерна форма **A**) и водородния атом от водната молекула, вземаща участие в преноса на протон е по-голямо, отколкото това между кислородния атом от водната молекула и водородния атом от хидроксилната група на 5FU (тавтомерна форма **D**) с 0.26 Å.



Фигура 22. Енергетичен профил на реакциите на тавтомеризация $D \leftarrow A \rightarrow B$ на 5-флуороурацил с участието на три водни молекули, изчислен на теоретично ниво MP4/6-31+G(d,p)//MP2/6-31+G(d,p). Свободните енергии на Gibbs (ΔG_{298}) и активационните бариери ($\Delta G^{\ddagger}_{298}$) са представени в kcal mol⁻¹.

Получените резултати за геометрията на тавтомер **A** са в добро съгласие с експерименталните данни, получени с кристалографски методи. Както се очаква, формирането на трихидратирания комплекс води до някои изменения в геометричните параметри на **A**, **B** и **D**, особено в областта на водородните връзки. Промените в карбонилната, N-H и C-F връзки са силно изразени, според изчисленията за тавтомер **A**, направени на теоретично ниво MP2/6-31+G(d,p). Образоването на междумолекулни водородни връзки в комплекса **A** + 3H₂O води до удължаване на връзките C=O и N-H с 0.010-0.011 Å. Връзките C-F и C-N се удължават съответно с 0.009 и 0.001 Å, поради формирането на междумолекулни водородни връзки. Всички прости

връзки C-N и C-C в хетероцикличния пръстен са по-къси, докато двойната връзка C=C е по-дълга с 0.002 Å. Скъсяването на връзката C-C е по-силно изразено (0.010 Å) от това на връзката C-N (0.007 Å). Ефектът на комплексообразуване е съществен и за водната молекула. Наблюдава се удължаване (с 0.012 Å) на връзката O-H, вземаща участие в образуването на междумолекулната водородна връзка.

На теоретично ниво MP2/6-31+G(d,p) са изчислени междуатомните разстояния за трихидратираните комплекси на тавтомерите **B** и **D**. Наблюдават се промени в карбонилната и хидроксилната групи при двата тавтомера, дължащи се на ефекта на хидратация. Връзката C=O се удължава с 0.011 Å в комплекса **B** + 3H₂O и с 0.015 Å в **D** + 3H₂O. Подобни изменения се наблюдават и за връзката O-H – тя се удължава съответно с 0.020 и 0.019 Å, поради образуването на междумолекулна водородна връзка и C-F – удължението е с 0.010 и 0.006 Å. В хетероцикления пръстен връзката C=N става по-дълга с 0.013-0.014 Å, докато връзката C=C почти не се променя под действие на хидратацията.

3.1.3. Енергетични бариери на реакциите с пренос на протон

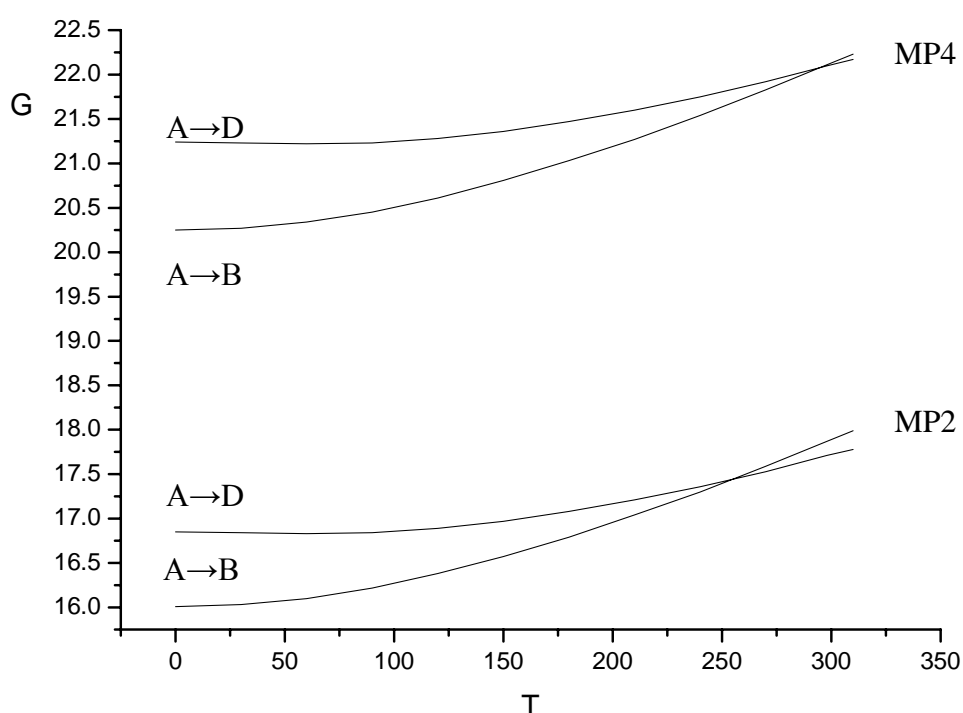
В това изследване ние разглеждаме механизма на тавтомерно превръщане във воден разтвор на 5FU. Установени са структурите на преходните състояния, съответстващи на директния и с участието на разтворител пренос на протон. Изчислените бариери на тавтомеризация за изолираната (**A**→**B** и **A**→**D**) и трихидратираната (**A** + 3H₂O → **B** + 3H₂O и **A** + 3H₂O → **D** + 3H₂O) молекула на 5FU и съответните имагинерни честоти, изчислени на ниво MP2/6-31+G(d,p) са представени в Таблица 20.

Реакцията **A**→**B** има по-ниска бариера от тази на **A**→**D**. Изчислените стойности за бариерите на реакциите с пренос на протон в 5FU и неговите водни комплекси са представени в Табл. 20. Активационната енергия на реакцията на тавтомеризация **A**→**B** чрез директен пренос на протон е много висока и тавтомеризационен процес не би трябвало да протича: скоростната константа е от порядъка на 10⁻¹⁸-10⁻²¹ s⁻¹, в зависимост от нивото на изчисление.

Включването на молекули вода съществено редуцира активационната енергия. За трихидратирания комплекс, активационната енергия, характеризираща процеса на пренос на протон за същата реакция е по-ниска, отколкото тази за изолираната молекула с 22.7-24.3 kcal mol⁻¹ на различните изчислителни нива. Поради високата чувствителност на височината на бариерите към използваното ниво на електронна корелация,

разглежданите разлики между резултатите на нива MP4 и MP2 не са изненадващи.

Ако се разглежда трихидратирания комплекс на 5-флуороурацил, поставен в непрекъсната среда, енергетичните бариери на реакциите $A \rightarrow B$ и $A \rightarrow D$, изчислени на ниво MP2/6-31+G-(d,p) нарастват съответно с 1.02 и 0.12 kcal mol⁻¹. При 0 K (т.е. ΔH_0^\ddagger) енергетичната бариера на асистирания пренос на протон за реакцията $A \rightarrow B$ е по-ниска, отколкото тази за реакцията $A \rightarrow D$. Ситуацията се променя, ако членът $T\Delta S^\ddagger$ се вземе под внимание. Графичната зависимост между получената активационна бариера и температурата е показана на Фиг. 26.



Фигура 26. Графична зависимост на активационните бариери (kcal.mol⁻¹) от температурата (K) за реакциите $A \rightarrow B$ и $A \rightarrow D$. Изчисленията са проведени на нива MP4/6-31+G(d,p)//MP2/6-31+G(d,p) и MP2/6-31+G(d,p).

Активационните енергии са независими от температурата в границите 0-60 K. Както може да се види от Фигура 26, изчислените активационни бариери за процесите се изравняват при около 260 K на ниво MP2/6-31+G(d,p)//MP2/6-31+G(d,p) и при 298 K на ниво MP4/6-31+G(d,p)//MP2/6-31+G(d,p). Както се вижда, съществува възможност за протичане на две паралелни реакции $D \leftarrow A \rightarrow B$, поради това, че двете бариери са енергетично близки (Табл. 20 и Фиг. 26).

Таблица 20. Изчислени енергетични бариери $\Delta H_0^\#$ и $\Delta G_{298}^\#$ (в kcal.mol⁻¹) за 5-флуороурацил и негови водни комплекси. Имагинерните честоти $\nu^\#$ са в cm⁻¹. Скоростните константи са представени в s⁻¹.

Изчислительно ниво	Реакция											
	$A \rightarrow B$				$A+3H_2O \rightarrow B+3H_2O$				$A+3H_2O \rightarrow D+3H_2O$			
	$\Delta H_0^\#$	$\Delta G_{298}^\#$	k	$v^\#$	$\Delta H_0^\#$	$\Delta G_{298}^\#$	k	$v^\#$	$\Delta H_0^\#$	$\Delta G_{298}^\#$	k	$v^\#$
MP2/6-31+G(d,p)	42.11	42.00	1.0×10^{-18}	1892i	16.01	17.87	4.9×10^{-1}	1496i	16.85	17.71	6.5×10^{-1}	1439i
MP4/6-31+G(d,p)//MP2/6-31+G(d,p)	45.81	45.34	3.6×10^{-21}		20.25	22.11	3.8×10^{-4}		21.24	22.09	4.0×10^{-4}	
MP4/6-31++G(d,p)//MP2/6-31+G(d,p)	45.24	44.76	9.6×10^{-21}		20.16	22.02	4.5×10^{-4}		21.23	22.09	4.0×10^{-4}	

За определяне на скоростните константи k на конкурентните процеси $A \rightarrow B$ и $A \rightarrow D$ е приложена класическата теория за преходното състояние, използвайки уравнението на Eyring. Изчислените класически скоростни константи k на реакцията на пренос на протон в 5FU са представени в Табл. 20. Поради експоненциалната зависимост на скоростната константа от ΔG^\ddagger , техните стойности се различават с три порядъка на величината за различните изчислителни нива. Според стойностите за k , получени на всички нива на изчисление, правата реакция на пренос на протон, с участие на вода може да протече ($k_{\text{assisted PT}} = 10^{-1}-10^{-4} \text{ s}^{-1}$; $k_{\text{direct PT}} = 10^{-18}-10^{-21} \text{ s}^{-1}$), макар и бавно. Това предполага, че скоростната константа на правата реакция е в по-голяма степен лимитиращ фактор, в сравнение с равновесната константа. Следователно k на правата реакция е достатъчно висока, за да може да доведе до концентрация на редки тавтомерни форми, достатъчна да предизвика нарастване честотата на спонтанни точкови мутации.

3.2. Реакции на мултипротонен пренос

В тази част разглеждаме друг модел на реакциите на тавтомеризация при 5FU с участието на вода, при който четири водни молекули образуват клъстер около тавтомерните форми на съединението **A-E** и съответните им преходни структури. При този модел, свързването между водата и 5FU се представя чрез образуване на четирихидратиран комплекс, в който двете двойки водни молекули, образувачи клъстер се намират между двете двойки групи N-H и C=O.

На нива MP2/6-31+G(d,p) и MP4/6-31+G(d,p)//MP2/6-31+G(d,p) са изчислени стойностите за относителните свободни енергии (ΔG_{298}) на четирихидратираните комплекси.

Както вече беше споменато, редът в който се подреждат тавтомерите по своята стабилност, след изчисления на ниво MP2/6-31+G(d,p) в газова фаза е: **A > B > E > D > C**. При еднократни изчисления на енергията на ниво MP4/6-31+G(d,p)//MP2/6-31+G(d,p), както и в непрекъснатата водна среда [PCM/MP2/6-31+G(d,p) и PCM/MP4/6-31+G(d,p)] за изолираните тавтомерни форми, редът на относителната стабилност става: **A > B > D > C > E**. При образуване на водните комплекси с четири водни молекули относителните стабилности на тавтомерните форми се променят: **A > B > D > E > C** на всички теоретични нива. Докато в газова фаза тавтомер **A** е с $8.41 \text{ kcal/mol}^{-1}$ по-стабилен от **B**, при образуване на комплекс с четири водни молекули тази стойност става $7.24 \text{ kcal mol}^{-1}$ на ниво MP2/6-31+G(d,p). Стойностите за тази енергетична разлика, получени на ниво MP4 са $9.69 \text{ kcal mol}^{-1}$ за

изолираните молекули и $8.86 \text{ kcal mol}^{-1}$ за четирихидратирания клъстер. Когато изчисленията са направени на ниво PCM/MP2/6-31+G(d,p) изолираната тавтомерна форма **A** е по-стабилна с $8.96 \text{ kcal mol}^{-1}$, а четирихидратираната с $7.65 \text{ kcal mol}^{-1}$. За тавтомерната форма **D**, според изчисленията на ниво MP2 промяната е по-силно изразена: $12.03 \text{ kcal mol}^{-1}$ преди и $7.48 \text{ kcal mol}^{-1}$ след образуването на комплекса. Енергетичната разлика между тавтомерите **A** и **E** се променя с 1 kcal mol^{-1} при образуването на комплекса, но той остава в реда на относителната стабилност след тавтомерите **B** и **D** и не може да бъде получен директно от **A**. Ето защо той заедно с тавтомер **C**, чийто четирихидратиран комплекс е с най-висока енергия на всички използвани нива на изчисление няма да се разглеждат по-нататък. Стойностите за относителните свободни енергии, получени на всички нива, за четирихидратирания комплекс показват, че комплекса **B+4H₂O** е по-стабилен от комплекса **D+4H₂O**.

Влияние на водните клъстери върху височината на енергетичните бариери при реакциите на “мултипротонен” пренос

В тази част са представени изчисления на стойностите за бариерите на тавтомерно превръщане във воден разтвор на 5FU, като се разглеждат изолирани и четирихидратирани тавтомерни форми на 5FU. Изследва се реакционният механизъм на тавтомеризация в четирихидратирани комплекси на 5FU, където едната двойка водни молекули участва в процеса на пренос на протон. В този случай водородният атом от групата N-H мигрира към водна молекула. Протон от тази молекула се пренася до втората водна молекула, която от своя страна предава протон на кислородния атом от карбонилната група – мултипротонен пренос.

Локализирани са структурите на преходните състояния, съответстващи на директния и с участието на разтворител пренос на протон. Изчислените бариери на тавтомеризация за изолираната (**A**→**B** и **A**→**D**) и четирихидратираната (**A+4H₂O**→**B+4H₂O** и **A+4H₂O**→**D+4H₂O**) молекула на 5FU и съответните имажинерни честоти, изчислени на нива MP2/6-31+G(d,p), MP4/6-31+G(d,p)/MP2/6-31+G(d,p), както и в непрекъснатата водна среда [PCM/MP2/6-31+G(d,p) и PCM/MP4/6-31+G(d,p)] са представени в Таблица 22.

Тъй като активационната енергия на реакциите на тавтомеризация **A**→**B** и **A**→**D** чрез директен пренос на протон е много висока, тавтомеризационен процес не би трябвало да протича: скоростната константа е от порядъка на 10^{-18} - 10^{-21} , в зависимост от нивото на изчисление. Включването на четири молекули вода съществено редуцира

активационната енергия. За четирихидратирания комплекс, активационната енергия, характеризираща процеса на пренос на протон за същите реакции е по-ниска, отколкото тази за изолираната молекула с $28.6\text{--}30.2 \text{ kcal mol}^{-1}$ на различните изчислителни нива и за двата тавтомеризационни процеса. Добавянето на електронна корелация от висок порядък повишава височината на бариерата.

Ако се разглежда четирихидратираният комплекс на 5-флуороурацил, поставен в непрекъсната среда, енергетичните бариери на реакциите **A**→**B** и **A**→**D**, изчислени на ниво MP2/6-31+G-(d,p) намаляват при първата реакция с $0.54 \text{ kcal mol}^{-1}$ и нарастват при втората реакция с $0.39 \text{ kcal mol}^{-1}$ (Табл. 22).

За определяне на скоростните константи k на конкурентните процеси **A**+4H₂O→**B**+4H₂O и **A**+4H₂O→**D**+4H₂O е приложена същата процедура, описана в предишния раздел. Изчислените класически скоростни константи k за “мултипротонния” пренос в 5FU са представени в Табл. 22. Поради експоненциалната зависимост на скоростната константа от ΔG^\ddagger , техните стойности се различават с три порядъка на величината за различните изчислителни нива. Според стойностите за k , получени на всички нива на изчисление, правата реакция на пренос на протон, с участие на четири молекули вода може да протече ($k_{\text{relay PT}} = 10^1\text{--}10^{-2} \text{ s}^{-1}$; $k_{\text{assisted PT}} = 10^{-1}\text{--}10^{-4} \text{ s}^{-1}$) по-бързо от подпомогнатата от три водни молекули.

Енергетичните бариери ΔG_{298}^\ddagger , изчислени на ниво MP4 на реакциите на мултипротонен пренос са по-ниски от тези за директен с $25.55 \text{ kcal mol}^{-1}$ и $24.84 \text{ kcal mol}^{-1}$, съответно за реакциите **A**→**B** и **A**→**D** (Фигура 29 и 30). При сравняване на бариерите за двата паралелни процеса на тавтомерно превръщане на същото теоретично ниво се вижда, че бариерата на реакцията **A**+4H₂O→**B**+4H₂O, макар и с $0.62 \text{ kcal mol}^{-1}$ е по-ниска от тази на реакцията **A**+4H₂O→**D**+4H₂O (Фигура 31).

3.3. UV и флуоресцентни спектри

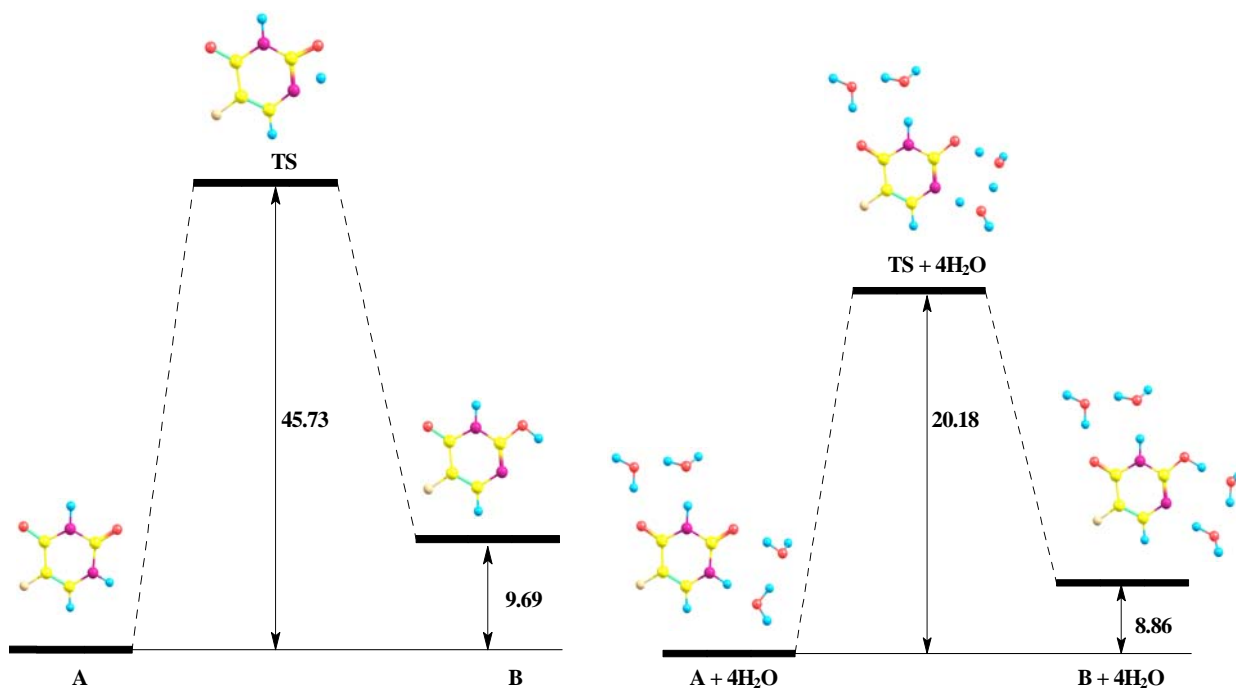
Проведени са изследвания на ниво CNDO/S-CI за предсказване на абсорбционните максимуми на тавтомерните форми **A**, **B**, и **D**. За тавтомер **A** абсорбционните максимуми са намерени да бъдат при 277 nm и 275 nm. Изчислените енергии на вертикалните синглетни преходи са близки със съответните експериментални данни (Фиг. 32).

Абсорбционният максимум за тавтомер **B** е предсказан да бъде при 312 nm, а за тавтомер **D** - при 318 nm (Фиг. 32). Изчислените електронни спектри за хидрокси тавтомерните форми **B** и **D** показват сходство, по отношение на енергиите и вида на прехода. Това би трябвало да се очаква, защото молекулните структури на тавтомерите са подобни. За

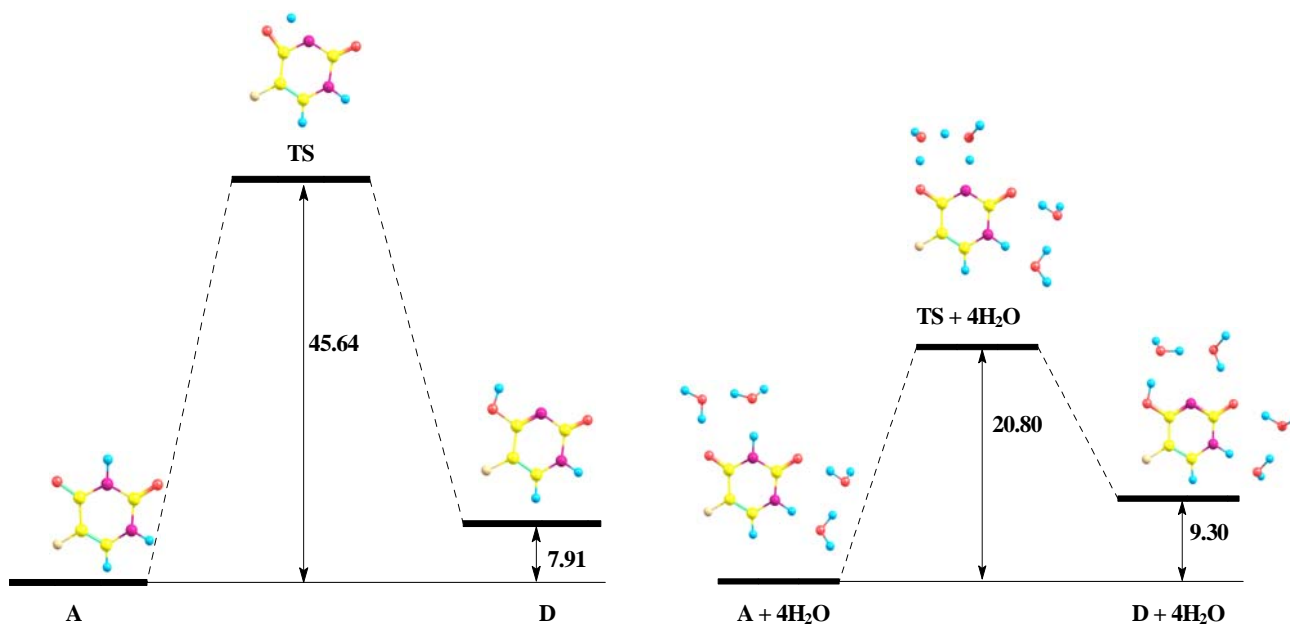
потвърждаване възможността за образуване на хидроксидни тавтомерни форми на 5FU в разтвор на дейонизирана вода е направен флуоресцентен спектър, промените в който са проследени във времето. Флуоресцентният спектър на 5FU, непосредствено след разтварянето в дейонизирана вода след възбуждане при 270 nm има два максимума с много ниска интензивност при около 330 и 410 nm. Първият е характеристичен за 5FU, докато вторият се дължи в по-голяма степен вероятно на флуоресценцията на хидроксидни тавтомерните форми. Когато възбуждането е при дължина на вълната 310 nm, където се очаква според изчисленията с квантово-химични методи да бъде абсорбционния максимум на хидроксидни тавтомерите (Фиг. 32), се наблюдава флуоресцентен максимум при 410 nm. Проследени са промените в емисионния спектър на този разтвор, съхраняван на тъмно за 1, 2, 5 и 10 дни. След 10 дни флуоресцентният максимум при 410 nm е с приблизително 10 пъти по-висока интензивност от тази на стартовия разтвор. Експерименталните резултати показват, че концентрацията на образуваните хидроксидни тавтомерни форми нараства с времето.

Таблица 22. Изчислени енергетични бариери $\Delta H_0^\#$ и $\Delta G_{298}^\#$ (в kcal mol⁻¹) за 5-флуороурацил и неговите четирихидратирани комплекси, показани на Фигури 29 и 30. Имагинерните честоти $\nu^\#$ са в cm⁻¹. Скоростните константи, характеризиращи тагтомерните превръщания $\mathbf{D} \leftarrow \mathbf{A} \rightarrow \mathbf{B}$ и $\mathbf{D} + 4\mathbf{H}_2\mathbf{O} \rightarrow \mathbf{B} + 4\mathbf{H}_2\mathbf{O}$ са дадени в s⁻¹.

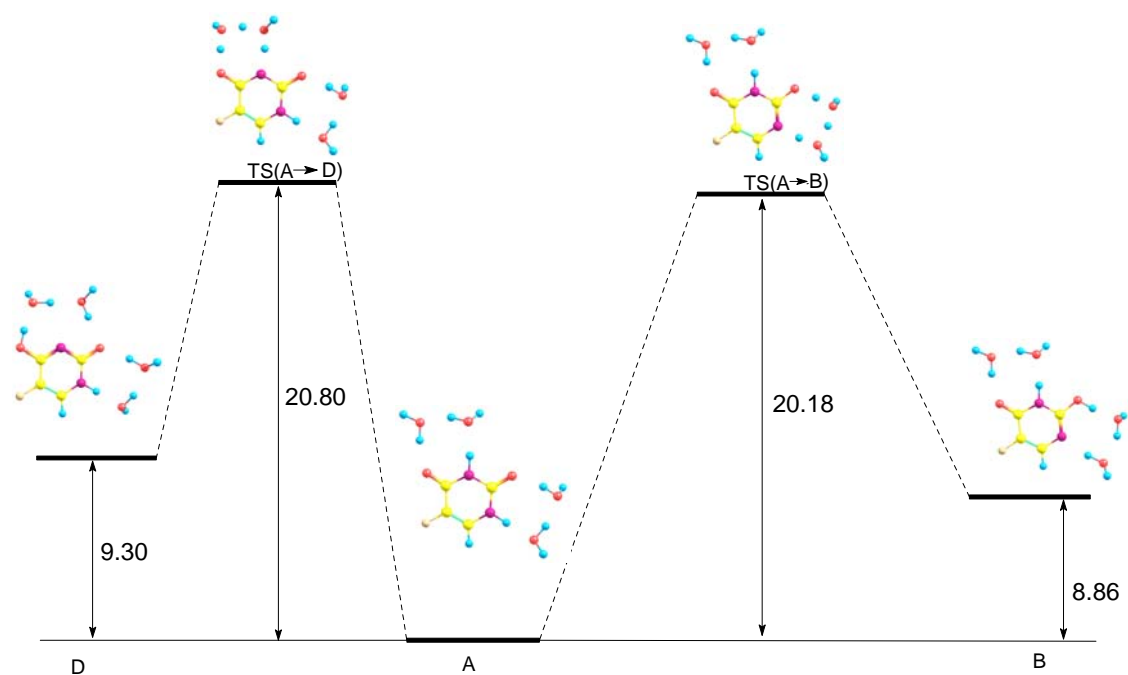
Изчислително ниво	$\mathbf{A} \rightarrow \mathbf{B}$		$\mathbf{A} + 4\mathbf{H}_2\mathbf{O} \rightarrow \mathbf{B} + 4\mathbf{H}_2\mathbf{O}$					
	$\Delta H_0^\#$	$\Delta G_{298}^\#$	k	$\nu^\#$	$\Delta H_0^\#$	$\Delta G_{298}^\#$	k	$\nu^\#$
MP2/6-31+G(d,p)	42.08	42.00	1.0×10^{-18}	1892 <i>i</i>	13.52	15.29	3.8×10^1	1183 <i>i</i>
MP4/6-31+G(d,p)//MP2/6-31+G(d,p)	45.81	45.73	3.6×10^{-21}		18.41	20.18	1.0×10^{-2}	
PCM/MP2/6-31+G(d,p)	43.19	43.10	1.6×10^{-19}		12.98	14.74	9.7×10^1	
PCM/MP4/6-31+G(d,p)	44.03	43.94	3.8×10^{-20}					
$\mathbf{A} \rightarrow \mathbf{D}$								
MP2/6-31+G(d,p)	42.69	41.44	2.6×10^{-18}	1889 <i>i</i>	14.00	16.00	1.2×10^1	960 <i>i</i>
MP4/6-31+G(d,p)//MP2/6-31+G(d,p)	46.89	45.64	2.2×10^{-21}		18.81	20.80	3.5×10^{-2}	
PCM/MP2/6-31+G(d,p)	43.11	41.86	1.3×10^{-18}		14.39	16.39	6.0×10^{-1}	
PCM/MP4/6-31+G(d,p)	43.98	42.73	2.9×10^{-19}					
$\mathbf{A} + 4\mathbf{H}_2\mathbf{O} \rightarrow \mathbf{D} + 4\mathbf{H}_2\mathbf{O}$								



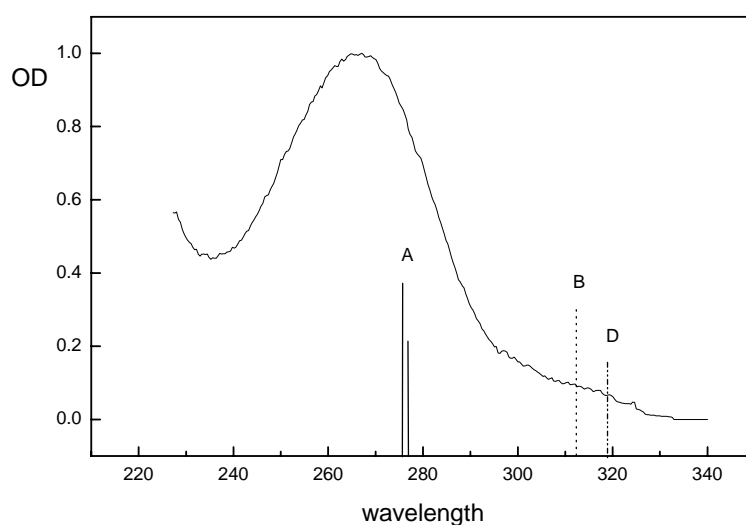
Фигура 29. Енергетичен профил на реакциите на тавтомеризация $A \rightarrow B$ и $A + 4H_2O \rightarrow B + 4H_2O$ на 5-флуороурацил, изчислен на теоретично ниво MP4/6-31+G(d,p)/MP2/6-31+G(d,p). Свободните енергии на Gibbs (ΔG_{298}) и активационните бариери (ΔG_{298}^\ddagger) са представени в kcal mol^{-1} .



Фигура 30. Енергетичен профил на реакциите на тавтомеризация $A \rightarrow D$ и $A + 4H_2O \rightarrow D + 4H_2O$ на 5-флуороурацил, изчислен на ниво MP4/6-31+G(d,p)/MP2/6-31+G(d,p). Свободните енергии на Gibbs (ΔG_{298}) и активационните бариери (ΔG_{298}^\ddagger) са представени в kcal mol^{-1} .



Фигура 31. Енергетичен профил на реакциите на тавтомеризация $D \leftarrow A \rightarrow B$ на 5-флуороурацил изчислен на теоретично ниво MP4/6-31+G(d,p)/MP2/6-31+G(d,p). Свободните енергии на Gibbs (ΔG_{298}) и активационните бариери ($\Delta G^{\ddagger}_{298}$) са представени в kcal mol⁻¹.



Фигура 32. УВ абсорбционен спектър на 5-флуороурацил във вода. Оптичната плътност (OD) е в условни единици, а дължините на вълните са в nm. Показани са и изчислените с CNDO/S-CI π - π^* електронни преходи за тавтомерни форми **A** (непрекъсната линия), **B** (пунктирана линия) и **D** (линия с точки и тирета).

Изводи

1. Височината на бариерата на реакцията на пренос на протон за монохидратирания комплекс на формамид, тиоформамид и селеноформамид, изчислена с неемпирични методи с отчитане на електронната корелация, е приблизително два пъти по-малка от тази при директния пренос на протон. Включването на три водни молекули, които моделират първата хидратна обвивка около формамида и неговите халкогенни аналози, води до увеличаване височината на бариерата с 1–1.5 kcal mol⁻¹ за различните изчислителни нива. Наблюдава се сходство в резултатите за геометричните параметри, получени на теоретичните нива MP2/6-31+G(d) и MP2/6-31G(d,p). Реакциите с пренос на протон (директен или с участие на вода) при формамид и неговите халкогенни аналози не биха могли да протекат, поради високите енергетични бариери (37–45 kcal mol⁻¹ за директния и 20–26 kcal mol⁻¹ за асистирания от вода пренос на протон) и ниските стойности на скоростните константи: 10⁻¹⁸-10⁻²⁶ s⁻¹ за директния и 10⁻⁶-10⁻¹⁰ s⁻¹ за подпомогнатия от вода пренос на протон.
2. За тавтомерното превръщане на 2-амино-тиазолидин-4-он и 4-амино-тиазолидин-2-он е установено, че когато воден димер е разположен в близост до реакционния център, където се извършва преносът на протон – между водороден атом от amino групата и азотен атом от пръстена, ефектът на подпомагане (мултипротонен пренос) на водните молекули е силно изразен. В този случай междумолекулните водородни връзки в клъстерите молекули на разтвореното вещество – разтворител стават почти линейни и протонът се пренася на по-малки разстояния, в сравнение с тези при пренос с участие на една водна молекула. В резултат на това скоростната константа от 10⁻²¹-10⁻²⁶ s⁻¹ за директен пренос на протон става 10¹-10⁻² s⁻¹ при мултипротонен пренос и процесът на тавтомеризация протича макар и бавно.
3. При теоретичното разглеждане на оксо-хидрокси тавтомерията на 5-флуороурацил във водна среда е показано, че съединението би трябвало да съществува в три тавтомерни форми: главно 2,4-диоксо, 2-хидрокси-4-оксо (1x10⁻⁴ %) и 4-хидрокси-2-оксо (3.9x10⁻⁸ %). Наблюдава се значително понижаване височината на бариерата, когато водни молекули участват директно в реакцията на пренос на протон. Стойностите за бариерите на преноса на протон намалява 2.0-2.3 пъти за правата реакция, а стойностите

за скоростните константи нарастват с 17 порядъка на ниво MP46-31++G(d,p)//MP2/6-31+G(d,p). Реакциите на мултипротонен пренос при 5-флуороурацил, с участието на четири водни молекули се характеризират с височина на енергетичните бариери с 1.3–2.6 kcal mol⁻¹ по-ниски от тези, характеризиращи подпомогнатите от три молекули вода. Ето защо ние предполагахме, че механизмът на тавтомерно превръщане с участието на вода се осъществява именно по този механизъм и води до увеличаване концентрациите на редките тавтомерни форми.

Теоретичните изчисления на ниво CNDO/S-CI предсказват електронните преходи π - π^* за редките тавтомерни форми **B** и **D**, съответно при 312 и 318 nm. Изследванията върху 5-флуороурацил в водна среда, с помощта на флуоресцентната спектроскопия потвърждават присъствието на хидрокси тавтомерни форми.

Списък на публикациите, включени в дисертацията

1. V. Enchev, N. Markova, S. Angelova
“Ab initio study of 2,4-substituted azolidines. II. Amino-imino tautomerism of 2-amino-thiazolidine-4-one and 4-amino-thiazolidine-2-one in water solution”
Journal of Physical Chemistry A 109 (2005) 8904 - 8913.
2. N. Markova, V. Enchev, I. Timtcheva
“Oxo-hydroxy tautomerism of 5-fluorouracil: water-assisted proton transfer”
Journal of Physical Chemistry A 109 (2005) 1981-1988.
3. N. Markova, V. Enchev
“Water-assisted proton transfer in formamide, thioformamide and selenoformamide” *Journal of Molecular Structure (THEOCHEM)* 679 (2004) 195-205.
4. Н. Маркова, В. Енчев
“Ab initio предсказване на “редки” тавтомерни форми на 5-флуороурацил във водна среда” *Научни трудове на Русенския университет “Ангел Кънчев”* 39, сер. 4.2 (2003) 24-27.

Участия на научни форуми

1. N. Markova, V. Enchev, I. Timtcheva, “Oxo-hydroxy tautomerism of 5-fluorouracil in water solution: solvent-depended mechanism”, *Humboldt Research Conference on Computational Chemistry*, 1-5 September 2004, Nessebar, Bulgaria. (постер)
2. Н. Маркова, В. Енчев, “Ab initio предсказване на “редки” тавтомерни форми на 5-флуороурацил във водна среда”, *Дни на науката в Русе*, 31 октомври – 1 ноември 2003, Русе. (секционен доклад)
3. N. Markova, V. Enchev, “Water-assisted proton transfer in formamide, thioformamide and selenoformamide” *Humboldt Research Conference on Computational Chemistry*, 30 October – 3 November 2002, Veliko Turnovo, Bulgaria. (постер)

Забелязани цитати в литературата

N. Markova, V. Enchev, I. Timtcheva
J. Phys. Chem. A 109 (2005) 1981

1. M.-L. Hu, N.-W. Zhu, H.-P. Xiao, *Acta Cryst. E* 61 (2005) m898.

N. Markova, V. Enchev
J. Mol. Struct. (THEOCHEM) 679 (2004) 195-205

1. B.L. Grigorenko, A.V. Nemukhin, I.A. Topol, R.E. Cachau, S.K. Burt, *Proteins: Structure, Function and Bioinformatics* 60 (2005) 495.
2. E. D. Raczynska, W. Kosinska, B. Osmiałowski, R. Gawinecki, *Chem. Rev.* 105 (2005) 3561.