

*На правах рукописи*



АХИЯРОВ АЙДАР АЙРАТОВИЧ

**КИСЛОТНО-ОСНОВНОЕ РАВНОВЕСИЕ 5-ЗАМЕЩЕННЫХ  
ПРОИЗВОДНЫХ 6-МЕТИЛ- И 6-АМИНОУРАЦИЛА  
В ВОДНЫХ РАСТВОРАХ**

1.4.4. Физическая химия

АВТОРЕФЕРАТ  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата химических наук

Уфа – 2023

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении Уфимском федеральном исследовательском центре Российской академии наук (в лаборатории физико-химических методов анализа Уфимского Института химии – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук (УФИХ УФИЦ РАН))

Научный руководитель **Иванов Сергей Петрович**  
кандидат химических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории физико-химических методов анализа Уфимского Института химии – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук

Официальные оппоненты: **Зиганшина Альбина Юлдузовна**  
доктор химических наук, старший научный сотрудник лаборатории химии каликсаренов Института органической и физической химии им. А.Е. Арбузова – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук»

**Баранников Владимир Петрович**  
доктор химических наук, старший научный сотрудник, заведующий лабораторией «Термодинамика растворов неэлектролитов и биологических веществ» научно-исследовательского отдела 1 Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт химии растворов им. Г.А. Крестова Российской академии наук»

Ведущая организация: **Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Уфимский университет науки и технологии», г. Уфа**

Защита диссертации состоится «13» декабря 2023 года в 14 часов 00 минут на заседании диссертационного совета 24.1.218.02 на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук по адресу 450054, Республика Башкортостан, г. Уфа, проспект Октября, д. 69 (УФИХ УФИЦ РАН, зал заседаний). Тел./факс: (347)2356066. E-mail: [dissovetioh@gmail.com](mailto:dissovetioh@gmail.com)

С диссертацией и авторефератом диссертации можно ознакомиться в научной библиотеке Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук и на официальном сайте Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук по адресу:

[http://ufaras.ru/wp-content/uploads/2023/09/2023\\_2\\_AhiyarovAA\\_Dessertatsia.pdf](http://ufaras.ru/wp-content/uploads/2023/09/2023_2_AhiyarovAA_Dessertatsia.pdf)

Автореферат разослан « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 202\_\_ г.

Ученый секретарь диссертационного совета  
доктор химических наук, профессор



Шарипов Г.Л.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы.** Кисотно-основное равновесие биомолекул в водных растворах играет одну из ключевых ролей в жизнедеятельности животных и растений. Среди них важное место занимают производные пиримидиновых оснований нуклеиновых кислот, входящие в состав ДНК и РНК. Процессы, вызванные кислотно-основным равновесием пиримидиновых оснований, например, урацила и тимина, проявляющих выраженную биологическую активность, могут приводить к возникновению ошибок при репликации ДНК, т.е. к мутациям.

Урацил и его 5- и(или) 6-замещенные производные являются слабыми двухосновными кислотами,  $pK_a$  которых в водных растворах, в зависимости от природы заместителя при двойной связи пиримидинового кольца, составляет от 5.3 до 10.2. Поскольку в щелочных водных растворах производных урацила существует вероятность отрыва протона от двух N–H групп пиримидинового кольца, возникает необходимость в понимании порядка диссоциации. Модифицирование химической структуры производных урацила алкильными радикалами по атому азота позволяет получить модельные соединения для определения места первичного отрыва протона путем исключения одного из участков депротонирования.

В связи с этим изучение кислотно-основных свойств производных урацила в растворах и установление места первичного отрыва протона представляет значительный интерес.

Диссертационная работа выполнена в соответствии с планами научно-исследовательских работ УФИХ УФИЦ РАН «Установление структуры, состава и физико-химических свойств органических, биоорганических, полимерных молекул и комплексных соединений методами хроматографии, масс-спектрометрии, ИК, УФ, ЭПР и ЯМР-спектроскопии» (рег. номера АААА-А17-117011910027-0, АААА-А20-120012090029-0, 122031400282-9, 1021062311386-8-1.4.1, 123011300044-5).

**Степень разработанности темы исследования.** Большая часть исследований кислотно-основного равновесия производных урацила в водных растворах посвящена в литературе урацилу, тимину и 5-галогенурацилам. Другие производные изучались в меньшей степени. Для 5,6-замещенных урацилов имеется небольшое количество работ по определению констант диссоциации в растворах потенциометрическим и спектрофотометрическим методами, воспроизводимость которых не оценивалась или не рассматривалась вовсе другими авторами и методами. Изучению механизма диссоциации уделялось значительно меньше внимания, чем определению констант кислотно-основного равновесия.

**Целью диссертационной работы** является установление закономерностей кислотно-основного равновесия 5-замещенных производных 6-метил- и 6-аминоурацила в водных растворах. В соответствии с поставленной целью решались следующие **задачи**:

- Определить константы и термодинамические характеристики кислотно-основного равновесия 5-замещенных производных 6-метил- и 6-аминоурацилов в воде методами потенциометрического и спектрофотометрического титрования.

- Установить возможность определения  $pK_a$  для 6-аминоурацила методами спектрально-люминесцентным и растворимости в водных растворах.
- Определить наиболее стабильную таутомерную форму 6-аминоурацила в воде с учетом неспецифической и специфической сольватации квантово-химическим методом.
- Для 5-замещенных производных 6-метил- и 6-аминоурацила установить порядок диссоциации в водных растворах методами УФ и ЯМР спектроскопии. Выполнить синтез их моно-N-метилзамещенных производных для количественной оценки содержания анионов в водно-щелочных растворах.

**Научная новизна.** Методом потенциометрического и спектрофотометрического титрования впервые определены константы и термодинамические характеристики кислотно-основного равновесия 5-(1-пентил-4-метил-1,2,3-триазол-4-ил)-6-метилурацила, 5-циано-6-метилурацила, 5-формил-6-метилурацила, 5-нитрозо-6-аминоурацила. Впервые методом растворимости определены значения констант диссоциации 6-аминоурацила в воде. Впервые предложен метод флюорометрического титрования для определения  $pK_a$  производных урацила. Впервые для 6-аминоурацила квантово-химическим методом рассчитан ряд относительной устойчивости восьми таутомеров в моделях неспецифической и специфической сольватации в воде и ДМСО. Синтезированы N-метилпроизводные 5-циано-6-метилурацила и определены их  $pK_a$  спектрофотометрическим методом. С использованием синтезированных модельных соединений определен порядок диссоциации 5-циано-6-метилурацила и его анионный состав в водных растворах.

**Теоретическая и практическая значимость.** Определены константы диссоциации ряда 5-замещенных производных 6-метил- и 6-аминоурацила в водных растворах, которые могут быть использованы в качестве справочных данных при планировании синтезов на основе этих соединений и прогнозировании их химической активности. Установлено влияние природы заместителей в 5-ом положении пиримидинового кольца на кислотно-основные свойства производных 6-метил- и 6-аминоурацилов в водных растворах. Определены центры депротонирования в молекулах рассматриваемых производных урацила. Предложен высокочувствительный метод флюорометрического титрования для определения  $pK_a$  производных урацила в воде на примере 6-аминоурацила, который может быть использован для исследования кислотно-основных свойств малорастворимых урацилов.

**Методология и методы исследования.** Для решения поставленных задач использованы классические методы исследования и установления состава, строения и кислотно-основных свойств производных урацила (электронная, ИК и ЯМР спектроскопия, ВЭЖХ, элементный анализ, а также квантово-химические расчеты).

**Положения, выносимые на защиту.**

1. Константы диссоциации и термодинамические характеристики кислотно-основного равновесия некоторых 5-замещенных производных 6-амино- и 6-метилурацилов в водных растворах.

2. Определение  $pK_a$  б-аминоурацила в водных растворах методами спектрально-люминесцентным и растворимости.
3. Установление наиболее стабильной таутомерной формы б-аминоурацила квантово-химическим методом с учетом специфической и неспецифической сольватации.
4. Установление порядка диссоциации и анионного состава 5-циано-б-метилурацила с использованием модельных соединений в водных растворах.

**Достоверность результатов.** Достоверность научных положений и выводов основана на значительном объеме экспериментальных данных, полученных с применением современного аналитического оборудования<sup>1</sup>, стандартных методов физико-химического анализа и статистической обработки полученных результатов. Полученные результаты не противоречат концепциям физической химии и известным закономерностям кислотно-основного и таутомерного равновесий производных урацила.

**Апробация работы.** Материалы научно-квалификационной работы доложены и обсуждены на II, III и IV Всероссийских молодежных конференциях «Достижения молодых ученых: химические науки» (Уфа, 2016, 2017 и 2021), на II и IV Всероссийских молодежных конференциях «Проблемы и достижения химии кислород- и азотсодержащих биологически активных соединений» (Уфа, 2017 и 2020), на V Молодежной школе-конференции «Современные аспекты химии» (Пермь, 2018), на I и II Всероссийских молодежных конференциях «Вершины науки - покорять молодым» (Уфа, 2019 и 2021), XIII Всероссийской школе-конференции молодых ученых «Теоретическая и экспериментальная химия жидкофазных систем» (Крестовские чтения) (Иваново, 2021) и XXXIV Симпозиуме «Современная химическая физика» (Туапсе, 2022).

**Личный вклад автора** заключается в изучении и обобщении литературы, участии в выборе темы, постановке задач, планировании и непосредственном проведении экспериментальных и расчетных работ, обсуждении и оформлении результатов исследований, подготовке статей и апробации работы.

**Публикации.** По материалам диссертации опубликовано 15 научных трудов, из них 5 статей в научных рецензируемых изданиях, входящих в перечень рекомендованных ВАК РФ, Web of Science и Scopus, 1 – в издании, входящем в РИНЦ, тезисы 9 докладов на Всероссийских конференциях.

**Структура и объем научно-квалификационной работы.** Научно-квалификационная работа изложена на 109 страницах машинописного текста, содержит 22 рисунка, 23 таблицы. Состоит из введения, литературного обзора, экспериментальной части, обсуждения результатов, выводов, списка литературы (174 наименований).

*Автор выражает искреннюю признательность и благодарность научному руководителю в.н.с., к.х.н. Иванову С.П. за неоценимую помощь в постановке цели*

---

<sup>1</sup>Анализы методами ЯМР и электронной спектроскопии, ВЭЖХ, квантово-химические расчеты выполнены на оборудовании ЦКП «Химия» УФИХ УФИЦ РАН и РЦКП «Агидель» УФИЦ РАН.

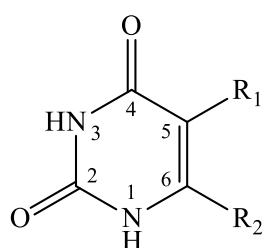
работы и обсуждению полученных результатов, сотрудникам лаборатории химической физики УФИХ УФИЦ РАН г.н.с., д.х.н. Хурсану С.Л. и с.н.с., к.х.н. Остахову С.С., всем сотрудникам лаборатории ФХМА, в частности, с.н.с., к.х.н. Лобову А.Н., за научные консультации, помощь и поддержку, оказанные при выполнении работы. Также благодарю с.н.с. лаборатории биоорганической химии и катализа УФИХ УФИЦ РАН к.х.н. Черникову И.Б., с.н.с. лаборатории фармакофорных циклических систем УФИХ УФИЦ РАН к.х.н. Гимадиеву А.Р. и г.н.с. лаборатории химии нуклеотидных оснований ИОФХ им. А.Е. Арбузова ФИЦ КазНЦ РАН д.х.н. Семенова В.Э. за предоставленные соединения.

### Основное содержание работы

Во введении диссертационной работы обоснована актуальность темы, сформулированы цель и задачи исследования, представлена характеристика работы с точки зрения научной новизны, теоретической и практической значимости.

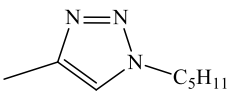
В **первой главе** приведены литературные данные по биологической активности и таутомерии урацила и его 5- и/или 6 замещенных производных. Во второй части обзора приведены сведения о кислотно-основном равновесии 5,6-замещенных урацилов и их N-метилированных производных. Обобщены известные литературные данные по теме научно-квалификационной работы, на основании чего сформулированы цель и задачи исследования.

Во **второй главе** (экспериментальная часть) приведены используемые в работе методики изучения кислотно-основного равновесия и синтеза модельных соединений с описанием экспериментального оборудования, применяемых реактивов и квантово-химического расчета таутомеров.



1)  $R_1 = \text{H}$ ,  $R_2 = \text{CH}_3$  – 6-метилурацил (**6CH<sub>3</sub>U**)

2)  $R_1 = R_2 = \text{CH}_3$  – 5,6-диметилурацил (**5,6diCH<sub>3</sub>U**)

3)  $R_1 =$    $R_2 = \text{CH}_3$  – 5-(1-пентил-4-метил-1,2,3-триазол-4-ил)-6-метилурацил (**TMU**)

4)  $R_1 = \text{CN}$ ,  $R_2 = \text{CH}_3$  – 5-циано-6-метилурацил (**5CN6CH<sub>3</sub>U**)

5)  $R_1 = \text{CHO}$ ,  $R_2 = \text{CH}_3$  – 5-формил-6-метилурацил (**5CHO6CH<sub>3</sub>U**)

6)  $R_1 = \text{NH}_2$ ,  $R_2 = \text{CH}_3$  – 5-амино-6-метилурацил (**5NH<sub>2</sub>6CH<sub>3</sub>U**)

7)  $R_1 = \text{H}$ ,  $R_2 = \text{NH}_2$  – 6-аминоурацил (**6NH<sub>2</sub>U**)

8)  $R_1 = \text{NO}$ ,  $R_2 = \text{NH}_2$  – 5-нитрозо-6-аминоурацил (**5NO6NH<sub>2</sub>U**)

**Третья глава** посвящена обсуждению результатов изучения кислотно-основного равновесия 5-замещенных производных 6-метил- и 6-аминоурацила в водных растворах, определению места первичного депротонирования и обсуждению анионного состава производных урацила.

# 1 Определение констант диссоциации 5-замещенных производных 6-метил- и 6-аминоурацила в водных растворах

Для определения констант диссоциации были использованы стандартные методы, такие как потенциометрическое и спектрофотометрическое титрование, которые в основном используются для определения  $pK_a$  согласно литературным данным.

## 1.1 Метод потенциометрического титрования

Определенные методом потенциометрического титрования константы и термодинамические характеристики кислотно-основного равновесия для 5-замещенных производных 6-метил- и 6-аминоурацилов представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Константы и термодинамические характеристики кислотно-основного равновесия 5-замещенных производных 6-метил- и 6-аминоурацила в водных растворах (0.1 М  $KNO_3$ )

Соединение	T, °C	$pK_a$	$\Delta G^{298}$ , кДж·моль <sup>-1</sup>	$\Delta H^{298}$ , кДж·моль <sup>-1</sup>	$\Delta S^{298}$ , Дж·моль <sup>-1</sup> ·К <sup>-1</sup>
<b>5-замещенные 6-метилурацилы</b>					
<b>6CH<sub>3</sub>U</b>	15	9.85 ± 0.04	55.0 ± 0.2	13.3 ± 0.4	-140 ± 1
	25	9.65 ± 0.03			
	35	9.62 ± 0.03			
	45	9.61 ± 0.03			
<b>5,6diCH<sub>3</sub>U</b>	15	10.33 ± 0.04	58.5 ± 0.2	11.6 ± 0.3	-158 ± 1
	25	10.26 ± 0.03			
	35	10.20 ± 0.04			
	45	10.13 ± 0.03			
<b>TMU</b>	15	10.14 ± 0.07	57.5 ± 0.9	12.9 ± 0.4	-150 ± 2
	25	10.09 ± 0.07			
	35	9.98 ± 0.05			
	45	9.93 ± 0.05			
<b>5CN6CH<sub>3</sub>U</b>	15	7.12 ± 0.01	39.9 ± 0.9	12.0 ± 1.2	-93 ± 7
	25	7.00 ± 0.02			
	35	6.95 ± 0.03			
	45	6.91 ± 0.03			
<b>5CHO6CH<sub>3</sub>U</b>	15	7.58 ± 0.05	43.1 ± 0.2	16.3 ± 0.5	-89 ± 1
	25	7.55 ± 0.04			
	35	7.45 ± 0.04			
	45	7.30 ± 0.04			
<b>5NH<sub>2</sub>6CH<sub>3</sub>U</b>	15	9.65 ± 0.03	54.8 ± 0.2	14.7 ± 0.7	-134 ± 3
	25	9.60 ± 0.03			
	35	9.45 ± 0.04			
	45	9.42 ± 0.04			
<b>5-замещенные 6-аминоурацилы</b>					
<b>6NH<sub>2</sub>U</b>	15	8.80 ± 0.04	49.1 ± 0.3	19.4 ± 0.9	-100 ± 7
	25	8.61 ± 0.06			
	35	8.53 ± 0.06			
	45	8.46 ± 0.06			
<b>5NO6NH<sub>2</sub>U</b>	15	5.39 ± 0.03	30.1 ± 0.1	17.0 ± 0.2	-43 ± 1
	25	5.27 ± 0.02			
	35	5.20 ± 0.03			
	45	5.09 ± 0.03			

Наибольшее влияние на константу диссоциации производных 6-метилурацила при 25 °С оказывают электроноакцепторные группы –CN и –CHO, значительно уменьшая  $pK_a$  на 2.0 и 2.1, соответственно, по сравнению с **6CH<sub>3</sub>U**. С другой стороны, присутствие в молекуле 6-метилурацила 1-пентил-4-метил-1,2,3-триазол-4-илного заместителя у пятого углеродного атома приводит к увеличению  $pK_a$  примерно на 0.5 единицы по сравнению с 6-метилурацилом, причем термодинамические характеристики кислотно-основного равновесия обоих веществ имеют близкие значения.

Влияние 1,2,3-триазольного цикла на величину  $pK_a$  не существенно, о чем свидетельствуют константы и термодинамические характеристики кислотно-основного равновесия **5,6diCH<sub>3</sub>U** (Таблица 1). Также наблюдаются близкие значения констант диссоциации **5NH<sub>2</sub>6CH<sub>3</sub>U** и **6CH<sub>3</sub>U**, что свидетельствует о слабом влиянии аминогруппы в 5 положении 6-метилурацила на значения  $pK_a$ .

При введении нитрозо- заместителя в 5 положение 6-аминоурацила происходит уменьшение  $pK_a$  на 3.34 по сравнению с **6NH<sub>2</sub>U**. Видно, что нитрозогруппа оказывает наибольшее влияние на константу диссоциации среди всех изученных в данной работе урацилов.

Термодинамические характеристики кислотно-основного равновесия 5-замещенных производных 6-метил- и 6-аминоурацилов свидетельствуют о смещении равновесия в сторону молекулярной формы в нейтральных водных растворах.

## 1.2 Спектрофотометрический метод

Спектрофотометрический метод позволяет проводить определение  $pK_a$  при значительно меньших, по сравнению с потенциометрическим методом, концентрациях (до  $10^{-4}$  М в водных растворах) для большинства производных урацила. Область значений констант диссоциации определяли методом спектрофотометрического титрования. После оценки области значения константы кислотно-основного равновесия производных урацила, точную величину  $pK_a$  определяли с использованием буферных растворов.

Таблица 2 – Значения  $pK_a$  5-замещенных производных 6-метил- и 6-аминоурацила, полученных спектрофотометрическим методом, в воде при 25 °С

Соединение	$pK_a$	$\lambda_{\text{макс.}} (\text{HA} \rightarrow \text{A}^-)^*$ , нм
<b>6CH<sub>3</sub>U</b>	9.53 ± 0.05	260 → 279
<b>5,6diCH<sub>3</sub>U</b>	10.28 ± 0.11	267 → 273
<b>TMU</b>	9.59 ± 0.10	266 → 283
<b>5CHO6CH<sub>3</sub>U</b>	7.51 ± 0.03	284 → 304
<b>5CN6CH<sub>3</sub>U</b>	7.00 ± 0.02	273 → 288
<b>5NO6NH<sub>2</sub>U</b>	5.00 ± 0.14	315 → 315
<b>6NH<sub>2</sub>U</b>	8.69 ± 0.03	263 → 266

\*( $\text{HA} \rightarrow \text{A}^-$ ) – Переход урацила от нейтральной формы к анионной



Как видно из результатов (Таблица 2), величины  $pK_a$ , полученные спектрофотометрически при 25 °С для **6CH<sub>3</sub>U**, **5,6diCH<sub>3</sub>U**, **TMU**, **5CN6CH<sub>3</sub>U**, **5CHO6CH<sub>3</sub>U**, **6NH<sub>2</sub>U** хорошо согласуются со значениями, полученными методом потенциометрического титрования (Таблица 1).

### 1.3 Метод растворимости

Растворимость органических веществ в различных по природе растворителях во многом зависит от доступных для сольватации групп. А поскольку объекты исследования являются слабыми кислотами, то константа диссоциации будет зависеть от двух факторов: растворимости нейтральной и анионной форм вещества в данном растворителе.

В этой связи была определена растворимость **6NH<sub>2</sub>U**, **6CH<sub>3</sub>U**, **5,6diCH<sub>3</sub>U**, **5CN6CH<sub>3</sub>U**, **5CHO6CH<sub>3</sub>U** в воде при 25 °С (Таблица 3).

Таблица 3 – Растворимость некоторых 5-замещенных производных 6-метил- и 6-аминоурацила при 25 °С в воде

Соединение	$S_i$ , мг/мл
<b>6NH<sub>2</sub>U</b>	0.74
<b>6CH<sub>3</sub>U</b>	6.16
<b>5,6diCH<sub>3</sub>U</b>	1.88
<b>5CN6CH<sub>3</sub>U</b>	2.79
<b>5CHO6CH<sub>3</sub>U</b>	4.68

Среди исследованных производных урацила 6-аминоурацил обладает худшей растворимостью, что может быть связано с особенностями его кристаллической структуры. Используя значения растворимости данного соединения в молекулярной и ионной форме в воде, определяли значение  $pK_a$  (Таблица 4).

Увеличение растворимости происходит с повышением pH водных растворов за счет образования анионной формы согласно формуле<sup>2</sup>:

$$S_{pH} = S_i(1 + 10^{pH-pK_a})$$

где  $S_{pH}$  – растворимость вещества при определенном pH;  $S_i$  – растворимость вещества в молекулярной форме.

Таблица 4 – Константа диссоциации и растворимость 6-аминоурацила при различных значениях pH их водных растворов при 20 °С

pH	8.50	8.64	8.70	8.80	8.90	9.02
S, мг/мл	0.69	0.82	0.87	1.02	1.07	1.32
$pK_a$	8.72 ± 0.04					

<sup>2</sup> A. Albert, E.P. Serjeant, Ionization constants of acids and bases. 1962, Wiley: London. 179.

Определенная данным методом величина  $pK_a$  6-аминоурацила в воде хорошо согласуется с результатами, полученными другими методами в этой работе и литературными данными. Метод растворимости впервые применен для определения константы диссоциации  $6NH_2U$  и может быть использован для определения  $pK_a$  5,6-замещенных производных урацила в водных растворах.

#### 1.4 Спектрально-люминесцентный метод

При экспериментальном определении  $pK_a$  некоторых производных урацила возникают сложности из-за их низкой растворимости в водных растворах. Поскольку коэффициент молярной экстинкции максимумов полос поглощения производных урацила в водных растворах составляет величины порядка  $(0.5 \div 1.0) \cdot 10^4$  л·моль<sup>-1</sup>·см<sup>-1</sup>, это накладывает ограничения на применимость спектрофотометрического метода в определении  $pK_a$ .

Зависимость спектров флюоресценции (ФЛ) некоторых органических люминофоров от pH среды может быть основой метода измерения  $pK_a$  в водных растворах. Урацил и его производные также обладают флюоресценцией, а высокая чувствительность ФЛ метода может быть перспективна при изучении кислотно-основного равновесия производных урацила при низких концентрациях, обусловленных их малой растворимостью в данном растворителе.

На рисунке 1 в качестве примера показаны УФ и ФЛ спектры 5-фторурацила (**5FU**) при различных концентрациях в нейтральном водном растворе. Следует отметить, что исследование кислотно-основного равновесия **5FU** методом ФЛ можно проводить при существенно меньших концентрациях без потери точности определения  $pK_a$ . Даже при концентрации  $[5FU] = 1.0 \cdot 10^{-6}$  моль/л интенсивность ФЛ достаточно высока для надежной регистрации сигнала. В то же время микромолярная концентрация **5FU** недостаточна для спектрофотометрических измерений (Рисунок 1).

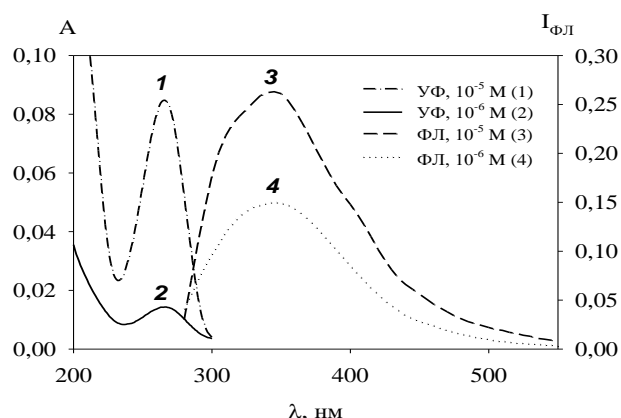


Рисунок 1 – Спектры поглощения (УФ, 1, 2) и флюоресценции (ФЛ, 3, 4) 5-фторурацила с концентрацией  $1.0 \cdot 10^{-5}$  (1, 3) и  $1.0 \cdot 10^{-6}$  моль/л (2, 4) (pH = 7, H<sub>2</sub>O, 298 К)

Данный пример иллюстрирует надежность ФЛ метода для количественного описания кислотно-основного равновесия урацилов в водных растворах.

В этой связи целью является оценка возможности использования ФЛ метода для исследования кислотно-основного равновесия и определения  $pK_a$  в водных растворах для производных урацила. В качестве эталонов для отработки методики использовали тимин (**T**) и **5FU**.

Для **T** и **5FU** были построены зависимости интенсивности, длины волны и квантового выхода от pH и методом трех касательных была установлена точка эквивалентности. Для **5FU** точка эквивалентности ФЛ титрования составила 7.90 и 8.05 единиц для зависимостей  $I_{\text{ФЛ}}$  и  $\lambda_{\text{ФЛ}}$  от pH (Рисунок 2) соответственно, что очень близко к величинам  $pK_a$  данного соединения, определенным в литературе другими методами.

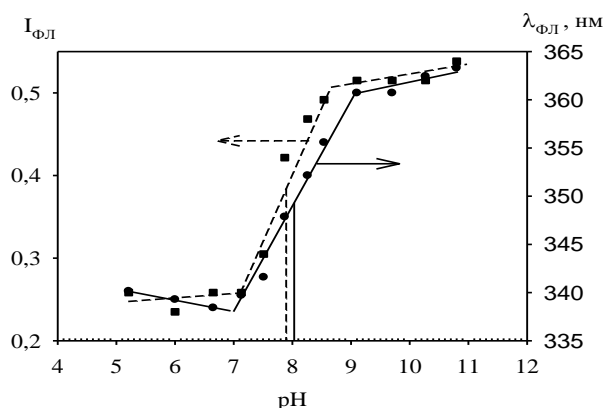


Рисунок 2 – Зависимости  $I_{\text{ФЛ}}$  и  $\lambda_{\text{ФЛ}}$  **5FU** от pH ( $\lambda_{\text{ex}} = 240$  нм,  $2 \cdot 10^{-4}$  моль/л,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $25^\circ\text{C}$ )

Обработка результатов флюоресцентных измерений водных растворов тимина, выявила ряд особенностей. Так, величина  $pK_a$  определяется с заметным отклонением от экспериментальных данных для **T** зависимости длины волны от pH. Более удовлетворительное соответствие демонстрирует зависимость  $I_{\text{ФЛ}}$  от pH ( $pK_a = 9.68$ , Рисунок 3).

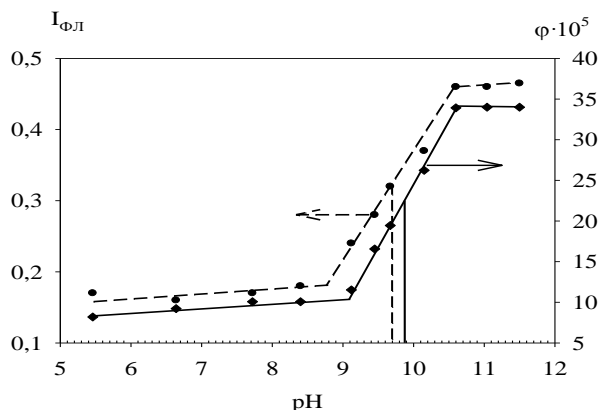


Рисунок 3 – Зависимости  $I_{\text{ФЛ}}$  и  $\phi$  от pH для **T** ( $\lambda_{\text{ex}} = 240$  нм,  $2 \cdot 10^{-4}$  моль/л,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $25^\circ\text{C}$ )

По-видимому, основной причиной наблюдаемых отклонений является сложный вид ФЛ спектра **T**, в котором при pH 10 и выше отчетливо проявляется плечо при  $\sim 410$  нм (Рисунок 4).

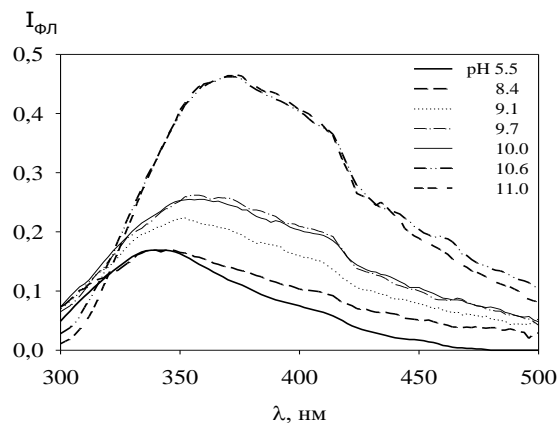


Рисунок 4 – Скорректированные спектры ФЛ **T** ( $\lambda_{\text{ex}} = 240$  нм,  $2 \cdot 10^{-4}$  моль/л,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $25^\circ\text{C}$ )

В этой ситуации более надежным способом учета количественных изменений в ФЛ спектрах при варьировании рН представляется интегральный метод, а именно определение зависимости квантового выхода ФЛ  $\phi$  от рН. При таком подходе методически удобно проводить фотовозбуждение растворов урацила в изобестической точке. В этом случае нет необходимости контролировать оптическую плотность раствора, и зависимость светосуммы ФЛ от рН полностью соответствует зависимости  $\phi$  от рН. Действительно, эта зависимость, показанная на рисунке 3, имеет точку эквивалентности при рН 9.87. Данная величина удовлетворительно согласуется с литературными данными.

Определение константы диссоциации люминесцентным методом для 6-аминоурацила проводили в диапазоне рН 5.7 – 11.6. Положение максимума полосы ФЛ  $6\text{NH}_2\text{U}$  практически неизменно во всем исследованном диапазоне рН, что не позволяет использовать зависимость  $\lambda_{\text{ФЛ}}$  от рН для определения  $\text{pK}_a$ . Более того, сложный вид полосы эмиссии  $6\text{NH}_2\text{U}$  (Рисунок 5) обуславливает выбор интегрального метода определения  $\text{pK}_a$  – зависимости  $\phi$  от рН (Рисунок 6). При определении квантового выхода учитывали изменение оптической плотности на длине волны возбуждающего света.

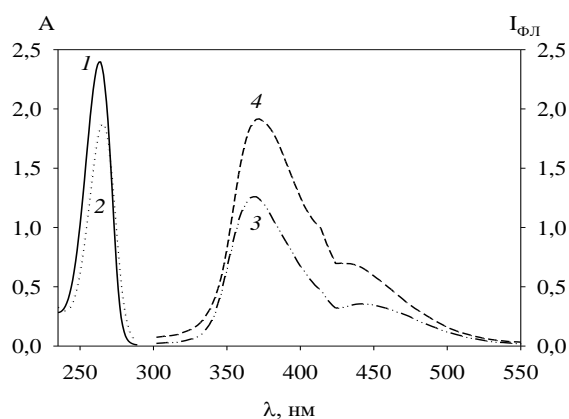


Рисунок 5 – Спектры поглощения (1, 2) и флюоресценции (3, 4)  $6\text{NH}_2\text{U}$  при рН 5.7 и 11.6, соответственно ( $\lambda_{\text{ex}} = 240 \text{ нм}$ ,  $2 \cdot 10^{-4}$  моль/л,  $\text{H}_2\text{O}$ , 298 К)

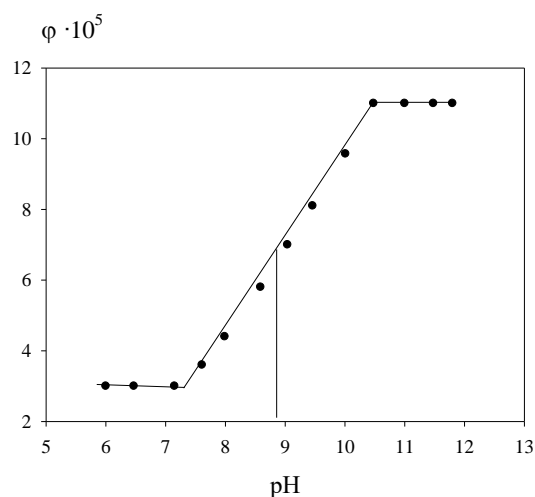


Рисунок 6 – Зависимость  $\phi$  ФЛ  $6\text{NH}_2\text{U}$  при увеличении рН ( $\lambda_{\text{ex}} = 240 \text{ нм}$ ,  $2 \cdot 10^{-4}$  моль/л,  $\text{H}_2\text{O}$ , 298 К)

Значение  $\text{pK}_a$ , полученное из кривой ФЛ титрования  $6\text{NH}_2\text{U}$ , равно 8.9 и в пределах погрешности измерений также совпадает с величинами  $\text{pK}_a$ , определенными другими экспериментальными методами. Данный метод впервые используется для определения константы диссоциации производных урацила, и может быть

использован в дальнейшем для определения  $pK_a$  5,6-замещенных производных урацила с низкой растворимостью.

### 1.4.1 Кето-енольная и амин-иминная таутомерия 6-аминоурацила в воде и ДМСО

Поскольку спектрально-люминесцентный метод имеет высокую чувствительность, и данным методом показано присутствие в водных растворах минорных таутомеров 5-фторурацила<sup>3</sup>, была проведена оценка возможного существования и влияния кето-енольных и амин-иминных таутомерных форм на кислотно-основные свойства **6NH<sub>2</sub>U** в растворах. Относительная устойчивость 6 кето-енольных (A – F) и 2 амин-иминных (G, H) таутомера **6NH<sub>2</sub>U** рассчитана с учетом неспецифической и специфической сольватации в воде и ДМСО (Рисунок 7).

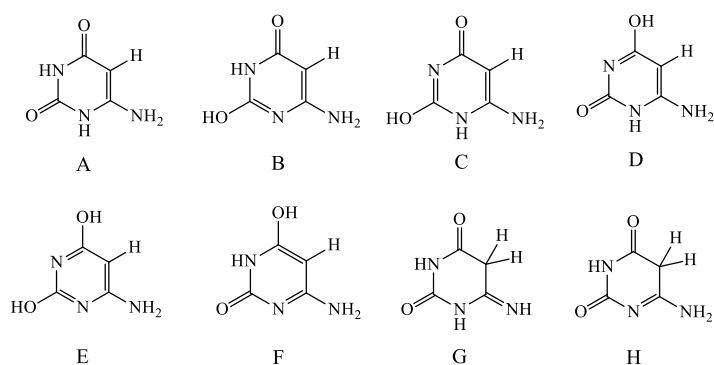


Рисунок 7 – Таутомерные формы 6-аминоурацила

Анализ устойчивости таутомерных форм проводили относительно таутомера с наименьшей энергией Гиббса. Квантово-химические расчеты показали, что самой стабильной формой как в воде, так и в ДМСО при учете неспецифической сольватации является дикето-форма А (Таблица 5). Следующим в ряду устойчивости в воде и ДМСО является таутомер Н (10.7 и 14.3 кДж/моль соответственно).

Таблица 5 – Относительная устойчивость таутомеров 6-аминоурацила  $\Delta G$ , кДж/моль

Таутомер	G4	TPSS/6-311+G(d,p)			G4	TPSS
	PCM(Вода)	PCM(Вода)+5H <sub>2</sub> O	PCM(Вода)+9H <sub>2</sub> O	PCM(ДМСО)		
A	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
B	39.8	41.8	35.7	37.9	48.4	51.9
C	64.5	62.7	53.7	48.1	80.3	79.9
D	30.9	31.5	<b>22.9</b>	29.2	41.7	43.6
E	52.4	59.0	50.9	57.1	61.6	71.2
F	38.5	40.2	60.2	46.5	53.7	55.9
G	36.2	37.2	48.7	29.7	29.8	32.0
H	<b>11.3</b>	<b>10.7</b>	32.0	<b>23.0</b>	<b>16.0</b>	<b>14.3</b>

При сравнении рядов устойчивости кето-енольных таутомеров (A – F) **6NH<sub>2</sub>U**, с ранее опубликованными литературными данными для 5- и 6- замещенных урацилов, отличий в порядке относительной устойчивости таутомеров не наблюдается.

<sup>3</sup> Султанбаев, М.В. Флуоресцентное исследование кето-енольного равновесия таутомеров 5-фторурацила в водных растворах / М.В. Султанбаев, С.С. Остатов, Ш.Х. Ганцев, Ф.А. Халиуллин, В.П. Казаков // Химия высоких энергий. – 2010. – Т. 44. – № 5. – С. 415–418.

Результаты расчета при учете специфической сольватации квантово-химическим методом представлены в таблице 5. Из данных таблицы видно, что при использовании 5-ти водного кластера (Рисунок 8) самой устойчивой формой является таутомер А. Следующим в ряду устойчивости следует таутомер D с относительной устойчивостью 22.9 кДж/моль.

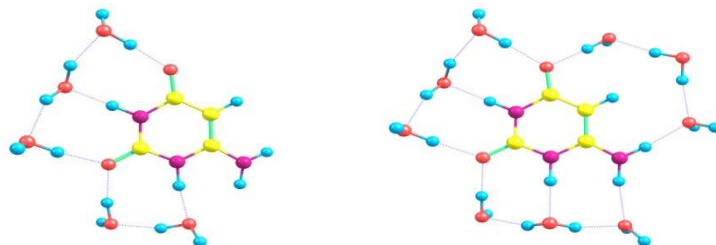


Рисунок 8 – Пятиводный (слева) и девятиводный (справа) кластер таутомера А

Самой устойчивой формой при использовании 9-ти водного кластера является таутомер А. Следующий в ряду устойчивости – таутомер Н с разницей энергии  $\Delta G = 23.0$  кДж/моль.

Вероятное содержание минорных форм в сольватационных моделях оценивали по распределению Больцмана. Для модели неспецифической сольватации, где разница в энергиях между наиболее устойчивым таутомером А и вторым по устойчивости таутомером Н составляет порядка 10 кДж/моль, содержание таутомера Н должно составлять  $\sim 0.01$  %, что пренебрежимо мало для влияния минорных таутомерных форм 6-аминоурацила в растворах на физико-химические свойства. Поскольку во всех других моделях разница в энергиях между наиболее устойчивым таутомером А и минорными формами еще больше, то содержанием минорных таутомерных форм при определении  $pK_a$  **6NH<sub>2</sub>U** можно пренебречь.

## 2 Изучение кислотно-основного равновесия 5-замещенных производных 6-метил- и 6-аминоурацила в водных растворах методами УФ и ЯМР спектроскопии

Электронные спектры поглощения производных урацила свидетельствуют об образовании анионных форм соединений при увеличении pH их водных растворов. Как видно из рисунка 9 в УФ-спектрах 5-замещенных производных 6-метилурацила в кислой и нейтральной средах наблюдаются максимумы поглощения для: **6CH<sub>3</sub>U** – 260 нм, **5,6diCH<sub>3</sub>U** – 268 нм, **TMU** – 266 нм, **5CN6CH<sub>3</sub>U** – 273 нм, **5CHO6CH<sub>3</sub>U** – 284 нм, обусловленные поглощением сопряженной группы –C6=C5–C4=O урацильного фрагмента. При увеличении pH в щелочной области наблюдается батохромное смещение максимумов полос поглощения для **6CH<sub>3</sub>U**, **5,6diCH<sub>3</sub>U**, **TMU**, **5CN6CH<sub>3</sub>U** и **5CHO6CH<sub>3</sub>U** на 15 – 20 нм.

В УФ спектрах водных растворов **6NH<sub>2</sub>U** и **5NO6NH<sub>2</sub>U** (Рисунок 10) при увеличении pH наблюдается уменьшение интенсивности полосы поглощения с максимумом для **6NH<sub>2</sub>U** 263 нм и слабое батохромное смещение на 3 нм. Для **5NO6NH<sub>2</sub>U** максимумами являются 224 и 315 нм с гиперхромным эффектом без смещения (Рисунок 10 б).

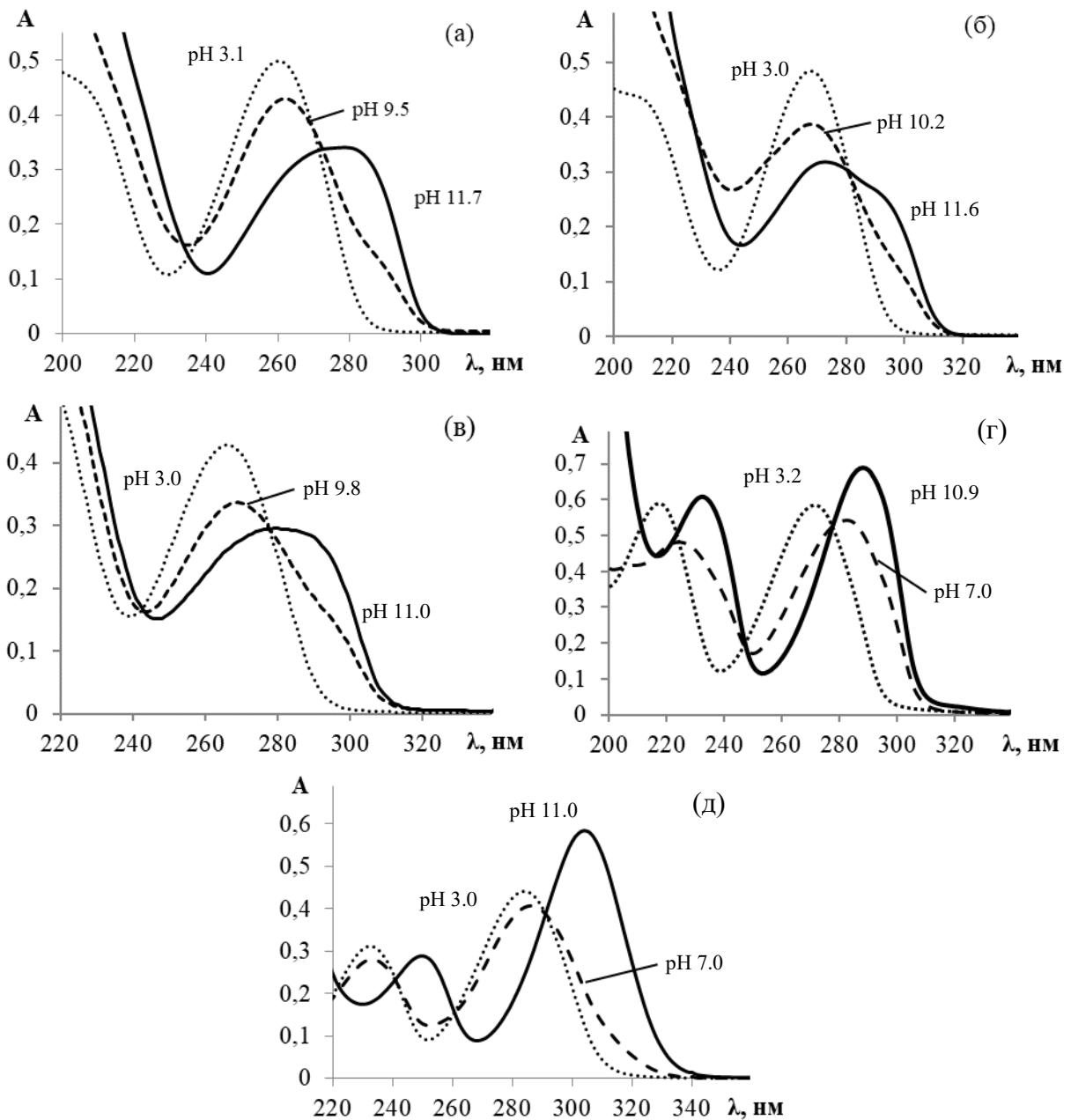


Рисунок 9 – УФ спектры  $6\text{CH}_3\text{U}$  (а),  $5,6\text{diCH}_3\text{U}$  (б),  $\text{TMU}$  (в),  $5\text{CN}6\text{CH}_3\text{U}$  (г),  $5\text{CHO}6\text{CH}_3\text{U}$  (д) в водных растворах при различных pH

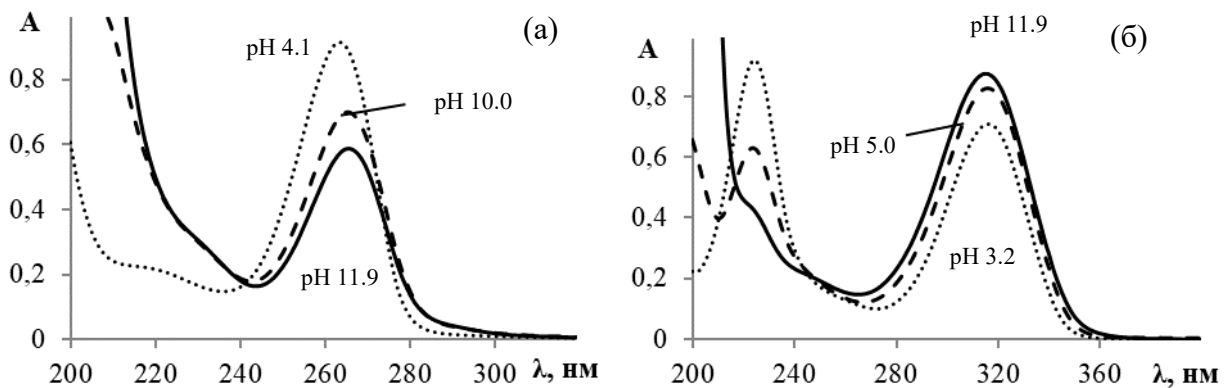


Рисунок 10 – УФ спектры  $6\text{NH}_2\text{U}$  (а)  $5\text{NO}6\text{NH}_2\text{U}$  (б) в водных растворах при различных pH

Показано, что при различных рН в водных растворах наблюдаются изменения в УФ спектрах производных урацила. Существенное влияние оказывают значения рН выше нейтральных, где для 5-замещенных производных 6-метилурацила наблюдается батохромное смещение с уменьшением интенсивности максимумов полос поглощения. В то время как для 6-аминоурацила и 5-нитрозо-6-аминоурацила при увеличении рН происходит лишь уменьшение интенсивности.

С целью изучения структурных изменений 5-замещенных производных 6-метилурацила в щелочных растворах были записаны ЯМР спектры исходных ТМУ, **5CN6CH<sub>3</sub>U**, **5CHO6CH<sub>3</sub>U**, **6NH<sub>2</sub>U** и их растворов с КОН в соотношении 1:1 в водных растворах (Таблица 6). Отнесение сигналов произведено на основании корреляционных НМВС и HSQC спектров.

При добавлении к водному раствору **5CHO6CH<sub>3</sub>U** и ТМУ гидроксида калия в мольном соотношении 1:1 наблюдается существенное смещение в слабое поле сигналов углерода С2, С6 и азота N1 (Таблица 6). Похожим изменениям подвергается и **5CN6CH<sub>3</sub>U** при аналогичных условиях. По-видимому, такие изменения характерны для анионов с отрывом протона от атома азота N1 пиримидинового кольца.

Таблица 6 – Данные спектров ЯМР <sup>13</sup>C и <sup>15</sup>N 5-замещенных производных 6-метил- и 6-аминоурацила δ, м.д (D<sub>2</sub>O)

№ атома	<b>6CH<sub>3</sub>U<sup>4</sup></b>			<b>ТМУ</b>			<b>5NH<sub>2</sub>6CH<sub>3</sub>U<sup>5</sup></b>		
	НА	A <sup>-</sup>	Δδ	НА	A <sup>-</sup>	Δδ	НА	A <sup>-</sup>	Δδ
C2	154.42	163.54	<b>9.12</b>	150.84	158.15	<b>7.31</b>	148.86	159.81	<b>10.95</b>
C4	165.42	163.80	-1.62	164.25	166.48	2.23	160.57	167.99	<b>7.42</b>
C5	99.27	101.83	2.56	106.84	103.36	-3.48	116.23	115.23	-1.00
C6	152.25	176.02	<b>23.77</b>	149.55	161.15	<b>11.60</b>	130.25	138.99	<b>8.74</b>
N1	–	–	–	137.06	164.27	<b>27.21</b>	–	–	–
N3	–	–	–	155.30	–	–	–	–	–
	<b>5CN6CH<sub>3</sub>U</b>			<b>5CHO6CH<sub>3</sub>U</b>			<b>6NH<sub>2</sub>U</b>		
	НА	A <sup>-</sup>	Δδ	НА	A <sup>-</sup>	Δδ	НА	A <sup>-</sup>	Δδ
C2	149.81	157.86	<b>8.05</b>	150.05	156.72	<b>6.67</b>	150.95	158.39	<b>7.44</b>
C4	161.83	166.78	<b>4.95</b>	164.26	166.86	2.60	164.44	166.76	2.32
C5	86.48	84.20	-2.28	106.45	105.88	-0.57	74.06	75.03	0.97
C6	163.83	173.04	<b>9.21</b>	162.24	171.12	<b>8.88</b>	155.18	164.51	<b>9.33</b>
N1	148.55	197.20	<b>48.65</b>	149.67	211.93	<b>62.26</b>	124.31	170.44	<b>46.13</b>
N3	–	–	–	156.44	–	–	–	–	–

НА и A<sup>-</sup> – нейтральная и анионная форма соответственно

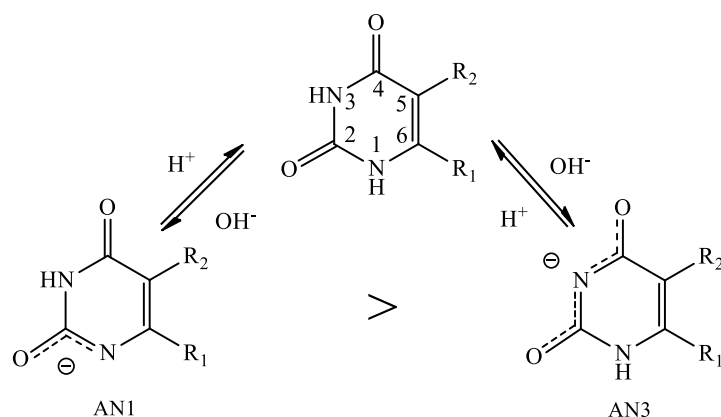
Однако для **5NH<sub>2</sub>6CH<sub>3</sub>U** и **5CN6CH<sub>3</sub>U** помимо С2 и С6, также подвергаются изменениям сигналы С4, что может свидетельствовать об образовании кроме

<sup>4</sup>Иванов, С.П. Дис. канд. хим. наук... Уфа, 2003. – 102 с.

<sup>5</sup>Фаттахов, А.Х. Дис. канд. хим. наук... Уфа, 2011. – 150 с.



основного аниона с отрывом протона от азота N1 пиримидинового кольца (AN1), также некоторого количества анионов с депротонированием от азота N3 (AN3) (Схема 1).



$R_1 = \text{CH}_3$ ,  $R_2 = \text{H}$  – **6CH<sub>3</sub>U**;  $R_1 = \text{CH}_3$ ,  $R_2 = 5$ -(1-пентил-4-метил-1,2,3-триазол-4-ил) – **TMU**;  $R_1 = \text{CH}_3$ ,  $R_2 = \text{CN}$  – **5CN6CH<sub>3</sub>U**;  $R_1 = \text{CH}_3$ ,  $R_2 = \text{CHO}$  – **5CHO6CH<sub>3</sub>U**;  $R_1 = \text{CH}_3$ ,  $R_2 = \text{NH}_2$  – **5NH<sub>2</sub>6CH<sub>3</sub>U**;  $R_1 = \text{H}$ ,  $R_2 = \text{NH}_2$  – **6NH<sub>2</sub>U**

Схема 1

### 3 Определение анионного состава 5-циано-6-метилурацила

#### 3.1 Синтез N-метилзамещенных модельных соединений 5-циано-6-метилурацила

Для изучения механизма депротонирования 5-замещенных 6-метил- и 6-аминоурацилов в водном растворе было осуществлено метилирование диметилсульфатом в водно-щелочных растворах объектов, используемых в данной работе. Образование одновременно моно N1- и N3-метилзамещенных продуктов наблюдалось только для 5-циано-6-метилурацила. Для остальных веществ реакция протекала с образованием двух продуктов: N1-метилзамещенного и N1,3-диметилзамещенного производного урацила.

Контроль за ходом реакции осуществляли методом ВЭЖХ. Синтезированные вещества были фракционированы методом полупрепаративной ВЭЖХ.

Исходя из результатов  $\{^1\text{H}, ^{13}\text{C}\}$  НМВС двумерных спектров, появление сигналов протона 3.25 метильной группы, коррелирующих с химическими сдвигами углеродных атомов C4 164.69 и C6 167.63 м.д., свидетельствуют об образовании 5-циано-1,6-диметилурацила (**5CN1,6diCH<sub>3</sub>U**). Также это подтверждается прямой корреляцией  $\{^1\text{H}, ^{15}\text{N}\}$  НМВС спектра атома азота с метильной группой (Рисунок 11а).

Образование 5-циано-3,6-диметилурацила (**5CN3,6diCH<sub>3</sub>U**) подтверждается результатами анализа методом ЯМР спектроскопии, где в  $\{^1\text{H}, ^{13}\text{C}\}$  НМВС спектрах наблюдается корреляция между протонами метильной группы 3.05 и атомами углерода C2 154.05 и C4 162.28 м.д. соответственно. В спектрах ЯМР  $\{^1\text{H}, ^{15}\text{N}\}$  НМВС наблюдается прямая корреляция между атомами водорода метильной группы 3.05 и атомом азота N3 151.92 м.д. (Рисунок 11б).

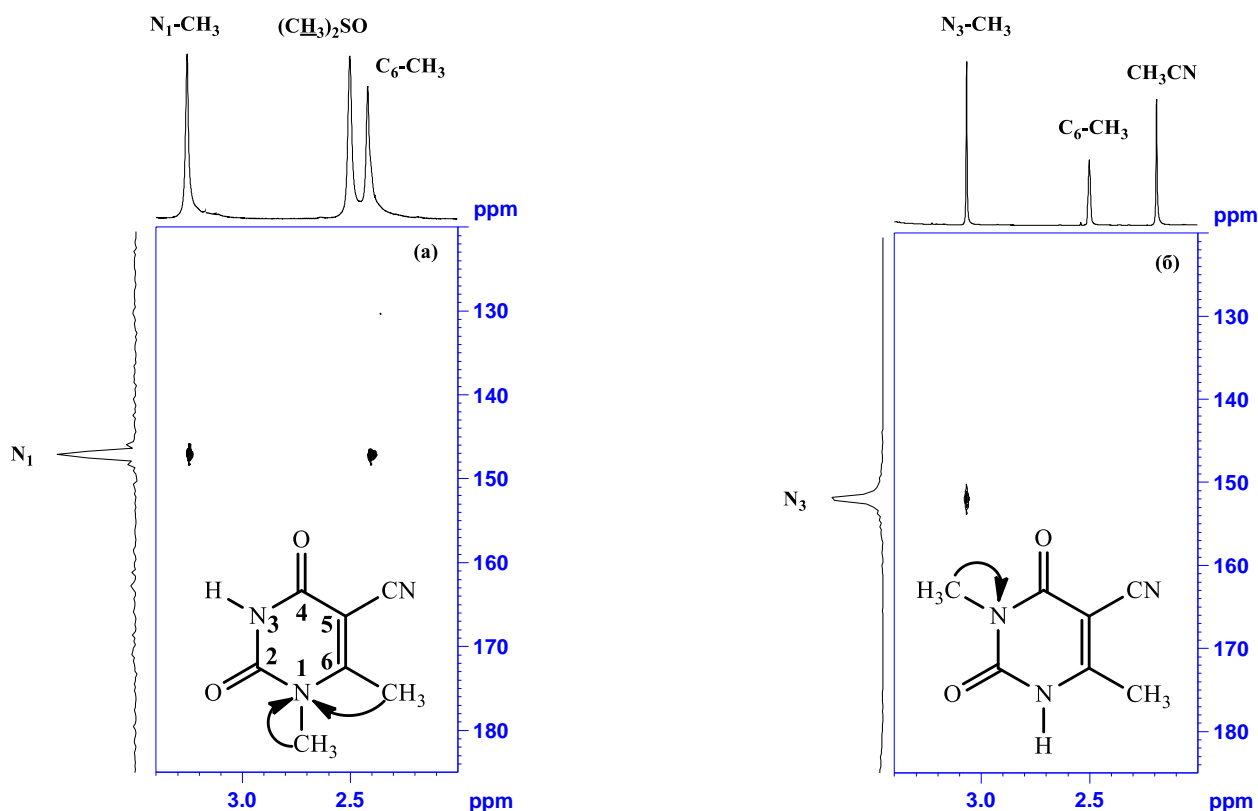
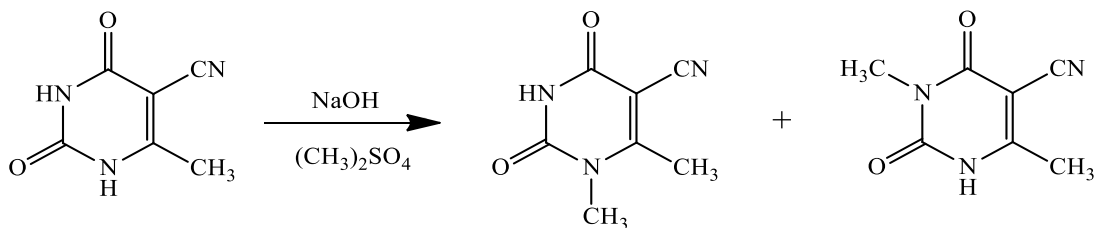


Рисунок 11 – Корреляционные спектры ЯМР  $\{^1\text{H}, ^{15}\text{N}\}$  НМВС выделенных 5-циано-1,6-диметурацила (а) и 5-циано-3,6-диметурацила (б)

Образование дизамещенного продукта с метильными группами у атомов азота N1 и N3 не наблюдалось. Таким образом, схему уравнения реакции алкилирования 5-циано-6-метилурацила с диметилсульфоксидом в щелочном растворе можно записать в общем виде:



### 3.2 Определение соотношения анионных форм 5-циано-6-метилурацила

Зависимости полос поглощения от увеличения pH модельных соединений **5CN1,6diCH<sub>3</sub>U** и **5CN3,6diCH<sub>3</sub>U** представлены на рисунке 12.

Максимум полосы поглощения для **5CN3,6diCH<sub>3</sub>U** (Рисунок 12б) находится в области 271 нм, при увеличении pH наблюдается его смещение на 17 нм. Аналогичные изменения наблюдаются в УФ-спектрах **5CN6CH<sub>3</sub>U** (Рисунок 9г). У водного раствора **5CN1,6diCH<sub>3</sub>U** (Рисунок 12а) с максимумом при 279 нм увеличение pH приводит к уменьшению интенсивности полосы поглощения. Идентичные УФ спектры соединений **5CN6CH<sub>3</sub>U** и **5CN3,6diCH<sub>3</sub>U** при увеличении pH их водных растворов являются подтверждением образования анионной формы **5CN6CH<sub>3</sub>U** с

отрывом протона от атома азота N1, поскольку диссоциация **5CN3,6diCH<sub>3</sub>U** возможна только от атома азота N1.

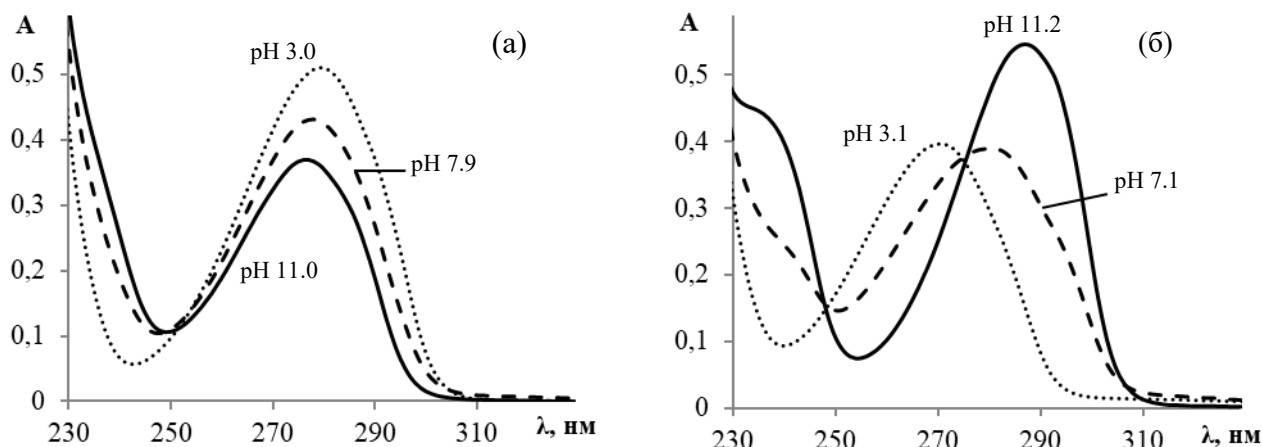


Рисунок 12 – УФ спектры водных растворов **5CN1,6diCH<sub>3</sub>U** (а) и **5CN3,6diCH<sub>3</sub>U** (б) при различных pH

Полученные спектрофотометрическим методом данные  $pK_a$  моно-N-метилзамещенных производных **5CN6CH<sub>3</sub>U** представлены в таблице 7.

Таблица 7 – Константы диссоциации моно-N-метилзамещенных производных **5CN6CH<sub>3</sub>U** в воде при 25 °С

Соединение	$pK_a$	$\lambda_{\text{макс.}} (\text{HA} \rightarrow \text{A}^-)$ , нм
<b>5CN1,6diCH<sub>3</sub>U</b>	$7.87 \pm 0.04$	279 → 279
<b>5CN3,6diCH<sub>3</sub>U</b>	$7.23 \pm 0.06$	271 → 288

Расчет соотношения анионных форм **5CN6CH<sub>3</sub>U** (при эквимольном соотношении урацила со щелочью) проводили по следующей системе уравнений:

$$\begin{cases} \Delta\varepsilon(5\text{CN1,6diCH}_3\text{U}) \cdot x_1 + \Delta\varepsilon(5\text{CN3,6diCH}_3\text{U}) \cdot x_2 = \Delta\varepsilon(5\text{CN6CH}_3\text{U}) \\ x_1 + x_2 = 1 \end{cases}$$

где  $\Delta\varepsilon(5\text{CN1,6diCH}_3\text{U})$ ,  $\Delta\varepsilon(5\text{CN3,6diCH}_3\text{U})$  и  $\Delta\varepsilon(5\text{CN6CH}_3\text{U})$  – значения разницы молярного коэффициента экстинкции в нейтральном и щелочном растворе 5-циано-1,6-диметилурацила, 5-циано-3,6-диметилурацила и 5-циано-6-метилурацила;  $x_1$  и  $x_2$  – мольные доли анионных форм **5CN6CH<sub>3</sub>U** при диссоциации.

Расчитанное соотношение анионных форм N1:N3 5-циано-6-метилурацила в основных водных растворах с эквимольным количеством KOH составляет 0.67:0.33, что свидетельствует о преобладании анионной формы с отрывом протона от атомов азота N1 пиримидинового кольца.

### Заключение

Определены константы кислотно-основного равновесия для 5-замещенных производных 6-метил- и 6-аминоурацила методами потенциометрического и

спектрофотометрического титрования в водных растворах. Метод растворимости использован для определения констант диссоциации производных урацила в воде. Предложен спектрально-люминесцентный метод, как наиболее чувствительный метод, для определения  $pK_a$  малорастворимых производных урацила. Сравнение полученных разными методами величин  $pK_a$  и чувствительности методов на примере 6-аминоурацила приведено в таблице 8.

Таблица 8 – Константы диссоциации 6-аминоурацила в водных растворах (20–25 °С), полученных разными методами

Метод	$pK_a$	Чувствительность метода (С, моль/л)
Потенциометрический	$8.61 \pm 0.06$	$10^{-3}$
Спектрофотометрический	$8.69 \pm 0.03$	$10^{-5}$
Растворимости	$8.72 \pm 0.04$	$10^{-5}$
Спектрально-люминесцентный	$8.9 \pm 0.1$	$10^{-6}$

На основании данных, полученных методами УФ и ЯМР спектроскопии, показано, что диссоциация 5-замещенных производных 6-метил- и 6-аминоурацилов в эквимольных количествах с гидроксидом калия протекает преимущественно с образованием аниона с отрывом протона от атома азота N1 в водных растворах. С использованием модельных соединений количественно установлена доля анионных форм 5-циано-6-метилурацила с отрывом протона от атомов N1 и N3 пиримидинового кольца в водно-щелочных растворах с эквимольным количеством КОН.

### Выводы

1. Впервые определены константы и термодинамические характеристики кислотно-основного равновесия 5,6-диметилурацила ( $pK_a = 10.26 \pm 0.03$ ,  $\Delta G^{298} = 58.5 \pm 0.2$  кДж·моль<sup>-1</sup>,  $\Delta H^{298} = 11.6 \pm 0.3$  кДж·моль<sup>-1</sup>,  $\Delta S^{298} = -158 \pm 1$  Дж·моль<sup>-1</sup>·К<sup>-1</sup>), 5-(1-пентил-4-метил-1,2,3-триазол-4-ил)-6-метилурацила ( $pK_a = 9.98 \pm 0.05$ ,  $\Delta G^{298} = 57.5 \pm 0.9$  кДж·моль<sup>-1</sup>,  $\Delta H^{298} = 12.9 \pm 0.4$  кДж·моль<sup>-1</sup>,  $\Delta S^{298} = -150 \pm 2$  Дж·моль<sup>-1</sup>·К<sup>-1</sup>), 5-циано-6-метилурацила ( $pK_a = 7.00 \pm 0.02$ ,  $\Delta G^{298} = 39.9 \pm 0.9$ , кДж·моль<sup>-1</sup>,  $\Delta H^{298} = 12.0 \pm 1.2$  кДж·моль<sup>-1</sup>,  $\Delta S^{298} = -93 \pm 7$  Дж·моль<sup>-1</sup>·К<sup>-1</sup>) 5-формил-6-метилурацила ( $pK_a = 7.55 \pm 0.04$ ,  $\Delta G^{298} = 43.1 \pm 0.2$  кДж·моль<sup>-1</sup>,  $\Delta H^{298} = 16.3 \pm 0.5$  кДж·моль<sup>-1</sup>,  $\Delta S^{298} = -89 \pm 1$  Дж·моль<sup>-1</sup>·К<sup>-1</sup>), 6-аминоурацила ( $pK_a = 8.61 \pm 0.06$ ,  $\Delta G^{298} = 49.1 \pm 0.3$  кДж·моль<sup>-1</sup>,  $\Delta H^{298} = 19.4 \pm 0.9$  кДж·моль<sup>-1</sup>,  $\Delta S^{298} = -100 \pm 7$  Дж·моль<sup>-1</sup>·К<sup>-1</sup>), 5-нитрозо-6-аминоурацила ( $pK_a = 5.27 \pm 0.02$ ,  $\Delta G^{298} = 30.1 \pm 0.1$  кДж·моль<sup>-1</sup>,  $\Delta H^{298} = 17.0 \pm 0.2$  кДж·моль<sup>-1</sup>,  $\Delta S^{298} = -43 \pm 1$  Дж·моль<sup>-1</sup>·К<sup>-1</sup>) в водных растворах потенциометрическим методом.
2. Впервые определены константы диссоциации 5-(1-пентил-4-метил-1,2,3-триазол-4-ил)-6-метилурацила ( $pK_a = 9.59 \pm 0.10$ ), 5-циано-6-метилурацила ( $pK_a = 7.00 \pm 0.02$ ), 5-формил-6-метилурацила ( $pK_a = 7.51 \pm 0.03$ ), 5-нитрозо-6-аминоурацила ( $pK_a =$

$5.00 \pm 0.14$ ), 5-циано-1,6-диметилурацила ( $pK_a = 7.87 \pm 0.04$ ) и 5-циано-3,6-диметилурацила ( $pK_a = 7.23 \pm 0.06$ ) спектрофотометрическим методом.

3. Изучена предельная растворимость некоторых 5,6-замещенных производных урацила в воде. Установлено, что минимальные значения растворимости наблюдаются у 6-аминоурацила. Впервые методом растворимости для 6-аминоурацила определены  $pK_a$  ( $8.72 \pm 0.04$ ) в воде при  $20\text{ }^\circ\text{C}$ .
4. Впервые предложен спектрально-люминесцентный метод определения констант диссоциации производных урацилов в водных растворах. Показано, что чувствительность данного метода на порядок превышает классические методы. С помощью предложенного метода определены  $pK_a$  6-аминоурацила в водных растворах ( $pK_a = 8.9 \pm 0.1$ ).
5. Методом TPSSTPSS/6-311+G(d,p) рассчитан ряд относительной устойчивости 8 таутомеров 6-аминоурацила с учетом неспецифической (вода, ДМСО) и специфической сольватации в воде (пятиводный и девятиводный кластеры). Установлено, что в водном растворе 6-аминоурацил с вероятностью 99.99 % находится в дикетоаминной форме, а доля следующего после него минорного таутомера составляет менее 0.0001 % при использовании 9-ти водной модели.
6. На основании данных УФ и ЯМР спектроскопии показано, что образование анионов в щелочных водных растворах 5-замещенных производных 6-метил- и 6-аминоурацила протекает преимущественно с отрывом протона от азота N1.
7. Алкилированием диметилсульфатом в водно-щелочных растворах впервые синтезированы 5-циано-1,6-диметилурацил и 5-циано-3,6-диметилурацил. С использованием полученных соединений спектрофотометрическим методом определено соотношение анионных форм 5-циано-6-метилурацила с отрывом протона от атомов N1 и N3 (0.67 и 0.33, соответственно) пиримидинового кольца в водно-щелочных растворах с эквимольным количеством КОН.

#### **Основное содержание диссертации изложено в следующих публикациях:**

1. Остахов, С.С. Спектрально-люминесцентное исследование кислотно-основного равновесия 5- и 6-аминоурацила в водных растворах / С.С. Остахов, Р.Р. Каюмова, **А.А. Ахияров**, С.П. Иванов, С.Л. Хурсан // Химия высоких энергий. – 2023. – Т. 1, №. 1 – С. 3-8.
2. **Ахияров, А.А.** Кислотно-основные свойства 6-метилурацил-5-карбонитрила и его N-метилпроизводных / **А.А. Ахияров**, А.Н. Лобов, И.Б. Черникова, С.П. Иванов // Журнал общей химии. – 2022. – Т. 2, № 2. – С. 181-188.
3. **Ахияров, А.А.** Синтез и кислотно-основные свойства нового замещенного 1,2,3-триазольным фрагментом производного 6-метилурацила / **А.А. Ахияров**, Л.М. Губайдуллина, Л.Ф. Сайфина, В.Э. Семенов, Л.А. Рамазанова, А.Н. Лобов, И.С. Файзрахманов, И.Е. Алехина, С.П. Иванов // Журнал физической химии. – 2021. – Т. 95, № 2. – С. 207-212.

4. **Ахияров, А.А.** Растворимость 6-аминоурацила и 1-метил-6-аминоурацила в воде и некоторых органических растворителях / **А.А. Ахияров**, С.П. Иванов // Вестник Башкирского университета. – 2021. – Т. 26, № 3. – С. 631-634.
5. Ivanov, S.P. On the use of the spectral luminescent method for studying acid–base equilibria of uracil derivatives in aqueous solutions / S.P. Ivanov, S.S. Ostakhov, G.S. Abdrakhimova, **А.А. Akhiyarov**, S.L. Khursan // Biophysical Chemistry. – 2020. – V. 266. – P. 106432-106437.
6. **Ахияров, А.А.** Амин-иминная и кето-енольная таутомерия 6-аминоурацила в воде и ДМСО: квантово-химический расчет / **А.А. Ахияров**, С.Л. Хурсан, М.Ю. Овчинников, С.П. Иванов // Известия Уфимского научного центра РАН. – 2019. – № 4. – С. 82–86.
7. **Ахияров, А.А.** Изучение кислотно-основного равновесия 6-аминоурацила в водных растворах / **А.А. Ахияров**, А.Н. Лобов, И.Е. Алехина, С.П. Иванов // II Всероссийская молодежная конференция «Достижения молодых ученых: химические науки» сб. тезисов докладов. Уфа, 2016. – С. 6-8.
8. **Ахияров, А.А.** Относительная устойчивость кето-енольных таутомеров 6-аминоурацила / **А.А. Ахияров**, М.Г. Ильина, И.Е. Алехина, С.П. Иванов // III Всероссийская молодежная конференция «Достижения молодых ученых: химические науки» сб. тезисов докладов. Уфа, 2017. – С. 188-190.
9. **Ахияров, А.А.** Определение констант и термодинамических характеристик кислотно-основного равновесия 6-аминоурацила в водных растворах / **А.А. Ахияров**, И.Е. Алехина, С.П. Иванов // III Всероссийская молодежная конференция «Достижения молодых ученых: химические науки» сб. тезисов докладов. Уфа, 2017. – С. 190-192.
10. **Ахияров, А.А.** Кислотно-основное равновесие 5-циано-6-метилурацила в водных растворах / **А.А. Ахияров**, И.Б. Черникова, А.Н. Лобов, С.П. Иванов // V молодежная школа-конференция «Современные аспекты химии» сб. тезисов докладов. Пермь, 2018. – С. 107-109.
11. **Ахияров, А.А.** Cis- и trans-конформеры альдегидной группы 5-формил-6-метилурацила и их влияние на константу диссоциации / **А.А. Ахияров**, Д.Ф. Арсланова, И.Б. Черникова, И.С. Файзрахманов, И.Е. Алехина, С.П. Иванов // IV Всероссийская молодежная конференция «Проблемы и достижения кислород- и азотсодержащих биологически активных соединений» сб. тезисов докладов. Уфа, 2020. – С. 112-113.
12. Арсланова, Д.Ф. Изучение кислотно-основного равновесия 5-формил-6-метилурацила в растворах / Д.Ф. Арсланова, **А.А. Ахияров**, И.Б. Черникова, А.Н. Лобов, И.С. Файзрахманов, С.П. Иванов // V Всероссийская молодежная конференция «Достижения молодых ученых: химические науки» сб. тезисов докладов. Уфа, 2021. – С. 214-216.
13. **Ахияров, А.А.** Растворимость 6-аминоурацила и 1-метил-6-аминоурацила в некоторых растворителях / **А.А. Ахияров**, С.П. Иванов // II Всероссийская

молодежная конференция «Вершины науки – покорять молодым» сб. тезисов докладов. Уфа, 2021. – С. 93-95.

14. **Ахияров, А.А.** Кислотно-основные свойства 5 замещенных производных 6-метил- и 6-аминоурацила в водных растворах / **А.А. Ахияров**, А.Н. Лобов, С.П. Иванов // XIII Всероссийской школа-конференции молодых ученых "Теоретическая и экспериментальная химия жидкофазных систем" (Крестовские чтения) сб. тезисов докладов. Иваново, 2021. – С. 350.
15. Иванов, С.П. Спектрально-люминесцентный метод определения констант диссоциации производных урацила в водных растворах / С.П. Иванов, С.С. Остахов, **А.А. Ахияров**, Р.Р. Каюмова, Г.С. Абдрахимова, С.Л. Хурсан // XXXIV Симпозиум «Современная химическая физика» сб. тезисов докладов. Туапсе, 2022. – С. 81.