

КИСЛОТНО-ОСНОВНЫЕ СВОЙСТВА 5-ГИДРОКСИ-1,3,6-ТРИМЕТИЛУРАЦИЛА В ВОДНЫХ РАСТВОРАХ

© 2020 г. С. Ф. Петрова, Т. Р. Нугуманов, Ю. З. Хазимуллина,
А. Р. Гимадиева, С. П. Иванов*

Уфимский институт химии Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук,
пр. Октября 71, Уфа, 450054 Россия
*e-mail: ivanov_sp@anrb.ru

Поступило в Редакцию 26 декабря 2019 г.
После доработки 26 декабря 2019 г.
Принято к печати 30 декабря 2019 г.

Методами УФ и ЯМР ^1H , ^{13}C , ^{15}N спектроскопии изучена структура 5-гидрокси-1,3,6-триметилурацила. Определены константы и термодинамические характеристики его кислотно-основного равновесия в водных растворах. С использованием полученных результатов установлен порядок стадий диссоциации 5-гидрокси-6-метилурацила в водных растворах.

Ключевые слова: 5-гидрокси-6-метилурацил, 5-гидрокси-1,3,6-триметилурацил, спектроскопия ЯМР, константа диссоциации

DOI: 10.31857/S0044460X20050054

Урацил и его производные в водных растворах представляют собой слабые двухосновные кислоты [1–3]. Для многих 5- и/или 6-замещенных производных урацила pK_a первой ступени диссоциации определены [4], но место первичного депротонирования урацила не установлено. На основании квантово-химических расчетов для большинства производных урацила наиболее выгодно образование аниона с отрывом протона от атома N^1 пиримидинового кольца [4, 5].

5-Гидрокси-6-метилурацил **1** проявляет ряд уникальных фармакологических свойств [6]. Соединение **1** подвергается окислению в щелочной водной среде через стадию депротонирования молекулы (схема 1) [7–10].

Экспериментальные значения pK_a^1 и pK_a^2 для соединения **1** составляют 8.71 и 10.25 [11]. На основании расчетных данных предложен порядок депротонирования молекулы **1** в щелочных водных растворах при 25°C [12]: сначала отщепляется протон от атома N^1 пиримидинового кольца ($pK_a^1 = 8.5$), затем от кислорода гидроксильной группы при атоме C^5 ($pK_a^2 = 10.41$) и, наконец, от атома азота N^3 ($pK_a^3 = 12.2$).

Ранее нами в качестве модельных соединений были получены метилпроизводные соединения **1**, в которых один из водородов атома азота, способный к диссоциации, замещен на метильную группу [13, 14]. Выделить модельное соединение с метильной группой у атома кислорода при C^5 не удалось.

Нами синтезирован в качестве модельного соединения 5-гидрокси-1,3,6-триметилурацил **2**, доказана его структура и изучены кислотно-основные свойства. Соединение **2** было получено окислением 1,3,6-триметилурацила **3** [15] персульфатом аммония в щелочной среде с последующим кислотным гидролизом (схема 2). Другой способ получения соединения **2** [16] не применяли из-за более низкого выхода.

Структура соединения **2** доказана методами ЯМР ^1H , ^{13}C , и ^{15}N спектроскопии. Вследствие изолированности метильных групп и отсутствия на соседних атомах углерода протонов сигналы групп CH_3 при атомах азота проявляются в виде синглетов в диапазоне 2.22–3.33 м. д. Как следует из данных ЯМР ^{13}C , метильные группы при атомах N^1 и N^3 вызывают смещение сигналов атомов C^2

Схема 1.

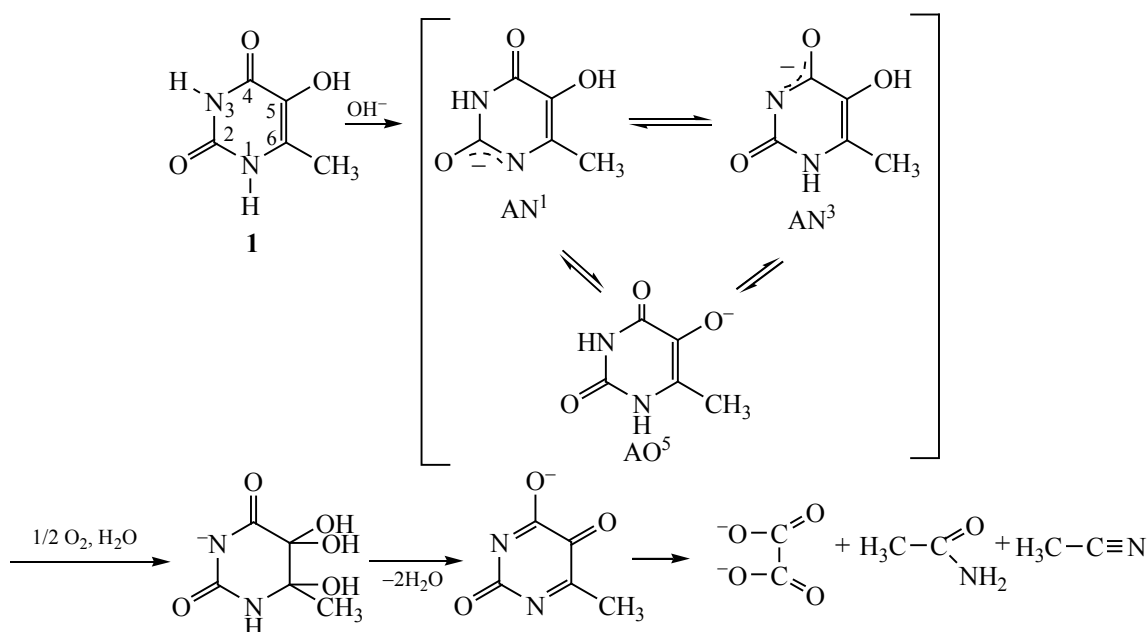
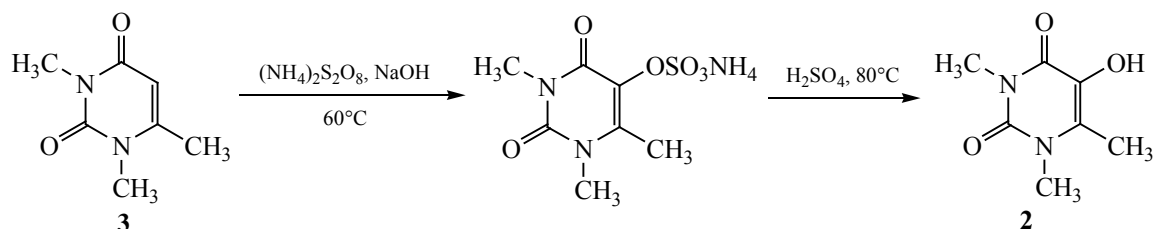


Схема 2.

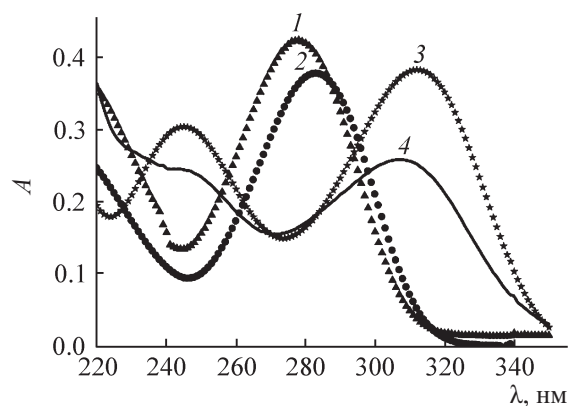


и C^4 урацильного кольца в сильное поле на 0.39 и 2.43 м. д. соответственно по сравнению со спектром соединения 1.

Отнесение сигналов проводили с использованием двумерных спектров. В спектре ^1H - ^{13}C НМВС соединения 2 наблюдаются корреляции протонов метильной группы при атоме C^6 с протонами метильной группы при атоме N^1 и с атомами C^4 , C^5 и C^6 , протонов метильной группы при N^3 – с атомами C^2 и C^4 , протонов метильной группы при атоме N^1 – с атомами C^2 и C^6 . В спектре ^1H - ^{15}N НМВС соединения 3, кроме прямой корреляции атома N^1 с протонами метильной группы при атоме N^1 , наблюдается дальнейшее взаимодействие с протонами метильной группы при C^6 и прямая корреляция атома азота с протонами метильной группы при N^3 .

Данные ЯМР щелочного раствора соединения 2 с эквимольным количеством КОН отличаются

от спектров нейтральных растворов смещением химических сдвигов сигналов атомов углерода C^4 , C^5 , $\text{CH}_3\text{-N}^1$ в слабое поле, а атомов C^2 , C^6 , $\text{CH}_3\text{-}$



УФ спектры водных растворов соединений 1 (1, 3) и 2 (2, 4) при pH = 5.75 (1, 2), 12 (3, 4), $c = 2 \times 10^{-5}$ моль/л, $l = 1$ см.

Таблица 1. Параметры спектров ЯМР ^{13}C и ^{15}N соединений **1** и **2** в водных растворах

Соединение	$\delta_{\text{C}}, \text{ м. д.}$								
	C^2	C^4	C^5	C^6	$\text{CH}_3\text{--C}^6$	$\text{CH}_3\text{--N}^1$	$\text{CH}_3\text{--N}^3$	N^1	N^3
1	151.15	162.63	127.79	137.11	12.38	—	—	130.56	—
1 +KOH	151.89	166.49	135.37	131.37	12.65	—	—	132.68	—
2	150.76	160.20	127.41	136.46	12.36	31.19	27.48	125.38	153.40
2 +KOH	150.12	163.72	136.50	130.62	11.48	31.51	27.61	124.67	153.28

C^6 , N^1 и N^3 – в сильное поле, что, по-видимому, связано с отщеплением протона от единственно возможной группы, а именно от гидроксильной группы при атоме C^5 (табл. 1). Как видно из данных ЯМР ^{13}C щелочного раствора соединения **2**, наибольшее смещение сигналов наблюдается для атомов углерода C^5 и C^6 (на 9.09 и 5.84 м. д. соответственно). Аналогичное смещение сигналов наблюдается при диссоциации соединения **1** [10]. Следовательно, депротонирование соединения **1** по первой ступени происходит по гидроксильной группе при атоме C^5 .

В УФ спектре соединения **2** имеется максимум в области 283 нм (см. рисунок, 2), обусловленный поглощением цепи сопряжения $\text{C}=\text{C}-\text{C}=\text{O}$. Как видно из УФ спектров, замещение водорода у атомов азота на метильную группу приводит к bathochromному сдвигу максимума полосы поглощения по сравнению со спектром исходного соединения **1** ($\lambda_{\text{max}} = 278$ нм) с уменьшением интенсивности максимума.

В водной щелочной среде для исходного соединения **1** и его *N,N*-диметилпроизводного **2** наблюдается bathochromный сдвиг на ~30 нм. Учитывая, что единственно возможным местом депротонирования соединения **2** является гидроксильная группа при атоме C^5 , можно предположить, что депротонирование соединения **1** по первой ступени также происходит по гидроксильной группе при атоме C^5 .

Методом потенциометрического титрования [17] определены константы диссоциации соединения **2**. Величины pK_a^1 и термодинамические характеристики кислотно-основного равновесия приведены в табл. 2. Величины pK_a^1 модельного соединения **2** и исходной молекулы **1** схожи, а энтальпийный и энтропийный фактор свидетель-

ствуют об энергетической невыгодности депротонирования соединения **2** в водных растворах.

Исходя из полученных констант диссоциации исходного **1** [$pK_a^1(\mathbf{1}) = 8.80$] и его модельных метилированных соединений [$pK_a^1(-\text{N}^3) = 9.38$, $pK_a^1(-\text{N}^1) = 9.62$], определенных ранее [14], можно предположить порядок его диссоциации в водной щелочной среде: по первой ступени происходит отрыв протона от гидроксильной группы, затем от атома N^3 и, наконец, от атома N^1 . Поскольку величины pK_a^1 соединений **1** и **2** близки, то очевидно, что преобладающая форма в водном щелочном растворе – анион, образующийся с отрывом протона от гидроксильной группы.

Для оценки доли анионных форм соединения **1** в щелочной среде (мольное соотношение **1**:KOH = 1:1), была составлена система уравнений (1) с тремя неизвестными (ср. [14]).

$$\begin{cases} pK_a^1(-\text{N}^1) \cdot x_1 + pK_a^1(-\text{N}^3) \cdot x_2 + pK_a^1(-\text{O}^5) \cdot x_3 = pK_a^1(\mathbf{1}) \\ x_1 + x_2 + x_3 = 1 \end{cases} \quad (1)$$

Здесь $pK_a^1(-\text{N}^1)$, $pK_a^1(-\text{N}^3)$ и $pK_a^1(-\text{O}^5)$ – константы диссоциации модельных метилированных соединений, способных депротонироваться, соответственно, только по атомам N^1 , N^3 , O^5 ; $pK_a^1(\mathbf{1})$ – константа диссоциации соединения **1**; x_1 , x_2 и x_3 – мольные доли анионов, образующихся при отщеплении протона от атомов N^1 , N^3 , O^5 соответственно.

В результате решения уравнения получены значения $x_1 = 0.0009$, $x_2 = 0.0071$, $x_3 = 0.992$ при 25°C , т. е. при добавлении эквимольного количества KOH в водном растворе соединение **1** практически полностью переходит в анионную форму с отрывом протона от гидроксильной группы.

Таким образом, исходя из соотношения анионных форм, полученных по данным pK_a и ЯМР

Таблица 2. Константы и термодинамические характеристики кислотно-основного равновесия соединений **1** и **2** в водных растворах (0.1 М. KNO₃)

Соединение	<i>T</i> , °С	pK_a^1	ΔG_{298} , кДж/моль	ΔH , Дж/моль	ΔS_{298} , Дж/(моль·К ⁻¹)
1	20	8.85±0.05	50±3	9.5±0.8	-138±5
	25	8.80±0.07			
	35	8.76±0.04			
	45	8.71±0.05			
2	20	8.96±0.02	51±4	3.2±0.6	-164±7
	25	8.93±0.02			
	35	8.84±0.04			
	45	8.57±0.05			

спектроскопии, предложен порядок стадий депротонирования 5-гидрокси-6-метилурацила в водных растворах: на первой стадии отщепляется протон от гидроксильной группы при атоме С⁵, на второй – от атома N³ и на третьей – от атома N¹.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

КОН (Sigma-Aldrich, 99%), D₂O (DeuteroGmbH, 99%) и ДМСО-*d*₆ (DeuteroGmbH, 99%) использовали без дополнительной очистки.

Величины pK_a^1 определяли по стандартной методике [17] методом потенциометрического титрования в термостатируемом реакторе объемом 25 мл, снабженном обратным холодильником, при 20, 25, 35 и 45°С. Температуру поддерживали при помощи термостата LOIP LT-205. При титровании использовали рН-метр рН-150МИ с комбинированным стеклянным электродом ЭСК-10307. Калибровку электрода проводили с помощью стандартных буферных растворов. Для поддержания постоянной ионной силы в титруемом растворе использовали 0.1 М. раствор KNO₃. В качестве растворителя применяли свежеперегнанный бидистиллят. Концентрацию свежеприготовленного раствора гидроксида калия устанавливали кислотно-основным титрованием фиксаналом 0.01 М. HCl (индикатор – фенолфталеин).

Спектры ЯМР ¹H, ¹³C и ¹⁵N регистрировали на импульсном спектрометре Bruker Avance III с рабочими частотами 500.13 (¹H), 125.47 (¹³C) и 50.58 МГц (¹⁵N) с использованием 5 мм датчика с Z-градиентом РАВВО при постоянной температуре образца 298 К в D₂O. Химические сдвиги в спектрах ЯМР ¹H приведены относительно оста-

точного сигнала воды. Спектры ЯМР ¹³C с подавлением по протонам (WALTZ-16) регистрировали при следующих условиях: спектральное окно – 29.8 кГц, количество точек – 64К, длительность возбуждающего импульса (30°) – 3.2 мкс, релаксационная задержка – 2 с, количество прохождений – 2к. Двумерные спектры регистрировали в стандартных режимах многоимпульсных последовательностей программного обеспечения прибора с использованием методик [18] (¹H–¹³C HSQC) и [19, 20] (¹H–¹³C HMBSC). Электронные спектры поглощения регистрировали на спектрофотометре Shimadzu UV-1800 в области 200–350 нм с использованием кварцевых кювет, *l* = 1 см. Концентрация растворов всех исследуемых соединений составляла 2×10⁻⁵ моль/л. В качестве растворителя использовали бидистиллированную воду.

Методика приготовления растворов. Для регистрации спектров ЯМР в нейтральной среде сухие навески соединений **1**, **2** (0.012 и 0.013 г соответственно) растворяли в 0.8 мл D₂O. Для регистрации спектров соединений **1**, **2** в щелочной среде к раствору КОН с концентрацией 0.088 моль/л (0.004 г в 0.8 мл растворителя) в D₂O добавляли сухие навески соединений **1**, **2** (0.012 и 0.013 г соответственно). Для регистрации спектра ЯМР 1,3,6-триметилурацил-5-аммония сульфата сухую навеску 0.018 г растворяли в 0.8 мл ДМСО-*d*₆.

1,3,6-Триметилурацил-5-аммония сульфат. К 1 г (0.005 моль) соединения **3** [15] с чистотой не менее 95% (ВЭЖХ), растворенному в 7 мл 24%-ного раствора NaOH, порциями добавляли 1.68 г

(0.0075 моль) сухого персульфата аммония. Реакционную смесь интенсивно перемешивали при 60°C в течение 4 ч, затем охлаждали. Кристаллы отделяли и перекристаллизовывали из воды. Выход 0.97 г (73%), белый порошок, т. пл. 210°C. Спектр ЯМР ^1H (ДМСО- d_6), δ , м. д.: 2.54 с (3H, CH_3C^6), 3.05 с (3H, N^3CH_3), 3.30 с (N^1CH_3), 7.01 с (4H, O_3SOC^5) Спектр ЯМР ^{13}C (D_2O), δ_{C} , м. д.: 13.81 (CH_3C^6), 27.31 (N^3CH_3), 30.27 (N^1CH_3), 126.39 (C^5), 130.86 (C^6), 154.50 (C^2), 154.96 (C^4).

5-Гидроксид-1,3,6-триметилурацил (2). 1 г (0.0037 моль) 1,3,6-триметилурацил-5-аммоний сульфата растворяли в 5 мл нагретой до 80°C дистиллированной воды, затем по каплям прибавляли 0.2 мл (0.0037 моль) конц. H_2SO_4 . Полученную смесь перемешивали при 80°C в течение 1 ч, затем охлаждали. Кристаллы отфильтровывали и сушили. Выход 0.63 г (88%), белый порошок, т. пл. 185°C. УФ спектр, λ_{max} , нм (ϵ , $\text{моль}^{-1} \cdot \text{л} \cdot \text{см}^{-1}$): 283 (7536). Спектр ЯМР ^1H (D_2O), δ , м. д.: 2.22 с (3H, CH_3C^6), 3.23 с (3H, N^3CH_3), 3.32 с (N^1CH_3). Спектр ЯМР ^{13}C (D_2O), δ_{C} , м. д.: 12.36 (CH_3C^6), 27.4 (N^3CH_3), 31.194 (N^1CH_3), 127.41 (C^5), 136.46 (C^6), 150.76 (C^2), 160.20 (C^4). Спектр ЯМР ^{15}N (D_2O), δ_{N} , м. д.: 125.38 (N^1), 153.40 (N^3).

ФОНДОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Работа выполнена в рамках государственных заданий Министерства науки и высшего образования (№ АААА-А20-120012090029-0 и АААА-А19-119011790021-4) с использованием оборудования Центров коллективного пользования «Химия» и «Агидель» Уфимского федерального исследовательского центра РАН.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Wempen I., Fox J.J. // J. Am. Chem. Soc. 1964. Vol. 86. P. 2474. doi 10.1021/ja01066a034
- Иоффе Б.В., Костиков Р.Р., Разин В.В. Физические методы определения строения органических соединений. М.: ВШ, 1984. 336 с.
- Stimson M.M. // J. Am. Chem. Soc. 1949. Vol. 71. P. 1470. doi 10.1021/ja01172a093
- Ilyina M.G., Khamitov E.M., Ivanov S.P., Khursan S.L. // Comput. Theor. Chem. 2016. Vol. 1078. P. 81. doi 10.1016/j.comptc.2015.12.024
- Markova N., Enchev V., Ivanova G. // J. Phys. Chem. 2010. Vol. 114. P. 13154. doi 10.1021/jp1063879
- Мышкин В.А., Бакиров А.Б. Оксиметилурацил (Очерки экспериментальной фармакологии). Уфа, 2001. 218 с.
- Иванов С.П., Конкина И.Г., Байкова И.П., Спирихин Л.В., Муринов Ю.И. // ХГС. 2002. № 11. С. 1609; Ivanov S.P., Konkina I.G., Baikova I.P., Spirikhin L.V., Murinov Yu.I. // Chem. Heterocycl. Compd. 2002. N 11. P. 1424. doi 10.1002/chin.200327138
- Петрова С.Ф., Нугуманов Т.Р., Лобов А.Н., Иванов С.П., Муринов Ю.И. // Вестн. Баш. унив. 2016. Т. 21. Вып. 3. С. 626.
- Петрова С.Ф., Остахов С.С., Иванов С.П., Нугуманов Т.Р., Муринов Ю.И., Хурсан С.Л. // Химия высоких энергий. 2018. Т. 52. № 6. С. 468; Petrova S.F., Ostakhov S.S., Ivanov S.P., Nugumanov T.R., Murinov Y.I., Khursan S.L. // High Energy Chem. 2018. Vol. 52. N 6. P. 480. doi 10.1134/S0023119318060116
- Петрова С.Ф. Автореф. дис. ... канд. хим. наук. Уфа, 2018. 23 с.
- Иванов С.П. Автореф. дис. ... канд. хим. наук. Уфа, 2003. 22 с.
- Amorati R., Valgimigli L., Pedulli G.F., Grabovskiy S.A., Kabal'nova N.N., Chatgililoglu C. // Org. Lett. 2010. Vol. 12. N 18. P. 4130. doi 10.1021/o11017245
- Петрова С.Ф., Нугуманов Т.Р., Лобов А.Н., Спирихин Л.В., Муринов Ю.И., Иванов С.П. // ЖОХ. 2018. Т. 88. Вып. 1. С. 143; Petrova S.F., Nugumanov T.R., Lobov A.N., Spirikhin L.V., Murinov Y.I., Ivanov S.P. // Russ. J. Gen. Chem. 2018. Vol. 88. N 1. P. 136. doi 10.1134/S1070363218010231
- Петрова С.Ф., Нугуманов Т.Р., Спирихин Л.В., Муринов Ю.И., Иванов С.П. // ЖОХ. 2018. Т. 88. Вып. 6. С. 895; Petrova S.F., Nugumanov T.R., Spirikhin L.V., Murinov Y.I., Ivanov S.P. // Russ. J. Gen. Chem. 2018. Vol. 88. N 6. P. 1076. doi 10.1134/S107036321806004X
- Фаттахов А.Х. Дис. ... канд. хим. наук. Уфа, 2011. 127 с.
- Пат. РФ. 2000298 (1991) // Б. И. 1993. № 33–36.
- Альберт А., Сержент Е. Константы ионизации кислот и оснований. М.: Химия, 1964. 180 с.
- Davis A.L., Keeler J., Laue E.D., Moskau D.J. // J. Magn. Res. 1992. Vol. 98. N 1. P. 207. doi 10.1016/0022-2364(92)90126-R
- Hurd R.E., John B.K. // J. Magn. Res. 1991. Vol. 91. N 3. P. 648. doi 10.1016/0022-2364(91)90395-A
- Willker W., Leibfritz D., Kerssebaum R., Bermel W. // Magn. Res. Chem. 1993. Vol. 31. N 3. P. 287. doi 10.1002/mrc.1260310315

Acid-Basic Properties of 5-Hydroxy-1,3,6-trimethyluracil in Aqueous Solutions

S. F. Petrova, T. R. Nugumanov, Yu. Z. Khazimullina, A. R. Gimadieva, and S. P. Ivanov*

Ufa Institute of Chemistry of the Russian Academy of Sciences, Ufa, 450054 Russia

**e-mail: ivanov_sp@anrb.ru*

Received December 26, 2019; revised December 26, 2019; accepted December 30, 2019

5-Hydroxy-1,3,6-trimethyluracil was studied using ^1H , ^{13}C , and ^{15}N NMR and UV spectroscopy. The constants and thermodynamic characteristics of its acid-base equilibrium in aqueous solutions are determined. The order of dissociation of 5-hydroxy-6-methyluracil in aqueous solutions was established.

Keywords: 5-hydroxy-6-methyluracil, 5-hydroxy-1,3,6-trimethyluracil, NMR spectroscopy, dissociation constant