

Elżbieta Bojarska-Olejniak

BADANIE RÓWNOWAG TAUTOMERYCZNYCH
AZOLI I ICH POCHODNYCH
METODAMI MAGNETYCZNEGO REZONANSU JĄDROWEGO

A-21-6
K-C-124
K-C-123
K-C-125

Praca doktorska wykonana
w Instytucie Chemii Organicznej
Polskiej Akademii Nauk
Promotor :
doc.dr hab. Lech Stefaniak

Biblioteka Instytutu Chemii Organicznej PAN

O-B.163/87

Warszawa 1987





B. Org. 163/87

Promotorowi
Panu Docentowi Lechowi Stefaniakowi
za życzliwą opiekę nad realizacją tematu
oraz
Panu Doktorowi Sławomirowi Szymańskiemu
za cenne uwagi dotyczące pracy
podziękowania składa

Autorka.

Spis treści.

I.	Wstęp	1
II.	Rodzaje równowag tautomerycznych	3
III.	Kryteria wyboru metody badania równowag tautomerycznych	6
IV.	Związki modelowe struktur tautomerycznych	9
V.	Metody badania równowag tautomerycznych w związkach heterocyklicznych	
V.1.	Spektrometria masowa (MS)	12
V.2.	Pomiary momentów dipolowych	16
V.3.	Metody obliczeniowe i pomiary pK_a	19
V.4.	Spektroskopia w podczerwieni (IR)	25
V.5.	Spektroskopia elektronowa (UV-VIS)	28
V.6.	Spektroskopia magnetycznego rezonansu jądrowego	33
V.6.1.	Protonowy rezonans magnetyczny 1H NMR	35
V.6.2.	Węglowy rezonans magnetyczny ^{13}C NMR	43
V.6.3.	Azotowy rezonans magnetyczny ^{15}N i ^{14}N NMR	48
V.6.4.	Zastosowanie stałych sprzężenia do wyznaczenia położenia równowag tautomerycznych	57
VI.	Przedmiot i metodyka badań	62
VII.	Wyniki własne	
VII.1.	Badanie równowag tautomerycznych w niepodstawionych azolach metodami ^{14}N i ^{15}N NMR	67
VII.2.	Badanie równowag tautomerycznych w 2-merkaptoimidazolu i 2-merkaptobenzimidazolu metodą ^{15}N NMR	82

VII.3.	Badanie równowag tautomerycznych w 3-merkapto-1,2,4-triazolu metodą ^{15}N NMR	90
VII.4.	Badania równowag tautomerycznych w 3-hydroksy-1,2,4-triazolu metodą ^{15}N NMR	101
VII.5.	Badanie równowag tautomerycznych w 5-merkaptotetrazolu metodą ^{15}N NMR	112
VII.6.	Badanie równowagi tautomerycznej 1-metylo-5-hydroksytetrazolu metodą ^{15}N NMR	122
VII.7.	Badanie równowag tautomerycznych merkaptolowych i hydroksylowych pochodnych azoli metodą ^{13}C NMR	126
VIII.	Podsumowanie i wnioski	136
IX.	Część eksperymentalna	144
X.	Spis literatury	151

I. Wstęp

Poszukiwania uniwersalnej metody badania równowag tautomerycznych związków heterocyklicznych stały się niezmiernie ważne w momencie, gdy okazało się, że związki te wchodzi w skład niezbędnych do życia substancji biorących udział w funkcjonowaniu każdego żywego organizmu. Dużą sensacją stało się odkrycie, że tautomeryczne związki azaheterocykliczne takie jak uracyl lub tymina odpowiedzialne są za prawidłowość kodu genetycznego w łańcuchu DNA. To i inne odkrycia sprawiły, że równowagi tautomeryczne związków aza-aromatycznych stanowiące do tej pory niewielki dział chemii organicznej znalazły się w centrum zainteresowania biochemików badających przemiany i funkcjonowanie żywych organizmów.

Stwierdzono ponadto, że znaczna liczba związków pierścieniowych zawierających w cząsteczce jeden lub więcej atomów azotu wchodzi w skład wielu ważnych substancji biologicznie czynnych (np. histydyna, zasady purynowe), a czynnikiem odpowiedzialnym za takie a nie inne działanie danej substancji jest położenie równowagi tautomerycznej istniejącej w danych warunkach.

Okazało się, że stosowane do tej pory w badaniach równowag tautomerycznych metody analityczne są niedoskonałe, ponieważ na ogół są w stanie dać jedynie jakościową ocenę składu mieszaniny tautomerycznej czyli w przybliżeniu określić, który tautomer znajduje się w niej w przewadze. Poszukiwania metody, która dostarczyłaby dokładnego, ilościowego opisu procesu tautomerii były ściśle powiązane z doskonaleniem technik badawczych.

Już wkrótce na plan pierwszy wysunęły się techniki pomiarowe heterojądrowego rezonansu magnetycznego, a ściślej mówiąc -

metody ^{13}C , ^{14}N a następnie ^{15}N NMR. Metody te, wciąż jeszcze udoskonalane i unowocześniane są najlepszym jak do tej pory instrumentem badawczym służącym do opisu równowag tautomerycznych, gdyż okazały się zdolne dostarczyć wiarygodnych, ilościowych rezultatów.

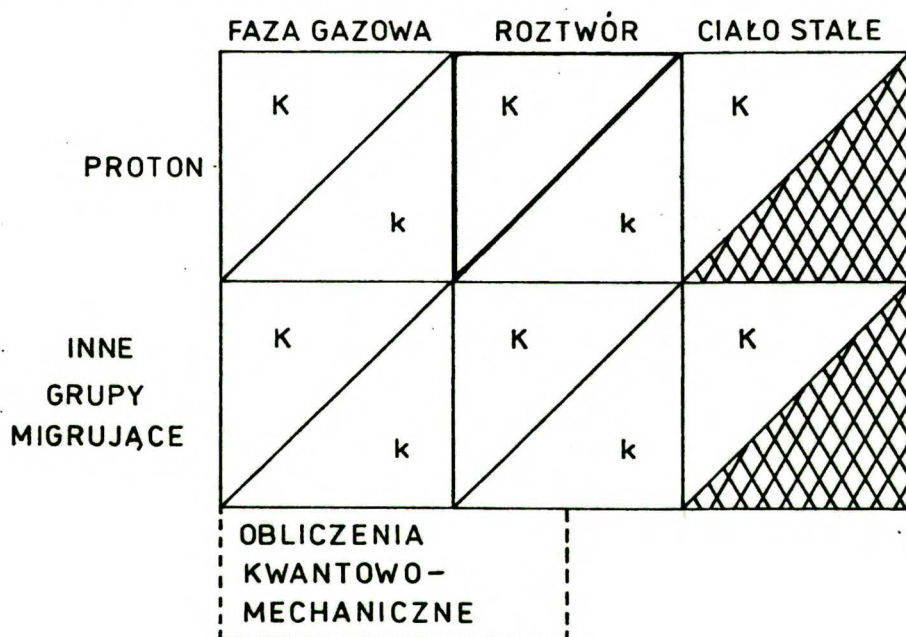
Praca ta ma na celu zaprezentowanie wyników najnowszych badań w dziedzinie metodyki ilościowej oceny składu mieszanin tautomerycznych na przykładzie niektórych pochodnych azoli. Ta grupa związków, podobnie jak i tautomeryczne układy z pierścieniem sześcioczołowym są z biochemicznego punktu widzenia najbardziej interesujące.

II. Rodzaje równowag tautomerycznych.

Z ogólnego punktu widzenia badania poświęcone tautomerii obejmują jedenaście działów, a podział ten zależy w głównej mierze od dwóch czynników :

- rodzaju grupy migrującej (proton lub inne grupy X - acyl, alkil, metale itd.)
- stanu skupienia (ciało stałe, roztwór lub faza gazowa) .

Można to zilustrować za pomocą następującego diagramu :



Podejście badawcze do problemu tautomerii obejmuje przede wszystkim:

- badanie termodynamiki procesu (wyznaczanie stałej równowagi K)
- badanie kinetyki procesu (wyznaczanie stałej szybkości izomeryzacji k) .

Około 90% wszystkich badań poświęconych tautomerii odnosi się do prototropowej stałej równowagi K w roztworze (obszar zaznaczony na diagramie linią pogrubioną) . W ostatnich latach obser

wuje się rozwój badań dotyczących innych rodzajów tautomerii takich jak metalotropia, acylotropia itp., tautomeria protonowa pozostaje jednak wciąż najbardziej popularną dziedziną badań, głównie ze względu na powszechność występowania tego procesu.

Najnowsze monografie poświęcone tautomerii w związkach organicznych¹⁻³ podają, że z tautomerią prototropową mamy do czynienia wtedy "gdy ruchliwy atom wodoru może przemieszczać się (jako proton) z jednego miejsca do drugiego w cząsteczce"¹. Definicja ta dotyczy wszystkich rodzajów cząsteczek, w których zjawisko takie może zachodzić. Jest to duży dział chemii organicznej i w prezentowanej obecnie pracy ograniczono się jedynie do tej jego części, która dotyczy prototropowej tautomerii w związkach heteroaromatycznych.

Ponieważ, jak wykazano w dalszej części pracy, może zdarzyć się, że cząsteczka w czasie wymiany tautomerycznej traci swój aromatyczny charakter, przyjęto, że omawiane będą takie związki tautomeryczne, w których co najmniej jedna z możliwych struktur izomerycznych ma charakter aromatyczny i że właśnie ta struktura traktowana jest jako główna. Dla przykładu : jeśli jednym z izomerów tautomerycznych 2-merkaptoimidazolu jest imidazolino-2-tion, zjawisko to będzie omawiane jako równowaga tautomeryczna 2-merkaptoimidazolu, ponieważ jest to struktura o charakterze aromatycznym.

W związkach heteroaromatycznych można wyróżnić następujące rodzaje tautomerii prototropowej :

- tautomeria pierścieniowa - wymiana protonu zachodzi między atomami C lub N w pierścieniu,

- tautomeria podstawnikowo-pierścieniowa - proces, w którym wymiana protonu zachodzi między atomami C lub N w pierścieniu a atomem podstawnika bezpośrednio związanego z pierścieniem,
- tautomeria podstawnikowa, w której proton jest wymieniany między atomami należącymi do podstawników związanych z pierścieniem,
- tautomeria pierścieniowo-łańcuchowa, gdzie zachodzi otwarcie pierścienia równoczesne z przeniesieniem protonu,
- inne np. tautomeria w kationach i anionach związków heteroaromatycznych.

Badania tautomerycznych struktur związków heteroaromatycznych stanowią problem niezwykle ważny z teoretycznego, praktycznego oraz biologicznego punktu widzenia.

III. Kryteria wyboru metody badania równowag tautomerycznych

Wybór metody badania równowagi tautomerycznej interesującego nas związku przesądza na ogół o charakterze informacji, które za pomocą tej metody uzyskamy. Ponadto każda z metod pomiarowych wykazuje inną wrażliwość na zjawiska, które mogą towarzyszyć procesowi wymiany tautomerycznej jak np. tworzenie wiązań wodorowych, występowanie agregatów cząsteczek, oddziaływania z rozpuszczalnikiem. Należy również brać pod uwagę możliwość wpływu warunków pomiaru na obserwowany obraz wymiany tautomerycznej.

Wydaje się, że każda z dostępnych obecnie metod przynosi jednostronny, zależny od warunków pomiaru opis badanej równowagi tautomerycznej. Pełny obraz wymiany tautomerycznej w badanym związku powinien więc uwzględniać jak największą różnorodność warunków, w których prowadzono badania.

W ostatnich latach coraz częściej dołącza się do opisu poszczególnych równowag wyniki rozważań teoretycznych uzyskane na podstawie obliczeń kwantowo-mechanicznych. Zrezygnowano natomiast z badania procesów tautomerii za pomocą metod chemicznych¹, stwierdzono bowiem w wielu przypadkach brak korelacji między reaktywnością związku tautomerycznego a składem mieszaniny tautomerycznej, w której związek ten występuje.

Z punktu widzenia stanu skupienia badanej próbki fizykochemiczne metody badania równowag tautomerycznych podzielić można w następujący sposób :

1/ Badania w ciele stałym.

Istnienie siatki krystalicznej uniemożliwia wymianę tautomeryczną. Trudności badawcze wynikają między innymi z różnorodnych oddziaływań, jakie zachodzą między cząsteczkami

tautomerów "zafiksowanych" w siatce krystalicznej (wiązania wodorowe, oddziaływania typu dipol-dipol itp.) . Na przykład badania IR w ciele stałym w wielu przypadkach nie potrafią rozróżnić tautomerów od form polimorficznych. Niemniej jednak metody IR, UV, pomiary krystalograficzne podobnie jak i rozwijająca się w ostatnich latach spektroskopia NMR ciała stałego są używane często jako metody wspomagające^{1,2}, zwłaszcza w przypadku równowag tautomerycznych, w których jeden z izomerów znajduje się wyraźnie w przewadze.

2/ Badania w fazie gazowej.

Popularną metodą badań w tym stanie skupienia jest spektroskopia masowa (MS), jednak ponieważ pomiary połączone są z jonizacją a następnie destrukcją cząsteczki, przydatność tej techniki pomiarowej do badania równowag tautomerycznych jest ograniczona. W przypadku mniej skomplikowanych cząsteczek używa się niekiedy metod spektroskopii mikrofalowej i pomiarów dyfrakcji elektronowej. Możliwe są również pomiary UV i IR w fazie gazowej, przy użyciu specjalnie przystosowanych kuwet.

2/ Badania w roztworach.

Pomiary wykonywane w roztworach stanowią najobszerniejszy dział w badaniach równowag tautomerycznych różnych typów. Podobnie jak w fazie gazowej metody te dotyczą na ogół przypadków, w których obserwowana wymiana protonów jest szybka. W zależności od długości czasu obserwacji cząsteczki w porównaniu z czasem szybkiej wymiany protonu, w danej metodzie pomiarowej można spodziewać się obrazu dynamicznie uśrednionego (NMR) lub będącego superpozycją widm posz-

czególnych tautomerów występujących w równowadze (IR i UV-VIS) . Pomiar w roztworach umożliwia badanie zachowania się równowag tautomerycznych w różnych temperaturach i w rozpuszczalnikach o różnych właściwościach. Często stosowaną metodą są pomiary momentów dipolowych cząsteczek oraz mające zastosowanie jedynie do roztworów wodnych pomiary pK_a i związane z nimi zastosowania równania Hammetta.

IV. Związki modelowe struktur tautomerycznych

Wyjściowym zadaniem w badaniu tautomerii jest określenie liczby i struktury wszystkich możliwych izomerów tautomerycznych w jakich teoretycznie dany związek może występować. W celu dokładnego oszacowania położenia równowagi tautomerycznej musimy dysponować wynikami pomiarów każdej formy desmotropowej z osobna. Z uwagi na niemożność wyizolowania tych form używa się w tym celu odpowiednich związków modelowych przybliżających z różną dokładnością właściwości czystych form tautomerycznych. Każda z omawianych w tej pracy metod badania równowag tautomerycznych (Rozdział V) wymaga stosowania związków modelowych.

Istnieje kilka metod uzyskiwania przybliżonych danych o czystych formach tautomerycznych. Można je podzielić na :

- 1/ Niebezpośrednie
- 2/ Bezpośrednie
- 3/ Metody obliczeniowe

Ad 1/ Do najczęściej stosowanych metod niebezpośrednich należy używanie odpowiednich pochodnych metylowych. Grupa metylowa podstawiona w miejsce ruchliwego atomu wodoru (np. N-H) blokuje możliwość tautomerii i w ten sposób, w zależności od miejsca podstawienia, uzyskuje się model odpowiedniej struktury tautomerycznej. Inne grupy alkilowe lub aryłowe mogą wprowadzać już zbyt duże zmiany w strukturze elektro-nowej cząsteczki, aby można je było używać do blokowania wymiany tautomerycznej.

Metoda "metylowych związków modelowych" jest powszechnie stosowana we wszystkich rodzajach pomiarów takich jak : UV,

IR, pK_a , momenty dipolowe czy NMR, przy czym albo uwzględnia się poprawki na zaburzenia spowodowane wprowadzeniem grupy metylowej w miejsce atomu wodoru, albo nie, godząc się z tym, że oszacowania będą zawierały pewien niewielki systematyczny błąd.

Dużą zaletą tej metody jest możliwość uzyskania pewności co do struktury związku modelowego, ponieważ jest to konkretny związek chemiczny, otrzymywany na drodze syntezy. Modele tego typu mają również tę przewagę nad innymi, że są na ogół łatwo dostępne.

Ad 2/ Wraz z burzliwym rozwojem stosowanych technik pomiarowych i unowocześnianiem aparatury podjęto w ostatnich latach próby obserwacji równowag tautomerycznych w bardzo niskich temperaturach. Ma to na celu osiągnięcie tzw. regionu powolnej wymiany, gdzie teoretycznie można doprowadzić do zahamowania procesu i obserwacji sygnałów czystych form tautomerycznych. Metoda ta, zwana bezpośrednią, ma jednak szereg niedogodności :

- Nigdy nie ma całkowitej pewności, że w danej temperaturze równowaga została zahamowana całkowicie i że obserwowane sygnały pochodzą od czystych form tautomerycznych.
- Aby uniknąć błędów w interpretacji widm mieszanin tautomerycznych w niskich temperaturach porównuje się je z widmami odpowiednich pochodnych metylowych. W ten sposób otrzymuje się przypisanie sygnałów "czystych" form tautomerycznych.
- Nie zawsze w niskiej temperaturze można zaobserwować widma wszystkich izomerów tautomerycznych. W miarę obniżania

temperatury maleje zawartość mniej trwałej formy tautomerycznej w mieszaninie równowagowej (patrz Rozdział V.6.1) . W przypadkach takich tautomer ten nie jest już na ogół wykrywalny w regionie powolnej wymiany.

- Obniżenie temperatury powoduje w niektórych rozpuszczalnikach znaczny wzrost lepkości. Pogarsza się wtedy czytelność widma i często interpretacja jego napotyka duże trudności.

Ad 3/ W ostatnich latach pojawiło się dużo metod obliczeniowych pozwalających ustalić strukturę poszczególnych tautomerów. Wyniki wyliczeń za pomocą półempirycznych metod (CNDO, INDO itp.) takich parametrów jak położenie pasm w metodach UV i IR, czy wartości stałych ekranowania jąder w metodach NMR porównuje się z wynikami doświadczalnymi. Metody teoretyczne polegają natomiast głównie na określeniu, który z możliwych izomerów tautomerycznych jest najtrwalszy. Stosuje się tu metody chemii kwantowej o różnym stopniu przybliżenia.

V. Metody badania równowag tautomerycznych w związkach heterocyklicznych.

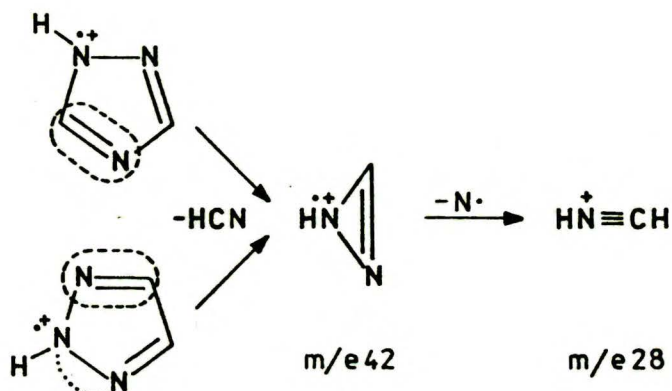
V.1. Spektrometria masowa (MS) .

Spektrometria masowa odgrywa dużą rolę w badaniach struktur związków heterocyklicznych, w tym również azoli. Z dużym powodzeniem użyto tej metody w przypadku niektórych niestabilnych 1,2,4-triazolinotionów^{4,5}, gdzie dane z widm MS wspólnie z danymi uzyskanymi metodą NMR umożliwiły pełną identyfikację badanych związków. Podjęto też próby studiów nad strukturami potencjalnie tautomerycznymi, przy oczywistym założeniu, że badania te dotyczą równowag w fazie gazowej.

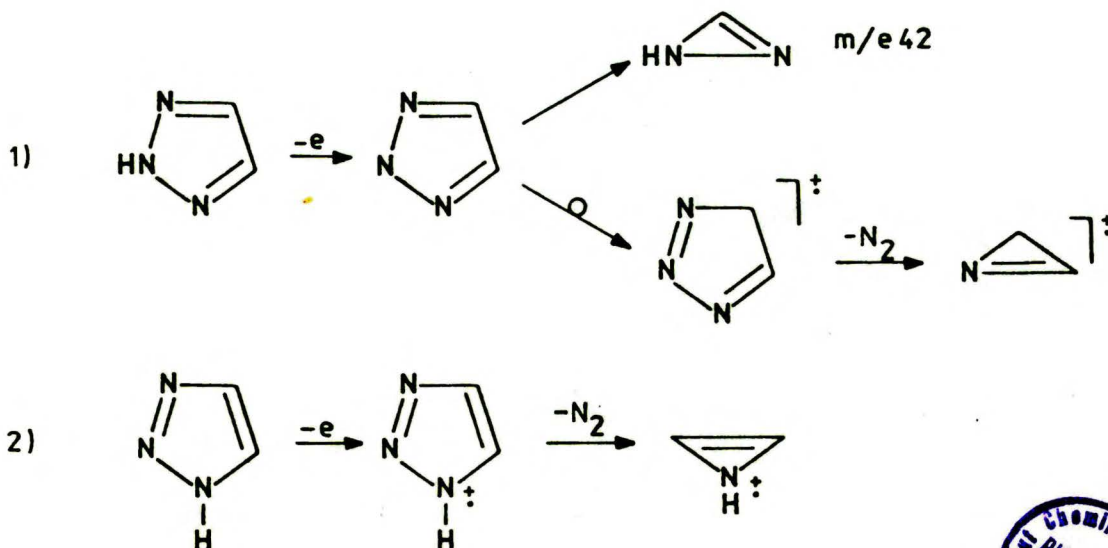
W przypadku spektrometrii masowej, zastosowanej do badania tautomerii, mamy typowy przykład zaburzeń wprowadzonych do układu przez samą metodę pomiaru. Związek znajduje się w fazie gazowej, cząsteczki jego ulegają jonizacji, a fragmentacji ulega jon molekularny (cząsteczka w stanie wzbudzonym) . Powstaje zatem problem, jak dalece zakłócenia spowodowane w cząsteczce przez jej zjonizowanie a następnie zniszczenie mogą wpływać na uzyskane rezultaty badania równowag tautomerycznych.

Metoda znaczenia cząsteczek izotopami ^2H i ^{15}N jest bardzo pomocna w ustalaniu położenia równowagi. Stosując takie podejście zaobserwowano⁶, że w fazie gazowej 1-Me-3-SH-1,2,4-triazol występuje całkowicie w formie tionowej, podobnie jak niepodstawiony 3-SH-1,2,4-triazol, z tym, że autorzy pracy nie byli w stanie określić wprost, która z możliwych form tautomerycznych podlega poszczególnym fragmentacjom.

Próby rozróżnienia struktur 1,2,3- i 1,2,4-triazolu spotkały się z dużymi trudnościami, gdyż cząsteczki obu tych związków zachowują się podobnie w warunkach pomiaru MS. Wyjaśniono to możliwością tworzenia wspólnej struktury jonowej⁷:

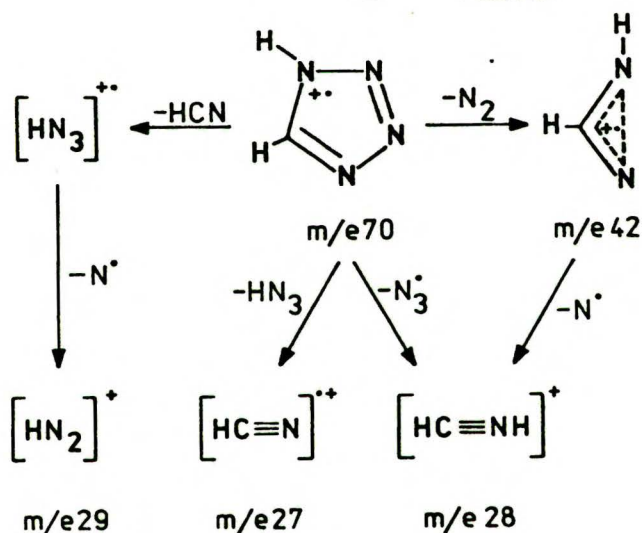


Zastosowano odpowiednie N-metylowe pochodne jako związki modelowe, aby ułatwić rozróżnienie izomerów tautomerycznych 1,2,3-triazolu. Zauważono bowiem⁸, że 1-alkilopochodne tego związku wykazują jon $[M^+ - 28]$, który nie występuje w widmach 2-alkilowych izomerów. Prowadzone równoległe badania wykazały jednak⁷, że cząsteczka niepodstawionego 1,2,3-triazolu eliminuje azot N_2 $[28]$ z obydwu 1H- i 2H- tautomerów:



Podczas gdy 1H-1,2,3-triazol traci cząsteczkę azotu w pierwszej kolejności, w formie 2H-1,2,3-triazolu przebiegają dwie współzawodniczące reakcje : $[M^+-HCN]$ i $[M^+-N_2]$. Widmo MS w fazie gazowej 1,2,3-triazolu interpretuje się jako pochodzące od mieszaniny obydwu tautomerów - żadne dokładniejsze oszacowania nie są na obecnym etapie badań możliwe.

Utrata cząsteczki N_2 jest ważną właściwością jonu molekularnego tetrazolu⁹ i jego 2-metylowej pochodnej. 1-Metylotetrazol ulega fragmentacji tracąc w pierwszej kolejności cząsteczkę HN_2 :



Na tej podstawie wysunięto hipotezę⁹, że tetrazol istnieje w fazie gazowej głównie jako forma 2H, co pozostaje w sprzeczności z wynikami otrzymanymi innymi metodami (NMR, pomiary momentów dipolowych) .

Powyższe przykłady świadczą o tym, że spektrometria masowa nie stanowi zbyt dobrej metody badania równowag tautomerycznych w związkach aza-aromatycznych. Jony wygenerowane podczas pomiarów MS mają duży nadmiar energii, co prawdopodobnie wywołuje daleko idące zaburzenia w procesie wymiany tautomerycznej. Wprowadzenie grupy metylowej powoduje zmiany we fragmentacji

jonu molekularnego danej cząsteczki i w dużym stopniu ogranicza użycie N-metylowych pochodnych jako odpowiedników poszczególnych form tautomerycznych. Wobec niedoskonałości używanych związków modelowych rozważania nad położeniem równowagi tautomerycznej oparte na bogatym w pasma widmie MS prowadzą często do zbyt pochopnych wniosków.

V.2. Pomiary momentów dipolowych.

Pomiary polaryzacji molekularnej stanowią wartościową metodę badań efektów autoasocjacji cząsteczek w roztworach. Znajdują one także zastosowanie w oszacowaniu położenia równowag tautomerycznych. Oszacowania takiego dokonuje się przez porównanie eksperymentalnych wartości średnich z wyliczonymi teoretycznie (np. metodą LCAO lub CNDO/2) dla poszczególnych form tautomerycznych.

Mauret i współpracownicy¹⁰ użyli do porównań, tam gdzie to było możliwe, również odpowiednich N-metylowych pochodnych jako modeli poszczególnych izomerów tautomerycznych. Główną przyczyną utrudniającą zastosowanie związków modelowych była ich słaba rozpuszczalność w rozpuszczalnikach używanych do pomiarów (dioksan i benzen) .

Tabela V.2/1

Wartości momentów dipolowych azoli i ich metylowych pochodnych^a (B - benzen, D - dioksan) .

Związek	Rozpuszczalnik	Wartości momentów dipolowych [D]	
		zmierzone w 25°C	wyliczone
pirol	B	1.76	1.68 ^b
N-Me-pirol	B	1.91	1.55 ^b
imidazol	B	3.91	4.04 ^b
	D	4.07	
N-Me-imidazol	B	3.77	4.01 ^b
	D	3.89	

Tabela V.2/1 - c.d.

pirazol	B	1.92	2.30 ^b
	D	2.32	
N-Me-pirazol	B	2.25	2.35 ^b
1,2,3-triazol	B	1.85	
1-Me-1,2,3-triazol	B	4.46	
2-Me-1,2,3-triazol	B	0.37	
1,2,4-triazol	D	3.14	
1-Me-1,2,4-triazol			3.07 ^c
4-Me-1,2,4-triazol			5.73 ^c
tetrazol	D	4.91	
1-Me-tetrazol			5.26 ^c
2-Me-tetrazol			2.04 ^c

a - dane eksperymentalne pochodzą z pracy [10]

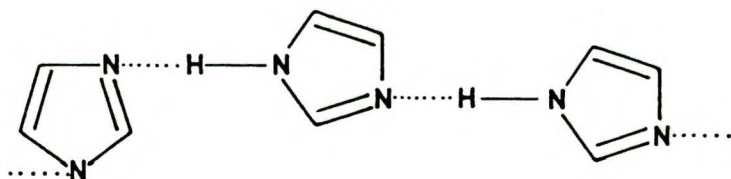
b - wyliczone metodą CNDO/2 - dane z pracy [10]

c - wyliczone metodą LCAO - dane z pracy [11]

Jak wynika z danych zamieszczonych w Tabeli V.2/1, podstawienie atomu wodoru grupą metylową (na przykładzie pirolu i N-Me-pirolu) wywiera niewielki wpływ na wartość momentu dipolowego. Opierając się na tym fakcie wielu autorów podaje dokładną, wyrażoną w procentach, zawartość poszczególnych form tautomerycznych w mieszaninie. W cytowanej wyżej pracy¹⁰ podano, że 1,2,3-triazol występuje w warunkach pomiaru głównie jako symetryczny izomer 2H (83%), podczas gdy przeważającą formą w tetrazolu jest 1H-tetrazol (85%) .

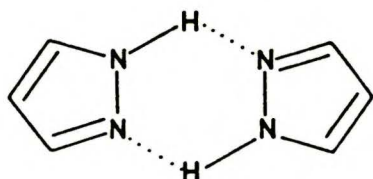
Autorzy wcześniejszych prac¹² otrzymywali bardzo wysokie wartości momentu dipolowego (6.2 D) dla imidazolu. Wynik taki posłużył do wysunięcia hipotezy, że imidazol występuje w postaci dipolarnego jonu. Sugerowano nawet, że w roztworach wodnych ma strukturę soli. Późniejsze eksperymenty¹⁰ wykazały, że te wysokie wartości były otrzymane jako konsekwencja wykonywania pomiarów w zbyt stężonych roztworach, w których znaczną rolę odgrywa asocjacja cząsteczek. Obecnie przyjmuje się wartość momentu dipolowego imidazolu ok. 4 D (patrz Tabela V.2/1). Wartość ta odzwierciedla silną polaryzację pierścienia, ale jest zbyt mała dla struktury jonowej.

Badania zależności stopnia asocjacji cząsteczek imidazolu od stężenia roztworu $\alpha = f(c)$ pozwoliły stwierdzić, że przy $c > 0.001$ tworzą się asocjaty,



które są o wiele bardziej polarne niż monomery ; funkcja w tym przedziale jest nieliniowa. Badania IR prowadzone w roztworach¹³ potwierdziły ten model asocjacji.

W odmiennej sytuacji znajdują się w roztworze cząsteczki pirazolu. Pomiarы przenikalności dielektrycznej przeprowadzone w dużym zakresie stężeń wskazały, że w miarę wzrostu stężenia¹⁰ pirazol tworzy niepolarne cykliczne dimery :



V.3. Metody obliczeniowe i pomiary pK_a .

W ostatnich latach rozważania teoretyczne nad prototropią w związkach heterocyklicznych rozwijają się głównie w następujących kierunkach :

- analiza energetyczna form tautomerycznych mająca na celu ustalenie, która z nich jest najbardziej trwała ; stosuje się przy tym różne modele środowiska.
- rozważanie najbardziej prawdopodobnych miejsc protonowania tzw. "wspólnego anionu" (common anion) przy założeniu, że wymiana protonu przebiega poprzez jonowe stadium pośrednie.
- powiązanie badań równowag tautomerycznych z odpowiednio zmodyfikowanymi równaniami analizy korelacyjnej (równania Hammetta, Tafta itp.) . Metoda ta jest szczególnie przydatna do ustalania wpływu podstawników na położenie równowagi. Niezbędna jest przy tym znajomość wartości pK_a związków modelowych, przybliżających właściwości poszczególnych tautomerów.

Podstawowym zadaniem w analizie energetycznej równowag tautomerycznych jest oszacowanie energii całkowitej cząsteczek poszczególnych izomerów. Do często stosowanych metod obliczeniowych można tu zaliczyć algorytmy CNDO/2 i PCILO.

Macquestian¹⁴ w rozważaniach nad tautomerią imidazolin-5(4)-onów przyjął założenie, że wyliczane wartości energii całkowitej ΔE są miarą oddziaływań między ładunkiem punktowym H^+ a anionem wspólnym, w którym ładunek jest zdelokalizowany. Wartość ΔE wyliczana dla każdego z tautomerów oddzielnie składa się z trzech elementów :

$$\Delta E = \Delta E_1 + \Delta E_2 + \Delta E_3 \quad \text{V.3/1}$$

gdzie :

ΔE_1 - energia oddziaływania elektrostatycznego

ΔE_2 - energia polaryzacji

ΔE_3 - energia przeniesienia ładunku

Obliczone metodą CNDO/2 wartości energii całkowitych odzwierciedlają sytuację pojedynczej cząsteczki w fazie gazowej. W celu uwzględnienia wpływu środowiska na położenie równowagi tautomerycznej oszacowano metodą Jano¹⁵ energię solwatacji dla każdego tautomeru oddzielnie :

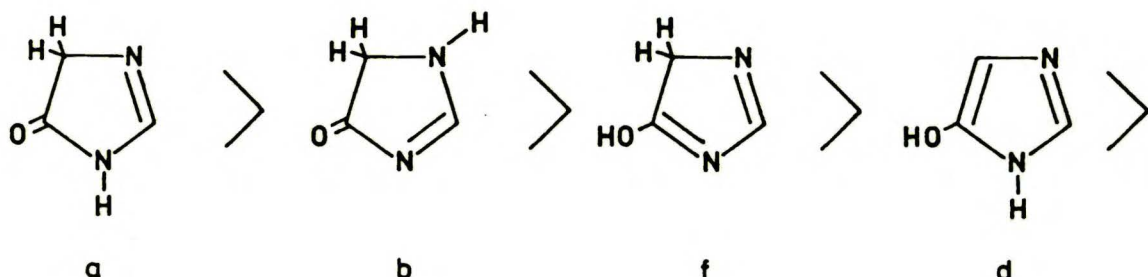
$$E_{\text{solv}} = - \left(1 - \frac{1}{D_s} \right) \left(\frac{1}{2} \sum_r Q_r^2 \gamma_{rr} + \sum_{r \neq s} \sum_s Q_r Q_s \gamma_{rs} \right) \quad \text{V.3/2}$$

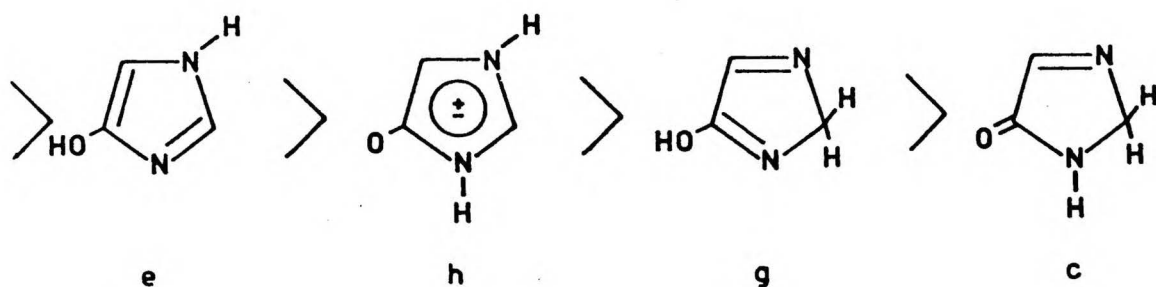
D_s - stała dielektryczna rozpuszczalnika

Q_r i Q_s - ładunki atomów r i s

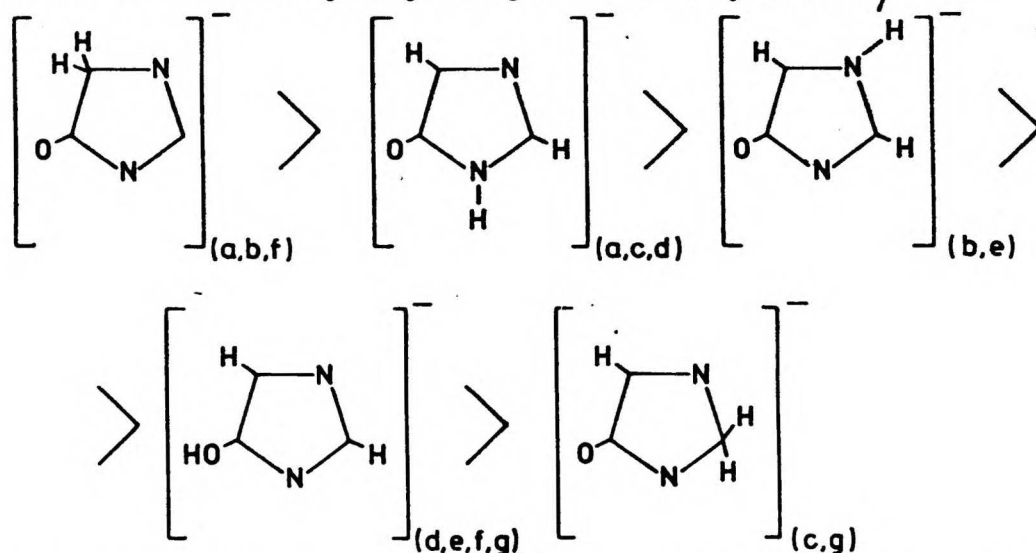
γ_{rr} i γ_{rs} - całki dwuelektronowe jedno i dwucentrowe

Przejście ze stanu gazowego do roztworu symulowane przy użyciu podejścia Jano¹⁵, nie zmieniło w znaczący sposób sytuacji energetycznej określonej na podstawie wyliczeń dla form tautomerycznych imidazolin-4(5)-onu. Poniżej zaprezentowano rezultaty analizy energetycznej równowagi tautomerycznej tego związku¹. Formy tautomeryczne imidazolin-4(5)-onu podano w kolejności malejącego prawdopodobieństwa występowania w mieszaninie równowagowej :





Powyższe wyniki potwierdziła wyliczona w analogiczny sposób¹⁴ kolejność prawdopodobieństwa występowania wspólnych anionów, która przedstawia się następująco (w nawiasach podano, którym formom tautomerycznym odpowiada dany anion) :



Stwierdzono, że w imidazolin-4(5)-onie tautomerem występującym w przewodzie jest forma "a", w której nie występuje sprzężenie między wiązaniem podwójnym w pierścieniu a egzocykliczną grupą karbonylową. Wnioski te zostały w pełni potwierdzone na drodze eksperymentalnej¹¹⁸.

W przypadku 1,3-dimetylopirazolin-5-onów¹⁶ zastosowano inny rodzaj symulacji oddziaływań cząsteczki tautomeru z różnymi rozpuszczalnikami. Stała równowagi tautomerycznej K została wyliczona w tym przypadku na podstawie następującego równania :

$$\log K = \log K_0 + yY + pP + eE + bB \quad V.3/3$$

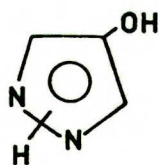
K_0 - stała równowagi tautomerycznej w fazie gazowej

Y, P, E, B - odpowiednio : polarność, polaryzowalność, kwasowość i zasadowość rozpuszczalnika

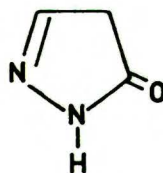
y, p, e, b - współczynniki

Na podstawie badań przeprowadzonych w 16 rozpuszczalnikach stwierdzono, że tautomerem znajdującym się w przewodzie w mieszaninie równowagowej jest forma 4,4'-H-1,3-dimetylopirazolin-5-onu.

W innych badaniach poświęconych równowagom tautomerycznym pirazolonów¹⁷ stwierdzono na podstawie wyliczeń energii całkowitej E_T , że pochodne pirazolu zawierające grupę -OH w pozycji C-4 (A) występują w roztworach głównie w formie hydroksylowej, natomiast gdy grupa -OH przyłączona jest do atomu węgla C-5 (B), równowagi tautomeryczne tego typu związków przesunięte są silnie w stronę form zawierających grupę karbonylową :



A



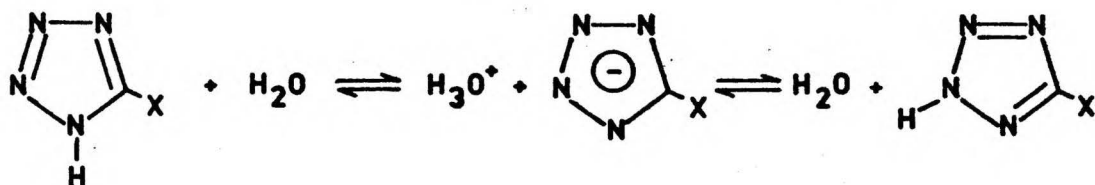
B

W związkach typu A grupa karbonylowa występująca w odpowiedniej formie tautomerycznej jest typu ketonowego, natomiast w związkach typu B - amidowego. Autorzy cytowanej wyżej pracy¹⁷ wyjaśniają odmienne zachowanie się obu pirazolonów (A i B) w warunkach równowagi tautomerycznej na podstawie wyliczeń (CNDO/2) energii enolizacji acetonu ($E = 190 \text{ kcal/mol}$)

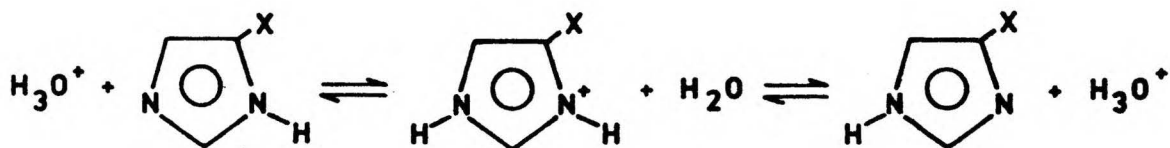
i acetamidu ($E = 320 \text{ kcal/mol}$). Wynika z nich, że grupa ketonowa łatwiej ulega enolizacji niż amidowa. Zastosowanie tego rozumowania do sytuacji grupy karbonylowej w pięcioczłonowym pierścieniu heterocyklicznym wydaje się wyjaśniać częściowo powstały problem.

Wpływ podstawników na położenie równowagi tautomerycznej oszacowano przystosowując równanie Hammetta do związków heteroaromatycznych^{18,19}. Stosując takie podejście zakłada się, że przeniesienie protonu w czasie wymiany tautomerycznej przebiega przez jonowe stadium pośrednie :

- anionowe (np. w 5-podstawionych tetrazolach¹⁹)



- kationowe (np. w 4,5-podstawionych imidazolach¹⁸)



Równanie Hammetta zmodyfikowane przez Chartona^{18,19} ma dla przypadku anionowego następującą postać :

$$\rho_x = \alpha \sigma_{I,x} + \beta \sigma_{R,x} + h, \quad \text{V.3/4}$$

a dla przypadku kationowego :

$$\rho_x = \rho \sigma_x + \rho_h \quad \text{V.3/5}$$

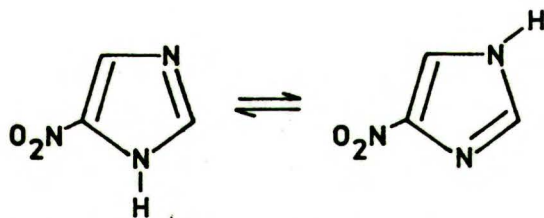
gdzie $\rho_x = \log \frac{K}{K_0}$, K - stała równowagi procesu w obecności podstawnika, K_0 - stała równowagi procesu bez obecności podstawnika, α , β , h , ρ_h - współczynniki,

σ_I , σ_m , σ_p - stałe podstawnikowe równania Hammetta,

ρ - stała reakcji procesu tautomerii.

Wyznaczone wartości pK_a odpowiednich związków modelowych stosuje się zarówno alkilo- jak i arylopo pochodne z zablokowaną możliwością wymiany tautomerycznej są korelowane ze stałymi podstawnikowymi σ_I , σ_m , σ_p oraz stałymi reakcji dla procesu tautomerii ρ . Przy zastosowaniu takiego podejścia możliwe staje się wyznaczenie, która z form tautomerycznych znajduje się w przewadze w mieszaninie równowagowej, szczególnie w przypadkach, gdy równowaga ta jest silnie przesunięta w stronę jednej z form.

W przypadkach prostych równowag tautomerycznych jak np. w 4(5)-nitroimidazolu :



stosuje się czasem bezpośrednio porównanie wartości pK_a związku tautomerycznego i jego N-metylowych pochodnych²⁰.

Jeśli równowaga jest wyraźnie przesunięta w jedną stronę, metoda ta pozwala oszacować, który z tautomerów przeważa w mieszaninie. Ponieważ metoda ta ogranicza się jedynie do roztworów wodnych, znalazła głównie zastosowanie w badaniach cząsteczek o dużym znaczeniu biologicznym np. histydyny²¹.

V.4. Spektroskopia w podczerwieni (IR).

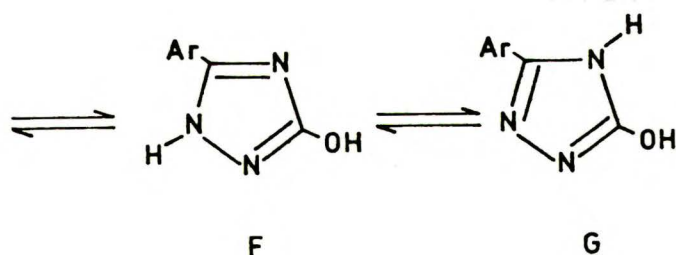
Dane z widm w podczerwieni, zebrane dla serii niepodstawio-nych azoli²², dostarczają informacji na temat tautomerii tzw. pierścieniowej występującej w tych związkach. Pasma absorpcyj-
ne przydatne do badania równowag tautomerycznych występują
głównie w trzech zakresach liczb falowych :

- drgania pierścieniowo-szkieletowe 1650 - 1300 cm^{-1}
- drgania deformacyjne pierścienia i grup C-H w płaszczyźnie pierścienia 1300 - 1000 cm^{-1}
- drgania deformacyjne "out of plane" grup C-H i w płaszczyź-
nie pierścienia 1000 - 700 cm^{-1} .

Jeśli badane azole nie mają podstawnika na atomie azotu, drgania grupy N-H występują w przedziale 3600 - 2200 cm^{-1} , przy czym na ogół pasmo to jest bardzo poszerzone na skutek asocjacji cząsteczek. Wiele podstawowych częstości związanych z drganiami wiązania C-H wyznaczano na podstawie pomiarów widm związków znaczonych deuterem, bądź porównując z widmami mety-
lowych pochodnych azoli.

Badania te prowadzono zarówno w ciele stałym (pastylki KBr) ciekłym (film, roztwory) jak i gazowym. Stwierdzono występo-
wanie bardzo silnego wiązania wodorowego między cząsteczkami azoli z wolną grupą N-H.

Wyznaczanie położenia równowagi tautomerycznej w tych związ-
kach napotyka duże trudności, gdyż na ogół obserwujemy super-
pozycję widm wszystkich możliwych form tautomerycznych występu-
jących w równowadze. Porównywanie widma mieszaniny tautomerycz-
nej z widmami N-metylowych pochodnych służących jako związki
modelowe, w niektórych przypadkach pozwala na określenie,



Późniejsze badania wykazały^{23,35}, że był to zupełnie inny związek - 2-amino-5-fenyl-1,3,4-oksadiazol. Problem równowagi tautomerycznej w 3-fenyl-5-hydroksy-1,2,4-triazolu wzbudził wiele kontrowersji. Autorzy biorący udział w dyskusji^{25,33,34,36,37} proponowali wszystkie możliwe struktury K - G. Ich wnioski opierały się głównie na obserwacji widm IR w różnych warunkach. Kubota i Uda²⁸, którzy po raz pierwszy użyli w tych badaniach odpowiednich N-metylowych pochodnych jako związków modelowych, stwierdzili wyraźną przewagę struktur z grupą karbonylową (K i H). Sugerowali przy tym, na podstawie obserwacji położenia pasma $\nu(C=O)$ w związku tautomerycznym i w modelowych, że jest to prawdopodobnie forma H. Badania te były wykonane w ciele stałym (tabletki KBr).

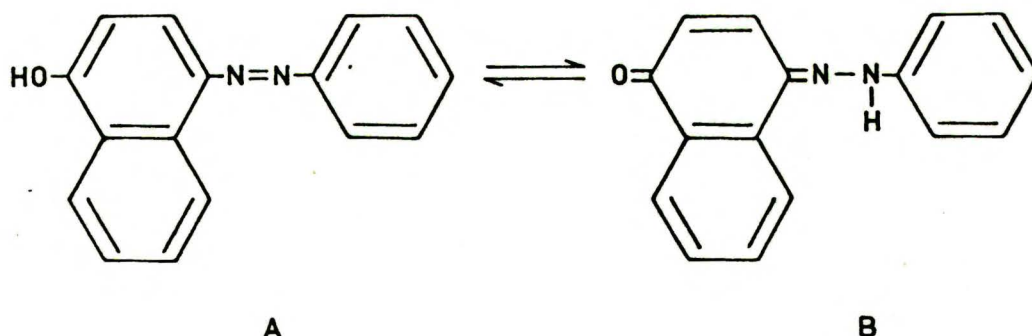
Drgania cząsteczki, których nie obserwujemy w podczerwieni, są na ogół aktywne w spektroskopii ramanowskiej. Zjawisko to wykorzystano do badań tautomerii 2-amino-3-oksazolin-4-onów³⁸. Dużym udogodnieniem jest możliwość otrzymywania widm Ramana w wodzie, gdyż rozpuszczalnik ten daje bardzo słabe rozproszenie ramanowskie. Technika ta ma duże zastosowanie w badaniach protonowania pierścienia heterocyklicznego w wodnych roztworach kwasów, co ma olbrzymie znaczenie w badaniach biologicznych przemian w żywych organizmach.

V.5. Spektroskopia elektronowa (UV-VIS).

Dużą zaletą spektroskopii UV-VIS w porównaniu z innymi fizykochemicznymi metodami badania równowag tautomerycznych jest względnie niewielka ilość substancji potrzebna do wykonania pomiaru. Metoda UV-VIS wymaga stosowania stężeń o kilka rzędów wielkości niższych niż np. metody magnetycznego rezonansu jądrowego izotopów o niewielkiej naturalnej zawartości takich jak ^{13}C lub ^{15}N . Zmniejsza to znacznie problemy spowodowane niedostateczną rozpuszczalnością badanych substancji w niektórych rozpuszczalnikach.

Metoda UV-VIS znalazła szerokie zastosowanie w badaniach równowag tautomerycznych³⁹. Na podstawie współczynników ekstynkcji wyznaczonych dla poszczególnych tautomerów możliwe jest w wielu przypadkach oszacowanie składu mieszaniny tautomerycznej. Warunkiem uzyskania wiarygodnych ilościowych wyników jest dostateczna różnica w obrazie widm UV-VIS poszczególnych izomerów tautomerycznych. Jako związków modelowych, przybliżających właściwości obecnych w mieszaninie tautomerów używa się, podobnie jak w wielu innych metodach, odpowiednich metylowych pochodnych badanych związków.

Widmo UV-VIS związku, w którym zachodzi wymiana tautomeryczna jest superpozycją widm poszczególnych struktur izomerycznych znajdujących się w równowadze. Zjawisko to wykorzystano stosując metodę punktów izobestycznych, za pomocą której można z dość dużą dokładnością oszacować skład wielu mieszanin tautomerycznych. Metodę tę zastosowano na przykład w przypadku równowagi tautomerycznej 1-fenylazo-4-hydroksynaftalenu⁴⁰ :



Spełniając konieczny dla pojawienia się punktów izobestycznych warunków izomolowości

$$c_{A_m} + c_{B_m} = \text{const. oraz } d_o = \text{const.,}$$

gdzie c_{A_m} i c_{B_m} są stężeniami związków modelowych odpowiadających tautomerom A i B, a d_o oznacza grubość stosowanej kuwety, zmierzono widma UV mieszanin tych związków modelowych dla równych stężeń względnych, aż do uzyskania możliwie największego podobieństwa z widmem związku tautomerycznego. Skład procentowy odpowiadający sytuacji największego podobieństwa odpowiada w przybliżeniu składowi mieszaniny tautomerycznej.

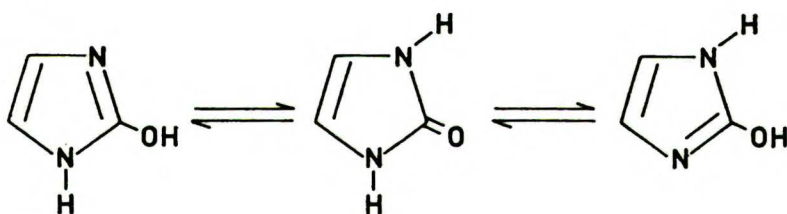
Metoda punktów izobestycznych pozwala również na oszacowanie wpływu elektronodonorowych i elektronoakceptorowych substancji na zmianę położenia równowagi tautomerycznej, zbadanie charakteru wewnątrz- lub między-cząsteczkowych wiązań wodorowych, kompleksowania typu metal - ligand i wielu innych zjawisk zachodzących w roztworach związków tautomerycznych^{40,41}.

Azole i ich proste alkilowe pochodne wykazują niską absorpcję w obszarze bliskiego nadfioletu, co związane jest z wyraźnie aromatycznym charakterem tych związków. Wprowadzenie kolejnych atomów azotu do pierścienia azolowego ma niewielki wpływ na

zmianę położenia i intensywności pasm absorpcyjnych⁴⁵.

Aza-analogi pirolu wykazują $\lambda_{\max} \sim 217$ nm lub niżej ($\log \epsilon$ ok. 3.5). W widmie UV 1,2,4-triazolu obserwujemy jedynie długofalową część pasma $\lambda_{\max} \sim 207$ nm. Charakterystyczny jest również brak pasm odpowiadających przejściom typu $n \rightarrow \pi^*$ przy dłuższych falach. W C- i N-arylowych pochodnych azoli pojawia się nowe intensywne pasmo w obszarze 250 - 300 nm, spowodowane pojawieniem się sprzężenia między układem aromatycznym i pierścieniem azolowym.

Przydatność metody UV-VIS w badaniach strukturalnych wzrasta znacznie, gdy w wyniku wymiany tautomerycznej pojawia się w cząsteczce azolu możliwość powstania egzocyklicznego wiązania podwójnego np :



Auksochromowe grupy typu $>C=O$ lub $>C=S$ powodują zmiany w widmie tak charakterystyczne, że nieraz można określić wprost, która z form znajduje się w przewadze w równowadze tautomerycznej. W Tabeli V.5/1 podano kilka przykładów widm UV pochodnych azoli, które występują głównie w formach tautomerycznych zawierających grupy karbonylowe lub tionowe.

Tabela V.5/1

Parametry spektralne widm elektronowych niektórych pochodnych azoli

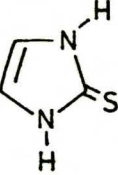
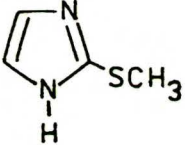
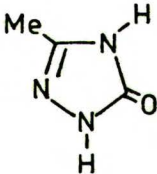
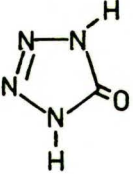
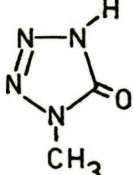
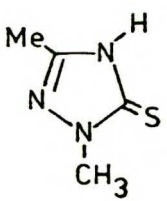
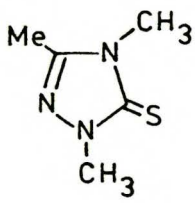
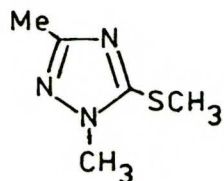
Związek	Odnośnik lit.	λ_{\max} [nm]	$\log \xi$	Rozpuszczalnik
1 	43	263	14.7	EtOH
2 	43	250	3.4	EtOH
3 	25	jedynie końcowa absorpcja		EtOH
4 	24	213	3.2	0.01N HCl w MeOH
		226	3.3	0.01N NaOH w MeOH
5 	24	218	3.2	0.01N HCl w MeOH
		228	3.8	0.01N NaOH w MeOH

Tabela V.5/1 - c.d.

<u>6</u>		44	253	15.6	EtOH
<u>7</u>		44	253	15.1	EtOH
<u>8</u>		44	211	7.7	EtOH

Zastosowanie N-metylowych pochodnych jako związków modelowych, sprowadza się najczęściej do porównywania widm tych pochodnych z widmem mieszaniny tautomerycznej. W przypadku, gdy między położeniami i intensywnością pasm charakterystycznych związków modelowych zachodzą istotne różnice, a równowaga jest mocno przesunięta w jedną stronę, możliwe jest jakościowe oszacowanie położenia równowagi tautomerycznej⁴². W Tabeli V.5/1 sytuacja taka występuje dla związku tautomerycznego 6 i jego metylowych pochodnych 7 i 8. Porównanie parametrów spektralnych UV tych związków wskazuje, że związek 6 występuje praktycznie całkowicie jako jedna forma tautomeryczna - 4,5-dimetylo-1,2,4-triazolino-3-tion⁴⁴.

V.6. Spektroskopia magnetycznego rezonansu jądrowego.

Na skali czasu magnetycznego rezonansu jądrowego procesy wymiany protonu w stanie równowagi tautomerycznej są na ogół szybkie. Widma NMR związków tautomerycznych są więc najczęściej widmami uśrednionymi dynamicznie. W widmach tych wartości takich parametrów NMR jak przesunięcia chemiczne czy stałe sprzężenia są średnimi ważonymi przez populacje poszczególnych struktur tautomerycznych. Można to przedstawić za pomocą wzoru :

$$p_{\text{śr}} = c_1 p_1 + c_2 p_2 + \dots + c_n p_n \quad \text{V.6/1}$$

gdzie $p_{\text{śr}}$ jest wartością przesunięcia chemicznego lub stałej sprzężenia dla mieszaniny tautomerycznej, $p_1, p_2 \dots p_n$ - wartościami odpowiednich parametrów spektralnych dla poszczególnych tautomerów będących w równowadze, a $c_1, c_2 \dots c_n$ - ułamekami molowymi tych tautomerów w mieszaninie równowagowej.

W wartościach $p_{\text{śr}}$ wyznaczonych dla poszczególnych mieszanin równowagowych zawiera się potencjalna informacja o położeniu równowag tautomerycznych dostępna jednak tylko wtedy, gdy znane są wartości $p_1, p_2 \dots p_n$.

Wartości stałych sprzężenia lub przesunięć chemicznych dla poszczególnych form tautomerycznych można uzyskać jedynie przy całkowitym zahamowaniu wymiany protonu. Stosowana w tym celu metoda pomiarów NMR w niskich temperaturach (patrz Rozdział IV) ma tę zaletę, że oprócz żądanych parametrów spektralnych niezbędnych do interpretacji widm uśrednionych, skład mieszaniny tautomerycznej może być wyliczony bezpośrednio z całkowania sygnałów rezonansowych w danym widmie. Ograniczeniem tej metody jest jednakże fakt, że "zamrożenie" szybkiej wymiany protonu jest na ogół bardzo trudno osiągalne.

W przypadku niepowodzenia prób bezpośredniej obserwacji widm form tautomerycznych stosuje się o wiele tańszą metodę blokowania możliwości wymiany protonu przez zastąpienie go grupą metylową. Otrzymane z widm pochodnych metylowych związków tautomerycznych parametry spektralne podstawia się do wzoru V.6/1, co po odpowiednich przekształceniach umożliwia uzyskanie wartości ułamków molowych tautomerów w mieszaninie.

V.6.1. Protonowy rezonans magnetyczny ($^1\text{H NMR}$).

Pierwsze widma $^1\text{H NMR}$ niektórych azoli i ich pochodnych opublikowano w 1960 roku. W 1967 roku Barlin i Batterham⁴⁷ zebrali wyniki pomiarów rezonansu protonowego serii azoli. Oprócz widm w różnych rozpuszczalnikach podano w tej pracy również wyniki badań cząsteczek protonowanych w CF_3COOH i anionów w 2N NaOD . Nie podjęto próby wyciągnięcia wniosków na temat równowag tautomerycznych występujących w azolach. Nie zaobserwowano również sygnałów rezonansowych pochodzących od protonów ulegających wymianie między atomami azotu w cząsteczce. Jak wykazano później⁴⁸, uśredniony sygnał ruchliwych atomów wodoru jest w rezonansie protonowym bardzo silnie zależny od warunków pomiaru. Obecność w stosowanych do pomiarów rozpuszczalnikach śladowych ilości wody lub kwasu powoduje, że położenie sygnału rezonansowego protonów grupy N-H jest często przypadkowe, a sam sygnał bywa silnie poszerzony. Stwierdzono również silną zależność położenia i szerokości połówkowe sygnału protonów N-H od stężenia badanej próbki. W rozpuszczalnikach aprotycznych (np. benzen, chloroform lub aceton) w miarę wzrostu stężenia próbki, sygnał ten przesuwa się w stronę niższych pól o relatywnie dużą wartość ($> 10 \text{ ppm}$) w porównaniu z wielkością obserwowaną dla wiązania wodorowego; wzrasta też poszerzenie sygnału.

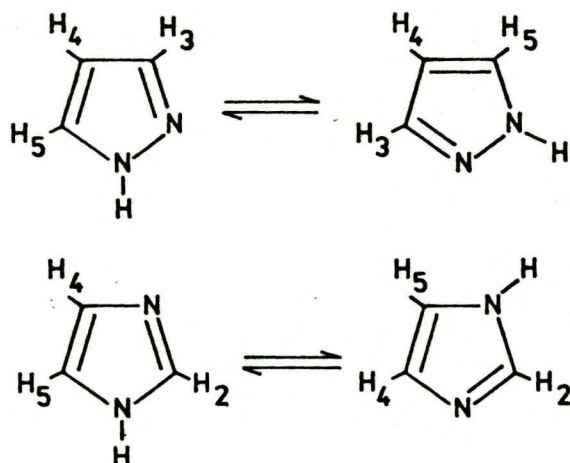
Trudności z zaobserwowaniem i interpretacją zmian w zachowaniu protonów biorących bezpośredni udział w wymianie spowodowały, że zwrócono uwagę na zmiany przesunięć chemicznych spowodowanych tautomerią w innych atomach wodoru w cząsteczce.

Gdy rozważania nie dotyczą protonu tautomerycznego, można posłużyć się związkami modelowymi (odpowiednie N-metylowe pochodne) w celu przybliżenia własności struktur tautomerycznych. Różnica przesunięć chemicznych odpowiadających sobie protonów w poszczególnych izomerach tautomerycznych jest zwykle tego samego rzędu, co efekt spowodowany podstawieniem grupą metylową. Użycie związków modelowych w metodzie ^1H NMR pozwala na uzyskanie co najwyżej jakościowych, przybliżonych oszacowań położenia równowagi tautomerycznej.

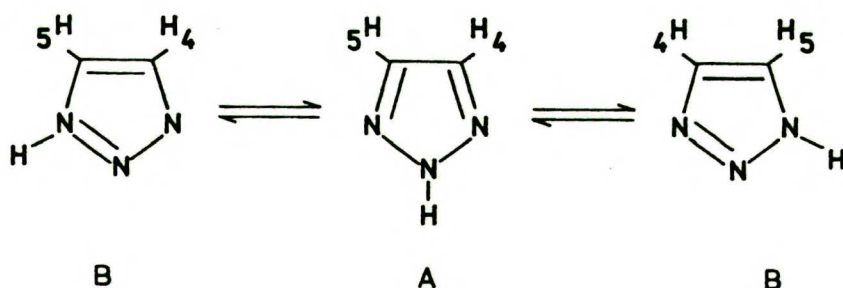
W rezonansie protonowym wielkość $\Delta\delta$ jest na ogół dużo mniejsza o stałej szybkości wymiany k . Z tego powodu widma ^1H NMR w temperaturze pokojowej zawierają zazwyczaj uśrednione sygnały rezonansowe. Zmniejszenie szybkości wymiany tautomerycznej można uzyskać przez obniżenie temperatury. W przypadku tautomerycznych związków azaheterocyklicznych niejednokrotnie podejmowano próby zaobserwowania w ten sposób sygnałów poszczególnych form tautomerycznych.

Roumestant i współpracownicy⁴⁹ badali serię azoli w acetonie. Obniżając temperaturę do -90°C uzyskali częściowe rozdzielanie się sygnałów rezonansowych ^1H NMR. Obok sygnałów pochodzących od poszczególnych izomerów tautomerycznych pozostawał sygnał uśredniony, aczkolwiek na skutek zmiany położenia równowagi był on przesunięty w stronę niższego pola. W temperaturze -90°C nie uzyskano więc całkowitego zatrzymania procesu wymiany. Zmiany, które obserwowano w widmach ^1H NMR umożliwiły przeprowadzenie szeregu interesujących obserwacji. Przypisania poszczególnych sygnałów rezonansowych odpowiednim formom tautomerycznym dokonano, porównując je z widmami odpo-

wiednich związków modelowych tzn. podstawionych na atomie azotu grupą metylową.

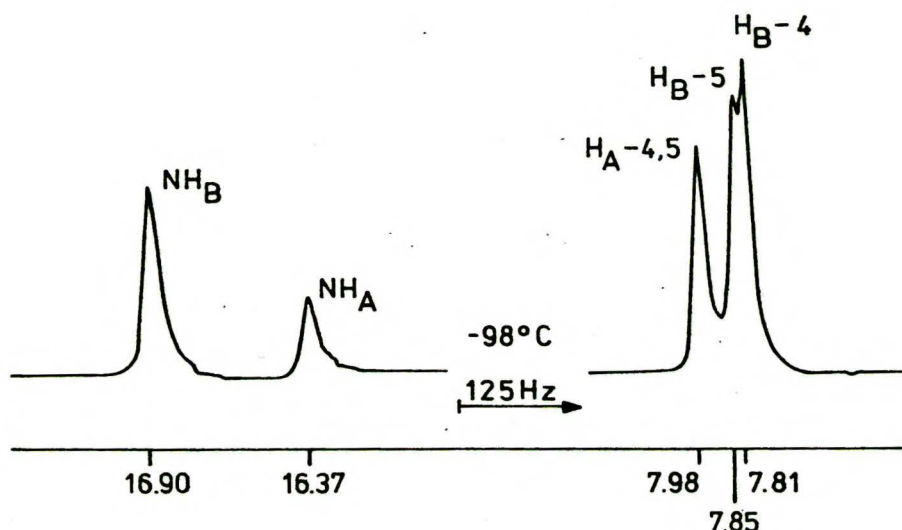


Szybka wymiana protonu powoduje, że w temperaturze pokojowej pozycje H-3 i H-5 w pirazolu oraz H-4 i H-5 w imidazolu są równocenne chemicznie i magnetycznie. W warunkach tych widma protonowe obydwu tych związków są typu AX_2 i dopiero w miarę zahamowania procesu wymiany przechodzą w widma typu AMX.



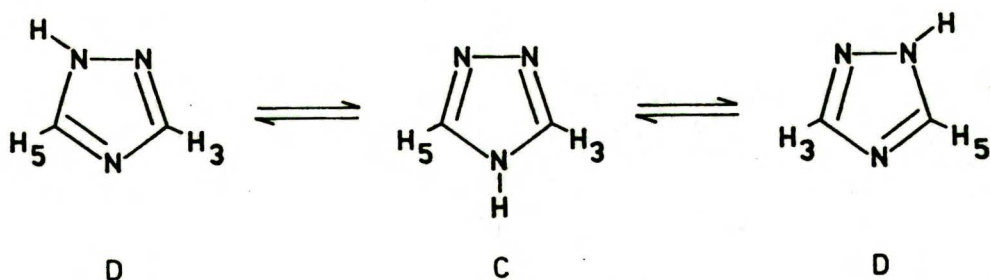
Oszacowano, że w temperaturze pokojowej, w 1,2,3-triazolu występuje znaczna przewaga struktury symetrycznej A. Postulowano również, że przewaga ta ma charakter entropowy a nie energetyczny i że w miarę obniżania temperatury będzie malała. Istotnie, zawartość tautomeru A w temperaturze -90°C spada do 50%.

Najnowsze badania równowagi 1,2,3-triazolu⁵⁰ potwierdziły, że symetryczna forma tautomeryczna A w temperaturze pokojowej występuje w przewodzie. Widma ¹H NMR wykonano w deuterowanym chloroformie. W temperaturze -98°C w widmie protonowym zaobserwowano sygnały pochodzące od obu możliwych form tautomerycznych



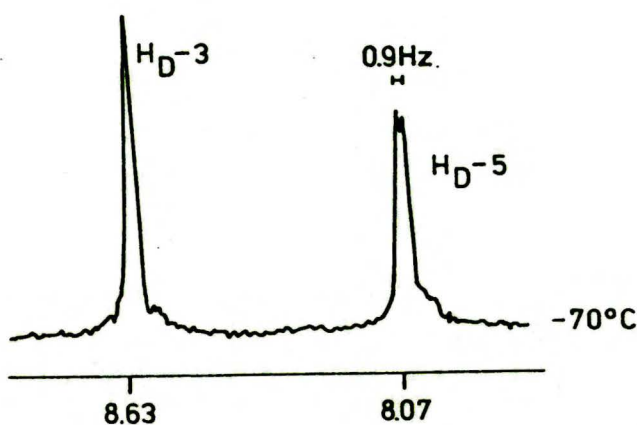
Obliczenia zawartości poszczególnych form tautomerycznych w 1,2,3-triazolu dokonano na podstawie pomiarów intensywności sygnałów pochodzących od ruchliwych protonów NH_A i NH_B. Ze względu na możliwość zaburzeń kształtu linii obu tych sygnałów pod wpływem różnych czynników (stężenie, obecność śladowych zanieczyszczeń itp.) nie jest możliwe dokładne wyliczenie lecz jedynie przybliżone oszacowanie stosunku zawartości obu form w mieszaninie tautomerycznej. Oszacowania te potwierdzają opisane powyżej obserwacje Roumestant'a⁴⁹, że im niższa jest temperatura, tym mniejsza zawartość w mieszaninie symetrycznej struktury 2H-1,2,3-triazolu.

Odmienne zachowuje się w roztworze cząsteczka 1,2,4-triazolu:



Przeprowadzono szereg badań równowagi tautomerycznej tego związku w różnych rozpuszczalnikach^{48,49,50}. Wszystkie te próby, bazujące na metodzie ^1H NMR doprowadziły do wniosku, że 1,2,4-triazol istnieje w roztworze wyłącznie w formie niesymetrycznej D lub, że zawartość formy symetrycznej C jest mniejsza niż 3%.

W temperaturze -70°C , w deuterowanym chloroformie zaobserwowano stałą sprzężenia protonu H-5 z protonem NH $^3J_{\text{H}-\text{H}} = 0.9\text{ Hz}$, co świadczy o silnym spowolnieniu wymiany protonu w tych warunkach⁵⁰.

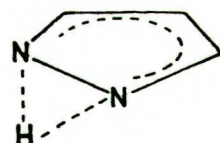
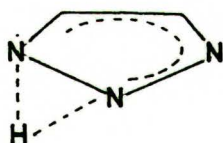
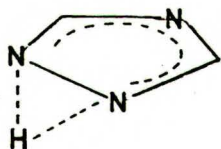


Rozszczepieniu uległ sygnał protonu H-5 przypisany strukturze niesymetrycznej 1H-1,2,4-triazolu. Nie zaobserwowano sygnałów rezonansowych świadczących o obecności w roztworze izo-

meru symetrycznego.

Wysunięto hipotezę, że w triazolach preferowany jest mechanizm przeniesienia protonu typu "1 - 2". Stwierdzono, że stała szybkości przeniesienia protonu typu "1 - 2" w tych związkach jest niezależna od stężenia badanej próbki. Wskazuje to na wewnątrzcząsteczkowy mechanizm przeniesienia.

Badania równowag tautomerycznych w różnych temperaturach i różnych stężeniach umożliwiły oszacowanie parametrów aktywacji procesu⁵⁰. Wykazano, że wartości entalpii aktywacji ΔH^\ddagger w obydwu triazolach i w pirazolu są zbliżone. Sugeruje to podobne bariery energetyczne dla przeniesienia protonu typu "1 - 2" w tych cząsteczkach. Wysokie ujemne wartości entropii aktywacji odzwierciedlają małe prawdopodobieństwo osiągnięcia stanu przejściowego, dla którego autorzy proponują następujące struktury :



Wnioski te pozostają w sprzeczności z wynikami wcześniejszych prac^{51,52}, gdzie sugerowano, że w wymianie protonu uczestniczą dimery lub trimery pirazolu lub oligomery imidazolu. W rozpuszczalnikach zawierających grupę ketonową, do mechanizmu przeniesienia protonu włączać się miały cząsteczki rozpuszczalnika⁵².

Rozumowanie takie oparto na fakcie, że cząsteczki azoli (w tym przypadku diazoli) tworzą łatwo międzycząsteczkowe wiązania wodorowe. Obserwowano⁵¹ uśredniony sygnał rezonanso-

wy ^1H NMR protonów z grup $-\text{NH}$ w diazolah w czterochlorku węgla, w różnych temperaturach :

Tabela V.6.1/1

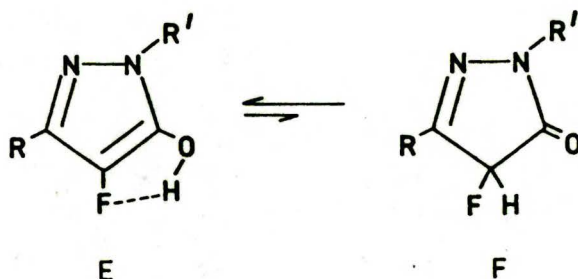
Zmiany w położeniu uśrednionego sygnału rezonansowego grup $-\text{NH}$ zachodzące pod wpływem temperatury.

Temperatura $^{\circ}\text{C}$	Przesunięcie chemiczne [ppm]	δ_{NH} ^1H NMR
	Imidazol	Pirazol
+ 50	8.6	11.7
0	9.2	12.2
- 30	9.5	12.8
- 90	10.5	14.1

W miarę obniżania temperatury sygnał ten przesunął się w stronę niższych wartości pola magnetycznego. Odsłanianie protonów grupy NH wyjaśniano tworzeniem się wiązań wodorowych. Przypisanie wymianie protonu w tych związkach mechanizmu międzycząsteczkowego opierało się jednakże bardziej na domysłach niż na konkretnych dowodach. Argumenty wysunięte w pracy Lunaziego⁵⁰, oparte na wyliczonych parametrach termodynamicznych procesu wymiany, wydają się być bardziej wiarygodne. Problem mechanizmu przeniesienia protonu w równowagach tautomerycznych azoli budzi nadal wiele kontrowersji.

Metoda ^1H NMR okazała się natomiast bardzo przydatna do badania wewnątrzcząsteczkowych wiązań wodorowych, które są na tyle silne, że stabilizują jedną z form tautomerycznych. Na przykład w 3-alkilo (lub arylo) -4-fluoro-5-hydroksypirazolu

wiązanie wodorowe F----H—O stabilizuje formę hydroksylową powodując, że przeważa ona całkowicie w mieszaninie tautomerycznej.



Widmo ^1H NMR wykazuje szeroki sygnał rezonansowy pochodzący od protonu OH ($\delta \approx 10$ ppm). W widmie IR nie obserwowano pasm absorpcyjnych pochodzących od grupy karbonylowej.

V.6.2. Węglowy rezonans magnetyczny ^{13}C NMR

Podobnie jak rezonans protonowy, metoda ^{13}C NMR znalazła szerokie zastosowanie w badaniach tautomerii⁵⁴. Odsprężone od oddziaływań z protonami widma ^{13}C NMR zawierają na ogół wąskie sygnały, stąd ich duża przydatność do badania równowag tautomerycznych o znaczeniu biologicznym, gdzie mamy do czynienia z wieloma nierównocennymi magnetycznie atomami węgla. Tego typu badania wykonano np. dla związków takich jak benzimidazol^{57,58}, histydyna^{55,56} oraz pochodne purynowe⁵⁹ i wiele innych.

Próby ilościowego ujęcia równowag tautomerycznych w serii niepodstawionych azoli były podjęte przez Elguero i współpracowników⁵⁴ w roku 1974. Użyto odpowiednich pochodnych metylo- wych jako związków modelowych (z zablokowaną możliwością tautomerii) . Oszacowano wpływ efektów podstawienia grupą metylo- wą na przesunięcia chemiczne ^{13}C :

$$\Delta_i = \delta_i (\text{NH}) - \delta_i (\text{NCH}_3) \quad \text{V.6.2/1}$$

W przypadku pirolu efekt ten wynosi :

$$\text{dla atomu węgla w położeniu } \alpha \quad \Delta_{i\alpha} = -3.7 \text{ ppm}$$

$$\text{dla atomu węgla w położeniu } \beta \quad \Delta_{i\beta} = -0.4 \text{ ppm}$$

Metoda oparta na równaniu V.6/1 z wykorzystaniem parametrów spektralnych odpowiednich N-metylowych związków modelowych okazała się w wielu przypadkach zawodna. Różnice przesunięć chemicznych w poszczególnych tautomerach są niejednokrotnie tego samego rzędu, co efekt podstawienia grupą metylo- wą, podobnie jak w przypadku widm ^1H NMR. Uniemożliwia to ilościowe

oszacowanie zawartości poszczególnych izomerów. Efekt ten powoduje, że czasami sygnał związku będącego w równowadze znajduje się poza przedziałem wyznaczonym przez odpowiednie związki modelowe. W takim przypadku możliwe jest jedynie oszacowanie, który z możliwych tautomerów znajduje się w przewadze w mieszaninie tautomerycznej.

Prawidłowości, którym podlega wartość przesunięcia chemicznego ^{13}C przy wprowadzaniu do pierścienia kolejnych atomów azotu dały się ująć w równanie V.6.2/2. Weigert i Roberts⁶¹ próbowali za pomocą tego równania przewidzieć wartości przesunięć chemicznych atomów węgla w azolach. Jako związek odniesienia dla związków z tej grupy zaproponowali anion cyklopentadienyłowy.

$$\delta_{\text{C}} = N_{\alpha} C_{\alpha} + N_{\beta} C_{\beta} + N_{\alpha\beta} C_{\alpha\beta} + N_{\beta\beta} C_{\beta\beta}$$

V.6.2/2

δ_{C} - różnica przesunięć chemicznych pomiędzy danym atomem węgla dowolnego "azolu" i anionu cyklopentadienyłowego (104.5ppm względem TMS).

N_i - liczba atomów węgla w cząsteczce, znajdujących się w tej samej "sytuacji elektronicznej" co badany atom.

C_i - inkrement przesunięcia chemicznego związany z danym fragmentem strukturalnym.

Za pomocą równania V.6.2/2 można przewidzieć z niewielkimi odchyleniami, przesunięcia chemiczne atomów węgla w niektórych prostych związkach. Np. dla 1,2,3-triazolu wartości doświadczalne są następujące: $C_{\alpha} = -15.6$, $C_{\beta} = -3.1$, $C_{\alpha\beta} = -10.1$ oraz $C_{\beta\beta} = +5.1$ ppm. Stosując równanie V.6.2/2 dla przypadku 1,2,3-triazolu otrzymujemy wartość teoretyczną 131.3 ppm, w bar-

dzo dobrej zgodności z wartością obserwowaną eksperymentalnie (131.6 ppm).

Podejście takie zawiera w sobie pewien systematyczny błąd, nie rozróżnia bowiem oddziaływań pirolowego i pirydynowego atomu azotu ani nie uwzględnia położenia równowagi tautomerycznej. Dla podstawowych azoli, z wyjątkiem tetrazolu, osiągnane korelacje wartości obliczonych z obserwowanymi są dobre.

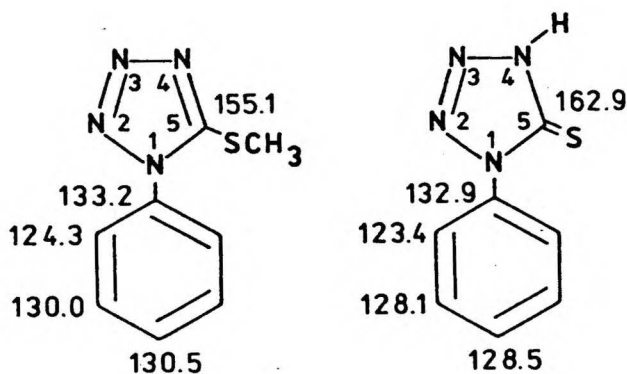
Osobnym zagadnieniem w metodzie ^{13}C NMR są badania równowag tautomerycznych w różnych temperaturach. Litchman⁶³ obserwował równowagę tautomeryczną pirazolu w roztworze DMSO w zakresie temperatur od +10 do +82°C.



Sygnale rezonansowe ^{13}C NMR atomów węgla C-3 i C-5 pozostawały nierównocenne do temperatury +64°C, powyżej której obserwowano jeden, szeroki sygnał o szerokości połówkowej 279.6 Hz (koalescencja). Wymiana protonu w tych warunkach jest powolna w skali czasu magnetycznego rezonansu jądrowego. Obserwacja rozdzielonych sygnałów poszczególnych tautomerów jest możliwa w temperaturze pokojowej, a nawet w wyższej. Jest to sytuacja rzadko spotykana w przypadku równowag tautomerycznych związków z grupy azoli. Zazwyczaj wymiana protonu w związkach tego typu jest tak szybka, że uzyskanie oddzielnych sygnałów rezonansowych poszczególnych form tautomerycznych wymaga stosowania bardzo niskich temperatur.

Metoda ^{13}C NMR okazała się przydatna do badania równowag tautomerycznych hydroksylowych i tiolowych pochodnych związków heterocyklicznych, w szczególności takich, gdzie istnieje możliwość wymiany typu hydroksy-onowej lub tiol-tionowej.

W związkach tego typu największym zmianom przy przejściu z jednego izomeru tautomerycznego do drugiego ulega położenie sygnału rezonansowego tego atomu węgla, przy którym znajduje się grupa hydroksylowa lub tiolowa.



Z porównania widm ^{13}C NMR 1-arylo-5-merkaptotetrazolu i jego SCH_3 -pochodnej wynika, że największym zmianom podlega położenie sygnału rezonansowego atomu węgla C-5^{67,68} $\Delta\delta_{ij} = 7.8$ ppm. Wartość 162.9 ppm jest charakterystyczna dla struktury tionowej i ona też w tym przypadku przeważa w roztworze. Analogiczne wyniki osiągnięto dla 1-arylo-5-hydroksytetrazolu⁶⁷. Przesunięcia chemiczne atomów węgla w pierścieniu benzenowym w tych związkach ulegają nieznacznym zmianom przy przejściu z jednej formy tautomerycznej do drugiej i nie są przydatne do oszacowania położenia równowagi tautomerycznej.

Wprowadzenie nowoczesnej techniki CP-MAS (Cross Polarization - Magic Angle Spinning) pozwoliło na obserwację widm

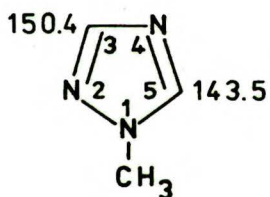
^{13}C NMR azoli w ciele stałym. Są to pomiary trudne, gdyż efekty kwadrupolowe jąder ^{14}N zaburzają sygnały rezonansowe atomów węgla.

Z serii azoli niepodstawionych wykluczyć z tych badań należy 1,2,3-triazol, który w pokojowej temperaturze jest cieczą.

Widmo zarówno pirazolu jak imidazolu⁶⁹ zawiera trzy dobrze rozdzielone sygnały. Świadczy to o braku wymiany protonu w tym stanie skupienia.

Fauré i współpracownicy⁷⁰ porównywali widma CP-MAS ^{13}C NMR 1,2,4-triazolu i tetrazolu z wynikami pomiarów w roztworze DMSO- d_6 ich odpowiednich metylowych pochodnych (związków modelowych z zablokowaną możliwością tautomerii).

W DMSO:

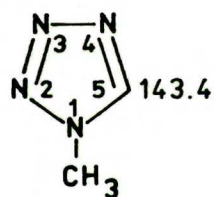


1,2,4-triazol
w ciele stałym

C-3 - 148.0 ppm

C-5 - 143.9 ppm

W DMSO:



tetrazol
w ciele stałym

C-5 - 144.0 ppm

Badania te doprowadziły do wniosku, że 1,2,4-triazol i tetrazol istnieją w ciele stałym wyłącznie jako formy 1H-tautomerów. Wyniki te potwierdziły wcześniejsze dane pochodzące z pomiarów rentgenostrukturalnych¹.

V.6.3. Azotowy rezonans magnetyczny (^{14}N i ^{15}N NMR).

Magnetyczny rezonans jądrowy azotu jest ważną metodą badawczą umożliwiającą ustalanie struktur cząsteczek zawierających ten pierwiastek, zwłaszcza związków aza-aromatycznych. Metoda ta poza klasycznymi możliwościami jej zastosowań w bezpośredniej, niedestruktywnej obserwacji cząsteczek, identyfikacji grup funkcyjnych i stwierdzania zmian w budowie umożliwia śledzenie równowag izomerycznych i tautomerycznych występujących w tej obszernej klasie związków organicznych.

Z dwóch trwałych izotopów azotu, ^{14}N i ^{15}N , izotop ^{14}N znajduje się w przyrodzie w ogromnej przewadze (skład naturalny wynosi 99.635% ^{14}N i 0.365% ^{15}N). Mimo poważnych trudności eksperymentalnych jakie napotykała spektroskopia NMR jąder obydwu izotopów azotu, pierwsze systematyczne badania związków organicznych wykorzystujące tę metodę pojawiły się ok. 1960 roku. Datujący się od tego czasu postęp w tej dziedzinie udokumentowany jest w wydanych do tej pory monografiach⁷¹⁻⁷⁸.

Do wspomnianych wyżej trudności eksperymentalnych należą przede wszystkim niewielkie wartości momentów magnetycznych jąder obydwu izotopów azotu (powoduje to niską czułość detekcji sygnałów rezonansowych), poszerzenie kwadrupolowe sygnałów jąder ^{14}N , niewielka zawartość naturalna izotopu ^{15}N i zbyt długie czasy relaksacji tego jądra.

Dzięki różnorodności informacji, które możemy uzyskać z pomiarów ^{14}N jak i ^{15}N NMR, dane eksperymentalne otrzymane za pomocą obu metod uzupełniają się wzajemnie. Jest to ułatwione przez fakt, że wartości przesunięć chemicznych uzyskiwane dla obu jąder są praktycznie biorąc identyczne. Stwierdzono^{71,79}, że

efekt izotopowy (różnica między stałymi ekranowania izotopów ^{14}N i ^{15}N) jest rzędu 0.1 - 0.2 ppm, a więc zawiera się w granicach błędu eksperymentalnego.

Jądro izotopu ^{14}N ma liczbę spinową równą 1 i niezerowy moment kwadrupolowy. Sygnały rezonansowe ^{14}N NMR ulegają poszerzeniu kwadrupolowemu, a wartości ich szerokości połówkowych dla różnych atomów azotu wahają się od kilku do kilku tysięcy Hz. Zastosowanie techniki nasycenia różnicowego wraz z pełną analizą kształtu linii sygnałów rezonansowych⁸⁰ umożliwiło nie tylko pomiar położenia tych sygnałów z dokładnością do 0.1 ppm ale również uzyskanie cennych informacji z wartości ich szerokości połówkowych (dokładne pomiary czasów relaksacji kwadrupolowej jąder ^{14}N) . Najbardziej korzystną metodą pomiarów w przypadku ^{14}N NMR wydaje się tzw. metoda fali ciągłej (CW - Continuous Wave) , przy czym dla polepszenia stosunku sygnału do szumów stosuje się technikę wielokrotnego sumowania widm^{81,82}.

Wprowadzenie metod impulsowych z transformacją Fouriera (PFT - Pulsed Fourier Transform) pozwoliło na zmniejszenie trudności eksperymentalnych związanych z niską naturalną zawartością izotopu ^{15}N . Jądra tego izotopu mają długie czasy relaksacji, co stwarza konieczność stosowania długich odstępów czasowych pomiędzy kolejnymi impulsami i tym samym wydłuża czas pomiaru. W wielu przypadkach dla skrócenia czasów relaksacji stosuje się dodawanie specjalnych odczynników np. acetyloacetonianu chromu - Cr (acac)₃⁸³.

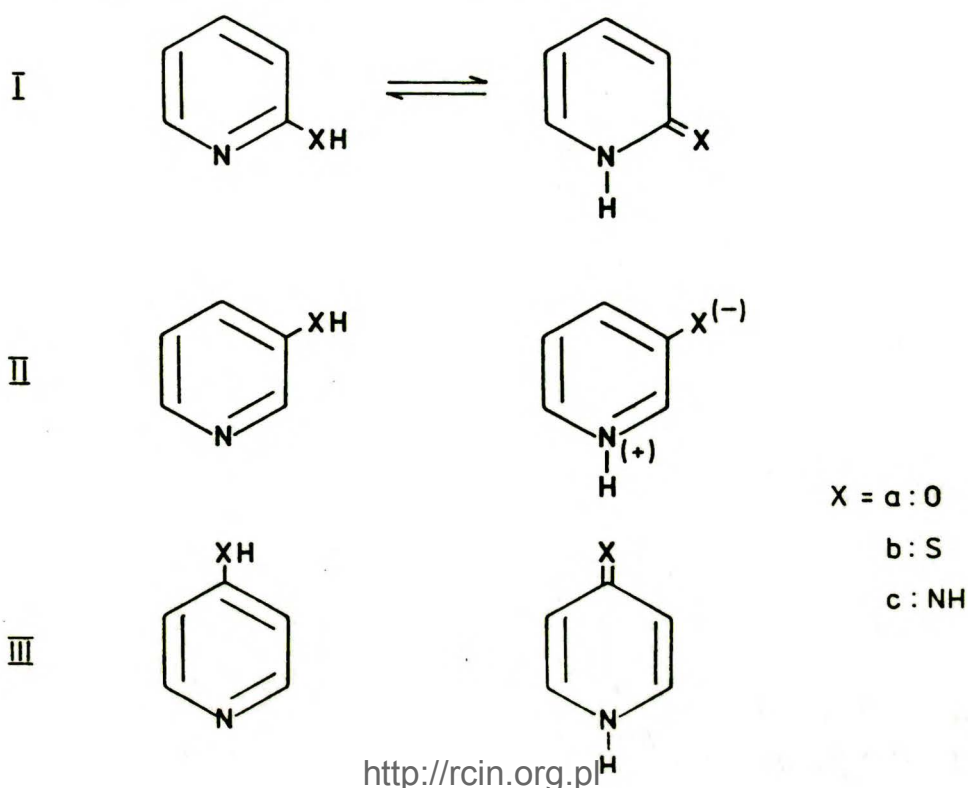
Odsprężone od oddziaływań z protonami sygnały rezonansowe jądra ^{15}N są wąskie (ok. 0.1 Hz) . Różnica znaków współczyn-

ników żyromagnetycznych protonów i jąder ^{15}N powoduje, że w pewnych niekorzystnych przypadkach działanie efektu Overhausera doprowadza do obniżenia intensywności, a nawet zaniknięcia sygnału ^{15}N NMR obserwowanego przy jednoczesnym odsprzęgnięciu protonów.

Dużą zaletą metody ^{15}N NMR jest możliwość obserwacji oddziaływań spinowo-spinowych w widmach nieodsprzężonych. Przydatność tego zjawiska w badaniach tautomerii omówiono w rozdziale V.6.4 poświęconym stałym sprzężeniom.

Obie metody pomiarowe - ^{14}N i ^{15}N NMR, stanowią wartościowe, nawzajem uzupełniające się narzędzia badawcze ze względu na różne informacje, które wnoszą, a które zebrane w całość stanowią pełny obraz "sytuacji elektronicznej" badanych atomów azotu.

Ilościowa metoda oznaczania składu mieszanin tautomerycznych dotyczy wszystkich układów, w których zmiany struktury elektronicznej spowodowane tautomerią obejmują atom azotu. Metodę tę, która ma charakter ogólny, sprawdzono na wielu przykładach tautomerii pirydynowo-pirydonowej⁸⁵⁻⁸⁷.



Różnice przesunięć chemicznych odpowiednich atomów azotu w poszczególnych formach tautomerycznych są na ogół duże i często przekraczają 100 ppm. Ma to zasadnicze znaczenie dla uzyskania odpowiednio dokładnych wyników w tej metodzie, która opiera się na precyzyjnym wyznaczeniu wartości przesunięć chemicznych dla uśrednionego sygnału w mieszaninie tautomerycznej i dla każdej z możliwych form tautomerycznych wchodzących w równowagę. Ponieważ uzyskanie takich form w stanie czystym w roztworze jest na ogół niemożliwe, stosuje się odpowiednie pochodne metylowe, które przybliżają właściwości poszczególnych struktur izomerycznych.

Zgodnie z podanym uprzednio równaniem V.6/1 wartość przesunięcia chemicznego mieszaniny tautomerycznej jest średnią ważoną z odpowiednich wartości przesunięć chemicznych wszystkich form desmotropowych. Przykładowe wyniki uzyskane tą drogą dla omawianej wyżej grupy związków zebrane są w Tabeli V.6.3/1.

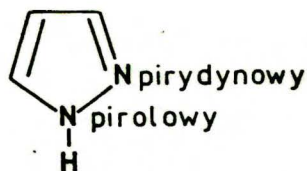
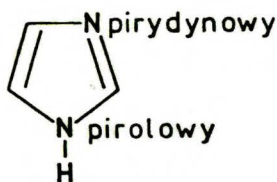
Tabela V.6.3/1

Zawartość tautomeru -XH w równowagach tautomerycznych pirydynowo-pirydonowych^{85,87} (wyrażona w ułamkach molowych) :

Związek	a	b	c
I	0.08	0.05	0.90
II	0.96	>0.90	>0.97
III	0.17	0.05	0.92

Próby zastosowania pomiarów ^{13}C i ^1H NMR do badania równowag tautomerycznych tego typu dały wyniki wyłącznie jakościowe ze względu na małą różnicę przesunięć chemicznych dla obu składników równowagi^{85,87}.

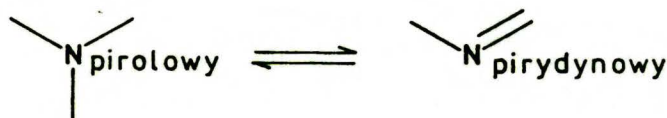
W pierścieniu azolowym odróżnia się pirolowe i pirydynowe atomy azotu (te ostatnie dzielą się na pirazolowe i imidazolowe) 88.



- pirolowe atomy azotu - leżą w jednej płaszczyźnie (lub prawie w płaszczyźnie) z trzema sąsiednimi atomami i oddają 2 elektrony do układu π ,
- pirydynowe atomy azotu - sąsiadują z dwoma innymi atomami z pierścienia, oddają jeden elektron do układu π i mają wolną parę elektronów.

W widmie azotowego rezonansu magnetycznego odróżnienie sygnałów obu rodzajów atomu azotu nie napotyka trudności. Sygnały rezonansowe atomów azotu typu pirolowego charakteryzują się stosunkowo małymi szerokościami połówkowymi oraz położone są przy znacznie silniejszych polach (kilkadziesiąt do stu ppm w odniesieniu do sygnałów pirydynowych atomów azotu) .

Tautomeria w pierścieniu azolowym związana jest ze zmianą struktury elektronowej atomów azotu :



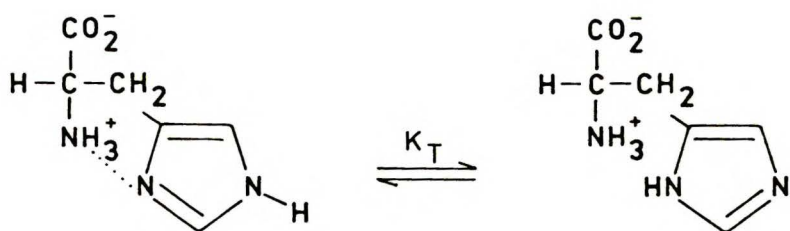
Różnica przesunięć chemicznych azotu w poszczególnych izomerach sięga czasem nawet 150 ppm, dzięki czemu możliwe jest uzyskanie wysokiej dokładności w ustaleniu składu mieszaniny tau-

tomerycznej. Błąd spowodowany zastosowaniem odpowiednich N-metylowych pochodnych jako związków modelowych jest wtedy niewielki i mieści się w granicach 5%.

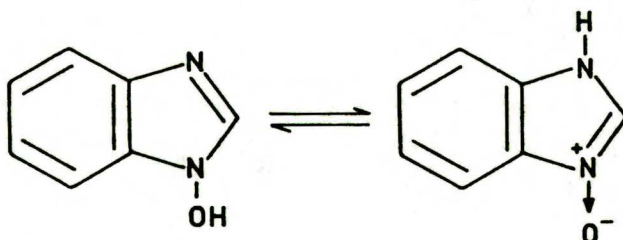
Różnice przesunięć chemicznych poszczególnych tautomerów otrzymane metodami ^1H i ^{13}C NMR są niejednokrotnie tego samego rzędu, co zaburzenia spowodowane wprowadzeniem grupy metylowej^{47,54}. Z tego powodu obie te metody służyć mogą jedynie do jakościowych oszacowań położenia równowagi tautomerycznej.

Widma rezonansu azotowego obydwu diazoli tzn. pirazolu i imidazolu są jednosygnalowe, o wartościach przesunięć chemicznych zgodnych ze średnią ważoną dla pirolowego i pirydynowego atomu azotu⁸⁸.

Zmiany w pierścieniu imidazolowym zachodzące w środowiskach o różnej kwasowości były przedmiotem dokładnych badań prowadzonych metodą ^{15}N NMR⁸⁹. Otrzymane wyniki zastosowano do badania układu histydyny^{90,91}, której równowagi tautomeryczne w warunkach żywego ustroju leżą w kręgu zainteresowań zarówno chemików jak i biochemików.



W. Schilf badał równowagi tautomeryczne związków z grupy benzoazoli w różnych rozpuszczalnikach. Stwierdził on silną zależność położenia równowagi tautomerycznej w N-hydroksylowych pochodnych benzoazoli od kwasowości rozpuszczalnika^{92,93}.

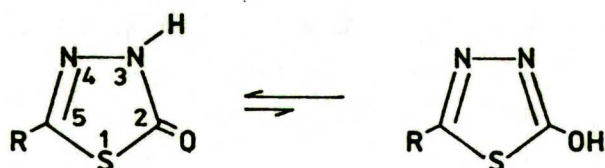


DMSO:	61 ± 3%	39 ± 3%
MeOH:	52 ± 3%	48 ± 3%
TFE:	16 ± 3%	84 ± 3%

W miarę malejących wartości pK_a rozpuszczalników, w których badano równowagi tautomeryczne 1-hydroksybenzimidazolu, zaobserwowano wzrost zawartości w mieszaninie równowagowej formy N-tlenkowej. W przypadku 1-hydroksybenzotriazolu⁹³ zmiany spowodowane stosowaniem rozpuszczalników o różnej kwasowości były jeszcze większe, wahały się bowiem od 6 ± 3% w DMSO do 97 ± 3% zawartości formy N-tlenkowej w trifluoroetanolu.

Wykazano natomiast, że stosowanie rozpuszczalników o różnych właściwościach nie wpływa w znaczący sposób na położenie równowag tautomerycznych w niepodstawionych benzoazolach⁹⁴, co tłumaczono mniejszą podatnością tej grupy związków na tworzenie wiązań wodorowych z rozpuszczalnikiem.

Metoda azotowego rezonansu magnetycznego okazuje się również bardzo przydatna w przypadku badania równowag tautomerycznych, w których wymiana protonu zachodzi między atomem azotu w pierścieniu a egzocyklicznym podstawnikiem, przy czym często powstaje wiązanie podwójne :

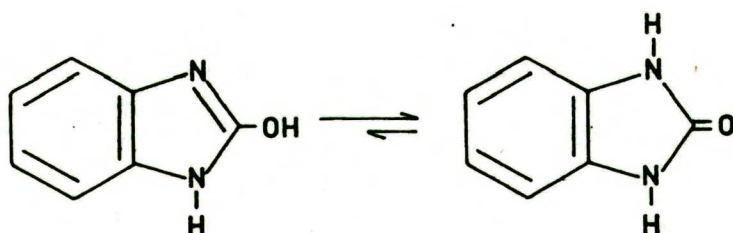


DMSO: ca. 100%

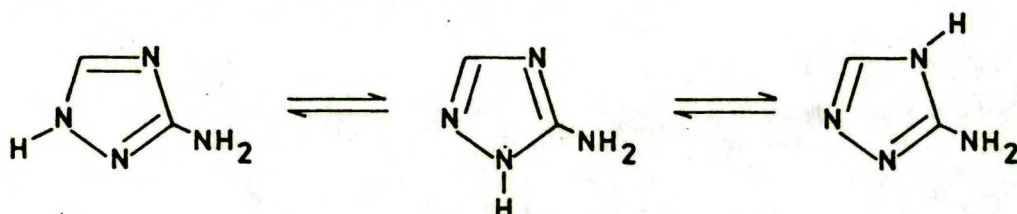
Równowagi tautomeryczne 5-podstawionych pochodnych 1,3,4-tiadiazol-2-onu badano stosując jako związki modelowe odpowiednie N- i O-metylowe pochodne⁹⁵. Parametrem służącym do obliczeń było tu przeunięcie chemiczne ¹⁵N NMR atomu azotu N-3, ponieważ tylko ten atom skutkiem przeniesienia protonu przechodzi z formy pirolowej w pirydynową.

Badania metodą ¹⁵N NMR przeprowadzone dla 3-hydroksyindazolu⁹⁶ pozwoliły wyeliminować z rozważań nietrwałą formę chinoidową i wykazały silną zależność położenia równowagi tautomerycznej od kwasowości rozpuszczalnika.

W przypadku benzimidazolonu zaobserwowano przewagę izomeru zawierającego egzocykliczną grupę karbonylową⁹⁷ :



Odmienne zachowuje się cząsteczka 3-amino-1,2,4-triazolu⁶⁵, w której nie stwierdzono występowania spodziewanej tautomerii typu amino-iminowego. Skład mieszaniny tautomerycznej tego związku przedstawia się następująco :



H₂O: 35%

65%

0%

Wartościowymi parametrami diagnostycznymi okazały się w tym przypadku przesunięcia chemiczne atomów azotu N-1 i N-2 i na nich oparto dokładne wyliczenia składu mieszaniny równowagowej. Wartość przesunięcia chemicznego atomu azotu N-4 w tautomerycznym 3-amino-1,2,4-triazolu nie wskazywała, aby w mieszaninie równowagowej tego związku znajdowała się jakakolwiek znacząca ilość tautomeru, w którym atom N-4 byłby typu pirolowego. Przyjęto więc, że forma 4H-3-amino-1,2,4-triazolu nie wchodzi w skład badanej mieszaniny tautomerycznej.

Omawiane związki aza-aromatyczne wchodzi w skład wielu produktów naturalnych, barwników, leków i substancji biologicznie czynnych.

W związkach tego typu występuje na ogół duża różnorodność sposobów związania atomów azotu, złożonych równowag tautomerycznych, izomerycznych itp. W wielu przypadkach stosowane do tej pory metody badawcze takie jak IR, UV-VIS, ^1H i ^{13}C NMR okazują się zbyt mało dokładne, a przez to nieskuteczne. Dzięki stosowaniu coraz nowocześniejszych technik pomiarowych, magnetyczny rezonans azotowy rokuje duże możliwości ustalania struktury i śledzenia przemian w cząsteczkach będących w kręgu zainteresowań zarówno chemików, jak i biochemików.

V.6.4. Zastosowanie stałych sprzężenia do wyznaczania położenia równowag tautomerycznych.

W przypadkach tautomerii, w której główną rolę odgrywa wewnętrzny mechanizm wymiany protonu, obserwacja niektórych oddziaływań spinowo-spinowych pozwala oszacować skład mieszaniny równowagowej. Zgodnie ze wzorem V.6/1 wartość stałej sprzężenia obserwowana dla danego atomu w widmie mieszaniny tautomerycznej jest średnią ze stałych w poszczególnych strukturach tautomerycznych ważoną przez populacje tych struktur. Warunkiem przydatności stałych sprzężenia do wyznaczania położenia równowagi tautomerycznej jest dostateczne zróżnicowanie wartości tych stałych pomiędzy poszczególnymi tautomerami.

Osobnym rozdziałem w tego typu badaniach są obserwacje oddziaływań spinowo-spinowych w cząsteczkach protonowanych w wodnych roztworach kwasów. W warunkach tych pojawiają się niejednokrotnie stałe sprzężenia dalekiego zasięgu. Fakt ten wykorzystano do bardzo ważnych z biologicznego punktu widzenia badań nad miejscami protonowania związków heterocyklicznych takich jak histydyna^{56,91} lub puryny⁹⁸.

W spektroskopii ^{13}C NMR dane z pomiaru stałych sprzężenia okazały się mieć większą wartość diagnostyczną w oszacowaniu położenia równowag tautomerycznych niż przesunięcia chemiczne. Przydatność tych ostatnich okazała się ograniczona ze względu na zbyt duży błąd spowodowany użyciem metylowych pochodnych jako związków modelowych⁵⁴. N-metylowanie wywiera natomiast nieznaczny wpływ na wartość stałej sprzężenia $^{13}\text{C} - ^1\text{H}$.

Fakt ten wykorzystał M. Begtrup^{62,99} obliczając zawartości mieszanin tautomerycznych w niepodstawionych azolach na podsta-

wie odpowiednio przekształconego równania V.6/1, gdzie jako parametry posłużyły wartości stałych sprzężenia $^1J_{13C-1H}$ w związkach tautomerycznych oraz ich odpowiednich metylowych pochodnych jako związkach modelowych. Wyniki pomiarów stałych sprzężenia podano w Tabeli V.6.4/1.

Tabela V.6.4/1

Wartości stałych sprzężenia $^1J_{13C-1H}$ w azolach i ich metylowych pochodnych. Pomiary wykonano w $CDCl_3$. Dane z prac [62] i [99]

Związek	Atom węgla	$^1J_{13C-1H}$ [Hz]
Pirazol	C-3, C-5	185.5
N-Me-pirazol	C-3	184.4
	C-5	186.6
Imidazol	C-4, C-5	188.8
N-Me-imidazol	C-4	188.1
	C-5	189.5
1,2,3-triazol	C-4, C-5	194.3
1-Me-1,2,3-triazol	C-4	194.3
	C-5	196.6
2-Me-1,2,3-triazol	C-4, C-5	192.5
Tetrazol	C-5	217.5
1-Me-tetrazol	C-5	218.1
2-Me-tetrazol	C-5	213.5

W przypadku imidazolu i pirazolu stała sprzężenia obserwowana w uśrednionym widmie mieszaniny tautomerycznej może być z dobrym przybliżeniem przedstawiona jako średnia ważona z wartości obserwowanych w odpowiednich związkach modelowych.

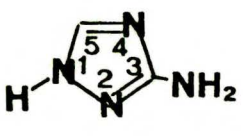
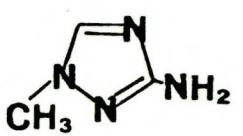
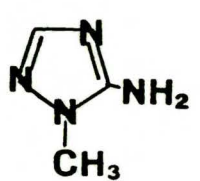
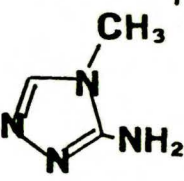
W 1,2,3-triazolu wartość $^1J_{13C-1H}$ dla atomu C-4 ($\equiv C-5$) wynosi 194.3 Hz i leży w przedziale wyznaczonym przez oba związki modelowe. Na podstawie wzoru V.6/1 oszacowano, że 1,2,3-triazol istnieje w $CDCl_3$ jako mieszanina tautomerów 2H : 1H w stosunku około 2 : 3. Późniejsze, bardziej dokładne badania za pomocą metody ^{15}N NMR (patrz Rozdział VII.1.) ustaliły, że w mieszaninach tautomerycznych 1,2,3-triazolu istnieje jednak niewielka przewaga (55 - 67%) symetrycznej formy 2H-1,2,3-triazolu.

Porównanie uśrednionej stałej sprzężenia $^1J_{13C-1H}$ obserwowanej dla atomu węgla C-5 w tetrazolu i odpowiednich stałych w jego metylowych pochodnych wskazuje przewagę 1H-tautomeru.

W metodzie ^{15}N NMR najbardziej przydatne do badań tautomerii są sprzężenia przez dwa wiązania atomów azotu z olefinowymi atomami wodoru w pierścieniu ($^2J_{15N-1H}$). Na obserwacji stałych tego typu opiera się metoda rozróżniania sygnałów rezonansowych atomów azotu typu pirolowego i pirydynowego¹⁰⁰. Dla atomów azotu typu pirydynowego stała $^2J_{15N-1H}$ leży w przedziale 9 - 11 Hz. Wartość jej może ulec zwiększeniu (10 - 14 Hz), jeśli wiązanie C-H znajduje się w położeniu cis w stosunku do wolnej pary elektronowej rozważanego atomu azotu.

Wartości stałych sprzężenia $^2J_{15N-1H}$ z atomami azotu typu pirolowego są mniejsze (5 - 8 Hz).

Typowy przykład takich prawidłowości w odniesieniu do wartości stałych sprzężenia ${}^2J_{15N-1H}$ można znaleźć w pracy Fritza⁶⁵, który badał tautomerię w 3-amino-1,2,4-triazolu :

	Związek tautomeryczny		Związki modelowe		
					
${}^2J_{N-1, H-5}$ [Hz]	12.4	14.6	7.7	11.0	
${}^2J_{N-4, H-5}$ [Hz]	11.9	12.4	11.3	8.2	

Stałe te obserwowano, stosując jako rozpuszczalnik wodę, podczas gdy w DMSO-d₆ otrzymano sygnały uśrednione.

Stosując do podanych wyżej wartości stałych sprzężenia odpowiednio przekształcone równanie V.6/1 wyliczono⁶⁵ zawartości poszczególnych form tautomerycznych w mieszaninie. Wyniki te są w zgodzie z tymi, które otrzymano z wartości przesunięć chemicznych (65% formy 2H-3-amino-1,2,4-triazolu) .

Do niedawna większość danych o sprzężeniach atomów azotu ${}^{15}N$ była otrzymywana z próbek wzbogaconych w izotop ${}^{15}N$. W wielu pracach poświęconych równowagom tautomerycznym cząsteczek o dużym znaczeniu biologicznym jak np. histydyna^{55,56,90,91} musiano użyć wzbogaconych izotopowo związków w celu zwiększenia czułości metody. Pozwalało to również na zaobserwowanie stałych $J_{13C-15N}$ i $J_{15N-15N}$ ¹⁰¹, których wartości są jednak zbyt małe

(0.5 - 1.5 Hz) aby uzyskać wnioski ilościowe.

Porównywano dane otrzymane z widm ^{15}N , ^1H i ^{13}C NMR

$[\text{N}_2]$ - imidazolu i $[\text{N}_2]$ -1-metyloimidazolu z danymi dla pierścienia imidazolowego w histydynie⁵⁶. Informacje dotyczące równowag tautomerycznych w tych związkach uzyskano zarówno ze sprzężeń ^{15}N - ^1H jak i ^{13}C - ^{15}N . Stwierdzono, że najlepszym parametrem diagnostycznym do ustalania położenia równowagi tautomerycznej w histydynie jest stała sprzężenia $^1J_{\text{C-5,N-1}}$ w związku znaczonego ^{15}N . Ze względu na konieczność użycia wzbogaconych izotopowo związków są to jednak metody drogie.

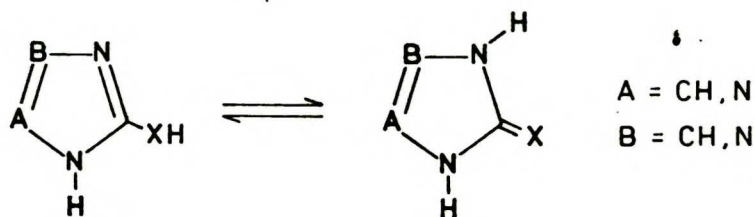
Zastosowanie nowoczesnych technik przeniesienia polaryzacji¹⁰¹ $[\text{H}]$ ^{15}N (np. INEPT, DEPT, SPT) pozwoliło na rozwinięcie badań techniką ^{15}N NMR bazującą na związkach o naturalnej zawartości izotopowej. Polepszenie czułości pomiarów spowodowało, że w zasadzie wszystkie oddziaływania jąder ^{15}N z jądrami ^1H mogą być wykorzystane w badaniach równowag tautomerycznych.

VI. Przedmiot i metodyka badań.

Podstawowym celem tej pracy było stwierdzenie przydatności metody ^{15}N NMR do badania ilościowego mieszanin tautomerycznych. Metodę testowano na przykładzie szeregu azoli i ich merkaptylowych oraz hydroksylowych pochodnych. Równie ważnym zadaniem było rozszerzenie wiedzy o równowagach tautomerycznych występujących w azolach i ich pochodnych. Wykonano również serię pomiarów ^{13}C NMR badanych związków i porównano przydatność obydwu metod rezonansowych do badania równowag tautomerycznych w azolach.

Przedmiotem badań są : imidazol, 1,2,3-triazol, 1,2,4-triazol i tetrazol, w których występuje tzw. tautomeria pierścieniowa (polegająca na wymianie protonu pomiędzy atomami azotu w pierścieniu) oraz pochodne tych azoli, w których podstawnik merkaptylowy lub hydroksylowy przyłączony jest do atomu węgla leżącego pomiędzy dwoma atomami azotu w pierścieniu.

W C-merkpto- i C-hydroksyazolach tego typu prototropowa wymiana może spowodować powstanie form izomerycznych zawierających egzocykliczne wiązanie podwójne $\text{C}=\text{S}$ lub $\text{C}=\text{O}$. Utworzenie takiego wiązania jest jednoznaczne z utratą przez pierścień azolowy charakteru aromatycznego. Mamy wtedy do czynienia z równowagami typu azol \rightleftharpoons azolinotion lub azol \rightleftharpoons azolinon :



W porównaniu z prostymi przypadkami tautomerii pierścieniowej w azolach niepodstawionych, obraz równowagi tautomerycznej związków zawierających w cząsteczce grupy -OH i -SH jest dużo bardziej skomplikowany. Zwiększa się bowiem liczba struktur izomerycznych, które mogą znajdować się w równowadze. Powoduje to, że używane do tej pory klasyczne metody badania równowag tautomerycznych takie jak UV-VIS, IR, momenty dipolowe, ^1H NMR i inne okazują się często zawodne. Jak już wspomniano we wstępie do pracy, uzyskanie wiarygodnego, ilościowego opisu równowag tautomerycznych związków aza-aromatycznych jest sprawą niezmiernie ważną, gdyż związki te wchodzą w skład wielu substancji biologicznie czynnych.

W równowagach tautomerycznych omawianych w tej pracy mamy do czynienia z izomerami tautomerycznymi różniącymi się hybrydyzacją atomów azotu. W cząsteczkach azoli wyróżniamy dwa rodzaje atomów azotu : pirolowy i pirydynowy. Dla wyznaczenia położenia równowagi tautomerycznej najbardziej przydatne są sygnały tych atomów, które w czasie szybkiej wymiany prototropowej zmieniają swoją strukturę elektronową z pirolowej na pirydynową i na odwrót. Różnice wartości stałych ekranowania ^{15}N NMR w poszczególnych tautomerach sięgają 150 ppm. W tej sytuacji zastosowanie omawianej już uprzednio metody uśrednionych przez wymianę wartości stałych ekranowania (patrz równanie V.6/1) wydawało się szczególnie obiecujące.

Opisane w tej pracy wyniki badania równowag tautomerycznych uzyskane są na podstawie pomiarów stałych ekranowania ^{15}N NMR. Pomiary te są wykonane względem czystego nitrometanu stanowiącego wzorzec zewnętrzny. Zgodnie z użytym standardem znak "plus"

na skali odpowiada wzrostowi wartości stałej ekranowania danego jądra i zgodny jest ze wzrostem zewnętrznego pola magnetycznego¹⁰².

Jak wynika z równania V.6/1, do wyznaczenia składu mieszaniny tautomerycznej niezbędna jest znajomość wartości parametrów spektralnych tzn. stałych ekranowania lub stałych sprzężenia spinowo-spinowego w czystych formach tautomerycznych, przy zablockowanej możliwości wymiany. Ponieważ uzyskanie takich form w stanie czystym w roztworze jest na ogół niemożliwe (szybkość wymiany tautomerycznej pozostaje nieraz duża nawet w temperaturze -100°C), zastosowano odpowiednie pochodne metylowe, które przybliżają właściwości spektroskopowe poszczególnych struktur izomerycznych.

Wielkość błędów spowodowanych wprowadzeniem grupy metylowej w miejsce atomu wodoru jest zależna od struktury cząsteczki i od rodzaju użytego rozpuszczalnika. Największą wartość tzw. efektu α stwierdzono^{84,103} w przypadku pirolu w DMSO, gdzie podstawienie atomu azotu grupą metylową spowodowało zmianę wartości stałej ekranowania tego atomu o $+5.5$ ppm. Efekt β grupy metylowej działa przeciwnie niż efekt α ^{65,84} i powoduje zmniejszanie wartości stałych ekranowania, wielkość jego jest jednakże zmienna i trudna do oszacowania¹⁰¹. W wielu przypadkach, gdy atomy azotu w pierścieniu sąsiadują ze sobą, działanie efektów α i β nakłada się, nie stwierdzono jednak by takie łączne działanie obu efektów przekraczało 5 ppm⁷³, co przy różnicy położenia sygnałów rezonansowych ^{15}N NMR poszczególnych izomerów tautomerycznych wynoszącej ponad 100 ppm daje błąd maksimum 5% . Efekt γ nie przekracza ± 2 ppm i należy już do

tw. efektów dalekiego zasięgu, których oddziaływanie jest bardzo słabe i zazwyczaj bywa pomijane. Trudności w dokładnym oszacowaniu błędów spowodowanych wprowadzeniem grupy metylowej do cząsteczek poszczególnych związków spowodowały, że w większości przypadków badanych w tej pracy do wyliczeń składu mieszanin tautomerycznych nie wprowadzono żadnych poprawek, godząc się z wprowadzaniem w ten sposób niewielkim błędem.

Niezmiernie ważnym czynnikiem, od którego zależy powodzenie omawianej metody jest prawidłowe przypisanie sygnałów rezonansowych odpowiednim atomom azotu w cząsteczce badanego związku. W przypadkach omawianych w tej pracy związków przypisania tego dokonano przede wszystkim na podstawie ogólnej prawidłowości, według której^{71,72} sygnał atomu azotu typu pirolowego leży w polu o wyższym natężeniu, niż sygnał atomu pirydynowego. Jądra atomów azotu leżące pomiędzy dwoma innymi takimi jądrami są silniej odsłaniane niż ma to miejsce w przypadku atomów azotu sąsiadujących z atomami węgla w pierścieniu.

W przypadkach, w których było to konieczne, korzystano przy dokonywaniu przyporządkowania sygnałów z wartości takich parametrów spektralnych jak szerokości połówkowe (głównie atomów ^{14}N) czy stałe sprzężenia (głównie $J(^1\text{H}-^{15}\text{N})$).

Prawidłowość przypisania sygnałów rezonansowych odpowiednim atomom azotu w badanych cząsteczkach została potwierdzona przez wyniki obliczeń wartości stałych ekranowania póempiryczną metodą INDO/S-SOS. Pomocnicza rola danych teoretycznych sprowadzała się jedynie do potwierdzenia prawidłowości ustalenia kolejności sygnałów w danym związku. Między wartościami eksperymentalnymi a wyliczonymi nie oczekiwano ilościowej zgodności, co wynika

między innymi z zastosowania metod kwantowomechanicznych o trudnym do określenia stopniu dokładności. Szczegóły dotyczące metody obliczeniowej zawarte są w osobnej pracy¹⁰⁴⁻¹⁰⁶ i nie są głównym celem prezentowanej obecnie. Obliczone wartości stałych ekranowania atomów azotu podane są w skali absolutnej.

W celu umożliwienia porównania wyników między poszczególnymi grupami badanych związków wszystkie pomiary ^{15}N i ^{13}C NMR wykonane zostały w tym samym rozpuszczalniku, a mianowicie DMSO, przy czym starano się utrzymywać jednakowe stężenia próbek (0.5 M) oraz stałą temperaturę (25-30°C). Dla skrócenia czasu relaksacji jąder ^{15}N wprowadzono do układu odczynnik - $\text{Cr}(\text{acac})_3$ w ilości 0.01 mola na każdy atom azotu w cząsteczce. Pozwoliło to skrócić znacznie czas pomiarów, nie powodując jednocześnie znaczących zmian w wartościach stałych ekranowania.

Badane związki otrzymywane były na ogół na podstawie publikowanych przepisów preparatywnych, bądź w analogii do nich. W przypadku kilku z nich jak np. 4-metylo-1,2,4-triazolu 10, 3-hydroksy-1,2,4-triazolu 27 i jego metylowych pochodnych konieczne okazało się opracowanie nowych, oryginalnych metod syntetycznych.

VII. Wyniki własne.

VII.1. Badanie równowag tautomerycznych w niepodstawionych azolach metodami ^{14}N i ^{15}N NMR.

Tautomeria polegająca na wymianie protonu między atomami azotu w pierścieniu w związkach z grupy azoli była przedmiotem badań prowadzonych za pomocą metody ^{14}N NMR^{82,88,107,108}. Połączenie pomiarów magnetycznego rezonansu jąder izotopu ^{14}N z techniką nasycenia różnicowego i analizą kształtu linii widm pozwoliło pokonać trudności wynikające z kwadropolowego poszerzenia sygnałów rezonansowych i doprowadziło do ilościowych oszacowań składu mieszanin tautomerycznych. Późniejsze badania prototropowej tautomerii w niepodstawionych azolach prowadzone za pomocą metody ^{15}N NMR^{84,109,89,110,111} potwierdziły rezultaty uzyskane metodą ^{14}N NMR.

Wyniki pomiarów ^{15}N NMR dla 1,2,4-triazolu, tetrazolu oraz ich pochodnych metylowych jako związków modelowych podaje Tabela VII.1/1. Obok wartości stałych ekranowania obserwowanych w roztworze DMSO w Tabeli zamieszczono również rezultaty obliczeń wartości tych stałych dokonane za pomocą półempirycznej metody INDO/S-SOS.

Tabela VII.1/1

Eksperymentalne i teoretyczne wartości stałych ekranowania atomów azotu w cząsteczkach 1,2,4-triazolu, tetrazolu i ich metylowych pochodnych.

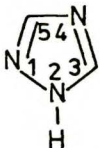
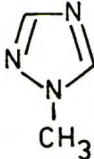
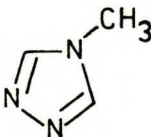
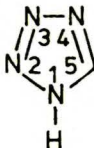
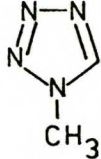
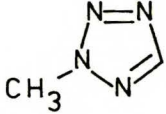
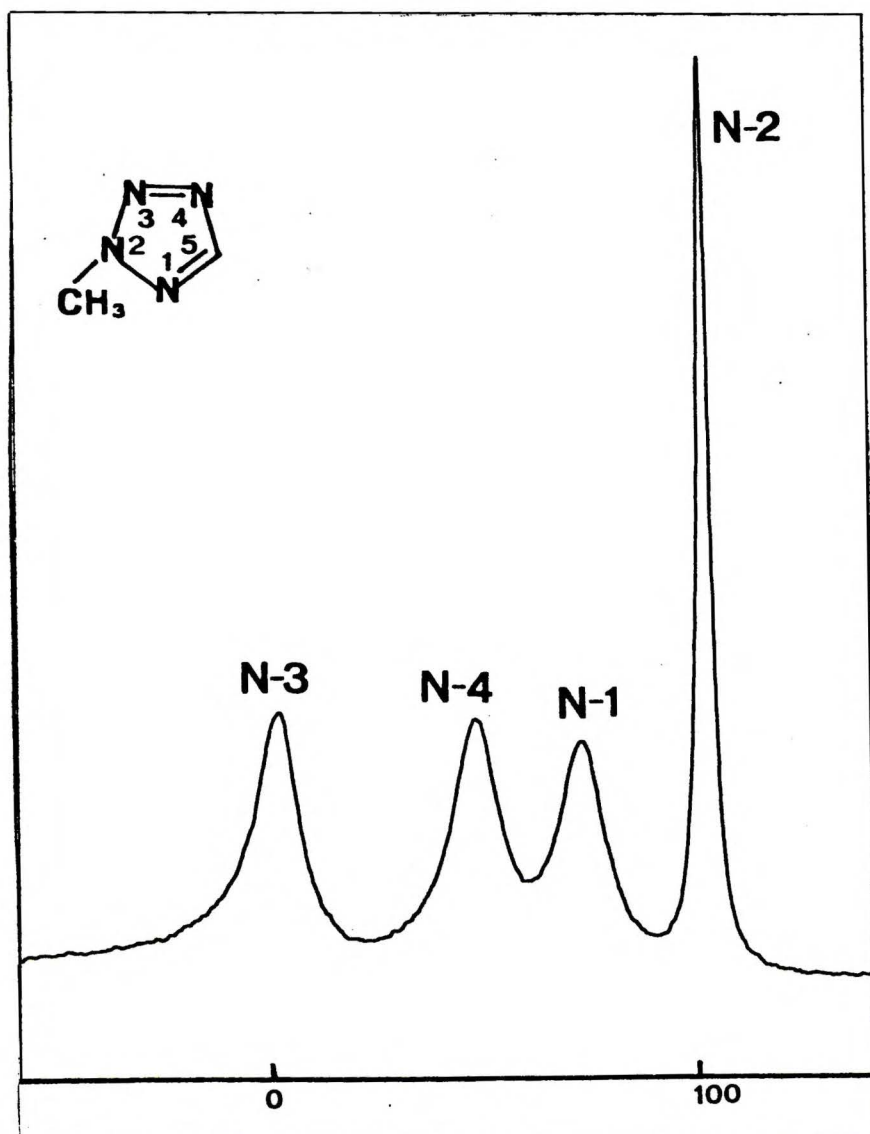
Związek	Atom azotu	Wartości stałych ekranowania		
		Obserwowane w DMSO [ppm]	Obliczone INDO/S-SOS	
<u>8</u>		N-1, N-2	127.3 poszerzony	
		N-4	135.7	
<u>9</u>		N-1	81.9	-212.9
		N-2	171.3	31.8
		N-4	127.4	-168.5
<u>10</u>		N-1	59.8	-42.6
		N-2	59.8	-42.6
		N-4	217.8	54.5
<u>11</u>		N-1		
		N-4	98.3 poszerzony	
		N-2		
		N-3	5.8 poszerzony	

Tabela VII.1/1 - c.d.

<u>12</u>		N-1	151.1	37.0
		N-2	10.8	-53.2
		N-3	-12.7	-74.1
		N-4	49.9	-50.8
<u>13</u>		N-1	72.8	-52.4
		N-2	101.8	21.5
		N-3	0.8	-75.8
		N-4	46.8	-59.6

Dla ustalenia przypisania sygnałów rezonansowych poszczególnym atomom azotu widma ^{14}N NMR wydają się być bardziej przydatne niż ^{15}N NMR zwłaszcza w przypadkach, gdy obserwacja stałych sprzężenia $J_{^{15}\text{N}-^1\text{H}}$ jest utrudniona, a w cząsteczce występuje kilka atomów azotu tego samego typu. Przykładem takiego związku jest 2-metylotetrazol 13. Interpretacja widma ^{15}N NMR jest w tym przypadku niełatwa, ponieważ w widmie tym brak przesłanek dla przypisania sygnałów rezonansowych poszczególnym atomom azotu. Widmo ^{15}N NMR zawiera cztery sygnały rezonansowe, między którymi nie obserwujemy zauważalnych różnic w wartościach szerokości połówkowych.

Widmo ^{14}N NMR 2-metylotetrazolu 13 przedstawiono poniżej :



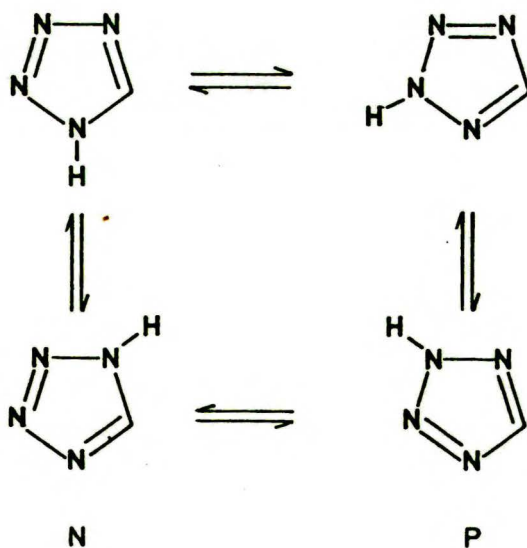
VII.1/1 Widmo ^{14}N NMR 2-metylotetrazolu w DMSO

Jednym z parametrów, od których zależy wartość szerokości połówkowej sygnału rezonansowego danego atomu azotu w widmie ^{14}N NMR jest wielkość gradientu pola elektrycznego w obszarze okołojądrowym. Jest ona najmniejsza w przypadku pirolowego atomu azotu, co powoduje zredukowanie kwadrupolowego poszerzenia sygnałów rezonansowych atomów azotu tego typu. W widmach ^{14}N NMR związków zawierających w cząsteczce zarówno atomy azotu typu pirolowego jak i pirydynowego, największy spośród sygnałów rezonansowych należy do pirolowego atomu azotu. W prezentowanym powyżej widmie 2-metylotetrazolu jest to sygnał leżący przy

najwyższej wartości pola (101.8 ppm) , który odpowiada atomowi N-2. Pozostałe trzy sygnały należą do atomów azotu typu pirydynowego (N-1, N-3 i N-4) . Obliczenie gradientu pola elektrycznego dla każdego z tych jąder i porównanie ich ze zmierzonymi wartościami szerokości połówkowych pozwoliło przypisać atomom N-1, N-3 i N-4 odpowiednio wartości : 72.8, 0.8 i 46.8 ppm. Podobną procedurę stosowano w przypadku sygnałów rezonansowych ^{14}N NMR 1-metylotetrazolu 12¹⁰⁷ oraz we wszystkich innych przypadkach, gdzie występują co najmniej dwa atomy azotu tego samego typu w cząsteczce.

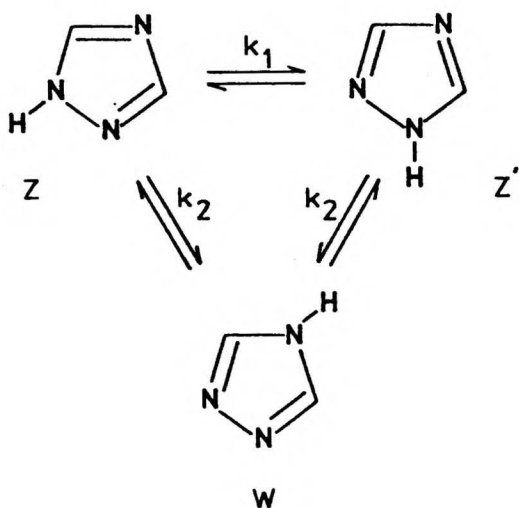
Prawidłowość przypisania sygnałów rezonansowych odpowiednim atomom azotu w cząsteczkach związków modelowych 12 i 13 została potwierdzona przez wyniki obliczeń półempiryczną metodą INDO/S-SOS.

Schemat przedstawiający możliwości wymiany tautomerycznej w cząsteczce tetrazolu przedstawiono poniżej :

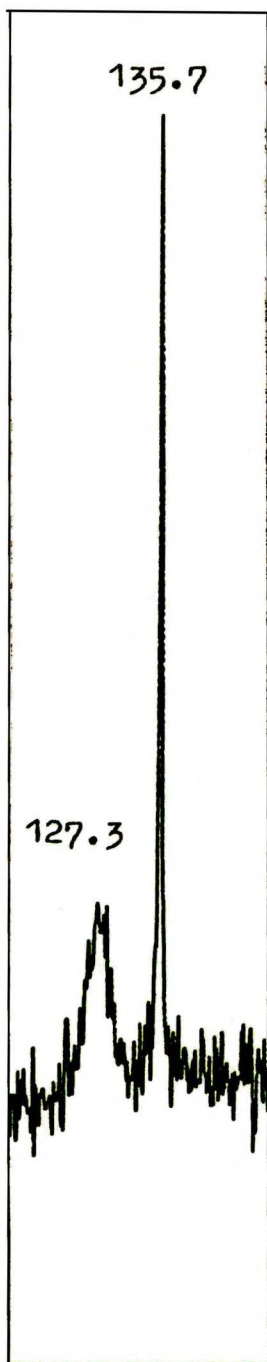


Dwa uśrednione sygnały o wartościach 98.3 i 5.8 ppm pochodzą odpowiednio od atomów N-1 i N-4 oraz N-2 i N-3. Z danych spektralnych dla związku modelowego 12 obliczono uśrednione wartości stałych ekranowania dla formy N, a więc : -1.0 ppm dla atomów N-2 i N-3 i 100.5 ppm dla N-1 i N-4. Odpowiednie wartości uzyskane z danych dla związku 13 modelującego formę P wyniosły 51.3 i 59.8 ppm. Porównanie z wartościami dla sygnałów rezonansowych w związku tautomerycznym 11 (5.8 i 98.3 ppm) wskazuje, że w równowadze tautomerycznej tetrazolu 11 przeważa forma 1H-tetrazolu N. Dokonano wyliczeń zawartości tej formy w mieszaninie równowagowej badanego związku. Przyjmując za podstawę obliczeń uśrednioną wartość stałych ekranowania atomów azotu N-2 i N-3 otrzymano 87% zawartości formy N, natomiast obliczenia oparte na wartości uśrednionej dla atomów N-1 i N-4 przyniosły wynik 94%. Biorąc pod uwagę, że nie uwzględniono w obliczeniach poprawek na efekt wprowadzenia grupy metylowej w miejsce atomu wodoru, można przyjąć, że badany tetrazol 11 istnieje w roztworze DMSO w $90 \pm 5\%$ w formie 1H-tetrazolu N oraz w $10 \pm 5\%$ - w formie 2H-tetrazolu P.

Z wcześniejszych prac dotyczących badań metodami ^{13}C NMR^{48,54} i ^1H NMR pochodziły sugestie o wykluczeniu obecności znaczących ilości tautomeru 4H w mieszaninie tautomerycznej 1,2,4-triazolu. Obraz wymiany tautomerycznej, która może zachodzić w cząsteczce 1,2,4-triazolu przedstawiono na rysunku poniżej. Równocenne chemicznie formy 1H-1,2,4-triazolu i 2H-1,2,4-triazolu oznaczono symbolami Z i Z' odpowiednio.



Widmo ^{15}N NMR 1,2,4-triazolu 8 (patrz strona następną) zawiera dwa blisko siebie położone sygnały rezonansowe. Jeden z nich, silnie poszerzony (szerokość połówkowa ok. 100 Hz) leży przy wartości 127.3 ppm odpowiadającej w przybliżeniu średniej z wartości stałych ekranowania atomów N-1 i N-2 (126.5ppm w związku modelowym 9. Świadczy to o tym, że między tymi dwoma atomami azotu przebiega wymiana protonu, która jednak nie jest dostatecznie szybka aby doprowadzić do całkowitego uśrednienia sygnału. W widmie ^{15}N NMR 1,2,4-triazolu wykonanym w większym stężeniu⁸⁴ (ok. 5M) sygnał ten jest o wiele węższy i intensywniejszy niż w prezentowanym dalej widmie wykonanym przy stężeniu 0.5M. Fakt ten może świadczyć o tym, że wymiana protonu między atomami N-1 i N-2 przebiega według mechanizmu międzycząsteczkowego. W przypadku takiego mechanizmu dynamika procesu wymiany protonu jest silnie uzależniona od takich czynników jak stężenie próbki czy obecność pewnych ilości wody w stosowanym rozpuszczalniku. W niektórych niekorzystnych przypadkach powolna wymiana protonu między atomami N-1 i N-2 doprowadziła do



VII.1/2. Widmo ^{15}N NMR 1,2,4-triazolu 8 w DMSO.

takiego poszerzenia sygnału tych atomów, że przestał być on w widmie wykrywalny.

Autorzy cytowanej wyżej pracy⁸⁴ przypisują zanikanie tego sygnału w widmie działaniu efektu Overhausera. Takiej hipotezie przeczy jednak fakt, że trudności z obserwacją sygnału N-1, N-2 pojawiają się zarówno w widmach odsprężonych, jak i nieodsprężonych od oddziaływań z protonami.

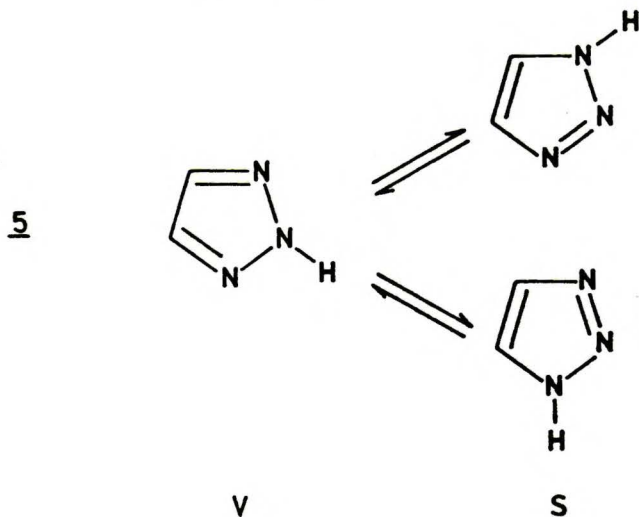
Sygnał leżący przy wartości 135.7 ppm można przypisać atomowi azotu N-4. Fakt, że wartość ta jest bardziej przesunięta w stronę wyższych wartości pola niż stała ekranowania atomu N-4 w związku modelowym 9 świadczyć może o obecności w mieszaninie tautomerycznej niewielkiej (do 5%) ilości izomeru 4H-1,2,4-triazolu, w którym atom N-4 jest typu pirolowego.

Sygnał rezonansowy atomu azotu N-4 jest wąski, co w porównaniu z obserwowanym poszerzeniem sygnału atomów N-1 i N-2 pozwala wysunąć pewne przypuszczenia dotyczące dynamiki procesu wymiany protonu w cząsteczce 1,2,4-triazolu. Prawdopodobnie zachodzi tu sytuacja, w której stała szybkości k_2 (patrz rysunek powyżej) jest dużo większa od stałej szybkości k_1 .

Celem tej części pracy jest między innymi również uzupełnienie informacji dotyczących równowag tautomerycznych azoli o dane obejmujące wpływ rozpuszczalnika na równowagi tego typu oraz próby określenia mechanizmu wymiany protonu występującej w tych związkach.

Związkiem najbardziej przydatnym do tych badań wydaje się być 1,2,3-triazol (5), ponieważ właśnie w jego przypadku sugerowano⁸⁴ dużą podatność położenia równowagi tautomerycznej na rodzaj użytego rozpuszczalnika. Jest to jedyny związek z grupy azoli występujący w stanie ciekłym, interesujące wydawało się więc również wykonanie pomiarów ¹⁵N NMR czystej substancji i porównanie z wynikami badań w rozpuszczalnikach.

Równowagę tautomeryczną występującą w 1,2,3-triazolu można przedstawić w następujący sposób :



W przypadku struktury S można przewidywać, że wartości stałych ekranowania atomów N-1 i N-3 uśrednią się z powodu szybkiej wymiany prototropowej zachodzącej między tymi atomami.

W Tabeli VII.1/2 podano wartości stałych ekranowania wyznaczone metodą ¹⁵N NMR w uśrednionym przez wymianę protonu widmie

1,2,3-triazolu 5 i w związkach modelowych : 1-metylo-1,2,3-triazolu 6 oraz 2-metylo-1,2,3-triazolu 7 odpowiadających strukturom S i V. Pomiary wykonano w czterech rozpuszczalnikach : DMSO, acetonie, metanolu oraz deuterowanym chloroformie.

Tabela VII.1/2

Wartości stałych ekranowania atomów azotu w 1,2,3-triazolu i jego metylowych pochodnych.

Związek	Rozpuszczalnik	Atom azotu	Stała ekranowania ppm	Odnosnik lit.	
<u>5</u>	DMSO	N-1,N-3	68.8	niniejsza praca	
		N-2	77.8		
	Aceton	N-1,N-3	64.8	niniejsza praca	
		N-2	80.9		
	Metanol	N-1,N-3		70.5	88
				89.7	
		CDCl ₃	N-1,N-3	61.9	
			N-2	79.0	
	Czysta substancja	N-1,N-3	57.2	88	
		N-2	86.0		

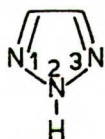
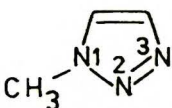
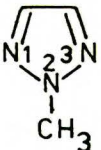


Tabela VII.1/2 - c.d.

6		DMSO	N-1	143.3	niniejsza
			N-2	16.2	praca
			N-3	28.4	
		Aceton	N-1	144.9	niniejsza
			N-2	14.1	praca
			N-3	27.1	
		Metanol	N-1	144.3	niniejsza
			N-2	19.1	praca
			N-3	41.7	
		CDCl ₃	N-1	145.0	
			N-2	16.3	84
			N-3	30.7	
		Czysta substancja	N-1	144.0	
			N-2	12.0	82
			N-3	30.0	

7		DMSO	N-1, N-3	54.0	niniejsza
			N-2	135.0	praca
			Aceton	N-1, N-3	54.0
			N-2	135.0	praca
		Metanol	N-1, N-3	51.1	niniejsza
			N-2	132.8	praca
		CDCl ₃	N-1, N-3	51.1	
			N-2	132.8	84
		Czysta substancja	N-1, N-3	53.0	
			N-2	132.0	88

Należy podkreślić, że oba obserwowane w każdym rozpuszczalniku sygnały: zarówno pochodzący od atomu azotu N-2, jak i ten o dynamicznie uśrednionej wartości stałych ekranowania atomów N-1 i N-3 są poszerzone, co wskazuje na umiarkowanie szybką wymianę protonu.

Przypisania obserwowanych sygnałów odpowiednim atomom dokonano na podstawie nieodsprzężonych widm ^{15}N NMR wykonanych z integracją. Sygnał o większej intensywności (w przybliżeniu dwukrotnie) leżący przy niższych wartościach pola jest uśrednionym sygnałem atomów N-1 i N-3. Wskazują na to również wyniki obliczeń półempiryczną metodą INDO/S-SOS¹¹¹. Sygnał rezonansowy atomu N-2 leży natomiast przy wyższych wartościach pola. Opierając się na tym rozumowaniu zamieszczono w Tabeli VII.1/2 dane z pomiarów ^{15}N NMR wykonane w deuterowanym chloroformie w kolejności odwrotnej niż w pracy Wofforda i współpracowników⁸⁴.

Przypisując wartości stałych ekranowania wyznaczone metodą ^{15}N NMR odpowiednim atomom azotu w związkach modelowych 6 i 7 opierano się na wspomnianych już uprzednio regułach⁷¹⁻⁷³ dotyczących wzajemnego położenia pirydynowych i pirolowych atomów azotu.

Na podstawie danych spektralnych z widm ^{15}N NMR związku 5, uśrednionych przez wymianę protonu i związków modelowych 6 i 7, dokonano ilościowych oszacowań składu mieszaniny tautomerycznej 1,2,3-triazolu w każdym z badanych rozpuszczalników. Dla uzyskania większej dokładności oszacowań wprowadzono poprawki mające na celu wyeliminowanie błędów spowodowanych podstawieniem

atomu wodoru grupą metylową w związkach modelowych. Opierano się przy tym na danych zaczerpniętych z pracy Fritza⁶⁵, który badając tautomerię pochodnych 1,2,4-triazoli stwierdził, że efekt α grupy metylowej powoduje przesunięcie wartości stałej ekranowania atomów azotu o 5.5 ppm w górę pola, natomiast efekt β obniża tę wartość o 8.2 ppm.

Dokonane przy użyciu odpowiednich poprawek obliczenia doprowadziły do wniosku, że podobnie jak to wykazano w przypadku benzoazoli⁹⁴, rodzaj użytego rozpuszczalnika nie wpływa znacząco na położenie równowagi tautomerycznej w azolach. Uzyskane wyniki : 52 \pm 5% zawartości formy V w DMSO, 56 \pm 5% w acetonie, 55 \pm 5% w metanolu i 57 \pm 5% w deuterowanym chloroformie otrzymane zostały jako średnie wyników obliczeń przyjmujących za punkt wyjścia położenie uśrednionego sygnału atomu N-2 i niezależnie - uśrednionego sygnału N-1 i N-3 (mimo zastosowanych poprawek rozrzut otrzymanych w ten sposób wartości sięgał 5%).

Skład mieszaniny tautomerycznej w azolach nie zależy więc od pK_a użytego rozpuszczalnika, zależy natomiast jak wykazano w pracy Lunazziego i współpracowników⁵⁰ - od stężenia badanej próbki w danym rozpuszczalniku, czego potwierdzeniem jest fakt, że dla czystego 1,2,3-triazolu (bez rozpuszczalnika) uzyskano 67 \pm 5% zawartości formy V w mieszaninie tautomerycznej. Można więc wysunąć hipotezę, że czynnikiem decydującym o występowaniu danego tautomeru w mieszaninie równowagowej jest jego podatność na tworzenie wiązań wodorowych z cząsteczkami innych bądź takich samych form tautomerycznych znajdujących się w równowadze. Byłoby to zgodne z przypuszczeniami wysuniętymi w pracach Nesmeyanowej⁵² i Begtrupa^{62,99}, że w mieszaninach tauto-

merycznych azoli tworzą się agregaty złożone z cząsteczek tautomerów i że mechanizm wymiany protonu w tego typu związkach jest "wielocząsteczkowy".

Jak wykazano na podstawie danych z Tabeli VII.1/2 rozpuszczalniki, niezależnie od ich właściwości, nie wpływają w znaczący sposób na zmianę położenia równowag tautomerycznych w 1,2,3-triazolu. Uzyskana więc przez Wofforda i współpracowników⁸⁴ zawartość $34 \pm 1\%$ formy V w mieszaninie tautomerycznej tego związku w deuterowanym chloroformie, wydaje się być rezultatem błędnego przypisania sygnałów rezonansowych ^{15}N NMR atomom N-2 oraz N-1 i N-3 odpowiednio. Wartość ta odbiega bowiem w zbyt dużym stopniu od wyznaczonych zawartości formy V w innych rozpuszczalnikach, podczas gdy odwrócenie kolejności przypisania sygnałów powoduje uzyskanie wyników obliczeń zgodnych z pozostałymi rezultatami.

Wyliczenia składu mieszaniny tautomerycznej związku 5 w MeOH, DMSO i acetonie dokonane przy odwróconej sekwencji sygnałów rezonansowych ^{15}N NMR tego związku wykazały daleko posuniętą niezgodność między wynikami opartymi na uśrednionej wartości sygnału N-1, N-3, a rezultatami uzyskanymi dla sygnału atomu azotu N-2. Fakt ten stanowi dodatkowe potwierdzenie prawidłowości przypisania sygnałów rezonansowych w widmach ^{15}N NMR omawianego 1,2,3-triazolu.

Twierdzenie zawarte w cytowanej wyżej pracy⁸⁴, że równowagi tautomeryczne azoli zależą znacznie od właściwości użytych rozpuszczalników, opierało się więc na błędnych założeniach. Obecnie wykazano, że podobnie jak w przypadku niepodstawionych benzoazoli⁹⁴ skład mieszanin równowagowych w azolach pozostaje praktycznie niezależny od rodzaju użytego rozpuszczalnika.

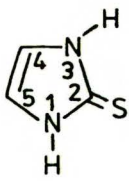
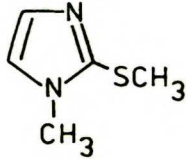
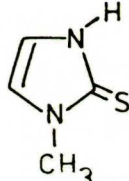
momentów dipolowych 113 niektórych 4,5-podstawionych pochodnych 2-merkaptoimidazolu wskazywały, że w związkach tych przeważa znacznie forma tjonowa typu D.

Zastosowanie metody rezonansu jąder ^{15}N do ilościowego oznaczania składu mieszanin tautomerycznych pozwoliło sprawdzić, a następnie uściślić jakościowe wnioski uzyskane poprzednio za pomocą innych metod.

Podstawą oznaczeń składu mieszanin tautomerycznych są wartości stałych ekranowania atomów azotu wyznaczone metodą ^{15}N NMR. Wyniki tych pomiarów w roztworach DMSO oraz wartości stałych ekranowania obliczone za pomocą półempirycznej metody INDO/S-SOS podaje Tabela VII.2/1.

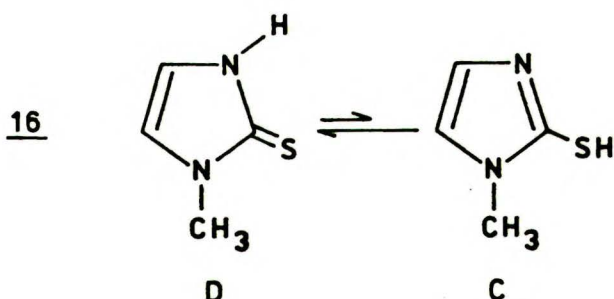
Tabela VII.2/1

Eksperymentalne i teoretyczne wartości stałych ekranowania atomów azotu w cząsteczce 2-merkaptoimidazolu i pochodnych.

Związek	Atom azotu	Wartości stałych ekranowania	
		Obserwowane w DMSO [ppm]	Obliczone INDO/S-SOS
<u>14</u> 	N-1, N-3	213.1 poszerzony	74.8
<u>15</u> 	N-1	222.8	68.9
	N-3	121.3	-14.0
<u>16</u> 	N-1	219.5	80.5
	N-3	214.3 poszerzony	72.9

Duża różnica pomiędzy wartościami stałych ekranowania atomów N-1 i N-3 w związku modelowym 15 jest typowa dla atomów azotu typu pirolowego i pirydynowego (patrz Rozdział V.6.3.) . Obecność dwu grup metylowych w cząsteczce związku 15 uniemożliwia wymianę tautomeryczną. Zgodnie z istniejącymi regułami^{71,72} potwierdzonymi przez obliczenia INDO/S-SOS, sygnał rezonansowy leżący w polu o wyższym natężeniu (222.8 ppm) należy do atomu azotu typu pirolowego, a sygnał położony w polu o niższej wartości natężenia - do atomu azotu typu pirydynowego (121.3ppm) W związku z tym można założyć, że związek modelowy 15 w przybliżeniu określa właściwości spektralne izomeru tautomerycznego o strukturze C.

Oba sygnały rezonansowe ¹⁵N NMR 1-metylo-2-merkaptimidazolu 16 leżą w rejonie charakterystycznym dla atomów azotu typu pirolowego, co sugeruje, że cząsteczka istnieje w formie tioneowej D.



Wykazano^{84,103} na podstawie wartości stałych ekranowania pirolu i N-metylopirolu, że efekt zastąpienia atomu wodoru przez grupę metylową (efekt α), w DMSO jako rozpuszczalniku, powoduje wzrost wartości stałej ekranowania atomu azotu o ok. 5 ppm. Różnica 5.2 ppm między wartościami stałych ekranowania atomów N-1 i N-3 w monometylowej pochodnej 15 potwierdza wnio-

sek, że związek ten istnieje prawie całkowicie w formie tioneowej D. Sygnał rezonansowy atomu azotu N-3 (214.3 ppm) jest lekko poszerzony, co świadczy o tym, że ten właśnie atom bierze udział w wymianie protonu. Stanowi to dodatkowe potwierdzenie dokonanej interpretacji widma ^{15}N NMR.

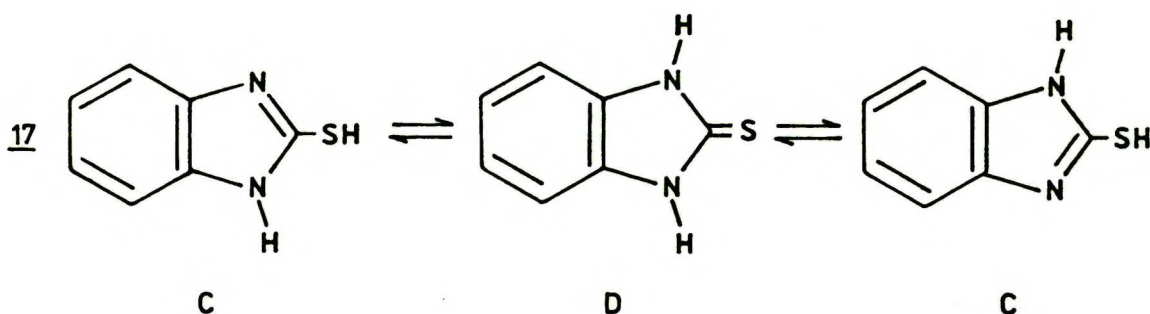
Znaczne podobieństwo wartości stałych ekranowania obserwowane dla grup NH w 2-merkaptimidazolu 14 i 1-metylo-2-merkaptimidazolu 16 wskazują, że jeżeli istnieje jakakolwiek zawartość formy C w mieszaninie tautomerycznej związku 14 to nie przekracza ona kilku procent. Wyniki doświadczalne podane w Tabeli VII.2/1 dla związku modelowego 15 wskazują, że różnice między wartościami stałych ekranowania atomów : pirydynowego N-3 i pirolowego N-1 wynoszą około 100 ppm. Jeśli więc na przykład tylko 1% formy tiolowej C byłoby obecne w równowadze tautomerycznej związku 16, to spowodowane ^{tym} przesunięcie w dół pola sygnału atomu azotu typu pirolowego wyniosłoby ok. 1 ppm. Tymczasem różnica między wartościami stałych ekranowania atomów N-1 i N-3 w związku 16 spowodowana jest, jak wykazano uprzednio, jedynie efektem \mathcal{L} podstawienia grupy metylowej w miejsce atomu wodoru. Podobne rozumowanie można przeprowadzić dla związku tautomerycznego 14 z tym, że w tym przypadku wprowadzenie 1% formy tiolowej C do mieszaniny tautomerycznej spowodowałoby zmniejszenie wartości położenia wspólnego, dynamicznie uśrednionego sygnału atomów azotu N-1 i N-3 o ok. 0.5ppm. Różnica między wartością dla tego sygnału (213.3 ppm) a wartością stałej ekranowania atomu N-3 w związku 16 (214.3 ppm) wynosi 1.2 ppm, można więc dopuścić możliwość istnienia formy tiolowej C w tej równowadze, jednak w ilości nie większej niż 2%. Jest jednak bardzo prawdopodobne, że owa niewielka różnica

(1.2 ppm) spowodowana jest raczej efektem oddziaływania grupy metylowej w cząsteczce związku 16.

Podobną sytuację zaobserwowano w przypadku równowagi tautomerycznej 2-merkaptobenzimidazolu. Przeprowadzone wcześniej badania momentów dipolowych tego związku i jego odpowiednich metylowych pochodnych wskazywały, że przeważającą formą w roztworach w dioksanie jest benzimidazo-2-tion¹¹³. Próby wyciągnięcia wniosków na podstawie reaktywności tego związku w środowiskach o różnym pH wskazały, że w niewodnych rozpuszczalnikach forma tionu jest dominująca, natomiast forma tiolowa przeważa w środowiskach alkalicznych¹¹⁵.

Przeprowadzone przez W. Schilfa badania metodami ¹³C i ¹⁵N NMR 2-hydroksybenzimidazolu wykazały^{97,114}, że związek ten istnieje w formie benzimidazol-2-onu zarówno w roztworze DMSO, jak i w MeOH i TFE (trifluoroetanol) . Przedstawione w tej części wyniki mają na celu rozszerzenie badań na siarkowy analog wspomnianego wyżej związku.

Podobnie jak w przypadku omówionym poprzednio rozważano możliwość zachodzenia równowagi między 2-merkaptobenzimidazolem C i benzimidazo-2-tionem D w roztworze DMSO :

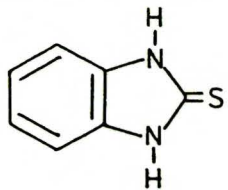
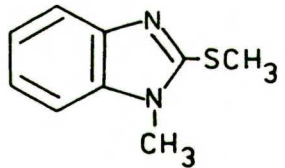
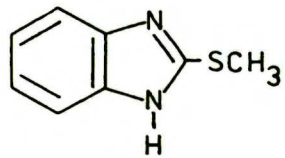


Przedmiotem badań są tautomeryczne związki : 2-merkaptobenzimidazol 17 i 2-metylmerkaptobenzimidazol 19 oraz związek mo-

delowy 18 z zablokowaną możliwością wymiany tautomerycznej - 1-metylo-2-metylmercaptobenzimidazol. Wyniki pomiarów ^{15}N NMR w postaci stałych ekranowania atomów azotu oraz wyniki obliczeń półempiryczną metodą INDO/S-SOS podaje Tabela VII.2/2.

Tabela VII.2/2

Eksperymentalne i teoretyczne wartości stałych ekranowania atomów azotu w cząsteczce 2-mercaptobenzimidazolu i pochodnych.

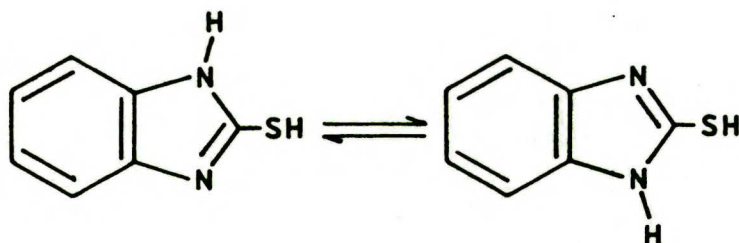
Związek	Atom azotu	Wartości stałych ekranowania	
		Obserwowane w DMSO [ppm]	Obliczone INDO/S-SOS
<u>17</u> 	N-1, N-3	227.4 $^1J_{^{15}\text{N}-^1\text{H}} =$ = 94.9 Hz	73.5
<u>18</u> 	N-1	238.5	84.2
	N-3	143.2	19.7
<u>19</u> 	N-1, N-3	186.7 poszerzony	81.4
		21.7	

Przypisania sygnałów rezonansowych odpowiednim atomom azotu dokonano na podstawie podanej uprzednio prawidłowości, według której pirolowy atom azotu ma zawsze sygnał w polu o wyższym

natężeniu niż sygnał atomu pirydynowego. Dodatkowym potwierdzeniem powyższych przypisań jest pełna zgodność z wynikami uzyskanymi dla 2-hydroksybenzimidazolu⁹⁷.

Fakt, że widmo ^{15}N NMR 2-merkaptobenzimidazolu składa się z jednego sygnału rezonansowego oraz analiza wartości stałej ekranowania zmierzonej dla tego sygnału wykazały, że związek ten występuje w postaci symetrycznej. Dwumetylowa pochodna związku tautomerycznego, użyta jako związek modelowy, przybliżający właściwości spektralne struktury tiolowej C, ma strukturę niesymetryczną. Obecność dwu grup metylowych w związku 18 blokuje całkowicie możliwość zachodzenia wymiany tautomerycznej przy czym wartość stałej ekranowania atomu N-1 leży w zakresie typowym dla atomów azotu typu pirolowego, a wartość dla sygnału pochodzącego od atomu N-3 - pirydynowego.

Symetria, uwidoczniona w widmie tautomerycznego związku 17 mogłaby wynikać z szybkiej wymiany prototropowej między dwoma atomami azotu w pierścieniu, co powodowałoby, że pozycje N-1 i N-3 stawałyby się równocenne :



W takim przypadku obserwowalibyśmy w widmie jeden sygnał o wartości stałej ekranowania będącej średnią ważoną wartości dla pirolowego i pirydynowego atomu azotu wyznaczonych dla związku 18 (ok. 190 ppm) . Taki model tautomerii reprezentuje 2-metylomerkaptobenzimidazol 19, gdzie uśredniony sygnał

rezonansowy, będący rezultatem dość szybkiej wymiany protonu jedynie między atomami azotu w pierścieniu leży przy 186.7 ppm. Uśredniona wartość obserwowana dla tautomerycznego związku 17 jest o wiele wyższa (227.4 ppm) i leży w obszarze typowym dla atomów azotu typu pirolowego. Świadczy to o tym, że cząsteczka występuje praktycznie całkowicie w postaci symetrycznego tionu D.

Wniosek ten jest dodatkowo potwierdzony przez obecność stałej sprzężenia przez jedno wiązanie $^1J_{^{15}\text{N}-^1\text{H}} = 94.9 \text{ Hz}$ w nieodsprzężonym od oddziaływań z protonami widmie związku 17.

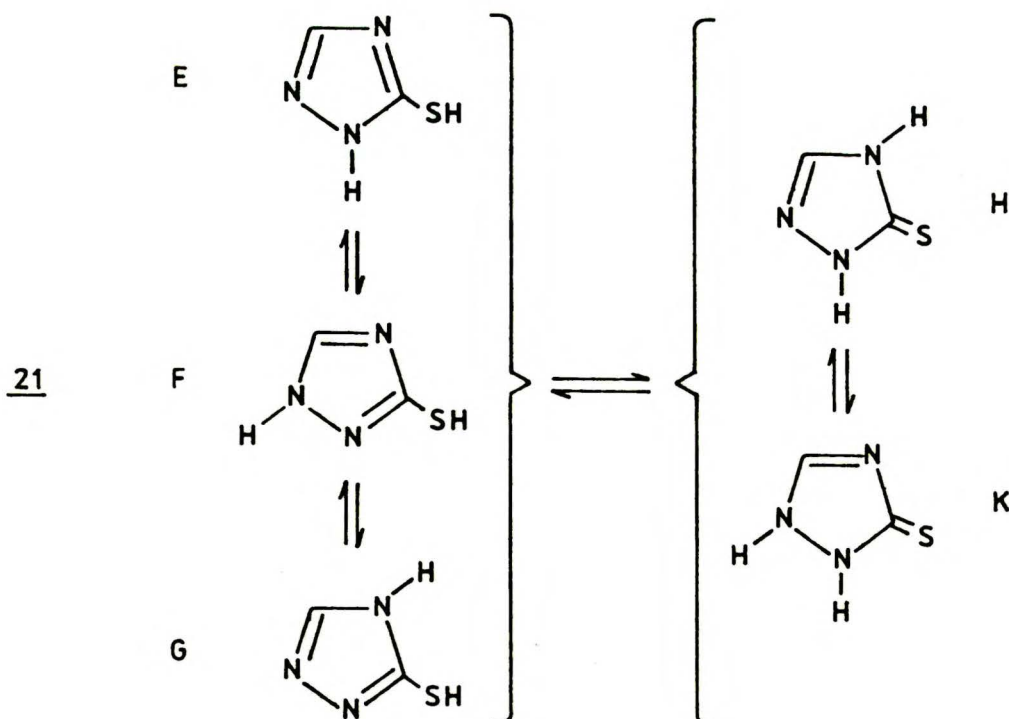
Typowa dla oddziaływań przez jedno wiązanie wartość tej stałej sugeruje, że związek 17 istnieje w roztworze DMSO praktycznie całkowicie w formie tionowej D. Analogiczna stała sprzężenia zaobserwowana w przypadku benzimidazol-2-onu wynosiła 97.4 Hz⁹⁷.

Pomiary stałych ekranowania ^{15}N NMR wykazały, że zarówno 2-merkaptomidazol, jak i 2-merkaptobenzimidazol istnieją w roztworze DMSO jako symetryczne formy tionowe, przy czym ewentualna domieszka będącej z nimi w równowadze formy tiolowej w obu przypadkach nie jest większa niż 5%.

VII.3. Badanie równowag tautomerycznych w 3-merkapto-1,2,4-triazolu metodą ^{15}N NMR.

Obraz równowagi tautomerycznej w związkach aza-aromatycznych, w których w wymianie protonu może uczestniczyć podstawnik przyłączony do pierścienia (tautomeria podstawnikowo-pierścieniowa), jest o wiele bardziej skomplikowany niż w przypadku prostych azoli. Jeżeli liczba możliwych form izomerycznych w mieszaninie tautomerycznej jest większa od dwóch, zawodzą na ogół klasyczne metody badania tautomerii takie jak: IR, UV, pomiary pK_a lub momentów dipolowych. W tych przypadkach są to metody zbyt mało dokładne i zazwyczaj pozwalają osiągnąć jedynie przybliżone oszacowania jakościowe składu mieszaniny równowagowej.

W 3-merkapto-1,2,4-triazolu, w którym, jak można przypuszczać, grupa tiolowa uczestniczy w wymianie prototropowej, możliwych jest pięć form tautomerycznych pozostających ze sobą w równowadze :



Badania prowadzone metodami IR³⁰, UV^{28,43,44}, ¹H NMR⁶⁶ i MS⁶ przy użyciu odpowiednich pochodnych metylowych jako związków modelowych doprowadziły do wniosków, że związki tego typu występują w roztworach i w stanie stałym głównie w formie tionowej. Pomiar UV w roztworach etanolowych i w THF nie wykazały obecności sprzężenia między wiązaniem podwójnym w pierścieniu a egzocykliczną grupą tionową C=S, co pozwoliło przypuszczać, że formą przeważającą w mieszaninie tautomerycznej jest struktura tionowa H. Jednak ani metoda IR, ani UV nie były w stanie określić, czy oprócz formy tionowej wchodzi w skład mieszaniny tautomerycznej jeszcze inne izomery i w jakiej ilości.

Techniki pomiarowe ¹H i ¹³C NMR okazały się również zbyt mało czułe na zmiany pozycji równowag tautomerycznych tego typu³⁰.

Celem tej pracy jest wykazanie, że metoda ¹⁵N NMR jest w tym przypadku techniką najbardziej odpowiednią z obecnie dostępnych, gdyż prowadzi do dokładnych, ilościowych oszacowań składu mieszanin tautomerycznych.

Przedmiotem badań jest tautomeryczny związek - 3-merkapt-1,2,4-triazol 21, jego monometylowa pochodna - 4-metylo-3-merkapt-1,2,4-triazol 22 oraz 3-metylomerkapto-1,2,4-triazol 23, gdzie możliwa jest tylko wymiana protonu między atomami azotu w pierścieniu. Odpowiednie dwumetylowe pochodne 3-merkapt-1,2,4-triazolu : 24, 25 i 26 służą jako związki modelowe przybliżające parametry spektralne poszczególnych izomerów tautomerycznych typu tiolowego.

Wyniki oznaczeń stałych ekranowania za pomocą metody ¹⁵N NMR

oraz wyniki obliczeń wartości tych stałych metodą INDO/S-SOS podaje Tabela VII.3/1.

Tabela VII.3/1

Eksperymentalne i teoretyczne wartości stałych ekranowania atomów azotu w cząsteczce 3-merkapto-1,2,4-triazolu i pochodnych.

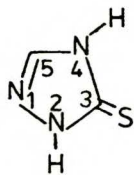
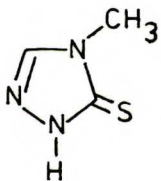
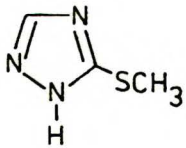
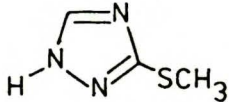
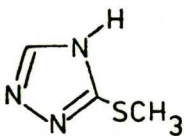
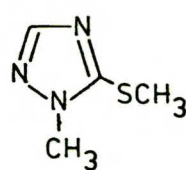
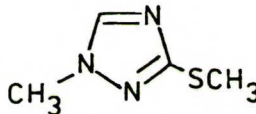
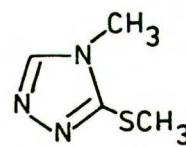
Związek	Atom azotu	Wartości stałych ekranowania		
		Obserwowane w DMSO [ppm]	Obliczone INDO/S-SOS	
<u>21</u>		N-1	99.1	-51.9
		N-2	176.0 poszerzony	42.1
		N-4	206.8 poszerzony	47.4
<u>22</u>		N-1	103.4	-60.3
		N-2	178.0 poszerzony	54.5
		N-4	224.3	58.2
<u>23e</u>		N-1		-10.7
		N-2		49.7
		N-4		12.9
<u>23f</u>		N-1 } N-2 } N-4 }	131.8	28.7 -61.4 -51.9

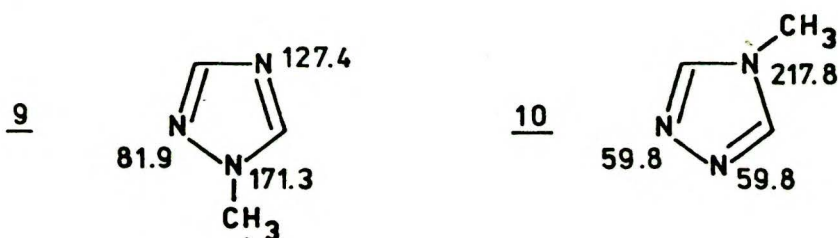
Tabela VII.3/1 - c.d.

<u>238</u>		N-1		-57.4
		N-2		-68.5
		N-4		50.6
<u>24</u>		N-1	72.6	-11.4
		N-2	174.0	52.4
		N-4	124.4	12.1
<u>25</u>		N-1	160.8	38.1
		N-2	96.9	-59.6
		N-4	125.0	-47.4
<u>26</u>		N-1	65.3	-51.7
		N-2	60.9	-65.2
		N-4	218.9	64.6

Przypisania odpowiednim atomom azotu ich sygnałów rezonansowych dokonano na podstawie reguł dotyczących wzajemnych relacji między różnymi atomami azotu w cząsteczce. Zgodnie z tymi regułami jądro atomu azotu typu pirolowego jest bardziej przesłaniające niż ma to miejsce w przypadku atomu azotu typu pirydynowego.

Jeśli dany atom azotu związany jest bezpośrednio z innym atomem azotu w pierścieniu, wartość stałej ekranowania jego jądra ulega zmniejszeniu w porównaniu z atomem azotu, który takiego sąsiedztwa nie posiada.

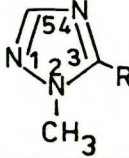
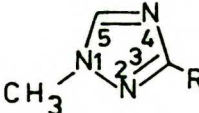
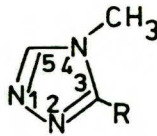
W przypadku związków modelowych 24, 25 i 26 bardzo pomocne w przypisaniu sygnałów rezonansowych okazało się porównanie wartości stałych ekranowania z odpowiednimi wartościami w metylowych pochodnych 1,2,4-triazolu. Do porównania użyto następujących danych :



W Tabeli VII.3/2 wykazano, że wprowadzenie grupy $-SCH_3$ do pierścienia ma niewielki wpływ na zmiany wartości stałych ekranowania atomów azotu w 1,2,4-triazolu.

Tabela VII.3/2

Zmiany wartości stałych ekranowania atomów azotu w cząsteczce 1,2,4-triazolu spowodowane wprowadzeniem w pozycję C-3 w pierścieniu grupy $-SCH_3$.

									
	N-1	N-2	N-4	N-1	N-2	N-4	N-1	N-2	N-4
R = SCH_3	-9.3	2.7	-3.0	-10.5	15.0	-2.4	5.5	1.1	1.1

Obliczenia półempiryczną metodą INDO/S-SOS potwierdziły prawidłowość przypisania sygnałów rezonansowych odpowiednim atomom azotu.

sugeruje przewagę w mieszaninie formy tionowej H. Sygnał rezonansowy o wartości stałej ekranowania równej 178.0 ppm jest lekko poszerzony, co wskazuje na to, że należy on do atomu azotu, który uczestniczy w wymianie prototropowej. Ponieważ nie istnieje żadna stabilna struktura związku 22 zawierająca ruchliwy proton w pozycji N-1, omawiany wyżej sygnał może należeć jedynie do atomu azotu N-2. Obniżenie wartości stałej ekranowania w porównaniu z sygnałem N-4 spowodowane jest sąsiedztwem atomu N-1. Wąski sygnał rezonansowy o wysokiej wartości stałej ekranowania (224.3 ppm) należy do atomu N-4, a trzeci sygnał rezonansowy o wartości typowej dla pirydynowych atomów azotu (103.4 ppm) - do N-1.

Porównanie danych eksperymentalnych ^{15}N NMR dla związku 22 oraz dwumetylowej pochodnej 26 modelującej strukturę tiolową G wykazuje, że związek ten nie występuje w formie tiolowej w równowadze tautomerycznej. Omówione wyżej przypisania sygnałów rezonansowych, potwierdzone przez obliczenia INDO/S-SOS dla formy tionowej świadczą, że związek 22 istnieje w roztworze DMSO praktycznie jako 4-metylo-1,2,4-triazolino-3-tion i można go uważać za model do dalszych rozważań nad strukturą związku tautomerycznego 21.

Przy porównaniu odpowiednich wartości stałych ekranowania atomów azotu w związkach 21 i 22 (Tabela VII.3/1) daje się zauważyć pewne podobieństwo, co mogłoby świadczyć o tym, że związek tautomeryczny 21 występuje w przewodzie w formie 2H,4H-tionu. Jednak różnica między wartościami stałych ekranowania atomu N-4 w związkach 21 i 22 jest zbyt duża (17.5 ppm) aby można było ją przypisać jedynie efektowi α zastąpienia

grupą metylową atomu wodoru przy atomie azotu N-4. Efekt ten w tego typu związkach, jak wykazano w poprzednim rozdziale, nie powinien przekraczać 5-6 ppm. Fakt pojawienia się większej różnicy wskazuje raczej w tym przypadku na istnienie sytuacji, w której atom N-4 nie występuje jedynie w formie pirolowej, a w równowagowej mieszaninie tautomerycznej istnieją jeszcze inne izomery tautomeryczne, pozostające w równowadze z formą 2H,4H-tionu, w których atom azotu N-4 jest typu pirydynowego. Trzy spośród pięciu możliwych struktur 3-merkapto-1,2,4-triazolu spełniają ten warunek : formy tiolowe E i F oraz forma tionowa K.

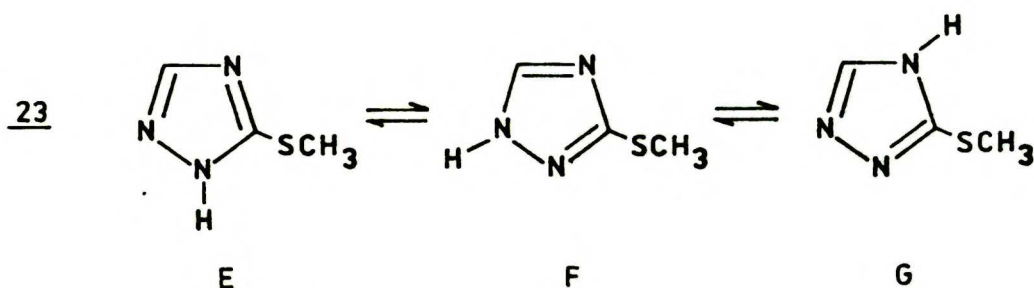
Należy jednak podkreślić, że w badanym związku 21 wartość stałej ekranowania atomu N-1 leży w rejonie charakterystycznym dla atomów azotu typu pirydynowego, a atomu N-2 - pirolowego. Gdyby więc w mieszaninie tautomerycznej znajdowały się domieszki struktur F lub K, spowodowałyby to o wiele większe różnice w wartościach stałych ekranowania atomów N-1 i N-2 niż to wynika z porównania ze związkiem modelowym 22. Jedynym tautomerem, którego wartości parametrów spektralnych atomów N-1 i N-2 odpowiadają zaobserwowanym zależnościom jest forma tiolowa E.

Związkiem modelowym struktury tiolowej E jest dwumetylowa pochodna 24. Wartość stałej ekranowania atomu azotu N-4 w związku tautomerycznym 21 (206.8 ppm) leży w przedziale wyznaczonym przez wartości oznaczone dla tego atomu w związku 22 (224.3 ppm) oraz w związku modelowym 24 (124.4 ppm) . To samo zjawisko występuje w przypadku atomów N-1 i N-2 z tym, że różnice pomiędzy wartościami stałych ekranowania tych atomów

w związkach modelowych 22 i 24 są mniejsze. Świadczy to o tym, że w skład badanej równowagi tautomerycznej wchodzi : forma 2H,4H-1,2,4-triazolino-3-tionu (H) aproksymowana przez związek modelowy 22 oraz forma 2H-3-merkapto-1,2,4-triazolu (E) , której właściwości przybliża związek modelowy 24.

Największa różnica między wartościami stałych ekranowania odpowiednich atomów azotu w obu wchodzących w równowagę izomerach tautomerycznych występuje dla atomu N-4 i wynosi 100 ppm. Z tego powodu parametry spektralne tego właśnie atomu wybrano za podstawę do ilościowej oceny składu mieszaniny tautomerycznej. Oceniono, że głównym składnikiem tej mieszaniny jest 2H,4H-1,2,4-triazolino-3-tion (H) i zawartość jego oszacowano na 80-90%. Pozostałe 10-20% składu mieszaniny równowagowej stanowi 2H-3-merkapto-1,2,4-triazol (E) . Dużo mniej dokładne wyniki oszacowań uzyskane na podstawie odpowiednich parametrów spektralnych otrzymanych dla atomów N-1 i N-2 potwierdziły powyższe wnioski.

Przedmiotem moich badań był również tautomeryczny związek - 3-metylmerkapto-1,2,4-triazol 23, w którym prototropowa wymiana tautomeryczna możliwa jest tylko pomiędzy atomami azotu w pierścieniu :



Jako związków modelowych, aproksymujących właściwości stru-

ktur E, F i G użyto odpowiednich pochodnych dwumetylowych 3-merkapto-1,2,4-triazolu : 24, 25 i 26. Sposób, w jaki przypisano tym związkom ich odpowiednie sygnały rezonansowe ^{15}N NMR podano już w omówieniu wyników Tabeli VII.3/1. Obecność grup metylowych w związkach modelowych blokuje możliwość wymiany tautomerycznej. Jak wykazano w wielu poprzednich pracach dotyczących spektroskopii ^{15}N NMR^{65,72,84}, zastąpienie atomu wodoru w grupie >N-H przez grupę metylową nie powoduje w tego typu związkach dużych zmian w wartościach stałych ekranowania atomów azotu. W związku z tym można założyć, że wartości tych stałych obserwowane dla związków modelowych 24, 25 i 26 odpowiadają bezpośrednio strukturom E, F i G i mogą być użyte do dyskusji nad widmem ^{15}N NMR 3-metylomerkapto-1,2,4-triazolu.

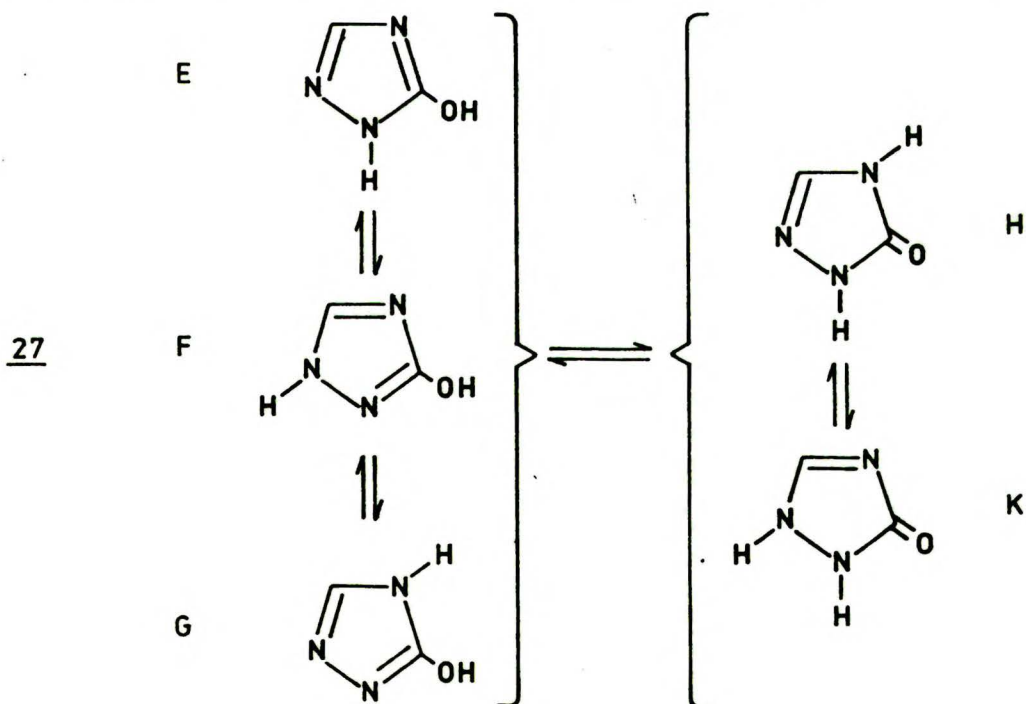
W przypadku 3-metylomerkapto-1,2,4-triazolu 23 dynamika procesu wymiany protonu jest prawdopodobnie bardzo zbliżona do opisanej w Rozdziale VII.1. dla niepodstawionego 1,2,4-triazolu. W widmach ^{15}N NMR związku 23 zarówno odsprzężonych, jak i nieodsprzężonych od oddziaływań z protonami widoczny jest tylko jeden, poszerzony sygnał (szerokość połówkowa ok. 40 Hz). Wnioski z rozważań nad analogiczną równowagą 1,2,4-triazolu pozwalają przypuszczać, że jest to sygnał rezonansowy atomu azotu N-4, natomiast sygnał atomów N-1 i N-2, poszerzony na skutek nie dość szybkiej wymiany protonu między tymi dwoma atomami azotu nie jest w widmie widoczny.

Wartość stałej ekranowania atomu N-4 obserwowana w widmie mieszaniny tautomerycznej związku 23 jest przesunięta w górę pola o ok 6-7 ppm, w porównaniu z wartościami obserwowanymi dla tego atomu w widmach związków modelowych 24 i 25. Podobnie jak

w przypadku 1,2,4-triazolu świadczy to prawdopodobnie o obecności w mieszaninie tautomerycznej 3-metylmerkapto-1,2,4-triazolu niewielkiej (do kilku procent) ilości formy tautomerycznej 4H-3-metylmerkapto-1,2,4-triazolu G. Głównym składnikiem mieszaniny pozostają jednak formy 1H-3-metylmerkapto-1,2,4-triazolu F i 2H-3-metylmerkapto-1,2,4-triazolu E.

VII.4. Badania równowag tautomerycznych w 3-hydroksy-1,2,4-triazolu metodą ^{15}N NMR .

Na podstawie dotychczasowych badań przeprowadzonych za pomocą spektroskopii UV-VIS^{23,25,28}, IR^{25,28,31,35} i ^1H NMR²⁸ stwierdzono w przypadku 3-hydroksy-1,2,4-triazolu występowanie tego samego rodzaju tautomerii, jaki omówiony był w poprzednim rozdziale dla 3-merkapto-1,2,4-triazolu. Jest to zatem kolejny przykład wymiany prototropowej, która oprócz atomów azotu w pierścieniu obejmuje również podstawnik, przy czym możliwe jest utworzenie egzocyklicznego wiązania podwójnego. Analogicznie jak w przypadku pochodnej merkaptylowej możliwe jest tu występowanie pięciu form tautomerycznych pozostających w równowadze:



Przedmiotem badań za pomocą metod UV-VIS i IR²⁸ była 5-fenylo-pochodna wymienionego w nagłówku związku, mianowicie 5-fenylo-3-hydroksy-1,2,4-triazol. Stwierdzono, że występuje on głównie w postaci 2H,4H-5-fenylo-1,2,4-triazolin-3-onu. Prezentowa-

ne obecnie wyniki mają na celu uzupełnienie tych badań o dane dotyczące równowagi tautomerycznej niepodstawionego 3-hydroksy-1,2,4-triazolu. Jak i w przypadku poprzednio omawianych związków, do oznaczania składu mieszanin tautomerycznych zastosowano tu metodę ^{15}N NMR.

Podobnie jak w rozdziale poprzednim, przedmiotem obecnych badań, obok związku tautomerycznego - 3-hydroksy-1,2,4-triazolu 27, są jego monometylowe pochodne, w których wymiana tautomeryczna zablokowana została jedynie częściowo: 4-metylo-3-hydroksy-1,2,4-triazol 28 oraz 3-metoksy-1,2,4-triazol 31.

Pochodne dwumetylowe z całkowicie uniemożliwioną wymianą protonu : 29, 30, 32, 33 i 34 posłużyły jako odpowiednie związki modelowe.

Podstawą wszystkich rozważań są oznaczone metodą ^{15}N NMR wartości stałych ekranowania atomów azotu w wymienionych związkach. Wyniki pomiarów ^{15}N NMR oraz obliczeń półempiryczną metodą INDO/S-SOS podaje Tabela VII.4/1.

Tabela VII.4/1

Eksperymentalne i teoretyczne wartości stałych ekranowania atomów azotu w cząsteczce 3-hydroksy-1,2,4-triazolu i pochodnych.

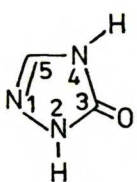
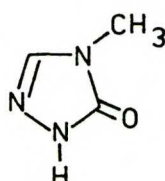
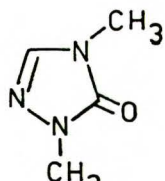
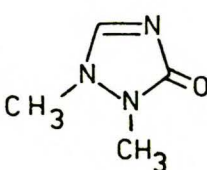
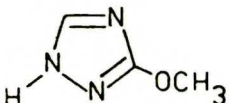
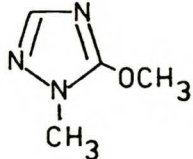
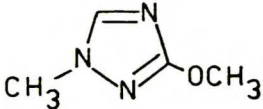
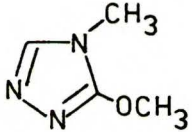
Związek	Atom azotu	Wartości stałych ekranowania	
		Obserwowane w DMSO [ppm]	Obliczone INDO/S-SOS
<u>27</u> 	N-1	116.9	-56.4
	N-2	214.1 poszerzony	38.7
	N-4	238.1 poszerzony	43.5
<u>28</u> 	N-1	118.0	-64.6
	N-2	214.3 poszerzony	50.1
	N-4	244.4	54.5
<u>29</u> 	N-1	112.3	-56.4
	N-2	220.6	38.7
	N-4	245.0	43.5
<u>30</u> 	N-1	216.8	53.2
	N-2	202.7	37.6
	N-4	138.4	-63.8
<u>31</u> 	N-1	167.6	25.5
	N-2	149.8	-65.9
	N-4	155.9	54.8

Tabela VII.4/1 - c.d.

<u>32</u>		N-1	91.7	-14.7
		N-2	207.7	46.7
		N-4	166.8	10.1
<u>33</u>		N-1	184.4	34.1
		N-2	128.2	-63.1
		N-4	157.8	-51.5
<u>34</u>		N-1	ok. 75	-68.7
		N-2	ok. 112	-55.7
		N-4	ok. 243	58.2

Przypisania sygnałów rezonansowych odpowiednim atomom azotu dokonano głównie na podstawie opisanych w dwóch poprzednich rozdziałach reguł dotyczących wzajemnego położenia pasm rezonansowych atomów azotu typu pirolowego i pirydynowego w widmach ^{15}N NMR.

Wyniki obliczeń wartości stałych ekranowania metodą INDO/S-SOS potwierdziły prawidłowość przypisania sygnałów, a w przypadkach niejasnych - jak np. rozróżnienie sygnałów atomów azotu N-1 i N-2 w związku 30 okazały się bardzo pomocne.

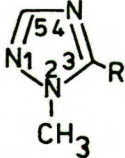
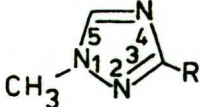
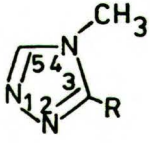
W przypadku związków modelowych 32 i 33 prawidłowość dokonanych oznaczeń potwierdzono przez porównanie z danymi dla odpowiednich pochodnych 3-amino-1,2,4-triazolu⁶⁵, które dają bardzo podobny obraz widma ¹⁵N NMR, a których struktury były dodatkowo potwierdzone przez obserwację stałych sprzężenia :



W Tabeli VII.4/2 wykazano, że zmiany wartości stałych ekranowania atomów azotu w pierścieniu 1,2,4-triazolu pod wpływem podstawników -NH₂ i -OCH₃ znajdujących się w pozycji C-3 są bardzo podobne.

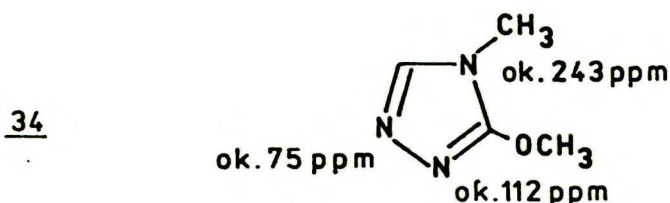
Tabela VII.4/2

Zmiany wartości stałych ekranowania atomów azotu w cząsteczce 1,2,4-triazolu spowodowane wprowadzeniem w pozycję C-3 w pierścieniu grup -NH₂ i -OCH₃.

									
	N-1	N-2	N-4	N-1	N-2	N-4	N-1	N-2	N-4
R = OCH ₃	9.8	36.4	39.4	13.1	43.3	30.4	-	-	-
R = NH ₂	15.8	39.3	38.2	16.1	48.2	28.5	15.1	51.7	24.5

W przypadku 4-metylo-3-metoksy-1,2,4-triazolu 34, którego synteza nie jest do tej pory znana, na podstawie podobieństw w wartościach stałych ekranowania obu związków z Tabeli VII.4/2 przyjęto, że z pewnym przybliżeniem można przypisać atomom azotu w związku 34 wartości wynikających z porównania z odpowiednia

pochodną 3-aminową :



Duże podobieństwo między wartościami stałych ekranowania odpowiednich atomów azotu w trzech związkach : 3-hydroksy-1,2,4-triazolu 27, 4-metylo-3-hydroksy-1,2,4-triazolu 28 i 2,4-dimetylo-1,2,4-triazolin-3-onu 29 wskazuje, że związki 27 i 28 występują głównie w formie triazolinonów, których modelem jest związek 29.

Zmierzono różnice w wartościach stałych ekranowania atomów azotu N-2 i N-4 spowodowane wprowadzeniem grupy metylowej w pozycję N-4 (związek 28) oraz następnie w pozycję N-2 (związek 29). Porównanie z wartościami stałych ekranowania oznaczonych dla związku tautomerycznego 27 wykazało, że różnice te są mniej więcej stałe, gdyż wahają się w granicach 6.2 - 6.6ppm co pozwala podejrzewać, że spowodowane są one jedynie stałym działaniem efektu α grupy metylowej. Wartość tego efektu jest w badanych związkach nieco większa niż w omawianych poprzednio pochodnych merkaptylowych (Rozdział VII.2.), gdzie wynosiła ok. 5 ppm.

Jeżeli więc obecność grup metylowych jest jedynym czynnikiem wpływającym na zmiany w otoczeniu elektronowym atomów azotu w związkach 27 i 28, można wysunąć wniosek, że oba te związki istnieją w formie triazolinonów (H) praktycznie w 100%.

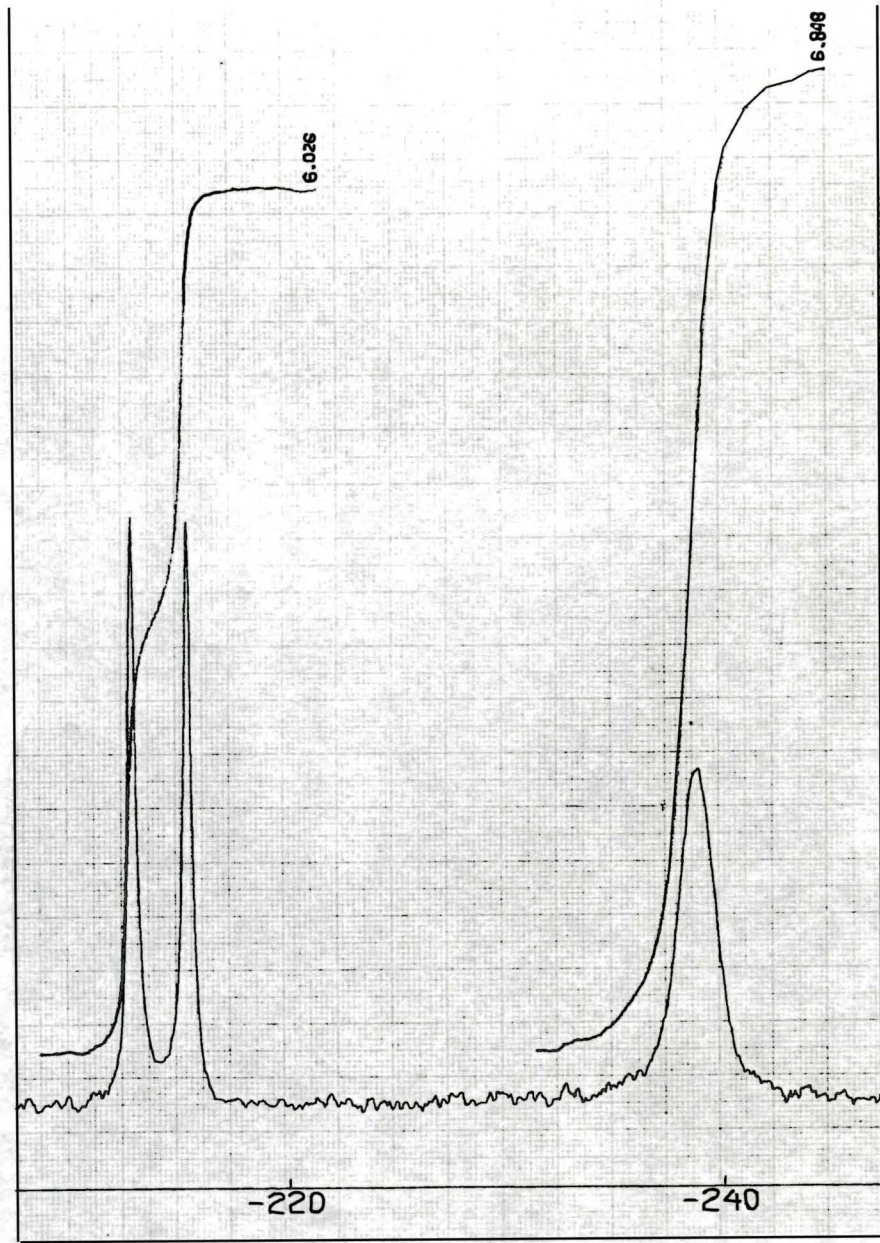
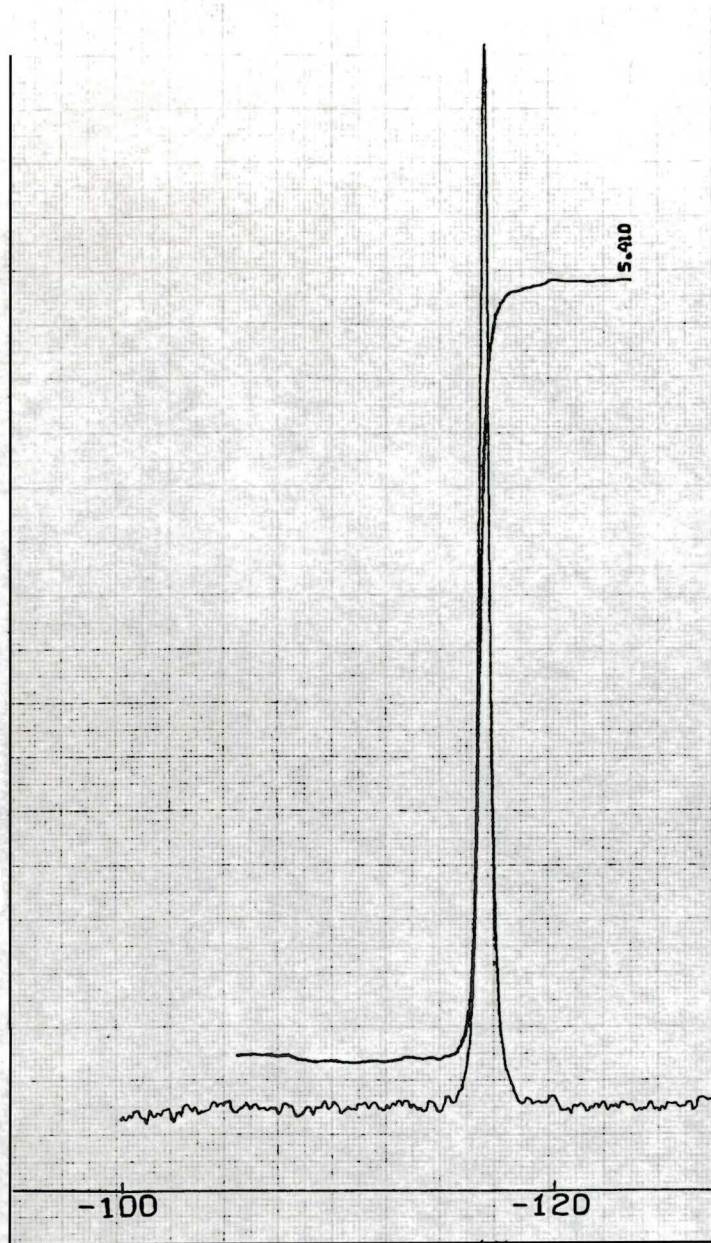
Spektroskopia ^{15}N NMR jest bardzo czułym detektorem obecności nawet małych domieszek innych izomerów w mieszaninach tautome-

rycznych omawianego typu. Nawet pobieżne porównanie stałych ekranowania wyznaczonych dla związków 27 i 28 z odpowiednimi danymi dla związków modelowych przybliżających struktury z grupą -OH (związki 32, 33 i 34) wykazują, że struktury te nie wnoszą praktycznie żadnego wkładu do omawianej równowagi tautomerycznej. To samo dotyczy formy triazolinonu K reprezentowanej przez związek modelowy 30, gdzie istnieje sprzężenie między wiązaniem podwójnym w pierścieniu a grupą karbonylową. Obecność znaczącej ilości którejkolwiek z tych form spowodowałyby zauważalne zmiany w wartościach obserwowanych dla tautomeru będącego głównym składnikiem mieszaniny równowagowej zważywszy, że różnice tych wartości między poszczególnymi tautomerami są rzędu 100 ppm.

Interesujące informacje o dynamice procesu wymiany tautomerycznej są dostępne w widmie ^{15}N NMR związku 27, wykonanym bez odsprzęgnięcia oddziaływań z protonami (patrz str. 108). Widmo to wykazuje wąski sygnał rezonansowy dla atomu N-1, dobrze rozdzielony dublet dla atomu N-2 (stała sprzężenia $^1J_{^{15}\text{N}-^1\text{H}} = 104.9 \text{ Hz}$) i poszerzony sygnał rezonansowy (szerokość połówkowa $\cong 65 \text{ Hz}$) dla atomu N-4.

Wartość obserwowanej stałej sprzężenia między atomem N-2 a protonem jest charakterystyczna dla stałych $J_{^{15}\text{N}-^1\text{H}}$ przez jedno wiązanie. Fakt ten pozwala wykluczyć obecność w mieszaninie tautomerycznej związku 27 znaczących ilości struktur triazolowych typu F i G, w których atom N-2 jest typu pirydynowego.

Przyczyną, z której nie obserwujemy analogicznej stałej sprzężenia na atomie N-4, może być wewnątrzcząsteczkowa wymiana protonu między tym atomem a egzocyklicznym atomem tlenu. Możli-

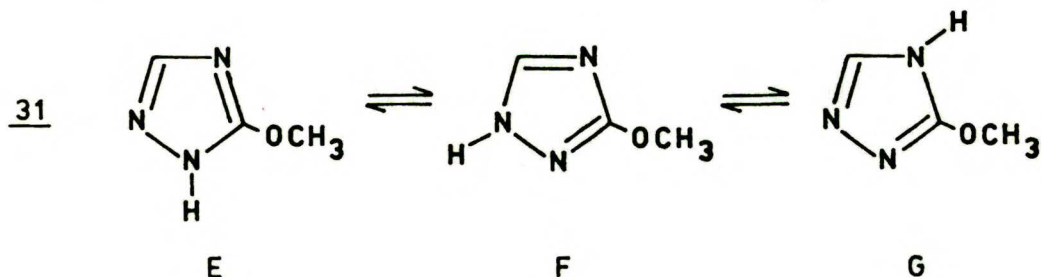


VII.4/1. Widmo ¹⁵N NMR 3-hydrokxy-1,2,4-triazolu w DMSO.
<http://rcin.org.pl>

wość zaistnienia takiej sytuacji oznaczałaby obecność w mieszaninie tautomerycznej niewielkiej (może być nawet ułamek procenta) ilości struktury 2H,OH-1,2,4-triazolu E.

Jest jednak bardzo prawdopodobne, że w omawianym procesie prototropowej wymiany tautomerycznej dużą rolę odgrywa również mechanizm międzycząsteczkowy. Atom N-2 jest mniej podatny na międzycząsteczkową wymianę protonu, ponieważ w bliskim jego sąsiedztwie znajdują się wolne pary elektronowe zarówno pirydynowego atomu azotu N-1, jak i tlenu. Istnienie procesu wymiany protonu między atomem N-4 i innymi cząsteczkami prowadzi do zaniku stałej sprzężenia $^1J_{15N-1H}$. Za obecnością mechanizmu międzycząsteczkowego przemawia również fakt, że szerokość połówkowa sygnału rezonansowego atomu N-4 jest dużo mniejsza niż wartość stałej sprzężenia $^{15}N-^1H$ przez jedno wiązanie i wynosi 65 Hz.

Metodę ilościowego oznaczania składu mieszanin tautomerycznych za pomocą ^{15}N NMR zastosowano również w przypadku 3-metoksy-1,2,4-triazolu 31, w którym grupa metylowa przy atomie tlenu blokuje możliwość wymiany prototropowej między podstawnikiem a atomami azotu w pierścieniu. W związku z tym obraz tautomerii znacznie się upraszcza, a liczba możliwych form izomerycznych pozostających w równowadze redukuje się do trzech :



Dysponując danymi z pomiarów ^{15}N NMR dla związków modelowych 32, 33 i 34 odpowiadających trzem możliwym formom tautomerycznym 3-metoksy-1,2,4-triazolu, można dokonać ilościowego oszacowania położenia równowagi tautomerycznej tego związku.

Widmo ^{15}N NMR związku tautomerycznego 31 wykazuje trzy blisko siebie położone sygnały (149.8, 155.9 i 167.6 ppm) odpowiadające trzem atomom azotu w pierścieniu.

Porównanie wartości stałych ekranowania atomów azotu w badanym 3-metoksy-1,2,4-triazolu 31 i w związkach modelowych 32, 33 i 34 wskazuje, że jedynie formy tautomeryczne o strukturach oznaczonych E i F mogą wносить znaczący wkład do mieszaniny tautomerycznej związku 31. Najlepiej można to wykazać porównując wartości stałych ekranowania atomu azotu N-4 w omawianych związkach. W tautomerycznym 3-metoksy-1,2,4-triazolu oraz w przybliżających właściwości spektralne jego izomerów E i F związkach 32 i 33 wartości te są położone blisko siebie (155.9, 157.8 i 166.8 ppm) , natomiast w odpowiadającym strukturze G związku 34 oszacowana wartość stałej ekranowania atomu N-4 różni się znacznie od pozostałych i wynosi ok. 243 ppm. Znaczy to, że gdyby w mieszaninie tautomerycznej obecna była jakakolwiek znacząca ilość izomeru G, wartość obserwowana dla atomu N-4 w widmie związku 31 musiałaby ulec zwiększeniu. Związane byłoby to ze zwiększonym udziałem struktury, w której atom N-4 jest typu pirolowego.

Wartość obserwowana dla atomu N-4 w widmie mieszaniny tautomerycznej związku 31 wynosi 155.9 ppm i jest charakterystyczna dla pirydynowych atomów azotu w tego typu związkach. Atom azotu N-4 jest typu pirydynowego jedynie w strukturach E i F.

Dodatkowe potwierdzenie wniosków płynących z powyższych rozważań wynika z porównania z danymi dla odpowiednich pochodnych 3-amino-1,2,4-triazolu⁶⁵, gdzie brak w mieszaninie struktury typu G wykazano dodatkowo na podstawie zmierzonych wartości stałych sprzężenia.

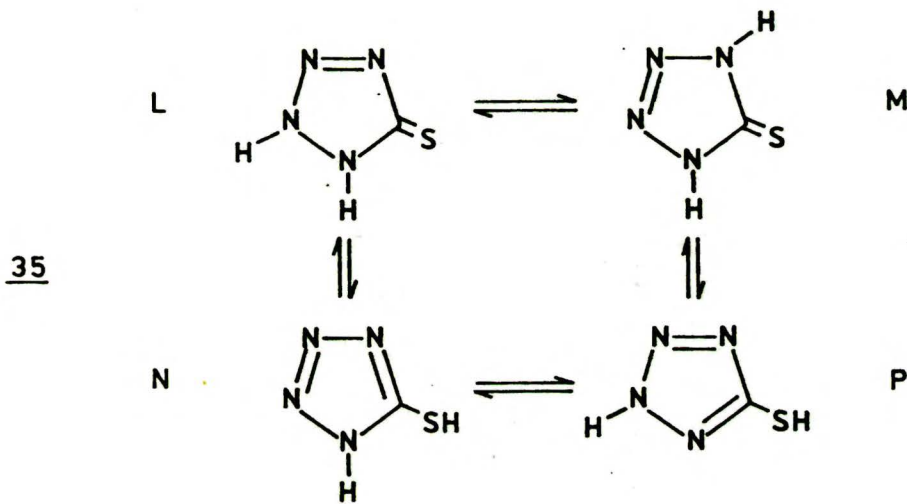
Wobec stwierdzonej nieobecności formy G w równowadze tautomerycznej 3-metoksy-1,2,4-triazolu 31, do wyliczenia składu mieszaniny tautomerycznej użyto danych pochodzących z widm ¹⁵N NMR dwóch związków modelowych tzn. 32 i 33.

Zgodnie ze wzorem V.6/1 punktem wyjścia do obliczeń były uśrednione wartości stałych ekranowania zarówno atomu N-1 jak i N-2. W wyniku obliczeń otrzymano :

77 ± 5% formy 1H-3-metoksy-1,2,4-triazolu F
i 23 ± 5% formy 2H-3-metoksy-1,2,4-triazolu E.

W przypadku analogicznej równowagi tautomerycznej 3-amino-1,2,4-triazolu⁶⁵ zawartość 1H-tautomeru wynosiła 65%.

azotu N-1 (1-metylo-5-merkaptotetrazol 37) przedmiotem badań jest również tautomeryczny 5-merkaptotetrazol 35, w którego cząsteczce możliwości wymiany protonu są bardzo szerokie i obejmują sześć struktur izomerycznych. Na przedstawionym poniżej rysunku identyczne chemicznie formy 1H,SH- i 4H,SH-tetrazolu oraz 2H,SH- i 3H,SH-tetrazolu oznaczono wspólnie odpowiednimi symbolami N i P :



Wyniki oznaczeń wartości stałych ekranowania metodą ^{15}N NMR związków tautomerycznych 35, 37 i 38 i ich odpowiednich pochodnych metylowych jako związków modelowych oraz rezultaty obliczeń wartości stałych ekranowania metodą INDO/S-SOS podaje Tabla VII.5/1.

Tabela VII.5/1

Eksperymentalne i teoretyczne wartości stałych ekranowania atomów azotu w cząsteczce 5-merkaptotetrazolu i pochodnych.

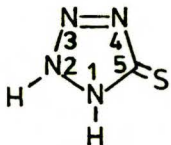
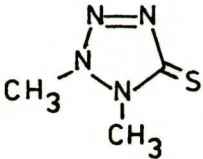
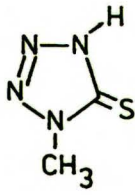
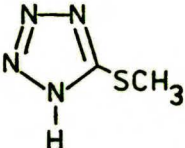
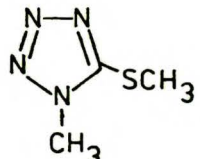
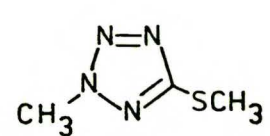
Związek	Atom azotu	Wartości stałych ekranowania	
		Obserwowane w DMSO [ppm]	Obliczone INDO/S-SOS
<u>35</u> 	N-1	82.2	38.2
	N-2	70.4	35.1
	N-3	-3.9	-52.1
	N-4	50.4	-38.5
<u>36</u> 	N-1	97.3	61.4
	N-2	70.9	45.2
	N-3	-4.5	-56.1
	N-4	47.7	-39.7
<u>37</u> 	N-1	151.9	70.1
	N-2	17.4	-33.1
	N-3	25.4	-32.4
	N-4	145.7 poszerzony	64.2
<u>38</u> 	N-1		55.3
	N-4	100.5 poszerzony	-10.2
	N-2		-26.1
	N-3	4.5 poszerzony	-36.3

Tabela VII.5/1 - c.d.

39

	N-1	158.1	70.1
	N-2	7.1	-27.1
	N-3	-11.1	-36.9
	N-4	55.6	-9.8

40

	N-1	81.6	-27.6
	N-2	101.4	42.4
	N-3	-2.3	-50.9
	N-4	53.4	-35.9

Widmo ^{15}N NMR 1-metylo-5-merkaptotetrazolu 37 składa się z czterech sygnałów rezonansowych. Omawiane w poprzednich rozdziałach reguły dotyczące sposobów przyporządkowania sygnałów rezonansowych ^{15}N NMR pozwalają ustalić, że dwa z tych sygnałów leżące przy wyższych wartościach pola (145.7 i 151.9 ppm) należą do atomów azotu typu pirolowego, a dwa pozostałe (14.4 i 25.4 ppm) do pirydynowych atomów azotu. Poszerzenie sygnału rezonansowego o wartości 145.7 ppm spowodowane jest wymianą protonu, w której uczestniczy atom azotu N-H, natomiast wąski sygnał leżący przy wartości 151.9 ppm należy do atomu azotu, przy którym proton zastąpiono grupą metylową.

Różnica między wartościami stałych ekranowania obu omawianych atomów azotu typu pirolowego wynosi 6.2 ppm i jest bardzo bliska tej, która w analogicznym przypadku 1-metylo-2-merkaptotetrazolu 16 (patrz Rozdział VII.2.) była spowodowana jedynie efektem δ grupy metylowej. Pozwala to wysunąć przypuszcze-

nie, że 1-metylo-5-merkaptotetrazol istnieje praktycznie całkowicie w roztworze DMSO jako 1-metylo-4H-tetrazolino-5-tion.

Z dotychczasowych doniesień wynika^{65,84}, że o ile efekt α grupy metylowej wynosi około 5-6 ppm w kierunku wyższych wartości pola, to wpływ tej grupy na atom azotu w położeniu β powoduje raczej odsłanianie jądra tego atomu i przesunięcie wartości stałej ekranowania w kierunku niższych wartości pola o ok. 6-9 ppm. W związku z tym w omawianym 1-metylo-4H-tetrazolino-5-tionie 37 jądro atomu N-2 będącego sąsiadem podstawionego grupą metylową atomu N-1 powinno być bardziej odsłaniane niż jądro atomu N-3, które nie podlega działaniu efektu β grupy metylowej. Potwierdzenie prawidłowości takiego rozumowania można znaleźć na przykładzie związków 28 i 29 omawianych w poprzednim rozdziale. Porównanie wartości stałych ekranowania atomu azotu N-1 w 2H-4-metylo-1,2,4-triazolin-3-onie 28 i w 2,4-dimetylo-1,2,4-triazolin-3-onie 29 wyraźnie wskazuje, że sąsiedztwo w pierścieniu grupy N-CH₃ powoduje odsłanianie jądra atomu N-1 w porównaniu ze związkiem 28, gdzie w pozycji N-2 znajduje się grupa N-H.

Powyższe rozumowanie pozwala przyporządkować atomowi azotu N-2 wartość 17.4 ppm, a atomowi N-3 wartość 25.4 ppm.

Przypisanie to zostało potwierdzone przez wyniki obliczeń INDO/S-SOS, jakkolwiek wartości stałych ekranowania atomów N-2 i N-3 otrzymane tą metodą leżą zbyt blisko siebie, aby w sposób jednoznaczny zdecydować o kolejności przyporządkowania dwóch sygnałów atomów typu pirydynowego.

Porównanie parametrów spektralnych badanego związku 37 z danymi dla 1-metylo-2-merkaptimidazolu 16 doprowadziło do wniosku

że domieszki formy tiolowej typu N w przypadku i tej równowagi tautomerycznej są nieznaczące, co pozwala uważać w dalszych rozważaniach związek 37 za strukturę modelową przybliżającą właściwości 1H,4H-tetrazolin-5-tionu.

Na podstawie przedstawionych do tej pory wyników badań związków z przyłączonymi do pierścienia grupami -SH i -OH można było zaobserwować, że w strukturach występujących w przewodzie w badanych równowagach tautomerycznych nie występowało sprzężenie między wiązaniem podwójnym w pierścieniu a egzocykliczną grupą tionową czy karbonylową. W przypadku równowagi 5-merkaptotetrazolu 35 oczekiwano więc również, że na zasadzie analogii z diazolami i triazolami formą przeważającą w roztworze DMSO będzie struktura niesprężonego tionu typu M.

Widmo ^{15}N NMR związku tautomerycznego 35 zawiera cztery sygnały rezonansowe, których położenia nie są nawet w przybliżeniu podobne do wyznaczonych dla związku 37, którego niesprężoną tionową strukturę udowodniono powyżej. Istnieje natomiast bardzo duże podobieństwo w obrazie widma ^{15}N NMR 5-merkaptotetrazolu 35 i jego dwumetylowej pochodnej 36, która służy jako związek modelowy przybliżający strukturę sprzężonego tionu L. Świadczy to o tym, że forma L przeważy w mieszaninie tautomerycznej związku 35. Jednak między parametrami spektralnymi wyznaczonymi dla atomu N-1 w związku tautomerycznym 35 i związku modelowym 36 występuje różnica zbyt duża (15 ppm) aby można ją było przypisać jedynie zaburzeniom spowodowanym przez wprowadzenie dwóch grup metylowych do cząsteczki. Można przypuszczać, że różnica ta spowodowana jest przesunięciem się obserwowanej w widmie związku tautomerycznego wartości stałej ekra-

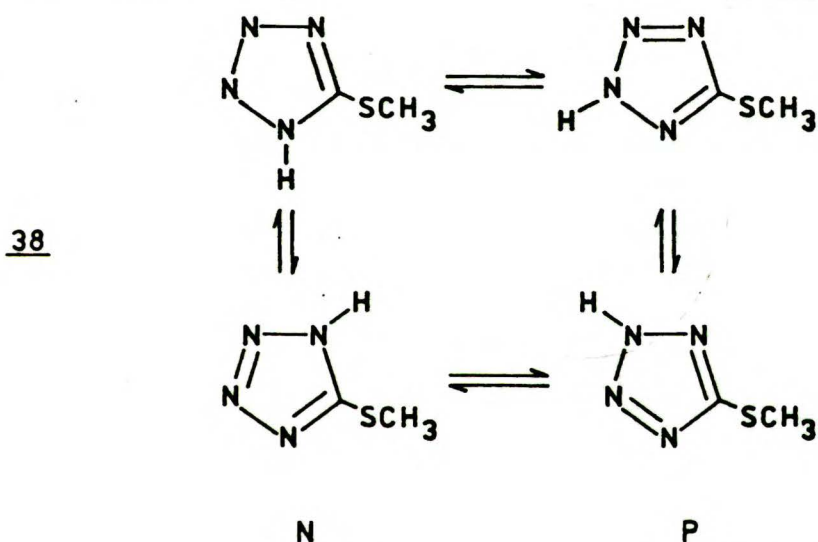
nowania atomu N-1 w stronę wielkości charakterystycznych dla atomów azotu typu pirydynowego. Jest to prawdopodobnie efekt obecności w mieszaninie tautomerycznej niewielkiej domieszki innej struktury, w której atom azotu N-1 jest typu pirydynowego, podczas gdy "sytuacja elektronowa" pozostałych trzech atomów azotu w cząsteczce pozostaje w stosunku do będącej w przewadze formy tionowej L nie zmieniona. Warunek taki spełniają atomy azotu w cząsteczce formy tautomerycznej tiolowej P.

Porównanie parametrów spektralnych widma ^{15}N NMR związku modelowego 38 przybliżającego strukturę P i związku tautomerycznego 35 doprowadziło do wniosku, że zawartość formy 2H,SH-tetrazolu P w mieszaninie tautomerycznej jest niewielka i nie przekracza kilku procent, natomiast głównym składnikiem tej mieszaniny pozostaje 1H,2H-tetrazolino-5-tion L.

Odmienne zachowanie się cząsteczki 5-merkaptotetrazolu 35 w warunkach równowagi tautomerycznej w porównaniu z analogicznymi : 2-merkaptoimidazolem 14 i 3-merkapto-1,2,4-triazolem 21 było dość nieoczekiwane. Można wysunąć przypuszczenie, że zwiększenie liczby atomów azotu w pierścieniu azolowym do czterech powoduje, iż forma sprzężonego tionu staje się w tym przypadku termodynamicznie trwalsza i jako taka jest preferowana w wymianie tautomerycznej. Dużą rolę mogą tu również odgrywać oddziaływania z rozpuszczalnikiem. Rozwiązanie tego problemu mogłyby przynieść dokładne badania kinetyki procesu wymiany protonu w związku tautomerycznym 35 np. na podstawie danych z widm ^{15}N NMR wykonanych w różnych temperaturach. Pomocne byłyby również w tym przypadku obliczenia teoretyczne, za pomocą których można byłoby zbadać trwałość stanu podstawowego i stanów przejś-

ciowych w tego typu równowadze. Rozważania tego typu nie były jednak przedmiotem moich badań, których celem było głównie zbadanie możliwości zastosowania ilościowej metody oznaczania składu mieszanin tautomerycznych.

Metodę tę zastosowano w przypadku tautomerycznego 5-metylomerkaptotetrazolu 38, w którym wymiana protonu zachodzi między atomami azotu w pierścieniu, a obraz równowagi tautomerycznej jest analogiczny do obserwowanego w niepodstawionym tetrazolu (patrz Rozdział VII.1.) .



Podobnie jak w przypadku tetrazolu 11 (Tabela VII.1/1) wiadomo ^{15}N NMR 5-metylomerkaptotetrazolu 38 zawiera dwa uśrednione sygnały rezonansowe : jeden leżący przy wartości 4.5 dla atomów N-2 i N-3 i drugi (100.5 ppm) - dla atomów N-1 i N-4.

Użyto odpowiednich pochodnych metylowych 5-metylomerkaptotetrazolu jako związków modelowych dla dwóch możliwych struktur tautomerycznych N i P. Są to : 1-metylo-5-metylomerkaptotetrazol 39 i 2-metylo-5-metylomerkaptotetrazol 40.

Przypisania sygnałów rezonansowych odpowiednim atomom azotu w obu tych związkach dokonano głównie na podstawie porównania

z parametrami spektralnymi odpowiednich pochodnych metylowych niepodstawionego w pozycji C-5 tetrazolu (związki 12 i 13 z Tabeli VII.1/1) . Wprowadzenie grupy $-SCH_3$ w tę pozycję w niewielkim tylko stopniu wpływa na zmiany wartości stałych ekranowania atomów azotu w pierścieniu tetrazolowym.

Prawidłowość przypisania sygnałów rezonansowych w związkach modelowych 39 i 40 została potwierdzona przez wyniki wyliczeń półempiryczną metodą INDO/S-SOS.

Stosując procedurę analogiczną do opisanej dla niepodstawionego tetrazolu (Rozdział VII.1.) obliczono skład mieszaniny tautomerycznej 5-metylmerkaptotetrazolu 38. Przyjmując za podstawę obliczeń uśrednioną wartość stałych ekranowania atomów azotu N-2 i N-3 otrzymano 87% zawartości formy N, natomiast z analogicznych rozważań nad uśrednionym sygnałem atomów N-1 i N-4 wyliczono 84%. Biorąc pod uwagę możliwe oddziaływanie grup metylowych na zmianę wartości stałych ekranowania atomów azotu w położeniu α można przyjąć, że 5-metylmerkaptotetrazol 38 istnieje w roztworze DMSO w $85 \pm 5\%$ w formie 1H-5-metylmerkaptotetrazolu N, a pozostałe $15 \pm 5\%$ stanowi izomer tautomeryczny o strukturze 2H-5-metylmerkaptotetrazolu P .

Metoda pomiarów magnetycznego rezonansu jąder ^{15}N jest w przypadku prototropowych równowag tautomerycznych tetrazoli jedyną znaną do tej pory metodą dającą dokładne ilościowe wyniki oszacowań składu mieszanin równowagowych. Inne metody rezonansowe takie jak 1H i ^{13}C NMR, spektroskopia IR i UV-VIS oraz pozostałe metody fizykochemiczne omówione w rozdziałach V.1. - V.6. są w stanie dostarczyć jedynie przybliżonych, jakościowych oszacowań. Przyczyna niepowodzeń w stosowaniu tych metod dla przy-

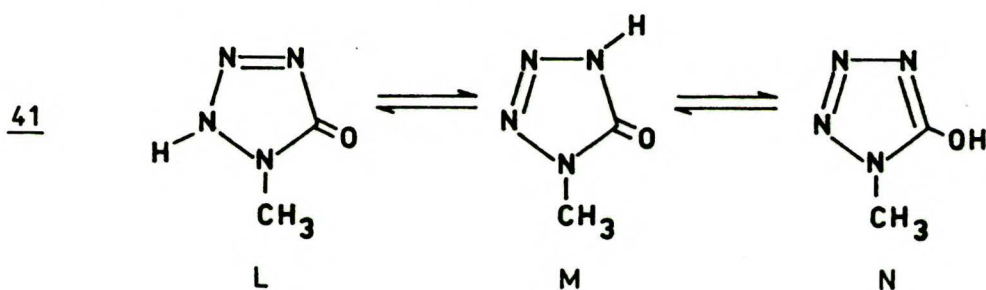
padku tetrazoli leży w zbyt małych różnicach między parametrami poszczególnych form tautomerycznych otrzymywanymi na drodze pomiarów. W przypadku stosowania pochodnych metylowych jako związków modelowych pojawia się problem błędów spowodowanych wprowadzeniem grupy metylowej do cząsteczki. Błąd ten niejednokrotnie przekracza wartość różnicy między danymi ze stosowanej metody dla poszczególnych form tautomerycznych, co dodatkowo zaciemnia obraz równowagi.

Metoda ^{15}N NMR jest niezwykle czuła na zmiany zachodzące w otoczeniu elektronowym atomów azotu. Dzięki dużej rozpiętości skali wartości stałych ekranowania atomów azotu różnych typów wrażliwość tej metody na błąd spowodowany podstawieniem grupą metylową jest niewielka. Dzięki tym właściwościom pomiary ^{15}N NMR są szczególnie przydatne w przypadku badania równowag tautomerycznych związków poliazaaromatycznych, do których włącznie z omówionymi w tym rozdziale tetrazolami należy cały szereg ważnych, biologicznie czynnych substancji.

VII.6. Badanie równowagi tautomerycznej 1-metylo-5-hydroksytetrazolu metodą ^{15}N NMR.

Przedmiotem badań prezentowanych w tym rozdziale jest metylowa pochodna 5-hydroksytetrazolu z częściowo zablokowaną możliwością wymiany tautomerycznej - 1-metylo-5-hydroksytetrazol. Wybuchowe właściwości niepodstawionego 5-hydroksytetrazolu utrudniające zarówno jego syntezę jak i wykonanie pomiarów ^{15}N NMR uniemożliwiły jak dotąd dokładne zbadanie równowagi tautomerycznej występującej w tym związku.

1-Metylo-5-hydroksytetrazol może występować w równowadze tautomerycznej w trzech formach :



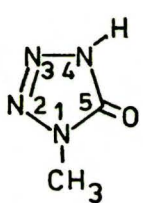
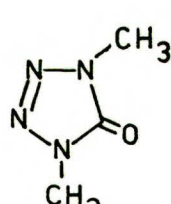
Badania prowadzone metodą UV-VIS w rozcieńczonych roztworach kwasu solnego i wodorotlenku sodowego wskazały²⁴ na obecność w tych warunkach głównie formy tetrazolinonu M, w którego cząsteczce nie występuje sprzężenie pomiędzy wiązaniem podwójnym w pierścieniu a egzocykliczną grupą karbonylową. Podobne wyniki uzyskano badając za pomocą metody IR 1-fenyl-5-hydroksytetrazol^{24,27,29}.

Celem prezentowanych w tym rozdziale badań jest próba ilościowego oszacowania składu mieszaniny tautomerycznej 1-metylo-5-hydroksytetrazolu w roztworze DMSO za pomocą metody ^{15}N NMR. W Tabeli VII.6/1 podano wyniki pomiarów wartości stałych ekranowania ^{15}N NMR atomów azotu w tautomerycznym 1-metylo-5-hydro-

ksytetrazolu 41 oraz w 1,4-dimetylo-tetrazolin-5-onie 42 służącym jako związek modelowy. Obok danych eksperymentalnych zamieszczono również wyniki obliczeń wartości stałych ekranowania półempiryczną metodą INDO/S-SOS.

Tabela VII.6/1

Eksperymentalne i teoretyczne wartości stałych ekranowania atomów azotu w cząsteczkach 1-metylo-5-hydroksytetrazolu i 1,4-dimetylotetrazolin-5-onu.

Związek	Atom azotu	Wartości stałych ekranowania	
		Obserwowane w DMSO [ppm]	Obliczone INDO/S-SOS
<u>41</u> 	N-1	193.1	68.2
	N-2	33.6	-34.6
	N-3	43.2	-33.7
	N-4	187.7 poszerzony	62.4
<u>42</u> 	N-1	193.2	70.7
	N-4		
	N-2	39.1	-41.0
	N-3		

W widmie związku modelowego 42, w którym pary atomów N-2 i N-3 oraz N-1 i N-4 są równocenne chemicznie, zgodnie z oczekiwaniami obserwujemy dwa wąskie sygnały rezonansowe. Sygnał o wartości 193.2 ppm zgodnie z przytaczanymi w poprzednich rozdziałach regułami leży w zakresie charakterystycznym dla atomów

azotu typu pirolowego i odpowiada atomom azotu N-1 i N-4. Atomy azotu typu pirydynowego tzn. N-2 i N-3, dają sygnał o położeniu 39.1 ppm. Dane te są punktem wyjścia do dalszych rozważań nad przypisaniem sygnałów rezonansowych w związku tautomerycznym 41 odpowiednim atomom azotu. Zgodnie z nimi wartość 193.1ppm odczytaną z widma tego związku przypisać należy atomowi azotu, przy którym atom wodoru został zastąpiony grupą metylową N-1. Poszerzenie drugiego sygnału o wartości charakterystycznej dla atomów azotu typu pirolowego (187.7 ppm) świadczy o tym, że atom ten bierze udział w wymianie protonu. Porównanie parametrów spektralnych ^{15}N NMR wyznaczonych dla związków 41 i 42 pozwoliło wyeliminować z rozważań strukturę sprzężonego tetrazolinonu L. Obserwowane podobieństwo w wartościach stałych ekranowania atomów azotu w obu tych związkach wskazuje, że formą przeważającą w równowadze tautomerycznej 1-metylo-5-hydroksytetrazolu 41 jest tautomer o strukturze M. Różnica między wartościami stałych ekranowania atomów azotu N-1 i N-4 w związku 41 wynosi 5.4 ppm, co jak stwierdzono jest wielkością charakterystyczną dla efektu α spowodowanego wprowadzeniem grupy metylowej. Świadczy to o tym, że tautomeryczny związek 41 istnieje w roztworze DMSO w postaci 1-metylotetrazolin-5-onu praktycznie całkowicie.

Rozróżnienie sygnałów rezonansowych ^{15}N NMR atomów azotu N-2 i N-3 w związku 41 przeprowadzono w bardzo podobny sposób, jak w omawianym w poprzednim rozdziale przypadku 1-metylo-tetrazolino-5-tionu 37. Półempiryczna metoda wyliczania wartości stałych ekranowania INDO/S-SOS okazała się bowiem i w przypadku związku 41 zbyt mało czuła, aby jednoznacznie określić kolejność położenia sygnałów rezonansowych obu atomów azotu typu

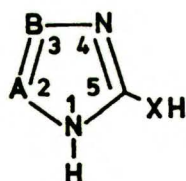
pirydynowego w widmie ^{15}N NMR. W przypisaniu atomom N-2 i N-3 ich sygnałów rezonansowych wykorzystano stwierdzony w wielu pracach^{84,103,65} fakt, że grupa metylowa blokująca możliwość prototropowej wymiany tautomerycznej w pierścieniu azolowym powoduje przesunięcie wartości stałej ekranowania atomu azotu w położeniu β o ok. 8-10 ppm w kierunku niższego natężenia pola. W związku z tym wartość 33.6 ppm należeć powinna do atomu azotu N-2, który podlega działaniu efektu β grupy metylowej przyłączonej do atomu N-1, a wartość 43.2 ppm - do atomu azotu N-3, który takiego sąsiedztwa nie posiada.

VII.7. Badanie równowag tautomerycznych merkaptylowych i hydroksylowych pochodnych azoli metodą ^{13}C NMR.

Równowagi tautomeryczne niepodstawionych azoli były badane przy użyciu spektroskopii ^{13}C NMR zarówno w roztworach⁵⁴, jak i w ciele stałym^{69,70}. Jako związków modelowych odpowiadających poszczególnym izomerom tautomerycznym użyto odpowiednich pochodnych metylowych azoli. Zbyt małe różnice występujące między przesunięciami chemicznymi atomów węgla w poszczególnych formach tautomerycznych w porównaniu z relatywnie dużym błędem spowodowanym wprowadzeniem grupy metylowej były przyczyną tego, że metoda ^{13}C NMR dostarczyła jedynie przybliżonych, jakościowych oszacowań składu badanych mieszanin tautomerycznych (Rozdział V.6.2.) . Również czysto jakościowe rezultaty osiągnięto badając równowagi tautomeryczne niektórych 1-fenyl-5-merkapt- i 1-fenyl-5-hydroksytetrazoli^{67,68}, gdzie na podstawie danych z widm ^{13}C NMR można było określić jedynie, która z możliwych form tautomerycznych znajduje się w przewadze w mieszaninie równowagowej.

Podobnie jak w rozdziałach poprzednich, przy omawianiu równowag tautomerycznych związków zamieszczonych w Tabeli VII.7/1 dokonujemy ich podziału na dwa rodzaje :

- a/ wymiana protonu następuje tylko między atomami azotu w pierścieniu
- b/ w wymianie protonu uczestniczy również podstawnik przyłączony do pierścienia i następuje utworzenie egzocyklicznego wiązania podwójnego.



A = CH, N
 B = CH, N
 X = O, S

Zastosowanie takiego oznaczenia atomów w pierścieniu ułatwia opis zmian wartości przesunięć chemicznych atomów węgla przy wprowadzaniu do pierścienia kolejnych atomów azotu : począwszy od imidazolu w pozycję 2 (1,2,4-triazole), a następnie w pozycję 3 (tetrazole).

W Tabelach VII.7/1 i VII.7/2 zaprezentowano wyniki pomiarów ¹³C NMR związków, których równowagom tautomerycznym poświęcona jest ta praca oraz ich odpowiednich pochodnych metylowych jako związków modelowych.

Tabela VII.7/1

Wartości przesunięć chemicznych ¹³C NMR atomów węgla w cząsteczkach niektórych merkapt**o**azoli i hydroksyazoli oraz ich metylowych pochodnych w roztworach DMSO.

Związek	Przesunięcia chemiczne ¹³ C NMR [ppm]						
	C-2	C-3	C-5	Me-1	Me-2	Me-4	OMe lub SMe
<p><u>14</u></p>	115.3	115.3	160.4				
<p><u>15</u></p>	128.0	123.1	141.7	32.7			15.9

Tabela VII.7/1 - c.d.1.

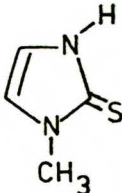
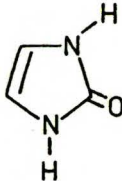
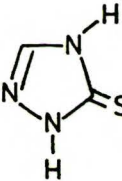
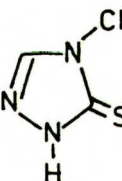
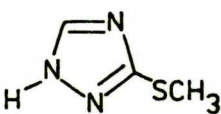
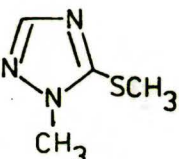
		C-2	C-3	C-5	Me-1	Me-2	Me-4	OMe lub SMe
<u>16</u>		119.2	113.8	160.9	33.5			
<u>20</u>		108.4	108.4	155.0				
<u>21</u>			140.4	165.2				
<u>22</u>			142.5	166.3			31.3	
<u>23</u>			144.7	152.0				14.0
<u>24</u>			150.7	152.0	34.8			13.0

Tabela VII.7/1 - c.d.2

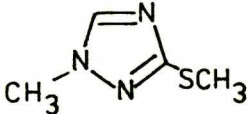
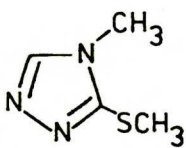
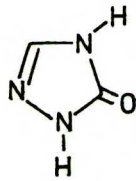
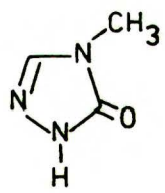
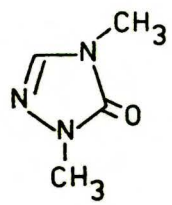
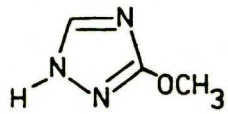
	C-2	C-3	C-5	Me-1	Me-2	Me-4	OMe lub SMe
<u>25</u> 		145.6	159.8		35.9		13.8
<u>26</u> 		146.0	150.1			30.5	15.0
<u>27</u> 		136.0	155.8				
<u>28</u> 		138.6	155.0			27.8	
<u>29</u> 		138.8	153.5	32.2		28.7	
<u>31</u> 		143.5	168.0				56.4

Tabela VII.7/1 - c.d.3

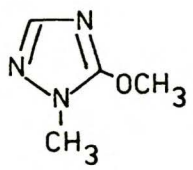
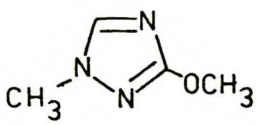
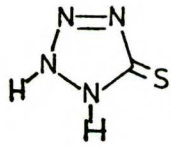
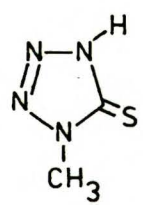
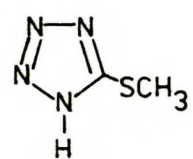
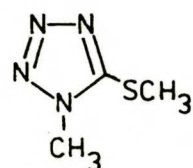
		C-2	C-3	C-5	Me-1	Me-2	Me-4	OMe lub SMe
<u>32</u>			147.2	159.0	32.6			58.0
<u>33</u>			143.8	168.5		35.9		56.2
<u>35</u>				159.6				
<u>37</u>				163.2	33.4			
<u>38</u>				155.2				14.5
<u>39</u>				154.7	33.4			15.1

Tabela VII.7/1 - c.d.4

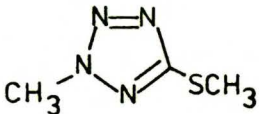
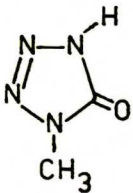
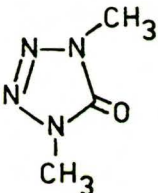
	C-2	C-3	C-5	Me-1	Me-2	Me-4	OMe lub SMe
<u>40</u> 			164.0		39.7		14.0
<u>41</u> 			152.0	30.2			
<u>42</u> 			150.6	31.0		31.0	

Tabela VII.7/2

Wartości przesunięć chemicznych ^{13}C NMR atomów węgla w cząsteczce 2-merkaptoimidazolu i jego metylowych pochodnych.

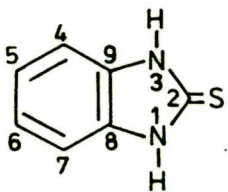
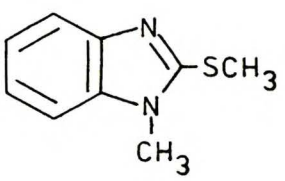
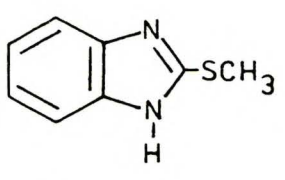
Związek	Atom Węgla	Przesunięcia chemiczne ^{13}C [ppm]
<u>17</u> 	C-2	168.1
	C-4, C-7	109.4
	C-5, C-6	122.2
	C-8, C-9	132.2

Tabela VII.7/2 - c.d.

18		C-2	152.5
		C-4	117.4
		C-5	
		C-6	121.2, 121.3
		C-7	109.1
		C-8	136.9
		C-9	142.9
		N-CH ₃	29.6
		S-CH ₃	14.1
19		C-2	151.1
		C-4, C-7	113.7
		C-5, C-6	121.2
		C-8, C-9	139.6

Przypisania sygnałów rezonansowych odpowiednim atomom węgla w cząsteczkach badanych azoli opierają się głównie na znanym fakcie, że atomy węgla w grupach typu >C=O , >C-OMe , >C=S i >C-SMe są silnie odsłaniane w porównaniu z innymi atomami węgla w pierścieniu. Stwierdzono ponadto, że w cząsteczkach tego typu atom azotu typu pirydynowego sąsiadujący z atomem węgla w pierścieniu powoduje silniejsze odsłanianie jądra tego atomu niż ma to miejsce w przypadku atomu azotu typu pirolowego. Sygnały rezonansowe ^{13}C NMR grup metylowych związanych z egzocyklicznymi atomami S i O są także silniej przesunięte w dół pola niż te, które przyłączone są do atomów azotu w pierścieniu.

Analiza danych z Tabeli VII.7/1 i Tabeli VII.7/2 doprowadza do wniosku, że zarówno atomy węgla w pierścieniu, jak i te z egzocyklicznych grup metylowych wykazują jedynie niewielkie różnice w wartościach przesunięć chemicznych dla struktur, które służą jako związki modelowe w badaniach równowag tautomerycznych. Największym stosunkowo zmianom podlegają wartości przesunięcia chemicznego atomu węgla C-5, który w trakcie wymiany prototropowej zmienia swoją postać w następujący sposób :



lub



Przejście z formy karbonylowej (lub tionowej) do formy hydroksylowej (lub merkaptylowej) wiąże się ze zmianą wartości przesunięcia chemicznego atomu C-5 wahającą się w granicach 1 - 19 ppm, co jednak jest różnicą zbyt małą aby służyć za podstawę wiarygodnym oszacowaniom ilościowym. Wydaje się więc, że metoda ^{13}C NMR może w najlepszym razie dostarczyć jedynie jakościowych informacji o położeniach równowag tautomerycznych w badanych układach.

W Tabeli VII.7/1 i Tabeli VII.7/2 dla związków tautomerycznych podane są struktury znajdujące się w przewadze w mieszaninie równowagowej. Informacja ta jest dla nas dostępna z omówionych wcześniej wyników badań ^{15}N NMR. We wszystkich tych przy-

padkach dane z pomiarów ^{13}C NMR wskazują na przewagę w danej równowadze tej formy tautomerycznej, której dominacja została już uprzednio stwierdzona metodą ^{15}N NMR, przy czym w tej ostatniej metodzie można było dokładnie oszacować jej zawartość (patrz Rozdziały VII.2. - VII.6.) .

Szczególnie cenne potwierdzenie znajdują w metodzie ^{13}C NMR wnioski pochodzące z rezonansu azotowego, gdy przeważający w równowadze tautomer ma strukturę symetryczną tak, jak obserwujemy to w przypadkach imidazolino-2-tionu 14 i benzimidazo-2-tionu 17. Związki tego typu dają bardzo prosty obraz widma ^{13}C NMR, co świadczy o tym, że istnieją one praktycznie całkowicie jako formy symetryczne.

Żadna ze zmian zachodzących w wartościach obserwowanych dla atomów węgla w pierścieniu nie daje podstaw do podejrzeń, że wymiana tautomeryczna w pochodnych azoli badanego typu obejmuje również atomy węgla. We wspomnianym na wstępie przypadku 5-hydroksypirazolu¹¹⁸ obserwowane zmiany parametrów spektralnych uczestniczącego w wymianie protonu atomu węgla C-4 były rzędu 50 ppm i wiązały się z utratą przez pierścień charakteru aromatycznego.

W przypadku związków z grupy azoli, w których równowaga tautomeryczna zachodzi między atomami azotu w pierścieniu bądź przy udziale egzocyklicznego podstawnika, jedynie metoda ^{15}N NMR jest w stanie dostarczyć wiarygodnych ilościowych oszacowań składu mieszanin tautomerycznych, podczas gdy przy użyciu danych z pomiarów ^{13}C NMR otrzymujemy zgrubne, przybliżone oszacowania. Analogiczna sytuacja wystąpiła przy porównaniu przydatności obydwu tych metod w przypadku merkaptopirydyn⁸⁷ i hydroksypirydyn⁸⁵.

VIII. Podsumowanie i wnioski.

Stosowane dotychczas metody badania tautomerii w związkach heteroaromatycznych pozwalały najczęściej na przybliżone określenie położenia równowagi tautomerycznej, a nieliczne próby ilościowego opisu mieszanin tautomerycznych miały ograniczony zasięg i wyniki obarczone były dużym błędem.

Ilościowe podejście do zjawiska równowagi tautomerycznej w związkach pierścieniowych zawierających azot w cząsteczce okazało się sprawą niezwykle ważną, ponieważ, jak już wspomniano na wstępie, związki tego typu występują w wielu układach o znaczeniu biochemicznym, w których atomy azotu znajdują się w centrum tautomerii tj. biorą bezpośredni udział w wymianie protonu.

Ilościową metodę oznaczania składu mieszanin tautomerycznych za pomocą pomiarów ^{15}N NMR wypróbowano uprzednio z powodzeniem na układach aromatycznych sześcioczłonowych⁸⁵⁻⁸⁷ i niektórych pochodnych benzazoli^{92-94,96,97}. Głównym zadaniem tej pracy było sprawdzenie tej metody na układach aza-aromatycznych pięcioczłonowych, z których wybrano w tym celu grupę azoli i ich niektórych pochodnych o szczególnym znaczeniu biochemicznym.

Parametrami służącymi za podstawę wyliczeń składu badanych mieszanin tautomerycznych były wartości stałych ekranowania atomów azotu uzyskane na drodze pomiarów ^{15}N NMR.

Stwierdzono, że najlepszym wskaźnikiem położenia równowagi tautomerycznej są wartości stałych ekranowania tych atomów azotu, które w czasie wymiany tautomerycznej zmieniają w znaczący sposób swoje otoczenie elektronowe przechodząc z typu pirolowe-

go w pirydynowy i na odwrót. Wartości stałych ekranowania atomów azotu, które spełniają ten warunek, wykazują największą amplitudę zmian przy przejściu z jednej struktury tautomerycznej do drugiej, co powoduje, że błędy spowodowane użyciem pochodnych metylowych jako modeli poszczególnych struktur tautomerycznych są niewielkie i metoda jest w stanie dostarczyć wiarygodnych ilościowych wyników.

Przy różnicy wartości stałych ekranowania atomów azotu w poszczególnych formach tautomerycznych sięgającej ponad 100 ppm, metoda ^{15}N NMR staje się bardzo czułym instrumentem, zdolnym wykryć w mieszaninie równowagowej niewielkie nawet ilości form tautomerycznych znajdujących się tam obok izomeru pozostającego w wyraźnej przewadze. Przypadki takie zostały omówione na przykładzie mieszanin tautomerycznych, w których głównymi składnikami były : 1(2)H-1,2,4-triazol 8 , 1H,3H-imidazolino-2-tion 14 , 2H,4H-1,2,4-triazolino-3-tion 21 i 1H,2H-tetrazolino-5-tion 35 . Dostatecznie duże różnice w wartościach stałych ekranowania atomów azotu biorących bezpośrednio udział w wymianie protonu umożliwiły wykrycie w tych mieszaninach niewielkich, kilkuprocentowych domieszek form o strukturach odpowiednio : 4H-1,2,4-triazolu, 1H-2-merkaptimidazolu, 2H-3-merkaptotetrazolu i 2H-5-merkaptotetrazolu.

Obecność niewielkich ilości form tiolowych wykryto w mieszaninach tautomerycznych badanych merkaptiazoli, natomiast związki tautomeryczne nazywane w tej pracy hydroksyazolami w badanych warunkach występują praktycznie całkowicie w formach azolinonów. W przypadkach 2H,4H-1,2,4-triazolino-3-onu 27 , 2H,4-Me-1,2,4-triazolino-3-onu 28 i 1-Me,4H-tetrazolino-5-

-onu 41 jest to ta spośród dwóch możliwych form onowych, która nie zawiera sprzężenia między wiązaniem podwójnym w pierścieniu a egzocykliczną grupą karbonylową i w której obydwaj atomy azotu sąsiadujące z grupą karbonylową są typu pirolowego. Formy tautomeryczne znajdujące się w przewodzie w mieszaninach tautomerycznych omawianych wyżej pochodnych siarkowych 14 i 21 mają również struktury niesprzężonych tionów. Jedynym odstępstwem od ogólnie obserwowanej tendencji jest zachowanie się 5-merkaptotetrazolu w badanych warunkach równowagi tautomerycznej. Tautomer znajdujący się bowiem w wyraźnej przewodzie w mieszaninie równowagowej tego związku w DMSO ma strukturę 1H,2H-tetrazolino-5-tionu, a więc występuje w nim sprzężenie między wiązaniem podwójnym w pierścieniu a grupą tionową. Odmienne zachowanie się 5-merkaptotetrazolu 35 w warunkach wymiany może być przedmiotem dalszych, dokładnych badań tautomerii w tym związku, poświęconych głównie rozważaniom nad kinetyką procesu wymiany protonu.

W przypadkach tautomerii "pierścieniowej" w azolach metoda ^{15}N NMR umożliwia dokładne, obarczone niewielkim błędem, wyznaczenie zawartości poszczególnych tautomerów w mieszaninie równowagowej. Na podstawie przeprowadzonych badań w DMSO stwierdzono, że w niepodstawionym tetrazolu 11 i w 5-metylomerkaptotetrazolu 38, w których występuje ten typ tautomerii preferowana jest forma 1H-tetrazolu odpowiednio $90 \pm 5\%$ i $85 \pm 5\%$, w mieszaninie tautomerycznej 3-metoksy-1,2,4-triazolu 31 forma 1H-1,2,4-triazolu znajduje się w przewodzie $77 \pm 5\%$, a w równowadze 3-metylomerkapto-1,2,4-triazolu 23 podobnie jak i 1,2,4-triazolu 8 4H-tautomer sta-

nowi jedynie kilkuprocentową domieszkę do form 1H- i 2H-1,2,4-triazolu w mieszaninie równowagowej.

Wykazano, że położenie równowag tautomerycznych typu "pierścieniowego" jest praktycznie niezależne od rodzaju użytego rozpuszczalnika, natomiast nieznacznie zależy od stężenia w danym rozpuszczalniku. Powyższe fakty mogą wskazywać na tworzenie się asocjatów cząsteczek badanych związków, przy czym konkurencyjne tworzenie wiązań wodorowych z rozpuszczalnikiem nie odgrywa znaczącej roli.

W niektórych przypadkach obserwacja widm ^{15}N NMR pozwoliła na wyciągnięcie pewnych wniosków dotyczących dynamiki procesu wymiany protonów w omawianych równowagach tautomerycznych. Dotyczyło to zwłaszcza przypadków, w których niezbyt szybka wymiana protonów prowadziła do niecałkowitego uśrednienia niektórych sygnałów związku 8 i 23, lub w wyniku międzycząsteczkowej wymiany protonów zanikały pewne stałe sprzężenia obserwowane w widmach nieodsprzężonych związków 27. Obserwowane zjawiska pozwalają wysunąć przypuszczenie, że w opisywanych procesach wymiany protonu mamy do czynienia zarówno z międzycząsteczkowym, jak i z wewnątrzcząsteczkowym mechanizmem wymiany tautomerycznej.

Mimo swoich bezspornych zalet, metoda ^{15}N NMR posiada również szereg niedogodności, które niejednokrotnie utrudniały wykonanie lub interpretację widm wykonanych tą techniką. Na skutek niskiej naturalnej zawartości izotopu ^{15}N widma rezonansu jądrowego tego izotopu wykonywane techniką FPT wymagają wielu sumowań, przez co są na ogół czasochłonne. Długie czasy relaksacji jądra ^{15}N powodują, że konieczne staje się stosowanie rea-

gentów relaksacji takich jak używany w omawianych pomiarach $\text{Cr}(\text{acac})_3$, przy czym konieczne jest zachowanie ostrożności aby zbyt duży dodatek reagenta nie wpłynął na wartości stałych ekranowania atomów azotu.

Te właściwości jąder ^{15}N powodują, że w widmach ^{15}N NMR stosunek natężenia sygnałów rezonansowych do szumów jest gorszy niż w innych metodach rezonansowych. Powoduje to w niektórych przypadkach trudności w interpretacji sygnałów atomów azotu, gdy wykazują one poszerzenie skutkiem nie dość szybkich procesów wymiany. Jeżeli liczba sumowań widm nie jest wystarczająco duża, zdarza się, że sygnały takie nie są wśród szumów widoczne. W przypadku omawianych w tej pracy związków sytuacje takie zdarzały się jednak rzadko i na ogół sygnały rezonansowe były wąskie i dobrze widoczne.

Wymienione niedogodności metody ^{15}N NMR nie mają jednak wpływu na fakt, że w przypadku związków aza-aromatycznych metoda ta okazała się najlepszym jak do tej pory instrumentem badawczym służącym do ilościowego oznaczania składu mieszanin tautomerycznych. Należy mieć również nadzieję, że dalsze doskonalenie i unowocześnianie tej techniki pomiarowej doprowadzi wkrótce do zmniejszenia trudności spowodowanych specyficznymi właściwościami jądra ^{15}N . Duże znaczenie może mieć również włączenie do metody ilościowego oznaczania składu mieszanin tautomerycznych nowoczesnych technik impulsowych takich jak INEPT i DEPT oraz pomiarów opartych na wartościach stałych sprzężenia.

Przeprowadzone badania ^{13}C NMR wykazały, że w badanych azo-
lach zmiany zachodzące w wartościach przesunięć chemicznych atomów węgla nie uczestniczących bezpośrednio w wymianie proto-

nu są zbyt małe aby pomiary ^{13}C NMR mogły dostarczyć ilościowych wyników. Błędy spowodowane użyciem pochodnych metylowych jako związków modelowych przekraczają niejednokrotnie zakres tych zmian, co powoduje, że otrzymujemy tylko przybliżone, jakościowe oszacowania składu mieszanin tautomerycznych.

Do oszacowań tego typu najbardziej przydatne okazały się wartości przesunięć chemicznych atomu węgla związanego bezpośrednio z podstawnikiem hydroksylowym lub merkaptylowym. Zmiany w otoczeniu elektronowym tego atomu węgla spowodowane wytworzeniem się w wyniku tautomerii podwójnego wiązania są przyczyną tego, że w wartościach przesunięć chemicznych tego atomu zachodzą między poszczególnymi formami tautomerycznymi największe różnice. Nie są one jednak dostatecznie duże aby służyć za podstawę uzyskania wiarygodnych, ilościowych wyników.

W przypadku omawianych w tej pracy azoli i ich pochodnych metoda ^{13}C NMR spełnia tylko pomocniczą rolę w stosunku do metody ^{15}N NMR, na podstawie której dokonano dokładnych wyliczeń składu mieszanin tautomerycznych.

Metoda ^1H NMR okazała się również zbyt mało czuła na zmiany spowodowane wymianą tautomeryczną w cząsteczkach azoli. Trudności w ustaleniu położenia sygnałów rezonansowych pochodzących od atomów wodoru biorących bezpośrednio udział w wymianie tautomerycznej spowodowały, że w metodzie tej opierano się głównie na obserwacji innych atomów wodoru w cząsteczce patrz Tabela IX/2 . Różnice w wartościach przesunięć chemicznych ^1H NMR pomiędzy poszczególnymi formami tautomerycznymi są jednak, podobnie jak w metodzie ^{13}C NMR zbyt małe w porównaniu z błędem spowodowanym wprowadzeniem do cząsteczki grupy metylowej. Z te-

go powodu pomiary ^1H NMR służyły w tej pracy głównie do wstępnej identyfikacji otrzymywanych związków oraz do przybliżonych jakościowych oszacowań położenia badanych równowag tautomerycznych.

Z punktu widzenia szybkości wymiany protonu w temperaturze pokojowej oraz możliwości występowania symetrii w strukturze badanych cząsteczek, przydatność metod rezonansowych do badania równowag tautomerycznych można sklasyfikować następująco :

- 1/ Wymiana protonu jest szybka i wśród form tautomerycznych znajdujących się w równowadze nie występuje struktura symetryczna. W przypadku takim ilościową ocenę składu mieszaniny tautomerycznej uzyskujemy z obserwacji stałych ekranowania atomu azotu znajdującego się w "centrum tautomerii" tzn. przechodzącego w czasie wymiany z typu pirydynowego w pirolo wy i na odwrót. Parametry spektralne wszystkich pozostałych atomów azotu, jak również i dane z pomiarów ^1H i ^{13}C NMR wnoszą jedynie informacje jakościowe.
- 2/ Wymiana protonu jest szybka i przynajmniej jeden z tautomerów znajdujących się w równowadze ma strukturę symetryczną. Podobnie jak w przypadku poprzednim parametry spektralne atomu azotu znajdującego się w "centrum tautomerii" dostarczają ilościowej oceny składu mieszaniny tautomerycznej. Dane z pomiarów ^{15}N NMR dla atomów azotu nie uczestniczących bezpośrednio w wymianie protonu, podobnie jak wyniki uzyskane metodami ^1H i ^{13}C NMR wnoszą najczęściej informacje ilościowe o położeniu równowagi tautomerycznej.
- 3/ Wymiana protonu jest w skali czasu NMR powolna. W przypadkach takich, na podstawie znajomości wartości parametrów

spektralnych poszczególnych form tautomerycznych można na podstawie widm wykonanych z integracją uzyskać wyniki ilościowe za pomocą każdej z trzech omawianych metod : ^1H , ^{13}C i ^{15}N NMR.

Znajomość podanych wyżej informacji jest cenna z punktu widzenia zasad wyboru metody, którą w przypadku danej równowagi tautomerycznej należy zastosować. W przyszłości, przy szybkim rozwoju technik pomiarowych i komputerowych należy się spodziewać kompleksowego zastosowania danych z jądrowego rezonansu magnetycznego. Zastosowanie to obejmowałoby parametry spektralne stałe ekranowania, stałe sprzężenia wszystkich magnetycznie czynnych jąder w układzie. Uzyskiwane w ten sposób ilościowe oceny składu mieszanin tautomerycznych byłyby znacznie bardziej dokładne od otrzymywanych obecnie.

IX. Część eksperymentalna.

- Widma ^{15}N NMR związków prezentowanych w tej pracy były wykonane przy naturalnej zawartości izotopu ^{15}N . Widma te wykonano głównie na aparatach WH-180 i WH-400 w następujących warunkach
- częstotliwość rezonansowa 18.24 MHz (WH-180) i 40.55 MHz (WH-400) ,
 - próbka rezonansowa o średnicy 10 mm ,
 - standaryzacja wartości stałych ekranowania atomów azotu w stosunku do wzorca zewnętrznego (czysty nitrometan) . Kierunek "plus" na skali (ppm) odpowiada kierunkowi wzrostu natężenia zewnętrznego pola magnetycznego,
 - zakres spektralny -50 do 300 ppm,
 - długość pulsu 15 μs ,
 - czas akwizycji danych 0.5 s ,
 - przerwa relaksacyjna około 2 s ,
 - liczba zsumowanych widm od 3000 do 500000 w zależności od właściwości próbki,
 - szerokopasmowe odsprzęgnięcie protonów, a w niektórych przypadkach odsprzęgnięcie "bramkowane" (gated decoupling), w celu stłumienia efektu Overhausera,
 - temperatura pomiaru pokojowa, tzn. w granicach 25-30°C,
 - stężenie próbek 0.5 mol/l ,
 - na każdy atom azotu w cząsteczce dodano 0.01 mola $\text{Cr}(\text{acac})_3$ w celu skrócenia czasów relaksacji jądrowej,
 - rozpuszczalnik - DMSO- d_6 z wyjątkiem związków 5, 6 i 7, gdzie użyto również acetonu, i metanolu.

Widma ^{13}C NMR wykonano głównie na aparacie Bruker WH-90

o częstotliwości rezonansowej 22.63 MHz jako widma odsprężane szerokopasmowo w DMSO (0.5 mol/l) . Standardem przesunięcia chemicznego był wewnętrzny TMS. Pozostałe warunki pomiarów były standardowe, temperatura w granicach 25-30°C.

Widma ^1H NMR wykonano na aparatach Varian EM-360 i Jeol JNM-4H-100 (częstotliwości rezonansowe odpowiednio 60 MHz i 100 MHz) , w deuterowanym acetonie , przy użyciu TMS jako wzorca wewnętrznego, w temperaturze pokojowej.

Związki : 1, 3, 8, 14, 16, 37 i 17 pochodziły ze źródeł handlowych. Do pomiarów używano ich bez uprzedniego oczyszczania. Autentyczność oraz czystość substancji sprawdzano głównie za pomocą pomiarów temperatury topnienia i widm ^1H NMR (Tabela IX/2) .

Związki : 2¹¹⁹, 5¹²³, 11^{126,127}, 20¹²⁸, 21¹²⁹, 22¹²⁹, 35¹³⁰, 38¹³¹, 41¹²¹ i 19¹²² otrzymano według znanych, opublikowanych przepisów preparatywnych. Czystość otrzymanych związków sprawdzano za pomocą klasycznych metod takich jak pomiar temperatury topnienia i analiza elementarna oraz metodami spektralnymi jak ^1H NMR (Tabela IX/2) i IR. Widma IR wykonano na aparatach Acculab-1 i IR-4240 firmy Beckman.

Sposoby otrzymania tych pochodnych metylowych, służących w omawianych metodach jako związki modelowe, które były uzyskiwane na drodze metylowania, podano w Tabeli IX/1. Umieszczone w Tabeli odnośniki literaturowe dotyczą przypadków, w których dany związek otrzymywany był w analogii do opublikowanego przepisu preparatywnego bądź stanowią odsyłacze do opublikowanych prac autorki.

Tabela IX/1

Metody otrzymywania przez metylowanie związków służących jako modele poszczególnych form tautomerycznych azoli i ich niektórych merkaptylowych oraz hydroksylowych pochodnych.

Związek	Związek wyjściowy	Odczynnik metylujący	Rozpuszczalnik	Wydajność reakcji	Oдноśnik literaturowy
<u>4</u>	<u>3</u>	Me ₂ SO ₄	MeOH + MeONa	65%	niniejsza praca
<u>6</u>	<u>5</u>	CH ₂ N ₂	Et ₂ O	68%	} niniejsza praca
<u>7</u>	<u>5</u>	CH ₂ N ₂	Et ₂ O	14%	
<u>12</u>	<u>11</u>	Me ₂ SO ₄	H ₂ O + NaOH 10%	4%	} niniejsza praca
<u>13</u>	<u>11</u>	Me ₂ SO ₄	H ₂ O + NaOH 10%	55%	
<u>15</u>	<u>16</u>	Me ₂ SO ₄	MeOH + MeONa	62%	111
<u>18</u>	<u>19</u>	Me ₂ SO ₄	MeOH + MeONa	63%	133
<u>23</u>	<u>21</u>	CH ₂ N ₂	Et ₂ O + MeOH	34%	132
<u>24</u>	<u>21</u>	CH ₂ N ₂	Et ₂ O + MeOH	8%	132
<u>25</u>	<u>21</u>	CH ₂ N ₂	Et ₂ O + MeOH	58%	132
<u>26</u>	<u>22</u>	Me ₂ SO ₄	MeOH + MeONa	65%	132
<u>28</u>	<u>27</u>	CH ₂ N ₂	Et ₂ O + MeOH	10%	132
<u>29</u>	<u>27</u>	CH ₂ N ₂	Et ₂ O + MeOH	39%	132
<u>30</u>	<u>27</u>	CH ₂ N ₂	Et ₂ O + MeOH	4%	132

Tabela IX/1 - c.d.

<u>31</u>	<u>27</u>	CH ₂ N ₂	Et ₂ O + MeOH	21%	132
<u>32</u>	<u>27</u>	CH ₂ N ₂	Et ₂ O + MeOH	15%	132
<u>33</u>	<u>27</u>	CH ₂ N ₂	Et ₂ O + MeOH	16%	132
<u>36</u>	sól sodowa 2-metylo-5-SH-tryazolu	Me ₂ SO ₄	MeOH + H ₂ O	3%	134
<u>39</u>	<u>38</u>	CH ₂ N ₂	Et ₂ O	48%	135
<u>40</u>	<u>38</u>	CH ₂ N ₂	Et ₂ O	28%	135
<u>42</u>	<u>41</u>	CH ₂ N ₂	Et ₂ O	83%	121

3-hydroksy-1,2,4-triazol 27 otrzymano przez powolne ogrzewanie na łaźni olejowej do 230°C (temperatura łaźni) 10g 0.09M chlorowodoru semikarbazydu z 6.2g 0.1M 90% kwasu mrówkowego, pod chłodnicą zwrotną wyposażoną w absorber HCl. Ogrzewanie kontynuowano do czasu, gdy ustało wydzielanie gazowego HCl (około 2 godzin). Po oziębieniu zawartość kolby reakcyjnej rozpuszczono w metanolu i dwukrotnie przekryształizowano. Otrzymany krystaliczny produkt (6.5g, 86% wydajności reakcji) miał temperaturę topnienia 234-235°C i został zidentyfikowany jako 3-hydroksy-1,2,4-triazol. Analiza elementarna wykazała co następuje:

	Wyliczono:	Otrzymano:
C	28.23%	28.27%
H	3.53%	3.51%
N	49.41%	49.07%

Związki 28, 29, 30, 31, 32 i 33 otrzymano w następujący sposób : 10g związku 27 rozpuszczono w 100 cm³ metanolu, oziębiono do 0°C i następnie powoli dodawano roztworu diazometanu w eterze etylowym aż do uzyskania trwałego żółtego zabarwienia mieszaniny reakcyjnej. Po pozostawieniu mieszaniny reakcyjnej w temperaturze 0°C przez 18 godzin, roztwór stał się bezbarwny. Po odparowaniu rozpuszczalników pozostałość reakcyjną wprowadzono na kolumnę chromatograficzną wypełnioną żelalem silikonowym Kieselgel 60 (Merck). Jako eluenta użyto mieszaniny CCl₄:Et₂O w stosunku objętościowym 6:1. Sekwencja otrzymanych z kolumny produktów była następująca :

1. związek 32, t.t. 149-150°C, 1.2g ;
2. związek 33, bezbarwny olej, 1.3g ;
3. związek 31, t.t. 95-96°C, 1.7g ;
4. związek 30, ok. 0.03g
5. związek 28, t.t. 153-156°C, 0.8g ;
6. związek 29, t.t. 45-46°C, 3.2g .

Czystość i struktury wszystkich otrzymanych z kolumny związków były sprawdzone za pomocą metod ¹H, ¹³C, ¹⁵N NMR oraz IR.

Związki 23, 24 i 25 otrzymano metylując związek 21 10g w analogiczny sposób, jak opisany powyżej dla związku 27. Po odparowaniu rozpuszczalników pozostałość reakcyjną wprowadzono na kolumnę chromatograficzną wypełnioną żelalem silikonowym Kieselgel 60 Merck . Jako eluenta użyto mieszaniny CCl₄:Et₂O, przy czym polarność jej zmieniano stopniowo od 7:1 v/v do 5:1.

Produkty reakcji otrzymano z kolumny w następującej kolejności

1. związek 24, bezbarwny olej, 0.6g ;

2. związek 25, t.t. 93-94°C, 4.2g ;
3. związek 23, t.t. 100-101°C, 2.5g .

Czystość i struktury wszystkich otrzymanych z kolumny związków były sprawdzone za pomocą metod ^1H , ^{13}C , ^{15}N NMR oraz IR.

Związek 10 (4-metylo-1,2,4-triazol) otrzymano ogrzewając w temperaturze 200°C w autoklawie (w ciągu 24 godzin) 95g (1.08 mola) N,N-diformylohydrazyny³² i 100 cm³ N-metyloaminy. Obok głównego produktu reakcji - N-metyloformamidu otrzymano jako pozostałość po destylacji 2.4g (3% wydajności reakcji) krystalicznej substancji, która po dwukrotnym przekrystalizowaniu z metanolu wykazała t.t. 122°C i została zidentyfikowana jako 4-metylo-1,2,4-triazol. Analiza elementarna tego związku wykazała:

	Wyliczono:	Otrzymano:
C	43.47%	43.52%
H	6.03%	6.03%
N	50.60%	50.27%

W Tabeli IX/2 podano wartości przesunięć chemicznych atomów wodoru otrzymane metodą ^1H NMR dla omawianych w tej pracy merkaptylowych i hydroksylowych pochodnych azoli. Dane te służyły głównie wstępnej identyfikacji przeznaczonych do badań metodami ^{13}C i ^{15}N NMR struktur. Numeracja atomów w pierścieniach związków prezentowanych w Tabeli IX/2 jest analogiczna do użytej w Rozdziale VII.7 poświęconym badaniom ^{13}C NMR.

Tabela IX/2

Wartości przesunięć chemicznych atomów wodoru ^1H NMR w cząstkach niektórych merkaptazoli i hydroksyazoli oraz ich metylowych pochodnych w deuterowanym acetonie. Standard - TMS.

Związek	Przesunięcia chemiczne ^1H NMR (δ) [ppm]					
	H-2	H-3	Me-1	Me-2	Me-4	OMe lub SMe
<u>14</u>	7.05	7.05				
<u>15</u>	7.30	7.15	3.65			2.56
<u>16</u>	7.13	7.02	3.65			
<u>21</u>		8.35				
<u>22</u>		8.42			3.60	
<u>23</u>		8.50				2.63
<u>24</u>		8.00	2.80			2.70
<u>25</u>		8.45		3.90		2.50
<u>26</u>		8.65			3.70	
<u>27</u>		7.80				
<u>28</u>		7.80			3.32	
<u>29</u>		7.70	3.37		3.37	
<u>30</u>		8.20	3.95	3.90		
<u>31</u>		8.00				4.05
<u>32</u>		7.65	3.62			4.12
<u>33</u>		8.10		3.80		3.95
<u>38</u>						3.00
<u>39</u>			4.40			3.10
<u>40</u>				4.70		2.90
<u>41</u>			3.60			
<u>42</u>			3.65		3.65	

X. Spis literatury.

1. A.R.Katritzky, G.W.Rees, "Comprehensive Hetrocyclic Chemistry", tom 5., Pergamon Press, 1984.
2. A.R.Katritzky, J.M.Lagowski, "Advances in Heterocyclic Chemistry",+Suppl.1, Academic Press, New York and London, 1963.
3. L.Skulski, Roczniki Chemii, 46, 2139 (1972) .
4. T.Isida, T.Akiyama, K.Nabika, K.Sisido, S.Kozima, Bull.Chem.Soc.Japan., 46, 1260 (1973) .
5. J.Daunis, Y.Guindo, R.Jacquier, Bull.Soc.Chim.Fr., 3296(1971)
6. A.J.Blackman, J.H.Bowie, Aust.J.Chem., 25, 335 (1972) .
7. A.Macquestiau, Y.Van Haverbecke, R.Flammang, J.Elguero, Org.Mass Spectrom., 7, 271 (1973) .
8. T.L.Gilchrist, G.E.Gymer, G.W.Rees, J.Chem.Soc.Perkin Trans.I 1 (1975) .
9. D.M.Forkey, W.R.Carpenter, Org. Mass Spectr., 2, 433 (1969) .
10. P.Mauret, J.-P.Fayet, M.Fabre, Bull.Soc.Chim.Fr., 1675 (1975) .
11. A.Julg, Theoret.Chim.Acta, 2, 134 (1964) .
12. W.Hückel, W.Jahnetz, Chem.Ber., 74, 652 (1941) .
13. H.Zimmermann, J.Elektrochim., 65, 821 (1961) .
14. A.Macquestiau, A.Sayarh, M.Gelize-Duvigneau, J.Arriau, Bull.Soc,Chim.Belg., 88, 289 (1979) .
15. I.Jano, Compt.Rend.Acad.Sci., 261, 103 (1965) .
16. J.Elguero, R.Faure, J.P.Galy, E.J.Vincent, Bull.Soc.Chim.Belg., 84, 499 (1975) .
17. C.Sabaté-Alduy, J.Bastide, J.Canad.Chem., 54, 1752 (1976) .
18. M.Charton, J.Org.Chem., 30, 3346 (1965) .
19. M.Charton, J.Chem.Soc., B , 1240 (1969) .

20. J.Elguero, C.Marzin, A.R.Katritzky, P.Linda, "Advances in Heterocyclic Chemistry", Suppl.1,280 (1976) .
21. M.R.Grimmett, "Advances in Heterocyclic Chemistry", 27, 241 (1980) .
22. A.R.Katritzky, P.J.Taylor, Phys.Methods Heterocycl.Chem., 4, 265 (1971) .
23. J.C.Howard, H.A.Burch, J.Org.Chem., 26, 1651 (1961) .
24. J.P.Horwitz, B.E.Fischer, A.J.Tomasewski, J.Am.Chem.Soc., 81, 3076 (1959) .
25. H.G.Mautner, W.D.Kumler, J.Am.Chem.Soc., 77, 4076 (1955) .
26. E.Lieber, C.N.R.Rao, C.N.Pillai, J.Ramchandran, R.D.Hites, Can.J.Chem., 36, 801 (1958) .
27. J.C.Kauer, W.A.Sheppard, J.Org.Chem., 32, 3586 (1967) .
28. S.Kubota, M.Uda, Chem.Pharm.Bull., 21, 1342 (1973) .
29. A.A.Gordon, A.R.Katritzky, F.D.Popp, Tetrahedron, Suppl.7, 22, 213 (1966) .
30. A.J.Blackman, J.B.Polya, J.Chem.Soc. C , 1016 (1971) .
31. P.Gold-Aubert, D.Melkonian, L.Toribio, Helv.Chim.Acta, 47 1188 (1964) .
32. C.Ainsworth, R.G.Jones, J.Am.Chem.Soc., 77, 621 (1955) .
33. T.Bougault, L.Popovici, Compt.Rend.Acad.Sci., 189, 188 (1929)
34. O.Tsuge, S.Kanemasa, M.Tashiro, Tetrahedron, 24, 5205 (1968)
35. J.-F.Giudicelli, J.Menin, H.Najer, Bull.Soc.Chim.Fr., 4568 (1968) .
36. H.Gehlen, Ann., 563, 185 (1949) .
37. M.Girard, Compt.Rend.Acad.Sci., 212, 547 (1941) .
38. G.Rapi, M.Ginnaneschi, E.Belgodere, M.Chelli, J.Heterocycl.Chem., 9, 285 (1972) .

39. L.Skulski, Zeszyty Naukowe Politechniki Warszawskiej, 140,
Chemia, Zeszyt 5, Warszawa (1966.)
40. L.Skulski, M.L.Wojciechowska, Pol.J.Chem., 55, 2369 (1981) .
41. M.L.Wojciechowska, L.Skulski, Pol.J.Chem., 56, 367 (1982) .
42. D.Maciejewska, L.Skulski, Bull.Pol.Ac;Chem., 27, 249 (1979).
43. G.A.Reynolds, J.A.VanAllan, J.Org.Chem., 24, 1478 (1959) .
44. J.Sandström, I.Wennerbeck, Acta Chem.Scand., 20, 57 (1966) .
45. W.L.F.Armarego, Phys.Methods Heterocycl.Chem., 3 67 (1971)
46. K.Schofield, M.R.Grimmett, B.R.T.Keene, "Heteroaromatic Nitrogen Compounds; The Azoles", Cambridge Univ.Press 346, (1976)
47. G.B.Barlin, T.J.Batterham, J.Chem.Soc. B , 516 (1967) .
48. L.T.Creagh, P.Trüitt, J.Org.Chem., 33, 2956 (1968) .
49. M.L.Roumestant, P.Viallefont, J.Elguero, J.Jacquier, Tetrahedron Lett., 495 (1969) .
50. L.Lunazzi, F.Parisi, D.Macciantelli, J.Chem.Soc. Perkin Trans. II, 1025 (1984) .
51. A.N.Nesmeyanov, E.B.Zavelovich, V.N.Babin, N.S.Kochetkova, E.I.Fedin, Tetrahedron 31, 1461 (1975) .
52. A.N.Nesmeyanov, E.B.Zavelovich, V.N.Babin, N.S.Kochetkova, E.I.Fedin, Tetrahedron 31, 1463 (1975) .
53. S.R.F.Kagaruki, T.Kitazuma, N.Ishikawa, Bull.Chem.Soc.Japan, 54, 3221 (1981) .
54. J.Elguero, C.Marzin, J.D.Roberts, J.Org.Chem., 39, 357 (1974)
55. F.Blomberg, W.Maurer, H.Rüterjans, J.Am.Chem.Soc., 99, 8149 (1977) .
56. M.Alei Jr., L.O.Morgan, W.E.Wagenen, T.W.Whaley, J.Am.Chem.Soc., 102, 2881 (1980) .

57. V.A.Lopyriev, L.I.Larina, T.I.Vakulskaya, *Org.Magn.Reson.*, 15, 219 (1981) .
58. E.P. Papadopoulos, U.Hollstein, *Org.Magn.Reson.*, 19, 188 (1982)
59. M.C.Thorpe, W.C.Coburn Jr., J.A.Montgomery, *J.Magn.Reson.*, 98 (1974) .
60. R.N. Butler, T.M. McEvoy, F.L.Scott, J.C.Tobin, *Can.J.Chem.*, 55, 1564 (1977) .
61. F.J.Weigert, J.D.Roberts, *J.Am.Chem.Soc.*, 90, 3543 (1968) .
62. M.Begtrup, *J.Chem.Soc.Chem.Comm.*, 702 (1974) .
63. W.M.Litchmann, *J.Am.Chem.Soc.*, 101, 545 (1979) .
64. M.T.Chenon, C.Coupry, D.M.Grant, R.J.Pugmire, *J.Org.Chem.*, 42, 659 (1977) .
65. H.Fritz, *Bull.Soc.Chim.Belg.*, 93, 559 (1984) .
66. U.Svanholm, *Acta Chem.Scand.*, 26, 459 (1972) .
67. A.Könnecke, E.Lippmann, E.Kleinpeter, *Z.Chem.*, 15, 402 (1975)
68. J.R.Bartels-Keith, M.T.Burgess, J.M.Stevenson, *J.Org.Chem.*, 42, 3725 (1977) .
69. J.Elguero, A.Fruchier, V.Pellegrin, *J.Chem.Soc.Chem.Comm.*, 23, 1207 (1981) .
70. R.Faure, E-J.Vincent, J.Elguero, *Heterocycles*, 20, 1713 (1983)
71. M.Witanowski, G.A.Webb, "Nitrogen NMR", Plenum Press, London 1973.
72. M.Witanowski, L.Stefaniak, G.A.Webb, "Annual Reports on NMR Spectroscopy", t.7, Academic Press, London 1977.
73. M.Witanowski, L.Stefaniak, G.A.Webb, "Annual Reports on NMR Spectroscopy", t.11B, Academic Press, London 1981.
74. M.Witanowski, L.Stefaniak, G.A.Webb, "Annual Reports on NMR Spectroscopy", t.18, Academic Press, London, New York, 1986.

75. L.Stefaniak, "Postępy w zastosowaniu technik rezonansowych w chemii", Rozdział 9, PWN, Warszawa 1984.
76. G.C. Levy, R.L.Lichter, "Nitrogen-15 NMR Spectroscopy" ed.J.Wiley, New York 1979.
77. G.J.Martin, M.L.Martin, J.P.Gouesnard, "NMR basic principles and progress" t.18, 1981.
78. W.von Philipsborn, Angewan.Chemie, 25, 383 (1986) .
79. H.Schultheiss, E.Fluck, Z.Naturforschung, B32, 257 (1977) .
80. M.Witanowski, L.Stefaniak, S.Szymański, Z.Grabowski, G.A.Webb J.Magn.Reson., 21, 185 (1976) .
81. M.Witanowski, L.Stefaniak, S.Szymański, G.A.Webb, Bull.Pol. Ac.:Chem., 26, 285 (1978) .
82. L.Stefaniak, Bull.Pol.Ac.:Chem., 26, 291 (1978) .
83. M.Witanowski, L.Stefaniak, B.Kamiński, S.Biernat, J.Magn. Reson., 43, 456 (1981) .
84. D.S.Wofford, D.M.Forkey, J.G.Russell, J.Org.Chem., 47, 5132 (1982) .
85. L.Stefaniak, Tetrahedron 32, 1065 (1976) .
86. L.Stefaniak, J.Wielgat, Bull.Pol.Ac.:Chem., 26, 859 (1978) .
87. L.Stefaniak, Org.Magn.Reson., 12, 379 (1979) .
88. M.Witanowski, L.Stefaniak, H.Januszewski, Z.Grabowski, Tetrahedron, 28, 637 (1972) .
89. I.I.Schuster, J.D.Roberts, J.Org.Chem., 44, 3864 (1979) .
90. W.W.Bachovchin, J.D.Roberts, J.Am.Chem.Soc., 100, 8041 (1978).
91. M.Munowitz, W.W.Bachovchin, J.Herzfeld, C.M.Dobson, R.G.Griffin, J.Am.Chem.Soc., 104, 1192 (1982) .
92. W.Schilf. L.Stefaniak, M.Witanowski, G.A.Webb, J.Mol.Struct., 140, 311 (1986).

93. W.Schilf, L.Stefaniak, M.Witanowski, G.A.Webb, Mag.Res.Chem., 23, 181 (1985) .
94. W.Schilf, L.Stefaniak, M.Witanowski, G.A.Webb, Bull.Pol.Ac.: Chem., 33, 437 (1985) .
95. H.Fritz, H.Kristinsson, T.Winkler, Helv.Chim.Acta, 66 , 1755 (1983) .
96. W.Schilf, L.Stefaniak, M.Witanowski, G.A.Webb, Mag.Res.Chem., 23, 784 (1985) .
97. W.Schilf, L.Stefaniak, M.Witanowski, G.A.Webb, S.Braun, Spectrosc.Int., 4, 103 (1985) .
98. M.Schumacher, H.Günther, Chem.Ber., 116, 2001 (1983) .
99. M.Begtrup, J.Chem.Soc., Perkin.Trans.II, 1176 (1976) .
100. J.P.Jacobsen, O.Snerling, E.J.Pedersen, J.T.Nielsen, K.Schaumburg, J.Magn.Reson., 10, 130 (1973) .
101. B.C.Chen, W. von Philipsborn, K.Nagarajan, Helv.Chim.Acta, 66, 1537 (1983) .
102. M.Witanowski, L.Stefaniak, S.Szymański, H.Januszewski, J.Magn.Reson., 28, 217 (1977) .
103. M.Witanowski, S.Biernat, L.Stefaniak, A.J.Mikhaleva, G.A.Webb Bull.Pol.Ac.:Chem., 29, 17 (1981) .
104. I.Ando, G.A.Webb, "Theory of NMR Parameters", Academic Press, London 1983.
105. M.Jallali-Heravi, G.A.Webb, J.Magn.Reson., 32, 429 1978 .
106. B.Na Lamphun, G.A.Webb, M.Witanowski, Org.Magn.Reson., 21 501 (1983) .
107. M.Witanowski, L.Stefaniak, G.A.Webb, J.Magn.Reson., 36, 227 (1979) .

108. M.Witanowski, L.Stefaniak, H.Januszewski, G.A.Webb, Bull.Pol.Ac.:Chem., 21, 71 (1973) .
109. L.Stefaniak, J.D.Roberts, M.Witanowski, G.A.Webb, Org.Magn. Reson., 22, 215 (1984) .
110. I.I.Scuster, C.Dyllick-Brenzinger, J.D.Roberts, J.Org.Chem. 44, 1765 (1979) .
111. E.Bojarska-Olejniak, L.Stefaniak, M.Witanowski, B.T.Hamdi, G.A.Webb, Magn. Res. Chem., 23, 166 (1985) .
112. G.Assef, J.Kister, J.Metzger, R.Faurè, E.J.Vincent, Tetra- hedron Lett., 37, 3313 (1976) .
113. C.W.N.Cumper, G.D.Pickering, J.Chem.Soc., Perkin Trans. II, 2045 (1972) .
114. W.Schilf, L.Stefaniak, M.Witanowski, G.A.Webb, J.Y.Lallemano E.Guittet, Bull.Pol.Ac.:Chem., 34, 9 (1986) .
115. D.B.Saxena, R.K.Khajuria, O.P.Suri, Heterocycl. Chem., 19, 681 (1982) .
116. E.Bojarska-Olejniak, L.Stefaniak, M.Witanowski, G.A.Webb, Bull.Pol.Ac.:Chem., 34, 289 (1986) .
117. E.Lieber, J.Ramchandran, C.N.R.Rao, C.N.Pillai, Can.J.Chem. 37, 563 (1959) .
118. D.Zeigan, E.Kleinpeter, H.Wilde, G.Mann, J.Prakt.Chem., 323 188 (1981) .
119. I.L.Finer, G.H.Lord, J.Chem.Soc., 3314 (1957) .
120. C.Pedersen, Acta Chem.Scand., 13, 888 (1959) .
121. K.Hattori, E.Lieber, J.P.Horwitz, J.Am.Chem.Soc., 78, 411 (1956) .
122. H.Zinner, O.Schmitt, W.C.Schritt, G.Rembarz, Chem.Ber., 90, 2852 (1957) .

123. O.Baltzer, H.v.Pechmann, Justus Liebigs Ann.Chem., 262, 314 (1891) .
124. R.Hüttel, G.Welzel, Justus Liebigs Ann.Chem., 593, 209 (1955)
125. C.Ainsworth, R.G.Jones, J.Am.Chem.Soc., 77, 621 (1955) .
126. R.Stolle, Chem.Ber., 62, 1118 (1929) .
127. R.A.Henry, W.G.Finnegan, J.Am.Chem.Soc., 76, 290 (1954) .
128. R.G.Fenton, R.Wilks, T.L.Hutchinson, J.Am.Chem.Soc., 95, 1320,1330 (1973) .
129. M.Freund, Chem.Ber., 29, 2483 (1896) .
130. M.Freund, Th.Pardies, Chem.Ber., 34, 3110 (1901) .
131. E.Lieber, T.Enkoji, J.Org.Chem., 26, 4472 (1961) .
132. E.Bojarska-Olejniak, L.Stefaniak, M.Witanowski, G.A.Webb, Bull.Pol.Ac.:Chem., 34, 295 (1986) .
133. E.Bojarska-Olejniak, L.Stefaniak, M.Witanowski, G.A.Webb, Bull.Pol.Ac.:Chem., 1987, w druku.
134. E.Bojarska-Olejniak, L.Stefaniak, M.Witanowski, G.A.Webb, Bull.Chem.Soc.Japan, 59, 3263 (1986) .
135. E.Bojarska-Olejniak, L.Stefaniak, M.Witanowski, G.A.Webb, Bull.Pol.Ac.:Chem., 33, 375 (1985) .
136. E.Bojarska-Olejniak, L.Stefaniak, M.Witanowski, G.A.Webb, Magn.Res.Chem., 24, 911 (1986) .



B. 163/87

Biblioteka Instytutu Chemii Organicznej PAN

O-B.163/87



8000000098218