

ИНСТИТУТ ПО ОБЩА И НЕОРГАНИЧНА ХИМИЯ
БЪЛГАРСКА АКАДЕМИЯ НА НАУКИТЕ



София Славова

АВТОРЕФЕРАТ

на дисертация
за присъждане на образователна и научна степен „доктор”

**Механизми на пребиотични реакции на
основата на формамид – *ab initio* моделиране**

Научен ръководител: проф. дн Венелин Енчев

София

2021 г.

Дисертационната работа съдържа 118 страници. Включва 58 фигури и 3 таблици. Библиографията обхваща 218 заглавия. Резултатите са публикувани в 3 научни статии.

Дисертацията е обсъдена и насочена за защита от Колоквиума на ИОНХ – БАН на 9.02.2021 г.

Докторантът е зачислен на самостоятелна подготовка по специалността „Теоретична химия“ към Института по обща и неорганична химия – БАН. Изследванията по дисертационната работа са извършени в лаб. „Теоретична и Изчислителна химия“ ИОНХ – БАН.

Защитата ще се състои на 01.06.2021 от 14:00 ч. в гр. София, ул. Акад. Г. Бончев, бл.11 ет. 4, стая 427, зала Болцман на заседание на научно жури в състав:

1. доц. д-р Ивелина Георгиева – ИОНХ, БАН (председател);
2. проф. д-р Наташа Трендафилова – ИОНХ, БАН;
3. проф. дн Соня Илиева – ФХФ, Софийски университет (рецензент);
4. проф. дн Васил Делчев – Пловдивски университет (рецензент);
5. доц. д-р Диана Чешмеджиева – ФХФ, Софийски университет.

Материалите по защитата са на разположение на интересувашите се в канцеларията на ИОНХ-БАН.

УВОД

Кога, къде и как възниква животът на Земята? Тези въпроси за произхода на живота са сред най-големите нерешени проблеми в естествените науки и предизвикват голям интерес сред учените. След основната публикация *Происхождение жизни* на Александър Опарин са проведени различни експерименти, довели до натрупването на значително количество данни през последните 100 години.

Наличието на биомолекули играе ключова роля за възникването на живота на Земята. Експериментално е показано, че формамидът, който е една от най-разпространените молекули във Вселената, е стартова молекула в пребиотичния синтез.

Синтезите на биомолекули на основата на формамид, катализирани или инициирани от извънземни минерали са едни от най-обсъжданите в областта на пребиотичната химия. Saladino *et al* показват, че богати на формамид извънземни тела биха могли да доставят голяма палитра от биомолекули на ранната Земя. Авторите показват, че облъчване на формамид с бързи протони, използвани за симулиране на слънчевия вятър, в присъствието на избрани извънземни материали (проби от основните класове метеорити) може да доведе до синтезата на много основни компоненти на *началната супа* по време на ранната слънчева система. Използвайки мас-спектрометрия като аналитичен метод, Saladino *et al* откриват нуклеинови бази, аминокиселини, захари, карбоксилни киселини и нуклеозиди. Една от най-сложните задачи на пребиотичния синтез е изследването на предпочетен реакционен път, водещ до образуването на нуклеобазы, нуклеотиди, аминокиселини, захари и молекули, важни за произхода на живота.

Въпреки значителния напредък в разработването на инструментални методи за изследване на пребиотични реакции, за детайлно разбиране на реакционните механизми, изчисляването на енергетичните бариери и търсенето на най-рационалните реакционни пътища, е необходимо по-широко приложение на методите на компютърната химия. Мощен инструмент за моделиране на механизма на пребиотични химични реакции са *ab initio* методите, които дават достоверна информация за междинни продукти, енергетични бариери и преходни състояния. Тази информация дава възможност да се избере най-изгодния реакционен път.

ЦЕЛИ И ОСНОВНИ ЗАДАЧИ

Изследванията, проведени в дисертацията са част от отговора на фундаменталния въпрос за произхода на живота. Работата е фокусирана върху разработването на единни теоретични подходи, при които съвместно с експерименталните резултати се отчита възможното влияние на различни фактори за произхода на живота. Всички изследвания, включени в тази работа са изцяло от фундаментален характер.

Целта на представеното теоретично изследване е намиране на пътя, по който се получават нуклеинови бази и птерин от формамид в кондензирана среда без участие на катализатор и механизмите, по които се извършват реакциите.

В рамките на това изследване са поставени следните **основни задачи**:

- Квантово-химично *ab initio* моделиране на механизмите на пребиотични реакции с участието на формамид;
- Търсене на възможни пътища и на най-рационалните механизми за реакции;
- Подробно изследване на междинни продукти, енергетични бариери и преходни състояния на моделирани реакции;
- Разглеждане на ефектите на средата върху съответните реакции;
- Изграждане на мрежа от автокаталитични пребиотични реакции.

3 РЕЗУЛТАТИ

Теоретичните изследвания, описани в дисертацията, са предшествани от експериментални проучвания, направени от нашите колеги в рамките на проект ДН09/7/2016. Експериментите се състоят в термично или микровълново загряване на чист формамид в запоеени ампули под вакуум. Термичното загряване е проведено при различни температури и различна продължителност на загряването.

Получените съединения са доказани с GC-MS спектрален анализ.

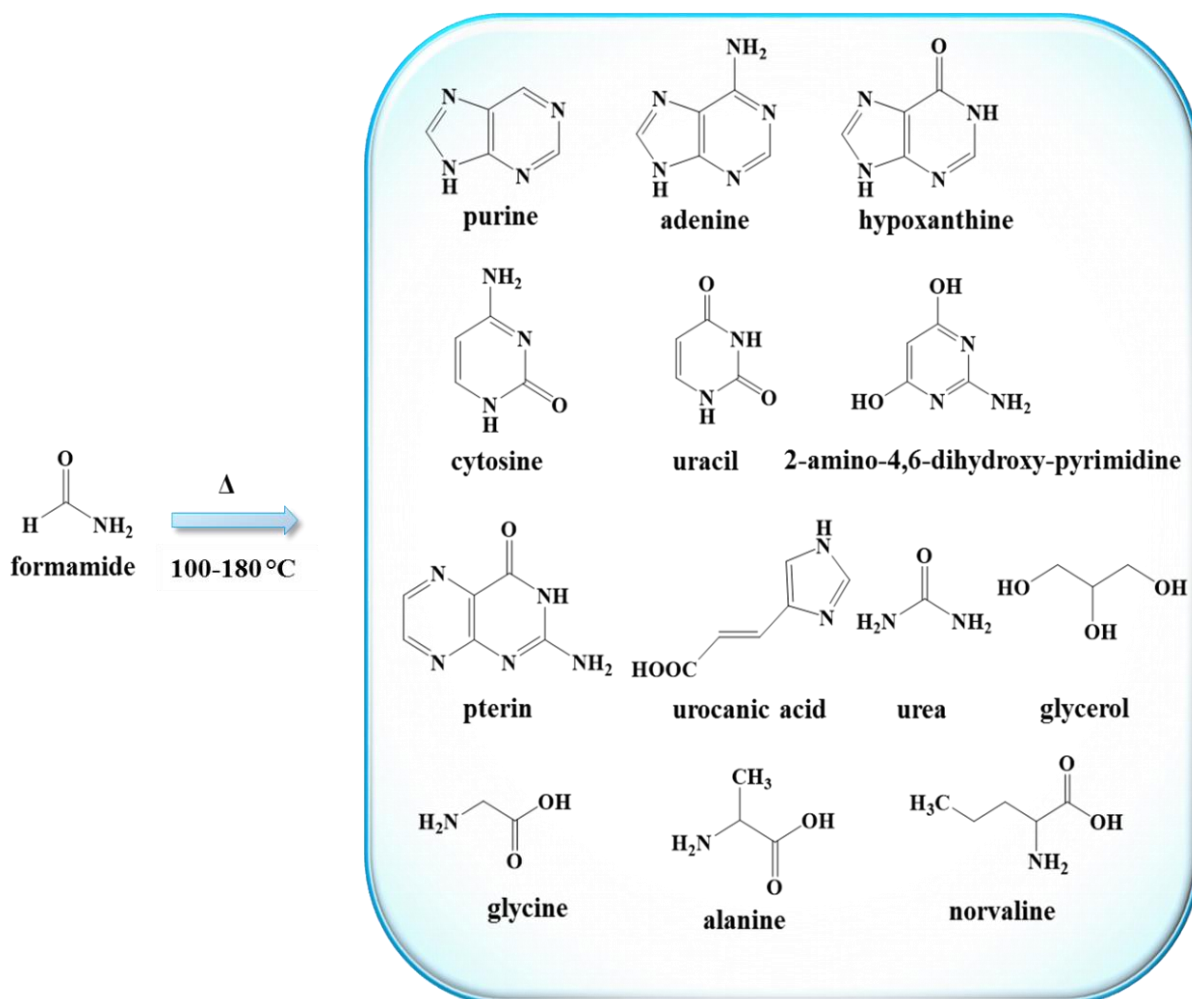
В резултат на експеримента е показано (Фигура 3.1), че при загряване на чист формамид при 100°C в рамките на две седмици се образуват карбамид и глицерол. При загряване на формамид при 120°C в продължение на две седмици в допълнение към карбамид и глицерол се получават малки количества пурин и аденин. Когато чистият формамид се загрява при 140°C в продължение на една седмица, освен карбамид, който е в най-голямо количество, се получават пурин и аденин. В малки количества се образуват цитозин и глицин. Панел от 10 съединения се получава след загряване на чист формамид при 140°C в продължение на две седмици – карбамид, пурин, пуриновите нуклеобазис - аденин и хипоксантин, пиримидиновите нуклеобазис - цитозин и урацил, аминокиселината глицин, (E)-уроканова киселина, етаноламин и птерин. Птерин, който е наричан още „молекулен фосил“, се открива за първи път в подобни експерименти.

Нагряването на чист формамид при различни температури води до промяна на цвета на пробата. Формамидът остава безцветна течност след загряване при 100°C в продължение на 2 седмици, при 120°C в продължение на 1 седмица и при 160°C в продължение на 48 и 72 часа. Когато загряването е при 120°C в продължение на 2 седмици и при 170°C в продължение на 24, 48 или 72 часа, цветът на пробите е тъмножълт. След загряване при 140°C в продължение на 1-2 седмици, или при 180°C в продължение на 1-3 дни цветът на пробите е тъмнокафяв до черен. Вероятно цветът се дължи на термична деградация на формамид или на образуването на полимери на циановодорода, известни също като HCN олигомери, които са разнородни, вариращи в цвят от жълто или оранжево до кафяво или черно, в зависимост от степента на полимеризация. Структурите на тези олигомери остават противоречиви. Те не са напълно характеризирани поради сложния си състав и разнороден характер.

Експерименти със загряване на чист формамид при 160°C в продължение на 48 часа и в присъствието на естествено срещащи се минерали или метеорити като катализатори са проведени от Saladino, Di Mauro *et al.* Те получават пуринови и пиримидинови нуклеобазис и аминокиселини.

Нашите резултати показват, че при загряване на чист формамид при 160°C в продължение на 48 часа се образуват нуклеобазисите – пурин, хипоксантин, цитозин и урацил и аминокиселината глицин, както и птерин. Пурин е съединението, което се получава в най-голямо количество, следват карбамид, N-формилглицин, цитозин и уроканова киселина. След загряване при 170°C в продължение на 48 часа освен предишните съединения се получават аденин, глицерол и L-норвалин. Аланин и N-ацетилглицин са открити чрез загряване при 180°C в продължение на 48 часа. При загряване на формамид при 170°C за 24 часа са намерени пурин, цитозин, аденин, карбамид, етаноламин и глицерол, докато при температура 180°C за 29 часа са открити общо девет съединения. Четири от тях, хипоксантин, 2-амино-4,6-дихидрокси-пиримидин, (E)-уроканова киселина и птерин са в допълнение към предишните. След загряване на формамид при 180°C в продължение на 72 часа се получава голям панел от съединения – общо деветнадесет. Аминокиселината аланин беше намерена само чрез нагряване на формамид при 180°C в продължение на 48 и 72 часа. Количеството на пурин, карбамид, хипоксантин, аденин, уроканова киселина, птерин, норвалин, 2-

амино-4,6-дихидрокси-пиримидин и етаноламин е по-ниско в сравнение с това, получено за 29 часа при същата температура.



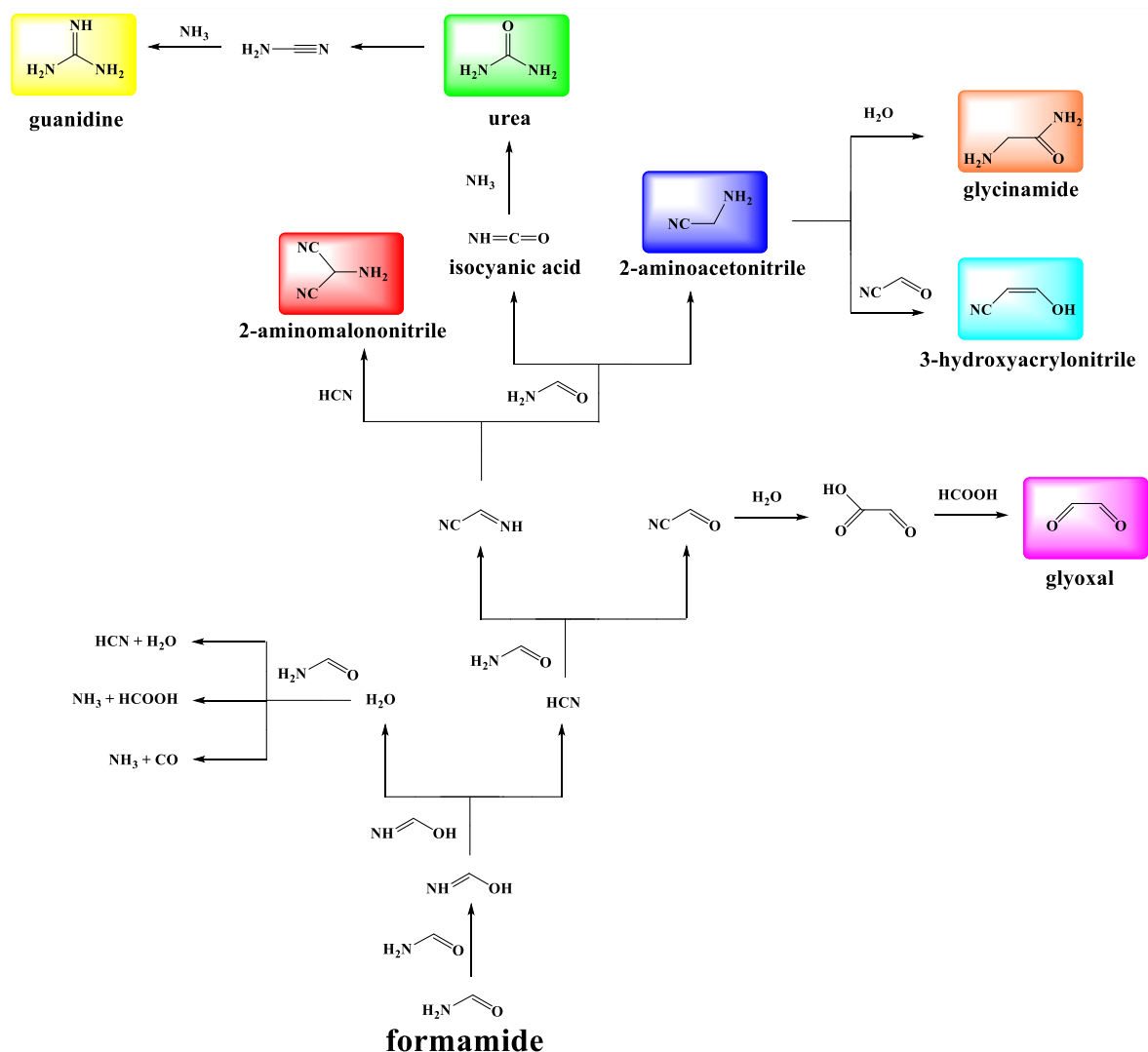
Фигура 3.1 Основни продукти на кондензация на формамид, получени след загряване при 100-180°C без присъствие на катализатор.

Основната цел на тази дисертация е да обясни как биха могли да се образуват пуринови и пиримидинови нуклеобазы и птерин само от чист формамид без присъствие на катализатор, предлагайки реакционни пътища и механизми на съответните реакции.

3.1 ПОЛУЧАВАНЕ НА ОСНОВНИ ПРЕБИОТИЧНИ ПРЕКУРСОРИ

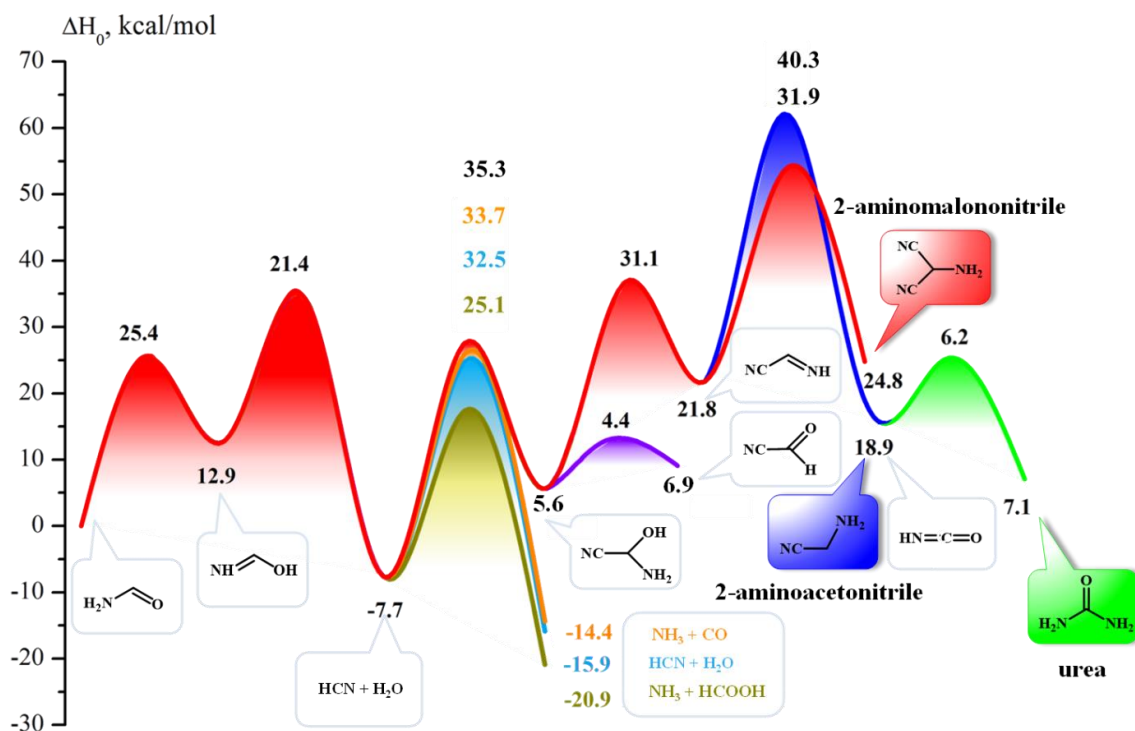
Проведени са *ab initio* квантови-химични изчисления на теоретични нива MP2 и SCS-MP2, резултатите от които са използвани за създаване на енергетично възможни реакционни пътища за синтеза на пуринови (аденин, хипоксантин, гуанин, изогуанин, ксантин и 2,6-диамино-пурин) и пиримидинови (цитозин, урацил, изоцитозин и 2,4-диамино-пиримидин) нуклеобазы, и птерин от формамид. Всички реакционни пътища, които са представени в следващите раздели, са напълно осъществими в температурния интервал, в който формамидът съществува в течна фаза.

Реакционната мрежа за получаване на основни пребиотични прекурсори е показана на Фигура 3.2.



Фигура 3.2 Мрежа от автокаталитични реакции за получаване на основни прекурсори на основата на формамид.

Обобщен енергетичен профил на някои от тези реакции е показан на Фигура 3.10. Ендотермичното тавтомерно превръщане на формамид във формимидинова киселина е последвано от екзотермична реакция на образуване на циановодород и вода. Получената вода реагира с формамид, като в резултат на екзотермичните реакции на дехидратация, хидролиза и декарбонилиране на формамид се получават циановодород, вода, амоняк, мравчена киселина и въглероден оксид. Водата, амоняка и мравчената киселина играят ключова роля в по-нататъшния пребиотичен синтез. Реакцията между циановодород и формамид води до образуване на ключовото съединение, 2-имино-ацетонитрил, прекурсор на 2-амино-ацетонитрил, 2-амино-малонитрил и изоцианова киселина. Образуването на 2-амино-ацетонитрил и изоцианова киселина от 2-имино-ацетонитрил и формамид е термодинамично предпочетено, докато образуването на 2-амино-малонитрил от 2-имино-ацетонитрил и циановодород е кинетично предпочетено поради по-ниската енергетична бариера ($31.9 \text{ kcal mol}^{-1}$), но реакцията е ендотермична. Образуването на карбамид от изоцианова киселина и амоняк е екзотермична реакция с много ниска бариера ($6.2 \text{ kcal mol}^{-1}$). Най-високата изчислена енергетична бариера за тези реакции е $40.3 \text{ kcal mol}^{-1}$. Според *Das et al* химичните реакции, протичащи при температури от 100°C имат бариери около $40.0 \text{ kcal mol}^{-1}$. Това означава, че показаните на Фигура 3.10 реакции могат да се извършат.



Фигура 3.10 Профил на потенциалната енергия на реакционния път на образуване на основни пребиотични прекурсори: 2-амино-ацетонитрил (син), изоцианова киселина (син), 2-амино-малононитрил (червен), карбамид (зелен) и формилцианид (виолетов) от формамид. Различните цветове означават енергийният профил на реакции на дехидратация (светлосиньо), хидролиза (тъмнозелено) и декарбонилиране (оранжево) на формамид. ΔH_0 ($E_t + ZPVE$) е изчислена на теоретично ниво SMD/MP2/cc-pVDZ и е в kcal mol^{-1} .

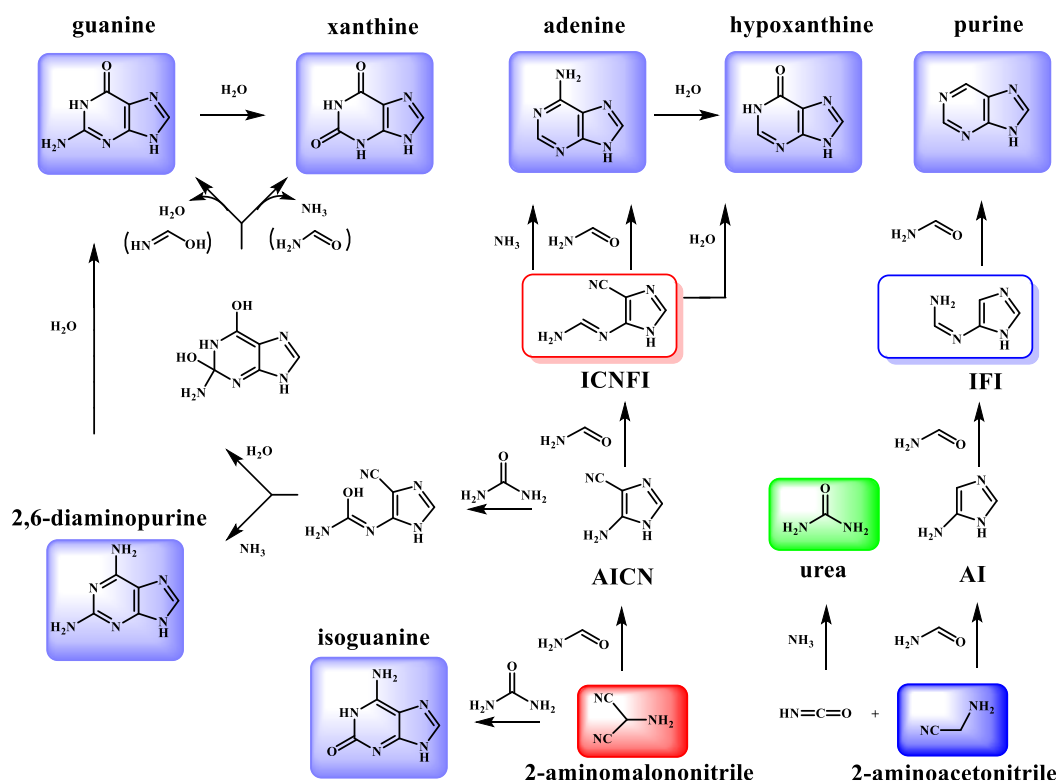
3.2 ПОЛУЧАВАНЕ НА ПУРИНОВИ НУКЛЕОБАЗИ

На Фигура 3.11 е показана схема за получаване на пуринови нуклеобазис (аденин, хипоксантин, гуанин, изогуанин, ксантин и 2,6-диаминопурин), като се започне от основните пребиотични прекурсори, 2-амино-малононитрил, 2-амино-ацетонитрил и карбамид. Получаването на тези прекурсори е показано в раздел 3.1.

Един от потенциалните реакционни пътища за образуване на аденин е предложен по-рано от Leszczynski *et al*, но ние предполагаме съществуването на други алтернативни пътища. Предложеният реакционен път, водещ до образуването на пуриин (стъпки 1-10) е подобен на реакционния път, предложен от Leszczynski *et al*. Това дава възможност за сравнение на енергията на активационните бариери на реакции 1-10, изчислени на различни теоретични нива. Реакционните пътища за образуване на останалите нуклеобазис, представени на Фигура 3.11 са направени за първи път.

Прекурсорите 2-амино-ацетонитрил, 2-амино-малононитрил и карбамид са изходни съединения за образуване на пуриин, аденин, хипоксантин, 2,4-диамино-пуриин, ксантин, гуанин и изогуанин. До тях се достига чрез образуването на междинните съединения $N'-(1H\text{-имидазол-5-ил})\text{-формаидин}$ и $N'-(1H\text{-имидазол-4-цианид-5-ил})\text{-формаидин}$.

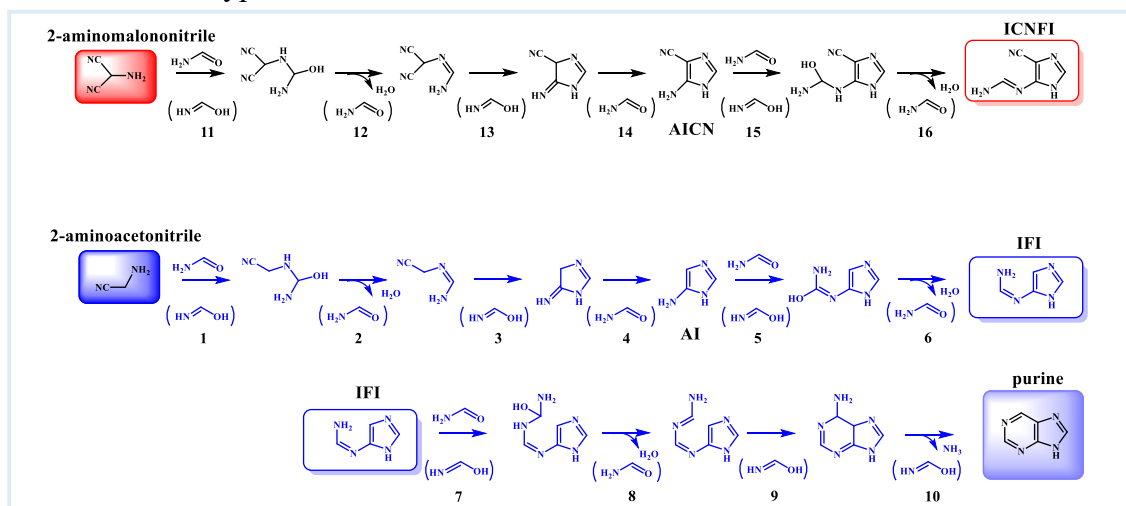
Подробни реакционни пътища за образуване на $N'-(1H\text{-имидазол-5-ил})\text{-формаидин}$ (*IFI*) от 2-амино-ацетонитрил и $N'-(1H\text{-имидазол-4-цианид-5-ил})\text{-формаидин}$ (*ICNFI*) от 2-амино-малононитрил са представени на Фигура 3.12. *IFI* е прекурсор за образуване на пуриин (Фигура 3.12), докато *ICNFI* – за аденин и хипоксантин (Фигура 3.16).



Фигура 3.11 Мрежа от автокаталитични реакции за образуването на пуринови нуклеобазы.

3.2.1 Образуване на 5-аминоимидазол и N'-(1H-имидазол-5-ил) формамидин

Подробни реакционни профили, обясняващи реакционни пътища на Фигура 3.12 са показани на Фигура 3.13.

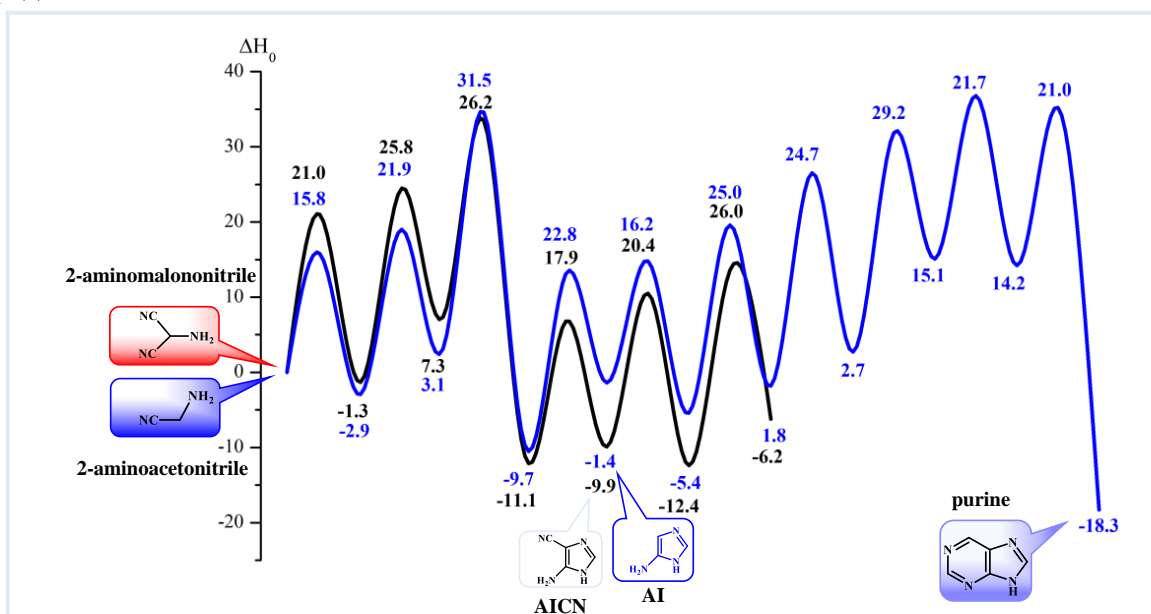


Фигура 3.12 Подробни автокаталитични реакционни пътища от 2-амино-малонитрил до *ICNFI* (черен) и от 2-амино-ацетонитрил до *IFI* и пурин (син). За всяка стъпка на реакцията реагентът е изобразен над стрелката, докато молекулата-катализатор е под стрелката в скоби.

3.2.3 Образуване на пурин

И двата реакционни пътя, от 2-амино-ацетонитрил до *IFI* и от 2-амино-малонитрил до *ICNFI*, имат една и съща скоростопределяща стъпка – затваряне на петчленния пръстен (Фигура 3.15). Съответните енергетични бариери са 31.5 и 26.2 kcal

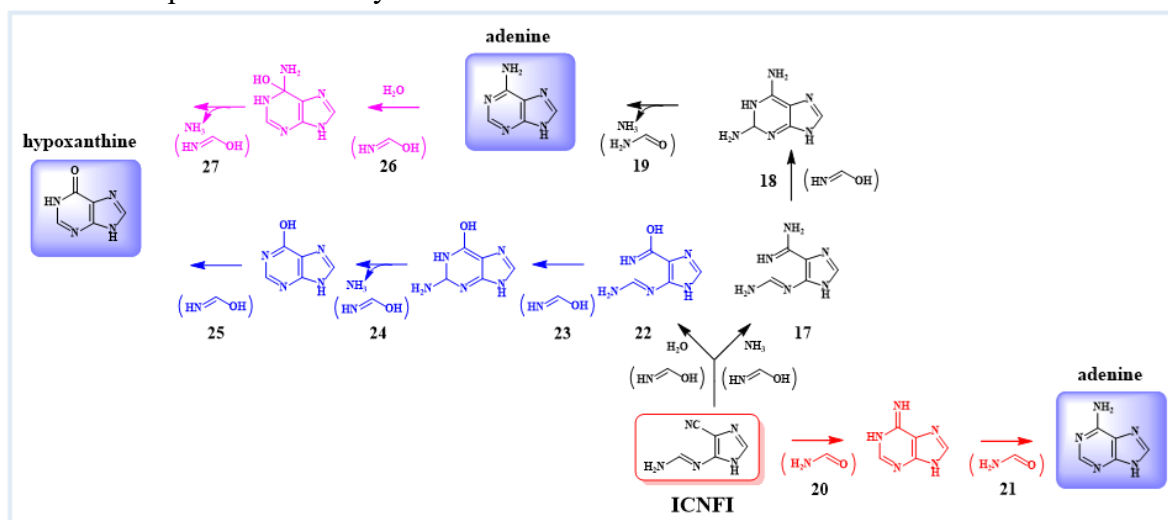
mol⁻¹ (стъпки 3 и 13). Въпреки това, в първите две стъпки, водещи до образуването на 5-имино-имидазолин, енергията на активация е с около 4 kcal mol⁻¹ по-ниска от тази на образуване на 5-имино-4,5-дихидро-1*H*-имидазол-4-карбонитрил. Последните две стъпки, водещи до образуване на *IFI* (стъпки 5, 6), също са по-ниски от тези, водещи до *ICNFI* (стъпки 15, 16). Реакционният път от 2-амино-ацетонитрил до *IFI* трябва да бъде кинетично предпочитан в сравнение с този, от 2-амино-малонитрил, водещ до *ICNFI*. Това заключение е в съответствие с експериментално наблюдаваното предпочетено образуване на пурин при нагряване на формамид, тъй като *IFI* е негов предшественик.



Фигура 3.15 Профил на потенциалната енергия на реакционния път от 2-аминомалонитрил до *ICNFI* (черен) и от 2-аминоацетонитрил до *IFI* и пурин (син). ΔH_0 (Et + ZPVE) е в kcal mol⁻¹, изчислена на теоретично ниво SMD/SCS-MP2/cc-pVDZ.

3.2.4 Образуване на аденин

Възможни са два алтернативни реакционни пътя за образуване на аденин (Фигура 3.16). Първият започва с реакция на амонизация, а вторият – със затваряне на шестчленен пръстен в молекулата на *ICNFI*.

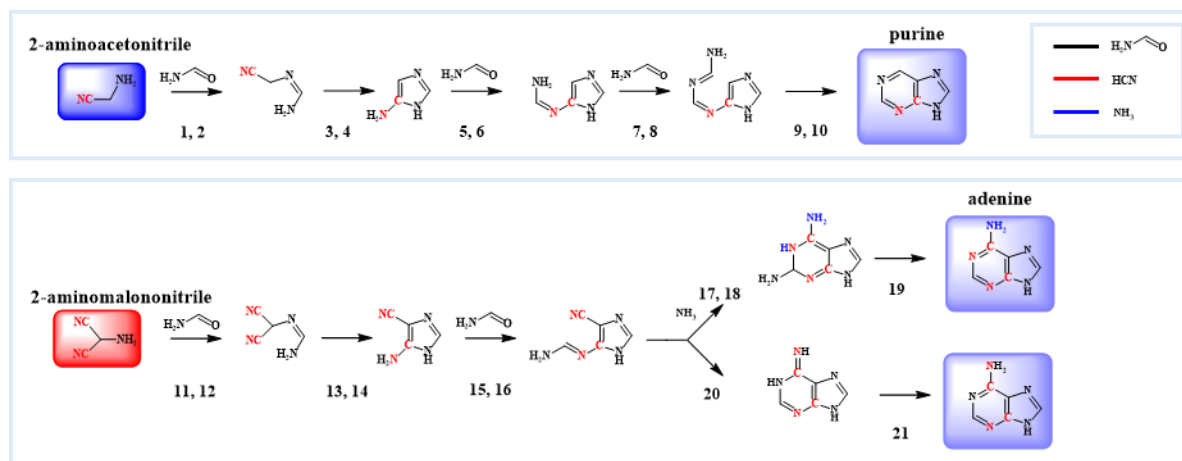


Фигура 3.16 Подробни автокаталитични реакционни пътища от *ICNFI* до аденин и хипоксантин. За всяка стъпка на реакцията реагентът е изобразен над стрелката, докато е молекулата-катализатор е под стрелката в скоби.

Първият от тях се състои от три стъпки: (i) взаимодействие на амоняк с циано групата на N'-(1*H*-имидазол-4-цианид-5-ил)-формаимидин; (ii) шестчленно затваряне на пръстена и (iii) деаминиране и образуване на аденин. Вторият реакционен път включва две стъпки: (i) затваряне на шестчлениния пръстен и (ii) тавтомерно превръщане.

Въз основа на ^{13}C - ^{15}N ЯМР анализ на пурин и аденин, Yamada *et al* стигат до заключението, че адениновите въглеродни атоми C4, C5 и C6 са получени от HCN, докато формаимидът предоставя атоми C2 и C8. Основавайки се на механизма за получаване на пурин, започващ от образуване на димер на формаимид и преминаващ през формиране на пиримидинов пръстен, Yamada *et al* предполагат, че двата въглеродни атома, C4 и C5, произхождат от циановодород.

Springsteen, Leszczynski *et al* стигат до заключението, че реакционните пътища за образуване на пурин и аденин, в които участват формаимид, циановодород, амоняк и мравчена киселина са свързани помежду си. Те предполагат реакционен механизъм, при който първо се образува имидазол, а реакционните пътища, водещи до получаване на аденин и пурин са конкурират, започвайки от 2-имино-ацетонитрил. Образуването на 2-амино-ацетонитрила от 2-имино-ацетонитрил е екзотермична реакция, но изчислената от нас енергетична бариера е с $8.4 \text{ kcal mol}^{-1}$ по-висока от тази за образуването на 2-амино-малонитрил. Реакционните пътища от 2-амино-малонитрил до **ICNFI** и от 2-амино-ацетонитрил до **IFI** и пурин (Фигура 3.15) също се конкурират. По този начин повишената концентрация на HCN прави реакционния път до аденин по-предпочитан от пътя до пурин. Междинните съединения, 5-амино-имидазол-4-карбоксамид и 5-формаимидо-имидазол-4-карбоксамид в реакционните пътища към пурин и аденин са открити при реакции на кондензация на формаимид, катализирани от минерали. В експеримента на Springsteen *et al*, съдържащ ниски начални концентрации на цианидни йони, адениновата фракция е диизотопно белязана – въглеродните атоми C4 и C6 са получени от HCN, което е в съответствие с представения механизъм (Фигура 3.18). Въглеродните атоми C2, C5, C6 и C8 в пурина произхождат от формаимид.



Фигура 3.18 Реакционен път за образуване на пурин и аденин от чист формаимид. Формаимидните въглеродни, азотни и водородни атоми са отбелязани с черен цвят. С червен цвят са означени въглеродни и азотни атоми, получени от циановодород, а със син – азотни и водородни атоми, получени от амоняк, въпреки че циановодород и амоняк се получават от формаимид.

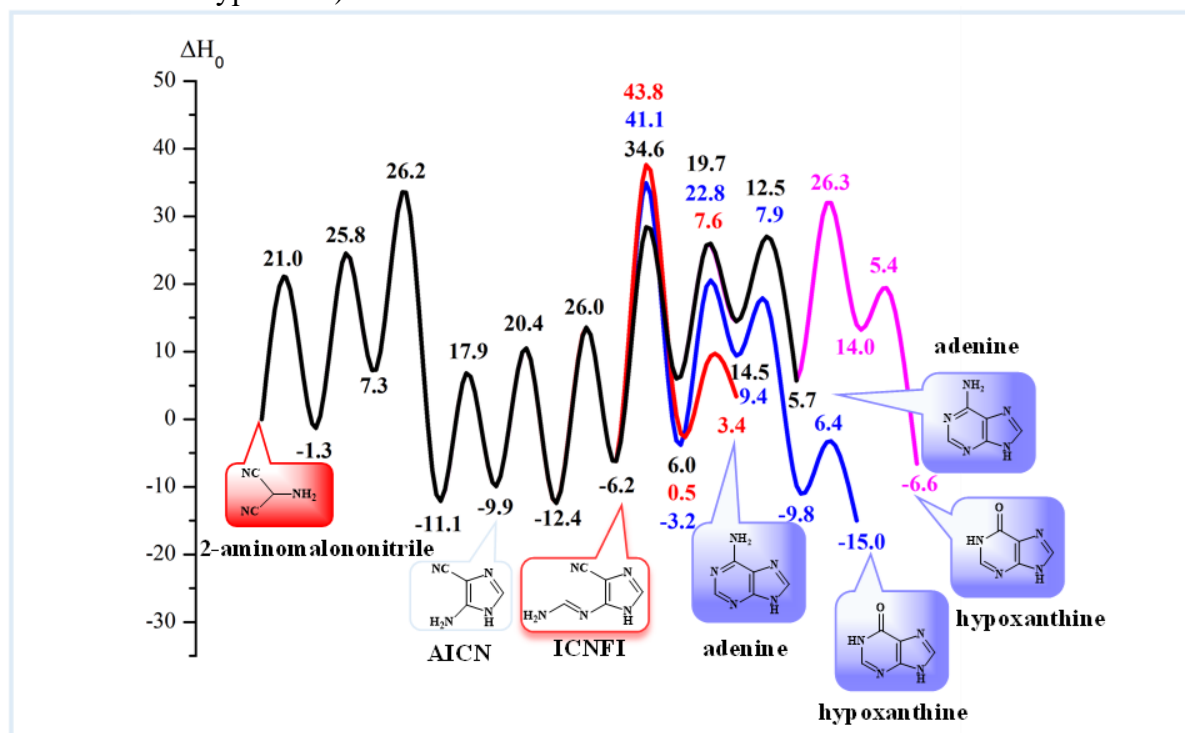
3.2.5 Образуване на хипоксантин

Образуването на хипоксантин (Фигура 3.16) може да се извърши по два алтернативни реакционни пътя: хидролиза на *ICNFI* или деаминиране на аденин.

Първия реакционен път, хидролиза на *N'*-(1*H*-имидазол-4-цианид-5-ил)-формаимидин, водещ до образуването на хипоксантин включва четири стъпки: (i) хидролиза на циано групата на *N'*-(1*H*-имидазол-4-цианид-5-ил)-формаимидин; (ii) затваряне на шестчленен пръстен, (iii) деаминиране и (iv) тавтомерно превръщане.

Тъй като хипоксантина е термодинамично по-стабилен от аденина, то аденина може лесно да се деаминира и да се преобразува в хипоксантин. Деаминирането на аденин е вторият възможен реакционен път.

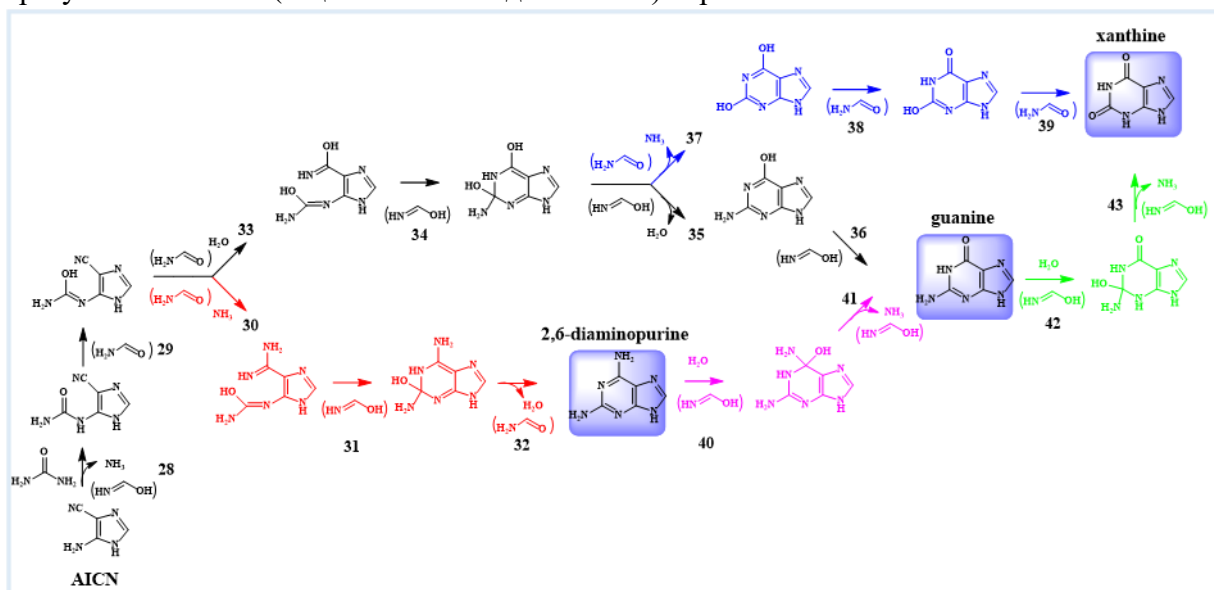
Получените до тук резултати за аденин и хипоксантин дават възможност да се направи следното обобщение. Реакционният път, започващ от *ICNFI* (Фигура 3.20), представя по два възможни реакционни пътя за получаване на аденин и хипоксантин: (i) амонолиза на цианогрупата (стъпки 17-19) или (ii) шестчленно затваряне на пръстен в *ICNFI* (стъпки 20 и 21), водещи до образуване на аденин и (iii) хидролиза на циано групата в *ICNFI* (стъпки 22-25) или (iv) деаминиране на аденин (стъпки 26 и 27), водещо до образуване на хипоксантин. Активационната енергия на реакцията на амонолиза се оказва с по-ниска стойност ($34.6 \text{ kcal mol}^{-1}$), отколкото тази на хидролиза ($41.1 \text{ kcal mol}^{-1}$) или затваряне на пръстен ($43.8 \text{ kcal mol}^{-1}$). Това е скоростопределящата стъпка за образуване както на аденин, така и на хипоксантин (Фигура 3.20). От друга страна, описвайки двата конкурентни процеса – амонолиза и хидролиза, реакционният път на образуването на аденин се оказва ендотермичен ($5.7 \text{ kcal mol}^{-1}$), докато пътят на образуване на хипоксантин е силно екзотермичен ($-15.0 \text{ kcal mol}^{-1}$). В допълнение, деаминирането на аденина (стъпки 26 и 27) е другия екзотермичен реакционен път за образуване на хипоксантин ($-6.6 \text{ kcal mol}^{-1}$, както е показано на Фигура 3.20).



Фигура 3.20 Енергетичен профил на реакционния път от 2-аминомалононитрил до аденин (черни и червени линии) и хипоксантин (сини и пурпурни линии). ΔH_0 ($E_t + \text{ZPVE}$) е в kcal mol^{-1} , изчислена на теоретично ниво SMD/SCS-MP2/cc-pVDZ.

3.2.6 Образуване на ксантин, гуанин и 2,6-диаминопурин

Както отбелязахме по-горе, карбамид може да се образува в резултат на термичното разлагане на формамид. Този ключов реагент може да взаимодейства с 4-амино-имидазол-5-карбонитрил (*AICN*), образувайки *N'*-(4-циано-1*H*-имидазол-5-ил)карбамимидинова киселина (Фигура 3.11), която е изходно съединение за образуване на нуклеиновите бази 2,6-диамино-пурин (стъпки 30-32), гуанин (стъпки 33-36) и ксантин (стъпки 33, 34, 37-39), показани на Фигура 3.21. *N'*-(4-циано-1*H*-имидазол-5-ил)карбамимидинова киселина се образува от *AICN* и карбамид в две стъпки. Първата е образуването на 1-(4-циано-1*H*-имидазол-5-ил)карбамид и амоняк, а втората – образуването на *N'*-(4-циано-1*H*-имидазол-5-ил)карбамимидинова киселина.



Фигура 3.21 Подробни автокаталитични реакционни пътища за получаване на 2,6-диамино-пурин, гуанин и ксантин от *AICN*. За всяка стъпка на реакцията реагентът е изобразен над стрелката, докато молекулата-катализатор е под стрелката в скоби.

Реакционният път от *N'*-(4-циано-1*H*-имидазол-5-ил)карбамимидиновата киселина до 2,6-диамино-пурин се състои от три етапа: (i) амонизиране на цианогрупата в 4-та позиция в имидазоловия фрагмент на *N'*-(4-циано-1*H*-имидазол-5-ил)карбамимидиновата киселина; (ii) затваряне на шестчленен пръстен; (iii) дехидратация и образуване на 2,6-диамино-пурин.

Реакционният път от *N'*-(4-циано-1*H*-имидазол-5-ил)карбамимидиновата киселина до гуанин се състои от четири стъпки: (i) хидролиза на цианогрупата в 4-та позиция в имидазоловия фрагмент на *N'*-(4-циано-1*H*-имидазол-5-ил)карбамимидиновата киселина; (ii) затваряне на шестчленен пръстена; (iii) дехидратация и образуване на тавтомера на гуанин и (iv) тавтомерно превръщане в гуанин.

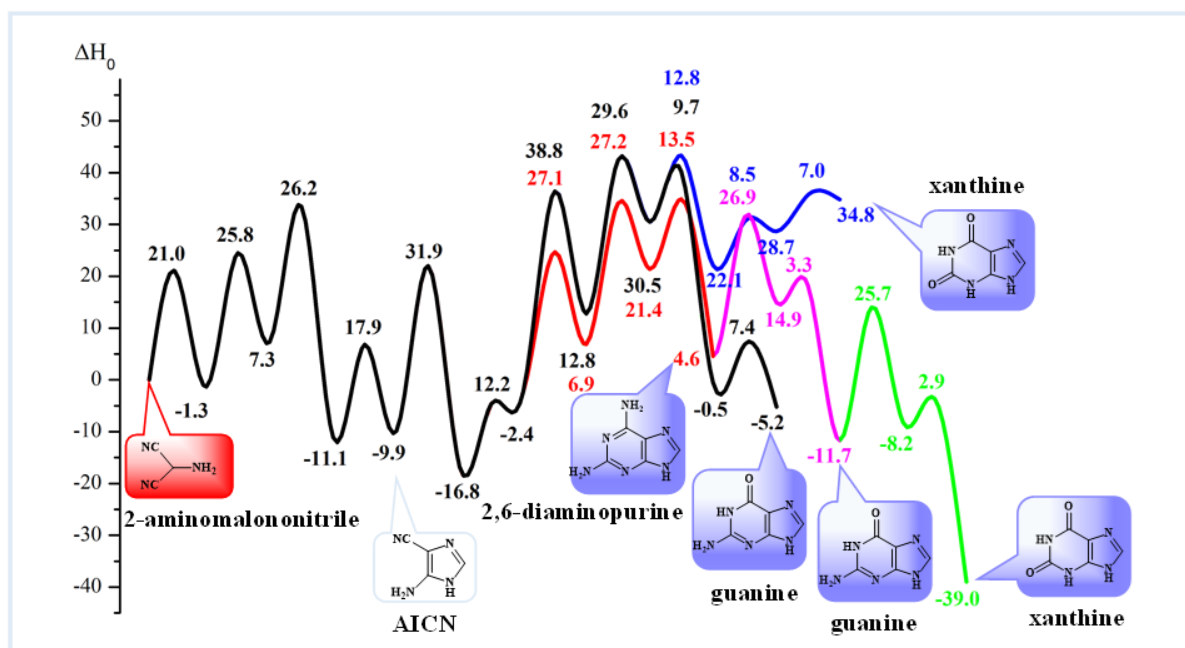
Гуанинът може също да бъде получен посредством реакция на деаминиране на 2,6-диамино-пурин.

Пълният енергетичен профил на реакционните пътища от *AICN* до 2,6-диамино-пурин, гуанин и ксантин е илюстриран на Фигура 3.23. Взаимодействието между *AICN* и карбамид води до образуването на *N'*-(4-циано-1*H*-имидазол-5-ил)карбамимидинова киселина. Това съединение е ключов реагент за по-нататъшни реакционни пътища водещи до 2,6-диамино-пурин, гуанин и ксантин. Хидролизата на неговата цианогрупа дава възможност за образуване на гуанин или ксантин, докато амонизиране на същата група води до образуване на 2,6-диамино-пурин. Енергетичната бариера на реакцията

на хидролиза е $38.8 \text{ kcal mol}^{-1}$, значително по-висока от тази на реакцията на амонолиза, $27.1 \text{ kcal mol}^{-1}$. Като цяло реакционния път за гуанин (черна линия) е екзотермичен ($-5.2 \text{ kcal mol}^{-1}$), както се вижда от Фигура 3.23. Реакционния път за образуване на ксантин (синя линия) е не предпочетен, тъй като е силно ендотермичен ($34.8 \text{ kcal mol}^{-1}$).

От друга страна, следвайки пътя на амонолизата на N'-(4-циано-1H-имидазол-5-ил)карбамимидната киселина са необходими две елементарни стъпки за получаване на гуанин (пурпурна линия) от 2,6-диамино-пурин. Този реакционен път за получаване на гуанин е също екзотермичен ($-11.7 \text{ kcal mol}^{-1}$), но изглежда предпочетен в сравнение с другия, обсъден по-горе ($-5.2 \text{ kcal mol}^{-1}$). И накрая, деаминирането на гуанин (зелена линия) е енергетично предпочетен реакционен път за образуването на ксантин ($-39.0 \text{ kcal mol}^{-1}$ срещу $34.8 \text{ kcal mol}^{-1}$, виж Фигура 3.23). Сравнението на двата енергетични профила на реакциите, водещи до образуване на гуанин (Фигура 3.23) показва, че реакционният път, започващ с амонолиза на N'-(4-циано-1H-имидазол-5-ил)карбамимидна киселина (червена линия) и деаминиране на 2,6-диамино-пурин (пурпурна линия) изглежда предпочетен пред реакционния път, започващ с хидролиза на N'-(4-циано-1H-имидазол-5-ил)карбамимидинова киселина (черна линия).

Като цяло, амонолизата на N'-(4-циано-1H-имидазол-5-ил)карбамимидната киселина води до енергетично предпочитани (Фигура 3.23, червени, пурпурни и зелени линии) реакционни пътища за по-нататъшно образуване на гуанин и ксантин.

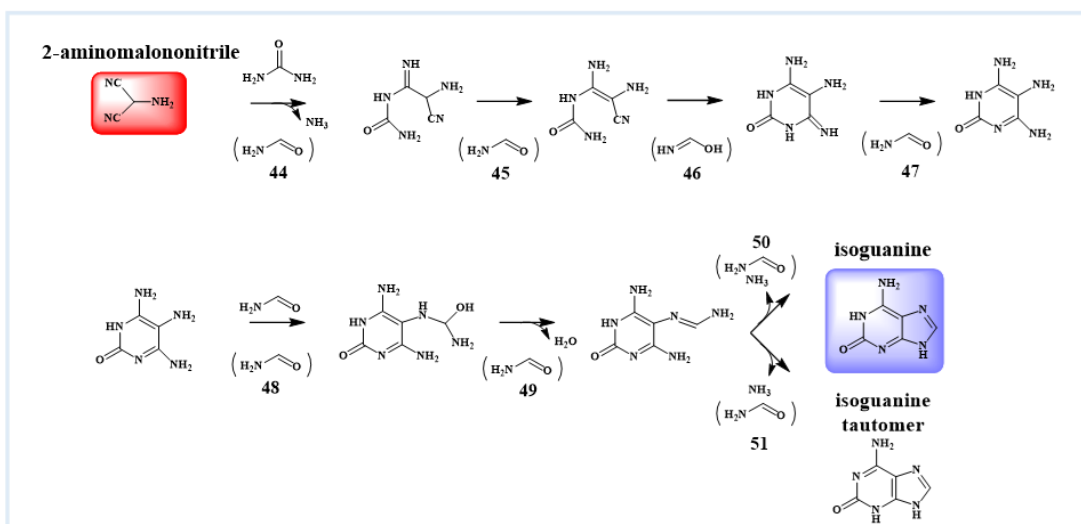


Фигура 3.23 Енергетични профили на реакционни пътища от 2-амино-малононитрил до: гуанин (черни и пурпурни линии), 2,6-диамино-пурин (червена линия) и ксантин (сини и зелени линии). ΔH_0 ($E_t + \text{ZPVE}$) е в kcal mol^{-1} , изчислена на теоретично ниво SMD/SCS-MP2/cc-pVDZ.

3.2.7 Образуване на изогуанин от 2-аминомалононитрил

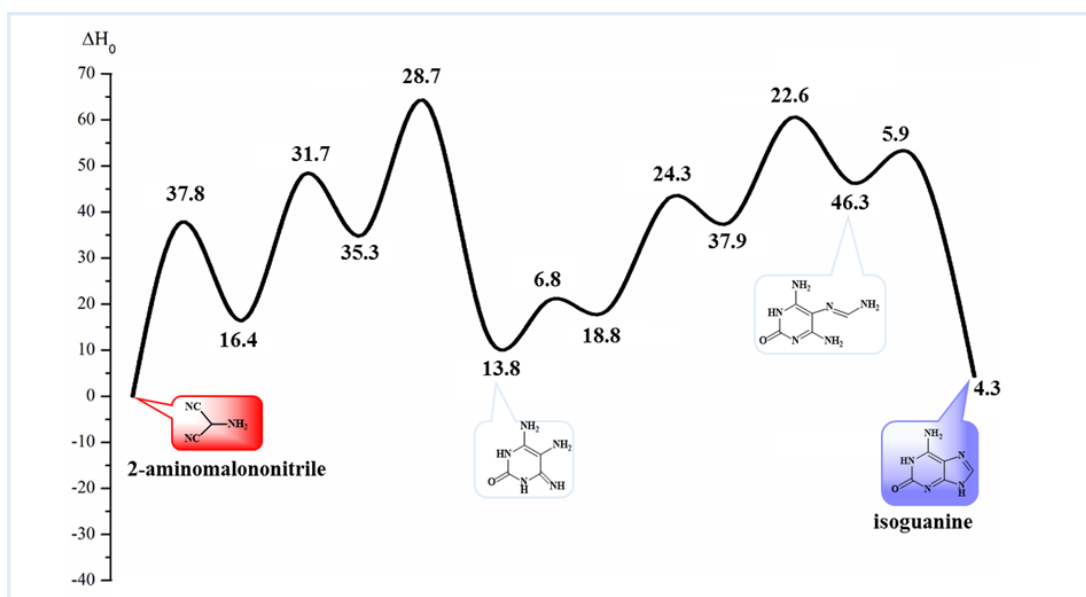
Два основни реагента, 2-амино-малонитрил и карбамид, получени при термично разлагане на формамид могат да взаимодействат, за да се образува изогуанин, както е показано на Фигура 3.11. Подробен реакционен път е представен на Фигура 3.24.

Реакционният път включва 7 стъпки, като последната от тях дава възможност за образуване на две тавтомерни форми на изогуанин. Образуването на изогуанин протича в два етапа: (i) образуване на пиримидинов пръстен и (ii) последващо образуване на петчленен имидазолов пръстен.



Фигура 3.24 Подробен автокаталитичен реакционен път от 2-амино-малононитрил до изогуанин. За всяка стъпка на реакцията реагентът е изобразен над стрелката, докато е молекулата-катализатор – под стрелката в скоби.

Първата стъпка от предложения реакционен път (Фигура 3.26) между карбамид и 2-амино-малононитрил е скоростопределяща ($37.8 \text{ kcal mol}^{-1}$), докато енергетичните бариери на другите стъпки са в диапазона от 6 до 31 kcal mol^{-1} . Описания реакционен път за образуване на изогуанин може да се определи като ендотермичен, но като следствие от силно екзотермичния характер на последната стъпка ($-42.0 \text{ kcal mol}^{-1}$), целият реакционен път е слабо ендотермичен ($4.3 \text{ kcal mol}^{-1}$).

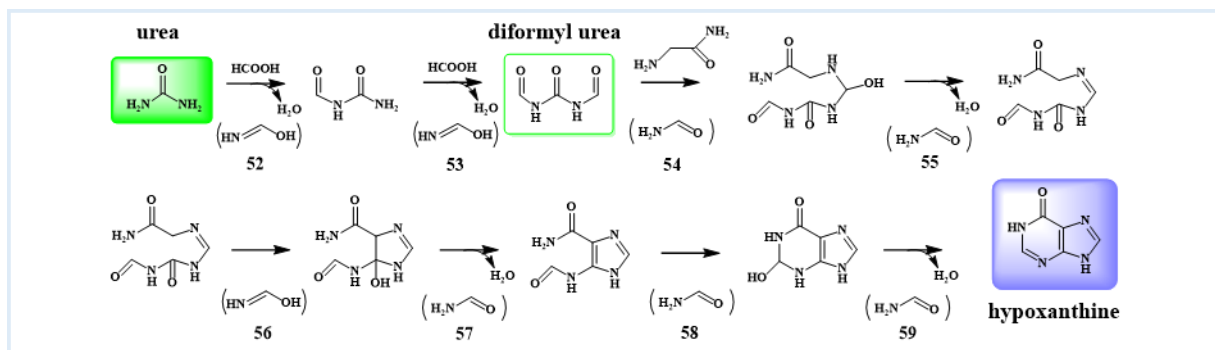


Фигура 3.26 Енергетичен профил на реакционния път от 2-амино-малононитрил до изогуанин (черна линия). ΔH_0 ($E_t + \text{ZPVE}$) е в kcal mol^{-1} , изчислена на теоретично ниво SMD/SCS-MP2/cc-pVDZ.

3.2.8 Образуване на хипоксантин от карбамид и глицинамид

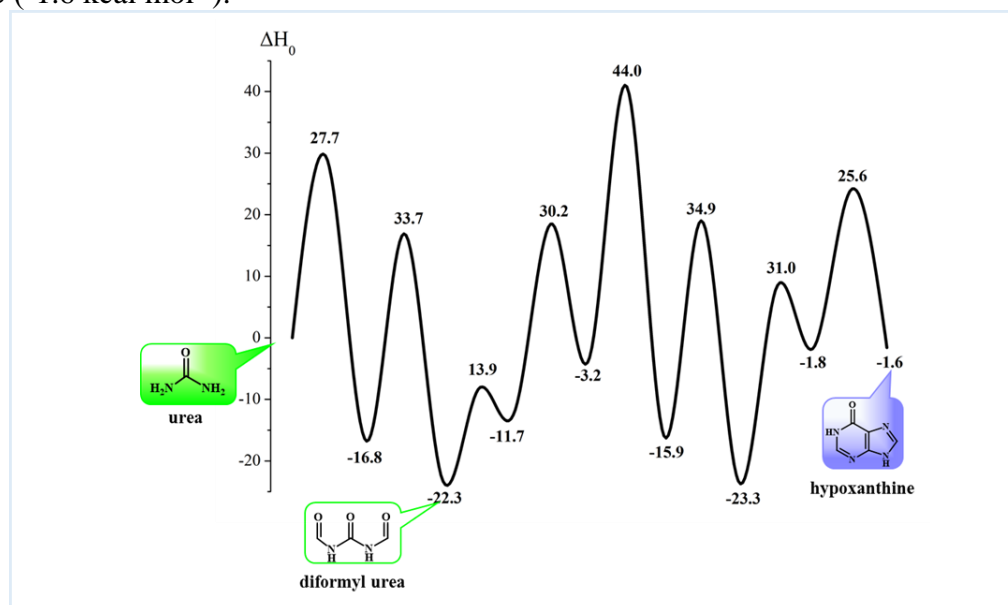
Общ реакционен път за образуване на хипоксантин от карбамид е показан в работата на Lagoja и Herdewijn. Получаването на хипоксантин се извършва на 2 етапа. Първо карбамид се разтваря в мравчена киселина и сместа престоява 2 седмици при стайна температура. След това получената диформилурея се загрява заедно с глицинамид до 175°C в продължение на 2 часа до получаване на хипоксантин.

В този раздел е предложен механизъм за образуване на хипоксантин в съответствие с разглежданата до сега концепция, основаваща се на пребиотичната химия на формамид. Обща схема на реакционния път е представена на Фигура 3.27.



Фигура 3.27 Подробни автокаталитични реакционни пътища от карбамид и глицинамид до хипоксантин. За всеки етап на реакцията реагентът е изобразен над стрелката, а когато е молекула-катализатор – под стрелката в скоби.

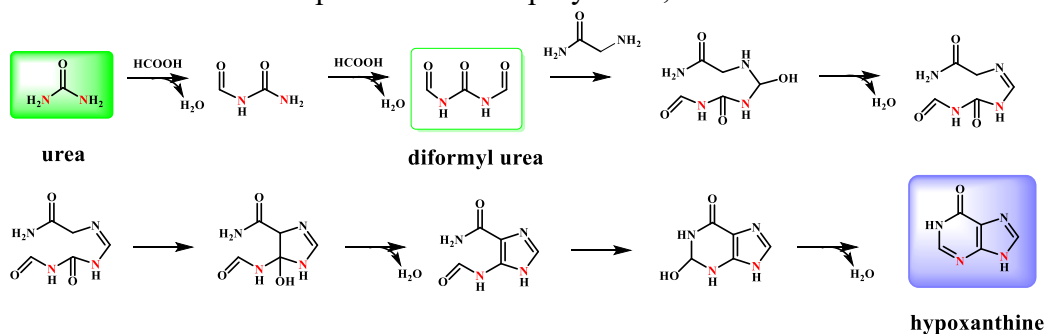
Енергетичният профил на реакционния път за образуване на хипоксантин от карбамид е показан на Фигура 3.29. Реакцията на затварянето на петчленния цикъл (стъпка 56) е скоростопределяща ($44.0 \text{ kcal mol}^{-1}$). Като цяло реакционния път е екзотермичен, но заради силно ендотермичната ($21.5 \text{ kcal mol}^{-1}$) реакция на затваряне на шестчленния цикъл (стъпка 58), образуването на хипоксантин е слабо екзотермичен процес ($-1.6 \text{ kcal mol}^{-1}$).



Фигура 3.29 Профил на потенциална енергия на реакционния път от карбамид до хипоксантин. ΔH_0 (Et + ZPVE) е в kcal mol^{-1} , изчислено на теоретично ниво SMD/SCS-MP2/cc-pVDZ.

За да идентифицират произхода на азотните атоми в хипоксантина Lagoja и Herdewijn провеждат синтеза на хипоксантин с ¹⁵N-белязан карбамид. Експериментът с протонен ЯМР е показал, че N3- и N9-атомите на хипоксантина произхождат от карбамид. Както може да се види на Фигура 3.30, предложеният тук реакционен път е в

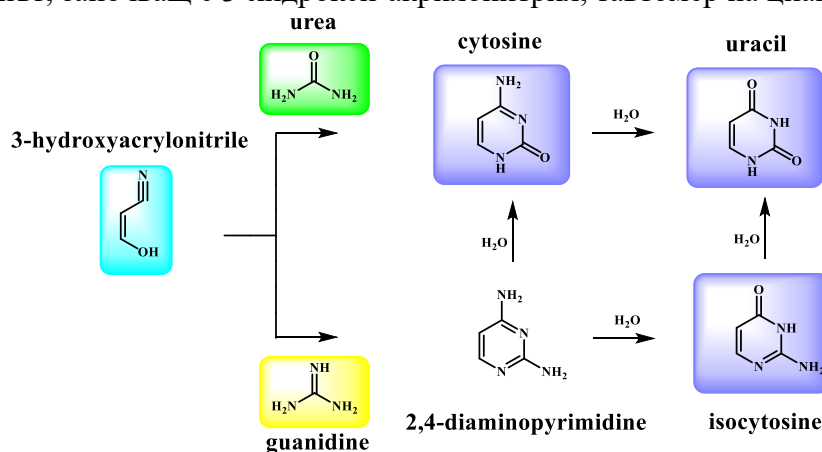
съответствие с експерименталните резултати, което показва неговата коректност.



Фигура 3.30 Реакционен път от карбамид и глицинамид до хипоксантин. Азотните атоми, произлизащи от карбамид са означени с червен цвят.

3.3 ПОЛУЧАВАНЕ НА ПИРИМИДИНОВИ НУКЛЕОБАЗИ

Най-обща схема за получаване на пиримидиновите нуклеобазы, цитозин, урацил, 2,4-диамино-пиримидин и изоцитозин е показана на Фигура 3.31. Предложен е реакционен път, започващ с 3-хидрокси-акрилонитрил, тавтомер на цианоацеталдехида.

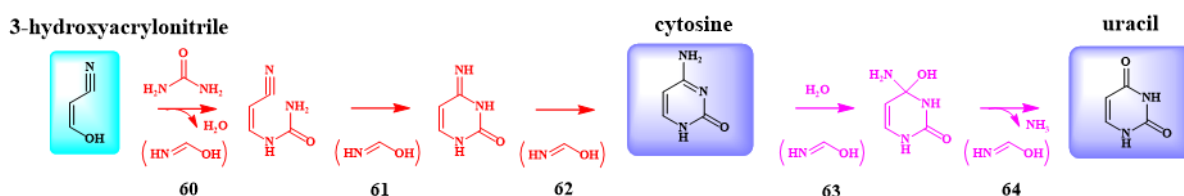


Фигура 3.31 Мрежа от автокаталитични реакции за получаване на пиримидиновы нуклеобазы.

3-Хидрокси-акрилонитрил и карбамид са изходни съединения за образуване на цитозин и урацил. Другият възможен реакционен път от 3-хидрокси-акрилонитрил и гуанидин води до получаване на 2,4-диамино-пиримидин, изоцитозин, цитозин и урацил.

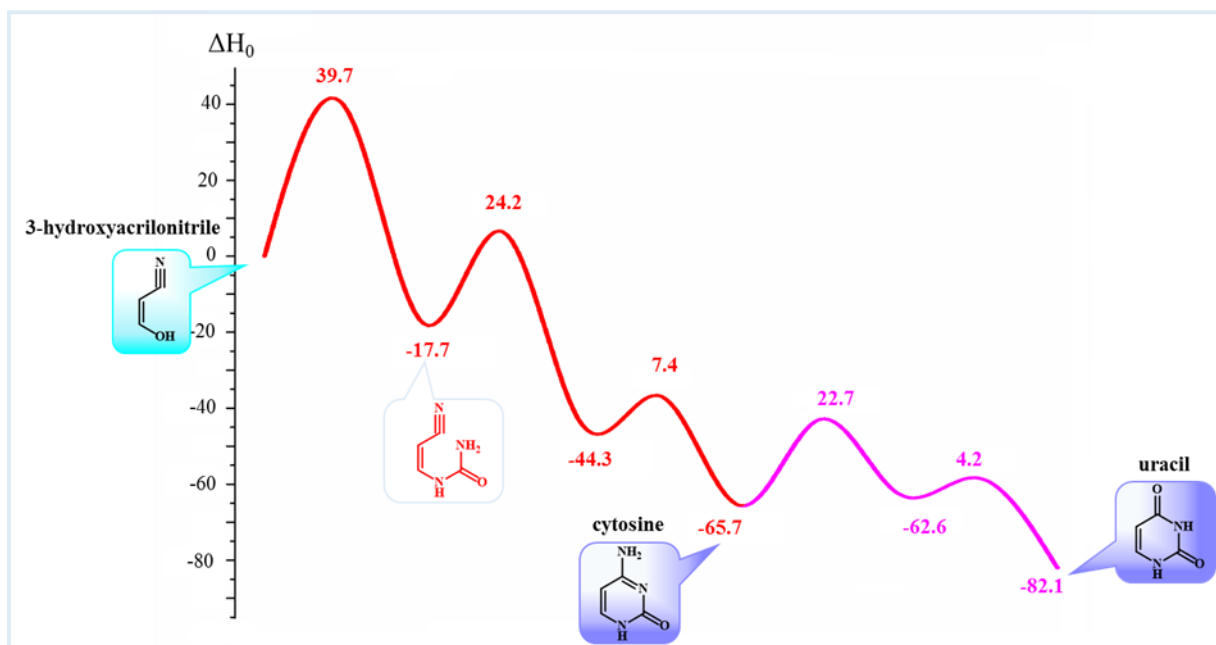
3.3.1 Образуване на цитозин и урацил

Подробната схема на реакционния път за образуване на цитозин и урацил от 3-хидрокси-акрилонитрил е показана на Фигура 3.32.



Фигура 3.32 Автокаталитични реакционни пътища от 3-хидрокси-акрилонитрил и карбамид до цитозин (стъпки 60-62) и урацил (стъпки 63, 64). За всеки етап на реакцията реагентът е изобразен над стрелката, докато е молекулата-катализатор – под стрелката в скоби.

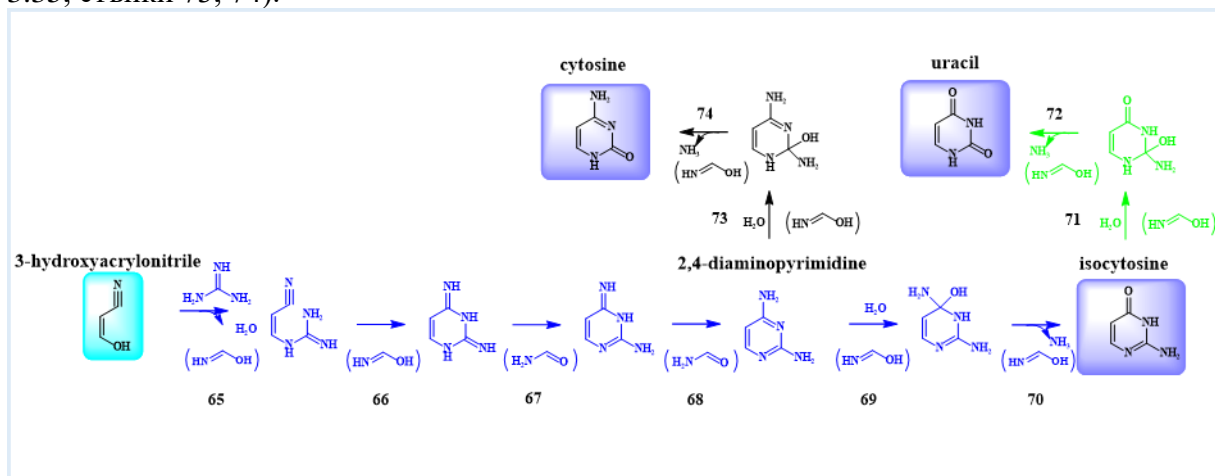
Профилът на потенциалната енергия на реакционния път за получаване на цитозин и урацил от 3-хидрокси-акрилонитрил е показан на Фигура 3.34. Първата реакция (стъпка 60), взаимодействие на карбамид и 3-хидрокси-акрилонитрил, е скоростопределяща ($39.7 \text{ kcal mol}^{-1}$). Реакционният път на всички етапи е екзотермичен, поради което образуването на цитозин ($-65.7 \text{ kcal mol}^{-1}$) и урацил ($-82.1 \text{ kcal mol}^{-1}$) е термодинамично много изгодно. Това показва, че образуването на цитозин и урацил е напълно възможно и при по-меки условия.



Фигура 3.34 Енергетичен профил на реакционен път на образуване на цитозин (червен) и урацил (пурпурен) от 3-хидроксиакрилонитрил. ΔH_0 (Et + ZPVE) е в kcal mol^{-1} и е изчислена на теоретично ниво SMD/SCS-MP2/cc-pVDZ.

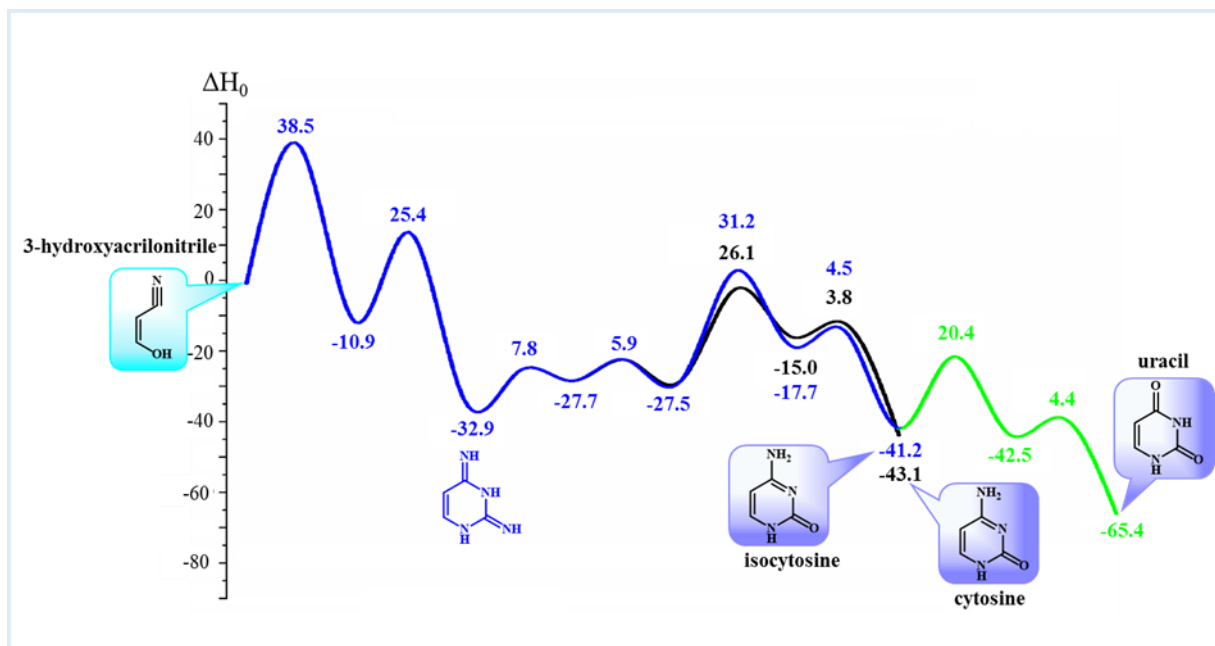
3.3.2 Образуване на изоцитозин, урацил и цитозин

3-хидрокси-акрилонитрил също може да бъде пребиотичен прекурсор и за получаване на 2,4-диамино-пиримидин (Фигура 3.35, стъпки 65-68), изоцитозин (Фигура 3.35, стъпки 69, 70), урацил (Фигура 3.35, стъпки 71, 72) и цитозин (Фигура 3.35, стъпки 73, 74).



Фигура 3.35 Автокаталитични реакционни пътища от 3-хидрокси-акрилонитрил и гуанидин до изоцитозин (стъпки 65-70), урацил (стъпки 71, 72) и цитозин (стъпки 73, 74). За всеки етап на реакцията реагентът е изобразен над стрелката, докато е молекула-катализатор - под стрелката в скоби.

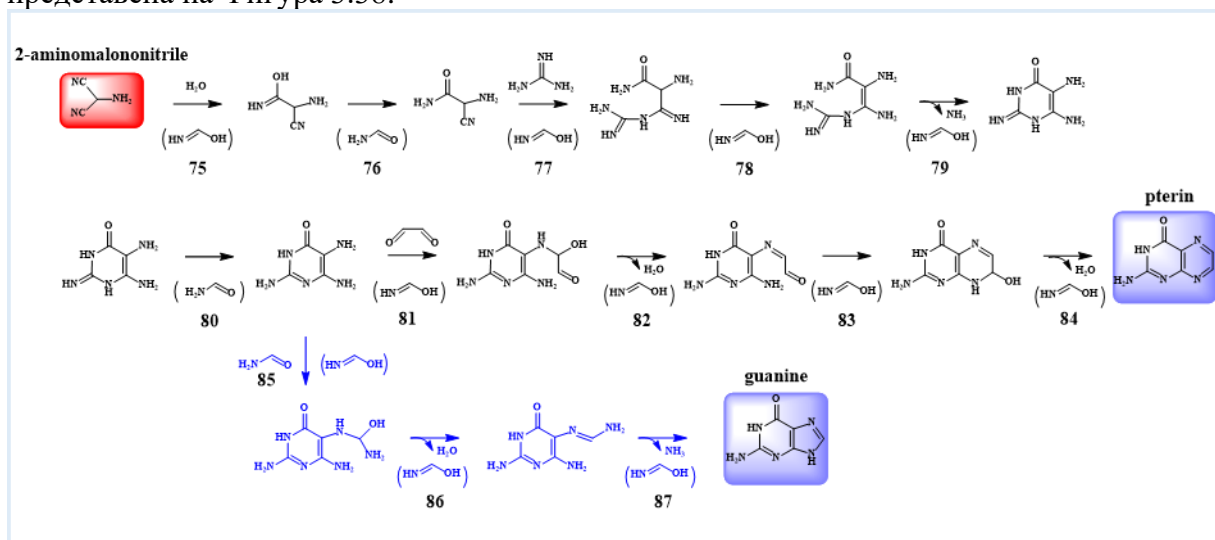
Първата стъпка (стъпка 65) в представения на Фигура 3.37 реакционен път от 3-хидрокси-акрилонитрил е скоростопределяща (енергетична бариера е $38.5 \text{ kcal mol}^{-1}$). Хидролизата на 2,4-диамино-пиримидин (стъпка 73, черна линия, образуване на цитозин) е по-предпочетена от кинетична гледна точка отколкото хидролиза на стъпка 69, която води до получаване на изоцитозин с $5.1 \text{ kcal mol}^{-1}$. Всички реакции в даден реакционен път са екзотермични ($-41.2 \text{ kcal mol}^{-1}$ за изоцитозин, $-43.1 \text{ kcal mol}^{-1}$ за цитозин и $-65.4 \text{ kcal mol}^{-1}$ за урацил), което прави образуването на пиримидинови нуклеобазы много изгодно и от термодинамична гледна точка.



Фигура 3.37 Профил на потенциалната енергия на реакционния път от 3-хидрокси-акрилонитрил до изоцитозин (син), цитозин (черен) и урацил (зелен). ΔH_0 (Et + ZPVE) е в kcal mol^{-1} , изчислена на теоретично ниво SMD/SCS-MP2/cc-pVDZ.

3.4 ОБРАЗУВАНЕ НА ПТЕРИН И ГУАНИН

Подробна схема на реакционния път за образуване на птерин и гуанин е представена на Фигура 3.38.



Фигура 3.38 Автокаталитични реакционни пътища от 2-амино-малонитрил до птерин и гуанин. За всяка стъпка на реакцията, реагентът е изобразен над стрелката, докато молекулата-катализатор – под стрелката в скоби.

3.5 ВЛИЯНИЕ НА КОРЕЛАЦИОННАТА ЕНЕРГИЯ ОТ ПОВИСОК ПОРЯДЪК, ЕНТРОПИЙНИТЕ ПРИНОСИ И ДАЛЕЧНИТЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ НА РАЗТВОРИТЕЛЯ ВЪРХУ ЕНЕРГИЯТА НА РЕАКЦИИТЕ

Показано е, че SCS-MP2 успешно се използва за изследване на реакционни механизми на тавтомерно превръщане в хидрокси-пиридин или образуване на халкони. Според Galvao *et al* стойностите на енергетичните разлики между цис-2-хидроксипиридин и 2-пиридон, изчислени на теоретично ниво SCS-MP2/aug-cc-pVTZ са по-близо до експерименталните стойности от тези, изчислени на ниво CCSD(T)/aug-cc-pVTZ. В допълнение, методът SCS-MP2 изисква по-ниски изчислителни разходи за разлика от QCISD(T) и CCSD(T). В литературата е показано, че изчисленията на ниво SCS-MP2 дават по-високи стойности за енергетичните бариери в сравнение с MP2.

Подходите, базирани на усъвършенстване на вълновата функция, като теорията на Møller-Plesset (MP2) и теорията на куплираните клъстери (coupled cluster, CC), се използват, когато е необходимо достигане на висока точност при квантово-химичните изчисления. Изчисленията, направени на теоретично ниво CCSD(T) са така нареченият „златен стандарт“ за точни изчисления, способни да постигнат химическа точност. CCSD(T) изчисленията осигуряват възможно най-точните енергии, но това са методи, приложими в момента за по-малки молекули.

За да могат да се сравнят резултатите от изчисленията, проведени с методите SCS-MP2 и CCSD(T), допълнително бяха извършени еднократни CCSD(T)/cc-pVDZ изчисления с помощта на оптимизирани MP2/cc-pVDZ геометрии на реагентите, продуктите и преходните състояния в реакции 52-59. Получените резултати са представени в Таблица 2. Енергетичните бариери на реакциите, изчислени на ниво MP2, са с 5-7% по-високи (реакции 54-59) или подобни (реакция 53) в сравнение с тези, изчислени на ниво CCSD(T). Изключение прави реакция 52, при която изчислената бариера на ниво SCS-MP2 е с 6% по-ниска от изчислената на ниво CCSD(T). Методът SCS-MP2 обаче има значително предимство поради по-ниските изчислителни разходи в сравнение с тези на CCSD(T).

Таблица 1.

Енергетични разлики между реагентите и продуктите при 0 K (ΔH_0) и съответните енергетични бариери (ΔH_0^\ddagger) в kcal mol⁻¹ за реакциите 52-59, показани на фигура 3.28, изчислени на теоретични нива CCSD(T)/cc-pVDZ и SCS-MP2/cc-pVDZ с помощта на MP2/cc-pVDZ оптимизирана геометрия.

реакция	CCSD(T)/cc-pVDZ		SCS-MP2/cc-pVDZ	
	ΔH_0	ΔH_0^\ddagger	ΔH_0	ΔH_0^\ddagger
52	-14.0	39.0	-16.0	36.7
53	-1.7	43.0	-2.9	43.6
54	11.0	14.5	12.6	16.1
55	6.1	27.8	6.6	29.2
56	-10.0	42.5	-10.0	45.2
57	-7.4	36.4	-9.3	38.7
58	20.1	31.0	21.9	33.0
59	-5.9	21.4	-5.2	23.0

Методът SCS-MP2 е използван за получаване на по-точни стойности на енергетиката на реакции, в сравнение със стандартния MP2. SCS-MP2/cc-pVDZ

изчисленията на енергията въз основа на оптимизираните MP2/cc-pVDZ структури показват, че средно увеличаване на активационна енергия на реакции е в интервала от 6 до 12%.

Изчисленията на нива SMD/MP2/cc-pVDZ и SMD/SCS-MP2/cc-pVDZ, които вземат предвид взаимодействията на разтворителя, позволяват да се проследи въздействието на разтворителя върху активационна енергията на реакциите, техните реагенти и продукти. Използването на SMD модела води до намаляване на енергетичната бариера на реакциите в диапазона 0.2-13.9 kcal mol⁻¹. Изключение са някои реакции на дехидратация (стъпки 6, 8, 16, 49, 55 и 86) и реакции на хидролиза (стъпки 22 и 63), където стойностите на енергетичните бариери са по-високи – от 0.7 до 3.4 kcal mol⁻¹.

Сравнявайки влиянието на разтворителя на най-високото теоретично ниво, т.е. сравнение на SCS-MP2/cc-pVDZ и SMD/SCS-MP2/cc-pVDZ, намалението е най-силно при реакциите на: деаминиране 24 (52%), 27 (33%) 41 (58%), 43 (54%), 64 (45%), 70 (41%) и 74 (55%); тавтомеризация на изогуанин 47 (38%); взаимодействие на гуанидин и 3-хидроксиакрилонитрил 65 (27%); реакция между 2,5,6- триаминопиримидин-4(3*H*)-он и глиоксал 81 (41%); образуване на формилцианид (38%), карбамид (57%) и 2-((амино(хидрокси) метил) амино)ацетонитрил 1 (31%).

Профилите на потенциалната енергия на химичните реакции за образуване на химични прекурсори и стъпки 1-87 се отнасят за реакции, протичащи при 0 К. Това обаче ограничава сравненията с експериментите, които се провеждат при определени, а понякога и при много високи температури. Съвсем наскоро бе съобщено за сравнение на квантово-химични изчисления при 0 К и молекулна динамични симулации с включени ентропийни приноси по отношение на някои експериментални доказателства. За химичното превръщане на формалдехид и циановодород в гликолонитрил, Fergus *et al* са показали, че при 300 К гликолонитрила е по-стабилен от HCHO и HCN, но при екстремна температура (4500 К) има инверсия на стабилността между реагентите и продукта. За да се вземат предвид приносът на ентропията и температурата в свободната енергия, стойностите на свободната енергия Гибс (ΔG) и енергетичните бариери (ΔG^\ddagger) се изчисляват при температура 298.15 К. Сравнението между термодинамиката на реакциите при 0 К и 298.15 К е представено в Таблица 2.

Разликата в енергиите между реагентите и продуктите при 0 К (ΔH_0) е по-малка от тази при 298.15 К (ΔG_{298}) за всички реакции на амонолиза/хидролиза на циано групата в *ICNFI* и последващата циклизация, водеща до образуване на аденин/хипоксантин (стъпки 17-27), както и образуване на 2,6-диамино-пурин, гуанин и ксантин от *AICN* (стъпки 28-42). Подобни резултати са получени за реакциите на: тавтомеризация, дехидратация и декарбонилиране на формаид, образуването на 2-хидроксил-амино-ацетонитрил и формилцианид от циановодород и формаид образуване на 2-амино-ацетонитрил и изоцианова киселина, и 2-амино-малонитрил от 2-имино-ацетонитрил. При реакциите за образуване на цитозин и урацил енергетичните разлики (ΔH_0) са по-малки от (ΔG_{298}) при стъпки 60-62 (изключение са реакциите на хидролиза и деаминиране (стъпки 63,64)). Подобна тенденция се наблюдава и при повечето от реакциите за образуване на птерин и гуанин (стъпки 76, 78-82, 84, 87).

Противоположна тенденция се наблюдава при реакциите 1-3 11,12, 52, 55, 66, 68, 71, 75, 77, 83, 85, 86 и други. Тази тенденция е валидна и за реакциите на образуване на циановодород и вода от формимидинова киселина, мравчена киселина и амоняк от формаид и вода, карбамид от изоцианова киселина и амоняк. Интересен случай е образуването на 2-((амино(хидрокси)метил)амино) малонитрил от 2-амино-малонитрил и формаид (стъпка 11). Докато реагентите са по-малко стабилни от

продукта с $1.27 \text{ kcal mol}^{-1}$ при 0 K, те стават по-стабилни с $0.82 \text{ kcal mol}^{-1}$ при 298.15 K (Таблица 2). Аналогичен случай е реакцията 59, където ендотермична реакция при 0 K ($0.18 \text{ kcal mol}^{-1}$) става екзотермична ($-2.40 \text{ kcal mol}^{-1}$) при 298.15 K.

За всички разглеждани случаи бариерите на активация при 298.15 K, ($\Delta G_{298}^{\#}$), са по-високи от бариерите при 0 K ($\Delta H_0^{\#}$) (виж Таблица 2), с изключение на реакцията за образуване на 3-хидрокси-акрилонитрил, където бариерата е по-ниска с 1%. Основна тенденция е увеличението на енергията на активация от 1% до 18%. Освен това, при някои реакции увеличението е в диапазона 19-29% (стъпки 24, 25, 54, 81). Промяната е най-силно изразена при реакцията за образуване на карбамид от изоцианова киселина и амоняк – 46% и стъпка 83 (затваряне на шестчленен цикъл преди образуването на птерин) – 32%. Стойностите на скоростните константи, изчислени от уравнението на Eyring, при 298.15 K, $k = (k_B T / h) \cdot e^{-\Delta G^{\#} / RT}$, където k_B , h и R са съответно константа на Boltzmann, Planck и универсална газова константа, а $\Delta G^{\#}$ е свободна енергия на активация на Gibbs, също са представени в Таблица 3.

Таблица 3.

Енергетични разлики, ΔH_0 и ΔG_{298} , и енергетични бариери, $\Delta H_0^{\#}$ и $\Delta G_{298}^{\#}$ (kcal/mol), за реакциите, показани на фигури 3.3-3.9, 3.13, 3.14, 3.17, 3.19, 3.22, 3.25, 3.28, 3.33, 3.36 и 3.39 в дисертацията, изчислени на ниво SMD/SCS-MP2/cc-pVDZ. Съответните скоростни константи (k) са изчислени в s^{-1} .

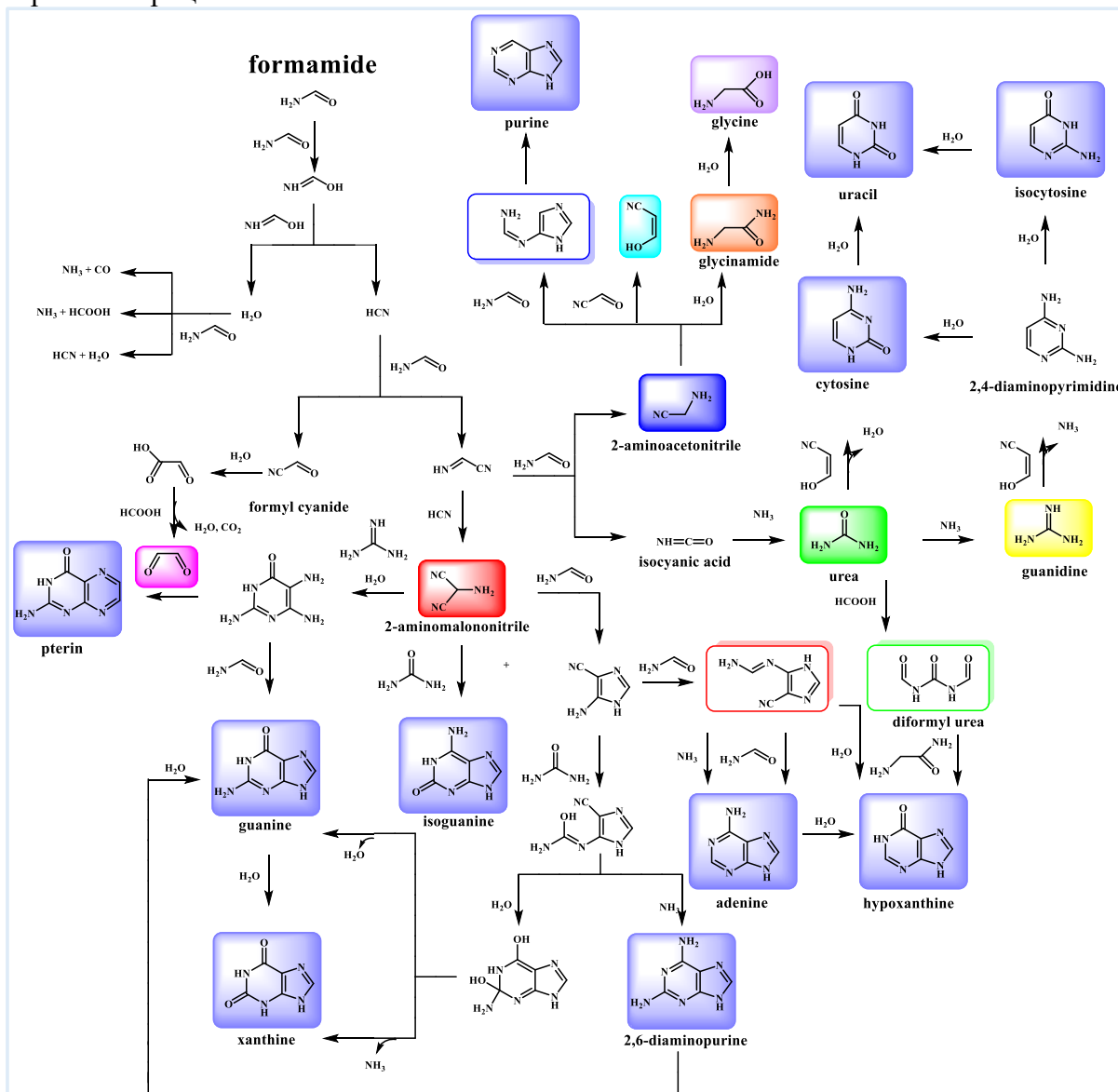
Реакция	ΔH_0	ΔG_{298}	$\Delta H_0^{\#}$	$\Delta G_{298}^{\#}$	k
фиг. 3.3a	12.91	13.00	25.36	27.01	9.83×10^{-8}
фиг. 3.3b	33.80	34.16	34.99	36.75	7.12×10^{-15}
фиг. 3.3c	-20.64	-20.16	21.35	21.72	7.43×10^{-4}
фиг. 3.3d	-8.19	-9.91	32.53	34.24	4.93×10^{-13}
фиг. 3.3e	-13.16	-12.66	25.08	27.73	2.92×10^{-8}
фиг. 3.3f	-6.71	-7.47	33.65	34.55	2.92×10^{-13}
фиг. 3.4 (горе)	13.35	14.70	35.31	36.78	6.77×10^{-15}
фиг. 3.4 (ляво)	16.15	15.49	31.12	31.89	2.60×10^{-11}
фиг. 3.4 (дясно)	1.27	2.02	4.35	5.16	1.02×10^9
фиг. 3.5a	-2.93	-4.41	40.33	41.94	1.12×10^{-18}
фиг. 3.5b	-11.77	-10.10	6.23	9.13	1.26×10^6
фиг. 3.5c	2.96	4.62	31.87	34.68	2.34×10^{-13}
фиг. 3.6a	-8.43	-6.00	30.98	33.34	2.25×10^{-12}
фиг. 3.6b	-13.90	-14.16	3.28	4.16	5.54×10^9
фиг. 3.7a	3.75	4.08	8.88	10.13	2.33×10^5
фиг. 3.7b	-9.98	-11.64	29.29	29.95	6.88×10^{-10}
фиг. 3.7c	-14.54	-13.22	22.78	24.66	5.19×10^{-6}
фиг. 3.8a	-13.93	-11.75	25.53	27.85	2.38×10^{-8}
фиг. 3.8b	0.59	0.59	6.98	7.39	2.38×10^7
фиг. 3.8c	-7.30	-7.76	21.35	23.39	4.43×10^{-5}
фиг. 3.8d	-2.37	-4.34	49.80	51.84	6.17×10^{-26}
фиг. 3.9a	-29.03	-26.22	39.74	42.44	4.80×10^{-19}
фиг. 3.9b	5.79	6.31	37.26	39.12	1.30×10^{-16}
фиг. 3.9c	4.42	2.25	63.75	63.30	2.45×10^{-34}
стъпка 1	-2.87	-0.80	15.78	18.18	2.92×10^{-1}

стъпка 2	6.05	5.11	21.88	22.44	2.20×10^{-4}
стъпка 3	-12.83	-12.60	31.48	33.46	1.84×10^{-12}
стъпка 4	8.31	8.70	22.81	24.67	5.11×10^{-6}
стъпка 5	-4.03	-1.17	16.22	18.82	9.92×10^{-2}
стъпка 6	7.16	5.94	25.04	26.15	4.20×10^{-7}
стъпка 7	0.86	2.37	24.70	26.70	1.66×10^{-7}
стъпка 8	12.42	10.94	29.21	30.25	4.15×10^{-10}
стъпка 9	-0.94	-0.24	21.73	22.93	9.63×10^{-5}
стъпка 10	-32.49	-35.41	21.01	22.24	3.09×10^{-4}
стъпка 11	-1.27	0.82	20.96	24.36	8.62×10^{-6}
стъпка 12	8.57	7.12	25.82	26.67	1.75×10^{-7}
стъпка 13	-18.38	-19.13	26.20	27.70	3.07×10^{-8}
стъпка 14	1.20	1.36	17.95	19.57	2.80×10^{-2}
стъпка 15	-2.53	-0.70	20.38	22.38	2.44×10^{-4}
стъпка 16	6.17	4.24	26.00	26.31	3.21×10^{-7}
стъпка 17	12.15	13.50	34.61	36.67	8.15×10^{-15}
стъпка 18	8.48	9.11	19.67	20.80	3.51×10^{-3}
стъпка 19	-8.79	-11.44	12.54	13.22	1.26×10^3
стъпка 20	6.72	8.63	43.78	46.55	4.66×10^{-22}
стъпка 21	2.93	3.30	7.65	8.82	2.13×10^6
стъпка 22	2.97	4.78	41.08	44.26	2.22×10^{-20}
стъпка 23	12.62	13.31	22.84	23.78	2.29×10^{-5}
стъпка 24	-19.25	-21.02	7.90	9.63	5.42×10^5
стъпка 25	-5.22	-5.41	6.36	7.58	1.72×10^7
стъпка 26	8.30	9.70	26.27	28.71	5.58×10^{-9}
стъпка 27	-20.62	-23.16	5.39	5.93	2.79×10^8
стъпка 28	-6.89	-7.35	31.93	35.00	1.37×10^{-13}
стъпка 29	14.43	14.76	12.21	12.76	2.75×10^3
стъпка 30	9.34	12.96	27.11	31.48	5.20×10^{-11}
стъпка 31	14.49	16.29	27.23	29.03	3.25×10^{-9}
стъпка 32	-16.83	-18.11	13.51	13.85	4.37×10^2
стъпка 33	15.25	15.89	38.76	40.80	7.65×10^{-18}
стъпка 34	17.67	18.81	29.62	30.62	2.22×10^{-10}
стъпка 35	-31.05	-31.60	9.66	10.57	1.11×10^5
стъпка 36	-4.74	-5.48	7.36	7.90	1.00×10^7
стъпка 37	-8.40	-10.54	12.76	14.22	2.34×10^2
стъпка 38	6.58	7.05	8.55	9.66	5.15×10^5
стъпка 39	6.08	6.43	7.04	7.90	1.00×10^7
стъпка 40	10.29	11.19	26.92	28.70	5.67×10^{-9}
стъпка 41	-26.60	-28.84	3.32	3.79	1.03×10^{10}
стъпка 42	3.55	5.09	25.67	27.92	2.12×10^{-8}
стъпка 43	-30.81	-33.70	2.91	3.41	1.97×10^{10}
стъпка 44	16.43	17.19	37.83	39.81	4.07×10^{-17}
стъпка 45	18.89	17.83	31.75	32.76	5.99×10^{-12}
стъпка 46	-21.55	-20.44	28.74	30.57	2.42×10^{-10}

стъпка 47	4.98	5.19	6.84	7.89	1.02×10^7
стъпка 48	19.15	22.05	24.30	27.53	4.09×10^{-8}
стъпка 49	8.40	7.22	22.62	23.65	2.86×10^{-5}
стъпка 50	-41.98	-43.55	5.89	6.71	7.49×10^7
стъпка 51	-41.40	-42.51	6.48	7.63	1.58×10^7
стъпка 52	-16.81	-16.65	27.73	30.45	2.96×10^{-10}
стъпка 53	-5.52	-5.62	33.71	36.43	1.22×10^{-14}
стъпка 54	10.63	13.20	13.88	17.87	4.93×10^{-1}
стъпка 55	8.48	7.20	30.18	31.17	8.77×10^{-11}
стъпка 56	-12.68	-11.86	44.01	45.57	2.44×10^{-21}
стъпка 57	-7.43	-8.74	34.93	35.77	3.72×10^{-14}
стъпка 58	21.49	23.64	31.03	33.74	1.15×10^{-12}
стъпка 59	0.18	-2.40	25.58	26.17	4.06×10^{-7}
стъпка 60	-17.72	-17.23	39.75	41.91	1.17×10^{-18}
стъпка 61	-26.57	-25.87	24.19	26.60	1.96×10^{-7}
стъпка 62	-21.43	-21.38	7.36	8.52	3.53×10^6
стъпка 63	3.08	3.94	22.69	24.25	1.04×10^{-5}
стъпка 64	-19.48	-22.14	4.25	4.36	3.95×10^9
стъпка 65	-10.89	-12.74	38.50	40.24	1.97×10^{-17}
стъпка 66	-21.97	-21.30	25.41	27.28	6.23×10^{-8}
стъпка 67	5.21	5.30	7.82	8.66	2.78×10^6
стъпка 68	0.22	0.21	5.90	6.50	1.07×10^8
стъпка 69	9.79	11.38	31.24	33.49	1.75×10^{-12}
стъпка 70	-23.51	-25.72	4.46	4.94	1.49×10^9
стъпка 71	-1.32	-0.31	20.36	22.35	2.56×10^{-4}
стъпка 72	-22.87	-25.32	4.36	4.94	1.49×10^9
стъпка 73	12.52	14.10	26.09	27.83	2.46×10^{-8}
стъпка 74	-28.07	-30.29	3.81	4.45	3.40×10^9
стъпка 75	-13.53	-12.51	25.39	26.90	1.18×10^{-7}
стъпка 76	1.21	1.38	6.93	7.43	2.22×10^7
стъпка 77	-6.05	-4.62	33.42	34.94	1.51×10^{-13}
стъпка 78	-6.98	-7.86	20.87	21.68	7.94×10^{-4}
стъпка 79	13.35	14.42	36.56	38.74	2.48×10^{-16}
стъпка 80	3.89	4.21	8.21	9.02	1.52×10^6
стъпка 81	2.08	3.79	10.48	12.83	2.44×10^3
стъпка 82	-13.53	-14.21	15.34	16.53	4.74
стъпка 83	-7.49	-5.03	8.56	11.26	3.46×10^4
стъпка 84	-19.73	-21.54	11.70	12.22	6.84×10^3
стъпка 85	1.10	2.61	19.20	20.82	3.39×10^{-3}
стъпка 86	1.50	0.71	20.36	20.90	2.96×10^{-3}
стъпка 87	-38.14	-39.66	8.42	9.72	4.65×10^5

3.6 ОБОБЩЕНИЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

Предложен е единен реакционен път за образуване на пуринови и пиримидинови нуклеобазы, и птерин от чист формамид. Всички реагенти (HCN, амоняк, вода, HCOOH, HNCO, карбамид, гуанидин, глиоксал и 3-хидроксиакрилонитрил), необходими за последващи реакции, се получават в резултат на разлагане на формамид. Представените реакции са катализирани само от формамид или неговия тавтомер – формимидинова киселина, която се образува на първата стъпка в реакционния път (Фигура 3.41). Тези реакции на базата на формамид възникват в резултат само на термични процеси.



Фигура 3.41 Обща реакционна схема, показваща цялостна картина на образуването на пребиотични прекурсори, пуринови и пиримидинови бази, и птерин от формамид.

В предложената реакционна мрежа (Фигура 3.41) пурин, аденин, хипоксантин, 2,6-диамино-пурин, гуанин и ксантин се образуват по механизъм, при който първо се изгражда имидазолов пръстен, а след това пиримидинов, докато при изогуанин е обратното – първо се образува пиримидиновия пръстен, а след това имидазология. Гуанин също може да се образува по механизъм, при който първо се изгражда

пиримидиновия пръстен, а след това имидазоловия (Фигура 3.40). Образуването на гуанин през 2-амино-малонитрил и гуанидин е термодинамически изгодно. В допълнение, карбамида играе съществена роля за образуването на 2,6-диамино-пурин, гуанин, ксантин, изогуанин, цитозин и урацил. Гуанидин, от своя страна е стартово съединение за образуване на изоцитозин, цитозин и урацил през 2,4-диамино-пиримидин. Глиоксал, който е продукт на хидролиза на формилцианид, е пребиотичен прекурсор, водещ до образуване на птерин.

Получените резултати показват, че има тясната връзка между пребиотичната химия на гуанин и птерин – коеволуция на пурины и птерин(и). Птерина (2-амино-4-оксо-птеридин) е сърцевината на основни кофактори. Биохимичното предимство на птерините като кофактори е способността им да образуват редуцирани (дихидро и тетраидро) производни, което им позволява да бъдат основните агенти в няколко биологични редокс реакции за синтеза и поддържането на ДНК. Възможно е, в първите стъпки на химическата еволюция и двете структури да са били на разположение, за да бъдат включени в пре-РНК структури. По отношение на пребиотичната химия, пурините и птерините изглежда са предопределени да бъдат заедно.

Следвайки реакционните пътища, показани на Фигура 3.15 и Фигура 3.20, пурин трябва да се образува първи, тъй като определящ етап е затварянето на шестчленния пръстен (за *IFI* и *ICNFI*, виж Фигура 3.12 и Фигура 3.16). След това аденин е вероятно да се появи първи (следвайки черната линия на Фигура 3.20), но ако загряването на формамид е за по-дълъг период от време, аденин и хипоксантин ще присъстват едновременно в сместа. От термодинамична гледна точка изглежда, че гуанин също трябва да присъства в сместа (следвайки черната линия на Фигура 3.23). По-малко вероятно е 2,6-диамино-пурин да бъде открит в реакционната смес, тъй като той би трябвало да се превърне в гуанин и евентуално от гуанин в ксантин.

Анализите на реакционните продукти, получени на базата на формамид, са направени с използване на газова хроматография, съчетана с мас-спектрометрия (GC-MS). Много продукти, получени при реакциите на базата на формамид, са полярни и нелетливи и трябва да бъдат дериватизирани за да преминат през хроматографската колоната. По този начин, съединения, които не дериватизират добре, не могат да бъдат открити при анализа на продуктите. Например, гуанин е такова съединение. Вероятно, същият проблем се наблюдава и при изогуанин и ксантин. Както се вижда от Фигура 3.10, карбамид трябва да присъства в сместа още в ранния етап на загряването на формамид. Количеството изогуанин зависи от количеството на карбамида. Въпреки че всички предходни стъпки в реакционния път на получаването на изогуанин (Фигура 3.26) са ендотермични, последната стъпка е силно екзотермична и вероятно изогуанин може да бъде открит. Течната хроматография, съчетана с тандемна мас-спектрометрия (LCMS/MS) не изисква дериватизация на пробите и от тази гледна точка е подходяща за анализ на тези съединения. Като цяло представените теоретични изследвания дават основа за по-подробни и задълбочени анализи на смесите, получени чрез загряване на чист формамид.

ИЗВОДИ

1. При загряване на формамид протичат химични реакции, при което се образуват основни пребиотични прекурсори – циановодород, вода, мравчена киселина, амоняк, изоцианова киселина, 2-амино-ацетонитрил, 2-амино-малонитрил, карбамид, гуанидин, глиоксал и формилцианид. Енергетичните бариери на тези реакции не надвишават $40.0 \text{ kcal mol}^{-1}$ и поради това е възможно те да се извършват при температури от 100°C .
2. Предложена е мрежа от взаимно свързани автокаталитични химични реакции за получаване на нуклеобазы. **За първи път са предложени механизми на пребиотични автокаталитични реакции за образуване на аденин, хипоксантин, 2,6-диамино-пурин, гуанин, ксантин, изогуанин, птерин, 3-хидрокси-акрилонитрил и карбамид от формамид без да се използват каквито и да са катализатори.**
3. Показано е, че отчитането на електронната корелация от по-висок порядък при използването на метода SCS-MP2 води до увеличаване на изчислената активационна енергия на изследваните реакции от 6 до 12% в сравнение с изчисленията направени с метода MP2.
4. Отчитането на влиянието на средата (формамид) може да доведе до намаляване на енергетичната бариера на реакциите до 55%.
5. Получената информация за реакционните пътища, междинните продукти, енергетичните бариери и преходните състояния на моделираните реакции дава възможност да изчислят кинетичните и енергетичните характеристики на реакциите. Показано е, че отчитането на ентропийните фактори води до увеличаване на енергетичните бариери средно с 9% в сравнение с бариерите, изчислени при 0 K.
6. Показано е, че резултатите от изчисленията, проведени с метода SCS-MP2 са сравними с тези, направени с CCSD(T), които са приети за така нареченият „златен стандарт“ по отношение на точността.
7. Проведените изследвания показват как тръгвайки от една родителска молекула (формамид) по един много логичен начин може да се стигне до изграждащите блокове на информационните полимери, ДНК и РНК, които са в основата на химичната еволюция. Получените резултати са много добра основа за по-нататъшни изследвания в областта на химичната еволюция, основаваща се на протичането на пребиотични реакции на базата на формамид.

ПРИНОСИ

1. Създадена е единна схема за получаване на мрежа от реакции, в резултат на които само от чист формамид се достига до пуринови и пиримидинови нуклеобазы.
2. За първи път е показано, че птерин може да бъде получен в резултат на термично загряване на формамид и са предложени съответните реакционни пътища.

Научни публикации, включени в дисертацията

- (1) Slavova, S.; Enchev, V. **Self-catalytic Mechanism of Prebiotic Reactions: From Formamide to Purine Bases.** *Int. J. Quantum Chem.* 120 (19), 2020, e26362. <https://doi.org/10.1002/qua.26362>.
IF=2.26, Q2
- (2) Enchev, V.; Angelov, I.; Dincheva, I.; Stoyanova, N.; Slavova, S.; Rangelov, M.; Markova, N. **Chemical Evolution: From Formamide to Nucleobases and Amino Acids without the Presence of Catalyst.** *J. Biomol. Struct. Dyn.* 39, 2021, 1–16. <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1792986>.
IF = 3.31, Q2
- (3) Enchev, V.; Slavova, S. **Self-catalytic Mechanism of Prebiotic Reactions: II. From Urea and Glycinamide to Hypoxanthine.** *Int. J. Quantum Chem.* 121, 2021, e26508. <https://doi.org/10.1002/qua.26508>.
IF = 2.26, Q2

Списък на забелязани цитати върху публикациите, включени в дисертацията

- (1) Enchev, V.; Slavova, S. **Self-catalytic Mechanism of Prebiotic Reactions: II. From Urea and Glycinamide to Hypoxanthine.** *Int. J. Quantum Chem.* 121, 2021, e26508. <https://doi.org/10.1002/qua.26508>.
IF = 2.26, Q2

Цитира се в:

Dutta, A.; Trolles-Cavalcante, S. T. Y.; Cleetus, A.; Marks, V.; Schechter, A.; Webster, R. D.; Borenstein, A. **Surface Modifications of Carbon Nanodots Reveal the Chemical Source of Their Bright Fluorescence.** *Nanoscale Adv.* 2021. <https://doi.org/10.1039/D0NA00871K>.

- (2) Enchev, V.; Angelov, I.; Dincheva, I.; Stoyanova, N.; Slavova, S.; Rangelov, M.; Markova, N. **Chemical Evolution: From Formamide to Nucleobases and Amino Acids without the Presence of Catalyst.** *J. Biomol. Struct. Dyn.* 39, 2021, 1–16. <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1792986>.
IF = 3.31, Q2

Цитира се в:

1. Hortal, L.; Pérez-Fernández, C.; de la Fuente, J. L.; Valles, P.; Mateo-Martí, E.; Ruiz-Bermejo, M. **A Dual Perspective on the Microwave-Assisted Synthesis of HCN Polymers towards the Chemical Evolution and Design of Functional Materials.** *Sci. Rep.* 2020, 10 (1), 22350. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-79112-5>.



2. M. Ruiz-Bermejo, J. L. de la Fuente, C. Pérez-Fernández, E. Mateo-Martí, **A comprehensive review of HCN-derived polymers.** *Processes* 9 (2021) 597
<https://doi.org/10.3390/pr9040597>
3. L. Petera, K. Mrazikova, L. Nejd, K. Zemankova, M. Vaculovicova, A. Pastorek, S. Civis, P. Kubelik, A. Heays, G. Cassone, J. Sponer, M. Ferus, J. Sponer, **Prebiotic route to thymine from formamide – A combined experimental-theoretical study.** *Molecules* 26 (2021) 2248
<https://doi.org/10.3390/molecules26082248>

Доклади на научни форуми:

1. 18/11/2020
София,
България
Юбилейна научна сесия, посветена на 100-годишнината от рождението на академик Георги Близнаков
С. Славова, В. Енчев
"Ab initio моделиране на механизми на пребиотични реакции: от формамид до хипоксантин"
2. 10/09/2020
София,
България
Единадесета научна сесия "МЛАДИТЕ УЧЕНИ В СВЕТА НА ПОЛИМЕРИТЕ"
С. Славова, В. Енчев
Постер "Пребиотично образуване на хипоксантин от формамид"
3. 06-08/12/2019
Творчески дом на БАН "Златни мостове" – Витоша
XXII Зимен Семинар "ИНТЕРДИСЦИПЛИНАРНА ФИЗИКА" на младите учени и докторанти
С. Славова, В. Енчев
Устен доклад "Образуване на птерин от формамид"
4. 22-23/11/2019
Пловдив,
България
Пета научна конференция за студенти, докторанти и млади учени "ПРЕДИЗВИКАТЕЛСТВА В ХИМИЯТА"
С. Славова, В. Енчев
Постер "Образуване на пиримидиновите бази цитозин и урацил от формамид"
5. 01-02/11/2019
Разград,
България
Научна конференция с международно участие "Нови индустрии, дигитална икономика, общество-проекции на бъдещето-II"
Enchev V., Slavova S.
Устен доклад "Ab Initio Study of Mechanism of Prebiotic Reactions: from Urea and Glycinamide to Hypoxanthine"
6. 29/08-31/08/2019
Хотел „Самоков”,
Боровец
Втори интердисциплинарен докторантски форум
Славова С., Енчев В.
Устен доклад "От формамид до нуклеобазы – подреждане на пъзела"
7. 03-05/07/2019
София,
Десета Работна среща "Експериментални модели и методи в биомедицинските проучвания"

- | | | |
|-----|---------------------------------------|--|
| | България | Slavova S. , Enchev V.
Устен доклад "Ab initio study of the nucleobases formation as a result of chemical evolution" |
| 8. | 15-17/05/2019
София,
България | XVIII Национална конференция по химия за студенти и докторанти 2019
Славова С. , Енчев В.
Устен доклад "Химична еволюция – образуване на пуринови бази от формамид без присъствие на катализатор" |
| 9. | 19-21/04/2019
София,
България | XII-ти Пролетен семинар на младите учени и докторанти от БАН
"Интердисциплинарна химия"
Славова С. , Енчев В.
Устен доклад "Квантово-химично моделиране на пребиотични реакции на основата на формамид" |
| 10. | 04-05/04/2019
София,
България | Национална студентска конференция по фармацевтични и химични науки
Slavova S. , Enchev V.
Устен доклад "Ab initio modeling of prebiotic formamide-based reactions" |
| 11. | 02-03/11/2018
Разград,
България | Научна конференция с международно участие "Нови индустрии, дигитална икономика, общество-проекции на бъдещето"
Enchev V. , Slavova S.
Постер "From formamide to glycine acid urea: an ab initio study" |
| 12. | 02-03/11/2018
Разград,
България | Научна конференция с международно участие "Нови индустрии, дигитална икономика, общество-проекции на бъдещето"
Enchev V. , Angelov I., Markova N., Stoyanova N., Slavova S., Dincheva I., Krasavin E., Kapralov M., Avramov L.
Устен доклад "From formamide to nucleic acid monomers and amino acid by using various energy sources" |

Награди

- | | | | |
|----|----------------------------------|--|---|
| 1. | 12/05/2019
София,
България | <p>II място с тема "Произходът на живота"</p> <p>Конкурс по комуникация на науката в света
"Лаборатория за слава FameLab"
https://nauka.offnews.bg/news/Novini_1/13-ta-laboratoriia-za-slava-FameLab-Dobrite-poslaniia-na-mladite-uche_128505.html</p> <p>https://mediabricks.bg/финалът-на-famelab-2019-състезание-за-комуникат/</p> |  |
| 2. | | <p>Специална награда на Съюзът на учените в България в рамките на конкурс по комуникация на науката в света "Лаборатория за слава FameLab"</p> <p>https://mediabricks.bg/финалът-на-famelab-2019-състезание-за-комуникат/</p> |  |