



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FARMACEUTSKO-BIOKEMIJSKI FAKULTET

DAVOR ŠAKIĆ

**KVANTNO-KEMIJSKO ISTRAŽIVANJE
REAKCIJA PREGRAĐIVANJA
ODABRANIH PSIHOFARMAKA**

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2015.



UNIVERSITY OF ZAGREB
FACULTY OF PHARMACY AND BIOCHEMISTRY

DAVOR ŠAKIĆ

**QUANTUM-CHEMICAL INVESTIGATION
OF REARRANGEMENT REACTIONS OF
SELECTED
PSYCHOPHARMACEUTICALS**

DOCTORAL THESIS

Zagreb, 2015.



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FARMACEUTSKO-BIOKEMIJSKI FAKULTET

DAVOR ŠAKIĆ

**KVANTNO-KEMIJSKO ISTRAŽIVANJE
REAKCIJA PREGRAĐIVANJA
ODABRANIH PSIHOFAARMAKA**

DOKTORSKI RAD

Mentor: Prof. dr. sc. Valerije Vrček

Zagreb, 2015.

Rad je predan na ocjenu Fakultetskom vijeću Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu radi stjecanja akademskog stupnja doktora znanosti iz područja biomedicine i zdravstva, polje farmacija, grana farmacija.

Rad je izrađen na Zavodu za organsku kemiju Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, u sklopu doktorskog studija „Farmaceutsko-biokemijske znanosti“ Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Zahvale:

Prof. dr. sc. Valeriju Vrčeku na znanju, strpljenju, pomoći, savjetima i životnim mudrostima tijekom desetljeća zajedničke suradnje.

Prof. dr. sc. Mariu Gabričeviću, doc. dr. sc. Ani Budimir, doc. dr. sc. Tinu Weitneru i Grozdani Harapin na divnoj suradnji i obiteljskoj atmosferi na Zavodu za Opću i anorgansku kemiju.

Prof. dr. sc. Mladenu Birušu na stalnim pitanjima i plodonosnoj diskusiji koja me naučila da stvari ne promatram iz samo jedne perspektive.

Prof. dr. sc. Hendriku Zipseu, dr. sc. Johnnyu Hioeu i dr. sc. Florianu Achraineru na savjetima, idejama i suradnji.

Teni Tarade, Mirni Maričić, Pavici Šonjić, Tani Tandarić i Valentini Havaić na velikom strpljenju prilikom mojih nespretnih objašnjavanja što točno kada (i kako) treba napraviti. Najbolje ste!

Emiru Imamagiću i ostalima na održavanju klastera Isabella kojeg sam danonoćno opsjedao svojim računima, te me nisu izbacivali zbog previše popunjenog diska.

Prijateljima i kolegama s Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta koji su bili uz mene dok sam mislio da ovo nikada neće biti gotovo, te me potjerali i usmjerili na cilj.

Svojim roditeljima i baki, na strpljenju i razumijevanju za moj dugački studij poslije studija i stalnom podsjećanju na pristigle obaveze.

Sestri, jedinstvenoj pomoći i savezniku u teškoćama.

Mojoj ženi, na ljubavi, potpori, prijateljstvu i ramenu za plakanje. Hvala ti što mi nisi dopustila da potpuno izgubim razum.

Mojoj kćeri, koja je na mom koljenu proučila svaku napisanu riječ te povremeno dodala neku svoju.

SAŽETAK

U okviru ovog doktorskog rada, kvantno-kemijskim su metodama proučavani mehanizmi pregrađivanja odabranih psihofarmaka. Poznavanje ekološke i kemijske sudbine lijekova važno je u procjeni rizika njihovih derivata u okolišu. Istraženi su mehanizmi koji uključuju reakcije s hipoklorastom kiselinom (HOCl), pri čemu nastaju kloramini i kloramidi, reaktivne specije koje sudjeluju u procesima formiranja *N*-radikala, dehidrohalogenacije, eliminacije fragmenata, epoksidacije te mnogim drugim.

Preliminarna istraživanja reakcija s HOCl provedena su na modelnim spojevima: amonijaku kao najmanjem aminu, te *N*-metil-acetamidu koji predstavlja skupinu amida (uključujući peptide). Dobiveni rezultati za reakcije s amonijakom pokazuju da je HOCl reaktant koji može klorirati i/ili hidroksilirati atom dušika. Kod amina supstituiranih alkilnim skupinama moguća je i hidroksilacija α -atoma. Amidi, da bi reagirali s HOCl, tautomeriziraju u iminolnu formu, koji je reaktivniji izomer. Analizom je pokazano da u iminoloj formi atom dušika postaje nukleofilniji, što omogućuje bržu reakciju s klorom u HOCl. Prijelazno stanje za kloriranje iminola karakterizirano je cikličkom strukturom u kojem prijenos vodikovog atoma kataliziraju molekule vode.

Osim reakcija kloriranja i hidroksiliranja psihofarmaka paroksetina, haloperidola i aripiprazola, posebno su istražene reakcije pregrađivanja putem *N*-radikala i *N*-radikal kationa, te reakcije pregrađivanja u lužnatom mediju metabolita antidepressiva paroksetina. Locirani produkti često sadrže funkcionalne skupine koje se ne nalaze u polaznim spojevima (npr. formiranje C=C i C=N dvostrukih veza, stvaranje tricikličkih i bicikličkih prstenova...).

Osim kloriranja amidne i imidne skupine u psihofarmacima barbituratne i hidantoinске strukture, proučavan je i mehanizam pregrađivanja antiepileptika i antipsihotika karbamazepina. Kvantno-kemijskim metodama objašnjeni su svi eksperimentalni signali u odgovarajućim masenim spektrima te su opisani svi relevantni reakcijski mehanizmi.

Ključne riječi: psihofarmaci, hipoklorasta kiselina, kvantno-kemijske metode, kloramini, kloramidi, *N*-radikali, ekološka sudbina

SUMMARY

In this doctoral thesis, rearrangement reactions of selected psychopharmaceuticals were investigated using quantum-chemical methods. Data on ecological and chemical fate of pharmaceuticals is of utmost importance for environmental risk assessment. Investigated mechanisms involve reaction with hypochlorous acid (HOCl), in which chloramines and chloramides were formed. These reactive species can subsequently rearrange via formation of *N*-centered radicals, dehydrohalogenation, fragment elimination, epoxidation, etc.

Preliminary investigations of reaction with HOCl were performed on model compounds: ammonia, as the smallest amine, and *N*-methyl-acetamide, which represents amide and peptides. Results obtained indicate the ambivalent reactivity of HOCl; it can chlorinate and hydroxylate nitrogen atom. In alkylamines, hydroxylation of $C\alpha$ -atom is also possible. In order to react with HOCl, amides undergo tautomerization to more reactive iminol form. Data have shown that the nitrogen atom in iminol form is more nucleophilic, and could more easily react with the chlorine in HOCl. Transition state for iminol chlorination is characterized by cyclic structure, in which water molecules catalyze hydrogen atom transfer.

Investigation on chlorination and hydroxylation of paroxetine, haloperidol and aripiprazole, has been complemented with the study on rearrangement reactions of paroxetine derivatives via *N*-centered radical, and *N*-centered radical cation, and elimination reactions in basic medium. Rearrangement products have different functional groups from that of the parent compound (C=C and C=N double bonds, novel tricyclic and bicyclic systems, etc., were observed in product structures).

Rearrangement reactions of antiepileptic and antipsychotic drug carbamazepine were investigated, as well as chlorination of amide and imide groups in barbiturate and hydantoin series. All experimental signals from mass spectrometer were successfully assigned using quantum-chemical methods, and all relevant reaction mechanisms were described in details.

Keywords: psychopharmaceuticals, hypochlorous acid, quantum-chemical methods, chloramines, chloramides, *N*-centered radicals, ecological fate

1. SADRŽAJ

1. Sadržaj.....	1
1.1. Popis tablica, slika i shema.....	3
2. Uvod.....	9
2.1. Obrazloženje teme	10
2.1.1. Lijekovi u okolišu	10
2.1.2. Psihofarmaci u okolišu.....	13
2.1.3. Hipoklorasta kiselina u vodenom okolišu	15
2.1.4. Računalni modeli za procjenu okolišne sudbine kemijskih spojeva.....	17
2.2. Plan istraživanja.....	20
3. Metode	22
3.1. Osnove tehnike kvantno-kemijskih izračuna.....	23
3.1.1. Izračun energije	24
3.1.2. Geometrijska optimizacija.....	25
3.1.3. Frekvencijski račun	27
3.2. Metode kvantno-kemijskih izračuna	29
3.2.1. Hatree-Fock metoda.....	29
3.2.2. Post-HF metode.....	30
3.2.3. Semiempirijske metode.....	31
3.2.4. DFT metode.....	32
3.2.5. Kompozitne metode	33
3.3. Parametri kvantno-kemijskih izračuna	34
3.3.1. Bazni skupovi.....	34
3.3.2. Solvatacijski efekti	35
3.3.3. Ograničenja kvantno-kemijskih izračuna	37
3.4. Primjenjene kvantno-kemijske metode i parametri	39
4. Rezultati i rasprava	43
4.1. Kloriranje i hidroksilacija amina hipoklorastom kiselinom	44
4.1.1. Uvod	44
4.1.2. Reakcija između amonijaka i HOCl	45
4.1.3. Reakcije između metilamina i <i>N,N</i> -dimetilamina s HOCl	52
4.1.4. Reakcija piperidina, morfolina i piperazina s HOCl.....	56
4.1.5. Reakcije psihofarmaka s HOCl.....	59
4.2. Bazno katalizirane reakcije <i>N</i> -klorpiperidina važnih u okolišu.....	61
4.2.1. Uvod	61

4.2.2. <i>N</i> -klorpiperidin	63
4.2.3. <i>N</i> -klor-3-(hidroksimetil)piperidin.....	69
4.2.4. <i>N</i> -klor-4-(4-fluorfenil)-3-(hidroksimetil)piperidin	72
4.3. Reakcije pregrađivanja radikalskih metabolita paroksetina	77
4.3.1. Uvod	77
4.3.2. <i>N</i> -radikal i <i>N</i> -radikal kation	81
4.3.3. Dehidratacija <i>N</i> -radikal kationa.....	82
4.3.4. Dehidratacija <i>C</i> -radikal kationa i formiranje alkena.....	84
4.3.5. Reakcije ciklodehidratacije <i>C</i> -radikal kationa	85
4.3.6. Ciklodehidratacija <i>N</i> -radikal kationa.....	85
4.3.7. Stabilnost radikala nastalih pregrađivanjem <i>N</i> -radikal kationa.....	86
4.3.8. Pregled mehanizma pregrađivanja paroksetina.....	88
4.4. Kloriranje amida s hipoklorastom kiselinom.....	91
4.4.1. Uvod	91
4.4.2. Kloriranje <i>N</i> -metilacetamida.....	92
4.4.3. <i>N</i> -kloriranje modelnih amida.....	97
4.4.4. Kloriranje psihofarmaka s amidnom skupinom	99
4.4.5. Pregled mehanizma kloriranja amida	110
4.5. Reakcije pregrađivanja karbamazepina s hipoklorastom kiselinom.....	112
4.5.1. <i>N</i> -kloriranje karbamazepina	113
4.5.2. Epoksidacija karbamazepina	116
4.5.3. Formiranje iminostilbena.....	116
4.5.4. Formiranje oksoiminostilbena	118
4.5.5. Formiranje 9-formil-akridina	120
4.5.6. Deaminacija karbamazepina	122
4.5.7. Pregled mehanizma pregrađivanja karbamazepina	122
5. Zaključak.....	124
6. Literatura.....	128
7. Popis kratica.....	144
8. Životopis	147
9. Prilog.....	150
10. Temeljna dokumentacijska kartica	181

1.1. Popis tablica, slika i shema

Shema 1. Očekivani putevi izloženosti lijekova za humanu primjenu u okolišu.....	10
Shema 2. Reakcije formiranja i pregrađivanja kloramina.....	12
Tablica 1. Oksidacijska snaga različitih oksidansa.....	16
Shema 3. Strukture paroksetina (A), haloperidola (B) i aripiprazola (C). Crveno su označeni dijelovi strukture koji se metablički uklanjaju procesom O- i N-dealkilacije.	20
Shema 4. Strukture fenitoina (D), fenobarbitala (E) i karbamazepina (F).	21
Slika 1. Shematski prikaz plohe potencijalne energije za kemijsku reakciju.....	26
Shema 5. Predloženi mehanizam za dvije paralelne reakcije u plinskoj fazi: reakcija kloriranja ($1 \rightarrow \text{TS}_{\text{Cl}} \rightarrow 2$) i reakcija hidroksilacije ($1 \rightarrow \text{TS}_{\text{OH}} \rightarrow 3$) amonijaka s hipoklorastom kiselinom.....	46
Slika 2. Strukture prijelaznih stanja, optimizirane na B3LYP/6-31G(d) razini, za kloriranje ($\text{TS}_{\text{N-Cl}}$ i $\text{TS}_{\text{N-Cl}}'$) i hidroksilaciju ($\text{TS}_{\text{N-OH}}$ i $\text{TS}_{\text{N-OH}}'$) amonijaka s HOCl. Udaljenosti među atomima prikazane su u angstromima.	46
Tablica 2. Relativne Gibbsove slobodne energije ($\Delta_r G$ i ΔG^\ddagger u kJ/mol, pri temperaturi od 298,15 K) za kloriranje ($1.1 \rightarrow 1.2$) i hidroksilaciju ($1.1 \rightarrow 1.3$) amonijaka s HOCl, izračunate na različitim teorijskim razinama ^a i s različitim brojem eksplicitnih molekula voda (n).	47
Slika 3. Izračunate energijske barijere ($\text{B2K-PLYP} + \Delta G_{\text{solv}}$) za <i>N</i> -kloriranje (crni kružići) i <i>N</i> -hidroksilaciju (crveni trokuti) amonijaka s HOCl u ovisnosti o broju eksplicitnih voda (n). Polinomska krivulja (crno) i isprekidana linija (crveno) imaju ilustrativni značaj. Siva vrpca označava eksperimentalnu energijsku barijeru ^{123,149,150} za proces <i>N</i> -kloriranja (uključujući eksperimentalnu pogrešku od ± 5 kJ/mol). Umetak prikazuje izračunate reakcijske energije ($\Delta_r G_{298}$) za <i>N</i> -kloriranje (crni kružići) i <i>N</i> -hidroksilaciju (crveni trokuti) u ovisnosti o broju molekula voda.....	49
Slika 4. Strukture prijelaznih stanja optimizirane na B3LYP/6-31G(d) razini za <i>N</i> -kloriranje i <i>N</i> -hidroksilaciju NH_3 s HOCl, uz asistenciju 3, 4 i 5 eksplicitnih molekula voda. Romboidi prikazuju ravninu u kojoj su smještene “reaktivne” molekule vode.	51
Shema 6. Predloženi reakcijski mehanizmi u plinskoj fazi za <i>N</i> -kloriranje ($4 \rightarrow \text{TS}_{\text{N-Cl}} \rightarrow 5$), <i>N</i> -hidroksilaciju ($4 \rightarrow \text{TS}_{\text{N-OH}} \rightarrow 6$), <i>C</i> -hidroksilaciju ($4 \rightarrow \text{TS}_{\text{C-OH}} \rightarrow 7$) i <i>C</i> -kloriranje ($4 \rightarrow \text{TS}_4 \rightarrow 8 \rightarrow 8$) metilamina.....	53

Slika 5. Strukture prijelaznih stanja optimizirane na B3LYP/6-31G(d) razini za <i>N</i> -kloriranje (TS_{N-Cl}), <i>N</i> -hidroksilaciju (TS_{N-OH}) i <i>C</i> -hidroksilaciju (TS_{C-OH}) metilamina s HOCl uz asistenciju tri eksplicitne molekule vode. Romboid prikazuje ravninu na kojoj se nalaze “reaktivne” molekule vode.....	54
Tablica 3. Relativne Gibbsove slobodne energije ($\Delta_r G$ i ΔG^\ddagger u kJ/mol, na temperaturi od 298,15 K) za <i>N</i> -kloriranje (N-Cl), <i>N</i> -hidroksilaciju (N-OH) i <i>C</i> -hidroksilaciju (C-OH) metilamina i dimetilamina s HOCl, izračunate s različitim brojem eksplicitnih molekula voda (<i>n</i>). ^a	55
Shema 7. Prikaz energijskog profila (B2K-PLYP + ΔG_{solv}) za <i>N1</i> -kloriranje (1.14 → TS_{N1-Cl} → 1.15), <i>N1</i> -hidroksilaciju (1.14 → TS_{N1-OH} → 1.16) i <i>C2</i> -hidroksilaciju (1.14 → TS_{C2-OH} → 1.17) piperidina s HOCl, uz različiti broj eksplicitnih molekula vode (<i>n</i> = 0 ili 6). Energija kompleksa reaktanata 1.14 postavljena je kao nulta točka (isprekidana linija) na PES-u. Siva vrpca označava eksperimentalnu energijsku barijeru za <i>N</i> -kloriranje piperidina ($\Delta G^\ddagger_{298} = 27,2 \pm 4$ kJ/mol).....	56
Tablica 4. Relativne Gibbsove slobodne energije ($\Delta_r G$ i ΔG^\ddagger u kJ/mol, na temperaturi od 298,15 K) za <i>N</i> -kloriranje (N-Cl), <i>N</i> -hidroksilaciju (N-OH) i <i>C</i> -hidroksilaciju (Cα-OH) piperidina, piperazina i morfolina s HOCl, izračunate s različitim brojem eksplicitnih molekula voda (<i>n</i>). ^a	58
Slika 6. Odabrani psihofarmaci s heterocikličkom amino skupinom u strukturi; paroksetin (A), haloperidol (B) i aripiprazol (C). Dijelovi koji se metabolički uklanjaju (<i>N</i> -, odnosno <i>O</i> - dealkilacijom) su prikazani crvenom bojom.....	59
Tablica 5. Relativne Gibbsove slobodne energije ($\Delta_r G$ i ΔG^\ddagger u kJ/mol, na temperaturi od 298,15 K) za <i>N</i> -kloriranje (N-Cl), <i>N</i> -hidroksilaciju (N-OH) i <i>C</i> -hidroksilaciju (Cα-OH) paroksetina, haloperidola i aripiprazola s HOCl, izračunate s različitim brojem eksplicitnih molekula voda (<i>n</i>). ^a	60
Shema 8. Paroksetin i njegovi metaboliti/produkti razgradnje.	62
Shema 9. Inverzija atoma dušika i prstena u piperidinu (1.14).....	63
Tablica 5. Termokemijski parametri (relativne energije u kJ/mol) izračunati za različite kemijske procese za 1.14 i 1.15 na različitim teorijskim razinama. ^a	64
Shema 10. Predloženi reakcijski put za dehidrokloriranje u <i>N</i> -klorpiperidinu.	66
Shema 11. Shematski profil potencijalne energije (G3B3(+)) + ΔG_{solv} za dehidrokloriranje u <i>N</i> -klorpiperidinu (1.15).	67

Slika 7. B3LYP/6-31+G(d) optimizirana prijelazna stanja za reakciju (<i>anti</i> -eliminacija) između <i>N</i> -klorpiperidina i hidroksidnog klastera OH(H ₂ O) _{<i>n</i>} gdje je <i>n</i> = 1, 2, ili 3. U svakom slučaju prikazane su samo najstabilnije structure.	68
Tablica 6. Relativne energije ΔH (u kJ/mol; na 298,15 K) za stacionarne točke u procesu eliminacije kod 2.4 , izračunato na različitim teorijskim razinama ^a	69
Shema 12. Tri različita mehanizma bazom kataliziranih mehanizama eliminacije kod <i>N</i> -kloriranih spojeva 2.2 i 2.4	70
Slika 8. Strukture prijelaznih stanja za intramolekulski (TS_{A1}(2.4) i 6-TS_{B2}(2.4)) i intermolekulski mehanizam (TS_{B3}(2.4)) dehidrokloriranja <i>N</i> -klor-3-hidroksimetilpiperidna (2.4) optimiziranih na B3LYP/6-31+G(d) teorijskoj razini.	71
Shema 13. Konformacijski (inverzija prstena) i konfiguracijski (inverzija dušika) proces, dva eliminacijska i dva procesa ciklizacije (intramolekulska adicija i S _N 2 reakcija) razmatrani kao mogući putovi pregrađivanja metabolita paroksetina 2.2	73
Tablica 7. Relativne energije ΔH (u kJ/mol; na 298,15 K) za stacionarne točke u procesima pregradnje 2.2 , izračunate na različitim razinama teorije. ^a	75
Slika 9. B3LYP/6-31+G(d) optimizirane strukture prijelaznog stanja za intramolekulski (TS_{A1}(2.2) i TS_{B1}(2.2)), “premoštavajući” (TS_{A2}(2.2) i TS_{B2}(2.2)), i intermolekulski mehanizam (TS_{A3}(2.2) i TS_{B3}(2.2)), za dehidrokloriranje 2.2	76
Shema 14. Procesi (bio)razgradnje paroksetina i njegovih metabolita. Strukture označene zvjezdicama objavljene su u ranijim studijama, dok uokvirene strukture predstavljaju produkte bazom katalizirane razgradnje paroksetina (vidi gore).	78
Shema 15. Predloženi mehanizmi dehidratacije (<i>i</i> – <i>iv</i>) u kationskim radikalima 3.1b i 3.5 nastalim iz metabolita paroksetina 2.1 i 2.2 . Konačni produkti (Shema 14.) prikazani su u rimskim brojkama. Eksplicitne molekule vode u kompleksu sa svakim pojedinim radikalom nisu prikazane.	80
Slika 10. Energijski profil (G3(MP2)-RAD + ΔG_{solv}) za mehanizam (<i>i</i>) formiranja imina/enamina, crvena linija, (<i>ii</i>) formiranje alkena, ljubičasta linija, (<i>iii</i>) formiranja azabicikloheptana, zelene linije, (<i>iv</i>) zatvaranja peteročlanog prstena, plave linije, u radikalskim kationima 3.1b i 3.5 koji nastaju iz metabolita paroksetina 2.1 (ili 2.2). Prikazane su samo najstabilnije prijelazne strukture. Energija <i>N</i> -radikala 3.1b predstavlja nultu točka (isprekidana linija) na PES-u. Siva vrpca označava eksperimentalnu barijeru za (foto)degradaciju paroksetina.	82

Slika 11. Energije homolitičkog cijepanja veze (BDE) za odabrane molekule. Crne crte označavaju izračunate vrijednosti, dok crvene crte i sive vrpce označavaju eksperimentalne brojke i raspon eksperimentalne pogreške.....	87
Shema 16. Cikličko prijelazno stanje za <i>N</i> -kloriranje amina (R_1R_2NH) s hipoklorastom kiselinom uz asistenciju dvije eksplisitne molekule vode.....	92
Shema 17. Shematski energijski profil ($G3B3 + \Delta G_{solv}$) za tri moguća mehanizma kloriranja NMA. Energija <i>trans</i> -NMA (4.1a) i HOCl-a u kompleksu s jednom molekulom vode postavljena je kao nulta točka na PES-u (isprekidana linija). Siva vrpca označava eksperimentalnu barijeru za <i>N</i> -kloriranje NMA (uzevši u obzir eksperimentalnu pogrešku od ± 5 kJ/mol).....	93
Slika 12. Strukture prijelaznih stanja, optimizirane na B3LYP/6-31G(d) razini, za <i>N</i> - i <i>O</i> -kloriranje NMA (TS_A i TS_O) te <i>N</i> -kloriranje iminolne forme (TS_I). Duljine veze u angstromima (M06-2X/6-311+G(2d,p) vrijednosti u kurzivu).....	94
Tablica 8. Relativna Gibbsova slobodna energija (ΔG_{298} ; u kJ/mol) reaktanata, ^a intermedijera, produkata te struktura prijelaznih stanja uključenih u <i>N</i> -kloriranje NMA, izračunatih na različitim teorijskim razinama u vodi kao modelnom otapalu. ^b Razmatrana su tri različita reakcijska puta: <i>N</i> -kloriranje NMA u jednom koraku (4.1a \rightarrow TS_A(4.1) \rightarrow 4.4a), tautomerizacija NMA koju slijedi <i>N</i> -kloriranje iminolne forme (4.1a \rightarrow TS_T(4.1) \rightarrow 4.3 \rightarrow TS_I(4.3) \rightarrow 4.4b) te <i>O</i> -kloriranje NMA kojeg slijedi intramolekulski transfer klora (4.1a \rightarrow TS_O(4.1) \rightarrow 4.2 \rightarrow TS_{Cl}(4.2) \rightarrow 4.4b). ^c	94
Shema 18. Prikaz rezonantnih struktura amidne (4.1) i iminolne (4.3) forme NMA. NBO vrijednosti za slobodni elektronski par na N atomu (u zagradama) i NBO vrijednosti za naboj na N i O atomima (u kurzivu) izračunate su na B3LYP/6-31G(d) razini.	96
Shema 19. Dva reakcijska puta formiranja <i>N</i> -kloramida (P): izravno <i>N</i> -kloriranje amida A preko TS_A\rightarrowP te tautomerizacija TS_A\rightarrowI koju slijedi <i>N</i> -kloriranje iminola I preko TS_I\rightarrowP	97
Tablica 9. Relativne Gibbsove energije (ΔG_{298} ; u kJ/mol) reaktanata, ^a intermedijera, produkata, i struktura prijelaznog stanja uključenih u <i>N</i> -kloriranje odabranih amida, izračunate koristeći G3B3 model i B2K-PLYP/6-311+G(3df,2p)//B3LYP/6-31G(d) metodu (u kurzivu) u vodi kao modelnom otapalu. ^b Razmatrana je tautomerizacija (A \rightarrow I) i dva različita mehanizma kloriranja: <i>N</i> -kloriranje amidne forme (A \rightarrow P) i <i>N</i> -kloriranje iminolne forme (I \rightarrow P).....	98

Shema 20. Kloriranje N1 i N3 položaja u iminolnoj formi antiepileptika fenitoina. Relativne energije (ΔG_{298} , u kJ/mol; u zagradama) za svaku speciju izračunate su na B2K-PLYP/6-311+G(3df,2p)//B3LYP/6-31g(d) teorijskoj razini u vodi kao implicitnom otapalu.	100
Tablica 10. Odabrane strukture hidantoina.	101
Slika 13. Derivati odabranih hidantoina u reakcijama kloriranja.	101
Shema 22. Barbiturna kiselina (4.14 , X=O, R ₁ =R ₂ =R ₃ =H) s označenim položajima atoma.	102
Shema 21. Mogući mehanizmi N-kloriranja barbiturata.	104
Slika 14. Konfiguracije eksplicitnih molekula vode u strukturi prijelaznog stanja tautomerizacije (TS _{T1}) i strukturi prijelaznog stanja N-kloriranja iminolne forme (TS _{I1}).	105
Tablica 11. Strukture, kemijski i komercijalni nazivi barbiturata. Asignacija supstituenata je opisana na Slici 1.	105
Tablica 12. Izračunate relativne energije (ΔG u kJ/mol) za minimume i prijelazna stanja u reakciji N-kloriranja barbiturata s HOCl.	106
Slika 14. Optimizirana struktura prijelaznog stanja za N-kloriranje iminolne forme karbamazepina.	109
Tablica 13. Relativna Gibbsova energija (ΔG_{298} ; in kJ/mol) reaktanata, ^a intermedijera, produkata, i struktura prijelaznih stanja uključenih u N-kloriranje farmaceutika s amidnom skupinom, izračunata je na B2K-PLYP/6-311+G(3df,2p)//B3LYP/6-31g(d) razini u vodi. ^b Razmatrana je tautomerizacija (A → I) i dva različita mehanizma kloriranja: N-kloriranje amidne forme (A → P) i N-kloriranje iminolne forme (I → P).	111
Slika 15. Reakcijski mehanizam pregrađivanja F koji uključuje N-kloramidni (5.2) i 10,11-epoksidni (5.3) intermedijer.	112
Shema 23. Tautomerizacija karbamazepina (F → 5.1) i kloriranje iminolne forme (5.1 → 5.2).	113
Slika 16. Strukture prijelaznih stanja za N-kloriranje (TS _{F_5.1} , gore) i epoksidaciju (TS _{F_5.3} , dolje) F s HOCl, optimizirane na B3LYP/6-31G(d) razini. Udaljenosti između atoma izražene su u angstromima.	114
Tablica 14. Relativne Gibbsove slobodne energije (ΔG_{298} , kJ/mol) struktura reaktanata, ^a intermedijera, produkata i prijelaznih stanja koja sudjeluju u N-kloriranju	

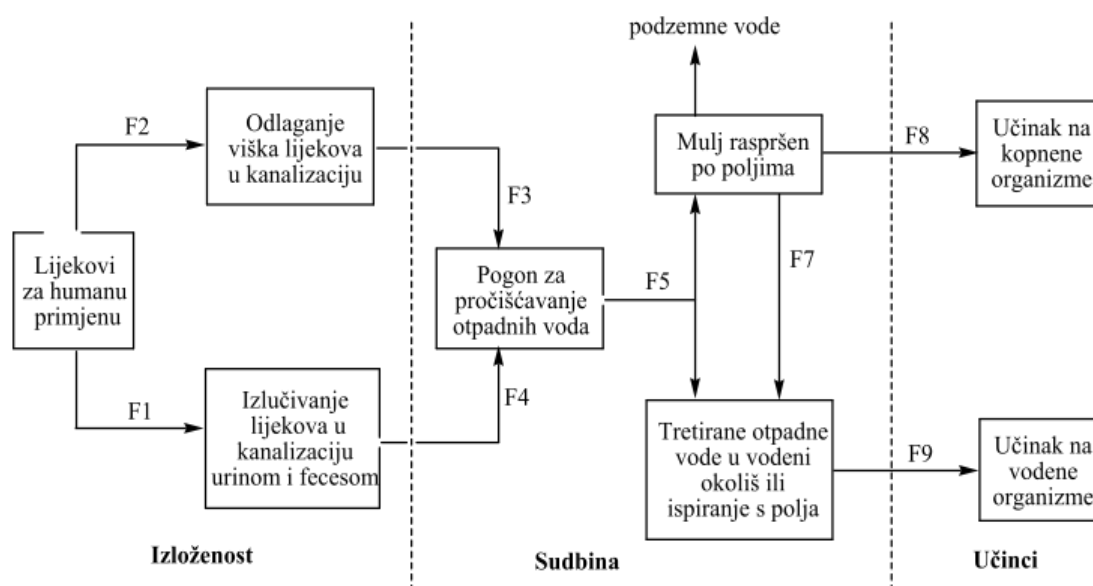
i epoksidaciji karbamazepina, izračunate su na različitim teorijskim razinama u vodi kao implicitnom otapalu ^b	115
Shema 24. Pregrađivanje karbamazepina (F) u iminostilben (5.4) preko dva različita mehanizma	117
Slika 17. Optimizirane strukture prijelaznih stanja u reakcijama pregrađivanja karbamazepina (TS_{F_5,4}) i <i>N</i> -klor-karbamazepina (TS_{5,2_5,4}) u iminostilben. Odabrane udaljenosti su u angstromima.....	117
Shema 25. Pregrađivanje <i>N</i> -protoniranog iminostilbena	118
Shema 26. Pregrađivanje iminostilbena uz HOCl u vodenom mediju.....	119
Tablica 15. Relativne Gibbsove slobodne energije (ΔG_{298} , kJ/mol) struktura reaktanata, ^a intermedijera, produkata i prijelaznih uključenih u formiranje 10-okso-iminostilbena, izračunate su na različitim teorijskim razinama u vodi kao implicitnom otapalu ^b	120
Shema 27. Pregrađivanje 5.3 u derivate akridina 5.8 i 5.9 uz sudjelovanje HOCl. Isprekidana crta označava proces u kojem ne nastaje karbokationski intermedijer 5.3⁺	121
Tablica 16. Relativne Gibbsove slobodne energije (ΔG_{298} , kJ/mol) struktura reaktanata, ^a intermedijera, produkata i prijelaznih uključenih oksidaciju karbamazepin–10,11-epoksida, izračunate su na različitim teorijskim razinama u vodi kao implicitnom otapalu ^b	121

2. UVOD

2.1. Obrazloženje teme

2.1.1. Lijekovi u okolišu

Neka svojstva dobrog lijeka su: farmakološki učinak pri niskoj koncentraciji, ciljano djelovanje, rijetke nuspojave, otpornost prema metaboličkoj razgradnji, spora eliminacija iz organizma te dugi vijek trajanja. Time se, između ostalog, omogućuje bolja kontrola doziranja, produljeno trajanje pojedine doze, smanjuje se (iz)davanje terapije te smanjuje utjecaj varijabilnosti jetrenih enzima kod različitih pacijenata... Nažalost, takvi lijekovi zadržavaju svoja farmakološka svojstva i nakon eliminacije iz organizma te mogu nepovoljno utjecati na ostale organizme u okolišu.



Shema 1. Očekivani putevi izloženosti lijekova za humanu primjenu u okolišu

Nakon primjene u organizmu, farmaceutici i njihovi metaboliti se izlučuju urinom i fecesom u kanalizaciju (F1) te završavaju u otpadnim vodama. U istim se vodama gomilaju lijekovi odlaganjem viškova u kanalizaciju (F2) ili ispuštanjem iz industrijskih postrojenja (Shema 1). Otpadne se vode pročišćavaju prije ispuštanja u okoliš (F3 i F4). U postrojenjima za obradu otpadnih voda koristi se niz tehnika za uklanjanje i uništavanje onečišćivača: mehaničko pročišćavanje (taloženje, filtracija, povratna osmoza), kemijsko pročišćavanje (dezinfekcija, flokulacija) te biološko pročišćavanje (ozračivanje vode, taložnice za organske primjese, prerada mulja). Nakon pročišćavanja, dobiveni se mulj raspršuje po poljima i koristi kao gnojivo (F5),

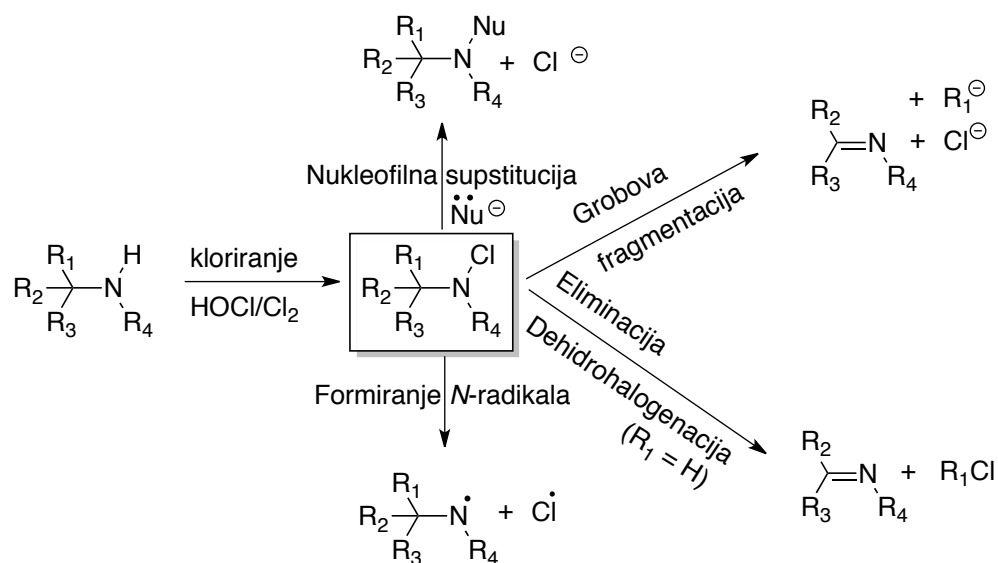
dok se obrađene otpadne vode ispuštaju u rijeke ili more. Ispiranjem mulja farmaceutici mogu završiti u vodenom okolišu (F7). Ispušteni farmaceutici mogu izazvati štetne posljedice kod kopnenih (F8) i vodenih organizama (F9).¹

Onečišćenje farmaceuticima u površinskim i podzemnim vodama prepoznato je kao ekološka prijetnja u mnogim zemljama.^{2,3} Opsežne su američke i njemačke studije pokazale prisutnost mnogih farmaceutika u otpadnim vodama, rijekama i jezerima.^{4,5} Raširena upotreba farmaceutika, posebice antibiotika, pri uzgoju domaćih životinja koji pospješuju rast i/ili liječe bolesti životinja, onečistila je površinski sloj pašnjaka.⁶ Također, uporaba gnojiva kontaminiranog farmaceuticima dovodi do onečišćenje tla i površinskih voda.⁷ Prisutnost pojedinih farmaceutika u okolišu povezuje se s urođenim anomalijama, bolestima i poremećajima u razvoju vodenih organizama te s negativnim utjecajem na ljudsko zdravlje.⁸

U vodenom mediju, farmaceutici se pregrađuju (foto)kemijskim i biokemijskim reakcijama, pri čemu mogu nastati metaboliti s kinetičkim, termodinamičkim i ekotoksikološkim profilom različitim u odnosu na početni spoj.⁹ Od osobitog su interesa oksidativne transformacije farmaceutika, potaknute obradom otpadnih voda kloriranjem i/ili ozonolizom.¹⁰ U reakcijama farmaceutika s klorirajućim specijama (HOCl/Cl₂) i/ili oksidirajućim specijama (O₃/H₂O₂) nastaju produkti, koji se često razlikuju od metabolita biotransformacija. Razgradni produkti mogu imati povećanu toksičnost i/ili kemijsku otpornost (perzistentnost) prema razgradnji, zbog čega se nakupljaju u okolišu.¹¹ Reakcije pregrađivanja farmaceutika uključuju procese homolitičkih i heterolitičkih kidanja veza, prijenosa funkcionalnih skupina, otvaranja, zatvaranja, kontrakcije i ekspanzije prstena, a mogu uključivati neutralne, ionske i/ili radikalske intermedijere.¹² Eksperimentalni podaci o oksidativnoj razgradnji (reakcije farmaceutika s HOCl i ozonom) beta-blokatora, antidepresiva i fluorokinolona su mnogobrojni,¹³⁻¹⁵ ali detalji samog reakcijskog mehanizma nisu jasni niti dobro definirani.

Reakcije klora s farmaceuticima koji sadrže amino, amido ili imino skupinu, tijekom kemijske obrade (kloriranje) otpadnih voda, mogu dati različite kloraminske nusprodukte, a poznato je da neki posjeduju i kancerogena svojstva.¹ *N*-kloraminski derivati farmaceutika su nestabilni spojevi te se mogu pregraditi u razne produkte reakcijama nukleofilne supstitucije, eliminacije, fragmentacije te stvarati reaktivne *N*-radikale (Shema 2). Od posebnog su interesa pregrađivanja putem radikalskih međuprodukata, koji nastaju homolitičkim kidanjem N-Cl veze pod utjecajem UV

zračenja, dok do heterolize te veze dolazi u bazičnim i kiselim uvjetima. Eksperimentalni su podaci o mehanizmu reakcija, kojima se može opisati ekološka sudbina farmaceutika, često nepoznati ili nepotpuni, dok je identifikacija raspadnih produkata provedena tek u nekoliko slučajeva.¹² Da bi se valjano istražio okolišni rizik farmaceutika i njihovih nusprodukata i metabolita, nužno je bolje poznavanje reakcija pregrađivanja.



Shema 2. Reakcije formiranja i pregrađivanja kloramina

2.1.2. Psihofarmaci u okolišu

Pojava psihofarmaka u okolišu u posljednjih je desetak godina postala ekološki problem.¹⁶ Među psihofarmacima koji pokazuju izraziti utjecaj na okoliš, posebno mjesto zauzimaju benzodiazepini iz skupine anksiolitika. Pri koncentracijama od 0,01-5 μgL^{-1} , koje se redovito detektiraju u površinskim vodama,¹⁷ nepovoljno utječu na ponašanje riba (poremećena fizička aktivnost i socijalno ponašanje te povećani unos hrane).¹⁸ Neki benzodiazepinski lijekovi su otporni na fotodegradaciju,¹⁹ zbog čega se dulje zadržavaju u vodenom okolišu.

Barbiturati, depresori živčanog sustava, koji se koriste kao sedativi, hipnotici i antiepileptici, također su perzistentni lijekovi u okolišu.²⁰ Primjerice, u bioreaktoru pod utjecajem mikroorganizama fenobarbiton ostaje nepromjenjen i nakon 42 dana. Dokazano je da orlovi umiru uslijed trovanja barbituratima.²¹ Kao i kod trovanja lešinara diklofenakom u Indiji,²²⁻²⁴ orlovi su unosili lijek iz lešina domaćih životinja koje su uspavane barbituratima. Za razliku od barbiturata, skupina se antiepileptika hidantoinске strukture, poput fenitoina, razgrađuje pod djelovanjem UV zračenja ili tijekom UV/H₂O₂ procesiranja.²⁵

Upotreba antidepresiva, koji pripadaju lijekovima modernog načina života, sve je raširenija.^{26,27} Osim najpoznatijeg lijeka u toj skupini, fluoksetina, Prozac[®], među popularnijim antidepresivima nalazi se i paroksetin (Paxil[®], Seroxat[®]). Paroksetin se nalazi na popisu 200 najprodavanijih lijekova,²⁸ ali se nalazi i kao zagađivač u površinskim vodama.²⁹ Za paroksetin je provedena procjena okolišnog rizika u kojoj nisu ispitivana ekotoksikološka svojstva razgradnih produkata tog psihofarmaka.³⁰ Paroksetin, kao i još pet drugih selektivnih inhibitora ponovne pohrane serotonina (SSRI), pokazuje promjenu reprodukcijских ciklusa kod vodenih organizama (npr. *Ceriodaphnia dubia*).³¹ Kasnija istraživanja pokazuju da se fotodegradacijom paroksetin raspada na produkte, koji su različiti od metaboličkih produkata u organizmu.³²

Haloperidol (Haldol[®]) je antipsihotik u podskupini butirofenona koji se koristi za liječenje niza indikacija: šizofrenija, manija i hipomanija, ostalih vrsta psihoza, poremećaji ponašanja te Tourette-ovog sindroma. Istraživano je pregrađivanje i stabilnost tog psihofarmaka u neutralnom,³³ kiselom³⁴ i lužnatom mediju³⁵. Haloperidol se u jetrenom metabolizmu *N*-dealkilira do 4-(4-klorfenil)-4-hidroksi-piperidina,³⁶ ali transformacije u okolišu nisu istraživane.

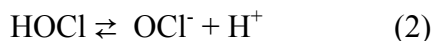
Karbamazepin (Tegretol[®]) pripada skupini antiepileptika, ali se koristi i u terapiji neuropatske boli te u kombiniranoj terapiji šizofrenije i bipolarnog poremećaja. Smatra se da je karbamazepin jedan od najčešćih lijekova koji se u okolišu pojavljuju kao onečišćivači.^{6,37} Istraživana je oksidacija karbamazepina,³⁸ kloriranje karbamazepina³⁹ i pregrađivanje glavnog metabolita oksakarbamazepina.^{19,40} Mehanistički detalji pregrađivanja u tim istraživanjima su nepotpuni te mnogi signali u masenim spektrima nisu prikladno razjašnjeni.

2.1.3. Hipoklorasta kiselina u vodenom okolišu

Hipoklorasta kiselina (HOCl) je slaba kiselina ($pK_a = 7,53$, u vodi). Budući je snažni oksidans, HOCl se često koristi u postrojenjima za obradu otpadnih voda, ali i za dezinfekciju⁴¹ i čišćenje bazenskih voda.¹⁰ Natrijev hipoklorit (NaOCl) koristi se kao izbjeljivač te za čišćenje u kućanstvu (Varikina[®]). Uz proces kloriranja, često korištena metoda u obradi voda je proces ozonolize. Neke su bogatije države (npr. Njemačka) uvele ozonolizu za obradu pitkih voda, no kloriranje otpadnih voda je i dalje najrašireniji kemijsko-tehnološki proces.⁴² Pri obradi voda HOCl se priprema uvođenjem plinovitog klora u vodu (oko 3,3 g na litru vode) pri čemu se molekularni klor disproporcioniše do hipokloraste i kloridne kiseline, prema jednadžbi (1).



Drugi je način pripreme otopine HOCl u vodi je otapanje natrijevog hipoklorita u kiselom mediju.⁴³ HOCl je u ravnoteži s molekularnim klorom (Cl_2) prema izrazu (1) te s hipokloritnim anionom (OCl^-)⁴⁴ prema izrazu (2).



Distribucija klorinih specija ovisi o pH otopine. Sam raspad klorinih specija u nekoj otopini ovisi također o pH otopine, koncentraciji klorinih specija u otopini, dozi UV zračenja i kvaliteti vode.⁴⁵ U literaturi postoje kontroverzije oko specije koja klorira i efikasnosti kloriranja svake pojedine specije. Primjerice, u studiji o kloriranju *N*-metilacetamida⁴⁶ autori tvrde da je glavni klorirajući agens molekularni Cl_2 ($k(\text{Cl}_2) = 4600 \text{ M}^{-1}\text{min}^{-1}$), dok je anion OCl^- ($k(\text{OCl}^-) = 0,88 \text{ M}^{-1}\text{min}^{-1}$) dvostruko efikasniji klorirajući agens od HOCl ($k(\text{HOCl}) = 0,4 \text{ M}^{-1}\text{min}^{-1}$). HOCl se ipak pokazala kao dominantna specija koja sudjeluje u reakcijama kloriranja organskih i anorganskih spojeva.⁴⁷ Osim što klorira kemijske spojeve, HOCl može djelovati i kao hidroksilirajuće sredstvo zbog svojih oksidacijskih svojstava (Tablica 1).

Tablica 1. Oksidacijska snaga različitih oksidansa

Oksidans	Standardni redukcijski potencijal	Oksidacijski kapacitet
ozon (O ₃)	+2,08 V	2 e ⁻
vodikov peroksid (H ₂ O ₂)	+1,77 V	2 e ⁻
hipoklorasta kiselina (HOCl)	+1,63 V	2 e ⁻
hipobromasta kiselina (HOBr)	+1,59 V	2 e ⁻
klor (Cl ₂)	+1,36 V	1 e ⁻
klor-dioksid (ClO ₂)	+0,95 V	5 e ⁻

U mnogim je zemljama kloriranje jedina relevantna kemijsko-tehnološka metoda obrada otpadnih voda. U slabo kiseloj ili neutralnoj vodenoj sredini glavni klorirajući agens je upravo HOCl. Ta reaktivna specija može klorirati/oksidirati čitav niz organskih spojeva, što uključuje i različite farmaceutike.⁴⁷ U literaturi je opisano niz reakcija između HOCl i lijekova, pri čemu često nastaju reaktivniji, toksičniji ili perzistentiji oblici. Primjerice, diklofenak, protuupalni lijek koji se osim u humanoj nalazi i u veterinarskoj upotrebi, reagira s otopljenim HOCl u vodi ($k_{\text{obs}} = 3,9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ pri pH = 7) pri čemu nastaju i neki produkti koji su netopljivi u vodenoj otopini.³⁹ U preglednim radovima postoje podaci za kloriranje mnogih terapijskih skupina lijekova u okolišu, poput sulfonamida, fluorokinolona, fibrata, beta-blokatora, antiaritmika i protuupalnih lijekova.³⁸ Psihofarmaci, poput karbamazepina⁴⁸ i oksakarbamazepina⁴⁰ se također pregrađuju pod utjecajem HOCl.

2.1.4. Računalni modeli za procjenu okolišne sudbine kemijskih spojeva

Dva se osnovna računalna pristupa koriste za procjenu okolišne sudbine i toksičnosti farmaceutika u okolišu:⁴⁹ prediktivne statističke metode, koje se baziraju na kvantitativnoj povezanosti strukture i svojstva/aktivnosti/toksičnosti (QSPR/QSAR/QSTR) te metode elektronske strukture poput kvantno-kemijskih metoda i metoda molekuskog modeliranja.

Baze podataka toksičnosti su potrebne za izradu odgovarajućih prediktivnih modela koji povezuju strukturne i kemijske parametre s potencijalnom toksičnošću. Primjeri međunarodnih izvora baza podataka relevantnih za probir rizika su eChem Portal⁵⁰ i QSAR Toolbox.⁵¹ eChem Portal je usmjeren na informacije o svojstvima te izloženosti poznatim kemikalijama i povezan je s regulatornim agencijama za procjenu kemijskog rizika na nacionalnim, regionalnim i međunarodnim razinama. QSAR Toolbox se razlikuje po tome što identificira potencijalne zagađivače i štetne supstance. Temelji se na QSAR metodologiji koja se koristi za grupiranje kemikalija u kategorije povezane sličnim strukturnim svojstvima i/ili načinu djelovanja. Naime, očekuje se da su slična strukturna svojstva povezana sa sličnim toksikološkim mehanizmom. Iz empirijskih podataka ispitivanih kemikalija, s poznatim mehanizmom djelovanja, ekstrapoliraju se svojstva za netestirane supstance unutar iste kategorije te se predviđa intezitet djelovanja (pojačano, oslabljeno ili ustaljeno). Od velikog su značaja modeli koji proučavaju ekološku sudbinu i akumulaciju kemikalija u hrani.⁵² Od strukturnih parametara važni su koeficijenti distribucije između *n*-oktanola i vode (K_{OW}), zraka i vode (K_{AW}), procijenjeno vrijeme poluživota u vodi, zraku, zemlji i sedimentu te procijenjeno vrijeme biotransformacije u životinjskim organizmima. Svi ti podaci nisu dostupni za svaku pojedinu kemikaliju te se podaci koji nedostaju procjenjuju na osnovi strukturne sličnosti s kemijskim spojevima koji imaju eksperimentalno definirano svojstvo. Budući da mnoge kemijske supstance nemaju eksperimentalno određene podatke o perzistentnosti u okolišu, procjene o (bio)razgradnji, uporabom (Q)SAR metoda, mogu se povezati s vremenom zadržavanja u okolišu. Od mnoštva razvijenih metoda SAR (ukupno 78), tek nekolicina ima zadovoljavajuću kvalitetu procjene, odnosno mala je razlika između predviđenih i eksperimentalnih podataka. Primjerice, pažljivim korištenjem BIOWIN programskog paketa, gornja granica točnih predviđanja iznosi 85%.⁵³

Za razliku od statističkih pristupa razmatranju povezanosti strukture i ekološke sudbine lijekova, metode molekuskog modeliranja, u koje pripadaju i kvantno-kemijske metode, imaju prednost što mogu predvidjeti različite puteve razgradnje/pregradnje, interakciju s drugim molekulama, koeficijente distribucije te tako opisati ekološku sudbinu svakog pojedinog lijeka u skupini. Već nekoliko desetljeća se koriste metode molekuskog modeliranja za predviđanje interakcija lijekova s receptorima enzima (*docking*), što pomaže u dizajniranju novih lijekova predviđajući farmakološki, toksikološki i/ili distribucijski profil.⁵⁴ Za razliku od statističkih modela, metode molekuskog modeliranja odlikuje računalna zahtjevnost, parametriziranje metoda na osnovu eksperimentalnih podataka te veliki broj kemijskih reakcija i interakcija koje se moraju uzeti u obzir. Najzahtjevnije metode molekuskog modeliranja su kvantno-kemijske metode, koje ne koriste empirijske parametre u svojim izračunima (vidi dolje).

Kvantno-kemijskim proučavanjem mogućih mehanizama pregrađivanja okolišnih onečišćivača, mogu se predvidjeti energijski najpovoljniji reakcijski putevi te strukture nastalih produkata.⁵⁵ Sve više autora objavljuje kvantno-kemijske studije koje podupiru i objašnjavaju eksperimentalne podatke, ali i kvantno-kemijske studije kojima se predviđa ekološka sudbina različitih organskih spojeva.

Upotrebom kvantno-kemijskih procedura nadopunjavaju se eksperimentalni podaci o reakcijama pregrađivanja: procjenjuju se različiti predloženi mehanizmi tijekom reakcija; ispituje se termodinamika reakcije i svakog pojedinog reakcijskog koraka; te se objašnjavaju spektri dobiveni IR, UV/Vis, EPR,⁵⁶ NMR⁵⁷ ili masenom spektroskopijom. Primjerice, maseni spektar heksametilfosfoamida⁵⁸ je točno predviđen ranije provedenim kvantno-kemijskim izračunima.⁵⁹ Predviđanja metabolizma smjesa organskih spojeva modeliranjem složenih biokemijskih reakcija postaju važno oruđe u procjeni bio- i eko-toksikološkog profila kemijskih spojeva.⁶⁰ Istaknuti primjeri u kojima su korišteni kvantno-kemijski modeli uključuju formiranje klorotiofenola,^{61,62} mehanizme pregrađivanja dioksana i benzofurana uz klorirajuće specije,⁶³ topljivost nitro spojeva u vodi,⁶⁴ reakciju formiranja *N*-nitrosodimetilamina iz *N,N*-dimetilsulfonamida,⁶⁵ te mnoge druge kemijske sustave relevantne za okoliš.

Posebno je korisna upotreba kvantno-kemijskih metoda u procjeni ekološke sudbine lijekova u okolišu. Primjerice, kvantno-kemijskim metodama identificirani su metaboliti u putevima biotransformacije 17α -etinilestradiola.⁶⁶ Naime, 17α -etinilestradiol se koristi kao sintetski hormon u kontracepcijskim pilulama (Diane[®],

Yasmin[®], Cilest[®]). U prirodi, ovaj sintetski estrogen izazvao je kolaps riblje populacije.⁶⁷ Sintetski estrogen uzrokuje feminizaciju muške populacije riba (kemijska kastracija) te zbog toga predstavlja prijetnju širem ekosustavu. Kvantno-kemijskom studijom identificirani su glavni reakcijski putevi pregrađivanja, uz procjenu estrogenske aktivnosti pojedinih metabolita. Također se, kvantno-kemijskim metodama, istražila oksidacija raznih estrogena te redoks potencijali potrebni za oksidaciju tih hormona.⁶⁸

Pregrađivanje i ekološka sudbina diklofenaka (Voltaren[®], DicloDuo[®]), često korištenog analgetika, koji se povezuje s pomorom ptica (vidi Lijekovi u okolišu), također je istražena kvantno-kemijskim metodama.⁶⁹ Računalnim je metodama opisana fototoksičnost koja karakterizira cijelu skupinu protuupalnih lijekova. Nakon apsorpcije UV zračenja, diklofenak gubi atom klora, zbog čega se zatvara peteročlani prsten te nastaje derivat karbazola. Nastali se karbazol, procesima dekarboksilacije, dehalogenacije i/ili oksidacije, pregrađuje u konačne produkte.

Hidrolitičke reakcije razgradnje cefradina (antibiotik cefalosporinske skupine) u okolišu, također su istražene kvantno-kemijskim metodama.⁷⁰ Rezultati studije prikazuju intramolekulsku katalizu karboksilnom skupinom tijekom procesa otvaranja β-laktamskog prstena te intramolekulsku amidaciju do konačnih produkata. Upotrebom kvantno-kemijskih računa, procjenjena je i hidrolitička stabilnost spojeva pri različitim pH otopina.

Ekološka i metabolička sudbina paracetamola, koji se pregrađuje u reakcijama kloriranja u mnoge toksične spojeve poput benzokinona,¹¹ istražena je kvantno-kemijski, pri čemu je promatran mehanizam preko radikalskih međuprodukata.⁷¹ Tako su opisane reakcije preko *N*- i *O*-radikala, koji mogu dovesti do benzokinonskih derivata, koji su mnogo toksičniji od samog ishodišnog spoja.

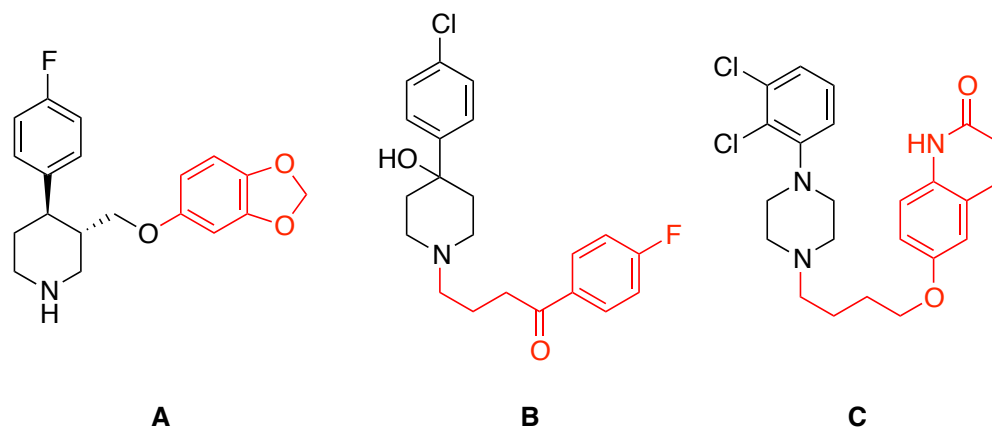
Prikazani primjeri pokazuju prikladnost korištenja kvantno-kemijskih metoda u proučavanju i opisivanju kemijske sudbine širokog spektra lijekova. Kvantno-kemijski rezultati nadopunjuju eksperimentalne podatke te pružaju uvid u mehanizam složenih puteva pregrađivanja. Prema tome, očekuju se slični rezultati korištenjem sličnih metoda u procjeni kemijske sudbine psihofarmaka.

2.2. Plan istraživanja

Ovim istraživanjima pokušava se procijeniti utjecaj hipokloraste kiseline na procese pregrađivanja psihofarmaka koji se kao onečišćivači nalaze u okolišu. Strukture odabranih psihofarmaka sadrže funkcionalne skupine koje mogu reagirati s HOCl (amino i amidne skupine, dvostruke veze).

Usporedbom kvantno-kemijskih rezultata s eksperimentalnim podacima (npr. konstante brzina reakcija pregrađivanja, konstante ravnoteže, spektroskopski podaci o produktima) procjenjuje se prikladnost i točnost kvantno-kemijskih procedura. U preliminarnim istraživanjima, usporedit će se i procijeniti različite teorijske metode za prikaz reakcija kloriranja modelnih amina i amida (vidi poglavlje 3).

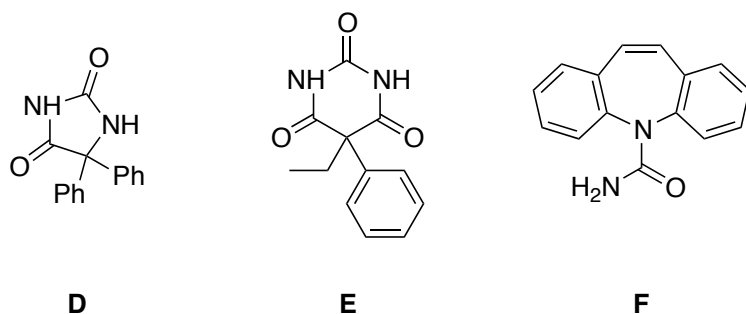
Teorijski modeli, koji pokazuju dobro slaganje s eksperimentalnim podacima za kloriranje odabranih amina (amonijak, metilamin, dimetilamin, piperidin, morfolin, piperazin), koristit će se za simulaciju reakcija pregrađivanja odabranih psihofarmaka s heterocikličkom amino skupinom u strukturi (vidi poglavlje 4.1). Važni psihofarmaci poput paroksetina, haloperidola i aripiprazola (vidi Shemu 3) sadrže u svojoj strukturi piperidinski odnosno piperazinski fragment, koji je ključan za nukleofilnu reakciju s HOCl.



Shema 3. Strukture paroksetina (**A**), haloperidola (**B**) i aripiprazola (**C**). Crveno su označeni dijelovi strukture koji se metablički uklanjaju procesom O- i N-dealkilacije.

Mehanizam pregrađivanja putem ionskih i radikalskih međuprodukata detaljno će se istražiti za klorirane metabolite paroksetina (vidi poglavlje 4.2 i 4.3). Naime, nastali produkti reakcija pregrađivanja paroksetina karakterizirani su odgovarajućim signalima u masenom spektru, ali nisu detaljno istraženi, kao ni reakcije kojima nastaju.

Za istraživanje reakcija kloriranja amida (vidi 4.4.) provest će se kvantno-kemijski na modelnim amidima: *N*-metil-acetamid, propanamid, *N*-metil-propanamid, *N*-etil-acetamid, piperidin-2-on te 1,2-dihidro-piridin-2-on. Nakon odabira odgovarajuće metode, provjerit će se mehanizam kloriranja odabranih lijekova iz skupina hidantoina i barbiturata te kloriranje karbamazepina (vidi poglavlje 4.4.).



Shema 4. Strukture fenitoina (**D**), fenobarbitala (**E**) i karbamazepina (**F**).

Karbamazepin, osim amidne skupine, posjeduje i dvostruku vezu koja se može klorirati i/ili epoksidirati s HOCl; istražiti će se različiti mehanizmi pregrađivanja i pokušati objasniti eksperimentalni signali u masenom spektru reakcijske smjese karbamazepina i HOCl (vidi poglavlje 4.5).

Istraživanje će proširiti saznanja o mehanizmima pregrađivanja psihofarmaka. Teorijsko predviđanje mehanizma reakcija i produkata važan je doprinos za definiranje farmaekološkog profila psihofarmaka. Razjasnit će se mehanizmi pregrađivanja psihofarmaka, inducirani klorirajućim specijama, kojim se opisuju reakcijski uvjeti u sustavima za obradu otpadnih voda. Provjerene kvantno-kemijske metode mogu se upotrijebiti za rasvjetljavanje ekološke sudbine i reakcija pregrađivanja drugih farmaceutika relevantnih za kemiju okoliša.

3. METODE

3.1. Osnove tehnike kvantno-kemijskih izračuna

Računalna kemija proučava kemijske strukture i reakcije numerički, a temelji se na zakonima fizike ili njihovim aproksimacijama (npr. Schrödingerova jednačba i njene aproksimacije). Računalni programi omogućavaju proučavanje kemijskih fenomena bez eksperimentalnog istraživanja tijekom kemijskih reakcija i/ili strukturnih svojstava kemijskih spojeva. Računalne metode se mogu koristiti, osim za proučavanje stabilnih molekula, za modeliranje kratko-živućih, nestabilnih intermedijera i prijelaznih stanja, čije se strukture ne mogu opaziti eksperimentalno. Računalna kemija je postala neovisno područje istraživanja, ali i važna podrška eksperimentalnih istraživanja.⁷²

Osnovne vrste izračuna su:

- Izračun energije određene molekulske strukture. Također se mogu izračunati svojstva povezana s energijom i/ili rasporedom elektrona (orbitale, naboj sustava, EPR, NMR spektri).
- Geometrijska optimizacija kojom je moguće locirati molekulsku strukturu s energijskim minimumom, a koja se nalazi u blizini početne, odnosno zadane strukture. Geometrijska optimizacija se temelji na gradijentu energije u prostoru; prva derivacija energije u odnosu na pozicije atomskih jezgara.
- Izračun vibracijskih frekvencija molekula, koje potječu od interatomskog gibanja unutar molekule. Frekvencijski račun se temelji na drugoj derivaciji energije u odnosu na pozicije atomskih jezgara u molekularnoj strukturi, a pritom se mogu dobiti svojstva povezana s drugom derivacijom energije (npr. IR spektar).
- Rješavanje vremenski-ovisnih potencijala unutar molekula. Vremenski promjenjivi električni i magnetski potencijali prikazuju interakciju okoliša s elektronskom strukturom molekule te daju podatke o ekscitacijskim energijama, svojstvima koje su ovisne o frekvenciji zračenja te predviđaju UV/Vis spektar.

Metode za utvrđivanje elektronske strukture koriste zakone kvantne mehanike kao temelj za izračune, za razliku od simulacija pomoću molekulske mehanike koja se definira poljima sila i temelji na zakonima klasične fizike. Osnovni koncept kvantne mehanike temelji se na činjenici da se energija i sva svojstva izvedena iz energije mogu izračunati rješavanjem Schrödingerove jednačbe. No, Schrödingerova se

jednadžba može egzaktno riješiti samo za sustave s jednim elektronom (atom vodika, kation helija i molekularni kation H_2^+). Metode elektronske strukture razlikuju se po aproksimacijama koje se koriste u rješavanju Schrödingerove jednadžbe. Semiempirijske metode (npr. AM1, PM3, MINDO) koriste parametre izvedene iz eksperimentalnih podataka. *Ab-initio* metode (npr. Hatree-Fock (HF) metoda, Møller-Plesset (MP) skupina metoda, skupina metoda konfiguracijske interakcije (CI)) ne koriste eksperimentalne parametre u svojim izračunima te se oslanjaju na zakone kvantne mehanike („početni principi“) i koristeći osnovne fizikalne konstante poput Planckove konstante, brzine svjetlosti te mase i naboja elektrona i jezgri. Te metode (posebno napredne MP_n , QCISD, multikonfiguracijske i kompozitne metode) daju precizne kvantitativne podatke za široki raspon kemijskih sustava, ali su jako zahtjevne u pogledu računalnih resursa potrebnih za izračun. Teorija funkcionala gustoće (*Density Functional Theory*, DFT) usporediva je s *ab-initio* metodama. DFT metode se temelje na Hohn-Sham teoriji da energija osnovnog stanja kemijskog sustava izravno ovisi o elektronskoj gustoći u molekularnom sustavu. Za razliku od HF metode, DFT metode uključuju efekt elektronske korelacije, tj. činjenicu da elektroni u molekularnom sustavu „reagiraju“ na kretanje drugih elektrona te se orijentiraju tako da su privlačne i odbojne sile u molekuli u ravnoteži.

U kvantno-kemijskim izračunima veliku ulogu igraju dostupni računalni resursi i vrijeme potrebno za izvršenje računa. Kako se broj atoma, a time i broj elektrona povećava u kemijskom sustavu, zahtjevnost *ab-initio* metoda eksponencijalno raste s faktorom N^4 (za HF metodu), dok je kod DFT metoda rast proporcionalan faktorom N^3 , pri čemu je N broj elektrona u sustavu. Prikladnim odabirom DFT parametara (vidi dolje) mogu se dobiti izračuni koji su usporedivi s puno zahtjevnijim *ab-initio* metodama, primjerice s MP4 metodom koja skalira s N^5 . Parametri koje je potrebno odabrati su: funkcional i bazni skup za prikladan za odgovarajući opis modeliranog kemijskog sustava.

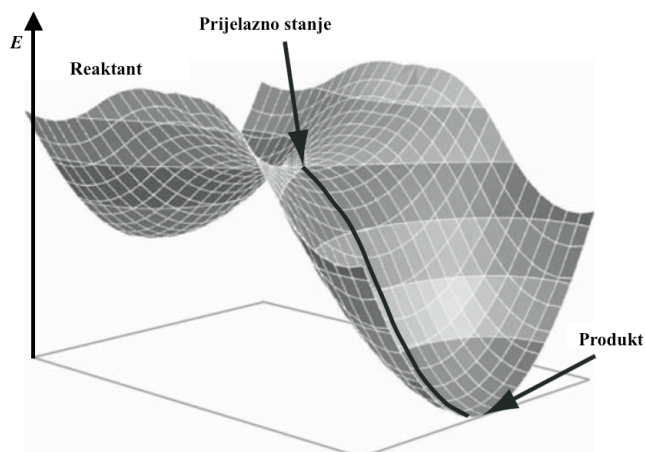
3.1.1. Izračun energije

Energija je najvažnija informacija u kvantno-kemijskim izračunima. Proučavanjem razlika u energijama između struktura, dobiva se informacija o stabilnosti i relativnom energijskom odnosu između tih struktura. Energija se dobiva aproksimativnim rješavanjem Schrödingerove jednadžbe ili koristeći teoriju funkcionala gustoće, u skladu s odabranom metodom. Kod *ab-initio* metoda energija

se računa iterativnim varijacijskim principom. Matematički se opisani elektroni (Bazni skup, vidi dolje) perturbiraju dok se ne postigne najniža energija kemijskog sustava. U metodi samousklađenog polja (SCF) perturbira se valna funkcija elektrona dok se ostale valne funkcije drži fiksnim te se tako računa energija sustava. Ovim principom se optimiziraju valne funkcije molekulskih orbitala te se računaju njihove energije. Ukupna elektronska energija sustava jednaka je zbroju energija svih orbitala. Kod DFT metoda koristi se slična iteracijska metoda za izračun energije, kao što je SCF metoda kod *ab-initio* metoda, s tom razlikom što se varira gustoća elektronskog oblaka.

3.1.2. Geometrijska optimizacija

Struktura promatranog molekulskog sustava koja se generira u nekom programskom paketu (npr. GaussView, Molden, Avogadro) nije nužno struktura kojoj odgovara najniža energija u bliskom području plohe potencijalne energije (*Potential Energy Surface*, PES).⁷³ Lociranje lokalnog minimuma za zadanu geometriju molekulskog sustava provodi se postupkom optimizacije geometrije. Tom je računalnom tehnikom moguće predvidjeti ravnotežnu strukturu molekulskog sustava, locirati osnovna stanja reaktanata i produkata, prijelazna stanja te definirati reakcijsku koordinatu koja povezuje reaktante s produktima preko odgovarajućeg prijelaznog stanja. Opsežniji pristup pretpostavlja karakterizaciju plohe potencijalne energije, koja predstavlja složenu matematičku funkciju koja povezuje energiju s atomskim koordinatama (reljef konfiguracijskog i/ili konformacijskog prostora). Multidimenzionalnost plohe potencijalne energije proizlazi iz svih mogućih međusobnih odnosa atomskih koordinata; dvoatomna molekula definirana je udaljenošću između dva atoma pa je PES jednodimenzionalan (ovisnost energije o udaljenosti između dva atoma). Za troatomnu molekulu (s formalno dvije udaljenosti) PES je dvodimenzionalan, itd. Na multidimenzionalnoj plohi potencijalne energije od posebnog su interesa kritične, odnosno stacionarne točke (Slika 1). U kritičnim točkama prva derivacija energije u odnosu na promjene atomskih koordinata (energijski gradijent) iznosi 0. Drugim riječima kritične točke određuju, lokalne i globalne minimume i maksimume na određenoj plohi potencijalne energije.



Slika 1. Shematski prikaz plohe potencijalne energije za kemijsku reakciju.

Geometrijskom se optimizacijom „traži“ geometrija molekuskog sustava s minimumom energije (tzv. minimizacija) koja odgovara kritičnoj točki na PES-u. Procedura započinje sa zadanim koordinatama geometrije (tzv. input, definiran položajima jezgara atoma) koje predstavljaju približnu “pravu” strukturu. Položaji atoma se sustavno mijenjaju na način da se ukupna energija kemijskog sustava smanjuje. Varijacija atomskih položaja, odnosno koordinata, iteracijski je postupak koji traje dok se ne postigne minimum energije, odnosno dok iznos derivacije energije s obzirom na pomak atomskih koordinata ne bude manji od određenog konvergencijskog praga. Smjer promjena geometrijskih parametara (duljine veza, vezni i diedarski kutevi, rotacije) ovisi o vrijednosti prve derivacije energije u odnosu na promjenu koordinata. Naime, pri svakoj se iteraciji računa energija i gradijent; pozitivna vrijednost gradijenta označava porast energije sustava, dok negativna označava smanjenje energije sustava.

Geometrijska optimizacija osnovnih stanja, minimuma, odnosno struktura reaktanata, intermedijera i produkata razmjerno je jednostavna. Za geometrijsku optimizaciju prijelaznog stanja, koja je kritična točka prvog reda na PES-u, potrebno je upotrijebiti dodatne algoritme i zadati početnu geometriju što sličniju traženoj strukturi prijelaznog stanja.

3.1.3. Frekvencijski račun

Osnovne namjene frekvencijskog računa su:

- karakterizacija prirode stacionarnih točaka
- izračun konstanti sila
- izračun frekvencija gibanja atoma unutar molekula
- izračun termokemijskih parametara
- izračun IR i Raman spektara

Za potpunu karakterizaciju kritičnih točaka na PES, potrebno je izvršiti frekvencijski račun, koji izračunava vibracije atoma unutar molekula izračunom druge (i viših) derivacije energije u odnosu na atomske koordinate. Uz prikaz svih dostupnih vibracija atoma u molekuli (vrsta vibracije i atomi koji sudjeluju u vibraciji). Frekvencijskim računom dobivamo i informaciju da li optimizirana struktura odgovara minimumu na PES (reaktanti, intermedijeri i produkti) ili prijelaznom stanju. Ako postoji samo jedna vibracija s negativnim predznakom (imaginarna frekvencija), dobili smo minimum u svim smjerovima osim u smjeru reakcije određene imaginarnom frekvencijom, što predstavlja strukturu prijelaznog stanja (TS). Dvije i više imaginarne frekvencije određuju točku koja nije kritična na PES te je treba dodatno optimizirati dok se ne locira stacionarna točka.

Postojanje imaginarne frekvencije ne znači da struktura prijelaznog stanja nužno povezuje reaktante i produkte ispitivane reakcije. Imaginarnu frekvenciju je potrebno vizualizirati prikladnim programom (animacija normalnog moda koji odgovara imaginarnoj frekvenciji), a za potvrdu traženog reakcijskog puta, kojeg definira TS, potrebno je pratiti oba reakcijska smjera integracijom intrinzične reakcijske koordinate (IRC). To je računalna tehnika kojom se parcijalno optimizira struktura duž reakcijske koordinate. Početna točka u IRC računu odgovara strukturi prijelaznog stanja, a njezina se geometrija postupno „deformira“ do (među)produkata (napredni smjer) i reaktanta (povratni smjer). Dobivene strukture, nakon dodatne geometrijske optimizacije daju (lokalne) minimume koji odgovaraju reaktantima i (među)produktima povezanih prijelaznim stanjem.

Korištenjem frekvencija i intenziteta za svaku pojedinu vibraciju, uz odgovarajući empirijski faktor skaliranja⁷⁴, može se izračunati IR i Raman spektar za ispitivani molekulski sustav.

Ukupna elektronska energija izračunata geometrijskom optimizacijom odgovara

minimumu na PES. Molekula nikada neće imati tu energiju, jer sama molekula nikada neće biti u stanju potpunog mirovanja, već će imati određeno vibracijsko gibanje. Energija nulte točke (*zero-point energy*) se računa kao zbroj elektronske energije i tzv. "korekcije nulte točke", energije koja odgovara najnižem vibracijskom stanju molekule. Molekularna entalpija i entropija se računaju kao različiti doprinosi translacijskog, vibracijskog i rotacijskog gibanja molekule (izvode se iz frekvencijskog računa) na energiju nulte točke. Tu je uključena aproksimacija idealnog plina za translacijsko i rotacijsko gibanje. U zadavanju računa mogu se podesiti parametri za temperaturu (zadana temperatura iznosi 298 K) i tlak (zadani tlak iznosi 1 atm). Gibbsova slobodna energija jednaka je razlici entalpije i entropije pomnožene s temperaturom ($\Delta G = \Delta H - T\Delta S$).

3.2. Metode kvantno-kemijskih izračuna

3.2.1. Hartree-Fock metoda

Najpoznatija i često korištena *ab-initio* metoda se zove Hartree-Fock metoda (HF) u kojem glavna aproksimacija Schrödingerove jednadžbe uključuje aproksimaciju središnjeg polja.⁷⁵ U toj se aproksimaciji kulonska odbijanja među elektronima uzimaju u obzir integriranjem izraza za odbijanje. Iz toga se dobiva prosječni utjecaj odbijanja, ali ne i eksplicitna interakcija odbijanja. Ovo je varijacijski račun, što podrazumjeva da su aproksimativne energije jednake ili više od egzaktno energije sustava. Energije se računaju u Hartree jedinicama (1 Hartree = 27,2116 eV = 627,509 kcal/mol = 2625,498 kJ/mol). Zbog aproksimacije, energije HF računa su uvijek više od egzaktno energije sustava, ali se, s povećanim (poboljšanim) baznim skupom (vidi Bazni skup), asimptotski približavaju Hartree-Fock energijskoj granici.

Prednost HF pristupa je u podjeli Schrödingerove jednadžbe na manje i jednostavnije jedno-elektronske jednadžbe. Svaka se jedno-elektronska jednadžba rješava zasebno, pri čemu rješenje predstavljaju jedno-elektronsku valnu funkciju i energiju, koji se nazivaju orbitala i orbitalna energija. Takva orbitala opisuje ponašanje jednog elektrona u ukupnom polju svih drugih elektrona.

Druga aproksimacija HF računa uvedena je zbog činjenice da je valna funkcija, opisana nekom matematičkom funkcijom, precizno određena samo za mali broj jedno-elektronskih sustava, ali ne i za više-elektronske sustave. Tako se u opisu svake orbitale koristi valna funkcija sačinjena od linearnih kombinacija jednostavnijih baznih funkcija, često oblika $f(r) = \exp(-\zeta r^2)$ (Gaussian) ili oblika $f(r) = \exp(-\zeta r)$ (Slater). Skup korištenih baznih funkcija naziva se baznim skupom i u više je detalja opisan u daljnjem tekstu. Svaka bazna funkcija čini orbitalu, a orbitale se dalje slažu u uprosječene orbitale. Takve orbitale popunjavaju mjesta u determinanti, koja podliježe dvama osnovnim uvjetima kvantne mehanike: elektroni se međusobno ne smiju razlikovati (pri popunjavanju orbitala) te valna funkcija mora biti asimetrična kada se zamjenjuju dva elektrona. Prvi uvjet podrazumjeva da se orbitale razlikuju po energiji i popunjenosti (ima ili nema elektron), ali nisu rezervirane za točno određene elektrone. Drugi uvjet je zadovoljen konstrukcijom determinanti pri čemu zamjena elektrona je zapravo zamjena stupaca u determinanti, što joj mijenja predznak.

HF račun započinje pretpostavkom orbitalnih koeficijenata, koji su potrebni za dobivanje početne valne funkcije. Tako dobivena valna funkcija koristi se za izračun energija i izračun novog skupa orbitalnih koeficijenata koji postaju nove početne vrijednosti u iterativnom računu. Procedura se nastavlja dok se novi orbitalni koeficijenti ne izjednače s orbitalnim koeficijentima iz prethodnog koraka. Ovaj postupak se još zove i procedura samousklađenog polja (SCF).

Važno ograničenje HF računa je izostanak elektronske korelacije. HF opisuje prosječni utjecaj elektronskog odbijanja, ali ne i eksplicitnu interakciju elektrona. Tako unutar HF metode, vjerojatnost nalaženja elektrona oko atoma ovisi o udaljenosti od jezgre, i prosječnom elektronskom polju ostalih elektrona, a ne i o udaljenosti od drugih elektrona. To je posljedica aproksimacije središnjeg polja. Zbog tog ograničenja razvijene su brojne post-HF *ab-initio* metode, koje uključuju HF izračun te korekciju dobivenog rezultata za iznos elektronske korelacije. Neke od metoda su Møller-Plesset perturbacijska teorija (MP n , gdje n označava veličinu korekcije), multi-konfiguracijska metoda samousklađenog polja (MCSCF), konfiguracijske interakcije (CI) i metoda spregnutog klastera (*coupled-cluster*, CC). Uključivanjem elektronske korelacije poboljšava se točnost izračunatih energija i optimiziranih molekulskih geometrija.

3.2.2. Post-HF metode

Post-Hartree-Fock metode poboljšavaju rezultat Hartree-Fock računa dodatnim članovima izraza koji modificiraju valnu funkciju dobivenu Hartree-Fock metodom te time ispravljaju pogreške do kojih dolazi zbog izostanka eksplicitnog uključivanja elektronske korelacije.

Perturbacijska teorija Møller-Plesset uključuje elektronsku korelaciju perturbacijom valne funkcije dobivene Hartree-Fock računom. Jedna je od najčešćih post-HF metoda, a prije pojave DFT funkcionala bila je glavna metoda optimizacije i frekvencijskog računa. Tijekom mapiranja HF valne funkcije u formulaciju perturbacijske teorije, HF postaje perturbacija prvog reda. Uz dodatni član i perturbaciju višeg reda, dobiva se MP2 metoda. Dodavanjem članova viših redova u formulaciju perturbacijske teorije dobivaju MP3 i MP4 metode. MP4 metoda ima točnost i preciznost CISD računa, a još veću točnost imaju MP5 i MP6, ali one se rijetko izvode zbog velikih zahtjeva za računalnim resursima (skaliranje s faktorom N^{10}).

Konfiguracijska interakcija (CI) ima drugačiji pristup u rješavanju problema elektronske korelacije. Ta metoda koristi HF valnu funkciju te zatim konstruira nove determinante u kojima su neki elektroni iz popunjenih orbitala premješteni u nepopunjene orbitale. CI metoda je vrlo precizna, ali je zahtjevna s obzirom na utrošak računalnih resursa (skaliranje s faktorom N^8). CI metode se razlikuju po broju ekscitacija: CIS promovira jedan elektron i daje informaciju o prvom pobuđenom stanju, CISD uključuje jednoelektronsku i dvoelektronsku ekscitaciju kojom se mijenja energija osnovnog stanja te je time uključena elektronska korelacija.

Metode spregnutog klastera (CC), su po konfiguraciji slične CI metodama, pri čemu se valna funkcija sastoji od linearnih kombinacija determinanti. Za razliku od CI, u CC metodi je drugačiji izbor determinanti. Tako primjerice CCSD(T) varijanta koristi jednostruku i dvostruku promociju elektrona u prazne orbitale, dok se trostruka ekscitacija ne opisuje egzaktno, već perturbativno. CC računi tako daju varijacijske energije, koje su slične kvalitete kao CI, iako su računalno manje zahtjevne.

Kvadratni konfiguracijski račun (QCI) koristi algoritam koji je kombinacija CI i CC algoritama. Često je korišten zbog optimalnog odnosa potrebne korelacije za račune visoke preciznosti za organske molekule, dok istovremeno koristi manje računalnih resursa od CC metoda. Popularna QCISD(T) metoda dopušta jedno-, dvo- i tri-elektronsku ekscitaciju (varijacijskim pristupom opisuje tri-elektronsku ekscitaciju) i daje rezultate visoke kvalitete. U kombinaciji s drugim metodama koje koriste velike bazne skupove (vidi Kompozitne metode), QCISD(T) metoda se koristi s relativno malim baznim skupom

3.2.3. Semiempirijske metode

Semiempirijske metode imaju istu opću strukturu kao i HF računi i sastoje se od Hamiltonijana i valne funkcije. U tom općem okviru, neke informacije i dijelovi su aproksimirani, a neki potpuno izbačeni iz opisa valne funkcije. Često se zanemaruju nevalentni/unutrašnji elektroni, zanemaruju se određeni integrali interakcije dvaju elektrona te se koristi minimalni bazni skup. Kako bi se ispravile inherentne pogreške do kojih dovodi simplifikacija izračuna, semiempirijske metode su parametrizirane. Parametri za predviđanje izostavljenih dijelova izvode se iz *ab-initio* računa ili iz eksperimenata. Neki od tih parametara zamjenjuju integrale koji su isključeni iz računa.

Prednost semiempirijskih računa je u brzini izračuna, posebno u usporedbi s *ab-initio* računima. Nedostaci pak semiempirijskih metoda su nepredvidljivost samih rezultata te velika odstupanja u svojstvima koje se računaju. Ako je proučavana molekula strukturno slična molekulama u bazi podataka iz koje su korišteni parametri za tu metodu, rezultati mogu biti prilično točni. Ako se pak pručavani kemijski sustav znatno razlikuje od sustava u parametrizacijskom skupu, rezultati mogu biti krivi i posve promašeni. Primjerice ciklopropan i ciklobutan imaju značajno različite kuteve između veza, u usporedbi s drugim organskim sustavima; ukoliko strukturni parametri tih molekula nisu u skupu za parametrizaciju, svojstva tih molekula bit će netočno izračunata.

Semiempirijske metode se detaljno parametriziraju tako da točno reproduciraju određena svojstva molekula. Primjerice, mnoge semiempirijske metode dobro predviđaju energiju i strukturu, dok su neke druge bolje za izračun NMR spektara, UV/Vis spektara, dipolnih momenata i/ili ionskog potencijala. Korištenjem semiempirijske metode kao inicijalnog računa, može se ubrzati proces geometrijske optimizacije na skupljim *ab-initio* i DFT razinama. Neke od poznatijih semiempirijskih metoda su MINDO, Austin Model 1 (AM1), Parametrizacijska metoda 3 (PM3) i PM6 metoda.

3.2.4. DFT metode

DFT metode se temelje na teoriji funkcionala gustoće, a kao osnovna premisa koristi se teorem koji za izračun energije koristi elektronsku gustoću, a ne valnu funkciju.⁷⁶ Polazeći od osnovnog teorema, Kohn i Sham su razvili metodologiju koja je po svom iterativnom postupku slična s Hartree-Fock metodom.

Elektronska gustoća se formira kao linearna kombinacija baznih funkcija, koje imaju sličnu matematičku formulaciju kao i HF orbitale. Iz tih se funkcija definira Kohn-Sham orbitala te se elektronska gustoća iz te determinante koristi u izračunu energije. Za konačni izračun energije iz elektronske gustoće koristi se DFT funkcional. Funkcional je funkcija funkcije, u ovom slučaju funkcija elektronske gustoće. Točan opis funkcionala koji povezuje gustoću elektrona s energijom nije poznat. Postoji niz različitih funkcionala koji imaju svoje prednosti i nedostatke. Neki su izvedeni iz fundamentalnih postavki kvantne mehanike, a neki su razvijeni parametrizacijom funkcija uz usporedbu s eksperimentalnim rezultatima. Prema tome se DFT metode mogu svrstati i u *ab-initio* metode, ali i u semiempirijske metode.

DFT funkcionali se međusobno razlikuju prema opisu funkcionala izmjene, funkcionala korelacije i udjela HF funkcionala kao dopune člana izmjene (kod hibridnih funkcionala). Najpoznatiji i jedan od češće korištenih funkcionala (postavljen je kao zadana opcija u nekim kvantno-kemijskim programima) je B3LYP (Becke Three Parameter Hybrid Functionals), koji se sastoji od Becke funkcionala izmjene (B), korekcijskog funkcionala (LYP), kojeg su razvili Lee, Yang i Parr te određenog udjela HF funkcionala u elektronskoj izmjeni, tvoreći taj funkcional kombinacijom triju parametara (3). Osim Becke funkcionala izmjene, postoji još desetak funkcionala u istoj skupini, kao i u skupini korelacijskih funkcionala. Udio HF izmjene (od 0% za čiste funkcionale do 80% za hibridne funkcionale) može se podesiti za nove funkcionale, ili za procjenu učinka HF funkcionala na konačne rezultate. Funkcionalima se može dodati i empirijska korekcija, kao što je slučaj s empirijskom korekcijom D za sustave sa raspršenim (disperznim) elektronima. Među češće korištenim funkcionalima nalaze se: B3LYP, BP86, PW91, PBE1PBE, M06, wB97XD, OLYP.

Zbog svoje popularnosti, prednosti u brzini nad *ab-initio* metodama i usporedive preciznosti s naprednim *ab-initio* metodama, DFT je postao najčešća korištena kvantno-kemijska metoda.

3.2.5. Kompozitne metode

Za vrlo točan opis energije kemijskog sustava, koriste se kompozitne metode. Među njima se ističu dvije skupine metoda G i W, posebice G3B3 i W1 metode. Geometrijska se optimizacija i izračun odgovarajuće energije provodi na nižoj teorijskoj razini, a u naknadnim se nizom izračuna energija procjenjuje na sve većim baznim skupovima i sve boljim funkcionalima. Na kraju se rezultati pojedinih računa u nizu kombiniraju prema zadanim empirijskim formulama, dajući konačnu energiju kemijskog sustava. Vrlo velika preciznost i točnost (često unutar ± 1 kcal/mol) čine ove metode standardima dobrog računanja. Visoki zahtjevi za računalne resurse onemogućuju korištenje tih metoda na velikim i kompleksnim kemijskim sustavima, ali su jako korisne za manje sustave i modele kojima se ispituje prikladnost funkcionala i baznog skupa za simulaciju određenog sustava.

3.3. Parametri kvantno-kemijskih izračuna

3.3.1. Bazni skupovi

Bazni skupovi (i funkcionali) definiraju konstante u konstruiranju baznih funkcija koje opisuju valnu funkciju te su matematička reprezentacija molekularnih orbitala u molekuli. Potpuni opis valne funkcije zahtjeva neograničen niz baznih funkcija, što je računski nedostupno. Odabirom baznog skupa, opisuje se valna funkcija s konačnim brojem baznih funkcija. Što je veći broj baznih funkcija koje opisuju valnu funkciju, to je točniji opis molekularnih orbitala u kojima je smješten elektron, ali time raste i složenost i zahtjevnost samog računa. Veći bazni skupovi sadrže manje restrikcija za opis elektrona i time se proširuje prostor dostupan za lociranje elektrona. Promjena baznog skupa, mijenja i energiju i geometriju kemijskog sustava kojeg promatramo. Za procjenu pogrešaka zbog uporabe (pre)malih baznih skupova, provode se najprije računi s minimalnim baznim skupom te se ponavljaju izračuni s većim baznim skupom. Usporedbom dobivenih rezultata utvđuje se efekt baznog skupa. Taj se iterativni postupak može provoditi sa sve većim baznim skupovima te se ekstrapolacijom omogućuje uvid u kompletni bazni skup (CBS), odnosno kao da se valna funkcija opisuje s neograničenim brojem baznih funkcija. Kao osnovne funkcije za opis atomskih orbitala koriste se Slaterove orbitale (STO) obika $f(r) = \exp(-\zeta r)$ ili Gaussove orbitale $f(r) = \exp(-\zeta r^2)$. Iako Slaterove orbitale bolje opisuju orbitale, ali neprikladne su za numeričku primjenu. Stoga se koriste linearne kombinacije većeg broja primitivnih gaussiana (pojedina Gaussova orbitala), koje daju složene osnovne funkcije i kontrakcije gaussiana, koje imaju veće slaganje sa Slaterovim orbitala. Uz navedene funkcije prisutne su i polarizacijske i difuzne funkcije. Polarizacijske funkcije dobivaju se dodavanjem osnovnih funkcija većeg angularnog momenta na funkcije s manjim angularnim momentom (primjerice dodavanje p funkcije na s funkciju) te one omogućavaju veću fleksibilnost valnoj funkciji u promjeni oblika i boljem sparivanju s drugim valnim funkcijama. Difuzne funkcije su vrlo plitke gaussianske funkcije koje proširuju i točnije opisuju krajeve gaussianske funkcije te time daju bolji opis atomskih orbitala koje su udaljene od jezgre. Bazni skupovi se međusobno dijele na broj primitivnih gaussiana za opis unturanjih orbitala, broju i kombinaciji primitivnih gaussiana koji čine složenu osnovnu funkciju te prisutnost difuzijskih i/ili polarizacijskih funkcija. Skupina

Popleovih baznih skupova, s notacijom 6-31G i dodatnim difuznim i/ili polarizacijskim funkcijama, često je korištena kombinacija. Tako kod 6-31+G(d) baznog skupa, unutrašnje orbitale su opisane sa 6 primitivnih gaussiana, a valentne orbitale su opisane s dvije složene osnovne funkcije, pri čemu je prva dobivena kontrakcijom tri primitivna gaussiana, dok je druga dobivena kontrakcijom jednog primitivnog gaussiana. Plus znak označava dodatak difuzne funkcije, dok *d* označava primjenu *d* polarizacijskih funkcija (*d* primitivnog gaussiana) na sve atome osim atoma vodika. Najčešći Popleov bazni skup je 6-31G(d), a često se koriste i 6-311G(d), 6-31G(d,p), 6-31+G(d). Također se koriste i bazni skupovi drugih autora (npr. Aldrich, Dunning, Swart i Wachter), ali oni se razlikuju u notaciji od Popleovih baznih skupova.

3.3.2. Solvatacijski efekti

Osim izbora prikladnog funkcionala i baznog skupa, često je potrebno opisati i medij u kojem se zbiva reakcija. Geometrijska optimizacija i izračun energija te frekvencijski račun provode se najčešće u plinskoj fazi, odnosno u vakuumu ($\epsilon = 1$). Kako bi se opisali solvatacijski efekti, nužno je izračunati interakciju otapala i otopljene tvari. Otapalo utječe i na energiju i na strukturu, pa je dobar odabir solvatacijskog modela i načina izračuna solvatacije ključna u ispravnom opisu kemijskog sustava. Solvatacija se može opisati na tri načina: eksplicitnim molekulama otapala, koje okružuju molekulu tvoreći (prvu) solvatacijsku ljusku, implicitnim utjecajem otapala, koje svojim dielektričkim svojstvom utječe na geometriju i energiju molekule te kombiniranim pristupom (tzv. supramolekulski pristup), u kojem se za opis solvatacije istovremeno koriste eksplicitne molekule otapala i implicitni utjecaj otapala.

Implicitna solvatacija podrazumjeva model polariziranog kontinuuma, tj. opisuje se nastanak solvatacijske šupljine i utjecaj okolnog polariziranog medija na promatrani kemijski sustav u šupljini. Postoje različite verzije implicitne solvatacije, među kojima su korišteniji PCM, CPCM, COSMO i SMD modeli. Implicitna solvatacija može se koristiti pri geometrijskoj optimizaciji ili pri izračunu Gibbsove slobodne energije solvatacije (solvatacijski efekt na geometriji dobivenoj računima u plinskoj fazi). Interakcija solvatacijske šupljine i kemijskog sustava nam daje Gibbsovu slobodnu energiju solvatacije sustava u otapalu, a ta ista interakcija mijenja gradijent energije koji je potreban u geometrijskoj optimizaciji. Uobičajeno se

geometrijska optimizacija u implicitnom otapalu provodi zbog usporedbe struktura dobivenih geometrijskom optimizacijom u vakumu i modelnom otapalu. Ako se strukture ne razlikuju značajno, pristupa se izračunu Gibbsove slobodne energije solvatacije na strukturi dobivenoj iz geometrijske optimizacije bez implicitnog otapala. Osnovni parametri koji su potrebni za (C)PCM račune su: modelno otapalo s odgovarajućom dielektričnom konstantom (ϵ), elektrostatički korekcijski faktor (α) te parametri radijusa pojedinog atoma. Radijusi atoma u solvacijskim računima empirijske su prirode te su provjereni na velikom nizu molekula i korištenjem teorijskih računa različite složenosti. Od poznatijih su UFF, UAKS, UAHF i UA0. SMD solvacijski model je visoko parametrizirani model koji zahtjeva jedino unos podatka o modelnom otapalu (ϵ).

EksPLICITNIM dodavanjem molekula otapala u kemijski okoliš promatranog sustava, simuliraju se solvacijske ljuske koje se nalaze u bliskom kontaktu sa sustavom i time se razlikuju od otapala koje nije u dodiru s otopljenom tvari. Računski je vrlo zahtjevno opisati prvu solvacijsku ljusku. Molekule otapala, intermolekulskim silama vezane na strukturu u prvoj solvacijskoj ljusci, mijenjaju slobode kretanja, moguće vibracije te reaktivnost otopljene tvari. Poseban problem predstavlja voda kao otapalo, čije molekule u velikom broju mogu zauzeti prostor prve solvacijske ljuske. Procjena potrebnog broja molekula voda, koje treba uključiti u solvacijsku ljusku za prikladan opis otopljene tvari u vodi, prilično je zahtjevna. Osim toga, razmještaj i međusobna interakcija molekula voda predstavlja dodatni problem. Molekule vode su međusobno povezane brojnim vodikovim vezama i često se u računima, tijekom geometrijske optimizacije, udaljuju od otopljene tvari te međusobno formiraju grozdove. Za svaku je kemijsku strukturu potrebno odrediti “idealni broj molekula otapala” u solvacijskoj ljusci, pri čemu struktura sa solvacijskom ljuskom tvori zasebnu kemijsku speciju.⁷⁷

Za pretragu povoljnih konfiguracija molekula voda u prvoj solvacijskoj ljusci, može se primijeniti lokalno modificirana stohastička metoda razvijena u našoj istraživačkoj skupini. Osnovni stohastički pristup u kvanto-kemijskim računima (takozvana “Kick” procedura) razvio je Saunders.⁷⁸ U tom se pristupu nasumično odabiru koordinate (u zadanom području) svakog atoma u sustavu. Nasumičnim uzorkovanjem strukutra na PES-u dobiva se informacija o relativnim energijskim razlikama velikog broja struktura. Tim se pristupom mogu dobiti početne strukture koje nemaju “kemijskog smisla”, jer je pretraživanje PES-a preširokog opsega.^{79,80}

Takav pristup zahtjeva veliki broj početnih struktura. U modificiranoj stohastičkoj proceduri, autora Addicoata i Metha,⁸¹ te Bera i suradnika,⁸² umjesto pojedinih atoma koriste se molekularni fragmenti. U našoj verziji stohastičke metode također se koriste male molekule i molekularni fragmenti koji se nasumično raspoređuju u prostoru oko veće molekule ili molekularnog fragmenta. U prvom se koraku, generira skup različitih rotacija male molekule oko geometrijskog centra te iste molekule. U drugom se koraku na većoj molekuli nasumično odabere jedan atom. Treći korak uključuje odabir točke u koordinativnom prostoru koja je definirana nasumično određenom udaljenošću i orijentacijom prema odabranom atomu veće molekule. Nasumično odabrana rotacija iz zadanog skupa rotacija malih molekula postavlja se u odabranu točku te se provjeravaju sve udaljenosti između atoma, kako bi se eventualne strukture s premalim udaljenostima (kontakti među atomima) isključile iz procedure izračuna. Taj pristup korišten je za razmještaj (do deset) molekula vode u solvacijske ljuske oko različitih amina, hidroksiuree,⁵⁶ amida⁸³ i metabolita paroksetina.⁸⁴ Modificirana stohastička metoda daje zadovoljavajući pregled PES-a, tj. ograničena je samo na PES koji definira različit raspored molekula voda u solvacijskoj ljusci te je stoga potrebno manje početnih (nasumičnih) struktura za lociranje lokalnih minimuma.

Kombinacija eksplicitne i implicitne solvatacije, tzv. supramolekulski pristup, je računalno najzahtjevnija tehnika solvatacije, ali daje najtočnije podatke, jer opisuje istovremeno solvacijsku ljusku eksplicitnim molekulama vode i utjecaj implicitnog otapala na sustav. Supramolekulski pristup korišten je u svim našim solvacijskim izračunima.

3.3.3. Ograničenja kvantno-kemijskih izračuna

Ne postoji “idealni” DFT funkcional niti “idealni” bazni skup, koji bi zajedno s “idealnom” solvatacijom dao potpuno točne rezultate. Izbor funkcionala, baznog skupa i solvatacije ovisi o kemijskom sustavu i problemu koji se rješava. Za neke su kemijske sustave energijske barijere krivo određene (preniske ili previsoke), dok za druge sustave disperzne interakcije mogu biti preslabe ili prejake, ako se primjeni neodgovarajući teorijski model. Poznati problem je i neprikladan opis homolitičke disocijacije molekula. Modifikacijama funkcionala pokušava se bolje opisati prijenos naboja i dalekih interakcija, što je posebno važno u vremenski ovisnoj teoriji funkcionala gustoće (TDDFT) koji predviđa UV/Vis spektre. Problem postoji i pri

opisu kemijskih sustava s različito nabijenim skupinama, kao što su zwitter-ionske strukture.

Ukratko, za opis kemijskih sustava DFT metodama, potrebno je odabrati odgovarajući bazni skup, odgovarajući funkcional, prikladno modelirati reakcijski medij te provjeriti slaganje teorije s eksperimentalnim podacima za manje modele i/ili s preciznijim teorijskim razinama (takozvana benchmarking metoda). Također je potrebno provjeriti i usporediti teorijske pristupe kemijskim reakcijama i spojevima sličnih kemijskom sustavu koji se proučava. Kada su svi navedeni parametri zadovoljeni, moguće je izvršiti prikladan kvantno-kemijski opis istraživanog sustava, ali uz potreban oprez pri konačnim interpretacijama dobivenih teorijskih rezultata.

3.4. Primjenjene kvantno-kemijske metode i parametri

Kvantno kemijski izračuni izvedeni su koristeći programske pakete Gaussian03 i Gaussian09,⁸⁵ Neki teorijski modeli provedeni su koristeći programski paket Orca⁸⁶ (COSMO solvatacija i računi na B2PLYP/aug-def2-TZVPP razini) te s programskim paketom MOLPRO⁸⁷ ((U)CCSD(T)/6-31G(d) računi unutar G3(MP2)-RAD procedure). Za vizualizaciju rezultata i izradu početnih struktura korišten je GaussView programski paket.⁸⁸ Sve strukture su optimizirane pomoću B3LYP funkcionala.^{89,90} Standardni Popleov bazni skup 6-31G(d) korišten je pri geometrijskoj optimizaciji i frekvencijskom računu za većinu istraživanih sustava. Za ionske sustave korišten je bazni skup 6-31+G(d), jer omogućuje bolji opis nabijenih sustava.⁹¹ Za svako prijelazno stanje, karakterizirano s jednom imaginarnom frekvencijom, dodatno je proveden IRC račun kojim se povezuje struktura prijelaznog stanja s odgovarajućim reaktantima i (među)produktima.

Za opis implicitnih solvacijskih efekata korišteni su različiti modeli: COSMO, SMD⁹² i CPCM.⁹³⁻⁹⁵ SMD je visoko parametrizirana solvacijska procedura, provjerena na mnogim kemijskim sustavima. Za razliku od SMD, CPCM uključuje niz parametara koji se mogu podešavati. Koristili smo UFF i UAKS parametre atomskog polumjera (potrebnih za opis solvacijskih šupljina) i elektrostatski skalirajući faktor za te šupljine (vrijednost 1.1 ili 1.2).

Za točniji izračun energije kemijskog sustava, koristili smo kompozitne metode i metode dvostrukih hibrida uz odgovarajuće bazne skupove, koje prema literaturnim podacima daju mala odstupanja od eksperimentalnih rezultata. Korištene su G3B3,⁹⁶ G3B3(+),⁹⁷ G3(MP2)-RAD,⁹⁸ B2-PLYPD/AUG-cc-pVTZ,^{99,100} te B2K-PLYP/6-311+G(3df,2p) metode.¹⁰¹ Za izračun energije korišteni su i parametrizirani Minnesota funkcionali, poput M05-2X i M06-2X¹⁰² te BMK¹⁰³ uz bazni skup 6-311+G(3df,3pd).

Provjeren je utjecaj baznog skupa na sam rezultat, kako bi se izbjegla superpozicijska greška baznog skupa (basis set superposition error, BSSE).¹⁰⁴

Procjena solvacijskih efekata provedena je eksplicitnim i implicitnim pristupom, pri čemu je najpovoljniji broj molekula ovisi o sustavu. Tako je, na primjer, za prikladan opis reakcije *N*-hidroksilacije amonijaka dovoljna jedna eksplicitna molekula vode, dok je za reakciju *N*-kloriranja amonijaka potrebno više od 4 molekula vode. Implicitna solvatacija provedena je s različitim modelima i na

različitim teorijskim razinama. Pri izračunu Gibbsove slobodne energije solvatacije s eksplicitnim molekulama vode potrebno je primjeniti koncentracijsku korekciju $RT\ln[\text{H}_2\text{O}]$. Ona odgovara promjeni slobodne energije pri prelasku 1 mola vode iz plinovite faze u tekuću fazu koncentracije 55,4 M. Ovaj je faktor konverzije (9,96 kJ/mol) potrebno uključiti za svaku eksplicitnu molekulu vode koja sudjeluje kao reaktant u reakciji u vodenoj fazi.

Kako bi se odredio entropijski efekt zbog prisutnosti molekula otapala oko otopljenih tvari može se koristiti model ćelije kojeg su razvili Ardura i suradnici.¹⁰⁵ Ovaj model je predložen kako bi se eksplicitno procijenio efekt gubitka translacijskih stupnjeva slobode u otopini na Gibbsovu energiju aktivacije bimolekulskih (ili više molekulskih) reakcija. Pokazano je da standardna implementacija modela kontinuuma nije dovoljna za adekvatnu procjenu povećanja Gibbsove energije koje odgovara smanjenju translacijskog kretanja specija duž reakcijske kordinate pri prelasku iz plinovite faze u otopinu. Prema modelu ćelije, razlika $\Delta\Delta G_{\text{sol}}$ između dva iznosa Gibbsove energije $\Delta G_{\text{sol}}^{\#}$ i ΔG_{sol} za bimolekulanu reakciju $A + B \rightarrow A-B$ je

$$\Delta\Delta G_{\text{sol}} = \Delta G_{\text{sol}}^{\#} - \Delta G_{\text{sol}} = RT \ln[(v_c(A)v_c(B)/v_c(A-B))] - RT \ln [k_B T/p] \quad (3)$$

gdje v_c odgovara volumenu solvatacijske šupljine izračunatom u modelu kontinuuma, a k_B , T , i p , odgovaraju vrijednostima Boltzmannove konstante, temperaturi i tlaku. Volumen šupljine dobiven je iz CPCM ili SMD izračuna solvatacije. Korekcije predložene od strane Ardure i suradnika u skladu su s efektima otapala koji su izvedeni prema korekcijama autora Okune.¹⁰⁶

Analize prirodnih veznih orbitala (NBO) izvršene su na B3LYP/6-31G(d) razini koristeći NBO program.¹⁰⁷

Za kvantno-kemijski opis kloriranja amina (i farmaceutika s heterocikličkim aminom u strukturi) s HOCl korištene su sljedeće metode:

- Geometrijska optimizacija, frekvencijski račun te IRC račun na B3LYP/6-31G(d) razini
- Solvatacijski efekti prema SMD/B3LYP/6-31G(d) modelu, uz vodu kao implicitno otapalo ($\epsilon = 78,4$)

- Viši teorijski modeli na B3LYP/6-31G(d) optimiziranim geometrijama: G3B3, B2PLYP-D/AUG-cc-pVTZ, B2K-PLYP/6-311+G(3df,2p)

Za kvantno-kemijski opis kloriranja amida (i farmaceutika s amidnom skupinom u strukturi) s HOCl korištene su sljedeće metode:

- Geometrijska optimizacija, frekvencijski račun, IRC račun na B3LYP/6-31G(d) razini
- Solvacijski efekti prema CPCM(UFF, $\alpha = 1,1$)/B3LYP/6-31G(d) modelu, uz vodu kao implicitno otapalo ($\epsilon = 78,4$)
- Viši teorijski modeli na B3LYP/6-31G(d) optimiziranim geometrijama: G3B3, B2PLYP-D/AUG-cc-pVTZ, B2K-PLYP/6-311+G(3df,2p), BMK/6-311+G(3df,3pd)//BMK/6-311+G(2d,p), M06-2X/6-311+G(3df,3pd)//M06-2X/6-311+G(2d,p)

Za kvantno-kemijski opis pregrađivanja karbamazepina s HOCl korištene su sljedeće metode:

- Geometrijska optimizacija, frekvencijski račun te IRC račun na B3LYP/6-31G(d) razini
- Solvacijski efekti prema CPCM(UFF, $\alpha = 1,1$)/B3LYP/6-31G(d) modelu, uz vodu kao implicitno otapalo ($\epsilon = 78,4$)
- Viši teorijski modeli na B3LYP/6-31G(d) optimiziranim geometrijama: B2K-PLYP/6-311+G(3df,2p), B2PLYP-D/6-311+G(3df,2p), MP2/6-311+G(3df,2p), MP2/G3MP2Large.

Za kvantno-kemijski opis pregrađivanja paroksetina koja uključuju ionske međuprodukte korištene su sljedeće metode:

- Geometrijska optimizacija, frekvencijski račun te IRC račun na B3LYP/6-31+G(d) razini
- Solvacijski efekti prema CPCM(UAKS, $\alpha = 1,2$)/B3LYP/6-31+G(d) modelu, uz vodu kao implicitno otapalo ($\epsilon = 78,4$)
- Viši teorijski modeli na B3LYP/6-31+G(d) optimiziranim geometrijama: B2PLYP/aug-def2-TZVPP, G3B3(+)

Za kvantno-kemijski opis pregrađivanja paroksetina koja uključuju radikalske međuprodukte korištene su sljedeće metode:

- Geometrijska optimizacija, frekvencijski račun te IRC račun na UB3LYP/6-31G(d) razini¹⁰⁸
- Solvacijski efekti prema CPCM(UAKS, $\alpha = 1,2$)/UB3LYP/6-31G(d) modelu, uz vodu kao implicitno otapalo ($\epsilon = 78,4$)
- Viši teorijski modeli na UB3LYP/6-31G(d) optimiziranim geometrijama: B2K-PLYP/6-311+G(3df,2p), B2-PLYP/aug-def2-TZVPP, G3(MP2)-RAD.

4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. Kloriranje i hidroksilacija amina hipoklorastom kiselinom

4.1.1. Uvod

Kloriranje amina je važna reakcija u sintetskoj kemiji, biokemiji i kemiji okoliša. Produkti reakcije su *N*-kloramini, koji su korisni reagensi u amidacijskim/aminacijskim reakcijama,¹⁰⁹⁻¹¹² mogu biti prekursori u formiranju *N*-radikala,^{113,114} koriste se kao klorirajuća sredstva u bazenima i postrojenjima za obradu otpadnih voda,¹¹⁵⁻¹¹⁷ ključni su intermedijeri u razgradnji bioloških molekula u fiziološkim uvjetima,¹¹⁸⁻¹²¹ te mogu sudjelovati u transformacijama farmaceutika u vodenom okolišu.^{14,84,122}

Reakcija između amonijaka (NH_3) i hipokloraste kiseline (HOCl) je jednostavan kemijski proces, ali nedovoljno istražen. Reakcija je i dalje tema intenzivnih istraživanja,¹²³⁻¹²⁵ a nedavno je prikazana kao tipični primjer kojim se opisuje ključna uloga otapala u reakcijskim mehanizmima.¹²⁶

Opisano je nekoliko mehanizama kloriranja kojim klorirajući agensi (Cl_2 , Cl_2O i HOCl) mogu reagirati s amonijakom.^{127,128} Tijekom nedavnih istraživanja kloriranja amina s hipoklorastom kiselinom,^{129,130} otkriven je novi mehanizam interakcije: transferom $-\text{OH}$ skupine s HOCl na amonijak, dobiva se hidroksilamin pa time hipoklorasta kiselina nije donor klora, već donor hidroksilne skupine. To ukazuje na ambidentatni elektrofilni karakter hipokloraste kiseline, jer HOCl može reagirati preko klorovog i kisikovog atoma.

Preliminarni računski rezultati sugeriraju da je energijska barijera za proces *N*-hidroksilacije amonijaka za 100 kJ/mol niža od odgovarajuće energijske barijere za “klasični” proces *N*-kloriranja.¹³¹ Prema tome, u plinskoj je fazi prijenos hidroksilne skupine s HOCl na NH_3 kinetički znatno povoljniji proces u odnosu na prijenos klora. Prijenos hidroksilne skupine je važna i dobro opisana reakcija između amina i različitih oksidirajućih sredstava,¹³²⁻¹³⁴ ali analogna reakcija između amina i HOCl nije istraživana. Eksperimentalni podaci, za niz reakcija između amina i HOCl u otopini, ne ukazuju na postojanje onih (među)produkata koji su u skladu s mehanizmom prijenosa hidroksilne skupine. Iz tih rezultata proizlazi da u reakciji s aminima, HOCl djeluje samo kao klorirajuće sredstvo. Naprotiv, poznato je da

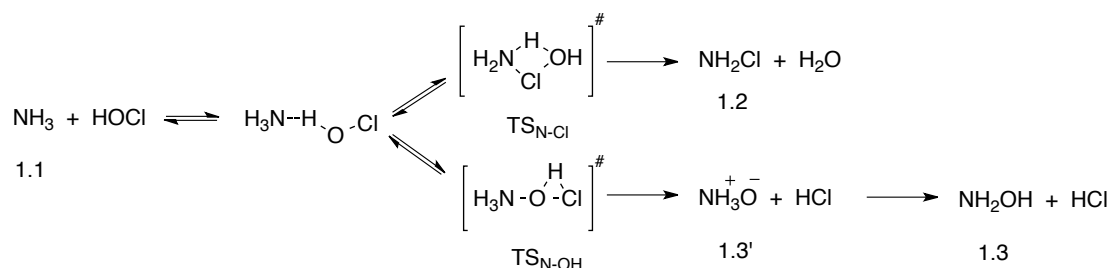
hipofluorasta kiselina (HOF) može sudjelovati u reakciji prijenosa hidroksilne skupine na amine.^{135,136}

Ipak, nedavna istraživanja pokazuju da HOCl može sudjelovati u prijenosu hidroksilne skupine na atom dušika u pojedinim spojevima. Tako je, na primjer pokazano da oksidacija azo-boja s HOCl uključuje hidroksilaciju atoma dušika.¹³⁷ Sličan mehanizam je predložen ranije za reakcije između perkiselina i spojeva s azo funkcionalnom skupinom.^{138,139} Rezultati naših istraživanja omogućuju detaljniji mehanistički uvid u reakcije amina s HOCl i pružaju odgovor na pitanje pod kojim se reakcijskim uvjetima HOCl ponaša kao klorirajuće, odnosno hidroksilirajuće sredstvo.

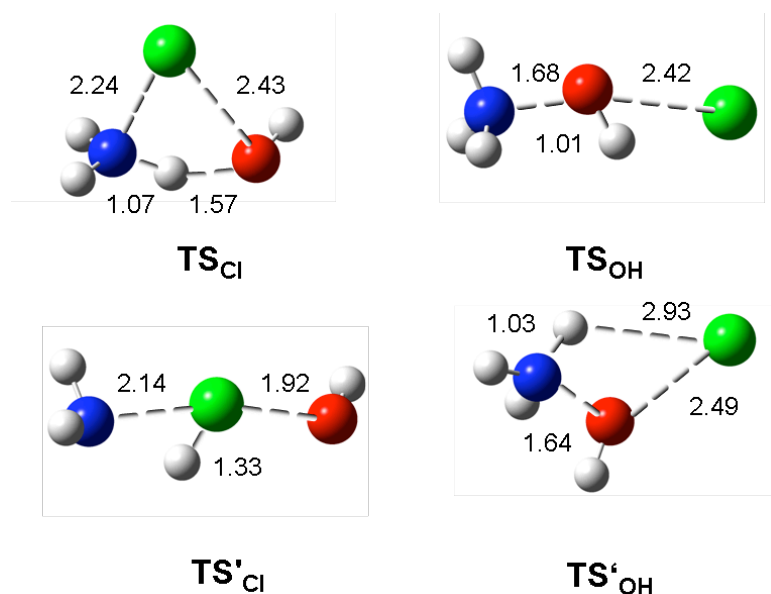
4.1.2. Reakcija između amonijaka i HOCl

Reakcija u plinskoj fazi

Reakcije koje se odvijaju u plinskoj fazi opisuju kemijsko ponašanje u „okolišu bez otapala“ i u našem slučaju opisuju intrinzičnu reaktivnost HOCl-a prema aminima. Strukture prijelaznih stanja za hidroksilaciju (TS_{N-OH}) i kloriranje (TS_{N-Cl}) amonijaka s HOCl locirane su na nekoliko teorijskih razina. Na svim je teorijskim razinama izračunata energijska barijera za kloriranje za 80 kJ/mol viša od odgovarajuće energijske barijere za hidroksilaciju (Tablica 2). Ti rezultati govore da je u plinskoj fazi brzina reakcije hidroksilacije puno veća od brzine reakcije kloriranja. Mehanizam kloriranja opisan je strukturom prijelaznog stanja u kojem se četiri atoma (N, Cl, O i H) nalaze u cikličkom rasporedu i sudjeluju u intramolekulskom procesu (Slika 1). Mehanizam hidroksilacije opisan je strukturom prijelaznog stanja u kojem N, O i Cl atomi zauzimaju linearni raspored, dok atom vodika premošćuje O-Cl vezu (Slika 2). Osim cikličkog prijelaznog stanja (TS_{Cl}) za reakciju kloriranja, locirana je, za 94 kJ/mol manje stabilna, struktura linearnog prijelaznog stanja ($TS_{N-Cl'}$). S druge strane, osim linearnog prijelaznog stanja za hidroksilaciju (TS_{N-OH}), locirana je, za 80 kJ/mol nestabilnija, struktura cikličkog prijelaznog stanja ($TS_{N-OH'}$).



Shema 5. Predloženi mehanizam za dvije paralelne reakcije u plinskoj fazi: reakcija kloriranja ($1 \rightarrow \text{TS}_{\text{Cl}} \rightarrow 2$) i reakcija hidroksilacije ($1 \rightarrow \text{TS}_{\text{OH}} \rightarrow 3$) amonijaka s hipoklorastom kiselinom.



Slika 2. Strukture prijelaznih stanja, optimizirane na B3LYP/6-31G(d) razini, za kloriranje ($\text{TS}_{\text{N-Cl}}$ i $\text{TS}'_{\text{N-Cl}}$) i hidroksilaciju ($\text{TS}_{\text{N-OH}}$ i $\text{TS}'_{\text{N-OH}}$) amonijaka s HOCl. Udaljenosti među atomima prikazane su u angstromima.

Relativne Gibbsove slobodne energije reakcije $\Delta_r G$ i ΔG^\ddagger energijske barijere dobivene su razlikom Gibbsovih slobodnih energija reaktanata i produkata, odnosno razlikom Gibbsovih slobodnih energija reaktanata i prijelaznog stanja po formuli:

$$\Delta_r G = \sum G_p - \sum G_r \qquad \Delta G^\ddagger = G_{\text{TS}} - \sum G_r \quad (4)$$

pri čemu je $\sum G_r$ suma Gibbsovih slobodnih energija reaktanata, $\sum G_p$ suma Gibbsovih slobodnih energija produkata, a G_{TS} Gibbsova energija prijelaznog stanja.

Tablica 2. Relativne Gibbsove slobodne energije ($\Delta_r G$ i ΔG^\ddagger u kJ/mol, pri temperaturi od 298,15 K) za kloriranje (**1.1** \rightarrow **1.2**) i hidroksilaciju (**1.1** \rightarrow **1.3**) amonijaka s HOCl, izračunate na različitim teorijskim razinama^a i s različitim brojem eksplicitnih molekula voda (n).

n	Reakcija	B2PLYP-D/AUG-cc-pVTZ + ΔG_{solv}^b				G3B3 + ΔG_{solv}^b				B2K-PLYP/6-311+G(3df,2p) + ΔG_{solv}^b			
		ΔG^\ddagger	$\Delta_r G$	ΔG^\ddagger	$\Delta_r G$	ΔG^\ddagger	$\Delta_r G$	ΔG^\ddagger	$\Delta_r G$				
0	1.1 \rightarrow 1.2	233,9 (260,1) ^c	-39,7 (-47,3)	259,9 (286,1)	-50,9 (-43,3)	266,4 (292,4)	-51,4 (-43,8)						
	1.1 \rightarrow 1.3	72,2 (185,3)	0,4 (0,2)	91,9 (205,0)	5,2 (5,0)	93,3 (206,4)	0,0 (-0,2)						
1	1.1 \rightarrow 1.2	173,0 (213,2)	-49,7 (-46,7)	186,9 (227,1)	-52,5 (-49,5)	190,9 (231,4)	-55,0 (-52,1)						
	1.1 \rightarrow 1.3	74,4 (154,3)	-35,4 (-0,9)	91,4 (179,7)	-32,6 (3,7)	93,7 (182,0)	-37,0 (-0,7)						
2	1.1 \rightarrow 1.2	97,0 (118,2)	-63,2 (-54,0)	114,5 (137,6)	-66,2 (-57,0)	109,8 (146,0)	-68,0 (-45,6)						
	1.1 \rightarrow 1.3	72,5 (127,5)	-55,4 (-21,4)	90,6 (146,2)	-52,5 (-18,4)	95,2 (166,4)	-54,8 (-7,6)						
3	1.1 \rightarrow 1.2	77,7 (105,1)	-63,1 (-54,5)	99,3 (126,7)	-66,2 (-57,6)	90,8 (118,2)	-68,0 (-33,1)						
	1.1 \rightarrow 1.3	73,3 (128,8)	-65,8 (-32,7)	91,6 (151,3)	-62,3 (-29,1)	95,1 (155,7)	-66,2 (-59,4)						
4	1.1 \rightarrow 1.2	72,8 (72,1)	-58,2 (-66,4)	85,1 (84,4)	-63,3 (-71,4)	82,4 (81,7)	-64,3 (-54,4)						
	1.1 \rightarrow 1.3	67,4 (112,0)	-64,6 (-52,4)	84,2 (125,0)	-65,2 (-53,0)	88,9 (153,6)	-66,6 (-72,4)						
5	1.1 \rightarrow 1.2	37,7 (45,1)	-64,4 (-60,3)	45,1 (52,5)	-68,9 (-64,9)	39,9 (47,3)	-71,4 (-52,5)						
	1.1 \rightarrow 1.3	79,7 (110,4)	-66,8 (-50,4)	92,1 (122,7)	-71,1 (-54,7)	100,0 (130,7)	-68,9 (-67,4)						
6	1.1 \rightarrow 1.2	40,2 (59,7)	-60,0 (-48,2)	50,1 (69,6)	-65,2 (-53,5)	44,0 (63,5)	-66,5 (-63,3)						
	1.1 \rightarrow 1.3	85,1 (103,8)	-63,4 (-59,4)	98,8 (125,2)	-65,2 (-61,3)	108,3 (134,7)	-67,2 (-54,8)						
7	1.1 \rightarrow 1.2	67,5 (74,2)	-55,2 (-32,1)	76,9 (79,9)	-64,3 (-41,2)	55,4 (62,2)	-65,6 (-43,0)						
	1.1 \rightarrow 1.3	87,8 (95,2)	-64,9 (-40,6)	92,9 (100,2)	-54,3 (-39,8)	102,9 (110,2)	-67,2 (-42,5)						
8	1.1 \rightarrow 1.2	/	/	/	/	82,7 (92,0)	-57,7 (-40,5)	46,9 (77,4)	-58,1 (-39,9)				
	1.1 \rightarrow 1.3	/	/	/	/	94,7 (140,3)	-50,4 (-30,1)	103,2 (148,8)	-52,3 (-41,0)				
9	1.1 \rightarrow 1.2	/	/	/	/	64,9 (94,8)	-59,1 (-32,1)	53,7 (83,6)	-44,2 (-79,2)				
	1.1 \rightarrow 1.3	/	/	/	/	104,6 (120,3)	-62,6 (-40,1)	108,2 (123,6)	-49,8 (-68,1)				

^a Sve geometrije su optimizirane na B3LYP/6-31G(d) teorijskoj razini; ^b Implicitna solvatacija je izračunata s SMD modelom na B3LYP/6-31G(d) razini; ^c Relativne Gibbsove slobodne energije u plinskoj fazi nalaze se u zagradama.

Za lociranje struktura minimuma reaktanata i produkata koji su povezani s odgovarajućim strukturama prijelaznih stanja korišteni su IRC računi. Time su definirane reakcijske koordinate koje povezuju strukture prijelaznih stanja $\text{TS}_{\text{N-OH}}$ i $\text{TS}_{\text{N-Cl}}$ s odgovarajućim reaktantima i produktima. U slučaju kloriranja, na strani

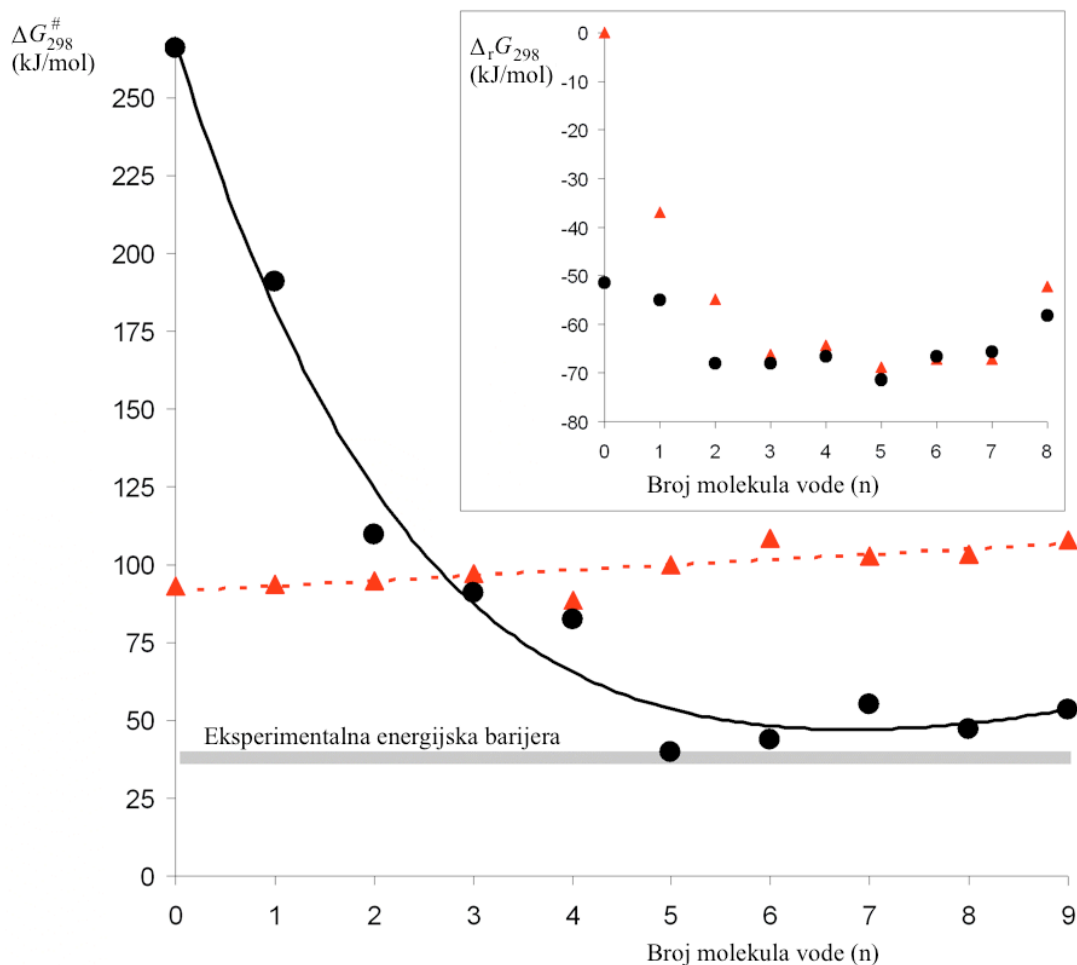
reaktanata je lociran kompleks $\text{H}_3\text{N}\dots\text{HOCl}$ (**1.1**), dok je na strani produkata lociran kompleks $\text{NH}_2\text{Cl}\dots\text{H}_2\text{O}$ (**1.2**). U reakciji hidroksilacije, na strani reaktanata lociran je isti kompleks **1**, dok je na strani produkata lociran kompleks amonij-oksida i HCl, $\text{H}_3\text{N}^+\text{-O}^-\dots\text{HCl}$ (**1.3'**). Međutim, geometrijskom optimizacijom lokalnog minimuma dobivenog IRC procedurom (**1.3**), struktura tog kompleksa konvergira prema globalnom minimumu, to jest transformira se u kompleks hidroksilamin s HCl.

Za lociranje zwitterionske strukture **1.3'** kao minimuma na PES-u, potrebno je provesti optimizaciju u implicitnom otapalu ili solvatacijskom modelu koji uključuje eksplicitne molekule voda. Poznato je da je za lociranje zwitterionskih struktura, na primjer uree,^{140,141} aminokiselina,¹⁴²⁻¹⁴⁴ sulfamskih kiselina¹⁴⁵ i *m*-aminobenzojevih kiselina,¹⁴⁶ potrebno uključiti eksplicitne molekule voda. One su potrebne za stabilizaciju razdvojenog naboja u navedenim zwitterionskim strukturama. Postupnim dodavanjem molekula voda strukturi **1.3'**, uspješno je locirana struktura koja je minimum na PES-u. U kompleksu s dvije molekule vode, energija zwitterionskog amonijevog-oksida je usporediva s energijom hidroksilaminom, što je u skladu s eksperimentalnim podacima.^{147,148}

U plinskoj fazi hidroksilacija amonijaka s HOCl je izoenergetski proces ($\Delta_r G_{298} = -0,2$ kJ/mol), dok je kloriranje egzergona reakcija ($\Delta_r G_{298} = -43,8$ kJ/mol). Nastanak kloramina je termodinamski kontrolirani proces, ali je kinetički nepovoljan u usporedbi s formiranjem produkta hidroksilacije — hidroksilamina.

Reakcija u vodenom mediju

Postupnim dodavanjem eksplicitnih molekula voda ($n = 0 - 9$) optimiziranim strukturama (**1.1**, TS_{Cl} , TS_{OH} , **1.2** i **1.3** u Shemi 5) izračunate su vrijednosti energijskih barijera (ΔG_{298}^\ddagger) i reakcijskih energija ($\Delta_r G_{298}$), za procese **1.1** → **1.2** i **1.1** → **1.3**, u ovisnosti o broju n (Slika 3. i Tablica 2.). Energijska barijera za reakciju *N*-kloriranja (**1.1** → **1.2**) smanjuje se s povećanjem broja voda uključenih u intramolekulski prijenos protona. Naprotiv, energijska barijera za reakciju *N*-hidroksilacije (**1.1** → **1.3**) raste s povećanjem broja n . Obje reakcije su egzergoni procesi (umetak u Slici 3.), pri čemu je reakcija *N*-kloriranja povoljnija u termodinamičkom smislu za slučaj $n < 3$. Kada je $n \geq 3$, izračunate vrijednosti $\Delta_r G_{298}$ za obje reakcije **1.1** → **1.2** i **1.1** → **1.3** u rasponu su od -50 do -70 kJ/mol.



Slika 3. Izračunate energijske barijere (B2K-PLYP + ΔG_{solv}) za *N*-kloriranje (crni kružići) i *N*-hidroksilaciju (crveni trokuti) amonijaka s HOCl u ovisnosti o broju eksplicitnih voda (*n*). Polinomska krivulja (crno) i isprekidana linija (crveno) imaju ilustrativni značaj. Siva vrpca označava eksperimentalnu energijsku barijeru^{123,149,150} za proces *N*-kloriranja (uključujući eksperimentalnu pogrešku od ± 5 kJ/mol). Umetak prikazuje izračunate reakcijske energije ($\Delta_r G_{298}$) za *N*-kloriranje (crni kružići) i *N*-hidroksilaciju (crveni trokuti) u ovisnosti o broju molekula voda.

Energijska barijera ($\Delta G_{298}^{\ddagger}$) za reakciju **1.1** \rightarrow **1.2**, u odsutnosti eksplicitnih molekula vode, iznosi 260,9 kJ/mol (B2K-PLYP teorijska razina), odnosno 39,9 kJ/mol, ukoliko je pet eksplicitnih molekula vode uključeno u strukturu prijelaznog stanja ($\text{TS}_{\text{N-Cl}}$). Sa šest ili više eksplicitnih molekula vode uključenih u strukturu prijelaznog stanja uočen je porast vrijednosti energijske barijere. To se može objasniti entropijskim efektom, koji ne favorizira stvaranje uređene strukture molekula vode. Ranije je pokazano da vrijednost $\Delta S_{298}^{\ddagger}$ za reakciju **1.1** \rightarrow **1.2** postaje negativnija s

povećanjem broja molekula vode ($n = 4$).^{127,126} U slučaju reakcije *N*-hidroksilacije **1.1** → **1.3**, katalitički učinak eksplicitnim molekulama vode nije uočen. Vrijednosti energijskih barijera za taj proces u rasponu su od 20 kJ/mol: bez eksplicitnih molekula vode barijera iznosi 93,3 kJ/mol, dok s devet uključenih molekula vode barijera iznosi 108,1 kJ/mol. Iz ovih se podataka može zaključiti da molekule vode kataliziraju reakciju *N*-kloriranja, ali nemaju znatan utjecaj na reakciju *N*-hidroksilacije.

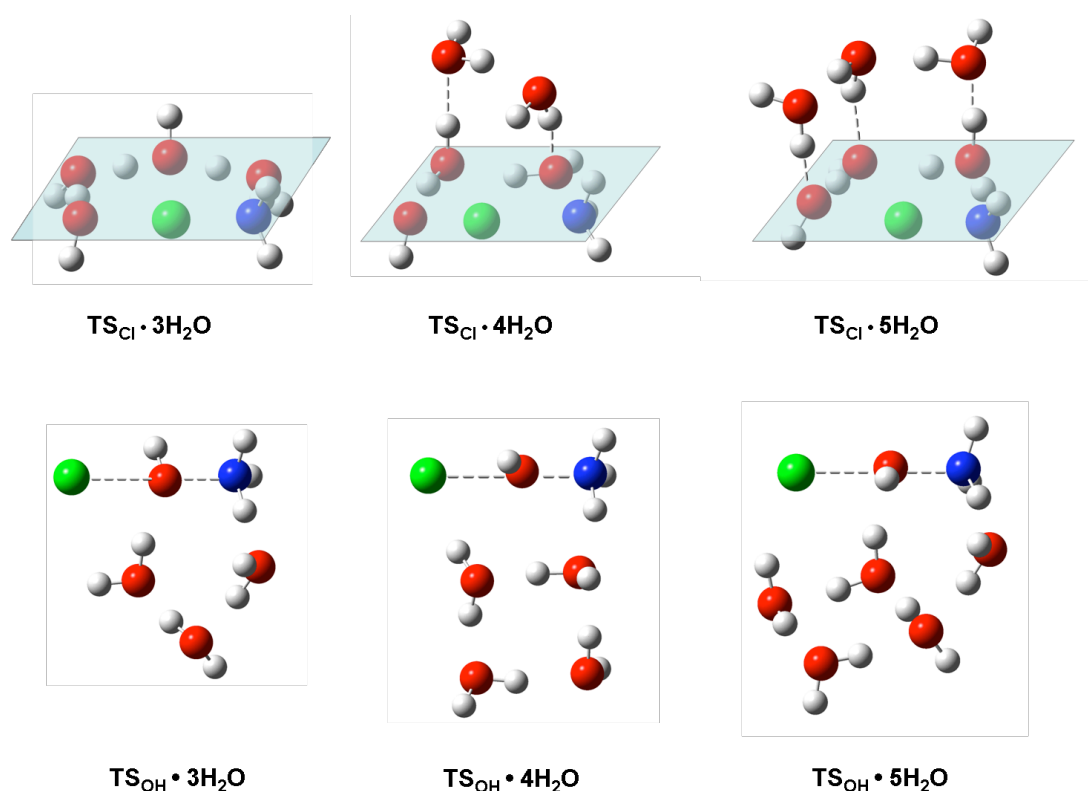
Uočeno je također da se izračunati podaci dobro slažu s eksperimentalnim podacima kada je u opis cikličkog prijelaznog stanja za *N*-kloriranje uključeno pet eksplicitnih molekula vode. U tom je slučaju, struktura prijelaznog stanja, za reakciju **1.1** → **1.2**, za 39,9 kJ/mol nestabilnija od reaktanata, što je u skladu s eksperimentalnom barijerom za *N*-kloriranje amonijaka s HOCl (36,0 kJ/mol).^{123,149} Relativno veliki broj eksplicitno dodanih voda nužan je za odgovarajući opis PES-a i reakcije *N*-kloriranja te znatno nadilazi broj eksplicitnih molekula vode korištenih u ranijim studijama.

Prema našim rezultatima proizlazi da je za prikladan opis solvatacijskih efekata u reakciji *N*-hidroksilacije amonijaka dovoljna uporaba implicitnog modela. Dodatak eksplicitnih voda ne utječe na sniženje energijske barijere reakcije **1.1** → **1.3**. Prosječna vrijednost energijske barijere, za $n = 0 - 9$, iznosi 99,1 kJ/mol, a distribucija pojedinačnih vrijednosti može se prikazati (približno) linearnom funkcijom (Slika 3, isprekidana crvena linija).

U skladu s ranijim studijama, geometrija strukture prijelaznog stanja odlikuje se cikličkim rasporedom u kojem molekule vode asistiraju u intramolekulskom transferu protona između NH₃ i HOCl.^{126,127,129} U slučaju $n = 1 - 3$, sve molekule vode nalaze se u jednoj ravnini, izravno uključene u reakciju (Slika 3). S četvrtom molekulom vode, struktura prijelaznog stanja poprima trodimenzijsku geometriju kaveza (Slika 3). Dvije “reaktivne” molekule vode uključene su u osmeročlanu planarnu prstenastu strukturu, dok su druge dvije “solvatacijske” molekule vode povezane vodikovim vezama za ostatak sustava i opisuju prvu solvatacijsku ljusku. Takva konfiguracija se često opisuje terminom “vodena žica” (*water-wire*), u kojoj “solvatacijske” molekule vode služe kao donori i akceptori vodikovih veza te cijeli sustav čine rigidnijim smanjujući slobode kretanja. Takve konfiguracije molekula vode važne su u prijenosu protona na veće udaljenosti.¹⁵¹ Kao rezultat, usklađeni procesi prijenosa klora s HOCl-a na NH₃ i proton transfera u suprotnom smjeru,

energijski su povoljniji u konfiguracijama “vodenih žica”, nego u konfiguracijama u kojima su sve vode nalaze u istoj ravnini.

Planarni strukturni motiv, koji uključuje HOCl, NH₃ i dvije “reaktivne” molekule vode, pojavljuje se kao najstabilnija konfiguracija za $n = 4 - 9$ (Slika 4). Sve ostale molekule vode, tzv. “solvatacijske vode”, koje ne sudjeluju izravno u prijenosu protona, opisuju prvu solvatacijsku ljusku i ubrzavaju reakciju *N*-kloriranja.



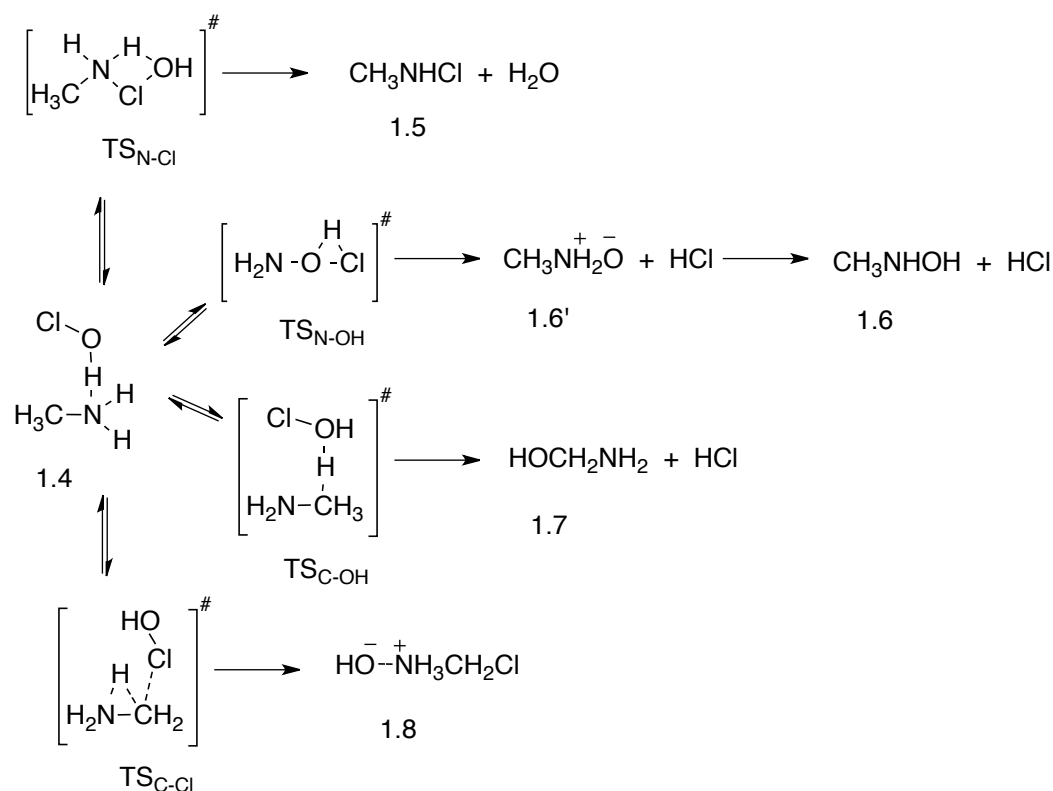
Slika 4. Strukture prijelaznih stanja optimizirane na B3LYP/6-31G(d) razini za *N*-kloriranje i *N*-hidroksilaciju NH₃ s HOCl, uz asistenciju 3, 4 i 5 eksplicitnih molekula voda. Romboidi prikazuju ravninu u kojoj su smještene “reaktivne” molekule vode.

U reakciji *N*-hidroksilacije, molekule vode nisu uključene u proces prijenosa hidroksilne skupine. Sve dodane vode ($n = 1 - 9$) sudjeluju u tvorbi prve hidratacijske ljuske (Slika 4) te sudjeluju kao reakcijski “promatrači”. U svim strukturama prijelaznih stanja, HOCl i NH₃ reagiraju izravno, duž linearnog motiva, pa je utjecaj okolnih voda neznatan. S dodatkom eksplicitnih molekula vode, izračunata energijska barijera za proces *N*-hidroksilacije raste. To je u skladu s povećanim entropijskim iznosom zbog sve većeg broja voda s ograničenim stupnjevima slobode.

Prema tome, za pravilan opis reakcijskog mehanizma prijenosa kloronijevog iona s HOCl na NH₃, ključno je koristiti implicitno otapalo i upotrijebiti odgovarajući broj eksplicitnih molekula voda. Vodeni medij, opisan implicitno i eksplicitno, katalitički djeluje na reakciju *N*-kloriranja, **1.1** → **1.2**. Suprotan učinak je uočen za prijenos hidroksilne skupine s HOCl na NH₃: učinak otapala povisuje energijsku barijeru te time inhibira reakciju **1.1** → **1.3**. Uzrok razlici u efektu otapala na reakcije **1.1** → **1.2** i **1.1** → **1.3** proizlazi iz različitih struktura prijelaznih stanja TS_{N-Cl} i TS_{N-OH}.

4.1.3. Reakcije između metilamina i *N,N*-dimetilamina s HOCl

Regioselektivna oksidacija s HOCl-om postaje još složenija, ukoliko osim *N*-kloriranja i *N*-hidroksilacije postoji mogućnost paralelnih procesa na ugljikovom atomu, odnosno ukoliko su moguće reakcije *C*-kloriranja i *C*-hidroksilacije. Kod najjednostavnijih alifatskih amina (primarnih i sekundarnih) postoji mogućnost četiriju reakcijska puta. Računi su provedeni na B2K-PYLP/6-311+G(3df,2p) teorijskoj razini, koja se ranije prikazana kao pouzdana metoda (vidi gore). U plinskoj fazi, moguća su tri mehanizma: *C*- i *N*-hidroksilacija te *N*-kloriranje (Shema 6 i Tablica 3). Energijska barijera za reakciju *C*-kloriranje je iznimno visoka ($\Delta G_{298}^{\#} > 340$ kJ/mol) te se ne može smatrati relevantnom (vidi Dodatne informacije).

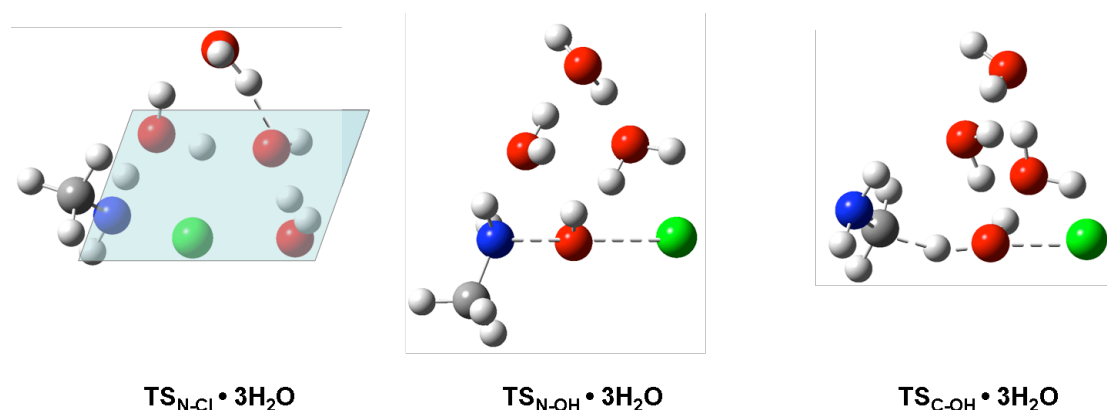


Shema 6. Predloženi reakcijski mehanizmi u plinskoj fazi za *N*-kloriranje (**1.4** → $\text{TS}_{\text{N-Cl}}$ → **1.5**), *N*-hidroksilaciju (**1.4** → $\text{TS}_{\text{N-OH}}$ → **1.6**), *C*-hidroksilaciju (**1.4** → $\text{TS}_{\text{C-OH}}$ → **1.7**) i *C*-kloriranje (**1.4** → $\text{TS}_{4 \rightarrow 8}$ → **1.8**) metilamina.

U plinskoj fazi *C*-hidroksilacija (**1.4** → **1.7**) je energijski najpovoljniji proces, u kinetičkom ($\Delta G^\ddagger = 164,5$ kJ/mol) i termodinamskom ($\Delta_r G = -177,2$ kJ/mol) smislu. Moguće je da u plinskoj fazi, u reakciji metilamina (**1.4**) i dimetilamina (**1.8**) s HOCl, nastaju aminometanol (**1.7**) i *N*-metilaminometanol (**1.11**). Ukoliko se za opis vodenog medija koriste dvije ili više eksplicitnih molekula vode, *C*-hidroksilacija prestaje biti kinetički kompetitivan proces, dok su produkti *C*-hidroksilacije i dalje termodinamski najpovoljniji produkti (Tablica 3). Reakcija *N*-kloriranja (**1.4** → **1.5**) je jedina reakcija koja je katalizirana dodatkom eksplicitnih molekula vode. Energijska barijera se snizuje s povećanjem broja eksplicitnih molekula vode uključenih u opisu strukture prijelaznog stanja. To je u skladu s uočenim efektima otapala na reakciju HOCl i amonijaka. Suprotno tome, dodatak eksplicitnih voda povisuje energijsku barijeru za *N*- i *C*-hidroksilaciju (Tablica 3). S dodatkom pet i šest eksplicitnih molekula vode, izračunata energijska barijera za reakciju *N*-kloriranja metilamina ($\Delta G^\ddagger = 40,1$, odnosno $25,8$ kJ/mol) konvergira prema eksperimentalnoj vrijednosti ($\Delta G^\ddagger = 24 - 27$ kJ/mol).^{152,153} Pri tome, *N*- i *C*-hidroksilacija postaju

kinetički nepovoljni procesi s visokom energijskom barijerom ($\Delta G^\ddagger > 100$ kJ/mol). Slični podaci vrijede i za dimetilamin; s dodatkom četiri, pet i šest molekula voda, izračunata barijera od 30,0 kJ/mol odgovara eksperimentalnoj vrijednosti ($\Delta G^\ddagger = 27,4 - 28,6$ kJ/mol).^{153,154}

Na Slici 5 prikazane su strukture prijelaznih stanja s tri molekule vode za reakcije *N*-kloriranja, *N*-hidroksilaciju i *C*-hidroksilaciju. Strukture prijelaznih stanja za *N*- i *C*-hidroksilaciju karakterizirane su „linearnom“ interakcijom dvaju reaktanata (metilamin i HOCl), dok strukturu prijelaznog stanja za *N*-kloriranje karakterizira ciklički motiv koji uključuje metilamin, HOCl i dvije molekule vode. U strukturama **TS_{N-OH}** i **TS_{C-OH}**, tri molekule vode sudjeluju u formiranju prve solvacijske ljusku te nisu izravno uključene u reakciju. U prijelaznoj strukturi za *N*-kloriranje, **TS_{N-Cl}**, dvije se “reakcijske” molekule vode nalaze u ravnini i sudjeluju u reakciji prijenosa protona, dok treća “solvacijska” molekula stabilizira planarni sustav tvoreći vodikovu vezu.



Slika 5. Strukture prijelaznih stanja optimizirane na B3LYP/6-31G(d) razini za *N*-kloriranje (**TS_{N-Cl}**), *N*-hidroksilaciju (**TS_{N-OH}**) i *C*-hidroksilaciju (**TS_{C-OH}**) metilamina s HOCl uz asistenciju tri eksplicitne molekule vode. Romboid prikazuje ravninu na kojoj se nalaze “reaktivne” molekule vode.

Što je veći broj molekula voda uključenih u solvataciju strukture **TS_{N-Cl}**, to je veći stabilizacijski efekt, u odnosu na **TS_{N-OH}** i **TS_{C-OH}**. Zbog solvacijskog je efekta reakcija *N*-kloriranja kinetički povoljniji proces od *N*- i *C*-hidroksilacije metilamina i dimetilamina.

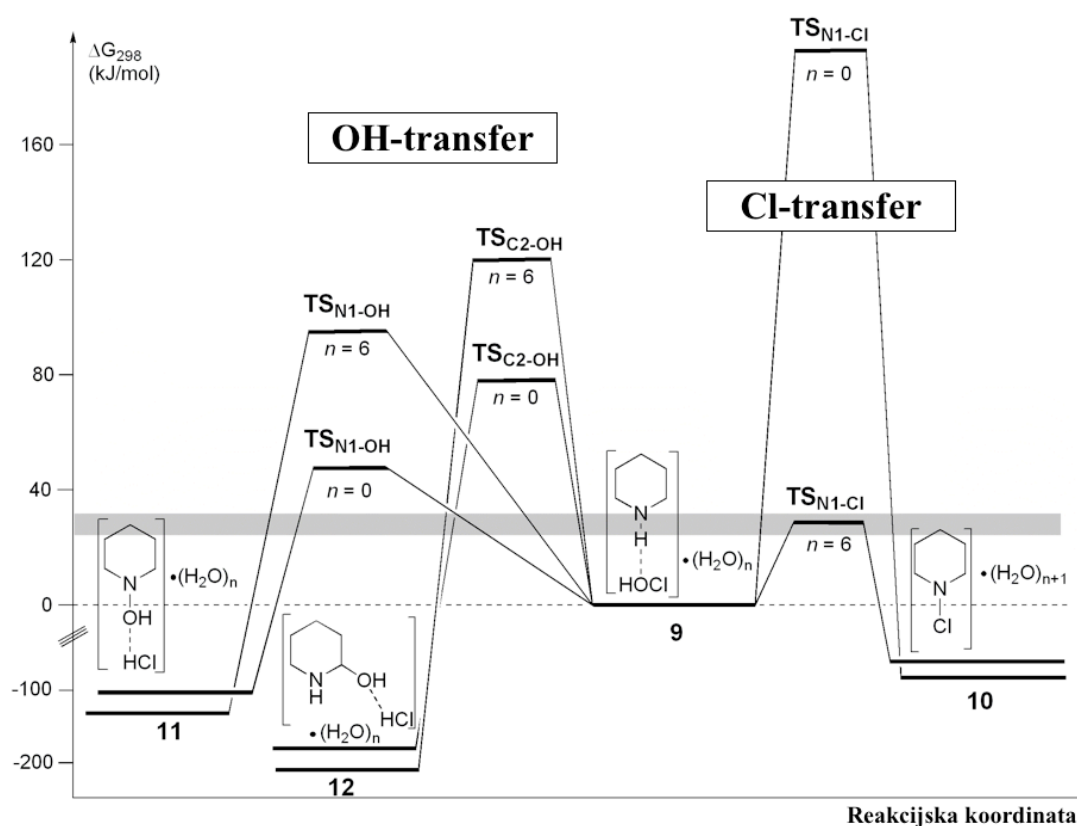
Tablica 3. Relativne Gibbsove slobodne energije ($\Delta_r G$ i ΔG^\ddagger u kJ/mol, na temperaturi od 298,15 K) za *N*-kloriranje (**N-Cl**), *N*-hidroksilaciju (**N-OH**) i *C*-hidroksilaciju (**C-OH**) metilamina i dimetilamina s HOCl, izračunate s različitim brojem eksplicitnih molekula voda (*n*).^a

B2K-PLYP/6-311+G(3df,2p) + ΔG_{solv}^b									
	Metilamin (R = H)					Dimetilamin (R = CH ₃)			
<i>n</i>	Reakcija	ΔG^\ddagger	$\Delta_r G$			ΔG^\ddagger	$\Delta_r G$		
0	N-Cl	231,1	253,7 ^c	-73,9	-64,3	196,7	221,5	-98,8	-78,9
	N-OH	66,1	173,6	-65,9	-28,3	43,3	149,6	-94,6	-58,5
	C-OH	69,8	164,5	-193,5	-177,2	72,9	146,8	-194,5	-173,6
1	N-Cl	147,3	192,9	-86,5	-73,6	129,3	176,6	-98,8	-68,5
	N-OH	61,2	144,0	-84,0	-41,4	46,5	147,6	-102,1	-62,6
	C-OH	82,6	148,5	-200,9	-187,1	89,6	144,8	-193,3	-164,2
2	N-Cl	77,1	105,9	-76,4	-52,3	63,2	77,8	-89,8	-85,2
	N-OH	73,6	136,0	-89,6	-58,5	71,4	127,7	-100,8	-82,0
	C-OH	78,5	174,1	-221,2	-178,3	113,8	141,5	-207,6	-182,8
3	N-Cl	77,2	105,3	-65,8	-42,3	44,0	66,1	-83,7	-63,7
	N-OH	71,9	135,8	-87,3	-68,1	85,4	122,8	-102,0	-97,0
	C-OH	109,4	150,5	-205,8	-179,9	113,8	154,7	-192,7	-180,5
4	N-Cl	49,9	62,4	-94,0	-81,7	30,0	56,8	-85,5	-90,7
	N-OH	70,8	135,2	-101,2	-79,3	88,7	117,7	-108,8	-98,4
	C-OH	99,9	155,1	-218,6	-190,4	125,9	145,5	-214,6	-189,5
5	N-Cl	40,1	47,3	-68,1	-47,6	32,0	41,2	-95,0	-84,6
	N-OH	86,1	139,5	-76,6	-88,7	93,8	98,7	-106,6	-95,5
	C-OH	138,2	178,6	-204,1	-186,1	115,2	128,2	-221,4	-199,6
6	N-Cl	25,8	37,6	-68,7	-62,8	30,6	34,2	-98,1	-79,0
	N-OH	101,0	105,5	-88,7	-74,5	86,1	98,9	-91,0	-67,9
	C-OH	131,5	162,0	-218,0	-188,4	127,2	146,1	-205,8	-182,8
7	N-Cl	65,4	66,5	-57,6	-61,4	34,0	27,9	-103,2	-154,0
	N-OH	111,3	119,7	-95,4	-89,0	98,5	86,0		
	C-OH	140,8	188,0	-215,8	-193,1	125,9	137,8		
8	N-Cl	58,9	68,0	-78,1	-61,9	34,8	45,0	-90,2	-75,8
	N-OH	93,6	118,1	-71,4	-68,7	92,0	88,7	-96,6	-72,9
	C-OH	116,3	176,7	-220,8	-174,8	126,3	141,8		

^a Sve su geometrije optimizirane na B3LYP/6-31G(d) teorijskoj razini; ^b Implicitna solvatacija je izračunata koristeći SMD model na B3LYP/6-31G(d) teorijskoj razini; ^c Vrijednosti relativnih Gibbsovih slobodnih energija u plinskoj fazi su ukošene.

4.1.4. Reakcija piperidina, morfolina i piperazina s HOCl

Veliku važnost u organskoj sintezi i kemiji okoliša imaju reakcije kloriranja heterocikličkih amina, kao što su piperidin, piperazin i morfolin. Piperidinski, piperazinski i morfolinski kloramini važni su međuprodukti u sintezi bioaktivnih spojeva^{155,156} i intermedijeri u kemijskoj razgradnji farmaceutika u vodenom okolišu.¹⁵⁷ Objavljene su kinetičke studije reakcija piperidina i morfolina s HOCl,¹⁵⁸ a konstante brzine reakcija iznose $k_r = 10,8 \times 10^7 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ za piperidin i $k_r = 4,5 \times 10^7 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ za morfolin. Te vrijednosti odgovaraju energijskim barijerama ($\Delta G_{298}^\#$) od 27,2, odnosno 29,3 kJ/mol.



Shema 7. Prikaz energijskog profila ($B2K\text{-PLYP} + \Delta G_{\text{solv}}$) za $N1$ -kloriranje ($1.14 \rightarrow TS_{N1-Cl} \rightarrow 1.15$), $N1$ -hidroksilaciju ($1.14 \rightarrow TS_{N1-OH} \rightarrow 1.16$) i $C2$ -hidroksilaciju ($1.14 \rightarrow TS_{C2-OH} \rightarrow 1.17$) piperidina s HOCl, uz različiti broj eksplicitnih molekula vode ($n = 0$ ili 6). Energija kompleksa reaktanata **1.14** postavljena je kao nulta točka (isprekidana linija) na PES-u. Siva vrpca označava eksperimentalnu energijsku barijeru za N -kloriranje piperidina ($\Delta G_{298}^\# = 27,2 \pm 4 \text{ kJ/mol}$).

Komparativna studija *HO-* i *Cl-*transfera u reakciji između HOCl i heterocikličkih amina piperidina, morfolina i piperazina, računalno je provedena na B2K-PLYP//B3LYP teorijskoj razini. Kloriranje i hidroksilacija heterocikličkih spojeva u plinskoj fazi slijede slične mehanizme opisane ranije: struktura prijelaznog stanja za *N*-kloriranje karakterizirana je cikličkim motivom, dok strukture prijelaznih stanja za *C-* i *N*-hidroksilacija sadrže linearni reakcijski motiv. Bez eksplicitnih molekula vode, reakcije *C-* i *N*-hidroksilacije kinetički su povoljnije od *N*-kloriranja. Na primjer, izračunate energijske barijere iznose 45,4 i 78,0 kJ/mol za reakcije *N-* i *C-* hidroksilacije piperidina te su znatno niže od energijske barijere za *N*-kloriranje ($\Delta G_{298}^{\#} = 195,1$ kJ/mol). Sve reakcije su egzergoni procesi, dok je najpovoljnija reakcijska energija izračunata za formiranje produkata *C*-hidroksilacije ($\Delta_r G = -194,9$ kJ/mol).

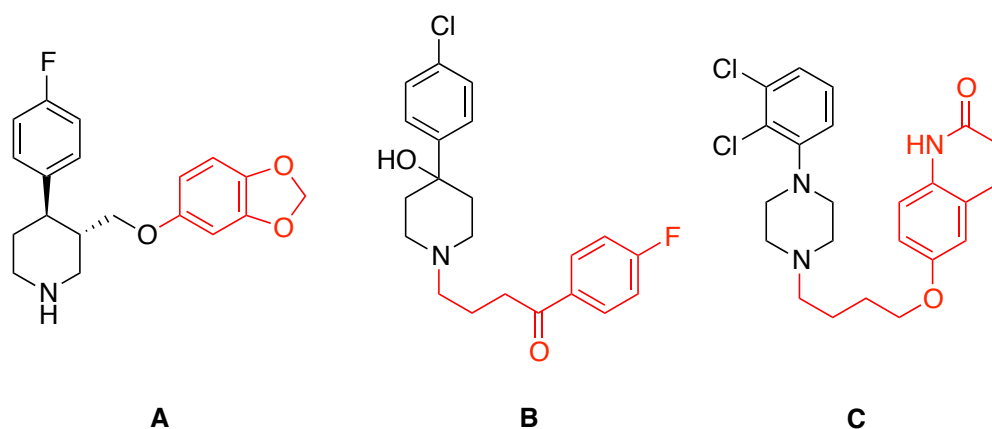
U slučaju heterocikličkih amina, potvrđena je hipoteza da je u plinskoj fazi povoljniji prijenos hidroksilne skupine s HOCl na atom dušika. Intrinzična reaktivnost (tj. bez solvatacijskih efekata) favorizira hidroksilacijske produkte. Ukoliko se uključe utjecaji otapala, korištenjem eksplicitnih molekula vode, *N*-kloriranje postaje kinetički najpovoljnija reakcija. Energijska barijera **1.14** → **1.15** značajno je snižena postupnim dodavanjem molekula voda; uz asistenciju šest eksplicitnih voda, izračunata energijska barijera ($\Delta G_{298}^{\#} = 31,6$ kJ/mol) u skladu je s eksperimentalnom vrijednosti od 27,2 kJ/mol. To dodatno potvrđuje opravdanost korištene računalne procedure, tj. izbor prikladne teorijske razine (B2K-PLYP) uz pravilan opis implicitnih i eksplicitnih solvatacijskih efekata. Efekt otapala nepovoljno utječe na energijske barijere za reakcije *N-* i *C*-hidroksilacije (Shema 3 i Tablica 3). U obje hidroksilacijske reakcije, dodatkom eksplicitnih molekula voda, vrijednosti energijskih barijera rastu. Isti je učinak otapala otkriven u slučaju amonijaka te jednostavnih primarnih i sekundarnih amina.

Tablica 4. Relativne Gibbsove slobodne energije ($\Delta_r G$ i ΔG^\ddagger u kJ/mol, na temperaturi od 298,15 K) za *N*-kloriranje (**N-Cl**), *N*-hidroksilaciju (**N-OH**) i *C*-hidroksilaciju (**C α -OH**) piperidina, piperazina i morfolina s HOCl, izračunate s različitim brojem eksplicitnih molekula voda (*n*).^a

B2K-PLYP/6-311+G(3df,2p) + $\Delta G_{\text{sol}}^{\text{a}}$													
		PIPERIDIN				MORFOLIN				PIPERAZIN			
n ^b	Reakcija	ΔG^\ddagger		$\Delta_r G$		ΔG^\ddagger		$\Delta_r G$		ΔG^\ddagger		$\Delta_r G$	
0	N-Cl	195,1	219,1	-96,9	-91,5	197,8	219,1	-94,4	-92,4	205,1	217,8	-99,4	-88,4
	N-OH	45,4	143,0	-100,2	-66,8	50,6	150,5	-71,9	-37,8	48,5	145,5	-96,3	-65,4
	Cα-OH	78,0	136,9	-194,9	-181,6	68,8	144,5	-195,5	-179,8	59,2	138,9	-190,6	-178,2
1	N-Cl	117,0	162,3	-94,2	-89,5	132,7	167,2	-88,9	-81,3	121,4	159,6	-93,3	-84,6
	N-OH	54,7	113,4	-112,9	-75,5	61,3	117,5	-100,9	-70,1	51,6	114,3	-111,7	-73,2
	Cα-OH	85,9	127,4	-200,8	-168,7	78,9	134,0	-207,1	-199,0	73,2	128,3	-208,7	-205,9
2	N-Cl	45,1	79,5	-96,7	-72,4	54,5	84,8	-94,2	-70,6	46,0	84,6	-98,8	-69,7
	N-OH	75,0	112,0	-102,0	-64,4	71,8	119,6	-92,6	-56,3	72,0	116,4	-99,1	-59,7
	Cα-OH	110,7	143,4	-230,0	-188,7	118,8	148,1	-203,8	-175,8	81,2	130,4	-200,6	-177,6
3	N-Cl	29,6	74,2	-80,2	-62,7	38,9	79,1	-78,6	-58,6	34,0	77,9	-80,1	-63,6
	N-OH	101,7	109,7	-96,5	-72,0	98,6	114,0	-88,6	-66,9	101,7	106,4	-95,4	-61,8
	Cα-OH	109,0	147,8	-250,9	-220,5	109,1	151,5	-233,5	-201,5	118,7	130,7	-250,7	-210,1
4	N-Cl	33,9	62,2	-95,6	-74,7	40,0	80,8	-95,8	-78,0	29,5	65,5	-72,4	-63,8
	N-OH	92,9	103,1	-108,4	-72,2	94,2	110,9	-97,5	-64,0	93,1	111,8	-103,2	-62,4
	Cα-OH	109,4	143,6	-251,7	-207,3	115,0	152,8	-237,2	-190,4	115,2	153,2	-212,0	-183,4
5	N-Cl	33,0	56,2	-85,1	-63,1	38,1	61,6	-89,7	-65,4	35,8	56,7	-85,4	-64,5
	N-OH	101,5	121,8	-75,9	-60,6	103,8	123,8	-87,6	-54,0	102,9	120,0	-93,2	-54,3
	Cα-OH	121,6	141,4	-235,4	-184,1	118,8	142,6	-224,2	-163,3	123,0	140,4	-230,9	-177,4
6	N-Cl	31,6	30,9	-78,2	-78,6	34,1	34,1	-83,9	-81,4	33,7	37,5	-79,8	-75,9
	N-OH	95,5	93,9	-79,4	-36,9	107,2	91,9	-76,7	-35,4	90,3	99,8	-75,8	-49,0
	Cα-OH	120,4	128,8	-226,5	-200,9	113,2	129,8	-227,4	-205,6	126,9	142,8	-225,9	-196,6

^a Sve geometrije su optimizirane na B3LYP/6-31G(d) teorijskoj razini; ^b Implicitna solvatacija je izračunata koristeći SMD model na B3LYP/6-31G(d) teorijskoj razini; ^c Relativne Gibbsove slobodne energije u plinskoj fazi su ukošene.

4.1.5. Reakcije psihofarmaka s HOCl



Slika 6. Odabrani psihofarmaci s heterocikličkom amino skupinom u strukturi; paroksetin (**A**), haloperidol (**B**) i aripiprazol (**C**). Dijelovi koji se metabolički uklanjaju (*N*-, odnosno *O*- dealkilacijom) su prikazani crvenom bojom.

Haloperidol, paroksetin i aripiprazol samo su neki od mnogobrojnih lijekova s heterocikličkim aminom u kemijskoj strukturi. Na Slici 6 prikazane su strukture tih lijekova te metaboliti koji nastaju *N*-dealkilacijom (kod haloperidola i aripiprazola) i *O*-dealkilacijom u organizmu pod utjecajem jetrenih enzima. Nastali metaboliti imaju slobodnu amino skupinu i $C\alpha$ atom koji su podložni reakcijama s HOCl. Samo reaktivni metaboliti su razmatrani u reakciji s HOCl. Kao i kod osnovnih heterocikličkih prstenova očekuje se isti trend u reaktivnostima. U mediju gdje nema eksplicitnih voda koje bi katalizirale prijenos vodika, *N*-hidroksilacija je kinetički dominantni proces. Kako se više eksplicitnih voda slaže u prsten koji pospješuje prijenos vodikovog atoma, tako *N*-kloriranje postaje kinetički najpovoljniji proces. Proces *C*-hidroksilacije je termodinamički najpovoljniji proces, pri čemu nastaju produkti koji su za skoro 150 kJ/mol stabilniji od produkata *N*-kloriranja i *N*-hidroksilacije (Tablica 5). Razlike u reaktivnostima k HOCl, ovisno o broju i dostupnosti molekula vode, može imati klinički značaj. Naime, u organelama unutar stanica, u vanstaničnom području te unutar proteinskih podjedinica, moguće su varijacije u dostupnim molekulama voda i u dielektričnoj konstanti. Tako bi *N*-hidroksilacija i *C*-hidroksilacija mogla biti mogući putevi pregrađivanja u biološkim sustavima. Piperidinski i piperazinski N-OH fragment, nastao *N*-hidroksilacijom, strukturno podsjećaju na poznati stabilni radikal, TEMPO ((2,2,6,6,-

tetrametilpiperidin–1-il)oksidanil). Time se otvara mogućnost da ti produkti, nalik TEMPO radikalu, u organizmu reagiraju s biološkim radikalima.¹⁵⁹

Tablica 5. Relativne Gibbsove slobodne energije ($\Delta_r G$ i ΔG^\ddagger u kJ/mol, na temperaturi od 298,15 K) za *N*-kloriranje (**N-Cl**), *N*-hidroksilaciju (**N-OH**) i *C*-hidroksilaciju (**C α -OH**) paroksetina, haloperidola i aripiprazola s HOCl, izračunate s različitim brojem eksplicitnih molekula voda (*n*).^a

		B2K-PLYP/6-311+G(3df,2p) + ΔG_{solv}^a					
		PAROKSETIN		HALOPERIDOL		ARIPIPRAZOL	
<i>n</i> ^b	Reakcija	ΔG^\ddagger	$\Delta_r G$	ΔG^\ddagger	$\Delta_r G$	ΔG^\ddagger	$\Delta_r G$
0	N-Cl	194.4	-55.5	196,9	-60,5	190,5	-74.3
	N-OH	51.7	-54.2	46,8	-92.7	38,3	-100,2
	Cα-OH	73.4	-167,6	51.4	-173.6	49,0	-180,6
1	N-Cl	113.2	-64.8	122.1	-86,7	127,0	-55.8
	N-OH	55.0	-70,7	58,5	-104.3	62.9	-97,2
	Cα-OH	89,5	-175.8	45.7	-190,8	89,2	-181.1
2	N-Cl	55.3	-34.9	48,2	-57,2	55.6	-55.7
	N-OH	74.4	-32.3	72.6	-72.4	73.2	-89,2
	Cα-OH	96,8	-172.3	77,3	-193.8	91.6	-186,9
3	N-Cl	29,4	-45.4	51.4	-43.5	38,2	-49,5
	N-OH	98,1	-43.3	103.0	-69,8	81.7	-94.3
	Cα-OH	108,5	-202.9	120,2	-242.7	104.2	-200,3
4	N-Cl	24.3	-29,6	35.2	-47,1	28,1	-61.6
	N-OH	100,0	-30,5	86,3	-71.8	95.2	-90,3
	Cα-OH	117,4	-194.1	113.2	-207,2	113.7	-216,9

^a Sve geometrije su optimizirane na B3LYP/6-31G(d) teorijskoj razini; ^b Implicitna solvatacija je izračunata koristeći SMD model na B3LYP/6-31G(d) teorijskoj razini.

Nastali kloramini, kao reaktivne specije, stupaju u daljnje reakcije pregrađivanja. Paroksetin je uzet kao primjer kloraminskog derivata metabolita psihofarmaka, nastalog nakon reakcije s HOCl te su proučavani putevi pregrađivanja preko dva različita mehanistička puta: bazno katalizirani put i radikalski put pregrađivanja.

4.2. Bazno katalizirane reakcije *N*-klorpiperidina važnih u okolišu.

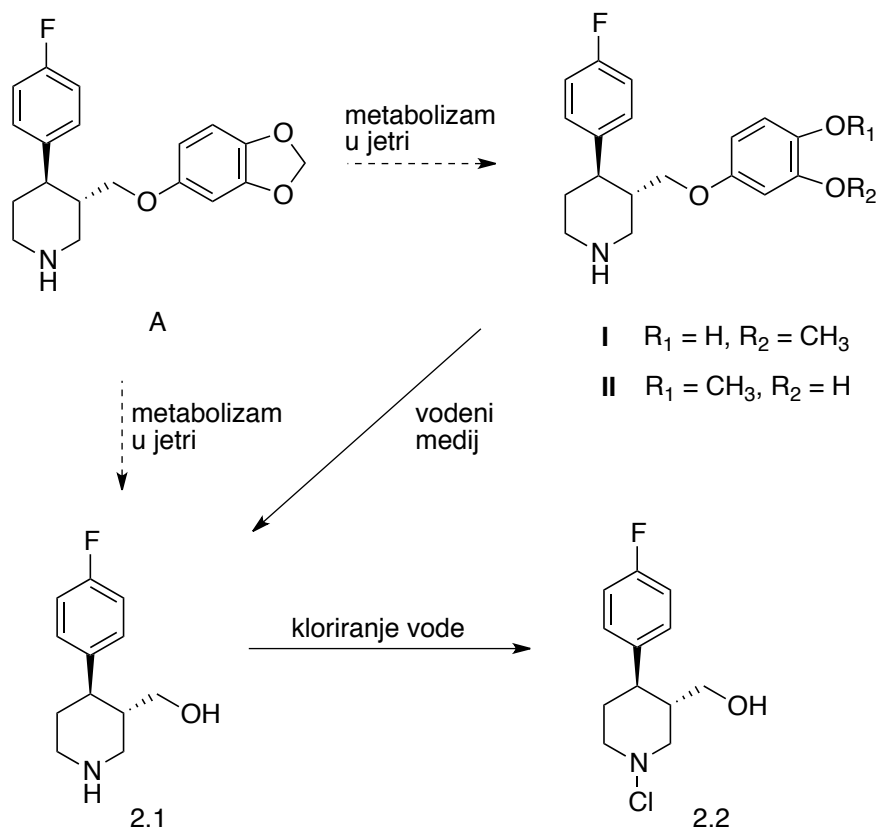
4.2.1. Uvod

Reakcije klora i klorirajućih agenasa s organskim onečišćivačima tijekom obrade otpadnih voda mogu rezultirati različitim kloraminskim nusproduktima,⁴⁷ od kojih neki imaju kancerogena i/ili mutagena svojstva.¹⁶⁰⁻¹⁶² Od posebne su važnosti farmaceutski i kozmetički proizvodi (PPCP), koji se često detektiraju u gradskim otpadnim vodama.^{12,163,164} Pri kloriranju otpadnih voda farmaceutici, koji u svojoj strukturi sadrže amino skupinu, podliježu brznoj reakciji s HOCl/Cl₂ pri čemu nastaju kloramini. Poznato je da, na primjer, β -blokator metoprolol,¹⁴ antibakterijski agens sulfametoksazol¹⁶⁵ ili fluorokinolinski antibiotici¹²² u reakciji s klorom lako formiraju odgovarajuće kloramine u površinskim vodama.

N-kloraminski derivati su relativno nestabilni spojevi i mogu sudjelovati u reakcijama pregrađivanja koje su bitno drugačije od puteva pregrađivanja ishodnog (nekloriranog) farmaceutika. Procesi pregrađivanja *N*-kloramina,¹⁶⁶ kao Grobova fragmentacija,¹⁶⁷ eliminacija (dehidrokloriranje),¹⁶⁸ nukleofilna supstitucija,¹⁶⁹ ili formiranje odgovarajućeg *N*-radikala,¹⁷⁰ mogu igrati važnu ulogu u kemijskoj sudbini farmaceutika u vodenom okolišu (vidi Uvod). Prema tome, rasprava o okolišnom riziku farmaceutika (koji sadrže amino ili amido funkciju) u kloriranoj vodi, osim ishodnog farmaceutskog spoja, mora uključiti i produkte pregrađivanja *N*-kloriranih derivata. Pokazano je da strukture produkata kloriranja farmaceutika mogu varirati od “neobičnih”¹⁷¹ do “neočekivanih”,¹⁵ a konačni produkti mogu biti toksičniji od ishodnih spojeva.¹¹

Nedavno su proučavane pregradnje radikala dobivenih homolizom N-Cl veze u *N*-klorpiperidinima.¹⁷² Piperidin predstavlja prikladan model za proučavanje farmaceutika koji u svojoj strukturi sadrže tu heterocikličku skupinu. U ovom je radu korišten piperidinski sustav kao model za razumijevanje analognih procesa kod paroksetina (u RH registriran pod trgovačkim imenima Seroxat[®], Paxil[®], Deprozol[®], Paluxon[®] i Paroxin[®]). Ovaj antidepresiv važan je predstavnik skupine lijekova, farmakološki aktivnih 4-aril piperidina. Novije studije pokazuju da se paroksetin i njegovi metaboliti^{32,173-175} (Shema 8) nakupljaju u otpadnim vodama,^{47,176} ali i u vodenim organizmima,¹⁷⁷ kao rezultat otpuštanja antidepresiva u površinske vode iz

gradskih postrojenja za obradu otpadnih voda. Prema tome, važno je procijeniti ekološki rizik paroksetina.^{30,178-181}



Shema 8. Paroksetin i njegovi metaboliti/produkti razgradnje.

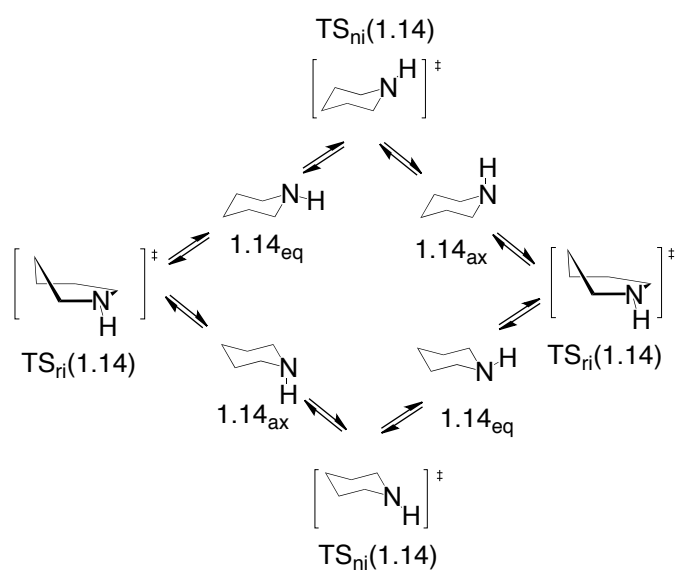
Kako bi se ispravno procijenio ekološki rizik *N*-kloriranih derivata paroksetina, važno je detaljno razumijevanje njegove okolišne/kemijske sudbine. Zbog toga je potrebno istražiti moguće reakcijske mehanizme koji uključuju *N*-klorirane derivate paroksetina relevantnih u okolišnoj kemiji ovog terapijski važnog antidepresiva.

Paroksetin prolazi kroz ekstenzivan metabolizam u jetri, gdje nastaju tri glavna metabolita (Shema 8): produkt benzodioksolne eliminacije, (3*S*,4*R*)-4-(4-fluorofenil)-3-(hidroksimetil)piperidin (**2.1**), i dva izomera (3*S*,4*R*)-4-(4-fluorofenil)-3-[3-hidroksi-4-metoksifenoksi]metil]-piperidin (**I**) i (3*S*,4*R*)-4-(4-fluorofenil)-3-[4-hidroksi-3-metoksifenoksi]metil]-piperidin (**II**).^{182,183} U vodenom okolišu iz paroksetina i/ili dvaju izomera **I** i **II** nastaje, kidanjem eterske veze, konačni produkt **2.1** (Shema 2).¹⁸⁴ Prema tome, 4-aril-piperidinski derivat **2.1** predstavlja ciljni intermedijer koji ulazi u vodeni okoliš gdje mogu uslijediti procesi degradacije i formiranje različitih produkata.¹⁸⁵

Tijekom kloriranja vode, amino spoj **2.1** se brzo i kvantitativno pretvara u *N*-kloro derivat **2.2** (Shema 8) (vidi poglavlje kloriranje amina). *N*-kloraminski derivat **2.2** može se zatim pregraditi u niz različitih produkata (vidi dolje). U literaturi ne postoje računalne niti eksperimentalne studije o reakcijskim putevima pregrađivanja *N*-kloramina **2.2**. Budući je taj spoj važan za opis kemijske sudbine paroksetina u kloriranim vodama, potrebno je rasvijetliti reakcijske mehanizme njegovih kemijskih transformacija u vodenom mediju. Međutim, postoje kinetičke studije na ishodišnom spoju *N*-klorpiperidinu (**1.15**) (Sheme 9 i 10), koje mogu poslužiti za provjeru različitih komputacijskih metoda.¹⁸⁶⁻¹⁸⁸

4.2.2. *N*-klorpiperidin

Točnost i efikasnost različitih teorijskih metoda procijenjena je u okviru izračuna termokemijskih parametara za poznate kemijske reakcije piperidina (**1.14**) i *N*-klorpiperidina (**1.15**). Pritom kompozitni teorijski model G3B3(+) služi kao referentna procedura u svrhu vrednovanja drugih metoda (vidi Dodatne informacije). Točnost G3B3(+) provjerena je izračunom energijskih barijera i termokemijskih podataka za konformacijske (inverzija prstena) i konfiguracijske (inverzija atoma dušika) procese u **1.14** i **1.15** (Shema 9). Za ova su dva procesa u piperidinima (**1.14_{ax}** ⇌ **1.14_{eq}** i **1.15_{ax}** ⇌ **1.15_{eq}**) poznate eksperimentalne vrijednosti konstanti ravnoteža (Tablica 1).



Shema 9. Inverzija atoma dušika i prstena u piperidinu (**1.14**).

Tablica 5. Termokemijski parametri (relativne energije u kJ/mol) izračunati za različite kemijske procese za **1.14** i **1.15** na različitim teorijskim razinama.^a

Kemijski proces	Termokem. parametar	Metoda ^b				<i>Eksp.</i>
		MP4/ 6-31+G(d) + ΔG_{solv}^c	MP2(full)/ G3large + ΔG_{solv}^c	B2PLYP/ aug-def2tzvpp + ΔG_{solv}^c	G3B3(+) + ΔG_{solv}^c	
1.15_{eq} → 1.15_{ax}	ΔG_r	+8,8	+7,0	+7,7	+5,7	+6,3
1.14_{eq} → 1.14_{ax}	na 298,15 K	+1,9	+2,1	+1,6	+1,5	+1,5
1.15_{eq} → TS_{ri}(1.15) → 1.15_{ax}	ΔG^\ddagger (inverzija prstena) na 298,15 K	+70,3	+64,8	+58,4	+63,7	+55,4
1.14_{eq} → TS_{ri}(1.14) → 1.14_{ax}		+50,4	+52,0	+45,2	+47,6	+43,5
1.15_{eq} → TS_{ni}(1.15) → 1.15_{ax}	ΔG^\ddagger (inverzija dušika) na 175.15 K	+57,2	+50,1	+47,1	+51,0	+49,0
1.14_{eq} → TS_{ni}(1.14) → 1.14_{ax}		+28,5	+26,8	+24,6	+26,7	+25,5
1.15 + OH⁻(H₂O)_n → TS_E(1.15)_n → 2.3 + Cl⁻(H₂O)_{n+1}^e	ΔH^\ddagger (eliminacija) na 298,15 K ^f	+78,3 ^d	+96,9 ^d	+87,4 ^d	+82,5 ^d	
		+78,4	+100,1	+88,5	+84,2	+90,9
		+81,8	+102,9	+87,2	+87,0	

^a Za različite računalne metode vidi poglavlje Metode ^b Sve energije izračunate su na B3LYP/6-31+G(d) geometrijama. ^c Energije solvatacije sa CPCM/B3LYP/6-31+G(d) metodom. Energetski izračuni jedne točke s modelom kontinuuma izvedene su u modelnom $\epsilon = 8,93$ (diklorometan) za inverziju prstena i inverziju dušika te modelnom otapalu $\epsilon = 78,4$ (voda) za reakciju eliminacije. ^d Prvi red, $n = 1$; drugi red, $n = 2$; treći red, $n = 3$. ^e Zbroj energija za **1.15** i OH⁻(H₂O)_n definira nultu točku u svakom slučaju. ^f ΔG_{solv} zadovoljavajuće aproksimira ΔH_{solv}

Također je izračunata energijska barijera za bazom induciranu eliminaciju u **1.15** na G3B3(+) razini i uspoređena s eksperimentalnom reakcijskom barijerom (Tablica 5). U oba slučaja, kombinacija G3B3(+) energija s termokemijskim korekcijama izračunatim na B3LYP/6-31+G(d) razini i sa slobodnom energijom solvatacije iz CPCM/B3LYP/6-31+G(d) procedure daje rezultate koji su u skladu s eksperimentalnim vrijednostima. Slobodna energija solvatacije je u ovom slučaju prikladna za opis entalpije solvatacije, pa nije greška formalno zbrajati reakcijsku entalpiju računa u plinskoj fazi sa slobodnom energijom solvatacije. Od svih ispitanih metoda, jedino B2PLYP/aug-def2-TZVPP//B3LYP/6-31+G(d) metoda daje rezultate u skladu s G3B3(+) procedurom (Tablica 5). B2PLYP je perturbativno ispravljeni dvostruki hibridni funkcional koji je vrlo efikasan, a izračunati rezultati su u skladu s eksperimentalnim vrijednostima. Za usporedbu, računalno zahtjevnija MP4/6-

31+G(d)//B3LYP/6-31+G(d) metoda precjenjuje iznos eksperimentalne barijere za proces konformacijske inverzije u **1.14** i **1.15**, dok je energijska barijera dehidrohalogenacije u **1.15** podcjenjena. (Tablica 5). Prema tome, B2PLYP je dobar izbor (vidi dolje) za izračune relativnih energijskih odnosa metabolita paroksetina **2.1** i produkata njegove pregradnje.

Konformacijska analiza derivata piperidina

U slučaju piperidina (**1.14**) i *N*-klorpiperidina (**1.15**) locirane su dvije konformacije stolca: **1.14_{ax}** (**1.15_{ax}**) s vodikovim (klorovim) atomom u aksijalnom položaju i **1.14_{eq}** (**1.15_{eq}**) u kojoj je vodik (klor) u ekvatorijalnom položaju na atomu dušika (Shema 9). Konformeri sa supstituentom (H ili Cl) u ekvatorijalnom položaju su stabilniji, što je u skladu s eksperimentalnim podacima (Tablica 5).^{185,186} U klorcikloheksanu je konformer s klorom u ekvatorijalnom položaju stabilniji za 2,2 – 2,7 kJ/mol u odnosu na konformer s klorom u aksijalnom položaju.¹⁸⁹

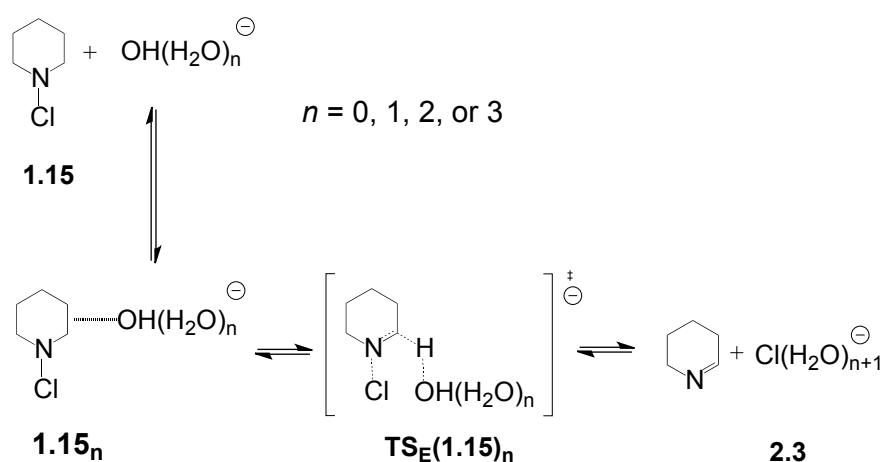
U konformaciji *N*-klorpiperidina, koja dopušta antiperiplanarnu eliminaciju H i Cl (Shema 10), proces dehidrokloriranja je kinetički povoljniji. Izračunata energijska barijera ($G3B3(+) + \Delta G_{\text{solv}}$) za *anti*-eliminaciju u **1.15_{ax}** je za 37,1 kJ/mol niža od one za *sin*-eliminaciju u **1.15_{ax}** (Tablica 5., vidi Dodatne informacije).

Prema tome, prije eliminacije atom klora u *N*-klorpiperidinu mora biti u aksijalnom položaju. To se može postići konformacijskom i/ili konfiguracijskom promjenom **1.15_{eq}** → **1.15_{ax}**, to jest inverzijom dušika ili procesom inverzije prstena (Shema 9). Izračunato je da je proces inverzije dušika kinetički povoljniji, što je u skladu s eksperimentalnim podacima.¹⁸⁶⁻¹⁸⁸ Strukture prijelaznih stanja **TS_{ni}(1.15)** i **TS_{ri}(1.15)** za inverziju dušika i prstena, locirane su i karakterizirane jednom imaginarnom frekvencijom koja odgovara opisanim konformacijskim promjenama u *N*-klorpiperidinu.

Eliminacija inducirana bazom

Razrijeđene otopine *N*-klorpiperidina u alkalnom mediju relativno su stabilne. Primjerice, 0,2 mM otopina *N*-klorpiperidina u boratnom puferu na pH 10 raspada se za 3% tijekom 24 sata na 30 °C.¹⁹⁰ Energijska barijera za dehidrokloriranje *N*-Cl-piperidina u alkalnom mediju iznosi $\Delta H^{\ddagger}_{298,15\text{K}} = 90,9$ kJ/mol.¹⁸⁶ Eksperimentalni podaci su uspješno reproducirani uz pomoć računalnih metoda visoke teorijske razine.

Izračunata energijska barijera za reakciju eliminacije (dehidrokloriranja) *N*-Cl-piperidina, katalizirane hidroksidnim ionima, iznosi 87,0 kJ/mol ($G3B3(+) + \Delta G_{\text{solv}}$) (Shema 10). U skladu s rezultatima prethodnih studija, korišten je hidroksidni anion kao reaktant u klasteru s n eksplicitnih molekula vode (gdje je $n = 0, 1, 2,$ or 3).^{191,192,77}

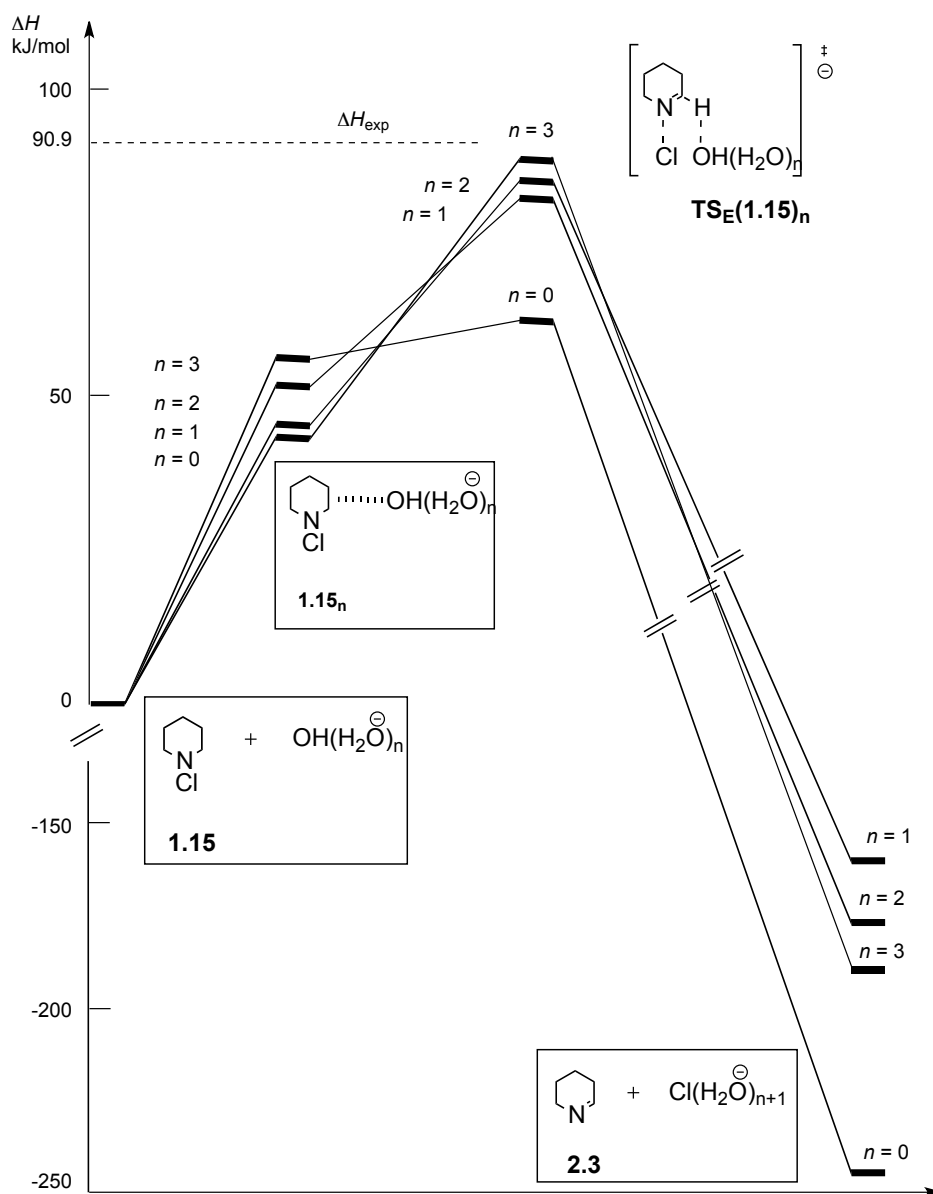


Shema 10. Predloženi reakcijski put za dehidrokloriranje u *N*-klorpiperidinu.

Ukoliko nema molekula voda koje koordiniraju hidroksidni ion ($n = 0$), prijelazno stanje $\text{TSE}(\mathbf{1.15})_0$ za E2 reakciju ne može biti locirano na odgovarajućoj plohi potencijalne energije. Naprotiv, u sličnoj reakciji *anti*-eliminacije, u kojoj F^- reagira s cikloheksil-kloridom u plinovitoj fazi, locirano je prijelazno stanje bez asistencije molekula vode.¹⁹³ U našem slučaju simetrični (C_s) reaktivni kompleks $\mathbf{5}^*_0$ je lociran kao jedina stacionarna točka ($\text{NImag} = 0$), dok sve ostale početne geometrije konvergiraju u stabilniji kompleks produkata eliminacije (vidi Dodatne informacije). Procjena energijske barijere za reakciju eliminacije bez prisustva eksplicitnih voda određena je parcijalnom optimizacijom (opcija SCAN u G09 programu). Prateći vrijednosti koordinate duž udaljenosti interakcije između hidroksilnog kisika i β -vodika (R), locirano je prijelazno stanje $\text{TSE}(\mathbf{1.15})_0$ ($R = 1,58 \text{ \AA}$), koje je za 62,3 kJ/mol ($G3B3(+) + \Delta G_{\text{solv}}$) nestabilnije od reaktanata. Ovi podaci potvrđuju da teorijski rezultati za eliminaciju bez eksplicitno dodanih voda značajno odstupaju od eksperimentalnih vrijednosti (Shema 11).

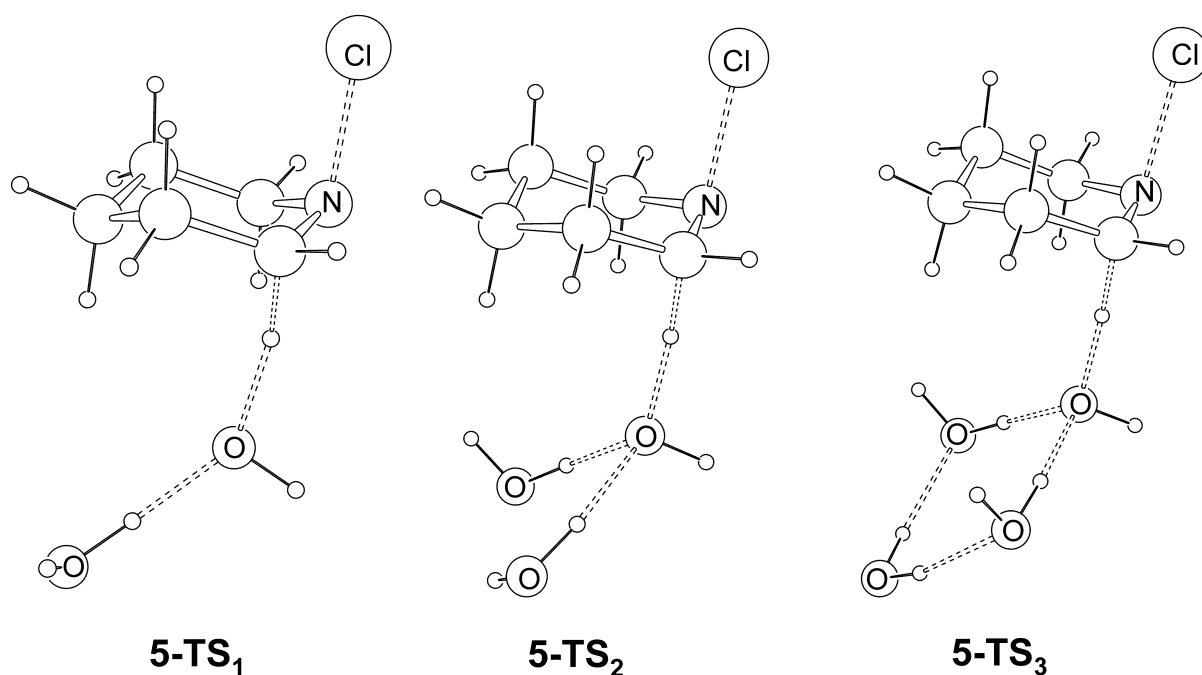
Efekte otapala na kemijske procese u **1.15** implicitno su opisani s CPCM/B3LYP/6-31+G(d) metodom. Specifične interakcije otapala ispitivane su sukcesivnim dodavanjem eksplicitnih molekula vode te optimizacijom dobivenih

geometrija vodenih kompleksa. Molekule vode postavljene su na različite lokacije kako bi se uzorkovale različite verzije mreže vodikovih veza mogućih između *N*-klorpiperidina i hidroksidnog klastera $\text{OH}^-(\text{H}_2\text{O})_n$.^{78,80,81} Locirano je nekoliko različitih konfiguracija vode za svaki reaktivni kompleks **1.15_n** gdje je $n = 1, 2$, ili 3 . Na primjer, u slučaju reaktivnog kompleksa s jednom eksplicitnom vodom (**1.15₁**) locirana su četiri različita minimuma (više detalja u Dodatnim informacijama). Broj mogućih konfiguracija raste s porastom broja molekula voda (n) u klasteru $\text{OH}^-(\text{H}_2\text{O})_n$, ali su u ovoj studiji razmatrane samo najstabilnije strukture.



Shema 11. Shematski profil PES (G3B3(+)) za dehidrokloriranje u *N*-klorpiperidinu (**1.15**). Solvatacijski efekti su izračunati na CPCM//B3LYP/6-31G(d) teorijskoj razini.

Svi reaktivni kompleksi **1.15_n**, koji sadrže jednu, dvije ili tri ($n = 1, 2,$ or 3) eksplicitne molekule vode, energetski su nepovoljniji u odnosu na odvojene reaktante (Shema 11). Primjerice, reaktivni kompleks **1.15₃** je 42,7 kJ/mol manje stabilan od odvojenih reaktanata **1.15** i $\text{OH}^-(\text{H}_2\text{O})_3$. Prema tome, ovi kompleksi nisu relevantni za izračun energijske barijere reakcije eliminacije *N*-klorpiperidina u vodi. Izračunate vrijednosti reakcijske barijere eliminacije pokazuju da bar jedna voda mora biti eksplicitno uključena za optimalnu aproksimaciju prve solvacijske ljuske.¹⁹⁴ Odgovarajuća struktura prijelaznog stanja **TS_E(1.15)₁** za E2 reakciju (Slika 7) je za 87,4 kJ/mol (B2PLYP/def2-aug-TZVPP//B3LYP/6-31+G(d) + ΔG_{solv}) nestabilnija od odvojenih reaktanata **1.15** i $\text{OH}^-(\text{H}_2\text{O})_1$, što sugerira da je ovaj teorijski model adekvatan za reprodukciju eksperimentalnih podataka. ($\Delta H_{298}^{\#} = +90,9$ kJ/mol).



Slika 7. B3LYP/6-31+G(d) optimizirana prijelazna stanja za reakciju (*anti*-eliminacija) između *N*-klorpiperidina i hidroksidnog klastera $\text{OH}^-(\text{H}_2\text{O})_n$ gdje je $n = 1, 2,$ ili 3 . U svakom slučaju prikazane su samo najstabilnije structure.

Reakcijskom koraku **1.15_{ax}** \rightarrow **2.3**, prethodi konfiguracijska promjena **1.15_{eq}** \rightarrow **1.15_{ax}**, pri čemu nastaje izomer prikladniji za bazom induciranu E2 eliminaciju. Prijelazna stanja **TS_E(1.15)_n** (gdje je $n = 0, 1, 2,$ ili 3 molekule vode) za 1,2-

eliminaciju opisuju usklađeno kidanje i stvaranje četiriju veza između pet atomskih centara (Slika 7).

Krajnji produkti ove egzotermne reakcije (ΔH_{298} je između -162.7 i -244.1 kJ/mol, ovisno o n ; vidi Shemu 11.) su piperidein (**2.3**) i kloridni ion opisan kao vodeni klaster $\text{Cl}(\text{H}_2\text{O})_{n+1}$.¹⁹⁵ Konfiguracijska i konformacijska ravnoteža $\mathbf{1.15}_{\text{eq}} \rightleftharpoons \mathbf{1.15}_{\text{ax}}$ i reakcija eliminacije $\mathbf{1.15}_{\text{ax}} \rightarrow \text{TS}_{\text{E}}(\mathbf{1.15})_n \rightarrow \mathbf{2.3}$ prikladno su opisani pomoću hibridne klaster-kontinuum metode primjenjene u ovoj studiji.

4.2.3. *N*-klor-3-(hidroksimetil)piperidin

Dobro slaganje eksperimentalnih i računalnih rezultata za *N*-klorpiperidin (vidi gore) sugeriraju da se isti računalni pristup može primjeniti na reakciju dehidrokloriranja u kloraminu **2.4** i u metabolitu paroksetina **2.2** (vidi dolje).

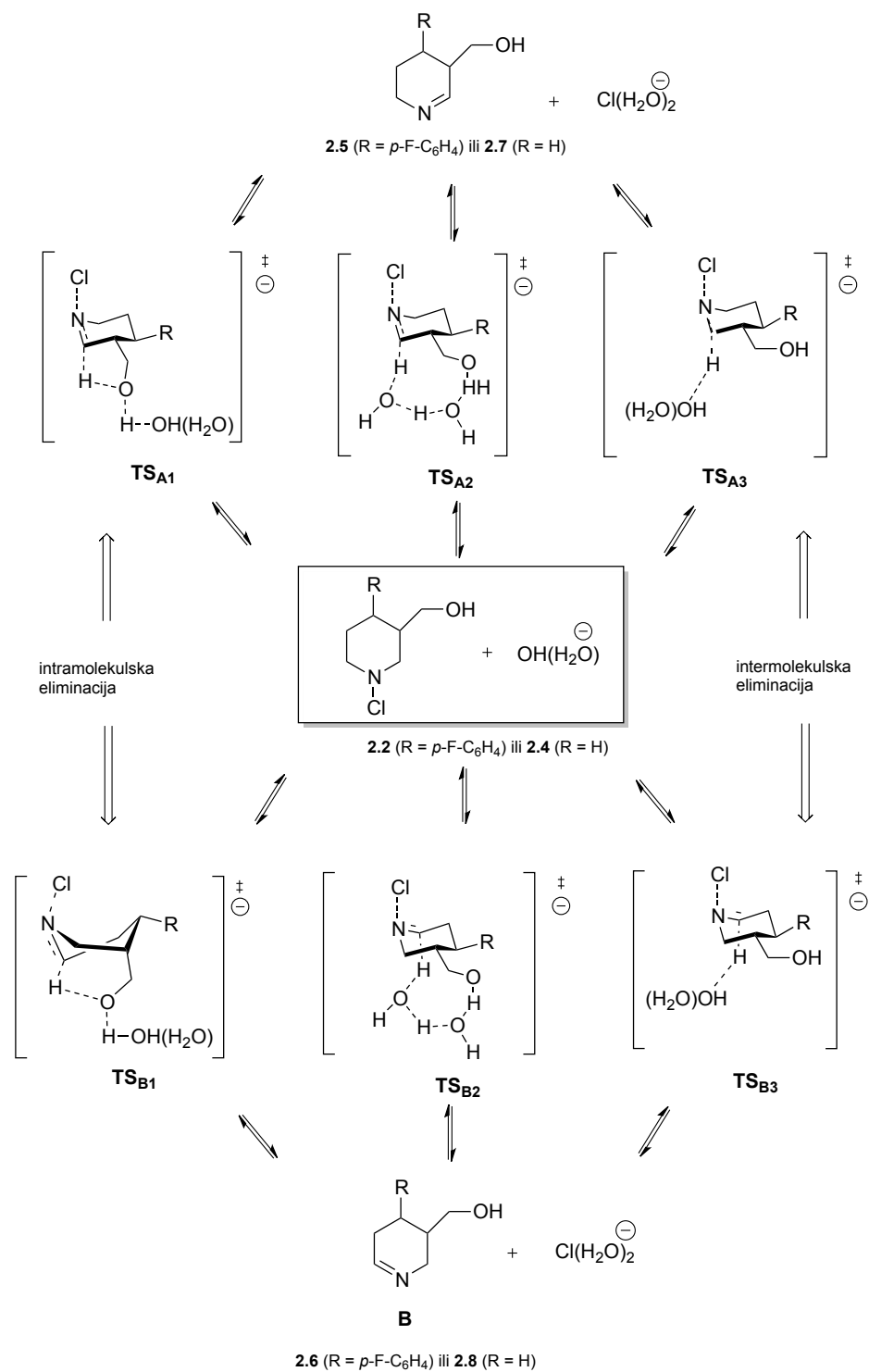
Tablica 6. Relativne energije ΔH (u kJ/mol; na 298,15 K) za stacionarne točke u procesu eliminacije kod **2.4**, izračunato na različitim teorijskim razinama^a

Struktura ^b	B3LYP/6-31+G(d) $+\Delta G_{\text{solv}}^{\text{c}}$	B2PLYP/aug-def2-TZVPP $+\Delta G_{\text{solv}}^{\text{c}}$	G3B3(+) $+\Delta G_{\text{solv}}^{\text{c}}$
2.4_{eq}	0,0 ^d	0,0 ^d	0,0 ^d
TS_{A1}(2.4)	+50,2	+75,5	+77,1
TS_{B1}(2.4)	+65,1	+88,5	+83,0
TS_{A2}(2.4)	+57,6	+78,7	+74,0
TS_{B2}(2.4)	+51,1	+75,8	+70,5
TS_{A3}(2.4)	+68,4	+86,8	+80,7
TS_{B3}(2.4)	+70,8	+88,9	+82,5
2.5	-243,8	-243,9	-197,8
2.6	-250,9	-249,6	-203,4

^a Sve energije izračunate na B3LYP/6-31+G(d) geometrijama. ^b Uključeni su samo izomeri najniže energije. ^c Energije solvatacije izračunate s CPCM/B3LYP/6-31+G(d) metodom u modelnom otapalu $\epsilon = 78,4$ (voda). ^d Zbroj energija za **6_{eq}** i OH(H₂O) predstavlja nultu točku na PES-u.

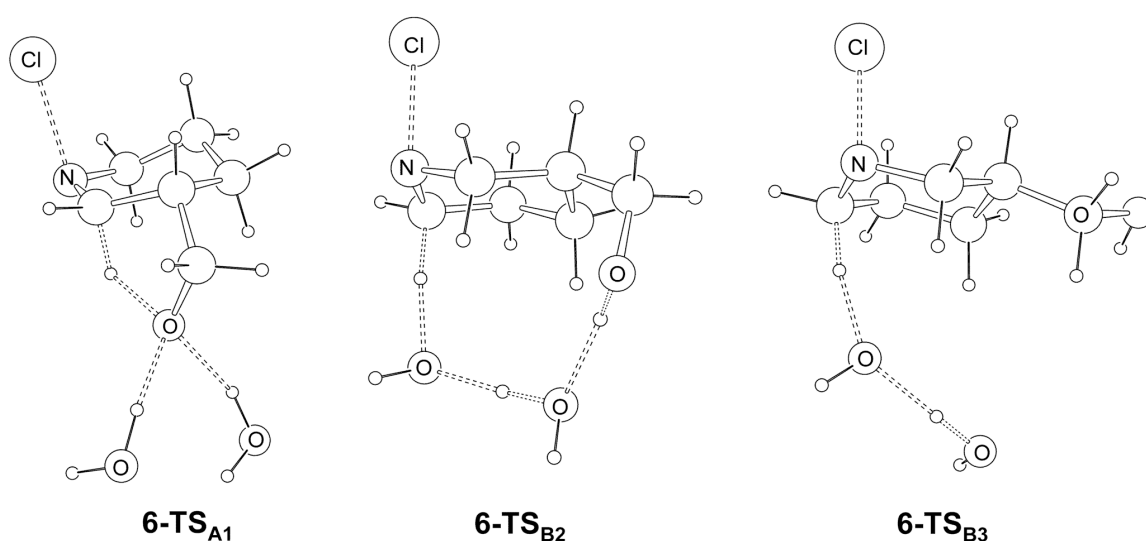
Uvođenje hidroksimetilne skupine na C3-položaj piperidinskog prstena snizuje barijeru procesa dehidrokloriranja. Na G3B3(+) razini izračunata entalpija aktivacije je 70,5 kJ/mol (Tablica 6.), što je za 12 kJ/mol niže od barijere izračunate za eliminaciju HCl iz *N*-klorpiperidina ($\mathbf{1.15}_{\text{eq}} + \text{OH}^-(\text{H}_2\text{O}) \rightarrow \text{TS}_{\text{E}}(\mathbf{1.15}) \rightarrow \mathbf{2.3}$). Slična razlika među barijerama dobivena je korištenjem B2PLYP/aug-def2-TZVPP + ΔG_{solv} modela. Očigledno je da prisutnost hidroksilne skupine u **2.4** značajno ubrzava proces eliminacije. To je u skladu s ranijim eksperimentalnim podacima, koji

pokazuju da je eliminacija *N*-kloriranih karbinolamina znatno brži process nego eliminacija *N*-kloriranih amina bez hidroksilne skupine.¹⁹⁶



Shema 12. Tri različita mehanizma bazom kataliziranih mehanizama eliminacije kod *N*-kloriranih spojeva **2.2** i **2.4**.

Zbog uvođenja hidroksimetilne skupine u piperidinski sustav reakcija eliminacije postaje složenija, odnosno povećava se broj mogućih reakcijskih puteva (Shema 12). Za intermolekulski reakcijski mehanizam (vodom potpomognuta Zajcevljeva eliminacija) i intramolekulski mehanizam dehidrokloriranja kloramina **6**, locirana su četiri odgovarajuća prijelazna stanja: **6-TS_{A1}** i **6-TS_{B1}**, u kojima je β -vodikov atom u C2- ili C6-položaju premješten izravno na kisikov atom hidroksimetilne skupine (intramolekulski mehanizam); te **6-TS_{A3}** i **6-TS_{B3}**, u kojima je eksplicitna molekula vode izravno (analogno slučaju **5-Cl**) uključena u eliminaciji β -vodikovog atoma na C2- ili C6-položaju (intermolekulski mehanizam).



Slika 8. Strukture prijelaznih stanja za intramolekulski (**TS_{A1}(2.4)** i **6-TS_{B2}(2.4)**) i intermolekulski mehanizam (**TS_{B3}(2.4)**) dehidrokloriranja *N*-klor-3-hidroksimetilpiperidna (**2.4**) optimiziranih na B3LYP/6-31+G(d) teorijskoj razini.

U strukturi **TS_{A1}(2.4)** (i **TS_{B1}(2.4)**) dvije molekule vode vodikovim su vezama u interakciji s $-\text{CH}_2\text{OH}$ skupinom (Slika 8), ali ni jedna od njih nije izravno uključena u eliminaciju β -vodikovog atoma. Struktura prijelaznog stanja **TS_{A1}(2.4)** za intramolekulsku eliminaciju izračunata je kao najstabilnija (Tablica 6). U skladu s prijašnjim računalnim i eksperimentalnim studijama dehidrokloriranje u alkalnom mediju je najpovoljniji put eliminacije kod β -karbinolamina.^{196,197}

Druga dva prijelazna stanja za eliminaciju, **TS_{A2}(2.4)** i **TS_{B2}(2.4)**, u kojima su eksplicitne molekule vode smještene između hidroksimetilne skupine i β -vodikova atoma (C2-H ili C6-H) uključuju 9- odnosno 11-člane prstenaste strukture (Slika 8).

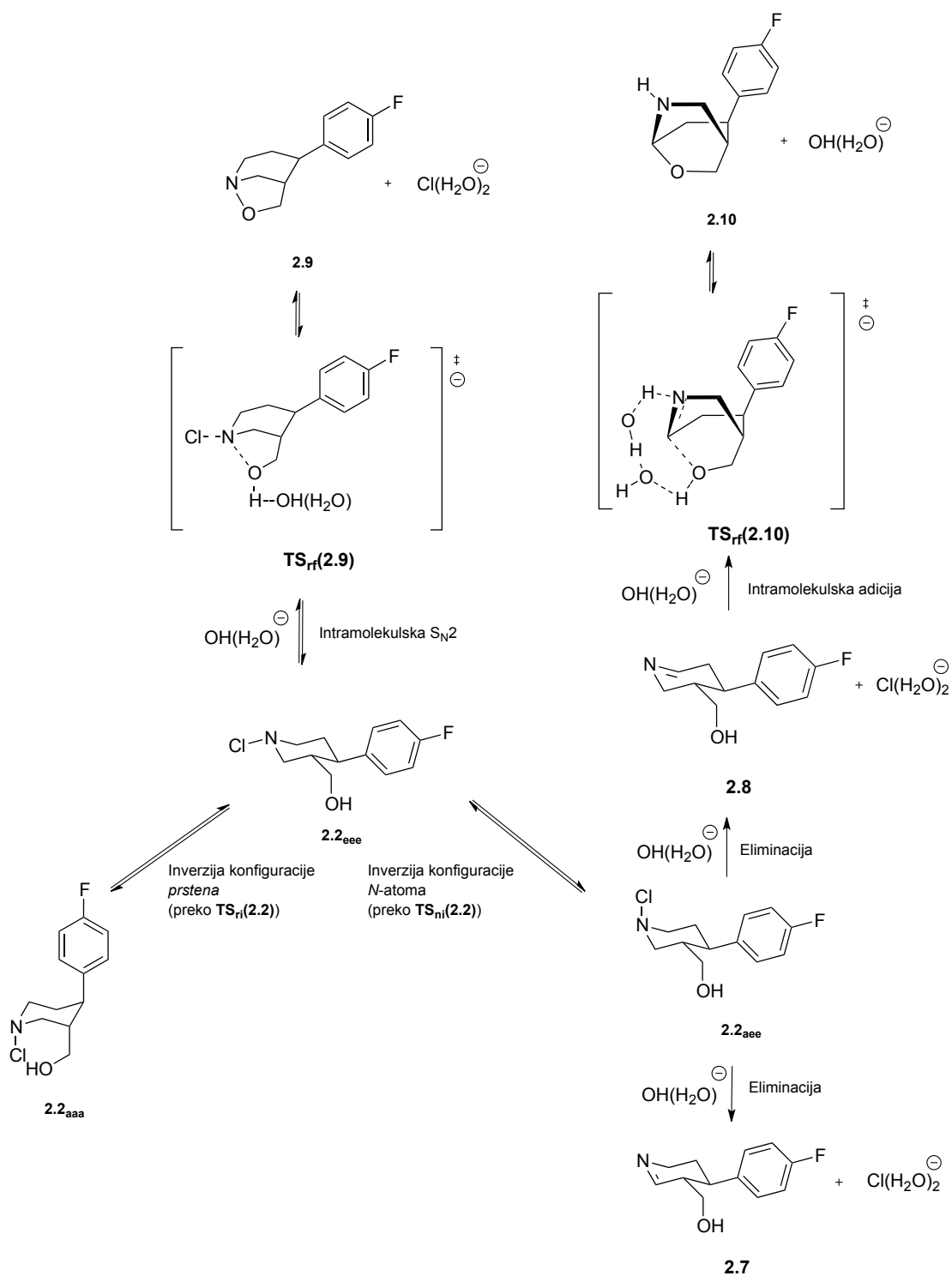
Zanimljivo je da su te strukture (na G3B3(+) razini) stabilnije od **TS_{A1}(2.4)**, što sugerira da je “premoštavajući” mehanizam eliminacije također moguć.

Zaključno, moguća su najmanje tri različita načina asistencije vode u procesima eliminacije kod strukture **2.4**: prvi, u kojem je voda izravno uključena u eliminaciju C6-vodikova atoma (intermolekulska eliminacija, **TS_{A1}(2.4)** i **TS_{B1}(2.4)**); drugi mehanizam, u kojem su molekule vode vodikovim vezama vezane za hidroksimetilnu skupinu (intramolekulska eliminacija, **TS_{A3}(2.4)** i **TS_{B3}(2.4)**); te treći, “premoštavajući” mehanizam, u kojem voda katalizira proces eliminacije formirajući deveteročlani ili jedanaesteročlani prsten u odgovarajućim strukturama prijelaznih stanja **TS_{A2}(2.4)** i **TS_{B2}(2.4)**.

4.2.4. *N*-klor-4-(4-fluorfenil)-3-(hidroksimetil)piperidin

Za modelne sustave koji su istraživani (**1.15** i **2.4**), pokazano je da je kombinacija solvacijskog modela (CPCM) i jedne eksplicitne molekule vode učinkovita u adekvatnom opisu vodom asistiranog pregradnje *N*-kloriranih spojeva u vodenom bazičnom mediju. Budući je G3B3(+) teorijska razina prezahtjevna za izračune reakcija pregrađivanja metabolita paroksetina **2.2**, korišteni su MP4(FC)/6-31+G(d)//B3LYP/6-31+G(d) i B2PLYP/aug-def2-TZVPP//B3LYP/6-31+G(d) modeli. Energijske vrijednosti izračunate tim metodama vrlo su slične G3B3(+) rezultatima i odgovaraju eksperimentalnim podacima (vidi Tablicu 6).

U literaturi su opisani razni bazom katalizirani procesi pregrađivanja *N*-kloriranih karbinolamina, uključujući i neke farmaceutike.^{171,149} Intramolekulska dehidrokloriranje i Grobova fragmentacija smatraju se glavnim reakcijskim putovima.¹⁹⁶⁻¹⁹⁸ Budući da *N*-kloramin **2.2** ne može sudjelovati u Grobovom tipu fragmentacije, intramolekulska dehidrokloriranje predstavlja najpovoljniji mehanizam njegove pregradnje u bazičnom vodenom mediju (vidi Shemu 13).



Shema 13. Konformacijski (inverzija prstena) i konfiguracijski (inverzija dušika) proces, dva eliminacijska i dva procesa ciklizacije (intramolekulska adicija i $\text{S}_{\text{N}}2$ reakcija) razmatrani kao mogući putovi pregrađivanja metabolita paroksetina **2.2**.

Kompeticija između konformacijske promjene šesteročlanog prstena i inverzije dušika u *N*-kloriranim piperidinima nedavno je opisana u literaturi. Pokazano je da je regioselektivno dehidrokloriranje *N*-kloropiperidinskih sustava kontrolirano promjenom konfiguracije dušikova atoma.¹⁹⁹ Važnost detaljnih mehanističkih i stereokemijskih studija u dehidrokloriranju pokazana je i u slučaju *N*-kloriranih makrolidnih antibiotika.^{200,201} Pokazano je da relativna brzina dehidrokloriranja ovisi o konformacijskim svojstvima šesteročlanog cikličkog sustava.

Mogući eliminacijski putevi u **2.2** opisani su koristeći mehanističku Shemu koja je prikazana za kloramin **2.4** (Shema 13). Razmatrana su tri različita mehanizma dehidrokloriranja: prvi, intermolekulski, u kojem je kompleks hidroksidnog iona i molekule vode izravno uključen u eliminaciju β -vodikova atoma, drugi, intramolekulski mehanizam, u kojoj je deprotonacija potpomognuta hidroksimetilnom skupinom na C-3 položaju te treći, “premoštavajući” mehanizam, u kojem su molekule vode smještene između hidroksimetilne skupine i β -vodikova atoma (ili C2-H ili C-3 H atoma). Za svaki od tih reakcijskih puteva, odgovarajuće strukture prijelaznog stanja uspješno su locirane na PES-u (Slika 4).

Dehidrokloriranje metabolita paroksetina **2.2** energijski je povoljnije (za 15,3 kJ/mol) od analognog procesa u *N*-kloropiperidinu (**1.15**) te manje povoljno (za 8 kJ/mol) od eliminacije u **2.4** (na B2PLYP razini). Slično kao kod **2.4**, intramolekulski proces u kojem je C3-hidroksimetilna skupina uključena u eliminaciju β -vodikova atoma, povoljniji je od intermolekulskog dehidrokloriranja. Najvažniji reakcijski put za intramolekulsku *anti*-eliminaciju $2.2_{\text{aee}} \rightarrow \text{TS}_{\text{A1}}(2.2) \rightarrow 2.7$ kinetički je znatno povoljniji (za 20 kJ/mol) od intermolekulskih procesa $2.2_{\text{aee}} \rightarrow \text{TS}_{\text{A3}}(2.2) \rightarrow 2.7$ i $2.2_{\text{aee}} \rightarrow \text{TS}_{\text{B3}}(2.2) \rightarrow 2.8$. Formiranje imina **2.7** i **2.8** egzotermni su procesi, s time da je imin **2.8** stabilniji od imina **2.7** (Tablica 7).

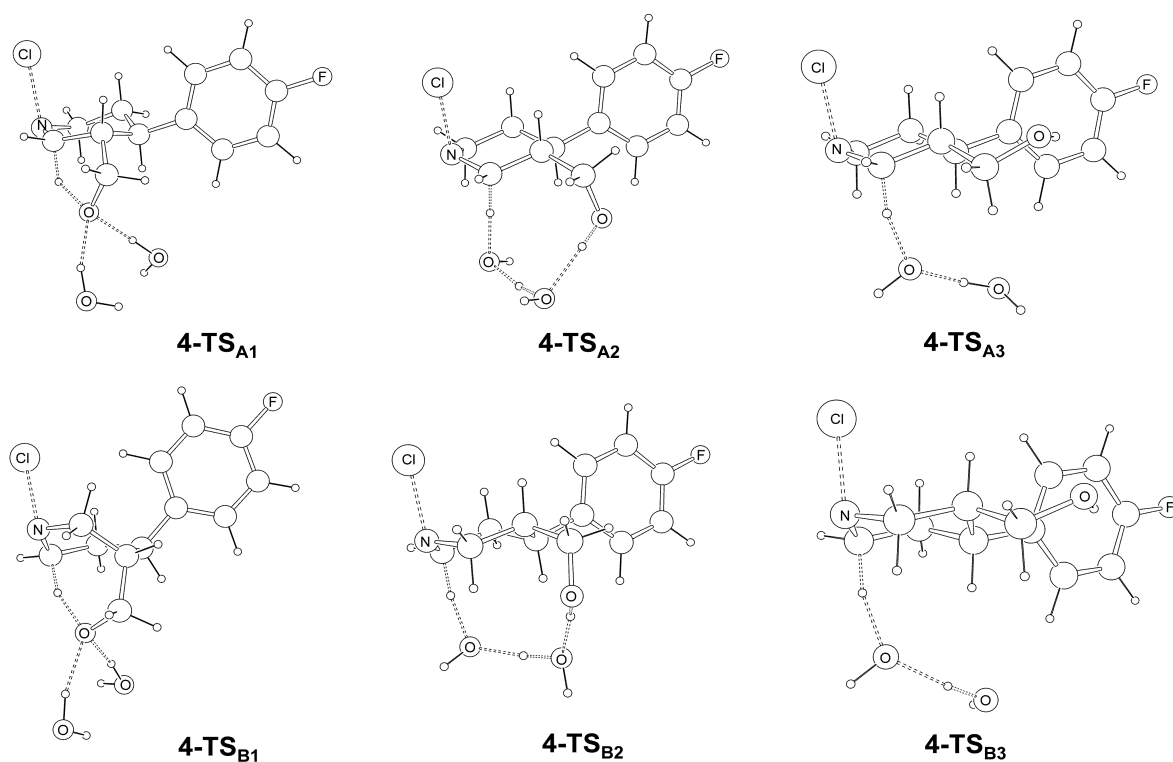
Tablica 7. Relativne energije ΔH (u kJ/mol; na 298,15 K) za stacionarne točke u procesima pregradnje **2.2**, izračunate na različitim razinama teorije.^a

Struktura ^b	B3LYP/6-31+G(d) $+\Delta G_{\text{solv}}^c$	MP4/6-31+G(d) $+\Delta G_{\text{solv}}^c$	B2PLYP/aug-def2-TZVPP $+\Delta G_{\text{solv}}^c$
2.2_{eee}	0,0 ^d	0,0 ^d	0,0 ^d
2.2_{aee}	+12,0	+10,5	+11,0
2.2_{aaa}	+32,1	+34,4	+30,4
TS_{ni}(2.2)	+54,7	+65,5	+58,1
TS_{ri}(2.2)	+53,2	+57,0	+56,4
TS_{A1}(2.2)	+53,6	+62,0	+78,9
TS_{B1}(2.2)	+86,0	+92,3	+109,0
TS_{A2}(2.2)	+55,2	+62,8	+79,2
TS_{B2}(2.2)	+56,2	+58,0	+80,6
TS_{A3}(2.2)	+79,6	+77,1	+99,0
TS_{B3}(2.2)	+79,4	+79,0	+99,7
2.7	-245,7	-223,7	-234,7
2.8	-251,2	-231,1	-239,9
TS_{rf}(2.9)	+72,9 ^c	+67,2 ^c	+94,5 ^c
2.9	-108,7	-88,0	-94,2
TS_{rf}(2.10)	+99,0 ^c	+69,5 ^c	+93,1 ^c
2.10	-241,8	-227,9	-228,0

^a Sve energije izračunate na B3LYP/6-31+G(d) geometrijama. ^b Uključeni su samo izomeri niže energije ^c Energije solvatacije izračunate s CPCM/B3LYP/6-31+G(d) metodom u modelnom otapalu $\epsilon = 78,4$ (voda). ^d Zbroj energija **2.2_{eee}** i OH(H₂O) predstavlja nultu točku na PES-u. ^e Relativni zbroj energija reaktanata **2.8** i OH(H₂O).

Iz literature je poznato da imini u vodi lako hidroliziraju pri čemu nastaju različiti produkti. **Error! Bookmark not defined.** Očekivano je da imini **2.7** i **2.8** također hidroliziraju pri čemu nastaju produkti sa slobodnom amino i aldehidnom skupinom. Također je poznato da imini mogu polimerizirati pri čemu nastaju nastati ciklički produkti.^{202,203}

U reakcijama pregrađivanja paroksetinskog metabolita **2.2** dodatno su razmatrana dva reakcijska puta (Shema 13): formiranje izoksazolidina **2.9** izravno iz **2.2_{eee}**, i oksazinana **2.10** iz **2.2_{aee}** (preko imina **2.8**). Prva reakcija je intramolekulska S_N2 reakcija, u kojoj nastaje ciklički produkt **2.9**. Druga reakcija uključuje intramolekulski napad hidroksilmetilne skupine na C6 položaj imina **2.8**, uz asistenciju baze, što rezultira oksazinanskim produktom **2.10** (sličan po energiji iminima **2.7** i **2.8**, vidi Tablicu 7). Ciklizacija **2.8** → **2.10** uključuje i transfer protona s hidroksilne skupine na atom dušika. Na B2PLYP razini formiranje oksazinana **2.10** je endotermni proces ($\Delta H = -12$ kJ/mol) (Tablica 3). Nedavno je pokazano da je ova vrsta oksazinanskog produkta važna u citokromom P450-kataliziranoj transformaciji iminskih metabolita nekih farmaceutika.²⁰⁴



Slika 9. B3LYP/6-31+G(d) optimizirane strukture prijelaznog stanja za intramolekulski ($TS_{A1}(2.2)$ i $TS_{B1}(2.2)$), “premoštavajući” ($TS_{A2}(2.2)$ i $TS_{B2}(2.2)$), i intermolekulski mehanizam ($TS_{A3}(2.2)$ i $TS_{B3}(2.2)$), za dehidrokloriranje **2.2**.

Prema tome, na temelju rezultata kvantno-kemijskih računa mogu se predvidjeti četiri različita produkta razgradnje metabolita paroksetina **2.2**: imini **2.7** i **2.8** te dva ciklizirana produkta, isoksazolidin **2.9** i oksazinan **2.10**. Formiranje ovih produkata može se očekivati i u vodenom okolišu, no ta mogućnost nije razmatrana u procjeni okolišnih rizika paroksetina. Učinkovitom kombinacijom teorije i eksperimenta pokazano je da reakcijski mehanizmi, koji su potencijalno važni za opis kemijske sudbine kloramina, poput paroksetinskog metabolita **2.2**, mogu biti uspješno modelirani računalnim tehnikama. Kvantno-kemijski podaci o reakcijskim putevima pregrađivanja *N*-kloriranih metabolita **2.2** i **2.4** mogu biti relevantni za studije kemijske, odnosno okolišne sudbine velikog broja farmaceutika koji u svojoj strukturi sadrže dušik, a koji su često detektirani kao onečišćivači u otpadnim vodama.

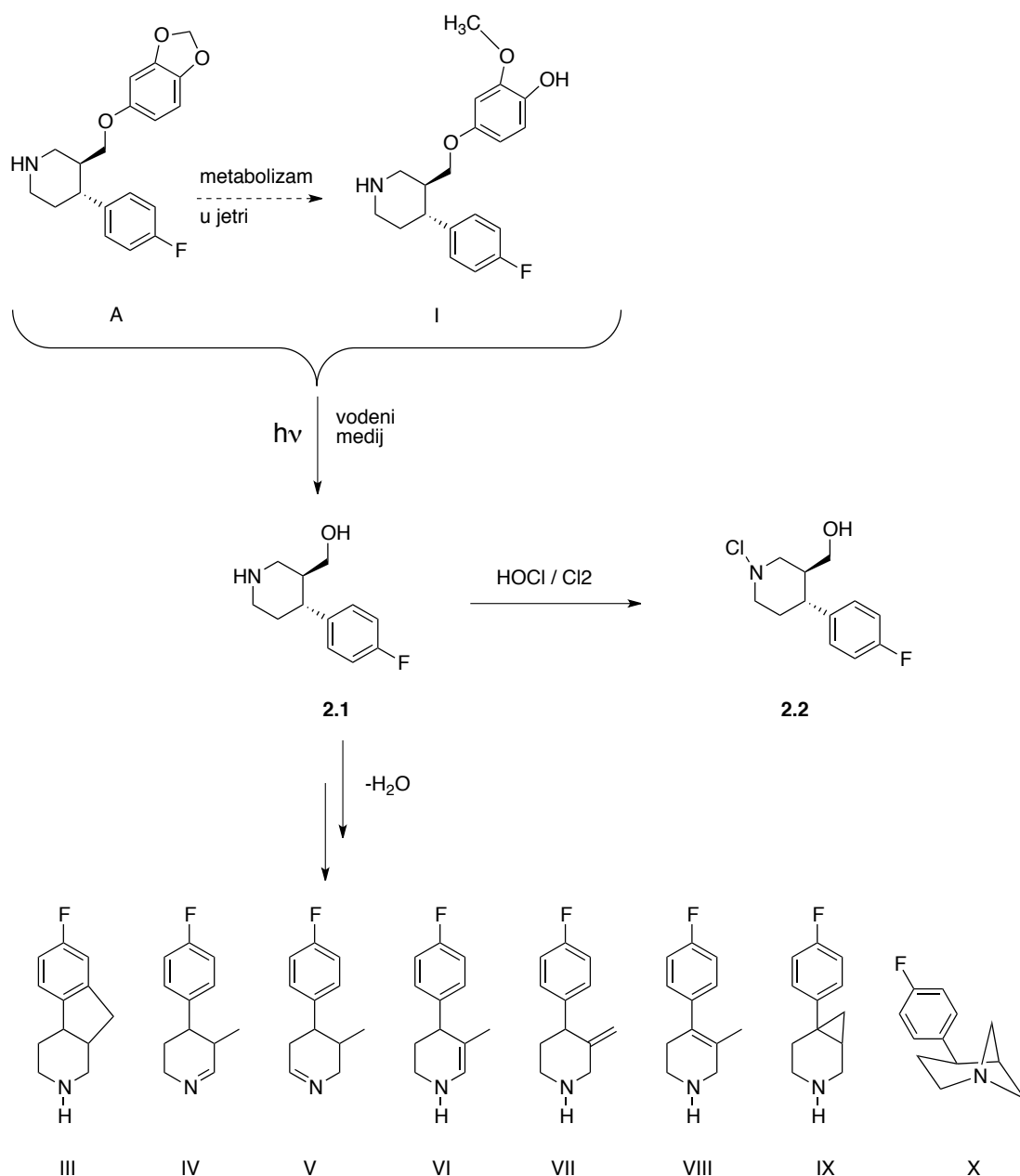
4.3. Reakcije pregrađivanja radikalskih metabolita paroksetina

4.3.1. Uvod

Antidepresiv paroksetin (Paxil[®]) važan je predstavnik grupe farmakološki aktivnih fenilpiperidina. On je selektivni inhibitor ponovne pohrane serotonina (SSRI) koji se u velikoj mjeri prepisuje u tretmanu depresije, opsesivno kompulzivnog poremećaja, paničnog poremećaja, posttraumatskog stresnog poremećaja i različitih poremećaja. Novije studije pokazuju da paroksetin i njegovi metaboliti¹⁷³⁻¹⁷⁵ imaju velik potencijal nakupljanja u otpadnim vodama,¹⁷⁶ kao i u tkivu riba,¹⁷⁷ kao rezultat otpuštanja ovog antidepresiva u površinske vode iz postrojenja za obradu otpadnih voda.^{205,206}

Procjena okolišnih rizika paroksetina je objavljena, no samo su ishodni spoj (3*S*,4*R*)-(4-(4'-fluorfenil)-3-(3,4-metilendioksifenoksimetil)piperidin (**A**) i njegov glavni metabolit *trans*-4-[4-(4'-fluorfenil)-3-piperidinilmetoksi]-2-metoksifenol (**I**) razmatrani detaljnije (Shema 14).³⁰ Sudeći prema ekotoksikološkim rezultatima, paroksetin nema negativan utjecaj na vodene organizme. Iz perspektive njegove okolišne sudbine, autori studije su zaključili da je paroksetin hidrolitički stabilan te se uglavnom ne raspada pod utjecajem UV zračenja.

Naprotiv, Kwon i Armbrust su pokazali da pod djelovanjem sunčevog svjetla dolazi do hidrolize i dehidracije paroksetina, pri čemu nastaju relativno stabilni produkti.³² Hidrolizirani se fotoprodukt (3*S*,4*R*)-4-(4-fluorfenil)-3-(hidroksilmetil)piperidin (**2.1**) smatra glavnim produktom transformacijskih procesa u okolišu. Dehidracijom fotoprodukta, prema Kwonu i Armbrustu, nastaje **III** (Shema 14). Jedina strukturna informacija za dehidrirani produkt je signal masenog spektrometra na m/z 192 $[M + H]^+$, što odgovara relativnoj molekularnoj masi $M_r = 191$. Nastanak produkta **III**, prema podacima iz masenih spektara, povezuje se s eliminacijom vode, nakon čega slijedi intramolekulska ciklizacija, no mehanistički detalji reakcija nisu poznati. Procjena okolišnog rizika nije izvršena za spojeve **2.1** i **III**.



Shema 14. Procesi (bio)razgradnje paroksetina i njegovih metabolita. Strukture označene zvjezdicama objavljene su u ranijim studijama, dok uokvirene strukture predstavljaju produkte bazom katalizirane razgradnje paroksetina (vidi gore).

U uvjetima kloriranja (reakcija s HOCl/Cl₂) otpadnih voda moguće su, pored hidrolize $A \rightarrow 2.1$, druge vrste pregrađivanja paroksetina.²⁰⁷ Kemijska transformacija *N*-kloriranog derivata 2.2 (Shema 14) proučavana je računalnim metodama u vodi kao reakcijskom mediju. Osim produkta hidrolize 2.1, predviđeni su i predloženi alternativni produkti važni za kemijsku sudbinu paroksetina (vidi 4.2). Za cjelovitu sliku reakcijskih mogućnosti, potrebno je razmotriti reakcijske puteve radikalskih

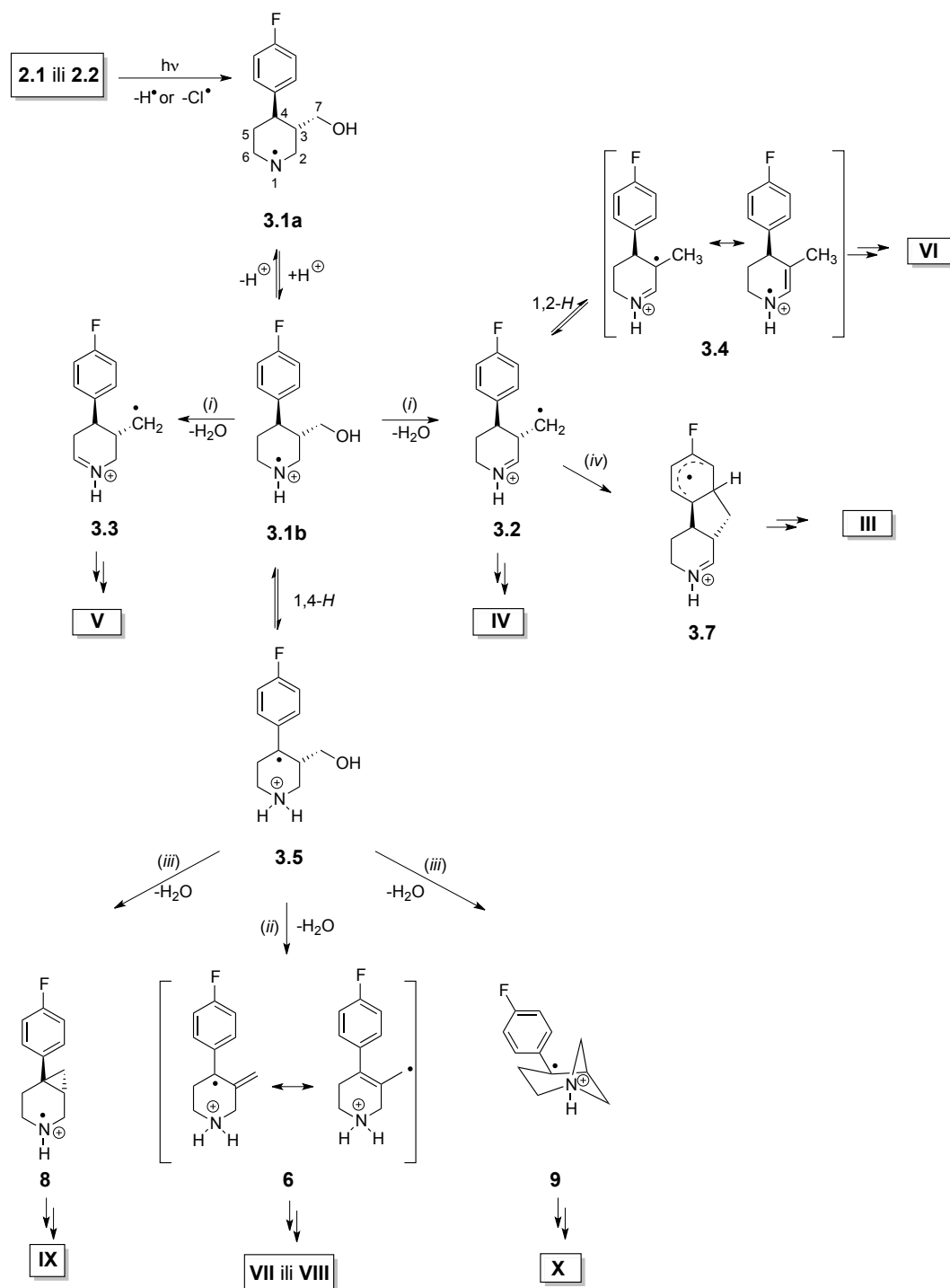
međuprodukata nastalih iz metabolita paroksetina. Bazno katalizirane reakcije u sustavima s popunjenom vanjskom ljuskom (pregrađivanja ionskih međuprodukata, vidi poglavlje 4.2) odvijaju se uslijed kloriranja voda, dok radikalski međuprodukti (s nepopunjenom vanjskom ljuskom) nastaju uslijed fotolize produkta **2.1** i njegovog kloriranog derivata **2.2**.

Fotolitička razgradnja paroksetina slijedi kinetiku prvog reda te konstanta brzine reakcije pri pH 7 iznosi $0,0529 \text{ h}^{-1}$,³² što odgovara energijskoj barijeri od oko 100 kJ/mol na 25 °C. Točnost ove vrijednosti se temelji na pretpostavci monomolekulskog procesa. No, svi ostali reakcijski koraci čije su barijere niže ili procesi unutar označenog raspona (prikazan kao siva vrpca na Slici 10) od ± 10 kJ/mol u odnosu na eksperimentalnu barijeru doprinose izmjerenoj brzini reakcije.

Reakcijski putevi formiranja i (foto)razgradnje, opaženi u eksperimentalnim studijama, u ovom su radu detaljnije analizirani, a cilj je istraživanja odrediti mehanizam nastanka novih spojeva. Računalni podaci su korisni za identifikaciju fotoprodukata, za koje postoji samo analitički MS signal. MS signal 191 nije nužno povezan samo s jednom stuktuirom; prema drugim eksperimentalnim studijama,^{173,208,209} pri hidrolizi i dehidraciji paroksetina mogu nastati različiti produkti čije strukture odgovaraju istom analitičkom signalu. Osim predloženog produkta **III**, potrebno je razmotriti i izračunati mehanizme formiranja spojeva **IV-X** (Shema 14), koji također odgovaraju eksperimentalnom MS signalu. Dakle, od posebne je važnosti detaljno proučavanje mehanizma dehidracije koji je operativan u fotodegradaciji radikala nastalih iz paroksetina. Pritom su računalna istraživanja posebno usmjerena prema strukturama koje odgovaraju eksperimentalnom MS signalu te prema mehanizmima reakcijskih koraka čije su izračunate energijske barijere u skladu s vrijednostima eksperimentalnih barijera. Važno je napomenuti da energijska barijera ovog reakcijskog koraka pregrađivanja radikala, koji određuje ukupnu brzinu reakcije, ne smije biti viša od eksperimentalne barijera od 100 kJ/mol.

Razmatrana su četiri različita reakcijska puta dehidracije: *i*) formiranje imina **IV** i **V**, i enamina **VI**, *ii*) formiranje alkena **VII** i **VIII**, *iii*) reakcije ciklodehidracije koje rezultiraju aza-bicikloheptanima **IX** i **X** te *iv*) zatvaranje peteročlanog prstena u **III** (Shema 15). Opsežnija analiza i dodatni podaci za sve reakcijske mogućnosti mogu se pronaći u Dodatnim informacijama. Pokazano je da je mehanizam dehidracije važan za kemijske transformacije različitih biomolekula koje sadrže fenilpiperidinski fragment.²¹⁰⁻²¹³ Prema tome, komparativna studija kompetitivnih

mehanizama dehidracije (*i – iv*) nije relevantna samo za kemijsku sudbinu paroksetina, već može biti od značaja za druge biološki i ekološki relevantne sustave.



Shema 15. Predloženi mehanizmi dehidracije (*i – iv*) u kationskim radikalima **3.1b** i **3.5** nastalim iz metabolita paroksetina **2.1** i **2.2**. Konačni produkti (Shema 14.) prikazani su u rimskim brojkama. Eksplicitne molekule vode u kompleksu sa svakim pojedinim radikalom nisu prikazane.

4.3.2. *N*-radikal i *N*-radikal kation

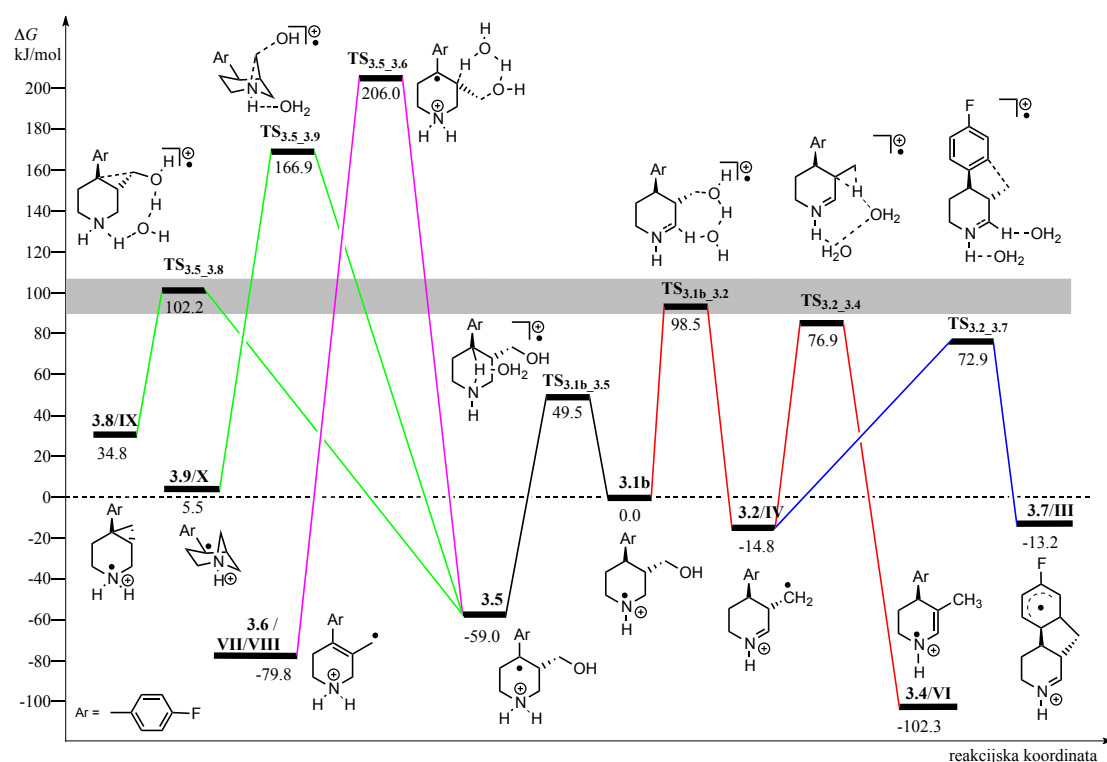
Fotolitički inducirana homoliza⁹ N-H veze u (foto)produktu **2.1** ili N-Cl veze u *N*-kloriranom produktu **2.2** može rezultirati formiranjem *N*-radikala **3.1a** (Shema 15). Pokazano je da su *N*-klorirani spojevi podložni fotodegradaciji, uglavnom zahvaljujući energiji disocijacije veze (BDE), koja je niža za N-Cl vezu nego za odgovarajuću N-H vezu.²¹⁴ Formiranje *N*-radikala zabilježeno je u seriji kloramina koji su važni u okolišnoj kemiji i biokemiji.^{13,113,120,166,215}

Protoniranjem *N*-radikala **3.1a** nastaje radikal kation **3.1b**. Najstabilniji oblik **3.1b** zauzima konformaciju stolca piperidinskog prstena s oba supstituenta (fluorofenilni i hidroksimetilni) u ekvatorijalnoj poziciji. Ukoliko se uključe efekti solvatacije, konformer sa supstituentima u aksijalnim pozicijama je za 11 kJ/mol manje stabilan. Gustoća spina (NPA vrijednost) većinom je lokalizirana na dušikovom atomu (0,73 au). Izračunata pK_a vrijednost za **3.1b** (na G3(MP2)-RAD + ΔG_{solv} razini prema termodinamičkom krugu prikazanom u Dodatnim informacijama) iznosi 6,5, što je slično piperidinskom *N*-radikal (p*K*_a = 5,8).^{172,216} Ovo sugerira da neutralna (**3.1a**) i protonirana (**3.1b**) forma egzistiraju u neutralnom mediju. Stoga, *N*-radikal **3.1a** i *N*-radikal kation **3.1b** mogu sudjelovati u raznim daljnim pregrađivanjima.^{217,218}

Poznato je da protoniranje aminilnih radikala (kao **3.1a**) značajno utječe na reaktivnost ovih neutralnih intermedijera.²¹⁹⁻²²² Budući je reaktivnost *N*-radikal kationa **3.1b** znatno veća očekuje se da su produkti njegova pregrađivanja (vidi dolje) specije relevantne za opis kemijske sudbine derivata paroksetina. Za usporedbu, izračunate su i barijere za reakcije pregrađivanja u neutralnom aminilnom radikal **3.1a**, no sve su vrijednosti iznad 200 kJ/mol, što ne odgovara eksperimentalnim podacima (vidi Dodatne informacije).

4.3.3. Dehidratacija *N*-radikal kationa

N-radikal kationi sudjeluju u reakcijama fragmentacije, koje uključuju kidanje C_{α} -H veza.²²³ U plinskoj je fazi povoljnije homolitičko cijepanje, pri čemu nastaju atom vodika i karbokationski međuprodukt. Nasuprot plinskoj fazi, u otopini dolazi do heterolitičkog cijepanja, pa se tako u prisutnosti slabe baze, *N*-radikal kation ponaša kao slaba organska kiselina. Deprotoniranje je povoljnije u protoniranom nego u neutralnom aminilnom radikal, zbog odvlačećeg elektronskog efekta pozitivnog naboja.



Slika 10. Energijski profil (G3(MP2)-RAD + ΔG_{solv}) za mehanizam (i) formiranja imina/enamina, crvena linija, (ii) formiranje alkena, ljubičasta linija, (iii) formiranja azabicycloheptana, zelene linije, (iv) zatvaranja peteročlanog prstena, plave linije, u radikalskim kationima **3.1b** i **3.5** koji nastaju iz metabolita paroksetina **2.1** (ili **2.2**). Prikazane su samo najstabilnije prijelazne strukture. Energija *N*-radikala **3.1b** predstavlja nultu točku (isprekidana linija) na PES-u. Siva vrpca označava eksperimentalnu barijeru za (foto)degradaciju paroksetina.

Prema tome, u slučaju *N*-radikal kationa **3.1b** moguće je da se nakon kidanja C_α-H veze, vodikov atom premjesti s C2 ili C6 na C7-hidroksilnu grupu (numeriranje definirano u Shemi 15.). Oba su puta istražena računalnim metodama te je uočeno da je proces prijenosa s C2 položaja energijski povoljniji. Izračunata energijska barijera ΔG^\ddagger za intramolekulski transfer s C2 položaja iznosi 139,5 kJ/mol ($k_r = 8,10 \times 10^{-9} \text{ h}^{-1}$). Ukoliko se u izračune uključi jedna eksplicitna molekula vode, barijera za proces **3.1b** → **3.2** iznosi 98,5 kJ/mol ($k_r = 0,1235 \text{ h}^{-1}$), što je u skladu s eksperimentalno određenim granicama za reakciju dehidracije (oko 100 kJ/mol, na 298,15 K). Struktura odgovarajućeg prijelaznog stanja **TS_{3.1b_3.2}** sadrži sedmeročlani prsten, u kojem molekula vode sudjeluje u kidanju C2-H veze usklađenom s kidanjem C7-O veze (Slika 10). Veza C7-O je neznatno produžena (1,49 Å) u usporedbi s istom vezom u **3.1b** (1,41 Å), što sugerira da se eliminacija vode odvija istovremeno s transferom vodikova atoma. Gustoća spina na migrirajućem vodikom tijekom reakcije je mala ($SD(H_{\text{migr}}) = 0,01$ u **TS_{3.1b_3.2}**), što sugerira izravni transfer spina prema dušikovom atomu u **3.1b** (0,73 au) odnosno prema ugljikovom C7 atomu (1,04 au) u **3.2**.

Pomoću IRC procedure iminski je radikal kation **3.2** (s dvije molekule vode) lociran kao produkt. To je distonični radikal u kojem je pozitivni naboj na imino skupini ($q(\text{C2}) = 0,39$), dok je spinska gustoća lokalizirana u ugljikovom centru C7 (1,04 au). Prema dobivenim je rezultatima, struktura **IV** (analogan radikal **3.2**, ali sa popunjenom ljuskom) predložena kao produkt dehidracije **2.1** (ili **2.2**). Njegova kemijska formula u protoniranom obliku C₁₂H₁₅FN odgovara eksperimentalnom signalu *m/z* 192, ali nije razmatran kao mogući produkt u studiji Kwona i Ambrusta.³²

Distonični radikal kation **3.2** stabilniji je za 14,8 kJ/mol od *N*-radikal kationa **3.1b**. Transferom vodika s C3-atoma na C7-atom može se pregraditi do enaminskog radikala **3.4**. U plinskoj fazi izračunata energijska barijera ΔG^\ddagger iznosi preko 220 kJ/mol, no reakcija postaje povoljnija ukoliko je posredovana molekulama vode. Struktura prijelaznog stanja **TS_{3.2_3.4}** za otapalom asistiranu 1,2 migraciju vodika za 91,7 kJ/mol je manje stabilna od iminskog radikala **3.2**, što ovu pregradnju čini kinetički relativno povoljnom. Dobiveni enaminski radikal **3.4**, prikazan u Shemi 2 s dvije rezonantne strukture, lociran je kao najstabilniji produkt pregradnje (102,3 kJ/mol stabilniji od **1b**). Karakteriziran je planarnim C6-N1-C2-C3 fragmentom u

kojem je spin raspodijeljen između N1 (0,40 au) i C3 (0,60 au) atoma. Enaminska struktura **3.4** je radikalski prekursor konačnog produkta **VI** prikazanog u Shemi 14.

Poznato je da imini i enamini u reakciji hidrolize stvaraju produkte sa slobodnom amino i aldehidnom skupinom.^{13,203,224} No, u slučaju imina **IV** i **V**, i enamina **VI**, nijedan od takvih produkata ne odgovara eksperimentalnom signalu iz masenog spektra.

4.3.4. Dehidracija C-radikal kationa i formiranje alkena

U reakcijama eliminacije metabolita paroksetina detektirana su dva alkenska produkta **VII** i **VIII** (Shema 14).^{30,225} Uz pomoć elektron-sprej ionizacijske masnene spektrometrije (ESI-MS), struktura **VII** je opisana i kao međuprodukt reakcije degradacije **2.1**.³² U potrazi za mogućim produktima dehidracije metabolita paroksetina potrebno je uključiti alkene **VII** i **VIII**, jer njihove strukture odgovaraju eksperimentalnom signalu (m/z 192). Najvjerojatniji put, koji predhodi formiranju **VII** i **VIII**, je dehidracija C-radikal kationa **3.5**. Radikal kation **3.5** je distonična forma N-radikala **3.1b** (naboj i spin prostorno su odvojeni u **3.5**), s tim da je C-radikal stabilniji za 59,0 kJ/mol od N-radikala. Nespareni spin u **3.5** lokaliziran je na C4 ugljikovom atomu (0,74 au) te djelomično delokaliziran prema *orto*-ugljkovim centrima C9 (0,22 au) i C11 (0,21 au) u aromatskom prstenu. C-radikal kation **3.5** nastaje 1,4-[N \leftrightarrow C]-H transferom iz N-radikal kationa **3.1b** preko prijelazne strukture **TS_{3.1b_3.5}**. U strukturi prijelaznog stanja molekula je vode vezana za migrirajući vodik (kompleks tipa H_{migr}...OH₂ na Slici 1). Analiza parcijalnog naboja (NPA vrijednosti) i distribucije spina na migrirajućem vodiku tijekom 1,4-[N \leftrightarrow C]-H ukazuje na stvaranje pozitivnog naboja ($q(\text{H}_{\text{migr}}) = 0,48 e$ u **TS_{3.1b_3.5}**) i nezatne gustoća spina na H_{migr} (0,02 au). Izračunata energijska barijera za intramolekulski pomak vodika iznosi 106,3 kJ/mol ($k_r = 5,33 \times 10^{-3} \text{ h}^{-1}$), odnosno 49,5 kJ/mol ($k_r = 0,4752 \text{ h}^{-1}$) s jednom eksplicitnom vodom u sustavu.

Struktura prijelaznog stanja **TS_{3.5_3.6}** (Slika 10), koja povezuje radikal kation **3.5** i alkenski produkt **3.6**, za 206,0 kJ/mol je nestabilnija o početnog radikal kationa **3.1b**, što ukazuje na visoku energijsku barijeru tog procesa. Daljnim transformacijama radikal kation **3.6** pregrađuje se u alkene **VII** ili **VIII**, od kojih je **VIII** stabilniji u termokemijskom smislu.²⁰⁸ U zaključku, izračunata energijska barijera za **3.5** \rightarrow **3.6**

premašuje izračunatu vrijednost od 100 kJ/mol, što ovaj proces dehidracije čini kinetički vrlo nepovoljnim.

4.3.5. Reakcije ciklodehidracije C-radikal kationa

Eliminacijom vode iz C-radikal kationa **3.5** mogu također nastati tročlani (**3.8**) ili četveročlani (**3.9**) prstenasti sustavi. U ciklodehidracijskoj reakciji **3.5** → **3.8**, istovremena eliminacija C7-hidroksilne grupe i protona s N1 pozicije rezultira formiranjem azabicikloheptanskog produkta **3.8**. Izračunata energijska barijera za ovu reakciju ciklopropaniranja, uz jednu eksplicitnu molekulu vode, iznosi 161,2 kJ/mol, što bitno niža energijska barijera u odnosu na barijeru formiranja alkenskog radikal kationa **3.6** (vidi gore). Radikal kationski produkt **3.8** potom može biti transformiran u konačni produkt **IX**, koji je ranije prikazan kao relevantna bioaktivna supstanca.^{226,227} Slični azabicikloheptanski derivati nedavno su dizajnirani kao snažni i selektivni inhibitori ponovne pohrane serotonina,^{228,229} a sama je hetrociklička skupina opisana kao važna u supstratima monoaminoksidaze.²³⁰

U reakciji ciklodehidracije **3.5** → **3.9** dolazi do eliminacije vode i formiranja azetidinskog prstena (Shema 15). Reakcije dehidracije i zatvaranja azetidinskog prstena pojavljuju se pri transformacijama mnogih farmaceutika koji u svojim strukturama sadrže aminoalkoholne fragmente, uključujući i paroksetinske analoge izvedene iz tropana.²³¹ Sličan mehanizam reakcije može se, dakle, odvijati i kod derivata paroksetina **2.1**. Izračunata energijska barijera za **3.5** → **3.9** je za 64,7 kJ/mol viša od odgovarajuće barijere za ciklodehidraciju **3.5** → **3.8**. Ovo je u skladu s ranijim studijama koje pokazuju da je energijska barijera za formiranje azetidinskog prstena u aminoalkoholima²³² ili aminoaldehydima²³³ vrlo visoka (do 200 kJ/mol).

4.3.6. Ciklodehidracija N-radikal kationa

Reakcije ciklizacije također su moguće preko C-radikal kationa **3.2**, koje se formalno odvijaju putem elektrofilnog napada radikala na aromatski prsten dajući triciklički radikal kation **3.7**. Tako nastaje distonični radikal u kojem je pozitivni naboj distribuiran preko imino skupine ($q(\text{C}2) = 0,40 e$), dok je gustoća spina delokalizirana preko ugljikovih centara C8 (0,41 au), C10 (0,44 au) te ugljika u aromatskom prstenu. Reakcije adicije radikala na aromatski prsten, termokemijski su,

uglavnom, nepovoljni procesi, no intramolekulska adicija radikala na benzenski prsten nedavno je opisana kod fibrata i to u kontekstu procesa degradacije u okolišu.²³⁴ Izračunata energijska barijera za proces **3.2** → **3.7** iznosi 87,7 kJ/mol ($k_r = 9,72 \text{ h}^{-1}$), što je u skladu s vrijednostima eksperimentalne energijske barijere. Odgovarajuće prijelazno stanje (58,6 kJ/mol), **TS_{3.2_3.7}** (Slika 10), karakterizirana je jednom imaginarnom frekvencijom ($544i \text{ cm}^{-1}$), koja odgovara procesu zatvaranja prstena. Izračunata udaljenost između C7 i C9 ugljikovih atoma u strukturi **TS_{3.2_3.7}** iznosi samo 2.1 Å. Distribucija gustoće spina pokazuje da je spin smješten na C7 ugljikovom atomu (0,63 au), ali delokaliziran i na ugljikove centre C8 (0,28 au), C9 (0,18 au), i C10 (0,27 au) u aromatskom prstenu. Izračunate energije reaktanta i produkta pokazuju da je reakcija **3.2** → **3.7** tek neznatno endergona. Međutim, ukupna reakcija može biti energijski povoljna ukoliko su barijere za daljnja pregrađivanja **3.7** niže i ukoliko je konačni produkt stabilniji od reaktanta **3.2**. Kako bi se radikal kation **3.7** pregradio u konačni produkt **III**, potrebna je rearomatizacija sustava i primanje jednog elektrona.

4.3.7. Stabilnost radikala nastalih pregrađivanjem *N*-radikal kationa

Svojstvo kemijske veze može se karakterizirati energijom (ΔH) koju je potrebno dovesti sustavu za kidanje te veze, tzv. energija disocijacije veze (BDE, bond dissociation energy).²³⁵ Od posebnog su značaja kidanja veza pri kojima stabilni radikali, kao i kidanja veza u samim radikalima.²³⁶ Za izračun BDE se koristi energija stabilnosti radikala (RSE, *radical stabilization energy*). Naime, RSE se definiše entalpijom reakcije u kojoj se, u odnosu na radikal referentne supstance (Ref \cdot), određuje relativna stabilnost i koja se računa pomoću izodemičkih reakcija prema izrazu (5):

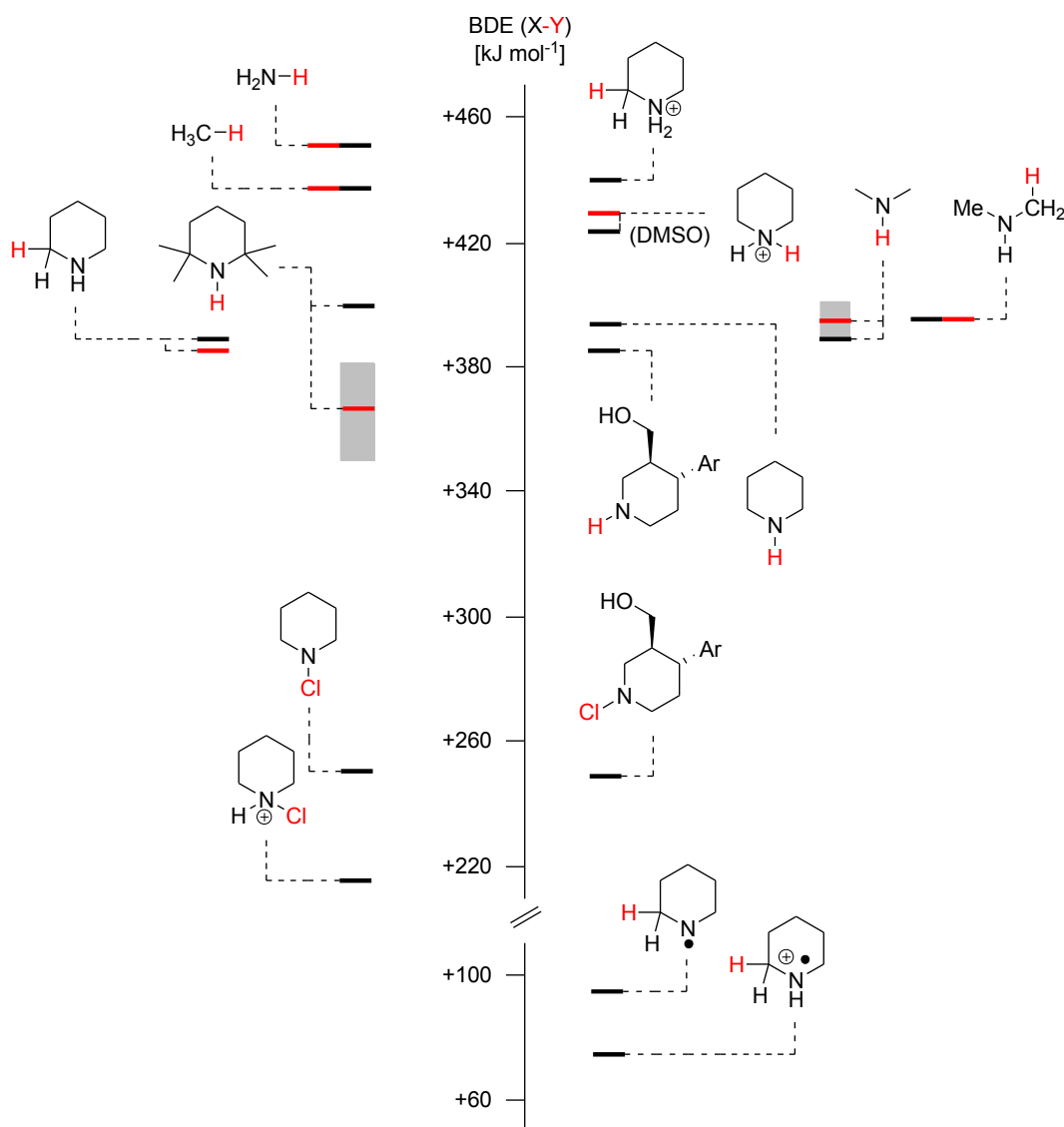


pri čemu je za kidanje N-H veze korišten amonijak kao referentna supstanca (X = NH₂, Y = H), za C-H vezu metan (X = CH₃, Y = H), za N-Cl vezu kloramin (X = NH₂, Y = Cl), dok se pucanje C-H veze u radikalima (Y = H) uspoređivalo s N-metilmetaniminom (CH₂=N-CH₃).

Iz poznatih eksperimentalnih vrijednosti za BDE referentnih supstanci, izračuna se BDE promatranih sustava pomoću formule (6):

$$\text{BDE}(X-Y) = \text{BDE}(\text{Ref}) + \text{RSE}(X-Y) \quad (6)$$

Na Slici 11 prikazani su različiti piperidinski sustavi te usporedba eksperimentalnih i teorijskih BDE vrijednosti.^{157,237}



Slika 11. Energije homolitičkog cijepanja veze (BDE) za odabrane molekule. Crne crte označavaju izračunate vrijednosti, dok crvene crte i sive vrpce označavaju eksperimentalne brojke i raspon eksperimentalne pogreške. Prilagođeno iz ref. 237.

N-radikali piperidina lakše nastaju iz kloraminskih derivata, nego iz piperidina (razlika iznosi preko 150 kJ/mol). To je u skladu s eksperimentalnim podacima koji pokazuju da *N*-radikal nastaje fotolitičkom reakcijom iz *N*-kloriranih derivata, odnosno homolizom N-Cl veze. Također se uočava promjena u jačini veze C_α-H, kada je uz njega *N*-radikal; disocijacija u neutralnom i nabijenom sustavu bez *N*-radikala je u rasponu od 380-450 kJ/mol, za razliku od disocijaciju C_α-H iz *N*-radikala koji iznosi oko 100 kJ/mol.

4.3.8. Pregled mehanizma pregrađivanja paroksetina

U ovom se radu uspoređuju energije i barijere reakcija za nekoliko dehidratacijskih procesa koji su mogući u radikalnim kationima koji nastaju fotolizom metabolita paroksetina **2.1** (ili **2.2**). Vrijednost barijere od 100 kJ/mol (pri 298,15 K) određena je eksperimentalnim mjerenjima u kojima je paroksetin izložen simuliranom sunčevom svjetlu te je spektroskopski određena konstanta brzine fotodegradacije ($k_r = 0,0529 \text{ h}^{-1}$).³² Rezultati odgovaraju poluvremenu reakcije $t_{1/2} = 13,1 \text{ h}$, što ukazuje da metabolit paroksetina nije otporan na fotolizu u vodi (pri pH = 7). Međutim, fotoprodukt je stabilan pod uvjetima fotolize te je zbog toga objašnjenje mehanizma njegova formiranja od velike važnosti za procjenu kemijske sudbine u okolišu. Svi reakcijski putovi za koje izračunata energijska barijera značajno premašuje granicu postavljenu eksperimentalnim podacima, arhivirani su u Dodatnim informacijama. Samo su *N*-radikal kation **3.1b** i njegov distonični oblik **3.5** razmatrani kao važni reakcijski intermedijeri. *N*-radikal kation **3.1b** je slobodni radikal formiran iz metabolita paroksetina **2.1** (ili **2.2**), dok je *C*-radikal kation **3.5** najstabilniji distonički izomer. Radikali **3.1b** i **3.5** međusobno su povezani preko strukture TS_{3.1b_3.5} koja predstavlja prijelazno stanje za odgovarajuću 1,4 migraciju vodika ($\Delta G^\ddagger = 49,5 \text{ kJ/mol}$; $k_r = 0,4752 \text{ h}^{-1}$). Dvije se različite pregradnje mogu razlikovati u radikalnom kationu **3.1b** (Shema 15): eliminacija vode koja rezultira formacijom imina i enamina **3.4** (i), i ciklizacija imina **3.2** pri čemu nastaje struktura **3.7** (iv). Također, radikal kation **3.5** može također sudjelovati u reakcijama dehidratacije: eliminaciji vode koja rezultira formiranjem alkena **3.6** (ii), i ciklodehidrataciji u kojoj se formiraju biciklički spojevi **3.8** i **3.9** (iii).

Eliminacija vode iz radikala **3.1b** najvažniji je reakcijski put ($\Delta G^\ddagger = 98,5 \text{ kJ/mol}$; $k_r = 0,1235 \text{ h}^{-1}$) pri čemu nastaje iminski radikal kation **3.2**. Naknadnim transformacijama radikal kationa **3.2** može nastati enamin **3.4** (najstabilniji

intermedijer lociran na PES-u) ili radikal kation **3.7**. Ciklička struktura **3.7** je radikalski prekursor konačnog produkta **III** koji je ranije predložen kao mogući fotoprodukt degradacije paroksetina u vodi.³² Suprotno tome, konačni produkt enamin **VI**, izveden iz radikalskog intermedijera **3.4**, nije razmatran kao mogući fotoprodukt. U ovom je istraživanju pokazano da je u oba slučaja, iminski radikal **3.2** ključni intermedijer u formiranju fotoprodukata **III** i **VI**.

Razmatrana su i dva mehanizma ciklodehidracije (*iii*): usklađeni proces u kojem se ciklopropanski prsten zatvara istovremeno s eliminacijom vode (**3.5** → **3.8**) te mehanizam u kojem se nakon eliminacije vode formira četveročlani azetidinski prsten (**3.5** → **3.9**). Izračunata energijska barijera za obje reakcije je relativno visoka, pri čemu je **3.5** → **3.8** povoljniji proces.

Proces dehidracije (*ii*), pri kojem nastaje alkeniski radikal **3.6**, znatno premašuje eksperimentalnu barijeru od 100 kJ/mol. Iako je eksperimentalno potvrđeno formiranje alkeniskih produkata **VII** i **VIII** iz metabolita paroksetina,^{208,226} te se reakcije vrlo vjerojatno događaju bez posredstva slobodnih radikala i u znatno drukčijim reakcijskim uvjetima.

Izračunate energijske barijere za sve reakcije dehidracije, koje započinju iz radikalskog međuprodukta **3.5**, prilično su visoke. Konačni produkti **VII**, **VIII**, **IX** i **X**, koji mogu nastati u tim dehidracijskim procesima, prema tome, nisu vjerojatni kandidati kojima se mogu objasniti eksperimentalni rezultati. Međutim, ti produkti mogu biti važni u razumijevanju kemijske sudbine u okolišu onih spojeva koji su strukturno analogni paroksetinu (to jest sadrže fenilno-piperidinsku i/ili aminoalkoholnu skupinu). Poznato je da je proces dehidracije važan za metaboličku i okolišnu sudbinu skupine farmaceutika i drugih bioloških relevantnih spojeva, koji sadrže aminoalkoholne skupine ($R_2N(CH_2)_nOH$, gdje je $n = 2-4$). Na primjer, za haloperidol, lijek koji se široko koristi kod neuropsihijatrijskih poremećaja, pokazano je da je prvi reakcijski korak u bioaktivaciji upravo reakcija dehidracije.²¹⁰ Slično vrijedi i u elektrokemijskoj oksidaciji haloperidola.²¹² Dehidracijski mehanizam važan je i u transformaciji selektivnih inhibitor serinskih proteaza²¹¹ i stimulansa centralnog živčanog sustava pipradola.²¹³

Prema tome, kvantno kemijski modeli primjenjeni su u istraživanju mogućih produkata radikalima posredovane fotodegradacije paroksetina. Locirano je nekoliko struktura koje ranije nisu razmatrane te je opisan detaljni mehanizam reakcija nastajanja tih struktura. Na temelju usporedbe kvantno-kemijskih rezultata s

dostupnim eksperimentalnim podacima, mogu se predložiti strukture **III**, **IV**, **V** i **VI** (Shema 14) kao vjerojatni fotoproducti transformacije paroksetina u vodenom okolišu.

4.4. Kloriranje amida s hipoklorastom kiselinom

4.4.1. Uvod

U reakcijama klorirajućih specija (HOCl ili Cl_2) s amidima nastaju *N*-kloramidi, koji predstavljaju važne intermedijere u kemiji okoliša i biokemiji. Oni imaju važnu ulogu u ekološkoj sudbini farmaceutika,²³⁸ te u oksidacijskim procesima u biološkim sustavima.^{170,239} Također, *N*-kloramidi kao dio polimernih struktura, kao što su poliakrilamid i poliuretan, koriste se kao učinkoviti biocidi.²⁴⁰

Za razliku od amina koji brzo reagiraju s klorirajućim agensima (vidi poglavlje 4.1.),^{130,166} amidi su otporniji prema procesu *N*-kloriranja. Neki autori tvrde da se amidi ne mogu klorirati u razrijeđenim otopinama,²⁴¹⁻²⁴³ no postoje eksperimentalni podaci koji pokazuju da hipoklorasta kiselina reagira s amidima.^{244,245} Reakcijski mehanizam je nepoznat, a uloga amidnog dušika u kloriranju još je uvijek predmet znanstvene kontroverzije.²⁴⁶

S namjerom da rasvijetli reakcijski mehanizam formiranja *N*-kloramida, razmatrana su tri različita mehanizma kloriranja amida hipoklorastom kiselinom. *N*-metilacetamid (NMA) je izabran kao modelni amid iz više razloga. NMA je najjednostavniji molekularni model peptidne veze u proteinima te je kao takav bio predmetom brojnih eksperimentalnih²⁴⁷ i teorijskih istraživanja.^{248,249} Također, NMA može poslužiti kao prikladan model za istraživanje mehanizma kloriranja amida u biokemiji i u kemiji okoliša. Od posebne važnosti su reakcije hipokloraste kiseline s aminokiselinama, peptidima i proteinima u fiziološkim uvjetima,^{250,251} te *N*-kloriranje farmaceutika, koji sadrže amidnu skupinu, pri obradi otpadnih voda.^{10,47,164} Struktura *N*-metilacetamida je prikladna za provedbu kvantno-kemijskih izračuna na visokim teorijskim razinama, a dostupni kinetički podaci^{46,252,253} o kloriranju NMA omogućuju usporedbu eksperimentalnih podataka s računalno dobivenim rezultatima.

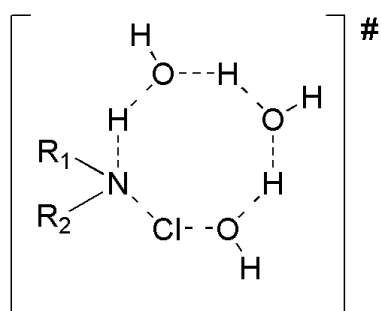
U namjeri da se proširi spektar relevantnih reakcija *N*-kloriranja, u ovu studiju uključeno je i pet modelnih amida (vidi Tablicu 9) te nekoliko psihofarmaka koji sadrže amidnu skupinu (vidi dolje). Kvantno-kemijski pristup, korišten u ovom radu, adekvatno prikazuje mehanističke detalje kloriranja niza farmaceutski važnih amida.

4.4.2. Kloriranje *N*-metilacetamida

Dvije studije opisuju kinetiku kloriranja NMA u vodi, ali mehanistički detalji nisu dostupni.^{46,253} Eksperimentalno određene konstante brzine reakcije, 0,0017 i 0,0067 M⁻¹s⁻¹, odgovaraju energijskoj barijeri ($\Delta G_{298}^{\#}$) od 85 odnosno 89 kJ/mol. U kvantno-kemijskom proučavanju mehanizma kloriranja NMA, sve istraživane reakcije čije energijske barijere premašuju vrijednost od 100 kJ/mol smatraju se kinetički nepovoljnima i kao takve nisu relevantne za mehanizam kloriranja NMA.

N-kloriranje amidne forme

Za ispravan opis mehanizma kloriranja amina hipoklorastom kiselinom, potrebno je u solvacijskom modelu uključiti bar tri eksplicitne molekule vode (vidi poglavlje 4.1).^{127,128,254,255} *N*-kloriranje amina mehanistički se odvija preko cikličkog prijelaznog stanja (Shema 16) u kojoj molekule vode sudjeluju u usklađenom procesu (istovremeni transfer protona i formiranje N-Cl veze).

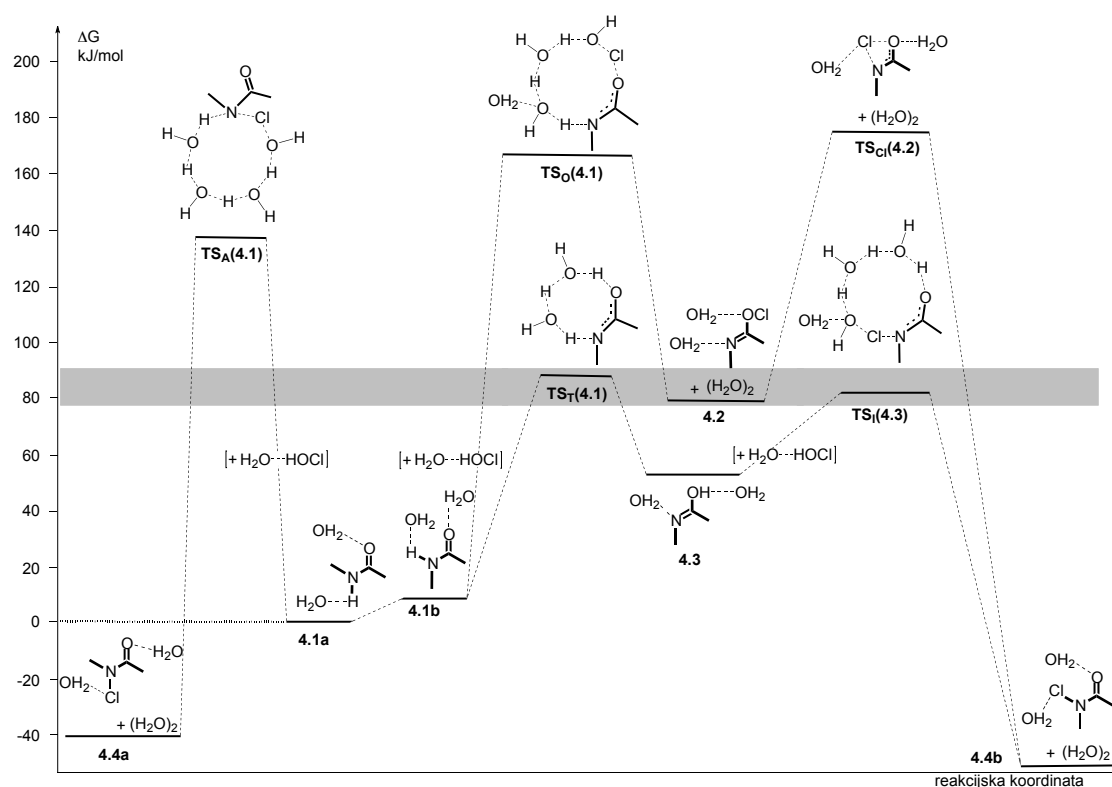


Shema 16. Cikličko prijelazno stanje za *N*-kloriranje amina (R₁R₂NH) s hipoklorastom kiselinom uz asistenciju dvije eksplicitne molekule vode.

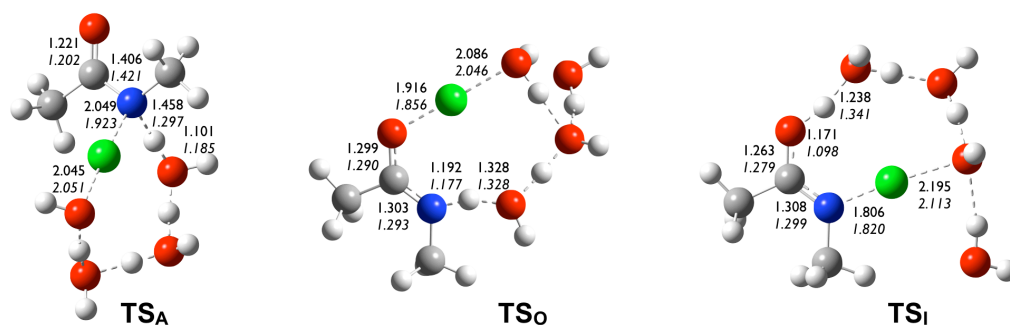
U slučaju NMA, izračunata Gibbsova energijska barijera za kloriranje amidne skupine iznosi 247,1 kJ/mol. Prijelazno stanje za taj proces (bez eksplicitno dodanih molekula voda) opisuje struktura s cikličkim rasporedom prikazana na Slici 12. Izračunata vrijednost za ovaj proces ne odgovara eksperimentalno dobivenoj barijeri od 87 kJ/mol. Ukoliko se uključe eksplicitne molekule vode u izračune prijelaznog stanja, barijera reakcije iznosi 244,0 kJ/mol (jedna eksplicitna voda), 153,3 kJ/mol (dvije eksplicitne vode) i 137,8 kJ/mol (tri eksplicitne vode). Formiranje konačnog produkta *N*-klor-*N*-metilacetamida (**4.4a**, Shema 2) je egzergoni proces ($\Delta G_r = -40$ kJ/mol). Prijelazna struktura TS_A(**4.4**) (Slika 1) za ovu reakciju karakterizirana je

jednom imaginarnom frekvencijom ($808i\text{ cm}^{-1}$) koja opisuje usklađeno formiranje N-Cl veze i vodom asistiranu migraciju protona unutar cikličke strukture. Uzete su u obzir različite konfiguracije koje uključuju tri molekule vode u strukturi prijelaznog stanja (vidi Dodatne informacije). Energijska barijera od 137,8 kJ/mol odgovara konstanti brzine od $k_r \approx 10^{-10}\text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$, što je nekoliko redova veličine sporije od eksperimentalno određene konstante brzine. Slijedi da reakcijski mehanizam *N*-kloriranja amina (prikazan u poglavlju 4.1) nije relevantan za opis analognog mehanizma *N*-kloriranja amida.

Kako bi se odredio prikladan mehanizam koji bi bio u skladu s eksperimentalnim podacima, razmatrana su dva dodatna reakcijska puta kloriranja: prvi, u kojem prvo dolazi do kloriranja karbonilnog kisika, nakon čega slijedi intramolekulski transfer klora s O na N atom te drugi, u kojem reakciji *N*-kloriranja NMA prethodi proces tautomerizacije amidne u iminolnu formu NMA.



Shema 17. Shematski energijski profil ($G3B3 + \Delta G_{\text{solv}}$) za tri moguća mehanizma kloriranja NMA. Energija *trans*-NMA (**4.1a**) i HOCl-a u kompleksu s jednom molekulom vode postavljena je kao nulta točka na PES-u (isprekidana linija). Siva vrpca označava eksperimentalnu barijeru za *N*-kloriranje NMA (uzevši u obzir eksperimentalnu pogrešku od $\pm 5\text{ kJ/mol}$).



Slika 12. Strukture prijelaznih stanja, optimizirane na B3LYP/6-31G(d) razini, za *N*- i *O*-kloriranje NMA (**TS_A** i **TS_O**) te *N*-kloriranje iminolne forme (**TS_I**). Duljine veze u angstromima (M06-2X/6-311+G(2d,p) vrijednosti u kurzivu).

Tablica 8. Relativna Gibbsova slobodna energija (ΔG_{298} ; u kJ/mol) reaktanata,^a intermedijera, produkata te struktura prijelaznih stanja uključenih u *N*-kloriranje NMA, izračunatih na različitim teorijskim razinama u vodi kao modelnom otapalu.^b Razmatrana su tri različita reakcijska puta: *N*-kloriranje NMA u jednom koraku (**4.1a** → **TS_A(4.1)** → **4.4a**), tautomerizacija NMA koju slijedi *N*-kloriranje iminolne forme (**4.1a** → **TS_I(4.1)** → **4.3** → **TS_I(4.3)** → **4.4b**) te *O*-kloriranje NMA kojeg slijedi intramolekulski transfer klora (**4.1a** → **TS_O(4.1)** → **4.2** → **TS_{Cl}(4.2)** → **4.4b**).^c

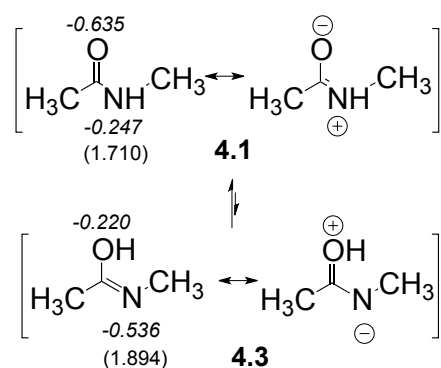
	B3LYP ^d	BMK ^e	M06-2X ^f	B2-PLYPD ^g //	B2K-PLYP ^h //	G3B3
				B3LYP	B3LYP	
4.1a + HOCl(H ₂ O)	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
4.1b + HOCl(H ₂ O)	5,8	5,0	2,6	0,3	5,8	6,8
4.2 + (H ₂ O) ₂	88,4	76,5	69,8	82,1	74,4	74,8
4.3 + HOCl(H ₂ O)	54,3	56,5	45,1	49,2	57,4	53,2
4.4a + (H ₂ O) ₂	-23,7	-53,5	-42,9	-34,2	-39,4	-43,3
4.4b + (H ₂ O) ₂	-9,0	-52,2	-53,5	-40,4	-47,5	-50,8
TS_A(4.1)	118,6	158,0	124,9	123,4	141,5	137,8
TS_I(4.1) + HOCl(H ₂ O)	72,7	88,4	66,0	71,0	86,3	87,3
TS_I(4.3)	84,8	96,0	85,1	71,8	82,9	84,1
TS_O(4.1)	132,2	173,6	145,1	148,1	180,4	166,6
TS_{Cl}(4.2) + (H ₂ O) ₂	188,6	192,1	197,2	177,5	166,3	169,5

^a Gibbsova slobodna energija reaktanata (**4.1a** u kompleksu s dvije molekule vode i HOCl u kompleksu s jednom molekulom vode) postavljena je kao nulta točka na PES-u. ^b CPCM/UFF//B3LYP/6-31G(d) model ($\epsilon = 78,4$). ^c Eksperimentalna barijera ($\Delta G_{298}^{\#} = 87 \pm 5$ kJ/mol) za **4.1** → **4.4** iz referenci **Error! Bookmark not defined.** i **Error! Bookmark not defined.** ^d B3LYP/6-31G(d) metoda. ^e BMK/6-311+G(3df,3pd)//BMK/6-311+G(2d,p) metoda. ^f M06-2X/6-311+G(3df,3pd)//M06-2X/6-311+G(2d,p) metoda. ^g B2PLYP-D/AUG-cc-pVTZ//B3LYP/6-31G(d) metoda. ^h B2K-PLYP/6-311+G(3df,2p)//B3LYP/6-31G(d) metoda.

***O*-kloriranje amidne forme.**

Reakcija *O*-kloriranja amidne forme prikazana je u nekoliko ranijih studija.²⁵⁶⁻²⁶⁰ Pretpostavka je da kloriranje započinje nukleofilnim napadom karbonilnog kisika na klorirajući agens (HOCl or Cl₂), pri čemu nastaje *O*-klorirani intermedijer. Slijedi intramolekulski Cl⁺ pomak prilikom kojeg se kloronijev ion premješta na amidni dušik. Analogni je mehanizam predložen je za sličan niz reakcija, na primjer, za nitrozaciju amida koja uključuje izravnu adiciju NO⁺ na karbonilni kisik nakon koje slijedi intramolekulski pomak nitrozo skupine na amidni dušikov atom.²⁶¹⁻²⁶³

Početni korak *O*-kloriranja je u skladu s većom bazičnošću karbonilnog kisika u usporedbi s amidnim dušikom. Slobodni elektronski par na amidnom dušiku delokaliziran je preko N-C-O skupine (Shema 18), zbog čega je smanjena nukleofilnost amidnog dušika. No, otkriveno je da je reakcija *O*-kloriranja NMA (**4.1a** → **TS_O(4.1)** → **4.2**) energijski manje povoljan proces od izravnog *N*-kloriranja (**4.1a** → **TS_A(4.1)** → **4.4a**) (Shema 17). Izračunata energijska barijera za proces *O*-kloriranja, asistirana s tri eksplicitno dodane molekule vode, iznosi 166,6 kJ/mol, dok odgovarajuća barijera za *N*-kloriranje iznosi 137,8 kJ/mol. Reakcijski korak u kojem nastaje *O*-klorirani produkt **4.2** termodinamički je nepovoljan; produkt **4.2**(H₂O)₂ je 74,8 kJ/mol manje stabilan od početnih reaktanata. U sljedećem reakcijskom koraku dolazi do intramolekulske O → N migracije klora, preko prijelaznog stanja **TS_{Cl}(4.2)** te nastaje konačni produkt **4.4b**. Izračunata energijska barijera za intramolekulski 1,3-transfer kloronijevog iona (**4.2** → **TS_{Cl}(4.2)** → **4.4b**) veća je od barijere za početni korak *O*-kloriranja (**4.1a** → **TS_O(4.1)** → **4.2**) (vidi Tablicu 8). Visoka energijska barijera za taj proces tumači se pravilom očuvanja orbitalne simetrije, zbog kojeg je proces 1,3-transfera izrazito nepovoljan.^{264,265} Poznato je da se intramolekulski transfer kloronijevog iona otežano odvija kod kloriranih dipeptida.^{266,267}



Shema 18. Prikaz rezonantnih struktura amidne (**4.1**) i iminolne (**4.3**) forme NMA. NBO vrijednosti za slobodni elektronski par na N atomu (u zagradama) i NBO vrijednosti za naboj na N i O atomima (u kurzivu) izračunate su na B3LYP/6-31G(d) razini.

***N*-kloriranje iminolne forme**

S obzirom na visoke vrijednosti energijskih barijera, proizlazi da su *N*-kloriranje **4.1a** → **TS_A(4.1)** → **4.4a** i posebno *O*-kloriranje **4.1a** → **TS_O(4.1)** → **4.2** → **TS_C(4.2)** → **4.4b**, neprikladni reakcijski putovi za opisivanje mehanizma kloriranja NMA. Zbog toga je razmotrena treća mehanistička mogućnost, tj. *N*-kloriranje iminolne forme NMA (**4.1a** → **TS_T(4.1)** → **4.3** → **TS_I(4.3)** → **4.4b**). U iminolnoj formi NMA povećana je nukleofilnost atoma dušika (vidi Shemu 18), čime reakcija *N*-kloriranja postaje povoljniji proces.

Poznato je da je tautomerizacija proces kojeg kataliziraju molekule vode. Pokazano je da dvije dodatne eksplicitne vode značajno snizuju energijsku barijeru izomerizacije.²⁶⁸ U skladu s ranijim studijama na formamidu locirano je prijelazno stanje **TS_T** u kojem je intramolekulski transfer protona N → O ubrzan katalitičkim djelovanjem dviju molekula vode. Struktura **TS_T** karakterizirana je imaginarnom frekvencijom (1390i cm⁻¹) koja odgovara migraciji protona s N na O atom uz asistenciju molekula vode. Izračunata barijera (ΔG_{298}^\ddagger) iznosi 87,3 kJ/mol što je u skladu s eksperimentalnim rezultatima.

Iminolna forma **4.3** je 53.2 kJ/mol manje stabilna od amidne forme **4.1a**, ali je reaktivnija. Nukleofilnost iminolnog dušikova atoma je veća, kao što je opisano odgovarajućim rezonantnim strukturama (Shema 18). NBO analiza dodatno potvrđuje veću nukleofilnost dušikovog atoma u iminolnoj formi. Popunjenost dviju prirodnih orbitala sa slobodnim elektronskim parom na dušiku (LP_N) i naboj dušikovog atoma (Q_N) u iminolnoj formi veći su ($\Delta LP_N = 0,184$; $\Delta Q_N = -0,289$ au) u odnosu na

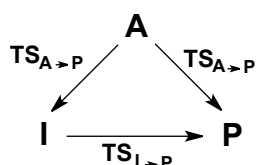
amidnu formu, što ukazuje na veću nukleofilnost iminola. Dobiveni rezultati su u skladu s ranijim teorijskim rezultatima koji sugeriraju da bromiranje uracila²⁶⁹ (s HOBr) i kloriranje imidazolidinona²⁷⁰ (s HOCl) također uključuju iminolne intermedijere.

Proces transfera klora s HOCl-a na iminol potpomognut je eksplicitno dodanim molekulama vode. Najpovoljnija konfiguracija voda u stukturi prijelaznog stanja TS_I (Slika 12.) uključuje molekulu HOCl i dvije molekule vode u cikličkom rasporedu te jednu molekulu vode koja se ponaša kao donor vodikove veze kisikovom atomu u HOCl. Struktura TS_I je 30,9 kJ/mol manje stabilna od strukture iminola **4.3**, što odgovara energijskoj barijeri od 84,1 kJ/mol (u odnosu na početne reaktante). Reakcijski korak *N*-kloriranja iminola ima nižu barijeru od procesa **4.1a** \rightarrow **4.3**, što znači da je tautomerizacija korak koji određuje ukupnu brzinu reakcije. U oba su slučaja (**4.1a** \rightarrow **4.3** i **4.3** \rightarrow **4.4b**) izračunate energijske barijere u skladu s eksperimentalnim podacima.

Prema tome, *N*-kloriranje iminola **4.3** povoljnije je od *N*-kloriranje amida **4.1a** za 50 kJ/mol. Reakcija *N*-kloriranja amida **4.1a** preko *O*-kloriranog intermedijera **4.2** najmanje je povoljan proces. Slijedi da je tautomerizacija amida u nukleofilniju iminolnu formu preduvjet za *N*-kloriranje NMA.

4.4.3. *N*-kloriranje modelnih amida

Osim za NMA, izračunate su energijske barijere za *N*-kloriranje niza modelnih amida (Tablica 9). Razmatrana su dva mehanizma (Shema 19): izravno *N*-kloriranje amidne forme (**A** \rightarrow **P**) te tautomerizacija amida koju slijedi *N*-kloriranje iminolne forme (**A** \rightarrow **I** \rightarrow **P**). Svi izračuni izvedeni su koristeći G3B3 kompozitni model i B2K-PLYP/6-311+G(3df,2p)//B3LYP/6-31G(d) metodu za koju je pokazano da reproducira podatke dobivene G3B3 modelom (vidi Tablicu 1.).



Shema 19. Dva reakcijska puta formiranja *N*-kloramida (**P**): izravno *N*-kloriranje amida **A** preko $TS_{A \rightarrow P}$ te tautomerizacija $TS_{A \rightarrow I}$ koju slijedi *N*-kloriranje iminola **I** preko $TS_{I \rightarrow P}$.

Tablica 9. Relativne Gibbsove energije (ΔG_{298} ; u kJ/mol) reaktanata,^a intermedijera, produkata, i struktura prijelaznog stanja uključenih u *N*-kloriranje odabranih amida, izračunate koristeći G3B3 model i B2K-PLYP/6-311+G(3df,2p)//B3LYP/6-31G(d) metodu (u kurzivu) u vodi kao modelnom otapalu.^b Razmatrana je tautomerizacija (**A** → **I**) i dva različita mehanizma kloriranja: *N*-kloriranje amidne forme (**A** → **P**) i *N*-kloriranje iminolne forme (**I** → **P**).

Struktura		Amid			Iminol			$\Delta G_{298}^{\#}$ eksp.
		A	I	P	TS_{A→I}	TS_{A→P}	TS_{I→P}	
	4.5	0,0	58,4	-49,8	85.5	149,9	87,9	83.2 ^c
		<i>0,0</i>	<i>50,8</i>	<i>-51.4</i>	<i>84.8</i>	<i>152.9</i>	<i>80,5</i>	
	4.6	0,0	61.0	-35.2	97,7	144.5	92.2	83.1 ^d
		<i>0,0</i>	<i>64.5</i>	<i>-37,6</i>	<i>95.8</i>	<i>146,5</i>	<i>90,8</i>	
	4.7	0,0	48,0	-60,1	82.3	129,0	87,2	80,4 ^d
		<i>0,0</i>	<i>52.7</i>	<i>-61.8</i>	<i>82.4</i>	<i>134.0</i>	<i>92.1</i>	
	4.8	0,0	46,0	-49,1	81.2	158,6	93.1	-
		<i>0,0</i>	<i>51.0</i>	<i>-41.0</i>	<i>81.2</i>	<i>145.4</i>	<i>96,9</i>	
	4.9	0,0	9,5 ^e	-34.0	61.7	166,9	73.0	-
		<i>0,0</i>	<i>11.0</i>	<i>-34.3</i>	<i>58,8</i>	<i>171.9</i>	<i>70,9</i>	

^a ΔG_{298} reaktanata (amid u kompleksu s dvije molekule vode i HOCl u kompleksu s jednom molekulom) postavljena kao nulta točka na PES-u. ^b CPCM/UFF//B3LYP/6-31G(d) model. ^c Eksperimentalna vrijednost iz ref. 271 ^d Eksperimentalna vrijednost iz ref. 253 ^e Eksperimentalna vrijednost ($\Delta G_{298} = 16,8$ kJ/mol) iz ref. 272

U svim slučajevima, energijska barijera *N*-kloriranja iminola je niža (40 – 100 kJ/mol) od barijere za izravno *N*-kloriranje amidne forme. Izračunati podaci pokazuju da svi amidi istraživani u ovoj studiji slijede isti mehanizam kloriranja, u kojem je ključni korak formiranje iminolne forme. Ovi podaci upućuju na zaključak da je reakcija tautomerizacije (**A** → **I**), koju slijedi *N*-kloriranje iminolnog intermedijera (**I** → **P**), opći mehanizam za *N*-kloriranje amida.

4.4.4. Kloriranje psihofarmaka s amidnom skupinom

U opisu mehanizma za *N*-kloriranje psihofarmaka s amidnom skupinom, izabrane su tri skupine lijekova: dibenzazepini (antikonvulzivi i stabilizatori raspoloženja iz skupine a, npr. karbamazepin), barbiturati (hipnotici iz skupine barbiturata), i hidantoini (antiepileptici). Spoznaje o mehanizmima kloriranja NMA, korisne su za dizajn istraživanja analognih reakcija na odabranim psihofarmacima. Razmatrani su samo oni reakcijski putevi koji su, na primjeru modelnih amida, bili kinetički i termodinamički povoljni: izravno *N*-kloriranje amidne skupine i *N*-kloriranje iminolne forme.

Zbog veličine istraživanih molekulskih struktura, G3B3 kompozitni model nije prikladan (iz praktičnih razloga), no B2K-PLYP metoda dobro odgovara zahtjevima učinkovitosti i točnosti (vidi Poglavlje kloriranja amida).

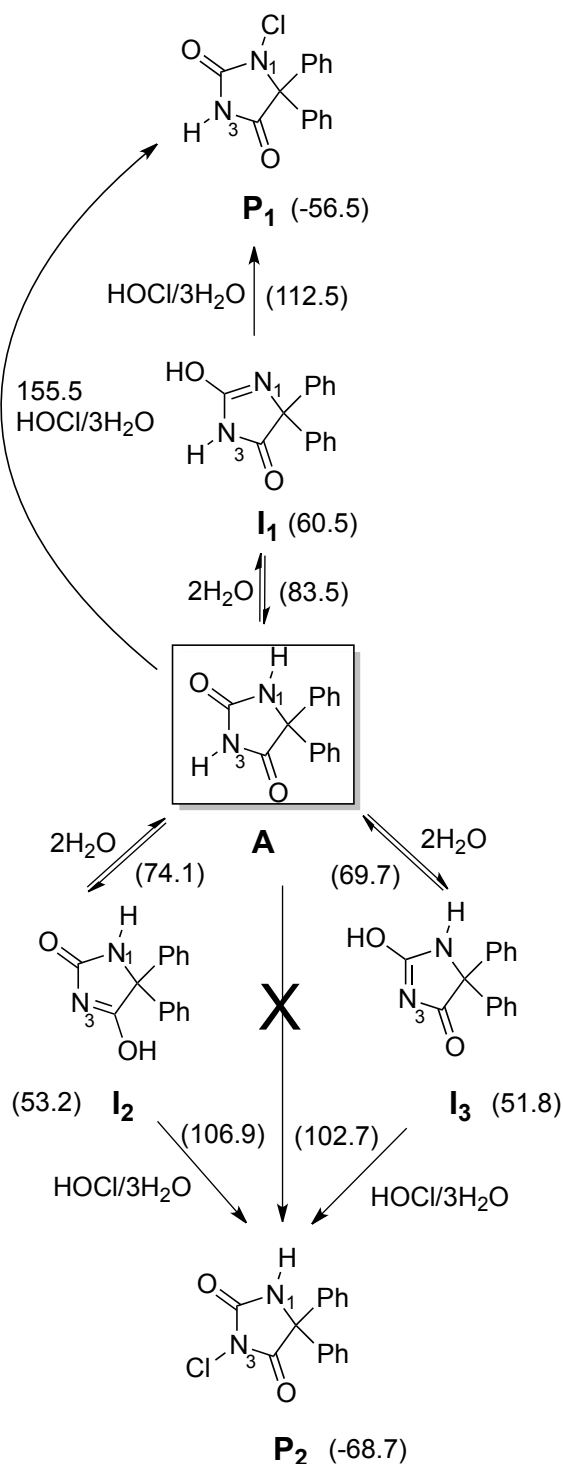
Hidantoini

Hidantoin, odnosno glikolilurea, organski je spoj koji sadrži heterociklički prsten i pripravlja se reakcijom glikolične kiseline i uree. Predstavlja oksidiranu formu imidazolidina. Prvi ga je izolirao Alexander von Baeyer koji je promatrao hidrogenaciju alantoina po čemu je spoj dobio ime. Danas se hidantoin pripravlja kondenzacijom cijanohidrina s amonijevim karbonatom. Hidantoina skupina dio je mnogih farmakološki aktivnih supstanci, ali i nekih pesticida poput imiprotrina ili fungicida iprodiona. Međutim, izraz hidantoini u farmaceutskoj se kemiji uglavnom odnosi na skupinu antikonvulziva, derivata hidantoina, u kojoj se nalaze fenitoin, mefenitoin, fosefenitoin i etotoin.

Fenitoin (**D**) pripada skupini antikonvulziva, derivata hidantoina. Koristi se za kontrolu toničko-kloničkih (*grand mal*) i parcijalnih napadaja (fokalnih) s jednostavnom ili kompliciranom simptomatologijom. Također se koristi za prevenciju i liječenje napadaja koji se mogu javiti tijekom ili nakon neurokirurških operativnih zahvata ili nakon težih povreda glave. Osim za tretman epilepsije, upotrebljava se i za liječenje neuralgije trigeminus kao drugi lijek izbora ukoliko je karbamazepin nedjelotvoran.

Pokazano je da oba dušikova atoma N_1 i N_3 (Shema 20) u fenitoinu mogu biti klorirana hipoklorastom kiselinom,²⁷³ ali nije poznato koji je dušikov atom nukleofilniji, odnosno koji brže reagira s HOCl. Postoje dokazi da u reakciji

kloriranja 5,5-dialkilhidantoina najprije reagira N₃ položaj, a tek nakon toga N₁ položaj pri čemu nastaje diklorirani produkt.²⁷⁴

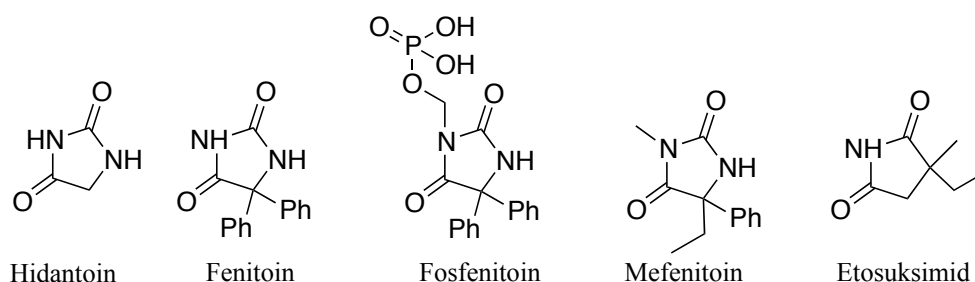


Shema 20. Kloriranje N₁ i N₃ položaja u iminolnoj formi antiepileptika fenitoina. Relativne energije (ΔG_{298} ; u kJ/mol; u zagradama) za svaku speciju izračunate su na B2K-PLYP/6-311+G(3df,2p)//B3LYP/6-31g(d) teorijskoj razini u vodi kao implicitnom otapalu.

Tablica 10. Odabrane strukture hidantoina.

Farmaceutska supstanca		Amid	Iminol	<i>N</i> -kloramid	$TS_{A \rightarrow I}$	$TS_{A \rightarrow P}$	$TS_{I \rightarrow P}$
		A	I	P			
Hidantoin	4.10	0,0	38,9	-38,8	47,2		118,2
Fenitoin	D	0,0 ^a	51,8	-68,7	69,7	155,5 ^b	102,7
Fosfenitoin	4.11	0,0	51,2	-3,4	52,1		119,9
Mefenitoin	4.12	0,0	42,9	-4,6	57,2		115,7
Etosuksimid	4.13	0,0	43,9	-20,6	56,7		101,2

^aRazmatran je reakcijski put $A \rightarrow I_3 \rightarrow P_2$ (vidi Shemu 20.). ^bEnergijska barijera za proces N_1 -kloriranja.

**Slika 13.** Derivati odabranih hidantoina u reakcijama kloriranja

Kao i u slučaju *N*-kloriranja NMA, reakcijski mehanizam *N*-kloriranja fenitoina nužno uključuje iminolni intermedijer. Energijska barijera za *N*-kloriranje iminolne forme je za 50 kJ/mol niža od barijere za izravno N_1 -kloriranje amidne forme (Shema 20 i Tablica 10), što je za više od osam redova veličine razlika u konstanti brzine reakcije. Tijekom pokušaja optimizacije strukture prijelaznog stanja za N_3 -kloriranje u amidnoj formi fenitoina, dolazi do pomaka protona uslijed kojeg nastaje iminolni oblik. Do istog pregrađivanja (tautomerizacije) dolazi tijekom geometrijske optimizacije strukture prijelaznog stanja za *N*-kloriranje imidazolidina.²⁷⁰ Zbog toga reakcija N_3 -kloriranja amidnog oblika nije vjerojatna (Shema 20.), jer odgovarajuću strukturu prijelaznog stanja nije moguće locirati na PES-u.

Prema izračunima, energijska barijera kloriranja N_3 položaja u iminolnoj formi I_3 je niža za 9,8 kJ/mol od one koja odgovara kloriranju N_1 položaja (Shema 20.), a iznosi 102.7 kJ/mol.

U reakcijama tautomerizacije amidne forme fenitoina mogu nastati tri iminolna intermedijera (Shema 20.). Relativne se energije iminola nalaze u rasponu od 8,7 kJ/mol, a najstabilnija iminolna forma je I_3 , koja je ujedno i intermedijer u

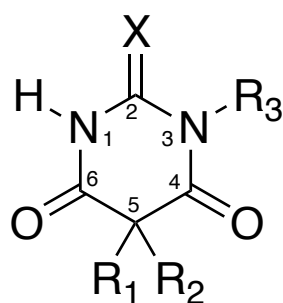
reakciji kloriranja N_3 položaja, dok je iminolna forma **I₁** ključni intermedijer za kloriranje N_1 položaja.

Na strani produkata izračunato je da je N_3 -klorirani fenitoin (**P₂**) za 12.2 kJ/mol stabilniji od N_1 -kloriranog oblika (**P₁**). To je moguća posljedica steričkih odbijanja između atoma klora na N_1 položaju i aromatskih vodikovih atoma u *NI-Cl* formi. Isti sterički efekti opisani su i kod N_1 -kloriranih produkata spiro-substituiranih hidantoina.²⁷⁵

Energijska barijera za N-kloriranje etosuksimida približava se vrijednosti od 100 kJ/mol, kao i kod fenitoina, dok za sve druge antiepileptike (fosfenitoin, mefenitoin te osnovni spoj, hidantoin), energijska barijera iznosi između 115 i 120 kJ/mol.

Barbiturati

Barbiturati su skupina lijekova koji djeluju kao depresori središnjeg živčanog sustava, zbog čega se koriste kao anitiepileptici, anestetici, sedativi i hipnotici. Riječ je o derivatima barbituratne kiseline, koja je pripravljena 1864. godine reakcijom uree i dietilnog estera malonske kiseline.²⁷⁶



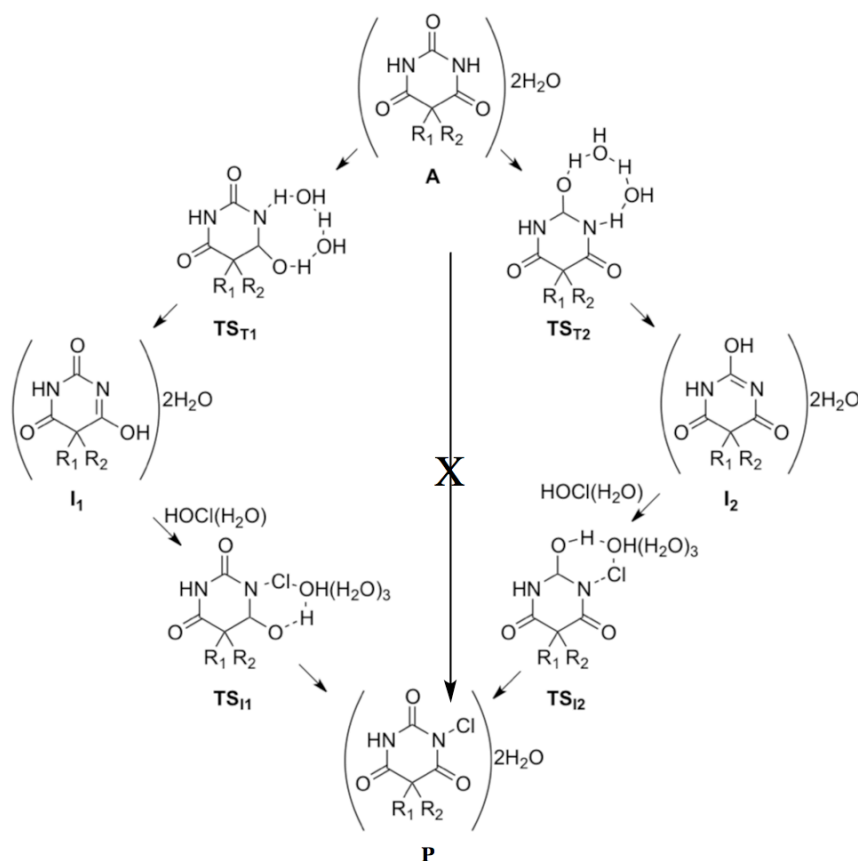
Shema 22. Barbiturna kiselina (**4.14**, $X=O$, $R_1=R_2=R_3=H$) s označenim položajima atoma

Barbiturna kiselina ne pokazuje navedena farmakološka svojstva, već njezini derivati s odgovarajućim alkilnim i aromatskim skupinama na ugljikovom atomu C5 (Shema 22). Zamjenom kisika, vezanog na ugljikov atom C2, atomom sumpora proširuje se kemijski spektar barbiturata prema aktivnosti, svojstvima i stabilnosti.^{20,277} Prvi barbiturat (barbital ili dietilbarbital) pripremljen je 1903., a drugi (fenobarbital, **E**) 1911. godine. Danas je poznato preko 2500 derivata, no samo ih

pedesetak ima svoju kliničku primjenu. Terapijska i klinička primjena barbiturata bila je najučestalija sredinom 1960-ih.^{276,278} Zbog ograničenog terapijskog doziranja, ovisnosti i nuspojava koje izazivaju, barbiturati su danas zamijenjeni benzodiazepinima, skupinom lijekova sličnog terapijskog učinka, ali manje izraženih nuspojava, poput razvoja tolerancije i ovisnosti. Ipak, desetak barbiturata još uvijek se koristi za određene terapije u humanoj medicini, prvenstveno kod bolesti epilepsije, dok im je šira primjena u veterinarstvu, posebice za uspavljivanje životinja.

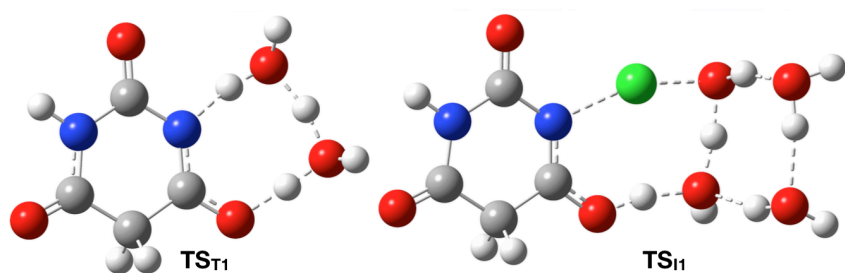
Iako barbiturati danas nisu u raširenoj upotrebi, istraživači redovito otkrivaju njihovu prisutnost u okolišu.^{20,279-283} Tako su studije iz 1990-ih pokazale prisutnost barbiturata u podzemnim vodama u blizini odlagališta otpada na Floridi i u Danskoj, na kojima se medicinski i farmaceutski otpad odlagao tijekom 1960-ih i 1970-ih godina.^{281,282} Detekcija barbiturata desetljećima nakon što su ispušteni u okoliš ukazuje na njihovu izrazitu perzistentnost. Isto potvrđuje i studija iz 2006. godine, u kojoj je eksperimentalno dokazana otpornost barbiturata prema biorazgradnji u aerobnim uvjetima i prema hidrolizi.²⁰ Jednom ispušteni u okoliš barbiturati pokazuju stabilnost tijekom dužeg vremenskog perioda, posjedujući izraženo svojstvo rekalcifikacije. Barbiturati su pronađeni u mikrogramskim koncentracijama ($\mu\text{g/L}$) i u otpadnim vodama u okolici Berlina, kao i u rijekama Rajni i Muldi, a smatra se da su im izvor uglavnom industrijske otpadne vode.²⁷⁹⁻²⁸¹

Podaci o ekotoksikološkim učincima barbiturata su oskudni. Opisani su slučajevi trovanja životinja koje su se hranile neprikladno pohranjenim leševima životinja eutanaziranih barbituratima.^{284,285} S obzirom na slabu istraženost njihovog ponašanja u okolišu, pojavnost i visoku stabilnost, barbiturati predstavljaju zanimljivu terapijsku skupinu za detaljnija ekotoksikološka istraživanja. Ekotoksikološka svojstva barbiturata bitno ovise o njihovoj kemijskoj sudbini u okolišu. Dosadašnje analitičke studije ukazuju na znatnu stabilnost barbiturata u tlu i u okolišnim vodama. Dokazano je da kloriranjem otpadnih voda nije moguće eliminirati barbiturate, odnosno pregraditi u manje spojeve. To znači da u okolišu barbiturati zadržavaju farmakološka svojstva te tako mogu izazvati niz neželjenih učinaka.







Shema 21. Mogući mehanizmi *N*-kloriranja barbiturata

Primjenom kvantno-kemijskih izračuna locirani su minimumi i prijelazna stanja za reakciju kloriranja barbiturine kiseline s HOCl. Od dva opisana reakcijska puta (*N*-kloriranje amidne i *N*-kloriranje iminolne forme), operativan je samo reakcijski mehanizam koji uključuje iminolne međuprodukte **I₁** i **I₂** (Shema 21.). Naime, energijska barijera za *N*-kloriranje amidne forme (205,4 kJ/mol) je za 50 kJ/mol viša od barijere za *N*-kloriranje iminolne forme. Prema tome, da bi amidna skupina barbiturata (O=C-NH) mogla biti klorirana, mora se u prvom reakcijskom koraku izomerizirati u iminolnu skupinu (HO-C=N). Za tautomerizaciju amida **A** u iminole (**I₁** ili **I₂**), locirane su strukture prijelaznih stanja **TS_{T1}** i **TS_{T2}**, dok su za kloriranje iminola s HOCl u konačni produkt, *N*-klorirani barbiturat (**NCI**), locirane strukture prijelaznih stanja **TS₁₁** i **TS₁₂**.



Slika 14. Konfiguracije eksplicitnih molekula vode u strukturi prijelaznog stanja tautomerizacije (TS_{T1}) i strukturi prijelaznog stanja *N*-kloriranja iminolne forme (TS_{II}).

Tablica 11. Strukture, kemijski i komercijalni nazivi barbiturata. Asignacija supstituenata je opisana na Slici 1.

Struktura	R1	R2	R3	X	Naziv	Trgovački naziv
4.14	H	H	H	O	pirimidin-2,4,6-trione; barbiturna kiselina	
4.15	Et	Et	H	O	5,5-dietil-barbiturat; barbital	Veronal®
4.16		Et	H	O	5-(cikloheks-1-en)-5-etil- barbiturat; ciklobarbital	Reladorm®
E		Et	H	O	5-fenil-5-etil-barbiturat; fenobarbital	Luminal®
4.17		Et	Me	O	<i>N</i> 3-metil-5-fenil-5-etil-barbiturat; metilfenobarbital	Prominal®
4.18		Et	H	-	5-etil-5-fenil-heksahidropirimidin- -4,6-dion; primidon	Mysoline®

^a Valovitom crtom prikazano je mjesto vezanja supstituenta na C5 položaj u barbiturnoj kiselini

Modifikacijom osnovne strukture barbiturne kiseline (**4.14**) dobiven je niz supstituiranih barbiturata za koje je provjerena reaktivnost kloriranja. Supstituenti na ispitanim strukturama uključuju alifatske (**4.15**), cikloarenilne (**4.16**) i aromatske skupine (**E**, **4.17** i **4.18**), a svi su predstavnici skupina bili ili se još uvijek primjenjuju u terapiji (Tablica 11 i Tablica 12).

Tablica 12. Izračunate relativne energije (ΔG u kJ/mol) za minimume i prijelazna stanja u reakciji *N*-kloriranja barbiturata s HOCl.

Struktura barbiturata ^a	A	I ₁	I ₂	P	TS _{T1}	TS _{T2}	TS _{I1}	TS _{I2}
4.14	0,0	43,9	55,2	-4,5	55,9	64,8	151,5	147,6
4.15	0,0	46,7	34,3	-13,1	60,3	62,3	153,1	154,7
4.16	0,0	46,9	55,1	-7,2	74,7	68,3	154,1	149,2
E	0,0	47,9	52,8	-9,2	61,6	61,8	156,1	156,9
4.17	0,0	52,3	60,0	-5,2	67,2	70,8	162,0	163,2
4.18	0,0	36,4		-38,6	59,2		120,5	

^a Struktura barbiturata je definirana asignacijom supstituenata opisanoj u Tablici 11 i Shemom 22.

Energijske barijere izračunate za iminolizaciju barbiturata (preko prijelaznog stanja TS_{T1}) variraju u rasponu od 55,9 kJ/mol za strukturu **4.14** do 74,7 kJ/mol za strukturu **4.16**. Za ostale strukture energijska razlika je neznatna, s rasponom od svega 2 kJ/mol. Energijske barijere izračunate za iminolizaciju preko TS_{T2} razlikuju se u rasponu od svega 6 kJ/mol (od 61,8 kJ/mol za strukturu **E** do 68,4 kJ/mol za strukturu **4.16**). U svim slučajevima, iminolne forme su manje stabilne od odgovarajućih amidnih formi, pri čemu je uglavnom stabilnija iminolna forma I₁. Ukupna brzina reakcije određena je najsporijim elementarnim procesom, koji je i u ovom slučaju *N*-kloriranje iminolne forme, iz najstabilnije iminolne forme I₁, putem prijelaznog stanja TS_{I1}. Raspon energijskih barijera za reakcije kloriranja (TS_{I1}) su u rasponu od 151,5 kJ/mol, za strukturu **1** (barbiturna kiselina), do 162,0 kJ/mol, za strukturu **5** (*N*-metilfenobarbital) (Tablica 12.). Zanimljivo je da primidon (**4.18**), derivat barbiturne kiseline, bez kisika na položaju C2, ima najstabilniju iminolnu formu i najnižu barijeru za *N*-kloriranje od 120,5 kJ/mol. Konačni *N*-kloramidni produkt je stabilniji od odgovarajućeg amida te je ukupna reakcija kloriranja amida termodinamički povoljna ($\Delta_r G$ varira između -4,5 kJ/mol i -13,1 kJ/mol), dok u slučaju primidona (**4.18**) Gibbsova energija reakcije iznosi $\Delta_r G = -38,6$ kJ/mol.

Iz navedenog se može uočiti kako je energijska barijera za proces kloriranja iminola (I₁/I₂ → P) dvostruko viša od energijske barijere za iminolizaciju barbiturata (A → I₁/I₂). Prema tome, *N*-kloriranje iminolne forme predstavlja reakcijski korak koji određuje brzinu ukupne reakcije. Izračunata energijska barijera za kloriranje barbiturata je visoka, uz poluvrijeme života $t_{1/2} \approx 100$ godina, što potvrđuje njihovu kinetičku stabilnost, odnosno kemijsku otpornost na kloriranje.

Raspon energijskih barijera *N*-kloriranja za različite strukture barbiturata (**4.14** – **4.17** i **E**) iznosi svega 10,5 kJ/mol. Izračunate barijere za kloriranje barbiturata (150,3 – 156,1 kJ/mol) gotovo su dvostruko veće od barijere za kloriranje *N*-metilacetamida, što upućuje na zaključak da su barbiturati perzistentni farmaceutici u uvjetima kloriranja.

S obzirom na njihovu uporabu u terapiji, razmotrene su i reakcije kloriranja metilfenobarbitala (struktura **4.17**) i primidona (struktura **4.18**). Metiliranjem položaja N₃ u strukturi **4**, nastaje derivat **4.17**. Prema dobivenim računskim rezultatima metiliranje položaja N₃ dodatno povisuje barijeru kloriranja za desetak kJ/mol. Iz toga je vidljivo da ovakva modifikacija u strukturi barbiturata dodatno doprinosi njihovoj kemijskoj otpornosti prema kloriranju s HOCl. Za razliku od reakcije kloriranja barbiturata **4.18**, utjecaj N₃-metiliranja na energijsku barijeru iminolizacije je neznatan. Za konačnu potvrdu utjecaja N₃-metiliranja na reaktivnost barbiturata potrebno je provesti dodatne izračune na drugim barbituratima s istom vrstom strukturne modifikacije.

Struktura **4.18** (primidon) postoji samo u jednom iminolnom obliku. Barijera za reakciju kloriranja iminola u ovom slučaju je značajno niža ($\Delta G^\ddagger = 120,5$ kJ/mol) u odnosu na ostale barbiturate. Energijska barijera prijelaznog stanja za iminolizaciju strukture **4.18** ne odstupa značajnije od odgovarajućih reakcijskih barijera kod ostalih barbiturata, a konačni produkt kloriranja znatno je stabilniji.

Iz kvantno-kemijskog opisa reakcije kloriranja barbiturata proizlazi da većina barbiturata, koji se još uvijek terapijski primjenjuju, pokazuju kemijsku otpornost prema reakciji kloriranja. Budući je kloriranje osnovna metoda eliminacije lijekova iz otpadnih voda, barbiturati se mogu smatrati rekalcitrantima, odnosno kemijskim spojevima koji se dugo zadržavaju u okolišu u gotovo nepromijenjenom obliku. Relativno visoke barijere kloriranja barbiturata (> 150 kJ/mol) mjera su njihove kinetičke stabilnosti te stoga imaju dugačko vrijeme poluraspada. Ekotoksikološki profil takvih lijekova nije prihvatljiv, jer je svojstvo perzistentnosti lijekova u okolišu nepovoljni parametar. Takozvani PBT indeks (*Persistence. Bioaccumulation. Toxic*) nedavno je uveden kao mjerilo ekološke prihvatljivosti lijekova.²⁸⁶ Vrijednost PBT indeksa uvijek je visoka za lijekove koje karakterizira perzistentnost, odnosno kemijska postojanost u okolišu.

Rezultati pokazuju da se uvođenjem alkilnih, fenilnih ili cikloalkenilnih supstituenata (na C5 položaju) ne mijenja kinetički profil reakcije kloriranja

barbiturata, pa se stoga može zaključiti da su sterički efekti na kemijsku otpornost barbiturata u reakcijama kloriranja zanemarivi. Također je pokazano da strukture barbiturata bez jedne karbonilne skupine (primidon) mnogo lakše podliježu reakcijama kloriranja.

Karbamazepin

Karbamazepin (CBZ, **F**) se uglavnom koristi u terapiji neuropatske boli i epilepsije.²⁸⁷ Također se koristi u terapiji šizofrenije, manično-depresivne psihoze (pogotovo u bolesnika koji ne odgovaraju na terapiju litijem) i sindroma ustezanja od alkohola. Kod epilepsije nije učinkovit u liječenju apsansa (petit mal) i miokloničkih napadaja. Otkriven je 1953. i pripada u skupini esencijalnih lijekova u zdravstvenom sustavu (WHO Essential Medicines).²⁸⁸

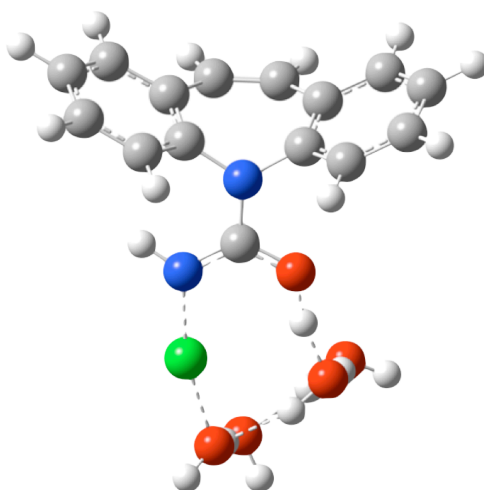
CBZ je među češćim farmaceuticima koji se detektiraju u vodi, a nalazi se i u površinskim vodama i obrađenim otpadnim vodama u koncentracijama do 6,3 $\mu\text{g/L}$.^{3,289,290} CBZ je stabilan u okolišu, a neznatno se razgrađuje u živim organizmima.²⁹¹ Povećano korištenje CBZ dovodi do sve većeg nakupljanja u okolišu, pa su sve češći izvještaji znanstvenika o negativnom utjecaju CBZ na okoliš.²⁹² Stoga je potrebno ukloniti CBZ iz okoliša, kako bi se izbjegle neželjene posljedice na žive organizme.²⁹³

Razmatrani su biološki,^{6,291,294-296} kemijski,²⁹⁷ te absorpcijski²⁹⁸ procesi razgradnje i uklanjanja CBZ iz okoliša. Najčešći način pročišćavanja otpadnih voda je kemijsko-tehnološki proces kloriranja. Stoga je potrebno proučiti interakciju klorirajućih specija sa CBZ. To je područje istraživanja obilježeno kontradiktornim podacima. U ranijim se studijama proces kloriranja prikazuje kao nedjelotvoran za eliminaciju CBZ, dok novije studije ukazuju da CBZ reagira s klorirajućim agensima.

Pokazano je da CBZ reagira s hipoklorastom kiselinom u vodenom mediju, pri čemu nastaje *N*-kloramid. Kloriranje slijedi kinetiku drugog reda, a konstanta brzine reakcije pri pH 7 iznosi $1.7 \times 10^{-9} < k_r < 1.4 \times 10^{-4} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ što odgovara energijskoj barijeri od $\Delta G_{298}^{\#} \approx 95 - 123 \text{ kJ/mol}$.^{39,299} Svi istraživani procesi, za koje je izračunata energijska barijera manja od eksperimentalne barijere doprinose ukupnoj brzini reakcije. Kako bi se provjerilo sudjeluje li proces *N*-kloriranja u procesu HOCl-inducirane transformacije karbamazepina, primjenjen je računalni pristup testiran na modelnom amidnom sustavu (NMA).

Izračunata energijska barijera za *N*-kloriranje amidne forme karbamazepina, preko $\text{TS}_{\text{A} \rightarrow \text{P}}$, je visoka i iznosi $\Delta G^{\ddagger}_{298} = 159,9$ kJ/mol. Prema tome, ovaj mehanizam nije prikladan za opis reakcije između hipokloraste kiseline i karbamazepina u vodi.

Vjerojatniji mehanizam kloriranja karbamazepina uključuje dva reakcijska koraka. U prvom koraku ($\Delta G^{\ddagger}_{298} = 86,3$ kJ/mol) dolazi do tautomerizacije karbamazepina, pri čemu nastaje iminolni intermedijer. Iminolna forma je manje stabilna (za 40 kJ/mol), ali je reaktivnija od amidne forme. Izračunata energijska barijera za *N*-kloriranje iminolne forme karbamazepina iznosi 112,1 kJ/mol i nalazi se unutar eksperimentalnih granica pogreške. Struktura prijelaznog stanja u kojoj tri molekule vode sudjeluju u kloriranju iminolne forme prikazana je na Slici 14. Ta je struktura prijelaznog stanja nužna za razumijevanje mehanizma u kojem nastaje *N*-kloramidni derivat karbamazepina.



Slika 14. Optimizirana struktura prijelaznog stanja za *N*-kloriranje iminolne forme karbamazepina

4.4.5. Pregled mehanizma kloriranja amida

Iminolna je forma zbog veće nukleofilnosti, u usporedbi s amidnom formom, prikazana kao važan intermedijer u mnogim kemijskim reakcijama.³⁰⁰ Iminolni intermedijer je od posebne važnosti za proces „pogrešnog“ sparivanja baza,³⁰¹ te u kompleksaciji metalnih iona koji utječu na konformaciju peptida.³⁰² Našim je istraživanjem proces *N*-kloriranja amida uvršten na popis reakcija u kojima je iminol ključni reaktivni međuprodukt. Kloriranje amida od velike je važnosti u biokemiji i kemiji okoliša, no reakcijski mehanizam još nije rasvijetljen.

Razmatrana su tri različita mehanizma kloriranja amida hipoklorastom kiselinom: (i) izravno *N*-kloriranje amidne forme, koje je analogno s mehanizmom *N*-kloriranja amina, (ii) *O*-kloriranje amida nakon kojeg slijedi transfer klora s O na N atom te (iii) tautomerizacija amida u iminolnu formu koja zatim sudjeluje u reakciji *N*-kloriranja. U svim slučajevima, sudjelovanje molekula vode je važno, jer se energijske barijere svih reakcija znatno snižuju uključivanjem eksplicitnih molekula voda.

Prema svim teorijskim modelima, najpovoljniji reakcijski put je onaj u kojem najprije nastaje iminolni intermedijer, a zatim slijedi reakcija *N*-kloriranja. Računalni rezultati za taj mehanizam u skladu su s eksperimentalnim podacima. Naprotiv, *N*-kloriranje amidne forme je redovito za 50 kJ/mol skuplji proces, što odgovara razlici u brzinama reakcije od preko 8 redova veličine. Eksperimentalna energijska barijera ($\Delta G_{298}^{\#} \approx 87$ kJ/mol) za kloriranje modelnog amida NMA reproducirana je korištenjem B2K-PLYP (86,3 kJ/mol) i G3B3 (87,3 kJ/mol) teorijskih modela. Isti reakcijski put za *N*-kloriranje, koji uključuje iminolni intermedijer, predložen je za niz modelnih amida, kao i za psihofarmake koji sadrže amidnu skupinu. Time se potvrđuje naša hipoteza o općem mehanizmu reakcije *N*-kloriranja većine amida: formiranje iminolnog tautomera koji sudjeluje u reakciji s hipoklorastom kiselinom, pri čemu nastaje konačni produkt, *N*-klorirani amid.

Usporedbom različitih psihofarmaka s amidnom funkcionalnom skupinom u strukturi, uočena je velika razlika u reaktivnosti prema *N*-kloriranju (Tablica 13). Najbrži proces je *N*-kloriranje iminolne forme fenitoina, karbamazepin se klorira brzinom koja je za jedan red veličine manja, dok *N*-kloriranje iminolne forme barbiturata ide vrlo sporo. Nastanak iminolne forme fenitoina nije najbrži proces. Bržu tautomerizaciju pokazuje barbital, dok značajno višu energijsku barijeru za

tautomerizaciju posjeduje karbamazepin, ali i dalje je korak koji određuje brzinu reakcije *N*-kloriranje iminolne forme.

Iz navedenih podataka, proizlazi da fenitoin i karbamazepin lako podliježu reakcijama *N*-kloriranja te mogućim naknadnim pregrađivanjima nastalih kloramida. Suprotno tome, barbiturati su kemijski otporni na procese kloriranja i zbog toga se nakupljaju u okolišu.

Tablica 13. Relativna Gibbsova energija (ΔG_{298} , kJ/mol) reaktanata,^a intermedijera, produkata, i struktura prijelaznih stanja uključenih u *N*-kloriranje farmaceutika s amidnom skupinom, izračunata je na B2K-PLYP/6-311+G(3df,2p)//B3LYP/6-31g(d) razini u vodi.^b Razmatrana je tautomerizacija (**A** → **I**) i dva različita mehanizma kloriranja: *N*-kloriranje amidne forme (**A** → **P**) i *N*-kloriranje iminolne forme (**I** → **P**).

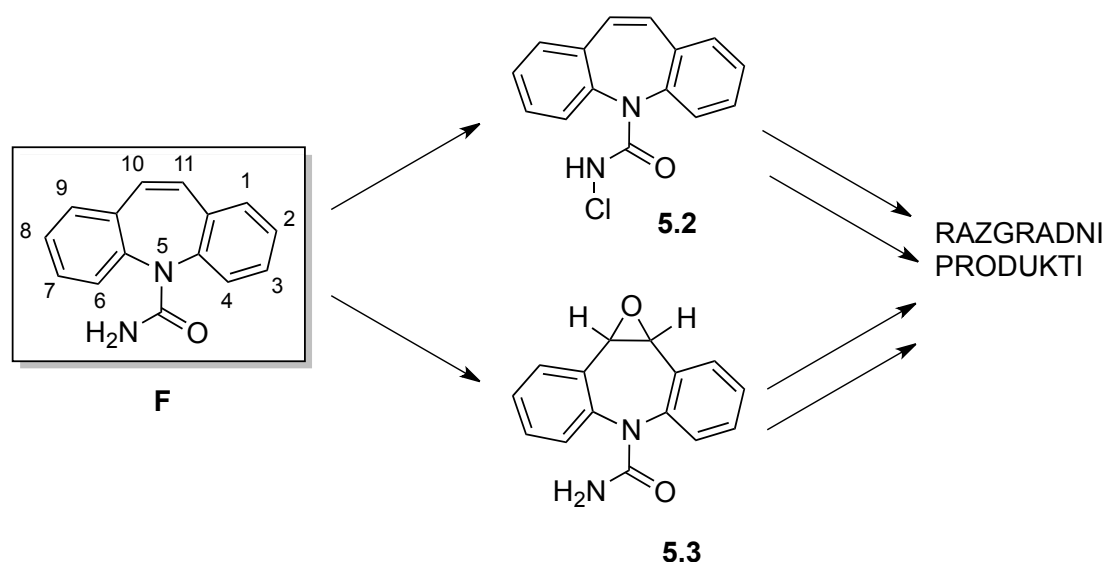
Farmaceutska supstanca	Amid A	Iminol I	<i>N</i> -kloramid P	$TS_{A \rightarrow I}$	$TS_{A \rightarrow P}$	$TS_{I \rightarrow P}$	$\Delta G_{298}^{\#}$ <i>Eksp.</i>
Fenitoin	D 0,0 ^e	51.8	-68,7	69,7	155.5 ^f	102.7	-
Fenobarbital	E 0,0	46,7	-13.1	60,3	205.4	153.1	-
Karbamazepin	F 0,0	60,2	-44.0	86,3	159,9	112.1	95 ^c 123 ^d

^a Gibbsova slobodna energija reaktanata (amid u kompleksu s dvije molekule vode i hipoklorna kiselina s jednom molekulom vode) postavljena je kao nulta točka na PES-u. ^b CPCM/UFF//B3LYP/6-31G(d) model. ^c Eksperimentalna vrijednost iz ref. 39 ^d Eksperimentalna vrijednost iz ref. 299 ^eRazmatran je najpovoljniji put **A** → **I**₃ → **P**₂ (vidi Shemu 5). ^f Energijska barijera za proces N1-kloriranja.

4.5. Reakcije pregrađivanja karbamazepina s hipoklorastom kiselinom

Tekućinskom kromatografijom povezanom s ionskom-stupicom i spektrometrom masa (LC-ITMS metoda) dobiveni su $[M+H^+]$ signali: 194.2, 208.1, 222.1 i 253.3 m/z ,²⁹⁹ koji opisuju šest razgradnih produkata nastalih u reakciji karbamazepina (CBZ, **F**) i HOCl u vodi. Signal u masenom spektru, m/z 208.1, prikazuje dvije različite izomerne strukture. Isto vrijedi i za maseni signal m/z 194.2. Prema tome, pregrađivanjem CBZ pod utjecajem HOCl nastaje šest produkata. Mehanizmi odgovarajućih reakcija pregrađivanja do sada nisu bili poznati.

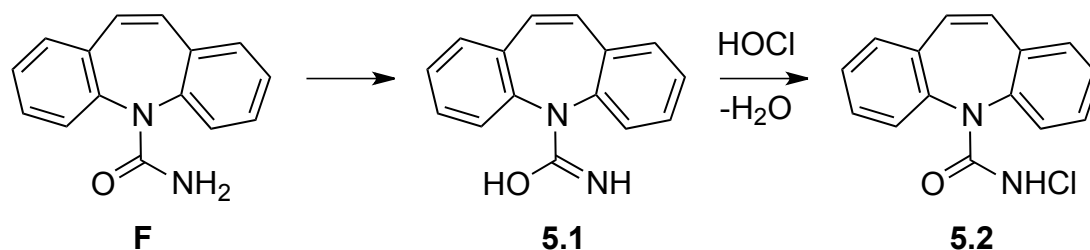
Rezultati istraživanja mogućih reakcijskih puteva pregrađivanja pokazuju da se uz *N*-kloriranje amidne skupine (vidi 4.4), odvija reakcija epoksidacije karbamazepina (Slika 15). Stoga, osim *N*-kloriranog derivata (**5.2**), nastaje 10,11-epoksidni derivat karbamazepina (**5.3**). Njihovim daljnjim pregrađivanjima nastaje niz razgradnih produkata koji odgovaraju eksperimentalnim podacima iz masenog spektra.



Slika 15. Reakcijski mehanizam pregrađivanja **F** koji uključuje *N*-kloramidni (**5.2**) i 10,11-epoksidni (**5.3**) intermedijer.

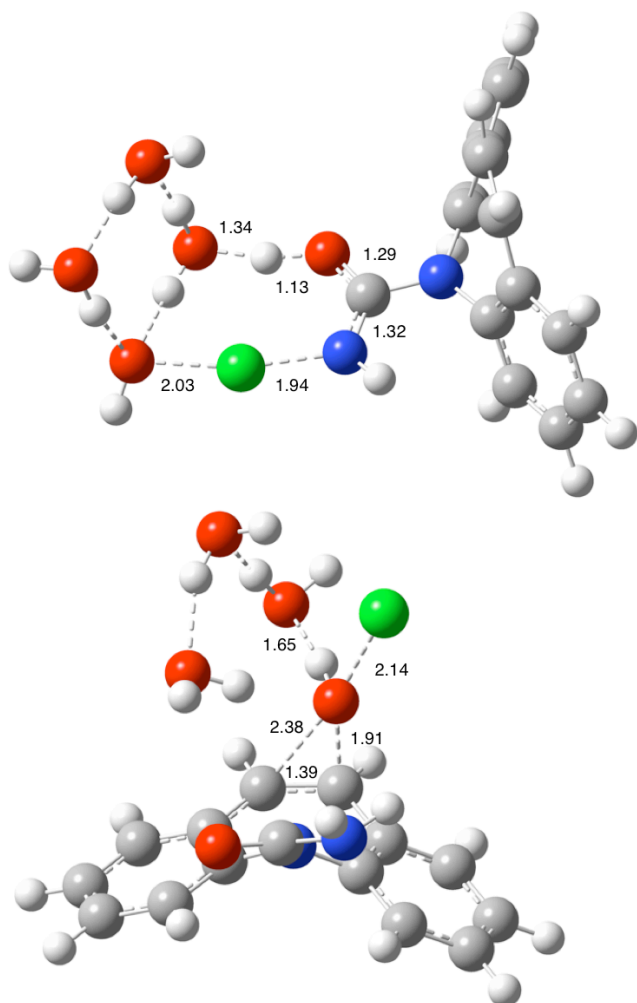
4.5.1. *N*-kloriranje karbamazepina

U LC-ITMS analizi²⁹⁹ reakcijske smjese (**F** i HOCl) nije uočen *N*-kloramidni derivat karbamazepina (**5.2**). No, u ranijim spektrometrijskim analizama³⁹ prikazan je molekulatni ion s *m/z* signalom od 271, koji odgovara strukturi **5.2**. Kloramidi su reaktivne specije, koje se mogu brzo pregrađivati u vodenom okolišu.^{239,303} Stoga je mogućnost detekcije tih intermedijera ovisna o reakcijskim uvjetima. Reakcija kloriranja **F** analogna je mehanizmu kloriranja NMA, hidantoina i barbiturata (vidi 4.4). Procesom tautomerizacije (preko **TS_{F_5.1}**) karbamazepin se transformira u reaktivniji iminolni oblik, **5.1**, koji u reakciji s HOCl daje **5.2** (Shema 23). U oba reakcijska koraka, važnu ulogu imaju eksplicitne molekule vode, koje kataliziraju prijenos atoma vodika, s atoma dušika na atom kisika (nastanak iminola), a zatim s atoma kisika iminola na atom kisika HOCl. Struktura prijelaznog stanja za kloriranje iminolne forme (**TS_{5.1_5.2}**) prikazana je na Slici 16.



Shema 23. Tautomerizacija karbamazepina (**F** → **5.1**) i kloriranje iminolne forme (**5.1** → **5.2**).

Energijska barijera izvedena iz kinetičkih podataka odgovara Gibbsovoj slobodnoj energiji aktivacije između 94 i 99 kJ/mol.^{39,299} Izračunate energijske barijere odgovaraju eksperimentalnim podacima (Tablica 14).



Slika 16. Strukture prijelaznih stanja za *N*-kloriranje ($\text{TS}_{\text{F}_5.1}$, gore) i epoksidaciju ($\text{TS}_{\text{F}_5.3}$, dolje) **F** s HOCl, optimizirane na B3LYP/6-31G(d) razini. Udaljenosti između atoma izražene su u angstromima.

Tablica 14. Relativne Gibbsove slobodne energije (ΔG_{298} , kJ/mol) struktura reaktanata,^a intermedijera, produkata i prijelaznih stanja koja sudjeluju u *N*-kloriranju i epoksidaciji karbamazepina, izračunate su na različitim teorijskim razinama u vodi kao implicitnom otapalu^b

Struktura	B3LYP ^c	B2K-PLYP ^d	B2-LYPD ^e	MP2 ^f	MP2 ^g
F					
+ HOCl(H ₂ O)	0	0	0	0	0
5.1					
+ HOCl(H ₂ O)	62,6	60,2	58,9	56,9	56,2
5.2					
+ (H ₂ O) ₂	-33	-44	-48,5	-67,8	-64,0
5.3					
+ HCl(H ₂ O)	-93,7	-94,4	-93,3	-114,0	-108,0
5.4					
+ HNCO	31,9	33,7	26,4	41,5	39,8
+ HOCl(H ₂ O)					
5.4					
+ CINCO	4,7	-3,7	-6,6	-2,2	-2,3
+ (H ₂ O) ₂					
TS_{F_5.1}					
+ HOCl(H ₂ O)	62,2	70,3	64,8	64,4	62,2
TS_{5.1_5.2}	107,4	115,6	105,7	99,6	100,0
TS_{F_5.3}	88,9	125,9	95,7	95,5	96,3
TS_{F_5.4}					
+ HOCl(H ₂ O)	147,8	165,8	127,8	122,2	122,0
TS_{5.2_5.4}					
+ (H ₂ O) ₂	79,2	32,2	-1,6	-1,1	0,8

^aGibbsova slobodna energija reaktanata (**F** u kompleksu s dvije molekule vode i HOCl kompleksiran s jednom molekulom) postavljena je kao nulta točka na PES-u; intermedijeri i produkti su kompleksirani s dvije molekule vode. ^bCPCM(UFF, $\alpha = 1.1$)/B3LYP/6-31G(d) teorijska razina ($\epsilon = 78,4$) ^cB3LYP/6-31G(d) ^dB2K-PLYP/6-311+G(3df,2p)/B3LYP/6-31G(d) ^eB2PLYP-D/6-311+G(3df,2p) ^fMP2/6-311+G(3df,2p)/B3LYP/6-31G(d) ^gMP2/G3MP2Large//B3LYP/6-31G(d).

4.5.2. Epoksidacija karbamazepina

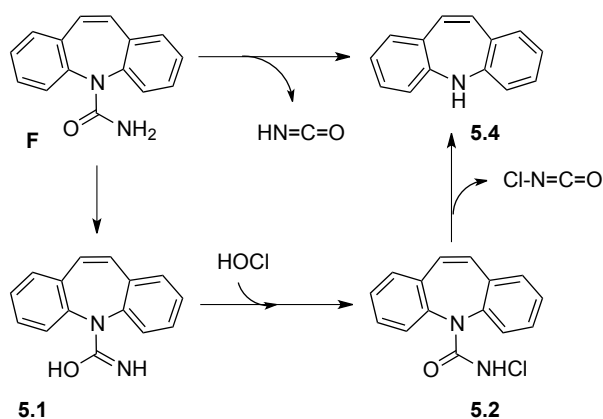
Od tridesetak metabolita **F** izoliranih u biološkim sustavima, klinički je najvažniji 10,11-epoksid karbamazepina (**5.3**). Strukturni je izomer oksakarbamazepina, lijeka koji pripada istoj skupini kao i **5**. Spoj **5.3** je produkt razgradnje **F** u okolišu.³⁰⁴ U LC-ITMS analizi²⁹⁹ reakcijske smjese, produkt **5.3** odgovara masenom signalu m/z 253.3. Isti je signal izmjeren u različitim reakcijama pregrađivanjima **F** u različitim reakcijskim uvjetima: aerobna razgradnja u zemlji ili bioreaktoru, razgradnja uz UV-zračenje, UV-zračenje i peroksidaciju, oksidacija s Cl_2O ili Cl_2 .^{39,299,305,306}

U reakciji između **F** i HOCl epoksidacija i *N*-kloriranje su kompetitivni procesi. Mehanizam epoksidacije **F** s HOCl sličan je ranije opisanom mehanizmu epoksidacije etilena.¹³⁵ Atom kisika iz HOCl se premješta na C10-C11 dvostruku vezu **F** preko strukture prijelaznog stanja $\text{TS}_{\text{F}_5.3}$ (Slika 16.), u kojoj atomi C10, C11 i O opisuju vrhove trokuta (C10-C11: 1,39 Å, C10-O: 2,38 Å i C11-O: 1,91 Å). Ovaj proces je kataliziran s tri eksplicitne molekule vode koje olakšavaju transfer atoma vodika između O i Cl atoma u HOCl. Izračunata energijska barijera za epoksidaciju **F** je 95,7 kJ/mol (Tablica 14.), što je usporedivo s barijerom za reakciju *N*-kloriranja (99,6 kJ/mol). *N*-kloriranje je nešto sporiji proces (viša energijska barijera) te je termodinamički nepovoljniji. Produkti *N*-kloriranja (**5.2** i H_2O) su 48,5 kJ/mol stabilniji od reaktanata, dok su produkti epoksidacije (**5.3** i HCl) za 93,3 kJ/mol stabilniji od početnih reaktanata (**F** i HOCl).

4.5.3. Formiranje iminostilbena

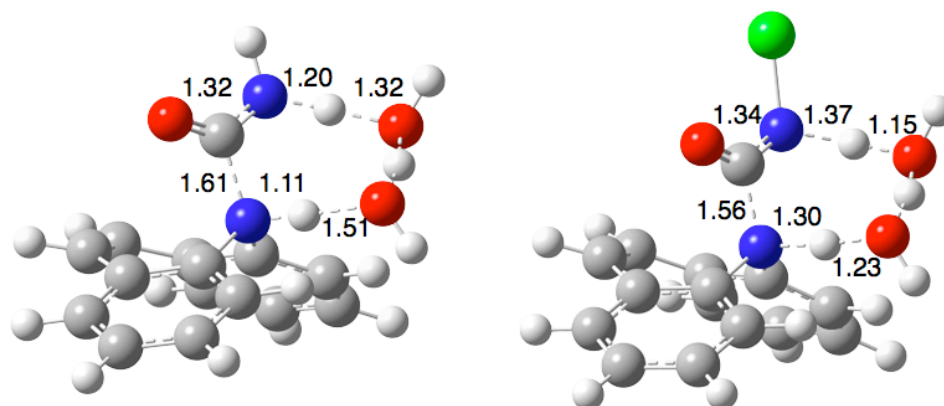
Transformacija **F** u iminostilben opisana je u mnogim biokemijskim i analitičkim istraživanjima, ali detaljni mehanizam reakcije nije istražen. Dio **F** se oksidira u iminostilben u metabolizmu u jetri pomoću citokromom P450 enzima.³⁰⁷ Iminostilben (**5.4**, dibenz[*b,f*]azepin) odgovara signalu od 194 m/z u MS spektru.^{299,308} U nekim slučajevima, **5.4** nastaje kao nusprodukt termalne razgradnje **F** tijekom GC kromatografije.³⁰⁹

Formiranje iminostilbena može se prikazati pomoću dva različita reakcijska mehanizma: 1) eliminacijom izocijanatnog (HNCO) fragmenta (deamidacija) iz karbamazepina, ili 2) eliminacijom klor-izocijanatog (Cl-NCO) fragmenta iz *N*-kloriranog karbamazepina (Tablica 14 i Shema 24).



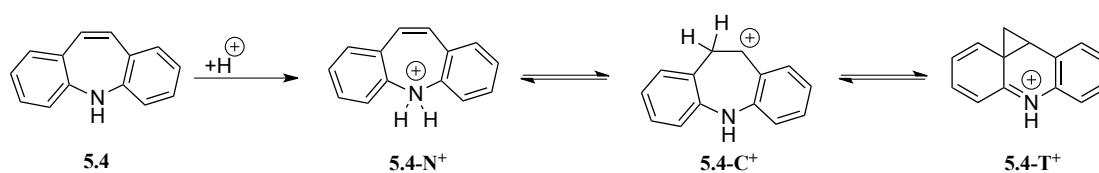
Shema 24. Pregrađivanje karbamazepina (**F**) u iminostilben (**5.4**) preko dva različita mehanizma

Izračunata energijska barijera, bez eksplicitno dodatnih molekula vode, za eliminaciju izocijanatne skupine iz karbamazepina iznosi 205,9 kJ/mol. Uz katalizu dvije eksplicitne molekule vode, koje olakšavaju prijenos vodikovog atoma, energijska barijera iznosi 127,8 kJ/mol (Tablica 14). To je relativno visoka barijera, što ukazuje da nastanak iminostilbena (**5.4**), kao artefakta u GC analizi karbamazepina, zahtjeva visoku temperaturu. Struktura prijelaznog stanja $TS_{F,5.4}$ za ovaj proces karakterizirana je jednom imaginarnom frekvencijom (979i cm⁻¹) koja odgovara transferu vodikovog atoma s -CONH₂ skupine na N₅ atom. Istovremeno dolazi do kidanja N₅-C veze, odnosno eliminacije izocijanata (Slika 17.). Sličan mehanizam je opisan i za raspad uree kojeg kataliziraju molekule vode.^{140,310}



Slika 17. Optimizirane strukture prijelaznih stanja u reakcijama pregrađivanja karbamazepina ($TS_{F,5.4}$) i *N*-klor-karbamazepina ($TS_{5.2,5.4}$) u iminostilben. Odabrane udaljenosti su u angstromima.

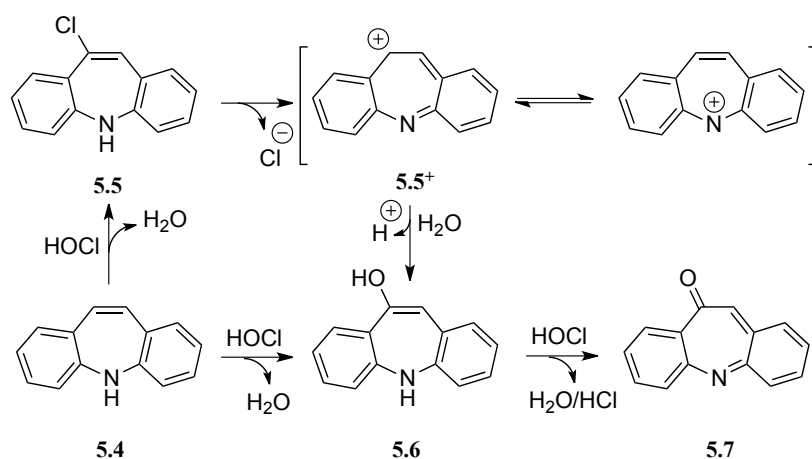
Izračunata energijska barijera za eliminaciju **Cl-NCO** fragmenta iz kloriranog karbamazepina (**5.2**) iznosi samo 46,9 kJ/mol (Tablica 14). To je za 81 kJ/mol niža energijska barijera od procesa eliminacije izocijanatne skupine. Ovaj odnos energijskih barijera sugerira da nastanku **5.4** prethodi formiranje **5.2**. To potvrđuju i eksperimentalni podaci.²⁹⁹ Osim *N*-protoniranog iminostilbena, **5.4-N⁺**, koji se opaža u masenim spektrima, postoje i izomeri poput kationa **5.4-C⁺** te kationa **5.4-T⁺** koji nastaju brzim pregrađivanjima u prisutnosti kiseline kao katalizatora (Shema 25). Te se strukture, koje imaju različito retencijsko vrijeme u odnosu na **5.4-N⁺**, mogu pripisati istom signalu (*m/z* 194) u masenim spektrima.



Shema 25. Pregrađivanje *N*-protoniranog iminostilbena

4.5.4. Formiranje oksoiminostilbena

Iminostilben, **5.4**, može također reagirati s HOCl u vodenom mediju. Istraživano je nekoliko mogućih reakcijskih puteva: epoksidacija C10-C11 dvostruke veze, epoksidacija aromatskog sustava, N- i C- kloriranje, C10 i C11 hidroksilacija dvostruke veze te hidroksilacija aromatskog sustava (vidi Dodatne informacije). Dva najpovoljnija procesa su adicija klora i adicija hidroksilne skupine na C10-C11 dvostruku vezu u **5.4** (Shema 26). Izračunate energijske barijere za reakcije kloriranja (**TS_{5.4_5.5}**) i hidroksilacije (**TS_{5.4_5.6}**) iznose 41,8 i 84,7 kJ/mol (Tablica 15). Produkti adicije, **5.5** i **5.6**, nastaju procesima koji su znatno brži od C10-C11-epoksidacije i C2-C3-epoksidacije iminostilbena (vidi Dodatne informacije).



Shema 26. Pregrađivanje iminostilbena (**5.4**) uz HOCl u vodenom mediju.

Za razliku od **5.5**, međuprodukt **5.6** je izmjeren u masenim spektrima (signal od m/z 210).³⁰⁶ U kloriranom međuproduktu, zbog kinetičke nestabilnosti C10-Cl veze, heterolitičkim kidanjem te veze nastaje karbokationski međuprodukt **5.5+** koji se u vodenom mediju lako pregrađuje u **5.6** adicijom vode na karbokation (Shema 26). Spoj **5.6** je za 97,6 kJ/mol (Tablica 15) stabilniji od početnog iminostilbena **5.4**, ali predstavlja kratkoživući intermedijer, koji se lagano oksidira (u reakciji s HOCl) u 10-oksoiminostilben (**5.7**). Reakcija oksidacije sekundarnih alkohola u odgovarajuće ketone pomoću HOCl poznata je od ranije.³¹¹ Reakcija oksidacije **5.6** → **5.7** je termodinamički i kinetički povoljan proces; izračunata energijska barijera ($TS_{5.6,5.7}$) iznosi 53,7 kJ/mol, a krajnji produkt **5.7** je 353,3 kJ/mol stabilniji od **5.4**. Velika razlika u stabilnosti tumači se aromatskom stabilizacijom u produktu **5.7**. Slična transformacija opisana je i u jetrenom metabolizmu **5.4** posredovanom CYP enzimima.^{312,313} U masenom spektru struktura **5.7** odgovara signalu od m/z 208,1.²⁹⁹

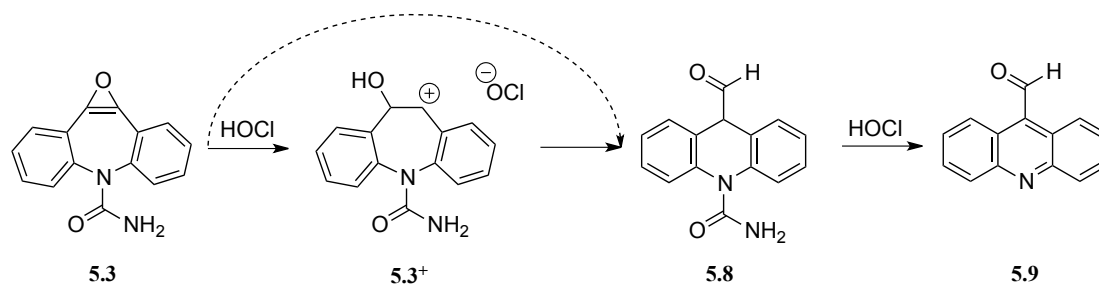
Tablica 15. Relativne Gibbsove slobodne energije (ΔG_{298} , kJ/mol) struktura reaktanata,^a intermedijera, produkata i prijelaznih uključenih u formiranje 10-oksoiminostilbena, izračunate su na različitim teorijskim razinama u vodi kao implicitnom otapalu^b

Specija	B3LYP ^c	B2K-PLYP ^d	B2-PLYPD ^e	MP2 ^f	MP2 ^g
5.4 + HOCl(H ₂ O)	0	0	0	0	0
5.5 + (H ₂ O) ₂	-82,1	-143,3	-134,8	-161,2	-160,0
5.6 + HCl(H ₂ O)	-57,2	-48,2	-97,6	-116,5	-105,4
TS_{5.4_5.5}	69,5	72,2	41,8	48,8	50,2
TS_{5.4_5.6}	80,9	90,1	84,7	97,9	92,8
TS_{5.6_5.7} ^h	-5,3	-22,9	-43,9	-40,1	-49,3
5.7 + HCl(H ₂ O) ^h	-336,4	-371,7	-353,3	-360,5	-354,8

^a Gibbsova slobodna energija reaktanata (**5.4** u kompleksu s dvije molekule vode i HOCl kompleksiran s jednom molekulom) postavljena je za nultu točku; intermedijeri i produkti su kompleksirani s dvije molekule. ^b CPCM(UFF, $\alpha = 1.1$)/B3LYP/6-31G(d) teorijska razina ($\epsilon = 78,4$) ^c B3LYP/6-31G(d) ^d B2K-PLYP/6-311+G(3df,2p)/B3LYP/6-31G(d) ^e B2PLYP-D/6-311+G(3df,2p) ^f MP2/6-311+G(3df,2p)/B3LYP/6-31G(d) ^g MP2/G3MP2Large//B3LYP/6-31G(d). ^h U odnosu na **5.4** + 2(HOCl(H₂O))

4.5.5. Formiranje 9-formil-akridina

Epoksid karbamazepina, **5.3**, je kao i *N*-kloramid karbamazepina, **5.2**, relativno nestabilni međuprodukt koji može sudjelovati u nizu drugih reakcija pregrađivanja. Za otvaranje tročlanog prstena u epoksidu **5.3** (Shema 27) izračunata energijska barijera iznosi 129,8 kJ/mol (Tablica 16). U tom procesu nastaje karbokationski međuprodukt **5.3+**. Taj se produkt zatim pregrađuje u derivat akridina **5.8**, preko prijelaznog stanja **TS_{5.3+_5.8}**. Produkt **5.8** može nastati i izravnom pregradnjom iz epoksida **5.3**, bez karbokationskog međuprodukta (**TS_{5.3_5.8}**), ali za taj proces izračunata energijska barijera iznosi 158,2 kJ/mol.



Shema 27. Pregrađivanje **5.3** u derivate akridina **5.8** i **5.9** uz sudjelovanje HOCl. Isprekidana crta označava proces u kojem ne nastaje karbokatonski intermedijer **5.3⁺**

Tablica 16. Relativne Gibbsove slobodne energije (ΔG_{298} , kJ/mol) struktura reaktanata,^a intermedijera, produkata i prijelaznih uključenih oksidaciju karbamazepin–10,11-epoksida, izračunate su na različitim teorijskim razinama u vodi kao implicitnom otapalu^b

	B3LYP ^c	B2K-PLYP ^d	B2-PLYPD ^e	MP2 ^f	MP2 ^g
5.3					
+ HOCl(H ₂ O)	0	0	0	0	0
5.3⁺					
+ OCl ⁻ (H ₂ O) ₂	44,7	59,4	/	/	/
5.8					
+ HOCl(H ₂ O)	-81,2	-91,8	-90,5	-89,5	-89,2
TS_{5.3_5.3+}	128,7				
TS_{5.3+_5.8}	65,8	71,3	49,7	55,0	51,2
TS_{5.3_5.8}	136,8	150,4	158,2	172,6	171,2
5.9					
+ HCl(H ₂ O)	-307,1	-352,9	-339,8	-344,0	-339,4
TS_{5.8_5.9}	32,7	15,1		43,1	42,3

^a Gibbsova slobodna energija reaktanata (**5.3** u kompleksu s dvije molekule vode i HOCl kompleksiran s jednom molekulom) postavljena je za nultu točku; intermedijeri i produkti su kompleksirani s dvije molekule. ^b CPCM(UFF, $\alpha = 1.1$)/B3LYP/6-31G(d) teorijska razina ($\epsilon = 78,4$) ^c B3LYP/6-31G(d) ^d B2K-PLYP/6-311+G(3df,2p)//B3LYP/6-31G(d) ^e B2PLYP-D/6-311+G(3df,2p) ^f MP2/6-311+G(3df,2p)//B3LYP/6-31G(d) ^g MP2/G3MP2Large//B3LYP/6-31G(d).

U ranijim eksperimentalnim studijama, nije zabilježen proces kontrakcije prstena, tj. nastanak akridinskog sustava.³⁹ Struktura **5.8** je ranije predložena kao mogući međuprodukt u fotodegradaciji^{314,315} i naprednim oksidacijskim metodama upotrebljenih u pročišćavanju otpadnih voda.³¹⁶ **5.8** se može pregraditi u 9-formil-

akridin (**5.9**); konačni produkt **5.9** je aromatski stabiliziran te je za 249,3 kJ/mol stabilniji od **5.8**. Nastali akridinski produkt **5.9** ima isti maseni signal, m/z 208,1, kao i oksaiminostilben, **5.7** (ali imaju različita retencijska vremena). Za razliku od **5.7**, spoj **5.9** se spominje u literaturi kao mogući produkt transformacije karbamazepina u vodenom okolišu^{305,309,315} ali i u ljudskom metabolizmu.^{308,317}

4.5.6. Deaminacija karbamazepina

Konačno, signal od m/z 222.1, iz LC-ITMS analize reakcijske smjese, najvjerojatnije odgovara strukturi dibenzo[*b,f*]azepin-5-karbonila, koja nastaje deaminacijom amidne skupine karbamazepina. Deaminacija amida u odgovarajuće aldehide ($R-CONH_2 \rightarrow R-CHO$) zahtjeva reduktivne reakcijske uvjete.³¹⁸ Takva pregrađivanja karbamazepina ne odgovaraju reakciji s oksidansom poput HOCl. Nastali produkt je uočen i u ranijim studijama,³⁹ te se opisuje kao artefakt same instrumentalne metode.

4.5.7. Pregled mehanizma pregrađivanja karbamazepina

Korištenjem kvantno-kemijskih metoda detaljno je objašnjen eksperimentalni maseni spektar razgradnih produkata reakcije karbamazepina s HOCl. Šest signala iz LC-ITMS analize odgovara sljedećim strukturama: karbamazepin-10,11-epoksid ($m/z = 253$), iminostilben ($m/z = 194$), 10-okso-iminostilben ($m/z = 208$), akridin-9-karboksi-aldehid ($m/z = 208$), dibenzo[*b,f*]azepin-5-karbonil ($m/z = 222$) te različiti izomeri iminostilbena ($m/z = 194$). Posljednje dvije strukture su artefakti instrumentalne analize, dok su drugi produkti nastali pregrađivanjima **F** uz HOCl u vodi.

Epoksidacija C10-C11 dvostruke veze i *N*-kloriranje amidne skupine kompetitivni su procesi, za koje izračunate energijske barijere odgovaraju eksperimentalnim podacima.^{39,299} Nastali se produkti, epoksid **5.3** i kloramid **5.2**, pregrađuju u vrlo stabilne spojeve, 10-okso-iminostilben, **5.7**, i 9-formil-akridin, **5.9**. Oba produkta su stabilne aromatske strukture, koje su otporne prema transformacijama u vodenom mediju te posjeduju svojstvo nakupljanja u okolišu (takozvani rekalitranti).

Ovim je istraživanjem pokazano da su primijenjene kvantno-kemijske metode i procedure prikladne za tumačenje eksperimentalnih signala u masenim spektrima i za predviđanje reakcijskih puteva pregrađivanja farmaceutika u okolišu.

5. ZAKLJUČAK

Kvantno-kemijske metode su primijenjene pri istraživanju niza reakcija između amina i amida s hipoklorastom kiselinom (HOCl). Mnogi psihofarmaci u svojim strukturama sadrže upravo amino ili amidnu funkcionalnu skupinu. Nakon apsorpcije u organizmu lijek se izlučuje i dospijeva do otpadnih voda, koje se prije ispuštanja u okoliš obrađuju u postrojenjima za obradu. Najvažniji postupak za kemijsku oksidaciju i dezinfekciju otpadnih voda je kloriranje. U reakciji navedenih amina i amida s klorirajućim specijama nastaju kloramini i kloramidi, reaktivne specije koje se mogu pregraditi do niza novih produkata. Detaljnim uvidom u odgovarajuće reakcijske mehanizme, može se procijeniti perzistentnost i ekološka sudbina takvih psihofarmaceutika u okolišu.

U reakciji s aminima, HOCl može klorirati ili hidroksilirati atom dušika, ali također i hidroksilirati C_{α} položaj u alkilaminima. Prijelazno stanje za kloriranje amina je cikličke strukture, pri čemu molekule vode kataliziraju prijenos vodikovog atoma s atoma dušika na atom kisika HOCl. Produkti su kloramini i voda. Procesi hidroksilacije uključuju linearno prijelazno stanje, u kojem se vodikov atom preko atom kisika prenosi do atoma klora u HOCl, pri čemu nastaju hidroksilamini (*N*-hidroksilacija) ili derivati metanolamina (*C*-hidroksilacija). U plinskoj fazi, proces kloriranja je izrazito nepovoljan te je hidroksilacija najpovoljniji proces. Dodatkom eksplicitnih molekula vode, koje kataliziraju prijenos atoma vodika, energijska barijera za kloriranje je znatno niža i s dodatkom 4-5 molekula voda konvergira prema eksperimentalnim vrijednostima barijera. Energijska barijera za hidroksilaciju neznatno se mijenja dodatkom eksplicitnih molekula vode.

Istraživani su mehanizmi kloriranja heterocikličkih sustava koji se često pojavljuju u strukturama lijekova: piperidin, piperazin i morfolin. Izračuni pokazuju sličan trend kao kod reakcija s jednostavnim aminima, jer dodatak eksplicitnih molekula vode katalizira reakciju kloriranja, dok se energijska barijera za reakciju hidroksiliranja neznatno mijenja. Psihofarmaci haloperidol i paroksetin derivati su piperidina, dok je aripiprazol derivat piperazina koji u C_4 , odnosno N_4 , položaju imaju arilni supstituent. U haloperidolu i aripiprazolu dušikov atom N_1 supstituran alkilnom skupinom, koja formalno onemogućuje reakciju *N*-kloriranja. Međutim, procesom *N*-dealkilacije, do kojeg dolazi biokemijskim transformacijama u organizmu i kemijskim reakcijama u okolišu, nastaju metaboliti koji mogu reagirati s HOCl.

Detaljnije su istražene reakcije pregrađivanja paroksetina u lužnatom mediju te pregrađivanje koje uključuje radikalske međuprodukte, koji nastaju nakon

homolitičkog kidanja N-Cl veze. U lužnatom se mediju, *N*-klor-4-(4-fluorfenil)-3-(hidroksimetil)piperidin, metabolit paroksetina, reakcijom dehidrohalogenacije pregrađuje u različite imine i bicikličke produkte. U procesima koji uključuju *N*-radikalske katione, moguće je pregrađivanje u distonične *C*-radikalske katione, u kojima je pozitivan naboj lociran na atomu dušika, a slobodni nespareni elektron na atomu ugljika. Eliminacijom vode iz *N*-radikalskog kationa mogu nastati imini ili enamini, a moguće je i formiranje peteročlanog prstena koji povezuje piperidinski i arilni sustav. Različiti produkti eliminacije vode imaju isti signal u masenom spektru. Pokazano je da se uporabom kvantno-kemijskih metoda može pravilno asignirati signal, odnosno objasniti mehanizam nastanka različitih produkata te procijeniti najpovoljniji put nastanka konačnog produkata koji odgovara eksperimentalnom signalu.

Kloriranje amida s HOCl istraženo je kvantno-kemijskim metodama na modelnom spoju *N*-metil-acetamidu (NMA). Izravno kloriranje amidne forme je, zbog visoke barijere, energijski zahtjevan proces. Da bi nastao *N*-kloramid, reakcija kloriranja se mora odvijati prema mehanizmu koji pretpostavlja sudjelovanje iminolne forme. Tautomerizacijom amida u iminolu formu, povećava se nukleofilnost dušikovog atoma, čime je olakšana reakcija s atomom klora u HOCl. Transfer atoma klora je proces usklađen s transferom vodikovog atoma s atoma kisika u amidnom supstratu na atom kisika u HOCl. Molekule vode sudjeluju u katalizi prijenosa vodikovog atoma, a uključivanje eksplicitnih molekula vode je nužno za reprodukciju eksperimentalnih barijera. Isti je obrazac mehanizma vrijedi za reakciju kloriranja skupine modelnih amida.

U strukturama hidantiona i barbiturata nalaze se amidne i imidne skupine. Kloriranje atoma dušika također pretpostavlja tautomerizaciju amidne u iminolnu forme psihofarmaka. Barbiturati, s imidnom skupinom, sporije se kloriraju od hidantoina. To je u skladu s činjenicom da su barbiturati otporni na kloriranje te da su kemijski perzistentni u okolišu (tzv. rekalcitranti).

Podrobnije je opisan mehanizam pregrađivanja karbamazepina (CBZ) u reakciji s hipoklorastom kiselinom. Osim kloriranja i hidroksilacije dušika, HOCl može epoksidirati i C10-C11 dvostruku vezu. Nakon kloriranja amidnog dušika CBZ, dolazi do eliminacije klor-izocijanatnog fragmenta uz formiranje međuproducta iminostilbena, koji je eksperimentalno viđen u masenom spektru reakcijskog medija. Nakon epoksidacije dvostruke veze (C10-C11), u reakcijama pregrađivanja nastaju

derivati formil-akridina i oksoiminostilbena, koji je važan metabolit carbamazepina s izraženim farmakološkim djelovanjem. U slučaju kloriranja karbamazepina, uporabom kvantno-kemijskih metoda locirani su svi transformacijski produkti čiji su analitički signali detektirani masenom spektrometrijom te su prikazani reakcijski putevi pregrađivanja CBZ.

Ovim je primjerima pokazano da je razumijevanje kemijskih transformacija lijekova induciranih klorirajućim agensima (npr. HOCl) u postrojenjima za obradu otpadnih voda, ključno za određivanje njihove perzistentnosti, lociranje njihovih razgradnih produkata i procjenu njihova ekotoksikološkog profila. U procjeni kemijske sudbine lijekova prikladno mjesto imaju kvantno-kemijske metode.

6. LITERATURA

1. Rivera-Utrilla, J.; Sánchez-Polo, M.; Ferro-García, M. Á.; Prados-Joya, G.; Ocampo-Pérez, R., Pharmaceuticals as emerging contaminants and their removal from water. A review. *Chemosphere* **2013**, *93*, 1268-1287.
2. Li, W. C., Occurrence, sources, and fate of pharmaceuticals in aquatic environment and soil. In *Environmental Pollution*, 2014; Vol. 187, pp 193-201.
3. Richardson, S. D.; Ternes, T. a., Water analysis: Emerging contaminants and current issues. In *Analytical Chemistry*, 2011; Vol. 83, pp 4616-4648.
4. Ternes, T. A., Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers. *Water research* **1998**, *32*, 3245-3260.
5. Kolpin, D. W.; Furlong, E. T.; Meyer, M. T.; Thurman, E. M.; Zaugg, S. D.; Barber, L. B.; Buxton, H. T., Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in U.S. streams, 1999-2000: A national reconnaissance. *Environmental Science and Technology* **2002**, *36*, 1202-1211.
6. Celiz, M. D.; Tso, J.; Aga, D. S., Pharmaceutical metabolites in the environment: analytical challenges and ecological risks. *Environmental toxicology and chemistry / SETAC* **2009**, *28*, 2473-2484.
7. Mompelat, S.; Le Bot, B.; Thomas, O., Occurrence and fate of pharmaceutical products and by-products, from resource to drinking water. *Environment International* **2009**, *35*, 803-814.
8. Kümmerer, K., *Pharmaceuticals in the Environment: Sources, Fate, Effects and Risks*. 3 ed.; Springer-Verlag Berlin Heidelberg: 2008; p 521.
9. Yan, S.; Song, W., Photo-transformation of pharmaceutically active compounds in the aqueous environment: a review. *Environmental science. Processes & impacts* **2014**, *16*, 697-720.
10. Aga, D. S., *Fate of Pharmaceuticals in the Environment and in Water Treatment Systems*. CRC Press: 2007.
11. Bedner, M.; MacCrehan, W. a., Transformation of acetaminophen by chlorination produces the toxicants 1,4-benzoquinone and N-acetyl-p-benzoquinone imine. *Environmental Science and Technology* **2006**, *40*, 516-522.
12. Khetan, S. K.; Collins, T. J., Human pharmaceuticals in the aquatic environment: A challenge to green chemistry. *Chemical reviews* **2007**, *107*, 2319-2364.
13. Zhang, H.; Huang, C. H., Oxidative transformation of fluoroquinolone antibacterial agents and structurally related amines by manganese oxide. *Environmental Science and Technology* **2005**, *39*, 4474-4483.
14. Bedner, M.; MacCrehan, W. a., Reactions of the amine-containing drugs fluoxetine and metoprolol during chlorination and dechlorination processes used in wastewater treatment. *Chemosphere* **2006**, *65*, 2130-2137.
15. Buth, J. M.; Arnold, W. a.; McNeill, K., Unexpected products and reaction mechanisms of the aqueous chlorination of cimetidine. *Environmental Science and Technology* **2007**, *41*, 6228-6233.
16. Calisto, V.; Esteves, V. I., Psychiatric pharmaceuticals in the environment. In *Chemosphere*, 2009; Vol. 77, pp 1257-1274.
17. Verlicchi, P.; Al Aukidy, M.; Zambello, E., Occurrence of pharmaceutical compounds in urban wastewater: Removal, mass load and environmental risk after a secondary treatment-A review. In *Science of the Total Environment*, 2012; Vol. 429, pp 123-155.
18. Brodin, T.; Fick, J.; Jonsson, M.; Klaminder, J., Dilute concentrations of a psychiatric drug alter behavior of fish from natural populations. *Science (New York, N.Y.)* **2013**, *339*, 814-5.
19. Calisto, V.; Domingues, M. R. M.; Esteves, V. I., Photodegradation of psychiatric pharmaceuticals in aquatic environments – Kinetics and photodegradation products. *Water research* **2011**, *45*, 6097-6106.
20. Peschka, M.; Eubeler, J. P.; Knepper, T. P., Occurrence and fate of barbiturates in the aquatic environment. *Environmental Science and Technology* **2006**, *40*, 7200-7206.
21. Hayes, B., British Columbia: Deaths caused by barbiturate poisoning in bald eagles and other wildlife. *The Canadian Veterinary Journal* **1988**, *29* (2), 173-174.
22. Oaks, J. L.; Gilbert, M.; Virani, M. Z.; Watson, R. T.; Meteyer, C. U.; Rideout, B. A.; Shivaprasad, H. L.; Ahmed, S.; Iqbal Chaudhry, M. J.; Arshad, M.; Mahmood, S.; Ali, A.; Ahmed Khan, A., Diclofenac residues as the cause of vulture population decline in Pakistan. *Nature* **2004**, *427*, 630-633.
23. Hutchinson, T. H.; Madden, J. C.; Naidoo, V.; Walker, C. H.; Hutchinson, T. H., Comparative metabolism as a key driver of wildlife species sensitivity to human and veterinary pharmaceuticals. **2014**.

24. Cuthbert, R. J.; Taggart, M. A.; Prakash, V.; Chakraborty, S.; Deori, P.; Galligan, T.; Kulkarni, M.; Ranade, S.; Saini, M.; Sharma, A. K.; Shringarpure, R.; Green, R. E.; Green, R. E., Avian scavengers and the threat from veterinary pharmaceuticals. **2014**.
25. Yuan, F.; Hu, C.; Hu, X.; Qu, J.; Yang, M., Degradation of selected pharmaceuticals in aqueous solution with UV and UV/H₂O₂. *Water research* **2009**, *43*, 1766-1774.
26. Atkinson, T., Lifestyle drug market booming. *Nat Med* **2002**, *8* (9), 909-909.
27. Young, S. N., Lifestyle drugs, mood, behaviour and cognition. *Journal of Psychiatry and Neuroscience* **2003**, *28* (2), 87-89.
28. Top 200 Drugs. <http://www.rxlist.com> (accessed 14.5.).
29. Barnes, K. K.; Kolpin, D. W.; Focazio, M. J.; Furlong, E. T.; Meyer, M. T.; Zaugg, S. D.; Haack, S. K.; Barber, L. B.; Thurman, E. M., Water-quality data for pharmaceuticals and other organic wastewater contaminants in ground water and in untreated drinking water sources in the United States, 2000-01. *Open File Report U. S. Geological Survey, Report: OF* **2008**, *7*.
30. Cunningham, V. L.; Constable, D. J. C.; Hannah, R. E., Environmental risk assessment of paroxetine. *Environmental science & technology* **2004**, *38*, 3351-3359.
31. Henry, T. B.; Kwon, J.-W.; Armbrust, K. L.; Black, M. C., Acute and chronic toxicity of five selective serotonin reuptake inhibitors in *Ceriodaphnia dubia*. *Environmental toxicology and chemistry / SETAC* **2004**, *23*, 2229-2233.
32. Kwon, J. W.; Armbrust, K. L., Hydrolysis and photolysis of paroxetine, a selective serotonin reuptake inhibitor, in aqueous solutions. *Environ Toxicol Chem* **2004**, *23* (6), 1394-9.
33. Trabelsi, H.; Bouabdallah, S.; Bouzouita, K.; Safta, F., Determination and degradation study of haloperidol by high performance liquid chromatography. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **2002**, *29*, 649-657.
34. Maslanka, A.; Krzek, J.; Stolarczyk, M.; Walczak, M.; ogowska, A., Stability Studies of Clonazepam, Diazepam, Haloperidol, and Doxepin with Diverse Polarities in an Acidic Environment. *Journal of AOAC International* **2011**, *94* (6), 1791-1799.
35. Maślanka, A.; Krzek, J.; Szłósarczyk, M.; Zmudzki, P.; Wach, K., Dependence of the kinetic and thermodynamic parameters on hydrophilic-lipophilic character of alprazolam, clonazepam, diazepam, doxepin and haloperidol in alkaline environment. *International Journal of Pharmaceutics* **2013**, *455*, 104-112.
36. Tateishi, T.; Watanabe, M.; Kumai, T.; Tanaka, M.; Moriya, H.; Yamaguchi, S.; Satoh, T.; Kobayashi, S., CYP3A4 is responsible for N-dealkylation of haloperidol and bromperidol and oxidation of their reduced form by human liver microsomes. *Life Sciences* **2000**, *67* (24), 2913-2920.
37. Miao, X.-S.; Metcalfe, C. D., Determination of carbamazepine and its metabolites in aqueous samples using liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. *Analytical chemistry* **2003**, *75*, 3731-3738.
38. Sharma, V. K., Oxidative transformations of environmental pharmaceuticals by Cl₂, ClO₂, O₃, and Fe(VI): Kinetics assessment. *Chemosphere* **2008**, *73*, 1379-1386.
39. Soufan, M.; Deborde, M.; Legube, B., Aqueous chlorination of diclofenac: Kinetic study and transformation products identification. *Water research* **2012**, *46*, 3377-3386.
40. Li, Z.; Fenet, H.; Gomez, E.; Chiron, S., Transformation of the antiepileptic drug oxcarbazepine upon different water disinfection processes. *Water research* **2011**, *45*, 1587-1596.
41. Gagnon, G. A.; O'Leary, K. C.; Volk, C. J.; Chauret, C.; Stover, L.; Andrews, R. C., Comparative Analysis of Chlorine Dioxide, Free Chlorine and Chloramines on Bacterial Water Quality in Model Distribution Systems. In *Journal of Environmental Engineering*, 2004; Vol. 130, pp 1269-1279.
42. Arana, I.; Santorum, P.; Muela, A.; Barcina, I., Chlorination and ozonation of waste-water comparative analysis of efficacy through the effect on *Escherichia coli* membranes. *Journal of Applied Microbiology* **1999**, *86*, 883-888.
43. Olivieri, V. P.; Snead, M. C.; Kruse, C. W.; Kawata, K., Stability and effectiveness of chlorine disinfectants in water distribution systems. *Environmental health perspectives* **1986**, *69*, 15-29.
44. Voudrias, E. a.; Reinhard, M., Reactivities of hypochlorous and hypobromous acid, chlorine monoxide, hypobromous acidium ion, chlorine, bromine, and bromine chloride in electrophilic aromatic substitution reactions with p-xylene in water. *Environmental science & technology* **1988**, *22*, 1049-56.
45. Feng, Y.; Smith, D. W.; Bolton, J. R., Photolysis of aqueous free chlorine species (HOCl and OCl-) with 254 nm ultraviolet light. *Journal of Environmental Engineering and Science* **2007**, *6*, 277-284.

46. Antelo, J. M.; Arce, F.; Parajo, M.; Pousa, A. I.; Perez-moure, J. C., Chlorination of N-Methylacetamide: A kinetic study. *International Journal of Chemical Kinetics* **1995**, *27* (10), 1021-1031.
47. Deborde, M.; von Gunten, U., Reactions of chlorine with inorganic and organic compounds during water treatment-Kinetics and mechanisms: A critical review. *Water research* **2008**, *42*, 13-51.
48. Soufan, M.; Deborde, M.; Delmont, A.; Legube, B., Aqueous chlorination of carbamazepine: kinetic study and transformation product identification. *Water research* **2013**, *47* (14), 5076-87.
49. EFSA *A systematic procedure for the identification of emerging chemical risks in the food and feed chain.*; 2014:EN-547; 2014; p 40.
50. OECD, eChemPortal. OECD: <http://www.echemportal.org>.
51. QSAR Toolbox. <http://www.qsartoolbox.org>.
52. McKone, T. E.; Macleod, M., Tracking Multiple Pathways of Human Exposure to Persistent Multimedia Pollutants: Regional, Continental, and Global Scale Models. *Annual Review of Environment and Resources* **2003**, *28*.
53. Pavan, M.; Worth, A. P., Review of QSAR Models for Ready Biodegradation. *Eur 22355 En* **2006**.
54. Vedani, A.; Dobler, M.; Smiesko, M., VirtualToxLab – a platform for estimating the toxic potential of drugs, chemicals and natural products. *Toxicology and applied pharmacology* **2012**, *261* (2), 142-53.
55. Blotevogel, J.; Mayeno, A. N.; Sale, T. C.; Borch, T., Prediction of contaminant persistence in aqueous phase: A quantum chemical approach. *Environmental Science and Technology* **2011**, *45*, 2236-2242.
56. Vrček, I. V.; Šakić, D.; Vrček, V.; Zipse, H.; Biruš, M., Computational study of radicals derived from hydroxyurea and its methylated analogues. In *Organic & biomolecular chemistry*, 2012; Vol. 10, p 1196.
57. Kolehmainen, E.; Tuppurainen, K.; Lanina, S. A.; Sievänen, E.; Laihia, K.; Boyarskiy, V. P.; Nikiforov, V. A.; Zhesko, T. E., A computationally feasible quantum chemical model for ¹³C NMR chemical shifts of PCB-derived carboxylic acids. *Chemosphere* **2006**, *62* (3), 368-374.
58. Blotevogel, J.; Borch, T., Determination of hexamethylphosphoramide and other highly polar phosphoramides in water samples using reversed-phase liquid chromatography/electrospray ionization time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* **2011**, *1218* (37), 6426-6432.
59. Blotevogel, J.; Borch, T.; Desyaterik, Y.; Mayeno, A. N.; Sale, T. C., Quantum Chemical Prediction of Redox Reactivity and Degradation Pathways for Aqueous Phase Contaminants: An Example with HMPA. *Environmental science & technology* **2010**, *44* (15), 5868-5874.
60. Mayeno, A. N.; Yang, R. S. H.; Reisfeld, B., Biochemical Reaction Network Modeling: Predicting Metabolism of Organic Chemical Mixtures. *Environmental science & technology* **2005**, *39* (14), 5363-5371.
61. Dar, T.; Altarawneh, M.; Dlugogorski, B., Theoretical Study in the Dimerisation of 2-Chlorothiophenol / 2-Chlorothiophenoxy : Precursors To Pcdt / Ta. *Organohalogen Compounds* **2012**, *74*, 657-660.
62. Dar, T.; Altarawneh, M.; Dlugogorski, B. Z., Quantum chemical study on formation of PCDT/TA from 2-chlorothiophenol precursor. *Environmental Science and Technology* **2013**, *47*, 11040-11047.
63. Altarawneh, M.; Dlugogorski, B. Z.; Kennedy, E. M.; Mackie, J. C., Mechanisms for formation, chlorination, dechlorination and destruction of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans (PCDD/Fs). In *Progress in Energy and Combustion Science*, 2009; Vol. 35, pp 245-274.
64. Kholod, Y. A.; Muratov, E. N.; Gorb, L. G.; Hill, F. C.; Artemenko, A. G.; Kuz'min, V. E.; Qasim, M.; Leszczynski, J., Application of quantum chemical approximations to environmental problems: prediction of water solubility for nitro compounds. *Environmental science & technology* **2009**, *43*, 9208-9215.
65. Trogolo, D.; Mishra, B. K.; Heeb, M. B.; von Gunten, U.; Arey, J. S., Molecular Mechanism of NDMA Formation from N,N-Dimethylsulfamide During Ozonation: Quantum Chemical Insights into a Bromide-Catalyzed Pathway. *Environmental science & technology* **2015**, *49* (7), 4163-4175.
66. Barr, W. J.; Yi, T.; Aga, D.; Acevedo, O.; Harper, W. F., Using electronic theory to identify metabolites present in 17 α -ethinylestradiol biotransformation pathways. *Environmental Science and Technology* **2012**, *46*, 760-768.

67. Kidd, K. a.; Blanchfield, P. J.; Mills, K. H.; Palace, V. P.; Evans, R. E.; Lazorchak, J. M.; Flick, R. W., Collapse of a fish population after exposure to a synthetic estrogen. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **2007**, *104*, 8897-8901.
68. Rokhina, E. V.; Suri, R. P. S., Application of density functional theory (DFT) to study the properties and degradation of natural estrogen hormones with chemical oxidizers. *Science of the Total Environment* **2012**, *417-418*, 280-290.
69. Musa, K. A. K.; Eriksson, L. A., Photodegradation mechanism of the common non-steroid anti-inflammatory drug diclofenac and its carbazole photoproduct. *Physical chemistry chemical physics : PCCP* **2009**, *11*, 4601-4610.
70. Zhang, H.; Xie, H.; Chen, J.; Zhang, S., Prediction of Hydrolysis Pathways and Kinetics for Antibiotics under Environmental pH Conditions: A Quantum Chemical Study on Cephadrine. *Environmental science & technology* **2015**, *49*, 1552-1558.
71. Alves, C. N.; Borges, R. S.; Silva, A. B. F., Density Functional Theory Study of Metabolic Derivatives of the Oxidation of Paracetamol. *International Journal of Quantum Chemistry* **2006**, *106*, 2617-2623.
72. Foresman, J. B.; Frisch, A.; Gaussian, I., *Exploring chemistry with electronic structure methods*. 2nd ed ed.; Gaussian, Inc: 1996.
73. Bachrach, S. M., *Computational Organic Chemistry*. Wiley-Interscience: Hoboken, New Yersy, USA, 2007; p 496.
74. Alecu, I. M.; Zheng, J.; Zhao, Y.; Truhlar, D. G., Computational Thermochemistry: Scale Factor Databases and Scale Factors for Vibrational Frequencies Obtained from Electronic Model Chemistries. *Journal of Chemical Theory and Computation* **2010**, *6*, 2872-2887.
75. Young, D. C., Introduction. In *Computational Chemistry*, John Wiley & Sons, Inc.: 2001; pp 1-4.
76. Koch, W.; Holthausen, M. C., The Basic Machinery of Density Functional Programs. In *A Chemist's Guide to Density Functional Theory*, Wiley-VCH Verlag GmbH: 2001; pp 93-116.
77. Pliego, J. R., Basic hydrolysis of formamide in aqueous solution: A reliable theoretical calculation of the activation free energy using the cluster-continuum model. *Chemical Physics* **2004**, *306*, 273-280.
78. Saunders, M., Stochastic search for isomers on a quantum mechanical surface. *J Comput Chem* **2004**, *25* (5), 621-6.
79. Šakić, D.; Vrček, V., Prereactive complexes in chlorination of benzene, triazine, and tetrazine: A quantum chemical study. *Journal of Physical Chemistry A* **2012**, *116*, 1298-1306.
80. Vrček, V.; Kronja, O.; Saunders, M., Stochastic Search for Isomers of the sec -Butyl Cation. *Journal of Chemical Theory and Computation* **2007**, *3*, 1223-1230.
81. Addicoat, M. A.; Metha, G. F., Kick: Constraining a Stochastic Search Procedure with Molecular Fragments. *Journal of computational chemistry* **2009**, *30*, 57-64.
82. Bera, P. P.; Sattelmeyer, K. W.; Saunders, M.; Schaefer, H. F.; Schleyer, P. V. R., Mindless chemistry. *Journal of Physical Chemistry A* **2006**, *110*, 4287-4290.
83. Šakić, D.; Šonjić, P.; Tana, T.; Vrček, V., Chlorination of N - Methylacetamide and Amide-Containing Pharmaceuticals . Quantum-Chemical Study of the Reaction Mechanism. *J. Phys. Chem. A* **2014**, *118*, 2367-2376.
84. Šakić, D.; Zipse, H.; Vrček, V., Base-catalyzed reactions of environmentally relevant N-chloro-piperidines. A quantum-chemical study. *Organic & biomolecular chemistry* **2011**, *9*, 4336-4346.
85. Frisch, M. J.; Trucks, G. W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; Robb, M. A.; Cheeseman, J. R.; Scalmani, G.; Barone, V.; Mennucci, B.; Petersson, G. A.; Nakatsuji, H.; Caricato, M.; Li, X.; Hratchian, H. P.; Izmaylov, A. F.; Bloino, J.; Zheng, G.; Sonnenberg, J. L.; Hada, M.; Ehara, M.; Toyota, K.; Fukuda, R.; Hasegawa, J.; Ishida, M.; Nakajima, T.; Honda, Y.; Kitao, O.; Nakai, H.; Vreven, T.; Montgomery Jr., J. A.; Peralta, J. E.; Ogliaro, F.; Bearpark, M. J.; Heyd, J.; Brothers, E. N.; Kudin, K. N.; Staroverov, V. N.; Kobayashi, R.; Normand, J.; Raghavachari, K.; Rendell, A. P.; Burant, J. C.; Iyengar, S. S.; Tomasi, J.; Cossi, M.; Rega, N.; Millam, N. J.; Klene, M.; Knox, J. E.; Cross, J. B.; Bakken, V.; Adamo, C.; Jaramillo, J.; Gomperts, R.; Stratmann, R. E.; Yazyev, O.; Austin, A. J.; Cammi, R.; Pomelli, C.; Ochterski, J. W.; Martin, R. L.; Morokuma, K.; Zakrzewski, V. G.; Voth, G. A.; Salvador, P.; Dannenberg, J. J.; Dapprich, S.; Daniels, A. D.; Farkas, Ö.; Foresman, J. B.; Ortiz, J. V.; Cioslowski, J.; Fox, D. J. *Gaussian 09*, Gaussian, Inc.: Wallingford, CT, USA, 2009.
86. Neese, F., The ORCA program system. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science* **2012**, *2* (1), 73-78.

87. Werner, H. J.; Knowles, P. J.; Knizia, G.; Manby, F. R.; Schütz, M.; Celani, P.; Korona, T.; Lindh, R.; Mitrushenkov, A.; Rauhut, G.; Shamasundar, K. R.; Adler, T. B.; Amos, R. D.; Bernhardsson, A.; Berning, A.; Cooper, D. L.; Deegan, M. J. O.; Dobbyn, A. J.; Eckert, F.; Goll, E.; Hampel, C.; Hesselmann, A.; Hetzer, G.; Hrenar, T.; Jansen, G.; Köppl, C.; Liu, Y.; Lloyd, A. W.; Mata, R. A.; May, A. J.; McNicholas, S. J.; Meyer, W.; Mura, M. E.; Nicklass, A.; O'Neill, D. P.; Palmieri, P.; Peng, D.; Pflüger, K.; Pitzer, R.; Reiher, M.; Shiozaki, T.; Stoll, H.; Stone, A. J.; Tarroni, R.; Thorsteinsson, T.; Wang, M. *MOLPRO, version 2012.1, a package of ab initio programs*, 2012.
88. Dennington, R.; Keith, T.; Millam, J. *GaussView*, Semichem, Inc.: Shawnee Mission, KS, 2009., USA, 2009.
89. Lee, C.; Yang, W.; Parr, R. G., Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density. *Physical Review B* **1988**, *37* (2), 785-789.
90. Becke, A. D., Density - functional thermochemistry. III. The role of exact exchange. *The Journal of Chemical Physics* **1993**, *98* (7), 5648-5652.
91. Clark, T.; Chandrasekhar, J.; Spitznagel, G. W.; Schleyer, P. V. R., Efficient diffuse function-augmented basis sets for anion calculations. III. The 3-21+G basis set for first-row elements, Li-F. *Journal of Computational Chemistry* **1983**, *4* (3), 294-301.
92. Marenich, A. V.; Cramer, C. J.; Truhlar, D. G., Universal Solvation Model Based on Solute Electron Density and on a Continuum Model of the Solvent Defined by the Bulk Dielectric Constant and Atomic Surface Tensions. *The Journal of Physical Chemistry B* **2009**, *113* (18), 6378-6396.
93. Cossi, M.; Scalmani, G.; Rega, N.; Barone, V., New developments in the polarizable continuum model for quantum mechanical and classical calculations on molecules in solution. *The Journal of Chemical Physics* **2002**, *117* (1), 43-54.
94. Amovilli, C.; Barone, V.; Cammi, R.; Cancès, E.; Cossi, M.; Mennucci, B.; Pomelli, C. S.; Tomasi, J., Recent Advances in the Description of Solvent Effects with the Polarizable Continuum Model. In *Advances in Quantum Chemistry*, Per-Olov, L., Ed. Academic Press: 1998; Vol. Volume 32, pp 227-261.
95. Barone, V.; Cossi, M., Quantum Calculation of Molecular Energies and Energy Gradients in Solution by a Conductor Solvent Model. *The Journal of Physical Chemistry A* **1998**, *102* (11), 1995-2001.
96. Baboul, A. G.; Curtiss, L. A.; Redfern, P. C.; Raghavachari, K., Gaussian-3 theory using density functional geometries and zero-point energies. *The Journal of Chemical Physics* **1999**, *110* (16), 7650-7657.
97. Ren, Y.; Yamataka, H., Does α -effect exist in E2 reactions? A G2(+) investigation. *Journal of Computational Chemistry* **2009**, *30* (3), 358-365.
98. Curtiss, L. A.; Raghavachari, K.; Redfern, P. C.; Rassolov, V.; Pople, J. A., Gaussian-3 (G3) theory for molecules containing first and second-row atoms. *The Journal of Chemical Physics* **1998**, *109* (18), 7764-7776.
99. Grimme, S., Semiempirical hybrid density functional with perturbative second-order correlation. *The Journal of Chemical Physics* **2006**, *124* (3), 034108.
100. Schwabe, T.; Grimme, S., Double-hybrid density functionals with long-range dispersion corrections: higher accuracy and extended applicability. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2007**, *9* (26), 3397-3406.
101. Tarnopolsky, A.; Karton, A.; Sertchook, R.; Vuzman, D.; Martin, J. M., Double-hybrid functionals for thermochemical kinetics. *J Phys Chem A* **2008**, *112* (1), 3-8.
102. Zhao, Y.; Truhlar, D., The M06 suite of density functionals for main group thermochemistry, thermochemical kinetics, noncovalent interactions, excited states, and transition elements: two new functionals and systematic testing of four M06-class functionals and 12 other functionals. *Theor Chem Account* **2008**, *120* (1-3), 215-241.
103. Boese, A. D.; Martin, J. M. L., Development of density functionals for thermochemical kinetics. *The Journal of Chemical Physics* **2004**, *121* (8), 3405-3416.
104. Wiczorek, R.; Haskamp, L.; Dannenberg, J. J., Molecular Orbital Calculations of Water Clusters on Counterpoise-Corrected Potential Energy Surfaces. *The Journal of Physical Chemistry A* **2004**, *108* (32), 6713-6723.
105. Ardura, D.; Lopez, R.; Sordo, T. L., Relative Gibbs energies in solution through continuum models: effect of the loss of translational degrees of freedom in bimolecular reactions on Gibbs energy barriers. *J Phys Chem B* **2005**, *109* (49), 23618-23.
106. Okuno, Y., Theoretical investigation of the mechanism of the baeyer-villiger reaction in nonpolar solvents. *Chemistry (Weinheim an der Bergstrasse, Germany)* **1997**, *3* (2), 212-8.

107. Glendening, E. D.; Reed, A. E.; Carpenter, J. E.; Weinhold, F. *NBO version 3.1*.
108. Tirado-Rives, J.; Jorgensen, W. L., Performance of B3LYP Density Functional Methods for a Large Set of Organic Molecules. *Journal of Chemical Theory and Computation* **2008**, *4* (2), 297-306.
109. Hynes, J.; Doubleday, W. W.; Dyckman, A. J.; Godfrey, J. D.; Grosso, J. a.; Kiau, S.; Leftheris, K., N-Amination of Pyrrole and Indole Heterocycles with Monochloramine (N H₂Cl). *Journal of Organic Chemistry* **2004**, *69*, 1368-1371.
110. Matsubara, T.; Asako, S.; Ilies, L.; Nakamura, E., Synthesis of anthranilic acid derivatives through iron-catalyzed ortho amination of aromatic carboxamides with N-chloroamines. *Journal of the American Chemical Society* **2014**, *136*, 646-649.
111. Miura, T.; Morimoto, M.; Murakami, M., Copper-catalyzed amination of silyl ketene acetals with N-chloroamines. *Organic Letters* **2012**, *14*, 5214-5217.
112. Porcheddu, A.; De Luca, L., Iron-catalyzed amidation of aldehydes with N-chloroamines. *Advanced Synthesis and Catalysis* **2012**, *354*, 2949-2953.
113. Pattison, D. I.; O'Reilly, R. J.; Skaff, O.; Radom, L.; Anderson, R. F.; Davies, M. J., One-electron reduction of N-chlorinated and N-brominated species is a source of radicals and bromine atom formation. *Chemical research in toxicology* **2011**, *24*, 371-382.
114. Szabó, M.; Baranyai, Z.; Somsák, L.; Fábián, I., Decomposition of N-Chloroglycine in Alkaline Aqueous Solution: Kinetics and Mechanism. *Chemical research in toxicology* **2015**, 150415124912000.
115. Bedner, M.; Maccrehan, W. a.; Helz, G. R., Production of Macromolecular Chloramines by Chlorine-Transfer Reactions. *Environmental Science and Technology* **2004**, *38*, 1753-1758.
116. Donnermair, M. M.; Blatchley, E. R., Disinfection efficacy of organic chloramines. *Water research* **2003**, *37*, 1557-1570.
117. Zwiener, C.; Richardson, S. D.; De Marini, D. M.; Grummt, T.; Glauner, T.; Frimmel, F. H., Drowning in disinfection byproducts? Assessing swimming pool water. *Environmental Science and Technology* **2007**, *41*, 363-372.
118. Xui, B. a.; Ashby, M. T., Small molecular, macromolecular, and cellular chloramines react with thiocyanate to give the human defense factor hypothiocyanite. *Biochemistry* **2010**, *49*, 2068-2074.
119. Pattison, D. I.; Hawkins, C. L.; Davies, M. J., Hypochlorous acid-mediated protein oxidation: How important are chloramine transfer reactions and protein tertiary structure? *Biochemistry* **2007**, *46*, 9853-9864.
120. Hawkins, C. L.; Davies, M. J., Hypochlorite-induced damage to DNA, RNA, and polynucleotides: Formation of chloramines and nitrogen-centered radicals. *Chemical research in toxicology* **2002**, *15*, 83-92.
121. Stanley, N. R.; Pattison, D. I.; Hawkins, C. L., Ability of hypochlorous acid and N -chloramines to chlorinate DNA and its constituents. *Chemical research in toxicology* **2010**, *23*, 1293-1302.
122. Dodd, M. C.; Shah, A. D.; Von Gunten, U.; Huang, C. H., Interactions of fluoroquinolone antibacterial agents with aqueous chlorine: Reaction kinetics, mechanisms, and transformation pathways. *Environmental Science and Technology* **2005**, *39*, 7065-7076.
123. Song, D.; Liu, H.; Qiang, Z.; Qu, J., Determination of rapid chlorination rate constants by a stopped-flow spectrophotometric competition kinetics method. *Water research* **2014**, *55*, 126-132.
124. Rayne, S.; Forest, K., Thermodynamic properties of chloramine formation and related reactions during water treatment: a G4MP2, G4, and W1BD theoretical study. *J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng* **2014**, *49* (7), 753-62.
125. Jeong, G.; Jung, J.-H.; Lim, J.-H.; Won, Y. S.; Lee, J.-K., A Computational Mechanistic Study of Breakpoint Chlorination for the Removal of Ammonia Nitrogen from Water. *Journal of Chemical Engineering of Japan* **2014**, *47* (3), 225-229.
126. Sunoj, R. B.; Anand, M., Microsolvated transition state models for improved insight into chemical properties and reaction mechanisms. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2012**, *14*, 12715.
127. Andrés, J.; Canle L, M.; García, M. V.; Rodríguez Vázquez, L. F.; Santaballa, J. A., A B3LYP/6-31G** study on the chlorination of ammonia by hypochlorous acid. *Chemical Physics Letters* **2001**, *342* (3-4), 405-410.
128. Rayson, M. S.; Altarawneh, M.; Mackie, J. C.; Kennedy, E. M.; Długogorski, B. Z., Theoretical study of the ammonia-hypochlorous acid reaction mechanism. *The journal of physical chemistry. A* **2010**, *114*, 2597-2606.

129. Vrček, V.; Meštrić, H., Chlorination of ammonia and aliphatic amines by Cl₂: DFT study of medium and substituent effects. *Journal of Physical Organic Chemistry* **2009**, *22*, 59-68.
130. Tarade, T.; Vrček, V., Reactivity of amines with hypochlorous acid: Computational study of steric, electronic, and medium effects. *International Journal of Quantum Chemistry* **2013**, *113* (7), 881-890.
131. Vrček, V. In *The chlorination of amides by HOCl*, Summer school 2012 AvH-Linkage Program on "Computational Life Sciences on Open Shell Intermediates", Primošten, Croatia, Primošten, Croatia, 2013.
132. Murray, R. W.; Rajadhyaksha, S. N.; Mohan, L., Chemistry of dioxiranes. 13. Oxidation of primary amines by dimethyldioxirane. *The Journal of Organic Chemistry* **1989**, *54* (24), 5783-5788.
133. Bach, R. D.; Su, M.-D.; Schlegel, H. B., Oxidation of Amines and Sulfides with Hydrogen Peroxide and Alkyl Hydrogen Peroxide. The Nature of the Oxygen-Transfer Step. *Journal of the American Chemical Society* **1994**, *116*, 5379-5391.
134. Bach, R. D.; Owensby, A. L.; Gonzalez, C.; Schlegel, H. B.; McDouall, J. J. W., Nature of the transition structure for oxygen atom transfer from a hydroperoxide. Theoretical comparison between water oxide and ammonia oxide. *Journal of the American Chemical Society* **1991**, *113*, 6001-6011.
135. Srnc, M.; Ončák, M.; Zahradník, R., Reaction mechanism of oxidation, hydroxylation, and epoxidation by hypofluorous acid: A theoretical study of unusual H-bond-assisted catalysis. *Journal of Physical Chemistry A* **2008**, *112*, 3631-3637.
136. Rozen, S., HOF.CH₃CN: probably the best oxygen transfer agent organic chemistry has to offer. *Accounts of chemical research* **2014**, *47* (8), 2378-89.
137. Nadupalli, S.; Koorbanally, N.; Jonnalagadda, S. B., Kinetics and mechanism of the oxidation of amaranth with hypochlorite. *J Phys Chem A* **2011**, *115* (27), 7948-54.
138. Oakes, J.; Gratton, P., Kinetic investigations of the oxidation of Methyl Orange and substituted arylazonaphthol dyes by peracids in aqueous solution. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2* **1998**, (12), 2563-2568.
139. Oakes, J., Principles of colour loss. Part 1: Mechanisms of oxidation of model azo dyes by detergent bleaches. *Review of Progress in Coloration and Related Topics* **2002**, *32* (1), 63-79.
140. Alexandrova, A. N.; Jorgensen, W. L., Why urea eliminates ammonia rather than hydrolyzes in aqueous solution. *Journal of Physical Chemistry B* **2007**, *111*, 720-730.
141. Tokmakov, I. V.; Alavi, S.; Thompson, D. L., Urea and urea nitrate decomposition pathways: a quantum chemistry study. *J Phys Chem A* **2006**, *110* (8), 2759-70.
142. Blom, M. N.; Compagnon, I.; Polfer, N. C.; Helden, G.; Meijer, G.; Suhai, S.; Paizs, B.; Oomens, J., Stepwise solvation of an amino acid: the appearance of zwitterionic structures. *J Phys Chem A* **2007**, *111* (31), 7309-16.
143. Ahn, D.-S.; Park, S.-W.; Jeon, I.-S.; Lee, M.-K.; Kim, N.-H.; Han, Y.-H.; Lee, S., Effects of Microsolvation on the Structures and Reactions of Neutral and Zwitterion Alanine: Computational Study. *The Journal of Physical Chemistry B* **2003**, *107*, 14109-14118.
144. Jensen, J. H.; Gordon, M. S., On the Number of Water Molecules Necessary To Stabilize the Glycine Zwitterion. *Journal of the American Chemical Society* **1995**, *117* (31), 8159-8170.
145. Wong, M. W.; Wiberg, K. B.; Frischt, M. J., Solvent effects. 2. Medium effect on the structure, energy, charge density, and vibrational frequencies of sulfamic acid. *Journal of the American Chemical Society* **1992**, *114* (2), 523-529.
146. Chang, T. M.; Chakrabarty, S.; Williams, E. R., Hydration of gaseous m-aminobenzoic acid: Ionic vs neutral hydrogen bonding and water bridges. *Journal of the American Chemical Society* **2014**, *136*, 10440-10449.
147. Wang, Q.; Mannan, M. S., Prediction of thermochemical properties for gaseous ammonia oxide. *Journal of Chemical and Engineering Data* **2010**, *55*, 5128-5132.
148. De Lima, G. F.; Pliego, J. R.; Duarte, H. A., Stability of hydroxylamine isomers in aqueous solution: Ab initio study using continuum, cluster-continuum and Shells Theory of Solvation. *Chemical Physics Letters* **2011**, *518*, 61-64.
149. Pinkston, K. E.; Sedlak, D. L., Transformation of aromatic ether- and amine-containing pharmaceuticals during chlorine disinfection. *Environmental Science and Technology* **2004**, *38*, 4019-4025.
150. Qiang, Z.; Adams, C. D., Determination of Monochloramine Formation Rate Constants with Stopped-Flow Spectrophotometry. *Environmental Science and Technology* **2004**, *38*, 1435-1444.

151. Mai, B. K.; Park, K.; Duong, M. P. T.; Kim, Y., Proton transfer dependence on hydrogen-bonding of solvent to the water wire: A theoretical study. *Journal of Physical Chemistry B* **2013**, *117*, 307-315.
152. Tanaka, A., Chlorination of Ammonia and Amines with Negative Activation Enthalpies. *Analytical Sciences/Supplements* **2002**, *17icas*, i797-i800.
153. Matte, D.; Solastiouk, B.; Merlin, A.; Deglise, X., Étude cinétique de la N-chloration de la diméthylamine et de la diéthylamine en phase aqueuse. *Canadian Journal of Chemistry* **1989**, *67*, 786-791.
154. Armesto, X. L.; Canle, M. L.; Garch, M. V., N Reactivity vs . 0 Reactivity in Aqueous Chlorination. *International Journal* **1994**, *26*, 1135-1141.
155. Claxton, G. P.; Allen, L.; Grisar, J. M., 2,3,4,5-Tetrahydropyridine Trimer. *Organic Syntheses* **1977**, *56*, 118.
156. Elkhatib, M.; Steinhauser, G.; Delalu, H.; Cedex, V., Chlorine-Atom Transfer Reactions between Chloramine (= Chloramide) and Piperidine : Kinetic Reactivity and Characterization in a Raschig Medium. **2009**, *92*, 98-111.
157. Šakić, D.; Achrainer, F.; Vrček, V.; Zipse, H., The chemical fate of paroxetine metabolites. Dehydration of radicals derived from 4-(4-fluorophenyl)-3-(hydroxymethyl)piperidine. *Organic & biomolecular chemistry* **2013**, *11*, 4232.
158. Pastoriza, C.; Antelo, J. M.; Crugeiras, J.; Peña-Gallego, A., Kinetic study of the formation of N -chloro compounds using N -chlorosuccinimide. *Journal of Physical Organic Chemistry* **2014**, *27*, 407-418.
159. Pattison, D. I.; Lam, M.; Shinde, S. S.; Anderson, R. F.; Davies, M. J., The nitroxide TEMPO is an efficient scavenger of protein radicals: Cellular and kinetic studies. *Free Radical Biology and Medicine* **2012**, *53*, 1664-1674.
160. Liviac, D.; Wagner, E. D.; Mitch, W. a.; Altonji, M. J.; Plewa, M. J., Genotoxicity of water concentrates from recreational pools after various disinfection methods. *Environmental Science and Technology* **2010**, *44*, 3527-3532.
161. Fiss, E. M.; Rule, K. L.; Vikesland, P. J., Formation of chloroform and other chlorinated byproducts by chlorination of triclosan-containing antibacterial products. *Environmental Science and Technology* **2007**, *41*, 2387-2394.
162. Joo, S. H.; Mitch, W. a., Nitrile, aldehyde, and halonitroalkane formation during chlorination/chloramination of primary amines. *Environmental Science and Technology* **2007**, *41*, 1288-1296.
163. Richardson, S. D., Environmental mass spectrometry: Emerging contaminants and current issues. *Analytical Chemistry* **2012**, *84*, 747-778.
164. Glassmeyer, S. T.; Shoemaker, J. a., Effects of chlorination on the persistence of pharmaceuticals in the environment. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* **2005**, *74*, 24-31.
165. Dodd, M. C.; Huang, C. H., Transformation of the antibacterial agent sulfamethoxazole in reactions with chlorine: Kinetics, mechanisms, and pathways. *Environmental Science and Technology* **2004**, *38*, 5607-5615.
166. L. Armesto, X.; Canle L, M.; V. García, M.; A. Santaballa, J., Aqueous chemistry of N-halo-compounds. *Chemical Society Reviews* **1998**, *27* (6), 453.
167. Hand, V. C.; Snyder, M. P.; Margerum, D. W., Concerted fragmentation of N-chloro- α -amino acid anions. *Journal of the American Chemical Society* **1983**, *105* (12), 4022-4025.
168. Meng, Q.; Thibblin, A., Mechanisms of solvent- and base-promoted imine-forming elimination reactions. *Journal of the American Chemical Society* **1997**, *119*, 1224-1229.
169. Calvo, P.; Crugeiras, J.; Ríos, A.; Ríos, M. a., Nucleophilic substitution reactions of N-chloramines: Evidence for a change in mechanism with increasing nucleophile reactivity. *Journal of Organic Chemistry* **2007**, *72*, 3171-3178.
170. Davies, M. J.; Dean, R. T., *Radical-mediated Protein oxidation: From Chemistry to Medicine*. Oxford University Press: Oxford, England, 1998.
171. DellaGreca, M.; Iesce, M. R.; Pistillo, P.; Previtiera, L.; Temussi, F., Unusual products of the aqueous chlorination of atenolol. *Chemosphere* **2009**, *74*, 730-734.
172. Vrcek, V.; Zipse, H., Rearrangements in piperidine-derived nitrogen-centered radicals. A quantum-chemical study. *Journal of Organic Chemistry* **2009**, *74*, 2947-2957.
173. Zhao, S. X.; Dalvie, D. K.; Kelly, J. M.; Soglia, J. R.; Frederick, K. S.; Smith, E. B.; Obach, R. S.; Kalgutkar, A. S., NADPH-dependent covalent binding of [3H]paroxetine to human liver microsomes and S-9 fractions: Identification of an electrophilic quinone metabolite of paroxetine. *Chemical research in toxicology* **2007**, *20*, 1649-1657.

174. Segura, M.; Ortuño, J.; Farré, M.; Pacifici, R.; Pichini, S.; Joglar, J.; Segura, J.; de la Torre, R., Quantitative determination of paroxetine and its 4-hydroxy-3-methoxy metabolite in plasma by high-performance liquid chromatography/electrospray ion trap mass spectrometry: application to pharmacokinetic studies. *Rapid communications in mass spectrometry : RCM* **2003**, *17*, 1455-1461.
175. Massaroti, P.; Cassiano, N. M.; Duarte, L. F.; Campos, D. R.; Marchioretto, M. a. M.; Bernasconi, G.; Calafatti, S.; Barros, F. a. P.; Meurer, E. C.; Pedrazzoli, J., Validation of a selective method for determination of paroxetine in human plasma by LC-MS/MS. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* **2005**, *8*, 340-347.
176. Vasskog, T.; Anderssen, T.; Pedersen-Bjergaard, S.; Kallenborn, R.; Jensen, E., Occurrence of selective serotonin reuptake inhibitors in sewage and receiving waters at Spitsbergen and in Norway. *Journal of Chromatography A* **2008**, *1185*, 194-205.
177. Chu, S.; Metcalfe, C. D., Analysis of paroxetine, fluoxetine and norfluoxetine in fish tissues using pressurized liquid extraction, mixed mode solid phase extraction cleanup and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* **2007**, *1163*, 112-118.
178. Kwon, J.-W.; Armbrust, K. L., Aqueous solubility, n-octanol-water partition coefficient, and sorption of five selective serotonin reuptake inhibitors to sediments and soils. *Bulletin of environmental contamination and toxicology* **2008**, *81*, 128-135.
179. Kreke, N.; Dietrich, D. R., Physiological endpoints for potential SSRI interactions in fish. *Critical reviews in toxicology* **2008**, *38*, 215-247.
180. Schultz, M. M.; Furlong, E. T.; Kolpin, D. W.; Werner, S. L.; Schoenfuss, H. L.; Barber, L. B.; Blazer, V. S.; Norris, D. O.; Vajda, A. M., Antidepressant Pharmaceuticals in Two U.S. Effluent-Impacted Streams: Occurrence and Fate in Water and Sediment, and Selective Uptake in Fish Neural Tissue. *Environmental science & technology* **2010**, *44* (6), 1918-1925.
181. Lajeunesse, a.; Gagnon, C.; Sauvé, S., Determination of basic antidepressants and their N-desmethyl metabolites in raw sewage and wastewater using solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Analytical Chemistry* **2008**, *80*, 5325-5333.
182. Hiemke, C.; Härtter, S., Pharmacokinetics of selective serotonin reuptake inhibitors. *Pharmacology & Therapeutics* **2000**, *85* (1), 11-28.
183. Mandrioli, R.; Mercolini, L.; Ferranti, A.; Furlanetto, S.; Boncompagni, G.; Raggi, M. A., Determination of the antidepressant paroxetine and its three main metabolites in human plasma by liquid chromatography with fluorescence detection. *Analytica Chimica Acta* **2007**, *591*, 141-147.
184. Munigela, N.; Babu, J. M.; Yerramilli, A.; Kolla, N. K.; Krishnamurthy, V.; Mathad, V. V., Spectral characterization of degradation impurities of paroxetine hydrochloride hemihydrate. *Scientia Pharmaceutica* **2008**, *76*, 653-661.
185. Nirmala, M.; Sreekanth, B. R.; Vishweshwar, P.; Moses Babu, J.; Anjaneyulu, Y., (3S,4R)-4-(4-Fluoro-phen-yl)-3-(hydroxy-meth-yl)piperidinium chloride. *Acta Crystallographica Section E* **2008**, *64*, o800.
186. Anet, F. A. L.; Yavari, I., Nitrogen inversion in piperidine. *Journal of the American Chemical Society* **1977**, *99* (8), 2794-2796.
187. Lambert, J. B.; Oliver, W. L.; Packard, B. S., Nitrogen inversion in cyclic N-chloroamines and N-methylamines. *Journal of the American Chemical Society* **1971**, *93* (4), 933-937.
188. Darwich, C.; Elkhatib, M.; Steinhäuser, G.; Delalu, H., Chlorine-Atom Transfer Reactions between Chloramine (=Chloramide) and Piperidine: Kinetic Reactivity and Characterization in a Raschig Medium. *Helvetica Chimica Acta* **2009**, *92* (1), 98-111.
189. Durig, J.; El Defrawy, A.; Ward, R.; Guirgis, G.; Gounev, T., Conformational stability of chlorocyclohexane from temperature-dependent FT-IR spectra of xenon solutions, r 0 structural parameters, and vibrational assignment. *Structural Chemistry* **2008**, *19*, 579-594.
190. Jensen, J. S.; Helz, G. R., Dechlorination kinetics at alkaline pH of N-chloropiperidine, a genotoxin in chlorinated municipal wastewater. *Water research* **1998**, *32* (9), 2615-2620.
191. Turki, N.; Milet, A.; Ouamerli, O.; Moszynski, R.; Kochanski, E., The OH-(H₂O)₂ system: Efficiency of ab initio and DFT calculations for two- and three-body interactions. *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM* **2002**, *577*, 239-253.
192. Dahlke, E. E.; Orthmeyer, M. a.; Truhlar, D. G., Assessment of multicoefficient correlation methods, second-order Møller-Plesset perturbation theory, and density functional theory for H₃O+(H₂O)_n (n = 1-5) and OH - (H₂O)_n (n = 1-4). *Journal of Physical Chemistry B* **2008**, *112*, 2372-2381.

193. Gronert, S., Theoretical Studies of Elimination Reactions .4. Gas Phase Reactions of F- With Cyclopentyl and Cyclohexyl Chloride – Stereochemical Preferences of E2 Eliminations. *Journal of Organic Chemistry* **1994**, *59*, 7046-7050.
194. Kelly, C. P.; Cramer, C. J.; Truhlar, D. G., Adding explicit solvent molecules to continuum solvent calculations for the calculation of aqueous acid dissociation constants. *Journal of Physical Chemistry A* **2006**, *110*, 2493-2499.
195. Mohamed, A. A.; Jensen, F., Steric Effects and Solvent Effects on S N 2 Reactions. *J. Phys. Chem. A* **2001**, *105*, 3259-3268.
196. Andrés, J.; Armesto, X. L.; Canle, M.; García, M. V.; Ramos, D. R.; Santaballa, J. A., Understanding the mechanism of base-assisted decomposition of (N-halo),N-alkylalcoholamines. *Organic & biomolecular chemistry* **2003**, *1*, 4323-4328.
197. Ramos, D. R.; Castillo, R.; Canle L, M.; García, M. V.; Andrés, J.; Santaballa, J. A., A theoretical study on the mechanism of the base-promoted decomposition of N-chloro,N-methylethanolamine. *Organic & biomolecular chemistry* **2009**, *7*, 1807-1814.
198. Armesto, X. L.; Canle L, M.; Carretero, P.; García, M. V.; Santaballa, J. A., Evidence for an intramolecular elimination mechanism in the aqueous decomposition of (N-Cl)-alcoholamines. *Tetrahedron* **1997**, *53* (7), 2565-2572.
199. Maughan, M. a. T.; Davies, I. G.; Claridge, T. D. W.; Courtney, S.; Hay, P.; Davis, B. G., Nitrogen inversion as a diastereomeric relay in azasugar synthesis: The first synthesis of adenophorine. *Angewandte Chemie – International Edition* **2003**, *42*, 3788-3792.
200. Huber, M. M.; Korhonen, S.; Ternes, T. a.; Von Gunten, U., Oxidation of pharmaceuticals during water treatment with chlorine dioxide. *Water research* **2005**, *39*, 3607-3617.
201. Chamberlain, E.; Adams, C., Oxidation of sulfonamides, macrolides, and carbadox with free chlorine and monochloramine. *Water research* **2006**, *40*, 2517-2526.
202. Dennis, W.; Hull, L.; Rosenblatt, D., Oxidations of amines. IV. Oxidative fragmentation. *J. Org. Chem.* **1967**, *32*, 3783-3787.
203. Fitch, R. W.; Sturgeon, G. D.; Patel, S. R.; Spande, T. F.; Garraffo, H. M.; Daly, J. W.; Blaauw, R. H., Epiquinamide: A Poison That Wasn't from a Frog That Was. *Journal of Natural Products* **2009**, *72*, 243-247.
204. Uthagrove, A. L.; Nelson, W. L., Carbinolamines, imines, and oxazolidines from fluorinated propranolol analogs. ¹⁹F NMR and mass spectral characterization and evidence for formation as intermediates in cytochrome P450-catalyzed N-dealkylation. *Drug Metabolism and Disposition* **2001**, *29*, 1114-1122.
205. Metcalfe, C. D.; Chu, S.; Judt, C.; Li, H.; Oakes, K. D.; Servos, M. R.; Andrews, D. M., Antidepressants and their metabolites in municipal wastewater, and downstream exposure in an urban watershed. *Environmental Toxicology and Chemistry* **2010**, *29*, 79-89.
206. Gros, M.; Petrović, M.; Barceló, D., Tracing pharmaceutical residues of different therapeutic classes in environmental waters by using liquid chromatography/quadrupole-linear ion trap mass spectrometry and automated library searching. *Analytical Chemistry* **2009**, *81*, 898-912.
207. Šakić, D.; Zipse, H.; Vrček, V., Base-catalyzed reactions of environmentally relevant N-chloropiperidines. A quantum-chemical study. *Organic & biomolecular chemistry* **2011**, *9* (11), 4336-46.
208. Navratilova, H.; Kriz, Z.; Potacek, M., Microwave-assisted elimination reaction of trans-4-(4-fluorophenyl)-3-chloromethyl-1-methylpiperidine on alumina. *SYNTHETIC COMMUNICATIONS* **2004**, *34*, 2101-2115.
209. Smyth, W. F.; Leslie, J. C.; McClean, S.; Hannigan, B.; McKenna, H. P.; Doherty, B.; Joyce, C.; O'Kane, E., The characterisation of selected antidepressant drugs using electrospray ionisation with ion trap mass spectrometry and with quadrupole time-of-flight mass spectrometry and their determination by high- performance liquid chromatography/electrospray ionisa. *Rapid communications in mass spectrometry : RCM* **2006**, *20*, 1637-1642.
210. Fang, J.; Gorrod, J. W., Dehydration is the first step in the bioactivation of haloperidol to its pyridinium metabolite. *Toxicology Letters* **1991**, *59* (1-3), 117-123.
211. Kotthaus, J.; Steinmetzer, T.; Kotthaus, J.; Schade, D.; van de Locht, A.; Clement, B., Metabolism and distribution of two highly potent and selective peptidomimetic inhibitors of matriptase. *Xenobiotica* **2009**, *40*, 93-101.
212. Mali'n, T. J.; Weidolf, L.; Castagnoli, N.; Jurva, U., P450-catalyzed vs. electrochemical oxidation of haloperidol studied by ultra-performance liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry. *Rapid communications in mass spectrometry : RCM* **2010**, *24*, 1231-1240.

213. Long, J. Z.; Jin, X.; Adibekian, A.; Li, W.; Cravatt, B. F., Characterization of tunable piperidine and piperazine carbamates as inhibitors of endocannabinoid hydrolases. *Journal of Medicinal Chemistry* **2010**, *53*, 1830-1842.
214. O'Reilly, R. J.; Karton, A.; Radom, L., Effect of substituents on the strength of N-X (X = H, F, and Cl) bond dissociation energies: a high-level quantum chemical study. *The journal of physical chemistry. A* **2011**, *115*, 5496-5504.
215. Pattison, D. I.; Davies, M. J.; Asmus, K.-D., Absolute rate constants for the formation of nitrogen-centred radicals from chloramines/amides and their reactions with antioxidants. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2* **2002**, 1461.
216. Hall, H. K. J., Correlation of the Base Strengths of Amines. *Journal of the American Chemical Society* **1957**, *79*, 5441-5444.
217. Hammerum, S.; Nielsen, C. B., Intramolecular hydrogen bonding and hydrogen atom abstraction in gas-phase aliphatic amine radical cations. *Journal of Physical Chemistry A* **2005**, *109*, 12046-12053.
218. Janovský, I.; Knolle, W.; Naumov, S.; Williams, F., EPR studies of amine radical cations, part 1: Thermal and photoinduced rearrangements of n-alkylamine radical cations to their distonic forms in low-temperature freon matrices. *Chemistry – A European Journal* **2004**, *10*, 5524-5534.
219. Gauld, J. W.; Radom, L., Effects of Neutral Bases on the Isomerization of Conventional Radical Cations $CH_3X^{\bullet+}$ to Their Distonic Isomers $\bullet CH_2X + H(X)F, OH, NH_2$: Proton-Transport Catalysis and Other Mechanisms. **1997**, *7863*, 9831-9839.
220. Wagner, B. D.; Ruel, G.; Luszyk, J., Absolute Kinetics of Aminium Radical Reactions with Olefins in Acetonitrile Solution. *Journal of the American Chemical Society* **1996**, *118*, 13-19.
221. Moran, D.; Jacob, R.; Wood, G. P. F.; Coote, M. L.; Davies, M. J.; O'Hair, R. A. J.; Easton, C. J.; Radom, L., Rearrangements in model peptide-type radicals via intramolecular hydrogen-atom transfer. *Helvetica Chimica Acta* **2006**, *89*, 2254-2272.
222. Musa, O. M.; Homer, J. H.; Shahin, H.; Newcomb, M., A kinetic scale for dialkylaminyl radical reactions. *Journal of the American Chemical Society* **1996**, *118*, 3862-3868.
223. Baciocchi, E.; Bietti, M.; Lanzalunga, O., Fragmentation reactions of radical cations. *Journal of Physical Organic Chemistry* **2006**, *19*, 467-478.
224. Sollenberger, P. Y.; Martin, R. B., Mechanism of Enamine Hydrolysis. *J. Am. Chem. Soc.* **1969**, *207*.
225. Engelstoft, M.; Hansen, J. B., Synthesis and 5HT modulating activity of stereoisomers of 3-phenoxyethyl-4-phenylpiperidines. *Acta chemica Scandinavica* **1996**, *50*, 164-169.
226. Efremov, I. V.; Rogers, B. N.; Duplantier, A. J.; Zhang, L.; Zhang, Q.; Maklad, N. S.; Evrard, E. V.; Brodney, M. A., Benzimidazolyl compounds as potentiators of mglur2 subtype of glutamate receptor. Google Patents: 2008.
227. Boehme, T.; Gossel, M.; Gretzke, D.; Hessler, G.; Schwink, L.; Stahl, P.; Stengelin, S., Substituted n-arylheterocycles, method for production and use thereof as medicaments. Google Patents: 2004.
228. Micheli, F.; Arista, L.; Bertani, B.; Braggio, S.; Capelli, A. M.; Cremonesi, S.; Di-Fabio, R.; Gelardi, G.; Gentile, G.; Marchioro, C.; Pasquarello, A.; Provera, S.; Tedesco, G.; Tarsi, L.; Terreni, S.; Worby, A.; Heidbreder, C., Exploration of the amine terminus in a novel series of 1,2,4-triazolo-3-yl-azabicyclo[3.1.0]hexanes as selective dopamine D3 receptor antagonists. *Journal of medicinal chemistry* **2010**, *53*, 7129-7139.
229. Micheli, F.; Cavanni, P.; Andreotti, D.; Arban, R.; Benedetti, R.; Bertani, B.; Bettati, M.; Bettelini, L.; Bonanomi, G.; Braggio, S.; Carletti, R.; Checchia, A.; Corsi, M.; Fazzolari, E.; Fontana, S.; Marchioro, C.; Merlo-Pich, E.; Negri, M.; Oliosi, B.; Ratti, E.; Read, K. D.; Roscic, M.; Sartori, I.; Spada, S.; Tedesco, G.; Tarsi, L.; Terreni, S.; Visentini, F.; Zocchi, A.; Zonzini, L.; Di Fabio, R., 6-(3,4-dichlorophenyl)-1-[(methoxy)methyl]-3-azabicyclo[4.1.0]heptane: A new potent and selective triple reuptake inhibitor. *Journal of Medicinal Chemistry* **2010**, *53*, 4989-5001.
230. Bissel, P.; Khalil, A.; Rimoldi, J. M.; Igarashi, K.; Edmondson, D.; Miller, A.; Castagnoli, N., Stereochemical studies on the novel monoamine oxidase B substrates (1R,6S)- and (1S,6R)-3-methyl-6-phenyl-3-aza-bicyclo[4.1.0]heptane. *Bioorganic and Medicinal Chemistry* **2008**, *16*, 3557-3564.
231. Runyon, S. P.; Burgess, J. P.; Abraham, P.; Keverline-Frantz, K. I.; Flippen-Anderson, J.; Deschamps, J.; Lewin, A. H.; Navarro, H. a.; Boja, J. W.; Kuhar, M. J.; Carroll, F. I., Synthesis, structural identification, and ligand binding of tropane ring analogs of paroxetine and an

- unexpected aza-bicyclo[3.2.2]nonane rearrangement product. *Bioorganic and Medicinal Chemistry* **2005**, *13*, 2439-2449.
232. Bouchoux, G.; Choret, N.; Berruyer-Penaud, F.; Flammang, R., Thermochemistry and unimolecular reactivity of protonated α,ω -aminoalcohols in the gas phase. *International Journal of Mass Spectrometry* **2002**, *217* (1-3), 195-230.
 233. Stanković, S.; Catak, S.; D'Hooghe, M.; Goossens, H.; Abbaspour Tehrani, K.; Bogaert, P.; Waroquier, M.; Van Speybroeck, V.; De Kimpe, N., Synthesis of 3-methoxyazetidines via an aziridine to azetidine rearrangement and theoretical rationalization of the reaction mechanism. *Journal of Organic Chemistry* **2011**, *76*, 2157-2167.
 234. Razavi, B.; Song, W.; Cooper, W. J.; Greaves, J.; Jeong, J., Free-Radical-Induced Oxidative and Reductive Degradation of Fibrate Pharmaceuticals: Kinetic Studies and Degradation Mechanisms. *The Journal of Physical Chemistry A* **2009**, *113*, 1287-1294.
 235. Luo, Y.-R., Comprehensive handbook of chemical bond energies. In *Journal of Physics and Chemistry of Solids*, 2007; Vol. 58, p 1075.
 236. Hioe, J.; Zipse, H., Radical Stability—Thermochemical Aspects. In *Encyclopedia of Radicals in Chemistry, Biology and Materials*, John Wiley & Sons, Ltd: 2012.
 237. Achraimer, F. The Role of Open-shell Intermediates in Biological and Pharmaceutical Systems. LMU, Njemačka, Munchen, Njemačka, 2015.
 238. Khetan, S. K.; Collins, T. J., Human pharmaceuticals in the aquatic environment: a challenge to Green Chemistry. *Chemical reviews* **2007**, *107* (6), 2319-64.
 239. Rees, M. D.; Hawkins, C. L.; Davies, M. J., Hypochlorite-Mediated Fragmentation of Hyaluronan, Chondroitin Sulfates, and Related N-Acetyl Glycosamines: Evidence for Chloramide Intermediates, Free Radical Transfer Reactions, and Site-Specific Fragmentation. *Journal of the American Chemical Society* **2003**, *125*, 13719-13733.
 240. Hui, F.; Debieppe-Chouvy, C., Antimicrobial N-halamine polymers and coatings: A review of their synthesis, characterization, and applications. *Biomacromolecules* **2013**, *14*, 585-601.
 241. Pereira, W. E.; Hoyano, Y.; Summons, R. E.; Bacon, V. A.; Duffield, A. M., Chlorination studies II. The reaction of aqueous hypochlorous acid with α -amino acids and dipeptides. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – General Subjects* **1973**, *313* (1), 170-180.
 242. Stelmaszyńska, T.; Zgliczynski, J. M., N-(2-Oxoacyl)amino acids and nitriles as final products of dipeptide chlorination mediated by the myeloperoxidase/H₂O₂/Cl⁻ system. *European journal of biochemistry / FEBS* **1978**, *92*, 301-308.
 243. Hureiki, L.; Croué, J. P.; Legube, B., Chlorination studies of free and combined amino acids. *Water research* **1994**, *28*, 2521-2531.
 244. Selvaraj, R. J.; Paul, B. B.; Strauss, R. R.; Jacobs, a. a.; Sbarra, a. J., Oxidative peptide cleavage and decarboxylation by the MPO-H₂O₂-Cl⁻ antimicrobial system. *Infection and immunity* **1974**, *9*, 255-260.
 245. Ayotte, R. C.; Gray, E. T., Chlorination of the Peptide Nitrogen. In *Water Chlorination: Chemistry, Environmental Impact and Health Effects*, Lewis Publishers: Chelsea, MI, USA, 1984.
 246. Jensen, J. S.; Lam, Y. F.; Helz, G. R., Role of amide nitrogen in water chlorination: Proton NMR evidence. *Environmental Science and Technology* **1999**, *33*, 3568-3573.
 247. Schenck, H. L.; Hui, K., Self-Association of N-Methylacetamide Examined by Infrared and NMR Spectroscopies. *Journal of Chemical Education* **2011**, *88* (8), 1158-1161.
 248. Andrushchenko, V.; Matějka, P.; Anderson, D. T.; Horníček, J.; Kaminský, J.; Paulson, L. O.; Bouř, P., Solvent Dependence of the N-Methylacetamide Structure and Force Field. *Journal of Physical Chemistry A* **2009**, *113*, 9727-9736.
 249. Allison, S. K.; Bates, S. P.; Crain, J.; Martyna, G. J., Solution structure of the aqueous model peptide N-methylacetamide. *The journal of physical chemistry. B* **2006**, *110*, 21319-21326.
 250. Hawkins, C. L.; Pattison, D. I.; Davies, M. J., Hypochlorite-induced oxidation of amino acids, peptides and proteins. *Amino Acids* **2003**, *25*, 259-274.
 251. Pattison, D. I.; Davies, M. J., Absolute rate constants for the reaction of hypochlorous acid with protein side chains and peptide bonds. *Chemical research in toxicology* **2001**, *14*, 1453-64.
 252. Wayman, M.; Thomm, E. W. C. W., N-Chlorination of secondary amides. I. Kinetics of N-chlorination of N-methyl acetamide. *Canadian Journal of Chemistry* **1969**, *47* (14), 2561-2567.
 253. Thomm, E. W. C. W.; Wayman, M., N-Chlorination of secondary amides. II. Effects of substituents on rates of N-chlorination. *Canadian Journal of Chemistry* **1969**, *47* (24), 4813-4813.
 254. Abia, L.; Armesto, X. L.; Canle L., M.; García, M. V.; Santaballa, J. a., Oxidation of aliphatic amines by aqueous chlorine. *Tetrahedron* **1998**, *54*, 521-530.

255. Vrček, V.; Meštrić, H., Chlorination of ammonia and aliphatic amines by Cl₂: DFT study of medium and substituent effects. *Journal of Physical Organic Chemistry* **2009**, *22* (1), 59-68.
256. Sun, Y.; Sun, G., Novel Refreshable N-Halamine Polymeric Biocides: N-Chlorination of Aromatic Polyamides. *Ind. Eng. Chem. Res.* **2004**, *43*, 5015-5020.
257. Koval', I. V., N-halo reagents. Synthesis and reactions of N-halocarboxamides. In *Russian Journal of Organic Chemistry*, 2001; Vol. 37, pp 297-317.
258. Hardy, F. E.; Robson, P., The formation and hydrolysis of substituted N-chloro-N-methylbenzamides in aqueous alkali. *Journal of the Chemical Society B: Physical Organic* **1967**, 1151.
259. Barassi, G.; Borrmann, T., N-chlorination and Orton Rearrangement of Aromatic Polyamides, Revisited. *Journal of Membrane Science & Technology* **2012**, *02*, 2-4.
260. Zabicky, J., *The Chemistry of Amides*. 1970.
261. Birney, D. M., Nitrosation of amides involves a pseudopericyclic 1,3-sigmatropic rearrangement. *Organic Letters* **2004**, *6*, 851-854.
262. Darbeau, R. W.; Pease, R. S.; Perez, E. V., Electronic effects in the N-nitrosation of N-benzylpivalamides. *Journal of Organic Chemistry* **2002**, *67*, 2942-2947.
263. Lona-Ramírez, F. J.; Herrera-Muñoz, R.; Rico-Ramírez, V.; Louvier Hernández, F.; Luna-Bárceñas, G.; González-Alatorre, G., Kinetic study of the nitrosation of 1,1,3-trimethylurea in aqueous acid medium. *Reaction Kinetics, Mechanisms and Catalysis* **2012**, *105*, 285-292.
264. Berson, J. a., Orbital-symmetry-forbidden reactions. *Accounts of chemical research* **1972**, *5*, 406-414.
265. Woodward, R. B.; Hoffmann, R., The Conservation of Orbital Symmetry. *Angewandte Chemie International Edition in English* **1969**, *8* (11), 781-853.
266. Karton, A.; O'Reilly, R. J.; Pattison, D. I.; Davies, M. J.; Radom, L., Computational design of effective, bioinspired HOCl antioxidants: The role of intramolecular Cl⁺ and H⁺ shifts. *Journal of the American Chemical Society* **2012**, *134*, 19240-19245.
267. Pattison, D. I.; Davies, M. J., Evidence for rapid inter- and intramolecular chlorine transfer reactions of histamine and carnosine chloramines: Implications for the prevention of hypochlorous-acid-mediated damage. *Biochemistry* **2006**, *45*, 8152-8162.
268. Liang, W.; Li, H.; Hu, X.; Han, S., Proton Transfer of Formamide + nH₂O (n=0- 3): Protective and Assistant Effect of the Water Molecule. **2004**, 10219-10224.
269. Hu, X.; Li, H.; Liang, W., Reaction mechanism of uracil bromination by HBrO: A new way to generate the enol-keto form of 5-bromouracil. *Journal of Physical Chemistry A* **2006**, *110*, 11188-11193.
270. Akdag, A.; McKee, M. L.; Worley, S. D., Mechanism of formation of biocidal imidazolidin-4-one derivatives: An Ab initio density-functional theory study. *Journal of Physical Chemistry A* **2006**, *110*, 7621-7627.
271. Liu, S.; Sun, G., New refreshable N-halamine polymeric biocides: N-chlorination of acyclic amide grafted cellulose. *Industrial and Engineering Chemistry Research* **2009**, *48*, 613-618.
272. Frank, J.; Katritzky, A. R., Tautomeric pyridines. Part XV. Pyridone?hydroxypyridine equilibria in solvents of differing polarity. In *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2*, 1976; Vol. 584, p 1428.
273. Mays, D. C.; Pawluk, L. J.; Apseloff, G.; Davis, W. B.; She, Z.-W.; Sagone, A. L.; Gerber, N., Metabolism of phenytoin and covalent binding of reactive intermediates in activated human neutrophils. *Biochemical pharmacology* **1995**, *50* (3), 367-380.
274. Akdag, A.; Worley, S. D.; Acevedo, O.; McKee, M. L., Mechanism of 5,5-dimethylhydantoin chlorination: Monochlorination through a dichloro intermediate. *Journal of Chemical Theory and Computation* **2007**, *3*, 2282-2289.
275. Akdag, A.; Okur, S.; McKee, M. L.; Worley, S. D., The stabilities of N-Cl bonds in biocidal materials. *Journal of Chemical Theory and Computation* **2006**, *2*, 879-884.
276. López-Muñoz, F.; Ucha-Udabe, R.; Alamo, C., The history of barbiturates a century after their clinical introduction. *Neuropsychiatric disease and treatment* **2005**, *1*, 329-343.
277. Magni, G., The use of antidepressants in the treatment of chronic pain. A review of the current evidence. *Drugs* **1991**, *42*, 730-748.
278. Yasiry, Z.; Shorvon, S. D., How phenobarbital revolutionized epilepsy therapy: the story of phenobarbital therapy in epilepsy in the last 100 years. *Epilepsia* **2012**, *53* Suppl 8, 26-39.
279. Hug, C.; Ulrich, N.; Schulze, T.; Brack, W.; Krauss, M., Identification of novel micropollutants in wastewater by a combination of suspect and nontarget screening. *Environmental Pollution* **2014**, *184*, 25-32.

280. Schwarzbauer, J.; Ricking, M., Non-target screening analysis of river water as compound-related base for monitoring measures. *Environmental Science and Pollution Research* **2010**, *17*, 934-947.
281. Heberer, T., Tracking persistent pharmaceutical residues from municipal sewage to drinking water. *Journal of Hydrology* **2002**, *266* (3-4), 175-189.
282. Holm, J. V.; Ruegge, K.; Bjerg, P. L.; Christensen, T. H., Occurrence and Distribution of Pharmaceutical Organic Compounds in the Groundwater Downgradient of a Landfill (Grindsted, Denmark). *Environmental science & technology* **1995**, *29*, 1415-1420.
283. Eckel, W. P.; Ross, B.; Isensee, R. K., Pentobarbital Found in Ground Water. *Ground Water* **1993**, *31*, 801-804.
284. Krueger, B. W.; Krueger, K. A., USFWS: Second Pentobarbital Poisoning of Wildlife. Toxicology and Legal Ramifications. p 9.
285. Friend, M.; Franson, J. C. *Field manual of wildlife diseases: general field procedures and diseases of birds*; 1999-0001; Washington, D.C., 1999; p 438.
286. Martin, S., Environmentally Classified Pharmaceuticals. Janusinfo Stockholm, 2014.
287. Dodrill, C. B.; Troupin, A. S. In *Psychotropic effects of carbamazepine in epilepsy: a double-blind comparison with phenytoin.*, Neurology, 1977; pp 1023-1028.
288. (WHO), W. H. O., WHO Model List of Essential Medicines—18th List. Organization, W. H., Ed. Geneva, Switzerland; 2013.
289. Kern, S.; Fenner, K.; Singer, H. P.; Schwarzenbach, R. P.; Hollender, J., Identification of transformation products of organic contaminants in natural waters by computer-aided prediction and high-resolution mass spectrometry. *Environmental Science and Technology* **2009**, *43*, 7039-7046.
290. Miao, X. S.; Yang, J. J.; Metcalfe, C. D., Carbamazepine and its metabolites in wastewater and in biosolids in a municipal wastewater treatment plant. *Environmental Science and Technology* **2005**, *39*, 7469-7475.
291. Clara, M.; Strenn, B.; Kreuzinger, N., Carbamazepine as a possible anthropogenic marker in the aquatic environment: Investigations on the behaviour of Carbamazepine in wastewater treatment and during groundwater infiltration. *Water research* **2004**, *38*, 947-954.
292. Zhang, Y.; Geissen, S. U., In vitro degradation of carbamazepine and diclofenac by crude lignin peroxidase. *J Hazard Mater* **2010**, *176* (1-3), 1089-92.
293. Ferrari, B. t.; Paxéus, N.; Giudice, R. L.; Pollio, A.; Garric, J., Ecotoxicological impact of pharmaceuticals found in treated wastewaters: study of carbamazepine, clofibrac acid, and diclofenac. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **2003**, *55* (3), 359-370.
294. Bernhard, M.; Muller, J.; Knepper, T. P., Biodegradation of persistent polar pollutants in wastewater: comparison of an optimised lab-scale membrane bioreactor and activated sludge treatment. *Water research* **2006**, *40* (18), 3419-28.
295. Carballa, M.; Omil, F.; Ternes, T.; Lema, J. M., Fate of pharmaceutical and personal care products (PPCPs) during anaerobic digestion of sewage sludge. *Water research* **2007**, *41* (10), 2139-50.
296. Kaiser, E.; Prasse, C.; Wagner, M.; Broder, K.; Ternes, T. A., Transformation of oxcarbazepine and human metabolites of carbamazepine and oxcarbazepine in wastewater treatment and sand filters. *Environmental science & technology* **2014**, *48* (17), 10208-16.
297. Ternes, T. A.; Stüber, J.; Herrmann, N.; McDowell, D.; Ried, A.; Kampmann, M.; Teiser, B., Ozonation: a tool for removal of pharmaceuticals, contrast media and musk fragrances from wastewater? *Water research* **2003**, *37* (8), 1976-1982.
298. McDowell, D. C.; Huber, M. M.; Wagner, M.; von Gunten, U.; Ternes, T. A., Ozonation of Carbamazepine in Drinking Water: Identification and Kinetic Study of Major Oxidation Products. *Environmental science & technology* **2005**, *39* (20), 8014-8022.
299. Kotscharaksa, K. The Mechanism, Products, and Kinetic of Carbamazepine-Free Chlorine Reactions. Virginia Tech, Blacksburg, 2008.
300. Fairlie, D. P.; Woon, T. C.; Wickramasinghe, W. A.; Willis, A. C., Amide-Iminol Tautomerism: Effect of Metalation. *Inorganic Chemistry* **1994**, *33* (26), 6425-6428.
301. Purrello, R.; Molina, M.; Wang, Y.; Smulevich, G.; Fresco, J. R.; Spiro, T. G.; Fossella, J., Keto-iminol tautomerism of protonated cytidine monophosphate characterized by ultraviolet resonance Raman spectroscopy: implications of C⁺ iminol tautomer for base mispairing. *Journal of the American Chemical Society* **1993**, *115* (2), 760-767.
302. Dunbar, R. C.; Steill, J. D.; Polfer, N. C.; Berden, G.; Oomens, J., Peptide bond tautomerization induced by divalent metal ions: Characterization of the iminol configuration. *Angewandte Chemie – International Edition* **2012**, *51*, 4591-4593.

303. Hawkins, C. L.; Davies, M. J., Degradation of hyaluronic acid, poly- and monosaccharides, and model compounds by hypochlorite: Evidence for radical intermediates and fragmentation. *Free Radical Biology and Medicine* **1998**, *24*, 1396-1410.
304. Li, J.; Dodgen, L.; Ye, Q.; Gan, J., Degradation kinetics and metabolites of carbamazepine in soil. *Environmental science & technology* **2013**, *47* (8), 3678-84.
305. Jelic, A.; Cruz-Morato, C.; Marco-Urrea, E.; Sarra, M.; Perez, S.; Vicent, T.; Petrovic, M.; Barcelo, D., Degradation of carbamazepine by *Trametes versicolor* in an air pulsed fluidized bed bioreactor and identification of intermediates. *Water research* **2012**, *46* (4), 955-64.
306. Vogna, D.; Marotta, R.; Andreozzi, R.; Napolitano, A.; d'Ischia, M., Kinetic and chemical assessment of the UV/H₂O₂ treatment of antiepileptic drug carbamazepine. *Chemosphere* **2004**, *54* (4), 497-505.
307. Csetenyi, J.; Baker, K. M.; Frigerio, A.; Morselli, P. L., Iminostilbene-a metabolite of carbamazepine isolated from rat urine. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* **1973**, *25* (4), 340-341.
308. Breton, H.; Cociglio, M.; Bressolle, F.; Peyriere, H.; Blayac, J. P.; Hillaire-Buys, D., Liquid chromatography-electrospray mass spectrometry determination of carbamazepine, oxcarbazepine and eight of their metabolites in human plasma. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* **2005**, *828* (1-2), 80-90.
309. Kosjek, T.; Andersen, H. R.; Kompare, B.; Ledin, A.; Heath, E., Fate of Carbamazepine during Water Treatment. *Environmental science & technology* **2009**, *43* (16), 6256-6261.
310. Estiu, G.; Merz, K. M., Jr., The hydrolysis of amides and the proficiency of amidohydrolases. The burden borne by kw. *J Phys Chem B* **2007**, *111* (23), 6507-19.
311. Stevens, R. V.; Chapman, K. T.; Weller, H. N., Convenient and inexpensive procedure for oxidation of secondary alcohols to ketones. *The Journal of Organic Chemistry* **1980**, *45* (10), 2030-2032.
312. Pearce, R. E.; Uetrecht, J. P.; Leeder, J. S., Pathways of carbamazepine bioactivation in vitro: II. The role of human cytochrome P450 enzymes in the formation of 2-hydroxyiminostilbene. *Drug Metab Dispos* **2005**, *33* (12), 1819-26.
313. Ju, C.; Uetrecht, J. P., Detection of 2-hydroxyiminostilbene in the urine of patients taking carbamazepine and its oxidation to a reactive iminoquinone intermediate. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics* **1999**, *288* (1), 51-6.
314. Chiron, S.; Minero, C.; Vione, D., Photodegradation processes of the antiepileptic drug carbamazepine, relevant to estuarine waters. *Environmental science & technology* **2006**, *40* (19), 5977-83.
315. Calza, P.; Medana, C.; Padovano, E.; Giancotti, V.; Baiocchi, C., Identification of the unknown transformation products derived from clarithromycin and carbamazepine using liquid chromatography/high-resolution mass spectrometry. *Rapid communications in mass spectrometry : RCM* **2012**, *26* (15), 1687-704.
316. Keen, O. S.; Baik, S.; Linden, K. G.; Aga, D. S.; Love, N. G., Enhanced biodegradation of carbamazepine after UV/H₂O₂ advanced oxidation. *Environmental science & technology* **2012**, *46* (11), 6222-7.
317. Furst, S. M.; Uetrecht, J. P., Carbamazepine metabolism to a reactive intermediate by the myeloperoxidase system of activated neutrophils. *Biochemical pharmacology* **1993**, *45* (6), 1267-75.
318. Cha, J. S.; Lee, J. C.; Lee, H. S.; Lee, S. E.; Kim, J. M.; Kwon, O. O.; Min, S. J., Selective reduction with lithium bis- or tris(dialkylamino)aluminum hydrides. III. Reduction of primary carboxamides to aldehydes by lithium tris(diethylamino)aluminum hydride. *Tetrahedron Letters* **1991**, *32* (47), 6903-6904.

7. POPIS KRATICA

BDE	-energija disocijacija veze
BSSE	-superpozicijska greška baznog skupa
CBS	-aproksimacija kompletnog baznog skupa
CBZ	-karbamazepin
CC	-metoda spregnutog klastera
CI	-metoda konfiguracijske interakcije
Cl ₂	-molekulski klor
CPCM	-implicitni solvatacijski model
C _α	-ugljikov atom do amino skupine
DFT	-teorija funkcionala gustoće
EPR	-elektron paramagnetska rezonancija
ESI-MS	-elektron-sprej ionizacijska masena spektrometrija
<i>G</i>	-Gibbsova slobodna energija
<i>H</i>	-entlapija
HF	-Hartree-Fock metoda
HOCl	-hipoklorasta kiselina
HOF	-hipofluorasta kiselina
IMS	-iminostilben
IR	-infracrvena spektroskopija
IRC	-intrinzična reakcijska koordinata
LC-ITMS	-tekućinska kromatografija povezana s ionskom-stupicom i spektrometrom masa
MCSCF	-multi-konfiguracijska metoda samousklađenog polja
MP	-Møller-Plesset metoda
MS	-masena spektrometrija
NaOCl	-natrijeva sol hipklorita
NBO	-prirodne vezne orbitale
NImag	-broj imaginarnih frekvencija u frekvencijskom računu
NMA	- <i>N</i> -metilacetamid
NMR	-nuklearna magnetna rezonancija
NPA	-populacijska analiza prirodnih orbitala; gustoća spina
OCl ⁻	-hipokloritni anion
PBT	-indeks perzistentnosti, bioakumulacije i toksičnosti
PCM	-implicitni solvatacijski model

PES	-ploha potencijalne energije
PPCP	-farmaceutski i kozmetički proizvodi
QCISD	-metoda kvadratne konfiguracijske interakcije
QSAR	-kvantitativna povezanost strukture i aktivnosti
QSPR	-kvantitativna povezanost strukture i svojstva
QSTR	-kvantitativna povezanost strukture i toksičnosti
RSE	-energija stabilnosti radikala
<i>S</i>	-entropija
SAR	-povezanost strukture i aktivnosti
SCF	-procedura samousklađenog polja
SMD	-implicitni solvatacijski model
SSRI	-lijek iz skupine inhibitora ponovne pohrane serotonina
<i>T</i>	-temperatura
TDDFT	-vremenski ovisna teorija funkcionala gustoće
TEMPO	-(2,2,6,6,-tetrametilpiperidin-1-il)oksidanil
TS	-struktura prijelaznog stanja
UAKS	-parametar radijusa atoma u solvatacijskom izračunu, prilagođeni PBE1PBE/6-31G(d) teorijskoj razini
UAHF	-parametar radijusa atoma u solvatacijskom izračunu, prilagođeni HF/6-31G(d) teorijskoj razini
UFF	-parametar radijusa atoma u solvatacijskom izračunu, iz UFF (<i>United Force Field</i>) polja sila
UV	-ultraljubičasto zračenje
UV/Vis	-spektroskopija u ultraljubičastom i vidljivom području
WHO	-svjetska zdravstvena organizacija
β -vodik	-vodikov atoma na C_{α} položaju
$\Delta G^{\#}_{298}$	-Gibbsova slobodna energija prijelaznog stanja; energijska barijera; kinetika reakcije; ekvivalentno s $\Delta G^{\#}$
ΔG_{solv}	-Gibbsova slobodna energija solvatacije
$\Delta_r G_{298}$	-Gibbsova slobodna reakcijska energija; termodinamika reakcije; ekvivalentno s $\Delta_r G$

8. ŽIVOTOPIS

Davor Šakić, rođen je u Zagrebu, 25. siječnja 1986. godine. U zagrebu je završio osnovnu školu i II. gimnaziju. Od 2004. do 2009. godine studira na Farmaceutsko-biokemijski fakultetu Sveučilišta u Zagrebu, studij Farmacije. Tokom studiranja, aktivan je u studentskim organizacijama (Studentski Zbor podružnica FBF, CroPBSa), sudjeluje u organizaciji ljetnih škola (Ljetna škola farmacije, Zadar) i kongresa (PharmaCon 2007.). Dobitnik je rektorove nagrade za rad *Novi pogled na staru reakciju. Kvantno-kemijski studij reakcije kloriranja benzena*. Dobitnik je i Stipendije grada Zagreba. Diplomski rad pod nazivom *Kvantno kemijski studij interakcijskih kompleksa klora s benzenom, pirazinom i triazinom* izradio je na Zavodu za organsku kemiju Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta pod vodstvom prof. dr. sc. Valerija Vrčeka te diplomirao 28. siječnja 2009.

Zapošljava se 2009. kao asistent na Zavodu za farmaceutsku kemiju, a od 2010. radi prvo na mjestu aistenta na Zavodu za opću i anorgansku kemiju te od 2011. kao znanstveni novak na Zavodu za opću i anorgansku kemiju, Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta. Poslijediplomski doktorski studij Farmaceutske i medicinsko-biokemijske znanosti na Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu upisuje 2010.

Ostvario je dva znanstvena boravka duža od mjesec dana: 2011. mjesec dana na sveučilištu Ludwig-Maximillian u Münchenu, kod prof. Hendrika Zipsea, na međunarodnom projektu fondacije Alexander von Humboldt s temom: "Computational Life Sciences on Open Shell Species" te 2013. dva mjeseca na sveučilištu Oxford, u Engleskoj, kroz stipendiju British Scholarship Trust, kod prof. Johna E. McGradya.

Do sada je objavio osam znanstvenih radova citiranih u bazi Current contents (CC) te sudjelovao s posterskim priopćenjima na više domaćih kongresa te održao jedno javno predavanje na kongresu.

Oženjen je i otac jedne djevojčice.

Znanstveni radovi (CC):

1. Hioe, Johnny; **Šakić, Davor**; Vrček, Valerije; Zipse, Hendrik: The Stability of Nitrogen-Centered Radicals. *Organic & biomolecular chemistry*. 13 (2014), 1; 157-169

2. **Šakić, Davor**; Šonjić, Pavica; Tandarić, Tana; Vrčec, Valerije: Chlorination of N-Methylacetamide and Amide-Containing Pharmaceuticals. Quantum-Chemical Study of the Reaction Mechanism. *The journal of physical chemistry. A.* 118 (2014), 12; 2367-2376
3. **Šakić, Davor**; Achrainger, Florian; Vrčec, Valerije; Zipse, Hendrik: The chemical fate of paroxetine metabolites. Dehydration of radicals derived from 4-(4-fluorophenyl)-3-(hydroxymethyl)piperidine. *Organic & biomolecular chemistry.* 11 (2013), 25; 4232-4239
4. **Šakić, Davor**; Vrčec, Valerije: Prereactive complexes in chlorination of benzene, triazine, and tetrazine. A quantum chemical study. *Journal of physical chemistry. A.* 116 (2012), 4; 1298-1306
5. Vinković Vrčec, Ivana; **Šakić, Davor**; Vrčec, Valerije; Zipse, Hendrik; Biruš, Mladen: Computational Study of Radical Derived from Hydroxyurea and Its Methylated Analogues. *Organic & biomolecular chemistry.* 10 (2012), 6; 1196-1206
6. Budimir, Ana; Weitner, Tin; Kos, Ivan; **Šakić, Davor**; Gabričević, Mario; Bešić, Erim; Biruš, Mladen: Kinetics and Mechanism of Oxidation of Hydroxyurea Derivatives with Hexacyanoferrate(III) in Aqueous Solution. *Croatica chemica acta.* 84 (2011), 2; 133-147
7. **Šakić, Davor**; Zipse, Hendrik; Vrčec, Valerije: Base-catalyzed reactions of environmentally relevant N-chloro-piperidines. A quantum-chemical study. *Organic & biomolecular chemistry.* 9 (2011), 11; 4336-4346
8. Lapić, Jasmina; Cetina, Mario; **Šakić, Davor**; Djaković, Senka; Vrčec, Valerije; Rapić, Vladimir. Experimental and DFT study of 2-ferrocenylpropan-2-ol cyclodimerization products. *Arkivoc.* 11 (2010), 9; 257-268

9. PRILOG

Prilog sadrži tri znanstvena rada objavljena u časopisima zastupljenim u bazi Current Contents koji obrađuju problematiku iznesenu u ovom doktorskom radu:

Šakić, Davor; Šonjić, Pavica; Tandarić, Tana; Vrček, Valerije: Chlorination of N-Methylacetamide and Amide-Containing Pharmaceuticals. Quantum-Chemical Study of the Reaction Mechanism. *The journal of physical chemistry A*. 118 (2014), 12; 2367-2376

Šakić, Davor; Achraimer, Florian; Vrček, Valerije; Zipse, Hendrik: The chemical fate of paroxetine metabolites. Dehydration of radicals derived from 4-(4-fluorophenyl)-3-(hydroxymethyl)piperidine. *Organic & biomolecular chemistry*. 11 (2013), 25; 4232-4239

Šakić, Davor; Zipse, Hendrik; Vrček, Valerije: Base-catalyzed reactions of environmentally relevant N-chloro-piperidines. A quantum-chemical study. *Organic & biomolecular chemistry*. 9 (2011), 11; 4336-4346

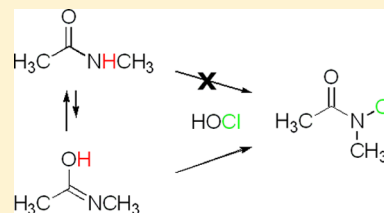
Chlorination of *N*-Methylacetamide and Amide-Containing Pharmaceuticals. Quantum-Chemical Study of the Reaction Mechanism

Davor Šakić, Pavica Šonjić, Tana Tandarić, and Valerije Vrčeka*

Faculty of Pharmacy and Biochemistry, University of Zagreb, A. Kovačića 1, 10000 Zagreb, Croatia

S Supporting Information

ABSTRACT: Chlorination of amides is of utmost importance in biochemistry and environmental chemistry. Despite the huge body of data, the mechanism of reaction between amides and hypochlorous acid in aqueous environment remains unclear. In this work, the three different reaction pathways for chlorination of *N*-methylacetamide by HOCl have been considered: the one-step N-chlorination of the amide, the chlorination via O-chlorinated intermediate, and the N-chlorination of the iminol intermediate. The high-level quantum chemical G3B3 composite procedure, double-hybrid B2-PLYPD, B2K-PLYP methods, and global hybrid M06-2X and BMK methods have been employed. The calculated energy barriers have been compared to the experimental value of $\Delta G_{298}^{\ddagger} \approx 87$ kJ/mol, which corresponds to reaction rate constant $k_r \approx 0.0036$ M⁻¹ s⁻¹. Only the mechanism in which the iminol form of *N*-methylacetamide reacts with HOCl is consistent ($\Delta G_{298}^{\ddagger} = 87.3$ kJ/mol at G3B3 level) with experimental results. The analogous reaction mechanism has been calculated as the most favorable pathway in the chlorination of small-sized amides and amide-containing pharmaceuticals: carbamazepine, acetaminophen, and phenytoin. We conclude that the formation of the iminol intermediate followed by its reaction with HOCl is the general mechanism of N-chlorination for a vast array of amides.



1. INTRODUCTION

Reactions of chlorinating agents (HOCl or Cl₂) with amides result in *N*-chloramide products, which are important intermediates in environmental chemistry and biochemistry. They can play a key role in the ecological fate of pharmaceuticals¹ or in oxidation processes in biological systems.^{2,3} In addition, *N*-chloramides incorporated in polymeric structures, such as polyacrylamide or polyurethane, have been used as effective biocides.⁴

Contrary to amines that easily react with chlorinating agents,^{5,6} amides are more resistant to N-chlorination. Some authors have claimed that amides are essentially inert to chlorination in dilute solutions;^{7–9} however, this has been disputed.^{10,11} Though the experimental results have revealed that HOCl might chlorinate amides, the reaction mechanism remains ambiguous, and the role of the amide nitrogen in chlorination is still a matter of controversy.¹²

To elucidate the reaction mechanism underlying the formation of *N*-chloramides, this study considers different HOCl-mediated chlorination pathways. *N*-Methylacetamide (NMA) has been selected as the model amide system for several reasons. NMA is the simplest molecular model of peptide linkage in proteins and has been the subject of extensive experimental¹³ and theoretical investigations.^{14,15} In addition, NMA can serve as a suitable model to investigate the amides chlorination mechanism relevant in biochemistry and environmental chemistry. Of special importance are reactions of HOCl with amino acids and proteins under physiological conditions,^{16,17} or N-chlorination of amide-containing pharmaceuticals which occurs during wastewater treatment.^{18–20}

Moreover, due to the small size of NMA, high-level quantum chemical calculations can be performed. Finally, the available kinetic data^{21,22} for chlorination of NMA allow the comparison between experimental and computational results.

To broaden the range and the scope of the relevant N-chlorination reactions, five small-sized amide structures (Table 2) and three amide-containing pharmaceuticals (Table 3) have been included in this study. Chlorination is an important reaction for the chemical fate of carbamazepine,²³ acetaminophen,²⁴ and phenytoin²⁵ in the aqueous environment. These substances belong to high volume drugs and are entering the environment in large quantities. Their chlorination products have been isolated, but no details on the reaction mechanism have been reported. We believe that the quantum-chemical approach, presented in this paper, adequately provides reliable mechanistic insight into the chlorination of a series of amides.

2. COMPUTATIONAL METHODS

The quantum chemical calculations were performed using the Gaussian09 suite of programs.²⁶ All structures were fully optimized with the B3LYP functional.^{27,28} The standard split valence and polarized 6-31G(d) basis set was used for geometry optimizations and frequency calculations. All energies are reported at 298.15 K. Thermal corrections to Gibbs free energies have been calculated at the same level using the rigid

Received: February 5, 2014

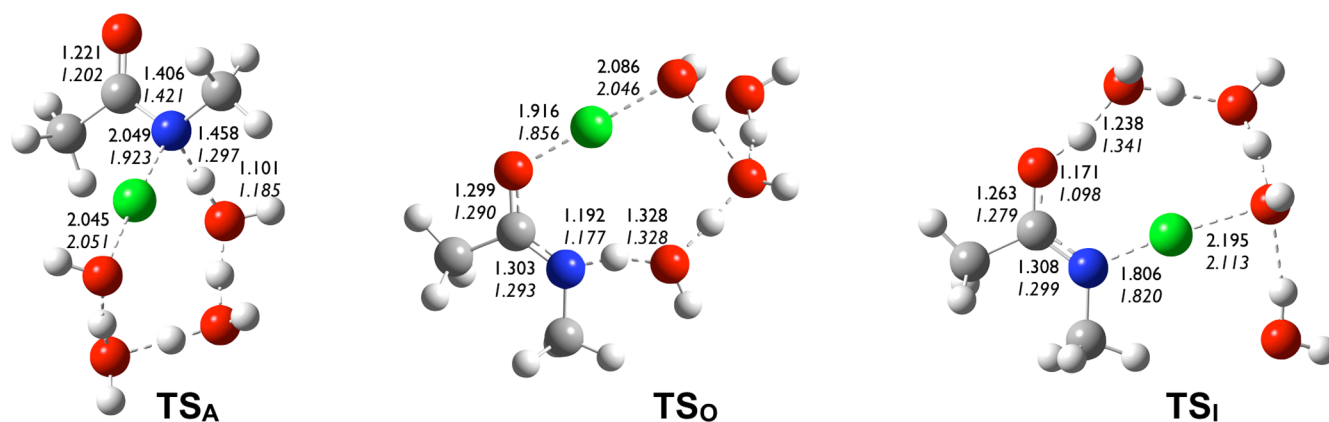
Revised: February 27, 2014

Published: March 6, 2014

Table 1. Relative Gibbs Energy (ΔG_{298} , kJ/mol) of Reactants,^a Intermediates, Products, and Transition State Structures Involved in N-Chlorination of NMA, Calculated at Different Levels of Theory in Water as the Model Solvent^b

	B3LYP ^c	BMK ^d	M06-2X ^e	B2-PLYPD ^f //B3LYP	B2K-PLYP ^g //B3LYP	G3B3
1a + HOCl(H ₂ O)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
1b + HOCl(H ₂ O)	5.8	5.0	2.6	0.3	5.8	6.8
2 + (H ₂ O) ₂	88.4	76.5	69.8	82.1	74.4	74.8
3 + HOCl(H ₂ O)	54.3	56.5	45.1	49.2	57.4	53.2
4a + (H ₂ O) ₂	-23.7	-53.5	-42.9	-34.2	-39.4	-43.3
4b + (H ₂ O) ₂	-9.0	-52.2	-53.5	-40.4	-47.5	-50.8
TS_A	118.6	158.0	124.9	123.4	141.5	137.8
TS_T + HOCl(H ₂ O)	72.7	88.4	66.0	71.0	86.3	87.3
TS_I	84.8	96.0	85.1	71.8	82.9	84.1
TS_O	132.2	173.6	145.1	148.1	180.4	166.6
TS_{Cl} + (H ₂ O) ₂	188.6	192.1	197.2	177.5	166.3	169.5

^aGibbs free energy of reactants (**1a** complexed to two water molecules and HOCl complexed to one water molecule) set to zero. ^bCPCM/UFF//B3LYP/6-31G(d) model ($\epsilon = 78.4$). Three different reaction pathways are considered: one-step N-chlorination of NMA (**1a** → **TS_A** → **4a**), tautomerization of NMA followed by N-chlorination of the iminol form (**1a** → **TS_T** → **3** → **TS_I** → **4b**), and O-chlorination of NMA followed by an O,N-chlorine shift (**1a** → **TS_O** → **2** → **TS_{Cl}** → **4b**). Experimental barrier ($\Delta G_{298}^\ddagger = 87 \pm 5$ kJ/mol) for **1** → **4** from refs 21 and 22. ^cB3LYP/6-31G(d) method. ^dBMK/6-311+G(3df,3pd)//BMK/6-311+G(2d,p) method. ^eM06-2X/6-311+G(3df,3pd)//M06-2X/6-311+G(2d,p) method. ^fB2PLYP-D/AUG-cc-pVTZ//B3LYP/6-31G(d) method. ^gB2K-PLYP/6-311+G(3df,2p)//B3LYP/6-31G(d) method.

**Figure 1.** B3LYP/6-31G(d) optimized transition state structures for N- and O-chlorination of NMA (**TS_A** and **TS_O**, respectively), and N-chlorination of the iminol form of NMA (**TS_I**). Bond lengths in angstroms (M06-2X/6-311+G(2d,p) values in italics).

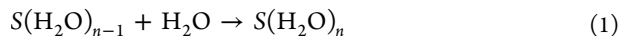
rotor/harmonic oscillator model. Improved energetics have been calculated using a G3B3 composite scheme.²⁹ This high accuracy method reproduces experimental barriers for chlorination of NMA and several other amides where available (Tables 1 and 2). We have used G3B3 as our reference procedure to evaluate the efficiency of computational methods, which are less expensive in terms of time and resources: the double-hybrid B2-PLYPD^{30,31} with AUG-cc-pVTZ basis set and with the empirical dispersion corrected variations, and B2K-PLYP³² methods. The latter double-hybrid DFT procedure in combination with 6-311+G(3df,2p) basis set shows the best overall performance for calculating barrier heights for water-catalyzed proton transfer reactions.³³ In case of chlorination of amides, the B2K-PLYP model accurately reproduces G3B3 results and has therefore been used throughout the text. In addition, the two global hybrids (hybrid meta-generalized gradient approximation), namely M06-2X³⁴ and BMK,³⁵ containing 27 and 42% of HF exchange, have been applied as efficient and reliable methods for atom transfer kinetics.³⁶ M06-2X and BMK energies have been calculated using 6-311+G(3df,3pd) basis set on geometries optimized with 6-311+G(2d,p) basis set. All computational results for chlorination of NMA are presented comparatively in Table 1.

To check whether the B3LYP geometries suffer from basis-set superposition error (BSSE), the two larger basis sets, 6-311+G(d,p) and 6-311++G(2d,p), were used (Supporting Information).³⁷ BSSEs are not taken into account when the G3B3 energies are compared, because the higher level correction (HLC) applied in the G3B3 procedure compensates for BSSE.³⁸

Analytical vibrational analyses at the corresponding level of theory were performed to characterize each stationary point as a minimum (NImag=0) or first-order saddle point (NImag=1). Intrinsic reaction coordinate (IRC) calculations were performed at the corresponding level to identify the minima connected through the transition state.

Gibbs energies of solvation were determined using the CPCM continuum solvation model at the B3LYP/6-31G(d) level, with the UFF atomic radii and electrostatic scaling factor (alpha value) set to 1.1 for all atoms (default values in Gaussian09).³⁹⁻⁴¹ The UFF cavities are selected to ensure that solvent spheres are placed around light and heavy atoms, which is important for transition structures involving a transfer of hydrogen atom or proton. The solvent relative permittivity of $\epsilon = 78.4$ (water) was used. To correctly describe chemical systems in water, the inclusion of bulk and specific solvent effects is mandatory. We have found that the addition of explicit

water molecules substantially lowers the calculated energy barriers for all processes investigated (except for the intramolecular chlorine transfer). The number of explicit water molecules is varied to identify the most stable structure $S(\text{H}_2\text{O})_n$ (where $n = 1-4$), i.e., to obtain the most negative Gibbs free energy according to the following reaction (Supporting Information):



The most stable forms of water-complexed species are located by placing water molecules in a variety of locations to sample the different arrays of interaction networks available between the reactants and water. Initial configurations were created using a locally modified version of the stochastic search method.⁴²⁻⁴⁴ On the reactant side, we have found that two water molecules are “the ideal number of solvent molecules”⁴⁵ for NMA (Supporting Information), and that the one water molecule is needed to optimally solvate HOCl. The addition of the third water molecule to amide, or the second water molecule to HOCl, is not favorable in terms of Gibbs free energy. According to Pliego, the reactant and the explicit water molecules form a rigid cluster, which constitute a distinct chemical species.⁴⁵ Therefore, the relative energy of reactants (amide and HOCl) complexed to an optimal number of water is set to zero. All other structures, intermediates and products, reported throughout the text also include extra water molecules.

In case of transition structures TS_A , TS_O , and TS_I (Figure 1) three water molecules and for TS_T and TS_{Cl} two water molecules have been found as an adequate (ideal) number. Several configurations of explicit water molecules were located in each case (Supporting Information), but only the lowest energy transition structures have been used for the calculation of the barrier for the corresponding reaction.

The concentration correction term $RT \ln[\text{H}_2\text{O}]$, i.e., free energy change of 1 mol of H_2O gas from 55.34 M liquid state to 1 M standard state in solution, has been used in calculation of Gibbs free energy. This conversion factor (9.96 kJ/mol) needs to be included when water is one of the reacting species in the aqueous phase.

To account for the entropic effect of the presence of solvent molecules around a solute, the cell model presented by Ardura et al. was used.⁴⁶ This model is proposed to explicitly evaluate the effect of the loss of translation degrees of freedom in solution on the Gibbs activation energy in bimolecular (or higher order of molecularity) reactions. It has been shown that the standard implementation of the continuum model is not capable to adequately estimate the increase in Gibbs energy corresponding to the constriction of the translation motion of the species along the reaction coordinate when passing from the gas phase to the solution. According to the cell model, the difference $\Delta\Delta G_{\text{sol}}$ between the two Gibbs energy variations $\Delta G_{\text{sol}}^\ddagger$ and ΔG_{sol} for bimolecular reaction $A + B \rightarrow A-B$ is

$$\begin{aligned} \Delta\Delta G_{\text{sol}} &= \Delta G_{\text{sol}}^\ddagger - \Delta G_{\text{sol}} \\ &= RT \ln\left[\frac{v_c(A) v_c(B)}{v_c(A-B)}\right] - RT \ln\left[\frac{k_B T}{p}\right] \end{aligned} \quad (2)$$

where v_c corresponds to the cavity volume calculated in the continuum model, and k_B , T , and p , correspond to the Boltzmann constant, temperature, and pressure, respectively. The cavity volume for each species was obtained from CPCMC calculation. The corrections proposed by Ardura et al. are in accordance with solvent cage effects which were included

according to the corrections reported by Okuno⁴⁷ and in view of the free volume theory.⁴⁸

Natural bond orbital (NBO) analyses were performed at the B3LYP/6-31G(d) level using NBO program.⁴⁹

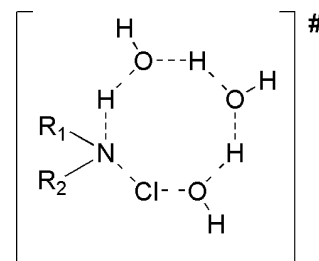
3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. Chlorination of *N*-Methylacetamide. Two independent studies have been reported on the kinetics of chlorination of NMA in water, but no mechanistic details are available.^{21,22} The experimentally determined rate constants, 0.0017 and 0.0067 $\text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$, correspond to energy barriers (ΔG_{298}^\ddagger) of 85 and 89 kJ/mol, respectively. The upper limit for the chlorination reaction (ΔG_{298}^\ddagger) is set to 100 kJ/mol, by assuming that the difference in Gibbs free energy of activation of ca. 12 kJ/mol results in a reaction rate difference of 2 orders of magnitude. In our quantum-chemical search for the most plausible mechanism of chlorination of NMA, all reactions that exceed the upper limit are considered kinetically unfavorable, i.e., not relevant for the NMA chlorination mechanism.

To estimate the effect of pH on the chlorination reaction, one should assess the reactivity of the hypochlorite anion (at high pH) and molecular chlorine (at low pH) toward NMA. In our case only the reactivity of hypochlorous acid has been calculated, assuming slightly acidic conditions for which experimental kinetic results are available.

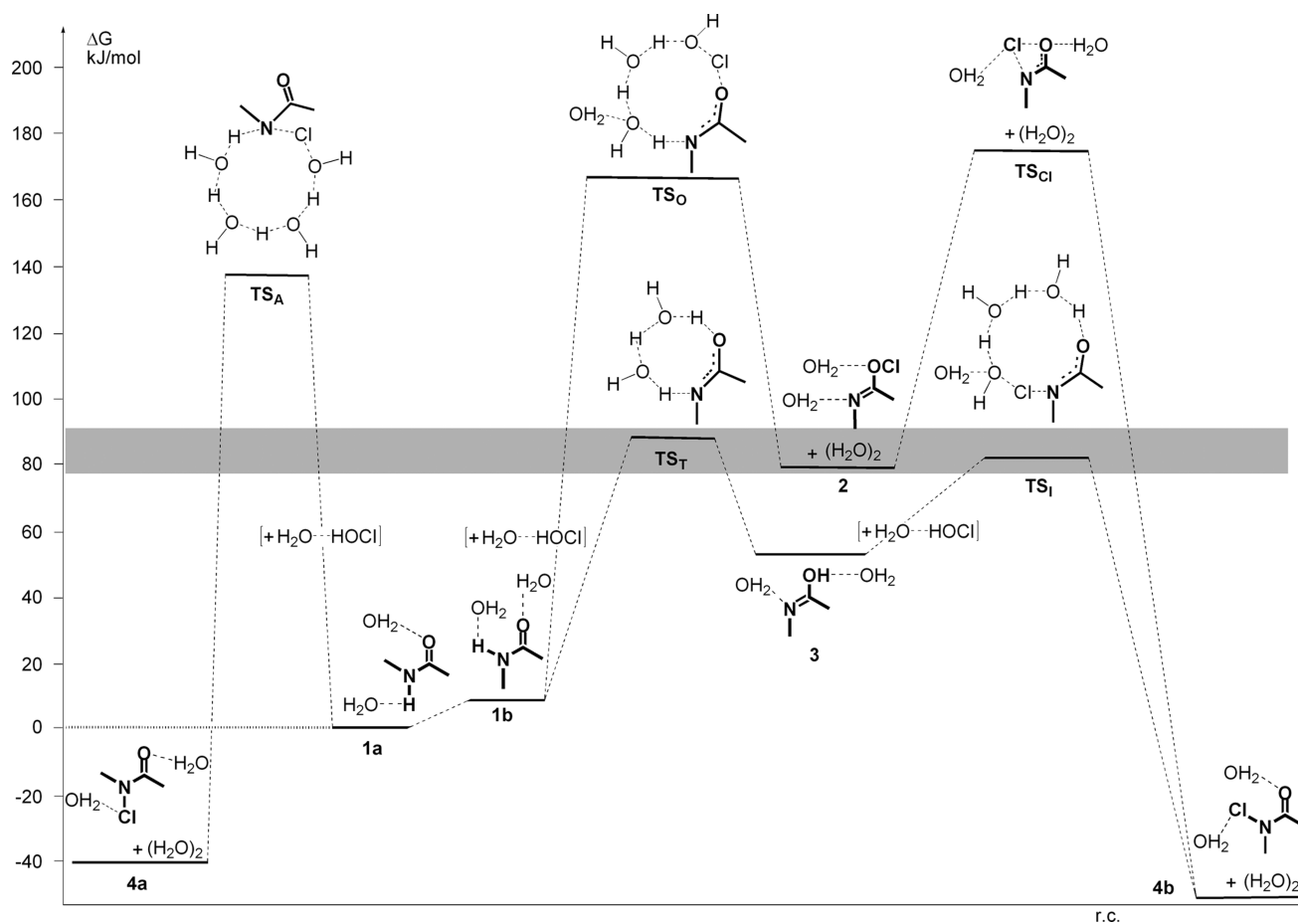
***N*-Chlorination of the Amide Form.** To reproduce the experimental results for the aqueous chlorination of amines by HOCl, the inclusion of at least two explicit water molecules is mandatory in the solvent model calculations.⁵⁰⁻⁵³ The *N*-chlorination of amines follows the mechanism via the cyclic transition state structure (Scheme 1) in which water molecules

Scheme 1. Cyclic Transition State Structure for *N*-Chlorination of Amine ($\text{R}_1\text{R}_2\text{NH}$) with HOCl Assisted by Two Water Molecules



assist the simultaneous transfer of proton coupled with the *N*-Cl bond formation. We set out to investigate if the analogous mechanism is operative for *N*-chlorination of amides.

In the case of NMA, the calculated Gibbs energy barrier for the chlorination of the amide moiety, which involves the transition state structure (no explicit water added) with the cyclic arrangement is 247.1 kJ/mol. The calculated value for this unassisted process is in a strong disagreement with the experimental barrier of ca. 87 kJ/mol. If one, two, or three water molecules are included in the transition state calculation, the energy barrier is reduced to 244.0, 153.3, and 137.8 kJ/mol, respectively. In each case, the *N*-chloro-*N*-methylacetamide formation (4a, Scheme 2) is exergonic by >40 kJ/mol. The transition state structure TS_A (Figure 1) for this reaction is characterized by one imaginary frequency ($808i \text{ cm}^{-1}$), which corresponds to the *N*-Cl bond formation simultaneous to water-assisted proton migration along the cyclic structure.

Scheme 2. Schematic Potential Energy Profile (G3B3 + ΔG_{solv}) for the Three Possible Mechanisms of NMA Chlorination^a

^aThe energy of *trans*-NMA (**1a**) and HOCl complexed to water is set to zero (hashed line). The gray band denotes the target experimental barrier for N-chlorination of NMA (assuming an experimental error of ± 5 kJ/mol).

Different configurations of the three water molecules have been probed (Supporting Information), but no transition structure has been located that gives the barrier less than 130 kJ/mol. This barrier corresponds to the reaction rate constant of ca. $10^{-10} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, which is several orders of magnitude lower than the experimental rate constant. It follows that the reaction mechanism established for the N-chlorination of amines is not relevant for the N-chlorination of amides.

To determine the mechanism of NMA formation that would fit in with the available experimental data, two additional pathways for chlorination, which proceed in a two-step manner, have been considered: one in which carbonyl oxygen is chlorinated first followed by the intramolecular chlorine transfer from O to N atom, and the second one in which NMA undergoes tautomerization to the iminol form which subsequently reacts with HOCl.

O-Chlorination of the Amide Form. The initial O-chlorination of amides has been proposed in several reports.^{54–58} It has been postulated that the chlorination begins with an attack of the nucleophilic carbonyl oxygen on the chlorinating agent (HOCl or Cl_2), forming an O-chlorinated intermediate. The latter undergoes an intramolecular Cl^+ shift in which the chloronium ion is transferred to the amide nitrogen atom (the thermodynamically favored site). An analogous mechanism has been suggested for a similar set of reactions, i.e., for nitrosation of amides, which involves

the direct addition of NO^+ to the carbonyl oxygen followed by intramolecular nitroso group shift to the amide nitrogen atom.^{59–61}

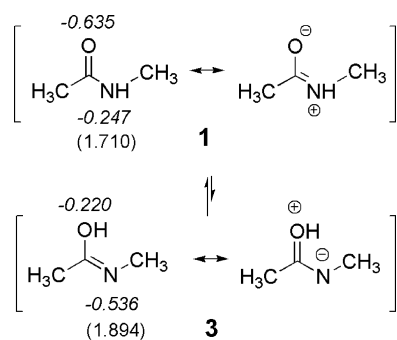
The initial O-chlorination step could be consistent with the higher basicity of the carbonyl oxygen compared with the amide nitrogen. The nonbonded pair of electrons on the amidic N is delocalized over the N–C–O moiety (Scheme 3) and is therefore of limited availability to a Cl^+ electrophile. However, we have found that the O-chlorination of NMA (**1a** \rightarrow TS_O \rightarrow **2**) is energetically a less favorable process than the direct N-chlorination **1a** \rightarrow TS_A \rightarrow **4a** (Scheme 2). The calculated energy barrier for the O-chlorination process assisted by the three explicit water molecules is 166.6 kJ/mol, whereas the corresponding barrier for N-chlorination is 137.8 kJ/mol. The reaction step in which O-chlorinated product **2** is formed is strongly endergonic; the hydrated species $2(\text{H}_2\text{O})_2$ is 74.8 kJ/mol less stable than the starting reactants. In the next reaction step, the O-chlorinated intermediate undergoes the O \rightarrow N chlorine migration, via the transition state structure TS_Cl , in which the final product **4b** is obtained. The calculated energy barrier for the intramolecular 1,3-sigmatropic Cl^+ transfer **2** \rightarrow TS_Cl \rightarrow **4b** is higher than the barrier for the initial O-chlorination step **1a** \rightarrow TS_O \rightarrow **2** (Table 1), because this transfer (via suprafacial transition state geometry TS_Cl) is forbidden by orbital symmetry conservation rules.^{62,63} Accordingly, the calculated energy barrier for the O,N-chlorine shift

amounts to 169.5 kJ/mol, which makes the process very unfavorable. Similarly, it has been shown that the intramolecular Cl⁺ transfer fails to occur in chlorinated dipeptides unless unique structural requirements are met.^{64,65}

N-Chlorination of the Iminol Form. Due to high barriers, we have concluded that the N-chlorination $1a \rightarrow TS_A \rightarrow 4a$ and especially the O-chlorination $1a \rightarrow TS_O \rightarrow 2 \rightarrow TS_{Cl} \rightarrow 4b$, are two pathways that are inappropriate for describing the NMA chlorination mechanism. A third mechanistic possibility was considered, i.e., the chlorination of the tautomeric form of an amide ($1a \rightarrow TS_T \rightarrow 3 \rightarrow TS_I \rightarrow 4b$). To undergo N-chlorination, the tautomerization of an amide to its iminol form is required. It is known that iminization is a water-assisted process in which the two additional water molecules reduce the barrier significantly.⁶⁶ In agreement with earlier studies on formamide we have located the transition state TS_T in which intramolecular proton transfer from N to O is facilitated by the involvement of the two explicit water molecules. The structure TS_T is characterized by one imaginary frequency (1390i cm⁻¹), which corresponds to proton migration from the N to the O atom along the water chain. The calculated barrier (ΔG_{298}^\ddagger) is 87.3 kJ/mol which is well within the barrier limits set by experimental measurements.

The iminol form **3** is 53.2 kJ/mol less stable than the amide form **1a** but is more reactive. The nucleophilicity of an iminol nitrogen atom is higher, because of its formal negative charge as presented by the resonance structure (Scheme 3). In addition,

Scheme 3. Resonance Structures for Amide (1) and Iminol (3) Forms of NMA^a



^aNBO occupancy of the natural lone pair orbital of the N atom (LP; in parentheses) and NBO charge of N and O atoms (Q; in italics) calculated at the B3LYP/6-31G(d) level.

NBO analysis provides descriptors, which confirm higher nucleophilicity of the nitrogen atom in iminol form; both the occupancy of the natural lone pair orbital of the N atom and the charge of the N atom are higher in iminol form ($\Delta LP_N = 0.184$; $\Delta Q_N = -0.289$ au), as compared to its amide counterpart, suggesting increased reactivity of the former tautomer. This is in agreement with earlier theoretical results suggesting that bromination of uracil⁶⁷ and chlorination of imidazolidinone⁶⁸ must involve iminol intermediates.

The chlorine transfer from HOCl to iminol is assisted by three explicit water molecules. The most favorable water configuration in the transition state structure TS_I (Figure 1) includes two water molecules in cyclic arrangement with HOCl, and one water molecule acting as a hydrogen-bond donor to the oxygen atom of HOCl. The structure TS_I is 30.9 kJ/mol above the energy of iminol **3**, which corresponds to a barrier of 84.1 kJ/mol (relative to starting reactants). This is slightly

lower than the barrier of the preceding tautomerization step. In any case, both the calculated barrier for $1a \rightarrow 3$ and the barrier for $3 \rightarrow 4b$ are in full agreement with the experimental result.

To summarize this part, the two-step N-chlorination of amide **1a** via iminol intermediate **3** is favored over the one-step N-chlorination of amide **1a** by 40 kJ/mol. The two-step N-chlorination of amide **1a** via O-chlorinated intermediate **2** is the least favorable process. It follows that NMA undergoes N-chlorination only if converted to its more reactive iminol form.

3.2. N-Chlorination of Small-Sized Amides. In addition to NMA, we have calculated free energy barriers for N-chlorinations of a series of small-sized amides (Table 2). Both

Table 2. Relative Gibbs Energy (ΔG_{298} , kJ/mol) of Reactants,^a Intermediates, Products, and Transition State Structures Involved in N-Chlorination of Selected Amides, Calculated Using the G3B3 Model and B2K-PLYP/6-311+G(3df,2p)//B3LYP/6-31G(d) Method (in Italics) in Water as the Model Solvent^b

structure	amide		iminol		chloramide		ΔG_{298}^\ddagger exp
	form A	form I	product P	$TS_{A \rightarrow I}$	$TS_{A \rightarrow P}$	$TS_{I \rightarrow P}$	
	0.0	58.4	-49.8	85.5	149.9	87.9	83.2 ^c
	0.0	50.8	-51.4	84.8	152.9	80.5	
	0.0	61.0	-35.2	97.7	144.5	92.2	83.1 ^d
	0.0	64.5	-37.6	95.8	146.5	90.8	
	0.0	48.0	-60.1	82.3	129.0	87.2	80.4 ^d
	0.0	52.7	-61.8	82.4	134.0	92.1	
	0.0	46.0	-49.1	81.2	158.6	93.1	
	0.0	51.0	-41.0	81.2	145.4	96.9	
	0.0	9.5 ^e	-34.0	61.7	166.9	73.0	
	0.0	11.0	-34.3	58.8	171.9	70.9	

^a ΔG_{298} of reactants (amide complexed to two water molecules and HOCl complexed to one water molecule) set to zero. ^bCPCM/UHF//B3LYP/6-31G(d) model. Tautomerization (A \rightarrow I) and two different mechanisms of chlorination were considered: the N-chlorination of amide forms (A \rightarrow P) and the N-chlorination of iminol forms (I \rightarrow P). ^cExperimental value from ref 69. ^dExperimental value from ref 21. ^eExperimental value ($\Delta G_{298} = 16.8$ kJ/mol) from ref 70.

primary and secondary amides have been included together with experimental barriers (ΔG_{298}^\ddagger) where available. The two mechanisms have been comparatively studied according to Scheme 4: one-step N-chlorination of the amide form (A \rightarrow P), and tautomerization of the amide form followed by N-chlorination of the iminol form (A \rightarrow I \rightarrow P). All calculations have been performed using the G3B3 composite model and

Scheme 4. Two Reaction Pathways of N-Chloramide (P) Formation: One-Step N-Chlorination of Amide A via $TS_{A \rightarrow P}$ and Tautomerization via $TS_{A \rightarrow I}$ Followed by N-Chlorination of Iminol I via $TS_{I \rightarrow P}$

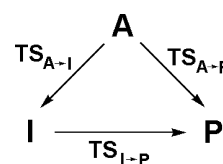
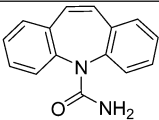
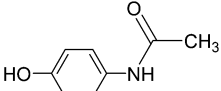
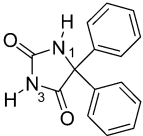


Table 3. Relative Gibbs Energy (ΔG_{298} , kJ/mol) of Reactants,^a Intermediates, Products, and Transition State Structures Involved in N-Chlorination of Amide-Containing Pharmaceuticals, Calculated at B2K-PLYP/6-311+G(3df,2p)//B3LYP/6-31g(d) in Water^b

pharmaceutical compound	amide form	iminol form	chloramide product	TS _{A→I}	TS _{A→P}	TS _{I→P}	$\Delta G_{298}^{\#}$
	A	I	P				exp
 carbamazepine	0.0	60.2	-44.0	86.3	159.9	112.1	95 ^c 123 ^d
 acetaminophen	0.0	37.3	-59.4	76.6	140.9	84.2	
 phenytoin	0.0 ^e	51.8	-68.7	69.7	155.5 ^f	102.7	

^aGibbs free energy of reactants (amide complexed to two water molecules and HOCl complexed to one water molecule) set to zero. ^bCPCM/UFF//B3LYP/6-31G(d) model. Tautomerization (A → I) and two different mechanism of chlorination have been considered: the N-chlorination of amide forms (A → P) and the N-chlorination of iminol forms (I → P). ^cExperimental value from ref 23. ^dExperimental value from ref 71. ^eOnly the most feasible process A → I₃ → P₂ has been considered (Scheme 5). ^fEnergy barrier for the N1-chlorination process.

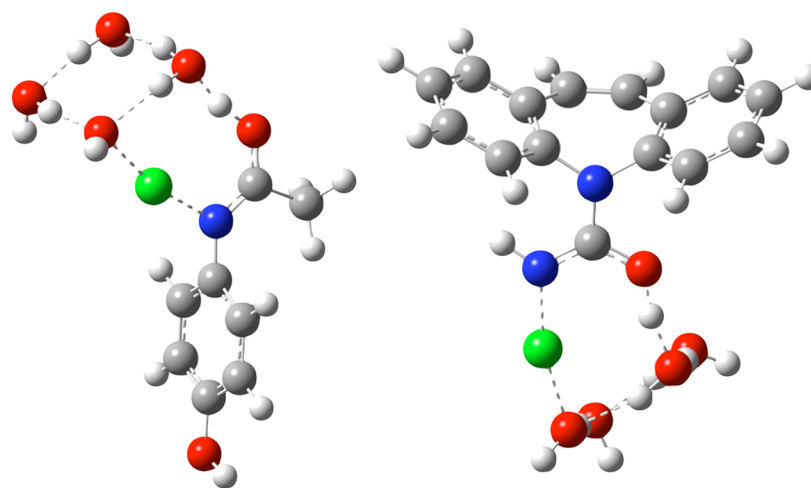


Figure 2. B3LYP/6-31G(d) optimized transition state structures for N-chlorination of the iminol form of acetaminophen (left) and carbamazepine (right).

B2K-PLYP/6-311+G(3df,2p)//B3LYP/6-31G(d) method, which has been proven to accurately reproduce G3B3 results (Table 1).

In each case, the energy barrier for the chlorination of the iminol intermediate is lower (40–100 kJ/mol) than the barrier for the one-step chlorination of the amide form. The calculated results show that all amides under the study follow the same chlorination mechanism in which the intermediacy of the iminol form is essential. This suggests a conclusion that the tautomerization step (A → I) followed by N-chlorination of the iminol intermediate (I → P) could be a general mechanism for N-chlorination of amides.

3.3. N-Chlorination of Amide-Containing Pharmaceuticals. To search for the most favorable reaction pathway for the N-chlorination of amide-containing pharmaceuticals,

three relevant examples have been selected: carbamazepine (anticonvulsant), acetaminophen (analgesic), and phenytoin (antiepileptic) (Table 3). It has been shown that reactions of these drugs with HOCl (e.g., in wastewater treatment process) are of utmost importance for their environmental fate.

Due to the large size of the systems under study, the G3B3 composite model is not feasible from a practical point of view, but the B2K-PLYP method has been found appropriate in terms of efficiency and accuracy (see above).

Again, the two reaction pathways have been compared in each case: the one- and two-step (via iminol intermediate) chlorination of amide-containing pharmaceuticals. The O-chlorination pathway has been excluded as being a kinetically implausible reaction (see above).

Carbamazepine. It has been shown that carbamazepine reacts with HOCl in an aqueous environment, and the N-chloramide has been detected as a transformation product. The chlorination follows second-order kinetics, where the reaction rate constant at pH 7 is $1.7 \times 10^{-9} < k_r < 1.4 \times 10^{-4} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, which corresponds to the free energy barrier $\Delta G_{298}^\ddagger \approx 95\text{--}123 \text{ kJ/mol}$.^{23,71} We assume that all processes below the target experimental barrier (or within an experimental error) contribute to the measured reaction rate. To prove that the N-chlorination process takes place in the course of HOCl-induced transformation of carbamazepine, the computational approach tested on the model amide system (NMA) has been applied. Instead of the G3B3 composite model, the B2K-PLYP//B3LYP model has been employed for accurate energy predictions.

The calculated barrier ($\Delta G_{298}^\ddagger = 159.9 \text{ kJ/mol}$) for one-step N-chlorination via $\text{TS}_{\text{A} \rightarrow \text{P}}$ of the amide form of carbamazepine is prohibitively high. Therefore, this mechanism is not appropriate to describe the reaction between HOCl and carbamazepine in water.

Carbamazepine is chlorinated via $\text{TS}_{\text{I} \rightarrow \text{P}}$, to form the N-chloramide product in a two-step manner. In the first step ($\Delta G_{298}^\ddagger = 86.3 \text{ kJ/mol}$) carbamazepine undergoes tautomerization in which iminol intermediate is formed. The less stable but more reactive iminol reacts with HOCl in the second step. The calculated barrier of 112.1 kJ/mol is within the barrier limits set by experimental measurements. The transition state structure in which three water molecules assist the chlorination of the iminol form is presented in Figure 2. This transition structure is essential to explain the observation that N-chloramide was the major transformation product of carbamazepine under experimental conditions.²³

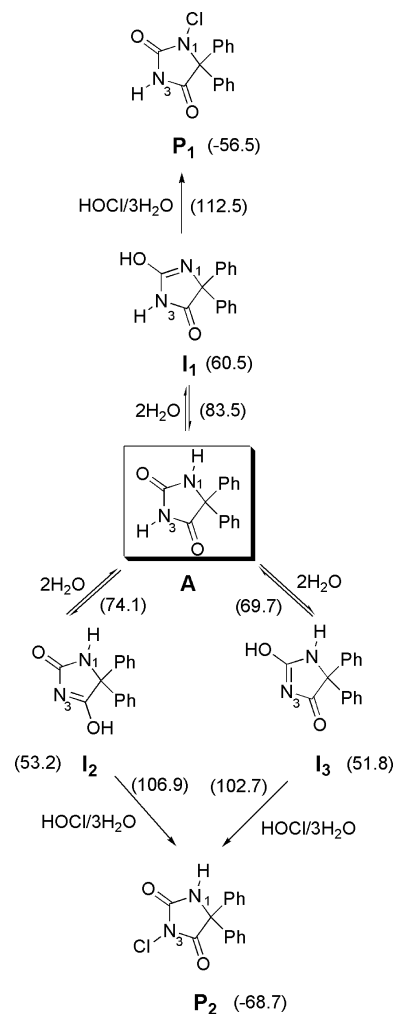
Acetaminophen. The reaction of HOCl with acetaminophen is the representative example of transformation of pharmaceutical into toxic products. Under conditions simulating wastewater disinfection, acetaminophen reacted with HOCl to form hepatotoxin N-acetyl-p-benzoquinoneimine and 1,4-benzoquinone, which is suspected of causing mutagenic and genotoxic effects.²⁴ It is not clear if N-chlorination occurs in the course of HOCl-induced transformation of acetaminophen, because N-chloramide products have not been observed under experimental conditions.²⁴ In contrast, other authors have shown that N-chlorinated intermediates are relevant for the chlorination of acetanilides^{72,73} or phenylurea herbicides,⁷⁴ which are structurally related to acetaminophen.

Our computational results support the claim that Ar-NHC(O)R moiety easily undergoes N-chlorination. Two different mechanisms for N-chlorination have been calculated at the B2K-PLYP//B3LYP level: the one-step N-chlorination of the amide moiety in acetaminophen and the two-step process in which iminol intermediate is formed first followed by N-chlorination reaction. The energy barrier for the two-step mechanism is 56.7 kJ/mol lower and the corresponding transition state structure for N-chlorination of the iminol form assisted by three water molecules is presented in Figure 2. The calculated energy barrier is comparable to the corresponding barrier for N-chlorination of carbamazepine. This suggests the relative ease of formation of the N-chloramide product during chlorination of acetaminophen by HOCl in an aqueous environment. It is of interest to see if the N-chlorinated derivative of acetaminophen can be detected if different analytical techniques, other than electrochemical detection

combined with iodide-postcolumn reaction chemistry,²⁴ are employed.

Phenytoin. It has been shown that both nitrogen atoms N1 and N3 (Scheme 5) in phenytoin can be chlorinated by

Scheme 5. Chlorination of N1 and N3 Positions in Iminol Forms of the Antiepileptic Drug Phenytoin^a



^aRelative energies (ΔG_{298}^\ddagger , kJ/mol; in parentheses) for the respective species calculated at the B2K-PLYP/6-311+G(3df,2p)//B3LYP/6-31g(d) level in water.

HOCl,⁷⁵ but it is not known which nitrogen atom is more nucleophilic, i.e., which position is chlorinated first. There is some evidence that 5,5-dialkylhydantoins undergo chlorination in which the N3 position is chlorinated first followed by the N1 position to form dichloro product.⁷⁶

According to our computational results the barrier for chlorination of the N3 position is 9.8 kJ/mol lower than the corresponding barrier for chlorination of the N1 position (Scheme 5). The mechanism that involves iminol intermediates has been taken as relevant for this comparison.

The formation of three different iminol intermediates is possible (Scheme 5), and they span a range of ca. 8.7 kJ/mol. The most stable iminol form I_3 is formed along the reaction pathway in which the N3 position is chlorinated first, whereas the iminol form I_1 is a key intermediate for chlorination of the N1 position (Scheme 5).

On the product side of reaction the N3-chlorinated phenytoin (P_2) has been calculated for 12.2 kJ/mol more stable than the N1-chlorinated counterpart (P_1). This is due to the steric repulsion, between N1-chlorine and aromatic hydrogen atoms, which exists in N1–Cl form only. The same stability order has been found for spiro-substituted hydantoins where N1-chlorinated products suffer from steric interactions between N1-chlorine atom and hydrogen atoms of the substituent at the C5-position.⁷⁷

The one-step chlorination of the amide form at the N1 position in phenytoin has been calculated kinetically inferior ($\Delta G_{298}^\ddagger = 155.5$ kJ/mol), in accordance with the results for all amides included in this study. On the other hand, during the optimization of the transition state structure for chlorination of the amide form at the N3 position in phenytoin, a proton shift occurs that converts the amide form to its iminol counterpart. The same tautomerization has been observed in geometry optimization of transition state structure for N-chlorination of imidazolidine.⁶⁸

4. CONCLUSIONS

Due to its increased reactivity, as compared to the amide counterpart, the iminol form has been implicated as a reactive intermediate in a number of reactions.^{78,79} Of special importance is the intermediacy of the iminol form in base-mispairing process,⁸⁰ or in complexations by metal ions that influence peptide conformations,⁸¹ to name but a few examples. Now, we add the N-chlorination of amides to the respective list of reactions in which the intermediacy of the iminol is essential. Chlorinations of amides are of utmost importance in biological, environmental, and material chemistry; however, no reaction mechanism has been reported to date.

A detailed and comprehensive computational study has been performed on the model amide NMA. Several theoretical models (B3LYP, BMK, M06-2X, B2-PLYPD, and B2K-PLYP) have been benchmarked against the high-level the G3B3 composite model. The double-hybrid B2K-PLYP method has been found superior in terms of the cost and accuracy.

Three different reaction mechanisms for chlorination of amides by HOCl have been studied: (i) the one-step N-chlorination of the amide form, which is analogous to the mechanism of N-chlorination of amines, (ii) the O-chlorination of the amide followed by O,N-chlorine shift, which has been suggested as viable by several authors, and (iii) the tautomerization of the amide to its iminol form, which subsequently undergoes N-chlorination. In all cases, the involvement of water molecules is essential, as energy barriers along respective reaction pathways are strongly reduced by water assistance.

According to all theoretical models, the reaction channel in which the iminol intermediate is formed and subsequently chlorinated is found to be the most feasible pathway. This computational result is supported by experimental data. The energy barrier $\Delta G_{298}^\ddagger \approx 87$ kJ/mol, as derived from the measured rate constant, is correctly reproduced by B2K-PLYP (86.3 kJ/mol) and G3B3 (87.3 kJ/mol), but only if the N-chlorination of the iminol is considered. The same reaction pathway for N-chlorination that involves the iminol intermediate has been proposed for a series of small-sized amides, as well as for three larger structures of amide-containing pharmaceuticals. This suggests that the formation of the iminol intermediate followed by its reaction with HOCl is the general mechanism operating in N-chlorination for most amides.

■ ASSOCIATED CONTENT

Supporting Information

Energies and geometries for all structures calculated at different levels of theory, BSSE effect on the calculated geometry parameters, sequential addition of explicit water molecule, alternative mechanisms for chlorination of N-methylacetamide, and different water configurations calculated for selected transition state structures. This material is available free of charge via the Internet at <http://pubs.acs.org>.

■ AUTHOR INFORMATION

Corresponding Author

*V. Vrčcek: tel, +385-1-6394441; fax, +385-1-4856201; e-mail, vvrcek@pharma.hr.

Notes

The authors declare no competing financial interest.

■ ACKNOWLEDGMENTS

We thank the Computing Centre SRCE of the University of Zagreb for allocating computer time on the Isabella cluster where a part of the calculations were performed. The technical assistance from Mrs. Ivana Amerl is gratefully acknowledged.

■ REFERENCES

- (1) Khetan, S. K.; Collins, T. J. Human Pharmaceuticals in the Aquatic Environment: A Challenge to Green Chemistry. *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 2319–2364.
- (2) Rees, M. D.; Hawkins, C. L.; Davies, M. J. Hypochlorite-Mediated Fragmentation of Hyaluronan, Chondroitin Sulfates, and Related N-Acetyl Glycosamines: Evidence for Chloramide Intermediates, Free Radical Transfer Reactions, and Site-Specific Fragmentation. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 13719–13733.
- (3) Davies, M. J.; Dean, R. T. *Radical-Mediated Protein Oxidation: From Chemistry to Medicine*; Oxford University Press: Oxford, U.K., 1997.
- (4) Hui, F.; Debiemme-Chouvy, C. Antimicrobial N-Halamine Polymers and Coatings: A Review of Their Synthesis, Characterization, and Applications. *Biomacromolecules* **2013**, *14*, 585–601 and references therein.
- (5) Armesto, X. L.; Canle, M. L.; Garcia, M. V.; Santaballa, J. A. Aqueous Chemistry of N-Halo Compounds. *Chem. Soc. Rev.* **1998**, *27*, 453–460.
- (6) Tarade, T.; Vrčcek, V. Reactivity of Amines with Hypochlorous Acid: Computational Study of Steric, Electronic, and Medium Effects. *Int. J. Quantum Chem.* **2013**, *113*, 881–890.
- (7) Pereira, W. E.; Hoyano, Y.; Summons, R. E.; Bacon, V. A.; Duffield, A. M. Chlorination Studies. II. The Reaction of Aqueous Hypochlorous Acid With α -Amino Acids and Dipeptides. *Biochim. Biophys. Acta* **1973**, *313*, 170–180.
- (8) Stelmaszyńska, T.; Zgliczynski, J. M. N-(2-Oxoacyl)Amino Acids and Nitriles as Final Products of Dipeptide Chlorination Mediated by the Myeloperoxidase/H₂O₂/Cl⁻ System. *Eur. J. Biochem.* **1978**, *92*, 301–308.
- (9) Hureiki, L.; Croué, J. P.; Legube, B. Chlorination Studies of Free and Combined Amino Acids. *Water Res.* **1994**, *28*, 2521–2531.
- (10) Selvaraj, R. J.; Paul, B. B.; Strauss, R. R.; Jacobs, A. A.; Sbarra, A. J. Oxidative Peptide Cleavage and Decarboxylation by the MPO-H₂O₂-Cl⁻ Antimicrobial System. *Infect. Immun.* **1974**, *9*, 255–260.
- (11) Ayotte, R. C.; Gray, E. T. Chlorination of the Peptide Nitrogen. In *Water Chlorination: Chemistry, Environmental Impact and Health Effects*; Lewis Publishers: Chelsea, MI, 1984.
- (12) Jensen, J. S.; Lam, Y. F.; Helz, G. R. Role of Amide Nitrogen in Water Chlorination: Proton NMR Evidence. *Environ. Sci. Technol.* **1999**, *33*, 3568–3573.

- (13) Schenck, H. L.; Hui, K. Self-Association of *N*-Methylacetamide Examined by Infrared and NMR Spectroscopies. *J. Chem. Educ.* **2011**, *88*, 1158–1161 and references therein..
- (14) Andrushchenko, V.; Matejka, P.; Anderson, D. T.; Kaminsky, J.; Hornicek, J.; Paulson, L. O.; Bour, P. Solvent Dependence of the *N*-Methylacetamide Structure and Force Field. *J. Phys. Chem. A* **2009**, *113*, 9727–9736.
- (15) Allison, S. K.; Bates, S. P.; Crain, J.; Martyna, G. Solution Structure of the Aqueous Model Peptide *N*-Methylacetamide. *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 21319–21326.
- (16) Hawkins, C. L.; Pattison, D. L.; Davies, M. J. Hypochlorite-Induced Oxidation of Amino Acids, Peptides and Proteins. *Amino Acids* **2003**, *25*, 259–274.
- (17) Pattison, D. L.; Davies, M. J. Absolute Rate Constants for the Reaction of Hypochlorous Acid with Protein Side Chains and Peptide Bonds. *Chem. Res. Toxicol.* **2001**, *14*, 1453–1464.
- (18) Glassmeyer, S. T.; Shoemaker, J. A. Effects of Chlorination on the Persistence of Pharmaceuticals in the Environment. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **2005**, *74*, 24–31.
- (19) Deborde, M.; von Gunten, U. Reactions of Chlorine with Inorganic and Organic Compounds During Water Treatment - Kinetics and Mechanisms: A Critical Review. *Water Res.* **2008**, *42*, 13–51.
- (20) Aga, D. *Fate of Pharmaceuticals in the Environment and in Water Treatment Systems*; CRC Press, Boca Raton, FL, 2007.
- (21) Thomm, E. W. C. W.; Wayman, M. *N*-Chlorination of Secondary Amides. II. Effects of Substituents on Rates of *N*-Chlorination. *Can. J. Chem.* **1969**, *47*, 3289–3297.
- (22) Antelo, J. M.; Arce, F.; Parajó, M.; Pousa, A. I.; Pérez-Moure, J. C. Chlorination of *N*-Methylacetamide: A Kinetic Study. *Int. J. Chem. Kinet.* **1995**, *27*, 1021–1031.
- (23) Soufan, M.; Deborde, M.; Delmont, A.; Legube, B. Aqueous Chlorination of Carbamazepine: Kinetic Study and Transformation Product Identification. *Water Res.* **2013**, *47*, 5076–5087.
- (24) Bedner, M.; MacCrehan, W. A. Transformation of Acetaminophen by Chlorination Produces the Toxicants 1,4-Benzoquinone and *N*-Acetyl-*p*-Benzoquinone Imine. *Environ. Sci. Technol.* **2006**, *40*, 516–522.
- (25) Huerta-Fontela, M.; Galceran, M. T.; Ventura, F. Occurrence and Removal of Pharmaceuticals and Hormones through Drinking Water Treatment. *Water Res.* **2011**, *45*, 1432–1442.
- (26) Frisch, M. J.; Trucks, G. W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; Robb, M. A.; Cheeseman, J. R.; Scalmani, G.; Barone, V.; Mennucci, B.; Petersson, G. A.; et al. *Gaussian 09*, Revision D.01; Gaussian, Inc.: Wallingford, CT, 2009.
- (27) Lee, C.; Yang, W.; Parr, R. G. Development of the Colle-Salvetti Correlation-Energy Formula into a Functional of the Electron Density. *Phys. Rev. B: Condens. Matter* **1988**, *37*, 785–789.
- (28) Becke, A. D. Density-Functional Thermochemistry. III. The Role of Exact Exchange. *J. Chem. Phys.* **1993**, *98*, 5648–5652.
- (29) Baboul, A. G.; Curtiss, L. A.; Redfern, P. C.; Raghavachari, K. Gaussian-3 Theory Using Density Functional Geometries and Zero-Point Energies. *J. Chem. Phys.* **1999**, *110*, 7650–7657.
- (30) Grimme, S. Semiempirical Hybrid Density Functional with Perturbative Second-Order Correlation. *J. Chem. Phys.* **2006**, *124*, 034108–034146.
- (31) Schwabe, T.; Grimme, S. Double-Hybrid Density Functionals with Long-Range Dispersion Corrections: Higher Accuracy and Extended Applicability. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2007**, *9*, 3397–3406.
- (32) Tarnopolsky, A.; Karton, A.; Sertchook, R.; Vuzman, D.; Martin, J. M. L. Double-Hybrid Functionals for Thermochemical Kinetics. *J. Phys. Chem. A* **2008**, *112*, 3–8.
- (33) Karton, A.; O'Reilly, R. J.; Radom, L. Assessment of Theoretical Procedures for Calculating Barrier Heights for a Diverse Set of Water-Catalyzed Proton-Transfer Reactions. *J. Phys. Chem. A* **2012**, *116*, 4211–4221.
- (34) Zhao, Y.; Truhlar, D. G. The M06 Suite of Density Functionals for Main Group Thermochemistry, Thermochemical Kinetics, Non-covalent Interactions, Excited States, and Transition Elements: Two New Functionals and Systematic Testing of Four M06-Class Functionals and 12 Other Functionals. *Theor. Chem. Acc.* **2008**, *120*, 215–241.
- (35) Boese, A. D.; Martin, J. M. L. Development of Density Functionals for Thermochemical Kinetics. *J. Chem. Phys.* **2004**, *121*, 3405–3416.
- (36) Mangiardi, G. F.; Brémond, E.; Adamo, C. DFT and Proton Transfer Reactions: A Benchmark Study on Structure and Kinetics. *J. Chem. Theory Comput.* **2012**, *8*, 3082–3088.
- (37) Wiczorek, R.; Haskamp, L.; Dannenberg, J. J. Molecular Orbital Calculations of Water Clusters on Counterpoise-Corrected Potential Energy Surfaces. *J. Phys. Chem. A* **2004**, *108*, 6713–6723.
- (38) Haworth, N. L.; Bacskey, G. B. Heats of Formation of Phosphorus Compounds Determined by Current Methods of Computational Quantum Chemistry. *J. Chem. Phys.* **2002**, *117*, 11175–11187.
- (39) Cossi, M.; Scalmani, G.; Rega, N.; Barone, V. New Developments in the Polarizable Continuum Model for Quantum Mechanical and Classical Calculations on Molecules in Solution. *J. Chem. Phys.* **2002**, *117*, 43–54.
- (40) Barone, V.; Cossi, M.; Tomasi, J. A New Definition of Cavities for the Computation of Solvation Free Energies by the Polarizable Continuum Model. *J. Chem. Phys.* **1997**, *107*, 3210–3221.
- (41) Barone, V.; Cossi, M. Quantum Calculation of Molecular Energies and Energy Gradients in Solution by a Conductor Solvent Model. *J. Phys. Chem. A* **1998**, *102*, 1995–2001.
- (42) Saunders, M. Stochastic Search for Isomers on a Quantum Mechanical Surface. *J. Comput. Chem.* **2004**, *25*, 621–626.
- (43) Sakic, D.; Vrcek, V. Prereactive Complexes in Chlorination of Benzene, Triazine, and Tetrazine: A Quantum Chemical Study. *J. Phys. Chem. A* **2012**, *116*, 1298–1306.
- (44) Vrcek, V.; Kronja, O.; Saunders, M. Stochastic Search for Isomers of the *sec*-Butyl Cation. *J. Chem. Theory Comput.* **2007**, *3*, 1223–1230.
- (45) Pliego, J. R., Jr. Basic Hydrolysis of Formamide in Aqueous Solution: A Reliable Theoretical Calculation of the Activation Free Energy Using the Cluster-Continuum Model. *Chem. Phys.* **2004**, *306*, 273–280.
- (46) Ardura, D.; López, R.; Sordo, T. L. Relative Gibbs Energies in Solution Through Continuum Models: Effect of the Loss of Translational Degrees of Freedom in Bimolecular Reactions on Gibbs Energy Barriers. *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109*, 23618–23623.
- (47) Okuno, Y. Theoretical Investigation of the Mechanism of the Baeyer-Villiger Reaction in Nonpolar Solvents. *Chem.—Eur. J.* **1997**, *3*, 212–218.
- (48) Benson, S. W. *The Foundations of Chemical Kinetics*; Krieger: Malabar, FL, 1982.
- (49) Glendening, E. D.; Reed, A. E.; Carpenter, J. E.; Weinhold, F. *NBO*, Version 3.1.
- (50) Abia, L.; Armesto, X. L.; Canle, M. L.; García, M. V.; Santaballa, J. A. Oxidation of Aliphatic Amines by Aqueous Chlorine. *Tetrahedron* **1998**, *54*, 521–530.
- (51) Andrés, J.; Canle, M. L.; García, M. V.; Rodríguez Vázquez, L. F.; Santaballa, J. A. A B3LYP/6-31G** Study on the Chlorination of Ammonia by Hypochlorous Acid. *Chem. Phys. Lett.* **2001**, *342*, 405–410.
- (52) Rayson, M. S.; Altarawneh, M.; Mackie, J. C.; Kennedy, E. M.; Dlugogorski, B. Z. Theoretical Study of the Ammonia–Hypochlorous Acid Reaction Mechanism. *J. Phys. Chem. A* **2010**, *114*, 2597–2606.
- (53) Vrcek, V.; Mestric, H. Chlorination of Ammonia and Aliphatic Amines by Cl₂. DFT Study of Medium and Substituent Effects. *J. Phys. Org. Chem.* **2008**, *22*, 59–68.
- (54) Sun, Y.; Sun, G. Novel Refreshable *N*-Halamine Polymeric Biocides: *N*-Chlorination of Aromatic Polyamides. *Ind. Eng. Chem. Res.* **2004**, *43*, 5015–5020.
- (55) Koval, I. V. *N*-Halo Reagents. Synthesis and Reactions of *N*-Halocarboxamides. *Russ. J. Org. Chem.* **2001**, *37*, 297–317.

- (56) Hardy, F. E.; Robson, P. The Formation and Hydrolysis of Substituted *N*-Chloro-*N*-Methylbenzamides in Aqueous Alkali. *J. Chem. Soc. B* **1967**, 1151–1153.
- (57) Barassi, G.; Borrmann, T. *N*-Chlorination and Orton Rearrangement of Aromatic Polyamides, Revisited. *J. Membr. Sci. Technol.* **2012**, *2*, 115.
- (58) Zabicky, J. *The Chemistry of Amides*; Interscience: London, New York, 1970.
- (59) Birney, D. M. Nitrosation of Amides Involves a Pseudopericyclic 1,3-Sigmatropic Rearrangement. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 851–854.
- (60) Darbeau, R. W.; Pease, R. S.; Perez, E. V. J. Electronic Effects in the *N*-Nitrosation of *N*-Benzylpivalamides. *Org. Chem.* **2002**, *67*, 2942–2947.
- (61) Lona-Ramírez, F. J.; Herrera-Muñoz, R.; Rico-Ramírez, V.; Hernández, F. L.; Luna-Bárceñas, G.; González-Alatorre, G. Kinetic Study of the Nitrosation of 1,1,3-Trimethylurea in Aqueous Acid Medium. *React. Kinet. Mech. Catal.* **2012**, *105*, 285–292.
- (62) Berson, J. A. Orbital-Symmetry-Forbidden Reactions. *Acc. Chem. Res.* **1972**, *5*, 406–414.
- (63) Woodward, R. B.; Hoffmann, R. *The Conservation of Orbital Symmetry*; Verlag Chemie and Academic Press: Weinheim/Bergstrasse and New York, 1970.
- (64) Karton, A.; O'Reilly, R. J.; Pattison, D. I.; Davies, M. J.; Radom, L. Computational Design of Effective, Bioinspired HOCl Antioxidants: The Role of Intramolecular Cl⁺ and H⁺ Shifts. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 19240–19245.
- (65) Pattison, D. I.; Davies, M. J. Evidence for the Rapid Inter- and Intramolecular Chlorine Transfer Reactions of Histamine and Carnosine Chloramines: Implications for the Prevention of Hypochlorous-Acid-Mediated Damage. *Biochemistry* **2006**, *45*, 8152–8162.
- (66) Liang, W. C.; Li, H. R.; Hu, X. B.; Han, S. J. Proton Transfer of Formamide Plus (H₂O)_n (n = 0–3): Protective and Assistant Effect of the Water Molecule. *J. Phys. Chem. A* **2004**, *108*, 10219–10224.
- (67) Hu, X.; Li, H.; Liang, W. Reaction Mechanism of Uracil Bromination by HBrO: A New Way to Generate the Enol-Keto Form of 5-Bromouracil. *J. Phys. Chem. A* **2006**, *110*, 11188–11193.
- (68) Akdag, A.; McKee, M. L.; Worley, S. D. Mechanism of Formation of Biocidal Imidazolidin-4-One Derivatives: An Ab Initio Density-Functional Theory Study. *J. Phys. Chem. A* **2006**, *110*, 7621–7627.
- (69) Liu, S.; Sun, G. New Refreshable *N*-Halamine Polymeric Biocides: *N*-Chlorination of Acyclic Amide Grafted Cellulose. *Ind. Eng. Chem. Res.* **2009**, *48*, 613–618.
- (70) Frank, J.; Katritzky, A. R. Tautomeric Pyridines. Part XV. Pyridone–Hydroxypyridine Equilibria in Solvents of Differing Polarity. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **1976**, 1428–1431.
- (71) Kotscharaksa, K. The Mechanism, Products, and Kinetic of Carbamazepine-Free Chlorine Reactions. *M.Sc. Thesis*, Virginia Tech, Blacksburg, 2008.
- (72) Gassman, P. G.; Balchunis, R. J. The ortho-Alkylation of Anilides via the [2,3]-Sigmatropic Rearrangement of Ylids Derived from *N*-Acyl-*N*-Arylazasulfonium Salts. *Tetrahedron Lett.* **1977**, *18*, 2235–2238.
- (73) Yuki, H.; Kishikawa, T.; Tohira, Y.; Suzuki, S.; Sano, F.; Hayakawa, S. Studies on Antiviral Agents. V. Synthesis and Antiviral Activity of *N*-Chloro Compounds. *Chem. Pharm. Bull.* **1967**, *15*, 1123–1128.
- (74) Chusaksri, S.; Sutthivaiyakit, S.; Sedlak, D. L.; Sutthivaiyakit, P. Reactions of Phenylurea Compounds with Aqueous Chlorine: Implications for Herbicide Transformation During Drinking Water Disinfection. *J. Hazard. Mater.* **2012**, *209*, 484–491.
- (75) Mays, D. C.; Pawluk, L. J.; Apseloff, G.; Davis, W. B.; She, Z. W.; Sagone, A. L.; Gerber, N. Metabolism of Phenytoin and Covalent Binding of Reactive Intermediates in Activated Human Neutrophils. *Biochem. Pharmacol.* **1995**, *50*, 367–380.
- (76) Akdag, A.; Worley, S. D.; Acevedo, O.; McKee, L. M. Mechanism of 5,5-Dimethylhydantoin Chlorination: Monochlorination through a Dichloro Intermediate. *J. Chem. Theory Comput.* **2007**, *3*, 2282–2289.
- (77) Akdag, A.; Okur, S.; McKee, M. L.; Worley, S. D. The Stabilities of *N*-Cl Bonds in Biocidal Materials. *J. Chem. Theory Comput.* **2006**, *2*, 879–884.
- (78) Fairlie, D. P.; Woon, T. C.; Wickramasinghe, W. A.; Willis, A. C. Amide-Iminol Tautomerism: Effect of Metalation. *Inorg. Chem.* **1994**, *33*, 6425–6428.
- (79) Swartz, R. D.; Coggins, M. K.; Kaminsky, W.; Kovacs, J. A. Nitrile Hydration by Thiolate- and Alkoxide-Ligated Co-NHase Analogues. Isolation of Co(III)-Amidate and Co(III)-Iminol Intermediates. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 3954–3963.
- (80) Purrello, R.; Molina, M.; Wang, Y.; Smulevich, G.; Fresco, J. R.; Spiro, T. G.; Fossella, J. Keto-Iminol Tautomerism of Protonated Cytidine Monophosphate Characterized by Ultraviolet Resonance Raman Spectroscopy: Implications of C+ Iminol Tautomer for Base Mispairing. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 760–767.
- (81) Dunbar, R. C.; Steill, J. D.; Polfer, N. C.; Berden, G.; Oomens, J. Peptide Bond Tautomerization Induced by Divalent Metal Ions: Characterization of the Iminol Configuration. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2012**, *51*, 4591–4593.

The chemical fate of paroxetine metabolites. Dehydration of radicals derived from 4-(4-fluorophenyl)-3-(hydroxymethyl)piperidine†

Davor Šakić,^a Florian Achraimer,^b Valerije Vrčeka^{*a} and Hendrik Zipse^bCite this: *Org. Biomol. Chem.*, 2013, **11**, 4232Received 31st January 2013,
Accepted 1st May 2013

DOI: 10.1039/c3ob40219c

www.rsc.org/obc

Quantum chemical calculations have been used to model reactions which are important for understanding the chemical fate of paroxetine-derived radicals in the environment. In order to explain the experimental observation that the loss of water occurs along the (photo)degradation pathway, four different mechanisms of radical-induced dehydrations have been considered. The elimination of water from the *N*-centered radical cation, which results in the formation of an imine intermediate, has been calculated as the most feasible process. The predicted energy barrier ($\Delta G_{298}^\ddagger = 98.5 \text{ kJ mol}^{-1}$) is within the barrier limits set by experimental measurements. All reaction intermediates and transition state structures have been calculated using the G3(MP2)-RAD composite procedure, and solvent effects have been determined using a mixed (cluster/continuum) solvation model. Several new products, which comply with the available experimental data, have been proposed. These structures could be relevant for the chemical fate of antidepressant paroxetine, but also for biologically and environmentally related substrates.

Introduction

The antidepressant paroxetine (Paxil®) is an important representative of an emerging group of pharmacologically active phenylpiperidines. It is a selective serotonin reuptake inhibitor (SSRI) that is widely prescribed to treat depression. Recent studies have shown that paroxetine and its metabolites^{1–3} have the potential to accumulate in waste waters,⁴ but also in the tissue of fish⁵ as a result of discharges of this antidepressant into surface waters from municipal wastewater treatment plants.^{6,7}

Environmental risk assessment of paroxetine has been performed earlier, but only the parent (3*S*,4*R*)-(4-(4'-fluorophenyl)-3-(3,4-methylenedioxyphenoxymethyl)piperidine (**I**) and its major human metabolite *trans*-4-[4-(4'-fluorophenyl)-3-piperidinylmethoxy]-2-methoxyphenol (**II**) have been considered (Scheme 1) in more detail.⁸ According to ecotoxicity results, paroxetine itself should not exert any significant effects on aquatic organisms. From an environmental fate perspective, paroxetine appears to be hydrolytically stable, while irradiation studies did not show any major UV degradants.

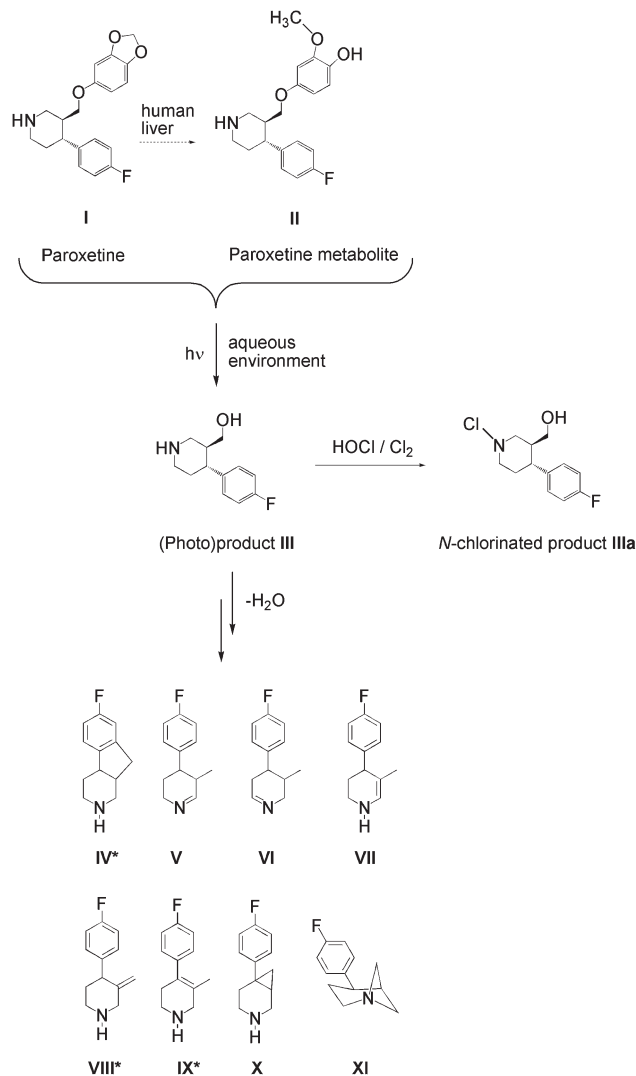
Kwon and Armbrust have shown that paroxetine, if exposed to simulated sunlight, easily undergoes hydrolysis and dehydration in the environment, resulting in relatively stable by-product(s).⁹ The hydrolyzed photoproduct (3*S*,4*R*)-4-(4-fluorophenyl)-3-(hydroxymethyl)piperidine (**III**) is considered as the main environmental metabolite, whereas the possible dehydrated photoproduct has been designated as **IV** (Scheme 1). It is likely that **IV** was produced by loss of water followed by cyclization, but no mechanistic details have been provided. The only structural information for the dehydrated product is the mass spectrum signal at m/z 192 [$M + H$]⁺, leading to a molecular mass of 191. No environmental risk assessment has been performed for the two respective compounds **III** and **IV**.

We have recently proposed that, along with the hydrolysis **I** → **III**, a number of different rearrangements of paroxetine are feasible if chlorination (HOCl/Cl₂) of waste water is taken into account.¹⁰ Chemical transformations of *N*-chlorinated derivative **IIIa** (Scheme 1) have been investigated computationally in water as the reaction medium. In addition to the hydrolyzed product **III**, alternative products have been predicted and suggested as relevant for the chemical fate of paroxetine. In order to provide a more comprehensive picture of reaction possibilities, the rearrangement reactions in the open-shell counterparts of paroxetine metabolites are investigated in this work. While the base-catalyzed reactions in the closed-shell systems occur due to the water chlorination, the paroxetine-derived radicals are generated through photolysis.

^aUniversity of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry, A. Kovačića 1, HR-10000 Zagreb, Croatia. E-mail: valerije@pharma.hr; Fax: +385 1 4856201; Tel: +385 1 6394441

^bDepartment of Chemistry, LMU München, Butenandtstr. 13, D-81377 München, Germany

†Electronic supplementary information (ESI) available. See DOI: 10.1039/c3ob40219c



Scheme 1 (Bio)degradation processes of paroxetine and its metabolites. Proposed closed-shell products (C₁₂H₁₄FN) of rearrangements in paroxetine derived radicals. Structures reported in earlier studies are designated by an asterisk.

Photodegradation of paroxetine follows first-order kinetics, and the reaction rate constant at pH 7 is 0.0529 h⁻¹.⁹ This photodegradation process includes the hydrolysis of **I** to **III** (the experimentally detected photoproduct), and the subsequent rearrangement of **III** to the dehydration product (presumably **IV**). While the hydrolysis results in a single product (**III**), different products may arise from dehydration of **III** (Scheme 1). The experimentally-determined rate constant at pH 7 (calculated as the rate of disappearance of **I**) corresponds to an energy barrier of *ca.* 100 kJ mol⁻¹ at 25 °C. The accuracy of this value, which is based on the assumption of a unimolecular process, is not well established and we therefore assume that all processes below or within a bracket of 10 kJ mol⁻¹ of the target experimental barrier (shown as a grey band in Fig. 1) contribute to the measured reaction rate.

Based on the computational results presented here we outline conceivable pathways for the formation of the (photo) degradation products observed in the experimental studies of

Kwon and Armbrust. The computational results can also help to identify the structures of photoproducts, which have been proposed earlier on the basis of the MS signal only (*m/z* 192 [M + H]⁺). According to other experimental studies, hydrolysis and dehydration of paroxetine can result in several products with a molecular mass of 191.^{2,11–13} Therefore, in addition to the photoproduct **IV**, additional structures **V–XI** (Scheme 1) which match the observed MS signal should be considered as possible degradation products of paroxetine.

In order to investigate all feasible pathways in radical-mediated processes and to search for possible products, quantum chemical models are used to calculate energies and geometries of reaction intermediates and transition state structures. Of special importance is to clarify the mechanism of dehydration which seems to be operative in photodegradation of paroxetine derived radicals. Our investigation has been focused on products which have chemical structures consistent with the experimentally observed data. Only processes for which the calculated energy barrier is lower than 200 kJ mol⁻¹ have been taken into account (see Fig. 1). It is important to note that if any radical-mediated rearrangement corresponds to the rate-determining step, it should not exceed the barrier limit of *ca.* 100 kJ mol⁻¹, as determined earlier in photolysis experiments.⁹

Four different pathways of dehydration have been considered computationally: (i) the formation of imines **V** and **VI**, and enamine **VII**, (ii) the formation of alkenes **VIII** and **IX**, (iii) cyclodehydration reactions resulting in aza-bicycloheptanes **X** and **XI**, and (iv) the five-membered ring closure in **IV**. A more comprehensive analysis and additional data for all reaction possibilities are deposited in the ESI.† All investigated processes include the dehydration step, which is in accord with the experimental observation that the elimination of a water molecule must occur along the degradation pathway.

A dehydration mechanism has been postulated in chemical transformations of different phenylpiperidine-containing biomolecules.^{14–17} Therefore, the comparative study of the competitive processes i–iv is not only relevant for the chemical fate of paroxetine, but may also be relevant for other biologically and environmentally relevant substrates.

Results and discussion

The photolytically induced homolysis⁹ of the N–H bond in the (photo)product **III** or the N–Cl bond in the *N*-chlorinated product **IIIa** can result in the formation of *N*-centered radical **1a** (Scheme 2). It has been shown that *N*-chlorinated species are more susceptible to photodegradation, mostly due to the homolytic bond dissociation energy (BDE), which is lower for the N–Cl bond than for the corresponding N–H bond.¹⁸ The ease of formation of *N*-centered radicals has been reported for a series of chloramines, which play an important role in environmental chemistry and biochemistry.^{19–23}

Once formed, the *N*-centered radical **1a** can undergo fast protonation yielding the radical cation **1b**. The most stable form of **1b** adopts a chair conformation of the piperidine ring

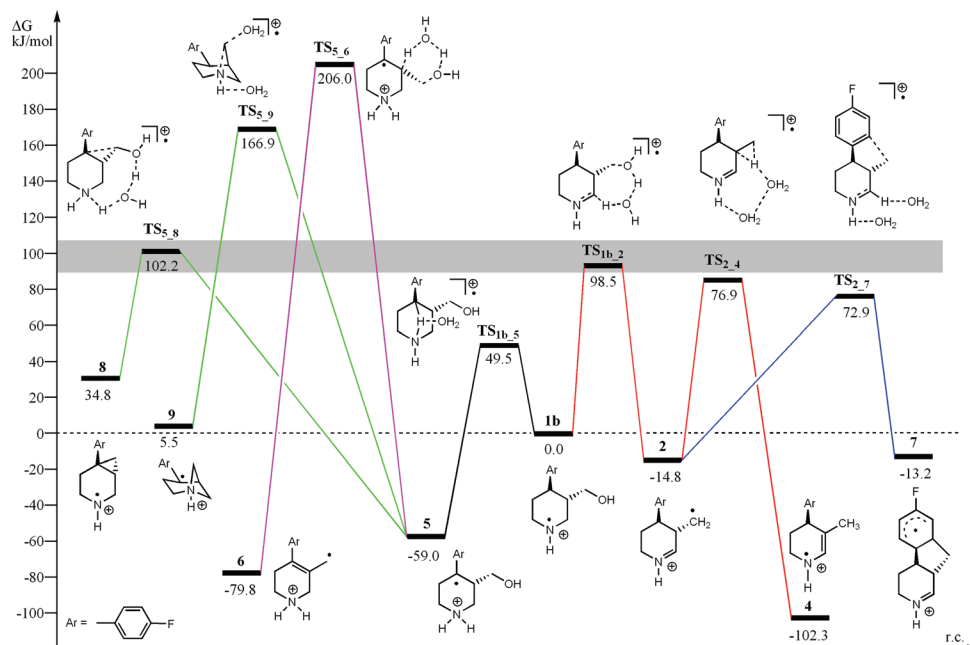


Fig. 1 Schematic energy profile (G3(MP2)-RAD + ΔG_{solv}) for dehydration mechanisms (the formation of imine/enamine (i), red lines; the alkene formation (ii), magenta lines; the formation of azabicycloheptanes (iii), green lines; the five-membered ring closure (iv), blue lines) in radical cations **1b** and **5** derived from the paroxetine metabolite **III** (or **IIIa**). Only the lower energy transition structures for water-assisted processes are presented. The energy of the *N*-centered radical **1b** is set to zero (dashed line). The gray band denotes the target experimental barrier for paroxetine (photo)degradation. Open-shell precursors (Arabic numerals) are connected to their corresponding closed-shell products (Roman numerals).

moiety with both substituents (fluorophenyl and hydroxymethyl) in the equatorial position (the conformer with substituents in the axial position is 11 kJ mol^{-1} less stable if solvation effects are included). The spin density (NPA values) is mainly localized on the nitrogen atom (0.73 au). The calculated $\text{p}K_{\text{a}}$ value for **1b** (at the G3(MP2)-RAD + ΔG_{solv} level according to the thermodynamic cycle presented in ESI†) is 6.5, which is similar to the parent piperidine radical ($\text{p}K_{\text{a}} = 5.8$).^{24,25} This suggests that both neutral (**1a**) and protonated (**1b**) forms coexist in neutral media. *N*-Centered radicals **1a** and **1b** can undergo a variety of further rearrangements.^{26,27}

It is known that protonation of aminyl radicals (such as **1a**) strongly affects the reactivity of these neutral intermediates.^{28–31} Therefore, the radical cation **1b** and its rearranged products (see below) have been selected as species relevant for the description of the chemical fate of paroxetine metabolites. For comparison, rearrangements in the neutral aminyl radical **1a** have also been calculated and the corresponding results have been deposited in the ESI.†

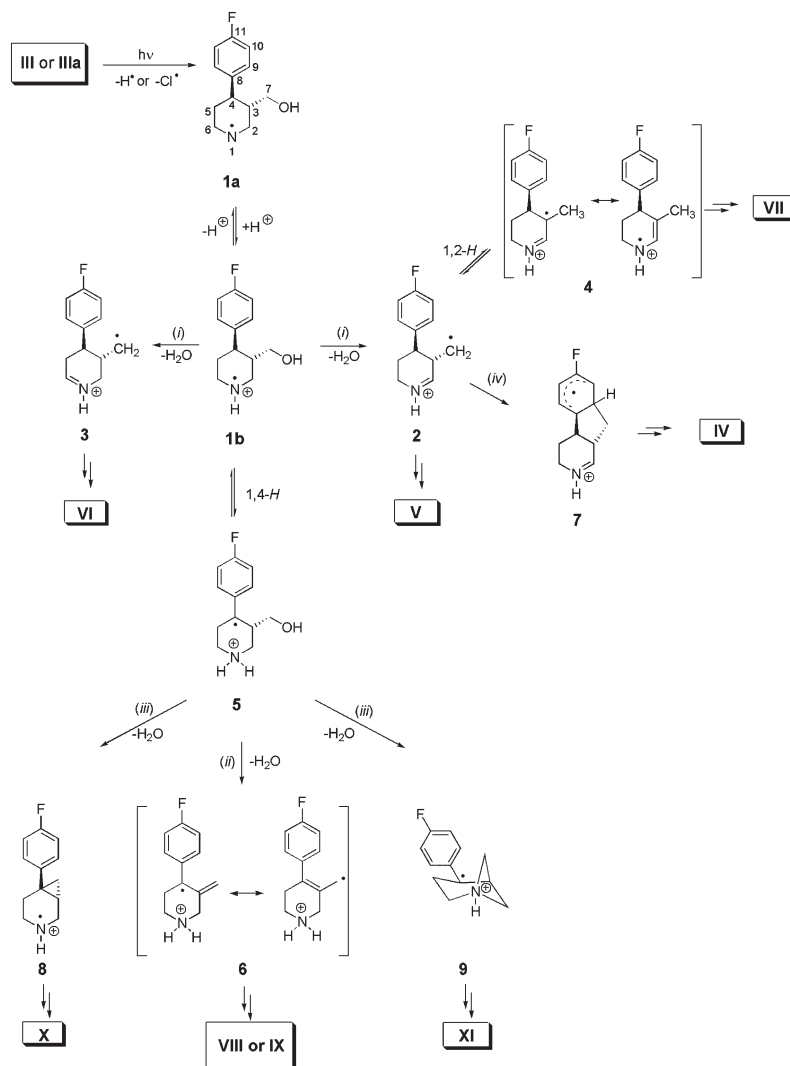
Dehydration of **1b** with imine/enamine formation

It is known that *N*-centered radical cations may undergo fragmentation reactions, which involve the cleavage of the $\text{C}_{\alpha}\text{-H}$ bonds.³² The homolytic cleavage is much easier than in the neutral aminyl radical due to the strong electron withdrawing effect of the positive charge in the protonated form.^{33,34}

Therefore, *N*-centered radical cation **1b** is expected to undergo $\text{C}_{\alpha}\text{-H}$ cleavage in which a hydrogen atom is transferred from either C2 or C6 to the C7-hydroxyl group (numbering

defined in Scheme 2). Both pathways were investigated computationally, with the former process being energetically more favorable. The calculated energy barrier ΔG^{\ddagger} for the intramolecular hydrogen atom transfer from the C2 position is $139.5 \text{ kJ mol}^{-1}$ ($k_{\text{r}} = 8.10 \times 10^{-9} \text{ h}^{-1}$). If one explicit water molecule is included in the calculation, the energy barrier for **1b** → **2** reduces to 98.5 kJ mol^{-1} ($k_{\text{r}} = 0.1235 \text{ h}^{-1}$), which is in line with the experimentally determined limit for dehydration reaction (*ca.* 100 kJ mol^{-1} at 298.15 K). The corresponding transition state **TS_{1b,2}** is characterized by a seven-membered ring geometry, in which the water molecule assists C2–H cleavage coupled with (C7–O) bond cleavage (Fig. 1). The latter bond is slightly elongated (1.49 \AA) as compared to **1b** (1.41 \AA) which suggests that the elimination of water occurs simultaneously with the hydrogen atom transfer. Only negligible spin density is located on the migrating hydrogen throughout the reaction ($\text{SD}(\text{H}_{\text{migr}}) = 0.01$ in **TS_{1b,2}**), suggesting that spin flows directly from the nitrogen atom in **1b** (0.73 au) to the C7 carbon atom (1.04 au) in **2**.

The iminium radical cation **2** and two water molecules have been located at the product side of the reaction pathway using the IRC procedure. This is a distonic radical in which the positive charge is distributed over the imine moiety ($q(\text{C}2) = 0.39$), while the spin density is localized on the carbon center C7 (1.04 au). According to this result, the structure **V** (the closed-shell analogue of **2**) has been proposed as the dehydration product of the metabolite **III** (or **IIIa**). It represents a conceivable structure with chemical formula (in protonated form: $\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{FN}$) which matches the experimentally observed signal of m/z 192. The corresponding closed-shell analogue of



Scheme 2 Proposed dehydration mechanisms (i–iv) in radical cations **1b** and **5** derived from paroxetine metabolites **III** and **IIIa**. Closed-shell reactants/products from Fig. 1 are indicated in boxes. Explicit water molecules coordinated to each radical cation are not presented.

iminium radical cation **3** (structure **VI** in Scheme 1) is predicted to be only a minor product of the dehydration reaction.

The distonic radical cation **2** is more stable by 14.8 kJ mol^{-1} as compared to the *N*-centered radical **1b**. It can undergo further rearrangement through transfer of the C3–H atom to the C7 position. While being forbidden by orbital symmetry conservation rules (the calculated barrier ΔG^\ddagger is over 220 kJ mol^{-1}), this 1,2-hydrogen migration becomes feasible when mediated by water molecules. The transition state structure $\text{TS}_{2,4}$ for the solvent assisted 1,2-hydrogen migration is calculated to be 91.7 kJ mol^{-1} above the imine **2**, which makes this rearrangement kinetically favorable. The resulting enamine radical **4**, presented in Scheme 2 with two resonance structures, has been calculated as the most stable rearranged product ($102.3 \text{ kJ mol}^{-1}$ more stable than **1b**). It is characterized by the planar C6–N1–C2–C3 moiety in which the spin is distributed between N1 (0.40 au) and C3 (0.60 au) atoms. Its closed-shell form corresponds to the structure **VII** in Scheme 1.

Imines such as **V** and **VI**, and enamines such as **VII** may easily undergo hydrolysis giving the expected products with free amino and aldehyde functionalities.^{23,35,36} None of these products, however, can be assigned to the observed signal in the mass spectrum.³⁷

Dehydration of **5** with alkene formation

The two alkene products **VIII** and **IX** (Scheme 1) have been observed in elimination reactions of paroxetine metabolites.^{12,38} The existence of **VIII** as an intermediate in the degradation of **III** has also been confirmed by using electrospray ionization mass spectrometry (ESI-MS).¹¹ In our quest for the possible dehydration product, the alkenes **VIII** and **IX** have been targeted as structures with chemical formula matching the experimentally observed signal (m/z 192). The most favorable pathway which precedes the formation of **VIII** and **IX** corresponds to the loss of water from carbon-centered radical cation **5**. Radical cation **5** is a distonic form of the *N*-centered radical **1b** (charge and radical sites are spatially separated in **5**),

and is calculated to be 59.0 kJ mol^{-1} more stable than the latter. The unpaired spin in **5** is localized on the C4 carbon atom (0.74 au) with some flow to carbon centers C9 (0.22 au) and C11 (0.21 au) in the phenyl ring. It is formed by the 1,4-[N \leftrightarrow C]-hydrogen migration **1b** \rightarrow **5** via transition structure **TS_{1b,5}**. In this transition structure the water molecule is bound to the migrating hydrogen (complex of type $\text{H}_{\text{migr}} \cdots \text{OH}_2$ in Fig. 1). Analysis of partial charge (NPA values) and spin distribution along the 1,4-[N \leftrightarrow C]-H migration reveals that the migrating hydrogen carries a positive charge throughout the reaction ($q(\text{H}_{\text{migr}}) = 0.48 \text{ e}$ in **TS_{1b,5}**). Simultaneously, only the negligible spin density is located on the H_{migr} (0.02 au). The calculated energy barrier for this intramolecular H-shift is $106.3 \text{ kJ mol}^{-1}$ ($k_r = 5.33 \times 10^{-3} \text{ h}^{-1}$), or 49.5 kJ mol^{-1} ($k_r = 0.4752 \text{ h}^{-1}$) with one explicit water added to the system.

The transition state structure **TS_{5,6}** (Fig. 1), which connects radical cation **5** and the alkene product **6**, is located $206.0 \text{ kJ mol}^{-1}$ ($k_r = 1.81 \times 10^{-20} \text{ h}^{-1}$) above the starting radical cation **1b**. Radical cation **6** can undergo further transformations to yield the closed-shell alkenes **VIII** or **IX**, the latter of which is more stable on thermochemical grounds.¹² However, the calculated energy barrier for **5** \rightarrow **6** exceeds the experimentally measured value of 100 kJ mol^{-1} , which makes this dehydration process kinetically less favorable.

Cyclodehydration reactions of **5**

The elimination of water from radical cation **5** can also be coupled to the formation of 3- or 4-membered ring systems. In the cyclodehydration reaction **5** \rightarrow **8** the simultaneous elimination of the C7-hydroxyl group and the hydrogen atom from the N1 position results in the formation of the azabicycloheptane product **8**. The calculated energy barrier for this cyclopropanation reaction amounts to $161.2 \text{ kJ mol}^{-1}$ ($k_r = 1.28 \times 10^{-11} \text{ h}^{-1}$) if one explicit water is added, which is substantially lower than the barrier for the formation of alkene radical cation **6** (see above). The radical cation product **8** can subsequently be transformed into the closed-shell parent **X**, which has already been targeted as a bioactive lead compound.^{39,40} It is closely related to paroxetine as the azabicycloheptane derivatives have been recently designed as potent and selective triple reuptake inhibitors,^{41,42} and the same heterocyclic moiety has been described as important in monoamine oxidase substrates.⁴³

The cyclodehydration pathway **5** \rightarrow **9** couples the elimination of water to the formation of an azetidine ring system (Scheme 2). The dehydration reaction with azetidine ring closure occurs in a number of pharmaceuticals based on aminoalcohol substructures,^{44–46} including the tropane-derived paroxetine analogs,⁴⁷ which supports the proposal that a similar mechanism can be expected in the paroxetine metabolite **III**. The calculated energy barrier for **5** \rightarrow **9** is 64.7 kJ mol^{-1} higher than the corresponding barrier for cyclodehydration **5** \rightarrow **8**. This is in line with earlier studies showing that the energy barrier for azetidine ring formation in aminoalcohols⁴⁸ or aminohalides⁴⁹ can be quite substantial (up to 200 kJ mol^{-1}).

Dehydration of **1b** with five-membered ring formation

Cyclization reactions are also conceivable starting from radical cation **2** and then involve formal radical attack at the aromatic ring system to yield tricyclic radical cation **7**. This is a distonic radical in which the positive charge is distributed over the imine moiety ($q(\text{C2}) = 0.40 \text{ e}$), while the spin density is delocalized over the carbon centers C8 (0.41 au), C10 (0.44 au) in the phenyl ring. Radical addition reactions to aromatic ring systems are generally considered to be thermochemically unfavourable processes, but it should be added that intramolecular radical addition to a benzene ring system has recently been reported for fibrate pharmaceuticals in the context of environmental degradation processes.⁵⁰ The calculated energy barrier for the process **2** \rightarrow **7** is 87.7 kJ mol^{-1} ($k_r = 9.72 \text{ h}^{-1}$), which is within the barrier limits set by experimental measurements. The respective transition state structure **TS_{2,7}** (Fig. 1) is characterized by one imaginary frequency ($544i \text{ cm}^{-1}$), which corresponds to the ring closure process. In this structure the calculated distance between C7 and C9 carbon atoms is only 2.1 \AA . The spin density distribution indicates that the spin is considerably delocalized from the C7 carbon atom (0.63 au) to carbon centers C8 (0.28 au), C9 (0.18 au), and C10 (0.27 au) in the phenyl ring. The calculated energies of the ground states suggest that the reaction **2** \rightarrow **7** is slightly endergonic. However, the reaction can proceed if the following energy barrier for rearrangements of **7** is low and the final product is lower in energy than reactant **2**. In order to transform radical cation **7** into the closed-shell product **IV**, the rearomatization of the attacked ring systems and subsequent electron transfer steps are required.

Conclusions

In this work we have compared the reaction energetics for several dehydration processes which can occur in radical cations generated by photolysis of the paroxetine metabolite **III** (or **IIIa**). The barrier value of *ca.* 100 kJ mol^{-1} (at 298.15 K) has been determined earlier by experimental measurements in which paroxetine has been exposed to simulated sunlight and kinetic parameters ($k_r = 0.0529 \text{ h}^{-1}$) of photodegradation have been measured spectrophotometrically.⁹ It corresponds to the estimated half-life of 13.1 h , indicating that the paroxetine metabolite is not persistent to photolysis in water ($\text{pH} = 7$). However, the photoproduct is stable under photolytic conditions, and therefore a search for the mechanism of its formation is of environmental relevance. All reaction possibilities, for which the calculated barrier noticeably exceeds the limit set by the experiment, are deposited in the ESI.†

Only the *N*-centered radical cation **1b** and its distonic form **5** have been considered as important reactive intermediates. The former is the free radical formed directly from the paroxetine metabolite **III** (or **IIIa**), while the latter is the most stable distonic isomer. Both species **1b** and **5** are interconnected via the structure **TS_{1b,5}** which represents the transition state for the corresponding 1,4-hydrogen migration ($\Delta G^\ddagger = 49.5 \text{ kJ mol}^{-1}$;

$k_r = 0.4752 \text{ h}^{-1}$). Two different rearrangements in the radical cation **1b** can be distinguished (Scheme 2): the elimination of water resulting in imine **2** and enamine **4** formation (i) and the cyclization of the initially formed imine giving structure **7** (iv). As well, the radical cation **5** can undergo two dehydration reactions: the elimination of water resulting in the formation of alkene **6** (ii) and cyclodehydration in which azabicycloheptanes **8** and **9** are formed (iii).

The elimination of water from the starting radical **1b** has been calculated as the most important reaction channel ($\Delta G^\ddagger = 98.5 \text{ kJ mol}^{-1}$; $k_r = 0.1235 \text{ h}^{-1}$) leading to the formation of iminium radical cation **2**. The latter species can be easily transformed into enamine **4** (the most stable intermediate on the potential energy surface investigated) or converted to **7** by an intramolecular cyclization. The latter intermediate is an open-shell precursor for the parent structure **IV**, which has been proposed earlier as a possible photoproduct of the paroxetine degradation in water.⁹ In contrast, the parent enamine **VII**, derived from intermediate **4**, has not been considered as a conceivable product. We have shown here that, in both cases, the imine radical **2** is the key intermediate for the formation of the photoproducts **IV** and **VII**.

In addition, two cyclodehydration mechanisms (iii) have been considered: the concerted one in which the cyclopropane ring has been formed simultaneously with the elimination of water, and the stepwise mechanism in which formation of the four-membered azetidino moiety occurs after the elimination of water. The calculated barriers for both reactions are relatively high, with the former reaction $5 \rightarrow 8$ being the more favorable process.

The dehydration process (ii), which results in the formation of alkene radical **6**, has been found to exceed the targeted barrier limit of *ca.* 100 kJ mol^{-1} . Although the formation of the parent alkene products **VIII** and **IX** from paroxetine metabolites has been detected experimentally,^{12,38} these reactions most likely proceed without the intermediacy of free radicals.

The calculated barriers for all dehydration reactions starting from structure **5**, which occur prior to the formation of the closed-shell parents **VIII**, **IX**, **X** and **XI**, are relatively high. Therefore, these structures are unlikely candidates to explain the experimental results. However, they could be important in understanding the chemical fate of other environmentally relevant compounds which are structurally related to paroxetine (*i.e.* containing the phenyl-piperidine and/or aminoalcohol groups). It is known that the dehydration process is important for the metabolic and environmental fate of a series of pharmaceuticals and other biologically relevant compounds, which contain aminoalcohol moieties ($\text{R}_2\text{N}(\text{CH}_2)_n\text{OH}$, where $n = 2-4$). For example, haloperidol, the most widely used drug for the treatment of neuropsychiatric disorders, undergoes dehydration; it has been shown that dehydration is the first reaction step in the bioactivation¹⁴ and electrochemical oxidation of haloperidol.¹⁶ A similar dehydration mechanism has been postulated in the transformation of selective inhibitors of serine proteases¹⁵ and the central nervous system stimulant piperidol.¹⁷

In conclusion, quantum-chemistry models have been employed in a search for products of radical-mediated photo-degradation of paroxetine. Several structures, not considered earlier, have been located, and the reaction mechanisms underlying their formation have been described. We propose structures **IV**, **V**, **VI**, and **VII** (Scheme 1) as probable photo-products which fit to available experimental data.

Computational details

DFT calculations are employed for geometry optimizations and frequency calculations for open-shell systems at the unrestricted UB3LYP/6-31G(d) level.⁵¹ Thermal corrections to Gibbs energies have been calculated at the same level of theory using the rigid rotor/harmonic oscillator model. All energies are reported at 298.15 K. Improved energetics have been calculated using the double hybrid B2K-PLYP/6-311+G(3df,2p)⁵² and B2-PLYP/aug-def2-TZVPP methods,⁵³ which combine exact HF exchange with an MP2-like correlation to a DFT calculation (the corresponding energies are included in ESI[†]). It has been found that B2K-PLYP shows an excellent performance for calculating barrier heights for water-catalyzed proton-transfer reactions,⁵⁴ and radical reactions.^{55,56} The B2-PLYP method has recently been successfully benchmarked against the G3B3 composite model.¹⁰ Finally, we use the G3(MP2)-RAD composite model⁵⁷ as our reference procedure in order to evaluate the efficiency of DFT methods. Only the G3(MP2)-RAD energies are reported throughout the text (calculated energies are relative to separated reactants). The (U)CCSD(T)/6-31G(d) calculations for the G3(MP2)-RAD model have been performed with MOLPRO 2006.1,⁵⁸ while all other quantum mechanical calculations have been performed with Gaussian 09.⁵⁹

The calculated energy barriers (ΔG^\ddagger , in kJ mol^{-1}) are converted to reaction rate constants (k_r , in h^{-1}) throughout the text. However, these estimates are rather approximate. A difference in Gibbs energy of activation of 5.7 kJ mol^{-1} (at 298.15 K) results in a reaction rate difference of one order of magnitude. Therefore, some caution must be exercised in the interpretation of absolute values for the predicted reaction rate constants, whereas the relative numbers are more reliable. The corresponding half-life predictions are also sensitive to errors in the calculation of ΔG^\ddagger , which prevents an exact assessment of the persistence of metabolites.

Analytical vibrational analysis was performed to characterize each stationary point as a minimum (number of imaginary frequencies = 0) or a first-order saddle point (number of imaginary frequencies = 1). Intrinsic reaction coordinate (IRC) calculations were performed at the corresponding level of theory to identify the minima connected through the transition state. The initial geometries used were those of the corresponding transition state structures, and the paths were followed in both directions from that point. This method verified that a given transition structure indeed connected the presumed energy minimum structures.⁶⁰

Gibbs energies of solvation have been determined using the CPCM continuum solvation model at the UB3LYP/6-31G(d) level, with UAKS atomic radii and the electrostatic scaling factor (alpha value) set to 1.2 for all atoms. The solvent relative permittivity of $\epsilon = 78.4$ (water) was used. To correctly describe open-shell systems in water the inclusion of bulk and specific solvent effects is mandatory. We have found that the addition of one explicit water molecule substantially lowers the calculated energy barriers for all processes investigated. The number of explicit water molecules ($n = 0-3$) is varied in order to identify the most stable structure, *i.e.* to obtain the most negative Gibbs energy of solvation. We have found that one water molecule is “the ideal number of solvent molecules”⁶¹ for all structures involved in selected processes depicted in Fig. 1 (see details in ESI[†]). The addition of the second and the third water molecule is not favorable in Gibbs energy terms. Therefore, all structures and relative energies reported throughout the text include one extra water molecule. The most stable forms of water-complexed species are located by placing water molecules in a variety of locations to sample the different arrays of interaction networks available between the corresponding free radical and water. Initial configurations were created using a locally modified version of the stochastic search method.⁶²⁻⁶⁴

Different mechanisms for water-catalyzed reactions (denoted as A, B, or C in ESI[†]) have been considered,⁶⁵ but only the most favorable are presented in the text (for selected examples see Fig. 1).

Acknowledgements

The financial support by Alexander von Humboldt Foundation (a research group linkage project “Computational Life Sciences on Open Shell Intermediates”) is gratefully acknowledged. We thank the Computing Centre SRCE of the University of Zagreb for allocating computer time on the Isabella cluster where a part of the calculations was performed.

Notes and references

- S. X. Zhao, D. K. Dalvie, J. M. Kelly, J. R. Soglia, K. S. Frederick, E. B. Smith, R. S. Obach and A. S. Kalgutkar, *Chem. Res. Toxicol.*, 2007, **20**, 1649.
- M. Segura, J. Ortuno, M. Farre, R. Pacifici, S. Pichini, J. Joglar, J. Segura and R. de la Torre, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, 2003, **17**, 1455.
- P. Massaroti, N. M. Cassiano, L. F. Duarte, D. R. Campos, M. A. M. Marchioretto, G. Bernasconi, S. Calafatti, F. A. P. Barros, E. C. Meurer and J. Pedrazzoli, *J. Pharm. Pharm. Sci.*, 2005, **8**, 340.
- T. Vasskog, T. Anderssen, S. Pedersen-Bjegaard, R. Kallenborn and E. Jensen, *J. Chromatogr. A*, 2008, **1185**, 194.
- S. Chu and C. D. Metcalfe, *J. Chromatogr. A*, 2007, **1163**, 112.
- C. D. Metcalfe, S. Chu, C. Judt, H. Li, K. D. Oakes, M. R. Servos and D. M. Andrews, *Environ. Toxicol. Chem.*, 2010, **29**, 79.
- M. Gros, M. Petrović and D. Barcelo, *Anal. Chem.*, 2009, **81**, 898.
- V. L. Cunningham, D. J. Constable and R. E. Hannah, *Environ. Sci. Technol.*, 2004, **38**, 3351.
- J. W. Kwon and K. L. Armbrust, *Environ. Toxicol. Chem.*, 2004, **23**, 1394.
- D. Sakic, H. Zipse and V. Vrcek, *Org. Biomol. Chem.*, 2011, **9**, 4336.
- W. F. Smyth, J. C. Leslie, S. McClean, B. Hannigan, H. P. McKenna, B. Doherty, C. Joyce and E. O’Kane, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, 2006, **20**, 1637.
- H. Navratilova, Z. Kriz and M. Potacek, *Synth. Commun.*, 2004, **34**, 2101.
- W. M. A. Niessen, *Mass Spectrom. Rev.*, 2011, **30**, 626.
- J. Fang and J. W. Gorrod, *Toxicol. Lett.*, 1991, **59**, 117.
- J. Kotthaus, T. Steinmetzer, J. Kotthaus, D. Schade, A. Van De Locht and B. Clement, *Xenobiotica*, 2010, **40**, 93.
- T. J. Mali’n, L. Weidolf, N. Castagnoli Jr. and U. Jurva, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, 2010, **24**, 1231.
- J. Z. Long, X. Jin, A. Adibekian, W. Li and B. F. Cravatt, *J. Med. Chem.*, 2010, **53**, 1830.
- R. J. O’Reilly, A. Karton and L. Radom, *J. Phys. Chem. A*, 2011, **115**, 5496.
- D. I. Pattison, M. J. Davies and K.-D. Asmus, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 2002, 1461.
- D. I. Pattison, R. J. O’Reilly, O. Skaff, L. Radom, R. F. Anderson and M. J. Davies, *Chem. Res. Toxicol.*, 2011, **24**, 371.
- H. Zhang and C.-H. Huang, *Environ. Sci. Technol.*, 2005, **39**, 4474.
- C. L. Hawkins and M. J. Davies, *Chem. Res. Toxicol.*, 2002, **15**, 83.
- X. L. Armesto, M. L. Canle, M. V. Garcia and J. A. Santaballa, *Chem. Soc. Rev.*, 1998, **27**, 453.
- V. Vrcek and H. Zipse, *J. Org. Chem.*, 2009, **74**, 2947.
- H. K. Hall, *J. Am. Chem. Soc.*, 1957, **79**, 5441.
- S. Hammerum and C. B. Nielsen, *J. Phys. Chem. A*, 2005, **109**, 12046.
- I. Janovsky, W. Knolle, S. Naumov and F. Williams, *Chem.-Eur. J.*, 2004, **10**, 5524.
- J. W. Gauld and L. Radom, *J. Am. Chem. Soc.*, 1998, **119**, 9831.
- B. D. Wagner, G. Ruel and J. Luszyk, *J. Am. Chem. Soc.*, 1996, **118**, 13.
- D. Moran, R. Jacob, G. P. F. Wood, M. L. Coote, M. J. Davies, R. A. J. O’Hair, C. J. Easton and L. Radom, *Helv. Chim. Acta*, 2006, **89**, 2254.
- O. M. Musa, J. H. Horner, H. E. Shahin and M. Newcomb, *J. Am. Chem. Soc.*, 1996, **118**, 3862.
- E. Baciocchi, M. Bietti and O. Lanzalunga, *J. Phys. Org. Chem.*, 2006, **19**, 467.

- 33 S. F. Nelsen and J. T. Ippoliti, *J. Am. Chem. Soc.*, 1986, **108**, 4879.
- 34 R. D. Burton, M. D. Bartberger, Y. Zhang, J. R. Eyler and K. S. Schanze, *J. Am. Chem. Soc.*, 1996, **118**, 5655.
- 35 R. W. Fitch, G. D. Sturgeon, S. R. Patel, T. F. Spande, H. M. Garraffo, J. W. Daly and R. H. Blaauw, *J. Nat. Prod.*, 2009, **72**, 243.
- 36 P. Y. Sollenberger and R. B. Martin, *J. Am. Chem. Soc.*, 1970, **92**, 4261.
- 37 A referee has correctly noted that products with free amino and aldehyde groups could easily dehydrate under the analytical conditions to give the observed signal of m/z 192.
- 38 M. Engelstoft and J. B. Hansen, *Acta Chem. Scand.*, 1996, **50**, 164.
- 39 I. V. Efremov, B. N. Rogers, A. J. Duplantier, L. Zhang, Q. Zhang, N. S. Maklad, E. V. Evrard and M. A. Brodney, *Wo* 2008012623, 2008.
- 40 L. Schwink, S. Stengel, M. Gossel, T. Boehme, G. Hessler, P. Stahl and D. Gretzke, *Wo* 2004072025, 2004.
- 41 F. Micheli, L. Arista, B. Bertani, S. Braggio, A. M. Capelli, S. Cremonesi, R. Di-Fabio, G. Gelardi, G. Gentile, C. Marchioro, A. Pasquarello, S. Provera, G. Tedesco, L. Tarsi, S. Terreni, A. Worby and C. Heidbreder, *J. Med. Chem.*, 2010, **53**, 7129.
- 42 F. Micheli, P. Cavanni, D. Andreotti, R. Arban, R. Benedetti, B. Bertani, M. Bettati, L. Bettelini, G. Bonanomi, S. Braggio, R. Carletti, A. Checchia, M. Corsi, E. Fazzolari, S. Fontana, C. Marchioro, E. Merlo-Pich, M. Negri, B. Oliosi, E. Ratti, K. D. Read, M. Roscic, I. Sartori, S. Spada, G. Tedesco, L. Tarsi, S. Terreni, F. Visentini, A. Zocchi, L. Zonzini and R. Di Fabio, *J. Med. Chem.*, 2010, **53**, 4989.
- 43 P. Bissel, A. Khalil, J. M. Rimoldi, K. Igarashi, D. Edmondson, A. Millera and N. Castagnoli Jr., *Bioorg. Med. Chem.*, 2008, **16**, 3557.
- 44 V. H. Wysocki, D. J. Burinsky and R. G. Cooks, *J. Org. Chem.*, 1985, **50**, 1287.
- 45 F. Xu, B. Simmons, R. A. Reamer, E. Corley, J. Murry and D. Tschae, *J. Org. Chem.*, 2008, **73**, 312.
- 46 M. J. Galmier, B. Bouchon, J. C. Madelmont, F. Mercier, F. Pilotaz and C. Lartigue, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 2005, **38**, 790.
- 47 S. P. Runyon, J. P. Burgess, P. Abraham, K. I. Keverline-Frantz, J. Flippen-Anderson, J. Deschamps, A. H. Lewin, H. A. Navarro, J. W. Boja, M. J. Kuhar and F. I. Carroll, *Bioorg. Med. Chem.*, 2005, **13**, 2439.
- 48 G. Bouchoux, N. Choret, F. Berruyer-Penaud and R. Flammang, *Int. J. Mass Spectrom.*, 2002, **217**, 195.
- 49 S. Stanković, S. Catak, M. D'hooghe, H. Goossens, K. Abbaspour Tehrani, P. Bogaert, M. Waroquier, V. Van Speybroeck and N. De Kimpe, *J. Org. Chem.*, 2011, **76**, 2157.
- 50 B. Razavi, W. Song, W. J. Cooper, J. Greaves and J. Jeong, *J. Phys. Chem. A*, 2009, **113**, 1287.
- 51 J. Tirado-Rives and W. L. Jorgensen, *J. Chem. Theory Comput.*, 2008, **4**, 297.
- 52 A. Tarnopolsky, A. Karton, R. Sertchook, D. Vuzman and J. M. L. Martin, *J. Phys. Chem. A*, 2008, **112**, 3.
- 53 F. Neese, T. Schwabe and S. Grimme, *J. Chem. Phys.*, 2007, **126**, 124115.
- 54 See the benchmark study: A. Karton, R. J. O'Reilly and L. Radom, *J. Phys. Chem. A*, 2012, **116**, 4211.
- 55 B. Chan, R. J. O'Reilly, C. J. Easton and L. Radom, *J. Org. Chem.*, 2012, **77**, 9807.
- 56 B. Chan and L. Radom, *J. Phys. Chem. A*, 2012, **116**, 3645.
- 57 L. A. Curtiss, K. Raghavachari, P. C. Redfern, V. Rassolov and J. A. Pople, *J. Chem. Phys.*, 1998, **109**, 7764.
- 58 MOLPRO, version 2006.1, a package of *ab initio* programs written by H.-J. Werner, P. J. Knowles, G. Knizia, F. R. Manby, M. Schütz, P. Celani, T. Korona, R. Lindh, A. Mitrushenkov, G. Rauhut, K. R. Shamasundar, T. B. Adler, R. D. Amos, A. Bernhardsson, A. Berning, D. L. Cooper, M. J. O. Deegan, A. J. Dobbyn, F. Eckert, E. Goll, C. Hampel, A. Hesselmann, G. Hetzer, T. Hrenar, G. Jansen, C. Köppl, Y. Liu, A. W. Lloyd, R. A. Mata, A. J. May, S. J. McNicholas, W. Meyer, M. E. Mura, A. Nicklaß, D. P. O'Neill, P. Palmieri, K. Pflüger, R. Pitzer, M. Reiher, T. Shiozaki, H. Stoll, A. J. Stone, R. Tarroni, T. Thorsteinsson, M. Wang and A. Wolf, see <http://www.molpro.net>
- 59 M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, B. Mennucci, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Caricato, X. Li, H. P. Hratchian, A. F. Izmaylov, J. Bloino, G. Zheng, J. L. Sonnenberg, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, J. A. Montgomery Jr., J. E. Peralta, F. Ogliaro, M. Bearpark, J. J. Heyd, E. Brothers, K. N. Kudin, V. N. Staroverov, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. Rendell, J. C. Burant, S. S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, N. Rega, J. M. Millam, M. Klene, J. E. Knox, J. B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R. E. Stratmann, O. Yazyev, A. J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J. W. Ochterski, R. L. Martin, K. Morokuma, V. G. Zakrzewski, G. A. Voth, P. Salvador, J. J. Dannenberg, S. Dapprich, A. D. Daniels, Ö. Farkas, J. B. Foresman, J. V. Ortiz, J. Cioslowski and D. J. Fox, *GAUSSIAN 09 (Revision A.1)*, Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2009.
- 60 C. Gonzales and H. B. Schlegel, *J. Phys. Chem.*, 1990, **94**, 5523.
- 61 J. R. Pliego Jr., *Chem. Phys.*, 2004, **306**, 273.
- 62 M. Saunders, *J. Comput. Chem.*, 2004, **25**, 621.
- 63 D. Sakic and V. Vrcek, *J. Phys. Chem. A*, 2012, **116**, 1298.
- 64 V. Vrcek, O. Kronja and M. Saunders, *J. Chem. Theory Comput.*, 2007, **3**, 1223.
- 65 J. W. Gault, H. Audier, J. Fossey and L. Radom, *J. Am. Chem. Soc.*, 1996, **118**, 6299.

Base-catalyzed reactions of environmentally relevant *N*-chloro-piperidines. A quantum-chemical study†

Davor Šakić,^a Hendrik Zipse^b and Valerije Vrčec^{*a}

Received 14th January 2011, Accepted 15th March 2011

DOI: 10.1039/c1ob05077j

Electronic structure methods have been applied to calculate the gas and aqueous phase reaction energies for base-induced rearrangements of *N*-chloropiperidine, *N*-chloro-3-(hydroxymethyl)piperidine, and *N*-chloro-4-(4-fluorophenyl)-3-(hydroxymethyl)piperidine. These derivatives have been selected as representative models for studying the chemical fate of environmentally relevant chloramines. The performance of different computational methods (MP2, MP4, QCISD, B3LYP and B2PLYP) for calculating the thermochemistry of rearrangement reactions was assessed. The latter method produces energies similar to those obtained at G3B3(+) level, which themselves have been tested against experimental results. Experimental energy barriers and enthalpies for ring inversion, nitrogen inversion and dehydrochlorination reactions in *N*-chloropiperidine have been accurately reproduced when solvent effects have been included. It was also found that the combined use of continuum solvation models (e.g. CPCM) and explicit consideration of a single water molecule is sufficient to properly describe the water-assisted rearrangement of *N*-chlorinated compounds in basic media. In the case of *N*-chloro-4-(4-fluorophenyl)-3-(hydroxymethyl)piperidine, which represents the chlorinated metabolite of the antidepressant paroxetine, several different reactions (intramolecular addition, substitution, and elimination reactions) have been investigated. Transition state structures for these processes have been located together with minimum energy structures of conceivable products. Imine **4A** is predicted to be the most stable reaction product, closely followed by imine **4B** and oxazinane **8**, while formation of isoxazolidine **7** is much less favourable. Calculated reaction barriers in aqueous solution are quite similar for all four processes, the lowest barrier being predicted for the formation of imine **4A**.

Introduction

Reactions of chlorine and chlorinating agents with organic micro pollutants during water treatment procedures can result in different chloramine byproducts,¹ some of them with carcinogenic and/or mutagenic properties.² Of special importance are pharmaceuticals and personal care products (PPCP), which have been frequently detected in municipal wastewaters in recent years.^{3,4} Upon water chlorination procedures the amine-containing pharmaceuticals undergo rapid reaction with HOCl/Cl₂ to form chlorinated compounds, including chloramine derivatives. It has been reported that, for example, β-blocker metoprolol,⁵ antibacterial agent sulfamethoxazole,⁶ or fluoroquinolone antibiotics⁷ on treatment with chlorine easily form the corresponding chloramines in surface waters.

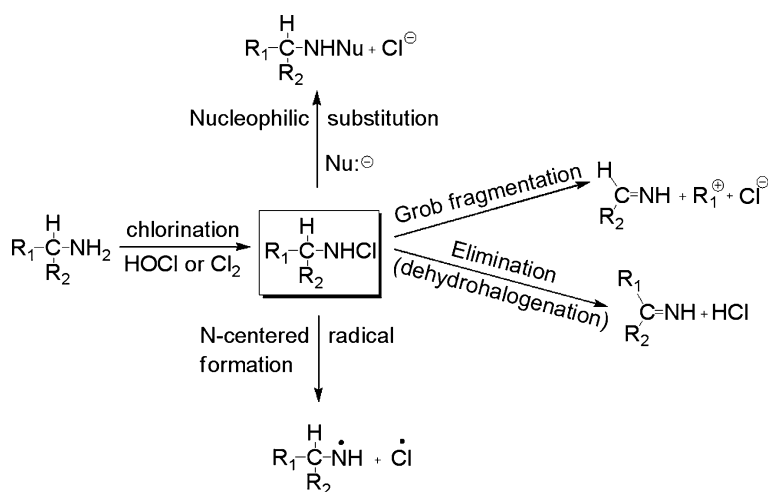
These *N*-chloramine derivatives are rather unstable and can undergo rearrangement reactions quite different from the degradation pathways of the parent (not chlorinated) amine-containing pharmaceutical compounds. All rearrangement processes of *N*-chloramines (see Scheme 1),⁸ such as Grob fragmentation,⁹ elimination (dehydrochlorination),¹⁰ nucleophilic substitution,¹¹ or N-centered radical formation,¹² may play an important role in the fate of pharmaceutical residues in an aqueous environment. Therefore, a discussion on the environmental risks of nitrogenous pharmaceuticals in chlorinated water must be directed towards the free amino compound as well as its *N*-chloramine derivatives. It has recently been shown that products of the aqueous chlorination of pharmaceuticals can range from “unusual”¹³ to “unexpected”,¹⁴ but could also be more toxic than the parent compounds.¹⁵

Recently, we have studied rearrangements of open-shell systems obtained after N–Cl homolysis in *N*-chloropiperidine (Scheme 1).¹⁶ In order to provide a more comprehensive picture of reaction possibilities, the corresponding reactions in the closed-shell piperidine systems are investigated in this work. Piperidine itself represents a suitable model for pharmaceuticals as many of these include this heterocyclic moiety in their structures. In addition to these model studies, important reaction pathways have

^aFaculty of Pharmacy and Biochemistry, University of Zagreb, A. Kovacica 1, HR-10000, Zagreb, Croatia. E-mail: valerije@pharma.hr; Fax: +385-1-4856201; Tel: +385-1-6394441

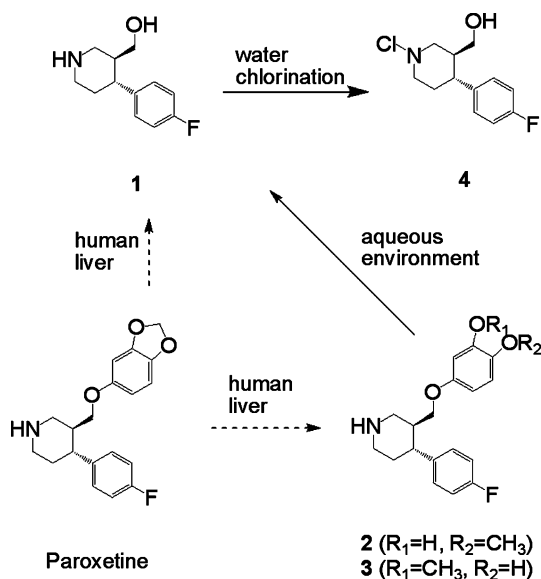
^bDepartment of Chemistry and Biochemistry, LMU München, Butenandstr. 13, D-81377, München, Germany. E-mail: zipse@cup.uni-muenchen.de

† Electronic supplementary information (ESI) available. See DOI: 10.1039/c1ob05077j



Scheme 1 Different rearrangement reactions in *N*-chloramines.

also been analyzed for the *N*-chlorinated derivative of paroxetine. This antidepressant is an important representative of an emerging group of pharmacologically active 4-aryl piperidines (Scheme 2). Recent studies have shown that paroxetine and its metabolites^{17–20} have the potential to accumulate in waste waters,^{3,21} but also in the tissue of fish²² as a result of discharges of this antidepressant into surface waters from municipal wastewater treatment plants. Therefore, interest in conducting the environmental risk assessment of paroxetine continues unabated.^{23–27}



Scheme 2 Paroxetine and its metabolites/degradation products.

To properly assess the risk of *N*-chlorinated derivatives of paroxetine, a better understanding of their environmental/chemical fate is imperative. Therefore, we set out to investigate computationally several possible reaction mechanisms that include *N*-chlorinated derivatives of paroxetine, which are relevant to environmental chemistry of this therapeutically important antidepressant.

Paroxetine undergoes extensive metabolism in the liver forming three main metabolites (Scheme 2): the product of benzodioxol elimination, (3*S*,4*R*)-4-(4-fluorophenyl)-3-

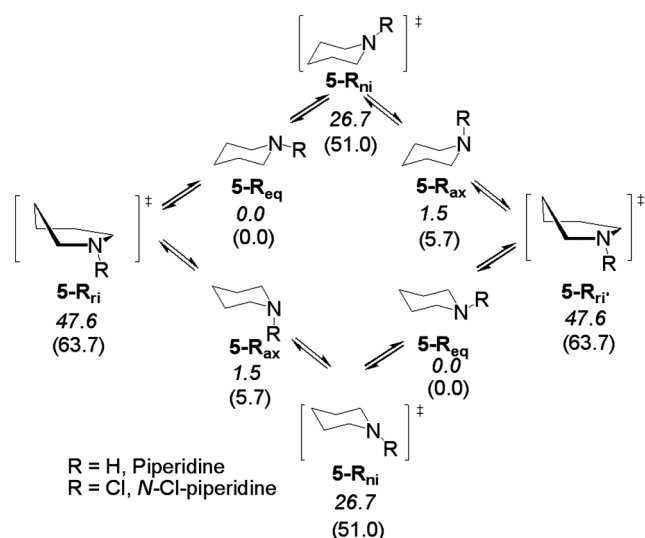
(hydroxymethyl)piperidine (**1**), and the two isomers (3*S*,4*R*)-4-(4-fluorophenyl)-3-[3-hydroxy-4-methoxyphenoxy)methyl]-piperidine (**2**) and (3*S*,4*R*)-4-(4-fluorophenyl)-3-[4-hydroxy-3-methoxyphenoxy)methyl]-piperidine (**3**).²⁸ In the aqueous environment both the parent compound and the two isomers **2** and **3** can undergo²⁹ cleavage of the ether bond generating the final product **1** (Scheme 2).³⁰ Therefore, the 4-aryl-piperidine derivative **1** represents the target intermediate which enters the environment where the subsequent degradation processes give rise to different sets of products.³¹

During chlorination of water, the amino compound **1** is converted rapidly and quantitatively to its *N*-chloro derivative **4** (Scheme 2). This *N*-chloramine derivative **4** can undergo various rearrangements (see below) which results in a number of different degradation products. Neither experimental nor computational studies have been published on rearrangement pathways of *N*-chloramine **4**, which could be relevant to the chemical fate of paroxetine in chlorinated water. Quantitative studies have, however, been performed on parent compound *N*-chloropiperidine (**5-Cl**) (Schemes 3 and 4).^{32–35}

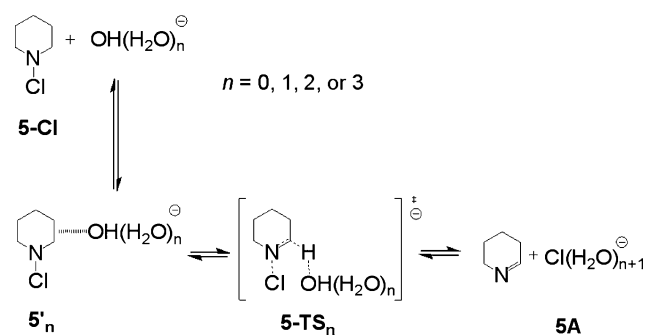
Results and discussion

1. *N*-Chloropiperidine

The performance of a variety of methods for calculating the thermochemistry of different processes in the parent piperidine (**5-H**) and *N*-chloropiperidine (**5-Cl**) was assessed. We use G3B3(+) as our reference procedure in order to evaluate the efficiency of other high-level methods (see ESI†). The accuracy of G3B3(+) has been tested by calculating energy barriers and reaction energies for conformational (ring inversion) and configurational (nitrogen inversion) processes in **5-H** and **5-Cl**. These two processes in piperidines, for which experimental values are known, connect their axial and equatorial (**5-R_{ax}** and **5-R_{eq}**; where R = H or Cl, resp.) forms (Scheme 3). In addition, the energy barrier for base-induced elimination in **5-Cl** has been calculated at G3B3(+) level and compared to the experimental determined reaction barrier. In both cases the combination of G3B3(+) energies with thermochemical corrections calculated at the B3LYP/6-31+G(d)



Scheme 3 Nitrogen and ring inversion processes in piperidine (R = H) and *N*-chloropiperidine (R = Cl). Relative energies (G3B3(+) + ΔG_{sol} ; in kJ mol^{-1}) for two chair conformations **5-R_{eq}** and **5-R_{ax}** and transition state structures **5-R_{ni}** and **5-R_{ri}** are in italics (piperidine, R = H) and in parentheses (N-Chloropiperidine, R = Cl).



Scheme 4 Reaction pathways calculated for dehydrochlorination in *N*-chloropiperidine.

level and with solvation free energies from CPCM/B3LYP/6-31+G(d) procedure yields results that are in good agreement

Table 1 Thermochemical parameters (relative energies in kJ mol^{-1}) calculated for different chemical processes in **5-R** (R = H or Cl) at various levels of theory^a

Chemical Process	Thermochemical parameter	Method ^b				Exp.
		MP4/6-31+G(d) + ΔG_{sol}^c	MP2(full)/G3large + ΔG_{sol}^c	B2PLYP/ aug-def2tzvpp + ΔG_{sol}^c	G3B3(+) + ΔG_{sol}^c	
5-Cl_{eq} → 5-Cl_{ax}	ΔG , at 298.15 K	+8.8	+7.0	+7.7	+5.7	+6.3
5-H_{eq} → 5-H_{ax}		+1.9	+2.1	+1.6	+1.5	+1.5
5-Cl_{eq} → 5-Cl_{ri} → 5-Cl_{ax}	ΔG^\ddagger (ring inversion) at 298.15 K	+70.3	+64.8	+58.4	+63.7	+55.4
5-H_{eq} → 5-H_{ri} → 5-H_{ax}		+50.4	+52.0	+45.2	+47.6	+43.5
5-Cl_{eq} → 5-Cl_{ni} → 5-Cl_{ax}	ΔG^\ddagger (N inversion) at 175.15 K	+57.2	+50.1	+47.1	+51.0	+49.0
5-H_{eq} → 5-H_{ni} → 5-H_{ax}		+28.5	+26.8	+24.6	+26.7	+25.5
5-Cl + OH (H ₂ O) _n → 5-TS_n → 5A + Cl (H ₂ O) _{n+1} ^c	ΔH^\ddagger (elimination) at 298.15 K	+78.3 ^d	+96.9 ^d	+87.4 ^d	+82.5 ^d	+90.9
		+78.4	+100.1	+88.5	+84.2	
		+81.8	+102.9	+87.2	+87.0	

^a For a number of different computational methods see ESI.† ^b All energies have been calculated for B3LYP/6-31+G(d) geometries. ^c Solvation energies calculated with CPCM/B3LYP/6-31+G(d) method. Single point energy calculation with continuum model have been performed in the model solvent $\epsilon = 8.93$ (dichloromethane) for the ring and nitrogen inversions, and in the model solvent $\epsilon = 78.4$ (water) for elimination reaction. ^d First row, $n = 1$; second row, $n = 2$; third row, $n = 3$. ^e Sum of energies for **5-Cl_{eq}** and **OH**(H₂O)_n set to zero in each case.

with experimental values (Table 1). Out of all methods tested (see ESI†), only B2PLYP/aug-def2-TZVPP//B3LYP/6-31+G(d) gives similar results as the G3B3(+) scheme (Table 1). This perturbatively corrected double hybrid functional is quite cost-effective and the calculated results are in line with experimental values. For comparison, the computationally much more demanding MP4/6-31+G(d)//B3LYP/6-31+G(d) method overestimates experimental barriers for conformational inversion processes in **5-H** and **5-Cl**, whereas the energy barrier for dehydrohalogenation in **5-Cl** is somewhat underestimated (Table 1). Therefore, B2PLYP has been used (see below) for energy calculations on paroxetine metabolite **4** and its rearrangement products, which are too large for G3B3(+) composite calculations. The G2 and G3 composite techniques have been used in conjunction with geometry optimizations at DFT level in theoretical studies of a number of elimination processes.³⁶ The 6-31+G(d) basis set used here is a frequent choice for the description of charged systems³⁷ and has been employed in recent studies of base-catalyzed reactions.³⁸

1.1. Conformational properties. In case of piperidine and *N*-chloropiperidine two possible chair conformations have been located: **5-R_{ax}** with the hydrogen (chlorine) atom in axial position and **5-R_{eq}** in which hydrogen (chlorine) is equatorial (Scheme 3). In agreement with experimental studies the equatorial conformer was calculated to be more stable in both cases (Table 1).^{32,33} The preference for equatorial orientation of chlorine in **5-Cl** is in analogy to the situation in chlorocyclohexane, where the equatorial conformer is preferred over the axial one by 2.2–2.7 kJ mol^{-1} .³⁹

In order to undergo fast dehydrochlorination *N*-chloropiperidine must adopt a conformation which allows antiperiplanar elimination of H and Cl (Scheme 3). Indeed, we have calculated (G3B3(+) + ΔG_{sol}) that the energy barrier for *anti*-elimination in **5-Cl_{ax}** is 37.1 kJ mol^{-1} lower than the barrier for *syn*-elimination in **5-Cl_{ax}** (see ESI†).⁴⁰

Therefore, prior to the elimination step the chlorine atom must be in axial position. This can be achieved by configurational or conformational change **5-Cl_{eq}** → **5-Cl_{ax}**, *i.e.* nitrogen inversion or ring inversion process, respectively (Scheme 3). In accord with experimental results we have calculated the nitrogen inversion to be

the more favorable process.^{32,34} The transition state structures **5-Cl_{ii}** and **5-Cl_i** for nitrogen and ring inversions, respectively, have been located and characterized by imaginary frequencies (see ESI†) which correspond to the respective conformational changes in *N*-chloropiperidine.

1.2. Base-induced elimination. Dilute solutions of *N*-chloropiperidine at alkaline pH are relatively stable. For example, 0.2 mM *N*-chloropiperidine in pH 10 borate buffer decreased only 3% over 24 h at 30 °C.⁴¹ Recently it was found that the energy barrier for dehydrochlorination of *N*-Cl-piperidine in alkaline aqueous media is $\Delta H^\ddagger(298.15\text{ K}) = 90.9\text{ kJ mol}^{-1}$.³⁵ We have successfully reproduced this experimental result by using high-level computational models. The energy barrier of 87.0 kJ mol^{-1} (G3B3(+) + ΔG_{solv}) is calculated when base-catalyzed reaction between *N*-Cl-piperidine and hydroxide ion was considered (Scheme 4). The hydroxide ion as a reactant was represented as a cluster with *n* explicit water molecules (where *n* = 0, 1, 2, or 3) in line with previous studies.^{42–44}

If no water is coordinated to hydroxide ion (*n* = 0), the transition state **5-TS₀** for E2 reaction could not be located on the corresponding gas-phase PES. This is contrary to the case described for the related *anti*-elimination reaction F[−] + cyclohexyl chloride in the gas phase where both reactive complex and transition state are stationary points.⁴⁵ In our case only the symmetrical (C_s point group) reactive complex **5'**₀ has been located as a stationary point, while all other starting geometries converged to the more stable elimination product complex (see ESI†). A relaxed PES scan was performed in order to obtain a constrained geometry of the first-order stationary point, which corresponds to the transition state for elimination. Following the coordinate along the hydroxyl oxygen and β-hydrogen interaction distance (*R*), the transition state **5-TS₀** was located at *R* = 1.58 Å. This transition state is less than 6 kJ mol^{−1} above the energy of reactant complex **5'**₀ and the calculated energy barrier for the elimination reaction is 62.3 kJ mol^{−1} (G3B3(+) + ΔG_{solv}). These results confirm that the calculated PES for elimination without explicit water deviates significantly from experimental values (Scheme 5).

The solvent effects on chemical processes in **5-Cl** are implicitly described by the CPCM/B3LYP/6-31+G(d) continuum method, whereas specific solvent interactions were examined by successive addition of explicit water molecules, followed by optimization of the resulting complex geometries. Water molecules were placed in a variety of locations to sample the different arrays of hydrogen-bonding networks available between *N*-chloropiperidine and hydroxide cluster OH[−](H₂O)_{*n*}.⁴⁶ Several water configurations for reactive complexes **5'**_{*n*} were located in each case where *n* = 1, 2, or 3. For example, in the case of the reactive complex with one explicit water (**5'**₁) four different minima were located (see more details in ESI†). The number of possible configurations increases with increasing number of water molecules (*n*) in hydroxide cluster OH[−](H₂O)_{*n*}, but only the most stable structures were considered in this study.

When solvated (by using CPCM/B3LYP/6-31+G(d) model) all reactive complexes **5'**_{*n*}, consisting of either one, two, or three (*n* = 1, 2, or 3) discrete water molecules interacting with incoming OH[−], become energetically very unfavorable relative to separated reactants (Scheme 5). For example, reactive complex **5'**₃ is 42.7 kJ mol^{−1} less stable than the separated reactants **5-**

Cl and OH[−](H₂O)₃. Therefore, these complexes are not relevant in the calculation of energy barriers for elimination reactions in *N*-chloropiperidine in water. The calculated reaction barriers for hydrochloride elimination indicate that at least one water molecule must be included explicitly for an optimal approximation of the first solvation shell, while the resulting cluster is solvated by a dielectric continuum (CPCM model; ε = 78.4) to take into account the bulk effect of water.⁴⁷ The corresponding transition state **5-TS₁** for E2 reaction (Fig. 1) is located at +87.4 kJ mol^{−1} (B2PLYP/def2-aug-TZVPP//B3LYP/6-31+G(d) + ΔG_{solv}) above the separate reactants **5-Cl** and OH[−](H₂O)₁, suggesting that this model is adequate to reproduce the experimental result ($\Delta H^\ddagger_{298} = +90.9\text{ kJ mol}^{-1}$).

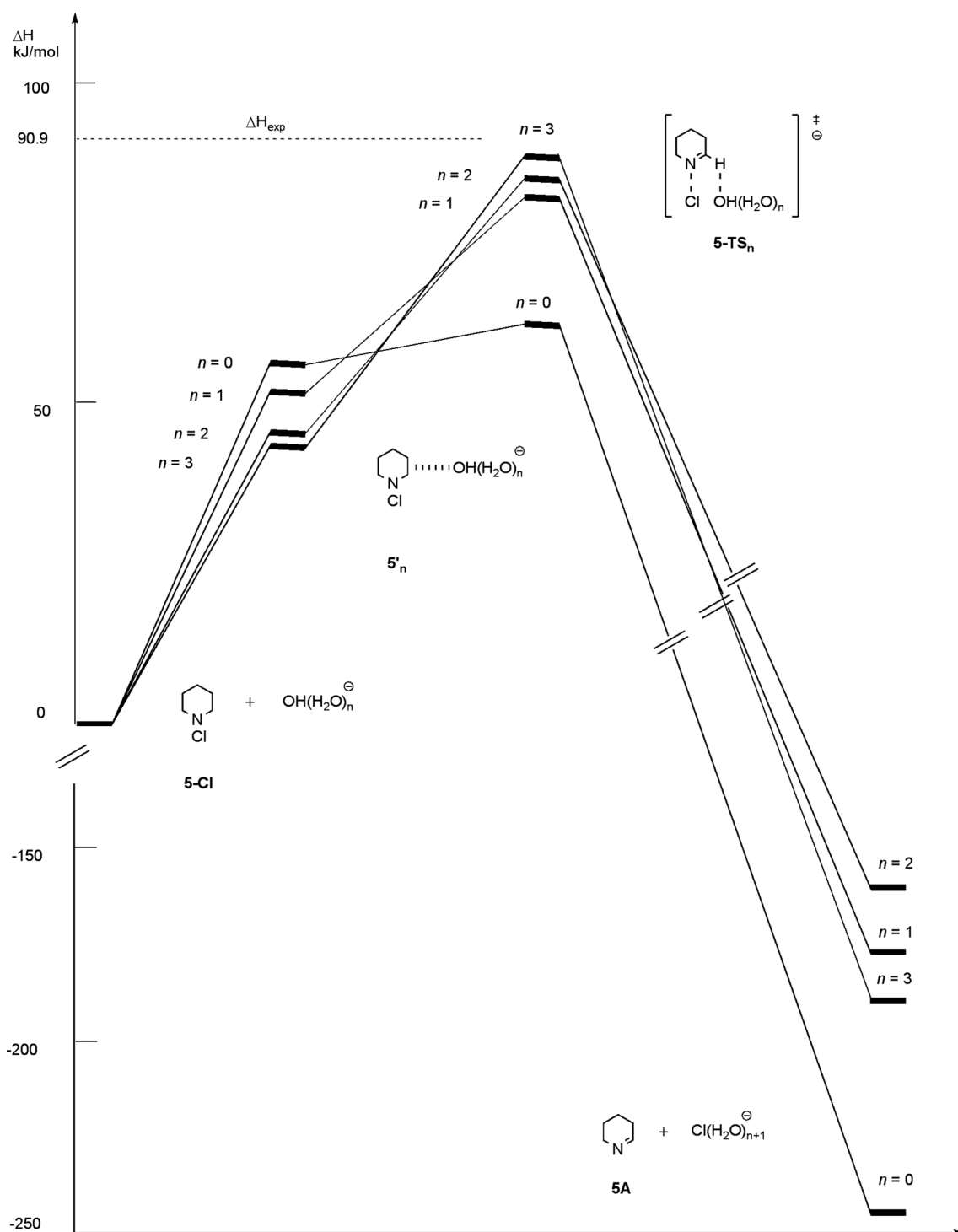
To summarize this part, prior to the elimination step *N*-chloropiperidine **5-Cl_{eq}** undergoes configurational change (most probably pyramidal nitrogen inversion) to conformer **5-Cl_{ax}**, which is more suitable for base-promoted E2 elimination. Transition states **5-TS_n** (where *n* = 0, 1, 2, or 3) for 1,2-elimination are reached by making/breaking four bonds between five atomic centers in a concerted fashion (Fig. 1). The final products of these exothermic reactions (ΔH_{298} is between −162.7 and −244.1 kJ mol^{−1}, depending on number *n*; see Scheme 5) are piperidine (**5A**) and chloride ion represented as water cluster Cl[−](H₂O)_{*n*+1}.⁴⁸ Both the configurational/conformational equilibrium **5-Cl_{eq}** <-> **5-Cl_{ax}** and the subsequent elimination reaction **5-Cl_{ax}** -> **5-TS_n** -> **5A** are correctly described by the hybrid cluster-continuum method employed in this study.

2. *N*-Chloro-3-(hydroxymethyl)piperidine

The agreement between experimental and computational results for *N*-chloropiperidine (for which both stereochemical and elimination processes were examined) suggests that the same computational approach can be applied to model the analogous dehydrochlorination reaction in chloramine **6** and in the targeted paroxetine metabolite **4** (see below).

Introduction of the hydroxymethyl group at C3-position of the piperidine ring (the same structural motif is incorporated in **4**, see below) significantly reduces the energy barrier for the dehydrochlorination process. At the G3B3(+) (+ ΔG_{solv}) level the calculated enthalpy of activation is 70.5 kJ mol^{−1} (Table 2), which is 12 kJ mol^{−1} less than the barrier (**5-Cl_{eq}** + OH[−](H₂O) -> **5-TS₁** -> **5A**) calculated for elimination of HCl from *N*-chloropiperidine (a closely similar energy barrier difference of 11.5 kJ mol^{−1} is obtained by using the B2PLYP/aug-def2-TZVPP + ΔG_{solv} model). Therefore, due to the presence of the −OH substituent in **6** a significant rate enhancement of the elimination process can be expected. This is in agreement with earlier experimental findings, where a dramatic acceleration of the decomposition process in *N*-chlorinated carbinolamines, in comparison to *N*-chlorinated amines lacking the hydroxyl moiety, has been observed.⁵⁰

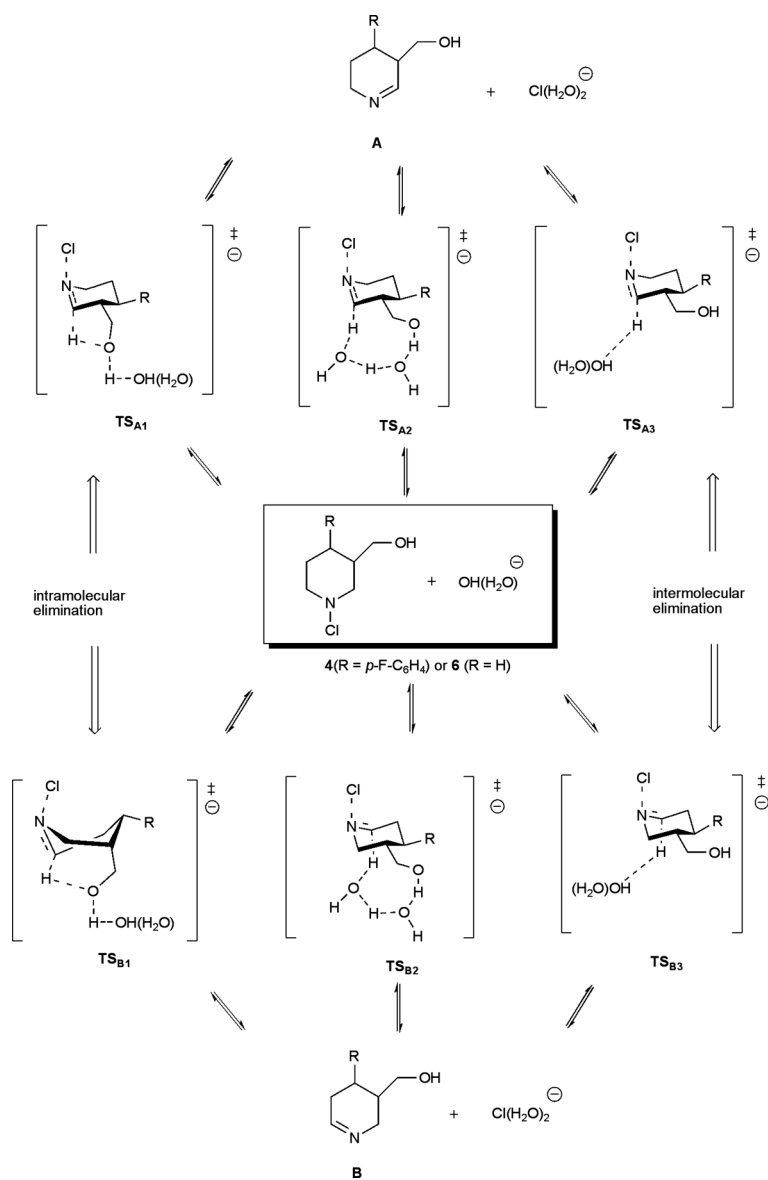
Due to the introduction of the hydroxymethyl group in the piperidine ring system the elimination reaction mechanism becomes more complex. Several different reaction pathways can, in principle, be operative as illustrated in Scheme 6. In order to find out whether an intermolecular (water-assisted Zaitsev-type elimination) or an intramolecular mechanism is favored in dehydrochlorination of **6**, we have attempted to locate transition structures for both reaction channels. Four corresponding



Scheme 5 Schematic potential energy profile ($G3B3(+) + \Delta G_{\text{soln}}$) for dehydrochlorination in N-chloropiperidine (**5-Cl**_{aq}).

transition states were successfully found: **6-TS_{A1}** and **6-TS_{B1}**, in which the β -hydrogen atom at either C2- or C6-position, respectively, is transferred directly to the oxygen atom of hydroxymethyl group (intramolecular mechanism); and **6-TS_{A3}** and **6-TS_{B3}**, in which an explicit water molecule is directly (analogously to the case of **5-Cl**; see Fig. 1) involved in the removal of the β -hydrogen atom at C2- or C6-position, respectively (intermolecular mechanism).

In structure **6-TS_{A1}** (and **6-TS_{B1}**) two water molecules are hydrogen bonded to the $-\text{CH}_2\text{OH}$ group (Fig. 2), but none is directly involved in the removal of the β -hydrogen atom, whereas in **6-TS_{B3}** (and **6-TS_{A3}**) no direct interaction between C3-hydroxymethyl group and $\text{OH}^-(\text{H}_2\text{O})$ cluster is present. Out of these four structures the transition state **6-TS_{A1}** for intramolecular elimination has been calculated as the most stable (Table 2). In



Scheme 6 Three different base-promoted elimination mechanisms examined in *N*-chlorinated compounds **4** and **6**.

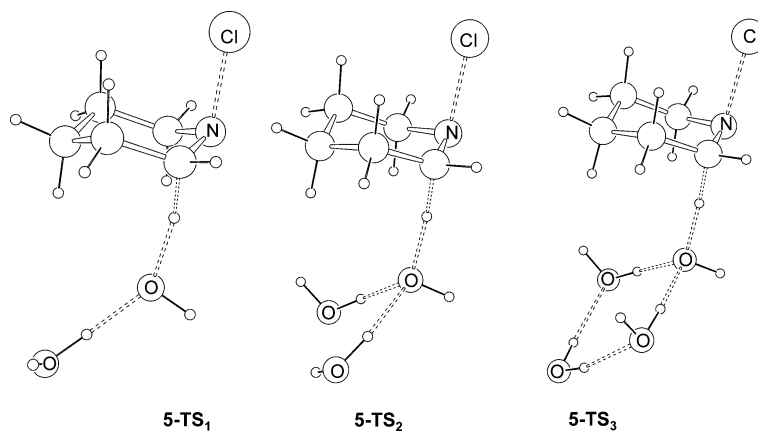


Fig. 1 B3LYP/6-31+G(d) optimized transition state structures for reaction (*anti*-elimination) between *N*-chloropiperidine and hydroxide cluster OH⁻(H₂O)_{*n*}, where *n* = 1, 2, or 3. Only the most stable structures for each case are shown.

Table 2 Relative energies ΔH (in kJ mol^{-1} ; at 298.15 K) for stationary points in the elimination processes of **6**, calculated at different levels of theory^a

Structure ^b	B3LYP/6-31+G(d) + ΔG_{solv}^c	B2PLYP/ aug-def2-TZVPP + ΔG_{solv}^c	G3B3(+) + ΔG_{solv}^c
6 _{eq}	0.0 ^d	0.0 ^d	0.0 ^d
6-TS _{A1}	+50.2	+75.5	+77.1
6-TS _{B1}	+65.1	+88.5	+83.0
6-TS _{A2}	+57.6	+78.7	+74.0
6-TS _{B2}	+51.1	+75.8	+70.5
6-TS _{A3}	+68.4	+86.8	+80.7
6-TS _{B3}	+70.8	+88.9	+82.5
6A	-243.8	-243.9	-197.8
6B	-250.9	-249.6	-203.4

^a All energies have been calculated for B3LYP/6-31+G(d) geometries. ^b Only lower energy isomers were included. ^c Solvation energies calculated with CPCM/B3LYP/6-31+G(d) method. Single point energy calculation with continuum model have been performed in the model solvent $\epsilon = 78.4$ (water).

^d Sum of energies for **6**_{eq} and OH⁻(H₂O) set to zero.

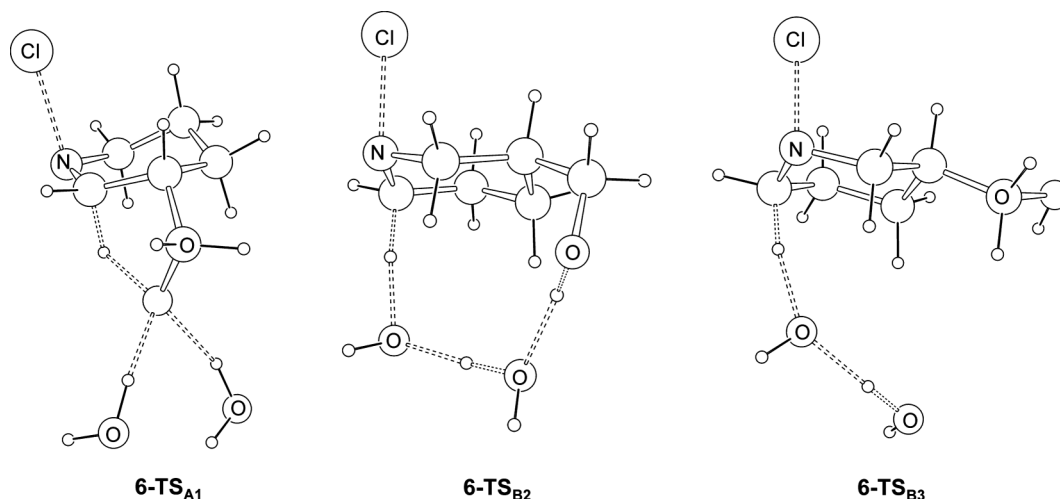


Fig. 2 B3LYP/6-31+G(d) optimized transition state structures for intramolecular (**6-TS**_{A1} and **6-TS**_{B2}) and intermolecular mechanism (**6-TS**_{B3}) for dehydrochlorination of *N*-chloro-3-hydroxymethyl-piperidine (**6**).

accordance with earlier experimental and computational studies, intramolecular dehydrohalogenation is thus the most favorable decomposition pathway in alkaline aqueous chemistry of β -carbinolamines.^{50,51}

In addition, we have located two more transition structures **6-TS**_{A2} and **6-TS**_{B2} for elimination in which explicit water molecules are inserted between the hydroxymethyl group and β -hydrogen atom (C2-H or C6-H, resp.) forming 9- or 11-membered ring structures, respectively (Fig. 2). Interestingly, these transition structures have been calculated (at the G3B3(+) level) to be more stable than **6-TS**_{A1}, suggesting that this “bridging” mechanism of elimination could also be operative.

In conclusion, at least three different modes of water assistance are possible in elimination processes in **6**: the one, in which water is directly involved in elimination of C6-hydrogen atom (intermolecular elimination); the mechanism, in which water molecules are hydrogen bonded to hydroxymethyl group (intramolecular elimination); and the “bridging” mechanism, in which water assists the elimination step by forming nine- or eleven-membered rings in the corresponding transition state structures **6-TS**_{A2} and **6-TS**_{B2}, respectively.

3. *N*-Chloro-4-(4-fluorophenyl)-3-(hydroxymethyl)piperidine

For the smaller systems studied here (**5-Cl** and **6**), we have shown that a combination of solvent continuum model (CPCM) and one explicit water molecule is sufficient to properly describe the water-assisted rearrangement of *N*-chlorinated compounds in basic aqueous media. Since the G3B3(+) approach is too expensive for paroxetine metabolite **4**, the final energy calculations for all structures are performed by using MP4(FC)/6-31+G(d)//B3LYP/6-31+G(d) and B2PLYP/ aug-def2-TZVPP//B3LYP/6-31+G(d) models. The latter method produces energies very similar to those obtained at G3B3(+) level, which themselves have been tested against experimental results (see Table 1).

Several base-promoted processes have been observed in the aqueous decompositions of *N*-chlorinated alcoholamines including pharmaceuticals.^{13,49} The two main reaction paths were found to be intramolecular dehydrohalogenation and Grob fragmentation.^{50–52} As the *N*-chloramine **4** cannot undergo Grob-like fragmentation, the intramolecular dehydrochlorination is the most feasible rearrangement mechanism in an alkaline aqueous environment (see Scheme 5). It has been shown earlier that bimolecular eliminations, in which OH⁻ assists in base-promoted

eliminations, are much slower processes in comparison to intramolecular dehydrohalogenations, in which a free hydroxyl group catalyzes the reaction.

The fact that the hydroxyl group of (N-Cl)-alcoholamine **4** is relatively acidic allows the possibility of an intramolecular elimination, *i.e.* an abstraction of a β -hydrogen atom would take place following a pre-equilibrium deprotonation of the hydroxyl group of the alcoholamine.

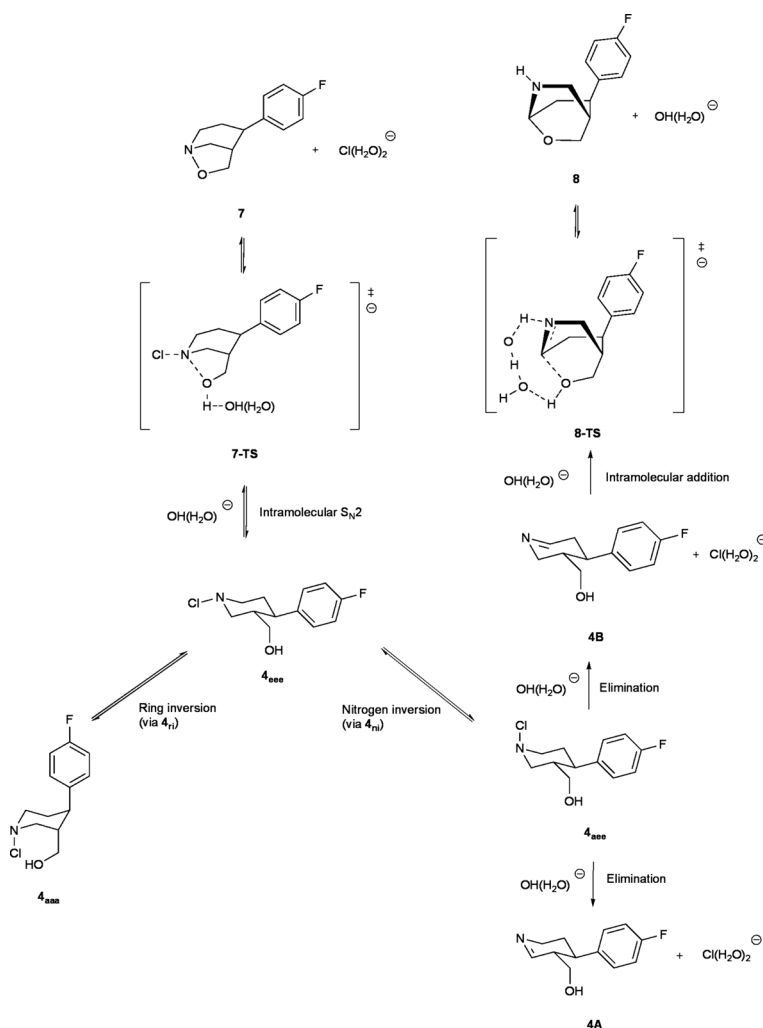
Again, a hybrid cluster-continuum model suitable to describe intramolecular dehydrochlorination in **4** has been used to perform a detailed analysis of all possible reaction pathways (Schemes 6 and 7).

A similar competition between ring and nitrogen inversion in *N*-chlorinated piperidine systems has recently been described in the course of azasugar synthesis. It has been shown that regioselective dehydrochlorination of *N*-chloropiperidine azasugars is controlled by the switchable configuration at the chloramine nitrogen atom.⁵³ The importance of detailed mechanistic and stereochemical insights in dehydrochlorination reactions has also been shown in the case of *N*-chlorinated macrolide antibiotics.^{54,55} It has been found that the relative rate of dehydrochlorination

reaction may well depend on the conformational properties of 6-membered ring systems, in which both hydroxyl and chlorinated amino groups are located.

Elimination pathways in **4** can be described using the same mechanistic scheme already used for chloramine **6** (Scheme 6). Three different mechanisms of dehydrochlorination were considered: intermolecular, in which the hydroxide/water complex is directly involved in removal of β -hydrogen atom; intramolecular, in which deprotonation is assisted directly by the hydroxymethyl group at C-3; and the bridged mechanism, in which water molecules are inserted in between hydroxymethyl group and β -hydrogen atom (either C2-H or C-3 H atom). For each mechanism the corresponding transition state structures could successfully be located (Fig. 3).

It is found that dehydrochlorination in paroxetine metabolite **4** is 15.3 kJ mol⁻¹ more favorable than the analogous process in parent *N*-chloropiperidine (**5-Cl**), but 8 kJ mol⁻¹ less favorable than the elimination in **6** (at B2PLYP level). Similar to **6**, intramolecular processes, in which the C3-hydroxymethyl group is involved in elimination of β -hydrogen atom, are more favorable than intermolecular dehydrochlorination. The most important



Scheme 7 Conformational (ring inversion), configurational (nitrogen inversion), two elimination and two cyclization processes (intramolecular addition and $\text{S}_{\text{N}}2$ reactions) considered for paroxetine metabolite **4**.

Table 3 Relative energies ΔH (in kJ mol^{-1} ; at 298.15 K) for stationary points in rearrangement processes of **4**, calculated at different levels of theory^a

Structure ^b	B3LYP/6-31+G(d) + ΔG_{solv}^c	MP4/6-31+G(d) + ΔG_{solv}^c	B2PLYP/aug-def2-TZVPP + ΔG_{solv}^c
4 _{ecc}	0 ^d	0 ^d	0 ^d
4 _{ace}	+12.0	+10.5	+11.0
4 _{aaa}	+32.1	+34.4	+30.4
4 _{ni}	+54.7	+65.5	+58.1
4 _{ri}	+53.2	+57.0	+56.4
4-TS _{A1}	+53.6	+62.0	+78.9
4-TS _{B1}	+86.0	+92.3	+109.0
4-TS _{A2}	+55.2	+62.8	+79.2
4-TS _{B2}	+56.2	+58.0	+80.6
4-TS _{A3}	+79.6	+77.1	+99.0
4-TS _{B3}	+79.4	+79.0	+99.7
4A	-245.7	-223.7	-234.7
4B	-251.2	-231.1	-239.9
7-TS	+72.9	+67.2	+94.5
7	-108.7	-88.0	-94.2
8-TS	+99.0 ^e	+69.5 ^e	+93.1 ^e
8	-241.8	-227.9	-228.0

^a All energies have been calculated for B3LYP/6-31+G(d) geometries. ^b Only lower energy isomers were included. ^c Solvation energies calculated with CPCM/B3LYP/6-31+G(d) method. Single point energy calculation with continuum model have been performed in the model solvent $\epsilon = 78.4$ (water). ^d Sum of energies for **4**_{ecc} and OH⁻ (H₂O) set to zero. ^e Relative to sum of energies for reactants **4B** and OH⁻ (H₂O).

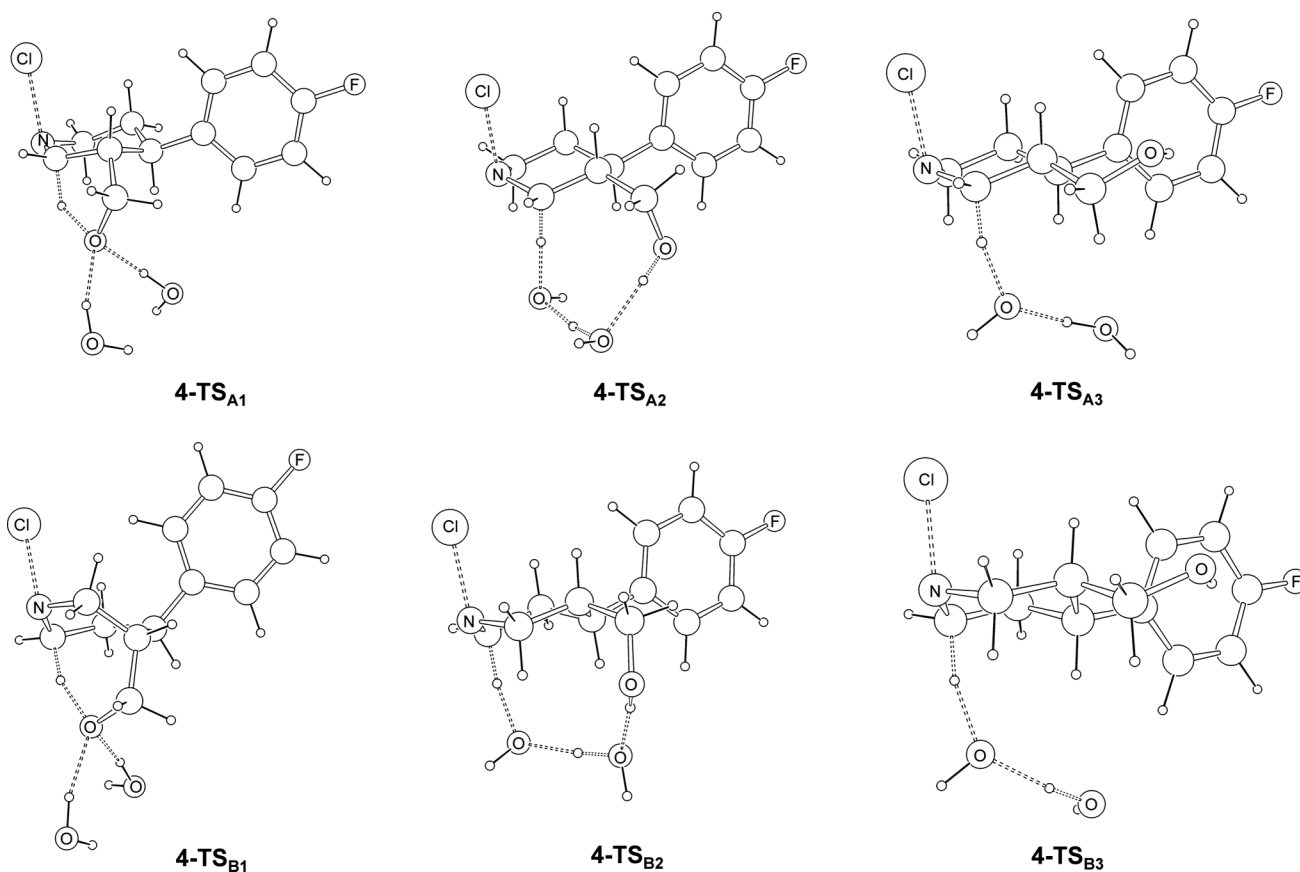


Fig. 3 B3LYP/6-31+G(d) optimized transition state structures for intramolecular (**4-TS**_{A1} and **4-TS**_{B1}), “bridging” (**4-TS**_{A2} and **4-TS**_{B2}), and intermolecular mechanism (**4-TS**_{A3} and **4-TS**_{B3}), for dehydrochlorination of **4**.

reaction channel for intramolecular *anti*-elimination **4**_{ace} → **4TS**_{A1} → **4A** was calculated to be 20 kJ mol^{-1} kinetically more favorable than intermolecular processes **4**_{ace} → **4TS**_{A3} → **4A** or **4**_{ace} → **4TS**_{B3} → **4B**. Formation of imines **4A** and **4B** is exothermic, with the latter imine being slightly more stable (Table 3).

It is well-known that imines undergo fast reaction with water, resulting in a number of different hydrolysis products.⁸ Therefore, it is expected that both imines **4A** and **4B** undergo hydrolysis to give the expected products with free amino and aldehyde functionality. It is also known that imines can undergo trimerization process

resulting in cyclic products,⁵⁶ and in the protic solvent the equilibrium between trimers and monomers is promoted.^{57,58}

In addition, two rearrangement pathways were considered (Scheme 7): isoxazolidine **7** formation directly from **4_{eee}**, and oxazinane **8** formation from **4_{ace}** (via imine **4B**). The first reaction is an intramolecular S_N2 reaction, in which cyclized product **7** is formed. The second reaction starts with an intramolecular attack of the hydroxyl group on imine **4B** resulting in oxazinane product **8** (similar in energy of imines **4A** and **4B**, see Table 3). The cyclization **4B** → **8** is accompanied by proton transfer from the hydroxyl group to the nitrogen atom. At the B2PLYP level the formation of oxazinane **8** is endothermic by 12 kJ mol⁻¹ (Table 3). It has recently been shown that this type of oxazinane product is also relevant in cytochrome P450-catalyzed transformations of imine metabolites of some pharmaceuticals.⁵⁹

Our preliminary results on base-catalyzed rearrangements of radicals derived from paroxetine metabolite **4** suggest that some reactions of open-shell systems are less likely, at least under basic conditions.⁶⁰ For example, the calculated energy barriers for hydrogen migrations, analogous to those we have described earlier,¹⁶ are ca. 20 kJ mol⁻¹ higher than the barriers for elimination processes studied here. It is in agreement with findings that neutral piperidine radical, which exists in basic medium, is kinetically more stable than its protonated form (becomes dominant at lower pH). Therefore, the protonation of neutral aminyl radicals can strongly affect its reactivity.⁶¹ In order to explore the reactivity of open-shell systems in acidic media, the rearrangements of paroxetine-derived radical cations should be considered as well.

In conclusion, four different degradation products of paroxetine metabolite **4** are predicted by the current theoretical studies: imines **4A** and **4B**, and two cyclized products isoxazolidine **7** and oxazinane **8**. It is likely that formation of these products can be expected in aqueous environment as well. We are not aware that these products have been considered in earlier environmental risk assessments of paroxetine. The fruitful interplay between theory and experiment supports the idea that reaction mechanisms, which are important for the chemical fate of environmentally relevant chloramines such as **4**, could be successfully modeled by computational techniques. We believe that computational results on possible reaction pathways in *N*-chlorinated metabolites **4** and **6** could be relevant for studies of the chemical/environmental fate of the vast array of nitrogen-containing pharmaceuticals, which have been frequently detected in municipal wastewaters as potent toxicants.

Computational details

All geometries have been optimized at B3LYP/6-31+G(d) level⁶² of theory with Gaussian 03, Revision D.01.⁶³ Thermochemical corrections to enthalpies at 298.15 K have been calculated at the same level of theory using the rigid rotor/harmonic oscillator model. Improved energetics have been calculated using a modified G3B3 scheme, termed here as G3B3(+), where we used geometry optimization at the B3LYP/6-31+G(d) level instead of the standard protocol at the B3LYP/6-31g(d). The general expression of the total G3B3 energy has not been changed from its original form.^{64,65} Single point energies at the B2PLYP/aug-def2-TZVPP level⁶⁶ have been calculated using the program

package ORCA.⁶⁷ Solvation free energies have been determined at CPCM/B3LYP/6-31+G(d) level.^{68,69}

Acknowledgements

Financial support for this project by the DFG is gratefully acknowledged. V.V. thanks the AvH Foundation for generous support and the Computing Centre SRCE of the University of Zagreb for allocating computer time on the Isabella cluster where a part of the calculations were performed.

References

- 1 M. Deborde and U. von Gunten, *Water Res.*, 2008, **42**, 13.
- 2 (a) D. Liviac, E. D. Wagner, W. A. Mitch, M. J. Altonji and M. J. Plewa, *Environ. Sci. Technol.*, 2010, **44**, 3527; (b) E. M. Fiss, K. L. Rule and P. J. Vikesland, *Environ. Sci. Technol.*, 2007, **41**, 2387; (c) S. H. Joo and W. A. Mitch, *Environ. Sci. Technol.*, 2007, **41**, 1288.
- 3 (a) S. K. Khetan and T. Collins, *Chem. Rev.*, 2007, **107**, 2319; (b) S. D. Richardson, *Anal. Chem.*, 2009, **82**, 4742.
- 4 S. T. Glassmeyer and J. A. Shoemaker, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 2005, **74**, 24.
- 5 M. Bedner and W. A. MacCrehan, *Chemosphere*, 2006, **65**, 2130.
- 6 M. C. Dodd and C.-H. Huang, *Environ. Sci. Technol.*, 2004, **38**, 5607.
- 7 M. C. Dodd, A. D. Shah, U. von Gunten and C.-H. Huang, *Environ. Sci. Technol.*, 2005, **39**, 7065.
- 8 X. L. Armesto, M. L. Canle, M. V. Garcia and J. A. Santaballa, *Chem. Soc. Rev.*, 1998, **27**, 453.
- 9 V. C. Hand, M. P. Synder and D. W. Margerum, *J. Am. Chem. Soc.*, 1983, **105**, 4022.
- 10 Q. Meng and A. Thibblin, *J. Am. Chem. Soc.*, 1997, **119**, 1224.
- 11 P. Calvo, J. Crujeiras, A. Rios and M. A. Rios, *J. Org. Chem.*, 2007, **72**, 3171.
- 12 M. J. Davies and R. T. Dean, *Radical-Mediated Protein Oxidation; from chemistry to medicine*, Oxford University Press, Oxford, 1997, pp 1-443.
- 13 M. DellaGreca, M. R. Iesce, P. Pistillo, L. Previtera and F. Temussi, *Chemosphere*, 2009, **74**, 730.
- 14 J. M. Buth, W. A. Arnold and K. McNeill, *Environ. Sci. Technol.*, 2007, **41**, 6228.
- 15 M. Bedner and W. A. MacCrehan, *Environ. Sci. Technol.*, 2006, **40**, 516.
- 16 V. Vrcek and H. Zipse, *J. Org. Chem.*, 2009, **74**, 2947.
- 17 J.-K. Kwon and K. L. Armbrust, *Environ. Toxicol. Chem.*, 2004, **23**, 1394.
- 18 S. X. Zhao, D. K. Dalvie, J. M. Kelly, J. R. Soglia, K. S. Frederick, E. B. Smith, R. S. Obach and A. S. Kalgutkar, *Chem. Res. Toxicol.*, 2007, **20**, 1649.
- 19 M. Segura, J. Ortuno, M. Farre, R. Pacifici, S. Pichini, J. Joglar, J. Segura and R. de la Torre, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, 2003, **17**, 1455.
- 20 P. Massaroti, N. M. Cassiano, L. F. Duarte, D. R. Campos, M. A. M. Marchioretto, G. Bernasconi, S. Calafatti, S. F. A. P. Barros, E. C. Meurer and J. Pedrazzoli, *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.*, 2005, **8**, 340.
- 21 T. Vasskog, T. Anderssen, S. Pedersen-Bjegaard, R. Kallenborn and E. Jensen, *J. Chromatogr., A*, 2008, **1185**, 194.
- 22 S. Chu and C. D. Metcalfe, *J. Chromatogr., A*, 2008, **1163**, 112.
- 23 J.-K. Kwon and K. L. Armbrust, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 2008, **81**, 128.
- 24 N. Kreke and D. R. Dietrich, *Crit. Rev. Toxicol.*, 2008, **38**, 215.
- 25 M. M. Schultz, E. T. Furlong, D. W. Kolpin, S. L. Werner, H. L. Schoenfuss, L. B. Barber, V. S. Blazer, D. O. Norris and A. M. Vajda, *Environ. Sci. Technol.*, 2010, **44**, 1918.
- 26 V. L. Cunningham, D. J. C. Constable and R. E. Hannah, *Environ. Sci. Technol.*, 2004, **38**, 3351.
- 27 A. Lajeunesse, C. Gagnon and S. Sauve, *Anal. Chem.*, 2008, **80**, 5325.
- 28 (a) C. Hiemke and S. Härter, *Pharmacol. Ther.*, 2000, **85**, 11; (b) R. Mandrioli, L. Mercolini, A. Ferranti, S. Furlanetto, G. Boncompagni and M. A. Raggi, *Anal. Chim. Acta*, 2007, **591**, 141; (c) M. Segura, L. Roura, R. de la Torre and J. Joglar, *Bioorg. Chem.*, 2003, **31**, 248.
- 29 Either in their free forms or in conjugated forms (bounded to glucuronic acid and/or sulfate).

- 30 For degradation of paroxetine to **1** under acidic condition, see: N. Munigela, J. M. Babu, A. Yerramilli, N. K. Kolla, V. Krishnamurthy and V. V. Mathad, *Sci. Pharm.*, 2008, **76**, 653.
- 31 It is known that the compound **1** is a degradation impurity of paroxetine, see: M. Nirmala, B. R. Sreekanth, P. Vishweshwar, J. M. Babu and Y. Anjaneyulu, *Acta Crystallogr., Sect. E: Struct. Rep. Online*, 2008, **E64**, o800.
- 32 *N*-chloropiperidine with equatorial chlorine is 6.3 kJ mol⁻¹ more stable than the conformer with chlorine in axial position. F. A. L. Anet and I. Yavari, *Tetrahedron Lett.*, 1977, **37**, 3207.
- 33 Piperidine with equatorial hydrogen is for 1.5 kJ mol⁻¹ more stable than the conformer with hydrogen in axial position. F. A. L. Anet and I. Yavari, *J. Am. Chem. Soc.*, 1977, **99**, 2794.
- 34 J. B. Lambert, W. L. Oliver and B. S. Packard, *J. Am. Chem. Soc.*, 1971, **93**, 933.
- 35 C. Darwich, M. Elkhatib, G. Steinhäuser and H. Delalu, *Helv. Chim. Acta*, 2009, **92**, 98.
- 36 (a) M. M. Meyer and S. R. Kass, *J. Org. Chem.*, 2010, **75**, 4274; (b) A. P. Bento, M. Sola and F. M. Bickelhaupt, *J. Chem. Theory Comput.*, 2008, **4**, 929.
- 37 T. Clark, J. Chandrasekhar, G. W. Spitznagel and P. v. R. Schleyer, *J. Comput. Chem.*, 1983, **4**, 294.
- 38 (a) X. G. Wei, X. M. Sun, X. P. Wu, Y. Ren, N. B. Wong and W. K. Li, *J. Org. Chem.*, 2010, **75**, 4212; (b) Y. Ren and H. Yamataka, *J. Comput. Chem.*, 2009, **30**, 358; (c) S. Gronert, A. E. Fagin, K. Okamoto, S. Mogali and L. M. Pratt, *J. Am. Chem. Soc.*, 2004, **126**, 12977.
- 39 (a) E. L. Eliel and S. H. Wilen, *Stereochemistry of Organic Compounds*, J. Wiley & Sons, New York, 1993; (b) J. R. Durig, A. M. El Defrawy, R. M. Ward, G. A. Guirgis and T. K. Gounevy, *Struct. Chem.*, 2008, **19**, 579.
- 40 As well, the calculated barrier for *anti*-elimination in **5-Clax** is 40 kJ mol⁻¹ lower than the barrier for *syn*-elimination in **5-Cl_{eq}**.
- 41 J. S. Jensen and G. R. Helz, *Water Res.*, 1998, **32**, 2615.
- 42 N. Turki, A. Milet, O. Ouamerli, R. Moszynski and E. Kochanski, *THEOCHEM*, 2002, **577**, 239.
- 43 E. E. Dahlke, M. A. Orthmeyer and D. G. Truhlar, *J. Phys. Chem. B*, 2008, **112**, 2372.
- 44 J. R. Pliego Jr., *Chem. Phys.*, 2004, **306**, 273.
- 45 S. Gronert, *J. Org. Chem.*, 1994, **59**, 7046.
- 46 Initial configurations were created using a locally modified version of the stochastic search method, see: (a) M. Saunders, *J. Comput. Chem.*, 2004, **25**, 621; (b) V. Vrcek, O. Kronja and M. Saunders, *J. Chem. Theory Comput.*, 2007, **3**, 1223; (c) M. A. Addicoat and G. F. Metha, *J. Comput. Chem.*, 2009, **30**, 57.
- 47 It has recently been shown that for anions concentrating charge on oxygen atom one single explicit water molecule is required and adequate to account for strong hydrogen bonding interactions between the anion and the solvent. C. P. Kelly, C. J. Cramer and D. G. Truhlar, *J. Phys. Chem. A*, 2006, **110**, 2493.
- 48 The most stable chloride ion-water cluster structure (Cl⁻(H₂O)₃) is pyramidal in shape. See: A. A. Mohamed and F. Jensen, *J. Phys. Chem. A*, 2001, **105**, 3259.
- 49 K. E. Pinkston and D. L. Sedlak, *Environ. Sci. Technol.*, 2004, **38**, 4019.
- 50 J. Andres, X. L. Armesto, M. L. Canle, M. V. Garcia, D. R. Ramos and J. A. Santaballa, *Org. Biomol. Chem.*, 2003, **1**, 4323.
- 51 D. R. Ramos, R. Castillo, M. L. Canle, M. V. Garcia, J. Andres and J. A. Santaballa, *Org. Biomol. Chem.*, 2009, **7**, 1807.
- 52 X. L. Armesto, M. L. Canle, P. Carretero, M. V. Garcia and J. A. Santaballa, *Tetrahedron*, 1997, **53**, 2565.
- 53 M. A. T. Maughan, I. G. Davies, T. D. W. Claridge, S. Courtney, P. Hay and B. G. Davis, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2003, **42**, 3788.
- 54 M. M. Huber, S. Korhonen, T. A. Ternes and U. von Gunten, *Water Res.*, 2005, **39**, 3607.
- 55 E. Chamberlain and C. Adams, *Water Res.*, 2006, **40**, 2517.
- 56 W. H. Dennis Jr., L. A. Hull and D. H. Rosenblatt, *J. Org. Chem.*, 1967, **32**, 3783.
- 57 R. W. Fitch, G. D. Sturgeon, S. R. Patel, T. F. Spande, H. M. Garraffo, J. W. Daly and R. H. Blaauw, *J. Nat. Prod.*, 2009, **72**, 243.
- 58 A referee has correctly noted that these cyclic trimers may have an additional impact on the environmental risk assessment of the compounds studied here.
- 59 A. L. Uthagrove and W. L. Nelson, *Drug Metab. Dispos.*, 2001, **20**, 1114.
- 60 D. Sakic, V. Vrcek, and H. Zipse, unpublished results.
- 61 D. Moran, R. Jacob, G. P. F. Wood, M. L. Coote, M. J. Davies, R. A. J. O'Hair, C. J. Easton and L. Radom, *Helv. Chim. Acta*, 2006, **89**, 2254.
- 62 A. D. Becke, *J. Chem. Phys.*, 1993, **98**, 5648.
- 63 M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, J. A. Montgomery, Jr., T. Vreven, K. N. Kudin, J. C. Burant, J. M. Millam, S. S. Iyengar, J. Tomasi, V. Barone, B. Mennucci, M. Cossi, G. Scalmani, N. Rega, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, M. Klene, X. Li, J. E. Knox, H. P. Hratchian, J. B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R. E. Stratmann, O. Yazyev, A. J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J. W. Ochterski, P. Y. Ayala, K. Morokuma, G. A. Voth, P. Salvador, J. J. Dannenberg, V. G. Zakrzewski, S. Dapprich, A. D. Daniels, M. C. Strain, O. Farkas, D. K. Malick, A. D. Rabuck, K. Raghavachari, J. B. Foresman, J. V. Ortiz, Q. Cui, A. G. Baboul, S. Clifford, J. Cioslowski, B. B. Stefanov, G. Liu, A. Liashenko, P. Piskorz, I. Komaromi, R. L. Martin, D. J. Fox, T. Keith, M. A. Al-Laham, C. Y. Peng, A. Nanayakkara, M. Challacombe, P. M. W. Gill, B. Johnson, W. Chen, M. W. Wong, C. Gonzalez, and J. A. Pople, *Gaussian 03, revision D.01*, Gaussian, Inc., Wallingford, CT, 2004.
- 64 (a) D. J. Henry, C. J. Parkinson and L. Radom, *J. Phys. Chem. A*, 2002, **106**, 7927; (b) D. J. Henry, M. B. Sullivan and L. Radom, *J. Chem. Phys.*, 2003, **118**, 4849.
- 65 A. G. Baboul, L. A. Curtiss, P. C. Redfern and K. Raghavachari, *J. Chem. Phys.*, 1999, **110**, 7650.
- 66 (a) S. Grimme, *J. Chem. Phys.*, 2006, **124**, 034108; (b) F. Neese, T. Schwabe and S. Grimme, *J. Chem. Phys.*, 2007, **125**, 124115.
- 67 F. Neese, *ORCA - An ab Initio, Density Functional and Semiempirical Program Package*, version 2.7, University of Bonn, Bonn, Germany.
- 68 M. Cossi, G. Scalmani, N. Rega and V. Barone, *J. Chem. Phys.*, 2002, **117**, 43.
- 69 (a) V. Barone, M. Cossi and J. Tomasi, *J. Chem. Phys.*, 1997, **107**, 3210; (b) V. Barone and M. Cossi, *J. Phys. Chem. A*, 1998, **102**, 1995; (c) C. Amovilli, V. Barone, R. Cammi, E. Cancès, M. Cossi, B. Mennucci, S. Pomelli and J. Tomasi, *Adv. Quantum Chem.*, 1998, **32**, 227.

10. TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijski fakultet
Zavod za organsku kemiju
A. Kovačića 1, 10000 Zagreb, Hrvatska

Doktorski rad

KVANTO-KEMIJSKO ISTRAŽIVANJE REAKCIJA PREGRADIVANJA ODABRANIH PSIHOFARMAKA

Davor Šakić

SAŽETAK

U okviru ovog doktorskog rada, proučavani su mehanizmi pregrađivanja psihofarmaka haloperidola, aripiprazola, paroksetina, karbamazepina te lijekovi iz skupine hidantoina i barbiturata. Korištenjem kvantno-kemijskih metoda, izračunate su strukture i reakcijski mehanizmi relevantni za kemijsku sudbinu psihofarmaka u okolišu. Proučavane su reakcije kloriranja, epoksidacije i hidroksilacije modelnih amina, amida i metabolita psihofarmaka inducirane hipoklorastom kiselinom. Opisani su različiti mehanizmi pregrađivanja (eliminacija, supstitucija, hidridni pomak, ciklizacija), koji uključuju radikalske i ionske međuprodukte. Dobiveni teorijski rezultati odgovaraju eksperimentalnim podacima (konstante brzine reakcija pregrađivanja, spektroskopski podaci o produktima) te ih upotpunjuju s novim fizikalno-kemijskim parametrima.

Rad je pohranjen u Centralnoj knjižnici Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Rad sadrži: 190 stranica, 17 slika, 27 shema, 16 tablica i 315 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: psihofarmaci, hipoklorasta kiselina, kvantno-kemijske metode, kloramini, kloramidi, N-radikali, ekološka sudbina

Mentor: Dr. sc. Valerije Vrček, *redoviti profesor, Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu*

Povjerenstvo: Dr. sc. Branka Zorc, *redoviti profesor, Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu*

Dr. sc. Tin Weitner, *docent, Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu*

Dr. sc. Sanja Tomić, *viši znanstveni suradnik, Institut Ruđer Bošković, Zagreb*

Rad prihvaćen: 17. lipnja 2015.

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb
Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Department of Organic Chemistry
A. Kovačića 1, 10000 Zagreb, Croatia

Ph.D. Thesis

QUANTUM-CHEMICAL INVESTIGATION OF REARRANGEMENT REACTIONS OF SELECTED PSYCHOPHARMACEUTICALS

Davor Šakić

SUMMARY

In this thesis, study of rearrangement reactions of psychopharmaceuticals aripiprazole, haloperidol, paroxetine, and drugs from hydantoin and barbiturate group, is presented. Using quantum-chemical methods, structures and reaction mechanisms relevant to chemical fate of psychopharmaceuticals in the environment were calculated. Chlorination, epoxidation, and hydroxylation reactions for model amides, amines, and psychopharmaceutical metabolites, induced by hypochlorous acid, were studied. Different rearrangement mechanisms (elimination, substitution, hydride shift, cyclization), involving radical and ionic intermediates, were described. Our theoretical results match experimental values (reaction rate constants, spectroscopic product data), and supplement them with additional physicochemical parameters.

Thesis is deposited in the Central library of the Faculty of Pharmacy and Biochemistry, University of Zagreb.

Thesis includes: 190 pages, 17 figures, 27 schemes, 16 tables and 315 references. Original is in Croatian language.

Keywords: psychopharmaceuticals, HOCl, quantum-chemical methods, chloramines, chloramides, N-centered radicals, ecological fate

Supervisor: Valerije Vrčec, Ph.D., *Professor, Faculty of Pharmacy and Biochemistry, University of Zagreb*

Reviewers: Branka Zorc, Ph.D., *Professor, Faculty of Pharmacy and Biochemistry, University of Zagreb*

Tin Weitner, Ph.D., *Associate Professor, Faculty of Pharmacy and Biochemistry, University of Zagreb*

Sanja Tomić, Ph.D., *Senior Research Associate, Ruđer Bošković Institute, Zagreb*

The thesis accepted: 17th June, 2015