

STŘEDOŠKOLSKÁ ODBORNÁ ČINNOST

*Syntéza biologicky aktivních látek s využitím
stereoselektivní katalýzy*

Alena Budinská

Praha 2014

STŘEDOŠKOLSKÁ ODBORNÁ ČINNOST

Obor SOČ: 3. Chemie

*Syntéza biologicky aktivních látek s využitím
stereoselektivní katalýzy*

Autor: Alena Budinská

Škola: Gymnázium, Praha 7, Nad Štolou 1

Vedoucí práce: Ing. Beáta Vilhanová

Doc. Ing. Petr Kačer, Ph.D.

Praha, 2014

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem svou práci vypracovala samostatně pod vedením Ing. Beáty Vilhanové a Doc. Ing. Petra Kačera, Ph.D. a veškerou použitou literaturu jsem uvedla v seznamu literatury. Postup při zpracování a dalším nakládání s prací je v souladu se zákonem č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) v platném znění.

Prohlašuji, že tištěná verze a elektronická verze soutěžní práce SOČ jsou shodné.

V dne podpis:

Poděkování

V první řadě bych chtěla poděkovat Ing. Beátě Vilhanové a Doc. Ing. Petru Kačerovi, Ph.D. za věnovaný čas při vypracovávání této práce a trpělivost při zodpovídání všech mých dotazů. Bez jejich pomoci by tato práce nemohla vzniknout.

Můj dík patří i všem dalším, kteří byli ochotní odpovídat na mé otázky a poskytnout mi jejich drahocenný čas.

Anotace

Syntéza opticky aktivních látek je jedním z klíčových procesů v chemickém a farmaceutickém průmyslu. Tato práce se věnuje asymetrické transfer hydrogenaci, která poskytuje jeden z optických izomerů v nadbytku hydrogenací prochirální nenasyčené sloučeniny. Jako zdroj vodíku slouží směs kyseliny mravenčí a triethylaminu, takže je možné vyhnout se práci s plynným vodíkem. Tato reakce nachází uplatnění například při výrobě léčiv pro relaxaci kosterního svalstva – myorelaxancií. Teoretická část práce je zaměřena na popis studovaného katalytického systému a jednotlivých strukturních částí Ru katalyzátoru, které jsou odpovědné za stereoselektivitu reakce. Experimentální část se zabývá parametrickou studií reakčních podmínek a přináší také srovnání pěti různých substituentů na jedné ze strukturních částí katalyzátoru. Byl prozkoumán jejich vliv na rychlost a enantioselektivitu reakce a ze získaných výsledků vyplynulo, jakým směrem by se měla ubírat optimalizace reakčních podmínek asymetrické transfer hydrogenace.

Abstract

The synthesis of optically active compounds nowadays belongs to pivotal processes in chemical and pharmaceutical industry. This work is focused on asymmetric transfer hydrogenation, which affords one of the optical isomers in excess by hydrogenation of a prochiral unsaturated compound. Formic acid and triethylamine serve as the hydrogen source, which allows avoiding the usage of gaseous hydrogen. This reaction is useful for instance in the production of drugs for skeletal muscles relaxation – myorelaxants. The theoretical part is oriented at description of the studied catalytic system and individual structural parts of the ruthenium catalyst, which are responsible for the reaction's stereoselectivity. The experimental part deals with a parametric study of the reaction conditions and also brings a comparison of five catalysts differing in one key substituent. In this work, the influence of the substituent on reaction rate and enantioselectivity was examined and the results suggested the direction, which should be taken in further optimization of the reaction conditions of asymmetric transfer hydrogenation.

Obsah

1. Úvod.....	7
2. Teoretická část	8
2.1 Stereoselektivita receptorů	8
2.2 Myorelaxancia.....	9
2.2.1 Kurare	9
2.2.2 Pankuronium.....	10
2.2.3 Mivakurium	11
2.3 Syntéza opticky aktivních látek	11
2.3.1 Využití přírodních zdrojů.....	12
2.3.2 Achirální syntéza	12
2.3.3 Enzymatická katalýza	13
2.3.4 Asymetrické reakce.....	14
2.4 Asymetrická transfer hydrogenace.....	15
2.4.1 Struktura katalyzátoru.....	15
2.4.2 Struktura substrátu	17
2.4.3 Mechanismus ATH	18
2.5 Využití ATH v praxi	20
2.6 Pracovní hypotéza	21
3. Experimentální část.....	22
3.1 Chemikálie	22
3.2 Příprava 1-methyl-3,4-dihydroisochinolinu	24

3.3	Příprava ligandu (S,S)-TsDPEN.....	25
3.4	Příprava katalyzátoru [RuCl(η^6 - <i>p</i> -cymen)(S,S)-TsDPEN].....	25
3.5	ATH 1-methyl-3,4-dihydroisochinolinu v baňce.....	26
3.6	ATH 1-methyl-3,4-dihydroisochinolinu v NMR spektrometru.....	26
3.7	Analytické metody	27
3.7.1	Určení konverze a <i>ee</i> pomocí GC	27
4.	Výsledky a diskuse	28
4.1	Vliv teploty.....	28
4.2	Vliv poměru hydrogenační směsi a substrátu	29
4.3	Vliv pořadí přidávání jednotlivých komponent	31
4.4	Vliv sulfonylového fragmentu	32
5.	Závěr	34
6.	Seznam zkratk a symbolů	35
7.	Seznam použité literatury	36

1. Úvod

Biologicky aktivní látky jsou takové látky, které nějakým způsobem účinkují na živý organismus. Jejich působení může být příznivé nebo nepříznivé a tyto vlastnosti popisuje biologická aktivita. Příznivé účinky těchto látek se využívají ve farmaceutickém průmyslu při výrobě léčiv, naopak sloučeniny s nežádoucími účinky mohou být pro lidský organismus často až toxické (jedy, drogy).

Účinek těchto látek je ovlivněn přítomností receptoru, který je schopen na sebe danou sloučeninu navázat [1]. Čím vyšší má podávaná látka afinitu ke svému receptoru, tím snadněji se naváže, a má-li sloučenina vysokou vnitřní aktivitu, znamená to, že je schopná receptor také aktivovat. Látkám, které mají tuto schopnost, se říká agonisté. Kompetitivní antagonisté jsou takové látky, které i přes svou vysokou afinitu nemají dostatečnou vnitřní aktivitu a receptor tedy zůstává neaktivní. Tento antagonistů pak blokuje místo na receptoru a účinnost původního agonisty je několikanásobně nižší.

Tyto receptory pak navíc často bývají chirální (stereospecifické), kdy se v organismu vyskytují pouze ve formě jednoho enantiomeru a pro největší účinek je tedy potřeba, aby se reagující látka (léčivo) vyskytovala v komplementární formě k danému receptoru. Druhý enantiomer chirálních biologicky aktivních látek tak může s receptorem interagovat různým způsobem. V lepším případě má nulovou afinitu k receptoru, čili žádný účinek, jelikož se nemůže navázat. Nejznámější ukázkou případu, kdy druhý enantiomer reaguje úplně jiným způsobem, je aféra Contergan. Jeden z izomerů měl zklidňující účinky a užívaly ho především těhotné ženy, zatímco druhý byl silně teratogenní a způsoboval vývojové vady během embryonálního vývoje.

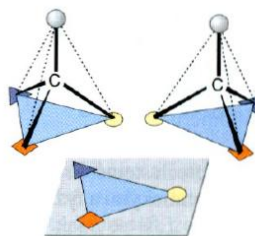
I tato špatná zkušenost přispěla ke snaze vyrábět léčiva ve formě pouze jednoho enantiomeru, který by přesně „zapadl“ do receptoru, a nemohl by v organismu reagovat jiným způsobem. Tato práce se zaměřuje na skupinu léčiv zvaných myorelaxancia, která se využívají při operacích k relaxaci kosterního svalstva [2]. Pro jejich výrobu se využívá stereoselektivní syntéza, jejímž produktem je pouze jeden z izomerů [3].

Způsobů, jak připravit opticky čisté látky, existuje několik a jsou popsány v kapitole 2.3. Některé však mohou svou složitostí syntézu velmi prodražit, což hraje ve farmaceutickém průmyslu velkou roli. Poměrně novou možností, jak vyrábět léčiva ve formě jediného enantiomeru (nebo alespoň v nadbytku) je asymetrická transfer hydrogenace, které se tato práce věnuje podrobněji. V neposlední řadě je ukázáno praktické využití asymetrické transfer hydrogenace u různých druhů myorelaxancií, především léčiva zvaného Mivakurium chlorid.

2. Teoretická část

2.1 Stereoselektivita receptorů

Aby měla farmaka požadovaný a co největší účinek, musí být svou stavbou komplementární k receptoru, ke kterému se vážou. To úzce souvisí s jejich chemickými a fyzikálními vlastnostmi a strukturou, jež musí přesně odpovídat danému receptoru. Stereoselektivita je tedy jedním z klíčových faktorů ovlivňující účinnost léčivých látek. Jedná se o druh izomerie, ve které jsou atomy vždy ve stejném pořadí za sebou (je tedy stejná konstituce), ale celková stavba molekuly se liší prostorovým uspořádáním (konfigurací) [4]. Tyto látky pak mají jinou schopnost navázat se ke svému receptoru, a tedy i jiné účinky.



Obrázek 1: Modelové znázornění dvou enantiomerů téže látky [5].

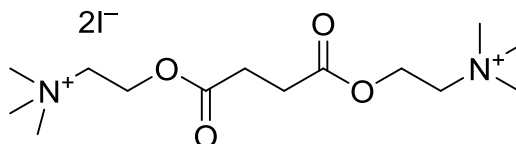
Pro farmakoterapii je nejvýznamnější forma stereoselektivity enantiomerie. Ta je způsobená výskytem tzv. chirálního (asymetrického) uhlíku. Chirální uhlík je specifický tím, že na každou jeho vazbu je navázaný jiný substituent. Tyto izomery jsou jako vzor a obraz v zrcadle nebo pravá a levá ruka. Jejich obrazy nikdy nemohou splynout, ať se jejich molekuly otáčí jakýmkoliv způsobem (obrázek 1). A jelikož oba izomery obsahují stejné atomy i vazby mezi nimi, neliší se téměř v žádných chemických a fyzikálních vlastnostech. Jediným rozdílem mezi nimi je jejich optická aktivita, tedy schopnost stáčet rovinu polarizovaného světla o stejný úhel, ale na opačnou stranu. Tyto izomery se mohou značit jako D-forma (doprava) a L-forma (doleva). Jiné a také často používané značení dvou enantiomerů je R- a S-, které již nesouvisí se směrem stáčení polarizovaného světla, ale vychází ze struktury konkrétní látky dle definice Cahn, Ingolda a Preloga [4].

V organismu se ovšem receptory vyskytují výhradně ve formě jednoho enantiomeru a jsou schopné „správně“ účinkovat v případě, že se k nim naváže stejná forma izomeru. Léčiva se z tohoto důvodu nepodávají jako směs, ale pouze jako R- nebo S- izomer, u kterého jsou již jeho vlastnosti a účinky pro lidské tělo prozkoumané.

2.2 Myorelaxancia

Myorelaxancia tvoří skupinu léčiv, u kterých se využívá stereoselektivní syntéza a vlastní léčivo se často podává pouze jako jeden izomer. Jejich působením dochází ke snížení svalového napětí a k uvolnění příčně pruhovaného kosterního svalstva, přičemž neovlivňují činnost hladké svaloviny [5].

Dělí se na depolarizující (nekompetitivní) a nedepolarizující (kompetitivní) myorelaxancia podle toho, jakým způsobem zabraňují přenosu vzruchu na nervosvalovém zakončení. Depolarizující myorelaxancia způsobují nejprve stimulaci N_M receptorů (muskarinový typ acetylcholinových receptorů na postsynaptické membráně nervosvalových zakončení). Membrána není schopná reagovat na acetylcholinové impulsy a dochází k požadovanému uvolnění svalů. Působí nejprve na končetiny a následně na svaly v oblasti břicha a hlavy. Nástup účinku je rychlý, zpravidla do 1 minuty, a samotné působení je krátké – přetrvává 5 až 10 minut. Proto se depolarizující myorelaxancia využívají u případů, kdy je potřeba svaly uvolnit rychle (podává se pacientům například před anestezií pro usnadnění intubace). Nejvýznamnější a nejvyužívanějším zástupcem depolarizujících myorelaxancií je suxamethonium (obrázek 2).



Obrázek 2: Suxamethonium jodid

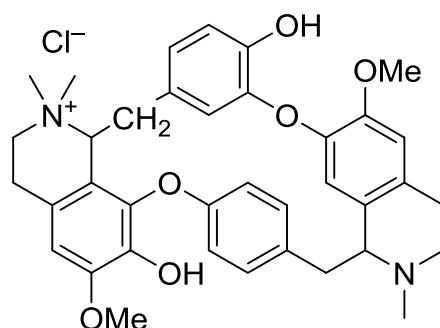
Nedepolarizující myorelaxancia se chovají jako kompetitivní antagonisté k acetylcholinu, soutěží mezi sebou o obsazení postsynaptického receptoru. Jako první dojde k uvolnění svalstva očních bulbů a víček, hlavy a krku, následně končetin a poslední se uvolňuje břišní svalstvo spolu s bránicí. Během jejich působení nedochází ke ztrátě vědomí a vnímání a je zachována schopnost reagovat na bolest, proto se musí podávat až po celkové anestezii. Účinek nedepolarizujících myorelaxancií je delší, může trvat až 120 minut.

2.2.1 Kurare

Kurare je z historických důvodů asi nejznámějším zástupcem skupiny nedepolarizujících myorelaxancií. Účinná látka d-tubokurarin (obrázek 3) patří mezi

alkaloidy a jedná se o silnou drogu a jed, kterou využívali Indiáni žijící v okolí Amazonky jako šípový jed. Získávali ho z kůry a kořenů druhů rodu *Stychnos* a *Chondrodendron* povařením a poté zahuštěním. Nejvíce se používal při lovu divoké zvěře, kdy se malé množství jedu nanese na hrot šípu, oběti po zasažení ochablo svalstvo a zemřelo na zástavu dýchání. Největší výhodou pro Indiány bylo, že se nevstřebává střevy, proto nemohlo kurare po sněžení zvířete začít působit i v jejich organismu [1].

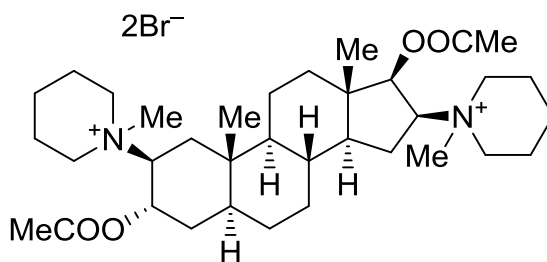
Účinek d-tubokurarinu nastupuje maximálně do 6 minut a přetrvává necelých 120 minut. V dnešní době se přesto upřednostňují látky, které mají o něco kratší dobu účinku (okolo 100 minut), ale rychleji dochází k relaxaci svalstva (2–4 minuty), jako např. Pankuronium nebo Mivakurium.



Obrázek 3: Tubokurarin chlorid

2.2.2 Pankuronium

Pankuronium (obrázek 4) je velmi využívané myorelaxancium, které je asi pětinasobně účinnější než d-tubokurarin. První účinky jsou znatelné již po 2 minutách, k celkové relaxaci pak dochází do 4 minut. Používá se při celkové anestezii při operacích, jako prostředek zastavující dýchání při euthanasii v Belgii a Nizozemí a také jako součást smrtících injekcí u trestu smrti.



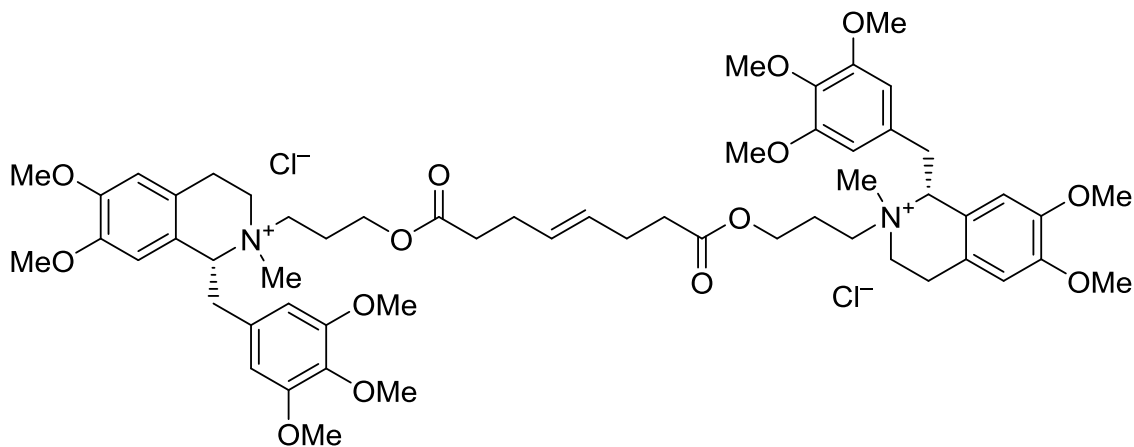
Obrázek 4: Pankuronium bromid

2.2.3 Mivakurium

Mivakurium chlorid (obrázek 5) patří také mezi nedepolarizující myorelaxancia, v organismu ale jeho účinek nastupuje rychleji než u předchozích dvou zástupců a působí také kratší dobu. Těchto vlastností se využívá při krátkých a akutních případech, jako např. při endotracheální intubaci.

Mivakurium se podává jako směs tří stereoizomerů, které souvisí s výskytem chirálních uhlíků v molekule [6]. Jednotlivé izomery jsou označovány jako *trans-trans* (1*R*, 1'*R*, 2*S*, 2'*S*), *cis-trans* (1*R*, 1'*R*, 2*R*, 2'*S*) a *cis-cis* (1*R*, 1'*R*, 2*R*, 2'*R*) mivakurium. Léčivá směs je složená z 56 % *trans-trans* a 36 % *cis-trans* izomerů, *cis-cis* forma tvoří pouhých 6 %. První dva stereoizomery mivakuria mají velmi podobné vlastnosti, zatímco účinky *cis-cis* mivakuria jsou téměř 10× menší v porovnání s předchozími dvěma strukturami.

Kvůli výskytu chirálních uhlíků by při přípravě mivakuria mohla vzniknout směs několika různých izomerů. Proto se při jeho výrobě využívá stereoselektivní syntézy, čímž se eliminuje počet i množství nechtěných izomerů, a vzniká nadbytek již prozkoumaných forem mivakuria.



průmyslu, ale i v dalších odvětvích chemického průmyslu, kde je potřeba pracovat s přesně danou a prozkoumanou strukturou.

2.3.1 Využití přírodních zdrojů

Jak již bylo řečeno, v přírodě se látky často vyskytují ve formě pouze jednoho izomeru (např. biogenní aminokyseliny jsou zastoupeny převážně v L-formě). Z dostupného poolu sloučenin se tedy dají získat opticky čisté látky, které slouží jako prekursory pro řadu chemických reakcí, jejichž konečným produktem je také opticky čistá látka.

Nevýhodou této metody může být nedostatek, popř. špatná dostupnost výchozích látek. Dále se také musí zvolit jednotlivé kroky všech reakcí tak, aby neovlivnily chirální uhlík ve sloučenině a nedošlo ke zničení původních vlastností. Mohl by tak např. vzniknout opačný izomer (tzv. inverze konfigurace) nebo jejich směs (racemizace).

2.3.2 Achirální syntéza

Jednou z nejjednodušších možností je tzv. achirální syntéza, která není nakloněna ve prospěch ani jednoho z enantiomerů a poskytuje vždy směs obou izomerů v poměru 1:1, která se nazývá racemát. Racemát je opticky neaktivní (nestáčí rovinu polarizovaného světla), jelikož jsou oba izomery zastoupeny ve stejném množství a jejich účinek se navzájem vyruší.

Problém však nastává ve chvíli, kdy se od sebe tyto izomery musí oddělit. Obě formy mají stejné chemické a fyzikální vlastnosti a nelze tak využít klasických způsobů oddělování. Separace racemátu na jednotlivé složky se proto provádí pomocí tzv. chirální rezolučních technik, mezi které patří např. krystalizace, chromatografie či použití enzymů [7]. První, kdo úspěšně oddělil racemát na samostatné enantiomery, byl francouzský chemik Louis Pasteur, který je ručním přebíráním krystalků rozdělil téměř před 170 lety [4].

Nejsnadněji se směs dvou enantiomerů oddělí v případě, kdy každý z nich vykristalizuje zvlášť. Tuto metodu však lze v praxi využít téměř minimálně, a to z důvodu, že existuje pouze malé procento látek s touto vlastností.

Další možností separace je vytvoření tzv. diastereoizomerů, pro kterou je nutné, aby měl chtěný enantiomer povahu kyseliny nebo báze. Základním principem je využití

opticky čisté látky (např. kyseliny), která je lehce dostupná a lze ji získat z přírodních zdrojů. Mezi často používané kyseliny patří kyselina vinná, mandlová nebo citrónová. Tato látka se přidá ke směsi obou izomerů, které mají zásaditý charakter. Vznikne směs dvou diastereoizomerů (v tomto případě sůl), které se od sebe liší polohou jedné nebo více skupin (ale ne všemi) na chirálním uhlíku a nejsou to vzájemné obrazy v zrcadle. Tyto látky pak lze oddělit klasickými způsoby dělení směsí, protože na rozdíl od racemátu mají rozdílné fyzikální i chemické vlastnosti (bod tání, rozpustnost, reaktivita atd.). Na stejném principu by probíhala separace v případě, že by racemát měl kyselé vlastnosti a do směsi by se přidával zásaditý chirální partner (např. 1-fenylethylamin).

V neposlední řadě lze také využít separační metodu zvanou preparativní chirální HPLC (High-performance liquid chromatography, neboli vysokoúčinná kapalinová chromatografie). Chromatografická kolona je naplněna pevnou, adsorbující látkou spolu s vhodným chirálním partnerem a dohromady tvoří tzv. chirální stacionární fázi (CSP – Chiral Stationary Phase) [8]. Základ CSP je často na bázi celulózy a jako chirální aditivum se využívají dostupné přírodní enantiomery. Analytická metoda se nejprve optimalizuje pomocí separace racemické směsi. Vzorek racemátu je nanesen na kolonu, která je následně promývána vhodným systémem rozpouštědel (tzv. mobilní fázi), a díky rozdílné afinitě jednoho z izomerů ke stacionární fázi dojde k rozdělení obou složek – enantiomer s vyšší afinitou k CSP se „zbrzdí“ v koloně, zatímco ten druhý ji opustí jako první. Tato metoda se využívá především v laboratorním měřítku, jelikož CSP bývá velmi drahá a často lze použít pouze jedenkrát.

Achirální syntézou a následnou resolucí tedy lze připravit pouze jeden enantiomer, ale výtěžek reakce je již od začátku maximálně 50 %. Druhých 50 % tvoří nechtěný enantiomer, který v mnoha případech nelze převést na opačný izomer a pokud se nedá využít v jiných syntézách, tak se zařadí mezi odpadní látky reakce. Množství výchozích látek musí být dvojnásobné, než je množství požadovaného produktu, což může syntézu velmi prodražit.

2.3.3 Enzymatická katalýza

Pro výrobu opticky čistých látek je možné použití enzymů jako biokatalyzátorů. Podstata enzymatické katalýzy spočívá ve vysoké selektivitě enzymů (podobně jako u receptorů), které jsou schopné katalyzovat pouze specifickou reakci dané výchozí látky. Této vlastnosti se využívá u různých organických reakcí a v posledních letech se rozvíjí enzymatická katalýza také u enantioselektivních syntéz.

Enzymy jsou nejčastěji bílkovinného charakteru, složené z L-aminokyselin (vyskytují se tedy ve formě jediného enantiomeru). Díky této vlastnosti jsou enzymy schopné reagovat pouze s odpovídajícím substrátem a produkovat znovu jen jeden izomer. Většina reakcí probíhá za mírných podmínek, kdy není potřeba zvýšeného tlaku či teploty, což také usnadňuje průběh syntézy a snižuje předpoklady pro nechtěné vedlejší reakce jako např. rozklad či izomerace. Další nemalou výhodou je jejich biologický původ, nejsou tedy nebezpečné pro životní prostředí a v přírodě se samy rozkládají.

Na druhou stranu vysoká citlivost enzymu na okolní podmínky může způsobit komplikace při samotné reakci, protože je nutné udržovat reakční směs v takovém stavu, aby byl enzym aktivní a sám nepodléhal rozkladu (optimum teploty a pH) [9]. Důležitým faktorem, který rozhoduje o efektivním využití enzymatické katalýzy, je vysoká cena samotných enzymů.

2.3.4 Asymetrické reakce

Asymetrická reakce, enantioselektivní reakce nebo také chirální syntéza, všechny tyto pojmy označují typ reakce, při níž nevzniká racemát, ale jeden z enantiomerů se ve směsi produktů nachází v nadbytku. Tento přebytek je obvykle měřen veličinou *ee* (enantiomerní přebytek) a vypočítá se následovně:

$$ee[\%] = \frac{R - S}{R + S} \cdot 100$$

Obrázek 6: Enantiomerní přebytek

Snaha je samozřejmě taková, aby byl enantiomerní přebytek roven 100 % (vznikl pouze jeden izomer). Zastoupení jednotlivých produktů ve výsledné směsi se dá ovlivnit několika způsoby (např. použitím chirálního činidla, katalyzátoru, nebo regulací reakčních podmínek). Obecně jde o to snížit aktivační energii u jednoho ze vznikajících izomerů, který tak vznikne ochotněji než druhý enantiomer. Čím větší bude rozdíl mezi aktivačními energiemi, tím větší bude *ee* [10].

Význam asymetrické reakce vzrostl především v posledních několika desetiletích a uplatnění nachází jak v chemickém, tak farmaceutickém průmyslu. Jednou z možností, jak dosáhnout nerovnoměrného složení směsi, je využití chirálních katalyzátorů, nejčastěji v podobě organokovových komplexů. Centrální atom přechodného kovu (Ru, Ir, Rh) je koordinčně-kovalentní vazbou navázán na různé chirální ligandy, které

ovlivňují jak enantioselektivitu reakce, tak i její celkový průběh. Vzhledem k rozmanitosti použitelných ligandů existuje nepřehledné množství použitelných katalyzátorů. Ne všechny jsou však pro asymetrickou katalýzu vhodné a je proto nutné vytvořit takový katalyzátor, který bude aplikovatelný pro „svůj“ okruh substrátů. Pokud se podaří optimalizovat daný katalyzátor vzhledem k danému substrátu, bývá asymetrická katalýza velmi efektivním způsobem syntézy opticky čistých látek.

2.4 Asymetrická transfer hydrogenace

Asymetrická transfer hydrogenace (ATH) je jedním z příkladů asymetrické syntézy. Je to účinná možnost přípravy chirálních látek a její zastoupení roste hlavně ve farmaceutickém průmyslu. Tímto způsobem lze hydrogenovat vazby $C=O$ [11], $C=N$ [12] a v poslední době již i $C=C$ [13]. Transfer hydrogenace je takový způsob adice vodíku, u kterého se nevyužívá molekulární vodík, ale jako zdroj vodíku slouží často jednoduchá organická látka, která může vodík poskytnout pro hydrogenaci.

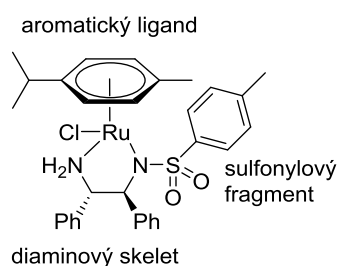
Pro ATH se nejčastěji využívá 2-propanol nebo azeotropická směs kyseliny mravenčí a triethylaminu (FA-TEA) v molárním poměru 5:2 [12]. Katalytický systém s kyselinou mravenčí jako hydrogenačním činidlem má oproti jiným činidlům tu výhodu, že po odštěpení vodíků vznikne plynný oxid uhličitý. V průběhu reakce je tedy možné pozorovat bublání směsi, které je způsobeno právě unikajícím CO_2 . Jelikož sám vyprchá z reakční směsi, není nutné odstraňovat jiné vedlejší produkty, které by vznikaly při použití jiného zdroje vodíku. Druhým významným rozdílem je schopnost acetonu (vzniklého z 2-propanolu) redukovat se zpět na alkohol, čímž umožní zpětnou reakci a možnou racemizaci produktu. U CO_2 není možné návratu zpět ke kyselině mravenčí, proto nemůže dojít ani k racemizaci.

ATH je oproti „klasické“ asymetrické hydrogenaci (při které se využívá molekulární vodík) výhodnější z několika důvodů. Není potřeba provádět reakci v tlakových aparaturách pro vodík, reakční podmínky bývají mírné (laboratorní teplota, atmosférický tlak), stereoselektivita reakce je poměrně vysoká a asi nejdůležitějším faktorem je bezpečnost, protože se tímto způsobem dá vyhnout práci s vodíkem.

2.4.1 Struktura katalyzátoru

Největší zlom ve zkoumání ATH nastal v roce 1995, kdy Noyori *et al.* popsali první katalyzátor schopný hydrogenovat acetofenon s 97% *ee* [14]. Struktura

„dnešních“ používaných katalyzátorů je velmi podobná, proto se často označují jako rutheniové katalyzátory Noyoriho typu a využívají se při enantioselektivní hydrogenaci ketonů a iminů. Základ katalyzátoru tvoří centrální atom ruthenia (Ru^{II}), chirální diaminový ligand (např. 1,2-difenylethylen-1,2-diamin, DPEN), η^6 -aromatický ligand (např. benzen) a sulfonylový fragment navázaný na DPEN (např. *p*-toluensulfonyl). Těmito katalyzátory, které nesou právě jeden η^6 -aromatický ligand, se říká polosendvičové. Označení vychází z metallocenů (např. ferrocen, titanocen), které se běžně nazývají sendvičovými komplexy.

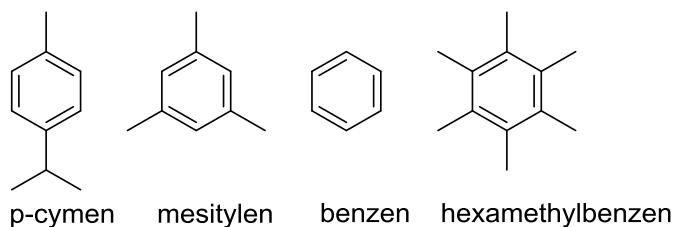


Obrázek 7: Struktura katalyzátoru Noyoriho typu

Výsledná struktura katalyzátoru má velký vliv na rychlost reakce i její enantioselektivitu. Proto lze různou záměnou ligandů vytvořit takový katalyzátor, který bude pro daný substrát ušitý na míru a pro jeho hydrogenaci bude nejefektivnější. Nahrazovat lze jak η^6 -aromatický ligand, tak diaminový skelet včetně sulfonylových fragmentů, které jsou na skelet navázané. Teoreticky by se tímto způsobem dalo připravit téměř nekonečné množství katalyzátorů, avšak je potřeba vybírat takové kombinace, které budou příznivě ovlivňovat reakční podmínky.

Centrální atom Ru v molekule katalyzátoru „zprostředkovává“ přenos atomů vodíku na molekulu substrátu (katalytická hydrogenace). Katalyzátory Noyoriho typu obsahují atom Ru, existují však i další komplexní katalyzátory, u kterých je Ru nahrazeno atomem Ir, Rh nebo Os.

Mezi nejpoužívanější η^6 -aromatické ligandy patří již výše zmíněný benzen, dále také *p*-cymen, mesitylen, a hexamethylbenzen (viz obrázek 8). Vliv tohoto ligandu na stereoselektivitu není přesně objasněný, předpokládá se, že je způsoben nevazebnými interakcemi ($\text{CH}-\pi$ interakce [15]) mezi ligandem a substrátem, které stabilizují tranzitní stav. Dalším faktorem ovlivňujícím rychlost reakce může být také sterický. Celkový průběh reakce tedy záleží na struktuře jak katalyzátoru, tak substrátu.



Obrázek 8: η^6 -aromatické ligandy v Noyoriho katalyzátorech

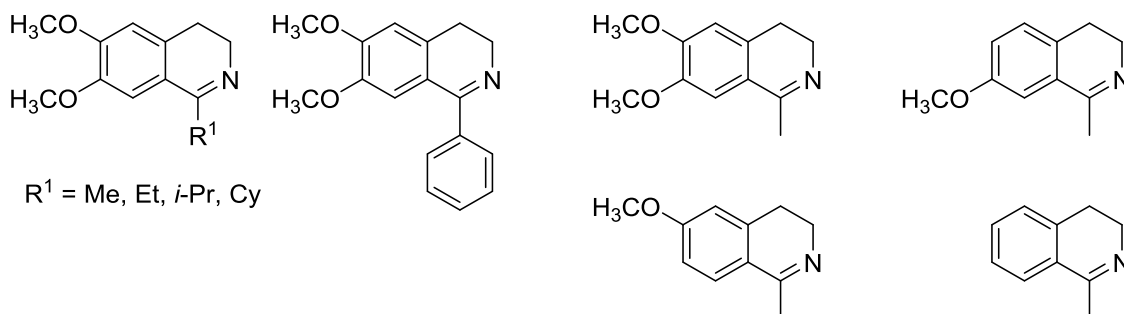
Chirální diaminový skelet spolu s η^6 -aromatickým ligandem stericky brání centrální atom Ru, takže přesně vymezují polohu aktivovaného vodíku (na jednu stranu molekuly katalyzátoru). Zároveň určují způsob, jakým se substrát ke katalyzátoru naváže (opět z jedné strany rutheniového komplexu), a ovlivňují tak stereoselektivitu reakce.

Význam sulfonylového fragmentu spočívá v záchytu substrátu vodíkovými můstky mezi atomem kyslíku na sulfonylu a atomem vodíku na substrátu [16]. Pro tyto účely se využívají *p*-toluensulfonyl, mesitylensulfonyl a 1-naftalensulfonyl apod. Přesný vliv různých fragmentů na průběh hydrogenace však není v literatuře popsáný a je předmětem zkoumání v experimentální části.

2.4.2 Struktura substrátu

Struktura substrátu hraje při ATH také důležitou roli. Pomocí ATH lze hydrogenovat např. aromatické ketony (deriváty acetofenonu) [11] či cyklické iminy (deriváty dihydroisochinolinu a β -karbolinu) [12].

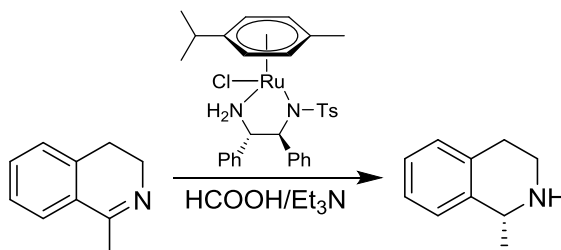
Různé deriváty použitelných substrátů mohou zásadně ovlivnit celkový průběh reakce. Katalyzátor Noyoriho typu je účinný např. při hydrogenaci 1-alkylsubstituovaných 3,4-dihydroisochinolinů (obrázek 9). Pokud se 1-alkyl nahradí složitějším substituentem (např. arylem), dochází k výraznému zpomalení reakce, pravděpodobně z důvodu konjugace C=N vazby a arylu.



Obrázek 9: Příklady substrátů použitelných pro ATH

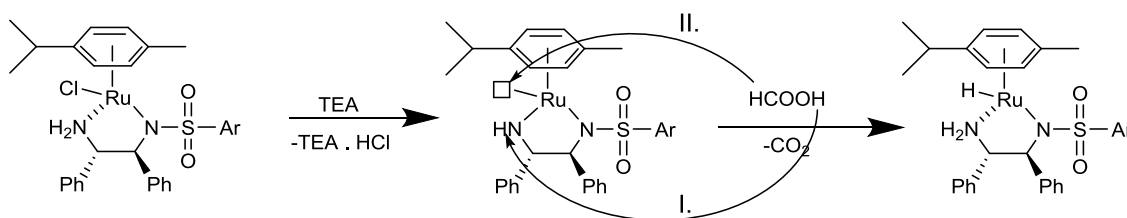
2.4.3 Mechanismus ATH

Obrázek 10 zobrazuje schéma ATH 1-methyl-3,4-dihydroisochinolinů v prostředí kyseliny mravenčí a triethylaminu. Reakční mechanismus je však složitější a existuje více teorií, jakým způsobem probíhá. Zajímavostí také je, že je rozdíl v mechanismech u hydrogenace C=O a C=N vazby.



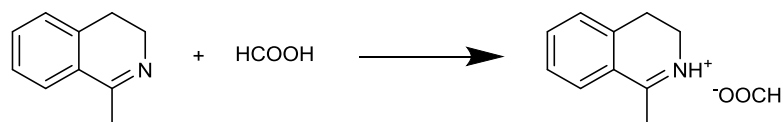
Obrázek 10: Schéma ATH

Jedním z možných mechanismů, kterým ATH probíhá, je tzv. iontový mechanismus [17]. Jelikož reakce probíhá v nadbytku kyseliny mravenčí, dochází k protonaci iminu, který má bazický charakter. Imin se tak v reakční směsi bude nacházet ve formě soli, kdy bude atom dusíku kladně nabitý. K dokončení hydrogenace poté stačí přenést hydrid z rutheniového komplexu.



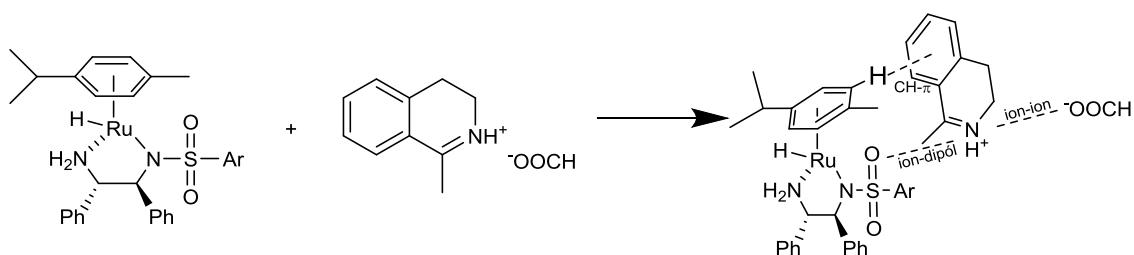
Obrázek 11: Aktivace katalyzátoru

Prvním krokem je aktivace katalyzátoru (viz obrázek 11). Z chloridového prekursoru katalyzátoru se stane aktivní forma tak, že přítomná báze (TEA) katalyzátoru odebere H^+ a Cl^- (hnací silou je vznik triethylamonium hydrochloridu). Dusík, který je součástí ligandu, následně přijme proton z kyseliny mravenčí a ze vzniklého aniontu se odpojí hydridový ion, který vytvoří vazbu s rutheniem. Z HCOOH tedy zbývá CO_2 , který opouští reakční směs jako plyn. Kyselina mravenčí však reaguje i se substrátem – jakmile s ní přijde imin do styku, vytvoří sůl (obrázek 12). Analogicky se vytváří sůl i s produkty hydrogenační reakce (tetrahydroisochinoliny).



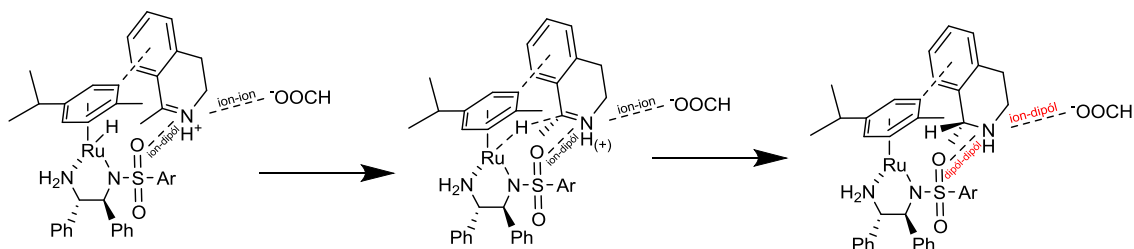
Obrázek 12: Vytvoření iminové soli

Dalším krokem je navázání iminové soli k aktivovanému komplexu (obrázek 13). Vznikne přechodný intermediát, který s katalyzátorem interaguje různými způsoby. Jedním je nevazebná CH- π interakce mezi aromatickým ligandem a substrátem. Druhým je vznik vodíkového můstku mezi dusíkem ze sulfonylové skupiny a vodíkovým protonem na atomu dusíku.



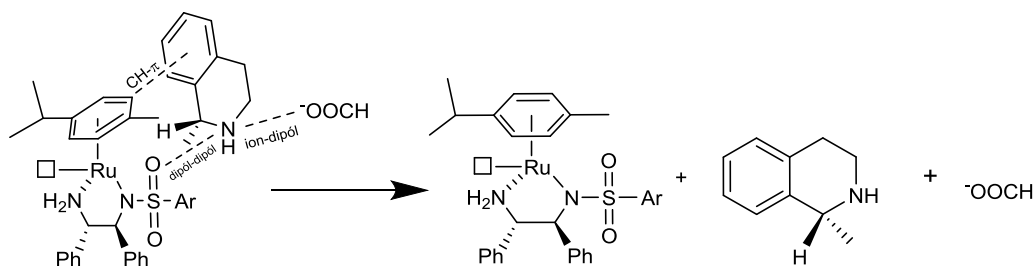
Obrázek 13: Navázání substrátu na katalyzátor

Obrázek 14 zobrazuje samotný proces hydrogenace. V prvním kroku je atom vodíku přitažen blíže k substrátu, aby mohlo dojít k jeho přesunu. Na vznikajícím meziprojektu dochází k několika změnám – dvojná vazba mezi uhlíkem a dusíkem začíná zanikat a mění se v jednoduchou, mizí kladný náboj na dusíku a na atomu uhlíku vzniká stereogenní centrum. Po dokončení vodíkového transferu úplně zaniká dvojná vazba a vzniklý amin je chirální. Předtím silná nevazebná interakce ion-ion mezi NH^+ a HCOO^- se mění v mnohem slabší působení ion-dipól a stejně tak je oslabena interakce mezi dusíkem a kyslíkem.

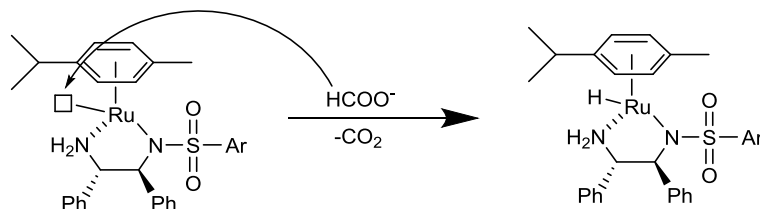


Obrázek 14: Přenos vodíku z katalyzátoru na substrát

Vzniklý produkt je ke katalyzátoru držen již jen velmi slabými interakcemi, takže dojde k rozložení reakčního intermediátu (obrázek 15). Ion HCOO^- odchází stejně tak jako zásaditý amin a katalyzátor se obnoví tím, že z mravenčanu přijme hydridový ion a naváže se na stejné místo jako při aktivaci chloridového katalyzátoru (obrázek 16).



Obrázek 15: Rozložení intermediátu



Obrázek 16: Obnova katalyzátoru

2.5 Využití ATH v praxi

Asymetrická transfer hydrogenace je cenným pomocníkem při syntézách opticky aktivních látek [18]. Největší význam má ve farmaceutickém průmyslu, pro který je chiralita látek zásadní vlastností a celou výrobu léčiv značně komplikuje.

První příklad využití ATH uvedl Noyori *et al.* u syntézy prekursoru léčiva MK-0417 [12], který působí jako inhibitor při léčbě zeleného zákalu. Další navrženou látkou byl chirální prekurzor svalového relaxancia zvaného Gantakurium chlorid [19], který patří mezi nedepolarizující myorelaxancia a jeho účinek na organismus je podobný jako u mivakuria.

Léčivo Mivakurium chlorid se především dříve připravovalo achirální syntézou a vzniklý racemát se odděloval pomocí diastereoizomerních solí. Nevýhodou jsou drahé výchozí látky, malá výtěžnost produktu (minimálně 50 % tvoří nechtěný izomer, který v tomto případě nelze znovu využít) a nutnost složité resoluce. Potenciální možností efektivnější syntézy je právě ATH, u které vzniká preferovaný prekurzor mivakuria v nadbytku. Požadavky na čistotu u používaných léčiv jsou vysoké, takže i v případě ATH se ve většině případů musí přistoupit k rekrystalizaci, aby se odstranilo co největší množství opačného izomeru. I přes to je ATH velmi účinným způsobem, protože procentuální zastoupení odpadních látek u achirální syntézy je několikanásobně vyšší než při asymetrické katalýze. A jelikož je snaha farmaceutických firem o co nejlevnější pracovní postupy, mohl by význam ATH v budoucnu ještě vzrůst.

2.6 Pracovní hypotéza

Prvním cílem této práce je prozkoumání a porovnání reakčních podmínek na rychlost reakce a její enantioselektivitu. Studovaná bude teplota jako jeden z důležitých parametrů ovlivňujících rychlost i enantiomerní přebytek, dále poměr hydrogenační směsi k substrátu (vliv na rychlost) a pořadí přidávání jednotlivých komponent reakční směsi, které také může ovlivnit kinetiku reakce.

Za druhé bude v experimentální části zkoumán vliv sulfonylového fragmentu na celkový průběh reakce. Bude připraveno pět katalyzátorů s různými aryl-sulfonylovými ligandy a poté provedena hydrogenace na připraveném substrátu. Následně bude porovnána rychlost a enantioselektivita reakce při použití různých ligandů jako jeden z faktorů, kterým lze ATH zefektivnit.

3. Experimentální část

3.1 Chemikálie

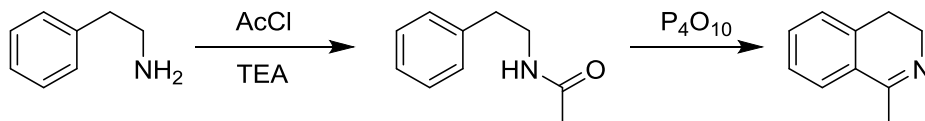
Tabulka 1: Použité chemikálie

Chemikálie	Dodavatel	Čistota
(<i>S,S</i>)- <i>N-p</i> -toluensulfonyl-1,2-difenylethylendiamin	ABCR	98 %
dichlor(<i>p</i> -cymen)ruthenium(II) dimer	Aldrich	
[RuCl(<i>p</i> -cymen)(<i>S,S</i>)-TsDPEN]	Aldrich	
(-)-(<i>R</i>)-menthylchlorformiát	Aldrich	99% <i>ee</i>
2-fenylethylamin	Fluka	99 %
acetylchlorid	Sigma-Aldrich	98 %
triethylamin	Sigma-Aldrich	99 %
kyselina mravenčí	Fluka	98 %
acetonitril	Penta	99 %
hexan	Penta	99 %
toluen	Lach:ner	99 %
ethylacetát	Lach:ner	99 %
diethylether	Lach:ner	99 %
dichlormethan	Penta	99 %
kyselina chlorovodíková, 36 %	Penta	p.a.
hydroxid sodný	Penta	98 %
chlorid sodný	Penta	98 %
uhličitan sodný	Lach:ner	99,9 %
síran sodný bezvodý	Lach:ner	99,9 %
síran hořečnatý bezvodý	Lach:ner	99,9 %
<i>p</i> -toluensulfonylchlorid	Sigma-Aldrich	99 %
(1 <i>S</i>)-(+)-10-kafrsulfonylchlorid	Sigma-Aldrich	97 %
1-naftalensulfonylchlorid	Sigma-Aldrich	97 %

2-mesitylensulfonylchlorid	Sigma-Aldrich	99 %
4- <i>terc</i> -butylbenzensulfonylchlorid	Sigma-Aldrich	98 %
vodík	SIAD	99,9 %
dusík	SIAD	99,99 %
argon	SIAD	99,999%

3.2 Příprava 1-methyl-3,4-dihydroisochinolinu

Pro testování vlivů různých sulfonylových fragmentů na průběh ATH byl použit ve všech případech stejný substrát – 1-methyl-3,4-dihydroisochinolin (1-Me-DHIQ). Syntéza cyklických iminů se opírá o dvoukrokový syntetický proces. V prvním kroku dochází k acylaci výchozího aminu, následně k Bischler-Napieralského cyklodehydratační reakci vzniklých β -fenylethylamidů:



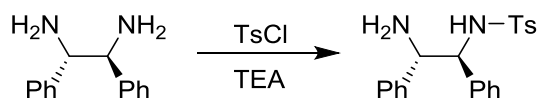
Pracovní postup:

2-Fenylethylamin (5.0 g, 41 mmol) a triethylamin (7.3 ml, 51 mmol) byly rozpuštěny v dichloromethanu (150 ml). Do této směsi byl přikapáván acetylchlorid (3.6 ml, 50 mmol) po dobu 15 min při 25 °C. Reakční směs byla dále míchána 30 minut při 45 °C. Poté byla do směsi přidána voda (100 ml). Organická fáze byla oddělena a promyta 5% kyselinou chlorovodíkovou (100 mL), 5% roztokem uhličitanu sodného (100 mL) a vodou (100 mL). Poté byla sušena bezvodým síranem hořečnatým a dichlormethan byl odpařen na rotační vakuové odparce (10 Torr, 60 °C). Takto byl získán produkt v podobě medovitého oleje. Výtěžek *N*-(2-fenylethyl)acetamidu: 6.5 g, 97%.

N-(2-fenylethyl)acetamid (12.0 g, 73.6 mmol) a oxid fosforečný (190 g, 0.67 mol) byly rozpuštěny v sušeném xylenu (250 ml) pod atmosférou argonu. Reakční směs byla míchána při 160 °C po dobu 6 hodin. Po ochlazení na laboratorní teplotu byla opatrně hydrolyzována (200 ml vody). Následně byla směs okyselena přidávkem koncentrované kyseliny chlorovodíkové (20 ml). Vodná fáze byla oddělena a promyta toluenem (3 × 40 ml). Pevné nečistoty byly odděleny filtrací a roztok byl alkalizován koncentrovaným roztokem hydroxidu sodného ve vodě až do pH 13–14. Vznikla sraženina produktu v podobě bílé emulze, která byla extrahována do toluenu (5 × 40 ml). Organický extrakt byl promyt vodou (50 ml) a solankou (50 ml), vysušen bezvodým síranem hořečnatým a toluen byl odpařen na rotační vakuové odparce (10 torr, 65 °C). Takto byl získán hnědý olej, který byl podroben vakuové destilaci. Produkt (nažloutlý olej) byl jímán při teplotě varu 120 °C a tlaku 8 Torr. Výtěžek 1-methyl-3,4-dihydroisochinolinu: 5.2 g, 49%.

3.3 Příprava ligandu (*S,S*)-TsDPEN

Příprava všech sulfonylových ligandů byla provedena analogicky podle stejného pracovního postupu, proto je zde uvedena příprava pouze (1*S*,2*S*)-*p*-toluensulfonyl-difenylethylendiamin (TsDPEN):

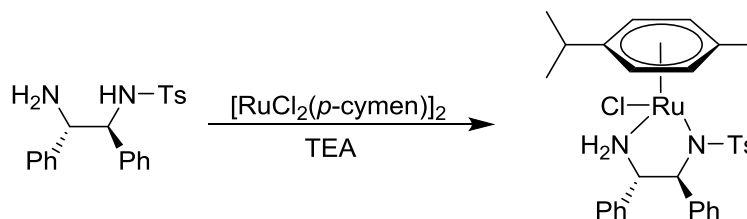


Pracovní postup:

(*S,S*)-DPEN (3,50 mmol, 743 mg) a TEA (5,25 mmol, 731 μ l) byly rozpuštěny v dichlormethanu (20 ml). Roztok byl zchlazen na 0 °C a postupně byl přikapáván roztok *p*-toluensulfonylchloridu (3,50 mmol, 667 mg) v dichlormethanu (20 ml) po dobu 1 hodiny. Reakční směs byla míchána další hodinu při teplotě 0 °C, poté dvakrát promyta 0,05 M roztokem hydroxidu sodného. Následně byla směs promyta solankou, vysušena nad bezvodým MgSO₄ a rozpouštědlo bylo odpařeno. Surový produkt byl přečištěn sloupcovou chromatografií (SiO₂) s mobilní fází ethylacetát/hexan/triethylamin (1:1:0,02). Retenční faktor produktu (*R_f*): 0,3 až 0,4. Výtěžek produktu: 820 mg (64 %).

3.4 Příprava katalyzátoru [RuCl(η^6 -*p*-cymen)(*S,S*)-TsDPEN]

Všechny komplexní katalyzátory byly připravovány podle stejného pracovního postupu, proto bude reakce popsána pouze pro [RuCl(η^6 -*p*-cymen)(1*S*,2*S*)-TsDPEN].

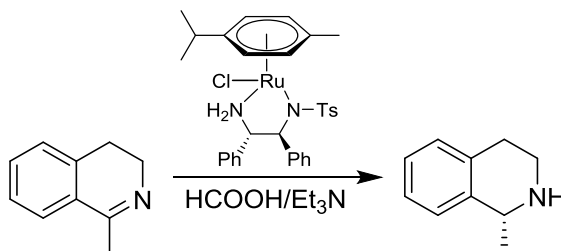


Pracovní postup:

Ligand z bodu 3.3 (0,74 mmol), dimer [RuCl₂(*p*-cymen)]₂ (0,37 mmol, 228 mg) a triethylamin (1,49 mmol, 207 μ l) byly rozpuštěny v dichlormethanu (10 ml). Směs byla míchána 1 h při laboratorní teplotě. Po ukončení reakce bylo rozpouštědlo odpařeno na vakuové odparce. Výtěžek produktu: 377 mg (80 %).

3.5 ATH 1-methyl-3,4-dihydroisochinolinu v baňce

Všechny kinetické experimenty byly prováděny stejným způsobem, proto bude popsána pouze hydrogenace substrátu 1-methyl-3,4-dihydroisochinolinu s využitím katalyzátoru $[\text{RuCl}(\eta^6\text{-}p\text{-cymen})(1\text{S},2\text{S})\text{-TsDPEN}]$:



Pracovní postup (pro poměr FA-TEA:substrát = 5):

V baňce byl smíchán katalyzátor připravený v bodě 3.4 (0,00138 mmol, 0,88 mg), acetonitril (1,17 ml), kyselina mravenčí (0,69 mmol, 26 μl) a triethylamin (0,28 mmol, 39 μl). Směs byla ponechána 5 minut, během kterých došlo k aktivaci katalyzátoru. Poté byl vložen substrát (20 mg), čímž byla zahájena hydrogenace.

Odebírání vzorků (200 μl) bylo prováděno v pravidelných časových intervalech (5, 10, 25, 50, 100 a 180 min). Vzorky byly alkalizovány roztokem uhličitanu sodného, čímž byla zastavena hydrogenace, a následně extrahovány do diethyletheru. Organická fáze byla vystripována pomocí argonu. Nakonec bylo ke směsi přidáno 200 μl acetonitrilu a vzorek byl připraven na GC analýzu.

3.6 ATH 1-methyl-3,4-dihydroisochinolinu v NMR spektrometru

Kinetické experimenty mající za cíl objasnit vliv teploty na průběh ATH byly provedeny přímo v NMR spektrometru dle popsané metody [20]. Spektra byla měřena na spektrometru Bruker Avance III 400 MHz.

Pracovní postup:

Kyselina mravenčí (0,347 mmol, 13 μl) a triethylamin (0,139 mmol, 19 μl) byly rozpuštěny v deuterovaném acetonitrilu (590 μl). Do roztoku byl následně přidán katalyzátor rozpuštěný v acetonitrilu (0,35 mg v 65 μl), načež bylo změřeno ^1H NMR spektrum směsi. Reakce byla následně zahájena přidavkem roztoku substrátu v acetonitrilu (8 mg v 39 μl). Průběh reakce byl monitorován měřením ^1H NMR spekter, která byla akumulována v desetiminutových intervalech.

3.7 Analytické metody

3.7.1 Určení konverze a ee pomocí GC

Konverze a enantiomerní přebytek byly určovány na plynovém chromatografu Varian CP-3800 s plamenově-ionizačním detektorem a kolonou Varian VF-1 (délka 60 m, průměr 0,25mm, síla filmu stacionární fáze 0,25 μm , CP index = 1). Nosným plynem byl dusík s průtokem 0,5 ml/min, splitovací poměr byl 1:25 a teplota injektoru i detektoru byla nastavena na 300 °C. Nastříkované množství vzorku mělo objem 1 μl .

Konverze byla určována pomocí následujícího vztahu:

$$x [\%] = \frac{n_0 - n_1}{n_0} \cdot 100$$

n_0 je látkové množství substrátu v čase $t = 0$
 n_1 – látkové množství substrátu v čase $t = t_1$

Enantiomerní přebytek byl určen následujícího vztahu s využitím publikované derivatizační metody [21]:

$$ee [\%] = \frac{R - S}{R + S} \cdot 100$$

(R, S – molární koncentrace enantiomerů)

4. Výsledky a diskuse

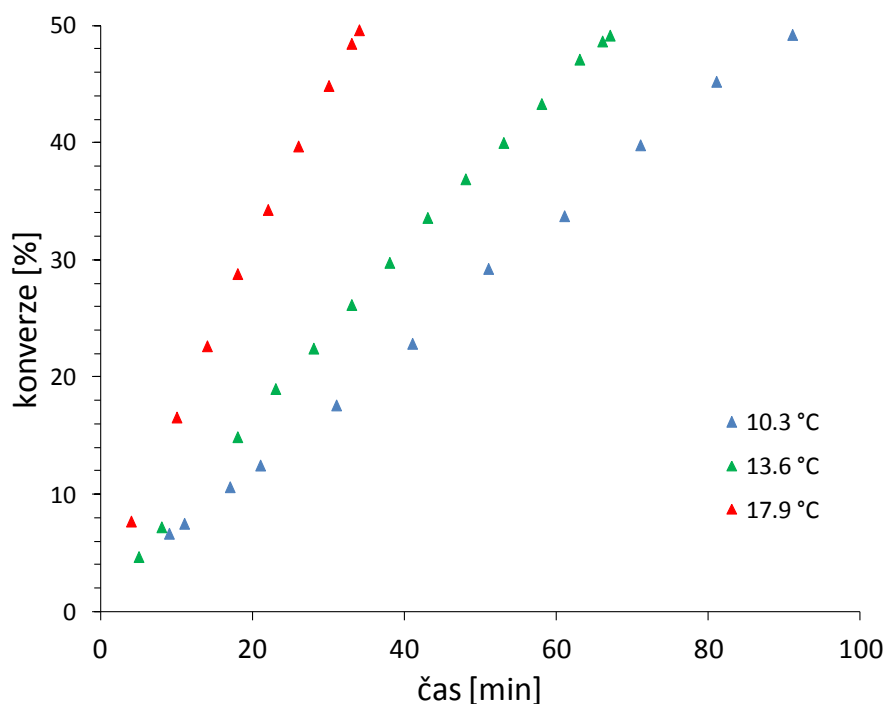
První část předpokládané práce se zabývala parametrickými studiemi na ATH. Zkoumán byl vliv poměru hydrogenační směsi vs. substrát, který může ovlivnit rychlost reakce. Vliv teploty a pořadí přidávání jednotlivých komponent byl studován z hlediska rychlosti reakce i její enantioselektivity. Studie byly prováděny při hydrogenaci 1-methyl-3,4-dihydroisochinolinu s použitím $[\text{RuCl}(\eta^6\text{-}p\text{-cymen})(1S,2S)\text{-TsDPEN}]$ jako katalyzátoru.

Druhá část byla zaměřena na čtyři různé sulfonylové fragmenty a jejich celkové ovlivnění průběhu hydrogenační reakce jak z pohledu kinetického, tak enantioselektivního.

4.1 Vliv teploty

Jedním z nejčastěji využívaných faktorů, kterým se dá ovlivnit rychlost reakce, je teplota. S rostoucí teplotou se zvyšovala rychlost reakce i u ATH, jak je patrné z grafu 1. V tabulce 2 jsou uvedeny příslušné reakční rychlosti.

Graf 1: Vliv teploty na reakční rychlost



Tabulka 2: Vliv teploty reakční rychlost (veličina k je rychlostní konstantou reakce nultého řádu, a tedy i samotnou reakční rychlostí).

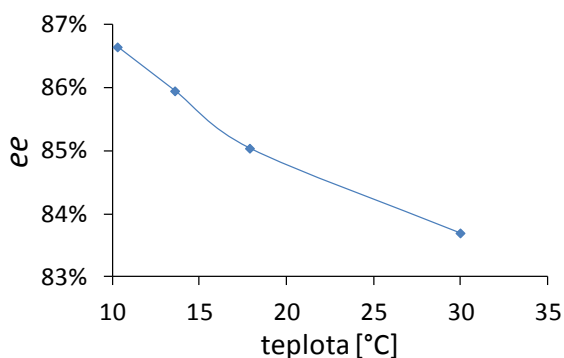
Teplota [°C]	k [mmol·h ⁻¹ ·mg _{kat}]
10,3	0,050
13,6	0,072
17,9	0,140
30,0	0,357

Velkou nevýhodou při vyšších teplotách je, že výrazně klesá enantioselektivita reakce, což je v případě asymetrické syntézy nežádoucí jev. Enantioselektivita je obecně závislá na teplotě, a proto dochází při zvýšení teploty k snížení enantiomerního přebytku. Tato závislost je nejspíše způsobena vyšší pravděpodobností vytvoření transitního stavu vedoucího k opačnému izomeru, a tím tedy zvýšení jeho zastoupení ve výsledné směsi [10]. Tabulka 3 a graf 2 zobrazují vývoj enantioselektivity při různých teplotách.

Tabulka 3: Vliv teploty na ee

Teplota (°C)	ee [%]
10,3	86,1
13,6	85,5
17,9	84,5
30,0	83,2

Graf 2: Vliv teploty na ee



4.2 Vliv poměru hydrogenační směsi a substrátu

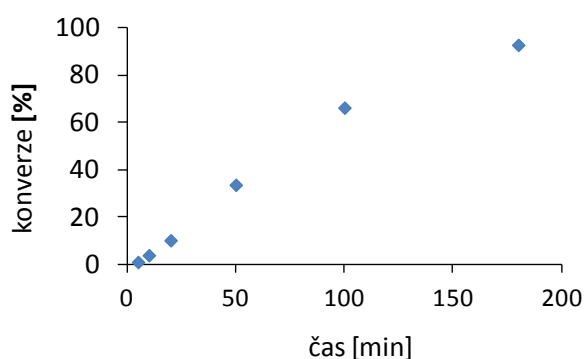
Jako hydrogenační směs byla ve všech případech využita azeotropická směs kyseliny mravenčí a triethylaminu (FA-TEA). Byl zkoumán vliv na rychlost reakce při

různých poměrech hydrogenační směsi a substrátu. Dalo by se předpokládat, že čím větší bude tento poměr (tedy čím více kyseliny mravenčí jako zdroje vodíku bude přítomno), tím rychleji bude reakce probíhat. Jak je však vidět z tabulky č. 4, je tomu přesně naopak. Reakční rychlost rostla v případech, kdy bylo použité méně hydrogenační směsi. Grafy 3 a 4 zobrazují vývoj konverze v případě dvou krajních extrémů (poměr FA-TEA:substrát 5 a 40).

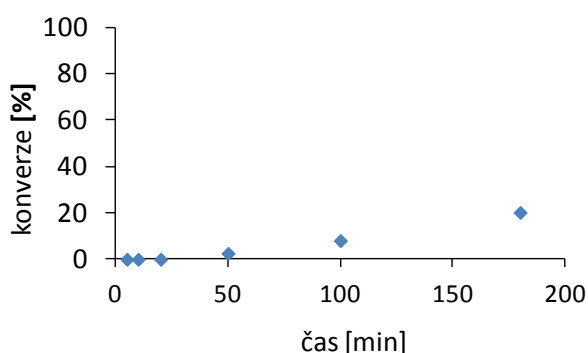
Tabulka 4: Vliv poměru na konverzi

Poměr FA-TEA:substrát	Konverze po 100 min [%]
5	66
10	53
20	30
40	8

Graf 3: Poměr FA-TEA: substrát = 5



Graf 4: Poměr FA-TEA:substrát = 40



Tabulka 5: Vliv poměru na *ee*

Poměr FA-TEA:substrát	<i>ee</i> po 100 min [%]
5	84,6
10	84,2
20	84,4
40	83,7

Tento trend souvisí s vyšší koncentrací kyseliny mravenčí, která může způsobit deaktivaci katalyzátoru a tím výrazné zpomalení reakce. Kyselina mravenčí je totiž schopná naprotonovat –NH skupinu TsDPEN ligandu a způsobit tak jeho dekoordinaci. Vysoká koncentrace báze (TEA) však může být také příčinou nízké reaktivity – ve své protonované formě může blokovat sulfonylový fragment katalyzátoru, kde by mělo docházet k záchytu molekuly substrátu. Enantioselektivita reakce se pohybovala všech případech ve stejných hodnotách (tabulka 5).

Závěrem je tedy možné konstatovat, že směs FA-TEA musí být v reakční směsi zastoupená v takovém množství, aby jí bylo dostatek pro aktivaci katalyzátoru a hydrogenaci dvojné vazby (je to konec konců zdroj vodíku), ale zároveň aby nedošlo k prudkému poklesu reakční rychlosti způsobenému přebytkem této směsi.

4.3 Vliv pořadí přidávání jednotlivých komponent

Další zásadní vliv na průběh reakce má také pořadí, v jakém se přidávají jednotlivé komponenty. Největší enantioselektivitu dosáhla reakce v případě, kdy byl přidán nejprve katalyzátor, poté azeotropní směs a až po určité době substrát. Pokud bylo zaměněno pořadí azeotropní směsi a katalyzátoru a substrát byl opět přidán jako poslední, bylo dosaženo pouze o něco menšího enantiomerního přebytku, nicméně tato hodnota je v rámci experimentální chyby měření.

Nejméně efektivní byl způsob, kdy byla smíchána směs FA-TEA se substrátem a jako poslední byl přidán katalyzátor. Katalyzátor se v tomto případě nestihne plně aktivovat a ke kontaktu se substrátem dochází příliš brzy, což může negativně ovlivňovat kinetické experimenty, které vyžadují přesnost, aby je bylo možné srovnávat mezi sebou. Navíc bylo v tomto případě dosaženo znatelně nižší enantioselektivitu, což je obtížně vysvětlitelné i při současném poznání mechanismu reakce. Jednou z možností je, že se ve větší míře uplatňuje tzv. vliv báze na ATH (nedávno popsáný jev, kdy záměna triethylaminu za jinou bázi vedla ke změně stereoselektivitu) [22]. Podrobný

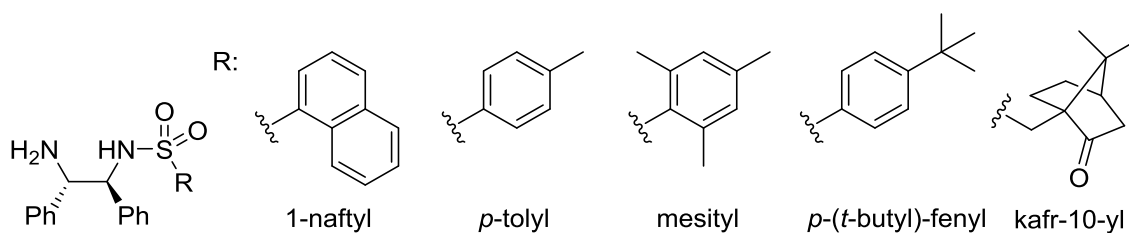
popis vlivu báze je však mimo rámec této práce. Přidání katalyzátoru nakonec reakce je tedy nežádoucí.

Tabulka 6: Vliv pořadí přidání komponent

Pořadí přidání komponent	ee [%]
1. katalyzátor, 2. FA-TEA, 3. substrát	83,5
1. FA-TEA, 2. katalyzátor, 3. substrát	83,1
1. FA-TEA, 2. substrát, 3. katalyzátor	79,1

4.4 Vliv sulfonylového fragmentu

Posledním faktorem, kterým se tato práce zabývá, je vliv sulfonylového ligandu na průběh reakce. Bylo připraveno 5 sulfonylových ligandů s různým substituentem a byla zkoumána enantioselektivita a rychlost reakce při jejich použití během katalytické hydrogenace 1-methyl-3,4-dihydroisochinolinu.



Obrázek 17: Studované sulfonylové fragmenty

Tabulka 7 obsahuje údaje konverze po 60 minutách a hodnoty *ee* změřené při dané konverzi. Nejvyšší enantiomerní přebytek poskytoval ligand obsahující mesitylen, ale reakce probíhala výrazně pomaleji než u ostatních – po hodině reakce bylo ve směsi pouze 63 % produktu. Naopak nejnižší enantioselektivita bylo dosaženo v případě 1-naftylu, přestože rychlost reakce byla druhá nejvyšší. Nejrychleji probíhala reakce s použitím kastrového substituentu, avšak výsledný enantiomerní přebytek byl druhý nejnižší.

Sulfonylová skupina tak má prokazatelný vliv na oba tyto parametry, což bylo dosud připisováno především η^6 -aromatickému ligandu. To se obzvlášť týká enantioselektivity, která je do velké míry závislá na CH/ π interakci (a ta je závislá právě na volbě aromatického ligandu).

Tabulka 7: Vliv sulfonylového fragmentu na konverzi a *ee*

Sulfonylový substituent	Konverze po 60 min [%]	<i>ee</i> [%]
kafr-10-yl	100	84,0
<i>p</i> -(<i>terc</i> -butyl)fenyl	97,8	87,2
1-naftyl	94,6	81,6
<i>p</i> -tolyl	74,3	88,2
mesityl	62,9	93,4

Dopad CH/ π interakce na enantioselektivitu záleží jednak na sterických (zda vůbec může mezi molekulami k interakci v prostoru dojít), tak na elektronových aspektech (je to slabá vodíková vazba a její pevnost tak do značné míry závisí na elektronové hustotě donoru i akceptoru vazby). V této práci byl však aromatický ligand pouze jeden (*p*-cymen), aby bylo možné nezávisle sledovat strukturní vlivy sulfonylového fragmentu.

Samotná sulfonylová skupina hraje důležitou roli v reakčním mechanismu, jak bylo popsáno v části 2.4.3. Dochází k vytvoření vodíkové vazby mezi atomem kyslíku a atomem vodíku protonovaného substrátu, čímž dojde k zachycení hydrogenované látky a může dojít k přenosu hydridu z ruthenia na uhlík dvojně vazby. Vodíková vazba tedy opět představuje elektronový vliv, který může do jisté míry souviset s reaktivitou.

Ze získaných dat je vidět, že substituent na sulfonylovém fragmentu reakci neovlivňuje takovým způsobem, jako ji ovlivňuje η^6 -aromatický ligand, jehož záměnou se dá docílit výrazných změn jak u reakční rychlosti, tak u enantioselektivity. Pro nejvyšší enantiomerní přebytek v případě mesitylu se nabízí jedno vysvětlení – *ee* bylo měreno při konverzi 63 %. Dalo by se tedy očekávat, že hodnota *ee* by mohla ještě s probíhající reakcí klesnout. To by však znamenalo, že probíhá částečná racemizace, což v systému FA-TEA není možné (viz úvod části 2.4). Experimenty prokázaly, že *ee* je během reakce konstantní.

Při použití kafr-10-ylu jako substituentu na sulfonylovém fragmentu může přítomnost elektronegativního kyslíku způsobit zrychlení reakce, naopak jeho sterické vlastnosti (oproti ostatním je to prostorově složitá látka) mohou zapříčinit snížení enantioselektivity.

Interpretace získaných dat je tedy ještě obtížnější než v případě aromatického ligandu, nicméně získané hodnoty ve většině případů naznačují, že čím rychleji probíhala reakce, tím nižší byla její enantioselektivita (tedy *ee* je nepřímě úměrné reakční rychlosti, v závislosti na volbě sulfonylového fragmentu).

5. Závěr

Tato práce se zabývala asymetrickou transfer hydrogenací C=N vazby, která nachází uplatnění zejména ve farmaceutickém průmyslu. S využitím ATH lze biologicky aktivní látky ve formě jednoho optického izomeru syntetizovat snadněji, neboť jeden z enantiomerů vzniká ve výrazném nadbytku.

Teoretická část se zabývala popisem jednotlivých částí Ru katalyzátoru Noyoriho typu a nastíněn byl i reakční mechanismus. V experimentální části byl zkoumán vliv teploty, poměru azeotropní směsi FA-TEA k substrátu a také pořadí přidávání jednotlivých komponent do reakční směsi. Pozornost byla následně věnována 5 různým arylovým substituentům sulfonylového fragmentu a jejich vliv na reakční kinetiku a enantioselektivitu.

Zvýšení teploty je bohužel při ATH problematické, jelikož i přes výrazně rostoucí reakční rychlost znatelně klesá enantioselektivita reakce, což je při asymetrické katalýze nežádoucí. Závislost vlivu poměru FA-TEA se ukázala jako poměrně překvapivá. Čím vyšší poměr byl pro hydrogenaci zvolen, tím pomaleji reakce probíhala (tedy neplatí intuitivní předpoklad „čím více HCOOH jako zdroje vodíku bude ve směsi, tím lépe bude reakce probíhat“). Proto se tento poměr musí volit vhodně tak, aby mohlo dojít k dostatečné aktivaci katalyzátoru a hydrogenaci substrátu a zároveň aby se neměnily účinky katalyzátoru způsobené případným nadbytkem azeotropní směsi, která vede k jeho rozkladu. Při studiu vlivu pořadí přidávání komponentů bylo zjištěno, že nejúčinnější je přidat substrát jako poslední do roztoku katalyzátoru a směsi FA-TEA.

Práce také přináší srovnání pěti různých sulfonylových fragmentů na průběh hydrogenace. Lze potvrdit, že přítomnost sulfonylového fragmentu ovlivňuje reakční mechanismus a musí být v molekule katalyzátoru obsažen. Na druhou stranu ale samotný vliv substituentu navázaného na sulfonylovém fragmentu není tak velký, jak se předpokládalo (v porovnání s aromatickým ligandem, který reakci ovlivňuje zásadním způsobem). Ze získaných dat je možné vyvodit, že vyšší reaktivita byla spojena s nižší enantioselektivitou (totéž platí naopak). Vysvětlení spočívá pravděpodobně v aditivních sterických a elektronových příspěvcích substrátu a katalyzátoru. V budoucnu se tak dá např. prozkoumat vliv změny sulfonylového fragmentu při použití jiného aromatického ligandu, nebo také působení různých sulfonylových ligandů na jiných substrátech, neboť všechny části katalytického systému spolu úzce souvisí, jsou provázané a tvoří tak multiparametrický problém.

6. Seznam zkratek a symbolů

ATH	asymetrická transfer hydrogenace
HPLC	vysokoúčinná kapalinová chromatografie
CSP	chirální stacionární fáze
<i>ee</i>	enantiomerní přebytek
FA-TEA	azeotropní směs kyseliny mravenčí a triethylaminu
TsDPEN	<i>N</i> -(<i>p</i> -toluensulfonyl)-1,2-difenylethylen-1,2-diamin
TEA	triethylamin
DCM	dichlormethan
NaOH	hydroxid sodný
ACN	acetonitril
1-Me-DHIQ	1-methyl-3,4-dihydroisochinolin

7. Seznam použité literatury

1. LÜLLMANN, H. *Color atlas of pharmacology*. 2nd ed., rev. and expanded. New York: Thieme, c2000. ISBN 08-657-7843-4
2. MARTÍNKOVÁ, J., MOHR, K., WEHLING, M. *Farmakologie pro studenty zdravotnických oborů: překlad 15., zcela přepracovaného vydání*. 1. vyd. Praha: Grada, 2007, 379 s. ISBN 978-802-4713-564
3. PŘECH, J. Studium katalytických systémů na bázi ruthenia pro asymetrickou hydrogenaci C=N vazby. Diplomová práce, VŠCHT, 2012. Vedoucí práce Doc. Ing. Petr Kačer, Ph.D.
4. MCMURRY, J. *Organická chemie: překlad 15., zcela přepracovaného vydání*. Vyd. 1. V Brně: VUTIUM, 2007, xxv, 1176, 61, 31 s. ISBN 978-80-214-3291-8
5. LÜLLMANN, H., MOHR, K., WEHLING, M. *Farmakologie a toxikologie: překlad 15., zcela přepracovaného vydání*. Vyd. 2. české. Praha: Grada, c2000, 725 s. ISBN 80-247-0836-1
6. VILHANOVÁ, B., MATOUŠEK, V., VÁCLAVÍK, J., SYSLOVÁ, K., PŘECH, J., PECHÁČEK, J., ŠOT, P., JANUŠČÁK, J., TOMAN, J., ZÁPAL, J., KUZMA, M. Two optimized synthetic pathways toward a chiral precursor of Mivacurium chloride and other skeletal muscle relaxants. *Tetrahedron: Asymmetry*, 2013, vol. 24, no. 1, p. 50–55.
7. LORENZ, H., SEIDEL-MORGENSTERN, A. Processes to separate enantiomers. *Angew. Chemie Int. Ed.*, 2014, vol. 53, 1218–1250.
8. HPLC.CZ. <http://www.hplc.cz/> (accessed March 23, 2014).
9. VOET, D., VOETOVÁ, J. G. *Biochemie*. Vyd. 1. České. Praha: Victoria Publishing a.s., 1325 s. ISBN 80-85605-44-9.
10. BALCELLS, D., MASERAS, F. Computational approaches to asymmetric synthesis. *New. J. Chem.*, 2007, vol. 31, p. 333–343.
11. UEMATSU, N., FUJII, A., HASHIGUCHI, S., IKARIYA, T., NOYORI, R. Asymmetric Transfer Hydrogenation of Imines. *J. Am. Chem. Soc.*, 1996, vol. 118, no. 20, pp. 4916–4917.
12. FUJII, A., HASHIGUCHI, S., UEMATSU, N., IKARIYA, T., NOYORI, R. Ruthenium(II)-Catalyzed Asymmetric Transfer Hydrogenation of Ketones Using a Formic Acid–Triethylamine Mixture. *J. Am. Chem. Soc.*, 1996, vol. 118, no. 10, pp. 2521–2522.

13. XUE, D., CHEN, Y.-C., CUI, X., WANG, Q.-W., ZHU, J., DENG, J.-D.
Transfer hydrogenation of activated C=C bonds catalyzed by ruthenium amido complexes: reaction scope, limitation, and enantioselectivity. *J. Org. Chem.*, 2005, vol. 70, no. 9, pp. 3584–91.
14. HASHIGUCHI, S., FUJII, A., TAKEHARA, J., IKARIYA, T., NOYORI, R.
Asymmetric Transfer Hydrogenation of Aromatic Ketones Catalyzed by Chiral Ruthenium(II) Complexes. *J. Am. Chem. Soc.*, 1995, vol. 117, no. 8, pp. 7562–7563.
15. YAMAKAWA, M., YAMADA, I., NOYORI, R. CH/ π Attraction: The Origin of Enantioselectivity in Transfer Hydrogenation of Aromatic Carbonyl Compounds Catalyzed by Chiral η^6 -Arene-Ruthenium(II) Complexes. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2001, vol. 40, no. 15, pp. 2818–2821.
16. VÁCLAVÍK, J., KUZMA, M., PŘECH, J., KAČER, P. Asymmetric Transfer Hydrogenation of Imines and Ketones Using Chiral $\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\eta^6\text{-}p\text{-cymene})[(S,S)\text{-}N\text{-TsDPEN}]$ as a Catalyst: A Computational Study. *Organometallics*, 2011, vol. 30, no. 18, 4822–4829.
17. Václavík J. Asymmetric Transfer Hydrogenation of C=O and C=N Bonds Catalyzed by $[\text{Ru}(\eta^6\text{-arene})(\text{diamine})]$ Complexes: A Multilateral Study. Prague, 2013. Master Thesis. VŠCHT. Vedoucí práce Doc. Ing. Petr Kačer, Ph.D.
18. VÁCLAVÍK, J., ŠOT, P., VILHANOVÁ, B., PECHÁČEK, J., KUZMA, M.; KAČER, P. Practical Aspects and Mechanism of Asymmetric Hydrogenation with Chiral Half-Sandwich Complexes. *Molecules*, 2013, vol. 18, no. 6, 6804–6828.
19. SAMANO, V., RAY, J. A., THOMPSON, J. B., MOOK, R. A., JUNG, D. K., KOBLE, C. S., MARTIN, M. T., BIGHAM, E. C., REGITZ, C. S., FELDMAN, P. L., BOROS, E. E. Synthesis of Ultra-Short-Acting Neuromuscular Blocker GW 0430: A Remarkably Stereo- and Regioselective Tetrahydroisoquinolinium. *Organic letters*, 1999, vol. 1, no. 12, pp. 1993–1996.
20. VÁCLAVÍK, J., PECHÁČEK, J., PŘECH, J., KUZMA, M., KAČER, P., ČERVENÝ, L. *In situ* monitoring asymetrické transfer hydrogenace iminů pomocí NMR spektroskopie. *Chem. Listy*, 2012, vol. 106, pp. 206–210.
21. PŘECH, J., MATOUŠEK, V., VÁCLAVÍK, J., PECHÁČEK, J., SYSLOVÁ, K., ŠOT, P., JANUŠČÁK, J., VILHANOVÁ, B., KUZMA, M., KAČER, P. Determination of Enantiomeric Composition of Substituted

Tetrahydroisoquinolines Based on Derivatization with Menthyl Chloroformate.
Am. J. Anal. Chem., 2013, vol. 4, no. 3, pp. 125–133.

22. KUZMA, M., VÁCLAVÍK, J., NOVÁK, P., PŘECH, J., JANUŠČÁK, J.,
ČERVENÝ, J., PECHÁČEK, J., ŠOT, P. VILHANOVÁ, B., MATOUŠEK, V.,
GONCHAROVA, I. I., URBANOVÁ, M., KAČER, P. New insight into the role
of a base in the mechanism of imine transfer hydrogenation on a Ru(II) half-
sandwich complex. *Dalton Trans.*, 2013, vol. 42, no. 14, pp. 5174–5182.