

UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO–TECHNOLOGICKÁ
ÚSTAV ORGANICKÉ CHEMIE A TECHNOLOGIE

**Příprava α -methyl-*terc*-leucinu a jeho amidu
v opticky čisté formě**

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

AUTOR PRÁCE: Klára Jenišťová

VEDOUCÍ PRÁCE: Ing. Pavel Drabina, Ph.D.

2012

UNIVERSITY OF PARDUBICE
FACULTY OF CHEMICAL TECHNOLOGY
INSTITUTE OF ORGANIC CHEMISTRY AND TECHNOLOGY

**Preparation of α -methyl-*tert*-leucine and its amide
in optically pure form**

BACHELOR THESIS

AUTHOR: Klára Jenišťová

SUPERVISOR: Ing. Pavel Drabina, Ph.D.

2012

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Klára Jenišťová**
Osobní číslo: **C09233**
Studijní program: **B2830 Farmakochemie a medicínální materiály**
Studijní obor: **Farmakochemie a medicínální materiály**
Název tématu: **Příprava α -methyl-*terc*-leucinu a jeho amidu v opticky čisté formě**
Zadávací katedra: **Ústav organické chemie a technologie**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

1. Provedte literární rešerši týkající se přípravy α -methyl-*terc*-leucinu a jeho amidu v opticky čisté formě.
2. Připravte α -methyl-*terc*-leucin v racemické formě a pokuste se dělit racemickou směs s využitím dostupných chirálních aminů.
3. Pokuste se připravit amid α -methyl-*terc*-leucinu v opticky čisté formě.
4. Výsledky zpracujte formou závěrečné zprávy.

Rozsah grafických prací:

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

Všechna dostupná chemická literatura.

Vedoucí bakalářské práce:

Ing. Pavel Drabina, Ph.D.

Ústav organické chemie a technologie

Datum zadání bakalářské práce:

24. února 2012

Termín odevzdání bakalářské práce:

22. června 2012



prof. Ing. Petr Lošťák, DrSc.

děkan

L.S.



prof. Ing. Miloš Sedlák, DrSc.

vedoucí katedry

V Pardubicích dne 24. února 2012

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Souhlasím s prezenčním zpřístupněním své práce v Univerzitní knihovně.

V Pardubicích dne 25.června 2012

Klára Jenišťová

Poděkování:

Na tomto místě bych ráda poděkovala pracovníkům Ústavu organické chemie a technologie za ochotu a pomoc při realizaci mé bakalářské práce. Zvláště děkuji Ing. Pavlu Drabinovi, Ph.D. za odborné vedení, rady, pomoc a trpělivost při vypracování této práce. Zároveň děkuji i mé rodině za podporu v průběhu studia.

ANOTACE

Racemická 2-acetamido-2,3,3-trimethylbutanová kyselina byla připravena z pinakolonu třístupňovou syntézou. Následně bylo provedeno dělení racemátu této kyseliny pomocí chininu. Byla vyvinuta metoda pro přípravu opticky čistého (*S*)-2-amino-2,3,3-trimethylbutanamidu. Všechny produkty a meziprodukty byly charakterizovány s využitím dostupných spektroskopických metod.

KLÍČOVÁ SLOVA

α -methyl-*tert*-leucin, amid, dělení racemátu, chinin

ANNOTATION

2-Acetamido-2,3,3-trimethylbutanoic acid was prepared in racemic form from pinacolone in three steps. Subsequently, the resolution of racemic mixture was performed by using of quinine. (*S*)-2-Amino-2,3,3-trimethylbutanamide was prepared in optically pure form. All new prepared compounds and the intermediates were characterized by means of spectroscopic methods.

KEYWORDS

α -methyl-*tert*-leucine, amide, resolution of racemate, quinine

Seznam zkratek:

Ac	acetyl
AcOEt	ethyl-acetát
AcOH	kyselina octová
Ac ₂ O	acetanhydrid
Boc	<i>tert</i> -butyloxykarbonyl
Boc ₂ O	di(<i>tert</i> -butyl)dikarbonát
CBz	benzyloxykarbonyl
CDI	karbonyldiimidazol
DIPEA	diisopropylethylamin
DMSO	dimethylsulfoxid
ee	enantiomerní přebytek
de	diastereoizomerní přebytek
EtOH	ethanol
<i>i</i> -PrOH	isopropylalkohol
MeOH	methanol
PPA	polyfosforečná kyselina
py	pyridin
Ph	fenyl
RT (room temperature)	laboratorní teplota
<i>t</i> -Bu	<i>tert</i> -butyl
<i>t</i> -BuOH	<i>tert</i> -butylalkohol
TEA	triethylamin
TFA	trifluoroctová kyselina
THF	tetrahydrofuran
Ts	p-toluensulfonyl

OBSAH

1. ÚVOD A TEORETICKÁ ČÁST	10
1.1 CÍLE BAKALÁŘSKÉ PRÁCE.....	10
1.2 STEREOCHEMIE	11
1.2.1 Chiralita.....	11
1.2.2 Dělení racemátu	11
1.2.3 Enantioselektivní katalýza	12
1.3 PŘÍPRAVA α,α-DISUBSTITUOVANÝCH AMINOKYSELIN.....	16
1.3.1 Příprava opticky čistého α -methyl- <i>terc</i> -leucinu.....	16
1.3.2 Příprava amidu α -methyl- <i>terc</i> -leucinu	18
1.3.3 Jiné opticky čisté deriváty α -methyl- <i>terc</i> -leucinu.....	20
1.4 L-TERC-LEUCIN.....	21
1.5 PŘÍPRAVA TERC-LEUCINU.....	21
2. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST.....	25
OBECNÉ POSTUPY	25
2.1 PŘÍPRAVA(\pm)-2-AMINO-2,3,3-TRIMETHYLBUTANNITRILU (1)	26
2.2 PŘÍPRAVA (\pm)-2-ACETAMIDO-2,3,3-TRIMETHYLBUTANNITRILU (2).....	26
2.3 PŘÍPRAVA (\pm)-2-ACETAMIDO-2,3,3-TRIMETHYLBUTANOVÉ KYSELINY (3)	27
2.4 PŘÍPRAVA SOLI (-)-CHININU A 2-ACETAMIDO-2,3,3-TRIMETHYLBUTANOVÉ KYSELINY (4).....	28
2.5 PŘÍPRAVA (S)-(+)-2-ACETAMIDO-2,3,3-TRIMETHYLBUTANOVÉ KYSELINY(S)-(+)-(3)	29
2.6 PŘÍPRAVA (\pm)-HYDROCHLORIDU 2-AMINO-2,3,3-TRIMETHYLBUTANOVÉ KYSELINY (5)	29
2.7 PŘÍPRAVA (S)-(-)-HYDROCHLORIDU 2-AMINO-2,3,3-TRIMETHYLBUTANOVÉ KYSELINY(S)-(-)-(5)	30
2.8 PŘÍPRAVA (\pm)-4-TERC-BUTYL-4-METHYL-1,3-OXAZOLIDIN-2,5-DIONU (6).....	31
2.9 PŘÍPRAVA (\pm)-2-AMINO-2,3,3-TRIMETHYLBUTANAMIDU (7)	31
2.10 PŘÍPRAVA (S)-(-)-2-AMINO-2,3,3-TRIMETHYLBUTANAMIDU (S)-(-)-(7).....	32
2.11 PŘÍPRAVA 2-ACETAMIDO-2,3,3-TRIMETHYLBUTANAMIDU (8).....	32
2.12 PŘÍPRAVA (\pm)-2-[(TERC-BUTOXYKARBONYL)AMINO]-2,3,3-TRIMETHYLBUTANOVÉ KYSELINY(9).....	33

3. VÝSLEDKY A DISKUZE	34
3.1 ZHODNOCENÍ SYNTÉZY 2-ACETAMIDO-2,3,3-TRIMETHYLBUTANOVÉ KYSELINY (3) ...	34
3.2 DĚLENÍ RACEMICKÉ SMĚSI 2-ACETAMIDO-2,3,3-TRIMETHYLBUTANOVÉ KYSELINY (3) .	
.....	36
3.2.1 Studium dělení racemátu sloučeniny 3 pomocí chirální báze.....	36
3.2.2 Příprava 2-amino-2,3,3-trimethylbutanamidu v opticky čisté formě (7).....	40
4. ZÁVĚR	45

1. Úvod a teoretická část

1.1 Cíle bakalářské práce

Cílem této bakalářské práce bylo provedení literární rešerše týkající se přípravy neracemických funkčních derivátů α -methyl-*terc*-leucinu. Na základě poznatků vyplývajících z rešerše měla být provedena příprava α -methyl-*terc*-leucinu a jeho amidu v opticky čisté formě. Syntetizované produkty i meziproducty měly být charakterizovány pomocí dostupných fyzikálně-chemických metod.

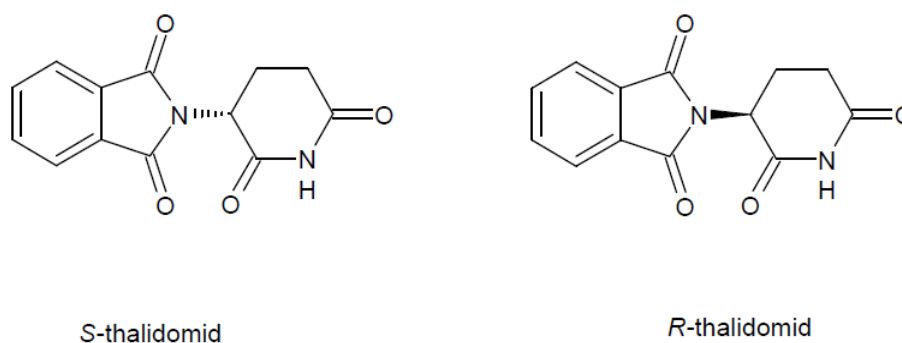
1.2 Stereochemie

Stereochemie je odvětví chemie, které se zabývá studiem molekul v trojrozměrném prostoru. Je rozhodující pro určení chemické reaktivity, fyzikálně-chemických vlastností, popř. biologické aktivity.¹

1.2.1 Chiralita

Jako chirální můžeme označit takový objekt, který není totožný se svým zrcadlovým obrazem, nemá střed ani rovinu symetrie. Pokud oba optické izomery mají na všech centrech chiralit opačnou konfiguraci, jedná se o enantiomery.

U většiny přírodních produktů, léků a dalšího biologického materiálu jsou často pozorovány požadované účinky pouze u jednoho z enantiomerů.² Tyto enantiomery mají stejné fyzikální vlastnosti, avšak liší se směrem stáčení roviny polarizovaného světla a zároveň také biologickou aktivitou, kdy jeden z enantiomerů může vykazovat nežádoucí účinky.³ Nejvýznamnější příklady toho, jak může změna konfigurace ovlivnit biologické účinky, nacházíme u léčiv.¹ V 60. letech minulého století byla na trh uvedena chemická látka thalidomid, která se prodávala pod názvem Contergan[®] a byla používána jako sedativum a hypnotikum pro těhotné ženy. Z obou enantiomerů však pouze (*R*)-izomer působí jako neškodné hypnotikum, zatímco (*S*)-izomer je silný teratogen (Obr.1).⁴



Obrázek 1

1.2.2 Dělení racemátu

Sloučeniny, které vznikají z achirálních sloučenin, jsou vždy racemické, přičemž jednotlivé enantiomery lze získat dělením racemátu. Na rozdíl od racemizace není rezoluce termodynamicky výhodný proces, a proto za normálních podmínek spontánně neprobíhá.²

Způsoby dělení racemátu:

1. Dělení racemátu přes diastereoizomerní směs

Jedná se o reakci racemátu s vhodnou opticky čistou látkou obvykle za vzniku soli. Vzniklá směs těchto diastereoizomerů se poté dělí na základě rozdílných fyzikálně-chemických vlastností. V závěrečné fázi tohoto dělení bývá proveden acidobazický rozklad soli za vzniku jednotlivých enantiomerů.

2. Biochemické metody

Při biochemickém způsobu dělení racemické směsi se jako katalyzátory používají mikroorganismy nebo enzymy. Jednotlivé enantiomery jsou rozděleny na principu jejich rozdílné reaktivity, kdy jeden enantiomer s daným katalyzátorem interaguje, druhý však nikoliv. Nalezení vhodného biokatalyzátoru je často časově náročný proces. Pokud je toto hledání úspěšné, je tento způsob dělení racemátu velice účinný.⁵

3. Dělení separačními metodami

Pro oddělení enantiomerů na analytické úrovni existuje široká škála metod založených na principu chromatografie. Do této skupiny můžeme zařadit vysokoúčinnou kapalinovou chromatografii (HPLC), plynovou chromatografii (GC), chromatografii na tenké vrstvě (TLC), ale také kapilární elektroforézu (CE).⁶

Současný příklon k používání syntetických chirálních léčiv ve formě opticky čistých enantiomerů spolu se stále přísnějšími požadavky na čistotu léčiv klade stále větší nároky na kontrolu enantiomerní čistoty. Klasické polarimetrické metody již tyto požadavky nesplňují, i přesto však lze polarimetrii považovat za univerzální jednoduchou metodu měření optické čistoty. Je však oproti moderním analytickým metodám málo selektivní a často nedostatečně citlivá.⁷

1.2.3 Enantioselektivní katalýza

Jedním ze způsobů, jak lze získat opticky čisté enantiomery, je asymetrická syntéza. Jejím principem je použití velmi účinných enantioselektivních katalyzátorů. Součástí těchto katalyzátorů je velmi často ion přechodného kovu, který je koordinován k chirálnímu ligandu.

V této oblasti organické chemie byl v posledních několika letech zaznamenán velký pokrok. Jsou vyvíjeny a syntetizovány nové enantioselektivní katalyzátory, které jsou stále účinnější a zároveň levnější. Tyto sloučeniny jsou často více stabilní než enzymy nebo jiné bioorganické katalyzátory.⁸ Další významnou skupinou enantioselektivních katalyzátorů jsou

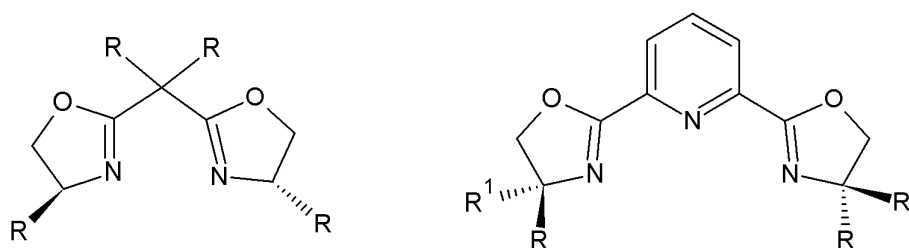
chirální organické sloučeniny, které ve své struktuře neobsahují atom kovu. Pro tyto sloučeniny se používá termín „organokatalyzátory“. Mezi nejvýznamnější skupiny organokatalyzátorů patří deriváty prolinu, imidazolidinonů nebo substituované thiomocoviny.⁹⁻¹⁰

Mezi nejúčinnější a v současnosti nejvíce používané enantioselektivní katalyzátory pro asymetrickou syntézu lze zařadit deriváty oxazolinů.

Pro syntézu chirálních derivátů oxazolinu jsou klíčovou výchozí sloučeninou chirální 2-aminoalkoholy, které jsou snadno dostupné redukcí 2-aminokyselin. Syntéza těchto oxazolinů může být provedena několika způsoby. V literatuře jsou nejvíce popsány tyto:

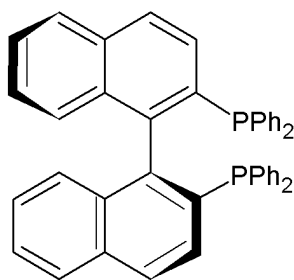
- kondenzace funkčních derivátů karboxylových kyselin (nitrily, estery) s opticky čistými 2-aminoalkoholy.
- kondenzace 2-aminoalkoholů s imidoestery, tato reakce probíhá za kyselé katalýzy a mírných podmínek.
- příprava *N*-acylovaných 2-aminoalkoholů, aktivace hydroxyskupiny a následná cyklizace v bazickém prostředí.¹¹

Jedny z nejběžnějších typů oxazolinových chirálních ligandů obsažených v komplexech využívaných pro asymetrickou syntézu jsou C_2 chirální bis-oxazoliny. Tyto ligandy mají dva oxazolinové kruhy. Mezi další deriváty oxazolinů hojně využívané v asymetrické syntéze můžeme zařadit deriváty pyridin-2,6-bis(oxazolinu) (Obr. 2).¹²



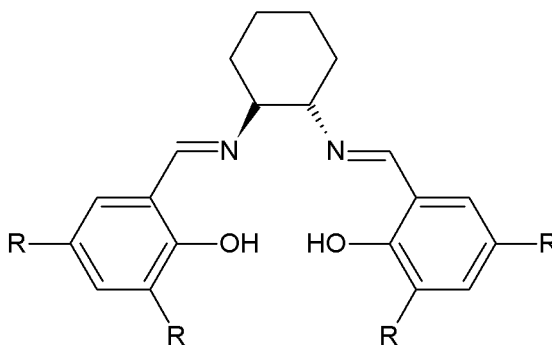
Obrázek 2

Dalšími významnými představiteli enantioselektivních katalyzátorů jsou koordinační sloučeniny obsahující jako ligand deriváty binaftalenu. Jeden z hlavních představitelů této skupiny je 2,2'-bis(difenylfosfino)-1,1'-binaftyl (BINAP), který se vyznačuje C_2 symetrií a vytvářením komplexů s přechodnými kovy, např. rutheniem, rhodiem, či palladiem (Obr. 3).



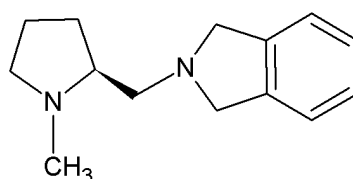
Obrázek 3

Velké množství chirálních ligandů je odvozeno od chirálních 1,2-diaminů. Mezi tento typ katalyzátorů můžeme zařadit například sloučeniny zvané „SALEN“, jejichž název vznikl spojením salicylaldehydu a ethylendiaminu, z nichž je možné ho připravit. Jedná se o dnes již běžně komerčně dostupnou sloučeninu (Obr. 4).



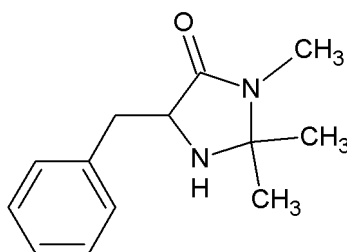
Obrázek 4

Typickým představitelem organokatalyzátorů jsou deriváty prolinu. Prolin je přírodní aminokyselina, jejíž obě enantiomerní formy jsou běžně dostupné. Je v současné době jedním z nejúčinnějších katalyzátorů pro „enaminovou“ aktivaci. Ta spočívá v reverzibilní kondenzaci katalyzátoru s aldehydem, či ketonem, kdy dochází ke vzniku iminia. Ten podléhá tautomerii za vzniku prochirálního enamínu. Adicí činidla z preferované strany vzniká produkt s velmi vysokou optickou čistotou. Modifikací prolinu byly připraveny i složitější deriváty, které mají ve srovnání s prolinem další přednosti a výhody (Obr. 5).⁹⁻¹⁰



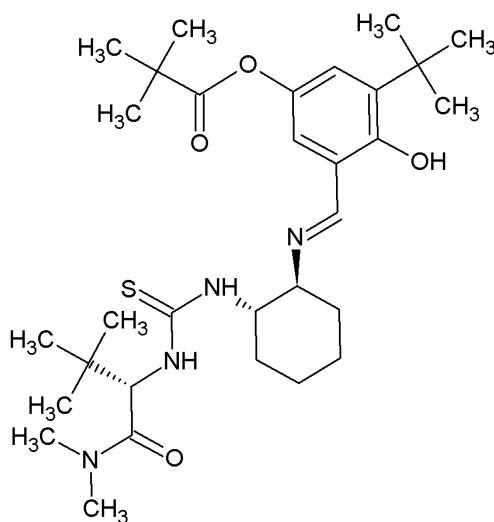
Obrázek 5

Deriváty imidazolidinonů, tzv. MacMillanovy katalyzátory, jsou rovněž významnými organokatalyzátory asymetrických reakcí. Jedním z představitelů je 1,2,2-trimethyl-4-benzylimidazolidin-5-on (Obr. 6), který je v literatuře označován jako katalyzátor „první generace“. Velmi používaný je pak 2-*tert*-butyl-1-methyl-4-benzylimidazolidin-5-on, který obsahuje dvě stereogenní centra. Tento katalyzátor je označován jako MacMillanův katalyzátor „druhé generace“. Mezi reakce katalyzované těmito ligandy patří zejména asymetrické aldolizace, cykloadice a Michaleovy adice.¹³



Obrázek 6

Deriváty thiomocoviny jsou rovněž významnými katalyzátory asymetrických reakcí. Tyto katalyzátory neobsahují žádné kovy a jsou šetrné k životnímu prostředí. To ovšem není jejich jedinou výhodou. Jedná se o velmi dobře rozpustné látky, které jsou poměrně snadno připravitelné z thiofosgenů. Používají se jako kyselé katalyzátory, které jsou schopné vytvářet s reaktanty silné vodíkové vazby. Mezi reakce katalyzované těmito ligandy můžeme zařadit Diels-Alderovy, Manichovy a Streckerovy reakce, dále také hetero-Michaelovy adice. Jeden z představitelů této skupiny je znázorněn na následujícím obrázku. Ve struktuře je patrná přítomnost amidu *L-tert*-leucinu (Obr. 7).¹⁴⁻¹⁵



Obrázek 7

1.3 Příprava α,α -disubstituovaných aminokyselin

Syntéza, farmakologie a studium fyzikálně-chemických vlastností neproteinogenních aminokyselin je významnou oblastí organické chemie a biochemie.¹⁶ Tyto α,α -disubstituované aminokyseliny mají atom vodíku v α -poloze nahrazen alkylovou (arylovou) skupinou. Tyto substituenty často ovlivňují konformační vlastnosti peptidů. Bývají využívány k zjišťování biologické aktivity, sekundární struktury peptidů a chiralit.¹⁸ Racemické i opticky čisté α,α -disubstituované aminokyseliny lze připravit řadou různých postupů. Tyto metody však nejsou univerzálně aplikovatelné pro syntézu všech typů α,α -disubstituovaných aminokyselin.

1.3.1 Příprava opticky čistého α -methyl-*terc*-leucinu

Pro přípravu opticky čistého α -methyl-*terc*-leucinu byla použita asymetrická Steckerova syntéza, která je i spolu s dělením racemátu blíže znázorněna na následujícím schématu (Schéma 1).

α -Methyl-*terc*-leucin byl syntetizován z komerčně dostupného pinakolonu (3,3-dimethyl-2-butanon). Směs pinakolonu, KCN a $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$, byla po dobu 18 hodin zahřívána ve vodném ethanolu v inertní atmosféře na 80 °C. Takto byl získán racemický hydantoin jako šedá krystalická látka s výtěžkem 87 %. Vzniklá sloučenina byla hydrolyzována v bazickém prostředí pomocí $\text{Ba}(\text{OH})_2 \cdot 8 \text{H}_2\text{O}$ (5 ekv.). Po 24 hodinách zahřívání na 125 °C byla vyizolována bílá racemická aminokyselina s 83% výtěžkem. Suspenze této aminokyseliny v pyridinu byla acetylována acetanhydridem. Reakční čas byl 15 hodin při pokojové teplotě a pak 1 hodinu při refluxu. Byla získána bílá sraženina acetaminokyseliny s výtěžkem 63 %. Kondenzace racemické acetaminokyseliny s (2*S*)-2-amino-*N,N*-dimethyl-3-fenylpropanamidem v přítomnosti DCI (1,05 ekv.) poskytla příslušný amid jako směs dvou diastereoizomerů, které byly děleny pomocí sloupcové chromatografie (SiO_2 , $\text{Et}_2\text{O}/i\text{-PrOH}$). (*R,S*)-Diastereoizomer byl získán s 41% výtěžkem a (*S,S*)-diastereoizomer s 11% výtěžkem. Posledním reakčním krokem byla hydrolýza vzniklého peptidu čerstvě připravenou 15% HCl/MeOH. Tato reakce probíhala v pyrolytické troubě, kde byla směs zahřívána po dobu 6-8 hodin. Separace produktů byla provedena pomocí chromatografie. Výtěžek tohoto kroku byl pro oba enantiomery 92%.¹⁶⁻¹⁷

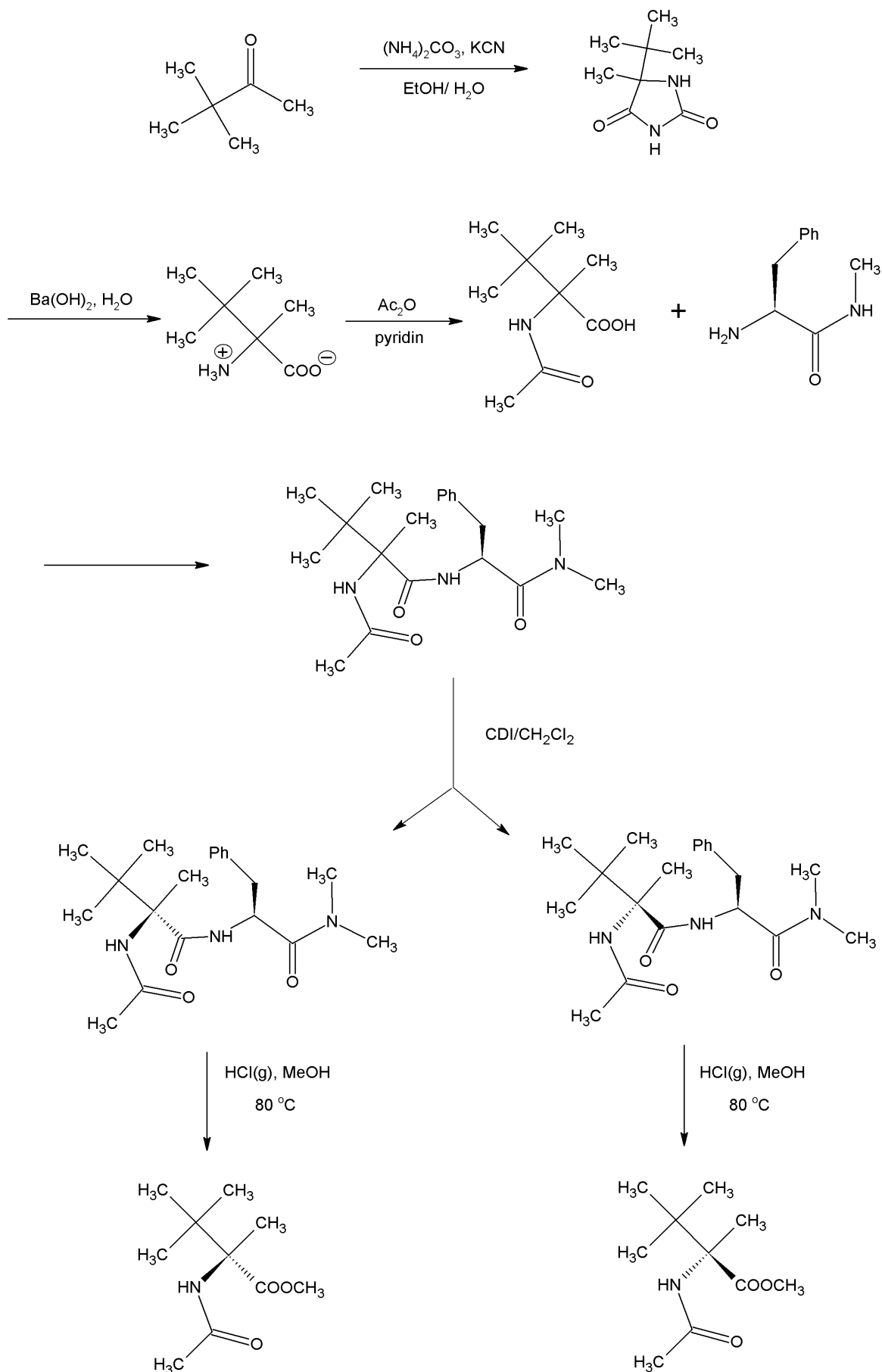


Schéma 1

Další způsob přípravy opticky čistého α -methyl-*terc*-leucinu je znázorněn na následujícím schématu (Schéma 2). Metoda spočívá v přípravě (5*R*)-5-fenyl-3-methyl-3,4-dehydromorlin-2-onu, a to kondenzací (*R*)-fenylglycinolu a ethyl-pyruvátu. Na něj je následně adováno v přítomnosti Lewisovy kyseliny organohořečnaté činidlo. Po zavedení *terc*-butylové skupiny se provede hydrogenolýza morfolinonu na palladiu za tlaku 5 atm. Získá se tak opticky čistá α -methyl-aminokyselina s vysokou optickou čistotou (98% de).¹⁹

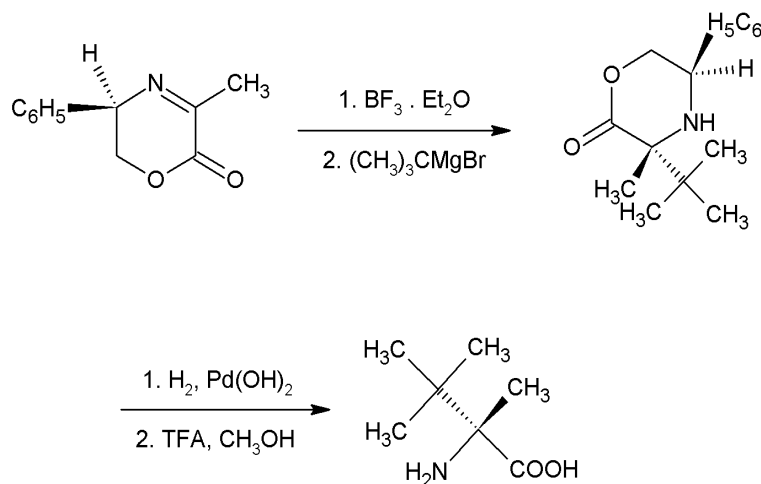


Schéma 2

1.3.2 Příprava amidu α -methyl-*terc*-leucinu

Syntéza racemického amidu α -methyl-*terc*-leucinu je v literatuře popsána velmi dobře. Jedna ze syntéz vychází z pinakolonu, ze kterého byl Streckerovou syntézou připraven příslušný nitril, který byl hydrolyzován H_2SO_4 za vzniku odpovídajícího aminoamidu (Schéma 3).²⁰

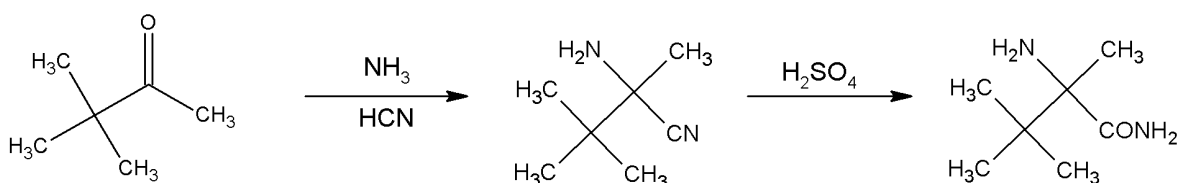


Schéma 3

Naopak syntéza příslušného opticky čistého amidu byla v literatuře popsána pouze jednou. Tato asymetrická syntéza je znázorněna na následujícím schématu (Schéma 4).

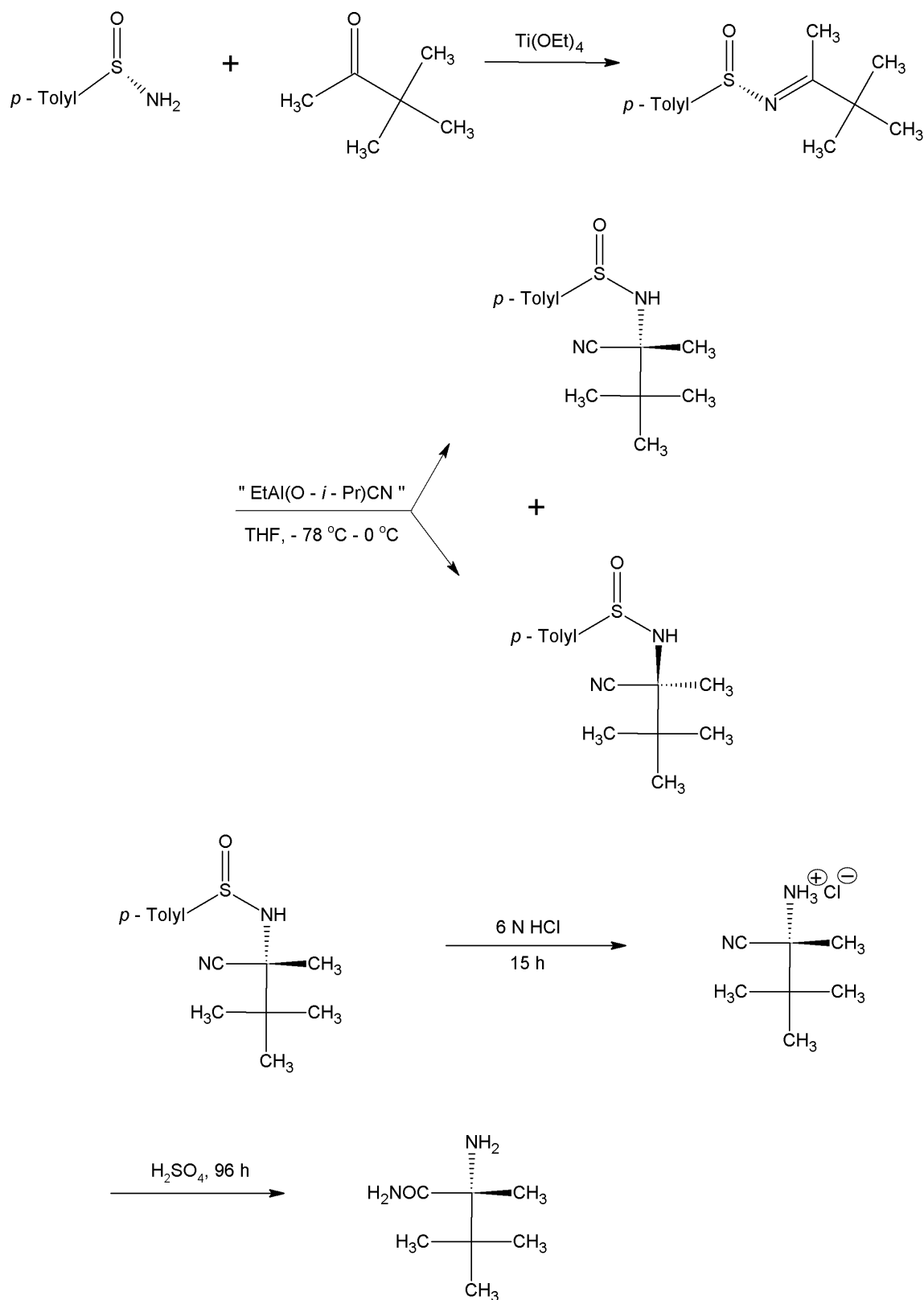


Schéma 4

V prvním kroku syntézy byl příslušný ketosulfinimin připraven kondenzací komerčně dostupného (S)-(+)-p-toluensulfinamidu s příslušným ketonem. Principem je asymetrická Streckerova syntéza, která jako zdroj kyanidového iontu využívá ethylaluminium(kyanato)isopropoxid [EtAl(O-*i*-Pr)CN]. Ten je generován přímo ve směsi přidáním *i*-PrOH k diethylaluminiumkyanidu (Et₂AlCN). Jedná se o vysoce diastereoselektivní proces, pozorovaná hodnota diastereoizomerního přebytku byla >99 %. Poté byl vzniklý *N*-sulfinyl-*tert*-butylaminonitril hydrolyzován 6 N HCl po dobu 15 hodin, kdy došlo k odstranění sulfinylové skupiny za vzniku aminonitrilu. Ten byl působením koncentrované H₂SO₄ po dobu 3 hodin při teplotě 0 °C a následně 96 hodin při laboratorní teplotě převeden na příslušný aminoamid. Pokusy o hydrolyzu tohoto aminoamidu na aminokyselinu za různých reakčních podmínek selhaly. Pravděpodobným důvodem nízké reaktivity amidické skupiny je značný sterický objem *tert*-butyl skupiny.²¹

1.3.3 Jiné opticky čisté deriváty α -methyl-*tert*-leucinu

V následujícím schématu je znázorněna syntéza (2*S*)-2-amino-2,3,3-trimethylbutanoylfluoridu a (4*S*)-2-(benzyloxy)-4-*tert*-butyl-4-methyl-1,3-oxazol-5-(4*H*)-onu. Jako zdroj fluoridu zde byl použit tetramethylfluoroformamidium-hexafluorofosfát (TFFH) v přítomnosti stechiometrického množství terciálního aminu, který působením na CBz chráněný α -methyl-*tert*-leucin poskytl uvedené produkty (Schéma 5).²²

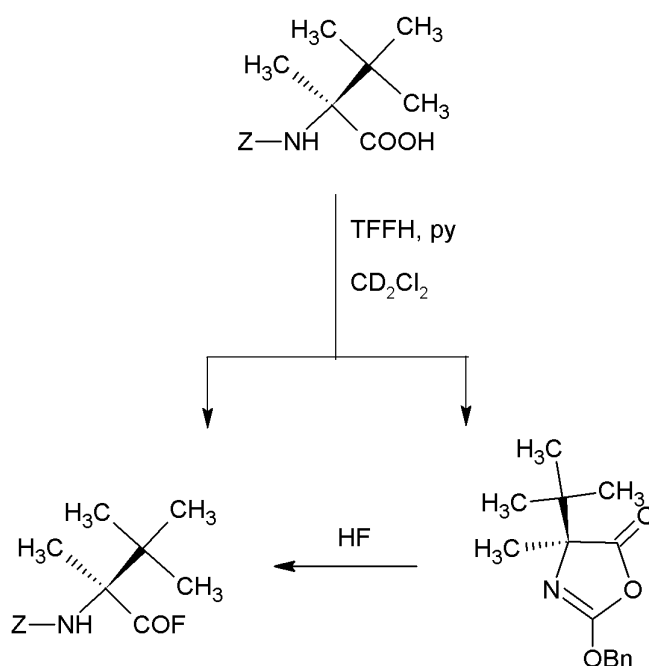
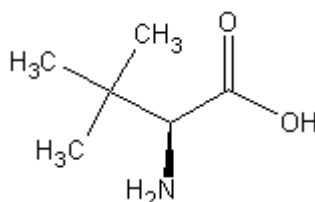


Schéma 5

1.4 L-*terc*-leucin

Jedná se o neproteinogenní α -aminokyselinu, která je běžně komerčně dostupná. L-*terc*-leucin (Obr.8) je z hlediska fyzikálně-chemických vlastností zajímavou aminokyselinou, neboť obsahuje stericky objemný postranní řetězec.¹⁹ Je například předmětem vývojových projektů farmaceutických firem zabývajících se bojem proti nádorovým buňkám nebo výzkumem inhibitorů HIV proteáz.²³



L-*terc*-leucin

Obrázek 8

Vzhledem k tomu, že struktura L-*terc*-leucinu je velmi podobná připravované 2-amino-2,3,3-trimethylbutanové kyselině, je v následujícím textu uvedeno několik metod jeho syntézy.

1.5 Příprava *terc*-leucinu

Jednou z možností, jak lze získat opticky čistý L-*terc*-leucin, je enzymatická hydrolýza racemického *N*-acetyl-*terc*-leucinu, a to s využitím bakterií *Bacillus licheniformis* (Schéma 6). Naproti tomu D-*terc*-leucin nelze připravit podobným způsobem a jeho příprava je stále ještě ekonomicky nevýhodná.²⁴⁻²⁵

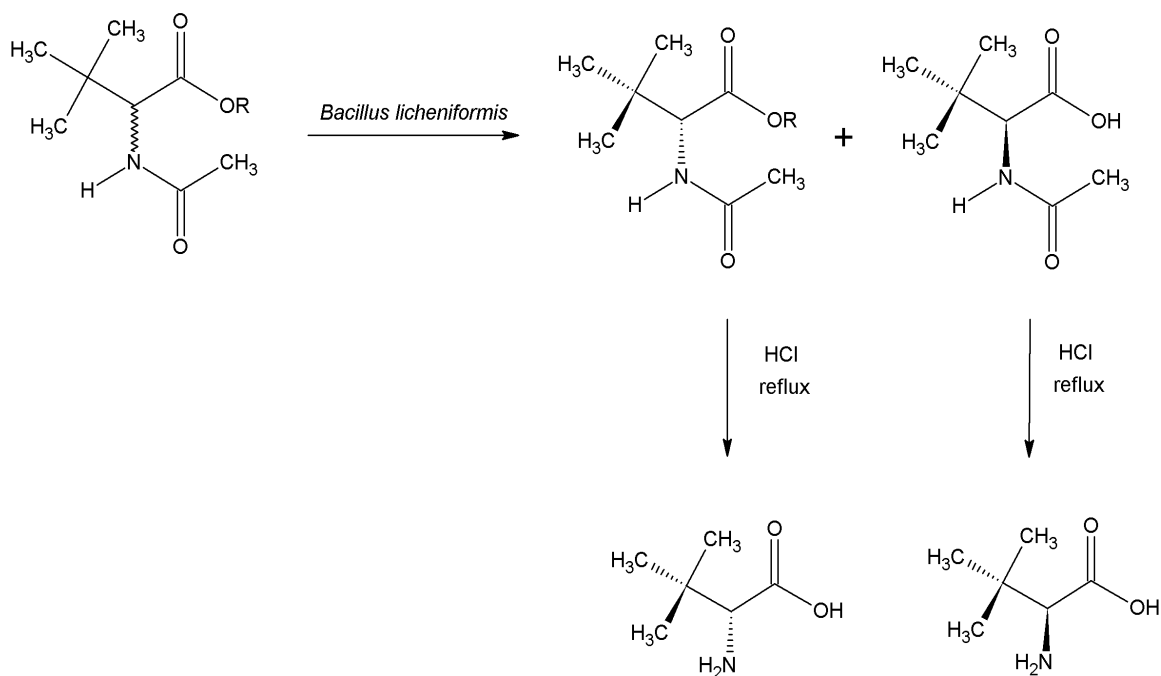


Schéma 6

Metoda pro přípravu *D-tert-leucinu* je znázorněna na následujícím schématu (Schéma 7). Nejprve se provede příprava oxazolidinového derivátu, a to adicí soli (*S*)-4-fenyloxazolidin-2-onu na 1-nitro-3,3-dimethylbut-1-en. Tato adice probíhá s vysokou diastereoselektivitou (95 % de). Následně se provede oxidace, v tomto případě byl nitroderivát oxidován dusitanem sodným (3 ekv.) a kyselinou octovou (10 ekv.) v DMSO při 40 °C po dobu 30 hodin. Birchovou redukcí oxazolidinového kruhu dojde k odchránění aminoskupiny. Reakce byla provedena Li/NH₃ v THF a *t*-BuOH při –78 °C po dobu 30 minut. Vzniklý *D-tert-leucin* je poté čištěn s využitím iontoměniče. Výtěžek této metody je 88 %.²⁶

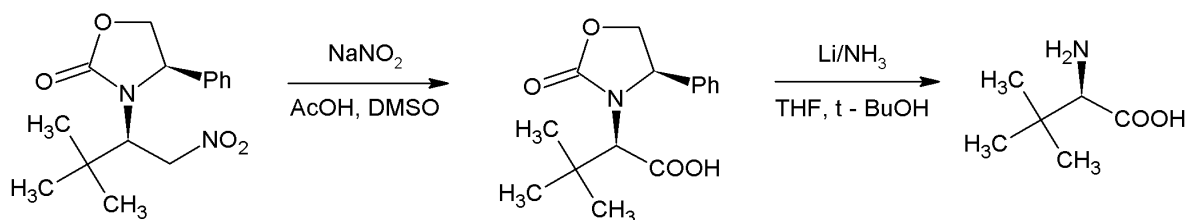


Schéma 7

Další metoda přípravy *L-terc-leucinu* vychází z (*R*)-1,1,1-trichlor-3,3-dimethylbutan-2-olu, který lze připravit redukcí 1,1,1-trichloro-3,3-dimethylbutan-2-onu katecholboranem v přítomnosti chirálního oxazaborolidinu jako enantioselektivního katalyzátoru. Tato redukce probíhá s velmi vysokou enantioselektivitou, v případě 1,1,1-trichlor-3,3-dimethylbutan-2-onu s optickým výtěžkem 98 %.²⁷ Působením NaOH (4 ekv.) a NaN₃ (2 ekv.) ve vodném roztoku 1,2-dimethoxyethanu při 23 °C po dobu 12 hodin dochází k transformaci na α -azidokyselinu. Meziproduktem této reakce je (*3S*)-3-*terc*-butyl-2,2-dichloroxiran, který podléhá nukleofilnímu ataku NaN₃ spojeného s otevřením oxiranového kruhu. Vzniklý (*2S*)-2-azido-3,3-dimethylbutanoylchlorid poté hydrolyzuje v alkalickém prostředí za vzniku příslušné (*2S*)-2-azido-3,3-dimethylbutanové kyseliny. Následnou redukcí azidové skupiny vodíkem na palladiu se získá požadovaný *L-terc-leucin* (Schéma 8).²⁸

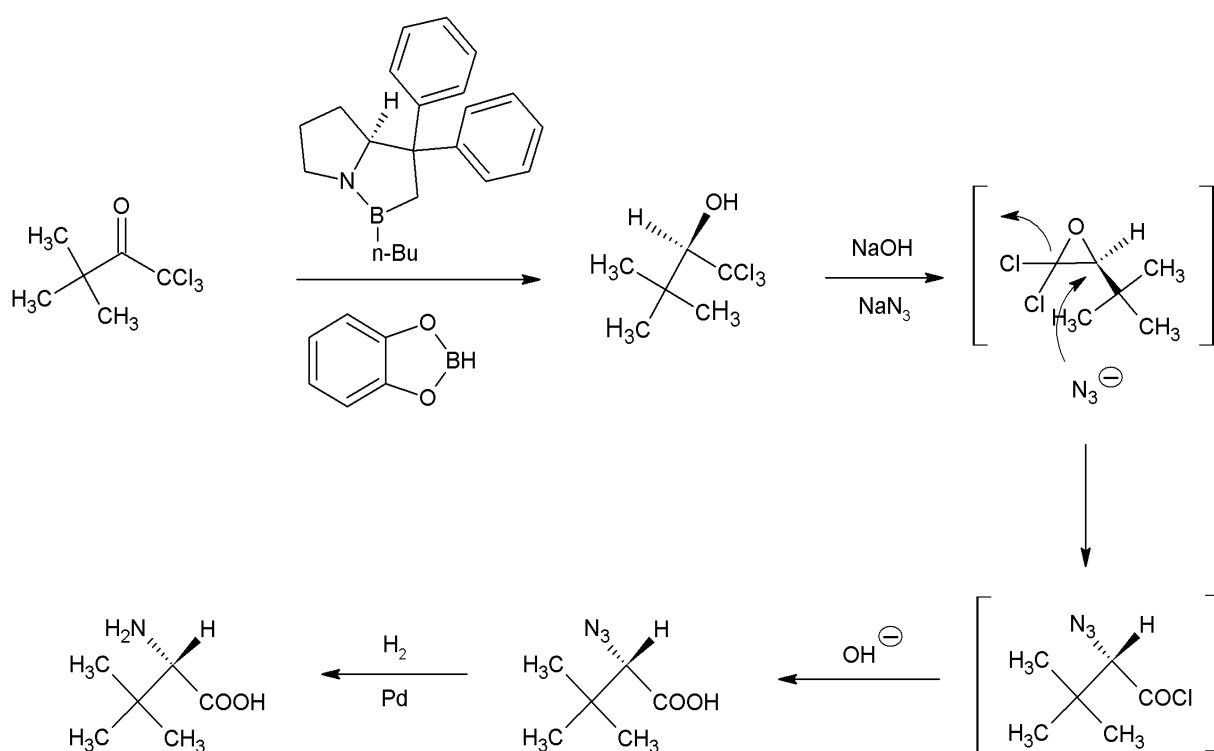


Schéma 8

Rovněž Streckerovou syntézu, která je považována za jednu z nejdůležitějších metod přípravy aminokyselin, lze použít pro přípravu *L-terc-leucinu*. Podstatou Streckerovy syntézy je adice kyanovodíku na *in situ* generovaný imin. Vzhledem k vysoké toxicitě kyanovodíku bývají hledány i jiné, méně toxické varianty. Alternativou je použití acetylkyanidu, což je komerčně dostupné činidlo. Uvedené činidlo bylo využito při asymetrické Streckerově syntéze vycházející z 2,2-dimethylpropylidenbenzylaminu. Jako enantioselektivní katalyzátor

byl použit chirální derivát thioamocoviny (Obr. 7). Asymetrická Streckerova syntéza proběhla s vysokou enantioselektivitou, produkt byl získán s optickou čistotou 98 % (Schéma 9).²⁹

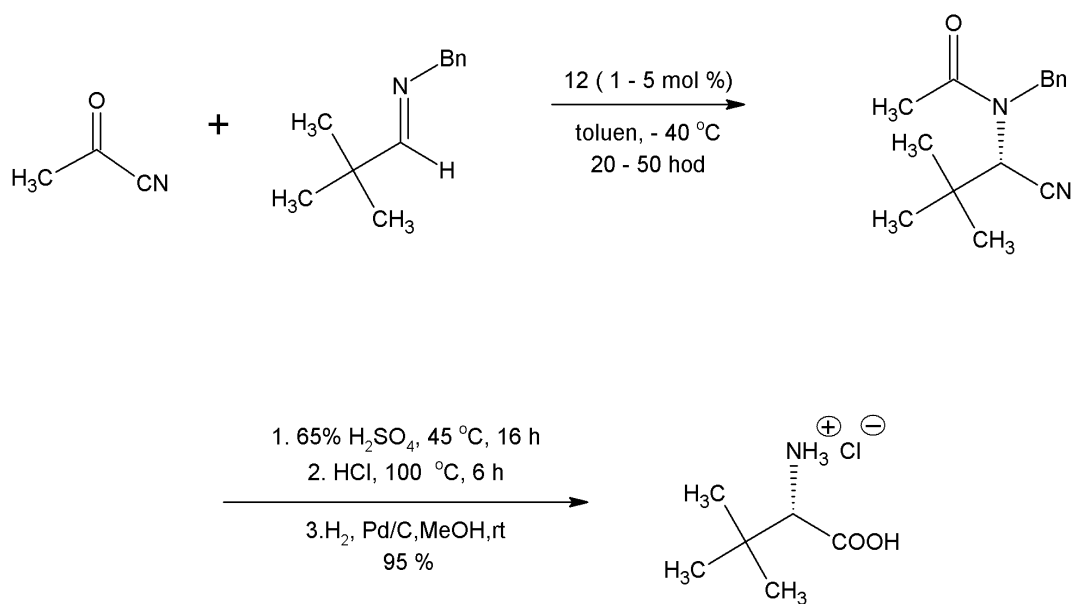


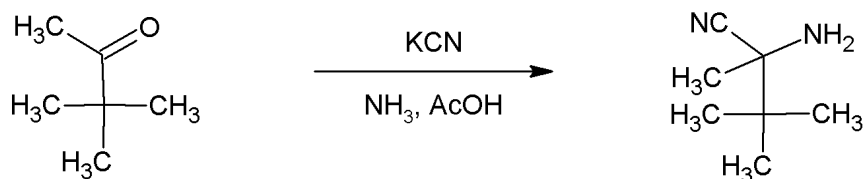
Schéma 9

2. Experimentální část

Obecné postupy

U všech reakcí bylo použito magnetické míchání, s výjimkou přípravy 2-amino-2,3,3-trimethylbutannitrilu, kde bylo využito míchání mechanické (míchačka *IKA EUROSTAR basic Labortechnik*). Rozpouštědla byla v případě potřeby sušena molekulovým sítem (4Å). Zahřívání bylo realizováno v lázni silikonového oleje nebo pomocí nástavce z kovové slitiny tvarované na kulaté destilační baňky *Heidolph DrySyn*, teplota byla nastavována a kontrolována pomocí digitálního teplotního snímače. Odpařování bylo prováděno rotační vakuovou odparkou *Heidolph Laborota 4000 efficient* s vakuovým systémem *Vacuubrand PC 510*. Měření GC/MS spekter bylo realizováno na přístroji *Agilent Technologies 6890N Network GC Systeme* s detektorem *5973 Network Mass Selective Detector*, v rozpouštědle CH_2Cl_2 . NMR spektra byla měřena na spektrometru *Bruker Avance 400* při teplotě 25 °C. Byly použity cca 5% roztoky látek. ^1H NMR spektra byla měřena při 400,13 MHz, jsou kalibrována na střed multipletu signálu rozpouštědel CDCl_3 (δ 7,26) nebo $\text{DMSO}-d_6$ (δ 2,50). Spin-spinové interakční konstanty (J) jsou uvedeny v jednotkách hertz (Hz), multiplicity signálů jsou značeny: s (singlet), bs (široký singlet), d (dublet), t (triplet), sp (septet), m (multiplet). ^{13}C NMR byla měřena při 100,62 MHz, jsou kalibrována na střed multipletu signálu rozpouštědel CDCl_3 (δ 77,23) nebo $\text{DMSO}-d_6$ (δ 39,51) a některá rozlišena metodou APT. Elementární analýza byla stanovena na přístroji *Flash 2000 CHNS Analyzer*. Optická otáčivost byla měřena na polarimetru *Perkin Elmer Model 341*, koncentrace jsou uvedeny v g/100 ml.

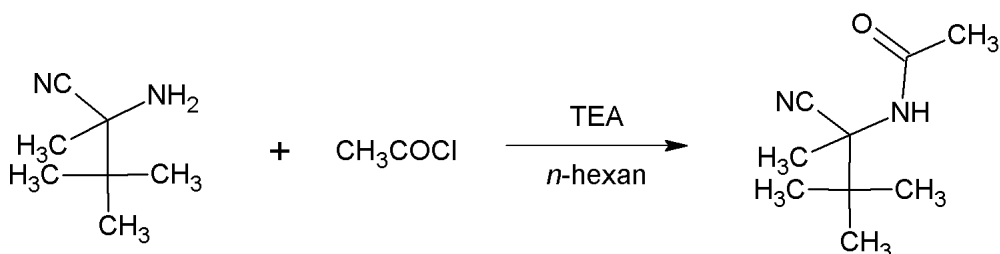
2.1 Příprava (±)-2-amino-2,3,3-trimethylbutannitrilu (1)



Do 2000 ml tříhrdlé baňky opatřené mechanickým míchadlem, teploměrem a chladičem byl předložen KCN (39 g; 0,6 mol) a 25% NH₃ (150 ml; 2 mol). Směs byla míchána do rozpuštění. Následně byla přidána směs benzyltriethylamonium-chloridu (0,2 g; 0,878 mmol) ve 25% NH₃ (300 ml; 4 mol) a 98% ledové kyselině octové (35 ml; 0,6 mol). Směs byla vytemperována na 40 °C. Poté byl přidán roztok čerstvě předestilovaného pinakolonu (50 g; 0,5 mol). Reakční směs byla míchána po dobu 3 dnů při 40 °C. Poté byla suspenze zfiltrována přes fritu. Sraženina byla promyta vodou a vysušena v exsikátoru. Vodné fáze byly smíchány s vodným chlornanem sodným, čímž došlo k převedení velmi toxického kyanidu na kyanatan. Bylo získáno 44,38 g (71 %) sloučeniny (±)-1 jako bezbarvé krystalické látky s bodem tání 132,2–135,6 °C.

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz, ppm): δ 1,67 (bs, 2H, NH₂), 1,41 (s, 3H, CH₃), 1,07 (s, 9H, 3 × CH₃). Pro C₇H₁₄N₂ (126,2) vypočteno: C 66,62; H 11,18; N 22,20; nalezeno: C 66,38; H 10,99; N 22,04.

2.2 Příprava (±)-2-acetamido-2,3,3-trimethylbutannitrilu (2)

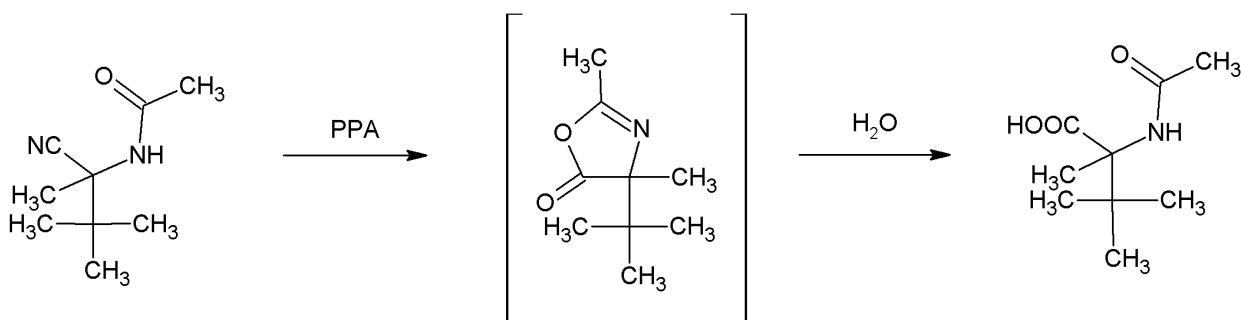


Do 500 ml baňky opatřené magnetickým míchadlem a 50 ml přikapávací nálevkou s chlorkalciovou zátkou byla předložena látka (±)-1 (18,9 g; 0,15 mol) a TEA (28 ml; 0,2 mol) v *n*-hexanu (100 ml). Směs byla ochlazena na ledové lázni a byl postupně přikapán CH₃COCl (10,7 ml; 0,15 mol) v *n*-hexanu (20 ml). Reakční směs byla míchána při laboratorní

teplotě do druhého dne. Poté byla směs zfiltrována na fritě a důkladně promyta vodou. Látka byla vysušena v exsikátoru. Bylo získáno 10,81 g (43 %) bílé krystalické látky **2** s bodem tání 248,7–251,6 °C.

^1H NMR (CDCl_3 , 400,13 MHz, ppm): δ 5,69 (bs, 1H, NH), 2,03 (s, 3H, CH_3CO), 1,67 (s, 3H, CH_3), 1,14 (s, 9H, $3 \times \text{CH}_3$). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz, ppm): δ 169,6; 119,7; 57,8; 37,6; 25,2; 23,9; 20,1. Pro $\text{C}_9\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}$ (168,2) vypočteno: C 64,21; H 9,59; N 16,65; nalezeno: C 63,99; H 9,62; N 16,79. EI-MS: m/z 112(M-*t*-Bu) (100 %), 153 (M- CH_3), 70, 57 (*t*-Bu), 43.

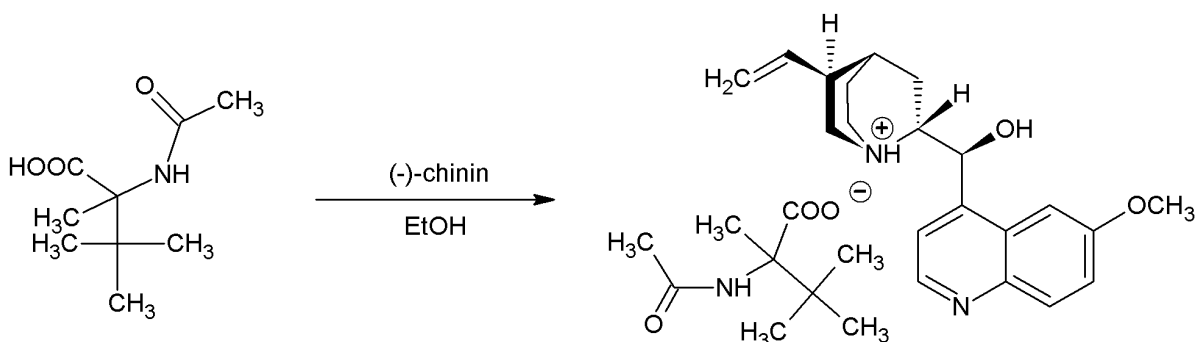
2.3 Příprava (\pm)-2-acetamido-2,3,3-trimethylbutanové kyseliny (**3**)



V 500 ml zábrusové Erlenmeyerově baňce opatřené magnetickým míchadlem byl za chlazení v ledové lázni rozpuštěn P_2O_5 (50 g; 0,35 mol) v 85% H_3PO_4 (70 ml). Poté byla ke směsi přidána látka (\pm)-**2** (10,81 g, 64,4 mmol). Směs byla míchána při laboratorní teplotě po dobu tří dnů. Vzniklý homogenní roztok byl smíchán s 1 litrem vody ve 2000 ml kádince. Směs byla míchána 30 minut při teplotě 0 °C. Vzniklá sraženina byla odsáta na fritě, promyta vodou a následně byla vysušena v exsikátoru. Bylo získáno 8,96 g (74 %) nažloutlé krystalické látky **3** s bodem tání 248,7–251,6 °C.

^1H NMR ($\text{DMSO-}d_6$, 400 MHz, ppm): δ 7,46 (bs, 1H, NH), 1,83 (s, 3H, CH_3CO), 1,33 (s, 3H, CH_3), 0,96 (s, 9H, $3 \times \text{CH}_3$). ^{13}C NMR ($\text{DMSO-}d_6$, 100 MHz, ppm): δ 173,8; 169,5; 63,9; 35,5; 25,7; 22,9; 18,3. Pro $\text{C}_9\text{H}_{17}\text{NO}_3$ (187,2) vypočteno: C 57,75; H 9,15; N 7,48; nalezeno: C 57,72; H 9,20; N 7,44.

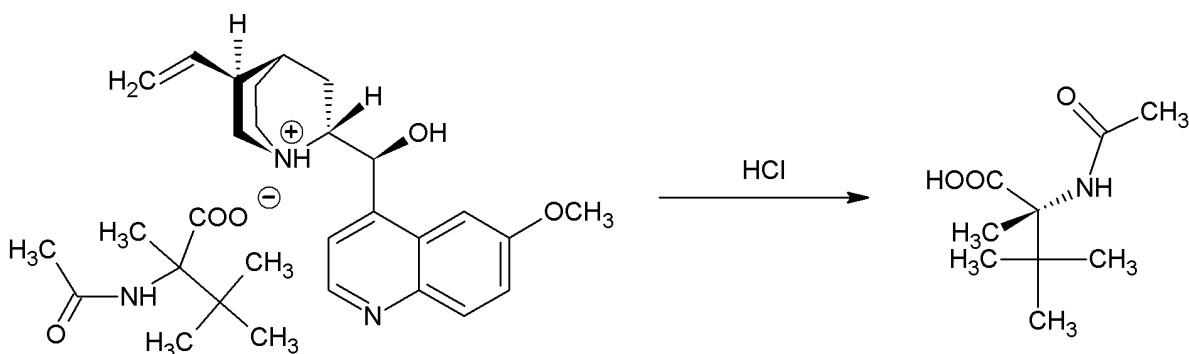
2.4 Příprava soli (-)-chininu a 2-acetamido-2,3,3-trimethylbutanové kyseliny (4)



Ve 500 ml Erlenmeyerově baňce byl připraven roztok chininu (35,7 g; 0,11 mol) v ethanolu (150 ml). Po rozpuštění byla přidána látka (\pm)-**3** (18,72 g; 0,1 mol). Směs byla míchána 10 minut při laboratorní teplotě, přičemž vznikl homogenní roztok, ten byl ponechán v naprostém klidu volně krystalizovat po dobu dvou dní. Suspenze byla zfiltrována přes fritu a promyta malým množstvím ethanolu (3×20 ml). Byla vysušena v exsikatoru. Takto připravená sůl (optická čistota cca 93 % de) byla suspendována ve 100 ml ethanolu a byla refluxována po dobu 1 dne. Po ochlazení byla zfiltrována přes fritu a sraženina byla promyta (3×20 ml) ethanolu. Bylo získáno 20,2 g (69%) bílé krystalické látky s $[\alpha]_D^{20} = -112,70^\circ$ ($c = 0,5$; CH₃OH) s bodem tání 211,3–214,0 °C.

¹H NMR (CDCl₃, 400,13 MHz, ppm): δ 8,73 (d, ³J = 4,4 Hz, 1H), 7,99 (d, ³J = 9,2 Hz, 1H), 7,66 (d, ³J = 4,4 Hz, 1H), 7,43 (d, ⁴J = 2,4 Hz, 1H), 7,34 (m, 1H), 6,47 (bs, 1H), 6,37 (bs, 1H), 5,56 (m, 1H), 4,99 (m, 2H), 4,24 (m, 1H), 3,96 (s, 3H), 3,35 (m, 2H), 3,14 (m, 2H), 2,59 (m, 1H), 2,00 (m, 3H), 1,95 (s, 3H), 1,63 (s, 3H), 1,20 (m, 1H), 1,01 (s, 9H). ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz, ppm): δ 178,7; 169,9; 158,5; 147,8; 145,1; 144,4; 138,7; 131,9; 121,9; 119,3; 116,8; 101,5; 67,2; 66,9; 59,6; 56,4; 54,5; 44,1; 38,0; 36,7; 27,3; 26,5; 25,4; 25,0; 19,7; 18,7. Pro C₂₉H₄₁N₃O₅ (511,65) vypočteno: C 68,08; H 8,08; N 8,21; nalezeno: C 68,13; H 8,01; N 8,12.

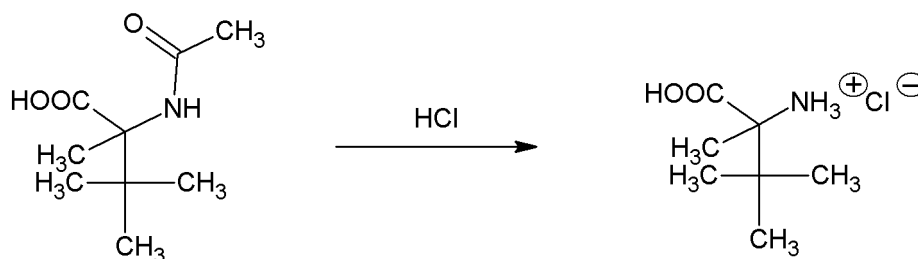
2.5 Příprava (S)-(+)-2-acetamido-2,3,3-trimethylbutanové kyseliny(S)-(+)- (3)



Ve 400 ml kádince opatřené magnetickým míchadlem byla suspendována látka **4** (17,45 g; 34,2 mmol) ve 220 ml vody a byla přidána 35 % HCl (6 ml; 51,3 mmol). Směs byla míchána při laboratorní teplotě 45 minut, poté byla ostře odsáta na fritě a důkladně promyta vodou. Získaná látka byla vysušena v exsikátoru. Bylo získáno 5,15 g (82 %) bílé krystalické látky s bodem tání 254,6–261,8 °C.

^1H NMR (DMSO- d_6 , 400,13 MHz, ppm): δ 7,50 (bs, 1H, CONH), 1,82 (s, 3H, CH₃CO), 1,32 (s, 3H, CH₃), 0,95 (s, 9H, C(CH₃)₃). ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz, ppm): 173,8; 169,5; 63,9; 35,5; 25,7; 22,9; 18,3. Pro C₉H₁₇NO₃ (187,2) vypočteno: C 57,75; H 9,15; N 7,48; nalezeno: 57,62; 8,84 ; 7,23. $[\alpha]_D^{20} = 32,42^\circ$ ($c = 0,5$; CH₃OH).

2.6 Příprava (±)-hydrochloridu 2-amino-2,3,3-trimethylbutanové kyseliny (5)

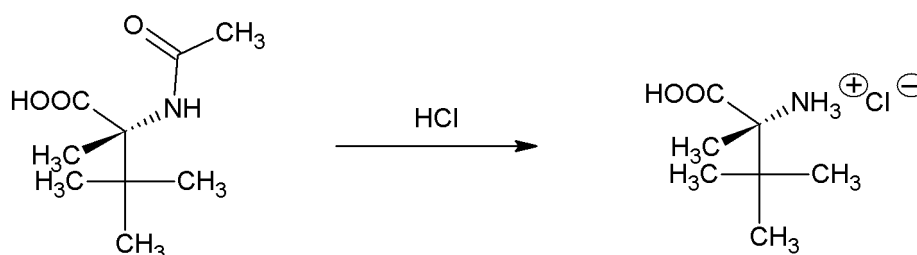


Do 100 ml baňky opatřené magnetickým míchadlem byla předložena látka **3** (3,76 g, 0,02 mol) a 35 % HCl (30 ml; 0,34 mol). Směs byla zahřívána na 90 °C pod zpětným chladičem po dobu 24 hodin. Následně byla za sníženého tlaku oddestilována HCl s použitím

Mi-So nástavce. Destilace byla dokončena na vakuové odparce. Po odpaření byl ke zbytku přidán diethylether a vzniklá suspenze byla zfiltrována přes fritu. Bylo získáno 3,15 g (86 %) bílé krystalické látky **5** s bodem tání 319,3–322,6 °C.

^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz, ppm): δ 8,17 (bs, 3H, NH_3), 1,37 (s, 3H, CH_3), 0,98 (s, 9H, $3 \times \text{CH}_3$). ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz, ppm): δ 172,5; 65,5; 35,7; 25,7; 18,3. Pro $\text{C}_7\text{H}_{16}\text{ClNO}_2$ (181,66) vypočteno: C 46,08; H 8,87; Cl 19,52; N 7,71; nalezeno: C 46,22; H 8,93; Cl 19,31; N 7,68.

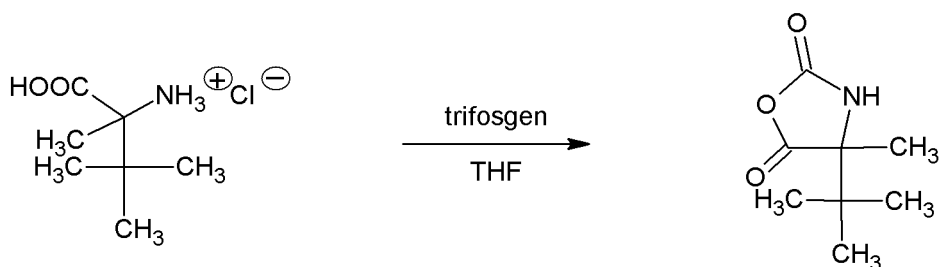
2.7 Příprava (S)-(-)-hydrochloridu 2-amino-2,3,3-trimethylbutanové kyseliny(S)-(-)-(5)



Příprava látky **5** byla provedena podle postupu **2.7**. Byla získána bílá krystalická látka s 98% výtěžkem a s bodem tání 328,4–330,7 °C

^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz, ppm): δ 8,15 (bs, 3H, NH_3), 1,35 (s, 3H, CH_3), 0,97 (s, 9H, $3 \times \text{CH}_3$). ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz, ppm): δ 172,5; 65,5; 35,7; 25,6; 18,2.

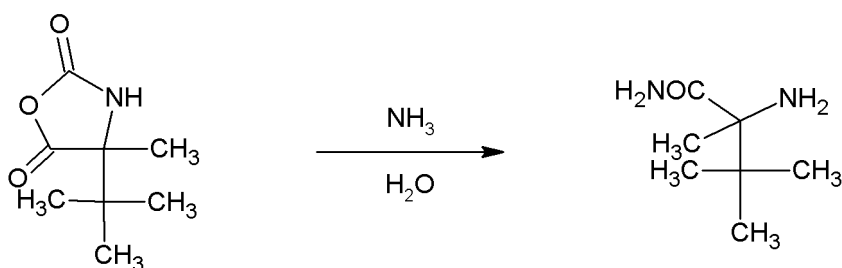
$[\alpha]_D^{20} = -12,44^\circ$ ($c = 0,5$; CH_3OH).

2.8 Příprava (±)-4-*tert*-butyl-4-methyl-1,3-oxazolidin-2,5-dionu (6)

Do 50 ml baňky opatřené magnetickým míchadlem byl předložen trifosgen (1,37 g; 4,62 mmol), ke kterému byl přidán suchý THF (10 ml). Ke vzniklému homogennímu roztoku byla poté přidána látka **5** (1 g; 5,49 mmol). Suspenze byla zahřívána na 50 °C pod zpětným chladičem po dobu 2 hodin, přičemž vznikl homogenní roztok. Rozpouštědlo bylo odpařeno k suchu. Bylo získáno 0,92 g (67 %) bílé krystalické látky **6**.

^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz, ppm): δ 5,86 (bs, 1H, NH), 1,54 (s, 3H, CH_3), 1,07 (s, 9H, $3 \times \text{CH}_3$).

2.9 Příprava (±)-2-amino-2,3,3-trimethylbutanamidu (7)

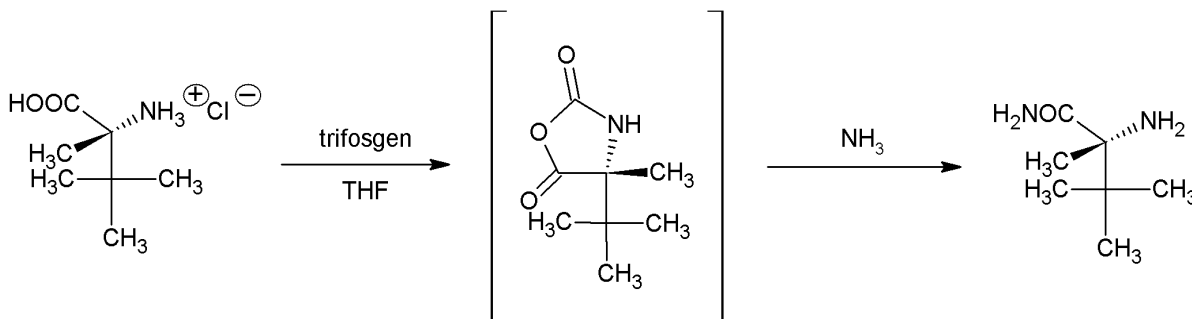


V 50 ml baňce opatřené magnetickým míchadlem byla látka **6** suspendována v 25% roztoku NH_3 (20 ml) a tato směs byla míchána 4 dny při laboratorní teplotě. Poté byla homogenní směs převedena do 100 ml děličky a extrahována CH_2Cl_2 (4×25 ml). Rozpouštědlo bylo odpařeno na vakuové odparce. Následně byla provedena krystalizace z cyklohexanu. Vzniklá bílá krystalická látka byla vysušena v exsikátoru. Bylo získáno 0,70 g (88 %) bílé krystalické látky **7** s bodem tání 181,6–183,1 °C.

^1H NMR (CDCl_3 , 400,13 MHz, ppm): δ 7,37 (bs, 1H, CONH_2), 5,41 (bs, 1H, CONH_2), 1,36 (bs, 2H, NH_2), 1,32 (s, 3H, CH_3), 1,04 (s, 9H, $3 \times \text{CH}_3$). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz, ppm):

δ 179,8; 62,5; 51,8; 36,5; 25,9; 25,7; 23,5; 21,5. Pro $C_7H_{16}N_2O$ (144,2) vypočteno: C 58,30; H 11,18; N 19,43; nalezeno: C 57,95; H 11,03; N 19,00; EI-MS: m/z 100 ($M-\text{CONH}_2$) (100 %), 87 ($M-t\text{-Bu}$), 83, 70, 55.

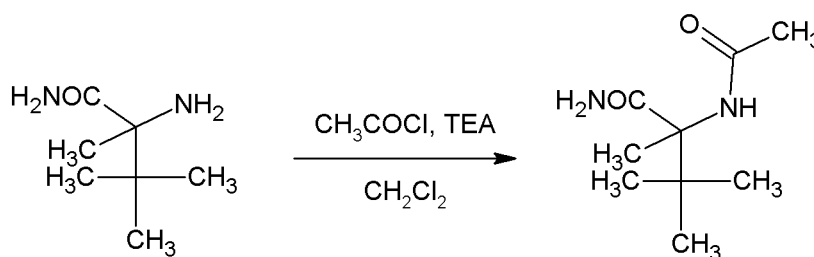
2.10 Příprava (S)-(-)-2-amino-2,3,3-trimethylbutanamidu (S)-(-)-**(7)**



Příprava látky **7** byla provedena podle postupu **2.9.** a **2.10.** Byla získána bílá krystalická látka s 58% výtěžkem a s bodem tání 188,2–190,5 °C.

^1H NMR (CDCl_3 , 400,13 MHz, ppm): δ 7,37 (bs, 1H, CONH_2), 5,47 (bs, 1H, CONH_2), 1,46 (bs, 2H, NH_2), 1,32 (s, 3H, CH_3), 1,04 (s, 9H, $3 \times \text{CH}_3$). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz, ppm): δ 167,4; 154,7; 134,3; 132,9; 120,1; 111,5; 42,6; 40,6. $[\alpha]_D^{20} = -78,43^\circ$ ($c = 0,2$; CHCl_3).

2.11 Příprava 2-acetamido-2,3,3-trimethylbutanamidu (**8**)

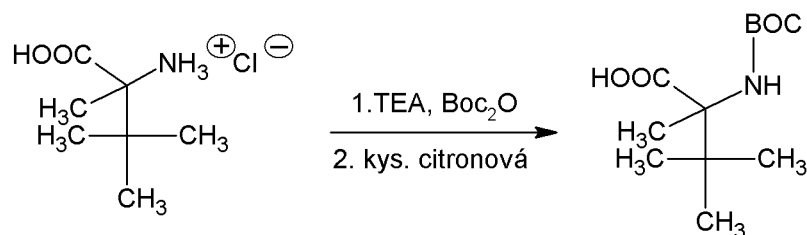


Do 250 ml baňky opatřené magnetickým míchadlem a přikapávací nálevkou s chlorkalciovou zátkou byl předložen amid (\pm)-**7** (2,88 g; 20 mmol), TEA (2,8 ml; 20 mmol) a suchý CH_2Cl_2 (25 ml). Vzniklý homogenní roztok byl ochlazen na ledové lázni a poté byl během cca 15 minut přidán roztok acetylchloridu (1,45 ml, 20 mmol) v 10 ml suchého CH_2Cl_2 . Bylo mícháno přes noc při laboratorní teplotě. Rozpouštědlo bylo odpařeno za vakua a zbytek byl rozmíchán v cca 20 ml destilované vody. Suspenze byla zfiltrována přes fritu,

promyta 3× 10 ml vody a vysušena v exsikátoru. Bylo získáno 3,01 g (82 %) bílé krystalické látky s bodem tání 204,7–207,2 °C.

^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz, ppm): δ 7,18 (bs, 1H, CONH), 6,88 (bs, 1H, CONH₂), 6,75 (bs, 1H, CONH₂), 1,85 (s, 3H, CH₃CO), 1,34 (s, 3H, CH₃), 0,94 (s, 9H, 3× CH₃). ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz, ppm): δ 174,3; 170,1; 64,7; 35,8; 25,9; 23,7; 18,2. Pro C₉H₁₈N₂O₂ (186,25) vypočteno: C 58,04; H 9,74; N 15,04; nalezeno: C 57,92; H 10,08; N 14,76.

2.12 Příprava (±)-2-[(*tert*-butoxykarbonyl)amino]-2,3,3-trimethylbutanové kyseliny(9)



Do 250 ml baňky opatřené magnetickým míchadlem byla předložena kyselina **5** (2,44; 13,44 mmol), TEA (5,62 g; 40,3 mmol) a suchý CH₂Cl₂ (25 ml). Ke vzniklé suspenzi byl přidán roztok Boc₂O (3,23 g; 14,8 mmol) v suchém CH₂Cl₂ (17 ml). Reakční směs byla míchána při laboratorní teplotě po dobu tří dnů. Rozpouštědlo bylo poté odstraněno za vakua. K destilačnímu zbytku byl přidán roztok kyseliny citronové (19,9 g; 91 mmol) ve vodě (61 ml). Vzniklá emulze byla extrahována AcOEt (3× 40 ml). Organické fáze byly spojeny a vysušeny bezvodým Na₂SO₄. Rozpouštědlo bylo odstraněno za sníženého tlaku. Bylo získáno 1,25 g (38%) krystalické látky **8** s bodem tání 164,6–171,5 °C.

^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz, ppm): δ 6,31 (bs, 1H, OCONH), 1,34 (s, 12H, CH₃ + (3× CH₃ - Boc)), 0,92 (s, 9H, 3× CH₃). ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz, ppm): δ 175,0; 155,3; 64,4; 36,0; 28,5; 25,9; 24,5; 18,7. Pro C₁₂H₂₃NO₄ (245,3) vypočteno: C 58,75; H 9,45; N 5,71; nalezeno: C 58,53; H 9,65; N 5,41

3. Výsledky a diskuze

3.1 Zhodnocení syntézy 2-acetamido-2,3,3-trimethylbutanové kyseliny (3)

V první fázi bakalářské práce jsem se zaměřila na přípravu (\pm)-2-acetamido-2,3,3-trimethylbutanové kyseliny (**3**). Výchozí sloučeninou pro její přípravu byl 3,3-dimethylbutanon (pinakolon), který jsem působením amoniaku a kyanidu draselného v pufovaném prostředí, tedy Streckerovou syntézou, převedla na 2-amino-2,3,3-trimethylbutannitril (**1**) s výtěžkem 71 %. K tomuto dobrému výtěžku přispěl fakt, že produkt je za normálních podmínek pevná látka nerozpustná ve vodě, což usnadnilo jeho separaci z reakční směsi.

Následným krokem měla být hydrolýza nitrilové skupiny na karboxylovou kyselinu. Reakci jsem provedla působením koncentrované HCl na nitril **1** při teplotě 120 °C po dobu 7 dní. Po zpracování reakční směsi jsem však zjistila, že očekávaná hydrolýza za těchto podmínek prakticky neprobíhá. Hlavním izolovaným produktem byl pinakolon, což znamená, že došlo k rozkladu 2-aminonitrilu (**1**) (retro-Streckerova syntéza).

V literatuře²⁰ je popsána parciální hydrolýza 2-amino-2,3,3-trimethylbutannitrilu (**1**) na příslušný amid **7**, který je ve srovnání s výchozí látkou stabilní a za hydrolytických podmínek rozkladu na keton nepodléhá. Zvolila jsem proto pro přípravu 2-acetamido-2,3,3-trimethylbutanové kyseliny (**5**) postup, kdy je nitril nejprve hydrolyzován na amid a následně se provede hydrolýza amidu na karboxylovou kyselinu (Schéma 10).

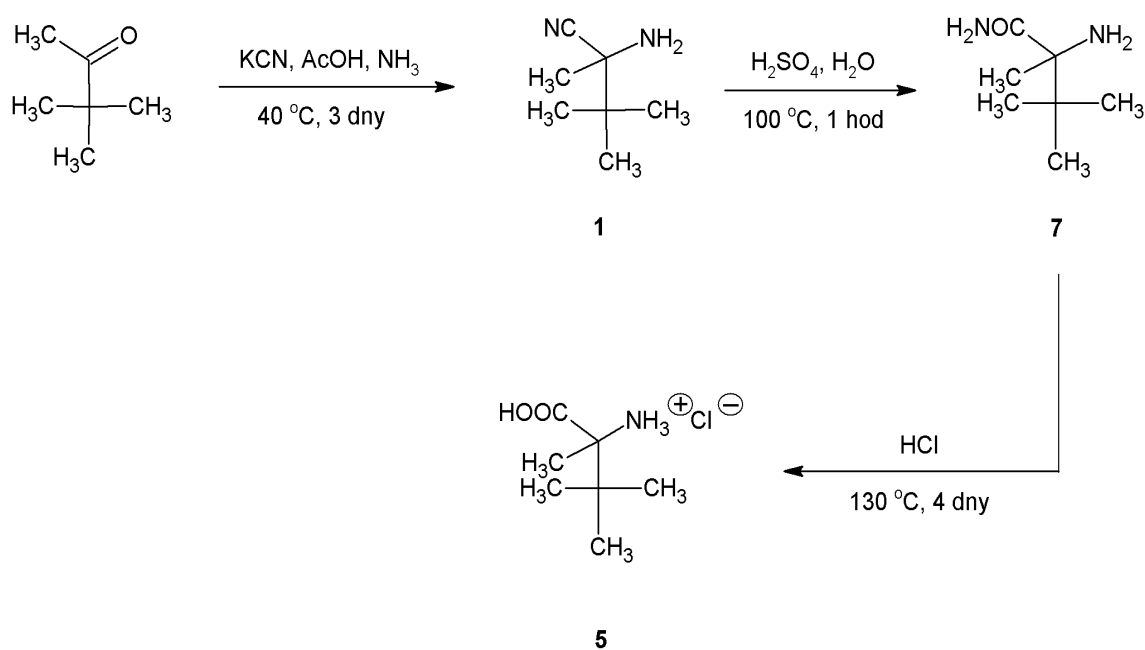


Schéma 10

Parciální hydrolyzu sloučeniny **1** na 2-amino-2,3,3-trimethylbutanamid (**7**) jsem provedla dle zmíněného literárního postupu v prostředí koncentrované kys. sírové při teplotě 100 °C po dobu 1 hodiny. Po neutralizaci jsem amid izolovala s 61% výtěžkem. Následnou hydrolyzu meziprojektu **7** jsem provedla jeho zahříváním v koncentrované HCl na 120 °C. Průběh reakce byl sledován pomocí NMR spektroskopie. Bylo zjištěno, že hydrolyza probíhá velmi pomalu, a proto byla reakční doba 4 dny. Důvodem nízké reaktivity je přítomnost objemných alkylových substituentů v α -poloze. Produkt obsahoval rovněž ekvivalentní množství chloridu amonného, který jsem zamýšlela odstranit až v následujícím kroku. Tím byla acylace 2-amino-2,3,3-trimethylbutanové kyseliny (**5**) acetanhydridem v prostředí pyridinu. Postupovala jsem podle literárního postupu¹⁶ s tím rozdílem, že byl přidán navíc jeden ekvivalent acylačního činidla a tři ekvivalenty pyridinu. Ačkoli jsem tento krok provedla opakovaně, nepodařilo se mi 2-acetamido-2,3,3-trimethylbutanovou kyselinu (**3**) připravit (výtěžek reakce $\leq 5\%$).

Pro přípravu kyseliny **3** jsem proto zvolila jinou syntetickou strategii. Nejprve jsem provedla acylaci 2-amino-2,3,3-trimethylbutannitrilu (**1**) pomocí acetylchloridu za přítomnosti triethylaminu. Jako rozpouštědlo jsem použila *n*-hexan, ve kterém jsou dobře rozpustné reaktanty, avšak produkty nikoliv. Získala jsem 2-acetamido-2,3,3-trimethylbutannitril (**2**) s uspokojivým výtěžkem 43 % (po rekrystalizaci). Tato látka byla následně cyklizována v prostředí 100% kys. fosforečné. Využila jsem tak možnost intramolekulární nukleofilní adice amidické skupiny na nitrilovou. Tato cyklizační reakce je přítomností objemných substituentů v α -poloze ve srovnání s intermolekulární adicí urychlována, neboť se uplatňuje entropický efekt.³⁰ Vznikající oxazolin-5-on (azlakton) jsem neizolovala, rovnou jsem provedla jeho hydrolyzu na požadovanou 2-acetamido-2,3,3-trimethylbutanovou kyselinu (**3**). Nespornou výhodou tohoto postupu je nejen snadné experimentální provedení, ale i vysoký výtěžek 74 % (Schéma 11).

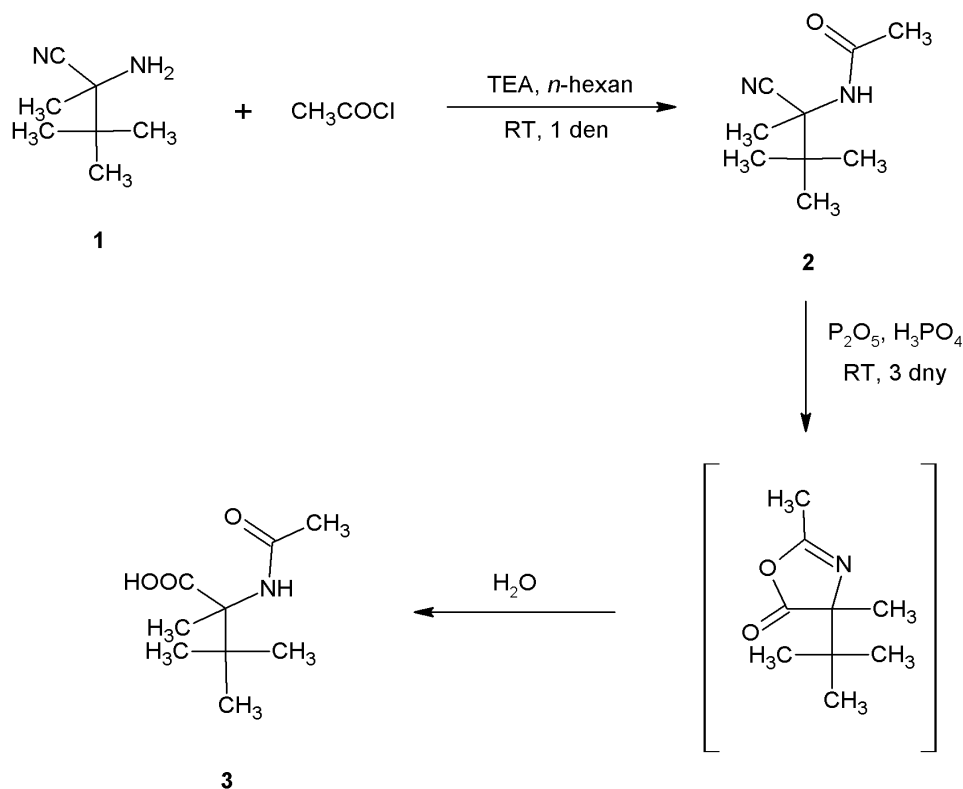


Schéma 11

3.2 Dělení racemické směsi 2-acetamido-2,3,3-trimethylbutanové kyseliny

(3)

Princip dělení racemické směsi 2-acetamido-2,3,3-trimethylbutanové kyseliny (3) spočíval ve využití kyselého charakteru této sloučeniny. Předpokládala jsem, že působením jednoho ekvivalentu chirální báze vznikne příslušná sůl jako směs dvou diastereoizomerů, které budou mít rozdílné fyzikálně-chemické vlastnosti, například rozpustnost v organických rozpouštědlech. Analogickým způsobem byl nedávno velmi účinně dělen racemát 2-acetamido-3-fenyl-2-methylpropanové kyseliny pomocí alkaloidu cinchonidinu, kdy byla příslušná diastereoizomerní směs rozdělena na základě rozdílné rozpustnosti jednotlivých diastereoizomerů v ethanolu.³¹

3.2.1 Studium dělení racemátu sloučeniny 3 pomocí chirální báze

Jako chirální báze jsem použila dva přírodní alkaloidy chinolinového typu - cinchonidin a chinin, a jeden syntetický derivát - komerčně dostupný (*S*)-1-fenylethanamin. Pro vyhodnocení separačního procesu bylo nutné naleznout vhodnou metodu pro určení diastereoizomerní čistoty. Jako vhodná metoda byla použita ^1H NMR spektroskopie, neboť

všechny tři chirální báze vytvářely se sloučeninou **3** diastereoizomerní směs, která byla v NMR spektrech reprezentována dvěma sadami signálů (Obr. 10).

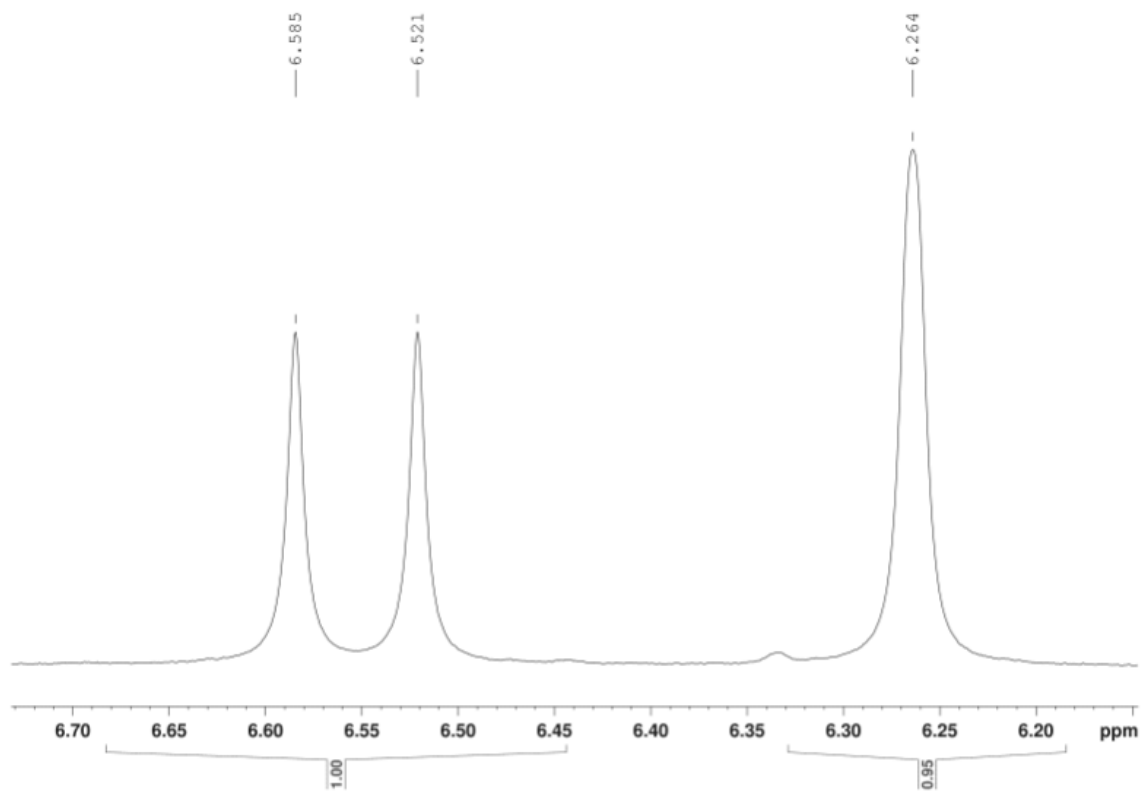
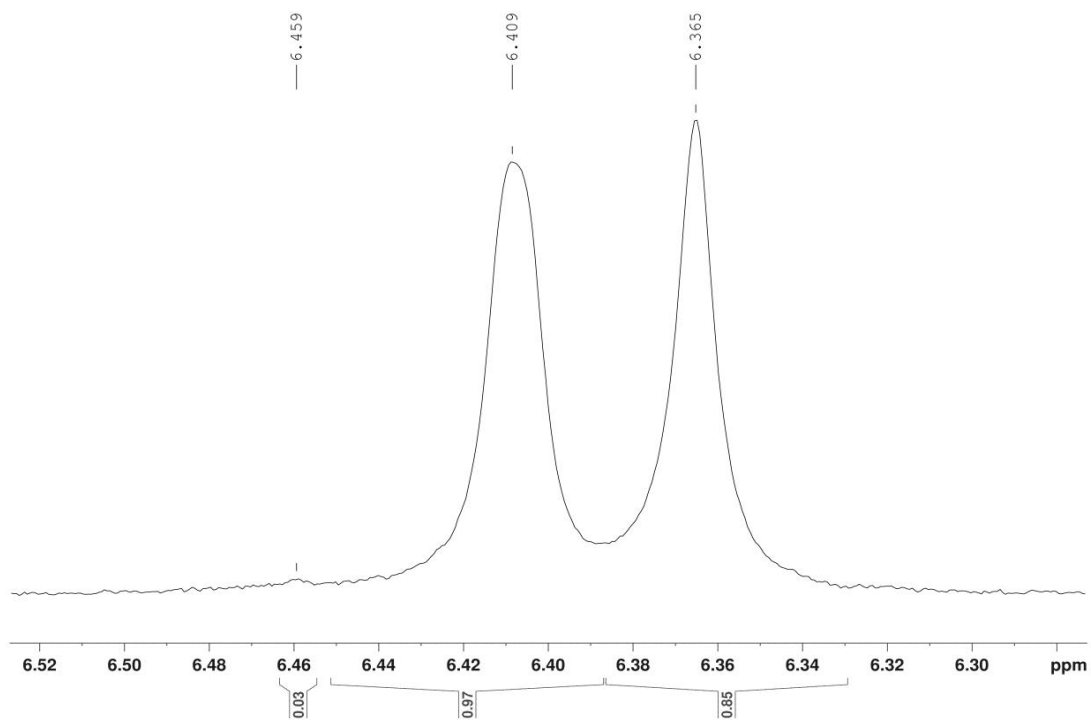
Postup v dělení racemátu spočíval v rozpuštění chirální báze (2,8 mmol) v příslušném rozpouštědle (5 ml). Následně byla přidána kyselina **3** (2,5 mmol). Mírný přebytek (1,1 ekv.) chirální báze byl použit pro kvantitativní převedení kyseliny na sůl. Vzniklý čirý roztok byl ponechán 2 dny při laboratorní teplotě. Vzniklá sraženina byla separována a promyta 2× 2 ml rozpouštědla (Frakce 1). Matečný louh byl odpařen k suchu (Frakce 2). Zastoupení jednotlivých diastereoizomerů v obou frakcích bylo stanoveno NMR spektroskopii (Obr. 10). Výtěžky a složení izolovaných frakcí je uvedeno v následující Tabulce 1.

Z hodnot uvedených v Tabulce 1 vyplývá, že nejvhodnější bází pro dělení racemátu kyseliny **3** je chinin. Již při vlastní reakci chininu a kyseliny **3** se z roztoku vylučuje sůl s velmi vysokou diastereoizomerní čistotou. Mezi zkoumanými rozpouštědly byly nalezeny jen nepatrné rozdíly ve výtěžku a diastereoizomerním poměru Frakce 1. Pro kvantitativní separaci jsem vybrala ethanol, neboť jsem z něj získala Frakci 1 s poněkud vyšší optickou čistotou.

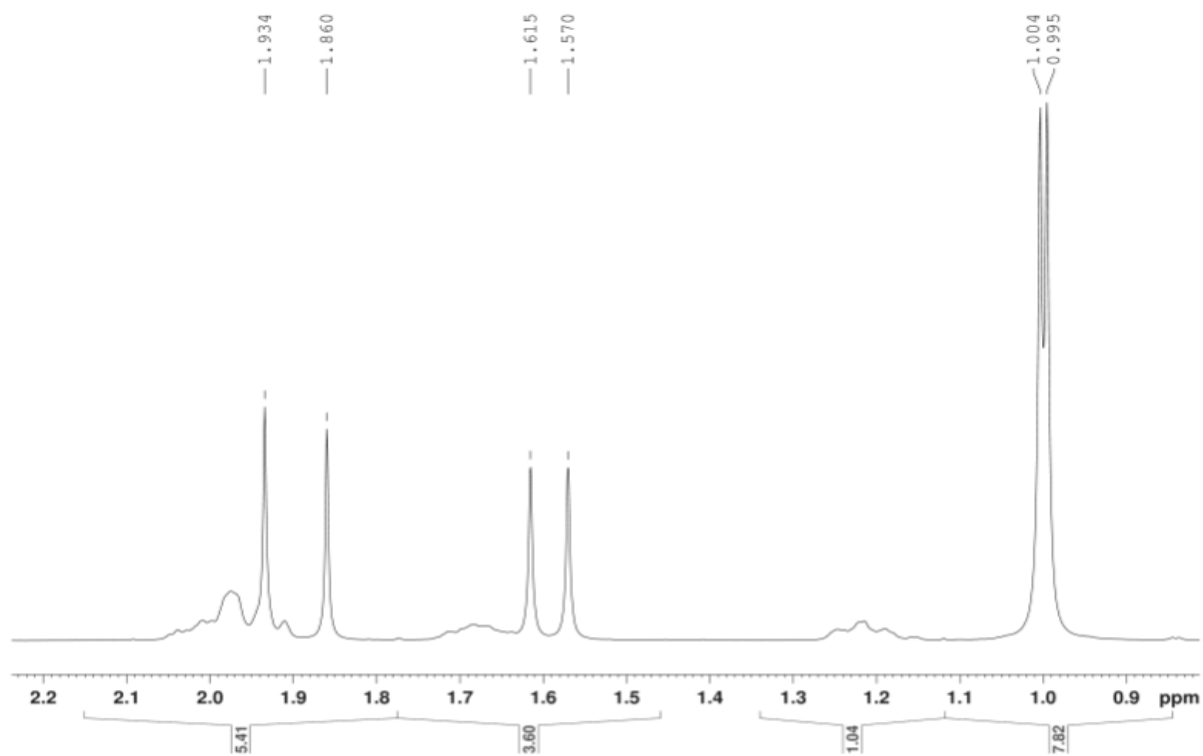
Tabulka 1

Chirální báze	Rozpouštědlo	Frakce 1		Frakce 2	
		Výtěžek	dr ^a	Výtěžek	dr ^a
cinchonidin	ethanol	34 %	60:40	66 %	46:54
(S)-1-fenylethanamin	ethanol	99 %	50:50	1 %	–
chinin	ethanol	30 %	97:3	70 %	34:66
chinin	CH ₂ Cl ₂	34 %	94:6	66 %	27:73

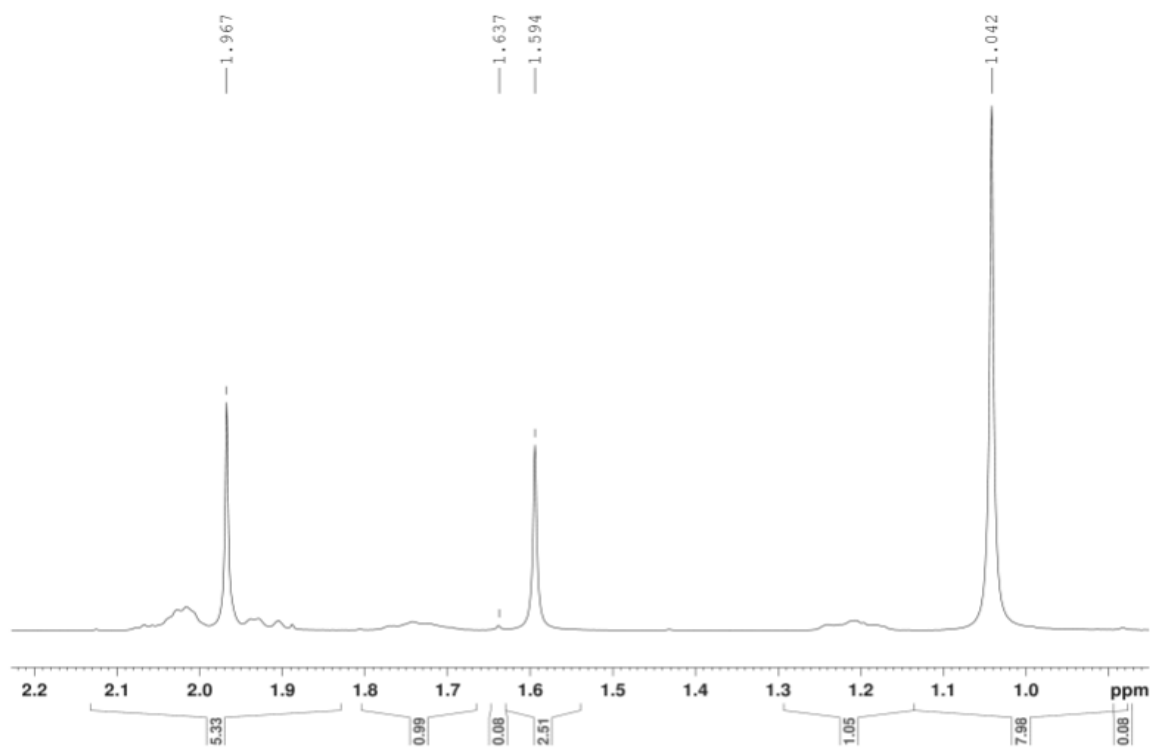
^adr – diastereoizomerní poměr

A – ^1H NMR signály amidické a amoniové skupinyB – ^1H NMR signály amidické a amoniové skupiny

A – ^1H NMR signály ethanoyl, methyl a *terc*-butylové skupiny



B – ^1H NMR signály ethanoyl, methyl a *terc*-butylové skupiny



Obr. 10 – Výřez ^1H NMR spektra soli chinin+kyselina **3**. A – racemická směs; B – Frakce 1.

Kvantitativní separaci jsem provedla s množstvím 0,1 mol kyseliny **3**. Izolovala jsem příslušnou sůl **4** s diastereoizomerní čistotou 93 % de. Zbytkový minoritní diastereoizomer jsem odstranila suspendováním soli v ethanolu a zahříváním vzniklé směsi k refluxu. Po ochlazení jsem získala sloučeninu **4** s 69% výtěžkem a dle NMR spektroskopie s prakticky 100% optickou čistotou.

Rozklad soli **4** jsem provedla působením vodného roztoku HCl, jehož objem byl zvolen tak, aby došlo k rozpuštění veškerého vznikajícího chininu-hydrochloridu (rozpuštnost 62,5 g/l 1 H₂O; 25 °C). Opticky čistá kyselina **3** je ve vodě nerozpustná, a proto jsem ji snadno separovala filtrací. Izolovaný výtěžek rozkladu byl 82 %.

3.2.2 Příprava 2-amino-2,3,3-trimethylbutanamidu v opticky čisté formě (**7**)

Pro jednotlivé syntetické postupy jsem nejprve používala výchozí látky ve formě racemické směsi.

První studovanou možností syntézy amidu **7** bylo využití derivátu **3**, což je sloučenina, která se získá po provedení rezoluce racemátu. Příprava sloučeniny **7** měla spočívat v převedení kyseliny **3** na příslušný amid **8** a následně měla být provedena selektivní hydrolyza acetamidové skupiny (Schéma 12). Očekávala jsem, že bude možné nalézt takové podmínky, při kterých bude probíhat hydrolyza pouze této amidické skupiny, neboť je ze sterických důvodů reaktivnější. Hydrolyzu jsem provedla působením roztoku HCl ve směsi s vodou (1:1) na amid kyseliny **3** při teplotě 120 °C. Reakční směs byla v průběhu reakce analyzována s využitím NMR spektroskopie.

Zjistila jsem, že hydrolyza probíhá neselektivně a vznikajícím produktem je 2-amino-2,3,3-trimethylbutanová kyselina (**5**). Z uvedeného vyplývá, že zatímco rychlost hydrolyzy 2-amino-2,3,3-trimethylbutanamidu (**7**) na kyselinu **5** probíhá velmi pomalu, a to i při vysoké teplotě (viz kap. **3.1.**), amid kyseliny **3** podléhá hydrolyze snadno již za mírných podmínek. Tento fakt lze vysvětlit účastí sousední (acetamidické) skupiny na procesu aktivace amidu pro atak vody.

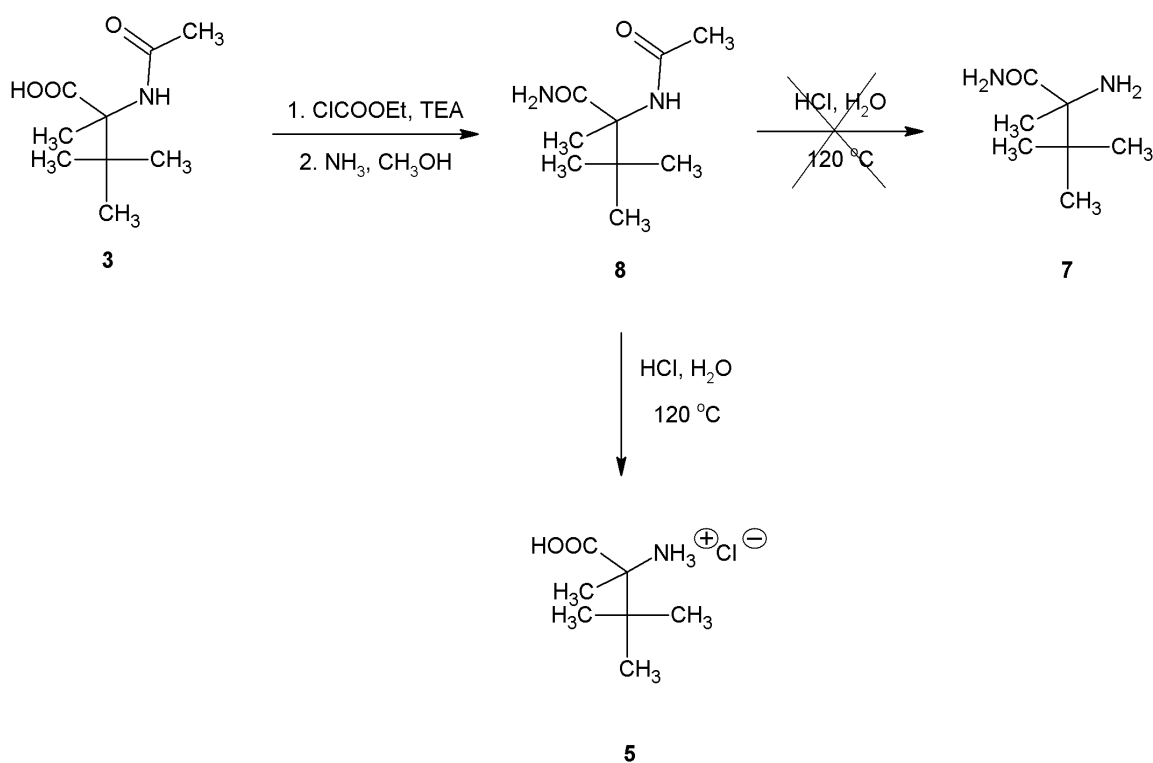


Schéma 12

Druhá studovaná možnost převedení derivátu **3** na amid **7** spočívala nejprve v hydrolyze acetamidické skupiny. U získané aminokyseliny **5** měla být ochráněna aminová skupina zavedením Boc skupiny. Po provedení aktivace karboxylové kyseliny pomocí ethylchlorformiátu měla být provedena příprava příslušného amidu. V posledním kroku měla být provedena deprotektce Boc skupiny působením trifluoroctové kyseliny (Schéma 13). Uvedený postup přípravy 2-aminoalkanamidu je analogický k postupu popsaném dříve.³²

Hydrolyzu acetamidické skupiny jsem provedla v prostředí koncentrované HCl při teplotě 90 °C. Výtěžek této reakce byl prakticky kvantitativní. Kyselinu **5** jsem izolovala ve formě hydrochloridu. Boc skupinu jsem zavedla působením běžně používaného činidla, Boc₂O. Použila jsem mírný přebytek činidla (1,1 ekv.) a triethylamin jako nenukleofilní bázi, která se účastnila acidobazické reakce s výchozím substrátem. *N*-Boc chráněný derivát **9** jsem izolovala s nízkým výtěžkem (38%). Důvodem je pravděpodobně nízká reaktivita aminové skupiny způsobená přítomností objemných alkylskupin na sousedním atomu uhlíku. Klíčovým krokem byla přeměna karboxylové funkční skupiny na příslušný amid. Po aktivaci ethylchlorformiátem jsem na vzniklý meziprodukt působila 7M roztokem amoniaku v methanolu. Ačkoli byl reakční čas ve srovnání s původním předpisem³² prodloužen ze 4 dní při laboratorní teplotě na 7 dní, amidický produkt nevznikal. Pravděpodobným důvodem je opět přítomnost objemných alkylových skupin v α -poloze

kyseliny, které neumožňují vznik tetrahedrálního intermediátu. Lze proto konstatovat, že syntetický postup vyjádřený schématem 13 je pro přípravu amidu **7** nevhodný.

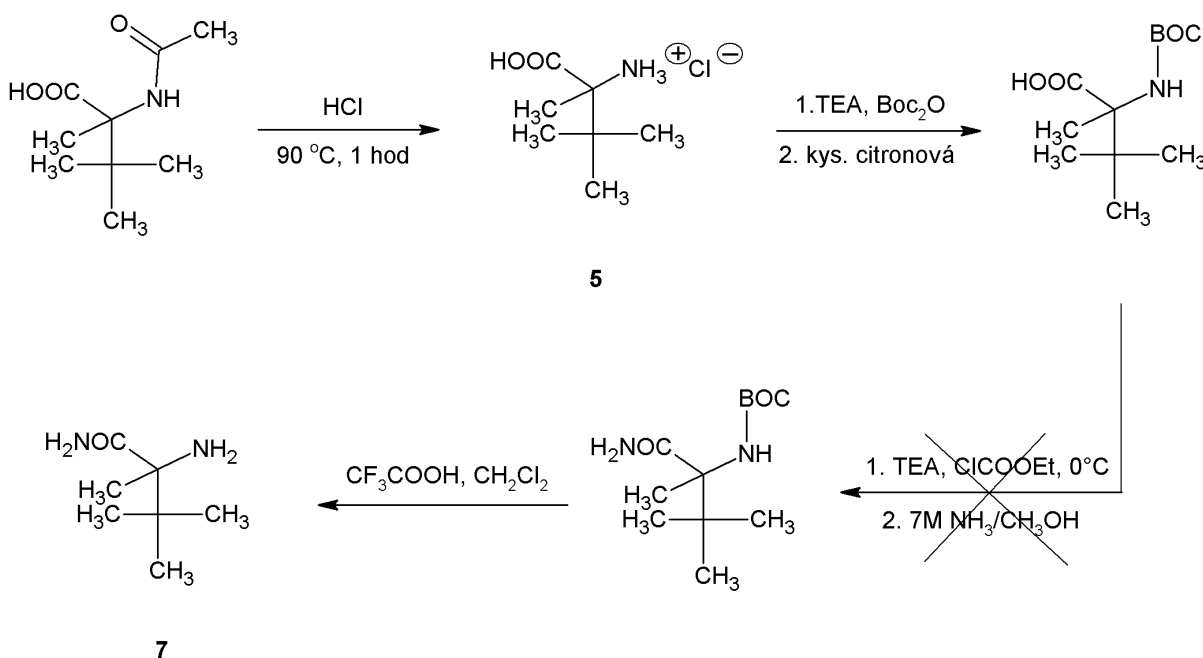


Schéma 13

Třetí syntetická strategie pro přípravu amidu **7** z derivátu **3** zohledňovala závěry získané z předchozích pokusů. Mezi důležité poznatky získané z provedených studií patří:

1. Intramolekulární nukleofilní adice na karboxylovou skupinu derivátu **3** probíhá výrazně snadněji než intermolekulární varianta.
2. Reaktivita karboxylové funkční skupiny obsahující v α -poloze objemné substituenty je vyšší, pokud je tato skupina součástí cyklického systému než v případě acyklické struktury.

Na základě těchto pozorování jsem zvolila postup, kdy byl nejprve derivát **3** hydrolyzován za výše uvedených podmínek na 2-aminokyselinu **5**. Z látky **5** jsem následně připravila *N*-karboxyanhydrid **6**, a to působením přebytku trifosgenu v suchém THF. Reakce proběhla díky vysoké reaktivitě činidla snadno, reakční doba byla 1 hodina při 45 °C. Průběh reakce bylo možno vizuálně sledovat, neboť docházelo k homogenizaci reakční směsi. Produkt jsem izolovala odpařením rozpouštědla za normálního tlaku, přičemž došlo zároveň k rozložení přebytku činidla na těkavý fosgen. Čistota produktu **6** byla ověřena ^1H NMR spektroskopii a ihned byl použit do následujícího kroku.

N-Karboxyanhydrid **6** jsem podrobila rozkladu, a to působením 25% vodného amoniaku při laboratorní teplotě po dobu 4 dní. Vzniklý amid **7** jsem izolovala extrakcí do dichlormethanu. Získala jsem požadovaný 2-amino-2,3,3-trimethylbutanamid (**7**) s vysokým výtěžkem 88 %. Při opakování tohoto kroku jsem zjistila, že působením trifosgenu (resp. vznikajícího HCl) na THF dochází k rozkladu rozpouštědla na 1,4-dichlorbutan, který následně reaguje s amoniakem na pyrrolidin, 1,4-diaminobutan a další produkty. V tomto případě bylo nutné produkt rekrystalizovat z cyklohexanu.

Pokud jsem provedla rozklad *N*-karboxyanhydridu **6** v 7M methanolickém roztoku amoniaku, izolovala jsem produkt s 90% čistotou. Minoritním produktem pak byl příslušný methylester 2-amino-2,3,3-trimethylbutanové kyseliny, jehož separace od hlavního produktu **7** je obtížná (Schéma 14). V případě použití cca 1M roztoku amoniaku v THF k aminolýze derivátu **6** za uvedených podmínek nedocházelo. Jako nejlepší činidlo pro tento krok byl proto vyhodnocen 25% vodný roztok amoniaku.

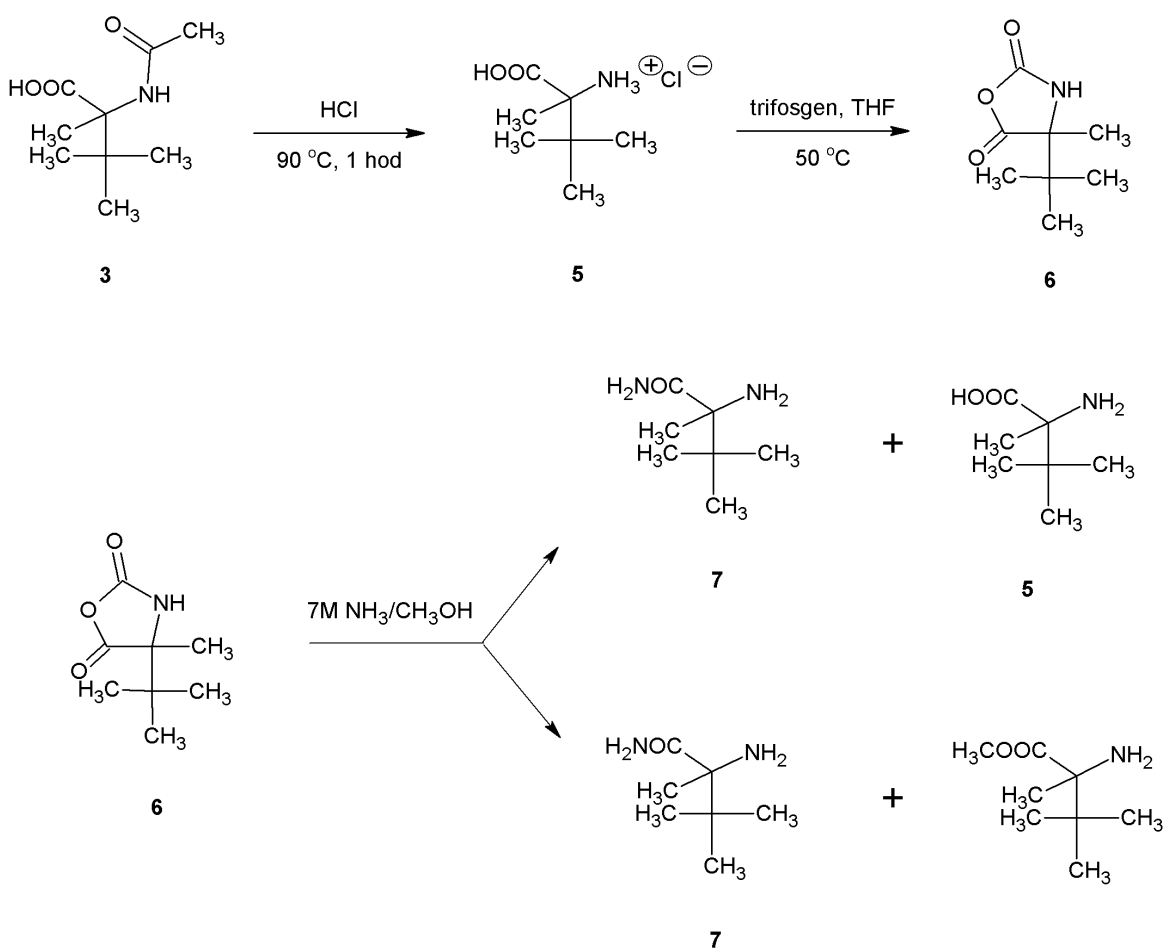


Schéma 14

Tímto způsobem byl na závěr připraven 2-amino-2,3,3-trimethylbutanamid (**7**) v opticky čisté formě. U něj jsem stanovila hodnotu specifické optické otáčivosti, kterou jsem porovnála s literární hodnotou.²¹ Vzhledem k nalezené záporné hodnotě jsem určila absolutní konfiguraci mnou připraveného amidu **7** jako *S*-enantiomer. Stejnou absolutní konfiguraci pak mají i opticky čisté formy derivátů **3-6**. Hodnota specifické otáčivosti derivátu **7** $[\alpha]_D^{20} = -78,43^\circ$ ($c = 0,2$; CHCl_3) je větší než hodnota, která byla stanovena pro tuto sloučeninu s 98% optickou čistotou $[\alpha]_D^{20} = -68^\circ$ ($c = 0,2$; CHCl_3).

4. Závěr

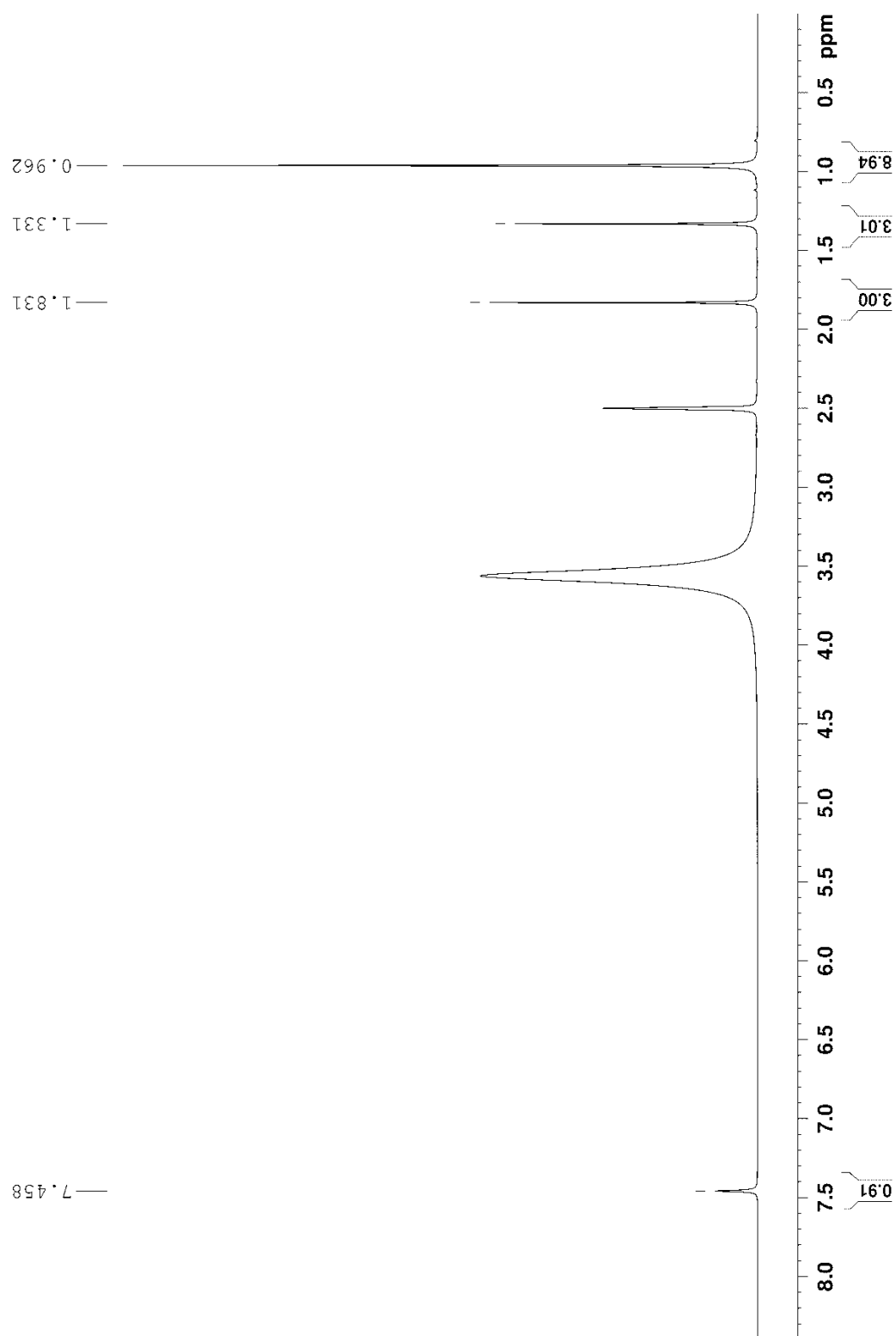
V rámci bakalářské práce jsem připravila 2-amino-2,3,3-trimethylbutanamid (amid α -methyl-*terc*-leucinu) **7** v opticky čisté formě. Významným meziproduktem pro jeho přípravu byla (\pm)-2-acetamido-2,3,3-trimethylbutanová kyselina, kterou jsem připravila tříkrokovou syntézou z 3,3-dimethylbutanamidu (pinakolonu). Následně jsem vyvinula metodu pro dělení racemátu 2-acetamido-2,3,3-trimethylbutanové kyseliny, která je založena na krystalizaci diastereoizomerní směsi soli této kyseliny a chininu. Opticky čistou formu 2-acetamido-2,3,3-trimethylbutanové kyseliny jsem dále transformovala ve třech reakčních stupních na požadovaný amid α -methyl-*terc*-leucinu **7**, jehož absolutní konfigurace je *S*.

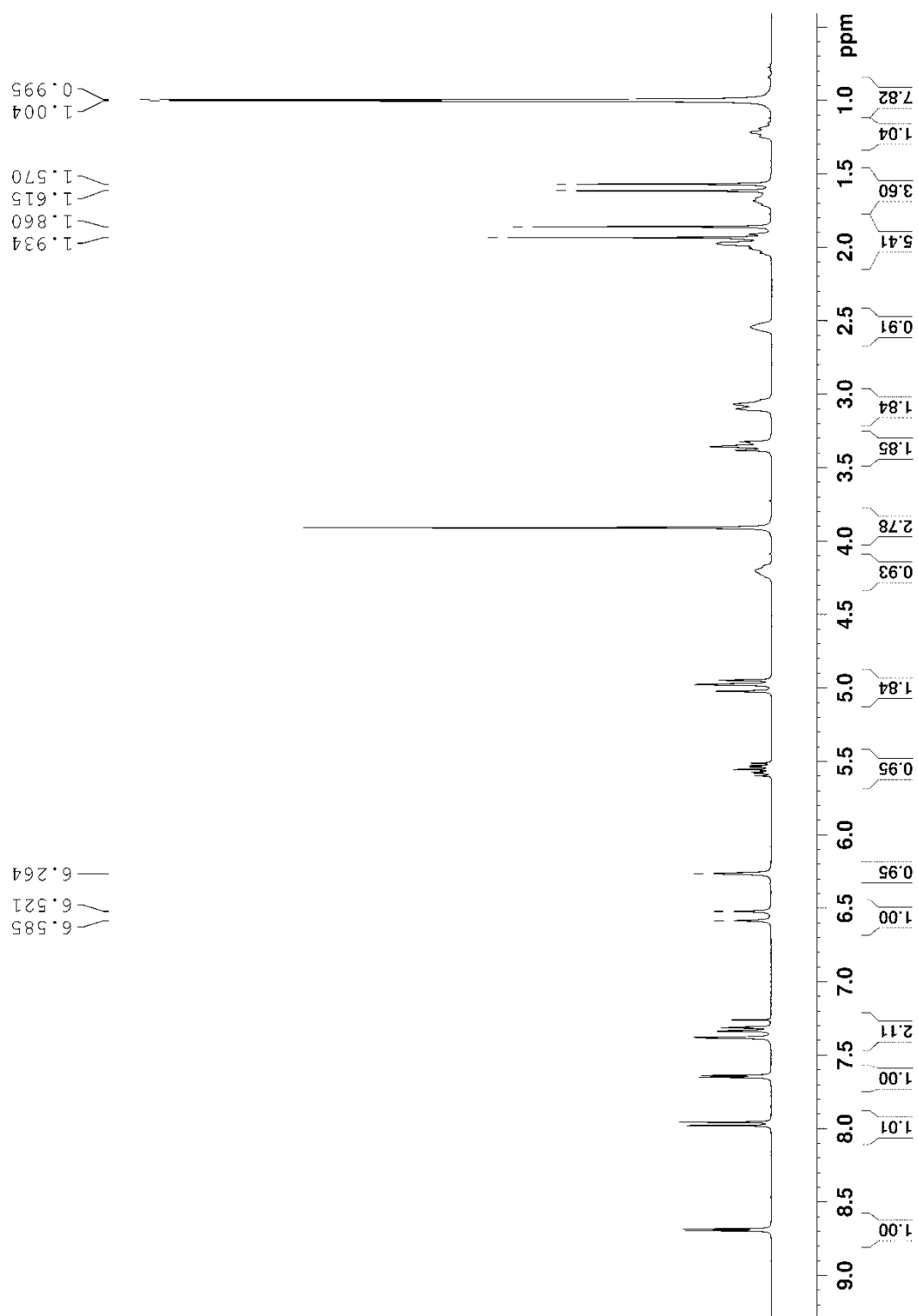
Literatura

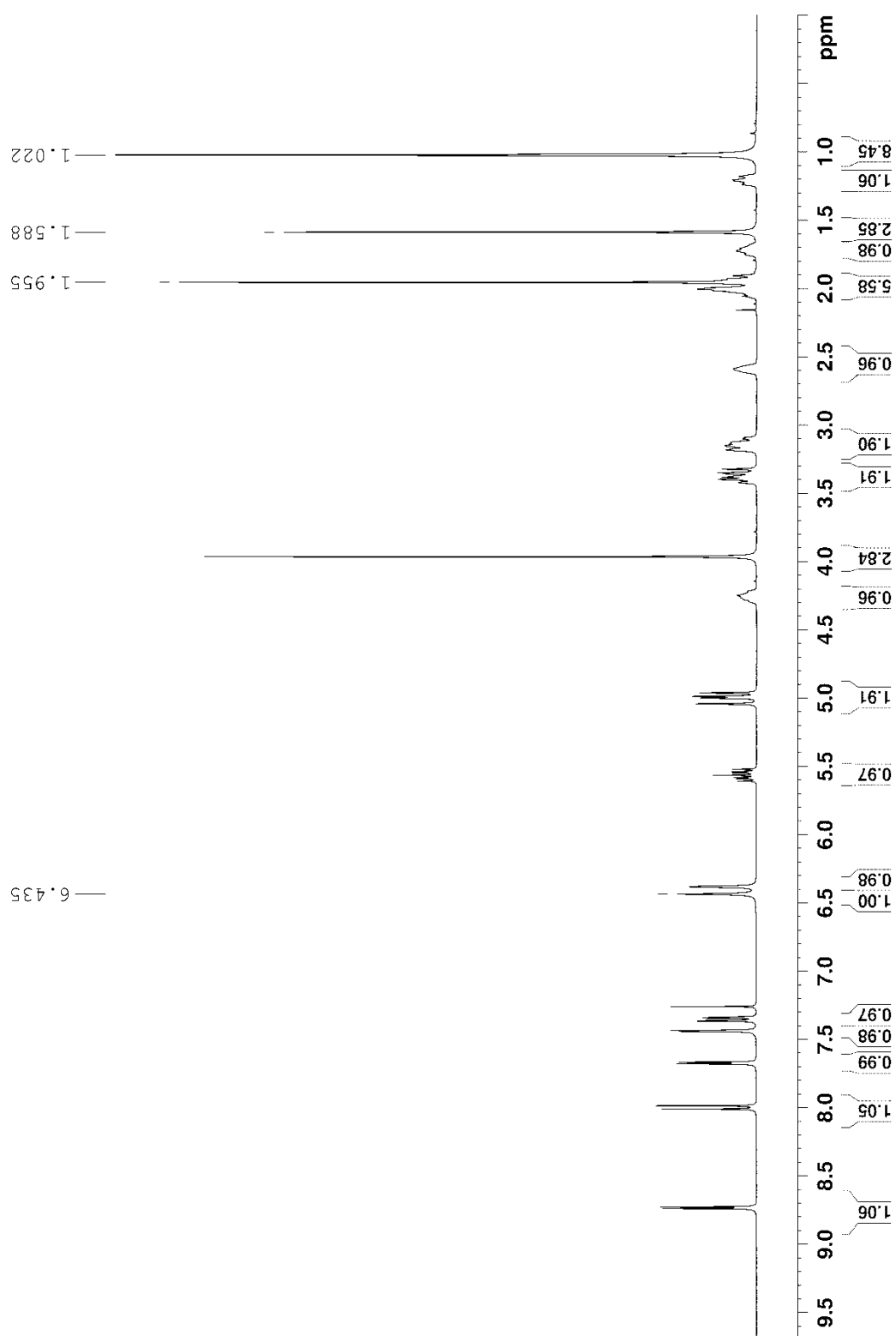
1. McMurry J.: *Organická chemie*. Vyd.6., 990, Vutium (2007).
2. Nasipuri A.: *Stereochemistry of Organic Compounds: Principles and Application*, 2. vydání, New Age International (1994).
3. Hampl F., Paleček J.: *Farmakochemie*, 1. vydání, 172, VŠCHT Praha (2002).
4. Lancaster P. A. L.: *Congenital Anomalies*, **51**, 2–5 (2011).
5. Blaser H. U., Spindler F., Studer M.: *Appl. Catal., A: General*, **221**, 119–143 (2001).
6. Gübitz G., Schmid M., G.: *Biopharmaceutics & Drug Disposition*, **22**, 291–336 (2001).
7. Doležalová M., Tkaczyková M.: *Chem. Listy*, **94**, 994–995 (2000).
8. Breuer M., Ditrich K., Habicher T., Hauer B., Keßler M., Stümer R., Zelinski T.: *Angew. Chem. Int. Ed.*, **43**, 788–824 (2004).
9. Mikami K., Lautens M.: *New Frontiers in Asymmetric Catalysis*, 2. vydání, 292, 326, John Wiley & Sons (2007).
10. Caprio V., Williams J. M. J.: *Catalysis in Asymmetric Synthesis*, 2. vydání, 18, 50, John Wiley & Sons (2009).
11. Desimoni G., Faita G., Jorgensen K.: *Chem. Rev.*, **106**, 3561–3651 (2006).
12. Desimoni G., Faita G., Quadrolli P.: *Chem. Rev.*, **103**, 3119–3154 (2003).
13. Lelais G., MacMillan D. W. C.: *Aldrichimica Acta*, **39**, 79–87 (2006).
14. Takemoto Y.: *Org. Biomol. Chem.*, **3**, 4299–4306 (2005).
15. Schreiner P. R.: *Chem. Soc. Rev.*, **32**, 289–296 (2003).
16. Olbrecht D., Spiegler C., Schonholzer P., Müller K.: *Helv. Chim. Acta*, **75**, 1666–1696 (1992).
17. Stierli F., Obrecht D., Heimgartner H., *Chimia*, **38**, 432–435 (1984).
18. Tanaka M., Oba M., Tamai K., Suemune H.: *J. Org. Chem.*, **66**, 2667–2673 (2001).
19. Cativiela C., Diaz-de-Villegas M.D.: *Tetrahedron: Asymmetry*, **9**, 3517–3599 (1998).
20. Honzl J.: *Chem. Listy*, **49**, 1671–1686 (1955).
21. Davis A. F., Lee S., Zhang H., Fanelli D. L.: *J. Org. Chem.*, **65**, 8704–8708 (2000).
22. Fiammengo R., Licini G., Nicotra A., Modena G., Pasquato L., Scrimin P., Broterman Q. B., Kaptein B.: *J. Org. Chem.*, **66**, 5905–5910 (2001).
23. Bommarius A. S., Schwaim M., Stingl K., Kottenhahn M., Huthmacher K. D., *Tetrahedron: Asymmetry*, **6**, 2851–2888 (1995).
24. Laumen K., Ghisalba O., Auer K.: *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **65**, 1977–1980, 2001.
25. Turner J. N.: *Curr. Org. Chem.*, **1**, 21–36 (1997).

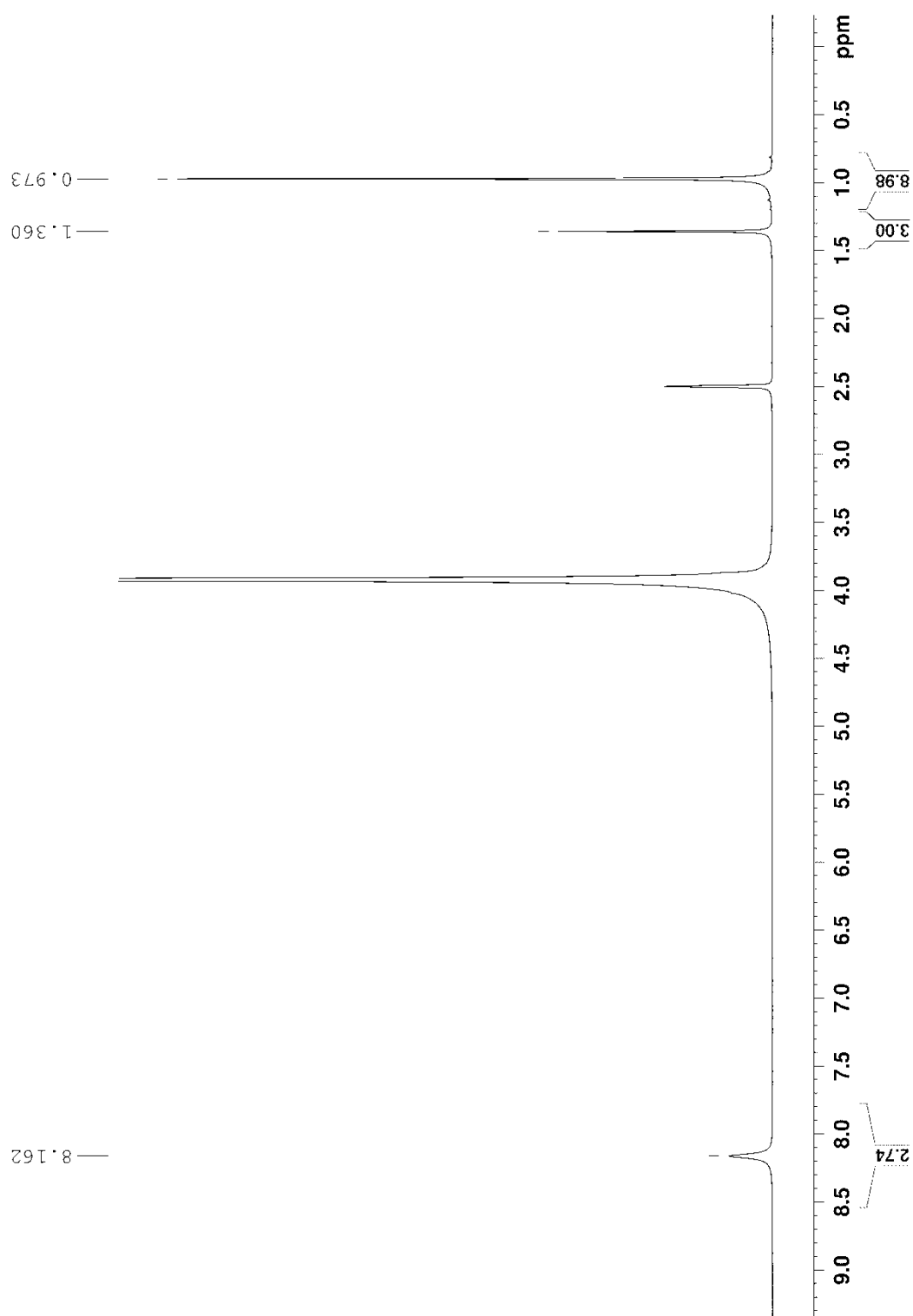
26. Lucet D., Sabelle S., Kostelitz O., Le Gall T., Mioskowski Ch.: *Eur. J. Org. Chem.*, 2583–2591 (1999).
27. Corey E. J., Link J., O.: *Tetrahedron Lett.*, **33**, 3431–3432 (1992).
28. Corey E. J., Link J.: *J. Am. Chem. Soc.*, **114**, 1906–1908 (1992).
29. Pan S. Ch., Zhou J., List B.: *Angew. Chem. Int. Ed.*, **46**, 612–614 (2007).
30. Sedlák M., Keder R., Skála P., Hanusek, J.: *J. Phys. Org. Chem.*, **18**, 743–750 (2005).
31. Bollinger F. W.: *J. Med. Chem.*, **14**, 373–375 (1971).
32. Hsieh K., deMaine M. M.: *Synthesis*, **1**, 59–62 (1991).

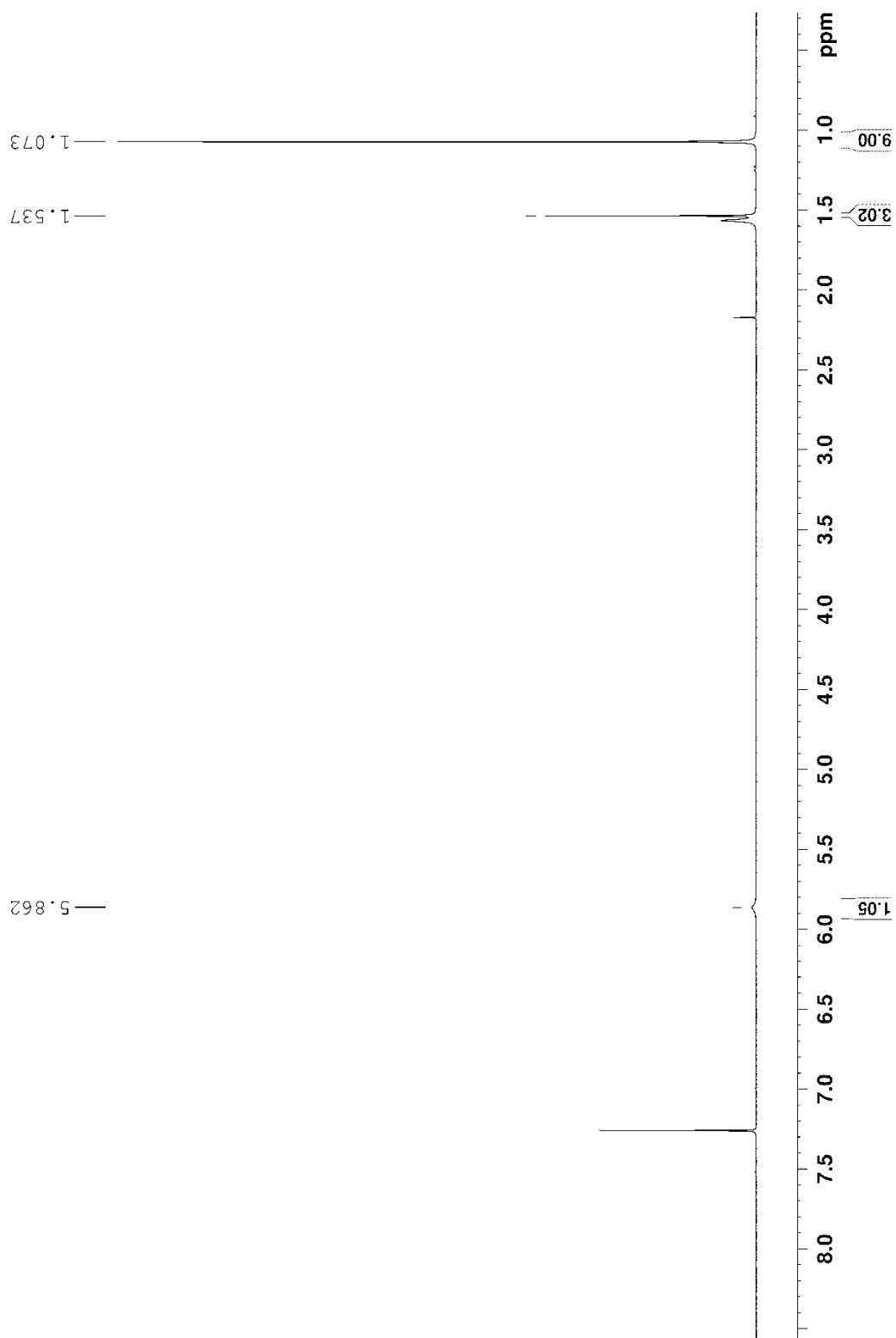
Přílohy

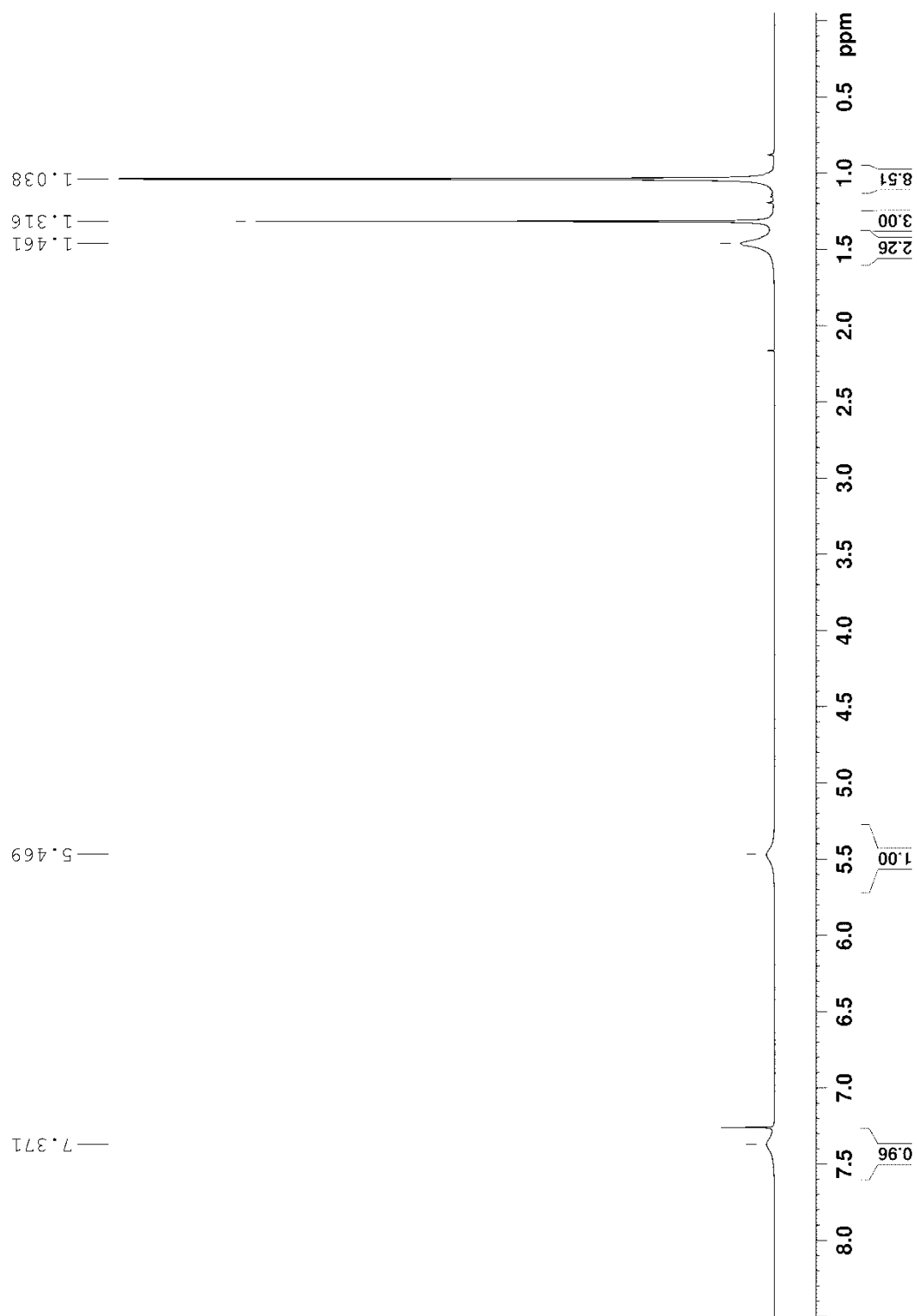
^1H NMR spektrum (\pm)-2-acetamido-2,3,3-trimethylbutanové kyseliny (3)

¹H NMR spektrum (±)-soli chininu a 2-acetamido-2,3,3-trimethylbutanové kyseliny (4)

^1H NMR spektrum (–)-soli chininu a 2-acetamido-2,3,3-trimethylbutanové kyseliny(–)-4

^1H NMR spektrum (\pm)-2-amino-2,3,3-trimethylbutanové kyseliny (5)

^1H NMR spektrum (\pm)-4-*terc*-butyl-4-methyl-1,3-oxazolidin-2,5-dionu (6)

^1H NMR spektrum (\pm)-2-amino-2,3,3-trimethylbutanamidu (7)

ÚDAJE PRO KNIHOVNICKOU DATABÁZI

Název práce	Příprava α-methyl-<i>terc</i>-leucinu a jeho amidu v opticky čisté formě
Autor práce	Jeništová Klára
Obor	Farmakochemie a medicínální materiály
Rok obhajoby	2012
Vedoucí práce	Ing. Pavel Drabina, Ph.D.
Anotace	Racemická 2-acetamido-2,3,3-trimethylbutanová kyselina byla připravena z pinakolonu třístupňovou syntézou. Následně bylo provedeno dělení racemátu této kyseliny pomocí chininu. Byla vyvinuta metoda pro přípravu opticky čistého (<i>S</i>)-2-amino-2,3,3-trimethylbutanamidu. Všechny produkty a meziprodukty byly charakterizovány s využitím dostupných spektroskopických metod.
Klíčová slova	α -methyl- <i>terc</i> -leucin, amid, dělení racemátu, chinin