

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Chemie
Studijní obor: Medicinální chemie



Adéla Vilímková

Studium substrátů pro autokatalytické reakce

Investigation of substrates for autocatalytic reactions

Bakalářská práce

Vedoucí závěrečné práce: doc. RNDr. Jiří Míšek, Ph.D.

Praha, 2025

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně, pod vedením školitele doc. RNDr. Jiřího Míška, Ph.D., a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 29.4. 2025

Adéla Vilímková

Abstrakt

Tato bakalářská práce se zaměřuje na testování substrátů v autokatalytických reakcích a jejich kinetických vlastností ve směsích obsahujících více substrátů. Autokatalytická reakce je charakterizována tím, že jeden z produktů reakce zároveň působí jako katalyzátor téže reakce - tedy jako autokatalyzátor. Tento mechanismus vede k postupnému zrychlování reakce, protože čím více produktu vzniká, tím intenzivněji podporuje další průběh reakce. Hlavním cílem této práce je zjistit, zda substráty v reakční směsi, kde probíhá autokatalytická reakce více substrátů současně, mohou vykazovat známky selekčního tlaku, podobně jako je tomu u biologických systémů. Pokud by některé substráty ve směsi měly schopnost efektivnějšího autokatalytického chování než jiné, mohlo by to naznačovat určitou formu konkurence mezi jednotlivými molekulami, což otevírá otázku hranice mezi živými a neživými systémy. Studium těchto procesů je důležité nejen z hlediska základního výzkumu autokatalýzy, ale také pro hlubší pochopení prebiotické chemie a mechanismů, které mohly hrát klíčovou roli ve vzniku života. Pokud by se podařilo prokázat, že chemické systémy mohou samovolně směřovat k vyšší organizovanosti na základě selekčního tlaku, přiblížilo by nás to k lepšímu pochopení evolučních procesů na molekulární úrovni.

Klíčová slova:

Autokatalýza, autoamplifikace, autokatalyzátor, substrát, kinetika.

Abstract

This bachelor's thesis focuses on testing substrates in autocatalytic reactions and their kinetic properties in mixtures containing multiple substrates. An autocatalytic reaction is characterized by the fact that one of its reaction products simultaneously acts as a catalyst for the same reaction - thus functioning as an autocatalyst. This mechanism leads to a progressive acceleration of the reaction, as the more product is formed, the more it enhances the continued progression of the reaction. The primary aim of this thesis is to determine whether substrates in a reaction mixture, where an autocatalytic reaction involving multiple substrates occurs simultaneously, can exhibit signs of selective pressure, similar to biological systems. If certain substrates in the mixture demonstrate more effective autocatalytic behavior than others, this could suggest a form of competition among individual molecules, raising the question of the boundary between living and non-living systems. The study of these processes is important not only for fundamental research in autocatalysis but also for a deeper understanding of prebiotic chemistry and the mechanisms that may have played a key role in the origin of life. If it can be demonstrated that chemical systems can spontaneously move toward higher levels of organization under selective pressure, it would bring us closer to a more comprehensive understanding of evolutionary processes at the molecular level.

Key words:

Autocatalysis, autoamplification, autocatalyst, substrate, kinetics.

Poděkování

Ráda bych vyjádřila své poděkování doc. RNDr. Jiřímu Míškovi, Ph.D. za odborné vedení mé bakalářské práce, za jeho trpělivost a vstřícnost, jak při práci v laboratoři, tak i při psaní. Také bych chtěla poděkovat kolegům z laboratoře Bc. Anně Šimkové a Mgr. Vladimíru Noskovi, Ph.D. za asistenci, cenné rady a příjemnou společnost při laboratorní práci. Dále bych chtěla poděkovat své rodině za jejich motivaci a důvěru. Na závěr bych chtěla poděkovat svému manželovi Karlovi Vilímkovi za jeho starostlivost, péči a veškerou možnou podporu v průběhu celé práce.

Obsah

Použité zkratky	7
1. Úvod	8
1.1. Autokatalytické reakce	8
1.2. Historie	8
1.3. Teorie vzniku života	10
1.4. Reakční kinetika autokatalytických reakcí	11
2. Cíle práce.....	13
3. Výsledky a diskuse.....	14
3.1. Mechanismus autokatalytické reakce	14
3.2. Syntéza výchozích látek	14
3.2.1. Mechanismy reakcí syntézy molekul.....	18
3.3. Měření reakční kinetiky.....	19
3.3.1. Měření reakční kinetiky samostatných látek.....	19
3.3.2. Měření reakční kinetiky sulfonátů 15 a 18 v jednom vzorku	21
3.4. Výsledky měření reakční kinetiky sulfonátů 15 a 18 v jednom vzorku	22
4. Experimentální část	23
4.1. Obecné postupy a chemikálie	23
4.2. Syntéza výchozích látek	23
4.3. Měření reakční kinetiky	26
5. Závěr.....	29
6. Literatura	30

Použité zkratky

DMAP	4-dimethylaminopyridin
HRMS	hmotnostní spektrometrie s vysokým rozlišením
Et	ethyl
IR	infračervená spektroskopie
NMR	nukleární magnetická rezonance
RNA	ribonukleová kyselina
rt	laboratorní teplota
Ts	p-toluensulfonyl
TLC	chromatografie na tenké vrstvě
UV	ultrafialové záření

1. Úvod

1.1. Autokatalytické reakce

Autokatalytické reakce jsou významnou součástí přírodních věd. Jejich podstata tkví v tom, že produkt reakce katalyzuje průběh tentýž reakce a tím zapříčiňuje další vznik produktu. Takový produkt pak můžeme nazvat autokatalyzátorem. Čím více tohoto produktu vzniká, tím více se reakce zrychluje. To způsobuje, že autokatalytické reakce mají specifickou reakční kinetiku, na rozdíl od reakčního mechanismu, který je u těchto reakcí velmi rozmanitý¹.

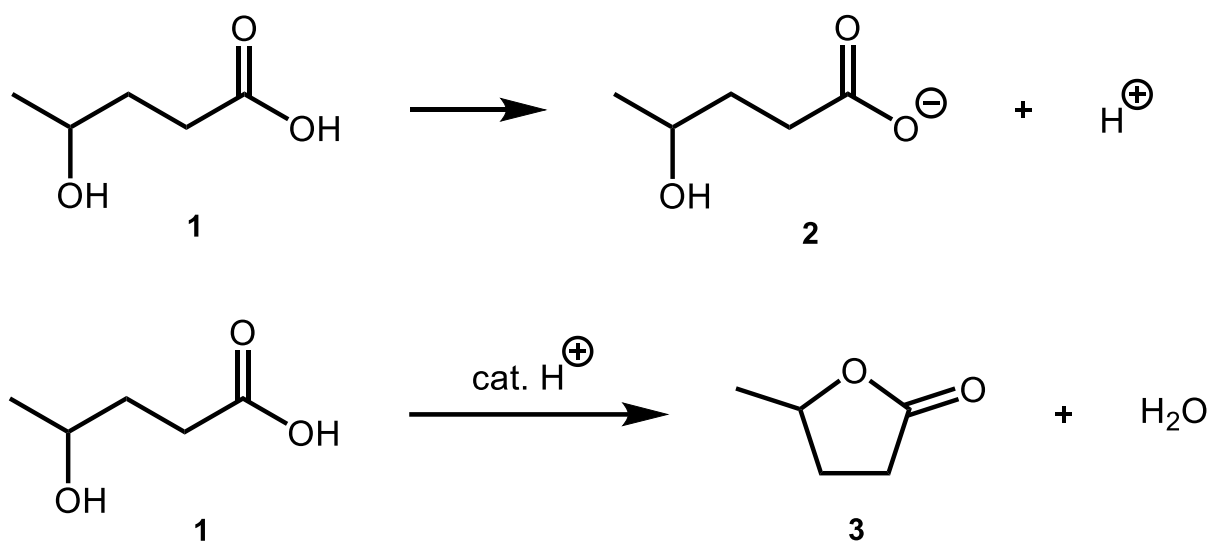
Nejenže mají širokou škálu využití, jako například tvorba niklu bezproudým pokovováním², ale hlavně jsou podstatou všech živých organismů. Na jednotlivé buňky můžeme pohlížet jako na autokatalytické systémy, jelikož k replikaci potřebují samy sebe. Když nahlédneme dovnitř buňky, její život a schopnost sebereplikace funguje díky jejímu metabolismu tvořenému z různých autokatalytických procesů. Když se nad tím zamyslíme, tak systémy organických molekul by za vhodných podmínek také teoreticky mohly tvořit autokatalytické systémy, schopné spontánní sebereplikace³.

Předpokládá se, že právě autokatalytické reakce hrály klíčovou roli při samotném vzniku života⁴. Například jednou z pravděpodobných autokatalytických reakcí, stojících za vznikem života, je formózová reakce. Tak se nazývá soubor dvou reakcí, vedoucích ke vzniku jednoduchých sacharidů z formaldehydu. Zde je možné propojení s další důležitou teorií, kterou je představa RNA světa⁵. Tato teorie předpokládá, že život vznikl ze sebereplikujících se RNA molekul⁶.

1.2. Historie

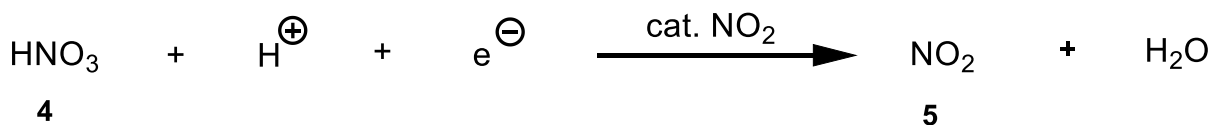
Prvním, kdo zavedl pojem autokatalýza, byl německý chemik Wilhelm Ostwald, který za svou práci v oblasti katalýzy, chemické rovnováhy a rychlosti reakce, získal Nobelovu cenu za chemii v roce 1909⁷. Pojem „Autocatalyse“ zavedl ve svém článku „Über autocatalyse“ v roce 1890. Ačkoliv v tomto článku definoval autokatalýzu trošku v jiném smyslu, než je její dnešní definice. Nedal zde jasně najevo, zda má autokatalytickou aktivitu reaktant nebo produkt reakce. Jako příklad autokatalytické reakce zde uvedl reakci přeměny γ -hydroxyvalerové kyseliny **1** na γ -valerolakton **2** a vodu, kterou lze kyselou katalyzovat. Tento kyselý katalyzátor si kyselina γ -hydroxyvalerová **1** zvládne vytvořit sama, jelikož

snadno disociuje na γ -hydroxyvalerát **3** a H^+ (Obr. 1). Tudíž γ -hydroxyvalerová kyselina **1**,



Obr. 1 - schéma disociace kyseliny γ -hydroxyvalerové a následně schéma přeměny kyseliny γ -hydroxyvalerové na γ -valerolakton za katalýzy protonem vzniklým z disociace

jakožto reaktant, sama generuje katalyzátor vlastní reakce, což se s dnešní definicí autokatalýzy úplně neslučuje. Avšak Ostwald ve své další práci „Über katalyse“ z roku 1901 uvádí jako autokatalytickou reakci rozpouštění kovů v kyselině dusičné **4**, při které vzniká jako produkt oxid dusičitý **5**, který je zároveň katalyzátorem této reakce (Obr. 2). Na základě poznatků z těchto dvou článků můžeme usoudit, že Ostwaldova myšlenka autokatalýzy zahrnuje jak její dnešní definici, tak reakci, kde by katalyzátorem byl reaktant^{8,9,10}.



Obr. 2 - souhrnné schéma rovnice autokatalytické reakce rozpouštění kovů v kyselině dusičné

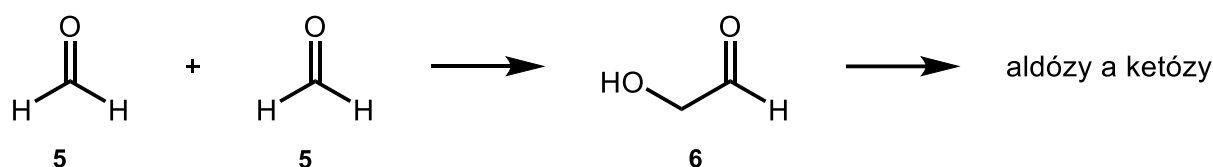
Přestože Ostwald byl prvním, kdo zavedl pojem autokatalýza, tak prvním, kdo objevil autokatalytickou reakci, nebyl. Autokatalytické reakce byly objeveny a popsány již dříve, jen nebyly tímto pojmem označeny⁸. Příkladem takových reakcí může být třeba již zmíněná formózová reakce, kterou objevil Alexandr Michajlovič Butlerov v roce 1861. Proto se často formózová reakce označuje též jako Butlerova reakce¹¹.

V průběhu 20. a 21. století studuje autokatalytické reakce hodně vědců, kteří se zabývají vznikem života na Zemi. Ať už se jedná o úplné počátky formování života, probíhající ještě před hypotetickým RNA světem, nebo ať se jedná přímo o studie, zabývající se již celkem vžitou představou RNA světa, tedy světa sebepublikujících se RNA molekul. Například v 60. letech 20. století rozvinul Manfred Eigen koncept hypercyklu – modelu, který

vysvětloval, jak by se mohly samoreplikující molekuly organizovat do kooperativních sítí, čímž by se mohly stabilizovat ve směsi chemických reakcí. Hypercyklická teorie položila teoretický základ pro pochopení mechanismů, které mohly vést ke vzniku života¹². Ve 21. století se výzkum autokatalytických reakcí rozšířil o experimentální studie, které demonstrovaly jejich schopnost vést ke samoorganizaci a chemické evoluci. V roce 2007 Günter von Kiedrowski ukázal, že určité molekuly DNA mohou podstupovat autokatalytickou replikaci, což byl klíčový krok ke zkoumání prebiotických procesů¹³. Další experimenty, například práce Semenova, ukázaly, že chemické reakční systémy mohou vykazovat kolektivní autokatalytické chování podobné biologické selekci, což naznačuje možnost vzniku komplexních chemických sítí ještě před příchodem genetických mechanismů¹⁴. Autokatalytické reakce se dnes zkoumají nejen v souvislosti s prebiotickou chemií, ale i v kontextu syntetické biologie a samoorganizace molekulárních systémů. Výzkum Blackmondové například ukázal, že asymetrické autokatalytické reakce mohou vést k enantioselektivním procesům, což je důležité pro pochopení vzniku biomolekul s konkrétní chirální preferencí¹⁵.

1.3. Teorie vzniku života

Autokatalytické reakce jsou v tomto kontextu klíčové, protože umožňují exponenciální růst produktů, což je zásadní pro vznik složitějších chemických sítí¹⁶. Výzkumy ukazují, že autokatalytické reakční sítě mohly být přechodným krokem mezi abiotickou chemií a prvními biologickými systémy¹⁷. Teorie o RNA světě předpokládají, že život vznikl ze sebereplikujících se RNA molekul⁶. RNA molekuly se skládají z nukleotidů, které pravděpodobně mohly vzniknout díky autokatalytickým reakcím organických molekul, které existovaly dříve než RNA¹⁸. RNA svět je podporován objevem ribozymů, což jsou RNA molekuly s katalytickými vlastnostmi, které mohly hrát zásadní roli v prebiotické evoluci¹⁹. Jedním z příkladů autokatalytických reakcí, ještě před vznikem RNA molekul, je formózová reakce, která ilustruje, jak by mohly vzniknout prekurzory biomolekul v prebiotických podmínkách. Tato reakce zahrnuje polymerizaci formaldehydu **5** za vzniku cukrů, včetně ribózy, základní složky RNA. Formózový proces sestává ze dvou reakcí. První je pomalá reakce dvou molekul formaldehydu **5** za vzniku glykolaldehydu **6**. Druhá je rychlá autokatalytická reakce, čímž dochází k tvorbě mnoha aldóz a ketóz (*Obr. 3*).



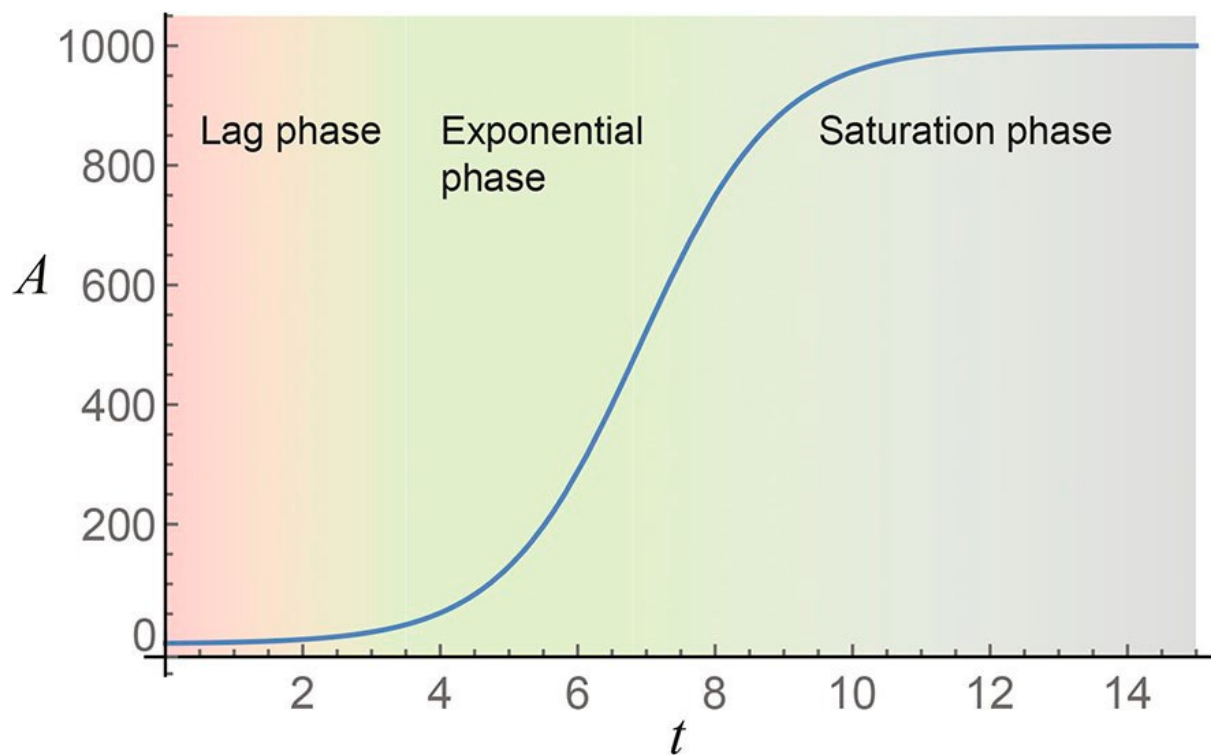
Obr. 3 - schéma formózové reakce

Podmínky pro formózovou reakci mohly pravděpodobně vzniknout v době označované jako hadaikum, tedy před 4,5-4,0 miliardami let. V této době měla Země hustou atmosféru bohatou na CO₂ a vznikaly vodní oceány. Docházelo k častým sopečným výbuchům a dopadaly na Zemi meteority, na nichž mohl být přinesen formaldehyd a glykolaldehyd. Kromě toho mohl formaldehyd i sám vznikat v atmosféře fotochemickými a elektrochemickými reakcemi⁵.

1.4. Reakční kinetika autokatalytických reakcí

Ačkoli autokatalytické reakce mohou mít různý mechanismus, tak reakční kinetika jakýchkoli autokatalytických reakcí je charakteristická procesem známým jako autozesílení (autoamplifikace). Autokatalytické reakce jsou jedinečné tím, že jeden z jejich produktů je autokatalyzátor. Vzniká během reakce a současně zpětně urychluje její průběh, čímž vzniká autozesílení. To umožňuje reakci dosáhnout exponenciálního růstu rychlosti. Autokatalýza začíná relativně pomalu, protože na počátku reakce je koncentrace autokatalyzátoru nízká. Jakmile se však v systému začne hromadit produkt, který působí jako katalyzátor, dochází k dramatickému urychlení reakce. Tento růst pokračuje do chvíle, kdy se proces zpomalí buď vyčerpáním reaktantů, nebo dosažením chemické rovnováhy. A tedy křivkou reakční kinetiky autokatalytických reakcí je sigmoida. Tato funkce má tři fáze (Obr. 4):

- 1) zpožděná fáze (lag phase) – oblast, kde se jen malá část látky přemění na produkt
- 2) exponenciální fáze (exponential phase) – oblast, kde je patrné výrazné zrychlení rychlosti reakce
- 3) saturační fáze (saturation phase) – oblast od bodu zlomu křivky až po dokončení reakce¹



Obr. 4 - graf reakční kinetiky autokatalytických reakcí¹, kde na ose x je čas a na ose y koncentrace autokatalytického produktu reakce

2. Cíle práce

Cílem této práce je zjistit, zda by molekuly, které jsou schopny tvořit autokatalytické reakce, mohly při jejich smíchání a nastavení vhodných podmínek vykazovat známky jakéhosi selekčního tlaku, podobně jako je tomu u živých systémů. Tedy zjistit, jestli jedna z molekul „zvítězí“.

Kroky k dosažení tohoto cíle jsou následující:

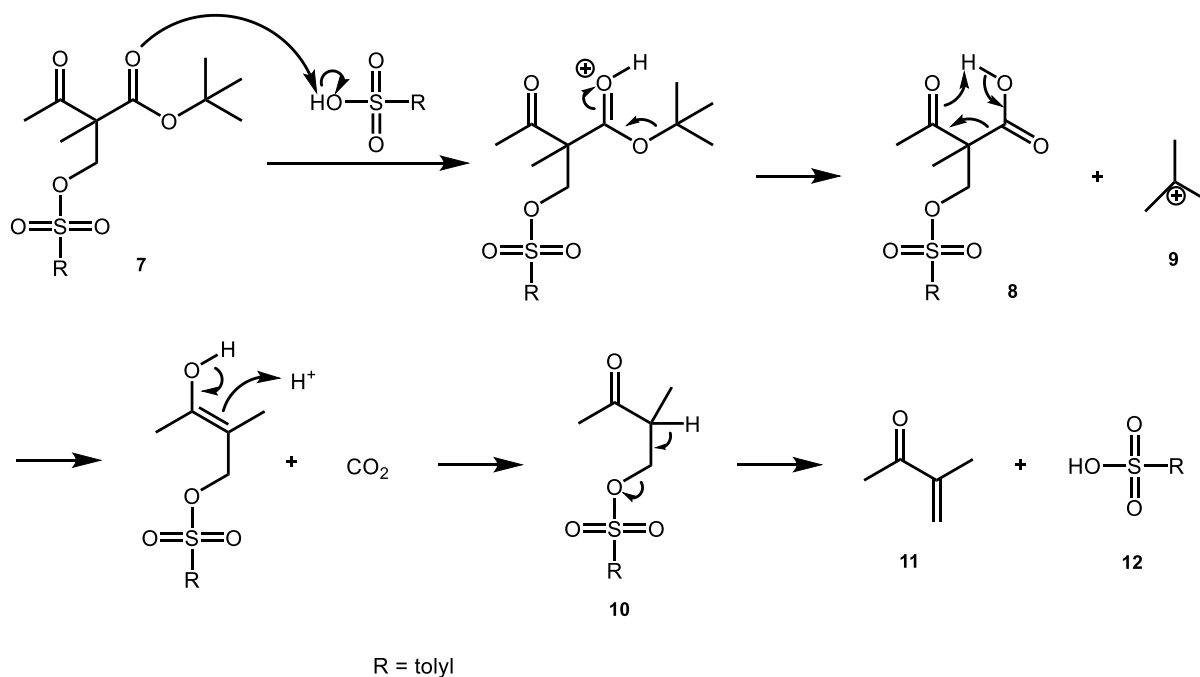
1. Syntetizovat dva a více podobných substrátů schopných autokatalýzy.
2. Ověřit kinetiku autokatalytické reakce každého ze substrátů pomocí NMR.
3. Změřit kinetiku dvou autokatalytických substrátů ve stejné reakční směsi.

3. Výsledky a diskuse

3.1. Mechanismus autokatalytické reakce

Mechanismy autokatalytických reakcí se mohou výrazně lišit. Mohou být poměrně jednoduché, jako třeba hydrolýza esterů, ale mohou být i velice složité, jako třeba buněčný cyklus¹. Zde si popíšeme mechanismus, kde jako autokatalyzátor vystupuje sulfonová kyselina, která byla právě zvolena jako substrát v této práci, jelikož mechanismus této reakce není příliš komplikovaný a reakce probíhá snadno za zvýšené teploty. Mechanismus této reakce byl popsán ve studii „Autocatalytic Fragmentation of Acetoacetate Derivatives as Acid Amplifiers to Proliferate Acid Molecules“²⁰.

V reakci nejprve dochází ke kyselé katalyzovanému rozkladu esterové skupiny sulfonylového derivátu **7**, při čemž dochází ke vzniku β -ketokyseliny **8**, která následně dekarboxyluje za vzniku sloučeniny **10**. Na závěr dojde k β -eliminaci sulfonylové kyseliny **12**, která může katalyzovat další molekulu sulfonylového derivátu (Obr. 5).

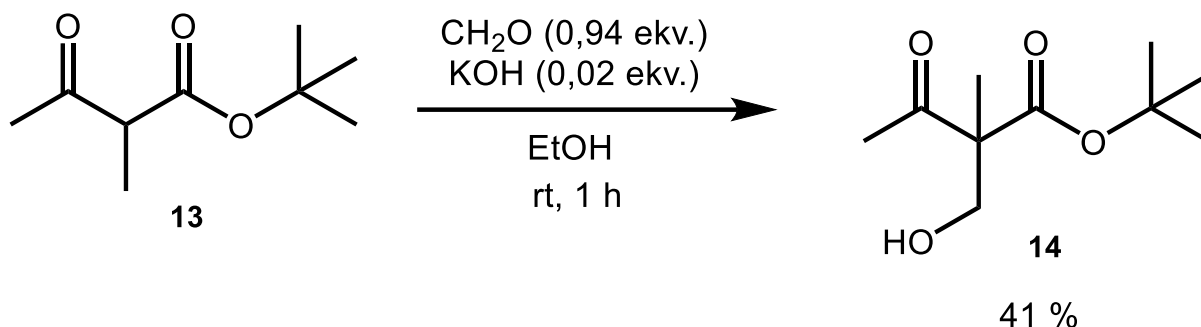


Obr. 5 - mechanismus autokatalytické reakce

3.2. Syntéza výchozích látek

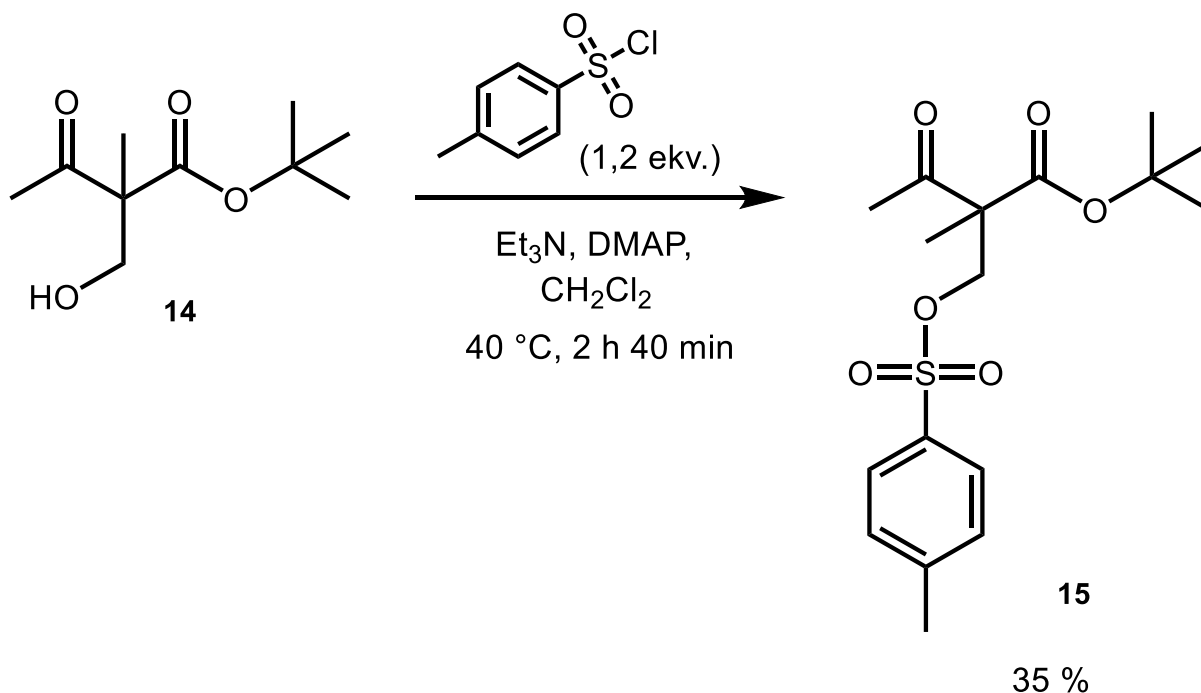
Nejprve byl syntetizován alkohol **14** (Obr. 6), který byl nadále používán jako výchozí látka pro syntézu esterů, které pak sloužily jako substráty pro autokatalytické reakce. Syntéza byla provedena z esteru **13** s formaldehydem a hydroxidem sodným. Alkohol **14** byl získán s výtěžkem 41 %. Nižší výtěžek reakce byl zapříčiněn přítomností vedlejších produktů v

reakční směsi a obtížnou separací pomocí kolonové chromatografie na silikagelu. Značná část frakcí po chromatografii obsahovala produkt **14** ve směsi s vedlejšími produkty.



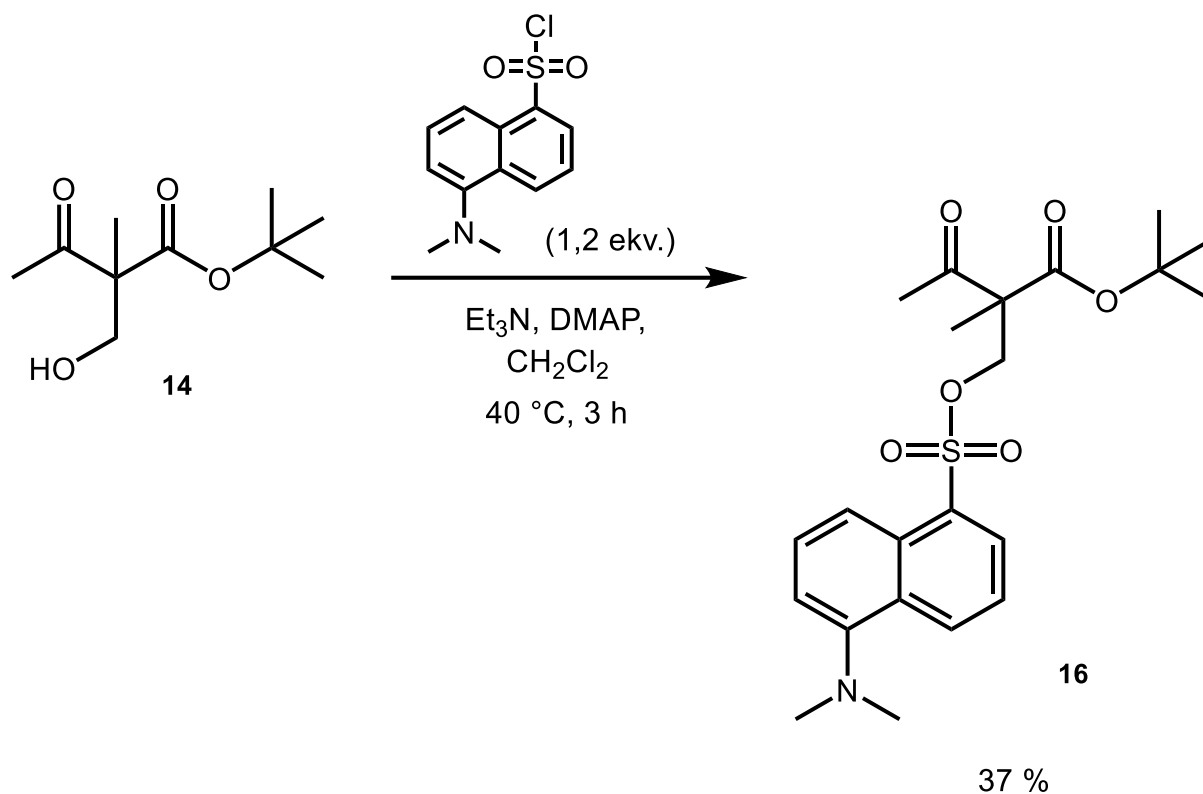
Obr. 6 - syntéza alkoholu 14

Reakcí alkoholu **14** s TsCl byla za přítomnosti Et_3N a DMAP provedena syntéza sulfonátu **15** (*Obr. 7*). Výtěžek této reakce byl 35 %. Nízký výtěžek je způsoben tím, že u reakce nedošlo k plné konverzi. Po jedné hodině byly v reakční směsi stále přítomny výchozí látky. Jejich poměr se však dále neměnil a reakce byla ukončena. K separaci čistého produktu od výchozích látek, solí a nečistot byla použita kolonová chromatografie na silikagelu. Reakční podmínky nebyly dále optimalizovány.



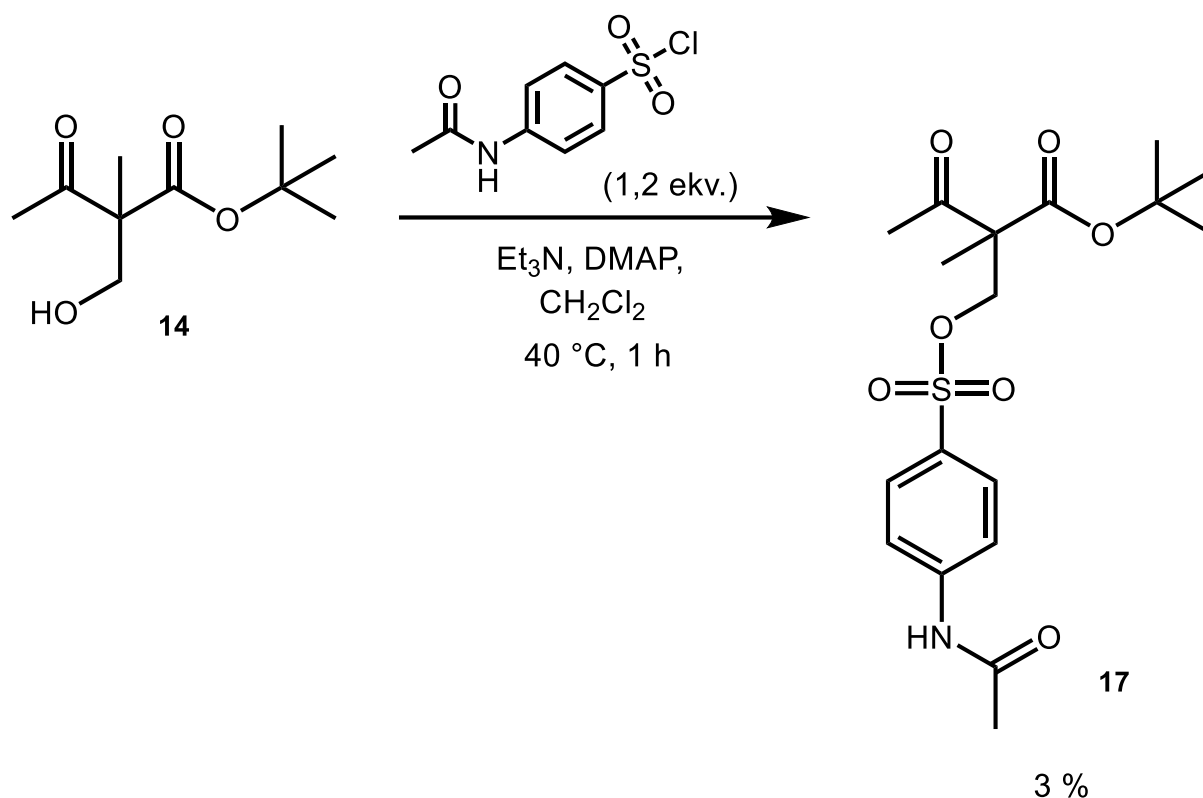
Obr. 7 - syntéza sulfonátu 15

Syntéza sulfonátu **16** byla provedena reakcí alkoholu **14** s dansylchloridem (*Obr. 8*). Reakční podmínky byly stejné jako u syntézy předchozího sulfonátu **15**. Reakce proběhla s 37% výtěžkem, což je srovnatelné s předešlým případem. Rovněž byla pozorována neúplná konverze výchozích látek.



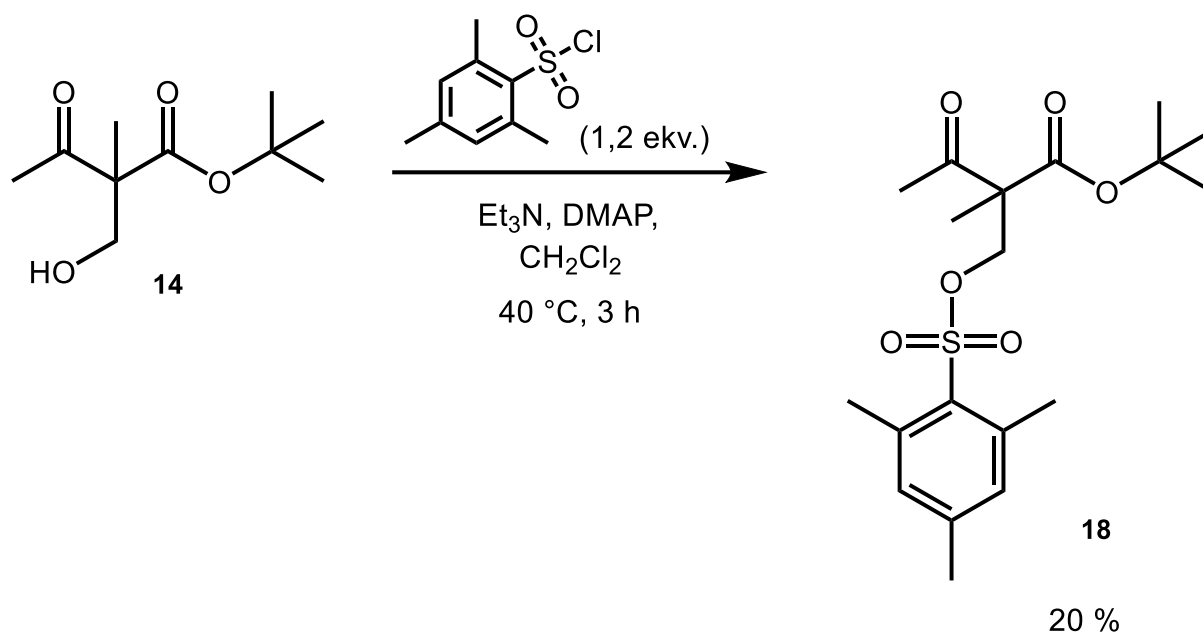
Obr. 8 - syntéza sulfonátu 16

Další reakcí byl pokus o syntézu sulfonátu 17 (Obr. 9). Jako výchozí látka byl použit opět alkohol 14, který byl podroben reakci s N-acetylsulfanilylchloridem opět za přítomnosti Et₃N a DMAP. Po provedení reakce byla směs vytřepána pomocí NaHCO₃ a solanky. Produkt byl přečištěn pomocí kolonové chromatografie. Pomocí ¹H NMR bylo prokázáno, že se produkt buď nepodařilo připravit anebo byl extrémně znečištěn. Pokus o syntézu sulfonátu 17 byl ještě jednou zopakován. V tomto případě nebyl produkt vytřepáván a byl rovnou po ukončení reakce přečištěn pomocí kolonové chromatografie. Po provedení kolonové chromatografie byla pomocí TLC jednotlivých frakcí zjištěna přítomnost tří produktů. Po provedení ¹H NMR bylo zjištěno, že jeden z produktů by mohl odpovídat esteru 17, avšak produkt nebyl příliš čistý a výtěžek reakce by odpovídal pouze 3 %. Tato syntéza byla považována za neúspěšnou.



Obr. 9 - syntéza sulfonátu 17

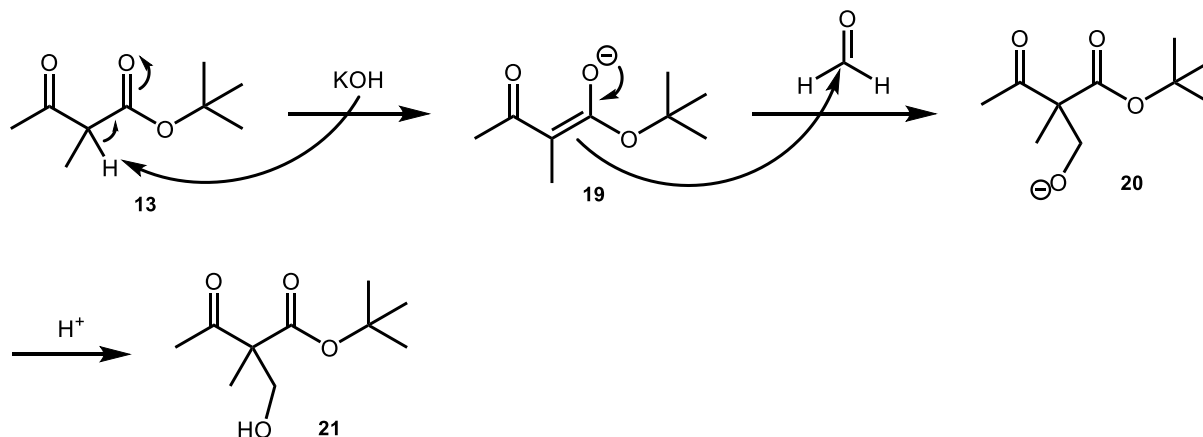
Reakcí alkoholu **14** s mesitylsulfonylchloridem za přítomnosti Et_3N a DMAP byl syntetizován sulfonát **18** (Obr. 10). Reakce proběhla s výtěžkem 20 %. Velmi nízký výtěžek byl z největší části způsoben tím, že po přečištění pomocí kolonové chromatografie se nacházela značná část produktu ve směšné frakci s nezreagovaným alkoholem **14**. Dalším vlivem na výtěžek bylo to, že reakce neproběhla v plné konverzi, což bylo usouzeno z provedených TLC během reakce, kdy bylo vidět, že alkohol **14** je ve směsi ještě přítomen.



Obr. 10 - syntéza sulfonátu **18**

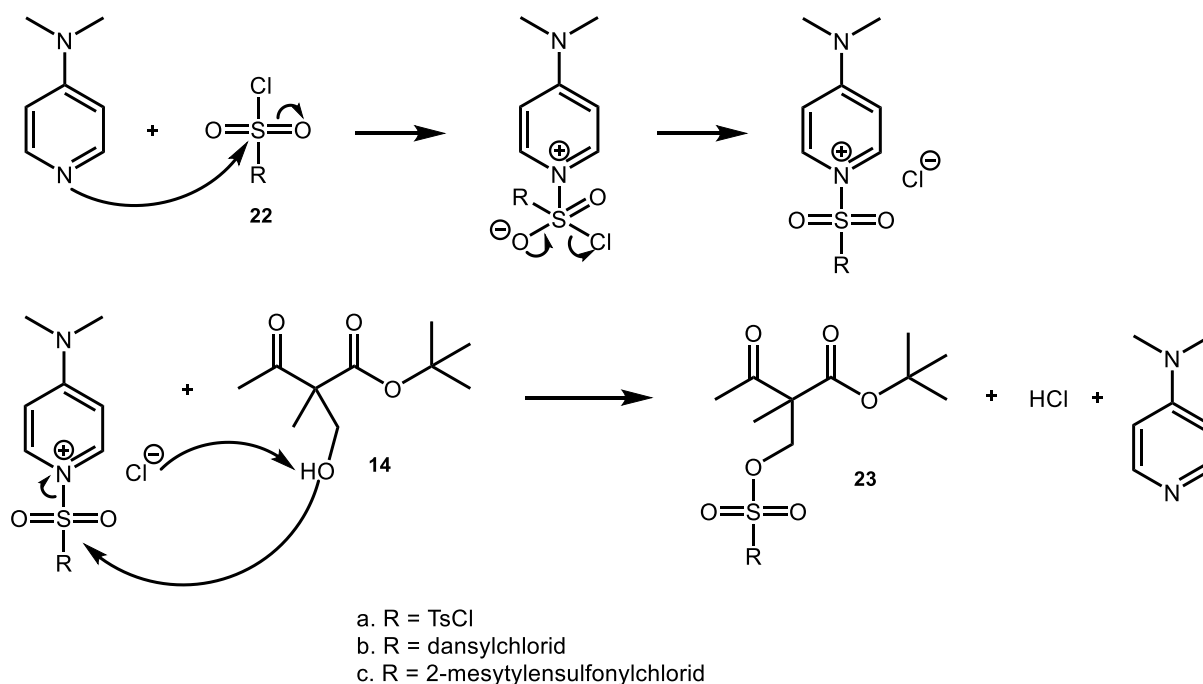
3.2.1. Mechanismus reakcí syntézy molekul

Mechanismus první reakce je hydroxymethylace esteru **13** pomocí formaldehydu za alkalických podmínek. Prvním krokem je enolizace, kde v bazickém prostředí dochází k odtržení protonu, čímž vznikne enolátový ion **19**. Následně dochází k nukleofilnímu útoku elektrofilního uhlíku formaldehydu enolátem. Následnou protonací iontu **20** dochází ke vzniku alkoholu **21** (Obr. 11)²⁰.



Obr. 11 - mechanismus hydroxymethylace

Druhým mechanismem, který je společný pro ostatní reakce, je sulfonylace alkoholu **14** pomocí sulfonylchloridu **22** za katalýzy DMAP, při níž dochází k nukleofilnímu útoku síry kyslíkem hydroxylové skupiny za vzniku sulfonylového derivátu **23** a kyseliny chlorovodíkové (Obr. 12). Reakci je vhodné provádět v bazickém prostředí, kvůli neutralizaci vznikající kyseliny²⁰.



Obr. 12 - mechanismus sulfonylace

3.3. Měření reakční kinetiky

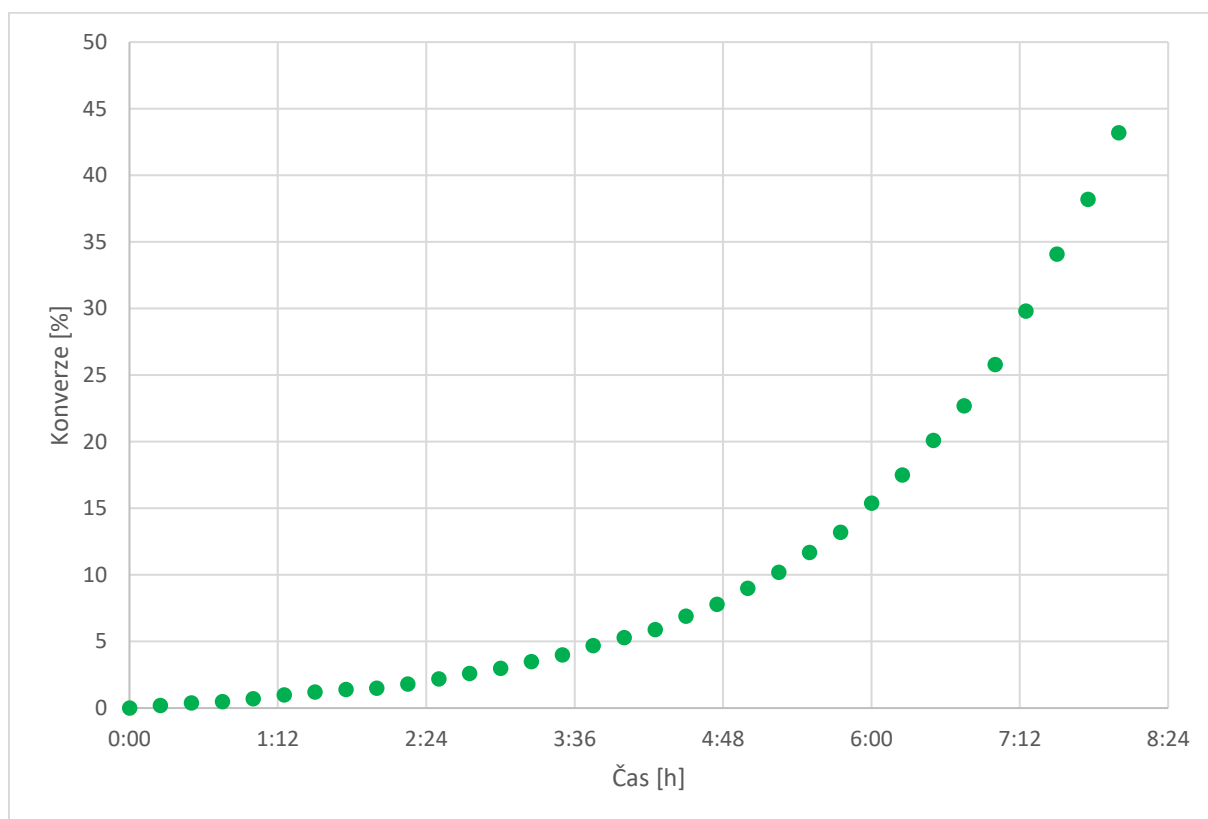
3.3.1. Měření reakční kinetiky samostatných látek

K ověření autokatalytických vlastností připravených sulfonátů byl nejprve testován sulfonát **15**. K 0,3 M roztoku sulfonátu **15** (50 mg v 0,5 ml CD_3CN) bylo přidáno 5 mol % TsOH. Tato reakční směs byla okamžitě vložena do NMR přístroje a průběh reakce byl sledován pomocí ^1H NMR při 60°C po dobu 8 hodin s intervalem měření každých 15 minut. Výsledná spektra byla zpracována a byl sestaven graf reakční kinetiky (Obr. 13). Jak je patrné z Obr. 13, tak průběh reakce má typický autokatalytický profil s exponenciálním nárůstem konverze v čase. Tento experiment potvrdil, že štěpení sulfonátu **15** probíhá skutečně autokatalytickým mechanismem. Dále byl testován i vliv rozpouštědla. Stejná reakce byla provedena v $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$. Nicméně, při tomto pokusu nebyla pozorována žádná konverze výchozí látky a po 8 hodinách při 60°C byl přítomen substrát v nezměněné formě. Proto byl v dalších experimentech používán pouze CD_3CN . Toluén- d_8 , který byl používán v publikovaných experimentech byl nevyhovující z hlediska rozpustnosti výchozích látek.

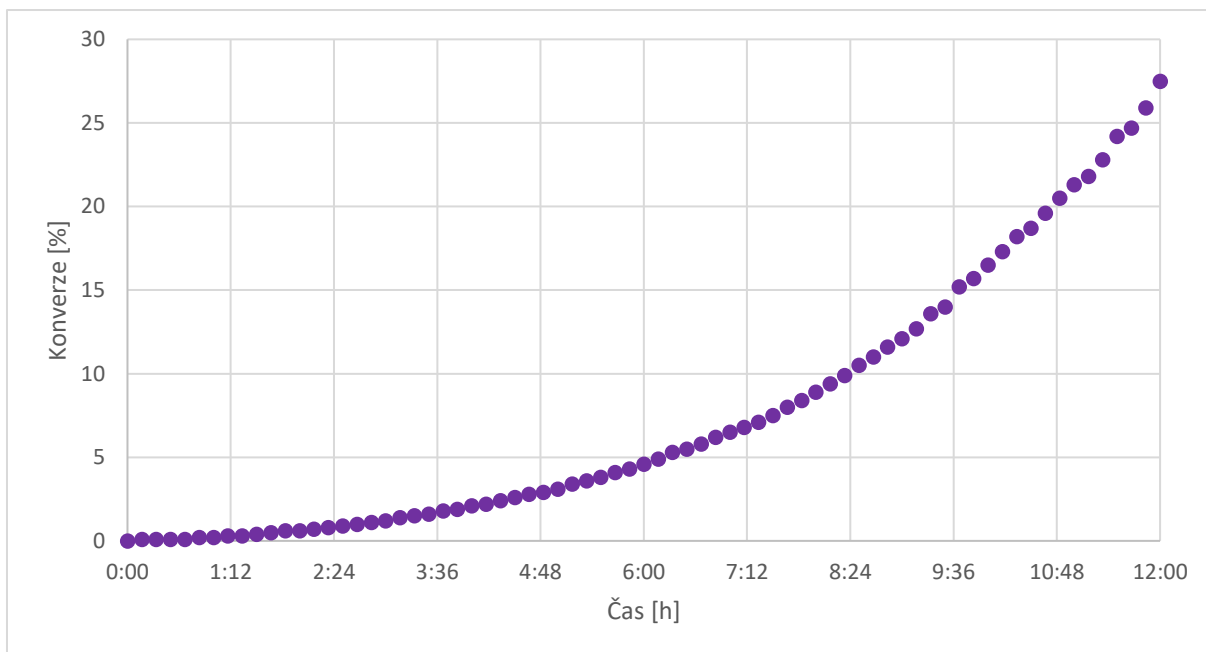
V dalším experimentu byly testovány autokatalytické vlastnosti sulfonátu **16**. Reakce byla provedena podobně jako v předešlém případě v CD_3CN při 50°C po dobu 12 hodin s intervalem měření po 10 minutách. Reakce byla též iniciována pomocí TsOH. V tomto případě nebyla pozorována žádná konverze a výchozí sulfonát **16** zůstal v reakční směsi nezměněn. Vzorek byl nadále ještě zahříván na 100°C po dobu 2 hodin a bylo sledováno

pomocí TLC, zda nedojde k nastartování reakce. Žádná reakce bohužel pozorována nebyla. Vysvětlením nereaktivity tohoto substrátu může být přítomnost relativně bazického dusíkového atomu, který může snižovat efektivitu kyselého katalyzovaného procesu.

Při dalším pokusu byl testován sulfonát **18**. K 0,3 M roztoku sulfonátu **18** (50 mg v 0,5 ml CD₃CN) bylo přidáno 5 mol % TsOH. Tato reakční směs byla okamžitě vložena do NMR přístroje a průběh reakce byl sledován pomocí ¹H NMR při 50 °C po dobu 12 hodin s intervalem měření každých 10 minut. Tento substrát vykazoval opět typický autokatalytický profil reakční kinetiky (*Obr. 14*).



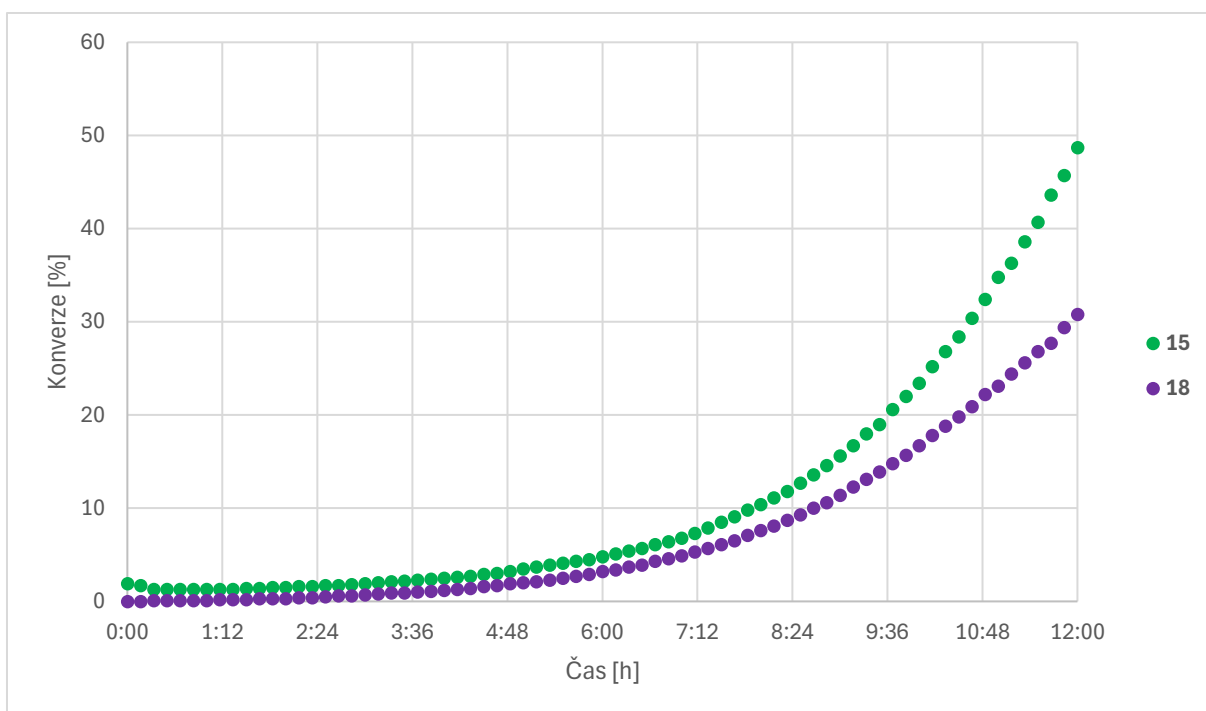
Obr. 13 - graf reakční kinetiky sulfonátu 15



Obr. 14 - graf reakční kinetiky sulfonátu **18**

3.3.2. Měření reakční kinetiky sulfonátů **15** a **18** v jednom vzorku

Byly testovány autokatalytické vlastnosti sulfonátu **15** (25 mg) a sulfonátu **18** (25 mg) v 0,5 ml CD_3CN . Ke směsi bylo přidáno 5 mol % TsOH a reakční směs byla ihned vložena do NMR přístroje. Průběh reakce byl zaznamenáván pomocí H^1 NMR při 50 °C po dobu 12 hodin s intervalem měření po 10 minutách. Výsledná data byla zpracována do grafu (Obr. 15).



Obr. 15 - graf reakční kinetiky sulfonátu **15** a sulfonátu **18**

3.4. Výsledky měření reakční kinetiky sulfonátů 15 a 18 v jednom vzorku

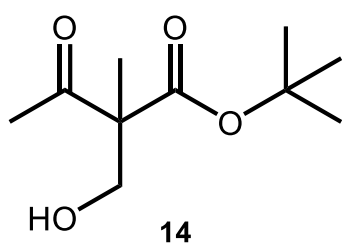
Z Obr. 15 je patrné, že průběh reakce vykazuje rozdílné kinetické chování jednotlivých sulfonátů. Křivky odpovídající koncentracím produktů sulfonátu 15 a sulfonátu 18 mají tendenci se od sebe vzdalovat, což naznačuje rozdílnou reaktivitu těchto látek ve stejné reakční směsi. Konkrétně lze pozorovat, že sulfonát 15 se začal rozkládat výrazně rychleji než sulfonát 18, což svědčí o jeho vyšší autokatalytické aktivitě. Tato skutečnost naznačuje, že reakce favorizuje jeden ze substrátů, což lze interpretovat jako určitý typ molekulární konkurence. Takové chování připomíná selekční tlak, který je běžně spojován s evolučními procesy v biologických systémech, kdy se některé organismy v prostředí prosazují efektivněji než jiné. Tato hypotéza by nicméně musela být potvrzena sekvencí těchto reakcí, kdy by každý nový experiment byl iniciován katalytickým množstvím výsledných produktů předešlé reakce v definovaném čase. Pokud by v tomto experimentu docházelo k postupnému obohacování jednoho produktu vůči druhému, tak by tento efekt skutečně souvisel se selekčním tlakem na molekulární úrovni. Otevírá se otázka, zda by podobné mechanismy mohly být základem přirozeného výběru nejen v biologických systémech, ale i v čistě chemických soustavách. To by mohlo poskytnout nový pohled na hranici mezi živými a neživými systémy a přispět k lepšímu porozumění procesům, které mohly hrát roli ve vzniku života na Zemi.

4. Experimentální část

4.1. Obecné postupy a chemikálie

Použité chemikálie, jako činidla, rozpouštědla, či výchozí látky, byly komerčně dostupné, získané od běžných dodavatelů s analytickou čistotou a byla použita bez dalšího přečištění. K analýze pomocí TLC byly použity destičky potažené vrstvou silikagelu 60 Å F₂₅₄ o tloušťce 0,2 mm. Pro vizualizaci bylo používáno nejprve UV záření o vlnové délce 254 nm a poté namočení destičky do detekčního činidla, čímž byl roztok vanilinu (15 g vanilinu, 250 ml ethanolu a 2,5 ml H₂SO₄), a následné zahřátí. Preparativní kolonová chromatografie byla provedena na silikagelu 60 Å o velikosti pórů v rozmezí 0,063 - 0,200 mm. ¹H a ¹³C NMR spektra byla zaznamenána na přístrojích Bruker Avance 400 a Bruker Avance III 600. ¹H NMR spektra byla zaznamenána při 400 MHz nebo 600 MHz. Spektra ¹³C NMR byla získána při 101 MHz a interakce mezi uhlíkem a vodíkem byly „odstíněny“ - spíše vyjadřováno anglickým výrazem „proton decoupling“. Jako rozpouštědlo pro měření vzorků syntetizovaných látek byl používán CDCl₃. Pro měření v průběhu autokatalytické reakce byla použita tato rozpouštědla: CD₃CN, (CD₃)₂SO. Chemické posuny (δ) jsou uváděny v jednotkách ppm a bez chemických posunů patřících rozpouštědlům (CDCl₃: δ C = 77,0 ppm, CD₃CN: δ C = 1,32 ppm a 118,26 ppm, (CD₃)₂SO: δ C = 39,5 ppm) a nedeuterovaným zbytkům rozpouštědla (CHCl₃: δ H = 7,26 ppm, CH₃CN: δ H = 1,94 ppm, (CH₃)₂SO: δ H = 2,50 ppm). Multiplicita jednotlivých signálů je označována takto: s = singlet, d = dublet, t = triplet, q = kvartet, m = multiplet. Spektra byla zpracována a analyzována pomocí softwaru Mestrenova. Měření hmotnostního spektra (HRMS) byla provedena pomocí ESI na spektrometru Agilent 6530 Q-TOF MS nebo Bruker Compact Q TOF. Infračervená spektra byla zaznamenána na spektrometru Thermo Nicolet Avatar 370 FT IR nebo pomocí ATR IR spektrometru. IR absorpce jsou uváděny ve vlnových číslech v jednotkách cm⁻¹. Veškeré chemické struktury byly kresleny v ChemDraw.

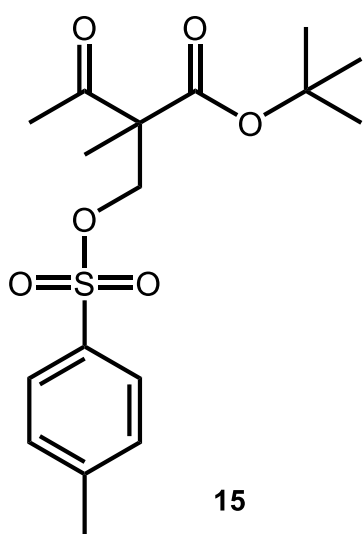
4.2. Syntéza výchozích látek



1,1-dimethylethyl-2-(hydroxymethyl)-2-methyl-3-oxobutanoát (14)

1,1-dimethylethyl-2-methyl-3-oxobutanoát **13** (4 g, 23 mmol) byl smíchán s ethanolem (2 ml, 34 mmol). Byl přidán hydroxid sodný (25 mg, 4 mmol) a 38% formaldehyd (2 ml, 22 mmol). Vzniklá směs byla míchána za laboratorní teploty po dobu 1 hodiny. Následně byla

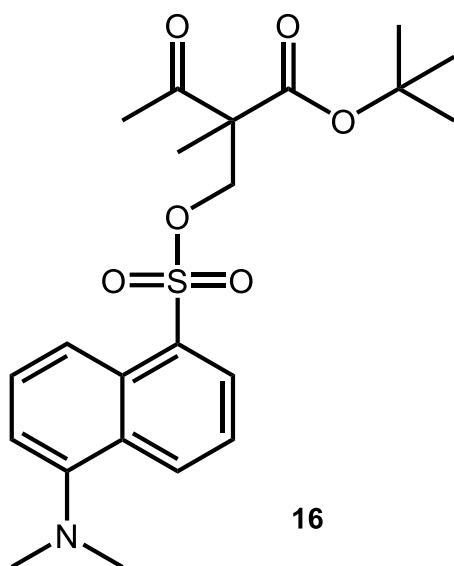
provedena TLC, díky které bylo prokázáno, že v reakční směsi už se nenachází skoro žádná výchozí látka. Reakční směs byla odpařena na rotační vakuové odparce a následně přečištěna pomocí kolonové chromatografie. Jako mobilní fáze byla použita směs cyklohexanu a ethylacetátu v poměru 9:1. Hmotnost produktu, získaného po provedení chromatografie, byla 1,91 g, což odpovídá výtěžku 41 %. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ 3.84 (dd, *J* = 11.4, 6.4 Hz, 1H), 3.74 (dd, *J* = 11.5, 7.6 Hz, 1H), 2.73 (dd, *J* = 7.6, 6.4 Hz, 1H), 2.21 (s, 3H), 1.47 (s, 9H), 1.33 (s, 3H). **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃) δ 207.1, 171.6, 82.7, 66.8, 61.9, 27.9, 27.1, 17.3. **IR** ($\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$) 3504, 2979, 2937, 2887, 1703, 1369, 1252, 1157, 1126, 1047. **HRMS** (ESI): *m/z* [M+H]⁺ vypočteno pro C₁₀H₁₈NaO₄⁺: 225.1097; nalezeno: 225.1098.



15

1,1-dimethylethyl-2-methyl-2-[[[(4-methylphenyl)sulfonyl]oxy]methyl]-3-oxobutanoát (15)

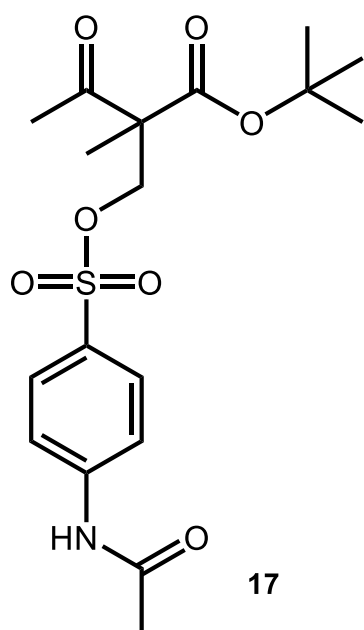
TsCl (224 mg, 1,17 mmol) a DMAP (60 mg, 0,49 mmol) byl rozpuštěn ve směsi Et₃N (164 μl, 1,19 mmol) a CH₂Cl₂ (1 ml, 15,65 mmol). Tato směs byla míchána po dobu 15 minut za laboratorní teploty. Poté byl přidán 1,1-dimethylethyl-2-(hydroxymethyl)-2-methyl-3-oxobutanoát **14** (200 mg, 0,10 mmol) a CH₂Cl₂ (1 ml, 15,65 mmol). Směs byla zahřívána k refluxu pod argonovou atmosférou po dobu 2 hodin a 40 minut. Byla provedena TLC, která ukázala, že reakce neproběhla v plné konverzi. V reakční směsi se nacházel nejen produkt, ale i 1,1-dimethylethyl-2-(hydroxymethyl)-2-methyl-3-oxobutanoát **14** a TsCl. Reakční směs byla odpařena na rotační vakuové odparce. Produkt byl separován pomocí kolonové chromatografie. Jako mobilní fáze byla použita směs cyklohexanu a ethylacetátu v poměru 9:1. Hmotnost produktu, získaného po provedení chromatografie, byla 123 mg, což odpovídá výtěžku 35 %. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ 7.77 (d *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.35 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 4.32 (d, *J* = 9.6 Hz, 1H), 4.23 (d, *J* = 9.6 Hz, 1H), 2.45 (s, 3H), 2.13 (s, 3H), 1.41 (s, 9H), 1.38 (s, 3H). **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃) δ 203.0, 168.6, 145.2, 132.6, 130.1, 128.2, 83.3, 72.0, 60.3, 27.8, 26.2, 21.8, 17.5. **IR** ($\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$) 2979, 2937, 2875, 1711, 1369, 1176, 1136. **HRMS** (ESI): *m/z* [M+H]⁺ vypočteno pro C₁₇H₂₄NaO₆S⁺: 379.1184; nalezeno: 379.1186.



16

1,1-dimethylethyl-2-(((5-(dimethylamino)naft-1-yl)sulfonyl)oxy)methyl)-2-methyl-3-oxobutanoát (16)

Do baňky byl vložen dansylchlorid (316 mg, 1,17 mmol), DMAP (60 mg, 0,49 mmol), 1,1-dimethylethyl-2-(hydroxymethyl)-2-methyl-3-oxobutanoát **14** (200 mg, 0,10 mmol), Et₃N (164 µl, 1,19 mmol) a CH₂Cl₂ (2 ml, 15,9 mmol). Směs byla pod argonem zahřívána k refluxu po dobu 3 hodin. Byla provedena TLC, která prokázala, že výchozí látka již ve směsi není přítomna. Směs byla odpařena na rotační vakuové odparce. Pro separaci produktu byla provedena kolonová chromatografie. Jako mobilní fáze byla použita směs cyklohexanu a ethylacetátu v poměru 8:2. Hmotnost produktu, získaného po provedení chromatografie, byla 160 mg, což odpovídá výtěžku 37 %. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.61 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 8.27 (dd, *J* = 7.3, 1.3 Hz, 1H), 8.19 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 7.56 (m, 2H), 7.19 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 4.30 (d, *J* = 9.7 Hz, 1H), 4.18 (d, *J* = 9.7 Hz, 1H), 2.89 (s, 6H), 2.07 (s, 3H), 1.37 (s, 9H), 1.33 (s, 3H). ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 202.9, 168.6, 152.0, 131.9, 130.9, 130.9, 130.0, 128.9, 123.2, 119.4, 115.7, 83.2, 72.3, 60.3, 45.6, 27.8, 27.6, 26.1, 17.5. IR (ν_{max}/cm⁻¹) 3082, 2979, 2941, 2871, 2835, 2789, 1711, 1358, 1174, 787. HRMS (ESI): *m/z* [M+H]⁺ vypočteno pro C₂₂H₃₀NO₆S⁺: 436.1793; nalezeno: 436.1788.

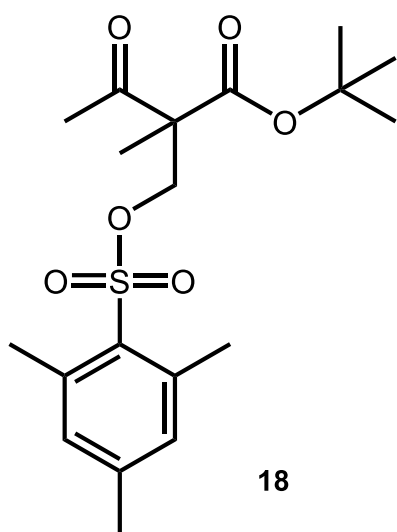


17

1,1-dimethylethyl-2-(((4-acetamidophenyl)sulfonyl)oxy)methyl)-2-methyl-3-oxobutanoát (17)

Do baňky byl navážen DMAP (60 mg, 0,49 mmol) a N-acetylsulfanilylchlorid (273 mg, 1,17 mmol). Do téže baňky byl odpipetován Et₃N (164 µl, 1,19 mmol) a CH₂Cl₂ (1 ml, 7,95 mmol). Směs byla míchána po dobu 20 minut za laboratorní teploty. 1,1-dimethylethyl-2-(hydroxymethyl)-2-methyl-3-oxobutanoát **14** (200 mg, 0,10 mmol) byl rozpuštěn v CH₂Cl₂ (1 ml, 15,65 mmol) a vzniklá směs byla přidána do míchající se směsi. Vzniklá reakční směs byla zahřívána k refluxu pod argonovou atmosférou po dobu 1 hodiny. Byla provedena TLC, která prokázala, že v reakční směsi se již nenacházel žádný 1,1-dimethylethyl-2-

(hydroxymethyl)-2-methyl-3-oxobutanoát **14**. Byla provedena kolonová chromatografie, kde jako mobilní fáze byla použita směs cyklohexanu a ethylacetátu v poměru 1:1. TLC po chromatografii prokázala přítomnost tří produktů. Bylo změřeno $^1\text{H NMR}$ všech tří produktů a bylo zjištěno, že jeden z produktů by mohl odpovídat látce, kterou jsme se snažili připravit, ale látka nebyla čistá. Tohoto produktu bylo získáno 12,5 mg, což by odpovídalo výtěžku 3 %. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.85 – 7.68 (m, 4H), 4.32 (d, $J = 9.6$ Hz, 1H), 4.23 (d, $J = 9.6$ Hz, 1H), 2.21 (s, 3H), 2.14 (s, 3H), 1.42 (s, 9H), 1.38 (s, 3H).



18

1,1-dimethylethyl-2-(((mesitylsulfonyl)oxy)methyl)-2-methyl-3-oxobutanoát (**18**)

Do baňky byl vložen DMAP (60 mg, 0,49 mmol), 2,4,6,-trimethylbenzensulfonylchlorid (256 mg, 1,17 mmol), Et_3N (164 μl , 1,19 mmol) a CH_2Cl_2 (1 ml, 7,95 mmol). Směs byla míchána po dobu 15 minut za laboratorní teploty. Byl přidán 1,1-dimethylethyl-2-(hydroxymethyl)-2-methyl-3-oxobutanoát **14** (200 mg, 0,10 mmol) a CH_2Cl_2 (1 ml, 15,65 mmol). Směs byla zahřívána k refluxu pod argonovou atmosférou po dobu 3 hodin. Byla provedena TLC, která

prokázala, že výchozí látka již ve směsi není přítomna. Následně byla směs odpařena na rotační vakuové odparce a byla provedena kolonová chromatografie, kde jako mobilní fáze byla použita směs cyklohexanu a ethylacetátu v poměru 9:1. Hmotnost produktu, získaného po provedení chromatografie, byla 76 mg, což odpovídá výtěžku 20 %. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 6.97 (s, 2H), 4.27 (d, $J = 9.6$ Hz, 1H), 4.18 (d, $J = 9.7$ Hz, 1H), 2.60 (s, 6H), 2.31 (s, 3H), 2.15 (s, 3H), 1.44 (s, 9H), 1.41 (s, 3H). $^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ 203.1, 168.7, 143.6, 140.2, 131.9, 130.3, 83.3, 71.1, 60.3, 27.9, 26.2, 22.8, 21.2, 17.6. **IR** ($\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$) 3014, 2981, 2941, 2875, 1743, 1712, 1352, 1174, 1142. **HRMS** (ESI): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ vypočteno pro $\text{C}_{19}\text{H}_{28}\text{NaO}_6\text{S}^+$: 407.1498; nalezeno: 407.1499.

4.3. Měření reakční kinetiky

1,1-dimethylethyl-2-methyl-2-[[[(4-methylfenyl)sulfonyl]oxy]methyl]-3-oxobutanoát (**15**)

Do skleněné vialky byl vložen sulfonát **15** (50 mg, 0,14 mmol) a byl přidán CD_3CN (0,5 ml, 42,9 mmol). Směs byla promíchána a přenesena do NMR kyvety. Do druhé vialky byla vložena TsOH (24 mg, 0,14 mmol), byl přidán CD_3CN (0,5 ml, 42,9 mmol) a směs byla promíchána. NMR kyveta byla vložena do NMR přístroje předehřátého na 60 °C a bylo

změřeno ^1H NMR spektrum. Následně byla kyveta vyjmuta z NMR přístroje, bylo přidáno 25 μl připraveného roztoku TsOH, směs byla promíchána a ihned byla vložena zpět do NMR přístroje a bylo spuštěno měření ^1H NMR spekter po dobu 8 hodin v intervalech po 15 minutách.

Reakce byla opakována, ale místo CD_3CN byl použit $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$. Po ukončení měření byla reakční směs zahřívána na $100\text{ }^\circ\text{C}$ po dobu 2 hodin.

1,1-dimethylethyl-2-(((5-(dimethylamino)naft-1-yl)sulfonyl)oxy)methyl)-2-methyl-3-oxobutanoát (16)

Sulfonát **16** byl navážen do vialky (50 mg, 0,11 mmol), byl k němu přidán CD_3CN (0,5 ml, 42,9 mmol) a směs byla promíchána. Následně byla směs přenesena do NMR kyvety. Byla navážena TsOH (24 mg, 0,14 mmol) do nové vialky, kam byl následně přidán CD_3CN (0,5 ml, 42,9 mmol) a směs byla promíchána. Do předehřátého NMR přístroje na $50\text{ }^\circ\text{C}$ byla vložena NMR kyveta a bylo změřeno ^1H NMR spektrum. Poté byla z NMR přístroje vyjmuta a bylo do ní přidáno 25 μl připraveného roztoku TsOH. Reakční směs byla promíchána a ihned umístěna do NMR přístroje. Bylo spuštěno měření ^1H NMR spekter po dobu 12 hodin v intervalech po 10 minutách.

1,1-dimethylethyl-2-(((mesitylsulfonyl)oxy)methyl)-2-methyl-3-oxobutanoát (18)

Do jedné vialky byla navážena TsOH (24 mg, 0,14 mmol), byl přidán CD_3CN (0,5 ml, 42,9 mmol) a směs byla promíchána. Do druhé vialky byl navážen sulfonát **18** (50 mg, 0,13 mmol), byl přidán CD_3CN (0,5 ml, 42,9 mmol), směs byla promíchána a přenesena z vialky do NMR kyvety. NMR kyveta byla umístěna do NMR přístroje předehřátého na $50\text{ }^\circ\text{C}$ a bylo změřeno ^1H NMR spektrum. Poté byla kyveta vyjmuta z přístroje, bylo přidáno 25 μl připraveného roztoku TsOH, směs byla ihned promíchána, vložena do NMR přístroje a bylo zahájeno měření ^1H NMR spekter po dobu 12 hodin v intervalech po 10 minutách.

1,1-dimethylethyl-2-methyl-2-[[[(4-methylfenyl)sulfonyl]oxy]methyl]-3-oxobutanoát (15) a 1,1-dimethylethyl-2-(((mesitylsulfonyl)oxy)methyl)-2-methyl-3-oxobutanoát (18)

Do vialky byl vložen sulfonát **15** (25 mg, 0,07 mmol) a sulfonát **18** (25 mg, 0,07 mmol). Do téže vialky byl přidán CD_3CN (0,5 ml, 42,9 mmol) a směs byla promíchána. Do další vialky byla vložena TsOH (24 mg, 0,14 mmol) a CD_3CN (0,5 ml, 42,9 mmol). Směs byla promíchána. Směs obsahující sulfonáty byla přemístěna do NMR kyvety, která byla následně vložena do předehřátého NMR přístroje na $50\text{ }^\circ\text{C}$ a bylo změřeno ^1H NMR

spektrum. Následně byla kyveta vyjmuta z přístroje a bylo do ní přidáno 25 μ l připraveného roztoku TsOH. Poté byla kyveta promíchána a ihned umístěna zpět do NMR přístroje. Bylo spuštěno měření ^1H NMR spekter po dobu 12 hodin v intervalech po 10 minutách.

Vyhodnocení NMR měření

Naměřená spektra byla v programu Mestrenova zreferencována na CH_3CN a byl sledován průběh pomocí integrace signálů, které odpovídaly ubývajícím substrátům a přibývajícím kyselinám. Chemické posuny signálů, které byly použity k integraci a určení konverze, byly: pro sulfonát **15** δ 7.45, pro TsOH δ 7.36, pro sulfonát **18** δ 7.09 a pro 2-mesytylensulfonovou kyselinu δ 7.02.

5. Závěr

Tato bakalářská práce se zaměřila na studium autokatalytických vlastností vybraných sulfonátů. Bylo potvrzeno, že některé testované sulfonáty vykazují autokatalytické vlastnosti, zatímco jiné nereagují očekávaným způsobem, což naznačuje vliv struktury a elektronových charakteristik na jejich reaktivitu. Důležitým zjištěním bylo sledování reakční kinetiky dvou sulfonátů ve společné směsi, kdy bylo pozorováno, že jedna ze sloučenin vykazuje vyšší reaktivitu než druhá. Toto chování lze interpretovat jako molekulární selekční tlak, což otevírá otázky o potenciální analogii mezi chemickými systémy a procesy evoluce v živých organismech. Získané poznatky mohou být přínosné pro výzkum hranice mezi živým a neživým, zejména v kontextu teoretických modelů vzniku života a prebiotické chemie.

6. Literatura

- 1) Hanopolskyi, A. I.; Smaliak, V. A.; Novichkov, A. I.; Semenov, S. N. Autocatalysis: Kinetics, Mechanisms and Design. *ChemSystemsChem* **2021**, *3* (1).
- 2) Hsueh, H.-Y.; Huang, Y.-Ch.; Ho, R.-M.; Lai, Ch.-H.; Makida, T.; Hasegawa, H. Nanoporous Gyroid Nickel from Block Copolymer Templates via Electroless Plating. *Advanced materials (Weinheim)* **2011**, *23* (27), 3041-3046.
- 3) Xavier, J. C.; Hordijk, W.; Kauffman, S.; Steel, M.; Martin, W. F. Autocatalytic chemical networks at the origin of metabolism. *Proceedings of the Royal Society. B, Biological sciences* **2020**, *287* (1922), 20192377-20192377.
- 4) Peng, Z.; Linderoth, J.; Baum, D. A. The Hierarchical Organization of Autocatalytic Reaction Networks and Its Relevance to the Origin of Life. *PLOS Comput. Biol.* **2022**, *18*(9), e1010498.
- 5) Omran, A.; Menor-Salvan, C.; Springsteen, G.; Pasek, M. The Messy Alkaline Formose Reaction and Its Link to Metabolism. *Life (Basel, Switzerland)* **2020**, *10* (8), 125.
- 6) Higgs, P. G.; Lehman, N. The RNA World: molecular cooperation at the origins of life. *Nature reviews. Genetics* **2015**, *16* (1), 7-17.
- 7) Schummer, J. Wilhelm Ostwald. <https://www.britannica.com/biography/Wilhelm-Ostwald> (accessed 2024-08-12).
- 8) Peng, Z.; Paschek, K.; Xavier, J. C. What Wilhelm Ostwald meant by “Autokatalyse” and its significance to origins-of-life research. *BioEssays* **2022**, *44* (9).
- 9) Ostwald, W. (1890). Über Autokatalyse. *Berichte über die Verhandlungen der Königlich Sächsischen Gesellschaft der Wissenschaften zu Leipzig Mathematisch-Physische Classe* **1890**, *42*, 189-191.
- 10) Ostwald, W. Über katalyse. *Zeitschrift für Elektrochemie* **1901**, *7*, 995-1004.

- 11) Boutlerow, A. M. Formation synthétique d'une substance sucrée. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences* **1861**, 53, 145–147.
- 12) Eigen, M. Self-Organization of Matter and the Evolution of Biological Macromolecules. *Die Naturwissenschaften* **1971**, 58 (10), 465–523.
- 13) Patzke, V.; von Kiedrowski, G. Self-Replicating Systems. *ARKIVOC* **2007**, v, 293–310.
- 14) Semenov, S. N.; Kraft, L. J.; Ainla, A.; Zhao, M.; Baghbanzadeh, M.; Campbell, V. E.; Kang, K.; Fox, J. M.; Whitesides, G. M. Autocatalytic, bistable, oscillatory networks of biologically relevant organic reactions. *Nature* **2016**, 537(7620), 656–660.
- 15) Blackmond, D. G. The Origin of Biological Homochirality. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* **2019**, 11 (7), a032540.
- 16) Hordijk, W. Autocatalytic Sets: From the Origin of Life to the Economy. *BioScience* **2013**, 63(11), 877–881.
- 17) Wächtershäuser, G. Origin of Life: RNA World versus Autocatalytic Anabolism. In *The Prokaryotes*; Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K.-H., Stackebrandt, E., Eds.; Springer: New York, **2006**; pp 275–283.
- 18) Hordijk, W.; Hein, J.; Steel, M. Autocatalytic Sets and the Origin of Life. *Entropy* **2010**, 12(7), 1733–1742.
- 19) Zorc, S. A.; Roy, R. N. Origin & Influence of Autocatalytic Reaction Networks at the Advent of the RNA World. *RNA Biol.* **2024**, 21 (1), 1023–1037.
- 20) Arimitsu, K.; Kudo, K.; Ichimura, K. Autocatalytic Fragmentation of Acetoacetate Derivatives as Acid Amplifiers to Proliferate Acid Molecules. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120 (1), 37–45.