

**Univerzita Karlova v Praze
Přírodovědecká fakulta**

Studijní program:
Klinická a toxikologická analýza



Nicole Vinklová

Molekulární rozeznávání v plynné fázi: Chirální rozeznávání
Molecular recognition in the gas phase: Chiral recognition

Diplomová práce

Vedoucí závěrečné práce: Mgr. Jana Roithová, PhD.

Praha, 2011

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně 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, 16. 5. 2011

Podpis

Poděkování

Ráda bych poděkovala své školitelce Mgr. Janě Roithové, Ph.D. za odborné vedení, všestrannou pomoc jak v laboratoři, tak i se zpracováním výsledků.

Abstrakt

Tato práce se zabývá molekulárním rozeznáváním chirálních sloučenin v plynné fázi. Jako detekční metoda byla použita tandemová hmotnostní spektrometrie. Hlavní sledované sloučeniny byly MacMillanovy organokatalyzátory a prolin s různou chiralitou. Byly provedeny 3 experimenty. Hledání prahových hodnot vazebných energií v komplexech prolinu s aminy, kde se testovaly komplexy s 2-aminobutanem a 2-aminohexanem různé chiralitě. Studium stability trimerních komplexů (Cu^{2+} a chirálních ligandů), které bylo prováděno při dvou kolizních energiích. Zde byl pozorován největší chirální efekt. A měření rychlostních konstant, kde se sledovaly disociační a výměnné reakce komplexů.

Klíčová slova: hmotnostní spektrometrie, kinetická metoda, chirální sloučeniny, chirální rozeznávání, prolin, organokatalýza

Abstract

This thesis deals with molecular recognition of chiral compounds in the gas phase. Tandem mass spectrometry was used as a detection method in this case. Compounds, which have been studied, were MacMillan organocatalysts and proline with different chirality. Three experiments were carried out. Determination of activation energy for fragmentation of proline complexes with amines, where we have studied complexes with 2-aminobutane and 2-aminohexane of different chirality. Fragmentation studies of diastereoisomeric complexes of Cu^{2+} and three chiral ligands were carried out at two different collision energies. There the largest chiral effect was observed. The last topic was a measurement of the rate constants. It was aimed at dissociation and exchange reactions of complexes.

Keywords: mass spectrometry, kinetic method, chiral compounds, chiral recognition, proline, organocatalysis

Obsah

Cíl diplomové práce	- 6 -
Úvod.....	- 7 -
1. Teoretický úvod.....	- 8 -
1.1 Chirální diskriminace	- 8 -
1.2 Chirální selektory v molekulárním rozpoznávání enantiomerů	- 9 -
1.3 Studium interakcí v diastereoisomerech	- 10 -
1.4 Organokatalýza	- 11 -
1.5 Enantiomery	- 12 -
2. Metody.....	- 15 -
2.1 Hmotnostní spektrometrie.....	- 15 -
2.1.1 Ionizace elektrosprejem	- 16 -
2.1.2 Vznik iontů	- 16 -
2.1.3 Tandemová hmotnostní spektrometrie	- 17 -
2.1.4 Trojitý kvadrupól.....	- 18 -
2.1.5 Princip kvadrupólu.....	- 19 -
2.2 Kinetická metoda	- 20 -
2.2.1 Energetický přenos během kolizí.....	- 23 -
3 Experimentální část a výsledky	- 24 -
3.1 Studium prahových hodnot komplexů	- 25 -
3.2 (2S,5S)-(-)-2-tert-butyl-3-methyl-5-benzyl-4-imidazolidinon	- 31 -
3.3 Kolizně indukovaná disociace komplexů mědi (II) a chirálních ligandů	- 34 -
3.4 Rychlostní konstanty.....	- 45 -
Závěr	- 57 -
Použité zkratky	- 59 -
Literatura	- 60 -

Cíl diplomové práce

Nalezení vhodných systémů, které by vykazovaly velké stereochemické efekty, čímž by umožnily selektivní rozeznávání chirálních látek v plynné fázi.

Úvod

Značná část přírodních látek je chirálních. Chiralita patří mezi základní vlastnosti živé hmoty, proto je opodstatněná pozornost věnována sledování stereospecifického chování a působení sloučenin, důsledků při aplikaci léčiv, agrochemikálií a při kontrole složek potravin. Chirální látky se nacházejí v přírodě ve formě enantiomerů, případně diastereoisomerů. Především odlišnému chování enantiomerů léčiv je věnována pozornost již delší dobu¹.

V posledních letech se zájem rozšiřuje i do oblasti agrochemikálií s ohledem na rozdílné účinky enantiomerů i enantioselektivní metabolismus. Záměna chirálních složek potravin nemá tak závažné důsledky jako třeba použití nevhodného enantiomeru léčiva, nicméně stanovení enantiomerního zastoupení může dobře posloužit v řadě aplikací².

Enantiomery mají nejen rozdílné prostorové uspořádání, ale také mohou mít rozdílnou chuť, vůni, výživovou hodnotu². Například molekula limonenu. Obě její chirální formy se vyskytují v přírodě. Rozdíl je dán odlišnou vůní, kterou způsobují. Jedna má vůni citrónu a druhá pomeranče. Dalším příkladem jsou aminokyseliny kromě glycinu. Tyto sloučeniny jsou stavebními kameny živé hmoty. Nabízí se otázka, proč zrovna L formy aminokyselin jsou její součástí a ne i D formy³?

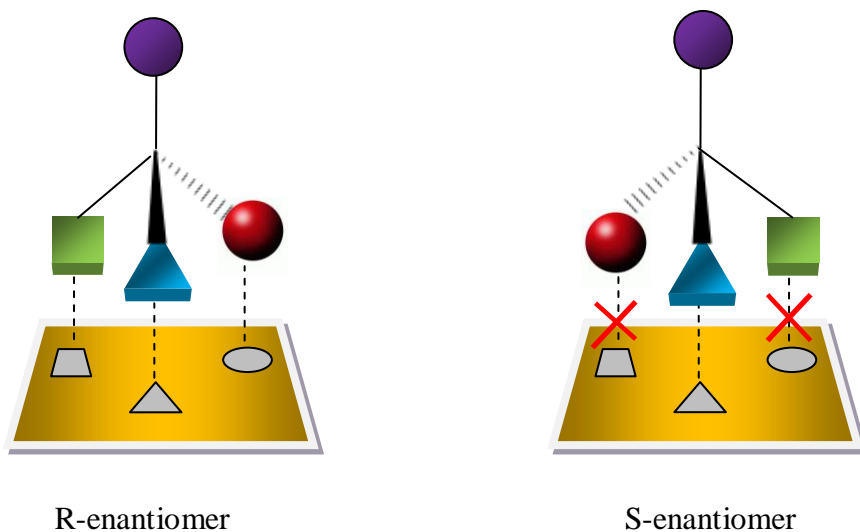
Jak tedy od sebe odlišit enantiomery? Mezi nejvíce používané a účinné techniky pro výzkum reakčních mechanismů v plynné fázi a základních vlastností molekul je hmotnostní spektrometrie. Kombinace hmotnostní spektrometrie s ionizací elektrosprejem umožňuje výzkum složení reakčních směsí. Identifikované reaktanty, meziproducty, případně producty mohou být dále detailně studovány. Je studováno jejich fragmentační chování a jejich vlastnosti s ohledem na ostatní reaktanty.

1. Teoretický úvod

1.1 Chirální diskriminace

Chirální diskriminace mezi enantiomery se začíná stávat jednou z důležitých oblastí v analytické chemii. Její významný přínos je hlavně ve farmaceutickém průmyslu, klinické analýze, analýze potravin a forenzní analýze. Mnoho sloučenin se může vyskytovat jako racemické směsi enantiomerů. Jeden enantiomer může mít určitý vliv na fyziologii, farmakologii, farmakodynamiku a farmakokinetiku, zatímco druhý vykazuje velmi odlišné fyziologické chování, jiné interakce s živými organismy a odlišnou aktivitu v chemických a biologických procesech⁴. Mezi tyto látky patří například thalidomid (3-ftalimidoglutarimid), který se podával pacientům jako látka s uklidňujícím účinkem, která není návyková. Bohužel měl za následek těžká poškození novorozenců, jejichž matky jej užívaly v době těhotenství proti ranním nevolnostem. Zjistilo se, že jen jedna forma má léčebné účinky a ta druhá způsobovala poškození. Proto byl lék stažen z oběhu^{5,6}.

Z důvodů možných různých biologických účinků je určování enantiomerní čistoty různých sloučenin důležité ve stereoselektivní syntéze, výrobě farmaceutik, pesticidů a některých potravních aditiv, kde jen jedna enantiomerní forma je účinná a může úspěšně fungovat. Molekulární rozeznávání enantiomerů v asymetrických vazebných centrech enzymů, peptidů, nebo jiných biomolekul (obecně ale také jakýchkoliv jiných chirálních molekul) je popsáno přes minimálně třibodovou interakci, která může být přitažlivá nebo odpudivá (Obr. 1.1). Hodně typů chirálních selektorů bylo popsáno pro kvantitativní testování enantiomerní čistoty chirálních léčiv. Separace a stanovování enantiomerů jsou v současné době prováděny obvykle vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií a elektromigračními technikami.



Obr. 1.1 Princip chirálního rozeznávání, princip zámku a klíče.

Nejvíce slibným materiálem v oblasti umělých molekulárních rozeznávacích systémů jsou molekulární vtištěné polymery (polymer, který má vazebná místa vytvořená „otiskem“ vzorové molekuly). Molekulární otisknutí (imprinting) dovoluje vytvoření specifických rozpoznávacích míst pro předem známé molekuly v polymeru. Při použití takto vytvořených polymerů pro stacionární fázi kolonové chromatografie, je potom enantiomer, který byl použit pro otisknutí, silněji vázán v koloně, čímž dochází k rozdělení enantiomerů⁴.

1.2 Chirální selektory v molekulárním rozpoznávání enantiomerů

Jedním ze základů mnoha procesů v chemii (asymetrická syntéza, chirální chromatografie, chirální nukleární magnetická resonance apod.) a biologii (enzymová katalýza) je schopnost chirálních molekulárních systémů specificky rozpoznávat opticky aktivní sloučeniny. Rozeznávací mechanismus obsahuje agregaci nabitého či neutrálního selektoru a enantiomerního páru do dvou diastereomerních molekulárních komplexů, které drží pohromadě různými kombinacemi nekovalentních mezimolekulárních interakcí,

a proto jsou obdařeny různou stabilitou (termodynamická enantioselektivita) a reaktivitou (kinetická enantioselektivita)^{7,8}.

Jeden z nejvíce kritických úkolů v molekulárním rozeznávání enantiomerních párů je výběr chirálního selektoru. Existuje mnoho sloučenin používaných jako chirální selektory v chromatografiích, elektromigračních a elektrochemických technikách⁹.

Přírodní polysacharidy cyklodextriny a jejich deriváty jsou často používány jako stacionární fáze vysokoúčinné kapalinové chromatografie a chromatografie na tenké vrstvě jako aditiva do elektrolytu v kapilární elektroforéze. Pro tuto skupinu, selektivita vyplývá z interakce s analytem zahrnujícím vodíkové vazby. Jiné selektory působí na základě π - π interakce nebo interakce dipól – indukovaný dipól interakce¹⁰.

Na chirální rozeznávání byla používána i některá léčiva. Polyetherová antibiotika byla zkoumána jako chirální selektory v membránách pro stanovení chirálních amoniových solí¹¹.

Makrocyclická antibiotika jako ansamycin a glykopeptidy byly úspěšně použity jako chirální selektory v mnoha technikách kapalinové chromatografie, kapilární elektroforézy a kapilární elektrochromatografie. Jejich výhoda spočívá v množství stereogenních skupin zahrnujících aromatické kruhy, hydrofobní kavity, skupiny vytvářející vodíkové vazby a také ionizovatelné skupiny ovlivňující chirální rozeznávání a elektroforetické chování. Dvě nejvíce úspěšná makrocyclická antibiotika jsou vankomycin a teikoplanin. Teikoplanin jako chirální selektor zajišťuje integritu chirálních stacionárních fází. Má výbornou enantioselektivitu pro aminokyseliny, peptidy, alfa-hydroxykarboxylové kyseliny a množství neutrálních analytů zahrnující cyklické amidy a aminy¹²⁻¹⁵.

1.3 Studium interakcí v diastereoisomerech

Kvantifikace nekovalentní interakce v diastereomerních agregátech v kondenzované fázi představuje nelehký úkol, kvůli přechodnému charakteru aduktů a nevyhnutelnému vlivu prostředí (medium). Pro překonání těchto problémů je zvýšená pozornost věnována technikám v plynné fázi, především hmotnostní spektrometrii. Ve skutečnosti tyto techniky umožňují sledování dlouho žijících diastereomerních agregátů

a hodnocení jejich vnitřních interakcí tak, že odstraní rušivý vliv rozpouštědla⁸.

Základním předpokladem pro správné uplatňování hmotnostní spektrometrie pro výzkum chirální diskriminace je, že si opticky aktivní polovina v iontových agregátech musí zachovat svou původní konfiguraci.

Nejintenzivnější studie na téma chirální rozeznávání v plynné fázi byly provedeny pomocí elektrosprejové ionizace a metody ionizace laserem za přítomnosti matrice (MALDI), kde agregáty vznikají při desorpci nebo odpařování z tekuté matrice⁷.

1.4 Organokatalýza

Užitečnost prolinu, coby molekuly schopné tvořit selektivně diastereoisomery, se prokázala také v organické syntéze¹⁶. Z použití prolinu, jako katalyzátoru pro vysoce enantioselektivní reakce, se vyvinul obor „organokatalýza“^{17,18}.

Organokatalýza poskytuje mnoho výhod pro syntézu v organické chemii. Mezi výhody organokatalyzátorů patří snadná manipulace při experimentech, stabilita na vzduchu a ve vodě, nízká cena a snadná dostupnost. Navíc jsou relativně netoxické a snadno oddělitelné od reakční směsi na rozdíl od mnoha katalyzátorů přechodných kovů¹⁹.

Mnoho současných organokatalyzátorů je inspirováno přírodními enzymy, jejichž kostra je optimalizována k navázání specifického substrátu a k zajištění aktivace ve správných pozicích. Aktivace je dosaženo elektrofilním nebo nukleofilním atakem substrátu, proto jsou molekuly katalyzátoru obvykle silně navázány polární funkční skupinou nebo nabitou reaktivní formou molekuly. Organokatalyzátory mohou být klasifikovány podle primárního způsobu účinku jako Lewisovy kyseliny nebo zásady a Broenstedovy kyseliny nebo zásady²⁰.

Mezi nejvíce používané katalyzátory v organokatalýze jsou Lewisovy báze jako aminy a karbeny²¹. Na rozdíl od Lewisových kyselin, například karboxylové kyseliny, mají chirální Broenstedovy kyseliny novější uplatnění jako katalyzátory¹⁷.

Molekula prolinu je typický příklad účinného organokatalyzátoru Lewisovské báze. Je známo, že reakce s ketony probíhá přes vznik enamínů, které následně mohou reagovat s elektrofilny za vzniku alfa-substituovaných ketonů. Různé varianty této reakce mohou být

použity pro zahájení vysoce enantioselektivní aldolové kondenzace, Mannichovy reakce, Michealovy adice, aminace nebo chlorace. Iminiový ion může být zmíněn jako nabitý katalyzátor Lewisovy báze. Katalyzátory Lewisovských kyselin jsou méně používané, méně běžné, ale pár zajímavých reakcí silných organokatalyzátorů bylo objeveno^{17,22}. Obrázky 1.2, 1.3, 1.4 a 1.5 ukazují pár vybraných organokatalyzátorů, které jsou schopné zahájit celé spektrum reakcí.

Ohromný nárůst důležitosti enantioselektivní organokatalýzy v posledním desetiletí slibuje velký potenciál organokatalyzátorů pro chirální rozeznávání. Velké množství molekul speciálně vyvinutých pro organokatalýzu, které jsou obvykle snadno ionizovatelné pomocí protonace, nabízí široké pole působnosti pro hmotnostně-spektrometrický výzkum specifických interakcí diastereoisomerů.

Dlouhodobým cílem výzkumu diastereoisomerů v plynné fázi je objevit typ sloučenin, které by byly schopné selektivně vázat pouze jeden typ enantiomerů z dané skupiny molekul (např. sekundární alkoholy nebo aminy). Toto by nejenom umožnilo rychlou metodu stanovení enantiomerní čistoty reakčních produktů pomocí hmotnostní spektrometrie ve spojení s elektrosprejem (ESI-MS), ale pomocí spojení ESI-MS s reaktorem bychom mohli přímo kontrolovat enantioselektivní průběh reakcí. Důležitý aspekt analýzy je rozpoznávání chirálních a achirálních sloučenin. Často je časově náročné určit, jestli přírodní produkt nebo metabolit dostupný ve velmi malých množstvích je achirální, racemický nebo enantiomerně obohacený. Vývoj rychlé a jednoduché metody pro chirální rozpoznávání pomocí ESI-MS by mohlo mít tedy velký ekonomický dopad v této oblasti výzkumu.

1.5 Enantiomery

Některé organické sloučeniny existují ve formě dvou zrcadlových obrazů, tzv. enantiomerů. Jsou to izomerní látky, které mají schopnost stáčet rovinu polarizovaného světla buď doleva, nebo doprava. Podle toho o nich říkáme, že jsou pravotočivé popř. levotočivé. Jsou zrcadlově symetrické a nelze je ztotožnit rotací ani translací.

Enantiomery mají většinu chemických i fyzikálních (např. bod tání, hustota) vlastností stejné. Jejich odlišnost spočívá v odlišných schopnostech k rovině polarizovaného světla. Dochází k otáčení roviny polarizovaného světla o stejný úhel ale v opačném směru. Směr otáčení těchto látek se znázorňuje (-) pro levotočivé a (+) pro pravotočivé před názvem sloučeniny²³.

Charakteristickým znakem většiny enantiomerů je asymetrické centrum (centrum chirality), což je uhlík. Obvykle uhlíkový atom, který nese čtyři různé substituenty a tím je také způsobena optická aktivita²⁴.

V molekule nemusí být jen jedno centrum chirality. Čím více asymetrických uhlíkových atomů obsahuje, tím vzrůstá počet stereoizomerů.

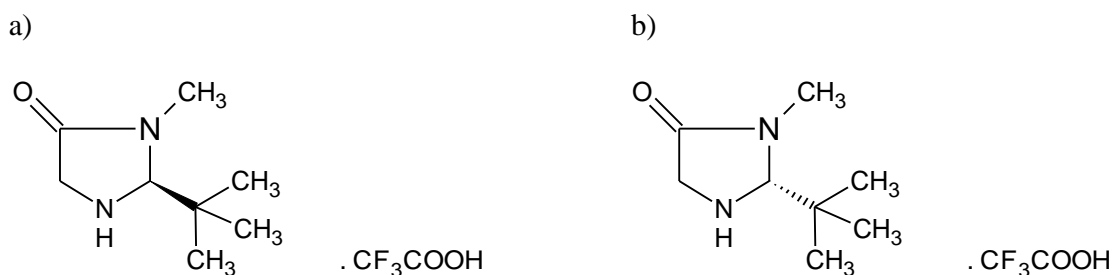
Dojde-li ke smíchání enantiomerů ve stejném poměru, vznikne opticky neaktivní forma zvaná racemická směs. Tuto směs lze vhodnými metodami zpět rozdělit na jednotlivé enantiomery.

Na níže uvedených obrázcích 1.2 – 1.4 jsou příklady enantiomerních sloučenin, které byly v této práci studovány.



Obr. 1.2 a) *L*-prolin

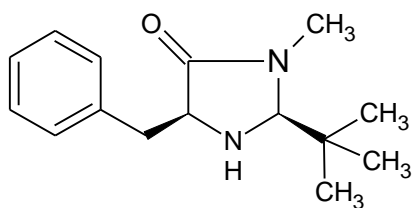
b) *D*-prolin



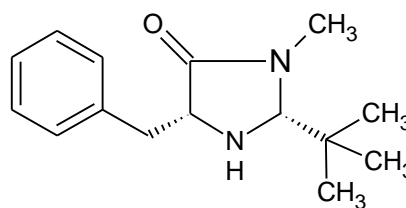
Obr. 1.3 a) (*S*)-(-)-2-(terc-butyl)-3-methyl-4-imidazolidinon trifluorooctová kyselina

b) (*R*)-(+)-2-(terc-butyl)-3-methyl-4-imidazolidinon trifluorooctová kyselina

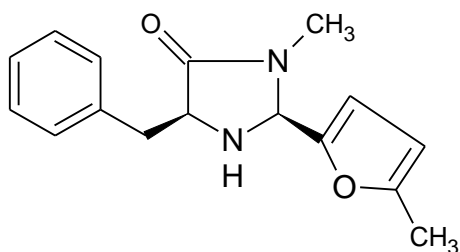
a)



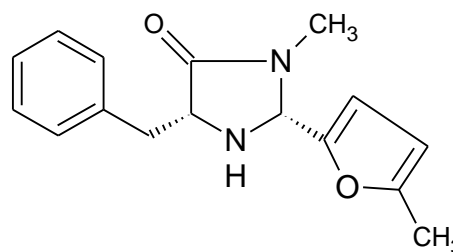
b)

Obr. 1.4 a) (2*S*,5*S*)-(-)-2-*tert*-butyl-3-methyl-5-benzyl-4-imidazolidinonb) (2*R*,5*R*)-(+)-2-*tert*-butyl-3-methyl-5-benzyl-4-imidazolidinon

a)



b)

Obr. 1.5 a) (2*S*,5*S*)-(-)-5-benzyl-3-methyl-2-(5-methyl-2-furyl)-4-imidazolidinonb) (2*R*,5*R*)-(+)-5-benzyl-3-methyl-2-(5-methyl-2-furyl)-4-imidazolidinon

Poprvé si chiralitu všiml Pasteur. Pozoroval zvláštní chování roztoku kyseliny vinné na dně lahve od vína a na jejím hrdle²⁵. Po bližším zkoumání zjistil, že kyselina vinná může existovat ve dvou formách. Později se pro tyto formy sloučenin začal používat termín enantiomery²⁶⁻³¹. To vedlo k nárůstu vědeckého zkoumání nalézt odpovědi na nezodpovězené otázky, jakou je například: „Proč v živých systémech výhradně převládá jedna z enantiomerních forem sloučenin nad ostatními (homochiralita)?“ Homochiralita zahrnuje následující tři kroky:

- symetrické lámání,
- chirální obohacení
- chirální přenos.

Tyto kroky vedou k upřednostňování jedné chirální formy. Při symetrickém lámání enantiomerních molekul se předpokládá vnitřní energetický rozdíl, který vede k upřednostňování jedné z forem. Ve druhém kroku dochází k vybudování velké

enantiomerní nadmíry v biologicky důležitých sloučeninách (polymerace, polykondenzace³², autokatalýza³³, asymetrická syntéza³⁴, autoreplikace³⁵). Při chirálním přenosu dochází k přenosu chiralit z jedné molekuly (nebo molekulárního shluku) na druhou.

Chirální sloučeniny (například prolin a další aminokyseliny) lze také použít jako katalyzátory pro syntézu látek s určitou stereochemií¹⁶.

2. Metody

2.1 Hmotnostní spektrometrie

Hmotnostní spektrometrie je fyzikálně-chemická metoda, jejímž základním principem je generování iontů z anorganických nebo organických sloučenin vhodnou metodou, oddělit tyto ionty (kladné i záporné) podle jejich poměru hmotnosti a náboje m/z a poté detekovat ionty kvantitativně a kvalitativně dle jejich příslušných poměrů m/z a intenzit. Analyty mohou být ionizovány tepelně, elektrickým polem nebo energetickým nárazem elektronů, iontů nebo fotonů. Ionty mohou být ionizované atomy, molekuly nebo jejich fragmenty nebo naopak asociáty. Iontová separace může být uskutečněna elektrickými nebo magnetickými poli³⁶.

Hmotnostní spektrometrie je velmi citlivá metoda s velkou účinností. Dokáže detekovat látky v množství kolem 10^{-15} g a identifikovat je v množství kolem 10^{-9} g.

Hmotnostní spektrometrii lze také použít k analýze izomerů (enantiomerů)³⁷. K jejich rozpoznávání se může například použít kinetická metoda³⁸.

2.1.1 Ionizace elektrosprejem

Ionizace elektrosprejem (ESI) patří mezi měkké ionizační techniky, které dosahují přenosu iontů z roztoku do plynné fáze. Tato metoda je velmi účinná pro analýzy velkých, netěkavých, nabitých molekul jako jsou proteiny, nukleové kyseliny, polymery. Roztok je složen z těkavých rozpouštědel a iontových analytů s velmi nízkou koncentrací nejčastěji 10^{-6} - 10^{-3} mol/l. Přenos iontů z kapalně do plynné fáze začíná při atmosférickém tlaku a vede nepřetržitě až do vysokého vakua do hmotnostního analyzátoru. Další velkou výhodou je charakteristické vytváření vícenásobně nabitých iontů v případě vysokomolekulových analytů. Vícenásobné nabití zvyšuje možnost detekce iontů s vysokou molekulovou hmotností díky detekci poměru m/z.

Elektrosprejová ionizace je vedoucím členem skupiny ionizačních technik za atmosférického tlaku (API). Zdroj ESI umožnil kapalinové chromatografii ve spojení s hmotnostní detekcí (LC-MS), aby se stala rutinním analytickým nástrojem. Současně elektrosprejová ionizace a ionizace laserem za přítomnosti matrice (MALDI) jsou nejvíce využívané metody, které otevírají dveře k rozšíření biologických, biomedicínských aplikací hmotnostní spektrometrie. Taktéž ESI dobře slouží pro analýzu kovových komplexů a ostatních anorganických analytů³⁶.

2.1.2 Vznik iontů

Mechanismus elektrosprejové ionizace není zcela vysvětlen. Existují tři teorie, které popisují tvorbu plynných iontů. První teorie tvrdí, že k tvorbě iontů dochází odpařováním iontů přímo z malých kapiček. Druhá teorii říká, že k tvorbě iontů dochází vlivem coulombického vypuzování. Vlivem zmenšování velikosti kapiček odpařováním rozpouštědla dochází ke zvýšení odpudivé síly uvnitř shluku iontů. To má za následek vypuzování jednotlivých iontů z kapičky. Nejpravděpodobnější je však poslední teorii, podle které dochází k oběma předešlým jevům. Tedy k vypařování iontů i ke coulombickým vypuzováním.

Celkově lze proces vzniku iontů v elektrospreji shrnout zhruba do následujících kroků. Nejprve dochází ke vzniku nabitých kapek na konci sprejovací kapiláry, následně zmenšování nabitých kapek v důsledku odpařování rozpouštědla a jejich opakovaný rozpad (Coulombické štěpení). Poté dojde k uvolnění iontů do plynné fáze z malých, vysoce nabitých kapek a následují sekundární děje, kterých se účastní ionty v plynné fázi³⁹.

Kapičky kapaliny expandují na konci kapiláry do elektrostatického pole při atmosférickém tlaku. Dochází ke vzniku malých nabitých kapiček vzájemným působením tlaku kapaliny, povrchové tenze a vysokého pole, které se vytváří na povrchu roztoku. Molekuly rozpouštědla se odpařují pomocí přiváděného dusíku a tím klesá objem kapiček a jejich povrch. Při poklesu velikosti kapky a náboje pod určitou hranici poměru se kapka rozpadne. Dochází k tzv. Coulombickým explozím. Kapka se postupně zmenšuje, náboj zůstává pořád stejný. Když se zmenší natolik, že poměr velikosti kapky k náboji je příliš velký, dojde k rozpadu a vznikají ionty, které jsou vtahovány a fokusovány iontovou optikou do analyzátoru³⁶.

Mezi výhody ESI patří to, že nedochází k degradaci tepelně citlivých látek, protože systém není teplotně závislý. Vznikající ionty jsou buď kladné, nebo záporné dle vloženého napětí³⁹.

2.1.3 Tandemová hmotnostní spektrometrie

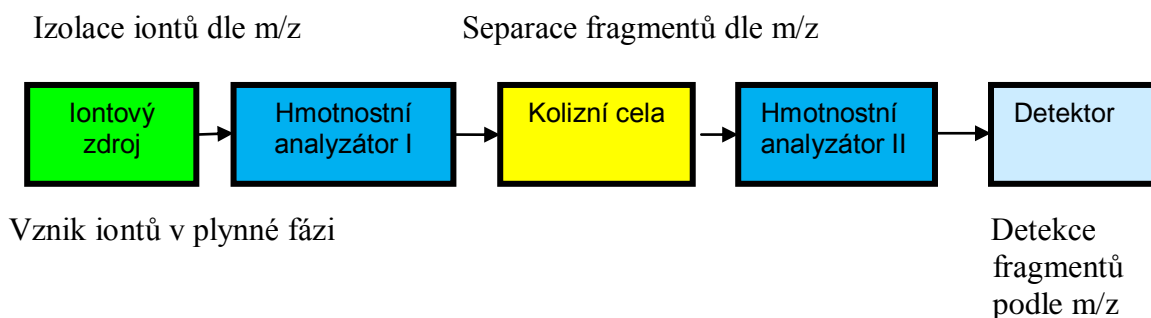
Tandemový hmotnostní spektrometr umožňuje množství technik, kdy ionty vybrané v Q1 jsou podrobeny druhé analýze v Q2 (obr. 2.1). Disociace při průletu hmotnostním analyzátozem (kolizní celou O) může být spontánní nebo může být výsledkem nějaké doplňkové aktivace (typicky srážka s neutrální molekulou). Tento proces se může několikrát opakovat³⁶.

V prvním kroku si vybereme tzv. mateřský ion, který podrobíme fragmentaci, a ve druhém kroku dojde k detekci dceřiných iontů³⁹.

Tandemová hmotnostní spektrometrie (MS/MS) se používá pro identifikaci látek

ze směsí a pro studium struktur iontů. Tato metoda pro identifikaci látek ze směsí je efektivní svou rychlostí a specifičností. Pokud však chceme identifikovat více látek ze směsí, je lepší MS kombinovat s vhodnou chromatografickou technikou.

Při použití MS/MS pro studium struktur iontů můžeme určit celé fragmentační mapy, tzn. vzájemné souvislosti mezi ionty a informace o energii vybraných procesů³⁹.



Obr. 2.1 Tandemová hmotnostní spektrometrie – fragmentace iontů

2.1.4 Trojitý kvadrupól

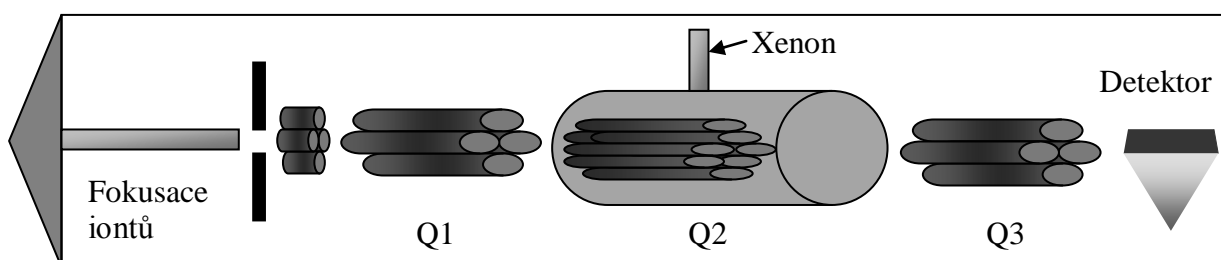
Trojité kvadrupóly se staly standardním analytickým nástrojem pro kapalinovou chromatografii ve spojení s tandemovou hmotnostní spektrometrií (LC-MS/MS) v případě, že je požadována vysoká přesnost stanovení. Od doby, kdy byly objeveny, se průběžně zlepšuje jejich rozlišení, citlivost a rozsah.

Při použití trojitého kvadrupólu (obr. 2.2) v MS/MS modu, jako MS1 slouží první kvadrupól Q1, Q2 je kolizní cely a jako MS2 slouží třetí kvadrupól Q3. Obvykle je ion vybraný v Q1 urychlen napětím do kolizní cely, kde je kolizní plyn (dusík, argon, xenon) při tlaku řádově $10^{-2} - 10^{-1}$ Pa. Optimalizace všech parametrů umožňuje zlepšit účinnost a rozlišení. Pokud MS/MS mód není využíván, potom se funkce Q1 a Q3 redukuje na funkci jednoduchého kvadrupólu. Skenovací módy Q1 a Q3 pro tandemovou hmotnostní spektrometrii v trojitém kvadrupólu jsou používány nezávisle

jako MS1 a MS2. Při použití MS/MS jsou používány zároveň³⁶.

skenovací mód	Q1	Q2	Q3
produktový ion	žádný sken, výběr hmoty	kolizní disociace	skenování do hmoty m_1 , získání fragmentů
prekursorový ion	skenování hmot	kolizní disociace	výběr hmoty m_2 , žádný sken
skenování neutrálních ztrát	skenování vybraného rozsahu	kolizní disociace	skenování rozsahu posunutého o neutrální ztrátu k nižším hmotám

Tabulka 2.1 Možnost měření různých typů skenů



Obr. 2.2 Schematické znázornění kvadrupólu v MS/MS modu.

2.1.5 Princip kvadrupólu

Kvadrupól se skládá ze čtyř hyperbolických tyčových elektrod. Tyče jsou kovové (např. s délkou asi 15cm a kruhovým průřezem). Protilehlé páry tyčí mají stejný potenciál. Kromě stejnosměrného napětí vkládáme na tyče kvadrupólu ještě střídavé napětí, což způsobuje oscilaci pohybu iontů uvnitř kvadrupólu.

Aby se ion dostal na detektor, musí mít správnou hodnotu m/z . Při průchodu iontu kvadrupólem na něho působí přitažlivá síla z jedné z tyčí, která má opačnou polaritu než náboj daného iontu. Jestliže napětí vkládané na tyče se periodicky mění,

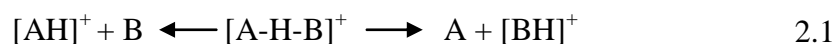
pak přitahování a odpuzování iontu ve směru x a y se také mění. Při vhodném poměru m/z a napětí proletí ion kvadrupólem a dostane se na detektor. Všechny ostatní ionty s nesprávnou hodnotou m/z jsou vychýleny z pole a zachytí se na tyčích kvadrupólu. Tím dochází k hmotnostnímu filtrování iontů. Proto se také označuje jako kvadrupólový hmotnostní filtr³⁶.

Celé spektrum je změřeno během několika milisekund. Díky tomu ho můžeme sledovat v reálném čase³⁶.

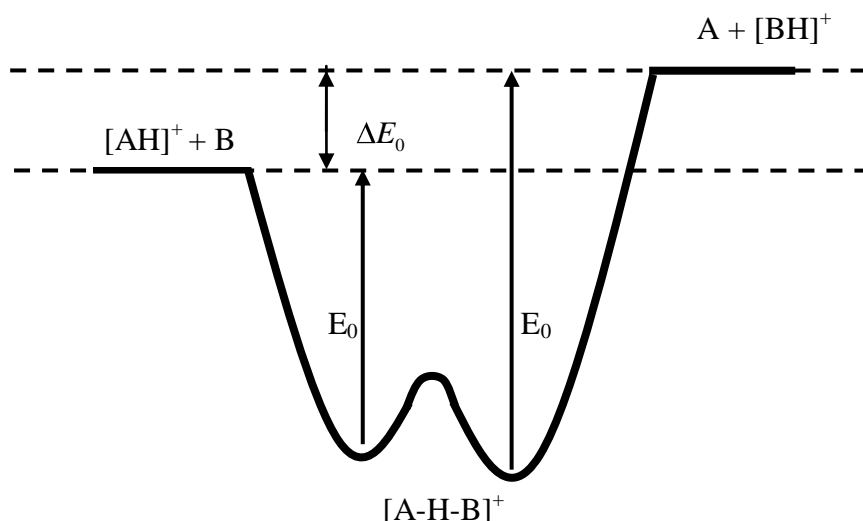
2.2 Kinetická metoda

Kinetická metoda je přibližná metoda⁴⁰. Slouží k měření termochemických veličin (např. protonové afinity), ale lze ji využít i k rozlišení izomerů (i izomerů optických). Metoda vychází z izolace vhodného iontového klastru, který pak podléhá dvěma fragmentačním cestám⁴¹.

Kinetická metoda srovnává poměry soutěžících disociací protonovaných aduktů $[A-H-B]^+$ vytvořených ze směsi A a B v iontovém zdroji. Protonovaný adukt je generován vedle ostatních produktů jako $[AH]^+$ a $[BH]^+$ (2.1).



Relativní intenzity produktů $[AH]^+$ a $[BH]^+$ jsou pak použity pro měření relativních rychlostních konstant konkurenčních reakcí, které vedou k daným iontům.



Obr. 2.3 Znáornění změny energie při konkurenční fragmentaci protonovaného dimeru $[A-H-B]^+$

Poměr rychlostních konstant k_1 a k_2 konkurenčních reakcí lze vyjádřit vztahem:

$$\ln\left(\frac{k_1}{k_2}\right) = \ln\left(\frac{Q_1^* Q_2}{Q_2^* Q_1}\right) + \frac{\Delta E_0}{RT} \quad 2.2$$

kde Q je partiční funkce fragmentovaného iontu, Q^* je partiční funkce aktivovaného komplexu, ΔE_0 je rozdíl aktivačních energií (obr. 2.3), R je univerzální plynová konstanta a T je absolutní teplota. Výchozí ion je stejný pro obě reakce, proto $Q_1 = Q_2$. Veličina efektivní teplota T_{eff} nahrazuje absolutní teplotu, protože nelze předpokládat, že soubor iontů v hmotnostním spektrometru je v tepelné rovnováze. Pak lze vztah (2.3) zjednodušit na následující rovnici

$$\ln\left(\frac{k_1}{k_2}\right) = \ln\left(\frac{Q_1^*}{Q_2^*}\right) + \frac{\Delta E_0}{RT_{\text{eff}}} \quad 2.3$$

Aby byla kinetická metoda správně uplatněna, musí být splněna tato kritéria^{38,42-44}:

1. Poměr naměřených intenzit iontů fragmentů musí být roven poměru koncentrací produktů.

2. Jinými slovy aktivační bariéra zpětných reakcí (tvorba dimeru) musí být nulová (zanedbatelná) nebo stejná pro obě reakce. Pro tzv. volné přechodné stavy (struktura přechodného stavu se blíží struktuře produktu) je tento požadavek většinou dobře splněn. Pokud by výchozí ionty byly v tepelné rovnováze, poměr koncentrací (intenzit) produktů (odpovídající poměru rychlostních konstant) by byl při splnění uvedeného požadavku v přímém vztahu k termochemickým vlastnostem. Kinetická metoda vychází z předpokladu, že uvedený vztah je přibližně splněn i v případě, kdy systém není v tepelné rovnováze.

3. Teplotní závislost enthalpie a entropie je zanedbatelná, popř. stejná pro obě reakční cesty.

4. Jednoduchá původní verze kinetické metody vychází také z předpokladu, že mezi oběma reakčními cestami není rozdíl v entropiích nebo je zanedbatelný. Pak platí $Q_1^* \sim Q_2^*$. Později byly vypracovány varianty, které se s problémem rozdílných entropií do jisté míry vyrovnávají.

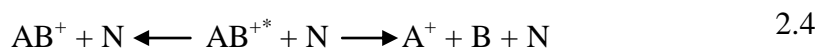
I když je kinetická metoda jen přibližná, je rychlá. K měření není třeba čistý vzorek (v hmotnostním spektrometru si můžeme vybrat hledané ionty), a protože měříme relativní poměry intenzit iontů, částečně se kompenzují chyby měření. Výhodou kinetické metody je také její citlivost k malým rozdílům hodnot termochemických veličin a lze ji aplikovat i na netěkavé látky.

Výhodou při použití této metody je, že umožňuje obsáhnout velmi malé energetické rozdíly. Tyto rozdíly jsou viditelné v rozdílných rychlostních konstantách soutěžících reakcí. Proto lze očekávat i možné rozdíly mezi izomery.

Kinetická metoda je využívána při analýze různých izomerů, například k chirální analýze aminokyselin, kde byl použit měďnatý⁴⁵ a nikelnatý⁴⁶ kation. Mezi další aplikace v odvětví chirálních látek patří analýza optických izomerů peptidů⁴⁷, chirálních farmaceutických substancí^{48,49}, látek s antivirálním účinkem⁵⁰, antibiotik⁵¹, α -hydroxykyselin⁵² a cukrů⁵³. Vedle analýzy enantiomerů byla metoda aplikována také ke kvantifikaci peptidů lišících se pořadím aminokyselin a odlišení peptidů obsahujících α - resp. β -aminokyselinu⁵⁴.

2.2.1 Energetický přenos během kolizí

Proces kolizní aktivace AB^+ může být znázorněn ve dvou krocích. V prvním je zformován aktivovaný komplex AB^{+*} a ve druhém kroku po náhodných změnách vnitřní energie AB^{+*} disociuje po fragmentační cestě umožněné danou velikostí vnitřní energie (2.4)³⁶.



Vnitřní energie $E_{AB^{+*}}$ se skládá z vnitřní energie před kolizí a energie získané při kolizi.

$$E_{AB^{+*}} = E_{AB^+} + Q \quad 2.5$$

Absolutní limit energie Q (energie přenesená během kolize) je definován E_{CM}

$$E_{CM} = \frac{E_{LAB} \times m_N}{(m_N + m_{AB})} \quad 2.6$$

kde m_N je hmotnost neutrální molekuly (plynu), m_{AB} je hmotnost iontu a E_{LAB} je kinetická energie za laboratorních srovnávacích podmínek³⁶.

3 Experimentální část a výsledky

V rámci experimentu bylo studováno chování několika sloučenin:

- (*S*)-(-)-2-(*tert*-butyl)-3-methyl-4-imidazolidinon trifluoroctová kyselina (*S*-Imi_H)
- (*R*)-(-)-2-(*tert*-butyl)-3-methyl-4-imidazolidinon trifluoroctová kyselina (*R*-Imi_H)
- (2*S*,5*S*)-(-)-5-benzyl-3-methyl-2-(5-methyl-2-furyl)-4-imidazolidinon (*S*-Imi_{Fur})
- (2*R*,5*R*)-(-)-5-benzyl-3-methyl-2-(5-methyl-2-furyl)-4-imidazolidinon (*R*-Imi_{Fur})
- (2*S*,5*S*)-(-)-2-*tert*-butyl-3-methyl-5-benzyl-4-imidazolidinon (*S*-Imi_{Bz})
- (2*R*,5*R*)-(-)-2-*tert*-butyl-3-methyl-5-benzyl-4-imidazolidinon (*R*-Imi_{Bz})
- *L*-prolin (*L*-Pro)
- *D*-prolin (*D*-Pro).

Tyto sloučeniny byly získány od firmy Sigma-Aldrich (Německo). Z nich byly připraveny roztoky v methanolu a ty byly vneseny do iontového zdroje metodou přímého nástřiku.

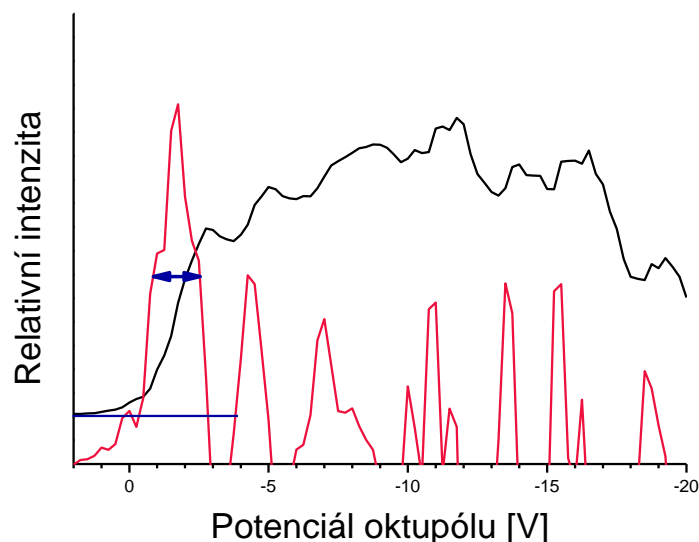
Experimenty byly prováděny tandemovým hmotnostním spektrometrem s vybaveným ESI zdrojem (TSQ 7000), který má uspořádání kvadrupól (Q1) oktupól (O) kvadrupól (Q2). Toto uspořádání umožňuje výzkum složení reakčních směsí, výběr zajímavých iontů a současně studii jejich monomolekulárních nebo bimolekulárních reaktivit.

Sloučeniny jsou ionizovány v iontovém zdroji a prochází přes kvadrupól Q1. V tomto kvadrupólu je vybrán sledovaný fragment, který je podroben reakci v kolizní cele (O). Ve druhém kvadrupólu Q2 se sledují vznikající reakční produkty.

V kolizní cele docházelo k interakci xenonu se sledovanými komplexy. Bylo sledováno chování vybraných komplexů při kolizích s kolizním plynem. Byla měněna hodnota kolizní energie a z fragmentačních spekter se určila prahová energie. Tato energie je blízká vazebné energii příslušných fragmentů.

Pro každou sloučeninu byla hledána nulová hodnota kinetické energie. V prvním a druhém kvadrupólu byla snímána stejná hmota *m/z* a byl měněn potenciálový rozdíl mezi prvním kvadrupólem a oktupólem (+2 až -20V). Intenzita signálu příslušného fragmentu byla zaznamenávána a posléze vynesena do grafu (příklad viz Graf 3.1). Derivací křivky

intenzity podle potenciálu oktupólu bylo získáno rozdělení kinetické energie iontů (šířka píku v derivační křivce) a relativní nula kinetické energie (pozice maxima píku).



Graf 3.1: Závislost relativní intenzity mateřského iontu $[(\text{Pro-H})_L]^+$ na potenciálu oktupólu. Odečtení nuly v inflexním bodě. Červeně je znázorněna derivace brzdného potenciálu, která udává rozlišovací schopnost kinetické energie. Ta byla odečtena v polovině výšky šířky píku a číselně odpovídala 1,79 V. Černě je znázorněna analýza brzdného potenciálu iontu $[L\text{-Pro}]^+$.

3.1 Studium prahových hodnot komplexů

Nejdříve byla změřena závislost fragmentace komplexů *R*-2-aminohexanu a *L*-prolinu, *S*-2-aminohexanu a *L*-prolinu, *R*-2-aminobutanu a *L*-prolinu, *S*-2-aminobutanu a *L*-prolinu na kolizní energii ve srážkách s xenonem. Komplexy byly hmotově vybrány pomocí kvadrupólu 1. Do kolizní cely byl přiveden kolizní plyn (xenon). Byla měněna hodnota potenciálu na oktupólu od -2V až do -20V. Sledoval se záznam intenzit vznikajících fragmentů. Pro určení hodnoty prahové energie fragmentů byly do grafů vyneseny relativní intenzity signálů (Grafy 3.2, 3.4, 3.6, 3.8). Hodnota mateřského iontu byla normalizována na 100. Z naměřených dat byly pomocí fitovacího programu vypočteny hodnoty prahových energií (Tabulka 3.1).

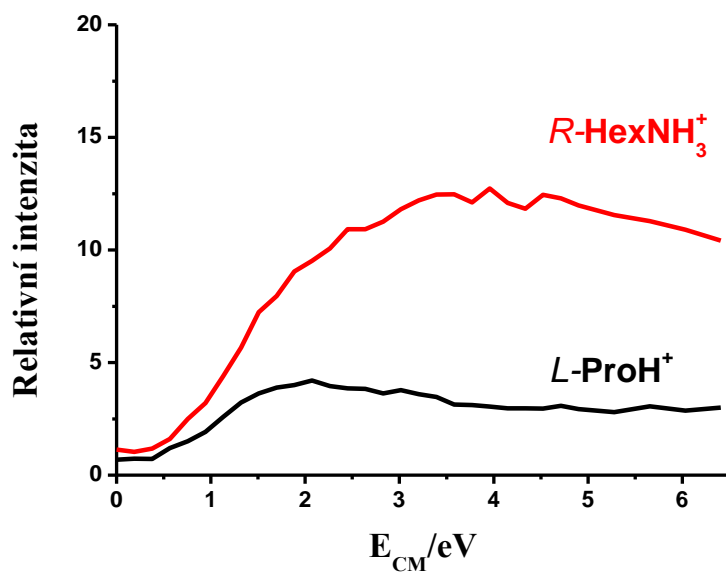
Data byla také vynesena jako větvení mezi jednotlivými fragmentačními kanály

(Grafy 3.3a, 3.5a, 3.7a, 3.9a), které bylo spočítáno podle vzorce:

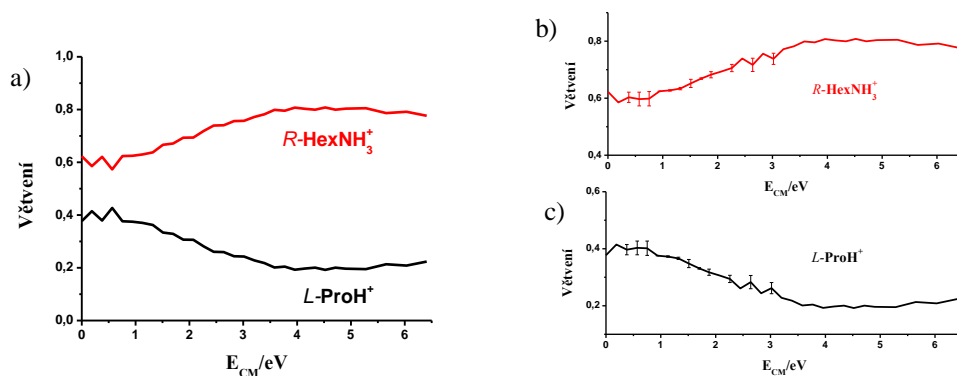
$$A = \frac{a}{a + b} \quad 3.1$$

$$B = \frac{b}{a + b} \quad 3.2$$

kde a , b jsou označení pro jednotlivé fragmentační kanály, a pro 2-aminohexan (2-butylamin), b pro L -prolin. Dále byly k jednotlivým větvením spočítány a vyneseny do grafů relativní směrodatné odchylky (Graf 3.3b, 3.5b, 3.7b, 3.9b).

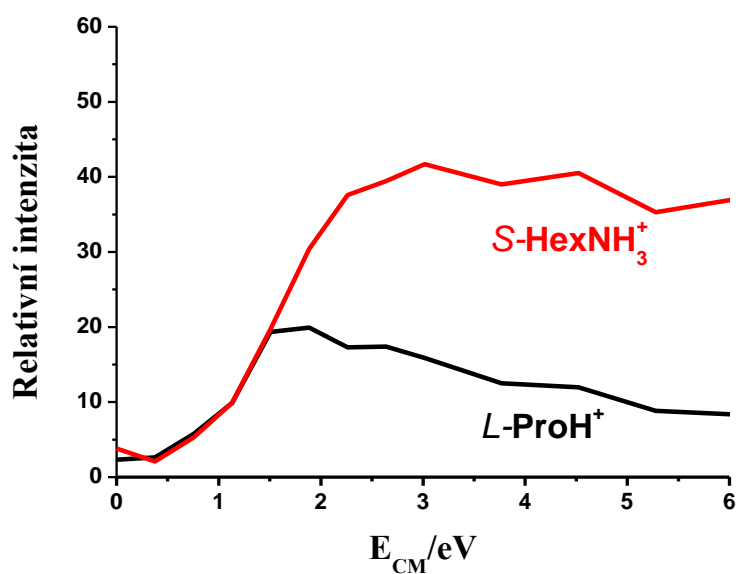


Graf 3.2: CID spektrum komplexu $[(\text{HexNH}_2)_R(\text{Pro-H})_L]^+$. Mateřský ion normalizován na 100. Závislost relativní intenzity na kolizní energii.

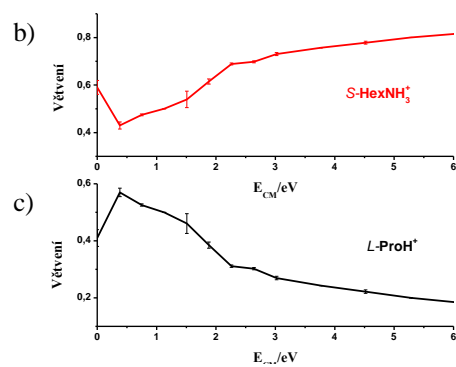
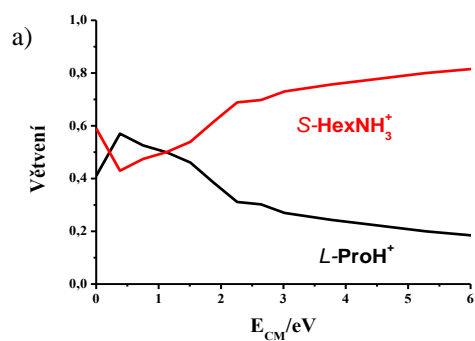


Graf 3.3a: Závislost větvení na kolizní energii fragmentačních kanálů $L\text{-ProH}^+$ a $R\text{-HexNH}_3^+$.

Graf 3.3b, c: Znázornění vypočtených odchylek větvení pro $L\text{-ProH}^+$ a $R\text{-HexNH}_3^+$. Vypočteno ze dvou nezávislých měření.

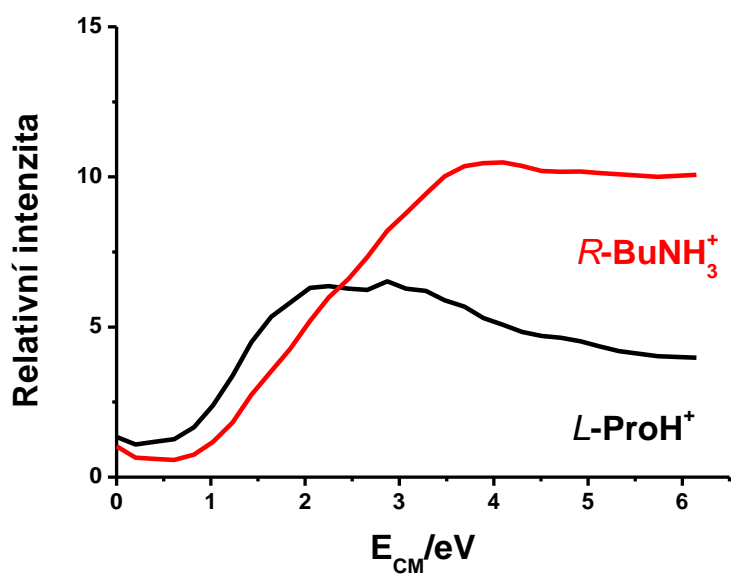


Graf 3.4: CID spektrum komplexu $[(HexNH_2)_6(Pro-H)_L]^+$. Mateřský ion normalizován na 100. Závislost relativní intenzity na kolizní energii.

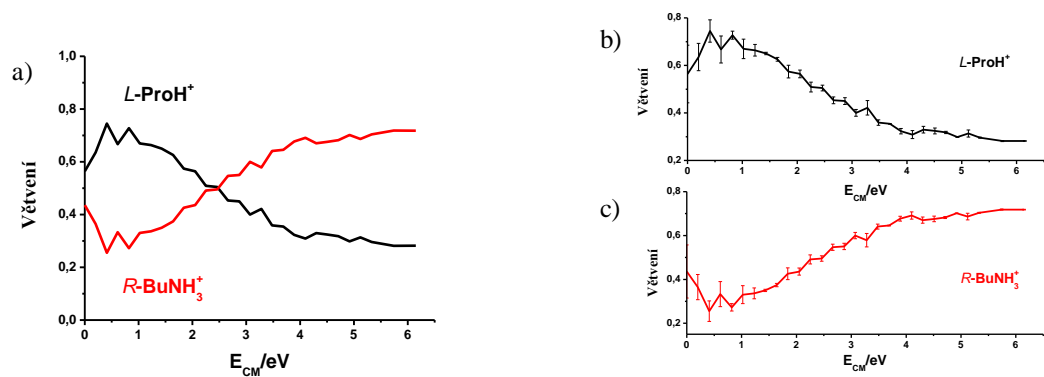


Graf 3.5a: Závislost větvení na kolizní energii fragmentačních kanálů $L-ProH^+$ a $S-HexNH_3^+$.

Graf 3.5b, c: Znárodnění vypočtených odchylek větvení pro $L-ProH^+$ a $S-HexNH_3^+$. Vypočteno ze dvou nezávislých měření.

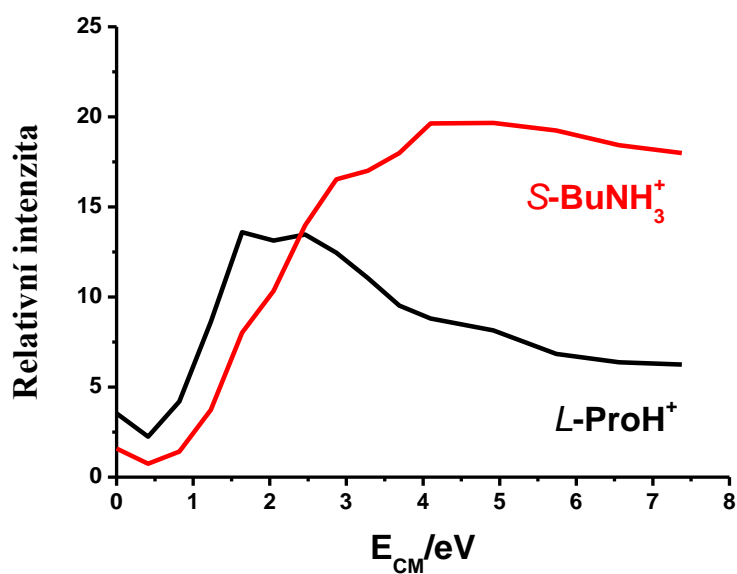


Graf 3.6: CID spektrum komplexu $[(\text{BuNH}_2)_R(\text{Pro-H})_L]^+$. Mateřský ion normalizován na 100. Závislost relativní intenzity na kolizní energii.

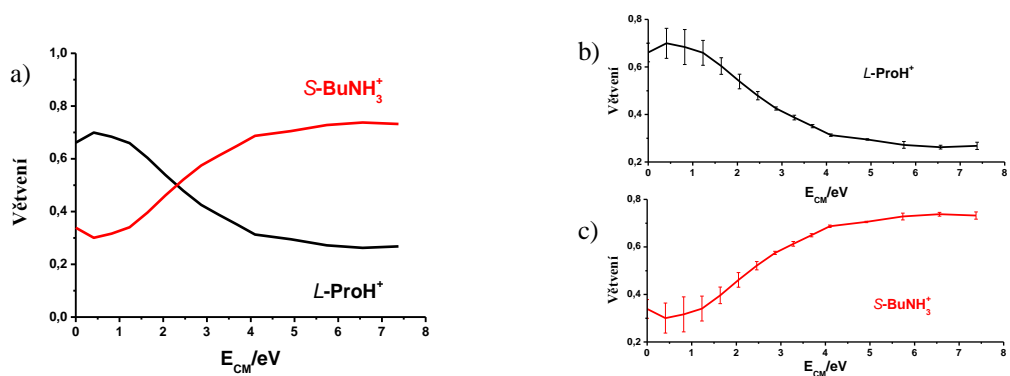


Graf 3.7a: Závislost větvení na kolizní energii fragmentačních kanálů $L\text{-ProH}^+$ a $R\text{-BuNH}_3^+$.

Graf 3.7b, c: Znázornění vypočtených odchylek větvení pro $L\text{-ProH}^+$ a $R\text{-BuNH}_3^+$. Vypočteno ze dvou nezávislých měření.



Graf 3.8: CID spektrum komplexu $[(\text{BuNH}_2)_S(\text{Pro-H})_L]^+$. Mateřský ion normalizován na 100. Závislost relativní intenzity na kolizní energii.



Graf 3.9a: Závislost větvení na kolizní energii fragmentačních kanálů $L\text{-ProH}^+$ a $S\text{-BuNH}_3^+$.

Graf 3.9b, c: Znárodnění vypočtených odchylek větvení pro $L\text{-ProH}^+$ a $S\text{-BuNH}_3^+$. Vypočteno ze dvou nezávislých měření.

Prahová energie [eV]					
<i>L</i> -prolin	2-aminobutan		<i>L</i> -prolin	2-aminohexan	
0,6 ± 0,2	1,0 ± 0,2	<i>S</i> -forma	0,7 ± 0,2	0,9 ± 0,2	<i>S</i> -forma
0,7 ± 0,2	1,1 ± 0,2	<i>R</i> -forma	0,5 ± 0,2	0,7 ± 0,2	<i>R</i> -forma

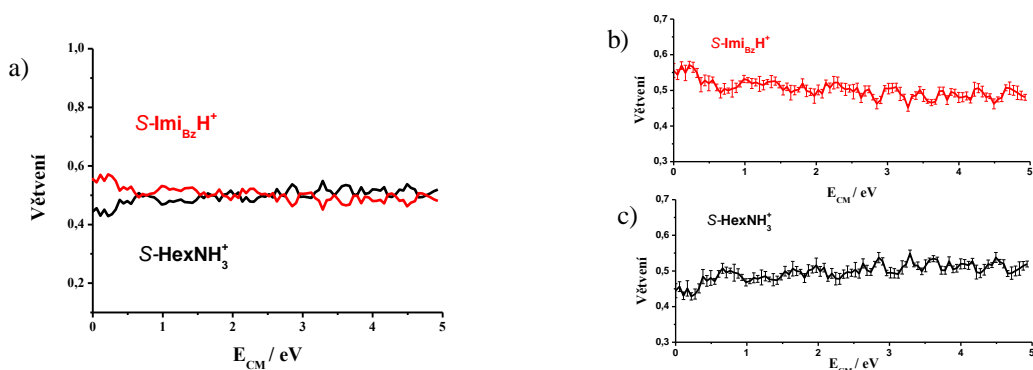
Tabulka 3.1: Přehled prahových energií komplexů *L*-prolinu a příslušných aminů

V tabulce 3.1 je přehled prahových energií pro měřené komplexy *L*-prolinu. V případě interakce *L*-prolinu s 2-aminobutanem byla určen mírně vyšší prahovou energií u heterochirálního komplexu (tj. u komplexu *L*-prolinu s *R*-2-aminobutanem), zatímco u 2-aminohexanu byly určeny větší vazebné energie u homochirálního komplexu. Při porovnání fragmentace analogických komplexů prolinu s 2-aminobutanem a 2-aminohexanem je ze všech výsledků zřejmé, že se protonovaný 2-aminobutan z komplexu odštěpuje při vyšší fragmentační energii než protonovaný 2-aminohexan. Z přehledu je nicméně vidět, že chirální efekt zjištěný při tomto typu experimentu je velmi malý a rozdíly jsou v rámci naší experimentální chyby. Z teoretického hlediska lze očekávat, že rozdíl ve vazebných energiích *S* a *R*-formy obou aminů bude mít stejný trend, což znamená, že vazebné energie homochirálních párů by měly být obě buď vyšší nebo nižší než u heterochirálních párů. Vzhledem k malým rozdílům a nekonzistentním výsledkům bylo od dalšího určování prahových energií upuštěno a přešli k jinému typu experimentů (níže).

3.2 (2*S*,5*S*)-(-)-2-tert-butyl-3-methyl-5-benzyl-4-imidazolidinon

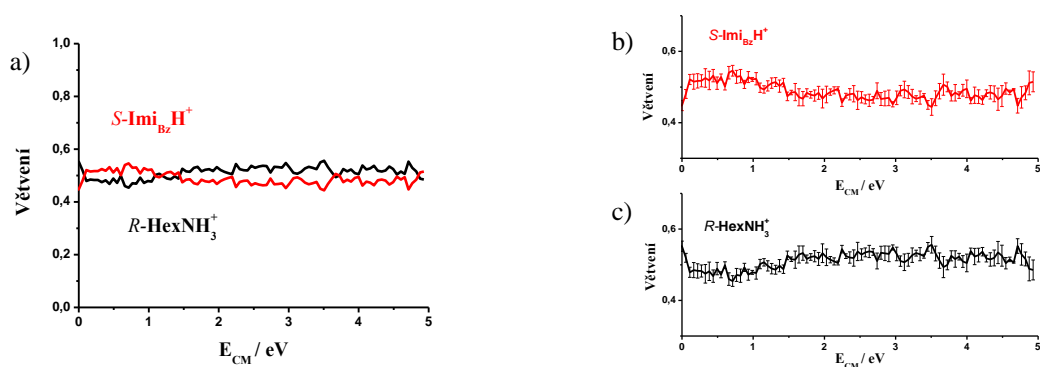
V analogickém experimentu (jako *L*-prolin výše) byly ještě studovány komplexy 2-aminobutanu a 2-aminohexanu s (2*S*,5*S*)-(-)-2-tert-butyl-3-methyl-5-benzyl-4-imidazolidinonem. Výsledky také neukázaly žádný významný chirální efekt, který by byl detekovatelný z prahových hodnot energií fragmentace (Graf 3.10 – 3.13). Porovnáním výsledků pro *L*-prolin a (2*S*,5*S*)-(-)-2-tert-butyl-3-methyl-5-benzyl-4-imidazolidinon lze nicméně vidět, že je významný rozdíl ve fragmentačním chování obou typů komplexů. U komplexů prolinu lze vidět, že se zvyšující energií dochází

k velkému potlačení vzniku protonovaného prolinu na úkor protonovaného aminu, zatímco u nízkých kolizních energií převažuje vznik protonovaného prolinu. U 2-terc-butyl-3-methyl-5-benzyl-4-imidazolidinonu lze také pozorovat, že u nízkých kolizních energií převažuje fragmentace směrem k protonovanému imidazolidinonu a při vyšších energiích převažuje vznik protonovaného aminu, nicméně daný efekt je mnohem menší. Lze předpokládat, že větvení mezi vznikem jednotlivých produktů souvisí s mechanismem fragmentace.



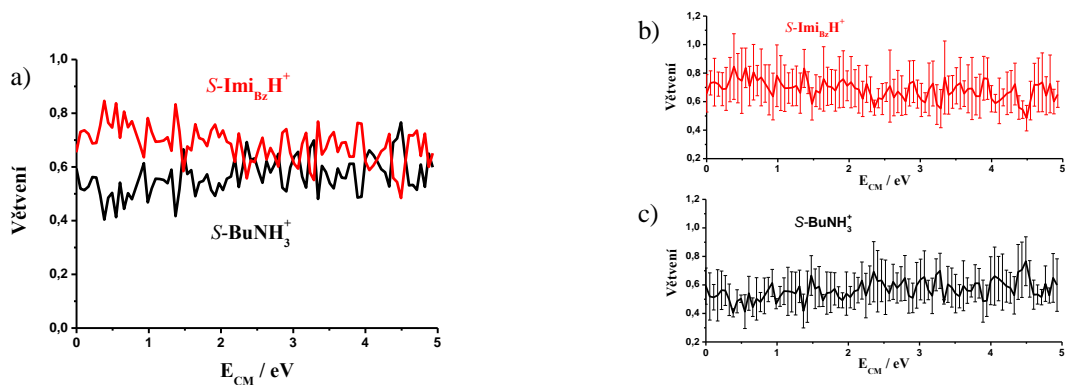
Graf 3.10a: Závislost větvení na kolizní energii fragmentačních kanálů $S\text{-Imi}_{Bz}H^+$ a $S\text{-HexNH}_3^+$.

Graf 3.10b, c: Znázornění vypočtených odchylek větvení pro $S\text{-Imi}_{Bz}H^+$ a $S\text{-HexNH}_3^+$. Vypočteno ze dvou nezávislých měření.



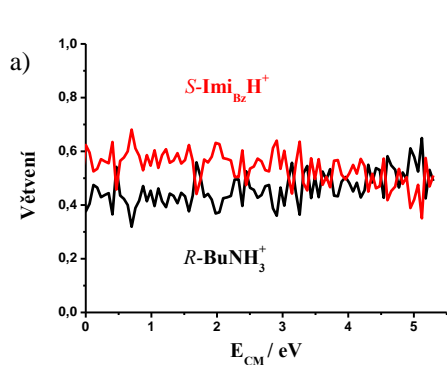
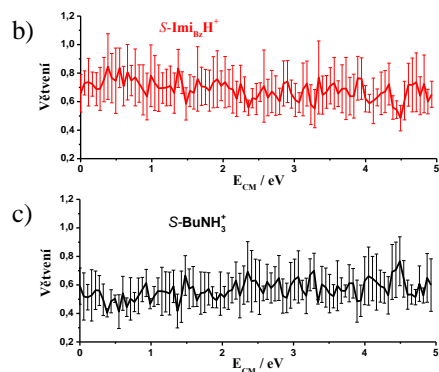
Graf 3.11a: Závislost větvení na kolizní energii fragmentačních kanálů $S\text{-Imi}_{Bz}H^+$ a $R\text{-HexNH}_3^+$.

Graf 3.11b, c: Znázornění vypočtených odchylek větvení $S\text{-Imi}_{Bz}H^+$ a $R\text{-HexNH}_3^+$. Vypočteno ze dvou nezávislých měření.



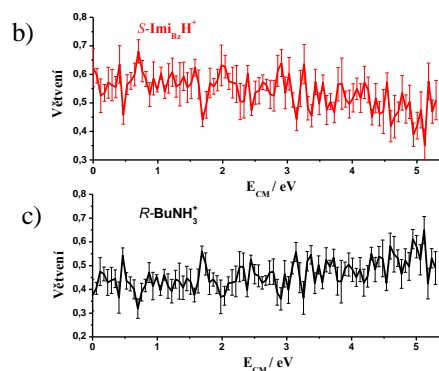
Graf 3.12a: Závislost větvení na kolizní energii fragmentačních kanálů $S\text{-Imi}_{Bz}H^+$ a $S\text{-BuNH}_3^+$.

Graf 3.12b, c: Znárodnění vypočtených odchylek větvení pro $S\text{-Imi}_{Bz}H^+$ a $S\text{-BuNH}_3^+$. Vypočteno ze dvou nezávislých měření.



Graf 3.13a: Závislost větvení na kolizní energii fragmentačních kanálů $S\text{-Imi}_{Bz}H^+$ a $R\text{-BuNH}_3^+$.

Graf 3.13b, c: Znárodnění vypočtených odchylek větvení pro $S\text{-Imi}_{Bz}H^+$ a $R\text{-BuNH}_3^+$. Vypočteno ze dvou nezávislých měření.



3.3 Kolizně indukovaná disociace komplexů mědi (II) a chirálních ligandů

V dalším experimentu byly použity pro chirální rozeznávání měďnaté komplexy. Do roztoku obsahujícího organokatalyzátor (Imi_X) a prolin s danou chiralitou byla přidána dvojmocná měď. Došlo k vytvoření komplexů (Obr. 3.1 – 3.6), ve kterých byly navázány na měď dvě molekuly prolinu a jedna molekula příslušného organokatalyzátoru. Tento komplex byl podroben kolizně indukované disociaci v kolizní cele (Schéma 3.1). Výhodou této metody je, že i vznikající fragmenty jsou diastereoisomery a tudíž je lze energeticky rozlišit. Při významném chirálním efektu se liší intenzity jednotlivých fragmentačních kanálů a lze z nich určit celkový chirální efekt pro tvorbu mateřských komplexů.

Na následujících grafech (Graf 3.15 – 3.20) je ukázána fragmentace těchto komplexů. Vždy se z mateřského iontu odštěpovala molekula *L*-prolinu, nebo příslušný organokatalyzátor nebo dvě molekuly *L*-prolinu navázané na měďnatém kationtu (Schéma 3.1).

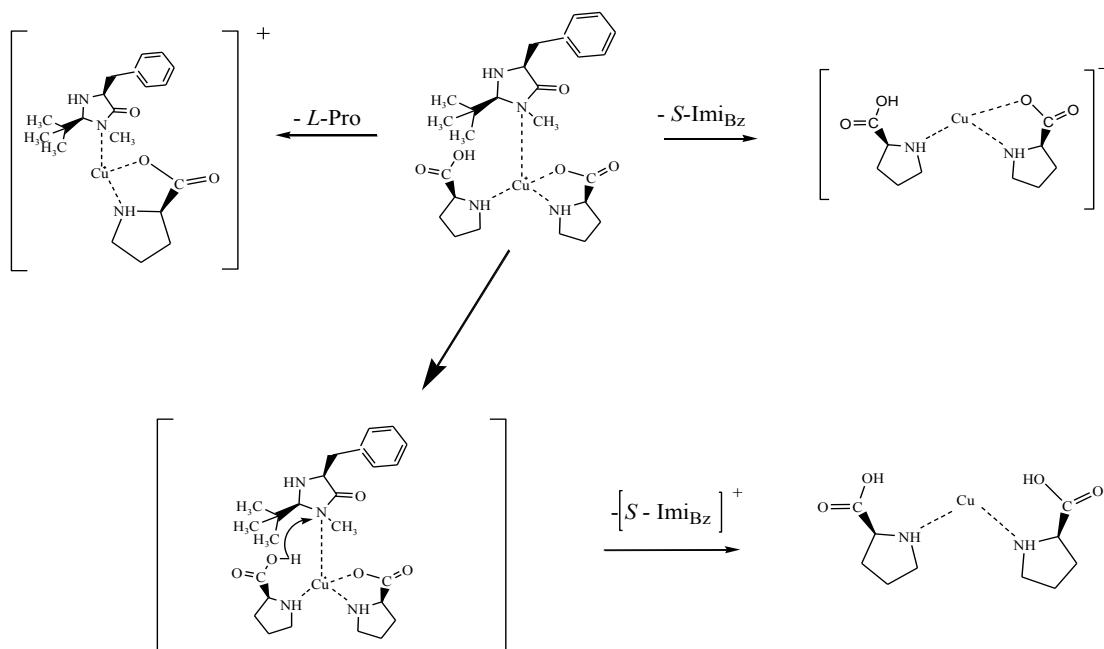


Schéma 3.1 Fragmentace komplexů

Experimenty byly prováděny při dvou různých srážkových energiích. Jejich hodnoty v laboratorní a těžišťové soustavě jsou uvedeny v tabulce 3.2.

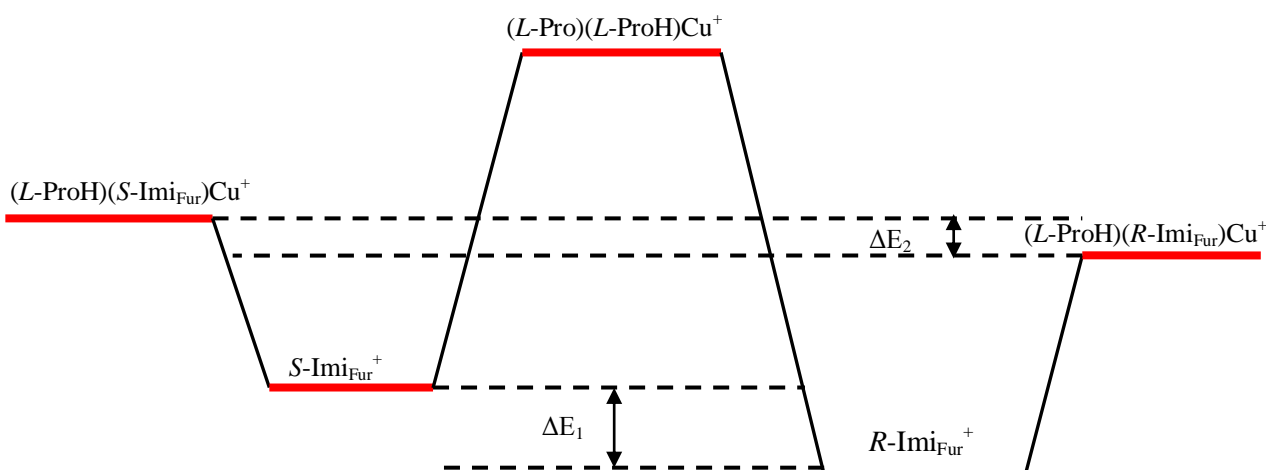
Imi _X	E _{LAB1} [eV]	E _{CM1} [eV]	E _{LAB2} [eV]	E _{CM2} [eV]
<i>S</i> -Imi _H	7,8	1	21	4
<i>R</i> -Imi _H	7,8	1	21	4
<i>S</i> -Imi _{Bz}	8,5	1	23,8	4
<i>R</i> -Imi _{Bz}	8,5	1	23,8	4
<i>S</i> -Imi _{Fur}	8,7	1	24,5	4
<i>R</i> -Imi _{Fur}	8,7	1	24,5	4

Tabulka 3.2 Přehled E_{LAB} a E_{CM}, které byly použity v experimentu.

Výsledky experimentu při E_{LAB1} jsou uvedené v tabulce 3.3. Z uvedených dat můžeme vidět patrné rozdíly ve vazebných energiích jednotlivých derivátů imidazolidinonu s prolinem. Zatímco v komplexu [(Pro-H)Cu(Imi_{Fur})(Pro)]⁺ se odštěpuje snadněji prolin než Imi_{Fur}, v komplexu [(Pro-H)Cu(Imi_{Bz})(Pro)]⁺ mají oba ligandy podobné vazebné energie, a v komplexu [(Pro-H)Cu(Imi_H)(Pro)]⁺ je prolin vázán silněji než Imi_H. Z experimentálních hodnot je také zřejmý chirální efekt, který se projevuje při fragmentaci. U komplexů s Imi_{Fur} a Imi_H je podíl ztráty prolinu ku ztrátě Imi_X větší pro heterochirální komplex, zatímco u komplexu s Imi_{Bz} je výsledek opačný. Nejjednodušeji lze výsledky interpretovat pomocí schematického nákresu plochy potenciální energie pro rozpad komplexů (Obr. 3.1, 3.2, 3.3).

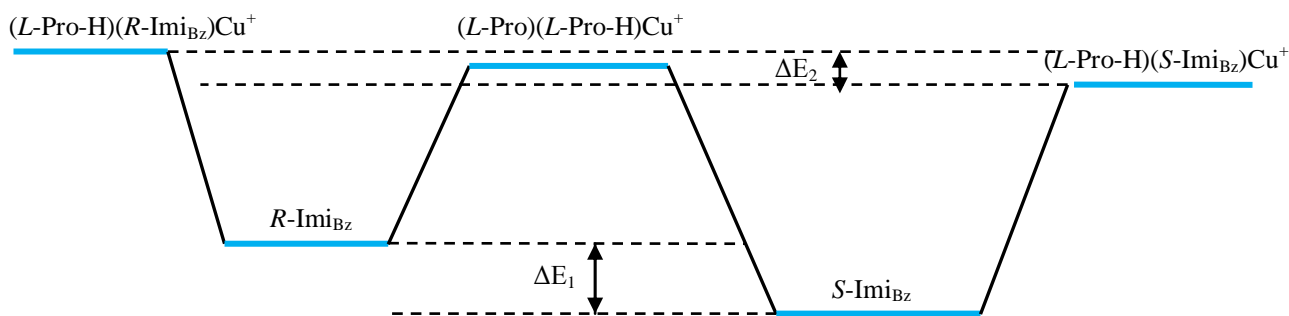
	<i>R</i> -Imi _{Fur}	<i>S</i> -Imi _{Fur}	<i>R</i> -Imi _{Bz}	<i>S</i> -Imi _{Bz}	<i>R</i> -Imi _H	<i>S</i> -Imi _H
$\frac{[(\text{Pro-H})_L\text{Cu}(\text{Imi}_X)]^+}{[(\text{Pro-H})_L\text{Cu}(\text{Pro})_L]^+}$	2,85 ± 0,21	2,09 ± 0,04	0,92 ± 0,06	1,09 ± 0,07	0,77 ± 0,06	0,69 ± 0,07
$\frac{[(\text{Pro-H})_L\text{Cu}(\text{Imi}_X)]^+}{[\text{Imi}_X - \text{H}]^+}$	1,46 ± 0,10	0,96 ± 0,06	1,18 ± 0,05	1,20 ± 0,04	2,30 ± 0,05	2,35 ± 0,06

Tabulka 3.3 Poměry intenzit fragmentů při E_{LAB1}



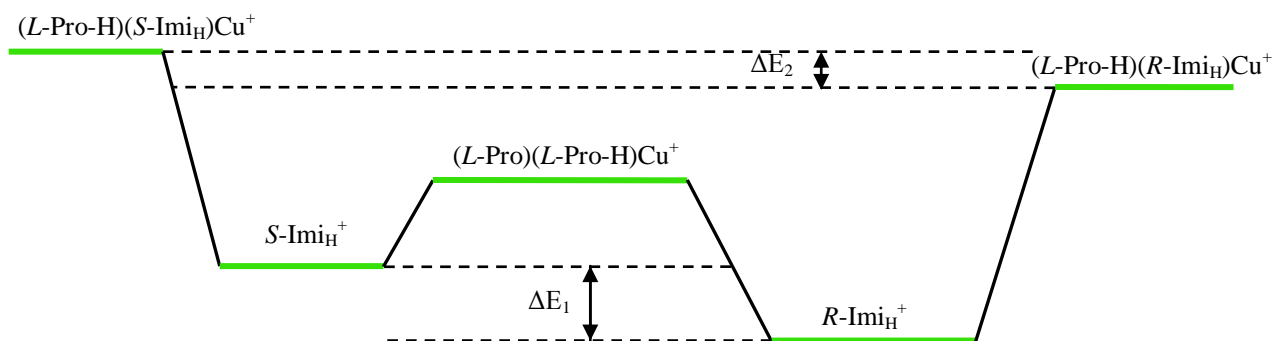
Obr. 3.1 Schematický náčrt plochy potenciální energie pro fragmentaci komplexu $[(Pro-H)Cu(Imi_{Fur})(Pro)]^+$.

Při návrhu ploch potenciální energie (PPE) jsme předpokládali, že rozdíl v potenciálních energiích diastereoisomerních komplexů $[(Pro-H)Cu(Imi_x)(Pro)]^+$ (ΔE_1) je větší než rozdíl v energiích diastereoisomerů $[(Pro-H)Cu(Imi_x)]^+$ (ΔE_2) a rozdíly mají stejný trend (tzn. u obou typů komplexů je stabilnější buď heterochirální nebo homochirální diastereoisomer). Tento scénář je samozřejmě pouze jedním z řady scénářů, které lze navrhnout a jeho správnost lze pouze dedukovat z konzistence argumentů se všemi experimentálními výsledky. Schéma pro fragmentaci komplexu $[(Pro-H)Cu(Imi_{Fur})(Pro)]^+$ zohledňuje, že disociační energie spojená s tvorbou $Imi_{Fur} + [(Pro-H)Cu(Pro)]^+$ je vyšší než energie potřebná na odštěpení prolinu. Menší rozdíl v intenzitách ztráty prolinu a Imi_{Fur} je pro homochirální komplex (nižší podíl v tabulce 3.3), z čehož se dá usuzovat, že homochirální komplex leží ve výše položeném minimu (tj. energetické bariéry pro ztrátu prolinu a Imi_{Fur} se vzájemně liší o ΔE_2 méně). Celkový návrh PPE je znázorněn na obr. 3.1. Heterochirální komplex by podle tohoto zdůvodnění měl být silněji vázán než homochirální komplex.



Obr. 3.2 Schematický náčrt plochy potenciální energie pro fragmentaci komplexu $[(\text{Pro-H})\text{Cu}(\text{Imi}_{\text{Bz}})(\text{Pro})]^+$.

U komplexu $[(\text{Pro-H})\text{Cu}(\text{Imi}_{\text{Bz}})(\text{Pro})]^+$ je energetická bariéra pro ztrátu prolinu ve stejné úrovni jako bariéry pro ztráty Imi_{Bz} . Relativní rozdíl mezi energetickými bariérami pro rozpad homochirálního a heterochirálního komplexu je stejný, pouze u homochirálního převažuje ztráta prolinu, kdežto u heterochirálního převažuje ztráta Imi_{Bz} . Pokud promítneme výsledky do schématu PPE, tak hladina energie pro ztrátu Imi_{Bz} je přesně mezi energetickými hladinami pro odštěpení prolinu z homochirálního komplexu a z heterochirálního komplexu (Obr. 3.2). Z výsledku tedy plyne, že stabilnější je v tomto případě homochirální komplex $[(\text{Pro-H})_{\text{L}}\text{Cu}(\text{Imi}_{\text{Bz}})_{\text{S}}(\text{Pro})_{\text{L}}]^+$.



Obr. 3.3 Schematický náčrt plochy potenciální energie pro fragmentaci komplexu $[(\text{Pro-H})\text{Cu}(\text{Imi}_{\text{H}})(\text{Pro})]^+$.

Poslední studovaný komplex je $[(\text{Pro-H})\text{Cu}(\text{Imi}_{\text{H}})(\text{Pro})]^+$. Energetická hladina pro odštěpení Imi_{H} je v tomto případě pod hladinami pro ztrátu prolinu (Obr. 3.3). Pro

rozhodnutí, který ze studovaných isomerů ($[(\text{Pro-H})_L\text{Cu}(\text{Imi}_H)_R(\text{Pro})_L]^+$ a $[(\text{Pro-H})_L\text{Cu}(\text{Imi}_H)_S(\text{Pro})_L]^+$) představuje hlouběji položené minimum na PPE, vezmeme do úvahy poměry ztrát prolinu a Imi_H . Pro heterochirální komplex je poměr ztráty prolinu ku ztrátě Imi_H větší (0,77 vs. 0,69), což s největší pravděpodobností znamená, že heterochirální komplex je níže položený. Pro lepší názornost si můžeme představit, že disociační hladina pro odštěpení Imi_H leží na stejné úrovni jako disociační hladina pro ztrátu prolinu z heterochirálního komplexu. Pak bychom očekávali, že poměr mezi ztrátou Pro a Imi_H z heterochirálního komplexu bude jedna, kdežto pro homochirální komplex bude menší než jedna. Ve skutečnosti je energetická hladina pro ztrátu Imi_H níže než hladiny pro ztrátu prolinu, čísla jsou tudíž nižší, ale pro heterochirální komplex poměr zůstává bližší jedné ve srovnání s homochirálním komplexem. Heterochirální komplex je tedy silněji vázán než homochirální podobně jako u Imi_{Fur} .

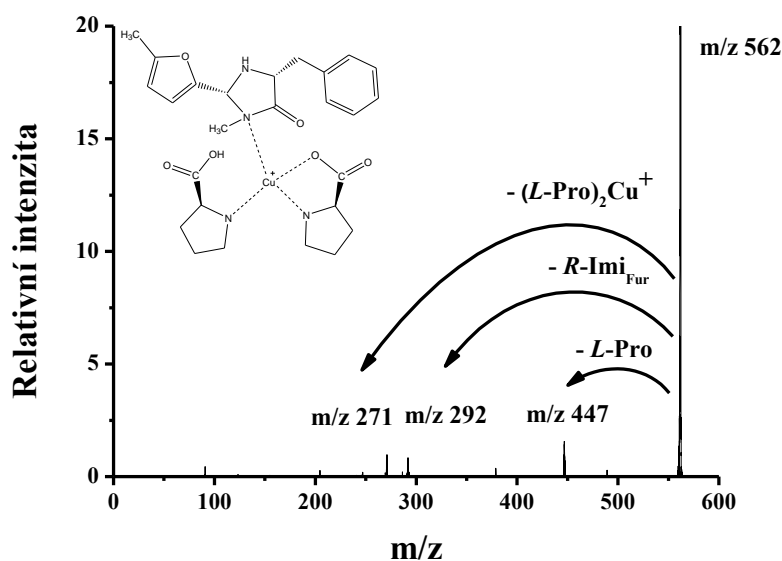
	<i>R</i> - Imi_{Fur}	<i>S</i> - Imi_{Fur}	<i>R</i> - Imi_{Bz}	<i>S</i> - Imi_{Bz}	<i>R</i> - Imi_H	<i>S</i> - Imi_H
$\frac{[(\text{Pro-H})_L\text{Cu}(\text{Imi}_X)]}{[(\text{Pro-H})_L\text{Cu}(\text{Pro})_L]}$	$0,75 \pm 0,06$	$0,66 \pm 0,08$	$0,35 \pm 0,02$	$0,37 \pm 0,03$	$0,40 \pm 0,02$	$0,34 \pm 0,01$
$\frac{[(\text{Pro-H})_L\text{Cu}(\text{Imi}_X)]}{[\text{Imi}_X - \text{H}]^+}$	$0,66 \pm 0,07$	$0,55 \pm 0,08$	$0,29 \pm 0,04$	$0,30 \pm 0,02$	$1,72 \pm 0,04$	$1,33 \pm 0,03$

Tabulka 3.4 Poměry intenzit fragmentů při E_{LAB2}

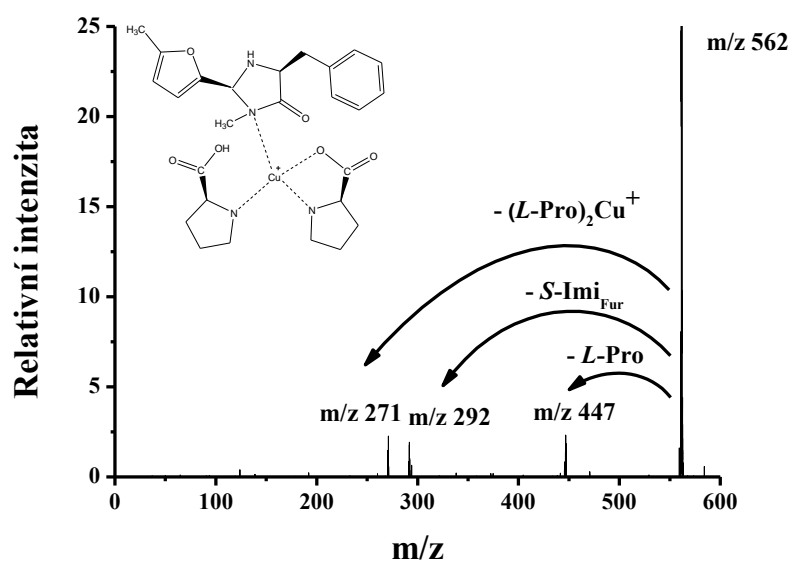
V tabulce 3.4 jsou uvedeny výsledky pokusu při E_{LAB2} . Při vyšších energiích je z výsledků na první pohled zřejmé, že je daleko více preferována ztráta Imi_X pro všechny komplexy. S největší pravděpodobností se jedná o změnu fragmentačního mechanismu souvisejícího s prolinem. Při studiu energetické závislosti fragmentace komplexů prolinu (kapitola výše, Studium prahových hodnot komplexů) bylo ukázáno, že rozpad komplexů protonovaného prolinu s 2-aminobutan a 2-aminohexan, jeví silnou závislost na kolizní energii. Výsledky lze snadno interpretovat pomocí stejných ploch potenciálních energií, jaké jsme navrhli pro nízkou kolizní energii. Pouze disociační energie potřebná pro eliminaci Imi_X bude položena níže než energie potřebné pro

eliminaci prolinu pro všechny studované komplexy.

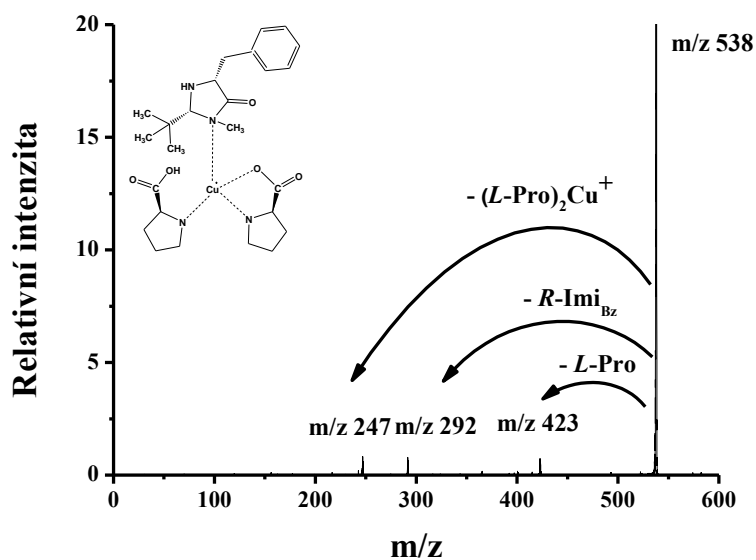
Následující grafy (Graf 3.15 – 3.20) znázorňují fragmentace studovaných komplexů, ke kterým docházelo v kolizní cele při kolizně indukované disociaci při E_{LAB1} . A dále grafy 3.21 – 3.26 při E_{LAB2} . Každé spektrum je doplněno obrázkem struktury mateřského iontu.



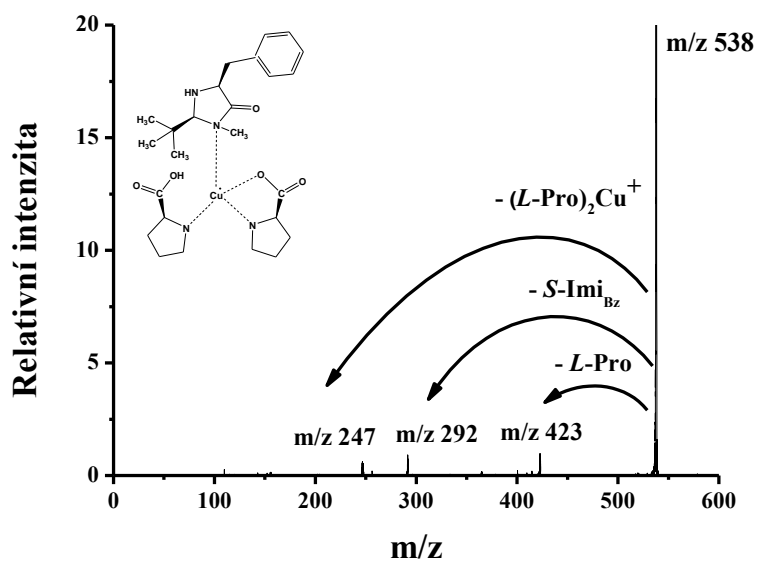
Graf 3.15: CID spektrum komplexu $[(\text{Pro-H})_L\text{Cu}(\text{Imi}_{\text{Fur}})_R(\text{Pro})_L]^+$ m/z 562 při E_{LAB1} 8,7eV. Z mateřského iontu došlo k odštěpení *L*-prolinu, organokatalyzátoru *R*- Imi_{Fur} a $[(\text{Pro-H})_L\text{Cu}(\text{Pro})_L]^+$. Mateřský ion byl normalizován na 100. Struktura komplexu $[(\text{Pro-H})_L\text{Cu}(\text{Imi}_{\text{Fur}})_R(\text{Pro})_L]^+$



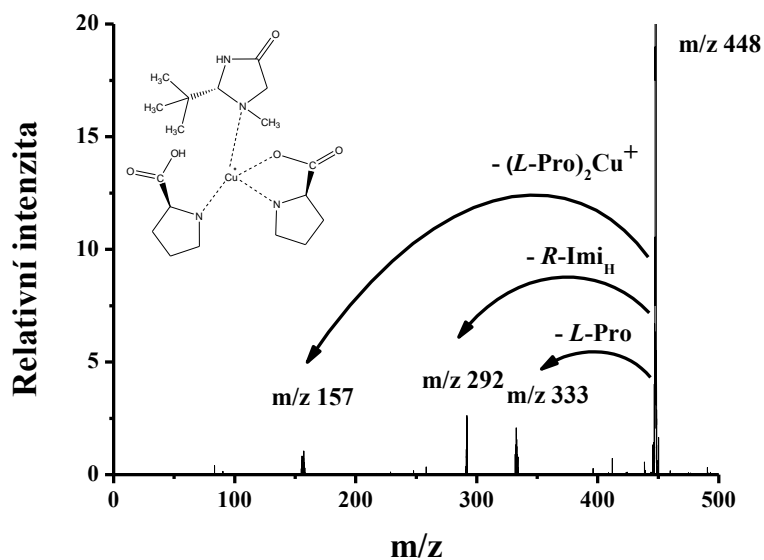
Graf 3.16: CID spektrum komplexu $[(\text{Pro-H})_L\text{Cu}(\text{Imi}_{\text{Fur}})_S(\text{Pro})_L]^+$ m/z 562 při E_{LAB1} 8,7eV. Z mateřského iontu došlo k odštěpení L -prolinu, organokatalyzátoru $S\text{-Imi}_{\text{Fur}}$ a $[(\text{Pro-H})_L\text{Cu}(\text{Pro})_L]^+$. Mateřský ion byl normalizován na 100. Struktura komplexu $[(\text{Pro-H})_L\text{Cu}(\text{Imi}_{\text{Fur}})_S(\text{Pro})_L]^+$



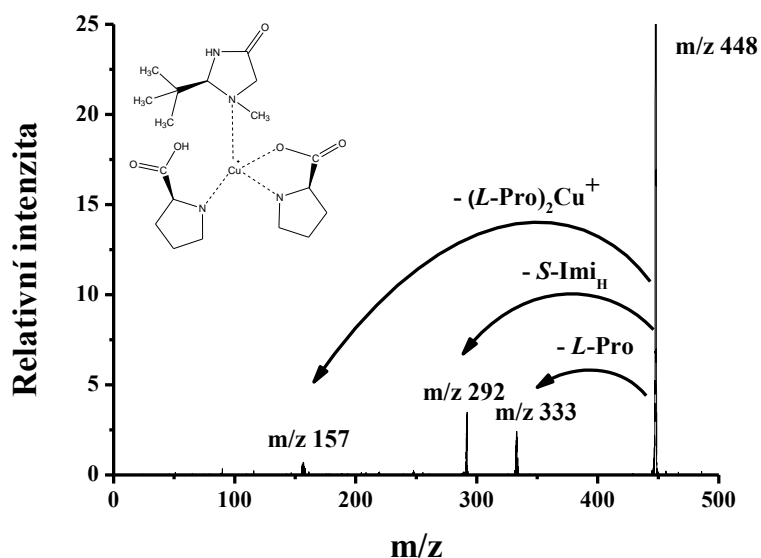
Graf 3.17: CID spektrum komplexu $[(\text{Pro-H})_L\text{Cu}(\text{Imi}_{\text{Bz}})_R(\text{Pro})_L]^+$ při E_{LAB1} 8,5eV. Z mateřského iontu došlo k odštěpení L -prolinu, organokatalyzátoru $R\text{-Imi}_{\text{Bz}}$ a $[(\text{Pro-H})_L\text{Cu}(\text{Pro})_L]^+$. Mateřský ion byl normalizován na 100. Struktura komplexu $[(\text{Pro-H})_L\text{Cu}(\text{Imi}_{\text{Bz}})_R(\text{Pro})_L]^+$



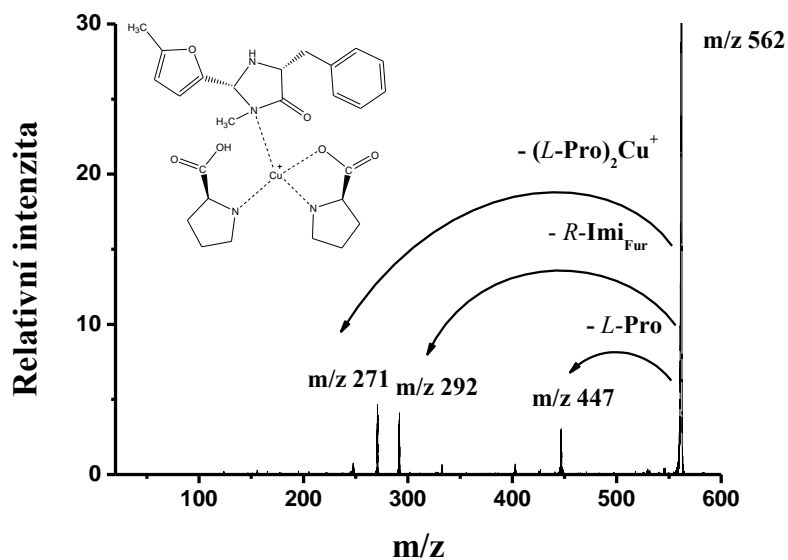
Graf 3.18: CID spektrum komplexu $[(\text{Pro-H})_L\text{Cu}(\text{Imi}_{\text{Bz}})_S(\text{Pro})_L]^+$ při $E_{\text{LAB1}} 8,5\text{eV}$. Z mateřského iontu došlo k odštěpení *L*-prolinu, organokatalyzátoru *S*-Imi_{Bz} a $[(\text{Pro-H})_L\text{Cu}(\text{Pro})_L]^+$. Mateřský ion byl normalizován na 100. Struktura komplexu $[(\text{Pro-H})_L\text{Cu}(\text{Imi}_{\text{Bz}})_S(\text{Pro})_L]^+$



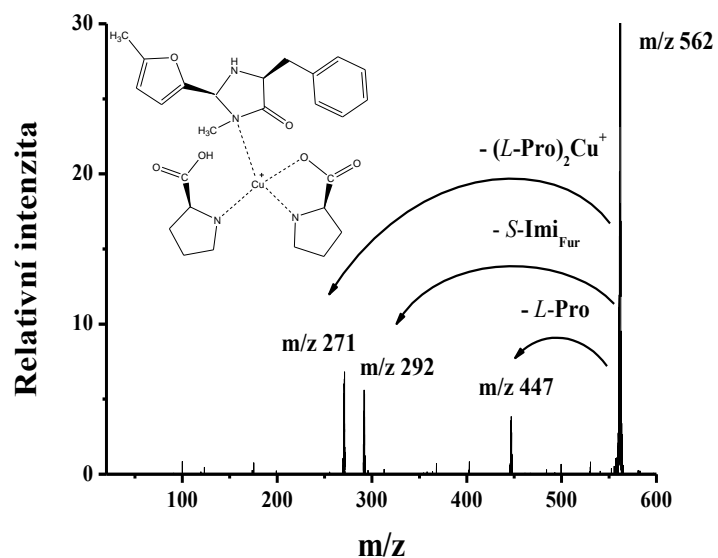
Graf 3.19: CID spektrum komplexu $[(\text{L-Pro})_2R\text{-Imi}_H]\text{Cu}^+$ při $E_{\text{LAB1}} 7,8\text{eV}$. Z mateřského iontu došlo k odštěpení *L*-prolinu, organokatalyzátoru *R*-Imi_H a $(\text{L-Pro})_2\text{Cu}^+$. Mateřský ion byl normalizován na 100. Struktura komplexu $[(\text{Pro-H})_L\text{Cu}(\text{Imi}_H)_S(\text{Pro})_L]^+$



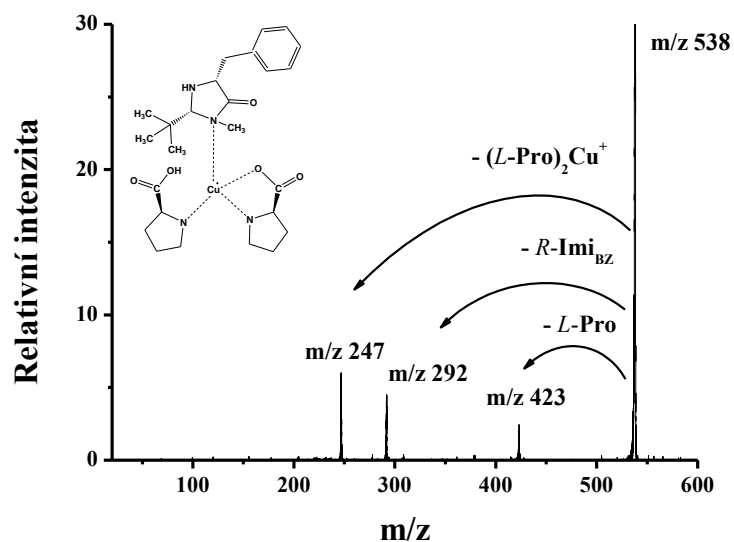
Graf 3.20: CID spektrum komplexu $[(\text{Pro-H})_L\text{Cu}(\text{Imi}_H)_S(\text{Pro})_L]^+$ při E_{LAB1} 7,8eV. Z mateřského iontu došlo k odštěpení *L*-prolinu, organokatalyzátoru *S*-Imi_{Bz} a $[(\text{Pro-H})_L\text{Cu}(\text{Pro})_L]^+$. Mateřský ion byl normalizován na 100. Struktura komplexu $[(\text{Pro-H})_L\text{Cu}(\text{Imi}_{\text{Bz}})_S(\text{Pro})_L]^+$.



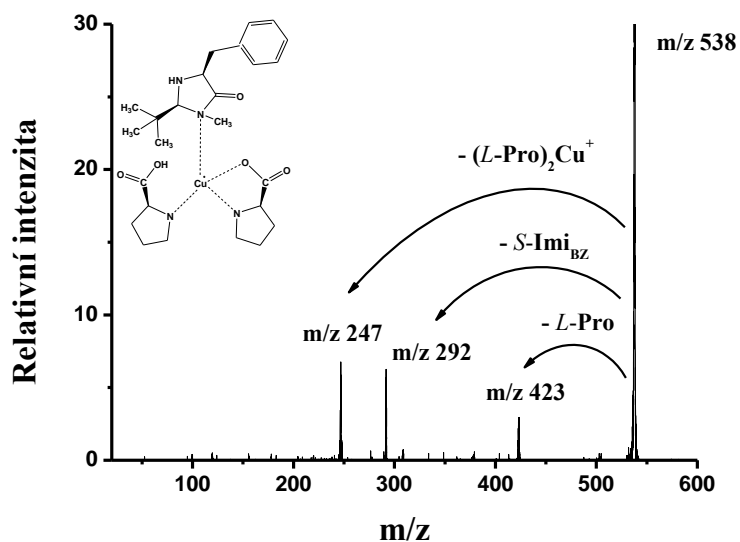
Graf 3.21: CID spektrum komplexu $[(\text{Pro-H})_L\text{Cu}(\text{Imi}_{\text{Fur}})_R(\text{Pro})_L]^+$ m/z 562 při E_{LAB2} 24,5eV. Z mateřského iontu došlo k odštěpení *L*-prolinu, organokatalyzátoru *R*-Imi_{Fur} a $[(\text{Pro-H})_L\text{Cu}(\text{Pro})_L]^+$. Mateřský ion byl normalizován na 100. Struktura komplexu $[(\text{Pro-H})_L\text{Cu}(\text{Imi}_{\text{Fur}})_R(\text{Pro})_L]^+$.



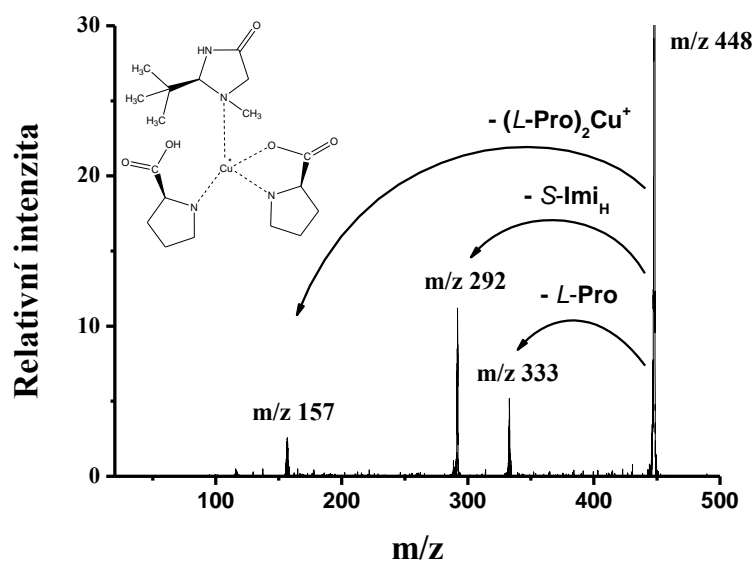
Graf 3.22: CID spektrum komplexu $[(\text{Pro-H})_L\text{Cu}(\text{Imi}_{\text{Fur}})_S(\text{Pro})_L]^+$ m/z 562 při E_{LAB} 24,5eV. Z mateřského iontu došlo k odštěpení *L*-prolinu, organokatalyzátoru *S*- Imi_{Fur} a $[(\text{Pro-H})_L\text{Cu}(\text{Pro})_L]^+$. Mateřský ion byl normalizován na 100. Struktura komplexu $[(\text{Pro-H})_L\text{Cu}(\text{Imi}_{\text{Fur}})_S(\text{Pro})_L]^+$



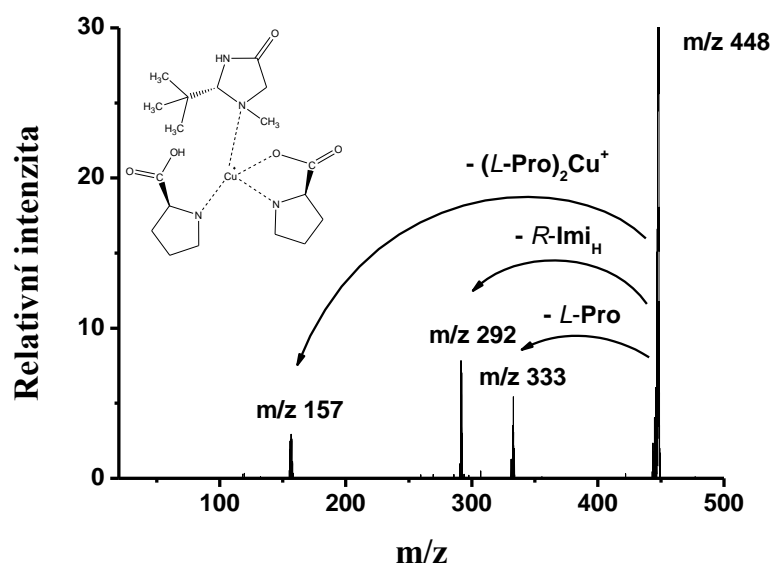
Graf 3.23: CID spektrum komplexu $[(\text{Pro-H})_L\text{Cu}(\text{Imi}_{\text{Bz}})_R(\text{Pro})_L]^+$ při E_{LAB2} 23,8eV. Z mateřského iontu došlo k odštěpení *L*-prolinu, organokatalyzátoru *R*- Imi_{Bz} a $[(\text{Pro-H})_L\text{Cu}(\text{Pro})_L]^+$. Mateřský ion byl normalizován na 100. Struktura komplexu $[(\text{Pro-H})_L\text{Cu}(\text{Imi}_{\text{Bz}})_R(\text{Pro})_L]^+$



Graf 3.24: CID spektrum komplexu $[(\text{Pro-H})_L\text{Cu}(\text{Imi}_{\text{Bz}})_S(\text{Pro})_L]^+$ při $E_{\text{LAB2}} 21\text{eV}$. Z mateřského iontu došlo k odštěpení *L*-prolinu, organokatalyzátoru *S*-Imi_{Bz} a $[(\text{Pro-H})_L\text{Cu}(\text{Pro})_L]^+$. Mateřský ion byl normalizován na 100. Struktura komplexu $[(\text{Pro-H})_L\text{Cu}(\text{Imi}_{\text{Bz}})_S(\text{Pro})_L]^+$.



Graf 3.25: CID spektrum komplexu $[(\text{Pro-H})_L\text{Cu}(\text{Imi}_{\text{H}})_S(\text{Pro})_L]^+$ při $E_{\text{LAB2}} 23,8\text{eV}$. Z mateřského iontu došlo k odštěpení *L*-prolinu, organokatalyzátoru *S*-Imi_H a $[(\text{Pro-H})_L\text{Cu}(\text{Pro})_L]^+$. Mateřský ion byl normalizován na 100. Struktura komplexu $[(\text{Pro-H})_L\text{Cu}(\text{Imi}_{\text{Bz}})_S(\text{Pro})_L]^+$.



Graf 3.26: CID spektrum komplexu $[(L\text{-Pro})_2R\text{-Imi}_H]\text{Cu}^+$ při $E_{\text{LAB2}} 21\text{eV}$. Z mateřského iontu došlo k odštěpení *L*-prolinu, organokatalyzátoru *R*-Imi_H a $(L\text{-Pro})_2\text{Cu}^+$. Mateřský ion byl normalizován na 100. Struktura komplexu $[(\text{Pro-H})_L\text{Cu}(\text{Imi}_H)_S(\text{Pro})_L]^+$

3.4 Rychlostní konstanty

V posledním experimentu byly studovány komplexy $[\text{A-B}]^+$, kde A je organokatalyzátor a B je chirální sloučenina (v tomto případě 2-aminohexan). V kolizní cele byla provedena reakce se sekundárním R/S-butylaminem (C) při kolizní energii 2,6 eV.

Při fragmentaci komplexu $[\text{A-B}]^+$ může docházet i ke konkurenčním reakcím, a to k disociaci, asociaci a k výměně molekul. Jednalo se o disociaci chirální sloučeniny B a organokatalyzátoru A a výměnu R/S-2-aminohexanu za sekundární R/S-aminobutan.

Předpokládalo se, že ještě bude probíhat další reakce – asociace. Ta byla bohužel skoro neměřitelná. Proto byla zanedbána v dalším postupu experimentu.

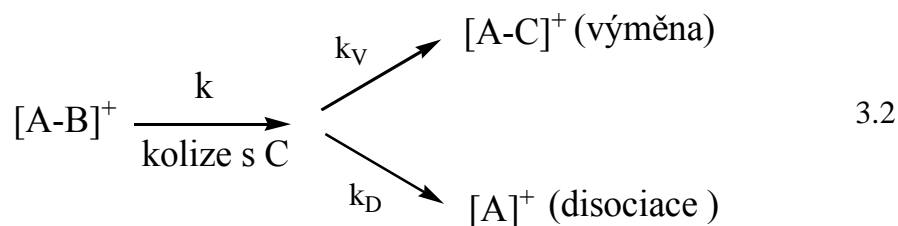


Schéma 3.2 Ukazuje případ srážky C s komplexem $[A-B]^+$. Může dojít k výměně C za B (rychlostní konstanta k_V) nebo disociaci komplexu (disociační konstanta k_D), přičemž celková rychlostní konstanta k je dána součtem k_V a k_D .

Celková rychlostní konstanta k vyjadřuje míru úbytku počáteční koncentrace komplexu $[A-B]_0$ s časem t , který představuje v našem experimentu konstantu a zahrnujeme ho do rychlostní konstanty. Rychlost reakce závisí také na koncentraci neutrálního reaktantu C, který by ale měl také představovat konstantu a proto ho také zahrnujeme do experimentální rychlostní konstanty

$$[A-B]_t = [A-B]_0 - kt[C] \tag{3.3}$$

$$k_{exp} = kt[C] = [A-B]_0 - [A-B]_t = \sum F_i, \tag{3.4}$$

kde $\sum F_i$ je součet intenzit všech fragmentů, který bereme normalizovaný vzhledem k celkovému iontovému proudu (součet intenzit všech píků ve spektru). Porovnáním intenzit píků byly získány rychlostní konstanty jednotlivých reakcí. Celková rychlostní konstanta k je definována následujícím vztahem

$$k = k_D + k_V = I_D/I_{celk} + I_V/I_{celk} \tag{3.5}$$

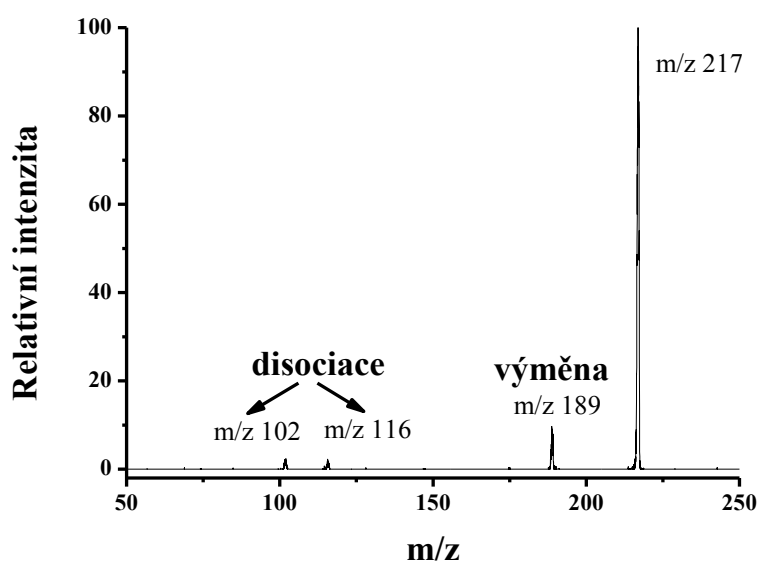
kde k_D je rychlostní konstanta disociace, k_V je rychlostní konstanta výměny, I_D je intenzita píku disociace, I_V intenzita píku výměny a I_{celk} je intenzita součtu všech píků ve spektru.

Při měření nastaly problémy s udržení konstantního tlaku v kolizní cele sekundárního butylaminu a z tohoto důvodu byla měřena referenční sloučenina, na kterou byly intenzity všech fragmentů normalizovány. Tím došlo k odstranění možných chyb daných kolísáním tlaku v kolizní cele.

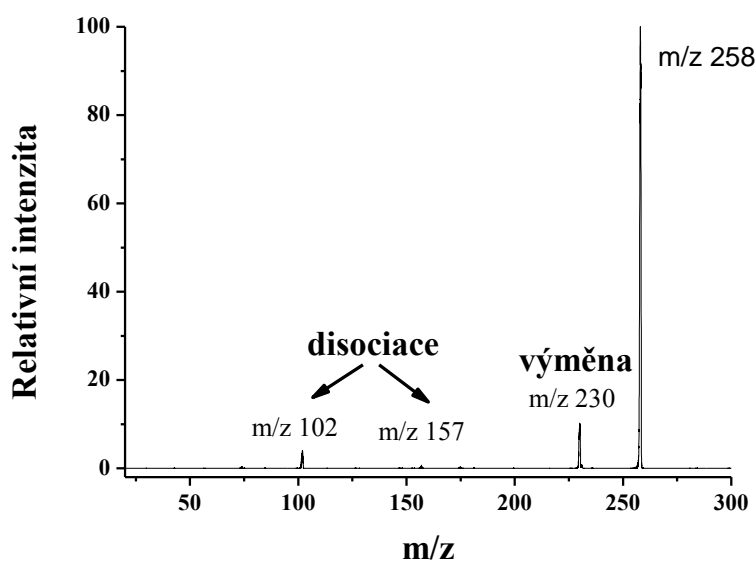
Nejprve byla sledována tvorba protonovaných komplexů organokatalyzátorů s 2-aminohexanem ve zdrojovém spektru. Jako organokatalyzátory byly použity: *S*-Imi_H, *R*-

Imi_H, S-Imi_{Fur}, R-Imi_{Fur}, S-Imi_{Bz}, R-Imi_{Bz}, L-Pro a D-Pro.

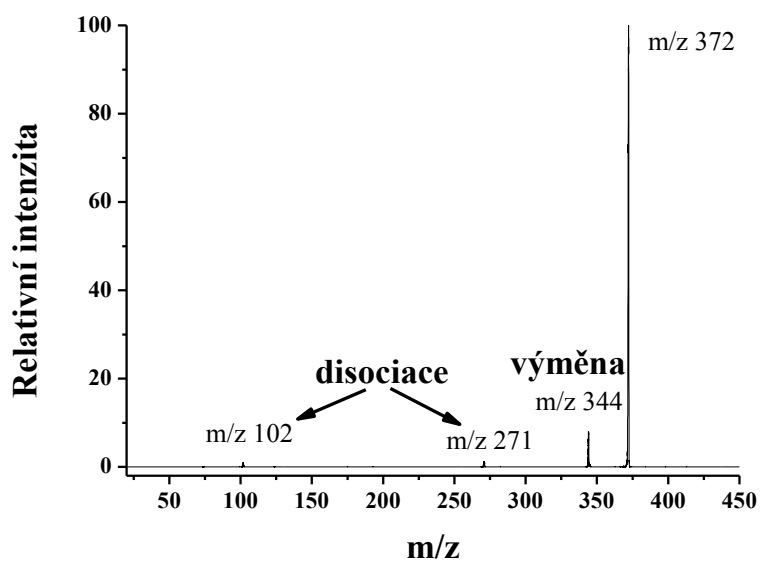
Poté, co byla zjištěna tvorba těchto protonovaných komplexů, byl do kolizní cely přiveden 2-butylamin příslušné chiralidy. Bylo zkoumáno chování této směsi, zda dochází ke změnám ve spektru a byly hledány píky, které by mohly příslušet možným vznikajícím komplexům. Vznikající struktury byly identifikovány jako produkty následujících reakcí – disociace a výměna. Při disociaci došlo k odštěpení 2-aminohexanu nebo katalyzátoru, zatímco při výměně se 2-aminobutan navázal místo 2-aminohexanu na organokatalyzátor (Graf 3.27 - 3.30).



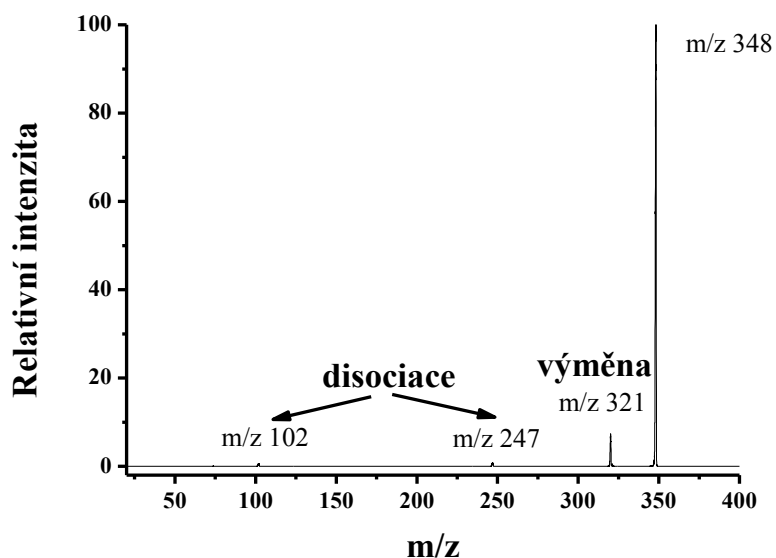
Graf 3.27: Závislost relativní intenzity na m/z. Sledování rychlostních konstant komplexu (*S*-HexNH₂)D-ProH⁺ m/z 217. Ztráta L-ProH⁺ m/z 102 a S-HexNH₃⁺ m/z 116, výměna S-HexNH₂ v komplexu komplexu (*S*-HexNH₂)D-ProH⁺ za S-BuNH₂ m/z 189.



Graf 3.28: Závislost relativní intenzity na m/z. Sledování rychlostních konstant komplexu $(S\text{-HexNH}_2)R\text{-Imi}_H\text{H}^+$ m/z 258. Ztráta $L\text{-ProH}^+$ m/z 102 a $S\text{-HexNH}_3^+$ m/z 157, výměna $S\text{-HexNH}_2$ v komplexu $(S\text{-HexNH}_2)R\text{-Imi}_H\text{H}^+$ za $S\text{-BuNH}_2$ m/z 230.



Graf 3.29: Závislost relativní intenzity na m/z. Sledování rychlostních konstant komplexu $(S\text{-HexNH}_2)R\text{-Imi}_{\text{Fur}}\text{H}^+$ m/z 372. Ztráta $L\text{-ProH}^+$ m/z 102 a $S\text{-HexNH}_3^+$ m/z 271, výměna $S\text{-HexNH}_2$ v komplexu $(S\text{-HexNH}_2)R\text{-Imi}_{\text{Fur}}\text{H}^+$ za $S\text{-BuNH}_2$ m/z 344.



Graf 3.30: Závislost relativní intenzity na m/z . Sledování rychlostních konstant komplexu $(S\text{-Hex})R\text{-Imi}_{Bz}H^+$ m/z 348. Ztráta $L\text{-ProH}^+$ m/z 102 a $S\text{-HexNH}_3^+$ m/z 247, výměna $S\text{-HexNH}_2$ v komplexu $(S\text{-HexNH}_2)R\text{-Imi}_{Bz}H^+$ za $S\text{-BuNH}_2$ m/z 321.

V tabulkách 3.5 až 3.8 jsou uvedeny rychlostní konstanty výměny, disociace a celková rychlostní konstanta, která je součtem předchozích dvou. Jsou zde uvedeny i směrodatné odchylky jednotlivých měření. Rychlostní konstanty jsou úměrné intenzitám jednotlivých píků ve spektru. Tabulky 3.5 a 3.6 popisují reakce organokatalyzátorů s chiralitou S ($S\text{-Imi}_X$). V tabulkách 3.7 a 3.8 jsou uvedeny výsledky reakcí organokatalyzátoru s opačnou chiralitou ($R\text{-Imi}_X$).

Imi _X	Chiralita Imi _X	Chiralita HexNH ₂ /BuNH ₂ *	Změna chiralit ^{**}	k
Imi _H	<i>S</i>	<i>SS</i>	NE	2,57 ± 0,03
Imi _{Fur}	<i>S</i>	<i>SS</i>	NE	2,77 ± 0,12
Imi _{Bz}	<i>S</i>	<i>SS</i>	NE	2,62 ± 0,11
Pro	<i>S</i>	<i>SS</i>	NE	2,47 ± 0,07
Imi _H	<i>S</i>	<i>SR</i>	ANO	2,65 ± 0,15
Imi _{Fur}	<i>S</i>	<i>SR</i>	ANO	2,97 ± 0,09
Imi _{Bz}	<i>S</i>	<i>SR</i>	ANO	2,66 ± 0,17
Pro	<i>S</i>	<i>SR</i>	ANO	2,61 ± 0,04
Imi _H	<i>S</i>	<i>RS</i>	ANO	2,59 ± 0,08
Imi _{Fur}	<i>S</i>	<i>RS</i>	ANO	2,88 ± 0,18
Imi _{Bz}	<i>S</i>	<i>RS</i>	ANO	2,49 ± 0,03
Pro	<i>S</i>	<i>RS</i>	ANO	2,46 ± 0,06
Imi _H	<i>S</i>	<i>RR</i>	NE	3,50 ± 0,35
Imi _{Fur}	<i>S</i>	<i>RR</i>	NE	3,39 ± 0,12
Imi _{Bz}	<i>S</i>	<i>RR</i>	NE	3,09 ± 0,76
Pro	<i>S</i>	<i>RR</i>	NE	3,11 ± 0,11

Tabulka 3.5

* Konfigurace HexNH₂/BuNH₂ – konfigurace 2-aminohexanu a 2-aminobutanu na asymetrickém uhlíku, přičemž první odpovídá 2-aminohexanu a druhá 2-aminobutanu

** Změna konfigurace: ANO – při reakci se stereochemie vznikajícího komplexu mění (z heterochirálního komplexu na homochirální nebo obráceně), NE - při reakci se stereochemie vznikajícího komplexu nemění (z heterochirálního komplexu vzniká heterochirální a z homochirálního homochirální).

Imi _X	k _V	k _D	k _V /k _D
Imi _{Fur}	2,23 ± 0,12	0,54 ± 0,10	4.13
Imi _{Bz}	1,92 ± 0,11	0,70 ± 0,04	2.74
Pro	1,81 ± 0,07	0,66 ± 0,04	2.74
Imi _H	2,15 ± 0,15	0,50 ± 0,05	4.3
Imi _{Fur}	2,42 ± 0,09	0,55 ± 0,03	4.4
Imi _{Bz}	2,16 ± 0,17	0,5 ± 0,02	4.32
Pro	1,93 ± 0,04	0,68 ± 0,01	2.84
Imi _H	2,51 ± 0,08	0,08 ± 0,03	x
Imi _{Fur}	2,36 ± 0,18	0,52 ± 0,01	4.5
Imi _{Bz}	1,71 ± 0,01	0,78 ± 0,03	2.19
Pro	1,54 ± 0,06	0,92 ± 0,05	1.67
Imi _H	2,77 ± 0,35	0,73 ± 0,08	3.79
Imi _{Fur}	3,03 ± 0,12	0,36 ± 0,02	8.41
Imi _{Bz}	2,63 ± 0,76	0,46 ± 0,08	5.72
Pro	2,37 ± 0,09	0,74 ± 0,11	3.20

Tabulka 3.6 Zobrazení disociačních a výměnných rychlostních konstant pro *S*-Imi_X.

Při výměně mohou nastat dva případy. Může dojít ke změně chiralitty (z heterochirální na homochirální nebo obráceně) nebo se chiralita při reakci nezmění. Heterochirální komplex znamená, že na organokatalyzátor s určitou konfigurací (např. *R*) se naváže sloučenina s opačnou konfigurací (např. *S*). Naopak homochirální komplex je tvořen částmi se stejnou chiralitou (organokatalyzátor např. *R* a sloučenina také *R*).

Imi _X	Chiralita Imi _X	Chiralita HexNH ₂ /BuNH ₂ *	Změna chiralit ^{**}	k
Imi _H	<i>R</i>	<i>RR</i>	NE	2,49 ± 0,05
Imi _{Fur}	<i>R</i>	<i>RR</i>	NE	2,71 ± 0,03
Imi _{Bz}	<i>R</i>	<i>RR</i>	NE	2,32 ± 0,06
Pro	<i>R</i>	<i>RR</i>	NE	2,70 ± 0,03
Imi _H	<i>R</i>	<i>RS</i>	ANO	3,12 ± 0,09
Imi _{Fur}	<i>R</i>	<i>RS</i>	ANO	3,23 ± 0,06
Imi _{Bz}	<i>R</i>	<i>RS</i>	ANO	2,93 ± 0,08
Pro	<i>R</i>	<i>RS</i>	ANO	3,12 ± 0,05
Imi _H	<i>R</i>	<i>SR</i>	ANO	3,07 ± 0,09
Imi _{Fur}	<i>R</i>	<i>SR</i>	ANO	2,88 ± 0,18
Imi _{Bz}	<i>R</i>	<i>SR</i>	ANO	2,71 ± 0,03
Pro	<i>R</i>	<i>SR</i>	ANO	2,87 ± 0,26
Imi _{Fur}	<i>R</i>	<i>SS</i>	NE	3,21 ± 0,10
Imi _{Bz}	<i>R</i>	<i>SS</i>	NE	2,32 ± 0,06

Tabulka 3.7

* Chiralita HexNH₂/BuNH₂ – tato chiralita přísluší chiralitě 2-aminohexanu a 2-aminobutanu, přičemž první odpovídá 2-aminohexanu a druhá 2-aminobutanu.

** Změna chiralit^y: ANO – při reakci se chiralita vznikajícího komplexu mění (z heterochirálního komplexu na homochirální nebo obráceně), NE - při reakci se chiralita vznikajícího komplexu nemění (z heterochirálního komplexu vzniká heterochirální a z homochirálního homochirální).

Imi _X	k _V	k _D	k _V /k _D
Imi _H	2,02 ± 0,05	0,47 ± 0,02	4,3
Imi _{Fur}	2,35 ± 0,03	0,36 ± 0,01	6,53
Imi _{Bz}	2,05 ± 0,06	0,27 ± 0,03	7,59
Pro	2,07 ± 0,03	0,66 ± 0,02	3,14
Imi _H	2,30 ± 0,09	0,82 ± 0,03	2,8
Imi _{Fur}	2,59 ± 0,06	0,64 ± 0,01	4,05
Imi _{Bz}	2,39 ± 0,08	0,54 ± 0,01	4,43
Pro	2,21 ± 0,05	0,91 ± 0,02	2,43
Imi _H	2,23 ± 0,19	0,84 ± 0,19	2,65
Imi _{Fur}	2,36 ± 0,18	0,52 ± 0,01	4,54
Imi _{Bz}	2,20 ± 0,17	0,51 ± 0,03	4,31
Pro	2,04 ± 0,26	0,83 ± 0,08	2,46
Imi _{Fur}	2,37 ± 0,10	0,84 ± 0,02	2,82
Imi _{Bz}	1,85 ± 0,06	0,47 ± 0,02	3,94

Tabulka 3.8 Zobrazení disociačních a výměnných rychlostních konstant pro R-Imi_X.

Tabulky 3.7 a 3.8 obsahují výsledky pro komplexy, které jsou zrcadlovými obrazy komplexů uvedených v tabulkách 3.5 a 3.6. Teoreticky se výsledky reaktivit musí shodovat. Značné experimentální rozdíly svědčí o velké chybě, která je do experimentu nejspíše zanesena nepřesným měřením tlaku neutrálního reaktantu. Další experimentální chyba mohla být způsobena netěsností napouštěcího systému pro neutrální reaktant, což by vedlo k přítomnosti vzduchu v kolizní cele a tím k změně poměru mezi reakčními kanály pro výměnu aminu a disociaci.

Jediným zřejmým výsledkem studie reaktivity je, že všechny studované organokatalyzátory vykazují velmi podobnou reaktivitu vůči aminům a že chirální efekt je malý, menší než je experimentální chyba.

Přehled výměn, které probíhaly při sledování reakcí:

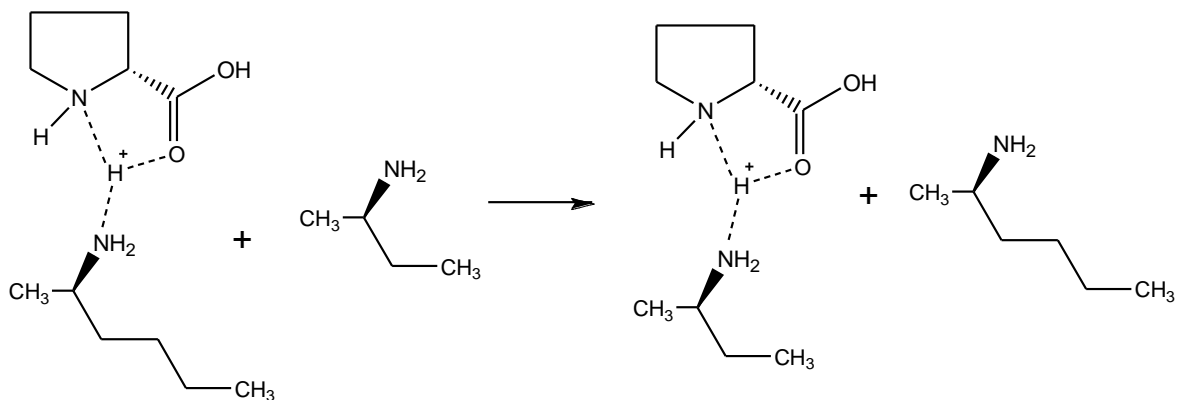


Schéma 3.2: Výměnná reakce *S*-BuNH₂ za *S*-HexNH₂ v komplexu [(Pro-H)_D HexNH₂]_S⁺.

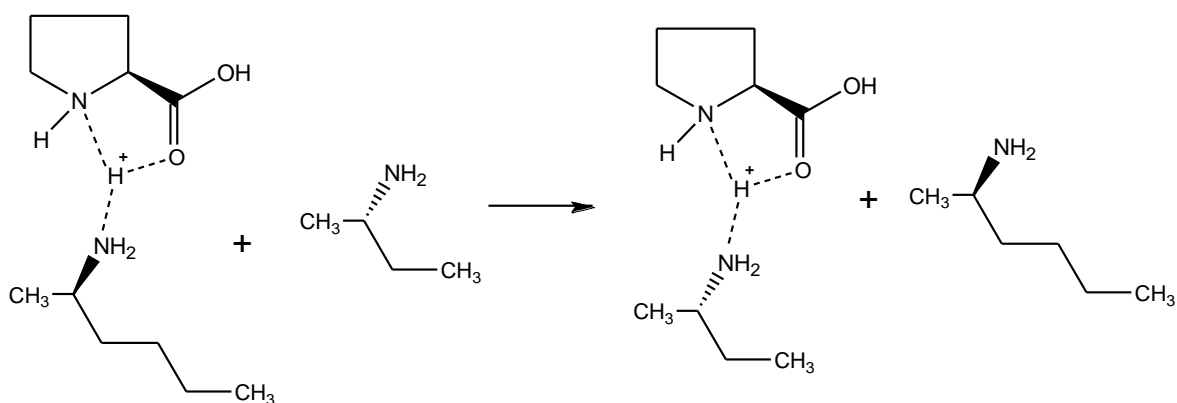


Schéma 3.3: Výměnná reakce *R*-BuNH₂ za *S*-HexNH₂ v komplexu [(Pro-H)_L HexNH₂]_S⁺.

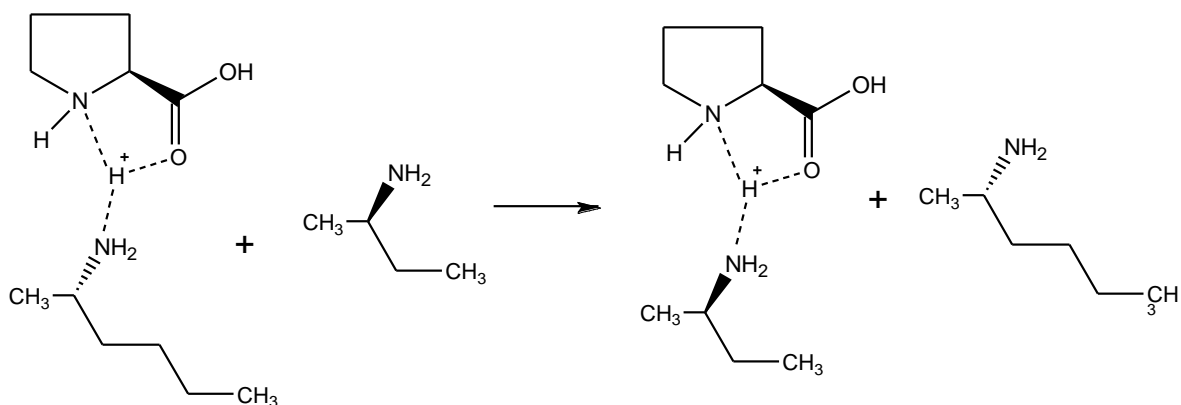


Schéma 3.4: Výměnná reakce *S*-BuNH₂ za *R*-HexNH₂ v komplexu [(Pro-H)_L HexNH₂]_R⁺.

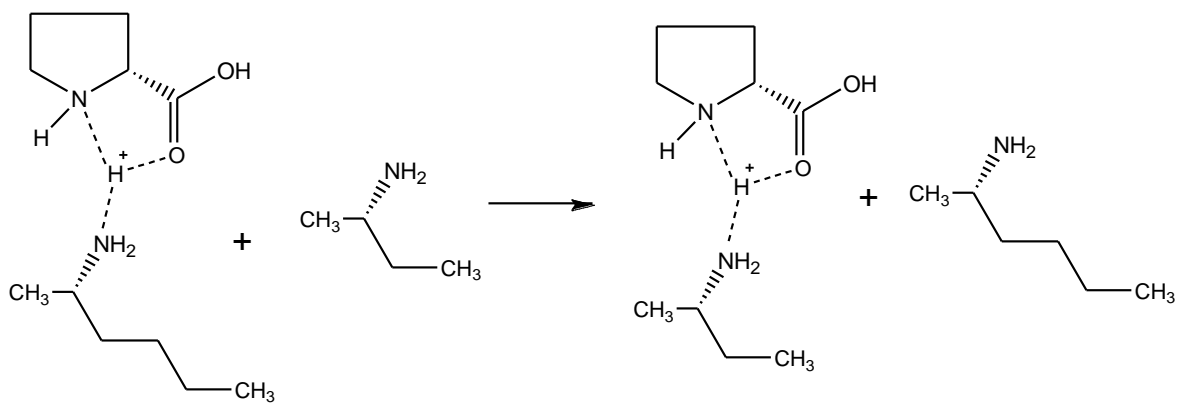


Schéma 3.5: Výměnná reakce $R\text{-BuNH}_2$ za $R\text{-HexNH}_2$ v komplexu $[(\text{Pro-H})_D \text{HexNH}_2]_R^+$.

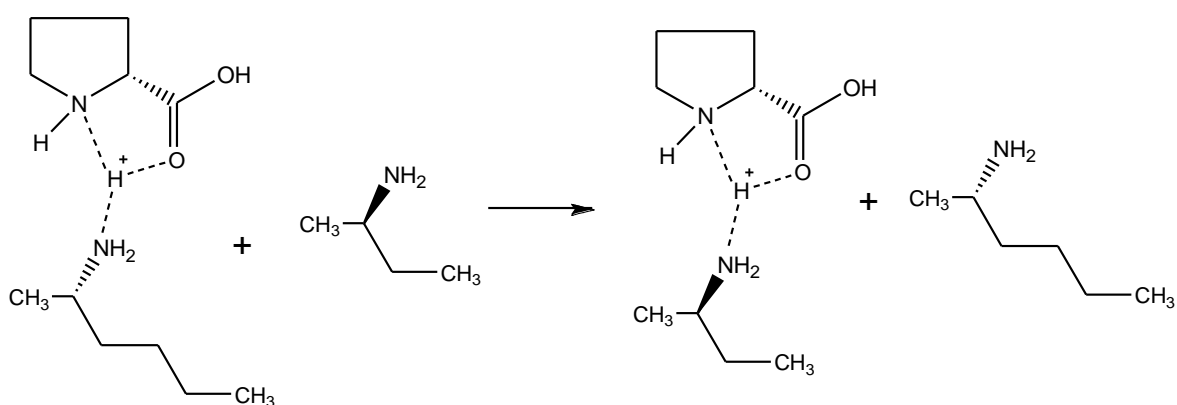


Schéma 3.6: Výměnná reakce $S\text{-BuNH}_2$ za $R\text{-HexNH}_2$ v komplexu $[(\text{Pro-H})_D \text{HexNH}_2]_R^+$.

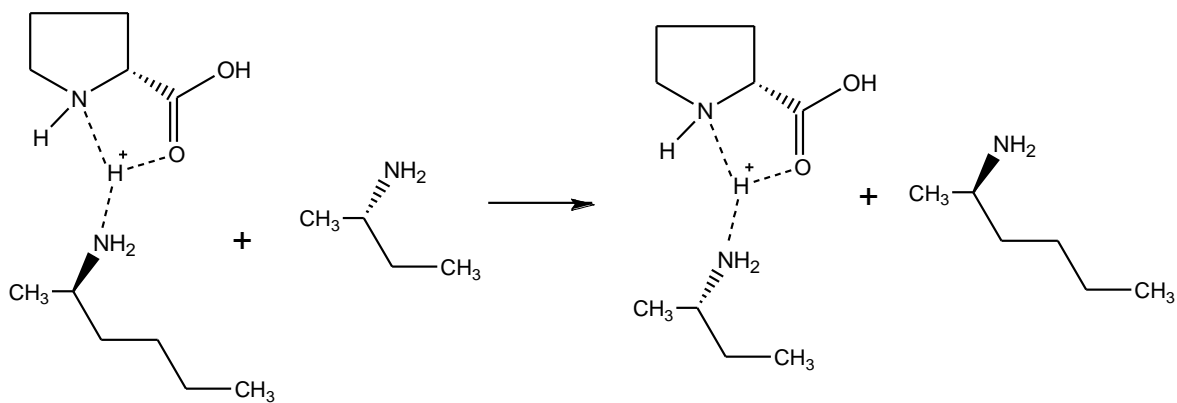
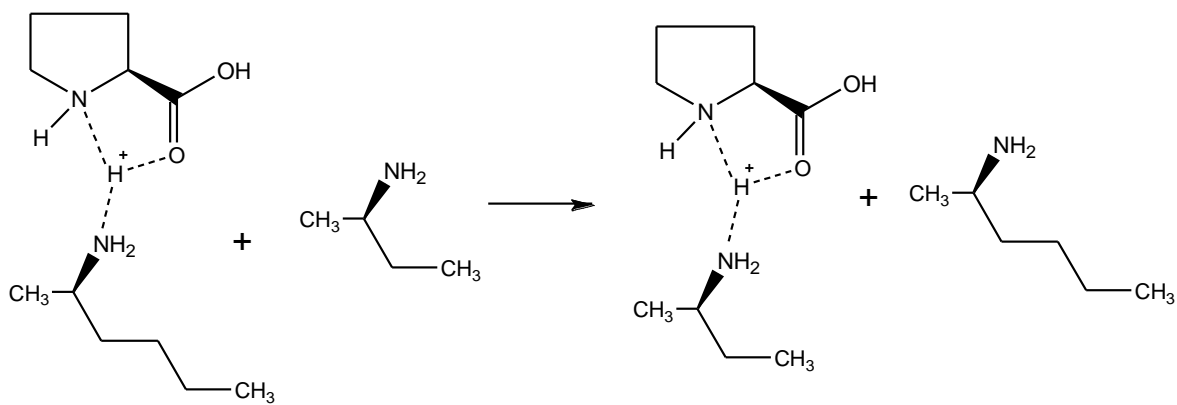


Schéma 3.7: Výměnná reakce $R\text{-BuNH}_2$ za $S\text{-HexNH}_2$ v komplexu $[(\text{Pro-H})_D \text{HexNH}_2]_S^+$.



Schema 3.8: Výměnná reakce *S*-BuNH₂ za *S*-HexNH₂ v komplexu [(Pro-H)_L HexNH₂]_S⁺.

Závěr

Tato diplomová práce se zabývala molekulárním rozeznáváním chirálních sloučenin v plynné fázi. Jako hlavní studované sloučeniny byly zvoleny MacMillanovy organokatalyzátory ((*S*)-(-)-2-(*tert*-butyl)-3-methyl-4-imidazolidinon trifluoroctová kyselina, (*R*)-(-)-2-(*tert*-butyl)-3-methyl-4-imidazolidinon trifluoroctová kyselina, (2*S*,5*S*)-(-)-5-benzyl-3-methyl-2-(5-methyl-2-furyl)-4-imidazolidinon, (2*R*,5*R*)-(-)-5-benzyl-3-methyl-2-(5-methyl-2-furyl)-4-imidazolidinon, (2*S*,5*S*)-(-)-2-*tert*-butyl-3-methyl-5-benzyl-4-imidazolidinon,(2*R*,5*R*)-(-)-2-*tert*-butyl-3-methyl-5-benzyl-4-imidazolidinon), *L*-prolin a *D*-prolin.

Pro studium stability komplexů byla zvolena hmotnostní spektrometrie. V první části byly hledány prahové hodnoty komplexů *L*-prolinu a aminů (2-aminobutan a 2-aminohexan). V případě interakce *L*-prolinu a 2-aminobutanu byla vyšší prahová energie zjištěna pro komplex s *R*-2-aminobutanem. V případě 2-aminohexanu byla vyšší prahová energie zjištěna pro *S*-formu. Komplexy s 2-aminobutanem fragmentovaly při vyšší energii. Chirální efekt těchto sloučenin byl malý. Nelze jej použít pro chirální rozeznávání.

Podobně jako *L*-prolin byl testován i (2*S*,5*S*)-(-)-2-*tert*-butyl-3-methyl-5-benzyl-4-imidazolidinon. Významný chirální efekt také nebyl pozorován, ale byl zjištěn rozdíl ve fragmentačním chování studovaných komplexů v porovnání s komplexem s prolinem. V obou případech při vyšších energiích vznikalo více protonovaného aminu, ale v případě prolinu byl poměr vyšší.

Další experimenty se týkaly studia stability trimerních komplexů (Cu^{2+} a chirálních ligandů). Byly prováděny při dvou různých srážkových energiích ($E_{\text{CM}1}$ a 4 eV). Při významném chirálním efektu se liší intenzity jednotlivých fragmentačních kanálů a lze z nich určit celkový chirální efekt pro tvorbu mateřských komplexů. Určili jsme, že pro tvorbu komplexů mědi, *L*-prolinu a různě substituovaných imidazolidinonů je pro ImiFur a ImiH preferována tvorba heterochirálních komplexů, kdežto pro ImiBz je stabilnější homochirální komplex. Pro vysvětlení výsledků fragmentačních studií byly navrženy kvalitativní povrchy potenciální energie, podle kterých lze vysvětlit fragmentační chování komplexů při obou studovaných srážkových energiích.

Při posledním experimentu byly měřeny rychlostní konstanty při reakcích komplexů tvořených organokatalyzátorem a chirální sloučeninou. Jako chirální látky

sloužily 2-aminobutan a 2-aminohexan. Docházelo k reakcím výměny a disociace. Asociační reakce nebyly zaznamenány. Rychlostní konstanty byly získány z intenzit fragmentů. Rychlost disociačních reakcí byla nižší ve srovnání s rychlostmi reakcí výměnných.

Měření byla obtížná vzhledem ke kolísajícímu tlaku neutrálního reaktantu, což ve výsledku vedlo k velké experimentální chybě. Ani při normalizaci tlaku na zvolenou referenční reakci se nám ale nepodařilo dosáhnout reprodukovatelných výsledků.

Závěrem lze shrnout, že sice byly získány zajímavé chirální efekty při studiu měďnatých diastereoisomerních komplexů prolinu a imidazolidinonů, ale celkové chirální efekty jsou malé a studované molekuly zřejmě nebudou vhodnými testovacími sloučeninami pro chirální rozeznávání v plynné fázi.

Použité zkratky

MS/MS	tandemová hmotnostní spektrometrie
ESI	ionizace elektrosprejem
API	ionizace za atmosférického tlaku
LC-MS	kapalinová chromatografie s hmotnostní detekcí
MALDI	ionizace laserem za přítomnosti matrice
QqQ	trojitý kvadrupól
<i>L</i> -Pro (<i>S</i> -Pro)	<i>L</i> -prolin (<i>S</i> -prolin)
<i>D</i> -Pro (<i>R</i> -Pro)	<i>D</i> -prolin (<i>R</i> -prolin)
<i>S</i> -Hex	<i>S</i> -2-aminohexan
<i>R</i> -Hex	<i>R</i> -2-aminohexan
<i>S</i> -Bu	<i>S</i> -2-aminobutan
<i>R</i> -Bu	<i>R</i> -2-aminobutan
<i>S</i> -Imi _H	(<i>S</i>)-(-)-2-(terc-butyl)-3-methyl-4-imidazolidinon trifluoroctová kyselina
<i>R</i> -Imi _H	(<i>R</i>)-(-)-2-(terc-butyl)-3-methyl-4-imidazolidinon trifluoroctová kyselina
<i>S</i> -Imi _{Fur}	(2 <i>S</i> ,5 <i>S</i>)-(-)-5-benzyl-3-methyl-2-(5-methyl-2-furyl)-4-imidazolidinon
<i>R</i> -Imi _{Fur}	(2 <i>R</i> ,5 <i>R</i>)-(-)-5-benzyl-3-methyl-2-(5-methyl-2-furyl)-4-imidazolidinon
<i>S</i> -Imi _{Bz}	(2 <i>S</i> ,5 <i>S</i>)-(-)-2-terc-butyl-3-methyl-5-benzyl-4-imidazolidinon
<i>R</i> -Imi _{Bz}	(2 <i>R</i> ,5 <i>R</i>)-(-)-2-terc-butyl-3-methyl-5-benzyl-4-imidazolidinon
Imi _X	organokatalyzátor
PPE	plocha potenciální energie

Literatura

- [1] N. M. Maier, P. Franco, W. Lindner, *J. Chromatogr. A.* **2001**, 906, 3.
- [2] E. Tesařová, D. W. Armstrong, *Advanced Chromatographic and Electromigration Methods in BioSciences.* **1998**, Elsevier, Amsterdam.
- [3] M. Polčík, *Vesmír* **2004**, 83, 703.
- [4] E. L. Izake, *J. Pharm. Sci.* **2007**, 96, 1660.
- [5] S. Heřt, *Vesmír* **1996**, 75, 596.
- [6] L. Doubravská, *Vesmír* **2000**, 79, 716.
- [7] A. Filippi, A. Giardini, S. Piccirillo, M. Speranza, *Int. J. Mass Spectrom.* **2000**, 198, 137.
- [8] H. J. Schneider, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1991**, 30, 1417.
- [9] G. Gübitz, M. G. Schmid, *Chirality in Chiral Separations* **2004**, Humana Press, Totowa.
- [10] H. Nishi, *J. Chromatogr. A.* **1997**, 792, 327.
- [11] H. Tsukube, H. Sohmiya, *J. Org. Chem.* **1991**, 56, 875.
- [12] T. J. Ward, A. B. Farris, *J. Chromatogr. A.* **2001**, 906, 73.;
- [13] D. W. Armstrong, Y. Tang, S. Chen, Y. Zhou, C. Bagwill, L. R. Chen, *Anal. Chem.* **1994**, 66, 1473.
- [14] S. Chen, Y. Liu, D. W. Armstrong, P. Victory, J. I. Borell, B. J. Martinez-Teipel, *Liq. Chromatogr.* **1995**, 18, 1495.
- [15] D. W. Armstrong, Y. Liu, K. H. Ekborgott, *Chirality* **1995**, 7, 474.
- [16] B. List, R. A. Lerner, C. F. Barbas III, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 2395.
- [17] B. List, *Chem. Reviews* **2007**, 107, 5413.
- [18] K. A. Ahrendt, C. J. Borths, D. W. C. MacMillan, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 4243.
- [19] H. Gröger, J. Wilken, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, 40, 529.
- [20] P. I. Dalko, L. Moisan, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, 40, 3726.
- [21] D. Enders, O. Niemeier, A. Henseler, *Chem. Review* **2007**, 107, 5606.
- [22] P. D. de Maria, P. Bracco, L. F. Castelhana, G. Bargeman, *ACS Catal.* 2011, 1, 70.
- [23] J. Vacík, *Přehled středoškolské chemie* **1995**, SPN-pedagogické nakladatelství, Praha.

-
- [24] A. Mareček, J. Honza, *Chemie pro čtyřletá gymnázia*, Nakladatelství Olomouc, Olomouc.
- [25] S. Srkalová, K. Kalíková, E. Tesařová, *Chem. Listy* **2008**, 102, 480.
- [26] W. A. Bonner, *Origins Life Evol. Biosphere* **1995**, 25, 175.
- [27] S. Mason, *Trends Pharmacol. Sci.* **1986**, 7, 20.
- [28] M. Avalos, R. Babiano, P. Cintas, J. L. Jimenez, J. C. Palacios, L. D. Barron, *Chem. Rev.* **1998**, 98, 2391.
- [29] J. Podlech, *Angew. Chem.* **1999**, 111, 501.
- [30] J. Podlech, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, 38, 477.
- [31] J. Podlech, *Cell. Mol. Life Sci.* **2001**, 58, 44.
- [32] N. E. Blair, W. A. Bonner, *Origins Life* **1980**, 10, 255.
- [33] K. Soai, S. Osanai, K. Kadowaki, S. Yonekubo, T. Shibata, I. Sato, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 1235.
- [34] B. L. Feringa, R. A. Van Delden, *Angew. Chem.* **1999**, 38, 3419.
- [35] A. Saghatelian, Y. Yokobayashi, K. Soltani, M. R. Ghadiri, *Nature*, 409, 797.
- [36] J. H. Gross, *Mass Spectrometry*, **2004**, Springer, Berlin.
- [37] V. Ranc, P. Fryčák, L. Müller, P. Bednář, K. Lemr, *Chem. Listy* **2006**, 100, 196.
- [38] R. G. Cooks, T.L. Kruger, *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, 99, 1279.
- [39] K. Ubik, *Fyzikálně-chemické metody*, **2000**, Akademie věd, Praha.
- [40] S. H. Hoke, S. S. Yang, R. G. Cooks, D. A. Hrovat, W. T. Borden, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 4888.
- [41] R. G. Cooks, T. L. Kruger, *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, 99, 1279.
- [42] R. G. Cooks, P. S. Wong, *Acc. Chem. Res.* **1998**, 31, 379.
- [43] S. A. McLuckey, D. Cameron, R. G. Cooks, *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, 103, 1313.
- [44] L. Drahos, K. Vékey, *J. Mass Spectrom.* **2003**, 38, 1025.
- [45] W. A. Tao, D. Zhang, E. N. Nikolaev, R. G. Cooks, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 10598.
- [46] D. Zhang, W. Tao, R. G. Cooks, *Int. J. Mass Spectrom.* **2001**, 204, 159.
- [47] W. A. Tao, R. G. Cooks, *Chem. Int. Ed.* **2001**, 40, 757.
- [48] W. A. Tao, F. C. Gozzo, R.G. Cooks, *Anal. Chem.* **2001**, 73, 1692.
- [49] A. D. Vasconcellos, A. Rodinei, *Tetrahedron* **2005**, 16, 1881.
- [50] W. A. Tao, L. Wu, R. G. Cooks, F. Wang, J. A. Begley, B. Lampert, *J. Med. Chem.* **2001**, 44, 3541.
- [51] L. Wu, R. G. Cooks, *Anal. Chem.* **2003**, 75, 678.

-
- [52] W. A. Tao, L. Wu, R. G. Cooks, *Chem. Commun.* **2000**, 2023.
- [53] D. V. Augusti, F. Carazza, R. Augusti, W. A. Tao, R. G. Cooks, *Anal. Chem.* **2002**, 74, 3458.
- [54] L. Wu, C. E. Meurer, B. Young, P. Yang, M. Eberlin, R. G. Cooks, *Int. J. Mass Spectrom.* **2004**, 231, 103.
