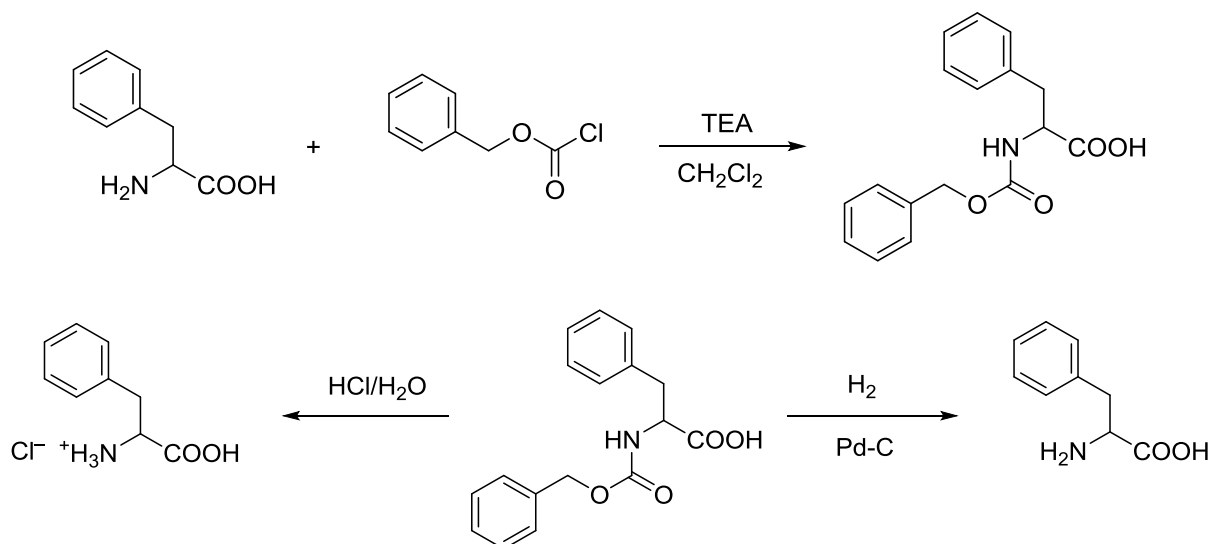


N-protektce L-fenylalaninu

Příprava a studium deprotektce CBz-L-fenylalaninu



Sloučenina	M [g/mol]	b.t.[°C]	ρ[g/cm ³]	m [g]	n[mmol]
L-Fenylalanin	165,2	270 (rozkl.)	-	3,30	20
Benzylchlorformiát	170,6	-	1,195	4,27	25
Triethylamin	101,2	-	0,726	4,05	40
Vodík	2,0	-	-	0,04	20
Pd-C (10%)	106,4	-	-	0,11	0,1

Příprava CBz-Phe:

Do 250 ml baňky opatřené magnetickým míchadlem se předloží roztok L-fenylalaninu (20 mmol) a triethylaminu (40 mmol) v CH₂Cl₂ (30 ml). Reakční směs se ochladí na 0 °C a za chlazení se přikape roztok benzylchlorformiátu (25 mmol) v CH₂Cl₂ (10 ml). Směs se míchá 2 hodiny při laboratorní teplotě. Poté se pH směsi upraví 2M HCl (50 ml) na hodnotu 1-2. Organická fáze se oddělí a vodná fáze se extrahuje CH₂Cl₂ (3 × 40 ml). Organické extrakty se spojí a promyjí vodou (1 × 25 ml). Po odpaření rozpouštědel za sníženého tlaku se získá směs produktu a benzylchloridu. Destilační zbytek se rozpustí v 20% roztoku Na₂CO₃ (50 ml) a promyje diethyletherem (2 × 20 ml). Vodná fáze se smíchá s 35% HCl (hodnota pH 1-2) a

následně extrahuje CH_2Cl_2 (3×30 ml). Organická fáze se vysuší bezvodým Na_2SO_4 a rozpouštědlo se odstraní za sníženého tlaku. Praktický výtěžek je 4,20 g (70 %) bílé krystalické látky s bodem tání 85–87 °C. Optickou čistotu lze ověřit pomocí polarimetrie, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +5,0^\circ$ ($c = 5$, CH_3COOH).

Studium N-deprotektace CBz-L-Phe:

Metoda A – hydrogenolýza

Do 75ml teflonové vložky tlakového reaktoru BR-100 opatřené magnetickým míchadlem se předloží CBz-L-fenylalanin (2,99 g, 10 mmol) a palladium na uhlíku (5 mol%) v methanolu (25 ml). Tlakový reaktor se uzavře, umístí na magnetickou míchačku a připojí se tlaková láhev s vodíkem. Redukční ventil tlakové láhve se nastaví na tlak 50 atm a pak se opatrně otevře ventil tlakového reaktoru (gas feeding). Reaktor se napustí vodíkem na tlak příslušný tlak (1 atm; 5 atm; 10 atm; 20 atm)*. Reakční směs se míchá po dobu 2 hodin. V půlhodinových intervalech se odebírají vzorky (ventilem liquid sample), které se odpaří a odparek analyzuje pomocí ^1H NMR spektroskopie ($\text{DMSO-}d_6$). Poté se uzavře ventil vstupu vodíku a velmi opatrně se uvolní přebytečný vodík ventilem - gas outlet. Po ukončené redukci se suspenze zfiltruje přes vrstvu Celitu a promyje cca 50 ml methanolu. Rozpouštědlo se oddestiluje a destilační zbytek se smíchá s diethyletherem (cca 20 ml). Suspenze se zfiltruje přes fritu a vysuší ve vakuové sušárně.

Konverze CBz-L-fenylalaninu na L-fenylalanin v jednotlivých časových intervalech se vynese do grafu.

* - použitý tlak určí vyučující

Metoda B – kysele katalyzovaná hydrolýza

1. Připraví se 5 vodných roztoků kyseliny chlorovodíkové o koncentraci (0,01; 0,5; 0,1; 0,5 a 1 M) ve 25 ml odměrné baňce, a to ředěním standardizovaného roztoku o koncentraci 1 M.
2. Připraví se roztok substrátu v methanolu tak, aby koncentrace v průběhu kinetických pokusů dosahovala absorbance maximálně hodnot v rámci platnosti Lambert-Beerova zákona.

3. Na spektrofotometru se změří spektrální záznam kyselě katalyzované hydrolýzy substrátu v 1 M roztoku HCl při teplotě 25 °C. Ze spektrálního záznamu se určí vlnová délka, při které dochází k největší změně absorbance v průběhu reakce.
4. Poté se změří hydrolýzy substrátu v jednotlivých roztocích.
5. Pomocí příslušného softwaru se vyhodnotí jednotlivé pokusy a naměřené rychlostní konstanty k_{obs} se zpracují matematicko-statistickými metodami – vyhodnotí se závislost $\log k_{\text{obs}}$ vs. $\log c_{\text{HCl}}$ a k_{obs} vs. c_{HCl} .
6. Porovnejte jednotlivé metody *N*-deprotektce CBz-L-fenylalaninu. Výsledky zpracujte formou protokolu.