

IN SITU MONITORING ASYMETRICKÉ TRANSFER HYDROGENACE IMINŮ POMOCÍ NMR SPEKTROSKOPIE

JIŘÍ VÁCLAVÍK^{a*}, JAN PECHÁČEK^a, JAN PŘECH^a, MAREK KUZMA^b, PETR KAČER^a a LIBOR ČERVENÝ^a

^a Ústav organické technologie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6,

^b Laboratoř charakterizace molekulární struktury, Mikrobiologický ústav AV ČR, v. v. i., Vídeňská 1083, 142 20, Praha 4

jiri.vaclavik@vscht.cz

Došlo 18.7.11, přijato 27.10.11.

Klíčová slova: asymetrická transfer hydrogenace, Noyori, enantioselektivita, chirální solvatace

Úvod

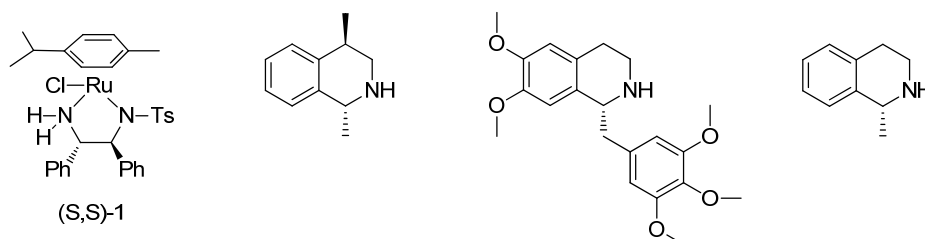
Důležitou stavební jednotkou mnoha přírodních alkaloidů jsou aminy s isochinolinovým skeletem. Mezi nimi hrají farmakochemicky významnou roli tetrahydroisochinoliny substituované (mimo jiné) v poloze 1 (obr. 1). Jde o chirální látky, přičemž žádaný farmakologický účinek vyvolává často jen jeden enantiomer¹. Druhý enantiomer může být méně účinný až neúčinný, případně vyvolávat nežádoucí nebo i škodlivé účinky. Vzhledem k velkému množství synteticky připravovaných aktivních farmaceutických substancí (API), založených právě na této cyklické struktuře, je žádoucí vývoj a optimalizace sofistikovaných, enantioselektivních metod jejich přípravy.

Asymetrická transfer hydrogenace (ATH) je dnes intenzivně studovanou metodou, která umožňuje přípravu enantiomerně obohacených chirálních alkoholů a aminů z prochirálních ketonů a iminů. Jedním z mnoha typů katalyzátorů, které ATH umožňují², jsou Noyoriho „polosendvičové“ komplexy složené z ruthenia(II), chirálního diaminového ligandu a η^6 vázaného aromatického ligandu³. Původní struktura těchto katalyzátorů byla také různými způsoby obměňována, což například umožnilo komplexy recyklovat nebo provádět ATH ve vodném prostředí⁴. Jako zdroj vodíku pro redukci obvykle slouží azeotropická směs kyseliny mravenčí a triethylaminu. Mezi hlavní výhody tohoto způsobu redukce patří především přímý vznik enantiomeru produktu za atmosférického tlaku a laboratorní teploty. V závislosti na podmínkách reakce a konkrétní dvojici substrát-katalyzátor vzniká produkt v určitém enantiomerním přebytku (*ee*).

Pro stanovení *ee* existuje celá řada metod⁵. Pravděpodobně nepoužívanější je kapalinová nebo plynová chromatografie (LC, resp. GC) na kolonách s chirální stacionární fází. Nevýhodou těchto kolon je však jejich vysoká cena a citlivost, což v případě GC znamená také nižší teplotní limit. Tato omezení nás vedla ke hledání alternativních řešení, tedy využití předkolonové derivatizace a NMR spektroskopie.

V rámci našeho výzkumu byl jako modelový katalytický komplex použit (*S,S*)-[RuCl(η^6 -*p*-cymen)(*N*-Ts-difenylethylendiamin)] (*S,S*)-**1** (obr. 1, cit.⁶). Vodík pro redukci byl získán ze směsi HCOOH a triethylaminu. Bylo testováno několik modelových 3,4-dihydroisochinolinových substrátů, jejichž hydrogenací byly získány (*R*)-tetrahydroisochinoliny vysoké optické čistoty.

Průběh hydrogenace byl monitorován NMR spektroskopií a plynovou chromatografií. Propracovaná metodika umožnila sledování důležitých parametrů reakce (kinetický průběh, dosažitelná konverze, stereoselektivita) a následnou optimalizaci reakčních podmínek. Zvláště pro stanovení enantioselektivity byly vyvinuty dvě účinné, dosud



Obr. 1. Struktura Noyoriho katalyzátoru (*S,S*)-[RuCl(*p*-cymen)TsDPEN] (*S,S*)-**1** a studované (*R*)-tetrahydroisochinoliny jako produkty ATH

* Jiří Václavík tuto práci úspěšně prezentoval na soutěži o Cenu firmy Merck 2011 za nejlepší studentskou vědeckou práci v oboru analytické chemie.

nepopsané metody využívající komerčně dostupných chirálních činidel.

Experimentální část

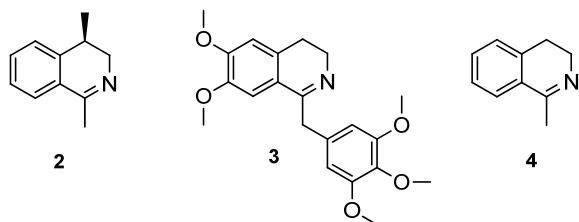
Instrumentace

NMR spektra byla měřena na spektrometrech Varian UNITY Inova-400 (^1H 399,89 MHz a ^{13}C 100,55 MHz) a Bruker Avance III 400 MHz (^1H 400,13 MHz a ^{13}C 100,61 MHz) v CD_3CN (δ_{H} 1,931 ppm, δ_{C} 1,265 ppm) a $\text{DMSO}-d_6$ (δ_{H} 2,500 ppm, δ_{C} 39,60 ppm), jejichž residuální signály (δ_{H} 1,931 ppm, δ_{C} 1,265 ppm) sloužily jako reference pro chemický posun. U obou spektrometrů byl používán standardní software dodávaný se spektrometry (Varian Inc., Palo Alto, U.S.A., resp. Bruker BioSpin GmbH, Rheinstetten, Německo).

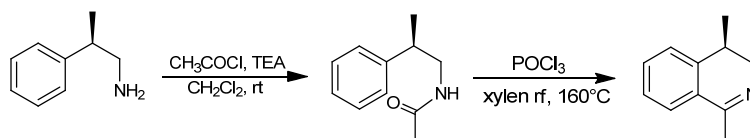
Pro plynovou chromatografii byl použit přístroj Varian CP-3800 s FID detektorem vybavený nepolární 60m kolonou Varian VF-1 o vnitřním průměru 0,25 mm s polydimethylsiloxanovou stacionární fází o tloušťce 0,25 μm . Jako nosný plyn sloužil dusík o průtoku 0,5 ml min^{-1} .

Chemikálie

Triethylamin, kyselina mravenčí, (*S,S*)-[RuCl(η^6 -*p*-cymen)(*N*-Ts-difenylethylendiamin)], (*1R*)-(-)-menthylchloroformiát, (*R*)-(-)-(2,2,2-trifluoro-1-(9-anthryl)ethanol), acetylchlorid, (*R*)-2-fenylpropylamin a 2-(3,4-dimethoxyfenyl)ethylamin byly zakoupeny od Sigma-Aldrich (Steinheim, Německo). 2-Fenylethylamin a chlorid fosforu byly zakoupeny od firmy Fluka (Buchs, Švýcarsko). *N*-[2-(3,4-dimethoxyfenyl)ethyl]-3,4,5-trimethoxyfenyl-



Obr. 2. Studované iminové substráty: (*R*)-1,4-dimethyl-3,4-dihydroisochinolin (**2**), 6,7-dimethoxy-1-(3,4,5-trimethoxybenzyl)-3,4-dihydroisochinolin (**3**) a 1-methyl-3,4-dihydroisochinolin (**4**)



Obr. 3. Schéma přípravy substrátu **2**

Tabulka I

Výtěžky syntéz substrátů **2-4**

Substrát	Název	Výtěžek
2	(<i>R</i>)-1,4-dimethyl-3,4-dihydroisochinolin	17 %
3	6,7-dimethoxy-1-(3,4,5-trimethoxybenzyl)-3,4-dihydroisochinolin	94 %
4	1-methyl-3,4-dihydroisochinolin	60 %

acetamid od firmy CMS Chemicals (Compton, Velká Británie). Dichlormethan, xylen, acetonitril a diethylether byly zakoupeny od firmy Penta, $\text{DMSO}-d_6$ a CD_3CN od firmy Chromservis.

Příprava substrátů

Pro sledování ATH byly vybrány 3 substráty (obr. 2) se společným isochinolinovým skeletem: (*R*)-1,4-dimethyl-3,4-dihydroisochinolin (**2**), 6,7-dimethoxy-1-(3,4,5-trimethoxybenzyl)-3,4-dihydroisochinolin (**3**) a 1-methyl-3,4-dihydroisochinolin (**4**).

Jichž syntéza probíhala ve dvou krocích⁷ – prvním je acetylace příslušného aminového prekursoru, po níž následuje Bischlerova-Napieralskiho dehydratační cyklizace. Schéma přípravy substrátu **2** je uvedeno na obr. 3. V případě substrátu **3** byl zakoupen již příslušný acetamid, byla tedy provedena pouze cyklizace. Výtěžky syntéz uvádí tab. I.

Kinetické experimenty

Triethylamin a kyselina mravenčí byly v molárním poměru 2:5 (azeotropická směs)⁸ předem smíchány v acetonitrilu či dimethylsulfoxidu. Byla-li reakce prováděna v NMR spektrometru, byla použita deuterovaná rozpouštědla (CD_3CN , resp. $\text{DMSO}-d_6$). Do roztoku byl následně přidán katalyzátor rozpuštěný v též rozpouštědle jako azeotrop a v případě provedení v NMR kyvetě bylo změřeno spektrum směsi. Reakce byla zahájena přidávkem roztoku substrátu tak, aby byl poměr substrát/katalyzátor roven 100. Při reakci v NMR spektrometru byl průběh monitorován pomocí ^1H NMR spekter, která byla akumu-

lována v pravidelných časových intervalech o délce 2 až 10 min v závislosti na rychlosti reakce.

Určení enantioselektivity

Chirální solvatace Pirklovým alkoholem: Ke zpracovanému vzorku výše uvedeným způsobem byl přidán (*R*)-(-)-(2,2,2-trifluoro-1-(9-anthryl)ethanol) (Pirklov alkohol) v molárním poměru činidlo:amin nejméně 3:1. Vzhledem k neznámému množství aminu ve vzorku byl poměr kontrolován integrací spektra.

Derivatizace (*1R*)-(-)-menthylchloroformiátem: Ke zpracovanému vzorku, který obsahoval do 2 mg aminu, bylo přidáno 20 μ l triethylaminu a 10 μ l (*1R*)-(-)-menthylchloroformiátu.

Výsledky a diskuse

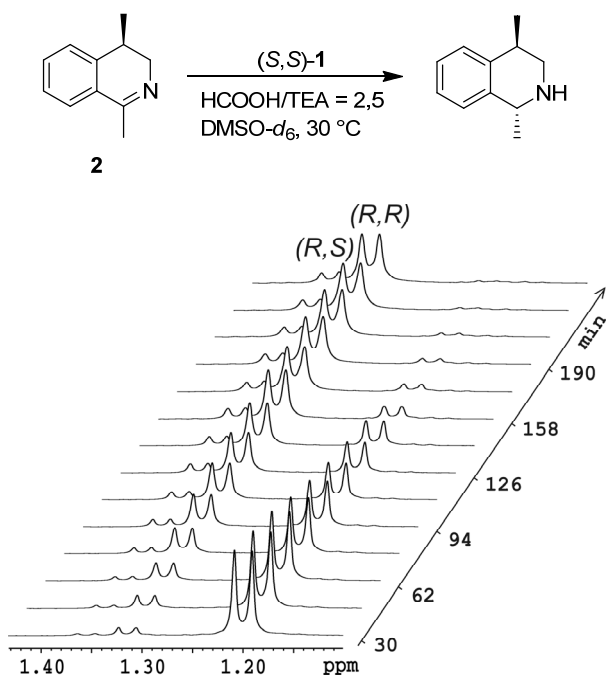
Asymetrická transfer hydrogenace pomocí Noyoriho katalyzátoru (*S,S*)-[RuCl(η^6 -*p*-cymen)(*N*-Ts-difenylethylen-diamin)] (*S,S*)-**1** (obr. 1), zkráceně (*S,S*)-[RuCl(*p*-cymen)TsDPEN], byla testována na třech modelových substrátech, z nichž každý vyžadoval odlišný způsob analýzy stereoselektivity reakce. Zatímco v případě chirálního (*R*)-1,4-dimethyl-3,4-dihydroisochinolinu **2** byla situace relativně jednoduchá díky snadno odlišitelným diastereomerním produktům, pro 6,7-dimethoxy-1-(3,4,5-tri-

methoxybenzyl)-3,4-dihydroisochinolin **3** a 1-methyl-3,4-dihydroisochinolin **4** dosud neexistovaly účinné metody určení enantioselektivity mimo GC či HPLC na chirální koloně, které jsou obecně nákladnější než způsoby využívající předkolonovou derivatizaci, a také časově náročnější v porovnání s ^1H NMR spektroskopii.

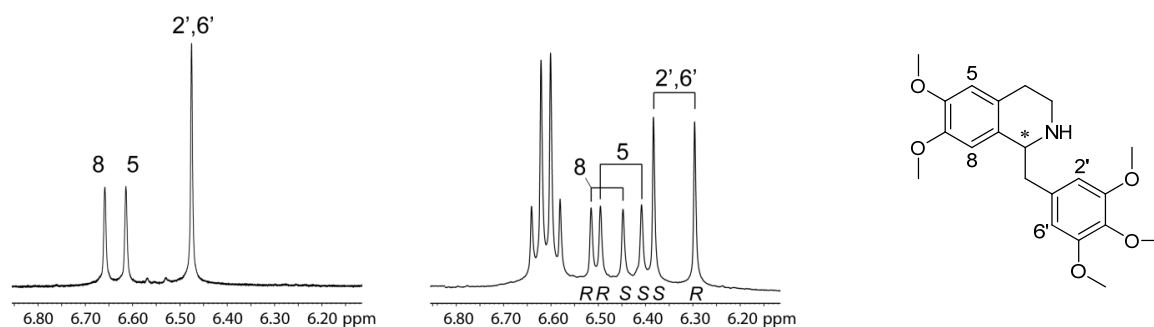
ATH substrátu **2** byla studována *in situ* v NMR kyvetě (obr. 4). Dublet u 1,199 ppm odpovídá methylové skupině v poloze 4 substrátu **2** a na 1,314 a 1,355 ppm s časem narůstají dublety téhož methyly od obou diastereomerních produktů. Jelikož je substrát čistým enantiomerem chirální molekuly, vznikající diastereomery lze pozorovat přímo díky jejich rozdílným fyzikálním i chemickým vlastnostem. Optická čistota je tedy měřitelná bez jakýchkoliv dalších úprav vzorku, což umožnilo například ověření důležité skutečnosti, že stereoselektivita je v průběhu reakce konstantní. Takový experiment je v případě enantiomerních produktů mnohem komplikovanější vzhledem k individuálnímu zpracovávání velkého množství vzorků. Tento výsledek potvrzuje, že reakce má ireverzibilní průběh bez přítomnosti jakýchkoli mechanismů racemizace produktu, které je nutno uvažovat např. tehdy, používá-li se propan-2-ol jako zdroj vodíku⁹. Je to dáno tím, že kyselina mravenčí zde vystupuje jako adukt ($\text{H}_2 + \text{CO}_2$), kdy CO_2 odchází jako plyn, zatímco v případě použití propan-2-olu v reakční směsi vzniká aceton, což umožňuje opačný směr reakce.

Hydrogenace substrátu **3** byla opět monitorována v reálném čase pomocí NMR, ovšem *ee* muselo být určeno až po zastavení reakce vzhledem k nerozlišitelnosti vznikajících enantiomerů. Molekulová hmotnost tohoto substrátu je však již příliš vysoká pro analýzu plynovou chromatografií, a proto jsme se rozhodli použít NMR spektroskopii pro stanovení *ee*. Využili jsme skutečnosti, že produkt tvoří diastereomerní solváty s Pirklovým alkoholem **5** a tím dochází k úplnému rozdělení obou jeho optických isomerů v ^1H NMR spektru. Na obr. 5 jsou zobrazeny odpovídající části ^1H NMR spekter racemátu před a po chirální solvataci (aromatické signály molekuly). Pozorovaný kvartet přísluší methinu solvatačního činidla **5**, který je štěpen sousední CF_3 skupinou. Obr. 6 již ukazuje schéma asymetrické hydrogenace substrátu **3** a spektra použitá k určení stereoselektivity, která byla v tomto případě velmi vysoká (*ee* 95,6 %). Protože použití katalyzátoru (*S,S*)-**1** obecně vede ke vzniku (*R*)-tetrahydroisochinolinu¹⁰, bylo možné také přiřadit jednotlivé signály (*R*)- a (*S*)- isomerům ve spektru racemického produktu po chirální solvataci.

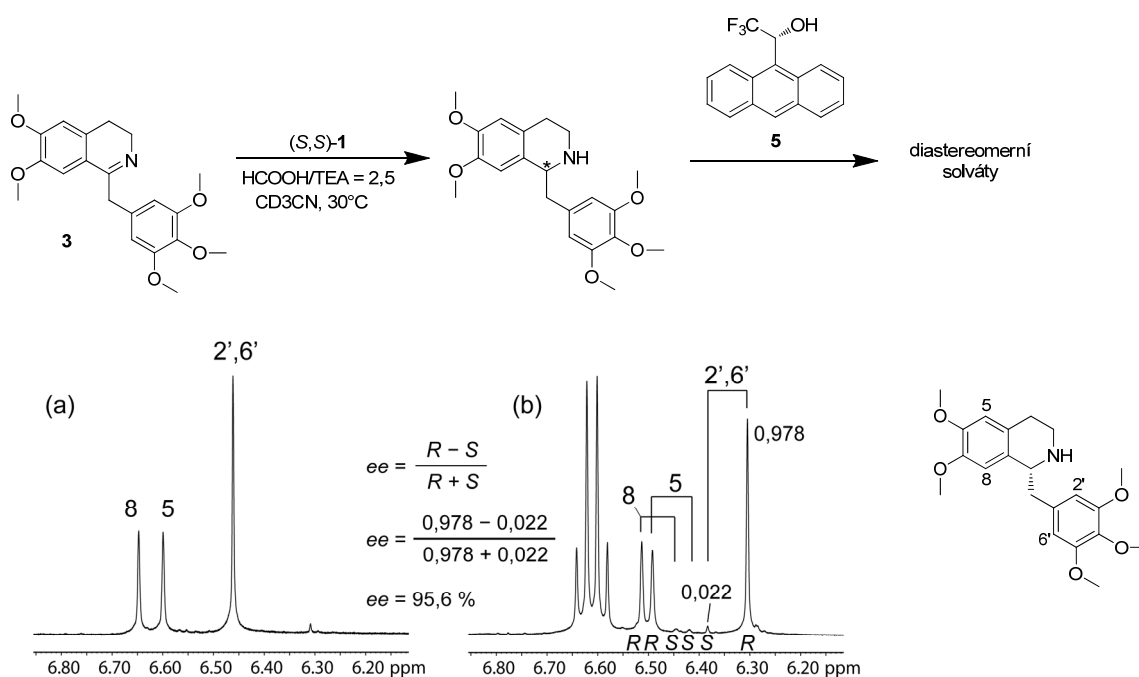
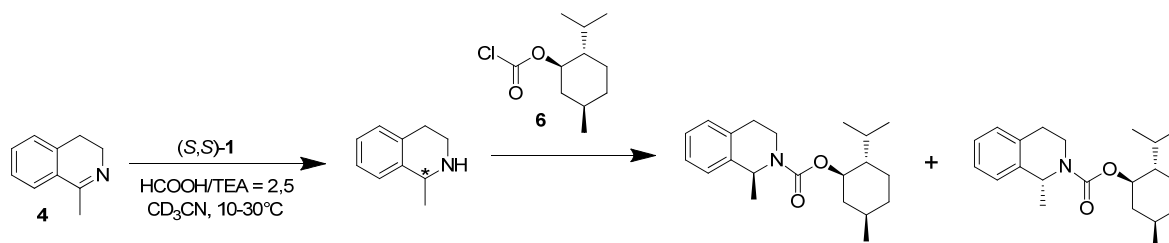
Substrát **4** má ve své molekulové hmotnosti tu výhodu, že jej lze analyzovat také plynovou chromatografií. Pro takové molekuly byla vypracována metoda derivatizace (*1R*)-(-)-menthylchloroformiátem **6**, který s produkty ATH tvoří diastereomerní karbamáty (obr. 7). Dochází k úplné separaci piků na chromatogramu (obr. 8) a metoda byla aplikována na řadu dalších, strukturně podobných substrátů.

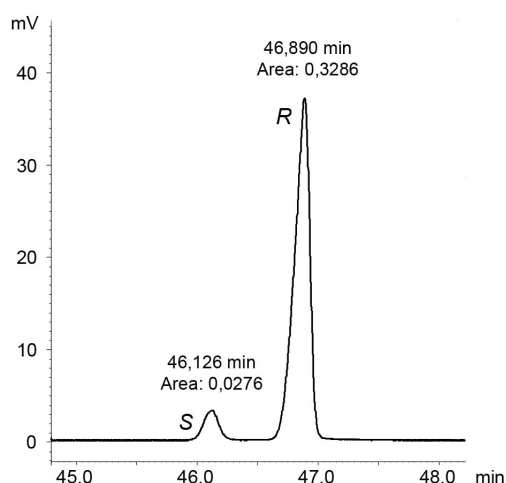


Obr. 4. ATH (*R*)-1,4-dimethyl-3,4-dihydroisochinolinu **2** a její *in situ* monitoring pomocí NMR spektroskopie. Spektra byla akumulována každých 8 min, pro přehlednost je znázorněno každé druhé



Obr. 5. NMR spektra před a po chirální solvataci racemického produktu ATH iminu 3 Pirklovým alkoholem 5

Obr. 6. Schéma hydrogenace substrátu 3; NMR spektra produktu před a po chirální solvataci Pirklovým alkoholem 5 a výpočet *ee* z integrálních intenzitObr. 7. Schéma hydrogenace substrátu 4 a následná derivatizace (1*R*)-(-)-menthylchloroformiátem



Obr. 8. GC chromatogram směsi diastereomerních karbamátů odvozených od produktů hydrogenace substrátu 4

Závěr

Cílem práce bylo vypracovat účinný aparát pro monitorování parametrů asymetrické transfer hydrogenace dihydroisochinolinů na chirálních Ru komplexech. Produkty této reakce jsou významné biologicky aktivní molekuly, což má nezpochybnitelný význam zejména pro farmaceutický průmysl, kde opticky čisté substance hrají nezastupitelnou roli.

Průběh reakce, která probíhá *in situ* přímo v NMR kyvetě, lze pohodlně sledovat v reálném čase, což poskytuje přesnou informaci o reakční kinetice bez vnějšího narušení reakčních podmínek. V případě chirálního a zároveň opticky čistého substrátu je navíc možné sledovat vývoj stereoselektivity s časem. Tato měření potvrdila nevratnost reakce, která je dána použitím směsi HCOOH/triethylamin jako donoru vodíku.

Pro určení enantioselektivity asymetrické reakce byly vyvinuty dvě metody. Tetrahydroisochinoliny, jež je možné z hlediska molekulové hmotnosti analyzovat plynovou chromatografií, byly úspěšně derivatizovány (1*R*)-(-)-menthylchloroformiátem. U produktů reakce s vyšší molekulovou hmotností se osvědčila chirální solvatace Pirklovým alkoholem a následné určení enantiomerního přebytku NMR spektroskopii.

Tato práce byla finančně podporována Grantovou agenturou České republiky (GA ČR 104-09-1497) a výzkumným záměrem (AV0Z50200510).

LITERATURA

1. Kaufman T. S.: *Tetrahedron: Asymmetry* 15, 1203 (2004).
2. Wang C., Wu X., Xiao J.: *Chem. Asian J.* 3, 1750 (2008).
3. Noyori R., Hashiguchi S.: *Acc. Chem. Res.* 30, 97 (1997).
4. Václavík J., Kuzma M., Kačer P., Červený L.: *Molecules* 16, 5460 (2011).
5. Busch K. W., Busch M. A. (ed.): *Chiral Analysis*. Elsevier, Amsterdam 2006.
6. Uematsu N., Fujii A., Hashiguchi S., Ikariya T., Noyori R.: *J. Am. Chem. Soc.* 118, 4916 (1996).
7. Gulamhussen A. M., Kačer P., Přeck J., Kuzma M., Červený L.: *React. Kinet. Catal. Lett.* 97, 335 (2009).
8. Narita K., Minoru S.: *Chem. Pharm. Bull.* 25, 135 (1977).
9. Ikariya T., Blacker A. J.: *Acc. Chem. Res.* 40, 1300 (2007).
10. Martins J. E. D., Clarkson G. J., Wills M.: *Org. Lett.* 11, 847 (2009).

J. Václavík^a, J. Pecháček^a, J. Přeck^a, M. Kuzma^b, P. Kačer^a, and L. Červený^a (^a Department of Organic Technology, Institute of Chemical Technology, Prague, ^b Institute of Microbiology, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague): **In Situ Monitoring of Asymmetric Transfer Hydrogenation of Imines Using NMR Spectrometry**

Three methods for determination of enantioselectivity of asymmetric transfer hydrogenation of imines are presented: direct NMR observation of diastereomeric reduction products of a chiral imine, chiral solvation with Pirkle's alcohol, (-)-(*1R*)-1-(9-anthryl)-2,2,2-trifluoroethan-1-ol and precolumn derivatization with (-)-(*1R*)-menthyl chloroformate followed by GC analysis on a non-chiral column of the resulting diastereomeric carbamates.