

NMR studija reakcije H/D izmjene kod 1,1-dimetil propragilnog alkohola. Učinak organskog otapala

Celinić, Mateo

Master's thesis / Diplomski rad

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:827941>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-25**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



Mateo Celić

**NMR studija reakcije H/D izmjene kod
1,1-dimetil propragilnog alkohola. Učinak
organskog otapala.**

DIPLOMSKI RAD

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2024.

Ovaj diplomski rad je prijavljen na Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta, kolegij Organska kemija te izrađen na Institutu za fiziku u Zagrebu pod stručnim vodstvom prof. dr. sc. Valerija Vrčeka

Zahvaljujem mentoru prof. dr. sc. Valeriju Vrčeku na pruženoj prilici za izradu diplomskog rada u području organske kemije.

Zahvale na gostoprimstvu Institutu za fiziku (IF) u Zagrebu u čijim se prostorijama trenutno nalazi NMR instrument (Varian INOVA 400 spektrometar), posebice Kriogenom centru IF-a koji osigurava podršku u recikliranju i ukapljivanju helija.

Rad je dio projekta „Kemijska sudbina zabrinjavajućih farmaceutika u okolišu: eksperimentalno i računalno istraživanje produkata razgradnje i njihovih ekotoksikoloških svojstava“ (HRZZ-IP-2022-10-2634 Pharma-Eco) i „Jačanje znanstveno-istraživačkih i inovacijskih kapaciteta Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu (FarmInova) financiran je iz Europskoga fonda za regionalni razvoj (KK.01.1.1.02.0021).

Najveće hvala mojim roditeljima i sestri koji su me konstantno i bezuvjetno podržavali tijekom mog školovanja.

Posebno hvala mojoj djevojci koja me podržavala i poticala u radu, te bila strpljiva i razumna tijekom cijelog studija.

SADRŽAJ

| | |
|---|-----------|
| 1. UVOD | 1 |
| 2. OBRAZLOŽENJE TEME | 4 |
| 3. MATERIJALI I METODE | 5 |
| 4. REZULTATI I RASPRAVA..... | 8 |
| 5. ZAKLJUČCI | 18 |
| 6. POPIS KRATICA, OZNAKA I SIMBOLA | 19 |
| 7. LITERATURA | 20 |
| 8. SAŽETAK/SUMMARY | 21 |

1. UVOD

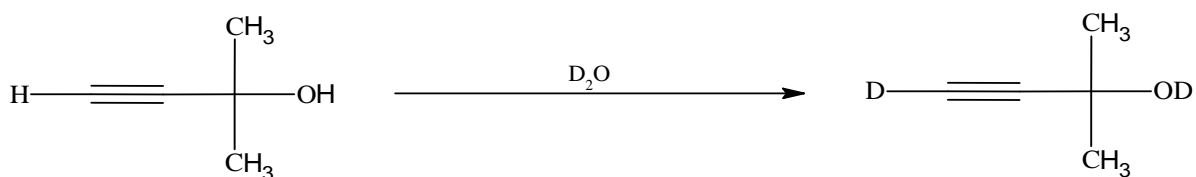
Teška voda (D_2O), voda u kojem su atomi vodika zamijenjeni deuterijem, izotopom vodika. Deuterij (2H,D) za razliku od vodika (1H) uz proton posjeduje i neutron te ima dvostruko veću atomsku masu. Ova suptilna razlika daje teškoj vodi posebna kemijska i fizikalna svojstva, čineći je značajnom u raznim znanstvenim i industrijskim procesima (Giubertoni i sur., 2023).

D_2O ima gustoću od 1.107 g/cm^3 pri 25°C te nešto višu točku vrelišta (101.4°C) i tališta (3.82°C) u usporedbi s H_2O . Viskoznost teške vode je veća, također pokazuje neznatno različita svojstva topljivosti u raznim otapalima (Giubertoni i sur., 2023).

Kemijske reakcije koje uključuju D_2O kao reaktant mogu biti sporije zbog kinetičkog izotopnog efekta, gdje su veze koje uključuju deuterij manje reaktivne od onih koje uključuju vodik. Razlike između veza ugljik-vodik i ugljik-deuterij proizlaze iz dodatnog neutrona u deuteriju, što rezultira promjenama u masi, veznoj energiji i vibracijskim frekvencijama. Relativno veća jakost veze C–D u usporedbi s vezom C–H koristi se za promjenu svojstava organskih molekula i u dizajnu sintetskih reakcijskih putova. Na primjer, atomi vodika (1H) mogu se zamijeniti atomima deuterija (D) kako bi se spriječile neželjene reakcije deprotonacije tijekom sinteze prirodnih produkata (Matsubara i sur., 2018).

Teška voda nije toksična u malim količinama, ali u velikim količinama može poremetiti biološke procese. Deuterij ometa normalne stanične funkcije jer mijenja brzinu biokemijskih reakcija i stabilnost makromolekula (Bila i sur., 2017).

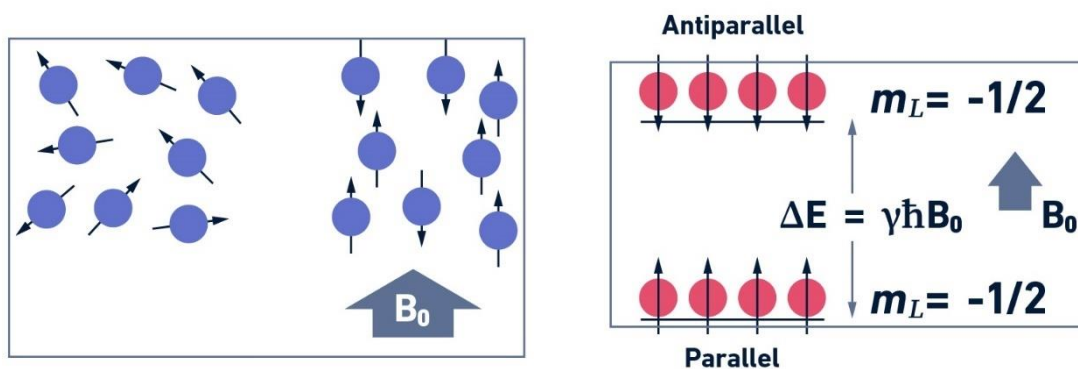
U ovome radu D_2O ima ključnu ulogu u reakciji izotopne H/D izmjene na alkinskoj skupini služeći kao donor deuterija, a vrlo vjerojatno i ključnu ulogu u mehanizmu reakcije (Slika 1.).



Slika 1. Reakcija izotopne H/D izmjene 1,1-dimetilpropargilnog alkohola.

Odabrana instrumentalna metoda za ovo istraživanje je nuklearna magnetska rezonancija (NMR). To je spektroskopska tehnika koja se koristi za određivanje strukture organskih i anorganskih molekula. Često se primjenjuje u kombinaciji s drugim analitičkim metodama za analizu makromolekula i istraživanje biokemijskih procesa (Wade, 2017). Najčešće proučavane jezgre NMR spektroskopijom su ^1H , ^{13}C , ^{15}N , ^{19}F i ^{31}P . Proton (^1H) ima nuklearni spin, odnosno njegova jezgra s neparnim atomskim brojem 1 stvara vlastito magnetsko polje zbog precesije.

Primjenom vanjskog magnetskog polja, orijentacija magnetskog polja ovisi o vanjskom polju B_0 . Jezgre čije je magnetsko polje usmjereno u istom smjeru kao vanjsko polje nalaze se u nižem energetska stanju (α -spinsko stanje), dok suprotno orijentirane jezgre nalaze se u višem energetska stanju (β -spinsko stanje) (Slika 2.). Energetska razlika između ($\Delta E = \gamma \hbar B_0$) ovih spinskih stanja povećava se s jačinom vanjskog magnetskog polja (Wade, 2017).



Slika 2. Orijentiranje magnetnog polja jezgri primjenom vanjskog magnetskog polja.

U slučaju da jezgra apsorbira elektromagnetsko zračenje čija je energija ili frekvencija jednaka energetskej razlici između α i β spinskog stanja, dolazi do prijelaza iz α u β spinsko stanje. NMR uređaj mjeri tu apsorpciju elektromagnetskog zračenja, a frekvencija tog zračenja naziva se Larmorova frekvencija ili rezonantna frekvencija. NMR spektar prikazuje intenzitet apsorpcije (y-os) u odnosu na jačinu magnetskog polja (x-os), odnosno frekvenciju rezonancije. Budući da su razlike u magnetskim poljima pri kojima različiti protoni apsorbiraju vrlo male, praktični razlozi su doveli do zamjene jačine magnetskog polja ili rezonantne frekvencije s kemijskim pomakom (δ) na x-osi.

Kemijski pomak označava razliku između rezonantne frekvencije nekog protona u molekuli i rezonantne frekvencije protona u referentnoj molekuli (npr. tetrametilsilan TMS). Kemijski pomak za određeni proton u organskoj molekuli izračunava se kao razlika između rezonantne frekvencije (u Hz) promatranog protona i protona iz referentnog spoja, podijeljena s ukupnom frekvencijom spektrometra (u MHz). Primjena kemijskog pomaka omogućava usporedbu spektara između različitih NMR uređaja s različitim ukupnim frekvencijama i jačinama magnetâ. Kemijski pomak izražava se prema izrazu:

$$\text{Kemijski pomak [ppm]} = \frac{\text{pomak u niže polje prema TMS [Hz]}}{\text{ukupna frekvencija spektrometra [MHz]}}$$

NMR spektar nam također daje informacije o spinskom sprezanju. Spinsko sprezanje odnosi se na utjecaj protona na susjedne ugljikove atome koji imaju različito kemijsko okruženje na izgled spektra promatranog protona. Cijepanje signala je recipročno svojstvo; ako proton A utječe na signal protona B, proton B također utječe na signal protona A. Broj signala za promatrani proton ovisi o broju ekvivalentnih susjednih protona (N) i računa se prema pravilu N+1. (Clayden i sur., 2012).

2. OBRAZLOŽENJE TEME

Rastuća primjena deuteriranih spojeva u raznim znanstvenim područjima zahtijeva praktične, selektivne i učinkovite metode za njihovu pripravu. Terminalni alkini su, često korišteni supstrati u organskim reakcijama. Stoga su deuterirani terminalni alkini dobri ishodni spojevi za pripravu širokog raspona važnih organskih struktura označenih deuterijem (Wu i sur., 2021).

Ovim radom nastavlja se istraživanje o deuteriranju alkinske skupine 1,1-dimetil-propargilnog-alkohola. Nakon početnih istraživanja H/D izmjene na alkinskoj skupini u teškoj vodi (Brajčić, 2024), u ovome se radu prati utjecaj dodatka deuteriranih organskih otapala acetona i acetonitrila (ACE-d₆ i ACN-d₃) na ishod i brzinu izmjene.

Potreba za primjenom organskih otapala proizlazi iz činjenice da nisu sve molekule koje sadrže alkinsku skupinu topljive u (teškoj) vodi, u ovome slučaju teškoj vodi. Ona su stoga potrebna kako bi poboljšala topljivost supstrata. Cilj je proučiti kako ACE-d₆ i ACN-d₃ utječu na brzinu H/D izmjene.

Dodatak organskog otapala mijenja fizikalno-kemijska svojstva D₂O. Usporedbom promjene vrijednosti nekih od svojstava o promjeni brzine kemijske reakcije, može se doći do novih spoznaja o mehanizmu reakcije H/D izmjene na terminalnom alkinu koji još nije u potpunosti razjašnjen.

Također je cilj ovog rada da posluži kao uputa za daljnja kinetička i sintetska ispitivanja nakon dodatka drugih otapala u reakcijsku smjesu za deuteriranje.

3. MATERIJALI I METODE

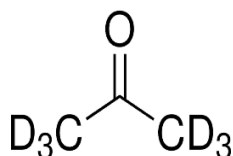
Instrumentom Varian INOVA 4000, privremeno smještenim na Institutu za fiziku u Zagrebu, snimani su NMR spektri reakcijskih smjesa. Opremljen je supravodljivim magnetom (Oxford) gustoće magnetskog toka 9,4 Tesla, te s dvokanalnom (širokopojasni kanal i kanal ^1H te referentni kanal ^2H) probom OneNMR (Agilent). Snimanja su provedena u NMR cjevčicama promjera 5 mm uz termostatiranje pri odgovarajućoj temperaturi. Snimanja različitih jezgara provedena su pri frekvencijama 399,902 MHz (^1H), 61,387 MHz (^2H) i 100,565 MHz (^{13}C).

(https://sestar.irb.hr:8443/instrumenti_show.php?ID=1804&page=0)

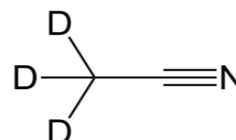
Korišten je 1,1-dimetil-propargilni alkohol ($\rho(\text{ROH}) = 0.8637 \text{ g/mL}$; $M_w(\text{ROH}) = 84.118 \text{ g/mol}$).

Teška voda (D_2O , Sigma Aldrich), gustoće i molekulske mase $\rho(\text{D}_2\text{O}) = 1.11 \text{ g/mL}$; $M_w(\text{D}_2\text{O}) = 20.0276 \text{ g/mol}$), korištena je kao otapalo i donor deuterija za reakciju H/D izmjene.

Deuterirani aceton (ACE-d_6 , Sigma Aldrich) ($\rho(\text{ACE-d}_6) = 0.872 \text{ g/mL}$; $M_w(\text{ACE-d}_6) = 64.12 \text{ g/mol}$) i deuterirani acetonitril (ACN-d_3 , Sigma Aldrich) ($\rho(\text{ACN-d}_3) = 0.844 \text{ g/mL}$; $M_w(\text{ACN-d}_3) = 44.07 \text{ g/mol}$) korišteni su kao organska otapala.



Slika 3 . Deuterirani aceton



Slika 4. Deuterirani acetonitril

Aceton je najjednostavniji keton, bezbojan je i lako zapaljiv, prepoznatljivog mirisa. Temperatura leđišta na -94.7°C , a vrelišta na 56.05°C . Dobro se miješa s vodom u svim omjerima. Izrazito je važno otapalo u kemijskoj i farmaceutskoj industriji.

Acetonitril je po strukturi metilirani cijanid, bezbojna i lako zapaljiva tekućina. Temperatura leđišta na -45°C , a vrelišta na 81.6°C . Mješa se s vodom i drugim organskim otapalima. Široko se koristi kao organsko otapalo u svim granama kemijske industrije.

Sve reakcijske smjese imale su ukupni volumen od 650 μL . Sadržaj 1,1-dimetil-propargilnog alkohola uvijek je bio konstantan i iznosio 20 μL . Volumeni teške vode i organskog otapala su bili jedina varijabla. Smjese su bile binarne, tj. $\text{D}_2\text{O} + \text{ACE-d}_6$ ili ACN-d_3 . Volumeni su pipetirani u NMR cjevčicu promjera 5mm. Većina reakcija se odvijala na 30°C nakon što je uređaj termostatiran na tu temperaturu. Pri temperaturama od 25°C, 35°C, 40°C odvijalo se samo nekoliko reakcija u svrhu izrade Eyringovog grafa.

Tablica 1. Volumeni deuteriranog acetona (V) uzetih za pripremu uzoraka različitih volumnih (φ) i masenih udjela (ω) ACE-d_6 i D_2O .

| $V(\text{ROH})/\mu\text{L}$ | $V(\text{D}_2\text{O})/\mu\text{L}$ | $V(\text{ACE-d}_6)/\mu\text{L}$ | $\omega (\text{ACE-d}_6)/\mu\text{L}$ | $\varphi (\text{ACE-d}_6)/\mu\text{L}$ |
|-----------------------------|-------------------------------------|---------------------------------|---------------------------------------|--|
| 20 | 630 | 0 | 0 | 0 |
| 20 | 620 | 10 | 1.25 | 1.59 |
| 20 | 600 | 30 | 3.43 | 4.33 |
| 20 | 590 | 40 | 5.06 | 6.35 |
| 20 | 570 | 60 | 7.64 | 9.52 |
| 20 | 550 | 80 | 10.25 | 12.70 |
| 20 | 510 | 120 | 15.60 | 19.04 |
| 20 | 490 | 140 | 18.33 | 22.22 |
| 20 | 460 | 170 | 22.50 | 26.76 |
| 20 | 430 | 200 | 26.76 | 31.74 |
| 20 | 330 | 300 | 41.66 | 47.62 |
| 20 | 250 | 380 | 54.42 | 60.30 |

Tablica 2. Volumeni deuteriranog acetonitrila (V) uzetih za pripremu uzoraka različitih volumnih (φ) i masenih udjela (ω) ACN-d₃ i D₂O

| $V(\text{ROH})/\mu\text{L}$ | $V(\text{D}_2\text{O})/\mu\text{L}$ | $V(\text{ACN-d}_3)/\mu\text{L}$ | $\omega(\text{ACN-d}_3)/\mu\text{L}$ | $\varphi(\text{ACE-d}_3)/\mu\text{L}$ |
|-----------------------------|-------------------------------------|---------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|
| 20 | 630 | 0 | 0 | 0 |
| 20 | 620 | 10 | 1.21 | 1.59 |
| 20 | 590 | 40 | 4.90 | 6.35 |
| 20 | 550 | 80 | 9.96 | 12.70 |
| 20 | 460 | 170 | 21.94 | 26.90 |
| 20 | 300 | 330 | 40.87 | 47.62 |
| 20 | 330 | 300 | 45.55 | 52.38 |
| 20 | 230 | 400 | 56.94 | 63.49 |

Snimanje NMR spektara provedeno je uz upotrebu programskog alata OpenVnmrJ. Za reakcije H/D izmjene koje su trajale nekoliko desetaka sati korišten je termostatorirani grijači blok za NMR cjevčice. Spektri reakcijske smjese u koju je dodan ACN-d₃ snimani u 'array' modu tj. provedeno je automatsko snimanje spektara na određeno vrijeme s jednakim vremenskim razmacima između svakog snimanja. Svi spektri kasnije su obrađeni računalnim programom MestReNova (Willcott,2009). Brzina H/D izmjene određena je vremenskom promjenom omjera integrala ¹H NMR signala metilnih skupina pri kemijskom pomaku $\delta = 1.5$ ppm i signala alkinske skupine pri kemijskom pomaku $\delta = 2.8$ ppm. Signal se terminalne alkinske skupine u vremenu smanjuje kako se sve veći udio protona izmjenjuje s deuterijem. Deuterij ne daje signal u ¹H NMR spektru stoga signal postupno nestaje.

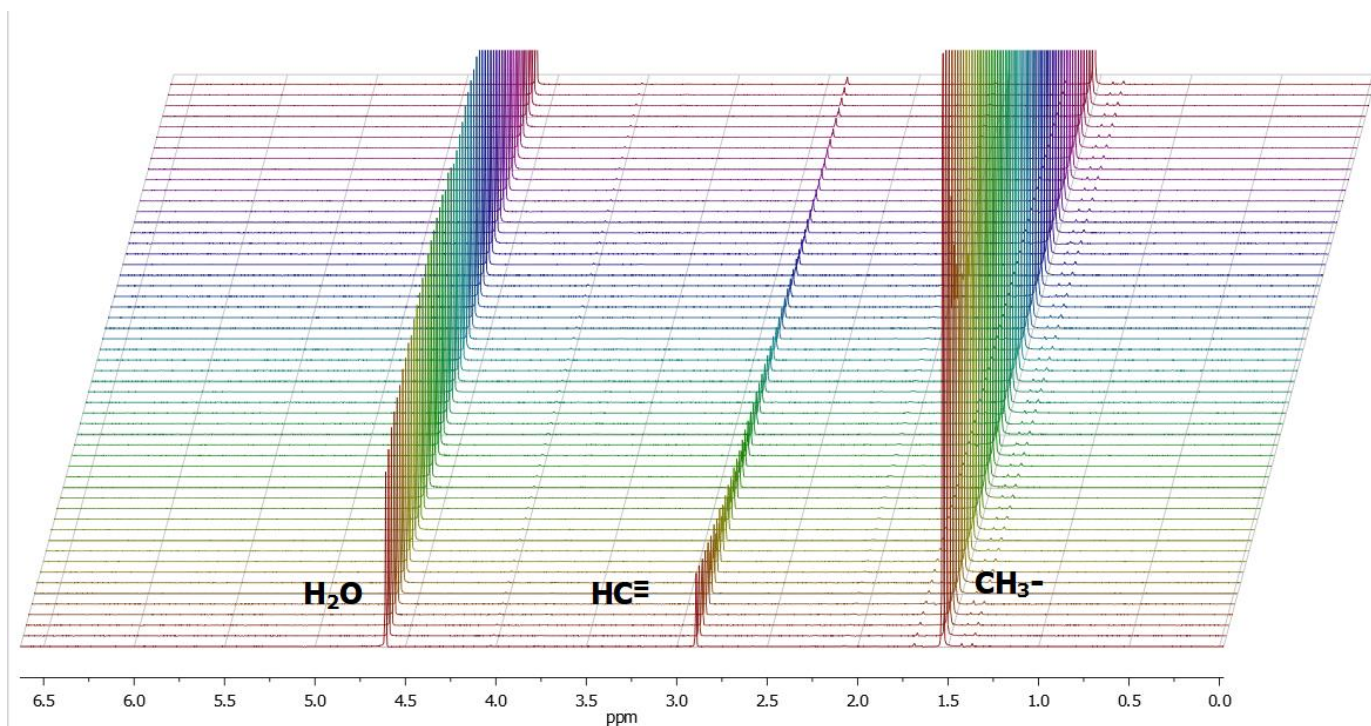
Reakcija H/D izmjene odgovara reakciji pseudo-prvoga reda zbog toga što je jedan reaktant, u ovom slučaju teška voda, u velikom suvišku. Stoga se izraz za brzinu kemijske reakcije (drugog reda) $v = k[\text{ROH}][\text{D}_2\text{O}]$ može prikazati kao $v = k'[\text{ROH}]$ gdje je $k' = k[\text{D}_2\text{O}]$.

Vrijednosti omjera integrala (y) logaritmirane prirodnim logaritmom te dobiveni graf ovisnosti o vremenu (x , u minutama). Iz dobivenog pravca $y = -kx + b$ može se izračunati konstanta

brzine reakcije, gdje je k konstanta brzine kemijske reakcije, te b odsječak na y osi. Iz izraza $t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k}$ izračunata su vremena polureakcije H/D izmjene.

4.REZULTATI I RASPRAVA

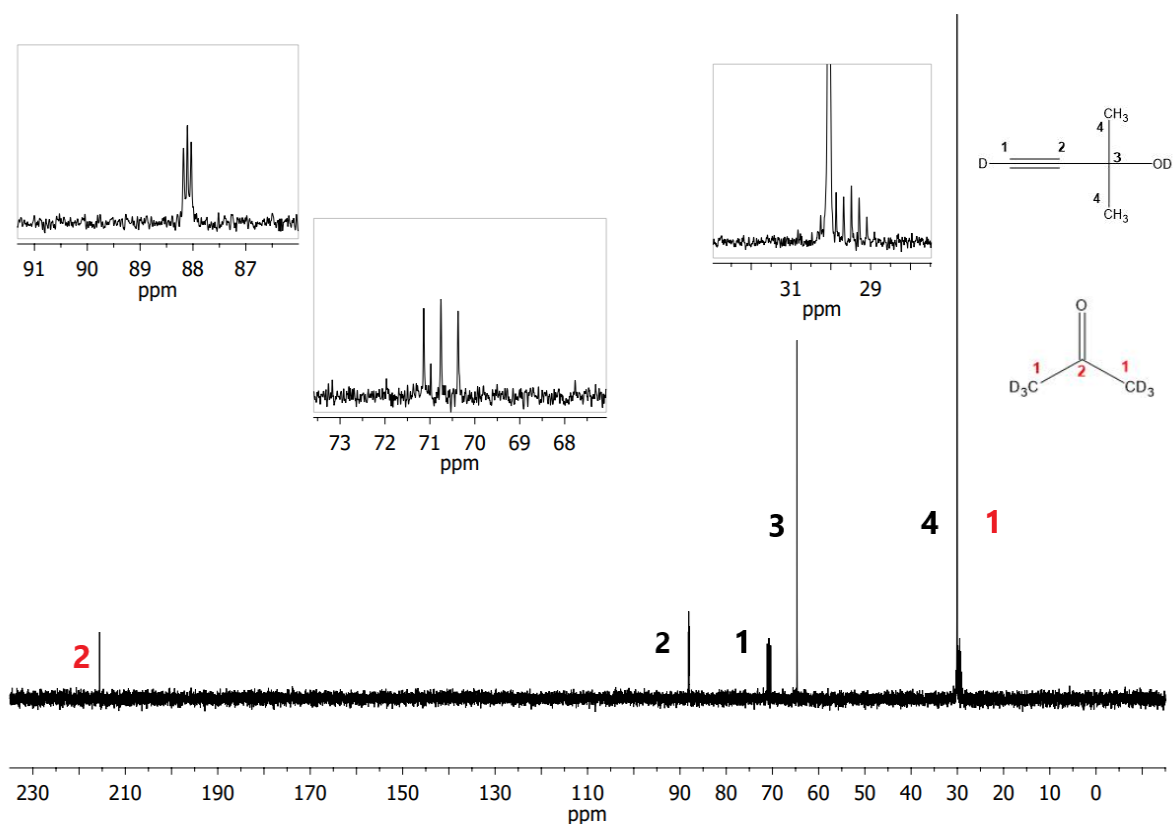
Slika 5. prikazuje ^1H NMR spektre reakcijske smjese u koju je dodan ACN-d_3 ($\omega(\text{ACN-d}_3)=9.96\%$). Na spektru se vide 3 signala. Signal pri kemijskom pomaku $\delta = 1.5$ ppm odgovara metilnoj skupini. Pri $\delta = 4.6$ ppm nalazi se rezidualni signal vode. Signal pri $\delta = 2.85$ ppm odgovara protonu alkinske skupine koji se izmjenjuje deuterijem iz teške vode pa se integral signala s vremenom smanjuje. Pri kemijskom pomaku $\delta = 2.1$ ppm nalazi se slabi signal rezidualnog otapala ACN-d_3 (nije vidljiv na slici 5.).



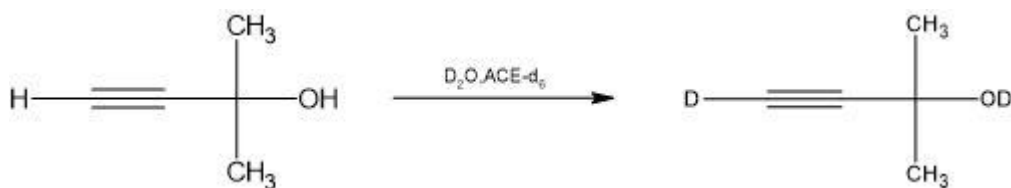
Slika 5. ^1H NMR spektar (u „array“ modu) reakcije H/D izmjene na alkinskoj skupini 1,1-dimetil propargilnog alkohola u reakcijskoj smjesi $\text{D}_2\text{O}/\text{ACN-d}_3$, $\omega(\text{ACN-d}_3)=9.96\%$ pri 30°C . Signal označen CH_3^- predstavlja metilne skupine, a $\text{HC}\equiv$ alkinsku skupinu propargilnog alkohola. Spektri snimani svakih 20 minuta.

Po završetku reakcije snimljen je nespregnuti ^{13}C NMR spektar produkta. Na spektru se vidi 6 signala (Slika 6), od kojih 4 odgovaraju deuteriranom produktu (obilježeni crnim brojkama). Pri $\delta = 30.0$ ppm nalazi se signal metilnih skupina (singlet). Pri $\delta = 65.0$ ppm je signal C3 ugljikovog atoma i vidi se kao singlet. Signali pri $\delta = 70.8$ (C-1) ppm te pri $\delta = 88.0$ ppm (C-2) vide se kao tripleti. Deuterij cijepa terminalni C1 atom konstantom sprege $^1J_{\text{D-C}} = 38.6$ Hz, a također cijepa i slijedeći C2 atom kroz dvije veze. Konstanta sprege je manja i iznosi $^2J_{\text{D-C}} = 7.4$ Hz. Iz istog se razloga metilne skupine deuteriranog acetona ($-\text{CD}_3$) u ^{13}C NMR spektru vide kao septeti. Za C-D cijepanja vrijedi pravilo $2n+1$, a n je spinski kvanti broj koji za deuterij iznosi $n=1$ (za vodik je $n=1/2$).

Signal u najnižem magnetskom polju, pri $\delta = 215.0$ ppm, je singlet i odgovara signalu karbonilnog C atoma molekule otapala ACE- d_6 .

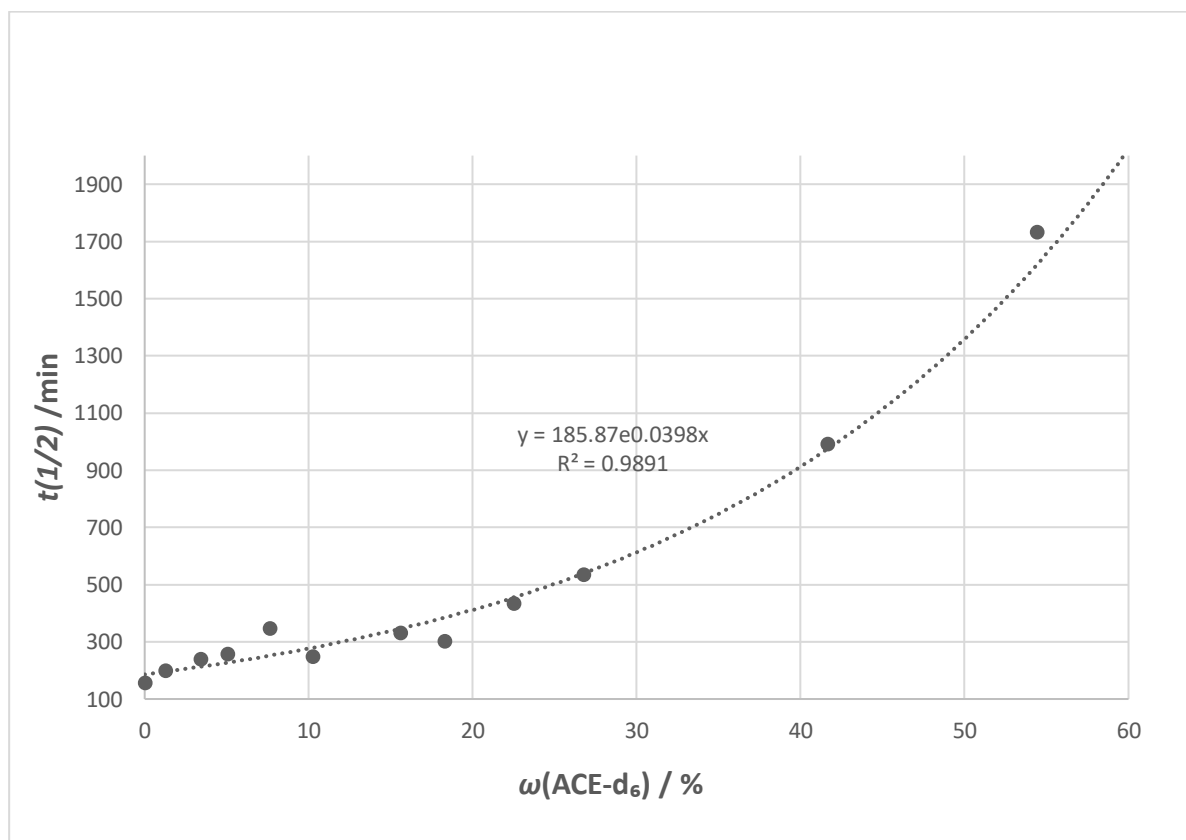


Slika 6. ^{13}C NMR spektar produkta reakcije H/D izmjene na alkinskoj skupini 1,1-dimetil propargilnog alkohola u reakcijskoj smjesi $\text{D}_2\text{O}/\text{ACE-d}_6$ pri 30°C .



Slika 7. Deuteriranje 1,1-dimetil-propargilnog alkohola u smjesi otapala $D_2O/ACE-d_6$.

Reakcija H/D izmjene u propargilnom alkoholuu smjesi $D_2O/ACE-d_6$ provedene su na $30^\circ C$. Dobiven je prikaz (Slika 8.) ovisnosti vremena polureakcije $t_{1/2}$ o udjelu masene koncentracije organskog otapala ($ACE-d_6$) u teškoj vodi.

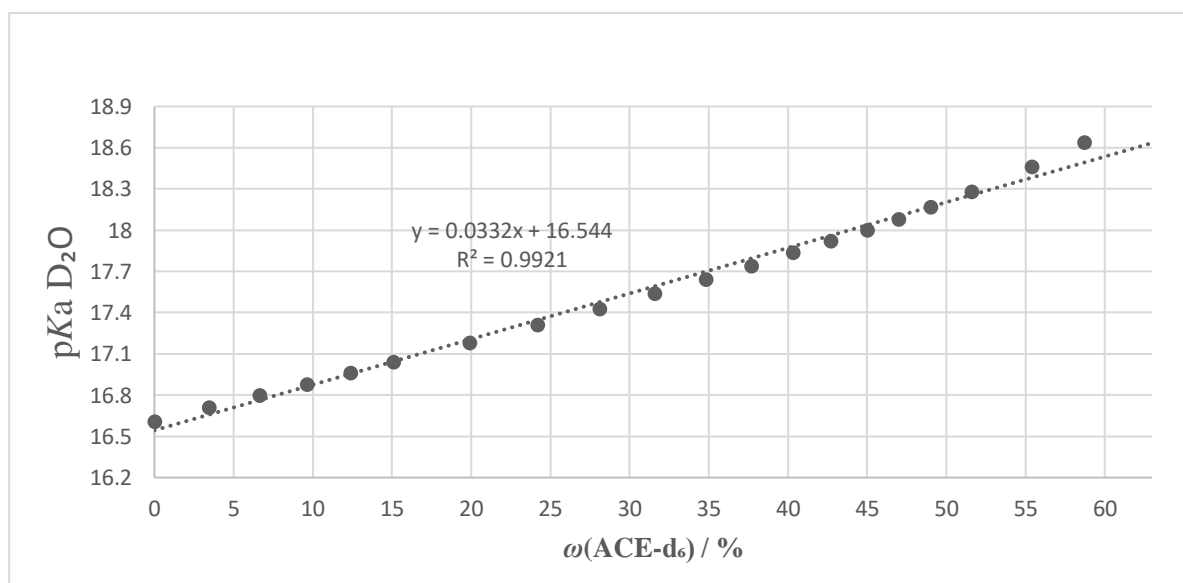


Slika 8. Graf ovisnosti vremena polureakcije $t_{1/2}$ o masenom udjelu $ACE-d_6$ u D_2O o pri $30^\circ C$.

Porastom masenog udjela $ACE-d_6$ u D_2O brzina reakcije pada, odnosno vrijeme polureakcije raste. Iz podataka se uočava eksponencijalna ovisnost brzine reakcije o masenom udjelu organskog otapala, što znači da je pri vrlo visokim udjelima acetona brzina kemijske reakcije

H/D izmjene zanemarivo mala, odnosno praktički nepovoljna za ciljanu izmjenu. Ipak, u uvjetima u kojima je većinsko otapalo deuterirani aceton ($\omega(\text{ACE-d}_6)=54.4\%$) reakcija se i dalje odvija mjerljivom brzinom. Poluvrijeme reakcije od oko 28 sati sugerira da je potpuna H/D izmjena izvediva, kroz par dana, u suvišku acetona.

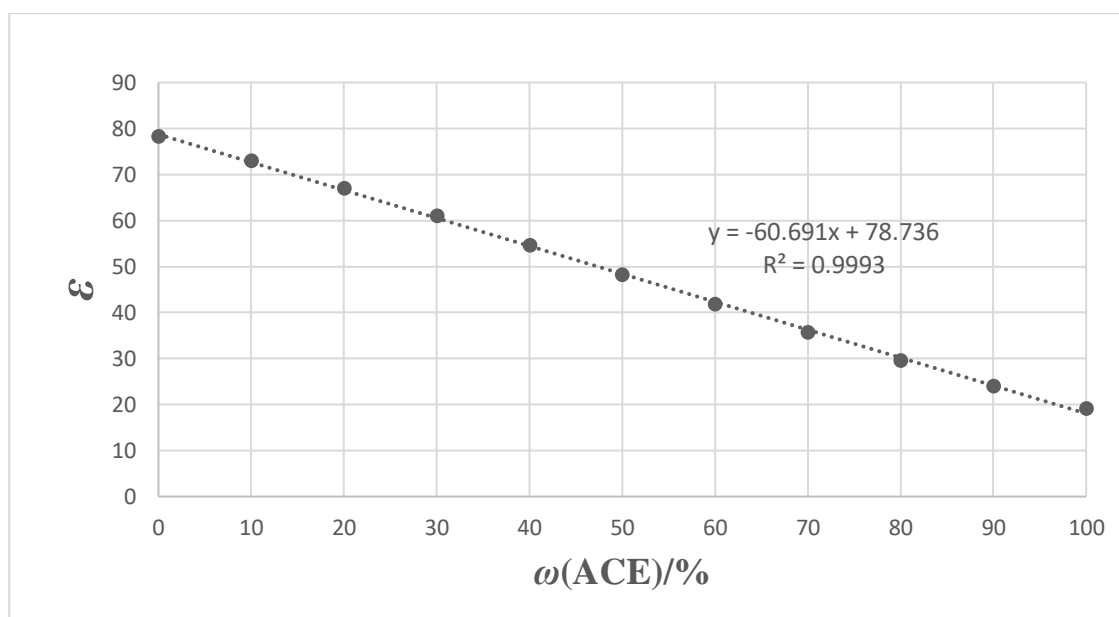
Iako mehanizam reakcije prikazane na Slici 7. nije točno definiran, pretpostavlja se da važnu ulogu imaju D^+ i OD^- ioni. Oni nastaju reakcijom autoionizacije D_2O . Brzina autoionizacije povezana je s $\text{p}K_a$ vrijednošću D_2O , a ta vrijednost pak ovisi o udjelu organskog otapala. Iz podataka (George i sur., 1972.) je poznato da $\text{p}K_a$ teške vode raste povećanjem masenog udjela organskog otapala.



Slika 9. Graf ovisnosti $\text{p}K_a \text{D}_2\text{O}$ o masenom udjelu ACE-d_6 u D_2O pri 25°C . (George i sur., 1972.)

Dielektrična konstanta (ϵ) otapala otapala ili smjese otapala, uz ostalo mjeri sposobnost smanjenja elektrostatičkih sila između nabijenih čestica. Otapala s višim dielektričnim konstantama mogu bolje stabilizirati ione, što je ključno za proces disocijacije, odnosno autoionizacije. Veće dielektrične konstante odgovaraju većoj stabilizaciji iona i time nižim vrijednostima pK_a , dok niže dielektrične konstante odgovaraju manjoj stabilizaciji iona i time višim vrijednostima pK_a .

Iz slike 10. vidi se da voda (78,4) ima oko 4 puta veću vrijednost ϵ nego aceton (20,5). S povećanjem udjela acetona u vodi, dielektrična konstanta odgovarajuće smjese otapala se smanjuje. Tako, na primjer, pri masenom udjelu acetona od 54% (pri kojem je brzina reakcije izmjene još uvijek mjerljiva), dielektrična konstanta smjese iznosi 45,7. Iako su ovo podatci za vodu i aceton, očekuje se vrlo slična relacija za njihove deuterirane izotopomere.



Slika 10. Graf ovisnosti ovisnosti dielektrične konstante ϵ smjese otapala voda/aceton masenom udjelu ACE u H_2O pri 25°C . (Wohlfarth, 1991.)

Reakcije H/D izmjene alkinske skupine 1,1-dimetil-propargilnog alkohola provedene su na različitim temperaturama (25 , 35 i 40°C). Maseni udio deuteriranog acetona u ovim reakcijama bio je 7.64%. Iz tablice 3. jasno se vidi da brzina H/D izmjene raste s porastom temperature.

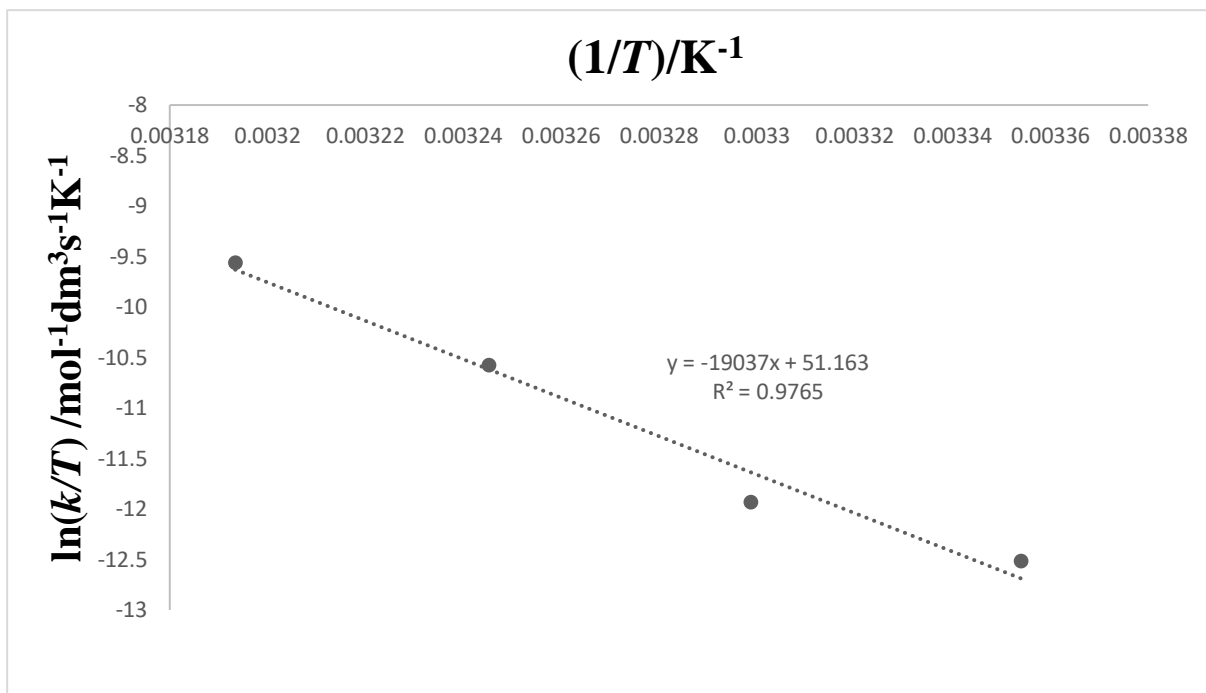
Tablica 3. Konstante brzine (k) i vremena polureakcije ($t_{1/2}$) reakcije H/D izmjene u 1,1-dimetil propargilnom alkoholu pri različitim temperaturama u smjesi D₂O/ACE-d₆ pri $\omega(\text{ACE-d}_6)=7.64\%$.

| $t/^\circ\text{C}$ | T/K | k/min^{-1} | $t(1/2)/\text{min}$ |
|--------------------|--------------|---------------------|---------------------|
| 25 | 298.15 | 0.0011 | 630.1 |
| 30 | 303.15 | 0.0020 | 346.6 |
| 35 | 308.15 | 0.0079 | 87.7 |
| 40 | 313.15 | 0.0221 | 31.4 |

Dobiveni rezultati brzina reakcija H/D izmjene prikazani su Eyringovim grafom. Na slici 11. prikazana je ovisnost konstante brzine kemijske reakcije k o temperaturi T . Iz dobivene vrijednosti nagiba pravca i odsječka na y-osi pomoću Eyringove jednadžbe: $\ln \frac{k}{T} = \frac{-\Delta H^\ddagger}{RT} + \ln \frac{k_B}{h} + \frac{\Delta S^\ddagger}{R}$ izračunate su vrijednosti aktivacijske entalpije ΔH^\ddagger te aktivacijske entropije ΔS^\ddagger .

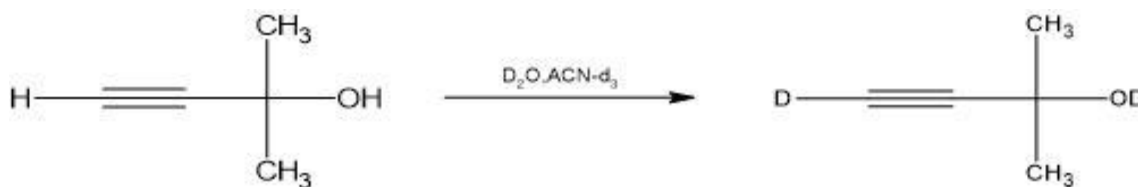
Dobivena je pozitivna vrijednost aktivacijske entalpije $\Delta H^\ddagger = 158.3 \text{ kJ/mol}$ što ukazuje da je reakcija endotermna. Vrijednost aktivacijske entropije $\Delta S^\ddagger = 227.8 \text{ J K/mol}$ je pozitivna što ukazuje da se reakcijom povećava nered sustava, odnosno da je za formiranje prijelaznog stanja važan ionizacijski/disocijacijski mehanizam (vidi gore).

Gibbsova slobodna energija aktivacije (ΔG^\ddagger) mjera je energijske barijere za kemijsku reakciju, a uključuje entalpiju i entropiju aktivacije $\Delta G^\ddagger = \Delta H^\ddagger - T\Delta S^\ddagger$ dobivena je vrijednost aktivacijske Gibbsove energije $\Delta G^\ddagger = 90.4 \text{ kJ/mol}$ pri $T = 298.15 \text{ K}$.



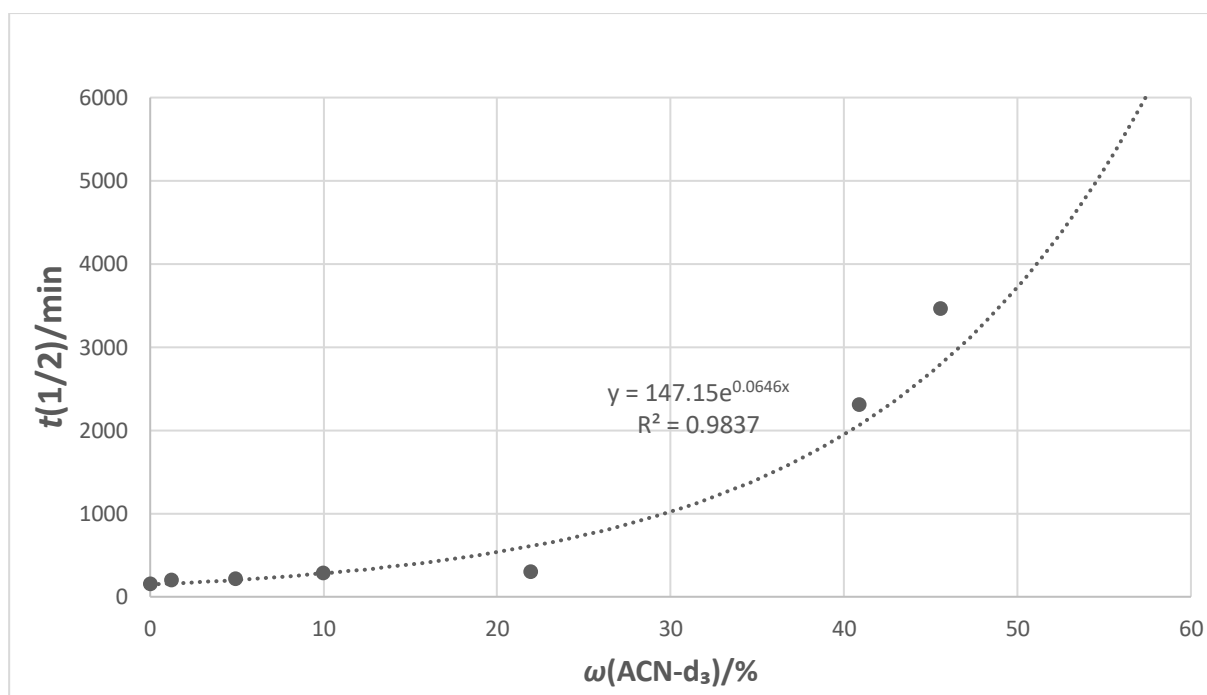
Slika 11. Eyringov graf za reakciju H/D izmjene kod 1,1-dimetil-propargilnog alkohola u smjesi $\text{D}_2\text{O}/\text{ACE-d}_6$, $\omega(\text{ACE-d}_6)=7.64\%$ pri temperaturama: 25°C , 30°C , 35°C , 40°C .

Reakcija H/D izmjene kod 1,1-dimetil propargilnog alkohola provedena je u smjesi deuteriranog acetonitrila (ACN-d₃) i teške vode. Kao što je prikazano na slici 12. , produkt reakcije je isti kao i u reakcijskoj smjesi deuteriranog acetona i teške vode.



Slika 12. Deuteriranje 1,1-dimetil-propargilnog alkohola u smjesi otapala ACN-d₃/D₂O.

I u ovome je slučaju zabilježena eksponencijalna ovisnost reakcijskom poluvremena H/D izmjene o udjelu organskog otapala u smjesi. (Slika 13.).

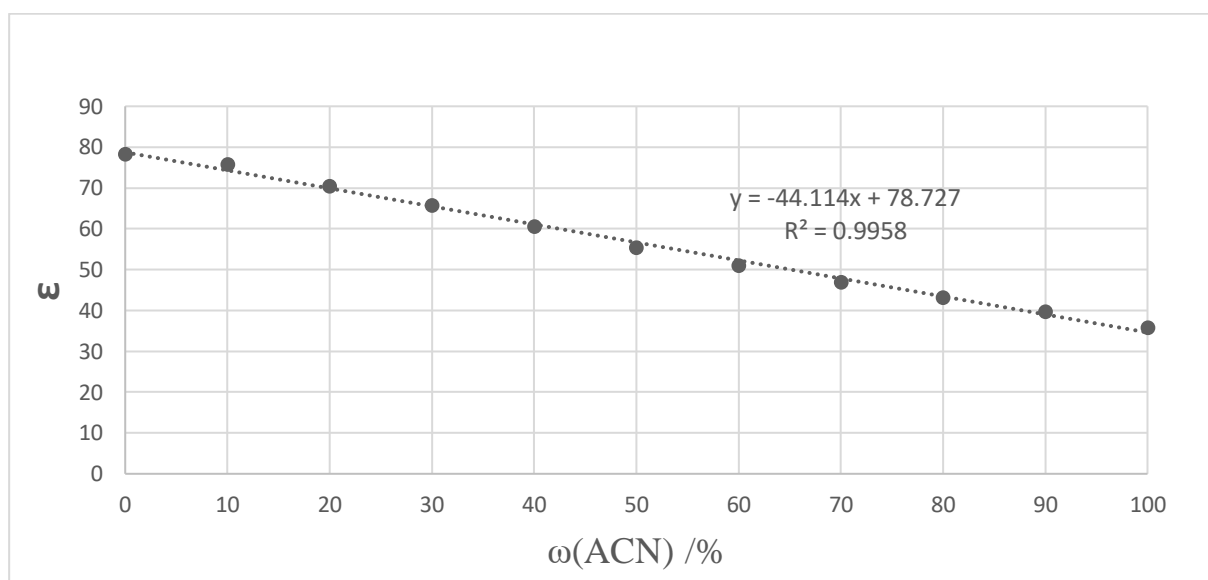


Slika 13. Graf ovisnosti vremena polureakcije $t_{1/2}$ o masenom udjelu ACN-d₃ u D₂O pri 30°C.

Pri nižim udjelima organskog otapala (ACE-d₆ i ACN-d₃), do oko 20 %, poluvremena reakcije H/D izmjene su slična (slika 14). Pri većim udjelima organskog otapala postaje vidljiva razlika u poluvremenima reakcija, odnosno u konstantama brzina kemijskih reakcija H/D izmjene.

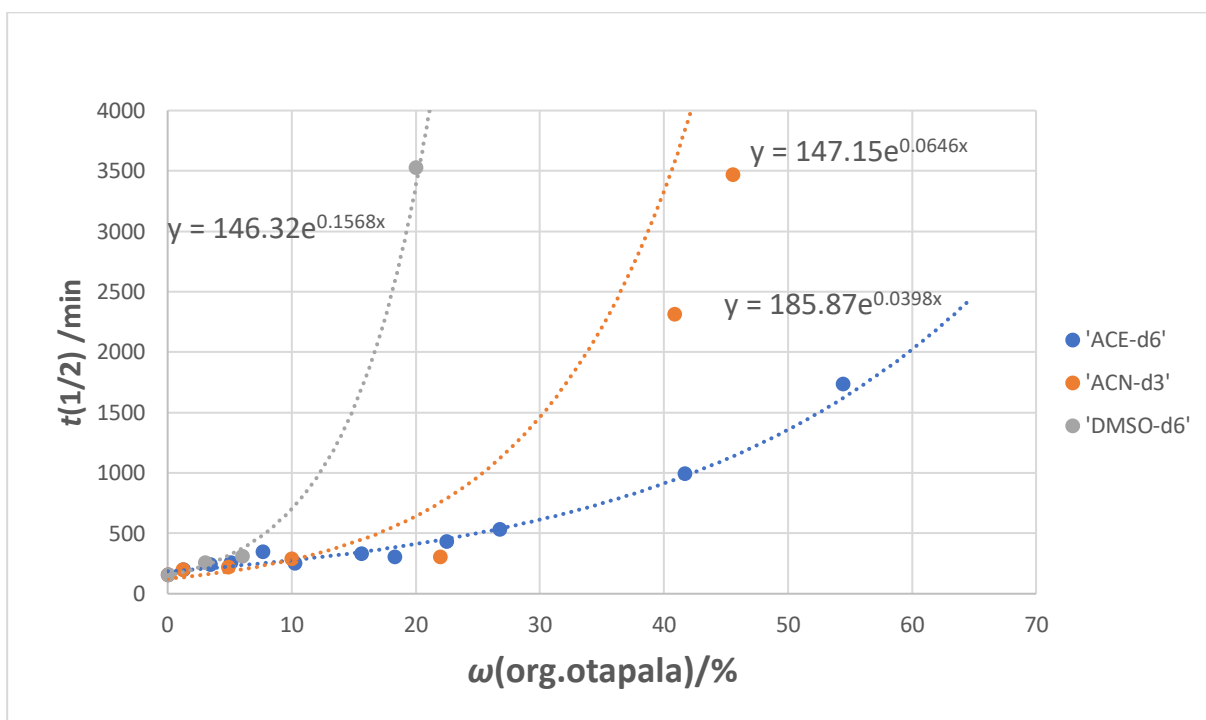
Suprotno očekivanju, inhibicija reakcije znatnija je u slučaju polarnijeg otapala odnosno acetonitrila. Pri ca. 41%-tnom udjelu acetonitrila, poluvrijeme reakcije iznosi oko 2310 minuta, dok odgovarajuće poluvrijeme reakcije u slučaju deuteriranog acetona iznosi oko 990 minuta.

Smanjena brzina reakcije H/D izmjene, kao i u slučaju ACE-d₆, može se pripisati porastu pK_a vode u smjesi s organskim otapalom, dakle, smanjenom stupnju i brzini autoionizacije vode, te smanjenoj dielektričnoj konstanti ϵ smjese otapala (Slika 14).



Slika 14. Graf ovisnosti dielektrične konstante ϵ smjese otapala voda/acetonitril o masenom udjelu ACN u H₂O pri 25°C. (Wohlfarth, 1991.)

Koristeći podatke o brzini reakcije H/D izmjene u 1,1-dimetil propargilnom alkoholu u smjesi otapala voda/dimetilsulfoksid (Brajčić, 2024) može se zaključiti da inhibicijski učinak organskog otapala ovisi o polarnosti, odnosno o dielektričnoj konstanti odgovarajućeg organskog otapala. Ovisnost poluvremena reakcija o navedena tri organska otapala (ACE, ACN i DMSO) prikazana je na slici 15.



Slika 15. Grafovi ovisnosti vremena polureakcija $t_{1/2}$ o masenim udjelima organskih otapala u D_2O pri $30^\circ C$.

Protivno očekivanjima, što je organsko otapalo u smjesi s teškom vodom polarnije, to je inhibicijski učinak na brzinu reakcije H/D izmjene izraženiji. Taj je učinak posebno vidljiv pri većim udjelima ($> 20\%$) organskog otapala. Prema tome, reakcija H/D izmjene kod 1,1-dimetil propargilnog alkohola najbrža je u smjesi vode i acetona ($\epsilon = 20.5$), zatim u smjesi vode i acetonitrila ($\epsilon = 35.7$), a najsporija u smjesi vode i DMSO-a ($\epsilon = 46.8$).

Ovi rezultati zahtjevaju dodatna istraživanja s drugim smjesama otapala, poput dimetilformamida (DMF, $\epsilon = 36.7$) ili tetrahidrofurana (THF, $\epsilon = 7.43$), dakle onim organskim otapalima koja se miješaju s vodom, kako bi se potvrdila uočena ovisnost brzine H/D izmjene o dielektričnoj konstanti dodanog organskog otapala.

Moguće je da povećana sposobnost organskog otapala (npr. DMSO) za stvaranje vodikovih veza s vodom utječe na efikasnost H/D izmjene. No, konačan opis i razumijevanje mehanizma interferencije kojim polarnija organska otapala inhibiraju reakciju H/D izmjene prelazi okvire ovog diplomskog rada.

5. ZAKLJUČCI

- Dodatkom deuteriranog aceton ili deuteriranog acetonitrila usporava se brzina izotopne H/D izmjene kod 1,1-dimetil propargilnog alkohola u teškoj vodi .
- Ovisnost poluvremena reakcije o masenom udjelu organskog otapala odgovara eksponencijalnoj funkciji.
- U slučaju većeg (>50%) masenog udjela organskog otapala brzina reakcije H/D izmjene je još uvijek mjerljiva ($t_{1/2} > 1$ dan).
- Temperatura ubrzava reakciju H/D izmjene, pa se ovisnost konstante brzine reakcije o recipročnoj vrijednosti temperature može prikazati Eyringovim grafom.
- Moguće je da se dodatkom organskih otapala mijenja mehanizam reakcije H/D izmjene. Dielektrična konstanta smjese otapala se smanjuje s povećanjem masenog udjela organskog otapala, povećava se pKa vrijednost vode, čime se smanjuje stupanj i brzina autoionizacije vode.
- Reakcija H/D izmjene u čistom organskom otapalu praktički nije moguća, što znači da deuterirani aceton i acetonitril nisu donori deuterija

6. POPIS KRATICA, OZNAKA I SIMBOLA

ACE-d₆ – deuterirani aceton

ACN-d₃ – deuterirani acetonitril

²H,D – deuterij

ε – dielektrična konstanta

D₂O – teška voda

DMSO-d₆ – deuterirani dimetil sulfoksid

¹H – vodik

J – konstanta sprege

k – konstanta brzine reakcije

KIE – kinetic isotope effects; kinetički izotopski učinci

k' – eksperimentalno izmjerena efektivna konstanta brzine reakcije

M_w – molarna masa

NMR – nuklearna magnetska rezonancija

pK_a – ionizacijska konstanta

R-OH – 1,1-dimetil-propargilni alkohol

$t_{1/2}$ – vrijeme polureakcije

TMS – tetrametilsilan

T – termodinačka temperatura

V – volumen

v – brzina reakcije

ω – maseni udio

ΔG^\ddagger – Gibbsova aktivacijska energija

ΔH^\ddagger – aktivacijska entalpija

ΔS^\ddagger – aktivacijska entropija

ρ – gustoća

δ – kemijski pomak

φ – volumni udio

7. LITERATURA

Bila, W. C. *et al.* (2017) 'Applications of deuterium oxide in human health', *Isotopes in Environmental and Health Studies*, 53(4), pp. 327–343.

doi:10.1080/10256016.2017.1281806.

Clayden J, Greeves N i Warren SG. Organic chemistry. 2nd ed Oxford ; New York, Oxford University Press, 2012., str. 260 - 302.

George, R.E. i Woolley, E.M. (1972). Ionization constants for deuterium oxide in deuterium oxide-organic mixtures. *J. Solution Chem.*, 1(3), 279–289.

<https://doi.org/10.1007/bf00645107>

Giubertoni, G., Bonn, M. i Woutersen, S. *The Journal of Physical Chemistry B* **2023** 127 (38), 8086-8094 doi:10.1021/acs.jpcc.3c04385

Matsubara, S. (2018) "H/D Exchange Using Hot Heavy Water", *CHIMIA*, 72(12), str. 853.

[doi:10.2533/chimia.2018.853](https://doi.org/10.2533/chimia.2018.853).

Wade L.G., *Organska kemija*. Zagreb, Školska knjiga, 2017, str. 561-624

Willcott, M.R. (2009). MestReNova. *J. Am. Chem. Soc.*, 131, 13180–13180.

<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ja906709t>

Wohlfarth, Ch. *Landolt-Börnstein IV/6*, Springer, 1991. str. 521-522, 555.

Wu, D.C. , Bai, J.W ,Hu,G.Q., Liu,K.H., Sheng, F.F., Zhang,H.H., Sun,Z.Y., Shen, K.

A practical and efficient method for late-stage deuteration of terminal alkynes with silver salt as catalyst, *Tetrahedron Letters*, 2021, 66, 152807.

<https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2020.152807>

<https://www.deutero.de/en/nmr-tubes/nmr-tube-heating-block>

8. SAŽETAK

Potaknut potrebom za jednostavnom i ekonomičnom pripravom, sintetski korisnih, deuteriranih terminalnih alkina, u ovom se radu nastavlja istraživanje o izotopnoj H/D izmjeni na terminalnom alkinu 1,1-dimetil-propargilnog alkohola (ROH). Ranije je prikazano uspješno deuteriranje upotrebom teške vode (D₂O) kao jedinog reaktanta uz ROH, a ovaj rad proširuje istraživanje tog procesa dodatkom organskih otapala u reakcijsku smjesu. U ovome su slučaju to deuterirani aceton i deuterirani acetonitril. Razlog njihovom dodatka je taj što Budući da nisu svi spojevi s terminalnom alkinskom skupinom topljivi u vodi, dodatak organskog otapala može povećati njihovu topljivost u smjesi vode i organskog otapala. Stoga je važno ispitati kako se mijenja brzina H/D izmjene dodatkom organskog otapala, te dolazi li do inhibicije reakcije.

Za istraživanje je korištena ¹H NMR spektroskopija. Snimanjem spektara kroz određeno vrijeme uočava se postepeni pad signala alkinske skupine jer se ¹H proton supstituira izotopom ²H čiji signal nije vidljiv u ¹H NMR spektru. Obradom rezultata dolazi se do spoznaje da dodatak dvaju organskih otapala smanjuje brzinu reakcije te da je ovisnost poluvremena reakcije o masenom udjelu otapala eksponencijalna. Pri relativnom malim masenim udjelima org.otapala (do 20%) smanjenje brzine nije značajano, dok se pri višim masenim udjelima lako uočava ovisnost brzine H/D izmjene o dielektričnoj konstanti organskog otapala.. Ovaj diplomski rad može poslužiti za nastavak istraživanja utjecaja niza drugih otapala na ishod reakcije.

SUMMARY

Driven by the need for simple and economical preparation of synthetically useful deuterated terminal alkynes, this work continues the investigation into the isotopic H/D exchange on the terminal alkyne of 1,1-dimethyl-propargyl alcohol (ROH). Previously, successful deuteration using heavy water (D_2O) as the sole reactant with ROH was demonstrated. This study extends that research by adding organic solvents to the reaction mixture. In this case, deuterated acetone and deuterated acetonitrile were used. The reason for their addition is that not all compounds with terminal alkyne groups are soluble in water, and the addition of an organic solvent can increase their solubility in a water-organic solvent mixture. Therefore, it is important to examine how the rate of H/D exchange changes with the addition of organic solvents and whether the reaction is inhibited.

1H NMR spectroscopy was used for the investigation. By recording spectra over time, a gradual decrease in the signal of the alkyne group is observed as the 1H proton is substituted by the 2H isotope, whose signal is not visible in the 1H NMR spectrum. Analysis of the results reveals that the addition of the two organic solvents reduces the reaction rate and that the dependence of the reaction's half-life on the solvent's mass fraction is exponential. At relatively low mass fractions of the organic solvent (up to 20%), the reduction in rate is not significant, while at higher mass fractions, the dependence of the H/D exchange rate on the dielectric constant of the organic solvent is easily noticeable. This thesis can serve as a basis for further research into the influence of various other solvents on the reaction outcome.

Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijski fakultet
Studij: Farmacija
Zavod za Organsku kemiju
A. Kovačića 1, 10000 Zagreb, Hrvatska

Diplomski rad

NMR studija reakcije H/D izmjene kod 1,1-dimetil propargilnog alkohola. Učinak organskog otapala.

Mateo Celić

SAŽETAK

Potaknut potrebom za jednostavnom i ekonomičnom pripravom, sintetski korisnih, deuteriranih terminalnih alkina, u ovom se radu nastavlja istraživanje o izotopnoj H/D izmjeni na terminalnom alkinu 1,1-dimetil-propargilnog alkohola (ROH). Ranije je prikazano uspješno deuteriranje upotrebom teške vode (D_2O) kao jedinog reaktanta uz ROH, a ovaj rad proširuje istraživanje tog procesa dodatkom organskih otapala u reakcijsku smjesu. U ovome su slučaju to deuterirani acetoni i deuterirani acetonitril. Razlog njihovom dodatku je taj što budući da nisu svi spojevi s terminalnom alkinskom skupinom topljivi u vodi, dodatak organskog otapala može povećati njihovu topljivost u smjesi vode i organskog otapala. Stoga je važno ispitati kako se mijenja brzina H/D izmjene dodatkom organskog otapala, te dolazi li do inhibicije reakcije.

Za istraživanje je korištena 1H NMR spektroskopija. Snimanjem spektara kroz određeno vrijeme uočava se postepeni pad signala alkinske skupine jer se 1H proton supstituira izotopom 2H čiji signal nije vidljiv u 1H NMR spektru. Obradom rezultata dolazi se do spoznaje da dodatak dvaju organskih otapala smanjuje brzinu reakcije te da je ovisnost poluvremena reakcije o masenom udjelu otapala eksponencijalna. Pri relativnom malim masenim udjelima org. otapala (do 20%) smanjenje brzine nije značajano, dok se pri višim masenim udjelima lako uočava ovisnost brzine H/D izmjene o dielektričnoj konstanti organskog otapala. Ovaj diplomski rad može poslužiti za nastavak istraživanja utjecaja niza drugih otapala na ishod reakcije.

Rad je pohranjen u Središnjoj knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad sadrži: 22 stranica, 15 grafičkih prikaza, 3 tablica i 10 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: deuteriranje, H/D izmjena, NMR, 1,1-dimetil-propargilni alkohol, deuterijev oksid (D_2O), deuterirani acetoni ($ACE-d_6$), deuterirani acetonitril ($ACN-d_3$)

Mentor: **Dr. sc. Valerije Vrčec**, redoviti profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Ocjenjivači: **Dr. sc. Valerije Vrčec**, redoviti profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.
Dr. sc. Viktor Pilepić, izvanredni profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.
Dr. sc. Davor Šakić, docent Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad prihvaćen: kolovoz 2024.

Basic documentation card

University of Zagreb
Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Study: Pharmacy
Department of Organic Chemistry
A. Kovačića 1, 10000 Zagreb, Croatia

Diploma thesis

NMR study of the H/D exchange reaction in 1,1-dimethylpropargyl alcohol. The effect of the organic solvent.

Mateo Celić

SUMMARY

Driven by the need for simple and economical preparation of synthetically useful deuterated terminal alkynes, this work continues the investigation into the isotopic H/D exchange on the terminal alkyne of 1,1-dimethyl-propargyl alcohol (ROH). Previously, successful deuteration using heavy water (D₂O) as the sole reactant with ROH was demonstrated. This study extends that research by adding organic solvents to the reaction mixture. In this case, deuterated acetone and deuterated acetonitrile were used. The reason for their addition is that not all compounds with terminal alkyne groups are soluble in water, and the addition of an organic solvent can increase their solubility in a water-organic solvent mixture. Therefore, it is important to examine how the rate of H/D exchange changes with the addition of organic solvents and whether the reaction is inhibited.

¹H NMR spectroscopy was used for the investigation. By recording spectra over time, a gradual decrease in the signal of the alkyne group is observed as the ¹H proton is substituted by the ²H isotope, whose signal is not visible in the ¹H NMR spectrum. Analysis of the results reveals that the addition of the two organic solvents reduces the reaction rate and that the dependence of the reaction's half-life on the solvent's mass fraction is exponential. At relatively low mass fractions of the organic solvent (up to 20%), the reduction in rate is not significant, while at higher mass fractions, the dependence of the H/D exchange rate on the dielectric constant of the organic solvent is easily noticeable. This thesis can serve as a basis for further research into the influence of various other solvents on the reaction outcome.

The thesis is deposited in the Central Library of the University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

Thesis includes: 22 pages, 15 figures, 3 tables and 10 references. Original is in Croatian language.

Keywords: deuteration, H/D exchange, NMR, 1,1-dimethyl-propargyl alcohol, deuterium oxide (D₂O), deuterized acetone (ACE-d₆), deuterized acetonitrile (ACN-d₃)

Mentor: **Valerije Vrčec, Ph.D.** *Full Professor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry*

Reviewers: **Valerije Vrčec, Ph.D.** *Full Professor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry*
Viktor Pilepić, Ph.D. *Associate Professor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry*
Davor Šakić, Ph.D. *Assistant Professor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry*

The thesis was accepted: August 2024.