

Studium rotačních bariér adamantyl- a fenyl- substituentů na chinolinovém skeletu

Bc. David Kašný

Diplomová práce
2012



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav chemie

akademický rok: 2011/2012

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. David KAŠNÝ**

Osobní číslo: **T10437**

Studijní program: **N 2901 Chemie a technologie potravin**

Studijní obor: **Chemie potravin a bioaktivních látek**

Téma práce: **Studium rotačních bariér adamantyl- a fenyl-substituentů na chinolinovém skeletu**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. Literární rešerše.
2. Získání případných experimentálních dat od spolupracovníků v týmu.

II. Praktická část

1. Provedení výpočetní studie na zvolené úrovni teorie.
2. Vyhodnocení získaných dat a porovnání s dostupnými experimentálními daty.

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

[1] Pelikán, P.; et al. Fyzikální chemie – Struktura Hmoty; Vutium: Brno, 2000.

[2] Hinchliffe, A. Modelling molecular structures, 2nd ed.; John Wiley & Sons, LTD: Baffins Lane, Chichester, 2000.

[3] Leach, A. R. Molecular Modelling, 2nd ed.; Pearson Education: Edinburgh Gate, 2001.

Vedoucí diplomové práce: **Mgr. Robert Vícha, Ph.D.**

Ústav chemie

Datum zadání diplomové práce: **10. února 2012**

Termín odevzdání diplomové práce: **7. května 2012**

Ve Zlíně dne 10. února 2012


doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan




prof. Ing. Antonín Klásek, DrSc.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno: Kašný, David

Obor: Chemie potr. a bioaktivních

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby ¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 ²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 2 a 3 mohu užit své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 4.5.2012


.....

¹⁾ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevydělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) *Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.*

(3) *Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.*

²⁾ *zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:*

(3) *Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacímu zařízení (školní dílo).*

³⁾ *zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní díla:*

(1) *Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.*

(2) *Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.*

(3) *Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlíží k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.*

ABSTRAKT

Fenyl-, adamantyl-substituované chinoliny jsou látky, které pravděpodobně mají biologické účinky. V této práci byly studovány rotační bariéry adamantyl-substituovaných chinolinů, a tedy potenciální vznik atropisomerů. Cílem práce bylo zjistit, jak velký substituent ještě umožní rotaci 1-adamantylmethylu. Rotační bariéry byly počítány pomocí kvantově mechanických výpočtů metodou PM3. Výsledky výpočtů byly zpracovány do grafů a správnost metody byla ověřena nalezením shody s dostupnými experimentálními daty pro 4-(1-adamantylmethyl)-2-fenylchinolin a 9-(1-adamantylmethyl)-3,4-dihydroakridin-1(2H)-on. Dále bylo předpovězeno, že substituenty -F, -CH₂CHO a C(=O)CH₃ v poloze C3 4-(1-adamantylmethyl)-2-fenylchinolinu volnou rotaci 1-adamantylmethylu umožňují, zatímco -CH₃ a -CHO v této poloze rotaci brání.

Klíčová slova: Fenyl-, adamantyl-substituované chinoliny, rotační bariéry, atropisomery, kvantově mechanické výpočty, PM3

ABSTRACT

Phenyl-, adamantyl-substituted quinolines are compounds with potential biological activity. In this work, the rotational barriers of adamantyl-substituted quinolines were studied, thus the potential formation of atropisomers. Main objective of this work was to identify critical size of bulky substituent that still allow rotation of 1-adamantylmethyl. Rotational barriers were calculated by quantum-mechanical calculations by the PM3 method. Results of calculations were visualised as graphs and the method was successfully tested by comparison with experimentally verified data available for 4-(1-adamantylmethyl)-2-phenylquinoline and 9-(1-adamantylmethyl)-3,4-dihydroacridin-1(2H)-on. Moreover, it was predicted, that substituents -F, -CH₂CHO and C(=O)CH₃ at C3 position of 4-(1-adamantylmethyl)-2-phenylquinoline allow free rotation of 1-adamantylmethyl substituent, while -CH₃ and -CHO at the same position do not allow the rotation of 1-adamantylmethyl.

Keywords: Phenyl-, adamantyl substituted quinolines, rotational barriers, atropisomers, quantum-mechanical calculations, PM3.

Touto cestou bych rád poděkoval Mgr. Robertu Víchovi, Ph.D. za vedení mé diplomové práce, cenné rady a jeho trpělivost.

Poděkování patří také doc. Ing. et Ing. Ivo Kuřítkovi, Ph.D. et Ph.D. za předání cenných rad, zkušeností a nemalého množství materiálů a přístup k použitému software.

Každý člověk dělá chyby, ale jen hlupák u nich zůstává.

M. T. Cicero

Prohlašuji, že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

OBSAH

ÚVOD	10
I TEORETICKÁ ČÁST	11
1 LÁTKY S CHINOLINOVÝM SKELETEM	12
1.1 ANTITUBERKULOTIKA	14
1.2 CHINOLINY S 4-(1-ADAMANTYLMETHYL) SUBSTITUENTEM	16
2 STUDIUM ROTAČNÍCH BARIÉR	18
2.1 ATROPISOMERIE	18
2.1.1 Experimentální detekce atropisomerů	20
2.1.2 Využití výpočetních metod při studiu atropisomerie	20
2.2 KONFORMAČNÍ ANALÝZA	21
2.3 ROTAČNÍ BARIÉRY	22
3 VÝPOČETNÍ METODY V CHEMII	25
3.1 AB INITIO VÝPOČTY	25
3.1.1 Born-Oppenheimerova aproximace	26
3.1.2 Hartree-Fock	26
3.1.3 Modely Møller-Plesset	28
3.2 SEMI-EMPIRICKÉ METODY	29
3.3 METODY DENSITY FUNCTIONAL (DFT)	30
4 VÝPOČETNÍ METODY STUDIA ROTAČNÍCH BARIÉR	31
4.1 VÝBĚR METOD	31
4.1.1 Model molekulární mechaniky	31
4.1.2 Semi-empirický model	31
4.1.3 Hartree-Fock modely	32
4.1.4 Modely Møller-Plesset	32
4.1.5 Modely excitovaných stavů	32
4.1.6 Použití metod pro výpočty rotačních bariér	33
II PRAKTICKÁ ČÁST	34
5 STANOVENÍ CÍLŮ	35
5.1 CÍLE PRÁCE	35
5.2 STRUKTURY REFERENČNÍCH A NOVĚ ZKOUMANÝCH MOLEKUL	35
6 METODIKA	39
6.1 VÝCHODISKA PRO VOLBU VÝPOČETNÍ METODY	39
6.2 VOLBA METODY PRO OPTIMALIZACI VÝCHOZÍ GEOMETRIE STRUKTUR	39
6.3 OPTIMALIZOVANÉ GEOMETRIE STRUKTUR I AŽ VII	40
6.4 VÝPOČTY ROTAČNÍCH BARIÉR	43
7 VÝSLEDKY A DISKUZE	45

7.1	STRUKTURA I.....	45
7.2	STRUKTURA II.....	47
7.3	STRUKTURA III.....	49
7.4	STRUKTURA IV.....	51
7.5	STRUKTURA V.....	53
7.6	STRUKURA VI.....	54
7.7	STRUKTURA VII.....	56
7.8	SHRnutí.....	57
ZÁVĚR.....		61
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....		62
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....		65
SEZNAM OBRÁZKŮ.....		66
SEZNAM TABULEK.....		68
SEZNAM GRAFŮ.....		69
SEZNAM PŘÍLOH.....		70

ÚVOD

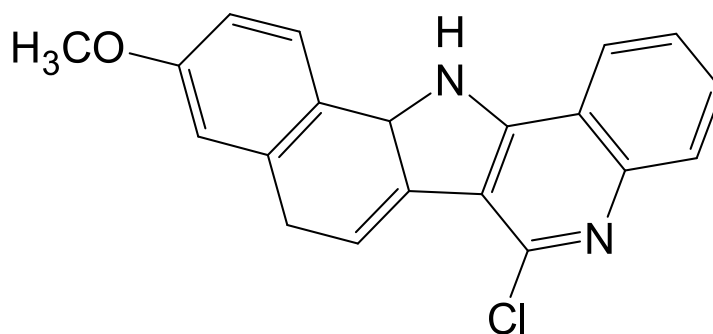
Studium 2,3-disubstituovaných 4-(1-adamantyl)chinolinů a 2,3-disubstituovaných 4-(1-adamantylmethyl)chinolinů je na ústavu chemie FT UTB dlouhodobou záležitostí. Studována je hlavně jejich syntéza, protože neexistuje obecná metoda jejich přípravy. 2,3-disubstituované 4-(1-adamantylmethyl)chinoliny jsou potenciální antituberkulotika. K použití léčiv v praxi je nutné znát jejich detailní stereochemii, v tomto případě atropisomerii. V teoretické části jsou popsány biologické účinky chinolinů a jejich derivátů, konformační analýza, atropisomerie a rotační bariéry. V experimentální a diskusní části je popsána metodika výpočtů a následně výsledky výpočtů pro jednotlivé molekuly.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 LÁTKY S CHINOLINOVÝM SKELETEM

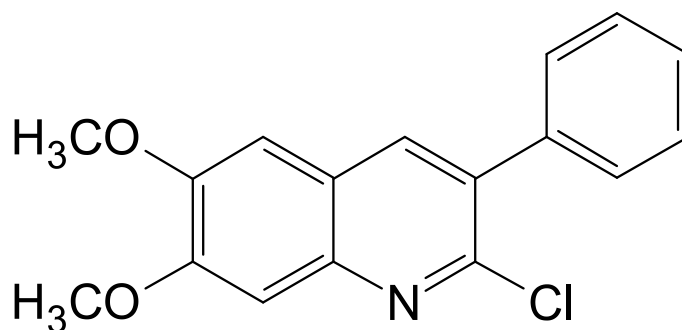
Chinolinový kruhový systém je důležitou strukturní jednotkou vyskytující se v rostlinných alkaloidech a používaných terapeutikách. I syntetické analogy mají velmi zajímavou biologickou aktivitu (potenciální antimalarika, antituberkulóza, nebo např. antimikrobiální látky).^[1-5]

Látky s chinolinovým systémem se používají například ke stabilizaci trojšroubovice DNA. Komplexy trojšroubovice se formují po navázání oligonukleotidů na oligopyrimidinové-oligopurinové sekvence dvoušroubovice DNA. 6-amino benzoindolochinolinové deriváty (příklad je uveden na obrázku 1) byly podrobeny studii a bylo zjištěno, že dokážou velmi účinně trojšroubovici stabilizovat.^[6]



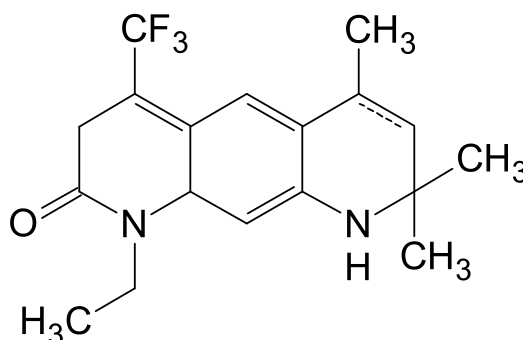
Obrázek 1: Stabilizátor trojšroubovice DNA

Deriváty chinolinů byly dále studovány jako inhibitory růstového faktoru odvozeného od tyrosin kinasy z krevních destiček (platelet-derived growth factor PDGF) a jeho receptorů (platelet-derived growth factor receptor PDGFR). PDGF je mitogenem pro mezenchymální buňky^[7]. PDGF má podobné typy receptorů jako transmembránová tyrosin kinasa, jejíž aktivace pomocí vazby ligandu je nutná pro buněčnou signalizaci. PDGF indukovaná buněčná proliferace probíhá při mnoha patofyziologických změnách, např. během aterosklerózy, ale i při fibróze, nebo během určitých typů rakoviny^[8]. Inhibice takového enzymu by tedy mohla pomoci například při léčbě rakoviny. Bylo zjištěno, že v závislosti na poloze a typu substituentu je inhibice možná i pomocí sloučenin s chinolinovým skeletem, příkladem může být 2-chlor-3-fenyl-6,7-dimethoxychinolin (obrázek 2) jehož inhibice PDGF je při $IC_{50} = 1,5 \mu M$ a inhibice PDGFR $IC_{50} = > 30 \mu M$. Účinné deriváty chinolinu byly jak PDGF, tak PDGFR selektivní.^[9]



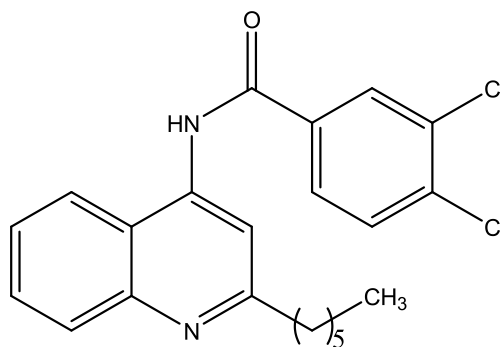
Obrázek 2: PDGFR inhibitor

Chinolinový skelet může být základem pro nesteroidní antiandrogenní farmakofor inhibující lidský androgenní receptor a tak zabraňuje zhoubnému růstu prostaty a varlat. Tyto nemoci se u mužů vyskytují stále častěji. V roce 2008 zemřelo na rakovinu prostaty po celém světě asi 272000 mužů.^[10] Látka uvedená na obrázku 3 inhibuje androgenní receptor při $IC_{50} = 692 \pm 32$ nM, účinnost $95\% \pm 2\%$ ^[11].



Obrázek 3: Inhibitor androgenního receptoru

Chinolinové deriváty mohou pozitivně ovlivňovat i adenosinový A_3 receptor. Adenosinové receptory patří do skupiny G-protein-coupled receptorů (GPCRs) a mají významnou fyziologickou roli. Společně s adenosinem zprostředkovávají ovlivnění např. kardiovaskulární, imunitní, nebo centrální nervové soustavy. Proto byly zkoumány 2,4-disubstituované chinoliny jako látky zlepšující alosterii adenosinového receptoru A_3 .^[12]

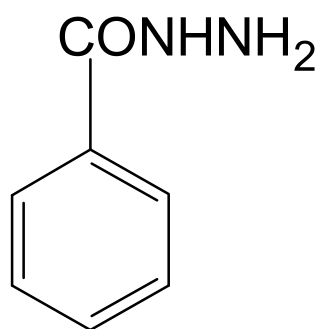


Obrázek 4: 2,4-disubstituovaný chinolin s pozitivním vlivem
na alosterii receptoru adenosinu A₃

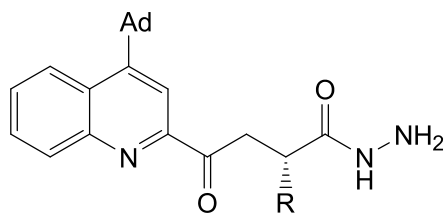
1.1 Antituberkulotika

Tuberkulóza byla v roce 1993 Světovou zdravotnickou organizací (WHO) prohlášena jako globální ohrožení veřejného zdraví. Toto onemocnění v současné době působí na světě přibližně 2 miliony úmrtí ročně. ^[13]

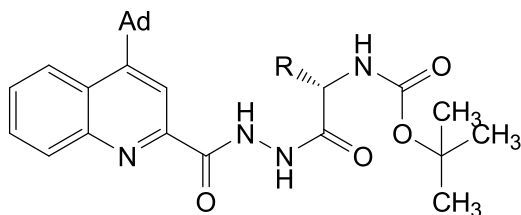
Léčiva proti tuberkulóze s chinolinovým skeletem jsou předmětem mnoha studií a článků. Zavedená antituberkulotika s adamantylovým substituentem v poloze 4 jsou například deriváty 4-(1-adamantyl) chinolin-2-karboxylové kyseliny, která byla zavedena jako velmi slibné antituberkulotikum srovnatelné s účinky komerčně používaných léčiv (např. Isoniazid, obr. 5). ^[14]



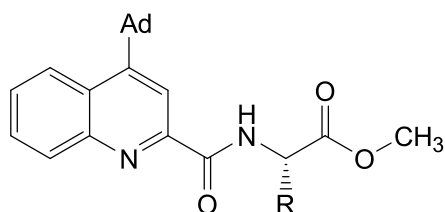
Obrázek 5: Antituberkulotikum Isoniazid



A



B



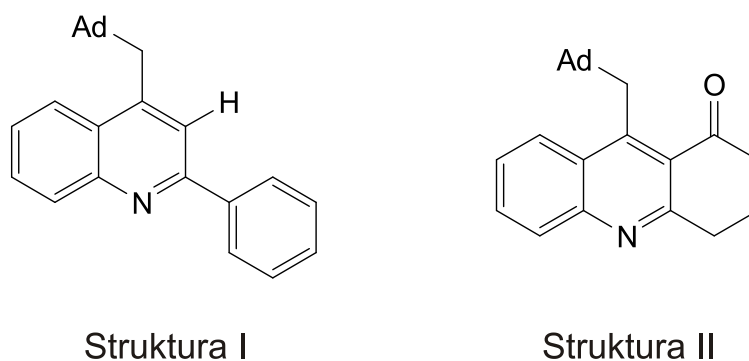
C

Struktura	R	Koncentrace nutná k 99% inhibici <i>M. tuberculosis</i> H37Rv [$\mu\text{g/ml}$]
A		1,000
B		3,125
		3,125
C		3,125
		3,125

Obrázek 6: Antituberkulotika a jejich inhibice *M. tuberculosis* H37Rv

1.2 Chinoliny s 4-(1-adamantylmethyl) substituentem

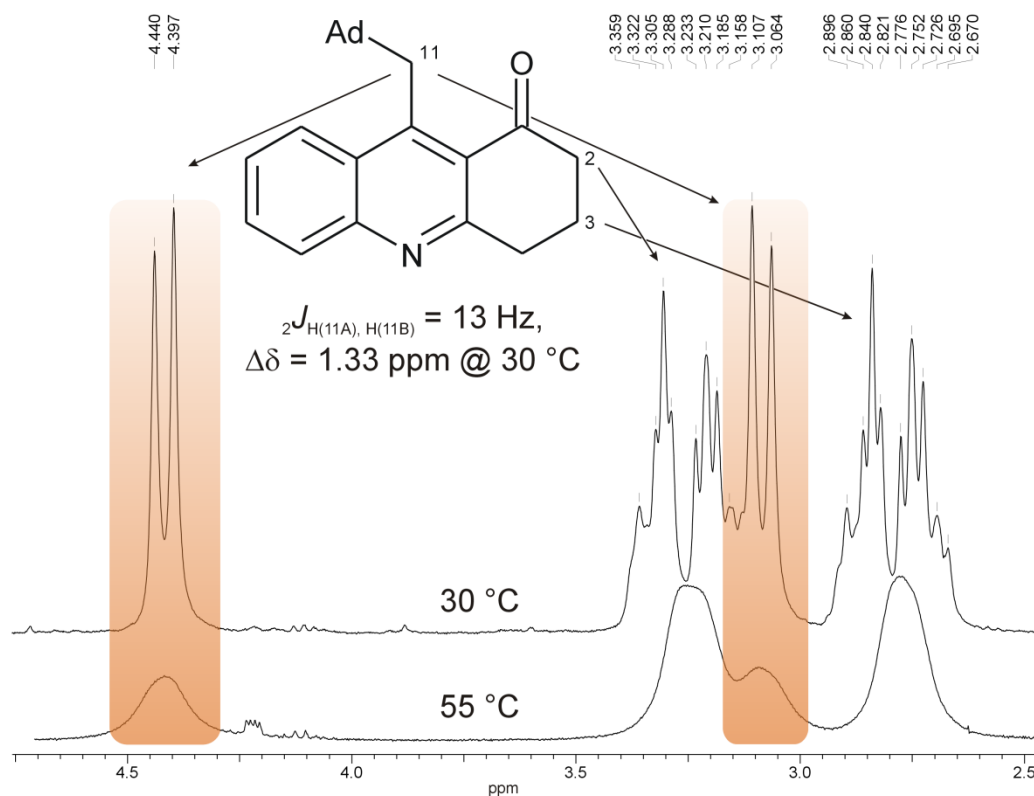
U těchto sloučenin jsou pozorovány jedinečné vlastnosti, co se týče bioaktivních účinků. Adamantanový zbytek je vysoce lipofilní a svou přítomností umožňuje léčivům snazší prostupnost skrze biologické membrány. Léčiva se strukturou 4-adamantylchinolinu jsou potenciální antituberkulotika, a protože neexistuje žádná obecná metoda pro syntézu těchto látek, byla vytvořena nová cesta k jejich syntéze. Příklady takto syntetizovaných látek jsou na obrázku 7. ^[15]



Obrázek 7: Struktury zvolené jako základní pro výpočty rotačních bariér

Ze změřených spekter NMR látek na obrázku 7, které byly zvoleny jako základní molekuly pro výpočty rotačních bariér, bylo zjištěno, že struktura I (obrázek 7), tedy 4-(1-adamantylmethyl)-2-fenylchinolin, nese substituent v poloze 3 chinolinového skeletu, který za daných podmínek pravděpodobně umožňuje volnou rotaci 4-(1-adamantylmethyl)ového substituentu. Struktura II (obrázek 7), tedy 9-(1-adamantylmethyl)-3,4-dihydroakridin-1(2H)-on, nese substituent který za daných podmínek pravděpodobně neumožňuje volnou rotaci 4-(1-adamantylmethyl)ového substituentu.

V NMR spektru struktury I nebyly nalezeny signály, které by byly důsledkem bráněné rotace. Signály, které by vedly k předpokladu, že se v této látce nenachází takové stereogenní centrum, které by umožnilo tvorbu atropisomerů potvrzuje fakt, že vodíky na ethylovém můstku nesoucí 1-adamantyl poskytují pouze jeden signál. Nepřítomnost diastereotopních vodíků proto vede k předpokladu, že je umožněna volná rotace 1-adamantylmethylu.



Obrázek 8: NMR spektrum struktury II (obrázek převzatý z: Z. Kozubková, M. Rouchal, M. Nečas, R. Vícha: *Helvetica Chimica Acta*, **2012**, v tisku)

Z NMR spektra 9-(1-adamantylmethyl)-3,4-dihydroakridin-1(2H)-onu je patrné, že vodíky uhlíku C11 tvoří 2 signály. Diastereotopicita těchto vodíků je pravděpodobně způsobena bráněnou rotací 1-adamantylmethylu. Rotační bariéry jsou způsobeny přítomností rigidní oxo-skupiny v této struktuře.

2 STUDIUM ROTAČNÍCH BARIÉR

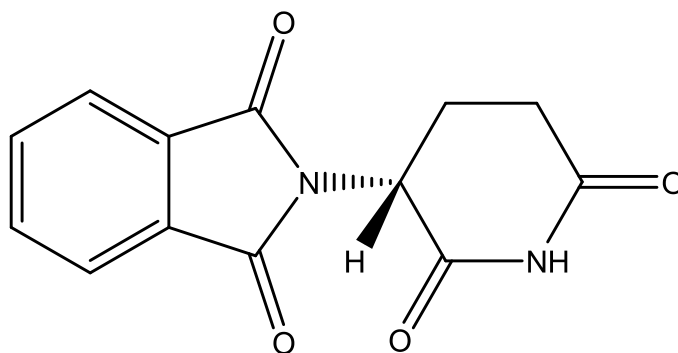
Stereochemie je oblast chemie, která studuje uspořádání atomů v prostoru, tedy jejich trojrozměrnou strukturu. Uspořádání atomů v molekulách, konfigurace a konformace molekul mají vliv na jejich fyzikální a chemické vlastnosti.

2.1 Atropisomerie

Rotační bariéry kolem jednoduché vazby jsou způsobeny sterickou náročností (interakcí substituentů apod.). Za normální teploty molekuly zůstanou „uzamčeny“ ve dvou atropisomerech. Ty jsou pak neztotožnitelné zrcadlové obrazy, tedy enantiomery. Atropisomerie je způsobena sterickým, nebo elektronovým omezením rotace kolem vazby. Atropisomery racemizují dostatečně pomalu (poločas racemizace je >1000 s), takže je možné je pozorovat a případně izolovat.

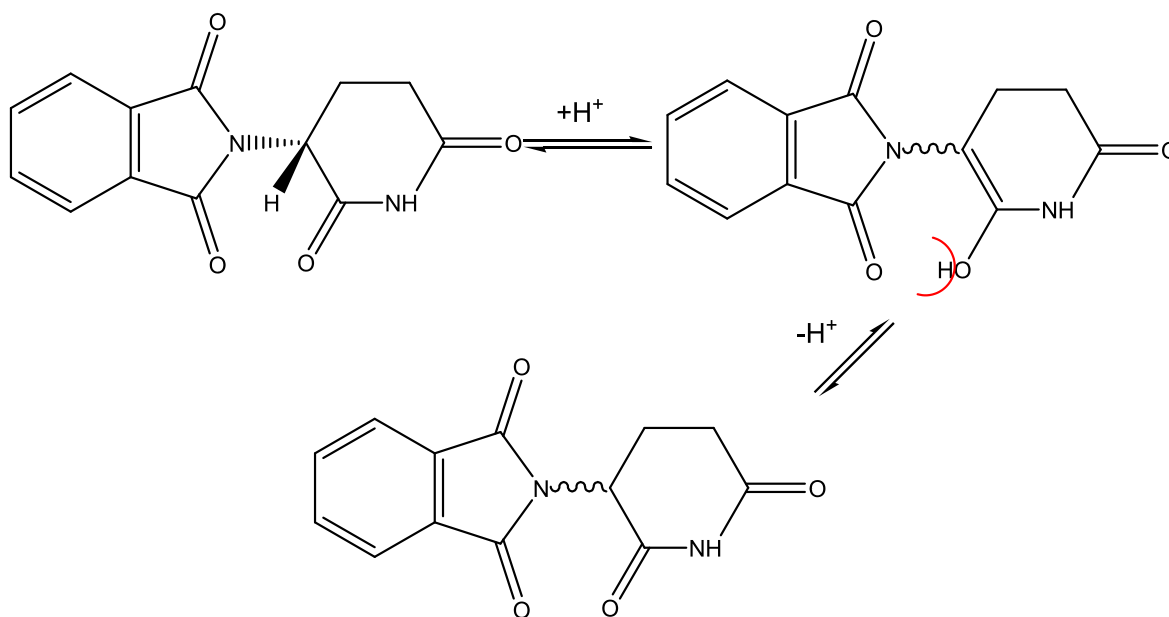
Základním cílem výzkumu léčiv je vytvořit bezpečné a stabilní léčivo, které účinkuje přesně v epicentru nemoci. Molekulární chiralita přidává vyšší úroveň specifity a komplexity v dosažení tohoto požadavku. Zrcadlové formy molekul mohou mít odlišné vlastnosti a musí být zkoumány každá zvlášť. Klasické stereogenní centrum enantiomerů způsobuje odlišné vlastnosti jednotlivých látek v jejich biologické aktivitě, farmakodynamice, farmakokinetice a toxicitě. Kauza thalidomidu, jehož enantiomery se drasticky liší v toxicitě a metabolických vlastnostech zdůrazňují důležitost významu stereochemie ve vývoji léčiv.

Thalidomid, který byl v 60. letech minulého století používán jako sedativum a hypnotikum pro těhotné ženy, jako velmi účinné a pro plod neškodné farmakum. Bohužel tato látka má dva izomery, kdy jeden je hypnotikum a sedativum (R-isomer, obrázek 9), ale druhý má teratogenní účinky (S-isomer). Právě kvůli nedokonalé znalosti stereochemie této látky se narodilo velké množství postižených dětí.



Obrázek 9: (R)-thalidomid

Racemizace thalidomidu z (R)-isomeru na nebezpečný (S)-isomer probíhá v kyselém prostředí žaludku. Enantiomerní forma v kyselém prostředí racemizuje z keto-formy na enol-forma. Následným přistoupením vodíku je umožněna racemizace této látky na stabilnější keto-formu a v závislosti na tom z které strany vodík přistoupí vzniká buď (R)-, nebo (S)-isomer viz obrázek 10.



Obrázek 10: Racemizace thalidomidu v prostředí žaludku

Po zdůraznění farmaceutických následků zásadního přehlednutí alternativního zdroje chiralitě léčiva, je atropisomerie, jako výsledek rotace kolem osy vazby, dalším faktorem na který je třeba brát zřetel. Bohužel sloučeniny s klasickým stereogenním centrem, které jsou často stabilní a které racemizují přerušением vazby, atropisomery racemizují pomocí intramolekulární dynamiky, procesem, který zahrnuje pouze rotaci kolem vazby. Rotace kolem vazby je závislá na čase, racemizační poločas atropisomerů je různý, od minut do let, v závislosti na stupni sterického bránění, elektronového vlivu,

teploty, rozpouštědla atd. Kvůli této časové závislosti se období vývoje léků musí stát dlouhodobějším nebo je při objevení atropisomerních vlastností tento vývoj opuštěn. Atropisomerie zapříčinila časté vytváření více kompaktních a konformačně omezených inhibitorů. Důležité je znát rozdíl mezi vlastnostmi daných atropisomerů, jak při *in vitro* inhibici, krystalizaci, *in vivo* racemizacích hodnotách, absorpci, distribuci, metabolismu, vylučování a toxicitě. Atropisomerní chiralita je proto vnímána velkým počtem lidí jako skrytá hrozba s potenciálem zvýšit náklady na farmaceutické studie, vývoj a znemožnění programů pro vývoj léčiv, protože racemizace potenciálních atropisomerů může zmařit základní cíl vývoje a tedy produkci stabilních léků. Navíc neexistují jakékoli přímé směrnice regulačních agentur, jak se zabývat takovýmto typem časově závislé chiralitě.

Rozpoznání a bezpečné využití atropisomerů začíná pochopením vztahu existujícího mezi axiální rotací a sterickým bráněním.^[16] V důsledku toho tato rotační bariéra vyvolává vznik konformačních isomerů, které vedou k diastereomerům, nebo enantiomerům, každého s různými vlastnostmi. Takže atropisomerní stereoisomery mohou být distribuovány stejně jako stereoisomery s klasickými stereogenními centry. Zvláštní pozornost musí být věnována jejich potenciálu racemizovat, což znamená izomeračním hodnotám, a pokud je to nutné odlišné distribuci konformerů.

2.1.1 Experimentální detekce atropisomerů

Kritickým aspektem pro výzkum atropisomerních sloučenin je prvotní rozpoznání primárních strukturních motivů, které způsobují bráněnou axiální rotaci. Existují i méně intuitivní chemotypy, nebo strukturální kombinace, které vedou k chiralitě založené na konformaci. Nejčastěji je existence atropisomerismu zaznamenána pomocí neobvyklého NMR spektra, HPLC diastereoizomerů prováděné během hlavní optimalizační fáze a podpůrnou RTG difrakční analýzou.^[17-19] Vazba na protein je také používána k detekci atropisomerii, tak, že určitá proteinová struktura zahrnuje specifický chirální templát. Dále je možné takovéto vazby využít pro hodnocení relativního poločasu racemizace atropisomeru.^[20]

2.1.2 Využití výpočetních metod při studiu atropisomerie

Předpoklad existence atropisomerů v zájmových sloučeninách je zásadním při všech krocích objevování a vývoje léků. Predikci je možné provést i počítačově a to zaznamenáváním hodnot energií při každé změně úhlu během simulace rotace kolem

stericky bráněné vazby. Tyto simulace jsou prováděny metodami kvantové mechaniky umožňujícími výpočty hodnot energií zahrnutím sterických a elektronických vlastností, nezávisle na dostupnosti vhodných parametrů silového pole, které jsou nezbytné pro přesné molekulárně mechanické kalkulace. Výpočty lze jednoduše provádět za použití standardních softwarů pro chemické kalkulace. Použití výpočtů pro predikci atropisomerů má značný potenciál, praktická medicínální chemie může být řízena takovou strategií, aby atropisomery nevznikaly, nebo vytvořené látky tvořily racemát. Největší výhodou výpočtů rotačních bariér je předpověď existence atropisomerismu během vývoje, zvláště za použití srovnání s dostupnými informacemi nebo experimentem, nebo pokud je fyzická detekce nebo separace atropisomerů obtížná. Zapojit tuto metodu lze v raných stádiích vývoje léčiv jako je „hit-to-lead“ a „lead optimization“ k predikci a potvrzení existence atropisomerů a k využití možnosti eliminace tohoto jevu, následné stabilizace, nebo určením zájmové stereogenní osy, umožněním volné rotace kolem ní pomocí vztahu mezi strukturou a aktivitou (structure-activity relationship SAR) a tudíž snížení nutnosti studování sérií sloučenin. Tato strategie může zlepšit plány vývoje léků určením léčiva (nebo série léčiv), které má být vyvíjeno jako racemická směs a které jako jednotlivé isomery. ^[20]

2.2 Konformační analýza

Konformační analýza je studium konformací molekuly a jejich vlivu na vlastnosti molekuly. Vývoj moderní konformační analýzy je často spojován s D.H.R. Bartonem, který v roce 1950 ukázal, že reaktivita substituovaných cyklohexanů závisí na jejich konformaci, v závislosti na axiální nebo ekvatoriální poloze substituentů. Neméně důležité pro vývoj konformační analýzy bylo i zavedení nových analytických technik jako infračervená spektroskopie, NMR a rentgenová krystalografie, které umožňovaly konformaci určit.

Konformace molekuly je definována jako uspořádání jejích atomů v prostoru. Rotací kolem jednoduchých vazeb, malé změny vazebných úhlů a vazebných délek často doprovází konformační změny. K rotaci může dojít i kolem vazeb v konjugovaných systémech. ^[21]

V současné době existují dva hlavní konkurenční modely, jak definovat rotační bariéry. První je model sterického odporu a druhý model je založen na hyperkonjugaci. Velmi podrobné zkoumání kvantově-mechanických metod produkuje protichůdné údaje, což podporuje tyto modely a jako různé aproximace jsou zaváděny sterické, nebo

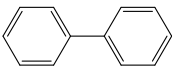
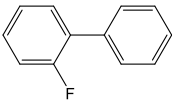
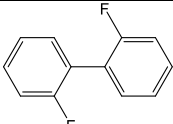
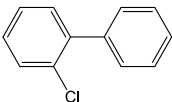
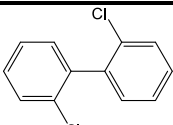
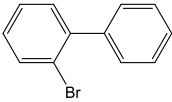
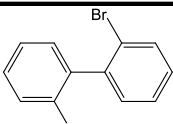
hyperkonjugativní interakční energie. Hyperkonjugační model je založen na analýze přírodních orbitálních vazeb (NBO), díky které lze odhadnout jednotlivé interakce mezi orbitály vazebnými obsazenými a antivazebnými vicinálními neobsazenými. Problémem je, že lokalizované vazebné orbitály pochází z delokalizované vlnové funkce a tedy funkce neoptimální.

Konformační analýzy jsou prováděny metodami molekulární mechaniky (např. MM3, MMX, MMFF, Amber, atd.) a semi-empirickými metodami (AM1, PM3 a MINDO). Tyto kalkulace jsou přiměřeně jednoduché a na standardních počítačích není výpočetní čas dlouhý. Získané výsledky jsou relativně přesné alespoň pro výpočty konformací základních stavů. Pro výpočty transičních stavů jsou tyto metody limitovány. Obvykle jsou interkonverzní bariéry počítány pohybem určitých částí molekuly ve fixovaných krocích a optimalizuje se zbylá část. Na druhou stranu ručně vytvářené transiční stavy jsou nepravé a geometrie je v nich optimalizována v mezích určitých definovaných torzí. Jako výsledek těchto aproximací jsou vypočtené bariéry náchylné k relativně velkým chybám a bez jakékoli garance nalezení skutečného tranzitního stavu.

Po umožnění aplikace metod *ab initio* na středně velké molekuly se výsledky značně zlepšily i přes vážnou limitaci spočívající v korelaci překryvu elektronů, částečně řešitelnou jen zahrnutím metod o vyšší úrovni teorie jako MP2.^[22]

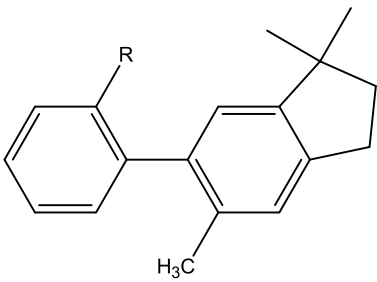
2.3 Rotační bariéry

Rotační bariéry závisí na povaze, pozici a počtu substituentů. Nesubstituovaný bifenyl má rotační bariéru 8,36 kJ/mol. Vzrůstající objemnost substituentů v *ortho* poloze znamená vzrůstající konformační stabilitu, což je výsledkem působení sterických interakcí při koplánárním transičním stavu. Většina tetra-*ortho*-substituovaných biarylů má rotační bariéry dostatečně vysoké, aby předešly racemizaci při pokojové teplotě. Atropisomerické tri-*ortho*-substituované biaryly racemizují při pokojové teplotě častěji a di-*ortho*-substituovaný bifenyl může zůstat stabilní pouze tehdy, pokud jsou oba jeho substituenty dostatečně velké, tvoří-li bariéry vyšší jak 92 kJ/mol, tyto rotační bariéry jsou za pokojové teploty nepřekonatelné^[23]. Vliv halogenovaných substituentů na rotační bariéru bifenyly spočtenou pomocí B3LYP6-311 +G* je ilustrován pro mono- a di-*ortho*-substituované bifenyly. Podle očekávání bylo zjištěno, že rotační bariéry rostou od nejmenšího po největší halogen.

Struktura	E bariéry rotace [kJ/mol]	Struktura	E bariéry rotace [kJ/mol]
	9,20		
	12,54		20,06
	31,77		73,57
	35,98		83,60

Tabulka 1: Hodnoty energií rotačních bariér u *ortho* a *ortho, ortho'* substituovaných bifenyliů ^[24]

Dále bylo provedeno určení rotačních bariér pro množství *ortho*-substituovaných 6-aryl-1,1,5-trimethylindanů pomocí dynamické NMR spektroskopie. Tyto výsledky nabízejí možnost odhadnout rotační bariéry 2,2'-disubstituovaných bifenyliů. Výsledky výpočtů spočtených metodou B3LYP6-311 +G* jsou relativně dobře reprodukovatelné, což bylo dokázáno srovnáním experimentálních a předpovědaných bariér. Vliv trifluoromethylové skupiny na rotační bariéry je jasný z hodnot v následující tabulce. Rotační bariéra vytvořená trifluoromethylovým substituentem je o něco málo menší než bariéra, kterou způsobí isopropyl. ^[25] Je ale také nutno zvážit, že trifluoromethylová skupina je rotačně symetrická kolem osy vazby C-C, což neplatí o isopropylové skupině. Při planárním transičním stavu bifenyliu může být isopropylová skupina orientována v příznivější poloze, s objemnou methylovou skupinou odvrácenou od *ortho*-pozice. To znamená, že pokud jde o „skutečnou velikost“, pak je anisotropní isopropylová skupina pouze o málo větší než isotropaní trifluoromethylová skupina, i když zaujímá větší objem. Tudiž ji lze přirovnat k objemu ethylové skupiny, nikoli však k jejímu tvaru. ^[26] Nicméně elektronické příspěvky *ortho* substituentů nejsou zanedbatelné, což se projeví u fluorovaných bifenyliů. Ze zjištěných poznatků bylo vyvozeno, že fluor se projevuje jako malý substituent s rotační bariérou blízkou se nesubstituovaným derivátům a to nejen pro bifenyly, ale i u rotačních bariér *ortho, ortho'*-kumenů a 4,5-disubstituovaných 9,10-dihydrofenanthrenů.



R	Velikost bariéry [kJ/mol]
H	44,31
F	59,36
Cl	78,58
Br	82,76
I	86,11
OCH ₃	66,88
CH ₃	80,67
CF ₃	91,54
CH(CH ₃) ₂	92,80
C ₆ H ₅	73,57

Tabulka 2: Hodnoty rotačních bariér pro *ortho*-substituované 6-aryl-1,1,5-trimethylindany ^[27]

Vliv *meta* substituentů u bifenyliů na rotační bariéry je menší než u *ortho* substituentů. Některé substituenty mohou interagovat mezi sebou, ale tento vliv na rotační bariéry je zanedbatelný. Je však známo že určité *meta* substituenty vytvářejí dostatečný „stabilizující efekt“ tím, že brání ohýbání *ortho* substituentů vně. *Para* substituenty ovlivňují rotační bariéry bifenyliů hlavně elektronovými efekty. Rezonanční efekt, který stabilizuje planární transitní stav zvýšením konjugačního efektu je očekáván při kombinaci elektrondonorní skupina na jednom kruhu s elektroakceptorní skupinou na kruhu druhém. Elektrondonorní skupiny zvyšují elektronovou hustotou na příslušném uhlíkovém atomu centrální vazby a tím podporují změnu geometrie molekuly mimo běžný transitní stav. Oba efekty snižují rotační bariéry. ^[28]

3 VÝPOČETNÍ METODY V CHEMII

Žádná z výpočetních metod není univerzálně použitelná pro řešení daných problematik. Nejlepší přístup k jednotlivým problémům je kombinace různých metod k vytěžení maximálních výhod každé z nich. Pro veškeré kalkulace byl použit software, který je komerčním vědeckým produktem, SPARTAN (Wawefunction, Inc.), a který nabízí velké množství výpočetních metod od molekulární mechaniky, přes semi-empirické metody, až po metody Hartree-Fock a Density functional. SPARTAN je velmi vhodný nejen pro chemiky zabývajícími se výpočetní chemií, ale také pro experimentální chemiky s malými nebo neprioritními zkušenostmi s výpočetní problematikou, kterým umožňuje efektivně využívat výsledky výpočtů stejně jako třeba spektra z NMR.

3.1 *Ab initio* výpočty

Výpočty *ab initio* zahrnující Hartree-Fock (HF), MP2 (neboli Møller-Plessetova perturbanční teorie) vedou zpátky ke Schroedingerově rovnici (rce. 1). Tyto metody používají jako vstup jen některé fyzikální konstanty a velmi důležitým problémem je výběr vhodných základních funkcí atomových orbitalů. Ve výpočtech *ab initio* se z praktických důvodů používají atomové báze Gaussových funkcí, ve kterých jsou radiální funkce podobné Slaterovým determinantům. Gaussovy radiální funkce s rostoucí vzdáleností elektronů od jádra prudce klesají k nule a mají zaobalený tvar pro r blízký se k nule. I přes tyto nedostatky je při jejich použití integrace během molekulárních výpočtů mnohem jednodušší. Tyto funkce jsou definovány takovým způsobem, aby odpovídaly obvyklé symetrii vodíkových atomových orbitalů. Nevýhoda těchto funkcí (nepřítomnost ostrého hrotu křivky v blízkosti počátku a rychlý pokles s rostoucí vzdáleností) je korigována zavedením lineární kombinace Gaussových funkcí s konstantními koeficienty.

Bohužel mnohalelektronová Schroedingerova rovnice nemůže být řešena přesně ani pro nejjednodušší mnohalelektronové systémy. Pro poskytnutí kvalitních výsledků musí být do praktických výpočetních metod zahrnuta aproximace.

$$\hat{H}\Psi = E\Psi$$

Rovnice 1

3.1.1 Born-Oppenheimerova aproximace

Předpokládáním nehybnosti jader atomů byla Schroedingerova rovnice pro multiatomové systémy zjednodušena. Tento přístup se nazývá Born-Oppenheimerova aproximace a přenáší Schroedingerovu rovnici do elektronické formy (rce. 2). Term popisující kinetickou energii jádra je potom nulový, Hamiltonián je pak zjednodušený (rce. 3) a Coulombické interakce mezi jádry jsou konstantní. Celková energie systému se skládá z celkové energie elektronu a interjaderných interakcí Coulombických termů (rce. 4).

$$\hat{H}^{el}\Psi^{el} = E^{el}\Psi^{el}$$

Rovnice 2

$$\hat{H}^{el} = \frac{-\hbar^2}{8\pi^2m} \sum_a^{elektronů} \nabla_a^2 - e^2 \sum_A^{jader} \sum_a^{elektronů} \frac{Z_A}{r_{Aa}} + e^2 \sum_a^{elektronů} \sum_b^{elektronů} \frac{l}{r_{ab}}$$

Rovnice 3

$$E = E^{el} + \sum_A^{jader} \frac{Z_A Z_B}{R_{AB}}$$

Rovnice 4

Ani tato aproximace Schroedingerovy rovnice není řešitelná pro více než samotné elektrony.

3.1.2 Hartree-Fock

Hartree-Fockova aproximace (jednoduchý determinant vlnové funkce) zahrnuje jednoduchý determinant produktů jednoelektronové funkce nazývané spin orbital. Každý spin orbital je popsán jako produkt prostorové části Ψ která je funkcí koordinát samotného elektronu, používá se jako molekulární orbital a je jednou z dvou možných spinových částí α nebo β .

Hartree-Fockova aproximace vede k souboru propojených diferenciálních rovnic, každá pro jeden elektron. Jednoelektronové řešení pro mnohoelektronové molekuly vypadá jako řešení pro atom vodíku. Molekulární orbitály jsou vyjádřeny (rce. 5) jako lineární kombinace omezeného souboru předepsaných funkcí (nazývané též základní funkce). Základní funkce jsou obvykle centrovány do pozic jádra, jsou vyjádřeny jako atomové

orbitaly a molekulární orbitaly jsou vyjádřeny jako Lineární kombinace atomových orbitalů (LCAO aproximace).^[29]

$$\psi_i = \sum_{\mu}^{\text{základních funkcí}} c_{\mu i} \phi_{\mu}$$

kde c je koeficient molekulového orbitalu

Rovnice 5

Hartree-Fockova a LCAO aproximace aplikované do elektronické Schroedingerovi rovnice vedou k Roothaan-Hallově rovnici (rce. 6).

$$\sum_{\nu}^{\text{základní funkce}} (F_{\mu\nu} - \varepsilon_i S_{\mu\nu}) c_{\nu i} = 0$$

Rovnice 6

kde ε je energie orbitalů, S je překryvná matrice a F je Fockova matrice.

K dosažení maximální přesnosti (tzv. Hartree-Fockově limity) této rovnice je nutné aby počet základních funkcí byl roven nekonečnu, ale protože není možné dosáhnout výkonu, který by počítačům umožnil řešit matice o takové velikosti, je výběr základních funkcí kompromisem mezi přesností a efektivností. V závislosti na velikosti struktury a dostupné počítačové techniky se výběr těchto základů liší:

Minimální báze poskytuje pouze jednu smlouvanou Gaussovu funkci pro každý obsazený atomový orbital v limitě základního stavu oddělených atomů počítané molekuly. Velmi často používanou bází je STO-3G kde je každý atomový orbital minimální báze sestaven kontrakcí 3 Gaussových funkcí. Např. fluorovodík má báze STO-3G počet základních funkcí (m) roven 6 – atomové orbitaly $1s$, $2s$, $2p_x$, $2p_y$ a $2p_z$ na fluoru a $1s$ pro vodík.

Multiple-zeta báze se od minimální báze liší tím, že se k popisu atomového orbitalu používá ne jedna, ale dvě nebo více kontrahovaných funkcí. Např. báze double-zeta obsahuje dvakrát víc základních funkcí, triple-zeta třikrát víc. Větším počtem základních funkcí je zlepšena flexibilita této báze, což způsobuje mnohem přesnější opis počítaných elektronových struktur molekul. Vzhledem k tvorbě chemické vazby mají elektrony vnitřních elektronových obalů jen velmi malou možnost ovlivnit tuto skutečnost, není třeba používat postup multiple-zeta při opisu jejich atomových orbitalů. Vhodné je však použít

tzv. split valence báze, což znamená, že každý orbital elektronů vnitřních elektronových obalů se stává z jedné kontrahované Gaussovy funkce. Funkce double-zeta se použijí pro každý atomový valenční orbital. Příkladem je báze 6-31G, která používá kontrakci šesti různých Gaussových funkcí pro atomové orbitály elektronů vnitřních obalů a valenční orbitály jsou popsány kontrahovanými funkcemi složenými ze tří a jedné Gaussovy funkce. Např. pro molekulu HF má báze 6-31G počet základních funkcí $m = 11$ a to pro atomové orbitály $1s, 2s, 2s', 2p_x, 2p'_x, 2p_y, 2p'_y, 2p_z$ a $2p'_z$ na fluoru a $1s, 1s'$ pro vodík.

Báze s polarizačními funkcemi se liší od bází multiple-zeta přidáním funkcí i pro atomové orbitály s vyšším vedlejším kvantovým číslem l než jaké se nacházejí v konfiguraci základního stavu. Označení polarizační funkce je použito, protože umožňuje popis efektu nábojové polarizace vyvolané intramolekulárními elektrickými poli. Jedna z nejjednodušších bází je báze 6-31G*. Tato báze přidává k rozštěpené bázi 6-31G dalších 6 primitivních Gaussových d-funkcí. Jedná se o funkce $d_{xx}, d_{yy}, d_{zz}, d_{xy}, d_{xz}$ a d_{yz} . Tudiž pro molekulu fluorovodíku v bázi 6-31G* se počet základních funkcí rovná číslu 17: atomové orbitály $1s, 2s, 2s', 2p_x, 2p'_x, 2p_y, 2p'_y, 2p_z$ a $2p'_z$ a přidané funkce pro orbitály s vyšším vedlejším kvantovým číslem $d_{xx}, d_{yy}, d_{zz}, d_{xy}, d_{xz}$ a d_{yz} na fluoru a $1s, 1s'$ pro vodík.

Vzhledem k tomu, že počet dvouelektronových integrálů roste úměrně s počtem základních funkcí m^4 , používání bází s polarizačními funkcemi pro molekuly s 15-20 těžkými atomy (atomy těžší než vodík, nebo helium) si vyžaduje značné úsilí.^[30]

Celková Hartree-Fockova energie je dána:

$$E^{HF} = E^{atomu} + E^{jádra} + E^{Coulombická} + E^{výměny}$$

Rovnice 7

Korelační energie je definována jako rozdíl mezi vypočítanou energií pomocí Hartree-Focka a experimentální energií. Elektronová korelace zahrnuje počet kombinací elektronových pohybů, takže energie odpudivých sil interakce elektron-elektron i celková energie je snížena, čímž se kalkulace přibližují experimentálním hodnotám. Mezi nejvíce využívané korelační metody patří modely density functional a model MP2.

3.1.3 Modely Møller-Plesset

Møller-Plesset model vznikl zahrnutím směsí základních stavů vlnových funkcí (HF) s excitovanými stavy funkcí. Model Møller-Plesset zahrnuje do výpočtů implicitní i

explicitní zvýšení stavů elektronů z obsazených molekulárních orbitalů vlnové funkce HF na neobsazené molekulární orbitály, které poskytují zlepšení HF modelů. Nejjednodušší model zahrnující druhý typ MP energie (HF energie je prvním typem energie) je nazýván MP2.^[31]

3.2 Semi-empirické metody

Omezení počítačových výpočtů tkví v počítání velkého množství elektronů. I přes to, že rychlost počítačů a jejich paměti se značně zvětšila, stejně tak jak byly vytvořeny efektivnější algoritmy, nejsou metody *ab initio* pro struktury s velkým počtem atomů vždy úplně vhodné. Semi-empirické metody jsou velmi rychlé, a proto jsou rutinně aplikované na větší systémy, což zapříčiňuje, že elektronické strukturní kalkulace jsou vhodné pro velké množství molekul. *Ab initio* metody reprezentují mnohem více teoretický způsob řešení problému. Jedno z omezení semi-empirických metod kromě aproximace spojené s jejich formulací je přesnost experimentálních dat použitých k definování mezí.

Semi-empirické metody redukují velikost problému omezením vlivu valenčních elektronů. Struktura vnitřních elektronů se poté stává částí fixovaného jádra a základní soubor je omezen na minimální reprezentaci. Pro hlavní skupiny elementů obsahují jednoduché funkce typu *s* a soubor funkcí typu *p*. například pro prvky první řady $2s$, $2p_x$, $2p_y$, $2p_z$. Pro přechodné kovy obsahují soubor funkcí *d*, *s* a *p*, například $3d_x^2-y^2$, $3d_z^2$, $3d_{xy}$, $3d_{xz}$, $3d_{yz}$, $4s$, $4p_x$, $4p_y$, $4p_z$ a to pro přechodné kovy první řady. Vodík je reprezentován jednoduchou $1s$ funkcí. Centrální aproximace redukující výpočet je podmíněna osídlením atomových orbitalů tak, že se na různých centrech atomů nepřekrývají (rce. 8). Tím redukuje počet elektron-elektron interakčních termů v Roothan-Hallově rovnici.

$$\int \phi_\mu \phi_\nu d\tau = 0$$

Kde ϕ_μ a ϕ_ν nejsou na stejném atomu

Rovnice 8

Doplňkové aproximace ke zjednodušení celkových výpočtů, poskytující kostru pro zapojení empirických parametrů. Semi-empirické parametrizace jsou založeny na reprodukci velkého množství experimentálních dat zahrnujících rovnovážné geometrie, slučovací teplo, dipólové momenty a ionizační potenciály. Parametry pro metodu PM3 (Parametric Method Number 3) pro přechodné kovy jsou založeny pouze na rovnovážných geometriích. Metody AM1 (Austin Model 1) a PM3 používají stejné aproximace, ale různé

se v jejich parametrizaci. PM3 byla vytvořena, aby poskytovala lepší informace o nitro sloučeninách a hypervalentních molekulách, zatímco AM1 pro systémy s volnými elektronovými páry na sousedních atomech. ^[32]

3.3 Metody density functional (DFT)

Tyto metody jsou cennou alternativou k metodám *ab initio*. Jsou stejně jako metody *ab initio* založeny na bezparametrové teorii, což znamená, že vychází z prvotních principů. Využívají modely elektronové struktury SCF zprůměrovaného pole, ale rozdílným způsobem než metody *ab initio*, protože řeší problém korelace elektronů. Tyto předpoklady spolu s aproximativním výrazem pro výměnný operátor vedou k novému souboru jedoelektronových rovnic, což znamená podstatné snížení nároků na počítačový čas v porovnání např. s metodami Hartree-Fock. Což je předpokladem použití pro výpočty velkých systému. ^[30] Vlastní základ těchto metod je na Hohenberg-Kohnově teorému, který tvrdí, že minimální energie elektronového systému je typickou funkcí elektronové hustoty. ^[27] Energie podle DFT (rce. 9) zahrnuje stejné termy jako HF energie pouze výměna energie podle HF je nahrazena výměnou funkčních korelací. $E^{XC}(P)$.

$$E^{DFT} = E^{atomová} + E^{jádra} + E^{Coulombická} + E^{XC}(P)$$

Rovnice 9

Elektronová hustota je ve většině systémů neuniformní, proto jsou modely obvykle zkvalitněny zavedením explicitních závislostí na gradientu elektronové hustoty kromě hustoty samé. Kromě nejpopulárnějších modelů existují modely jako BP (Becke, Perdew) a BLYP (Becke, Lee, Yang, Parr). Kombinací dvou výměnných funkcí (HF a density functionals) a přidáním funkčních korelací vedou k jiné třídě DFT modelů s parametry zavedenými tak, aby vyvážily výměnu dvou částí. Častěji používaný model je BLYP, kde jsou 3 parametry. ^[30]

4 VÝPOČETNÍ METODY STUDIA ROTAČNÍCH BARIÉR

Kvantově chemické kalkulace, obzvláště Hartree-Fock kalkulace molekulových orbitalů, kalkulace density functional a MP2 kalkulace byly vytvořeny k získání dat pro parametrizaci funkcí empirické energie, pro použití v molekulárně mechanických anebo molekulárně dynamických výpočtech. Nejdůležitější jsou data vztahující se k torzním silám, pro které jsou experimentální data velmi vzácná. Funkce empirické energie musí odpovídat základní periodicitě. Vhodná volba je zkrácená Fourierova řada (rce. 10).

$$E^{\text{torze}}(\omega) = k^{\text{torze1}}(1 - \cos(\omega - \omega^{\text{eq}})) + k^{\text{torze2}}(1 - \cos 2(\omega - \omega^{\text{eq}})) + k^{\text{torze3}}(1 - \cos 3(\omega - \omega^{\text{eq}}))$$

Rovnice 10

Kde: ω^{eq} je ideální dihedrální úhel a k^{torze1} , k^{torze2} a k^{torze3} jsou parametry. První (jednosložkový) term je počítán pro rozdíl energií mezi syn- a anti- konformery, druhý (dvousložkový) term pro rozdíl energií planárního a kolmého konformeru a třetí (třísložkový) term pro rozdíl energií mezi zákrytovým a nezákrytovým konformerem. ^[33]

4.1 Výběr metod

Program SPARTAN nabízí několik druhů metod kalkulací, je na uživateli aby si vybral tu nejvhodnější. Kritéria pro výběr jsou velikost molekuly, dostupný hardware a čas.

4.1.1 Model molekulární mechaniky

Tento model je použitelný pro kalkulace rovnovážných geometrií, energií pnutí, vibračních frekvencí a konformačního hledání. Jsou možné výpočty silových polí pomocí SYBYL (Tripos, Inc.) a MMFF (Merck Pharmaceuticals). Struktury jsou nedotčeny. Pro modely molekulární mechaniky není žádná limitace počtu atomů.

4.1.2 Semi-empirický model

Semi-empirický modul je možné použít pro kalkulace slučovacích tepel, vlnových funkcí, rovnovážných geometrií a geometrií transitních stavů, vibračních frekvencí i konformačního hledání. Podporovány jsou modely MNDO, AM1, RM1 a PM3. MNDO je pro těžké prvky (prvky druhé a dalších řad periodické tabulky) nahrazeno MNDO/d. PM3

je možné použít i pro přechodné kovy. Maximální počet atomů, které lze těmito metodami počítat je 300.

4.1.3 Hartree-Fock modely

Pomocí těchto modelů je možné počítat energie, vlnové funkce, geometrie transitních stavů, vibrační frekvence a také konformační hledání. Oba druhy výpočtů closed-shell a open-shell jsou podporovány minimální (STO-3G), split-valence (3-21G) a polarizační (6-31G*, 6-311G*, atd.) bází doplněnou o přídatnou polarizaci anebo difúzní funkci. Použití duálních bází je umožněno pouze pro výpočty energií. Je možné používat pseudopotenciály pro kalkulace molekul obsahujících těžké atomy. Maximální počet atomů pro tuto metodu je 200 a maximální počet základních funkcí je 2000.

4.1.4 Modely Møller-Plesset

Tyto výpočty nabízí stejné možnosti jako Hartree-Fock ale pomocí metod MP2, nebo RI-MP2. Vibrační frekvence je možné počítat oběma metodami. Nejsou prováděny analyticky, ale spíše zahrnují numerickou diferenciaci analytických gradientů. Báze jsou stejné jako u Hartree-Fock, stejně jako pseudopotenciál, ale báze STO-3G a 3-21G nejsou doporučovány. Použití duálních bází je stejně jako u Hartree-Fock možné pouze pro výpočty energií. Maximální počet atomu u těchto kalkulací je 200 a maximální počet základních funkcí je 2000.

4.1.5 Modely excitovaných stavů

Program SPARTAN nabízí dva druhy modelů použitelných pro kalkulace excitovaných stavů jsou to konfiguračně interakční modely (CI) a časově závislé density functional modely (TDDFT). Dříve byly používány dva modely CIS (konfigurační interakce pro jedinou molekulu) a CISD (konfigurační interakce jediné molekuly s dvojitou korekcí). Model CISD podporoval modely density functional jako je BP, BLYP, EDF1 a B3LYP. V současné době je pro optimalizaci geometrie a výpočty frekvencí možno použít pouze model CIS, všechny ostatní umožňují výpočty pouze energie single-point. K dispozici jsou stejné báze a pseudopotenciály jako pro výpočty základních stavů. Dvojitá báze není možné těmito metodami počítat. Limity jsou stejné jako u předchozích 2 modelů, tudíž maximální počet atomů je 200 a maximální počet základních funkcí je 2000.

4.1.6 Použití metod pro výpočty rotačních bariér

Teoreticky je možné pro výpočty rotačních bariér použít jakoukoli metodu. Jejich omezení ohledně počtů elektronů a základních funkcí, které lze danou metodou počítat byla vypsána již dříve. Je na uživateli, aby si zvolil úroveň teorie, kterou bude chtít použít. Čím vyšší úroveň teorie je použita, tím přesnější by měly být výsledky výpočtů. Na druhou stranu je tato volba omezena časovou náročností, která s úrovní teorie roste exponenciálně.

II. PRAKTICKÁ ČÁST

5 STANOVENÍ CÍLŮ

5.1 Cíle práce

Základním cílem této práce bylo vyhodnotit a na základě dostupných dat predikovat možnost rotace 1-adamantylmethylového substituentu na chinolinovém skeletu vybraných látek, neboli jak velký substituent ještě umožní volnou rotaci 1-adamantylmethylového substituentu. Impulsem této práce byl článek Z. Kozubkové^[15], ze kterého byly vybrány dvě molekuly, které byly použity jako základní (referenční), a kterým byly navrženy dosud nesyntetizované (hypotetické) analogy s různými, potenciálně zajímavými, substituenty. Molekuly, vzaté jako základní, byly podrobně charakterizovány v teoretické části práce.

Pro postup práce byly stanoveny následující dílčí cíle:

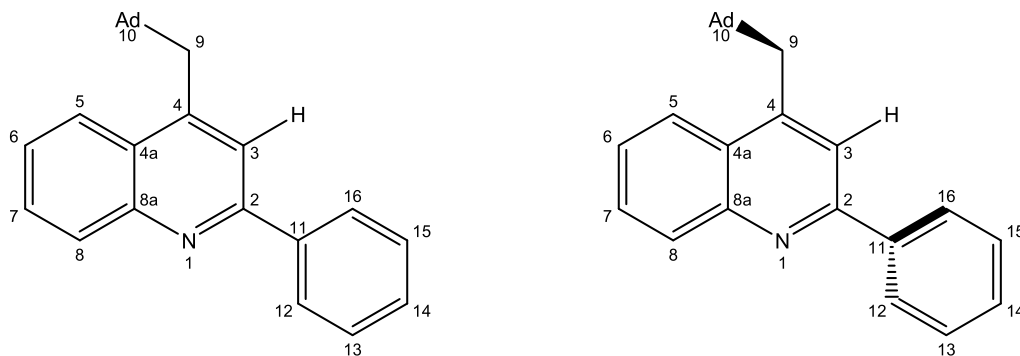
- Provedení rešerše, zejména podrobná studie článku Z. Kozubkové
- Teoretická příprava na práci s kvantově chemickými výpočty
- Prostudování si manuálu k programu SPARTAN
- Volba výpočetní metody
- Optimalizace geometrií základních (referenčních) molekul
- Výpočet rotačních bariér základních (referenčních) molekul
- Porovnání vypočtených výsledků s experimentálními daty k základním molekulám
- Výběr struktur (nových molekul) pro výpočetní studii a predikci rotačních bariér
- Optimalizace nových molekul a výpočty jejich rotačních bariér
- Zhodnocení výstupních dat a predikce rotačních bariér nových molekul, resp. vyvození předpokladů o vlivu zvolených substituentů na existenci či neexistenci atropisomerů příslušných látek.

5.2 Struktury referenčních a nově zkoumaných molekul

Studované struktury byly číslovány tak, aby základní motiv odpovídal standardně zavedeným pravidlům. Orientace substituentů v prostoru, tedy poloha dopředu, nebo dozadu byla vztažena na rovinu chinolinového skeletu s benzenovým jádrem chinolinu vlevo a fenylovým, nebo dihydroakridinovým substituentem vpravo. Poloha dopředu je při takové geometrii substituentu, kdy tento substituent směřuje před rovinu chinolinového systému, tedy směrem ke čtenáři. Poloha dozadu je pro takovou

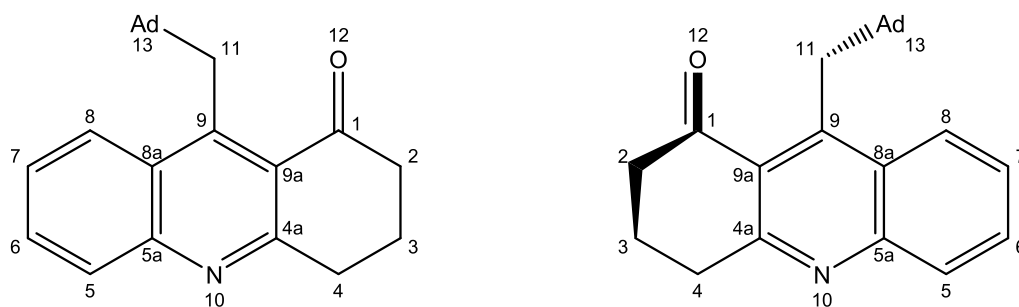
geometrii substituentu, při které substituent směřuje od roviny chinolinového skeletu dozadu, tedy od čtenáře.

Struktura I



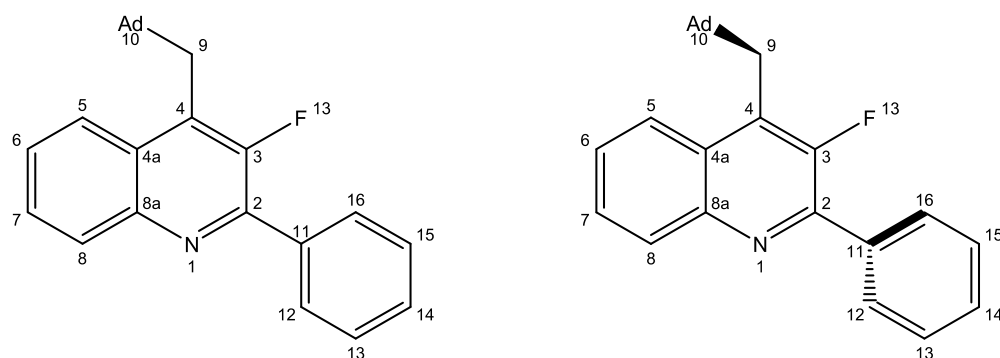
Obrázek 11: Struktura I (vlevo obecně, vpravo po optimalizaci)

Struktura II



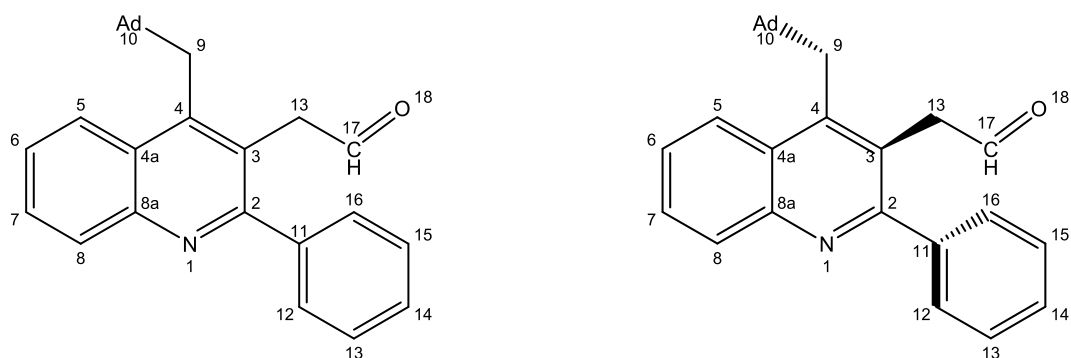
Obrázek 12: Struktura II (vlevo obecně, vpravo po optimalizaci)

Struktura III



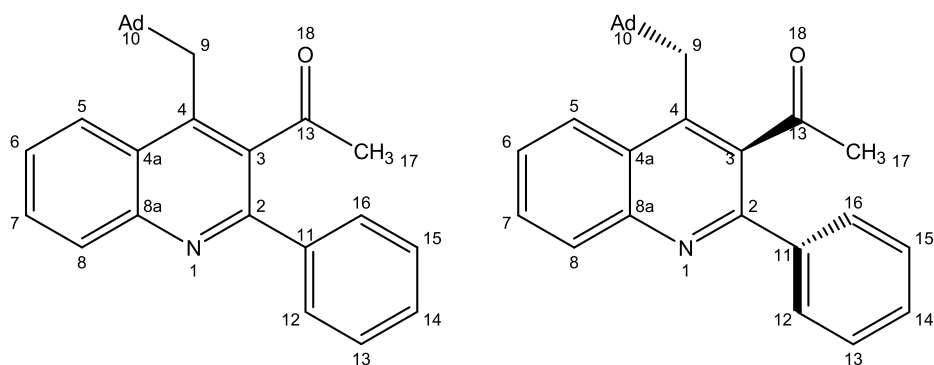
Obrázek 13: Struktura III (vlevo obecně, vpravo po optimalizaci)

Struktura IV



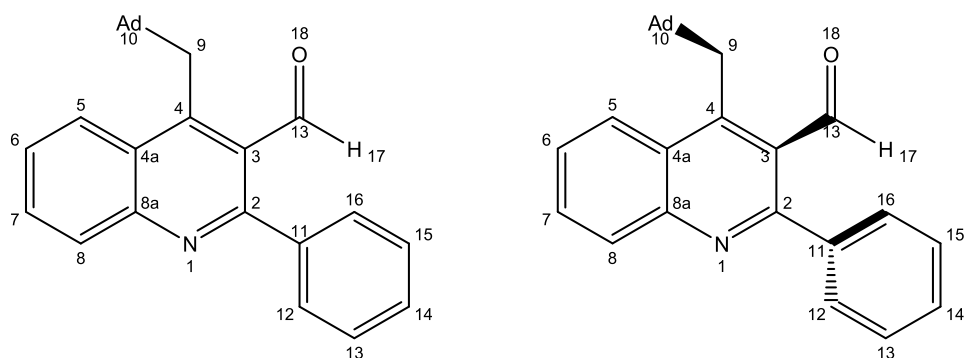
Obrázek 14: Struktura IV (vlevo obecně, vpravo po optimalizaci)

Struktura V



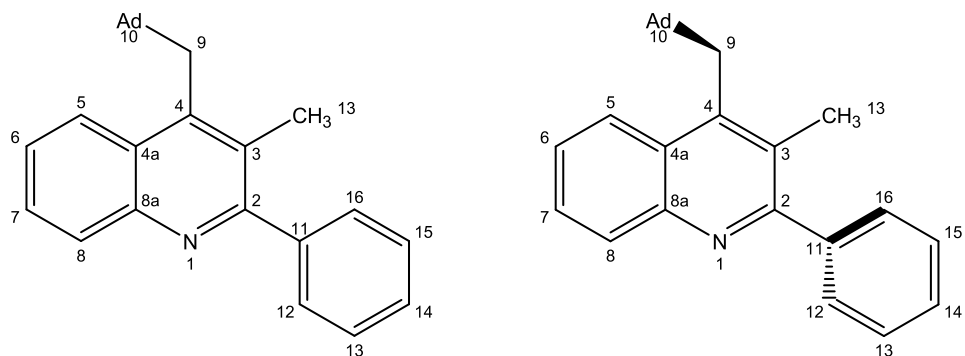
Obrázek 15: Struktura V (vlevo obecně, vpravo po optimalizaci)

Struktura VI



Obrázek 16: Struktura VI (vlevo obecně, vpravo po optimalizaci)

Struktura VII



Obrázek 17: Struktura VII (vlevo obecně, vpravo po optimalizaci)

6 METODIKA

6.1 Východiska pro volbu výpočetní metody

Jako základní struktury byly použity molekuly z článku Z. Kozubkové (viz. výše). Bylo proto třeba zvolit takové metody, které v daném časovém horizontu, za použití dostupné techniky umožňují co nejpřesnější určení této rotace a její energetické náročnosti.

Daný časový horizont byl jasně dán časovým obdobím mezi zadáním a odevzdáním diplomové práce.

Technika použitá k výpočtům byl počítač Intel® Core™ 2 cpu 6600 @ 2,40 GHz, 2,00 GB RAM se softwarem Windows XP Professional 2003 (Service pack 2), takže výpočty používající vyšší stupeň teorie trvaly déle, což bylo jistým omezením.

6.2 Volba metody pro optimalizaci výchozí geometrie struktur

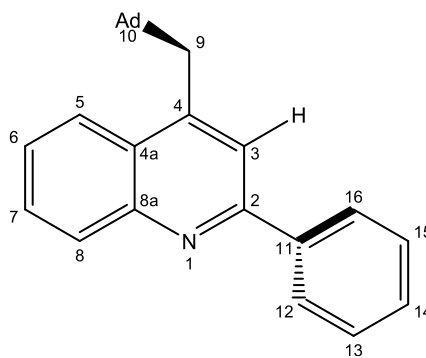
Molekuly byly vytvořeny pomocí programu ChemDraw Ultra 7.0 a převedeny do 3D. Při optimalizaci geometrie bylo vycházeno z RTG difrakčních analýz struktur z článku Z. Kozubkové. Tyto struktury byly v software SPARTAN 06 (Wavefunction, Inc., USA) optimalizovány několika metodami. Výsledky, umožňující porovnání relevance jednotlivých metod pro struktury I a II, pro které jsou dostupná experimentální data, jsou shrnuty v tabulce 3. Nejdříve byla optimalizace provedena pomocí MMFF metody. Ta neodpovídala poznatkům z krystalografické analýzy, proto byly geometrie molekul počítány metodou PM3. Tato metoda byla pro optimalizaci struktury II srovnatelná s výsledky z RTG difrakční analýzy, a proto byly takto optimalizovaná struktury použity pro následující výpočty. Dále byly struktury podrobeny optimalizací metodou Hartree-Fock s bázi 6-31G*, takto optimalizovaná struktura I měla srovnatelné parametry s RTG difrakční analýzou, a proto byla k následným výpočtům použita. Následná volba metody optimalizace výchozí geometrie struktur závisela na podobnosti optimalizovaných struktur. Vzhledem k tomu, že další struktury (III až VII) měly stejně jako struktura I v poloze C2 fenylový substituent a lišily se od struktury I pouze substituentem v poloze C3, byla pro jejich optimalizace použita metoda Hartree-Fock 6-31G*. Vlastní optimalizace výchozí geometrie byla provedena výpočtem EQUILIBRUM ENERGY za použití HF a vybrané báze 6-31G*.

Struktura I		Metoda			
Torzní úhel [°]		MMFF	PM3	HF 6-31G*	RTG
3; 2; 11; 16		33,50	45,47	29,39	27,70
3; 2; 11; 12		146,94	134,59	151,13	152,60
Vzdálenost atomů [Å]					
4; 15		5,819	5,703	5,726	5,724
1; 13		4,238	4,320	4,202	4,190
10; 4		2,623	2,565	2,630	2,583
Struktura II					
Torzní úhel [°]		MMFF	PM3	HF 6-31G*	RTG
9; 9a; 1; 2		165,38	149,04	161,97	148,89
10; 4a; 4; 3		157,83	164,62	158,10	174,63
Vzdálenost atomů [Å]					
9; 2		3,905	3,787	3,858	3,799
10; 3		3,694	3,721	3,672	3,738
13; 9		2,641	2,562	2,635	2,581

Tabulka 3: Srovnání vypočtených hodnot s hodnotami z RTG difrakční analýzy, změřeno software Mercury 2.2, CCDC

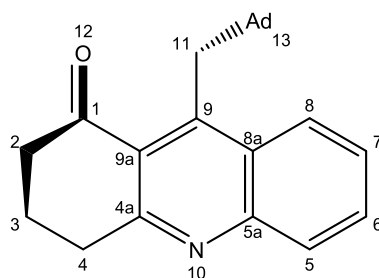
6.3 Optimalizované geometrie struktur I až VII

Struktura I



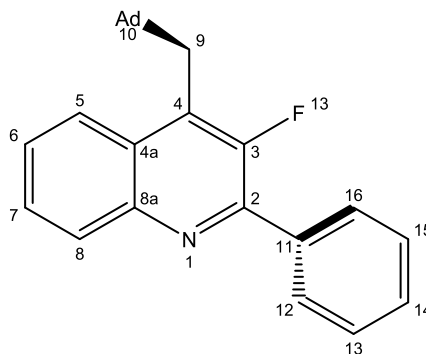
Obrázek 18: Stereochemie struktury I po optimalizaci metodou HF, 6-31G*

Struktura II



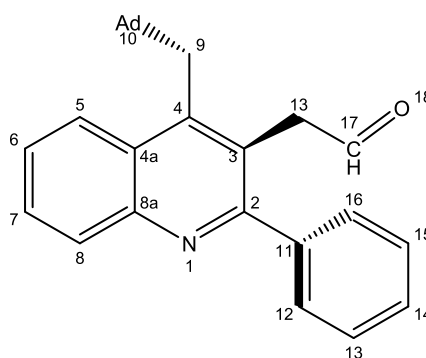
Obrázek 19: Stereochemie struktury II
po optimalizaci metodou PM3

Struktura III



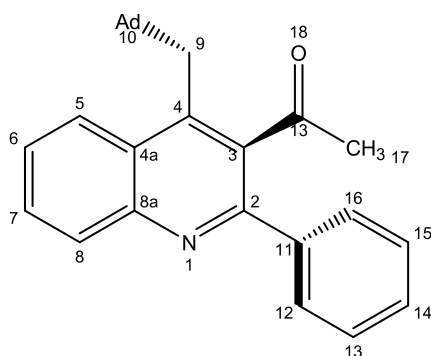
Obrázek 20: Stereochemie struktury III
po optimalizaci metodou HF, 6-31G*

Struktura IV



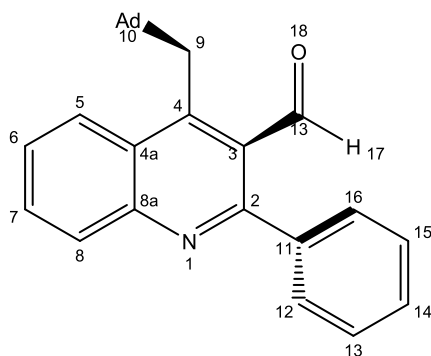
Obrázek 21: Stereochemie struktury IV
po optimalizaci metodou HF, 6-31G*

Struktura V



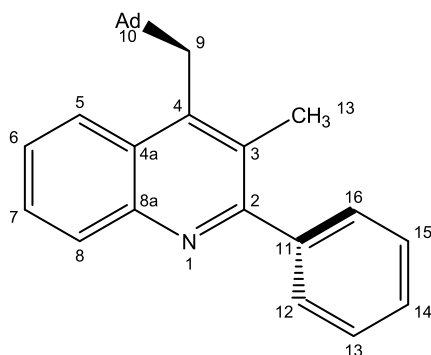
Obrázek 22: Stereochemie struktury V
po optimalizaci metodou HF, 6-31G*

Struktura VI



Obrázek 23: Stereochemie struktury VI
po optimalizaci metodou HF, 6-31G*

Struktura VII



Obrázek 24: Stereochemie struktury VII
po optimalizaci metodou HF, 6-31G*

Struktura III	Metoda	Struktura VI	Metoda
Torzni úhel [°]	HF 6-31G*	Torzni úhel [°]	HF 6-31G*
3; 2; 11; 16	37,38	3; 2; 11; 16	-29,64
3; 2; 11; 12	144,90	3; 2; 11; 12	150,78
Vzdálenost atomů [Å]		Vzdálenost atomů [Å]	
4; 15	5,798	4; 15	5,808
1; 13	4,198	1; 13	4,075
10; 4	2,630	10; 4	2,590
Struktura IV	Metoda	Struktura VII	Metoda
Torzni úhel [°]	HF 6-31G*	Torzni úhel [°]	HF 6-31G*
3; 2; 11; 16	-74,97	3; 2; 11; 16	29,39
3; 2; 11; 12	104,33	3; 2; 11; 12	-151,13
Vzdálenost atomů [Å]		Vzdálenost atomů [Å]	
4; 15	5,878	4; 15	5,726
1; 13	4,217	1; 13	4,202
10; 4	2,687	10; 4	2,630
Struktura V	Metoda		
Torzni úhel [°]	HF 6-31G*		
3; 2; 11; 16	-78,38		
3; 2; 11; 12	100,15		
Vzdálenost atomů [Å]			
4; 15	5,941		
1; 13	4,210		
10; 4	2,637		

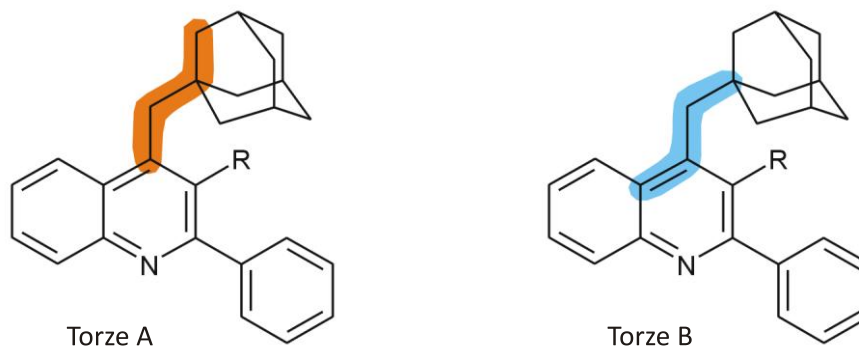
Tabulka 4: Torzní úhly a vzdálenosti optimalizovaných struktur změřených pomocí software Mercury 2.2, CCDC

6.4 Výpočty rotačních bariér

Po vytvoření modelové struktury v grafickém rozhraní SW a optimalizaci její minimální energie byly struktury připraveny pro další výpočty. Bylo nutné upravit dihedrální úhly molekul tak, aby bylo možné provést co nejpřesnější monitoring energií struktur během otáčení 1-adamantylmethyl substituentu.

Velikost úhlů torze A se pohybovala v rozmezí od 0 do 180°, kroky byly po 10°, tak, že pro první počítanou strukturu byla tato torze 0°, pro druhou 10°, atd. Torze B byla definována od 0° do 360° a krok byl po 5°, takže otáčení 1-adamantylmethyl substituentu během výpočtu bylo v krocích 0, 5, 10°... 360°. Výpočty jednotlivých energií probíhaly tak, že pro torzi A 0° byla torze B od 0° do 360° po předem zmíněných krocích, to znamená, že se celý 1-adamantylmethyl substituent postupně otočil o 360° a pro každý

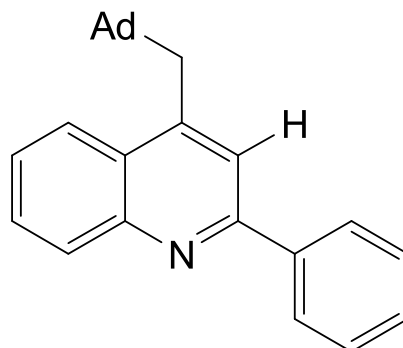
krok byla vypočtena energie. Další výpočet byl proveden při torzi A 10° a torze B byla opět od 0° do 360° , atd. K těmto výpočtům byla použita semi-empirická metoda PM3 a vlastní výpočet ENERGY PROFILE.



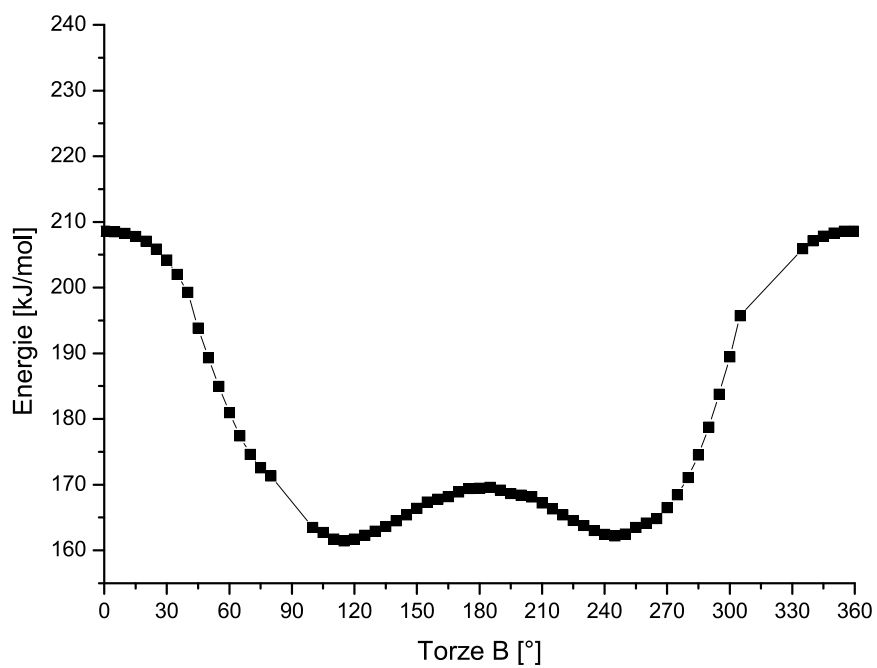
Obrázek 25: Obecný vzorec studovaných struktur s vyznačenými torzními úhly

7 VÝSLEDKY A DISKUZE

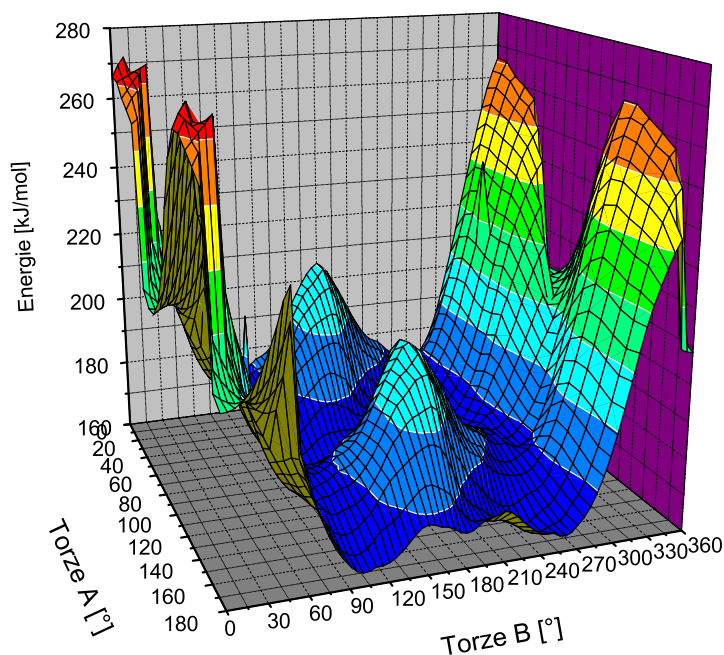
7.1 Struktura I



Obrázek 26: Struktura I (4-(1-adamantylmethyl)-2-fenylchinolin)



Graf 1: Závislost energie na úhlu rotace adamantylu struktury I

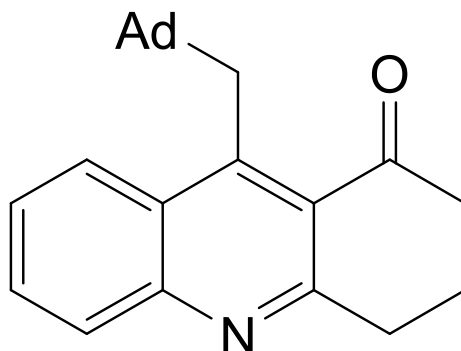


Graf 2: Závislost energie na úhlu rotace adamantylu
v definovaném úhlu struktury I

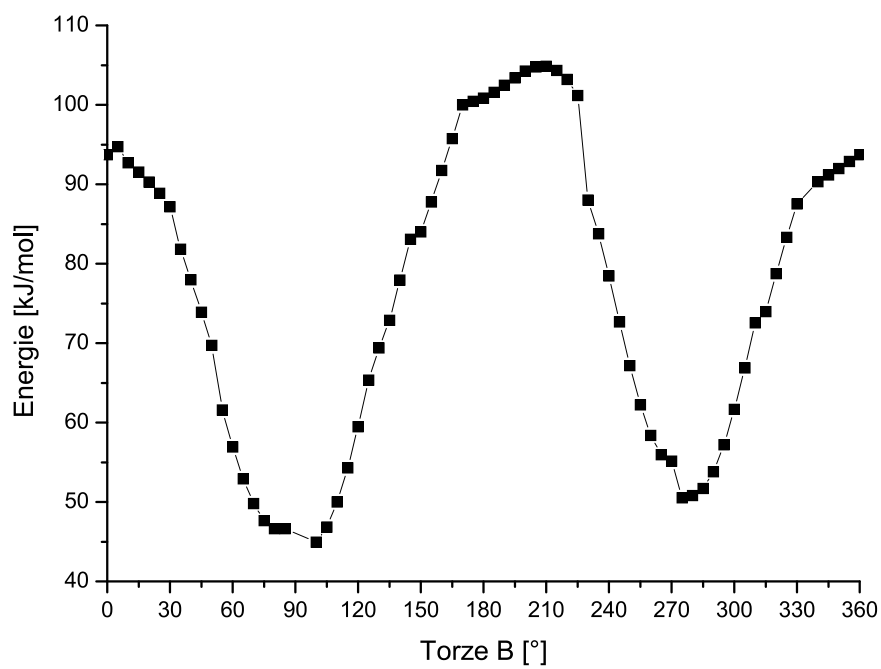
Ve 2D grafu pro strukturu I jsou velmi dobře patrná minima v úhlu torze B 115 a 245°, což nastává tehdy, kdy je těžiště 1-adamantylmethylového substituentu kolmo na rovinu chinolinového skeletu. Maxima v 0° torze B jsou pro adamantylovým substituent za daných podmínek nepřekonatelná, což je prokázáno experimentálně^[15] a komentováno v kapitole 1.2., takže se nepředpokládá, že by se substituent protočil přes vodík uhlíku C5. Lokální maximum při úhlu torze B 185° je způsobeno přechodem rotujícího substituentu přes substituent uhlíku C3, v tomto případě se jedná o vodík.

3D graf pro strukturu I potvrzuje a zpřesňuje graf 2D. Zatímco při výpočtu hodnot energií pro 2D graf byla definována pouze torze B, v 3D grafu bylo použito i torze A. Při použití obou torzí byl zaznamenán vznik 2 lokálních maxim při úhlu torze A 185°. Vznik těchto maxim je pravděpodobně zapříčiněn fixací torze A. Nezaznamenání tohoto jevu v 2D grafu bylo důsledkem volných změn v geometrii zapříčiněných absencí torze A, zatímco při kalkulaci 3D grafu byly tyto geometrie fixní.

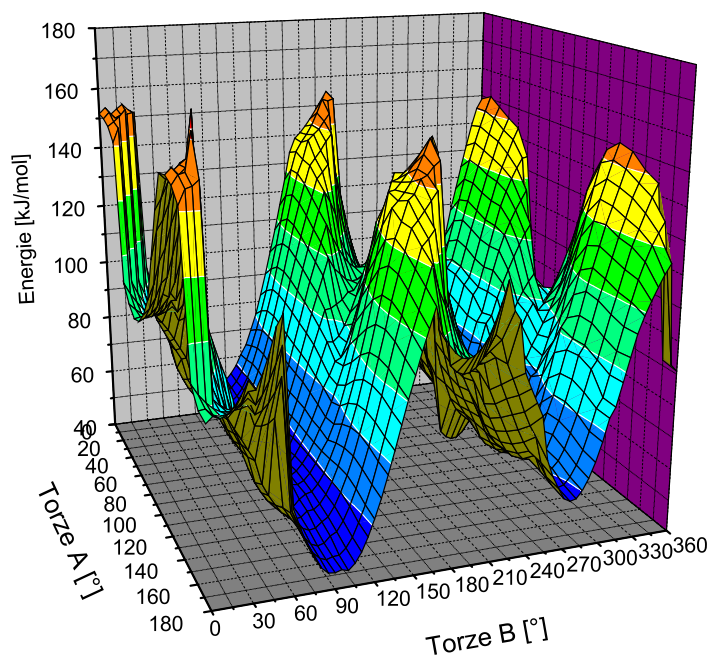
7.2 Struktura II



Obrázek 27: Struktura II (9-(1-adamantylmethyl)-3,4-dihydroakridin-1(2H)-on)



Graf 3: Závislost energie na úhlu rotace adamantylu struktury II

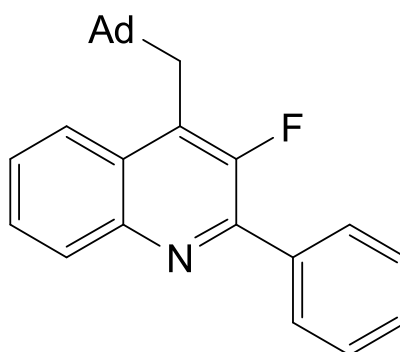


Graf 4: Závislost energie na úhlu rotace adamantylu v definovaném úhlu struktury II

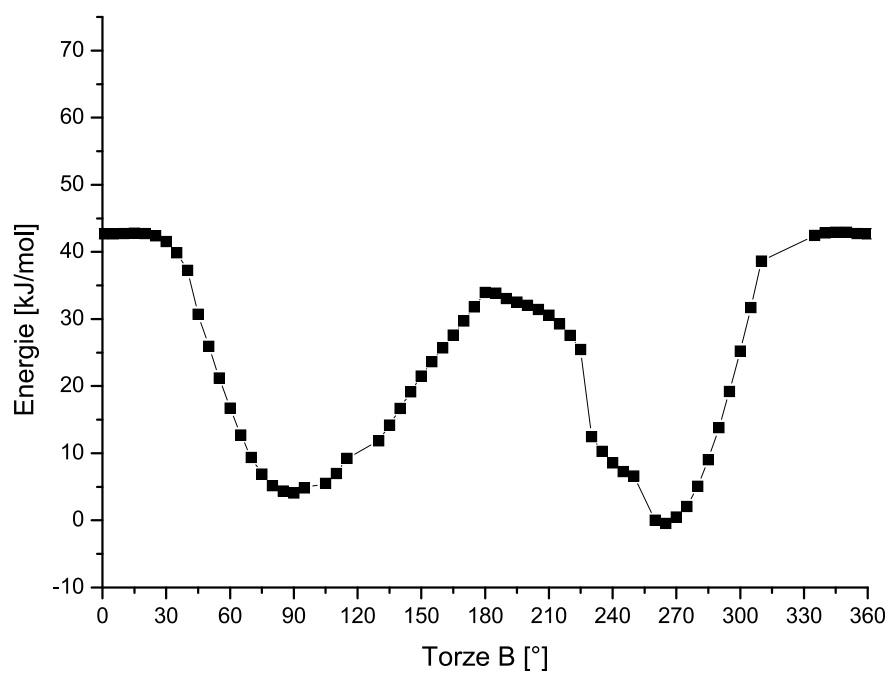
Ve 2D grafu struktury II jsou minima torze B ve 115° a 275° což jsou opět polohy 1-adamantylmethylového substituentu, ve kterých je těžiště tohoto substituentu kolmo na rovinu chinolinového skeletu. Maximum ve 210° torze B odpovídá hodnotě energie přechodu přes oxo- substituent. V tomto grafu je patrné, že hodnoty energie pro přechod přes studovaný substituent jsou vyšší, než hodnoty energie přechodu přes vodík uhlíku C5, což odpovídá experimentálním poznatkům. Je známo, že 1-adamantylmethylový substituent za daných podmínek (podmínky měření NMR struktury I a II v roztoku CDCl_3 při 30°C , resp. 30°C a 50°C) nepřekoná energetickou bariéru přechodu přes vodík na C5 chinolinového skeletu^[15], a z výsledků výpočtů vyplývá, že energie přechodu přes oxo-skupinu je ještě vyšší, z čehož vyplývá uzamknutí 1-adamantylmethylového skeletu mezi vodíkem na C5 a kyslíkovým substituentem, a tudíž tvorba atropisomerů, doložená experimentálně^[15].

V grafu 4 jsou opět potvrzeny výsledky z grafu 3. Opětovný výskyt dvou maxim oproti jednomu maximu ve 2D grafu byl komentován již pro strukturu I.

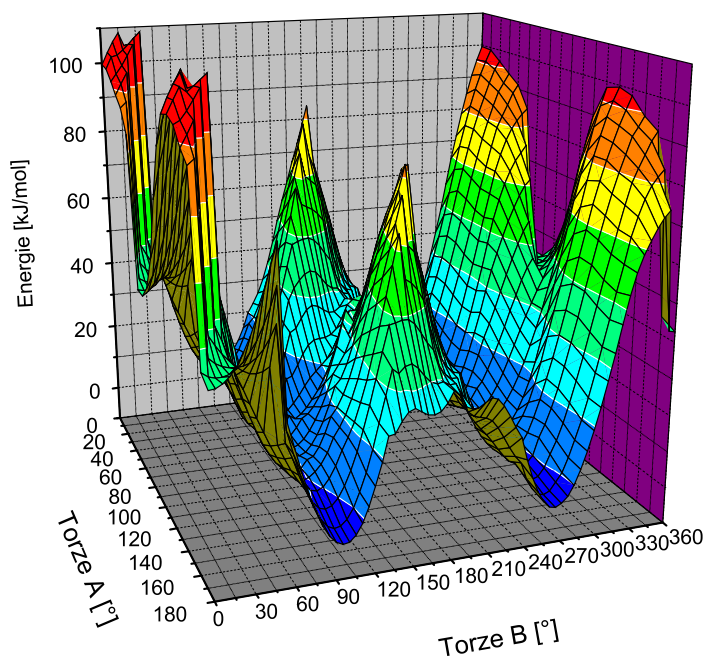
7.3 Struktura III



Obrázek 28: Struktura III (4-(1-adamantylmethyl)-2-fenyl-3-fluorchinolin)



Graf 5: Závislost energie na úhlu rotace adamantylu struktury III



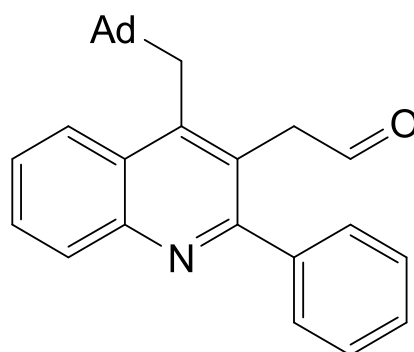
Graf 6: Závislost energie na úhlu rotace adamantlylu v definovaném úhlu struktury

III

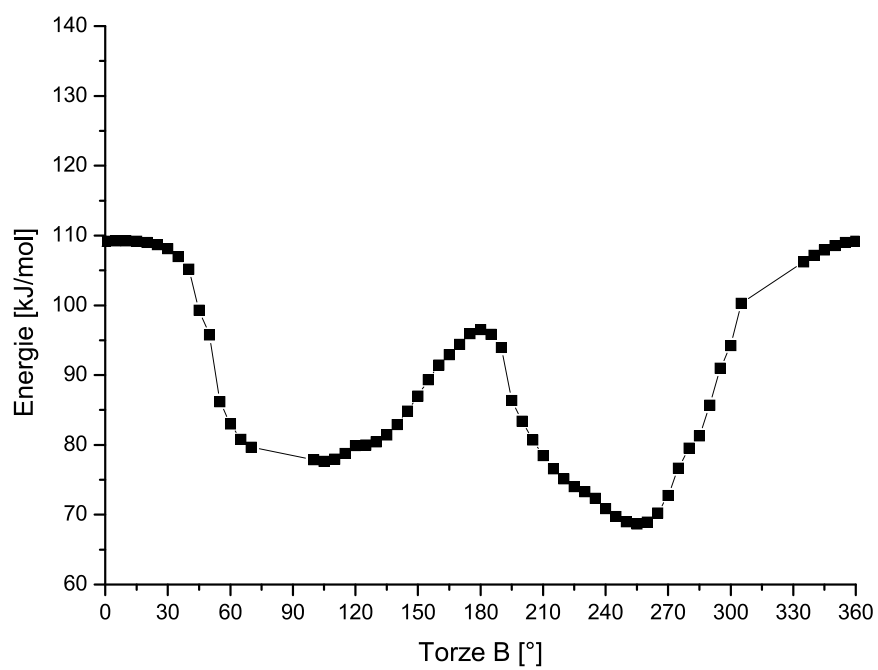
Graf č. 5 znázorňuje hodnoty energií při rotaci 1-adamantylmethylu přes fluoridový substituent, lokální maximum při torzi B 180° nepřevyšuje hodnoty energií přechodu 1-adamantylmethylového substituentu přes vodík na C5. Lokálního minima nastává při úhlu torze B 90° , minimum při torzi B 265° , obou je dosaženo při konformaci molekuly v době, kdy je těžiště adamantylmethylu kolmo na rovinu chinolinového jádra. Minima při torzi B 265° je dosaženo, protože fluorový substituent byl po optimalizaci vychýlen mírně mimo rovinu chinolinového skeletu.

V grafu č. 6 jsou opět pozorovány dvě lokální maxima, která také nedosahují hodnot energií, které struktura nabývá při přechodu adamantylmethylového substituentu přes chinolinový skelet.

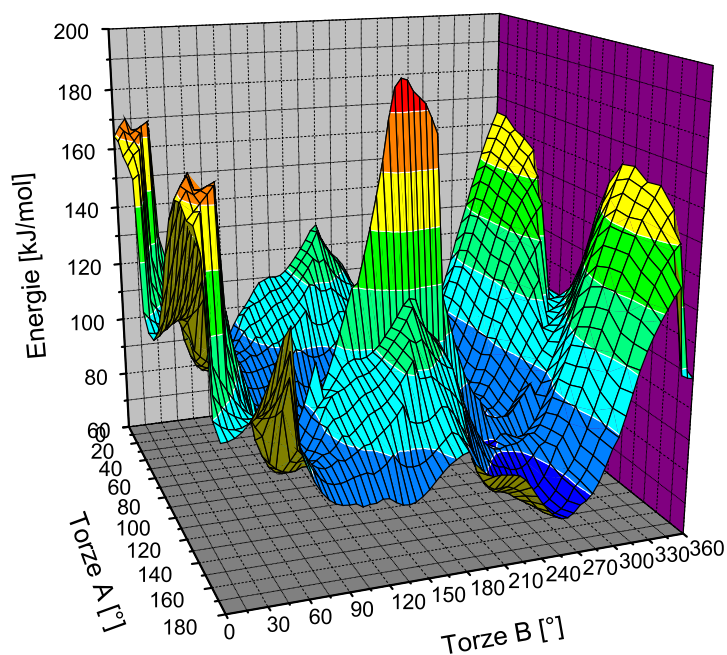
7.4 Struktura IV



Obrázek 29: Struktura IV ((4-(1-adamantylmethyl)- 2-fenylchinolin-3-yl)-ethanal)



Graf 7: Závislost energie na úhlu rotace adamantylu struktury IV



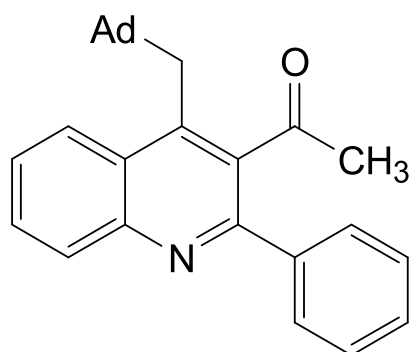
Graf 8: Závislost energie na úhlu rotace adamantylu v definovaném úhlu struktury

IV

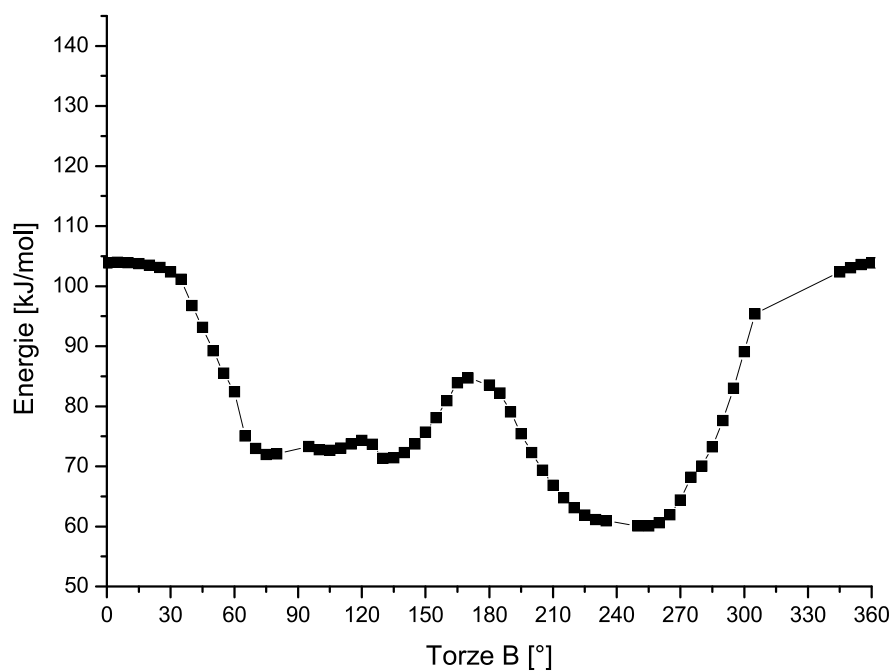
Z grafu č. 7 vyplývá, že ani tento substituent nevytváří dostatečně velké energetické bariéry k tomu, aby adamantylový substituent nemohl volně rotovat. Minima jsou patrná při úhlu torze B 105°, kde je lokální minimum a v 255° torze B, kde je skutečné minimum způsobené opět vychýlením, nyní velkým, ethanalu mimo rovinu chinolinového skeletu. Maxima jsou opět při torzi B 0° a lokálního maxima je dosaženo při torzi B 180°.

V grafu č. 8 je pozorováno maximum při úhlu torze A 110°. Drastický vzrůst vypočtených hodnot energií byl způsoben „odtláčením“ ethanalového substituentu 1-adamantylmethylem z konformace kdy ethanalový zbytek ční mimo rovinu chinolinového skeletu dopředu, přes fenylový substituent mimo rovinu chinolinového skeletu tak, že ethanal čněl dozadu. Tento jev se projevil pouze při torzi A 110°.

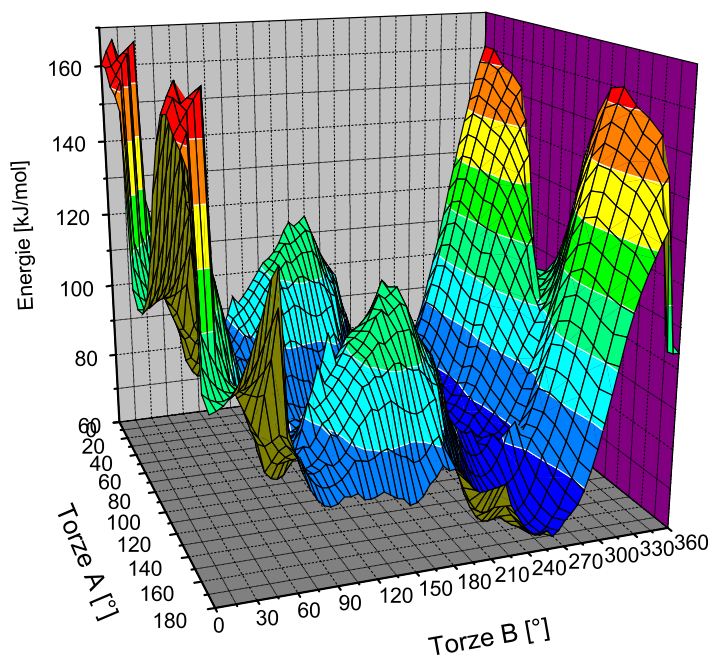
7.5 Struktura V



Obrázek 30: Struktura V ((4-(1-adamantylmethyl)-2-fenylchinolin-3-yl)-ethanon)



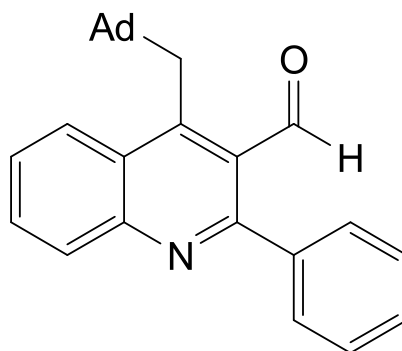
Graf 9: Závislost energie na úhlu rotace adamantylu struktury V



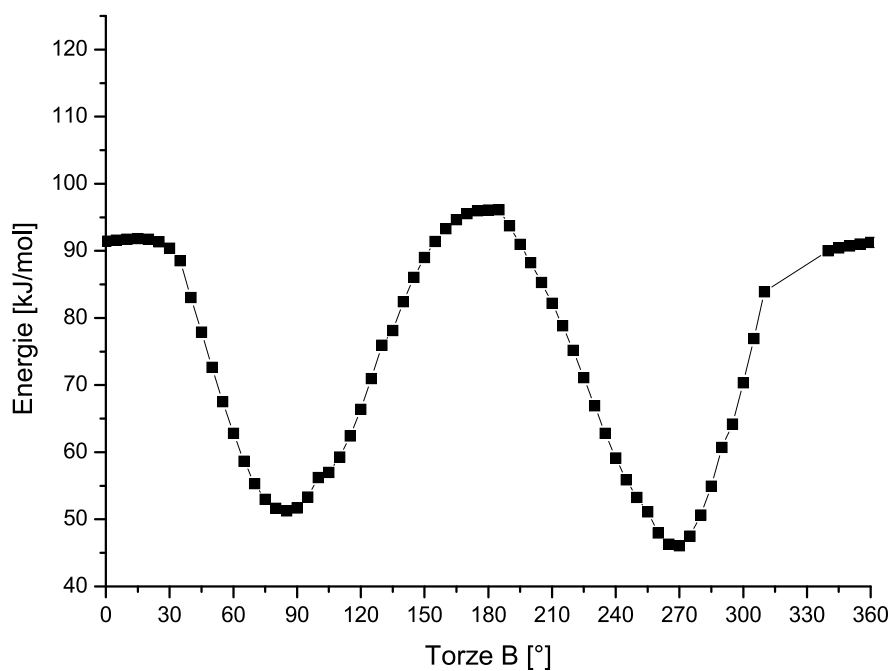
Graf 10: Závislost energie na úhlu rotace adamantylu v definovaném úhlu struktury V

I u této struktury bylo zjištěno, že energie nutná k přechodu přes substituent v poloze 3 chinolinového skeletu nepřevyšuje energii nutnou k přechodu přes vodík na C5. V grafu č. 9 bylo lokální minimum při torzi B 130° a minimum při torzi B 250°. Lokální maximum je pozorováno při torzi B 170° a maxima v 0° torze B.

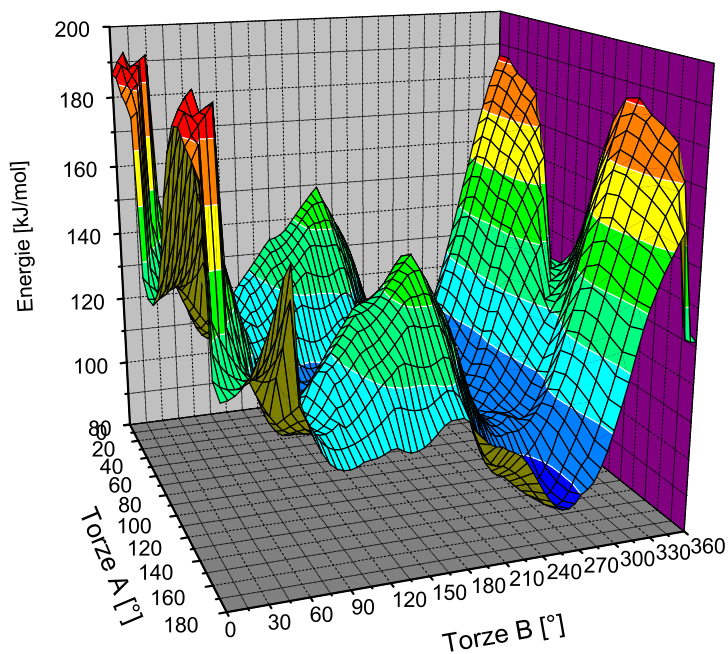
7.6 Struktura VI



Obrázek 31: Struktura VI ((4-(1-adamantylmethyl)-2-fenylchinolin-3-yl)-karbaldehyd)



Graf 11: Závislost energie na úhlu rotace adamantylu struktury VI

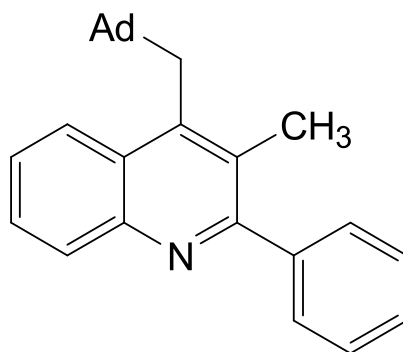


Graf 12: Závislost energie na úhlu rotace adamantylu v definovaném úhlu struktury VI

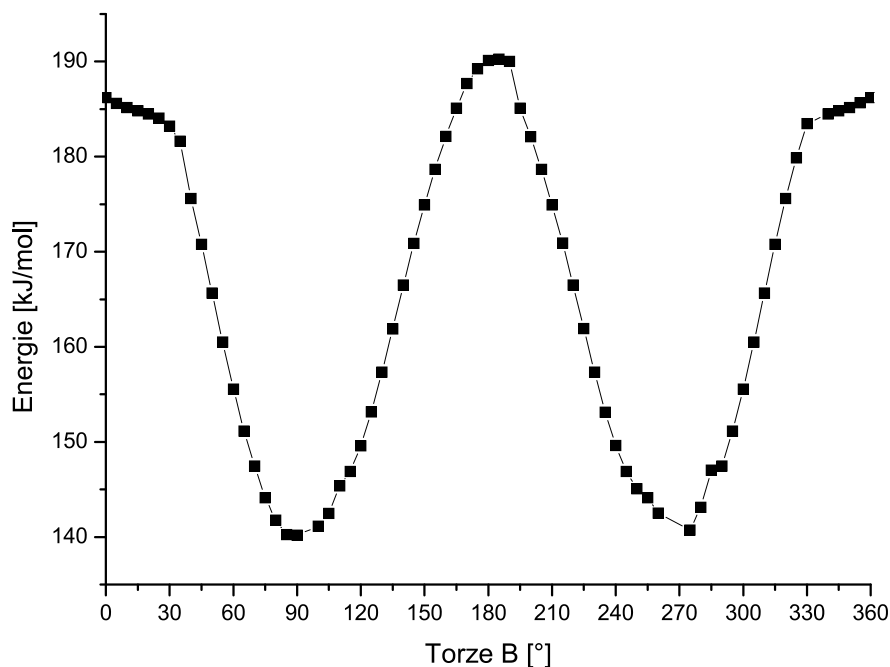
V grafu 11 lze pozorovat lokální minimum při torzi B 85° a minimum ve 275° torze B. Maximum při přechodu přes studovaný substituent je ve 180° torze B a převyšuje

hodnoty energií potřebných k přechodu přes vodík na C5. Toto maximum je v grafu č. 12 špatně pozorovatelné. Protože oxo-skupina ční mimo rovinu chinolinového skeletu směrem dopředu není pravděpodobné, že je tento jev vysvětlitelný jejím zapojením do konjugace s chinolinovým systémem. Proto je předpokládán vznik intramolekulárních interakcí mezi vodíkem acetylového substituentu a zbylou částí molekuly.

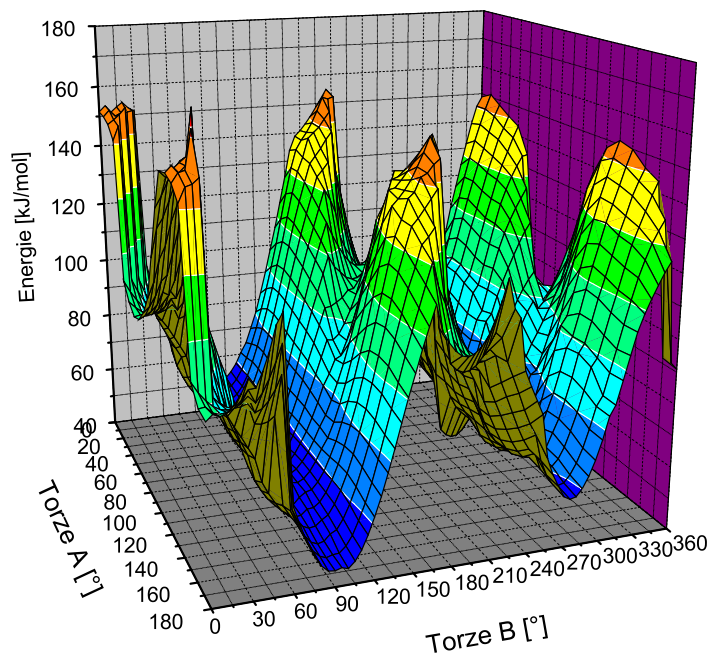
7.7 Struktura VII



Obrázek 32: Struktura VII (4-(1-adamantylmethyl)-2-fenyl-3-methylchinolin)



Graf 13: Závislost energie na úhlu rotace adamantylu struktury VII



Graf 14: Závislost energie na úhlu rotace adamantylu v definovaném úhlu struktury VII

V grafu č. 13 dosahují hodnoty energie minima v 90° a v 275° torze B, kde je lokální minimum. Maximum je pozorováno při torzi B 185° a převyšuje hodnoty energií při torzi B 0° , kde je lokální maximum. Tato data jsou podpořena grafem č. 14, kde hodnoty energií kolem 180° torze B převyšují maxima při torzi B 0° pro torzi A v mezích 170° až 180° .

7.8 Shrnutí

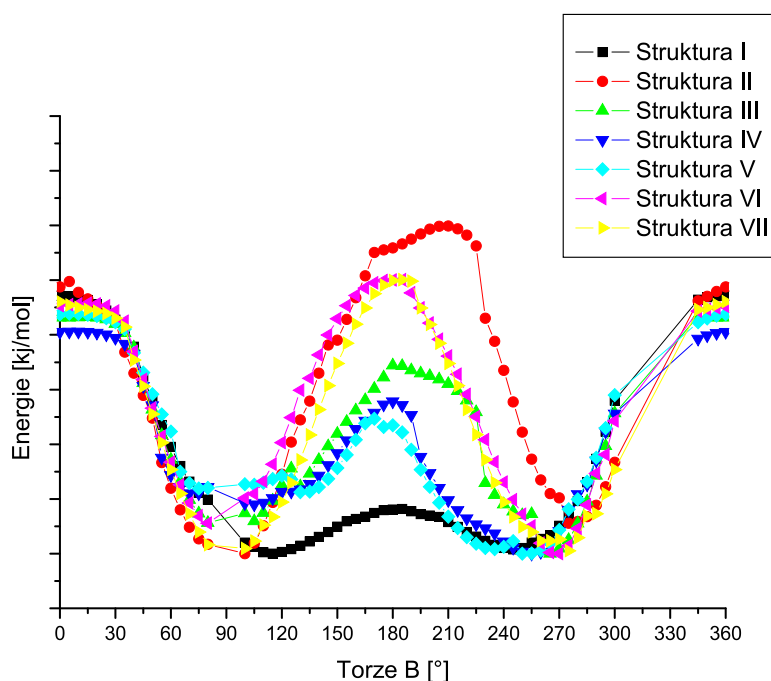
2D i 3D grafy vytvořené pomocí výpočtů hodnot energií pro jednotlivé struktury a torzních úhlů dané struktury se doplňují a navzájem si v žádném studovaném případě neodporují.

Z 2D grafů byly odečteny hodnoty energií přechodu přes chinolinový vodík na uhlíku C5, hodnoty minimální energie systému a hodnoty energií přechodu přes studovaný substituent. Data byla sumarizována v tabulce číslo 4.

Struktura	hodnoty ΔE přechodu přes chinolinový vodík [kJ/mol]	hodnoty ΔE přechodu přes studovaný substituent [kJ/mol]
I	47,16397	8,17329
II	48,77963	59,89987
III	38,60711	29,89028
IV	31,51436	18,84618
V	43,13761	24,65891
VI	39,71517	44,41059
VII	46,04006	50,07611

Tabulka 5: Hodnoty energií přechodu 1-adamantymethyl substituentu u jednotlivých struktur

Z tabulky č.3 získané z výpočtů struktur při rotaci 1-adamantylmethylu, je možné předpovídat možnost přechodu 1-adamantylmethylu přes studované substituenty. Pokud jsou hodnoty energií přechodu přes studovaný substituent přibližně stejné nebo větší (případy II, VI a VII), než pro přechod přes chinolinový vodík, lze předpovídat, že u těchto struktur není možná volná rotace 1-adamantylmethylového substituentu. Naopak, pokud jsou tyto hodnoty výrazně menší (případy I, III, IV a V), lze předpokládat volnou rotaci.



Graf 15: Souhrnný graf závislosti energie na úhlu rotace adamantylu

U **struktury I** byla rotace experimentálně dokázána již před zahájením výpočtů. Volná rotace je způsobena minimálními sterickými nároky vodíku v poloze C3. Kalkulací této struktury byla ověřena možnost volné rotace 1-adamantylmethylu.

U **struktury II** byla možnost rotace experimentálně vyloučena již před zahájením výpočtů. Hlavním důvodem jsou obrovské prostorové nároky oxo-skupiny na uhlíku C1. Rigidní oxo-skupina vytváří velkou rotační bariéru, která neumožňuje volnou rotaci, kalkulací této struktury byla nemožnost volné rotace 1-adamantylmethylu ověřena.

U **struktury III** byla rotace očekávána již před zahájením výpočtů. Hlavním důvodem byla malá sterická náročnost fluoru, tedy studovaného substituentu. Fluor je prostorově malý substituent, proto nevzniká velká rotační bariéra a kalkulací této struktury byl potvrzen předpoklad volné rotace 1-adamantylmethylu.

Z výsledků výpočtů pro **strukturu IV** je možné předpokládat, že i tento substituent umožňuje volnou rotaci 1-adamantylmethylu. Tedy po přiblížení 1-adamantylmethylu je geometrie substituentu v poloze C3 deformována tak, aby volnou rotaci 1-adamantylmethylu umožnila. Tento fakt je pravděpodobně zapříčiněn nízkou hodnotou energie nutné pro deformaci geometrie substituentu. Tedy takovou hodnotou energetické bariéry, která je menší než hodnota přechodu přes chinolinový vodík C5. Anomálie při úhlu torze A 110° je způsobena odtlačení ethanalu přes fenylový substituent do polohy v které je těžiště ethanalu mimo rovinu chinolinového skeletu směrem dozadu, z optimalizované polohy při které ční z roviny chinolinového skeletu směrem dopředu.

Substituent na uhlíku C3 **struktury V** pravděpodobně také umožňuje volnou rotaci 1-adamantylmethylu. Volná rotace je pravděpodobně zapříčiněna otočením acetylu v prostoru tak, že oxo-skupina směřuje vzhledem k rovině chinolinového systému směrem dopředu, čímž je methyl otočen dozadu. Tato konformace tedy vytváří takovou rotační bariéru, která je daných podmínek (podmínky měření NMR struktury I a II v roztoku CDCl_3 při 30°C , resp. 30°C a 50°C) překonatelná.

Grafy závislostí energií na torzích **struktury VI** umožňují předpokládat, že formyl vytváří tak velkou rotační bariéru, která za daných podmínek neumožňuje volnou rotaci 1-adamantylmethylu. Toto tvrzení je založeno na tom, že vypočtená energetická bariéra pro přechod 1-adamantylmethylu přes substituent v poloze C3 (formyl) je vyšší než bariéra nutná k přechodu přes chinolinový vodík uhlíku C5, která je za daných podmínek (podmínky měření NMR struktury I a II v roztoku CDCl_3 při 30°C , resp. 30°C a 50°C)

nepřekonatelná. Vysoké hodnoty rotačních bariér této struktury nejsou odůvodnitelné zapojením oxo-skupiny do konjugace s chinolinovým systémem kvůli stereochemii tohoto substituentu po optimalizaci, protože jeho těžiště bylo mimo rovinu chinolinového skeletu směrem dopředu. Rotační bariéra, kterou formyl vytváří je tak velká pravděpodobně následkem uspořádání této skupiny v prostoru, protože těžiště této skupiny ční směrem dopředu od roviny chinolinového systému. Proto je možné, že tato struktura vzhledem ke své malé pružnosti a velkým nárokům oxo-skupiny na prostor, nedokáže tak snadno uvolnit místo pro rotaci 1-adamantylmethylu, a proto vzniká vysoká energetická bariéra jeho přechodu.

Pro **strukturu VII** se dá předpovědět, že neumožňuje volnou rotaci 1-adamantylmethylu, protože hodnoty energií vypočtených jak při rotaci 1-adamantylmethylu, tak při rotaci 1-adamantylmethylu v definovaném úhlu jsou vyšší, než hodnoty přechodu tohoto substituentu přes vodík uhlíku C5 na chinolinu. Substituent v poloze C3 této struktury, tedy methyl, sice nevykazuje nijak velkou sterickou náročnost, ale je možné, že intramolekulární interakce methylu s fenylem brání volné rotaci 1-adamantylmethylu. Pro hladký průchod adamantylové skupiny okolo methylové by pravděpodobně bylo zapotřebí spřažené rotace methylu, které všem fenyllová skupina brání.

Rozdílná minima při torzi B v 2D grafech před dosažením a po překonání 180° jsou způsobena prostorovou orientací substituentů v poloze C3. Těžiště daných substituentů bylo mimo rovinu chinolinového skeletu, a to ve většině případu směrem dopředu, kromě struktury II, u které bylo těžiště jejího substituentu (oxo-skupiny) mimo rovinu chinolinového skeletu směrem dozadu. Všechny 2D grafy musely být upraveny pro výpočetní chyby, ke kterým docházelo při rotaci 1-adamantylmethylu při torzích B od 305° do 340° . K chybám docházelo při přiblížení adamantylu k chinolinovému skeletu, konkrétně k vodíku C5, příčinou bylo nesprávné (neúplné) otáčení adamantylové kostry používaným programem.

Výskyt dvou maxim v 3D grafech při torzi B kolem 180° je vysvětlitelný symetrií adamantylového substituentu. Tento substituent má osovou symetrii C_3 a proto se výsledky po 120° opakují.

ZÁVĚR

V diplomové práci byla provedena studie rotačních bariér u potenciálních antituberkulotik. Jako základ sloužily struktury, jejichž rotační bariéry umožňovaly resp. neumožňovaly volnou rotaci 1-adamantylmethylu. Správnost metody byla tedy ověřena nalezením shody s dostupnými experimentálními daty pro 4-(1-adamantylmethyl)-2-fenylchinolin a 9-(1-adamantylmethyl)-3,4-dihydroakridin-1(2H)-on, tj. struktura I a II. Vypočtená data pro zvolené hypotetické struktury umožňují předpověď, že substituenty -F, -CH₂CHO a C(=O)CH₃ dovolují volnou rotaci 1-adamantylmethylu ve strukturách III až V. U struktury VI se substituentem -CHO bylo zjištěno, že energie potřebná k přechodu přes tento substituent je vyšší než energie potřebná k přechodu přes chinolinový vodík uhlíku C5, a dá se tudíž předpovídat, že za daných podmínek budou vznikat atropisomery, stejně tak jako u struktury VII se substituentem -CH₃.

Získaná data tvoří vstupní bázi pro další experimentální práci. Na jejich základě bude možné navrhnout další experimenty, a přitom racionalizovat výběr zkoumaných možností. Zároveň je však nutné počítat s neustálým zpětným prověřováním správnosti použité metody pro výpočty a v případě, že experiment přinese zjištění odlišná od předpovědi, bude nutné metodu PM3 pro výpočty nahradit jinou metodou, velmi pravděpodobně na vyšší úrovni teorie, která by poskytovala bezrozporné modely. Například, lze zvolit výpočet metodou Hartree-Fock s bazí 6-31G* a vyšší, nebo DFT metodou BLYP, nebo BLY3P s bazí alespoň 6-31G*, přičemž je nutné zdůraznit, že to by vyžadovalo podstatně mohutnější strojovou výpočetní kapacitu, než doposud byla k dispozici.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] a) S. Kumar, S. Bawa, H. Gupta, *Mini-Rev. Med. Chem.* **2009**, 9, 1648-1654; b) J. P. Michael, *Nat. Prod. Rep.* **2004**, 21, 650-668; c) J. P. Michael, *Nat. Prod. Rep.* **2005**, 22, 627-646; d) J. P. Michael, *Nat. Prod. Rep.* **2007**, 24, 223-246; e) J. P. Michael, *Nat. Prod. Rep.* **2008**, 25, 166-187.
- [2] I. V. Ukrainets, M. Amer, P. A. Bezuglyi, O. V. Gorokhova, L. V. Sidorenko, A. V. Turov: *Chemistry of Heterocyclic Compounds* **2002**, 38, 571–575.
- [3] a) A. Nayyar, S. R. Patel, M. Shaikh, E. Coutinho, R. Jain, *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, 44, 2017–2029; b) A. Nayyar, V. Monga, A. Malde, E. Coutinho, R. Jain, *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, 15, 626–640; c) V. Monga, A. Nayyar, B. Vaitilingam, P. B. Palde, S. S. Jhamb, S. Kaur, P. P. Singh, R. Jain, *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, 12, 6465–6472.
- [4] a) J. Novotny, C. H. Collins, F.W. Starks, *J. Pharm. Sci.* **1974**, 63, 1264-1267; b) M. Jain, S. Vangapandu, S. Sachdeva, S. Singh, P. P. Singh, G. B. Jena, K. Tikoo, P. Ramarao, C. L. Kaul, R. Jain, *J. Med. Chem.* **2004**, 47, 285–287.
- [5] I. K. Moiseev, M. N. Zemtsova, P. L. Trakhtenberg, D. A. Kulikova, I. P. Skobkina, G. N. Neshchadim, N. V. Ostapchuk, *Khim.-Farm. Zh.* **1988**, 22, 1448–1451.
- [6] Ch. H. Nguyen, Ch. Marchand, S. Delage, J. Sun, T. Garestier, C. Héléne, E. Bisagni: *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120, 2501-2507
- [7] Claesson-Welsh, L. Platelet-derived growth factor receptor signals. *J. Biol. Chem.* **1994**, 269, 32023-32026
- [8] Ross, R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature* **1993**, 362, 801-809
- [9] A. Gazit, H. App, G. McMahon, J. Chen, A. Levitzki, F. D. Bohmer: *J. Med. Chem.*, **1996**, 39, 2170-2177
- [10] World Health Organization, <http://apps.who.int/ghodata/>
- [11] L. G. Hamann, R. I. Higuchi, L. Zhi, J. P. Edwards, X. Wang, K. B. Marschke, J. W. Kong, L. J. Farmer, T. K. Jones: *J. Med. Chem.*, **1998**, 41, 623-639
- [12] L. H. Heitman, A. Göblyös, A. M. Zweemer, R. Bakker, T. Mulder-Krieger, J. P. D. van Veldhoven, H. de Vries, J. Brussee, A. P. IJzerman: *J. Med. Chem.*, **2009**, 52, 926–931

[13] World Health Organization, Tuberculosis Fact Sheet, No. 104, 2006; www.who.int/mediacentre/factsheets/fs104/en/.

[14] A. Nayyar, S.R. Patel, M. Shaikh, E. Coutinho, R. Jain.: *Eur. J. Med. Chem.*, **2009**, *44*, 2017–2029

[15] Z. Kozubková, M. Rouchal, M. Nečas, R. Vícha: *Helvetica Chimica Acta*, **2012**, v tisku

[16] (a) M. Oki, N. L. Allinger, N. L. Eliel, S. H. Wilen.: Recent Advances in Atropisomerism. In *Topics in Stereochemistry*; John Wiley & Sons: New York, **1983**, *14*, pp 1 – 81. (b) G. H. Christie, J. Kenner: *J. Chem. Soc.*, **1922**, *121*, 614–620. (c) R. Kuhn, H. Freudenberg, Ed.; Franz Deutike: *Molekular Asymmetrie*. In *Stereochemie*, **1933**; pp 803 – 824 .

[17] (a) S. Yao, C.-P. Tang, Y. Ye, T. Kurtán, A. Kiss-Szikszai, S. Antus, G. Pescitelli, P. Salvadori, K. Krohn: *Tetrahedron: Asymmetry* **2008**, *19*, 2007–2014. (b) D. Casarini, L. Lunazzi, A. Mazzanti: *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, 2035–2056.

[18] C. Cano, B. T. Golding, K. Haggerty, I. R. Hardcastle, M. Peacock, R. J. Griffin: *Org. Biomol. Chem.* **2010**, *8*, 1922–1928.

[19] (a) J. Tulinsky, B. V. Cheney, S. A. Mizensak, W. Watt, F. Han, L. A. Dolak, T. Judge, R. B. Gammill: *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 93–100. (b) J. Porter, A. Payne, I. Whitcombe, B. de Candolea, D. Forda, R. Garlisha, A. Hold, B. Hutchinson, G. Trevitt, J. Turner, C. Edwards, C. Watkins, J. Davis, C. Stubberfield: *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2009**, *19*, 1767–1772.

[20] S. R. LaPlante, L. D. Fader, K. R. Fandrick, D. R. Fandrick, O. Hucke, R. Kemper, S. P. F. Miller, P. J. Edwards: *J. Med. Chem.*, **2011**, *54*, 7005–7022

[21] A.R. Leach, *Molecular Modelling Principles and Application*, Pearson Education, 2001, ISBN 0-582-38210-6

[22] D. Casarini, L. Lunazzi, A. Mazzanti: *Eur. J. Org. Chem.*, **2010**, 2035-2056

[23] E. L. Eliel, S. H. Wilen, L. N. Mander: *Stereochemistry of Organic Compounds*, John Wiley and Sons, **1994**, pp. 1142 – 1145.

[24] F. Grein: *J. Phys. Chem. A*, **2002**, *106*, 3823 – 3827

[25] B. E. Smart in *Chemistry of Organofluorine Compounds* (Ed.: M. Hudlicky), Am. Chem. Soc., Washington DC, **1995**, p. 25

[26] Y. H. Zhao, M. H. Abraham, A. M. Zissimos: *J. Org. Chem.*, **2003**, *68*, 7368 – 7373

- [27] G. Bott, L. D. Field, S. Sternhell: *J. Am. Chem. Soc.*, **1980**, *102*, 5618 – 5626
- [28] C. Wolf, W. A. König, C. Rouzssel, *Liebigs Ann.* **1995**, 781 – 786
- [29] W. Thiel, A.A. Voityuk: Extension of the MNDO Formalism to D-Orbitals – Integral Approximations and Preliminary Numerical Results, *Theoretica Chimica Acta*, **1992**, *81(6)* p. 391-404
- [30] M. Remko, *Molekulové modelovanie princípy a aplikácie*, Slovak Academic Press, s.r.o., 2000, ISBN 80-88908-62-0
- [31] W.J. Hehre: *Ab initio molecular orbital theory*, 1986, New York: Wiley, xviii, 548
- [32] T. Clark: *A handbook of computational chemistry: a practical guide to chemical structure and energy calculations*, New York: Wiley, 1985, x, 332.
- [33] R.O. Jones, O. Gunnarsson: *The Density Functional Formalism, Its Application and Prospect, Reviews of Modern Physics*, **1989**, *61(3)*, p. 689-746
- [34] *Spartan'06 Manual*, Wavefunction, Inc., 2006, ISBN 1-890661-34-1

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

Ad-	1-adamantyl
DNA	Deoxyribonukleová kyselina
Apod.	A podobně
Atd.	A tak dále
NMR	Nukleární magnetická rezonance
HPLC	Vysokoučinná kapalinová chromatografie
RTG	Rentgen
MP	Møeler-Plesset
HF	Hartree-Fock
DFT	Density functional theory
SCF	Selfkonzistentí pole (self-consistent-field)
2D	Dvoudimensionální
3D	Třidimensionální
IC50	Inhibiční koncentrace představující koncentraci zkoušené látky nutné k 50% snížení růstu vzhledem ke kontrolnímu vzorku

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Stabilizátor trojšroubovice DNA.....	12
Obrázek 2: PDGFR inhibitor	13
Obrázek 3: Inhibitor androgenního receptoru.....	13
Obrázek 4: 2,4-disubstituovaný chinolin s pozitivním vlivem.....	14
Obrázek 5: Antituberkulotikum Isoniazid	14
Obrázek 6: Antituberkulotika a jejich inhibice <i>M. tuberculosis</i> H37Rv	15
Obrázek 7: Struktury zvolené jako základní pro výpočty rotačních bariér	16
Obrázek 8: NMR spektrum struktury II (obrázek převzatý z: Z. Kozubková, M. Rouchal, M. Nečas, R. Vícha: <i>Helvetica Chimica Acta</i> , 2012 , v tisku).....	17
Obrázek 9: (R)-thalidomid.....	19
Obrázek 10: Racemizace thalidomidu v prostředí žaludku	19
Obrázek 11: Struktura I (vlevo obecně, vpravo po optimalizaci).....	36
Obrázek 12: Struktura II (vlevo obecně, vpravo po optimalizaci)	36
Obrázek 13: Struktura III (vlevo obecně, vpravo po optimalizaci)	36
Obrázek 14: Struktura IV (vlevo obecně, vpravo po optimalizaci).....	37
Obrázek 15: Struktura V (vlevo obecně, vpravo po optimalizaci)	37
Obrázek 16: Struktura VI (vlevo obecně, vpravo po optimalizaci).....	37
Obrázek 17: Struktura VII (vlevo obecně, vpravo po optimalizaci).....	38
Obrázek 18: Stereochemie struktury I	40
Obrázek 19: Stereochemie struktury II.....	41
Obrázek 20: Stereochemie struktury III.....	41
Obrázek 21: Stereochemie struktury IV	41
Obrázek 22: Stereochemie struktury V.....	42
Obrázek 23: Stereochemie struktury VI	42
Obrázek 24: Stereochemie struktury VII	42
Obrázek 25: Obecný vzorec studovaných struktur s vyznačenými torzními úhly	44
Obrázek 26: Struktura I (4-(1-adamantylmethyl)-2-fenylchinolin).....	45
Obrázek 27: Struktura II (9-(1-adamantylmethyl)-3,4-dihydroakridin-1(2H)-on).....	47
Obrázek 28: Struktura III (4-(1-adamantylmethyl)-2-fenyl-3-fluorchinolin).....	49
Obrázek 29: Struktura IV ((4-(1-adamantylmethyl)- 2-fenylchinolin-3-yl)-ethanal).....	51
Obrázek 30: Struktura V (4-(1-adamantylmethyl)-2-fenylchinolin-3-yl)-ethanon)	53

Obrázek 31: Struktura VI ((4-(1-adamantylmethyl)-2-fenylchinolin-3-yl)- karbaldehyd).....	54
Obrázek 32: Struktura VII (4-(1-adamantylmethyl)-2-fenyl-3-methylchinolin).....	56

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Hodnoty energií rotačních bariér u <i>ortho</i> a <i>ortho, ortho'</i> substituovaných bifenyľů ^[24]	23
Tabulka 2: Hodnoty rotačních bariér pro <i>ortho</i> -substituované 6-aryl-1,1,5-trimethylindany ^[27]	24
Tabulka 3: Srovnání vypočtených hodnot s hodnotami z RTG difrakční analýzy, změřeno software Mercury 2.2, CCDC	40
Tabulka 4: Torzní úhly a vzdálenosti optimalizovaných struktur změřených pomocí software Mercury 2.2, CCDC.....	43
Tabulka 5: Hodnoty energií přechodu 1-adamantymethyl substituentu u jednotlivých struktur	58

SEZNAM GRAFŮ

Graf 1: Závislost energie na úhlu rotace adamantylu struktury I	45
Graf 2: Závislost energie na úhlu rotace adamantylu	46
Graf 3: Závislost energie na úhlu rotace adamantylu struktury II	47
Graf 4: Závislost energie na úhlu rotace adamantylu v definovaném úhlu struktury II	48
Graf 5: Závislost energie na úhlu rotace adamantylu struktury III.....	49
Graf 6: Závislost energie na úhlu rotace adamantylu v definovaném úhlu struktury III.....	50
Graf 7: Závislost energie na úhlu rotace adamantylu struktury IV.....	51
Graf 8: Závislost energie na úhlu rotace adamantylu v definovaném úhlu struktury IV.....	52
Graf 9: Závislost energie na úhlu rotace adamantylu struktury V	53
Graf 10: Závislost energie na úhlu rotace adamantylu v definovaném úhlu struktury V	54
Graf 11: Závislost energie na úhlu rotace adamantylu struktury VI.....	55
Graf 12: Závislost energie na úhlu rotace adamantylu v definovaném úhlu struktury VI.....	55
Graf 13: Závislost energie na úhlu rotace adamantylu struktury VII	56
Graf 14: Závislost energie na úhlu rotace adamantylu v definovaném úhlu struktury VII	57
Graf 15: Souhrnný graf závislosti energie na úhlu rotace adamantylu.....	58

SEZNAM PŘÍLOH

Příloha PI – Výsledky výpočtů

PŘÍLOHA P I: VÝSLEDKY VÝPOČTŮ

Torze A[°]	Torze B[°]	Energie [kJ/mol]	Torze A[°]	Torze B[°]	Energie [kJ/mol]	Torze A[°]	Torze B[°]	Energie [kJ/mol]
0	0	151,5528	0	245	73,64593	10	125	66,2456
0	5	153,5122	0	250	68,91652	10	130	72,10167
0	10	151,177	0	255	64,25599	10	135	78,89857
0	15	152,8312	0	260	58,87797	10	140	86,17821
0	20	154,2295	0	265	55,09116	10	145	94,05981
0	25	152,3224	0	270	52,62939	10	150	102,4511
0	30	151,1751	0	275	51,35573	10	155	111,2022
0	35	96,53351	0	280	51,0863	10	160	120,1768
0	40	89,28157	0	285	51,88366	10	165	129,2632
0	45	82,51029	0	290	54,16551	10	170	135,553
0	50	75,28384	0	295	58,16886	10	175	138,8428
0	55	64,79064	0	300	63,69975	10	180	141,393
0	60	58,50404	0	305	70,85332	10	185	144,6429
0	65	53,59752	0	310	78,85186	10	190	148,752
0	70	49,93818	0	315	86,96319	10	195	153,3782
0	75	47,6544	0	320	90,03053	10	200	152,7801
0	80	46,65355	0	325	98,20996	10	205	153,4126
0	85	46,7665	0	330	107,6365	10	210	122,0638
0	90	47,97572	0	335	115,899	10	215	112,6542
0	95	50,44802	0	340	123,9212	10	220	103,5312
0	100	51,83626	0	345	131,7263	10	225	95,48845
0	105	51,64964	0	350	138,9969	10	230	88,70515
0	110	53,68177	0	355	145,3374	10	235	83,57907
0	115	56,63792	0	360	148,8065	10	240	79,71849
0	120	60,54872	10	0	151,1704	10	245	70,16999
0	125	64,18412	10	5	153,2513	10	250	65,20833
0	130	69,2915	10	10	151,1793	10	255	61,26839
0	135	75,4628	10	15	152,2025	10	260	58,48679
0	140	82,35607	10	20	152,2577	10	265	56,67341
0	145	90,09029	10	25	152,6133	10	270	55,2488
0	150	98,14561	10	30	93,22054	10	275	55,43024
0	155	106,2518	10	35	87,59922	10	280	54,04079
0	160	114,917	10	40	80,78786	10	285	55,74049
0	165	124,1945	10	45	74,96098	10	290	59,45728
0	170	133,9114	10	50	69,83212	10	295	64,83467
0	175	138,7522	10	55	61,3409	10	300	71,98945
0	180	140,6137	10	60	56,86496	10	305	79,43048
0	185	142,8501	10	65	53,15683	10	310	87,54539
0	190	145,5197	10	70	50,34871	10	315	90,99739
0	195	148,5316	10	75	48,26867	10	320	98,12278
0	200	151,6212	10	80	47,0302	10	325	105,6679
0	205	154,7674	10	85	46,69089	10	330	113,418
0	210	152,1506	10	90	47,37776	10	335	120,938
0	215	120,2514	10	95	49,30026	10	340	127,9235
0	220	110,6126	10	100	50,82017	10	345	134,1877
0	225	100,9105	10	105	51,23153	10	350	140,0975
0	230	91,9809	10	110	53,49066	10	355	145,5936
0	235	84,40748	10	115	56,87392	10	360	150,7636
0	240	78,18429	10	120	61,14859	20	0	149,9879