**Лабораторна робота № 3**

**Тема: Технологія мікросинтезу в плашках.**

Для спрощення робіт по рідинноофазному паралельному синтезу існує кілька простих прийомів. По-перше, використовуються металеві блоки-штативи для роботи з 48 пробірками (формат 6×8). Додавання реагентів і розчинників здійснюється за допомогою багатоканальних піпеток (6 або 8 носиків). Герметизація всього блоку проводиться єдиною тефлоновою прокладкою, причому для зміцнення контакту прокладки з пробірками використовується додаткова металева кришка з гвинтами. Перемішування здійснюється в барабані, на який встановлюються відразу кілька блоків.

***Хід роботи:***

**Завантаження плашок реагентами**

У блок на 48 скляних колб (6 мл) завантажують суспензію тонко розтертого триацетоксиборгідриду натрію в хлористому метилені (по 800 мкл, 3,6 мг, 0,17 ммоль на пробірку; 3,6 г/40 мл CH2Cl2 на плашку) за допомогою діспенсора Step-Pett.

До відновника додають по 400 мкл розчинів відповідних амінів (по 0,2 ммоль) і альдегідів (по 0,26 ммоль) в хлористому метилені. У разі зміни порядку завантаження реагентів слід звертати увагу, щоб в момент завантаження альдегіди не стикалися з відновником. Якщо речовина не розчиняється, то при необхідності слід збільшити обсяг розчину. Реагенти завантажуються за допомогою піпетки на 1000 мкл з довгими носиками Matrix (на 1250 мкл). Носики складають у відповідному завантаженню порядку в спеціальний штатив і використовують далі на всіх стадіях виділення даного завантаження, після чого носики рядами миються за допомогою восьмиканальної піпетки).

Пробірки закривають прямокутною тефлоновою прокладкою, гвинтами закріплюють додаткову металеву кришку і енергійно перемішують протягом 24 год в барабані типу «гриль». Розчинник видаляють на повітрі або в сушильній шафі при 40 °С до кінцевого об'єму 100 мкл.

На наступному етапі потрібно відокремити кінцевий амін від домішки непрореагованого альдегіду в кожній з реакційних сумішей. Для цього суміш пропускається через іонообмінну смолу (катіоніт) Dowex. При роботі з 48 сумішами на колонках складніше відстежувати ступінь і повноту сорбції для всього масиву речовин.

**Очищення отриманих продуктів на микроплашку**

Для очищення реакційної суміші від альдегіду упарені залишки, що отримані на 1-му етапі експерименту, розчиняють в метанолі і наносять за допомогою восьмиканальної піпетки (носики на 5 мл) на колонки з 4 мл суспензії Dоwex-Py. (Для приготування суспензії 90 г Dоwex і 100 мл метанолу перемішують на магнітній мішалці). Суспензію наносять в колонку за допомогою шприцевого восьмиканального дозатора або степ-дозатора на 40 мл.

Далі нейтральні домішки (альдегіди) змивають метанолом (по 5 мл на колонку). Перші 5 мл нейтрального шару збираються в 48 скляних колб (на 6 мл), при цьому по ТШХ контролюють можливе «проскакування» аміну. При необхідності підставляється ще одна плашка зі смолою і нейтральний шар наноситься повторно. Залишки метанолу з колонок видавлюють стисненим повітрям.

Кінцеві продукти змивають з колонок 30% розчином диетиламіну в метанолі в 48 скляних колб (на 6 мл), розміщених в двох штативах. Наливати розчин аміну в фільтруючі колонки треба максимально рівномірно, щоб в кінці елюювання всі приймачі були заповнені вщерть. Якщо при додаванні диетиламіну продукт починає кристалізуватися на іонообмінній смолі, то після промивання першими 5 мл суміші метанол/диетиламін слід перейти на суміш хлороформ/метанол 1: 1.

На наступному етапі необхідно повністю позбутися від розчинника і диетиламіну (Ткип = 56 °С). Для цього використовується вакуумна центрифуга Savant, принцип дії якої базується на виморожування розчинника в вакуумі. Відцентрова сила при обертанні центрифуги запобігає утворенню піни розчинника, і вдається упарити досить висококиплячі розчинники, наприклад диметилсульфоксид. Розчинник упарюють насухо при 40 °С в центрифузі Savant протягом 6 год, продукти розчиняють в 200-400 мкл хлороформу, об'єднують і аналізують за допомогою ТШХ. Продукти, які не потребують додаткового очищення, переносять в заздалегідь зважені пластикові пробірки (6 мл), помічені кодами для електронного зчитування даних. При цьому 10% від кожного розчину відбирають для ЯМР-аналізу і переносять в плашку Marsh (96 × 1,2 мл). Обидві плашки підписують (положення непідписаних пробірок відповідає листу завантаження), розчинник висушують на повітрі або в сушильній шафі при 40 °С, залишки розчинника видаляють в сушильній шафі в вакуумі. Лист завантаження і хроматограми зберігаються в архіві. Якщо за даними ТШХ в продуктах виявлено залишки вихідного аміну, то продукти розчиняють в 300 мкл хлороформу і пропускають через хроматографічні колонки. Використовують фільтруючі плашки Oros (50 мг силикагеля, що за обсягом відповідає позначці на нижній частині колонки).

**Хроматографічне очищення отриманого продукту**

Силікагель завантажують за допомогою лункового дозатора. Для цього в блок з висвердленими порожнинами засипають силікагель і розрівнюють для рівномірного розподілу по лунках. Потім отвори в плашки поєднують з лунками і перевертають конструкцію. Сорбент рівномірно розподіляється по 48 (або 96) коміркам плашки. Речовини вносять на колонки за допомогою піпетки. Елюат збирають в штатив на 48 скляних колб (по 6 мл), промивають силікагель хлороформом (кінцевий об'єм елюата ~ 3 мл) і аналізують за допомогою ТШХ. При необхідності продукти пропускають через силікагель повторно, після чого переносять в заздалегідь зважені пробірки. Продукти, що вимагають препаративної колонкової хроматографії (забруднюючі домішки по Rf вище продукту), збираються окремо для спеціального очищення на скляних колонках.