

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická  
Ústav organické chemie a technologie

Příprava stereoizomerů 1-deoxysfingosinových derivátů

**BAKALÁŘSKÁ PRÁCE**

Autor práce: Petr Pospíšil  
Vedoucí práce: doc. Ing. Pavel Drabina, Ph.D.

2021

University of Pardubice  
Faculty of Chemical Technology  
Institute of Organic Chemistry and Technology

Preparation of stereoisomers of 1-deoxysphingosine derivatives

**BACHELOR THESIS**

Author: Petr Pospíšil  
Supervisor: doc. Ing. Pavel Drabina, Ph.D.

2021

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická  
Akademický rok: 2020/2021

## ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE (projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Petr Pospíšil**  
Osobní číslo: **C18360**  
Studijní program: **B2830 Farmakochemie a medicínální materiály**  
Studijní obor: **Farmakochemie a medicínální materiály**  
Téma práce: **Příprava stereoizomerů 1-deoxysfingosinových derivátů**  
Zadávající katedra: **Ústav organické chemie a technologie**

### Zásady pro vypracování

1. Proveďte literární rešerši týkající se přípravy a použití 1-deoxysfingosinových derivátů s lineárním uhlíkatým řetězcem obsahujícím více než 18 atomů uhlíku.
2. Připravte *anti*-/*syn*- stereoizomery 2-amino-ikosan-3-olu ze stearylalkoholu s využitím Henryho reakce.
3. Připravte *anti*-/*syn*- stereoizomery 2-amino-tetrakosan-3-olu z dokosan-1-olu s využitím Henryho reakce.
4. Připravené sloučeniny charakterizujte pomocí dostupných analytických metod.
5. Výsledky vyhodnoťte a zpracujte ve formě závěrečné zprávy.

Rozsah pracovní zprávy:  
Rozsah grafických prací:  
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:  
Veškerá dostupná odborná literatura.

Vedoucí bakalářské práce: **doc. Ing. Pavel Drabina, Ph.D.**  
Ústav organické chemie a technologie

Datum zadání bakalářské práce: **26. února 2021**  
Termín odevzdání bakalářské práce: **2. července 2021**

L.S.

---

**prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.**  
děkan

---

**prof. Ing. Miloš Sedlák, DrSc.**  
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 26. února 2021

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracoval samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využil, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byl jsem seznámen s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 16. 7. 2021

Petr Pospíšil

## **PODĚKOVÁNÍ**

Na tomto místě bych chtěl poděkovat mému školiteli, doc. Ing. Pavlu Drabinovi, Ph.D. za odborné vedení práce, cenné rady, trpělivost, vstřícnost a ochotu, kterou mi při vypracování bakalářské práce věnoval. Dále bych chtěl poděkovat všem pracovníkům Ústavu organické chemie a technologie Univerzity Pardubice za jejich ochotu a pomoc.

Zvláště bych chtěl poděkovat mé rodině a přítelkyni za nesmírnou podporu a obětavost. Bez jejich pomoci by bylo dokončení vysokoškolského studia velmi náročné.

## ANOTACE

Tato práce popisuje přípravu jednotlivých diastereoizomerů vybraných 2-aminoalkan-3-olů, neboli 1-deoxysfingosinových bází, v racemické formě. Syntéza těchto sloučenin je založena na aplikaci Henryho reakce příslušných aldehydů s nitroethanem a následné redukci nitroaldolových meziproductů. Za účelem dělení *anti-/syn-* diastereoizomerů 2-aminoalkan-3-olů byla provedena jejich derivatizace na příslušné 2-fenyloxazoliny, jejichž diastereoizomery byly rozděleny sloupcovou chromatografií. Hydrolyza oxazolinových derivátů poskytla *anti-/syn-*stereoizomery 2-aminoalkan-3-olů.

## KLÍČOVÁ SLOVA

Parikh-Doeringova oxidace; 1-Deoxysfingosinové báze; Henryho reakce; Oxazolinové deriváty; Separace stereoizomerů

## ANOTATION

This work describes the preparation of individual diastereomers of selected 2-aminoalkan-3-ols, i.e. 1-deoxysphingosine bases, in racemic form. The synthesis of those compounds is based on the application of Henry reaction of the corresponding aldehydes with nitroethane and subsequent reduction of the nitroaldol intermediates. The *anti-/syn-*diastereoisomers of 2-aminoalkan-3-ols were derivatized to the corresponding 2-phenyloxazolines, whose individual diastereoisomers can be successfully separated by column chromatography. Hydrolysis of oxazoline derivatives gave *anti-/syn-*stereoisomers of target 2-aminoalkan-3-ols.

## KEY WORDS

Parikh-Doering oxidation; 1-Deoxysphingosine bases; Henry reaction; Oxazoline derivatives; Separation of stereoisomers

## SEZNAM ZKRATEK

Ac	acetyl
AIBN	azobisisobutyronitril
Bn	benzyl
Boc	<i>tert</i> -butyloxykarbonyl
Bu	butyl
CBz	benzyloxykarbonyl
CoA	koenzym A
DABCO	1,4-diazabicyklo[2.2.2]oktan
DBAD	dibenzylazodikarboxylát
DBU	1,8-diazabicyklo[5.4.0]undec-7-en
DIBAL-H	diisobutylaluminiumhydrid
DMAP	4-dimethylaminopyridin
DMF	<i>N,N</i> -dimethylformamid
DMP	Dess-Martinovo činidlo
DMSO	dimethylsulfoxid
dr	diastereoizomerní poměr
ee	enantiomerní přebytek
Et	ethyl
<i>i</i> -Pr	isopropyl
IBX	kyselina 2-jodoxybenzoová
IC <sub>50</sub>	střední inhibiční koncentrace
IPA	isopropylalkohol
LHMDS	lithium-bis(trimethylsilyl)amid
Me	methyl
MIC	minimální inhibiční koncentrace
MOM	methoxymethyl
Ms	mesylát
PCC	pyridinium-chlorformiát
Ph	fenyl
PTSA	kyselina <i>p</i> -toluensulfonová
Py	pyridin
rt	laboratorní teplota



SPT	serinpalmitoyltransferasa
TBAF	tetrabutylamonium-flourid
TBAI	tetrabutylamonium-jodid
TBDPS	<i>terc</i> -butyldifenylsilyl
TBHP	<i>terc</i> -butylhydroperoxid
TBS	<i>terc</i> -butyldimethylsilyl
TBSOTf	<i>terc</i> -butyldimethylsilyl-trifluormethansulfonát
TEA	triethylamin
Tf	triflyl
THF	tetrahydrofuran
TMS	trimethylsilyl
Ts	tosyl

# OBSAH

<b>1. ÚVOD A TEORETICKÁ ČÁST.....</b>	<b>11</b>
<b>1.1. Cíle bakalářské práce .....</b>	<b>11</b>
<b>1.2. Sfingolipidy.....</b>	<b>12</b>
<b>1.3. 1-Deoxysfingosinové báze.....</b>	<b>15</b>
<b>1.4. Metody přípravy Spisulosinu (1).....</b>	<b>18</b>
1.4.1. Asymetrické syntézy využívající enantioselektivní katalýzu .....	18
1.4.2. Asymetrické syntézy využívající pomocná chirální činidla .....	21
1.4.3. „Chiral pool“ přístup .....	22
<b>1.5. Metody přípravy Clavaminolu A (2).....</b>	<b>30</b>
1.5.1. Asymetrické syntézy využívající enantioselektivní katalýzu .....	30
1.5.2. „Chiral pool“ přístup .....	32
<b>1.6. Metody přípravy Xestoaminolu C (3) .....</b>	<b>34</b>
1.6.1. „Chiral pool“ přístup .....	34
1.6.2. Asymetrická syntéza využívající pomocná chirální činidla .....	36
1.6.3. Asymetrická syntéza využívající enantioselektivní katalýzu .....	37
<b>1.7. Metody přípravy 2-aminoikosan-3-olu (132).....</b>	<b>38</b>
1.7.1. Příprava využívají nukleofilní adici Grignardova činidla.....	38
1.7.2. Příprava pomocí Henryho reakce .....	39
<b>1.8. Metody přípravy 2-aminotetrakosan-3-olu (136) .....</b>	<b>39</b>
<b>2. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST.....</b>	<b>40</b>
<b>2.1. Obecné postupy .....</b>	<b>40</b>
<b>2.2. Příprava aldehydů 133 a 139<sup>[47]</sup> .....</b>	<b>41</b>
<b>2.3. Příprava 2-nitroalkan-3-olů 134 a 140.....</b>	<b>42</b>
<b>2.4. Příprava 2-aminoalkan-3-olů 132 a 136.....</b>	<b>43</b>
<b>2.5. Příprava 2-fenyloxazolinových derivátů 135 a 141.....</b>	<b>44</b>
<b>2.6. Hydrolyza 2-fenyloxazolinu 141 .....</b>	<b>47</b>
<b>3. VÝSLEDKY A DISKUZE .....</b>	<b>48</b>
<b>4. ZÁVĚR .....</b>	<b>54</b>
<b>5. LITERATURA .....</b>	<b>55</b>

# 1. ÚVOD A TEORETICKÁ ČÁST

## 1.1. Cíle bakalářské práce

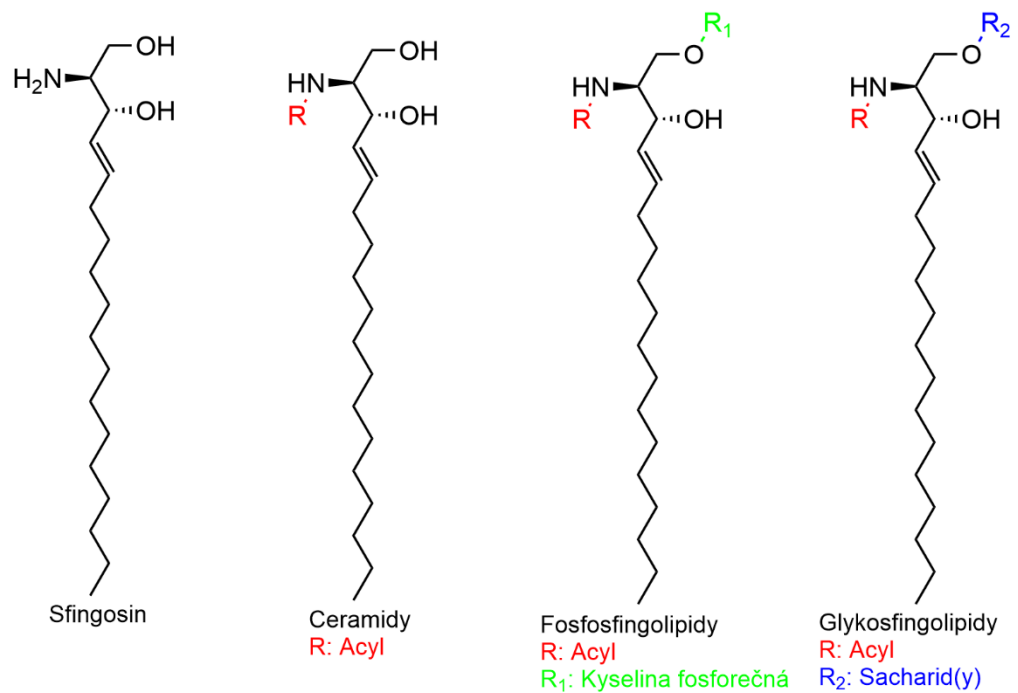
Cílem této bakalářské práce bylo provedení literární rešerše týkající se přípravy a použití 2-aminoalkan-3-olů, tedy 1-deoxysfingosinových bází, s lineárním uhlíkatým řetězcem obsahujícím více než 18 atomů uhlíku. Na základě této literární rešerše měly být v praktické části bakalářské práce připraveny racemické formy *anti-/syn-* stereoizomerů 2-aminoikosan-3-olu resp. 2-aminotetrakosan-3-olu. Výchozími sloučeninami pro syntézu uvedených 2-aminoalkan-3-olů měly být stearylalkohol a dokosan-1-ol, které měly být nejprve pomocí Parikh-Doeringovy oxidace převedeny na příslušné aldehydy. Bazicky katalyzovanou Henryho reakcí aldehydů s nitroethanem a následnou redukcí měly být připraveny cílové 2-aminoalkan-3-oly jako směs všech čtyř možných stereoizomerů. Dále mělo být studováno dělení jednotlivých diastereoizomerů 2-aminoalkan-3-olů, a to jejich modifikací na cyklické deriváty – 5-alkyl-2-fenyl-4-methyloxazoliny, u nichž se předpokládala možnost separace příslušných *cis-/trans-* izomerů pomocí sloupcové chromatografie. Závěrečným reakčním krokem pak měla být kyselá katalyzovaná hydrolýza separovaných 2-fenyloxazolinů. Reakční podmínky všech reakčních kroků měly být zoptimalizovány za účelem maximalizace chemických výtěžků a účinnosti separace stereoizomerů. Jednotlivé sloučeniny (intermediáty a cílové sloučeniny) měly být charakterizovány pomocí dostupných analytických metod.

## 1.2. Sfingolipidy

Sfingolipidy představují důležitou třídu přírodních sloučenin, které se vyskytují v podstatě u všech živočichů, rostlin, hub a u některých prokaryotických organismů a virů. Jejich základní funkcí je funkce stavební, neboť představují strukturní složky biomembrán, lipoproteinů, kůže a jiných biomateriálů. Další jejich významnou biologickou aktivitou je funkce regulační, mohou například vystupovat jako modulátory a mediátory buněčné signalizace.<sup>[1]</sup> Sfingosin byl poprvé identifikován v ethanolických extraktech mozkové tkáně, a to již v roce 1884. Byl pojmenován po řeckém mytologickém stvoření „*Sfinga*“, kvůli jeho tajemné povaze.<sup>[2]</sup> Chemická struktura Sfingosinu, z něhož je odvozena jedna ze skupin složených lipidů – tzv. sfingolipidy, byla určena ve 40. letech 20. století.<sup>[3]</sup>

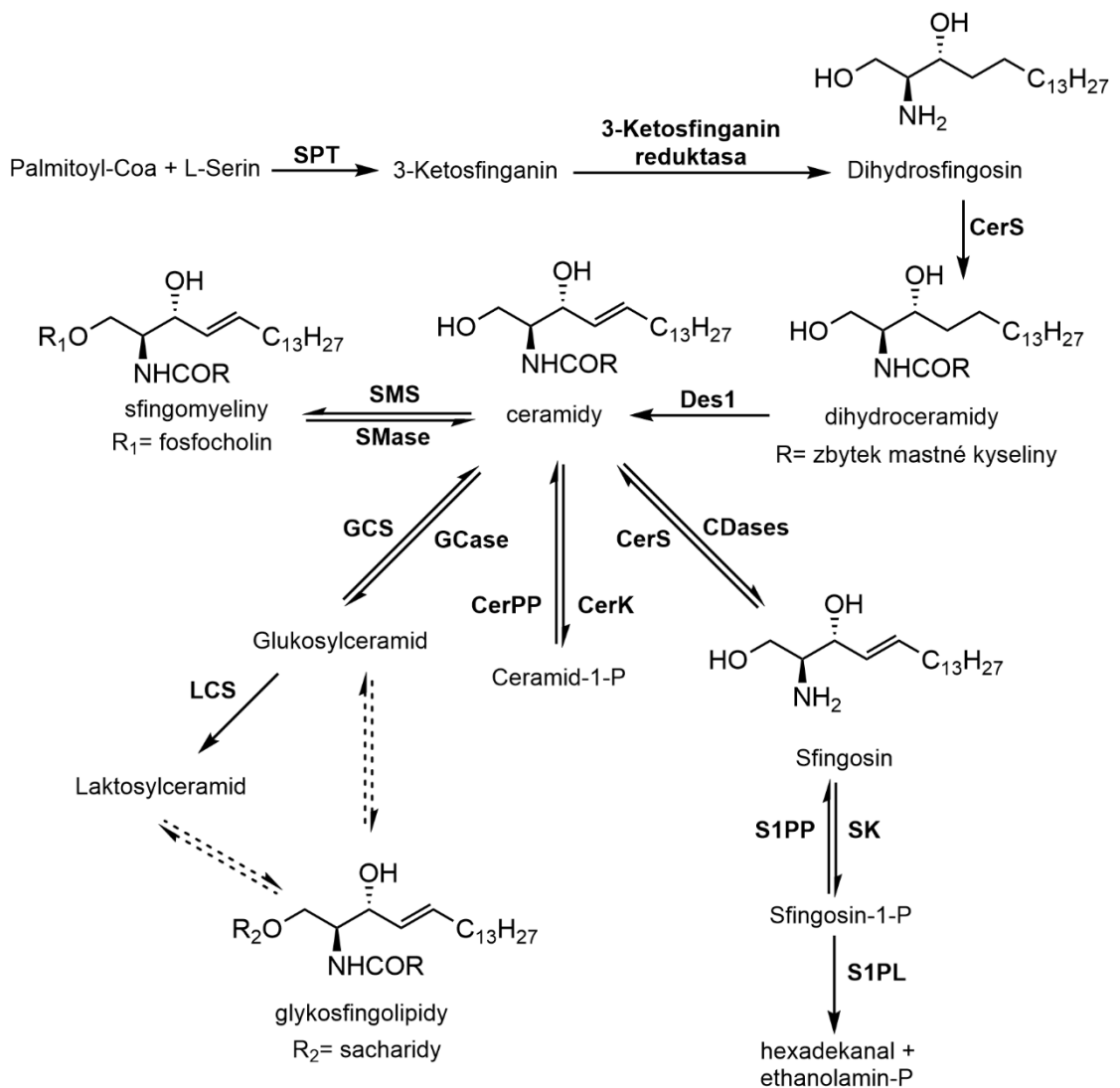
Obecně lze sfingolipidy rozdělit do několika hlavních tříd (**Obr. 1**):

- jednoduché sfingoidní báze a jejich deriváty (např. sfingosin-1-fosfát)
- Ceramidy – amidy sfingoidních bází (především sfingosinu) a mastných kyselin s dlouhým řetězcem (R: acyl)
- Fosfosfingolipidy – ceramidy, ve kterých je na primární skupinu sfingosinu vázána esterovou vazbou kyselina fosforečná a následně další hydroxysloučenina (např. cholin, inositol, serin)
- Glykosfingolipidy – ceramidy, ve kterých je na primární skupinu sfingosinu vázána prostřednictvím glykosidové vazby sacharidová molekula. V případě přítomnosti monosacharidu se jedná o cerebrosidy; pokud je vázán oligosacharid nebo derivát sacharidu, rozlišují se globosidy, sulfatidy a gangliosidy.<sup>[4]</sup>



**Obr. 1** Rozdělení sfingolipidů

Sfingolipidy tedy představují heterogenní skupinu sloučenin s rozdílnou polaritou, které ovšem sdílejí společný strukturní motiv. Tím je základní sfingoidní fragment, který je biosyntetizován *de novo* ze serinu a acyl-CoA (např. palmitoyl-CoA). Kromě výše uvedených ceramidů, fosfosfingolipidů a glykosfingolipidů může rovněž docházet k tvorbě složitějších komplexních sloučenin, jako jsou např. lipoproteinové adukty.<sup>[5]</sup>



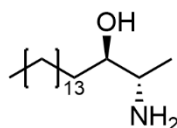
**Schéma 1** Biosyntéza sfingolipidů<sup>[6]</sup>

Je známo, že metabolity sfingolipidů se účastní klíčových událostí při přenosu signálu a buněčné regulace.<sup>[7]</sup> Ovlivňují také aspekty iniciace, progresu a odpovědi na léčbu rakoviny, např. určité ceramidy se úzce podílí na regulaci růstu, diferenciaci, stárnutí a apoptosu rakovinných buněk.<sup>[8]</sup>

### 1.3. 1-Deoxysfingosinové báze

1-Deoxysfingolipidy jsou atypické sfingolipidy. Vznikají především jako vedlejší produkty během biosyntézy sfingolipidů *de novo*, konkrétně při kondenzační reakci serinu s palmitoyl-CoA katalyzované enzymem serinpalmitoyltransferasa (SPT). Geneticky podmíněné mutace ve struktuře enzymu SPT vedou v důsledku k záměně běžného substrátu – L-serinu za L-alanin (formálně deoxyserin).<sup>[9]</sup> 1-Deoxysfingolipidy působí neurotoxicky a jejich zvýšené hladiny jsou charakteristickým znakem vzácné dědičné senzorické neuropatie typu I. Významně zvýšené hladiny 1-deoxysfingolipidů byly zjištěny také u pacientů s metabolickým syndromem nebo diabetem typu 2.<sup>[10]</sup> Rovněž bylo zjištěno, že 1-deoxysfingolipidy zhoršují cytoskeletální dynamiku a buněčnou regulaci.<sup>[11]</sup>

Vzhledem k výše uvedené signifikantní biologické aktivitě 1-deoxysfingosinových bází se těmito sloučeninám dostalo značné pozornosti nejen z oblasti biochemie a medicíny, ale rovněž se staly předmětem zájmu ze strany syntetických chemiků. V nedávné době byla vyvinuta celá řada různých syntetických metod, které kromě vlastní syntézy těchto sloučenin řešily i aspekt *erythro*- resp. *threo*- konfigurace ve struktuře aminoalkoholů. Největší pozornost byla věnována Spisulosinu (**1**) (**Obr. 2**), se systematickým názvem (2*S*,3*R*)-2-aminooktadekan-3-ol.<sup>[12]</sup>

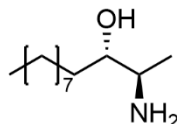


**Obr. 2** Struktura Spisulosinu (**1**)

Tato molekula byla izolována z mořského živočicha (měkkýše) *Spisula polynyma* (syn. *Mactromeris polynyma*).<sup>[12,13]</sup> Spisulosin a jeho *syn*-diastereoizomer byl poprvé syntetizován v roce 1957. Cílem této práce bylo především stanovit absolutní konfiguraci na stereogenních centrech v lipidových bázích, které obsahují dva nebo více asymetrických atomů uhlíku.<sup>[13,14]</sup> Později bylo zjištěno, že Spisulosin vykazuje výraznou cytotoxicitu vůči lymfocytárním leukemickým buňkám myši L1210. Spisulosin je také cytotoxický vůči dalším buněčným liniím nádorů *in vitro*, např. P-388 (IC<sub>50</sub> = 0,01 mg/ml); A-549 (IC<sub>50</sub> = 0,05 mg/ml); HT-29 (IC<sub>50</sub> = 0,05 mg/ml) a MEL-28 (IC<sub>50</sub> = 0,05 mg/ml).<sup>[13]</sup> Dále se předpokládá, že Spisulosin by mohl působit jako antagonist receptoru pro sfingosin-1-fosfát.<sup>[15]</sup> Důvodem této hypotézy je fakt, že Spisulosin, jelikož nemá alkoholovou skupinu v poloze 1-, nemůže být fosforylován, a proto nemůže poskytovat *in vivo* sfingosin-1-fosfát. Je známo, že

sfingosin-1-fosfát, který je přirozeným metabolitem ceramidů, zabraňuje apoptose buněk.<sup>[16]</sup>

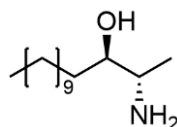
Dalším z nedávno popsáných 1-deoxysfingosinových derivátů je Clavaminol A (**2**) (**Obr. 3**) systematicky (2*R*,3*S*)-2-aminododekan-3-ol. Jeho struktura je zajímavá tím, že má opačnou absolutní konfiguraci na stereogenních centrech než je tomu v případě Spisulosinu a derivátů Sfingosinu.<sup>[17]</sup> Později bylo zjištěno, že v přírodě se vyskytuje i opačný enantiomer, označovaný jako *ent*-Clavaminol A, který byl izolován z Brazílské sumky *Clavelina oblonga*.<sup>[18]</sup>



**Obr. 3** Struktura Clavaminolu A (**2**)

Clavaminol A (**2**) se spolu s ostatními Clavaminoly (B–N) vyskytuje ve středomořské sumce *Clavelina phlegraea*. Oba stereoizomery, lišící se v absolutní konfiguraci, vykazují zajímavou cytotoxickou aktivitu. Cytotoxická aktivita Clavaminolu A byla studována na nádorových buněčných liniích AGS (karcinom žaludku), A549 (karcinom plic) a T47D (karcinom prsu). U *ent*-Clavaminolu A byla pozorována i antifungální aktivita.<sup>[19,20]</sup> Spisulosin vykazuje vyšší cytotoxickou účinnost než oba Clavaminoly A, což může souviset s jeho vyšší lipofilitou, způsobenou přítomností delšího alkylového řetězce.<sup>[20]</sup>

Dalším důležitým zástupcem 1-deoxysfingosinových derivátů je Xestoaminol C (**3**) (**Obr. 4**) systematicky (2*S*,3*R*)-2-aminotetradekan-3-ol, který byl poprvé izolován z mořské houby *Xestospongia sp.* Tato sloučenina inhibuje reverzní transkriptasu (95% inhibice při 1 mg/ml).<sup>[21]</sup> Zároveň Xestoaminol C vykazuje významnou protinádorovou aktivitu na některých buněčných liniích (IC<sub>50</sub> v rozmezí 0,44–4,5 μM).<sup>[22]</sup>



**Obr. 4** Struktura Xestoaminolu C (**3**)

Nedávno byl v novozélandské hnědé řase *Xiphophora chondrophylla* nalezen také jeho *syn*-diastereoizomer s absolutní konfigurací (2*S*,3*S*)-, označovaný jako *epi*-Xestoaminol C. Tento stereoizomer vykazuje jistou cytotoxickou aktivitu proti lidským nádorovým buňkám HL-60, HEK a A549. Vykazuje také antibakteriální aktivitu jak u grampozitivních, tak u gramnegativních patogenních bakterií s hodnotami MIC v rozmezí 6,25–25 μg/ml.<sup>[23]</sup>



Kromě výše uvedených přírodních 1-deoxysfingosinových bází byly připraveny také zástupci obsahující lineární uhlíkatý řetězec s jinými počtem atomů uhlíku než 12, 14 resp. 18. Rovněž tyto látky vykazují relevantní protinádorovou aktivitu vůči liniím nádorových buněk (leukémie, karcinom plic, karcinom střev, karcinom ledvin, karcinom prostaty, karcinom vaječníků, karcinom prsu, sakromům a melanomům).<sup>[13]</sup>

Možný mechanismus cytotoxického účinku těchto látek je založen na jejich kompetitivní vazbě k receptorům určeným pro endogenní sfingosin. Mechanismus účinku může také zahrnovat začlenění těchto 1-deoxysfingosinových bází do různých tříd sfingolipidů, tj. sfingomyelinů, ceramidů či gangliosidů. V obou případech mohou být narušeny buněčné procesy řízené těmito sloučeninami.<sup>[13]</sup>

## 1.4. Metody přípravy Spisulosinu (1)

V literatuře popsané metody syntézy sfingoidních bází lze obecně klasifikovat do tří rozdílných syntetických strategií: jednou z nich je tzv. „chiral pool“ přístup, tedy využití enantiomerně čisté chirální výchozí látky či činidla. Další dvě patří do kategorie asymetrické syntézy, a to buď s využitím tzv. pomocných chirálních činidel nebo využívající enantioselektivní katalýzu.<sup>[24]</sup>

### 1.4.1. Asymetrické syntézy využívající enantioselektivní katalýzu

Jedna z metod přípravy Spisulosinu (1) popsaných v literatuře spočívá v aplikaci asymetrické Henryho reakce. Studie, kterou publikoval Xu Kun a kolektiv (Schéma 2),<sup>[25]</sup> byla provedena s chirálním měďnatým komplexem ligandu 6, jakožto enantioselektivním katalyzátorem. Nitroaldol 7 v byl získán v 82% výtěžku a s enantioselektivitou 95 % ee. Majoritním diastereoizomerem byl požadovaný *anti*-izomer. Nitroaldol 7 byl následně redukován pomocí hydrogenace za katalýzy Pd-C na výsledný Spisulosin (1) v 73% výtěžku.<sup>[25]</sup>

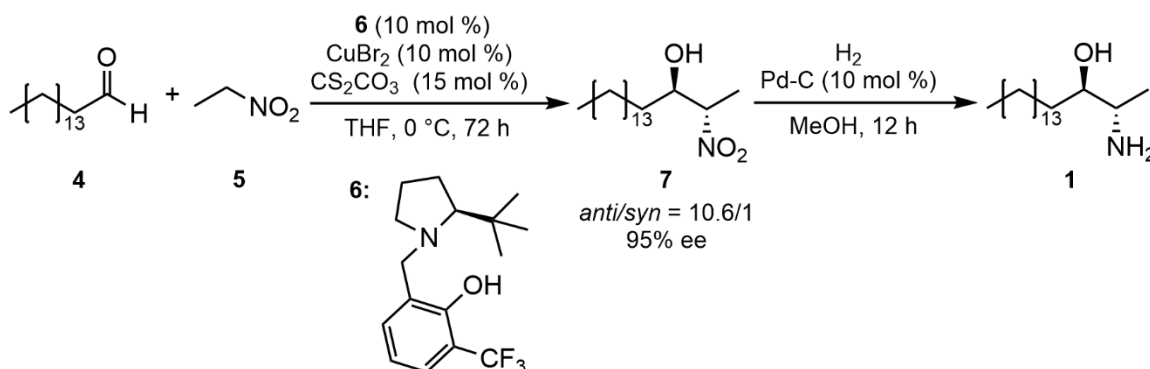
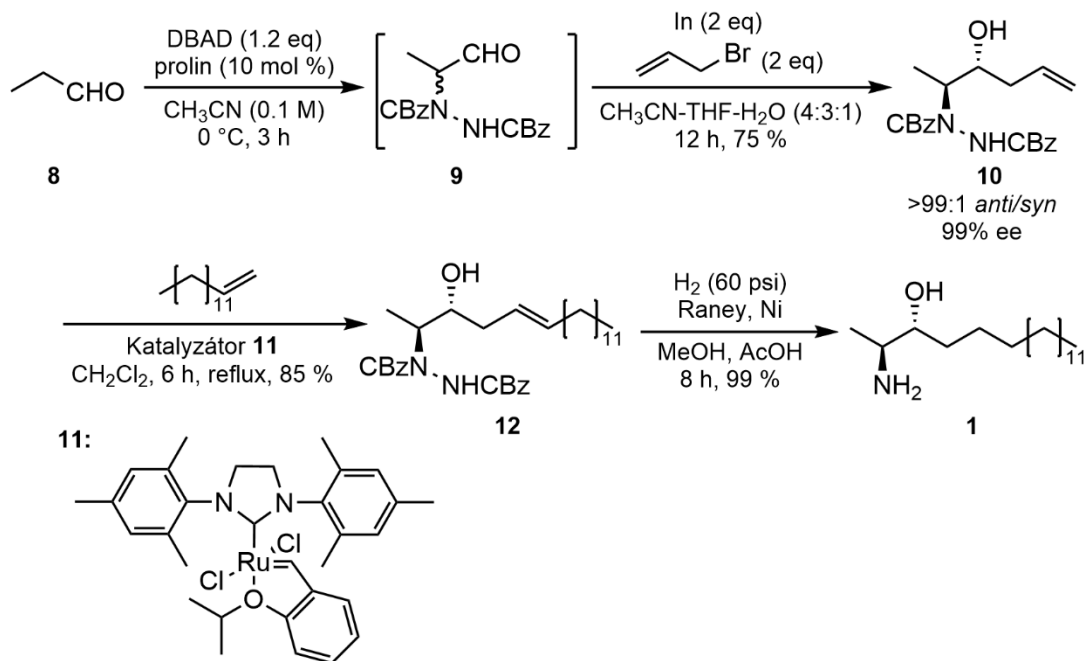


Schéma 2 Příprava Spisulosinu (1) pomocí asymetrické Henryho reakce<sup>[25]</sup>

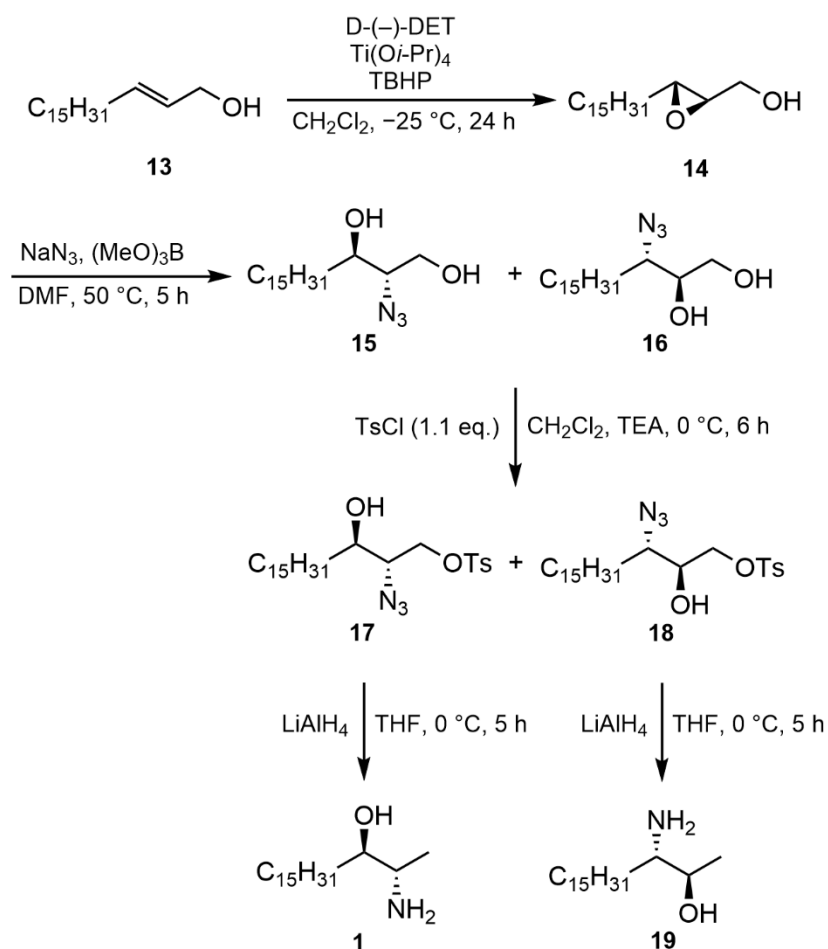
Další popsanou metodou pro přípravu Spisulosinu (1) s využitím enantioselektivní katalýzy je využití asymetrické aminace aldehydu, kterou publikoval Pandey a kolektiv v roce 2013 (Schéma 3).<sup>[26]</sup> V prvním reakčním kroku byl výchozí propanal (8) podroben reakci s dibenzylazodikarboxylátem (DBAD) v acetonitrilu za katalýzy L-prolinem, čímž vznikl relativně nestabilní intermediát 9. Ten dále reagoval s allylbromidem za katalýzy práškového india za vzniku alkoholu homoallylového typu 10, u kterého byl majoritním produktem *anti*-izomer. Následně byla provedena metateze katalyzována Hoveyda-Grubbovým katalyzátorem druhé generace 11 s příslušným alkenem, která poskytla sloučeninu 12.

V posledním kroku bylo pomocí hydrogenace na Raneyově niklu dosaženo redukce dvojné vazby sloučeniny **12** a zároveň ochrání aminové skupiny. Výsledný Spisulosin (**1**) byl touto syntetickou metodou získán v celkovém výtěžku 63 %.<sup>[26]</sup>



**Schéma 3** Příprava Spisulosinu (**1**) využívající asymetrickou aminaci<sup>[26]</sup>

Spisulosin (**1**) je dále možné připravit s využitím Sharplesovy epoxidace (**Schéma 4**).<sup>[27]</sup> Sharplesova asymetrická epoxidace alkoholu **13** katalyzovaná D-(–)-diethyl vianem vedla k zisku epoxyalkoholu **14** v 85% výtěžku, a s excelentním enantiomerním přebytkem >98% ee. Následovala azidolýza epoxidu **14** azidem sodným v suchém DMF za přítomnosti trimethylborátu. Ačkoli reakce probíhala selektivně na uhlíku C-2, byla připravena směs azidodiolů **15** (majoritní) a **16** (minoritní). Bohužel, tyto dva regioizomery nebylo možné separovat pomocí sloupcové chromatografie. Následovalo tedy převedení sloučenin **15** a **16** na příslušné tosyláty **17** a **18**, a to působením tosylchloridu za přítomnosti triethylaminu. Vzniklé tosyláty **17** a **18** již bylo možné separovat sloupcovou chromatografií. Na základě izolovaného množství jednotlivých tosylátů **17** a **18** bylo stanoveno, že při azidolýze vznikly azidy **15** a **16** v poměru 85:15. Sloučenina **17** byla dále redukována pomocí LiAlH<sub>4</sub> v THF, čímž byl získán Spisulosin (**1**) v 70% výtěžku.<sup>[27]</sup>



**Schéma 4** Příprava Spisulosinu (**1**) pomocí Sharplessovy epoxidace<sup>[27]</sup>

Další metodou pro přípravu Spisulosinu (**1**) s vysokou diastereoselektivitou je aplikace Morita-Baylis–Hillmanovy reakce (**Schéma 5**).<sup>[28]</sup> Syntéza začíná uvedenou reakcí mezi hexadekanalem (**4**) a methyl-akrylátém v přítomnosti DABCO, která poskytla sloučeninu **20** v 60% výtěžku. Hydroxylová skupina sloučeniny **20** byla následně silylována pomocí TBSOTf/TEA za vzniku silyletheru **21** v 70% výtěžku. Následovala hydrolyzá esterové skupiny **21** vedoucí ke kyselině **22**. Uvedené tři reakční kroky proběhly s celkovým výtěžkem 42 %. Následovalo převedení kyseliny **22** na acyloin **23** pomocí Curtiova přesmyku a následné hydrolyzy enamínu. Reakce byla provedena formou „one-pot“ syntézy s výsledným 40% výtěžkem. Acyloin **23** byl poté převeden reakcí s benzylaminem na imin, který byl ihned redukován pomocí NaBH<sub>3</sub>CN na benzylaminový derivát **24**. Výtěžek této reductivní aminace byl 70 %. V předposledním kroku byl benzylovaný amin **24** debenzylován za podmínek katalytické hydrogenace (katalyzátorem bylo 5% Pd-C), s výtěžkem aminu **25** 90 %. Poslední krok představoval odstranění silylové skupiny, čímž byl získán výsledný Spisulosin (**1**) v 98% výtěžku.<sup>[28]</sup>

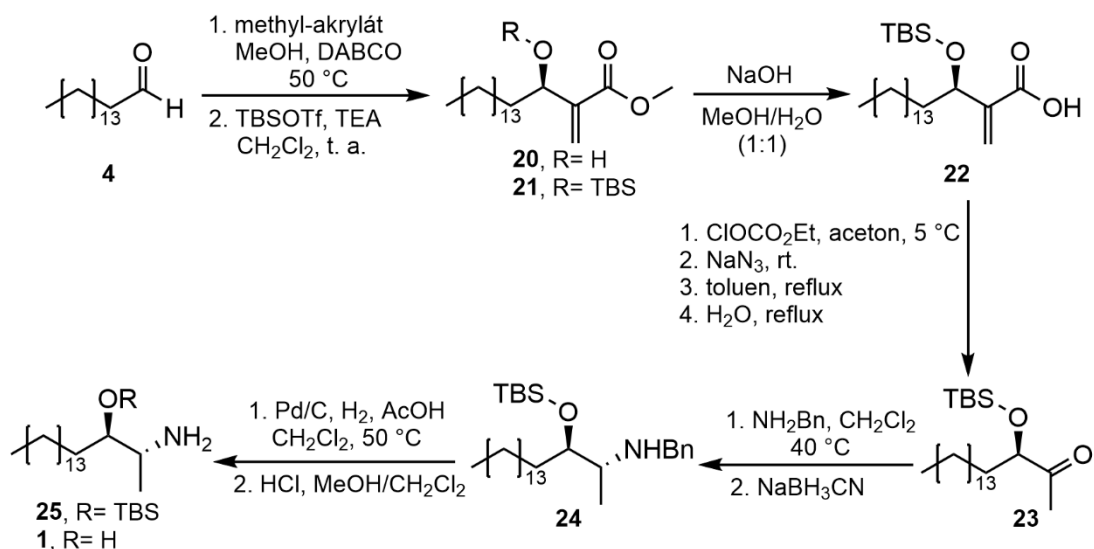
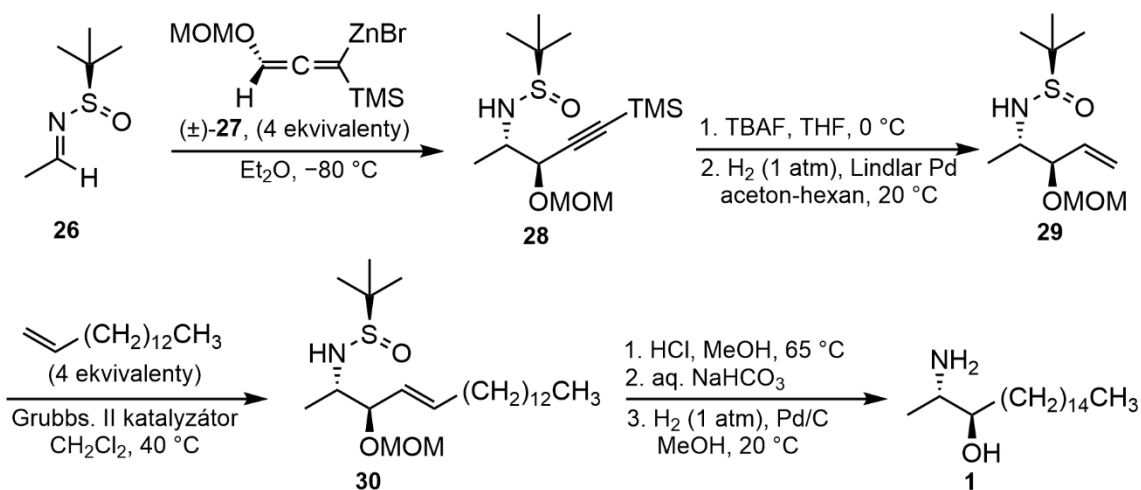


Schéma 5 Příprava Spisulosinu (1) pomocí Morita-Baylis-Hillmanovy reakce<sup>[28]</sup>

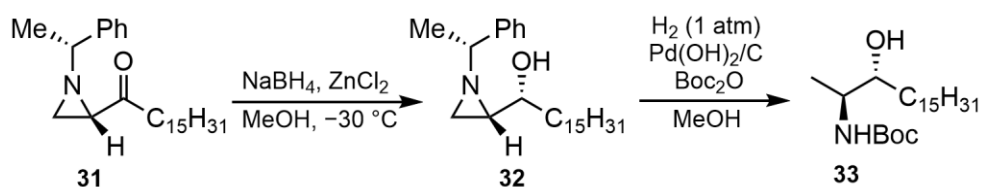
#### 1.4.2. Asymetrické syntézy využívající pomocná chirální činidla

V literatuře je popsána syntéza Spisulosinu (1), která využívá chirální *N-terc*-butylsulfynylimin **26** (Schéma 6),<sup>[29]</sup> což je sloučenina snadno připravitelná z komerčně dostupného *N-terc*-butylsulfinamidu. Reakční sekvence začíná adicí racemického allenového derivátu **27** na *N-terc*-butylsulfynylimin **26**, která poskytla *anti*-(2*S*,3*R*)-sulfynylamidoalkylether **28** v 94% výtěžku. Reakce se vyznačovala vysokou stereoselektivitou, neboť byly vytvořeny pouze dva diastereoizomery, a to v poměru 93:7. Následná reakce sloučeniny **28** s TBAF vedla k desilylaci v pozici trojné vazby a výsledný surový produkt byl podroben semihydrogenaci za přítomnosti Lindlarova palladiového katalyzátoru, čímž byl získán meziprodukt **29** jako směs dvou diastereoizomerů v poměru 91:9 a v 95% výtěžku. Poté byla provedena zkřížená metateze pomocí Grubsova katalyzátoru 2. generace, přičemž vznikl majoritně *E*-izomer sloučeniny **30**. Celkový výtěžek těchto tří reakčních kroků byl 72 %. Nežádoucí *Z*-izomer byl poté separován pomocí flash chromatografie. Následovala deprotektce MOM-etheru **30** pomocí HCl v suchém MeOH, surový produkt byl neutralizován a přímo hydrogenován vodíkem za katalýzy Pd-C za zisku Spisulosinu (1) v celkovém 93% výtěžku.<sup>[29]</sup>



**Schéma 6** Příprava Spisulosinu (**1**) využívají *N*-*tert*-butylsulfinylimin<sup>[29]</sup>

Spisulosin (**1**) může být také připraven modifikací chirálního aziridinu **31** (Schéma 7).<sup>[30]</sup> Výchozí látku **31** je možné připravit z komerčně dostupného (+)-menthyl (*S*)-1-((*R*)-1-fenylethyl)aziridin-2-karboxylátu, který reakcí s hydrochloridem *N*,*O*-dimethylhydroxylaminu poskytne Weinrebův amid, jenž je následně převeden s využitím organokovového činidla na látku **31**. Reakční schéma začíná redukcí aziridinu **31** působením směsi NaBH<sub>4</sub> a ZnCl<sub>2</sub> za vzniku *erythro*-izomeru **32** v 84% výtěžku. Tento izomer **32** byl následně hydrogenován vodíkem za katalýzy Pd(OH)<sub>2</sub>/C v přítomnosti Boc<sub>2</sub>O, přičemž výsledným produktem byl *N*-Boc-Spisulosin (**33**) v 95% výtěžku.<sup>[30]</sup>

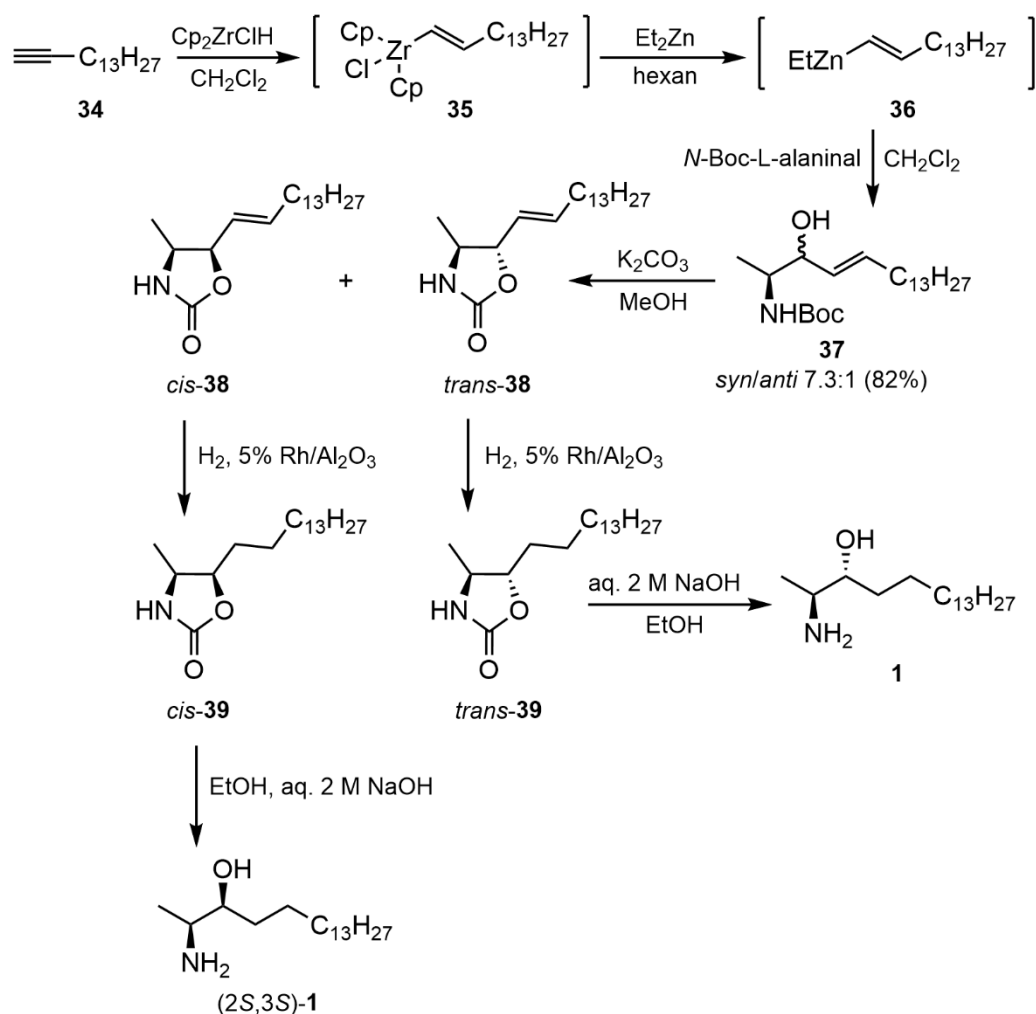


**Schéma 7** Příprava vycházející z aziridinového derivátu **31**<sup>[30]</sup>

#### 1.4.3. „Chiral pool“ přístup

V případě „chiral pool“ přístupu je konfigurace na stereogenních centrech Spisulosinu (**1**) dána absolutní konfigurací enantiomerně čistého chirálního reaktantu. Jedna z možných syntéz Spisulosinu, spadající do této kategorie, využívá *N*-Boc-L-alaninal. Tato příprava (Schéma 8),<sup>[6]</sup> která byla popsána v roce 2013, začíná hydrozirkonací pentadec-1-ynu (**34**) pomocí Schwartzova činidla. Následovala transmetalace alkenylzirkonu **35** pomocí Et<sub>2</sub>Zn v hexanu, která poskytla organozinečnatou sloučeninu **36**. Poté došlo k adici látky **36** na

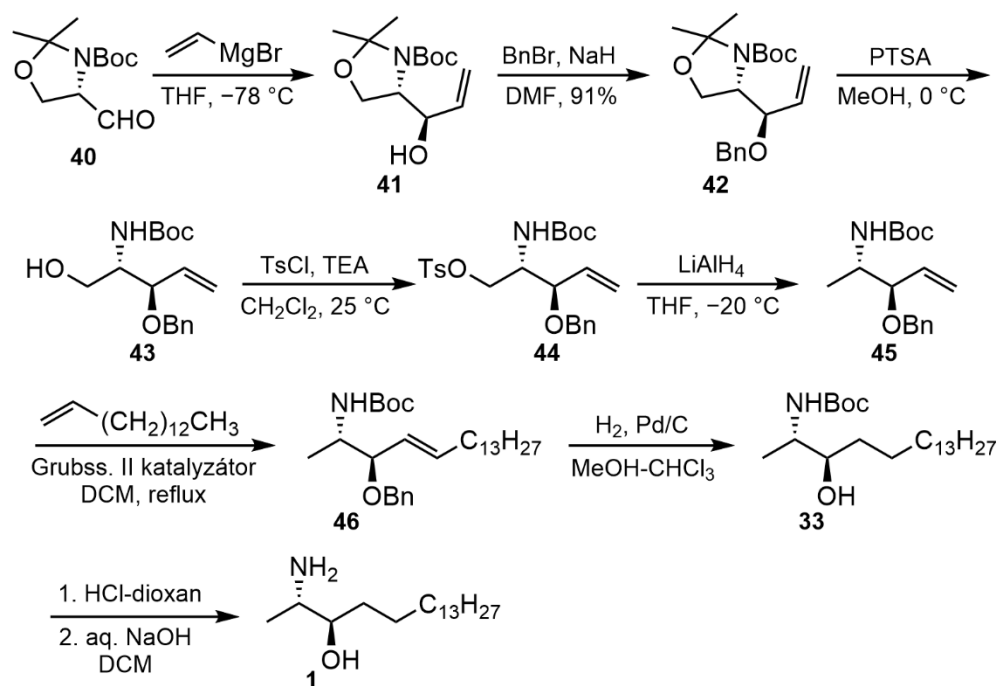
*N*-Boc-*L*-alaninal za zisku směsi diastereoizomerů **37**, kdy *syn*-adukt vznikal predominantně v poměru 7.3:1 a v 82% výtěžku. Směs diastereoizomerů **37** nebylo možné separovat, a proto byly pomocí bazicky iniciované intramolekulární cyklizace převedeny na příslušné oxazolidinony **38**. Stereoizomery oxazolidinonu **38** byly izolovány pomocí flash chromatografie. Poté byla provedena hydrogenace dvojné vazby vodíkem katalyzovaná 5% Rh v Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> a získané oxazolidinony **39** byly následně hydrolyzovány pomocí ethanolu a vodného 2M roztoku NaOH (1:1) za zisku Spisulosinu (**1**) v 90% výtěžku a (2*S*,3*S*)-2-aminooktadekan-3-olu (2*S*,3*S*)-**1** v 92% výtěžku.<sup>[6]</sup>



**Schéma 8** Příprava Spisulosinu (**1**) pomocí *N*-Boc-*L*-alaninalu<sup>[6]</sup>

V rámci „chiral pool“ přístupu k syntéze Spisulosinu (**1**) je důležitou metodou syntetický postup vycházející z Garnerova aldehydu, který byl publikován v roce 2010 autory Ghosal a Shaw (**Schéma 9**).<sup>[31]</sup> Garnerův aldehyd **40** lze připravit z *L*-serinu a v současnosti je komerčně dostupný. Garnerův aldehyd **40** byl nejprve reakcí s vinylmagnesiumbromidem

převeden na alkohol **41** v 74% výtěžku. Adice proběhla se značnou stereoselektivitou, vznikla směs *anti*- a *syn*-izomerů v poměru 6:1. Majoritní *anti*-izomer **41** byl následně separován pomocí sloupcové chromatografie. Následovala protekce alkoholové skupiny pomocí benzylbromidu, kterou byl získán *O*-benzylether **42** v 91% výtěžku. Poté bylo provedeno otevření cyklu pomocí PTSA za zisku meziproductu **43** v 84% výtěžku. Reakce pokračovala tosyací alkoholové skupiny meziproductu **43** pomocí tosylchloridu, čímž byla zavedena dobře odstupující skupina. Tosyl-derivát **44**, získaný v 73% výtěžku, byl poté podroben nukleofilní substituci působením  $\text{LiAlH}_4$  za vzniku alkenu **45** v 80% výtěžku, který prostřednictvím zkřížené metateze katalyzované Grubbsovým katalyzátorem 2. generace poskytl látku **46** v 87% výtěžku. Následně byla sloučenina **46** hydrogenována vodíkem za katalýzy Pd/C, což vedlo k vytvoření *N*-Boc-Spisulosinu (**33**) v 91% výtěžku. Posledním krokem této reakce byla kyselá katalyzovaná hydrolýza následovaná neutralizací, kdy byl získán Spisulosin (**1**) v 90% výtěžku.<sup>[31]</sup>

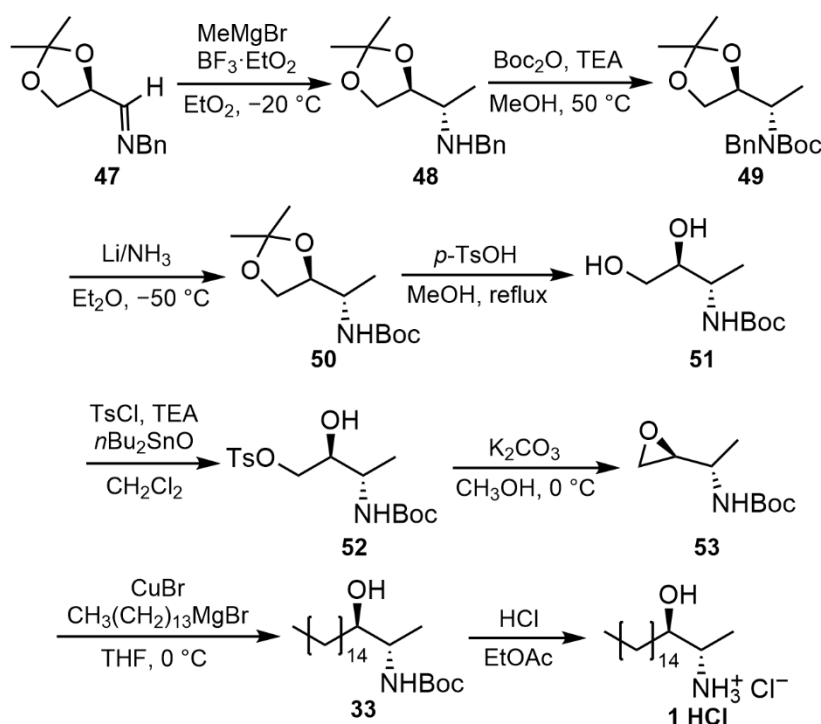


**Schéma 9** Příprava Spisulosinu (**1**) vycházející z Garnerova aldehydu<sup>[31]</sup>

Jinou přípravu Spisulosinu (**1**) popsal v roce 2009 Gálvez a kol. (**Schéma 10**).<sup>[32]</sup> Syntéza vychází z *N*-benzyliminu **47**, který je odvozen od D-glyceraldehydu a lze jej připravit z komerčně dostupného D-mannitolu. Na *N*-benzylimin **47** byl adován methylmagnesiumbromid v přítomnosti  $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ , přičemž reakce proběhla výrazně stereoselektivně (poměr *anti/syn* 94:6) a ve výtěžku 69 %. Požadovaný stereoizomer

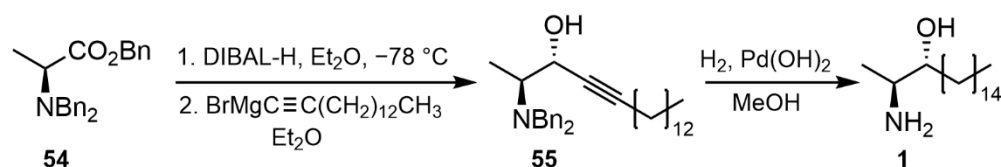


*N*-benzylaminu **48** byl izolován pomocí sloupcové chromatografie a následně byl převeden pomocí  $\text{Boc}_2\text{O}$  na derivát **49** v 92% výtěžku. Následně byly odstraněny chránící skupiny (Bn a isopropyliden), a to nejprve působením lithia v kapalném amoniaku a poté *p*-Ts-OH, čímž vznikl aminodiol **51** ve výtěžku 95 % (pro oba kroky). Aminodiol **51** byl následně tosylován pomocí tosylchloridu, a vzniklá sloučenina **52** byla reakcí s  $\text{K}_2\text{CO}_3$  převedena na aminoepoxid **53** ve výtěžku 83 % (pro oba kroky). Reakční sekvence pokračovala nukleofilním otevřením kruhu, a to působením *n*-tetradecylmagnesiumbromidu za vzniku *N*-Boc-Spisulosinu (**33**) v 80% výtěžku. Aminová skupina byla v posledním kroku ochráněna v kyselém prostředí za vzniku hydrochloridu Spisulosinu (**1**) v 91% výtěžku a sumárním výtěžku 36 %.<sup>[32]</sup>



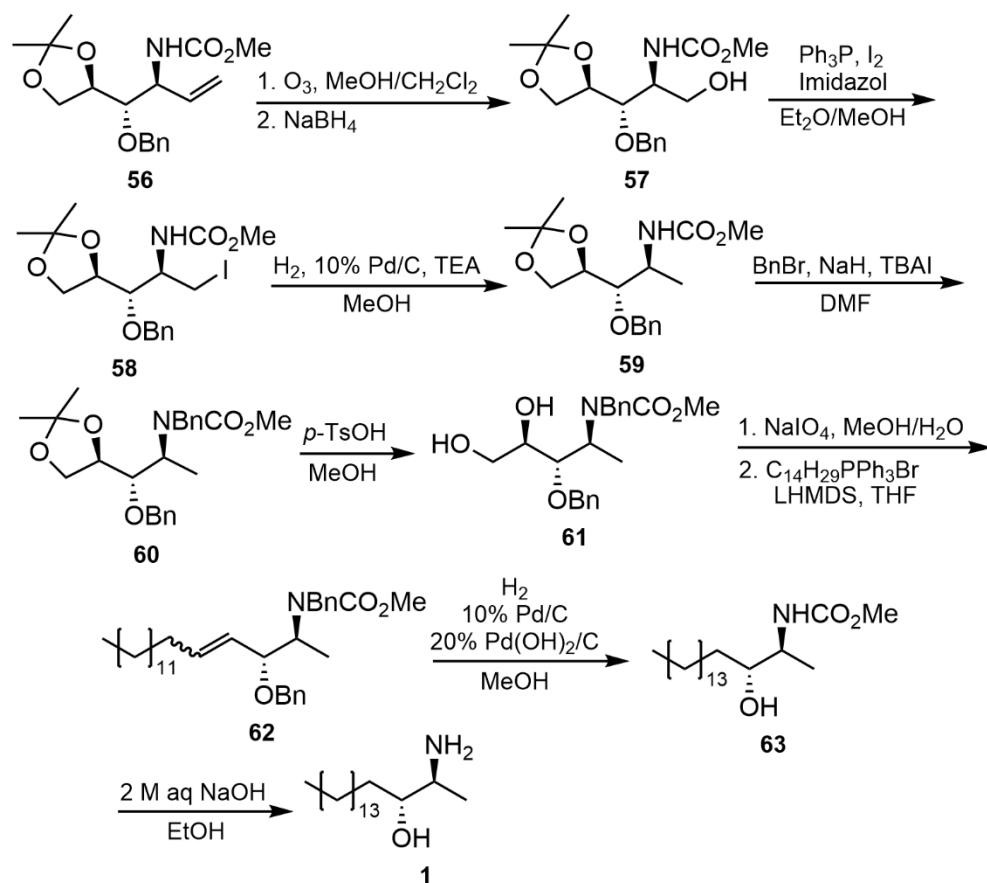
**Schéma 10** Příprava Spisulosinu (**1**) vycházející z *N*-benzylaminu<sup>[32]</sup>

Další, poměrně jednoduchá metoda syntézy Spisulosinu (**1**), je založena na nukleofilní adici terminálního alkynu na *N,N*-dibenzyl-L-alaninal spojený s následnou hydrogenací trojné vazby. Reakční sekvenci lze provést formou „one-pot“ syntézy. Byla popsána v roce 2014 Padrónem a kol. (**Schéma 11**).<sup>[33]</sup> Klíčovou výchozí sloučeninu – *N,N*-dibenzyl-L-alaninal – lze připravit parciální redukcí esterové skupiny sloučeniny **54** pomocí redukčního činidla DIBAL-H. Následná adice pentadecyn-1-ylmagnesiumbromidu za vzniku sloučeniny **55** proběhla v 60% výtěžku a s vysokou diastereoselektivitou dr 95:5 (*anti:syn*). Posledním krokem byla hydrogenace vodíkem za katalýzy  $\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$ , čímž byl získán Spisulosin (**1**) v 70% výtěžku.<sup>[33]</sup>



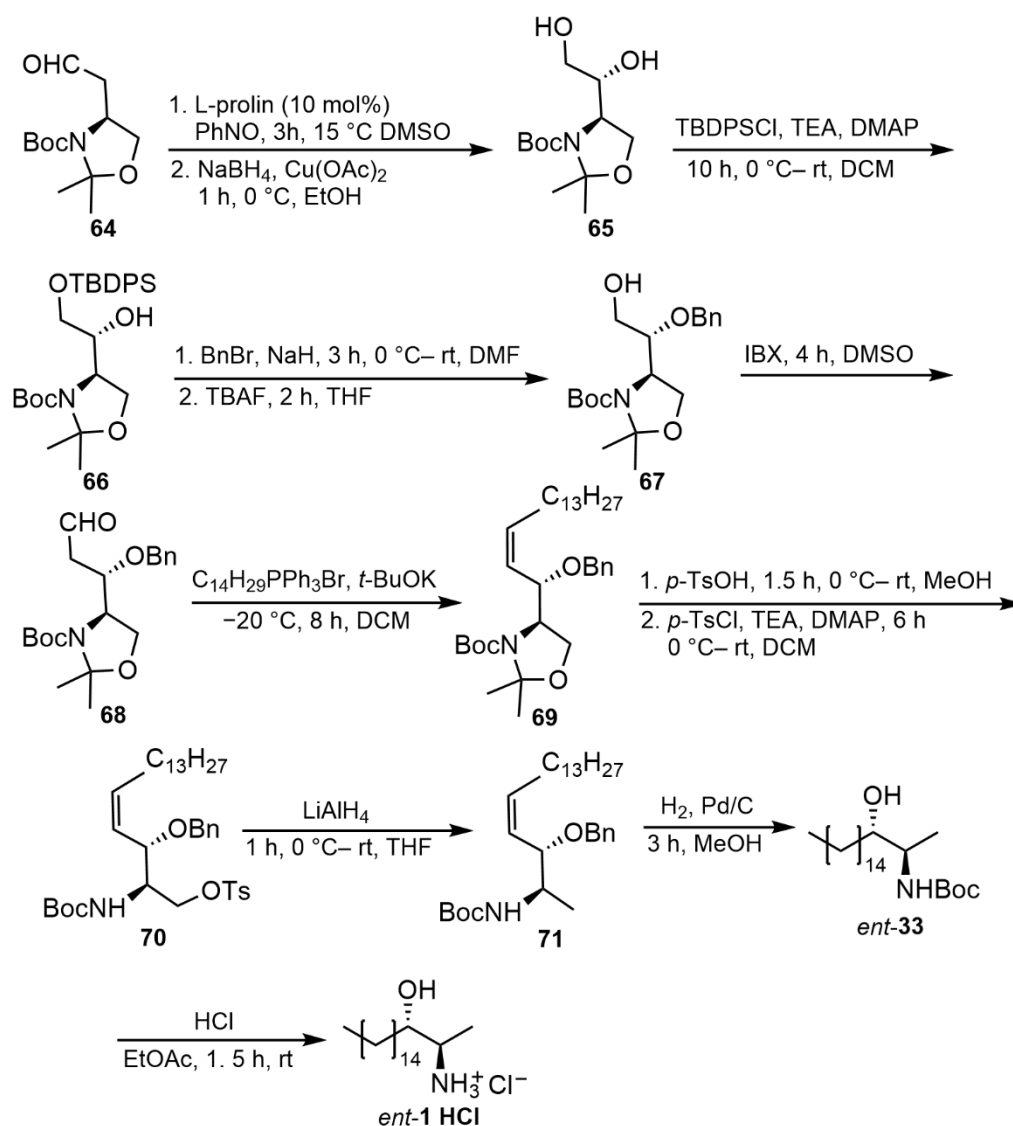
**Schéma 11** Příprava Spisulosinu (**1**) využívající adici Grignardova činidla na derivát alaninu **54**<sup>[33]</sup>

Další metoda syntézy Spisulosinu (**1**) využívá jako výchozí sloučeninu derivát připravený z D-isoaskorbové kyseliny (**Schéma 12**). Příprava D-isoaskorbové kyseliny byla popsána v roce 1988.<sup>[34]</sup> Syntéza začíná ozonolýzou látky **56** a následnou redukcí aldehydu na alkohol **57**. Ten byl poté převeden na jodderivát **58**, který dehalogenací poskytl látku **59**. Látka **59** byla dále benzylována a u výsledného derivátu **60** bylo provedeno ochránění vicinálního diolu za vzniku sloučeniny **61**. Poté došlo k oxidativní fragmentaci s použitím  $\text{NaIO}_4$  a následovala Wittigova reakce s ylidem, který byl získán z tetradecyltrifenylfosfonium-bromidu, což vedlo ke vzniku směsi alkenů (poměr *Z:E* 94:6). Opakovanou chromatografií lze získat čistý *Z*-izomer **62**. Katalytická hydrogenace poté vedla k saturaci dvojné vazby a odstranění benzylové skupiny. Získaná sloučenina **63** byla v posledním kroku převedena na Spisulosin (**1**) pomocí bazické hydrolyzy karbamové skupiny, s celkovým výtěžkem 31 %.<sup>[35]</sup>



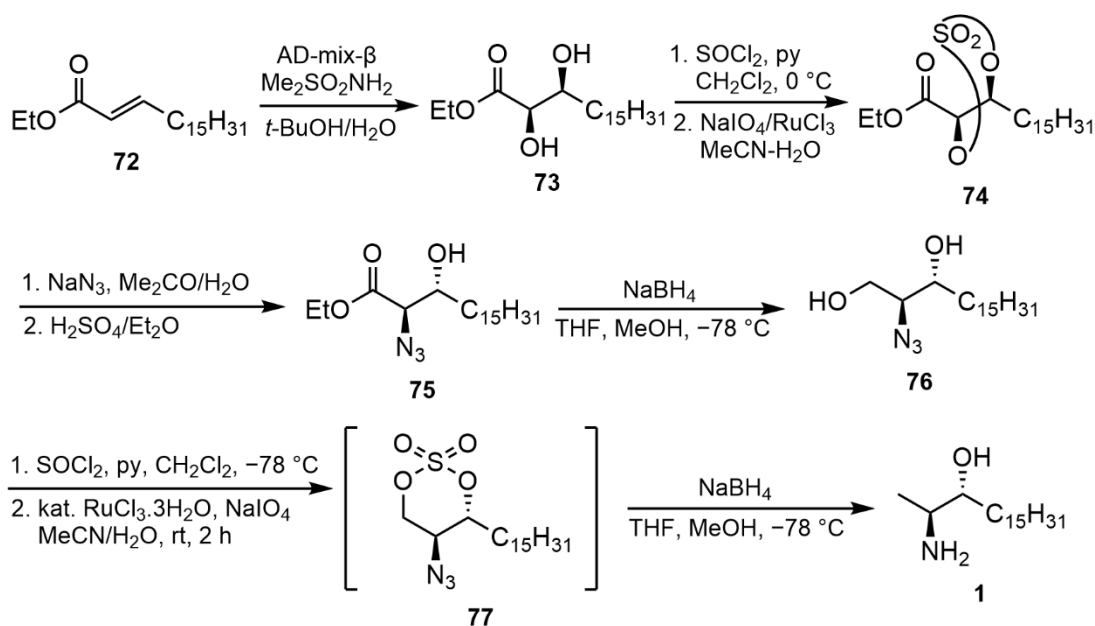
**Schéma 12** Příprava Spisulosinu (**1**) využívající derivát D-isoaskorbové kyseliny<sup>[35]</sup>

Další zajímavá syntéza popisuje přípravu *ent*-Spisulosinu *ent*-**1** s využitím asymetrické  $\alpha$ -hydroxylace homologu Garnerova aldehydu katalyzované L-prolinem (**Schéma 13**).<sup>[36]</sup> Výchozí aldehyd **64** je nejprve uvedenou  $\alpha$ -hydroxylací a následnou redukcí aldehydové skupiny převeden na diol **65**, u kterého byla následně ochráněna primární hydroxylová skupina (TBDPS). Poté došlo k ochránění rovněž sekundární hydroxylové skupiny (Bn). Následovalo selektivní ochránění primární hydroxylové skupiny desilylací působením TBAF. Poté byla provedena oxidace primární hydroxylové skupiny látky **67** na aldehyd **68**. V následných krocích byla provedena diastereoselektivní Wittigova reakce, otevření kruhu pomocí *p*-toluensulfonové kyseliny a tosylace hydroxylové skupiny, což poskytlo látku **70**. Poté byla provedena nukleofilní substituce *O*-tosyl skupiny LiAlH<sub>4</sub> a katalytická hydrogenace, což vedlo k *ent*-Boc-Spisulosinu **33**. Ten byl kyselou hydrolyzou převeden na hydrochlorid *ent*-Spisulosinu (**1**) v celkovém výtěžku 13 % této 12-ti krokové syntézy.<sup>[36]</sup>



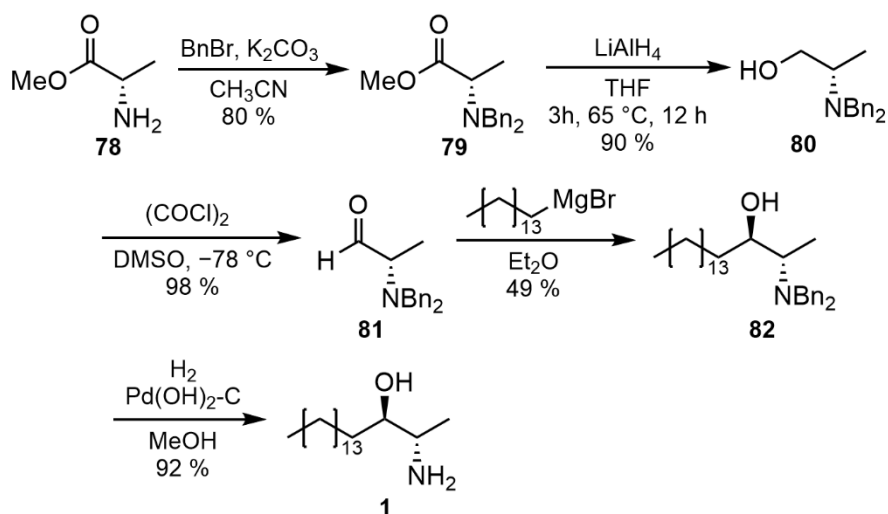
**Schéma 13** Příprava *ent*-Spisulosinu *ent*-1 skrze  $\alpha$ -hydroxylaci katalyzovanou L-prolinem<sup>[36]</sup>

Syntéza Spisulosinu (**1**), která byla publikována v roce 2013 (**Schéma 14**), vychází z výchozího azidoesteru **75**, jehož příprava byla popsána již v roce 2000.<sup>[37]</sup> Azidoester **75** byl připraven sledem reakcí, kdy nejprve došlo k asymetrické dihydroxylaci ethyl-oktadec-2-enoátu **72** pomocí AD-mix- $\beta$ -((DHQD) 2PHAL), poté následovalo převedení diolu **73** na cyklický sulfát **74** a v posledním kroku byla provedena regioselektivní  $\alpha$ -azidace.<sup>[37]</sup> U Azidoesteru **75** byla nejprve provedena redukce esterové skupiny na alkoholovou s využitím NaBH<sub>4</sub>. Poté byla provedena reakce s thionylchloridem a následná oxidace působením NaIO<sub>4</sub> za katalýzy RuCl<sub>3</sub> za vzniku cyklického sulfátu **77**. Ten byl následně zredukován za vzniku Spisulosinu (**1**) v 79% výtěžku.<sup>[38]</sup>



**Schéma 14** Příprava Spisulosinu (**1**) vycházející z azidoesteru **75**<sup>[37,38]</sup>

Další metoda přípravy Spisulosinu (**1**), která byla popsána v patentu z roku 2000 (**Schéma 15**),<sup>[39]</sup> vychází z methylesteru L-alaninu **78** a je analogická s metodou popsanou ve **Schématu 11**. Benzylací a následnou redukcí esterové skupiny sloučeniny **79** pomocí  $\text{LiAlH}_4$  byl připraven alkohol **80**. Následovala Swernova oxidace a na příslušný aldehyd **81**, na který byl adován pentadecylmagnesiumbormid. Získaný alkohol **82** byl podroben flash chromatografii, což vedlo k izolaci majoritního diastereoizomeru. Posledním krokem bylo ochránění benzylových skupin u látky **82** hydrogenolýzou, což poskytlo Spisulosin (**1**) v celkovém výtěžku 33 %.<sup>[39]</sup>



**Schéma 15** Příprava Spisulosinu (**1**) vycházející z methyl esteru L-alaninu<sup>[39]</sup>

## 1.5. Metody přípravy Clavaminolu A (2)

### 1.5.1. Asymetrické syntézy využívající enantioselektivní katalýzu

Na Univerzitě Pardubice byla provedena studie popisující přípravu všech stereoizomerů Clavaminolu A (2) s využitím asymetrické Henryho reakce (Schéma 16).<sup>[19,24]</sup> Tato syntéza vychází z dekanalu (83), který byl podroben Henryho reakci s nitroethanem (4) za katalýzy měďnatými komplexy chirálních ligandů. V případě nejúčinnějších katalyzátorů bylo dosaženo prakticky kvantitativních výtěžků a enantioselektivity kolem 90 % ee. Separace jednotlivých stereoizomerů nitroaldolu 84 nebyla možná, pravděpodobně z důvodu přítomnosti vysoce flexibilní alkylové skupiny s dlouhým řetězcem. Nitroaldol 84 byl následně redukován pomocí vodíku za katalýzy Pd-C, což vedlo ke vzniku aminoalkoholu 85. Směs stereoizomerů aminoalkoholu 85 byla dále převedena na 2-fenyloxazolinový derivát 86, jehož diastereoizomery bylo možné účinně separovat pomocí sloupcové chromatografie. Posledním krokem byla hydrolyza příslušných *cis*-/*trans*-forem 2-fenyloxazolinu 86, která poskytla Clavaminol A (2) a jeho ostatní stereoizomery.<sup>[19,24]</sup>

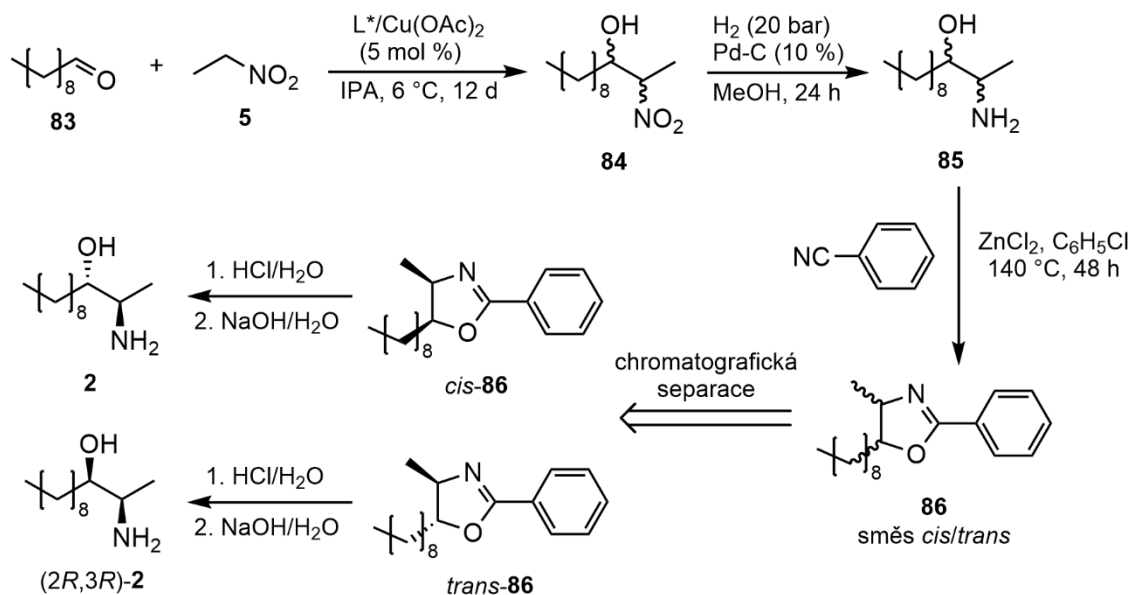
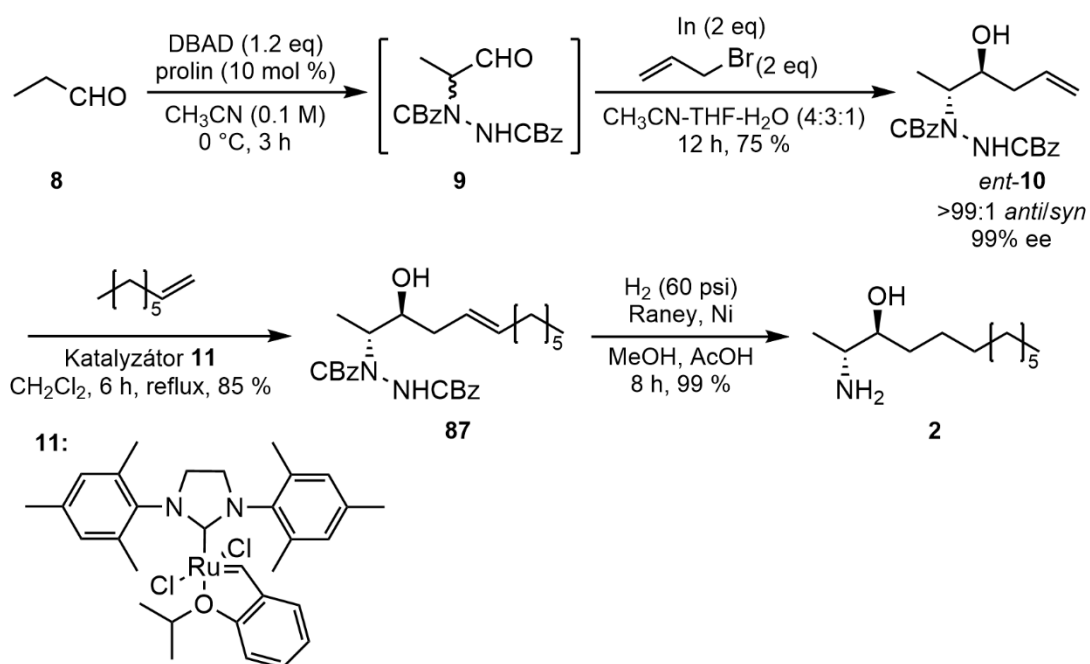


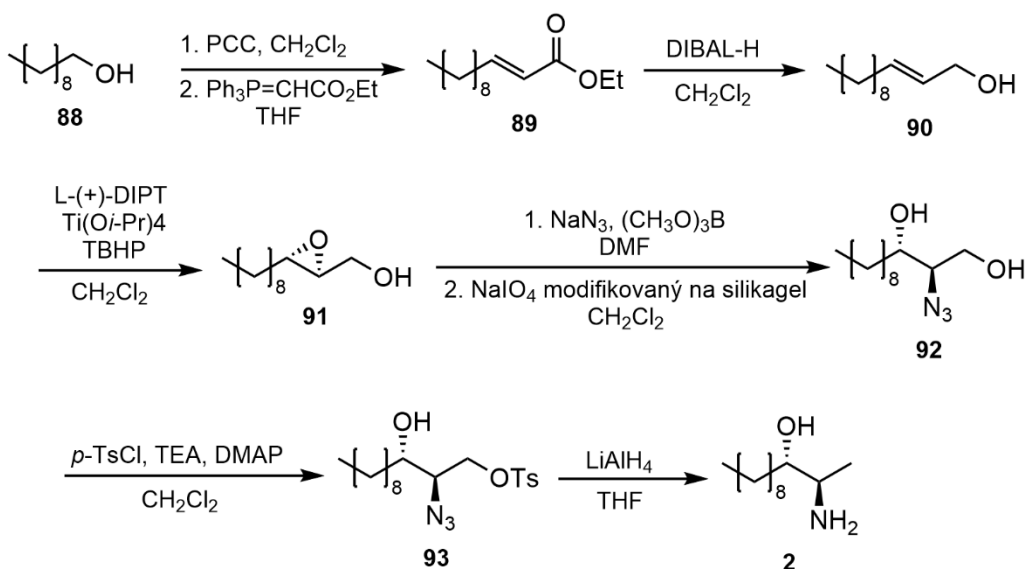
Schéma 16 Příprava stereoizomerů Clavaminolu A (2) pomocí Henryho reakce<sup>[19,24]</sup>

Syntéza Spisulosinu (1), popsána ve Schématu 3, byla použita stejnými autory rovněž k přípravě Clavaminolu A (2) (Schéma 17), přičemž bylo dosaženo celkového 63% výtěžku.<sup>[26]</sup>



**Schéma 17** Příprava Clavaminolu A (2) využívající asymetrickou aminaci<sup>[26]</sup>

Další asymetrická syntéza Clavaminolu A (2), která je založena na využití enantioselektivní katalýzy, byla popsána Reddym a kol. (**Schéma 18**).<sup>[40]</sup> Tato metoda je analogická k přípravě Spisulosinu (1) popsané ve **Schématu 4**. Clavaminol A (2) byl touto osmikrokovou syntézou připraven v celkovém 34% výtěžku.<sup>[40]</sup>



**Schéma 18** Příprava Clavaminolu A (2) s využitím Sharplessovy epoxidace<sup>[40]</sup>

### 1.5.2. „Chiral pool“ přístup

Clavaminol A (**2**) je možné připravit metodou „chiral pool“, kterou popsal Zaed a Sutherland v roce 2011 (**Schéma 19**).<sup>[17]</sup> Syntéza začíná chráněním alkoholové skupiny (*R*)-glycidolu (**94**), a to zavedením *tert*-butyldimethylsilylové skupiny. Následně byl epoxidový kruh regioselektivně otevřen působením okt-1-ylmagnesiumbromidu v přítomnosti měďné soli za vzniku alkoholu **95** v 94% výtěžku. Dále byla ochráněna sekundární alkoholová skupina sloučeniny **95** ve formě MOM-etheru **96** a následovala deprotektce silyletheru za vzniku meziprojektu **97** v kvantitativním výtěžku. Dále byla provedena „one-pot“ Swernova oxidace/Horner-Wadsworth-Emmonsova reakce meziprojektu **97**, která poskytla (*E*)- $\alpha,\beta$ -nenasyčený ester **98**. Ester **98** byl následně redukován na alkohol allylového typu **99** v celkovém výtěžku 85 %. Alkohol **99** byl dále převeden na trichloroacetimid **100**, který byl přes Overmanův přesmyk transformován na *erythro*- a *threo*-allyl trichloracetamidy **101** v poměru 13:1. Majoritní *erythro*-diastereoizomer **101** byl separován pomocí sloupcové chromatografie. Tento diastereoizomer **101** byl pak s využitím ozonolýzy převeden na aldehyd, jehož redukce NaBH<sub>4</sub> poskytla příslušný alkohol **102**. Alkohol **102** byl poté převeden ve dvou reakčních krocích na bromid **103**, který byl redukován tributylstannylhydridem na sloučeninu **104**. V posledním reakčním kroku bylo provedeno hydrolytické odstranění trichloracetamidové a MOM skupiny za vzniku výsledného produktu Clavaminolu A (**2**) v celkovém 29% výtěžku této 14-ti krokové syntézy.<sup>[17]</sup>



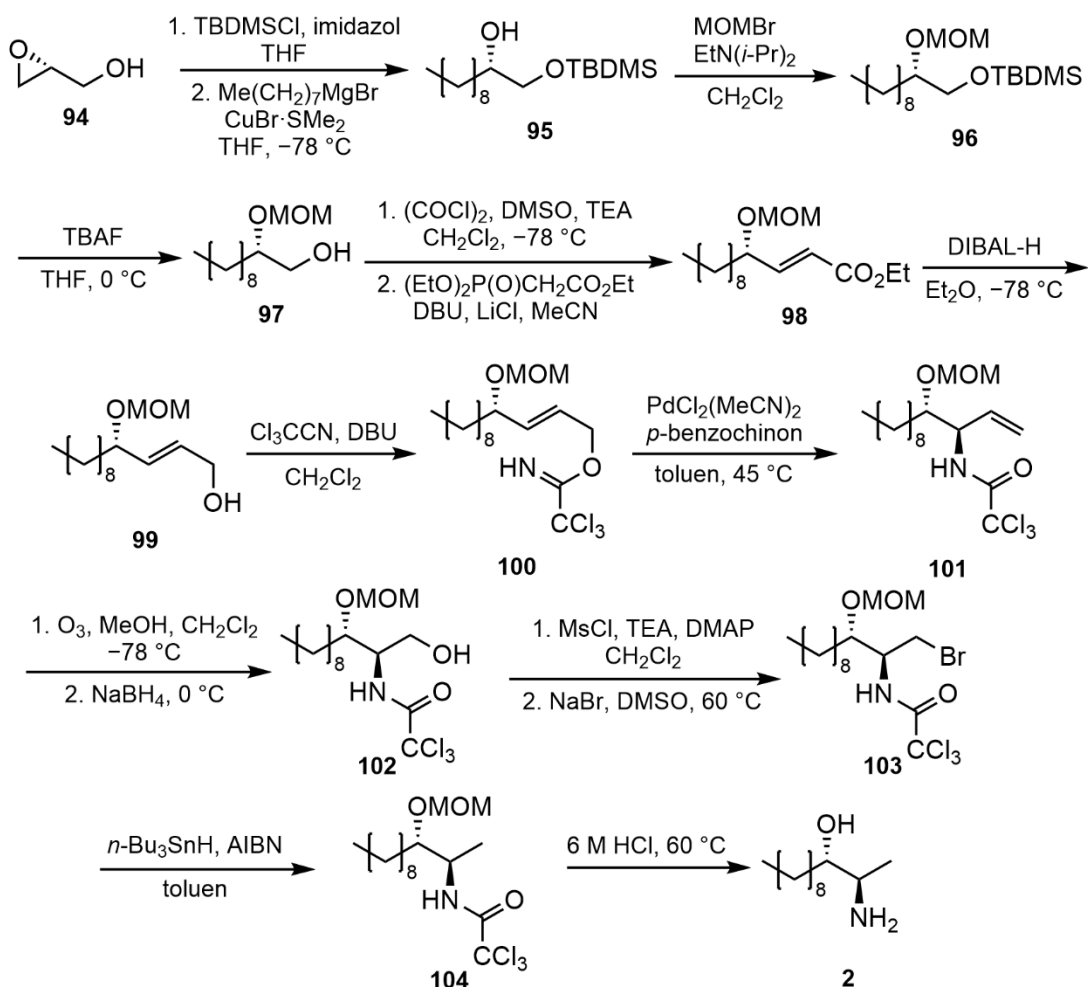
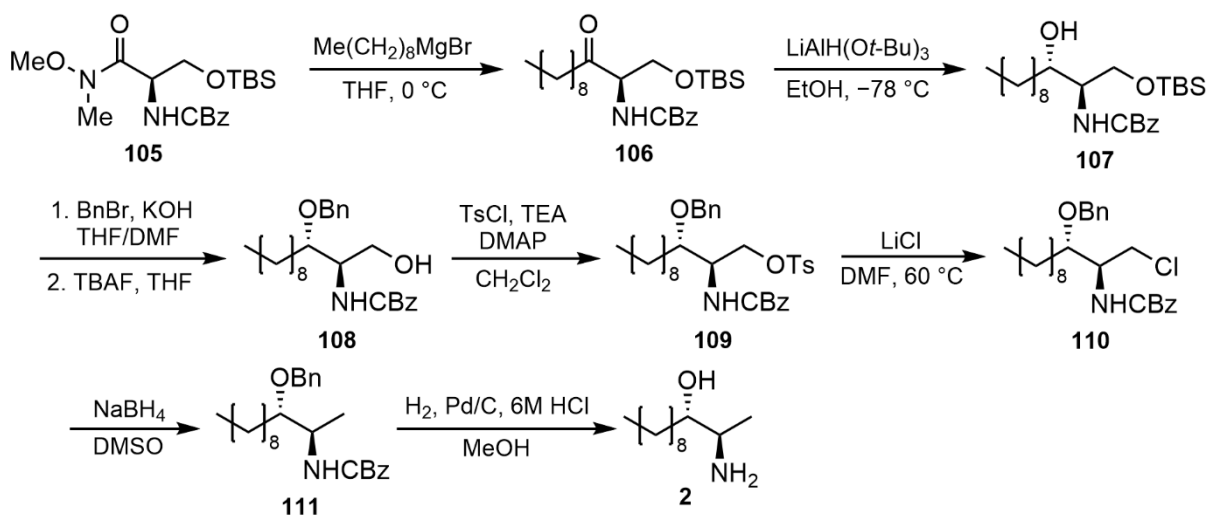


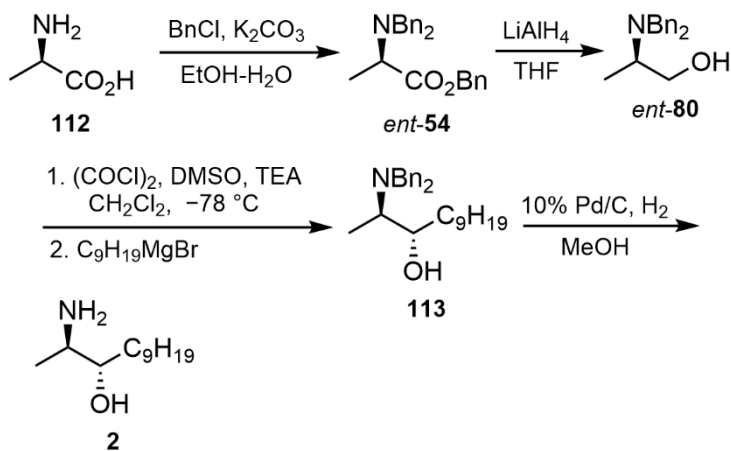
Schéma 19 Příprava Clavaminolu A (**2**) vycházející z (*R*)-glycidolu<sup>[17]</sup>

Další syntéza Clavaminolu A (**2**), která byla popsána v roce 2017 Jinem a kol., vychází z Weinrebova amidu **105**, což je komerčně dostupný derivát D-serinu (Schéma 20).<sup>[41]</sup> Nejprve byl Weinrebův amid **105** převeden na keton **106**, a to reakcí s non-1-ylmagnesiumbromidem se 69% výtěžkem. Tento keton **106** byl dále redukován pomocí Li(O*t*Bu)<sub>3</sub>H tzv. chelatačně řízenou redukcí, která poskytla prakticky výhradně *anti*-diastereoizomer aminoalkoholu **107** v 92% výtěžku. Poté byla provedena benzylace sekundární hydroxylové skupiny alkoholu **107**, následovaná deprotekcí primární alkoholové skupiny, což ve výsledku vedlo k zisku sloučeniny **108**. Celkový výtěžek těchto dvou kroků byl 59 %. Sloučenina **108** byla poté tosylací převedena na tosylát **109** v 88% výtěžku. Následovala halogenace tosylátu **109** působením LiCl, která poskytla chlorderivát **110** v 81% výtěžku. Nukleofilní substituce chlorderivátu **110** pomocí NaBH<sub>4</sub> vedla ke vzniku *N*-CBz-*O*-Bn-Clavaminolu A **111** v 75% výtěžku. Posledním krokem této syntézy bylo odstranění chránících skupin hydrogenolýzou, čímž byl získán Clavaminol A (**2**) se sumárním výtěžkem 19 %.<sup>[41]</sup>



**Schéma 20** Příprava Clavaminoxylaminu A (**2**) využívající Weinrebův amid **105**<sup>[41]</sup>

Clavaminoxylamin A (**2**) je rovněž možné připravit z D-alaninu (**Schéma 21**). Tato syntéza je analogická k již dříve popsaným syntézám Spisulosinu (**1**) (**Schéma 11**, **Schéma 15**). Clavaminoxylamin A (**2**) byl touto metodou připraven v celkovém 40% výtěžku.<sup>[22]</sup>



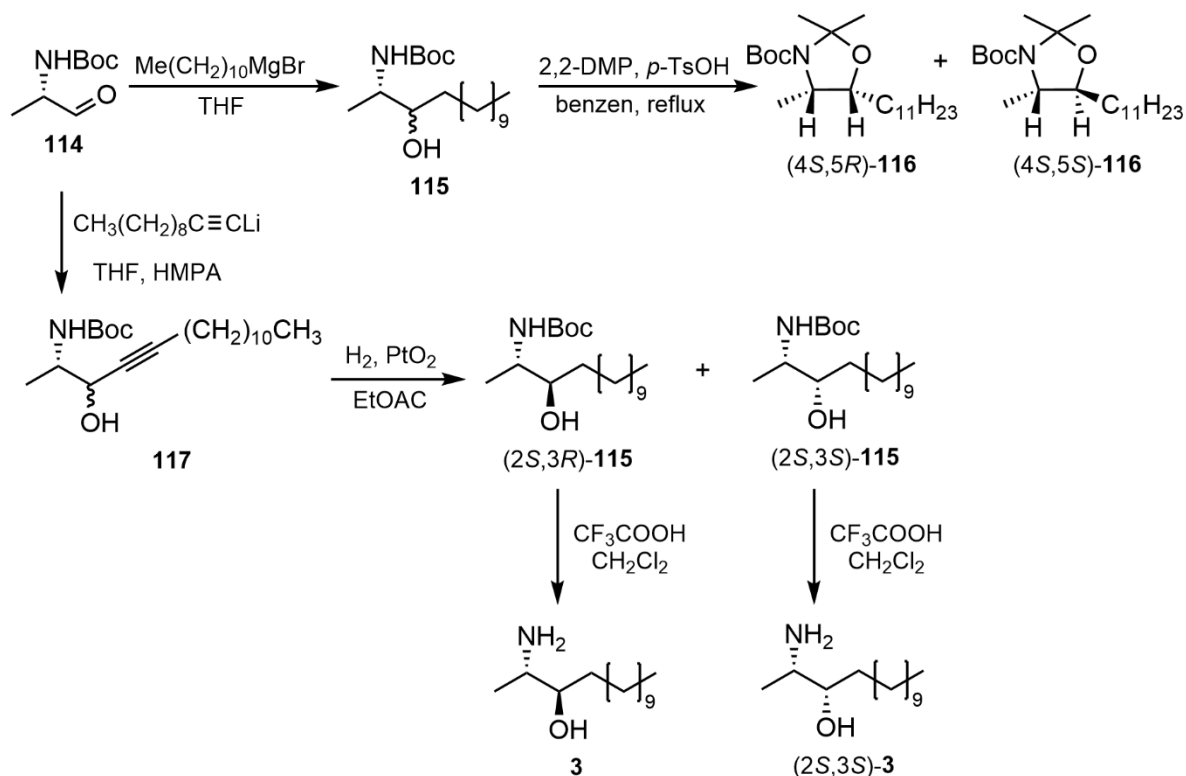
**Schéma 21** Příprava Clavaminoxylaminu A (**2**) vycházející z D-alaninu<sup>[22]</sup>

## 1.6. Metody přípravy Xestoaminolu C (**3**)

### 1.6.1. „Chiral pool“ přístup

Syntéza Xestoaminolu C (**3**) dle konceptu „chiral pool“, popsaná Ichihashim a kol.,<sup>[42]</sup> vychází z aldehydu **114**, který může být připraven z L-alaninu (**Schéma 22**). Nejprve byl tento aldehyd **114** podroben nukleofilní adici undec-1-ylmagnesiumbromidu, což vedlo ke vzniku

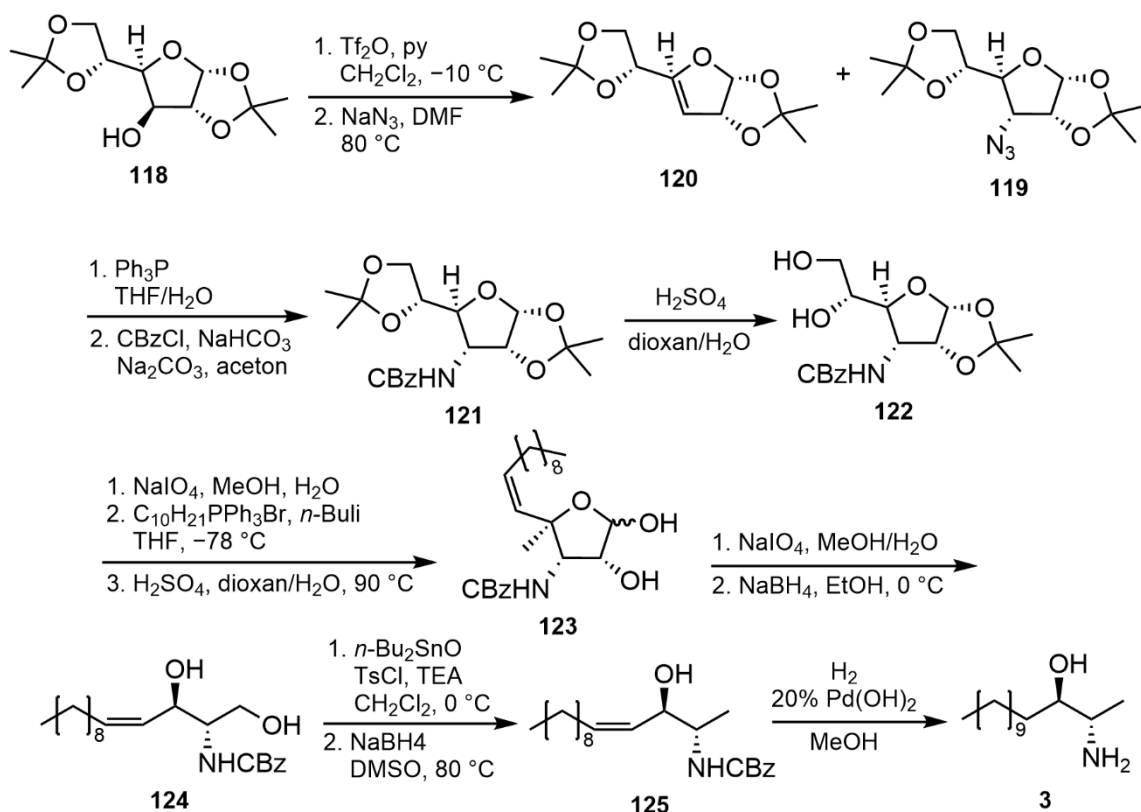
směsi alkoholů **115**, která byla následně převedena na příslušné oxazolidiny **116**. Pomocí NOE experimentů však bylo zjištěno, že při této reakci vznikal nežádoucí izomer (4*S*,5*S*)-**116** jako majoritní produkt, a to v poměru 4:1. Z tohoto důvodu autoři zvolili jiný postup, spočívající v nukleofilní adici undec-1-ynyllithia na výchozí aldehyd **114**. Vzniklá sloučenina **117** byla tvořena dvojicí diastereoizomerů (2*S*,3*R*)-**117** a (2*S*,3*S*)-**117** v poměru 2:1. Poté byla katalytickou hydrogenací převedena na směs aminoalkoholů **115**, která byla následně rozdělena s využitím HPLC chromatografie. Požadovaný izomer (2*S*,3*R*)-**115** byl převeden na Xestoaminol C (**3**) za podmínek obvyklých pro odstranění Boc- skupiny. V rámci studie byl rovněž připraven druhý diastereoizomer s konfigurací (2*S*,3*S*)-**3**.<sup>[42]</sup> Z hlediska reakční sekvence je tato metoda analogická k syntézám popsaných ve **Schématech 11, 15 a 21**.



**Schéma 22** Příprava Xestoaminolu C (**3**) využívající derivát vycházející z L-alaninu<sup>[42]</sup>

Další syntéza, kterou v roce 2015 popsal Nagarapu a kol.,<sup>[43]</sup> vychází z ochráněné D-glukofuranosy **118** (**Schéma 23**). Nejprve byla D-glukofuranosa **118** převedena působením Tf<sub>2</sub>O a následnou nukleofilní substitucí NaN<sub>3</sub> na azidofuranosu **119**. Při této transformaci zároveň vznikala jako vedlejší produkt látka **120**, a to v poměru 4:1 (**119:120**). Redukce azidofuranosy trifenylofosfinem a následné ochránění aminu poskytlo CBz-derivát **121**. Poté bylo působením zředěné H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> provedeno selektivní ochránění isopropylidenové

skupiny z pozic 5- a 6- na vicinální diol **122**. Jeho oxidativním štěpením a následnou Wittigovou reakcí, po které bylo provedeno odstranění druhé isopropylidenové skupiny, byl získán laktol **123**, který vznikal výhradně jako *cis*-izomer. Bylo opakováno oxidativní štěpení pomocí NaIO<sub>4</sub> a vzniklý aldehyd byl bez izolace redukován NaBH<sub>4</sub> na alkohol **124**. Poté byla provedena selektivní tosylace primární alkoholové skupiny, čímž byla zavedena dobře odstupující skupina. Nukleofilní substitucí působením NaBH<sub>4</sub> vznikla látka **125**. Posledním krokem byla redukce dvojné vazby a ochránění aminové funkční skupiny, což vedlo k zisku Xestoaminolu C (**3**) se sumárním výtěžkem 16 %.<sup>[43]</sup>



**Schéma 23** Příprava Xestoaminolu C (**3**) vycházející z chráněné D-glukofuranosy **118**<sup>[43]</sup>

### 1.6.2. Asymetrická syntéza využívající pomocná chirální činidla

Choi a Ha v roce 2015 publikovali syntézu Xestoaminolu C (**3**) a *epi*-Xestoaminolu C *epi*-**3** s využitím chirálního činidla – derivátu 2-dodekanoylaziridinu **128** (**Schéma 24**).<sup>[44]</sup> Tato syntéza je analogická k již popsané přípravě *N*-Boc-Spisulosinu (**Schéma 7**). Výchozí látka **126** byla stereoselektivně redukována, kdy redukcí L-selektridem vznikl (*S*)-alkohol **127**, zatímco redukcí směsí NaBH<sub>4</sub> a ZnCl<sub>2</sub> vznikl (*R*)-alkohol **127**. Poté byla provedena katalytická hydrogenace následovaná reakcí vzniklého aminu s Boc<sub>2</sub>O, čímž byly získány oba

stereoizomery Boc-derivátu **115**. Odstraněním Boc-skupiny působením HCl byl získán Xestoaminol C (**3**) a *epi*-Xestoaminol C *epi*-**3** v celkovém výtěžku 50 %.<sup>[44]</sup>

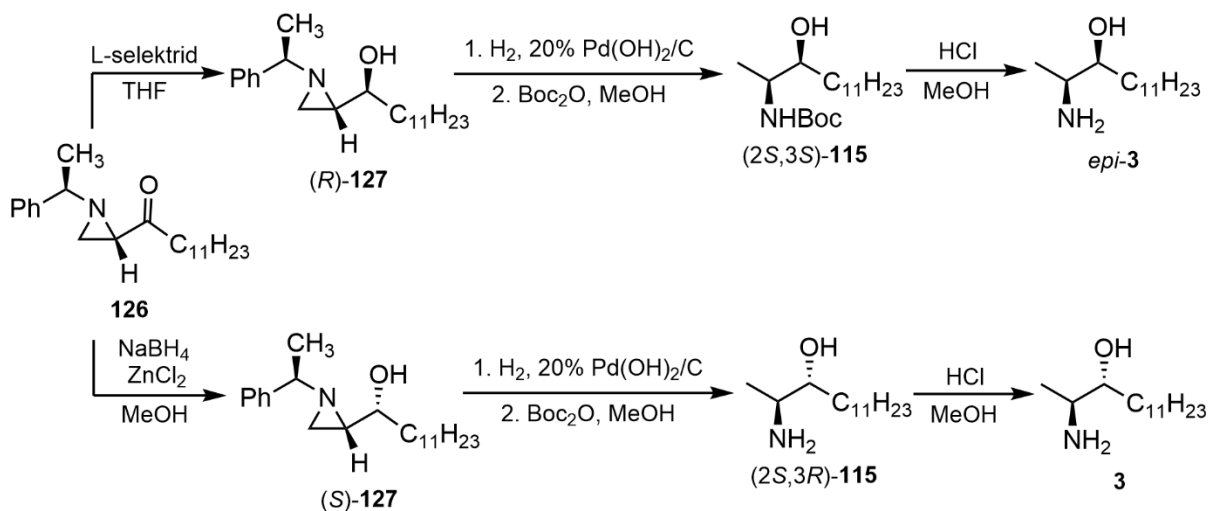


Schéma 24 Příprava využívající 2-dodekanoylaziridinu<sup>[44]</sup>

### 1.6.3. Asymetrická syntéza využívající enantioselektivní katalýzu

V roce 2010 byla popsána příprava Xestoaminolu C (**3**) s využitím asymetrické Henryho reakce (Schéma 25).<sup>[45]</sup> Prvním krokem syntézy byla právě Henryho reakce výchozího aldehydu **128** s nitroethanem **5** za přítomnosti enantioselektivního katalyzátoru **129**. Reakce proběhla s vysokým diastereoizomerním přebytkem (dr *anti/syn* >20/1) a vysokou enantioselektivitou 98% ee pro *anti*-izomer. Druhým reakčním krokem byla katalytická hydrogenace, která poskytla Xestoaminol C (**3**) s celkovým 93% výtěžkem.<sup>[45]</sup>

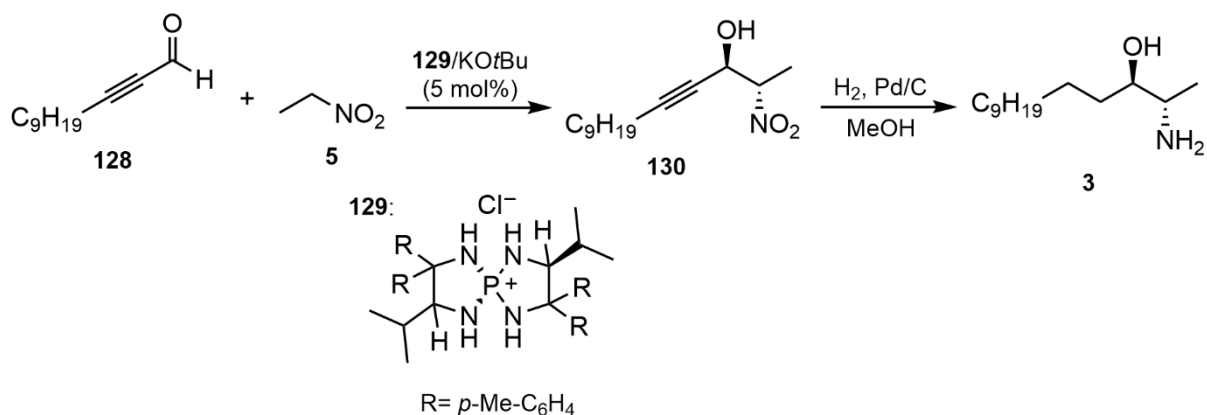


Schéma 25 Příprava Xestoaminolu C (**3**) využívající asymetrickou Henryho reakci<sup>[45]</sup>

## 1.7. Metody přípravy 2-aminoikosan-3-olu (132)

### 1.7.1. Příprava využívající nukleofilní adici Grignardova činidla

Autoři patentu,<sup>[39]</sup> v kterém byla popsána syntéza Spisulosinu z methylesteru L-alaninu **78** (Schéma 15), použili tuto syntetickou metodu rovněž pro přípravu 2-aminoikosan-3-olu s absolutní konfigurací (2*S*,3*R*) (Schéma 26). Syntéza vychází z methylesteru L-alaninu **78**, který byl pomocí benzylbromidu v prostředí K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> převeden na *N,N*-dibenzylderivát **79**. Ten byl dále redukován LiAlH<sub>4</sub> na příslušný aminoalkohol **80**. Primární hydroxylová skupina byla poté oxidována pomocí Swernovy oxidace na (*S*)-2-(dibenzylamino)propanal (**81**). Syntéza pokračovala nukleofilní adicí příslušného Grignardova činidla na aldehydovou skupinu sloučeniny **81** s výtěžkem 53 %. Následně byla provedena separace diastereoizomerů pomocí sloupcové chromatografie a poté byla provedena hydrogenolýza benzylových skupin derivátu **131** za vzniku výsledného produktu – (2*S*,3*R*)-2-aminoikosan-3-olu (**132**) v celkovém 28% výtěžku.<sup>[39]</sup>

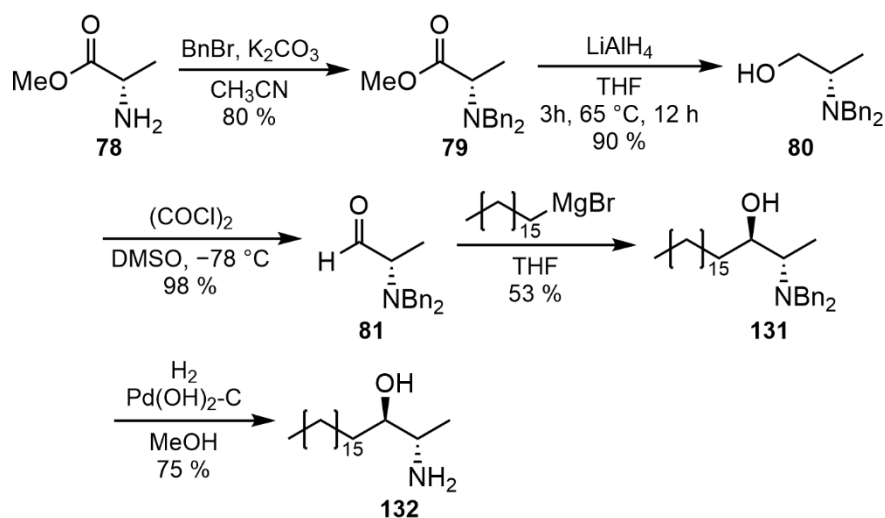


Schéma 26 Příprava 2-aminoikosan-3-olu (**132**) s využitím Grignardova činidla<sup>[39]</sup>

### 1.7.2. Příprava pomocí Henryho reakce

V literatuře je také popsána příprava racemických forem diastereoizomerů 2-aminoikosan-3-olu (**Schéma 27**).<sup>[46]</sup> Autoři vychází z oktadekanalu (**133**), který podrobili Henryho reakci s nitroethanem (**5**) za katalýzy methanolátem sodným v methanolu. Tato reakce poskytla směs diastereoizomerů 2-nitroikosan-3-olu (**134**), která byla dále redukována methanoátem amonným za katalýzy Pd-C. Příslušný 2-aminoikosan-3-ol (**132**) byl získán jako směs diastereoizomerů v poměru 1:1. Jednotlivé diastereoizomery sloučeniny **132** byly převedeny na příslušné 2-fenyloxazolinu **135**, a to pomocí hydrochloridu methyl-benzimidátu a následně separovány pomocí RP-HPLC. Následná hydrolyza, která by poskytla výsledné stereoizomery však není v článku popsána a rovněž nebyly uvedeny ani výtěžky jednotlivých reakčních kroků.<sup>[46]</sup>

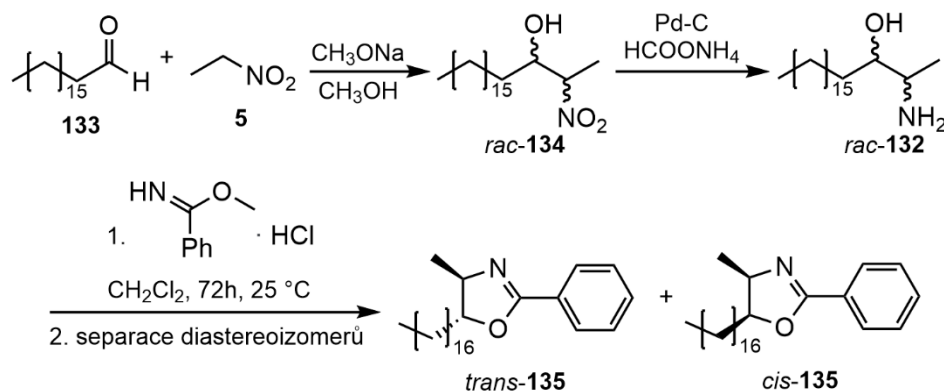


Schéma 27 Příprava využívající Henryho reakci<sup>[46]</sup>

### 1.8. Metody přípravy 2-aminotetrakosan-3-olu (**136**)

Do současnosti nebyla v odborné literatuře zdokumentována žádná syntéza 2-aminotetrakosan-3-olu, jak v racemické, tak i neracemické formě. Tato bakalářská práce tedy popisuje první pokus o syntézu 2-aminotetrakosan-3-olu, a to s využitím asymetrické Henryho reakce.

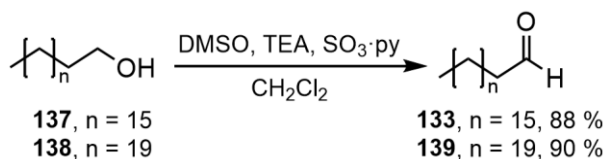
## 2. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

### 2.1. Obecné postupy

Všechny použité, komerčně dostupné chemikálie byly zakoupeny u firem Sigma-Aldrich, Acros Organics nebo Fluorochem a byly použity bez dalších úprav. V případě magnetického míchání byla použita magnetická míchačka *Heidolph*. Zahřívání bylo realizováno pomocí nástavce z kovové slitiny tvarované na kulaté destilační baňky *Heidolph DrySyn*, teplota byla nastavována a kontrolována pomocí digitálního teplotního snímače. Odpařování bylo prováděno rotační vakuovou odparkou *Heidolph Laborota 4000 efficient* s vakuovým systémem *Vacuubrand PC 510*. Pro sloupcovou chromatografii byl využit silikagel 60 (60–200  $\mu\text{m}$ ). Tenkovrstvá chromatografie byla prováděna na hliníkových destičkách potažených silikagelem 60 F254 (Sigma-Aldrich) s vizualizací pomocí UV lampy (254 nm nebo 360 nm), párami jódu nebo 5% ethanolickým roztokem kyseliny fosfomolybdenové. NMR spektra byla měřena při laboratorní teplotě na spektrometru *Bruker Avance III 400* (400,13 MHz pro  $^1\text{H}$ , 100,62 MHz pro  $^{13}\text{C}$ ) nebo *Bruker Ascend 500* (500,13 MHz pro  $^1\text{H}$ , 125,12 MHz pro  $^{13}\text{C}$ ). Chemické posuny  $\delta$  jsou kalibrovány na střed multipletu signálu rozpouštědla  $\text{CDCl}_3$  ( $\delta$  7,26 ppm).  $^{13}\text{C}$  NMR spektra jsou kalibrována na střed multipletu signálu rozpouštědla  $\text{CDCl}_3$  ( $\delta$  77,23 ppm). Spin-spinové interakční konstanty ( $J$ ) jsou uvedeny v jednotkách hertz (Hz), multiplicity signálů jsou značeny: s (singlet), bs (široký singlet), d (dublet), t (triplet), q (kvartet), sp (septet), m (multiplet). High-resolution hmotnostní spektra byla pořízena na přístroji *Thermo Fisher Scientific MALDI LTQ Orbitrap*. Jako matrice byl využit 0,2 M roztok kyseliny 2,5-dihydroxybenzoové (DHB) v  $\text{MeCN}/\text{H}_2\text{O}$  (95/5). HPLC analýzy byly prováděny na přístroji *Watrex* s UV-Vis detektorem s diodovým polem (200–800 nm) SYKAM 3240 a chirálními kolonami Daicel Chiralpak IA (250 mm  $\times$  4,6 mm), Chiralpak AD-H (250 mm  $\times$  4,6 mm) a Chiralpak AS-H (250 mm  $\times$  4,6 mm). IČ Spektra byla změřena při laboratorní teplotě na přístroji *Thermo Scientific Nicolet iS50 FT-IR Spectrometer* s použitím techniky ATR, rozlišení ve spektrech bylo  $4\text{ cm}^{-1}$ , FT-IČ data jsou uvedena v  $\text{cm}^{-1}$ . Katalytická hydrogenace byla provedena ve vysokotlakém reaktoru *Berghof BR-100*.



## 2.2. Příprava aldehydů **133** a **139**<sup>[47]</sup>



**Schéma 28** Příprava aldehydů **133** a **139**

Do 100 ml kulaté baňky opatřené magnetickým míchadlem a chlorkalciovou zátkou byl předložen alkohol (stearylalkohol (**137**) nebo dokosan-1-ol (**138**)) (5 mmol), suchý CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (20 ml), suchý DMSO (7,2 ml) a TEA (4,2 ml; 30 mmol). Směs byla ochlazená na ledové lázni a poté byl přidán komplex SO<sub>3</sub>·pyridin (2,39 g; 15 mmol). Suspenze byla míchána po dobu 1 h při 0 °C a pak přes noc při laboratorní teplotě. Vzniklý žlutě zbarvený čirý roztok byl převeden do 250 ml děličky a promyt vodou (3× 25 ml). Organická fáze byla vysušena bezvodým Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a rozpouštědlo bylo odpařeno na vakuové odparce. Surový produkt, obsahující jako nečistotu (methylsulfanylmethyl)-alkylether (5–10 %), byl v případě potřeby čištěn sloupcovou chromatografií (SiO<sub>2</sub>; hexan/AcOEt 5/1 (v/v)).

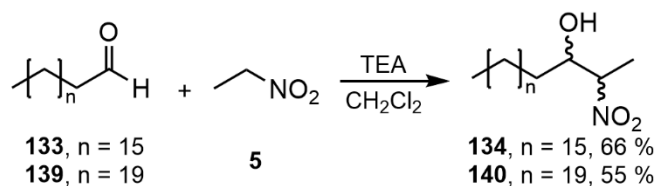
### Oktadekanal (**133**)

Výtěžek 88 %; b.t.: 45,6–46,5 °C. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 9,76 (t, 1H, <sup>3</sup>J = 1,8 Hz, CH=O), 2,42 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CHO), 1,62 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CHO), 1,25 (m, 28H, 14×CH<sub>2</sub>), 0,88 (t, 3H, <sup>3</sup>J = 6,8 Hz, CH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 203,2; 44,1; 32,1; 29,9–29,4; 22,9; 22,3; 14,3. FT-IČ (ATR): ν 2953 (w), 2912 (s), 2848 (s), 1711 (m), 1470 (m), 1410 (w), 1390 (w), 1373 (w), 1176 (w), 1076 (w), 895 (w), 717 (m), 698 (w), 660 (w) cm<sup>-1</sup>. HRMS-MALDI (DHB) m/z: pro C<sub>18</sub>H<sub>36</sub>ONa vypočteno 291,26638 [M+Na]<sup>+</sup>, nalezeno 291,26584 [M+Na]<sup>+</sup>.

### Dokosanal (**139**)

Výtěžek 90 %; b.t.: 53,8–54,4 °C. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 9,76 (t, 1H, <sup>3</sup>J = 1,8 Hz, CH=O), 2,42 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CHO), 1,61 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CHO), 1,25 (m, 32H, 16×CH<sub>2</sub>), 0,88 (t, 3H, <sup>3</sup>J = 6,8 Hz, CH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 203,2; 44,1; 32,1; 29,9–29,4; 22,9; 22,3; 14,3. FT-IČ (ATR): ν 2953 (w), 2914 (s), 2848 (s), 1711 (m), 1471 (m), 1410 (w), 1392 (w), 1084 (m), 895 (w), 717 (m), 698 (w), 683 (w) cm<sup>-1</sup>. HRMS-MALDI (DHB) m/z: pro C<sub>22</sub>H<sub>44</sub>ONa vypočteno 347,32898 [M+Na]<sup>+</sup>, nalezeno 347,32844 [M+Na]<sup>+</sup>.

### 2.3. Příprava 2-nitroalkan-3-olů **134** a **140**



**Schéma 29** Příprava 2-nitroalkan-3-olů **134** a **140**

Do 50 ml kulaté baňky opatřené míchadlem a zátkou byl předložen aldehyd **133** nebo **139** (5 mmol), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (15 ml), nitroethan (1,4 ml; 20 mmol) a TEA (0,1 ml; 0,7 mmol). Homogenní roztok byl míchán při laboratorní teplotě po dobu 4 dní. Poté byla směs odpařena k suchu za vakua a destilační zbytek byl podroben sloupcové chromatografii.

#### 2-Nitroikosan-3-ol (**134**)

Výtěžek: 66 %; žlutý olej;  $R_f = 0,32$  (SiO<sub>2</sub>; hexan/AcOEt 6/1 (v/v)); **<sup>1</sup>H NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz):  $\delta$  4,57–4,48 (m, 1H, CH-NO<sub>2</sub>, *anti+syn*), 4,17 (m, 1H, CH, *anti*), 3,90 (m, 1H, CH, *syn*), 2,24 (bs, 1H, OH, *anti*), 2,15 (d, 1H, <sup>3</sup> $J = 6,0$  Hz, OH, *syn*), 1,53–1,51 (m, 3H, CH<sub>3</sub>, *anti+syn*), 1,65–1,32 (m, 2H, CH<sub>2</sub>, *anti+syn*), 1,24 (m, 30H, 15 × CH<sub>2</sub>, *anti+syn*), 0,89 (t, 3H, <sup>3</sup> $J = 6,5$  Hz, CH<sub>3</sub>, *anti+syn*). **<sup>13</sup>C NMR** (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  88,0 (*syn*); 86,7 (*anti*); 73,0 (*syn*); 72,3 (*anti*); 33,4; 32,1; 29,9–29,5; 25,9 (*anti*); 25,3 (*syn*); 22,9; 16,2; 14,3 (*syn*); 12,4 (*anti*). **FT-İČ (ATR)**:  $\nu$  2914 (s), 2848 (s), 1547 (s), 1471 (m), 1392 (w) 1296 (w), 1261 (w), 1086 (w), 1032 (w), 964 (w), 941 (w), 870 (w), 802 (w) 716 (m), 575 (w), 467 (w), 401 (vw) cm<sup>-1</sup>. **HRMS-MALDI (DHB)  $m/z$** : pro C<sub>20</sub>H<sub>41</sub>NO<sub>3</sub>Na vypočteno: 366,29841 [M+Na]<sup>+</sup>; nalezeno: 366,29787 [M+Na]<sup>+</sup>.

Separace stereoizomerů pomocí HPLC (kolona Chiralpak AD-H, mobilní fáze: 98/2 hexan/EtOH, průtoková rychlost: 1,0 ml/min, detekce při  $\lambda = 220$  nm): *anti*-diastereoizomery (2*S*,3*R*)  $t_R = 8,35$  min; (2*R*,3*S*)  $t_R = 8,83$  min; (kolona Chiralpak IA, mobilní fáze: 98/2 hexan/IPA, průtoková rychlost: 1,0 ml/min, detekce při  $\lambda = 220$  nm): *syn*-diastereoizomery (2*R*,3*R*)  $t_R = 11,48$  min; (2*S*,3*S*)  $t_R = 12,86$  min.

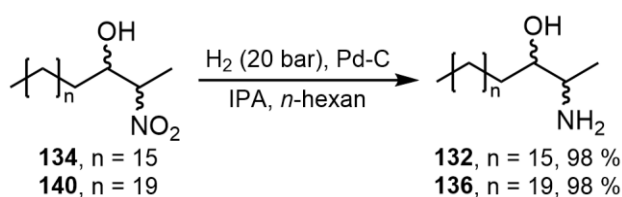
#### 2-Nitrotetrakosan-3-ol (**140**)

Výtěžek: 55 %; žlutý olej;  $R_f = 0,30$  (SiO<sub>2</sub>; hexan/AcOEt 8/1 (v/v)); **<sup>1</sup>H NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz):  $\delta$  4,57–4,50 (m, 1H, CH-NO<sub>2</sub>, *anti+syn*), 4,18 (m, 1H, CH, *anti*), 3,89 (m, 1H, CH,

*syn*), 2,25 (d, 1H,  $^3J = 4,5$  Hz, OH, *anti*), 2,15 (d, 1H,  $^3J = 6,8$  Hz, OH, *syn*), 1,56 (d, 3H,  $^3J = 6,8$  Hz, CH<sub>3</sub>, *syn*), 1,54 (d, 3H,  $^3J = 6,4$  Hz, CH<sub>3</sub>, *anti*), 1,67–1,34 (m, 2H, CH<sub>2</sub>, *anti+syn*), 1,25 (m, 38H, 19× CH<sub>2</sub>, *anti+syn*), 0,88 (t, 3H,  $^3J = 6,5$  Hz, CH<sub>3</sub>, *anti+syn*). <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 88,0 (*syn*); 86,6 (*anti*); 73,0 (*syn*); 72,3 (*anti*); 33,4; 32,1; 29,9–29,6; 25,9 (*anti*); 25,3 (*syn*); 22,9; 16,5; 14,2 (*syn*); 12,5 (*anti*). FT-IČ (ATR): ν 2914 (s), 2848 (s), 1547 (s), 1466 (m), 1392 (w), 1362 (w), 1095 (w), 1034 (w), 984 (w), 941 (w), 870 (w), 719 (m), 575 (w), 459 (w), 459 (w), 405 (w) cm<sup>-1</sup>. HRMS-MALDI (DHB) *m/z*: pro C<sub>24</sub>H<sub>49</sub>NO<sub>3</sub>Na vypočteno: 422,36101 [M+Na]<sup>+</sup>; nalezeno: 422,36117 [M+Na]<sup>+</sup>.

Separace stereoizomerů pomocí HPLC (kolona Chiralpak IA, mobilní fáze: 99,5/0,5 hexan/IPA, průtoková rychlost: 1,0 ml/min, detekce při λ = 220 nm): *anti*-diastereoizomery (2*S*,3*R*) *t<sub>R</sub>* = 32,7 min; (2*R*,3*S*) *t<sub>R</sub>* = 34,6 min; (kolona Chiralpak IA, mobilní fáze: 98/2 hexan/IPA, průtoková rychlost: 0,5 ml/min, detekce při λ = 220 nm): *syn*-diastereoizomery (2*R*,3*R*) *t<sub>R</sub>* = 22,1 min; (2*S*,3*S*) *t<sub>R</sub>* = 23,7 min.

## 2.4. Příprava 2-aminoalkan-3-olů **132** a **136**



**Schéma 30** Příprava 2-aminoalkan-3-olů **132** a **136**

K roztoku 2-nitroalkoholu **134** nebo **140** (3 mmol) ve směsi IPA (10 ml) a *n*-hexanu (10 ml) umístěném v tlakovém reaktoru bylo přidáno 10% Pd-C (120 mg). Směs byla míchána v atmosféře H<sub>2</sub> (20 bar) při laboratorní teplotě po dobu 2 dní. Katalyzátor byl poté zfiltrován přes dvojitý skládaný filtrační papír a promyt *n*-hexanem (cca 50 ml). Rozpouštědla byla odpařena na vakuové odparce a destilační zbytek byl vysušen ve vakuové sušárně při laboratorní teplotě. 2-Aminoalkohol **132** nebo **136** byl získán v prakticky kvantitativním výtěžku.

### 2-Aminoikosan-3-ol (**132**)

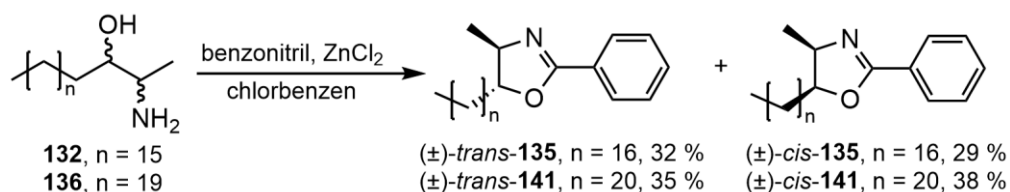
Výtěžek 98 %; b.t.: 63,0–64,9 °C. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 3,45 (m, 1H, CHOH, *anti*), 3,18 (m, 1H, CHOH, *syn*), 2,97 (m, 1H, CHNH<sub>2</sub>, *anti*), 2,75 (m, 1H, CHNH<sub>2</sub>, *syn*), 1,83

(bs, 3H, OH+NH<sub>2</sub>, *anti+syn*), 1,49–1,34 (m, 2H, CH<sub>2</sub>, *anti+syn*), 1,25 (m, 30H, 15× CH<sub>2</sub>, *anti+syn*), 1,09 (d, 3H, <sup>3</sup>J = 6,5 Hz, CH<sub>3</sub>, *syn*), 1,01 (d, 3H, <sup>3</sup>J = 6,5 Hz, CH<sub>3</sub>, *anti*), 0,88 (t, 3H, <sup>3</sup>J = 6,8 Hz, CH<sub>3</sub>, *anti+syn*). <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 75,9; 74,9; 51,3; 50,7; 34,4; 32,7; 32,1; 32,1; 30,0; 29,8–29,5; 26,4; 26,0; 22,9; 21,2; 17,1; 14,3. **FT-IČ (ATR):** ν 2954 (w), 2916 (s), 2848 (s), 1713 (w), 1579 (w), 1533 (w), 1468 (m), 1389 (w), 1257 (w), 1099 (w), 1065 (w), 897 (w), 719 (m), 667 (w), 644 (w), 447 (w), 415 (w), 401 (vw) cm<sup>-1</sup>. **HRMS-MALDI (DHB) m/z:** pro C<sub>20</sub>H<sub>44</sub>NO vypočteno 314,34229 [M+H]<sup>+</sup>, nalezeno 314,34215 [M+H]<sup>+</sup>.

### 2-Aminotetrakosan-3-ol (136)

Výtěžek 98 %; b.t.: 81,3–81,8 °C. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 3,45 (m, 1H, CHOH, *anti*), 3,17 (m, 1H, CHOH, *syn*), 2,98 (m, 1H, CHNH<sub>2</sub>, *anti*), 2,74 (m, 1H, CHNH<sub>2</sub>, *syn*), 1,88 (bs, 3H, OH+NH<sub>2</sub>, *anti+syn*), 1,52–1,33 (m, 2H, CH<sub>2</sub>, *anti+syn*), 1,25 (m, 38H, 19× CH<sub>2</sub>, *anti+syn*), 1,10 (d, 3H, <sup>3</sup>J = 6,5 Hz, CH<sub>3</sub>, *syn*), 1,02 (d, 3H, <sup>3</sup>J = 6,5 Hz, CH<sub>3</sub>, *anti*), 0,88 (t, 3H, <sup>3</sup>J = 6,8 Hz, CH<sub>3</sub>, *anti+syn*). <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 75,8; 74,8; 51,3; 50,7; 34,4; 32,7; 32,1; 32,1; 30,0; 29,8–29,5; 26,4; 26,0; 22,9; 21,2; 17,1; 14,3. **FT-IČ (ATR):** ν 3354 (w), 3286 (w), 2985 (w), 2953 (w), 2914 (s), 2848 (s), 1595 (w), 1468 (m), 1377 (w), 1333 (w), 1134 (w), 1115 (w), 1094 (w), 1082 (m), 1070 (w), 1036 (w), 999 (m), 945 (w), 922 (w), 905 (w), 837 (w), 721 (m), 577 (w), 530 (w), 482 (w), 434 (w), 417 (w) cm<sup>-1</sup>. **HRMS-MALDI (DHB) m/z:** pro C<sub>24</sub>H<sub>52</sub>NO vypočteno 370,40489 [M+H]<sup>+</sup>, nalezeno 370,40457 [M+H]<sup>+</sup>.

## 2.5. Příprava 2-fenyloxazolinových derivátů 135 a 141



**Schéma 31** Příprava 2-fenyloxazolinových derivátů **135** a **141**

V 25 ml Schlenkové baňce bylo za vakua zahříván bezvodý ZnCl<sub>2</sub> (3,3 mmol; 450 mg) na teplotu cca 200–250 °C. Po roztavení a vysušení byl čerstvě vysušený ZnCl<sub>2</sub> ochlazen pod atmosférou Ar. Do baňky bylo přidáno magnetické míchadlo a na hrdlo byl nasazen chladič s kohoutem. Poté byl přes vhodnou nálevku pod nátokem argonu přidán roztok 2-aminoalkoholu **132** nebo **136** (1 mmol) v suchém chlorbenzenu (5 ml). Ke směsi byl přidán

benzonitril (155 mg; 1,5 mmol) a směs byla míchána pod atmosférou argonu po dobu 4 dní při teplotě 140 °C. Poté byla směs ochlazena na laboratorní teplotu a smíchána s vodným roztokem NH<sub>3</sub> (10 ml; 1/1 (v/v)). Vzniklá emulze byla míchána cca 30 min a pak převedena do dělicí nálevky (100 ml). Směs byla extrahována CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3× 10 ml). Spojené organické vrstvy byly promyty solankou (15 ml) a byly vysušeny Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Rozpouštědla byla odpařena za sníženého tlaku. Destilační zbytek byl podroben sloupcové chromatografii.

**(±)-*trans*-2-Fenyl-4-methyl-5-heptadecyloxazolin ((±)-*trans*-135)**

Výtěžek: 32 %; b.t.: 45,5–47,4 °C;  $R_f = 0,38$  (SiO<sub>2</sub>; *n*-hexan/AcOEt (4/1; v/v)). <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,94 (d, 2H, <sup>3</sup>J = 7,5 Hz, Ar), 7,46 (m, 1H, Ar), 7,40 (m, 2H, Ar), 4,18 (m, 1H, CH), 3,92 (m, 1H, CH), 1,76–1,48 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 1,33 (d, 3H, <sup>3</sup>J = 6,5 Hz, CH<sub>3</sub>), 1,26 (m, 30H, 15× CH<sub>2</sub>), 0,89 (t, 3H, <sup>3</sup>J = 6,5 Hz, CH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 162,9; 131,3; 128,5; 128,4; 128,3; 87,1; 67,4; 35,1; 32,1; 29,9–29,7; 29,5; 25,4; 22,9; 21,8; 14,3. FT-IČ (ATR) ν 2914 (vs), 2848 (vs), 1651 (m), 1581 (w), 1551 (w), 1495 (w), 1470 (m), 1454 (m), 1375 (w), 1336 (w), 1319 (w), 1300 (w), 1265 (w), 1255 (w), 1113 (w), 1061 (m), 1026 (w), 959 (w), 939 (w), 891 (w), 781 (w), 719 (m), 694 (s), 677 (w), 559 (vw), 530 (vw), 473 (vw), 407 (vw) cm<sup>-1</sup>. HRMS-MALDI (DHB) *m/z*: pro C<sub>27</sub>H<sub>46</sub>NO vypočteno: 400,35794 [M+H]<sup>+</sup>; nalezeno: 400,35824 [M+H]<sup>+</sup>.

Separace stereoisomerů pomocí HPLC (kolona Chiralpak AD-H, mobilní fáze: 99,5/0,5 hexan/IPA, průtoková rychlost: 0,3 ml/min, detekce při λ = 254 nm): *trans*-diastereoizomery (4*R*,5*R*) *t*<sub>R</sub> = 22,05 min; (4*S*,5*S*) *t*<sub>R</sub> = 23,11 min.

**(±)-*cis*-2-Fenyl-4-methyl-5-heptadecyloxazolin ((±)-*cis*-135)**

Výtěžek: 29 %; b.t.: 50,9–52,2 °C;  $R_f = 0,28$  (SiO<sub>2</sub>; *n*-hexan/AcOEt (4/1; v/v)); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,94 (d, 2H, <sup>3</sup>J = 7,5 Hz, Ar), 7,46 (m, 1H, Ar), 7,39 (m, 2H, Ar), 4,63 (m, 1H, CH), 4,32 (m, 1H, CH), 1,75–1,51 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 1,26 (m, 30H, 15× CH<sub>2</sub>), 1,23 (d, 3H <sup>3</sup>J = 7,0 Hz, CH<sub>3</sub>), 0,89 (t, 3H, <sup>3</sup>J = 6,5 Hz, CH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 163,1; 131,4; 128,5; 128,4; 128,3; 83,3; 63,5; 32,1; 29,9–29,6; 27,1; 22,9; 15,9; 14,4. FT-IČ (ATR): ν 2916 (s), 2848 (s), 1647 (m), 1579 (vw), 1495 (w), 1466 (m), 1448 (m), 1360 (w), 1315 (w), 1296 (w), 1252 (w), 1173 (vw), 1095 (m), 1076 (m), 1067 (m), 1024 (m), 955 (w), 937 (w), 887 (w), 820 (vw), 802 (vw), 781 (m), 721 (m), 696 (s), 681 (m), 473 (vw), 417 (vw) cm<sup>-1</sup>. C<sub>27</sub>H<sub>46</sub>NO vypočteno: 400,35794 [M+H]<sup>+</sup>; nalezeno: 400,35823 [M+H]<sup>+</sup>.

Separace stereoizomerů pomocí HPLC (kolona Chiralpak AD-H, mobilní fáze: 99,5/0,5 hexan/IPA, průtoková rychlost: 0,5 ml/min, detekce při  $\lambda = 254$  nm): *cis*-diastereoizomery (4*R*,5*S*)  $t_R = 13,35$  min; (4*S*,5*R*)  $t_R = 14,29$  min.

**(±)-*trans*-2-Fenyl-4-methyl-5-henikosyloxazolin ((±)-*trans*-141)**

Výtěžek: 35 %; b.t.: 57,0–57,3 °C;  $R_f = 0,33$  (SiO<sub>2</sub>; *n*-hexan/AcOEt (6/1; v/v)). <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  7,94 (d, 2H, <sup>3</sup>*J* = 7,5 Hz, Ar), 7,46 (m, 1H, Ar), 7,41 (m, 2H, Ar), 4,17 (m, 1H, CH), 3,90 (m, 1H, CH), 1,74–1,47 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 1,34 (d, 3H, <sup>3</sup>*J* = 6,7 Hz, CH<sub>3</sub>), 1,25 (m, 38H, 19× CH<sub>2</sub>), 0,88 (t, 3H, <sup>3</sup>*J* = 7,0 Hz, CH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  163,0; 131,4; 128,5; 128,4; 128,3; 87,2; 67,4; 35,1; 32,1; 29,9–29,6; 25,4; 22,9; 21,8; 14,3. FT-IČ (ATR)  $\nu$  2966 (w), 2912 (vs), 2846 (s), 1651 (m), 1581 (w), 1495 (w), 1471 (m), 1454 (w), 1358 (w), 1342 (w), 1321 (w), 1298 (w), 1255 (w), 1113 (w), 1061 (m), 1026 (m), 982 (w), 955 (w), 939 (w), 905 (w), 891 (w), 870 (w), 851 (w), 800 (w), 781 (w), 717 (m), 694 (s), 677 (w), 407 (vw) cm<sup>-1</sup>. HRMS-MALDI (DHB) *m/z*: pro C<sub>31</sub>H<sub>54</sub>NO vypočteno: 456,42054 [M+H]<sup>+</sup>; nalezeno: 456,42037 [M+H]<sup>+</sup>.

Separace stereoizomerů pomocí HPLC (kolona Chiralpak AS-H, mobilní fáze: 99,9/0,1 hexan/IPA, průtoková rychlost: 0,5 ml/min, detekce při  $\lambda = 254$  nm): *trans*-diastereoizomery (4*R*,5*R*)  $t_R = 8,02$  min; (4*S*,5*S*)  $t_R = 8,86$  min.

**(±)-*cis*-2-Fenyl-4-methyl-5-henikosyloxazolin ((±)-*cis*-141)**

Výtěžek: 38 %; b.t.: 64,9–65,3 °C;  $R_f = 0,25$  (SiO<sub>2</sub>; *n*-hexan/AcOEt (6/1; v/v)); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  7,93 (m, 2H, Ar), 7,46 (m, 1H, Ar), 7,38 (m, 2H, Ar), 4,62 (m, 1H, CH), 4,32 (m, 1H, CH), 1,72–1,56 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 1,26 (m, 30H, 15× CH<sub>2</sub>), 1,23 (d, 3H <sup>3</sup>*J* = 7,0 Hz, CH<sub>3</sub>), 0,88 (t, 3H, <sup>3</sup>*J* = 6,8 Hz, CH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  163,1; 131,4; 128,5; 128,4; 128,3; 83,3; 63,5; 32,1; 29,9–29,6; 27,1; 22,9; 15,9; 14,3. FT-IČ (ATR):  $\nu$  2954 (w), 2914 (vs), 2848 (s), 1643 (m), 1579 (w), 1495 (w), 1470 (m), 1448 (w), 1363 (w), 1331 (w), 1296 (w), 1255 (w), 1171 (vw), 1099 (m), 1082 (m), 1067 (m), 1022 (m), 980 (w), 953 (w), 937 (w), 889 (w), 800 (w), 781 (m), 717 (m), 694 (s), 681 (m), 480 (vw), 405 (vw) cm<sup>-1</sup>. C<sub>31</sub>H<sub>54</sub>NO vypočteno: 456,42054 [M+H]<sup>+</sup>; nalezeno: 456,42040 [M+H]<sup>+</sup>.

Separace stereoizomerů pomocí HPLC (kolona Chiralpak AS-H, mobilní fáze: 99,9/0,1 hexan/IPA, průtoková rychlost: 0,5 ml/min, detekce při  $\lambda = 254$  nm): *cis*-diastereoizomery (4*R*,5*S*)  $t_R = 8,67$  min; (4*S*,5*R*)  $t_R = 9,63$  min.

## 2.6. Hydrolýza 2-fenyloxazolinu 141

### Postup 1

Do 10 ml 14 NZ kulaté baňky opatřené magnetickým míchadlem a chladičem byl předložen 2-fenyloxazolin ( $\pm$ )-*cis*-**141** (182 mg; 0,4 mmol), 1 ml 36% HCl a 1 ml EtOH. Směs byla zahřívána na 90 °C po dobu 3 dní. Po ochlazení byl ke směsi přidán 2,5 M vodný roztok NaOH (10 ml; 25 mmol) a bylo extrahováno CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3× 10 ml). Spojené organické vrstvy byly vysušeny Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a rozpouštědlo bylo odpařeno za sníženého tlaku. Destilační zbytek byl suspendován v 10 ml 10% vodného roztoku kys. citronové a směs byla odpařena za vakua. Tuhý podíl byl rozmíchán v etheru (cca 10 ml), zfiltrován přes fritu a promyt dalším etherem (30 ml). Sraženina byla následně smíchána s 2,5 M vodným roztokem NaOH (20 ml; 50 mmol) a poté bylo extrahováno CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3× 10 ml). Spojené organické vrstvy byly vysušeny Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a rozpouštědlo bylo odpařeno za sníženého tlaku. Bylo získáno 75 mg (50 %) aminoalkoholu ( $\pm$ )-*anti*-**136** ve formě bílé sraženiny, která dle <sup>1</sup>H NMR spektroskopie obsahovala cca 5 % příslušného 2-*N*-benzoylaminotetrakosan-3-olu.

### Postup 2

Do 10 ml 14 NZ kulaté baňky opatřené magnetickým míchadlem a chladičem byl předložen 2-fenyloxazolin ( $\pm$ )-*trans*-**141** (182 mg; 0,4 mmol), 1 ml 36% HCl a 1 ml EtOH. Směs byla zahřívána na 90 °C po dobu 3 dní. Poté byla rozpouštědla odpařena za sníženého tlaku k suchu. Destilační zbytek byl rozmíchán v etheru (cca 10 ml), zfiltrován přes fritu a promyt dalším etherem (30 ml). Sraženina byla následně smíchána s 2,5 M vodným roztokem NaOH (10 ml; 25 mmol) a poté bylo extrahováno CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3× 10 ml). Spojené organické vrstvy byly vysušeny Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a rozpouštědlo bylo odpařeno za sníženého tlaku. Bylo získáno 144 mg (98 %) aminoalkoholu ( $\pm$ )-*syn*-**136** ve formě bílé sraženiny, která dle <sup>1</sup>H NMR spektroskopie obsahovala cca 3 % příslušného 2-*N*-benzoylaminotetrakosan-3-olu.

### 3. VÝSLEDKY A DISKUZE

Cílem této bakalářské práce bylo připravit a charakterizovat 1-deoxysfingosinové deriváty – 2-aminoalkan-3-oly s počtem atomů uhlíku vyšším než 18. Konkrétně byli vybráni dva zástupci, a to 2-aminoikosan-3-ol (20 atomů uhlíku) a 2-aminotetrakosan-3-ol (24 atomů uhlíku). Vzhledem k tomu, že uvedené sloučeniny jsou látky chirální, obsahující dvě stereogenní centra, je třeba při jejich syntéze zvažovat aspekt stereochemie. V rámci této bakalářské práce měla být nejprve zdokumentována a zoptimalizována příprava zmíněných sloučenin ve formě racemátů jednotlivých *cis*- resp. *trans*-izomerů. Přípravou neracemických forem, tedy všech čtyř stereoizomerů uvedených sloučenin, mám v úmyslu se zabývat v následné fázi výzkumu, který bude realizován v rámci mé budoucí diplomové práce.

Jak již bylo uvedeno v kapitole Teoretická část, 1-deoxysfingosinové deriváty představují sloučeniny s medicíně zajímavou biologickou aktivitou, především cytotoxicitou vůči nádorovým buňkám, dále pak antimikrobiální a antifungální aktivitou. Výzkumný cíl, který je rozpracován v mé bakalářské práci navazuje na předchozí studii, ve které byly studovány dvě známé sfingoidní báze – Clavaminol A ((2*R*,3*S*)-2-aminododekan-2-ol) a Xestoaminol C ((2*S*,3*R*)-2-aminotetradekan-2-ol).<sup>[19,24]</sup> V rámci této, teprve nedávno dokončené vědecké studie,<sup>[19,24]</sup> byly připraveny a charakterizovány nejen v přírodě se vyskytující stereoizomery Clavaminolu A a Xestoaminolu C, ale i všechny tři zbývající, které dosud nebyly známy. Stereoizomery Clavaminolu A a Xestoaminolu C byly následně ve spolupráci s Katedrou biologických a biochemických věd UPa testovány na cytostatickou aktivitu vůči vybraným liniím nádorových buněk, a to na suspenzní linii buněk Jurkat (lidské leukemické T buňky), adherentní linii lidských neuroblastomových buněk (SH-SY5Y), buněčné linii lidského plicního karcinomu (A549) a linii lidských osteoblastů (MG-63). Cílem provedených biologických studií bylo především posoudit vztah absolutní konfigurace na stereogenních centrech uvedených 2-aminoalkoholů k jejich cytotoxicitě, a rovněž určit úroveň cytotoxicity racemických forem těchto sloučenin ve srovnání s jednotlivými stereoizomery.

Na základě analýzy získaných hodnot IC<sub>50</sub> bylo zjištěno, že stereoizomery Xestoaminolu C, tj. 2-aminotetradekan-3-olu, vykazují vyšší cytotoxicitu než stereoizomery Clavaminolu A, tj. izomery 2-aminododekan-3-olu (Tabulka 1). Neboli, stereoizomery Xestoaminolu C (počet atomů uhlíku 14) vykazovaly poněkud vyšší cytotoxicitu než ekvivalentní stereoizomery Clavaminolu A (počet atomů uhlíku 12), a to ve všech případech použitých buněčných linií. Mezi další důležité závěry patřil fakt, že stereoizomery se *syn*-konfigurací, tj. (2*R*,3*R*)- a (2*S*,3*S*)-izomery Clavaminolu A resp. Xestoaminolu C, měly



výraznější cytotoxické účinky ve srovnání se stereoizomery s *anti*-konfigurací, tj. (2*S*,3*R*)- a (2*R*,3*S*)-izomery těchto 2-aminoalkan-3-olů. Zajímavým výsledkem pak bylo zjištění, že ve všech případech byly stanoveny pro danou dvojici jednotlivých enantiomerů prakticky stejné hodnoty IC<sub>50</sub>. Z toho vyplývá, že cytotoxický účinek Clavaminolu A resp. Xestoaminolu C ovlivňuje jejich relativní konfigurace, avšak konkrétní absolutní konfigurace na stereogenních centrech v rámci daného diastereoizomeru nemá na jejich cytotoxicitu prakticky žádný vliv. Na základě těchto faktů byla formulována hypotéza, že lze očekávat srovnatelný cytotoxický účinek jak jednotlivých enantiomerů, tak i racemátů *cis*- či *trans*-forem uvedených sloučenin. Pochopitelně, racemické formy testovaných sloučenin jsou synteticky snadno dostupnější než příslušné enantiomery, a proto je jejich aplikační potenciál z ekonomických důvodů vyšší. Uvedené 1-deoxysfingosinové deriváty tedy představují zajímavé chemické substance ve výzkumu antiproliferační terapie a lze je považovat za slibná potenciální cytostatika v rámci vývoje nových protinádorových léčiv.

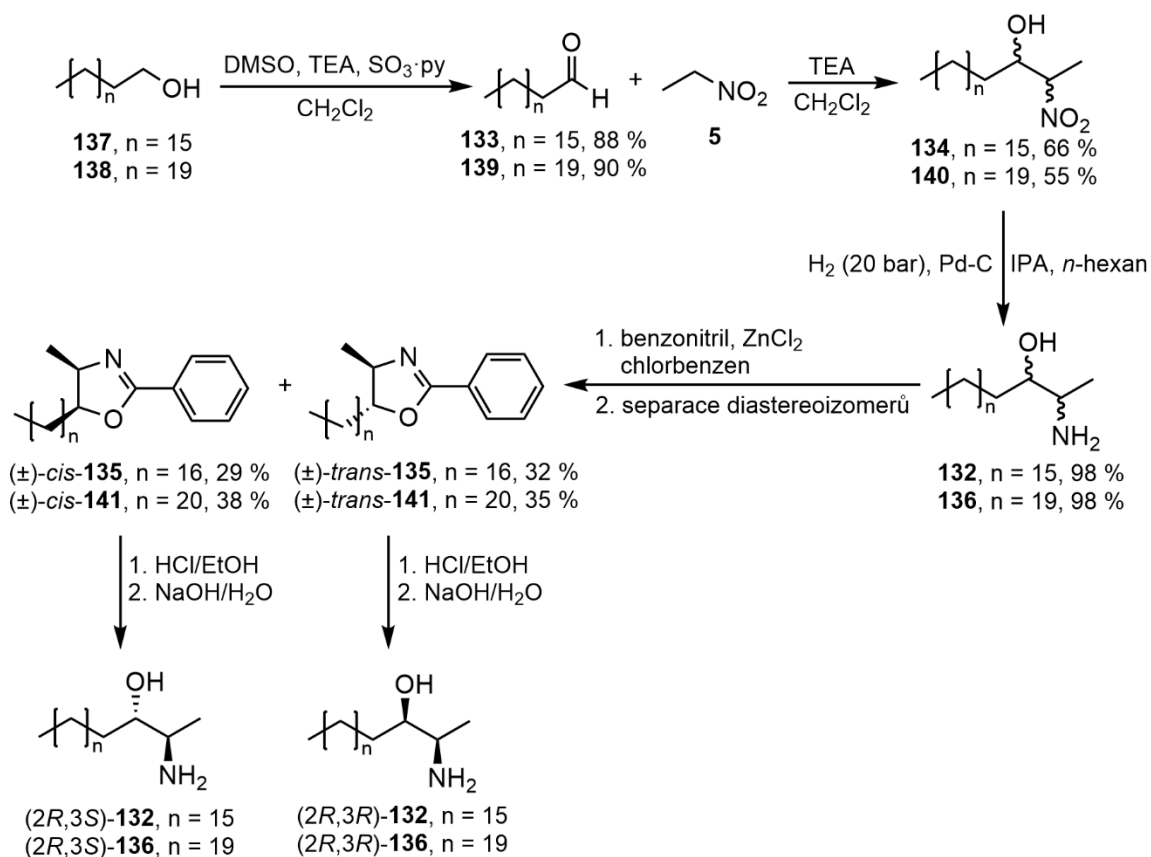
**Tabulka 1. Přehled cytotoxicity jednotlivých stereoizomerů Clavaminolu A a Xestoaminolu C.**

Tabulka byla převzata z literatury<sup>[19,24]</sup>

Sloučenina	Buněčné linie (hodnoty IC <sub>50</sub> , μmol/l) <sup>a</sup>			
	SH-SY5Y	Jurkat	A549	MG-63
(2 <i>R</i> ,3 <i>R</i> )-2-aminododekan-3-ol	63 ± 2	25 ± 2	53 ± 10	29 ± 3
(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> )-2-aminododekan-3-ol	81 ± 2	55 ± 10	70 ± 10	32 ± 6
(2 <i>S</i> ,3 <i>S</i> )-2-aminododekan-3-ol	60 ± 2	27 ± 2	45 ± 3	22 ± 3
(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> )-2-aminododekan-3-ol	70 ± 3	34 ± 4	69 ± 9	37 ± 3
(2 <i>R</i> ,3 <i>R</i> )-2-aminotetradekan-3-ol	21 ± 2	13 ± 1	29 ± 2	12 ± 1
(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> )-2-aminotetradekan-3-ol	53 ± 3	44 ± 13	54 ± 11	22 ± 3
(2 <i>S</i> ,3 <i>S</i> )-2-aminotetradekan-3-ol	22 ± 4	14 ± 1	23 ± 2	12 ± 1
(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> )-2-aminotetradekan-3-ol	42 ± 2	53 ± 10	51 ± 9	24 ± 4

<sup>a</sup> Hodnoty cytotoxické aktivity jsou vyjádřeny ve formě IC<sub>50</sub> ± SD (ze tří nezávislých měření) po 24 h působení.

Výše popsaná zjištění,<sup>[19,24]</sup> tj. vliv délky alkylového řetězce a relativní konfigurace na stereogenních centrech na výslednou cytotoxicitu daného 1-deoxysfingosinového derivátu, je vhodné ověřit na širší sérii jednotlivých 2-aminoalkan-3-olů. Jejich příprava je proto předmětem této bakalářské práce.



**Schéma 32** Celkové reakční schéma popisující přípravu 2-aminoalkan-3-olů **132** a **136**

Výchozími sloučeninami použitými pro syntézu racemátů 2-aminoikosan-3-olu (**132**) resp. 2-aminotetrakosan-3-olu (**136**) byl stearylalkohol (C18) (**137**) a dokosan-1-ol (C22) (**138**). Tyto primární alkoholy, obsahující sudý počet atomů uhlíku, jsou komerčně dostupné a vzhledem k jejich snadné výrobě i relativně levné chemikálie (stearylalkohol 40 liber/500 g resp. dokosan-1-ol 117 liber/500 g; Fluorochem; k 28.6.2021). Uvedené alkoholy jsem v prvním syntetickém kroku oxidoval na příslušné aldehydy **133** a **139**. Oxidaci jsem provedl podle literárního předpisu popisujícího přípravu analogického aldehydu, a to tetradekanal, [47] za podmínek Pakikh-Doeringovy oxidace. Ta, jak známo využívá jako oxidační činidlo dimethylsulfoxid, který je aktivován oxidem sirovým (použit komerčně dostupný komplex SO<sub>3</sub>·Py). [48] Reakce svým charakterem patří mezi oxidace alkoholů na aldehydy přes specifický intermediát – alkoxyulfonium ylid (podobně jako Swernova oxidace, Pfitzner-Moffattova oxidace nebo Corey-Kimova oxidace). Uvádí se, že při Pakikh-Doeringové oxidaci obvykle nevzniká jako vedlejší produkt (*S*-methylsulfanylmethyl)ether (jedná se v podstatě o thioacetal formaldehydu), a to ani v případech, kdy se reakce provádí za vyšších teplot. V mém případě jsem však vznik tohoto nežádoucího vedlejšího produktu pozoroval, obvykle v množství cca 5–10 %. Uvedený vedlejší produkt bylo možné od aldehydu **133** resp. **139** separovat

sloupcovou chromatografií, přičemž tato látka měla v nepolárních mobilních fázích, vzhledem k její nižší polaritě, vždy vyšší retenční faktor než příslušný aldehyd. Průběh reakce bylo možné monitorovat vizuálně, neboť výchozí alkoholy jsou v CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> na rozdíl od aldehydů **133** a **139** málo rozpustné. Proběhnutí oxidace se projevilo vznikem homogenní reakční směsi. Aldehydy **133** resp. **139** jsem izoloval jako bílé tuhé sloučeniny voskovitého charakteru, které jsem ihned použil do následujícího reakčního kroku nebo krátkodobě skladoval v atmosféře argonu při nízké teplotě (v lednici).

Druhým krokem syntézy cílových látek byla Henryho reakce aldehydů **133** resp. **139** s nitroethanem vedoucí k nitroalkoholům **134** resp. **140**. Reakci jsem provedl v CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> za laboratorní teploty, katalyzátorem byl triethylamin (2 mol %). Běžně používaná alkoholická rozpouštědla (MeOH, EtOH, IPA) jsem v tomto případě vyhodnotil jako nevhodná, a to vzhledem k nízké rozpustnosti aldehydů, zejména sloučeniny **139**. Reakce probíhaly relativně pomalu, v případě sloučeniny **139** byla dle <sup>1</sup>H NMR spektroskopie konverze po 3 dnech cca 50 %. Po 4 dnech byl vznik dalšího produktu Henryho reakce již zanedbatelný, reakce pravděpodobně dospěla do rovnovážného stavu. Po odpaření rozpouštědla a katalyzující báze jsem směs nitroalkoholu a výchozího aldehydu rozdělil sloupcovou chromatografií. K účinné separaci docházelo ve značně nepolárních mobilních fázích, jako nejvhodnější se jevila směs *n*-hexan/AcOEt 6/1 až 8/1. Chromatografií jsem nejprve izoloval méně polární výchozí aldehyd **133** resp. **139** (*R<sub>f</sub>*, cca 0,5), poté byl eluován požadovaný nitroalkohol **134** resp. **140** (*R<sub>f</sub>*, cca 0,3). Racemáty nitroalkoholů **134** a **140** byly dále analyzovány pomocí chirální HPLC. Cílem bylo nalézt vhodné HPLC podmínky pro budoucí stanovování enantiomerního přebytku v těchto chirálních sloučeninách. Nejlepší separace enantiomerů jednotlivých *cis*-/*trans*-izomerů nitroalkoholů **134** a **140** bylo dosaženo na chirálních kolonách Chiralpak AD-H a Chiralpak IA.

Následovala redukce nitroskupiny nitroalkoholů **134** resp. **140** za podmínek katalytické hydrogenace. Při nastavení reakčních podmínek jsem vycházel z pokusů, popisujících katalytickou hydrogenaci analogických nitroaldolů, a to 2-nitrodekan-3-olu a 2-nitrododekan-3-olu.<sup>[19,24]</sup> Mnohé reakční podmínky, např. tlak vodíku (cca 20 bar), typ katalyzátoru (10% Pd na C) a jeho množství (1,5 mol %), jsem nechal totožné. Rozdílné však bylo rozpouštědlo, neboť v původně použitém MeOH jsou nitroalkoholy **134** resp. **140** prakticky nerozpustné. Hydrogenaci jsem provedl ve směsi *n*-hexan/IPA (1/1), ve kterém se výchozí látky rozpouštěly relativně dobře. Rovněž jsem prodloužil reakční čas z 24 h na 48 h. Reakční doba však nebyla optimalizována. Zpracování reakční směsi bylo velmi jednoduché,

heterogenní katalyzátor jsem odstranil filtrací a rozpouštědla jsem odpařil za vakua. Dle NMR spektroskopie proběhla hydrogenace za těchto podmínek s prakticky kvantitativní konverzí.

Získanou směs diastereoizomerů 2-aminoalkan-3-olů **132** resp. **136** jsem dále transformoval na 2-fenyloxazolinové deriváty **135** resp. **141**. Důvodem této chemické modifikace 2-aminoalkan-3-olů **132** a **136** bylo ověřit, zda-li je možné *cis*- a *trans*-izomery 2-fenyloxazolinových derivátů **135** resp. **141** účinně separovat pomocí sloupcové chromatografie, resp. vyhledat vhodné chromatografické podmínky pro tuto separaci. Reakční podmínky jsem převzal z dříve popsané syntetické procedury, pomocí níž byly připravovány analogické 2-fenyloxazoliny.<sup>[19,24]</sup> Vzhledem k předpokládané nižší reaktivitě 2-aminoalkan-3-olů **132** resp. **136** ve srovnání s 2-aminododekan-3-olem resp. 2-aminotetradekan-3-olem, jejíž příčinou je přítomnost výrazně delšího alkylového řetězce, jsem prodloužil reakční čas ze 48 h na 4 dny. Reakční teplota byla zachována na hodnotě 140 °C. Urychlení reakce teplotou jsem nepovažoval za vhodné, neboť zvýšení reakční teploty nad uvedenou hodnotu by velmi pravděpodobně vedlo k určitému rozkladu výchozí sloučeniny/produktu. Další změna ve srovnání s původním předpisem spočívala v odlišném způsobu dávkování reaktantu, tj. 2-aminoalkan-3-olů **132** resp. **136**, do reakční směsi. V případě 2-aminododekan-3-olu resp. 2-aminotetradekan-3-olu byl připravený roztok v extra suchém chlorbenzenu vnesen do reakční směsi injekční stříkačkou přes septum reakční nádoby. Ta již obsahovala atmosféru argonu. 2-Aminoalkan-3-oly **132** resp. **136** jsou však v chlorbenzenu při laboratorní teplotě rozpustné pouze omezeně. Vyšší rozpustnost vykazují za horka, transport přes jehlu horkého roztoku však vedl k vylučování aminoalkan-3-olu během nástřiku, což mělo za následek ztrátu výchozí látky. Roztok 2-aminoalkan-3-olu **132** resp. **136** jsem proto do reakční směsi přelil tzv. pod nátokem argonu. Určitou změnu jsem rovněž provedl ve zpracování reakční směsi. Jako výhodnější metodu pro oddělení zinečnatých solí od produktu jsem zvolil promytí reakční směsi vodným amoniakem. Došlo tak k rychlejší a účinnější separaci vodné a organické fáze. Nutno však konstatovat, že jsem dosáhl poněkud nižších výtěžků 2-fenyloxazolinových derivátů **135** (61 %) resp. **141** (73 %) než je popsáno v původním literárním předpisu (>80 %).<sup>[19,24]</sup>

Zjistil jsem, že *cis*- a *trans*-izomery 2-fenyloxazolinů **135** resp. **141** lze účinně separovat sloupcovou chromatografií na silikagelu. Jako nejvhodnější mobilní fázi pro derivát **135** jsem našel směs *n*-hexan/AcOEt 4/1, ve které je hodnota  $R_f$  *trans*-izomeru 0,38, zatímco hodnota  $R_f$  *cis*-izomeru 0,28. V případě 2-fenyloxazolinu **141** jsem pak jako nejvhodnější mobilní fázi vyhodnotil směs *n*-hexan/AcOEt 6/1. Hodnota  $R_f$  *trans*-izomeru sloučeniny **141** v dané směsi činila 0,33, zatímco hodnota  $R_f$  *cis*-izomeru 0,25. Relativní konfigurace jednotlivých diastereoizomerů 2-fenyloxazolinů **135** a **141** jsem určil na základě porovnání <sup>1</sup>H a <sup>13</sup>C NMR

spekter těchto sloučenin s diastereoizomery 2-fenyloxazolinů popsaných v literatuře dříve.<sup>[19,24]</sup> Dále byly nalezeny vhodné podmínky pro chirální HPLC, umožňující stanovení zastoupení jednotlivých enantiomerů v diastereoizomerech 2-fenyloxazolinů **135** a **141**. Racemáty těchto sloučenin zde posloužily jako vhodné standardy, neboť z definice obsahují ekvimolární směs obou enantiomerů (pro hledání vhodných HPLC podmínek bylo nutné získat chromatogram obsahující dva ekvivalentní píky).

Závěrečným reakčním krokem syntézy *anti*- resp. *syn*- diastereoizomerů 2-aminoalkan-3-olů **132** resp. **136** byla kysele katalyzovaná hydrolyza jednotlivých *cis*- resp. *trans*-2-fenyloxazolinů **135** a **141**. Vzhledem k nedostatku času jsem se v rámci bakalářské práce zabýval pouze hydrolyzou *cis*- resp. *trans*-2-fenyloxazolinu **141**. V případě tohoto derivátu jsem totiž očekával potíže, a to zejména při zpracování reakční směsi, neboť jak 2-fenyloxazolin **141**, tak i 2-aminotetrakosan-3-ol (**136**) mají výrazný nepolární charakter. V původním předpisu<sup>[19,24]</sup> je však hydrolyza realizována v silně polárním prostředí (36% vodná HCl/EtOH; 1/1; v/v) a navíc, reakce neprobíhá s úplnou konverzí na 2-aminoalkohol. Jako další produkt reakce byl popsán *N*-benzoyl-2-aminoalkan-3-ol (3–10 %), tedy v podstatě meziprodukt hydrolyzy. Jeho separace od 2-aminoalkoholu byla založena na využití acidobazické extrakce – nejprve převedení 2-aminoalkoholu do vodného roztoku kyseliny citronové, následná extrakce *N*-benzoyl-2-aminoalkan-3-olu do etheru a poté alkalizace vodné fáze vodným roztokem NaOH vedoucí k rozložení soli 2-aminoalkoholu.<sup>[19,24]</sup> V případě 2-aminotetrakosan-3-olu (**136**) však nebyla tato separace produktů úspěšná, neboť se nerozpouštěl ve vodném roztoku kyseliny citronové. U příslušné amoniové soli převládá díky přítomnosti dlouhého alkylového řetězce nepolární charakter. Hydrolyzou *cis*-2-fenyloxazolinu (**141**) jsem tedy touto metodou získal *anti*-2-aminotetrakosan-3-ol (**136**), který byl kontaminován 5 % *anti-N*-benzoyl-2-aminotetrakosan-3-olu. V následujícím pokusu jsem reakční směs zpracoval odlišným způsobem. Nejprve jsem odpařil rozpouštědla za sníženého tlaku. Tuhý destilační zbytek jsem rozmíchal v etheru (došlo k rozpuštění ethyl-benzoátu, popř. *N*-benzoyl-2-aminotetrakosan-3-olu), sraženinu jsem oddělil filtrací a promyl dalším etherem. Poté jsem sraženinu suspendoval ve vodném roztoku NaOH (uvolnění aminu) a směs jsem následně extrahoval CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Dalším zpracováním extraktu jsem z *trans*-2-fenyloxazolinu (**141**) získal *syn*-2-aminotetrakosan-3-ol (**136**) ve vysokém výtěžku. Produkt však byl kontaminován 3 % *syn-N*-benzoyl-2-aminotetrakosan-3-olu. Promytí surového produktu etherem tedy nevedlo k dokonalé separaci *N*-benzoyl-2-aminotetrakosan-3-olu. V dalších pokusech mám proto v úmyslu testovat promývání surového produktu méně polárním rozpouštědlem (toluen, *n*-hexan, cyklohexan apod.).

## 4. ZÁVĚR

V rámci bakalářské práce jsem se zabýval přípravou a charakterizací *anti*- a *syn*-diastereoizomerů 2-aminoikosan-3-olu (**132**) a 2-aminotetrakosan-3-olu (**136**) (Schéma 32). Přípravu těchto sloučenin jsem provedl podle syntetického postupu, který byl nedávno popsán pro analogické 2-aminoalkan-3-oly (*anti*- a *syn*-2-aminododekan-3-ol a *anti*- a *syn*-2-aminotetradekan-3-ol).<sup>[19,24]</sup> Syntéza zahrnuje celkem pět reakčních kroků a vychází z komerčně dostupných primárních alkoholů (stearylalkoholu (**137**) a dokosan-1-olu (**138**)).

Jednotlivé *anti*- a *syn*-diastereoizomery 2-aminoalkan-3-olů **132** resp. **136** jsem v tomto výzkumu připravil ve formě racemátů. Ověřil jsem, že uvedená syntetická metoda<sup>[19,24]</sup> je použitelná nejen pro syntézu *anti*- resp. *syn*-2-aminododekan-3-olu a *anti*- resp. *syn*-2-aminotetradekan-3-olu, ale rovněž i pro 2-aminoalkan-3-oly **132** resp. **136**, tedy sloučeniny stejného typu, avšak obsahující významně delší alkylový řetězec. Nicméně, v jednotlivých reakčních krocích bylo nutné provést určité úpravy a změny reakčních podmínek, které vyplývaly z odlišných fyzikálně-chemických vlastností příslušných výchozích látek a intermediátů.

Racemáty jsem připravoval za účelem zisku vzorků/standardů, a to jak cílových 2-aminoalkan-3-olů **132** a **136**, tak i jednotlivých meziproduktů. To umožnilo charakterizaci těchto sloučenin pomocí obvyklých metod (NMR spektroskopie, bod tání, hmotnostní spektroskopie s vysokým rozlišením, infračervená spektroskopie). Vzhledem k tomu, že racemické varianty sloučenin lze považovat za podstatně levnější chemické substance než enantiomerně čisté formy, použil jsem racemáty jako výchozí sloučeniny v pokusech, které jsem provedl pro optimalizaci reakčních podmínek jednotlivých reakčních kroků. Zdokumentované syntetické postupy a charakterizační data jednotlivých sloučenin budou dále využity v následném výzkumu, ve kterém budou připravovány neracemické formy *anti*- a *syn*-diastereoizomerů 2-aminoikosan-3-olu (**132**) a 2-aminotetrakosan-3-olu (**136**) za účelem studia jejich biologické aktivity.

Vzhledem k příslušným vládním nařízením, které výrazně omezovaly prezenční formu studia a praktickou činnost na vysokých školách v ČR během akademického roku 2020/2021, jsem zcela nedokončil studii zabývající se optimalizací reakčních podmínek posledního reakčního kroku, tj. hydrolýzy 2-fenyloxanolinových derivátů **135** a **141**. Tuto studii mám v úmyslu dokončit v následném výzkumu, který bude realizován jako součást mého navazujícího magisterského studia.

## 5. LITERATURA

- [1] A. H. Merrill Jr., *Biochemistry of lipids, lipoproteins and membranes*. Elsevier, London, 2008.
- [2] J. L. W. Thudichum, *A Treatise on the Chemical Constitution of the Brain, etc.* Bailliere, Tindall & Cox, London, 1884.
- [3] H. E. Carter, F. J. Glick, W. P. Norris, G. E. Phillips, *J. Biol. Chem.* **1947**, *170*, 285–294.
- [4] E. Fahy, S. Subramaniam, H. A. Brown, C. K. Glass, A. H. Merrill Jr, R. C. Murphy, E. A. Dennis, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **2005**, *107*, 337–364.
- [5] Y. Hirabayashi, Y. Igarashi, A. H. Merrill Jr., *Sphingolipid biology*. Springer, Tokyo, 2007.
- [6] J. L. Abad, I. Nieves, P. Rayo, J. Casas, G. Fabriàs, A. Delgado, *J. Org. Chem.* **2013**, *78*, 5858–5866.
- [7] S. Spiegel, A. H. Merrill Jr, *FASEB J.* **1996**, *10*, 1388–1397.
- [8] Y. A. Hannun, *Science* **1996**, *274*, 1855–1859.
- [9] J. Mwinyi, A. Boström, I. Fehrer, A. Othman, G. Waeber, H. Marti-Soler, T. Hornemann, *PLOS One* **2017**, *12*, e0175776.
- [10] D. Ernst. *Regulation of deoxy-sphingolipids and their role in disease*. Disertační práce, University of Zurich, Curych 2013.
- [11] M. A. Lone, T. Santos, I. Alecu, L. C. Silva, T. Hornemann, *Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell. Biol. Lipids* **2019**, *1864*, 512–521.
- [12] M. Martinkova, J. Gonda, D. Jackova, *Tetrahedron: Asymmetry* **2016**, *27*, 1187–1212.
- [13] J. Avila, G. T. Faircloth, N. L. Fregau, G. D. Garcia, K. L. Rinehart, R. A. Warwick, *Spisulosine compounds having antitumour activity*, WO9952521A1, **1999**.
- [14] M. Proštenik, P. Alaupović, *Croat. Chem. Acta* **1957**, *29*, 393–402.
- [15] R. Cuadros, E. M. De Garcini, F. Wandosell, G. Faircloth, J. M. Fenandez-Sousa, *Cancer Lett.* **2000**, *152*, 23–29.
- [16] O. Cuvillier, G. Pirianov, B. Kleuser, P. G. Vanek, O. A. Coso, J. S. Gutkind, S. Spiegel, *Nature* **1996**, *381*, 800–803.
- [17] A. M. Zaed, A. Sutherland, *Org. Biomol. Chem.* **2011**, *9*, 8030–8037.
- [18] M. H. Kossuga, J. B. MacMillan, E. W. Rogers, T. F. Molinski, G. G. Nascimento, R. M. Rocha, R. G. Berlinck, *J. Nat. Prod.* **2004**, *67*, 1879–1881.
- [19] G. Nováková, P. Drabina, L. Brůčková, J. Báčová, J. Handl, J. Svoboda, M. Sedlák, *Eur. J. Org. Chem.* **2020**, 3671–3679.

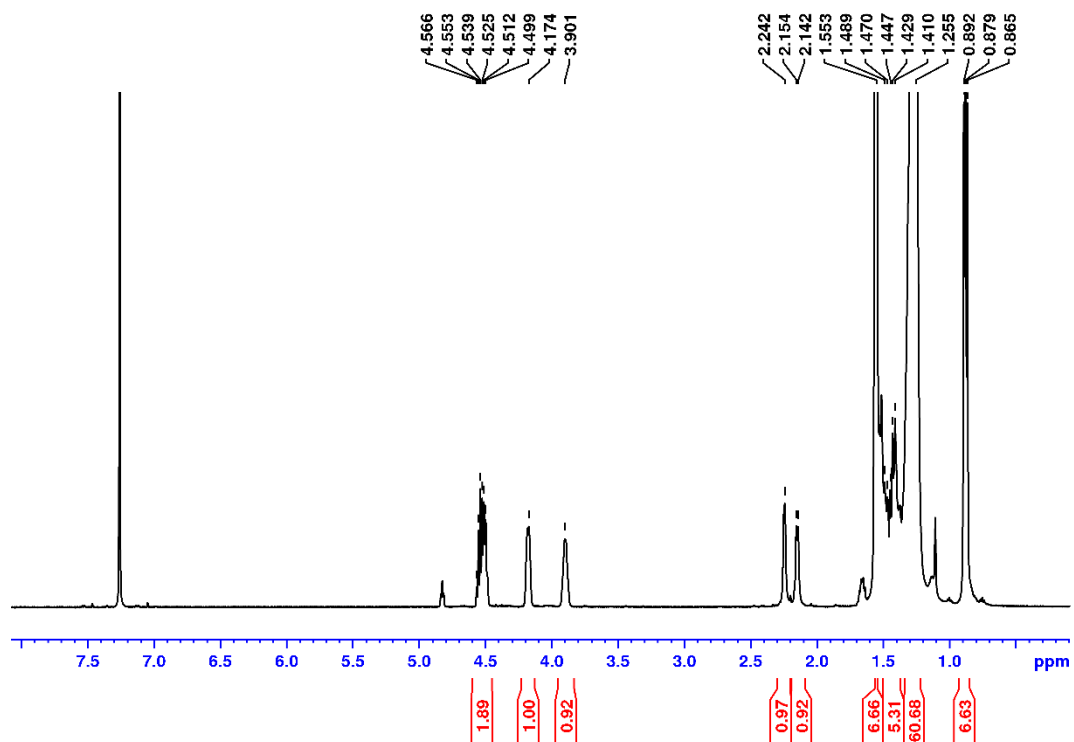
- [20] A. Aiello, E. Fattorusso, A. Giordano, M. Menna, C. Navarrete, E. Muñoz, *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 2920–2926.
- [21] C. Jiménez, P. Crews, *J. Nat. Prod.* **1990**, *53*, 978–982.
- [22] B. S. Chen, L. H. Yang, J. L. Ye, T. Huang, Y. P. Ruan, J. Fu, P. Q. Huang, *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*, 5480–5486.
- [23] N. Dasyam, A. B. Munkasci, N. H. Fadzilah, D. Senanayake, R. F. O’Toole, R. A. Keyzers, *J. Nat. Prod.* **2014**, *77*, 1519–1523.
- [24] G. Nováková. *Recyklovatelné katalytické systémy pro asymetrickou Henryho reakci*. Disertační práce, Univerzita Pardubice, Pardubice 2020.
- [25] K. Xu, G. Lai, Z. Zha, S. Pan, H. Chen, Z. Wang, *Chem. Eur. J.* **2012**, *18*, 12357–12362.
- [26] M. Pandey, P. S. Chowdhury, A. K. Dutta, P. Kumar, S. Pal, *RSC Adv.* **2013**, *3*, 15442–15448.
- [27] S. K. Dinda, S. K. Das, G. Panda, *Tetrahedron* **2010**, *66*, 9304–9309.
- [28] G. W. Amarante, M. Cavallaro, F. Coelho, *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 2597–2599.
- [29] C. Séguin, F. Ferreira, C. Botuha, F. Chemla, A. Pérez-Luna, *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 6986–6992.
- [30] J. M. Yun, T. B. Sim, H. S. Hahm, W. K. Lee, H. J. Ha, *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 7675–7680.
- [31] P. Ghosal, A. K. Shaw, *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 4140–4142.
- [32] A. C. Allepuz, R. Badorrey, M. D. Díaz-de-Villegas, J. A. Gálvez, *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, 6172–6178.
- [33] G. Silveira-Dorta, O. J. Donadel, V. S. Martin, J. M. Padron, *J. Org. Chem.* **2014**, *79*, 6775–6782.
- [34] E. Abushanab, P. Vemishetti, R. W. Leiby, H. K. Singh, A. B. Mikkilineni, D. C. Wu, R. P. Panzica, *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 2598–2602.
- [35] M. Fabišíková, M. Martinková, S. Hirková, J. Gonda, M. B. Pilátová, G. Gönciová, *Carbohydr. Res.* **2016**, *435*, 26–36.
- [36] V. K. Jain, R. Ramapanicker, *Tetrahedron* **2017**, *73*, 1568–1575.
- [37] L. He, H. S. Byun, R. Bittman, *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 7618–7626.
- [38] H. S. Byun, S. Pyne, N. MacRitchie, N. J. Pyne, R. Bittman, *MedChemComm* **2013**, *4*, 1394–1399.
- [39] K. L. Rinehart, N. L. Fregeau, R. A. Warwick, *Spisolusine compounds*. US6107520A, **2000**.
- [40] T. V. K. Reddy, A. Jyotsna, B. P. Devi, R. B. N. Prasad, Y. Poornachandra, C. G. Kumar,



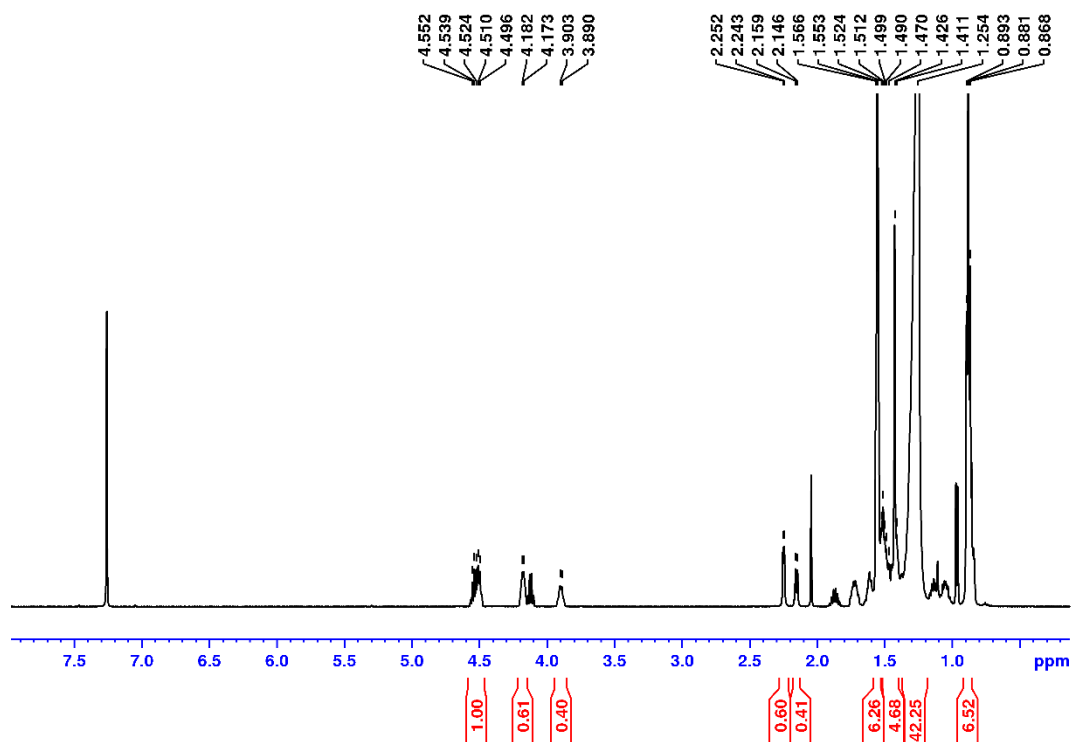
- Eur. J. Med. Chem.* **2016**, *120*, 86–96.
- [41] T. Jin, L. Zhao, M. Huang, Y. Yue, Z. B. Zheng, W. H. Ham, *Tetrahedron: Asymmetry* **2017**, *28*, 725–729.
- [42] M. Ichihashi, K. Mori, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **2003**, *67*, 329–333.
- [43] H. R. Vulupala, Y. Sajja, R. B. Nagarapu, *Curr. Org. Chem.* **2015**, *19*, 2040–2045.
- [44] J. Choi, H. J. Ha, *J. Korean Chem. Soc.* **2015**, *59*, 203–204.
- [45] D. Uraguchi, S. Nakamura, T. Ooi, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 7562–7565.
- [46] G. K. Poch, R. G. Powell, R. D. Plattner, D. Weisleder, *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 7707–7710.
- [47] A. M. Dougherty, F. E. McDonald, D. C. Liotta, S. J. Moody, D. C. Pallas, C. D. Pack, A. H. Merrill, *Org. Lett.* **2006**, *8*, 649–652.
- [48] J. R. Parikh, W. V. E. Doering, *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, *89*, 5505–5507.

# **PŘÍLOHY**

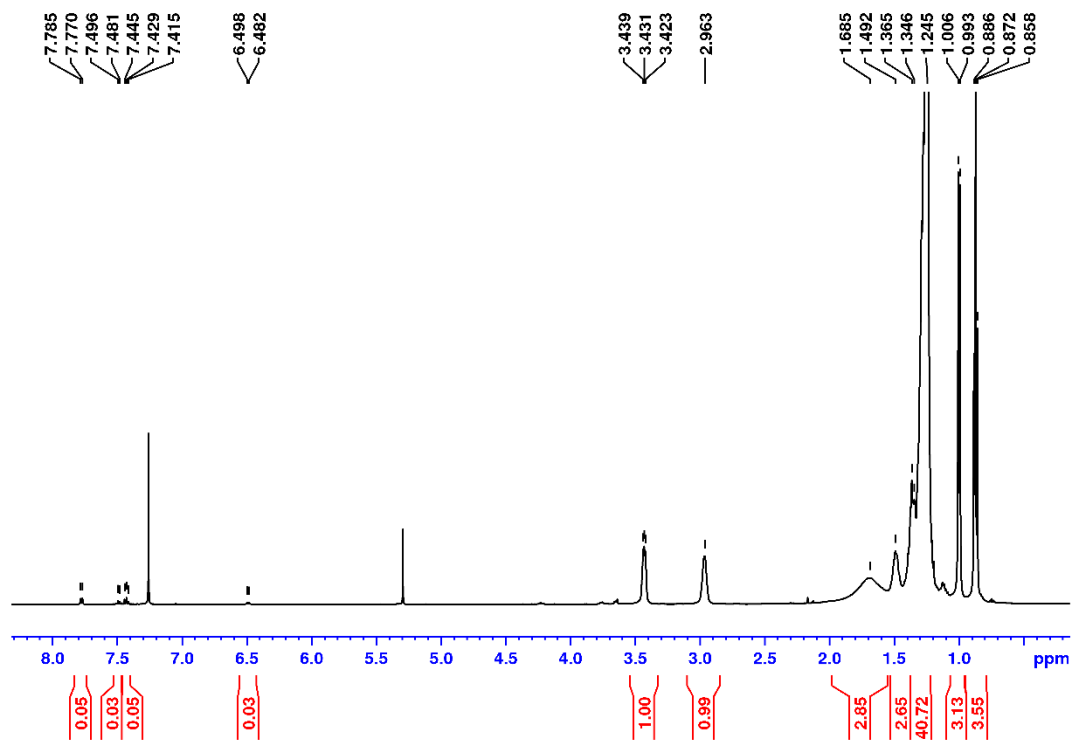
$^1\text{H}$  NMR spektrum směsi *anti*-/*syn*-2-nitroikosan-3-olu (**134**)



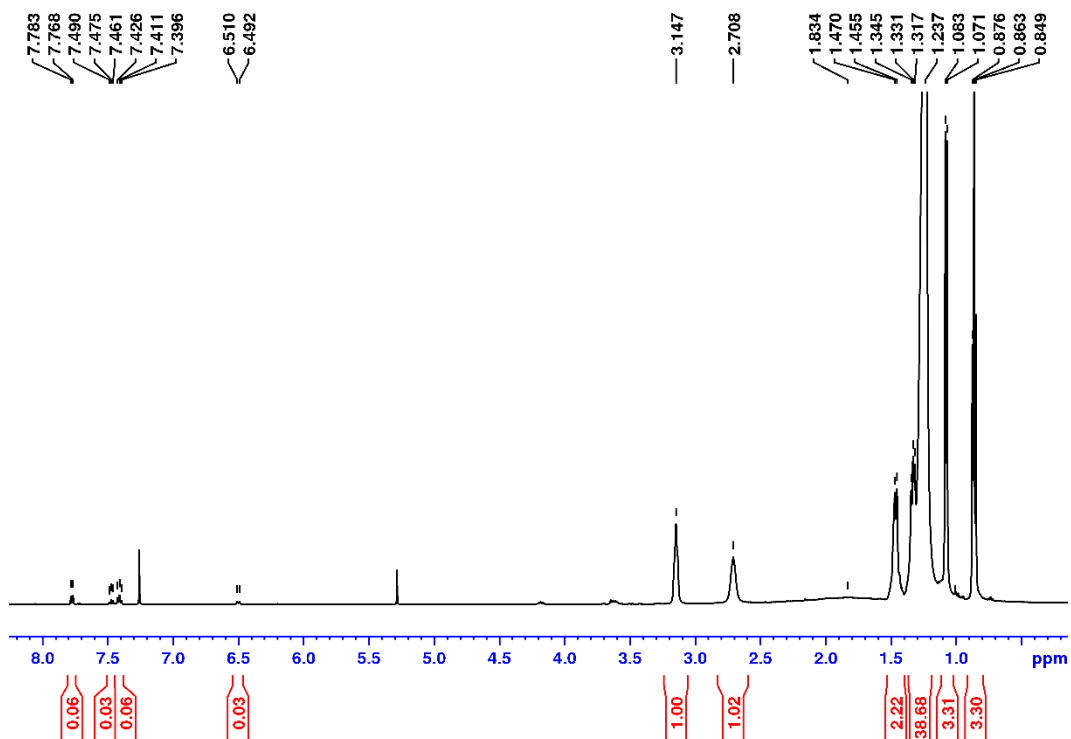
$^1\text{H}$  NMR spektrum směsi *anti*-/*syn*-2-nitrotetrakosan-3-olu (**140**)



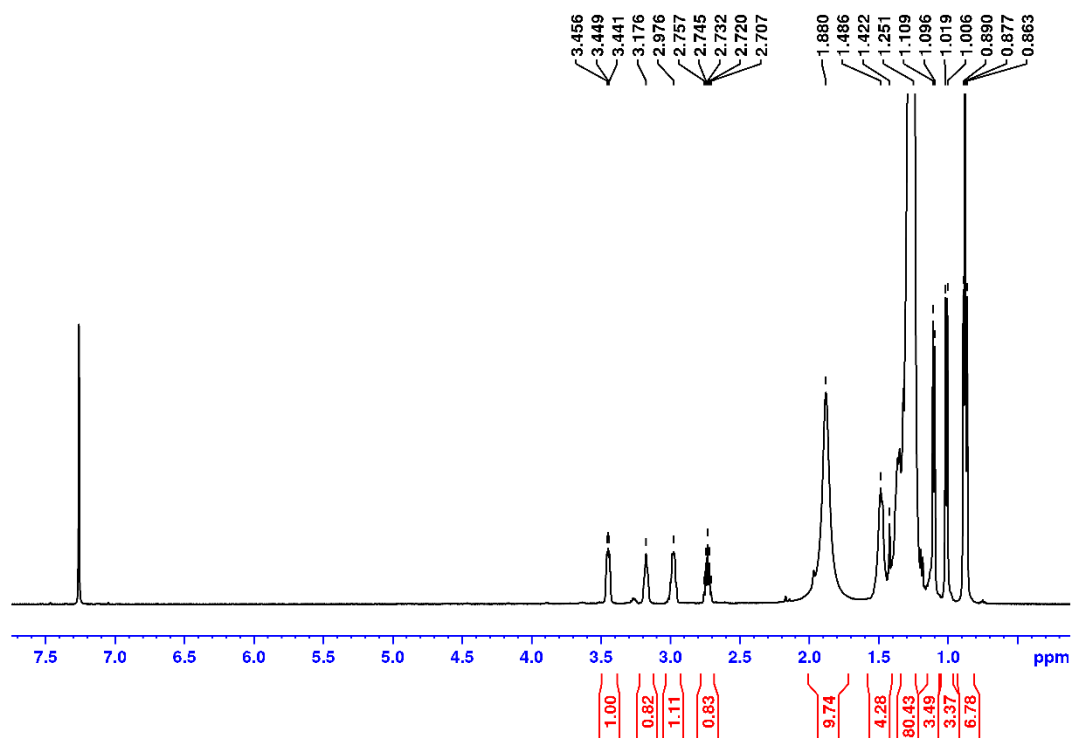
$^1\text{H}$  NMR spektrum *anti*-2-aminotetrakosan-3-olu (**136**)



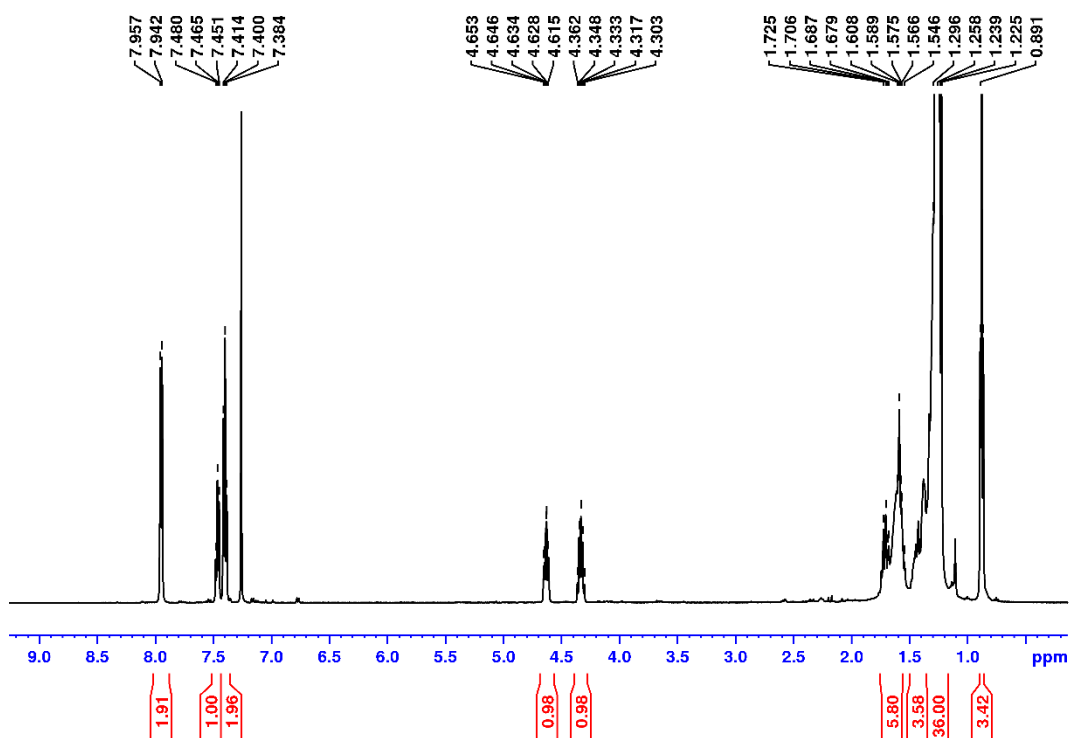
$^1\text{H}$  NMR spektrum *syn*-2-aminotetrakosan-3-olu (**136**)



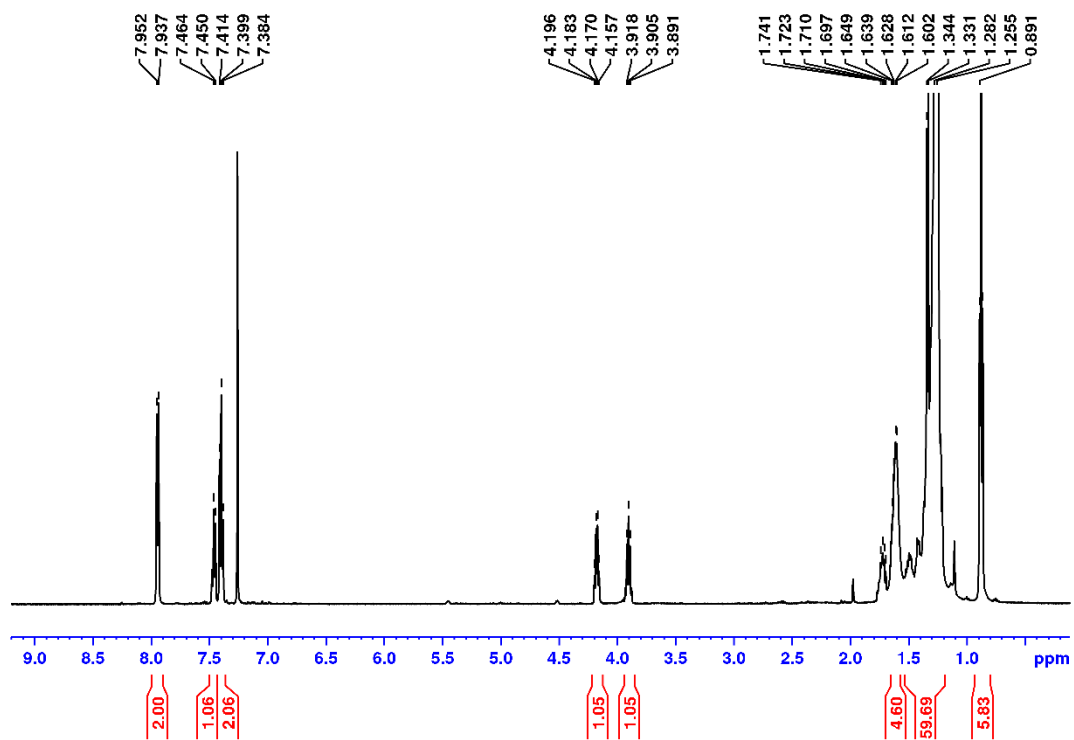
$^1\text{H}$  NMR spektrum směsi *anti/syn*-2-aminotetrakosan-3-olu (**136**)



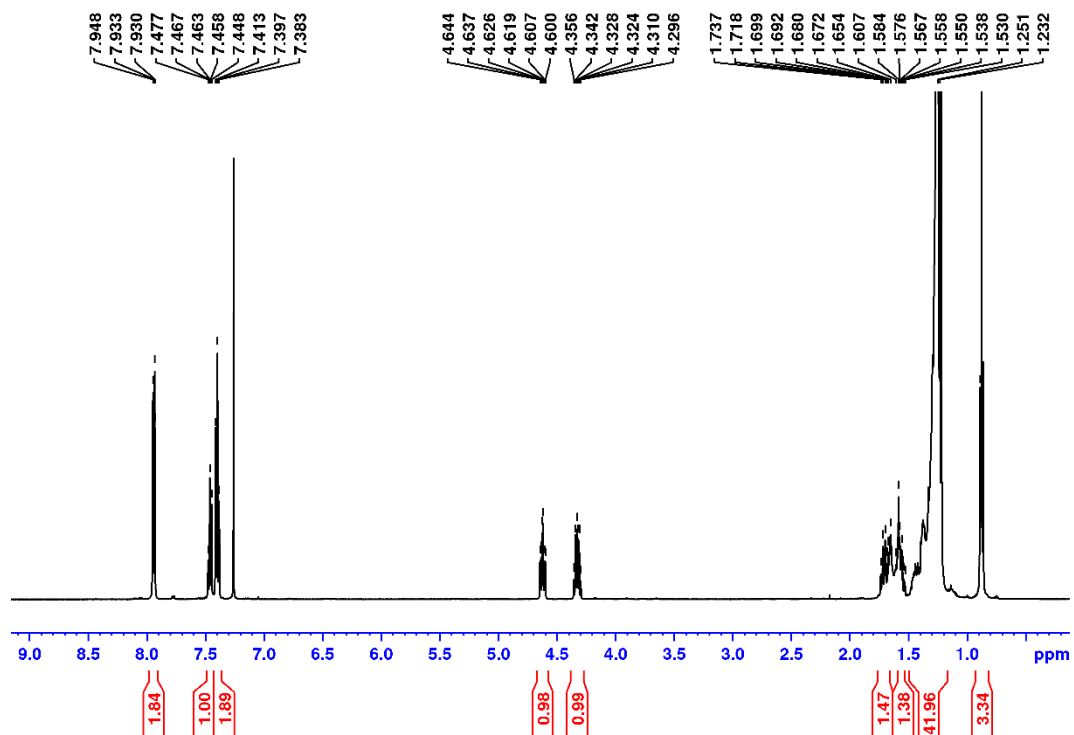
$^1\text{H}$  NMR spektrum *cis*-2-fenyl-4-methyl-5-heptadecyloxazolinu (**135**)



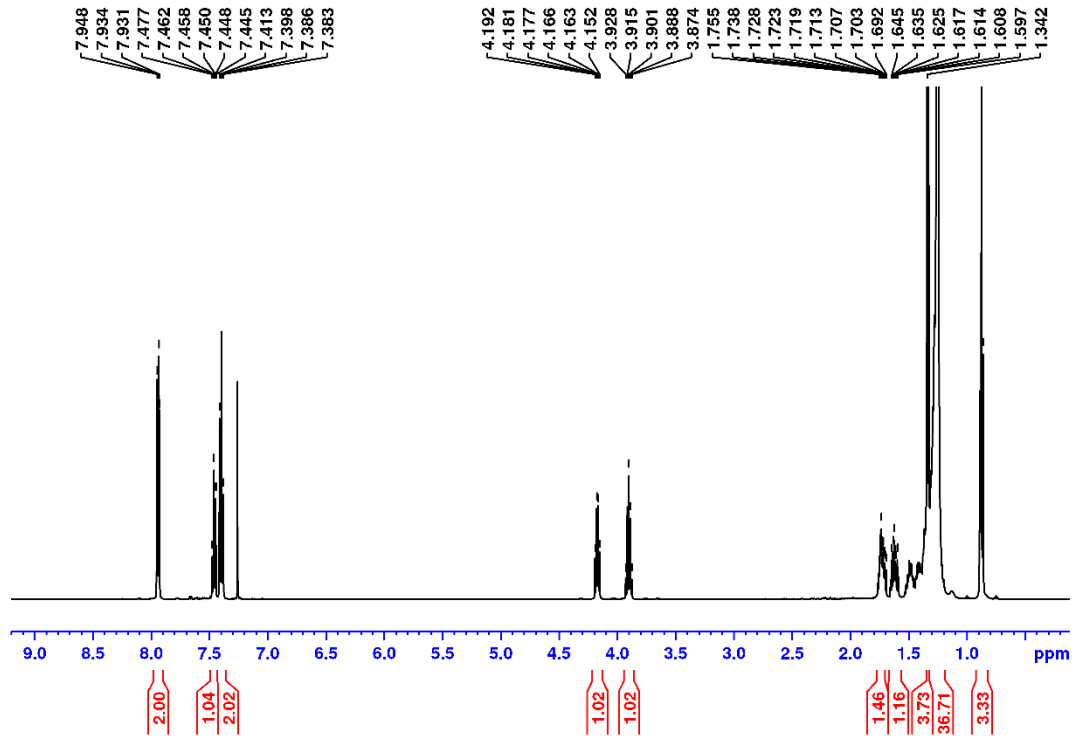
$^1\text{H}$  NMR spektrum *trans*-2-fenyl-4-methyl-5-heptadecyloxazolinu (**135**)



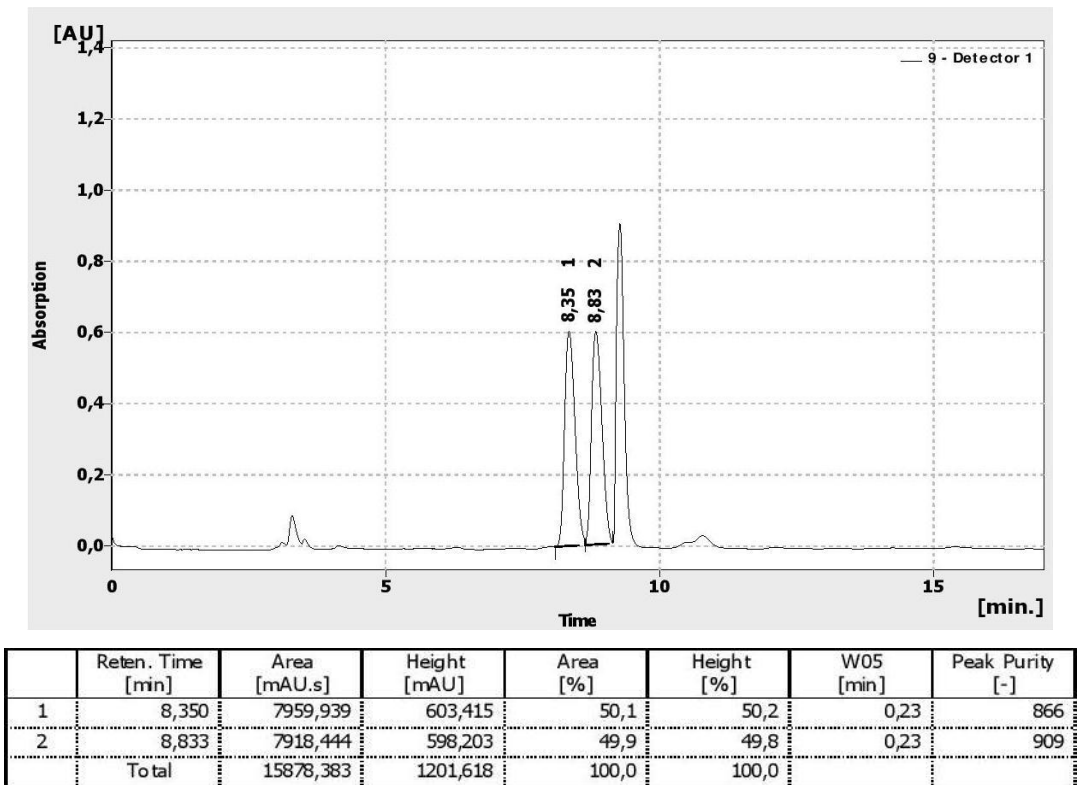
$^1\text{H}$  NMR spektrum *cis*-2-fenyl-4-methyl-5-heniksyloxazolinu (**141**)



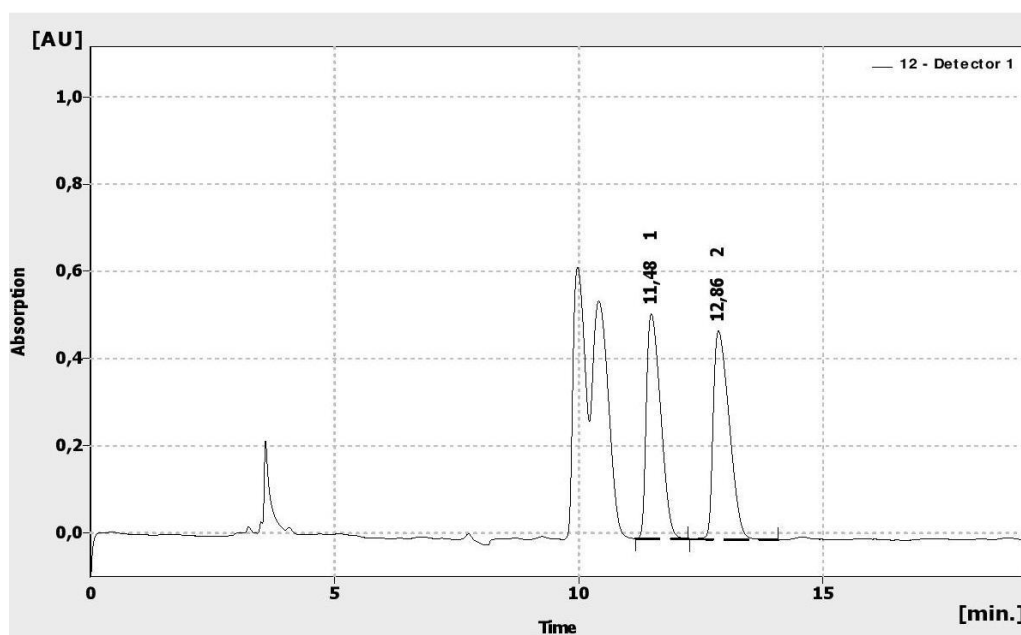
$^1\text{H}$  NMR spektrum *trans*-2-fenyl-4-methyl-5-henikosyloxazolinu (**141**)



HPLC chromatogram *anti*-2-nitroikosan-3-olu (**134**)

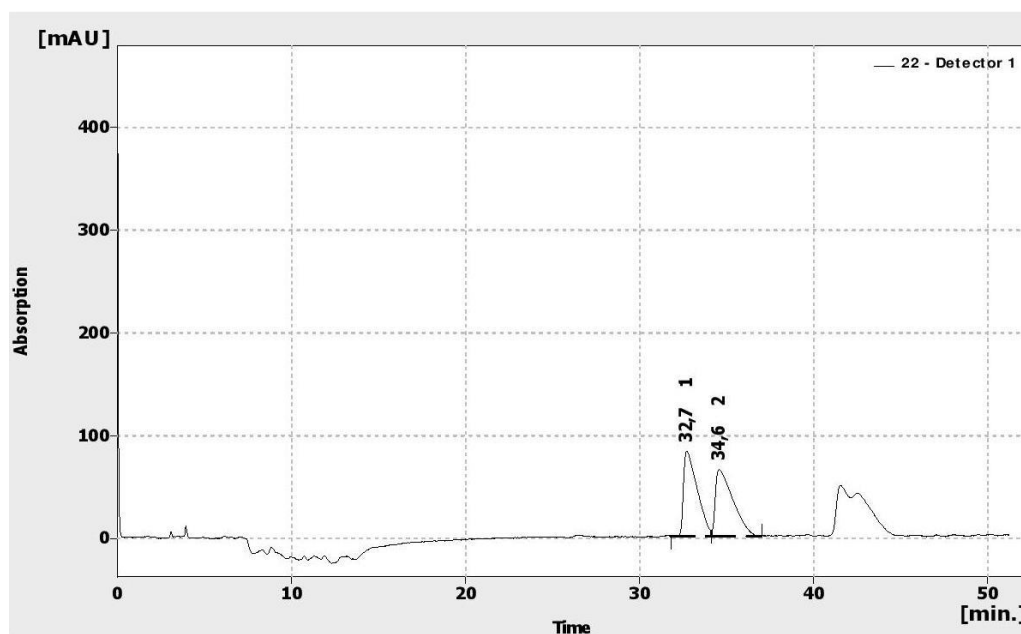


HPLC chromatogram *syn*-2-nitroikosan-3-olu (134)



	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W05 [min]	Peak Purity [-]
1	11,483	10513,575	515,844	49,0	51,9	0,33	891
2	12,858	10946,404	478,458	51,0	48,1	0,38	894
	Total	21459,979	994,303	100,0	100,0		

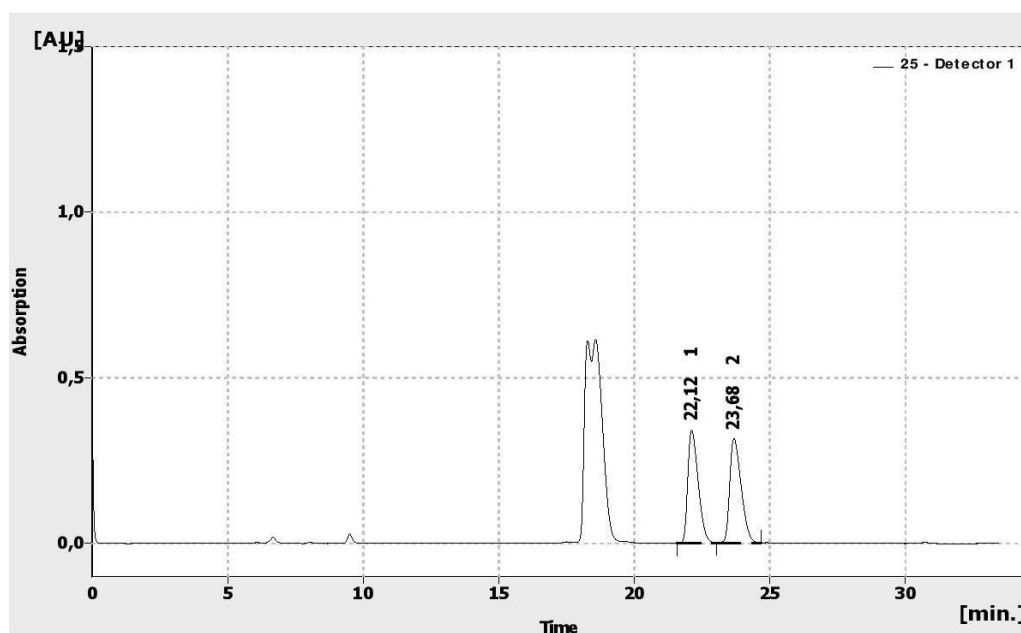
HPLC chromatogram *anti*-2-nitrotetrakosan-3-olu (140)



	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W05 [min]	Peak Purity [-]
1	32,708	4552,975	82,885	49,8	56,0	0,88	874
2	34,558	4580,524	65,067	50,2	44,0	1,13	884
	Total	9133,499	147,951	100,0	100,0		

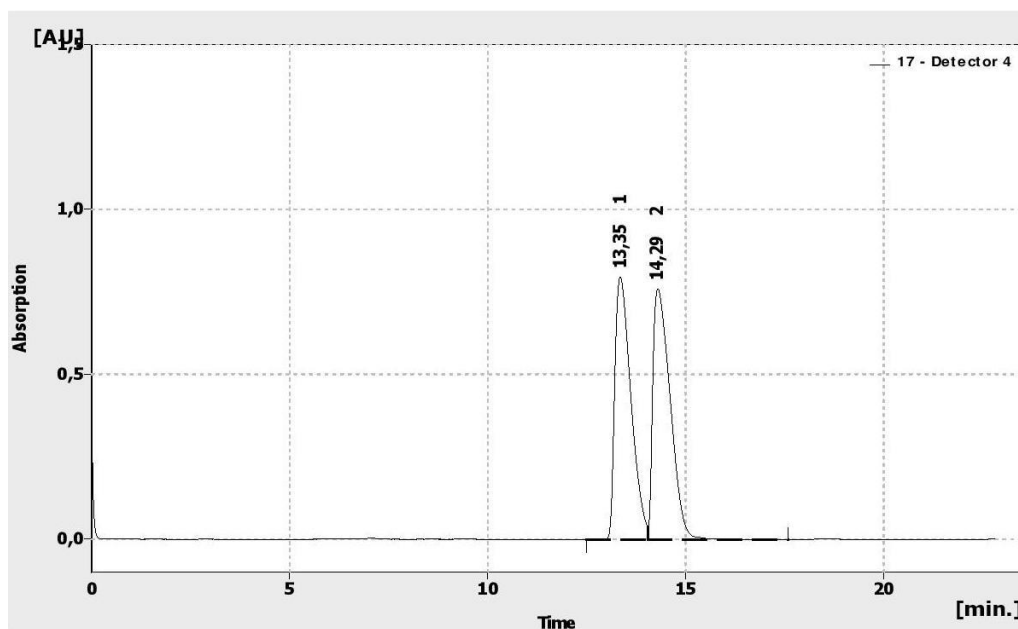


HPLC chromatogram *syn*-2-nitrotetrakosan-3-olu (**140**)



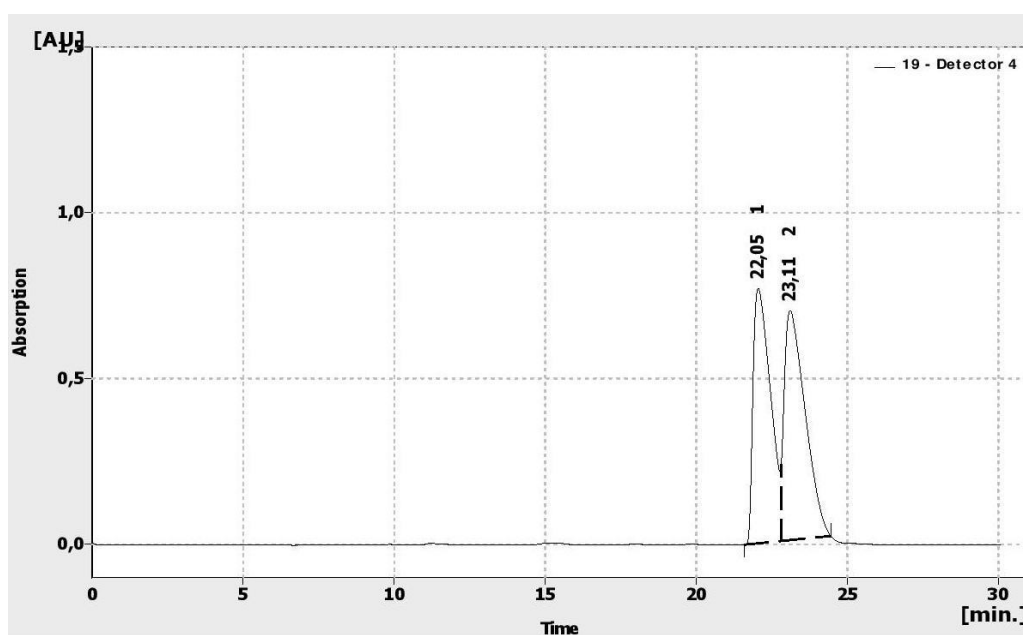
	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W05 [min]	Peak Purity [-]
1	22,117	9095,781	341,559	49,6	52,1	0,42	838
2	23,675	9233,670	314,379	50,4	47,9	0,47	897
	Total	18329,451	655,938	100,0	100,0		

HPLC chromatogram *cis*-4-methyl-5-heptadecyl-2-fenyloxazolinu (**135**)



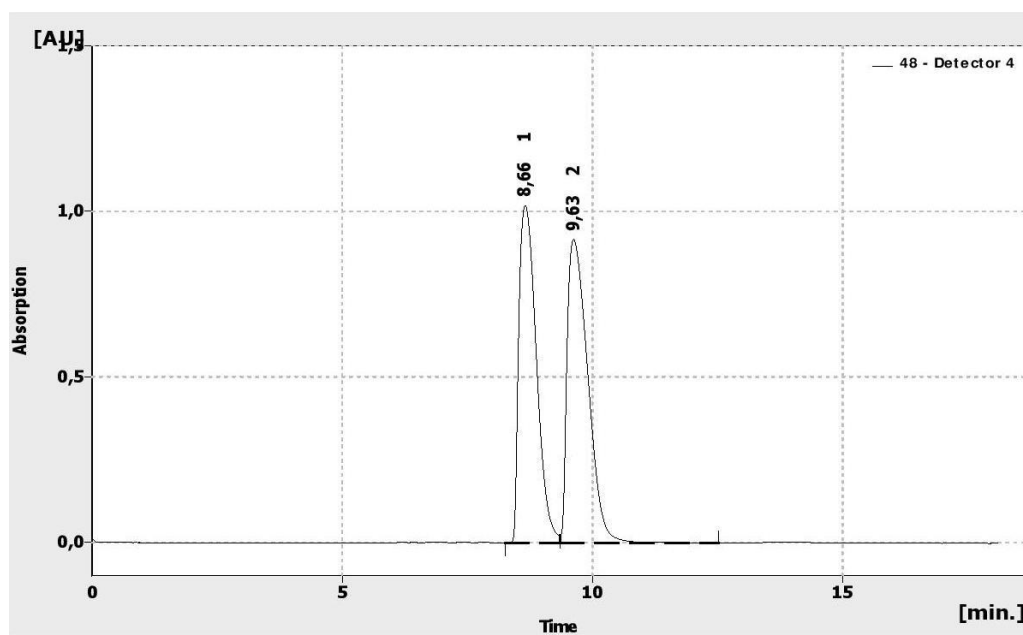
	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W05 [min]	Peak Purity [-]
1	13,350	22591,719	795,844	49,2	51,1	0,46	751
2	14,292	23343,653	760,317	50,8	48,9	0,50	488
	Total	45935,372	1556,161	100,0	100,0		

HPLC chromatogram *trans*-4-methyl-5-heptadecyl-2-fenyloxazolinu (135)



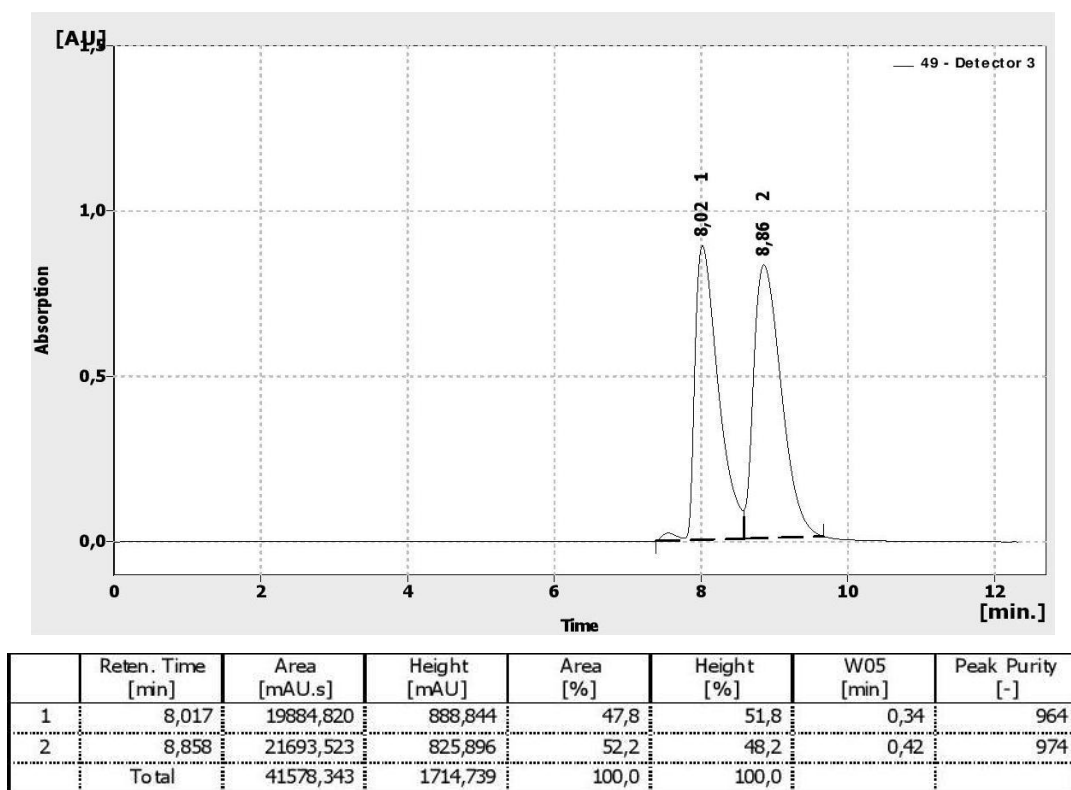
	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W05 [min]	Peak Purity [-]
1	22,050	30794,042	768,997	48,0	52,6	0,68	942
2	23,108	33353,385	691,660	52,0	47,4	0,80	980
	Total	64147,427	1460,657	100,0	100,0		

HPLC chromatogram *cis*-4-methyl-5-henikosyl-2-fenyloxazolinu (141)

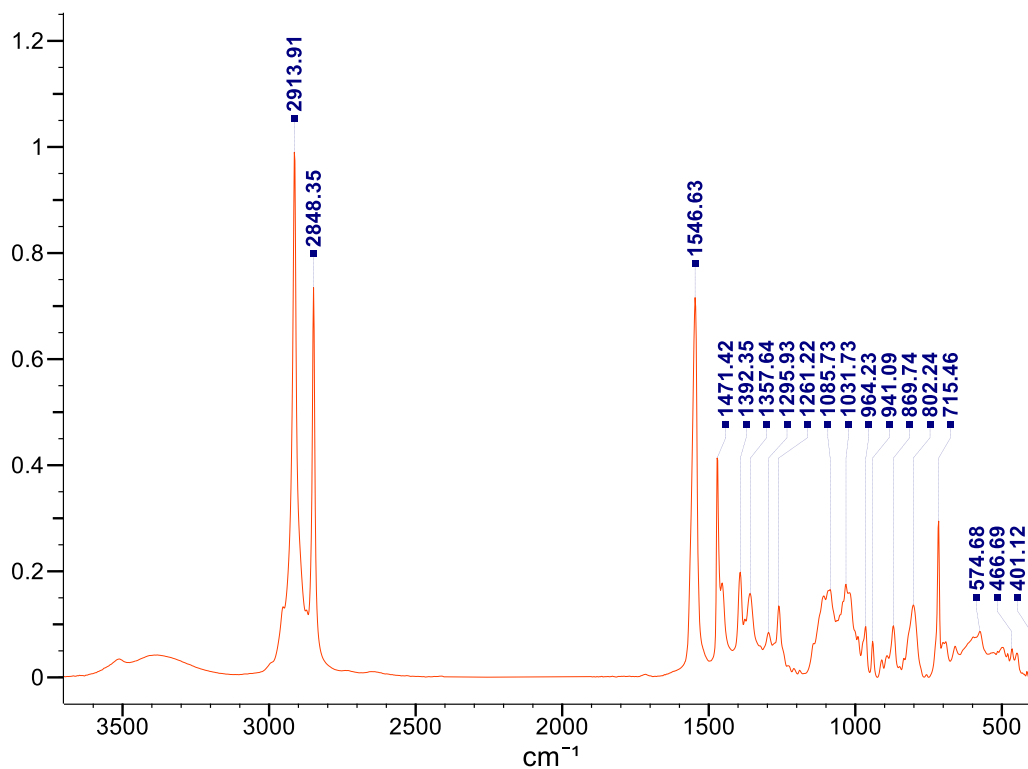


	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W05 [min]	Peak Purity [-]
1	8,658	24834,124	1019,200	48,4	52,6	0,39	866
2	9,625	26477,195	916,651	51,6	47,4	0,47	584
	Total	51311,319	1935,851	100,0	100,0		

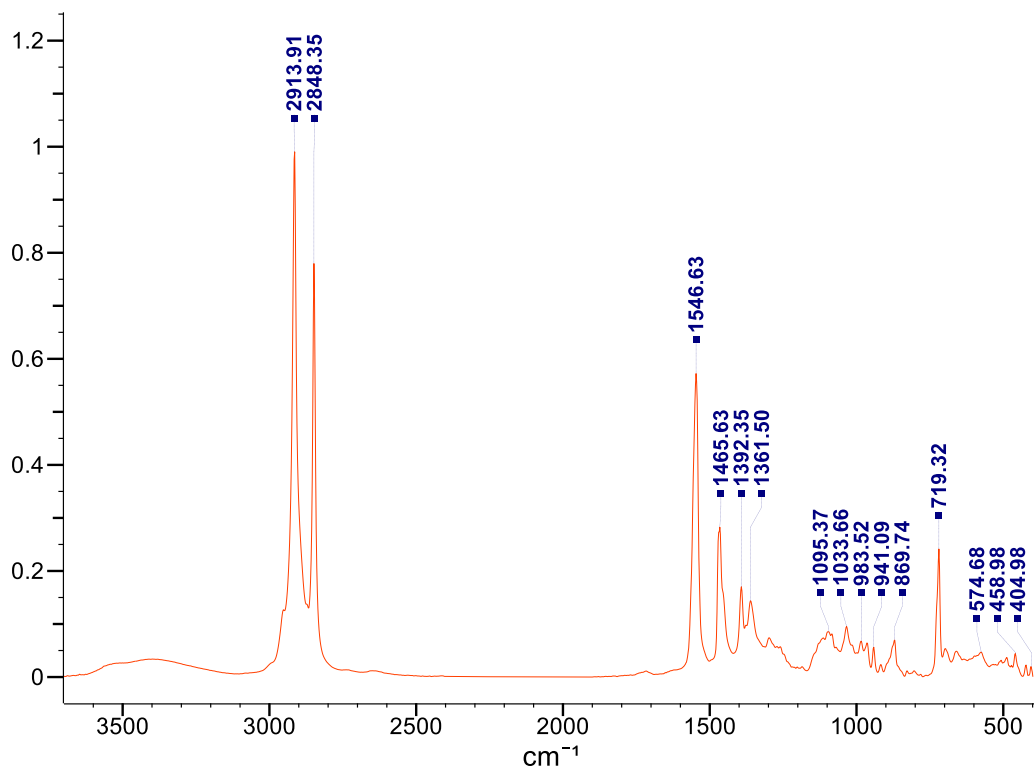
HPLC chromatogram *trans*-4-methyl-5-henikosyl-2-fenyloxazolinu (141)



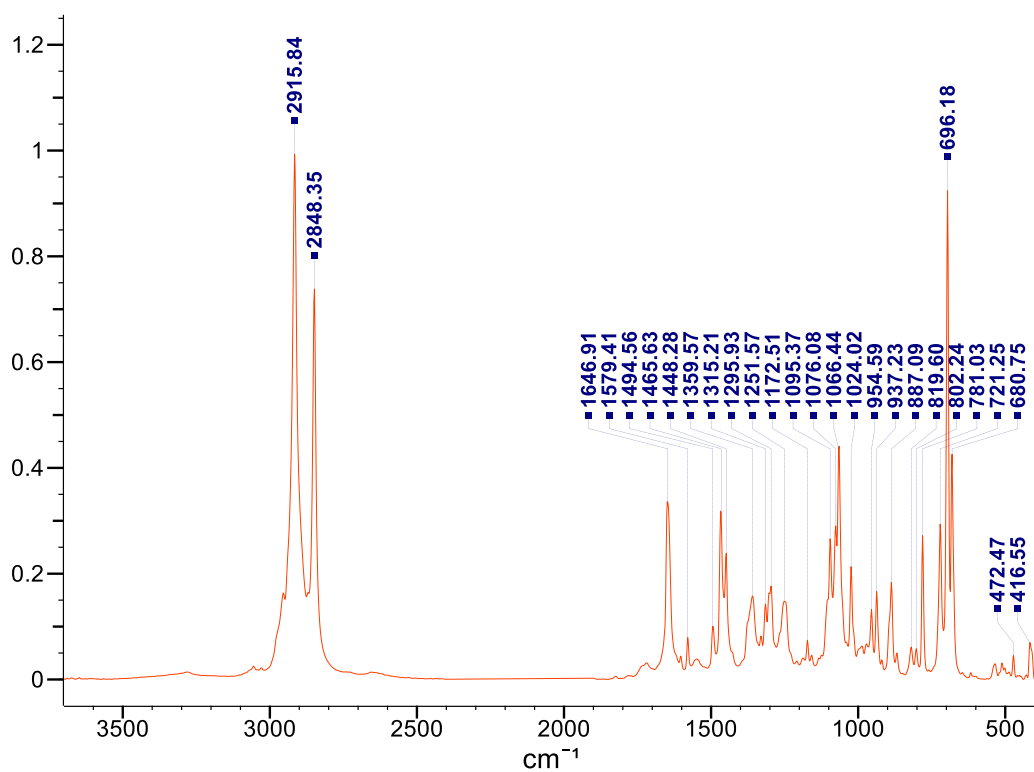
IR spektrum směsi *anti*-/*syn*-2-nitroikosan-3-olu (134)



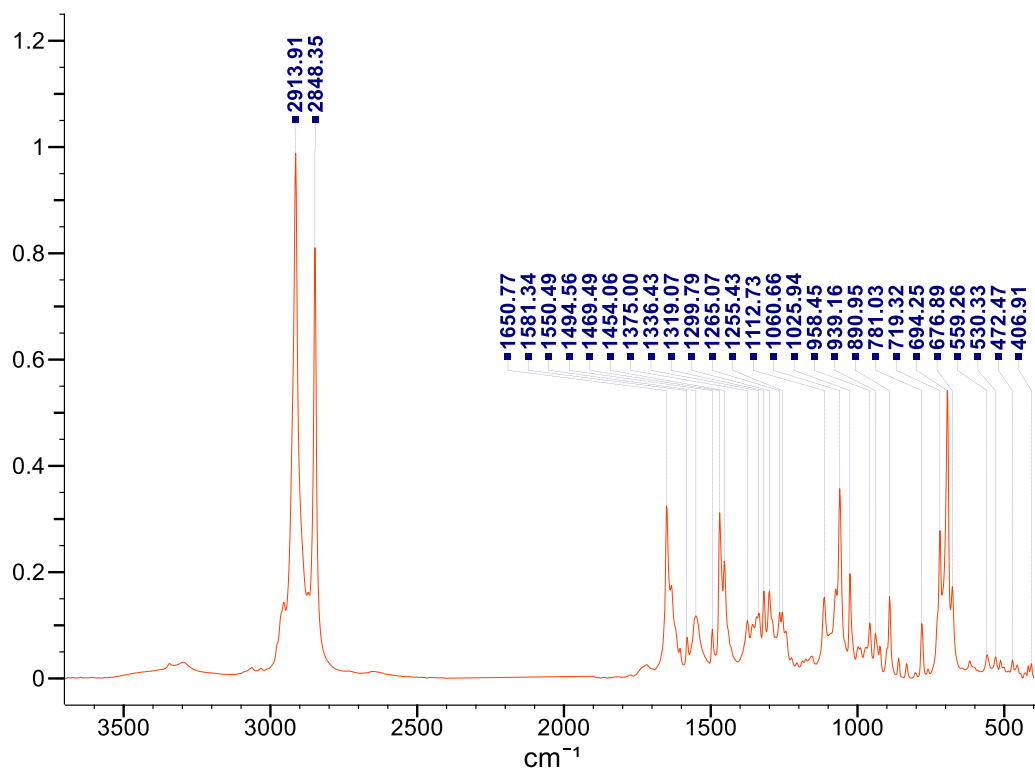
IR spektrum směsi *anti*-/*syn*-2-nitrotetrakosan-3-olu (**140**)



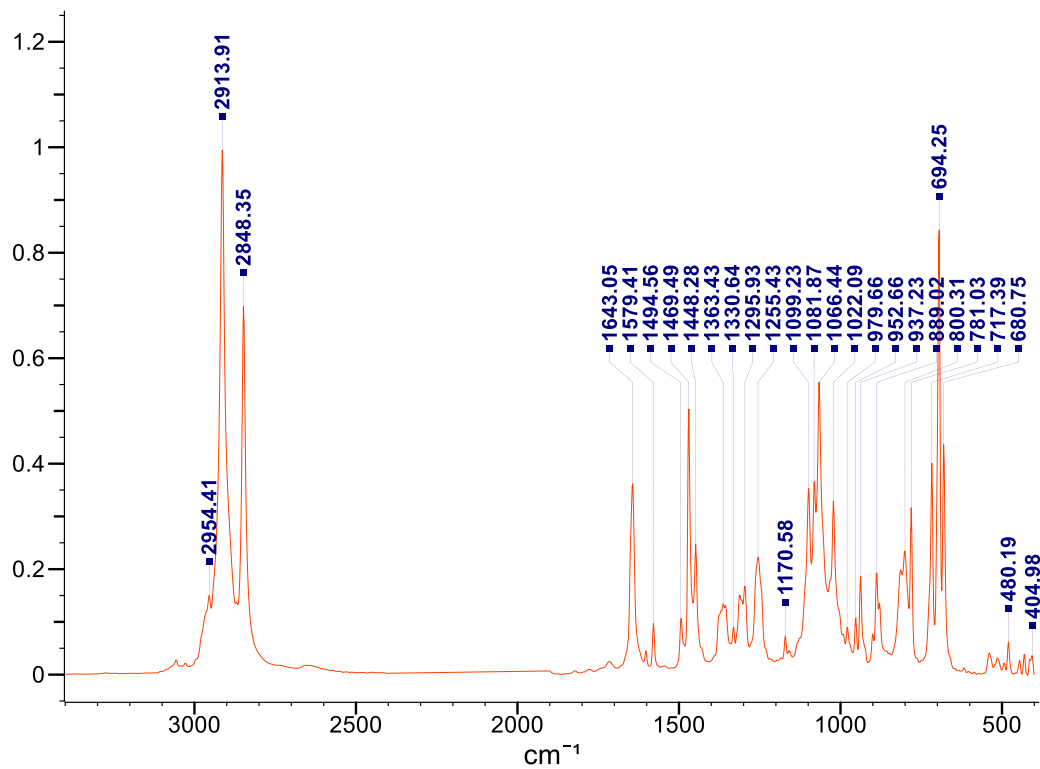
IR spektrum *cis*-2-fenyl-4-methyl-5-heptadecyloxazolinu (**135**)



IR spektrum *trans*-2-fenyl-4-methyl-5-heptadecyloxazolinu (**135**)



IR spektrum *cis*-4-methyl-5-henikosyl-2-fenyloxazolinu (**141**)



IR spektrum *trans*-4-methyl-5-henikosyl-2-fenyloxazolinu (**141**)

