

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Ústav organické chemie a technologie

Příprava konfiguračních izomerů
2-aminoikosan-3-olu a 2-aminotetrakosan-3-olu

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Autor práce: Bc. Petr Pospíšil

Vedoucí práce: doc. Ing. Pavel Drabina, Ph.D.

2023

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

Preparation of configurational isomers of
2-aminoeicosan-3-ol and 2-aminotetracosan-3-ol

MASTER'S THESIS

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

2023

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2022/2023

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Bc. Petr Pospíšil**
Osobní číslo: **C21505**
Studijní program: **N0531A130047 Organická chemie a technologie**
Specializace: **Organická chemie**
Téma práce: **Příprava konfiguračních izomerů
2-aminoikosan-3-olu a 2-aminotetrakosan-3-olu**
Téma práce anglicky: **Preparation of configurational isomers of 2-aminoeicosan-3-ol and
2-aminotetracosan-3-ol**
Zadávající katedra: **Ústav organické chemie a technologie**

Zásady pro vypracování

1. Provedte literární rešerši týkající se možnosti syntézy 2-aminoalkan-3-olů (C12-C24) v neracemické formě a testování jejich cytotoxické aktivity.
2. S využitím asymetrické Henryho reakce připravte všechny čtyři konfigurační izomery 2-aminoikosan-3-olu, jednotlivé produkty a meziprodukty charakterizujte dostupnými analytickými metodami.
3. S využitím asymetrické Henryho reakce připravte všechny čtyři konfigurační izomery 2-aminotetraikosan-3-olu, jednotlivé produkty a meziprodukty charakterizujte dostupnými analytickými metodami.
4. Připravené 2-aminoalkan-3-oly poskytněte spolupracujícímu pracovišti pro studium cytotoxické aktivity vůči vybraným liniím nádorových buněk.
5. Výsledky zpracujte formou závěrečné práce v souladu se Směrnicí UPCE č. 7/2019 "Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací" v platném znění.

Rozsah pracovní zprávy: **doporučený rozsah 50 stran**
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**
Forma zpracování diplomové práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:
veškerá dostupná odborná literatura

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

Datum zadání diplomové práce: **28. února 2023**
Termín odevzdání diplomové práce: **5. května 2023**

prof. Ing. Petr Němec, Ph.D. v.r.
děkan

L.S.

prof. Ing. Miloš Sedlák, DrSc. v.r.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2023

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 17.05.2023

Bc. Petr Pospíšil

PODĚKOVÁNÍ

Rád bych vyjádřil svou vděčnost a poděkování lidem, kteří mi poskytli neocenitelnou podporu během mého vysokoškolského studia a v průběhu vypracování mé diplomové práce. V první řadě bych chtěl poděkovat mým rodinným příslušníkům a přítelkyni, kteří mi byli vždy oporou a motivací. Bez nich by bylo dokončení studia a práce mnohem náročnější.

Dále bych rád poděkoval svému školiteli, doc. Ing. Pavlu Drabinovi, Ph.D. za jeho vedení a odborné rady, které mi pomohly při zpracování mé diplomové práce. Nezbytná trpělivost, vstřícnost a ochota, které mi projevil, mi umožnily dokončit tuto náročnou fázi mého akademického života.

Nakonec bych chtěl poděkovat všem pracovníkům Ústavu organické chemie a technologie Univerzity Pardubice, kteří mi poskytli svou podporu a pomoc v průběhu mého studia.

ANOTACE

Tato diplomová práce popisuje přípravu všech konfiguračních izomerů 2-aminoikosan-3-olu a 2-aminotetrakosan-3-olu. Příprava těchto izomerů je založena na asymetrické Henryho reakci, pro kterou byl nalezen vhodný vysoce účinný enantioselektivní katalyzátor. Separace jednotlivých stereoizomerů je možná po převedení 2-aminoalkan-3-olů na příslušné 2-fenyloxazolinové deriváty, které je možné oddělit pomocí sloupcové chromatografie. Tyto látky byly připraveny za účelem testování jejich cytotoxicity vůči vybraným liniím nádorových buněk.

KLÍČOVÁ SLOVA

2-Aminoalkan-3-oly, Asymetrická syntéza, Henryho reakce, Heterogenní katalýza, 2-fenyloxazoliny, Separace stereoizomerů.

ANOTATION

This master's thesis describes the synthesis of all configurational isomers of 2-aminoicosan-3-ol and 2-aminotetracosan-3-ol. The preparation of these isomers was performed by utilizing of asymmetric Henry reaction. The suitable enantioselective catalyst for this reaction was explored. Separation of individual stereoisomers was achieved after conversion of the 2-aminoalkan-3-ols to the corresponding 2-phenyloxazoline derivatives. These derivatives were possible to isolate via column chromatography. These compounds were synthesized with the aim to evaluate their cytotoxicity in selected cancer cell lines.

KEY WORDS

2-Aminoalkan-3-ols, Asymmetric synthesis, Henry reaction, Heterogeneous catalysis, 2-Phenyloxazoline derivatives, Separation of stereoisomers.

SEZNAM ZKRATEK

| | |
|------------------|---|
| Ac | acetyl |
| AIBN | azobisisobutyronitril |
| Bn | benzyl |
| Boc | <i>tert</i> -butyloxykarbonyl |
| Bu | butyl |
| CBz | benzyloxykarbonyl |
| CerS | (dihydro)ceramidsyntasa |
| CoA | koenzym A |
| DBAD | dibenzylazodikarboxylát |
| DBU | 1,8-diazabicyklo[5.4.0]undec-7-en |
| DET | diethyl ester kyseliny vinné |
| DIBAL-H | diisobutylaluminiumhydrid |
| DIPT | diisopropyl ester kyseliny vinné |
| DMAP | 4-dimethylaminopyridin |
| DMF | <i>N,N</i> -dimethylformamid |
| DMSO | dimethylsulfoxid |
| <i>dr</i> | diastereoizomerní poměr |
| <i>ee</i> | enantiomerní přebytek |
| Et | ethyl |
| HMPA | hexamethylfosforamid |
| HPLC | vysokoúčinná kapalinová chromatografie |
| HSAN1 | dědičná senzorická a autonomní neuropatie |
| <i>i</i> -Pr | isopropyl |
| IC ₅₀ | střední inhibiční koncentrace |
| IPA | isopropylalkohol |
| KDS | 3-ketodihydrosfingosinreduktasa |
| LHMDS | lithium-bis(trimethylsilyl)amid |
| Me | methyl |
| MIC | minimální inhibiční koncentrace |
| MOM | methoxymethyl |
| Ms | mesylát |
| MS | molekulární síta |

| | |
|-------|------------------------------------|
| PCC | pyridinium-chlorchromát |
| Ph | fenyl |
| PTSA | kyselina <i>p</i> -toluensulfonová |
| Py | pyridin |
| rt | laboratorní teplota |
| ROS | reaktivní formy kyslíku |
| SPT | serinpalmitoyltransferasa |
| TBAF | tetrabutylamonium-flourid |
| TBAI | tetrabutylamonium-jodid |
| TBDPS | <i>tert</i> -butyldifenylsilyl |
| TBHP | <i>tert</i> -butylhydroperoxid |
| TEA | triethylamin |
| Tf | triflát |
| THF | tetrahydrofuran |
| TMS | trimethylsilyl |
| Ts | tosyl |

OBSAH

| | |
|---|-----------|
| 1. ÚVOD A TEORETICKÁ ČÁST | 12 |
| 1.1. Cíle diplomové práce | 12 |
| 1.2. Sfingolipidy | 13 |
| 1.3. 2-Aminoalkan-3-oly (C₁₂-C₂₄)..... | 15 |
| 1.4. Syntéza 2-aminoalkan-3-olů (C₁₂-C₂₄)..... | 20 |
| 1.5. Přípravy Clavaminolu A (1)..... | 20 |
| 1.5.1. „Chiral pool“ přístup | 20 |
| 1.5.2. Asymetrická syntéza využívající enantioselektivní katalýzu | 23 |
| 1.6. Přípravy Xestoaminolu C (2) | 25 |
| 1.6.1. „Chiral pool“ přístup | 25 |
| 1.6.2. Asymetrická syntéza využívající pomocná chirální činidla | 27 |
| 1.6.3. Asymetrická syntéza využívající enantioselektivní katalýzu | 28 |
| 1.7. Přípravy Spisulosinu (3) | 29 |
| 1.7.1. „Chiral pool“ přístup | 29 |
| 1.7.2. Asymetrická syntéza využívající pomocná chirální činidla | 34 |
| 1.7.3. Asymetrická syntéza využívající enantioselektivní katalýzu | 35 |
| 1.8. Příprava ostatních 2-aminoalkan-3-olů | 40 |
| 2. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST | 42 |
| 2.1. Obecné postupy | 42 |
| 2.2. Obecný postup syntézy aldehydů 144 a 148..... | 43 |
| 2.3. Obecný postup syntézy 2-nitroalkan-3-olů 145 a 149 | 44 |
| 2.4. Epimerace nitroaldolů 145 a 149 | 46 |
| 2.5. Obecný postup hydrogenace nitroaldolů 145 a 150 | 47 |
| 2.6. Syntéza 2-fenyloxazolinových derivátů 147 a 151 | 48 |
| 2.7. Obecný postup pro hydrolýzu oxazolinových derivátů 147 a 151 | 52 |
| 3. VÝSLEDKY A DISKUZE..... | 55 |
| 3.1. Důvod syntézy 2-aminoikosan-3-olu (146) a 2-aminotetrakosan-3-olu (150) | 55 |
| 3.2. Syntéza oktadekanalů (144) a dokosanalů (148) | 56 |
| 3.3. Syntéza 2-nitroikosan-3-olu (145) a 2-nitrotetrakosan-3-olu (149) v neracemické | |

| | |
|--|----|
| formě..... | 57 |
| 3.4. Syntéza stereoizomerů 2-fenyloxazolinových derivátů 147 a 151..... | 60 |
| 3.5. Syntéza stereoizomerů 2-aminoikosan-3-olu (146) a 2-aminotetrakosan-3-olu (150) – studium hydrolyzy 2-fenyloxazolinů 147 a 151 | 61 |
| 3.6. Biologické vlastnosti stereoizomerů 2-aminoikosan-3-olu (146) a 2-aminotetrakosan-3-olu (150) | 64 |
| 4. ZÁVĚR..... | 65 |
| 5. LITERATURA..... | 66 |

1. ÚVOD A TEORETICKÁ ČÁST

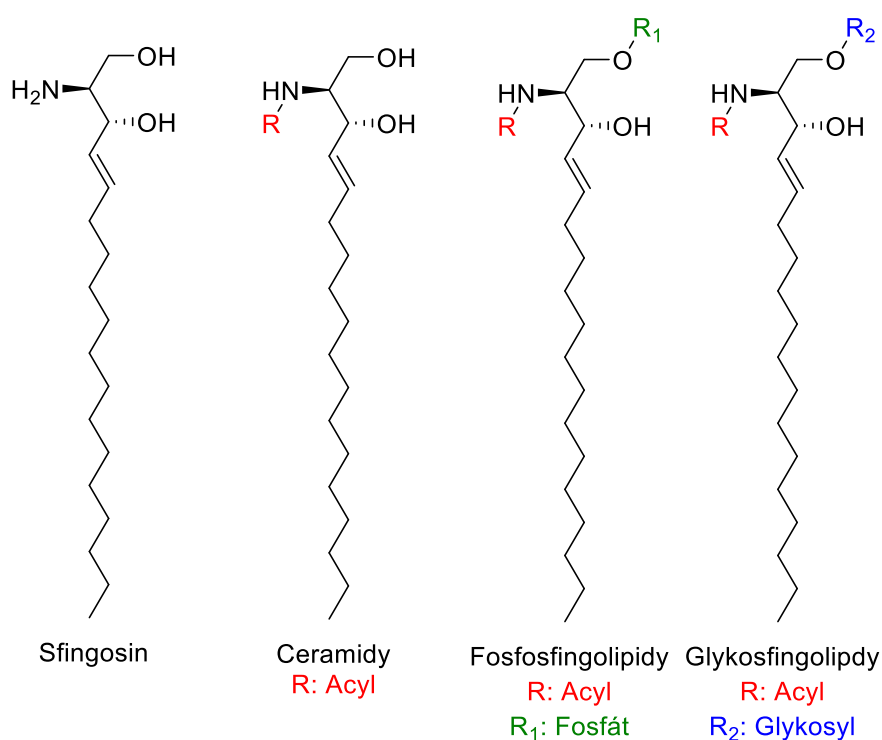
1.1. Cíle diplomové práce

Prvním cílem této diplomové práce bylo provedení literární rešerše týkající se možnosti syntézy 2-aminoalkan-3-olů (C_{12} – C_{24}) v neracemické formě a provedených studií zaměřených na jejich cytotoxickou aktivitu. Následně měly být pomocí asymetrické Henryho reakce připraveny všechny čtyři konfigurační izomery 2-aminoikosan-3-olu a také všechny čtyři konfigurační izomery 2-aminotetrakosan-3-olu. Jednotlivé produkty a meziprodukty měly být charakterizovány dostupnými analytickými metodami. Připravené 2-aminoalkan-3-oly měly být poté poskytnuty spolupracujícímu pracovišti (KBBV UPCE) pro studium cytotoxické aktivity vůči vybraným liniím nádorových buněk.

1.2. Sfingolipidy

Sfingolipidy jsou jednou z hlavních tříd eukaryotických lipidů. Johan Ludwig Thudichum objevil sfingolipidy v roce 1874, když provedl frakční krystalizaci ethanolických extraktů z lidského mozku. Označil je termínem „sfingo“ podle řeckého mýtického tvora, Sfingy, z důvodu jejich tajemné povahy.^[1] Biochemické a chemické přístupy v první polovině 20. století vedly k objasnění chemické struktury sfingosinu, jedné z hlavních sfingoidních bází, která je základním strukturním rysem všech sfingolipidů (rozlišující sfingolipidy od jiných lipidů). Po tomto objevu následovalo objasnění tříd dalších komplexních sfingolipidů.^[2]

Sfingolipidy lze rozdělit do několika hlavních tříd (**Obr. 1**): sfingosinové báze a jejich jednoduché deriváty, sfingosinové báze s mastnou kyselinou vázanou pomocí amidické vazby (např. ceramidy) a složitější sfingolipidy s hlavními skupinami, které jsou připojeny přes fosfodiesterové vazby (fosfosfingolipidy), nebo přes glykosidické vazby (jednoduché a komplexní glykosfingolipidy, jako jsou např. cerebrosidy a gangliosidy) a další skupiny.^[3]



Obrázek 1 Strukturní rozdělení sfingolipidů^[4]

Téměř století byly sfingolipidy považovány pouze za strukturní složky lipidových dvojvrstev, které jsou základem pro biologické membrány. Výzkumy v polovině 80. let však odhalily, že se specifické druhy sfingolipidů podílejí na regulaci biologických procesů.^[5] Kromě faktu, že plní především strukturní funkci v buněčné membráně, některé metabolity,

včetně ceramidů, sfingosinu a sfingosin-1-fosfátu, získaly pozornost jako signální molekuly. Ty jsou zapojené do regulace významných biologických procesů, jako je buněčný růst, buněčné dělení, stárnutí nebo apoptóza.^[6]

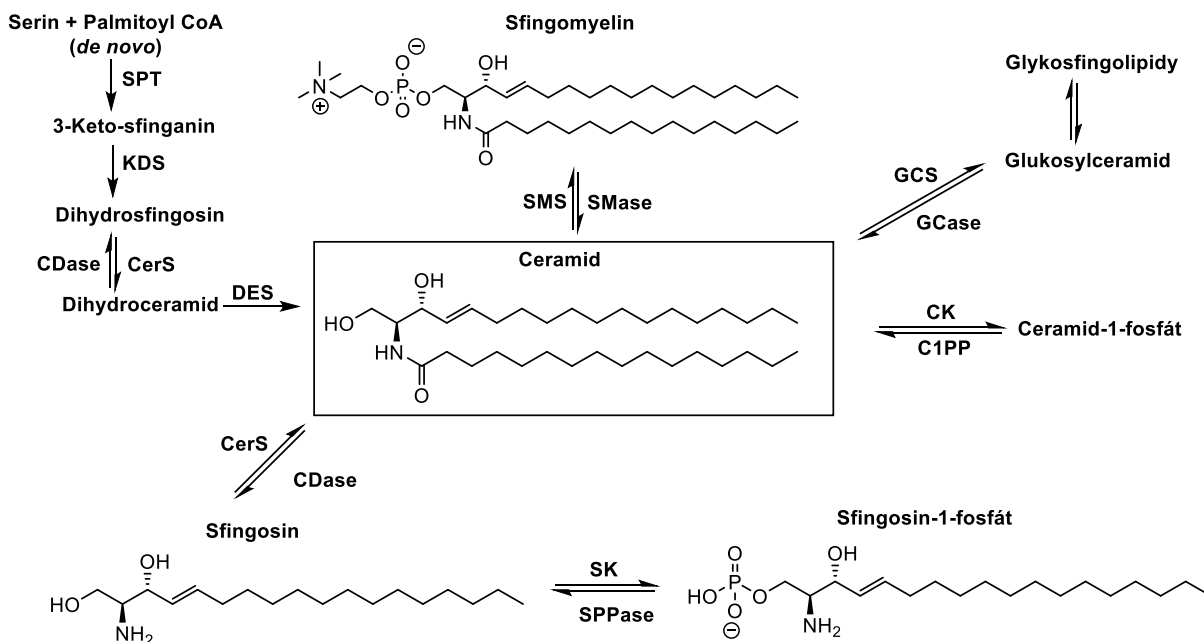


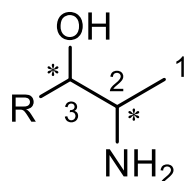
Schéma 1 Metabolismus bioaktivních sfingolipidů^[7]

De novo syntéza sfingolipidů probíhá v endoplazmatickém retikulu. Prostřednictvím koordinovaného působení serinpalmitoyltransferasy (SPT), 3-ketodihydrosfingosinreduktasy (KDS) a (dihydro)ceramidsyntasy (CerS) je v endoplazmatickém retikulu přeměněn cytosolový L-serin a palmitoyl CoA na membránově vázaný lipid dihydroceramid. Poté je na dihydroceramid působeno desaturasou, která zavádí dvojnou vazbu. Tato anabolická dráha vytváří prekurzory komplexních sfingolipidů, které mohou mít různé funkce, jako je např. elektrická izolace axonů, hydrofobní bariéra v pokožce nezbytná pro snížení ztráty vody a modifikace povrchu červených krvinek, která působí jako důležitý faktor při jejich shlukování.^[8]

Sfingolipidy jsou zvláště zastoupené v mozku a jsou nezbytné pro vývoj a udržení funkční integrity nervového systému. Šedá hmota CNS a neurony jsou obohaceny o glykosfingolipidové podskupiny gangliosidů, zatímco sfingomyelin, galaktosylceramid a sulfatid jsou přítomny v oligodendrocytech a myelinu. Sfingolipidový profil mozku však zdaleka není statický, protože se neustále mění, jak se mozek vyvíjí a stárne.^[9] Narušení biosyntézy sfingolipidů může vést ke vzniku vážných onemocnění jako jsou např. periferní neuropatie, epilepsie, paraplegie, ataxie či retinopatie.^[10]

1.3. 2-Aminoalkan-3-oly (C₁₂-C₂₄)

2-Aminoalkan-3-oly s dlouhým uhlíkatým řetězcem (C₁₂-C₂₄) se řadí do skupiny látek zvaných 1-deoxysfingosinové deriváty. Společným strukturním motivem těchto sloučenin je absence hydroxylové funkční skupiny v poloze 1-, dlouhý nerozvětvený uhlíkatý řetězec a vicinální aminoalkoholové uspořádání v pozicích 2- a 3- (**Obr. 2**).^[11]



R: Alkyl, alkenyl

Obrázek 2 Struktura 1-deoxysfingosinových derivátů

Všechny tyto molekuly lze považovat za deriváty a homology sfinganinu, které neobsahují hydroxylovou skupinu v pozici 1-. Vzhledem k jejich výrazným biologickým vlastnostem, jako je antiproliferativní aktivita, cytotoxická aktivita a schopnost ovlivňovat biosyntézu a metabolismus sfingolipidů, byly některé sloučeniny z 1-deoxysfingosinových derivátů zvoleny jako výchozí sloučeniny pro vývoj nových léčiv proti rakovině.^[12]

Absence hydroxylové skupiny v pozici 1- zabraňuje jejich metabolismu na bioaktivní 1-fosfáty a složitější sfingolipidy, což jsou hlavní formy, ve kterých se klasické sfingoidní báze nacházejí v buňkách.^[13] Protože nejsou 1-deoxysfingolipidy degradovány klasickou cestou, mohou podstoupit opakované de- a recylační cykly, což by v průběhu času mohlo vést k aktivní remodelaci dlouhého řetězce (16:0) na velmi dlouhý řetězec (24:0, 24:1).^[14] Schopnost biosyntézy 1-deoxysfingosinových bází byla kdysi považována za oblast působnosti organismů, které vytvářejí bizarní sekundární metabolity, ale v současnosti je známo, že jde o proces rozšířený mezi savci, včetně lidí. To vede k otázce, zda jsou tyto sloučeniny vytvořeny jen náhodnou a chybnou *de novo* biosyntézou nebo zajišťují určité biologické funkce.^[15] Biosyntéza těchto sloučenin využívá L-alaninu jako substrátu namísto L-serinu, což vede k tvorbě atypických 1-deoxysfingolipidů (**Schéma 2**). Přesná metabolická dráha této skupiny lipidů je však stále nepopsána.^[16] Mutace způsobené dědičnou sensorickou a autonomní neuropatií (HSAN1) snižují afinitu enzymu SPT k L-serinu a zvyšují jeho afinitu pro L-alanin, což vede k zvýšené tvorbě neurotoxických 1-deoxysfingolipidů.^[17] V této souvislosti bylo

zjištěno, že suplementace L-serinem vede k výraznému snížení hladiny atypických sfingolipidů u pacientů s HSN1.^[18]

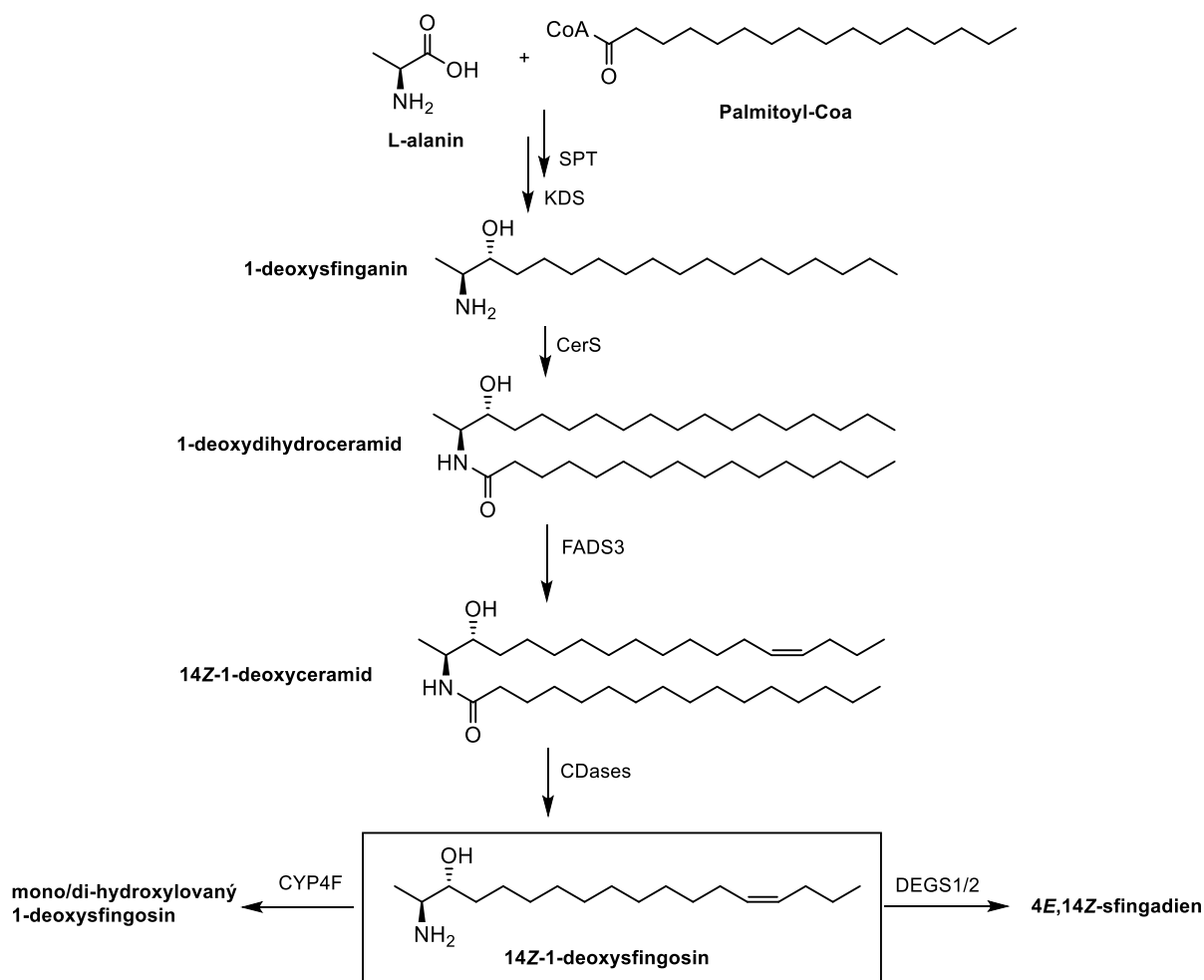
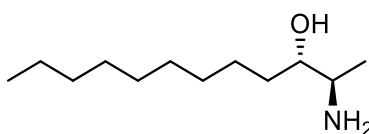


Schéma 2 Metabolismus 1-deoxysfingolipidů^[16]

Tvorba těchto sloučenin může být pro buňky škodlivá, protože jejich začlenění do biologických membrán by mohlo mít dramatické důsledky na jejich strukturu a pravděpodobně i na jejich integritu.^[13]

Mezi 2-aminoalkan-3-oly je popsáno mnoho zástupců, které vykazují zajímavou biologickou aktivitu v závislosti na délce uhlíkatého řetězce a absolutní konfiguraci na stereogenních centrech. Nejvýznamnějším představitelem stereoizomerů 2-aminoalkan-3-olů s dvanácti uhlíkatým řetězcem je Clavaminol A (**1**) ((2*R*,3*S*)-2-aminododekan-3-ol), (*Obr. 3*).



Obrázek 3 Struktura Clavaminolu A (1)

Nejvýznamnějším představitelem stereoizomerů 2-aminoalkan-3-olů s dvanácti uhlíkatým řetězcem je Clavaminol A (**1**) ((2*R*,3*S*)-2-aminododekan-3-ol), (**Obr. 3**). Tento zástupce byl izolován z mořské pláštěnky *Clavelina phlegraea*, která byla nalezena v Neapolském zálivu. Clavaminol A vykazuje významnou cytotoxickou aktivitu vůči buněčným nádorovým liniím karcinomu prsu (T-47D) a karcinomu žaludku (AGS) s hodnotami $IC_{50} \approx 5 \mu\text{mol/l}$.^[19] Cytotoxická aktivita byla také zjištěna u buněčné linie rakoviny vaječníků (SKOV3) $IC_{50} = 12,5 \pm 0,32 \mu\text{mol/l}$ a rakoviny prostaty (DU145) $IC_{50} = 10,8 \pm 0,24 \mu\text{mol/l}$. U Clavaminolu A byla nalezena i antifungální aktivita, kdy hodnota minimální inhibiční koncentrace (MIC) vůči kmenu *Candida krusei* MTCC3020 činila 7,8 $\mu\text{g/ml}$. Tento stereoizomer **1** také vykazoval výrazné zvýšení hladiny reaktivních forem kyslíku (ROS) při různých koncentracích u bakteriálního kmene *Micrococcus luteus*. Zvýšení koncentrace ROS způsobené Clavaminolem A se blížilo zvýšení koncentrace ROS lékem Ciprofloxacinem, který byl v této studii použit jako standard. Koncentrace ROS je důležitým ukazatelem indukce apoptózy u bakterií.^[20]

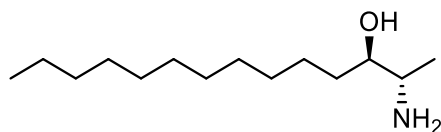
Enantiomer Clavaminolu A (**1**) *ent*-Clavaminol A ((**1**)-(2*S*,3*R*)) ((2*S*,3*R*)-2-aminododekan-3-ol) (**Obr. 4**) byl poprvé izolován z mořské sumky *Clavelina oblonga* v Brazílii. Tento stereoizomer má významnou antifungální aktivitu proti kvasince *Candida albicans* ATCC 10231 MIC = 0,7 $\mu\text{g/ml}$ a *Candida glabrata* MIC = 30 $\mu\text{g/ml}$. Aktivita proti *C. albicans* je porovnatelná s antifungální aktivitou klinicky používaných antimykotik jako je Nystatin (MIC mezi 1–4 $\mu\text{g/ml}$) a Ketokonazol (MIC mezi 0,01–1 $\mu\text{g/ml}$).^[21]

Srovnání biologické aktivity mezi všemi stereoizomery 2-aminododekan-3-olu bylo provedeno na Univerzitě Pardubice (**Tabulka 1**). Pro testování byly využity čtyři buněčné nádorové linie: neuroblastom (SH-SY5Y), leukémie (Jurkat), plicní karcinom (A549) a osteosarkom (MG-63). V rámci této práce byly připraveny i ty diastereoizomery Clavaminolu A: (2*R*,3*R*) a (2*S*,3*S*)-2-aminododekan-3-ol, které předtím nebyly v literatuře popsány.^[22]

Tabulka 1 Biologická aktivita stereoizomerů 2-aminododekan-3-olu^[22,23]

| Sloučenina | Buněčné linie (hodnoty IC_{50} , $\mu\text{mol/l}$) | | | |
|---|--|---------|---------|--------|
| | 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 |

Ze stereoizomerů čtrnácti uhlíkatých 2-aminotetradekan-3-olů je nejvíce prozkoumaný Xestoaminol C (**2**) (2*S*,3*R*)-2-aminotetradekan-3-ol (**Obr. 4**).



Obrázek 4 Struktura Xestoaminolu C

V přírodě se Xestoaminol C nachází např. v mořské houbě *Xestospongia* sp. ze které byl v minulosti izolován. Tento stereoizomer vykazoval velmi vysokou inhibiční aktivitu vůči reversní transkriptáze (95% inhibice při 1 mg/ml).^[24] Aktivita byla zjištěna i proti buněčné nádorové linii mozku (SHG-44) $IC_{50} = 4,5 \mu\text{mol/l}$ ^[25], také proti rezistentní linii leukémie (P-338) $IC_{50} = 0,44 \mu\text{mol/l}$ a linii rakoviny tlustého střeva $IC_{50} = 0,44 \mu\text{mol/l}$.^[26]

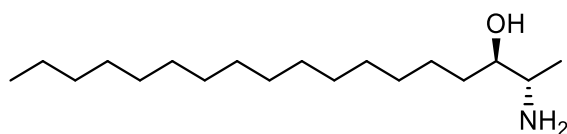
Dalším popsaným 14-ti uhlíkatým stereoizomerem je 3-*epi*-Xestoaminol C ((**2**)-(**2*S*,3*S***)) Tento epimer byl izolován z Novozélandské řasy *Xiphophora chondrophylla*. U něj byla provedena antimikrobiální studie vůči *Mycobacterium tuberculosis*, $IC_{50} = 19,4 \mu\text{mol/l}$, *Staphylococcus aureus*, $IC_{50} = 17 \mu\text{mol/l}$, *Saccharomyces cerevisiae* $IC_{50} = 17,1 \mu\text{mol/l}$. Také bylo provedeno testování cytotoxicity na buněčné linii leukémie (HL60) $IC_{50} = 8,8 \mu\text{mol/l}$.^[27]

Všechny čtyři stereoizomery 2-aminotetradekan-3-olu byly biologicky testovány v rámci již dříve popsané studie (**Tabulka 2**). V rámci této studie byly připraveny a testovány i zbylé dva stereoizomery, které předtím nebyly v literatuře popsány.^[22]

Tabulka 2 Biologická aktivita stereoizomerů 2-aminotetradekan-3-olu^[22,23]

| Sloučenina | Buněčné linie (hodnoty IC_{50} , $\mu\text{mol/l}$) | | | |
|---|--|---------|---------|--------|
| | SH-SY5Y | Jurkat | A549 | MG-63 |
| (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 ± 4 | 51 ± 9 | 24 ± 4 |

Nejvíce pozornosti z derivátů 2-aminoalkan-3-olu bylo věnováno 18-ti uhlíkatému Spisulosinu (**3**); systematický název (2*S*,3*R*)-2-aminooktadekan-3-ol (**Obr. 5**).^[12]



Obrázek 5 Struktura Spisulosinu

Poprvé byl Spisulosin izolován z mořské škeble *Spisula polynyma*. Spisulosin vykazuje velmi silnou *in vitro* cytotoxicitu proti buněčným liniím s leukémií (P-388, L-1210) a nádorovým buňkám, jako je A-549, HT-29, MEL-28 a DU-145 s hodnotami IC₅₀ pohybujícími se v nanomolárním rozsahu.^[12,28] Také bylo zjištěno, že Spisulosin je schopný zpomalit růst nádorových buněčných linií (PC-3 a LNCaP), přičemž mechanismus účinku je spojen s inhibicí *de novo* syntézy ceramidu a aktivací atypické protein kinázy C.^[12,29] Tyto a další zjištění vedly farmaceutickou firmu PharmaMar k uvedení Spisulosinu do klinického testování léčiv na léčbu melanomu, hepatomu a rakoviny prostaty a ledvin. Avšak toto klinické testování bylo již v první fázi ukončeno z důvodu nepřijatelné toxicity, kdy došlo k zvýšení aktivity jaterních enzymů a zjištění neurotoxicity.^[30]

Představitelé farmaceutické firmy PharmaMar společně s dalšími také patentovali *in vitro* biologické účinky rozsáhlého testování různých 2-aminoalkan-3-olů (C₁₄-C₂₃), které testovali proti vybraným buněčným liniím. Toto testování bylo z velké části zaměřeno na cytotoxicitu vůči liniím nádorových buněk.^[26,28]

1.4. Syntéza 2-aminoalkan-3-olů (C₁₂-C₂₄)

Popsané přípravy 2-aminoalkan-3-olů v neracemické formě, je možné rozdělit do tří rozdílných syntetických strategií: „chiral pool“ přístup, asymetrická syntéza využívající pomocná chirální činidla a asymetrická syntéza s využitím enantioselektivní katalýzy.^[23]

1.5. Přípravy Clavaminolu A (1)

1.5.1. „Chiral pool“ přístup

Clavaminol A (1) je možné připravit podle syntetického předpisu, který využívá (*R*)-glycidolu (4) jako výchozí sloučeniny (**Schéma 3**). Syntéza začíná ochraněním (*R*)-glycidolu (4) pomocí *tert*-butyldimethylsilyletheru a následovným regioselektivním otevíráním epoxidového kruhu oktylmagnesiumbromidem za účasti měďné soli, které poskytlo alkohol 5. Poté byla ochráněna sekundární alkoholová skupina jako MOM-ether a primární alkoholová skupina byla odchráněna s využitím TBAF. Dále byla využito „one-pot“ Swernovy oxidace/Horner-Wadsworth-Emmonsovi reakce alkoholu 7 za zisku (*E*)- α,β -nenasyceného esteru 8, který byl redukován s využitím redukčního činidla DIBAL-H na allylový alkohol 9. Následovalo převedení allylového alkoholu 9 na trichloracetamid 10 pomocí katalytického množství DBU a trichloroacetonitrilu. Poté byl proveden diastereoselektivní Overmanův přesmyk s využitím bis(acetonitril)palladium chloridu a *p*-benzochinonu, kterým byla získána směs *erythro* a *threo* produktů v poměru 13:1. S využitím sloupcové chromatografie byla možná izolace majoritního *erythro* produktu. Dále byla sloučenina 11 podrobena ozonólýze za reduktivních podmínek, kterou byl připraven příslušný alkohol 12. Poté byla provedena syntéza brom-derivátu 13, kdy byl nejprve alkohol 12 převeden na mesylát a následovanou reakcí s NaBr došlo k nukleofilní substituci za vzniku brom derivátu 13. Následovala „one-pot“ redukce C-Br vazby a *N*-trichloroacetylové skupiny na *N*-acetylovou skupinu v neutrálních podmínkách pomocí *n*-tributylstannyl hydridu v přítomnosti AIBN, kdy tento postup vedl k zisku sloučeniny 14. Syntéza Clavaminolu A byla dokončena kyselé katalyzovanou hydrolýzou sloučeniny 14, která zakončila tuto čtrnácti krokovou syntézu, při které byl získán Clavaminol A (1) v celkovém 29% výtěžku.^[31]

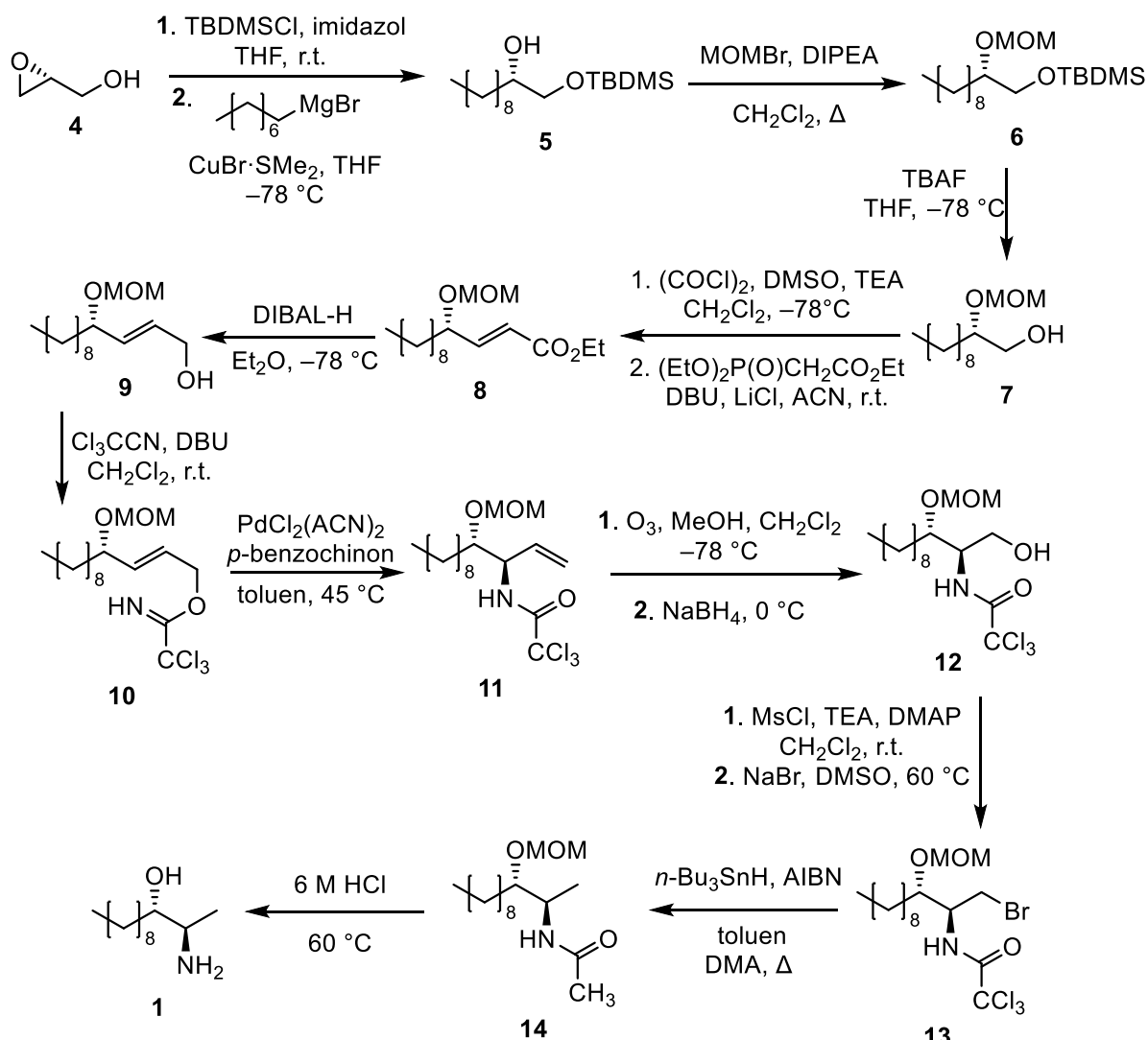


Schéma 3 První popsaná syntéza Clavaminolu A (1) v literatuře^[31]

Další popsaná syntéza Clavaminolu A (1) (**Schéma 4**) vychází z D-alaninu (15), u kterého byla nejprve provedena benzylace pomocí BnCl a K₂CO₃. Ta poskytla sloučeninu 16. Tento derivát 16 byl následně redukován LiAlH₄ na alkohol 17. Klíčovou reakcí této sekvence byla „one-pot“ Swernova oxidace a následná diastereoselektivní adice nonylmagnesiumbromidu (>99% *de*). Posledním krokem této syntézy byla hydrogenolýza, díky které došlo k ochránění *N*-benzylových skupin. Tato syntéza poskytla Clavaminol A (1) v celkovém 40% výtěžku a >99% *ee*.^[25]

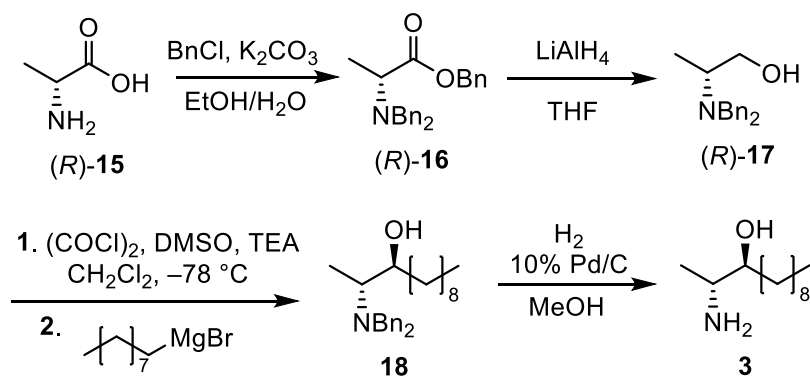


Schéma 4 Syntéza Clavaminolu A (**1**) vycházející z D-alaninu^[25]

Pro přípravu Clavaminolu A (**1**) byl v roce 2022 využit přístup, který využívá ochránění aminoskupiny ve formě 2,6-dimethylpyrrolu (**Schéma 5**). Syntéza vychází z methyl esteru D-alaninu **19**, který byl Paal-Knorrovou reakcí s hexa-2,5-dionem převeden na pyrrol ester **20**. Poté následovalo převedení na Weinrebův amid **21** a redukcí pomocí činidla DIBAL-H byl získán aldehyd **22**. Nukleofilní adicí *in situ* připraveného nonyllithia byl poskytnut alkohol **23**. Odchránění pyrrolové skupiny za využití mikrovlnného reaktoru vedlo k zisku Clavaminolu A (**1**) v celkovém 44% výtěžku a >20:1 *dr*.^[32]

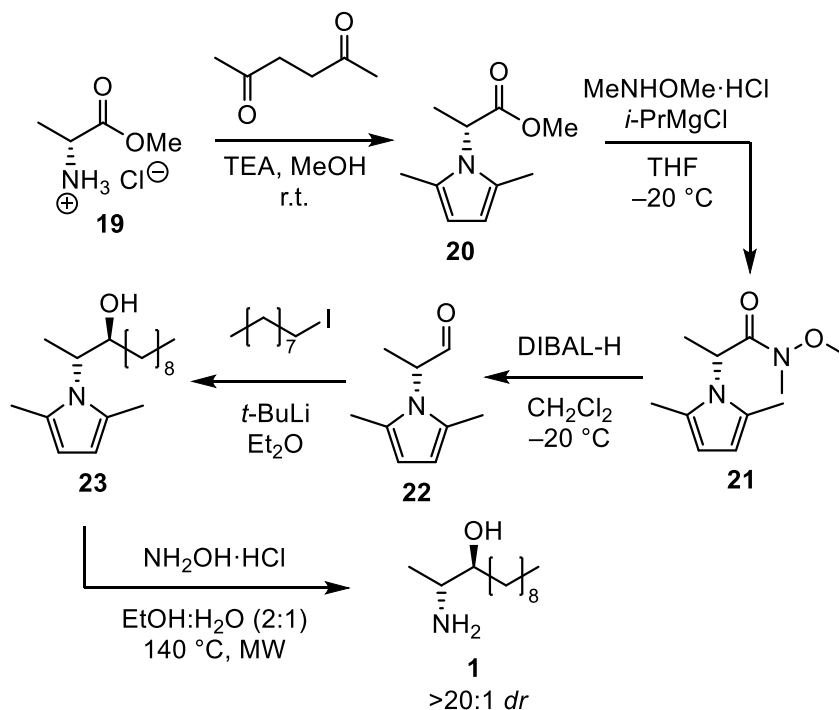


Schéma 5 Příprava Clavaminolu A (**1**) využívající ochránění aminoskupiny 2,6-dimethylpyrrolem^[32]

1.5.2. Asymetrická syntéza využívající enantioselektivní katalýzu

Všechny čtyři stereoizomery 2-aminododekan-3-olu byly připraveny v rámci studie na Univerzitě Pardubice. Klíčovou reakcí v této syntéze byla asymetrická Henryho reakce, katalyzovaná měďnatými chirálními katalyzátory, kterou byly připraveny diastereoizomery nitroaldolů **25** v 90% *ee*. Následná katalytická hydrogenace poskytla aminoalkohol **26**. Pro separaci jednotlivých stereoizomerů bylo nutné převedení stereoizomerní směsi aminoalkoholů **26** na příslušné oxazolinu **27**, které bylo možné rozdělit s využitím sloupcové chromatografie. Posledním krokem byla kyselá hydrolyzáza a následná neutralizace. Touto reakční sekvencí byly připraveny všechny stereoizomery 2-aminododekan-3-olu.^[22,23]

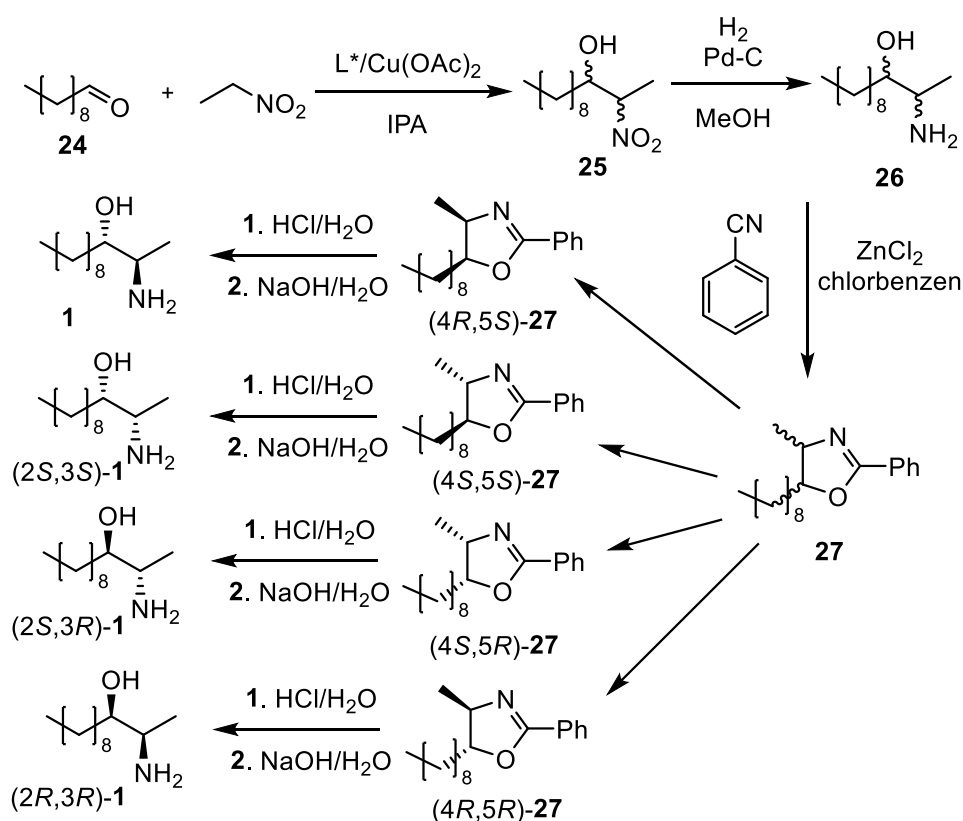
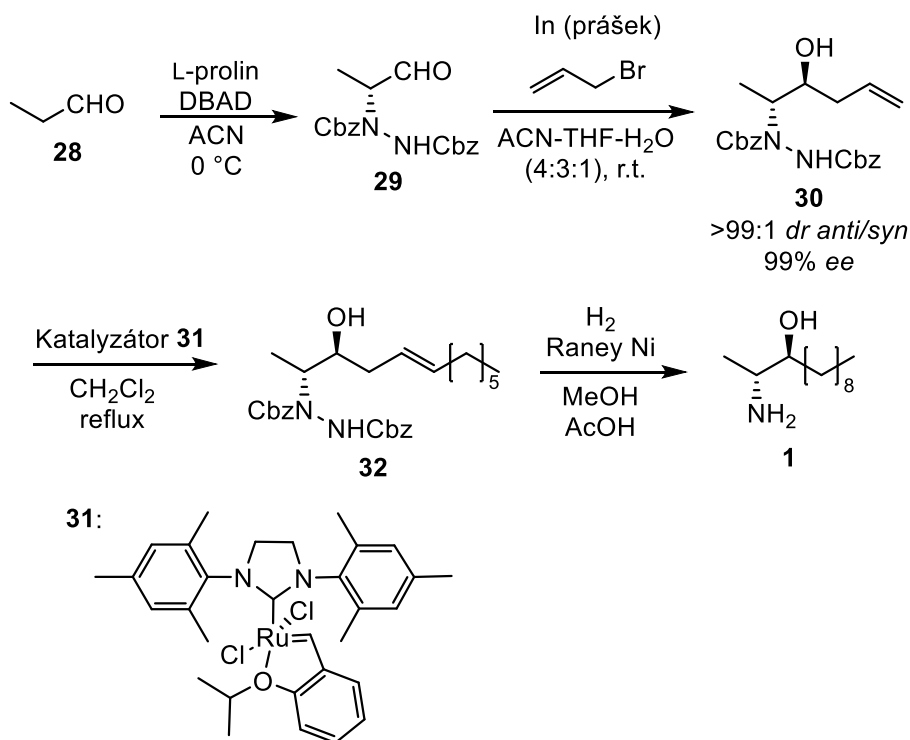


Schéma 6 Schéma popisující přípravu všech stereoizomerů 2-aminododekan-3-olu (**1**)^[22,23]

V literatuře je popsána také syntéza Clavaminolu A (**1**), která využívá enantioselektivní α -aminaci (**Schéma 7**). Reakční sekvence vychází z propanalu (**28**), který je podroben „one-pot“ adici dibenzyl-azodikarboxylátu za katalýzy L-prolinu a následná reakce allylbromidu za katalýzy práškového india poskytla homoallyl alkohol **30**. U takto připraveného alkoholu **30** byla provedena cross-metatéze s využitím Hoveyda-Grubbsovým katalyzátorem 2. generace **31**. Poslední krok této syntézy spočíval v katalytické hydrogenaci, díky které došlo k redukc

dvojn  vazby a p veden  hydrazinov  skupiny na aminovou. Touto s kvenc  byl Clavaminol A (**1**) připraven v celkov m 63% v t   ku.^[33]



*Schéma 7 Připrava Clavaminolu A (**1**) využívající enantioselektivní alfa aminaci^[33]*

Připrava Clavaminolu A (**1**), kter  byla publikována v roce 2016 Reddym a kol. využívá Sharplessovy asymetrick  epoxidace (*Schéma 8*). Syntéza vychází z komer n  dostupného dekan-1-olu (**33**) jehož oxidací na aldehyd s využitím PCC a následnou Wittigovou reakcí byl připraven ethyl ester **34**. Následovala redukce esteru **34** na alkohol **35** zprost edkovan  redukčním činidlem DIBAL-H. Klíčovou reakcí této s kvence byla Sharplessova asymetrick  epoxidace, kter  poskytla epoxyalkohol **36** s 90% ee. Syntéza pokračovala regioselektivn  nukleofiln  adicí azidu, kter  proběhla do polohy 2-. Jodistan sodn  nanesen  na silikagel byl využit k odstranění vedlej ho produktu. Dokon en  této reakční s kvence spo ivalo v selektivním p veden m primární alkoholov  skupiny na tosylát a posledním krokem jeho nukleofiln  substituce hydridovým iontem. Touto reakční s kvenc  byl připraven Clavaminol A (**1**) v celkov m 34% v t   ku.^[20]

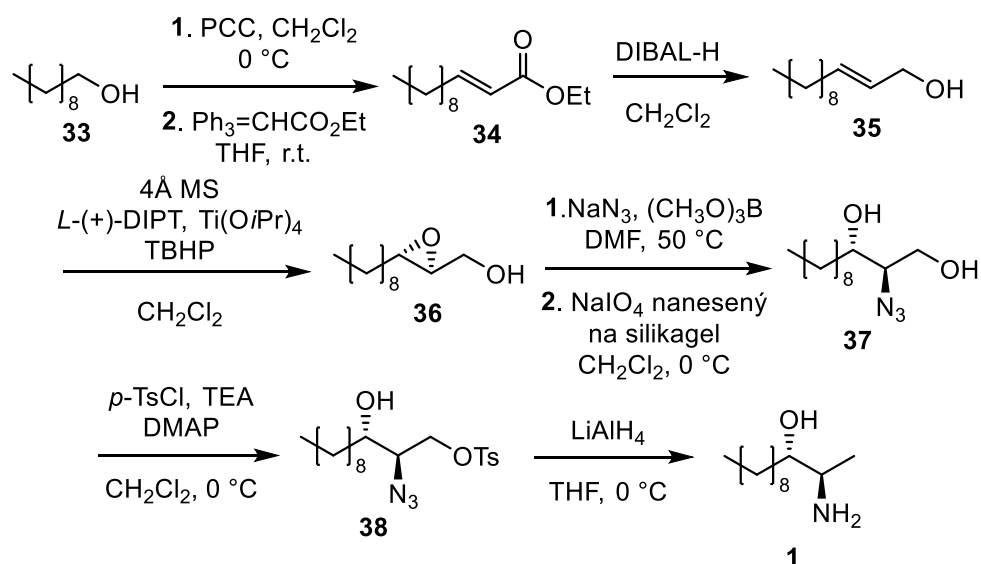


Schéma 8 Příprava Clavaminoxolu A (1) pomocí Sharplessovy asymetrické epoxidace^[20]

1.6. Přípravy Xestoaminolu C (2)

1.6.1. „Chiral pool“ přístup

Xestoaminol C (2) je možné připravit metodou, která vychází z ochráněné D-glukofuranosy **39** (Schéma 9). Prvním krokem je reakce D-glukofuranosy s Tf₂O, po které následuje nukleofilní substituce S_N2, kdy došlo k inverzi konfigurace stereogenního centra. Poté byla provedena Staudingerova reakce, která převedla azid na amin. Ten byl dále ochráněn s využitím CbzCl za vzniku derivátu **41**. Selektivním odchráněním acetalové skupiny pomocí 0,8 % H₂SO₄ byl poskytnut derivát **42**. Oxidativním štěpením, Wittigovou reakcí a následným odchráněním acetalové skupiny byla připravena sloučenina **43**. Dále bylo opět provedeno oxidativní štěpení a vzniklý aldehyd byl redukován na primární alkohol s využitím NaBH₄. V předposledním kroku se primární alkoholová skupina převedla na tosylát, který byl nukleofilní substitucí hydridovým iontem převeden na sloučeninu **45**. Poslední krok spočíval v deprotekcí Cbz skupiny a hydrogenaci dvojné vazby, která byla provedena Pearlmanovou katalytickou hydrogenací. Tímto způsobem byl připraven Xestoaminol C (2) s celkovým 16% výtěžkem.^[34]

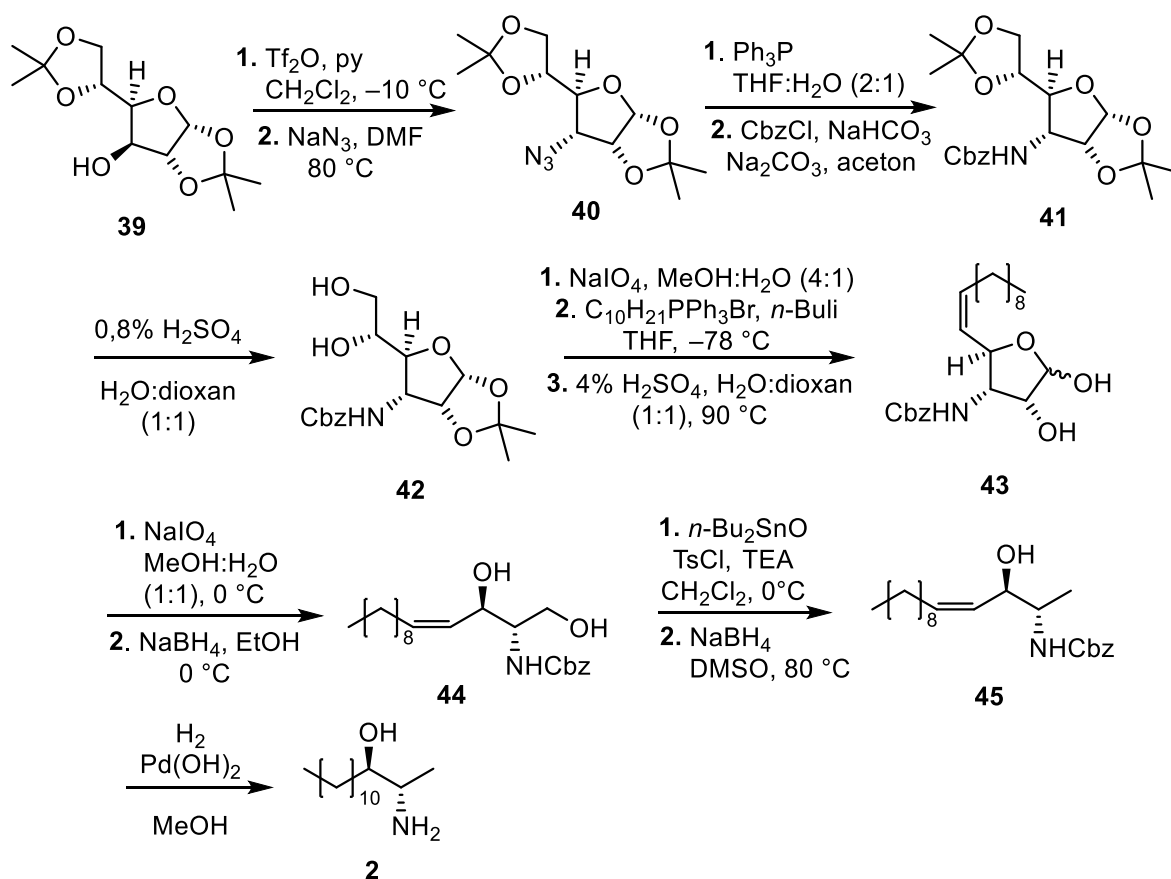


Schéma 9 Příprava Xestoaminolu C (**2**) vycházející z ochráněné D-glukofuranosy^[34]

Další syntéza, popisující přípravu Xestoaminolu C (**2**) a zároveň i jeho epimeru (**Schéma 10**), byla popsána v roce 2003. Vychází z ochráněného L-alaninalu (**46**), který je snadno dostupný z L-alaninu ve třech reakčních krocích. Tento L-alaninal (**46**) byl podroben diastereoselektivní nukleofilní adici *n*-tridecynyllithia na aldehydickou skupinu za vzniku stereoisomerní směsi v poměru (*anti*-/*syn*- = 1/2). Následná hydrogenace s využitím Adamsova katalyzátoru poskytla stereoizomerní směs, u které bylo možné jednotlivé stereoizomery (*2S,3R*)-**48** a (*2S,3S*)-**48** separovat s využitím HPLC. Poslední krok spočíval v odchránění *N*-Boc karbamátové skupiny s využitím TFA. Tímto postupem byl získán Xestoaminol C (**2**) a zároveň i jeho epimer 3-*epi*-Xestoaminol C (*2S,3S*)-**2**.^[35]

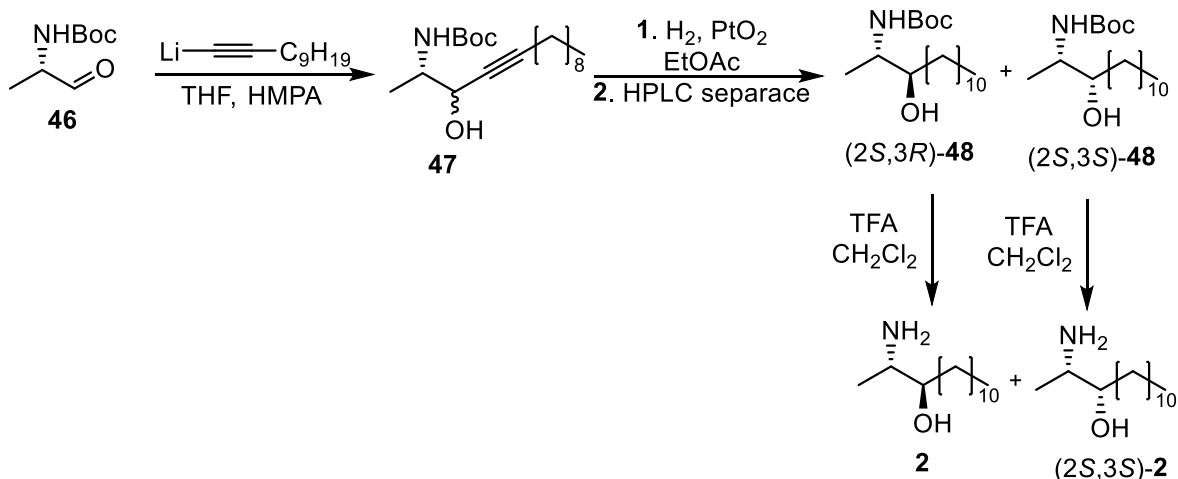


Schéma 10 Příprava Xestoaminolu C (2) a jeho epimeru (2S,3S)-2 vycházející z Boc-alaninalu (46) [35]

Xestoaminol C (2) je rovněž možné připravit syntézou (**Schéma 11**), která byla popsána již dříve u Clavaminolu A (1) (**Schéma 4**). Tímto přístupem autoři získali Xestoaminol C (2) v celkovém 47% výtěžku, s $>99\%$ ee. [25]

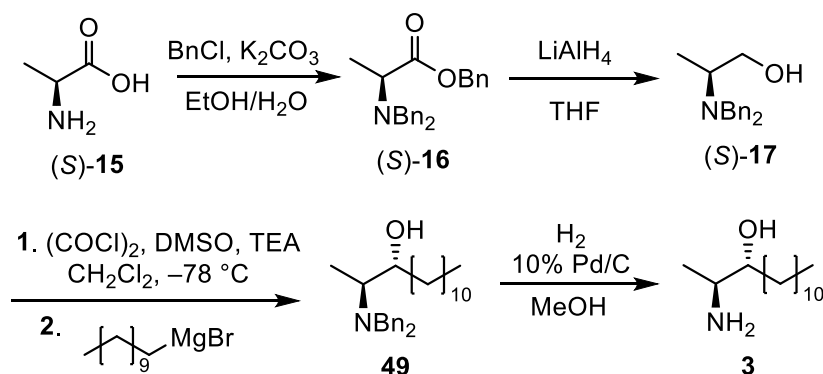


Schéma 11 Syntéza Xestoaminolu C (2) vycházející z D-alaninu [25]

1.6.2. Asymetrická syntéza využívající pomocná chirální činidla

V roce 2015 bylo pro syntézu Xestoaminolu C (2) a jeho epimeru (2S,3S)-2 využito aziridinů jako pomocných chirálních činidel (**Schéma 12**). Redukce aziridinu 50 pomocí L-selektridu poskytla *threo*- produkt 51a, zatímco v případě použití NaBH_4 s ZnCl_2 byl výsledným produktem *erythro*- produkt 51b. Dalším krokem byla hydrogenolýza za přítomnosti $(\text{Boc})_2\text{O}$, díky které byly připraveny látky (2S,3S)-48 a (2S,3R)-48. Finální krok spočíval v ochránění aminové skupiny v kyselém prostředí, která poskytla Xestoaminol C (2) a 3-*epi*-xestoaminol C (2S,3S)-2 v celkovém 50% výtěžku. [36]

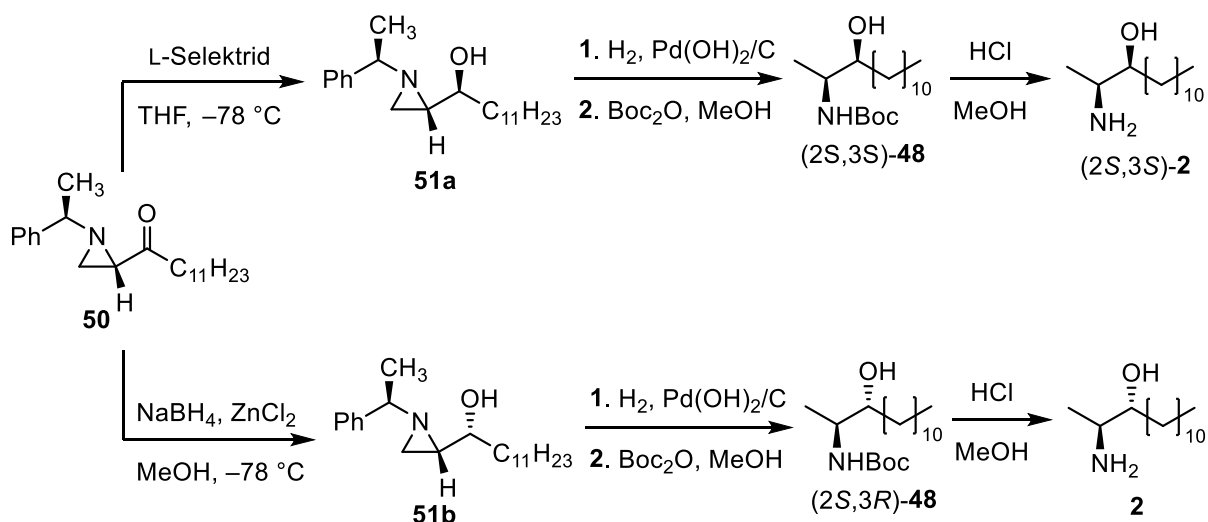


Schéma 12 Syntéza Xestaminolu C (2) využívající chirálního aziridinu 50^[36]

1.6.3. Asymetrická syntéza využívající enantioselektivní katalýzu

Syntéza všech stereoizomerů 2-aminotetradekan-3-olu je publikována s využitím asymetrické Henryho reakce (*Schéma 13*). Tato syntéza byla popsána i pro syntézu všech stereoizomerů 2-aminododekan-3-olu (*Schéma 6*).^[22,23]

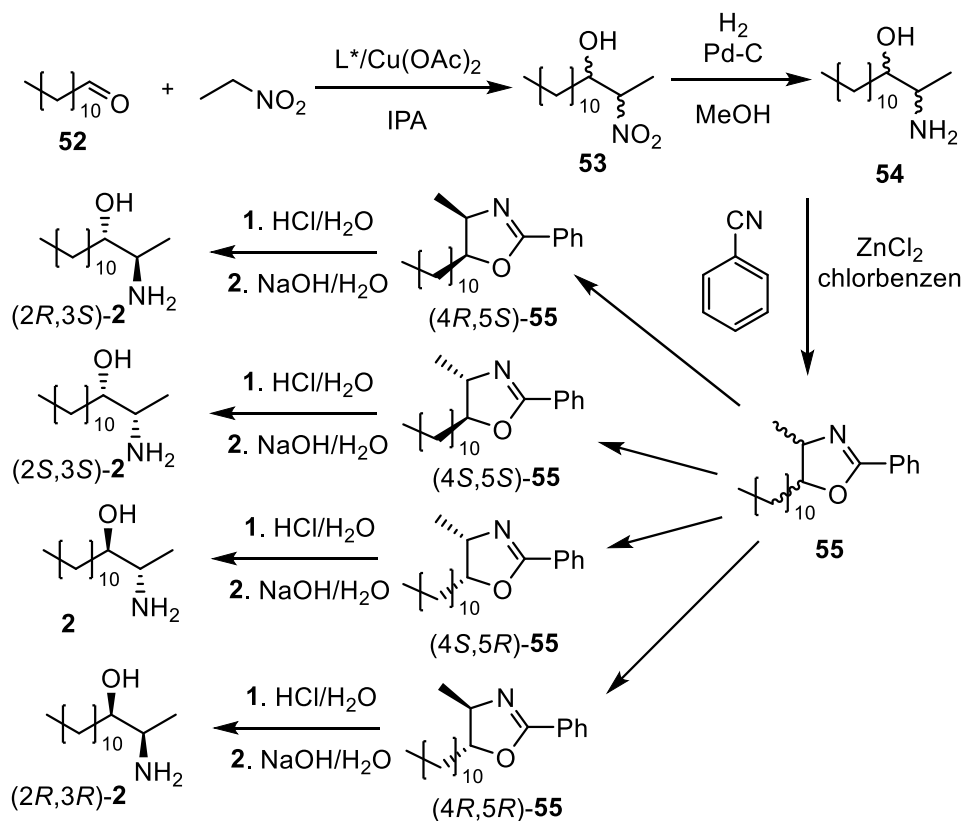


Schéma 13 Schéma popisující přípravu všech stereoizomerů 2-aminotetradekan-3-olu (2)^[22,23]

Přípravu Xestoaminolu C (**2**) s využitím asymetrické Henryho reakce popisuje i Uraguchi a kol. (**Schéma 14**). Reakční sekvence začíná Henryho asymetrickou reakcí sloučeniny **56** a nitroethanu, která je katalyzována fosfoniovým katalyzátorem **57**. Tato reakce proběhla s vysokou diastereoselektivitou (*anti*-/*syn*- = 20/1) a také enantioselektivitou 98% *ee*. Finálním krokem byla katalytická hydrogenace, která poskytla Xestoaminol C (**2**) v celkovém 93% výtěžku.^[37]

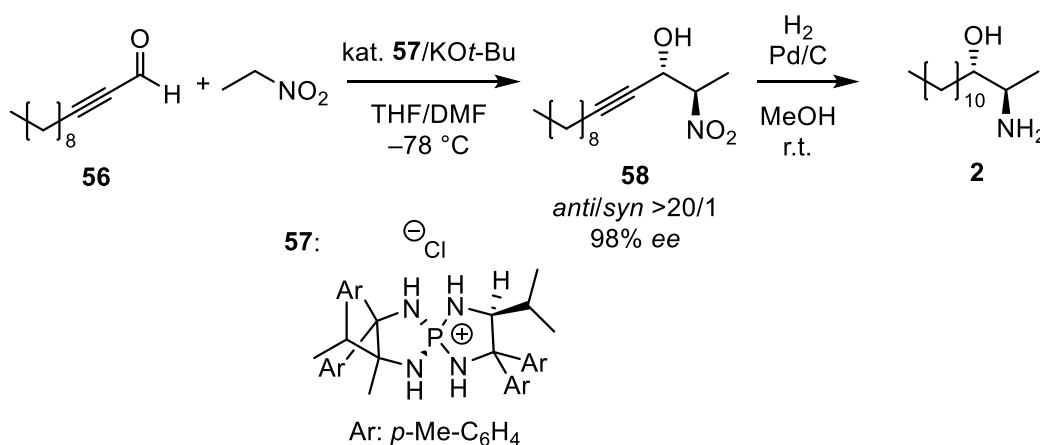


Schéma 14 Příprava Xestoaminolu C (**2**) s využitím asymetrické Henryho reakce^[37]

1.7. Přípravy Spisulosinu (**3**)

1.7.1. „Chiral pool“ přístup

Autoři Ghosal a Shaw popsali v roce 2010 „chiral pool“ syntézu Spisulosinu (**3**) vycházející z Garnerova aldehydu **59** (**Schéma 15**). První reakce této sekvence spočívá v nukleofilní adici vinylmagnesiumbromidu za vzniku stereoizomerní směsi sloučeniny **60** v poměru *anti*-/*syn*- = 6/1. Majoritní *anti*- stereoizomer byl separován s využitím sloupcové chromatografie. Následně bylo provedeno ochránění alkoholové skupiny pomocí benzyl bromidu a NaH. Poté byl ochráněný alkohol **61** podroben kyselé katalyzované hydrolyze oxazolidinového kruhu. U vzniklého derivátu **62** byla následně primární alkoholová skupina převedena na tosylát **63**, který nukleofilní substitucí hydridovým iontem poskytnul sloučeninu **64**. Další reakcí byla cross-metatéze katalyzovaná Grubbovým katalyzátorem II. generace, která poskytla sloučeninu **65**. Předposlední reakcí této sekvence byla katalytická hydrogenace, kterou došlo k redukci dvojné vazby a v posledním kroku této syntézy byla provedena deprotektace v kyselém prostředí a následná neutralizace za vzniku Spisulosinu (**3**) v celkovém 24% výtěžku.^[38]

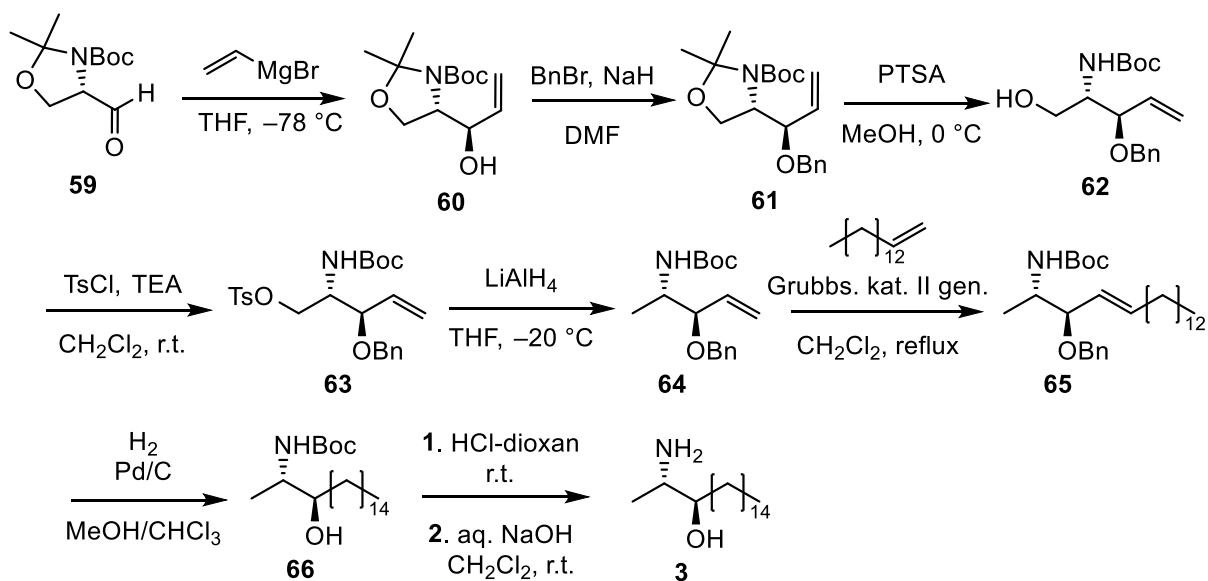


Schéma 15 Příprava Spisulosinu (3) vycházející z Garnerova aldehydu (59)^[38]

Spisulosin (3) je možné připravit podle syntetického předpisu publikovaného v roce 2013 (Schéma 16). Syntéza začíná asymetrickou dihydroxylací dvojně vazby s využitím katalyzátoru AD-mix β , která poskytla sloučeninu 68. Dále byl diol 68 převeden na cyklický sulfát 69 a následně byla provedena regioselektivní nukleofilní substituce NaN_3 . Poté byla provedena redukce esteru s využitím NaBH_4 a výsledkem byla sloučenina 71. Sloučenina 71 byla v dalším kroku převedena na cyklický sulfát, který byl zredukován na Spisulosin (3).^[39]

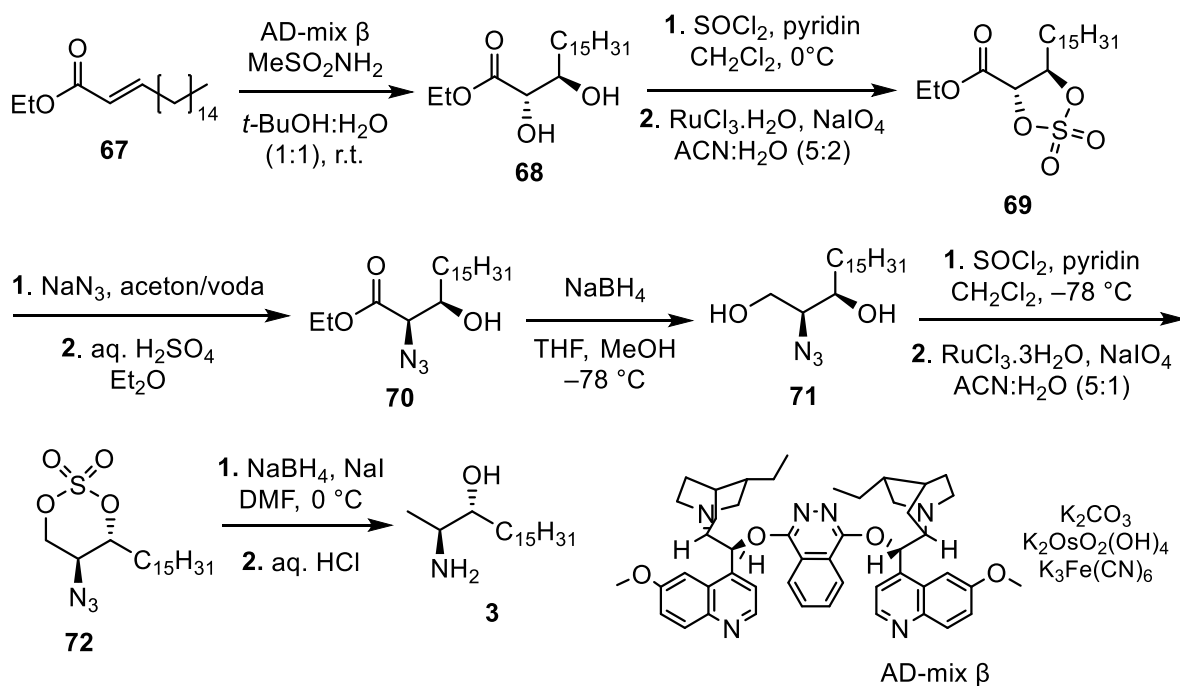


Schéma 16 Příprava Spisulosinu (3) využívající cyklické sulfáty^[39]

Další syntéza Spisulosinu (**3**) byla publikována v roce 2016 Fabišíkovou a kol. (**Schéma 17**). Syntéza vychází z derivátu **73**, který je možné připravit z D-isoaskorbové kyseliny. Tento derivát byl podroben ozonolýze s následnou redukcí NaBH₄, což vedlo ke sloučenině **74**. Dále bylo provedeno převedení na jodderivát **75**, u kterého se reaktivní dehalogenací podařilo získat sloučeninu **76**. Poté byla provedena reakce s benzylbromidem v přítomnosti NaH a následná deprotektace acetalové skupiny působením *p*-TsOH poskytla dihydroxyderivát **77**. Oxidativním štěpením dihydroxyderivátu **77** byl připraven aldehyd, který byl podroben Wittigové reakci za vzniku sloučeniny **78**. Reakční sekvence pokračovala katalytickou hydrogenací, kterou došlo k hydrogenaci dvojné vazby a hydrogenolýze benzylových skupin. Posledním krokem syntézy byla bazická hydrolyza karbamátu, která poskytla Spisulosin (**3**) v celkovém 31% výtěžku.^[40]

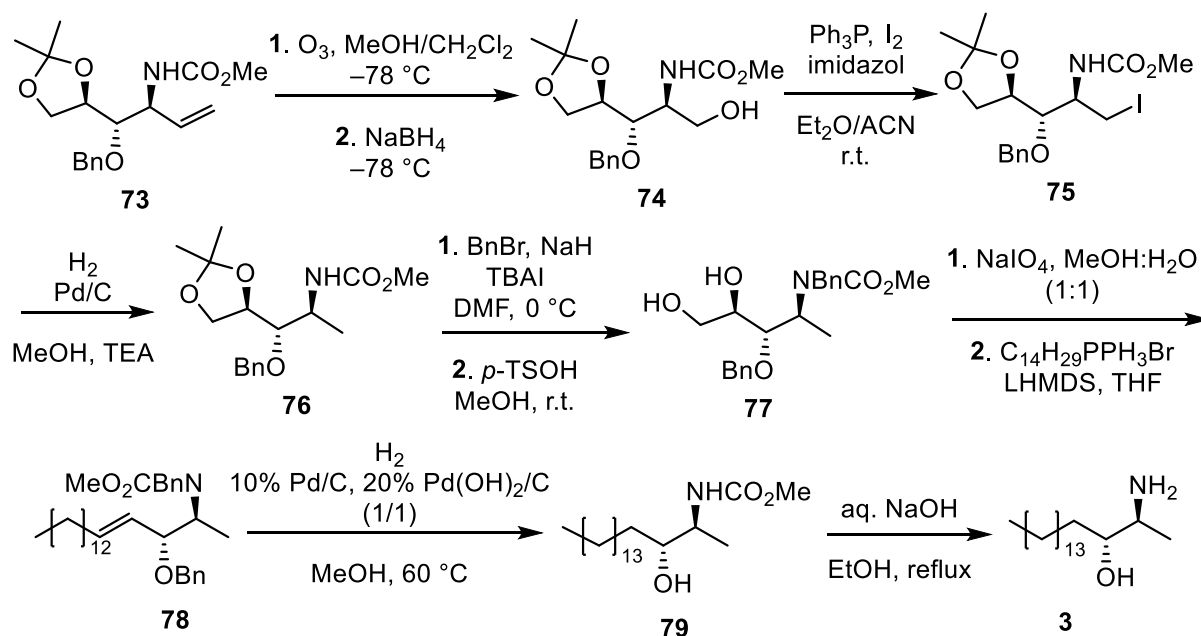


Schéma 17 Příprava Spisulosinu (**3**) vycházející z derivátu D-isoaskorbové kyseliny **73**^[40]

V roce 2013 byla popsána syntéza Spisulosinu (**3**), kterou publikoval Abad a kol. (**Schéma 18**). První reakce této syntézy spočívá v hydrosirkonaci s využitím Swartzova činidla. Dále byla provedena transmetalace diethylzinkem a následná adice *N*-Boc-L-alaninalu (**46**) poskytla stereoizomerní směs sloučeniny **83** v poměru *syn*-/*anti*- = 7,3/1. Jelikož byla diastereoizomerní směs sloučeniny **83** obtížně separovatelná, byla působením báze (K₂CO₃) převedena na cyklické oxazolidinony **84**. Ty se již daly separovat s využitím flash chromatografie. Další reakcí byla katalytická hydrogenace dvojné vazby a poslední krok spočíval v bazické hydrolyze oxazolidinonů, pomocí níž autoři získali Spisulosin (**3**) a jeho

epimer (2*S*,3*S*)-**3**.^[41]

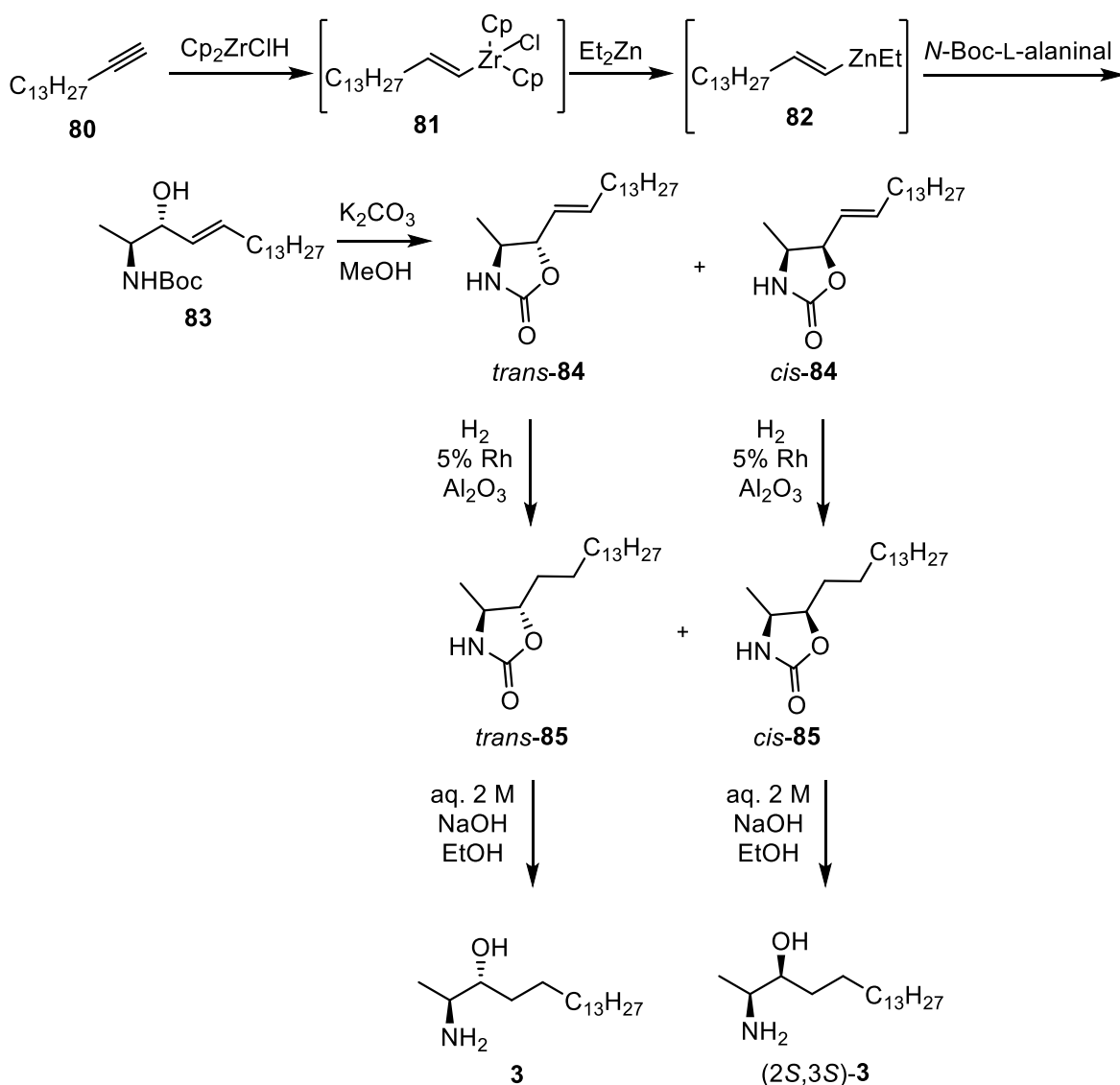


Schéma 18 Syntéza Spisulosinu (**3**) využívající diastereoselektivní adici organozinečnaté sloučeniny **82** na aldehyd **46**^[41]

Syntéza Spisulosinu (**3**) vycházející z derivátu D-glyceraldehydu **86** byla popsána v roce 2009 Allepuzem a kol. (**Schéma 19**). Reakční sekvence začíná diastereoselektivní adicí methylmagnesiumbromidu na imin **86** v přítomnosti $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$, která poskytla sloučeninu **87** s poměrem *anti*-/*syn*- = 96/4. Následně byla provedena deprotektace *N*-benzylové skupiny s využitím lithia a kapalného amoniaku a další reakce spočívala v ochránění acetalové skupiny za poskytnutí dihydroxysloučeniny **91**. Poté došlo k převedení dihydroxysloučeniny **91** na primární tosylát **92** a reakcí s K_2CO_3 byla provedena intramolekulární cyklizace za vzniku epoxidu **93**. Syntéza pokračovala regioselektivním otevíráním epoxidového kruhu působením tetradecylmagnesiumbromidu za přítomnosti katalytického množství měďné soli. Tato reakce poskytla sloučeninu **94**, u které byla v posledním kroku provedena kyselá katalyzovaná

deprotekcí *N*-Boc skupiny a neutralizací byl získán Spisulosin (**3**) v celkovém 36% výtěžku.^[42]

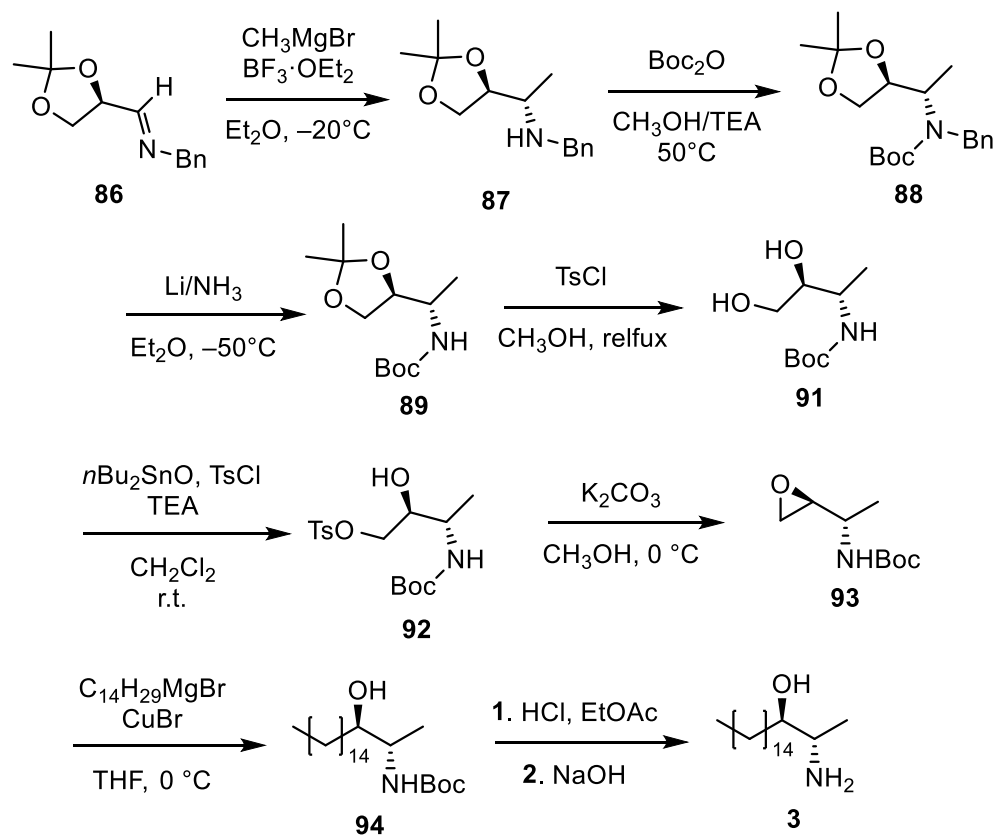


Schéma 19 Příprava Spisulosinu (**3**) využívající derivát vycházející z *D*-manitolu^[42]

Spisulosin (**3**) je možné připravit také metodou vycházející z *L*-alaninu (**Schéma 20**), která již byla popsána pro Clavamínol A (**1**) (**Schéma 4**) a Xestoamínol C (**2**) (**Schéma 11**).^[25]

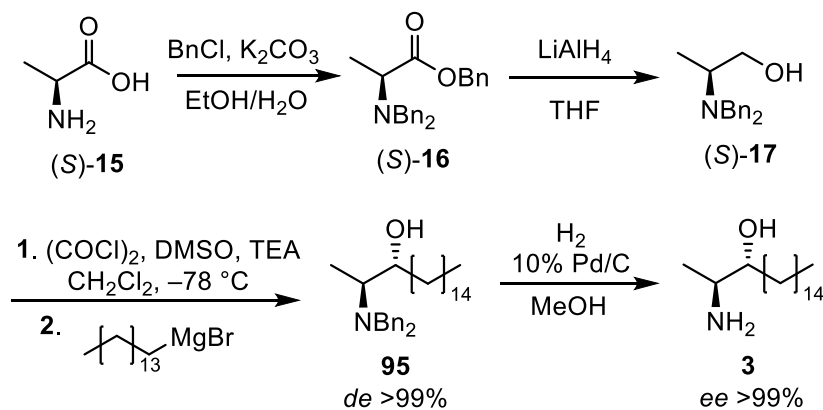


Schéma 20 Příprava Spisulosinu (**3**) vycházející z *D*-alaninu^[25]

Další příprava Spisulosinu (**3**), která byla pospána v roce 2014 (**Schéma 21**) využívá podobnou diastereoselektivní adici na ochráněný L-alaninal, která byla uvedena na **Schématu 20**.^[25] Reakční sekvence využívá „one-pot“ redukci esterové funkční skupiny na aldehydickou a následnou diastereoselektivní adici *n*-pentadecynylmagnesiumbromidu, která poskytla sloučeninu **96** s poměrem *anti*-/*syn*- = 95/5. Poslední reakcí byla katalytická hydrogenace, díky které došlo k redukci trojné vazby a zároveň hydrogenolytickému odstranění *N*-benzyl skupiny. Touto metodou byl získán Spisulosin (**3**) v celkovém 42% výtěžku.^[43]

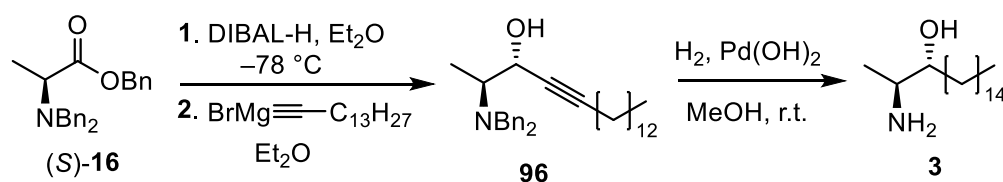


Schéma 21 Příprava Spisulosinu (**3**) vycházející z *N,N*-dibenzylalanin esteru **16**^[43]

1.7.2. Asymetrická syntéza využívající pomocná chirální činidla

Syntéza Spisulosinu (**3**), která využívá pomocných chirálních činidel ve formě chirálních aziridinů byla popsána v roce 2003 (**Schéma 22**). Tato reakční sekvence začíná převedením menthyl esteru **97** na Weinrebův amid **98** s využitím hydrochloridu *N,O*-dimethylhydroxylaminu za katalýzy trimethylhliníku. Nukleofilní substitucí *n*-pentadecylmagnesiumbromidu byla následně připravena sloučenina **99**. Stereoselektivní redukce sloučeniny **99** s využitím NaBH₄ a ZnCl₂ poskytla alkohol **100** v diastereomerním poměru: *erythro*-/*threo*- = 99/1. Poslední reakcí byla katalytická hydrogenace za přítomnosti Boc₂O, která umožnila vznik *N*-Boc Spisulosinu (**66**). Spisulosin však v této publikaci nebyl již dále připraven. *N*-Boc Spisulosin (**66**) byl získán v celkovém 71% výtěžku.^[44]

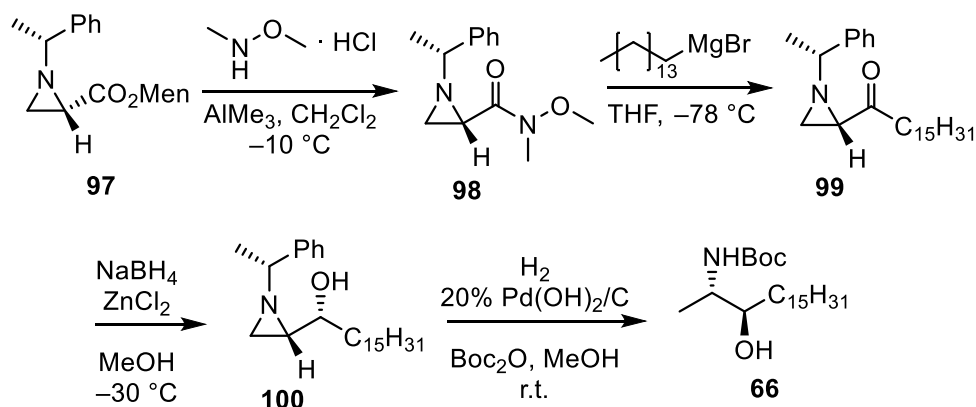


Schéma 22 Syntéza Spisulosinu (**3**) využívající pomocné chirální činidlo ve formě aziridinů **97-100**^[44]

Další příprava Spisulosinu (**3**), při které Séguin a kol. využili pomocných chirálních činidel byla publikována v roce 2009 (*Schéma 23*). První reakce této sekvence probíhá ve smyslu dynamické kinetické rezoluce, kdy reakcí výchozí sloučeniny **101** s racemickým 3-(methoxymethoxy)-1-trimethylsilylallenylzinkiumbromidem byl připraven alkynový derivát **102** v diastereoizomerním poměru: *anti*-/*syn*- = 93/7. Následnou deprotekcí TMS skupiny s využitím TBAF a semihydrogenace na Lindlarově palladiovém katalyzátoru vznikla sloučenina **103**. Další reakcí byla cross-metatéze katalyzovaná Grubbsovým katalyzátorem II. generace, která poskytla derivát **104**. Finální chemická transformace spočívala v kyselé katalyzované hydrolyze sulfinamidu, v deprotekcí MOM etheru a katalytické hydrogenaci dvojně vazby. S využitím této metody byl Spisulosin (**3**) připraven v celkovém 63% výtěžku.^[45]

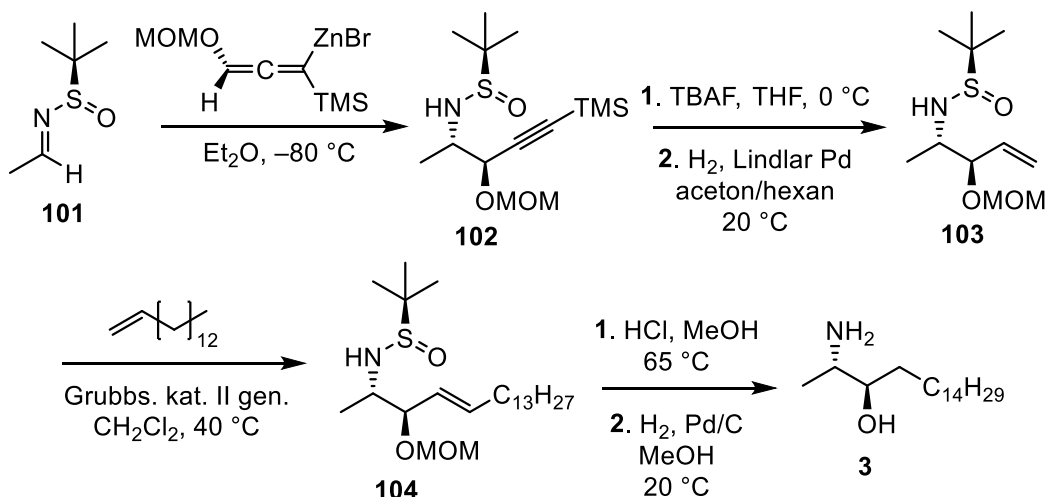


Schéma 23 Syntéza Spisulosinu (**3**) vycházející z *tert*-butylsulfonamidu **101**^[45]

1.7.3. Asymetrická syntéza využívající enantioselektivní katalýzu

Syntéza Spisulosinu (**3**) ve formě hydrochloridu, která využívá enantioselektivní katalýzu byla publikována v roce 2011 (*Schéma 24*). Reakční sekvence začíná mědí katalyzovanou asymetrickou cyklizací, při které bylo využito bisoxazolinového katalyzátoru **106**. Tímto způsobem byl připraven bicyklický sulfamát **107** v 80% enantiomerním přebytku. Tento sulfamát byl následně s pomocí BF₃·OEt₂ a benzylalkoholu převeden na sedmičlenný sulfamidát **108**. Následná reakce s TsCl a *t*-BuONa poskytla tosylsulfamidát **109**. Poté byla provedena reakce s *n*-pentadecyllithiem, čímž byl po reakci s vodnou HCl připraven *N*-tosyl derivát **110**. Reakcí derivátu **110** s Boc₂O a následným reduktivním odstraněním *N*-tosylové skupiny s využitím hořčíku vznikla sloučenina **111**. Poté byla katalytickou hydrogenací hydrogenolýzou ochráněna *O*-benzylová skupina a také došlo k redukci trojně vazby. Poslední

krok této syntézy spočíval v kyselé katalyzované deprotekcí *N*-Boc skupiny, díky které byl získán Spisulosin·HCl (**3**·HCl) v celkovém 3% výtěžku.^[46]

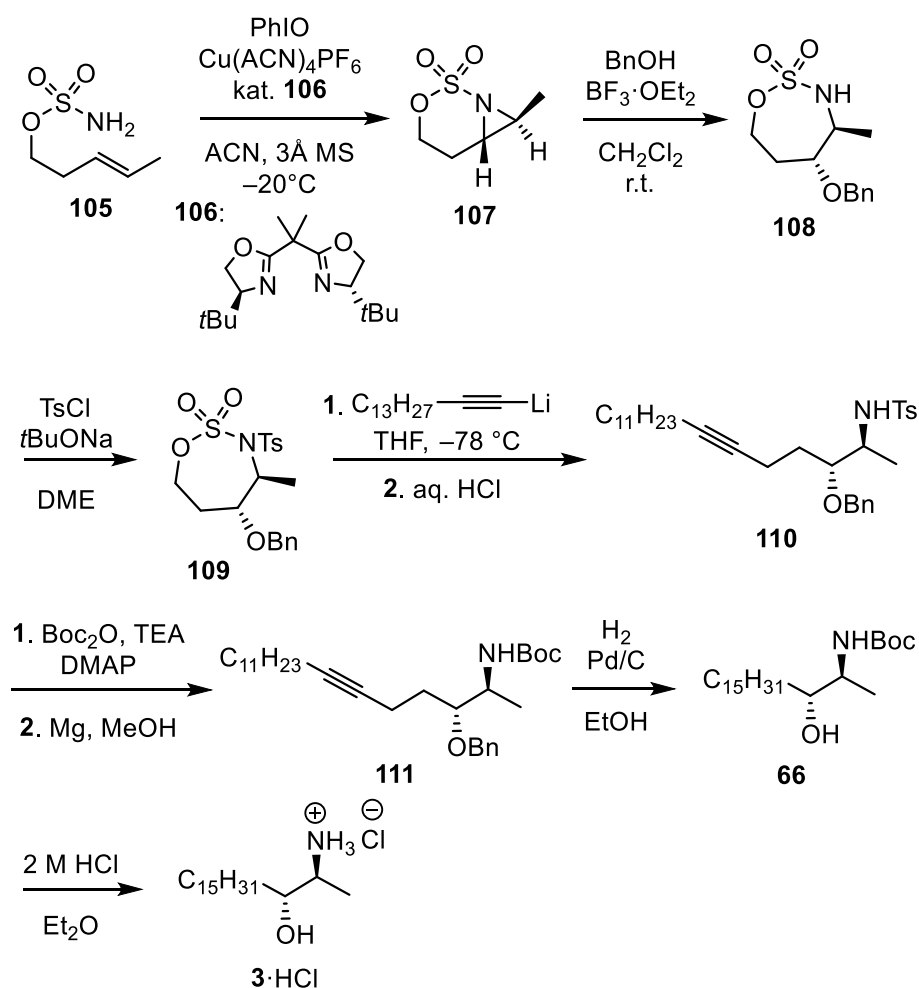


Schéma 24 Příprava Spisulosinu·HCl (**3**·HCl) využívající asymetrické intramolekulární cyklizace^[46]

Sutherland a kol. popsali v roce 2013 totální syntézu Spisulosinu (**3**), která využívá Sharplessovu asymetrickou dihydroxylaci a Overmanův přesmyk (**Schéma 25**). Syntéza vycházela z pentadec-1-enu **112**, který byl podroben Sharplessově asymetrické dihydroxylaci za vzniku diolu **113** v 86% enantiomerním přebytku. Po jeho rekrystalizaci byl diol (**113**) získán v >99% enantiomerním přebytku. Následovala selektivní protekce hydroxylových skupin s využitím TBDMSCl a následně MOMBr . Dále byla TBDMS chránící skupina selektivně odchráněna pomocí TBAF a poté byla pomocí „one-pot“ Swernovy oxidace/Horner-Wadsworth-Emmonsovy reakce převedena sloučenina **115** na (*E*)- α,β -nenasycený ester **116**. Redukce esterové skupiny s využitím redukčního činidla DIBAL-H poskytla allyl alkohol **117**. Poté byl allyl alkohol **117** převeden na trichloracetimidát **118**, a to pomocí reakce

s trichloracetonitrilem a DBU. Následoval klíčový Overmanův přesmyk, který byl katalyzován palladnatým komplexem $\text{PdCl}_2(\text{ACN})_2$ a *p*-benzochinonem. Tímto přesmykem byla získána sloučenina (**119**) v diastereomerním poměru: *erythro*-/*threo*- = 28/1. Další reakce spočívala v ozonolyze a následné redukci s využitím NaBH_4 , což vedlo ke vzniku alkoholu (**120**). Poté bylo provedeno převedení na mesylát a nukleofilní substitucí pomocí NaBr v DMSO byl připraven bromderivát (**121**). Katalytická hydrogenace vedla k dehalogenaci bromderivátu **121** a posledním krokem byla kyselě katalyzovaná hydrolyza acetamidu **122**. Touto metodou byl připraven Spisulosin hydrochlorid (**3**·HCl) v celkovém 19% výtěžku.^[47]

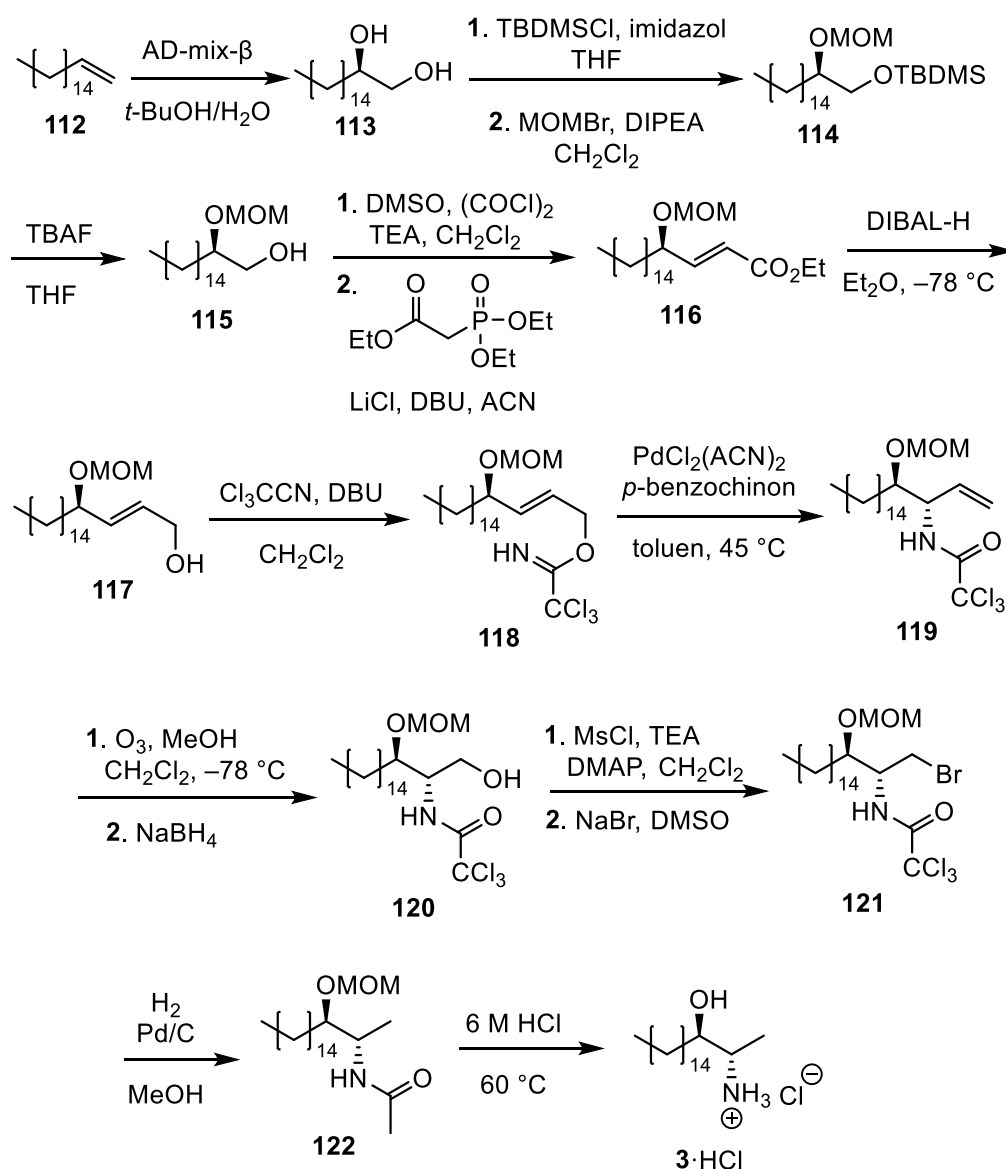


Schéma 25 Příprava Spisulosinu (**3**) využívající Overmanova přesmyku a asymetrické dihydroxylace^[47]

Příprava epimeru Spisulosinu (*2S,3S*)-**3** využívající Sharplessovy asymetrické epoxidace byla publikována v roce 2010 (*Schéma 26*). Výchozí sloučenina **133** byla v prvním kroku podrobena Sharplessově asymetrické epoxidaci, kterou byl připraven epoxyalkohol **134** v >98% enantiomerním přebytku. Enantiomerní přebytek byl zjištěn pomocí ¹H NMR po převedení na estery Mosherovy kyseliny. Další reakce spočívala v převedení alkoholu na mesylát, který byl pak následně podroben oxidativnímu štěpení epoxidového kruhu za vzniku dihydroxy mesylátu **135**. Poté byl dihydroxy mesylát podroben reakci s K₂CO₃ v methanolu, čímž došlo k intramolekulární cyklizaci za vzniku epoxidu **136**. U tohoto epoxidu **136** bylo provedeno ochránění sekundární alkoholové skupiny pomocí MOMCl. Další reakcí bylo regioselektivní otevírání epoxidového kruhu působením LiAlH₄. Následně byla sloučenina **138** převedena na tosylát a nukleofilně substituována NaN₃, přičemž došlo k inverzi na stereogenním centru. Poslední reakce spočívaly v redukcí azidové skupiny na amino skupinu katalytickou hydrogenací a ochránění MOM etherové skupiny kyselé katalyzovanou hydrolyzou. Touto metodou byl připraven epimer Spisulosinu (*2S,3S*)-**3** v celkovém 32% výtěžku.^[48]

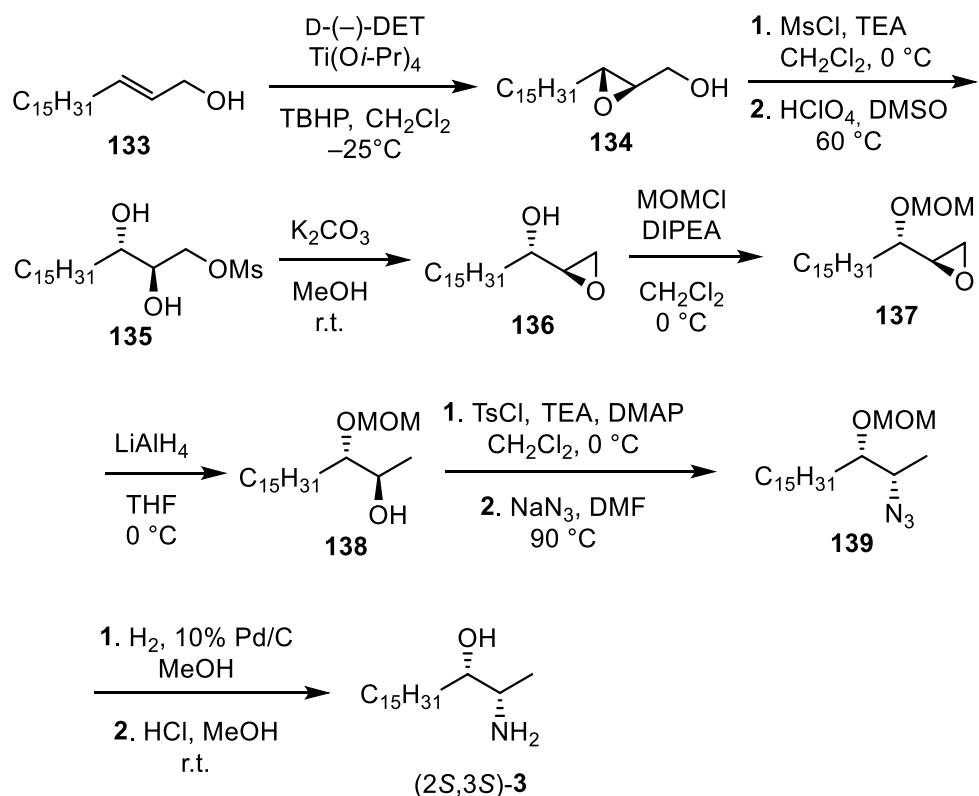


Schéma 26 Příprava epimeru Spisulosinu (*2S,3S*)-**3** využívající Sharplessovu asymetrickou reakci^[48]

Syntéza Spisulosinu (**3**), při které byla využita asymetrická Henryho reakce, byla publikována v roce 2012 Wangem a kol. (**Schéma 27**). Tato velmi jednoduchá syntéza využívá asymetrickou Henryho reakci hexadekanalu (**140**) s nitroethanem, katalyzovanou chirálním katalyzátorem **141**. Výsledný nitroaldol **142** byl připraven v 95% enantiomerním přebytku a v diastereomerním poměru *anti*-/*syn*- = 10,6/1. Finální reakce spočívala v katalytické hydrogenaci, kterou byla provedena redukce nitro skupiny. Touto dvoukrokovou syntézou byl Spisulosin (**3**) připraven v celkovém 60% výtěžku.^[49]

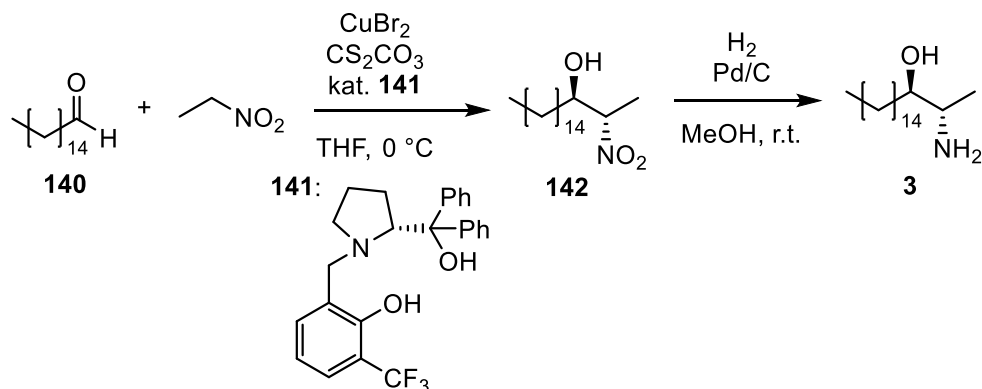


Schéma 27 Příprava Spisulosinu (**3**) využívající Henryho asymetrickou reakci^[49]

Pro přípravu Spisulosinu (**3**) bylo také využito stereoselektivní α -aminace katalyzované D-prolinem (**Schéma 28**). Tato syntéza byla popsána již pro Clavaminol A (**Schéma 7**).^[33]

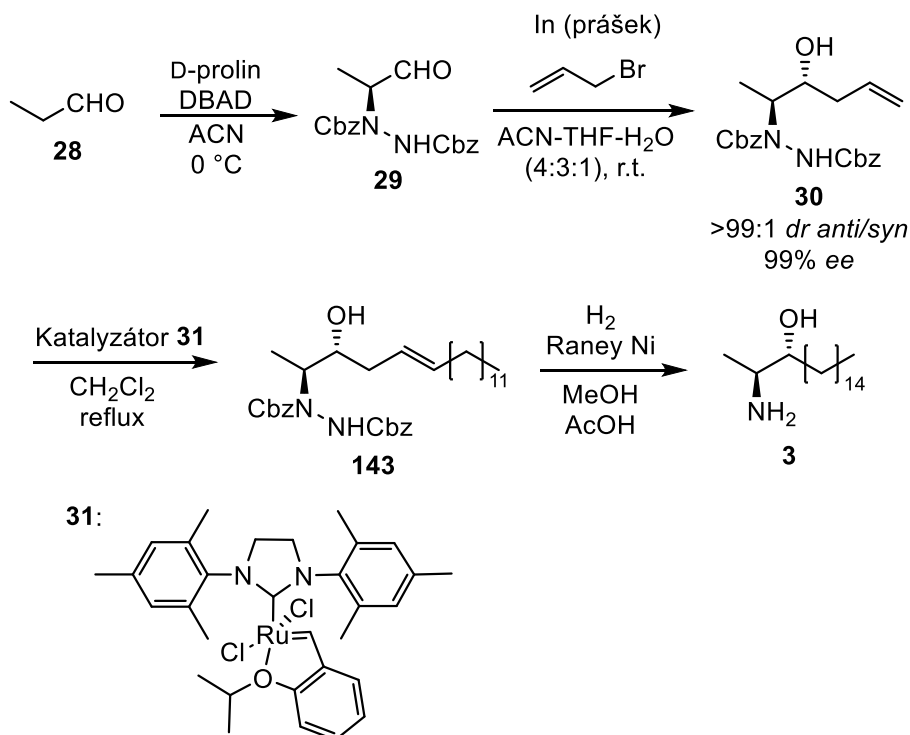


Schéma 28 Příprava Spisulosinu (**3**) využívající stereoselektivní α -aminaci^[33]

1.8. Příprava ostatních 2-aminoalkan-3-olů

V roce 1994 byla popsána syntéza racemického 2-aminoikosan-3-olu (**146**) využívající Henryho reakci (*Schéma 29*). Syntéza vychází z oktadekanalu (**144**), který byl podroben Henryho reakci za vzniku nitroaldolu **145**. Následná „transfer hydrogenace“ pomocí HCOONH_4 poskytla aminoalkohol **146**, který byl poté převeden na směs oxazolinů **147** pomocí benzamidů. Separace oxazolinů byla provedena HPLC s využitím reverzní stacionární fáze. Analýza oxazolinů pomocí ^1H NMR potvrdila, že diastereoizomerní směs vznikla v poměru 1:1. Autoři v této publikaci neuvádějí výtěžky jednotlivých kroků.^[50]

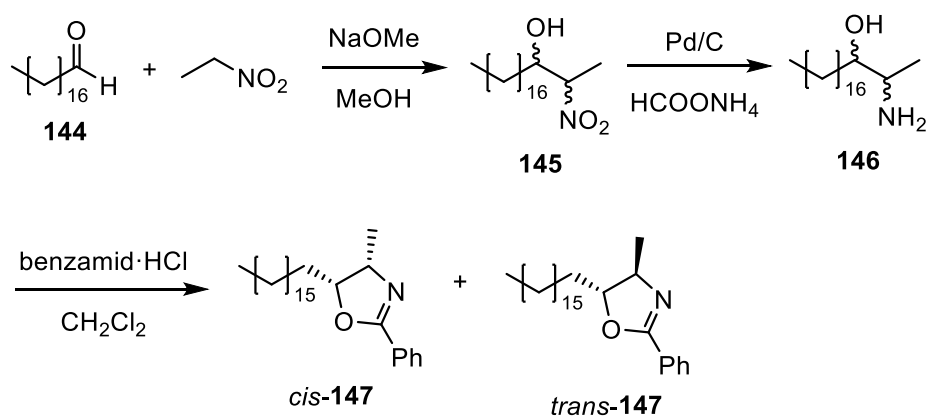


Schéma 29 Příprava racemického 2-aminoikosan-3-olu^[50]

V rámci mé bakalářské práce bylo využito syntetického předpisu, kterým byl popsán pro přípravu stereoizomerů 2-aminodokosan-3-olu (*Schéma 6*) a 2-aminotetradekan-3-olu (*Schéma 13*). Tento syntetický předpis byl aplikován pro syntézu racemátů 2-aminoikosan-3-olu (**146**) a 2-aminotetrakosan-3-olu (**150**) (*Schéma 30*).^[4]

Příprava 2-aminoalkan-3-olů (C_{14} - C_{23}) s konfigurací (2*S*,3*R*) (*Schéma 31*) je popsána v patentu, který publikovali výzkumní pracovníci farmaceutické firmy PharmaMar. Syntéza využívala „chiral pool“ přístupu, kdy klíčovou reakcí byla diastereoselektivní adice alkylmagnesiumbromidu o různém počtu uhlíků na *N,N*-dibenzyl-L-alaninal (**152**). Dalším krokem byla katalytická hydrogenolýza, kterou došlo k odchránění *N,N*-dibenzylických skupin. Tímto způsobem byly připravené jednotlivé 2-aminoalkan-3-oly s konfigurací (2*S*,3*R*)-s lineárním uhlíkatým řetězcem o délce: C_{14} - C_{23} .^[26,28]

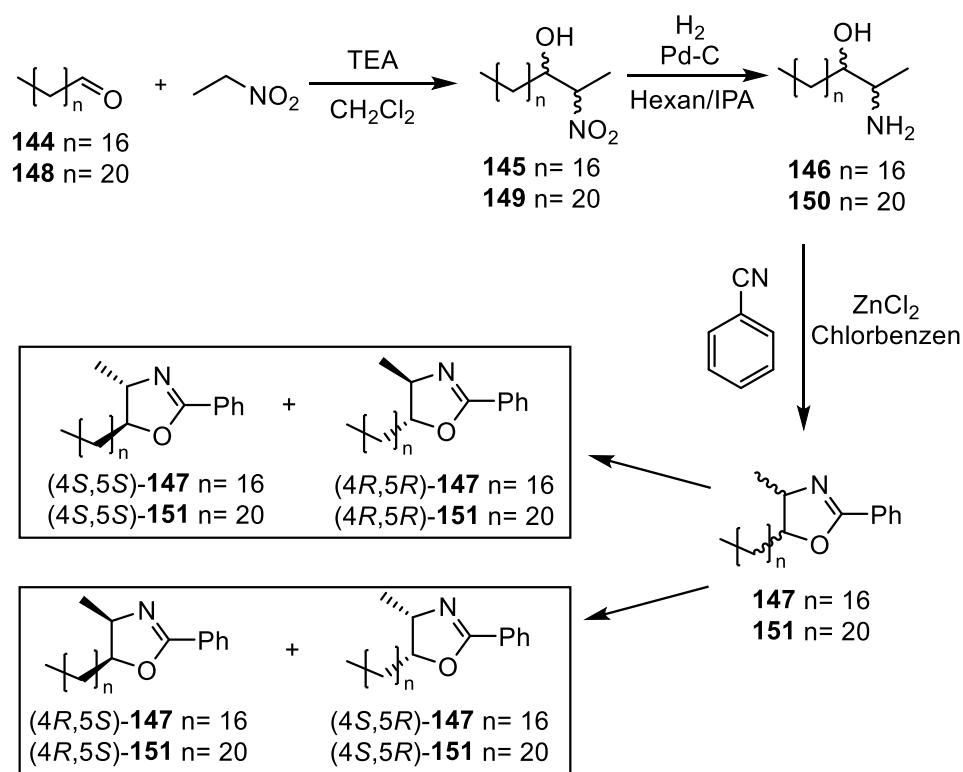


Schéma 30 Příprava 2-aminoikosan-3-olu (**146**) a 2-aminotetrakosan-3-olu (**150**)^[4]

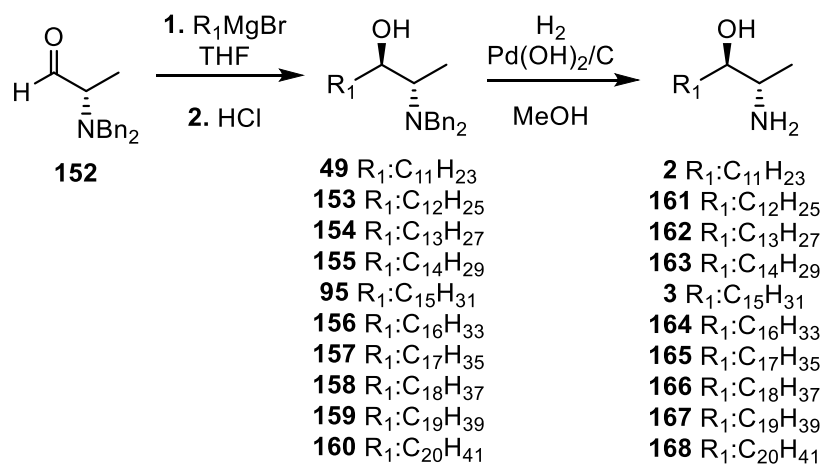


Schéma 31 Příprava 2-aminoalkan-3-olů s různým uhlikatým řetězcem s konfigurací (2S,3R)^[26,28]

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 μm). 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 ^1H , 100,62 MHz pro ^{13}C) nebo *Bruker Ascend 500* (500,13 MHz pro ^1H , 125,12 MHz pro ^{13}C). Chemické posuny δ jsou kalibrovány na střed multipletu signálu rozpouštědla CDCl_3 (δ 7,26 ppm). ^{13}C NMR spektra jsou kalibrována na střed multipletu signálu rozpouštědla CDCl_3 (δ 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 $\text{ACN}/\text{H}_2\text{O}$ (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 cm^{-1} , FT-IČ data jsou uvedena v cm^{-1} . Katalytická hydrogenace byla provedena ve vysokotlakém reaktoru *Berghof BR-100*.

2.2. Obecný postup syntézy aldehydů 144 a 148

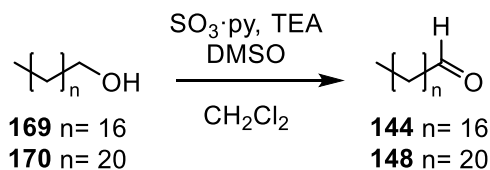
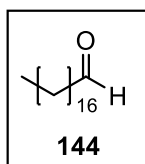


Schéma 32 Příprava aldehydů 144 a 148

Do 100 ml kulaté baňky opatřené magnetickým míchadlem a chlorkalciovou zátkou byl předložen alkohol (stearylalkohol (**169**) nebo dokosan-1-ol (**170**)) (5 mmol), suchý CH_2Cl_2 (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 $\text{SO}_3 \cdot \text{pyridin}$ (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 dělicí nálevky a byl promyt vodou (3×25 ml). Organická fáze byla vysušena s využitím bezvodého Na_2SO_4 a rozpouštědlo bylo odpařeno na vakuové odparce. Surový produkt, obsahující jako nečistotu (methylsulfanylmethyl)-alkylether (5–10 %), byl čištěn sloupcovou chromatografií (SiO_2 ; hexan/EtOAc 5/1 (v/v)).^[4]

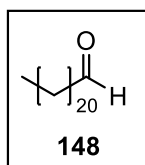
Oktadekanal (**144**)

Výtěžek 88 %; b.t.: $46\text{--}47^\circ\text{C}$. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 9,76 (t, 1H, $J = 1,8$ Hz, $\text{CH}=\text{O}$), 2,42 (m, 2H, CH_2CHO), 1,62 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CHO}$), 1,25 (m, 28H, $14 \times \text{CH}_2$), 0,88 (t, 3H, $J = 6,8$ Hz, CH_3). $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): 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^{-1} . **HRMS-MALDI (DHB) m/z** : pro $\text{C}_{18}\text{H}_{36}\text{ONa}$ vypočteno 291,26638 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, nalezeno 291,26669 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.^[4]



Dokosanal (**148**)

Výtěžek 90 %; b.t.: $54\text{--}55^\circ\text{C}$. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 9,76 (t, 1H, $J = 1,8$ Hz, $\text{CH}=\text{O}$), 2,42 (m, 2H, CH_2CHO), 1,61 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CHO}$), 1,25 (m, 32H, $16 \times \text{CH}_2$), 0,88 (t, 3H, $J = 6,8$ Hz, CH_3). $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): 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^{-1} . **HRMS-MALDI (DHB) m/z** : pro $\text{C}_{22}\text{H}_{44}\text{ONa}$ vypočteno 347,32898 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, nalezeno



2.3. Obecný postup syntézy 2-nitroalkan-3-olů 145 a 149

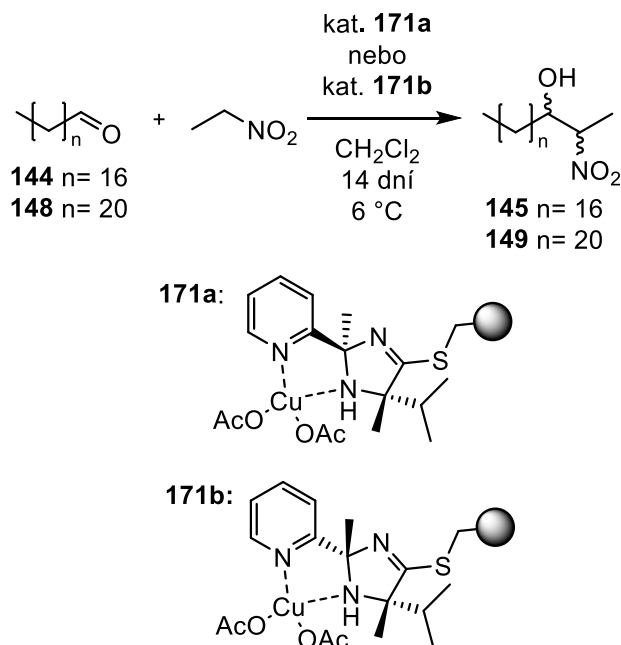
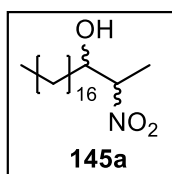


Schéma 33 Syntéza 2-nitroalkan-3-olů 145 a 149

Do 50 ml kulaté baňky opatřené skleněnou zátkou byl předložen aldehyd **144** nebo **148** (5,6 mmol), CH_2Cl_2 (20 ml), nitroethan (2 ml, 28 mmol) a heterogenní katalyzátor **171a** nebo **171b** (200 mg; ~0,25 mmol). Heterogenní roztok byl vložen do lednice, ve které byl bez míchání ponechán po dobu 14 dní. Po této době byl heterogenní katalyzátor odstraněn pomocí vakuové filtrace přes fritu a následně promyt (3× 30 ml) CH_2Cl_2 . Poté byla rozpouštědla oddestilována s využitím vakuové rotační odparky a destilační zbytek byl podroben sloupcové chromatografii (SiO_2 ; hexan/EtOAc 6/1 (v/v)). Enantiomerní přebytek byl stanoven pomocí chirální HPLC.

2-Nitroikosan-3-ol (145a) připravený s využitím katalyzátoru 171a

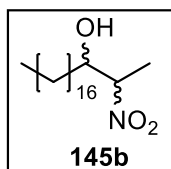
Výtěžek: 73 %; nažloutlá voskovitá látka; b.t.: 41–43 °C; $R_f = 0,32$ (SiO_2 ; hexan/ EtOAc 6/1 (v/v)); ¹H NMR (CDCl_3 , 500 MHz): δ 4,57–4,48 (m, 1H, CH-NO₂, *anti+syn*), 4,17 (m, 1H, CH, *anti*), 3,90 (m, 1H, CH, *syn*), 2,24 (bs, 1H, OH, *anti*), 2,15 (d, 1H, ³J = 6,0 Hz, OH, *syn*), 1,53–1,51 (m, 3H, CH₃, *anti+syn*), 1,65–1,32 (m, 2H, CH₂, *anti+syn*), 1,24 (m, 30H, 15× CH₂, *anti+syn*), 0,89 (t, 3H, J = 6,5 Hz,



CH₃, *anti+syn*). ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃): δ 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-IČ (ATR): ν 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⁻¹.^[4] Enantiomerní přebytek byl stanoven pomocí chirální kolony firmy Daicel: *anti*: Chiralpak AD-H, 98/2 hexan/EtOH; průtoková rychlost: 1,0 ml/min; λ = 220 nm; (2*S*,3*R*)-isomer *t_r* = 8,42 min; (2*R*,3*S*)-isomer *t_r* = 8,94 min; *syn*: Chiralpak IA, 98/2 hexan/EtOH; průtoková rychlost: 1,0 ml/min; λ = 220 nm; (2*R*,3*R*)-isomer *t_r* = 12,32 min; (2*S*,3*S*)-isomer *t_r* = 13,78 min.

2-Nitroikosan-3-ol (145b) připravený s využitím katalyzátoru 171b

Výtěžek: 69 %; nažloutlá voskovitá látka; b.t.: 41–43 °C; *R_f* = 0,32 (SiO₂; hexan/ EtOAc 6/1

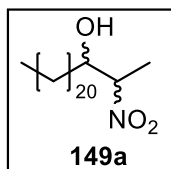


(v/v)); ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 4,57–4,48 (m, 1H, CH-NO₂, *anti+syn*), 4,17 (m, 1H, CH, *anti*), 3,90 (m, 1H, CH, *syn*), 2,24 (bs, 1H, OH, *anti*), 2,15 (d, 1H, *J* = 6,0 Hz, OH, *syn*), 1,53–1,51 (m, 3H, CH₃, *anti+syn*), 1,65–1,32 (m, 2H, CH₂, *anti+syn*), 1,24 (m, 30H, 15× CH₂, *anti+syn*), 0,89 (t, 3H, *J* = 6,5 Hz, CH₃, *anti+syn*). ¹³C

NMR (126 MHz, CDCl₃): δ 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-IČ (ATR): ν 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⁻¹.^[4] Enantiomerní přebytek byl stanoven pomocí chirální kolony firmy Daicel: *anti*: Chiralpak AD-H, 98/2 hexan/EtOH; průtoková rychlost: 1,0 ml/min; λ = 220 nm; (2*S*,3*R*)-isomer *t_r* = 10,64 min; (2*R*,3*S*)-isomer *t_r* = 10,78 min; *syn*: Chiralpak IA, 98/2 hexan/EtOH; průtoková rychlost: 1,0 ml/min; λ = 220 nm; (2*R*,3*R*)-isomer *t_r* = 11,81 min; (2*S*,3*S*)-isomer *t_r* = 12,68 min.

2-Nitrotetrakosan-3-ol (149a) připravený s využitím katalyzátoru 171a

Výtěžek: 85 %; nažloutlá voskovitá látka; b.t.: 44–46 °C; *R_f* = 0,30 (SiO₂; hexan/ EtOAc 8/1



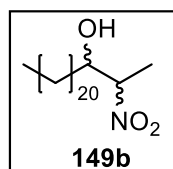
(v/v)); ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 4,57–4,50 (m, 1H, CH-NO₂, *anti+syn*), 4,18 (m, 1H, CH, *anti*), 3,89 (m, 1H, CH, *syn*), 2,25 (d, 1H, *J* = 4,5 Hz, OH, *anti*), 2,15 (d, 1H, *J* = 6,8 Hz, OH, *syn*), 1,56 (d, 3H, *J* = 6,8 Hz, CH₃, *syn*), 1,54 (d, 3H, *J* = 6,4 Hz, CH₃, *anti*), 1,67–1,34 (m, 2H, CH₂, *anti+syn*), 1,25 (m, 38H, 19× CH₂, *anti+syn*), 0,88 (t, 3H, *J* = 6,5 Hz, CH₃, *anti+syn*). ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃): 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^{-1} .^[4] Enantiomerní přebytek byl stanoven pomocí chirální kolony firmy Daicel: *anti*: Chiralpak IA, 99,5/0,5 hexan/IPA; průtoková rychlost: 1,0 ml/min; $\lambda = 220$ nm; (2*S*,3*R*)-isomer $t_r = 22,42$ min; (2*R*,3*S*)-isomer $t_r = 24,23$ min; *syn*: Chiralpak IA, 98/2 hexan/IPA; průtoková rychlost: 0,5 ml/min; $\lambda = 220$ nm; (2*S*,3*S*)-isomer $t_r = 28,2$ min; (2*R*,3*R*)-isomer $t_r = 29,3$ min.

2-Nitrotetrakosan-3-ol (149b) připravený s využitím katalyzátoru 171b

Výtěžek: 65 %; nažloutlá voskovitá látka; b.t.: 44–46 °C; $R_f = 0,30$ (SiO₂; hexan/ EtOAc 8/1



(v/v)); ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 4,57–4,50 (m, 1H, CH-NO₂, *anti*+*syn*), 4,18 (m, 1H, CH, *anti*), 3,89 (m, 1H, CH, *syn*), 2,25 (d, 1H, $J = 4,5$ Hz, OH, *anti*), 2,15 (d, 1H, $J = 6,8$ Hz, OH, *syn*), 1,56 (d, 3H, $J = 6,8$ Hz, CH₃, *syn*), 1,54 (d, 3H, $J = 6,4$ Hz, CH₃, *anti*), 1,67–1,34 (m, 2H, CH₂, *anti*+*syn*), 1,25 (m, 38H,

19 × CH₂, *anti*+*syn*), 0,88 (t, 3H, $J = 6,5$ Hz, CH₃, *anti*+*syn*). ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃): 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-ĪČ (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^{-1} .^[4] Enantiomerní přebytek byl stanoven pomocí chirální kolony firmy Daicel:

anti: Chiralpak IA, 99,5/0,5 hexan/IPA; průtoková rychlost: 1,0 ml/min; $\lambda = 220$ nm; (2*S*,3*R*)-isomer $t_r = 22,36$ min; (2*R*,3*S*)-isomer $t_r = 23,79$ min; *syn*: Chiralpak IA, 98/2 hexan/IPA; průtoková rychlost: 0,5 ml/min; $\lambda = 220$ nm; (2*S*,3*S*)-isomer $t_r = 30,5$ min; (2*R*,3*R*)-isomer $t_r = 32,1$ min.

2.4. Epimerace nitroaldolů 145 a 149

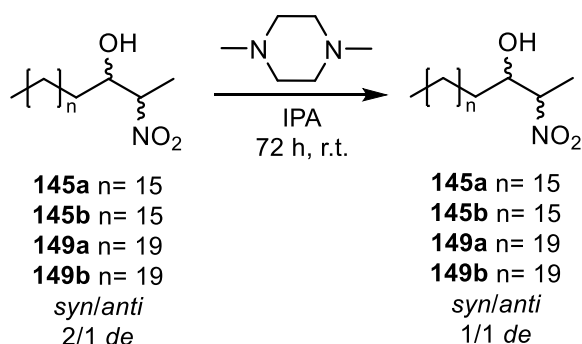


Schéma 34 Epimerace 2-nitroalkan-3-olů 145 a 149

Stereoizomerní směs nitroaldolů **145a** resp. **145b** nebo **149a** resp. **149b** s diastereoizomerním poměrem cca 2/1 (*syn/anti*) (4 mmol) byla vložena do 100 ml baňky

opatřené skleněnou zátku a magnetickým míchadlem. Následně bylo přidáno 30 ml IPA a 1,4-dimethylpiperazinu (4 mmol, 457 mg). Tento roztok byl míchán při laboratorní teplotě po dobu 72 h. Poté bylo rozpouštědlo a báze oddestilováno na vakuové odparce. Výtěžek byl prakticky kvantitativní. Pomocí ^1H NMR bylo po reakci zjištěno, že diastereoizomerní poměr připravených nitroaldolů byl cca 1/1 (*syn/anti*).

2.5. Obecný postup hydrogenace nitroaldolů 145 a 150

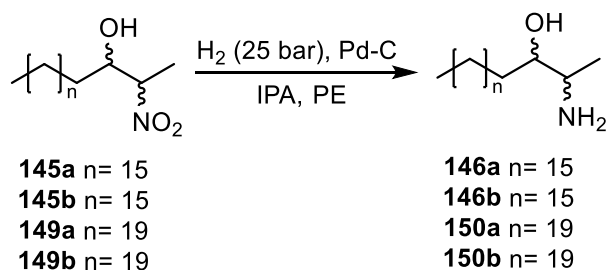


Schéma 35 Příprava 2-aminoalkan-3-olů 146 a 150

Stereoizomerní směs nitroaldolu **145a** resp. **145b** nebo **149a** resp. **149b** (3 mmol) byla rozpuštěna v 8 ml petroletheru a 7 ml IPA a následně byla převedena do nádoby v tlakovém reaktoru, která obsahovala magnetické míchadlo. Do nádoby v tlakovém reaktoru bylo následně přidáno 10% Pd/C (120 mg). Poté byla suspenze míchána při laboratorní teplotě po dobu 48 h v atmosféře H_2 (20 bar). Po reakci byla suspenze zfiltrována přes dvojitý skládaný filtrační papír a katalyzátor promyt petroletherem (50 ml). Dále byla rozpouštědla odstraněna na vakuové odparce a destilační zbytek byl vysušen za pomoci vakuové sušárny. Tímto postupem byly získány stereoizomerní směsi 2-aminoalkan-3-olů **146a**, **146b**, **150a** a **150b** v prakticky kvantitativních výtěžcích.^[4]

2.6. Syntéza 2-fenyloxazolinových derivátů 147 a 151

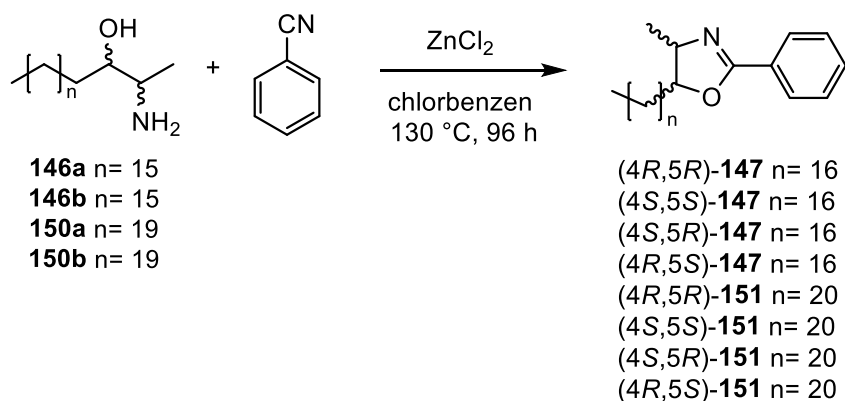
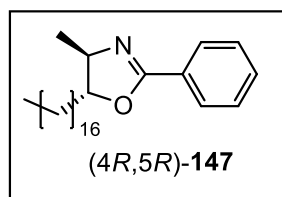


Schéma 36 Příprava 2-fenyloxazolinových derivátů 147 a 151

Do Schlenkovy baňky o objemu 25 ml byl předložen ZnCl_2 (3,3 mmol; 450 mg), který byl následně zahříván pod vakuem na teplotu 200–250 °C. Po roztavení a vysušení byl ZnCl_2 ochlazen pod atmosférou Ar a do baňky bylo přidáno magnetické míchadlo. Na hrdlo byl připevněn chladič s kohoutem. Poté byl pod nátokem argonu přes nálevku přidán roztok 2-aminoalkoholu **146a** resp. **146b** nebo **150a** resp. **150b** (1 mmol) v suchém chlorbenzenu (5 ml). K této směsi byl přidán benzonitril (155 mg; 1,5 mmol) a směs byla míchána pod atmosférou argonu po dobu 4 dní při teplotě 130 °C. Poté byla směs ochlazená na laboratorní teplotu a smíchána s 13% vodným roztokem NH_3 (10 ml). Vzniklá emulze byla míchána cca 30 min a poté byla převedena do dělicí nálevky o objemu 100 ml. Směs byla extrahována CH_2Cl_2 (3×10 ml). Spojené organické vrstvy byly promyty solankou (15 ml) a vysušeny bezvodným Na_2SO_4 . Rozpouštědla byla oddestilována za sníženého tlaku. Jednotlivé diastereoizomery v destilačním zbytku byly separovány pomocí sloupcové chromatografie.^[4]

(4R,5R)-2-Fenyl-4-methyl-5-heptadecyloxazolin (4R,5R-147)

Výtěžek: 59 %; bílá pevná látka; b.t.: 30–33 °C; $R_f = 0,21$ (SiO_2 ; *n*-hexan/ EtOAc (6/1; v/v));



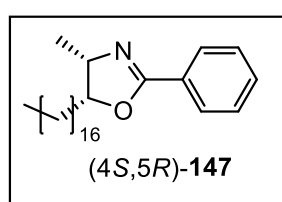
$[\alpha]_D^{25} = +27,9$ (c 0,42; CH_2Cl_2). $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ 7,94 (d, 2H, $J = 8,0$ Hz, Ar), 7,46 (t, 1H, $J = 7,0$ Hz, Ar), 7,40 (t, 2H, $J = 7,0$ Hz, Ar), 4,17 (q, 1H, $J = 6,7$ Hz CH), 3,90 (p, 1H, $J = 6,7$ Hz CH), 1,54–1,2 (m, 35H, $1 \times \text{CH}_3$, $16 \times \text{CH}_2$), 0,88 (t, 3H, $J = 6,7$ Hz, CH_3).

$^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, CDCl_3) δ 162,9; 131,3; 128,4; 128,3; 87,1; 67,4; 35,1; 32,1; 29,9–29,7; 29,6; 25,4; 22,9; 21,8; 14,3. **FT-IC (ATR):** ν_{max} 2956 (w), 2914 (s), 2848 (s), 1651 (m), 1624

(w), 1581 (w), 1471 (w), 1464 (w), 1452 (w), 1377 (w), 1334 (w), 1323 (w), 1292 (w), 1263 (w), 1254 (w), 1107 (w), 1088 (w), 1061 (m), 1028 (m), 993 (w), 974 (w), 960 (m), 928 (w), 893 (w), 779 (w), 727 (w), 719 (w), 690 (s), 675 (m). **HRMS-MALDI (DHB) m/z** : pro $C_{27}H_{45}NO$ vypočteno: 400,35740 $[M+H]^+$; nalezeno: 400,35673 $[M+H]^+$. Enantiomerní přebytek byl stanoven pomocí chirální kolony firmy Daicel: Chiralpak AD-H, 99,5/0,5 hexan/IPA; průtoková rychlost: 0,5 ml/min; $\lambda = 254$ nm; (4*R*,5*R*)-isomer $t_r = 16,24$ min; (4*S*,5*S*)-isomer $t_r = 17,13$ min.

(4*S*,5*R*)-2-Fenyl-4-methyl-5-heptadecyloxazolin (4*S*,5*R*-147)

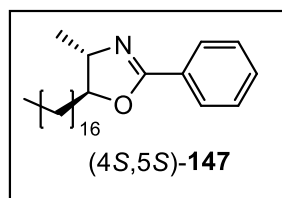
Výtěžek: 30 %; bílá pevná látka; b.t.: 42–45 °C; $R_f = 0,15$ (SiO₂; *n*-hexan/ EtOAc (6/1; v/v));



$[\alpha]_D^{25} = -6,3$ (*c* 0,43; CH₂Cl₂). **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ 7,94 (d, 2H, $J = 7,7$ Hz, Ar), 7,46 (t, 1H, $J = 7,3$ Hz, Ar), 7,4 (t, 2H, $J = 7,6$ Hz, Ar), 4,62 (td, $J = 9,4; 3,7$ Hz 1H, CH), 4,33 (p, $J = 7,0$ Hz, 1H, CH), 1,65–1,62 (m, 3H, CH₃), 1,48–1,19 (m, 32H, 16 × CH₂), 0,88 (t, 3H, $^3J = 6,8$ Hz, CH₃). **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃): δ 163,1; 131,3; 128,4; 128,3; 83,3; 63,5; 32,1; 29,9–29,7; 29,6; 27,1; 22,9; 15,9; 14,3. **FT-IČ (ATR)**: ν_{max} 2916 (s), 2848 (s), 1647 (m), 1579 (w), 1495 (w), 1468 (w), 1450 (w), 1356 (w), 1317 (w), 1294 (w), 1259 (w), 1093 (m), 1065 (m), 955 (w), 937 (w), 887 (w), 802 (m), 781 (w), 721 (w), 696 (s), 683 (m). **HRMS-MALDI (DHB) m/z** : pro $C_{27}H_{45}NO$ vypočteno: 400,35740 $[M+H]^+$; nalezeno: 400,35717 $[M+H]^+$. Enantiomerní přebytek byl stanoven pomocí chirální kolony firmy Daicel: Chiralpak AD-H, 99,5/0,5 hexan/IPA; průtoková rychlost: 0,5 ml/min; $\lambda = 254$ nm; (4*S*,5*R*)-isomer $t_r = 16,98$ min; (4*R*,5*S*)-isomer $t_r = 19,19$ min.

(4*S*,5*S*)-2-Fenyl-4-methyl-5-heptadecyloxazolin (4*S*,5*S*-147)

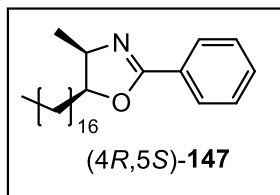
Výtěžek: 22 %; bílá pevná látka; $[\alpha]_D^{25} = -41,1$ (*c* 0,45; CH₂Cl₂). Body tání, ¹H, ¹³C NMR, IČ



spektra a HRMS-MALDI jsou identické se spektry sloučeniny (4*R*,5*R*-147). Enantiomerní přebytek byl stanoven pomocí chirální kolony firmy Daicel: Chiralpak AD-H, 99,5/0,5 hexan/IPA; průtoková rychlost: 0,5 ml/min; $\lambda = 254$ nm; (4*R*,5*R*)-isomer $t_r = 13,22$ min; (5*S*,4*S*)-isomer $t_r = 14,07$ min.

(4*R*,5*S*)-2-Fenyl-4-methyl-5-heptadecyloxazolin (4*R*,5*S*-147)

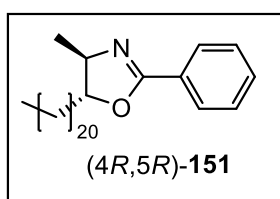
Výtěžek: 23 %; bílá pevná látka; $[\alpha]_D^{25} = +7,4$ (*c* 0,43; CH₂Cl₂). Body tání, ¹H, ¹³C NMR, IČ



spektra a HRMS-MALDI jsou identické se spektry sloučeniny (4*S*,5*R*-147). Enantiomerní přebytek byl stanoven pomocí chirální kolony firmy Daicel: Chiralpak AD-H, 99,9/0,1 hexan/IPA; průtoková rychlost: 0,5 ml/min; $\lambda = 254$ nm; (4*R*,5*S*)-isomer $t_r = 8,83$ min; (4*S*,5*R*)-isomer $t_r = 11,9$ min.

(4*R*,5*R*)-2-Fenyl-4-methyl-5-henikosyloxazolin (4*R*,5*R*-151)

Výtěžek: 35 %; bílá pevná látka; b.t.: 44–46 °C; $R_f = 0,25$ (SiO₂; *n*-hexan/ EtOAc (6/1; v/v));

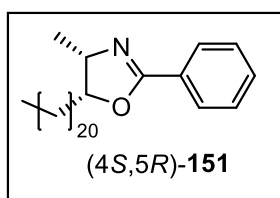


$[\alpha]_D^{25} = +33,6$ (*c* 0,45; CH₂Cl₂). ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 7,94 (d, 2H, $J = 7,1$ Hz, Ar), 7,46 (t, 1H, $J = 7,3$ Hz, Ar), 7,4 (t, 2H, $J = 7,3$ Hz, Ar), 4,17 (q, 1H, $J = 7,2$ Hz, CH), 3,9 (p, 1H, $J = 6,7$ Hz, CH), 1,53–1,19 (m, 43H, 1 × CH₃, 20 × CH₂), 0,88 (t, 3H, $J = 6,9$ Hz, CH₃). ¹³C

NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 162,9; 131,3; 128,4; 128,3; 87,1; 67,4; 35,1; 32,1; 29,9–29,6; 25,4; 22,9; 21,8; 14,3. FT-IČ (ATR): ν_{\max} 2958 (w), 2914 (s), 2848 (s), 1649 (m), 1471 (w), 1464 (w), 1454 (w), 1334 (w), 1298 (w), 1261 (w), 1109 (w), 1095 (w), 1076 (w), 1061 (m), 1026 (m), 974 (w), 960 (w), 941 (w), 928 (w), 893 (w), 802 (w), 781 (w), 729 (w), 719 (m), 692 (s), 677 (m). HRMS-MALDI (DHB) m/z : pro C₃₁H₅₃NO vypočteno: 456,42000 [M+H]⁺; nalezeno: 456,42009 [M+H]⁺. Enantiomerní přebytek byl stanoven pomocí chirální kolony firmy Daicel: Chiralpak AS-H, 99,9/0,1 hexan/IPA; průtoková rychlost: 0,5 ml/min; $\lambda = 254$ nm; (4*R*,5*R*)-isomer $t_r = 8,3$ min.

(4*S*,5*R*)-2-Fenyl-4-methyl-5-henikosyloxazolin (4*S*,5*R*-151)

Výtěžek: 38 %; bílá pevná látka; b.t.: 52–54 °C; $R_f = 0,19$ (SiO₂; *n*-hexan/ EtOAc (6/1; v/v));



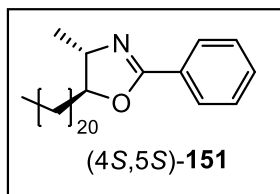
$[\alpha]_D^{25} = -5,6$ (*c* 0,45; CH₂Cl₂). ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 7,94 (d, 2H, $J = 7,1$ Hz, Ar), 7,46 (t, 1H, $J = 7,3$ Hz, Ar), 7,4 (t, 2H, $J = 7,4$ Hz, Ar), 4,62 (td, 1H, $J = 9,4, 3,6$ Hz, CH), 4,33 (m, 1H, CH), 1,45–1,21 (m, 43H, 1 × CH₃, 20 × CH₂), 0,88 (t, 3H, $J = 6,9$ Hz, CH₃). ¹³C NMR

(126 MHz, CDCl₃) 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_{\max} 2914 (s), 2848 (s), 1645 (m), 1495 (w), 1469 (m), 1450 (w), 1356 (w), 1296 (w), 1261 (w), 1099 (w), 1084 (m), 1066 (m), 1024 (w), 955 (w), 937 (w), 903 (w), 889 (w), 816 (w), 800 (w), 781 (w), 717 (m), 696 (s). HRMS-MALDI (DHB) m/z : pro

$C_{31}H_{53}NO$ vypočteno: 456,42000 $[M+H]^+$; nalezeno: 456,41969 $[M+H]^+$. Enantiomerní přebytek byl stanoven pomocí chirální kolony firmy Daicel: Chiralpak AS-H, 99,9/0,1 hexan/IPA; průtoková rychlost: 0,3 ml/min; $\lambda = 254$ nm; (4*R*,5*S*)-isomer $t_r = 14,87$ min; (4*S*,5*R*)-isomer $t_r = 19,23$ min.

(4*S*,5*S*)-2-Fenyl-4-methyl-5-henikosyloxazolin (4*S*,5*S*-151)

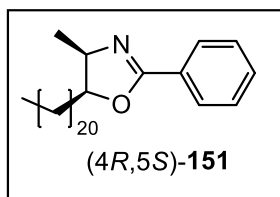
Výtěžek: 33 %; bílá pevná látka; $[\alpha]_D^{25} = -35,2$ (c 0,43; CH_2Cl_2). Body tání, 1H , ^{13}C NMR, IČ



spektra a HRMS-MALDI jsou identické se spektry sloučeniny (4*R*,5*R*-151). Enantiomerní přebytek byl stanoven pomocí chirální kolony firmy Daicel: Chiralpak AS-H, 99,9/0,1 hexan/IPA; průtoková rychlost: 0,5 ml/min; $\lambda = 254$ nm; (4*S*,5*S*)-isomer $t_r = 8,82$ min; (4*R*,5*R*)-isomer $t_r = 11,88$ min.

(4*R*,5*S*)-2-Fenyl-4-methyl-5-henikosyloxazolin (4*R*,5*S*-151)

Výtěžek: 26 %; bílá pevná látka; $[\alpha]_D^{25} = +7,3$ (c 0,43; CH_2Cl_2). Body tání, 1H , ^{13}C NMR, IČ



spektra a HRMS-MALDI jsou identické se spektry sloučeniny (4*S*,5*R*-151). Enantiomerní přebytek byl stanoven pomocí chirální kolony firmy Daicel: Chiralpak AS-H, 99,9/0,1 hexan/IPA; průtoková rychlost: 0,5 ml/min; $\lambda = 254$ nm; (4*R*,5*S*)-isomer $t_r = 14,95$ min; (4*S*,5*R*)-isomer $t_r = 20,59$ min.

2.7. Obecný postup pro hydrolýzu oxazolinových derivátů 147 a 151

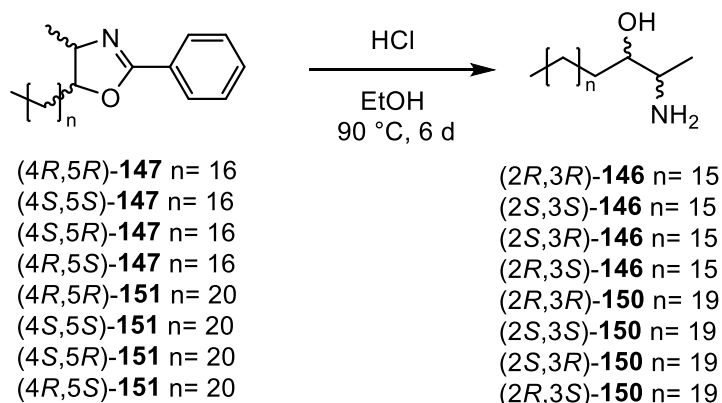
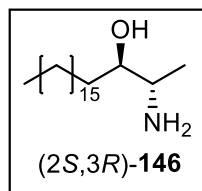


Schéma 37 Hydrolýza oxazolinových derivátů 147 a 151

Do 25 ml kulaté baňky s magnetickým míchadlem, teflonovou vložkou a zpětným chladičem byl předložen příslušný stereoizomer oxazolinu **147** resp. **151** (0,5 mmol). Dále byl přidán EtOH (2 ml), směs byla zahřáta na 80 °C a poté byla přidána 35% HCl (2 ml). Následně byla směs zahřívána při 90 °C po dobu 6 dnů. Po reakci byla rozpouštědla a HCl odpařena na vakuové odparce. Poté bylo ke směsi přidáno (2 × 10 ml) etheru a následně byla suspenze dekantována. Pevný podíl byl smíchán s 20 ml vodného 2,5M NaOH a výsledná směs byla extrahována CH₂Cl₂ (3 × 15 ml). Spojené organické vrstvy byly extrahovány dest. H₂O (3 × 15 ml) a vysušeny bezv. Na₂SO₄. Rozpouštědlo bylo oddestilováno za sníženého tlaku s využitím vakuové odparky.

(2*S*,3*R*)-2-aminoikosan-3-ol (2*S*,3*R*)-(146)

Výtěžek: 84 %; bílá pevná látka; b.t.: 84–85 °C; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +8,8$ (*c* 0,4; CH₂Cl₂). ¹H NMR (500

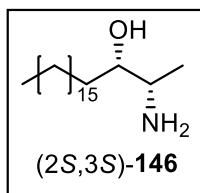


MHz, CDCl₃): δ 3,43 (m, 1H, CHOH), 2,72 (m, 1H, CHNH₂), 1,96 (bs, 3H, OH+NH₂), 1,34–1,2 (m, 32H, 16 × CH₂), 1 (d, 3H, *J* = 6,5 Hz, CH₃), 0,87 (t, 3H, *J* = 6,9 Hz, CH₃). ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃): δ 74,9; 50,5; 32,7; 32,1; 30,0; 29,9; 29,8; 29,5; 26,4; 22,9; 17,1; 14,3. FT-IČ (ATR): ν_{max} 3330 (w),

2952 (w), 2914 (s), 2848 (s), 1612 (w), 1576 (m), 1552 (w), 1485 (w), 1469 (m), 1388 (w), 1369 (m), 1292 (w), 1440 (w), 1082 (w), 997 (w), 966 (w), 818 (w), 719 (m). HRMS-MALDI (DHB) *m/z*: pro C₂₀H₄₃NO vypočteno: 314,34175 [M+H]⁺; nalezeno: 314,34199 [M+H]⁺.

(2S,3S)-2-aminoikosan-3-ol (2S,3S)-(146)

Výtěžek: 84 %; bílá pevná látka; b.t.: 83–84 °C; $[\alpha]_D^{25} = -5,2$ (*c* 0,44; CH₂Cl₂). ¹H NMR (500

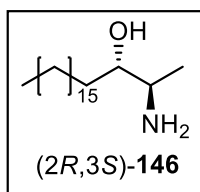


MHz, CDCl₃): δ 3,15 (m, 1H, CHOH), 2,96 (m, 1H, CHNH₂), 1,73 (bs, 3H, OH+NH₂), 1,36–1,18 (m, 32H, 16× CH₂), 1,08 (d, 3H, *J* = 6,1 Hz, CH₃), 0,87 (t, 3H, *J* = 7 Hz, CH₃). ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃): δ 75,9; 51,3; 34,4; 32,1; 30,0; 29,9; 29,8; 29,5; 26,0; 22,9; 21,2; 14,3. FT-IČ (ATR): ν_{\max} 3354 (w),

3286 (w), 3083 (w), 2985 (w), 2952 (w), 2914 (s), 2870 (m), 2848 (s), 2748 (w), 1595 (w), 1468 (m), 1379 (w), 1358 (w), 1333 (w), 1134 (w), 1111 (w), 1081 (s), 1051 (w), 997 (m), 945 (w), 918 (w), 899 (w), 841 (w), 721 (m). HRMS-MALDI (DHB) *m/z*: pro C₂₀H₄₃NO vypočteno: 314,34175 [M+H]⁺; nalezeno: 314,34139 [M+H]⁺.

(2R,3S)-2-aminoikosan-3-ol (2R,3S)-(146)

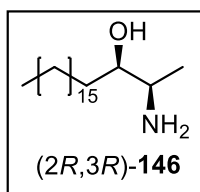
Výtěžek: 81 %; bílá pevná látka; $[\alpha]_D^{25} = -9,5$ (*c* 0,44; CH₂Cl₂). Body tání, ¹H, ¹³C NMR, IČ



spektra a HRMS-MALDI jsou identické se spektry sloučeniny (2S,3R-146)

(2R,3R)-2-aminoikosan-3-ol (2R,3R)-(146)

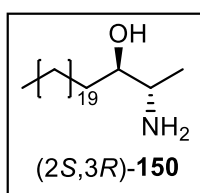
Výtěžek: 83 %; bílá pevná látka; $[\alpha]_D^{25} = +5,6$ (*c* 0,43; CH₂Cl₂). Body tání, ¹H, ¹³C NMR, IČ



spektra a HRMS-MALDI jsou identické se spektry sloučeniny (2S,3S-146).

(2S,3R)-2-aminotetrakosan-3-ol (2S,3R)-(150)

Výtěžek: 88 %; bílá pevná látka; b.t.: 79–80 °C; $[\alpha]_D^{25} = +7,1$ (*c* 0,24; CH₂Cl₂). ¹H NMR (500



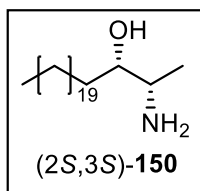
MHz, CDCl₃): δ 3,43 (dt, 1H, *J* = 8,0; 3,9 Hz, CHOH), 2,97 (m, 1H, CHNH₂), 1,62 (bs, 3H, OH+NH₂), 1,38–1,22 (m, 40H, 20× CH₂), 1 (d, 3H, *J* = 6,5 Hz, CH₃), 0,88 (t, 3H, *J* = 6,9 Hz, CH₃). ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃): δ 74,9; 50,5; 32,6; 32,1; 30,0; 29,9; 29,8; 29,6; 26,4; 22,9; 17,1; 14,3. FT-IČ (ATR):

ν_{\max} 3319 (w), 3261 (w), 3071 (w), 2982 (w), 2954 (w), 2914 (s), 2848 (s), 2727 (w), 1603 (w), 1469 (m), 1398 (w), 1369 (w), 1155 (w), 1092 (w), 1055 (w), 1038 (w), 1011 (w), 995 (w), 982

(w), 818 (w), 719 (m). **HRMS-MALDI (DHB) m/z** : pro $C_{24}H_{51}NO$ vypočteno: 370,40435 $[M+H]^+$; nalezeno: 370,40433 $[M+H]^+$.

(2S,3S)-2-aminotetrakosan-3-ol (2S,3S)-(150)

Výtěžek: 83 %; bílá pevná látka; b.t.: 88–89 °C; $[\alpha]_D^{25} = -3,3$ (c 0,22; CH_2Cl_2). **1H NMR** (500



MHz, $CDCl_3$): δ 3,16 (m, 1H, $CHOH$), 2,72 (m, 1H, $CHNH_2$), 1,81 (bs, 3H, $OH+NH_2$), 1,55–1,17 (m, 40H, $20 \times CH_2$), 1,10 (d, 3H, $J = 6,2$ Hz, CH_3), 0,87 (t, 3H, $J = 6,8$ Hz, CH_3). **^{13}C NMR** (126 MHz, $CDCl_3$): δ 75,9; 51,3; 34,4;

32,1; 30,0; 29,9; 29,6; 26,0; 22,9; 21,3; 14,3. **FT-IC (ATR)**: ν_{max} 3354 (w),

3286 (w), 2985 (w), 2952 (w), 2914 (s), 2848 (s), 2746 (w), 1595 (w), 1468 (m), 1377 (w),

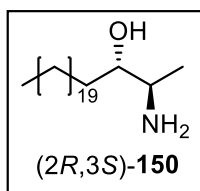
1333 (w), 1134 (w), 1117 (w), 1082 (m), 1036 (w), 1001 (m), 945 (w), 922 (w), 904 (w), 839

(w), 719 (m). **HRMS-MALDI (DHB) m/z** : pro $C_{24}H_{51}NO$ vypočteno: 370,40435 $[M+H]^+$;

nalezeno: 370,40435 $[M+H]^+$.

(2R,3S)-2-aminotetrakosan-3-ol (2R,3S)-(150)

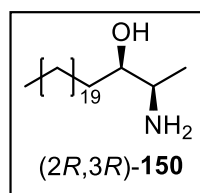
Výtěžek: 84 %; bílá pevná látka; $[\alpha]_D^{25} = -7,7$ (c 0,24; CH_2Cl_2). Body tání, 1H , ^{13}C NMR, IČ



spektra a HRMS-MALDI jsou identické se spektry sloučeniny (2S,3R-150)

(2R,3R)-2-aminotetrakosan-3-ol (2R,3R)-(150)

Výtěžek: 85 %; bílá pevná látka; $[\alpha]_D^{25} = +4,2$ (c 0,2; CH_2Cl_2). Body tání, 1H , ^{13}C NMR, IČ



spektra a HRMS-MALDI jsou identické se spektry sloučeniny (2S,3S-150).

3. VÝSLEDKY A DISKUZE

3.1. Důvod syntézy 2-aminoikosan-3-olu (146) a 2-aminotetrakosan-3-olu (150)

Záměrem diplomové práce bylo připravit a charakterizovat dva 1-deoxysfingosinové deriváty – 2-aminoikosan-3-ol (146) a 2-aminotetrakosan-3-ol (150) – v enantiomerně čistých formách. Vzhledem k tomu, že tyto deriváty sfingosinu obsahují dvě stereogenní centra, bylo nezbytné při jejich přípravě využít asymetrické syntézy. Diplomová práce tedy navazuje na mou bakalářskou práci,^[4] ve které jsem se zabýval syntézou uvedených dvou sloučenin v racemické formě. V rámci bakalářské práce však nebyla ověřena celá reakční sekvence vedoucí k 2-aminoalkan-3-olům, neboť závěrečný krok syntézy, tj. hydrolýza 2-fenyloxazolinových derivátů na finální 2-aminoalkoholy nebyl z časových důvodů optimalizován z pohledu vhodných reakčních podmínek.

Kapitola Teoretická část této diplomové práce uvádí, že 1-deoxysfingosinové deriváty tvoří zajímavou skupinu látek s vysokým potenciálem pro medicínální aplikaci. Atraktivní je především antiproliferativní aktivita vůči nádorovým buňkám, dále pak vysoká míra antimikrobiálního a antifungálního působení. Práce tedy volně navazuje na dřívější úspěšný výzkum, který byl věnován jiným dvěma 1-deoxysfingosinovým derivátům – Clavaminolu A ((2*R*,3*S*)-2-aminododekan-2-ol) a Xestoaminolu C ((2*S*,3*R*)-2-aminotetradekan-2-ol), a jejich stereoizomerům. U jednotlivých stereoizomerů 2-aminododekan-2-olu a 2-aminotetradekan-2-olu byla testována jejich cytotoxicita na vybraných liniích nádorových buněk, konkrétně 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). Ze získaných hodnot inhibičních koncentrací bylo vyhodnoceno, že stereoizomery 2-aminotetradekan-3-olu poskytují vyšší hodnoty cytotoxicity než stereoizomery 2-aminododekan-3-olu (**Tabulka 3**), myšleno při porovnání daného typu stereoizomeru. Rovněž bylo zjištěno, že stereoizomery s relativní konfigurací *syn*-, a to v případě obou typů studovaných 2-aminoalkan-2-olu, vykazovaly výraznější cytotoxickou aktivitu než příslušné stereoizomery s *anti*-konfigurací. Na druhou stranu, pro jednotlivé dvojice enantiomerů byly stanoveny téměř shodné hodnoty IC₅₀. Tento fakt platí pro všechny typy diastereoizomerů (*syn*-/*anti*-) a typy derivátů. Cytotoxické vlastnosti u 2-aminododekan-2-olu resp. 2-aminotetradekan-2-olu tedy závisí na jejich relativní konfiguraci, avšak samotná absolutní konfigurace na stereogenních centrech v rámci daného diastereoizomeru cytotoxicitu

neovlivňuje. Toto zjištění lze vnímat pozitivně, neboť stejného účinku lze dosáhnout jak s enantiomerně čistou, tak i racemickou formou dané sloučeniny (diastereoizomeru). Vzhledem k faktu, že racemát sloučeniny je výrazně snadněji připravitelný než enantiomerně čistá forma, je uvedené zjištění důležité z hlediska ekonomické stránky jejich produkce.

Významný vliv výše uvedených strukturních faktorů, tzn. absolutní a relativní konfigurace na stereogenních centrech a typ alkylového řetězce, na cytotoxicitu daného 1-deoxysfingosinového derivátu, byl proto ověřován v rámci této diplomové práce, a to na dalších dvou derivátech 2-aminoalkan-3-olu. Význam jejich přípravy spočívá především v tom, že 1-deoxysfingosinové deriváty představují potenciální cytostatika a lze je tedy považovat za zajímavou skupinu sloučenin ve výzkumu protinádorové léčby.

Tabulka 3 Přehled cytotoxicity jednotlivých stereoizomerů Clavaminolu A a Xestoaminolu C

Tabulka byla převzata z literatury^[22,23]

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

^a Hodnoty cytotoxické aktivity jsou vyjádřeny ve formě IC₅₀ ± SD (ze tří nezávislých měření) po 24 h působení.

3.2. Syntéza oktadekanalu (144) a dokosanalu (148)

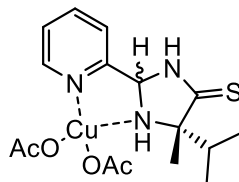
Při syntéze 1-deoxysfingosinové derivátů – 2-aminoikosan-3-olu (**146**) a 2-aminotetrakosan-3-olu (**150**) – jsem vycházel z komerčně dostupného a relativně levného stearylalkoholu (**169**) resp. dokosan-1-olu (**170**). Parikh-Doeringovou oxidací těchto alkoholů jsem v prvním syntetickém kroku připravil odpovídající aldehydy, tj. oktadekanal (**144**) resp. dokosanal (**148**). Reakce jsem provedl za stejných reakčních podmínek, které byly popsány v bakalářské práci.^[4] Jako vedlejší produkt Parikh-Doeringovy oxidace vznikal příslušný *S*-(methylsulfanylmethyl)ether, a to obvykle v množství cca 5–10 %. Tuto sloučeninu, která představuje dle chemické struktury thioacetal formaldehydu, jsem odstranil od požadovaného

aldehydového produktu pomocí sloupcové chromatografie. Na rozdíl od přípravy aldehydů popsané v bakalářské práci, považuji separaci sirného vedlejšího produktu za nezbytnou operaci, neboť další krok, tj. asymetrická Henryho reakce, probíhá za katalýzy komplexem přechodného kovu. Její přítomnost ve výchozím substrátu (aldehydu) by mohla působit jako tzv. katalytický jed, a tím negativně ovlivňovat průběh kovem katalyzované Henryho reakce. Aldehydy **144** resp. **148** jsem připravil jako bezbarvé amorfní sloučeniny, které je možné skladovat za chladu po dobu několika měsíců bez známek oxidace.

3.3. Syntéza 2-nitroikosan-3-olu (**145**) a 2-nitrotetrakosan-3-olu (**149**) v neracemické formě

Klíčovým faktorem asymetrické syntézy 2-nitroikosan-3-olu (**145**) a 2-nitrotetrakosan-3-olu (**149**) v co nejvyšším enantiomerním přebytku, byla volba vhodného enantioselektivního katalyzátoru. Pro potřeby následné biologické studie bylo cílem připravit 1-deoxysfingosinové deriváty s enantiomerní čistotou min 90 % *ee*, tj max. 5% zastoupení opačného enantiomeru ve směsi.

Na základě výsledků testování různých typů enantioselektivních katalyzátorů asymetrické Henryho reakce, provedené v rámci dřívější studie zabývající se přípravou Clavaminolu A a Xestoaminolu C,^[23] jsem nejprve použil 2-(pyridin-2-yl)imidazolidin-4-thionový katalyzátor^[23] (**Obr. 6**).

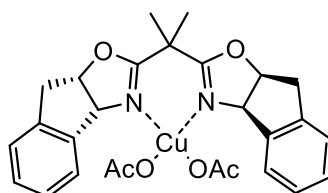


Obrázek 6 Struktura 2-(pyridin-2-yl)imidazolidin-4-thionového katalyzátoru

Jak již bylo zjištěno v rámci bakalářské práce,^[4] Henryho reakci nitroethanu s oktadekanalem (**144**) resp. dokosanalem (**148**) nelze provést v obvyklých alkoholových rozpouštědlech (EtOH, IPA), neboť v nich jsou výchozí substráty velmi málo rozpustné. V bakalářské práci byl jako vhodné rozpouštědlo použito CH_2Cl_2 . Při aplikaci uvedeného komplexu (2*R*,5*S*)-5-isopropyl-5-methyl-2-(pyridin-2-yl)imidazolidin-4-thionu s $\text{Cu}(\text{OAc})_2$ v tomto prostředí však reakce dokosanalů (**148**) s nitroethanem probíhala velmi pomalu. Stanovená konverze po 30 dnech při 6 °C byla pouze 20 %. Produkt jsem izoloval sloupcovou chromatografií a stanovil enantiomerní přebytek, který byl pouze 6 % *ee* pro majoritní diastereoizomer (*syn*-). Získal jsem tedy prakticky racemický produkt. Důvodem byla

pravděpodobně nízká rozpustnost katalyzujícího komplexu, který se za podmínek reakce vyloučil z reakční směsi a vytvořil koloidní směs. Henryho reakce tedy probíhala za katalýzy jiných (neracemických) katalytických species.

V dalším výzkumu jsem pro asymetrickou Henryho reakci použil chirální bisoxazolinový komplex (**Obr. 7**), který je snadno připravitelný v obou enantiomerních formách z relativně dostupných sloučenin.^[51]

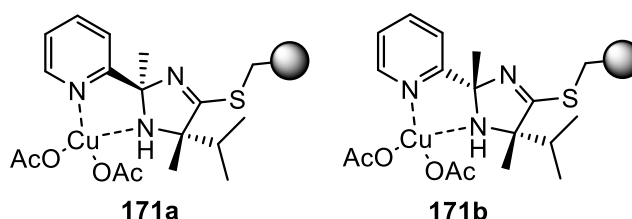


Obrázek 7 Struktura chirálního bisoxazolinového komplexu

Tento enantioselektivní katalyzátor byl v předchozí publikaci popisující přípravu Clavaminolu A a Xestoaminolu C^[23] vyhodnocen jako vysoce účinný (enantioselektivita ~ 90 % *ee*). Navíc, poskytoval oba diastereoizomery *syn*- a *anti*- v prakticky stejném zastoupení, což je žádoucí, neboť cílem je příprava všech čtyř konfiguračních izomerů. Zamýšlená syntetická sekvence vedoucí k cílovým 2-aminoalkan-3-olům by se tak zkrátila o reakční krok, ve kterém se provádí epimerizace nitroaldolů za vzniku rovnovážné směsi diastereoizomerů *syn*- a *anti*-.^[23] Reakce dokosanalu (**148**) s nitroethanem proběhla za 12 dní při 6 °C (reakční podmínky převzaty z lit.^[23]) s 38% výtěžkem a neuspokojivou enantioselektivitou 70 % *ee*. Analogická reakce oktadekanalu (**144**) s nitroethanem poskytla za stejných reakčních podmínek výtěžek 52 %. Enantiomerní přebytek byl v případě *syn*-diastereoizomeru 67 % *ee* a v *anti*-diastereoizomeru pouhých 60 % *ee*. V případě těchto dvou asymetrických Henryho reakcí se potvrdilo, že měďnaté komplexy chirálních bisoxazolinů poskytují nejvyšší enantioselektivitu v alkoholických rozpouštědlech, zatímco v mnou použitým CH₂Cl₂ je obvykle nižší.^[52] Použití tohoto bisoxazolinového komplexu tedy nebylo pro syntézu 2-aminoalkan-3-olů vhodné, a bylo nutné použít jiný katalytický systém.

Následně jsem testoval katalýzu asymetrické Henryho reakce aldehydů **144** resp. **148** s nitroethanem jiným vysoce účinným enantioselektivním katalyzátorem, který v předchozí studii^[23] rovněž poskytoval 2-nitroalkan-3-oly s vysokým enantiomerním přebytkem (~ 90 % *ee*). Tento katalyzátor patří do kategorie heterogenních recyklovatelných forem, jeho podstatou je měďnatý komplex 2-(pyridin-2-yl)imidazolidin-4-thionu ukotvený na polymerní (polystyrenový) nosič. Na rozdíl od homogenní varianty, kterou jsem použil v prvních

pokusech, nebylo zde potřeba řešit problematiku rozpustnosti katalyzátoru v CH₂Cl₂, neboť samotné polymerní částice vykazují v tomto rozpouštědle vysokou botnavost. Uvedený katalyzátor jsem připravil podle literatury v množství cca 1 g.^[23] Pro syntézu jednotlivých typů enantiomerů nitroaldolů lze využít obě epimerní formy katalyzátoru (**Obr. 8**), které se získávají v průběhu jejich syntézy - dělením epimerů 2-(pyridin-2-yl)imidazolidin-4-thionu.



Obrázek 8 Epimerní formy heterogenního katalyzátoru

Aplikací tohoto typu katalyzátoru jsem dosáhl za 14 dní při teplotě 6 °C uspokojivé konverze (65–85%) a zároveň jsem dosáhl požadované enantioselektivity. Hodnoty enantiomerní přebytků se pro *anti*-diastereoizomery pohybovaly v rozmezí 83–88 % *ee* a pro *syn*-diastereoizomery v rozmezí 89–91 %, což odpovídá srovnatelné enantioselektivitě, dosažené v předchozí studii (84 % *ee* pro *anti*-; 92 % *ee* pro *syn*-).^[23] Zde je třeba poznamenat, že *syn*-diastereoizomery, získané s vyšší hodnotou *ee*, byly majoritním izomerem, což při následné epimeraci vede k obohacení *anti*-diastereoizomeru o požadovaný enantiomer (zvýšení jejich *ee*). Nicméně poměr diastereoizomerů byl v případě 2-nitroikosan-3-olu (**145**) resp. 2-nitrotetrakosan-3-olu (**149**) cca 2/1 (*syn*-/*anti*-), na rozdíl od přípravy 2-nitrododekan-3-olu resp. 2-nitrotetradekalanu^[23], kdy byl poměr přibližně 4/1 (*syn*-/*anti*-). Důvodem je zřejmě vliv rozpouštědla, tj. použití CH₂Cl₂ místo IPA.

Epimeraci 2-nitroikosan-3-olu (**145**) resp. 2-nitrotetrakosan-3-olu (**149**) jsem provedl za podmínek převzatých z literatury.^[23] Působení ekvimolárního množství 1,4-dimethylpiperazinu na suspenzi nitroaldolu **145** resp. **149** v IPA vedlo po 3 dnech při laboratorní teplotě k vzniku směsi diastereoizomerů (*anti*-/*syn*-) v poměru 1/1. Bylo rovněž provedeno stanovení enantiomerních přebytků v této směsi, přičemž byly nalezeny hodnoty 88–90 % *ee*. Testoval jsem rovněž epimeraci nitroaldolu **145** resp. **149** s použitím jiné báze, a to *N*-methylmorfolinu. Jeho bazicita je nižší ve srovnání s 1,4-dimethylpiperazinem (*pK_a* 7,38 vs. 8,31), avšak má nižší bod varu (115 °C vs. 132 °C), a proto se lépe odstraňuje z reakční směsi. Epimerace proběhla během tří dnů za vzniku poměru epimerů 1/1, přičemž vznikly cca 3–4 % aldehydu **144** resp. **148**, jakožto produktů zpětné Henryho reakce. Toto množství je

srovnatelné s případem epimerace, která je provedena pomocí 1,4-dimethylpiperazinu. Uvedené stopové zastoupení aldehydu **144** resp. **148** v nitroaldolu **145** resp. **149** jsem již neseparoval, neboť v dalším kroku (hydrogenaci) se pravděpodobně přeměňuje na primární alkohol. Ten je oddělen chromatograficky při separaci 2-fenyloxazolinových derivátů.

3.4. Syntéza stereoizomerů 2-fenyloxazolinových derivátů **147** a **151**

Hydrogenační reakce nitroaldolu **145** resp. **149** jsem provedl za reakčních podmínek uvedených v bakalářské práci (tlak vodíku 20 bar; 1,5 mol % Pd/C (10%); petrolether/IPA (1/1); 48 h).^[4] Výtěžek hydrogenace byl za těchto reakčních podmínek kvantitativní. Nicméně, v jednom případě, u hydrogenace směsi (2*R*,3*S*)- a (2*S*,3*S*)-2-nitroikosan-3-olu (**145**), došlo z důvodu netěsnosti hlavy tlakového reaktoru k rychlému poklesu tlaku vodíku na cca 1 bar. Hydrogenace za těchto podmínek probíhala pomalu. Po 72 h byl v reakční směsi identifikován nejen nezreagovaný nitroaldol **145b**, nýbrž i významné množství stearylalkoholu (**169**). Jeho vznik v reakční směsi lze vysvětlit hydrogenací oktadekanalu (**144**), který je produktem rozkladu 2-nitroikosan-3-olu (**145**) (zpětná Henryho reakce). Rozklad byl pravděpodobně způsoben částečně vzniklým 2-aminoikosan-3-olem (**146**) (očekávaný produkt hydrogenace), který je dostatečně silnou bází, katalyzující zpětnou Henryho reakci. Z tohoto zjištění jsem dospěl k závěru, že hydrogenaci je nutné provést za vysokého tlaku vodíku, aby hydrogenační reakce probíhala dostatečně rychle a nedošlo tak k významnému rozkladu nitroaldolu.

Následně jsem epimerní směsi 2-aminoikosan-3-olu (**146**) resp. 2-aminotetrakosan-3-olu (**150**) chemicky modifikoval na 2-fenyloxazolinové deriváty, jejichž příslušné *cis*- a *trans*-formy jsou separovatelné sloupcovou chromatografií. Reakční podmínky a syntetická procedura byla již optimalizována v rámci bakalářské práce.^[4] Vlastní chemické transformace proběhly v případě neracemických forem ve srovnatelném výtěžku, jaké byly dosaženy s racemickými formami.^[4] Výjimkou byla syntéza 2-fenyloxazolinů (4*R*,5*S*)- a (4*S*,5*S*)-**147**, které jsem získal v souhrnném výtěžku pouze 45 % ((4*R*,5*S*)- 23 % a (4*S*,5*S*)- 22 %). Důvodem byla přítomnost stearylalkoholu (**169**) ve výchozím 2-aminoikosan-3-olu (**146**), způsobena provedením hydrogenace za nízkého tlaku, viz diskuze výše. Separace *cis*- a *trans*-izomerů 2-fenyloxazolinů **135** resp. **141** se mi podařilo separovat sloupcovou chromatografií kvantitativně. Čistota byla ověřena pomocí ¹H NMR spektroskopie, a pomocí chirální HPLC bylo zjištěno, že v průběhu hydrogenace a syntézy 2-fenyloxazolinových derivátů nedošlo k enantiomerizaci sloučenin. Stanovením specifické optické otáčivosti bylo zjištěno, že 2-fenyloxazolinové deriváty s relativní konfigurací *trans*- vykazují vyšší hodnoty než příslušné

deriváty s konfigurací *cis*-. Tento jev byl pozorován rovněž u jiných 2-fenyloxazolinů, odvozených od 2-aminododekan-3-olu a 2-aminotetradekan-3-olu.^[23]

3.5. Syntéza stereoizomerů 2-aminoikosan-3-olu (146) a 2-aminotetrakosan-3-olu (150) – studium hydrolyzy 2-fenyloxazolinů 147 a 151

Z literatury je známo, že hydrolyzu 2-fenyloxazolinových derivátů na příslušné 2-aminoalkan-3-oly lze provést v prostředí 36% HCl aq./EtOH.^[23] V případě syntézy 2-aminododekan-3-olu a 2-aminotetradekan-3-olu byly nalezeny reakční podmínky (6M HCl v EtOH; 90 °C; 72 h), které vedly k úplné konverzi oxazolinu na 2-aminoalkohol.^[23] V bakalářské práci jsem však zjistil, že v případě 2-fenyloxazolinu **151** za těchto podmínek probíhá reakce pomaleji, neboť kromě požadovaného 2-aminotetrakosan-3-olu (**150**) byl získán rovněž meziprodukt reakce – *N*-benzoyl-2-aminotetrakosan-3-ol. Optimalizace reakčních podmínek hydrolyzy oxazolinových derivátů **147** resp. **151** nebyla v rámci bakalářské práce z časových důvodů provedena, a proto byla předmětem této práce.

Pro optimalizační studii jsem využil snadno dostupnou racemickou formu a prováděl ji přednostně na 2-fenyloxazolinovém derivátu **151**, neboť tato látka vykazuje výrazně nepolární fyzikálně-chemické vlastnosti. Z tohoto důvodu jsem očekával, že průběh reakce v silně polárním prostředí bude problematický, zejména z hlediska rozpustnosti substrátu. Derivát **147** lze rovněž považovat za sloučeninu s nepolárním fyzikálně-chemickým charakterem, nicméně vzhledem ke kratšímu alkylovému řetězci v pozici 5- ve srovnání s oxazolinem **151** by jeho afinita k polárnímu prostředí neměla být horší.

Cílem optimalizace bylo provést reakci v homogenním prostředí, což vyžadovalo nalézt takové organické rozpouštědlo, ve kterém by byly rozpustné oxazolinové deriváty **147** resp. **151**. Zároveň mělo být neomezeně mísitelné s vodou a inertní vůči HCl za zvýšené teploty (>80 °C). Testoval jsem proto hydrolyzu oxazolinu **151** ve směsi 36% HCl/DMSO (1/2). V tomto prostředí vznikla homogenní reakční směs, avšak po 72 h při teplotě 90 °C jsem zjistil, že ve směsi vzniká neidentifikovatelná směs produktů. Pravděpodobně došlo k částečnému rozkladu rozpouštědla a rozkladné produkty poté reagovaly se vznikajícím 2-aminoalkoholem. Jiný homogenní reakční systém se mi nepodařilo nalézt, a proto jsem kyselou katalyzovanou hydrolyzu dále prováděl v původně používaném EtOH.

Identifikací reakční směsi po hydrolyze za daných reakčních podmínek (6M HCl v EtOH; 90 °C; 72 h) jsem zjistil, že obsahuje kromě požadovaného 2-aminoalkoholu,

meziproduktu – *N*-benzoyl-2-aminotetrakosan-3-olu a stopového množství výchozího oxazolinu, rovněž kyselinu benzoovou a ethyl-benzoát (**Schéma 38**).

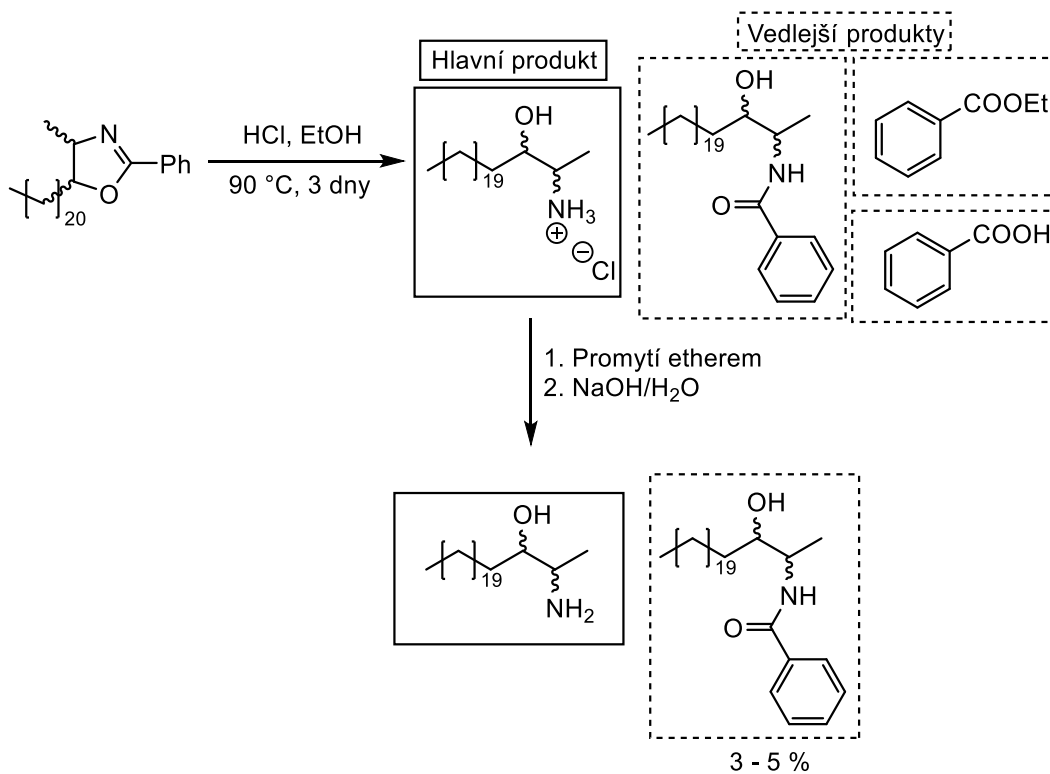


Schéma 38 Reakční schéma hydrolyzy 2-fenyloxazolinových derivátů

V následujících pokusech jsem tedy nejprve provedl separaci kys. benzoové a ethyl-benzoátu, kterou lze provést promytím reakční směsi etherem. Poté jsem se zaměřil na hydrolyzu přítomného *N*-benzoyl-2-aminotetrakosan-3-olu v produktu, a to v bazickém prostředí. Testoval jsem různé reakční systémy, např. směs 35% NaOH aq./dioxan, 35% NaOH aq./IPA, 35% NaOH aq./DMSO nebo 35% NaOH aq./*t*-BuOH, avšak v žádném z nich nedošlo k hydrolyze amidu na 2-aminoalkohol. Úspěšný byl pouze pokus provedený v prostředí 35% NaOH aq./EtOH. Nicméně, požadovaný 2-aminoalkohol byl kontaminován jiným vedlejším produktem. Dle analýzy ¹H NMR spektroskopií jsem usoudil, že se jedná pravděpodobně o derivát oxazolidinu, který mohl vzniknout kondenzací acetaldehydu s 2-aminoalkoholem (**Schéma 39**). Tomu odpovídaly chemické posuny signálů nečistoty, např. q při δ 4,61 ppm, který by mohl příslušet atomu vodíku v poloze 2-oxazolidinového cyklu.

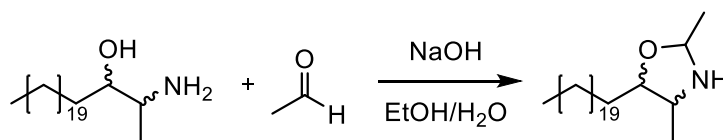


Schéma 39 Předpokládaná vedlejší reakce vedoucí k 2-oxazolidinovému cyklu

Přítomnost acetaldehydu v ethanolu technické kvality nelze vyloučit. Rozhodl jsem se proto daný pokus zopakovat s ethanolem, který byl zbaven acetaldehydu podle literárního postupu.^[53] Zjistil jsem však, že i v tomto případě došlo ke vzniku oxazolidinové nečistoty. Stejného výsledku jsem dosáhl i v případě, kdy jsem použil ethanol kvality pro spektroskopii. Z těchto pokusů vyplývá, že acetaldehyd vzniká až v průběhu reakce. Tento předpoklad je v souladu s dalším pokusem, ve kterém jsem provedl hydrolyzu *N*-benzoyl-2-aminotetrakosan-3-olu v prostředí 35% NaOH aq./MeOH. Zde rovněž byla pomocí ¹H NMR spektroskopie identifikována v produktu nečistota, která odpovídala struktuře analogického oxazolidinu. Zjistil jsem, že tyto oxazolidinové nečistoty lze z reakční směsi odstranit působením 2M H₂SO₄ v IPA po dobu 24 h při teplotě 60 °C, kdy dochází k její hydrolyze na požadovaný 2-aminoalkohol. Za těchto podmínek jsem jej získal v čistém stavu (>99%), který je dostačující pro případné biologické studie. Nicméně, celá reakční sekvence je poněkud komplikovaná, zahrnuje hydrolyzu v kyselém prostředí (HCl/H₂O/EtOH), následně v bazickém (NaOH/H₂O/EtOH) a pak opět v kyselém prostředí (H₂SO₄/IPA).

V dalším studiu hydrolyzy 2-fenyloxazolinu **151** jsem se rozhodl optimalizovat reakční čas. Zjistil jsem, že v prostředí 6M HCl v EtOH při teplotě 90 °C dochází za dobu 24 h k hydrolyze oxazolinu **151**, která poskytuje směs 2-aminoalkoholu (60 %) a *N*-benzoyl-2-aminotetrakosan-3-olu (35%) (zbytek představuje nezreagovaný oxazolin). Za 72 hodin je přítomnost 2-aminoalkoholu již 95% a *N*-benzoyl-2-aminotetrakosan-3-olu 5%, nicméně s delším časem se tento poměr mění jen velmi pomalu. Pokud jsem reakční čas prodloužil až na šest dní, získal jsem 2-aminoalkohol s 99 % čistotou, přičemž *N*-benzoyl-2-aminotetrakosan-3-ol tvořil zbývající 1 %. Důležitým zjištěním bylo, že v tomto silně kyselém reakčním prostředí a vysoké teplotě nedochází po tomto reakčním čase k významné degradaci 2-aminoalkoholu. Uvedené reakční podmínky jsem tedy vyhodnotil jako vhodné pro hydrolyzu 2-fenyloxazolinů **147** a **151** na 2-aminoalkan-3-oly v dostačující čistotě.

Výtěžky hydrolyzy pro jednotlivé enantiomerně čisté 2-aminoalkan-3-oly **146** a **150** se pohybovaly v rozmezí 81–88 %, ztráty byly způsobeny pravděpodobně zpracováním reakční směsi. Absolutní konfigurace na stereogenních centrech v jednotlivých stereoizomerech 2-aminoalkan-3-olů **146** a **150** byla potvrzena vzájemným srovnáním ¹H NMR spekter těchto

látek s dříve připravenými stereoizomery 2-aminododekan-3-olu a 2-aminotetradekan-3-olu^[23] (rozlišení typu diastereoizomeru) a porovnáním hodnot specifické optické otáčivosti (levotočivý nebo pravotočivý enantiomer), což umožnilo identifikovat typ enantiomeru.

3.6. Biologické vlastnosti stereoizomerů 2-aminoikosan-3-olu (146) a 2-aminotetrakosan-3-olu (150)

V rámci diplomové práce se mi podařilo připravit všechny čtyři stereoizomery 2-aminoikosan-3-olu (146) a 2-aminotetrakosan-3-olu (150) v čistotě >99 % a s enantiomerním přebytkem ~ 90 % *ee*. Získané množství jednotlivých vzorků bylo min. 100 mg. Všech 8 sloučenin bylo poskytnuto spolupracujícímu pracovišti (Katedra biologických a biochemických věd, FChT, Univerzita Pardubice), kde bude stanovena cytotoxicita na vybraných buněčných liniích, a to ve formě hodnot IC_{50} . V první fázi se předpokládá testování na dvou buněčných liniích, a to nádorových buňkách Jurkat (lidské leukemické T buňky) a buněčné linii lidského plicního karcinomu (A549). V případě nalezení zajímavé biologické aktivity (např. velmi vysoká účinnost, významné rozdíly mezi oběma 2-aminoalkoholy nebo jednotlivými stereoizomery) se předpokládá rozšíření této studie o další vhodné linie nádorových buněk.

4. ZÁVĚR

V rámci mé diplomové práce jsem syntetizoval jednotlivé enantiomery *anti*- a *syn*-formy 2-aminoikosan-3-olu (**146**) resp. 2-aminotetrakosan-3-olu (**150**). Tyto sloučeniny jsem připravil na základě syntetického předpisu popsaného pro deriváty s kratším uhlíkatým řetězcem,^[23] který jsem v rámci bakalářské práce optimalizoval pro syntézu racemátu 2-aminoikosan-3-olu (**146**) resp. 2-aminotetrakosan-3-olu (**150**).^[4] V prvním kroku jsem provedl Parikh-Doeringovou oxidaci primárních alkoholů stearylalkoholu (**169**) resp. dokosan-1-olu (**170**) na příslušné aldehydy – oktadekanal (**144**) a dokosanal (**148**). Klíčovou reakcí v přípravě cílových sloučenin v neracemické podobě byla asymetrická Henryho reakce, pro kterou bylo nezbytné najít vhodný enantioselektivní katalyzátor. Henryho reakce poskytla směs diastereoizomerů v poměru, který byl v případě 2-nitroikosan-3-olu (**145**) resp. 2-nitrotetrakosan-3-olu (**149**) cca 2/1 (*syn*-/*anti*-). Jelikož cílem této diplomové práce byla příprava všech stereoizomerů bylo nutné provést bazicky katalyzovanou epimeraci, díky které jsem připravil směsi diastereoizomerů (*syn*-/*anti*-) v poměru 1/1. Další reakce spočívala v katalytické hydrogenaci s využitím Pd/C, kterou jsem převedl diastereoizomerní směsi 2-nitroikosan-3-olu (**145**) resp. 2-nitrotetrakosan-3-olu (**149**) na diastereoizomerní směsi 2-aminoikosan-3-olu (**146**) resp. 2-aminotetrakosan-3-olu (**150**). V následujícím kroku jsem diastereoizomerní směsi aminoalkoholů převedl na příslušné 2-fenyloxazolinové deriváty. Tato transformace byla provedena z důvodu separace jednotlivých stereoizomerů. Poslední krokem byla kysele katalyzovaná hydrolyza, pomocí které jsem připravil všech 8 stereoizomerů 2-aminoikosan-3-olu (**146**) a 2-aminotetrakosan-3-olu (**150**).

Lze tedy konstatovat, že vytyčené cíle, které byly zadány pro vypracování této diplomové práce, se mi podařilo splnit. Připravil jsem jednotlivé konfigurační izomery 2-aminoikosan-3-olu (**146**) resp. 2-aminotetrakosan-3-olu (**150**) a tyto sloučeniny, včetně meziproductů jejich syntézy, jsem charakterizoval pomocí dostupných analytických metod. Připravené látky jsem následně poskytnul spolupracujícímu pracovišti (KBBV UPCE) pro studium cytotoxické aktivity vůči vybraným liniím nádorových buněk.

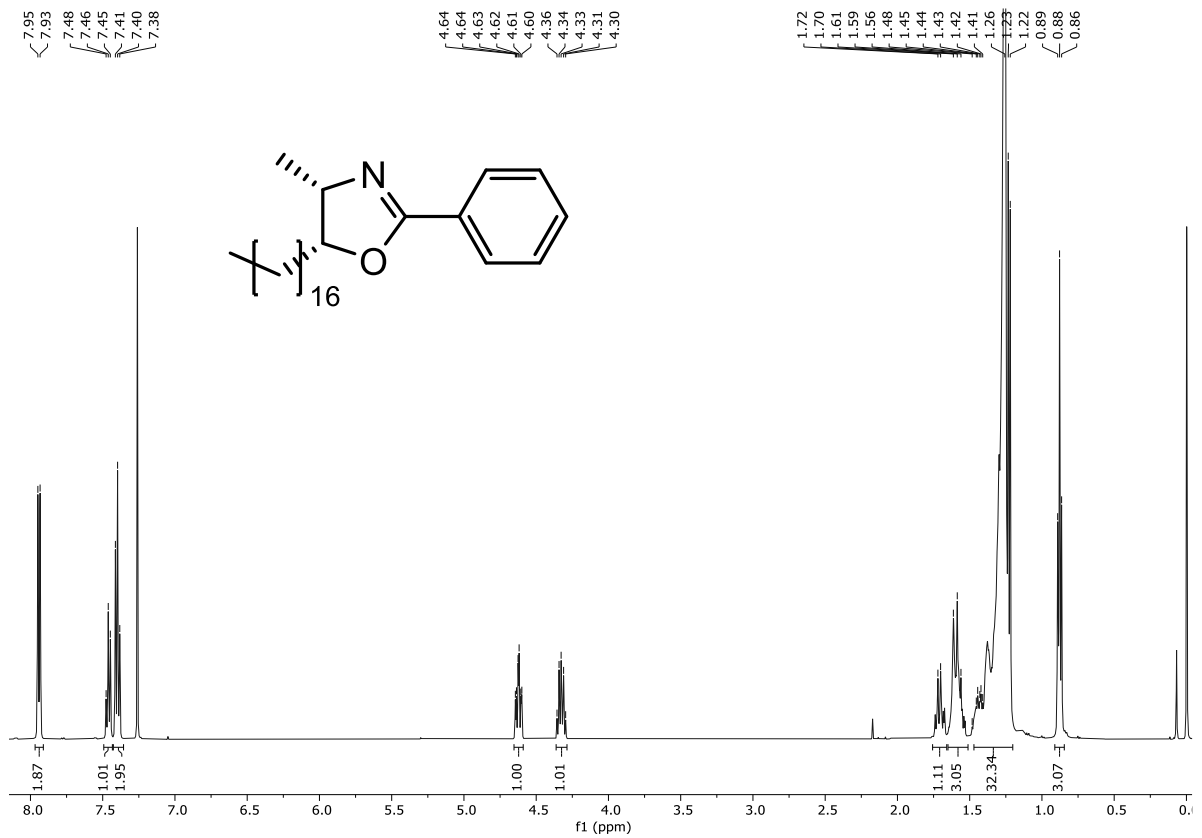
5. LITERATURA

- [1] J. L. W. Thudichum, *A Treatise on the Chemical Constitution of the Brain, etc.* Bailliere, Tindall & Cox, London, 1884.
- [2] Hannun Y. A., Obeid L. M., *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2018**, 19 (3), 175–191.
- [3] Fahy E., Subramaniam S., Brown H. A., Glass C. K., Merrill A. H., Murphy R. C., Raetz C. R. H., Russell D. W., Seyama Y., Shaw W., Shimizu T., Spener F., Van Meer G., VanNieuwenhze M. S., White S. H., Witztum J. L., Dennis E. A., *J. Lipid Res.* **2005**, 46 (5), 839–861.
- [4] P. Pospíšil. *Příprava stereoizomerů 1-deoxysfingosinových derivátů*. Bakalářská práce, Univerzita Pardubice, Pardubice, 2021.
- [5] Kleuser B., *Int. J. Mol. Sci.* **2018**, 19 (10), 3126.
- [6] Bartke N., Hannun Y. A., *J. Lipid Res.* **2009**, 50, 91–96.
- [7] Saied E. M., Arenz C., *Chem. Phys. Lipids.* **2016**, 197, 60–68.
- [8] Hannun Y. A., Gault C. R., Obeid L. M., *Sphingolipids as signaling and regulatory molecules*. Springer, New York, 2010.
- [9] Olsen A. S. B., Færgeman N. J., *Open Biol.* **2017**, 7 (5), 170069.
- [10] Astudillo L., Sabourdy F., Therville N., Bode H., Ségui B., Andrieu-Abadie N., Hornemann T., Levade T., *J. Inherit. Metab. Dis.* **2015**, 38, 65–76.
- [11] Merrill Jr. A. H., *Biochemistry of lipids, lipoproteins and membranes*. Elsevier, Amsterdam, 2010.
- [12] Martinková M., Gonda J., Jacková D., *Tetrahedron: Asymmetry* **2016**, 27 (24), 1187–1212.
- [13] Jiménez-Rojo N., Sot J., Busto J. V., Shaw W. A., Duan J., Merrill A. H., Alonso A., Goñi F. M., *Biophys. J.* **2014**, 107 (12), 2850–2859.
- [14] Lone M. A., Santos T., Alecu I., Silva L. C., Hornemann, T., *Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell Biol. Lipids* **2019**, 1864 (4), 512–521.
- [15] Duan J., Merrill A. H., *J. Biol. Chem.* **2015**, 290 (25), 15380–15389.
- [16] Saied E. M., Arenz C., *Int. J. Mol. Sci.* **2021**, 22 (15), 8171.
- [17] Penno A., Reilly M. M., Houlden H., Laurá M., Rentsch K., Niederkofler V., Stoeckli E. T., Nicholson G., Eichler F., Brown R. H., Von Eckardstein A., Hornemann T., *J. Biol. Chem.* **2010**, 285 (15), 11178–11187.
- [18] Fridman V., Suriyanarayanan S., Novak P., David W., Macklin E. A., McKenna-Yasek D., Walsh K., Aziz-Bose R., Oaklander A. L., Brown R., Hornemann T., Eichler F.,

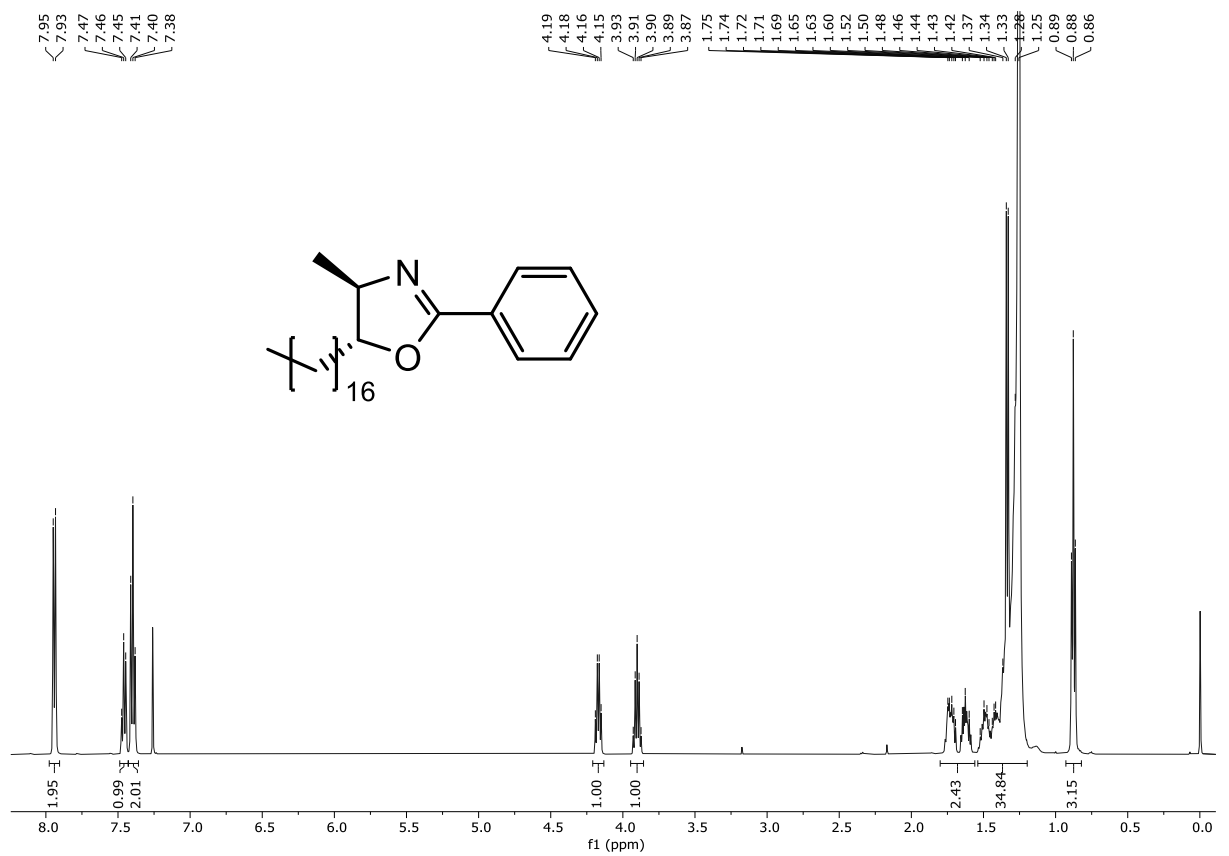
- Neurology*. **2019**, 92 (4), E359–E370.
- [19] Aiello A., Fattorusso E., Giordano A., Menna M., Navarrete C., Muñoz E., *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, 15 (8), 2920–2926.
- [20] Vijai Kumar Reddy T., Jyotsna A., Prabhavathi Devi B. L. A., Prasad R. B. N., Poornachandra Y., Ganesh Kumar C., *Eur. J. Med. Chem.* **2016**, 120, 86–96.
- [21] Kossuga M. H., MacMillan J. B., Rogers E. W., Molinski T. F., Nascimento G. G. F., Rocha R. M., Berlinck R. G. S., *J. Nat. Prod.* **2004**, 67 (11), 1879–1881.
- [22] Nováková G., Drabina P., Brůčková L., Báčová J., Handl J., Svoboda J., Vrbický M., Roušar T., Sedlák M., *Eur. J. Org. Chem.* **2020**, 3671–3679.
- [23] G. Nováková. *Recyklovatelné katalytické systémy pro asymetrickou Henryho reakci*. Disertační práce, Univerzita Pardubice, Pardubice 2020.
- [24] Jiménez C., Crews P., *J. Nat. Prod.* **1990**, 53 (4), 978–982.
- [25] Chen B. S., Yang L. H., Ye J. L., Huang T., Ruan Y. P., Fu J., Huang P. Q., *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, 46 (11), 5480–5486.
- [26] Aceña J. L., Adrio J., Cuevas C., Gallego P., Manzanares I., Munt S., Rodriguez I., *Antitumoral compounds*, WO94357A1, 2001.
- [27] Dasyam N., Munkacsí A. B., Fadzilah N. H., Senanayake D. S., O’Toole R. F., Keyzers R. A., *J. Nat. Prod.* **2014**, 77 (6), 1519–1523.
- [28] Rinehart K., Fergeau N. L., Warwick R. A., Garcia G. D., Avila J., Faircloth G. T., *Spisulosine compounds having antitumour activity*, WO9952521A1, 1999.
- [29] Sánchez A. M., Malagarie-Cazenave S., Olea N., Vara D., Cuevas C., Díaz-Laviada I., *Eur. J. Pharmacol.* **2008**, 584 (2–3), 237–245.
- [30] Williams R., *Expert Opin. Investig. Drugs*. **2009**, 18 (11), 1581–1594.
- [31] Zaed A. M., Sutherland A., *Org. Biomol. Chem.* **2011**, 9 (23), 8030–8037.
- [32] Sauer M., Beemelmans C., *Chem. Comm.* **2022**, 58 (64), 8990–8993.
- [33] Pandey M., Chowdhury P. S., Dutta A. K., Kumar P., Pal S., *RSC Adv.* **2013**, 3 (35), 15442–15448.
- [34] Vulupala R. H., Sajja Y., Bantu R., Nagarapu L., *Curr. Org. Chem.* **2015**, 19 (20), 2040–2045.
- [35] Mori K., Ikihaschi M., *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **2003**, 67, 329–333.
- [36] Choi J., Ha H. J., *J. Korean Chem. Soc.* **2015**, 59 (3), 203–204.
- [37] Uraguchi D., Nakamura S., Ooi T., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, 41 (49), 7562–7565.
- [38] Ghosal P., Shaw A. K., *Tetrahedron Lett.* **2010**, 51 (31), 4140–4142.
- [39] Byun H. S., Pyne S., MacRitchie N., Pyne N. J., Bittman R., *MedChemComm.* **2013**, 4

- (10), 1394–1399.
- [40] Fabišíková M., Martinková M., Hirková S., Gonda J., Pilátová M. B., Gönciová G., *Carbohydr. Res.* **2016**, 435, 26–36.
- [41] Abad J. L., Nieves I., Rayo, P., Casas J., Fabriàs G., Delgado A., *J. Org. Chem.* **2013**, 78 (12), 5858–5866.
- [42] Allepuz A. C., Badorrey R., Díaz-de-Viliegas M. D., Gálvez J. A., *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, 6172–6178.
- [43] Silveira-Dorta G., Donadel O. J., Martín V. S., Padrón J. M., *J. Org. Chem.* **2014**, 79 (15), 6775–6782.
- [44] Yun J. M., Sim T. B., Hahm H. S., Lee W. K., Ha H. J., *J. Org. Chem.* **2003**, 68 (20), 7675–7680.
- [45] Séguin C., Ferreira F., Botuha C., Chemla F., Pérez-Luna A., *J. Org. Chem.* **2009**, 74 (18), 6986–6992.
- [46] Malik G., Estéoule A., Retailleau P., Dauban P., *J. Org. Chem.* **2011**, 76 (18), 7438–7448.
- [47] Calder E. D. D., Zaed A. M., Sutherland A., *J. Org. Chem.* **2013**, 78 (14), 7223–7233.
- [48] Dinda S. K., Das S. K., Panda G., *Tetrahedron* **2010**, 66 (47), 9304–9309.
- [49] Xu K., Lai G., Zha Z., Pan S., Chen H., Wang Z., *Chem. Eur. J.* **2012**, 18, 12357–12362.
- [50] Pooh, G. K., Powell, R. G., Plattner, R. D., Weisleder, D., *Tetrahedron Lett.* **1994**, 35 (42), 7707–7710.
- [51] Evans D. A., Seidel D., Rueping M., Lam H. W., Shaw J. T., Downey C. W., *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125 (42), 12692–12693.
- [52] Ginotra S. K., Singh V. K., *Org. Biomol. Chem.* **2007**, 5 (24), 3932–3937.
- [53] Armarego W. L. F., Chai C. L. L., *Purification of Laboratory Chemicals*. Elsevier, Amsterdam, 2009.

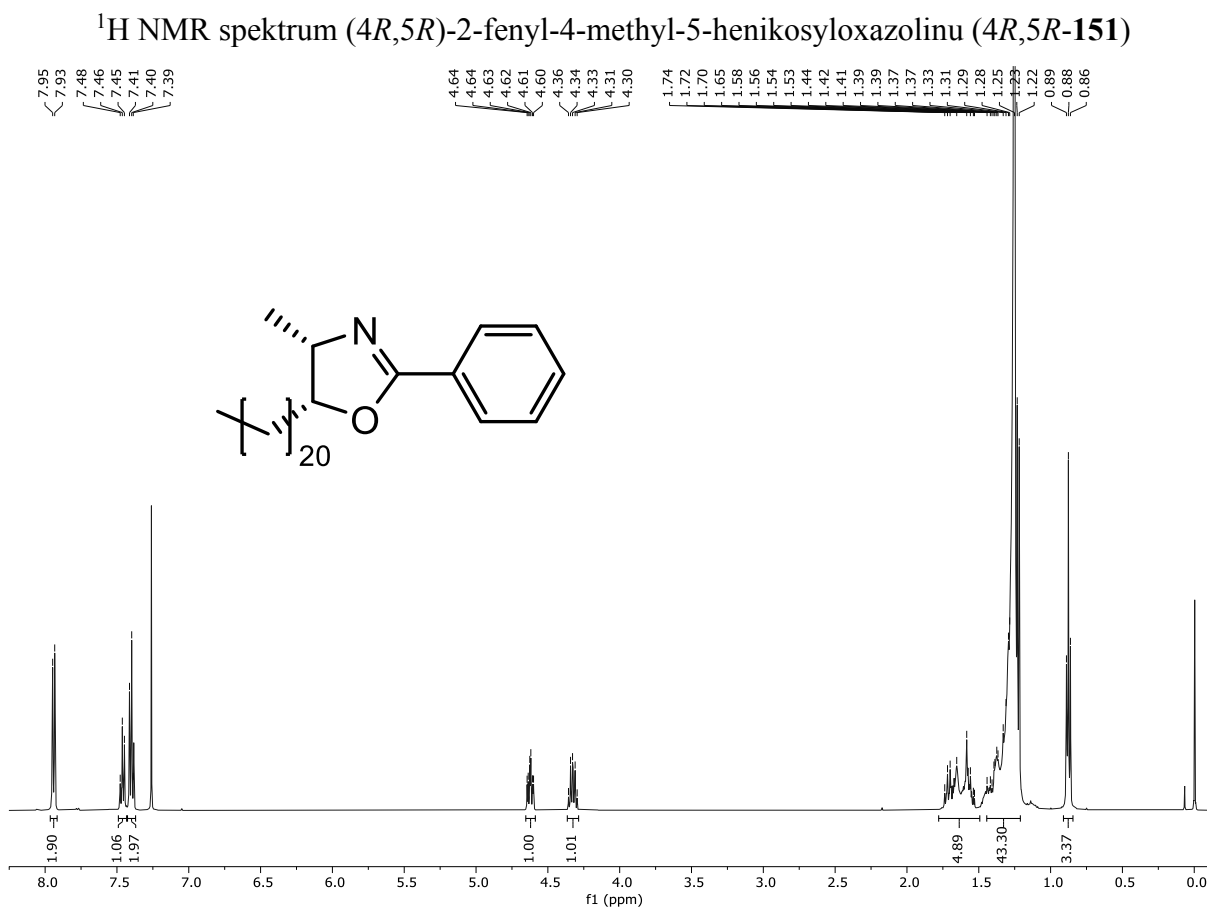
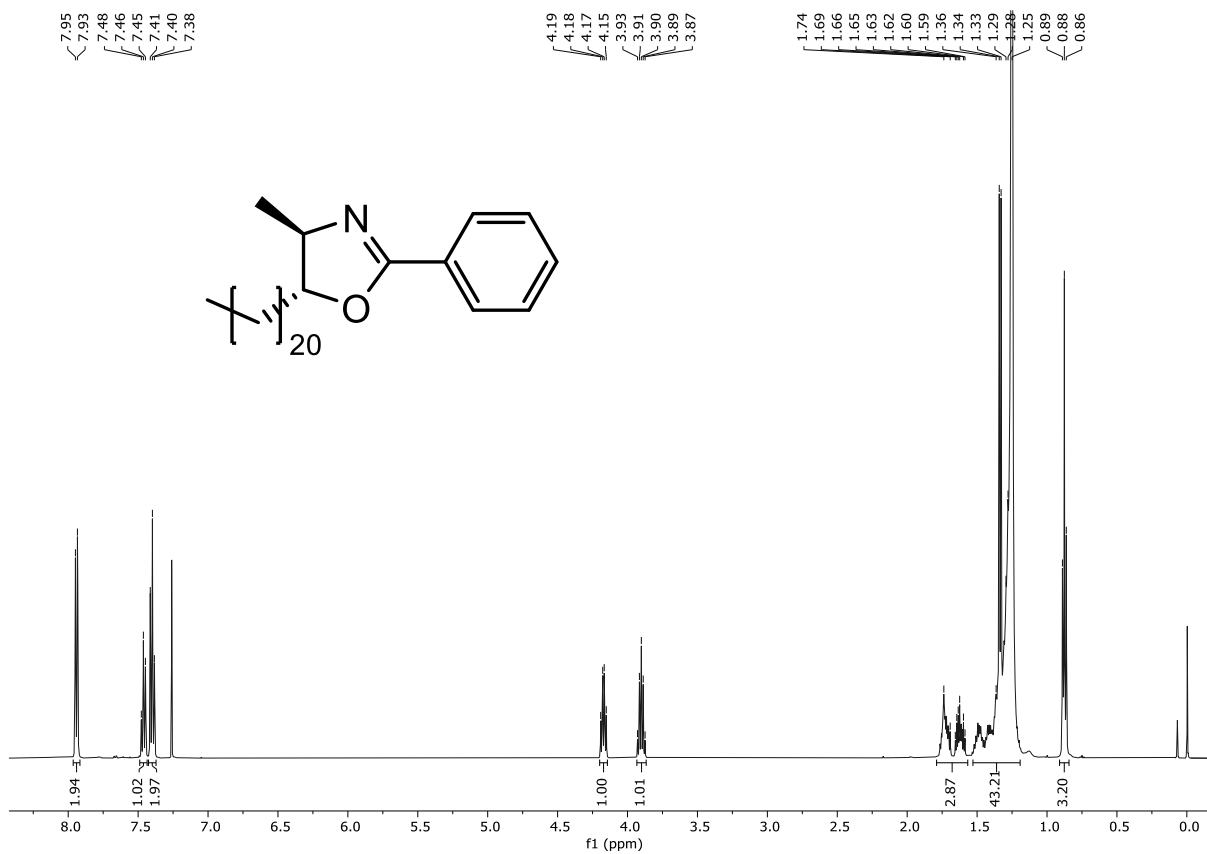
PŘÍLOHY

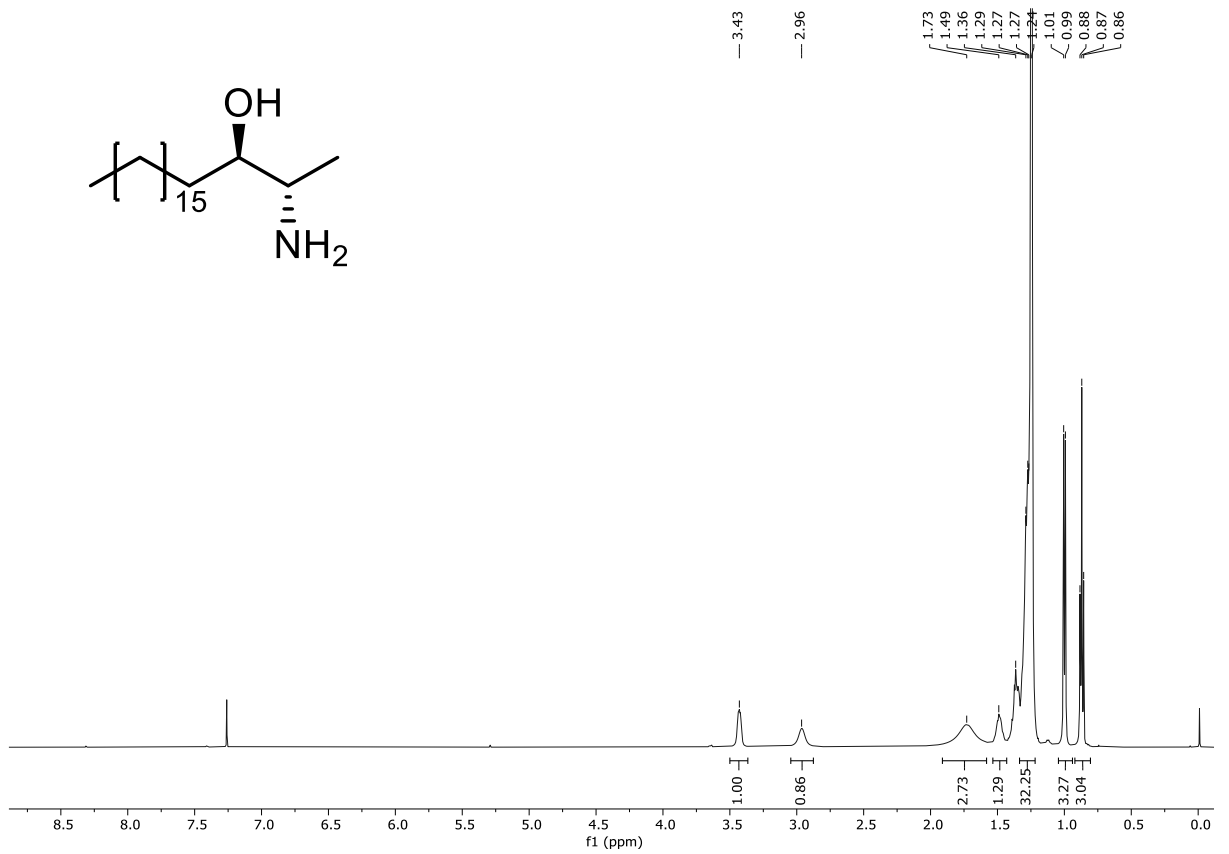


¹H NMR spektrum (4*S*,5*R*)-2-fenyl-4-methyl-5-heptadecyloxazolinu (4*S*,5*R*-147)

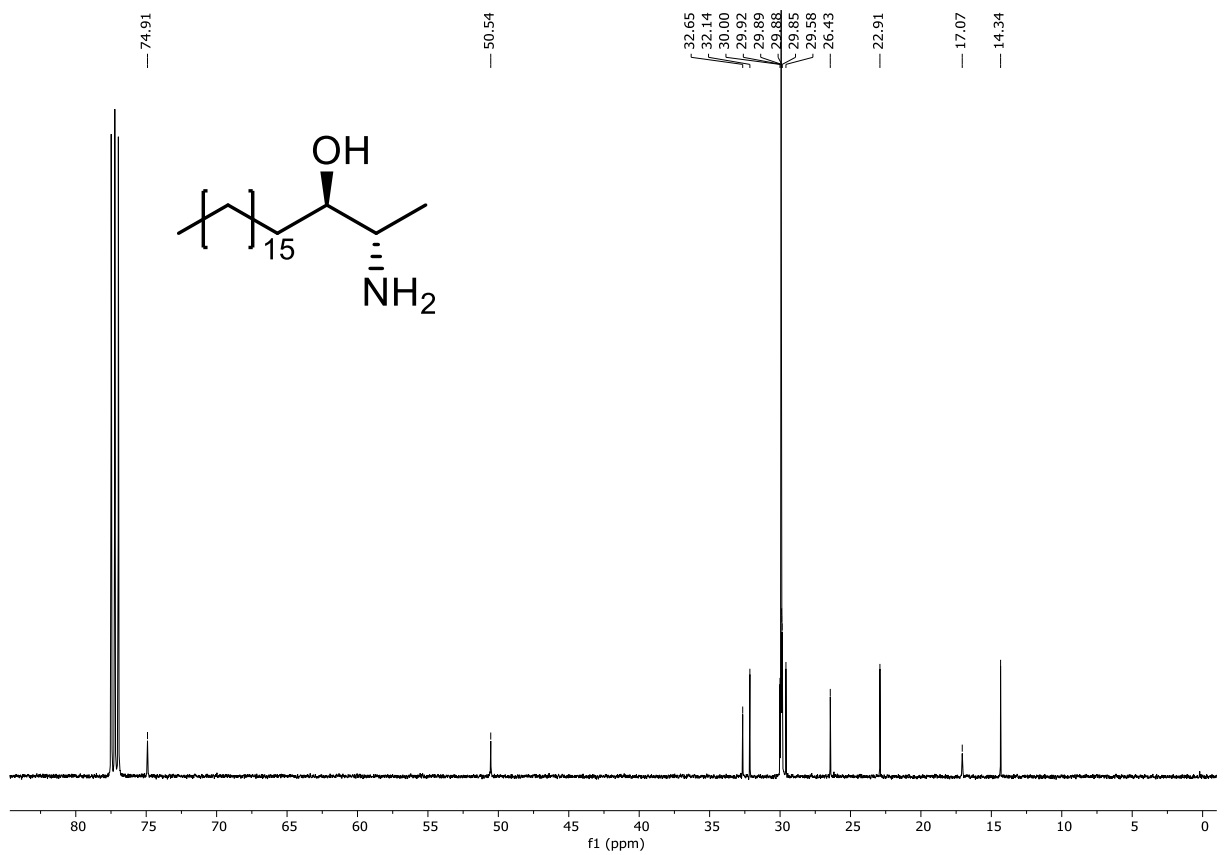


¹H NMR spektrum (4*R*,5*R*)-2-fenyl-4-methyl-5-heptadecyloxazolinu (4*R*,5*R*-147)

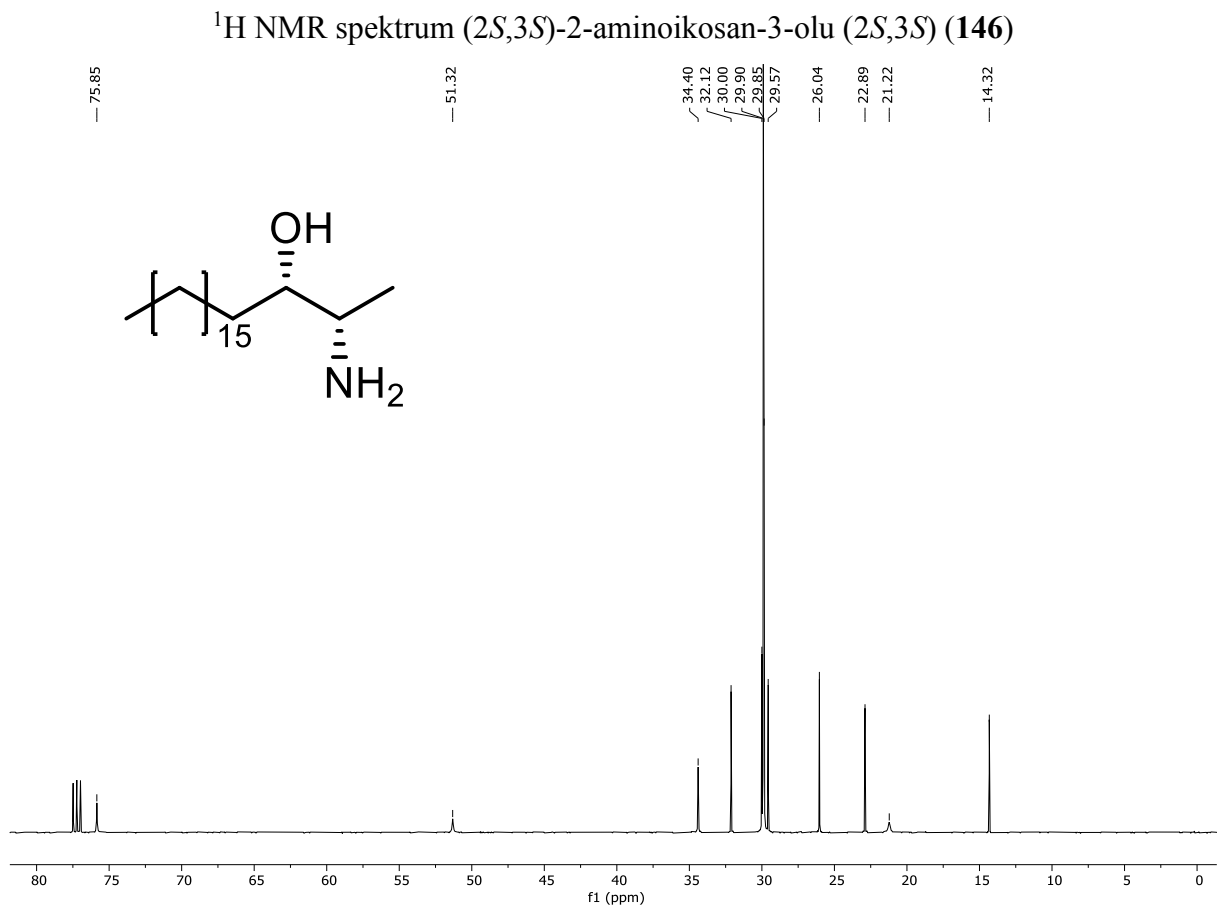
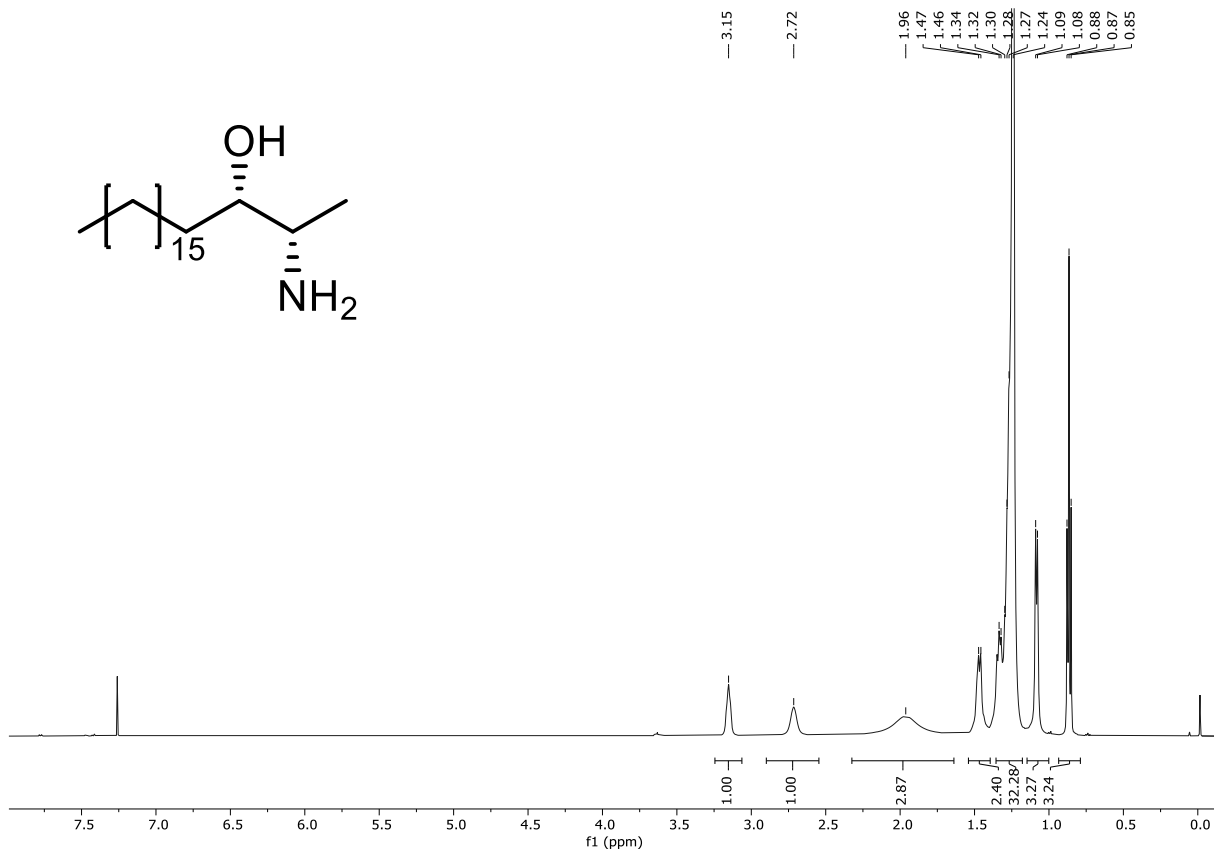


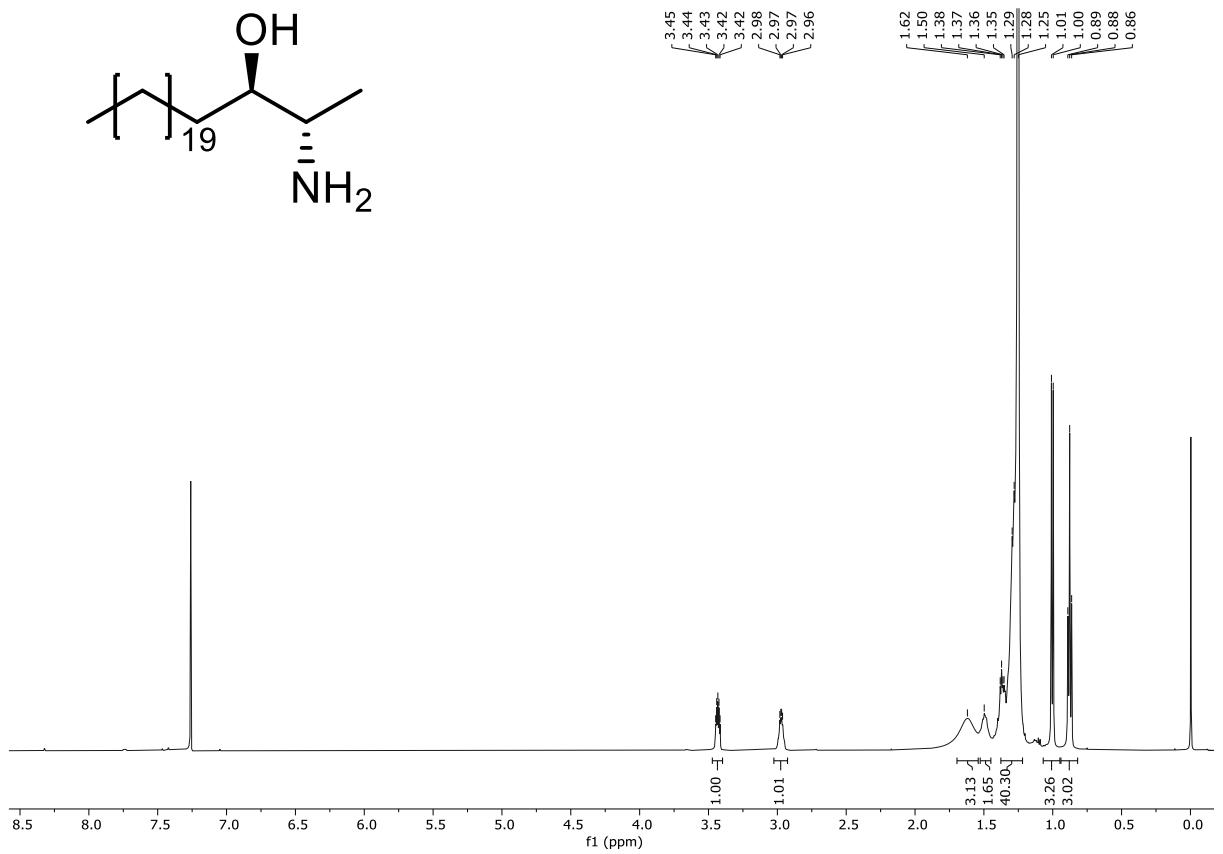


¹H NMR spektrum (2*S*,3*R*)-2-aminoikosan-3-olu (2*S*,3*R*) (146)

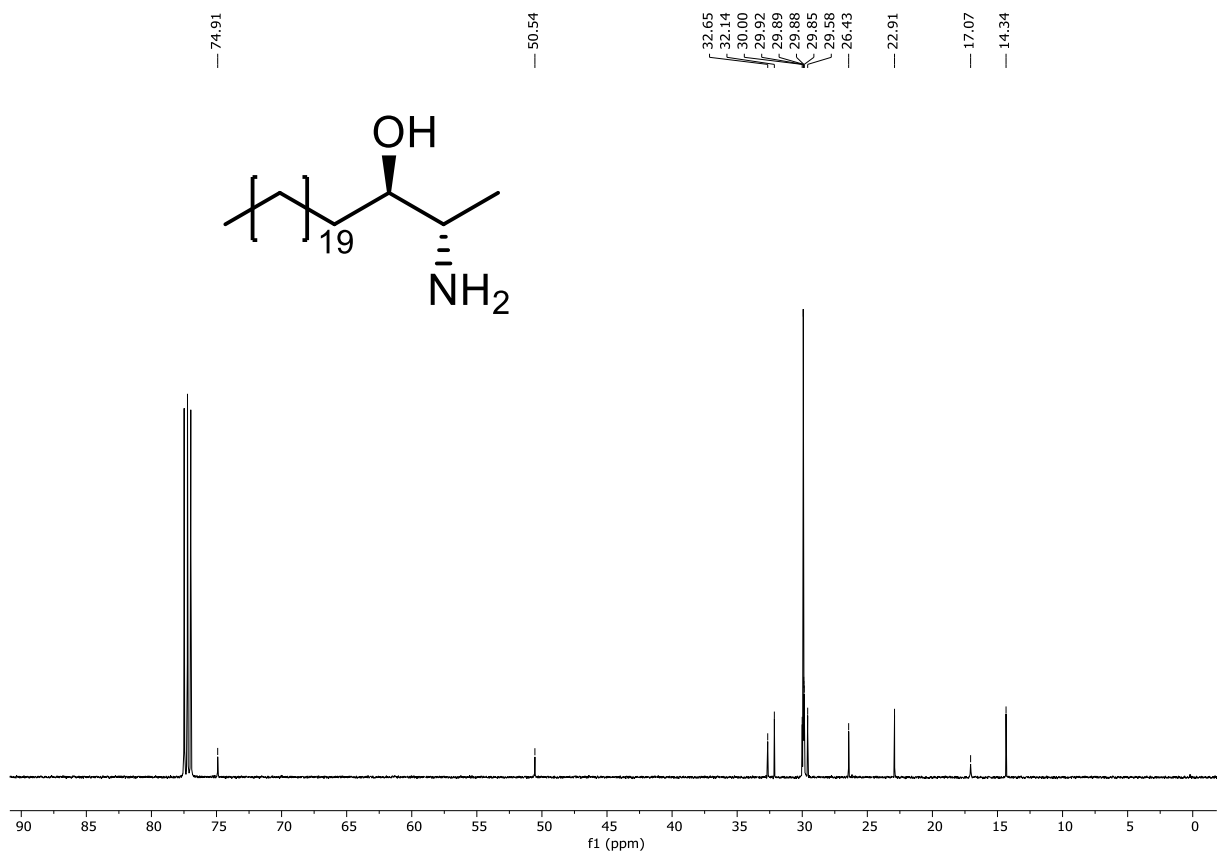


¹³C NMR spektrum (2*S*,3*R*)-2-aminoikosan-3-olu (2*S*,3*R*) (146)

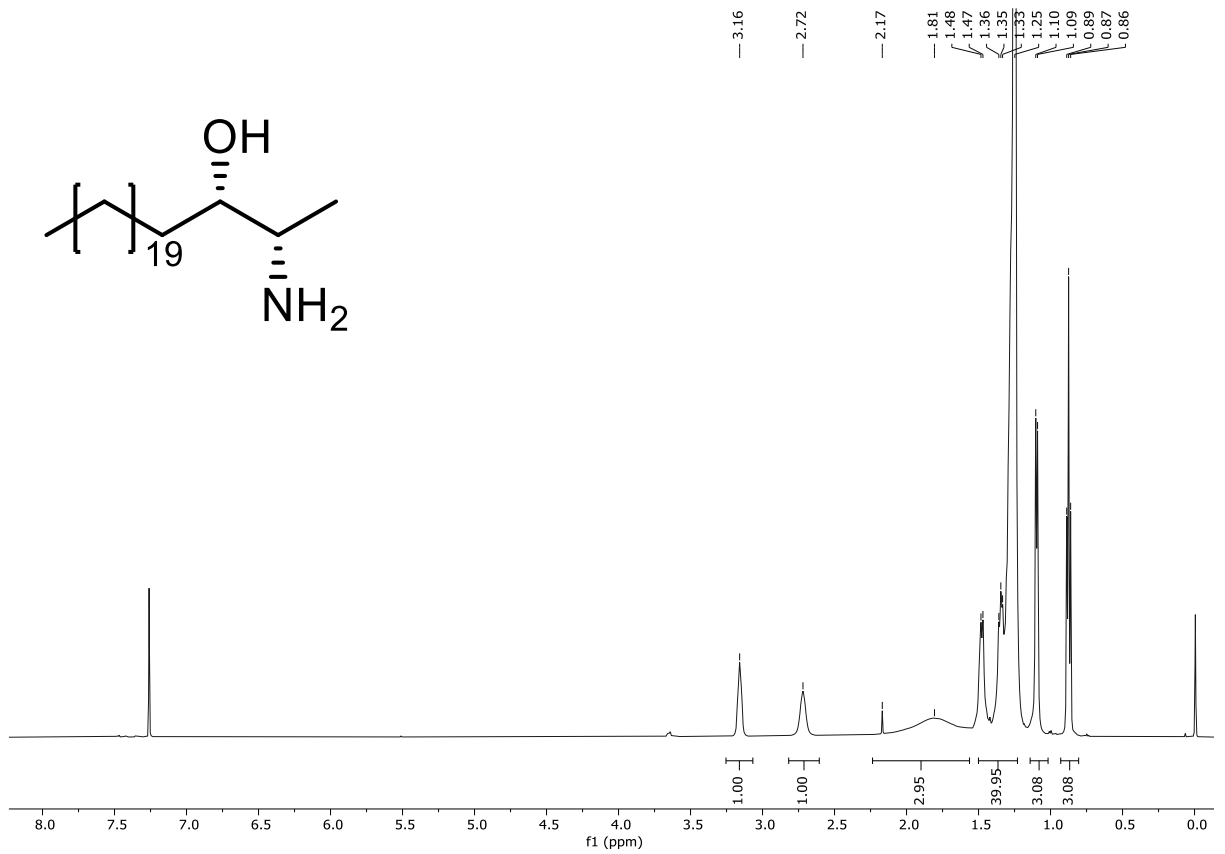




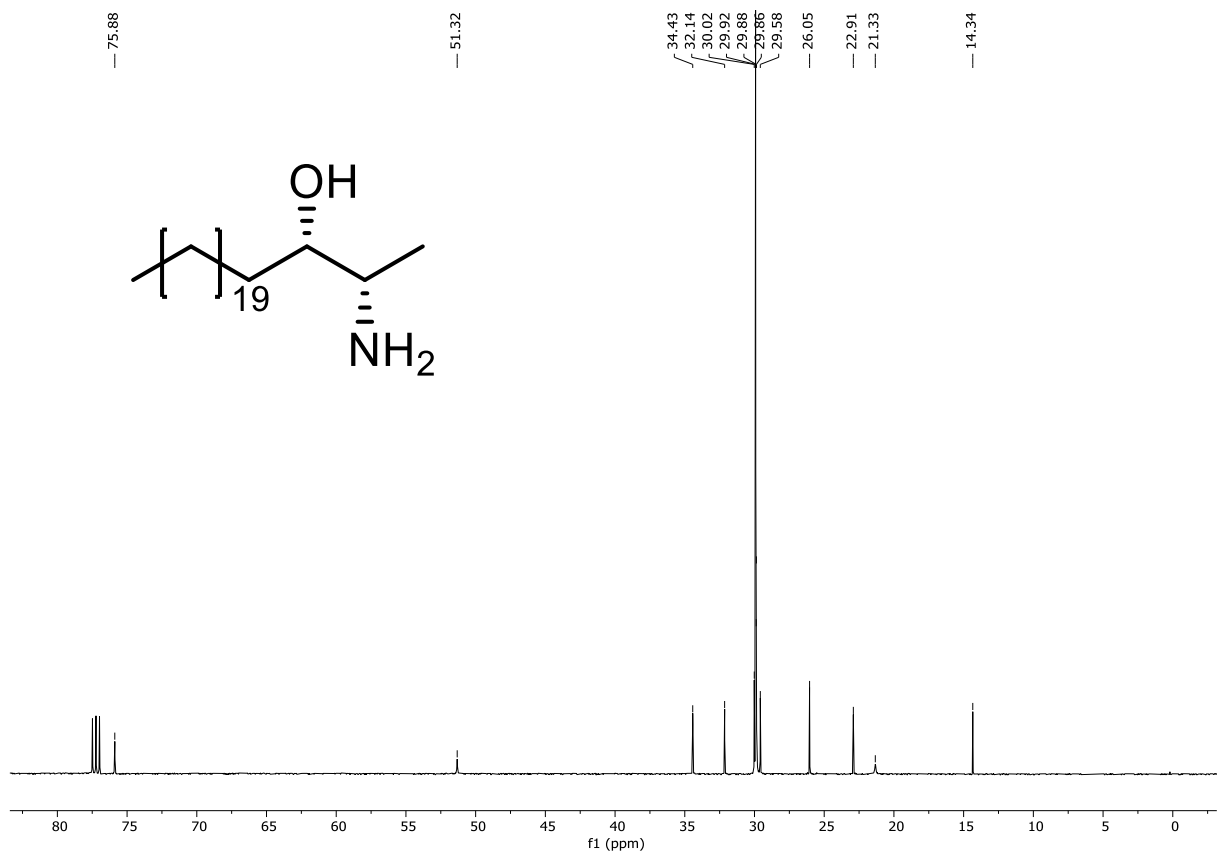
¹H NMR spektrum (2*S*,3*R*)-2-aminotetrakosan-3-olu (2*S*,3*R*) (150)



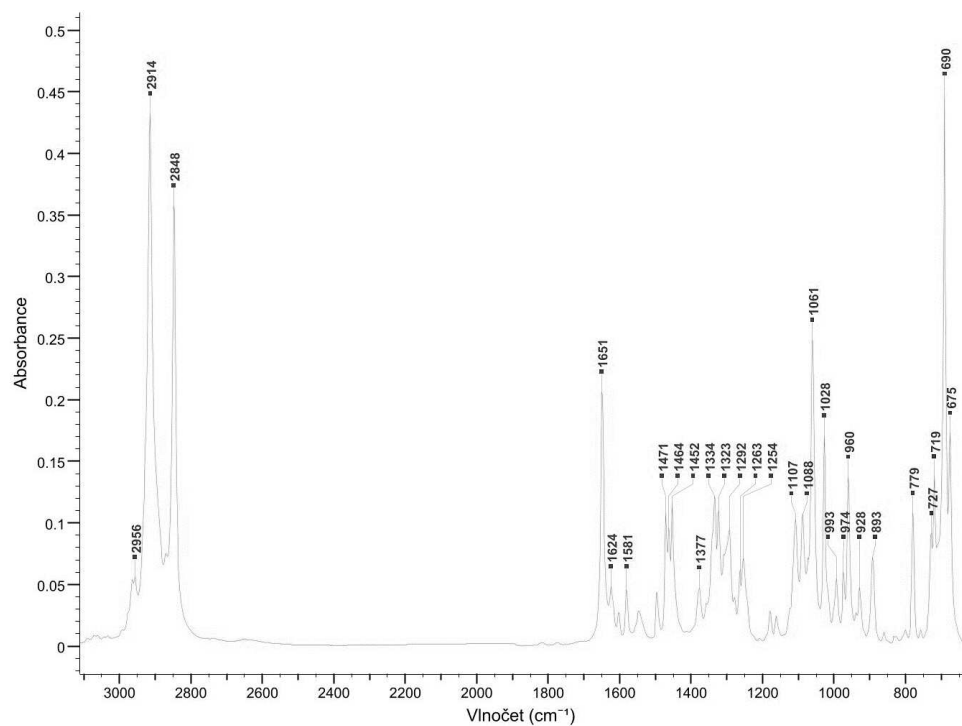
¹³C NMR spektrum (2*S*,3*R*)-2-aminotetrakosan-3-olu (2*S*,3*R*) (150)



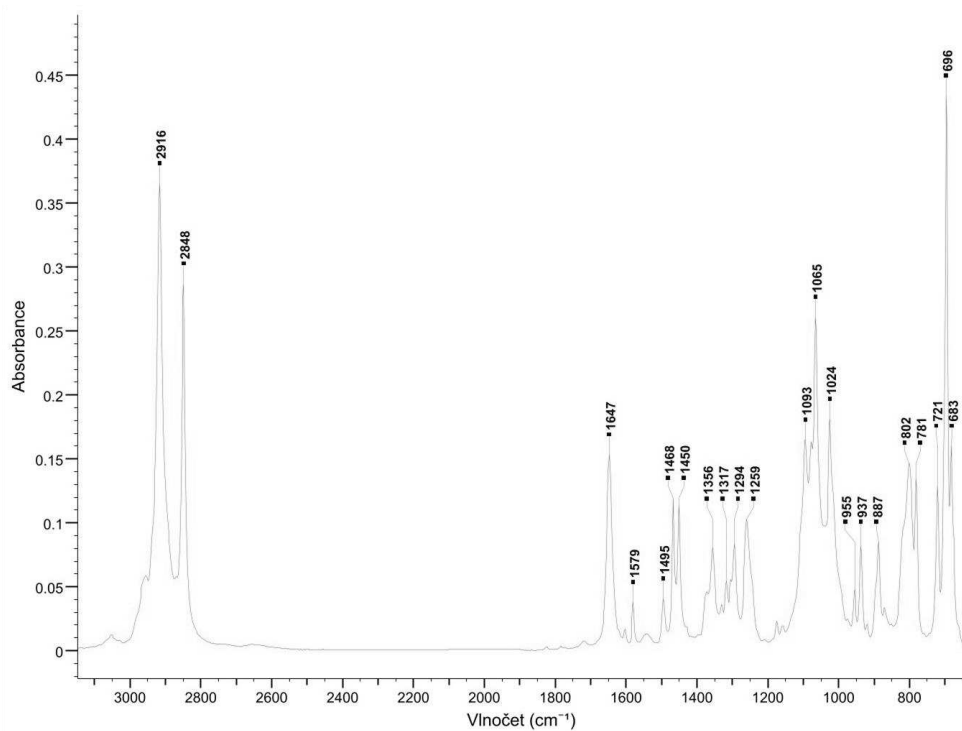
¹H NMR spektrum (2*S*,3*S*)-2-aminotetrakosan-3-olu (2*S*,3*S*) (**150**)



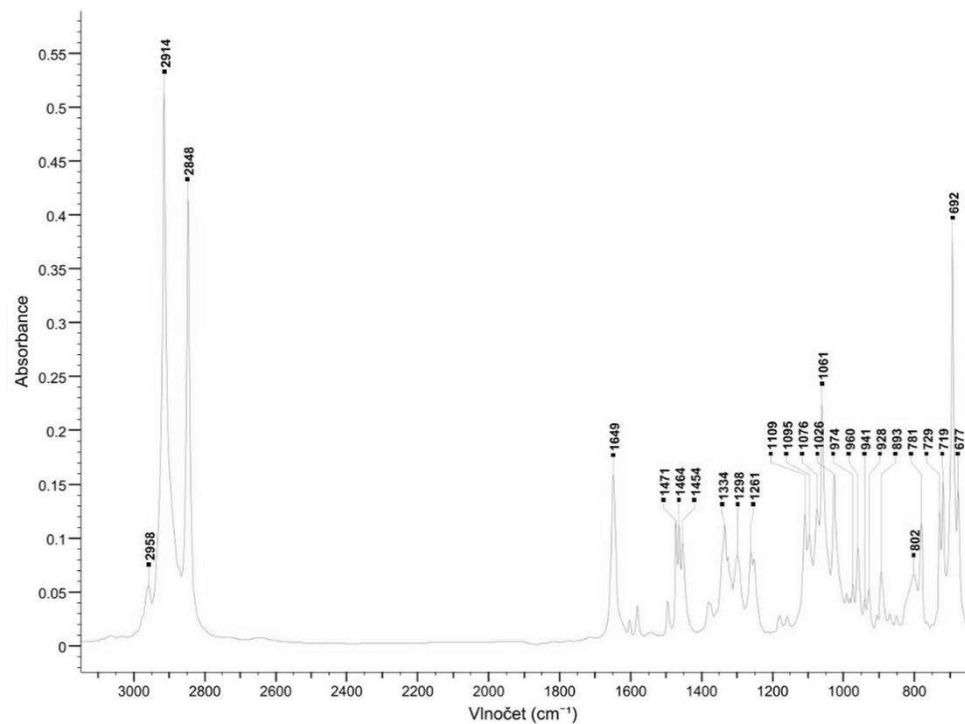
¹³C NMR spektrum (2*S*,3*S*)-2-aminotetrakosan-3-olu (2*S*,3*S*) (**150**)



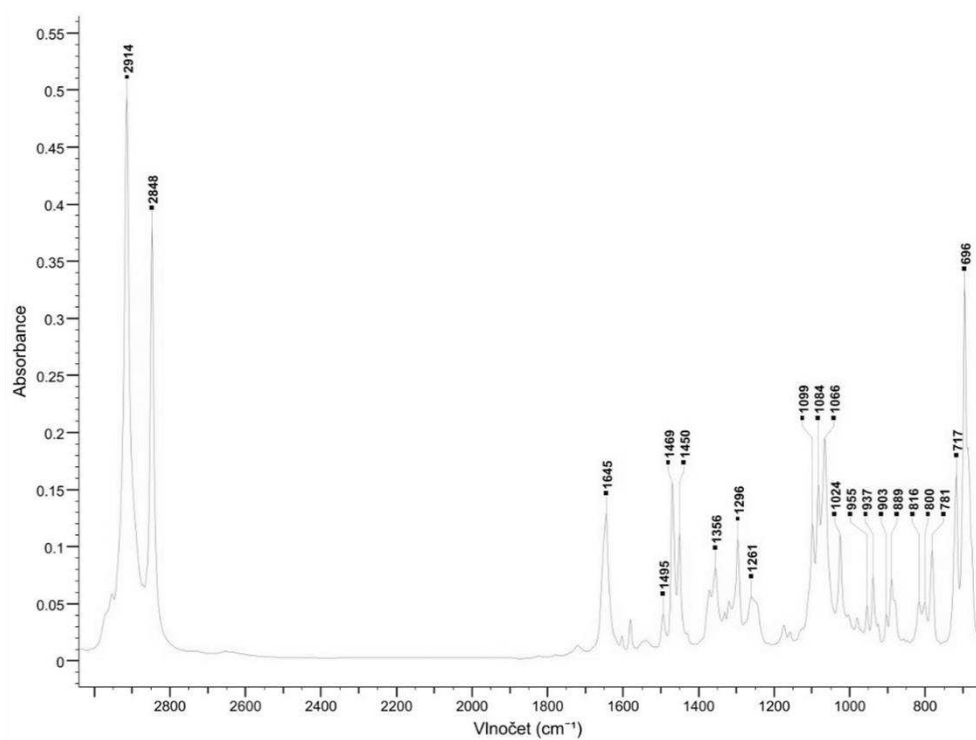
IR spektrum (4*R*,5*R*)-2-fenyl-4-methyl-5-heptadecyloxazolinu (4*R*,5*R*-147)



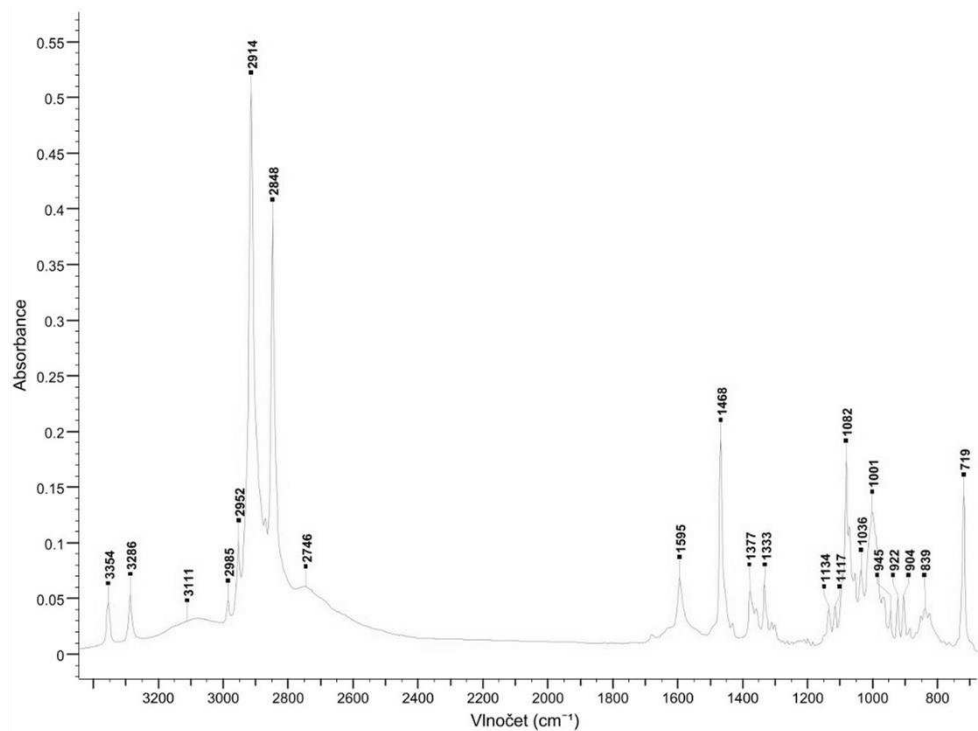
IR spektrum (4*S*,5*R*)-2-fenyl-4-methyl-5-heptadecyloxazolinu (4*S*,5*R*-147)



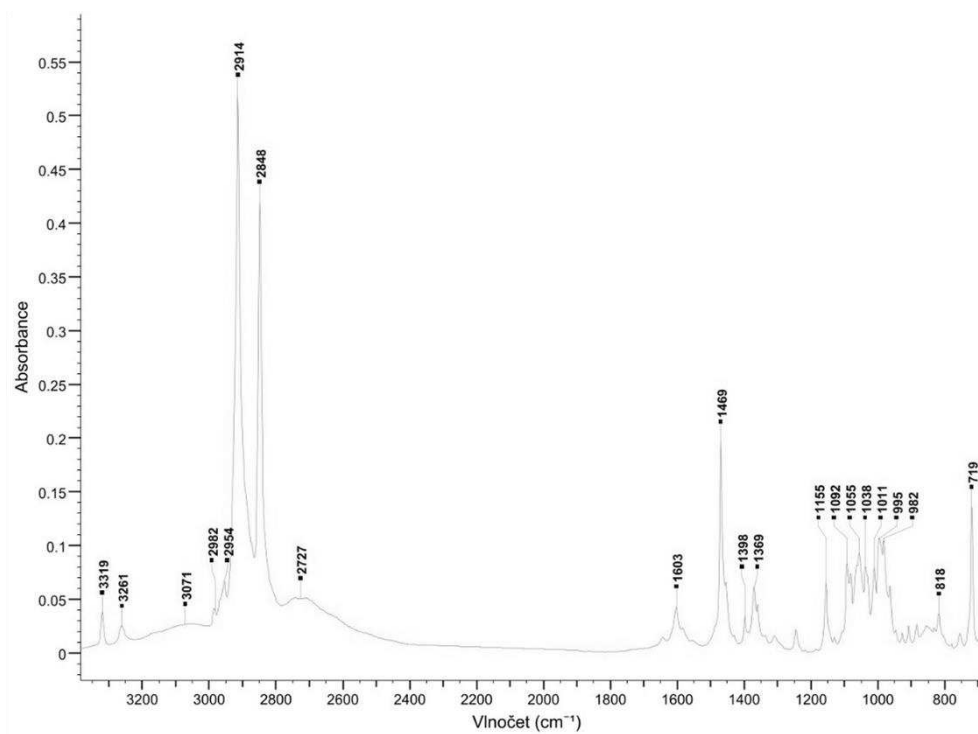
IR spektrum (4R,5R)-2-fenyl-4-methyl-5-henikosyloxazolinu (4R,5R-151)



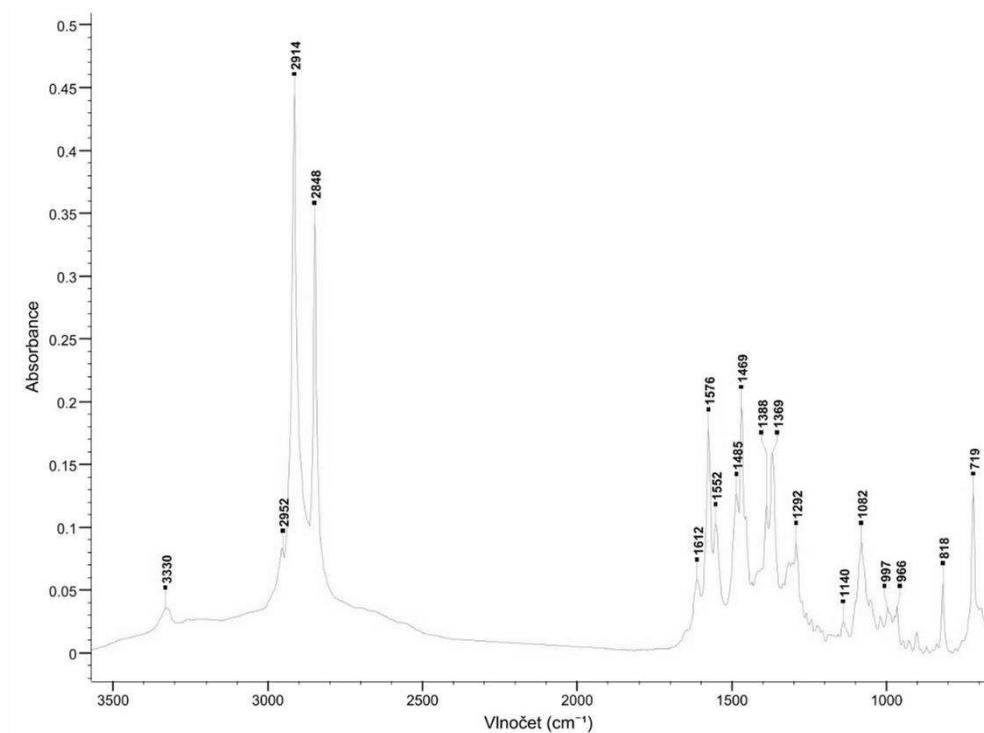
IR spektrum (4S,5R)-2-fenyl-4-methyl-5-henikosyloxazolinu (4S,5R-151)



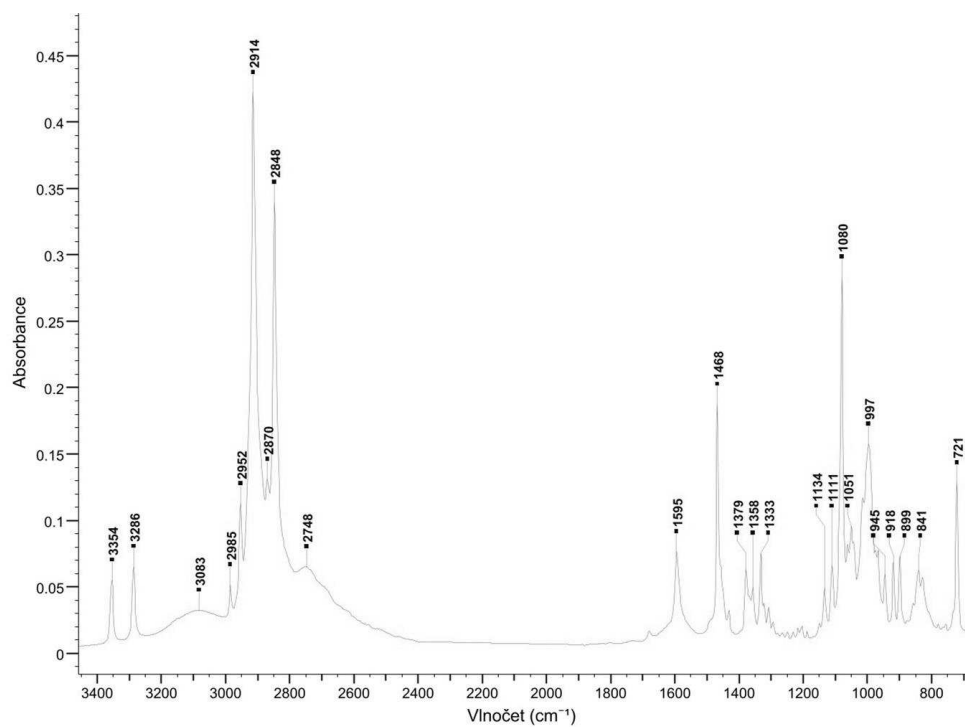
IR spektrum (2*S*,3*S*)-2-aminoikosan-3-olu (2*S*,3*S*)-(146)



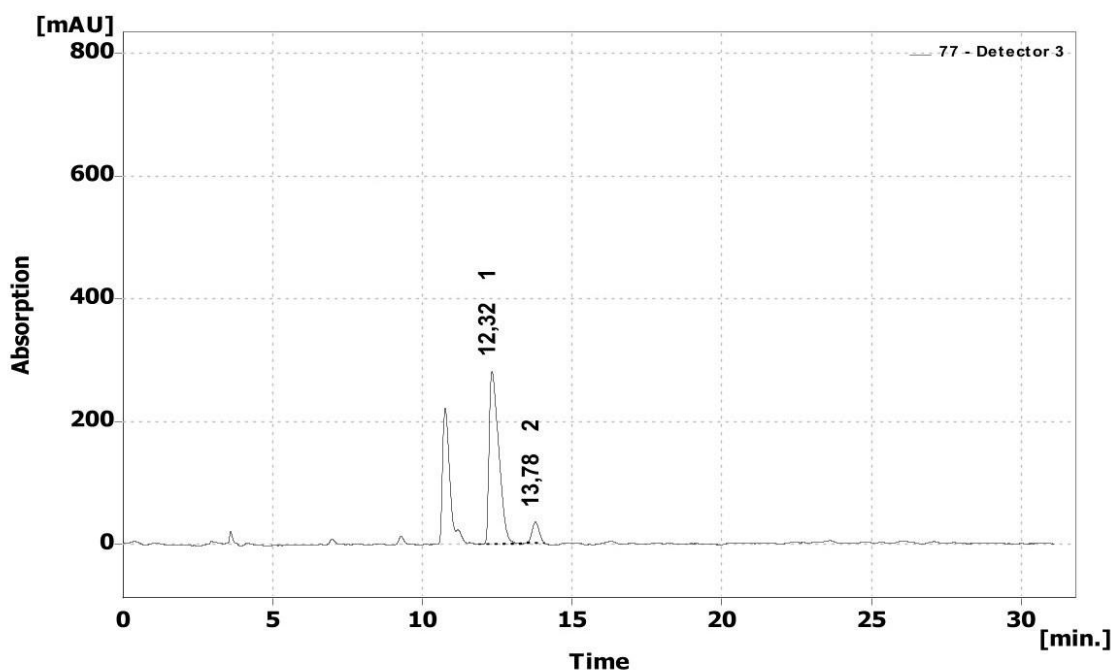
IR spektrum (2*S*,3*R*)-2-aminoikosan-3-olu (2*S*,3*R*)-(146)



IR spektrum (2*S*,3*R*)-2-aminotetrakosan-3-olu (2*S*,3*R*)-(150)



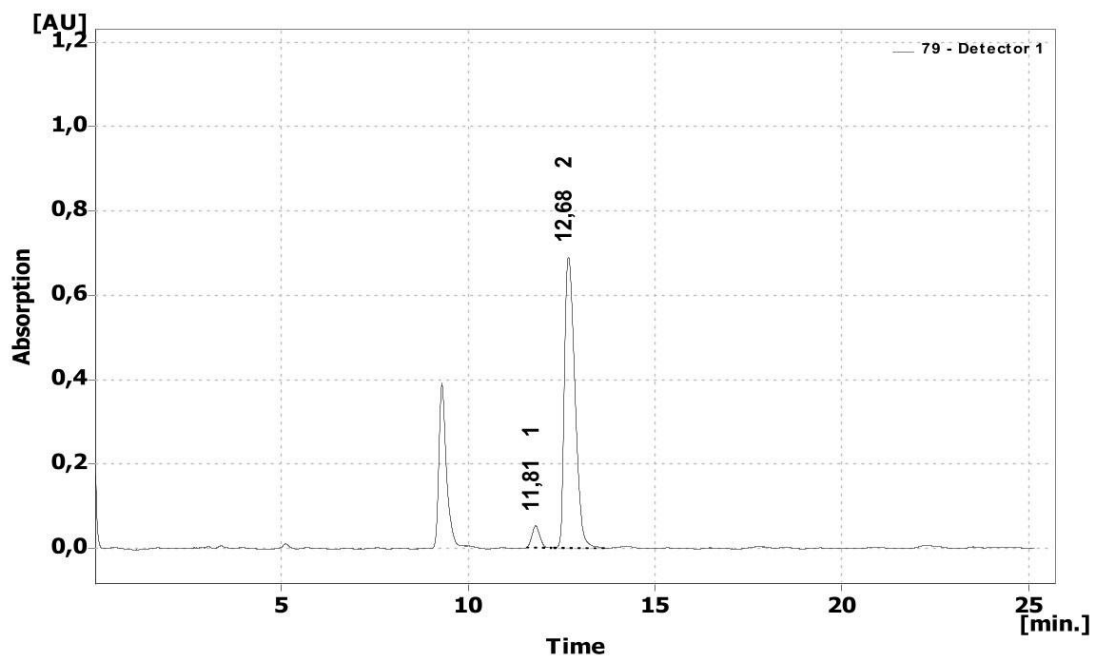
IR spektrum (2*S*,3*S*)-2-aminotetrakosan-3-ol (2*S*,3*S*)-(150)



Result Table (Uncal - 77 - Detector 3)

| | Reten. Time [min] | Area [mAU.s] | Height [mAU] | Area [%] | Height [%] | W05 [min] | Peak Purity [-] | Compound Name |
|---|-------------------|--------------|--------------|----------|------------|-----------|-----------------|---------------|
| 1 | 12,325 | 6301,263 | 281,743 | 91,9 | 89,2 | 0,36 | 768 | |
| 2 | 13,775 | 558,630 | 34,022 | 8,1 | 10,8 | 0,27 | 953 | |
| | Total | 6859,893 | 315,766 | 100,0 | 100,0 | | | |

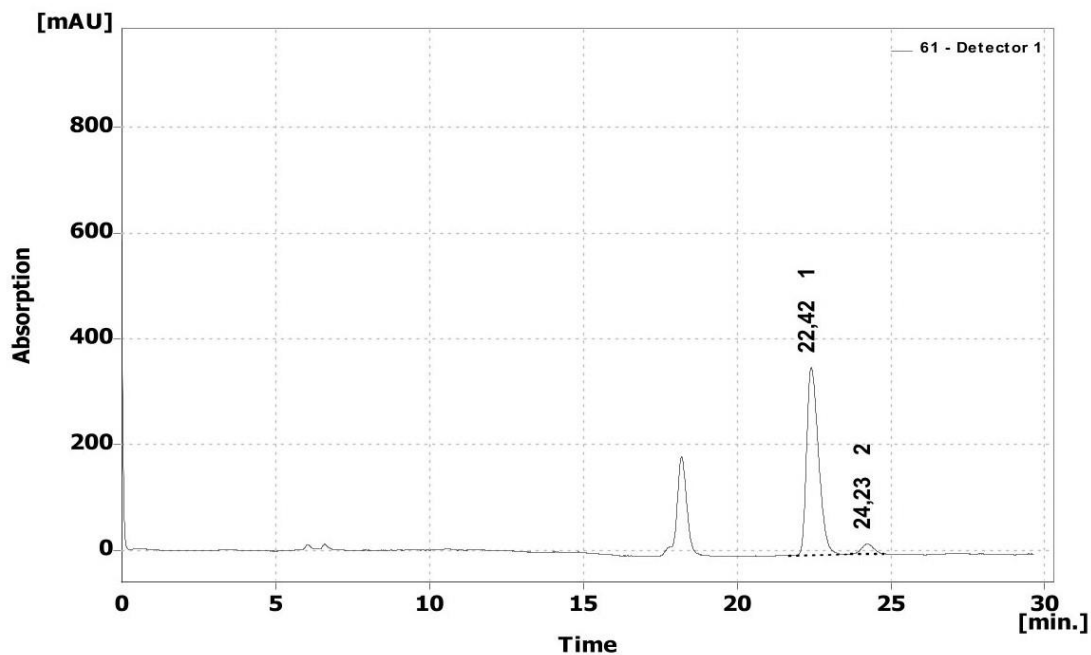
HPLC chromatogram 2-nitroikosan-3-olu (145a)



Result Table (Uncal - 79 - Detector 1)

| | Reten. Time [min] | Area [mAU.s] | Height [mAU] | Area [%] | Height [%] | W05 [min] | Peak Purity [-] | Compound Name |
|---|-------------------|--------------|--------------|----------|------------|-----------|-----------------|---------------|
| 1 | 11,808 | 729,659 | 51,258 | 5,2 | 6,9 | 0,23 | 740 | |
| 2 | 12,683 | 13388,810 | 690,045 | 94,8 | 93,1 | 0,32 | 611 | |
| | Total | 14118,470 | 741,303 | 100,0 | 100,0 | | | |

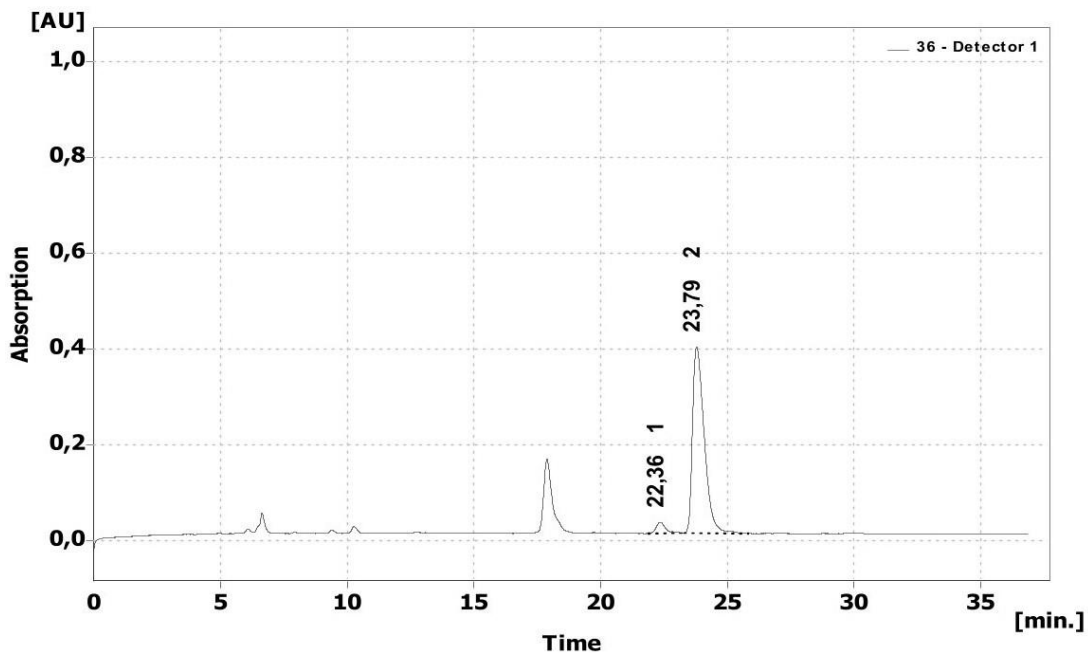
HPLC chromatogram 2-nitroikosan-3-olu (145b)



Result Table (Uncal - 61 - Detector 1)

| | Reten. Time [min] | Area [mAU.s] | Height [mAU] | Area [%] | Height [%] | W05 [min] | Peak Purity [-] | Compound Name |
|---|-------------------|--------------|--------------|----------|------------|-----------|-----------------|---------------|
| 1 | 22,417 | 9546,761 | 354,814 | 94,9 | 94,9 | 0,42 | 705 | |
| 2 | 24,225 | 511,613 | 18,895 | 5,1 | 5,1 | 0,44 | 515 | |
| | Total | 10058,375 | 373,710 | 100,0 | 100,0 | | | |

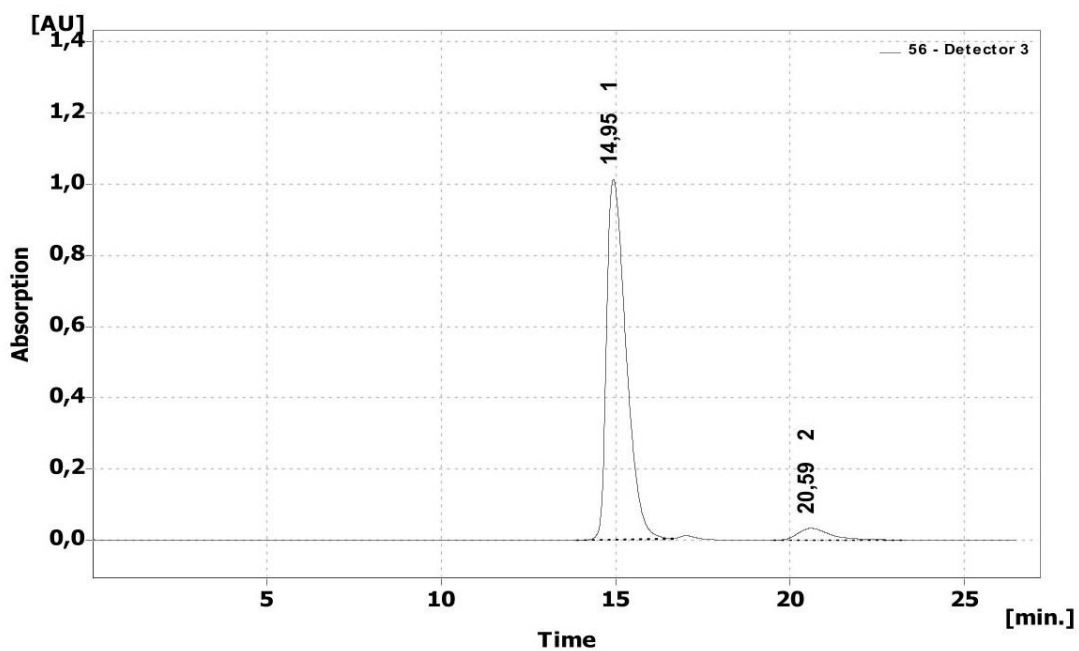
HPLC chromatogram 2-nitrotetrakosan-3-olu (149a)



Result Table (Uncal - 36 - Detector 1)

| | Reten. Time [min] | Area [mAU.s] | Height [mAU] | Area [%] | Height [%] | W05 [min] | Peak Purity [-] | Compound Name |
|---|-------------------|--------------|--------------|----------|------------|-----------|-----------------|---------------|
| 1 | 22,358 | 606,601 | 23,398 | 4,6 | 5,7 | 0,38 | 938 | |
| 2 | 23,792 | 12529,983 | 388,748 | 95,4 | 94,3 | 0,50 | 744 | |
| | Total | 13136,584 | 412,147 | 100,0 | 100,0 | | | |

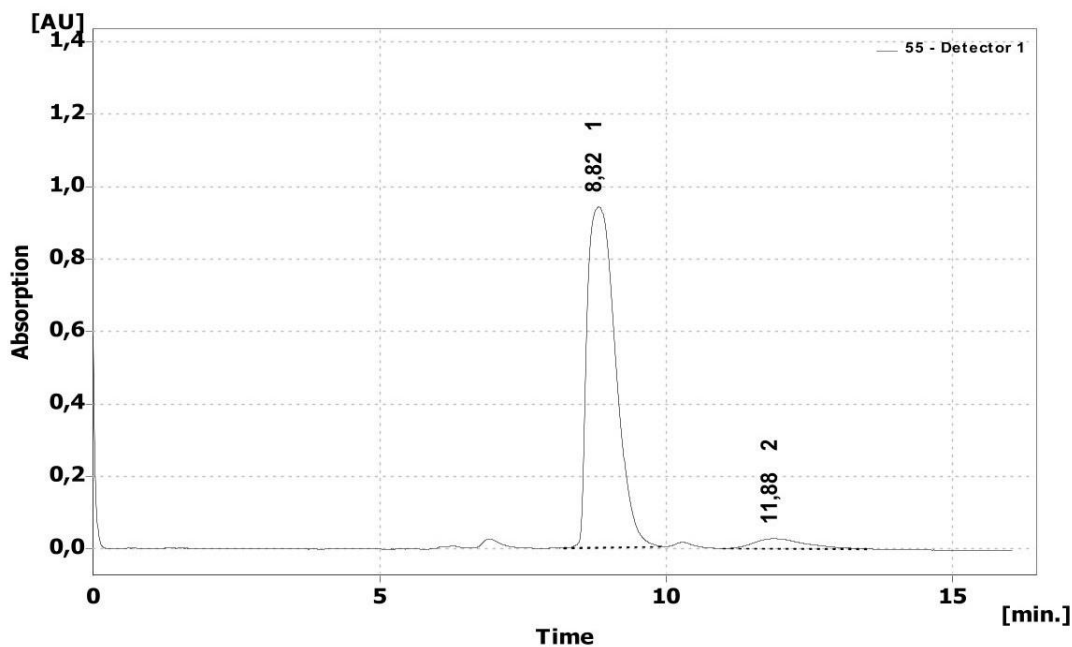
HPLC chromatogram 2-nitrotetrakosan-3-olu (149b)



Result Table (Uncal - 56 - Detector 3)

| | Reten. Time [min] | Area [mAU.s] | Height [mAU] | Area [%] | Height [%] | W05 [min] | Peak Purity [-] | Compound Name |
|---|-------------------|--------------|--------------|----------|------------|-----------|-----------------|---------------|
| 1 | 14,950 | 39234,500 | 1012,193 | 94,4 | 96,8 | 0,60 | 810 | |
| 2 | 20,592 | 2318,981 | 33,880 | 5,6 | 3,2 | 0,97 | 883 | |
| | Total | 41553,481 | 1046,074 | 100,0 | 100,0 | | | |

HPLC chromatogram (4*R*,5*S*)-2-fenyl-4-methyl-5-henikosyloxazolinu (**4*R*,5*S*-151**)



Result Table (Uncal - 55 - Detector 1)

| | Reten. Time [min] | Area [mAU.s] | Height [mAU] | Area [%] | Height [%] | W05 [min] | Peak Purity [-] | Compound Name |
|---|-------------------|--------------|--------------|----------|------------|-----------|-----------------|---------------|
| 1 | 8,817 | 32484,811 | 940,862 | 94,9 | 97,1 | 0,56 | 818 | |
| 2 | 11,883 | 1754,498 | 28,154 | 5,1 | 2,9 | 0,93 | 652 | |
| | Total | 34239,310 | 969,016 | 100,0 | 100,0 | | | |

HPLC chromatogram (4*S*,5*S*)-2-fenyl-4-methyl-5-henikosyloxazolinu (**4*S*,5*S*-151**)