

INSTYTUT CHEMII ORGANICZNEJ

POLSKIEJ AKADEMII NAUK



**Badanie chemoenzymatycznych reakcji
multikomponentowych typu Ugiiego i Passeriniego
w obecności związków powierzchniowo czynnych**

mgr inż. Arleta Zaremba

Praca doktorska przedłożona Radzie Naukowej Instytutu Chemii Organicznej
Polskiej Akademii Nauk

Promotor: prof. dr hab. Ryszard Ostaszewski

Warszawa 2023

Pragnę serdecznie podziękować:

*Panu Profesorowi Ryszardowi Ostaszewskiemu
za możliwość wykonania tej pracy
oraz wsparcie naukowe*

*Obecnym i byłym członkom Zespołu XX
za pomoc i rodzinną atmosferę*

*Mojemu mężowi, rodzinie i przyjaciołom
za to, że jesteście*

**Wyniki przedstawione w niniejszej pracy doktorskiej ukazały się
w następujących publikacjach:**

1. A. Madej, D. Paprocki, D. Koszelewski, A. Żądło-Dobrowolska, A. Brzozowska, P. Walde, Ryszard Ostaszewski, *RSC ADVANCES*, 2017, 7, 53, 33344.

Efficient Ugi reactions in an aqueous vesicle system.

2. A. Madej, D. Koszelewski, D. Paprocki, A. Brodzka, R. Ostaszewski, *RSC ADVANCES*, 2018, 8, 50, 28405.

The sustainable synthesis of peptidomimetics via chemoenzymatic tandem oxidation-Ugi reaction.

3. A. Madej, D. Koszelewski, D. Paprocki, A. Brodzka, R. Ostaszewski, *CATALYSIS COMMUNICATIONS*, 2020, doi.org/10.1016/j.catcom.2020.106118

The amine as carbonyl precursor in the chemoenzymatic synthesis of Passerini adducts in aqueous medium.

Publikacje przeglądowe:

1. D. Paprocki, A. Madej, D. Koszelewski, A. Brodzka, R. Ostaszewski, *FRONTIERS IN CHEMISTRY* 2018, 6, Article 502.

Multicomponent Reactions Accelerated by Aqueous Micelles.

Opublikowane prace, które nie wchodzą w skład rozprawy doktorskiej:

1. A. Żądło-Dobrowolska, D. Koszelewski, D. Paprocki, A. Madej, M. Wilk, R. Ostaszewski, *CHEMCATCHEM*, 2017, 9, 3047. ***Enzyme-Promoted Asymmetric Tandem Passerini Reaction.***
2. D. Koszelewski, D. Paprocki, A. Madej, F. Borys, A. Brodzka, R. Ostaszewski, *EUROPEAN JOURNAL OF ORGANIC CHEMISTRY*, 2017, 31, 4572. ***Enzymatic Tandem Approach to Knoevenagel Condensation of Acetaldehyde wit Acidic Methylene Compounds in Organic Media.***
3. D. Koszelewski, D. Trzepizur, E. Zaorska, A. Madej, A. Brodzka, D. Paprocki F. Borys, M. Wilk, R. Ostaszewski, *EUROPEAN JOURNAL OF ORGANIC CHEMISTRY*, 2018, 25, 3280. ***Facile Conversion of -Acyloksy Amides into 3-Hydroksy-lactams.***
4. D. Paprocki, M. Wilk, A. Madej, P. Walde, R. Ostaszewski, *ENVIRONMENTAL CHEMISTRY LETTERS*, 2019, 17, 2, 1011. ***Catalyst-free synthesis of alfa-acyloxy carboxamides in aqueous media.***
5. M. Wilk, A. Brodzka, D. Koszelewski, A. Madej, D. Paprocki, A. Zadło-Dobrowolska, R. Ostaszewski, *BIOORGANIC CHEMISTRY*, 2019, 93, 102817. ***The influence of the isocyanoesters structure on the course of enzymatic Ugi reactions.***
6. P. Kowalczyk, A. Madej, D. Paprocki, M. Szymczak, R. Ostaszewski, *MATERIALS*, 2020, 13, 11, 2499. ***Coumarin Derivatives as New Toxic Compounds to Selected K12, R1–R4 E. coli Strains.***

Praca doktorska była wykonana w ramach projektu:



NARODOWE CENTRUM NAUKI

„Intensyfikacja reakcji multikomponentowych oraz kaskadowych w liposomach z zastosowaniem procesów katalizowanych enzymatycznie ”

realizowanego w ramach programu Harmonia, Narodowego Centrum Nauki

Nr grantu: 2014/14/M/ST5/00030

***Pracę dedykuję mojej mamie,
najdzielniejszej amazonce świata***

Streszczenie Rozprawy Doktorskiej

Reakcje Ugiego oraz Passeriniego wykorzystywane są do syntezy peptydomimetyków, związków zdolnych do naśladowania właściwości naturalnych peptydów. Zwykle do ich syntezy stosowane są rozpuszczalniki organiczne. Jednak ze względu na ich toksyczność poszukuje się nowych, przyjaznych dla środowiska, mediów reakcji zgodnie z drugą zasadą „zielonej chemii”. Obiecującym układem reakcyjnym jest wodny roztwór surfaktantów ze względu na ich znany katalityczny wpływ na przebieg szeregu reakcji chemicznych oraz możliwą kompatybilność z reakcjami enzymatycznymi.

Celem niniejszej pracy było opracowanie warunków, które umożliwiłyby przeprowadzenie chemoenzymatycznych reakcji multikomponentowych typu Ugiego i Passeriniego w wodzie jako rozpuszczalnika oraz w obecności związków powierzchniowo czynnych. Następnie rozszerzenie tej metodologii do syntezy peptydomimetyków zawierających ciprofloksacyne.

Podczas realizacji pracy doktorskiej opracowano wydajną syntezę produktów reakcji Ugiego w obecności związków powierzchniowo czynnych w wodzie. Przeprowadzone badania fizykochemiczne potwierdziły obecność agregatów surfaktantów w wodzie. Zastosowany układ micelarny wykazał znaczny wpływ na selektywność reakcji Ugiego. Następnie przeprowadzono sekwencyjną syntezę peptydomimetyków, która łączy enzymatyczne utlenianie alkoholi oraz amin do aldehydów i bezpośrednio ich użycie, jako substratów do reakcji Ugiego oraz Passeriniego. W wyniku badań opracowano pierwszy przypadek syntezy reakcji Passeriniego z zastosowaniem aminy zamiast aldehydu w roztworze micelarnym. W ostatnim etapie badań, bazując na poprzednich wynikach, opracowano chemoselektywną procedurę funkcjonalizacji ciprofloksacyny, jednego z antybiotyków z grupy fluorochinolonów, z zastosowaniem reakcji Passeriniego w roztworze micelarnym oraz w kwasie octowym. Opracowane procedury umożliwiają przeprowadzenie reakcji multikomponentowych w roztworach wodnych zamiast w toksycznych rozpuszczalnikach organicznych, co jest zgodne z zasadami „zielonej chemii”.



Abstract

Ugi and Passerini reactions are widely used for the synthesis of peptidomimetics that are able to imitate the properties of natural peptides. Those reactions are usually performed in chlorinated organic solvents. However, because of their toxicity, new reaction media for peptidomimetics synthesis are being searched to eliminate organic solvents. An aqueous solution containing surfactant aggregates such as micelles or vesicles is one of the promising solvents. It is an alternative reaction medium due to its catalytic effect on reactions and its possible compatibility with enzymatic reactions.

The purpose of my doctoral thesis is to develop optimal reaction conditions for performing chemoenzymatic multicomponent Ugi and Passerini reactions in the presence of aqueous surfactant system and to extend this methodology to the synthesis of ciprofloxacin-based peptidomimetics.

An efficient synthesis of the Ugi reaction products in an aqueous surfactant system was developed for the purpose of this dissertation. Physicochemical tests have confirmed the presence of surfactant aggregates in pure water. Obtained results revealed a beneficial effect on the selectivity of the Ugi reaction. Afterwards, the sequential synthesis of peptidomimetics was performed, combining enzymatic oxidation of alcohols and amines to aldehydes, followed by their direct use as substrates in Ugi and Passerini reactions. As a result of the research presented in this thesis, the first example of the Passerini reaction with amine as an aldehyde substitute was performed in the micellar solution. Finally, the studies were extended for the functionalization of ciprofloxacin, one of the fluoroquinolone antibiotics, using the Passerini reaction in aqueous solution and in acetic acid. Developed procedures enable carrying out the multicomponent reactions in aqueous solutions instead of toxic organic solvents, in accordance with the principles of "green chemistry."

Wykaz stosowanych skrótów

ABTS – kwas 2,2'-azyno-bis [3-etylbenzotiazoliny-6-sulfonowy]	d.r. – proporcja diastereoizomerów
AOT – dwu (2- etylohekylo) sulfobursztynian sodu	Et – grupa etylowa, C ₂ H ₅ -
n-Bu – grupa butylowa, C ₄ H ₉ -	HOBt – hydroksybenzotriazol
t-Bu – grupa <i>tert</i> -butylowa, (CH ₃) ₃ C	HRMS – wysoko rozdzielcza spektrometria mas
Bz – grupa benzykowa, FCH ₂ -	IBKS –kwas o-jodoksybenzoesowy
CMC – krytyczne stężenie micelizacji	Me – grupa metylowa, CH ₃ -
CP - ciprofloksacyna	NMR – spektroskopia magnetycznego rezonansu jądrowego
CPC - chlorku cetylopirydniowy	F – grupa fenykowa, C ₆ H ₅ -
CTAB – bromek heksadecylotrimetyloammoniumowy	SDS – laurylosiarczan sodu
DBSA – kwas dodecylobenzenosulfonowy	TBME – eter <i>tert</i> -butylo-metylowy
DDAB – bromek dilaurylodimetyloammoniumowy	TBN – azotyn butylu
Dil – nadchloraanem 1,1-dioktadecylo-3,3,3,3-tetrametyloindokarbocyaniny	TEMPO – 2,2,6,6-tetrametylopiperydyn-1- oksyl
DLS – dynamiczne rozpraszanie światła	TLC – chromatografia cienkowarstwowa
DMF – dimetyloformamid	TMS – tetrametylosilan
DMSO – dimetylosulfotlenek	t.top. – temperatura topnienia
DODAB – bromek dioktadecylodimetyloammoniumowy	TvL – lakaza z <i>Trametes versicolor</i>
	Span 60 – monostearynian sorbit

Spis treści

1. Wstęp.	1
2. Klasyfikacja procesów katalitycznych typu one-pot.	3
3. Reakcje multikomponentowe typu Ugiego i Passeriniego.	5
3.1. Reakcja Passeriniego.	7
3.1.1. Wybrane warianty reakcji Passeriniego.	9
3.2. Reakcja Ugiego.	13
3.2.1. Wybrane warianty reakcji Ugiego.	15
3.3. Zastosowanie reakcji Passeriniego oraz Ugiego w chemii medycznej.	19
4. Rola związków powierzchniowo czynnych w reakcjach multikomponentowych.	25
4.1. Surfaktanty.	27
4.2. Kataliza „micelarna”.	31
4.3. Reakcje multikomponentowe typu Ugiego i Passeriniego w roztworach wodnych.	32
5. Metody utleniania alkoholi i amin do aldehydów w połączeniu z reakcjami multikomponentowymi typu Passeriniego i Ugiego.	35
5.1. Utlenianie alkoholi do związków karbonylowych. Metody chemiczne.	37
5.2. Utlenianie amin do związków karbonylowych. Metody chemiczne.	39
5.3. Otrzymywanie związków karbonylowych. Metody enzymatyczne.	41
5.3.1. Dehydrogenaza alkoholowa.	43
5.3.2. Dehydrogenaza aminowa.	44
5.3.3. Oksydaza alkoholowa.	45
5.3.4. Oksydaza aminowa.	47
5.3.5. Lakaza.	49
6. Wybrane sekwencyjne reakcje multikomponentowe typu Passeriniego i Ugiego.	53
7. Ciprofloksacyna jako potencjalny substrat do reakcji multikomponentowych.	55
7.1. Zastosowanie reakcji multikomponentowych do funkcjonalizacji ciprofloksacyny.	57
8. Badania Własne.	59
8.1. Koncepcja i cel badań.	59
8.2. Promowanie reakcji Ugiego układami micelarnymi.	61
8.2.1. Badania nad potwierdzeniem obecności agregatów surfaktantów.	69
8.3. Badania nad opracowaniem chemoenzymatycznej sekwencyjnej reakcji łączącej utlenianie alkoholi z reakcją Ugiego.	73
8.4. Badania nad opracowaniem chemoenzymatycznej sekwencyjnej reakcji łączącej utlenianie aminy z reakcją Passeriniego.	83
8.5. Badania nad opracowaniem pochodnych ciprofloksacyny z zastosowaniem reakcji Passeriniego i Ugiego.	97
8.6. Podsumowanie badań własnych.	109

9. Część eksperymentalna.	113
9.1. Uwagi ogólne.	113
9.2.1. Synteza substratów.	114
9.2.2. Procedura ogólna I.	115
9.2.3. Synteza <i>N</i> -[(4-metoksyfenylo)metylo]-2-[(4-metoksyfenylo)metylo-(2-fenylacetylo)amino]-2-metylopentanoamidu	115
9.2.4. Synteza <i>N</i> -[(4-metoksyfenylo)metylo]-2-[(4-metoksyfenylo)metylo-(2-benzoilo)amino]-2-metylopentanoamidu	115
9.2.5. Synteza <i>N</i> -[(4-metoksyfenylo)metylo]-2-[(4-metoksyfenylo)metylo-(2-fenylpropionilo)amino]-2-metylopentanoamidu	116
9.2.6. Synteza <i>N</i> -[(4-metoksyfenylo)metylo]-2-[(4-metoksyfenylo)metylo-(2-acetylo)amino]-2-metylopentanoamidu	116
9.2.7. Synteza <i>N</i> -[(4-metoksyfenylo)metylo]-2-[(4-metoksyfenylo)metylo-(2-stearynianilo)amino]-2-metylopentanoamidu	116
9.2.8. Synteza <i>N</i> -[(4-metoksyfenylo)metylo]-2-[(4-metoksyfenylo)metylo-(2-fenylacetylo)amino]-2-propionoamidu	117
9.2.9. Synteza <i>N</i> -[(4-metoksyfenylo)metylo]-2-[(4-metoksyfenylo)metylo-(2-fenylacetylo)amino]-2-butyloamidu	117
9.2.10. Synteza <i>N</i> -[(4-metoksyfenylo)metylo]-2-[(4-metoksyfenylo)metylo-(2-fenylacetylo)amino]-2-pentanoamidu	117
9.2.11. Synteza <i>N</i> -[(4-metoksyfenylo)metylo]-2-[(4-metoksyfenylo)metylo-(2-fenylacetylo)amino]-2-propionoamidu	118
9.2.12. Synteza <i>N</i> -[(4-metoksyfenylo)metylo]-2-[(4-metoksyfenylo)metylo-(2-fenylacetylo)amino]-2-dodekanoamid	118
9.2.13. Synteza <i>N</i> -[(4-metoksyfenylo)metylo]-2-[(4-metoksyfenylo)metylo-(2-fenylacetylo)amino]-2-fenylacetamid	118
9.2.14. Synteza <i>N</i> -[(4-metoksyfenylo)metylo]-2-[benzylo-(2-fenylacetylo)amino]-2-metylopentanoamidu	119
9.2.15. Synteza <i>N</i> -[(4-metoksyfenylo)metylo]-2-[butylo-(2-fenylacetylo)amino]-2-metylopentanoamidu	119
9.2.16. Synteza <i>N</i> -[(4-metoksyfenylo)metylo]-2-[2-metylopropylo-(2-fenylacetylo)amino]-2-metylopentanoamidu	119
9.2.17. Synteza <i>N</i> -[(4-metoksyfenylo)metylo]-2-[heksylo-(2-fenylacetylo)amino]-2-metylopentanoamidu	120
9.2.18. Synteza <i>N</i> -benzylo-2-[benzylo-(2-fenylacetylo)amino]-2-metylopentanoamidu	120
9.2.19. Synteza <i>N</i> -cykloheksylo-2-[(4-metoksyfenylo)metylo-(2-fenylacetylo)amino]-2-metylopentanoamidu	120
9.2.20. Synteza <i>N</i> -butylo-2-[(4-metoksyfenylo)metylo-(2-fenylacetylo)amino]-2-metylopentanoamidu	121
9.2.21. Synteza <i>N</i> -heksylo-2-[(4-metoksyfenylo)metylo-(2-fenylacetylo)amino]-2-metylopentanoamidu	121
9.2.22. Synteza etylo 2-[(4-metoksyfenylo)metylo-(2-fenylacetylo)amino]-2-metylopentanoamido octanu	121
9.2.23. Synteza <i>N</i> -[2,5-dimetoksyfenylo)metylo]-2-[(4-metoksyfenylo)metylo-(2-fenylacetylo)amino]-2-metylopentanoamidu	122
9.2.24. Synteza <i>N</i> - <i>t</i> -butylo-2-[(4-metoksyfenylo)metylo-(2-fenylacetylo)amino]-2-metylopentanoamidu	122
9.2.25. Synteza <i>N</i> -[(4-metoksyfenylo)metylo]-2-[(4-metoksyfenylo)metylo-(2-metylofenylacetylo)amino]-2-metylopentanoamidu	122
9.3.1. Procedura ogólna II.	123
9.3.2. Synteza <i>N</i> -[(4-metoksyfenylo)metylo]-2-[(4-metoksyfenylo)metylo-(2-fenylacetylo)amino]-2-[4-metylofenylo]acetoamidu	123
9.3.3. Synteza <i>N</i> -[(4-metoksyfenylo)metylo]-2-[(4-metoksyfenylo)metylo-(2-fenylacetylo)amino]-2-[4-metoksyfenylo]acetoamidu	123
9.3.4. Synteza <i>N</i> -[(4-metoksyfenylo)metylo]-2-[(4-metoksyfenylo)metylo-(2-fenylacetylo)amino]-2-[4-chlorofenylo]acetoamidu	124
9.3.5. Synteza <i>N</i> -[(4-metoksyfenylo)metylo]-2-[(4-metoksyfenylo)metylo-(2-fenylacetylo)amino]-2-[4-bromofenylo]acetoamidu	124

9.3.6. Synteza <i>N</i> -[(4-metoksyfenylo)metylo]-2-[(4-metoksyfenylo)metylo-(2-fenylacetylo)amino]-2-propionoamidu _____	124
9.3.7. Synteza <i>N</i> -[(4-metoksyfenylo)metylo]-2-[(4-metoksyfenylo)metylo-(2-fenylacetylo)amino]-2-dodekanoamidu _____	125
9.3.8. Synteza <i>N</i> -benzylo-2-[(4-metoksyfenylo)metylo-(2-fenylacetylo)amino]-2-fenylacetoamidu _____	125
9.3.9. Synteza <i>N</i> -cycloheksylo-2-[(4-metoksyfenylo)metylo-(2-fenylacetylo)amino]-2-fenylacetoamidu _____	125
9.3.10. Synteza <i>N</i> - <i>t</i> -butylo-2-[(4-metoksyfenylo)metylo-(2-fenylacetylo)amino]-2-fenylacetoamidu _____	126
9.3.11. Synteza <i>N</i> - <i>n</i> -butylo-2-[(4-metoksyfenylo)metylo-(2-fenylacetylo)amino]-2-fenylacetoamidu _____	126
9.3.12. Synteza <i>N</i> -benzylo[(4-metoksyfenylo)metylo]-2-[(4-metoksyfenylo)metylo-3-(fenylopropionylo)amino]-2-fenylacetoamidu _____	126
9.3.13. Synteza <i>N</i> -benzylo[(4-metoksyfenylo)metylo]-2-[(4-metoksyfenylo)metylo-4-(fenylobutyrylo)amino]-2-fenylacetoamidu _____	127
9.3.14. Synteza <i>N</i> -benzylo-2-[(4-metoksyfenylo)metylo-5-(fenylopentylo)amino]-2-fenylacetoamidu _____	127
9.3.15. Synteza <i>N</i> -benzylo[(4-metoksyfenylo)metylo]-2-[(4-metoksyfenylo)metylo-3-(fenylopropionylo)amino]-2-fenylacetoamidu _____	127
9.4.1. Procedura ogólna III _____	128
9.4.2. Synteza benzoesanu 2-(benzyloamino)-2-okso-1-fenylacetylu _____	128
9.4.3. Synteza octanu 2-(benzyloamino)-2-okso-1-fenylacetylu _____	128
9.4.4. Synteza propionianu 2-(benzyloamino)-2-okso-1-fenylacetylu _____	129
9.4.5. Synteza fenylacetoamidu 2-(benzyloamino)-2-okso-1-fenylacetylu _____	129
9.4.6. Synteza kaprylanu 2-(benzyloamino)-2-okso-1-fenylacetylu _____	129
9.4.7. Synteza laurynianu 2-(benzyloamino)-2-okso-1-fenylacetylu _____	129
9.4.8. Synteza stearynianu 2-(benzyloamino)-2-okso-1-fenylacetylu _____	130
9.4.9. Synteza oleinianu 2-(benzyloamino)-2-okso-1-fenylacetylu _____	130
9.4.10. Synteza 2-(6-metoksynaftalen-2-yl)propanianu 2-(benzyloamino)-2-okso-1-fenylacetylu ^a _____	130
9.4.11. Synteza 2-(6-metoksynaftalen-2-yl)propanianu 2-(benzyloamino)-2-okso-1-fenylacetylu ^b _____	131
9.4.12. Synteza benzoesanu 2-[(4-metoksybenzylo)amino]-2-okso-1-fenylacetylu _____	131
9.4.13. Synteza benzoesanu 2-(cycloheksyloamino)-2-okso-1-fenylacetylu _____	131
9.4.14. Synteza benzoesanu 2-(butyloamino)-2-okso-1-fenylacetylu _____	131
9.4.15. Synteza benzoesanu 2-(benzyloamino)-1-(4-metoksyfenylo)-2-oksoetylu _____	132
9.4.16. Synteza fenylacetoamidu 2-(benzyloamino)-1-(4-metoksyfenylo)-2-oksoetylu _____	132
9.4.17. Octan 2-(benzyloamino)-1-(4-metoksyfenylo)-2-oksoetylu _____	132
9.4.18. Synteza benzoesanu 2-(4-metoksybenzyloamino)-1-(4-metoksyfenylo)-2-oksoetylu _____	132
9.4.19. Synteza benzoesanu 2-(cycloheksyloamino)-1-(4-metoksyfenylo)-2-oksoetylu _____	133
9.4.20. Synteza benzoesanu 2-[(2,4,4-trimetylopentan-2-yl)amino]-1-(4-metoksyfenylo)-2-oksoetylu _____	133
9.5.1. Procedura ogólna IV _____	134
9.5.2. Procedura ogólna V _____	134
9.5.3. Synteza 1-((4-metoksybenzylo)amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl 1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-7-(piperazin-1-yl)-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylate _____	134
9.5.4. Synteza 1-((4-metoksybenzylo)amino)-1-oxoheptan-2-yl 1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-7-(piperazin-1-yl)-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylate _____	135
9.5.5. Synteza 1-((4-metoksybenzylo)amino)-1-oxononan-2-yl 1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-7-(piperazin-1-yl)-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylate _____	135
9.5.6. Synteza 1-((4-metoksybenzylo)amino)-1-oundecan-2-yl 1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-7-(piperazin-1-yl)-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylate _____	136
9.5.7. Synteza 1-((4-metoksybenzylo)amino)-1-oxotetradecan-2-yl 1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-7-(piperazin-1-yl)-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylate _____	136
9.5.8. Synteza 1-((4-metoksybenzylo)amino)-1-oxopentan-2-yl 1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-7-(piperazin-1-yl)-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylate _____	137
9.5.9. Synteza 1-((4-metoksybenzylo)amino)-1-odecan-2-yl 1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-7-(piperazin-1-yl)-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylate _____	137

9.5.10. Synteza 1-((4-methoxybenzyl)amino)-1-oxododecan-2-yl 1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-7-(piperazin-1-yl)-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylate _____	138
9.5.11. Synteza 1-((4-methoxybenzyl)amino)-1-oxotridecan-2-yl 1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-7-(piperazin-1-yl)-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylate _____	138
9.5.12. Synteza 1-((4-methoxybenzyl)amino)-1-oxopentadecan-2-yl 1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-7-(piperazin-1-yl)-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylate _____	139
9.5.13. Synteza 1-((4-methoxybenzyl)amino)-1-oxohexadecan-2-yl 1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-7-(piperazin-1-yl)-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylate _____	139
9.5.14. Synteza 1-((4-methoxybenzyl)amino)-1-oxoheptadecan-2-yl 1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-7-(piperazin-1-yl)-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylate _____	140
9.5.15. Synteza 2-((4-methoxybenzyl)amino)-2-oxo-1-phenylethyl 1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-7-(piperazin-1-yl)-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylate _____	140
9.5.16. Synteza 1-(4-bromophenyl)-2-((4-methoxybenzyl)amino)-2-oxoethyl 1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-7-(piperazin-1-yl)-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylate _____	141
9.5.17. Synteza 1-((4-methoxybenzyl)amino)-1-oxo-4-phenylbutan-2-yl 1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-7-(piperazin-1-yl)-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylate _____	141

1. Wstęp.

Peptydy oraz białka pełnią kluczową rolę w funkcjonowaniu żywych organizmów, angażując się w działanie licznych procesów dotyczących między innymi sygnalizacji komórkowej.¹ Ponadto biorą czynny udział jako neuroprzekaźniki, hormony oraz przeciwciała, wykazując ważne właściwości lecznicze. Mimo wielu zalet, zastosowanie ich w medycynie jest ograniczone ze względu na szybką proteolizę i nieodpowiednią przepuszczalność przez błony komórkowe.² W związku z tym, stanowią one jedynie inspirację do opracowywania nowych leków. Wzorując się na nich, zaprojektowano nowe struktury związków tzw. peptydomimetyki, które wykazują właściwości zbliżone do naturalnych peptydów.³

Niestety metody chemiczne otrzymywania peptydomimetyków wymagają zastosowania wieloetapowych sekwencji reakcji. Natomiast konieczność stosowania takich procedur utrudnia wprowadzanie różnorodnej funkcjonalizacji struktury związku chemicznego. Rozwiązaniem zaistniałego problemu jest zastosowanie reakcji multikomponentowych (MCR).⁴ Dzięki temu, możliwe jest otrzymanie peptydomimetyków o złożonej budowie w jednoetapowej procedurze w prosty i szybki sposób. Ważną zaletą reakcji multikomponentowych jest możliwość syntezy dużych bibliotek związków, co jest szczególnie ważne w poszukiwaniu nowych substancji aktywnych.⁵

Obecnie duży nacisk kładzie się na projektowanie przyjaznych środowisku metod syntezy peptydomimetyków zgodnie z zasadami „zielonej chemii”, które między innymi zalecają ograniczenie użycia rozpuszczalników organicznych.⁶ Dlatego też, dużym zainteresowaniem cieszą się reakcje przeprowadzane w obecności związków powierzchniowo czynnych. Związki te w wodzie pełnią rolę „bioreaktorów”, tzw. protokomórek, tworząc tym samym unikalne środowisko, w którym prowadzona jest reakcja chemiczna. W związku z tym, możliwe jest zastosowanie warunków reakcji naśladujących naturalne środowisko,⁷ które może być kompatybilne z reakcjami enzymatycznymi, co też sprzyja projektowaniu sekwencyjnych reakcji chemoenzymatycznych.

¹ A. L. Boyle, D. N. Woolfson, *Chem. Soc. Rev.* **2011**, 40, 4295.

² A. S. Ripka, D. H. Rich, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **1998**, 2, 441.

³ J. Gante, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1994**, 33, 17, 1699.

⁴ J. Zhu, Bienayme H. *Multicomponent Reactions*, Wiley-VCH: Weinheim, **2005**.

⁵ A. Domling, W. Wang, K. Wang, *Chem. Rev.* **2012**, 112, 3083.

⁶ P. Anastas, N. Eghbali, *Chem. Soc. Rev.* **2010**, 39, 301.

⁷ P. Walde, H. Umakoshi, P. Stanoc, F. Mavellid, *Chem. Commun.* **2014**, 50, 10177.

W niniejszej pracy zostaną przedstawione badania nad opracowaniem przyjaznych środowisku procedur syntezy peptydomimetyków z wykorzystaniem reakcji multikomponentowych typu Passeriniego oraz Ugiego. W tym celu zostaną zastosowane wodne roztwory związków powierzchniowo czynnych, które umożliwią ograniczenie stosowania szkodliwych dla środowiska rozpuszczalników. Ponadto, przeprowadzenie reakcji multikomponentowych w roztworach micelarnych pozwoli na ich połączenie z reakcjami enzymatycznymi w sposób sekwencyjny.

2. Klasyfikacja procesów katalitycznych typu one-pot.

Reakcje prowadzone w jednym reaktorze chemicznym, to tak zwane reakcje typu one-pot, mające na celu poprawę wydajności produktów reakcji w syntetycznej chemii organicznej. Reakcje typu one-pot są określane jako procesy, które pozwalają na przeprowadzenie więcej niż jednej reakcji bez konieczności wyodrębniania i oczyszczania produktów pośrednich. Obecnie znanych jest kilka terminologii opisujących wieloetapowe reakcje typu one-pot. Spośród nich wyróżniamy reakcje, takie jak: domino, kaskadowa, tandemowa oraz sekwencyjna. Zgodnie z definicją zaproponowaną przez Bornscheuer'a wszystkie reakcje typu one-pot, zawierające przynajmniej dwie następcze reakcje (produkt jednej reakcji jest substratem kolejnej), są klasyfikowane, jako reakcje kaskadowe.⁸

Reakcje kaskadowe mogą być przeprowadzone w „trybie sekwencyjnym” z uwzględnieniem zmiany warunków reakcji, ale także w „trybie równoległym”.

Reakcje przebiegające w „trybie równoległym” zachodzą z zachowaniem tych samych warunków reakcji na poszczególnych jej etapach. Co więcej, stosowane reagenty do wszystkich etapów danej reakcji są dodawane tylko na początku procesu.

Reakcje sekwencyjne są to kaskady dwóch lub większej liczby reakcji, które przebiegają w sposób sekwencyjny. W tego typu reakcjach drugi katalizator lub reagent jest dodawany dopiero po zakończeniu pierwszego etapu reakcji.

Reakcje domino są to przemiany, mające na celu stworzenie dwóch lub większej liczby wiązań chemicznych w tych samych warunkach reakcji. W reakcji tego typu wszystkie składniki takie jak substraty, katalizatory, substancje pomocnicze, rozpuszczalniki etc., są dodawane do układu tylko na początku reakcji. Co więcej, nie jest możliwe przeprowadzenie poszczególnych etapów reakcji domino oddzielnie. Odpowiednie półprodukty reakcji są często niestabilne, a zatem trudne do wyodrębnienia i scharakteryzowania. Jest to spowodowane tym, że kolejne etapy reakcji domino są następstwem utworzonych wiązań i fragmentacji mających miejsce w poprzednim etapie.⁹

Reakcje tandemowe są to również reakcje prowadzone w jednym reaktorze chemicznym, które polegają na połączeniu dwóch lub większej liczby odrębnych reakcji chemicznych. Podobnie jak w przypadku reakcji domino reagenty oraz potrzebne katalizatory nie są dodawane podczas prowadzenia procesu, a produkty pośrednie nie mogą być wyizolowane. Natomiast każdy z etapów reakcji tandemowej przebiega w obecności katalizatora.

⁸ F. Rudroff, M. D. Mihovilovic, H. Gröger, R. Snajdrova, H. Iding, U. T. Bornscheuer, *Nature Catal.* **2018**, 1, 12.

⁹ S. F. Mayer, W. Kroutil, Kurt Faber, *Chem. Soc. Rev.*, **2001**, 30, 332.

Reakcje te mogą przebiegać z katalizatorami o tym samym cyklu katalitycznym lub z katalizatorem o różnych cyklach katalitycznych.^{10,11}

¹⁰ G. K. Zieliński, K. Grela, *Eur. J. Org. Chem.* **2016**, 22, 9440.

¹¹ G. Szöllösi, *Catal. Sci. Technol.*, **2018**, 8, 389.

3. Reakcje multikomponentowe typu Ugiego i Passeriniego.

Reakcje multikomponentowe (MCR) są potężnym narzędziem w chemii organicznej wykorzystywanym do syntezy złożonych struktur związków o wartości dodanej. Odpowiedni produkt reakcji multikomponentowych otrzymywany jest w wyniku reagujących ze sobą trzech lub większej liczby substratów w jednoetapowej reakcji chemicznej. Szereg zalet MCR sprawia, że ich stosowanie jest bardzo popularne w chemii kombinatoryjnej. Ze względu na ich podobieństwo do „idealnej syntezy” charakteryzują się między innymi wysoką wydajnością atomową, prostotą wdrożenia oraz oszczędnością czasu i energii. Ponadto, umożliwiają otrzymywanie dużych i różnorodnych bibliotek związków, w prosty i szybki sposób, w porównaniu do reakcji wieloetapowych.

Spośród wszystkich MCR, reakcje Passeriniego oraz Ugiego, mają szczególne znaczenie w chemii organicznej, ponieważ umożliwiają syntezę peptydomimetyków, związków o właściwościach zbliżonych do naturalnych peptydów. Jak powszechnie wiadomo, peptydy i białka odgrywają kluczową rolę w wielu biologicznych i fizjologicznych funkcjach żywych organizmów, jako neuroprzekaźniki, hormony lub przeciwciała, które oddziałują z receptorami lub enzymami, powodując ich aktywację bądź też inhibicję. Mimo to, peptydy nie są odpowiednimi kandydatami na leki między innymi ze względu na ich hydrofilowy charakter, który sprzyja niskiej przenikalności przez błony komórkowe. Co więcej, peptydy są metabolizowane przez obecne w komórkach proteazy - następuje hydroliza wiązania amidowego.

Natomiast synteza peptydomimetyków umożliwia otrzymanie związków charakteryzujących się aktywnością biologiczną zbliżoną do peptydów, ale o zwiększonej odporności na działanie proteaz oraz lepszej przenikalności przez błony komórkowe w porównaniu do ich naturalnych odpowiedników. Obecnie peptydomimetyki znalazły zastosowanie między innymi w syntezie leków do znieczulenia miejscowego (ksylokaina)¹² oraz inhibitorów proteazy (indynawir¹³, telaprewir¹⁴).

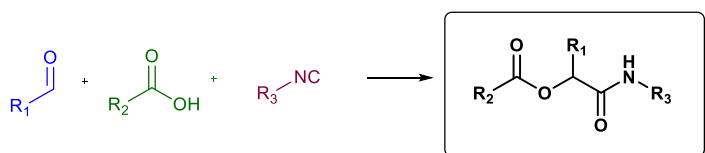
¹² I. Ugi and C. Steinbrückner, *US Pat.* **1966**, 3247200.

¹³ K. Rossen *et.al.* *Tetrahedron Letters*, **1998**, 39, 6823.

¹⁴ A. Kwong, R. Kauffman, P. Hurter, P. Mueller. *Nat Biotechnol.* **2011**, 29, 993.

3.1. Reakcja Passeriniego.

W 1921 roku została odkryta przez Mario Passeriniego reakcja, która jako pierwsza zaprezentowała przykład reakcji multikomponentowych.¹⁵

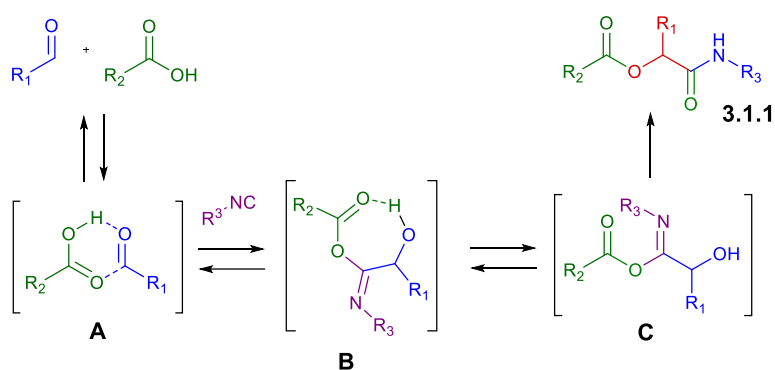


Mario Passerini
(1881-1962)

R3.1-1. Reakcja Passeriniego.

Przedstawiona reakcja Passeriniego (P-3CR) jest trójkomponentową reakcją pomiędzy kwasem karboksylowym, związkiem karbonylowym (aldehydem lub rzadziej, ketonem), oraz izocyjankiem. W wyniku tej reakcji otrzymywany jest α -acyloksyamid (rysunek R3.1-1).

Proponowany mechanizm reakcji Passeriniego (rysunek R3.1-2) zakłada, że w pierwszym etapie tej reakcji z kwasu karboksylowego oraz aldehydu powstaje addukt **A**. Związek ten w kolejnym etapie ulega reakcji z izocyjankiem tworząc produkt pośredni **B**, a następnie produkt pośredni **C**, tzw. α -addukt.



R3.1-2. Proponowany mechanizm reakcji Passeriniego.

¹⁵ M. Passerini, *Gazz. Chim. Ital.* **1922**, 52, 432.

Ostatnim etapem reakcji jest przegrupowanie Mumma, które jest nieodwracalnym etapem reakcji Passeriniego, prowadzącym do powstania produktu **3.1.1**. Zgodnie z zaproponowanym mechanizmem związek **3.1.1** jest jedynym produktem tej reakcji. Dzięki temu reakcja Passeriniego posiada 100% „ekonomię atomową”, co wpisuje się bardzo dobrze w założenia „zielonej chemii”, będąc w zgodzie z jej drugą zasadą.¹⁶

Jednak pomimo wysokiej „wydajności atomowej” przeprowadzenie reakcji Passeriniego nie należy do najprostszych ze względu na możliwość pojawienia się wielu produktów ubocznych, które mają wpływ na zanieczyszczenie mieszaniny reakcyjnej. Obok nieprzereagowanych substratów najczęściej obecny jest katalizowany kwasem produkt hydrolizy izocyjanku - *N*-podstawiony formamid.¹⁷ Ponadto, aldehyd może zostać przekształcony w odpowiedni kwas karboksylowy na skutek reakcji Cannizarro. Wspomniane produkty reakcji ubocznych mogą następnie reagować ze sobą, tworząc między innymi produkty konkurencyjnej reakcji Passeriniego. Dlatego też, dobór odpowiednich substratów oraz warunków reakcji poprzez minimalizację reakcji konkurencyjnych ma duży wpływ na wydajne przeprowadzenie reakcji.

Najlepsze wydajności reakcji Passeriniego uzyskuje się przy zastosowaniu dużych stężeń substratów w rozpuszczalnikach aprotowych takich jak chlorek metylenu oraz toluen. Ze względu na ich toksyczność oraz rakotwórczość, w ostatnich latach przeprowadzono badania nad opracowaniem warunków reakcji przyjaznych dla środowiska. Dzięki tym badaniom, produkty reakcji Passeriniego można otrzymać także w wodzie¹⁸, w wodnych roztworach micelarnych¹⁹, a także w wariacie bezrozpuszczalnikowym.²⁰

¹⁶ P. Anastas, N. Eghbali, *Chem. Soc. Rev.* **2010**, 39, 301.

¹⁷ K. Sung, C.-C. Chen, *Tetrahedron Lett.* **2001**, 42, 4845.

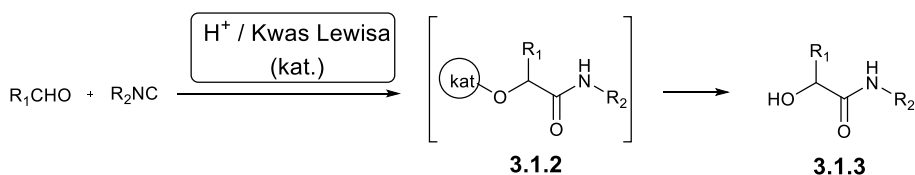
¹⁸ M. C. Pirrung, K. Das Sarma, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 2, 444.

¹⁹ D. Paprocki, D. Koszelewski, P. Walde, R. Ostaszewski, *RSC Adv.* **2015**, 5, 102828.

²⁰ D. Koszelewski, W. Szymanski, J. Krysiak, R. Ostaszewski, *Synt. Commun.* **2008**, 38, 1120.

3.1.1. Wybrane warianty reakcji Passeriniego.

Reakcja Passeriniego ze względu na jej duże znaczenie w chemii kombinatoryjnej doczekała się wielu modyfikacji, które prowadzą do otrzymania różnorodnych produktów.²¹ Są to tak zwane reakcje typu Passeriniego pomiędzy aldehydem, izocyjankiem oraz kwasem Brønsteda lub Lewisa stosowanego zamiast kwasu karboksylowego. Najprostszym wariantem reakcji typu Passeriniego jest reakcja dwuskładnikowa, w wyniku której otrzymywany jest α -hydroksyamid **3.1.3** (rysunek **R3.1-3**). Katalizowana kwasem Brønsteda bądź Lewisa addycja izocyjanku do aldehydu prowadzi do produktu pośredniego **3.1.2**, który następnie jest hydrolizowany do związku **3.1.3**. Przykładami najczęściej stosowanych katalizatorów są: kwas solny,²² kwas trifluoroctowy²³, kwas siarkowy²⁴, kwas borowy²⁵, kwas boronowy²⁶, kwas fenylofosfinowy²⁷ oraz czterochlorek tytanu²⁸.



R3.1-3. Zastosowanie reakcji typu Passeriniego do syntezy α -hydroksyamidu.

²¹ A. Dömling, W. Wang, K. Wang, *Chem. Rev.* **2012**, 112, 6, 3083.

²² I. Hagedorn, U. Eholzer, H.D. Winkelmann, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1964**, 3, 647.

²³ J. E. Semple, T. D. Owens, K. Nguyen, O. E. Levy; *Org. Lett.* **2000**, 2, 18, 2769.

²⁴ U. Fetzer, I. Ugi, *Liebigs Ann. Chem.* **1962**, 659, 184.

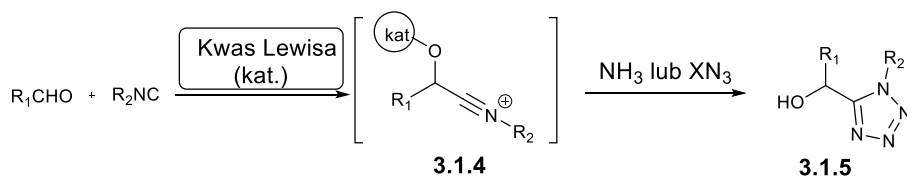
²⁵ J.S. Kumar, S.C. Jonnalagadda, V.R. Mereddy, *Tetrahedron Lett.* **2010**, 51, 779.

²⁶ T. Soeta, Y. Kojima, Y. Ukaji, K. Inomata, *Tetrahedron Lett.* **2011**, 52, 2557.

²⁷ B. Alcaide, P. Almendros, C. Aragoncillo, R. Callejo, M.P. Ruiz; *J Org Chem*, **2013**, 78, 10154.

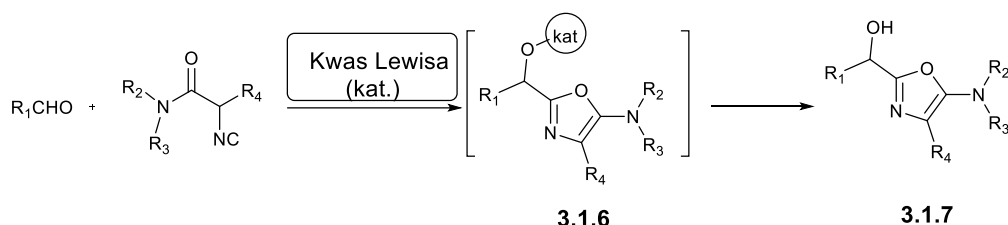
²⁸ M. Schiess, D. Seebach, *Helv Chim Acta*, **1983**, 66, 1618.

Kolejny przykład reakcji typu Passeriniego zaproponowany w 1963 roku przez I. Ugiego wykorzystuje kwas azotowodorowy do syntezy pochodnych α -hydroksytetrazolu **3.1.5**.²⁹ Obecnie oprócz kwasu azotowodorowego³⁰ stosowany jest także azydek glinu,³¹ trimetylosililu³² oraz azydek sodu³³ w obecności katalizatora Lewisa. Podobnie jak w poprzednim przypadku katalizator aktywuje aldehyd na atak izocyjanku. Następnie, ma miejsce addycja odpowiedniego azydku lub azotowodoru do powstałego produktu pośredniego **3.1.4** i następcze przegrupowanie prowadzące do otrzymania związku **3.1.5** (rysunek **R3.1-4**).



R3.1-4. Zastosowanie reakcji typu Passeriniego do syntezy α -hydroksytetrazolu.

Reakcja aldehydu z α -izocyjanoamidem w obecności kwasu Lewisa prowadzi do otrzymania pochodnych 5-aminooksazolu **3.1.7** (rysunek **R3.1-5**).³⁴ W zaprezentowanej modyfikacji reakcji Passeriniego aktywowany kwasem Lewisa aldehyd jest atakowany przez izocyjanek. Następnie powstały produkt addycji aldehydu i izocyjanku ulega następczej cyklizacji do produktu pośredniego **3.1.6**, którego dalsza hydroliza daje związek **3.1.7**.



R3.1-5. Zastosowanie reakcji typu Passeriniego do syntezy 5-aminooksazolu.

²⁹ I. Ugi, R. Meyr, *Chem. Ber.* **1961**, *94*, 2229.

³⁰ T. Yue, M.-X. Wang, D.-X. Wang, J. Zhu; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 9454.

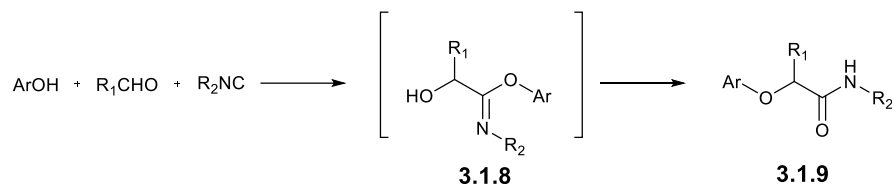
³¹ I. Ugi and R. Meyer, *Chem. Ber.*, **1961**, *94*, 2229.

³² A.L. Chandgude, A. Domling, *Green Chem.* **2016**, *18*, 3718.

³³ T. Sela, A. Vigalok, *Adv. Synt. Catal.* **2012**, *354*, 2407.

³⁴ G. Cony, R. Gamez-Montano, J. Zhu, *Tetrahedron*, **2004**, *60*, 4879.

Kolejnym wariantem reakcji Passeriniego jest tak zwana reakcja Passeriniego-Smilesa pomiędzy pochodną fenolu, związkiem karbonylowym oraz izocyjankiem (rysunek **R3.1-6**).³⁵ W tym przypadku zamiast kwasu karboksylowego została zastosowana pochodna fenolu. Produkt pośredni **3.1.8**, tworzący się w wyniku nukleofilowej addycji substratów ulega przegrupowaniu Smilesa, prowadząc do otrzymania O-aryloamidów **3.1.9**. Warunkiem koniecznym do efektywnego przeprowadzenia tej reakcji jest zastosowanie pochodnych fenolu z dużym deficytem elektronowym (np. *p*-nitrofenol) zdolnego do aktywowania związku karbonylowego.

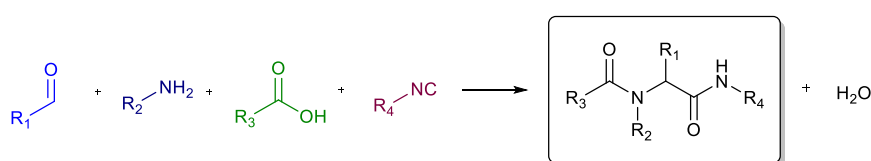


R3.1-6. Zastosowanie reakcji Passeriniego-Smilesa do syntezy O-aryloamidów.

³⁵ L. E. Kaim, M. Gizolme, L. Grimaud, J. Oble, *J. Org. Chem.* **2007**, 72, 4169.

3.2. Reakcja Ugiego.

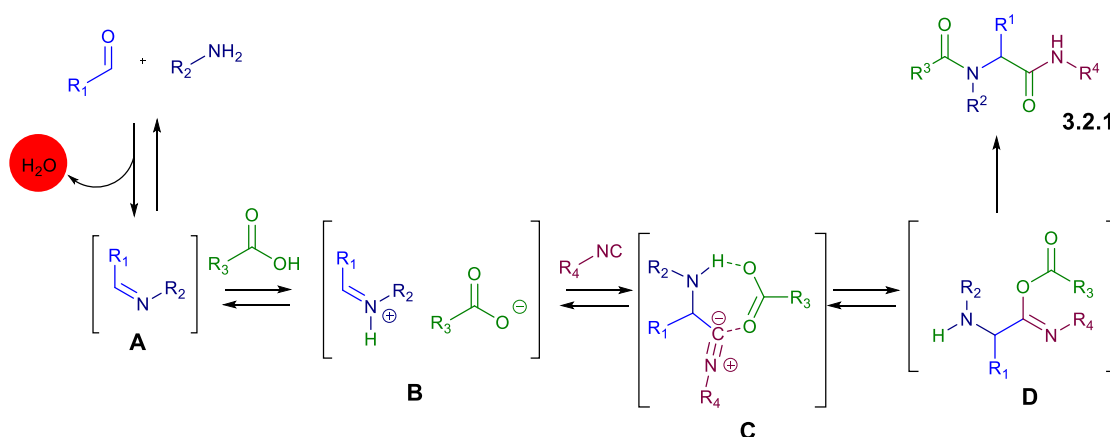
Jedną z najważniejszych reakcji multikomponentowych wykorzystywanych do syntezy peptydomimetyków jest reakcja Ugiego odkryta w 1959 roku przez Ivara Ugiego. Reakcja Ugiego jest to reakcja czterokomponentowa (U-4CR) pomiędzy kwasem karboksylowym, związkiem karbonylowym (aldehydem lub rzadziej, ketonem), w wyniku której otrzymywany jest α -amidoamid oraz cząsteczka wody (rysunek R3.2-1.).³⁶



Ivar Karl Ugi
(1930-2005)

R3.2-1. Reakcja Ugiego.

W pierwszym etapie reakcji Ugiego powstaje imina **A**, w wyniku reakcji aminy i aldehydu, której towarzyszy uwolnienie cząsteczki wody. Następnie imina **A** jest protonowana kwasem karboksylowym tworząc kation iminiowy **B**. W kolejnym etapie związek **B** reaguje z anionem kwasu karboksylowego oraz izocyjankiem tworząc kompleks **C**, a w dalszej kolejności związek pośredni **D**.



R3.2-2. Proponowany mechanizm reakcji Ugiego.

³⁶ I. Ugi, R. Meyr, A. Fetzer, C. Steinbrueckne, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1959**, *71*, 386.

Ostatnim etapem reakcji jest przegrupowanie Mumma adduktu **D**, które prowadzi do otrzymania produktu reakcji Ugiego, związku **3.2.1** (rysunek **R3.2-2**). Wszystkie etapy reakcji Ugiego są odwracalne poza ostatnim - przegrupowaniem Mumma.³⁷

Reakcja Ugiego umożliwia otrzymanie dużych bibliotek związków chemicznych w prosty i szybki sposób. Ponadto, reakcja ta przebiega z bardzo wysoką „wydajnością atomową”, ponieważ jedynymi produktami, które powstają, zgodnie z zaproponowanym mechanizmem, są α -amidoamid oraz cząsteczka wody. Dzięki temu, jest to reakcja będąca w zgodzie z drugą zasadą „zielonej chemii”.

Podobnie jak w przypadku reakcji Passeriniego, wydajność produktu reakcji Ugiego ściśle zależy od reaktywności substratów oraz warunków reakcji. Co więcej, duża liczba składników mieszaniny może przyczynić się do tworzenia również innych produktów ubocznych. Wśród nich można wyróżnić m.in. katalizowany kwasem formamid *p*-metoksybenzylowy, produkty reakcji Canizzarro, a także produkty reakcji Passeriniego. Dlatego też, w celu otrzymania odpowiedniego produktu reakcji Ugiego z jak najwyższą wydajnością konieczne jest przeprowadzenie optymalizacji warunków reakcji dla każdego zestawu substratów.

Na wydajność produktu reakcji Ugiego bardzo duży wpływ ma stężenie zastosowanych substratów. Najlepszą wydajność produktu reakcji Ugiego uzyskuje się stosując małe rozcieńczenia substratów (0.5 - 2M) w rozpuszczalnikach protycznych takich jak: metanol, etanol oraz trifluoroetanol (TFE). Niestety wszystkie wymienione rozpuszczalniki organiczne są łatwopalne, lotne i szkodliwe. W literaturze znane są także przykłady reakcji Ugiego prowadzonej bez rozpuszczalnika³⁸ oraz w roztworach wodnych.¹⁸

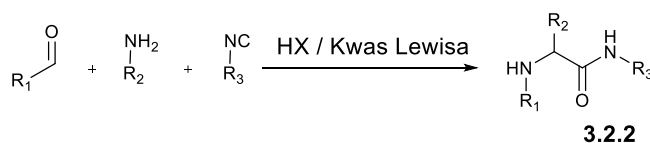
³⁷ H. G. O. Alvim, E. N. da Silva Junior, B. A. D. Neto, *RSC Adv.*, **2014**, 4, 54282.

³⁸ N. Liu, S. Cao, J. Wu, J. Yu, L. Shen, X. Feng, X. Qian, *Tetrahedron*, **2008**, 64, 3966.

3.2.1. Wybrane warianty reakcji Ugiego.

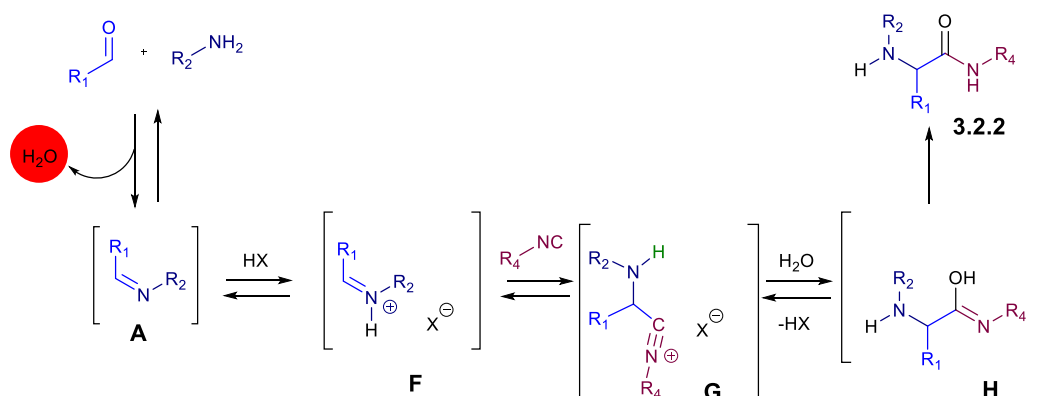
Reakcja Ugiego, poza klasycznym czterokomponentowym wariantem, występuje również w licznych modyfikacjach, generując produkty o zróżnicowanych strukturach.

Jednym z wariantów reakcji Ugiego jest katalityczna trójkomponentowa reakcja Ugiego (U-3CR). Najczęściej stosowanymi katalizatorami do tej reakcji są kwasy Brönsteda takie jak: kwas fenylofosfinowy,³⁹ kwas *p*-toluenosulfinowy⁴⁰, kwas fosforowy⁴¹ oraz kwas Lewisa: chlorek cynku⁴². W wyniku trójkomponentowej kondensacji aldehydu, aminy oraz izocyjanku otrzymywany jest α -aminoamid **3.2.2** (rysunek R3.2-4).⁴³



3.2-3. Katalityczna reakcja Ugiego (U-3CR).

Podobnie jak w wariacie czterokomponentowym tworzy się imina **A** z wydzieleniem cząsteczki wody (rysunek R3.2-4). Następnie do aktywowanej przez katalizator iminy, jonu iminiowego **F**, przyłącza się izocyjanek tworząc α -addukt **G**. W dalszej kolejności ma miejsce addycja nukleofilowa cząsteczki wody, która w tym wariacie reakcji Ugiego pełni rolę nukleofila tworząc produkt pośredni **H**. Etapem nieodwracalnym tej reakcji jest tautomeryzacja wiązania amidowego, w wyniku, którego otrzymywany jest produkt katalitycznej reakcji Ugiego **3.2.2**. Przegrupowanie Mumma w tym wariacie reakcji Ugiego nie występuje.



³⁹ C. Foley, A. Shaw, C. Hulme, *Org. Lett.* **2018**, 20, 5, 1275.

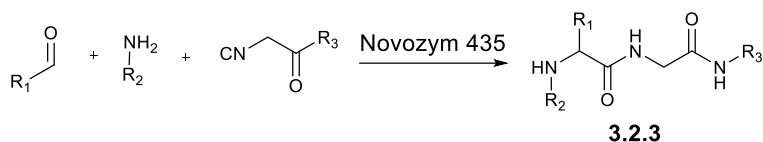
⁴⁰ P. Patil, B. Mishra, G. Sheombarsing, K. Kurpiewska, J. Kalinowska-Tluścik, A. Dömling, *ACS Comb. Sci.* **2018**, 20, 2, 70.

⁴¹ Z. - L. Ren, P. He, W. - T. Lu, M. Sun, M. - W. Ding, *Org. Biomol. Chem.* **2018**, 16, 34, 6322.

⁴² A. Shaabani, S. Keshipour, S. Shaabani, M. Mahyari, *Tetrahedron Lett.*, **2012**, 53, 13, 1641.

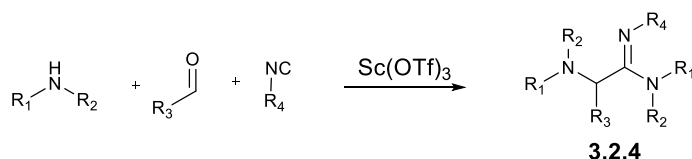
⁴³ S. C. Pan, B. List, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, 47, 362.

Wartym uwagi przykładem katalitycznej trójkomponentowej reakcji Ugiego jest jej wariant enzymatyczny (rysunek **R3.2-5**).⁴⁴ Zaproponowana w naszym zespole reakcja aminy, aldehydu oraz izocyjanku katalizowana lipazą (Novozym 435) prowadzi do otrzymania odpowiedniego dipeptydu **3.2.3** w łagodnych warunkach reakcji w temperaturze pokojowej. Ponadto, omawiana reakcja enzymatyczna przebiega efektywnie zarówno w toluenie jak i w wodzie.



R3.2-5. Enzymatyczna trójkomponentowa reakcja Ugiego.

Zastosowanie drugorzędowej aminy, aldehydu oraz izocyjanku w obecności kwasu Lewisa prowadzi do otrzymania α -aminoamidyny stosując drugorzędową aminę (rysunek **R3.2-6**). Najlepszym katalizatorem do przeprowadzenia tej reakcji był triflalan skandu. Bardzo dobre wydajności α -aminoamidyny otrzymuje się także przy zastosowaniu triflalanu indu, iterbu, itru oraz lantanu.⁴⁵



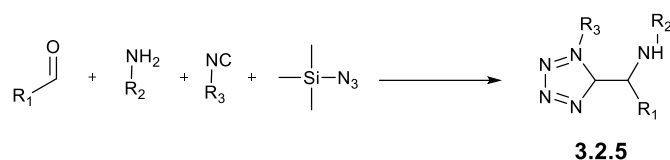
R3.2-6. Zastosowanie Ugi-3CR do syntezy α -aminoamidyny.

Reakcja aldehydu, aminy, izocyjanku oraz azydodotrimetylosilanu prowadzi do uzyskania pochodnych tetrazolu **3.2.5** (rysunek **R3.2-7**).⁴⁶ W tym wariacie reakcji zamiast kwasu karboksylowego został zastosowany azydodotrimetylosilan, który w mieszaninie reakcyjnej w obecności metanolu jest hydrolizowany do azotowodoru. Następnie, powstała imina, w wyniku reakcji aldehydu i aminy, jest protonowana azotowodorem tworząc kation iminiowy. W kolejnym etapie ma miejsce addycja nukleofilowa azotowodoru i izocyjanku oraz następcze przegrupowanie prowadzące do otrzymania tetrazolu **3.2.5**.

⁴⁴ S. Kłossowski, B. Wiraszka, S. Berłorzecki, R. Ostaszewski, *Org. Lett.*, **2013**, 15, 3.

⁴⁵ W. Keung, F. Bakir, A. P. Patron, D. Rogers, C. D. Priest, V. Darmohusodo, *Tetrahedron Lett.* **2004**, 45, 733.

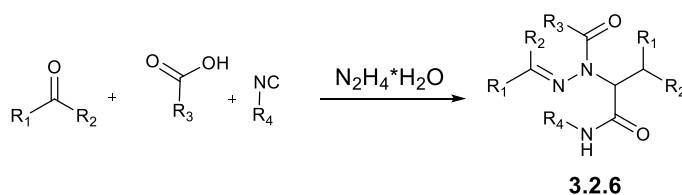
⁴⁶ F. Medda, G. Martinez-Ariza, C. Hulme, *Tetrahedron Lett.* **2015**, 56, 5295.



R3.2-7. Zastosowanie reakcji Ugiego do syntezy tetrazolu.

Zastosowanie kwasów Brönsteda oraz Lewisa ma znaczący wpływ na przebieg reakcji Ugiego.⁴⁷ Dzięki nim, aktywowana na atak nukleofilowy imina jest zdolna do przyłączenia izocyjanku oraz reagentów o różnym charakterze kwasowym. W literaturze znane są przykłady reakcji Ugiego, w których kwas karboksylowy został zastąpiony między innymi takimi substancjami jak: azotowodór⁴⁸, HNCO⁴⁹, HNCS⁵⁰, HNCS⁵¹, H₂S₂O₃ oraz H₂Se⁵², kwas tiokarboksylowy⁵³ oraz fenol⁵⁴.

Kolejne modyfikacje reakcji Ugiego są związane z zastosowaniem innego reagenta zawierającego grupę aminową. Przedstawiona na rysunku **R3.2-8** reakcja hydrazyny z aldehydem, izocyjankiem oraz kwasem karboksylowym prowadzi do otrzymania związku **3.2.6**.⁵⁵ W literaturze znane są przykłady reakcji, w których zamiast aminy zastosowano między innymi takie substraty jak: hydrazyd⁵⁶, mocznik⁵⁷, semikarbazyd⁵⁸, monohydrazon⁵⁹ oraz sulfonamid⁶⁰.



R3.2-8. Zastosowanie hydrazyny w czterekomponentowej reakcji Ugiego

⁴⁷ A. Domling, *Chem. Rev.* **2006**, 106, 17.

⁴⁸ I. Ugi, F. Bodesheim, *Chem. Ber.* **1961**, 94, 2797.

⁴⁹ I. Ugi, K. Offermann, *Chem. Ber.* **1964**, 97, 2276.

⁵⁰ I. Ugi, F.K. Rosendahl, F. Bodesheim, *Liebigs Ann. Chem.* **1963**, 666, 54.

⁵¹ R. Bossio, S. Marcaccini, R. Pepino, *Liebigs Ann. Chem.* **1993**, 11, 1229.

⁵² I. Ugi, C. Steinbruckner, *Angew. Chem.* **1960**, 72, 267.

⁵³ A. Domling, K. Illgen, *Synthesis*, **2005**, 4, 662.

⁵⁴ L. El Kaim, L. Grimaud, J. Oble, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2005**, 44, 7961.

⁵⁵ S. Marcaccini, R. Pepino, C. Polo, M. C. Pozo, *Synthesis*, **2001**, 42, 85.

⁵⁶ I. Ugi, F. Bodesheim, *Liebigs Ann. Chem.* **1963**, 666, 61.

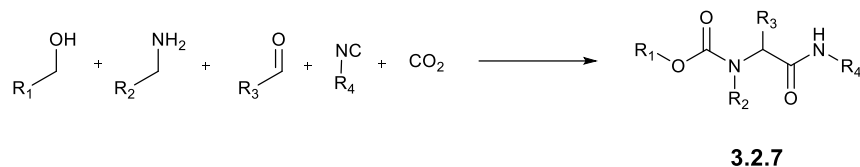
⁵⁷ A. Zychlinski, I. Ugi, *Heterocycles*. **1998**, 49, 29.

⁵⁸ M. Sanudo, S. Marcaccini, S. Basurto, T. J Torroba, *Org. Chem.* **2006**, 71, 4578.

⁵⁹ C.F. Marcos, S. Marcaccini, R. Pepino, C. Polo, T. Torroba, *Synthesis*. **2003**, 691.

⁶⁰ E. Campian, B. Lou, H. Saneji, *Tetrahedron Lett.* **2002**, 43, 8467.

Reakcja Ugiego może zostać także przeprowadzona z więcej niż czterech substratów. Jednym z przykładów, jest pięciokomponentowa reakcja Ugiego (Ugi-5CR) z aldehydem, aminą, izocyjankiem oraz dwutlenkiem węgla i metanolem.⁶¹ W tym wariantcie reakcji Ugiego, odpowiedni kwas karboksylowy jest generowany *in situ* w mieszaninie reakcyjnej z dwutlenku węgla oraz metanolu, zastosowanego także jako rozpuszczalnik. Otrzymany w ten sposób monometylowy ester kwasu węglowego, bierze udział w klasycznej reakcji Ugiego (Ugi-4CR) prowadząc do otrzymania odpowiedniego α -amidoamidu **3.2.7** (rysunek **R3.2-9**).



R3.2-9. Zastosowanie Ugi-5CR do syntezy α -amidoamidu.

W związku z możliwością generowania substratów w mieszaninie reakcyjnej, liczba reagentów zastosowanych do reakcji Ugiego może być większa niż cztery. Ponadto, zastosowanie substratu zawierającego w swojej strukturze więcej niż jedną grupę funkcyjną pozwoli na zredukowanie liczby niezbędnych reagentów jak i przeprowadzenie reakcji w wariantcie wewnątrzcząsteczkowym.⁶²

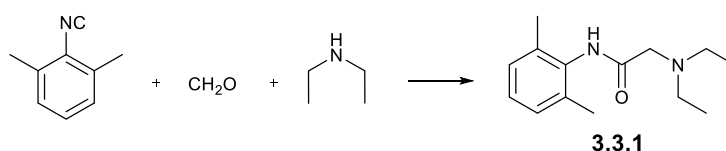
⁶¹ T. A. Keating, R. W. Armstrong, *J. Org. Chem.* **1998**, 63, 867.

⁶² I. Ugi, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1982**, 21, 810.

3.3. Zastosowanie reakcji Passeriniego oraz Ugiego w chemii medycznej.

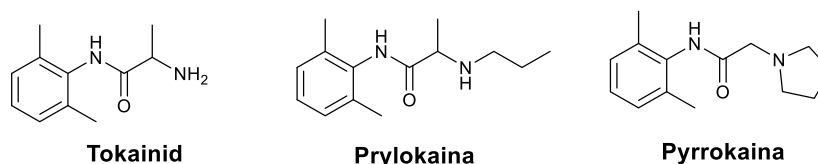
Reakcje multikomponentowe typu Passeriniego oraz Ugiego są potężnym narzędziem w chemii medycznej, w syntezie związków naturalnych oraz leków. Umożliwiają syntezę szerokiej gamy skomplikowanych struktur w jednoetapowej procedurze z prostych i łatwo dostępnych substratów. Dodatkowym atutem tych reakcji jest ich niska cena oraz duża wydajność, co jest niezbędnym czynnikiem w przemyśle farmaceutycznym.

Jednym z pierwszych zastosowań reakcji multikomponentowych w odkrywaniu nowych leków była synteza ksylokainy, środka znieczulającego miejscowo (rysunek **R3.3-1**). Zastosowanie dietyloaminy, formaldehydu oraz izocyjanku 2,6-dimetylofenylowego do reakcji Ugiego umożliwiło otrzymanie ksylokainy w jednoetapowej reakcji.⁶³ W tym szczególnym wariantcie wytworzona *in situ* woda, po utworzeniu iminy, bierze udział w reakcji Ugiego, dając produkt α -amino-karboksamidowy **3.3.1**.



R3.3-1. Synteza ksylokainy.

Zaproponowana przez Ugiego reakcja przyczyniła się do opracowania wielu leków o strukturze α -amino karboksamidu, między innymi tokainidu, prylokainy, pyrrokainy. Na rysunku **R3.3-2** zostały przedstawione przykładowe struktury środków znieczulenia miejscowego, które zostały otrzymane z zastosowaniem reakcji Ugiego.⁶⁴

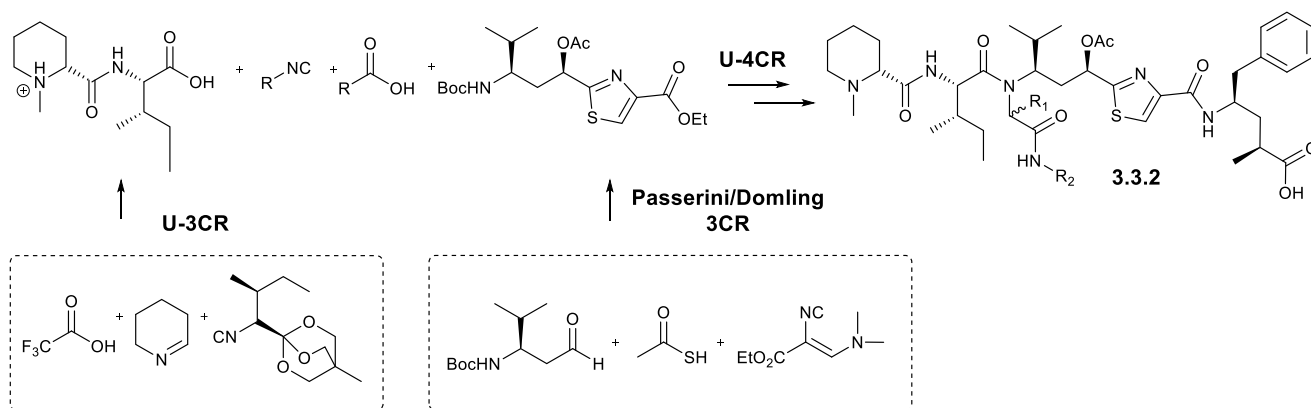


R3.3-2. Przykładowe struktury środków znieczulenia miejscowego.

⁶³ I. Ugi, C. Steinbruckner, *DE-B1*, **1959**, 103, 337.

⁶⁴ A. Domling, I. Ugi, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2000**, 39, 3168.

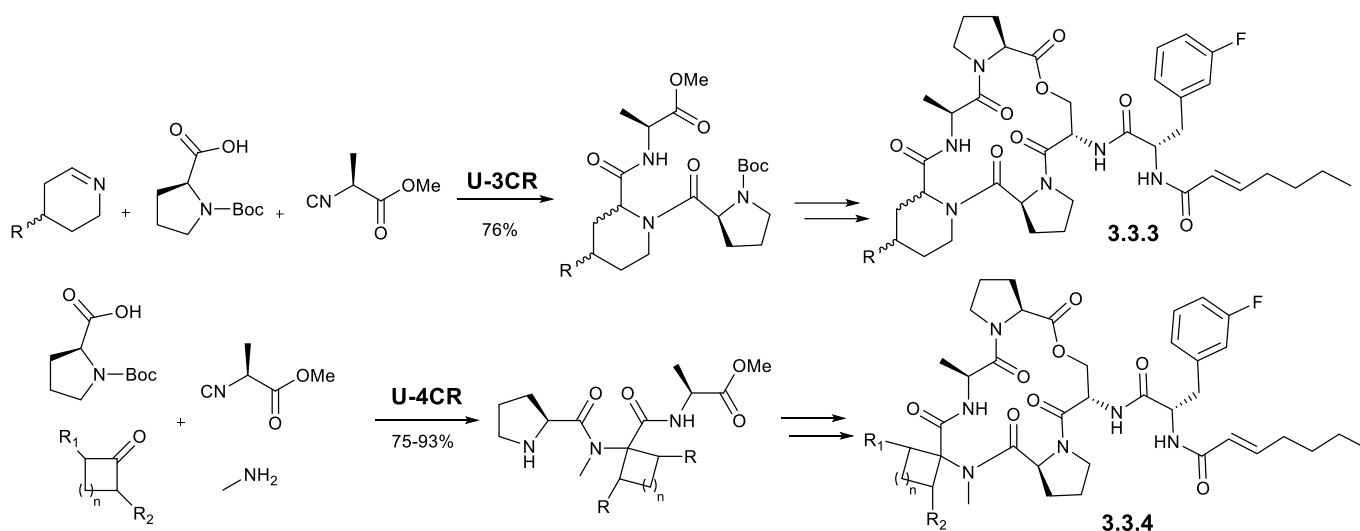
Związki naturalne są inspiracją w syntezie wielu farmaceutyków. Dlatego też, obecnie ponad połowa leków przeciwnowotworowych jest pochodzenia naturalnego, do syntezy których stosowane są strategie syntetyczne zorientowane na różnorodność. W tym kontekście peptydomimetyki mają szczególne znaczenie ze względu na ich właściwości, które są zbliżone do naturalnych peptydów. Jednym z przykładów zastosowania peptydomimetyków jest synteza tak zwanych tubugis, wysoce cytotoksycznych analogów tubulysin (rysunek **R3.3-3**). Wessjohann i współpracownicy opracowali otrzymywanie tubulysin z zastosowaniem reakcji Passerini oraz Ugiego.⁶⁵ Reakcje multikomponentowe zostały także zastosowane do syntezy kwasu karboksylowego oraz aminy, substratów niezbędnych do finalnej reakcji Ugiego (Ugi-4CR). Odpowiedni kwas karboksylowy uzyskano stosując trójkomponentową reakcję Ugiego do syntezy fragmentu dipeptydu, który po zasadowej hydrolizie i redukcyjnym aminowaniu prowadził do otrzymania dwóch diastereoizomerów. Natomiast jednoetapowa, trójkomponentowa reakcja Passerini-Dömling umożliwiła otrzymanie odpowiedniej aminy, 2-acyloksymetylotiazolu. Następnie, w wyniku czterokomponentowej reakcji Ugiego, po sprzęganiu z pochodną tubufenyloalaniny otrzymano produkt **3.3.2** z wydajnością 35 - 52%.



R3.3-3. Otrzymywanie tubugisu z zastosowaniem reakcji multikomponentowych.

⁶⁵ O. Pando, S. Stark, A. Denkert, A. Porzel, R. Preusentanz, L. A. Wessjohann, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, 133, 7692.

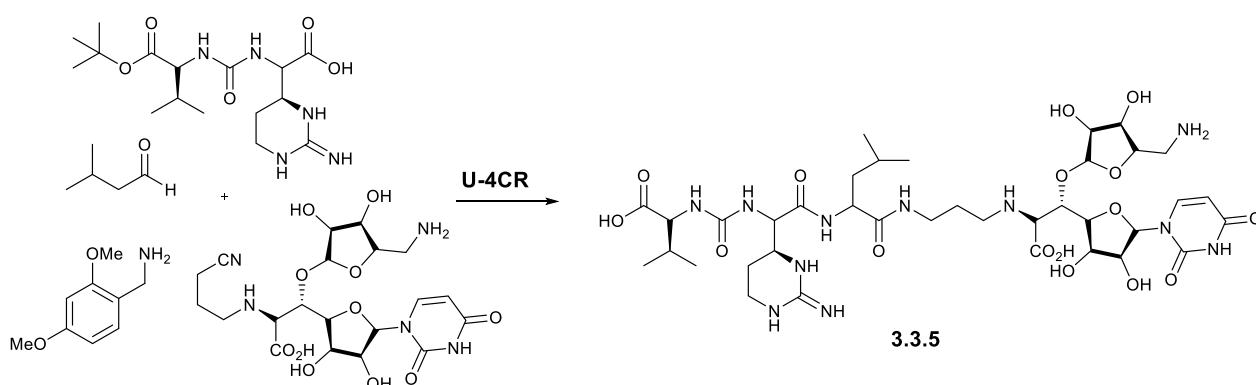
Natomiast program optymalizacyjny firmy Bayer Pharmaceuticals opracował syntezę analogu ADEP-4, pochodnej enopetyny, która charakteryzuje się silną aktywnością *in vitro* oraz *in vivo*.⁶⁶ W celu wprowadzenia różnorodności w syntezie pochodnych ADEP-4 zastosowano zarówno trójkomponentową jak i czterekomponentową reakcję Ugięgo (rysunek R3.3-4). Dzięki kolejnym przekształceniom uzyskano związki 3.3.3 oraz 3.3.4, które wykazują dużą aktywność przeciwbakteryjną wobec opornych szczepów *S. aureus* oraz *Enterococci*.



R3.3-4. Zastosowanie reakcji Ugięgo do syntezy analogu ADEP-4.

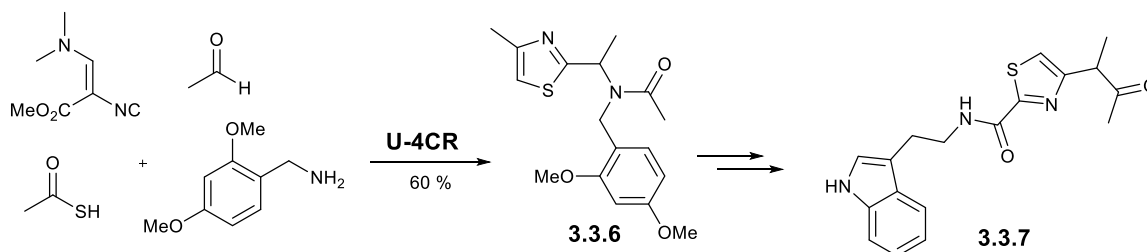
⁶⁶ B. Hinzen, S. Raddatz, H. Paulsen, T. Lampe, A. Schumacher, D. Habich, V. Hellwig, J. Benet-Buchholz, R. Endermann, H. Labischinski, H. Brotz-Oesterhelt, *ChemMedChem*, **2006**, *1*, 689.

Kolejny przykład obejmuje całkowitą syntezę, naturalnego przeciwdrobnoustrojowego związku, Muraymycin D2 (rysunek **R3.3-5**).⁶⁷ Zaproponowana synteza uwzględniła użycie komercyjnie dostępnych substratów, aminy oraz aldehydu. Jedynie synteza izocyjanku oraz kwasu wymagała zastosowania wieloetapowej procedury. Poza tym, kluczowym etapem syntezy Muraymycin D2 było zastosowanie czterokomponentowej reakcji Ugiego. Odpowiedni produkt **3.3.5** (po odbezpieczeniu aminy) otrzymano z wydajnością 54% w wariancie nie wymagającym zastosowania rozpuszczalnika.



R3.3-5. Zastosowanie reakcji Ugiego (U-4CR) do syntezy Muraymycin D2.

Dömling i współpracownicy zaprezentowali wydajną ścieżkę syntezy Bacillamidu C, związku naturalnego o właściwościach przeciwbakteryjnych (rysunek **R3.3-6**).⁶⁸ Autorzy zastosowali reakcję Ugiego w celu otrzymania związku z ugrupowaniem tiazolowym z wydajnością związku **3.3.6** równą 60% w metanolu. Kolejne przemiany mające na celu odbezpieczanie oraz sprzężenie z aminą prowadziły do uzyskania produktu **3.3.7**, Bacillamidu C z wydajnością całego procesu równą 30%.

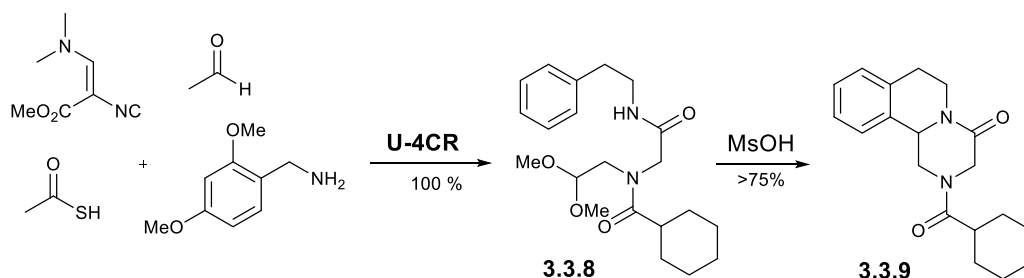


R3.3-6. Synteza Bacillamidu C

⁶⁷ T. Tanino, S. Ichikawa, M. Shiro, A. Matsuda, *J. Org. Chem.* **2010**, 75, 1366.

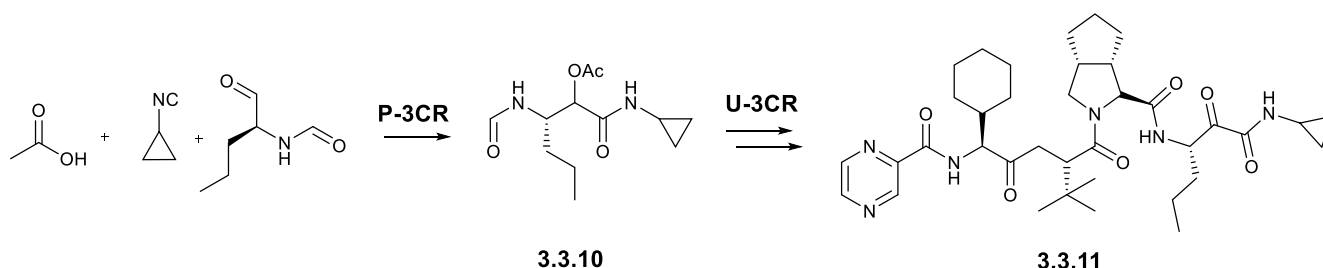
⁶⁸ W. Wang, S. Joyner, K. A. S. Khoury, A. Domling, *Org. Biomol. Chem.* **2010**, 8, 529.

Kolejnym przykładem zastosowania reakcji multikomponentowych jest synteza prazykwantelu, leku przeciwpasożytniczego stosowanego w leczeniu schistosomatozy. Dömling i współpracownicy zaproponowali prostą syntezę prazykwantelu z zastosowaniem reakcji Ugiego (rysunek **R3.3-7**).⁶⁹ Następnie otrzymany ilościowo peptydomimetyk **3.3.8** poddano działaniu kwasu mesylowego w temperaturze 70°C przeprowadzając cyklizację Picteta-Spenglera. W wyniku zaproponowanej procedury otrzymano lek **3.3.9** z całkowitą wydajnością równą 75%.



R3.3-7. Synteza prazykwantelu przy zastosowaniu reakcji Ugiego (U-4CR).

Następny przykład przedstawia syntezę substancji aktywnej telaprewiru, leku stosowanego na zapalenie wątroby typu C. Telaprewir jest to lek przeciwwirusowy działający, jako inhibitor proteazy serynowej NS3/4A.⁷⁰ Zaproponowana przez Turnera i współpracowników wieloetapowa synteza zakładała zastosowanie reakcji Passeriniego do syntezy peptydomimetyku **3.3.10**, który następnie po odwodnieniu zastosowano jako izocyjanek w trójkomponentowej reakcji Ugiego (rysunek **R3.3-8**). W wyniku następczych reakcji, mających na celu hydrolizę estru oraz utlenienie powstałej grupy hydroksylowej otrzymano produkt **3.3.11** z całkowitą wydajnością równą 45%.



R3.3-8. Otrzymywanie telaprewiru przy zastosowaniu reakcji Passeriniego (P-3CR) oraz Ugiego (U-3CR).

⁶⁹ A. Dömling, K. Khoury, *ChemMedChem*, **2010**, 5, 1420.

⁷⁰ A. Znabet, M. M. Polak, E. Janssen, F.J.J. de Kanter, N.J. Turner, R.V.A. Orru, E. Ruijter, *Chem. Commun.*, **2010**, 46, 7918.

Mimo wielu zastosowań reakcji Passeriniego i Ugiego do syntezy związków biologicznie aktywnych nie ma w literaturze doniesień dotyczących wykorzystania ich do funkcjonalizacji ciprofloksacyny – leku zawierającego w swojej strukturze zarówno grupę aminową jak i karboksylową.

4. Rola związków powierzchniowo czynnych w reakcjach multikomponentowych.

Woda jest jednym z najbardziej rozpowszechnionych związków w przyrodzie, a zarazem substancją niezbędną do życia, która odpowiada za podstawowe funkcje życiowe organizmów. Pełni rolę reagenta, a także rozpuszczalnika, tworząc w komórce odpowiednie środowisko wodne dla reakcji biochemicznych. Mimo to, do końca XX wieku woda nie była często stosowana jako medium reakcyjne w syntezie chemicznej.⁷¹ Obecnie jednak cieszy się coraz większym zainteresowaniem.⁷² Jest to związane z wyjątkową reaktywnością wody, która jest także ekonomicznym i przyjaznym dla środowiska rozpuszczalnikiem.⁷³ Niestety, większość związków organicznych jest nierozpuszczalna lub prawie nierozpuszczalna w roztworach wodnych, co stanowi główny problem ograniczający stosowanie wody jako rozpuszczalnika. Jednak można temu zaradzić poprzez zastosowanie związków powierzchniowo czynnych (surfaktantów), które często przyczyniają się do zwiększenia rozpuszczalności związków organicznych oraz szybkości reakcji.^{74,75} Ponadto, mając na uwadze prowadzenie procesów przyjaznych dla środowiska, stosowanie rozpuszczalników organicznych powinno być ograniczone do minimalnych ilości. Dlatego też, zastąpienie rozpuszczalnika organicznego roztworem wodnym cieszy się coraz większym zainteresowaniem w syntezie organicznej.

W ostatnich latach, wodne roztwory surfaktantów były stosowane jako media wielu reakcji chemicznych.⁷⁶ Grupa Bruce'a Lipshutza opublikowała, wydajną syntezę produktów reakcji katalizowanych metalami w wodzie w obecności agregatów surfaktantów (np. reakcja Suzuki).⁷⁷ Znane są także przykłady reakcji multikomponentowych prowadzonych w wodnym roztworze surfaktantów, między innymi reakcja Mannicha⁷⁸, czy też Kinugasy⁷⁹. Wobec tego, potrzeba projektowania przyjaznych dla środowiska metod syntezy zgodnie z zasadami "zielonej chemii", przyczyniła się do zwiększenia zainteresowania wodnymi roztworami surfaktantów.

⁷¹ K. Atul, K. G. Maneesh, K. Mukesh, S. Deepti, *RSC Adv.* **2013**, 3, 1673.

⁷² M. O. Simon, C. J. Li, *Chem. Soc. Rev.* **2012**, 41, 1415.

⁷³ D. G. Blackmond, A. Armstrong, V. Coombie and A. Wells, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, 46, 3798.

⁷⁴ P. Walde, H. Umakoshi, P. Stano, F. Mavelli, *Chem. Commun.* **2014**, 50, 10177.

⁷⁵ T. Dwars, E. Paetzold, G. Oehme, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, 44, 7174.

⁷⁶ M.S. Goedheijt, B.E. Hanson, J.N.H. Reek, P.C.J. Kamer, P.W.N.M. van Leeuwen, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 1650.

⁷⁷ S. Handa, Y. Wang, F. Gallou and B. H. Lipshutz, *Science*, **2015**, 349, 1087.

⁷⁸ G. Lu and C. Cai, *Catal. Commun.*, **2010**, 11, 745.

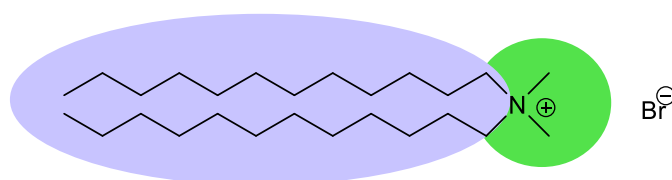
⁷⁹ C. S. McKay, D. C. Kennedy and J. P. Pezacki, *Tetrahedron Lett.* **2009**, 50, 1893.

4.1. Surfaktanty.

Związki powierzchniowo czynne, zwane także surfaktantami, stanowią grupę związków, które są szeroko stosowane w wielu gałęziach przemysłu między innymi jako detergenty, środki zwilżające, środki dyspergujące, emulgatory czy też środki spieniające.⁸⁰

Surfaktanty są to cząsteczki amfifilowe, które posiadają w swojej strukturze dwie części różniące się między sobą polarnością. Część hydrofilowa (zwana „głową”) wykazuje powinowactwo do wody, natomiast część hydrofobowa (zwana „ogonem”) wykazuje powinowactwo do substancji niepolarnych (rysunek **R4.1-1**).⁸¹

HYDROFOBOWY "OGON" ——— HYDROFILOWA "GŁOWA"



R4.1-1. Budowa cząsteczki amfifilowej DDAB.

Surfaktanty mogą różnić się między sobą ilością części hydrofilowych i hydrofobowych. Zazwyczaj „głowa” surfaktantu składa się z naładowanej lub nienaładowanej grupy polarnej (fosforan, siarczan, amon, aminokwas, peptyd, cukier), natomiast hydrofobowy „ogon” z łańcucha węglowodorowego może być nasycony lub nienasycony, liniowy lub rozgałęziony. Dwubiegunowa budowa związków powierzchniowo czynnych wpływa na ich aktywność powierzchniową oraz zdolność do obniżania napięcia powierzchniowego na granicy faz.⁸²

Podstawowa klasyfikacja surfaktantów opiera się na ich polarności, a więc na tym, czy posiadają one fragmenty hydrofilowe (polarne) czy hydrofobowe (niepolarne).

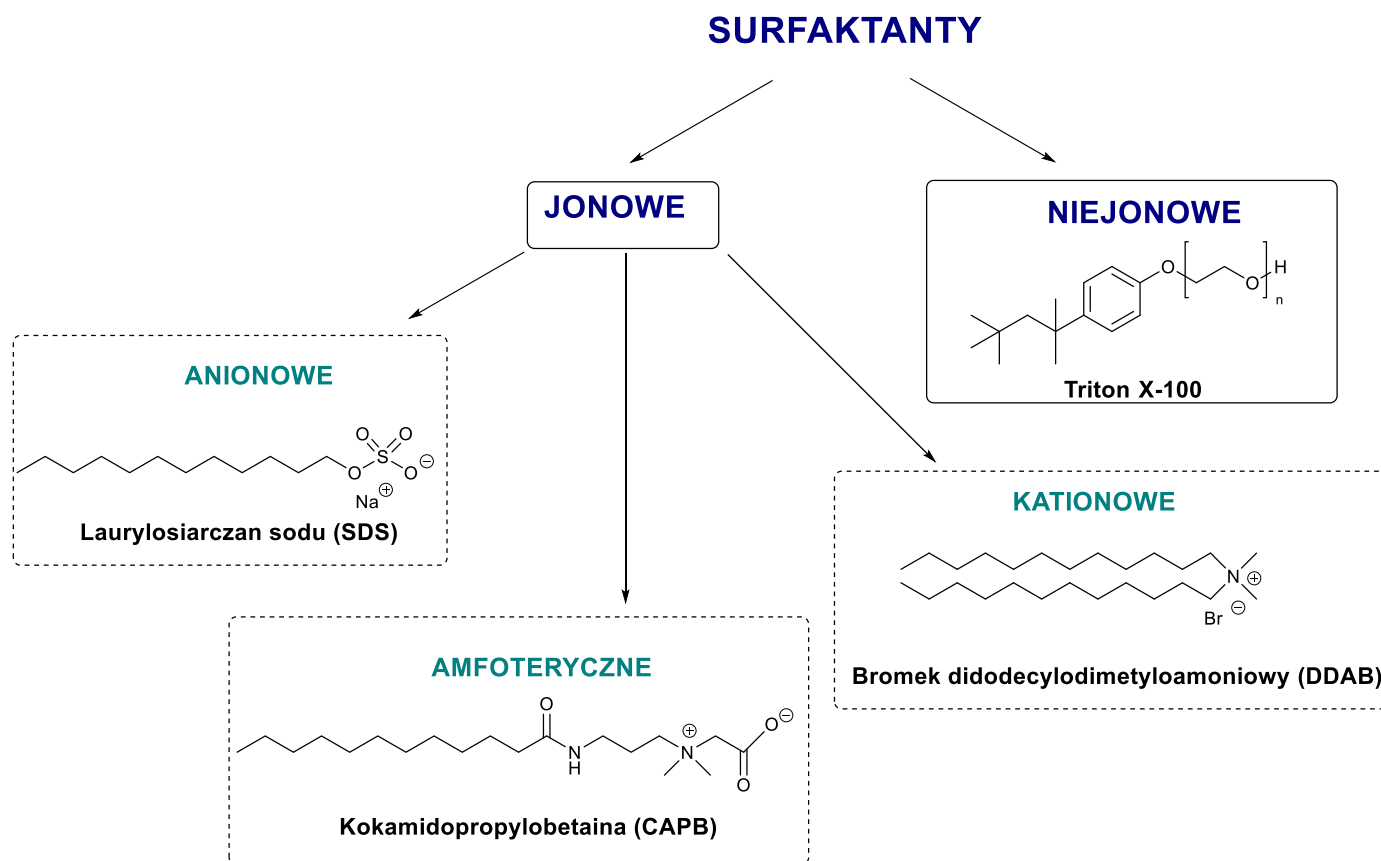
Surfaktanty, których cząsteczki w wodzie są zdolne do dysocjacji zaliczane są do grupy surfaktantów jonowych. Natomiast, surfaktanty, które nie ulegają dysocjacji zaliczane są do grupy surfaktantów niejonowych. Ich rozpuszczalność wynika z tworzenia wiązań wodorowych pomiędzy cząsteczkami wody i atomem, który posiada wolną parę elektronową (np. azot, tlen). W przypadku, gdy powstający w wodzie jon, wykazujący aktywność powierzchniową jest anionem, to związek jest klasyfikowany jako surfaktant anionowy. Natomiast, gdy powstający w wyniku dysocjacji jon jest kationem, związek zaliczany jest

⁸⁰ Laurier L. Schramm, Elaine N. Stasiuk, D. Gerrard Marangoni, *Annu. Rep. Prog. Chem. Sect. C*, **2003**, 99, 3.

⁸¹ G. C. Kresheck, *Aqueous Solution of Amphiphiles and Macromolecules*, **1975**, Plenum Press:New York and London.

⁸² M. J. Rosen, *Surfactants and Interfacial Phenomena*, **2004**, 3rd Edition, Wiley-Interscience.

do surfaktantów kationowych. Kolejną i ostatnią grupę stanowią surfaktanty amfoteryczne, których powstający w wyniku dysocjacji jon ściśle zależy od pH roztworu. W środowisku kwaśnym i zasadowym powstają odpowiednio kationy i aniony, natomiast w roztworze obojętnym przeważa forma jonów obojnaczych. Przykłady surfaktantów według opisanej klasyfikacji zostały przedstawione na rysunku R4.1-2.



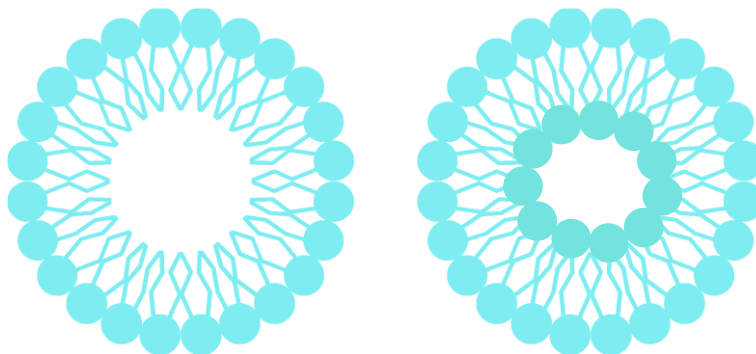
R4.1-2. Przykłady surfaktantów jonowych oraz niejonowych.

W roztworach wodnych surfaktanty dążą do osiągnięcia najkorzystniejszego stanu energetycznego tworząc agregaty o różnej morfologii w zależności od struktury surfaktantu oraz warunków eksperymentalnych, takich jak stężenie, temperatura i pH roztworu. Pojedyncze cząsteczki surfaktantu, zwane monomerami migrują na granicy faz dwóch ośrodków (woda-ścianki naczynia, woda-powietrze). Przy wzroście stężenia surfaktantu w roztworze wodnym, powierzchnia międzyfazowa ulega stopniowemu nasyceniu. Natomiast po jej wysyceniu cząsteczkami amfifilu następuje zwiększenie ilości monomerów surfaktantu w objętości roztworu. Po przekroczeniu krytycznego stężenia micelizacji (CMC) monomery surfaktantów w roztworach wodnych tworzą agregaty tzw. układy micelarne.

Zjawisko to ma na celu zminimalizowanie niekorzystnych oddziaływań pomiędzy hydrofobowym „ogonem” surfaktantu i cząsteczkami wody.

Krytyczne stężenie micelizacji (CMC) określa wartość stężenia związku powierzchniowo czynnego w roztworze, przy którym monomery surfaktantu są w równowadze z jego formą zagregowaną. Powyżej krytycznego stężenia, surfaktant występuje w postaci agregatów. Wartość CMC ściśle zależy od temperatury roztworu, która odgrywa bardzo ważną rolę w procesie agregacji. Minimalna temperatura, w której występuje agregacja, oznaczana jest jako tzw. punkt Kraffa. Natomiast zwiększanie temperatury roztworu powoduje także zwiększenie wartości krytycznego stężenia micelizacji.

W roztworach wodnych cząsteczki surfaktantów mogą przyjmować różne kształty (steryczne, cylindryczne, heksagonalne, lamelarne) o różnej wielkości w zależności od zastosowanego związku powierzchniowo czynnego.⁸³ Najczęściej agregaty surfaktantów występują w postaci miceli i pęcherzyków (rysunek **R4.1-3**).



R4.1-3. Micele i pęcherzyki.

Zazwyczaj micidele przyjmują kształt kulisty, ale w zależności od geometrii środka powierzchniowo czynnego, stężenia oraz innych czynników eksperymentalnych mogą przyjmować kształt elipsoidy lub długich cylindrów (pręty). Natomiast, pęcherzyki są kulistymi lub elipsoidalnymi dwuwarstwowymi strukturami z wewnętrzną wnęką zawierającą wodny roztwór, w którym są rozproszone.⁸⁴ Pęcherzyki, które są utworzone przez naturalne fosfolipidy są nazywane liposomami. Mogą one także powstawać w wyniku samoorganizacji syntetycznych związków amfifilowych i środków powierzchniowo czynnych, które są zdolne do tworzenia dwuwarstwowych struktur. W zależności od warunków eksperymentalnych, pęcherzyki mogą osiągać rozmiary od 20 nm do 10 μm . W literaturze pęcherzyki są często wymieniane jako modele protokomórek, ze względu na ich podobieństwo do naturalnych

⁸³ Y. Moroi, *Micelles, Theoretical and Applied Aspects*, Plenum Press: New York, **1992**.

⁸⁴ A. Sorrenti, O. Illa, R. M. Ortuno, *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 8200.

układów takich jak błony komórkowe⁸⁵, lizosomy,⁸⁶ endosomy⁸⁷. Opisane zostały także liczne przykłady reakcji chemicznych prowadzonych w obecności liposomów, w których pełnią one role promotorów jak i regulatorów. Pęcherzyki mogą również działać jako „bioreaktory”⁸⁸ oraz nośniki w systemach dotyczących dostarczania leków⁸⁹.

Agregaty surfaktantów, micelle oraz pęcherzyki, przyczyniają się do zwiększenia rozpuszczalności związków organicznych w wodzie, a także do zwiększenia szybkości zachodzących w niej reakcji. Jest to możliwe poprzez wzrost stężenia lokalnego substratów wewnątrz agregatów surfaktantów oraz ze względu na różną polarność środowiska, w którym ma miejsce reakcja. Agregaty mogą również tworzyć zawadę steryczną, która hamuje przebieg niepożądanych reakcji, a w konsekwencji wpływa na chemo-, regio- i stereoselektywność danej reakcji.⁹⁰

Ponadto, zastosowanie wodnego roztworu micelnarnego jako medium reakcyjnego może przyczynić się do łatwiejszego wydzielenia produktu i zawracania układu katalitycznego. W przypadku gdy katalizator jest związany z agregatami surfaktantów możliwe jest wydzielenie produktu poprzez zastosowanie ekstrakcji. Dzięki temu podejściu, katalizator pozostający w fazie wodnej z micelami, może zostać użyty w następnym cyklu reakcyjnym. Inna metoda oczyszczania produktu jest stosowana w przypadku, gdy produkt wypada z mieszaniny reakcyjnej. W związku z tym, otrzymany produkt może zostać odfiltrowany lub odwirowany z medium reakcyjnego, a pozostały roztwór micelarny z katalizatorem ponownie zastosowany do kolejnego cyklu reakcyjnego.

Zastosowanie układu katalitycznego niesie ze sobą wiele korzyści dla środowiska przyczyniając się między innymi do promowania ponownego zastosowania układu reakcyjnego. W konsekwencji, możliwe będzie zmniejszenie zużycia energii, a także czasu i wydatków potrzebnych na przeprowadzenie reakcji oraz wydzielenie produktu z mieszaniny poreakcyjnej.

⁸⁵ J. Huotari, A. Helenius, *EMBO J.* **2011**, *30*, 3481.

⁸⁶ J.P. Luzio, P.R. Pryor, N.A. Bright, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2007**, *8*, 622.

⁸⁷ C.D. Austin, X. Wen, L. Gazzard, C. Nelson, R.H. Scheller, S.J. Scales, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2005**, *102*, 17987.

⁸⁸ P. Walde, H. Umakoshi, P. Stanoc, F. Mavellid, *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 10177.

⁸⁹ V. P. Torchilin, *Nat. Rev. Drug Discovery* **2005**, *4*, 145.

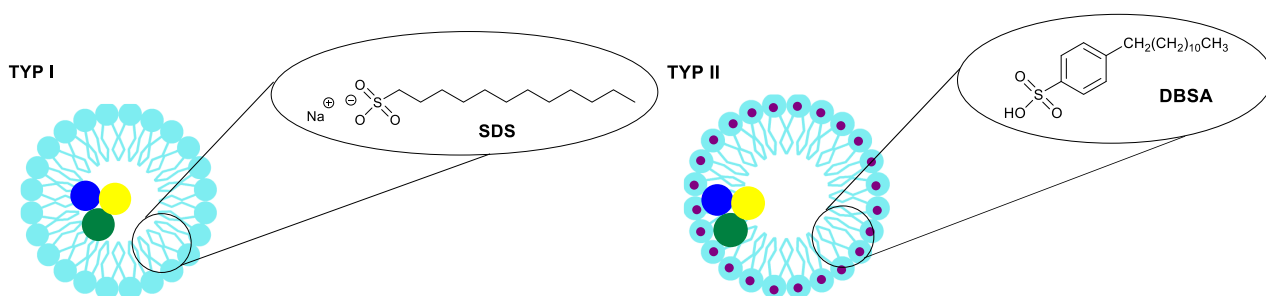
⁹⁰ G. La Sorella, G. Strukul, A. Scarso, *Green Chem.* **2015**, *17*, 644.

4.2. Kataliza „micelarna”.

Związki powierzchniowo czynne w roztworach wodnych są coraz częściej stosowane jako układy katalityczne wielu reakcji chemicznych, w tym reakcji multikomponentowych. Wpływ agregatów surfaktantów na przebieg reakcji chemicznych jest często określany jako kataliza „micelarna”. Ze względu na różne właściwości surfaktantów w roztworach wodnych wyróżnia się jej dwa typy (rysunek **R4.2-1**).^{91, 92}

Pierwszy typ katalizy „micelarnej” dotyczy surfaktantów, które nie posiadają w swojej strukturze aktywnej katalitycznie grupy funkcyjnej, np. laurylosiarczan sodu (SDS) czy też bromek dilaurylodimetyloammoniumowy (DDAB). Ich agregaty przyczyniają się do zwiększenia rozpuszczalności substratów, tworząc lokalne środowisko reakcyjne. Zjawisko to jest korzystne dla przebiegu reakcji poprzez zwiększenie reaktywności substratów jak i ich lokalnego stężenia w objętości agregatów (pęcherzyków oraz miceli).

Natomiast drugi typ katalizy „micelarnej” dotyczy surfaktantów posiadających w swojej strukturze aktywne katalitycznie grupy funkcyjne. Ich agregaty mają wpływ na reakcje chemiczne nie tylko poprzez czynniki określone dla pierwszego typu, ale także ze względu na ich katalityczny charakter, ponieważ działają jako konwencjonalny katalizator. W tym typie katalizy najczęściej stosowanym surfaktantem jest kwas dodecylobenzenosulfonowy (DBSA). Używane są także katalizatory będące połączeniem kwasu Lewisa i surfaktantu (LASC). Najczęściej są to sole metalu przejściowego i siarczanu dodecyłu, na przykład laurylosiarczan żelaza, $\text{Fe}(\text{DS})_3$ lub innego kwasu lipofilowego.⁹³



R4.2-1. Kataliza „micelarna”.

⁹¹ T. Lorenzetto, G. Berton, F. Fabris, A. Scarso, *Catal. Sci. Technol.*, **2020**, *10*, 4492.

⁹² D. Paprocki, A. Madej, D. Koszelewski, A. Brodzka, R. Ostaszewski; *Front. Chem.* **2018**, *6*, 502.

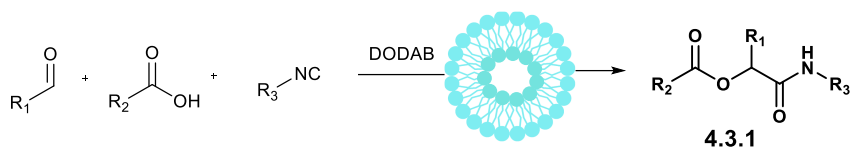
⁹³ P. Koyel, P. Sanjay, R. D. Asish, *Tetrahedron Lett.* **2013**, *54*, 24, 3105.

4.3. Reakcje multikomponentowe typu Ugiego i Passeriniego w roztworach wodnych.

Reakcje multikomponentowe cieszą się dużym zainteresowaniem ze względu na ich szerokie zastosowanie w wielu gałęziach przemysłu. Odgrywają ważną rolę w chemii medycznej, w programie odkrywania leków, w chemii kombinatoryjnej, w syntezie związków naturalnych i preparatów rolniczych, a także w chemii polimerów. Dlatego też, istotne jest opracowywanie nowych warunków reakcji, które będą przyjazne dla środowiska. W związku z tym, zgodnie z drugą zasadą „zielonej chemii” dąży się do przeprowadzania reakcji chemicznych z pominięciem szkodliwych rozpuszczalników organicznych.

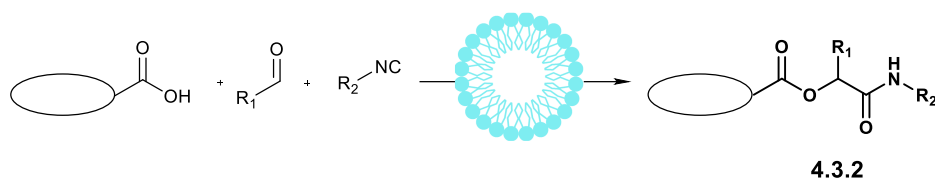
W 2004 roku Pirrung i Das Sarma jako pierwsi zaproponowali efektywną syntezę peptydomimetyków w wodzie.¹⁷ Zastosowanie reakcji Passeriniego i czterokomponentowej reakcji Ugiego dla wybranych substratów pozwoliło uzyskać w wodzie odpowiednie produkty z wydajnościami wyższymi niż w metanolu w niecałe cztery godziny. Ponadto stosowanie czystej wody jako medium reakcyjne nie było idealnym rozwiązaniem dla wszystkich reagentów. Zaproponowana metodologia jest możliwa tylko dla substratów słabo rozpuszczalnych w wodzie.

Badania przeprowadzone w ostatnich latach pokazują znaczący wpływ związków powierzchniowo czynnych na przebieg reakcji multikomponentowych. Zastąpienie rozpuszczalników organicznych wodnym roztworem surfaktantów cieszy się dużym zainteresowaniem ze względu na ich unikalne właściwości do zwiększenia rozpuszczalności związków chemicznych w wodzie. Reakcje multikomponentowe typu Passeriniego i Ugiego z zastosowaniem katalizy „micelarnej” przyczyniły się do opracowania syntezy znacznej liczby związków chemicznych. Jeden z przykładów reakcji Passeriniego w roztworze micelarnym został opracowany w naszym zespole (rysunek **R4.3-1**). Autorzy przeprowadzili wydajną syntezę α -acyloksykarboksamidów **4.3.1** w roztworze wodnym z dodatkiem kationowego surfaktantu - bromku dioktadecylodimetyloammoniumowego (DODAB). Otrzymano produkty reakcji Passeriniego z wyższymi wydajnościami w micelarnym roztworze DODAB w porównaniu do wyników otrzymanych w chlorku metylenu jak i w czystej wodzie. Ponadto, przeprowadzono badania nad ponownym wykorzystaniem katalitycznego układu, zawierającego pęcherzyki DODAB. Recykling powstałego roztworu micelnego zastosowano przynajmniej 3-krotnie z zachowaniem wysokiej efektywności reakcji Passeriniego.¹⁹



R4.3-1. Reakcja Passeriniego w wodnym roztworze micelarnym.

Następnie, w naszym zespole przeprowadzono badania nad reakcją Passeriniego w wodzie stosując zamiast surfaktantu, kwas karboksylowy zdolny do tworzenia układów micelarnych, miceli lub pęcherzyków (rysunek **R4.3-2**).⁹⁴ Zastosowanie kwasu tłuszczowego jako jednego z reagentów umożliwiło przeprowadzenie reakcji Passeriniego w wodzie, uzyskując produkt **4.3.2** z bardzo wysokimi wydajnościami. Co ważniejsze, do reakcji nie zastosowano żadnego katalizatora ani surfaktantu. Natomiast użyty kwas tłuszczowy pełnił rolę zarówno substratu jak i substancji promującej reakcję Passeriniego. Ponadto, opracowana metodologia umożliwiła przeprowadzenie reakcji z wydajnościami wyższymi w roztworze wodnym w porównaniu do reakcji przeprowadzonych w klasycznych warunkach reakcji Passeriniego - w chlorku metylenu. W związku z tym, nie ma konieczności stosowania żadnego dodatku w przypadku, gdy jeden z substratów reakcji Passeriniego pełni funkcję surfaktantu w wodzie.

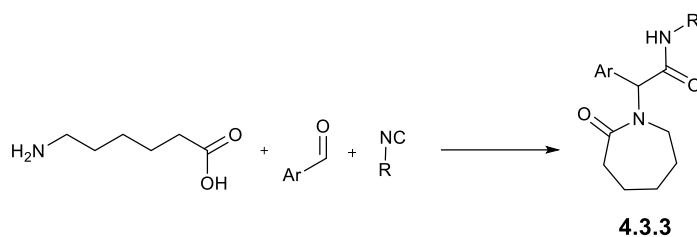


R4.3-2. Reakcja Passeriniego w roztworze wodnym promowana kwasem tłuszczowym.

W 2012 roku zespół Foroumadi zaprezentował wariant reakcji Ugiego w wodzie z zastosowaniem jako substratu aminokwasu - kwasu 6-aminoheksanowego (rysunek **R4.3-3**).⁹⁵ Zaproponowana trójkomponentowa reakcja Ugiego prowadziła do otrzymania pochodnych azepan-2-onu **4.3.3** w wodzie w temperaturze wrzenia. Reakcja nie przebiegała gdy była prowadzona w temperaturze pokojowej w wodzie. Woda jako rozpuszczalnik została zastosowana nie tylko ze względów środowiskowych, ale także przyczyniła się do wydzielenia produktu w prosty sposób poprzez krystalizację.

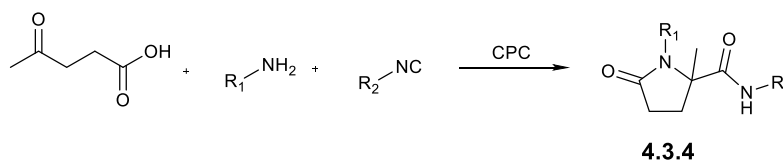
⁹⁴ D. Paprocki, M. Wilk, A. Madej, P. Walde, R. Ostaszewski, *Environ Chem Lett.* **2019**, 17,1011.

⁹⁵ M. A. Rasoulia, M. Mahdavi, P. R. Ranjbar, M. Saeedi, A. Shafiee, A. Foroumadi, *Tetrahedron Lett.* **2012**, 53, 7088.



R4.3-4. Zastosowanie reakcji Ugiego do syntezy azepan-2-onu w wodzie.

Natomiast, Mirono i współpracownicy w 2004 roku przeprowadzili badania nad syntezą pochodnych β -lactamu **4.3.4** w roztworze wodnym przy zastosowaniu trójkomponentowej reakcji Ugiego (rysunek **R4.3-5**).⁹⁶ Autorzy porównali szybkości reakcji Ugiego w różnych układach reakcyjnych: w metanolu, wodzie, wodnym roztworze surfaktantu, a także w wodnym roztworze BSA (albumina surowicy wołowej). W wyniku przeprowadzonych badań wykazano znaczący wpływ surfaktantu kationowego - chlorku cetylopirydniowego (CPC) na przebieg czterocentrycznej trójkomponentowej reakcji Ugiego. W wyniku opracowanej procedury, otrzymano w wodnym roztworze CPC związek **4.3.4** z wyższą wydajnością niż w czystej wodzie. Jednak badania zostały przeprowadzone jedynie dla jednego surfaktantu. Ponadto, nie wykazano zależności między rodzajem środka powierzchniowo czynnego, a wydajnością reakcji Ugiego. Opublikowane wyniki stanowią jedynie wstęp do dalszych badań nad wpływem surfaktantu na przebieg reakcji Ugiego.



R4.3-5. Trójkomponentowa reakcja Ugiego w wodnym roztworze CPC.

⁹⁶ M. A. Mironov, M. N. Ivantsova, V. S. Mokrushin, *Mol Divers.* **2003**, 6, 193.

5. Metody utleniania alkoholi i amin do aldehydów w połączeniu z reakcjami multikomponentowymi typu Passeriniego i Ugiego.

Reakcje utleniania stanowią jedną z podstawowych reakcji w chemii organicznej. Umożliwiają dostęp do wielu grup funkcyjnych (m.in. aldehydów, ketonów, kwasów karboksylowych), co z kolei pozwala na dalszą funkcjonalizację bloków budulcowych niezbędnych w syntezie związków o wartości dodanej. Tradycyjne metody reakcji utleniania są przeprowadzane przy zastosowaniu stechiometrycznych ilości utleniaczy zawierających metale przejściowe, między innymi takie jak chrom, mangan czy też ruten.⁹⁷ Niestety stosowanie kompleksów metali przejściowych jest źródłem wielu zanieczyszczeń. Dlatego też, ze względu na dużą zawartość metali przejściowych w końcowym produkcie (powyżej 5 ppm), metody wykorzystujące metale przejściowe nie są tolerowane przez przemysł kosmetyczny oraz farmaceutyczny.⁹⁸ W związku z tym, wciąż poszukuje się nowych, selektywnych metod utleniania bez obecności metali przejściowych. Interesującą alternatywą dla klasycznych reakcji utleniania są procesy biokatalityczne, które umożliwiają przeprowadzenie reakcji w łagodnych warunkach z dużą selektywnością i wydajnością.⁹⁹ Enzymy katalizują między innymi reakcje utleniania dotyczące hydroksylacji oraz dihydroksylacji zarówno alifatycznych jak i aromatycznych wiązań C-H, epoksydacji, utleniania heteroatomów czy też utleniania ketonów Baeyera Villigera do laktonów. Zatem, reakcje utleniania alkoholi oraz amin do związków karbonylowych należą do jednych z ważniejszych typów reakcji utleniania. Wykorzystywane są do syntezy aldehydów, które są jednym z najczęściej stosowanych bloków budulcowych w chemii organicznej, medycznej oraz przy projektowaniu nowych leków. Obecnie aldehydy otrzymywane są poprzez katalityczne utlenianie alkoholi, redukcje kwasów karboksylowych czy też oksydatywne deaminowanie amin przy zastosowaniu różnych katalizatorów lub enzymów.^{100, 101} Zgodnie z zasadami „zielonej chemii” ważnym aspektem przy wyborze katalizatora jest jego selektywność, biodegradowalność oraz kompatybilność ze środowiskiem wodnym.

⁹⁷ T. Punniyamurty, S. Velusamy, J. Iqbal, *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 2329.

⁹⁸ M. Gupta, S. Paul, R. Gupta, *Curr. Sci.* **2010**, *99*, 1341.

⁹⁹ J. Dong, E. Fernández-Fueyo, F. Hollmann, C. E. Paul, M. Pesic, S. Schmidt, Y. Wang, S. Younes, W. Zhang, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2018**, *57*, 9238.

¹⁰⁰ I.E. Marko, P.R. Giles, M. Tsukazaki, I. Che'lle-Regnaut, A. Gautier, M.S. Brown, C.J. Urch, *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 2433.

¹⁰¹ S. S. Rawalay, H. Shechter, *J. Org. Chem.* **1967**, *32*, 10, 3129.

5.1. Utlenianie alkoholi do związków karbonylowych. Metody chemiczne.

Utlenianie alkoholi do związków karbonylowych jest jednym podstawowych procesów w chemii organicznej. Tradycyjne metody utleniania alkoholi są przeprowadzane z zastosowaniem reagentów zawierających metale przejściowe, między innymi mangan oraz chrom.¹⁰² Niestety wymagają one użycia znacznych ilości odpowiednich utleniaczy, dlatego też stosowanie ich jest ograniczane zgodnie z zasadami „zielonej chemii”. W związku z tym, na przestrzeni wielu lat opracowano alternatywne metody utleniania alkoholi do związków karbonylowych. Wybrane metody zostały przedstawione na rysunku **R5.1-1**. Jedną z metod utleniania alkoholi zachodzi przy zastosowaniu kompleksów rutenu, rodu bądź też irydu w obecności akceptorów protonu takich jak np. octan izopropenyli, akrylan metylu lub butenonu.¹⁰³ W wyniku tej reakcji utleniane są zarówno alkohole pierwszorzędowe jak i drugorzędowe (rysunek **R5.1-1, a**). W literaturze znane są także metody chemiczne, umożliwiające przeprowadzenie procesu utleniania bez konieczności stosowania kompleksów metali przejściowych. Jednym z przykładów jest utlenianie Oppenauera wykorzystywane do syntezy ketonów przy zastosowaniu między innymi izopropanolanu glinu lub trimetyloglinu (rysunek **R5.1-1, b**).¹⁰⁴ Obecnie jest to reakcja szeroko stosowana w przemyśle farmaceutycznym do syntezy, między innymi środków przeciwbólowych (morfina, kedoina) czy też hormonów (progesteron).¹⁰⁵ Kolejnym przykładem jest utlenianie Swerna pozwalające otrzymać aldehyd lub keton z alkoholu stosując dimetylosulfotlenek (DMSO) jako utleniacz oraz chlorek oksalilu jako czynnik aktywujący w obecności m.in. trietyloaminy (rysunek **R5.1-1, c**).¹⁰⁶ Natomiast utlenianie Pfitznera-Moffatta jest przeprowadzane przy zastosowaniu sulfotlenku dimetylu (DMSO) oraz dwucykloheksylokarbodwuimidu (DCC), (rysunek **R5.1-1, d**).¹⁰⁷ W przypadku utleniania Dess-Martina otrzymywane są zarówno ketony jak i aldehydy z odpowiednich alkoholi przy zastosowaniu perjodinanu Dess-Martina o podobnej strukturze do IBX (kwasu 2-jodobenzoowego).¹⁰⁸

¹⁰² W. J. Mijs, C. R. H. de Jonge, *Organic Syntheses by Oxidation with Metal Compounds*, Plenum, New York, **1986**.

¹⁰³ M. Takahashi, K. Oshima, S. Matsubara, *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 9201.

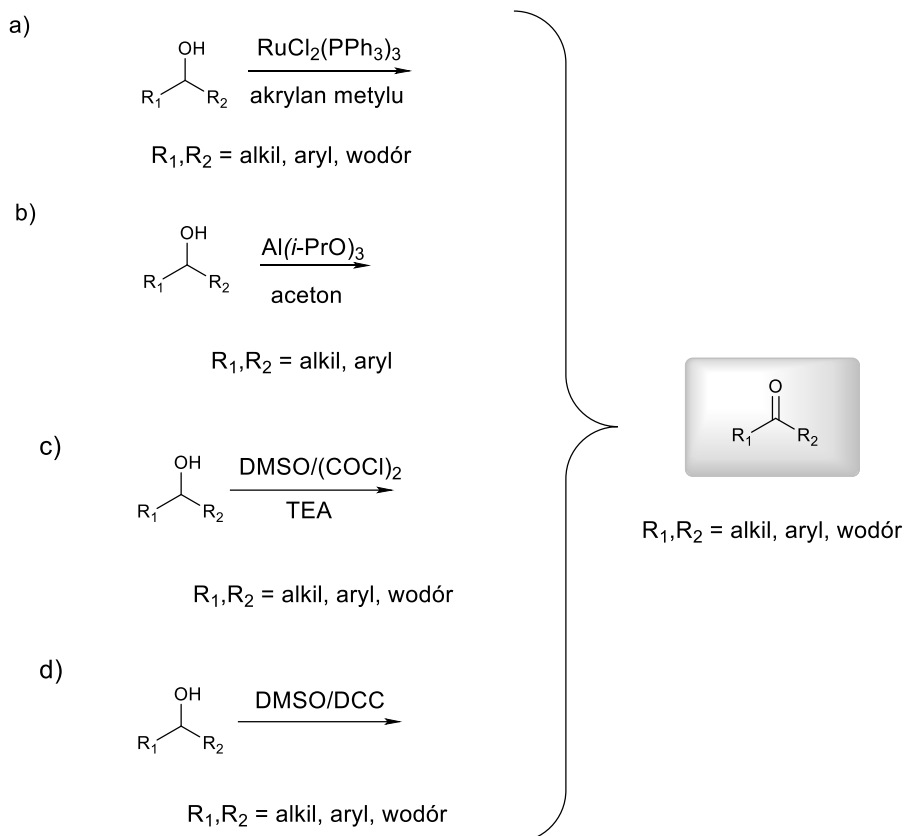
¹⁰⁴ C. F. de Graauw, J. A. Peters, H. van Bekkum, J. Huskens, *Synthesis* **1994**, 1007.

¹⁰⁵ C. Djerassi, Te Oppenauer, *Oxidation. In Organic Reactions*, **2011**, doi:10.1002/0471264180.or006.05.

¹⁰⁶ A. Bisai, M. Chandrasekhar, V. K. Singh, *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 46, 8355.

¹⁰⁷ K. E. Pfitzner, J. G. Moffatt, *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, *85*, 3027.

¹⁰⁸ D. B. Dess, J. C. Martin, *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 22, 4155.

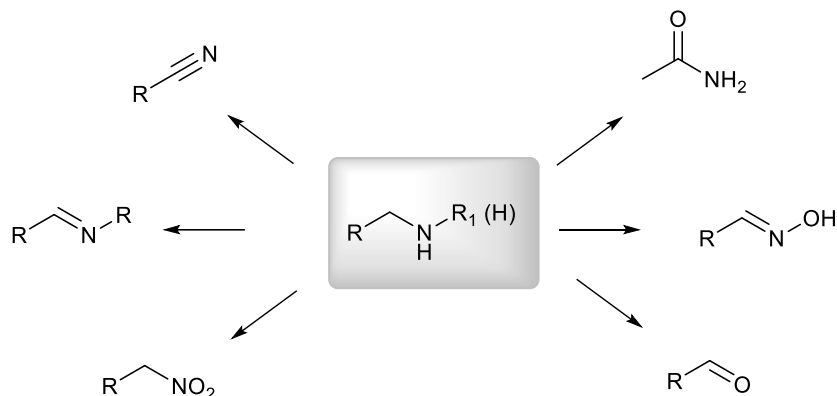


R5.1-1. Wybrane przykłady reakcji utleniania alkoholi.

Do wspomnianych powyżej reakcji, wykorzystywane są wrażliwe na wilgoć utleniacze oraz nieprzyjazne środowisku chlorowane rozpuszczalniki. Co więcej, wymagają zastosowania drogich i toksycznych reagentów. Z tego powodu reakcje te nie są zgodne z zasadami „zielonej chemii”, mimo że, nie są dodawane kompleksy szkodliwych metali ciężkich. Ponadto, trudność w kontroli selektywności reakcji i zatrzymaniu reakcji na etapie aldehydu prowadzi do otrzymania w mieszaninie reakcyjnej produktu ubocznego jakim jest odpowiedni kwas karboksylowy.

5.2. Utlenianie amin do związków karbonylowych. Metody chemiczne.

Utlenianie amin jest jednym z narzędzi w chemii organicznej umożliwiającym otrzymanie wielu różnych grup funkcyjnych. W zależności od zastosowanych warunków reakcji oraz reagentów otrzymywane są produkty, takie jak: związki karbonylowe, iminy, amidy, nityle, oksymy czy też nitrozwiazki (rysunek R5.2-1).¹⁰⁹



R5.2-1. Przykłady możliwych produktów utleniania amin.⁹⁹

Obecnie znanych jest wiele publikacji naukowych dotyczących otrzymywania aldehydów, które przedstawiają katalityczne i selektywne metody utleniania amin (oksydatywnego deaminowania). Zastosowanie oksydatywnego deaminowania do syntezy aldehydów jest szczególnie istotne w chemii organicznej. Jednak podobnie jak ma to miejsce w przypadku utleniania alkoholi, stosowane są do ich syntezy stechiometryczne ilości toksycznych odczynników oraz katalizatory zawierające metale przejściowe. Są to między innymi substancje, takie jak: sole nadmanganianu (VII)¹¹⁰ i dichromianu (VI)¹¹¹, sieci metaloorganiczne (MOF)¹¹² oraz katalizatory zawierające miedź,¹¹³ pallad,¹¹⁴ złoto¹¹⁵ czy też ruten¹¹⁶. W celu otrzymania z amin związków karbonylowych oraz imin stosowane są także metody fotokatalityczne wykorzystujące między innymi tlen oraz TiO_2 w wodzie.¹¹⁷

¹⁰⁹ M. T. Schümperli, C. Hammond, I. Hermans, *ACS Catal.* **2012**, 2, 6, 1108.

¹¹⁰ S. S. Rawalay and H. Shechter, *J. Org. Chem.* **1967**, 32, 3129.

¹¹¹ S. Sobhani, S. Aryanejad, M. F. Maleki, *Helvetica Chimica Acta.* **2012**, 95, 4, 613.

¹¹² A. Dhakshinamoorthy, M. Alvaro, H. Garcia, *ChemCatChem.* **2010**, 2, 1438.

¹¹³ S. Naya, T. Niwa, R. Negishi, H. Kobayashi, H. Tada, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2014**, 53, 13894.

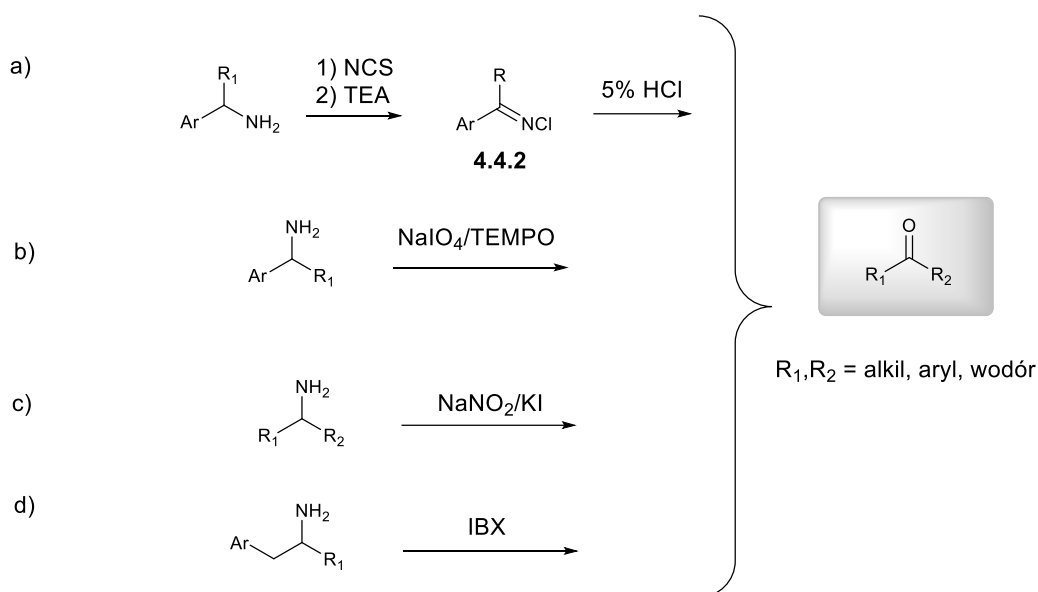
¹¹⁴ S. Chandrasekhar, G. P. K. Reddy, C. Nagesh, C. R. Reddy, *Tetrahedron Lett.* **2007**, 48, 1269.

¹¹⁵ B. Zhu, R. J. Angelici, *Chem. Commun.* **2007**, 2157.

¹¹⁶ N. Iqbal, E. J. Cho, *Adv. Synt. Catal.* **2015**, 357, 2187.

¹¹⁷ X. Lang, H. Ji, C. Chen, W. Ma, J. Zhao, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, 50, 3934.

Wspomniane wyżej metody przyczyniają się do zwiększenia ilości odpadów zawierających metale przejściowe. Dlatego też, w ostatnich latach prowadzono badania nad utlenianiem amin do aldehydów bez konieczności stosowania układów katalitycznych zawierających szkodliwe metale przejściowe. Gaspa i współpracownicy zaprezentowali utlenianie amin do aldehydów i ketonów stosując jako katalizator *N*-chlorosukcynoimid w wariacie bezrozpuszczalnikowym w połączeniu z kwasową hydrolizą powstałej w reakcji *N*-chlorobenzoyloiminy **4.4.2** (rysunek R5.2-2, a).¹¹⁸ Kolejne przykłady oksydacyjnego deaminowania wykorzystują układy oparte na chemii jodu, między innymi nadjodan sodu / TEMPO¹¹⁹, azotyn sodu / jodek potasu a także kwas 2-jodobenzoowy (IBX) (rysunek R5.2-2, b – d)^{120,121}.



R5.2-2. Wybrane metody oksydacyjnego deaminowania amin do aldehydów bez obecności metali

Pomimo swojej skuteczności metody te prowadzą często do otrzymania kwasów karboksylowych w wyniku utlenienia aldehydów. Alternatywnymi metodami, które umożliwiają opracowanie łagodniejszych i selektywnych procesów oksydacyjnego deaminowania amin są procesy biokatalityczne z zastosowaniem oksydoreduktaz.

¹¹⁸S. Gaspa, A. Porcheddu, A. Valentoni, S. Garroni, S. Enzo, L. De Luca, *Eur. J. Org. Chem.*, **2017**, 5519.

¹¹⁹P. Galletti, G. Martelli, G. Prandini, C. Colucci, D. Giacomini, *RSC Adv.* **2018**, *8*, 9723.

¹²⁰H. K. Chaudhari, N. V. N. Telvekar, *Synt. Commun.* **2013**, *43*, *8*, 1155.

¹²¹L.-X. Chen, Y-H Huang, H. Cong, Z. Tao, *Chem. Pap.* **2018**, *72*, 661.

5.3. Otrzymywanie związków karbonylowych. Metody enzymatyczne.

Rozwój alternatywnych metod utleniania alkoholi oraz amin, które są zarówno wydajne jak i przyjazne dla środowiska, przyczynił się do opracowania licznych metod biokatalitycznych z zastosowaniem oksydoreduktaz.

Oksydoreduktazy są to enzymy, które należą do pierwszej klasy enzymów katalizujących reakcje utleniania i redukcji (EC 1). Uczestniczą one w transporcie elektronów i atomów wodoru pomiędzy cząsteczkami reduktora i utleniacza, substratem i koenzymem. Do oksydoreduktaz należą enzymy takie jak: oksydaza, dehydrogenaza, oksygenaza, reduktaza, hydroksylaza oraz peroksydaza. Enzymatyczna synteza związków karbonylowych przeprowadzana jest najczęściej przy zastosowaniu dwóch typów oksydoreduktaz: dehydrogenazy alkoholowej oraz oksydazy alkoholowej, stosując jako substrat zarówno alkohol jak i aminę.¹²²

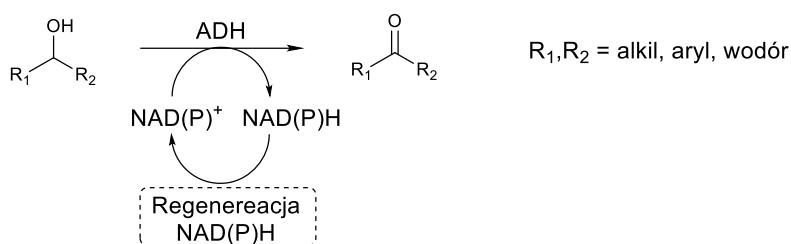
Głównym przedmiotem badań niniejszej rozprawy doktorskiej jest enzym należący do oksydaz, dlatego też w dalszych rozdziałach zostaną omówione wybrane enzymy należące do oksydoreduktaz, które są stosowane w reakcjach utleniania alkoholi oraz amin.

¹²² J. Kączkowski, *Enzymy. Podstawy biochemii*, Wydawnictwo NaukowoTechniczne, 1999, Warszawa, 78.

5.3.1. Dehydrogenaza alkoholowa.

Dehydrogenaza alkoholowa (ADH, EC 1.1.1.1) należy do grupy oksydoreduktaz, która w sposób odwracalny, katalizuje reakcję utleniania alkoholi pierwszorzędowych i drugorzędowych do aldehydów oraz ketonów (rysunek **R5.3-1**). Większość z nich wymaga stosowania koenzymu nikotynoamidowego NAD(P)^+ jako kofaktora, który jest bardzo kosztownym reagentem.

W wyniku reakcji utleniania alkoholu przy zastosowaniu ADH następuje odszczepienie anionu wodorkowego i następcza redukcja koenzymu NAD(P)^+ (akceptor protonu) do NAD(P)H . Ze względu na wysoką cenę i niestabilność koenzymu, konieczne jest zastosowanie jego regeneracji. Dzięki temu, możliwe jest użycie jedynie katalitycznych ilości NAD(P)^+ . Najczęściej regeneracja kofaktora jest przeprowadzana z zastosowaniem pary sprzężonych enzymów lub substratów, stosując jako kosubstrat (akceptor) związek karbonylowy (keton lub aldehyd). Preferowane jest podejście z zastosowaniem pary sprzężonych substratów, ze względu na prostszą metodologię wymagającą zastosowania tylko jednego enzymu. Niestety, związek karbonylowy działający jako utleniacz np. aceton jest stosowany w nadmiarze w celu przesunięcia reakcji w kierunku utleniania, co stanowi duże ograniczenie ze względu na niską stabilność enzymów w takich warunkach.¹²³ Grupa Kroutila pokazała w 2006 roku, stabilną dehydrogenazę zależną od NAD^+ (nazwaną ADH-'A'), która akceptuje aceton jako kosubstrat do regeneracji NAD^+ .¹²⁴ Otrzymywany w wyniku regeneracji koprodukt, 2-propanol powstaje równoległe z utlenianiem alkoholu do aldehydu. W literaturze znane są także przykłady stosowania innych kosubstratów niż aceton, między innymi: aldehyd octowy, pirogronian oraz α -ketoglutaran.¹²⁵



R5.3-1. Utlenianie alkoholi przy zastosowaniu dehydrogenazy.

¹²³ A. M. Snijder-Lambers, E. N. Vulfson, H. J. Dodema, *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas*, **1991**, 110, 226.

¹²⁴ K. Edegger, H. Mang, K. Faber, J. Gross, W. Kroutil, *J. Mol. Catal. A: Chem.* **2006**, 251, 66.

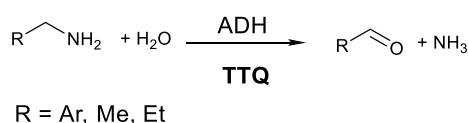
¹²⁵ W. Kroutil, H. Mang, K. Edegger, K. Faber, *Adv. Synt. Catal.* **2004**, 346, 125.

Przeprowadzone były także badania nad zastosowaniem tlenu jako najbardziej nieszkodliwego i najtańszego utleniacza do regeneracji kofaktora NAD(P)⁺. Niestety bezpośrednie utlenianie NAD(P)H tlenem przebiegało bardzo wolno.¹²⁶ W związku z tym, konieczne jest zastosowanie wspomagających metod enzymatycznych lub chemicznych. Znane są w literaturze przykłady zastosowania oksydaz zdolnych do utlenienia NADH do NAD z jednoczesną redukcją tlenu do wody lub nadtlenku wodoru.¹²⁷

Dehydrogenazy stosowane są do syntezy optycznie czystych związków chemicznych. Utlenianie racemicznych chiralnych alkoholi z ich udziałem prowadzi do rozdzielenia kinetycznego. Jeden z enancjomerów jest utleniany z większą szybkością w porównaniu do drugiego. W wyniku tej reakcji pozostaje nieprzereagowany enancjomer oraz produkt reakcji utleniania. Odpowiedni aldehyd lub keton może być otrzymany z maksymalną wydajnością równą 50%.¹²⁸ Ilościowe utlenianie racematu jest utrudnione ze względu na zróżnicowaną szybkość reakcji obu enancjomerów, co znacznie wydłuża czas reakcji.

5.3.2. Dehydrogenaza aminowa.

Dehydrogenaza aminowa (AmDH, EC 1.4.99.3), zależna od kofaktora TTQ (tryptofilochinon-tryptofan) lub NAD(P), należy do grupy oksydoreduktaz. Enzym ten katalizuje reakcję oksydacyjnego deaminowania aminy pierwszorzędowej do aldehydu i amoniaku (rysunek R5.3-2).¹²⁹



R5.3-2. Oksydacyjne deaminowanie amin przy zastosowaniu TTQ-dehydrogenazy.

¹²⁶ C. Ricci, *Acta Vitaminol. Enzymol.* **1971**, 25, 65.

¹²⁷ D. E. Ward, C. J. Donnelly, M. E. Mullendore, J. Oost, W. M. de Vos, E. J. Crane, *Eur. J. Biochem.* **2001**, 268, 5816.

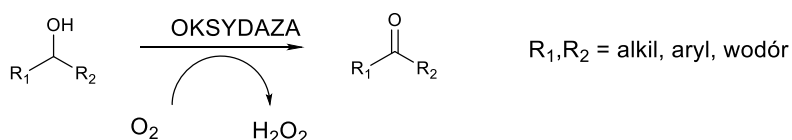
¹²⁸ A.J.J. Close Straatof, J.A. Jongejan, *Enzyme Microb. Technol.* **1997**, 21, 559.

¹²⁹ G. Golime, G. Bogonda, H. Y. Kim, K. Oh, *ACS Catal.* **2018**, 8, 4986.

Enzym ten charakteryzuje się specyficzną selektywnością substratową. W zależności od jego preferencji substratowej występują dwa typy dehydrogenazy aminowej. Tak więc, dehydrogenaza amin aromatycznych (AADH) jest stosowana do oksydacyjnego deaminowania amin pierwszorzędowych, natomiast dehydrogenaza metyloaminowa (MADH) wykazuje swoją specyficzność względem mniejszych amin, takich jak metyloamina i etyloamina.

5.3.3. Oksydaza alkoholowa.

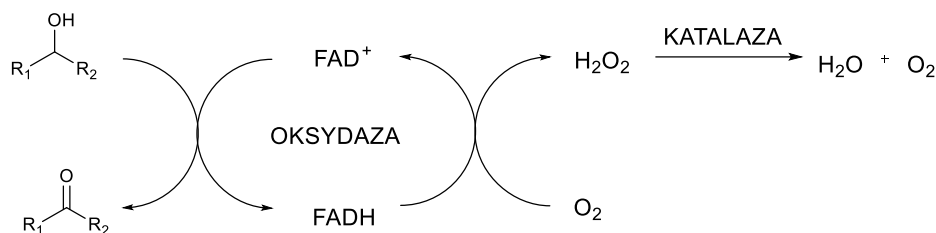
Oksydaza alkoholowa (EC 1.1.3.X) należy do grupy oksydoreduktaz, które katalizują reakcję utleniania alkoholi pierwszorzędowych i drugorzędowych do aldehydów oraz ketonów. Uczestniczy w przenoszeniu wodoru na tlen. W wyniku tego procesu otrzymywany jest nadtlenek wodoru lub woda jako produkty uboczne utleniania alkoholi. (rysunek **R5.3-3**). Powstający produkt uboczny ściśle zależy od rodzaju zastosowanej oksydazy. W przypadku oksydaz, które zawierają w swoim centrum aktywnym jon metalu otrzymywana jest woda. Natomiast, nadtlenek wodoru otrzymywany jest, gdy w centrum aktywnym znajduje się także dinukleotyd flawinoadeninowy (FAD) jako koenzym.¹³⁰



R5.3-3. Utlenianie alkoholi przy zastosowaniu oksydazy.

Wiele znanych reakcji utleniania alkoholi przy zastosowaniu oksydaz alkoholowych zachodzi w obecności tlenu atmosferycznego. Powoduje to redukcję tlenu do toksycznego dla enzymu nadtlenku wodoru. W większości przypadków, zastosowanie drugiego enzymu, jakim jest katalaza daje częściową ochronę stosując drugi enzym, katalazę, która katalizuje dysproporcję nadtlenku wodoru do tlenu i wody. Zastosowanie katalaz nie tylko umożliwia usunięcie nadtlenku wodoru, ale także syntezę tlenu do dalszej regeneracji kofaktora (rysunek **R5.3-4**).

¹³⁰ N. J. Turner, *Chem. Rev.* **2011**, *111*, 4073.

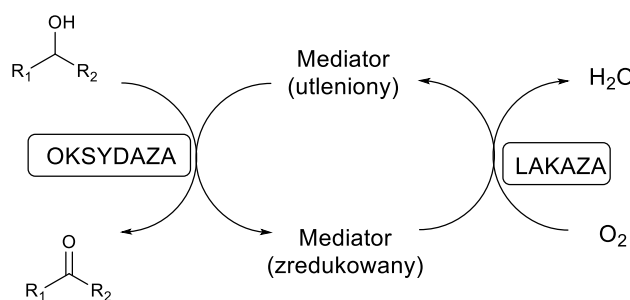


R5.3-4. Zastosowanie katalazy w reakcjach katalizowanych oksydazą.

W porównaniu do dehydrogenazy alkoholowej, utlenianie alkoholu z zastosowaniem oksydaz jest procesem nieodwracalnym. Nie wymagają one udziału drogich koenzymów nikotynoamidowych oraz stosowania systemu regeneracji kofaktora. Oprócz tlenu, oksydazy preferują inne syntetyczne mediatory (akceptory elektronów) takie jak na przykład 2,6-dichlorofenolindofenol lub metosiarczan fenazyny.¹³¹

Ważnym ograniczeniem przy stosowaniu oksydaz jest stabilność produktu utleniania, aldehydu. W warunkach reakcji zachodzi spontaniczne utlenianie aldehydu tlenem do kwasu karboksylowego. W celu uniknięcia tego problemu zamiast tlenu mogą zostać zastosowane anody w ogniwie elektrochemicznym jako akceptor elektronów. Jednak metoda nigdy nie osiągnęła skali preparatywnej ze względu na niską biogodność dodatkowego mediatora.

Wartym uwagi przykładem umożliwiającym uniknięcie powstawania nadtlenu wodoru jest zastosowanie lakazy w reakcji utleniania katalizowanej przez oksydazę alkoholową. Zastosowana lakaza utlenia mediator redukując przy tym tlen atmosferyczny do nieszkodliwej dla enzymu wody (rysunek R5.3-5).¹³²



R5.3-5. Zastosowanie lakazy w reakcjach katalizowanych oksydazą.

¹³¹ G. A. Hamilton, *Techniques of Chemistry*, Wiley, New York, 1976, 10, 875.

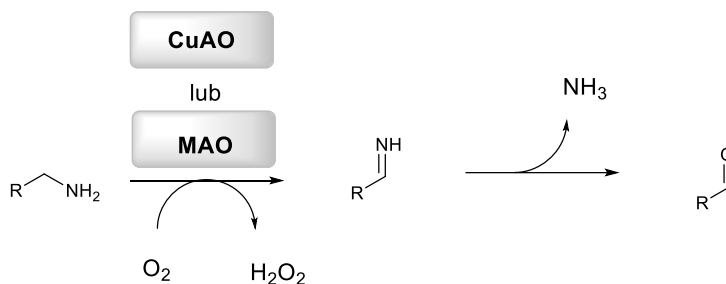
¹³² U. Baminger, R. Ludwig, C. Galhaup, C. Leitner, K. D. Kulbe, D. Haltrich, *J. Mol. Cat. B: Enzymatic*, 2001, 11, 541.

Ogólnie oksydazy alkoholowe obejmują szeroki zakres substratów. Choć każda pojedyncza oksydaza alkoholowa jest przeznaczona dla niewielu substratów. Z tego też względu, oksydazy mogą zostać podzielone między innymi ze względu na ich preferencje do alkoholi pierwszorzędowych lub drugorzędowych. Alifatyczne oksydazy alkoholowe zależne od FAD⁺ (EC 1.1.3.13) katalizują utlenianie pierwszorzędowych alkoholi alifatycznych do odpowiednich aldehydów oraz nadtlenu wodoru jako produktu ubocznego. W celu uniknięcia inhibicji enzymu stosowane są przeważnie razem z katalazą. Natomiast aromatyczne oksydazy alkoholowe (EC 1.1.3.7) wykazują dużą preferencję względem alkoholi benzytowych zawierających w swojej strukturze różne podstawniki aromatyczne.

Inne znane oksydazy to: oksydaza galaktozowa, oksydaza glukozowa, 2-oksydaza piranozowa, oksydaza glikolanowa, oksydaza cholesterolowa, oksydazy AOX wanililu. Ze względu na ograniczony zakres substratowy oksydaz alkoholowych ich szersze zastosowanie w syntezie jest znacznie utrudnione.¹³³

5.3.4. Oksydaza aminowa.

Oksydaza aminowa (AO, EC 1.4.3.X) należy do grupy oksydoreduktaz, która katalizuje reakcję oksydacyjnego deaminowania alkiloaminy do aldehydu w warunkach tlenowych (rysunek R5.3-6). W wyniku tego utleniania otrzymywane są nadtlenek wodoru oraz amoniak jako produkty uboczne.



R5.3-6. Oksydacyjne deaminowanie amin przy zastosowaniu oksydazy aminowej.

Oksydacyjne deaminowanie monoamin, diamin oraz poliamin jest katalizowane przez aminooksydazy o różnej specyficzności substratowej i mechanizmie działania. Oksydazy aminowe zostały podzielone na dwie główne grupy w zależności od rodzaju obecnego kofaktora. Monoamino oksydaza (MAO) zaliczana jest do pierwszej klasy. Enzym ten wykorzystuje dinukleotyd flawinoadeninowy (FAD) jako kofaktor redoks.

¹³³ F. Hollmann, I. W. C. E. Arends, K. Buehler, A. Schallmeyer, B. Buhler, *Green Chem.* **2011**, 13, 226.

Natomiast do drugiej klasy zaliczane są enzymy zawierających jony miedzi (II) oraz kowalencyjnie związany redoks kofaktor (topaquinone, TPQ) w centrum aktywnym.¹³⁴

MAO stosowana jest do utleniania pierwszorzędowych grup aminowych aryloalkiloamin. W wyniku tego utleniania powstaje imina jako związek pośredni z równoczesną redukcją FAD do FADH₂. Imina jest następnie hydrolizowana do odpowiedniego aldehydu i amoniaku. Natomiast FADH₂ jest utleniany tlenem do FAD tworząc przy tym nadtlenuk wodoru.

Miedziowa oksydaza aminowa (CuAO) katalizuje reakcję redukcji tlenu do nadtlenuku wodoru z równoczesną reakcją oksydacyjnego deaminowania pierwszorzędowych grup aminowych mono-, di- oraz poliamin. Oprócz odpowiedniego aldehydu i nadtlenuku wodoru produktem reakcji jest także amoniak. W wyniku utleniają CuAO, chinowe ugrupowanie zawarte w strukturze enzymu, pełniące rolę redoks kofaktora ulega redukcji do TPQH₂. Następnie ma miejsce jego reoksydacja tlenem cząsteczkowym.

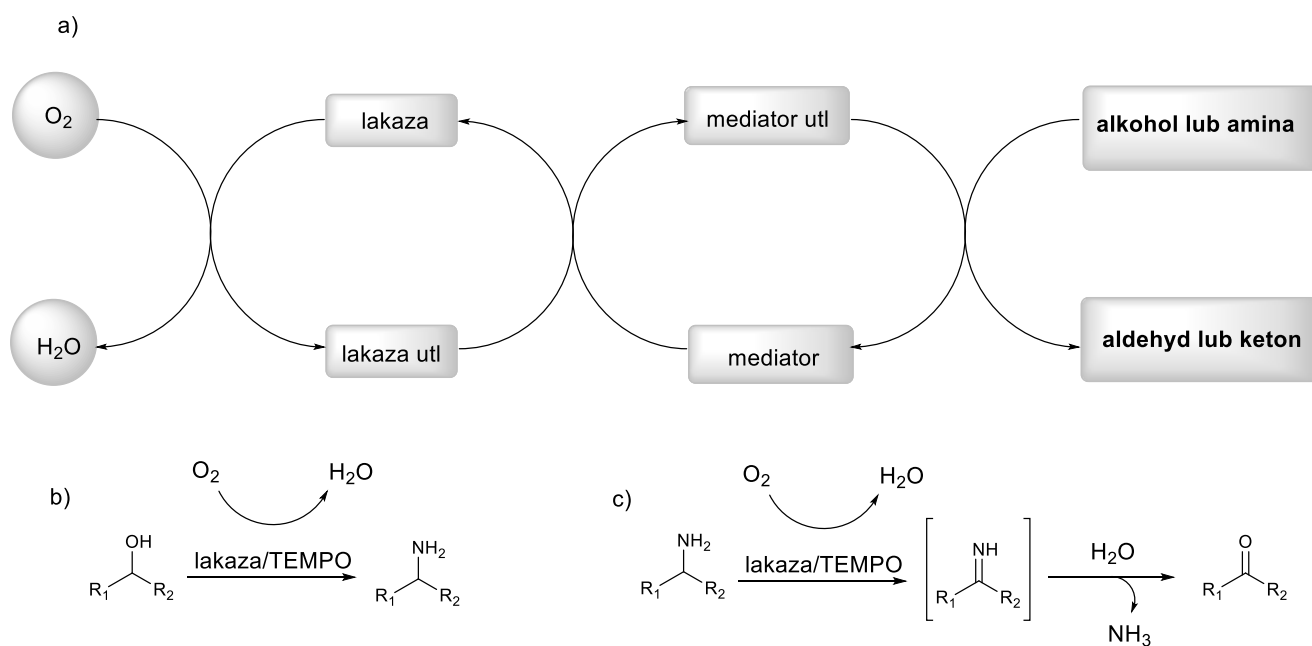
Oksydazy amonowe są stosowane do oksydacyjnego deaminowania szerokiego zakresu substratów, które zawierają alkiloarylowe ugrupowania. Jednak znaczny koszt enzymów oraz powstający w reakcji nadtlenuk wodoru mają duży wpływ na ograniczenie stosowalności omawianego enzymu.

¹³⁴ G. Floris, A. F. Agro, *Encyclopedia of Biological Chemistry*, Elsevier Inc. **2004**, 85.

5.3.5. Lakaza.

Lakaza (EC 1.10.3.2) jest to oksydoreduktaza należąca do grupy oksydaz wielomiedziowych, której centrum aktywne zawiera cztery sąsiadujące ze sobą atomy miedzi. Oksydazy te są znane z degradacji lignin zawierających grupy fenolowe.¹³⁵ Dlatego też, lakazy są stosowane do utleniania związków aromatycznych m.in. pochodnych fenolu lub aniliny. Ponadto, katalizują reakcje utleniania z udziałem mediatora „nie-fenolowych” substratów.¹³⁶ Dzięki temu możliwe jest zwiększenie zakresu substratowego lakazy i przeprowadzanie między innymi reakcji utleniania alkoholi oraz amin do związków karbonylowych.

Przedmiotem badań niniejszej rozprawy doktorskiej jest zastosowanie lakazy do syntezy związków karbonylowych. W związku tym, w dalszej części tego rozdziału zostanie omówiony jedynie mechanizm działania i zastosowane układu lakaza/mediator w syntezie aldehydów lub ketonów. Zastosowanie układu lakazy oraz katalitycznych ilości mediatora umożliwia przeprowadzenie reakcji utleniania w obecności tlenu jako utleniacza (rysunek R5.3-7, a).



R5.3-7. Mechanizm syntezy związków karbonylowych przy zastosowaniu układu lakaza/TEMPO.

¹³⁵ A. Messerschmidt, *Multi-Copper Oxidases*; World Scientific: Singapore, 1997.

¹³⁶ S. Riva, *Trends Biotechnol.* 2006, 24, 219.

W wyniku tej reakcji, ma miejsce redukcja cząsteczkowego tlenu do wody. Natomiast, toksyczny nadtlenek wodoru nie powstaje w mieszaninie reakcyjnej jak miało to miejsce w przypadku omawianych wcześniej oksydaz.

W pierwszym etapie reakcji utleniany jest mediator zawierający grupę *N*-hydroksylową, następnie odpowiedni substrat (alkohol lub amina) z jednoczesną redukcją cząsteczki mediatora. Zastosowany mediator pełni rolę właściwego utleniacza w syntezie aldehydu lub ketonu, natomiast lakaza bierze udział w recyklingu mediatora w obecności tlenu.

Najczęściej stosowanym mediatorem lakazy do reakcji utleniania amin oraz alkoholi jest 2,2,6,6-tetrametylopiperydyno-1-oksyl (TEMPO). Inne przykłady mediatorów to: hydroksybenzotriazol (HOBT), sól diamonowa 2,2'-azyno-bis [3-etylbenzotiazoliny-6-kwasu sulfonowego] (ABTS), kwas hydroksyantranilowy (HAA), kwas syringowy, kwas wiołurowy, hydroksyacetanilid (NHA) oraz hydroksyftalimid (HPI).¹³⁷

Fabbrini i współpracownicy zaprezentowali zastosowanie lakazy z *Trametes villosa* oraz TEMPO jako mediator do syntezy związków karbonylowych (rysunek **R5.3-7, b**).¹³⁸ Utlenianie zachodzi efektywnie przy zastosowaniu pochodnych benzyloowych, alkoholu cynamonowego oraz geraniolu w atmosferze tlenu. W przypadku alkoholi alifatycznych utlenianie przebiega z bardzo niskimi wydajnościami produktów. Autorzy przeprowadzili także ilościowe utlenianie aminy benzylowej oraz etylobenzyloaminy do benzaldehydu w buforze cytrynianowym (pH 4.5). Ilościowe utlenianie alkoholi prowadzone zostało także w obecności tlenu atmosferycznego, bez konieczności natleniania. Czynnikiem kluczowym decydującym o konieczności zastosowania atmosfery tlenu jest zastosowanie odpowiednio niskiego stosunku substrat/lakaza. W literaturze znane są przykłady utleniania alkoholi drugorzędowych¹³⁹ oraz allilowych¹⁴⁰ w obecności lakazy z *Trametes versicolor* oraz TEMPO. Galletti i współpracownicy opublikowali zastosowanie lakazy z *Trametes versicolor* (LTv) oraz TEMPO do syntezy kwasów karboksylowych.¹⁴¹ Wykonane eksperymenty pokazały, że jest możliwa następcza reakcja utleniania alkoholi pierwszorzędowych do odpowiednich kwasów karboksylowych w obecności lakazy oraz TEMPO w atmosferze tlenu. Wymaga to jednak bardzo długich czasów reakcji (około 6 dni).

¹³⁷ P. Baiocco, A.M. Barreca, M. Fabbrini, C. Galli, P. Gentili, *Org. Biomol. Chem.* **2003**, 1, 191.

¹³⁸ M. Fabbrini, C. galli, P. Gentili, D. Macchitella, *Tetrahedron Lett.* **2001**, 42, 7551.

¹³⁹ M. Marzorati, B. Danieli, D. Haltrich, S. Riva, *Green Chem.* **2005**, 7, 310.

¹⁴⁰ L. Martínez-Montero, V. Gotor, V. Gotor-Fernandez, I. Lavandera, *ACS Catal.* **2018**, 8, 2413.

¹⁴¹ P. Galletti, M. Pori, F. Funiciello, R. Soldati, A. Ballardini, D. Giacomini, *ChemSusChem*, **2014**, 7, 2684.

Następnie ten sam zespół badawczy opisał zastosowanie układu LTV/TEMPO do utleniania amin pierwszorzędowych, drugorzędowych oraz cyklicznych do odpowiednich aldehydów lub imin.¹⁴² Utlenianie amin do aldehydów prowadzone było w buforze octanowym o pH = 4.5 w atmosferze tlenu. Początkowo amina utleniana była do iminy, a następnie ulegała hydrolizie do odpowiedniego związku karbonylowego oraz amoniaku w obecności układu katalitycznego lakaza/TEMPO (rysunek **R5.3-7, c**). Reakcja zachodzi efektywnie przy zastosowaniu pochodnych amin benzytowych. Następcza reakcja utleniania amin do kwasów karboksylowych obserwowana była dopiero po 7 dniach. Zastosowanie opracowanych warunków reakcji do utleniania aminy metylobenzyłowej oraz dibenzyłowej wymaga wydłużenia czasu reakcji od 3 do 7 dni. Natomiast w przypadku amin alifatycznych reakcja nie przebiega. Dlatego też, przedstawiona powyżej metoda znalazła zastosowanie do odbezpieczania grupy *N*-benzyłowej.¹⁴³ Ponadto, autorzy pokazali także znaczący wpływ kwasu octowego na przebieg oksydacyjnego deaminowania aminy benzyłowej tylko w wodzie destylowanej.

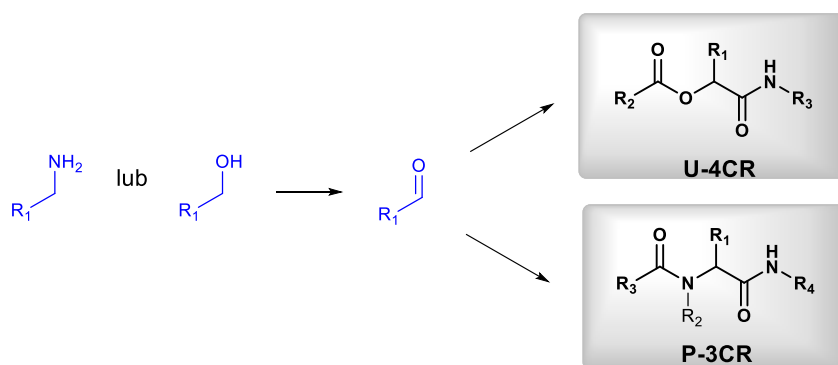
¹⁴² P. Galletti, F. Funicello, R. Soldati, D. Giacomini, *Adv. Synt. Catal.* **2015**, 357, 1840.

¹⁴³ L. Martinez-Montero, A. Diaz-Rodriguez, V. Gotor, V. Gotor-Fernandez, I. Lavandera, *Green Chem.* **2015**, 17, 2794.

6. Wybrane sekwencyjne reakcje multikomponentowe typu Passeriniego i Ugiego.

W ostatnich latach przeprowadzono szereg sekwencyjnych reakcji multikomponentowych z wykorzystaniem alkoholi lub amin jako prekursorów związków karbonylowych (rodzaje reakcji katalitycznych zostały opisane w rozdziale 2). Dzięki temu podejściu, możliwe jest ominięcie problemu niestabilności aldehydów stosując zamiast nich trwałe w warunkach przechowywania i łatwo dostępne reagenty.

Obecnie istnieje wiele doniesień literaturowych dotyczących syntezy peptydomimetyków z zastosowaniem reakcji utleniania alkoholi lub amin do aldehydów z reakcjami multikomponentowymi typu Passeriniego i Ugiego (rysunek R6-1).



R6-1. Zastosowanie alkoholi oraz amin jako karbonylowych prekursorów w syntezie peptydomimetyków.

W 2006 roku Zhu i Ngouansavanh zaproponowali otrzymywanie α -acyloksyamidu z alkoholu, kwasu karboksylowego oraz izocyjanku.¹⁴⁴ Sekwencyjną reakcją Passeriniego w połączeniu z reakcją utleniania alkoholu do aldehydu przeprowadzono w obecności kwasu 2-jodobenzoowego (IBX) w suchym tetrahydrofuranie w 40°C. Niezbędny substrat, aldehyd, do reakcji Passeriniego został uzyskany *in situ* w mieszaninie reakcyjnej. W omawianych warunkach reakcji utleniało zarówno alkohole alifatyczne jak i benzytowe. Dużym ograniczeniem stosowalności tej metody jest konieczność użycia nadmiaru toksycznego kwasu 2-jodobenzoowego (IBX). Następnie, w kolejnych latach grupa Zhu uwzględniła zastosowanie alkoholi zamiast aldehydów w reakcji Passeriniego w warunkach tlenowych. Reakcja alkoholu, izocyjanku oraz kwasu karboksylowego prowadziła do otrzymania odpowiedniego α -acyloksy amidu w obecności katalitycznych ilości

¹⁴⁴ T. Ngouansavanh, J. Zhu, *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2006**, 45, 3495.

układu CuCl₂/ TEMPO/ NaNO₂. Reakcja została przeprowadzona w atmosferze tlenowej w toluenie, przy czym tlen pełnił rolę utleniacza wykorzystywanego do regeneracji układu katalitycznego.¹⁴⁵ Natomiast Farhangi i Karimi zaprezentowali zastosowanie nanocząstek do syntezy produktu reakcji Passeriniego z alkoholu.¹⁴⁶ Autorzy przeprowadzili sekwencyjną reakcję Passeriniego stosując MNST (magnetyczne nanocząstki wspierane przez TEMPO) oraz TBN (azotyn butylu) w atmosferze tlenowej w toluenie. W 2016 roku w naszym zespole zaproponowano trójkomponentową reakcję Passeriniego z alkoholu stosując jako układ katalityczny lakazę z *Trametes versicolor* oraz TEMPO w obecności tlenu atmosferycznego. Reakcja została przeprowadzona z pominięciem rozpuszczalników organicznych, w wodnym środowisku micelarnym.¹⁴⁷ Następnie Zhu i współpracownicy przedstawili sekwencyjną reakcję Ugiego w połączeniu z utlenianiem pierwszorzędowych alkoholi.¹⁴⁸ Autorzy zaprezentowali dwa warianty możliwych warunków reakcji z uwzględnieniem utleniania alkoholi do aldehydów przy zastosowaniu stechiometrycznych ilości IBX lub katalitycznych ilości 2-jodobenzenosulfonianu sodu w obecności Oxone[®] (KHSO₅* 0.5 KHSO₄* 0.5 K₂SO₄).

Znane dotychczas sekwencyjne reakcje Passeriniego dotyczą jedynie utleniania alkoholi do aldehydów. Zastosowanie do tego celu amin nie jest dotychczas znane. W przypadku sekwencyjnej reakcji Ugiego podobnie jak dla reakcji Passeriniego do syntezy aldehydu *in situ* w mieszaninie reakcyjnej stosowane są jedynie alkohole. Natomiast aminy zarówno pierwszorzędowe jak i drugorzędowe są używane tylko do syntezy imin w sekwencyjnej reakcji Ugiego, co prowadzi do uzyskania trójkomponentowej reakcji Ugiego. Przykład zastosowania ilościowego utleniania amin do aldehydów w sekwencyjnej reakcji Ugiego nie jest obecnie znany w literaturze.

¹⁴⁵ J. Brioché, G. Masson, J. Zhu, *Org. Lett.* **2010**, *12*, 7, 1432.

¹⁴⁶ B. Karimi, E. Farhangi, *Adv. Synt. Catal.* **2013**, *355*, 508.

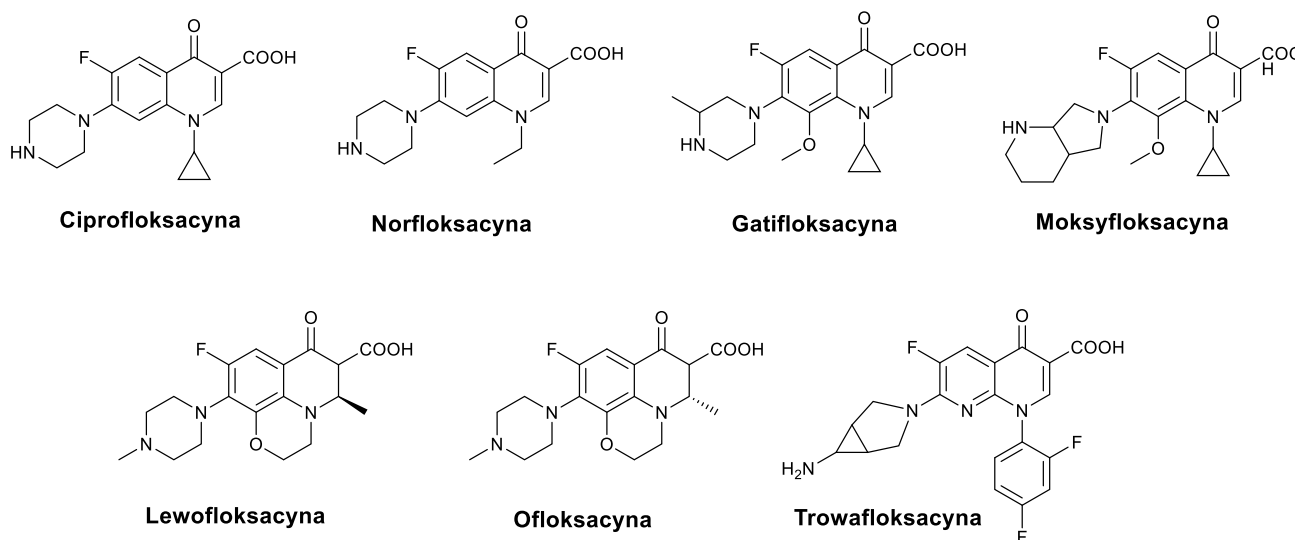
¹⁴⁷ D. Paprocki, D. Koszelewski, A. Żądło, P. Walde, R. *RSC Adv.* **2016**, *6*, 68231.

¹⁴⁸ F. Drouet, G. Masson, J. Zhu. *Org. Lett.* **2013**, *15*, 11, 2854.

7. Ciprofloksacyna jako potencjalny substrat do reakcji multikomponentowych.

Ciprofloksacyna (Cyprofloksacyna, CP) jest to związek chemiczny, antybiotyk z grupy fluorochinolonów o charakterze amfoterycznym, zawierający w swojej strukturze atom fluoru, grupę aminową, karboksylową i karbonylową. Wyżej wymienione grupy funkcyjne mają wpływ nie tylko na jej aktywność biologiczną, ale także na reaktywność i syntezę nowych pochodnych.

Ciprofloksacyna wykazuje szerokie spektrum działania przeciwbakteryjnego ze względu na jej udział w hamowaniu aktywności enzymów bakteryjnych: topoizomerazy typu II (gyrazy DNA) oraz topoizomerazy IV, niezbędnych do prawidłowej replikacji i funkcjonowania kwasu nukleinowego DNA bakterii.¹⁴⁹ Na rysunku R7-1. Zostały przedstawione wybrane przykłady antybiotyków z grupy fluorochinolonów.



R7-1. Wybrane przykłady antybiotyków z grupy fluorochinolonów.

Obecnie obserwuje się znaczne obniżenie efektywności ciprofloksacyny, które jest związane z nieustannie powiększającą się liczbą szczepów bakterii patogennych opornych na antybiotyki (zarówno Gram-ujemnych jak i Gram-dodatnich). W związku z tym konieczne jest projektowanie nowych związków o analogicznych właściwościach biologicznych. Na przestrzeni ostatnich 30 lat, opracowano liczne syntezę wielu pochodnych ciprofloksacyny, które charakteryzują się szerokim wachlarzem właściwości biologicznych,

¹⁴⁹ <https://www.drugbank.ca/drugs/DB00537>

między innymi takie jak: przeciwbakteryjne, przeciwgrzybiczne, przeciw HIV, przeciw malarii, przeciwnowotworowe, a także przeciw gruźlicze.¹⁵⁰

¹⁵⁰ G. -F. Zhang, X. Liu, S. Zhang, B. Pan, M. - L. Liu, *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, *146*, 599e612.

7.1. Zastosowanie reakcji multikomponentowych do funkcjonalizacji ciprofloksacyny.

Ciprofloksacyna ze względu na obecność grupy karboksylowej oraz aminowej jest potencjalnym substratem do reakcji multikomponentowych. Jediną reakcją multikomponentową stosowaną do syntezy pochodnych ciprofloksacyny jest reakcja Mannicha pomiędzy ciprofloksacyną, formaldehydem i związkiem karbonylowym.

Sriram¹⁵¹ i Feng¹⁵² zaprezentowali zastosowanie reakcji Mannicha do syntezy pochodnych ciprofloksacyny i izatyny wykazujących właściwości przeciwbakteryjne. Ponadto, Sriram i współpracownicy przeprowadzili syntezę pochodnych ciprofloksacyny na bazie tetracykliny. Otrzymane związki (52% - 62%) zbadane pod kątem ich aktywności biologicznej wykazały dobrą aktywność przeciwbakteryjną oraz przeciw HIV.¹⁵³

Plech i współpracownicy opublikowali syntezę oraz badania biologiczne pochodnych otrzymanych w reakcji ciprofloksacyny z ugrupowaniem 1,2,4-triazolu i formaldehydem (59% - 80%). Otrzymane pochodne wykazywały aktywność jedynie przeciwko bakteriom Gram-dodatnim.¹⁵⁴ Natomiast Emami i współpracownicy pokazali syntezę zasad Mannicha przy użyciu kwasu kojowego i kwasu chlorokojowego, które to kwasy mają właściwości przeciwdrobnoustrojowe. Pochodne ciprofloksacyny otrzymano odpowiednio z wydajnościami 83% i 77%. Ocena przeciwdrobnoustrojowa tych związków wykazała, że wszystkie zsyntetyzowane zasady Mannicha były aktywne przeciwko bakteriom Gram-dodatnim i Gram-ujemnym.¹⁵⁵

Obecnie nie ma doniesień literaturowych o zastosowaniu ciprofloksacyny do reakcji Passeriniego i Ugiego. Obecność w cząsteczce zarówno grupy aminowej oraz karboksylowej czyni ciprofloksacynę trudnym substratem ze względu na możliwość powstania wielu produktów ubocznych, w tym mieszaniny produktów Ugiego i Passeriniego.

¹⁵¹ D. Sriram, P. Yogeewari, J. S. Basha, D. R. Radhab, V. Nagaraja, *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, 13, 5774.

¹⁵² L.-S. Feng, M.-L. Liu, S. Zhang, Y. Chai, B. Wang, Y.-B. Zhang, K. Lv, Y. Guan, H.-Y. Guo, C.-L. Xiao, *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, 46, 341.

¹⁵³ D. Sriram, P. Yogeewari, G. Senchani, D. Banerjee, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, 17, 2372.

¹⁵⁴ T. Plech, M. Wujec, U. Kosikowska, A. Malm, B. Rajtar, M. Polz-Dacewicz, *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, 60, 128.

¹⁵⁵ S. Emami, E. Ghafouri, M. A. Faramarzi, N. Samadi, H. Irannejad, A. Foroumadi, *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, 68, 185.

8. Badania Własne.

8.1. Koncepcja i cel badań.

Celem niniejszej rozprawy doktorskiej było opracowanie warunków, które umożliwiłyby przeprowadzenie chemoenzymatycznych reakcji multikomponentowych typu Ugiego i Passeriniego w obecności związków powierzchniowo czynnych, zbadanie ich wpływu na przebieg reakcji Passeriniego i Ugiego oraz na rozszerzenie tej metodologii do syntezy peptydomimetyków z ciprofloksacyny.

Jak wykazano w rozdziale 3 części literaturowej, najlepsze wydajności reakcji Passeriniego i Ugiego otrzymuje się przy zastosowaniu dużych stężeń substratów w rozpuszczalnikach organicznych. Niestety są to rozpuszczalniki toksyczne i szkodliwe dla środowiska. Zgodnie z zasadami „zielonej chemii” dąży się do ograniczenia stosowania substancji niebezpiecznych (zasada 5) oraz rozpuszczalników (zasada 3). W związku z tym, poszukuje się nowych alternatywnych warunków reakcji, które będą przyjazne dla środowiska. Natomiast, możliwość przeprowadzenia reakcji Passeriniego i Ugiego w obecności związków powierzchniowo czynnych jest atrakcyjną, alternatywną metodą dla reakcji prowadzonych w rozpuszczalnikach organicznych.

Zastosowanie wodnych roztworów surfaktantów umożliwia przeprowadzenie reakcji Passeriniego i Ugiego z pominięciem toksycznych dla środowiska rozpuszczalników zgodnie z drugą zasadą „zielonej chemii”. Ponadto surfaktanty przyczyniają się do zwiększenia rozpuszczalności reagentów w wodzie oraz do zwiększenia szybkości przeprowadzanych reakcji. W związku z tym, możliwe jest otrzymanie produktów reakcji, które w wodzie nie zachodzą lub zachodzą z bardzo niskimi wydajnościami produktów. W rozdziale 4 omówiono doniesienia literaturowe dotyczące reakcji Passeriniego i Ugiego w roztworach wodnych. W przypadku reakcji Passeriniego zostały opracowane w naszym zespole optymalne warunki syntezy peptydomimetyków w roztworach micelarnych.⁹³ Natomiast dla reakcji Ugiego znany jest tylko jeden przypadek przeprowadzenia reakcji Ugiego w obecności surfaktantu. Ponadto, autorzy uwzględnili w badaniach przesiewowych tylko jeden surfaktant, chlorek cetylopirydyniowy (CPC).⁹⁵ W związku z tym, zaproponowano dalsze badania wyjaśniające wpływ surfaktantów na przebieg reakcji Ugiego w wodzie. Pozwoli to na opracowanie metody syntezy produktów reakcji Ugiego w warunkach przyjaznych dla środowiska, stosując wodny roztwór surfaktantu zamiast toksycznych rozpuszczalników organicznych.

Jednym z substratów do reakcji multikomponentowych jest aldehyd, który jest nietrwały w warunkach przechowywania. Natomiast do ich syntezy często stosowane

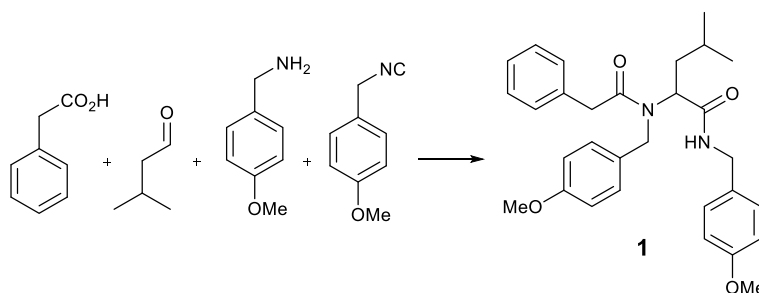
są stechiometryczne ilości toksycznych odczynników oraz katalizatory w oparciu o metale przejściowe. W rozdziale 5 przedstawiono przykładowe reakcje otrzymywania aldehydów z alkoholi oraz amin. Po analizie danych dotyczących zastosowania enzymów do reakcji utleniania oraz danych dotyczących sekwencyjnych reakcji multikomponentowych zaplanowano badania nad sekwencyjną reakcją łączącą enzymatyczne utlenianie tlenem atmosferycznym alkoholu lub aminy do odpowiedniego aldehydu z reakcją Ugiego lub Passeriniego w obecności związków powierzchniowo czynnych. Podejście to umożliwi ograniczenie stosowania wielu szkodliwych katalizatorów, utleniaczy czy też rozpuszczalników. Ponadto, synteza aldehydów bez konieczności wydzielenia produktu z mieszaniny reakcyjnej wyeliminuje problem związany z ich niestabilnością podczas przechowywania.

W ostatnim etapie pracy, celem badań będzie opracowanie metody syntezy peptidomimetyków z zastosowaniem reakcji Passeriniego i Ugiego, stosując ciprofloksacynę jako kluczowy substrat.

8.2. Promowanie reakcji Ugiego układami micelarnymi.

Celem pierwszego etapu badań było opracowanie przyjaznej dla środowiska metody, ograniczającej stosowanie toksycznych rozpuszczalników organicznych w reakcji Ugiego, prowadzącej do otrzymania α -aminoacyloamidów.

Jako substraty do modelowej reakcji Ugiego wybrano kwas fenylooctowy, aldehyd izowalerianowy oraz izocyjanek *p*-metoksybenzylowy (rysunek **R8.2-1**).



R8.2-1. Schemat modelowej reakcji Ugiego.

Zastosowanie odpowiedniego rozpuszczalnika ma duże znaczenie przy projektowaniu syntezy peptydomimetyków. Dlatego też, jeden z pierwszych eksperymentów miał na celu zbadanie wpływu różnych rozpuszczalników na przebieg reakcji Ugiego. Reakcje prowadzono w temperaturze pokojowej, przez 24 godziny. Jako rozpuszczalniki organiczne zastosowano: metanol, etanol, acetonitryl, chlorek metylenu (DCM), eter *tetr*-butyloowo-metylowy (TBME), *N,N*-dimetyloformamid (DMF) oraz octan etylu. Przeprowadzono także reakcje w warunkach przyjaznych dla środowiska: w wodzie destylowanej oraz buforze fosforanowym (PBS pH = 7.4). Uzyskane wyniki zostały zestawione w tabeli **T1**. Badania wykazały, że związek **1** można uzyskać z największą wydajnością w obecności polarnego protycznego rozpuszczalnika, metanolu. Otrzymany wynik potwierdza dane literaturowe opisujące reakcję Ugiego. Przeprowadzenie eksperymentu w etanolu skutkowało zmniejszeniem wydajności produktu **1** z 55% na 15% w porównaniu do reakcji w metanolu (L.p.1 – 2; tabela **T1**). W wyniku przeprowadzonych eksperymentów w acetonitrylu, DCM, TBME oraz octanie etylu otrzymano związek **1** z wydajnościami od 40% do 51% (L.p. 3, 5 – 7; tabela **T1**). Zastosowanie buforu fosforanowego (pH = 7.4) oraz DMF prowadziło do uzyskania produktu **1** z wydajnościami 13 - 19% (L.p. 4, 9; tabela **T1**). Natomiast zastosowanie wody destylowanej przyczyniło się do dwukrotnego zmniejszenia wydajności produktu **1** w porównaniu do wyniku otrzymanego w metanolu (L.p. 8; tabela **T1**).

T1. Badanie wpływu rozpuszczalników na przebieg modelowej reakcji Ugiego.

L.p.	Rozpuszczalnik	Wydajność 1 (%)
1.	Metanol	55
2.	Etanol	15
3.	Acetonitryl	51
4.	DMF	13
5.	DCM	49
6.	TBME	47
7.	Octan etylu	40
8.	Woda destylowana	27
9.	PBS (f 7.4)	19

Warunki reakcji: *p*-metoksybenzyloamina (0.5 mmol), aldehyd izowalerianowy (0.5 mmol), kwas fenylloctowy (0.5 mmol), izocyjanek *p*-metoksybenzylowy (0.5 mmol) w 5 mL rozpuszczalnika, 48 godz. w temperaturze pokojowej. Wydajności wyizolowanego produktu **1**.

Następnie, ze względu na rosnące zainteresowanie stosowaniem katalizy micelarnej w syntezie związków organicznych, przeprowadzono badania mające na celu zwiększenie wydajności otrzymywania tego peptydomimetyku w wodzie. Wyniki przedstawiono w tabeli **T2**. Dodanie soli nieorganicznych nie miało wpływu na przebieg reakcji modelowej prowadząc do otrzymania produktu **1** z wydajnościami podobnymi bądź mniejszymi w wodzie destylowanej bez żadnego dodatku (L.p.1 – 3; tabela **T2**).

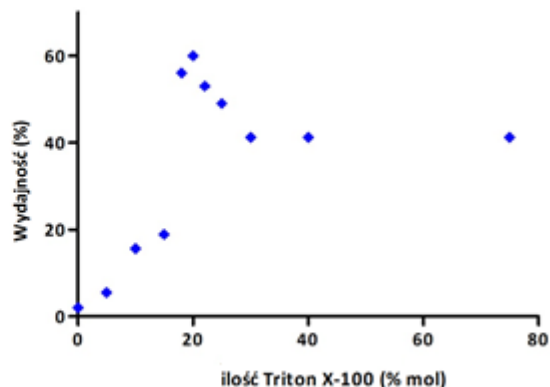
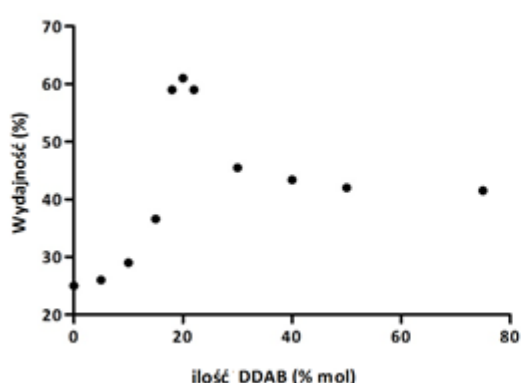
Podobnie sprawa wygląda przy zastosowaniu niejonowego surfaktantu, Span 60 (L.p. 6; tabela **T2**). Natomiast w obecności innych surfaktantów niejonowych takich jak Tween 80, Triton X-100, TPGS-750-M zaobserwowano znaczne zwiększenie wydajności produktu **1** do 59-60% (L.p. 7 – 9; tabela **T2**). W przypadku anionowych i amfoterycznych surfaktantów otrzymano produkt z wydajnościami od 33% do 40% (L.p. 4- 5, 13; tabela **T2**). Zastosowanie kationowych surfaktantów również wykazało znaczący wpływ na przebieg reakcji modelowej otrzymując produkt **1** z wydajnościami od 38% do 62% (L.p. 10- 12; tabela **T2**). Najlepszym spośród 9 testowanych surfaktantów był DDAB (62%, L.p. 10; tabela **T2**). Związek **1** otrzymano z wydajnością większą w wodnym roztworze DDAB niż w przypadku zastosowania metanolu jako rozpuszczalnika.

T2. Wpływu różnych dodatków na przebieg reakcji modelowej w wodzie.

L.p.	Dodatek	Wydajność (%) ^a
1.	-	27
2.	NaCl	27
3.	CaCl ₂	24
4.	SDS	33
5.	AOT	37
6.	Span 60	20
7.	Tween 80	59
8.	Triton X-100	60
9.	TPGS-750-M	60 ^b
10.	DDAB	62
11.	Chlorek cetylopirydyniowy (CPC)	38
12.	DODAB	42
13.	3-(<i>N,N</i> -dimetylo-mirystyloamono) propanosulfonian	40

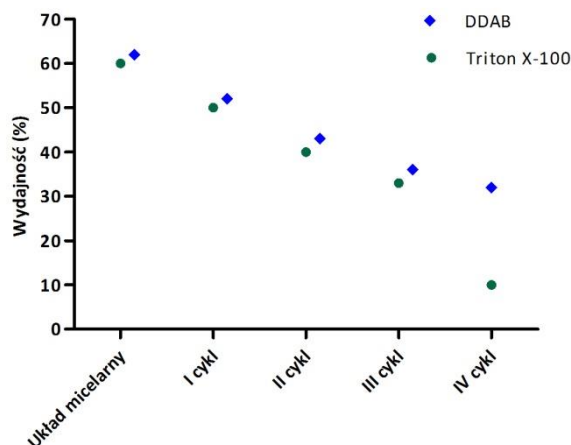
^a Warunki reakcji: *p*-metoksybenzyloamina (0.5 mmol), aldehyd izowalerianowy (0.5 mmol), kwas fenylloctowy (0.5 mmol), izocyjanek *p*-metoksybenzyloowy (0.5 mmol) oraz dodatek (0.1 mmol) w 5 mL wody destylowanej, 48 godz. w temperaturze pokojowej. Wydajności wyizolowanego produktu **1**. ^b 2% wag.

Zastosowanie surfaktantów przyczyniło się do zwiększenia rozpuszczalności substratów w wodzie, w wyniku tworzenia się agregatów miceli bądź pęcherzyków. W konsekwencji ma miejsce zwiększenie wydajności związku **1**. Ze względu na podobne wydajności otrzymanego produktu **1** w obecności DDAB i Triton X-100 oraz TPGS-750-M wybrano DDAB do dalszych badań. Na początku przeprowadzono eksperyment mający na celu sprawdzenie optymalnego stężenia DDAB w wodzie w zakresie stężeń od 0 do 75% mol. Wszystkie stężenia DDAB znajdowały się powyżej krytycznego stężenia micelnego, które wynosi $1.5 \cdot 10^{-4}$ M. Zebrane wyniki zaprezentowano na rysunku **R8.2-2**. Co więcej, w każdym z zastosowanych stężeń zaobserwowano pozytywny wpływ DDAB na wydajność produktu modelowej reakcji. Wraz ze wzrostem stężenia DDAB w wodzie do 20% mol wzrastała także wydajność produktu reakcji Ugięgo do 62%. Następnie przy stężeniu DDAB równym 22% mol uzyskano produkt z wydajnością 59%. Dalsze zwiększanie stężenia od 30% do 75% mol pozwoliło uzyskać produkt **1** z wydajnościami około 45%. Następnie, badania powtórzono dla obojętnego surfaktantu, Tritonu X- 100 ($\text{cmc} = 2.2 \cdot 10^{-4}$ M). Otrzymane wydajności reakcji były niższe w każdym z zastosowanych stężeń tego surfaktantu w wodzie.



R8.2-2. Wpływ ilości DDAB oraz Triton X-100 na wydajność produktu modelowej reakcji Ugiego.

W wyniku obu eksperymentów zaobserwowano, że optymalne stężenie surfaktantów DDAB oraz Triton X-100 w wodzie wynosiło 20% mol. Sprawdzone również możliwość wielokrotnego wykorzystania układów micelarnych DDAB oraz Triton X-100. W tym celu odsączono krystalizujący podczas reakcji produkt. Pozostały przesącz zawierający surfaktant zastosowano jako rozpuszczalnik do kolejnego cyklu reakcji modelowej. Produkt reakcji, po każdym etapie, oczyszczano poprzez zastosowanie chromatografii kolumnowej. Uzyskane wyniki zostały zaprezentowane na rysunku **R8.2-3**. Eksperyment przeprowadzono czterokrotnie, w wyniku którego zaobserwowano zmniejszenie wydajności produktu reakcji modelowej od 62% do 32%. Jest to spowodowane stopniową stratą surfaktantu podczas krystalizacji, a tym samym zmniejszeniem jego stężenia w kolejnych cyklach reakcyjnych. Układ micelarny DDAB może być zastosowany tylko raz bez straty wydajności produktu modelowej reakcji Ugiego. W celu potwierdzenia uzyskanych wyników dotyczących stosowalności układu micelarnego, wyniki powtórzono z zastosowaniem Tritonu X-100. Otrzymane wyniki były bardzo zbliżone do wyników otrzymanych w obecności DDAB. Jednak w przeciwieństwie do DDAB, zastosowanie Triton X-100 skutkowało wyraźnym zmniejszeniem wydajności produktu reakcji modelowej po 3 cyklu prowadząc do otrzymania produktu **1** z wydajnością 10%. Przeprowadzone badania jednoznacznie wskazują na zasadność stosowania DDAB z wodą dla modelowej reakcji Ugiego.



R8.2-3. Zawracanie układu micelnego DDAB oraz Triton X-100.

Po optymalizacji warunków reakcji modelowej, przeprowadzono badania nad określeniem wpływu struktury substratów na wydajność produktu reakcji. W tym celu przeprowadzono reakcje Ugiego z różnymi kwasami organicznymi, aminami oraz izocyjankami prowadzące do otrzymania odpowiednich α -aminoacyloamidów (**1 – 26**, rysunek **R8.2 4**) w obecności pęcherzyków DDAB oraz Triton X-100. Wydajności otrzymanych peptydomimetyków w wodzie, wodnym roztworze DDAB oraz wodnym roztworze Triton X-100. Wyniki przedstawione na rysunku **R8.2-4** pokazują znaczący wpływ roztworów micelarnych DDAB oraz Triton X-100 w porównaniu do reakcji przeprowadzonych w wodzie. Zastosowanie kwasów aromatycznych pozwoliło uzyskać produkty **1 - 3** z wydajnościami od 62% do 81% w DDAB, podczas gdy w Triton X-100 od 55% do 65%. Przy czym wydajności w wodzie dla związków **1** oraz **2** wynosiły 27% i 23%. Związek **3** w wodzie otrzymano z wydajnością 55%, natomiast zastosowanie DDAB oraz Triton X-100 umożliwiło zwiększenie wydajności produktu **3** do 81% oraz 65%. Zastosowanie kwasów alifatycznych pozwoliło uzyskać produkty **4** oraz **5** w DDAB oraz Triton-100 z wydajnościami porównywalnymi do wydajności uzyskanych w wodzie.

Następnie sprawdzono wpływ struktury aldehydów na wydajność produktu modelowej reakcji Ugiego w roztworach wodnych. Reakcje z etanalem, propanalem, butanalem, *izo*-butanalem, dodekanalem w DDAB dały produkty **6 – 10** z wydajnościami 22% do 68%, podczas gdy w Triton X-100 od 22% do 59%. Najmniejszy efekt katalizy micelarnej uzyskano przy zastosowaniu dodekanalu. Natomiast największy wzrost wydajności produktów otrzymano stosując aldehydy o krótkich łańcuchach alifatycznych, etanalu oraz propanalu, w porównaniu do wydajności produktów **6** i **7** w wodzie. Zastosowanie jako substratu

aldehydu benzoowego dało produkt **11** z wydajnością 35% w DDAB oraz 19% w Triton X-100, podczas gdy w wodzie 18%. Dalej, sprawdzono wpływ struktury benzyloaminy na przebieg reakcji Ugięgo otrzymując produkt **12** z wydajnością 60% w DDAB oraz 55% w Triton X-100 (w wodzie uzyskano produkt z wydajnością 39%). Natomiast zastosowanie amin alifatycznych dało produkty **13 - 15** z wydajnościami od 30% do 43% w DDAB oraz w Triton X-100 od 21% do 35%, podczas gdy w wodzie otrzymano wydajności sięgające 25%. Największy wpływ katalizy micelarnej zaobserwowano dla związku **14**, otrzymując w wodzie jedynie śladowe ilości produktu. Natomiast w roztworze DDAB oraz Triton X-100 wydajność produktu **14** wynosiła odpowiednio 43% i 35%.

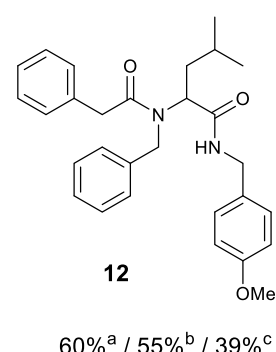
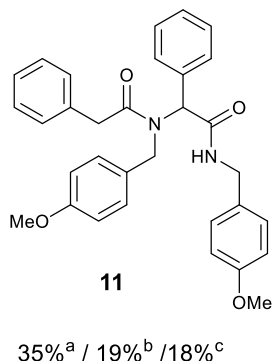
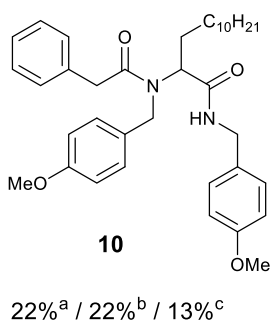
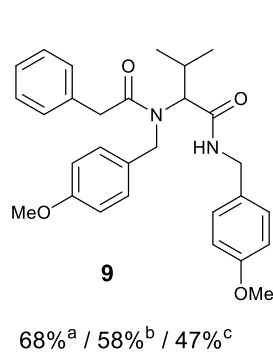
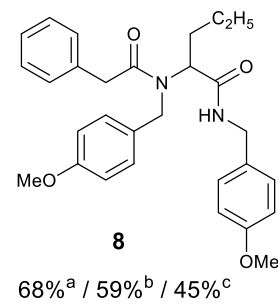
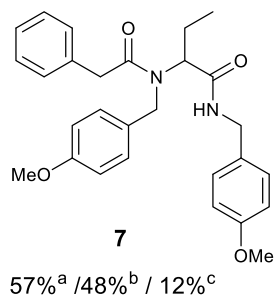
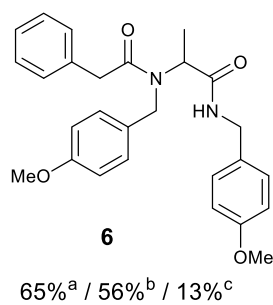
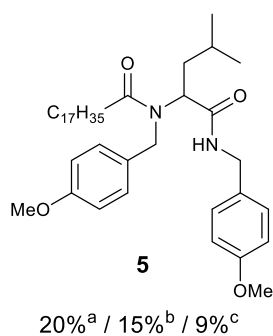
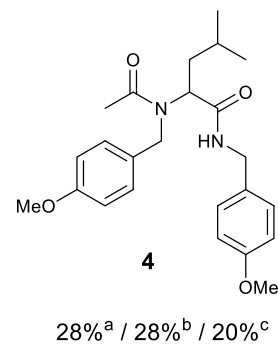
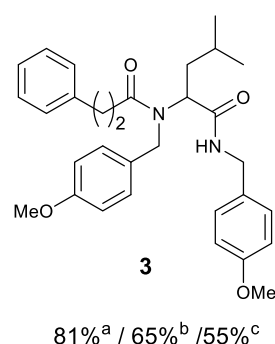
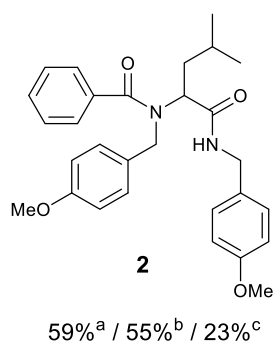
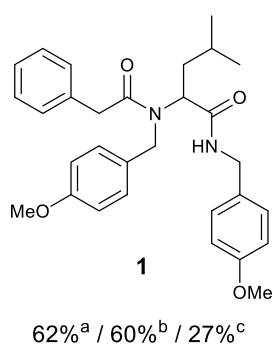
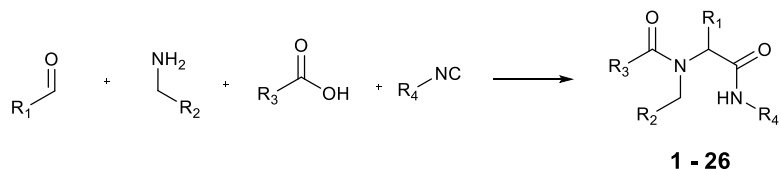
Następnie sprawdzono wpływ struktury izocyjanku benzyłowego uzyskując produkt **16** z wydajnością 79% w DDAB oraz 39% w Triton X-100, podczas gdy w wodzie 35%. Przeprowadzenie reakcji Ugięgo z izocyjanobenzenem, 4-nitroizocyjanobenzenem 4-fluoroizocyjanobenzenem w DDAB, Triton X-100 oraz w wodzie, nie dało produktów reakcji **17 - 19**. W przypadku zastosowania izocyjanku cykloheksyłowego uzyskano produkt **20** z wydajnością 62% w DDAB, 45% w Triton X-100, a w wodzie 32%. Stosowanie izocyjanków alifatycznych dało produkty **21 - 25** z wydajnościami od 43% do 62% w DDAB, od 14% do 52% w Triton X-100. Wydajności związków **20 - 25** w wodzie wynosiły od 14% do 32%.

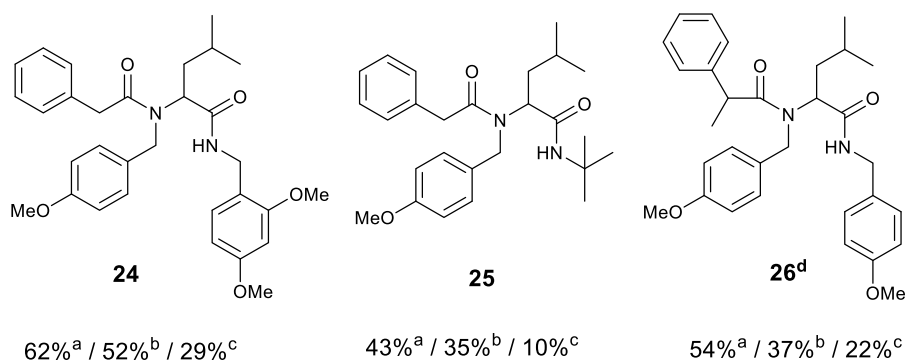
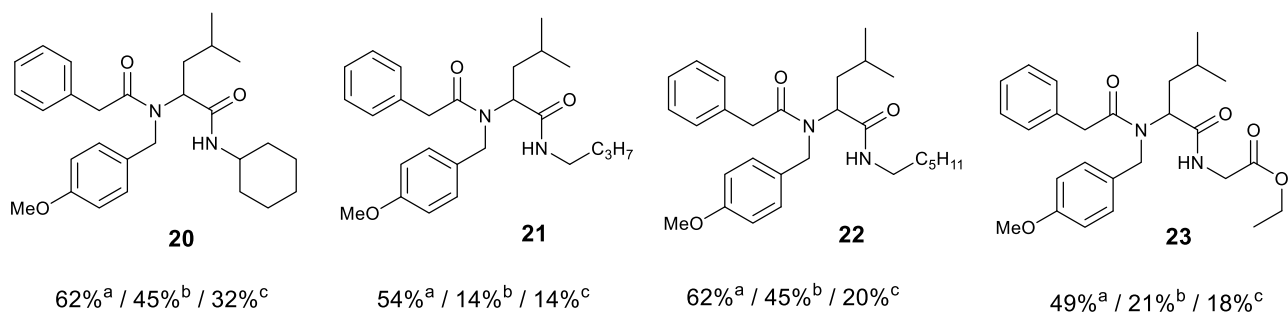
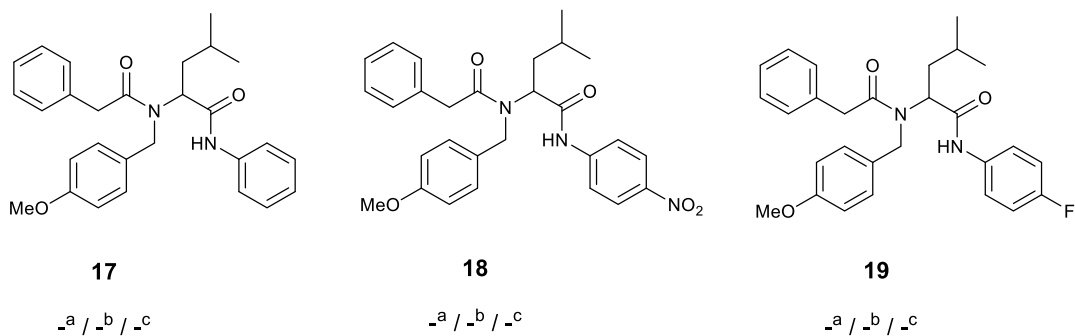
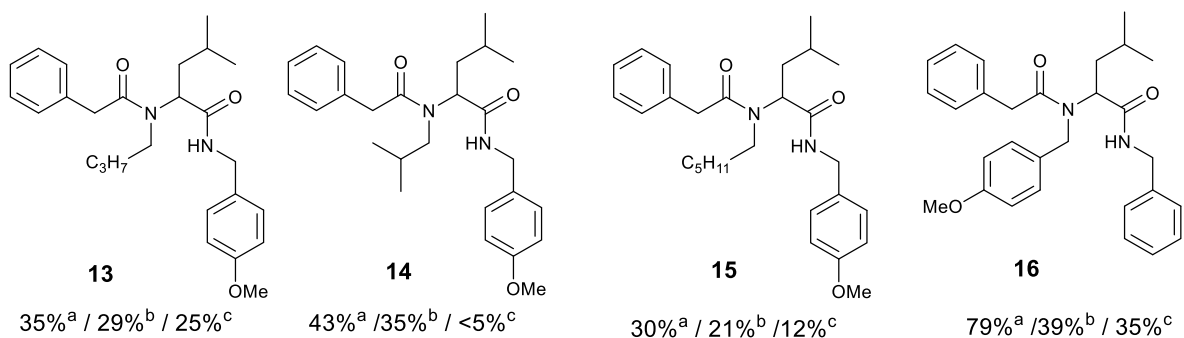
W dalszej kolejności, przeprowadzono badania mające na celu sprawdzenie czy badane układy micelarne mają wpływ na diastereoselektywność reakcji Ugięgo. W tym celu przeprowadzono reakcje z aldehydem izowalerianowym, izocyjankiem *p*-metoksybenzyłowym, *p*-metoksybenzyloaminą oraz kwasem 2-fenylpropionowym w wodnym roztworze DDAB, Triton X-100 oraz w wodzie. Produkt reakcji **26** w każdym z zaproponowanych warunków reakcji otrzymano w postaci diastereoizomerów w proporcji 1 : 0.75. Zastosowanie roztworu wodnego DDAB oraz Triton X-100 nie miało wpływu na diastereoselektywność reakcji Ugięgo. Ponadto, w celu otrzymania odpowiednich peptydomimetyków efektywniejszą metodą było zastosowanie DDAB niż Tritonu X-100.

Podsumowując, wykonano badania nad opracowaniem wariantu reakcji Ugięgo w roztworze wodnym, eliminując konieczność zastosowania toksycznych rozpuszczalników organicznych. Przeprowadzone badania wykazały dodatni wpływ związków powierzchniowo czynnych na wydajności produktów reakcji Ugięgo w wodzie. Opracowana procedura, będąca w zgodzie z koncepcją "zielonej chemii", pozwoliła na wyeliminowanie użycia szkodliwych, lotnych rozpuszczalników organicznych. Efektywność proponowanej metodologii potwierdzono poprzez syntezę 23 α -aminoacylo amidów z wyższymi wydajnościami uzyskanych produktów w porównaniu do reakcji przeprowadzonych w czystej

wodzie. Wyniki opisanych w tym rozdziale badań zostały opublikowane w RSC Advances w 2017 roku.

R8.2-4. Wpływ DDAB oraz Triton X-100 na wydajność produktów reakcji Ugiego w roztworze wodnym.



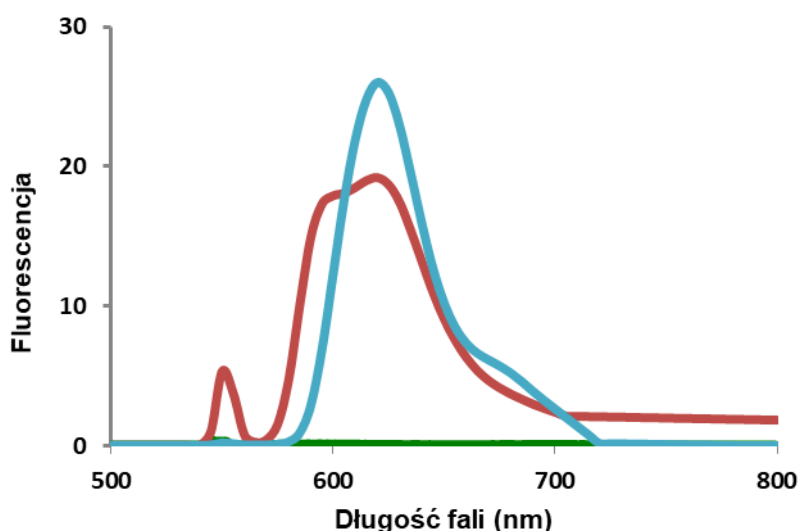


Warunki reakcji: ^a amina (0.5 mmol), aldehyd (0.5 mmol), kwas karboksylowy (0.5 mmol), izocyjanek (0.5 mmol) oraz DDAB (0.1 mmol) w 5 mL wody destylowanej, 48 godz. w temperaturze pokojowej. ^b reakcja przeprowadzona w obecności Triton X-100. (0.1 mmol). Wydajności wyizolowanych produktów reakcji. ^c reakcja przeprowadzona w wodzie destylowanej (5 mL) ^d Mieszanina diastereoizomerów, dr: 1 : 0.75, wyznaczono za pomocą ¹H NMR.

8.2.1. Badania nad potwierdzeniem obecności agregatów surfaktantów.

W celu wyjaśnienia wpływu zastosowanych surfaktantów na zwiększenie wydajności reakcji Ugięgo wykonano odpowiednie badania fizykochemiczne opisujące rodzaj występujących agregatów surfaktantów w mieszaninie reakcyjnej.

W tym celu przeprowadzono badania fluorescencyjne na obecność agregatów DDAB w mieszaninie reakcyjnej. Zastosowano barwnik fluorescencyjny Dil (nadchloranem 1,1'-dioktadecylo-3,3,3',3'-tetrametyloindokarbocyaniny) charakteryzujący się słabą fluorescencją w wodzie, natomiast znacznie większą fluorescencją w obecności agregatów surfaktantów. Przeprowadzono równoległe trzy eksperymenty z Dil. W pierwszym z nich zbadano fluorescencję barwnika w wodzie destylowanej, a w drugim w roztworze wodnym DDAB. Natomiast, w trzecim eksperymencie zbadano fluorescencję Dil w wodnym roztworze DDAB z substratami do reakcji Ugięgo: kwasem fenylloctowym, aldehydem izowalerianowym, izocyjankiem *p*-metoksybenzylowym, *p*-metoksybenzylaminą. Następnie, wszystkie widma fluorescencji roztworów zarejestrowano po wzbudzeniu światłem o długości fali $\lambda = 550$ nm. Otrzymane widma zostały przedstawione na rysunku R8.2-5. W przypadku, gdy Dil dodano do wody destylowanej nie zaobserwowano fluorescencji. Obecność agregatów (miceli lub pęcherzyków) zaobserwowano po zarejestrowaniu fluorescencji drugiego eksperymentu. Fluorescencje zaobserwowano także gdy wszystkie reagenty były obecne w wodnym roztworze DDAB. Eksperyment ten potwierdza tworzenie się agregatów DDAB w mieszaninie reakcyjnej.



R8.2-5. Widma fluorescencji Dil: Dil w wodzie (zielony), Dil w wodnym roztworze DDAB (czerwony) oraz Dil, aldehyd izowalerianowy, amina *p*-metoksybenzylowa, kwas fenylloctowy oraz izocyjanek *p*-metoksybenzylowy w wodnego roztworze DDAB (niebieski).

W celu dodatkowego potwierdzenia otrzymanych wyników pokazujących obecność miceli bądź pęcherzyków, przeprowadzono badania we współpracy z panią Anną Brzozowską z Instytutu Chemii Fizycznej PAN, która wykonała badania fizykochemiczne. W tym celu wykonano analogiczne pomiary wykorzystując dynamiczne rozpraszanie światła (DLS) w roztworach DDAB oraz Triton X-100. Przygotowano roztwory 20 mM Triton X-100 oraz 0.4 mM DDAB w wodzie, ponieważ 20 mM roztwór wodny DDAB występujący w postaci heterogenicznego roztworu uniemożliwił przeprowadzenie pomiaru DLS. Badania wykazały, że w wodnym roztworze Triton X-100 znajdują się głównie małe agregaty ze współczynnikiem dyfuzji $D_{c1}=5.67 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ o promieniu hydrodynamicznym równym 3.41 nm (L.p. 1, tabela **T3**). Natomiast, w przypadku roztworu zawierającego 4 mM DDAB były obserwowane trzy dobrze rozłożone układy ze współczynnikiem dyfuzji $0.25 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$, $1.69 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$, i $0.02 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$. Hydrodynamiczne promienie agregatów obecnych w roztworze wynosiły odpowiednio 10.59 nm, 73.10 nm, i 841.88 nm (L.p. 1 – 3, tabela **T3**). Najmniejsze agregaty zidentyfikowano jako micelle, natomiast większe jako pęcherzyki.¹⁵⁶ Wyniki jednoznacznie wskazały na obecność dużej ilości pęcherzyków w wodnym roztworze DDAB. Natomiast w roztworze Tritonu X-100 obecne były głównie micelle.

Następnie, po wykonaniu pomiarów sprawdzono wpływ powstającej w mieszaninie reakcyjnej iminy na wielkość utworzonych agregatów surfaktantów (tabela **T4** oraz rysunek **R8.2-6**). W tym celu do wcześniej przygotowanych roztworów DDAB oraz Triton X-100 dodano kolejno 0.025 mM i 0.05 mM mieszaninę benzyloaminy oraz aldehydu izowalerianowego. W wyniku przeprowadzonych eksperymentów zaobserwowano znaczną zmianę rozmiarów głównie dużych agregatów surfaktantów. Badania wskazują na obecność w mieszaninie reakcyjnej głównie agregatów o średnich rozmiarach w roztworze DDAB.

Podsumowując, przeprowadzone badania we współpracy z instytutem Chemii Fizycznej PAN potwierdzają obecność agregatów surfaktantów w wodzie. Ponadto, badania wskazują na tworzenie się agregatów surfaktantów o różnych wielkościach, które mogą wskazywać na obecność miceli oraz pęcherzyków. W wyniku przeprowadzonych badań w roztworze wodnym Triton X-100 zaobserwowano micelle, natomiast w DDAB zarówno micelle jak i pęcherzyki. Dodanie iminy do tak przygotowanych roztworów miało wpływ na zmianę wielkości głównie dużych agregatów DDAB.

¹⁵⁶ P. Walde, S. Ichikawa, *Biomol. Eng.* **2001**, 18, 4, 143.

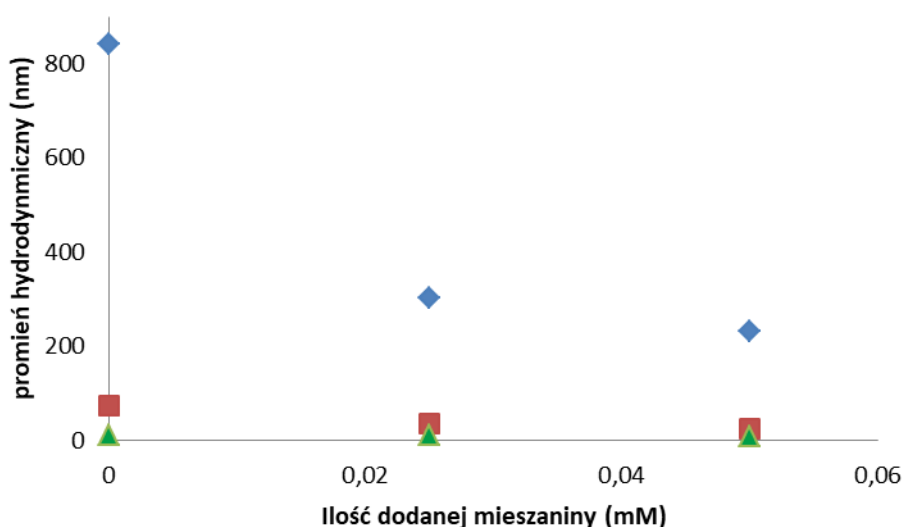
T3. Wpływ surfaktantu na zmianę współczynnika dyfuzji oraz promienia hydrodynamicznego wodnego roztworu DDAB.

L.p.	$D_c \cdot 10^{-10} \text{ (m}^2 \text{ s}^{-1}\text{)}$ [Rh (nm)]	20 mM Triton X-100	4 mM DDAB
1.	D_{c1} [R_{h1}]	5.67 [3.41]	1.69 [10.59]
2.	D_{c2} [R_{h2}]	0.01 [1572.13]	0.25 [73.10]
3.	D_{c3} [R_{h3}]	-	0.02 [841,88]

T4. Wpływ aminy oraz aldehydu na zmianę współczynnika dyfuzji oraz promienia hydrodynamicznego wodnego roztworu DDAB.

L.p.	$D_c \cdot 10^{-10} \text{ (m}^2 \text{ s}^{-1}\text{)}$ [Rh (nm)]	4 mM DDAB		
		0 mM (S_1S_2)	0,025 mM (S_1S_2)	0.05 mM(S_1S_2)
1.	D_{c1} [R_{h1}]	1.69 [10.59]	1.83 [9.90]	2.00 [9.08]
2.	D_{c2} [R_{h2}]	0.25 [73.10]	0.51 [35.62]	0.75 [24.18]
3.	D_{c3} [R_{h3}]	0.02 [841,88]	0.06 [301.66]	0.08 [231.38]

Do 4 mM wodnego roztworu DDAB dodano mieszaninę aldehydu izowalerianowego oraz aminy *p*-metoksybenzylowej.

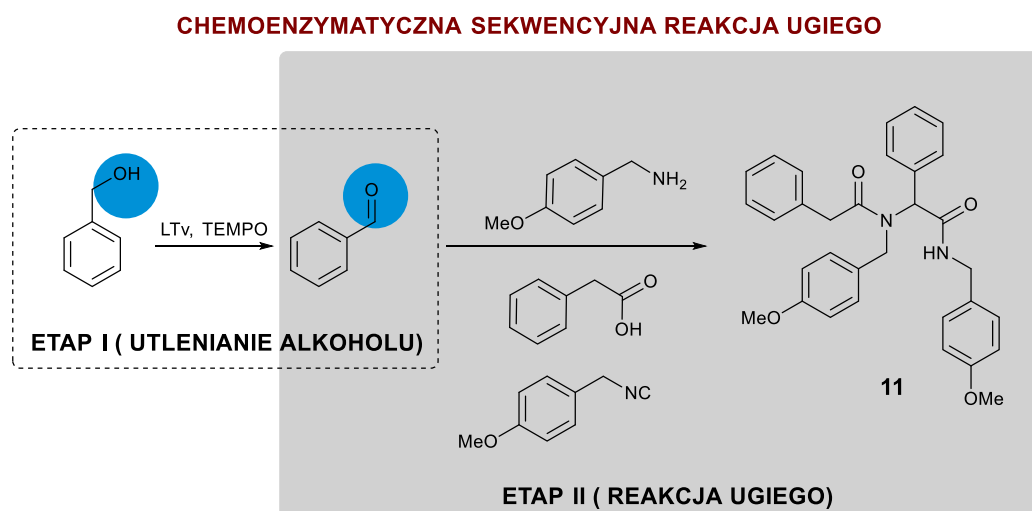


R8.2-6. Zmiana promienia agregatów DDAB względem dodanej ilości mieszaniny aminy i aldehydu : duże agregaty (niebieskie), średnie (czerwone), małe (zielone).

8.3. Badania nad opracowaniem chemoenzymatycznej sekwencyjnej reakcji łączącej utlenianie alkoholi z reakcją Ugiego.

Celem tego etapu badań było opracowanie metody syntezy aldehydów z alkoholi i bezpośrednio ich zastosowanie do reakcji multikomponentowych typu Ugiego. W związku z tym zaproponowano sekwencyjną syntezę, łącząc reakcję Ugiego z enzymatycznym utlenianiem tlenem atmosferycznym alkoholi do aldehydów stosując jako enzym lakazę z *Trametes versicolor* (LTv) oraz mediator TEMPO.

Jako substraty do sekwencyjnej reakcji utleniania alkoholu do aldehydu oraz modelowej reakcji Ugiego wybrano alkohol benzylový, *p*-metoksybenzyloaminę, kwas fenylooctowy, oraz izocyjanek *p*-metoksybenzylový (rysunek R8.3-1). W celu przeprowadzenia chemoenzymatycznej sekwencyjnej reakcji Ugiego konieczna była weryfikacja kompatybilności biokatalitycznego utleniania alkoholu do aldehydu z warunkami reakcji Ugiego w wodnym roztworze DDAB.



R8.3-1. Schemat modelowej reakcji Ugiego.

Przeprowadzono dwa eksperymenty mające potwierdzić zasadność koncepcji badań poprzez sprawdzenie wydajności produktu utleniania alkoholu benzylový (Etap I) w wodzie oraz w wodnym roztworze DDAB o pH = 5.2 przez 18 godzin w temperaturze pokojowej. Zaobserwowano w obu przypadkach całkowitą konwersję alkoholu do aldehydu.

Kolejnym etapem badań było połączenie katalizowanego lakazą utleniania alkoholu benzylový z reakcją Ugiego (Etap I + Etap II). Ze względu na wrażliwość lakazy oraz reakcji Ugiego na zmianę warunków reakcji zaproponowano do wstępnych badań zastosowanie buforu fosforanowego o pH = 5.2, który jest optymalny dla pierwszego etapu reakcji modelowej. Przeprowadzono doświadczenie mające na celu porównanie klasycznej

reakcji Ugiego z zaproponowaną chemoenzymatyczną modyfikacją wykorzystującą enzymatyczne utlenianie alkoholu. Pierwszy etap chemoenzymatycznej sekwencyjnej reakcji Ugiego przeprowadzono w roztworze DDAB o pH = 5.2. Następnie, po 24 godzinach dodano pozostałe reagenty niezbędne do reakcji Ugiego. Produkt **11** uzyskano po kolejnych 48 godzinach z wydajnością 30%. Dla porównania, reakcja pomiędzy benzaldehydem, kwasem fenylloctowym, *p*-metoksybenzyloaminą oraz izocyjankiem *p*-metoksybenzylowym w micelarnym roztworze DDAB dała produkt **11** z wydajnością 35%.

W dalszej części badań przeprowadzono badania nad określeniem wpływu surfaktantu na przebieg chemoenzymatycznej sekwencyjnej reakcji Ugiego w obecności lakazy z *Trametes versicolor*, TEMPO w buforze fosforanowym o pH = 5.2 (tabela **T3**). W każdym z eksperymentów, zastosowano surfaktant powyżej jego krytycznego stężenia micelizacji (cmc). Spośród wszystkich przebadanych surfaktantów największą wydajność związku **11** uzyskano stosując SDS (45%, L.p. 9, tabela **T3**).

T3. Wpływ surfaktantów na modelową reakcję Ugiego.

L.p.	Dodatek	Wydajność 11 (%) ^a
1.	-	19
2.	Tween 80	21
3.	Triton X-100	19
4.	Span 60	10
5.	DDAB	30
6.	CTAB	21
7.	DODAB	15
8.	TPGS-750-M	20 ^b
9.	SDS	45
10.	AOT	35
11.	SDS/Triton X-100 (1:1)	10
12.	SDS/DDAB (1:1)	<5

^a Warunki reakcji: alkohol benzylový (0.5 mmol), TEMPO (0.1 mmol), lakaza z *Trametes versicolor* (15 U) i dodatek (0.1 mmol), 24 godz. w temperaturze pokojowej. Następnie dodano *p*-metoksybenzyloamine (0.5 mmol), kwas fenylloctowy (0.5 mmol), izocyjanek *p*-metoksybenzylowy (0.5 mmol) w 5 mL buforu fosforanowego o pH = 5.2. Mieszaninę reakcyjną mieszano przez kolejne 48 godz. w temperaturze pokojowej Wydajności wyizolowanego produktu **11**. ^b 2% wag.

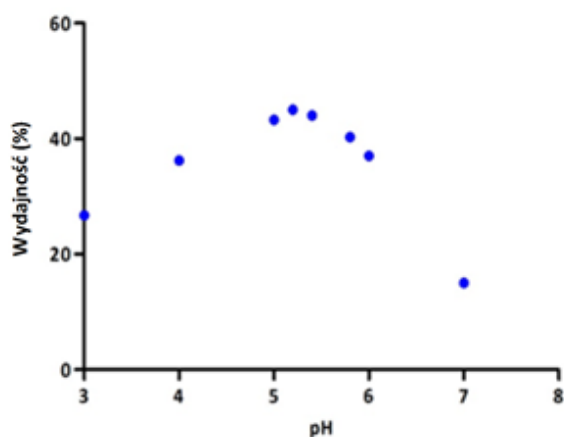
Następnie wykonano badania nad sprawdzeniem wpływu mediatora oraz czasu prowadzenia reakcji na wydajność produktu chemoenzymatycznej sekwencyjnej reakcji Ugiego (tabela **T4**). W przypadku niezastosowania TEMPO albo lakazy z *Trametes versicolor* nie zaobserwowano powstawania produktu reakcji Ugiego (L.p. 1 - 3; tabela **T4**). Jest to spowodowane nieobecnością jednego z substratów jakim jest aldehyd, który w tych warunkach nie powstawał *in situ* w mieszaninie reakcyjnej. Przeprowadzono także modelową reakcję Ugiego stosując HOBt jako mediator. Jednak w wyniku reakcji nie zaobserwowano powstawania aldehydu, a tym samym produktu reakcji Ugiego **11** (L.p. 4, tabela **T4**). Zastosowanie układu TEMPO/LTv stanowiło najlepsze rozwiązanie dla sekwencyjnej reakcji Ugiego. W kolejnym eksperymencie sprawdzono wpływ czasu prowadzenia reakcji w obecności TEMPO oraz LTv na wydajność produktu modelowej reakcji Ugiego. Produkt **11** z największą wydajnością otrzymano po 72 godzinach prowadzenia sekwencyjnej reakcji Ugiego (45%, L.p. 7, tabela **T4**). Dalsze wydłużenie czasu prowadzenia reakcji do 96 godzin nie miało znaczącego wpływu na wydajność produktu reakcji Ugiego (L.p. 8, tabela **T4**).

T4. Wpływ mediatora oraz czasu reakcji na wydajność produktu sekwencyjnej reakcji Ugiego

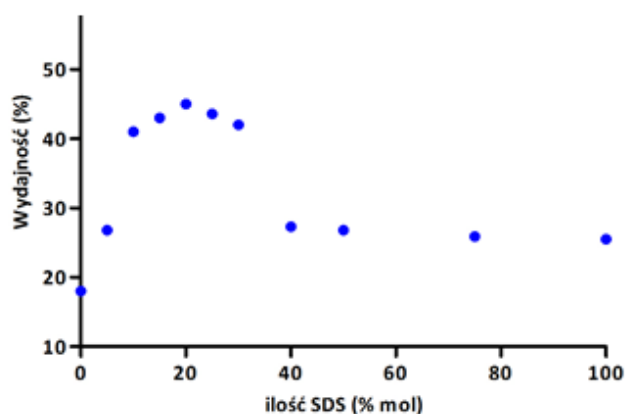
L.p.	Mediator	LTv	Czas reakcji (godz.)	Wydajność 11 (%)
1.	-	+	72	<1
2.	TEMPO	-	72	ND
3.	-	-	72	ND
4.	HOBt	+	72	<1
5.	TEMPO	+	24	<1
6.	TEMPO	+	48	11
7.	TEMPO	+	72	45
8.	TEMPO	+	96	45

Warunki reakcji: alkohol benzytowy (0.5 mmol), mediator (0.1 mmol), lakaza z *Trametes versicolor* (15 U) oraz SDS (0.1 mmol) w 5 mL buforu fosforanowego o pH = 5.2, 24 godz. w temperaturze pokojowej. Następnie dodano *p*-metoksybenzylamine (0.5 mmol), kwas fenylooctowy (0.5 mmol), izocyjanek *p*-metoksybenzylowy (0.5 mmol), mieszano przez kolejne 48 godz. w temperaturze pokojowej. Wydajności wyizolowanego produktu **11**.

W dalszej kolejności przeprowadzono badania mające na celu określenie optymalnego pH buforu fosforanowego dla badanej sekwencyjnej reakcji Ugiego. W związku z tym, że stosowana lakaza z *Trametes versicolor* wykazuje największą stabilność w zakresie pH od 3 do 6,¹⁵⁷ przygotowano serię reakcji modelowych w pH od 3 do 7 w wodnym roztworze SDS. Otrzymane wyniki zostały przedstawione na rysunku **R8.3-2**. W zakresie pH od 3 do 5.2 wydajność produktu **11** wzrosła od 23% do 45%. Natomiast, wraz z dalszym zwiększaniem pH od 5.2 do 6 zauważono zmniejszenie wydajności reakcji Ugiego. Zastosowanie roztworu o pH = 7 przyczyniło się do otrzymania produktu **11** z wydajnością 17%. Znacznie mniejsza wydajność produktu **11** jest spowodowana niższą aktywnością lakazy w środowisku zasadowym, co prowadziło do niewydajnego utleniania alkoholu benzyłowego do aldehydu (Etap I). Ponadto zastosowanie wodnego roztworu o pH = 7 nie sprzyjało klasycznej reakcji Ugiego (Etap II), która w pH = 7 zachodziła z wydajnością produktu **11** równą 25%. W wyniku przeprowadzonych eksperymentów najlepszą wydajność produktu **11** dla chemoenzymatycznej reakcji Ugiego uzyskano przy zastosowaniu roztworu SDS o pH = 5.2.



R8.3-2. Badanie wpływu pH na przebieg modelowej reakcji Ugiego.



R8.3-3. Badanie wpływu SDS na przebieg modelowej reakcji Ugiego.

W toku badań sprawdzono także wpływ ilości surfaktantu na przebieg sekwencyjnej reakcji Ugiego w połączeniu z enzymatycznym utlenianiem alkoholu. Przeprowadzono badania uwzględniające ilość dodanego surfaktantu od 0 do 100% mol. Wyniki zostały przedstawione na rysunku **R8.3-3**. W każdym przypadku zastosowane układy micelarne SDS miały korzystny wpływ na przebieg reakcji Ugiego w porównaniu do wyniku otrzymanego

¹⁵⁷ A. Baiocco, A. M. Barreca, M. Fabbrini, C. Galli, P. Gentili, *Org. Biomol. Chem.* **2013**, *1*, 191.

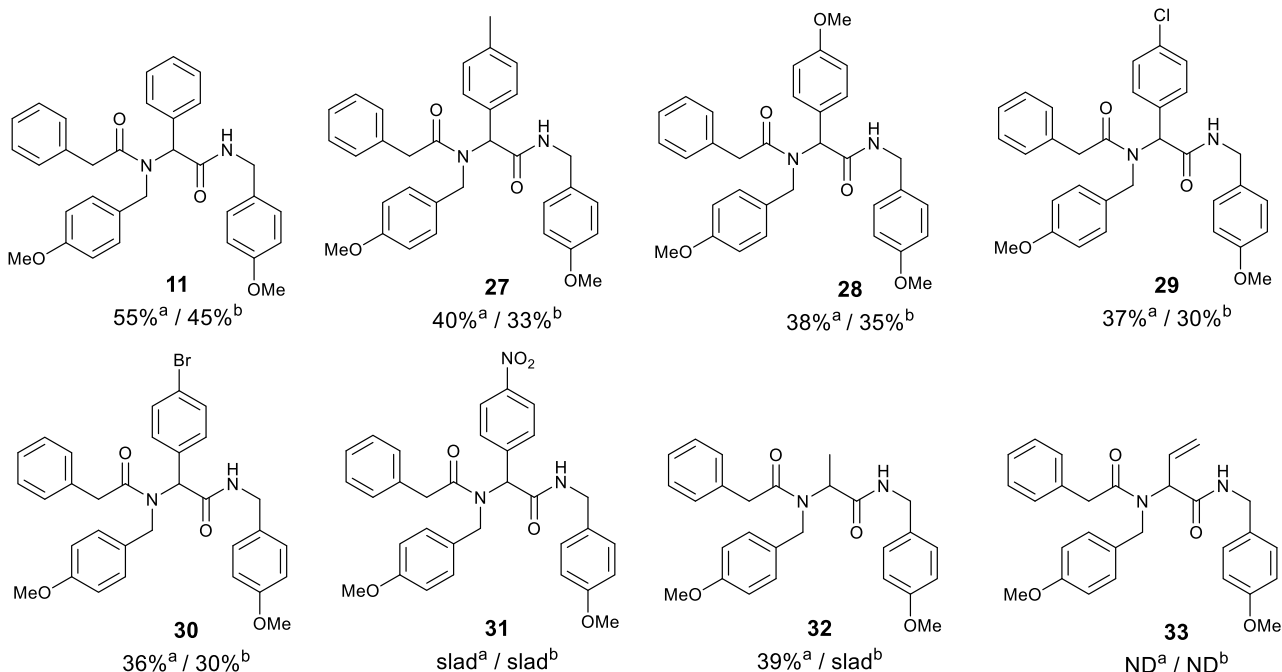
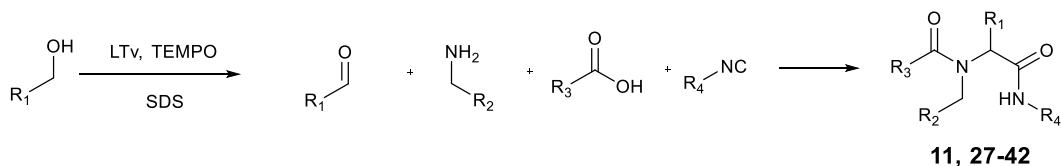
tylko w buforze fosforanowym o pH = 5.2. Zwiększając ilość dodawanego surfaktantu do 20% mol zauważono wzrost wydajności do 45%. Przy zmianie stężenia SDS w buforze fosforanowym do 40% mol wydajność produktu reakcji uległa zmniejszeniu do 28%. Kolejne zwiększenie ilości SDS w zakresie 40 – 100% mol nie miało wpływu na przebieg modelowej reakcji Ugiego dając produkt **11** z wydajnościami około 28%.

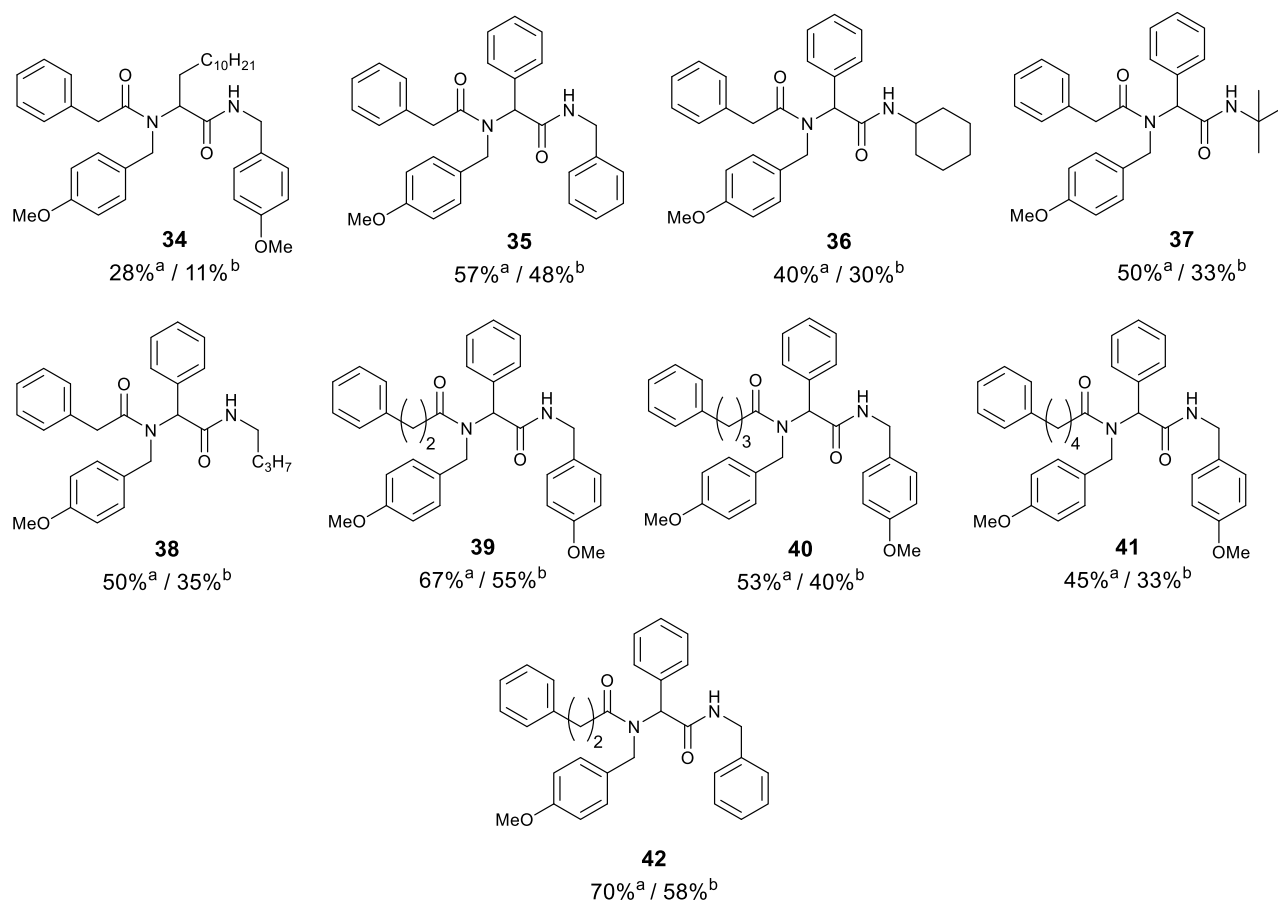
Ze względu na ochronę środowiska bardzo istotnym czynnikiem jest możliwość ponownego zastosowania układu reakcyjnego. W tym celu przeprowadzono badania mające na celu zawracanie mieszaniny reakcyjnej zawierającej micelle SDS, lakazę z *Trametes versicolor* oraz TEMPO. Po przesączeniu mieszaniny reakcyjnej otrzymany filtrat użyto jako roztwór do kolejnej reakcji modelowej. Otrzymany po odsączeniu produkt **11** oczyszczono poprzez rekrytalizację z zastosowaniem układu heksan/octan etylu. Przeprowadzono kolejno 3 cykle reakcyjne zawracania miceli SDS. W każdym z przeprowadzonych cykli reakcyjnych zaobserwowano duży spadek wydajności produktu **11** (45%; 23%; 10%) spowodowany prawdopodobnie stratą surfaktantu, enzymu oraz TEMPO podczas filtracji.

Po przeprowadzeniu optymalizacji sekwencyjnej reakcji Ugiego wykonano badania nad określeniem wpływu struktury substratów na jej przebieg. W tym celu zastosowano różne alkohole, kwasy karboksylowe oraz izocyjanki. Odpowiednie α -aminoacyloamidy otrzymano po 72 godzinach w temperaturze pokojowej. Na rysunku **R8.3-4** przedstawiono wydajności chemoenzymatycznej sekwencyjnej reakcji Ugiego (Etap I + II) w porównaniu do wydajności klasycznej reakcji Ugiego (Etap II). W pierwszym etapie badań reakcje wykonano z alkoholami benzyłowymi oraz kwasem fenylooctowym, aminą *p*-metoksybenzylową oraz izocyjankiem *p*-metoksybenzylowym, otrzymując produkty **11**, **27** – **30** z wydajnościami 30% – 45% dla sekwencyjnej reakcji Ugiego, podczas gdy klasyczna reakcja Ugiego (Etap II) prowadziła do otrzymania tych produktów z wydajnościami 36% – 55%. W wyniku reakcji z aldehydem *p*-nitrobenzylowym nie otrzymano produktu **31** w żadnym z przeprowadzonych wariantów reakcji Ugiego. Ponadto, nie zaobserwowano tworzenia się produktów **32** oraz **33** z zastosowaniem alifatycznych alkoholi takich jak etanol oraz alkohol allilowy. Natomiast reakcja z dodekanolem prowadziła do otrzymania produktu **34** z wydajnościami 11% dla sekwencyjnej reakcji Ugiego (Etap I + II) oraz 28% dla klasycznej reakcji Ugiego (Etap II). Wyniki jednoznacznie wskazują na preferencje substratowe lakazy z *Trametes versicolor*. W porównaniu do alkoholi aromatycznych, których utlenianie przebiega ilościowo, utlenianie alkoholi alifatycznych w obecności lakazy z *Trametes versicolor* zachodzi z niskimi wydajnościami (**32** – **34**). Następnie, sprawdzono wpływ budowy izocyjanku benzyłowego na przebieg reakcji Ugiego, otrzymując produkt **35** z wydajnościami 48% (Etap I + II) oraz 57% (Etap II). Chemoenzymatyczna reakcja Ugiego z izocyjankiem cykloheksylowym

dała produkt **36** z wydajnością 30% (Etap I + II), podczas gdy klasyczna reakcja Ugiego - 40% (Etap II). Przeprowadzenie reakcji z innymi alifatycznymi izocyjankami takimi jak izocyjanek *n*-butylowy oraz *tetr*-butylowy prowadziło do otrzymania odpowiednio produktów **37** oraz **38** z wydajnościami 33% i 35% dla sekwencyjnej reakcji Ugiego oraz 50% dla klasycznej reakcji Ugiego (Etap II). Zastosowanie alkoholu benzyloвого, aminy *p*-metoksybenzylowej, izocyjanu *p*-metoksybenzylowego oraz kwasu 3-fenylpropionowego pozwoliło uzyskać związek **39** z wydajnościami 55% (Etap I + II) oraz 67% (Etap II). Produkty reakcji Ugiego z kwasu 4-fenylbutanowego **40** oraz 5-fenylwalerianowego **41** otrzymano z wydajnościami odpowiednio 45% oraz 33% dla chemoenzymatycznej reakcji Ugiego, podczas gdy dla klasycznej reakcji Ugiego wydajności wynosiły 53% oraz 45%. Natomiast reakcja z alkoholem benzylowym, aminą *p*-metoksybenzylową, kwasem 3-fenylpropionowym oraz izocyjankiem benzylowym dała produkt **42** z wydajnościami 58% dla sekwencyjnej reakcji Ugiego (Etap I + II) oraz 70% dla klasycznej reakcji Ugiego (Etap II).

R8.3-4. Badanie zakresu stosowalności sekwencyjnej reakcji Ugiego.





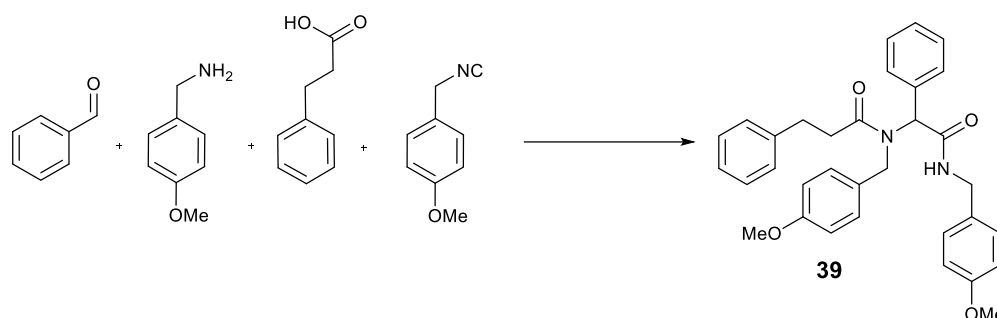
^a Warunki reakcji: aldehyd (0.5 mmol), amina (0.5 mmol), kwas karboksylowy (0.5 mmol), izocyjanek (0.5 mmol), SDS (0.1 mmol) w 5 mL buforu fosforanowego (pH = 5.2, 100 mM), 48 godz. w temperaturze pokojowej.

^b Warunki reakcji: alkohol (0.5 mmol). TEMPO (0.1 mmol), lakaza z *Trametes versicolor* (15U) oraz SDS (0.1 mmol) w 5 mL buforu fosforanowego o pH = 5.2, 24 godz. w temperaturze pokojowej. Następnie, dodano aminę (0.5 mmol), kwas (0.5 mmol), izocyjanek (0.5 mmol), mieszano przez kolejne 48 godz. w temperaturze pokojowej. Wydajności wyizolowanych produktów reakcji.

W wyniku przeprowadzonych eksperymentów otrzymano produkty **11**, **26** – **42** z wyższymi wydajnościami w przypadku klasycznej reakcji Ugiego (Etap II) w porównaniu do sekwencyjnej reakcji Ugiego (Etap I + II). Dlatego też, przeprowadzono dodatkowe badania wyjaśniające występowanie różnicy w wydajnościach produktów sekwencyjnej reakcji Ugiego (tabela **T5**). W tym celu wykonano reakcję z benzaldehydem, aminą *p*-metoksybenzylową, kwasem hydrocynamonowym oraz izocyjankiem *p*-metoksybenzylowym sprawdzając wpływ LTV oraz TEMPO na wydajność produktu klasycznej reakcji Ugiego (Etap II). W wodnym roztworze SDS otrzymano produkt **39** z wydajnością 67% (L.p. 1; tabela **T5**). Przeprowadzenie klasycznej reakcji Ugiego w obecności LTV lub TEMPO prowadziło do otrzymania produktu **39** wydajnościami 48% oraz 20% (L.p. 2 - 3; tabela **T5**). Natomiast, gdy do mieszaniny reakcyjnej dodano zarówno LTV jak i TEMPO otrzymano jedynie śladowe ilości produktu **39** (L.p. 4; tabela **T5**).

Otrzymane wyniki wskazują na udział reakcji ubocznych w obecności lakazy z *Trametes versicolor* i TEMPO, które utrudniają przeprowadzenie reakcji Ugiego.

T5. Wpływ LTV oraz TEMPO na przebieg reakcji Ugiego w wodnym roztworze SDS (Etap II).



L.p.	Warunki reakcji	Wydajność 39 (%) ^a
1.	Micele SDS	67
2.	LTV, micele SDS	48 ^b
3.	TEMPO, micele SDS	20 ^c
4.	LTV, TEMPO, micele SDS	Ślad

^a Warunki reakcji: aldehyd benzylowy (0.5 mmol), *p*-metoksybenzylamina (0.5 mmol), kwas 3-fenylpropionowy (0.5 mmol), izocyjanek *p*-metoksybenzylowy (0.5 mmol), SDS (0.1 mmol), 48 godz. w buforze fosforanowym (f=5.2, 100 mM) w temperaturze pokojowej. Wydajności wyizolowanego produktu **39**. ^b lakaza z *Trametes versicolor* (15U) ^c TEMPO (0.1 mmol).

W odniesieniu do danych literaturowych, lakaza z *Trametes versicolor* stosowana jest do usuwania różnych zanieczyszczeń organicznych w tym również do oksydacyjnego deaminowania amin benzylowych do odpowiedniego aldehydu.¹⁵⁸

W związku z tym przeprowadzono reakcje z LTV, TEMPO oraz aminą *p*-metoksybenzylową w wodnym roztworze SDS o pH = 5.2, otrzymując aldehyd *p*-metoksybenzylowy z wydajnością 33%. Wynik przeprowadzonego eksperymentu wskazuje, że niższa wydajność produktu chemoenzymatycznej reakcji Ugiego (Etap I + II) w porównaniu do klasycznej reakcji Ugiego (Etap II) była spowodowana zmniejszeniem stężenia aminy podczas reakcji.

Przeprowadzono zatem klasyczną reakcję Ugiego (Etap II) stosując nadmiar aminy *p*-metoksybenzylowej. Reakcja z 2 ekwiwalentami aminy *p*-metoksybenzylowej, benzaldehydem, kwasem hydrocynamonowym oraz izocyjankiem *p*-metoksybenzylowym w wodnym roztworze SDS dała produkt **39** z wydajnością 65%. Natomiast, chemoenzymatyczna sekwencyjna reakcja Ugiego (Etap I + II) z 2 ekwiwalentami aminy w wodnym roztworze SDS skutkowałą uzyskaniem produktu **39** z wydajnością 60%.

¹⁵⁸ D. R. Olicón-Hernández, J. González-López, E. Aranda, *Front. Microbiol.* **2017**, *8*, 1792.

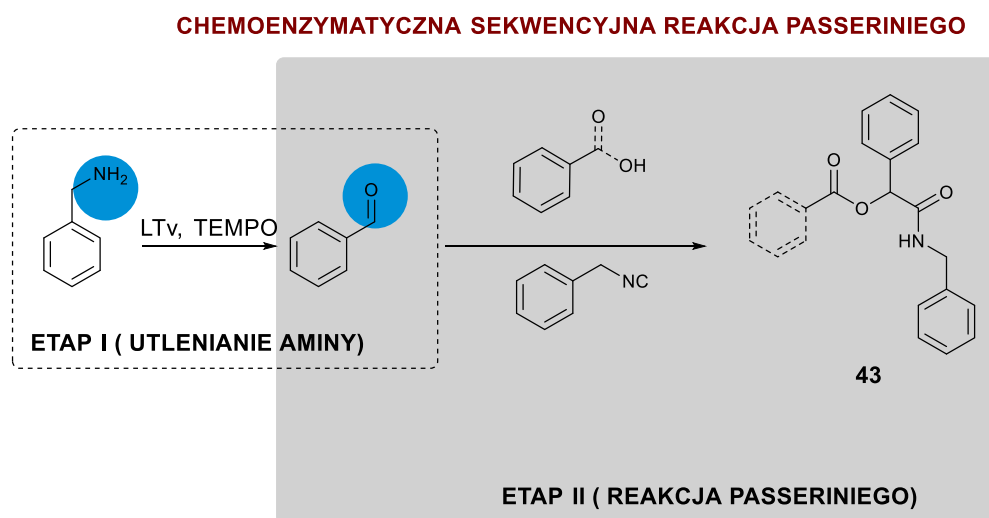
Zastosowanie nadmiaru aminy nie miało wpływu na wydajność produktu klasycznej reakcji Ugiego, ale umożliwiło zwiększenie wydajności chemoenzymatycznej sekwencyjnej reakcji Ugiego z 55% na 60%. Produkt reakcji Ugiego z aminy *p*-metoksybenzylowej nie był obserwowany.

Następnie, przeprowadzono badania nad stabilnością produktu reakcji Ugiego w opracowanych warunkach reakcji. Wykonano eksperyment, w którym związek **39**, lakaza z *Trametes versicolor*, TEMPO oraz SDS dodano do buforu fosforanowego o pH = 5.2. Po 6 dniach wyizolowano związek **39** z wydajnością 85%. Mimo długiego czasu prowadzenia eksperymentu i niewielkiej zmiany w wydajności produktu **39**, degradacja produktu reakcji nie miała znacznego wpływu na wydajność produktu chemoenzymatycznej sekwencyjnej reakcji Ugiego.

Podsumowując, wykonano badania nad sekwencyjną reakcją łączącą enzymatyczne utlenianie tlenem atmosferycznym alkoholu benzyloвого do odpowiedniego aldehydu z reakcją Ugiego w środowisku micelarnym. Badania wykazały kompatybilność reakcji katalizowanej enzymatycznie z reakcją Ugiego w wodnym roztworze SDS. Zastosowanie enzymatycznego układu przyczyniło się do opracowania metodologii otrzymywania peptydomimetyków w warunkach wolnych od metali przejściowych oraz szkodliwych utleniaczy. Szczegółowe badania optymalizacyjne potwierdzono poprzez syntezę 17 pochodnych α -aminoacylo amidów w wodnym roztworze micelarnym. Ponadto, uzyskane wyniki sekwencyjnej reakcji porównano z wydajnościami klasycznej reakcji Ugiego. W większości przypadków uzyskano mniejsze wydajności w wyniku sekwencyjnej reakcji Ugiego ze względu na konkurencyjną reakcję utleniania aminy w środowisku reakcyjnym. Mimo to, otrzymano peptydomimetyki w warunkach wolnych od zanieczyszczeń, co ma szczególne znaczenie w związku z ich potencjalnym zastosowaniem w chemii medycznej do syntezy leków. Wyniki opisanych w tym rozdziale badań zostały opublikowane w RSC Advances w 2018 roku

8.4. Badania nad opracowaniem chemoenzymatycznej sekwencyjnej reakcji łączącej utlenianie aminy z reakcją Passeriniego.

Celem tego etapu badań było opracowanie metody syntezy aldehydów z amin i bezpośrednio ich zastosowanie do reakcji multikomponentowych typu Passeriniego. Zaproponowano sekwencyjną syntezę łączącą reakcję Passeriniego oraz enzymatyczne utlenienie, tlenem atmosferycznym, amin do aldehydów stosując jako enzym lakazę z *Trametes versicolor* (LTv) oraz mediator TEMPO. Jako substraty do reakcji modelowej wybrano aminę benzylową, izocyjanek benzylowy oraz kwas benzoowy (rysunek R8.4-1).



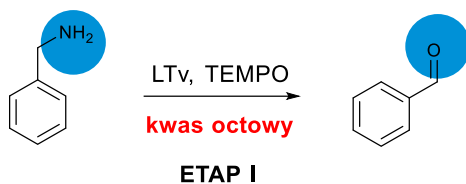
R8.4-1. Schemat modelowej reakcji Passeriniego.

Zebrane dane literaturowe przedstawione w rozdziale 5.3 wskazują jednoznacznie na możliwość syntezy aldehydów z amin używając jako enzym lakazę z *Trametes versicolor* w obecności mediatora jakim jest TEMPO. Giacomini i współpracownicy pokazali znaczący wpływ kwasu octowego na przebieg oksydacyjnego deaminowania amin w wodzie destylowanej.¹⁴² Natomiast Paprocki w naszym zespole opracował wydajną metodę otrzymywania α -acyloksamidów w roztworze wodnym, która była inspiracją do określenia wstępnych warunków reakcji.¹⁹

Mając na uwadze optymalne warunki reakcji Passeriniego w wodzie wykonano szereg badań dotyczących połączenia tej reakcji z enzymatycznym utlenianiem aminy benzylowej w buforze fosforanowym o pH = 5.2 z zastosowaniem kwasu octowego (tabela T6). Przeprowadzono dwa eksperymenty: w pierwszym wykonano utlenianie aminy benzylowej (Etap I) w obecności TEMPO oraz LTv w buforze fosforanowym o pH = 5.2, w drugim powtórzono warunki pierwszego eksperymentu z dodatkiem jednego ekwiwalentu kwasu

octowego. Wydajności reakcji określono po 24 godzinach przy zastosowaniu chromatografii gazowej. Stopniowe zwiększanie ilości kwasu octowego od zera do 2 ekwiwalentów pozwoliło uzyskać benzaldehyd z wydajnościami od 56% do 99%. Dodatek jednego ekwiwalentu kwasu octowego umożliwił ilościową syntezę aldehydu benzyloвого (L.p. 3; tabela **T6**). Otrzymane wydajności potwierdziły pozytywny wpływ kwasu octowego na przebieg enzymatycznego utleniania aminy benzylowej w wodzie.

T6. Wpływ kwasu octowego na oksydatywne deaminowanie aminy benzylowej.



Nr.	Ilość kwasu octowego (ekw.)	Wydajność benzaldehydu (%)
1.	0	56
2.	0.5	81
3.	1	99
4.	1.5	99
5.	2	99

Warunki reakcji: Amina benzylowa (0.5 mmol), lakaza z *Trametes versicolor* (50U), TEMPO (0.1 mmol) oraz kwas octowy, 24 godz. w buforze fosforanowym (pH = 5.2, 100 mM), temperatura pokojowa. Wydajności określono za pomocą GC.

W kolejnym etapie badań, zbadano wpływ kwasów karboksylowych na przebieg tej reakcji (Etap I) w buforze fosforanowym (tabela **T7**). Sprawdzone wpływ kwasu propionowego, benzoowego, fenylloctowego, oleinowego, stearynowego, kaprylowego oraz laurylowego. Zastosowanie 1 ekwiwalentu kwasu octowego oraz propionowego pozwoliło uzyskać aldehyd benzylovy z wydajnością 99% (L.p. 2 - 3; tabela **T7**). Utlenianie aminy w obecności kwasu benzoowego oraz fenylloctowego dało benzaldehyd z wydajnościami 62 – 67% (L.p. 4 - 5; tabela **T7**). Zastosowanie lipofilowego kwasu stearynowy nie miało wpływu na przebieg reakcji. Benzaldehyd otrzymano z wydajnością 53% (L.p. 6; tabela **T7**), zbliżoną do wydajności benzaldehydu w wodzie destylowanej (L.p. 1; tabela **T7**). Natomiast reakcje w obecności kwasu kaprylowego, oleinowego oraz laurylowego prowadziły do otrzymania benzaldehydu z wydajnościami 72%, 65% i 84% (L.p. 7 - 9; tabela **T7**). Spośród wszystkich przebadanych kwasów tłuszczowych zastosowanie kwasu laurylowego wykazało znaczący wpływ na oksydatywne deaminowanie amin w buforze fosforanowym o pH = 5.2 (84%; L.p. 9; tabela **T7**). Do dalszych badań dotyczących promowania utleniania benzyloaminy do benzaldehydu, wybrano kwas octowy.

T7 Wpływ kwasów karboksylowych na przebieg utleniania benzyloaminy.



L.p.	Stosowany kwas karboksylowy	Wydajność benzaldehydu (%)
1.	-	56
2.	Kwas octowy	99
3.	Kwas propionowy	99
4.	Kwas benzoesowy	67
5.	Kwas fenylloctowy	62
6.	Kwas stearynowy	53
7.	Kwas oleinowy	72
8.	Kwas kaprylowy	65
9.	Kwas laurylowy	84

Warunki reakcji: Amina benzylova (0.5 mmol), lakaza z *Trametes versicolor* (50U), TEMPO (0.1 mmol) oraz kwas karboksylowy (0.5 mmol), 24 godz. w buforze fosforanowym (pH = 5.2, 100 mM) w temperaturze pokojowej. Wydajności zostały określono za pomocą GC.

T8. Wpływ ilości LTv oraz TEMPO na przebieg utleniania benzyloaminy.

L.p.	LTv (U)	TEMPO (mmol)	Wydajność (%)
1.	10	0.1	29
2.	20	0.1	72
3.	30	0.1	86
4.	40	0.1	89
5.	50	0.1	99
6.	50	0.13	99
7.	50	0.16	99
8.	50	0.06	75

Warunki reakcji: Amina benzylova (0.5 mmol), lakaza z *Trametes versicolor*, TEMPO, oraz kwas octowy (0.5 mmol), 24 godz. w buforze fosforanowym (pH = 5.2, 100 mM) w temperaturze pokojowej. Wydajności określono za pomocą GC.

W dalszej kolejności, przeprowadzono badania weryfikujące minimalną ilość LTV oraz TEMPO niezbędną do wydajnego utlenienia aminy benzylowej do aldehydu (tabela **T8**). Zastosowanie 0.1 mmol TEMPO oraz LTV od 10U do 50U dało benzaldehyd z wydajnościami od 29% do 99% (L.p. 1 - 5; tabela **T8**). Przy czym zmniejszenie ilości TEMPO do 0.06 mmol przyczyniło się do zmniejszenia wydajności produktu reakcji do 75%. Największą wydajność benzaldehydu uzyskano stosując 50U lakazy z *Trametes versicolor* oraz 0.1 mmol TEMPO w buforze fosforanowym o pH = 5.2 przez 24 godziny (L.p. 5; tabela **T8**).

Następnie sprawdzono wpływ typu surfaktantu na oksydacyjne deaminowanie benzyloaminy do benzaldehydu w obecności lakazy z *Trametes versicolor* i TEMPO (tabela **T9**). Przebadano szereg związków powierzchniowo czynnych z uwzględnieniem surfaktantów kationowych, anionowych oraz amfoterycznych. W każdym z eksperymentów zauważono zmniejszenie wydajności utleniania aminy benzylowej przy zastosowaniu układu LTV/TEMPO w porównaniu do reakcji przeprowadzonej w wodzie. Jedynie w obecności kationowych surfaktantów takich jak DODAB oraz DDAB otrzymano benzaldehyd z wydajnościami 80% i 87% (L.p. 3 - 4; tabela **T9**). Najlepszą wydajność produktu oksydacyjnego deaminowania otrzymano w wodzie, bez obecności żadnego surfaktantu (L.p. 1; tabela **T9**).

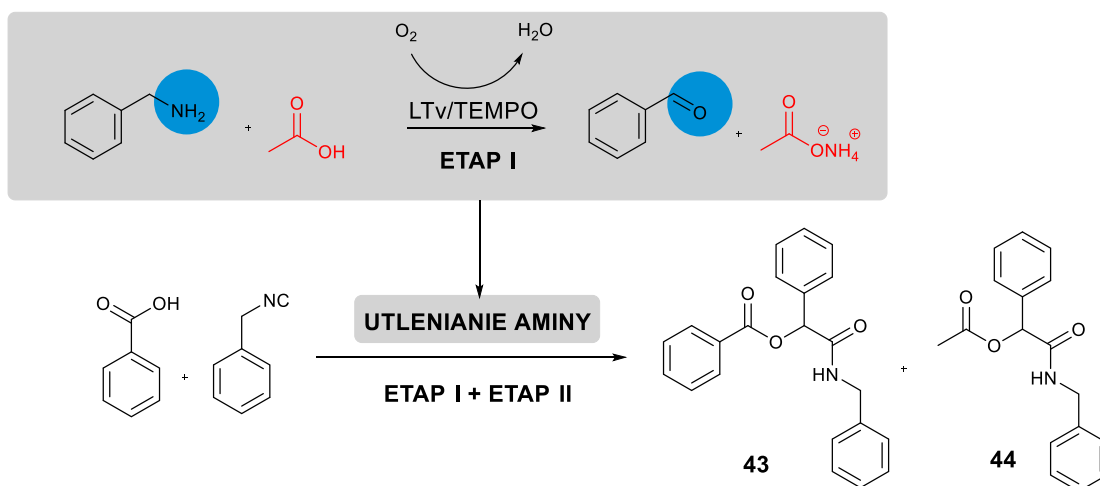
T9. Wpływ surfaktantu na przebieg oksydacyjnego deaminowania benzyloaminy.

L.p.	Surfaktant	Wydajność benzaldehydu (%) ^{a,c}
1.	-	99
2.	SDS	43
3.	DDAB	80
4.	DODAB	87
5.	Triton X-100	40
6.	AOT	30
7.	Tween 80	13
8.	TPGS-750	60 ^b

^a Warunki reakcji: Amina benzylowa (0.5 mmol), lakaza z *Trametes versicolor* (50U), TEMPO (0.1 mmol) oraz kwas octowy (0.5 mmol), surfaktant (0.1 mmol), 24 godz. w buforze fosforanowym (pH = 5.2, 100 mM) w temperaturze pokojowej. ^b 2% wag. ^c Wydajności zostały określone za pomocą GC.

Po optymalizacji pierwszego etapu chemoenzymatycznej sekwencyjnej reakcji Passeriniego przeprowadzono badania nad połączeniem reakcji utleniania aminy benzylowej z reakcją Passeriniego w roztworze wodnym (tabela T10). Enzymatyczne utlenianie benzyloaminy (Etap I) w obecności kwasu octowego oraz układu LTV/TEMPO w roztworze wodnym prowadzono przez 24 godziny. Następnie, do mieszaniny reakcyjnej dodano kwas benzoesowy oraz izocyjanek benzylowy na kolejne 24 godziny. W wyniku zaproponowanej sekwencyjnej reakcji Passeriniego spodziewano się obecności dwóch różnych produktów reakcji Passeriniego, związku **43** oraz **44**, ze względu na obecność kwasu octowego oraz benzoesowego w mieszaninie reakcyjnej.

T10. Wstępne badania nad jednoetapową chemoenzymatyczną sekwencyjną reakcją Passeriniego.



L.p.	Rozpuszczalnik	Surfaktant	Wydajność 43 (%)	Wydajność 44 (%)
1.	Woda	- ^a	40	-
2.	Woda	DODAB ^{a,b}	64	-
3.	Woda	DODAB ^{a,c}	59	-
4.	PBS 5.2	- ^a	45	-
5.	PBS 5.2	DODAB ^{a,b}	72	-
6.	PBS 5.2	DODAB ^{a,c}	51	-

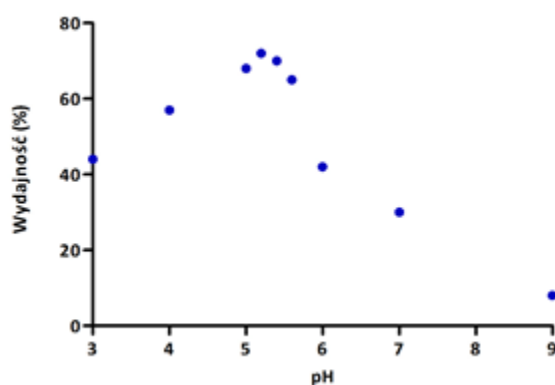
^a Warunki reakcji: Amina benzylowa (0.5 mmol), TEMPO (0.1 mmol), lakaza z *Trametes versicolor* (50 U), kwas octowy (0.5 mmol), 24 godz. w temperaturze pokojowej w 5 mL rozpuszczalnika. Następnie kwas benzoesowy (0.5 mmol) oraz izocyjanek benzylowy (0.5 mmol). Mieszaninę reakcyjną mieszano przez kolejne 24 godz. w temperaturze pokojowej.

^bDODAB (0.01mmol) dodano po 24 godz. oksydacyjnego deaminowania benzyloaminy. ^c DODAB (0.01mmol) dodano na początku razem z LTV i TEMPO. Wydajności wyizolowanego produktu **43**.

Przeprowadzając chemoenzymatyczną reakcję Passeriniego w wodzie otrzymano jedynie produkt **43** z wydajnością 40% (L.p. 1; tabela **T10**). Natomiast, zastosowanie buforu fosforanowego o pH = 5.2 prowadziło do uzyskania produktu **43** z wydajnością 45% (L.p. 4; tabela **T10**). W mieszaninie poreakcyjnej nie stwierdzono obecności związku **44**, który mógł powstać z obecnego w roztworze kwasu octowego. Synteza produktu **43** przebiegała chemoselektywnie w zaproponowanych warunkach reakcji.

Następnie przeprowadzono badania nad koniecznością stosowania DODAB jako dodatku w celu przeprowadzenia sekwencyjnej chemoenzymatycznej reakcji Passeriniego w buforze o pH = 5.2. W tym celu wykonano dwa eksperymenty. W pierwszym eksperymencie DODAB dodano na początku pierwszego etapu sekwencyjnej reakcji Passeriniego. Natomiast w drugim eksperymencie DODAB dodano dopiero po przeprowadzeniu enzymatycznego utleniania aminy benzylowej do benzaldehydu, razem z pozostałymi reagentami do reakcji Passeriniego. Zastosowanie surfaktantu tylko dla drugiego etapu chemoenzymatycznej sekwencyjnej reakcji Passeriniego pozwoliło uzyskać zwiększenie wydajności produktu reakcji z 51% dla eksperymentu pierwszego (L.p. 6; tabela **T10**), do 72% dla eksperymentu drugiego (L.p. 5; tabela **T10**). Powtórzenie opisanych eksperymentów w wodzie nie przyczyniło się do zwiększenia wydajności produktu (L.p. 2 - 3; tabela **T10**). W żadnym z przeprowadzonych eksperymentów nie tworzył się związek **44** jako produktu ubocznego. Zmniejszenie wydajności produktu **43** przy zastosowaniu DODAB dla całej sekwencyjnej reakcji jest związane z mało wydajnym utlenianiem aminy benzylowej do benzaldehydu. Przy zastosowaniu spektroskopii mas można było zaobserwować śladowe ilości odpowiedniego produktu Ugiego. Wydłużenie czasu reakcji do 72 godzin (proces enzymatyczny prowadzono przez 24 godziny, a następczą reakcję Passeriniego przez 48 godzin) nie miało wpływu na wydajność produktu **43**. Optymalny czas prowadzenia chemoenzymatycznej reakcji Passeriniego wynosił 48 godzin. Co więcej, w mieszaninie reakcyjnej nie zaobserwowano odpowiednich produktów reakcji Ugiego z kwasem octowym lub kwasem benzoesowym ze względu na ilościowe utlenianie aminy do aldehydu.

Przebieg reakcji enzymatycznych oraz multikomponentowych zależy od zastosowanego pH roztworu wodnego. Ma to szczególne znaczenie przy utlenianiu benzyloaminy do benzaldehydu ze względu na możliwość tworzenia się iminy oraz kwasu karboksylowego. W tym celu sprawdzono wpływ pH buforu fosforanowego w zakresie pH od 3 do 9 na wydajność produktu chemoenzymatycznej reakcji Passeriniego. Najlepszy wynik uzyskano przy zastosowaniu 20% mol DODAB w buforze fosforanowym o pH = 5.2 otrzymując związek **43** z wydajnością 72% (rysunek **R8.4-2**).

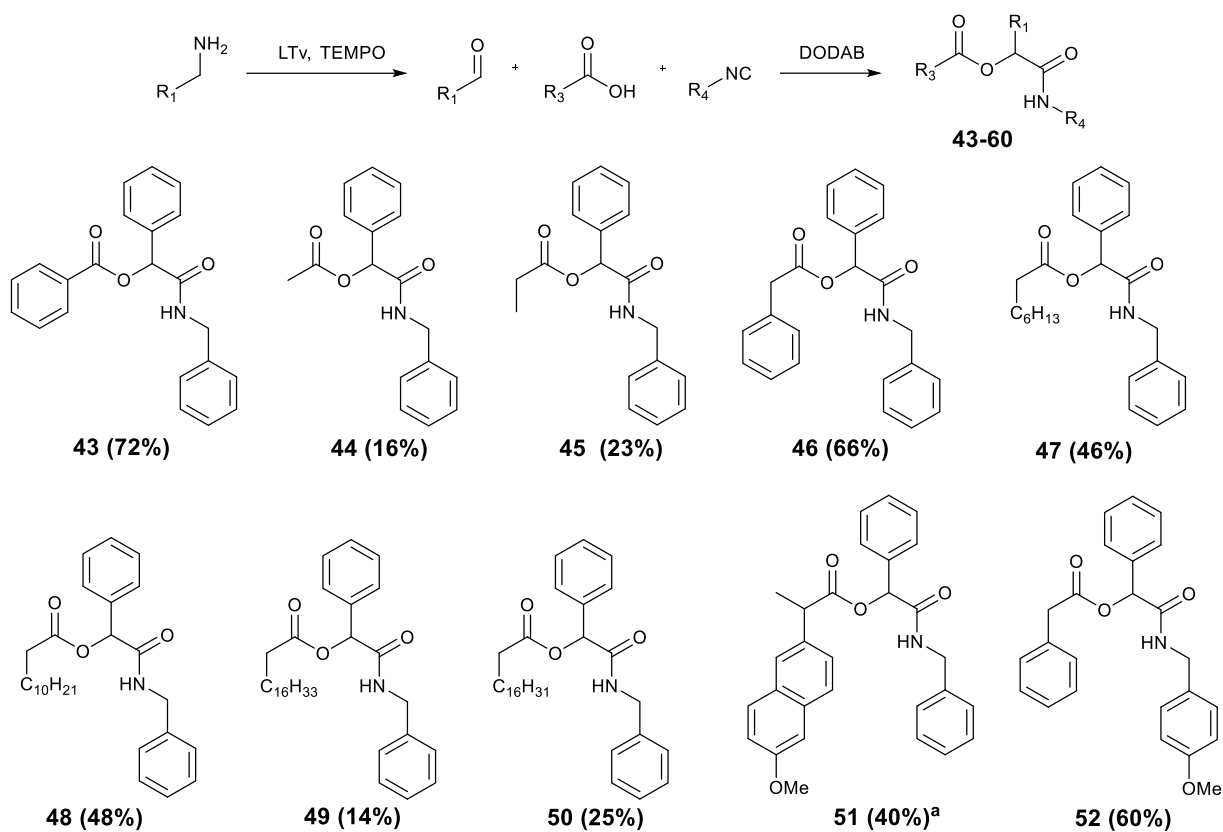


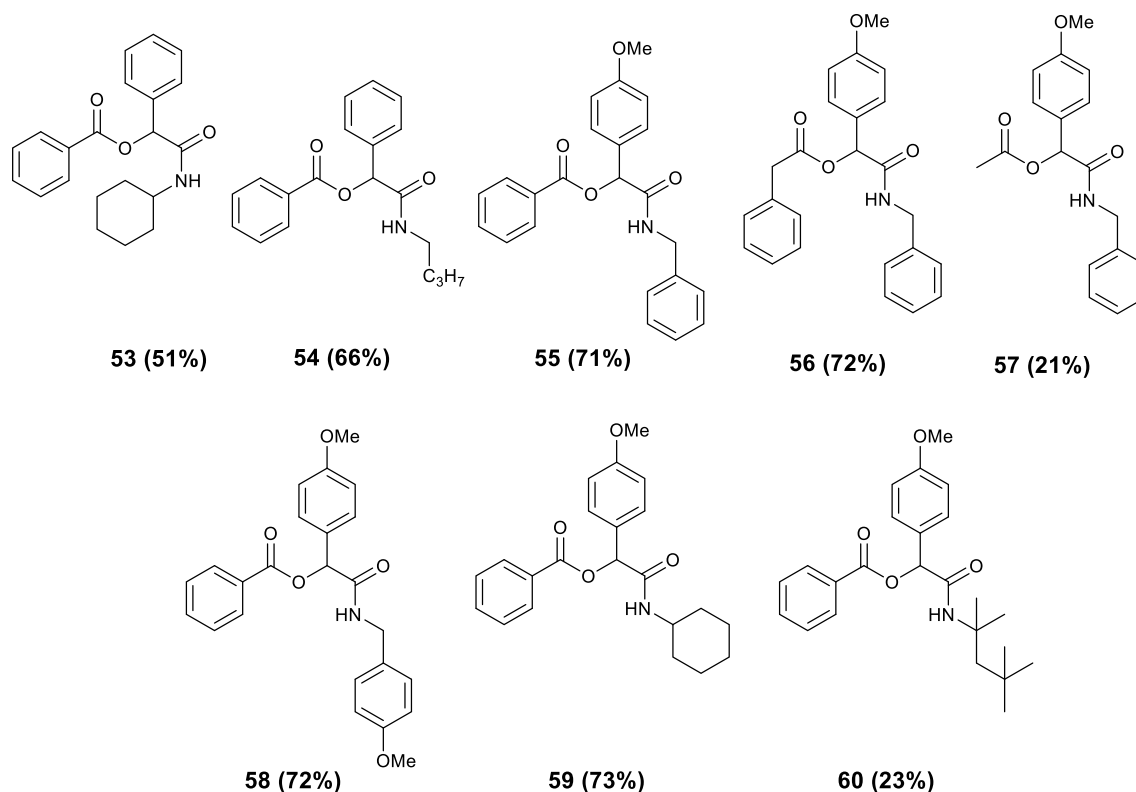
R8.4-2. Badanie wpływu pH na przebieg sekwencyjnej reakcji Passeriniego.

Następnie zbadano wpływ struktury substratów na przebieg opracowanej chemoenzymatycznej sekwencyjnej reakcji Passeriniego (rysunek **R8.4-3**). W tym celu zmieszano aminę z lakazą z *Trametes versicolor* oraz TEMPO w buforze fosforanowym w temperaturze pokojowej. Następnie po 24 godzinach dodano DODAB oraz pozostałe reagenty do reakcji Passeriniego. Wyizolowane wydajności α -acyloksamidów **43** - **60** określono po kolejnych 24 godzinach. W wyniku przeprowadzonych reakcji z benzyloaminą, izocyjankiem benzylovym oraz różnymi kwasami karboksylowymi otrzymano związki **43** - **51** z wydajnościami od 14% do 72%. Zastosowanie kwasu octowego oraz propionowego dało produkty **44** oraz **45** z wydajnościami równymi odpowiednio 16% oraz 23%. Związek **44** otrzymano z niską wydajnością mimo dodania drugiego ekwiwalentu kwasu octowego w drugim etapie sekwencyjnej chemoenzymatycznej reakcji Passeriniego. Znaczny wzrost wydajności produktu uzyskano stosując kwas fenylloctowy, co dało produkt **46** z wydajnością 66%. Następnie, sprawdzono wpływ struktury kwasów tłuszczowych na przebieg chemoenzymatycznej reakcji Passeriniego w obecności DODAB. Reakcje z kwasem kaprylowym, laurylowym, stearynowym oraz oleinowym dały produkty **47** - **50** z wydajnościami do 48%. Najlepszy wynik uzyskano po zastosowaniu kwasu kaprylowego (46%) oraz laurylowego (48%). Przeprowadzono także eksperyment weryfikujący wpływ micelnego roztworu DODAB na diastereoselektywność chemoenzymatycznej sekwencyjnej reakcji Passeriniego. Reakcja z aminą benzylovą, (S)-naproksenem i izocyjankiem benzylovym prowadziła do otrzymania produktu **51** z wydajnością 40%. Otrzymano mieszaninę diastereoizomerów w proporcji 1:1, w związku z tym zastosowanie DODAB nie mało wpływu na diastereoselektywność chemoenzymatycznej sekwencyjnej reakcji Passeriniego. Następnie, przeprowadzono reakcje z izocyjankiem *p*-metoksybenzylovym otrzymując produkt **52** z wydajnością 60%. Produkty **53** i **54** otrzymane z izocyjanku cykloheksylovego oraz *n*-butylovego dawały wydajności odpowiednio 51% oraz 66%.

Sprawdzono także zakres stosowalności metody z zastosowaniem aminy *p*-metoksybenzylowej otrzymując związki **55** - **60** z wydajnościami od 21% do 72%. Reakcja z aromatycznymi kwasami karboksylowymi takimi jak kwas benzoesowy oraz fenylloctowy dała produkty **55** oraz **56** z wydajnościami bliskimi 72%. Natomiast, zastosowanie kwasu octowego jako substratu skutkowało zmniejszeniem wydajności produktu **57** do 21%. Reakcja z aminą *p*-metoksybenzylową, izocyjankiem *p*-metoksybenzylowym oraz kwasem benzylovym dała produkt **58** z wydajnością 72%. Zastosowanie izocyjanku cykloheksylowego nie miało większego wpływu na wydajność produktu reakcji. Produkt **59** otrzymano z wydajnością 73%. Zastosowanie izocyjanku o dużym zatłoczeniu sferycznym dało produkt **60** z dużo niższą wydajnością wynoszącą 23%.

R8.4-3. Badanie zakresu stosowalności sekwencyjnej reakcji Ugiego.





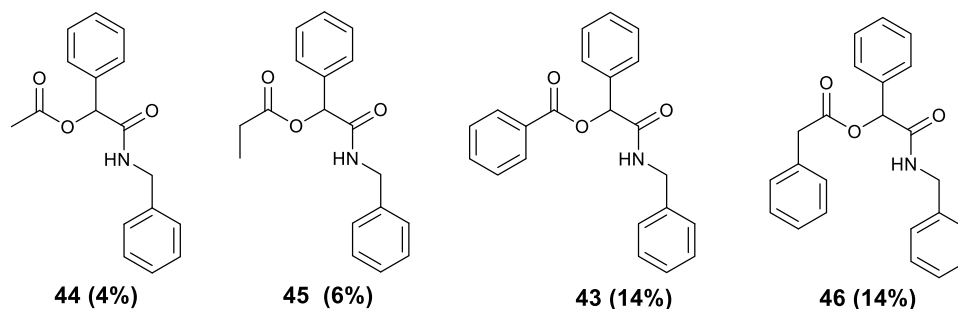
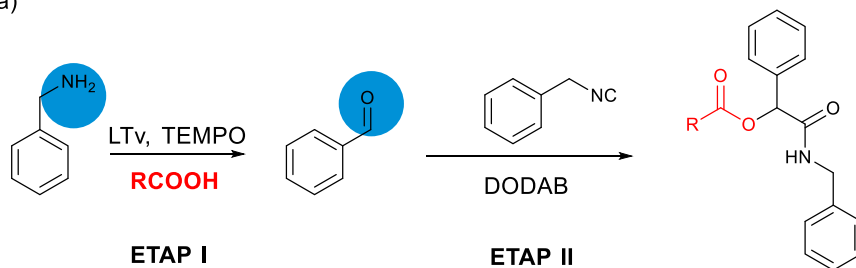
Warunki reakcji: amina (0.5 mmol). TEMPO (0.1 mmol), lakaza z *Trametes versicolor* (50U) w 5 mL buforu fosforanowego o pH = 5.2, 24 godz. w temperaturze pokojowej. Następnie, dodano kwas (0.5 mmol), izocyjanek (0.5 mmol) oraz DODAB (0.1 mmol), 48 godz. w temperaturze pokojowej. Wydajności wyizolowanych produktów reakcji.

Po analizie 18 sekwencyjnych chemoenzymatycznych reakcji Passeriniiego nie zaobserwowano tworzenia się produktu **44** w związku z obecnością w mieszaninie reakcyjnej kwasu octowego. Otrzymane wyniki wskazują na chemoselektywność zaproponowanej metodologii otrzymywania α -acyloamidów w obecności wodnego roztworu DODAB. Zastosowanie surfaktantów DODAB umożliwiło przeprowadzanie chemoselektywnej reakcji Passeriniiego, co jest nieosiągalne klasycznymi metodami z użyciem chlorku metylenu.

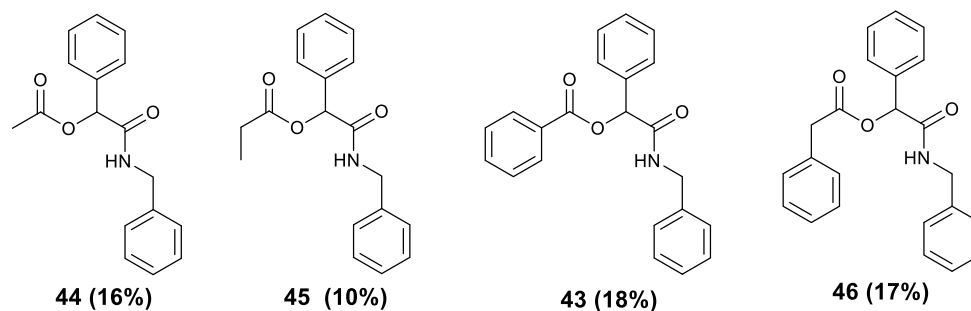
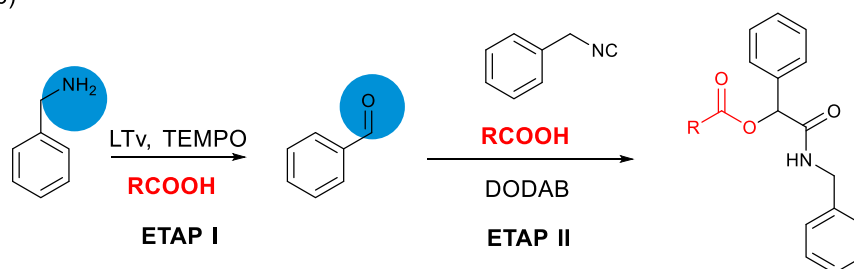
Następnie, wykonano badania nad zastosowaniem różnych kwasów karboksylowych do promowania katalizowanego lakazą oksydacyjnego deaminowania oraz jako substraty do następczej reakcji Passeriniiego. Bazując na danych pokazanych w tabeli **T7** wybrano cztery kwasy karboksylowe: kwas octowy oraz kwas propionowy (umożliwiające ilościowe utlenianie aminy benzylowej do benzaldehydu), a także kwas benzoowy oraz fenylloctowy (umożliwiające otrzymanie produktu Passeriniiego z bardzo dobrymi wydajnościami w wodnym roztworze DODAB).

R8.4-4. Badania nad zastosowaniem różnych kwasów karboksylowych w sekwencyjnej reakcja Passeriniego.

a)



b)



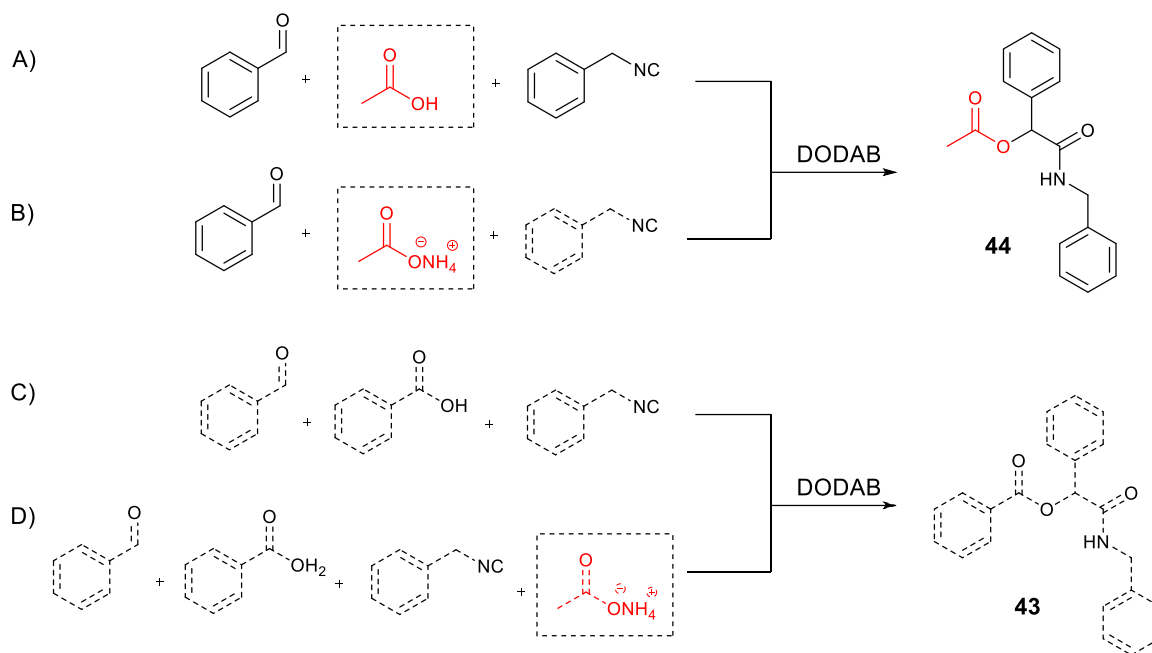
a) Warunki reakcji: amina (0.5 mmol). TEMPO (0.1 mmol), lakaza z *Trametes versicolor* (50U) w 5 mL buforu fosforanowego o pH = 5.2, kwas (0.5 mmol), 24 godz. w temperaturze pokojowej. Następnie dodano izocyjanek (0.5 mmol) oraz DODAB (0.1 mmol), 48 godz. w temperaturze pokojowej. Wydajności wyizolowanych produktów reakcji.

b) Warunki reakcji: amina (0.5 mmol). TEMPO (0.1 mmol), lakaza z *Trametes versicolor* (50U) w 5 mL buforu fosforanowego o pH = 5.2, kwas (0.5 mmol), 24 godz. w temperaturze pokojowej. Następnie dodano kwas (0.5 mmol), izocyjanek (0.5 mmol) oraz DODAB (0.1 mmol), 48 godz. w temperaturze pokojowej. Wydajności wyizolowanych produktów reakcji.

W związku z tym przeprowadzono oksydatywne deaminowanie benzyloaminy do aldehydu w obecności lakazy z *Trametes versicolor*, TEMPO oraz wybranego kwasu karboksylowego. Następnie po 24 godzinach dodano izocyjanek benzylowy. Sprawdzone udział zastosowanego kwasu karboksylowego podczas oksydatywnego deaminowania aminy w następczej reakcji Passeriniego (rysunek **R8.4-4, a**). W każdym przypadku otrzymano produkt reakcji Passeriniego z odpowiednim kwasem octowym, propionowym, benzoesowym, fenylopropionowym z wydajnościami produktów odpowiednio 4%, 6%, 14%, 14%. (**43, 44, 45** oraz **46**). Mimo że, zastosowane kwasy karboksylowe promują oksydatywne deaminowanie nie zaobserwowano ich ilościowego udziału w następczej reakcji Passeriniego. Jest to prawdopodobnie związane z powstawaniem odpowiedniej soli amoniowej podczas reakcji oksydatywnego deaminowania.

Następnie sprawdzono jak zmieni się wydajność związków **43, 44, 45** oraz **46** po dodaniu drugiego ekwiwalentu tego samego kwasu karboksylowego oraz izocyjanu benzylowego po 24 godzinach (rysunek **R8.4-4, b**). W każdym z eksperymentów wydajności wzrosły po dodaniu drugiego ekwiwalentu kwasu karboksylowego. Najlepszy wynik otrzymano w przypadku zastosowania kwasu octowego (**44**; 16%; rysunek **R8.4-4; b**), ponieważ dodanie drugiego ekwiwalentu kwasu octowego miało największy wpływ na zwiększenie wydajności produktu reakcji Passeriniego. Produkt **45** w chemoenzymatycznej reakcji Passeriniego katalizowanej kwasem propionowym uzyskano z wydajnością równą 10%. W przypadku zastosowania kwasu benzylowego i fenylooctowego wydajności produktów **46** i **43** nie przekroczyły 20%. Dla przypomnienia wydajności produktów **43, 44, 45** oraz **46** w sekwencyjnej reakcji Passeriniego, w której reakcja utleniania była katalizowana kwasem octowym wynosiły odpowiednio 72%, 16%, 23%, 66%. Dlatego też optymalnym rozwiązaniem jest prowadzenie sekwencyjnej reakcji w obecności kwasu octowego, dzięki czemu możliwe jest uzyskanie produktów reakcji z lepszymi wydajnościami.

W następnym etapie badań sprawdzono wpływ soli amoniowej, powstającej w mieszaninie reakcyjnej, na przebieg reakcji Passeriniego w wodnym roztworze DODAB. W tym celu przeprowadzono reakcję Passeriniego z aldehydem benzylowym, kwasem octowym oraz izocyjankiem benzylowym (rysunek **R8.4-5, A**) otrzymując produkt **44** z wydajnością równą 18%. Następnie wykonano eksperyment, w którym zastąpiono kwas octowy octanem amonu (rysunek **R8.4-5, B**). W wyniku tej reakcji otrzymano śladowe ilości produktu **44** (< 5%), ponieważ octan amonu nie bierze udziału w reakcji Passeriniego. W związku z tym, w dalszej kolejności niezbędne było zbadanie wpływu soli amoniowej na wydajność produktu reakcji Passeriniego.

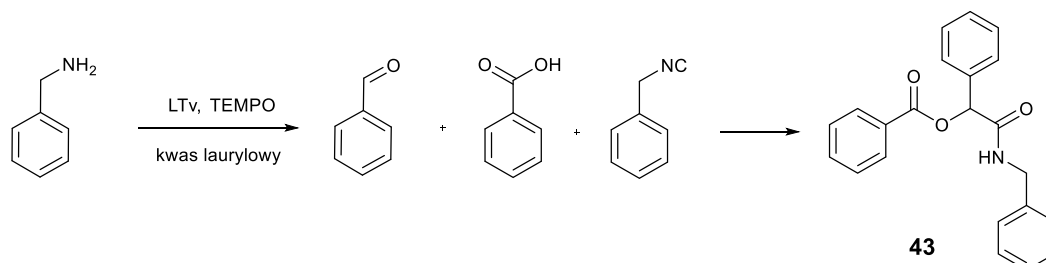


R8.4-5. Wpływ octanu amonu na przebieg reakcji Passeriniego.

W tym celu przeprowadzono reakcję Passeriniego z aldehydem benzyłowym, kwasem benzoesowym oraz izocyjankiem benzyłowym w wodnym roztworze DODAB. Porównano wydajności produktów reakcji Passeriniego bez dodatku oraz z dodatkiem 1 ekwiwalentu octanu amonu otrzymując produkt **43** z wydajnościami odpowiednio 77% i 78% (rysunek R8.4-5, C + D). Przeprowadzone badania pokazują, że powstająca w chemoenzymatycznej sekwencyjnej reakcji Passeriniego sól amoniowa nie ma wpływu na wydajność produktu reakcji Passeriniego. Reakcja przebiega chemoselektywnie prowadząc do otrzymania produktu **43**.

Następnie przeprowadzono badania nad możliwością zastosowania kwasów tłuszczowych do promowania oksydatywnego deaminowania aminy benzylowej oraz następczej reakcji Passeriniego. Do badań wybrano kwas laurylowy, dzięki któremu oksydatywne deaminowanie benzyloaminy przebiegało z wydajnością 84% (tabela T7).

R8.4-6. Sekwencyjna reakcja Passeriniego w obecności kwasu laurylowego.



Warunki reakcji: amina (0.5 mmol), TEMPO (0.1 mmol), lakaza z *Trametes versicolor* (50U) w 5 mL buforu fosforanowego o pH = 5.2, kwas laurylowy (0.5 mmol), 24 godz. w temperaturze pokojowej. Następnie dodano izocyjanek (0.5 mmol) oraz DODAB (0.1 mmol), 48 godz. w temperaturze pokojowej.

Przez pierwsze 24 godziny mieszano benzyloaminę w obecności układu LTV/TEMPO oraz kwasu laurylowego w buforze fosforanowym o pH równym 5.2. Po tym czasie dodano kwas benzoesowy oraz izocyjanek benzyloowy. Natomiast stosowany wcześniej DODAB zastąpiono obecnym już w mieszaninie reakcyjnej kwasem laurylowym, który może pełnić rolę związku tworzącego micelle lub pęcherzyki. W wyniku tej reakcji otrzymano produkt **43** z wydajnością 50% (rysunek R8.4-6). Przeprowadzony eksperyment wykazał znaczący wpływ kwasu laurylowego na przebieg sekwencyjnej reakcji Passeriniego. Ponadto, w mieszaninie reakcyjnej nie zaobserwowano produktu reakcji Passeriniego z kwasem laurylowym. Co więcej, nie zaobserwowano odpowiednich produktów reakcji Ugięgo, które mogły zostać otrzymane ze względu na obecność aminy w mieszaninie reakcyjnej. W związku z tym, sekwencyjna reakcja Passeriniego przebiegała chemoselektywnie. Zastosowanie kwasu laurylowego jako surfaktant do promowania oksydatywnego deaminowania aminy benzylowej oraz następczej reakcji Passeriniego miało wpływ na wszystkie etapy reakcji chemoenzymatycznej reakcji Passeriniego.

Podsumowując, wykonano badania nad sekwencyjną chemoenzymatyczną chemoselektywną reakcją Passeriniego z wykorzystaniem oksydatywnego deaminowania amin do aldehydów. Do syntezy odpowiednich α -acyloamidów zastosowano po raz pierwszy aminy, jako prekursorzy związków karbonylowych. Dotychczas nie był znany przypadek reakcji Passeriniego z zastosowaniem aminy jako jednego z substratów. Opracowana metodologia połączyła enzymatyczne utlenianie amin do aldehydów

katalizowanej układem LTV/TEMPO z reakcją Passeriniego w micelarnym roztworze DODAB, umożliwiając syntezę 18 w pełni scharakteryzowanych peptydomimetyków. Badania rozwinęto także o zastosowanie kwasów tłuszczowych, które mogą być efektywnie stosowane zarówno do promowania utleniania aminy jak i reakcji Passeriniego. Co więcej, zaprezentowane warunki reakcji umożliwiły przeprowadzenie chemoselektywnej reakcji Passeriniego mimo obecności dwóch różnych kwasów karboksylowych w mieszaninie reakcyjnej prowadząc do otrzymania tylko jednego produktu reakcji Passeriniego.

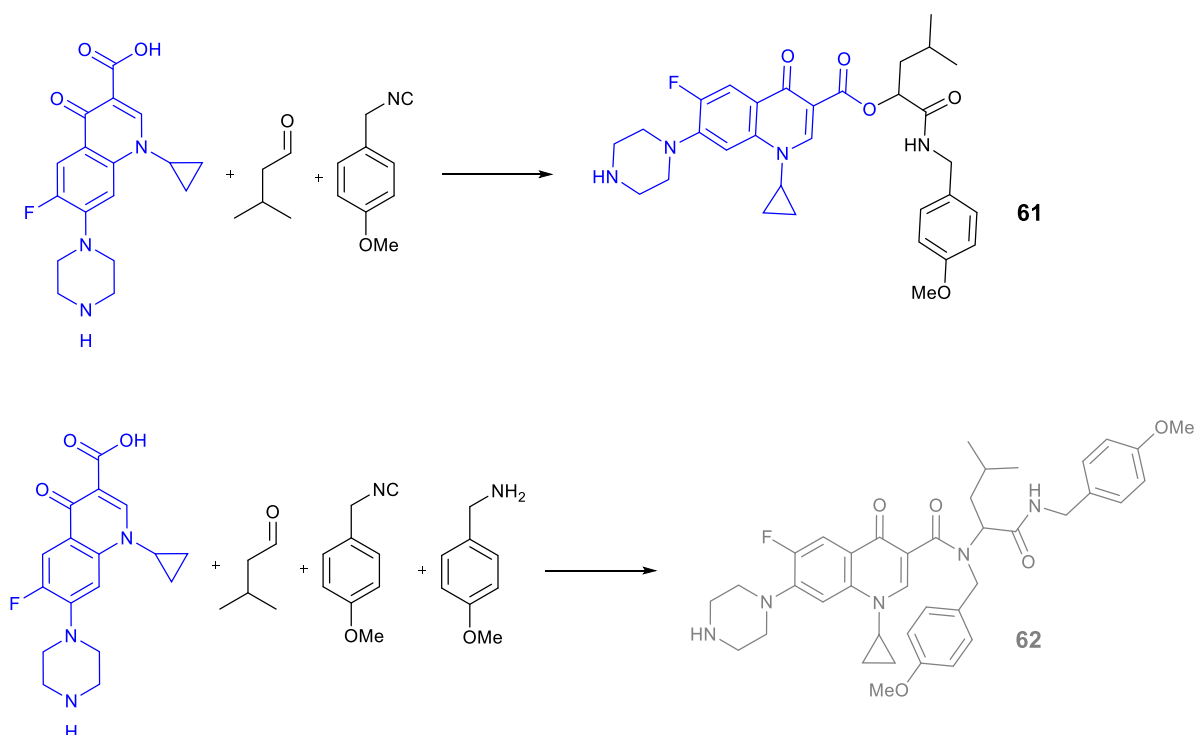
Wyniki opisanych w tym rozdziale badań zostały opublikowane w *Catalysis Communications* w 2020 roku.

8.5. Badania nad opracowaniem pochodnych ciprofloksacyny z zastosowaniem reakcji Passeriniego i Ugiego.

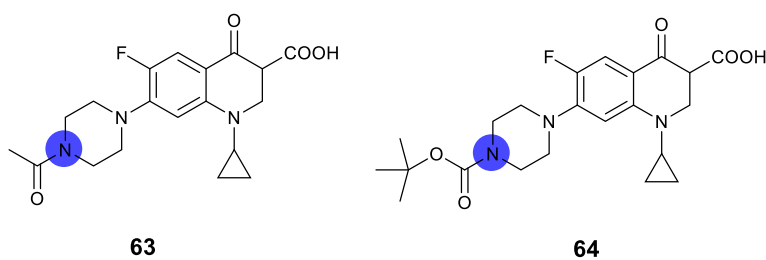
W ostatnim etapie pracy doktorskiej przeprowadzono badania nad syntezą peptidomimetyków z zastosowaniem ciprofloksacyny jako kluczowego reagentu karboksylowego w reakcji Passeriniego i Ugiego.

Na początku badań przeprowadzono reakcje Passeriniego i Ugiego w optymalnych warunkach reakcji. Dla reakcji Passeriniego zastosowano wodny roztwór DODAB, natomiast dla reakcji Ugiego wodny roztwór SDS.

Reakcja Passeriniego z ciprofloksacyną, aldehydem izowalerianowym oraz izocyjankiem *p*-metoksybenzylowym została przeprowadzona w wodnym roztworze DODAB. W wyniku tej reakcji otrzymano śladowe ilości produktu reakcji Passeriniego **61**. Natomiast reakcja Ugiego z ciprofloksacyną, aldehydem izowalerianowym, izocyjankiem *p*-metoksybenzylowym oraz aminą *p*-metoksybenzylową w wodnym roztworze SDS nie przebiegała. Powtórzono reakcję Ugiego również w metanolu jednak bez powodzenia. W mieszaninie reakcyjnej nie zaobserwowano żadnych śladowych ilości wskazujących na powstawanie produktu reakcji Ugiego **62** dlatego dalsze badania zostały wykonane tylko dla reakcji Passeriniego.



R8.5-1. Reakcja modelowa.



R8.5-2. *N*-zabezpieczone pochodne ciprofloksacyny.

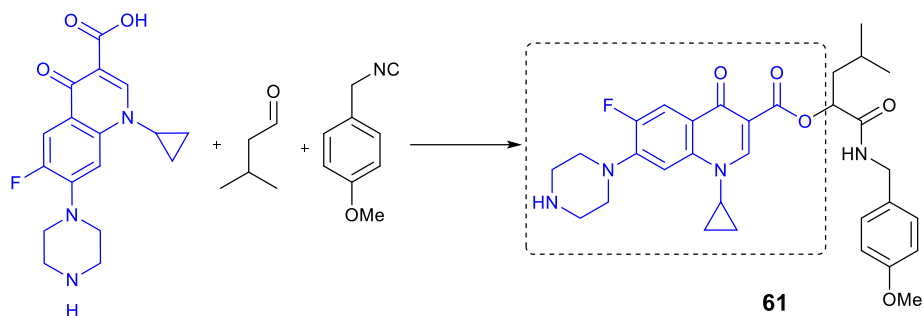
Równolegle przeprowadzono reakcję Passeriniego w chlorku metylenu oraz reakcję Ugiego w metanolu celem uzyskania odpowiednich wzorców produktów. Jednak reakcja Ugiego nie przebiegała w wyżej wymienionych warunkach, natomiast w wyniku reakcji Passeriniego otrzymano jedynie 13% produktu reakcji **61**. Ze względu na trudności w syntezie i konieczność opracowania nowych warunków syntezy peptydomimetów z ciprofloksacyną, dalsze badania optymalizacyjne wykonano dla reakcji Passeriniego (rysunek **R8.5-1**).

W pierwszej kolejności przeprowadzono badania nad wpływem grupy aminowej obecnej w strukturze ciprofloksacyny na przebieg reakcji Passeriniego. W tym celu zamiast ciprofloksacyny zastosowano acylowaną pochodną **63** oraz *N*-bokowaną pochodną ciprofloksacyny **64** (rysunek **R8.5-2**). Zabezpieczenie grupy aminowej ciprofloksacyny zwiększa jej rozpuszczalność oraz zapobiega ewentualnemu powstawaniu produktu reakcji Ugiego **62** jako produktu ubocznego w reakcji Passeriniego. Mimo zastosowanego podejścia nie otrzymano odpowiedniego produktu reakcji Passeriniego stosując jako substrat **63** lub **64**.

Następnie sprawdzono wpływ rozpuszczalników na przebieg modelowej reakcji Passeriniego (tabela **T11**). Jako rozpuszczalniki organiczne zastosowano DCM, toluen, octan etylu, THF, TBME oraz DMSO i DMF. Przeprowadzono także reakcję w wodzie, w wodnym roztworze DODAB oraz w kwasie octowym.

Reakcja w klasycznym rozpuszczalniku dla reakcji Passeriniego, chlorku metylu, dała produkt **61** z wydajnością 13% (L.p. 2; tabela **T11**). Pozostałe przebadane rozpuszczalniki organiczne dawały jedynie śladowe ilości produktu **61**. Przeprowadzenie reakcji w wodzie oraz wodnym roztworze DODAB nie miało wpływu na zwiększenie wydajności reakcji modelowej (L.p. 9 -10; tabela **T11**). Natomiast zastosowanie kwasu octowego pozwoliło uzyskać produkt **61** z wydajnością 35% (L.p. 11; tabela **T11**). Badania wykazały, że stosowanie powszechnie dostępnych rozpuszczalników nie jest korzystnym rozwiązaniem dla modelowej reakcji Passeriniego. Przeprowadzenie reakcji w kwasie octowym dało najlepszy wynik spośród wszystkich przebadanych roztworów reakcyjnych. Wydłużenie czasu reakcji w kwasie octowym do 48 godzin umożliwiło zwiększenie wydajności produktu **61** z 35% na 61% (L.p. 11 -12; tabela **T11**). Pozostawienie reakcji

na dłuższy okres czasu, do 7 dni, nie miało wpływu na zwiększenie wydajności modelowej reakcji Passerinięgo.



T11. Badanie wpływu rozpuszczalników na przebieg reakcji modelowej.

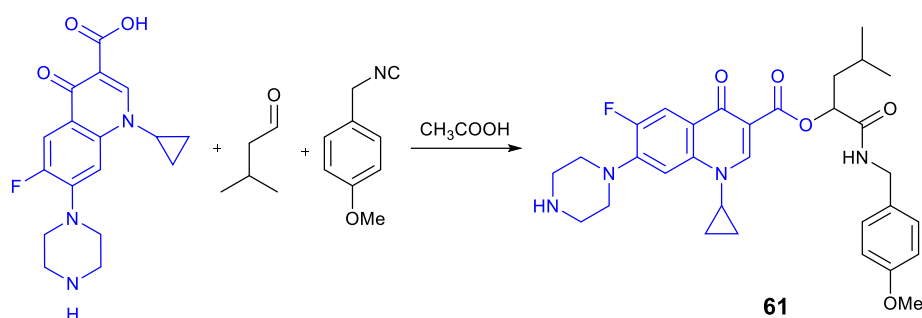
L.p.	Rozpuszczalnik	Wydajność 61 (%) ^a
1.	-	<5
2.	DCM	13
3.	Toluen	<5
4.	Octan etylu	ND
5.	Metanol	<5
6.	TBME	<5
7.	DMF	<5
8.	DMSO	<5
9.	Woda	ND ^b
10.	Wodny roztwór DODAB	<5 ^c
11.	Kwas octowy	35 ^d
12.	Kwas octowy	61 ^e

Warunki reakcji: ^a ciprofloksacyna (0.5 mmol), aldehyd izowalerianowy (0.5 mmol), izocyjanek *p*-metoksybenzylowy (0.5 mmol) w 2 mL rozpuszczalnika, 24 godz. w temperaturze pokojowej. Wydajności wyizolowanego produktu reakcji **61**; ^b5 mL; ^cDODAB (0.1 mmol) w 5 mL wody destylowanej; ^d 10 ekw. kwasu, 24 godz. w temp. pokojowej; ^e 10 ekw. kwasu, 48 godz. w temp. pokojowej;

Następnie sprawdzono wpływ kwasu octowego na przebieg syntezy pochodnych ciprofloksacyny z zastosowaniem reakcji Passeriniego (tabela T14). Przeprowadzono reakcję Passeriniego z ciprofloksacyną, aldehydem izowalerianowym oraz izocyjankiem *p*-metoksybenzylowym stosując kwas octowego jako rozpuszczalnik.

Dodanie dwóch ekwiwalentów kwasu octowego umożliwiło zwiększenie wydajności uzyskując produkt **61** wydajnością 44% (L.p. 1 – 3; tabela T12). Zastosowanie od 7– 10 ekwiwalentów kwasu octowego dało produkt **61** z wydajnościami od 53% do 61% (L.p. 4 – 5; tabela T12). Zwiększenie ilości kwasu octowego od 12 do 20 ekwiwalentów prowadziło do zmniejszenia wydajności produktu **61** od 49% do 5% (L.p. 6 – 8; tabela T12). Reakcja Passeriniego przebiegała z największą wydajnością w obecności 10 ekwiwalentów kwasu octowego (L.p. 5; tabela T12).

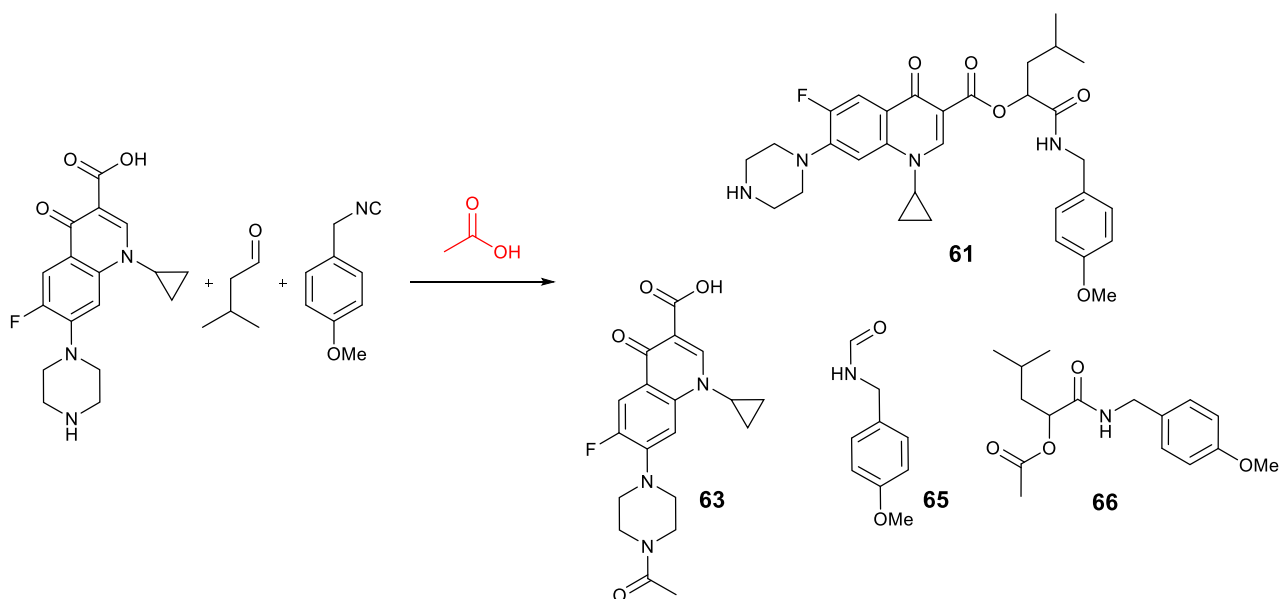
T12. Badanie wpływu kwasu octowego na przebieg syntezy pochodnych ciprofloksacyny z zastosowaniem reakcji Passeriniego.



L.p.	Ilość kwasu octowego (ekw.)	Wydajność 61 (%)
1.	-	<5
2.	1	5
3.	5	44
4.	7	53
5.	10	61
6.	12	49
7.	15	34
8.	20	5

Warunki reakcji: ciprofloksacyna (0.5 mmol), aldehyd izowalerianowy (0.5 mmol), izocyjanek *p*-metoksybenzylowy (0.5 mmol), kwas octowy (10 ekw.), 48 godz. w temperaturze pokojowej. Wydajności wyizolowanego produktu reakcji **61**.

Podczas badań w obecności kwasu octowego jako rozpuszczalnika zaobserwowano tworzenie się produktów ubocznych takich jak: acylowana pochodna ciprofloksacyny **63**, formamid *p*-metoksybenzylowy **65** oraz produkt reakcji Passeriniego z kwasu octowego, aldehydu izowalerianowego oraz izocyjanku *p*-metoksybenzylowego **66**. W optymalnych warunkach reakcji przy zastosowaniu 10 ekwiwaleń kwasu octowego obecne były jedynie śladowe ilości produktów **63** oraz **65**. Schemat modelowej reakcji Passeriniego w kwasie octowym z uwzględnieniem możliwych produktów reakcji przedstawiono na rysunku **R8.5-3**.



R8.5-3. Schemat modelowej reakcji Passeriniego w kwasie octowym.

Następnie przeprowadzono acylowanie ciprofloksacyny stosując kwas octowy zarówno jako substrat jak i rozpuszczalnik. Jednak, w wyniku reakcji ciprofloksacyny z kwasem octowym (10 ekw.), produkt **63** nie powstawał. Natomiast reakcja Passeriniego z dużym nadmiarem kwasu octowego (10 ekw.), izocyjankiem *p*-metoksybenzylowym (1 ekw.) oraz aldehydem izowalerianowym (1 ekw.) prowadziła do uzyskania jedynie formamidu *p*-metoksybenzylowego **65** z wydajnością 98%. Produkt reakcji Passeriniego **66** nie powstawał w zastosowanym nadmiarze kwasu octowego. Otrzymane wyniki pokazują chemoselektywny przebieg reakcji Passeriniego z ciprofloksacyny w kwasie octowym.

Następnie sprawdzono wpływ kwasu octowego na przebieg syntezy pochodnej ciprofloksacyny **61** w micelarnym roztworze DODAB (tabela **T13**). Przeprowadzono reakcję Passeriniego z ciprofloksacyną, aldehydem izowalerianowym oraz izocyjankiem *p*-metoksybenzylowym z dodatkiem kwasu octowego w wodnym roztworze DODAB.

**T13. Wpływ kwasu octowego na wydajność produktu reakcji modelowej
w roztworze DODAB.**

L.p.	Ilość kwasu octowego (ekw.)	Wydajność 61 (%)
1.	-	<5
2.	1	43
3.	1.5	62
4.	2	70
5.	2.5	68
6.	3	65
7.	5	50
9.	10	35

Warunki reakcji: ciprofloksacyna (0.5 mmol), aldehyd izowalerianowy (0.5 mmol), izocyjanek (0.5 mmol), DODAB (0.1 mmol), kwas octowy, woda (5 mL), 48 godz. w temperaturze pokojowej. Wydajności wyizolowanego produktu **61**.

Dodanie jednego ekwiwalentu kwasu octowego umożliwiło zwiększenie wydajności uzyskując produkt **61** z wydajnością 43% (L.p. 1 – 2; tabela **T13**). Zastosowanie od 1.5 – 3 ekwiwalentów kwasu octowego dało produkt **61** z wydajnościami od 62% do 70% (L.p. 3 – 6; tabela **T13**). Zwiększenie ilości kwasu octowego od 5 do 10 ekwiwalentów skutkowało zmniejszeniem wydajności od 50% do 35% (L.p. 8 – 9; tabela **T13**). Reakcja Passeriniego przebiegała z największą wydajnością w obecności 2 ekwiwalentów kwasu octowego w wodnym roztworze DODAB (L.p. 4; tabela **T13**).

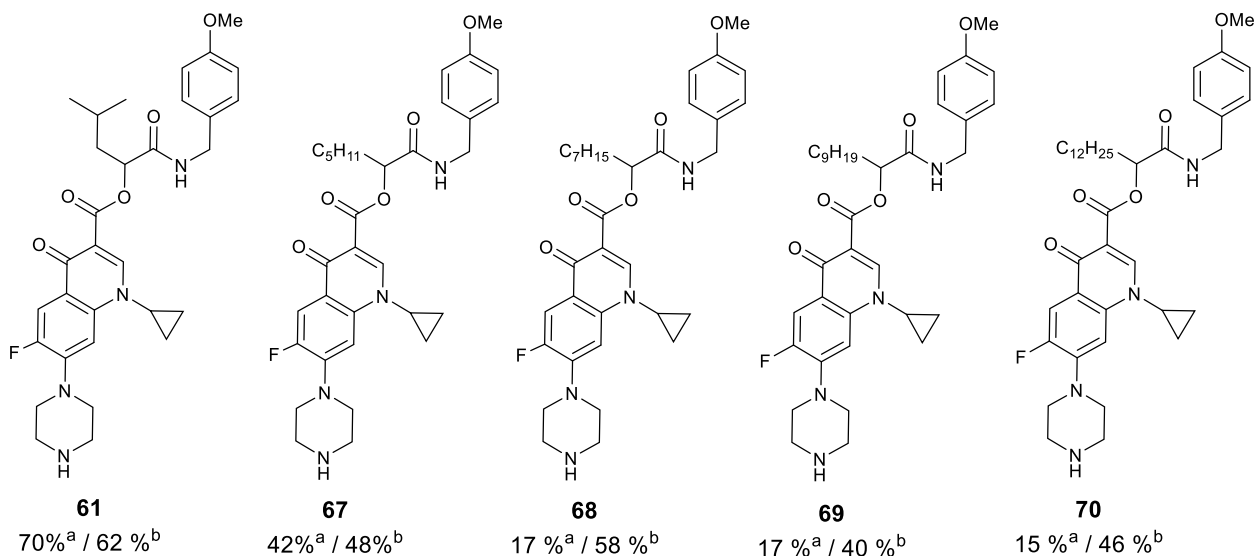
Następnie sprawdzono wpływ surfaktantu na przebieg modelowej reakcji Passeriniego (tabela **T14**). Na początku przeprowadzono reakcję z ciprofloksacyną, aldehydem izowalerianowym oraz izocyjankiem *p*-metoksybenzylowym w wodnym roztworze DODAB w obecności kwasu octowego. Po 48 godzinach prowadzenia reakcji uzyskano produkt **61** z wydajnością 70%, natomiast w wodzie 9% (L.p. 1 - 2; tabela **T14**). Przeprowadzenie reakcji z innym kationowym surfaktantem - DDAB, dało produkt z wydajnością 38% (L.p. 3; tabela **T14**). Zastosowanie anionowych i amfoterycznych surfaktantów pozwoliło uzyskać produkt **61** z wydajnościami od 10% do 22% (L.p. 4 - 8; tabela **T14**). Zastosowanie 20% mol DODAB przyczyniło się do uzyskania największej wydajności związku **61** w wodzie w obecności kwasu octowego.

T14. Wpływ surfaktantu na przebieg modelowej reakcji Passeriniego.

L.p.	Surfaktant	Wydajność 61 (%) ^a
1.	-	9
2.	DODAB	70
3.	DDAB	38
4.	SDS	10
5.	TPGS-750	17 ^b
6.	AOT	13
7.	Triton X-100	17
8.	Tween80	22

^a Warunki reakcji: ciprofloksacyna (0.5 mmol), aldehyd izowalerianowy (0.5 mmol), izocyjanek (0.5 mmol), surfaktant (0.1% mol), kwas octowy (2 ekw.), woda (5 mL), 48 godz. w temperaturze pokojowej. Wydajności wyizolowanego produktu reakcji **61**. ^b2% wag.

R8.5-4. Wpływ wodnego roztworu DODAB oraz kwasu octowego na syntezę pochodnych ciprofloksacyny poprzez reakcję Passeriniego.



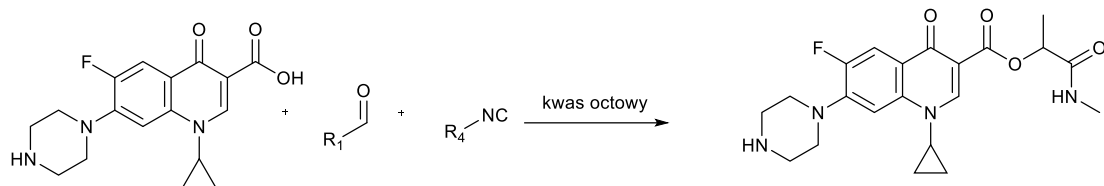
^a Warunki reakcji: ciprofloksacyna (0.5 mmol), aldehyd (0.5 mmol), izocyjanek (0.5 mmol), kwas octowy (2 ekw.), DODAB (0.1 mmol), woda (5 mL), 48 godz., temperaturze pokojowa.

^b warunki reakcji: ciprofloksacyna (0.5 mmol), aldehyd (0.5 mmol), izocyjanek (0.5 mmol), kwas octowy (10 ekw.), 48 godz., temperatura pokojowa. Wydajności wyizolowanych produktów reakcji.

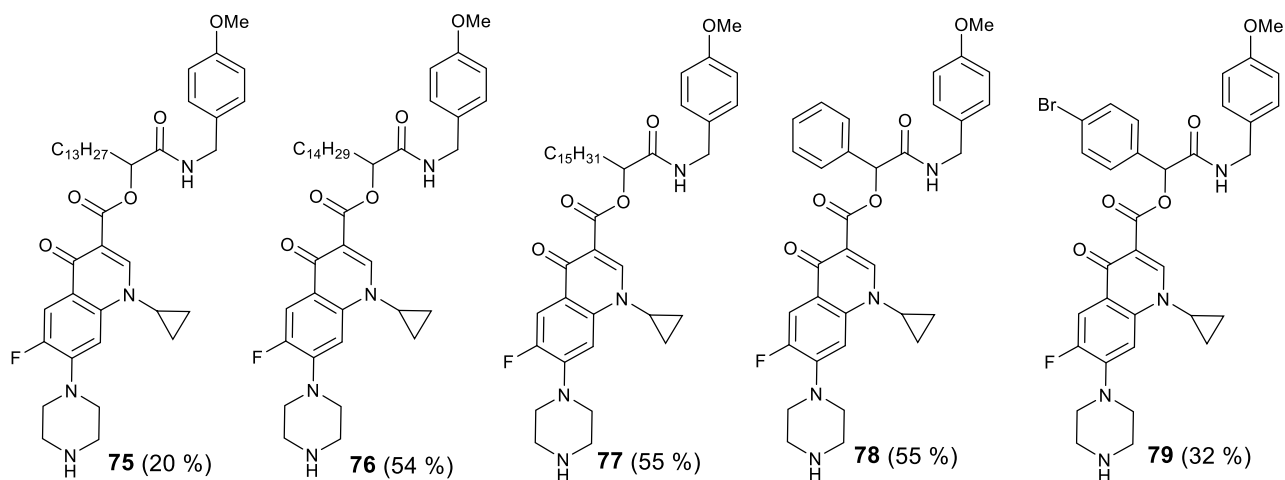
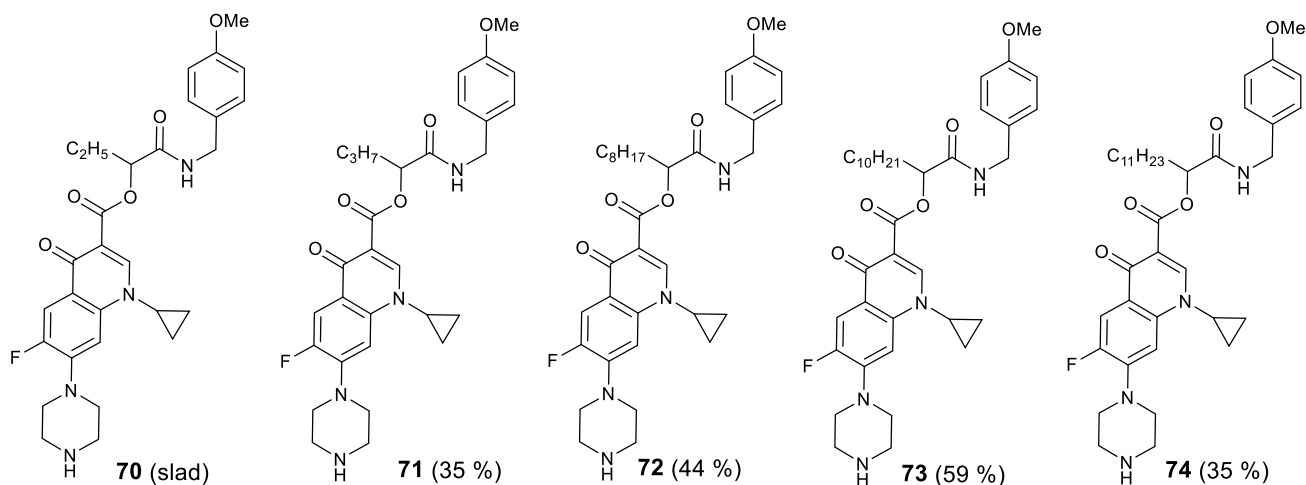
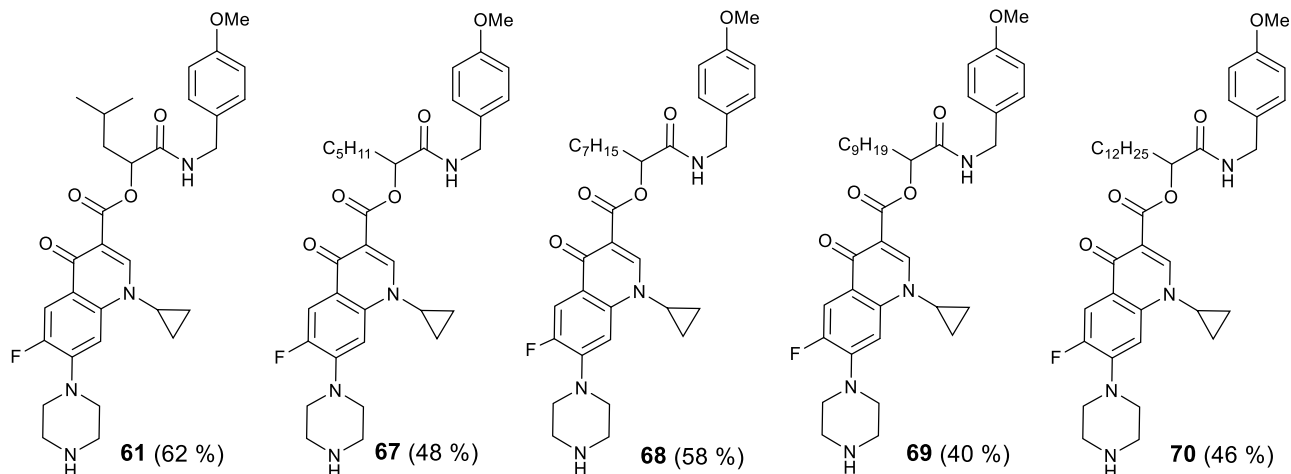
Następnie zbadano wpływ struktury substratów na wydajność produktów modelowej reakcji Passeriniego w wodnym roztworze DODAB oraz w kwasie octowym (rysunek **R8.5-4**). W pierwszym etapie badań sprawdzono wpływ budowy 3-metylobutanalu, heksanalu, oktanalu, dekanalu oraz tridekanalu na przebieg reakcji Passeriniego w wodnym roztworze DODAB uzyskując produkty **61**, **67** – **70** z wydajnościami od 15% do 70%. Ze względu na niskie wydajności syntezy pochodnych ciprofloksacyny w micelarnym roztworze DODAB, reakcje powtórzono w kwasie octowym otrzymując produkty **61**, **67** – **70** z wydajnościami od 40% do 62%. Uzyskane wydajności były wyższe niż w przypadku zastosowania układu micelnego. W związku tym, kolejne badania nad wpływem budowy substratów na wydajność produktu reakcji Passeriniego przeprowadzono w kwasie octowym.

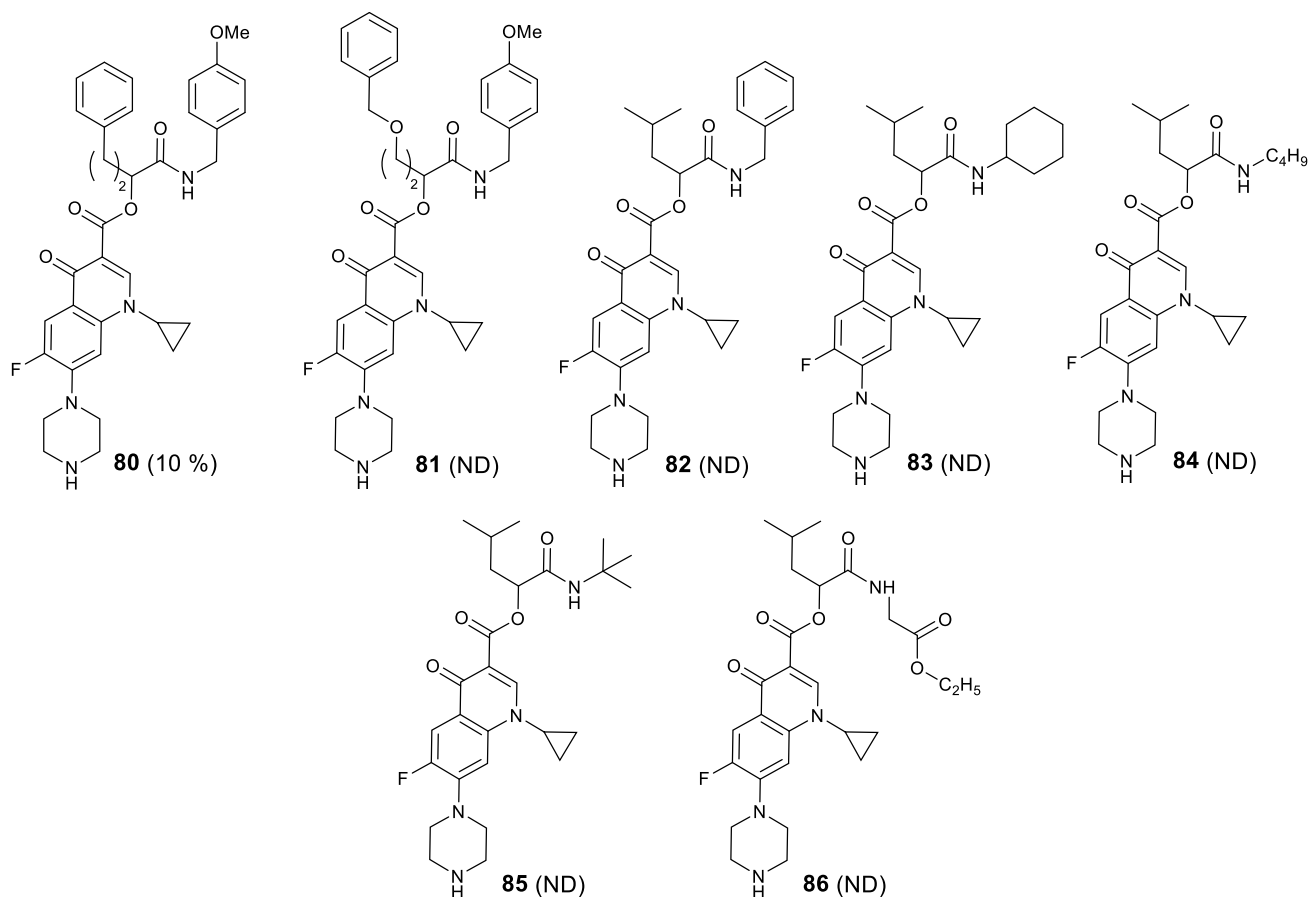
Na rysunku **R8.5-5** przedstawiono wydajności reakcji Passeriniego z różnymi aldehydami, izocyjankami oraz ciprofloksacyną. Przeprowadzone badania pokazują, że opracowane warunki reakcji pozwalają na efektywne prowadzenie reakcji Passeriniego w kwasie octowym stosowanym jako rozpuszczalnik. W wyniku reakcji z propanalem oraz butanalem otrzymano śladowe ilości produktu **70** oraz produkt **71** z wydajnością 35%. Zastosowanie aldehydu 3-metylobutanowego oraz heksyloвого prowadziło do uzyskania produktów **61** oraz **66** z wydajnościami od 48% do 62%. Reakcje prowadzone z aldehydami o długości łańcucha alifatycznego od 8 do 16 atomów węgla w cząsteczce dało produkty **67** - **69** oraz **72** - **77** z wydajnościami od 20% do 59%. Wydłużenie łańcucha alifatycznego aldehydu nie miało większego wpływu na przebieg reakcji Passeriniego. Reakcje z aldehydami aromatycznymi, ciprofloksacyną oraz izocyjankiem *p*-metoksybenzylowym pozwoliły uzyskać produkty **78** - **80** z wydajnościami od 10% do 55%. Zastosowanie pochodnej benzaldehydu, *p*-bromobenzaldehydu, dało produkt **79** z wydajnością 32%. Najwyższe wydajności peptydomimetyków z ciprofloksacyny (od 54% do 62%) zostały uzyskane przy zastosowaniu aldehydów: izowalerianowego (**61**), kaprylowego (**72**), undekanowego (**73**), pentadekanowego (**76**), palmitynowego (**77**) oraz benzoesowego (**61**).

R8.5-5. Badanie zakresu stosowalności modelowej reakcji Passeriego.



61, 66-84





Warunki reakcji: ciprofloksacyna (0.5 mmol), aldehyd (0.5 mmol), izocyjanek (0.5 mmol), kwas octowy (10 ekw.), 48 godz., temperatura pokojowa. Wydajności wyizolowanych produktów reakcji.

Kolejne eksperymenty miały na celu zbadanie wpływu izocyjanu na wydajność produktu reakcji Passeriniego z ciprofloksacyną oraz aldehydem izowalerianowym w kwasie octowym. Jednak nie otrzymano żadnego produktu reakcji Passeriniego z innym izocyjankiem niż izocyjanek *p*-metoksybenzylowy (**61**, **82** – **86**). Eksperymenty z różnymi izocyjankami powtórzono także w wodnym roztworze DODAB. Mimo to nie uzyskano produktów **82** – **86**.

Podsumowując, wykonano badania nad syntezą peptydomimetyków z wykorzystaniem ciprofloksacyny jako jednego z kluczowych substratów do reakcji Passeriniego oraz Ugiego. Przeprowadzone wstępne eksperymenty prowadziły do otrzymania jedynie produktu reakcji Passeriniego, natomiast reakcja Ugiego nie przebiegała zarówno w metanolu jak i w wodnym roztworze SDS. W związku z tym, do dalszych eksperymentów zastosowano jedynie reakcję Passeriniego. Szczegółowe badania wykazały znaczący wpływ kwasu octowego na wydajność produktu reakcji Passeriniego w micelarnym roztworze DODAB. Najlepsze wydajności produktów reakcji Passeriniego z ciprofloksacyną otrzymano stosując kwas octowy jako rozpuszczalnik. Mimo obecności kwasu octowego w mieszaninie reakcyjnej otrzymano tylko produkt reakcji Passeriniego z ciprofloksacyną, natomiast reakcja Passeriniego z kwasem octowym

nie zachodziła. Badania umożliwiły opracowanie chemoselektywnej syntezy 16 pochodnych α -acyloamidów, stosując kwas octowy jako rozpuszczalnik. Co więcej, przedstawiona procedura jest pierwszym przykładem reakcji Passeriniego z wykorzystaniem ciprofloksacyny jako jednego z substratów.

8.6. Podsumowanie badań własnych.

W niniejszej rozprawie doktorskiej zaprezentowano wyniki badań prowadzące do opracowania optymalnych warunków chemoenzymatycznych reakcji multikomponentowych typu Ugiego i Passeriniego promowanych związkami powierzchniowo czynnymi. Większość opisanych badań w niniejszej rozprawie doktorskiej została opublikowana w międzynarodowych czasopismach naukowych.

W pierwszym etapie badań opracowano alternatywną metodę syntezy peptydomimetyków z zastosowaniem reakcji Ugiego w wodnym roztworze surfaktantów. Dzięki temu, możliwe było przeprowadzenie reakcji ograniczając stosowanie toksycznych rozpuszczalników organicznych zgodnie z drugą zasadą „zielonej chemii”. Przeprowadzone szczegółowe badania nad wpływem związków powierzchniowo czynnych na wydajność produktu reakcji Ugiego w wodzie wykazały znaczący wpływ surfaktantów do promowania reakcji Ugiego w wodzie. Kolejne badania fizykochemiczne jednoznacznie potwierdziły tworzenie się miceli oraz pęcherzyków w badanych mieszaninach reakcyjnych. Opracowana metoda syntezy została potwierdzona poprzez syntezę 23 α -aminoacyloamidów, których wydajności porównano przeprowadzając reakcję w wodzie, w wodnym roztworze DDAB oraz Triton X-100. Dla każdego z przypadków stwierdzono promowanie reakcji Ugiego poprzez dodatek surfaktantu w wodzie.

Następnie wykonano badania nad sekwencyjną reakcją łączącą enzymatyczne utlenianie alkoholi do aldehydów i reakcję Ugiego w wodnym roztworze surfaktantów. Do reakcji utleniania wybranych alkoholi do aldehydów zastosowano lakazę z *Trametes versicolor* oraz TEMPO w wodnym roztworze micelarnym. Badania wykazały istotny wpływ surfaktantów na przebieg sekwencyjnej reakcji Ugiego w wodzie. Najlepsze wydajności chemoenzymatycznego utleniania alkoholi benzytowych w połączeniu z reakcją Ugiego otrzymano po zastosowaniu SDS - surfaktantu anionowego. Opracowaną chemoenzymatyczną sekwencyjną metodę zastosowano do syntezy 17 α -aminoacyloamidów, umożliwiając przy tym ograniczenie stosowania szkodliwych katalizatorów, utleniaczy czy też rozpuszczalników.

Następnie wykonano badania nad sekwencyjną reakcją łączącą utlenianie amin do aldehydów z reakcją Passeriniego. Szczegółowe badania wykazały znaczący wpływ kwasu octowego na przebieg enzymatycznej reakcji oksydacyjnego deaminowania aminy do aldehydu. W związku z tym, do etapu utleniania aminy niezbędne było dodanie kwasu octowego, który następnie nie brał udziału w reakcji multikomponentowej. W wyniku reakcji otrzymano wyłącznie produkt reakcji Passeriniego z kwasem karboksylowym dodawanym

w drugim etapie sekwencyjnej reakcji w wodnym roztworze związków powierzchniowo czynnych, co wskazuje na chemoselektywność przeprowadzonej reakcji Passeriniego. Uzyskanie takiej chemoselektywności w klasycznych warunkach nie było możliwe. Opracowana metodologia połączyła enzymatyczne utlenianie amin do aldehydów z reakcją Passeriniego w micelarnym roztworze DODAB, umożliwiając syntezę 18 w pełni scharakteryzowanych peptydomimetyków. Ponadto, jest to pierwszy przypadek przeprowadzenia reakcji Passeriniego z aminą jako jednym z kluczowych substratów. Kolejne badania nad zastosowaniem kwasów tłuszczowych do promowania oksydacyjnego deaminowania aminy wykazały korzystny wpływ na wszystkie etapy chemoenzymatycznej chemoselektywnej sekwencyjnej reakcji Passeriniego.

W ostatnim etapie badań niniejszej rozprawy doktorskiej wykonano badania nad opracowaniem metody syntezy peptydomimetyków z wykorzystaniem ciprofloksacyny jako substratu do reakcji Passeriniego oraz Ugiego. W przypadku reakcji Ugiego badania zakończyły się niepowodzeniem. Reakcja Ugiego nie przebiegała zarówno w metanolu jak i wodnym roztworze SDS. Na tym etapie badań możliwe było otrzymanie jedynie produktu reakcji Passeriniego z ciprofloksacyną. W związku z tym, przeprowadzono dalsze badania nad opracowaniem reakcji Passeriniego w wodnym roztworze surfaktantu (DODAB) w obecności kwasu octowego. Szczegółowe badania wykazały znaczący wpływ kwasu octowego na przebieg reakcji Passeriniego z ciprofloksacyną. Mimo obecności kwasu octowego w mieszaninie reakcyjnej, reakcja przebiegała chemoselektywnie, prowadząc do otrzymania jednego produktu reakcji Passeriniego. Opracowana metodologia prowadzi do otrzymania 16 peptydomimetyków, pochodnych ciprofloksacyny w kwasie octowym. Ponadto, przeprowadzona reakcja ma charakter chemoselektywny, ponieważ nie zaobserwowano obecności produktu reakcji Passeriniego z kwasem octowym w mieszaninie reakcyjnej.

Podsumowując, przeprowadzone badania umożliwiły opracowanie wydajnej syntezy produktów reakcji Ugiego promowanej związkami powierzchniowo czynnymi w wodzie. Zastosowanie miceli wykazało znaczny wpływ na selektywność reakcji prowadząc do uzyskania produktów z wydajnościami większymi niż w rozpuszczalnikach organicznych. W dalszej kolejności badania te umożliwiły połączenie reakcji multikomponentowych typu Ugiego oraz Passeriniego w procesy sekwencyjne. Dzięki temu, możliwa jest synteza niestabilnego w warunkach przechowywania aldehydu z alkoholu lub aminy w mieszaninie reakcyjnej. Badania te przyczyniły się do opracowania pierwszego przypadku reakcji Passeriniego z zastosowaniem aminy jako prekursora związku karbonylowego. W ostatnim etapie badań wykorzystano wcześniej przeprowadzone badania do syntezy

bardziej złożonych związków, pochodnych ciprofloksacyny, w wodnych roztworach micelarnych z zastosowaniem reakcji Passeriniego. Opracowano chemoselektywną syntezę pochodnych ciprofloksacyny w kwasie octowym.

Przeprowadzone w niniejszej rozprawie doktorskiej badania w pełni spełniają wcześniej założone cele badawcze.

9. Część eksperymentalna.

9.1. Uwagi ogólne.

Widma ^1H NMR i ^{13}C NMR zostały wykonane za pomocą aparatów Varian 200 (200 MHz) oraz Bruker 400 (400 MHz). Widma rejestrowano z TMS jako wzorcem wewnętrznym. Przesunięcia sygnałów (δ) podano w ppm, stałe sprzężenia (J) w hercach (Hz). Widma masowe wysokiej rozdzielczości (HRMS) zostały zarejestrowane na spektrometrze Mariner (PerSeptive Biosystems). Analizy elementarne wykonano w Pracowni Analizy Elementarnej Instytutu Chemii Organicznej PAN za pomocą aparatu Vario EL III firmy Elementar. Pomiar dynamicznego rozproszenia światła (DLS) został wykonany za pomocą goniometru BI-200SM firmy Brookhaven Instruments Corp. wyposażony w jonowy laser argonowy (Stabilite 2017, Spectra Fysics). Widma fluorescencji zostały wykonane za pomocą spektrofluorymetru F-7000 firmy Shimazu w temperaturze pokojowej. Do analizy chromatografii cienkowarstwowej (TLC) używano płytek aluminiowych pokrytych Kieselgel 60 F254 firmy Merck. Oczyszczanie związków wykonywano za pomocą chromatografii kolumnowej używając żelu krzemionkowego Kieselgel 60 firmy Merck.

Wykorzystywane komercyjnie dostępne reagenty, zakupione były w Sigma-Aldrich lub TCI. Rozpuszczalniki zostały zakupione od firm POCH, Chempur, Rot oraz Stanlab. Jako eluenty do chromatografii kolumnowej stosowano heksan, octan etylu, i metylenu, metanol.

9.2. Promowanie reakcji Ugiiego układami micelarnymi.

9.2.1. Synteza substratów.

N-(*p*-Metoksybenzylo)formamid

W kolbie kulistej umieszczono *p*-metoksybenzyloaminę (30 mmol, 3,8 mL) oraz mrówczan etylu (12,5 mL), mieszaninę reakcyjną ogrzewano do wrzenia (temperatura łaźni 60 °C) pod chłodnicą zwrotną przez noc. Po ochłodzeniu mieszaniny reakcyjnej do temperatury pokojowej odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem część mrówczanu etylu, a następnie dodano heksan (5 mL) i schłodzono (4 °C). Powstały osad odsączono i przemyto heksanem. Otrzymano żółte kryształy, 3,856 g (78%);

¹H NMR (200 MHz; CDCl₃) δ ppm = 3,79 (3H, s), 4,37 (2H, d), 5,92 (1H, br s), 6,82-6,91 (2H, m), 7,15-7,27 (2H, m), 8,22 (1H, s). Dane zgodne z literaturowymi¹⁵⁹.

Izocyjanek *p*-metoksybenzylowy

W kolbie kulistej umieszczono *N*-(*p*-metoksybenzylo)formamid (16 mmol, 2,64 g), suchy chlorek metylenu (20 mL) oraz trietyloaminę (48 mmol, 6,7 mL). Mieszaninę schłodzono do -78°C pod argonem w łaźni aceton/suchy lód, a następnie wkroplono tlenochlorek fosforu (20 mmol, 1,85 mL). Po 5 minutach usunięto łaźnię chłodzącą, a następnie mieszano jeszcze przez godzinę w temperaturze pokojowej. Do mieszaniny reakcyjnej wkroplono 5% roztwór NaHCO₃ (20 mL), następnie ekstrahowano chlorkiem metylenu (3x20 mL). Połączone fazy organiczne wysuszono nad MgSO₄, środek suszący odsączono, rozpuszczalnik odparowano. Surowy produkt oczyszczano za pomocą chromatografii kolumnowej w układzie heksan: octan etylu 8:2 (v/v), otrzymano żółty olej 1,644 g (70%).

¹H NMR (200 MHz; CDCl₃) δ ppm = 3,82 (3H, s), 4,56 (2H, d), 6,80-6,94 (2H, m), 7,24-7,86 (2H, m). Dane zgodne z literaturowymi¹⁶⁰.

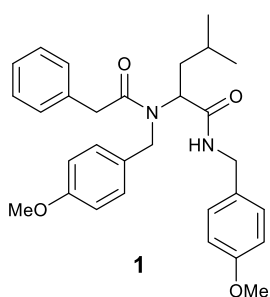
¹⁵⁹ A. Laviós, A. Sanz-Marco, C. Vila, M. C. Muñoz, J. R. Pedro, G. Blay, *Org. Lett.* **2022**, *24*, 11, 2149.

¹⁶⁰ F. Brunelli, S. Aprile, C. Russo, M. Giustiniano, G.C. Tron, *Green Chem.*, **2022**, *24*, 7022.

9.2.2. Procedura ogólna I.

Do 5 mL wody destylowanej zawierającej DDAB lub Triton X-100 (0.1 mmol) dodano aldehyd oraz aminę. Po 10 minutach dodano kwas karboksylowy (0.5 mmol) a następnie po kolejnych 10 min dodano izocyjanek (0.5 mmol). Mieszaninę reakcyjną mieszano przez 48 godzin w temperaturze pokojowej. Po tym czasie przeprowadzono ekstrakcje octanem etylu (3 x 20 mL), natomiast połączone fazy organiczne wysuszono nad MgSO₄. Rozpuszczalnik odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem. Produkt oczyszczono za pomocą chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym układem heksan: octan etylu.

9.2.3. Synteza *N*-[(4-metoksyfenylo)metylo]-2-[(4-metoksyfenylo)metylo-(2-fenylacetylo)amino]-2-metylopentanoamidu

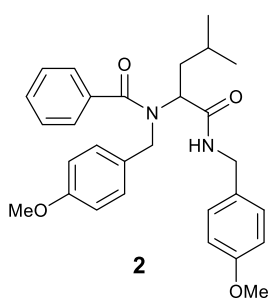


¹H NMR (400 MHz; CDCl₃) δ ppm = 7.19 (4H, m), 7.01 (5H, m), 6.77 (5H, m), 6.71 (1H, s), 4.94 (1H, t, NH), 4.44 (2H, s), 4.16-4.20 (2H, m), 3.73 (6H, s), 3.55 (2H, d), 1.79-1.83 (1H, m), 1.37-1.43 (2H, m), 0.75-0.79 (6H, m);

¹³C NMR (100 MHz; CDCl₃) δ ppm = 22.4, 22.7, 25.1, 37.0, 41.3, 42.8, 48.2, 55.3, 56.55, 114.0, 114.2, 127.0, 127.3, 128.6, 128.8, 128.8, 129.0, 129.0, 129.2, 130.3, 134.6, 158.9, 170.5, 173.4.

HRMS obliczone dla C₃₀H₃₆N₂O₄Na [M + Na]⁺: 511.2573 znaleziono: 511.2574.

9.2.4. Synteza *N*-[(4-metoksyfenylo)metylo]-2-[(4-metoksyfenylo)metylo-(2-benzoylo)amino]-2-metylopentanoamidu

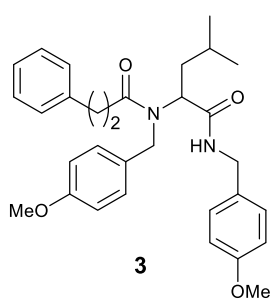


¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm = 7.04 – 7.29 (9H, m), 6.61 – 6.78 (5H, m), 4.74 (1H, s, NH), 4.41 (2H, s), 4.17 (2H, m), 3.66 - 3.72 (6H, m), 1.81 (2H, s), 1.57 (1H, s), 0.85 (6H, s);

¹³C NMR (100 MHz; CDCl₃) δ ppm = 22.2, 22.7, 25.1, 37.3, 42.8, 51.1, 55.1, 55.2, 58.0, 113.7, 113.9, 126.7, 128.5, 128.8, 129.0, 129.2, 129.8, 130.5, 136.2, 158.8, 170.7, 173.8;

HRMS obliczone dla C₂₉H₃₄N₂O₄Na [M+Na]⁺: 497.2416 znaleziono: 497.2410.

9.2.5. Synteza *N*-[(4-metoksyfenylo)metylo]-2-[(4-metoksyfenylo)metylo-(2-fenylopropionylo)amino]-2-metylopentanoamidu

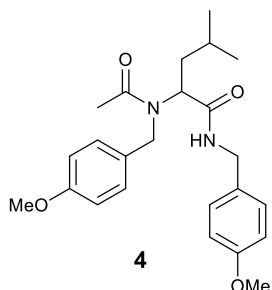


^1H NMR (400 MHz; CDCl_3) δ ppm = 6.74-7.26 (14H m), 5.01 (1H, m), 4.43 (2H, m) 4.23-4.30 (2H, m), 3.78 (6H, s), 2.86-2.91 (2H, m), 2.53-2.58 (2H, m), 1.81-1.85 (1H, m), 1.40-1.44 (2H, m), 0.81-0.91 (6H, m);

^{13}C NMR (100 MHz; CDCl_3) δ ppm = 22.5, 22.7, 25.1, 31.4, 35.7, 37.0, 42.8, 48.0, 55.7, 56.3, 114.0, 114.1, 126.2, 127.3, 128.4, 128.4, 129.0, 129.3, 130.4, 140.9, 158.8, 170.7, 174.6.

HRMS obliczone dla $\text{C}_{31}\text{H}_{38}\text{N}_2\text{O}_4\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 525.2729 znalezienie: 525.2717.

9.2.6. Synteza *N*-[(4-metoksyfenylo)metylo]-2-[(4-metoksyfenylo)metylo-(2-acetylo)amino]-2-metylopentanoamidu

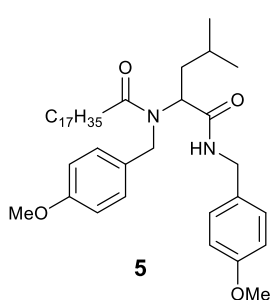


^1H NMR (400 MHz; CDCl_3) δ ppm = 6.73-7.08 (m, 9H), 4.85-5.03 (m, 1H), 4.44 (s, 2H), 3.97-4.32 (m, 2H), 3.71 (s, 6H), 1.95 (s, 3H), 1.66-1.84 (m, 1H), 1.29-1.52 (m, 2H), 0.78 (t, 6H);

^{13}C NMR (100 MHz; CDCl_3) δ ppm = 22.4, 22.7, 25.2, 37.2, 42.8, 48.8, 55.2, 56.1, 114.00, 114.1, 127.3, 129.0, 129.3, 130.4, 158.8, 158.9, 170.7, 173.0;

HRMS obliczone dla $\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_4\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 435.2260 znalezienie: 435.2260.

9.2.7. Synteza *N*-[(4-metoksyfenylo)metylo]-2-[(4-metoksyfenylo)metylo-(2-stearynianylo)amino]-2-metylopentanoamidu

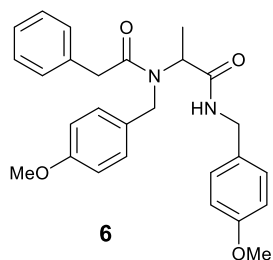


^1H NMR (400 MHz; CDCl_3) δ ppm = 6.95-7.19 (4H, m), 6.86 (1H, s), 6.73-6.77 (4H, m), 4.94-4.97 (1H, m), 4.43-4.44 (2H, m), 4.19-4.21 (2H, m), 3.71 (6H, s), 2.09-2.25 (2H, m), 1.74-1.80 (1H, m), 1.39-1.45 (4H, m), 1.18 (28H, s br); 0.75-0.81 (9H, m)

^{13}C NMR (100 MHz; CDCl_3) δ ppm = 14.1, 22.4, 22.7, 22.7, 29.3, 29.3, 29.4, 29.5, 29.6, 29.6, 29.7, 31.9, 34.0, 55.2, 56.2, 114.0, 114.1, 127.3, 129.0, 129.6, 130.8, 158.8, 158.9, 170.8, 175.8, 177.4;

HRMS obliczone dla $\text{C}_{40}\text{H}_{64}\text{N}_2\text{O}_4\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 659.4764 znalezienie: 659.4763.

9.2.8. Synteza *N*-[(4-metoksyfenylo)metylo]-2-[(4-metoksyfenylo)metylo-(2-fenylacetylo)amino]-2-propionoamidu



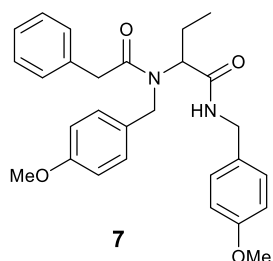
^1H NMR (400 MHz; CDCl_3) δ ppm = 7.13–7.17 (4H, m), 6.97–7.02 (5H, m, Ph), 6.65–6.77 (5H, m), 4.97–4.99 (1H, s br), 4.42–4.44 (2H, m), 4.15–4.17 (2H, m), 3.69 (6H, s), 3.52–3.54 (2H, m), 1.18–1.26 (q, 3H);

^{13}C NMR (100 MHz; CDCl_3) δ ppm = 14.2, 41.2, 42.9, 48.0, 53.4, 55.3, 114.0, 114.3, 127.0, 127.1, 128.7, 129.0, 129.3, 130.4, 134.6,

159.0, 171.0, 173.1;

HRMS obliczone dla $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_4\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 469.2103 znalezienie: 469.2092.

9.2.9. Synteza *N*-[(4-metoksyfenylo)metylo]-2-[(4-metoksyfenylo)metylo-(2-fenylacetylo)amino]-2-butyloamidu



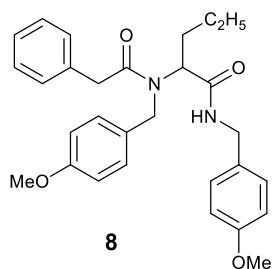
^1H NMR (400 MHz; CDCl_3) δ ppm = 7.04–7.17 (4H, m), 6.97–7.02 (5H, m), 6.79–7.70 (5H, m), 4.70–4.74 (1H, m), 4.47 (2H, s), 4.16–4.21 (2H, m), 3.71 (6H, s), 1.89–1.92 (1H, m), 1.50–1.53 (1H, m), 0.74–0.78 (3H, m);

^{13}C NMR (100 MHz; CDCl_3) δ ppm = 10.9, 21.7, 41.2, 42.8, 48.3, 55.3,

60.0, 114.0, 114.2, 126.9, 127.3, 128.7, 128.8, 129.0, 129.3, 130.0, 130.4, 134.6, 158.9, 170.3, 173.4.

HRMS obliczone dla $\text{C}_{28}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_4\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 483.2260 znalezienie: 483.2092.

9.2.10. Synteza *N*-[(4-metoksyfenylo)metylo]-2-[(4-metoksyfenylo)metylo-(2-fenylacetylo)amino]-2-pentanoamidu



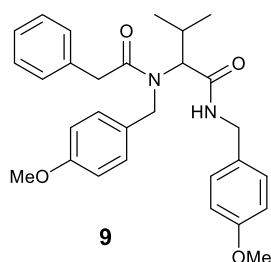
^1H NMR (400 MHz; CDCl_3) δ ppm = 7.17–6.96 (9H, m), 6.77–6.73 (5H, m), 4.83–4.79 (1H, m), 4.46 (2H, s), 4.20–4.15 (2H, m), 3.71 (6H, s), 3.54–3.53 (2H, m), 1.89–1.85 (1H, m), 1.48–1.46 (1H, m), 1.19–1.17 (2H, m), 0.78–0.74 (3H, m);

^{13}C NMR (100 MHz; CDCl_3) δ ppm = 13.8, 19.7, 30.4, 41.3, 42.8, 48.3, 55.3, 58.2, 114.0, 114.2, 126.9, 127.3, 128.7, 128.8, 129.0, 129.3,

130.4, 134.6, 158.9, 158.9, 170.5, 173.4;

HRMS obliczone dla $\text{C}_{29}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_4\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 497.2416 znalezienie: 497.2415.

9.2.11. Synteza *N*-[(4-metoksyfenylo)metylo]-2-[(4-metoksyfenylo)metylo-(2-fenyloacetylo)amino]-2-propionoamidu



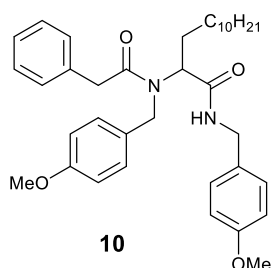
9

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz; CDCl_3) δ ppm = 7.19–6.93 (10H, m), 6.77–6.70 (3H, m), 4.57–4.40 (2H, m), 4.29–4.24 (2H, m), 4.14–4.09 (1H, m), 3.71 (3H, m), 3.53 (2H, s), 2.43–2.37 (1H, m), 0.86 (2H, m), 0.68–0.66 (3H, m);

$^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz; CDCl_3) δ ppm = 19.1, 19.9, 27.1, 41.7, 42.7, 55.2, 55.3, 114.0, 114.2, 126.9, 127.7, 128.6, 128.9, 129.2, 130.1, 130.4, 134.6, 158.9, 170.0, 173.7;

HRMS obliczone dla $\text{C}_{29}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_4\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 497.2416 znalezienie 475.2416.

9.2.12. Synteza *N*-[(4-metoksyfenylo)metylo]-2-[(4-metoksyfenylo)metylo-(2-fenyloacetylo)amino]-2-dodekanoamid



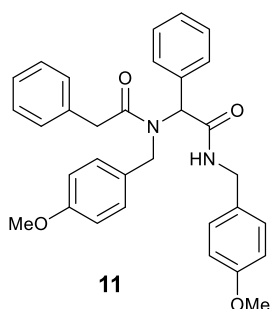
10

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz; CDCl_3) δ ppm = 7.17–7.19 (4H, m), 7.04 (5H, m), 6.74–7.77 (5H, m), 4.79 (1H, s br), 4.46 (2H, s), 4.22 (2H, m), 3.73 (6H, s), 3.56 (2H, m), 1.21–1.11 (20H, m), 0.83–0.81 (3H, m);

$^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz; CDCl_3) δ ppm = 14.1, 22.7, 26.5, 28.3, 29.3, 29.4, 29.5, 29.6, 31.9, 41.3, 42.8, 48.4, 55.3, 114.0, 114.2, 127.0, 127.3, 128.7, 128.8, 129.0, 129.3, 130.3, 134.6, 158.9, 170.5, 173.4;

HRMS obliczone dla $\text{C}_{37}\text{H}_{50}\text{N}_2\text{O}_4\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 609.3668 znalezienie: 609.3658.

9.2.13. Synteza *N*-[(4-metoksyfenylo)metylo]-2-[(4-metoksyfenylo)metylo-(2-fenyloacetylo)amino]-2-fenyloacetamidu



11

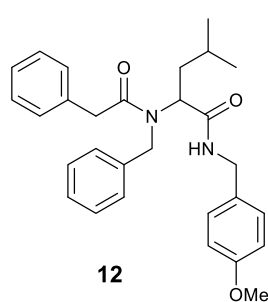
$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ ppm = 7.07–7.23 (12H, m), 6.63–6.85 (6H, m), 5.93 (1H, s), 5.75 (1H, s), 4.62 (1H, m), 4.40 (1H, m), 3.67(6H, m), 3.62 (2H, m);

$^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz; CDCl_3) δ ppm = 41.3, 43.2, 55.2, 55.3, 63.5, 88.5, 113.7, 113.9, 114.0, 114.0, 114.1, 114.1, 126.8, 126.8, 127.5, 128.6, 128.6, 128.7, 129.0, 129.0, 129.7, 134.7, 134.9, 135.0, 158.6,

158.7, 158.8, 159.7, 169.4, 172.8.

HRMS obliczone dla $\text{C}_{32}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_4\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 531.2260 znalezienie: 531.2255.

9.2.14. Synteza *N*-[(4-metoksyfenylo)metylo]-2-[benzylo-(2-fenylacetylo)amino]-2-metylopentanoamidu



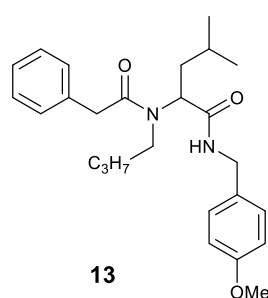
^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm = 7.03–7.34 (12H, m), 6.82–6.86 (3H, m), 5.06–5.10 (1H, m), 4.60 (1H, s), 4.23–4.27 (2H, m, CH_2), 3.79 (1H, s), 3.54–3.65 (2H, m), 1.86–1.93 (1H, m), 1.43–1.47 (2H, m), 0.82–0.91 (6H, m);

^{13}C NMR (100 MHz; CDCl_3) δ ppm = 21.7, 22.4, 22.8, 23.1, 24.6, 25.2, 37.1, 40.8, 41.3, 41.6, 42.5, 42.8, 48.6, 55.3, 56.4, 73.0, 114.1, 126.0,

127.0, 127.4, 128.7, 128.8, 128.8, 129.0, 129.0, 130.3, 134.5, 137.6, 158.9, 170.5, 173.4;

HRMS obliczone dla $\text{C}_{29}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_3\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 481.2467 znalezienie: 481.2470.

9.2.15. Synteza *N*-[(4-metoksyfenylo)metylo]-2-[butylo-(2-fenylacetylo)amino]-2-metylopentanoamidu



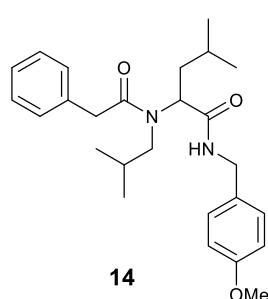
^1H NMR (400 MHz; CDCl_3) δ ppm = 7.20–7.16 (3H, m), 7.10–7.08 (2H, m), 6.88–6.85 (1H, m), 4.87–4.83 (1H, m), 4.27–4.13 (2H, m), 3.71 (3H, s), 3.62 (2H, s), 3.15–3.10 (2H, m), 1.80–1.73 (1H, m), 1.59–1.52 (1H, m), 1.40–1.47 (2H, m), 1.18–1.13 (4H, m), 0.85–0.79 (10H, m);

^{13}C NMR (100 MHz; CDCl_3) δ ppm = 13.6, 20.3, 22.4, 22.8, 24.8, 32.0, 36.7, 41.1, 42.8, 45.6, 55.3, 55.9, 113.9, 126.9, 128.7, 128.7, 129.0,

129.3, 130.5, 134.8, 158.9, 171.4, 172.8;

HRMS obliczone dla $\text{C}_{26}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_3\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 447.2624 znalezienie: 447.2621.

9.2.16. Synteza *N*-[(4-metoksyfenylo)metylo]-2-[2-metylopropylo-(2-fenylacetylo)amino]-2-metylopentanoamidu



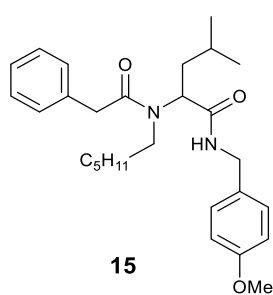
^1H NMR (400 MHz; CDCl_3) δ ppm = 8.17 (1H, s), 7.19–7.17 (3H, m), 7.09–7.05 (4H, m), 6.74–6.74 (2H, m), 4.34–4.17 (2H, m), 3.96–4.00 (1H, m), 3.71 (3H, m), 3.65 (2H, s), 2.34–2.29 (1H, m), 1.58–1.52 (2H, m), 1.18–1.14 (1H, m), 1.02–1.00 (6H, m), 0.89–0.88 (6H, m);

^{13}C NMR (100 MHz; CDCl_3) δ ppm = 20.5, 21.0, 22.4, 25.5, 39.6, 42.7, 42.9, 50.7, 55.3, 59.5, 113.9, 126.9, 128.4, 128.8, 128.8, 128.8, 129.6,

130.9, 134.8, 158.7, 172.5, 172.8;

HRMS obliczone dla $\text{C}_{26}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_3\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 447.2624 znalezienie: 447.2618.

9.2.17. Synteza *N*-[(4-metoksyfenylo)metylo]-2-[heksylo-(2-fenylacetylo)amino]-2-metylopentanoamidu



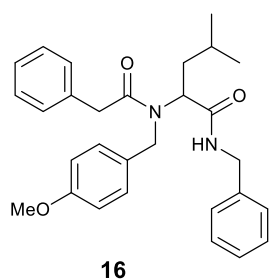
^1H NMR (400 MHz; CDCl_3) δ ppm = 7.15-7.21 (5H, m), 7.02-7.09 (2H, m), 6.87 (1H, m), 6.86-6.71 (2H, m), 4.83-4.87 (1H, m, NH), 4.13-4.24 (2H, m), 3.61-3.70 (3H, m), 3.61 (2H, m), 3.01-3.15 (2H, m), 1.12-1.78 (12H, m), 0.89-0.87 (9H, m);

^{13}C NMR (100 MHz; CDCl_3) δ ppm = 13.9, 22.4, 22.5, 22.8, 24.8, 26.7, 30.0, 31.3, 36.8, 41.1, 42.8, 45.8, 55.2, 55.9, 59.3, 76.8, 77.1, 77.4,

113.9, 126.9, 128.2, 128.7, 128.7, 129.0, 129.3, 130.5, 134.9, 158.8, 171.4, 172.7;

HRMS obliczone dla $\text{C}_{28}\text{H}_{40}\text{N}_2\text{O}_3\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 475.2937 znalezienie: 475.2938.

9.2.18. Synteza *N*-benzylo-2-[benzylo-(2-fenylacetylo)amino]-2-metylopentanoamidu



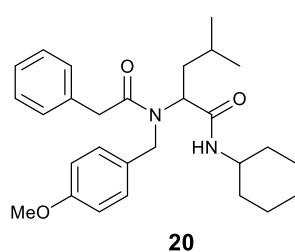
^1H NMR (400 MHz; CDCl_3) δ ppm = 6.82-7.30 (15H, m), 5.02-4.99 (1H, m), 4.52 (2H, s), 4.30-4.35 (2H, m), 3.80 (3H, s), 3.61-3.63 (2H, m), 1.87-1.91 (1H, m), 1.45-1.49 (2H, m), 0.82-0.86 (6H, m);

^{13}C NMR (100 MHz; CDCl_3) δ ppm = 22.4, 22.7, 22.8, 25.2, 37.0, 41.3, 43.4, 48.2, 55.3, 56.5, 114.0, 114.3, 127.3, 127.7, 128.6, 128.7, 129.0,

129.3, 145.5, 159.0, 170.7, 173.5;

HRMS obliczone dla $\text{C}_{29}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_4\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 481.2467 znalezienie: 481.2455.

9.2.19. Synteza *N*-cykloheksylo-2-[(4-metoksyfenylo)metylo]-2-fenylacetylo)amino]-2-metylopentanoamidu



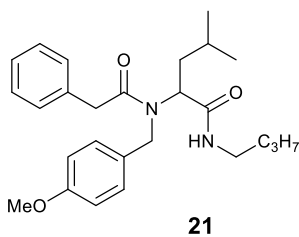
^1H NMR (400 MHz; CDCl_3) δ ppm = 6.84-7.33 (9H, m), 6.35 (1H, m), 4.94-4.97 (1H, m), 4.50-4.51 (2H, m), 3.78 (3H, s), 3.57-3.62 (2H, m), 0.79-1.82 (20H, m);

^{13}C NMR (100 MHz; CDCl_3) δ ppm = 22.3, 22.6, 24.6, 25.1, 25.4, 32.6, 32.7, 36.9, 41.3, 47.9, 54.9, 55.2, 56.4, 114.1, 126.9, 127.1, 128.5,

128.6, 129.1, 129.4, 129.8.

HRMS obliczone dla $\text{C}_{28}\text{H}_{38}\text{N}_2\text{O}_2\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 473.2780 znalezienie: 473.2770

9.2.20. Synteza *N*-butylo-2-[(4-metoksyfenylo)metylo-(2-fenyloacetylo)amino]-2-metylopentanoamidu

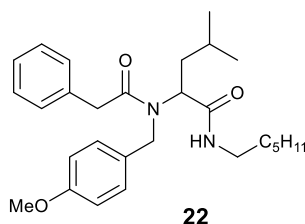


^1H NMR (400 MHz; CDCl_3) δ ppm = 7.22-7.19 (4H, m), 7.09-7.01 (3H, m), 6.82-6.80 (2H, m), 6.35 (1H, s), 4.91 (1H, s br), 4.45 (2H, s), 3.74 (3H, s), 3.58-3.56 (2H, m), 3.08-3.06 (2H, m), 1.80-1.76 (1H, m), 1.34-1.22 (6H, m), 0.85-0.74 (9H, m);

^{13}C NMR (100 MHz; CDCl_3) δ ppm = 13.7, 20.0, 22.4, 22.8, 25.2, 31.5, 37.0, 39.0, 41.3, 48.1, 55.3, 114.2, 127.0, 127.2, 128.7, 128.8, 129.4, 134.6, 158.9, 170.6, 173.4;

HRMS obliczone dla $\text{C}_{26}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_3\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 447.2624 znalezienie: 447.2611.

9.2.21. Synteza *N*-heksylo-2-[(4-metoksyfenylo)metylo-(2-fenyloacetylo)amino]-2-metylopentanoamidu

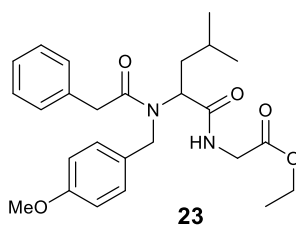


^1H NMR (400 MHz; CDCl_3) δ ppm = 7.27-7.15 (4H, m), 7.08-7.01 (3H, m), 7.05-7.03 (2H, m), 6.82 (2H, m), 6.37 (1H, s, CH), 4.91 (1H, s br), 4.45 (2H, s), 3.74 (3H, s), 3.61-3.52 (2H, m), 3.09-3.02 (2H, m), 1.80-1.76 (1H, m), 1.36-1.33 (4H, m), 1.19 (6H, m), 0.81-0.74 (9H, m);

^{13}C NMR (100 MHz; CDCl_3) δ ppm = 14.0, 22.4, 22.5, 22.8, 25.1, 26.1, 26.5, 29.4, 31.4, 37.0, 39.3, 41.3, 48.1, 55.3, 56.5, 14.2, 127.0, 127.2, 128.8, 129.4, 134.6, 158.9, 170.6, 173.4;

HRMS obliczone dla $\text{C}_{28}\text{H}_{40}\text{N}_2\text{O}_3\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 475.2937 znalezienie: 475.2932.

9.2.22. Synteza etylo 2-[(4-metoksyfenylo)metylo-(2-fenyloacetylo)amino]-2-metylopentanoamido octanu

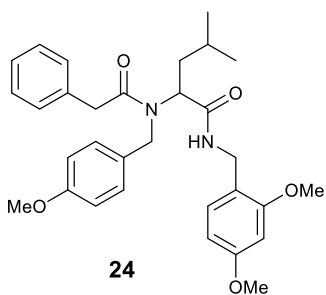


^1H NMR (400 MHz; CDCl_3) δ ppm = 7.24-7.15 (4H, m), 7.11-7.10 (2H, m), 7.05-7.03 (2H, m), 6.86 (1H, s), 6.81-6.79 (2H, m), 5.00-4.97 (1H, s br, NH), 4.46 (2H, s), 4.15-4.10 (2H, s), 3.83-3.80 (2H, m), 3.73 (3H, s), 3.62 (2H, m), 1.82-1.78 (1H, m), 1.43-1.36 (2H, m), 1.22-1.18 (3H, m), 0.79-0.75 (6H, m);

^{13}C NMR (100 MHz; CDCl_3) δ ppm = 14.1, 22.3, 22.7, 25.1, 36.8, 41.1, 41.2, 48.3, 55.3, 56.2, 61.3, 114.2, 126.9, 127.4, 128.6, 129.0, 129.2, 134.6, 158.9, 169.4, 171.2, 173.7;

HRMS obliczone dla $\text{C}_{26}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_5\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 477.2365 znalezienie: 477.2362.

9.2.23. Synteza *N*-[2,5-dimetoksyfenylo)metylo]-2-[(4-metoksyfenylo)metylo-(2-fenyloacetylo)amino]-2-metylopentanoamidu

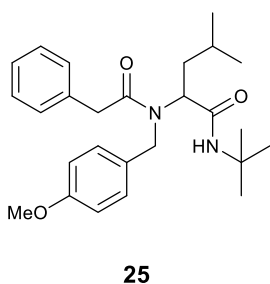


^1H NMR (400 MHz; CDCl_3) δ ppm = 7.19-7.14 (4H, m, Ph), 7.04-6.96 (5H, m), 6.83-6.81 (1H, m), 6.74-6.72 (2H, m), 6.37-6.33 (2H, m), 5.00-4.96 (1H, s br), 4.42 (2H, s), 4.22-4.20 (2H, m), 3.74-3.69 (9H, m), 3.51-3.50 (2H, m), 1.76-1.72 (1H, m), 1.39-1.35 (2H, m), 0.77-0.73 (6H, m);

^{13}C NMR (100 MHz; CDCl_3) δ ppm = 22.5, 22.7, 25.0, 37.0, 38.9, 41.3, 47.8, 55.2, 55.3, 55.4, 98.5, 103.8, 114.2, 118.7, 126.8, 127.1, 128.6, 128.8, 129.5, 130.3, 134.7, 158.6, 158.8, 160.4, 170.2, 173.2;

HRMS obliczone dla $\text{C}_{31}\text{H}_{38}\text{N}_2\text{O}_5\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 541.2678 znalezienie: 541.2671.

9.2.24. Synteza *N*-*t*-butylo-2-[(4-metoksyfenylo)metylo-(2-fenyloacetylo)amino]-2-metylopentanoamidu



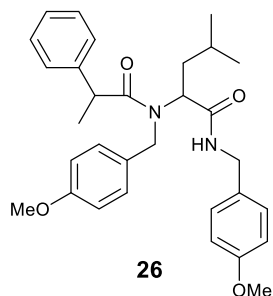
^1H NMR (400 MHz; CDCl_3) δ ppm = 7.29-7.09 (5H, m), 7.04-7.02 (2H, m), 6.82-6.77 (2H, m), 6.18 (1H, s), 4.87-4.83 (1H, s br), 4.44-4.43 (2H, m), 3.73 (3H, s), 3.57-3.56 (2H, m), 1.78-1.69 (1H, m), 1.38-1.17 (10H, m), 0.87-0.74 (8H, m);

^{13}C NMR (100 MHz; CDCl_3) δ ppm = 22.4, 22.8, 25.2, 28.6, 36.9, 41.4, 47.8, 51.0, 55.3, 56.8, 114.2, 127.0, 127.2, 128.6, 128.7, 129.6,

134.7, 158.9, 169.7, 173.2;

HRMS obliczone dla $\text{C}_{26}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_3\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 447.2624 znalezienie: 447.2614.

9.2.25. Synteza *N*-[(4-metoksyfenylo)metylo]-2-[(4-metoksyfenylo)metylo-(2-metylofenyloacetylo)amino]-2-metylopentanoamidu



^1H NMR (400 MHz; CDCl_3) δ ppm = 6.47-7.18 (14H, m), 5.03 (0.5H, s br), 4.80 (0.5H, s br), 4.17-4.37 (4H, m), 3.73 (6H, m), 1.72-1.79 (1H, m), 1.24-1.33 (4H, m), 0.72-0.80 (6H, m);

^{13}C NMR (100 MHz; CDCl_3) δ ppm = 20.8, 22.7, 22.8, 22.8, 25.3, 36.6, 37.4, 42.8, 43.9, 55.3, 114.0, 114.2, 114.2, 126.9, 127.1, 127.4, 128.7, 129.0, 12.2, 158.9, 170.5;

HRMS obliczone dla $\text{C}_{31}\text{H}_{38}\text{N}_2\text{O}_4\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 525.2729 znalezienie:

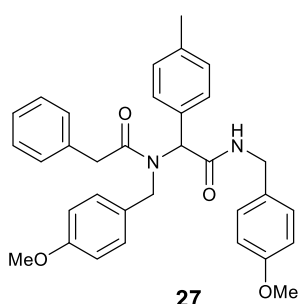
525.272.

9.3. Badania nad opracowaniem chemoenzymatycznej sekwencyjnej reakcji łączącej utlenianie alkoholi z reakcją Ugiego

9.3.1. Procedura ogólna II.

Alkohol (0.5 mmol), lakaza z *Trametes versicolor* (20mg), TEMPO (0.1 mmol) oraz SDS (0.1 mmol) mieszano w buforze fosforanowym (5mL, pH =5.2, c= 0.1 M) w temperaturze pokojowej w otwartej fiołce. Po 24 godzinach dodano aminę (0.5 mmol), kwas karboksylowy (0.5 mmol) oraz izocyjanek (0.5 mmol). Mieszaninę reakcyjną mieszano przez kolejne 48 godzin. Po tym czasie przeprowadzono ekstrakcje octanem etylu (3 x 20 mL), natomiast połączone fazy organiczne wysuszono nad MgSO₄. Rozpuszczalnik odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem. Produkt oczyszczono za pomocą chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym układem heksan: octan etylu.

9.3.2. Synteza *N*-[(4-metoksyfenylo)metylo]-2-[(4-metoksyfenylo)metylo-(2-fenylacetylo)amino]-2-[4-metylofenylo]acetoamid



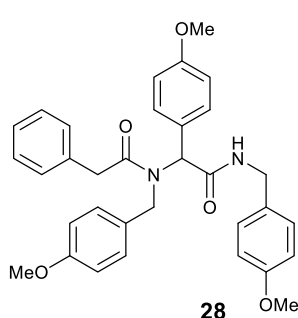
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.05-7.22 (9H, m), 6.96-6.98 (2H, m), 6.86-6.88 (2H, m), 6.72-6.75(2H, m), 6.65-6.67 (2H, m), 5.90 (1H, s br), 5.67 (1H, s), 4.56-4.60 (1H, m), 4.38-4.29 (3H, m), 3.59-3.70 (6H, m), 2.20 (3H, s).

¹³C NMR (100 MHz; CDCl₃) δ ppm = 21.0, 41.2, 43.0, 55.1, 55.1, 63.2, 113.8, 113.9, 128.5, 128.9, 128.9, 128.9, 129.3, 129.5, 134.7,

138.3, 158.6, 169.5, 172.7;

HRMS obliczone dla C₃₃H₃₄N₂O₄Na [M+Na]⁺: 545.2416 znalezione: 545.2418

9.3.3. Synteza *N*-[(4-metoksyfenylo)metylo]-2-[(4-metoksyfenylo)metylo-(2-fenylacetylo)amino]-2-[4-metoksyfenylo]acetoamid

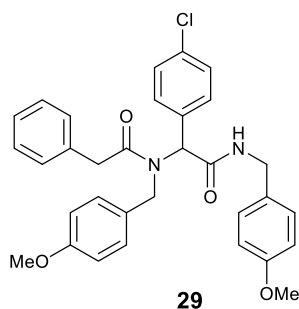


¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.06-7.21 (9H, m), 6.65-6.87 (8H, m, Ph), 5.90 (1H, s br, NH), 5.68 (1H, s), 4.56-4.60 (1H, m), 4.29-4.39 (3H, m), 3.71-3.60 (11H, m).

¹³C NMR (100 MHz; CDCl₃) δ ppm = 41.2, 43.0, 49.6, 55.2, 62.6, 113.8, 113.9, 114.0, 126.7, 126.7, 127.4, 128.4, 128.5, 128.9, 129.3, 130.2, 131.1, 134.7, 158.6, 159.6, 169.7, 172.8;

HRMS obliczone dla C₃₃H₃₄N₂O₄Na [M+Na]⁺: 561.2365 znalezione: 561.2363.

9.3.4. Synteza *N*-[(4-metoksyfenylo)metylo]-2-[(4-metoksyfenylo)metylo-(2-fenylacetylo)amino]-2-[4-chlorofenylo]acetoamidu



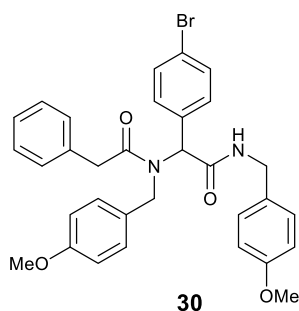
^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm = 7.12-7.31 (11H, m), 6.89-6.91 (2H, m), 6.81-6.83 (2H, m), 6.73-6.75 (2H, m), 6.10 (1H, s br), 5.73 (1H, s), 4.64-4.68 (1H, m), 4.34-4.47 (3H, m), 3.71-3.79 (8H, m).

^{13}C NMR (100 MHz; CDCl_3) δ ppm = 43.2, 50.1, 55.3, 62.6, 114.0, 126.9, 127.4, 127.5, 128.7, 128.7, 128.8, 128.8, 128.9, 129.0, 131.0, 131.0, 134.5, 134.5, 158.9, 172.8, 178.0;

HRMS obliczone dla $\text{C}_{32}\text{H}_{31}\text{ClN}_2\text{O}_4\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 565.1870 znalezienie:

565.1868.

9.3.5. Synteza *N*-[(4-metoksyfenylo)metylo]-2-[(4-metoksyfenylo)metylo-(2-fenylacetylo)amino]-2-[4-bromofenylo]acetoamidu



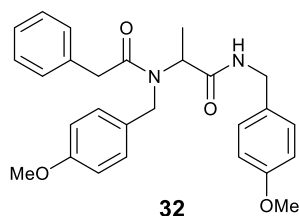
^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm = 7.12-7.36 (12H, m), 6.89-6.91 (2H, m), 6.84-6.81 (2H, m), 6.75-6.73 (2H, m), 6.13 (1H, s br), 5.71 (1H, s), 4.64-4.68 (1H, m), 4.34-4.47 (3H, m), 3.71-3.79 (8H, m).

^{13}C NMR (100 MHz; CDCl_3) δ ppm = 41.2, 43.1, 50.0, 55.2, 62.5, 114.0, 122.6, 126.9, 127.5, 127.5, 128.6, 128.8, 128.9, 129.0, 131.2, 131.7, 134.5, 151.3, 158.8, 168.9, 172.7.

HRMS obliczone dla $\text{C}_{32}\text{H}_{31}\text{BrN}_2\text{O}_4\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 609.1365 znalezienie:

609.1366

9.3.6. Synteza *N*-[(4-metoksyfenylo)metylo]-2-[(4-metoksyfenylo)metylo-(2-fenylacetylo)amino]-2-propionoamidu

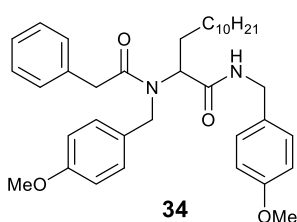


^1H NMR (400 MHz; CDCl_3) δ ppm = 7.13-7.17 (4H, m), 6.96-7.05 (5H, m), 6.65-7.77 (5H, m), 4.94-4.99 (1H, m), 4.37-4.49 (2H, q, $J=17.7$ Hz), 4.15-4.17 (2H, d, $J=5.5$ Hz), 3.69 (6H s), 3.52-3.54 (2H, m), 1.18-1.26 (3H, m);

^{13}C NMR (100MHz; CDCl_3) δ ppm = 14.0, 41.0, 42.7, 42.7, 47.8, 53.2, 55.1, 113.8, 114.1, 126.8, 126.9, 128.5, 128.7, 128.8, 129.0, 129.1, 130.2, 134.4, 158.8, 170.9, 172.9;

HRMS obliczone dla $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_4\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 469.2103 znalezienie: 469.2099.

9.3.7. Synteza *N*-[(4-metoksyfenylo)metylo]-2-[(4-metoksyfenylo)metylo-(2-fenylacetylo)amino]-2-dodekanoamidu

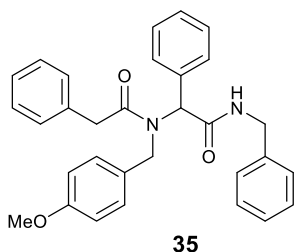


$^1\text{H NMR}$ (400 MHz; CDCl_3) δ ppm = 7.17-7.19 (4H, m), 6.97-7.02 (5H, m), 6.77-7.74 (5H, m), 4.76-4.79 (1H, m), 4.46 (2H, s), 4.16-4.22 (2H, q, $J=17.2$ Hz), 3.72 (6H s), 3.55-3.56 (2H, m), 1.11-1.21 (20H, m), 0.79-0.83 (3H, m);

$^{13}\text{C NMR}$ (100MHz; CDCl_3) δ ppm = 14.1, 22.7, 26.5, 28.3, 29.3, 29.4, 29.5, 29.6, 31.9, 41.3, 42.8, 42.9, 48.4, 55.3, 58.6, 114.0, 114.2, 127.0, 127.3, 128.7, 128.8, 128.9, 129.0, 129.3, 130.3, 134.6, 158.9, 170.5, 173.4;

HRMS obliczone dla $\text{C}_{37}\text{H}_{50}\text{N}_2\text{O}_4\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 609.3668 znalezienie: 609.3670.

9.3.8. Synteza *N*-benzylo-2-[(4-metoksyfenylo)metylo-(2-fenylacetylo)amino]-2-fenylacetoamidu

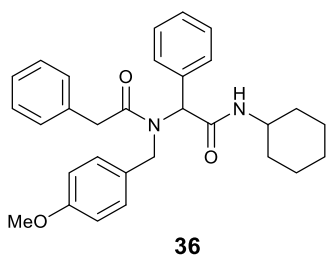


$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ ppm = 7.09-7.27 (15H, m), 6.83-6.85 (2H, m), 6.62-6.64 (2H, m), 6.05 (1H, s br), 5.73 (1H, s), 4.54-4.57 (1H, m), 4.36-4.37 (3H, m), 3.61-3.71 (5H, m);

$^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz; CDCl_3) δ ppm = 43.1, 43.6, 55.1, 55.2, 66.8, 113.8, 127.2, 127.5, 128.4, 128.5, 128.6, 128.6, 128.7, 128.8, 129.8, 134.6, 158.6, 172.6, 174.2;

HRMS obliczone dla $\text{C}_{31}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_3\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 501.2154 znalezienie: 501.2154

9.3.9. Synteza *N*-cycloheksylo-2-[(4-metoksyfenylo)metylo-(2-fenylacetylo)amino]-2-fenylacetoamidu

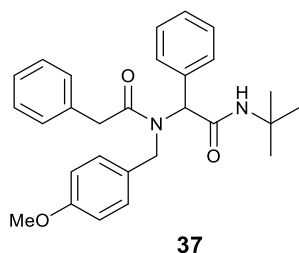


$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ ppm = 7.19-7.42 (10H, m), 6.84-6.86 (2H, m), 6.68-6.65 (2H, m), 5.76 (1H, s br), 5.54 (1H, s), 4.57-4.62 (1H, d, $J=17.9$ Hz), 4.36-4.41 (1H, d, $J=17.6$ Hz), 3.60-3.69 (5H, m), 1.81 (2H, m), 1.51 (2H, m), 1.26-1.19 (2H, m), 0.99 (2H, m), 0.81-0.76 (1H, m);

$^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz; CDCl_3) δ ppm = 24.7, 24.2, 25.5, 32.8, 41.4, 48.5, 55.2, 113.9, 113.9, 126.8, 127.5, 128.4, 128.4, 128.4, 128.6, 128.7, 128.7, 128.9.

HRMS obliczone dla $\text{C}_{30}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_3\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 493.2467 znalezienie: 493.2464.

9.3.10. Synteza *N*-*t*-butylo-2-[(4-metoksyfenylo)metylo-(2-fenyloacetylo)amino]-2-fenyloacetoamidu

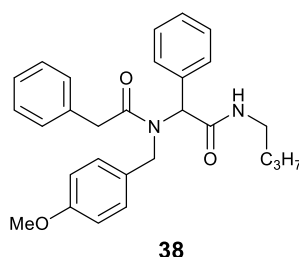


^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm = 7.10-7.26 (10H, m), 6.79-6.80 (2H, m), 6.61-6.65 (2H, m), 5.82 (1H, s br), 5.66 (1H, s), 4.58-4.62 (1H, m), 4.41-4.45 (1H, m), 3.56-3.67 (5H, m), 1.06-1.35 (10H, m).

^{13}C NMR (100 MHz; CDCl_3) δ ppm = 28.5, 51.6, 55.2, 113.7, 113.9, 127.4, 128.3, 128.6, 128.7, 128.9, 129.3, 129.5, 134.8, 158.6, 168.8, 173.0.

HRMS obliczone dla $\text{C}_{28}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_3\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 467.2311 znalezienie: 467.2309.

9.3.11. Synteza *N*-*n*-butylo-2-[(4-metoksyfenylo)metylo-(2-fenyloacetylo)amino]-2-fenyloacetoamidu

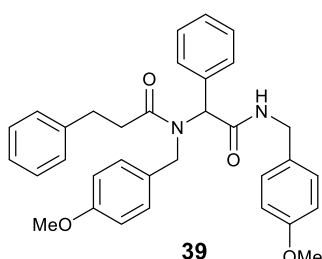


^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm = 7.14-7.33 (10H, m), 6.91-6.93 (2H, m), 6.72-6.74 (2H, m), 6.10 (1H, s br), 5.93 (1H, s), 4.67-4.71 (1H, d, $J=17.5$ Hz), 4.54-4.49 (1H, d, $J=17.3$ Hz), 3.65-3.74 (5H, m), 3.65-3.74 (2H, m), 3.19 (2H, s), 1.22-1.38 (4H, m), 0.85-0.88 (3H, m).

^{13}C NMR (100 MHz; CDCl_3) δ ppm = 13.3, 19.6, 30.9, 39.0, 40.8, 49.4, 54.8, 62.7, 113.4, 126.4, 127.0, 128.0, 128.1, 128.1, 128.2, 128.5, 128.9, 129.2, 134.3, 158.3, 169.1, 172.5.

HRMS obliczone dla $\text{C}_{28}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_3\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 467.2311 znalezienie: 467.2306

9.3.12. Synteza *N*-benzylo[(4-metoksyfenylo)metylo]-2-[(4-metoksyfenylo)metylo-3-(fenylopropionylo)amino]-2-fenyloacetoamidu

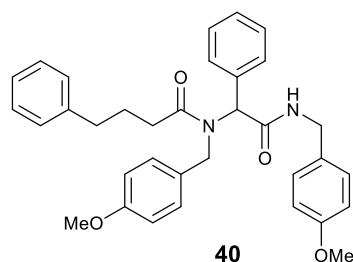


^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm = 7.08-7.29 (12H, m), 6.81-6.86 (4H, m), 6.61-6.67 (2H, m), 6.14 (1H, s br), 5.90 (1H, s), 4.59-4.63 (1H, m), 4.54-4.70 (3H, m), 3.73-3.77 (6H, m), 2.93-2.95 (2H, m), 2.54-2.70 (2H, m).

^{13}C NMR (100 MHz; CDCl_3) δ ppm = 31.3, 35.7, 43.1, 49.7, 55.2, 55.2, 63.3, 113.8, 114.0, 126.0, 127.3, 128.4, 128.5, 128.7, 129.0, 129.3, 129.7, 141.1, 158.6, 158.9, 169.5, 174.0.

HRMS obliczone dla $\text{C}_{33}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_3\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 545.2416 znalezienie: 545.2413.

9.3.13. Synteza *N*-benzylo[(4-metoksyfenylo)metylo]-2-[(4-metoksyfenylo)metylo-4-(fenylobutyrylo)amino]-2-fenylacetoamidu

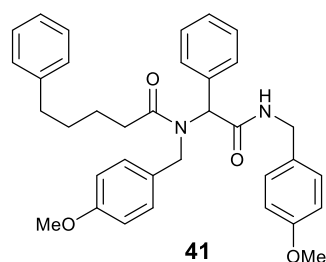


$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ ppm = 6.19-6.58 (12H, m), 5.78-6.10 (4H, m), 6.85-6.87 (2H, m), 5.30 (1H, s), 5.04 (1H, s, CH), 3.68-3.73 (1H, m), 3.45-3.73 (3H, m), 2.87 (6H, s), 1.66-1.78 (2H, m), 1.28-1.49 (2H, m), 1.04-1.12 (2H, m).

$^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz; CDCl_3) δ ppm = 26.7, 33.3, 35.2, 43.2, 49.8, 55.2, 55.3, 63.3, 113.8, 114.0, 15.8, 127.5, 128.3, 128.4, 128.5, 128.5, 128.8, 129.0, 129.2, 129.7, 141.7, 158.6, 158.9, 169.7, 174.7.

HRMS obliczone dla $\text{C}_{34}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_3\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 559.2573 znalezienie: 559.2566.

9.3.14. Synteza *N*-benzylo-2-[(4-metoksyfenylo)metylo-5-(fenylopentyl)amino]-2-fenylacetoamidu

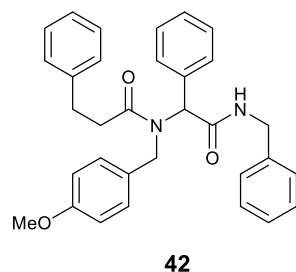


$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ ppm = 7.24 (2H, m), 7.14-7.18 (5H, m), 7.02-7.11 (5H, m), 6.81-6.83 (2H, m), 6.71-6.75 (2H, m), 6.61-6.63 (2H, m), 6.06 (1H, s), 5.82 (1H, s), 4.54-4.58 (1H, m), 4.26-4.41 (3H, m), 3.60-3.68 (6H, m), 2.44-2.48 (2H, m), 2.10-2.33 (2H, m), 1.47-1.66 (4H, m).

$^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz; CDCl_3) δ ppm = 24.8, 31.0, 33.8, 35.6, 43.1, 49.8, 55.2, 55.2, 63.2, 113.8, 114.0, 125.6, 127.4, 128.2, 128.3, 128.3, 128.5, 128.7, 129.0, 129.1, 129.7, 142.2, 158.9

HRMS obliczone dla $\text{C}_{35}\text{H}_{38}\text{N}_2\text{O}_3\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 573.2729 znalezienie: 573.2722.

9.3.15. Synteza *N*-benzylo[(4-metoksyfenylo)metylo]-2-[(4-metoksyfenylo)metylo-3-(fenylopropionyl)amino]-2-fenylacetoamidu



$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ ppm = 7.16-7.32 (13H, m), 7.06-7.08 (2H, m), 6.85-6.87 (2H, m), 6.64-6.70 (3H, m), 6.07 (1H, s), 4.62-4.67 (1H, m), 4.44-4.51 (3H, m), 3.73 (3H, s), 2.88-2.93 (2H, m), 2.56-2.68 (2H, m).

$^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz; CDCl_3) δ ppm = 31.4, 35.8, 43.6, 49.6, 55.2, 63.0, 113.9, 126.1, 127.3, 127.4, 127.7, 128.4, 128.5, 128.6, 128.7, 129.5, 129.7, 135.1, 138.2, 141.1, 158.6, 169.9, 174.2.

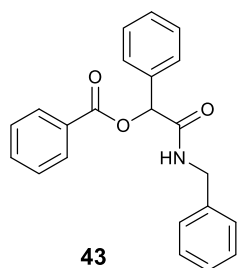
HRMS obliczone dla $\text{C}_{32}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_3\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 515.2311 znalezienie: 515.2310.

9.4. Badania nad opracowaniem chemoenzymatycznej sekwencyjnej reakcji łączącej utlenianie aminy z reakcją Passeriniego

9.4.1. Procedura ogólna III

Amina (0.5 mmol), lakaza z *Trametes versicolor* (20mg), TEMPO (0.1 mmol) kwas octowy (0.5 mmol) mieszano w buforze fosforanowym (5 mL, pH=5.2, c= 0.1 M) w 30 °C pokojowej w otwartej fiolce. Po 24 godzinach dodano DODAB (0.1 mmol), kwas karboksylowy (0.5 mmol) oraz izocyjanek (0.5 mmol). Mieszaninę reakcyjną mieszano przez kolejne 24 godziny. Po tym czasie przeprowadzono ekstrakcje octanem etylu (3 x 20 mL), natomiast połączone fazy organiczne wysuszono nad MgSO₄. Rozpuszczalnik odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem. Produkt oczyszczono za pomocą chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym układem heksan: octan etylu.

9.4.2. Synteza benzoesu 2-(benzyloamino)-2-okso-1-fenylloetylu



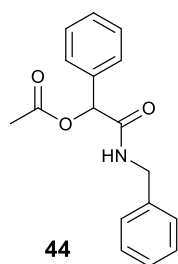
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm = 8.12 – 8.03 (m, 2H), 7.64 – 7.51 (m, 3H), 7.51 – 7.35 (m, 5H), 7.35 – 7.16 (m, 5H), 6.56 (s, 1H), 6.38 (s, 1H), 4.58 – 4.39 (m, 2H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ ppm = 168.4, 165.1, 137.8, 135.6, 133.6, 129.9, 129.2, 129.0, 128.8, 128.7, 128.6, 127.6, 127.5, 127.4, 76.0, 43.4.

HRMS obliczone dla C₂₂H₁₉NO₃Na [M+Na]⁺: 368.1263, znaleziono:

368.1263.

9.4.3. Synteza octanu 2-(benzyloamino)-2-okso-1-fenylloetylu

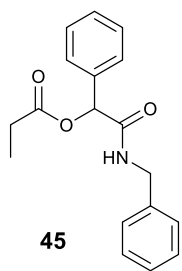


¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm = 7.44 (m, 2H), 7.40 – 7.28 (m, 6H), 7.25 – 7.21 (m, 2H), 6.36 (s, 1H), 6.12 (s, 1H), 4.62 – 4.36 (m, 2H), 2.16 (s, 3H);

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ ppm = 169.2, 168.2, 137.7, 137.7, 135.5, 128.8, 128.7, 127.6, 127.6, 127.4, 75.6, 43.3, 21.0.

HRMS obliczone dla C₁₇H₁₇NO₃Na [M + Na]⁺: 306.1106, znaleziono: 306.1109.

9.4.4. Synteza propionianu 2-(benzyloamino)-2-okso-1-fenyletylu

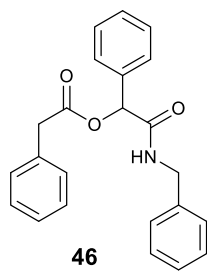


^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm = 7.41 – 7.32 (m, 2H), 7.32 – 7.15 (m, 6H), 7.13 (m, 2H), 6.38 (s, 1H), 6.05 (s, 1H), 4.38 (s, 2H), 2.51 – 2.20 (m, 2H), 1.07 (m, 3H).

^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ ppm = 172.6, 168.4, 137.7, 135.6, 128.9, 128.7, 128.7, 128.7, 127.6, 127.3, 75.4, 43.3, 27.5, 8.9.

HRMS obliczone dla $\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{NO}_3\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 320.1263, znalezienie: 320.1264.

9.4.5. Synteza fenylloctanu 2-(benzyloamino)-2-okso-1-fenyletylu

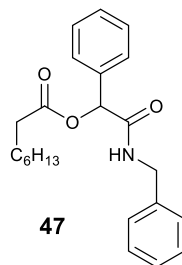


^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm = 7.42 – 7.33 (m, 5H), 7.32 – 7.27 (m, 3H), 7.23 (m, 5H), 7.16 – 7.07 (m, 2H), 6.14 (s, 2H), 4.31 (m, 2H), 3.71 (s, 2H).

^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ ppm = 169.3, 168.1, 137.5, 135.4, 133.3, 129.1, 128.9, 128.8, 128.7, 128.7, 127.6, 127.5, 127.4, 127.2, 75.6, 43.2, 41.4.

HRMS obliczone dla $\text{C}_{23}\text{H}_{21}\text{NO}_3\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 382.1419, znalezienie: 382.1421.

9.4.6. Synteza kaprylanu 2-(benzyloamino)-2-okso-1-fenyletylu

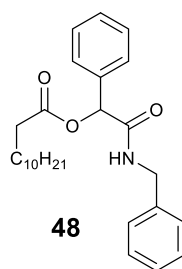


^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm = 7.40 – 7.00 (m, 10H), 6.37 (s, 1H), 6.06 (s, 1H), 4.38 (m, 2H), 2.45 – 2.17 (m, 2H), 1.62 – 1.42 (m, 2H), 1.33 – 1.03 (m, 8H), 0.79 (m, 3H).

^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ ppm = 172.0, 168.4, 137.7, 135.7, 128.9, 128.7, 128.7, 128.7, 127.6, 127.3, 75.3, 43.3, 34.2, 31.5, 28.9, 28.8, 24.8, 22.5, 14.0.

HRMS obliczone dla $\text{C}_{23}\text{H}_{29}\text{NO}_3\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 390.2045, znalezienie: 390.2044.

9.4.7. Synteza laurynianu 2-(benzyloamino)-2-okso-1-fenyletylu

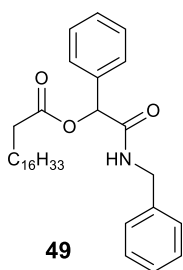


^1H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ ppm = 7.34 (m, 2H), 7.30 – 7.14 (m, 6H), 7.13 – 7.07 (m, 2H), 6.47 (s, 1H), 6.04 (s, 1H), 4.35 (m, 2H), 2.34 – 2.19 (m, 2H), 1.53 (m, 2H), 1.16 (s, 16H), 0.80 (m, 4H);

^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ ppm = 172.1, 172.1, 168.5, 137.8, 135.7, 128.9, 128.7, 127.6, 127.6, 127.4, 75.4, 43.3, 34.2, 31.9, 29.6, 29.6, 29.4, 29.3, 29.2, 29.0, 24.8, 22.7, 14.1.

HRMS obliczone dla $\text{C}_{27}\text{H}_{37}\text{NO}_3\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 446.2673, znalezienie: 446.2677.

9.4.8. Synteza stearynianu 2-(benzyloamino)-2-okso-1-fenyletylu

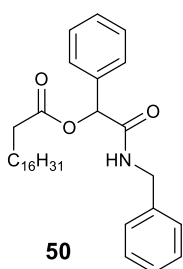


^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm = 7.46 – 7.19 (m, 10H), 6.38 (s, 1H), 6.14 (s, 1H), 4.48 (m, 2H), 2.45 – 2.34 (m, 2H), 1.66 – 1.58 (m, 2H), 1.26 (s, 28H), 0.88 (s, 3H).

^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ ppm = 185.7, 171.9, 137.7, 135.7, 128.9, 128.8, 128.7, 128.7, 127.7, 127.3, 75.3, 43.4, 34.2, 31.9, 29.7, 29.6, 29.6, 29.6, 29.6, 29.4, 29.4, 29.2, 29.2, 29.1, 29.0, 24.8, 24.7, 22.7, 14.1.

HRMS obliczone dla $\text{C}_{33}\text{H}_{49}\text{NO}_3\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 530.3610, znalezienie: 530.3611.

9.4.9. Synteza oleinianu 2-(benzyloamino)-2-okso-1-fenyletylu

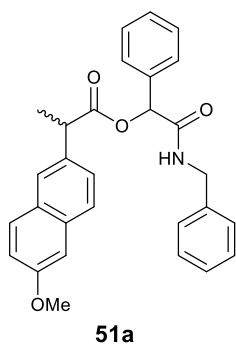


^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm = 7.39 – 7.06 (m, 10H), 6.36 (m, 1H), 6.04 (s, 1H), 5.31 – 5.16 (m, 2H), 4.37 (m, 2H), 2.38 – 2.26 (m, 2H), 1.94 – 1.89 (m, 4H), 1.56 – 1.47 (m, 2H), 1.18 (s, 20H), 0.83 – 0.73 (m, 3H);

^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ ppm = 172.0, 168.4, 137.8, 135.7, 130.0, 129.7, 128.9, 128.8, 127.6, 127.3, 75.4, 43.4, 34.2, 33.9, 31.9, 29.8, 29.7, 29.5, 29.3, 29.3, 29.1, 29.0, 27.2, 27.2, 24.8, 24.7, 22.7, 14.1.

HRMS obliczone dla $\text{C}_{33}\text{H}_{47}\text{NO}_4\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 528.3454, znalezienie: 528.3450.

9.4.10. Synteza 2-(6-metoksynaftalen-2-yl)propanianu 2-(benzyloamino)-2-okso-1-fenyletylu^a

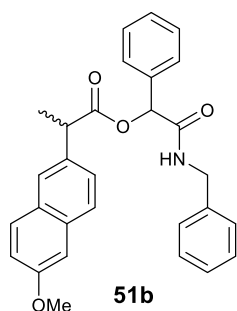


^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm = 7.66 – 7.54 (m, 3H), 7.35 (m, 6H), 7.22 – 7.09 (m, 4H), 7.05 (m, 1H), 6.85 – 6.70 (m, 2H), 6.21 (s, 1H), 5.75 (m, 1H), 4.12 (m, 1H), 3.96 – 3.88 (m, 4H), 3.79 (m, 1H), 1.59 (m, 3H).

^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ ppm = 172.3, 168.2, 158.0, 137.5, 135.5, 135.0, 133.8, 129.2, 128.9, 128.7, 128.4, 127.7, 127.6, 127.4, 127.3, 127.2, 126.0, 125.8, 119.5, 105.7, 75.2, 55.3, 45.4, 42.8, 17.6.

HRMS obliczone dla $\text{C}_{29}\text{H}_{27}\text{NO}_4\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 476.1838, znalezienie: 476.1838.

9.4.11. Synteza 2-(6-metoksynaftalen-2-ylo)propanianu 2-(benzyloamino)-2-okso-1-fenyletylu^b

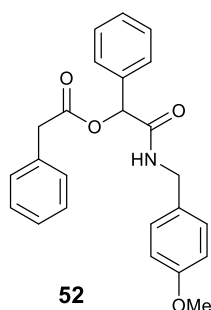


$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ ppm = 7.67 – 7.51 (m, 3H), 7.31 (m, 1H), 7.24 (m, 8H), 7.14 (m, 1H), 7.07 (m, 1H), 7.06 – 6.98 (m, 2H), 6.12 (s, 2H), 4.26 (m, 2H), 3.92 (s, 4H), 1.61 (m, 3H).

$^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ ppm = 172.4, 168.2, 157.8, 137.6, 135.4, 134.5, 133.8, 129.3, 128.8, 128.8, 128.6, 128.6, 127.5, 127.4, 127.0, 126.0, 119.2, 105.7, 75.6, 55.3, 45.6, 43.1, 17.8.

HRMS obliczone dla $\text{C}_{29}\text{H}_{27}\text{NO}_4\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 476.1838, znalezienie: 476. 1833.

9.4.12. Synteza benzoesanu 2-[(4-metoksybenzylo)amino]-2-okso-1-fenyletylu

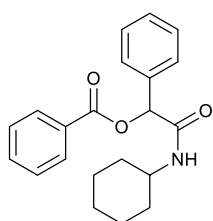


$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ ppm = 7.66 – 7.06 (m, 10H), 6.83 (m, 2H), 6.36 (s, 2H), 4.44 (m, 2H), 3.78 (m, 3H).

$^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ ppm = 168.2, 165.0, 159.1, 135.6, 133.6, 129.8, 129.2, 129.0, 128.9, 128.8, 128.6, 127.4, 114.1, 76.0, 55.3, 42.9, 42.9.

HRMS obliczone dla $\text{C}_{24}\text{H}_{23}\text{NO}_4\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 412.1525, znalezienie: 412.1523

9.4.13. Synteza benzoesanu 2-(cycloheksyloamino)-2-okso-1-fenyletylu

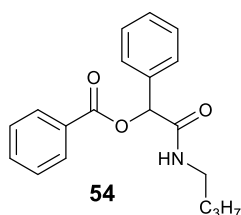


$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ ppm = 8.13 – 7.93 (m, 2H), 7.68 – 7.09 (m, 8H), 6.22 (s, 1H), 5.96 (m, 1H), 3.75 (m, 1H), 1.91 – 1.75 (m, 2H), 1.66 – 1.46 (m, 3H), 1.36 – 0.99 (m, 5H).

$^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ ppm = 167.3, 164.9, 135.8, 133.6, 129.8, 129.4, 128.9, 128.8, 128.6, 127.4, 75.9, 48.2, 32.9, 32.9, 25.4, 24.7.

HRMS obliczone dla $\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{NO}_3\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 360.1576, znalezienie: 360.1577.

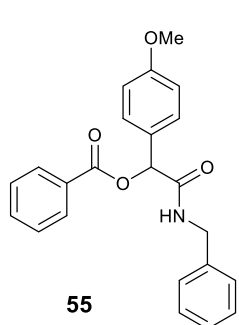
9.4.14. Synteza benzoesanu 2-(butyloamino)-2-okso-1-fenyletylu



$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ ppm = 8.07 – 7.93 (m, 2H), 7.61 – 7.16 (m, 8H), 6.25 (s, 1H), 6.12 (s, 1H), 3.23 (m, 2H), 1.49 – 1.34 (m, 2H), 1.23 (m, 2H), 0.81 (m, 3H). $^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ ppm = 168.2, 164.9, 135.7, 133.6, 129.8, 129.3, 128.9, 128.8, 128.6, 127.3, 75.9, 39.2, 31.5, 19.9, 13.6.

HRMS obliczone dla $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{NO}_3\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 334.1419, znalezienie: 334.1420.

9.4.15. Synteza benzoesanu 2-(benzyloamino)-1-(4-metoksyfenylo)-2-oksoetylu



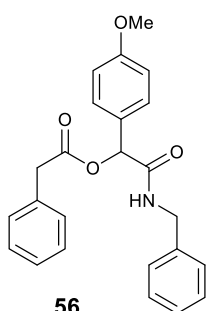
55

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ ppm = 8.04-7.97(m, 2H), 7.54–7.47(m, 1H), 7.42–7.35 (m, 4H), 7.25 – 7.12 (m, 5H), 6.84 (m, 2H), 6.40 (s, 1H), 6.26 (s, 1H), 4.43 (m, 2H), 3.72 (s, 3H).

$^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ ppm = 168.7, 165.1, 160.2, 137.8, 133.6, 130.2, 129.8, 129.3, 129.0, 128.8, 128.6, 128.5, 127.7, 127.6, 127.6, 114.3, 75.7, 55.3, 43.4.

HRMS obliczone dla $\text{C}_{23}\text{H}_{21}\text{NO}_4\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 398.1368, znalezienie: 398.1368.

9.4.16. Synteza fenylloctanu 2-(benzyloamino)-1-(4-metoksyfenylo)-2-oksoetylu

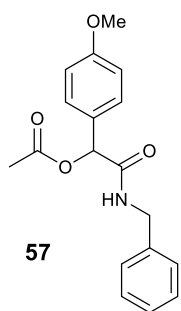


56

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ ppm = 7.28 – 7.21 (m, 5H), 7.14 (s, 5H), 7.08 – 7.04 (m, 2H), 6.83 – 6.77 (m, 2H), 6.02 (s, 1H), 5.97 (s, 1H), 4.26 (m, 2H), 3.73 (s, 3H), 3.63 (s, 2H), 2.10 (s, 2H), 1.46 – 1.02 (m, 4H). $^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ ppm = 169.4, 168.3, 160.1, 133.4, 129.1, 129.1, 128.9, 128.8, 128.7, 127.7, 127.6, 127.6, 127.4, 114.2, 75.3, 55.3, 43.3, 41.5.

HRMS obliczone dla $\text{C}_{24}\text{H}_{23}\text{NO}_4\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 412.1525, znalezienie: 412.1523.

9.4.17. Octan 2-(benzyloamino)-1-(4-metoksyfenylo)-2-oksoetylu



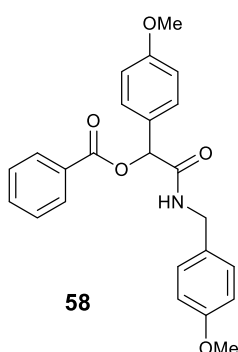
57

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ ppm = 7.31 – 7.19 (m, 5H), 7.18 – 7.14 (m, 2H), 6.88 – 6.76 (m, 2H), 6.29 (s, 1H), 6.00 (s, 1H), 4.50 – 4.33 (m, 2H), 3.73 (s, 3H), 2.07 (s, 3H).

$^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ ppm = 169.3, 168.5, 160.2, 137.8, 129.0, 129.0, 128.8, 127.7, 127.7, 114.2, 75.3, 55.3, 43.4, 21.0.

HRMS obliczone dla $\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{NO}_4\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 336.1212, znalezienie: 336.1218.

9.4.18. Synteza benzoesanu 2-(4-metoksybenzyloamino)-1-(4-metoksyfenylo)-2-oksoetylu



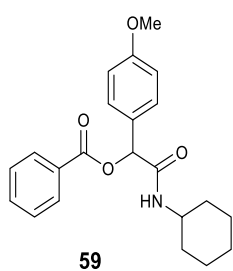
58

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ ppm = 8.09 – 7.94 (m, 2H), 7.56 – 7.47 (m, 1H), 7.42 – 7.33 (m, 4H), 7.18 (s, 1H), 7.09 (m, 2H), 6.87 – 6.81 (m, 2H), 6.79 – 6.73 (m, 2H), 6.26 (m, 2H), 4.53 – 4.15 (m, 2H), 3.72 (m, 6H).

$^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ ppm = 168.5, 165.1, 133.5, 129.9, 129.8, 129.4, 129.0, 129.0, 128.6, 127.7, 114.3, 114.2, 75.7, 55.3, 55.3, 42.9.

HRMS obliczone dla $\text{C}_{24}\text{H}_{23}\text{NO}_5\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 428.1474, znalezienie: 428.1470.

9.4.19. Synteza benzoesu 2-(cycloheksyloamino)-1-(4-metoksyfenylo)-2-oksoetylu

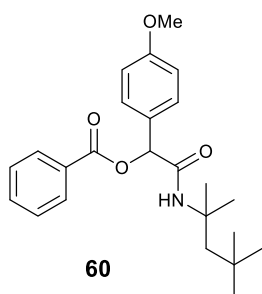


^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm = 8.00 (m, 2H), 7.51 (m, 1H), 7.44 – 7.31 (m, 4H), 6.94 – 6.71 (m, 2H), 6.19 (s, 1H), 5.94 (s, 1H), 3.82 – 3.74 (m, 1H), 3.73 (s, 3H), 1.96 – 1.70 (m, 2H), 1.57 (m, 3H), 1.40 – 0.93 (m, 6H).

^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ ppm = 167.2, 164.9, 160.0, 133.5, 129.7, 129.5, 128.9, 128.5, 128.1, 114.2, 75.9, 55.6, 55.3, 52.6, 31.6, 31.5, 28.9, 28.7.

HRMS obliczone dla $\text{C}_{22}\text{H}_{25}\text{NO}_4\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 390.1681, znalezienie: 390.1684.

9.4.20. Synteza benzoesu 2-[(2,4,4-trimetylopentan-2-yl)amino]-1-(4-metoksyfenylo)-2-oksoetylu

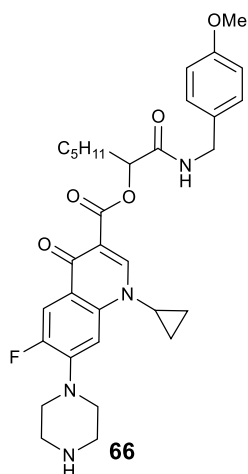


^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm = 8.24 – 7.94 (m, 2H), 7.58 (m, 1H), 7.45 (m, 4H), 6.90 (m, 2H), 6.19 (s, 1H), 6.04 (s, 1H), 3.80 (s, 3H), 1.82 – 1.58 (m, 2H), 1.43 (s, 6H), 0.93 (s, 9H).

^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ ppm = 167.2, 164.9, 160.0, 133.5, 129.7, 129.5, 128.9, 128.5, 128.1, 114.2, 75.9, 55.6, 55.3, 52.6, 31.6, 31.5, 28.9, 28.7.

HRMS obliczone dla $\text{C}_{24}\text{H}_{31}\text{NO}_4\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 420.2151, znalezienie: 420.2147.

9.5.4. Synteza 1-((4-methoxybenzyl)amino)-1-oxoheptan-2-yl 1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-7-(piperazin-1-yl)-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylate

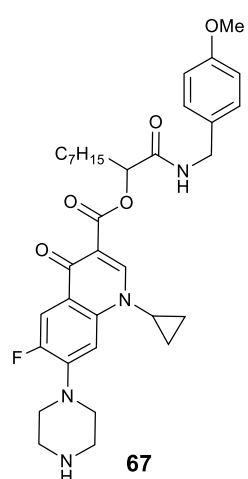


^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm = 14.94 (s, 1H), 8.80 – 8.50 (m, 1H), 8.03 – 7.72 (m, 1H), 7.32 – 7.26 (m, 1H), 7.23 – 7.17 (m, 2H), 7.06 (s, 1H), 6.95 – 6.67 (m, 2H), 4.49 – 4.30 (m, 2H), 3.77 (s, 3H), 3.58 – 3.46 (m, 1H), 3.38 – 3.21 (m, 4H), 2.89 – 2.65 (m, 4H), 1.82 – 1.66 (m, 2H), 1.40 – 1.23 (m, 9H), 1.20 – 1.12 (m, 2H), 0.92 – 0.80 (m, 3H).

^{13}C NMR (100 MHz; CDCl_3) δ ppm = 177.0, 166.9, 159.0, 154.8, 152.3, 147.3, 139.0, 130.7, 129.1, 114.1, 112.4, 112.1, 108.0, 104.8, 69.3, 55.3, 49.9, 49.9, 42.7, 35.3, 31.9, 28.4, 26.2, 26.2, 22.5, 14.0, 8.2.

HRMS obliczone dla $\text{C}_{32}\text{H}_{39}\text{FN}_4\text{O}_5\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 601.2802, znalezienie 601.2812

9.5.5. Synteza 1-((4-methoxybenzyl)amino)-1-oxononan-2-yl 1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-7-(piperazin-1-yl)-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylate

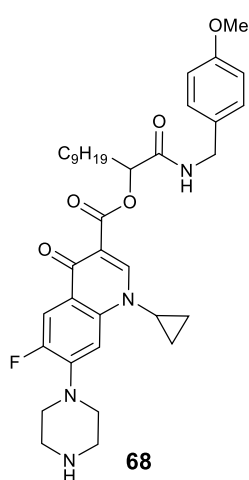


^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm = 14.93 (s, 1H), 8.83 – 8.59 (m, 1H), 7.96 (m, 1H), 7.30 (m, 1H), 7.25 – 7.17 (m, 2H), 7.01 (m, 1H), 6.85 (m, 2H), 4.49 – 4.29 (m, 2H), 3.78 (s, 3H), 3.52 (m, 1H), 3.32 (m, 4H), 2.95 – 2.63 (m, 4H), 1.75 (m, 2H), 1.42 – 1.14 (m, 15H), 0.92 – 0.82 (m, 3H).

^{13}C NMR (100 MHz; CDCl_3) δ ppm = 176.9, 166.8, 159.0, 154.8, 152.3, 147.3, 139.0, 130.7, 129.1, 114.0, 114.0, 112.2, 112.0, 107.8, 104.8, 69.3, 55.3, 49.9, 42.6, 35.3, 31.8, 29.7, 29.1, 28.4, 26.5, 22.6, 22.6, 14.1, 8.2.

HRMS obliczone dla $\text{C}_{34}\text{H}_{43}\text{FN}_4\text{O}_5\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 629.3115, znalezienie: 629.3121.

9.5.6. Synteza 1-((4-methoxybenzyl)amino)-1-oxoundecan-2-yl 1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-7-(piperazin-1-yl)-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylate

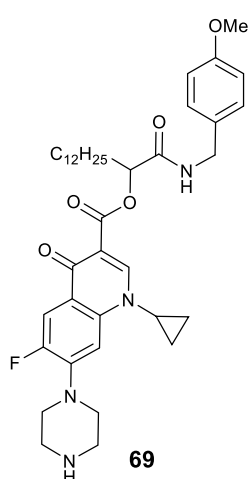


^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm= 14.90 (s, 1H), 8.61 – 8.46 (m, 1H), 7.79 – 7.65 (m, 1H), 7.28 – 7.07 (m, 4H), 6.81 – 6.69 (m, 2H), 4.41 – 4.21 (m, 2H), 3.77 – 3.63 (m, 3H), 3.60 – 3.40 (m, 1H), 3.36 – 3.17 (m, 4H), 2.99 – 2.87 (m, 1H), 2.89 – 2.61 (m, 4H), 1.74 – 1.60 (m, 2H), 1.30 – 1.19 (m, 18H), 0.87 – 0.72 (m, 3H).

^{13}C NMR (100 MHz; CDCl_3) δ ppm= 176.7, 172.2, 166.8, 158.9, 152.3, 147.2, 145.6, 145.5, 139.0, 130.7, 129.0, 129.0, 114.0, 107.7, 104.9, 69.2, 55.2, 49.9, 42.6, 35.4, 31.8, 29.8, 29.6, 29.4, 29.2, 28.5, 26.5, 22.6, 14.1, 8.1.

HRMS obliczone dla $\text{C}_{36}\text{H}_{47}\text{FN}_4\text{O}_5\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 657.7832, znalezienie: 657.7832

9.5.7. Synteza 1-((4-methoxybenzyl)amino)-1-oxotetradecan-2-yl 1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-7-(piperazin-1-yl)-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylate

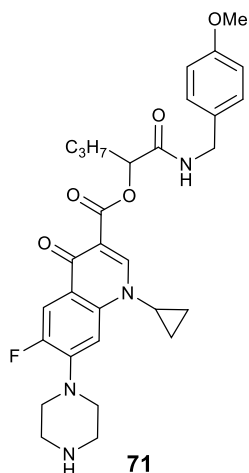


^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm= 14.88 (s, 1H), 8.62 (s, 1H), 7.92 – 7.75 (m, 1H), 7.23 (d, $J = 7.0$ Hz, 1H), 7.15 (m, 2H), 6.95 (m, 1H), 6.82 – 6.74 (m, 2H), 4.38 – 4.31 (m, 2H), 3.72 (s, 3H), 3.47 (s, 1H), 3.31 – 3.16 (m, 4H), 2.94 – 2.86 (m, 1H), 2.79 – 2.61 (m, 4H), 1.73 – 1.60 (m, 2H), 1.40 – 1.15 (m, 24H), 0.81 (m, 3H).

^{13}C NMR (100 MHz; CDCl_3) δ ppm= 172.3, 166.9, 159.0, 152.3, 147.3, 145.6, 139.0, 130.7, 129.1, 114.1, 112.4, 108.0, 104.7, 69.3, 55.3, 42.6, 35.2, 31.9, 29.8, 29.6, 29.6, 29.6, 29.6, 29.5, 29.3, 28.4, 26.6, 22.6, 14.1, 8.2. HRMS obliczone dla $\text{C}_{39}\text{H}_{53}\text{FN}_4\text{O}_5\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 699.8642,

znalezienie: 699.8652.

9.5.8. Synteza 1-((4-methoxybenzyl)amino)-1-oxopentan-2-yl 1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-7-(piperazin-1-yl)-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylate

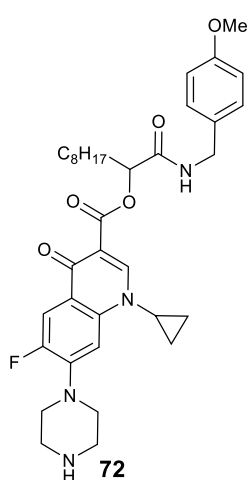


^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm= 14.88 (s, 1H), 7.80 (d, $J = 13.1$ Hz, 1H), 7.80 (m, 1H), 7.26 – 7.18 (m, 1H), 7.19 – 7.08 (m, 2H), 7.02 (s, 1H), 6.82 – 6.72 (m, 2H), 4.33 (m, 2H), 3.70 (s, 3H), 3.52 – 3.41 (m, 1H), 3.32 – 3.15 (m, 4H), 3.00 – 2.87 (m, 1H), 2.82 – 2.57 (m, 4H), 1.71 – 1.58 (m, 2H), 1.33 – 1.28 (m, 2H), 1.18 (m, 2H), 1.13 – 1.07 (m, 2H), 0.92 – 0.84 (m, 3H).

^{13}C NMR (100 MHz; CDCl_3) δ ppm= 176.9, 176.9, 166.9, 159.0, 154.8, 152.3, 147.3, 145.7, 145.6, 139.0, 130.7, 129.0, 119.6, 119.6, 114.1, 112.3, 112.1, 107.9, 104.8, 69.1, 55.3, 50.0, 49.9, 42.6, 35.3, 30.5, 29.7,

29.6, 29.3, 22.6, 19.9, 14.2, 14.1, 8.2. HRMS obliczone dla $\text{C}_{30}\text{H}_{35}\text{FN}_4\text{O}_5\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 573.2489, znalezienie: 573.2490.

9.5.9. Synteza 1-((4-methoxybenzyl)amino)-1-oxodecan-2-yl 1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-7-(piperazin-1-yl)-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylate

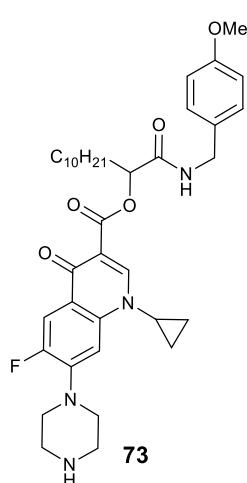


^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm= 1714.92 (s, 1H), 8.61 – 8.46 (m, 1H), 7.79 – 7.65 (m, 1H), 7.29 – 7.07 (m, 4H), 6.81 – 6.69 (m, 2H), 4.41 – 4.21 (m, 2H), 3.76 – 3.64 (m, 3H), 3.60 – 3.40 (m, 1H), 3.36 – 3.17 (m, 4H), 3.05 – 2.89 (m, 1H), 2.89 – 2.61 (m, 4H), 1.74 – 1.60 (m, 2H), 1.37 – 1.09 (m, 16H), 0.87 – 0.72 (m, 3H).

^{13}C NMR (100 MHz; CDCl_3) δ ppm= 176.7, 172.2, 166.8, 158.9, 152.2, 147.2, 145.6, 145.5, 139.0, 130.7, 129.0, 129.0, 114.0, 114.0, 107.7, 104.9, 69.2, 55.2, 49.9, 42.6, 35.4, 31.8, 29.8, 29.6, 29.4, 29.2, 28.5, 26.5, 22.6, 14.1, 8.1.

HRMS obliczone dla $\text{C}_{35}\text{H}_{45}\text{FN}_4\text{O}_5\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 643.3272, znalezienie: 643.3266

9.5.10. Synteza 1-((4-methoxybenzyl)amino)-1-oxododecan-2-yl 1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-7-(piperazin-1-yl)-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylate



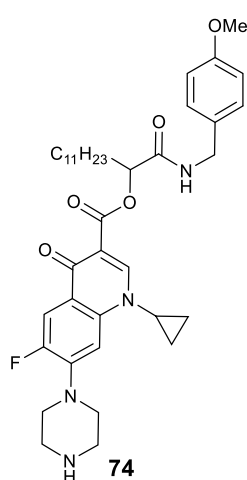
$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ ppm= 14.86 (s, 1H), 8.62 (s, 1H), 7.87 (d, J = 13.0 Hz, 1H), 7.21 (d, J = 7.1 Hz, 1H), 7.15 – 7.11 (m, 2H), 6.94 – 6.85 (m, 1H), 6.80 – 6.75 (m, 2H), 4.35 – 4.30 (m, 2H), 3.70 (s, 3H), 3.47 – 3.40 (m, 1H), 3.27 – 3.15 (m, J = 4.6, 3.3 Hz, 4H), 2.92 – 2.85 (m, 1H), 2.76 – 2.61 (m, 4H), 1.69 – 1.62 (m, 2H), 1.40 – 1.11 (m, 20H), 0.81 – 0.77 (m, 3H).

$^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz; CDCl_3) δ ppm= 176.9, 172.3, 166.9, 159.0, 147.3, 145.5, 139.0, 130.7, 129.0, 119.8, 119.7, 114.1, 114.1, 112.4, 112.2, 108.0, 104.7, 69.3, 55.3, 49.9, 42.6, 35.2, 31.9, 29.8, 29.6, 29.4, 29.3,

28.4, 26.6, 22.6, 14.1, 8.2.

HRMS obliczone dla $\text{C}_{37}\text{H}_{49}\text{FN}_4\text{O}_5\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 671.3585, znalezienie: 671.3593

9.5.11. Synteza 1-((4-methoxybenzyl)amino)-1-oxotridecan-2-yl 1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-7-(piperazin-1-yl)-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylate

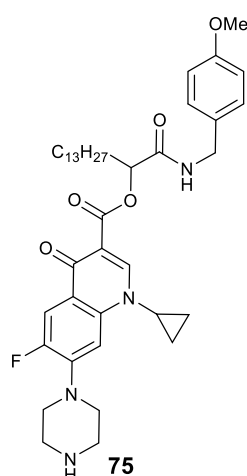


$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ ppm= 14.86 (s, 1H), 8.62 (s, 1H), 7.87 (d, J = 13.0 Hz, 1H), 7.21 (d, J = 7.1 Hz, 1H), 7.15 – 7.11 (m, 2H), 6.94 – 6.85 (m, 1H), 6.80 – 6.75 (m, 2H), 4.35 – 4.30 (m, 2H), 3.70 (s, 3H), 3.47 – 3.40 (m, 1H), 3.27 – 3.15 (m, J = 4.6, 3.3 Hz, 4H), 2.92 – 2.85 (m, 1H), 2.76 – 2.61 (m, 4H), 1.69 – 1.62 (m, 2H), 1.34 – 1.26 (m, 4H), 1.24 – 1.13 (m, 16H), 1.08 (m, 2H), 0.81 – 0.77 (m, 3H).

$^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz; CDCl_3) δ ppm= 177.0, 166.9, 159.0, 147.3, 139.0, 129.1, 129.0, 114.1, 114.1, 108.0, 99.1, 99.0, 69.1, 67.3, 67.2, 62.6, 62.5, 55.3, 49.9, 42.7, 35.3, 30.8, 29.8, 28.1, 25.5, 23.4, 21.0, 19.8, 19.8, 8.2.

HRMS obliczone dla $\text{C}_{38}\text{H}_{51}\text{FN}_4\text{O}_5\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 685.3741, znalezienie: 685.3744

9.5.12. Synteza 1-((4-methoxybenzyl)amino)-1-oxopentadecan-2-yl 1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-7-(piperazin-1-yl)-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylate



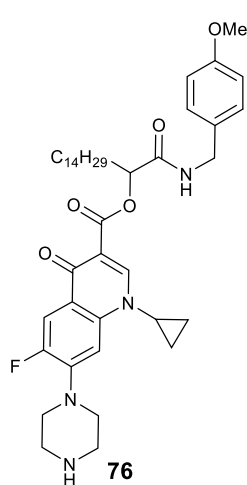
$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ ppm= 14.92 (s, 1H), 8.56 (s, 1H), 7.78 (d, J = 12.7 Hz, 1H), 7.29 – 7.21 (m, 1H), 7.20 – 7.15 (m, 2H), 7.13 – 7.05 (m, 1H), 6.82 – 6.75 (m, 2H), 4.41 – 4.32 (m, 2H), 3.77 – 3.67 (m, 3H), 3.52 (s, 1H), 3.35 – 3.21 (m, 4H), 3.00 – 2.87 (m, 1H), 2.84 – 2.61 (m, 4H), 1.77 – 1.61 (m, 2H), 1.37 – 1.32 (m, 2H), 1.27 – 1.19 (m, 22H), 1.15 – 1.11 (m, 2H), 0.89 – 0.77 (m, 3H).

$^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz; CDCl_3) δ ppm= 176.8, 176.8, 172.3, 166.8, 158.9, 152.3, 147.2, 145.7, 145.6, 139.0, 130.7, 129.0, 119.5, 119.4, 114.0, 112.1, 111.9, 107.8, 104.8, 69.3, 55.2, 49.9, 42.6, 35.3, 31.9, 29.8, 29.7,

29.6, 29.6, 29.6, 29.5, 29.3, 28.5, 26.6, 22.6, 14.1, 8.1.

HRMS obliczone dla $\text{C}_{40}\text{H}_{55}\text{FN}_4\text{O}_5\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 713.4054, znalezienie: 713.4056

9.5.13. Synteza 1-((4-methoxybenzyl)amino)-1-oxohexadecan-2-yl 1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-7-(piperazin-1-yl)-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylate



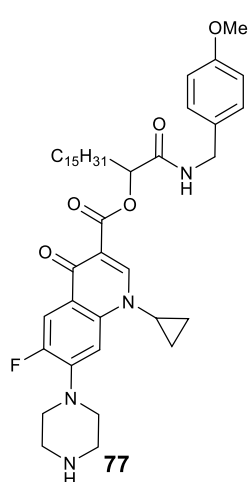
$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ ppm= 14.95 (s, 1H), 8.77 – 8.62 (m, 1H), 8.04 – 7.86 (m, 1H), 7.33 – 7.27 (m, 1H), 7.24 – 7.17 (m, 2H), 7.06 – 6.93 (m, 1H), 6.89 – 6.81 (m, 2H), 4.44 – 4.36 (m, 2H), 3.82 – 3.74 (m, 3H), 3.59 – 3.46 (m, 1H), 3.37 – 3.23 (m, 4H), 3.01 – 2.91 (m, 1H), 2.86 – 2.66 (m, 4H), 1.78 – 1.67 (m, 2H), 1.42 – 1.32 (m, 4H), 1.30 – 1.22 (m, 22H), 1.21 – 1.16 (m, 2H), 0.90 – 0.83 (m, 3H).

$^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz; CDCl_3) δ ppm = 176.9, 172.3, 166.9, 159.0, 152.3, 147.3, 145.6, 139.0, 130.7, 129.1, 119.7, 114.1, 112.4, 112.2, 108.0, 104.7, 69.3, 55.3, 49.9, 42.6, 35.2, 31.9, 29.8, 29.7, 29.6, 29.6, 29.6, 29.5,

29.3, 28.4, 26.6, 22.6, 14.1, 8.2.

HRMS obliczone dla $\text{C}_{41}\text{H}_{57}\text{FN}_4\text{O}_5\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 727.4211, znalezienie: 727.4217

9.5.14. Synteza 1-((4-methoxybenzyl)amino)-1-oxoheptadecan-2-yl 1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-7-(piperazin-1-yl)-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylate



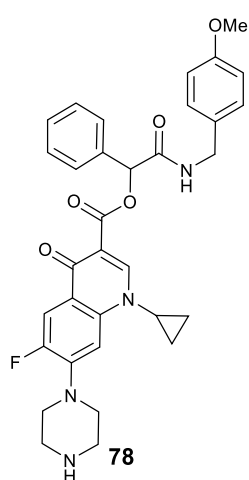
$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ ppm= 14.94 (s, 1H), 8.82 – 8.59 (m, 1H), 8.09 – 7.86 (m, 1H), 7.32 – 7.27 (m, 1H), 7.24 – 7.17 (m, 2H), 7.04 – 6.92 (m, 1H), 6.89 – 6.81 (m, 2H), 4.43 – 4.37 (m, 2H), 3.81 – 3.75 (m, 3H), 3.57 – 3.46 (m, 1H), 3.41 – 3.17 (m, 4H), 3.03 – 2.92 (m, 1H), 2.88 – 2.62 (m, 4H), 1.77 – 1.68 (m, 2H), 1.45 – 1.32 (m, 4H), 1.25 (m, 24H), 1.21 – 1.16 (m, 2H), 0.91 – 0.84 (m, 3H).

$^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz; CDCl_3) δ ppm = 177.0, 172.3, 166.9, 159.0, 152.3, 147.3, 139.0, 139.0, 130.7, 129.1, 129.1, 114.1, 114.1, 112.5, 112.2, 108.1, 104.7, 69.3, 49.9, 42.6, 35.2, 31.9, 29.8, 29.7, 29.6, 29.6, 29.6,

29.6, 29.5, 28.4, 26.6, 22.6, 14.1, 8.2.

HRMS obliczone dla $\text{C}_{42}\text{H}_{59}\text{FN}_4\text{O}_5\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 741.4367, znalezienie: 741.4371

9.5.15. Synteza 2-((4-methoxybenzyl)amino)-2-oxo-1-phenylethyl 1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-7-(piperazin-1-yl)-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylate

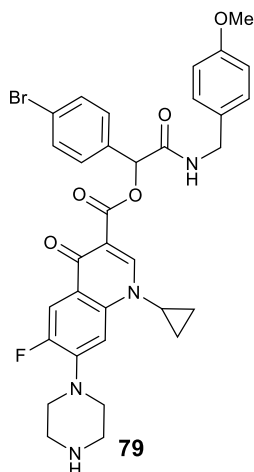


$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ ppm= 14.93 (s, 1H), 8.68 (s, 1H), 8.01 – 7.83 (m, 1H), 7.44 – 7.31 (m, 5H), 7.30 – 7.26 (m, 1H), 7.23 – 7.18 (m, 1H), 7.17 – 7.11 (m, 2H), 6.87 – 6.79 (m, 2H), 4.48 – 4.33 (m, 2H), 3.78 (s, 3H), 3.50 (s, 1H), 3.34 (s, 4H), 2.71 (s, 4H), 1.36 – 1.14 (m, 5H).

$^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz; CDCl_3) δ ppm = 176.9, 166.8, 159.0, 152.3, 147.3, 138.9, 130.3, 129.1, 129.0, 129.0, 128.9, 128.9, 128.8, 128.8, 114.1, 114.1, 114.1, 108.0, 55.3, 55.3, 5.12, 42.8, 35.3, 8.9.

HRMS obliczone dla $\text{C}_{33}\text{H}_{33}\text{FN}_4\text{O}_5\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 607.2333, znalezienie: 607.2339

9.5.16. Synteza 1-(4-bromophenyl)-2-((4-methoxybenzyl)amino)-2-oxoethyl 1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-7-(piperazin-1-yl)-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylate

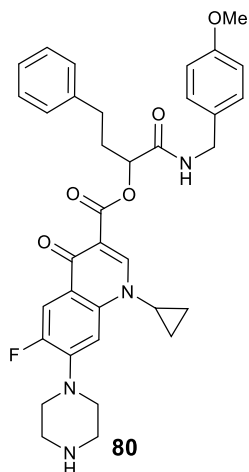


^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm= 14.91 (s, 1H), 8.71 (s, 1H), 7.96 (d, J = 13.0 Hz, 1H), 7.53 – 7.45 (m, 2H), 7.33 – 7.20 (m, 2H), 7.18 – 7.13 (m, 2H), 7.10 (s, 1H), 6.89 – 6.81 (m, 2H), 4.48 – 4.32 (m, 2H), 3.95 (s, 1H), 3.80 (s, 3H), 3.54 – 3.43 (m, 1H), 3.35 – 3.25 (m, 4H), 2.69 – 2.60 (m, 4H), 1.62 (s, 1H), 1.41 – 1.31 (m, 2H), 1.21 – 1.13 (m, 2H).

^{13}C NMR (100 MHz; CDCl_3) δ ppm= 177.0, 166.9, 159.0, 154.8, 152.3, 147.3, 139.0, 130.7, 129.1, 114.1, 112.4, 112.1, 108.0, 104.8, 69.3, 55.3, 49.9, 49.9, 42.7, 35.3, 31.9, 28.4, 26.2, 26.2, 22.5, 14.0, 8.2.

HRMS obliczone dla $\text{C}_{32}\text{H}_{32}\text{BrFN}_4\text{O}_5\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 685.1438, znalezienie: 685.1431

9.5.17. Synteza 1-((4-methoxybenzyl)amino)-1-oxo-4-phenylbutan-2-yl 1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-7-(piperazin-1-yl)-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylate



^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm= 14.95 (s, 1H), 8.72 (s, 1H), 7.97 (d, J = 13.0 Hz, 1H), 7.31 – 7.15 (m, 8H), 6.98 (s, 1H), 6.89 – 6.82 (m, 2H), 4.52 – 4.32 (m, 2H), 3.78 (s, 3H), 3.51 (s, 1H), 3.36 – 3.17 (m, 4H), 3.06 – 3.00 (m, 1H), 2.90 – 2.63 (m, 6H), 2.09 – 2.00 (m, 2H), 1.41 – 1.33 (m, 2H), 1.21 – 1.15 (m, 2H).

^{13}C NMR (100 MHz; CDCl_3) δ ppm= 166.9, 159.1, 147.4, 141.5, 130.6, 129.1, 128.5, 128.4, 126.1, 114.2, 108.2, 68.1, 55.3, 50.0, 49.7, 42.8, 35.2, 32.9, 29.4, 8.2.

HRMS obliczone dla $\text{C}_{35}\text{H}_{37}\text{FN}_4\text{O}_5\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 635.2646, znalezienie: 635.2646