

ROZPRAWA
DOKTORSKA

Badanie wpływu układów micelarnych oraz wybranych enzymów na przebieg reakcji Passeriniego

K-8-172
A-21-6

mgr inż. Daniel Paprocki

Praca doktorska wykonana w Instytucie Chemii Organicznej PAN
w latach 2014 – 2018

Promotor: Prof. dr hab. inż. Ryszard Ostaszewski

Warszawa 2018

Biblioteka Instytutu Chemii Organicznej PAN

O-B.408/19



30000000132702



B. Org. 408/19

Serdecznie dziękuję mojemu promotorowi, Panu prof. dr hab. inż. Ryszardowi Ostaszewskiemu za wybór interesującej tematyki badawczej oraz za wszechstronną pomoc podczas realizacji niniejszej pracy.

Dziękuję również koleżankom i kolegom z Zespołu XX, w szczególności Dominikowi Koszelewskiemu za wiele lat wspólnej pracy oraz nieocenione porady i wiedzę, niezbędne do wykonania niniejszych badań.

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

1. D. Paprocki, D. Koszelewski, P. Walde, R. Ostaszewski „*Efficient Passerini reactions in an aqueous vesicle system*” *RSC Adv.* **2015**, 5, 102828-102835.
2. D. Paprocki, D. Koszelewski, A. Żądło, P. Walde, R. Ostaszewski „*Environmental friendly approach to α -acetoxy carboamides via a chemoenzymatic cascade*” *RSC Adv.* **2016**, 6, 68231-68237.
3. D. Paprocki, M. Wilk, A. Madej, P. Walde, R. Ostaszewski „*Catalyst-free synthesis of α -acyloxycarboxamides in aqueous media*” *Environ. Chem. Lett.* doi: 10.1007/s10311-018-0797-5.

Opublikowane prace, które nie wchodzą w skład rozprawy doktorskiej:

1. D. Koszelewski, M. Zysk, A. Brodzka, A. Żądło, D. Paprocki, R. Ostaszewski „*Evaluation of a new protocol for enzymatic dynamic kinetic resolution of 3-hydroxy-3-(aryl)propanoic acids*” *Org. Biomol. Chem.* **2015**, 13, 11014-11020.
2. D. Koszelewski, A. Brodzka, A. Żądło, D. Paprocki, D. Trzepizur, M. Zysk, R. Ostaszewski „*Dynamic Kinetic Resolution of 3-Aryl-4-pentenoic Acids*” *ACS Catal.*, **2016**, 6, 3287-3292.
3. A. Żądło-Dobrowolska, M. Szczygieł, D. Koszelewski, D. Paprocki, R. Ostaszewski „*Self-immolative versatile fluorogenic probes for screening of hydrolytic enzyme activity*” *Org. Biomol. Chem.*, **2016**, 14, 9146-9150.
4. A. Żądło-Dobrowolska, S. Kłossowski, D. Koszelewski, D. Paprocki, R. Ostaszewski „*Enzymatic Ugi Reaction with Amines and Cyclic Imines*” *Chem. Eur. J.* **2016**, 22, 16684-16689.
5. D. Koszelewski, D. Paprocki, A. Madej, F. Borys, A. Brodzka, R. Ostaszewski „*Enzymatic Tandem Approach to Knoevenagel Condensation of Acetaldehyde with Acidic Methylene Compounds in Organic Media*” *Eur. J. Org. Chem.* **2017**, 4572-4579.
6. A. Madej, D. Paprocki, D. Koszelewski, A. Żądło-Dobrowolska, A. Brzozowska, P. Walde, R. Ostaszewski „*Efficient Ugi reactions in an aqueous vesicle system*” *RSC Adv.* **2017**, 7, 33344-33354.
7. D. Koszelewski, D. Paprocki, A. Brodzka, R. Ostaszewski „*Enzyme mediated kinetic resolution of δ -hydroxy- α,β -unsaturated esters as a route to optically active δ -lactones*” *Tetrahedron-Asymmetr.* **2017**, 28, 809-818.
8. A. Żądło-Dobrowolska, D. Koszelewski, D. Paprocki, A. Madej, M. Wilk, R. Ostaszewski „*Enzyme Promoted Asymmetric Tandem Passerini Reaction*” *ChemCatChem* **2017**, 9, 3047-3053.

9. D. Koszlewski, D. Trzepizur, E. Zaorska, A. Madej, A. Brodzka, D. Paprocki, F. Borys, M. Wilk, R. Ostaszewski „*Facile Conversion of α -Acyloxy Amides into 3-Hydroxy-lactams*” *Eur. J. Org. Chem.* **2018**, 3280-3290.
10. F. Borys, D. Paprocki, D. Koszelewski, R. Ostaszewski „*The studies on the chemoenzymatic synthesis of 2-benzyl-3-butenoic acid*” *Catal. Commun.* **2018**, 114, 6-9.
11. A. Madej, D. Koszelewski, D. Paprocki, A. Brodzka, R. Ostaszewski „*The sustainable synthesis of peptidomimetics via chemoenzymatic tandem oxidation–Ugi reaction*” *RSC Adv.* **2018**, 8, 28405-28413.
12. D. Paprocki, A. Madej, D. Koszelewski, A. Brodzka, R. Ostaszewski „*Multicomponent Reactions Accelerated by Aqueous Micelles*” *Front. Chem.* **2018**, 6, Article 502.

Streszczenie

W pracy zatytułowanej „**Badanie wpływu układów micelarnych oraz wybranych enzymów na przebieg reakcji Passeriniego**” opisane zostały wyniki badań nad opracowaniem efektywnej procedury przeprowadzania reakcji Passeriniego w wodnym roztworze surfaktantu. Opracowanie łagodnych warunków reakcji biegnącej w środowisku wodnym umożliwiło rozwinięcie badań o zastosowanie wybranych enzymów, takich jak lakazy i hydrolazy, do syntezy substratów reakcji Passeriniego.

Istotą zaprezentowanej metodologii jest wykorzystanie surfaktantów, związków o budowie amfifilowej, które tworzą w wodzie agregaty, takie jak micelle lub pęcherzyki. Wykazano, że obecność tych agregatów korzystnie wpływa na przebieg reakcji poprzez zwiększanie rozpuszczalności związków organicznych, zwiększanie lokalnego stężenia substratów wewnątrz miceli oraz tworzenie lokalnego środowiska reakcji różnego od roztworu. Dobór odpowiedniego rodzaju i ilości surfaktantu oraz warunków prowadzenia reakcji wymagał szczegółowych badań, które umożliwiły efektywne przeprowadzanie reakcji Passeriniego w środowisku wodnym. Ponadto wykazano, że możliwe jest przeprowadzenie reakcji, w której jeden z substratów, a mianowicie kwas karboksylowy pełni także rolę surfaktantu, promującego jej przebieg.

Kolejne badania wykazały, że możliwe jest połączenie reakcji enzymatycznych biegnących w środowisku wodnym z reakcją Passeriniego w proces kaskadowy. Przeprowadzono badania nad opracowaniem chemoenzymatycznego procesu polegającego na połączeniu utleniania alkoholi do aldehydów tlenem atmosferycznym, katalizowanego przez enzym lakazę w obecności TEMPO z następczą reakcją Passeriniego. Procesy kaskadowe umożliwiają przeprowadzenie szeregu reakcji w jednym naczyniu reakcyjnym, co wiąże się z oszczędnością czasu i energii podyktowanych koniecznością wydzielenia i oczyszczenia produktów pośrednich. Zbadano także możliwość wykorzystania estrów kwasów karboksylowych jako źródła substratów do reakcji Passeriniego. Przeprowadzono badania nad katalizowaną enzymatycznie hydrolizą estru, a następnie utlenieniem otrzymanego alkoholu do odpowiedniego aldehydu. Dodanie izocyjanu do mieszaniny reakcyjnej umożliwiło wykonanie reakcji Passeriniego w jednym naczyniu reakcyjnym. Wykonane badania rozszerzono o opracowanie trzyetapowej procedury kaskadowej pozwalającej na otrzymanie α -acyloksamidów zawierających fragment kumaryny z prostych substratów takich jak alkohol salicylowy, kwas Meldruma, aldehyd i izocyjanek.

Abstract

The dissertation entitled "**The studies on the influence of micellar systems and selected enzymes on the Passerini reaction course**" describes the studies on the development of an effective Passerini reaction procedure in an aqueous surfactant solution. As the developed protocol involved the mild reaction conditions in an aqueous environment, it was further extended to chemoenzymatic tandem approach by the application of selected enzymes such as laccases and hydrolases for the synthesis of Passerini reaction substrates.

The presented methodology is based on the application of surfactants, compounds with amphiphilic structure, which form aggregates in the water, such as micelles or vesicles. It was revealed that the presence of these aggregates has a beneficial effect on the reaction course. It is caused by increased solubility of organic compounds, increased local concentration of substrates inside the micelle and creating a local environment different from the solution. The detailed studies on the type and amount of surfactant as well as the reaction conditions, enabled to proceed the Passerini reaction effectively in the aqueous solution. In addition, the possibility of performing the Passerini reaction in which one of the substrates, the carboxylic acid, also acts as a surfactant promoting reaction course was proven.

The subsequent studies showed that it is possible to combine enzymatic reactions conducted in an aqueous solution with the Passerini reaction in a cascade process. The studies on the development of a cascade procedure involving the oxidation of alcohols to aldehydes by atmospheric oxygen catalyzed by the laccase in the presence of TEMPO followed by Passerini reaction were carried out. Cascade protocols allow to perform a multistep reactions in one reaction vessel, which is associated with saving time and energy for the separation and purification of intermediates. The possibility of usage of ester as a source of substrates for the Passerini reaction was also examined. The studies on lipase catalyzed hydrolysis of the ester, followed by the oxidation of the alcohol obtained to the corresponding aldehyde were carried out. The addition of isocyanide to the reaction mixture enabled to perform the Passerini reaction in one vessel. The research was extended by the development of a three-step cascade procedure leading to α -acyloxyamides containing a coumarin scaffold from simple substrates such as a salicylic alcohol, a Meldrum's acid, an aldehyde and an isocyanide.

Wykaz skrótów:

ABTS – kwas 2,2'-azyno-bis [3-etylbenzotiazoliny-6-sulfonowy]	Et – grupa etylowa, C ₂ H ₅ -
AOT – dwu (2-etylohekylo)sulfobursztynian sodu	HOBt – hydroksybenzotriazol
i-Bu – grupa <i>izo</i> -butylowa, (CH ₃) ₂ CH ₂ CH ₂ -	HPLC – wysokosprawna chromatografia cieczowa
n-Bu – grupa butylowa, C ₄ H ₉ -	HRMS – wysoko rozdzielcza spektrometria mas
t-Bu – grupa <i>tert</i> -butylowa, (CH ₃) ₃ C-	IBX –kwas <i>o</i> -jodoksybenzoesowy
Bz – grupa benzyłowa, PhCH ₂ -	Me – grupa metylowa, CH ₃ -
CMC – krytyczne stężenie micelizacji	NMR – spektroskopia magnetycznego rezonansu jądrowego
CTAB – bromek heksadecylotrimetyloammoniumowy	PADAM – strategia oparta na reakcji Passeriniego, odbezpieczaniu aminy, migracji grupy acylowej
DABCO – 1,4-diazabicyklo[2.2.2]oktan	Ph – grupa fenyłowa, C ₆ H ₅ -
DBSA – kwas dodecylobenzenosulfonowy	POPC – 1-palmitoilo-2-oleilo-glicero-3-fosfocholina
DDAB – bromek dilaurylodimetyloammoniumowy	SDS – laurylosiarczan sodu
DFT – metody chemii obliczeniowej oparte na teorii funkcjonału gęstości	TBME – eter <i>tert</i> -butylo-metyłowy
DiI – nadchloranem 1,1'-dioktadecylo-3,3,3',3'-tetrametyloindokarbocyaniny	TEMPO – 2,2,6,6-tetrametylopiperdyd-1-oksyl
DLS – dynamiczne rozpraszanie światła	TLC – chromatografia cienkowarstwowa
DMF – dimetyloformamid	TMS – tetrametylosilan
DMSO – dimetylosulfotlenek	TMSCN – trimetylosilylonitryl
DODAB – bromek dioktadecylodimetyloammoniumowy	t.top. – temperatura topnienia
d.r. – proporcja diastereoizomerów	TvL – lakaza z <i>Trametes versicolor</i>
e.e. – nadmiar enancjomeryczny	Span 60 – monostearynian sorbitolu

Spis treści

1. Wstęp	11
2. Reakcja Passeriniego	12
2.1. Wybrane warianty reakcji Passeriniego	14
2.2. Wykorzystanie reakcji Passeriniego w syntezie związków o aktywności biologicznej	19
3. Reakcje multikomponentowe w wodzie	23
3.1. Reakcje chemiczne w wodzie	23
3.2. Surfaktanty i agregaty	24
3.3. Kataliza „micelarna”	27
3.4. Wybrane przykłady reakcji multikomponentowych w wodzie	30
4. Reakcje utleniania katalizowane przez lakazy	37
4.1. Budowa lakaz	37
4.2. Reakcje katalizowane przez lakazy	39
4.2.1. Reakcje utleniania bez udziału mediatora	39
4.2.2. Reakcje utleniania w obecności mediatora	41
4.2.3. Reakcje sprzęgania katalizowane przez lakazy	45
5. Badania własne	48
5.1. Koncepcja i cel badań	48
5.2. Badania nad opracowaniem warunków prowadzenia reakcji Passeriniego w środowisku wodnym w obecności układów micelarnych	49
5.2.1. Badania wstępne	49
5.2.2. Badania nad reakcją Passeriniego w środowisku wodnym	52
5.2.3. Reakcja Passeriniego prowadzona w wodzie z amfifilowego substratu	58
5.3. Synteza chiralnych, nieracemicznych surfaktantów oraz badania nad ich wpływem na reakcję Passeriniego.	66
5.3.3. Wpływ uzyskanych estrów glukozy na przebieg reakcji Passeriniego	71
5.4. Badania nad połączeniem reakcji Passeriniego z reakcjami enzymatycznymi	73
5.4.1. Badania nad opracowaniem chemoenzymatycznej kaskady łączącej utlenianie alkoholi z reakcją Passeriniego	73
5.4.2. Badania nad chemoenzymatyczną syntezą produktów reakcji Passeriniego z wykorzystaniem estrów jako substraty	81
5.5. Badania nad opracowaniem trzyetapowej procedury prowadzonej w jednym reaktorze otrzymywania α -acyloksyamidów z ugrupowaniem kumaryny	83
5.6. Podsumowanie badań własnych	94
6. Część eksperymentalna	96

6.1. Uwagi ogólne	96
6.2. Badania nad opracowaniem reakcji Passeriniego w wodzie.....	96
6.2.1. Synteza substratów do reakcji Passeriniego	96
6.2.2. Reakcje Passeriniego	97
6.3. Synteza estrów glukozy.....	110
6.3.1. Wpływ chiralnych nieracemicznych surfaktantów na reakcję Passeriniego ..	114
6.4. Reakcje enzymatyczne oraz następcza reakcja Passeriniego.....	114
6.4.1. Utlenianie alkoholu oraz reakcja Passeriniego	114
6.4.2. Badania nad reakcjami Passeriniego z estru	117
6.5. Otrzymywanie α -acyloksyamidów z ugrupowaniem kumaryny.....	118

1. Wstęp

Multikomponentowa reakcja Passeriniego pozwala na łatwą, jednoetapową syntezę pochodnych α -acyloksyamidu. Związki te, ze względu na podobną strukturę do peptydów posiadają szereg aktywności biologicznych oraz mogą być cennymi substratami do dalszych syntez. Zazwyczaj reakcje Passeriniego prowadzi się w rozpuszczalnikach organicznych takich jak chlorek metylenu. Jednak wiąże się to z licznymi niedogodnościami, ponieważ są to substancje trujące, palne oraz szkodliwe dla środowiska.

Woda jest rzadko używanym rozpuszczalnikiem w syntezie organicznej, co najczęściej jest spowodowane niską rozpuszczalnością związków organicznych w tym rozpuszczalniku oraz faktem, że wiele związków, w szczególności katalizatorów metaloorganicznych, ulega rozkładowi pod wpływem wody. Jednym ze sposobów na prowadzenie reakcji w wodzie jest zastosowanie surfaktantów. Związki te mogą tworzyć agregaty, takie jak micelle lub pęcherzyki, które znacząco poprawiają rozpuszczalność związków organicznych oraz tworzą unikatowe środowisko reakcji, co może korzystnie wpływać na jej przebieg. W związku z powyższym, mogą one być uważane za rodzaj nanoreaktorów, w których prowadzona jest synteza.¹ Ponadto, prowadzenie reakcji w obecności dwuwarstw i pęcherzyków może tworzyć uproszczony model środowiska naturalnego, obecnego w żywych komórkach.

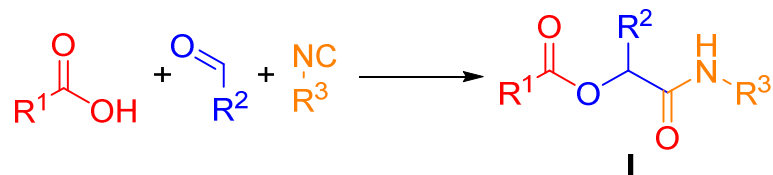
W niniejszej pracy przedstawiono badania nad opracowaniem reakcji Passeriniego w środowisku wodnym. Prowadzenie reakcji Passeriniego w wodzie może umożliwić połączenie jej z reakcjami enzymatycznymi w procesy kaskadowe lub prowadzone w jednym reaktorze, co zdecydowanie poszerza arsenał dostępnych metod syntetycznych. Procesy kaskadowe, w porównaniu z syntezą wieloetapową, pozwalają na znaczną oszczędność czasu i energii, ponieważ nie trzeba izolować oraz oczyszczać każdorazowo produktu pośredniego pomiędzy poszczególnymi etapami reakcji. W związku z powyższym opracowanie tego typu metodologii jest bardzo pożądane z punktu widzenia technologii, która spełniałaby zasady „zielonej chemii”.²

¹ A. Sorrenti, O. Illa, R.M. Ortuno, *Chem. Soc. Rev.* **2013**, 42, 8200.

² P.T. Anastas, J.C. Warner, *Green Chemistry: Theory and Practice*; Oxford University Press: New York, **1998**, p.30.

2. Reakcja Passeriniego

Jedną z najważniejszych reakcji multikomponentowych jest opisana już w 1921 roku reakcja Passeriniego.³ Zachodzi ona pomiędzy kwasem karboksylowym, związkiem karbonylowym (zazwyczaj aldehydem) oraz izocyjankiem. Produktami tej reakcji są α -acyloksyamidy **I** (Schemat 1).



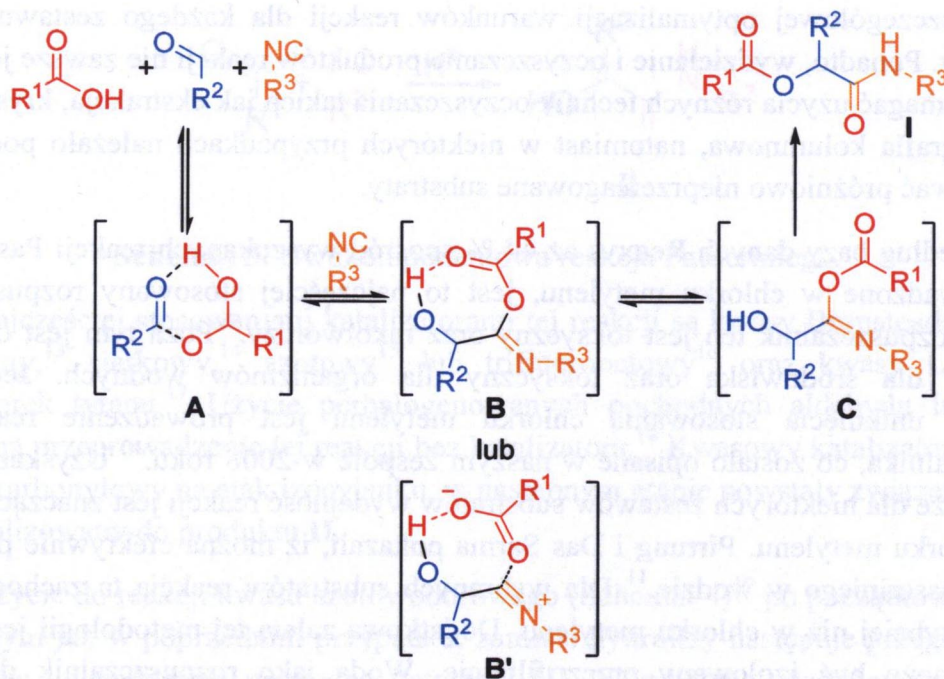
Schemat 1. Przebieg reakcji Passeriniego.

Powszechnie akceptowany mechanizm reakcji Passeriniego został zaproponowany w latach sześćdziesiątych ubiegłego wieku przez Ivara Ugiego (Schemat 2).⁴ Początkowo z kwasu karboksylowego oraz aldehydu powstaje addukt **A**, który reaguje z izocyjankiem tworząc nienaładowaną strukturę **B**, a następnie α -addukt **C**. Ostatnim etapem reakcji jest transfer grupy acylowej, zwany także przegrupowaniem Mumma, który prowadzi do produktu **I**. Jest to etap nieodwracalny, który stanowi siłę napędową reakcji. Wśród zaproponowanych przez różne grupy badawcze wariantów mechanizmu reakcji Passeriniego często sugerowana jest struktura **B'** posiadająca ładunek. Za obecnością nie posiadającej ładunku struktury **B** przemawia fakt, iż reakcja zachodzi zdecydowanie szybciej w rozpuszczalnikach niepolarnych takich jak chlorek metylenu. Natomiast obliczenia DFT sugerują udział struktury **B'** (nawet gdy reakcja jest prowadzona w chlorku metylenu) oraz to, że w akcie reakcyjnym uczestniczą dwie cząsteczki kwasu karboksylowego, które stabilizują strukturę **B'** oraz dodatkowo katalizują przegrupowanie Mumma.⁵

³ M. Passerini, *Gazz. Chim. Ital.* **1921**, *51*, 126; M. Passerini, *Gazz. Chim. Ital.* **1922**, *52*, 432.

⁴ I. Ugi, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1962**, *1*, 8; L. Banfi, R. Riva, "The Passerini Reaction". *Org. React.* **2005**, *65*, 1–140.

⁵ R. Ramozzi, K. Morokuma, *J. Org. Chem.* **2015**, *80*, 5652.



Schemat 2. Mechanizm reakcji Passeriniego.

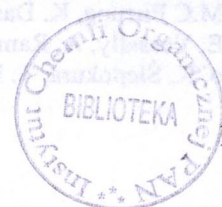
Reakcję Passeriniego wykonuje się w jednym naczyniu reakcyjnym według prostej procedury polegającej na zmieszaniu substratów w odpowiednim medium reakcyjnym, co jest jej zasadniczą zaletą. Poza tym, pomimo skomplikowanego mechanizmu podczas tej reakcji teoretycznie nie powstaje żaden produkt uboczny, dlatego reakcja Passeriniego charakteryzuje się stuprocentową „wydajnością atomową”, co bardzo dobrze wpisuje się w założenia „zielonej chemii”.⁶ Reakcja jest także bardzo interesująca z punktu widzenia chemii kombinatorycznej,⁷ ponieważ z niewielkiej liczby substratów, np. 10 kwasów karboksylowych, 10 aldehydów oraz 10 izocyjanków, można teoretycznie otrzymać aż 1000 różnych α-acyloksyamidów, co jest bardzo pożądane przy syntezie bibliotek związków.

Pomimo, iż teoretycznie α-acyloksyamid jest jedynym produktem reakcji Passeriniego, w mieszaninie reakcyjnej często obserwuje się różne produkty uboczne i zanieczyszczenia. Jednym z najczęściej obserwowanych produktów ubocznych (poza nieprzereagowanymi substratami) jest produkt katalizowanej kwasem hydrolizy izocyjanku, *N*-podstawiony formamid.⁸ Poza tym, prowadząc reakcję przez dłuższy czas, aldehyd może zostać utleniony do kwasu lub ulec reakcji Cannizzaro, który bierze udział w konkurencyjnej reakcji Passeriniego tworząc niepożądany produkt. W związku z powyższym wydajność reakcji w dużym stopniu zależy od warunków jej prowadzenia oraz od reaktywności użytych substratów. Uzyskanie produktu z wysoką wydajnością

⁶ P.T. Anastas, J.C. Warner, *Green Chemistry: Theory and Practice*; Oxford University Press: New York, 1998, p.30.

⁷ A. Domling, W. Wang, K. Wang, *Chem. Rev.* 2012, 112, 3083.

⁸ A. M. S. Mayer, E. Aviles and A. D. Rodriguez, *Bioorg. Med. Chem.* 2012, 20, 279



wymaga szczegółowej optymalizacji warunków reakcji dla każdego zestawu użytych substratów. Ponadto, wydzielenie i oczyszczanie produktów reakcji nie zawsze jest proste i może wymagać użycia różnych technik oczyszczania takich jak ekstrakcja, krystalizacja, chromatografia kolumnowa, natomiast w niektórych przypadkach należało początkowo oddestylować próżniowo nieprzereagowane substraty.

Według bazy danych Reaxys aż 44 % spośród wyszukanych reakcji Passeriniego było prowadzone w chlorku metylenu, jest to najczęściej stosowany rozpuszczalnik. Niestety rozpuszczalnik ten jest toksyczny oraz rakotwórczy.⁹ Poza tym jest on bardzo szkodliwy dla środowiska oraz toksyczny dla organizmów wodnych. Jednym ze sposobów uniknięcia stosowania chlorku metylenu jest prowadzenie reakcji bez rozpuszczalnika, co zostało opisane w naszym zespole w 2008 roku.¹⁰ Uzyskane wyniki pokazały, że dla niektórych zestawów substratów wydajność reakcji jest znacząco wyższa niż w chlorku metylenu. Pirrung i Das Sarma pokazali, iż można efektywnie prowadzić reakcję Passeriniego w wodzie.¹¹ Dla wybranych substratów reakcja ta zachodzi nawet 18 razy szybciej niż w chlorku metylenu. Dodatkową zaletą tej metodologii jest fakt, iż produkt może być izolowany przez filtrację. Woda jako rozpuszczalnik do reakcji Passeriniego była wykorzystana przez wiele grup badawczych,¹² jednak warto zwrócić uwagę na to, że zazwyczaj reakcja zachodziła z wysoką wydajnością jedynie dla substratów nierozpuszczalnych w wodzie, np. dla kwasu benzoowego, benzaldehydu oraz izocyjanku cykloheksylowego. Próba wyjaśnienia tej prawidłowości zostanie przedstawiona w dalszej części dysertacji, w rozdziale 3.1.

2.1. Wybrane warianty reakcji Passeriniego

Poza opisaną powyżej tradycyjną trzykomponentową reakcją Passeriniego znane są liczne warianty tej reakcji. Są to reakcje pomiędzy izocyjankiem i związkiem karbonylowym, najczęściej w obecności kwasu Bronsteda lub Lewisa, prowadzące do różnorodnych produktów. Są one określane mianem reakcji typu Passeriniego. Do najprostszych należy dwukomponentowa reakcja Passeriniego, czyli katalizowana kwasem addycja izocyjanku do aldehydu prowadząca do α -hydroksyamidu (Schemat 3).

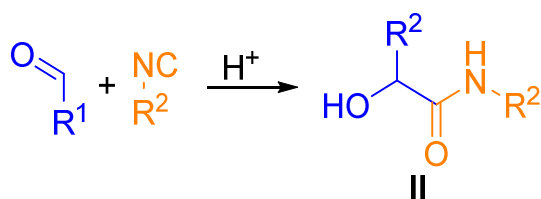
⁹ karta charakterystyki, Sigma-Aldrich,

<https://www.sigmaaldrich.com/MSDS/MSDS/DisplayMSDSPage.do?country=PL&language=pl&productNumber=02575&brand=SI&PageToGoToURL=http%3A%2F%2Fwww.sigmaaldrich.com%2Fcatalog%2Fproduct%2Fsi%2F02575%3Flang%3Dpl>

¹⁰ D. Koszelewski, W. Szymański, J. Krysiak, R. Ostaszewski, *Synthetic Commun.* **2008**, 38, 1120.

¹¹ M.C Pirrung, K. Das Sarma, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 444.

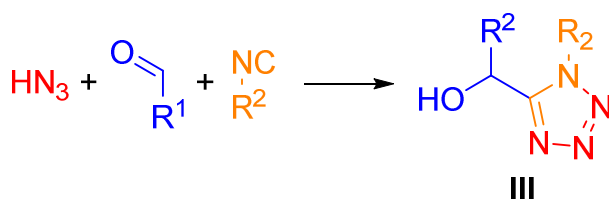
¹² E. Vessally, A. Ramazani, E. Yaaghubi, *Monatsh. Chem.* **2011**, 142, 1143; J. Taran, A. Ramazani, S.W. Joo, K. Ślepokura, T. Lis, *Helv. Chim. Acta* **2014**, 97, 1088.



Schemat 3. Dwukomponentowa reakcja Passeriniego.

Najczęściej stosowanymi katalizatorami tej reakcji są kwasy Bronsteada takie jak kwas solny,¹³ siarkowy,¹⁴ azotowy¹⁵ lub trifluorooctowy¹⁶ oraz kwasy Lewisa np. czterochlorek tytanu.¹⁷ Użycie perhalogenowanych pochodnych aldehydu lub ketonu pozwala na przeprowadzenie tej reakcji bez katalizatora.¹⁸ Kwasowy katalizator aktywuje związek karbonylowy na atak izocyjanku, w następnym etapie powstały związek pośredni jest hydrolizowany do produktu **II**.

Użycie do reakcji kwasu azotowodorowego (Schemat 4)¹⁹ po początkowym etapie identycznym jak w poprzednim przypadku, zamiast hydrolizy następuje przegrupowanie prowadzące do powstania pochodnej tetrazolu **III**. W praktyce zdecydowanie częściej zamiast azotowodoru używa się azydku sodu²⁰ lub azydku trimetylosilenu²¹ w obecności kwasowego katalizatora.



Schemat 4. Reakcja Passeriniego prowadząca do pochodnych tetrazolu.

Reakcja związku karbonylowego oraz dwóch ekwiwalentów izocyjanku wobec eteratu trifluoroboru prowadzi do powstania β,γ -nienasyconego α -oksoamidu **IV** (Schemat 5).²² W tej reakcji jeden ekwiwalent izocyjanku jest źródłem węgla α w strukturze produktu. Co ciekawe, nawet z równomolowej mieszaniny związku karbonylowego oraz izocyjanku wobec eteratu trifluoroboru oczekiwany produkt **II** powstaje w śladowej ilości. Inny przebieg reakcji jest prawdopodobnie spowodowany brakiem nukleofila w mieszaninie reakcyjnej, który mógłby zaatakować izocyjanek aby

¹³ I. Hagedorn, U. Eholzer, H.D. Winkelmann, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1964**, 3, 647.

¹⁴ U. Fetzer, I. Ugi, *Liebigs Ann. Chem.* **1962**, 659, 184.

¹⁵ I. Hagedorn, U. Eholzer, *Chem. Ber.* **1965**, 98, 936.

¹⁶ W.C.J. Lumma, *J. Org. Chem.* **1981**, 46, 3668.

¹⁷ M. Schiess, D. Seebach, *Helv. Chim. Acta* **1983**, 66, 1618; J.P.G. Versleijen, P.M. Faber, H.H.

Bodewes, A.H. Braker, D. van Lausen, A.M. van Leusen, *Tetrahedron Lett.* **1995**, 36, 2109.

¹⁸ A. Shaabani, A. Bazgir, K. Soleimani, H.R. Bijanzahdeh, *J. Fluorine Chem.* **2002**, 116, 93.

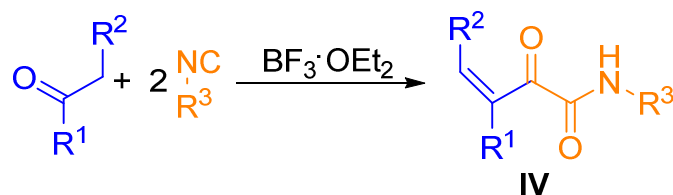
¹⁹ I. Ugi, R. Meyr, *Chem. Ber.* **1961**, 94, 2229.

²⁰ T. Sela, A. Vigalok, *Adv. Synth. Catal.* **2012**, 354, 2407.

²¹ A.L. Chandgude, A. Domling, *Green Chem.* **2016**, 18, 3718.

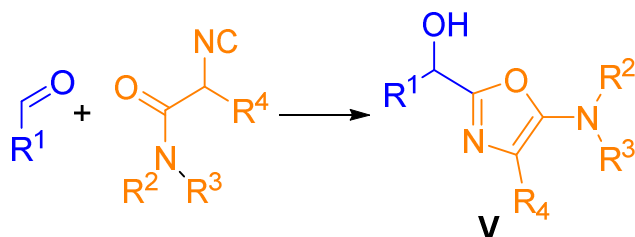
²² B. Zech, E. Muller, *Liebigs Ann. Chem.* **1968**, 715, 47.

reakcja mogła doprowadzić do związku **II**.²³ Podczas reakcji katalizowanej przez eterat trifluoroboru rolę nukleofila pełni druga cząsteczka izocyjanku tworząc cykliczny związek pośredni, który następnie jest hydrolizowany do produktu **IV**.



Schemat 5. Katalizowana eteratem trifluoroboru reakcja Passeriniego.

Reakcja pomiędzy związkiem karbonylowym oraz α -izocyjanoamidem katalizowana kwasem Lewisa pozwala na syntezę pochodnych 5-aminooksazolu **V** (Schemat 6).²⁴ Ponadto Ganem i współpracownicy zaproponowali wariant tej reakcji w obecności chlorku trimetylosililu, co pozwalało na uzyskanie produktu z zabezpieczoną grupą hydroksylową.²⁵ W tym wariantcie reakcji Passeriniego początkowo izocyjanek atakuje aktywowany kwasem Lewisa aldehyd. Następnie tlen z grupy amidowej reaguje z atomem węgla izocyjanku dając cykliczny produkt pośredni, który ulega przegrupowaniu do związku **V**.



Schemat 6. Reakcja Passeriniego prowadząca do pochodnych oksazolu.

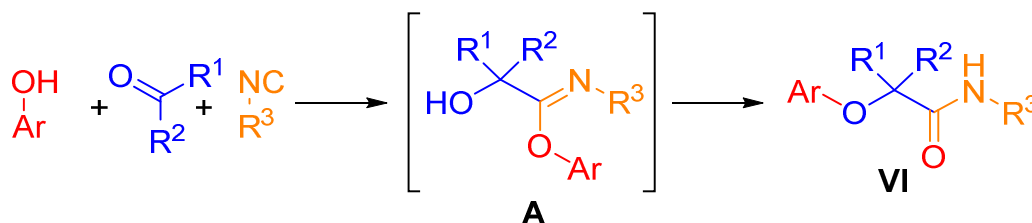
Ciekawym wariantem reakcji Passeriniego jest reakcja pomiędzy związkiem karbonylowym, izocyjankiem oraz pochodną fenolu (Schemat 7). W przypadku tego wariantu reakcji początkowo fenol, izocyjanek oraz związek karbonylowy tworzą addukt **A**. Następnie ulega on przegrupowaniu Smilesa, tworząc produkt **VI**. W związku z tym, że końcowym etapem reakcji jest przegrupowanie Smilesa, ten wariant reakcji nazywa się reakcją Passeriniego-Smileasa. Ograniczenie tej reakcji wynika z faktu, iż pochodna fenolu musi być wystarczająco kwasowa aby aktywować związek karbonylowy na atak izocyjanku. W związku z tym reakcja zachodzi efektywnie dla pierścieni aromatycznych

²³ L. Banfi, R. Riva, "The Passerini Reaction". *Org. React.* **2005**, 65, 1–140.

²⁴ G. Cony, R. Gamez-Montano, J. Zhu, *Tetrahedron* **2004**, 60, 4879.

²⁵ Q. Wang, B. Ganem, *Tetrahedron Lett.* **2003**, 44, 6829; Q. Wang, Q. Xia, B. Ganem, *Tetrahedron Lett.* **2003**, 44, 6825.

ubogich w elektrony, np. dla nitrofenolu.²⁶ Wariant ten prowadzony jest w temperaturze 45-60 °C oraz rozpuszczalnikiem jest zazwyczaj w metanol. Dalsze badania nad reakcją wykazały, że dodatek zasady takiej jak DABCO znacznie przyspiesza przebieg reakcji oraz zwiększa jej wydajność. Jest to tłumaczone zapobieganiem tworzenia się acetalu w mieszaninie reakcyjnej oraz działaniem zasady jako przekaźnika protonów co przyspiesza reakcję.²⁷



Schemat 7. Reakcja Passeriniiego-Smileasa.

Warty uwagi jest fakt, iż podczas reakcji Passeriniiego powstaje nowe centrum stereogeniczne. Jeżeli w środowisku nie ma czynników stereoróżnicujących, a substraty są niechiralne (bądź racemiczne), to powstały produkt jest racematem. Ze względu na potencjalną aktywność biologiczną α -acyloksamidów oraz ich użyteczność do syntezy związków biologicznie czynnych pożądane są sereokontrolowane warianty reakcji Passeriniiego. Wynika to z często obserwowanej różnej aktywności biologicznej poszczególnych stereoisomerów.²⁸ W związku z tym zostały opisane liczne badania dotyczące stereokontrolowanej reakcji Passeriniiego.

Do najprostszych należą diastereoselektywne warianty reakcji podczas których jeden z substratów jest chiralny, nieracemiczny a jako produkt powstaje mieszanina diastereoizomerów w której jeden z nich jest w przewadze. Przykładem jest reakcja, w której wykorzystano izocyjanek zawierający fragment (*S*)-kamfory swojej strukturze **1** do reakcji Passeriniiego.²⁹ Innym przykładem diastereoselektywnej reakcji Passeriniiego jest reakcja z użyciem aldehydu **2**. Związek ten otrzymuje się z erytrytolu, który jest naturalnym polialkoholem uzyskiwanym poprzez fermentację.³⁰ Wpływ chiralnych kwasów karboksylowych na diastereoselektywność reakcji Passeriniiego został zbadany przez Frea i współpracowników.³¹ Spośród pięciu zbadanych kwasów karboksylowych, pochodnych naturalnych aminokwasów bądź cukrów, autorzy wybrali kwas 1,2,3,4-tetra-*O*-acetylo- α -D-galakturanowy **3** jako substrat, pozwalający na uzyskanie produktów z

²⁶ L. El Kaim, M. Gizolme, L. Grimaud, *Org. Lett.* **2006**, *8*, 5021; L. El Kaim, M. Gizolme, L. Grimaud, J. Obie, *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 4169.

²⁷ E. Martinand-Lurin, A. Dos Santos, L. El Kaim, L. Grimaud, P. Retailleau, *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 2214.

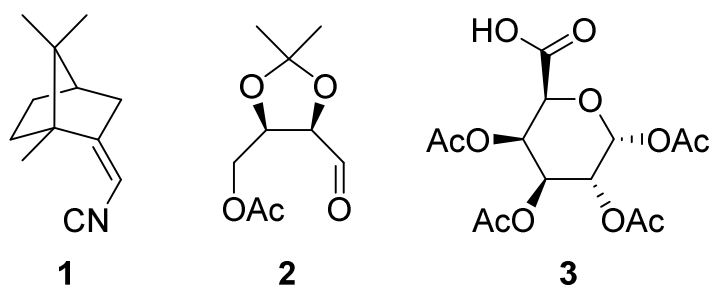
²⁸ H.P. Koch, M.J. Czejka, *J. Biosci.* **1986**, *41*, 11.

²⁹ H. Bock, I. Ugi, *J. Prakt. Chem.* **1997**, *339*, 385.

³⁰ H.-J. Moon, M. Jeya, I.-W. Kim, J.-K. Lee, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2010**, *86*, 1017; G.R. Ghezlbash, I. Nahvi, A. Malekpour, *Appl. Biochem. Microbiol.* **2014**, *50*, 292.

³¹ R. Frey, S.G. Galbraith, S. Guelfi, C. Lamberth, M. Zeller, *Synlett* **2003**, 1536.

najlepszą diastereoselektywnością. Przykłady chiralnych, nieracemicznych substratów używanych do reakcji Passeriniego zostały przedstawione na Rysunku 1.



Rysunek 1. Przykłady chiralnych, nieracemicznych substratów używanych do prowadzenia diastereoselektywnej reakcji Passeriniego

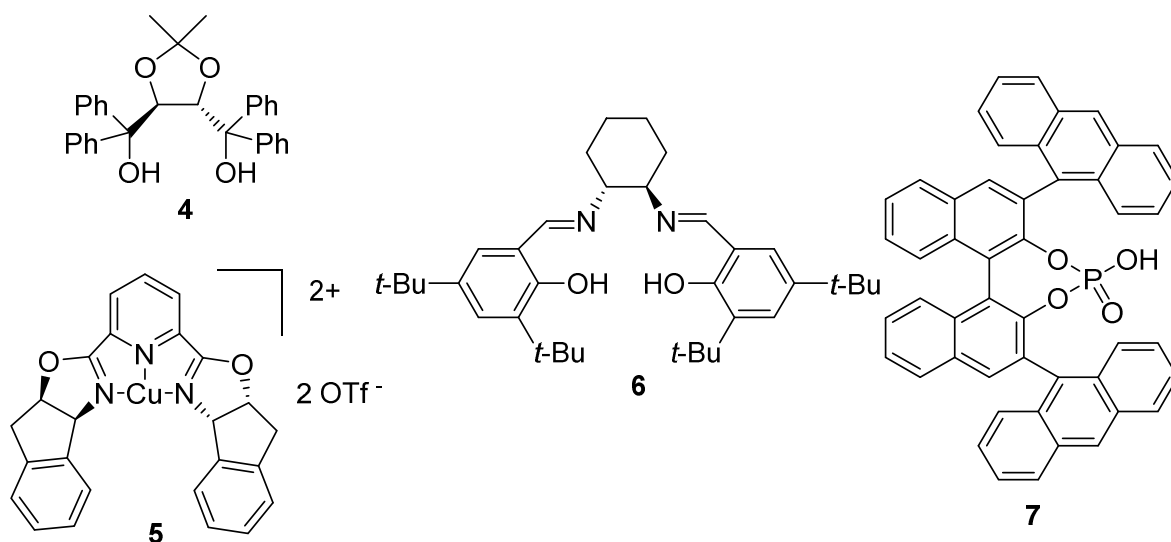
Opisane zostały także różnorodne chiralne katalizatory, które pozwalają na uzyskanie wzbogaconych enancjomerycznie produktów reakcji Passeriniego. Pierwszym przykładem takiego podejścia jest praca Domlinga i współpracowników z 2003 roku.³² Autorzy przeprowadzili szczegółowe badania, podczas których zbadali wpływ 16 kwasów Lewisa wobec 12 chiralnych ligandów, jako optymalny katalizator do reakcji, zapewniający największą enancjoselektywność, został wybrany izopropanolan tytanu oraz ligand **4** (Rysunek 2). Reakcję prowadzono w suchym tetrahydrofuranie. Po tym jak okazało się, że możliwa jest enancjoselektywna kontrola nad reakcją Passeriniego pojawiły się kolejne prace na ten temat, prezentujące nowe katalizatory oraz zoptymalizowane warunki reakcji. Przykładem tego jest praca Schreibera, w której opisano badania nad wpływem kilku chiralnych kompleksów miedzi (**5**) na enancjoselektywność reakcji Passeriniego.³³ Zhu i współpracownicy zbadali wpływ kolejnych 7 kwasów Lewisa wobec chiralnego liganda **6**.³⁴ Produkty z najwyższym nadmiarem enancjomerycznym otrzymano dla dietylochloroglinu (Et_2AlCl) w suchym toluenie w temperaturze $-40\text{ }^\circ\text{C}$. Korzystny wpływ niskiej temperatury prowadzenia reakcji jest tłumaczony tym, że hamuje ona spontaniczną niekatalizowaną reakcję Passeriniego prowadzącą do racematu. Ponadto Tan i współpracownicy opisali katalizator, będący chiralnym kwasem Bornsteada, pochodną kwasu fosforowego **7**.³⁵ Katalizował on reakcje Passeriniego z wysoką enancjoselektywnością (nadmiar enancjomeryczny produktów od 84 do 99 %).

³² U. Kusebauch, B. Beck, K. Messer, E. Herdtweck, A. Domling, *Org. Lett.* **2003**, *5*, 4021.

³³ P.R. Andrea, C.C. Liu, S.L. Schreiber, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 4231.

³⁴ S.-X. Wang, M.-X. Wang, D.-X. Wang, J. Zhu, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 388.

³⁵ J. Zhang, S.-X. Lin, D.-J. Cheng, X.-Y. Liu, B. Tan, *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137*, 14039.

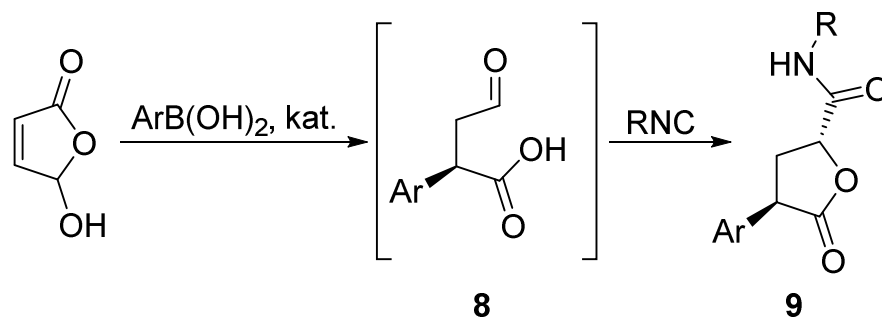


Rysunek 2. Chiralne katalizatory lub ligandy umożliwiające enancjoselektywną reakcję Passerinięgo.

2.2. Wykorzystanie reakcji Passerinięgo w syntezie związków o aktywności biologicznej

Reakcja Passerinięgo, ze względu na fakt, iż pozwala na łatwą i szybką syntezę α -acyloksyamidów, została zastosowana do syntezy wielu wartościowych związków. Przykładem tego jest opracowana przez Riguet i Bos synteza chiralnych α,γ -podstawionych γ -laktonów **9**.³⁶ Autorzy zaproponowali jednonaczyniową metodologię na organokatalityczną asymetryczną reakcję Michaela oraz po dodaniu izocyjanku następczą diastereoselektywną reakcję Passerinięgo (Schemat 8). Cykliczny produkt jest uzyskiwany ze względu na zastosowanie dwufunkcyjnego substratu **8**, posiadającego w swojej strukturze grupę karboksylową oraz aldehydową. Optymalizacja warunków reakcji pozwoliła na uzyskanie 8 pochodnych α,γ -podstawionych γ -laktonów **9** z wysoką enancjoselektywnością (*e.e.* do 86 %) oraz diastereoselektywnością (*d.r.* do 8:2). Związki te stanowią wartościowe bloki budulcowe do syntezy szeregu związków biologicznie czynnych.

³⁶ M. Bos, E. Riguet *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, 79, 10881.

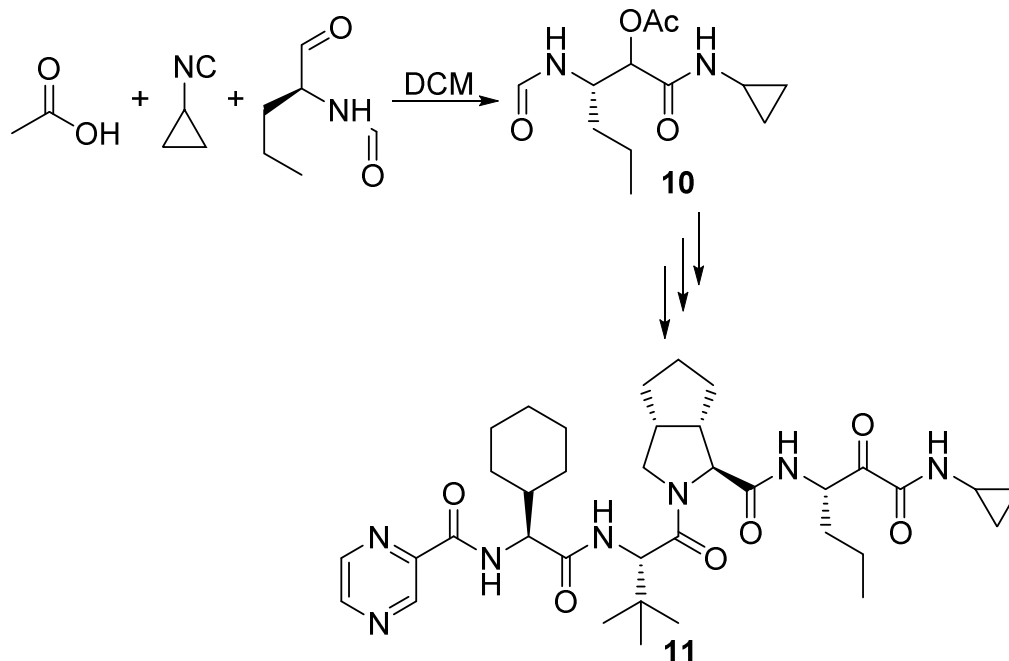


Schemat 8. Organokatalityczna reakcja Michaela oraz następcza Passeriniego.

Kolejnym przykładem wykorzystania reakcji Passeriniego do syntezy związków biologicznie czynnych o wysokiej wartości dodanej jest synteza telapreviru (**11**) zaproponowana przez Turnera, Ruijtera i współpracowników.³⁷ Telaprevir jest lekiem przeciwwirusowym stosowanym w leczeniu wirusowego zapalenia wątroby typu C, działającym jako inhibitor proteazy serynowej NS3/4A.³⁸ W zaproponowanej przez autorów wieloetapowej syntezie jednym z kluczowych etapów była reakcja Passeriniego (Schemat 9), pozwala ona na szybkie połączenie wielu stosunkowo prostych substratów w skomplikowany układ peptydomimetyczny **10**. Reakcja Passeriniego prowadzona była w chlorku metylenu zachodzi z wydajnością 56 %. Produkt **10** po odwodnieniu, jako izocyjanek jest poddawany trójkomponentowej reakcji Ugięgo, następnie po hydrolizie estru i utlenieniu powstałej grupy hydroksylowej otrzymywany jest teleprevir. Sumaryczna wydajność wszystkich etapów syntezy wyniosła 45 %, przykład ten pokazuje, użyteczność reakcji multikomponentowych, w tym reakcji Passeriniego do otrzymywania związków o złożonej strukturze.

³⁷ 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.

³⁸ C. Lin, A.D. Kwong, R.B. Perni, *Infect. Disord. Drug. Targets* **2006**, 6, 3.



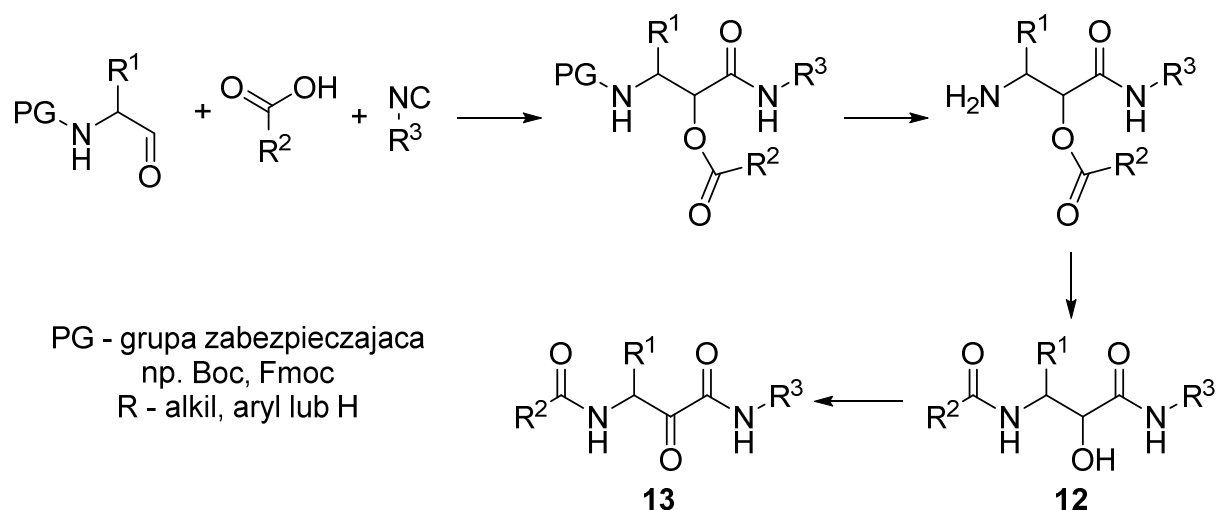
Schemat 9. Wykorzystanie reakcji Passeriniego do syntezy telapreviru.

Reakcja Passeriniego znalazła zastosowanie w syntezie wielu peptydomimetyków o strukturze β -acyloamino- α -hydroksyamidów (**12**) i β -acyloamino- α -oksyamidów (**13**), które są stosowane jako inhibitory proteaz. Powszechnie stosowaną strategią syntezy tych związków jest opisana przez Banfiego i współpracowników strategia oparta na reakcji Passeriniego – odbezpieczeniu aminy – migracji grupy acylowej (PADAM) (Schemat 10).³⁹ Początkowo przeprowadza się reakcję pomiędzy α -aminoaldehydem z zabezpieczoną grupą aminową, kwasem karboksylowym oraz izocyjankiem. Następnie po odbezpieczeniu grupy aminowej przeprowadzeniu migracji grupy acylowej z atomu tlenu na atom azotu otrzymuje się β -acyloamino- α -hydroksyamid, który może być łatwo utleniony do β -acyloamino- α -oksyamidu. Ponadto zastosowanie izocyjanka związanego z nośnikiem za pomocą fotolabilnego linkera umożliwia efektywne przeprowadzenie całego procesu na podłożu stałym. Strategię PADAM wykorzystano m.in. do syntezy Eurystatyny A, inhibitora endopeptydazy prolinowej⁴⁰ oraz cykloteonamidu C, wydzielonego z gąbek *Theonella swinhoei* i *Theonella ircinia* inhibitora proteaz serynowych.⁴¹

³⁹ L. Banfi, A. Basso, G. Guanti, R. Riva, *Mol. Divers.* **2003**, *6*, 227.

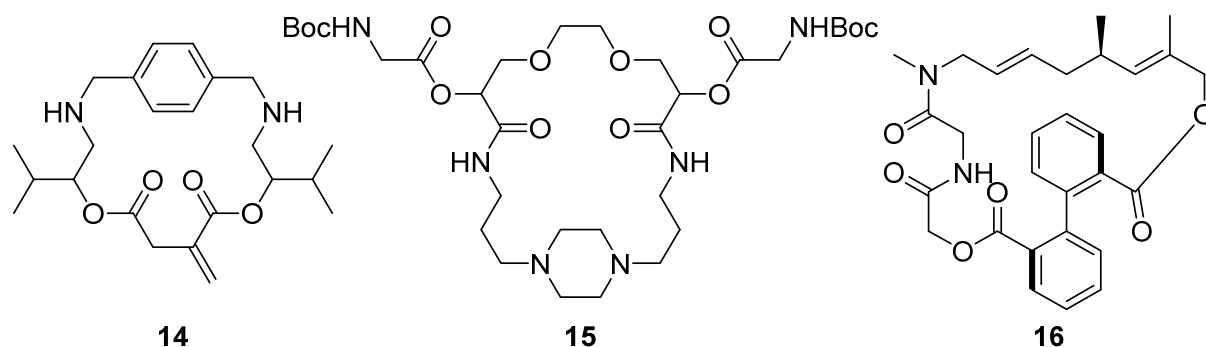
⁴⁰ T.D. Owens, G.-L. Araldi, R.F. Nutt, J.E. Semple, *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 6271.

⁴¹ S. Faure, T. Hjelmgaard, S.P. Roche, D.J. Aitken, *Org. Lett.* **2009**, *11*, 1167.



Schemat 10. Strategia PADAM do syntezy β -acyloamino- α -hydroksyamidów i β -acyloamino- α -oksyamidów.

Reakcja Passeriniego znajduje także zastosowanie w syntezie związków makrocyklicznych (Rysunek 3). Użycie dwufunkcyjnych substratów dikwasów, dialdehydów i/lub diizocyjanków pozwala na syntezę skomplikowanych struktur makrocyklicznych takich jak **14** oraz **15**.⁴² Poza tym połączenie reakcji Passeriniego oraz metatezy olefin prowadzi do otrzymania związku o strukturze **16**.⁴³



Rysunek 3. Związki makrocykliczne uzyskane poprzez reakcję Passeriniego.

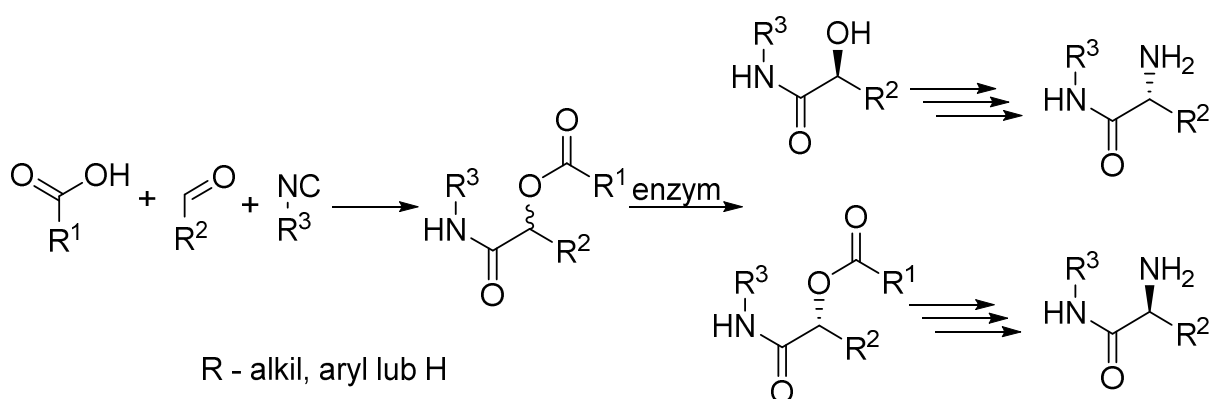
Połączenie reakcji Passeriniego oraz enzymatycznego rozdzielania kinetycznego umożliwiło syntezę wzbogaconych enancjomerycznie α -aminokwasów (Schemat 11).⁴⁴ Ta sama metodologia została także zastosowana do syntezy wzbogaconych

⁴² F. Leon, D.G. Rivera, L.A. Wessjohann, *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 1762.

⁴³ B. Beck, G. Larbig, B. Mejat, M. Magnin-Lachaux, A. Picard, E. Herdtweck, A. Domling, *Org. Lett.* **2003**, *5*, 1047.

⁴⁴ W. Szymanski, R. Ostaszewski, *Tetrahedron: Asymmetry* **2006**, *17*, 2667.

enancjomerycznie peptydomimetyków oraz nienaturalnych peptydów.⁴⁵ Ciekawa procedura polegająca na połączeniu reakcji Passeriniego z enzymatycznym rozdziałem kinetycznym została opisana przez nasz zespół.⁴⁶ W opracowanych warunkach reakcji jednym z substratów jest octan winylu, który jest hydrolizowany przez lipazę do kwasu octowego i aldehydu octowego. Następnie związki te reagują z izocyjnakami tworząc α -acyloksyamid, który ulega rozdziałowi kinetycznemu, a jeden z enancjomerów jest hydrolizowany do α -hydroksyamidu oraz kwasu octowego. Następnie, powstająca cząsteczka kwasu octowego może ulegać kolejnej reakcji Passeriniego. Wszystkie reakcje przebiegają jednocześnie w mieszaninie chlorku metylenu oraz wody w obecności lipazy tworząc reakcję tandemową. Procedura ta umożliwia uzyskanie wzbogaconych enancjomerycznie α -acyloksyamidu oraz α -hydroksyamidu z prostych substratów podczas jednej reakcji bez wydzielania związków pośrednich.



Schemat 11. Synteza wzbogaconych enancjomerycznie aminokwasów z wykorzystaniem reakcji Passeriniego.

3. Reakcje multikomponentowe w wodzie

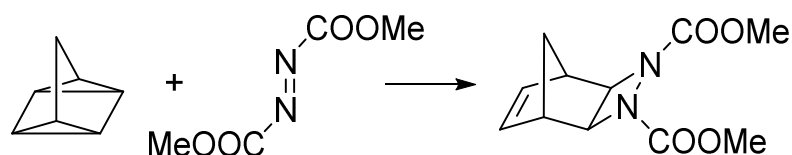
3.1. Reakcje chemiczne w wodzie

Zgodnie z dwunastoma zasadami „zielonej chemii”² powinno się unikać stosowania trujących dla ludzi i środowiska substancji, w tym typowych rozpuszczalników organicznych. Jak najwięcej substancji powinno pochodzić z odnawialnych źródeł, podczas gdy rozpuszczalniki organiczne są zazwyczaj produktami syntezy chemicznej opartej na ropie naftowej. Dlatego też woda jako nietoksyczne, niepalne i niewybuchowe medium reakcyjne doskonale wpisuje się w te zasady.

⁴⁵ W. Szymanski, M. Zwolinska, R. Ostaszewski, *Tetrahedron* **2007**, 63, 7647; W. Szymanski, R. Ostaszewski, *Tetrahedron* **2008**, 64, 3197.

⁴⁶ A. Żądło-Dobrowolska, D. Koszelewski, D. Paprocki, A. Madej, M. Wilk, R. Ostaszewski, *ChemCatChem* **2017**, 9, 3047.

Pomimo wielu zalet, stosowanie wody jako rozpuszczalnika może być problematyczne. Największą niedogodnością jest słaba rozpuszczalność większości związków organicznych w tym medium. Oczywiście znanych jest szereg przykładów reakcji organicznych prowadzonych w wodzie z rozpuszczalnych w niej substratów. W takim przypadku mówimy o reakcjach prowadzonych w wodzie („*in water*”).⁴⁷ Tego typu procesy mogą być dodatkowo napędzane słabą rozpuszczalnością produktów, które wypadają z mieszaniny reakcyjnej co przesuną równowagę reakcji. Znane są także liczne reakcje prowadzone efektywnie z substratów nierozpuszczalnych w wodzie, mówimy wtedy o prowadzeniu reakcji „*on water*”.⁴⁸ Ponadto zauważono, że prowadzenie reakcji „*on water*” może dodatkowo przyśpieszać jej przebieg, co jest związane z tak zwanym efektem hydrofobowym. Polega on na agregacji niepolarnych cząsteczek w wodzie, aby zminimalizować powierzchnię międzyfazową związek hydrofobowy-woda.⁴⁹ Przykładem może być reakcja cykoaddycji pomiędzy kwadricykłanem oraz azodokarboksylationem dimetylu (Schemat 12), która w warunkach „*on water*” zachodzi ilościowo już w 10 minut. Ta sama reakcja prowadzona w homogenicznych układach w mieszaninie woda:metanol 1:3 (v/v), rozpuszczalniku organicznym lub bez rozpuszczalnika zachodzi przez kilka do kilkudziesięciu godzin.⁵⁰



Schemat 12. Reakcja pomiędzy kwadricykłanem a azodokarboksylationem dimetylu.

Zostały także opisane liczne przykłady reakcji Passeriniego prowadzonej w wodzie z wykorzystaniem hydrofobowych substratów, które zostały opisane w rozdziale 2. Reakcje te zazwyczaj zachodzą w warunkach „*on water*”, co umożliwia uzyskanie produktów z wysoką wydajnością. Inną metodą prowadzenia reakcji organicznych w środowisku wodnym jest zastosowanie dodatku surfaktanu, który zwiększa rozpuszczalność hydrofobowych substratów w medium reakcyjnym. Ten temat został szerzej opisany w kolejnych rozdziałach niniejszej pracy.

3.2. Surfaktanty i agregaty

Związki powierzchniowo czynne nazywane też surfaktantami, mają budowę amfifilową. Składają się one z części hydrofobowej oraz hydrofilowej. Przykłady tego typu związków zostały zaprezentowane na Rysunku 4. Ze względu na budowę części

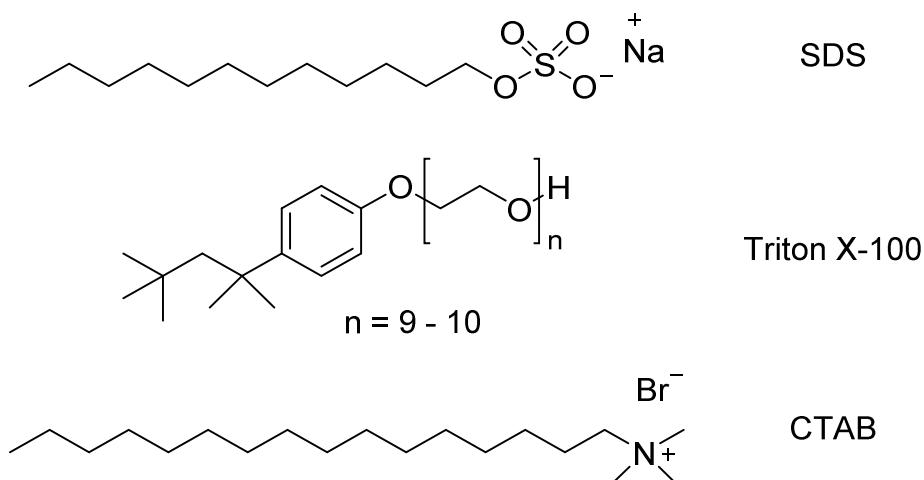
⁴⁷ R.N. Butler, A.G. Coyne, *Chem Rev.* **2010**, *110*, 6302.

⁴⁸ R.N. Butler, A.G. Coyne, *Chem Rev.* **2010**, *110*, 6302.

⁴⁹ R. Breslow *Acc. Chem. Res.* 1991, *24*, 159.

⁵⁰ S. Narayan, J. Muldoon, M.G. Finn, V.V. Fokin, H.C. Kolb, K.B. Sharpless, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 3275; J.E. Klijn, J.B.F.N. Engberts, *Nature* **2005**, *435*, 746.

hydrofilowej cząsteczki, surfaktany dzielimy na: anionowe, posiadające ładunek ujemny; kationowe, posiadające ładunek dodatni; niejonowe, nie posiadające ładunku oraz zwitterjonowe, posiadające ugrupowania naładowane i zarówno dodatnio jak i ujemnie.

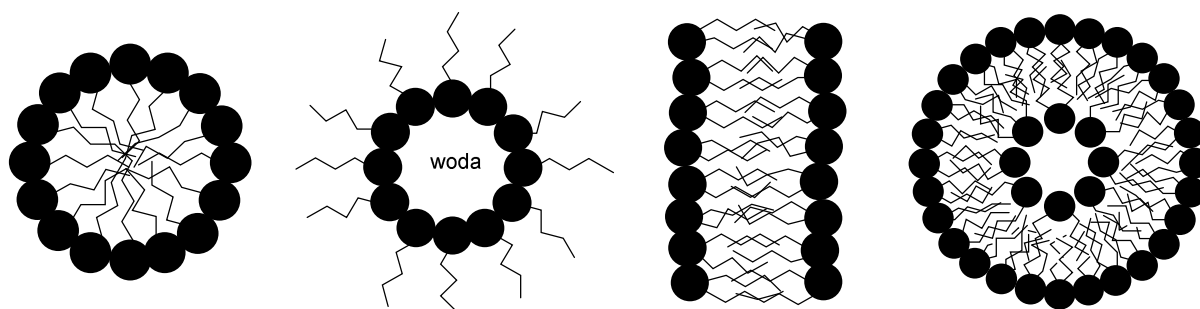


Rysunek 4. Przykłady surfaktantów o budowie amfifilowej: laurylosiarczan sodu (SDS), Triton X-100, bromek heksadecylotrimetyloammonioowy (CTAB).

Cząsteczki surfaktantu w wodnym roztworze, w stężeniu wyższym niż krytyczne stężenie micelizacji (CMC) tworzą agregaty o różnej morfologii zaprezentowane schematycznie na Rysunku 5. O ile morfologia agregatu nie ma znaczenia, w tej dysertacji terminy agregaty lub micle stosowane są wymiennie. Do najczęściej spotykanych agregatów należą micle, odwrócone micle, dwuwarstwy oraz pęcherzyki (liposomy). Morfologia agregatu zależy od użytego surfaktantu, sposobu przygotowania roztworu oraz warunków takich jak temperatura, pH, siła jonowa roztworu. Poszczególne typy agregatów zazwyczaj różnią się także wielkością. Typowe micle mają wielkość kilku nanometrów, podczas gdy wielkość pęcherzyków może wynosić od kilkudziesięciu nanometrów nawet do kilku mikrometrów.⁵¹ Obecność hydrofilowych oraz hydrofobowych fragmentów w agregatach pozwala na oddziaływanie zarówno ze związkami polarnymi jak i niepolarnymi, co znacząco poprawia rozpuszczalność związków organicznych w wodzie.⁵²

⁵¹ T. Dwars, E. Paetzold, G. Oehme, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 7174; H. Ringsdorf, B. Schlarb, J. Venzmer, *Angew. Chem., Int. Ed.* **1988**, *27*, 113.

⁵² Dwars, E. Paetzold, G. Oehme, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 7174.



Rysunek 5. Schematyczne rysunki typów agregatów tworzących się w wodnych roztworach surfaktantu, od lewej: micela, odwrócona micela, dwuwarstwa, liposom.

Wśród agregatów tworzonych w wodnych roztworach surfaktantu na szczególną uwagę zasługują liposomy. Są to pęcherzykowe struktury, wewnątrz których znajduje się woda otoczona dwuwarstwową membraną. Poza tym skład roztworu wewnątrz liposomu może się różnić od zewnętrznego roztworu. W związku z tym tego typu układy są często wykorzystywane jako nośniki w systemach dostarczania leku.⁵³ Poza tym, podobieństwo do naturalnych układów takich jak błony komórkowe,⁵⁴ lizosomy,⁵⁵ endosomy⁵⁶ sprawia, że znajdują one zastosowanie jako modele membran biologicznych.⁵⁷ Opisane zostały liczne przykłady reakcji chemicznych prowadzonych w obecności liposomów, w których pełnią one funkcje promotorów i regulatorów.⁵⁸

W celu uzyskania roztworu zawierającego liposomy należy użyć odpowiedniego surfaktantu, zazwyczaj związki tworzące liposomy mają w swojej strukturze dwa długie łańcuchy węglowe.⁵⁹ Najczęściej używane surfaktanty tworzące w temperaturze pokojowej liposomy zostały zaprezentowane na Rysunku 6. W celu uzyskania jednowarstwowych liposomów stosuje się różne metody. Do najczęściej używanych technik należą sonikacja, ekstruzja lub wielokrotne zamrażanie i rozmrażanie.⁶⁰ Stosuje się także wkraplanie roztworu surfaktantu w eterze do roztworu wodnego w temperaturze 55-65 °C. Na skutek powolnego odparowania rozpuszczalnika otrzymuje się liposomy, zazwyczaj heterogeniczną mieszaninę o wielkości agregatów od 70 do 200 nm.⁶¹ Można także zastosować roztwór surfaktantu w etanolu, który jest rozpuszczany w wodzie,

⁵³ T. M. Allen, *Trends Pharmacol. Sci.* **1994**, *15*, 215; G. Gregoriadis, *Trends Biotechnol.* **1995**, *13*, 527; Y. Barenholz, *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **2001**, *6*, 66; V. P. Torchilin, *Nat. Rev. Drug Discovery* **2005**, *4*, 145; P. Tanner, P. Baumann, R. Enea, O. Onaca, C. Palivan, W. Meier, *Acc. Chem. Res.* **2011**, *44*, 1039.

⁵⁴ J. Huotari, A. Helenius, *EMBO J.* **2011**, *30*, 3481.

⁵⁵ C. DeDuve, *Eur. J. Biochem.* **1983**, *137*, 391; J.P. Luzio, P.R. Pryor, N.A. Bright, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2007**, *8*, 622.

⁵⁶ 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.

⁵⁷ D. Lingwood, K. Simons, *Science* **2010**, *327*, 46.

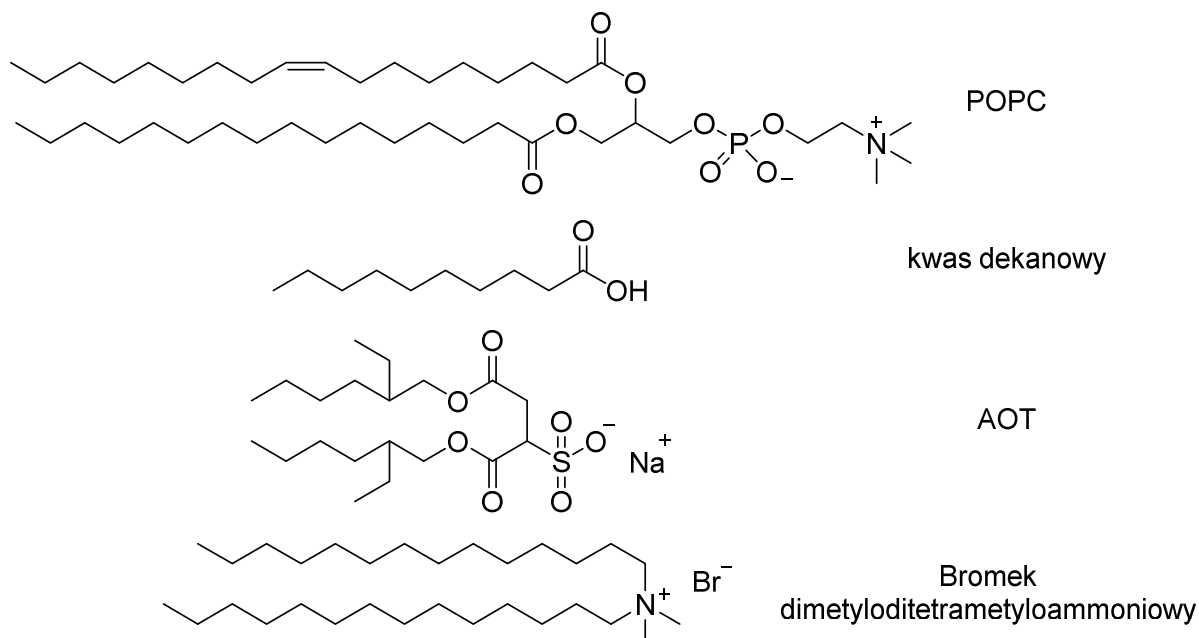
⁵⁸ P. Walde, H. Umakoshi, P. Stano, F. Mavelli, *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 10177.

⁵⁹ Dwars, E. Paetzold, G. Oehme, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 7174.

⁶⁰ A. Akbarzadeh, R. Rezaei-Sadabady, S. Davaran, S.W. Joo, N. Zarghami, Y. Hanifepour, M. Samiei, M. Kouhi, K. Nejati-Koshki, *Nanoscale Res. Lett.* **2013**, *8*, 102.

⁶¹ D. Deamer, A.D. Bangham, *Biochim. Biophys. Acta* **1976**, *443*, 629; H. Scheiren, S. Rudolph, M. Findelstein, P. Coleman, G. Weissmann, *Biochim. Biophys. Acta* **1978**, *542*, 137.

tworząc liposomy.⁶² Inną techniką otrzymywania liposomów jest z hydratacja filmu lipidowego. Surfaktant rozpuszcza się w rozpuszczalniku organicznym a następnie odparowuje rozpuszczalnik tworząc film lipidowy na dnie kolby. Następnie, do kolby dodaje się fazę wodną i wytrząsa, co skutkuje powstaniem liposomów, zazwyczaj wielowarstwowych różnej wielkości, które mogą być potem poddane ekstruzji, sonikacji i/lub wielokrotnemu zamrażaniu i rozmrażaniu w celu ujednoczenia wielkości.⁶³



Rysunek 6. Surfaktanty tworzące liposomy w temperaturze pokojowej: 1-palmitoilo-2-oleilo- glicero-3-fosfocholina (POPC), kwas dekanowy, Di(2-etylohekylo)sulfobursztynian sodu (AOT), bromek dimetyloditetradecylammoniumowy.

3.3. Kataliza „micelarna”

Obecność agregatów, poza zwiększaniem rozpuszczalności substratów, może znacząco przyspieszać szybkość reakcji.⁶⁴ Może to być spowodowane trzema zjawiskami zachodzącymi wewnątrz miceli lub błonie liposomu: po pierwsze zwiększonym stężeniem lokalnym substratów wewnątrz agregatu; po drugie różną polarnością niż w roztworze, co może przyspieszać reakcję; po trzecie możliwym powstaniem zawady sterycznej hamującej przebieg niepożądanych reakcji.⁶⁵ Wpływ agregatów na przebieg reakcji chemicznych może być określany mianem katalizy „micelarnej”, co zazwyczaj odnosi się do zwiększania szybkości reakcji.⁶⁶ Ponadto, surfaktanty mogą zawierać ugrupowania katalizujące reakcję, wtedy surfaktant zachowuje się także jako katalizator.

⁶² S. Batzri, E.D. Korn, *Biochim. Biophys. Acta* **1973**, 298, 1015.

⁶³ Z. Guo, N. Hauser, A. Moreno, T. Ishikawa, P. Walde, *Soft Matter* **2011**, 7, 180.

⁶⁴ Dwars, E. Paetzold, G. Oehme, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, 44, 7174.

⁶⁵ P. Walde, H. Umakoshi, P. Stano, F. Mavelli, *Chem. Commun.* **2014**, 50, 10177

⁶⁶ P. Scrimin, P. Tecilla, U. Tonellato, C.A. Bunton, *Colloids Surf. A.* **1998**, 144, 71

Zwiększone stężenie lokalne hydrofobowych substratów w okolicy agregatu i katalizatora korzystnie wpływa na przebieg reakcji.⁶⁷

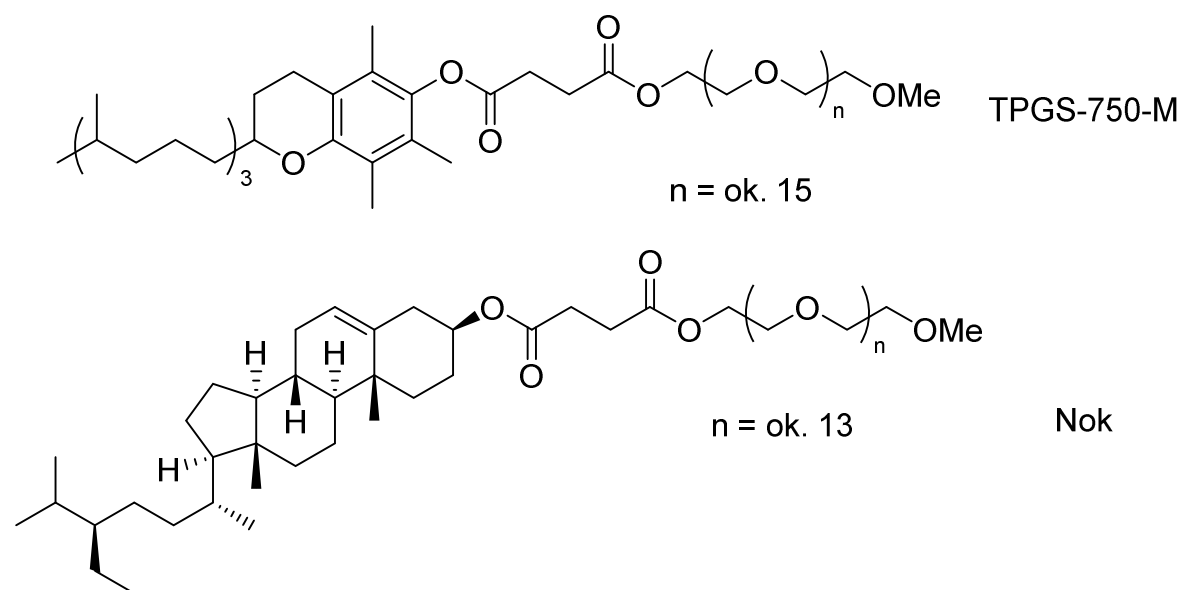
Zastosowanie wodnego roztworu surfaktantu jako medium reakcyjnego dodatkowo może ułatwić wydzielanie produktu oraz zawracanie katalizatora. Jest to możliwe, kiedy podczas usuwania produktu katalizator jest związany z micelami. Jedną z możliwości jest wydzielanie produktu za pomocą ekstrakcji, wówczas katalizator pozostaje w fazie wodnej z micelami, która może być użyta do następnego cyklu reakcyjnego. Czasami wydzielanie produktu jest jeszcze prostsze, gdy wypada on z mieszaniny reakcyjnej i może być odfiltrowany lub odwirowany z medium reakcyjnego. Roztwór zawierający agregaty oraz katalizator może być od razu użyty do następnego cyklu reakcyjnego. W związku z powyższym, zastosowanie wodnego roztworu surfaktantu jako medium reakcyjnego może nieść dodatkowe korzyści dla środowiska ograniczając zużycie czasu i energii potrzebnych na wydzielenie i oczyszczenie produktu.

Ostatnio zostało opisanych wiele reakcji organicznych prowadzonych w wodzie w obecności surfaktantu. Przykładem korzystnego wpływu agregatów na przebieg reakcji mogą być liczne prace zespołu prof. Lipshutza które opisują reakcje katalizowane kompleksami metali przejściowych prowadzone w środowisku wodnym.⁶⁸ Do badań zostały wykorzystane surfaktanty specjalnie zaprojektowane do tego typu reakcji, o nazwach handlowych TPGS-750-M oraz Nok (Rysunek 7). Składają się one z hydrofobowego rdzenia: witaminy E w przypadku TPGS-750-M oraz β -sitosterolu w przypadku Nok, łącznika z kwasu bursztynowego oraz hydrofilowej części glikolu polietylenowego. Surfaktanty te tworzą w wodzie micelle o wielkości prawie 50 nm, które jednocześnie oddziałują z substratami oraz katalizatorami metalicznymi co skutecznie promuje przebieg reakcji.⁶⁹

⁶⁷ H. Morawetz, *Adv. Catal* **1969**, *20*, 341

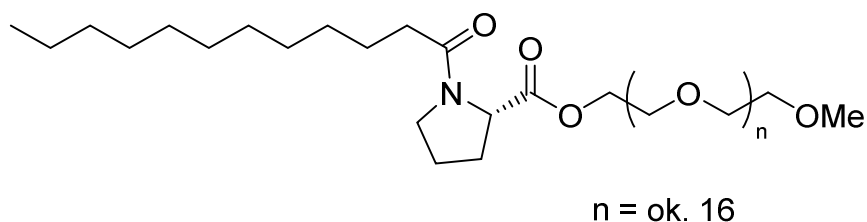
⁶⁸ S.R.K. Minkler, N.A. Isley, D.J. Lippincott, N. Krause, B.H. Lipshutz, *Org. Lett.* **2014**, *16*, 724; S.M. Kelly, B.H. Lipshutz, *Org. Lett.* **2014**, *16*, 98; A. Bhattacharjya, P. Klumphu, B.H. Lipshutz, *Nature Comm.* **2015**, *6*, 7401; N.A. Isley, M.S. Hageman, B.H. Lipshutz, *Green Chem.* **2015**, *17*, 893.

⁶⁹ P. Klumphu, B.H. Lipshutz, *J. Org. Chem.* **2014**, *79*, 888.



Rysunek 7. Surfaktanty zaprojektowane w zespole prof. Lipshutza: TPGS-750-M (na górze) oraz Nok (na dole).

Handa i współpracownicy opracowali surfaktant, o nazwie FI-750-M (Rysunek 8), którego stosowanie umożliwia skuteczne zastąpienie polarnych rozpuszczalników organicznych takich jak dioksan, *N*-metylopirolidon lub dimetyloformamid. Związek ten pozwala na przeprowadzanie w środowisku wodnym m.in. katalizowanych palladem sprzęgań,⁷⁰ sulfonowanie prefluoroarenów⁷¹ lub oksyhalogenowanie alkinów.⁷² Struktura surfaktantu zawierająca liofilowy łańcuch węglowy, łącznik z cząsteczką proliny oraz hydrofilowy fragment glikolowy. Taka struktura surfaktantu powoduje tworzenie miceli posiadających regiony hydrofobowy, hydrofilowy oraz prolinowy, zapewniający oddziaływanie z solami oraz katalizatorami metalicznymi. Taki układ pozwala na zbliżenie do siebie hydrofobowych substratów oraz polarnych katalizatorów promując przebieg reakcji.



Rysunek 8. Struktura surfaktantu FI-750-M.

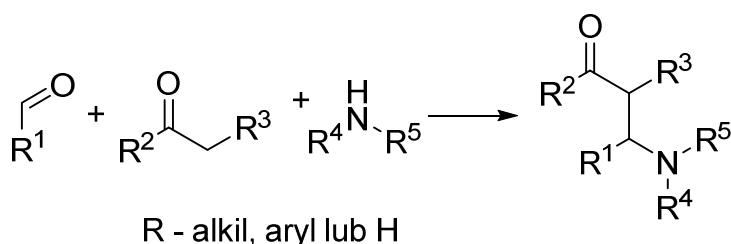
⁷⁰ M. Bihani, T.N. Ansari, J.D. Smith, S. Handa, *Curr. Opin. Sus. Chem.* **2018**, *11*, 45.

⁷¹ J.D. Smith, T.N. Ansari, M.P. Andersson, D. Yadagiri, F. Ibrahim, S. Liang, G.B. Hammond, F. Gallou, S. Handa, *Green. Chem.* **2018**, *20*, 1784.

⁷² L. Finck, J. Brals, B. Pavuluri, F. Gallou, S. Handa, *J. Org. Chem.* **2018**, *83*, 7366.

3.4. Wybrane przykłady reakcji multikomponentowych w wodzie

Zostały opisane liczne przykłady prowadzenia reakcji Mannicha w wodzie w obecności surfaktantu. Umożliwia ona otrzymanie β -aminoketonu w reakcji pomiędzy aldehydem, ketonem i aminą (Schemat 13).⁷³ Produkty tej reakcji są ważnymi blokami budulcowymi przy syntezie wartościowych związków naturalnych i farmaceutyków.⁷⁴ Reakcja ta zachodzi efektywnie w środowisku wodnym w obecności kwasowego katalizatora, który musi być kompatybilny z wodą oraz micelami. Ponadto opisane zostały przykłady surfaktantów posiadających w swojej strukturze ugrupowania katalizujące reakcję Mannicha.



Schemat 13. Reakcja Mannicha.

Lu i Cai opracowali warunki prowadzenia reakcji Mannicha w 5 % roztworze Tritonu X-100 oraz kwasu nadchlorowego.⁷⁵ Produkt reakcji modelowej prowadzonej w wodzie wydzielono z wydajnością 19 %, podczas gdy w obecności surfaktantu wydajność wyniosła 92 %. Świadczy to o korzystnym wpływie obecności agregatów na przebieg reakcji. Ponadto oczyszczanie produktu było bardzo proste, powstający podczas reakcji osad odsączono, opłukano wodą i wysuszono. Akiyama i współpracownicy opisali reakcję Mannicha efektywnie zachodzącą w obecności 10 % molowych SDS oraz kwasu solnego.⁷⁶ W opracowanych warunkach reakcja prowadzona z cykloheksanonu, charakteryzowała się dużą diastereoselektywnością, otrzymano mieszaninę produktów w proporcji 99:1. Jest to zdecydowanie wyższa diastereoselektywność niż przy prowadzeniu reakcji w rozpuszczalnikach organicznych takich jak acetonitryl czy metanol. Triton X-100 oraz SDS zostały także zastosowane przez inne grupy badawcze do promowania przebiegu reakcji Mannicha.⁷⁷ Ciekawym przykładem jest praca Shena i współpracowników, w której zsyntetyzowano serię surfaktantów – perfluorowanych soli amoniowych, a następnie zbadano ich wpływ na przebieg reakcji Mannicha.⁷⁸ Już 0,2 % molowe surfaktanu przedstawionego na Rysunku 9 efektywnie promuje tę reakcję

⁷³ C. Mannich, W. Krosche, *Arch. Pharm.* **1912**, 250, 647.

⁷⁴ M. Arend, B. Westermann, N. Risch, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, 37, 1044.

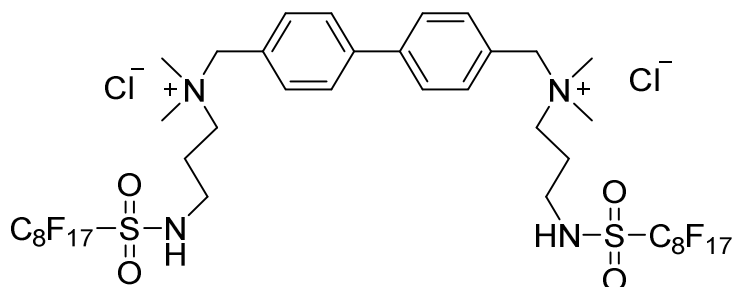
⁷⁵ G. Lu, C. Cai, *Catal. Commun.* **2010**, 11, 745.

⁷⁶ T. Akiyama, K. Matsuda, K. Fuchibe, *Synlett* **2005**, 2, 322.

⁷⁷ A. Kumar, M. Gubta, M. Kumar, *Tetrahedron Lett.* **2011**, 52, 4521; P.K. Sahu, P.K. Sahu, D.D. Agarwal, *RSC Adv.* **2014**, 4, 40414; A. Kumar, M.K. Gubta, M. Kumar, *Tetrahedron Lett.* **2010**, 51, 1582; A. Kumar, M.S. Rao, V.K. Rao, *Aust. J. Chem.* **2010**, 63, 1538.

⁷⁸ W. Shen, L.-M. Wang, H. Tian, *J. Fluorine Chem.* **2008**, 129, 267.

zarówno w warunkach kwasowych (10 % molowych kwasu tosylowego) jak i zasadowych (10 % roztwór NaOH). Jednak diastereoselektywność tej reakcji jest względnie niska, używając cykloheksanonu jako substrat otrzymano mieszaninę diastereoizomerów produktu w proporcjach od 1:1 do 71:29.



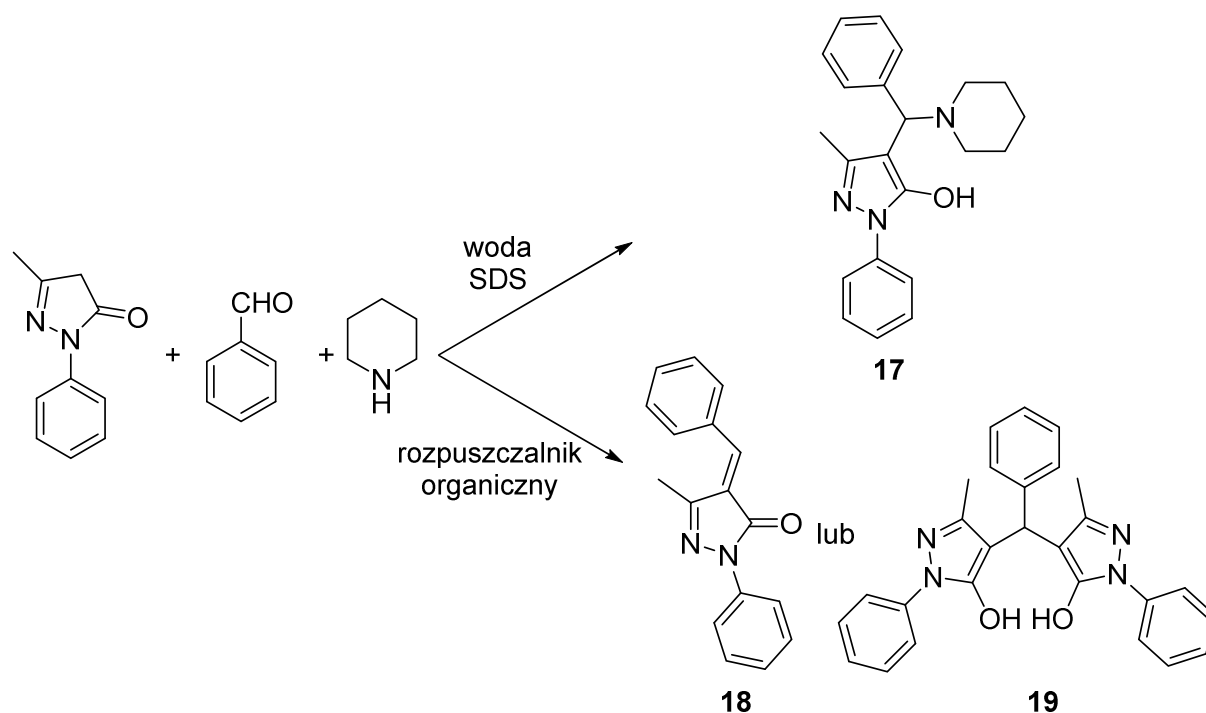
Rysunek 9. Perfluorowany surfaktant stosowany do promocji reakcji Mannicha.

Innym podejściem do reakcji Mannicha w wodzie jest użycie surfaktantu, będącego jednocześnie katalizatorem. Często używanym tego typu surfaktantem jest kwas dodecylobenzenosulfonowy (DBSA), który posiada kwasową grupę sulfonową katalizującą reakcję. Liczne grupy badawcze pokazały użyteczność tego związku, w porównaniu z układami typu surfaktat/kwasowy katalizator.⁷⁹ Większa efektywność DBSA może być spowodowana tym, że kwaśne ugrupowania katalizujące reakcje znajdują się w bezpośredniej bliskości hydrofobowych substratów wewnątrz miceli.

Zostały także opisane nietypowe warianty reakcji Mannicha prowadzone w środowisku wodnym w obecności surfaktantu. Na przykład Kumar i współpracownicy opisali reakcję pomiędzy 3-metylo-1-fenyl-5-pirazolinonem, aldehydem i aminą drugorzędową (Schemat 14).⁸⁰ Początkowo zachodzi kondensacja Mannicha, w której 3-metylo-1-fenyl-5-pirazolinon zachowuje się jak keton, następnie zachodzi aromatyzacja produktu prowadząca do związku **17**. Reakcja ta zachodzi prawie ilościowo w wodzie z dodatkiem SDS w temperaturze 80 °C. Co ciekawe, w rozpuszczalnikach organicznych nie zaobserwowano powstawania produktu **17**, a jedynie produkt reakcji Knoevenagela **18** oraz dimer **19**. Świadczy to o tym, że prowadzenie reakcji w wodnym roztworze surfaktantu może także zmienić selektywność reakcji.

⁷⁹ K. Manabe, S. Kobayashi, *Org. Lett.* **1999**, *1*, 1965; J.F.A. Filho, R.G. Fiorot, V. Lacerda, R.B. dos Santos, G. Vanini, W. Romao, S.J. Greco, *J. Colloid Interface Sci. Commun.* **2015**, *4*, 14.

⁸⁰ A. Kumar, S. Maurya, M.K. Gupta, R.D. Shukla, *RSC Adv.* **2014**, *4*, 57953.

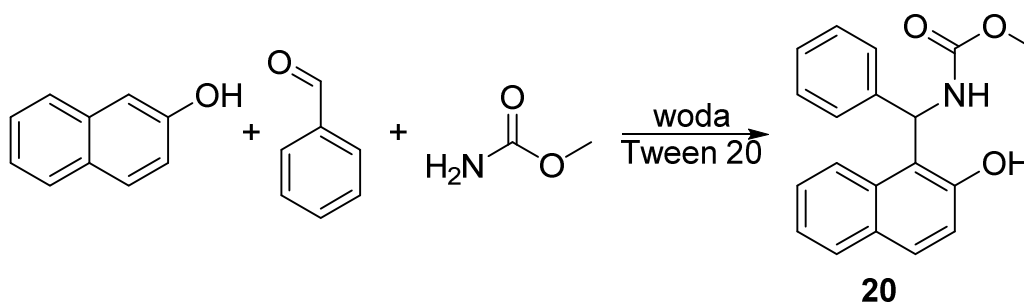


Schemat 14. Wariant reakcji Mannicha opisany przez Kumara i współpracowników.⁸¹

Reakcja pomiędzy różnymi karbaminianami, naftolem oraz aldehydami aromatycznymi prowadząca do produktu **20** (Schemat 15) została opisana przez Yanga i współpracowników.⁸² Zachodzi ona w wodzie w obecności Tween 20 w temperaturze od 75 do 80 °C, bez dodatku innych katalizatorów. Reakcja ta nie zachodzi w wodzie bez dodatku surfaktantu, a w rozpuszczalnikach organicznych wydajność produktu jest niska, poniżej 50 %. Podczas gdy w wodnym roztworze surfaktantu produkt **20** został otrzymany z wydajnością 89 %, co świadczy o niewątpliwych korzyściach wynikających ze stosowania tego medium reakcyjnego. Ponadto roztwór surfaktantu może być użyty do sześciu cykli reakcyjnych bez znaczącego zmniejszenia wydajności produktu.

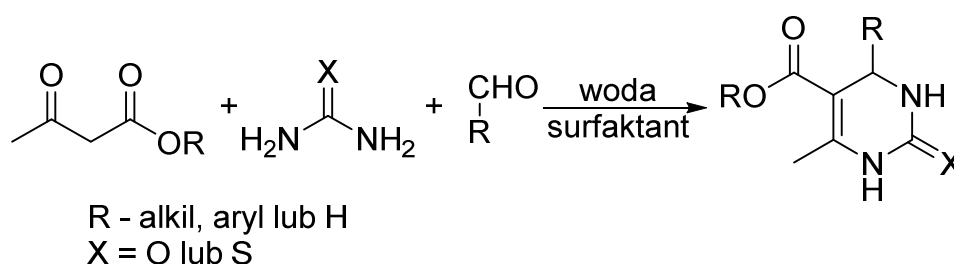
⁸¹ A. Kumar, S. Maurya, M.K. Gupta, R.D. Shukla, *RSC Adv.* **2014**, 4, 57953].

⁸² J. Yang, C. Jiang, H. Dong, D. Fang, *J. Chem. Res.* **2013**, 279



Schemat 15. Reakcja pomiędzy naftolem, benzaldehydem i karbaminianem metylu opisana przez Yanga i współpracowników.⁸³

Kolejnym przykładem reakcji multikomponentowej prowadzonej efektywnie w środowisku wodnym jest reakcja Biginellego. Zachodzi ona pomiędzy aldehydem, β -ketoestrem oraz mocznikiem (lub tiomocznikiem), prowadząc do powstania odpowiedniej pochodnej 3,4-dihydropirydyn-2(1*H*)-onu (Schemat 16). Reakcja ta zazwyczaj jest prowadzona w rozpuszczalniku organicznym w obecności kwaśnego katalizatora.⁸⁴ Xu i współpracownicy opracowali warunki prowadzenia tej reakcji w wodnym roztworze SDS w obecności chlorku miedzi (II).⁸⁵ Reakcja ta nie zachodzi bez dodatku surfaktantu, natomiast w obecności miceli produkt reakcji modelowej otrzymano z wydajnością 93 %. Opracowana procedura pozwala na efektywne otrzymanie pochodnych 3,4-dihydropirydyn-2(1*H*)-onu używając aromatycznych aldehydów jako substraty. Opisano także przykład użycia DBSA jako surfaktantu oraz kwasowego katalizatora do reakcji Biginellego.⁸⁶ Pozwala to na efektywne przeprowadzenie tej reakcji zarówno z aromatycznych, jak i alifatycznych aldehydów.



Schemat 16. Przebieg reakcji Biginellego.

Reakcja Kabachnika-Fieldsa prowadzi do otrzymania α -aminofosfonianów z odpowiednich aldehydów, amin oraz *H*-fosfonianów (Schemat 17). Związki te są analogami strukturalnymi odpowiednich α -aminokwasów, w związku z czym posiadają

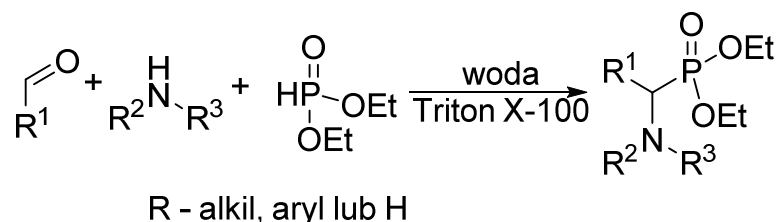
⁸³ J. Yang, C. Jiang, H. Dong, D. Fang, *J. Chem. Res.* **2013**, 279.

⁸⁴ P. Salehi, M. Dabiri, M.A. Zolfigol, M.A.B. Fard, *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 2889; W.-Y. Chen, S.-D. Qiu, J.-R. Jin, *Synth. Commun.* **2007**, *37*, 47.

⁸⁵ F. Xu, J.-J. Wang, Y.-P. Tian, *Synth. Commun.* **2008**, *38*, 1299.

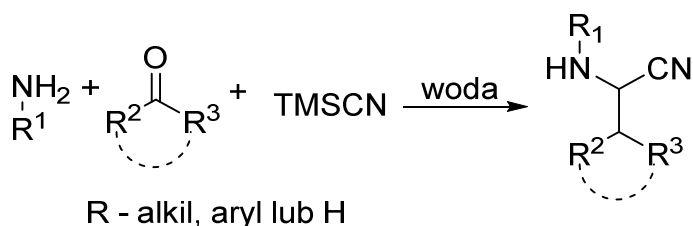
⁸⁶ M.A. Bigdeli, G. Gholami, E. Sheikhsosseini, *Chinese Chem. Lett.* **2011**, *20*, 903.

szereg udokumentowanych aktywności biologicznych.⁸⁷ Sobhani i Vafae opisali reakcję Kabachnika-Fieldsa prowadzoną w wodnym roztworze SDS.⁸⁸ Wysoką konwersję substratów obserwowano już po 5 minutach prowadzenia reakcji. Ponadto Reddy i współpracownicy wykazali, że zachodzi ona efektywnie w obecności miceli utworzonych przez Triton X-100.⁸⁹ W zoptymalizowanych warunkach reakcji autorzy przeprowadzili syntezę 10 pochodnych α -aminofosfonianów oraz wykazali ich właściwości przeciwbakteryjne.



Schemat 17. Reakcja Kabachnika-Fieldsa.

Shekouhy opisał przebieg wariantu reakcji Strackera (Schemat 18) w wodzie, w obecności glikolu polietylenowego modyfikowanego kwasem siarkowym.⁹⁰ Związek ten pełni jednocześnie funkcję surfaktantu, promującego przebieg reakcji, jak i kwasowego katalizatora. Autor zoptymalizował warunki reakcji, a następnie zsyntetyzował 42 pochodne α -aminonitrylu z wysokimi wydajnościami, od 81 do 96 %. Ponadto, szczegółowe badania nad zawracaniem katalizatora i medium reakcyjnego wykazały, że po 9 cyklach reakcyjnych nie zauważono spadku aktywności katalizatora. Natomiast wydłużając czas reakcji można przeprowadzić aż 15 cykli reakcyjnych bez znaczącego spadku w wydajności produktu.



Schemat 18. Reakcja Streckera, której przebieg w środowisku wodnym opisał Shekouhy.⁹¹

⁸⁷ F.R. Atheron, C.H. Hassal, R.W. Lambert, *J. Med. Chem.* **1986**, 29, 29; P.P. Giannousis, P.A. Barlett, *J. Med. Chem.* **1987**, 30, 1603; M.C. Allen, W. Fuhrer, B. Tuck, R. Wade, J.M. Wood, *J. Med. Chem.* **1989**, 32, 1652; P. Kafarski, B. Lejczak, *Phosphorus Sulfur Silicon Relat. Elem.* **1991**, 63, 193.

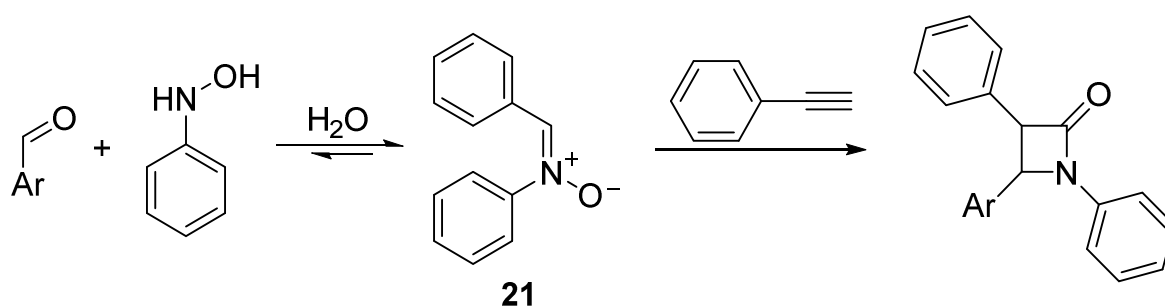
⁸⁸ S. Sobhani, A. Vafae, *Synthesis* **2009**, 11, 1909.

⁸⁹ N.B. Reddy, C.S. Sundar, C.R. Rani, K.U.M. Rao, S.K. Nayak, C.S. Reddy, *Arab. J. Chem.* **2016**, 9, S685.

⁹⁰ M. Shekouhy, *Catal. Sci. Technol.* **2012**, 2, 1010.

⁹¹ M. Shekouhy, *Catal. Sci. Technol.* **2012**, 2, 1010.

Reakcja Kinugasy pomiędzy terminalnymi alkinami i nitronami (**21**) (Schemat 19) w obecności jonów miedzi (I), prowadzi do otrzymywania pochodnych β -laktamów.⁹² Zazwyczaj jest ona prowadzona w rozpuszczalnikach takich jak acetonitryl, pirydyna lub DMF, jednak Chatterjee i współpracownicy opracowali warunki prowadzenia tej reakcji w wodzie w obecności surfaktantów takich jak SDS lub CTAB.⁹³ Agregaty utworzone w mieszaninie reakcyjnej nie tylko zwiększa rozpuszczalność substratów, ale też ochraniają wrażliwą cząsteczkę nitronu (**21**) przed hydrolizą. Ponadto McKay i współpracownicy opisali warunki prowadzenia w której SDS promuje jej przebieg.⁹⁴ Po szczegółowych badaniach optymalizacyjnych, uwzględniających także powstawanie produktu ubocznego – amidu powstałego w wyniku hydrolizy związku **21**, autorzy opracowali warunki reakcji, w których zsyntetyzowali 9 pochodnych β -laktamów z wydajnościami od 45 do 85 %.



Schemat 19. Przebieg reakcji Kinugasy.

Reakcja Hantzsha pomiędzy aldehydem, β -ketoestrem oraz amoniakiem (lub octanem amonu) pozwala na uzyskanie odpowiednich pochodnych 1,4-dihydropirydyny (Schemat 20). Związki tego typu wykazują działania biologiczne, w związku z czym znajdują szerokie zastosowanie w chemii medycznej.⁹⁵ Kumar i Maurya opisali w 2008 roku efektywną procedurę przeprowadzania tej reakcji w środowisku wodnym z dodatkiem SDS, jako katalizatora używając kwasu *p*-toluenosulfonowego.⁹⁶ W opracowanych warunkach zsyntetyzowano 30 produktów z wysokimi wydajnościami od 72 do 97 %. Względnie krótki czas prowadzenia reakcji, wynoszący godzinę, jest możliwy dzięki wspomaganie reakcji ultradźwiękami. Ponadto, Heravi i współpracownicy opracowali niesymetryczny wariant reakcji Hantzsha z użyciem acetylooctanu metylu oraz dimedonu (Schemat 20).⁹⁷ Prowadzenie reakcji w wodnym roztworze Tritonu X-100 pozwala na przeprowadzenie reakcji we względnie krótkim czasie (od 30 do 120 minut) w temperaturze pokojowej, co jest niewątpliwą zaletą tej procedury. Poza tym, Ghosh i współpracownicy zauważyli, że dodatek nadsiarczanu potasu i naświetlanie lampą wolframową podczas prowadzenia reakcji Hantzsha w

⁹² M. Kiniugasa, S. Hashimoto, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1972**, 466.

⁹³ A. Chatterjee, D.K. Maiti, P.K. Bhattacharya, *Org. Lett.* **2003**, 5, 3967.

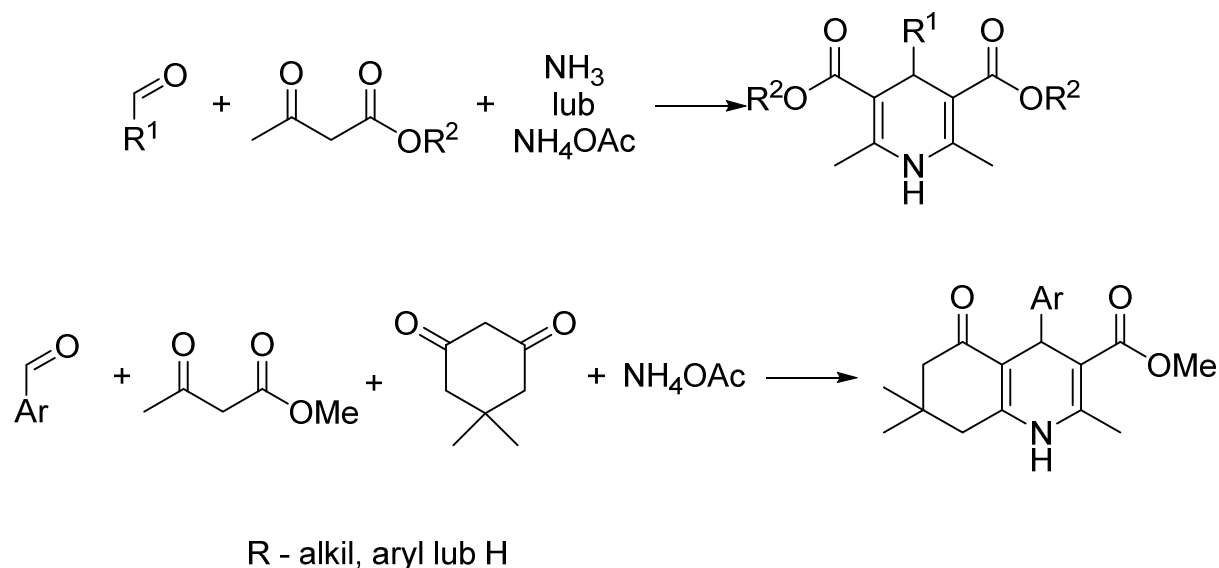
⁹⁴ S.C. McKay, D.C. Kennedy, J.P. Pezacki, *Tetrahedron Lett.* **2009**, 50, 1893.

⁹⁵ F. Bossert, H. Meyer, E. Wehinger, **1981**, 20, 762.

⁹⁶ A. Kumar, R.A. Maurya, *Synlett* **2008**, 883.

⁹⁷ M.R.P. Heravi, S. Mehranfar, N. Shabani, *C. R. Chimie* **2014**, 17, 141.

wodnym roztworze Tritonu X-100 prowadzi do następczego utleniania z aromatyzacją do odpowiednich pochodnych pirydyny.⁹⁸



Schemat 20. Reakcja Hantzscha (na górze) oraz jej niesymetryczny wariant opisany przez Heraviego i współpracowników⁹⁹ (na dole).

Poza opisanymi powyżej reakcjami, znanych jest także wiele innych reakcji multikomponentowych prowadzonych w wodzie w obecności surfaktantu. Dodatek surfaktantu może w nich pełnić rolę promotora, jedynie korzystnie wpływając na środowisko reakcji jak i posiadać ugrupowania katalizujące reakcje. Jako produkty reakcji otrzymywane są zazwyczaj związki heterocykliczne, które mogą być wartościowe z punktu widzenia chemii medycznej. Często otrzymanie tych samych związków innymi metodami wymagałoby wieloetapowej syntezy z zastosowaniem rozpuszczalników organicznych oraz trujących i szkodliwych dla środowiska reagentów i katalizatorów, co świadczy o potencjale reakcji multikomponentowych prowadzonych w środowisku wodnym z dodatkiem surfaktantu. Powyższa tematyka została szerzej opisana w pracy przeglądowej opublikowanej przez nasz zespół w *Frontiers in Chemistry* w 2018 roku.¹⁰⁰

⁹⁸ P.P. Ghosh, P. Mukherjee, A.R. Das, *RSC Adv.* **2013**, 3, 8220.

⁹⁹ M.R.P. Heravi, S. Mehranfar, N. Shabani, *C. R. Chimie* **2014**, 17, 141.

¹⁰⁰ D. Paprocki, A. Madej, D. Koszelewski, A. Brodzka, R. Ostaszewski, *Front. Chem.* **2018** doi: 10.3389/fchem.2018.00502.

4. Reakcje utleniania katalizowane przez lakazy

4.1. Budowa lakaz

Lakazy (EC 1.10.3.2) to enzymy z grupy oksydoreduktaz należące do grupy oksydaz wielomiedziowych, występujące m.in. w roślinach,¹⁰¹ grzybach¹⁰² oraz niektórych bakteriach.¹⁰³ Enzymy te katalizują utlenianie licznych związków organicznych i nieorganicznych przy jednoczesnej redukcji tlenu do wody. Naturalną aktywność lakaz jest związana z rozkładem ligniny, w przypadku lakaz grzybowych.¹⁰⁴ W roślinach lakazy są odpowiedzialne za polimeryzację składników ściany komórkowej w procesie powstawania ligniny oraz regeneracji uszkodzeń tkanki roślinnej.¹⁰⁵ Ponadto sugeruje się rolę chinonów, powstałych podczas utleniania fenoli przez lakazę, w ochronie rośliny przed patogenami.

W centrum aktywnym enzymu znajdują się cztery sąsiadujące ze sobą atomy miedzi (Rysunek 10), które zostały podzielone na trzy typy o różnych właściwościach. Porównanie sekwencji ponad 100 lakaz wykazało, że sekwencje aminokwasowe wiążące atomy miedzi są konserwowane i pozwalają na wyróżnienie lakaz z grupy oksydaz wielomiedziowych.¹⁰⁶ Atom miedzi typu I jest miejscem utleniania substratu, jego forma utleniona absorbuje światło przy długości fali $\lambda = 610$ nm, w związku z czym enzym ma niebieski kolor. Atom miedzi typu III oraz dwa atomy miedzi typu II tworzą zespół, w którym wiązany jest tlen i następuje jego redukcja. W jednym cyklu katalitycznym cztery cząsteczki substratów są utleniane do czterech rodników, przy redukcji jednej cząsteczki tlenu do dwóch cząsteczek wody.¹⁰⁷

¹⁰¹ A. Huttermann, C. Mai, A. Kharazipour, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2001**, 55, 387; R. Bligny, R. Douce, *Biochem. J.* **1983**, 209, 489; R.P. Gregory, D.S. Bendall, *Biochem J.* **1996**, 1001, 569.

¹⁰² C.F. Thurston, *Microbiology*, **1994**, 140, 19.

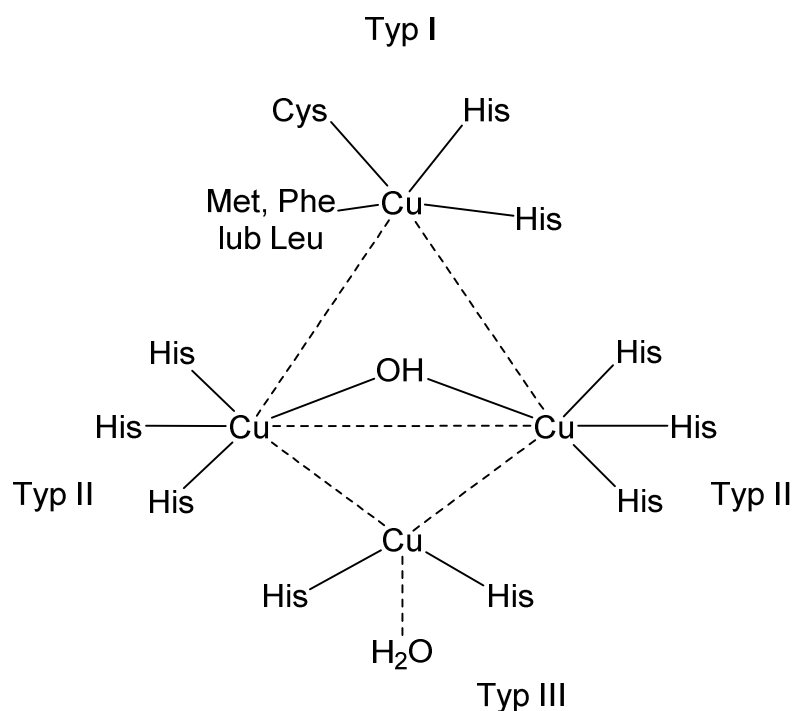
¹⁰³ G. Alexandre, I.B. Zhulin, *Trends Biotechnol.* **2000**, 18, 41; H. Claus, Z. Filip, *Microbiol. Res.* **1997**, 152, 209.

¹⁰⁴ A. Breen, F.L. Singleton, *Curr. Opin. Biotechnol.* **1999**, 10, 252.

¹⁰⁵ A. de Marco, K.A. Roubelakis-Angelakis, *Phytochemistry* **1997**, 46, 362.

¹⁰⁶ S.V.S. Kumar, P.S. Phale, S. Durani, P.P. Wangikar, *Biotechnol. Bioeng.* **2003**, 83, 386.

¹⁰⁷ H. Claus, *Micron* **2004**, 35, 93; E.I. Solomon, U.M. Sundaran, T.E. Machonkin, *Chem. Rev.* **1996**, 96, 2563.



Rysunek 10. Schematyczny rysunek centrum katalitycznego lakazy.¹⁰⁸

Atom miedzi typu I jest skompleksowany ze strukturą białkową za pomocą czterech reszt aminokwasowych, dwóch histydyn, cysteiny oraz metioniny (w lakazach bakteryjnych), leucyny lub fenyloalaniny (w lakazach grzybowych). Zmiana czwartego aminokwasu kompleksującego atom miedzi typu I znacząco wpływa na potencjał utleniający enzymu. Mutacja prowadząca do wymiany fenyloalaniny na metioninę znacznie obniżyła potencjał utleniający lakazy z *Trametes villosa*.¹⁰⁹ Atomy miedzi typu II oraz III są związane za pomocą ośmiu reszt histydyny. Pomiędzy atomami miedzi typu II obecna jest grupa hydroksylowa.

Badania nad aktywnością lakaz, na przykładzie lakazy z *Trametes hirsuta*, wykazały, że wykazuje ona kinetykę zgodną z modelem Michelisa-Menten.¹¹⁰ Enzym ten wykazuje najwyższą aktywność w temperaturze 60 °C, jednak powyżej 50 °C jest on znacznie mniej stabilny. Najwyższą aktywność oraz stabilność wykazuje on przy wartości pH wynoszącej 4,5. Podobne wyniki uzyskano także dla lakazy z *Trametes versicolor*, która jest aktywna w zakresie pH od 3 do 6, przy maksimum aktywności w pH od 3 do 4.¹¹¹ Najwyższą aktywność enzymu obserwuje się w temperaturach 40-60 °C, w 60 °C jego stabilność spada. Reakcje z użyciem lakaz są zazwyczaj prowadzone w buforach (najczęściej cytrynianowym lub fosforanowym) oraz w mieszaninach buforu z

¹⁰⁸ H. Claus, *Micron* **2004**, 35, 93.

¹⁰⁹ S.V.S. Kumar, P.S. Phale, S. Durani, P.P. Wangikar, *Biotechnol. Bioeng.* **2003**, 83, 386.

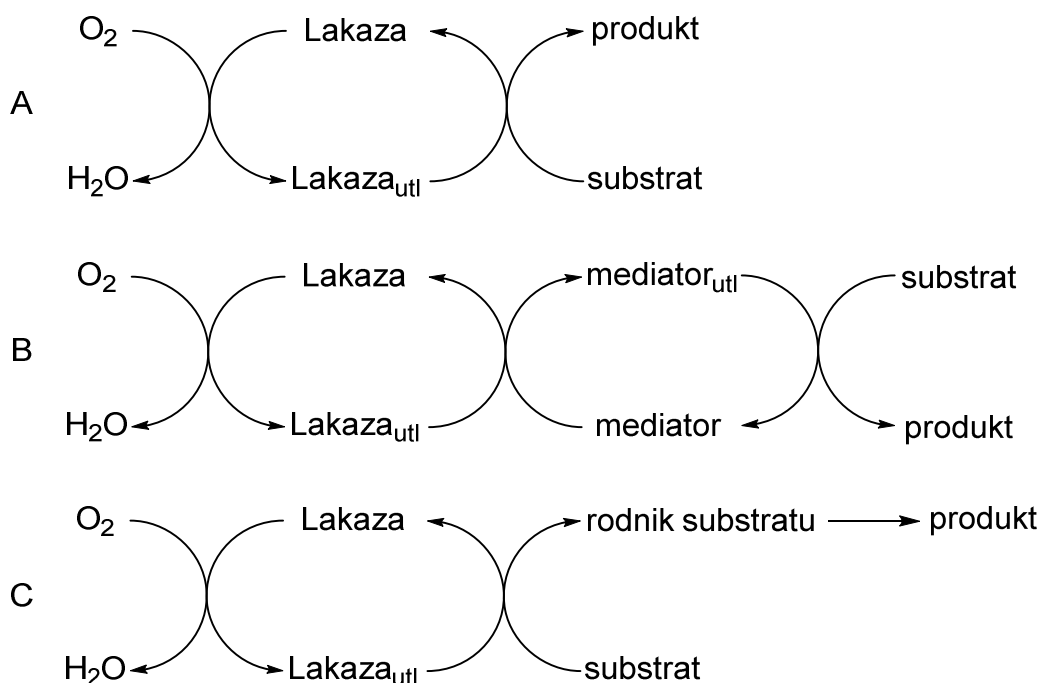
¹¹⁰ P.K. Chaurasia, R.S.S. Yadav, S. Yadawa, *Process Biochem.* **2014**, 49, 1647.

¹¹¹ M.-J. Han, H.-T. Choi, H.-G. Song, *J. Microbiol.* **2005**, 43, 555.

rozpuszczalnikami organicznymi takimi jak dioksan, acetonitryl, aceton, octan etylu lub dimetylosulfotlenek.¹¹²

4.2. Reakcje katalizowane przez lakazy

Reakcje katalizowane przez lakazy można podzielić na trzy grupy: reakcje utleniania bez udziału mediatora (A), reakcje utleniania w obecności mediatora (B) oraz reakcje sprzężania (C, Rysunek 11).¹¹³



Rysunek 11. Trzy typy reakcji katalizowanych przez lakazy.

4.2.1. Reakcje utleniania bez udziału mediatora

Zdolność lakaz do utleniania pochodnych fenolu jest powszechnie wykorzystywana w przemyśle. Na przykład w przemyśle spożywczym wykorzystuje się je do degradacji fenoli odpowiedzialnych za brązowienie i mętnienie soków, piwa oraz wina. W przemyśle papierniczym lakazy są używane do początkowego rozkładu ligniny, co pozwala na zmniejszenie kosztu dalszych procesów produkcji papieru. Ponadto ich zdolność do rozkładu barwników jest wykorzystywana w przemyśle włókienniczym.¹¹⁴

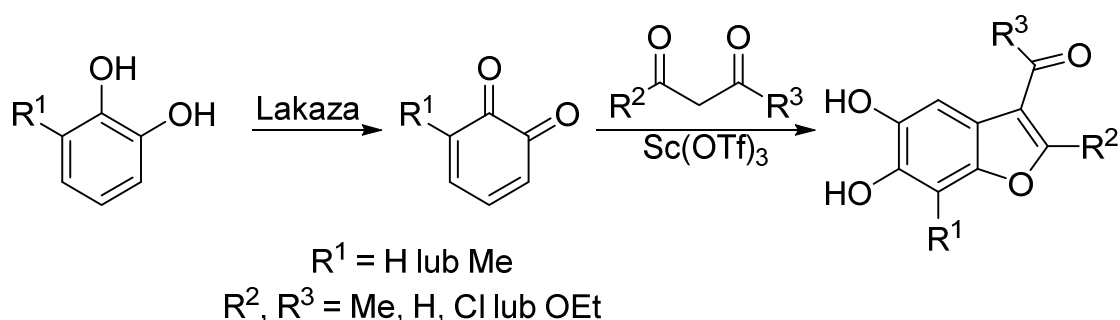
¹¹² S. Witayakran, A.J. Ragauskas, *Adv. Synth. Catal.* **2009**, 351, 1187.

¹¹³ J. Polak, A. Jarosz-Wilkołazka, *Biotechnologia* **2007**, 4, 82.

¹¹⁴ S.R. Couto, J.L.T. Herrera, *Biotechnol. Adv.* **2006**, 24, 500.

Poza tym zdolność do utleniania fenoli przez lakazy jest wykorzystywana w procesach oczyszczania gleby oraz wody.¹¹⁵

Lakazy katalizują reakcje utleniania szeregu pochodnych fenolu, aniliny oraz tiofenolu.¹¹⁶ Reakcje te prowadzą do uzyskania pochodnych chinonów lub polimerów. Przykładem wykorzystania tej reakcji może być katalizowana przez lakazę z *Trametes villosa* synteza pochodnych benzofuranu (Schemat 21).¹¹⁷ Pirokatechina utleniana jest przez lakazę do *orto*-chinonu, który następnie reaguje ze związkiem 1,3-dikarbonylowym w obecności triflanu skandu tworząc pochodną benzofuranu. Reakcja prowadzona jest w buforze fosforanowym pH = 7 w obecności 20 % molowych SDS, co świadczy o tym, że reakcje katalizowane lakazami mogą być efektywnie prowadzone w wodnym roztworze surfaktantu oraz łączone w procesy kaskadowe z innymi reakcjami chemicznymi.



Schemat 21. Synteza pochodnych benzofuranu katalizowana przez lakazę.

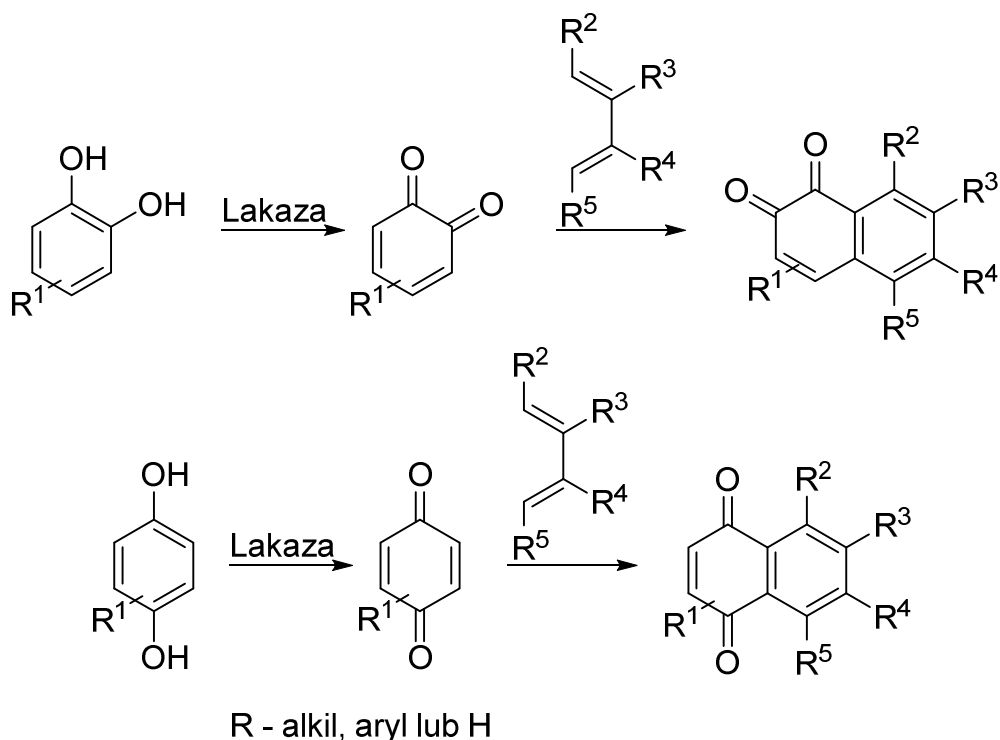
Witayakran i współpracownicy opisali reakcje utleniania pirokatechiny oraz hydrochinonu katalizowaną przez lakazę z *Trametes villosa* oraz następczą reakcją Dielsa-Aldera (Schemat 22).¹¹⁸ W pierwszym etapie difenol jest utleniany do odpowiedniego chinonu, który następnie reaguje z pochodną butadienu do odpowiedniego naftochinonu. Obie reakcje zachodzą w buforze octanowym pH = 4,5 w temperaturze pokojowej.

¹¹⁵ N. Duran, E. Esposito, *Appl. Catal. B-Environ.* **2000**, 29, 83.

¹¹⁶ F. Xu, *Biochemistry* **1996**, 35, 7608.

¹¹⁷ S. Witayakran, L. Gelbaum, A.J. Ragauskas, *Tetrahedron* **2007**, 63, 10958.

¹¹⁸ S. Witayakran, A. Zettili, A.J. Ragauskas, *Tetrahedron Lett.* **2007**, 48, 2983.



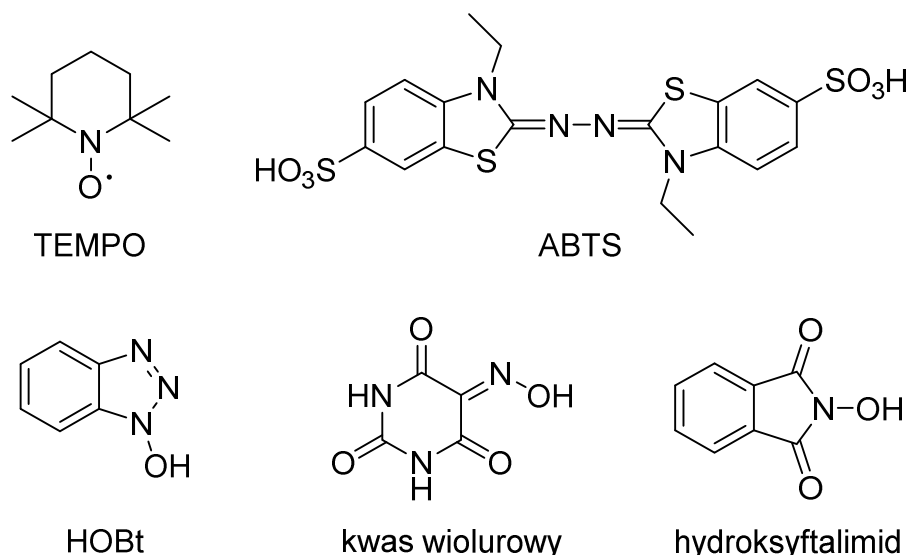
Schemat 22. Utlenianie pirokatechiny oraz hydrochinonu z następczą reakcją Dielsa-Aldera.

4.2.2. Reakcje utleniania w obecności mediatora

W przypadku, gdy cząsteczki substratu nie mieszczą się w centrum aktywnym enzymu lub potencjał utleniający enzymu jest zbyt niski, reakcje utleniania można prowadzić w obecności mediatorów. Są to niskocząsteczkowe związki, które są utleniane przez enzym, a następnie to one utleniają substrat. Do najczęściej używanych mediatorów należą 2,2,6,6-tetrametylopiperdyd-1-oksyl (TEMPO), hydroksybenzotriazol (HOBt), kwas 2,2'-azyno-bis [3-etylbentotiazoliny-6-sulfonowy] (ABTS), kwas wiolurowy oraz hydroksyftalimid (Rysunek 12).¹¹⁹ Poza tym pochodne TEMPO z podstawnikami w pozycji 4 takimi jak grupa hydroksylowa, aminowa, grupa acetamidowa, metoksylova i karbonylova mogą być również wykorzystywane jako mediatorzy.¹²⁰

¹¹⁹ P. Baiocco, A.M. Barreca, M. Fabbrini, C. Galli, P. Gentili, *Org. Biomol. Chem.* **2003**, *1*, 191.

¹²⁰ I.W.C.E. Arends, Y.-X. Li, R. Ausan, R.A. Sheldon, *Tetrahedron* **2006**, *62*, 6659.



Rysunek 12. Mediatorzy używane w reakcjach katalizowanych przez lakazy.

Utlenianie alkoholi do aldehydów jest prowadzone w obecności toksycznych utleniaczy takich jak CrO_3 , KMnO_4 , MnO_2 , SeO_2 , Br_2 używanych w stechiometrycznych ilościach. Znane są także liczne metody utleniania przy pomocy tlenu, jednak często jako katalizatory używa się kompleksów metali przejściowych,¹²¹ które są szkodliwe i niepożądane przy syntezie farmaceutyków. Alternatywą dla istniejących metod jest reakcja katalizowana przez lakazę w obecności mediatora, najczęściej TEMPO (Schemat 23). Badania prowadzone przez Baiocco i współpracowników wykazały, że pozostałe mediatorzy zaprezentowane na Rysunku 12 także mogą być użyte do reakcji, aczkolwiek wydajność odpowiedniego produktu nie przekracza 60 %.¹²² Utlenianie katalizowane przez lakazę w obecności TEMPO zachodzi efektywnie dla pochodnych alkoholu benzyłowego, alkoholu cynamonowego lub geraniolu. Użycie alifatycznych alkoholi jako substratów pozwala na otrzymanie produktów ze znacznie niższą wydajnością, do 35 % w warunkach w których utlenianie alkoholu benzyłowego zachodzi praktycznie ilościowo.¹²³ Poza tym Galletti i współpracownicy opisali warunki na prowadzenie nieselektywnego utleniania alkoholi, otrzymując mieszaninę alkoholu i kwasu, utleniania aldehydu do kwasu lub utlenianiu alkoholu drugorzędowego do ketonu.¹²⁴ Reakcje te katalizowane są przez lakazę z *Trametes versicolor* w obecności TEMPO w atmosferze tlenu, jednakże wymagają one długich czasów prowadzenia reakcji, nawet do 6 dni.

¹²¹ C. Xu, C. Zhang, H. Li, X. Zhao, L. Song, X. Li, *Catal. Surv. Asia* **2016**, 20, 13.

¹²² P. Baiocco, A.M. Barreca, M. Fabbrini, C. Galli, P. Gentili, *Org. Biomol. Chem.* **2003**, 1, 191.

¹²³ F. d'Acunzo, P. Baiocco, M. Fabbrini, C. Galli, P. Gentili, *Eur. J. Org. Chem.* **2002**, 4195; M. Fabbrini, C. galli, P. Gentili, D. Macchitella, *Tetrahedron Lett.* **2001**, 42, 7551.

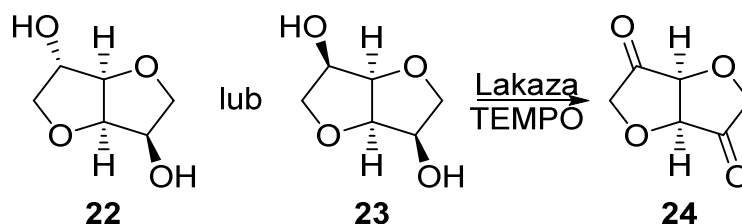
¹²⁴ P. Galletti, M. Pori, F. Funicello, R. Soldati, A. Ballardini, D. Giacomini, *ChemSusChem* **2014**, 7, 2684.



R - aryl lub alkil

Schemat 23. Utlenianie alkoholu do odpowiedniego aldehydu.

Przykładem zastosowania lakaz do utleniania alkoholi jest reakcja utleniania izosorbidu **22** oraz izomannidu **23** do diketonu **24** (Schemat 24).¹²⁵ Związki **22** i **23** są łatwo dostępnymi surowcami pochodzącymi ze źródeł odnawialnych takich jak skrobia i celuloza, natomiast utlenienie grup hydroksylowych tych związków umożliwia ich funkcjonalizację. Prowadzone są liczne badania nad wykorzystaniem tego typu związków jako substratów do syntezy farmaceutyków, rozpuszczalników, paliw oraz biopolimerów,¹²⁶ w związku z tym reakcja ta ma dużą wartość. Szczegółowe badania optymalizacyjne uwzględniające typ buforu, wartość pH, rodzaj oraz ilość mediatora pozwoliły na uzyskanie pełnej konwersji substratów do diketonu **24**.



Schemat 24. Utlenianie izosorbidu oraz izomannidu katalizowane przez lakazę z *Trametes versicolor* w obecności TEMPO.

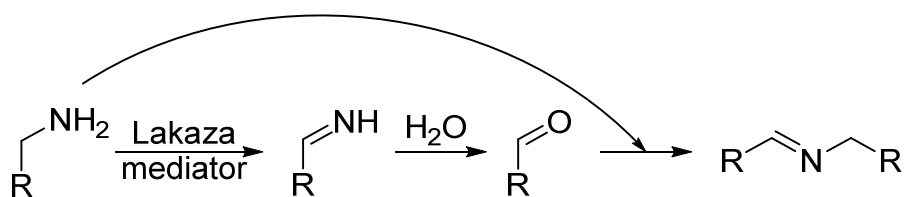
Galletti i współpracownicy opisali zastosowanie lakazy z *Trametes versicolor* oraz TEMPO do utleniania amin, które w zależności od warunków reakcji pozwala na uzyskanie odpowiednich aldehydów lub imin (Schemat 25).¹²⁷ Reakcja prowadzona była w buforze w atmosferze tlenu. Użycie aminy drugorzędowej jako substratu pozwala na utlenienie jej do iminy, która jest dalej hydrolizowana do aminy i aldehydu. Ponieważ

¹²⁵ J. Gross, K. Tauber, M. Fichs, N.G. Schmidt, A. Rajagopalan, K. Faber, W.M.F. Fabian, J. Pfeffer, T. Haas, W. Kroutil, *Green Chem.* **2014**, *16*, 2117.

¹²⁶ M. Rose, P. Palkovits, *ChemSusChem* **2012**, *5*, 167; J. Wu, P. Eduard, S. Thiyagarajan, L. Jasinska-Walc, A. Rozanski, C.F. Guerra, B.A.J. Noorder, J. van Haveren, D.S. van Es, C.E. Koning, *Macromolecules* **2012**, *45*, 5069; J. Wu, L. Jasinska-Walc, D. Dudenko, A. Rozanski, M.R. Hansen, D. van Es, C.E. Koning, *Macromolecules* **2012**, *45*, 9333; B.A. Noorder, V.G. van Staaldunen, R. Duchateau, C.E. Koning, R.A.T.M. van Benthem, M. Mak, A. Heise, A.E. Frissen, J. van Haveren, *Biomacromolecules* **2006**, *7*, 3406.

¹²⁷ P. Galletti, F. Funicello, R. Soldati, D. Giacomini, *Adv. Synth. Catal.* **2015**, *357*, 1840.

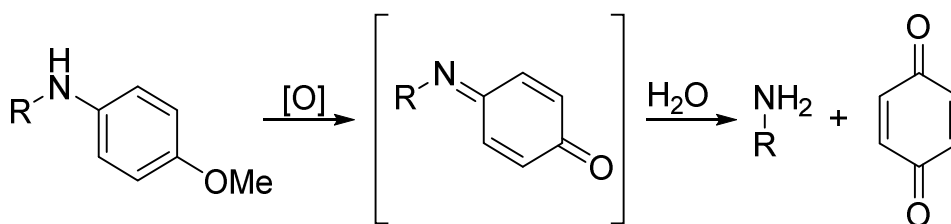
reakcja ta jest dużo szybsza dla amin benzytowych niż alifatycznych, została ona wykorzystana jako metoda odbezpieczania grup *N*-benzytowych.¹²⁸



R - aryl lub alkil

Schemat 25. Utlenianie amin do aldehydów i imin.

Lakaza z *Trametes versicolor* była także wykorzystana do odbezpieczania amin zabezpieczonych grupą *p*-metoksyfenylową (Schemat 26).¹²⁹ Reakcja prowadzona jest w mieszaninie buforu fosforanowego pH = 3 i tetrahydrofuranu stosując ABTS jako mediator. Łagodne warunki prowadzenia reakcji, pozwalające na przeprowadzanie odbezpieczania czynnych optycznie amin są atutem tej metody.



R - alkil lub aryl

Schemat 26. Odbezpieczanie amin katalizowane przez lakazę z *Trametes versicolor*,

Coniglio i współpracownicy opisali reakcje utleniania amidów katalizowaną przez lakazę z *Trametes villosa* w obecności HOBt lub hydroksyftalimidu (Schemat 27).¹³⁰ Reakcja ta jest prowadzona w mieszaninie buforu cytrynianowego pH = 5 oraz acetonitrylu 25:1 (v/v) przez 24 godziny w obecności tlenu. W wyniku reakcji, poza imidami, otrzymuje się także aldehyd jako produkt uboczny. Jednak opracowana metodologia nie jest uniwersalna, wydajność imidu zależy od użytego substratu, w związku z czym procedura wymaga optymalizacji dla każdego użytego substratu.

¹²⁸ L. Martinez-Montero, A. Diaz-Rodriguez, V. Gotor, V. Gotor-Fernandez, I. Lavandera, *Green Chem.* **2015**, *17*, 2794.

¹²⁹ J.M.M. Verkade, L.J.C. van Hemert, P.J.L.M. Quaedflieg, H.E. Schoemaker, M. Schurmann, F.L. van Delft, F.P.J.T. Rutjes, *Adv. Synth. Catal.* **2007**, *349*, 1332.

¹³⁰ A. Coniglio, C. Galli, P. Gentili, R. Vadala, *J. Mol. Cat. B:Enzym.* **2008**, *50*, 40.



R - alkil, aryl lub H

Schemat 27. Reakcje urealniania amidów katalizowane przez lakazę z *Trametes villosa*.

Poza opisanymi powyżej reakcjami znanych jest także wiele innych reakcji utleniania katalizowanych przez lakazy w obecności mediatora. Należą do nich; utlenianie eterów to estrów oraz tioeterów do sulfotlenków.¹³¹ Ponadto Diaz-Rodriguez i współpracownicy opisali katalizowane przez lakazę z *Trametes versicolor* oraz TEMPO reakcje utleniania dioli do δ -laktonów oraz aminoalkoholi do laktamów.¹³² Liczne doniesienia literaturowe wskazują także na możliwość utleniania pochodnych toluenu do odpowiednich pochodnych benzaldehydu, reakcje te mogą być prowadzone w obecności lakazy z *Coriolus versicolor* i ABTS,¹³³ lakazy z *Xylaria polymorpha* i ABTS,¹³⁴ lakazy z *Pleurotus ostreatus* oraz ABTS¹³⁵ lub lakazy z *Trametes versicolor* oraz HOBt.¹³⁶ Ponadto Marzorati i współpracownicy opisali utlenianie pierwszorzędowej grupy hydroksylowej w monosacharydach oraz disacharydach do grupy karboksylowej katalizowane przez lakazę z *Trametes pubescens* oraz TEMPO.¹³⁷

4.2.3. Reakcje sprzęgania katalizowane przez lakazy

Przykład reakcji sprzęgania katalizowanej przez lakazę jest trimeryzacja indolu (Schemat 28).¹³⁸ W reakcji tej indol utleniany jest do rodnika, który po przegrupowaniu reaguje z tlenem lub drugą cząsteczką indolu, dając produkt **25**. Reakcje prowadzi się w buforze octanowym pH = 5 w temperaturze 30 °C w obecności tlenu pod ciśnieniem 2 bar. Produkt otrzymywany jest niską wydajnością wynoszącą 23 %.

¹³¹ F. d'Acunzo, P. Baiocco, M. Fabbrini, C. Galli, P. Gentili, *Eur. J. Org. Chem.* **2002**, 4195.

¹³² A. Diaz-Rodriguez, L. Martinez-Montero, I. Lavandera, V. Gotor, V. Gotor-Fernandez, *Adv. Synth. Catal.* **2014**, 356, 2321.

¹³³ P.K. Chaurasia, S.K. Singh, S.L. Bharati, *Russ. J. Bioorg. Chem.* **2014**, 40, 288.

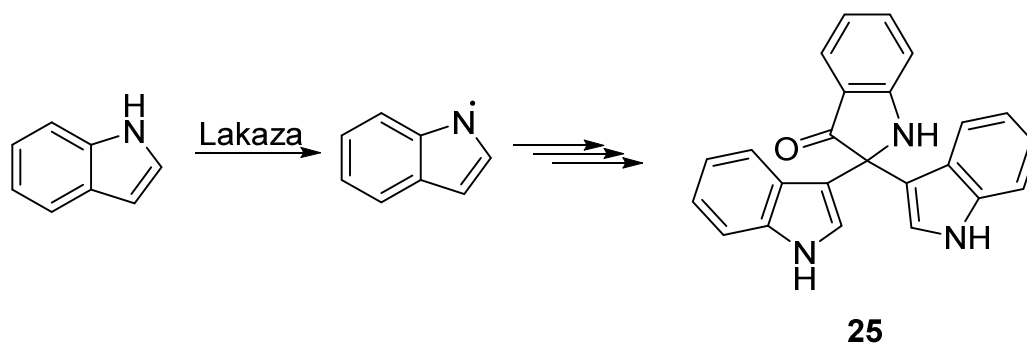
¹³⁴ P.K. Chaurasia, S. Yadava, S.L. Bharati, S.K. Singh, *Russ. J. Bioorg. Chem.* **2014**, 40, 455.

¹³⁵ P.K. Chaurasia, S. Yadava, S.L. Bharati, S.K. Singh, *Synth. Commun.* **2014**, 44, 2535.

¹³⁶ E. Fritz-Langhals, B. Kunath, *Tetrahedron Lett.* **1998**, 39, 5955.

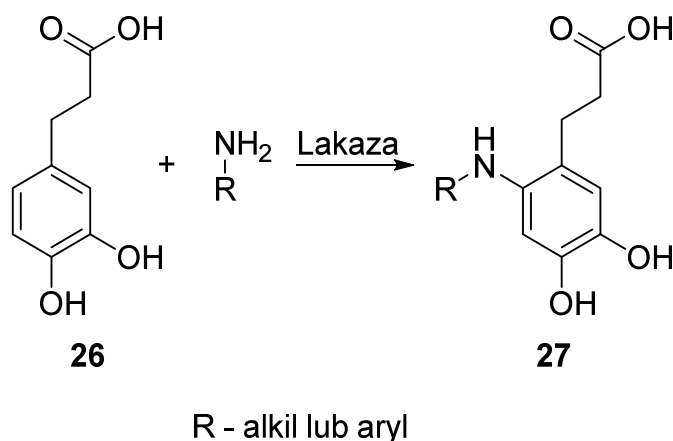
¹³⁷ M. Marzorati, B. Danieli, D. Haltrich, S. Riva, *Green Chem.* **2005**, 7, 310.

¹³⁸ C. Ganachaud, V. Garfagnoli, T. Tron, G. Icazio, *Tetrahedron Lett.* **2008**, 49, 2476.



Schemat 28. Trimeryzacja indolu katalizowana przez lakazę.

Mikolasch i współpracownicy opisali reakcję sprzężenia kwasu 3-(3,4,-dihydroksyfenylo)-propionowego (**26**) z aminami katalizowaną przez lakazę z *Pycnopus cinnabarinus* Schemat 29.¹³⁹ Podczas tej reakcji związek **26** jest utleniany do odpowiedniego kationorodnika, który jest następnie reaguje z aminą, tworząc produkt **27**. Badania oparte na analizie widm NMR oraz HRMS wykluczyły obecność struktur *orto*-chinonu podczas reakcji. Reakcja sprzężenia prowadzona była w buforze octanowym pH = 5 w temperaturze pokojowej lub w 30 °C.



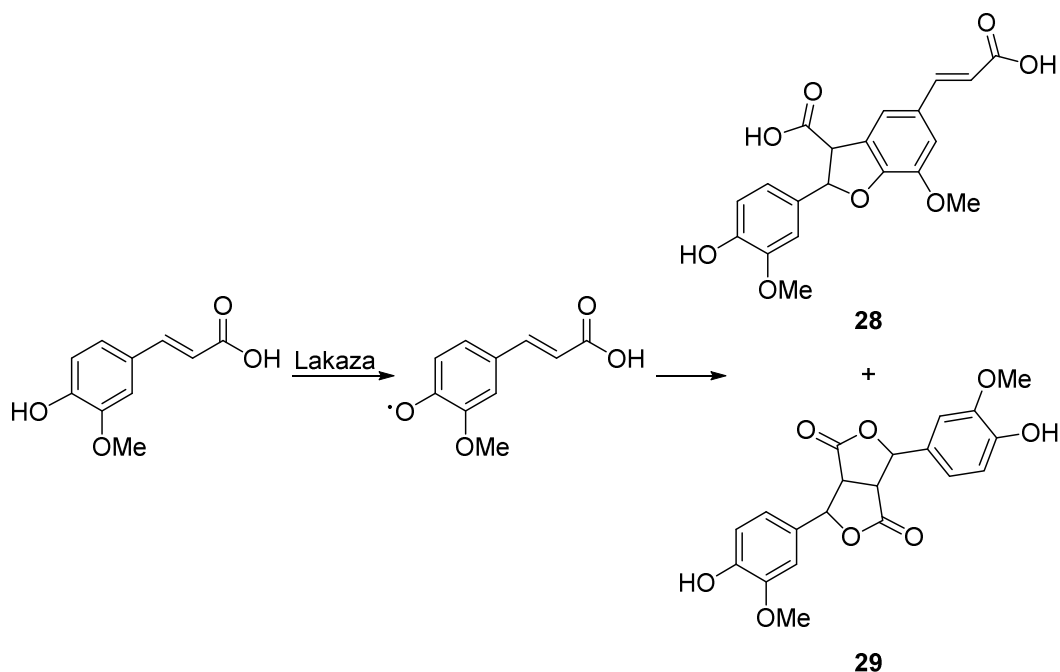
Schemat 29. Reakcja sprzężenia kwasu 3-(3,4,-dihydroksyfenylo)-propionowego z aminami.

Adelakun i współpracownicy opisali reakcję dimeryzacji kwasu ferulowego katalizowaną przez lakazę z *Trametes pubescens* (Schemat 30).¹⁴⁰ W pierwszym etapie kwas ferulowy utleniany jest do rodnika, który po przegrupowaniu dimeryzuje do mieszaniny produktów **28** i **29**. Prowadząc reakcję w dwufazowej mieszaninie buforu fosforanowego pH = 5 i octanu etylu otrzymuje się w przewodzie produkt **28**, natomiast w

¹³⁹ A. Mikolasch, E. Hammer, U. Jonas, K. Popowski, A. Stielow, F. Schauer, *Tetrahedron* **2002**, 58, 7589.

¹⁴⁰ O.E. Adelakun, T. Kudanga, A. Parker, I.R. Green, M. le Roes-Hill, S.G. Burton, *J. Mol. Cat. B:Enzym.* **2012**, 74, 29.

jednofazowej mieszaninie buforu z etanolem w obserwuje się większą ilość produktu **29**. Oba produkty posiadają właściwości przeciwutleniające.



Schemat 30. Reakcja dimeryzacji kwasu ferulowego katalizowana przez lakazę z *Trametes pubescens*.

Na szczególną uwagę zasługują katalizowane przez lakazę reakcje syntezy polianiliny. Użycie lakazy z *Trametes versicolor* w obecności agregatów uzyskanych z anionowych surfaktantów pozwala na efektywną polimeryzację aniliny.¹⁴¹ Ponadto istotny jest rodzaj agregatów użytych podczas reakcji polimeryzacji. Bez dodatku pęcherzyków uzyskuje się mętny czerwono-brązowy produkt, który nie ma własności przewodzących, podczas gdy w obecności pęcherzyków, uzyskanych z AOT otrzymywana jest rozpuszczalna, przewodząca forma polimeru, która jest pożądanym produktem.¹⁴² Wyniki powyższych prac świadczą o tym, że utlenianie za pomocą lakazy może być efektywnie prowadzone w wodnym roztworze surfaktantu, co dodatkowo może korzystnie wpływać na właściwości produktu.

¹⁴¹ K. Junker, R. Kissner, B. Rakvin, Z. Guo, M. Willeke, S. Busato, T. Weber, P. Walde, *Enzyme Microb. Tech.* **2014**, 55, 72.

¹⁴² S. Luginbuhl, L. Bertschi, M. Willeke, L.D. Schuler, P. Walde, *Langumir* **2016**, 32, 9765; K. Junker, S. Luginbuhl, M. Schuttel, L. Bertschi, R. Kissner, L.D. Schuler, B. Rakvin P. Walde, *ACS Catal.* **2014**, 4, 3421.

5. Badania własne

5.1. Koncepcja i cel badań

Celem wykonanych badań było opracowanie warunków, które by umożliwiły efektywne przeprowadzanie reakcji Passeriniego w środowisku wodnym oraz zbadanie wpływu układów micelarnych i enzymów na jej przebieg.

Jak wykazano w przeglądzie literaturowym, opisanym w części teoretycznej niniejszej pracy (rozdział 2), reakcja Passeriniego zazwyczaj jest prowadzona w rozpuszczalnikach organicznych, najczęściej w chlorku metylenu. Niestety rozpuszczalnik ten jest toksyczny oraz może być rakotwórczy, poza tym jest on szkodliwy dla środowiska, palny oraz toksyczny dla organizmów wodnych. Zgodnie z zasadami „zielonej chemii” powinno się minimalizować użycie substancji niebezpiecznych podczas syntezy (3 zasada) oraz ograniczać stosowanie rozpuszczalników (5 zasada).¹⁴³ W związku z tym opracowanie warunków prowadzenia w efektywny sposób reakcji Passeriniego w środowisku wodnym wydaje się atrakcyjną alternatywą dla standardowych metod prowadzenia tej reakcji.

Dotychczas opisano w literaturze przypadki stosowania wody jako rozpuszczalnika do reakcji Passeriniego, które były prowadzone w stężeniu substratów wynoszącym 40 mM¹⁴⁴ lub 57 mM.¹⁴⁵ Opracowanie reakcji biegnącej w wyższych stężeniach substratów zdecydowanie zwiększyłoby produktywność procesu, co może zmniejszyć koszty prowadzenia syntez w dużej skali. Poza tym jako substraty zazwyczaj używane były związki słabo rozpuszczalne w wodzie, w związku z czym reakcje prowadzone były w warunkach „on water”. Po analizie danych literaturowych na temat wpływu zastosowania związków powierzchniowo czynnych na reakcje multikomponentowe (rozdział 3.4.) zaplanowano eksperymenty, które powinny określić wpływ surfaktantów na przebieg reakcji Passeriniego. Zaplanowano także badania, mające na celu wyjaśnienie, czy jeden z substratów reakcji Passeriniego, kwas karboksylowy, może pełnić jednocześnie funkcję surfaktantu promującego przebieg reakcji.

Opracowanie warunków na efektywne prowadzenie reakcji Passeriniego w środowisku wodnym umożliwiłoby połączenie tej reakcji oraz reakcji enzymatycznych w procedurę prowadzoną w jednym naczyniu reakcyjnym. Badania nad jednoczesnym prowadzeniem enzymatycznego utleniania alkoholu, za pomocą tlenu atmosferycznego oraz reakcji Passeriniego mogą nieść niewątpliwe korzyści z punktu widzenia „zielonej chemii”. W tego typu kaskadowym procesie nie ma konieczności wydzielania związków

¹⁴³ P.T. Anastas, J.C. Warner, *Green Chemistry: Theory and Practice*; Oxford University Press: New York, **1998**, p.30.

¹⁴⁴ E. Vessally, A. Ramazani, E. Yaaghubi, *Monatsh. Chem.* **2011**, *142*, 1143; J. Taran, A. Ramazani, S.W. Joo, K. Ślepokura, T. Lis, *Helv. Chim. Acta* **2014**, *97*, 1088.

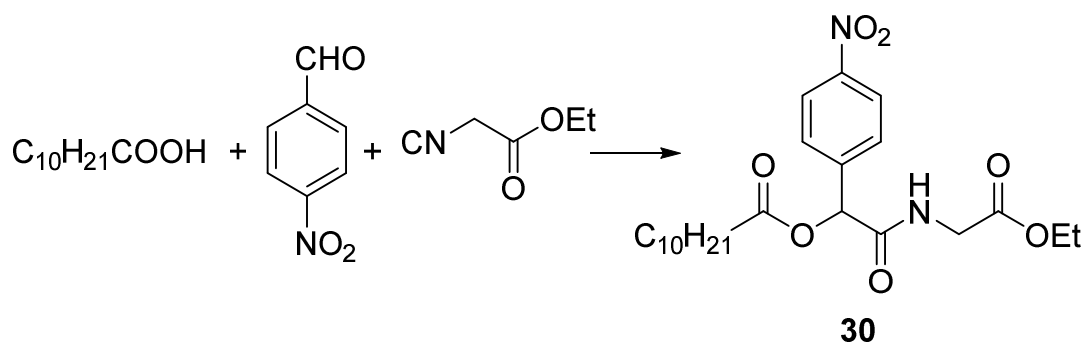
¹⁴⁵ N. Shapiro, A. Vigalok, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 2849.

pośrednich podczas kilkietapowej syntezy, co pozwala na znaczną oszczędność czasu i energii oraz znaczną redukcję zużycia rozpuszczalników organicznych. Poza tym zaplanowano badania nad opracowaniem trzyetapowej procedury syntezy, prowadzonej w jednym reaktorze i umożliwiającej uzyskanie α -acyloksyamidów posiadających grupę kumarynową z prostych substratów.

5.2. Badania nad opracowaniem warunków prowadzenia reakcji Passeriniego w środowisku wodnym w obecności układów micelarnych

5.2.1. Badania wstępne

Jako modelową reakcję Passeriniego wybrano reakcję pomiędzy kwasem undekanowym, *p*-nitrobenzaldehydem oraz izocyjanoocetanem etylu (Schemat 31). Użycie kwasu undekanowego jako substratu miało na celu umożliwienie oddziaływania pomiędzy długim łańcuchem węglowym kwasu oraz hydrofobowymi łańcuchami surfaktantu tworzącego układy micelarne. Najpierw zsyntetyzowano wzorzec produktu **30**, w reakcji prowadzonej w chlorku metylenu. Uzyskany produkt został wykorzystany do opracowania metody badania składu enancjomerycznego tego związku za pomocą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) z kolumną o chiralnym wypełnieniu, kolumna: Chiralpak IA; eluent: heksan:izopropanolu 85:15 (v/v).



Schemat 31. Modelowa reakcja Passeriniego.

Następnie prowadzono tą samą reakcję (Schemat 31) w buforze fosforanowym pH=7,4 w obecności liposomów, przygotowanych zgodnie z procedurą literaturową (Rozdział 3.2),¹⁴⁶ za pomocą metody wstrzykiwania i odparowania rozpuszczalnika. Arbitralnie jako surfaktant został wybrany monostearynian sorbitolu (Span 60), który jest powszechnie używany do tworzenia liposomów. We wszystkich eksperymentach stężenie surfaktantu było dziesięciokrotnie większe niż substratów. Wyniki eksperymentów

¹⁴⁶ A. Akbarzadeh, R. Rezaei-Sadabady, S. Davaran, S.W. Joo, N. Zarghami, Y. Hanifehpour, M. Samiei, M. Kouhi, K. Nejati-Koshki, *Nanoscale Res. Lett.* **2013**, 8, 102.

pokazujących wpływ stężenia substratów, użytego rozpuszczalnika oraz czasu na wydajność produktu reakcji przedstawiono w Tabeli 1 (procedura ogólna znajduje się w części eksperymentalnej w rozdziale 6.2.2.).

Tabela 1 Reakcje Passeriniego pomiędzy kwasem undekanowym, *p*-nitrobenzaldehydem oraz izocyjanooctanem etylu w obecności liposomów.

L.p.	Stężenie substratów	Czas	Rozpuszczalnik	Wydajność
1	1 mM	1 dzień	E _t 2O	6 %
2	1 mM	1 dzień	DCM	<1 %
3	1 mM	1 dzień	---*	<1 %
4	1 mM	3 dni	E _t 2O	6 %
5	1 mM	7 dni	E _t 2O	3 %
6	10 mM	1 dzień	E _t 2O	8 %
7	10 mM**	1 dzień	E _t 2O	4 %
8	100 mM	1 dzień	E _t 2O	26 %
9	100 mM**	1 dzień	E _t 2O	21 %
10	100 mM	1 dzień	---*	36 %

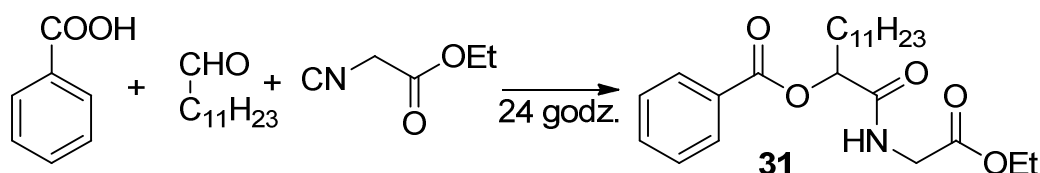
*Reakcja prowadzona z pominięciem etapu wstrzykiwania roztworu kwasu i surfaktantu, odczynniki zostały po prostu dodane do mieszaniny reakcyjnej w temperaturze pokojowej.

**Reakcja prowadzona w wodzie destylowanej

Reakcje przeprowadzone w stężeniu substratów 1 mM (l.p. 1-3) pokazały, że eter etylowy jest najlepszym rozpuszczalnikiem do rozpuszczenia kwasu oraz surfaktantu. W tym przypadku otrzymano produkt z wydajnością 6 %, natomiast przy użyciu chlorku metylenu lub bez uprzedniego rozpuszczenia surfaktantu reakcja nie zachodzi. Jeden dzień jest wystarczającym czasem prowadzenia reakcji, po trzech dniach wydajność nie wzrasta, a nawet spada przy prowadzeniu reakcji przez siedem dni. Może to być spowodowane powolną hydrolizą produktu w środowisku wodnym. Największy wpływ na wydajność reakcji ma stężenie substratów. Przy stężeniu substratów 10 mM wydajność reakcji wzrasta do 8 %, natomiast przy 100 mM do 26 %. Prowadzenie reakcji w wodzie destylowanej skutkuje obniżeniem wydajności odpowiednio do 4 % przy stężeniu 10 mM i do 21 % przy stężeniu 100 mM. Dodanie jednocześnie substratów (100 mM) oraz surfaktantu bezpośrednio do medium reakcyjnego (bufor) ma korzystny wpływ na przebieg reakcji, produkt **30** wydzielono z wydajnością 36 %. Pomimo faktu, że Span 60 jest czynnym optycznie surfaktantem, uzyskiwany produkt **30** był za każdym razem racemiczny. Jest to zgodne z danymi literaturowymi, które wskazują że nie dochodzi do transferu chiralności z surfaktantu na produkt reakcji. Wyjątki od tej reguły stanowią

nieliczne prace w których użyty chiralny surfaktant posiada dodatkowo ugrupowania katalizujące daną reakcję.¹⁴⁷

Następnie podjęto badania nad wpływem struktury użytego aldehydu na przebieg reakcji w obecności surfaktantu prowadzącej do otrzymania peptydomimetyku **31**. W tym celu wybrano dodekanal, gdyż ze względu na długi łańcuch alifatyczny może on oddziaływać z surfaktantem (Schemat 32). Równoległe dla związku **31** opracowano metodę określania składu enancjomerycznego za pomocą HPLC z kolumną z chiralnym wypełnieniem (kolumna Chiralpak IA, eluent: heksan:izopropanol 85:15 (v/v)).



Schemat 32. Reakcja Passeriniego prowadząca do związku **31**.

Następnie przeprowadzono eksperymenty mające na celu wyjaśnienie wpływu liposomów utworzonych ze Span 60 na modelową reakcję Passeriniego. W tym celu zbadano wpływ zarówno ilości oraz sposobu dodawania surfaktantu na wydajność reakcji prowadzącej do produktu **31**. Wyniki zostały zaprezentowane w Tabeli 2 (procedura ogólna znajduje się w części eksperymentalnej w rozdziale 6.2.2.).

Tabela 2. Reakcje Passeriniego pomiędzy kwasem benzoowym, dodekanolem oraz izocyjanooctanem etylu w obecności Span 60.

L.p.	Ilość Span 60	Sposób dodania Span 60*	Wydajność
1	0	---	79 %
2	5 % mol	A	51 %
3	10 % mol	A	35 %
4	10 % mol	B	54 %
5	20 % mol	A	44 %

*Sposoby dodania Span 60: A – surfaktant dodany bezpośrednio do mieszaniny reakcyjnej, B – surfaktant rozpuszczony w Et₂O wkroplony do buforu w temperaturze 60 °C.

W przypadku gdy wszystkie substraty są nierozpuszczalne w wodzie, reakcja przebiega efektywnie „on water” bez żadnych dodatków (l.p.1 Tabela 2), produkt uzyskano z wydajnością 79 %. Przy zwiększaniu ilości surfaktantu wydajność spada, do 51 % przy 5 % molowych Span 60, do 35 % przy 10 % molowych surfaktantu i do 44 % przy 20 % molowych surfaktantu. Zaobserwowano pozytywny wpływ eteru etylowego

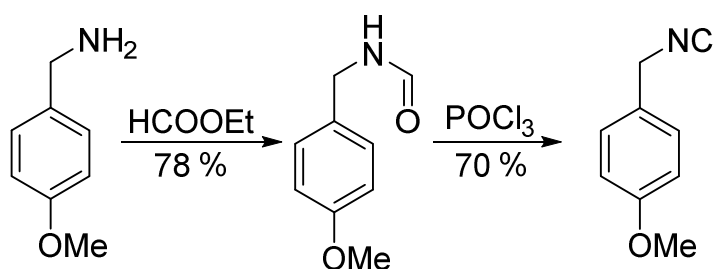
¹⁴⁷ J. Li, Y. Tang, Q. Wang, X. Li, L. Cun, X. Zhang, J. Zhu, L. Li, J. Deng, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 18522; K. Ohkubo, K. Urabe, S. Usui, T. Sagawa, *Macromol. Rapid Commun.* **1996**, *17*, 109.

użytego do rozpuszczenia Span 60 przed wkropleniem do mieszaniny reakcyjnej w 60 °C, dla 10 % molowych surfaktantu produkt **31** uzyskano z wydajnością 54 %. Uzyskane wyniki sugerują, że zastosowanie Span 60 obniża wydajność wybranej reakcji Passeriniego. Analogicznie jak poprzednio produkt reakcji był racemiczny.

5.2.2. Badania nad reakcją Passeriniego w środowisku wodnym

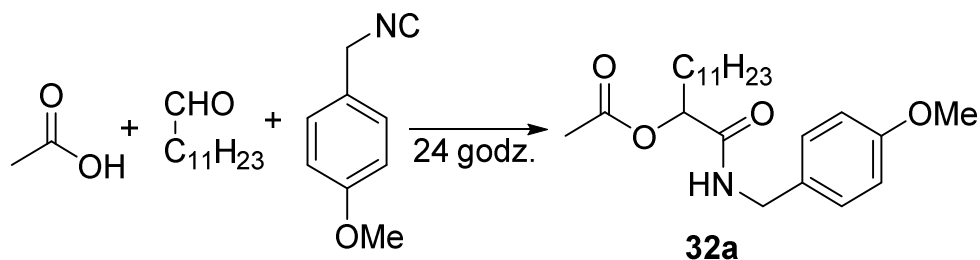
Wyniki badań wstępnych wykazały, że reakcję Passeriniego można prowadzić efektywnie w środowisku wodnym. Pomimo tego, że produkt modelowej reakcji został otrzymany z najwyższą wydajnością bez udziału surfaktantu tym niemniej należy zauważyć, iż obserwowany fenomen ogranicza się do zastosowania nierozpuszczalnych w wodzie substratów. W tym aspekcie uzasadnionym wydaje się podjęcie starań nad opracowaniem ogólnej i generalnej procedury syntezy peptydomimetyków z wykorzystaniem także hydrofilowych substratów. W tym celu sprawdzono wpływ różnych dodatków na przebieg reakcji Passeriniego w środowisku wodnym.

Badania rozpoczęto od syntezy substratu, izocyjanku *p*-metoksybenzylowego. Związek ten został otrzymany z *p*-metoksybenzylaminy w dwuetapowej reakcji polegającej początkowo na syntezie formamidu, a następnie odwodnieniu go za pomocą tlenochlorku fosforu do pożądanego produktu (Schemat 33).



Schemat 33. Synteza izocyjanku *p*-metoksybenzylowego.

Jako substraty do reakcji modelowej wybrano kwas octowy, dodekanal i izocyjanek *p*-metoksybenzylowy co prowadzi do uzyskania związku **32a** (Schemat 34).



Schemat 34. Reakcja pomiędzy kwasem octowym, dodekanalem i izocyjankim *p*-metoksybenzylowym.

Zbadano wpływ rozpuszczalnika na syntezę związku **32a**. Wszystkie reakcje były prowadzone w stężeniu 100 mM w temperaturze pokojowej przez 24 godziny. Wyniki badań zostały zaprezentowane w Tabeli 3 (procedura ogólna znajduje się w części eksperymentalnej w rozdziale 6.2.2.).

Tabela 3. Reakcja pomiędzy kwasem octowym, dodekanalem i izocyjankiem *p*-metoksybenzylowym w różnych rozpuszczalnikach.

L.p.	Rozpuszczalnik	Wydajność
1	Chlorek metylenu	59 %
2	Eter etylowy	31 %
3	TBME	10 %
4	Acetonitryl	21 %
5	Etanol	16 %
6	Metanol	10 %
7	Octan etylu	13 %
8	Woda destylowana	32 %
9	Bufor fosforanowy (pH = 7,4; c = 10 mM)	33 %

Produkt **32a** z najwyższą wydajnością, 59%, uzyskano w chlorku metylenu, co jest zgodne z danymi literaturowymi.¹⁴⁸ W eterze etylowym uzyskano produkt **32a** z wydajnością 31 %, w acetonitrylu z wydajnością 21%. Natomiast przeprowadzenie reakcji w TBME, octanie etylu, metanolu lub etanolu skutkowało jeszcze niższą wydajnością, poniżej 20%. Przeprowadzenie reakcji w wodzie destylowanej pozwoliło na uzyskanie produktu **32a** z wydajnością 32%, natomiast zastosowanie buforu fosforanowego (pH = 7,4; c = 10 mM) prowadziło do produktu **32a** z porównywalną wydajnością wynoszącą 33%. Ze względu na wyższą wydajność produktu bufor fosforanowy został wybrany jako rozpuszczalnik do dalszych badań.

Tak uzyskane wyniki dla typowych rozpuszczalników organicznych planowano porównać z tymi uzyskanymi dla reakcji prowadzonej w obecności różnych dodatków w środowisku wodnym. Wśród nich były surfaktanty, sole nieorganiczne oraz montmorylonit mogący działać jako kwasowy katalizator.¹⁴⁹ Reakcje były prowadzone przez 24 godziny w temperaturze pokojowej, ilość stosowanego dodatku wynosiła 20 % molowych (poza montmorylonitem którego użyto 50 mg / 0,5 mmol substratów). Wyniki tych reakcji zostały zebrane w Tabeli 4 (procedura ogólna znajduje się w części eksperymentalnej w rozdziale 6.2.2.).

¹⁴⁸ L. Banfi, R. Riva, "The Passerini Reaction". *Org. React.* **2005**, 65, 1–140.

¹⁴⁹ T. Huang, R. Wang, L. Shi, X. Lu, *Catal. Commun.* **2008**, 9, 1143; C. Aativieila, F. Figuears, J.M. Fraile, J.I. Gareia, J.A. Mayoral, *Tetrahedron Asymm.* **1993**, 4, 223; B.M. Choudary, N.S. Chowdari, M.L. Kantam, R. Kannan, *Tetrahedron Lett.* **1999**, 40, 2859; F.P.R. Crisóstomo, R. Carrillo, T. Martín, V.S. Martín, *Tetrahedron Lett.* **2005**, 46, 2829; T. Kawabata, T. Mizugaki, K. Ebitani, K. Kaneda, *Tetrahedron Lett.* **2003**, 43, 9205; F. Bigi, L. Chesini, R. Maggi, G. Sartori, *J. Org. Chem.* **1999**, 64, 1033.

Tabela 4. Wpływ dodatków na reakcję Passeriniego w buforze fosforanowym.

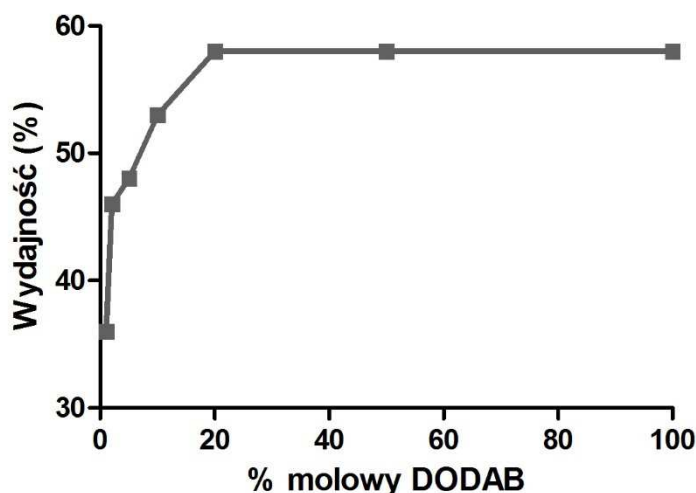
L.p.	Dodatek	Wydajność
1	---	33 %
2	CaCl ₂	25 %
3	NaBr	29 %
4	NaCl	33 %
5	Montmorylonit K 10	24 %
6	Cholesterol	20 %
7	Laurylosiarczan sodu (SDS)	1 %
8	Dwu (2-etylohekylo)sulfobursztynian sodu (AOT)	2 %
9	Span 60	43 %
10	Tween 80	46 %
11	Triton X-100	47 %
12	Bromek dilaurylodimetyloammonniowy (DDAB)	48 %
13	Bromek dioktadecylodimetyloammonniowy (DODAB)	58 %
14	DODAB (20 % molowych) + NaCl (20 % molowych)	55 %

Wydajność produktu **32a** uzyskana w obecności nieorganicznych soli, była porównywalna lub niewiele niższa niż bez dodatku i wynosiła od 25 do 33 %. Obecność zarówno montmorylonitu czy cholesterolu obniżała wydajność reakcji odpowiednio do 24% i 20%.. Reakcje prowadzone z dodatkiem anionowych surfaktantów, czyli SDS i AOT przebiegły z najniższą wydajnością, wynoszącą 1-2 %. Może być to spowodowane faktem, że ujemnie naładowane agregaty odpychają aniony octanowe, podczas gdy hydrofobowe cząsteczki aldehydu i izocyjanku są skupione wewnątrz agregatów. Utrudnia to kontakt pomiędzy wszystkimi trzema substratami, hamując przebieg reakcji. Dodatek niejonowych surfaktantów ma korzystny wpływ na wydajność reakcji. Reakcje prowadzone w obecności Span 60, Tween 80 oraz Triton X-100 pozwoliły na uzyskanie produktu **32a** z wydajnością pomiędzy 43% a 47%. Korzystny wpływ tych surfaktantów może być tłumaczony zwiększoną rozpuszczalnością hydrofobowych substratów w wodzie, co korzystnie wpływa na przebieg reakcji. Zagadnienie to zostało szerzej opisane w części literaturowej w rozdziale 3.2. Prowadzenie reakcji w obecności kationowych surfaktantów, DDAB i DODAB, ma zdecydowanie korzystny wpływ na wydajność produktu **32a**. Dodatek DDAB skutkuje wzrostem wydajności do 48%, natomiast zastosowanie DODAB pozwala na przeprowadzenie reakcji z najwyższą wydajnością wynoszącą 58%, w związku z tym DODAB został wybrany do dalszych badań. Korzystny wpływ kationowych surfaktantów może być tłumaczony nie tylko zwiększoną rozpuszczalnością hydrofobowych substratów w wodzie, ale też oddziaływaniami elektrostatycznymi pomiędzy dodatnio naładowaną powierzchnią agregatu a rozpuszczonymi w buforze anionami octanowymi.¹⁵⁰ Prowadzi to do zwiększenia lokalnego stężenia wszystkich substratów w obrębie agregatów i ma korzystny wpływ na przebieg reakcji. Warty odnotowania jest fakt, że DODAB jest surfaktantem znanym z

¹⁵⁰ D. Paprocki, D. Koszelewski, P. Walde, R. Ostaszewski, *RSC Adv.* **2015**, 5, 102828.

tworzenia dwuwarstw i liposomów w wodzie,¹⁵¹ co może także mieć wpływ na przebieg reakcji Passeriniego. Reakcja prowadzona z dodatkiem DODAB oraz chlorku sodu (Tabela 4, l.p. 14) skutkowała uzyskaniem produktu **32a** z wydajnością 55%, czyli zbliżoną do reakcji prowadzonej w obecności samego DODAB, co może sugerować korzystny wpływ amfifilowego kationu, a nie anionu bromkowego, na przebieg badanej reakcji.

Po dobraniu odpowiedniego surfaktantu do prowadzenia reakcji Passeriniego w środowisku wodnym, przeprowadzono badania mające na celu ocenę wpływu ilości DODAB na wydajność reakcji. W tym celu przeprowadzono serię reakcji pomiędzy kwasem octowym, dodekanalem i izocyjankiem *p*-metoksybenzylowym w stężeniu 100 mM w buforze fosforanowym (pH = 7,4; c = 10 mM) z dodatkiem różnych ilości DODAB. Ilość surfaktantu przedstawiono jako % molowy w stosunku do użytych substratów, wyniki eksperymentów przedstawiono na Rysunku 13 (procedura ogólna znajduje się w części eksperymentalnej w rozdziale 6.2.2.).



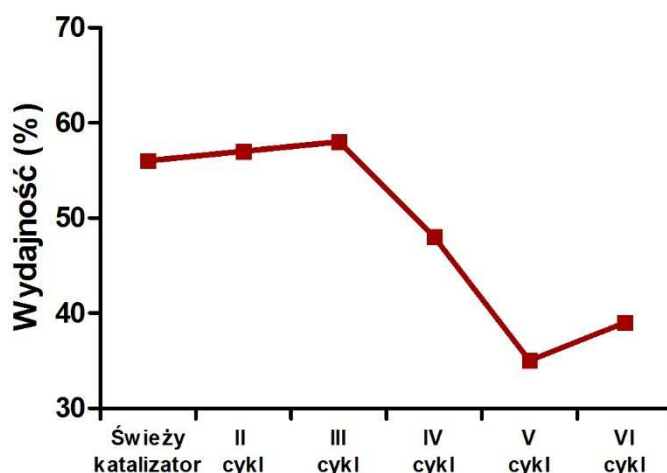
Rysunek 13. Wpływ ilości DODAB na wydajność reakcji Passeriniego prowadzącej do produktu **32a**.

Zwiększanie ilości surfaktantu od 0 do 20 % molowych skutkuje stopniowym wzrostem wydajności produktu **32a** do 58%. Dalsze zwiększanie ilości DODAB nie powoduje zmian w wydajności tworzącego się produktu, dla 50 i 100 % molowych surfaktantu wydajność ta wynosi 58 %. W związku z tym stężenie 20 % molowych DODAB zostało wybrane jako optymalne i stosowane w kolejnych badaniach.

Kolejnym etapem badań było sprawdzanie, czy roztwór surfaktantu może być wykorzystany do więcej niż jednego cyklu reakcyjnego. W związku z tym należało

¹⁵¹ T. Kunitake, Y. Okahata, K. Tamaki, F. Kumamaru, M. Takayanagi, *Chem. Lett.* **1977**, 6, 387; E. Feitosa, P.C.A. Barreleiro, G. Olofsson, *Chem. Phys. Lipids* **2000**, 105, 201; R.O. Brito, E.F. Marques, *Chem. Phys. Lipids* **2005**, 137, 18.

opracować metodologię na wydzielenie produktu **32a** bez rozcieńczania mieszaniny reakcyjnej i ekstrakcji. Najlepszym sposobem oddzielenia medium reakcyjnego od produktu było sączenie przez watę. Tak uzyskany przesącz został użyty do następnego cyklu reakcyjnego z zastosowaniem kolejnych substratów. Otrzymane wyniki przedstawiono na Rysunku 14 (procedura ogólna znajduje się w części eksperymentalnej w rozdziale 6.2.2.).

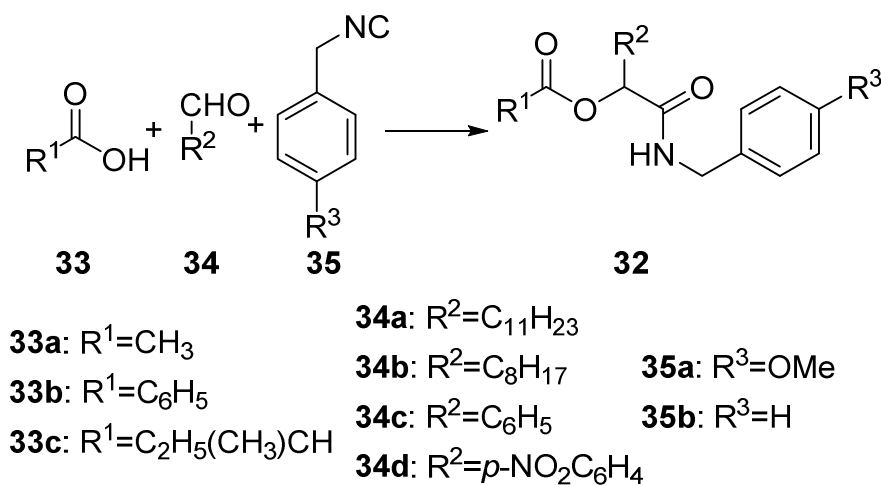


Rysunek 14. Zmiana wydajności produktu **32a** podczas pięciokrotnego wykorzystania roztworu DODAB.

Trzykrotne wykorzystanie surfaktantu nieznacznie wpływa na wydajność produktu **32a**. Przy użyciu tego samego roztworu DODAB czwarty raz, wydajność produktu reakcji spada do 48 %. Kolejne użycie tego samego medium reakcyjnego skutkuje znacznym obniżeniem wydajności związku **32a**, poniżej 40%. Może to być spowodowane odsączaniem surfaktantu z mieszaniny reakcyjnej razem z produktem oraz zmniejszaniem ilości rozpuszczalnika podczas sączenia. Wielokrotne wykorzystanie tego samego medium reakcyjnego zdecydowanie zmniejsza ilość odpadów powstałych podczas syntezy, a wartym odnotowania jest fakt, że surfaktanty zazwyczaj są produktami syntezy chemicznej i stanowią obciążenie dla środowiska.

Następnie wykonano badania nad określeniem wpływu użytych substratów na wydajność reakcji. Zastosowano kwasy karboksylowe: kwas octowy, kwas benzoowy, kwas 2-metyloksalowy, aldehydy: dodekanal, nonanal, benzaldehyd, *p*-nitrobenzaldehyd oraz izocyjanki: izocyjanek *p*-metoksybenzylowy i izocyjanek benzylowy. W wyniku tych reakcji otrzymano produkty **32a-p**. Ponadto do celów porównawczych przeprowadzono analogiczne eksperymenty stosując chlorek metylenu jako rozpuszczalnik. Uzyskane wyniki zaprezentowano w Tabeli 5 (procedura ogólna znajduje się w części eksperymentalnej w rozdziale 6.2.2.).

Tabela 5. Reakcja Passeriniego prowadzona w środowisku wodnym w obecności DODAB lub chlorku metylenu.



L.p	Kwas	Aldehyd	Izocyjanek	Produkt	Wydajność*	Wydajność**
1	33a	34a	35a	32a	58 %	59 %
2	33a	34a	35b	32b	67 %	58 %
3	33a	34b	35a	32c	47 %	51 %
4	33a	34b	35b	32d	78 %	62 %
5	33a	34c	35a	32e	19 %	40 %
6	33a	34d	35a	32f	17 %	32 %
7	33a	34d	35b	32g	26 %	31 %
8	33b	34a	35a	32h	94 %	68 %
9	33b	34a	35b	32i	91 %	75 %
10	33b	34b	35a	32j	80 %	69 %
11	33b	34b	35b	32k	77 %	64 %
12	33b	34c	35a	32l	92 %	73 %
13	33b	34c	35b	32m	82 %	64 %
14	33b	34d	35a	32n	74 %	58 %
15	33b	34d	35b	32o	72 %	48 %
16	33c	34a	35a	32p	64 %	55 %

* Reakcja prowadzona w buforze fosforanowym w obecności DODAB (Metoda 1).

** Reakcja prowadzona w chlorku metylenu (Metoda 2).

Dane zawarte w Tabeli 5 pokazują, że opracowane warunki reakcji pozwalają na efektywne prowadzenie reakcji Passeriniego w środowisku wodnym. Reakcje prowadzone w środowisku wodnym z kwasem octowym oraz alifatycznymi aldehydami (Tabela 5, l.p. 1-4) przebiegają z wydajnościami produktów **32a-d** od 47 do 78 %, są to wartości zbliżone do tych uzyskanych w chlorku metylenu. Reakcje prowadzone z kwasem octowym i aromatycznymi aldehydami (Tabela 5, l.p. 5-7) przebiegają zdecydowanie mniej efektywnie. W środowisku wodnym produkty **32e-g** otrzymano z wydajnościami od 17 do 26 %, podczas gdy w chlorku metylenu od 31 do 40 %. Reakcje prowadzone z użyciem kwasu benzoowego jako substratu (Tabela 5, l.p. 8-15)

zachodzą ze zdecydowanie z wyższymi wydajnościami, w środowisku wodnym otrzymano produkty **32h-o** z wydajnościami od 72 do 94 %, podczas gdy w chlorku metylenu od 48 do 75 %. Dla tych przypadków wydajność reakcji prowadzonej w środowisku wodnym jest zazwyczaj o 10-20 % wyższa niż w chlorku metylenu, co świadczy o efektywności opracowanej procedury. Produkt reakcji przeprowadzonej z użyciem kwasu 2-metylomasłowego (Tabela 5, l.p. 16), dodekanalu oraz izocyjanek *p*-metoksybenzylowego w buforze fosforanowym z dodatkiem DODAB otrzymano z wydajnością 64 % oraz z wydajnością 55 % w chlorku metylenu. W obu przypadkach otrzymano mieszaninę diastereoizomerów w proporcji 1:1, czyli typ rozpuszczalnika nie wpływa na diastereoselektywność reakcji.

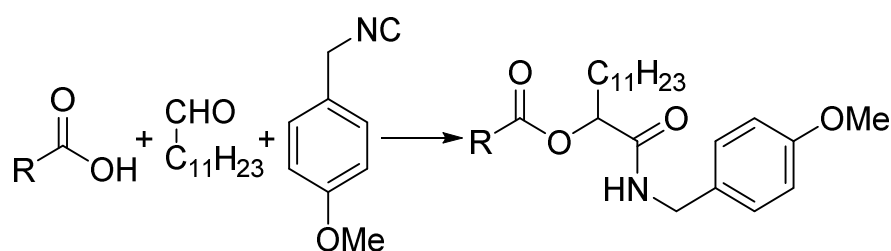
Podsumowując wykonano eksperymenty nad reakcją Passeriniego w środowisku wodnym z dodatkiem surfaktantu. W wyniku czego opracowano procedurę pozwalającą na zminimalizowanie stosowania rozpuszczalników organicznych, co jest korzystne z punktu widzenia tzw. „zielonej chemii”. Efektywność opracowanej metodologii została następnie potwierdzona w syntezie 16 pochodnych α -acyloksyamidów. Produkty te uzyskiwano z wydajnościami porównywalnymi lub wyższymi niż w reakcji prowadzonej w chlorku metylenu. Ponadto prowadzenie reakcji w łagodnych warunkach w środowisku wodnym pozwala na połączenie tej procedury z reakcjami katalizowanymi enzymatycznie co zostało opisane w dalszych rozdziałach niniejszej pracy. Wyniki opisanych w tym rozdziale badań zostały opublikowane w *RSC Advances* w 2015 roku.

5.2.3. Reakcja Passeriniego prowadzona w wodzie z amfifilowego substratu

Kolejnym etapem badań było sprawdzenie, czy reakcja Passeriniego w środowisku wodnym może być promowana przez obecność substratów tworzących agregaty bez dodatku surfaktantów. W tym celu zaplanowano eksperymenty z użyciem amfifilowych kwasów tłuszczowych. Jako substrat do wstępnych eksperymentów wybrano kwas kaprylowy, o którym wiadomo, że tworzy w wodzie agregaty w tym liposomy.¹⁵² Dla porównania przeprowadzono także reakcje z kwasem octowym, który jest dobrze rozpuszczalny w wodzie oraz kwasem benzoowym, który jest słabo rozpuszczalny w wodzie. Użycie tych kwasów skutkuje przebiegiem reakcji odpowiednio „*in water*” oraz „*on water*”, co zostało szerzej opisane w części literaturowej w rozdziale 3.1. Jako pozostałe substraty wybrano dodekanal i izocyjanek *p*-metoksybenzylowy. Wszystkie reakcje przeprowadzono w wodzie destylowanej w stężeniu substratów 100 mM przez 1 dzień w temperaturze pokojowej. Opracowano metodę śledzenia przebiegu reakcji za pomocą HPLC. Wyniki tych eksperymentów przedstawiono w Tabeli 6 (procedura ogólna znajduje się w części eksperymentalnej w rozdziale 6.2.2.).

¹⁵² W.R. Hargreaves, D.W. Deamer, *Biochemistry* **1978**, *17*, 3759; P. Walde, R. Wick, M. Fresta, A. Mangone, P.L. Luisi, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 11649.

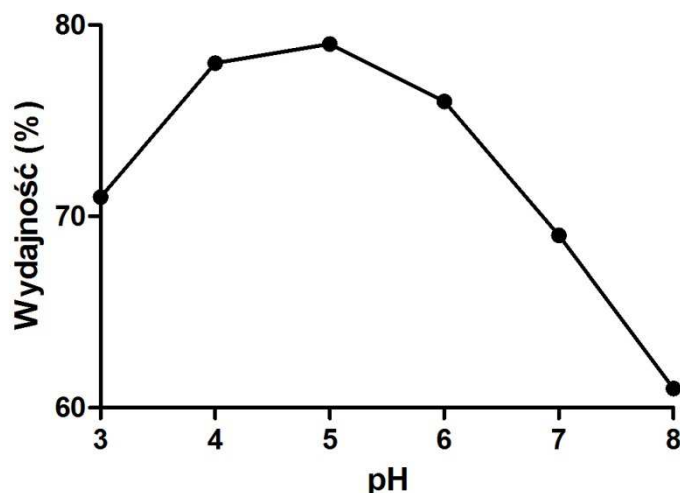
Tabela 6. Reakcje Passeriniego w wodzie z różnych kwasów karboksylowych.



L.p.	R (kwas)	Produkt	Wydajność
1	Me (octowy)	32a	38 %
2	Ph (benzoesowy)	32h	53 %
3	C ₇ H ₁₅ (kaprylowy)	36	77 %

Produkt **32a** reakcji przeprowadzonej z użyciem kwasu octowego otrzymano z niską wydajnością 38%. Prawdopodobnie jest to spowodowane dobrą rozpuszczalnością kwasu octowego, który jest rozpuszczony w całej objętości mieszaniny reakcyjnej. Natomiast nierozpuszczalne aldehyd i izocyjanek tworzą drugą fazę przez co mają utrudniony kontakt z kwasem. Zmiana kwasu octowego na kwas benzoesowy prowadzi do produktu **32h** z wydajnością 53 %. W tym przypadku wszystkie trzy substraty są słabo rozpuszczalne w wodzie i reakcja biegnie „*on water*” co promuje jej przebieg. Wykorzystanie kwasu kaprylowego jako substratu prowadziło do produktu **36** z najwyższą wydajnością wynoszącą 77 %. Może to być spowodowane tworzeniem przez ten substrat agregatów, które mają korzystny wpływ na przebieg reakcji Passeriniego. Rozpuszczanie hydrofobowych aldehydu i izocyjanu w powstałych micelach zdecydowanie ułatwia kontakt pomiędzy substratami, co korzystnie wpływa na wydajność reakcji.

Poprzednie wyniki sugerowały, iż wydajność reakcji Passeriniego prowadzonej w wodzie, zazwyczaj jest wyższa w buforze fosforanowym niż w wodzie destylowanej. Ponadto wiadomo, że obecność oraz typ tworzonych agregatów zależy od pH, w związku z tym, zbadano wpływ zmian pH na modelową reakcję Passeriniego. W tym celu przygotowano bufony fosforanowe w zakresie pH od 3 do 8. Wpływ pH buforu fosforanowego na reakcję pomiędzy kwasem kaprylowym, dodekanalem oraz izocyjanikiem *p*-metoksybenzylowym zaprezentowano na Rysunku 15 (procedura ogólna znajduje się w części eksperymentalnej w rozdziale 6.2.2.).



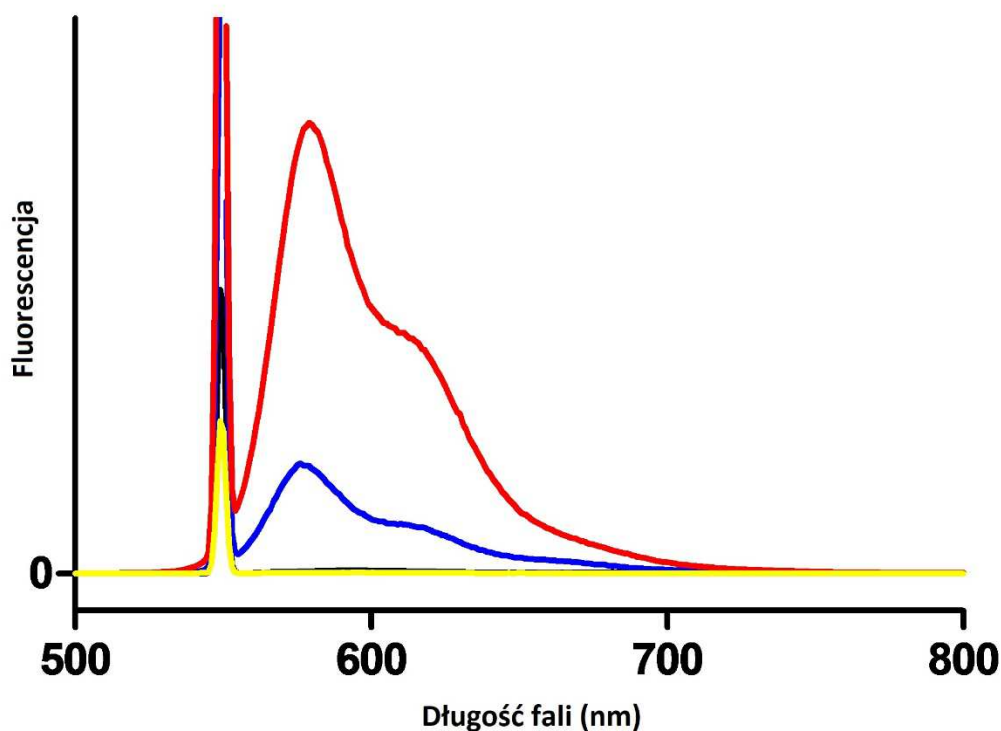
Rysunek 15. Wpływ zmiany pH buforu fosforanowego wydajność reakcji pomiędzy kwasem kaprylowym, dodekanalem oraz izocyjankiem *p*-metoksybenzylowym.

Reakcja przeprowadzona w pH = 5 prowadziła do uzyskania produktu **36** z wydajnością 79%. Natomiast reakcje wykonane w buforach fosforanowych o pH 4 i 6 dały produkt z niewiele niższymi wydajnościami, odpowiednio 78% i 76%. Przeprowadzenie reakcji w niższym pH = 3, skutkowało otrzymaniem związku **36** z wydajnością 71%. Obniżenie wydajności oczekiwanego produktu reakcji, może być spowodowane katalizowaną kwasem hydrolizą izocyjanku.¹⁵³ Prowadzenie reakcji przy wyższym pH, skutkowało także obniżeniem wydajności produktu reakcji Passeriniego, a przy pH = 7 otrzymano odpowiedni produkt z wydajnością 69%, natomiast przy pH = 8, 61%. Na podstawie otrzymanych wyników stwierdzono, że optymalną wartością pH jest 5 i w takich warunkach wykonywano dalsze eksperymenty.

Kolejnym etapem badań było potwierdzenie obecności agregatów zarówno w roztworze kwasu kaprylowego w buforze fosforanowym o pH = 5 jak i mieszaninie reakcyjnej. W tym celu przeprowadzono eksperymenty z barwnikiem fluorescencyjnym, nadchloranem 1,1'-dioktadecylo-3,3,3',3'-tetrametyloindokarbocyaniny (DiI). Związek ten wykazuje słabą fluorescencję w wodzie, natomiast w obecności miceli, liposomów i innych agregatów wykazuje znacznie wyższą fluorescencję.¹⁵⁴ Przygotowano trzy różne roztwory: do buforu fosforowego pH = 5 dodano DiI, w stężeniu 1 mM, w drugim roztworze poza DiI do buforu dodano kwas kaprylowy w stężeniu 100 mM, natomiast w trzecim do buforu poza DiI dodano kwas kaprylowy, dodekanal i izocyjanek *p*-metoksybenzylowy. Następnie zarejestrowano widma fluorescencji tak uzyskanych roztworów, po wzbudzeniu światłem o długości fali $\lambda = 550$ nm. Otrzymane widma przedstawiono na Rysunku 16.

¹⁵³ A. M. S. Mayer, E. Aviles, A. D. Rodriguez, *Bioorg. Med. Chem.* **2012**, *20*, 279; S. Kotha, M. Behera, R. V. Kumar, *Bioorg. Med. Chem.* **2002**, *12*, 105.

¹⁵⁴ L.M. Loew, *Spectroscopic Membrane Probes* **1988**, CRC Press, pp. 193-220; W.R. Hargreaves, D.W. Deamer, *Biochemistry* **1978**, *17*, 3759.



Rysunek 16. Widma fluorescencji: żółte – DiI w buforze fosforanowym pH = 5, niebieskie – DiI oraz kwas kaprylowy w buforze fosforanowym pH = 5, czerwone – DiI, kwas kaprylowy, dodekanal i izocyjanek *p*-metoksybenzylowy w buforze fosforanowym pH = 5.

W przypadku, roztworu samego DiI w buforze fosforanowym pH = 5 nie zaobserwowano fluorescencji. Jeżeli do próbki dodano także kwas kaprylowy, to pojawiła się fluorescencja w zakresie 550-700 nm, co świadczy o obecności agregatów w mieszaninie. W przypadku próbki z kwas kaprylowym, dodekanalem i izocyjankiem *p*-metoksybenzylowym oraz DiI, także zaobserwowano fluorescencje, co potwierdza obecność agregatów w mieszaninie reakcyjnej, podczas syntezy związku **36**. W celu wykluczenia przypadku, w którym kwas kaprylowy lub mieszanina reakcyjna posiadałyby fluorescencje, przygotowano analogiczne próbki bez dodatku DiI. W żadnej z nich nie zaobserwowano fluorescencji.

Zbadano także wpływ dodatku 20 % molowych surfaktantu do reakcji pomiędzy kwasem kaprylowym, dodakanalem i izocyjankiem *p*-metoksybenzylowym w buforze fosforanowym pH = 5. Przygotowano cztery takie reakcje, do pierwszej dodano SDS. Produkt otrzymano z wydajnością 36 %, zdecydowanie mniejszą niż bez dodatku surfaktantu. Jest to spowodowane niekorzystnym wpływem anionowych surfaktantów na przebieg reakcji, co zostało także zaprezentowane w Tabeli 4. Prowadzenie reakcji w obecności zwitterjonowego surfaktantu, 3-(*N,N*-dimetylomirystynoammonioowego)propanosiarczanu dało produkt **36** z wydajnością 69%.

Niższa wydajność niż w przypadku reakcji bez dodatków, która wyniosła 79%, świadczyć może o niekorzystnym wpływie tego typu surfaktantów na przebieg reakcji Passeriniego, jednak efekt ten jest zdecydowanie słabszy niż w przypadku SDS. Reakcje przeprowadzone z dodatkiem kationowego surfaktantu DODAB i niejonowego Tritonu X-100 dały produkt **36** z wydajnościami odpowiednio 80% i 81%. Niewielki wpływ tych dodatków może być spowodowany tym, że w mieszaninie reakcyjnej i tak istnieją agregaty z kwasu kaprylowego i obecność kolejnych agregatów z dodanego surfaktantu nie ma większego wpływu na przebieg reakcji.

Kolejnym etapem badań były reakcje z innymi kwasami tłuszczowymi, które mogą tworzyć micelle i/lub agregaty w wodzie. W tym celu przeprowadzono serię reakcji pomiędzy kwasem karboksylowym, dodakanalem i izocyjankiem *p*-metoksybenzylowym w buforze fosforanowym pH = 5. Dla porównania przeprowadzono też reakcje z kwasami octowym i benzoowym. Ponadto przeprowadzono reakcje pomiędzy kwasami: octowym, benzoowym i kaprylowym w chlorku metylenu i bez rozpuszczalnika. Wyniki tych eksperymentów przedstawiono w Tabeli 7 (procedura ogólna znajduje się w części eksperymentalnej w rozdziale 6.2.2.).

Tabela 7. Wpływ kwasu tłuszczowego oraz medium reakcyjnego na reakcję Passeriniego.

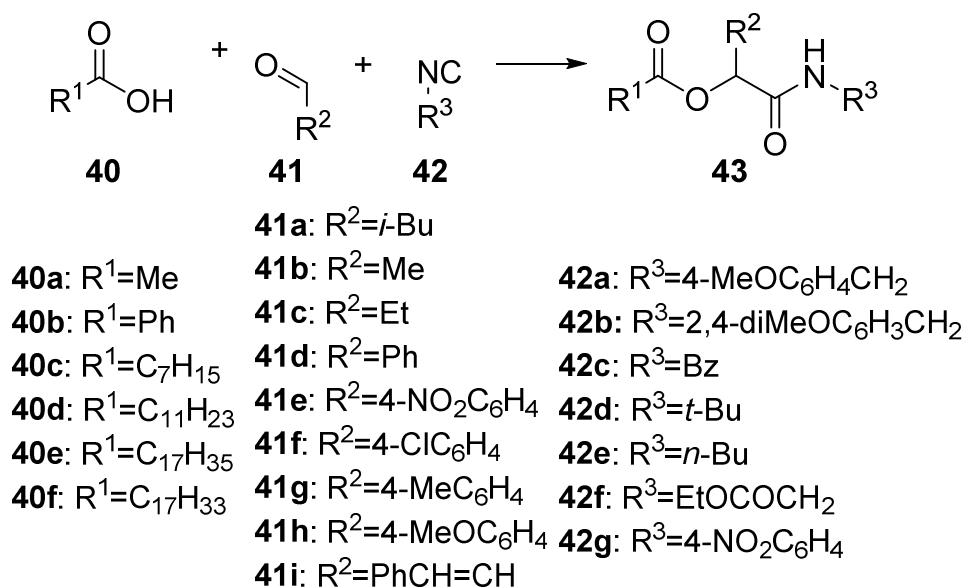
L.p.	Kwas	Rozpuszczalnik	Produkt	Wydajność
1	Kwas octowy	Bufor pH = 5	32a	46 %
2	Kwas benzoowy	Bufor pH = 5	32h	53 %
3	Kwas kaprylowy	Bufor pH = 5	36	79 %
4	Kwas laurynowy	Bufor pH = 5	37	78 %
5	Kwas stearynowy	Bufor pH = 5	38	89 %
6	Kwas oleinowy	Bufor pH = 5	39	83 %
7	Kwas octowy	Dichlorometan	32a	54 %
8	Kwas benzoowy	Dichlorometan	32h	66 %
9	Kwas kaprylowy	Dichlorometan	36	66 %
10	Kwas octowy	-----	32a	62 %
11	Kwas benzoowy	-----	32h	53 %
12	Kwas kaprylowy	-----	36	67 %

Reakcje przeprowadzone w buforze fosforanowym pH = 5 z wykorzystaniem kwasów octowego i benzoowego dały produkty **32a** i **32h** z wydajnościami wynoszącymi odpowiednio 46 % i 53 %. Reakcje przeprowadzone z kwasami tłuszczowymi (l.p. 3-6, Tabela 7) dały produkty **36-39** z wydajnościami od 78 do 89 %. Są to wydajności zdecydowanie wyższe, niż w przypadku zastosowania rozpuszczalnego w wodzie kwasu octowego i słabo rozpuszczalnego kwasu benzoowego, co świadczy o korzystnym wpływie obecności agregatów na przebieg reakcji Passeriniego. Reakcje prowadzone w chlorku metylenu oraz bez rozpuszczalnika (l.p. 7-12, Tabela 7)

niezależnie od użytego kwasu przebiegły ze zdecydowanie niższymi wydajnościami od 53 % do 67 %. Ponadto wydajności odpowiednich produktów jedynie nieznacznie zmieniały się przy użyciu różnych kwasów karboksylowych jako substratów. Wyniki powyższych eksperymentów jeszcze raz potwierdziły, że kwas tłuszczowy użyty jako substrat do reakcji Passeriniego prowadzonej w wodzie może skutecznie promować jej przebieg. Natomiast przy przeprowadzeniu reakcji w chlorku metylenu oraz bez rozpuszczalnika ten efekt nie jest obserwowany.

Kolejnym etapem badań było zbadanie wpływu różnych substratów na reakcję Passeriniego prowadzoną w wodzie z użyciem amfifilowego kwasu karboksylowego. Jako substraty wybrano kwasy tłuszczowe: kaprylowy, laurylowy, stearynowy oraz oleinowy, ponadto dla porównania wykorzystano także kwas benzoesowy oraz octowy, poza tym 9 różnych aldehydów oraz 7 pochodnych izocyjanów. Wszystkie reakcje przeprowadzono w buforze fosforanowym $\text{pH} = 5$ w stężeniu substratów 100 mM. Wyniki zaprezentowano w Tabeli 8 (procedura ogólna znajduje się w części eksperymentalnej w rozdziale 6.2.2.).

Tabela 8. Reakcja Passeriniego prowadzona w buforze fosforanowym pH = 5.



L.p.	40 (kwas)	41	42	Produkt	Wydajność
1	40a (octowy)	41a	42a	43a	21 %
2	40b (benzoesowy)	41a	42a	43b	63 %
3	40c (kaprylowy)	41a	42a	43c	82 %
4	40d (laurynowy)	41a	42a	43d	83 %
5	40e (stearynowy)	41a	42a	43e	75 %
6	40f (oleinowy)	41a	42a	43f	90 %
7	40c (kaprylowy)	41b	42a	43g	73 %
8	40c (kaprylowy)	41c	42a	43h	61 %
9	40c (kaprylowy)	41d	42a	43i	79 %
10	40c (kaprylowy)	41e	42a	43j	73 %
11	40c (kaprylowy)	41f	42a	43k	93 %
12	40c (kaprylowy)	41g	42a	43l	73 %
13	40c (kaprylowy)	41h	42a	43m	59 %
14	40c (kaprylowy)	41i	42a	43n	61 %
15	40c (kaprylowy)	41b	42b	43o	58 %
16	40c (kaprylowy)	41b	42c	43p	68 %
17	40c (kaprylowy)	41b	42d	43r	21 %
18	40c (kaprylowy)	41b	42e	43s	18 %
19	40c (kaprylowy)	41b	42f	43t	21 %
20	40c (kaprylowy)	41b	42g	43u	43 %

Reakcja przeprowadzona z użyciem kwasu octowego, aldehydu izowalerianowego oraz izocyjanku *p*-metoksybenzylowego dała produkt **43a** z wydajnością 21 %, użycie kwasu benzoesowego pozwoliło na uzyskanie produktu **43b** z wydajnością 63 %, natomiast tworzące micelle kwasy tłuszczowe (l.p. 3-6, Tabela 8) dały produkty **43c-f** z wydajnościami od 75 % do 90 %. Te wyniki raz jeszcze uwiaryściły korzystny efekt

miceli i/lub innych agregatów tworzących się z zastosowanych substratów na przebieg reakcji Passeriniego.

Reakcje przeprowadzone z kwasem kaprylowym, izocyjankiem *p*-metoksybenzylowym oraz różnymi aldehydami (l.p. 7-14) pozwoliły na uzyskanie produktów **43g-n** z wydajnościami od 59 % do 93 %. Wykorzystanie alifatycznych aldehydów octowego (l.p. 7, Tabela 8) i propionowego (l.p. 8, Tabela 8) dały produkty z wydajnościami 73 % i 61 %, trochę niższa wydajność tych reakcji może być spowodowana dość dobrą rozpuszczalnością tych aldehydów w wodzie, co utrudnia kontakt pomiędzy reagentami. Użycie pochodnych benzaldehydu jako substratu (l.p. 9-13, Tabela 8) pozwoliło na uzyskanie produktów **43i-m** z wydajnościami od 73 % do 93 %. Zastosowanie *p*-chlorobenzaldehydu pozwoliło na uzyskanie produktu **43k** z najwyższą wydajnością, 93 %, natomiast najmniej efektywne były reakcje z użyciem *p*-nitrobenzaldehydu i *p*-metylobenzaldehydu (wydajności odpowiednich produktów po 73 %). Reakcja prowadzona z wykorzystaniem aldehydu cynamonowego (l.p. 14, Tabela 8), pozwoliła na uzyskanie produktu **43n** z wydajnością 61 %. Uzyskane wyniki świadczą o niewielkim wpływie aldehydu na reakcje Passeriniego.

Kolejne eksperymenty (l.p. 15-20, Tabela 8) miały na celu pokazanie wpływu izocyjanku na wydajność reakcji Passeriniego z kwasem kaprylowym oraz aldehydem izowalerianowym. Produkty **43o-u** uzyskano z wydajnościami od 18 do 68 %. Reakcje przeprowadzone z izocyjankiem 2,4-dimetoksybenzylowym oraz izocyjankiem benzylowym (l.p. 15-16) pozwoliły na uzyskanie produktów **43o** i **43p** z wydajnościami 58 % i 68 %. Względnie wysokie wydajności tych reakcji, świadczą o tym, że pochodne izocyjanku benzylowego są dobrymi substratami do tej reakcji. Reakcje prowadzone z alifatycznymi izocyjankami *n*-butylowym, *t*-butylowym oraz izocyjanooctanem etylu zaszły z niskimi wydajnościami od 18 % do 21 %. Użycie aromatycznego *p*-nitroizocyjanobenzenu dało produkt **43u** z wydajnością 43 %.

W tej części badań wykonano eksperymenty nad reakcją Passeriniego przeprowadzaną w środowisku wodnym, podczas której jeden z substratów, kwas karboksylowy, tworzy micelle i agregaty. Opracowana procedura pozwala na uniknięcie stosowania surfaktantu, który jest zazwyczaj produktem syntezy chemicznej z nieodnawialnych źródeł. Unikanie źródeł zanieczyszczeń oraz stosowanie wody jako rozpuszczalnika doskonale wpisuje się w założenia „zielonej chemii”. Jakkolwiek opracowana procedura jest ograniczona do zastosowania kwasów tłuszczowych jej skuteczność została potwierdzona na 24 przykładach syntezy α -acyloksyamidów. Wyniki opisanych w tym rozdziale badań zostały opublikowane w *Environmental Chemistry Letters* w 2018 roku.

5.3. Synteza chiralnych, nieracemicznych surfaktantów oraz badania nad ich wpływem na reakcję Passeriniego.

Co prawda opracowanie metodologii na przeprowadzenie reakcji Passeriniego w środowisku wodnym niesie ze sobą szereg korzyści związanych z „zieloną chemią”, jako dodatek stosowany jest surfaktant, który jest produktem syntezy chemicznej i zazwyczaj nie pochodzi z odnawialnych źródeł. Związki tego typu zazwyczaj nie są biodegradowalne, co stwarza problemy z ich utylizacją. Na przykład odpady stosowanego w poprzednich eksperymentach DODAB zgodnie z zaleceniami producenta powinny zostać rozpuszczone lub zmieszane z palnym rozpuszczalnikiem i spalone w piecu do spopielenia chemikaliów wyposażonym w dopalacz i skrubier.¹⁵⁵ W związku z tym celem dalszych badań było sprawdzenie, czy możliwe jest przeprowadzenie reakcji Passeriniego z wykorzystaniem biodegradowalnego surfaktantu pochodzącego z odnawialnych źródeł.

Estry kwasów tłuszczowych oraz cukrów są niejonowymi surfaktantami. Związki te są w pełni biodegradowalne i możliwe do uzyskania ze źródeł odnawialnych. Użycie naturalnych cukrów, np. glukozy jako substrat zapewnia obecność centrów stereogenicznych o ustalonej konfiguracji absolutnej w hydrofilowym fragmencie cząsteczki. W literaturze zostało opisanych wiele metod syntezy estrów cukrów,¹⁵⁶ wśród których na szczególną uwagę zasługują reakcje katalizowane enzymatycznie.¹⁵⁷ Niestety wiele z tych procedur jest trudnych do powtórzenia lub produkty reakcji nie były wydzielane.¹⁵⁸ W związku z tym wykonano badania nad opracowaniem metody syntezy wybranych estrów glukozy w reakcji katalizowanej enzymatycznie. Niewątpliwą zaletą zastosowania enzymu jest selektywność tego typu katalizatora, która zapewnia przebieg reakcji na tylko jednej z grup hydroksylowych cząsteczki cukru. Dodatkowym atutem takiego podejścia jest fakt, że enzym stosowany jako katalizator jest produktem naturalnym i biodegradowalnym, co jest atrakcyjne z punktu widzenia „zielonej chemii”.

Jako reakcję modelową do tych badań wybrano estryfikację glukozy za pomocą kwasu laurylowego (Schemat 35). Początkowo zbadano wpływ enzymu na tą reakcję, do badań wykorzystano 28 preparatów enzymatycznych, w tym dostępne komercyjnie lipazy, esterazy oraz proszki acetonowe z organów zwierzęcych. Opierając się na danych literaturowych jako rozpuszczalnik wybrano alkohol *t*-amyłowy¹⁵⁹ a reakcję przeprowadzono w skali analitycznej (0,1 mmol glukozy), przez 24 godziny w temperaturze pokojowej oraz w 60 °C. Przebieg reakcji śledzono za pomocą

¹⁵⁵ karta charakterystyki, Sigma-Aldrich, <https://www.sigmaaldrich.com/MSDS/MSDS/DisplayMSDSPage.do?country=PL&language=pl&productNumber=40165&brand=SIGMA&PageToGoToURL=https%3A%2F%2Fwww.sigmaaldrich.com%2Fcatalog%2Fproduct%2Fsigma%2F40165%3Flang%3Dpl>.

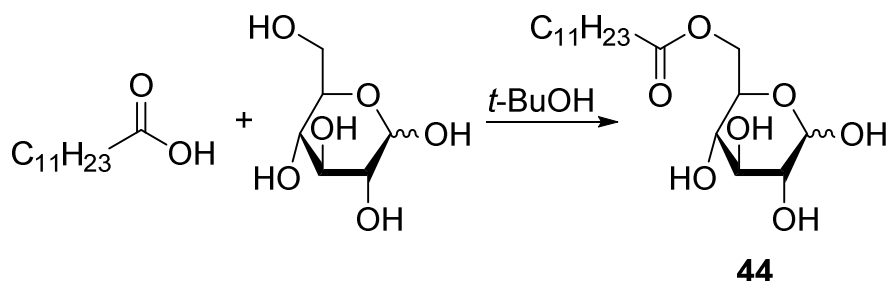
¹⁵⁶ X. Liu, L. Gong, M. Xin, J. Liu, *J. Mol. Cat. A-Chem.* **1999**, *147*, 37.

¹⁵⁷ A.M. Gumel, M.S.M. Annuar, T. Heidelberg, Y. Chisti, *Process Biochem.* **2011**, *46*, 2079.

¹⁵⁸ N.R. Pedersen, P.J. Halling, L.H. Pedersen, R. Wimmer, R. Matthiesen, O.R. Veltman, *FEBS Lett.* **2002**, *519*, 181; S. Sabeder, M. Habulin, Z. Knez, *J. Food. Eng.* **2006**, *77*, 880; I.S. Yoo, S. J. Park, H.H. Yoon, *J. Ind. Eng. Chem.* **2007**, *13*, 1; C. Tsitsimpikou, H. Daflos, F.N. Kolisis, *J. Mol. Cat. B-Enzym.* **1997**, *3*, 189.

¹⁵⁹ S. Soultani, J.-M. Engasser, M. Ghoul, *J. Mol. Catal. B-Enzym.* **2001**, *11*, 725; M. Ferrer, F. Comelles, F.J. Plou, M.A. Cruces, G. Fuentes, J.L. Parra, A. Ballesteros, *Langumir* **2002**, *18*, 667.

chromatografii cienkowarstwowej (TLC) (procedura ogólna znajduje się w części eksperymentalnej w rozdziale 6.3.). W przypadku trzech preparatów enzymatycznych: lipazy B z *Candidia antarctica* immobilizowanej w żywicy akrylowej (Novozym 435), lipazy z *Candidia rugosa* oraz lipazy z trzustki wieprzowej zaobserwowano powstawanie produktu. Reakcja zachodziła najefektywniej przy użyciu Novozymu 435 przez co preparat ten został wybrany do dalszych badań.



Schemat 35. Estryfikacja glukozy za pomocą kwasu laurylowego.

Następnie zbadano wpływ rozpuszczalnika na estryfikację glukozy katalizowaną przez Novozym 435. Bazując na danych literaturowych dotyczących enzymatycznej syntezy estrów cukrowych wybrano 10 rozpuszczalników w których reakcja przebiegała najefektywniej. Reakcje prowadzono przez 72 godziny w temperaturze 60 °C. Dodatkowo opracowano procedurę wydzielania i oczyszczania uzyskiwanych produktów za pomocą chromatografii kolumnowej. Wyniki badań zestawiono w Tabeli 9 (procedura ogólna znajduje się w części eksperymentalnej w rozdziale 6.3.):

Tabela 9. Wpływ rozpuszczalnika na reakcje pomiędzy glukozą i kwasem laurylowym katalizowaną Novozymem 435.

L.p.	Rozpuszczalnik	Wydajność
1	DMF	< 1 %
2	DMSO	< 1 %
3	<i>t</i> -Butanol	41 %
4	Acetonitryl	36 %
5	Alkohol <i>t</i> -amylowy	35 %
6	Toluen	< 1 %
7	TBME	6 %
8	Izooktan	< 1 %
9	Etanol	7 %
10	Chloroform	4 %

W dimetyloformamidzie, dimetylosulfotlenku, toluenie oraz izooktanie nie obserwowano tworzenia się produktu. Użycie eteru *t*-butylometylowego, etanolu oraz chloroformu jako rozpuszczalników dało laurynian 6-*O*-glukozy (**44**) z wydajnościami

poniżej 10 %. Reakcja prowadzona w alkoholu *t*-amyłowym oraz acetonitrylu pozwoliła na uzyskanie produktu z wydajnościami odpowiednio 35 % oraz 36 %. Reakcja prowadzona w *t*-butanolu przebiegła z wydajnością 41 %. Rozpuszczalnik ten został wybrany do prowadzenia dalszych badań. Warty odnotowania jest fakt, że podczas reakcji zaobserwowano powstawanie tylko jednego izomeru produktu.

Sprawdzono także wpływ czasu prowadzenia reakcji oraz temperatury na wydajność uzyskiwanego produktu. Przeprowadzono serię reakcji pomiędzy glukozą i kwasem laurylowym katalizowaną Novozymem 435 zmieniając te parametry. Wyniki zebrano w Tabeli 10 (procedura ogólna znajduje się w części eksperymentalnej w rozdziale 6.3.).

Tabela 10. Wpływ czasu i temperatury prowadzenia reakcji na otrzymywanie laurynianu 6-*O*-glukozy

L.p.	Czas	Temperatura	Wydajność
1	72 godz.	Pokojowa	10 %
2	72 godz.	60 °C	41 %
3	72 godz.	80 °C	47 %
4	24 godz.	80 °C	24 %
5	48 godz.	80 °C	35 %
6	96 godz.	80 °C	45 %
7	168 godz.	80 °C	41 %

Reakcja prowadzona w temperaturze pokojowej przez 72 godziny pozwoliła na uzyskanie laurynianu 6-*O*-glukozy z wydajnością 10 %, natomiast w temperaturach 60 °C i 80 °C odpowiednio 41 % oraz 47 %. Temperatura 80 °C została wybrana do prowadzenia dalszych eksperymentów. W miarę wydłużania czasu prowadzenia reakcji od 24 godzin do 72 godzin wydajność laurynianu 6-*O*-glukozy stopniowo rosła od 24 % do 47 %. Podczas dłuższego prowadzenia reakcji wydajność oczekiwanego produktu powoli spadała, po 96 godzinach produkt wydzielono z wydajnością 45 %, natomiast po tygodniu 41 %. Może to być spowodowane rozkładem powolnym produktu w warunkach reakcji. Podsumowując, 72 godziny przy temperaturze 80 °C to optymalne warunki prowadzenia reakcji. Względnie wysoka temperatura prowadzenia reakcji enzymatycznej, prawdopodobnie jest możliwa dzięki temu, że stosowany enzym jest immobilizowany w żywicy akrylowej, co zwiększa jego stabilność w wysokich temperaturach.¹⁶⁰

Sprawdzono także wpływ ilości preparatu enzymatycznego na wydajność reakcji. Przeprowadzono reakcje estryfikacji 1 milimola glukozy, katalizowaną przez 20 mg, 50 mg oraz 100 mg Novozymu 435. Reakcję przeprowadzono w *t*-butanolu przez 72 godziny

¹⁶⁰ C. Mateo, J.M. Paolomo, G. Fernandez-Lorenta, J.M. Guisan, R. Fernandez-Lafuente, *Enzyme Microb. Tech.* **2007**, *40*, 1451; M. Arroyo, J.M. Sanchez-Montero, J.V. Sinisterra, *Enzyme Microb. Tech.* **1999**, *24*, 3.

w temperaturze 80 °C. W przypadku użycia 20 mg katalizatora uzyskano produkt z wydajnością 35 %. W przypadku użycia 50 mg lub 100 mg preparatu enzymatycznego wydzielono produkt z wydajnościami po 47 %. W związku z tym 50 mg preparatu enzymatycznego / 1 mmol glukozy zostało wybrane optymalną ilością katalizatora.

Reakcja estryfikacji jest odwracalna dlatego też w celu przesunięcia równowagi w kierunku pożądanego produktu konieczne jest usuwanie powstającej wody. Dlatego też, sprawdzono wpływ dodatku soli nieorganicznych oraz sit molekularnych na przebieg reakcji (po 3 ekwiwalenty lub w przypadku sit molekularnych 300 mg / 1 mmol glukozy). Zbadano także wpływ takich dodatków jak ortoestry i acetale, które mogą także wyłapywać powstającą wodę. Określono także wpływ dodatku wody na przebieg badanej reakcji estryfikacji. Wyniki tych badań zaprezentowano w Tabeli 11 (procedura ogólna znajduje się w części eksperymentalnej w rozdziale 6.3.).

Tabela 11. Wpływ dodatków na katalizowaną enzymatycznie estryfikację glukozy.

L.p.	Dodatek	Wydajność
1	---	47 %
2	Sita molekularne	29 %
3	Węglan potasu	< 1 %
4	Siarczan magnezu	26 %
5	Siarczan sodu	20 %
6	Ortooctan trietylu	12 %
7	Tetrametoksymetan	4 %
8	Acetal dimetylowy benzaldehydu	28 %
9	Acetal dimetylowy aldehydu octowego	32 %
10	Węglan dimetylu	8 %
11	Woda	15 %

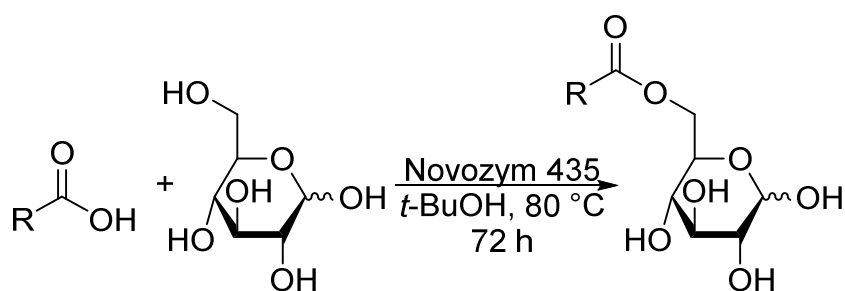
Reakcje przeprowadzone z dodatkami wiążącymi powstającą wodę tj. sitami molekularnymi oraz solami nieorganicznymi (l.p. 2-5, Tabela 11) przebiegły z niższymi wydajnościami niż reakcja bez dodatków. W przypadku zastosowania węglanu potasu nie zaobserwowano powstawania produktu. Reakcje przeprowadzone w obecności ortoestrów i acetalu (l.p. 6-9, Tabela 11) dały laurynian 6-*O*-glukozy z wydajnościami do 32 %. W przypadku użycia węglanu dimetylu produkt otrzymano z wydajnością 8 % (l.p. 10, Tabela 11). Ze względu na niekorzystny wpływ dodatków wiążących wodę, przeprowadzono reakcję z dodatkiem wody, ponieważ wiadomo, że woda jest niezbędna do zachowania aktywności katalitycznej enzymu.¹⁶¹ Otrzymano laurynian 6-*O*-glukozy z wydajnością 15 %, czyli nadmiar wody ma niekorzystny wpływ na przebieg reakcji. Podsumowując produkt z najwyższą wydajnością otrzymano w czystym rozpuszczalniku, bez dodatków.

¹⁶¹ Y. Dudal, R. Lortie, *Biotechnol. Bioeng.* **1995**, *45*, 129.

Użycie laurynianu winylu zamiast kwasu laurynowego jako substrat pozwoliło na uzyskanie produktu z wydajnością 90 %. Może to być spowodowane tym, że powstający produkt uboczny, aldehyd octowy odparowuje z mieszaniny reakcyjnej, co przesunęło równowagę reakcji w stronę produktów. Niestety wykorzystanie innych estrów winylowych jako substratów do tej reakcji jest problematyczne w związku z tym że są zdecydowanie droższe od odpowiednich kwasów, a ich synteza wymaga użycia niepożądanych z punktu widzenia środowiska soli lub kompleksów metali przejściowych, takich jak np. chlorek rutenu,¹⁶² chlorek palladu,¹⁶³ kompleks bromku renu i tlenku węgla¹⁶⁴ lub kompleks irydu.¹⁶⁵

Po zoptymalizowaniu procedury syntezy estrów glukozy, zastosowano ją do syntezy różnych estrów glukozy. Do reakcji wykorzystano kwasy karboksylowe: kwas kaprylowy, kwas fenylooctowy, kwas 3-fenylopropionowy, kwas 4-fenylomasłowy, kwas 5-fenylowalerianowy, kwas *p*-metoksyfenylooctowy oraz kwas *p*-nitrofenylooctowy oraz kwas 2,4-dinitrofenylooctowy. Ich wyniki zaprezentowano w Tabeli 12 (procedura ogólna znajduje się w części eksperymentalnej w rozdziale 6.3.).

Tabela 12. Wpływ kwasu karboksylowego na wydajność reakcji estryfikacji glukozy.



L.p.	Kwas karboksylowy	Produkt	Wydajność
1	Kwas kaprylowy	45	30 %
2	Kwas fenylooctowy	46	40 %
3	Kwas 3-fenylopropionowy	47	26 %
4	Kwas 4-fenylomasłowy	48	33 %
5	Kwas 5-fenylowalerianowy	49	29 %
6	Kwas <i>p</i> -metoksyfenylooctowy	50	15 %
7	Kwas <i>p</i> -nitrofenylooctowy	51	49 %
8	Kwas 2,4-dinitrofenylooctowy	---	< 5 %

Reakcja przeprowadzona z alifatycznym kwasem kaprylowym (l.p. 1, Tabela 12), dała kaprylan 6-*O*-glukozy z wydajnością 30 %. Użycie jako substratów kwasów

¹⁶² R.V. Shchepin, D.A. Barskiy, A.M. Coffey, I.V.M. Esteve, E.Y. Chekmenev, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 6071.

¹⁶³ J. Gu, M.E. Ruppen, P. Cai, *Org. Lett.* **2005**, *7*, 3945.

¹⁶⁴ R. Hua, X. Tian, *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 5782.

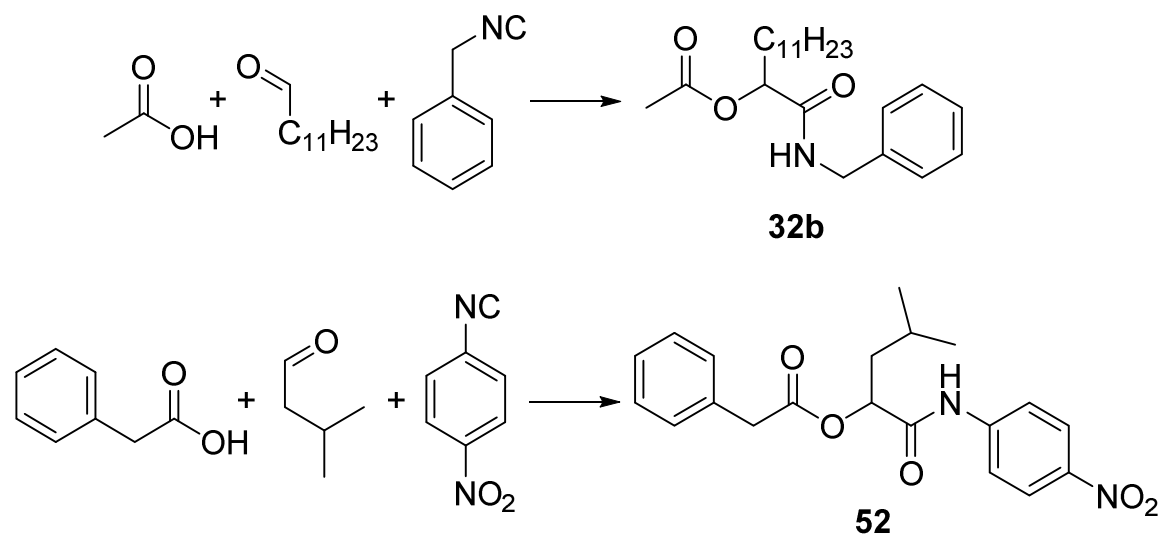
¹⁶⁵ H. Nakagawa, Y. Okimoto, S. Sakagichi, Y. Ishii, *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 103.

posiadających niepodstawiony pierścień aromatyczny w swojej strukturze (l.p. 2-5, Tabela 12) pozwoliło na otrzymanie odpowiednich produktów z wydajnościami od 26 % do 40 %. *p*-Metoksyfenylooctan 6-*O*-glukozy (l.p. 6, Tabela 12) został zsyntetyzowany z wydajnością wynoszącą 15 %, natomiast *p*-nitrofenylooctan 6-*O*-glukozy (l.p. 7, Tabela 12) z wydajnością 49 %. Reakcja przeprowadzona z użyciem kwasu 2,4-dinitrofenylooctowego nie zaszła. Podsumowując zostało zsyntetyzowanych 7 estrów glukozy. Opracowana metodologia pozwala na prostą i efektywną syntezę estrów glukozy. Ponadto zastosowanie biokatalizatora jest korzystne z punktu widzenia środowiska, unika się stosowania metali ciężkich.

5.3.3. Wpływ uzyskanych estrów glukozy na przebieg reakcji Passeriniego

Podczas kolejnego etapu badań sprawdzono wpływ otrzymanych estrów glukozy na przebieg reakcji Passeriniego. Jako modelową reakcję Passeriniego wybrano reakcje pomiędzy kwasem octowym, dodekanalem i izocyjankiem benzylovym (produkt **32b**) oraz reakcje pomiędzy kwasem fenylloctowym, aldehydem izowalerianowym oraz *p*-izocyjanonitrobenzenem (produkt **52**). Serię reakcji z dodatkiem 20 % molowych otrzymanych estrów glukozy przeprowadzono w buforze fosforanowym (procedura ogólna znajduje się w części eksperymentalnej w rozdziale 6.3.1.)

Tabela 13. Wpływ estrów glukozy – biodegradowalnych surfaktantów na przebieg reakcji Passeriniego.



L.p.	Surfaktant	Wydajność 32b	Wydajność 52
1	Laurynian 6- <i>O</i> -glukozy	17 %	30 %
2	Kaprylan 6- <i>O</i> -glukozy	11 %	23 %
3	Fenylooctan 6- <i>O</i> -glukozy	11 %	35 %
4	3-Fenylopropionian 6- <i>O</i> -glukozy	13 %	17 %
5	4-Fenylomaślan 6- <i>O</i> -glukozy	11 %	30 %
6	5-Fenylowalerian 6- <i>O</i> -glukozy	13 %	23 %
7	<i>p</i> -Metoksyfenylooctan 6- <i>O</i> -glukozy	11 %	26 %
8	<i>p</i> -Nitrofenylooctan 6- <i>O</i> -glukozy	11 %	24 %

W przypadku syntezy związku **32b**, produkty otrzymano z wydajnościami pomiędzy 11 % a 17 %. Taka sama reakcja przeprowadzona w obecności DODAB (l.p. 2, Tabela 4) zaszła z wydajnością 67 %. Reakcje pomiędzy kwasem fenylloctowym, aldehydem izowalerianowym oraz *p*-izocyjanonitrobenzenem zaszły z wydajnościami pomiędzy 17 % a 35 %. Ponadto wszystkie otrzymane produkty były racemiczne, w związku z tym nie następuje transfer chiralności z surfaktantu na produkt reakcji.

5.4. Badania nad połączeniem reakcji Passeriniego z reakcjami enzymatycznymi

5.4.1. Badania nad opracowaniem chemoenzymatycznej kaskady łączącej utlenianie alkoholi z reakcją Passeriniego

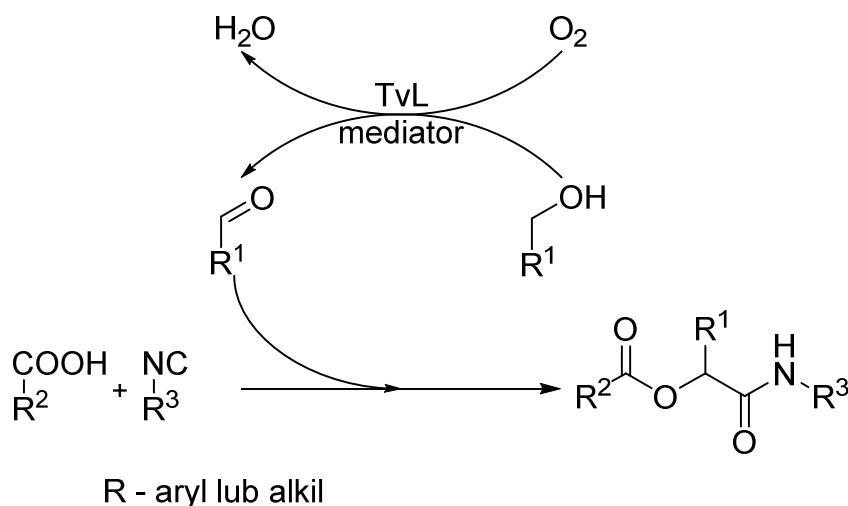
Opracowanie reakcji Passeriniego przebiegającej w łagodnych warunkach, w środowisku wodnym umożliwiło zaprojektowanie badań nad połączeniem jej z reakcjami katalizowanymi enzymatycznie w proces kaskadowy. Jako reakcję enzymatyczną wybrano utlenianie alkoholu do aldehydu za pomocą tlenu katalizowane przez lakazę z *Trametes versicolor* (TvL) w obecności mediatora. Stosowanie tego enzymu umożliwia m.in. selektywne utlenianie alkoholi do odpowiednich aldehydów, co zostało szerzej opisane w rozdziale 4.2.2. niniejszej pracy. Opracowanie procedury na jednoczesne selektywne utlenianie alkoholi do aldehydów oraz reakcje Passeriniego umożliwi stosowanie alkoholi jako substratów tej reakcji (Schemat 36). Ponadto tego typu podejście niesie ze sobą szereg zalet: alkohole są zazwyczaj łatwiejsze do syntezy i stabilniejsze niż aldehydy, gdyż nie ulegają tak łatwo utlenianiu przez tlen atmosferyczny, reakcji autokondensacji lub reakcji Cannizzaro. Cały proces jest prowadzony w środowisku wodnym, unikając stosowania rozpuszczalników organicznych. Reakcja utleniania biegnie w łagodnych warunkach przy użyciu tlenu atmosferycznego bez użycia metali przejściowych (patrz rozdział 4.2.2. w części literaturowej).

Analiza literatury na ten temat wykazała, że dotychczas zostały opisane przykłady jednoczesnego utleniania alkoholu oraz reakcji Passeriniego. W pracy Ngouansavanh i Zhu wybrane alkohole były utleniane za pomocą kwasu *o*-jodoksybenzoesowego (IBX), w tetrahydrofuranie oraz zachodziła następcza reakcja Passeriniego.¹⁶⁶ Jednak podstawową wadą tej metody jest stosowanie nadmiaru IBX, który jest wybuchowy. Brioché i Masson opisali w 2010 roku utlenianie alkoholu wykorzystujące czysty tlen jako utleniacz i katalizowane przez chlorek miedzi(II), TEMPO oraz azotyn sodu z następczą reakcją Passeriniego.¹⁶⁷ Karimmi i Farhangi opisali bardzo podobną procedurę, jednak modyfikacja polegała na zastosowaniu nanocząstek magnetycznych typu rdzeń/powłoka opłaszczonych TEMPO oraz nitrylem *t*-butylu.¹⁶⁸ Jednak obie powyższe reakcje są prowadzone w toluenie. Podsumowując, chemoenzymatyczna kaskadowa procedura na utlenianie i reakcję Passeriniego prowadzona w środowisku wodnym doskonale wpisuje się w zalecenia „zielonej chemii” i stanowi interesującą alternatywę dla istniejących metod.

¹⁶⁶ T. Ngouansavanh, J. Zhu, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2006**, *45*, 3495.

¹⁶⁷ J. Brioché, G. Masson, J. Zhu, *Org. Lett.* **2010**, *12*, 143.

¹⁶⁸ B. Karimi, E. Farhangi, *Adv. Synth. Catal.* **2013**, *355*, 50.

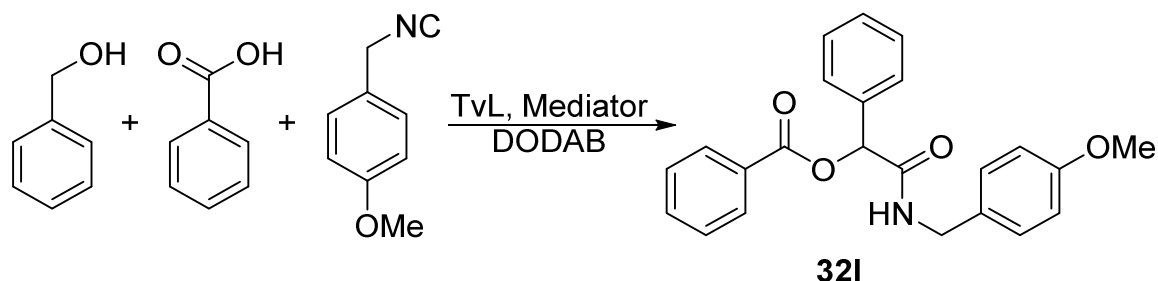


Schemat 36. Chemoenzymatyczna kaskada umożliwiająca syntezę α -acyloksyamidów z alkoholi.

Początkowo przeprowadzono eksperymenty mające na celu wyjaśnienie, czy katalizowane TvL utlenianie alkoholu benzyłowego do benzaldehydu zajdzie w warunkach kompatybilnych z reakcją Passeriniego. Reakcje prowadzono w buforze fosforanowym pH = 5,7 w obecności TEMPO. Przeprowadzono reakcje utleniania alkoholu benzyłowego w stężeniu 100 mM oraz 30 mM. Aby umożliwić kontakt mieszaniny reakcyjnej z powietrzem, reakcje prowadzono w otwartym naczyniu. Po 24 godzinach w obu reakcjach zaobserwowano obecność benzaldehydu za pomocą chromatografii cienkowarstwowej (TLC). W reakcjach kontrolnych bez dodatku lakazy lub TEMPO nie zaobserwowano produktu (procedura ogólna znajduje się w części eksperymentalnej w rozdziale 6.4.1.).

Kolejnym etapem badań było połączenie obu reakcji; katalizowanego enzymatycznie utleniania oraz reakcji Passeriniego, w proces kaskadowy. Jako modelową reakcję Passeriniego wybrano reakcje pomiędzy kwasem benzoesowym, benzaldehydem oraz izocyjankiem *p*-metoksybenzyłowym, która, jak wynikało z poprzednich badań (l.p. 12, Tabela 5), zachodzi w buforze fosforanowym w obecności DODAB z wysoką wydajnością, 92 %. Zbadano także wpływ typu mediatora oraz enzymu na reakcję pomiędzy alkoholem benzyłowym, kwasem benzoesowym oraz izocyjankiem *p*-metoksybenzyłowym. Zostały sprawdzone następujące mediatory: TEMPO oraz hydroksybenzotriazol (HOBt). Zbadano także wpływ czasu prowadzenia reakcji na wydajność produktu **32l**. Wyniki badań zostały zaprezentowane w Tabeli 14 (procedura ogólna znajduje się w części eksperymentalnej w rozdziale 6.4.1.).

Tabela 14. Kaskada reakcji pomiędzy alkoholem benzylowym, kwasem benzoesowym oraz izocyjankiem *p*-metoksybenzylowym w obecności DODAB, TvL oraz różnych mediatorów.

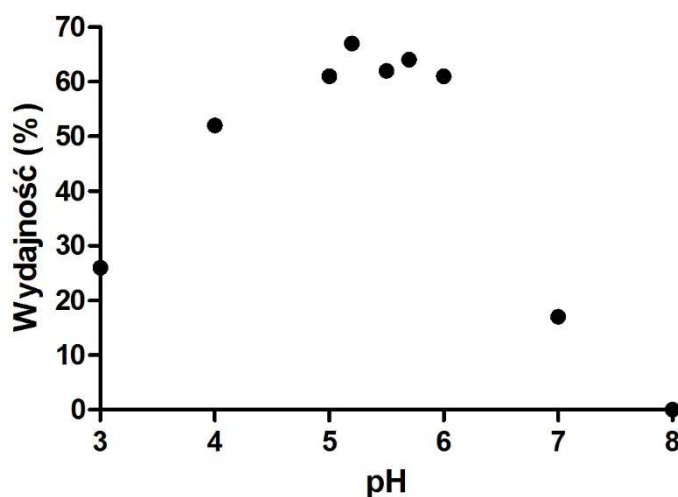


L.p.	Mediator	Czas	Uwagi	Wydajność
1	TEMPO	48 godz.	---	64 %
2	---	48 godz.	---	< 5 %
3	HOBt	48 godz.	---	< 5 %
4	TEMPO	48 godz.	Bez DODAB	27 %
5	TEMPO	48 godz.	Bez TvL	<5 %
6	TEMPO	24 godz.	---	47 %
7	TEMPO	72 godz.	---	64 %
8	TEMPO	48 godz.	Bez kwasu benzoesowego	< 5 %

Reakcja pomiędzy alkoholem benzylowym, kwasem benzoesowym oraz izocyjankiem *p*-metoksybenzylowym w obecności lakazy, TEMPO oraz DODAB pozwoliła na uzyskanie związku **321** z wydajnością 64 %, więc możliwe jest połączenie enzymatycznego utleniania alkoholu z reakcją Passeriniego. Reakcje przeprowadzone bez mediatora, oraz z HOBt zamiast TEMPO (l.p. 2 i 3, Tabela 14) nie dały oczekiwanego produktu. Reakcja prowadzona bez surfaktantu (l.p. 4, Tabela 14) pozwoliła na uzyskanie produktu **321** ze zdecydowanie niższą wydajnością, 27 %. Dodatek surfaktantu zdecydowanie zwiększa wydajność kaskady reakcji. Podczas przeprowadzania reakcji bez dodatku lakazy (l.p. 5, Tabela 14), nie zaobserwowano tworzenia się produktu, czyli jest ona niezbędna w procesie utleniania alkoholu do aldehydu. Po 24 godzinach produkt **321** otrzymano z wydajnością 47 %, natomiast po 48 i 72 godzinach uzyskano produkt z wydajnościami 64 %. W reakcji prowadzonej bez kwasu benzoesowego (l.p. 8, Tabela 14) nie otrzymano oczekiwanego produktu. Oznacza to, że w warunkach reakcji nie zachodzi dalsze utlenianie aldehydu do kwasu, który byłby substratem do reakcji Passeriniego.

Kolejnym etapem badań było zbadanie wpływu pH medium reakcyjnego na przebieg kaskady reakcji. Wartość pH medium reakcyjnego jest bardzo istotnym parametrem reakcji enzymatycznych, a z analizy literatury wynika, że lakazy są aktywne

między pH 3 a 6.¹⁶⁹ Wykonano badania nad określeniem wpływu pH (od 3 do 8) na zaproponowaną kaskadę reakcji. Przygotowano odpowiednie bufony fosforanowe poprzez mieszanie roztworów H_3PO_4 , NaH_2PO_4 i Na_2HPO_4 o stężeniu 100 mM do uzyskania pożądanego pH. Następnie przeprowadzono jednocześnie reakcję utleniania alkoholu benzyłowego oraz reakcję Passeriniego prowadząca do produktu **32I**. Wpływ pH na wydajność reakcji przedstawiono na Rysunku 17 (procedura ogólna znajduje się w części eksperymentalnej w rozdziale 6.4.1.).



Rysunek 17. Wpływ zmiany pH na wydajność związku **32I**.

Produkty kaskady reakcji prowadzonych w pH 3, 7 oraz 8 są otrzymywane z niską wydajnością, poniżej 30 %, natomiast reakcja prowadzona w pH = 4 dała produkt **32I** z wydajnością 52 %. Przy tych wartościach pH, katalizowane lakazą utlenianie alkoholu zachodzi nieefektywnie. Prowadzenie reakcji w pH pomiędzy 5 a 6 pozwoliło na uzyskanie związku **32I** z wydajnościami powyżej 60 %, produkt **32I** z najwyższą wydajnością, 67 % otrzymano przy zastosowaniu pH = 5,2. Dlatego też ta wartość pH została wybrana do dalszych eksperymentów.

Kolejnym etapem badań było sprawdzenie wpływu użytego surfaktantu lub innego dodatku na przebieg kaskady reakcji. Z Tabeli 4 wynika, że DODAB najlepiej promuje samą reakcję Passeriniego. Jednak w tym przypadku nie jest znany wpływ surfaktantu na reakcje enzymatycznego utleniania oraz całą kaskadę. Przeprowadzono reakcje pomiędzy alkoholem benzyłowym, kwasem benzoesowym oraz izocyjankiem *p*-metoksybenzyłowym w obecności enzymu TvL oraz TEMPO, jako medium reakcyjne był zastosowany bufor fosforanowy pH = 5,2 z dodatkiem (20 % molowych lub w przypadku montmorylonitu 10 mg/0,1 mmol). Wyniki zaprezentowano w Tabeli 15 (procedura ogólna znajduje się w części eksperymentalnej w rozdziale 6.4.1.).

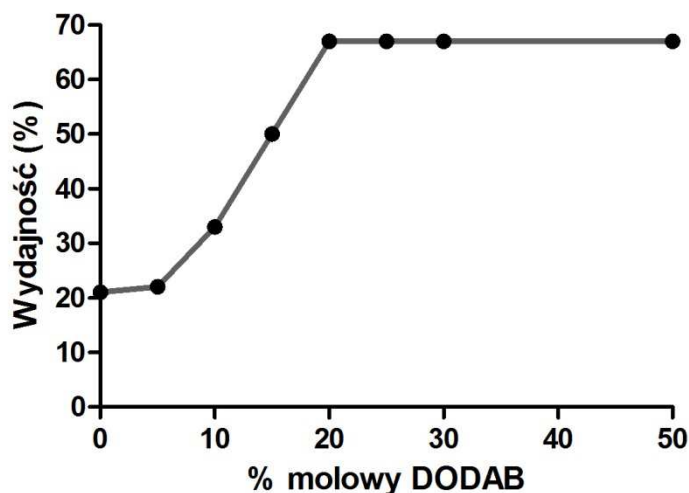
¹⁶⁹ M.J. Han, H.T. Choi, H.G. Song, *J. Microbiol.* **2005**, *43*, 555.

Tabela 15. Wpływ surfaktantów na syntezę związku **32I**.

L.p.	Dodatek	Wydajność
1	---	21 %
2	Montmorylonit K 10	16 %
3	Cholesterol	22 %
4	SDS	6 %
5	AOT	12 %
6	Tween 80	23 %
7	Triton X-100	47 %
8	3-(<i>N,N</i> -Dimetylomirystynoammonioowy)propanosiarozan	23 %
9	DDAB	34 %
10	DODAB	67 %

Kaskada reakcji przeprowadzona w buforze fosforanowym pH = 5,2 bez dodatku dała produkt **32I** z wydajnością 21 %. Obecność montmorylonitu K 10 oraz cholesterolu nie ma dużego wpływu na wydajność reakcji, która wynosiła odpowiednio 16 % oraz 22 %. Po raz kolejny dodatek anionowego surfaktantu SDS lub AOT (l.p. 4, 5, Tabela 15) niekorzystnie wpływa na przebieg kaskady reakcji, produkt otrzymano z wydajnościami odpowiednio 6 % oraz 12 %. Może to być spowodowane niekorzystnym wpływem tych dodatków na przebieg reakcji Passerinięgo, co zostało także pokazane w Tabeli 4. Dodatek niejonowego surfaktantu, Tweenu 80 nie wpływa znacząco na przebieg kaskady reakcji, produkt otrzymano z wydajnością 23 %. Obecność niejonowego Tritonu X-100 korzystnie wpływa na przebieg reakcji, produkt **32I** został otrzymany z wydajnością 47 %. Obecności zwitterjonowego 3-(*N,N*-dimetylomirystynoammonioowy)propanosiarozanu nie wpływa znacząco na wydajność otrzymywanego produktu, która w tym przypadku wyniosła 23 %. Dodatek kationowego surfaktantu DDAB korzystnie wpłynął na przebieg procesu i produkt został otrzymany z wydajnością 34 %. Przy dodatku DODAB, produkt **32I** otrzymano z najwyższą wydajnością, która wyniosła 67 %. Otrzymane wyniki świadczą o tym, że dodatek DODAB jest optymalny dla chemoenzymatycznej kaskady reakcyjnej.

Następnie przeprowadzono badania mające na celu ustalenie wpływu ilości dodatku DODAB na wydajność reakcji pomiędzy alkoholem benzylovym, kwasem benzoesowym oraz izocyjankiem *p*-metoksybenzylovym w obecności lakazy z *Trametes versicolor* i TEMPO. Substraty oraz katalizatory mieszano w buforze fosforanowym pH = 5,2 przez 48 godzin w obecności różnych ilości DODAB. Wydajności produktów odpowiednich reakcji zostały zaprezentowane na Rysunku 18 (procedura ogólna znajduje się w części eksperymentalnej w rozdziale 6.4.1.).



Rysunek 18. Wpływ ilości DODAB na wydajność związku **32I**.

Zwiększanie ilości DODAB od 0 do 20 % molowych skutkuje stopniowym podwyższaniem wydajności reakcji od 21 % do 67 %. Dalsze zwiększanie ilości DODAB nie zmienia jej wydajności, dla 25, 30 i 50 % molowych surfaktantu wydajność reakcji wynosi 67 %. W związku z tym 20 % molowych DODAB zostało wybrane jako optymalna ilość surfaktantu.

Na podstawie wcześniejszych badań wiadomo, że katalizowana lakazą reakcja utleniania alkoholu benzyłowego przebiega ilościowo, natomiast reakcja Passerriniego pomiędzy benzaldehydem, kwasem benzoesowym oraz izocyjankiem *p*-metoksybenzyłowym w środowisku wodnym w obecności DODAB daje produkt **32I** z wydajnością 92 % (l.p. 12, Tabela 5). Przeprowadzono eksperymenty mające na celu optymalizację wydajności produktu **32I**. Początkowo przeprowadzono eksperymenty z użyciem dwóch oraz pięciu ekwiwalentów alkoholu benzyłowego, produkt **32I** otrzymano z wydajnościami odpowiednio 76 % oraz 79 %. Zbadano także wpływ użycia dwóch ekwiwalentów izocyjanku *p*-metoksybenzyłowego, w tym przypadku produkt otrzymano z wydajnością 88 %. Wyniki te świadczą o tym, że podczas utleniania alkoholu prawdopodobnie równocześnie zachodzi hydroliza izocyjanku, co obniża wydajność kaskady reakcji. Następnie sprawdzono wpływ prowadzenia reakcji sekwencyjnie. Utlenianie alkoholu benzyłowego prowadzono przez 24 godziny w buforze fosforanowym pH = 5,2 z dodatkiem DODAB, następnie dodano kwas benzoesowy oraz izocyjanek. Produkt **32I** otrzymano z wydajnością 86 %. Sekwencyjne dodawanie substratów jest zdecydowanie lepszym rozwiązaniem niż stosowanie nadmiaru któregoś z substratów, ponieważ powstaje przy tym mniejsza ilość zanieczyszczeń.

Kolejnym etapem badań było sprawdzanie, czy lakaza, TEMPO oraz roztwór surfaktantu może być wykorzystany do więcej niż jednego cyklu reakcyjnego. W związku z tym przygotowano reakcje utleniania alkoholu benzyłowego na powietrzu w obecności TvL i TEMPO, po 24 godzinach dodano kwas benzoesowy oraz izocyjanek

p-metoksybenzylowy. Reakcje prowadzono przez kolejne 24 godziny. Powstały produkt, który wypadł z mieszaniny reakcyjnej został odsączony i oczyszczony. Przesącz został użyty do następnej reakcji, bezpośrednio do niego dodano kolejną porcję alkoholu benzyłowego, po 24 godzinach kolejną porcję kwasu i izocyjanku. Otrzymane wyniki przedstawiono w Tabeli 16 (procedura ogólna znajduje się w części eksperymentalnej w rozdziale 6.4.1.).

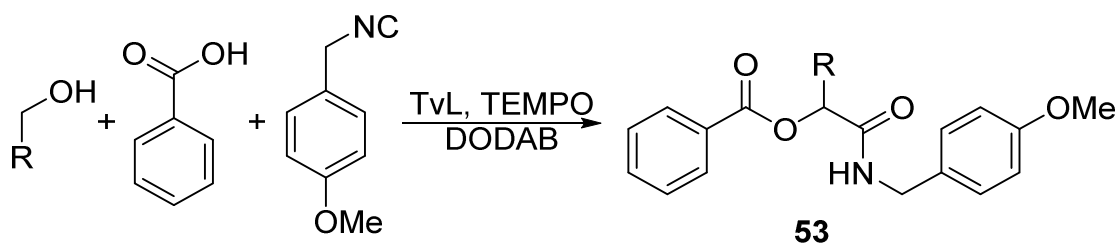
Tabela 16. Wpływ trzykrotnego wykorzystania TvL, TEMPO oraz DODAB na wydajność chemoenzymatycznej kaskady utleniania alkoholu benzyłowego i reakcji Passeriniego.

L.p.	Opis	Wydajność
1	Świeży katalizator	86 %
2	II cykl	67 %
3	III cykl	19 %

Podczas wykorzystania tego samego roztworu surfaktantu do drugiego cyklu reakcyjnego, wydajność produktu spada do 67 %. Kolejne użycie tego samego medium reakcyjnego oraz katalizatorów skutkuje znacznym obniżeniem wydajności produktu reakcji, do 19 %. Może to być spowodowane odsączaniem enzymu, TEMPO i/lub surfaktantu z mieszaniny reakcyjnej razem z produktem oraz zmniejszaniem ilości rozpuszczalnika podczas sączenia. Podsumowując, to samo medium reakcyjne może być użyte co najwyżej dwa razy, aczkolwiek ze znaczącym spadkiem wydajności, o 19 %.

Następnie wykonano badania nad określeniem wpływu użytych alkoholi na wydajność reakcji. Zastosowano następujące alkohole: benzyłowy, *p*-nitrobenzyłowy, *p*-fluorobenzyłowy, *p*-chlorobenzyłowy, *p*-metylobenzyłowy, *p*-metoksybenzyłowy, cynamonowy, allilowy, dodecyłowy oraz 2-etyloheksyłowy. W wyniku tych reakcji otrzymano produkty **53a-h**. Reakcje prowadzono zgodnie z opracowaną sekwencyjną procedurą, wyniki zaprezentowano w Tabeli 17 (procedura ogólna znajduje się w części eksperymentalnej w rozdziale 6.4.1.).

Tabela 17. Procedura utleniania alkoholi z następczą reakcją Passeriniego w jednym naczyniu reakcyjnym.



L.p.	Alkohol	Produkt	Wydajność
2	<i>p</i> -Nitrobenzylowy	53a	78 %
3	<i>p</i> -Fluorobenzylowy	53b	72 %
4	<i>p</i> -Chlorobenzylowy	53c	65 %
5	<i>p</i> -Metylobenzylowy	53d	68 %
6	<i>p</i> -Metoksybenzylowy	53e	62 %
7	Cynamonowy	53f	81 %
8	Allilowy	---	< 5 %
9	Dodecylowy	53g	11 %
10	2-Etyloheksylowy	53h	30 %*

* Mieszanina diastereoizomerów w proporcji 1:1.

Reakcje przeprowadzone z pochodnych alkoholu benzyłowego (l.p. 1-6, Tabela 17), pozwoliły na otrzymanie produktów **53a-e** z wydajnościami od 62 do 86 %. Względnie wysoka wydajność tych reakcji, jest spowodowana faktem, że te alkohole są dobrymi substratami do katalizowanego przez TvL i TEMPO utleniania. Nie zaobserwowano jednoznacznej zależności pomiędzy typem podstawnika w pierścieniu aromatycznym a wydajnością reakcji. Reakcja prowadzona z wykorzystaniem alkoholu cynamonowego (l.p. 7, Tabela 17) dała produkt **53f** z wydajnością 81 %. Świadczy to o tym, że utlenianie tego substratu przebiega z wysoką wydajnością. Reakcja prowadzona z użyciem alkoholu allilowego (l.p. 8, Tabela 17) nie zachodzi. Może być to spowodowane tym, że związek pośredni, akreolina, jest bardzo reaktywny, trujący dodatkowo może inhibować enzym,¹⁷⁰ polimeryzować lub ulegać reakcjom ubocznym, przez co nie bierze udziału w reakcji Passeriniego. Reakcje prowadzone z wykorzystaniem alkoholi alifatycznych dały produkty **53g** oraz **53h** z wydajnościami 11 oraz 30 %. Jest to spowodowane faktem, reakcja utleniania katalizowanego przez lakazę oraz TEMPO jest zdecydowanie mniej efektywna, niż w przypadku alkoholi benzyłowych. Produkt **53h** został otrzymany jako mieszanina diastereoizomerów w proporcji 1:1, co świadczy o tym, że reakcja nie jest diastereoselektywna.

W tej części pracy opisano badania nad opracowaniem oraz optymalizacją procedury otrzymywania α -acyloksyamidów używając alkoholi jako substratów. Dwie

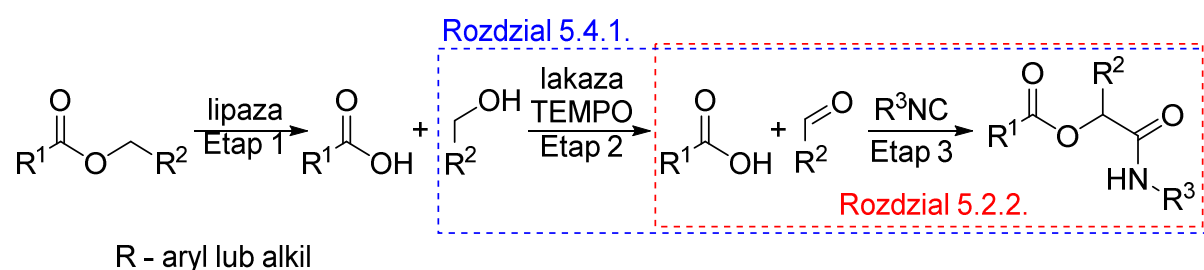
¹⁷⁰ L. Sun, C. Lou, J. Long, D. Wei, J. Liu *Mitochondrion* **2006**, 6, 136.

reakcje, katalizowane enzymatycznie utlenianie alkoholu do aldehydu oraz reakcja Passeriniego biegają w środowisku wodnym w obecności surfaktantu. Uzyskane rezultaty są szczególnie ważne z punktu widzenia „zielonej chemii”, ze względu na unikanie stosowania rozpuszczalników organicznych oraz brak konieczności wydzielenia produktów pośrednich. Wyniki opisanych w tym rozdziale badań zostały opublikowane w *RSC Advances* w 2016 roku.

5.4.2. Badania nad chemoenzymatyczną syntezą produktów reakcji Passeriniego z wykorzystaniem estrów jako substraty

Podczas poprzednich badań opracowano metodologię prowadzenia reakcji Passeriniego w wodnym roztworze surfaktantu. Ponadto wykazano, że reakcja ta może być efektywnie przeprowadzona razem z utlenianiem alkoholu do aldehydu, co pozwala na wykorzystanie alkoholu jako substrat. Kolejne badania miały na celu sprawdzenie czy można ją przeprowadzić stosując ester jako substrat. Badano możliwość opracowania procedury prowadzenia tej syntezy w jednym reaktorze, stosując środowisko wodne jako rozpuszczalnik.

Koncepcja tych badań została zaprezentowana na Schemacie 37. Ester jest hydrolizowany w reakcji katalizowanej lipazą do kwasu karboksyowego i alkoholu (Etap 1). Następnie alkohol jest utleniany tlenem atmosferycznym w reakcji katalizowanej przez lakazę i TEMPO do odpowiedniego aldehydu (Etap 2). Kwas karboksyowy, aldehyd oraz izocyjanek biorą udział w reakcji Passeriniego, dając produkt, α -acyloksyamid (Etap 3). Potencjalną zaletą tej metody może być to, że użycie racemicznego estru jako substratu może dorowadzić do enzymatycznego rozdzielania kinetycznego w pierwszym etapie reakcji, co doprowadziłoby do uzyskania nieracemicznych produktów reakcji Passeriniego.



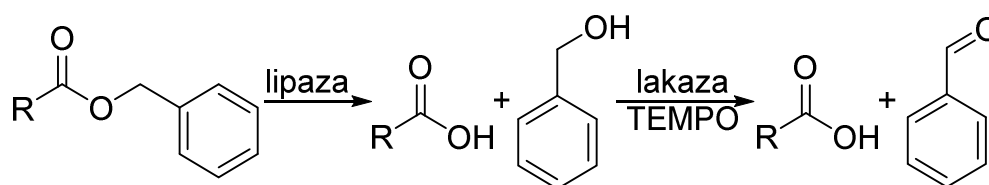
Schemat 37. Koncepcja reakcji Passeriniego z wykorzystaniem estru jako substrat.

Jako modelowe substraty do badań wybrano octan benzylu lub benzoesan benzylu oraz izocyjanek *p*-metoksybenzylowy. Początkowo przeprowadzono badania przesiewowe preparatów enzymatycznych w małej skali, w celu opracowania warunków hydrolizy enzymatycznej octanu benzylu oraz benzoesanu benzylu (Etap 1). Jako rozpuszczalnik wybrano bufor fosforanowy pH = 5,2, ponieważ jest to rozpuszczalnik optymalny do kolejnych etapów reakcji. Przebadano 35 preparatów enzymatycznych

zawierających lipazy i proteazy. Octan benzylu jest hydrolizowany przez lipazy z: *Candidia cylindracea*, *Candidia rugosa*, *Aspergillus santoi*, *Rhizopus arrhizus*, oraz świńskiej wątroby, natomiast benzoesan benzylu przez lipazy z: *Candidia cylindracea* oraz *Candidia rugosa*. W przypadku użycia benzoesu benzylu we wszystkich mieszaninach reakcyjnych był obecny nieprzereagowany substrat. Procedura badań przesiewowych enzymów znajduje się w części eksperymentalnej w rozdziale 6.4.2.

Następnie zbadano możliwość połączenia hydrolizy katalizowanej enzymatycznie estru, w wyniku której powstaje alkohol benzylowy, który to następnie utleniany jest do aldehydu przez lakazę z *Trametes versicolor* w obecności TEMPO (Etapy 1 + 2). Wpływ użytej lipazy na wydajność powstającego ostatecznie benzaldehydu, zaprezentowano w Tabeli 18 (procedura ogólna znajduje się w części eksperymentalnej w rozdziale 6.4.2.).

Tabela 18. Jednoczesne reakcje hydrolizy estru oraz utleniania alkoholu.



R - Ph lub Me

Substrat	Enzym	Wydajność benzaldehydu
	Lipaza z <i>Candidia cylindracea</i>	73 %
	Lipaza z <i>Candidia rugosa</i>	93 %
	Lipaza z <i>Aspergillus santoi</i>	99 %
	Lipaza z <i>Rhizopus arrhizus</i>	80 %
	Lipaza z świńskiej wątroby	68 %
	Lipaza z <i>Candidia cylindracea</i>	75 %
	Lipaza z <i>Candidia rugosa</i>	63 %

Reakcje prowadzone z zastosowaniem octanu benzylu jako substratu pozwoliły na uzyskanie benzaldehydu z wydajnościami od 68 % do 99 %, zależnie od użytej lipazy. Hydroliza i utlenianie benzoesu benzylu doprowadziło do otrzymania benzaldehydu z wydajnościami 75 % i 63 % zależnie od wybranej lipazy. Niższa wydajność produktu może być spowodowana tym, że hydroliza tego substratu nie zachodzi ilościowo, co wykazały poprzednie badania. Wyniki powyższych reakcji wykazały, że badane estry mogą być efektywnie hydrolizowane i utleniane do odpowiednich kwasów i aldehydów, co umożliwia dalsze badania nad następczą reakcją Passeriniego.

Następnie przeprowadzono badania mające na celu sprawdzenie czy możliwe jest przeprowadzenie trzech etapów jednocześnie: hydrolizy estru, utleniania alkoholu i reakcji Passeriniego (Etapy 1+2+3, Schemat 37). Użycie octanu benzylu oraz izocyjanku *p*-metoksybenzylowego jako substrat pozwoliło na otrzymanie odpowiedniego α -acyloksyamidu z wydajnościami do 4 % zależnie od użytej lipazy, oraz innych parametrów reakcji takich jak czas, obecności surfaktantu oraz sekwencyjne prowadzenie reakcji. Użycie benzoesu benzylu oraz izocyjanku *p*-metoksybenzylowego jako substraty pozwoliło na uzyskanie odpowiedniego produktu z wydajnościami od 12 % do 28 % zależnie od użytej lipazy i warunków reakcji.

Podsumowując, przeprowadzono badania modelowe, które pokazały, że zaplanowana koncepcja badań jest możliwa do zrealizowania. Zgodnie z wiedzą literaturową jest to pierwszy przykład połączenia reakcji katalizowanych dwoma różnymi typami enzymów oraz reakcji Passeriniego w procedurę prowadzoną w jednym naczyniu reakcyjnym. Jednak względnie niska wydajność uzyskiwanych produktów oznacza, że temat ten wymaga dalszych szczegółowych badań optymalizacyjnych mających na celu zwiększenie wydajności reakcji oraz opracowanie potencjalnego asymetrycznego wariantu tej procedury.

5.5. Badania nad opracowaniem trzyetapowej procedury prowadzonej w jednym reaktorze otrzymywania α -acyloksyamidów z ugrupowaniem kumaryny

W dalszej części badań sprawdzono, czy możliwe jest opracowanie trzyetapowej procedury prowadzonej w jednym reaktorze, prowadzącej do α -acyloksyamidów będących posiadających ugrupowanie kumaryny. Pochodne kumaryny są ważnymi związkami z punktu widzenia chemii medycznej, ponieważ posiadają udokumentowane działanie biologiczne między innymi właściwości przeciwnowotworowe,¹⁷¹ przeciwzapalne¹⁷² oraz przeciwwirusowe.¹⁷³ Poza tym związki te wykazują właściwości fluorescencyjne, co czyni z nich potencjalne próbki i znaczniki fluorescencyjne.

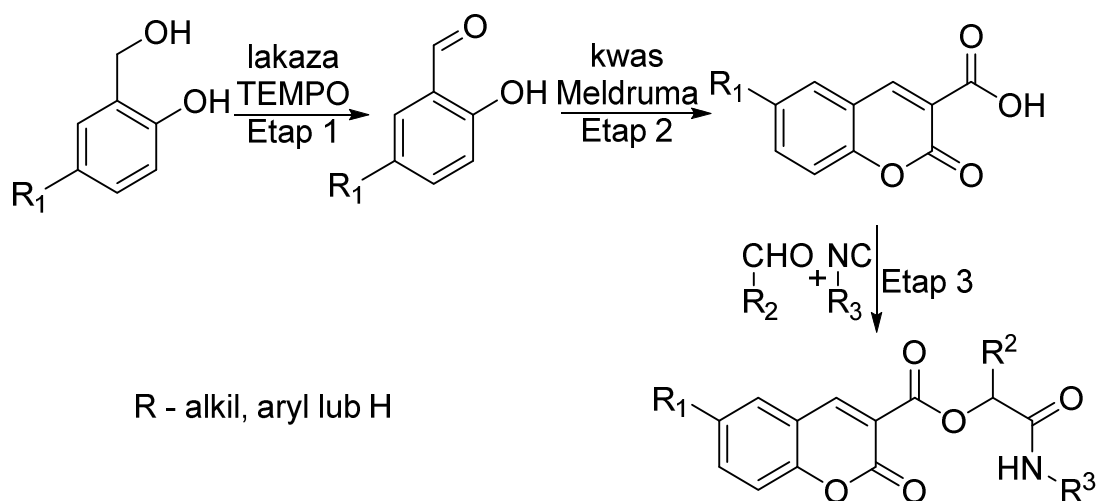
Zaplanowano syntezę tego typu związków z prostych substratów, plan syntezy został zaprezentowany na Schemacie 38. Jako substraty wybrano pochodne alkoholu salicylowego, które mogą być utleniane do odpowiednich aldehydów tlenem atmosferycznym w reakcji katalizowanej przez lakazę z *Trametes versicolor* i TEMPO. Powstałe pochodne aldehydu salicylowego reagują z kwasem Meldruma do odpowiedniej

¹⁷¹ T. Devji, C. Reddy, C. Woo, S. Awale, S. Kadota, D. Corrio-Moniz, *Bioorg. Med. Chem.* **2011**, *21*, 5770; N.S. Reddy, M.R. Mallireddigari, S. Cosenza, K. Gumireddy, S.C. Bell, E.P. Reddy, R.V.M. Reddy, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 4093.

¹⁷² C.-M. Lin, S.-T. Huang, F.W. Lee, H.-S. Kuo, M.-H. Lin, *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 4402.

¹⁷³ H. Xue, X. Lu, P. Zheng, L. Liu, C. Han, J. Hu, Z. Liu, T. Ma, Y. Li, L. Wang, Z. Chen, G. Liu, *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 1397; M. Curuni, F. Epifano, F. Maltese, M.C. Marcotullio, S.P. Gonzales, J.C. Rodriguez, *Aust. J. Chem.* **2003**, *56*, 59.

pochodnej kwasu kumaryno-3-karboksylowego, która następnie bierze udział w reakcji Passeriniego z aldehydem oraz izocyjankiem.



Schemat 38. Koncepcja syntezy α -acyloksyamidów z ugrupowaniem kumaryny z prostych substratów w procedurze prowadzonej w jednym reaktorze.

Szczegółowe badania literaturowe wykazały, że produkty reakcji Passeriniego, α -acyloksyamidy z ugrupowaniem kumaryny, zaprezentowane na Schemacie 38 nie są znane. Natomiast kwas kumaryno-3-karboksylowy był z powodzeniem stosowany jako substrat do reakcji Ugiego. Balalaie i współpracownicy opisali reakcję Ugiego przeprowadzoną z pochodnych kumaryny.¹⁷⁴ Sheikhhosseini i współpracownicy opisali jednoetapową procedurę syntezy kumaryno-3-karboksylowego z aldehydu salicylowego i kwasu Meldruma oraz następczą reakcję Ugiego.¹⁷⁵ Natomiast Shaabani i współpracownicy opisali syntezę kumaryno-3-karboksamidów posiadających pierścień triazolowy w swojej strukturze.¹⁷⁶ Adib i współpracownicy pokazali wariant reakcji Ugiego prowadzący do pochodnych furanu z użyciem kwasu kumaryno-3-karboksylowego jako substratu.¹⁷⁷ Prace te pokazują, że reakcje multikomponentowe znajdują zastosowanie do syntezy nowych pochodnych kumaryny, które mogą wykazywać interesujące właściwości biologiczne.

W celu opracowania bezpośredniej syntezy α -acyloksyamidów z ugrupowaniem kumaryny, początkowo zbadano osobno każdy z etapów pokazanych na Schemacie 38. Jako substraty do reakcji modelowej wybrano alkohol salicylowy, dodekanal oraz izocyjanek *p*-metoksybenzylowy. Jako rozpuszczalnik do wszystkich badań wybrano bufor fosforanowy pH = 5,2, który był poprzednio używany do reakcji katalizowanego enzymatycznie utleniania i reakcji Passeriniego. Podczas pierwszego etapu badań

¹⁷⁴ S. Balalaie, M.A. Bigdeli, E. Sheikhhosseini, A. Habibi, H.P. Moghadam, M. Naderi, *Helv. Chim. Acta* **2012**, 95, 528.

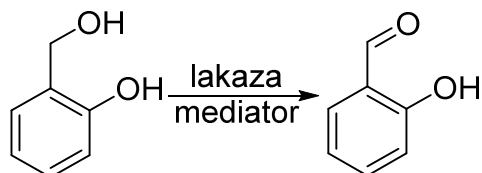
¹⁷⁵ E. Sheikhhosseini, S. Balalaie, M.A. Bigdeli, A. Habibi, H.P. Moghaddam, *J. Korean. Chem. Soc.* **2014**, 58, 186.

¹⁷⁶ S. Shaabani, A. Ahabaani, S.W. Ng, *ACS Comb. Sci.* **2014**, 16, 179.

¹⁷⁷ M. Adib, E. Sheikhan, A. Kavooosi, H.R. Bijanzadeh, *Tetrahedron* **2010**, 66, 9263.

sprawdzono wpływ enzymów oraz mediatorów na utlenianie alkoholu salicylowego (Etap 1). Wyniki badań zaprezentowano w Tabeli 19 (procedura ogólna znajduje się w części eksperymentalnej w rozdziale 6.5.).

Tabela 19. Wpływ enzymu oraz mediatora na utlenianie alkoholu salicylowego.



L.p.	Lakaza	Mediator	Wydajność
1	---	TEMPO	< 1 %
2	Lakaza z <i>Trametes versicolor</i>	TEMPO	100 %
3	Lakaza z <i>Cerrena unicolor</i>	TEMPO	98 %
4	Lakaza z <i>Pleurotus ostreatus</i>	TEMPO	98 %
5	Lakaza z <i>Aspergillus sp.</i>	TEMPO	96 %
6	Lakaza z <i>Trametes versicolor</i>	---	< 1 %
7	Lakaza z <i>Trametes versicolor</i>	ABTS	< 1 %
8	Lakaza z <i>Trametes versicolor</i>	HOBt	< 1 %

Reakcje prowadzone bez lakazy oraz bez mediatora (l.p. 1 i 6, Tabela 19) nie zaszły, czyli są one niezbędne do przeprowadzenia reakcji. Użycie lakazy z *Trametes versicolor* pozwoliło na ilościowe przeprowadzenie utleniania alkoholu salicylowego. Lakazy z innych mikroorganizmów także katalizują tę reakcję z wysokimi wydajnościami od 96 % do 98 %. Zastosowanie ABTS lub HOBt jako mediatorów nie prowadzi do powstawania aldehydu salicylowego. W związku z tym lakaza z *Trametes versicolor* oraz TEMPO zostały wybrane do dalszych badań.

Następnie przeprowadzono badania nad reakcją pomiędzy aldehydem salicylowym i kwasem Meldruma prowadzącą do kwasu kumaryno-3-karboksyłowego (Etap 2). Badania literaturowe wykazały, że reakcja ta przebiega w wodzie¹⁷⁸ i może być katalizowana np. lizyną,¹⁷⁹ octanem amonu¹⁸⁰ lub sokiem cytrynowym.¹⁸¹ Przeprowadzono reakcje pomiędzy pochodnymi aldehydu salicylowego oraz kwasem Meldruma w buforze fosforanowym w temperaturze pokojowej przez 24 godziny. Kwas kumaryno-3-karboksyłowy (**54a**) otrzymano z wydajnością 97 %. W związku z tym przeprowadzono syntezę innych pochodnych kwasu kumaryno-3-karboksyłowego w analogicznych warunkach. Wyniki przedstawiono w Tabeli 20 (procedura ogólna znajduje się w części eksperymentalnej w rozdziale 6.5.).

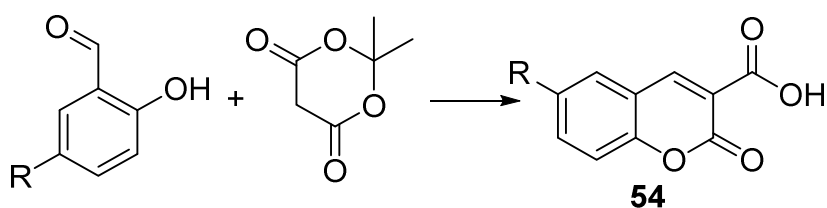
¹⁷⁸ Y. Yang, Q.-W. Liu, Y. Shi, Z.-G. Song, Y.-H. Jin, Z.-Q. Liu, *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, *84*, 1.

¹⁷⁹ X. You, H. Yu, M. Wang, J. Wu, Z. Shang, *Lett. Org. Chem.* **2012**, *9*, 19.

¹⁸⁰ L. Wei, J. Wang, X. Zhang, P. Wang, Y. Zhao, J. Li, T. Hou, L. Qu, L. Shi, X. Liang, Y. Fang, *J. Med. Chem.* **2017**, *60*, 362.

¹⁸¹ S. Fiorito, V.A. Taddeo, S. Genovese, F. Epifano, *Tetrahedron Lett.* **2016**, *47*, 4795.

Tabela 20. Reakcja pomiędzy pochodnymi aldehydu salicylowego a kwasem Meldruma.

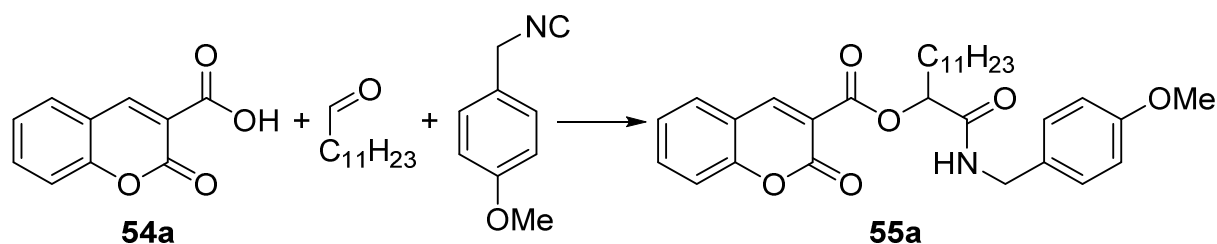


L.p.	R	Produkt	Wydajność
1	OMe	54b	88 %
2	Me	54c	87 %
3	NO ₂	54d	94 %

Reakcje syntezy pochodnych kwasu kumaryno-3-karboksylowego zachodzą z wysokimi wydajnościami od 87 % do 94 %. Dlatego też reakcję tą postanowiono użyć jako jeden z etapów procedury syntezy α -acyloksyamidów z ugrupowaniem kumaryny prowadzonej w jednym naczyniu reakcyjnym.

Następnie zbadano przebieg reakcji Passeriniego pomiędzy kwasem kumaryno-3-karboksylowym, dodekanalem oraz izocyjankiem *p*-metoksybenzylowym w środowisku wodnym (Etap 3). Sprawdzone wpływ surfaktantów na wydajność tej reakcji, ilość każdego dodatku wynosiła 20 % molowych w stosunku do ilości substratu. Do badań wybrano surfaktanty, w tym estry glukozy, których synteza został opisana w rozdziale 5.3. Wyniki badań zaprezentowano w Tabeli 21 poniżej (procedura ogólna znajduje się w części eksperymentalnej w rozdziale 6.5.).

Tabela 21. Wpływ dodatków na reakcję pomiędzy kwasem kumaryno-3-karboksylowym, dodekanalem oraz izocyjankiem *p*-metoksybenzylowym.

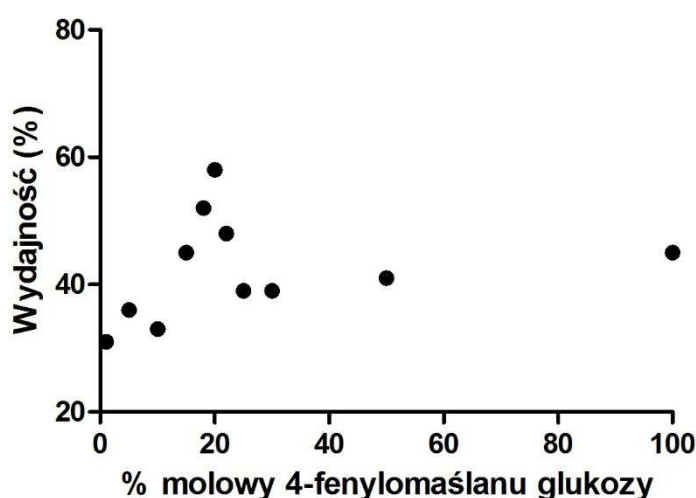


L.p.	Dodatek	Wydajność
1	---	37 %
2	DODAB	13 %
3	DDAB	17 %
4	Chlorek heksadecylpirydyniowy	19 %
5	Bromek heksadecyltrimetyloammoniumowy (CTAB)	41 %
6	SDS	5 %
7	AOT	20 %
8	Triton X-100	38 %
9	Laurylian 6- <i>O</i> -glukozy	47 %
10	Kaprylan 6- <i>O</i> -glukozy	44 %
11	Fenyloctan 6- <i>O</i> -glukozy	45 %
12	3-Fenylopropionian 6- <i>O</i> -glukozy	55 %
13	4-Fenylomaślan 6- <i>O</i> -glukozy	58 %
14	5-Fenyłowalerian 6- <i>O</i> -glukozy	50 %
15	<i>p</i> -Metoksyfenyloctan 6- <i>O</i> -glukozy	37 %
16	<i>p</i> -Nitrofenyloctan 6- <i>O</i> -glukozy	45 %

Reakcja prowadzona w buforze fosforanowym pH = 5,2 pozwoliła na uzyskanie produktu **55a** z wydajnością 37 %. Reakcje prowadzone w obecności kationowych dodatków (l.p. 1-5, Tabela 21) dały produkty z niższymi lub zbliżonymi wydajnościami, od 13 % do 41 %. Niska wydajność produktu reakcji prowadzonej w obecności DODAB może być zaskakująca, ponieważ podczas poprzednich badań (Tabela 4 i Tabela 15) ten surfaktant promował przebieg reakcji Passeriniego. Może to być spowodowane tym, że kwas kumaryno-3-karboksylowy różni się właściwościami od stosowanych poprzednio kwasów octowego, benzoesowego i 2-metylomaśłowego. Reakcje prowadzone w obecności anionowych surfaktantów, SDS oraz AOT (l.p. 6 i 7, Tabela 21) dały produkt z niską wydajnością, odpowiednio 5 % i 20 %. Dodatek niejonowego surfaktantu, Tritonu X-100 nie wpłynął znacząco na wydajność produktu **55a**, która wyniosła 38 %. Prowadzenie reakcji z dodatkiem estru glukozy (l.p. 9-16, Tabela 21), zazwyczaj zwiększało wydajność produktu reakcji. Produkt z najwyższą wydajnością 58 % został otrzymany w reakcji prowadzonej w obecności 4-fenylomaślanu 6-*O*-glukozy. Badania skręcalności optycznej wykazały, że związki te są racemiczne. Podsumowując wyniki

zebrane w tej części badań, dodatkiem najkorzystniej wpływającym na przebieg reakcji pomiędzy kwasem kumaryno-3-karboksylowym, dodekanalem oraz izocyjankiem *p*-metoksybenzylowym jest 4-fenylomaślan 6-*O*-glukozy.

Po dobraniu odpowiedniego surfaktantu do prowadzenia reakcji Passeriniego w środowisku wodnym, przeprowadzono badania mające na celu ocenę wpływu ilości 4-fenylomaślanu 6-*O*-glukozy na wydajność reakcji. Przeprowadzono serię reakcji pomiędzy kwasem kumaryno-3-karboksylowym, dodekanalem oraz izocyjankiem *p*-metoksybenzylowym w buforze fosforanowym (pH = 5,2; *c* = 100 mM) z dodatkiem różnych ilości 4-fenylomaślanu 6-*O*-glukozy. Ilość surfaktantu przedstawiono jako procent molowy w stosunku do substratów, wyniki eksperymentów przedstawiono na Rysunku 19 (procedura ogólna znajduje się w części eksperymentalnej w rozdziale 6.5.).

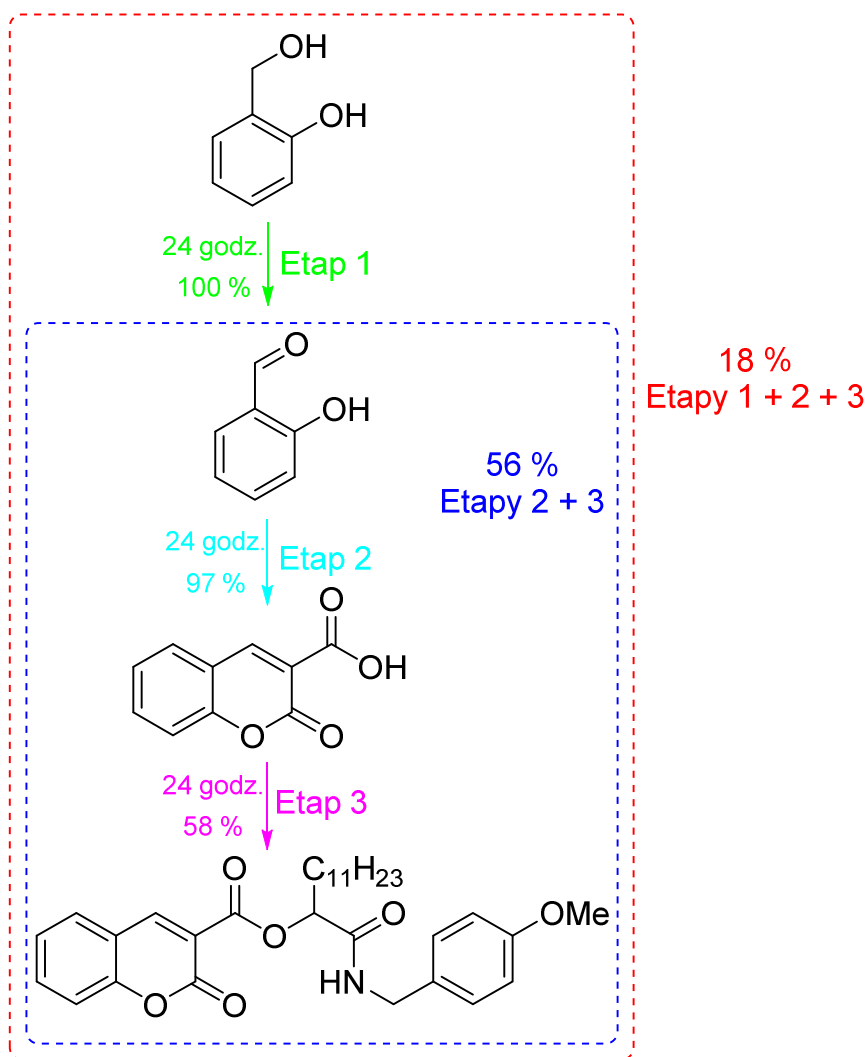


Rysunek 19. Wpływ ilości 4-fenylomaślanu 6-*O*-glukozy na wydajność reakcji Passeriniego prowadzącej do produktu **55a**.

Zwiększanie ilości surfaktantu od 0 do 10 % prowadzi do niewielkich zmian w wydajności produktu **55a**. Zwiększanie ilości 4-fenylomaślanu 6-*O*-glukozy od 10 % do 20 % molowych skutkuje stopniowym zwiększaniem wydajności reakcji od 38 % do 58 %. Zwiększenie ilości dodatku do 25% molowych skutkuje gwałtownym spadkiem wydajności produktu do 35 %. Dalsze zwiększanie ilości 4-fenylomaślanu 6-*O*-glukozy skutkuje niewielkimi zmianami w wydajności reakcji, która wynosiła pomiędzy 39 % a 45 %. W związku z tym 20 % molowych 4-fenylomaślanu 6-*O*-glukozy zostało wybrane jako optymalna ilość surfaktantu. Obecność agregatów w roztworze 4-fenylomaślanu 6-*O*-glukozy w optymalnym stężeniu została potwierdzona za pomocą techniki dynamicznego rozpraszania światła (DLS). W próbce zawierającej 4-fenylomaślan 6-*O*-glukozy w stężeniu 20 mM w buforze fosforanowym pH = 5,2, zaobserwowano dwie frakcje agregatów, o wielkości 100-130 nm i 250-500 nm.

Następnie przygotowano serię eksperymentów przeprowadzając jednocześnie kondensacje aldehydu salicylowego z kwasem Meldruma oraz reakcje Passeriniego (Etapy 2 + 3). Jeśli dodano jednocześnie aldehyd salicylowy, kwas Meldruma, dodekanal, izocyjanek *p*-metoksybenzylowy to produkt **55a** nie powstawał. Prowadząc reakcje sekwencyjnie, na początku kondensacje przez 24 godziny, a następnie dodając surfaktant oraz substraty do reakcji Passeriniego, po kolejnych 24 godzinach produkt otrzymano z wydajnością 54 %. Przy sekwencyjnym prowadzeniu reakcji dodając od początku 4-fenylomaślan 6-*O*-glukozy, produkt wydzielono z wydajnością 56 %. Może to być spowodowane korzystnym wpływem obecności surfaktantu na kondensację aldehydu salicylowego z kwasem Meldruma.

Podczas dalszych badań dodano etap utleniania alkoholu salicylowego przez tlen atmosferyczny w obecności lakazy z *Trametes versicolor* oraz TEMPO (Etapy 1 + 2 + 3). Przeprowadzono reakcję dodając wszystkie substraty jednocześnie, jednak produkt **55a** nie powstawał. W wariacie gdy surfaktant był obecny od samego początku, a reakcje utleniania, kondensacji oraz Passeriniego prowadzono 24 godziny, wydzielono produkt **55a** z wydajnością 12 %. Negatywny wpływ 4-fenylomaślanu 6-*O*-glukozy na reakcje utleniania alkoholu salicylowego potwierdzono w eksperymencie przeprowadzonym jak w Tabeli 19, z użyciem lakazy z *Trametes versicolor*, TEMPO oraz 20 % molowych tego surfaktantu. Aldehyd salicylowy wydzielono z wydajnością 81 %, czyli znacznie mniejszą niż bez dodatku surfaktantu. Najlepszy okazał się wariant, w którym na początku prowadzono utlenianie alkoholu salicylowego przez 24 godziny, następnie dodano 4-fenylomaślan 6-*O*-glukozy oraz kwas Meldruma i mieszano przez kolejne 24 godziny, po czym dodano dodekanal oraz izocyjanek *p*-metoksybenzylowy i mieszano przez kolejne 24 godziny. W tym wariacie produkt otrzymano z wydajnością 18 %. Wyniki powyższych eksperymentów podsumowano na Schemacie 39.



Schemat 39. Badania prowadzące do opracowania procedury syntezy α -acyloksyamidów z ugrupowaniem kumaryny w jednym naczyniu reakcyjnym.

Następnie zbadano wpływ ilości użytego substratu, alkoholu salicylowego na wydajność trzyetapowej procedury prowadzonej w jednym reaktorze. Zwiększenie ilości substratu może być korzystnie wpływać na przebieg reakcji, ponieważ przesuną równowagę wszystkich kolejnych etapów na korzyść produktów oraz uzupełnia możliwe straty spowodowane niepożądanymi reakcjami ubocznymi. Przygotowano serię eksperymentów używając różną ilość alkoholu salicylowego (podaną jako ekwiwalenty w stosunku do ilości kwasu Meldruma, aldehydu i izocyjanu). Początkowo prowadzono utlenianie alkoholu tlenem atmosferycznym katalizowane lakazą z *Trametes versicolor* oraz TEMPO w buforze fosforanowym pH = 5,2 przez 24 godziny. Następnie do mieszaniny reakcyjnej dodano 4-fenylomaślan 6-*O*-glukozy oraz kwas Meldruma i mieszano przez następne 24 godziny. Potem dodano dodekanal oraz izocyjanek *p*-metoksybenzylowy i reakcje prowadzono przez kolejne 24 godziny. Wyniki zaprezentowano w Tabeli 22.

Tabela 22. Wpływ ilości alkoholu salicylowego na wydajność trzyetapowej procedury syntezy α -acyloksyamidów z ugrupowaniem kumaryny w jednym reaktorze.

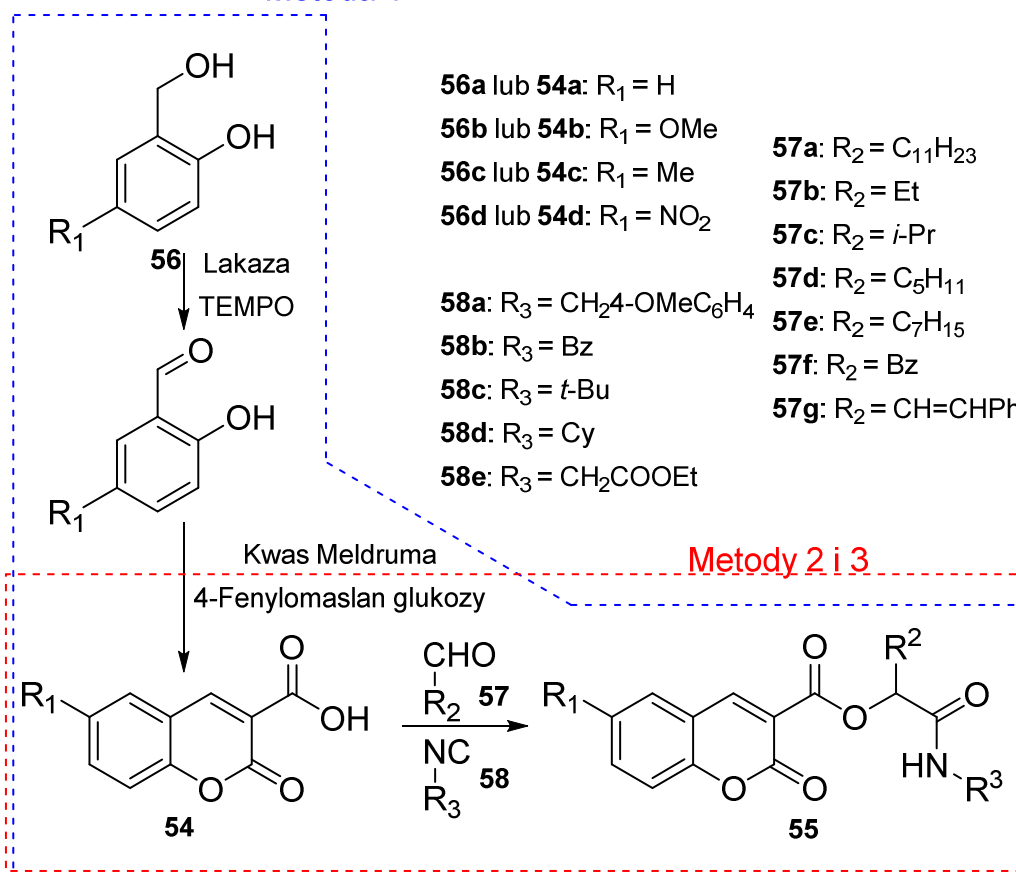
L.p.	Ilość alkoholu salicylowego	Wydajność
1	1 ekwiwalent	18 %
2	1,2 ekwiwalentu	22 %
3	1,5 ekwiwalentu	30 %
4	2 ekwiwalenty	39 %
5	2,5 ekwiwalentu	20 %
6	3 ekwiwalenty	14 %
7	5 ekwiwalenty	10 %

Zwiększanie ilości alkoholu salicylowego od 1 do 2 ekwiwalentów stopniowo zwiększało wydajność produktu trzyetapowej procedury od 18 % do 39 %. Dalsze zwiększanie ilości substratu zmniejszało wydajność produktu do 10 % przy 5 ekwiwalentach substratu. Spadek wydajności produktu może być spowodowany tym, że powstający nadmiar aldehydu salicylowego może inhibować enzym lub brać udział w konkurencyjnej reakcji Passeriniego. Podsumowując, 2 ekwiwalenty alkoholu salicylowego zostały uznane za optymalną ilość i taka była stosowana do dalszych reakcji.

Kolejnym etapem badań było sprawdzenie czy opracowaną procedurę syntezy α -acyloksyamidów z ugrupowaniem kumaryny można rozszerzyć stosując inne substraty. Jako substraty wybrano następujące alkohole: salicylowy, 5-metoksyalicylowy, 5-metylosalicylowy oraz 5-nitrosalicylowy poza tym 7 różnych aldehydów oraz 5 pochodnych izocyjanków. Wszystkie reakcje przeprowadzono w buforze fosforanowym pH = 5,2 w stężeniu substratów 100 mM w obecności 20 % molowych 4-fenylomaślanu 6-*O*-glukozy. Dla porównania z procedurą prowadzoną w jednym naczyniu reakcyjnym (Metoda 1) podano także wydajność reakcji Passeriniego, pomiędzy związkami **54a-d**, odpowiednimi aldehydami i izocyjankami prowadzonej w buforze fosforanowym w obecności 4-fenylomaślanu 6-*O*-glukozy (Metoda 2) oraz reakcji Passeriniego prowadzonej w chlorku metylenu (Metoda 3). Wyniki zaprezentowano w Tabeli 23 (procedury ogólne znajdują się w części eksperymentalnej w rozdziale 6.5.).

Tabela 23. Wpływ użytych substratów procedurę syntezy α -acyloksyamidów z ugrupowaniem kumaryny prowadzoną w jednym reaktorze oraz samą reakcją Passeriniego.

Metoda 1



L.p.	Alkohol lub kwas	Aldehyd	Izocyjanek	Produkt	Wydajność Metoda 1	Wydajność Metoda 2	Wydajność Metoda 3
1	56a	57a	58a	55a	39 %	58 %	44 %
2	56b	57a	58a	55b	3 %	27 %	17 %
3	56c	57a	58a	55c	19 %	28 %	34 %
4	56d	57a	58a	55d	0	24 %	38 %
5	56a	57b	58a	55e	18 %	21 %	13 %
6	56a	57c	58a	55f	25 %	34 %	49 %
7	56a	57d	58a	55g	40 %	65 %	57 %
8	56a	57e	58a	55h	60 %	62 %	32 %
9	56a	57f	58a	55i	45 %	53 %	72 %
10	56a	57g	58a	55j	10 %	22 %	26 %
11	56a	57a	58b	55k	41 %	43 %	38 %
12	56a	57a	58c	55l	5 %	21 %	17 %
13	56a	57a	58d	55m	22 %	31 %	29 %
14	56a	57a	58e	55n	7 %	19 %	48 %

Metoda 1: Trzyetapowa procedura przeprowadzona w środowisku wodnym prowadzona w jednym naczyniu reakcyjnym.

Metoda 2: Reakcja Passeriniego przeprowadzona w środowisku wodnym.

Metoda 3: Reakcja Passeriniego przeprowadzona w chlorku metylenu.

Reakcja przeprowadzona z alkoholu salicylowego, dodekanalu oraz izocyjanku *p*-metoksybenzylowego (l.p 1, Tabela 22) zgodnie z trzyetapową procedurą (Metoda 1) dała produkt **55a** z wydajnością 19 %. Ten sam produkt otrzymany w reakcji Passeriniego w środowisku wodnym (Metoda 2) został wydzielony z wydajnością 58 %, natomiast w chlorku metylenu z wydajnością 44 %. Użycie alkoholu 5-metylosalicylowego dało produkt **55c** z wydajnością 19 % zgodnie z Metodą 1 (l.p 3, Tabela 22). Natomiast trzyetapowa procedura przeprowadzona przy użyciu alkoholu 5-metoksylsalicylowego dała produkt **55b** z wydajnością 3 %, a w przypadku alkoholu 5-nitrosalicylowego reakcja nie zaszła. Natomiast w przypadku tych trzech substratów (l.p 2-4, Tabela 22), sama reakcja Passeriniego zaszła zdecydowanie mniej efektywnie niż w przypadku niepodstawionego alkoholu salicylowego, z wydajnościami od 24 % do 28 %. Reakcje Passeriniego prowadzone w chlorku metylenu były także mniej efektywne, zaszły z wydajnościami od 17 % do 38 %.

Kolejne reakcje (l.p 5-10, Tabela 22) miały na celu sprawdzenie stosowalności opracowanych warunków reakcji dla innych aldehydów. Użycie aldehydu propionowego (l.p 5, Tabela 22) skutkuje niską wydajnością produktu **55e**, od 13 % do 21 %, niezależnie od metody, więc nie jest to dobry substrat do reakcji Passeriniego. Zastosowanie aldehydu izomasłowego (l.p 6, Tabela 22) daje produkt **55f** z wydajnościami 25 % przy trzyetapowej procedurze i 34 % dla samej reakcji Passeriniego w środowisku wodnym oraz 49 % w chlorku metylenu. Reakcje prowadzone z użyciem heksanal i oktanalu (l.p 7-8, Tabela 22) zaszły ze zdecydowanie wyższymi wydajnościami, zapewne dlatego, że są to lepsze substraty dla reakcji Passeriniego, która zaszła w środowisku wodnym z wydajnościami 62 % i 65 %. Użycie aldehydu fenylooctowego dało produkt **55i** (l.p 9, Tabela 22) z wydajnościami od 45 do 72 %, najefektywniejsza była reakcja prowadzona w chlorku metylenu. W przypadku użycia aldehydu cynamonowego produkt **55j** otrzymano z wydajnościami od 10 % do 26 %.

Zbadano także wpływ zastosowanego izocyjanku na wydajność trzyetapowej procedury prowadzonej w jednym naczyniu reakcyjnym. Wyniki uzyskane z izocyjankiem benzylowym (l.p 11, Tabela 22) były zbliżone do tych uzyskanych z izocyjankiem *p*-metoksybenzylowym. Izocyjanek *t*-butylowy (l.p 12, Tabela 22) okazał się kiepskim substratem do reakcji Passeriniego, produkt **55l** otrzymywano z wydajnościami do 21 %. Niewiele efektywniejsze były reakcje przeprowadzone z izocyjankiem cykloheksylowym (l.p 13, Tabela 22), produkt **55m** otrzymano z wydajnościami 22 do 29 %. Reakcja Passeriniego prowadzona z izocyjanoctanem etylu (l.p 14, Tabela 22) w środowisku wodnym dała produkt **55n** z wydajnością 19 %. Trzyetapowa procedura dała produkt z niższą wydajnością która wyniosła 7 %, natomiast reakcja Passeriniego prowadzona w chlorku metylenu zaszła zdecydowanie lepiej, z wydajnością 48 %.

Podsumowując ten etap badań, opracowana trzyetapowa procedura pozwala na uzyskiwanie produktów reakcji Passeriniego posiadających ugrupowanie kumaryny w swojej strukturze. Wszystkie etapy prowadzone są w jednym naczyniu. Stosując alkohol salicylowy jako substrat, wydajność trzyetapowej procedury jest nieznacznie niższa niż w

przypadku samej reakcji Passeriniego prowadzonej w środowisku wodnym. Wyniki te oznaczają, że trzyetapowa procedura w jednym reaktorze może być korzystną alternatywą dla samej reakcji Passeriniego, gdyż unika się etapu wydzielania i oczyszczania związków pośrednich.

5.6. Podsumowanie badań własnych

W niniejszej pracy przedstawiono wyniki badań nad opracowaniem reakcji Passeriniego w wodzie promowanej przez związki powierzchniowo czynne. Zbadano wpływ typu użytego surfaktantu oraz jego ilości na przebieg reakcji oraz możliwość ponownego użycia tego medium reakcyjnego. Użyteczność opracowanych warunków reakcji została pokazana na licznych przykładach syntezy wybranych pochodnych α -acyloksyamidów, które to uzyskano z wydajnościami porównywalnymi lub wyższymi niż w reakcji prowadzonej w chlorku metylenu. Opisane dotychczas w literaturze przykłady reakcji Passeriniego w wodzie były prowadzone w stężeniu substratów 40 mM¹⁸² lub 57 mM.¹⁸³ Wykazano, że w obecności odpowiedniego surfaktantu produkty uzyskiwane są z wyższymi wydajnościami, w stężeniu substratów wynoszącym 100 mM, co oznacza znacznie większą produktywność.

Ponadto przeprowadzono badania, mające na celu wyjaśnienie, czy jeden z substratów reakcji Passeriniego, może pełnić jednocześnie funkcję surfaktantu wpływającego na wydajność reakcji. Wykonano eksperymenty nad syntezą α -acyloksyamidów przeprowadzaną w środowisku wodnym, podczas której użyty kwas karboksylowy, tworzy miecele i agregaty. Skuteczność zastosowanych takich warunków reakcji została potwierdzona na licznych przykładach syntezy α -acyloksyamidów. Użycie wody jako rozpuszczalnika doskonale wpisuje się w założenia „zielonej chemii”.

Opracowanie nowych warunków efektywnego prowadzenia reakcji Passeriniego w środowisku wodnym umożliwiło wykonanie kolejnych badań nad jej połączeniem z reakcjami enzymatycznymi w procedurę prowadzoną w jednym naczyniu reakcyjnym. W tej części pracy opisano badania nad opracowaniem oraz optymalizacją procedury otrzymywania α -acyloksyamidów używając alkoholi jako substratów. Dwie, następujące po sobie reakcje, utlenianie alkoholu katalizowane enzymatycznie do aldehydu oraz reakcja Passeriniego będą w środowisku wodnym w obecności surfaktantu. Wykonano eksperymenty oceniające wpływ mediatora, typu i ilości surfaktantu oraz ponownego wykorzystania medium reakcyjnego i katalizatorów na wydajność reakcji. Opracowana procedura umożliwia wyeliminowanie stosowania rozpuszczalników organicznych. Ponadto, brak konieczności wydzielania produktów pośrednich z mieszaniny reakcyjnej, powoduje oszczędność czasu oraz energii, co przekłada się na redukcję kosztów syntezy. Przeprowadzono także badania modelowe, które pokazały, że możliwe jest połączenie

¹⁸² E. Vessally, A. Ramazani, E. Yaaghubi, *Monatsh. Chem.* **2011**, *142*, 1143; J. Taran, A. Ramazani, S.W. Joo, K. Ślepokura, T. Lis, *Helv. Chim. Acta* **2014**, *97*, 1088.

¹⁸³ N. Shapiro, A. Vigalok, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 2849.

katalizowanych enzymatycznie hydrolizy estru i utleniania alkoholu oraz reakcji Passeriniego w procedurę prowadzoną w jednym reaktorze. Wyniki te mogą być wstępem do dalszych szczegółowych badań optymalizacyjnych nad tą procedurą oraz opracowaniem jej stereoslektywnego wariantu.

Przeprowadzono także badania nad syntezą estrów glukozy, które mogą być alternatywą dla tradycyjnych, pochodzących z nieodnawialnych źródeł surfaktantów i są w pełni biodegradowalne. Zbadano wpływ enzymu, rozpuszczalnika, czasu, temperatury oraz dodatków wpływających na równowagę reakcji, na syntezę estrów glukozy. Zastosowanie substratów pochodzenia naturalnego oraz katalizy enzymatycznej pozwala na otrzymywanie tego typu związków w sposób stanowiący minimalne obciążenie dla środowiska naturalnego. Ponadto, związki te zostały efektywnie użyte podczas opracowania trzyetapowej procedury pozwalającej na uzyskiwanie produktów reakcji Passeriniego posiadających ugrupowanie kumaryny w swojej strukturze z prostych substratów. Początkowo zoptymalizowano każdy z trzech etapów z osobna, a następnie przeprowadzono badania nad połączeniem ich w procedurę prowadzoną w jednym reaktorze. Użyteczność opracowanych warunków reakcji została potwierdzona na licznych przykładach syntezy produktów, α -acyloksyamidów posiadających ugrupowanie kumaryny w swojej strukturze. Wydajność trzyetapowej procedury jest jedynie nieznacznie niższa niż w przypadku reakcji Passeriniego prowadzonej w środowisku wodnym z zastosowaniem uprzednio przygotowanej pochodnej kwasu kumaryno-3-karboksyłowego. Wyniki te oznaczają, że trzyetapowa procedura może być korzystną alternatywą dla samej reakcji Passeriniego, gdyż unika się etapu wydzielania i oczyszczania związków pośrednich.

6. Część eksperymentalna

6.1. Uwagi ogólne

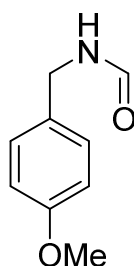
Widma ^1H NMR i ^{13}C NMR zostały wykonane za pomocą aparatów Varian 200 (200 MHz) oraz Bruker 400 (400 MHz). Widma rejestrowano z TMS jako wzorcem wewnętrznym. Przesunięcia sygnałów (δ) podano w ppm, stałe sprzężenia (J) w hercach (Hz). Widma masowe wysokiej rozdzielczości (HRMS) zostały zarejestrowane na spektrometrze Mariner (PerSeptive Biosystems). Temperatura topnienia została zmierzona za pomocą aparatu Buchi SMP-20. Analizy elementarne wykonano za pomocą aparatu Vario EL III firmy Elementar. Pomiar dynamicznego rozproszenia światła (DLS) został wykonany za pomocą aparatu Zetasizer Nano firmy Malvern. Widma UV-VIS zostały wykonane za pomocą spektrometru Hitachi U-1900, w kuwecie kwarcowej o drodze optycznej wynoszącej 1 cm w temperaturze pokojowej. Widma fluorescencji zostały wykonane za pomocą spektrofluorymetru F-7000 firmy Shimadzu w temperaturze pokojowej. Do pomiarów wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) wykorzystano aparat Varian ProStar. Do chromatografii cienkowarstwowej (TLC) używano płytek aluminiowych pokrytych Kieselgel 60 F₂₅₄ firmy Merck. Oczyszczanie związków za pomocą chromatografii kolumnowej wykonywano używając żelu krzemionkowego Kieselgel 60 firmy Merck.

Lakaza z *Trametes versicolor* została zakupiona od firmy Sigma-Aldrich, nr. produktu 38429. Lipaza z *Candidia antarctica* B immobilizowana w żywicy akrylowej (Novozym 435) została zakupiona od firmy Novozymes. Pozostałe komercyjnie dostępne reagenty, biokatalizatory oraz surfaktanty zostały zakupione od firm Sigma-Aldrich, TCI, Merck lub Alfa Aesar. Rozpuszczalniki zostały zakupione od firm POCH, Chempur, Roth oraz Stanlab.

6.2. Badania nad opracowaniem reakcji Passeriniego w wodzie

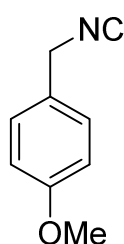
6.2.1. Synteza substratów do reakcji Passeriniego

***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 (W = 78 %);



***N*-(*p*-Metoksybenzyl)formamid**; Żółte kryształy; $^1\text{H NMR}$ (200 MHz; CDCl_3) δ_{H} 3,79 (3H, s, CH_3O), 4,37 (2H, d, CH_2N), 5,92 (1H, br s, NH), 6,82-6,91 (2H, m, Ph), 7,15-7,27 (2H, m, Ph), 8,22 (1H, s, CH).

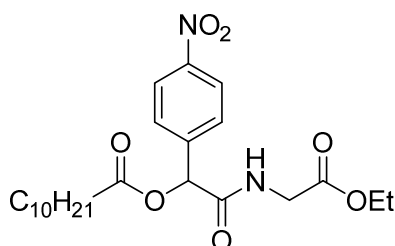
Izocyjanek *p*-metoksybenzylowy: W kolbie kulistej umieszczono *N*-(*p*-metoksybenzyl)formamid (16 mmol, 2,64 g), suchy chlorek metylenu (20 ml) oraz trietyloaminę (48 mmol, 6,7 ml). Mieszaninę schłodzono do $-78\text{ }^\circ\text{C}$ pod argonem w łaźni aceton/suchy lód, a następnie wkroplono tlenochlorek 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 NaHCO_3 (20 ml), następnie ekstrahowano chlorkiem metylenu (3x20 ml). Połączone fazy organiczne wysuszono nad siarczanem magnezu, 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, wydajność 70 %..



Izocyjanek *p*-metoksybenzylowy; Lekko żółty olej; $^1\text{H NMR}$ (200 MHz; CDCl_3) δ_{H} 3,82 (3H, s, CH_3O), 4,56 (2H, d, CH_2N), 6,80-6,94 (2H, m, Ph), 7,24-7,86 (2H, m, Ph).

6.2.2. Reakcje Passeriniego

Związek 30: Metoda 1: Kwas undekanowy (2 mmol, 373 mg), *p*-nitrobenzaldehyd (2 mmol, 302 mg) oraz izocyjanooctan etylu (2 mmol, 267 μl) mieszano w chlorku metylenu (2 ml) przez noc w temperaturze pokojowej. Następnie odparowano rozpuszczalnik pod zmniejszonym ciśnieniem, produkt oczyszczano za pomocą chromatografii kolumnowej w układzie heksan:octan etylu 8:2 (v/v). Otrzymano 325 mg produktu, wydajność 36 %.

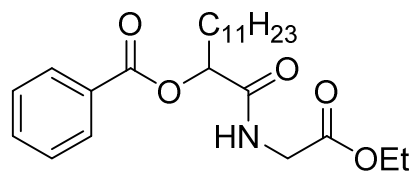


Związek 30; Białe kryształy; **t.top.** 83-84 $^\circ\text{C}$; $^1\text{H NMR}$ (200 MHz; CDCl_3) δ_{H} 0,87 (3H, t, J 6,8 Hz, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2$), 1,05-1,41 (17H, br m, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}+7\times\text{CH}_2$), 1,45-1,80 (2H, m, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$), 2,49 (2H, t, J 8,0 Hz, CH_2CO), 4,05 (2H, d, J 5,0 Hz, CH_2NH), 4,23 (2H, q, J 7,2 Hz, CH_2O), 6,21 (1H, s, CH), 6,91 (1H, br s, NH), 7,60-7,75 (2H, m, Ph), 8,18-

8,30 (2H, m, Ph); **LRMS** obliczone dla $C_{23}H_{34}N_2O_7Na$ $[M+Na]^+$: 473,2, znalezione: 473,5; **Analiza elementarna** obliczona dla $C_{23}H_{34}N_2O_7$: C 61,32; H 7,61; N 6,22; zbadana C 61,51; H 7,63; N 5,96.

Procedura ogólna dla Tabeli 1, na przykładzie l.p. 1.: Do buforu fosforanowego (100 ml, pH = 7,4; c = 10 mM) w temperaturze 60 °C wkraplano kwas undekanowy (1 mmol, 186 mg) oraz Span 60 (10 mmol, 4,3 g) rozpuszczone w eterze etylowym (70 ml) w tempie 20 ml/godz. Następnie mieszano przez około 20 minut i schłodzono do temperatury pokojowej, po czym dodano *p*-nitrobenzaldehyd (1 mmol, 151 mg) oraz izocyjanooctan etylu (1 mmol, 133 μl), następnie mieszano przez 5 minut na płuczce ultradźwiękowej, potem na mieszadle magnetycznym przez 1 dzień. Mieszaninę reakcyjną ekstrahowano octanem etylu (3x50 ml), połączone fazy organiczne wysuszono nad $MgSO_4$. Po odsączeniu środka suszącego i odparowaniu rozpuszczalnika, surowy produkt oczyszczano za pomocą chromatografii kolumnowej w układzie heksan:octan etylu 8:2 (v/v). Otrzymano 27 mg produktu, wydajność 6 %.

Związek 31: Metoda 1: Kwas benzoesowy (2 mmol, 244 mg), dodekanal (2 mmol, 444 μl) oraz izocyjanooctan etylu (2 mmol, 267 μl) mieszano w chlorku metylenu (2 ml) przez noc w temperaturze pokojowej. Następnie odparowano rozpuszczalnik na wyparce, produkt oczyszczano za pomocą chromatografii kolumnowej w układzie heksan:octan etylu 9:1 (v/v). Otrzymano 794 mg produktu, wydajność 95 %.



Związek 31; Białe kryształy; **t.top.** 75-76 °C; 1H NMR (200 MHz; $CDCl_3$) δ_H 0,9 (3H, t, $CH_3CH_2CH_2$), 1,0-1,4 (21H, br m, $CH_3CH_2O+9\times CH_2$), 1,9-2,1 (2H, m, CH_2CH), 3,9-4,1 (2H, m, CH_2NH), 4,2 (2H, q, CH_2O), 5,5 (1H, s, CH), 6,7 (1H, br s, NH), 7,4-7,6 (2H, m, Ph), 7,6-7,7 (1H, m, Ph), 8,0-8,1 (2H, m, Ph); ^{13}C NMR (50 MHz; $CDCl_3$) δ_C 14,4, 23,0, 25,1, 29,6, 29,6, 29,8, 29,9, 32,2, 41,4, 62,0, 74,7, 129,0, 130,1, 133,9, 165,6, 170,5; **LRMS** obliczone dla $C_{24}H_{37}NO_5Na$ $[M+Na]^+$: 442,3 znalezione: 442,5; **Analiza elementarna** obliczona dla $C_{24}H_{37}NO_5$: C 68,71; H 8,89; N 3,34; zbadana C 68,71; H 8,87; N 3,26.

Procedura ogólna dla Tabeli 2, na przykładzie l.p. 3 z Tabeli 2.: Do buforu fosforanowego (5 ml, pH = 7,4; c = 10 mM) dodano Span 60 (0,05 mmol, 21 mg), kwas benzoesowy (0,5 mmol, 61 mg), dodekanal (0,5 mmol, 111 μl) oraz izocyjanooctan etylu (0,5 mmol, 67 μl). Następnie mieszano na mieszadle magnetycznym przez 1 dzień. Mieszaninę reakcyjną ekstrahowano octanem etylu (3x5 ml), połączone fazy organiczne wysuszono nad $MgSO_4$. Po odsączeniu środka suszącego i odparowaniu rozpuszczalnika, surowy produkt oczyszczano za pomocą chromatografii kolumnowej w układzie heksan:octan etylu 9:1 (v/v). Otrzymano 74 mg produktu, wydajność 35 %.

Procedura ogólna dla Tabeli 3: Kwas octowy (0,5 mmol, 29 μl), dodekanal (0,5 mmol, 111 μl) oraz izocyjanek *p*-metoksybenzylowy (0,5 mmol, 67 μl) mieszano w

odpowiednim rozpuszczalniku (5 ml) przez 24 godziny w temperaturze pokojowej. W przypadku roztworów wodnych mieszaninę reakcyjną ekstrahowano chlorkiem metylenu (3x5 ml). Połączone fazy organiczne wysuszono nad $MgSO_4$, a następnie odsączono środek suszący i odparowano rozpuszczalnik. W przypadku pozostałych rozpuszczalników, odparowano je. Surowy produkt oczyszczano za pomocą chromatografii kolumnowej w układzie heksan:octan etylu.

Procedura ogólna dla Tabeli 4: Kwas octowy (0,5 mmol, 29 μ l), dodekanal (0,5 mmol, 111 μ l) oraz izocyjanek *p*-metoksybenzylowy (0,5 mmol, 67 μ l) mieszano w buforze fosforanowym (5 ml, pH = 7,4; c = 10 mM) w obecności dodatku (0,1 mmol lub 50 mg w przypadku montmorylonitu K 10) przez 24 godziny w temperaturze pokojowej. Mieszaninę reakcyjną ekstrahowano chlorkiem metylenu (3x5 ml). Połączone fazy organiczne wysuszono nad $MgSO_4$. Po odsączeniu środka suszącego i odparowaniu rozpuszczalnika, surowy produkt oczyszczano za pomocą chromatografii kolumnowej w układzie heksan:octan etylu.

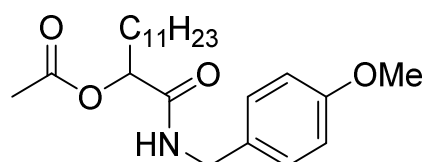
Procedura ogólna dla Rysunku 13: Kwas octowy (0,5 mmol, 29 μ l), dodekanal (0,5 mmol, 111 μ l) oraz izocyjanek *p*-metoksybenzylowy (0,5 mmol, 67 μ l) mieszano w buforze fosforanowym (5 ml, pH = 7,4; c = 10 mM) w obecności odpowiedniej ilości DODAB przez 24 godziny w temperaturze pokojowej. Mieszaninę reakcyjną ekstrahowano chlorkiem metylenu (3x5 ml). Połączone fazy organiczne wysuszono nad $MgSO_4$. Po odsączeniu środka suszącego i odparowaniu rozpuszczalnika, surowy produkt oczyszczano za pomocą chromatografii kolumnowej w układzie heksan:octan etylu.

Procedura ogólna dla Rysunku 14: Kwas octowy (1 mmol, 57 μ l), dodekanal (1 mmol, 222 μ l) oraz izocyjanek *p*-metoksybenzylowy (1 mmol, 135 μ l) mieszano w buforze fosforanowym (10 ml, pH = 7,4; c = 10 mM) w obecności DODAB (0,2 mmol, 126 mg) przez 24 godziny w temperaturze pokojowej. Następnie odsączono przez watę produkt, który wypadł podczas reakcji. Przesącz użyto do następnego cyklu reakcyjnego, bezpośrednio do niego dodano kwas octowy (1 mmol, 57 μ l), dodekanal (1 mmol, 222 μ l) oraz izocyjanek *p*-metoksybenzylowy (1 mmol, 135 μ l) i prowadzono reakcje przez kolejne 24 godziny. Surowy produkt oczyszczono za pomocą krystalizacji z mieszaniny heksanu i octanu etylu.

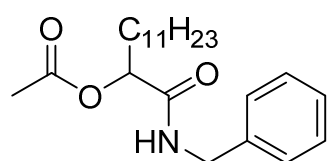
Procedura ogólna dla Tabeli 5: Metoda 1: Kwas karboksylowy (0,5 mmol), aldehyd (0,5 mmol) oraz izocyjanek (0,5 mmol) mieszano w buforze fosforanowym (5 ml, pH = 7,4; c = 10 mM) w obecności DODAB (0,1 mmol, 63 mg) przez 24 godziny w temperaturze pokojowej. Mieszaninę reakcyjną ekstrahowano chlorkiem metylenu (3x5 ml). Połączone fazy organiczne wysuszono nad $MgSO_4$. Po odsączeniu środka suszącego i odparowaniu rozpuszczalnika, surowy produkt oczyszczano za pomocą chromatografii kolumnowej w układzie heksan:octan etylu.

Metoda 2: Kwas karboksylowy (0,5 mmol), aldehyd (0,5 mmol) oraz izocyjanek (0,5 mmol) mieszano w chlorku metylenu (5 ml) przez 24 godziny w temperaturze pokojowej.

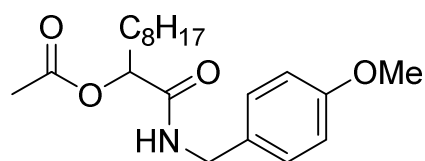
Następnie rozpuszczalnik odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem, surowy produkt oczyszczano za pomocą chromatografii kolumnowej w układzie heksan:octan etylu.



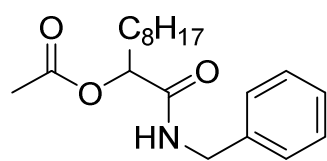
Związek 32a; Białe kryształy; **t.top.** 77-78 °C; ^1H NMR (400 MHz; CDCl_3) δ_{H} 0,88 (3H, t, J 7,2 Hz, CH_3CH_2), 1,21-1,35 (18H, br m, $9\times\text{CH}_2$), 1,80-1,91 (2H, m, CH_2CH), 2,11 (3H, s, CH_3CO), 3,90 (3H, s, CH_3O), 4,34-4,45 (2H, m, CH_2N), 5,16-5,20 (1H, m, CH), 6,23 (1H, t, J 5,2 Hz, NH), 6,21-6,24 (2H, m, Ph), 7,18-7,20 (2H, m, Ph); ^{13}C NMR (100 MHz; CDCl_3) δ_{C} 14,1, 21,0, 22,7, 24,8, 29,2, 29,3, 29,4, 29,5, 29,6, 31,9, 31,9, 42,7, 55,3, 74,2, 114,2, 129,0, 130,0, 159,1, 169,6, 169,7; **HRMS** obliczone dla $\text{C}_{23}\text{H}_{37}\text{NO}_4\text{Na}$ [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$: 414,2620, znaleziono: 414,2614; **Analiza elementarna** obliczona dla $\text{C}_{23}\text{H}_{37}\text{NO}_4$: C 70,55; H 9,52; N 3,58 znaleziono: C 70,48; H 9,34; N 3,38.



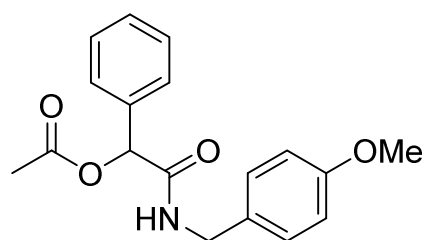
Związek 32b; Białe kryształy; **t.top.** 72-73 °C; ^1H NMR (400 MHz; CDCl_3) δ_{H} 0,88 (3H, t, J 7,2 Hz, CH_3CH_2), 1,19-1,35 (18H, br m, $9\times\text{CH}_2$), 1,79-1,95 (2H, m, CH_2CH), 2,12 (3H, s, CH_3CO), 4,41-4,53 (2H, m, CH_2N), 5,19-5,22 (1H, m, CH), 6,30 (1H, br s, NH), 7,25-7,30 (5H, m, Ph); ^{13}C NMR (100 MHz; CDCl_3) δ_{C} 14,1, 21,0, 22,7, 24,8, 29,2, 29,3, 29,4, 29,5, 29,6, 31,9, 31,9, 43,2, 74,2, 127,6, 127,7, 128,8, 137,9, 169,6, 169,8; **HRMS** obliczone dla $\text{C}_{22}\text{H}_{35}\text{NO}_3\text{Na}$ [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$: 384,2515, znaleziono: 384,2513.



Związek 32c; Białe kryształy; **t.top.** 76-77 °C; ^1H NMR (400 MHz; CDCl_3) δ_{H} 0,88 (3H, t, J 7,2 Hz, CH_3CH_2), 1,21-1,40 (12H, br m, $6\times\text{CH}_2$), 1,81-1,92 (2H, m, CH_2CH), 2,11 (3H, s, CH_3CO), 3,78 (3H, s, CH_3O), 4,34-4,46 (2H, m, CH_2N), 5,17-5,20 (1H, m, CH), 6,22 (1H, br s, NH), 6,85-6,88 (2H, m, Ph), 7,17-7,20 (2H, m, Ph); ^{13}C NMR (100 MHz; CDCl_3) δ_{C} 14,0, 21,0, 22,7, 24,8, 29,1, 29,2, 29,3, 31,8, 31,9, 42,7, 55,3, 74,2, 114,2, 129,0, 130,0, 159,1, 169,7; **HRMS** obliczone dla $\text{C}_{20}\text{H}_{31}\text{NO}_4\text{Na}$ [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$: 372,2151, znaleziono: 372,2145.

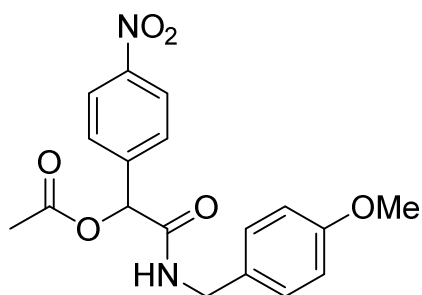


Związek 32d; Białe kryształy; **t.top.** 62-63 °C; ^1H NMR (400 MHz; CDCl_3) δ_{H} 0,88 (3H, t, J 6,8 Hz, CH_3CH_2), 1,21-1,39 (12H, br m, $6\times\text{CH}_2$), 1,80-1,93 (2H, m, CH_2CH), 2,17 (3H, s, CH_3CO), 4,43-4,50 (2H, m, CH_2N), 5,19-5,30 (1H, m, CH), 6,28 (1H, br s, NH), 7,26-7,31 (5H, m, Ph); ^{13}C NMR (100 MHz; CDCl_3) δ_{C} 14,0, 21,0, 22,6, 24,8, 29,1, 29,2, 29,3, 31,8, 33,9, 43,2, 74,2, 127,6, 127,6, 128,8, 137,9, 169,7, 169,8; **HRMS** obliczone dla $\text{C}_{19}\text{H}_{29}\text{NO}_3\text{Na}$ [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$: 342,2045, znaleziono: 342,2044.



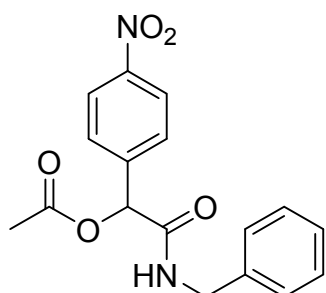
Związek 32e; Białe kryształy; **t.top.** 100-101 °C; ^1H NMR (400 MHz; CDCl_3) δ_{H} 2,15 (3H, s, CH_3CO), 3,79 (3H, s, CH_3O), 4,34-4,53 (2H, m, CH_2N), 6,01 (1H, s, CH), 6,34 (1H, br s, NH), 6,83-6,87 (2H, m, Ph), 7,13-7,16 (2H, m, Ph), 7,35-7,40 (2H, m, Ph), 7,40-7,46 (3H, m, Ph); ^{13}C NMR (100 MHz; CDCl_3)

δ_C 21,0, 42,9, 55,3, 75,7, 114,2, 127,4, 128,8, 129,0, 129,0, 135,6, 159,2, 168,1; **HRMS** obliczone dla $C_{18}H_{19}NO_4Na$ $[M+Na]^+$: 336,1212, znalezienie: 336,1208.

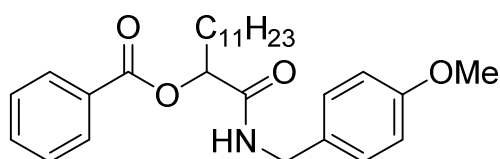


Związek 32f; Białe kryształy; **t.top.** 111-111,5 °C; 1H NMR (400 MHz; $CDCl_3$) δ_H 2,20 (3H, s, CH_3CO), 3,80 (3H, s, CH_3O), 4,35-4,45 (2H, m, CH_2N), 6,16 (1H, s, CH), 6,53 (1H, br s, NH), 6,85-6,88 (2H, m, Ph), 7,15-7,17 (2H, m, Ph), 7,61-7,63 (2H, m, Ph), 8,20-8,22 (2H, m, Ph); ^{13}C NMR (100 MHz; $CDCl_3$) δ_C 20,9, 43,0, 55,3, 74,4, 114,3, 123,8, 128,0, 129,1, 129,3, 142,5, 159,3, 166,8; **HRMS** obliczone dla

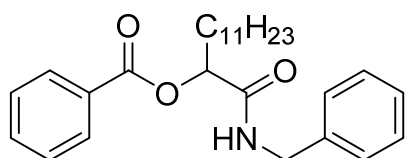
$C_{18}H_{18}N_2O_6Na$ $[M+Na]^+$: 381,1063, znalezienie: 381,1057.



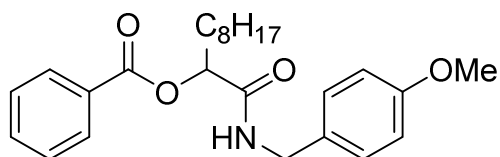
Związek 32g; Białe kryształy; **t.top.** 123-124 °C; 1H NMR (400 MHz; $CDCl_3$) δ_H 2,20 (3H, s, CH_3CO), 4,46-4,49 (2H, m, CH_2N), 6,19 (1H, s, CH), 6,58 (1H, br s, NH), 7,22-7,25 (2H, m, Ph), 7,30-7,33 (3H, m, Ph), 7,61-7,65 (2H, m, Ph), 8,18-8,23 (2H, m, Ph); ^{13}C NMR (100 MHz; $CDCl_3$) δ_C 20,9, 43,6, 74,4, 123,8, 127,7, 127,9, 128,0, 128,9, 137,3, 142,4, 167,0; **HRMS** obliczone dla $C_{17}H_{16}N_2O_5Na$ $[M+Na]^+$: 351,0957, znalezienie: 351,0952.



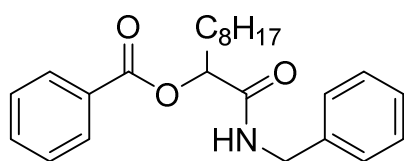
Związek 32h; Białe kryształy; **t.top.** 90-91 °C; 1H NMR (400 MHz; $CDCl_3$) δ_H 0,87 (3H, t, J 7,2 Hz, CH_3CH_2), 1,19-1,36 (16H, br m, $8 \times CH_2$), 1,36-1,48 (2H, m, CH_2CH_2CH), 1,97-2,03 (2H, m, CH_2CH), 3,78 (3H, s, CH_3O), 4,35-4,48 (2H, m, CH_2N), 5,44-5,47 (1H, m, CH), 6,30 (1H, br s, NH), 6,83-6,86 (2H, m, Ph), 7,16-7,18 (2H, m, Ph), 7,44-7,48 (2H, m, Ph), 7,74-7,61 (1H, m, Ph), 8,03-8,05 (2H, m, Ph); ^{13}C NMR (100 MHz; $CDCl_3$) δ_C 14,1, 22,6, 25,0, 29,2, 29,3, 29,4, 29,5, 29,6, 31,9, 32,0, 42,7, 55,3, 74,7, 114,1, 128,6, 128,9, 129,7, 130,0, 133,5, 159,1, 165,4, 169,8; **HRMS** obliczone dla $C_{28}H_{39}NO_4Na$ $[M+Na]^+$: 476,2777, znalezienie: 476,2781.



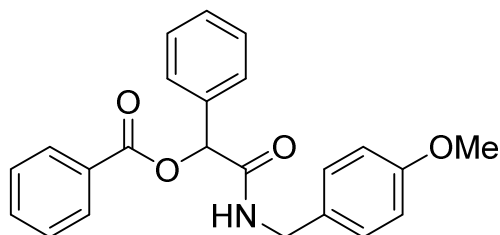
Związek 32i; Białe kryształy; **t.top.** 69-70 °C; 1H NMR (400 MHz; $CDCl_3$) δ_H 0,86 (3H, t, J 5,6 Hz, CH_3CH_2), 1,21-1,35 (16H, br m, $8 \times CH_2$), 1,38-1,49 (2H, m, CH_2CH_2CH), 2,00-2,04 (2H, m, CH_2CH), 4,46-4,62 (2H, m, CH_2N), 5,46-5,49 (1H, m, CH), 6,37 (1H, br s, NH), 7,23-7,33 (5H, m, Ph), 7,44-7,48 (2H, m, Ph), 7,57-7,62 (1H, m, Ph), 8,03-8,06 (2H, m, Ph); ^{13}C NMR (100 MHz; $CDCl_3$) δ_C 14,1, 22,7, 25,0, 29,2, 29,3, 29,4, 29,5, 29,6, 31,9, 32,0, 43,8, 74,7, 127,5, 127,5, 128,6, 128,7, 129,3, 129,7, 133,6, 137,9, 165,4, 169,9; **HRMS** obliczone dla $C_{27}H_{37}NO_3Na$ $[M+Na]^+$: 446,2671, znalezienie: 446,2672.



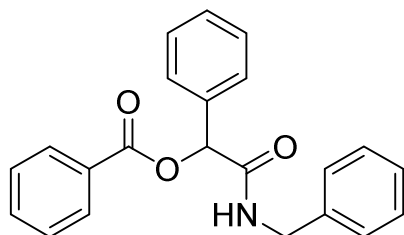
Związek 32j; Białe kryształy; **t.top.** 80,5-81 °C; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz; CDCl_3) δ_{H} 0,86 (3H, t, J 6,0 Hz, CH_3CH_2), 1,18-1,38 (10H, br m, $5\times\text{CH}_2$), 1,38-1,49 (2H, m, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 1,97-2,03 (2H, m, CH_2CH), 3,78 (3H, s, CH_3O), 4,35-4,50 (2H, m, CH_2N), 5,44-5,47 (1H, m, CH), 6,31 (1H, br s, NH), 6,83-6,85 (2H, m, Ph), 7,16-7,19 (2H, m, Ph), 7,44-7,48 (2H, m, Ph), 7,57-7,61 (1H, m, Ph), 8,03-8,05 (2H, m, Ph); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz; CDCl_3) δ_{C} 14,0, 22,6, 24,9, 29,1, 29,2, 29,3, 31,8, 32,0, 42,7, 55,3, 74,7, 114,1, 128,6, 128,9, 129,4, 129,7, 130,0, 133,5, 159,1, 165,4, 169,8; **HRMS** znalezione dla $\text{C}_{25}\text{H}_{33}\text{NO}_4\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 434,2307, znalezione: 434,2302.



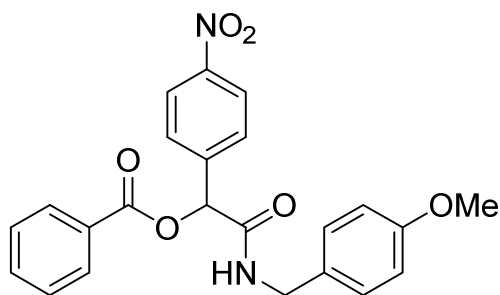
Związek 32k; Białe kryształy; **t.top.** 69-70 °C; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz; CDCl_3) δ_{H} 0,86 (3H, t, J 7,2 Hz, CH_3CH_2), 1,20-1,42 (10H, br m, $5\times\text{CH}_2$), 1,42-1,46 (2H, m, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 2,00-2,04 (2H, m, CH_2CH), 4,46-4,52 (2H, m, CH_2N), 5,46-5,49 (1H, m, CH), 6,34-6,44 (1H, m, NH), 7,24-7,31 (5H, m, Ph), 7,44-7,48 (2H, m, Ph), 7,57-7,61 (1H, m, Ph), 8,03-8,06 (2H, m, Ph); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz; CDCl_3) δ_{C} 14,0, 22,6, 25,0, 29,1, 29,2, 29,3, 31,8, 32,0, 43,2, 74,7, 127,5, 127,5, 128,6, 128,7, 129,3, 129,7, 133,6, 137,9, 165,4, 169,9; **HRMS** obliczone dla $\text{C}_{24}\text{H}_{31}\text{NO}_3\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 404,2202, znalezione: 404,2201.



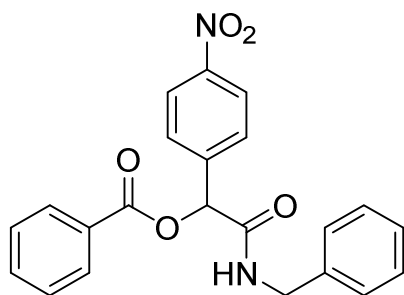
Związek 32l; Białe kryształy; **t.top.** 141-142 °C; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz; CDCl_3) δ_{H} 3,77 (3H, s, CH_3O), 4,04-4,45 (2H, m, CH_2N), 6,36 (1H, s, CH), 6,42 (1H, br s, NH), 6,81-6,84 (2H, m, Ph), 7,13-7,15 (2H, m, Ph), 7,36-7,46 (5H, m, Ph), 7,53-7,60 (3H, m, Ph), 8,05-8,08 (2H, m, Ph); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz; CDCl_3) δ_{C} 42,9, 55,3, 76,0, 114,2, 127,4, 128,6, 128,8, 129,0, 129,0, 129,2, 129,8, 130,1, 133,6, 135,6, 159,1, 165,0, 168,3; **HRMS** obliczone dla $\text{C}_{23}\text{H}_{21}\text{NO}_4\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 398,1368, znalezione: 398,1366.



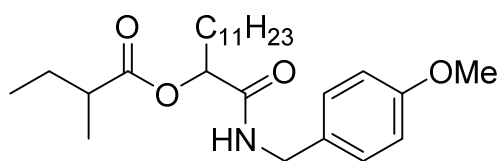
Związek 32m; Białe kryształy; **t.top.** 86-87 °C; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz; CDCl_3) δ_{H} 4,48-4,52 (2H, m, CH_2N), 6,38 (1H, s, CH), 6,51 (1H, br s, NH), 7,20-7,31 (5H, m, Ph), 7,31-7,52 (5H, m, Ph), 7,53-7,64 (3H, m, Ph), 8,06-8,09 (2H, m, Ph); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz; CDCl_3) δ_{C} 43,4, 76,0, 127,5, 127,6, 128,4, 128,7, 128,8, 129,0, 129,2, 129,8, 130,1, 133,5, 133,6, 135,5, 137,7, 165,0, 168,4; **HRMS** obliczone dla $\text{C}_{22}\text{H}_{19}\text{NO}_3\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 368,1263, znalezione: 368,1254.



Związek 32n; Białe kryształy; **t.top.** 127-128 °C; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz; CDCl_3) δ_{H} 3,78 (3H, s, CH_3O) 4,42-4,45 (2H, m, CH_2N), 6,44 (1H, s, CH), 6,61 (1H, br s, NH), 6,82-6,86 (2H, m, Ph), 7,13-7,16 (2H, m, Ph), 7,46-7,50 (2H, m, Ph), 7,61-7,65 (1H, m, Ph), 7,72- 7,75 (2H, m, Ph), 8,05-8,10 (2H, m, Ph), 8,21-8,25 (2H, m, Ph); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz; CDCl_3) δ_{C} 43,1, 55,3, 74,8, 114,2, 123,9, 128,0, 128,4, 128,5, 128,8, 129,0, 129,4, 129,8, 134,1, 148,2 159,3, 164,6, 167,0; **HRMS** obliczone dla $\text{C}_{23}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_6\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 443,1219, znaleziono: 443,1218.

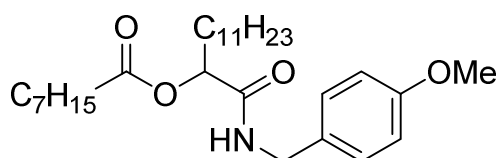


Związek 32o; Białe kryształy; **t.top.** 137-138 °C; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz; CDCl_3) δ_{H} 4,50-4,52 (2H, m, CH_2N), 6,46 (1H, s, CH), 6,65 (1H, br s, NH), 7,22-7,34 (5H, m, Ph), 7,47-7,51 (2H, m, Ph), 7,61-7,66 (1H, m, Ph), 7,72-7,76 (2H, m, Ph), 8,06-8,09 (2H, m, Ph), 8,22-8,26 (2H, m, Ph); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz; CDCl_3) δ_{C} 43,5, 74,8, 123,9, 127,6, 127,8, 128,0, 128,4, 128,8, 128,9, 129,9, 134,1, 137,3, 142,4, 148,2, 167,1; **HRMS** obliczone dla $\text{C}_{22}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_5\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 413,1113, znaleziono: 413,1115.



Związek 32p – mieszanina diastereoizomerów w proporcji 1:1; Białe kryształy; **t.top.** 63-64 °C; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz; CDCl_3) δ_{H} 0,88-0,91 (6H, m, $2 \times \text{CH}_3\text{CH}_2$), 1,09-1,15 (3H, dd, J 7,7 Hz J 7,1 Hz, CH_3CH), 1,18-1,38 (18H, m, $9 \times \text{CH}_2$), 1,42-1,52 (1H, m, CH_3CHHCH), 1,60-1,69 (1H, m, CH_3CHHCH), 1,79-1,92 (2H, m, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 2,33-2,48 (1H, m, CHCH_3), 3,80 (3H, s, CH_3O), 4,37-4,40 (2H, m, CH_2N), 5,20-5,29 (1H, m, CHCH_2), 6,18 (1H, br s, NH), 6,85-6,87 (2H, m, Ph), 7,17-7,19 (2H, m, Ph); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz; CDCl_3) δ_{C} 11,5, 11,5, 14,1, 16,4, 16,7, 22,6, 24,8, 26,6, 26,7, 29,2, 29,3, 29,4, 29,5, 29,6, 31,9, 31,9, 41,0, 41,1, 42,7, 42,7, 55,3, 73,7, 114,1, 129,0, 129,0, 129,9, 129,9, 159,1, 169,8, 175,3, 175,3; **HRMS** obliczone dla $\text{C}_{26}\text{H}_{43}\text{NO}_4\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 456,3090, znaleziono: 456,3088.

Związek 36: Metoda 1: Kwas kaprylowy (0,5 mmol, 79 μl), dodekanal (0,5 mmol, 111 μl) oraz izocyjanek *p*-metoksybenzylowy (0,5 mmol, 67 μl) mieszano w chlorku metylenu (5 ml) przez 24 godziny w temperaturze pokojowej. Odparowano rozpuszczalnik, surowy produkt oczyszczano za pomocą chromatografii kolumnowej w układzie heksan:octan etylu Otrzymano 157 mg produktu, wydajność 66 %



Związek 36; Białe kryształy; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz; CDCl_3) δ_{H} 0,86-0,90 (6H, m, $2 \times \text{CH}_3\text{CH}_2$), 1,17-1,39 (24H, br m, $12 \times \text{CH}_2$), 1,61-1,65 (4H, m, $2 \times \text{CH}_2\text{CH}_2$), 1,82-1,90 (2H, m, CH_2CH), 2,35 (2H, t, J 7,6 Hz, COCH_2CH_2), 3,80 (3H, s, CH_3O), 4,38-4,41 (2H, m, CH_2N), 5,20-5,23 (1H, m, CH), 6,20 (1H, br s, NH), 6,85-6,88 (2H, m, Ph), 7,17-7,18 (2H, m, Ph); ^{13}C

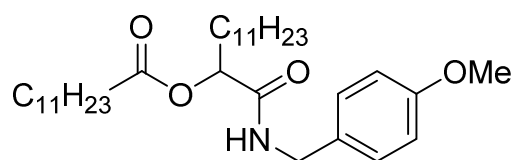
NMR (100 MHz; CDCl₃) δ_C 14,0, 22,2, 22,3, 24,9, 25,0, 28,9, 29,2, 29,3, 29,4, 29,5, 29,6, 31,6, 31,9, 34,3, 42,7, 55,3, 74,1, 114,2, 129,0, 169,8, 172,5; **HRMS** obliczone dla C₂₉H₄₉NO₄Na [M+Na]⁺: 498,3559, znalezione: 498,3558.

Procedura ogólna dla Tabeli 6: Kwas karboksylowy (0,1 mmol), dodekanal (0,1 mmol, 22 μ l) oraz izocyjanek *p*-metoksybenzylowy (0,1 mmol, 14 μ l) mieszano w wodzie destylowanej (1 ml) przez 24 godziny w temperaturze pokojowej. Do mieszaniny reakcyjnej dodano aceton do objętości 5 ml. Przebieg reakcji analizowano za pomocą HPLC w układzie odwróconych faz na kolumnie Kromasil C18 (5 μ m; 250 x 4 mm) jako eluent stosując mieszaninę acetonitrylu i wody 7:3 (v/v), przepływ 1 ml / min.

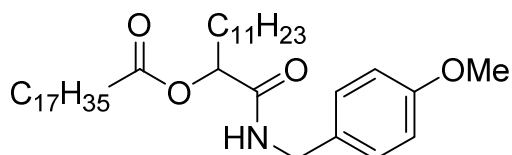
Procedura ogólna dla Rysunku 15: Kwas kaprylowy (0,1 mmol, 16 μ l), dodekanal (0,1 mmol, 22 μ l) oraz izocyjanek *p*-metoksybenzylowy (0,1 mmol, 14 μ l) mieszano w buforze fosforanowym o odpowiedniej wartości pH (1 ml, c = 100 mM) przez 24 godziny w temperaturze pokojowej. Do mieszaniny reakcyjnej dodano aceton do objętości 5 ml. Przebieg reakcji analizowano za pomocą HPLC w układzie odwróconych faz na kolumnie Kromasil C18 (5 μ m; 250 x 4 mm) jako eluent stosując mieszaninę acetonitrylu i wody 7:3 (v/v), przepływ 1 ml / min.

Procedura ogólna dla Tabeli 7: Metoda 1 (l.p. 1-3 i 7-12, Tabela 7): Kwas karboksylowy (0,1 mmol), dodekanal (0,1 mmol, 22 μ l) oraz izocyjanek *p*-metoksybenzylowy (0,1 mmol, 14 μ l) mieszano w odpowiednim rozpuszczalniku lub bez rozpuszczalnika przez 24 godziny w temperaturze pokojowej. Do mieszaniny reakcyjnej dodano aceton do objętości 5 ml. Przebieg reakcji analizowano za pomocą HPLC w układzie odwróconych faz na kolumnie Kromasil C18 (5 μ m; 250 x 4 mm) jako eluent stosując mieszaninę acetonitrylu i wody 7:3 (v/v), przepływ 1 ml / min.

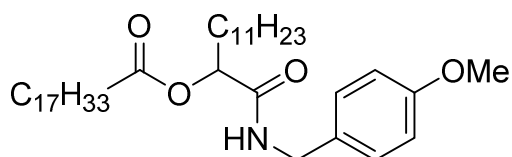
Metoda 2 (l.p. 4-6, Tabela 7): Kwas karboksylowy (0,5 mmol), dodekanal (0,5 mmol, 111 μ l) oraz izocyjanek *p*-metoksybenzylowy (0,5 mmol, 67 μ l) mieszano w buforze fosforanowym (5 ml, pH = 5; c = 100 mM) przez 24 godziny w temperaturze pokojowej. Mieszaninę reakcyjną ekstrahowano chlorkiem metylenu (3x5 ml). Połączone fazy organiczne wysuszono nad MgSO₄. Po odsączeniu środka suszącego i odparowaniu rozpuszczalnika, surowy produkt oczyszczano za pomocą chromatografii kolumnowej w układzie heksan:octan etylu.



Związek 37; Białe kryształy; ¹H NMR (400 MHz; CDCl₃) δ_H 0,88 (6H, t, *J* 6,8 Hz, 2xCH₃CH₂), 1,20-1,44 (38H, br m, 16xCH₂), 1,58-1,65 (4H, m, 2xCH₂CH₂), 1,80-1,91 (2H, m, CH₂CH), 2,34 (2H, t, *J* 7,2 Hz, COCH₂CH₂), 3,80 (3H, s, CH₃O), 4,38-4,41 (2H, m, CH₂N), 5,19-5,23 (1H, m, CH), 6,20 (1H, br s, NH), 6,85-6,88 (2H, m, Ph), 7,17-7,19 (2H, m, Ph); ¹³C NMR (100 MHz; CDCl₃) δ_C 14,1, 22,7, 24,8, 25,0, 29,1, 29,2, 29,3, 29,3, 29,4, 29,5, 29,6, 29,6, 31,9, 31,9, 34,3, 42,7, 55,3, 73,9, 114,2, 129,0, 130,0, 172,5; **HRMS** obliczone dla C₃₃H₅₇NO₄Na [M+Na]⁺: 554,4185, znalezione: 554,4182.

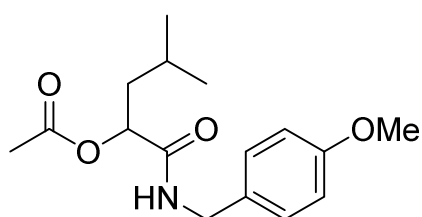


Związek 38; Białe kryształy; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz; CDCl_3) δ_{H} 0,88 (6H, t, J 6,8 Hz, $2\times\text{CH}_3\text{CH}_2$), 1,15-1,40 (46H, br m, $23\times\text{CH}_2$), 1,58-1,63 (2H, m, CH_2CH_2), 1,81-1,88 (2H, m, CH_2CH), 2,34 (2H, t, J 7,6 Hz, COCH_2CH_2), 3,79 (3H, s, CH_3O), 4,36-4,44 (2H, m, CH_2N), 5,17-5,24 (1H, m, CH), 6,22 (1H, br s, NH), 6,85-6,88 (2H, m, Ph), 7,17-7,19 (2H, m, Ph); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz; CDCl_3) δ_{C} 14,0, 22,6, 24,6, 24,9, 29,1, 29,2, 29,3, 29,4, 29,5, 29,6, 29,6, 29,6, 29,7, 31,9, 31,9, 34,3, 42,7, 55,3, 73,9, 114,2, 129,0, 129,9, 159,1, 169,9, 172,5; **HRMS** obliczone dla $\text{C}_{39}\text{H}_{69}\text{NO}_4\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 638,5124, znaleziono: 638,5120.

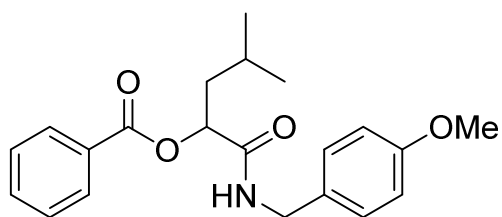


Związek 39; Białe kryształy; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz; CDCl_3) δ_{H} 0,88 (6H, t, J 7,2 Hz, $2\times\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1,21-1,42 (38H, m br, $10\times\text{CH}_2$), 1,58-1,63 (2H, m, CH_2), 1,83-1,87 (2H, m, CH_2), 1,98-2,03 (4H, m, $2\times\text{CH}_2\text{CH}=\text{}$), 2,34 (2H, t, J 7,6 Hz, COCH_2), 3,79 (3H, s, CH_3O), 4,37-4,40 (2H, m, CH_2N), 5,18-5,22 (1H, m, CH), 5,33-5,35 (2H, m, $2\times\text{CH}=\text{}$), 6,22 (1H, br s, NH), 6,85-6,87 (2H, m, Ph), 7,17-7,19 (2H, m, Ph); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz; CDCl_3) δ_{C} 14,1, 22,6, 24,8, 24,9, 27,1, 27,2, 29,0, 29,1, 29,2, 29,3, 29,3, 29,3, 29,4, 29,5, 29,6, 29,6, 29,7, 29,7, 31,9, 31,9, 31,9, 34,3, 42,7, 55,2, 73,9, 114,1, 129,0, 129,6, 129,9, 130,0, 159,1, 169,8, 172,4; **HRMS** obliczone dla $\text{C}_{36}\text{H}_{67}\text{NO}_4\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 636,4968, znaleziono: 636,4954.

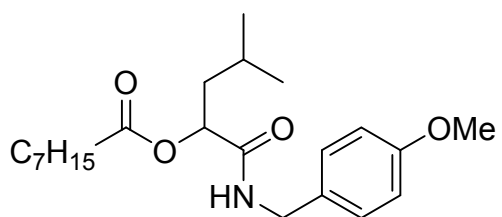
Procedura ogólna dla Tabeli 8: Kwas karboksylowy (0,5 mmol), aldehyd (0,5 mmol) oraz izocyjanek (0,5 mmol) mieszano w buforze fosforanowym (5 ml, $\text{pH} = 5$; $c = 100$ mM) przez 24 godziny w temperaturze pokojowej. Mieszaninę reakcyjną ekstrahowano chlorkiem metylenu (3×5 ml). Połączone fazy organiczne wysuszono nad MgSO_4 . Po odsączeniu środka suszącego i odparowaniu rozpuszczalnika, surowy produkt oczyszczano za pomocą chromatografii kolumnowej w układzie heksan:octan etylu.



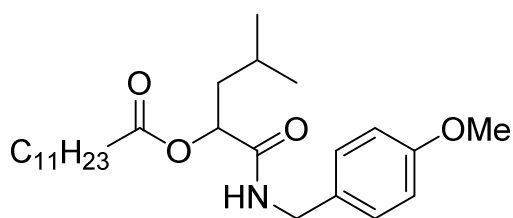
Związek 43a; Białe kryształy; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz; CDCl_3) δ_{H} 0,92-0,95 (6H, m, $2\times\text{CH}_3\text{CH}$), 1,64-1,76 (3H, m, $\text{CHCH}_3+\text{CHCH}_2\text{CH}$), 2,10 (3H, s, COCH_3), 3,80 (3H, s, CH_3O), 4,37-4,40 (2H, m, CH_2N), 5,20-5,24 (1H, m, CH), 6,19 (1H, br s, NH), 6,86-6,88 (2H, m, Ph), 7,17-7,19 (2H, m, Ph); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz; CDCl_3) δ_{C} 20,9, 21,8, 23,1, 24,7, 40,8, 42,7, 55,3, 72,9, 114,2, 129,0, 129,9, 169,8, 170,1; **HRMS** obliczone dla $\text{C}_{16}\text{H}_{23}\text{NO}_4\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 316,1525, znaleziono: 316,1519.



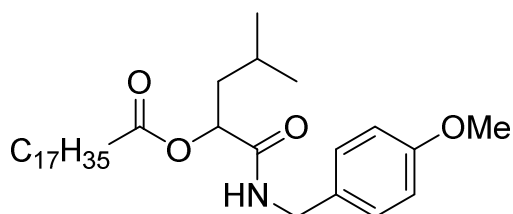
Związek 43b; Białe kryształy; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz; CDCl_3) δ_{H} 0,92-0,99 (6H, m, $2\times\text{CH}_3\text{CH}$), 1,80-1,85 (1H, m, CHCH_3), 1,87-1,94 (2H, m, CHCH_2CH), 3,78 (3H, s, CH_3O), 4,38-4,44 (2H, m, CH_2N), 5,47-5,51 (1H, m, CH), 6,27 (1H, br s, NH), 6,83-6,85 (2H, m, Ph), 7,15-7,18 (2H, m, Ph), 7,44-7,48 (2H, m, Ph), 7,57-7,60 (1H, m, Ph), 8,03-8,05 (2H, m, Ph); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz; CDCl_3) δ_{C} 21,8, 23,2, 24,7, 40,9, 42,7, 55,3, 73,4, 114,1, 128,6, 128,9, 129,8, 130,0, 133,6, 159,1, 165,5, 170,1; **HRMS** obliczone dla $\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{NO}_4\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 378,1681, znaleziono: 378,1679.



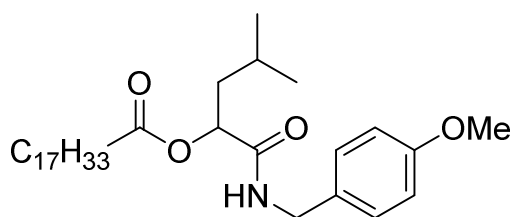
Związek 43c; Białe kryształy; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz; CDCl_3) δ_{H} 0,89 (3H, t, J 7,2 Hz, CH_2CH_3), 0,92-0,95 (6H, m, $2\times\text{CH}_3\text{CH}$), 1,20-1,35 (8H, m br, $4\times\text{CH}_2$), 1,60-1,62 (2H, m, CH_2), 1,67-1,76 (3H, m, $\text{CHCH}_2\text{CH}+\text{CHCH}_3$), 2,34 (2H, t, J 7,6 Hz, COCH_2), 3,80 (3H, s, CH_3O), 4,37-4,39 (2H, m, CH_2N), 5,22-5,26 (1H, m, CH), 6,15 (1H, br s, NH), 6,85-6,88 (2H, m, Ph), 7,16-7,19 (2H, m, Ph); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz; CDCl_3) δ_{C} 21,8, 22,6, 23,1, 24,6, 24,9, 28,8, 29,0, 34,6, 34,3, 40,9, 42,7, 55,3, 72,6, 114,2, 129,0, 159,2, 170,2, 172,7; **HRMS** obliczone dla $\text{C}_{22}\text{H}_{35}\text{NO}_4\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 400,2462, znaleziono: 400,2462.



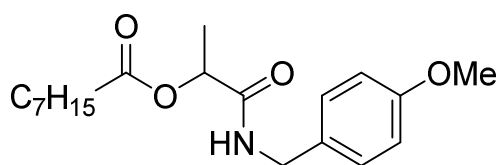
Związek 43d; Białe kryształy; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz; CDCl_3) δ_{H} 0,90 (3H, t, J 7,6 Hz, CH_2CH_3), 0,91-0,94 (6H, m, $2\times\text{CH}_3\text{CH}$), 1,21-1,39 (16H, m br, $8\times\text{CH}_2$), 1,54-1,78 (5H, m, $\text{CH}_3\text{CH}+2\times\text{CH}_2$), 2,34 (2H, t, J 7,6 Hz, COCH_2), 3,79 (3H, s, CH_3O), 4,37-4,39 (2H, m, CH_2N), 5,22-5,26 (1H, m, CH), 6,18 (1H, br s, NH), 6,85-6,87 (2H, m, Ph), 7,16-7,18 (2H, m, Ph); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz; CDCl_3) δ_{C} 14,1, 21,8, 22,6, 23,1, 24,6, 24,9, 29,1, 29,2, 29,3, 29,4, 29,6, 31,9, 34,3, 40,9, 42,7, 55,3, 72,6, 114,2, 129,0, 129,9, 159,1, 172,7; **HRMS** obliczone dla $\text{C}_{26}\text{H}_{43}\text{NO}_4\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 456,3090, znaleziono: 456,3083.



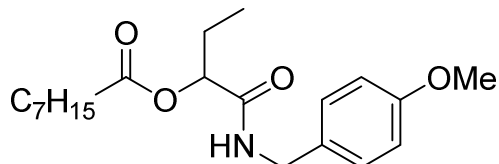
Związek 43e; Białe kryształy; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz; CDCl_3) δ_{H} 0,88 (3H, t, J 7,2 Hz, CH_2CH_3), 0,91-0,95 (6H, m, $2\times\text{CH}_3\text{CH}$), 1,23-1,41 (28H, m br, $14\times\text{CH}_2$), 1,52-1,61 (2H, m, CH_2), 1,61-1,71 (1H, m, CHCH_3), 1,71-1,80 (2H, m, CH_2), 2,34 (2H, t, J 7,6 Hz, COCH_2), 3,80 (3H, s, CH_3O), 4,37-4,39 (2H, m, CH_2N), 5,23-5,26 (1H, m, CH), 6,16 (1H, br s, NH), 6,85-6,88 (2H, m, Ph), 7,16-7,18 (2H, m, Ph); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz; CDCl_3) δ_{C} 14,1, 21,7, 22,7, 23,1, 24,6, 24,7, 24,3, 29,1, 29,2, 29,3, 29,4, 29,6, 29,6, 29,6, 29,7, 31,9, 34,3, 40,9, 42,7, 55,3, 72,6, 114,2, 129,0, 129,9, 159,1, 170,2, 172,6; **HRMS** obliczone dla $\text{C}_{32}\text{H}_{55}\text{NO}_4\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 540,4029, znaleziono: 540,4024.



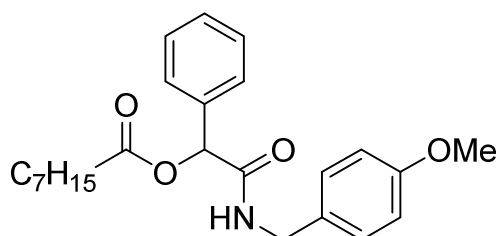
Związek 43f; Białe kryształy; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz; CDCl_3) δ_{H} 0,89 (3H, t, J 7,6 Hz, CH_2CH_3), 0,91-0,94 (6H, m, $2 \times \text{CH}_3\text{CH}$), 1,20-1,38 (20H, m br, $10 \times \text{CH}_2$), 1,57-1,63 (2H, m, CH_2), 1,63-1,80 (3H, m, $\text{CHCH}_2\text{CH} + \text{CHCH}_3$), 1,96-2,04 (4H, m, $2 \times \text{CH}_2\text{CH} =$), 2,33 (2H, t, J 7,6 Hz, COCH_2), 3,78 (3H, s, CH_3O), 4,36-4,37 (2H, m, CH_2N), 5,21-5,25 (1H, m, CH), 5,32-5,35 (2H, m, $2 \times \text{CH} =$), 6,20 (1H, br s, NH), 6,82-6,87 (2H, m, Ph), 7,14-7,16 (2H, m, Ph); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz; CDCl_3) δ_{C} 14,0, 21,7, 22,6, 23,1, 24,5, 24,9, 27,1, 27,2, 29,0, 29,1, 29,2, 29,3, 29,5, 29,6, 29,7, 31,8, 34,2, 40,8, 42,7, 55,2, 72,6, 114,1, 128,9, 129,6, 129,9, 130,0, 179,1, 170,2, 172,6; **HRMS** obliczone dla $\text{C}_{32}\text{H}_{53}\text{NO}_4\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 538,3872, znalezienie: 538,3871.



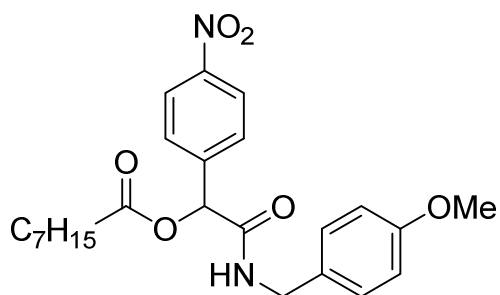
Związek 43g; Białe kryształy; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz; CDCl_3) δ_{H} 0,87 (3H, t, J 7,2 Hz, CH_2CH_3), 1,25-1,30 (8H, m br, $4 \times \text{CH}_2$), 1,49 (3H, d, J 6,8 Hz, CHCH_3), 1,59-1,62 (2H, m, COCH_2CH_2), 2,33 (2H, t, J 7,6 Hz, COCH_2), 3,80 (3H, s, CH_3O), 4,40 (2H, d, J 6,8 Hz, CH_2N), 5,25 (1H, q, J 6,8 Hz, CH), 6,29 (1H, br s, NH), 6,86-6,89 (2H, m, Ph), 7,18-7,21 (2H, m, Ph); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz; CDCl_3) δ_{C} 14,0, 17,9, 22,6, 24,9, 28,8, 29,0, 31,6, 34,3, 42,7, 55,3, 70,4, 114,2, 129,0, 159,2, 170,3, 172,3; **HRMS** obliczone dla $\text{C}_{19}\text{H}_{29}\text{NO}_4\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 358,1994, znalezienie: 358,1989.



Związek 43h; Białe kryształy; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz; CDCl_3) δ_{H} 0,88 (3H, t, J 7,2 Hz, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 0,93 (3H, t, J 7,6 Hz, CHCH_2CH_3), 1,25-1,29 (8H, m br, $4 \times \text{CH}_2$), 1,59-1,63 (2H, m, COCH_2CH_2), 1,88-1,95 (2H, m, CHCH_2), 2,34-2,37 (2H, m, COCH_2), 3,80 (3H, s, CH_3O), 4,39-4,41 (2H, m, CH_2N), 5,18-5,21 (1H, m, CH), 6,24 (1H, br s, NH), 6,85-6,88 (2H, m, Ph), 7,17-7,20 (2H, m, Ph); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz; CDCl_3) δ_{C} 9,0, 14,0, 22,6, 24,9, 25,1, 28,8, 29,0, 31,6, 34,3, 42,7, 55,3, 74,8, 114,2, 129,0, 129,9, 159,2, 169,6; **HRMS** obliczone dla $\text{C}_{20}\text{H}_{31}\text{NO}_4\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 372,2151, znalezienie: 372,2144.

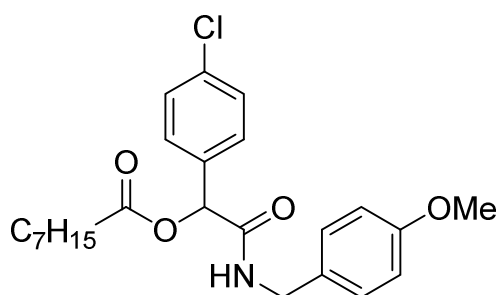


Związek 43i; Białe kryształy; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz; CDCl_3) δ_{H} 0,87 (3H, t, J 7,2 Hz, CH_2CH_3), 1,18-1,32 (8H, m, $4 \times \text{CH}_2$), 1,60-1,64 (2H, m, COCH_2CH_2), 2,38-2,42 (2H, m, COCH_2), 3,80 (3H, s, CH_3O), 4,41 (2H, d, J 5,6 Hz, CH_2N), 6,12 (1H, m, CH), 6,30 (1H, br s, NH), 6,84-6,87 (2H, m, Ph), 7,14-7,17 (2H, m, Ph), 7,35-7,37 (3H, m, Ph), 7,37-7,41 (2H, m, Ph); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz; CDCl_3) δ_{C} 14,0, 22,5, 24,8, 28,8, 29,0, 31,6, 34,2, 42,9, 55,3, 75,4, 114,2, 127,3, 128,7, 128,9, 129,1, 129,8, 135,8, 159,2, 168,1, 171,9; **HRMS** obliczone dla $\text{C}_{24}\text{H}_{31}\text{NO}_4\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 420,2151, znalezienie: 420,2143.



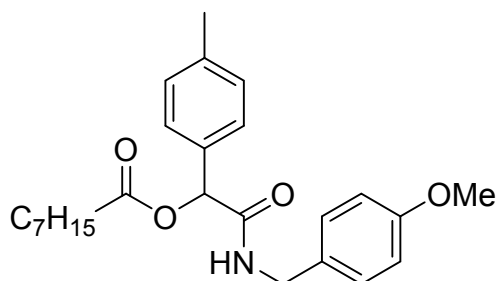
Związek 43j; Białe kryształy; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz; CDCl_3) δ_{H} 0,87 (3H, t, J 6,8 Hz, CH_2CH_3), 1,23-1,30 (8H, m, $4\times\text{CH}_2$), 1,61-1,65 (2H, m, COCH_2CH_2), 2,41-2,46 (2H, m, COCH_2), 3,80 (3H, s, CH_3O), 4,40 (2H, d, J 5,6 Hz, CH_2N), 6,19 (1H, m, CH), , 6,49 (1H, br s, NH), 6,85-6,88 (2H, m, Ph), 7,15-7,17 (2H, m, Ph), 7,61-7,63 (2H, m, Ph), 8,19-8,25 (2H, m, Ph); ^{13}C

NMR (100 MHz; CDCl_3) δ_{C} 14,0, 22,5, 24,8, 28,8, 28,9, 31,5, 34,1, 43,1, 55,3, 74,2, 114,3, 123,8, 128,0, 129,1, 129,3, 142,7, 159,4, 166,9, 171,5, 173,1; **HRMS** znalezienie dla $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_6\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 465,2002, znalezienie: 465,1992.



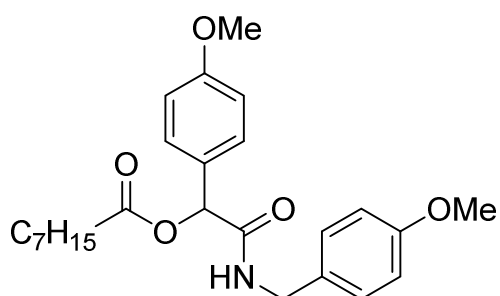
Związek 43k; Białe kryształy; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz; CDCl_3) δ_{H} 0,87 (3H, t, J 6,8 Hz, CH_2CH_3), 1,24-1,30 (8H, m, $4\times\text{CH}_2$), 1,59-1,63 (2H, m, COCH_2CH_2), 2,37-2,41 (2H, m, COCH_2), 3,80 (3H, s, CH_3O), 4,39 (2H, br d, J 5,2 Hz, CH_2N), 6,08 (1H, m, CH), , 6,40 (1H, br s, NH), 6,85-6,87 (2H, m, Ph), 7,14-7,17 (2H, m, Ph), 7,32-7,38 (4H, m, Ph); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz; CDCl_3)

δ_{C} 14,0, 22,5, 24,8, 28,8, 28,9, 31,6, 34,2, 42,9, 55,3, 74,6, 114,2, 128,7, 128,9, 129,1, 129,6, 134,3, 167,8, 171,8; **HRMS** obliczone dla $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{NO}_4\text{ClNa}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 454,1761, znalezienie: 454,1745.



Związek 43l; Białe kryształy; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz; CDCl_3) δ_{H} 0,86 (3H, t, J 7,2 Hz, CH_2CH_3), 1,23-1,31 (8H, m, $4\times\text{CH}_2$), 1,57-1,63 (2H, m, COCH_2CH_2), 2,34 (3H, s, PhCH_3), 2,36-2,41 (2H, m, COCH_2), 3,80 (3H, s, CH_3O), 4,39-4,42 (2H, m, CH_2N), 6,09 (1H, m, CH), , 6,29 (1H, br s, NH), 6,84-6,87 (2H, m, Ph), 7,15-7,17 (4H, m,

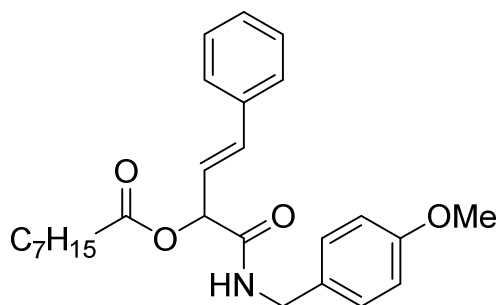
Ph), 7,30-7,32 (2H, m, Ph); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz; CDCl_3) δ_{C} 14,0, 21,2, 22,5, 24,8, 28,8, 29,0, 31,6, 34,2, 42,9, 55,3, 75,2, 114,2, 127,3, 129,1, 129,4, 129,8, 132,8, 138,8, 159,2, 168,4, 172,0; **HRMS** obliczone dla $\text{C}_{25}\text{H}_{33}\text{NO}_4\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 434,2307, znalezienie: 434,2303.



Związek 43m; Białe kryształy, $^1\text{H NMR}$ (400 MHz; CDCl_3) δ_{H} 0,86 (3H, t, J 7,2 Hz, CH_2CH_3), 1,23-1,31 (8H, m, $4\times\text{CH}_2$), 1,58-1,64 (2H, m, COCH_2CH_2), 2,36-2,38 (2H, m, COCH_2), 3,80 (6H, s, $2\times\text{CH}_3\text{O}$), 4,39-4,42 (2H, m, CH_2N), 6,08 (1H, m, CH), , 6,31 (1H, br s, NH), 6,85-6,89 (4H, m, Ph), 7,15-7,18 (2H, m, Ph), 7,33-7,36 (2H, m, Ph); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz; CDCl_3) δ_{C}

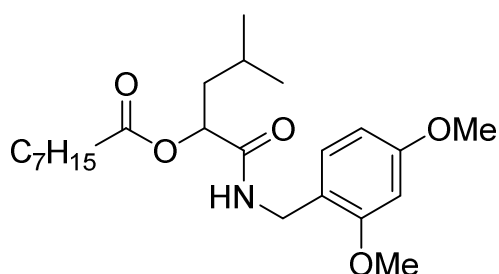
14,0, 22,5, 24,8, 28,8, 29,0, 31,6, 34,3, 42,9, 55,3, 55,3, 75,0, 114,2, 127,9, 128,9, 129,1,

129,8, 159,2, 168,5, 172,0; **HRMS** obliczone dla $C_{25}H_{33}NO_5Na$ $[M+Na]^+$: 450,2256, znalezienie: 450,2242.



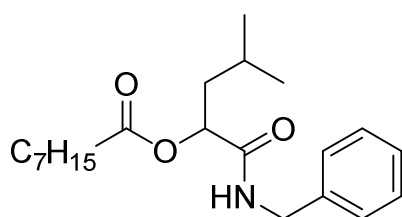
Związek 43n; Białe kryształy; 1H NMR (400 MHz; $CDCl_3$) δ_H 0,87 (3H, t, J 7,2 Hz, CH_2CH_3), 1,25-1,31 (8H, m br, $4xCH_2$), 1,61-1,67 (2H, m, $COCH_2CH_2$), 2,42 (2H, t, J 7,6 Hz, $COCH_2$), 3,80 (3H, s, CH_3O), 4,43 (2H, d, J 5,6 Hz, CH_2N), 5,80 (1H, d, 6,8 Hz, $CHCH=CH$), 6,27-6,32 (2H, m, $CHCH=CH+NH$), 6,72 (1H, d, J 16 Hz, $CHPh$), 6,86-6,88 (2H, m, Ph), 7,19-7,22

(2H, m, Ph), 7,26-7,34 (3H, m, Ph), 7,36-7,39 (2H, m, Ph); ^{13}C NMR (100 MHz; $CDCl_3$) δ_C 14,0, 22,6, 24,3, 28,9, 29,0, 31,6, 34,3, 42,9, 55,3, 74,2, 114,2, 122,6, 126,8, 128,4, 128,6, 129,1, 129,7, 134,7, 135,7, 159,2, 168,1; **HRMS** obliczone dla $C_{26}H_{33}NO_4Na$ $[M+Na]^+$: 446,2307, znalezienie: 446,2299.



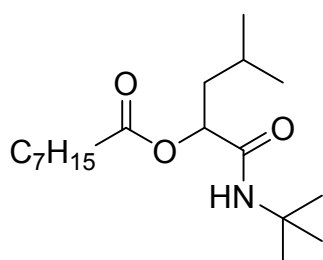
Związek 43o; Bezbarwne ciało stałe; 1H NMR (400 MHz; $CDCl_3$) δ_H 0,85-0,89 (9H, m, $2xCH_3CH+CH_2CH_3$), 1,23-1,36 (8H, m br, $4xCH_2$), 1,59-1,68 (5H, m, $CHCH_2CH+CHCH_3+COCH_2CH_2$), 2,29-2,34 (2H, m, $COCH_2$), 3,77 (3H, s, CH_3O), 3,80 (3H, s, CH_3O), 4,34 (2H, d, J 5,6 Hz, CH_2N), 5,18-

5,21 (1H, m, CH), 6,39-6,44 (3H, m, Ph+ NH), 7,10-7,13 (1H, m, Ph); ^{13}C NMR (100 MHz; $CDCl_3$) δ_C 14,0, 21,8, 22,5, 23,1, 24,5, 24,9, 28,8, 29,0, 31,6, 34,3, 38,8, 40,8, 55,3, 55,4, 72,6, 98,7, 104,0, 118,4, 130,4, 158,6, 160,6, 169,8, 172,5; **HRMS** obliczone dla $C_{23}H_{27}NO_5Na$ $[M+Na]^+$: 430,2569, znalezienie: 430,2557.



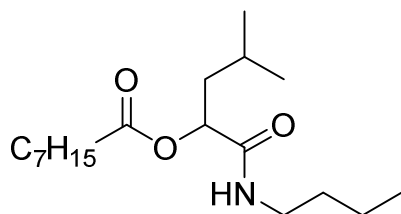
Związek 43p; Bezbarwna ciecz; 1H NMR (400 MHz; $CDCl_3$) δ_H 0,89 (3H, t, J 7,2 Hz, CH_2CH_3), 0,91-0,95 (6H, m, $2xCH_3CH$), 1,20-1,32 (8H, m br, $4xCH_2$), 1,58-1,76 (5H, m, $CHCH_2CH+CHCH_3+COCH_2CH_2$), 2,34 (2H, t, J 7,2 Hz, $COCH_2$), 4,44 (2H, d, J 5,6 Hz, CH_2N), 5,23-5,27 (1H, m, CH), 6,25 (1H, s br, NH), 7,22-7,33

(5H, m, Ph); ^{13}C NMR (100 MHz; $CDCl_3$) δ_C 14,1, 18,2, 22,5, 24,9, 36,7, 41,1, 47,0, 55,2, 61,2, 116,8, 122,2, 134,6, 143,3, 168,4, 169,5, 171,5; **HRMS** obliczone dla $C_{21}H_{33}NO_3Na$ $[M+Na]^+$: 370,2348, znalezienie: 370,2358.

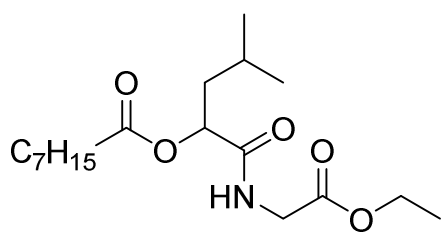


Związek 43r; Żółta ciecz; 1H NMR (400 MHz; $CDCl_3$) δ_H 0,82-0,93 (9H, m, $2xCH_3CH+CH_2CH_3$), 1,18-1,35 (17H, m br, $4xCH_2+C(CH_3)_3$), 1,58-1,65 (5H, m, $CHCH_2CH+CHCH_3+COCH_2CH_2$), 2,35 (2H, t, J 7,6 Hz, $COCH_2$), 5,04-5,08 (1H, m, CH), 5,73 (1H, s br, NH); ^{13}C NMR (100 MHz; $CDCl_3$) δ_C 14,0, 21,8, 22,5, 23,1, 24,5, 25,0, 28,6, 28,9, 29,1, 31,6, 34,4, 40,7, 51,1, 72,9, 169,4, 172,6;

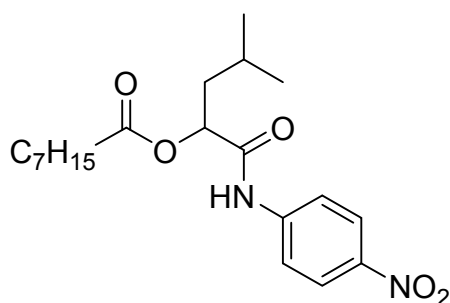
HRMS obliczone dla $C_{18}H_{35}NO_3Na$ $[M+Na]^+$: 336,2515, znalezienie: 336,2509.



Związek 43s; Bezbarwne ciało stałe; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz; CDCl_3) δ_{H} 0,81-0,93 (12H, m, $4\times\text{CH}_3$), 1,18-1,36 (8H, m br, $4\times\text{CH}_2$), 1,40-1,48 (3H, $\text{CHCH}_3+\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 1,55-1,60 (2H, m, NCH_2CH_2), 1,60-1,70 (5H, m, $\text{CHCH}_2\text{CH}+\text{CHCH}_3+\text{COCH}_2\text{CH}_2$), 2,35 (2H, t, J 7,2 Hz, COCH_2), 3,23 (2H, q, J 6,8 Hz, NHCH_2), 5,15-5,18 (1H, m, CH), 5,90 (1H, s br, NH); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz; CDCl_3) δ_{C} 13,7, 14,0, 20,0, 21,8, 22,6, 23,1, 24,6, 25,0, 28,9, 29,1, 31,6, 31,6, 34,3, 38,9, 40,8, 72,6, 170,2, 172,6; **HRMS** obliczone dla $\text{C}_{18}\text{H}_{35}\text{NO}_3\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 336,2515, znalezione: 336,2506.



Związek 43t; Bezbarwna ciecz; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz; CDCl_3) δ_{H} 0,81-0,90 (3H, m, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 0,90-0,99 (6H, m, $\text{CCH}(\text{CH}_3)_2$), 1,21-1,45 (11H, m br, $4\times\text{CH}_2+\text{OCH}_2\text{CH}_3$), 1,60-1,73 (5H, m, $\text{CHCH}_2\text{CH}+\text{CHCH}_3+\text{COCH}_2\text{CH}_2$), 2,40 (2H, t, J 7,6 Hz, COCH_2), 4,00-4,03 (2H, m, NHCH_2), 4,21 (2H, q, J 7,2 Hz, OCH_2), 5,23-5,27 (1H, m, CH), 6,50 (1H, s br, NH); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz; CDCl_3) δ_{C} 14,0, 14,1, 21,7, 22,5, 23,1, 24,5, 24,9, 28,8, 29,0, 31,6, 34,3, 40,8, 41,1, 61,6, 72,3, 169,6, 170,6, 172,6; **HRMS** obliczone dla $\text{C}_{18}\text{H}_{33}\text{NO}_5\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 366,2256, znalezione: 366,2249.

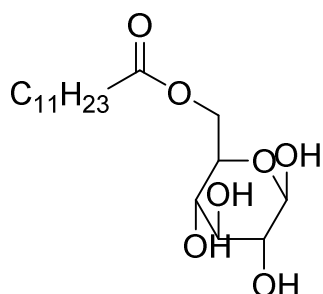


Związek 43u; Żółte kryształy; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz; CDCl_3) δ_{H} 0,81-0,90 (3H, m, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 0,90-0,99 (6H, m, $\text{CCH}(\text{CH}_3)_2$), 1,21-1,39 (8H, m br, $4\times\text{CH}_2$), 1,55-1,80 (5H, m, $\text{CHCH}_2\text{CH}+\text{CHCH}_3+\text{COCH}_2\text{CH}_2$), 2,44 (2H, t, J 7,6 Hz, COCH_2), 5,28-5,32 (1H, m, CH), 7,66-7,69 (2H, m, Ph), 8,07 (1H, s br, NH), 8,17-8,21 (2H, m, Ph); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz; CDCl_3) δ_{C} 14,0, 21,7, 22,5, 23,0, 24,5, 24,9, 28,8, 29,0, 31,6, 34,2, 40,4, 72,9, 119,3, 125,0, 142,8, 143,9, 168,7, 173,0; **HRMS** obliczone dla $\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_5\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 401,2052, znalezione: 401,2045.

6.3. Synteza estrów glukozy

Procedura ogólna estryfikacja glukozy, dobór preparatu enzymatycznego eksperymenty w małej skali: Glukozę (0,1 mmol, 18 mg), kwas laurylowy (0,3 mmol, 60 mg) oraz odpowiedni preparat enzymatyczny (1 mg) wytrząsano w alkoholu *t*-amylowym (0,5 ml) w temperaturze pokojowej lub w 60 °C. Przebieg reakcji śledzono za pomocą chromatografii cienkowarstwowej (TLC) w układzie chlorek metylenu:metanol 8:2 (v/v), jako wywoływacz użyto mieszaniny etanolu (135 ml), stężonego kwasu siarkowego (5 ml), kwasu octowego (1,5 ml) oraz *p*-metoksybenzaldehydu (3,7 ml).

Procedura ogólna dla Tabeli 9: Glukozę (1 mmol, 180 mg), kwas laurylowy (3 mmol, 600 mg), Novozym 435 (50 mg) mieszano w odpowiednim rozpuszczalniku (4 ml) przez 72 godziny w temperaturze 60 °C. Następnie odparowano rozpuszczalnik i produkt oczyszczano za pomocą chromatografii kolumnowej w układzie chlorek metylenu:metanol.

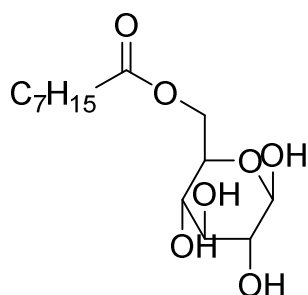


Laurinian 6-O-glukozy 44; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz; DMSO) δ_{H} 0,83 (3H, t, J 6,8 Hz, CH_3), 1,16-1,40 (16H, m, $8 \times \text{CH}_2$), 1,30-1,57 (2H, m, COCH_2CH_2), 2,24 (2H, t, J 7,2 Hz, COCH_2), 2,45-2,51 (1H, m, OH), 2,97-3,17 (2H, m, OCH_2), 3,36-3,45 (1H, m, CH), 3,70-3,76 (1H, m, CH), 3,91-3,99 (1H, m, CH), 4,23 (1H, dd, J 11,6, 1,9 Hz, CH) 4,47 (1H, d, J 4,8 Hz, OH), 4,69 (1H, d, J 4,8 Hz, OH), 4,81-4,91 (1H, m, CH), 4,98 (1H, d, J 5,7 Hz, OH), 6,29 (1H, d, J 4,4 Hz, OH); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz; CDCl_3) δ_{C} 15,0, 23,1, 25,5, 29,5, 29,7, 29,7, 29,9, 30,0, 32,3, 34,5, 64,9, 70,2, 71,6, 73,2, 73,9, 93,3, 174,0; **HRMS** obliczone dla $\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{O}_7\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 385,2202, znalezione: 385,2199.

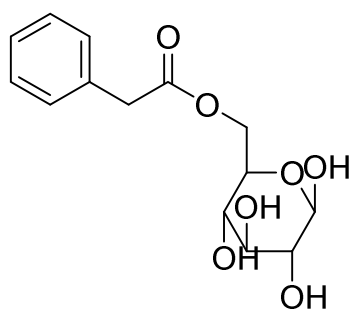
Procedura ogólna dla Tabeli 10: Glukozę (1 mmol, 180 mg), kwas laurylowy (3 mmol, 600 mg), Novozym 435 (50 mg) mieszano w *t*-butanolu (4 ml) przez dany czas w odpowiedniej temperaturze. Następnie odparowano rozpuszczalnik i produkt oczyszczano za pomocą chromatografii kolumnowej w układzie chlorek metylenu:metanol.

Procedura ogólna dla Tabeli 11: Glukozę (1 mmol, 180 mg), kwas laurylowy (3 mmol, 600 mg), Novozym 435 (50 mg) oraz odpowiedni dodatek (3 mmol) mieszano w *t*-butanolu (4 ml) przez 72 godziny w temperaturze 80 °C. Następnie odparowano rozpuszczalnik i produkt oczyszczano za pomocą chromatografii kolumnowej w układzie chlorek metylenu:metanol.

Procedura ogólna dla Tabeli 12: Glukozę (10 mmol, 1,8 g), kwas karboksylowy (30 mmol), Novozym 435 (500 mg) mieszano w *t*-butanolu (40 ml) przez 72 godziny w temperaturze 80 °C. Następnie odparowano rozpuszczalnik i produkt oczyszczano za pomocą chromatografii kolumnowej w układzie chlorek metylenu:metanol.



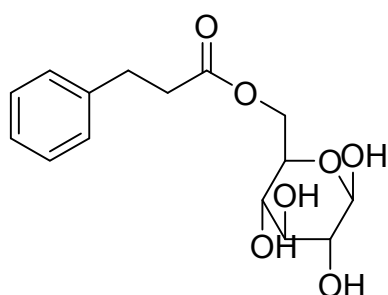
Kaprylan 6-O-glukozy 45 (mieszanina anomerów); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz; DMSO) δ_{H} 0,85 (3H, t, J 6,5 Hz, CH_3), 1,20-1,31 (8H, m, $4 \times \text{CH}_2$), 1,45-1,55 (2H, m, COCH_2CH_2), 2,23-2,31 (2H, m, COCH_2), 3,00-3,08 (1H, m, OCH_{2a}), 3,08-3,17 (1H, m, OCH_{2b}), 3,40-3,47 (1H, m, CH), 3,72-3,79 (1H, m, CH), 3,95-4,02 (1H, m, CH), 4,23-4,32 (1H, m, CH), 4,48 (1H, d, J 6,6 Hz, OH), 4,71 (1H, d, J 4,6 Hz, OH), 4,79-4,93 (1H, m, CH), 4,97-5,06 (1H, m, OH), 6,30 (0,7H, d, J 4,5 Hz, OH_a), 6,62 (0,2H, d, J 6,5 Hz, OH_b); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz; CDCl_3) δ_{C} 14,4, 22,5, 24,9, 28,2, 28,2, 31,6, 31,6, 33,9, 40,6, 64,3, 69,6, 70,6, 71,0, 72,7, 73,3, 74,0, 75,2, 76,9, 92,8, 97,4, 173,4; **HRMS** obliczone dla $\text{C}_{14}\text{H}_{26}\text{O}_7\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 329,1576, znalezione: 329,1573.



Fenylomaślan 6-*O*-glukozy 46 (mieszanina anomerów);

¹H NMR (400 MHz; DMSO) δ_{H} 2,92 (0,5H, t, *J* 8,2 Hz, CH_a), 3,01-3,10 (1H, m, OCH_{2a}), 3,10-3,20 (1,5H, m, $\text{OCH}_{2b}+\text{CH}_b$), 3,44 (0,5H, t, *J* 9,1 Hz, CH_a), 3,67 (2H, d, *J* 6,4 Hz, PhCH_2), 3,78-3,82 (1H, m, CH), 4,01-4,10 (1H, m, CH), 4,33 (2H, t, *J* 13,0 Hz, $2\times\text{CH}$), 4,51 (1H, s, OH), 4,71 (1H, s, OH), 4,91 (1H, s, OH), 4,99-5,11 (1H, m, OH), 6,35 (0,5H, s, OH_a), 6,67

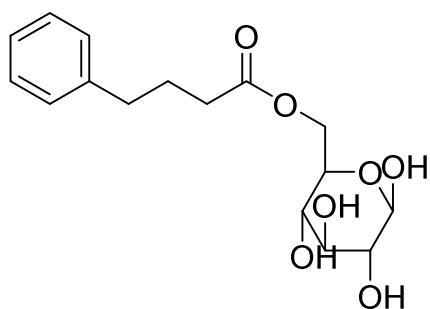
(0,5H, s, OH_b), 7,20-7,36 (5H, m, Ph); **¹³C NMR** (100 MHz; CDCl_3) δ_{C} 65,1, 69,6, 71,0, 72,6, 73,3, 75,1, 76,9, 92,8, 97,4, 127,2, 128,8, 128,8, 129,8, 134,8, 171,6; **HRMS** obliczone dla $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{O}_7\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 321,0950, znaleziono: 321,0940.



3-Fenylpropionian 6-*O*-glukozy 47 (mieszanina anomerów);

¹H NMR (400 MHz; DMSO) δ_{H} 2,59-2,65 (2H, m, PhCH_2), 2,85 (2H, t, *J* 7,6 Hz, OOCCH_2), 2,88-2,94 (0,5H, m, CH_a), 3,00-3,09 (1H, m, OCH_{2a}), 3,09-3,17 (1H, m, OCH_{2b}), 3,39-3,47 (1H, m, CH), 3,74-3,82 (1H, m, CH), 3,94-4,03 (1H, m, CH), 4,25-4,34 (1,5H, m, OH_a+CH), 4,49 (0,5H, d, *J* 6,7 Hz, OH_b), 4,71 (0,5H, s, OH_a), 4,85-4,92

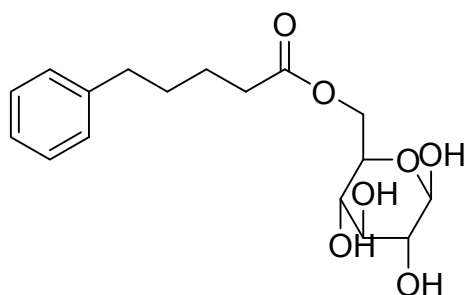
(1,5H, m, OH_b+OH), 5,01 (0,5H, d, *J* 5,7 Hz, OH_a), 5,07 (0,5H, d, *J* 5,4 Hz, OH_b), 6,32 (0,5H, s, OH_a), 6,64 (0,5H, s, OH_b), 7,14-7,31 (5H, m, Ph); **¹³C NMR** (100 MHz; CDCl_3) δ_{C} 30,7, 35,4, 35,5, 64,6, 69,6, 70,6, 71,1, 72,6, 73,3, 74,0, 75,2, 76,4, 76,5, 76,9, 92,8, 126,5, 128,7, 128,7, 128,8, 128,8, 141,0, 172,7; **HRMS** obliczone dla $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_7\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 335,1107, znaleziono: 335,1096.



4-Fenylomaślan 6-*O*-glukozy 48 (mieszanina anomerów);

¹H NMR (400 MHz; DMSO) δ_{H} 1,78-1,87 (2H, m, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 2,26-2,35 (2H, m, PhCH_2), 2,61 (2H, t, *J* 7,6 Hz, OOCCH_2), 2,89-2,95 (0,5H, m, CH_a), 3,02-3,19 (2H, m, OCH_2), 3,42-3,48 (0,5H, m, CH_b), 3,76-3,82 (0,5H, m, CH_a), 3,99-4,06 (1H, m, CH), 4,26-4,35 (1,5H, m, OH_a+CH), 4,51 (0,5H, d, *J* 6,7 Hz, OH_b), 4,73

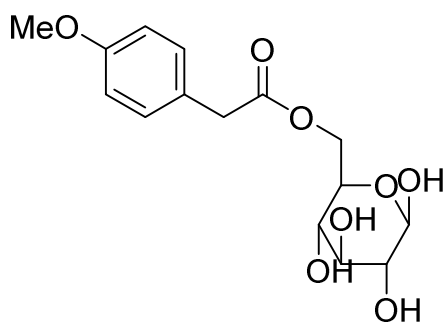
(0,5H, d, *J* 4,8 Hz, OH_a), 4,87-4,94 (1,5H, m, OH_b+OH), 5,02-5,11 (1H, m, OH), 6,33 (0,5H, s, OH_a), 6,65 (0,5H, s, OH_b), 7,14-7,25 (3H, m, Ph), 7,25-7,31 (2H, m, Ph); **¹³C NMR** (100 MHz; CDCl_3) δ_{C} 26,8, 26,8, 33,3, 33,3, 34,7, 64,4, 69,6, 70,6, 71,0, 72,7, 73,4, 74,0, 75,2, 76,9, 92,8, 97,4, 126,3, 128,8, 128,8, 128,8, 141,9, 141,9, 173,1; **HRMS** obliczone dla $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{O}_7\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 349,1263, znaleziono: 349,1258.



5-Fenylwalerian 6-O-glukozy 49

(mieszanina anomerów); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz; DMSO) δ_{H} 1,40-1,70 (4H, m, $2\times\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 2,29-2,37 (2H, m, PhCH_2), 2,58 (2H, t, J 7,0 Hz, OOCCH_2), 2,88-2,96 (0,5H, m, CH_a) 3,02-3,18 (2H, m, OCH_2), 3,42-3,47 (0,5H, m, CH_b), 3,76-3,82 (0,5H, m, CH_a), 3,96-4,04 (1H, m, CH), 4,25-4,33 (1,5H, m, OH_a+CH), 4,50

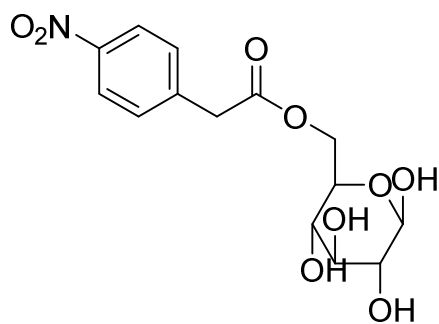
(0,5H, s, OH_b), 4,74 (0,5H, s, OH_a), 4,84-4,94 (1H, m, OH), 4,95-5,10 (1,5H, m, OH_b+OH), 6,33 (0,5H, s, OH_a), 6,65 (0,5H, s, OH_b), 7,14-7,24 (3H, m, Ph), 7,24-7,32 (2H, m, Ph); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz; CDCl_3) δ_{C} 24,5, 24,6, 30,7, 33,7, 33,8, 35,2, 64,3, 69,6, 70,6, 71,0, 72,7, 73,4, 74,0, 75,2, 76,9, 92,8, 97,4, 126,1, 128,7, 128,7, 128,7, 142,4, 142,4, 173,3, 173,3; **HRMS** obliczone dla $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{O}_7\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 363,1420, znalezienie: 363,1418.



p-Metoksyfenylomaślan 6-O-glukozy 50

(mieszanina anomerów); $^1\text{H NMR}$ (200 MHz; DMSO) δ_{H} 2,80-2,95 (0,5H, m, CH_a), 2,97-3,21 (2,5H, m, OCH_2+CH_b), 3,55-3,63 (4H, m, $\text{PhCH}_2+2\times\text{CH}$), 3,71 (3H, s, OCH_3), 3,75-3,81 (0,5H, m, CH_a), 3,92-4,15 (1H, m, CH), 4,21-4,35 (1H, m, CH), 4,56 (0,5H, d, J 6,7 Hz, OH_a), 4,78 (0,5H, d, J 4,7 Hz, OH_b), 4,86-5,01 (1H, m,

OH), 5,01-5,17 (1H, m, OH), 6,38 (0,5H, d, J 4,1 Hz, OH_a), 6,71 (0,5H, d, J 6,6 Hz, OH_b), 6,80-6,93 (2H, m, Ph), 7,10-7,15 (2H, m, Ph); $^{13}\text{C NMR}$ (50 MHz; CDCl_3) δ_{C} 39,6, 55,7, 65,0, 69,8, 70,8, 71,2, 72,8, 73,5, 75,3, 77,0, 93,0, 97,6, 114,4, 126,9, 131,0, 158,8, 172,2; **HRMS** obliczone dla $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_8\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 351,1056, znalezienie: 351,1051.



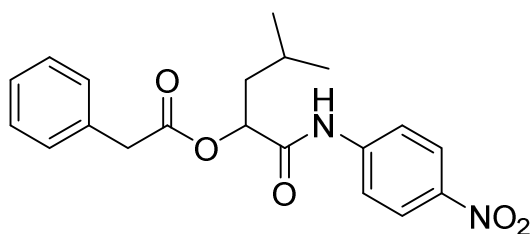
p-Nitrofenylomaślan 6-O-glukozy 51

(mieszanina anomerów); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz; DMSO) δ_{H} 2,90 (0,5H, t, J 8,2 Hz, CH_a), 2,97-3,08 (1H, m, OCH_{2a}), 3,08-3,17 (1,5H, m, $\text{OCH}_{2b}+\text{CH}_b$), 3,20-3,36 (1,5H, m, $\text{CH}+\text{CH}_a$), 3,42 (0,5H, t, J 9,1 Hz, CH), 3,75-3,81 (0,5H, m, CH_b), 3,82-3,93 (2H, m, PhCH_2), 4,02-4,09 (1H, m, CH), 4,25-4,40 (1,5H, m, $2\times\text{CH}$), 4,40-4,62

(1H, m, CH), 4,89 (1H, d, J 3,4 Hz, OH), 5,02 (1H, s, OH), 4,99-5,11 (1H, m, OH), 6,33 (0,5H, s, OH_a), 6,66 (0,5H, s, OH_b), 7,50-7,59 (2H, m, Ph), 8,02-8,20 (2H, m, Ph); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz; CDCl_3) δ_{C} 40,1, 65,1, 69,6, 70,6, 71,0, 72,6, 73,3, 73,9, 75,2, 76,9, 92,8, 97,4, 123,6, 123,8, 131,3, 142,8, 147,0, 170,8, 170,8; **HRMS** obliczone dla $\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{NO}_9\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 366,0801, znalezienie: 366,0792.

6.3.1. Wpływ chiralnych nieracemicznych surfaktantów na reakcję Passeriniego

Procedura ogólna dla Tabeli 13: Kwas octowy (0,2 mmol, 12 μ l), dodekanal (0,2 mmol, 44 μ l) oraz izocyjanek benzylový (0,2 mmol, 24 μ l) lub kwas fenylooctowy (0,2 mmol, 27 mg), aldehyd izowalerianowy (0,2 mmol, 22 μ l) oraz *p*-izocyjanonitrobenzen (0,2 mmol, 30 mg) mieszano w buforze fosforanowym (2 ml, pH = 7,4; c = 10 mM) w obecności dodatku (0,04 mmol) przez 24 godziny w temperaturze pokojowej. Mieszaninę reakcyjną ekstrahowano chlorkiem metylenu (3x5 ml). Połączone fazy organiczne wysuszono nad MgSO₄. Po odsączeniu środka suszącego i odparowaniu rozpuszczalnika, surowy produkt oczyszczano za pomocą chromatografii kolumnowej w układzie heksan:octan etylu. Dodatkowo nadmiar enancjomeryczny produktów analizowano za pomocą HPLC przy użyciu kolumny z chiralnym wypełnieniem, kolumna Chiralpak IA (250 x 4,6 mm). Związek **32b**: eluent heksan:izopropanol: 85:15; przepływ 1 ml / min. Związek **52**: eluent: heksan:izopropanol 85:15; przepływ: 1 ml / min.



Związek 52; Żółte kryształy; ¹H NMR (400 MHz; CDCl₃) δ_{H} 0,90-1,00 (6H, m, CCH(CH₃)₂), 1,21-1,27 (1H, m, CHCH₃), 1,76-1,83 (2H, m, CHCH₂CH), 3,78 (2H, s, PhCH₂), 5,37 (1H, t, *J* 6,8 Hz, CH), 7,25-7,29 (2H, m, Ph), 7,35-7,43 (5H, m, Ph), 4,49 (1H, s br, NH), 8,08-8,12 (2H, m, Ph); ¹³C NMR (100 MHz; CDCl₃) δ_{C} 21,7, 23,0, 24,6, 40,6, 41,7, 72,9, 119,2, 124,8, 127,8, 129,3, 129,3, 133,4, 168,6, 169,7.

6.4. Reakcje enzymatyczne oraz następcza reakcja Passeriniego

6.4.1. Utlenianie alkoholu oraz reakcja Passeriniego

Procedura ogólna dla utleniania za pomocą lakazy z *Trametes versicolor* i TEMPO: Alkohol benzylový (0,1 mmol, 10 μ l), lakazę z *Trametes versicolor* (20 mg) oraz TEMPO (0,1 mmol, 16 mg) mieszano w buforze fosforanowym (pH = 5,7, c = 100 mM) przez 24 godziny w temperaturze pokojowej we fiolce przykrytej folią aluminiową z dziurkami. Przebieg reakcji śledzono za pomocą chromatografii cienkowarstwowej (TLC) w układzie heksan:octan etylu 8:2 (v/v).

Procedura ogólna dla Tabeli 14: Alkohol benzylový (0,5 mmol, 52 μ l), lakazę z *Trametes versicolor* (20 mg), mediator (0,1 mmol), kwas benzoesowy (0,5 mmol, 61 mg) oraz izocyjanek *p*-metoksybenzylový (0,5 mmol, 67 μ l) mieszano w buforze fosforanowym (5 ml, pH = 5,7, c = 100 mM) w obecności DODAB (0,1 mmol, 63 mg) przez odpowiedni czas w temperaturze pokojowej we fiolce przykrytej folią aluminiową z dziurkami. Mieszaninę reakcyjną ekstrahowano chlorkiem metylenu (3x5 ml). Połączone fazy organiczne wysuszono nad MgSO₄. Po odsączeniu środka suszącego i odparowaniu

rozpuszczalnika, surowy produkt oczyszczano za pomocą chromatografii kolumnowej w układzie heksan:octan etylu.

Procedura ogólna dla Rysunku 17: Alkohol benzylowy (0,5 mmol, 52 μ l), lakazę z *Trametes versicolor* (20 mg), TEMPO (0,1 mmol, 16 mg), kwas benzoesowy (0,5 mmol, 61 mg) oraz izocyjanek *p*-metoksybenzylowy (0,5 mmol, 67 μ l) mieszano w buforze fosforanowym o odpowiedniej wartości pH (5 ml, c = 100 mM) w obecności DODAB (0,1 mmol, 63 mg) przez 48 godzin w temperaturze pokojowej we fiolce przykrytej folią aluminiową z dziurkami. Mieszaninę reakcyjną ekstrahowano chlorkiem metylenu (3x5 ml). Połączone fazy organiczne wysuszono nad MgSO₄. Po odsączeniu środka suszącego i odparowaniu rozpuszczalnika, surowy produkt oczyszczano za pomocą chromatografii kolumnowej w układzie heksan:octan etylu.

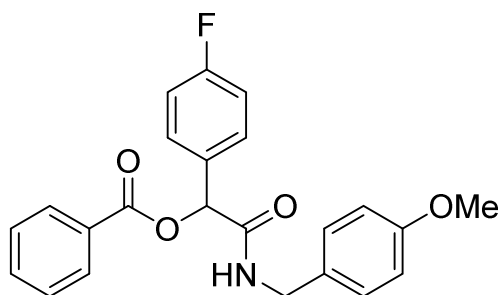
Procedura ogólna dla Tabeli 15: Alkohol benzylowy (0,5 mmol, 52 μ l), lakazę z *Trametes versicolor* (20 mg), TEMPO (0,1 mmol, 16 mg), kwas benzoesowy (0,5 mmol, 61 mg) oraz izocyjanek *p*-metoksybenzylowy (0,5 mmol, 67 μ l) mieszano w buforze fosforanowym (5 ml, pH = 5,2; c = 100 mM) w obecności odpowiedniego dodatku (0,1 mmol) przez 48 godzin w temperaturze pokojowej we fiolce przykrytej folią aluminiową z dziurkami. Mieszaninę reakcyjną ekstrahowano chlorkiem metylenu (3x5 ml). Połączone fazy organiczne wysuszono nad MgSO₄. Po odsączeniu środka suszącego i odparowaniu rozpuszczalnika, surowy produkt oczyszczano za pomocą chromatografii kolumnowej w układzie heksan:octan etylu.

Procedura ogólna dla Rysunku 18: Alkohol benzylowy (0,5 mmol, 52 μ l), lakazę z *Trametes versicolor* (20 mg), TEMPO (0,1 mmol, 16 mg), kwas benzoesowy (0,5 mmol, 61 mg) oraz izocyjanek *p*-metoksybenzylowy (0,5 mmol, 67 μ l) mieszano w buforze fosforanowym (5 ml, pH = 5,2; c = 100 mM) w obecności odpowiedniej ilości DODAB przez 48 godzin w temperaturze pokojowej we fiolce przykrytej folią aluminiową z dziurkami. Mieszaninę reakcyjną ekstrahowano chlorkiem metylenu (3x5 ml). Połączone fazy organiczne wysuszono nad MgSO₄. Po odsączeniu środka suszącego i odparowaniu rozpuszczalnika, surowy produkt oczyszczano za pomocą chromatografii kolumnowej w układzie heksan:octan etylu.

Procedura ogólna dla Tabeli 16: Alkohol benzylowy (0,5 mmol, 52 μ l), lakazę z *Trametes versicolor* (20 mg) oraz TEMPO (0,1 mmol, 16 mg) mieszano w buforze fosforanowym (5 ml, pH = 5,2, c = 100 mM) w obecności DODAB (0,1 mmol, 63 mg) przez 24 godziny we fiolce przykrytej folią aluminiową z dziurkami. Następnie dodano kwas benzoesowy (0,5 mmol, 61 mg) oraz izocyjanek *p*-metoksybenzylowy (0,5 mmol, 67 μ l), mieszano w buforze fosforanowym przez kolejne 24 godziny w temperaturze pokojowej. Mieszaninę reakcyjną przesączono przez watę, osad oczyszczono za pomocą chromatografii kolumnowej w układzie heksan:octan etylu. Przesącz został użyty do następnego cyklu reakcyjnego, bezpośrednio do niego dodano alkohol benzylowy (0,5 mmol, 52 μ l) i mieszano przez kolejne 24 godziny.

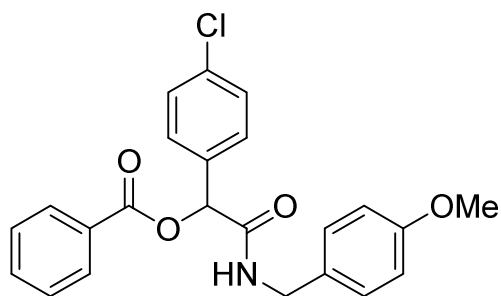
Procedura ogólna dla Tabeli 17: Alkohol (0,5 mmol), lakazę z *Trametes versicolor* (20 mg) oraz TEMPO (0,1 mmol, 16 mg) mieszano w buforze fosforanowym (5 ml, pH = 5,2,

c = 100 mM) w obecności DODAB (0,1 mmol, 63 mg) przez 24 godziny we fiolce przykrytej folią aluminiową z dziurkami. Następnie dodano kwas benzoesowy (0,5 mmol, 61 mg) oraz izocyjanek *p*-metoksybenzylowy (0,5 mmol, 67 μ l), mieszano w buforze fosforanowym przez kolejne 24 godziny w temperaturze pokojowej. Mieszaninę reakcyjną ekstrahowano chlorkiem metylenu (3x5 ml). Połączone fazy organiczne wysuszono nad MgSO₄. Po odsączeniu środka suszącego i odparowaniu rozpuszczalnika, surowy produkt oczyszczano za pomocą chromatografii kolumnowej w układzie heksan:octan etylu.



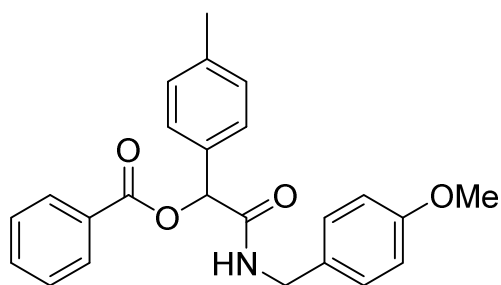
Związek 53b; Białe kryształy; **t.top.** 130-131 °C; **¹H NMR** (400 MHz; CDCl₃) δ_{H} 3,78 (3H, s, CH₃O), 4,41-4,49 (2H, m, CH₂N), 6,34 (1H, s, CH), 6,48 (1H, br s, NH), 6,83-6,86 (2H, m, Ph), 7,05-7,10 (2H, m, Ph), 7,15-7,17 (2H, m, Ph), 7,44-7,48 (2H, m, Ph), 7,48-7,55 (2H, m, Ph), 7,55-7,64 (1H, m, Ph), 8,02-8,07 (2H, m, Ph); **¹³C NMR** (100 MHz; CDCl₃) δ_{C} 42,9, 55,3,

75,2, 114,2, 115,7, 115,9, 128,6, 129,0, 129,3, 129,4, 129,7, 129,8, 131,5, 131,5, 133,7, 159,2, 164,3, 164,9, 168,1; **HRMS** obliczone dla C₂₃H₂₀NO₄FNa [M+Na]⁺: 416,1274, znalezione: 416,1276.



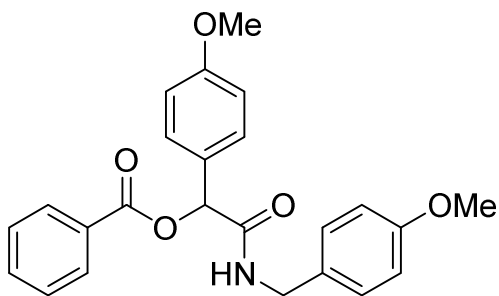
Związek 53c; Białe kryształy; **t.top.** 149-150 °C; **¹H NMR** (400 MHz; CDCl₃) δ_{H} 3,79 (3H, s, CH₃O), 4,41-4,45 (2H, m, CH₂N), 6,32 (1H, s, CH), 6,47 (1H, br s, NH), 6,83-6,85 (2H, m, Ph), 7,15-7,16 (2H, m, Ph), 7,35-7,37 (2H, m, Ph), 7,44-7,51 (4H, m, Ph), 7,56-7,62 (1H, m, Ph), 8,01-8,07 (2H, m, Ph); **¹³C NMR** (100 MHz; CDCl₃) δ_{C} 43,0, 55,3, 75,2, 114,2, 128,66,

128,72, 128,97, 128,99, 129,65, 129,80, 133,8, 134,1, 135,0, 159,2, 164,8, 167,8; **HRMS** obliczone dla C₂₃H₂₀NO₄ClNa [M+Na]⁺: 432,0979, znalezione: 432,0980.

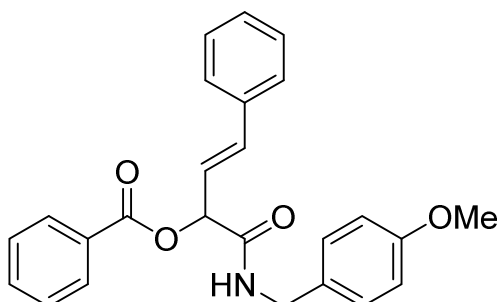


Związek 53d; Białe kryształy; **t.top.** 133-134 °C; **¹H NMR** (400 MHz; CDCl₃) δ_{H} 2,36 (3H, s, PhCH₃), 3,78 (3H, s, CH₃O), 4,36-4,49 (2H, m, CH₂N), 6,33 (1H, s, CH), 6,40 (1H, br s, NH), 6,82-6,85 (2H, m, Ph), 7,15-7,19 (4H, m, Ph), 7,42-7,46 (4H, m, Ph), 7,56-7,59 (1H, m, Ph), 8,04-8,07 (2H, m, Ph); **¹³C NMR** (100 MHz; CDCl₃) δ_{C} 21,2, 42,9, 55,3, 75,9, 114,1, 127,4,

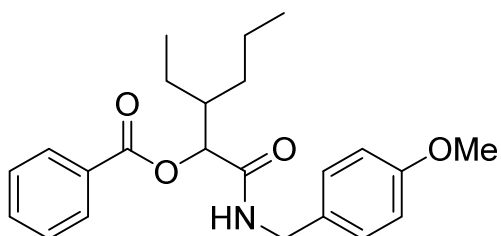
128,5, 128,9, 129,3, 129,5, 129,8, 129,9, 132,6, 133,5, 139,0, 159,1, 165,0, 168,4; **HRMS** obliczone dla C₂₄H₂₃NO₄Na [M+Na]⁺: 412,1525, znalezione: 412,1520.



Związek 53e; Białe kryształy; **t.top.** 151-152 °C; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz; CDCl_3) δ_{H} 3,79 (3H, s, CH_3O), 3,81 (3H, s, CH_3O), 4,39-4,50 (2H, m, CH_2N), 6,32 (1H, s, CH), 6,40 (1H, br s, NH), 6,83-6,85 (2H, m, Ph), 6,90-6,93 (2H, m, Ph), 7,16-7,17 (2H, m, Ph), 7,42-7,49 (4H, m, Ph), 7,56- 7,61 (1H, m, Ph), 8,05-8,08 (2H, m, Ph); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz; CDCl_3) δ_{C} 42,9, 55,3, 55,30, 75,70, 114,14, 114,25, 127,72, 128,54, 129,0, 129,0, 129,3, 129,8, 129,9, 133,5, 159,1, 160,2, 165,1, 168,5; **HRMS** obliczone dla $\text{C}_{24}\text{H}_{23}\text{NO}_5\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 428,1474, znaleziono: 428,1474.



Związek 53f; Białe kryształy; **t.top.** 126-127 °C; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz; CDCl_3) δ_{H} 3,78 (3H, s, CH_3O), 4,44-4,47 (2H, m, CH_2N), 6,05 (1H, dd, J 1,2 Hz J 6,8 Hz, $\text{CHCH}=\text{CH}$), 6,43 (1H, br s, NH), 6,66 (1H, dd, J 6,8 Hz J 16 Hz, $\text{CHCH}=\text{CH}$), 6,83 (1H, dd, J 1,2 Hz J 16 Hz, CHPh), 6,84-6,88 (2H, m, Ph), 7,20-7,22 (2H, m, Ph), 7,27-7,34 (4H, m, Ph), 7,40-7,42 (2H, m, Ph), 7,45- 7,49 (2H, m, Ph), 7,59-7,63 (1H, m, Ph), 8,08-8,11 (2H, m, Ph); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz; CDCl_3) δ_{C} 42,9, 55,3, 74,9, 114,2, 122,5, 126,9, 128,4, 128,6, 128,6, 129,0, 129,2, 129,8, 129,8, 133,6, 134,9, 135,7, 159,2, 165,2, 168,0; **HRMS** obliczone dla $\text{C}_{25}\text{H}_{23}\text{NO}_4\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 424,1525, znaleziono: 424,1519.



Związek 53h – mieszanina diastereoizomerów w proporcji 1:1; Bezbarwny olej; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz; CDCl_3) δ_{H} 0,87-0,89 (3H, m, CH_3CH_2), 0,95-0,99 (3H, m, CH_3CH_2), 1,16-1,43 (8H, br m, $4\times\text{CH}_2$), 2,07-2,15 (1H, m, $\text{CH}(\text{CH}_2)_2$), 3,78 (3H, s, CH_3O), 4,31-4,39 (1H, m, CHHN), 4,41-4,50 (2H, m, CHHN), 5,56-5,62 (1H, m, CH), 6,23-6,29 (1H, m, NH), 6,81-6,84 (2H, m, Ph), 7,16-7,18 (2H, m, Ph), 7,44-7,49 (2H, m, Ph), 7,58-7,60 (1H, m, Ph), 8,03-8,05 (2H, m, Ph); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz; CDCl_3) δ_{C} 11,7, 11,7, 13,9, 14,0, 22,5, 22,7, 22,9, 23,1, 29,2, 29,3, 29,5, 42,1, 42,4, 42,7, 42,7, 55,2, 75,8, 76,1, 114,1, 128,6, 128,9, 129,0, 129,3, 129,8, 130,0, 133,6, 133,8, 159,0, 165,4, 169,6; **HRMS** obliczone dla $\text{C}_{24}\text{H}_{31}\text{NO}_4\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 420,2151, znaleziono: 420,2149.

6.4.2. Badania nad reakcjami Passeriniego z estru

Procedura ogólna na badania przesiewowe preparatów enzymatycznych: W próbówce Eppendorfa umieszczono preparat enzymatyczny (1 mg), ester (10 μl) oraz

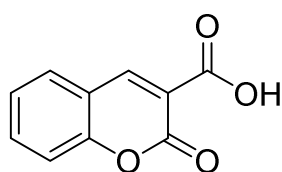
bufor fosforanowy pH = 5,2 (0,5 ml), a następnie wytrząsano przez noc w temperaturze pokojowej. Następnie mieszaninę reakcyjną ekstrahowano za pomocą octanu etylu. Ekstrakt analizowano za pomocą chromatografii cienkowarstwowej w układzie heksan:octan etylu 8:2 (v/v).

Procedura ogólna dla Tabeli 18: W fiolce umieszczono ester benzyłowy (0,5 mmol), TEMPO (0,1 mmol), laktazę z *Trametes versicolor* (20 mg), odpowiednią hydrolazę (20 mg), oraz bufor fosforanowy o pH 5,2 (5 ml), a następnie mieszano przez 48 godzin na mieszadle magnetycznym, przykryte folią aluminiową z dziurami. Mieszaninę reakcyjną ekstrahowano chlorkiem metylenu (3x5 ml). Połączone fazy organiczne wysuszono nad siarczanem magnezu. Surowy produkt oczyszczano za pomocą chromatografii kolumnowej w układzie heksan:octan etylu

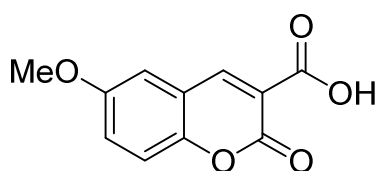
6.5. Otrzymywanie α -acyloksamidów z ugrupowaniem kumaryny

Procedura ogólna dla Tabeli 19: Alkohol salicyłowy (0,1 mmol, 12 mg), lakazę z *Trametes versicolor* (2 mg) oraz mediator (0,02 mmol) mieszano w buforze fosforanowym (1 ml, pH = 5,2, c = 100 mM) przez 24 godziny w temperaturze pokojowej na mieszadle magnetycznym, przykryte folią aluminiową z dziurami. Następnie do mieszaniny reakcyjnej dodano aceton do objętości 5 ml. Przebieg reakcji analizowano za pomocą HPLC w układzie odwróconych faz na kolumnie Kromasil C18 (5 μ m; 250 x 4 mm) jako eluent stosując mieszaninę acetonitrylu i wody 8:2 (v/v), przepływ 1 ml / min.

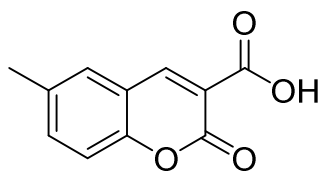
Procedura ogólna dla Tabeli 20: Pochodną aldehydu salicyłowego (1 mmol) oraz kwas Meldruma (1 mmol, 144 mg) mieszano w buforze fosforanowym (10 ml, pH = 5,2, c = 100 mM) przez 24 godziny w temperaturze pokojowej. Następnie odsączono osad i wypłukano wodą.



Związek 54a; Białe kryształy; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz; CDCl_3) δ_{H} 7,44-7,55 (2H, m, Ph), 7,76-7,82 (2H, m, Ph), 8,95 (1H, s, CH), 8,56 (1H, s, C=CH), 12,23 (1H, s br, COOH); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz; CDCl_3) δ_{C} 114,9, 117,2, 118,5, 126,2, 130,5, 135,7, 151,4, 154,6, 162,4, 164,1.

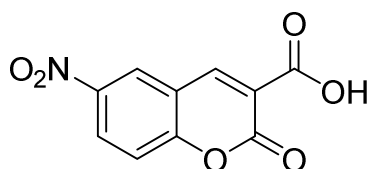


Związek 54b; Żółte kryształy; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz; CDCl_3) δ_{H} 3,62 (3H, s, OCH_3), 7,31-7,36 (1H, m, Ph), 7,37-7,42 (1H, m, Ph), 7,46-7,49 (1H, m, Ph), 8,95 (1H, s, CH), 8,69 (1H, s, C=CH), 13,20 (1H, s br, COOH); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz; CDCl_3) δ_{C} 56,3, 112,4, 117,7, 118,9, 122,5, 148,3, 149,4, 156,2, 157,44, 164,4.



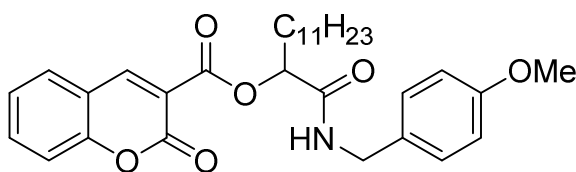
153,1, 157,4, 164,5.

Związek 54c; Białe kryształy; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz; CDCl_3) δ_{H} 2,35 (3H, s, CH_3), 7,29-7,34 (1H, m, Ph), 7,51-7,55 (1H, m, Ph), 7,64-7,68 (1H, m, Ph), 8,95 (1H, s, CH), 8,53 (1H, s, $\text{C}=\text{CH}$), 13,31 (1H, s br, COOH); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz; CDCl_3) δ_{C} 20,6, 116,4, 118,6, 130,1, 134,6, 135,7, 148,6,



Związek 54d; Żółte kryształy; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz; CDCl_3) δ_{H} 7,60-7,65 (1H, m, Ph), 8,45-8,51 (1H, m, Ph), 8,85-8,30 (1H, m, Ph), 8,53 (2H, s, $\text{Ph}+\text{C}=\text{CH}$), 13,45 (1H, s br, COOH); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz; CDCl_3) δ_{C} 118,2, 118,8, 126,4, 128,8, 144,1, 147,6, 155,9, 158,5, 164,0.

Procedura ogólna dla Tabeli 21: Kwas kumaryno-3-karboksylowy (0,5 mmol, 95 mg), dodekanal (0,5 mmol, 111 μl) oraz izocyjanek *p*-metoksybenzylowy (0,5 mmol, 67 μl) mieszano w buforze fosforanowym (5 ml, $\text{pH} = 5,2$; $c = 100 \text{ mM}$) w obecności dodatku (0,1 mmol) przez 24 godziny w temperaturze pokojowej. Mieszaninę reakcyjną ekstrahowano chlorkiem metylenu (3x5 ml). Połączone fazy organiczne wysuszono nad MgSO_4 . Po odsączeniu środka suszącego i odparowaniu rozpuszczalnika, surowy produkt oczyszczano za pomocą chromatografii kolumnowej w układzie heksan:octan etylu.



Związek 55a; Białe kryształy; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz; CDCl_3) δ_{H} 0,86 (3H, t, J 6,9 Hz, CH_2CH_3), 1,16-1,45 (18H, m, $9\times\text{CH}_2$), 1,89-2,08 (2H, m, CHCH_2), 3,77 (3H, s, OCH_3), 4,38-4,51 (2H, m, NCH_2), 5,54 (1H, dd, J 6,7, 4,3 Hz, CH_2CH), 6,82-6,87 (2H, m, Ph), 7,14-7,30 (1H, m, Ph), 7,34-7,41 (3H, m, Ph), 7,62-7,71 (2H, m, Ph), 8,20-8,27 (1H, m, NH), 8,56 (1H, s, $\text{C}=\text{CH}$); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz; CDCl_3) δ_{C} 14,1, 22,6, 29,2, 29,3, 29,4, 29,5, 29,6, 29,6, 31,9, 42,6, 55,2, 75,6, 114,0, 116,9, 117,8, 118,1, 125,3, 129,1, 129,7, 130,5, 134,8, 149,8, 155,1, 157,9, 158,8, 162,6, 169,5; **HRMS** obliczone dla $\text{C}_{31}\text{H}_{39}\text{NO}_6\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 544,2675, znalezione: 544,2669.

Procedura ogólna dla Rysunku 19: Kwas kumaryno-3-karboksylowy (0,5 mmol, 95 mg), dodekanal (0,5 mmol, 111 μl) oraz izocyjanek *p*-metoksybenzylowy (0,5 mmol, 67 μl) mieszano w buforze fosforanowym (5 ml, $\text{pH} = 5,2$; $c = 100 \text{ mM}$) w obecności odpowiedniej ilości 4-fenylomaślanu 6-*O*-glukozy przez 24 godziny w temperaturze pokojowej. Mieszaninę reakcyjną ekstrahowano chlorkiem metylenu (3x5 ml). Połączone fazy organiczne wysuszono nad MgSO_4 . Po odsączeniu środka suszącego i odparowaniu rozpuszczalnika, surowy produkt oczyszczano za pomocą chromatografii kolumnowej w układzie heksan:octan etylu.

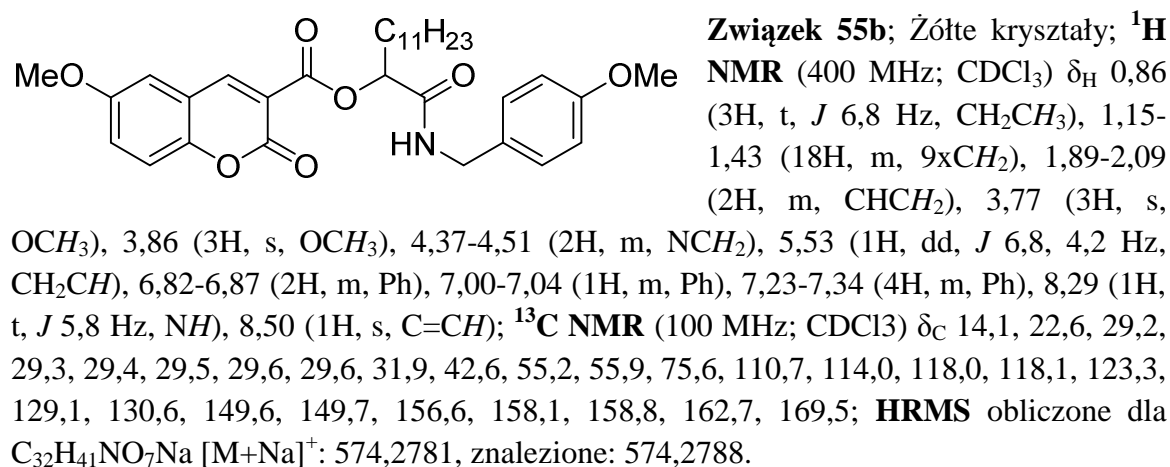
Procedura ogólna dla Tabeli 22: Odpowiednią ilość alkoholu salicylowego, lakazę z *Trametes versicolor* (10 mg) oraz mediator (0,1 mmol) mieszano w buforze fosforanowym (5 ml, $\text{pH} = 5,2$, $c = 100 \text{ mM}$) przez 24 godziny w temperaturze pokojowej

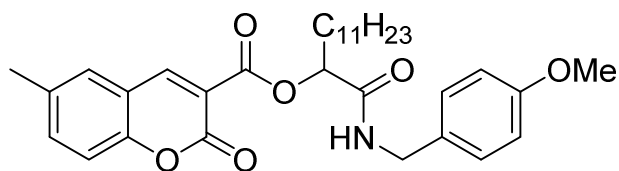
na mieszadle magnetycznym, przykryte folią aluminiową z dziurami. Następnie dodano kwas Meldruma (0,5 mmol, 72 mg) oraz 4-fenylomaślan 6-*O*-glukozy (0,1 mmol, 33 mg) i mieszano przez następne 24 godziny. Dodano dodekanal (0,5 mmol, 111 μ l) oraz izocyjanek *p*-metoksybenzylowy (0,5 mmol, 67 μ l) i mieszano przez kolejne 24 godziny. Mieszaninę reakcyjną ekstrahowano chlorkiem metylenu (3x5 ml). Połączone fazy organiczne wysuszono nad MgSO₄. Po odsączeniu środka suszącego i odparowaniu rozpuszczalnika, surowy produkt oczyszczano za pomocą chromatografii kolumnowej w układzie heksan:octan etylu.

Procedura ogólna dla Tabeli 23: Metoda 1 : Alkohol (1 mmol), lakazę z *Trametes versicolor* (10 mg) oraz mediator (0,1 mmol) mieszano w buforze fosforanowym (5 ml, pH = 5,2, c = 100 mM) przez 24 godziny w temperaturze pokojowej na mieszadle magnetycznym, przykryte folią aluminiową z dziurami. Następnie dodano kwas Meldruma (0,5 mmol, 72 mg) oraz 4-fenylomaślan 6-*O*-glukozy (0,1 mmol, 33 mg) i mieszano przez następne 24 godziny. Dodano aldehyd (0,5 mmol) oraz izocyjanek (0,5 mmol) i mieszano przez kolejne 24 godziny. Mieszaninę reakcyjną ekstrahowano chlorkiem metylenu (3x5 ml). Połączone fazy organiczne wysuszono nad MgSO₄. Po odsączeniu środka suszącego i odparowaniu rozpuszczalnika, surowy produkt oczyszczano za pomocą chromatografii kolumnowej w układzie heksan:octan etylu.

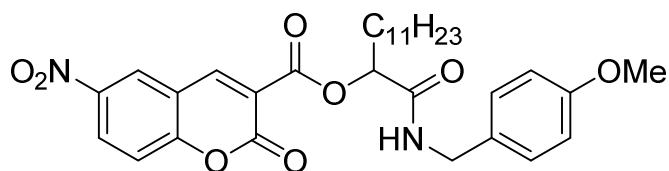
Metoda 2: Kwas karboksylowy (0,5 mmol), aldehyd (0,5 mmol, 111 μ l) oraz izocyjanek (0,5 mmol) mieszano w buforze fosforanowym (5 ml, pH = 5,2; c = 100 mM) w obecności 4-fenylomaślanu 6-*O*-glukozy (0,1 mmol, 33 mg) przez 24 godziny w temperaturze pokojowej. Mieszaninę reakcyjną ekstrahowano chlorkiem metylenu (3x5 ml). Połączone fazy organiczne wysuszono nad MgSO₄. Po odsączeniu środka suszącego i odparowaniu rozpuszczalnika, surowy produkt oczyszczano za pomocą chromatografii kolumnowej w układzie heksan:octan etylu.

Metoda 3: Kwas karboksylowy (0,5 mmol), aldehyd (0,5 mmol, 111 μ l) oraz izocyjanek (0,5 mmol) mieszano w chlorku metylenu (5 ml) przez 24 godziny w temperaturze pokojowej. Po odparowaniu rozpuszczalnika, surowy produkt oczyszczano za pomocą chromatografii kolumnowej w układzie heksan:octan etylu

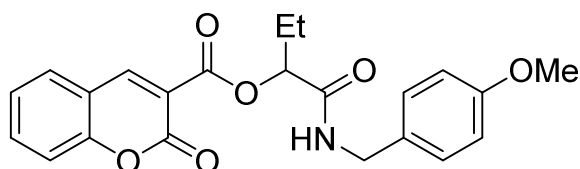




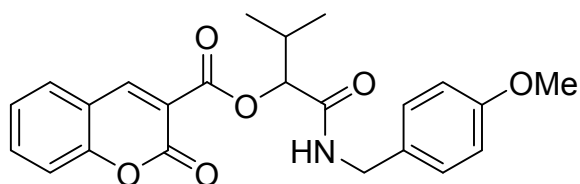
Związek 55c; Białe kryształy; ^1H NMR (400 MHz; CDCl_3) δ_{H} 0,86 (3H, t, J 6,8 Hz, CH_2CH_3), 1,14-1,45 (18H, m, $9\times\text{CH}_2$), 1,90-2,09 (2H, m, CHCH_2), 2,43 (3H, s, PhCH_3), 3,77 (3H, s, OCH_3), 4,37-4,52 (2H, m, NCH_2), 5,46-5,57 (1H, m, CH_2CH), 6,81-6,86 (2H, m, Ph), 7,23-7,29 (3H, m, Ph), 7,39-7,41 (1H, m, Ph), 7,45-7,50 (1H, m, Ph), 8,29 (1H, t, J 5,7 Hz, NH), 8,50 (1H, s, $\text{C}=\text{CH}$); ^{13}C NMR (100 MHz; CDCl_3) δ_{C} 14,1, 20,7, 22,6, 29,3, 29,4, 29,5, 29,6, 29,6, 31,9, 42,6, 55,2, 75,6, 114,0, 116,6, 117,6, 117,9, 129,1, 129,3, 130,6, 135,2, 136,0, 149,8, 153,3, 158,1, 158,8, 162,8, 169,6; **HRMS** obliczone dla $\text{C}_{32}\text{H}_{41}\text{NO}_6\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 558,2832, znaleziono: 558,2834.



Związek 55d; Żółte kryształy; ^1H NMR (400 MHz; CDCl_3) δ_{H} 0,86 (3H, t, J 6,9 Hz, CH_2CH_3), 1,15-1,37 (18H, m, $9\times\text{CH}_2$), 1,90-2,09 (2H, m, CHCH_2), 3,78 (3H, s, OCH_3), 4,37-4,50 (2H, m, NCH_2), 5,53 (1H, dd, J 6,7, 4,3 Hz, CH_2CH), 6,82-6,87 (2H, m, Ph), 7,21-7,27 (2H, m, Ph), 7,50-7,54 (1H, m, Ph), 7,88 (1H, t, J 5,7 Hz, NH), 8,50-8,64 (3H, m, Ph+ $\text{C}=\text{CH}$); ^{13}C NMR (100 MHz; CDCl_3) δ_{C} 14,1, 22,6, 29,2, 29,3, 29,4, 29,5, 29,6, 29,6, 31,9, 42,7, 55,2, 76,1, 114,0, 117,7, 118,2, 120,3, 125,4, 129,0, 129,1, 130,2, 144,5, 148,3, 156,1, 158,1, 158,9, 161,5, 169,1; **HRMS** obliczone dla $\text{C}_{31}\text{H}_{38}\text{N}_2\text{O}_8\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 589,2526, znaleziono: 589,2527.

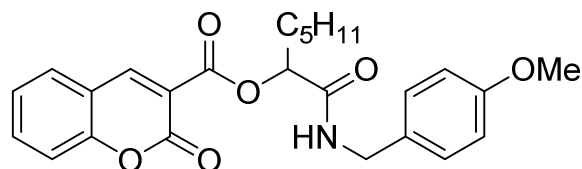


Związek 55e; Białe kryształy; ^1H NMR (400 MHz; CDCl_3) δ_{H} 0,94 (3H, t, J 7,4 Hz, CH_2CH_3), 1,96-2,13 (2H, m, CHCH_2), 3,78 (3H, s, OCH_3), 4,38-4,52 (2H, m, NCH_2), 5,52 (1H, dd, J 6,1, 4,5 Hz, CH_2CH), 6,82-6,88 (2H, m, Ph), 7,14-7,29 (2H, m, Ph), 7,33-7,41 (2H, m, Ph), 7,62-7,72 (2H, m, Ph), 8,25 (1H, s br, NH), 8,57 (1H, s, $\text{C}=\text{CH}$); ^{13}C NMR (100 MHz; CDCl_3) δ_{C} 8,7, 25,2, 42,6, 55,2, 76,4, 114,0, 116,9, 117,8, 118,1, 125,3, 129,8, 130,5, 134,9, 149,9, 155,2, 158,8, 162,6, 169,3; **HRMS** obliczone dla $\text{C}_{22}\text{H}_{21}\text{NO}_6\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 418,1267, znaleziono: 418,1255.



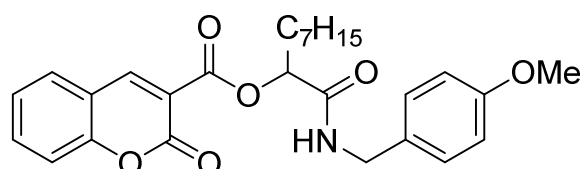
Związek 55f; Białe kryształy; ^1H NMR (400 MHz; CDCl_3) δ_{H} 0,96 (6H, dd, J 6,9, 23,6 Hz, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 2,43-2,53 (1H, m, CHCH_3), 3,75 (3H, s, OCH_3), 4,35-4,53 (2H, m, NCH_2), 5,49 (1H, d, J 2,2 Hz, OCH), 6,77-6,86 (2H, m, Ph), 7,19-7,29 (2H, m, Ph), 7,29-7,40 (2H, m, Ph), 7,60-7,71

(2H, m, Ph), 8,24 (1H, s br, NH); ^{13}C NMR (100 MHz; CDCl_3) δ_{C} 16,4, 18,9, 30,9, 42,5, 55,2, 79,3, 113,9, 116,9, 117,8, 118,3, 125,3, 129,1, 129,7, 130,6, 134,8, 149,6, 155,1, 158,0, 158,8, 162,9, 169,0; **HRMS** obliczone dla $\text{C}_{23}\text{H}_{23}\text{NO}_6\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 432,1423, znalezienie: 432,1411.



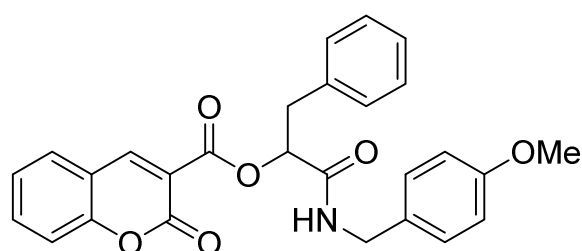
Związek 55g; Białe kryształy; ^1H NMR (400 MHz; CDCl_3) δ_{H} 0,84 (3H, t, J 6,6 Hz, CH_2CH_3), 1,21-1,43 (6H, m, $3\times\text{CH}_2$), 1,90-2,10 (2H, m, CHCH_2), 3,77 (3H, s, OCH_3), 4,38-4,52 (2H, m, NCH_2), 5,54

(1H, dd, J 6,6, 4,3 Hz, CH_2CH), 6,84-6,89 (2H, m, Ph), 7,24-7,30 (2H, m, Ph), 7,33-7,41 (2H, m, Ph), 7,65-7,71 (2H, m, Ph), 8,19-8,27 (1H, m, NH), 8,56 (1H, s, $\text{C}=\text{CH}$); ^{13}C NMR (100 MHz; CDCl_3) δ_{C} 13,9, 22,4, 24,2, 31,4, 32,0, 42,6, 55,2, 75,6, 114,0, 116,9, 117,9, 125,3, 129,1, 129,8, 130,5, 134,9, 149,9, 155,1, 157,9, 158,8, 162,6, 169,5; **HRMS** obliczone dla $\text{C}_{25}\text{H}_{27}\text{NO}_6\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 460,1736, znalezienie: 460,1732.



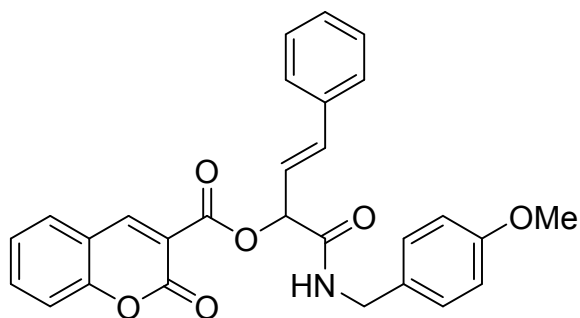
Związek 55h, Białe kryształy; ^1H NMR (400 MHz; CDCl_3) δ_{H} 0,85 (3H, t, J 6,9 Hz, CH_2CH_3), 1,18-1,43 (10H, m, $5\times\text{CH}_2$), 1,90-2,09 (2H, m, CHCH_2), 3,78 (3H, s, OCH_3), 4,39-4,51 (2H, m, NCH_2), 5,54

(1H, dd, J 6,8, 4,3 Hz, CH_2CH), 6,83-6,87 (2H, m, Ph), 7,24-7,30 (2H, m, Ph), 7,34-7,41 (2H, m, Ph), 7,62-7,72 (2H, m, Ph), 8,24 (1H, s br, NH), 8,56 (1H, s, $\text{C}=\text{CH}$); ^{13}C NMR (100 MHz; CDCl_3) δ_{C} 14,0, 22,6, 24,5, 29,1, 29,2, 31,7, 32,0, 42,6, 55,2, 75,6, 114,0, 116,9, 118,2, 125,3, 129,2, 129,7, 130,5, 134,8, 149,8, 155,1, 157,9, 158,8, 162,6, 169,5; **HRMS** obliczone dla $\text{C}_{27}\text{H}_{31}\text{NO}_6\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 488,2049, znalezienie: 488,2051.

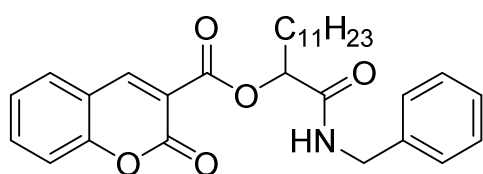


Związek 55i; Białe kryształy; ^1H NMR (400 MHz; CDCl_3) δ_{H} 3,20-3,29 (1H, m, CHCH_{2a}), 3,39-3,46 (1H, m, CHCH_{2b}), 3,77 (3H, s, OCH_3), 4,30-4,49 (2H, m, NCH_2), 5,74 (1H, dd, J 7,1, 4,1 Hz, CH_2CH), 6,78-6,82 (2H, m, Ph), 7,08-7,23 (7H, m, Ph), 7,33-7,39 (2H, m, Ph), 7,58-

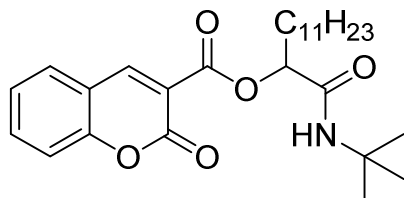
7,71 (2H, m, Ph), 8,06 (1H, t, J 5,6 Hz, NH), 8,42 (1H, s, $\text{C}=\text{CH}$); ^{13}C NMR (100 MHz; CDCl_3) δ_{C} 37,8, 42,6, 55,2, 75,6, 113,9, 116,9, 117,8, 125,3, 126,9, 128,4, 129,0, 129,6, 129,8, 130,2, 134,9, 135,7, 149,8, 155,1, 157,7, 158,8, 162,3, 168,6; **HRMS** obliczone dla $\text{C}_{27}\text{H}_{23}\text{NO}_6\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 480,1423, znalezienie: 480,1418.



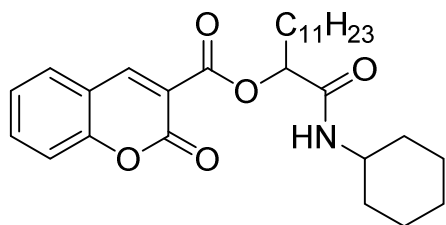
Związek 55j; Bezbarwny olej; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz; CDCl_3) δ_{H} 3,78 (3H, s, OCH_3), 4,49 (2H, d, J 5,9 Hz, NCH_2), 6,06 (1H, dd, J 6,6, 1,2 Hz, OCH), 6,36 (1H, dd, J 15,9, 6,6 Hz, CHCH=), 6,77-6,89 (3H, m, PhCH+Ph), 7,22-7,32 (5H, m, Ph), 7,34-7,41 (4H, m, Ph), 7,62-7,72 (2H, m, Ph), 8,23 (1H, t, J 5,7 Hz, NH), 8,61 (1H, s, C=CH); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz; CDCl_3) δ_{C} 42,8, 55,2, 75,4, 114,1, 116,9, 117,7, 117,8, 122,2, 125,3, 126,9, 128,4, 128,5, 129,3, 129,8, 130,2, 135,0, 135,1, 135,7, 150,4, 155,2, 157,8, 159,0, 162,0, 167,8; **HRMS** obliczone dla $\text{C}_{28}\text{H}_{23}\text{NO}_6\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 492,1423, znalezienie: 492,1422.



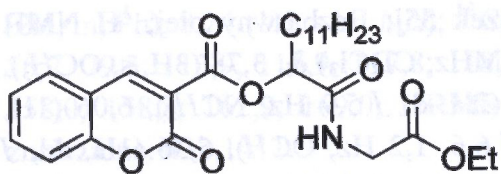
Związek 55k; Białe kryształy; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz; CDCl_3) δ_{H} 0,86 (3H, t, J 6,8 Hz, CH_2CH_3), 1,17-1,40 (18H, m, $9\times\text{CH}_2$), 1,95-2,10 (2H, m, CHCH_2), 4,45-4,59 (2H, m, NCH_2), 5,56 (1H, dd, J 6,7, 4,3 Hz, CH_2CH), 7,21-7,40 (7H, m, Ph), 7,63-7,71 (2H, m, Ph), 8,32 (1H, s br, NH), 8,57 (1H, s, C=CH); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz; CDCl_3) δ_{C} 14,1, 22,6, 29,2, 29,3, 29,4, 29,5, 29,6, 29,6, 31,9, 43,1, 75,6, 116,9, 117,8, 118,1, 125,3, 127,2, 127,8, 128,6, 129,7, 134,9, 138,3, 149,9, 155,1, 157,9, 162,6, 169,6; **HRMS** obliczone dla $\text{C}_{30}\text{H}_{37}\text{NO}_5\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 514,2569, znalezienie: 514,2559.



Związek 55l; Bezbarwny olej; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz; CDCl_3) δ_{H} 0,86 (3H, t, J 6,9 Hz, CH_2CH_3), 1,19-1,45 (27H, m, $9\times\text{CH}_2+\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1,90-2,01 (2H, m, CHCH_2), 5,40 (1H, dd, J 6,0, 4,6 Hz, CH_2CH), 7,35-7,42 (2H, m, Ph), 7,62-7,72 (3H, m, $\text{Ph}+\text{NH}$), 8,60 (1H, s, C=CH); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz; CDCl_3) δ_{C} 14,1, 22,6, 24,3, 28,7, 29,3, 29,3, 29,4, 29,5, 29,6, 31,9, 31,9, 51,3, 75,7, 116,9, 117,9, 118,2, 125,2, 129,7, 134,8, 149,9, 155,2, 157,7, 162,5, 168,7; **HRMS** obliczone dla $\text{C}_{27}\text{H}_{39}\text{NO}_5\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 480,2726, znalezienie: 480,2721.



Związek 55m; Białe kryształy; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz; CDCl_3) δ_{H} 0,86 (3H, t, J 6,9 Hz, CH_2CH_3), 1,15-1,44 (22H, m, $11\times\text{CH}_2$), 1,56-1,65 (2H, m, CH_2), 1,70-1,80 (2H, m, CH_2), 1,85-2,05 (4H, m, $2\times\text{CH}_2$), 3,70-3,85 (1H, m, NCH), 5,49 (1H, dd, J 6,6, 4,2 Hz, CH_2CH), 7,36-7,43 (2H, m, Ph), 7,65-7,73 (2H, m, Ph), 7,84 (1H, d, J 8,1 Hz, NH), 8,59 (1H, s, C=CH); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz; CDCl_3) δ_{C} 14,1, 22,6, 24,4, 24,9, 25,5, 29,3, 29,3, 29,4, 29,5, 29,6, 31,9, 48,2, 75,6, 116,9, 117,9, 118,2, 125,3, 129,7, 134,8, 149,9, 155,1, 158,0, 162,6, 168,5; **HRMS** obliczone dla $\text{C}_{29}\text{H}_{41}\text{NO}_5\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 506,2882, znalezienie: 506,2883.



Związek 55n; Bezbarwny olej; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz; CDCl_3) δ_{H} 0,79-0,88 (3H, m, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1,10-1,45 (21H, m, $9\times\text{CH}_2+\text{OCH}_2\text{CH}_3$), 1,90-2,06 (2H, m, CHCH_2), 5,07 (2H, dd, J 3,8, 1,9 Hz, NCH_2), 4,14-4,22 (2H, m, OCH_2), 5,53 (1H, dd, J 5,5, 3,8 Hz, CH_2CH), 7,33-7,39 (2H, m, Ph), 7,62-7,71 (2H, m, Ph), 8,25 (1H, t, J 5,5 Hz, NH), 8,59 (1H, s, $\text{C}=\text{CH}$); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz; CDCl_3) δ_{C} 14,0, 14,1, 22,6, 29,3, 29,3, 29,5, 29,5, 29,6, 31,8, 41,1, 61,3, 75,4, 116,9, 117,8, 118,0, 125,2, 129,8, 134,9, 150,0, 155,2, 157,9, 162,5, 169,3, 170,3; **HRMS** obliczone dla $\text{C}_{27}\text{H}_{37}\text{NO}_7\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 510,2468, znalezione: 510,2462.



B. Org. 408/19

Biblioteka Instytutu Chemii Organicznej PAN

O-B.408/19



30000000132702