

Využití difenylmethylové chránící skupiny při přípravě polyaminů

Natália Radka Jenčová



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav chemie

Akademický rok: 2024/2025

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: Natália Radka Jenčová
Osobní číslo: T22192
Studijní program: B0721A210002 Technologie a hodnocení potravin
Specializace: Chemie a analýza potravin
Forma studia: Prezenční
Téma práce: Využití difenylmethylové chránící skupiny při přípravě polyaminů

Zásady pro vypracování

I. Teoretická část

- Zpracování přehledu chránících skupin pro aminy.
- Zpracování přehledu metod zavedení a odštěpení difenylmethylové skupiny.
- Zpracování přehledu orthogonality difenylmethylové chránící skupiny vzhledem k ostatním chránícím skupinám pro aminy.

II. Praktická část

- Nalezení vhodného postupu mono chránění alifatických alfa,omega-diaminů.
- Provedení modelového syntetického využití monochráněných diaminů.
- Optimalizace podmínek odchránění.

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná/elektronická**

Seznam doporučené literatury:

1. K. Jarowicki, P. Kocienski: *Contemp. Org. Synth.* **1996**, 3, 397–431. <https://doi.org/10.1039/C09960300397>
2. A. Isidro-Llobet, M. Álvarez, F. Albericio: *Chem. Rev.* **2009**, 109, 2455–2504. <https://doi.org/10.1021/cr800323s>

Vedoucí bakalářské práce: **doc. Mgr. Robert Vícha, Ph.D.**
Ústav chemie

Datum zadání bakalářské práce: **2. ledna 2025**
Termín odevzdání bakalářské práce: **16. května 2025**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

doc. Ing. Michal Rouchal, Ph.D.
ředitel ústavu

Ve Zlíně dne 20. února 2025

PROHLÁŠENÍ AUTORA BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že

- odevzdáním bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb., v platném znění bez ohledu na výsledek obhajoby;
- bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a bude dostupná k nahlédnutí;
- jedno vyhotovení bakalářské práce v listinné podobě bude ponecháno Univerzitě Tomáše Bati ve Zlíně k uložení;
- na moji bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3;
- podle § 60 odst. 1 autorského zákona má Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- podle § 60 odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – bakalářskou práci – nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- pokud bylo k vypracování bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá; neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Prohlašuji, že

- jsem na bakalářské práci pracoval(a) samostatně a použitou literaturu jsem řádně citoval(a); v případě publikace výsledků budu uveden(a) jako spoluautor;
- odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně, dne

.....
podpis autora

ABSTRAKT

Tato bakalářská práce se zabývá přípravou činidla a následným využitím difenylmethylové skupiny pro chránění aminů. V teoretické části jsou popsány další chránicí skupiny pro aminy a také příklady chránění aminů. Dále je popsána možná orthogonalita difenylmethylové skupiny s běžně využívanými skupinami pro chránění aminů. V experimentální části jsou uvedeny postupy příprav prekurzorů, samotného chránicího činidla a chráněných aminů. Také jsou zde poskytnuty základní spektrální charakteristiky připravených sloučenin. V diskuzní části jsou komentovány vybrané postupy syntéz, které vedly k přípravě chránicího činidla a jeho následnému využití. V konečném důsledku je sice možné difenylbrommethan syntetizovat, bohužel avšak vykazuje omezenou stabilitu. Úspěšně bylo provedeno jeho funkční začlenění do hexamethylendiaminu, přičemž navázaná protektivní skupina demonstrovala stabilitu během provedených reakčních kroků. Odstranění chránicí skupiny bylo částečně potvrzeno, čistota produktu však byla velmi malá.

Klíčová slova: difenylmethylová chránicí skupina, aminy, orthogonalita, chránicí činidlo

ABSTRACT

This bachelor's thesis focuses on the preparation of a reagent and the subsequent application of the diphenylmethyl group for amine protection. The theoretical section reviews alternative amine-protecting groups and examples of amine protection strategies. Additionally, the potential orthogonality of the diphenylmethyl group with commonly used amine-protecting groups is discussed. The experimental section details procedures for synthesizing precursors, the protecting reagent itself, and protected amines. Basic spectral characteristics of the synthesized compounds are also provided. In the discussion, selected synthetic pathways leading to the preparation of the protecting reagent and its application are critically analyzed. While diphenylbromomethane can indeed be synthesized, it exhibits limited stability. Successful functional incorporation into hexamethylenediamine was achieved, with the bound protecting group demonstrating stability throughout the performed reaction steps. The removal of the protecting group was partially confirmed; however, the purity of the product was very low.

Keywords: diphenylmethyl protecting group, amines, orthogonality, protecting agent

Na prvním místě bych ráda vyjádřila upřímný dík vedoucímu mé práce, doc. Mgr. Robertu Víchovi, Ph.D., za jeho odborné vedení a podporu během celého procesu tvorby této práce. Jeho cenné rady, hluboké znalosti, trpělivý přístup a profesionální nasazení mi byly neocenitelnou oporou.

Děkuji také své rodině za její neochvějnou podporu, pochopení a motivaci během mého studia. Jejich důvěra v mé schopnosti mi dodávala sílu překonávat výzvy a dokončit tuto etapu vzdělávání.

Prohlašuji, že odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

OBSAH

ÚVOD.....	11
TEORETICKÁ ČÁST.....	12
1 Chránící skupiny využívané pro chránění aminů.....	13
1.1 Acylové chránící skupiny	13
1.2 Karbamátové (uretanové) chránící skupiny odvozené od primárních alkoholů	16
1.3 Urethanové chránící skupiny odvozené od sekundárních alkoholů.....	18
1.4 Urethanové chránící skupiny odvozené od terciárních alkoholů.....	19
1.5 Deriváty síry a fosforu jako chránící skupiny pro aminy	21
1.6 Alkylové chránící skupiny	23
1.7 Další skupiny využívané pro chránění aminů.....	25
2 Přehled metod pro zavedení a odštěpení difenylmethylové chránící skupiny	26
3 Orthogonalita difenylmethylové chránící skupiny vzhledem k ostatním chránícím skupinám využívaných pro aminy.....	34
3.1 Trifluoracetyl a další skupiny potenciálně orthogonální k difenylmethylové skupině.....	35
3.2 Orthogonalita formylové chránící skupiny k difenylmethylové skupině	35
3.3 Efektivní syntéza orthogonálně chráněných derivátů spermidinu a norspermidinu	36
EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST.....	38
4 Použité přístroje a vybavení.....	39
5 Provedené syntézy.....	41
DISKUZNÍ ČÁST.....	46
6 Výsledky a diskuze.....	47
ZÁVĚR	65
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	67
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	72

ÚVOD

Chránící skupiny představují v organické chemii nezbytný nástroj pro selektivní ochranu reaktivních funkčních skupin během více krokových syntéz, což je zvláště důležité při přípravě polyaminů nebo při syntéze peptidů. Jejich použití umožňuje předcházet nežádoucím vedlejším reakcím, například polymeraci nebo nechtěné modifikaci aminoskupin, a tím zvyšuje čistotu i výtěžek cílových látek. Moderní syntetické strategie proto využívají širokou škálu chránících skupin, které jsou navrženy s ohledem na jejich stabilitu, selektivitu a snadné odstranění. Mezi tyto skupiny patří acylové, uretanové, alkylové i speciální skupiny, jako je difenylmethylová chránící skupina, která je předmětem této práce. Difenylmethylová skupina nabízí vysokou stabilitu a orthogonalitu vůči jiným chránícím skupinám, což umožňuje její efektivní využití při přípravě komplexních polyaminových struktur. Správná volba a kombinace chránících skupin tak umožňuje realizovat i složité syntetické sekvence, které by jinak nebyly možné.

Tato bakalářská práce se konkrétně zaměřuje na syntézu polyaminů, avšak použité zdroje v teoretické části úzce souvisí se syntézou peptidů. Tyto postupy a informace mají obecnou platnost, a proto je lze využít i k právě již zmíněné syntéze polyaminů. V rámci teoretické části jsou nejprve představeny chránící skupiny, které se využívají ke chránění aminoskupin. Dále jsou diskutovány postupy pro zavedení a následně odstranění právě již zmíněné difenylmethylové chránící skupiny. V neposlední řadě je zde nastíněna možná orthogonalita této skupiny s jinými, běžně využívanými, chránícími skupinami.

V experimentální části této práce jsou popsány provedené syntézy, včetně syntézy prekurzorů a samotného činidla ke chránění. Dále jsou zkoumány další reakce s difenylmethylovou chránící skupinou, ať už její zavedení přímo do struktury aminu, tak její následné odstranění.

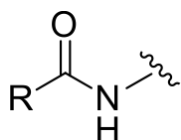
Tato práce představuje malé nastínění toho, jak se difenylmethylová skupina připravuje a následně využívá v syntetické chemii. Nutno zmínit, že se jedná o prvotní krok ve výzkumném projektu, který bude v následujících měsících pokračovat.

I TEORETICKÁ ČÁST

1 Chránící skupiny využívané pro chránění aminů

N-chránící skupiny hrají významnou roli v chemii aminokyselin, konkrétně při syntézách peptidů. Ochrana N-konce peptidového řetězce, případně aminoskupiny aminokyselin, znemožňuje nežádoucí reakce, například polymerace. Většina syntéz peptidů probíhá C→N, protože tento směr zajišťuje kontrolu reakčních center a minimalizuje nežádoucí reakce. To ale vyžaduje opakované odchránění N-konce, a proto musí být tyto reakce prováděny za mírných podmínek.² V rámci moderní peptidové chemie je v současné době k dispozici široká škála chránících skupin, které jsou specificky navrženy pro ochranu různých funkčních skupin během syntézy. Potřeba ochrany funkčních skupin se liší v závislosti na jejich reaktivitě a kontextu syntézy. Volba mezi minimální a maximální úrovní ochrany představuje strategický kompromis. Zatímco maximální ochrana (např. ochrana všech citlivých skupin) sice minimalizuje riziko vedlejších reakcí, což zvyšuje čistotu produktu, z ekonomické perspektivy je však minimální ochrana (ochrana pouze nezbytných skupin) výrazně efektivnější díky snížení nákladů na materiál a čas.¹

1.1 Acylové chránící skupiny



Acylové chránící skupiny poskytují komplexní ochranu více typů dusíkatých funkčních skupin – například primární/sekundární aminy, iminy nebo amidy.

Vysoká stabilita amidů, které vznikají z běžných karboxylových kyselin s aminoskupinami nebo iminoskupinami, brání tomu, aby acylové skupiny poskytovaly ochranu v peptidové chemii. Pouze acylové skupiny, které mohou být odstraněny za mírných reakčních podmínek, splňují požadavky pro účinnou ochranu při syntéze peptidů. To značně omezuje počet acylových skupin, které mohou být použity. Navíc, *N*-acylované aminokyseliny podléhají racemizaci. To může být významným problémem při syntéze peptidů. Existují metody, které racemizaci potlačují, ale právě tyto přístupy omezují dostupné syntetické strategie a znemožňují použití acylových skupin ve většině případů.³ Acylové skupiny jsou stále častěji nahrazovány jinými typy chránících skupin, jako jsou například uretanové skupiny (kapitola 1.2), které se používají k ochraně ω-aminoskupin (například v lyzinu).¹ Acylové chránící skupiny nalézají uplatnění v peptidových systémech bez přítomnosti konkurenčních amido-chráněných skupin, kde jejich vysoká chemická odolnost zaručuje spolehlivou ochranu funkčních skupin během syntetických procesů. V literatuře je popsáno mnoho metod pro efektivní ochranu aminů pomocí acylových skupin. V jednom z dostupných článků popsali autoři selektivní transamidační metodu, která

umožňuje syntézu amidů z *N*-acyl-2-piperidonů (slouží jako chránící skupina) a různých aminů za mírných podmínek bez použití kovových katalyzátorů (Schéma 1). Klíčem k této reakci je stabilita imidu, která je snížena rotací jedné z amidových vazeb.⁴

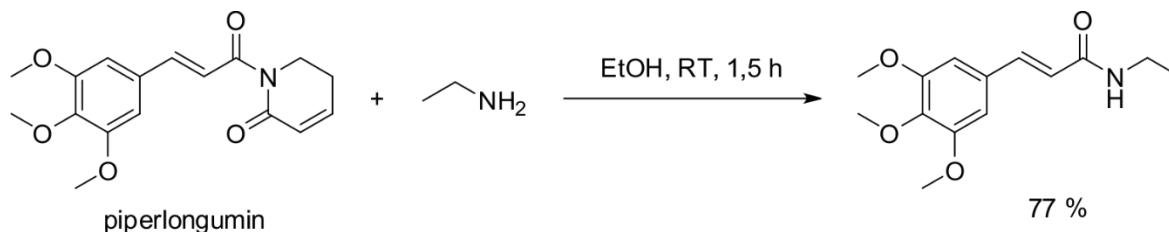
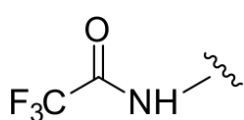


Schéma 1 Transamidace piperlonguminu.

Trifluoracetylová skupina (Tfa)



Zavádění trifluoracetylové skupiny do struktury aminokyseliny se provádí nejčastěji pomocí anhydridu trifluoroctové kyseliny v trifluoroctové kyselině jako rozpouštědle. Mohou se využít i jiná

činidla, jako jsou methyl-, thioethyl- nebo fenyl-trifluoracetát.¹ Tato chránící skupina je zajímavá především díky možnosti odstranění za mírných alkalických podmínek (pomocí hydroxidu sodného nebo tetrahydridoboritanu sodného), což ji dělá velmi užitečnou při syntéze peptidů. Trifluoracetylová skupina byla široce studována v souvislosti s reakcemi a analýzou trifluoracetylovaných aminokyselin a peptidů, i když její použití při syntéze vyšších peptidů není tak běžné.³ Studie z roku 2010 popisuje trifluoracetylovou (Tfa) skupinu jako chránící skupinu pro 6-hydrazinonikotinylem (HYNIC) modifikovaný lysin. Struktura HYNIC je vhodná pro značení peptidů techneciem-99m (^{99m}Tc). Bylo zjištěno, že Fmoc-(trifluoroacetylHYNIC)-lysin vykazoval odolnost vůči acetaldehydu (1 ekv.) a benzyl-chlorformiátu (1000 molární nadbytek). Naopak, derivát Fmoc-(HYNIC)-lysin s nechráněnou hydrazinovou skupinou byl kvantitativně převeden na odpovídající hydrazon hodinovou inkubací s acetaldehydem. Sloučenina Tfa-HYNIC **3** vykazuje odolnost vůči elektrofilům, avšak umožňuje vysoce efektivní značení radionuklidů.⁵

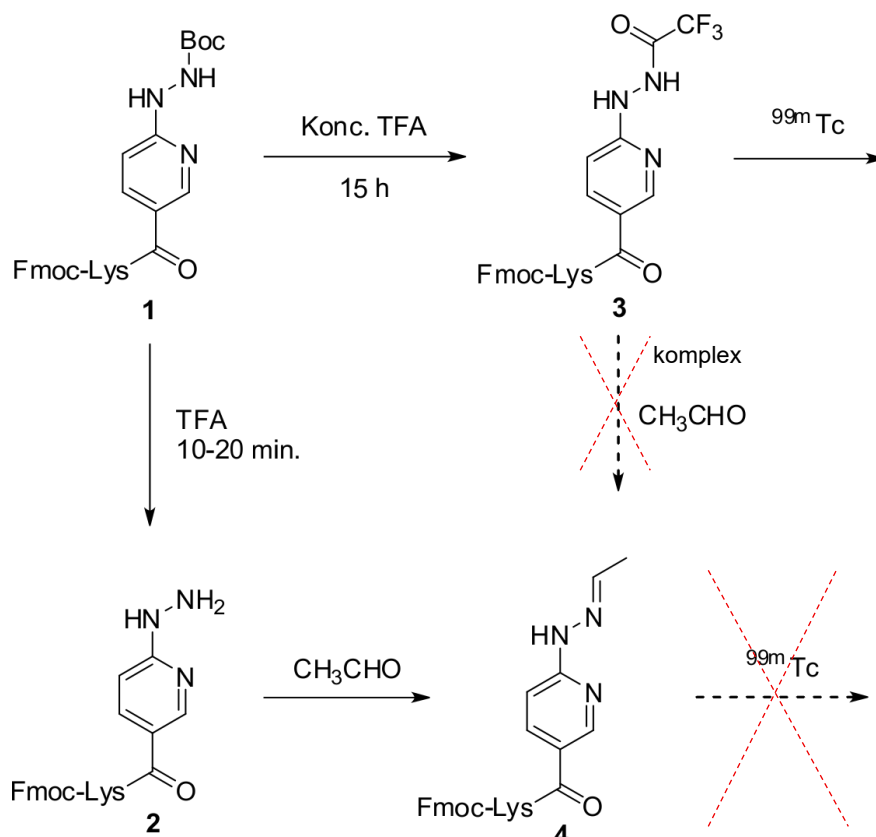
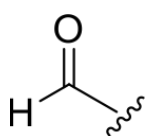


Schéma 2 Přeměna Fmoc-Lys-HYNIC-Boc **1** na odpovídající Tfa-HYNIC **3** a hydrazonový derivát **4**.

Formylová skupina (For)



Tato chránící skupina se také využívá při syntéze peptidů a aminokyselin. Je dostatečně stabilní vůči zásadám i bezvodým kyselinám, jako je například trifluoroctová kyselina. Může být odstraněna různými způsoby, například zahřátím v 0,1 M kyselině chlorovodíkové nebo reakcí s hydrazinem v 5–10 % vodném roztoku.⁶ Tato skupina byla použita například k ochraně aminoskupiny tryptofanu, kde tryptofan reagoval s ethyl-formiátem v pyridinu za vzniku ochráněné aminové skupiny na postranním řetězci tryptofanu (Schéma 3). Produkt For-Trp byl využit jako součást syntézy peptidového řetězce, například For-Trp-Phe-OMe.⁷

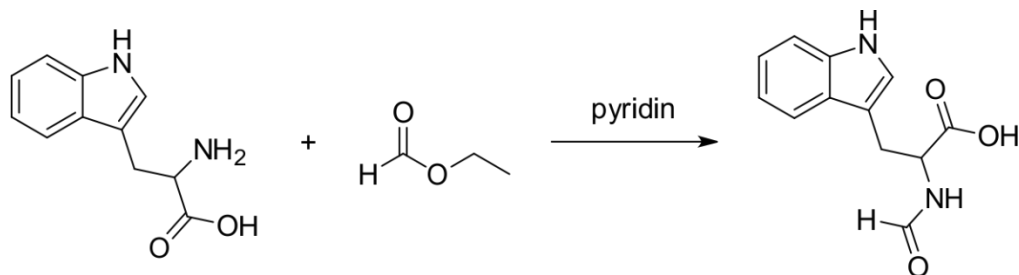
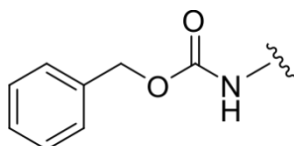


Schéma 3 Chránění aminoskupiny v tryptofanu.

1.2 Karbamátové (uretanové) chránící skupiny odvozené od primárních alkoholů

Uretany využívané jako chránící skupiny zahrnují ve strukturách zbytky primárních, sekundárních i terciárních alkoholů. Chemické vlastnosti těchto chránících skupin ale ne vždy odpovídají této klasifikaci. Přesto se uretanové chránící skupiny takto třídí, zejména kvůli nedostatku jiných parametrů, a kvůli překrývajícím se vlastnostem těchto skupin. Uretanové chránící skupiny odvozené od primárních alkoholů lze snadno modifikovat podle požadavků konkrétní syntézy. Při acidolytickém štěpení uretanových chránících skupin, konkrétně benzyloxykarbonylové (Cbz, Z), může dojít k N-alkylaci jako vedlejší reakci. Tato vedlejší reakce se objevuje při použití TFA, ale dá se potlačit použitím chránících skupin stabilnějších v kyselém prostředí (např. 2,4-dichlorbenzyloxykarbonylová (2,4-Cl₂Z) skupina).⁸ Objevení benzyloxykarbonylové (Cbz) skupiny pro chránění aminů způsobilo v chemii peptidů velkou revoluci. Tato chránící skupina obsahující benzyloxykarbonylový zbytek byla velmi využívána, protože ji lze snadno odstranit hydrogenací. Asi o 25 let později byla pro chránění aminů použita také *tert*-butyloxykarbonylová skupina (Boc), která je velmi nestabilní v kyselém prostředí. Tyto dvě chránící skupiny jsou základem moderní syntézy peptidů. V průběhu let vzniklo mnoho jejich obdob, které umožňují různé způsoby odstranění a kombinování chránících skupin.¹

Benzyloxykarbonylová skupina (Cbz)



Benzyloxycarbonylová skupina (zkráceně Z, podle německého názvu „Zentralkohlenstoff“, nebo Cbz) se zavádí do aminokyselin pomocí roztoku benzylochlořoformátu (Cbz-Cl) s chloroformem.

Využívá se také Schottenovy–Baumannovy metodiky, kdy reakce probíhá ve dvoufázovém systému.¹ Tato metoda funguje dobře pro většinu aminokyselin. Výsledné produkty jsou obvykle krystalické a reakce poskytují vysoké výtěžky. Skupina se dá také zavést jednoduchou a chemoselektivní N-benzyloxykarbonylací aminů pomocí kyseliny křemičito-sírové (SSA), bez použití rozpouštědla a při pokojové teplotě (Schéma 4). Tato reakce je využitelná pro širokou škálu primárních (alifatických i cyklických) a sekundárních aminů, aminoalkoholů nebo heterocyklických aminů.⁹ Tato chránící skupina se snadno odstraní pomocí katalytické hydrogenace, kde je benzylová skupina redukována na benzyloxykarbonyl, nebo pomocí redukčních činidel (např. sodného borohydridu (NaBH₄) a Pd/C), což umožňuje obnovení původní aminové skupiny.¹⁰ Někdy je uváděno odstranění této chránící skupiny také ve slabě bazickém prostředí pomocí hydrazinu.¹¹

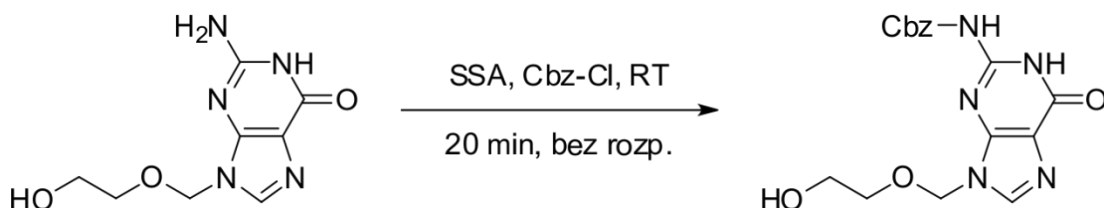
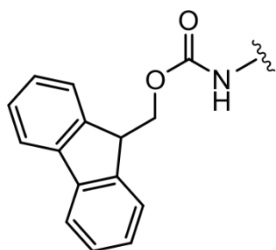


Schéma 4 Katalyzovaná ochrana aminu pomocí SSA (kyselina křemičito-sírová).

Fluoren-9-ylmethoxykarbonylová skupina (Fmoc)

Fmoc skupina je jednou z nejpoužívanějších chránících skupin v organické a peptidové chemii. Byla poprvé představena v 70. letech jako alternativa k Boc (*tert*-butyloxykarbonyl) skupině. Její hlavní výhodou je stabilita vůči kyselinám a snadná odstranitelnost za mírných bazických podmínek, což ji činí ideální pro syntézu peptidů na pevné fázi.¹² Fmoc skupina obsahuje fluoren, což je aromatický systém, který zvyšuje její elektronakceptorní vlastnosti. Díky tomu je vodíkový atom na **β-uhlíku** velmi kyselý, což umožňuje snadné odstranění této skupiny pomocí slabých bází, jako je piperidin nebo diethylamin.¹³

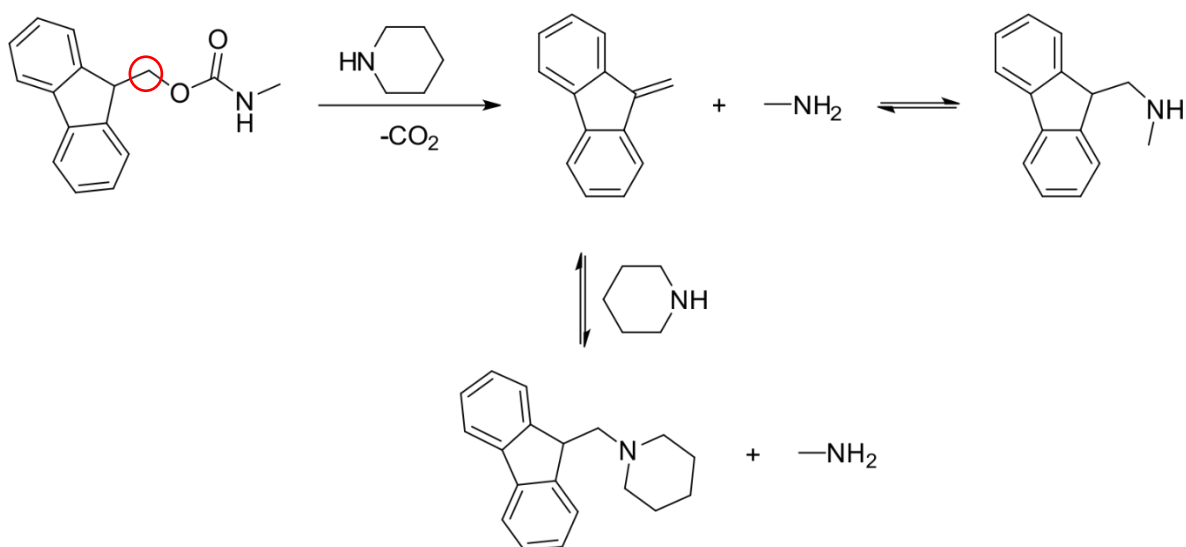


Schéma 5 Odstranění Fmoc chránící skupiny pomocí piperidinu.

1.3 Uretanové chránící skupiny odvozené od sekundárních alkoholů

Uretanové chránící skupiny odvozené od sekundárních alkoholů představují významný nástroj v moderní organické syntéze, zejména při ochraně hydroxylových skupin během více krokových reakčních sekvencí. Tyto chránící skupiny se vytvářejí reakcí alkoholů s isokyanáty, přičemž sekundární alkoholy poskytují specifické výhody z hlediska stability a selektivity výsledných uretanových derivátů. Mechanismus tvorby uretanů zahrnuje nukleofilní ataku alkoholového kyslíku na karbonylový uhlík isokyanátu, následovaný přesmykem protonu a tvorbou uretanové skupiny (Schéma 6).¹⁴ V případě sekundárních alkoholů dochází ke snížení reaktivity v důsledku sterických efektů, což může být kompenzováno použitím katalyzátorů nebo zvýšením teploty reakce.^{15,16}

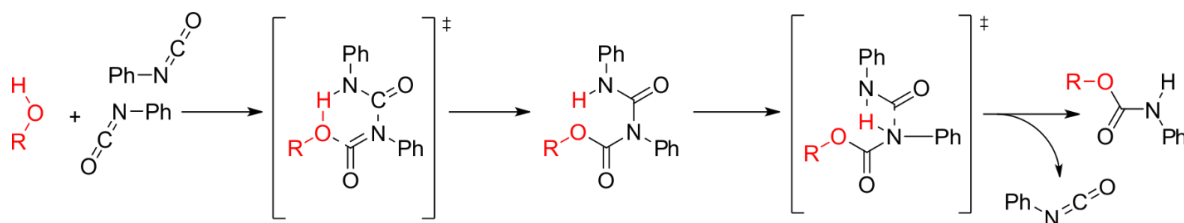
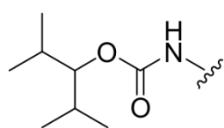


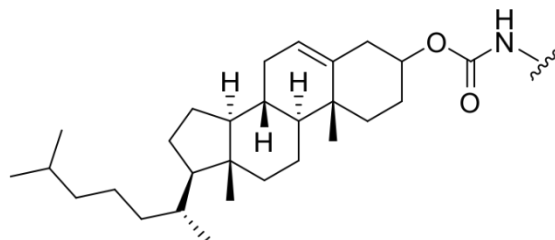
Schéma 6 Mechanismus tvorby uretanů.

Diisopropylmethyloxykarbonylová skupina (Dmc)



Tato chránící skupina je vysoce stabilní za všech běžných podmínek používaných pro odstranění N-chránících skupin. Zpočátku jejího zkoumání se zdála být nevhodná pro syntézu peptidů, dokud vědci

nezjistili, že ji lze odstranit pomocí kapalného HF při pokojové teplotě v přítomnosti anisolu. Přes svou vynikající selektivitu při štěpení nezískala tato skupina dostatečnou pozornost. Podobně je tomu u cholesteryloxykarbonylové skupiny, která je odstranitelná pomocí HBr–AcOH a pravděpodobně také kapalným HF. Tato skupina zvyšuje rozpustnost a zaslouží si pozornost pro ochranu postranních řetězců.¹

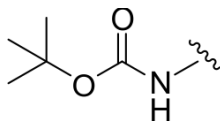


Obrázek 1 Cholesteryloxykarbonylová skupina.

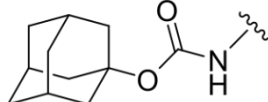
1.4 Uretanové chránící skupiny odvozené od terciárních alkoholů

Chránící skupiny na bázi uretanů, které jsou odvozeny od terciárních alkoholů, nejsou v organické syntéze běžně využívány kvůli nízké reaktivitě již zmíněných terciárních alkoholů. Tyto alkoholy mají hydroxylovou skupinu navázanou na uhlík, který je spojen se třemi dalšími uhlíky, což snižuje jejich reaktivitu s izokyanáty za vzniku uretanových skupin.¹⁷ Nicméně do této skupiny spadá jedna z nejvíce využívaných chránících skupin pro aminy, a to je *tert*-butyloxykarbonylová skupina.

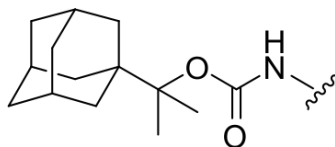
tert-Butyloxykarbonylová skupina (Boc)

 *tert*-Butyloxykarbonylová skupina představuje jednu z nejpoužívanějších chránících skupin v moderní organické chemii, zejména pro ochranu aminových skupin. Je odvozená od terciárního alkoholu *tert*-butanolu, který je napojen přes karbamátovou (uretanovou) vazbu. Tato chránící skupina kombinuje výhody sterické ochrany a snadné odstranitelnosti za kyselých podmínek. Je vysoce stabilní vůči běžným reakčním podmínkám (laboratorní teplota), včetně působeníází a nukleofilních činidel.² Aminokyseliny chráněné skupinou Boc jsou většinou pevné krystalické látky, což v praxi velmi usnadňuje manipulaci s nimi. Nejběžněji se odstraňuje přidáním 25–50 % TFA v DCM, ale lze použít i další kyseliny, například HCl v methanolu nebo oxalylchlorid v methanolu.¹⁸

Adamantyloxykarbonylová (Adc) skupina a 2-(1-adamantyl)propan-2-yloxy skupina

 Tyto chránící skupiny zahrnují adamantanový skelet, což je rigidní, klecová uhlovodíková struktura. Adamantyloxykarbonylová chránící skupina profituje z výjimečné stability a sterické náročnosti adamantanové klece, což ji činí vysoce stabilní vůči alkáliím i hydrogenaci.¹⁹ Podobně jako jiné karbamátové chránící skupiny může být štěpena kyselinou trifluoroctovou. Dříve bývala nevýhodou této skupiny vysoká cena adamantan-1-olu.¹ Dnes se cena tohoto derivátu pohybuje kolem 800 Kč za 10 g. Pro chránění je potřeba příprava chránícího činidla 1-adamantylchlorformiátu. Ten se může připravit reakcí adamantan-1-olu s fosgenem nebo ekvivalentem fosgenu (například trifosgenem) v suchém rozpouštědle za přítomnosti báze, která neutralizuje vznikající chlorovodík.²⁰ Kvůli relativně malé prozkoumanosti této chránící skupiny se v literatuře vyskytuje jen málo konkrétních příkladů použití, proto Schéma 7 slouží pouze jako obecné nastínění syntézy. Výzkumné týmy se nyní zaměřují na analog této skupiny a to 2-

adamantyloxykarbonyl, který ovšem patří do skupiny uretanů odvozených od sekundárních alkoholů a využívá se spíše pro chránění skupin obsahující síru.



Obrázek 2 Methylethyloxykarbonylová skupina.

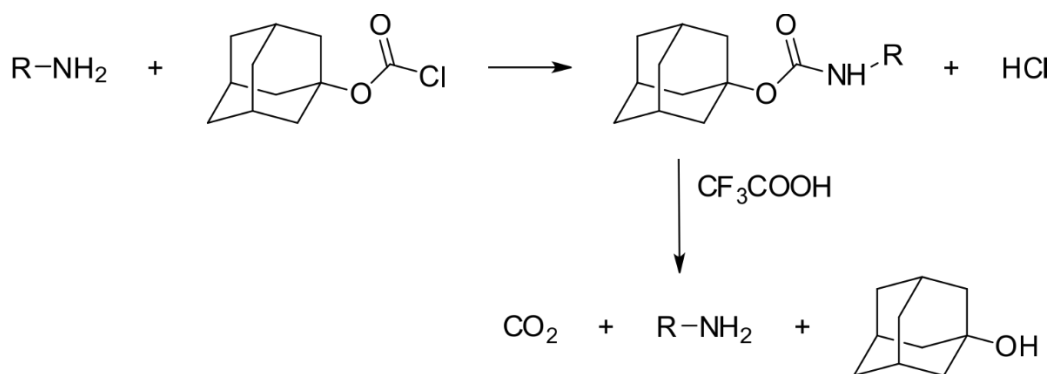
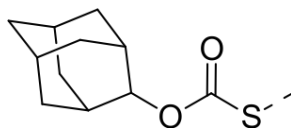
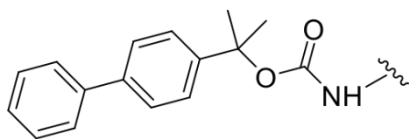


Schéma 7 Obecné ochránění primárního aminu a jeho následné odchránění.



Obrázek 3 2-Adamantyloxykarbonylová skupina.

2-(4-Bifenyl)isopropoxykarbonyl (Bpoc)



Tato chránící skupina je velice labilní v kyselém prostředí.

Většina aminokyselin ochráněných skupinou Bpoc jsou relativně nestabilní látky olejovitého charakteru, proto se

většinou převádějí na dicyklohexylamoniové soli nebo pentafluorfenylové estery. V současné době se Bpoc chráněné aminokyseliny používají hlavně pro syntézu peptidů obsahujících fosfátové skupiny, jako jsou fosfopeptidy nebo konjugáty oligonukleotidů s peptidy.² Místo složitých postupů se připravují speciální formy aminokyselin. Bpoc-aminokyseliny ve formě OPfp esterů jsou krystalické pevné látky odolné vůči rozkladu, na rozdíl od olejovitých nebo pěnových forem volných kyselin, které podléhají autokatalytické degradaci (rozkládají se na aminokyselinu, CO₂ a vedlejší produkty). Např. Bpoc-Leu-OPfp zůstává stabilní při skladování v suchu při 0 °C po dobu nejméně jednoho roku. Bpoc-

aminokyseliny se připravují esterifikací pentafluorfenolu za přítomnosti DCC (*N,N'*-dicyklohexylkarbodiimid) v THF nebo EtOAc při $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$. Chránicí skupina Bpoc se odstraňuje roztokem 0,5% TFA v CH_2Cl_2 (2×3 min), což jsou mírnější podmínky než pro Fmoc/Boc strategie.²¹

1.5 Deriváty síry a fosforu jako chránicí skupiny pro aminy

Ačkoliv se deriváty síry a fosforu běžně nepoužívají k selektivnímu blokování aminoskupin v komplexních syntézách z důvodu náročnosti jejich zavádění a případné nutnosti drastických podmínek pro jejich odstranění, mohou přinášet specifické výhody pro citlivé funkční skupiny, pokud lze jejich odchránění provést za mírných podmínek.¹ V kontextu fotolabilních chránicích skupin (PPG) jsou deriváty síry a fosforu méně frekventované ve srovnání s nitrobenzylowymi, karbonylovými a benzylovými analogy. Většina známých fotolabilních chránicích skupin (PPG) byla vyvinuta na základě bohaté fotochemie nenasycených systémů obsahujících nitro-, karbonylové a aromatické skupiny. Nově studovaná fotolabilní 2-nitrobenzylová (NB) skupina, využívaná pro dočasnou ochranu funkčních skupin, podléhá po ozáření intramolekulární abstrakci vodíku a uvolňuje chráněnou skupinu (Schéma 8). Účinnost fotodeprotektce ovlivňuje nitrosobenzaldehydový vedlejší produkt absorbující UV záření. Proto se vlastnosti NB zlepšují modifikacemi aromatického chromoforu, například zavedením další nitroskupiny, a substitucí na benzylickém uhlíkovém atomu, což vede ke zvýšení kvantových výtěžků.²²

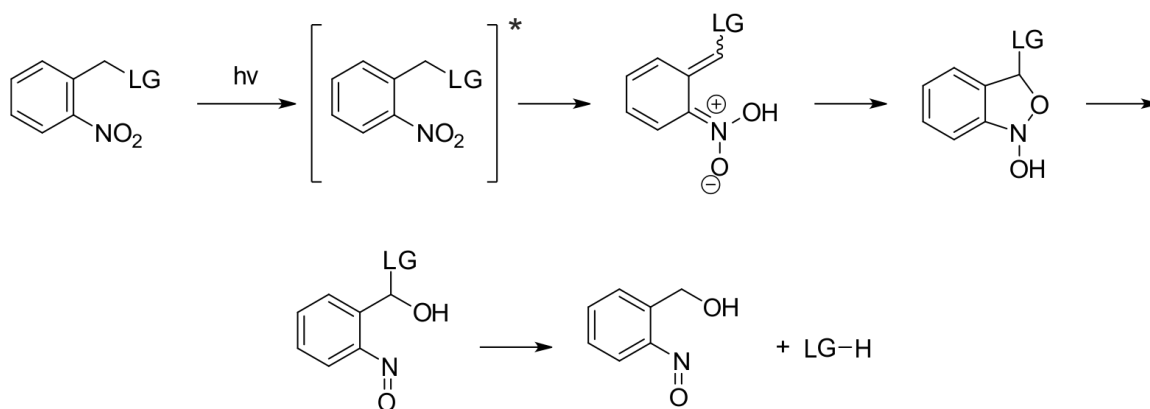
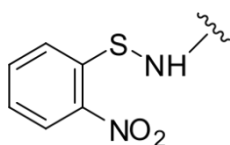


Schéma 8 Mechanismus deprotektce NB skupiny.

2-Nitrofenylsulfenyllová skupina (Nps)



Nps je chránicí skupina používaná v syntéze peptidů k dočasné ochraně aminových skupin. Při chránění touto skupinou se amin nechá reagovat s 2-nitrofenylsulfenylchloridem (Nps-Cl) za vzniku chráněného derivátu

(Schéma 9). Odstranění Nps skupiny z aminu lze provést kyselinami (např. zředěnou HCl v dioxanu), redukčními činidly nebo nukleofily. Odchránění pomocí dioxanu má však nevýhody, především u peptidů s tryptofanem (Trp), který je citlivý na oxidaci v kyselém prostředí. Jako alternativu lze použít kyselinu 3-nitro-4-merkaptobenzoovou (NTBA) v DMF, THF nebo THP (pětinasobný nadbytek), což probíhá rychle (do 1 minuty při pokojové teplotě) a vede k volné aminokyselině a smíšenému disulfidu. Nové metody odchránění zahrnují nukleofilní štěpení pomocí thiolů, což zlepšuje selektivitu a minimalizuje vedlejší reakce. Nejnovější studie se také zabývají hledáním nových činidel pro co nejjednodušší odštěpení této skupiny. Mezi tyto činidla můžeme zařadit již zmíněnou 3-nitro-4-merkaptobenzoovou kyselinu (NTBA) a její methylester. Mezi hlavní klady tohoto činidla můžeme zmínit jeho reakční specifičnost, a to že reaguje pouze s Nps. V rámci těchto reakčních podmínek nedochází k tvorbě dříve pozorovaných nerozpustných vedlejších produktů.²³

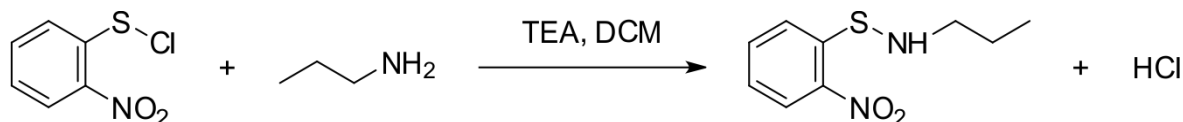
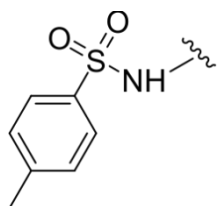


Schéma 9 Ochránění propylaminu.

4-Toluensulfonylová skupina (Tosyl, Tos)



Fyzikální i chemické obory jeví významný zájem o organické azidy vzhledem k jejich energetickým vlastnostem a reaktivitě funkčních skupin. Tyto sloučeniny nacházejí důležité průmyslové uplatnění nejen jako činidla pro výrobu supravodivých materiálů, ale také jako zdroje

energie v pohonných hmotách a výbušninách. 4-Toluenesulfonylazid se v organické chemii používá jako činidlo pro zavádění toluensulfonylové chránicí skupiny pro aminy. Tato sloučenina reaguje s aminem v prostředí TEA za vzniku sulfonamidu (při pokojové teplotě). V souvislosti se syntézou vysoce energetických materiálů (HEM) se TsN₃ využívá hlavně jako prekurzor pro výrobu organických azidů, které mají potenciál polymerizovat za vysokých tlaků a teplot na polymerní dusík. Jedná se o allotrop dusíku, kde atomy tvoří rozsáhlé sítě spojené jednoduchými kovalentními vazbami namísto tradičních trojných

vazeb v molekulách N_2 . Ačkoli je 4-toluenesulfonylazid (TsN_3) primárně využíván k ochraně aminů tvorbou sulfonamidů, jeho role prekursoru ve syntéze vysokovýbušných materiálů (HEM) vychází ze stejného principu – reaktivity azidové skupiny ($-N_3$). Tato reakční schopnost se projevuje za pečlivě kontrolovaných podmínek, například při udržování pH v rozmezí 8–9 pomocí NaOH a HCl, které optimalizují nukleofilní substituci a minimalizují vedlejší rozklad azidů.²⁴

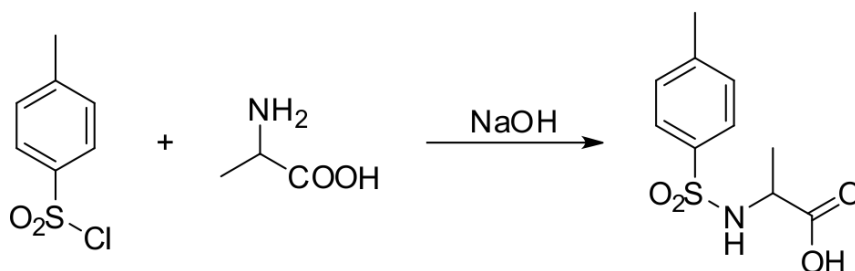


Schéma 10 Ochránění alaninu pomocí Tos-Cl.

1.6 Alkylové chránící skupiny

Alkylové chránící skupiny nejsou běžně používány jako chránící skupiny v klasické organické syntéze. Novější studie se nyní zabývají chráněním aminů pomocí alkylových skupin spojených s kovovými povrchy, které nabízí zajímavou metodu pro ochranu aminů před nežádoucími reakcemi. Aminy, jako zásadité sloučeniny, jsou náchylné k reakcím s kyselými látkami nebo elektrofilními reaktanty, což může vést k nežádoucím produktům nebo degradaci. Alkylové skupiny se na kovový povrch připojují reakcí s alkyhalogenidy, jako jsou chloridy, bromidy nebo jodidy. Tyto molekuly se zachytí na povrchu a následně se halogen odstraní teplem nebo světlem, čímž dojde k přímému navázání alkylové skupiny na kov. Tato vazba může být využita k ochraně aminů tím, že se aminy navážou na již připojenou alkylovou skupinu (Schéma 11). Tímto způsobem jsou aminy izolovány od okolí a chráněny před nežádoucími reakcemi. Navíc, spojení aminů s alkylovými skupinami na kovových površích může zvýšit jejich stabilitu a chránit je před degradací.²⁵

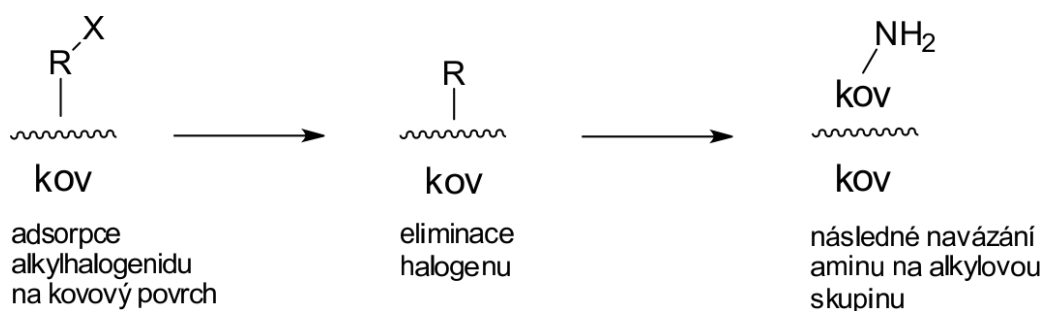
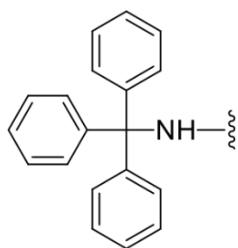


Schéma 11 Navázání aminu na alkylovou skupinu.

Trifenylmethylová skupina (Trityl, Trt)



Tato chránicí skupina, která je odvozena od tritylchloridu, poskytuje ochranu tím, že její objemná struktura efektivně zakrývá aminoskupinu a brání přístupu jiným reaktantům. Pro zavedení tritylové chránicí skupiny na aminoskupinu se využívá chloridový derivát. Odstraňování této kyselinolabilní chránicí skupiny se standardně provádí působením 1% roztoku trifluoroctové kyseliny (TFA) v dichlormethanu (DCM) nebo alternativně 3% roztoku trichloroctové kyseliny (TCA) v DCM, což vede k uvolnění aminoskupiny prostřednictvím protonace a následné eliminace tritylového kationtu. Výťažky reakcí tritylem chráněných aminokyselin jsou menší v porovnání s ostatními chránicími skupinami a jsou zpravidla nutné silnější aktivační podmínky. Důležitým využitím této chránicí skupiny je ochrana C-koncové aminokyseliny.² V průběhu let proběhla řada studií využití tritylové chránicí skupiny v kombinaci s různými aminokyselinami. Bylo například zjištěno, že dočasná ochrana karboxamidových skupin asparaginu a glutaminu pomocí tritylové skupiny usnadňuje a vylepšuje syntézu peptidů například zvýšením rozpustnosti vznikajících peptidů.²⁶

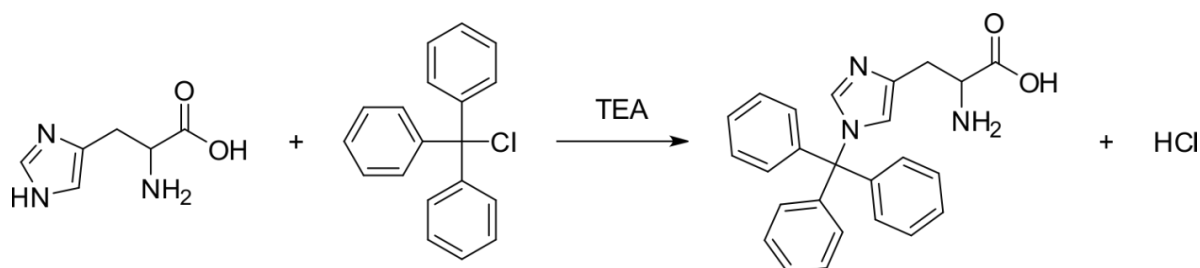
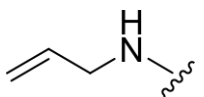


Schéma 12 Chránění aminové skupiny v imidazolovém kruhu histidinu.

Allylová skupina

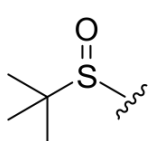


V organické syntéze nacházejí allylové deriváty široké uplatnění při konstrukci komplexních molekulárních struktur. Uhlík v allylové pozici, tedy atom uhlíku sousedící s dvojnou vazbou, vykazuje zvýšenou reaktivitu ve srovnání s běžným alifatickým uhlíkem. Tato zvýšená reaktivita je důsledkem rezonanční stabilizace, která umožňuje delokalizaci elektronů v allylových radikálech i kationtech, a tím snižuje energetickou náročnost jejich vzniku a následných reakcí. Skupina se často využívá v organické syntéze, například jako chránicí skupina pro alkoholy, aminy nebo karboxylové kyseliny. Allylové chránicí skupiny lze snadno odstranit pomocí katalyzátorů na bázi palladia, což z nich činí užitečný nástroj při selektivních chemických reakcích. Palladium (0) komplex reaguje s allylovými nebo Alloc (allyloxykarbonyl) deriváty za vzniku π -

allylpalladiového meziprojektu. Tento meziprojekt reaguje s Bu_3SnH , čímž vzniká volná funkční skupina (např. aminoskupina) a vedlejší produkty, jako je propan. Tato metoda byla úspěšně použita pro deprotektci různých derivátů aminokyselin, včetně Alloc-Gly, Alloc-Leu, Alloc-Tyr(All).²⁷

1.7 Další skupiny využívané pro chránění aminů

Terc-butylsulfonfyl (Bus)



Jedná se o poměrně novou chránicí skupinu, která se využívá, jak pro primární, tak pro sekundární aminy. Sulfonylové skupiny, které tato skupina obsahuje, mají dlouhou historii v ochraně aminů, avšak jejich odstranění bývá obtížné.

Bus skupina může být selektivně odstraněna pomocí 0,1 M trifluoromethansulfonové kyseliny (TfOH) v dichlormethanu za přítomnosti anisolu. Také je možné její odstranění ze sekundárního aminu bez ovlivnění primárního aminu ve stejné molekule, protože k odchránění primárního aminu je potřeba zvýšená teplota. Skupinu lze zavést přímo pomocí *terc*-butylsulfonfylchloridu, kdy dojde nejprve k reakci aminu s *terc*-butylsulfonfylchloridem za vzniku sulfinamidu. Následně dochází k oxidaci sulfinamidu na *terc*-butylsulfonamid (Bus-chráněný amin) pomocí mCPBA nebo $\text{RuCl}_3/\text{NaIO}_4$.²⁸

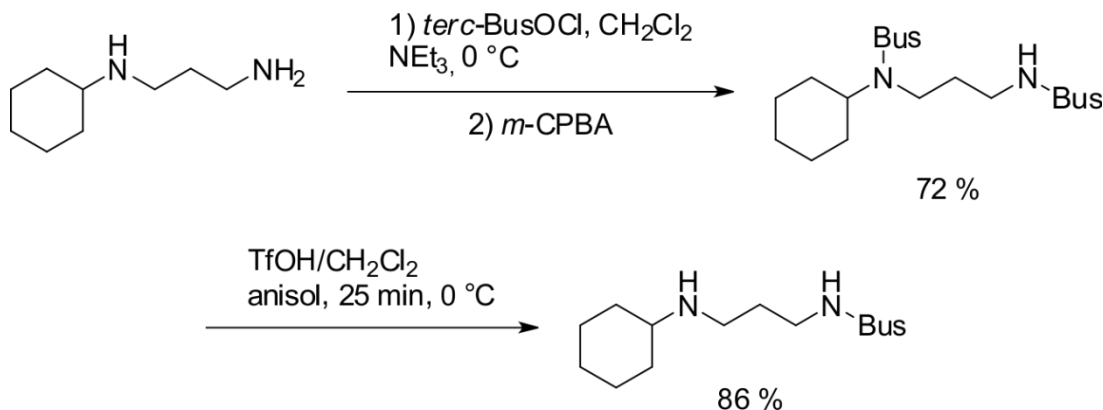
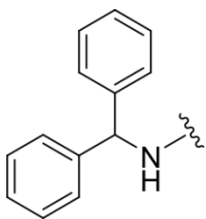


Schéma 13 Zavedení Bus skupiny a její následné selektivní odstranění.

2 Přehled metod pro zavedení a odštěpení difenylmethylové chránící skupiny



Difenylmethylová chránící skupina (zkráceně Dpm) je důležitou skupinou využívanou v organické a farmaceutické syntéze. Primární funkcí této skupiny je dočasná ochrana reaktivních funkčních skupin (—OH a —NH_2) během vícekových syntetických procesů. Vyniká selektivitou při odstraňování za specifických podmínek, což minimalizuje nebezpečí nežádoucího odstranění jiných chránících skupin.²⁹ Skupina je složena z CH můstku nesoucího dvě benzenová jádra. Tato konfigurace poskytuje výraznou sterickou ochranu původní funkční skupiny, zatímco elektronové vlastnosti aromatických kruhů modifikují reaktivitu sousedních atomů. Studie ukazují, že Dpm vykazuje vysokou stabilitu v kyselých a neutrálních prostředích, ale je citlivá na specifická činidla jako může být například 1-chlorethyl-chlorformiát. Tato selektivita umožňuje její odstranění bez poškození ostatních chráněných skupin v molekule. Experimentální data potvrzují, že Dpm zůstává stabilní při teplotách do 37 °C a v prostředích bez silných oxidačních činidel.³⁰ Příkladem silného oxidačního činidla, které převádí Dpm skupinu na odpovídající imin, může být dusičnan ceričito-amonný. V kontextu novější syntézy inhibitorů metaloproteináz je difenylmethylová (Dpm) chránící skupina využívána k ochraně hydroxamových skupin během alkylačních reakcí, zejména v přítomnosti nukleofilních činidel. Tento přístup minimalizuje vedlejší reakce, jako je nežádoucí alkylace nebo degradace citlivých funkčních skupin.²⁹

Cyklizace benzimidazolthiolů s propargylalkoholy pomocí difenylmethylové chránící skupiny

Tato studie se zaměřuje na roli difenylmethylové skupiny v cyklizaci benzoimidazolthiolů s propargylalkoholy katalyzované Lewisovou kyselinou (Schéma 13). Studie demonstruje rozpouštědlem řízenou selektivitu mezi 5-exo-dig a 6-endo-dig cyklizačními mechanismy. Difenylmethylová skupina zde slouží jako modelový substituent pro analýzu sterických a elektronických efektů v heterocyklických systémech. V experimentální části této studie autoři testovali 4,5-difenyl-4,5-imidazolthiol jako výchozí substrát. Získané výtěžky této reakce se pohybovaly v rozmezí 36–59 %, což je výrazně méně než u analogů s menšími substituenty. Mohlo by to být zapříčiněno tím, že objemné aromatické skupiny v pozicích 4 a 5 imidazolového jádra vytvářejí prostorové překážky pro přiblížení thiolové

skupiny k γ -uhlíku karbokationtového intermediátu. V rámci studie mechanismu již zmíněných reakcí autoři provedli experiment, kde benzimidazolthiol reagoval s benzhydrylem za optimalizovaných podmínek. Tato reakce vedla k tvorbě benzhydrylsulfidového derivátu s výtěžkem 78 % (Schéma 15). Přestože difenylmethylová skupina vykazuje mírný elektron-donorový efekt, její vliv na reakční průběh určují sterické faktory. V závěru práce autoři dodali, že difenylmethylová skupina představuje dvojsečný nástroj v popsané cyklizaci – zatímco její sterické efekty limitují reakční výtěžky, současně umožňuje modulaci fyzikálně-chemických vlastností výsledných heterocyklů. Budoucí výzkum by se měl zaměřit na vývoj prostorově náročných Lewisových kyselin schopných kompenzovat sterické efekty této skupiny.³¹

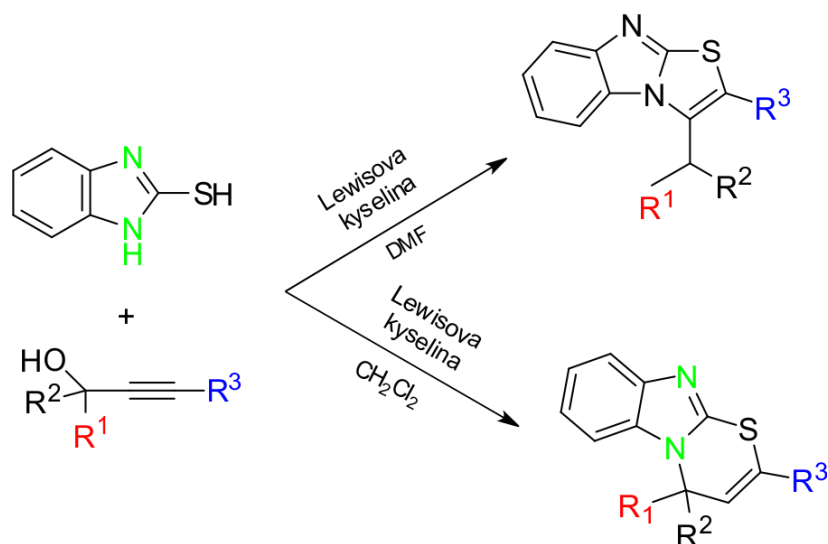


Schéma 14 Budoucí výzkum cyklizace pomocí Lewisovy kyseliny.

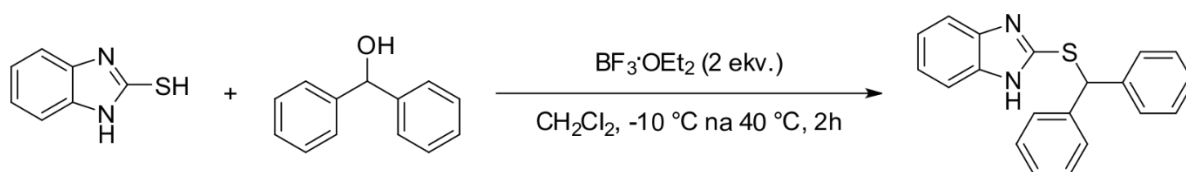


Schéma 15 Zavedení chránicí skupiny do systému heterocyklu.

Selektivní difenylmethylace hydroxylových skupin v sacharidech pomocí diazo(difenyl)methanu

Studie analyzuje využití difenylmethylové chránicí skupiny jako ochranné funkce pro hydroxylové skupiny v sacharidech. Metoda využívá teplem iniciovanou reakci s diazo(difenyl)methanem bez katalyzátorů. Difenylmethylová skupina je snadno odstranitelná katalytickou hydrogenolýzou. Také musí být dostatečně odolná vůči kyselinám, aby umožnila selektivní hydrolýzu acetalových skupin. Její použití jako O-4-chránicí skupiny a jako neparticipující O-2 chránicí skupiny v syntéze α -glykosidů bylo demonstrováno syntézami methyl-2,3,6-tri-*O*-methyl- α -D-glukopyranosidu a oktaacetátu kojibiósy. Reakce probíhá přes generování difenylmethylenového meziproductu termolýzou diazo(difenyl)methanu. Elektrofilní atak na hydroxylovou skupinu vede k tvorbě etherové vazby, přičemž reakční podmínky (teplota 80 °C v benzenu nebo acetonitrilu) zajišťují vysokou účinnost bez acidobazických katalyzátorů. Pro potlačení tvorby nežádoucího azinu bylo použito 1,35 ekvivalentu činidla, což usnadňuje izolaci produktů sloupcovou chromatografií. Hlavní výhody této metody spočívají v absenci vedlejších přesmyků a kompatibilitě s širokým spektrem funkčních skupin. I přes určitá omezení stability v kyselém prostředí tato metoda rozšiřuje syntetické možnosti v přípravě komplexních glykokonjugátů.²⁹

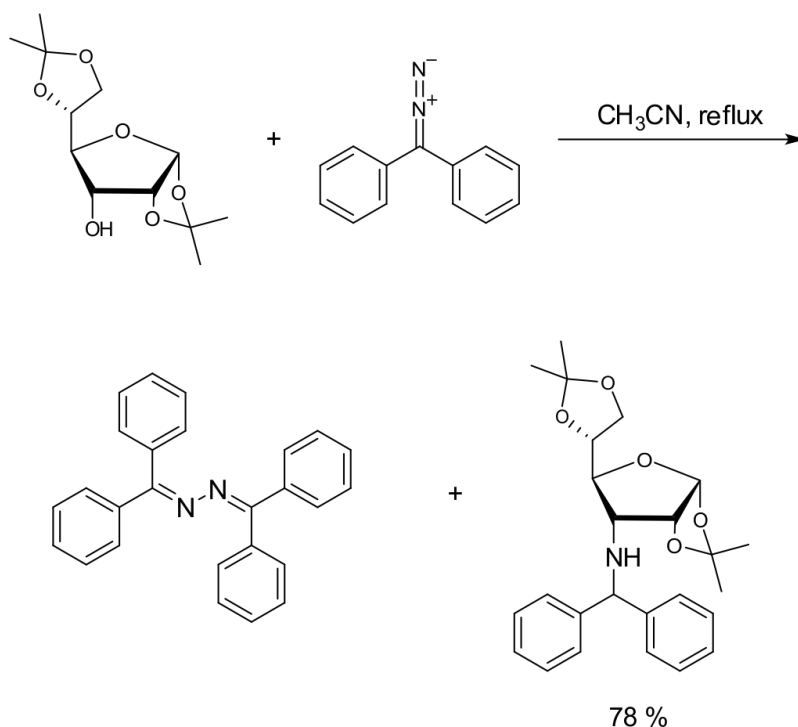


Schéma 16 Difenylmethylace hydroxylových skupin v 1,2:5,6-di-*O*-isopropyliden- α -D-glukofuranóze.

Nukleofilní substituce difenylmethanolu a ochrana hydroxylových skupin

Studie se zabývá nukleofilní substituční reakcí difenylmethanolu (Ph_2CHOH) a jeho derivátů v benzenu za přítomnosti kyseliny *para*-toluenesulfonové (TsOH). Klíčovým zjištěním je, že mechanismus této reakce je ovlivněn množstvím použité TsOH . Pokud je použito katalytické množství TsOH , reakce probíhá prostřednictvím intimních ion-molekulových párů, přičemž elektrofilem je protonovaný ether. Naopak při nadbytku TsOH vzniká volný difenylmethylový karbokation (Ph_2CH^+), který následně reaguje s benzenem za vzniku trifenylmetanu (Ph_3CH) a vedlejších produktů, jako jsou difenylmethan (Ph_2CH_2) a benzofenon (PhCOPh). V experimentální části se používá ekvimolární množství alkoholu a difenylmethanolu, které se refluxuje v benzenu s katalytickým množstvím TsOH za současného odstraňování vody pomocí Deanova–Starkova nástavce. Touto metodou lze dosáhnout výtěžků až 92 % při přípravě etherů, například $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{OCHPh}_2$. Pro odstranění chránicí skupiny se difenylmethylový ether refluxuje v benzenu s nadbytkem benzoové kyseliny a katalytickým množstvím TsOH , po čemž následuje alkalická hydrolýza vzniklých esterů. Takto lze regenerovat původní alkohol s výtěžky až 89 %, například 1-oktanol z $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{OCHPh}_2$.³²

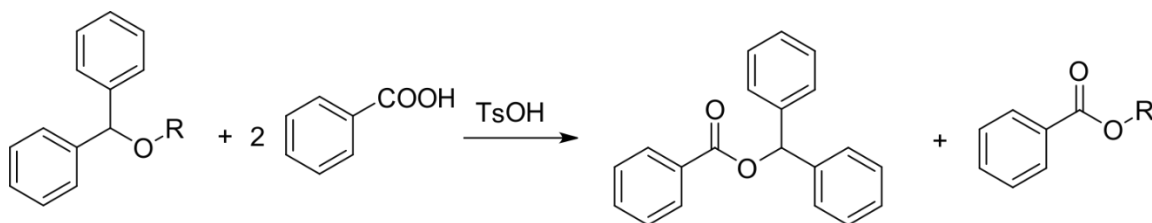


Schéma 17 Odchránění pomocí benzoové kyseliny.

Využití difenylmethyly jako chránicí skupiny pro sulfonamidy

Během tohoto výzkumu, který se zabýval sérií inhibitorů reninu, se výzkumná skupina snažila připravit sulfonamidové analogy reprezentované obecnou strukturou **11** (Schéma 18). Předpokládalo se, že nejlepší cestou k přípravě sloučenin **11** by mohla být syntéza chráněného sulfonamidového meziproductu **8**, zavedení uhlovodíkového zbytku alkylací sulfonamidové části a poté odstranění chránicí skupiny za vzniku sloučeniny **11**. Pro zdárné provedení této myšlenky bylo potřeba nalézt vhodnou chránicí skupinu. Výzkumný tým se rozhodl pro difenylmethylovou chránicí skupinu (Dpm).³³

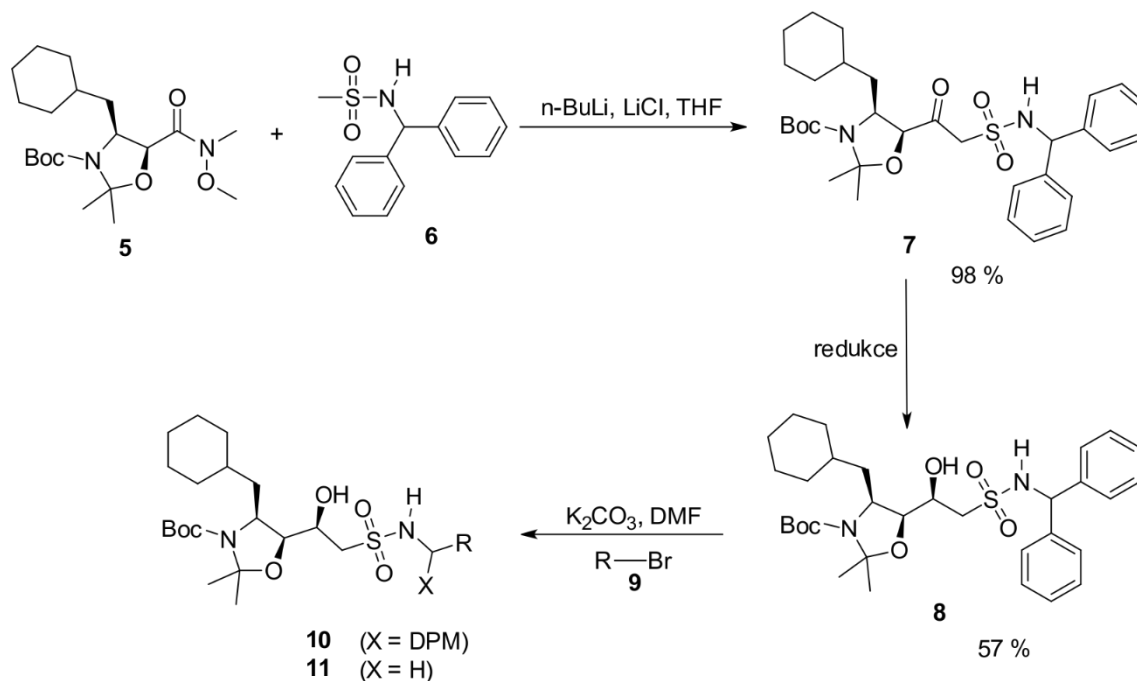


Schéma 18 Syntéza sulfonamidových analogů.

Sloučenina **6** byla syntetizována reakcí methansulfonylchloridu s aminodifenylmethanem v přítomnosti triethylaminu (TEA) v dichlormethanu (výtěžek 98 %). Pro zjištění stability v kyselém prostředí byl produkt následně upraven roztokem HCl v dioxanu za pokojové teploty. Tento krok potvrdil odolnost sloučeniny vůči kyselým podmínkám, což je klíčové pro její další využití v reakcích vyžadujících kyselé katalyzátory nebo prostředí. S využitím dianiontové chemie byl sulfonamid **6** následně spojen s amidem **5** (*n*-BuLi, LiCl, THF, 98 %) za vzniku β-oxosulfonamidu **7**. Redukcí oxoskupiny látky **7** vznikl alkohol **8** (57 %) spolu s odpovídajícím diastereomerem (20 %). Ty byly následně odděleny chromatografií. Alkylací sulfonamidu **8** s použitím bromidů společně s K₂CO₃ a DMF vznikly disubstituované sulfonamidové deriváty **10** a **11**. Následně byla difenylmethylová chránicí skupina odstraněna hydrogenací (H₂, 1 atm., Pd (OH)₂ /C, CH₃OH, THF, Et₃N, 18 hodin).³³

Difenylmethylová chránicí skupina v syntéze 5-substituovaných 3-nitro-1*H*-1,2,4-triazolů

Difenylmethylová skupina představuje univerzální nástroj pro ochranu reaktivních center při syntéze 5-substituovaných-3-nitro-1*H*-1,2,4-triazolů. Zavádí se jednoduše v kyselém i bazickém prostředí reakcí 5-brom-3-nitro-1*H*-1,2,4-triazolu s difenylchlormethanem v acetonu za přítomnosti uhličitanu draselného (Schéma 19). Tento proces generuje dva izomery (5-brom-1-difenylmethyl-3-nitro- a 3-brom-1-difenylmethyl-5-nitrotriazol), které slouží jako klíčové meziprodukty. Odstranění probíhá v systému 96% H₂SO₄ a benzenu, kde

difenylmethylový karbokationt reaguje s vodou za vzniku benzhydrolu. Ten se automaticky separuje do organické fáze (benzenu), zatímco cílový triazol zůstává v kyselém prostředí. Tím odpadá nutnost složitých purifikačních postupů. Skupina nezpůsobuje nežádoucí oxidaci nebo bromaci (na rozdíl od benzylové skupiny odstraňované *N*-bromsukcinimidem). Také umožňuje regioselektivní transformace methylsulfonylových skupin, jejichž substituce probíhá 1,5–2× rychleji než u bromových derivátů.³⁴

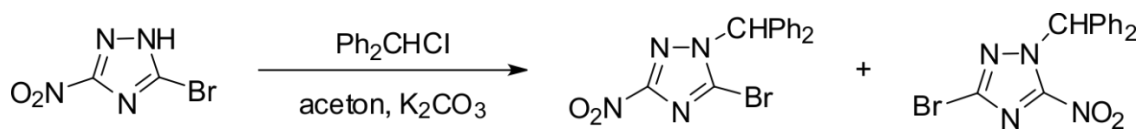


Schéma 19 Chránění aminové skupiny.

Triazoly byly připraveny dvěma hlavními cestami: buď reakcí 5-brom-1-difenylmethyl-3-nitro-1*H*-1,2,4-triazolu **12** s různými nukleofily, nebo reakcí 1-difenylmethyl-3-nitro-5-(methylsulfonyl)-1*H*-1,2,4-triazolu **13** s nukleofily.³⁴

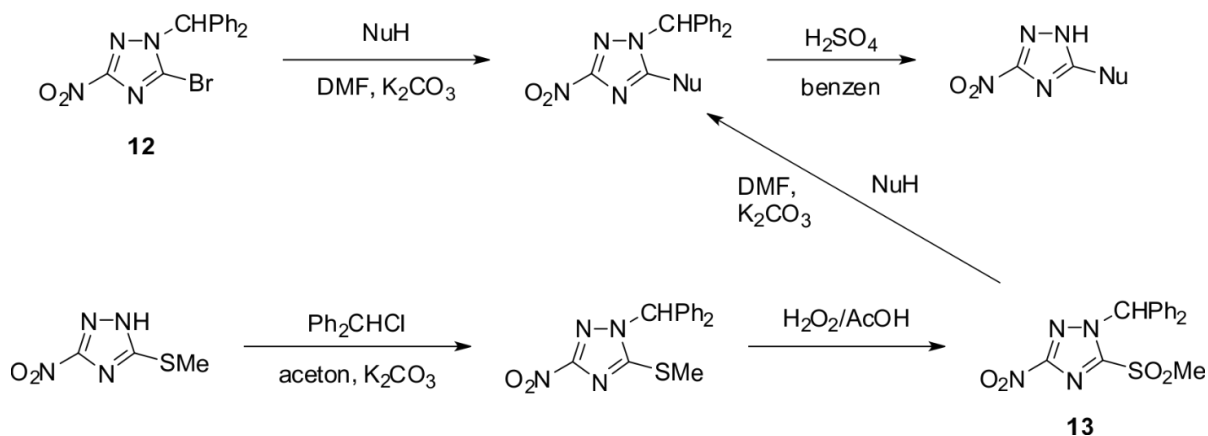


Schéma 20 Syntéza triazolů.

Po nukleofilní substituci byla difenylmethylová skupina odstraněna zpracováním v systému kyselina sírová–benzen (Schéma 20), což vedlo k získání požadovaných 5-substituovaných-3-nitro-1*H*-1,2,4-triazolů bez substituce na cyklickém dusíkovém atomu. Tento proces odstraňování chránicí skupiny je relativně šetrný a umožňuje zachování ostatních funkčních skupin v molekule.³⁴

Jednoduchá metoda ochrany některých pyrimidinových nukleosidů

Syntézy nukleotidů a nukleosidů obvykle zahrnují vícestupňové postupy, proto je výběr vhodné chránicí skupiny velmi důležitý. Řídí se několika kritérii včetně vysokých výtěžků při zavádění a odstraňování, chemoselektivity a orthogonality s jinými chránicími skupinami. Pro selektivní ochranu primárních a sekundárních hydroxylových skupin, zejména v chemii sacharidů a nukleosidů, se běžně používají různé acylové, benzylové, tritylové a silylové ethery. Rovněž byla popsána syntéza difenylmethylových etherů, ačkoli tato chránicí skupina není příliš běžná. Podobně jako u většiny benzylových etherů její zavedení obvykle zahrnuje nukleofilní substituci chlor- nebo bromdifenylmethanu pomocí alkoxidů generovaných působením hydridu sodného. Alternativně lze použít difenylmethanol v přítomnosti Brønstedovy kyseliny, Lewisovy kyseliny nebo na nosičích vázaných kyselin. Mechanisticky reakce probíhá buď prostřednictvím těsných iontových párů, prostřednictvím rozpouštědlem separovaných iontových párů, nebo prostřednictvím difenylmethylových karbokationtů. Při hledání nejlepšího katalyzátoru pro tyto reakce se nechal thymidin reagovat s difenylmethanolem v dichlorethanu v přítomnosti 0,2 ekvivalentu různých solí kovů při teplotě 85 °C. Po zahřívání přes noc s 2,5 ekvivalenty Dpm-OH byl thymidin převeden na svou chráněnou formu 3',5'-di-*O*-benzhydrylthymidin s výtěžkem 87 %. Při porovnání účinnosti různých katalyzátorů se ukázalo, že PdCl₂ je nejúčinnějším katalyzátorem pro ochranu obou hydroxylových skupin v thymidinu jako difenylmethylových etherů.³⁵

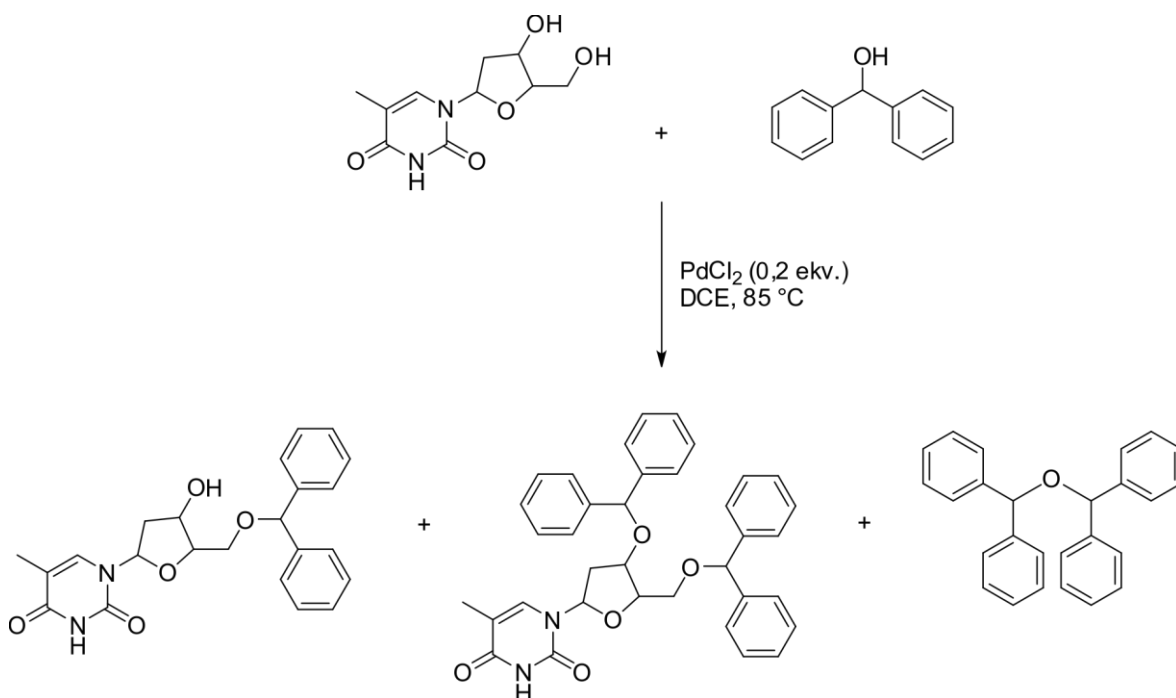


Schéma 21 Ochrana obou hydroxylových skupin thymidinu ve formě difenylmethyleteru.

Po optimalizaci podmínek pro zavedení difenylmethylové skupiny u thymidinu byla tato reakce použita i u dalších nukleosidů. Při použití 2,5 ekvivalentu Dpm-OH reagovaly 2'-deoxyuridin a 5-fluor-2'-deoxyuridin čistě a poskytly ethery s výtěžky 88 % a 85 %. Předpokládá se, že reakce probíhá prostřednictvím tvorby benzhydrylového karbokationtu. Koordinace atomu kyslíku hydroxylové skupiny na mírnou Lewisovu kyselinu Pd^{II} snižuje aktivační bariéru a může tak snadno dojít k přenosu hydroxylové skupiny na palladium, což poskytne benzhydrylový karbokation. V této studii vědci úspěšně dosáhli odchránění syntetizovaného 3',5'-di-*O*-benzhydryl-thymidinu pouze změnou rozpouštědla. Po zahřívání v ethanolu při 85 °C s katalytickým množstvím PdCl_2 (0,2 ekvivalentu) po dobu 16 hodin byl získán opět čistý thymidin. Výsledný vedlejší produkt, ethoxydifenylmethan, byl také izolován a charakterizován pomocí $^1\text{H-NMR}$.³⁵

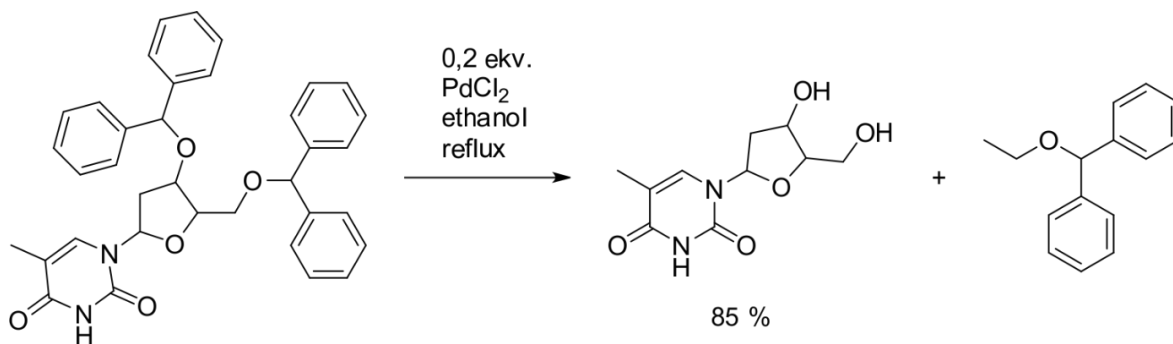
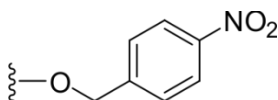


Schéma 22 Odchránění DPM eterové skupiny při refluxu v ethanolu.

3 Orthogonalita difenylmethylové chránicí skupiny vzhledem k ostatním chránicím skupinám využívaných pro aminy

Orthogonalita chránicích skupin obecně znamená, že dvě nebo více chránicích skupin v molekule lze selektivně odstranit v libovolném pořadí a zpravidla za různých fyzikálně-chemických podmínek. Tento princip je velmi důležitý při syntéze složitých molekul, které obsahují více reaktivních míst vyžadujících odchránění v různých fázích syntetického postupu. V biologických systémech je sestavování peptidů a reaktivita funkčních skupin přísně kontrolována specifickými enzymatickými systémy, zatímco v chemické syntéze musí být reaktivita funkčních skupin řízena pomocí vhodně zvolených chránicích skupin. Nejčastěji používanou orthogonální kombinací chránicích skupin je pár Fmoc/Boc. Fluorenylmethoxy-karboxylová skupina (Fmoc) se používá k ochraně aminových skupin a je odstraňována silnou bází, obvykle piperidinem nebo jeho homology piperazinem a 4-methylpiperidinem. Tato skupina představuje základní ochranu pro α -aminové skupiny v syntéze peptidů na pevné fázi.³⁶ V některých případech je výhodné použít fotolabilní chránicí skupiny, které mohou být odstraněny působením elektromagnetického záření o vhodné vlnové délce, bez použití chemických činidel. Tyto skupiny jsou stabilní vůči široké škále chemických činidel, ale mohou být selektivně odstraněny přímým ozářením nebo fotosenzibilací. Příkladem takové skupiny je *ortho*-nitrobenzylová skupina, která může být použita jako fotolabilní chránicí skupina. Výhodou tohoto přístupu je selektivní odchránění bez ovlivnění jiných částí molekuly, což dále rozšiřuje orthogonální možnosti při syntézách komplexních molekul.³⁷ Fotolabilní *ortho*-nitrobenzylová (*o*-NB) skupina umožňuje prostorově řízenou aktivaci CRISPR-Cas9 prostřednictvím DNA origami nanostruktur. Po ozáření UV světlem (365 nm) se z těchto struktur uvolní guide-RNA, která navede Cas9 protein k cílové DNA sekvenci, čímž iniciuje precizní editaci genomu bez poškození okolních buněk.³⁸



Obrázek 4 *ortho*-nitrobenzylová skupina.

3.1 Trifluoracetyl a další skupiny potenciálně orthogonální k difenylmethylové skupině

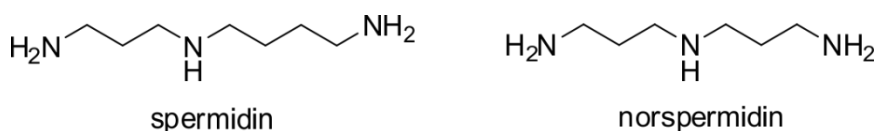
Novější studie popisují využití trifluoracetylové (Tfa) skupiny například jako chránicí skupiny pro guanidinovou skupinu. Trifluoracetyl je orthogonální ke skupinám, jako jsou Boc, Cbz a Ddpe. Tfa je stabilní v kyselých podmínkách a odstraňuje se mírnými bazickými podmínkami (K_2CO_3 v MeOH/ H_2O). To z ní činí potenciálně orthogonální chránicí skupinu k difenylmethylové skupině, která se obvykle odstraňuje kyselou hydrolyzou. Zde je důležité poznamenat, že Boc a Cbz jsou obecně méně labilní v kyselém prostředí než difenylmethylová skupina, takže Tfa by měla být k difenylmethylové skupině spolehlivě orthogonální. Allyloxykarbonylová skupina (Alloc) je odstranitelná pomocí Pd^0 katalýzy, a tato reakce se provádí za podmínek mírných a selektivních, a proto je i tato skupina potenciálně orthogonální vůči difenylmethylové skupině. 1-(4,4-Dimethyl-2,6-dioxocyklohexylyden)-2-fenylethylová skupina (Ddpe) se odstraňuje pomocí vodného hydrazinu a je kompatibilní s kyselými podmínkami. I když studie uvádějí, že v některých případech dochází k částečnému štěpení Ddpe, zdá se, že tato skupina by mohla být potenciálně orthogonální i k difenylmethylové skupině, protože mechanismy odstranění jsou velmi odlišné.³⁹ I když by uvedené skupiny mohly být dobrými kandidáty na orthogonální chránicí skupiny k difenylmethylové skupině, je vždy nutné experimentálně ověřit selektivitu odstranění v konkrétním syntetickém kontextu. Podmínky pro odstranění difenylmethylové skupiny (zejména typ kyseliny, koncentrace a teplota) mohou ovlivnit stabilitu ostatních chránicích skupin.

3.2 Orthogonalita formylové chránicí skupiny k difenylmethylové skupině

Orthogonalita mezi formylovou a difenylmethylovou chránicí skupinou spočívá v jejich rozdílné chemické stabilitě a způsobu odstraňování, což umožňuje jejich selektivní použití při syntéze peptidů nebo jiných organických sloučenin.⁴⁰ Jak už bylo zmíněno výše, formylová skupina je stabilní v kyselém prostředí, včetně silných kyselin, jako je trifluoroctová kyselina (TFA) nebo kyselina fluorovodíková (HF). Tato chránicí skupina se odstraňuje za mírných bazických podmínek, například v 1M NH_4HCO_3 pufru o pH = 9 nebo pomocí kapalného amoniaku s hydroxylaminem. Často se používá k ochraně indolového postranního řetězce tryptofanu při syntéze peptidů.⁴¹ Naproti tomu Dpm je odolná vůči mírným bazickým podmínkám, což umožňuje její stabilitu během odstraňování formylové skupiny.²⁹ Závěrem lze tedy tvrdit, že formylová a difenylmethylová chránicí skupina jsou orthogonální díky své rozdílné chemické reaktivitě.

3.3 Efektivní syntéza orthogonálně chráněných derivátů spermidinu a norspermidinu

Polyaminy, jako spermidin a norspermidin, představují klíčové komponenty biologicky aktivních sloučenin, které se podílejí na řadě fyziologických a biochemických procesů. Jejich syntéza vyžaduje selektivní ochranu aminoskupin, aby bylo možné provádět další chemické modifikace. Studie zabývající se orthogonálně chráněnými deriváty spermidinu a norspermidinu popisují efektivní metodu pomocí kyanethylace mono-chráněných diaminoalkanů, následované ochranou sekundární aminoskupiny a redukcí nitrilů LiAlH_4 v etherovém roztoku. Prvním krokem syntézy byla kyanethylace kdy monochráněné 1,4-butandiaminy a 1,3-propandiaminy byly kyanethylovány v methanolovém roztoku. Následně byla provedena ochrana sekundární aminoskupiny *tert*-butoxykarbonylovou (Boc) skupinou. Tato skupina byla použita pro selektivní ochranu primárních a sekundárních aminů. Dalším krokem syntézy byla redukce nitrilů – redukce LiAlH_4 poskytla chráněné spermidinové a norspermidinové deriváty. Částečně chráněné polyaminy byly acylovány Boc-Gly pro získání spermidinových a norspermidinových glycinových konjugátů.⁴² Pokud by byla v této nebo jiné syntéze nutná ochrana a následné odštěpení karboxylové kyseliny, difenylmethylová chránicí skupina by mohla být vhodnou volbou. Jak už bylo vícekrát zmíněno, je totiž stabilní v bazickém prostředí a odstranitelná kyselinou.



Obrázek 5 Vzorec spermidinu a norspermidinu.

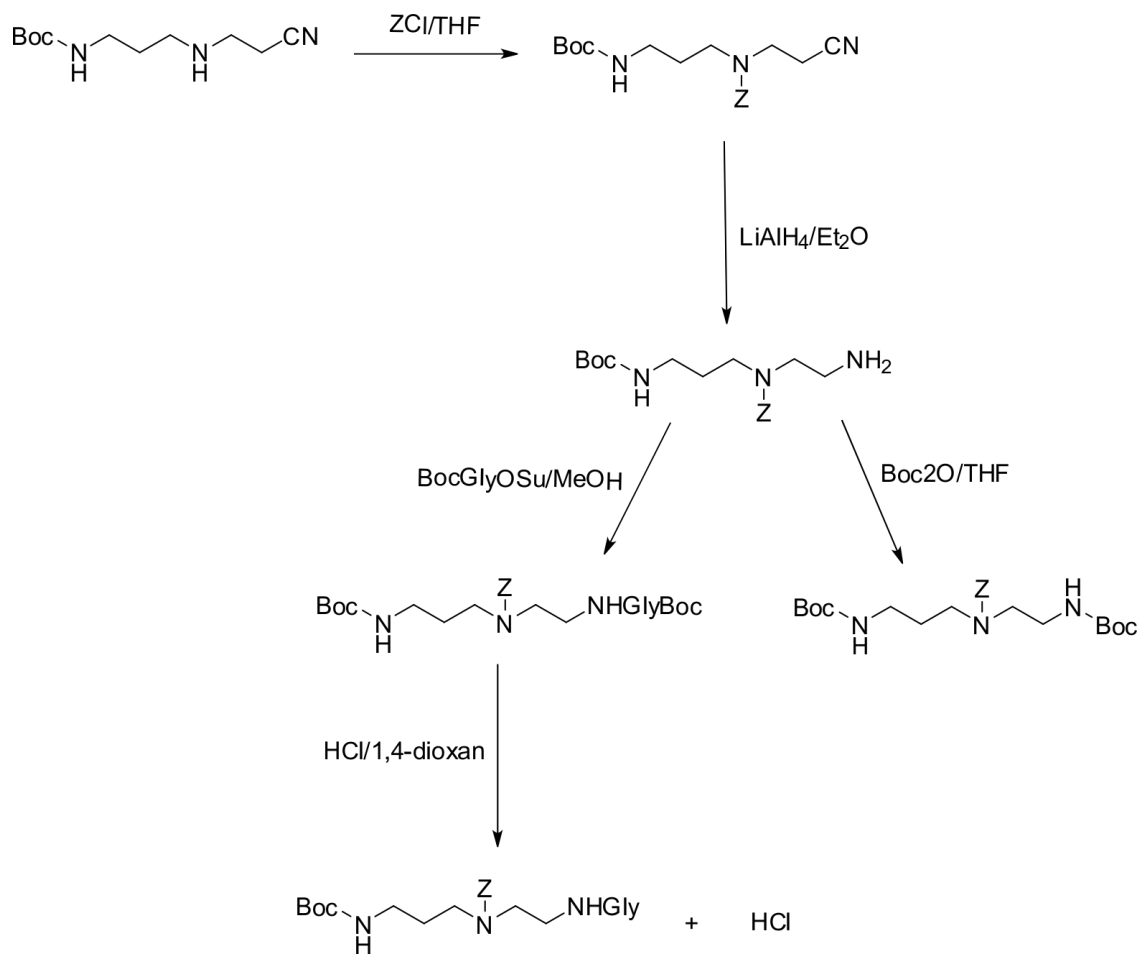


Schéma 23 Reakce mono-chráněných diaminoalkanů.

II EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4 Použité přístroje a vybavení

Stanovení bodů tání (T_t) bylo realizováno pomocí Koflerova bloku, přičemž naměřené hodnoty nebyly korigovány. Pro analýzu metodou tenkovrstvé chromatografie (TLC) byly využity chromatografické desky Alugram Sil G/UV254 od společnosti Macherey–Nagel. Jako mobilní fáze byly použity směs petrolether/ethyl-acetát v poměru 5/1 (v/v), methanol/chloroform/TEA v poměru 2/1 (v/v) + 1 % TEA.

Stanovení struktury připravených látek bylo provedeno pomocí nukleární magnetické resonance (NMR). ^1H NMR a ^{13}C NMR spektra byla zaznamenána na spektrometru JEOL ECZ 400R/S3 (Jeol, Japonsko) pracujícím při frekvenci 399,78 MHz pro ^1H a 100,53 MHz pro ^{13}C . Chemické posuny v ^1H NMR spektrech jsou vyjádřeny v jednotkách ppm s použitím signálu zbytkového chloroformu ($\delta = 7,26$ ppm) a zbytkového DMSO ($\delta = 2,62$ ppm) jako interních standardů. Pro ^{13}C NMR byla jako reference využita reziduální signál deuterovaného chloroformu ($\delta = 77,5$ ppm) a deuterovaného DMSO ($\delta = 39,5$ ppm). Interpretace spekter zohlednila charakteristické multiplicity signálů, které jsou v textu popsány pomocí standardních zkratk: singlet (s), dublet (d), triplet (t), multiplet (m) a široký signál (b).

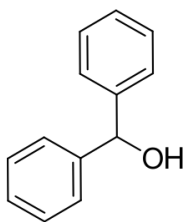
Infračervená spektra (IR) byla zaznamenána na přístroji FTIR ALPHA-T (Bruker, Německo) ve formě KBr tablet. Při interpretaci IR spekter byly použity zkratky označující intenzitu absorpčních pásů: s (silný), m (střední), w (slabý), a případně také jejich šířku: b (široký pás).

Kvalitativní analýza reakčních směsí a syntetizovaných látek byla provedena pomocí dvou systémů plynové chromatografie spojené s hmotnostní spektrometrií (GC-MS). První systém tvořil přístroj GC-Q-MS QP2010 (Shimadzu, Japonsko) vybavený kvadrupólovým hmotnostním analyzátozem, zatímco druhý systém GC-QqQ-MS TQ2030 (Shimadzu, Japonsko) využíval trojitý kvadrupólový analyzátor. Pro separaci složek byla u prvního přístroje použita kapilární kolona EQUITY 1 ($30\text{ m} \times 0,32\text{ mm} \times 1,0\text{ }\mu\text{m}$), zatímco druhý systém pracoval s kolonou SH-I-1MS ($30\text{ m} \times 0,25\text{ mm} \times 0,25\text{ }\mu\text{m}$). Pro oba přístroje byl aplikován identický teplotní program: počáteční teplota $100\text{ }^\circ\text{C}$ po dobu 7 minut, následovaná lineárním nárůstem rychlostí $30\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$ až na konečných $250\text{ }^\circ\text{C}$. Teplota injektoru byla nastavena na $250\text{ }^\circ\text{C}$. Jako nosný plyn sloužilo helium, iontový zdroj byl

udržován při 200 °C s energií elektronů 70 eV. Hodnoty m/z jednotlivých fragmentů byly doplněny údaji o intenzitě v závorkách, což umožnilo přesnější interpretaci fragmentačních vzorců.

5 Provedené syntézy

Syntéza difenylmethanolu (14)



Do baňky o objemu 250 cm³ bylo odměřeno 100 cm³ vychlazeného methanolu o teplotě 10 °C a k němu byl přidán benzofenon (27,4 mmol, 5 g). Směs se nechala 20 minut míchat (šumění). Poté byl do baňky přidán tetrahydridoboritan sodný (27,4 mmol, 1,038 g). Po hodině míchání bylo pro kontrolu průběhu reakce provedeno TLC (mobilní fáze byla PE: EA v poměru 5:1). Po skončení reakce bylo do směsi přidáno 40 cm³ zředěné HCl v poměru 1:1. Do vzniklé heterogenní směsi se přidalo 10 cm³ destilované vody a následně byla reakční směs extrahována dichlormethanem (3 × 30 cm³). Spodní dichlormethanové fáze byly spojeny a promyty destilovanou vodou (3 × 10 cm³) a nasyceným roztokem NaCl (3 × 10 cm³). Poté následovalo vysušení nad bezvodým síranem sodným po dobu minimálně 24 hodin. Po odpaření dichlormethanu pomocí rotační vakuové odparky (RVO) byl izolován surový produkt v podobě bezbarvých krystalů. Surový produkt byl překrystalizován z hexanu.

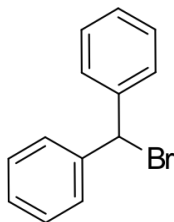
Titulní látka byla získána v podobě bezbarvých krystalů ve výtěžku 4,1859 g (83 %). Teplota tání (T_t): 60–63 °C; $T_t^{\text{lit}} = 65–67$ °C⁴³

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7,39–7,31 (m, 8H); 7,28–7,23 (m, 4H); 5,84 (d, $J = 3,7$ Hz, 1H); 2,17 (d, $J = 3,7$ Hz, 1H) ppm.

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 128,6; 127,7, 126,6; 77,4; 77,2; 77,1; 76,8 ppm

IR (KBr): 3385 (m), 3328 (m), 3026 (s), 2384 (m), 1948 (w), 1494 (s), 1316 (m), 1200 (s), 926 (w), 851 (w), 543 (m), 452 (w) cm⁻¹.

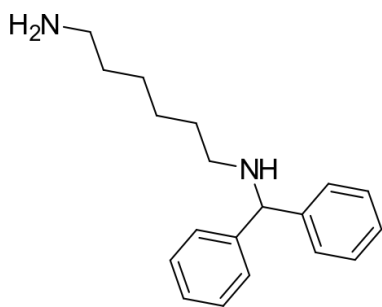
GC-MS ($t_R = 12,90$ min): 184 (21), 105 (100), 77 (65), 51 (27) m/z (%).

Difenylbrommethan (15)

Difenylmethanol (**14**) (27,1 mmol, 5 g) byl smíchán s 20 cm³ HBr (48%) a směs byla refluxována pod zpětným chladičem. Po hodině míchání se na povrchu reakční směsi oddělila tenká hnědá kapalná fáze. Průběh reakce byl monitorován pomocí TLC (PE:EA, 5:1). Směs byla refluxována 6 hodin a poté míchána dalších 12 hodin při pokojové teplotě (23 °C). Druhý monitoring pomocí TLC ukázal, že reakce proběhla podle předpokladu. Reakční směs byla extrahována dichlormethanem (3 × 20 cm³). Spojené organické podíly byly promyty destilovanou vodou (3 × 10 cm³), nasyceným roztokem NaCl (3 × 10 cm³) a následně vysušeny bezvodým síranem sodným po dobu 24 hodin. Po odpaření rozpouštědla na RVO byl získán produkt ve formě nahnědlé olejovité kapaliny ve výtěžku 4,8 g (72 %).

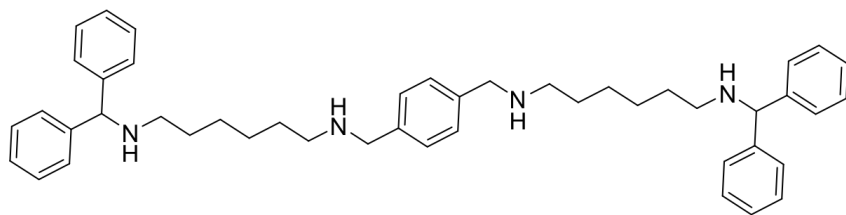
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.46 (d, J = 7.3 Hz, 10H), 7.31 (m, J = 33.4, 8.1 Hz, 18H), 6.29 (s, 2H), 5.41 (s, 0H), 5.28 (s, 1H) ppm.

GC-MS (t_R = 12,899 min): 50 (8), 51 (27), 52 (5), 77 (65), 78 (44), 79 (36), 105 (100), 106 (10), 107 (10), 165 (8), 183 (8), 184 (21), 207 (5) m/z (%).

N-difenylmethylhexan-1,6-diamin (16)

V baňce chlazené ledovou lázní pod argonem byl v 48 cm³ dichlormethanu rozpuštěn hexan-1,6-diamin (9,98 mmol, 1,16 g). Do reakční směsi byl postupně během 30 minut přikapáván pomocí injekční stříkačky difenylbrommethan (**15**) (2 mmol, 500 mg) rozpuštěný v DCM (2 cm³). Následně bylo provedeno monitorování průběhu reakce pomocí TLC (mobilní fáze: MeOH: CHCl₃; 2:1 + 1 % TEA), vizualizace látek byla provedena ninhydrinem. Reakční směs byla míchána při pokojové teplotě 2 dny. Poté se na povrchu vytvořila bezbarvá sraženina, která byla odebrána a také analyzována pomocí TLC + ninhydrin. Následně byla sraženina oddělena filtrací a matečný louh byl odpařen pomocí RVO. Odparek byl smíchán s diethyletherem (20 cm³) a ponechán v lednici do druhého dne. Následně byly pevné podíly odděleny pomocí centrifugy. Diethylether byl znovu odpařen pomocí RVO. Znovu odpařený produkt reakce (po dekantaci) byl následně přečištěn pomocí sloupcové chromatografie (mobilní fáze: MeOH: CHCl₃; 2:1 + 1 % TEA). Takto byl získán produkt ve formě nažloutlé olejové směsi ve výtěžku 0,39 g (68 %).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.85-9.63 (m, 41H), 5.93 (s, 1H), 5.13 (s, 7H), 5.02 (d, J = 14.1 Hz, 8H), 4.00-3.66 (m, 48H), 3.59-3.50 (m, 1H) ppm.

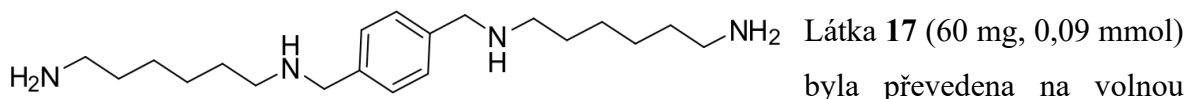
***N,N'*-bis(6-(difenylmethylamino)hexan-1-yl)-1,4-xylylendiamin (17)**

Tereftaldehyd (0,37 mmol, 50 mg) a *N*-difenylmethylhexan-1,6-diamin (**16**) (1,1

mmol, 310 mg) byly rozpuštěny v methanolu (15 cm³). Směs byla míchána pod chlorkalciovým uzávěrem při laboratorní teplotě po dobu 20 hodin. Malé množství reakční směsi bylo poté odebráno a následně odfoukáno N₂. Poté se do stejné vialky přidalo deuterované rozpštědlo DMSO a bylo provedeno NMR měření. Signály se po 20 hodinách pohybovaly kolem 9 ppm. Poté byl ke směsi přidán tetrahydridoboritan sodný (2,2 mmol, 85 mg) a směs byla míchána další 1 hodinu. Posléze byl do reakční směsi přidán diethylether (40 cm³). Dále byla směs promyta 10 % roztokem NaOH (2 × 20 cm³), destilovanou vodou (2 × 20 cm³) a 10 % roztokem NaCl (2 × 20 cm³). Následovalo vysušení nad bezvodým síranem sodným po dobu 24 hodin. Po odpaření organického rozpštědla pomocí RVO byla získána olejovitá směs. Tato směs byla rozpuštěna v roztoku HCl v MeOH (připravený in situ reakcí AcCl s bezvodým MeOH). Protože ani po noci v lednici nevznikla sraženina produktu, byl MeOH odfoukán proudem N₂ a produkt byl srážen přidáním DEE. Vzniklá sraženina byla oddělena pomocí centrifugy. Výsledným produktem reakce byl bezbarvý prášek ve výtěžku 146,3 mg (61 %).

¹H NMR (400 MHz, DMSO-D₆) δ 7.69-7.56 (m, 4H), 7.41-7.30 (m, 4H), 5.54 (t, J = 6.3 Hz, 1H), 4.08 (d, J = 4.6 Hz, 1H), 3.35-3.28 (m, 18H), 2.76 (d, J = 20.2 Hz, 2H), 2.46 (s, 15H), 1.73-1.60 (m, 2H), 1.21 (s, 2H), 1.05 (t, J = 6.9 Hz, 0H) ppm.

IR (KBr): 3713 (w), 3418 (m), 2942 (s), 1900 (m), 1587 (s), 1455 (s), 1328 (w), 1186 (m), 1083 (m), 1004 (s), 840 (m), 702 (s), 644 (w), 562 (s), 444 (m) cm⁻¹.

***N,N'*-bis(6-aminohexan-1-yl)-1,4-xylylendiamin) (18)**

bázi reakcí s 10 cm³ NaOH v přítomnosti 10 cm³ DCM. Dvofázová směs byla intenzívně míchána v baňce na elektromagnetické míchačce a poté převedena do dělicí nálevky. Spodní DCM vrstva byla oddělena a alkalická vodná fáze promyta 4 × 10 ml DCM. Spojené organické podíly byly následně odpařeny pomocí RVO. Vzniklá volná báze ve formě bezbarvého prášku o hmotnosti 40 mg byla smíchána s acetonitrilem (10 ml) a dusičnanem ceričito-amonným (0,38 mmol, 255 mg), kdy vznikl žlutý zakalený roztok. Směs byla refluxována 10 h a následně míchána 2 dny při laboratorní teplotě. Po dvou dnech se směs vyčeřila. Poté bylo přidáno 20 ml 1 M HCl a směs byla dále míchána 2 dny při pokojové teplotě (23 °C). Opět došlo ke změně barvy a vznikl bezbarvý roztok. Reakční směs byla poté neutralizována pomocí 30 ml 10 % NaOH a následně byla reakční směs extrahována DCM (3 × 15 ml) a vysušena nad bezvodým síranem sodným. Následovalo odpaření organických podílů pomocí RVO. Tímto postupem vznikla nažloutlá olejovitá směs s hmotností 16,2 mg (30 %).

¹H NMR (400 MHz, DMSO-D₆) δ 12.50-12.42 (m, 18H), 12.32 (d, J = 15.6 Hz, 13H), 12.18-11.93 (m, 4H), 8.36-8.23 (m, 6H), 8.11 (d, J = 36.2 Hz, 17H), 7.25 (s, 6H), 6.74-6.66 (m, 0H), 6.47-5.99 (m, 14H), 5.67-5.54 (m, 3H) ppm.

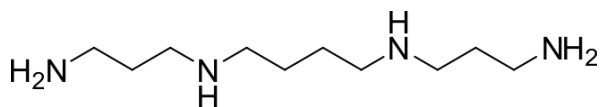
¹³C NMR (101 MHz, DMSO-D₆) δ 196,3; 137,6; 133,2; 130,1; 129,1; 128,9; 127,8; 127,4; 70,3; 40,7; 40,5; 40,3; 40,1; 39,9; 39,7; 39,5 ppm.

III. DISKUZNÍ ČÁST

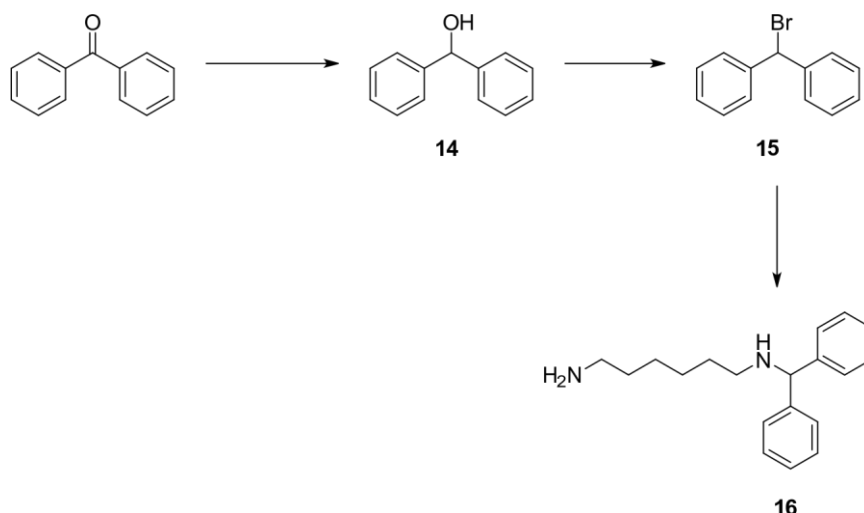
6 Výsledky a diskuze

Úvod do diskuzní části

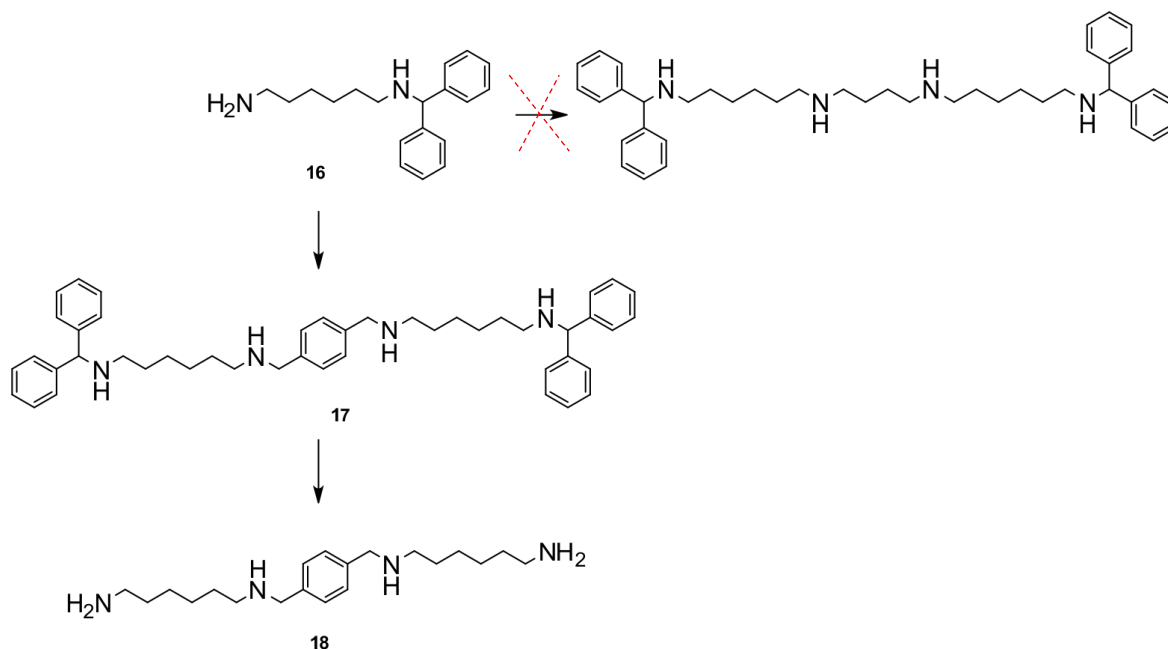
Tato bakalářská práce se zabývala syntézou prekurzorů a aplikací difenylmethylové chránicí skupiny při ochraně aminových funkčních skupin během syntézy lineárních polyaminů se střídajícími se uhlíkatými řetězci různé délky. Vzhledem k limitované stabilitě nejsou činidla pro zavedení této chránicí skupiny, například difenylbrommethan, komerčně dostupná. Vhodné prekurzory těchto činidel, například benzofenon, který byl využit i v této práci, však komerčně dostupné jsou. Nedostupnost vhodného činidla pro zavedení této skupiny si vynutila laboratorní přípravu prostřednictvím více krokové syntézy. Tato práce zapadá do širšího konceptu přípravy polyaminových sloučenin, například 1,8,13,20-tetraazaikosanu, které vykazují strukturní homologii s biologicky významným polyaminem sperminem. Spermin je esenciální biomolekula stabilizující DNA, regulující proteosyntézu a buněčnou proliferaci, přítomná v ribozomálních komplexech a tkáních. Vzniká ze spermidinu enzymatickou reakcí katalyzovanou sperminsyntázou. Jeho biosyntéza je klíčová pro udržení buněčných funkcí.⁴⁴ Lze jej připravit jednoduchou dvoukrokovou metodou: nejprve se vhodný nitril a lineární polyamin nechají reagovat za přítomnosti *N*-acetylcysteinu za vzniku cyklické amidinové struktury, která se následně redukuje komplexem boran–dimethylsulfid v THF při 70 °C. Tento postup nevyžaduje chránicí skupiny, probíhá za mírných podmínek a poskytuje spermin ve vysokém výtěžku bez vedlejších produktů. Celá metoda je efektivní, technicky nenáročná a vhodná i pro větší množství produktu.⁴⁵ Syntetický analog, který byl původním záměrem přípravy v rámci této práce by mohl potenciálně vykazovat obdobné biologické vlastnosti, a kromě toho se dají předpokládat zajímavé možnosti v supramolekulární chemii s mnoha aminovými skupinami a dlouhými uhlíkovými řetězci mezi nimi, je ze supramolekulárního hlediska molekula, která umožňuje současnou vazbu několika cucurbiturilových makrocyclů. Délka a flexibilita jeho spojovacích segmentů ovlivňují tvorbu komplexů s více cucurbiturily (např. CB6, CB7), což je důležité pro studium supramolekulárních interakcí a pro konstrukci funkčních struktur. V těchto komplexech se zkoumají nejen hostitel–host interakce uvnitř makrocyclů, ale i vzájemné síly mezi cucurbiturily, které ovlivňují stabilitu a prostorové uspořádání systému.⁴⁶



Obrázek 5 Spermin.

Schéma 24 Postup přípravy látky **16**.

Hlavním plánem bylo připravit činidlo pro zavedení difenylmethylové (Dpm) skupiny na amin. Pokusili jsme se nejprve o přímou reakci benzofenonu (PhCOPh) s aminem, která by teoreticky mohla vést k tvorbě iminu s následnou redukcí na požadovanou Dpm-NH-R strukturu. Tato cesta však nebyla úspěšná, proto jsme přistoupili k alternativní strategii využívající alkylaci prostřednictvím nukleofilní substituce, pro kterou by byl vhodným činidlem difenylbrommethan. Po úspěšném zavedení chránicí skupiny jsme chtěli otestovat použitelnost takto mono-ochráněného diaminu pro zamýšlenou syntézu polyaminů. V rámci tohoto testování jsme zkoumali dva syntetické přístupy – nukleofilní substituci a kombinaci Schiffovy kondenzace s následnou redukcí. Obě metody měly potenciál poskytnout požadované polyaminy, ovšem s rozdílnými výsledky. Zatímco produkt nukleofilní substituce se nám nepodařilo prokazatelně izolovat, v případě Schiffovy kondenzace následované redukcí jsme získali silné indicie naznačující úspěšný průběh reakce, ačkoliv zatím nedisponujeme dokonale čistým produktem.

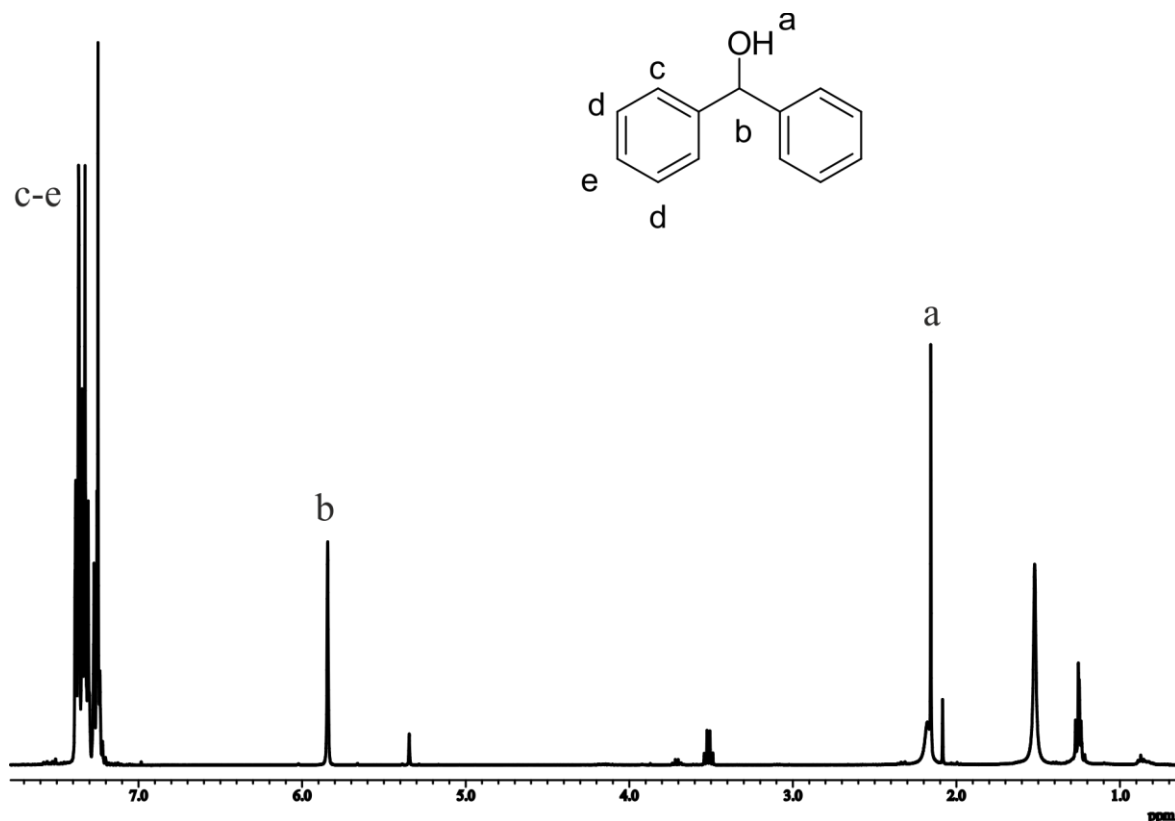
Schéma 26 Využití látky **16** k dalším reakcím.

5.1 Syntéza difenylmethanolu

Tato sloučenina představuje první meziprodukt při přípravě chránícího činidla difenylbromethanu popsaného níže. Původní syntetická strategie využívala *tert*-butyl(methyl)eteru (TBME) jako reakční médium, kde směs obsahující benzofenon a redukční činidlo NaBH_4 byla míchána po dobu 120 minut při laboratorní teplotě. Monitorování průběhu reakce tenkovrstvovou chromatografií (TLC) v petrolether/ethylacetátovém mobilním systému (5:1, v/v) neprokázalo vznik žádných nových látek odpovídajících předpokládanému produktu. Následná modifikace reakčních podmínek spočívala v zahřívání směsi pod zpětným chladičem po dobu 60 minut při teplotě varu TBME (55 °C). Ani za těchto podmínek však nebyla detekována konverze benzofenonu, což vedlo k ukončení experimentu a volbě jiného rozpouštědla.

Druhým rozpouštědlem byl zvolen ethanol jako polární protický rozpouštědlový systém. Reakce byla opět nejprve prováděna za mírných podmínek při pokojové teplotě. Chromatografická analýza prokázala po 120 minutách kompletní konverzi výchozího benzofenonu na příslušný alkohol. Produkt byl izolován extrakcí dichlormethanem po zředění reakční směsi destilovanou vodou, a následně krystalizován z hexanu. Takto byly získány bezbarvé krystaly, které byly analyzovány pomocí ^1H NMR spektroskopie. Ve spektru byly pozorovány i signály pravděpodobně vedlejších produktů reakce. Nicméně, v konečném důsledku ethanol jako polární protické rozpouštědlo výrazně zlepšil reaktivitu NaBH_4 díky lepší solvataci borohydridového aniontu a poskytování protonů nezbytných pro

redukční mechanismus. Naopak TBME, jako aprotické a nepolární rozpouštědlo, nedokázalo dostatečně solvatovat ionty ani zajistit vhodné reakční prostředí, což vedlo k selhání redukce benzofenonu.



Obrázek 6 ^1H NMR spektrum surové reakční směsi difenylmethanolu před rekrystalizací.

Signály v oblasti 8,0–7,0 ppm odpovídají aromatickým protonům dvou fenylových skupin. Dublet při přibližně 5,8 ppm lze přiřadit methinovému protonu (CHOH). Vysoký signál kolem 2,4 ppm přísluší hydroxylovému protonu (OH).

V důsledku předchozích zjištění byl proveden třetí experiment kde jako rozpouštědlo byl tentokrát použit methanol. Tato reakce byla prováděna za obdobných podmínek. Směs byla chlazená na teplotu cca 5 °C. Izolace produktu vedla k získání bezbarvé krystalické látky, jejichž struktura byla následně určena pomocí ^1H NMR. Spektrální analýza získaných krystalů indikovala mírně vyšší stupeň čistoty ve srovnání s produktem reakce v ethanolu. U produktů obou reakcí byla aplikována purifikační metoda rekrystalizace za použití hexanu jako rozpouštědla, kdy se vzniklé krystaly zahřívaly pomocí horkovzdušné pistole za stálého přidávání hexanu, až do nasycení roztoku. Produktem rekrystalizačního procesu byly bezbarvé jehlicové krystaly, jejichž identita a vysoký stupeň čistoty byly potvrzeny prostřednictvím ^1H a ^{13}C NMR spektroskopických analýz. Jelikož syntéza difenylmethanolu

byla opakována několikrát během této práce, byl pro následující fázi syntetické sekvence jako optimální reakční médium vybrán methanol vzhledem k jeho vhodným solvatačním charakteristikám a kompatibilitě s reakčním systémem.

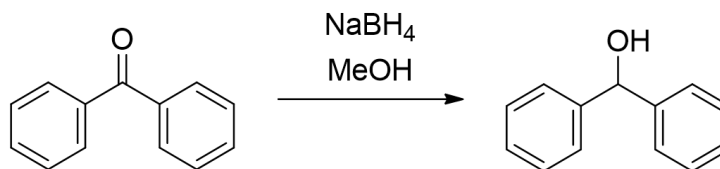
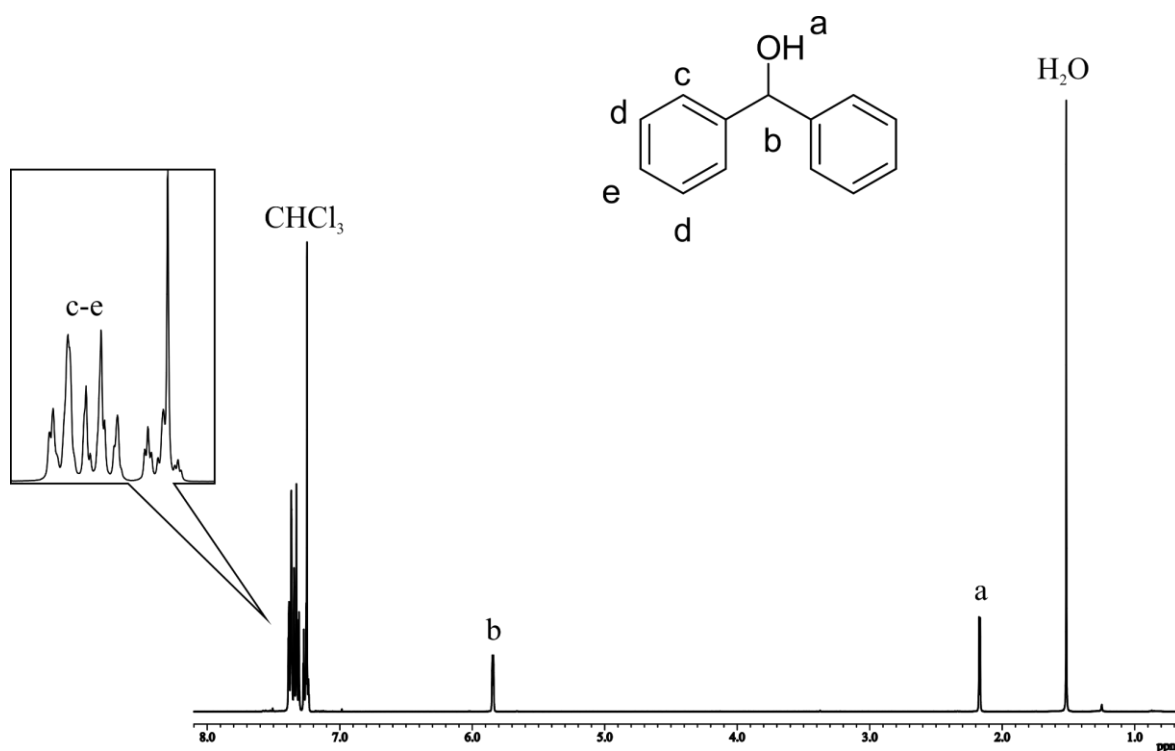


Schéma 26 Příprava difenylmethanolu.



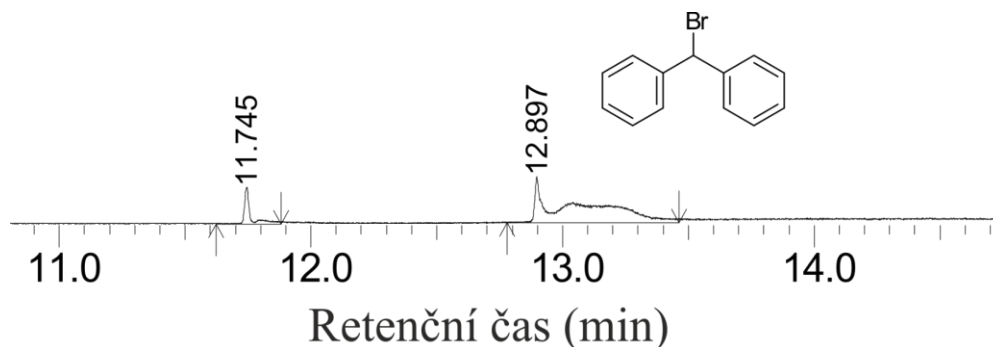
Obrázek 7 ^1H NMR spektrum čistého difenylmethanolu.

Výchozí látka	benzofenon		
Rozpouštědlo	TBME	EtOH	MeOH
Podmínky	lab. teplota, 2h → 55 °C, 1h	lab. teplota, 2h	5 °C, 2h
Výtěžek (%)	/	70	83

Tabulka 1 Přehled použitých rozpouštědel a reakčních podmínek pro přípravu difenylmethanolu.

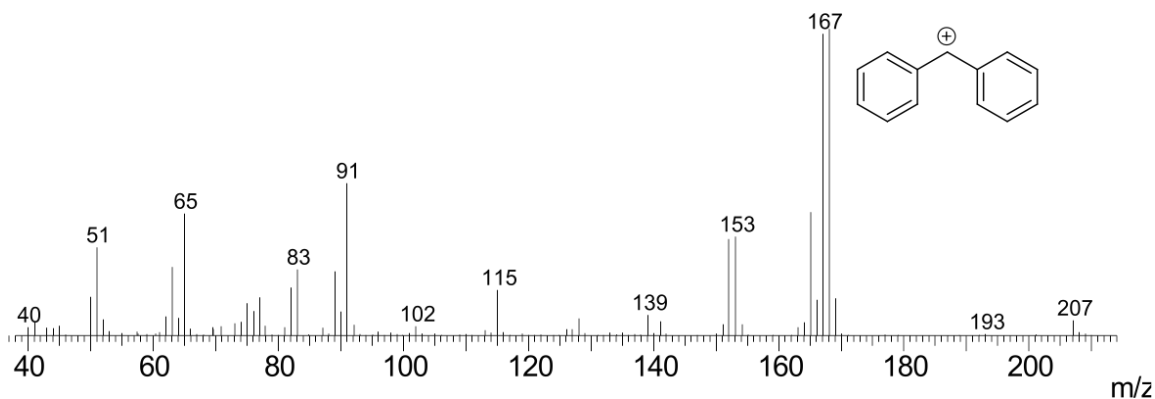
5.2 Syntéza difenylbrommethanu

Následující fáze syntézy zahrnovala přípravu bromovaného derivátu, tedy požadovaného chránícího činidla. Nejprve byly prozkoumány různé syntetické cesty za účelem optimalizace reakčních podmínek. První vyzkoušená metoda bromace difenylmethanol spočívala v refluxování směsi alkoholu **14** a 48 % HBr za přítomnosti ZnBr_2 po dobu jedné hodiny. Průběh reakce byl systematicky monitorován pomocí tenkovrstvé chromatografie (PE: EA, 5:1). Tou tedy bylo prokázáno, že reakce probíhá. Po této úvodní fázi byla reakční směs refluxována dalších 6 hodin, což umožnilo dokončení bromačního procesu. Následovalo dvanáctihodinové zrání za kontinuálního míchání při pokojové teplotě (23 °C). Následná TLC analýza prokázala kvantitativní přeměnu výchozích látek s malou stopou reaktantů či vedlejších produktů. Zpracováním reakční směsi byl získán viskózní hnědý olej, který podstoupil komplexní charakterizaci a identifikaci pomocí GC-MS a ^1H NMR.



Obrázek 8 Chromatogram difenylbrommethanu (**15**).

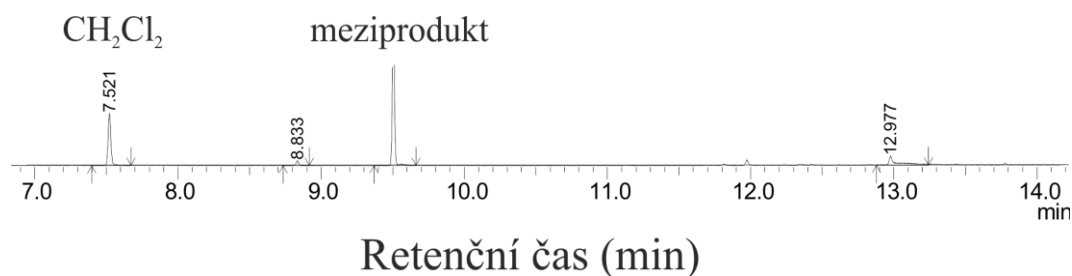
Chromatogram z GC/MS analýzy vykazoval celkem pět píků, z nichž dominantní je pík v retenčním čase 12,9 minuty, který představuje 69,00 % celkové plochy. Tato vysoká relativní intenzita naznačuje, že jde o hlavní produkt reakce nebo se látka během nástřiku a analýzy mohla rozkládat.



Obrázek 9 Hmotnostní spektrum difenylbrommethanu (**15**).

Hmotnostní spektrum látky **15** s píkem při 12,9 min vykazuje charakteristické fragmenty odpovídající difenylbrommethanu. Základní pík m/z 167 (100 %) odpovídá difenylmethylovému kationtu $[C_{13}H_{11}]^+$ vznikajícímu odštěpením atomu bromu. Důležitým píkem v tomto hmotnostním spektru je pík 91, který značí tropylium – silná podpora existence benzylu v molekule.

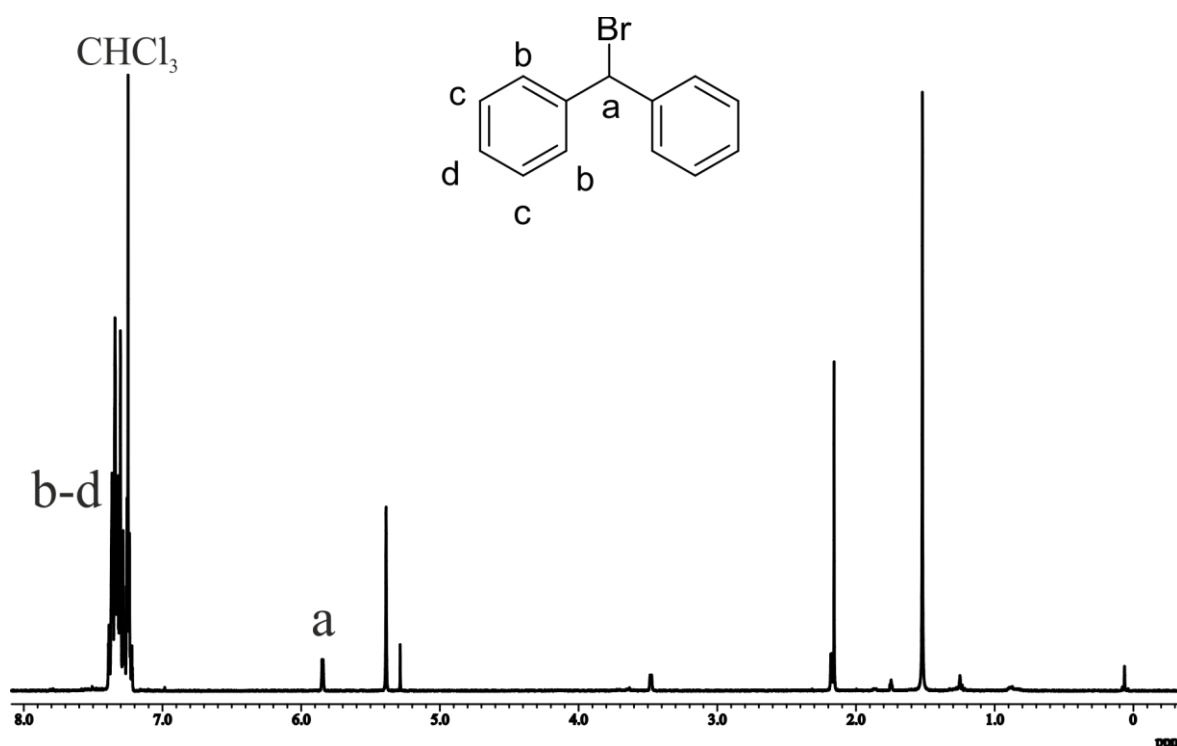
Dalším vyzkoušeným postupem pro náhradu OH skupiny v látce **14** za atom bromu byla Appelova bromace využívající tetrabrommethan a trifenyfosfin v chlazeném dichlormethanu (0–5 °C, inertní atmosféra).⁴⁷ Tento postup ovšem nevedl k syntéze cílového bromderivátu. Po tříhodinovém míchání směsi a následném zpracování (precipitace pentanem, filtrace nerozpustného Ph_3PO , RVO odpaření filtrátu, rekrytalizace) GC-MS analýza prokázala pouze přítomnost výchozího alkoholu a fosfinoxidového vedlejšího produktu. Je možné, že reakce neproběhla, protože nízká teplota zpomalila tvorbu potřebných reaktivních meziproduktů a sterické překážky způsobené fenylovými skupinami omezily přístup k reakčnímu centru. Navíc v nepolárním dichlormethanu nebyly podmínky vhodné pro vznik iontových intermediátů a tetrabrommethan mohl podléhat vedlejším reakcím.



Obrázek 10 Chromatogram reakční směsi Appeleho bromace.

Pík v retenčním čase 9.5 min je látka v jejímž hmotnostním spektru dominují fragmenty m/z 90.90 (61.25 %) a 172.80 (100 %). Fragmentace odpovídá derivátu trifenyfosfinu (např. ztráta fenylové skupiny z PPh_3). Pík v retenčním čase 7.5 min by mohl být tetrabrommethan. Původ může souviset se zbytkovým dichlormethanem nebo nečistotou v rozpouštědle (např. chlorované uhlovodíky s vyšší molekulovou hmotností).

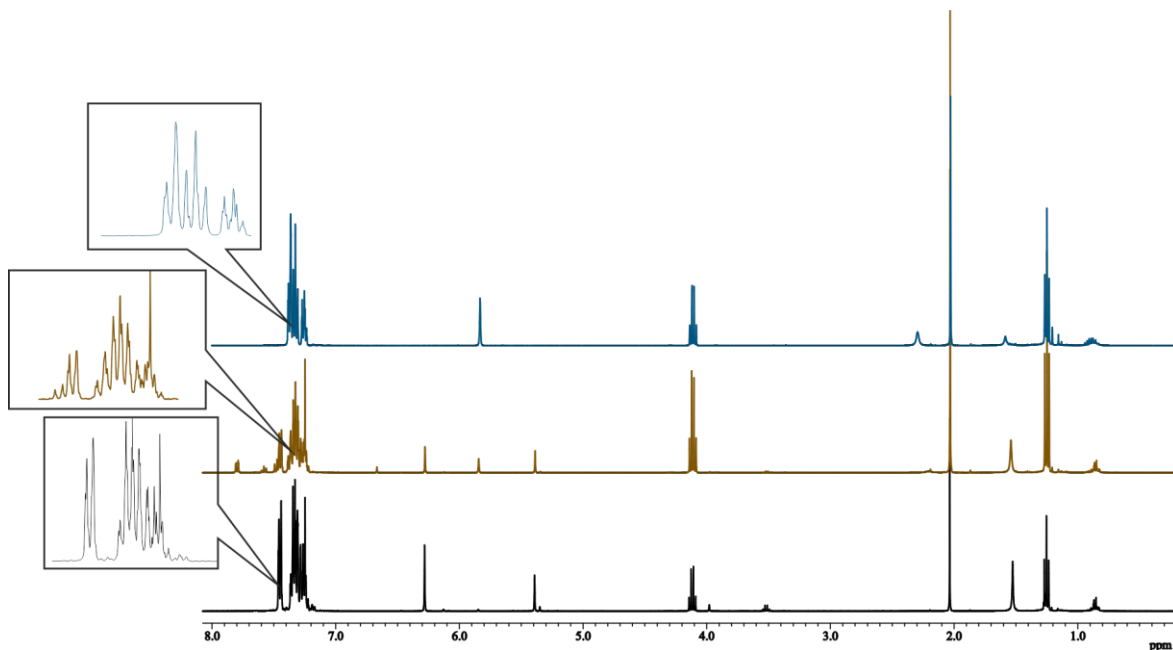
Třetím použitým syntetickým postupem byla kysele katalyzovaná bromace difenylmethanolu, která probíhala v prostředí koncentrované kyseliny sírové za přítomnosti bromidu draselného. Reakční směs byla refluxována po dobu jedné hodiny, čímž došlo k protonaci hydroxylové skupiny a následné nukleofilní substituci bromidovým aniontem za vzniku odštěpení vody a vzniku požadovaného bromderivátu **15**. Po uplynutí 1 hodiny byla provedena TLC analýza. Pod UV lampou bylo vidět několik skvrn ve vzorku reakční směsi, a proto jsme se domnívali, že reakce probíhá. Po zchlazení reakční směsi došlo ke tvorbě sraženiny. Následně byla provedena extrakce do dichlormethanu a po odpaření organického podílu byl produkt analyzován pomocí NMR spektroskopie. Je možné, že kysele katalyzovaná bromace difenylmethanolu v $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{KBr}$ neproběhla čistě, protože koncentrovaná H_2SO_4 oxidovala bromid na Br_2 . Zároveň vzniklý difenylmethylový karbokationt podléhal eliminaci a polymeraci (vysvětlení sraženiny). Výsledkem mohla být směs bromovaných arenů, ketonu a oligomerů místo cílového bromidového derivátu.



Obrázek 11 ^1H NMR spektrum difenylbrommethanu (**15**).

Další testovanou variantou byla analogická reakce, při níž byl difenylmethanol bromován přímo v prostředí koncentrované kyseliny bromovodíkové, tentokrát bez přídavku bromidu zinečnatého. Touto metodou byla opět získána hnědá olejovitá směs, jejíž složení bylo ověřeno pomocí ^1H NMR spektroskopie (Obrázek 11). Ve spektru bylo možné pozorovat přítomnost vedlejších produktů, a proto byla směs podrobena přečištění pomocí sloupcové

chromatografie. Touto separací byly získány tři frakce, které byly následně analyzovány. Z prvních dvou frakcí byly získány olejovité látky, zatímco třetí frakce obsahovala krystalickou látku. NMR spektrum této krystalické frakce však bylo velmi podobné spektru původní směsi před chromatografií.



Obrázek 12 ^1H NMR spektrum difenylbrommethanu (**15**) po sloupcové chromatografii:, první, prostřední, poslední sloupcová chromatografie (první je dole) má opačnou geometrii než TLC (první je nahoře) a proto pojmy relativní vůči lokální gravitační síle nejsou jednoznačné.

Opakované provedení této syntézy v rámci bakalářské práce ukázalo, že produkt není možné dále čistit, vzhledem k jeho nestabilitě. Je velmi pravděpodobné, že na koloně, na mírně kyselém silikagelu dochází ke konverzi na původní alkohol. Nicméně, bromid **15** je možné použít přímo pro následné syntetické transformace. Protože čistota surového produktu byla velmi podobná ve všech případech, kdy k substituci docházelo, zvolili jsme jako optimální metodu tu, kde bylo použito nejjednodušší uspořádání (nejméně komponent v reakční směsi).

Pokus	14 + reaktanty	Rozpouštědlo	Reakční podmínky	Výtěžek (%)
1	ZnBr ₂	HBr	130 °C	/
2	CBr ₄ , Ph ₃ P	CH ₂ Cl ₂	5 °C	/
3	KBr	H ₂ SO ₄	220 °C	/
4	/	HBr	130 °C	72

Tabulka 2 Přehled provedených pokusů při syntéze difenylbrommethanu.

Výtěžky provedených pokusů 1–3 zde nejsou uvedeny, protože jsme se jejich izolaci z reakčních směsí dále nezabývali, kvůli jejich špatné čistotě.

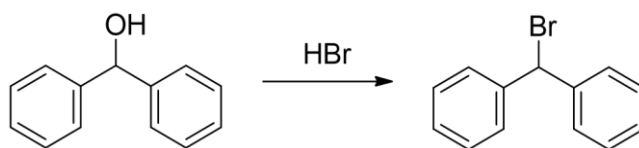


Schéma 27 Příprava prekursoru pro chránění.

5.3 Syntéza N-(difenylmethyl)hexan-1,6-diaminu

Následující etapa syntetického postupu zahrnovala zavedení chránicí skupiny na terminální jednu aminoskupinu hexan-1,6-diaminu reakcí s bromovaným derivátem **15**. Reakce probíhala pod inertní atmosférou za použití 5 ekvivalentů diaminu vůči 1 ekvivalentu bromderivátu **15**. Tento poměr zajišťoval *in situ* neutralizaci generovaného HBr, čímž se předešlo acidifikaci média. Nebylo tak nutné přidávat další bázi (TEA) pro vychytávání HBr, jak je to obvyklé. Nadbytek aminu také zajišťuje, že navázání chránicí skupiny proběhne jen na jedné NH₂ skupině. Hexamethyldiamin je dobře rozpustný ve vodě na rozdíl od Dpm-NH(CH₂)₆NH₂ takže ani jeho velký nadbytek v reakční směsi obvykle nekomplikuje izolaci produktu. Po prvních 30 minutách, kdy byla reakční směs míchána při teplotě 4 °C, byla provedena analýza směsi pomocí TLC ale nebyla detekována žádná konverze výchozí látky. Prodloužení reakční doby na 48 hodin při pokojové teplotě vyústilo v tvorbu bezbarvé mikrokrystallické sraženiny na hladině. Paralelní TLC analýza supernatantu i suspendované pevné fáze ukázala, že pevný podíl je, dle R_f identický s látkou v roztoku a odlišný od východí látky **15**. Jednalo se tedy pravděpodobně o nasycený roztok požadovaného produktu. Domnívali jsme se, že se jedná o cílovou sloučeninu, což by potvrdilo úspěšnou nukleofilní substituci. Vzniklá sraženina byla separována prostou filtrací a podrobena ¹H NMR analýze. Zbylé reakční médium po odpaření DCM bylo redispersgováno v diethyletheru a inkubováno při 4 °C po 24 hodin za účelem krystalizace. Centrifugací získané bílé krystaly byly podrobeny analýze ¹H NMR.

Následovalo přečištění vzniklých vysrážených krystalů v DEE pomocí sloupcové chromatografie. Touto cestou byly izolovány dvě frakce, kdy výsledný produkt byl identifikován díky ¹H NMR ve frakci 2.

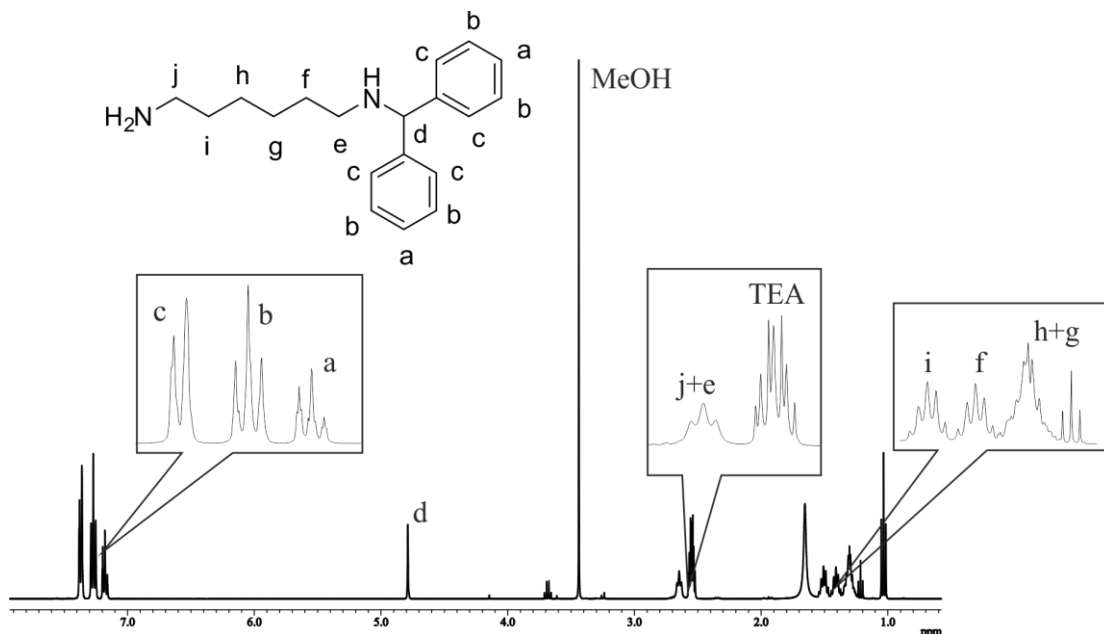
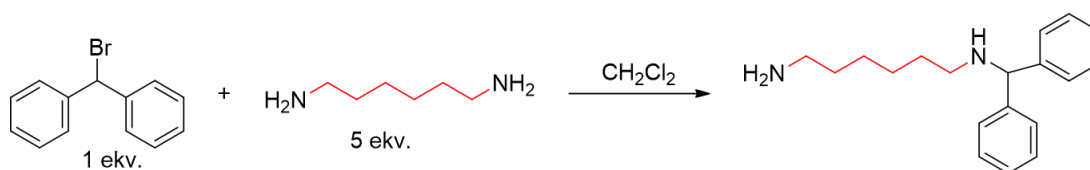
Obrázek 13 ^1H NMR spektrum *N*-difenylmethylhexan-1,6-diaminu (**16**).

Schéma 28 Chránění hexan-1,6-diaminu.

5.4 Původní mezikrok – syntéza *N, N'*-(but-1,4-diyl)bis(hexan-1,6-diamin)

Protože se v současné době ve výzkumné skupině zabýváme syntézou lineárních alifatických polyaminů, nabízelo se vyzkoušet látku **16** při přípravě takových derivátů například reakcí s 1,4-dibrombutanem. Příprava zmíněné látky však byla značně komplikovaná. Syntetický postup zahrnoval reakci výchozí látky **16** (4 ekvivalenty) s 1,4-dibromobutanem (1 ekvivalent) v přítomnosti triethylaminu (5 ekvivalentů). Reakční směs byla míchána pod inertní atmosférou v acetonitrilu při laboratorní teplotě po dobu pěti dnů. Průběh reakce byl monitorován tenkovrstvou chromatografií s využitím mobilní fáze methanol:chloroform:triethylamin v poměru 2:1 (v/v) + 1 % TEA. Po ukončení reakce byla směs odpařena a vzniklá olejovitá směs byla analyzována pomocí ^1H NMR spektroskopie.

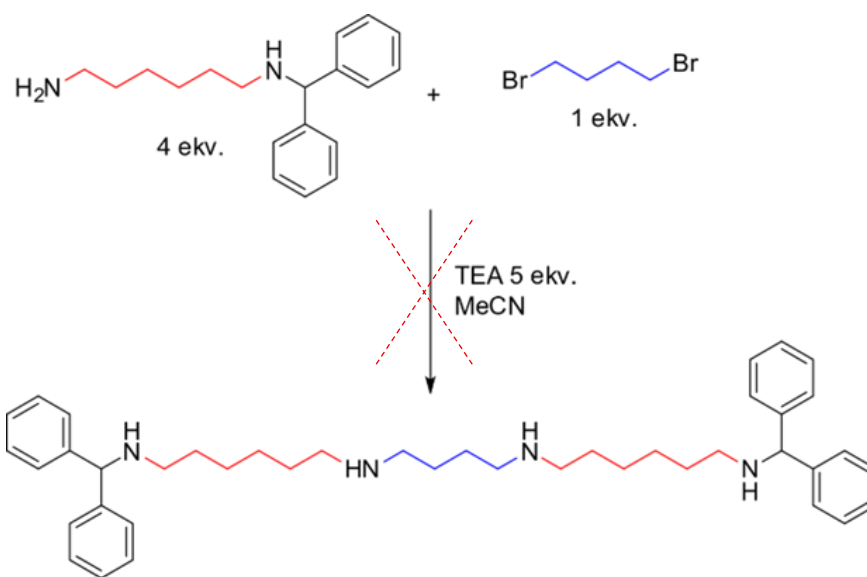
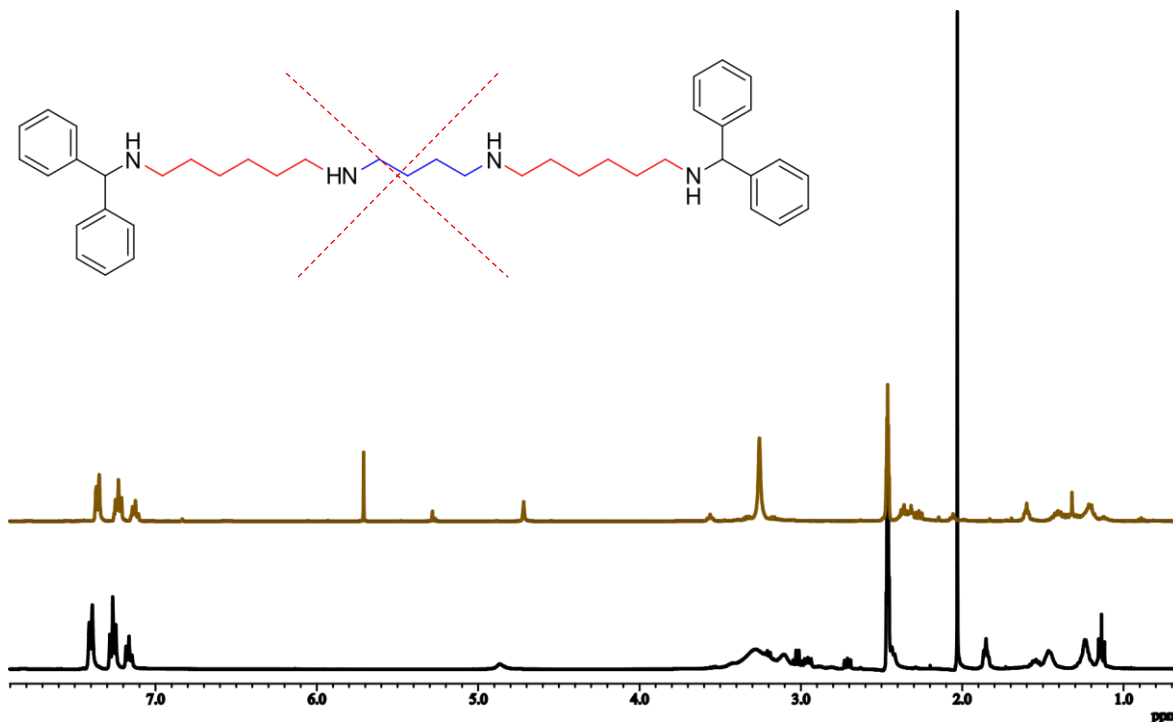


Schéma 29 Reakce látky **16** s 1,4-dibrombutanem.

Následně bylo podniknuto několik pokusů pro izolaci požadované krystalické látky, z komplexní olejovité směsi. Tyto kroky byly provedeny kvůli přečištění výsledné směsi a také pro snadnější práci s připravenou látkou. Prvním pokusem byla konverze na hydrochlorid pomocí methanolického roztoku chlorovodíku. Vzniklý nažloutlý roztok byl odpařen a následně byla testována možnost selektivní precipitace s využitím diethyletheru. Očekávaná sraženina se však ani po několikadenním stání při nízké teplotě v lednici nevytvořila, vytvořila se pouze pevná hmota, která připomínala konzistenci žvýkačky. Po odpaření diethyletheru, kdy byla získána opět olejovitá směs, byly provedeny další pokusy o vyvolání precipitace s využitím nejprve tetrahydrofuranu a následně hexanu. Ani jeden z těchto postupů nevedl k tvorbě požadované sraženiny, ale vedl opět ke tvorbě pevné hmoty. U obou rozpouštědel po odpaření vznikla opět olejovitá směs. Absence tvorby pevné sraženiny mohla být způsobena buď vysokým obsahem vody ve směsi, nebo skutečností, že hydrochlorid cílové sloučeniny je vzhledem k přítomnosti aminových skupin a aromatických jader kapalný i za laboratorní teploty. Tato druhá eventualita je ovšem jen velmi málo pravděpodobná. Dalším pokusem bylo rozpuštění stále stejné směsi (několikrát zpracované) v acetonu, opět bez úspěšné tvorby sraženiny. V posledním pokusu byla reakční směs alkalizována 5% roztokem hydroxidu sodného do dosažení bazického pH (ověřeno indikátorovým papírkem), extrahována do dichlormethanu a organická fáze byla vysušena bezvodým síranem sodným. Cílem této operace bylo převedení případného hydrochloridu zpět na volnou bázi, která by posléze mohla být čištěna chromatograficky. Po odpaření rozpouštědla a analýze výsledného produktu pomocí ^1H NMR spektroskopie bylo potvrzeno, že ani tímto postupem se nepodařilo získat čistou cílovou sloučeninu. Na základě těchto

výsledků byl původní dihalogenalkan nahrazen dialdehydovým prekurzorem centrální části cílové molekuly. Takto mohla být vyzkoušena kompatibilita Dpm chránicí skupiny s klasickou sekvencí pro syntézu sekundárních aminů – Schiffova kondenzace následovaná redukcí intermediárního iminu.

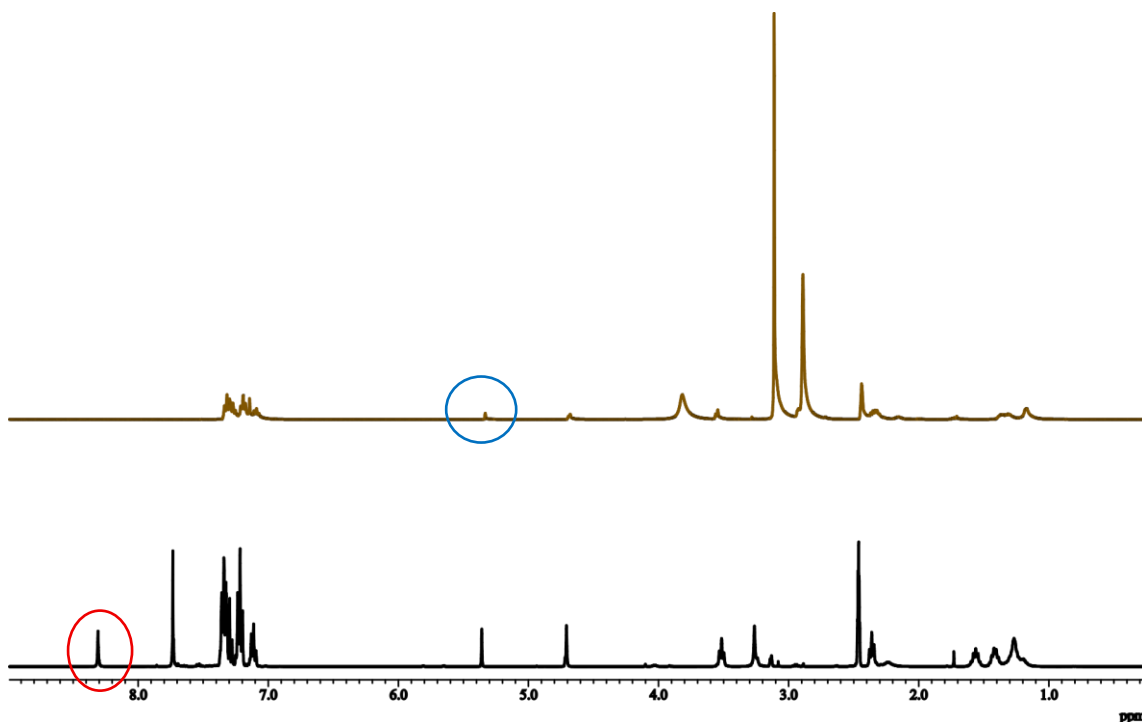


Obrázek 14 ¹H NMR spektra nepovedených zpracování *N, N'*-(but-1,4-diyl)bis(hexan-1,6-diaminu), kdy černé spektrum představuje zpracovanou reakční směs převedenou na hydrochlorid a hnědé spektrum představuje tento hydrochlorid po opakovaných pokusech o vysrážení v jiných rozpouštědlech.

5.5 Syntéza *N, N'*-(1,4-fenyl)bis(*N*⁶-benzhydrylhexan-1,6-diamin)

V návaznosti na neúspěšnou předchozí syntézu byl navržen alternativní postup založený na náhradě halogenderivátu aldehydem. Protože ale vhodný čtyřuhlíkatý ani šestiuhlíkatý alifatický lineární dialdehyd není snadno dostupný, byl zvolen aromatický tereftaldehyd. Tímto krokem jsme se vyhnuli problematické nukleofilní substituci a zároveň vyzkoušeli látku **16** využít i v jiném typu reakce. Klíčovým krokem při konstrukci finálního polyaminu se tak stala kondenzační reakce mezi látkou **16** (3 ekvivalenty) a tereftaldehydem (1 ekvivalent) v methanolu pod inertní argonovou atmosférou. Reakční směs byla míchána po dobu 20 hodin při laboratorní teplotě (23 °C), přičemž průběh reakce byl monitorován ¹H NMR spektroskopií. původní signál aldehydu okolo 8,3 ppm (jestli dobře čtu spektra na níže uvedeném obrázku) se posunul k vyššímu poli, což je typická indikace přeměny aldehydu na příslušný imin.

Následná redukce iminového intermediátu byla provedena za využití borohydridu sodného (NaBH_4) v šestinásobném molárním přebytku vůči tereftaldehydu. Po hodinovém míchání při pokojové teplotě došlo k výrazné změně v NMR spektru – signály odpovídající dřívějším iminovým protonům se posunuly do oblasti chemického posunu 6 ppm, což koreluje s redukcí na sekundární aminovou skupinu.



Obrázek 15 ^1H NMR spektrum látky **17** před zpracováním reakční směsi (+ posuny signálů).

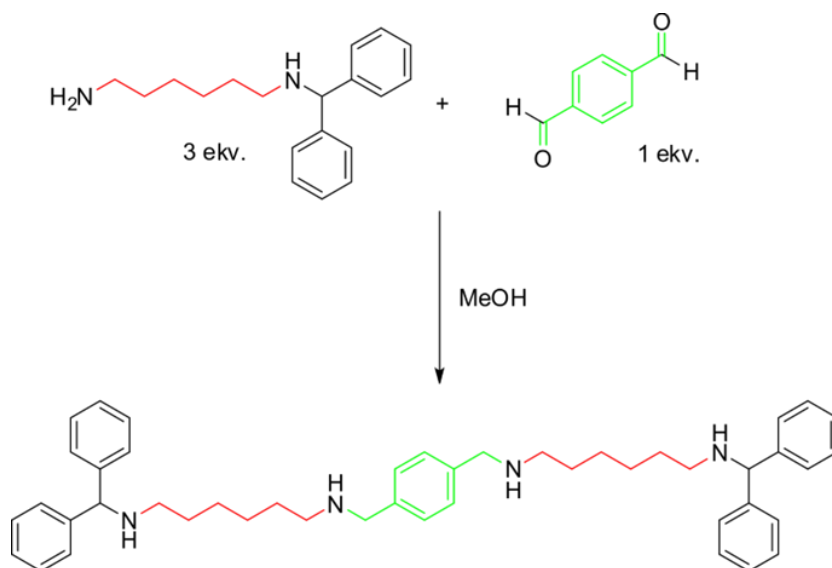
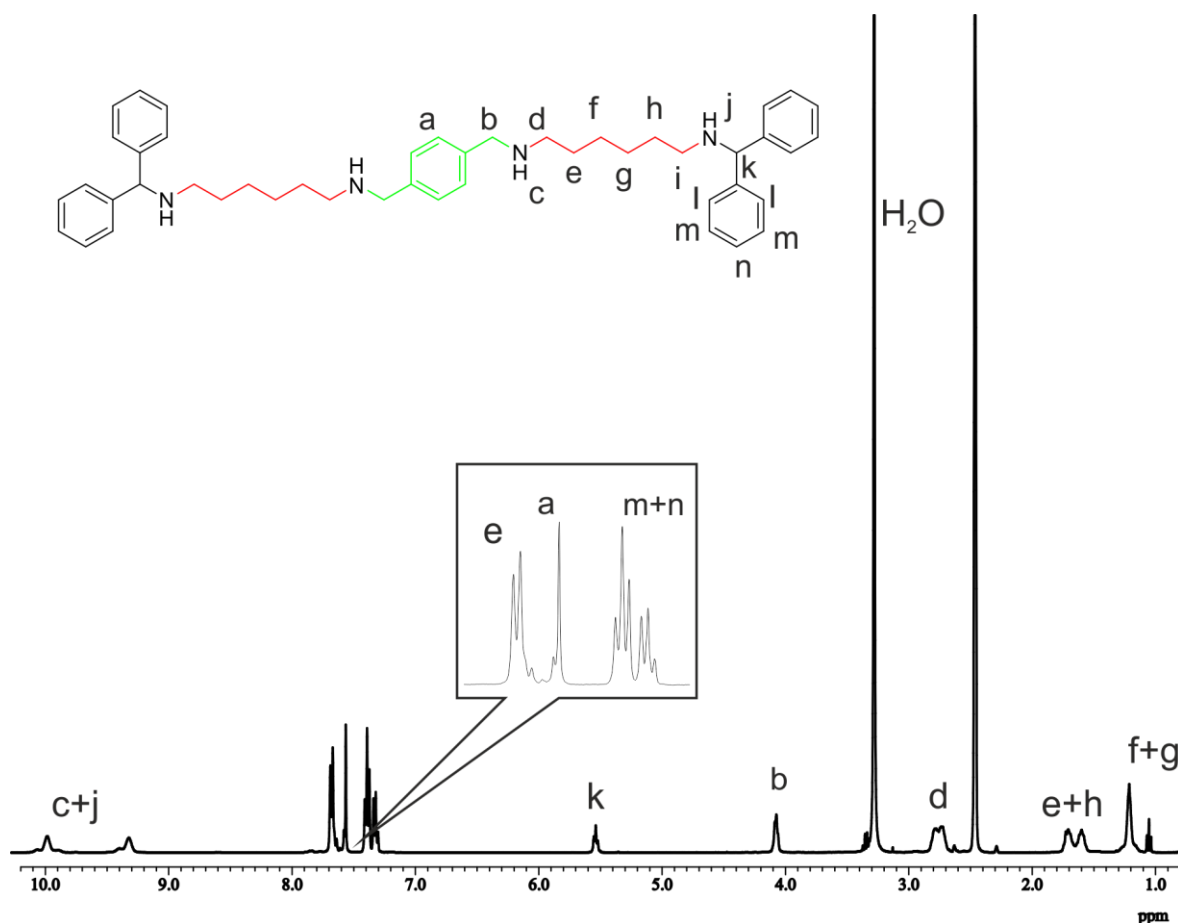


Schéma 30 Zavedení aromatického kruhu na ochráněný amin.

Zpracování reakční směsi zahrnovalo přidání diethyletheru (DEE) přímo do reakční směsi a následnou alkalizaci směsi 10% roztokem NaOH. Spojené organické podíly po extrakci byly opět promyty destilovanou vodou a 10% roztokem NaCl. Organická fáze byla po separaci vysušena bezvodým síranem sodným a koncentrována na rotační vakuové odparce. Finální produkt byl izolován ve formě hydrochloridové soli metodou precipitace. Methanolický roztok HCl byl připraven reakcí acetylchloridu s methanolem. Do tohoto roztoku byl postupně přikapáván v methanolu rozpuštěný surový produkt reakce a tato směs byla míchána přes noc. Druhý den nebyl pozorován očekávaný vznik sraženiny, a proto byl methanol odfoukán proudem dusíku a následně byl k odparku přidán diethylether. Vzniklý bezbarvý krystalický prášek vykazoval poměrně vysokou čistotu ověřenou ^1H NMR analýzou.

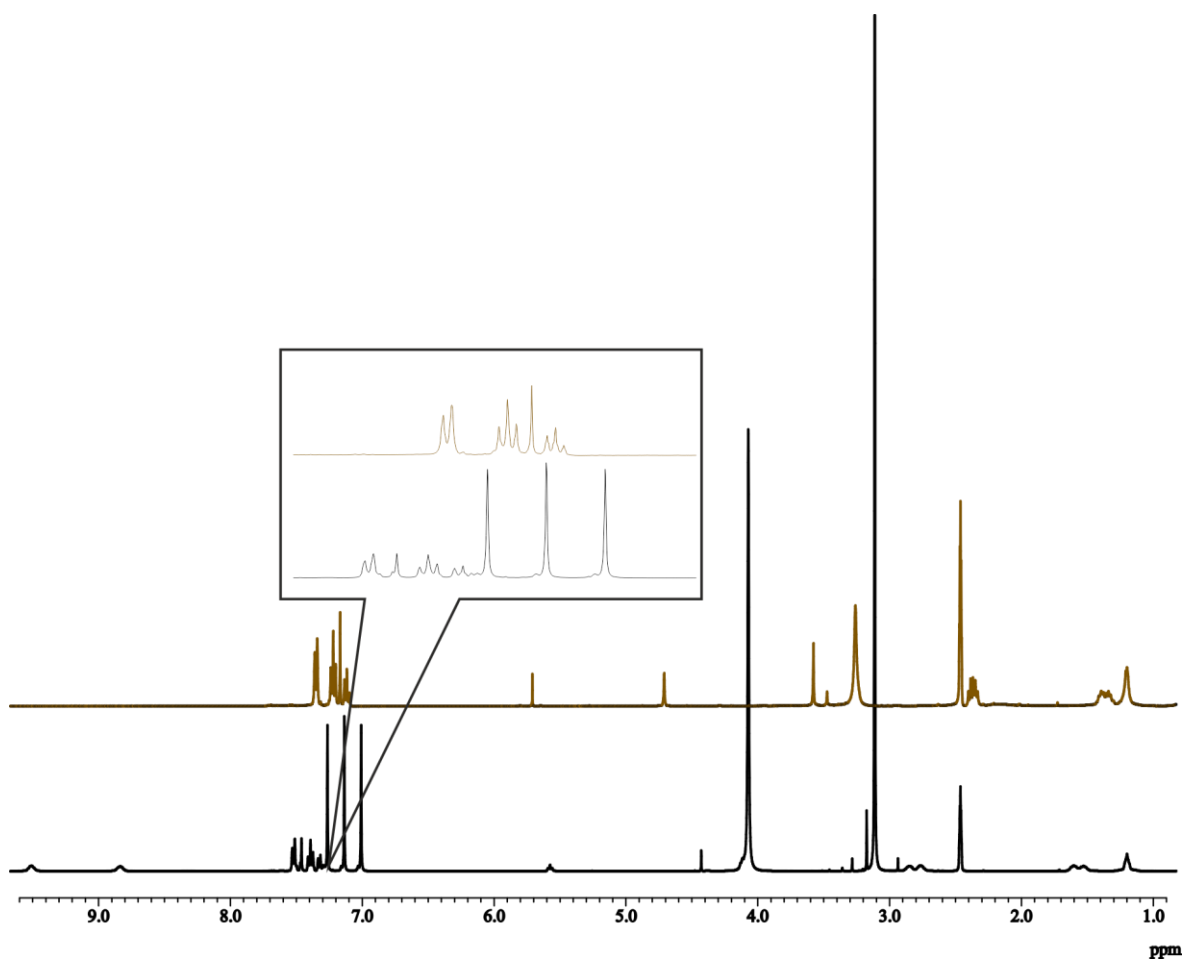


Obrázek 16 ^1H NMR spektrum čistého *N, N'*-(1,4-fenyl)bis(*N*⁶-benzhydrylhexan-1,6-diaminu).

5.6 Odstranění difenylmethylové chránicí skupiny

Původní strategie pro odstranění chránicí skupiny zahrnovala převod chráněného prekursoru na volnou bázi alkalizací roztokem NaOH a extrakcí do DCM. Organické podíly byly vysušeny a následně odpařeny pomocí RVO. Takto připravená volná báze byla ponechána reagovat s dusičnanem ceričito-amonným $((\text{NH}_4)_2\text{Ce}(\text{NO}_3)_6)$ v methanolu za zvýšené teploty. Po odbarvení roztoku (možné spotřebování dusičnanu ceričito-amonného) a odpaření rozpouštědla byla reakční směs analyzována pomocí ^1H NMR spektroskopie, která odhalila přítomnost neúplně přeměněné výchozí látky.

Přesto byla provedena následná hydrolýza pomocí kyseliny chlorovodíkové a neutralizace 10% NaOH vedla k tvorbě nažloutlé olejovité směsi, jež byla po extrakci do dichlormethanu a odpaření charakterizována jako komplexní směs obsahující vedlejší produkty s výsledným aminem.



Obrázek 17 ^1H NMR spektrum difenylmethylové skupiny před zpracováním (černá) a po zpracování (hnědá) reakční směsi.

K odstranění nečistot byla použita sloupcová chromatografie, přičemž byly izolovány dvě frakce. Domnívali jsme se, že frakce 1 obsahovala cílový produkt, zatímco ve frakci 2 dominoval benzofenonový derivát, jehož struktura nebyla spektroskopicky přesně potvrzena. Konverze frakce 1 na hydrochloridovou sůl a následná ^1H NMR analýza prokázala, že postup nevedl k úspěšné deprotekcí, nýbrž k izolaci čisté výchozí látky. Mohlo to být způsobeno tím, že odbarvení směsi mohlo jít na úkor oxidace methanolu.

Hypotéza o oxidaci methanolu během reakce byla ověřena náhradou MeOH za acetonitril. V tomto rozpouštědle došlo k tvorbě žluté sraženiny, po přidání dusičnanu ceričito-amonného, jež po povaření zmizela, avšak bez zřejmého odbarvení reakčního média. Finální hydrolýza v přítomnosti HCl a standardní zpracování poskytly produkt, jehož ^1H NMR spektrum vykazovalo odlišné chemické posuny signálů ve srovnání s předchozí reakcí.

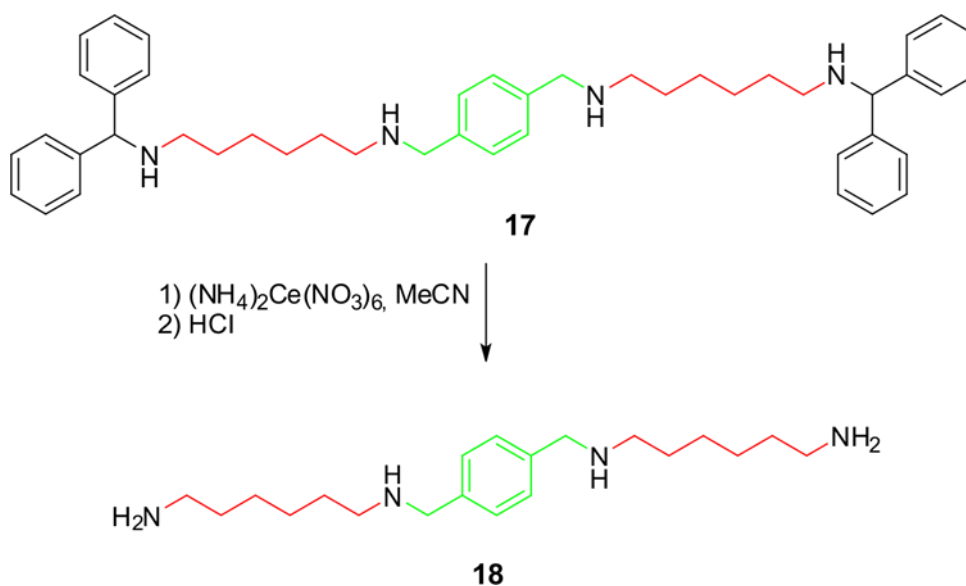
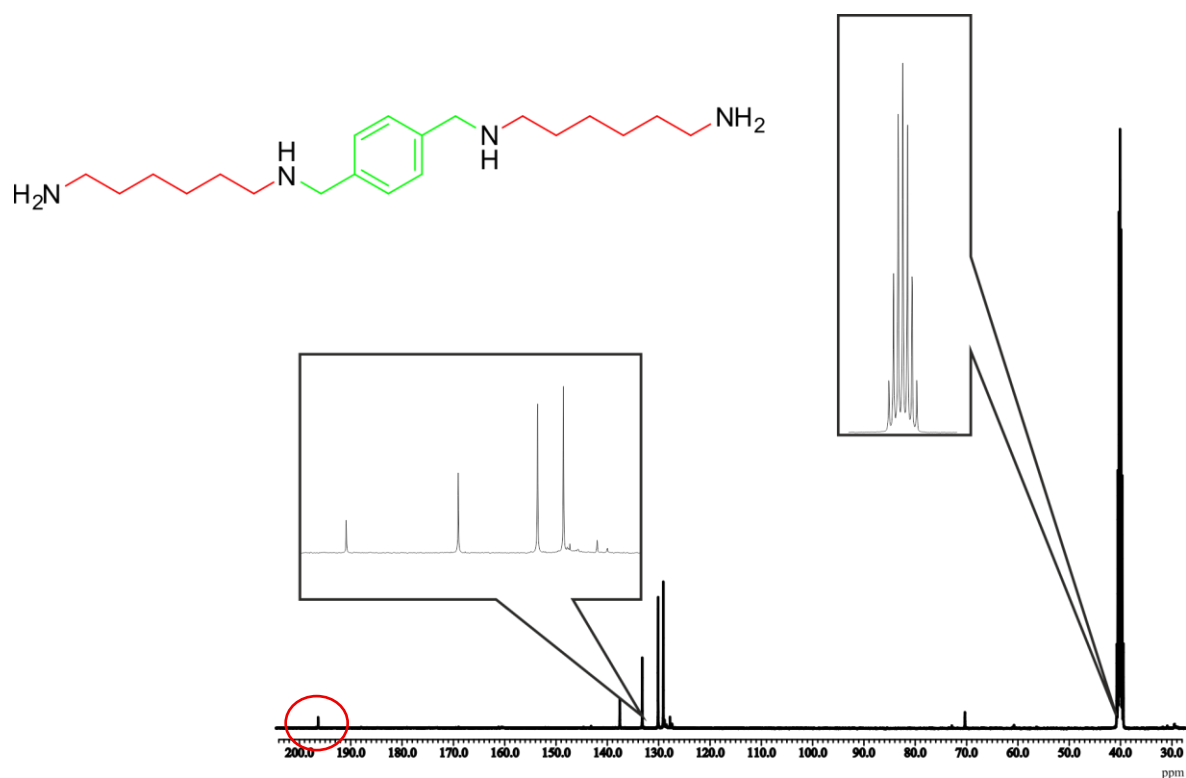


Schéma 31 Finální odstranění difenylmethylové chránicí skupiny.

V surové směsi po ^1H NMR měření se sice vyskytovaly signály v aromatické oblasti, ty ale mohou náležet vedlejšímu produktu po odstranění Dpm skupiny, pravděpodobně benzofenonu. ^{13}C NMR spektrum potvrdilo přítomnost **benzofenonového CO** atomu, což naznačuje úspěšné odstranění chránicích skupin. Izolace finálního polyaminu nebyla již ale z časových důvodů provedena.



Obrázek 18 ^{13}C NMR spektrum látky **18**, zvýrazněný pík znázorňuje signál z benzofenonu.

ZÁVĚR

V rámci této bakalářské práce byla studována příprava vhodného činidla a aplikace difenylmethylové chránicí skupiny. Experimentální část práce byla založena na vícekrokové syntetické strategii zahrnující několik na sebe navazujících reakčních kroků. Úplně prvním pokusem bylo zavést Dpm na hexamethylen diamin přímo Schiffovou kondenzací s benzofenonem. To se totiž jevilo jako činidlo první volby, ale překvapivě tato reakce nefungovala. Proto bylo nutné hledat jiné činidlo (**15**).

Výchozí bod syntetického přístupu představovala příprava difenylmethanolu (**14**), jež byla podrobena systematické optimalizaci reakčních podmínek za účelem dosažení vysoké čistoty produktu. Následovala konverze této sloučeniny na příslušné chránicí činidlo, tedy na difenylbrommethan (**15**). Optimalizace reakčních podmínek této transformace vedla k reprodukovatelnému postupu poskytujícímu požadovaný produkt v uspokojivém výtěžku. Pro přečištění látky **15** se použila sloupcová chromatografie, která ukázala, že tento produkt nelze čistit na koloně, kvůli jeho nestabilitě. Jeho dosavadní čistota však byla postačující pro další využití.

V další fázi výzkumu bylo provedeno navázání připraveného chránicího činidla na 1,6-diaminhexan, což vedlo k úspěšné syntéze *N*-difenylmethylhexan-1,6-diamin (**16**). Tento intermediát představoval klíčový výchozí substrát pro následné transformace směřující k přípravě polyaminů s delším řetězcem.

Zamýšlené prodloužení řetězce polymaminu vložení alkylové centrální části prostřednictvím reakce sloučeniny **16** s 1,4-dibromobutanem nevedlo k izolaci čistého produktu. Na základě této zkušenosti byla sloučenina **16** použita v jiném typu reakce využívající aromatického jádra jako strukturního elementu pro prodloužení řetězce. Reakce látky **16** s tereftaldehydem probíhala bez komplikací. Tímto postupem byla syntetizována sloučenina *N,N'*-bis(6-(difenylmethylamino)hexan-1-yl)-1,4-xylylendiamin (**17**).

Závěrečná část práce byla věnována studiu metod pro odstranění difenylmethylové skupiny z připraveného polyaminu. Z testovaných variant syntéz poskytla nejlepší výsledky sekvence zahrnující oxidaci sloučeniny **17** pomocí dusičnanu ceričito-amonného v acetonitrilu následovaná hydrolýzou pomocí kyseliny chlorovodíkové, která vedla k získání cílového produktu **18**.

Vzhledem k tomu, že se nepodařilo plně optimalizovat podmínky pro kvantitativní odstranění difenylmethylové chránicí skupiny, budoucí výzkum bude zaměřen na nalezení

efektivnějších postupů pro tuto transformaci. Detailní studium reakčních podmínek a případná implementace alternativních metod ochrany představují logické pokračování této práce.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. Geiger, R., & König, W. (1981). Amine Protecting Groups. *Protection of Functional Groups in Peptide Synthesis*, 1–99. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-304203-3.50008-6>
2. Isidro-Llobet, A., Álvarez, M., & Albericio, F. (2009). Amino Acid-Protecting Groups. *Chemical Reviews*, 109(6), 2455–2504. <https://doi.org/10.1021/cr800323s>
3. Kofoed, T., Hansen, H. F., Ørum, H., & Koch, T. (2001). PNA Synthesis Using a Novel Boc/Acyl Protecting Group Strategy. *Journal of Peptide Science*. <https://doi.org/10.1002/psc.333>
4. Subramani, M., & Rajendran, S. (2019). Mild, Metal-Free and Protection-Free Transamidation of N-Acyl-2-piperidones to Amino Acids, Amino Alcohols and Aliphatic Amines and Esterification of N-Acyl-2-piperidones. *European Journal of Organic Chemistry*. <https://doi.org/10.1002/ejoc.201900517>
5. Bashir-Uddin Surfraz, M., King, R., Mather, S. J., Biagini, S. C. G., & Blower, P. J. (2010). Trifluoroacetyl as a Protecting Group for HYNIC: Stability in the Presence of Electrophiles and Application in the Synthesis of ^{99m}Tc-Radiolabelled Peptides. *Tetrahedron*, 66(11), 2037–2043. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2010.01.038>
6. Lee, Y., Kim, B., & Taylor, S. D. (2007). Synthesis of 4-Formyl Estrone Using a Positional Protecting Group and Its Conversion to Other C-4-Substituted Estrogens. *The Journal of Organic Chemistry*. <https://doi.org/10.1021/jo7017075>
7. Yamashiro, D., & Li, C. H. (1973). Protection of Tryptophan with the Formyl Group in Peptide Synthesis. *The Journal of Organic Chemistry*, 38(15), 2594–2597. <https://doi.org/10.1021/jo00955a004>
8. Mitchell, A. R., & Merrifield, R. B. (1976). Occurrence of N-Alkylation During the Acidolytic Cleavage of Urethane Protecting Groups. *The Journal of Organic Chemistry*, 41(11), 2015–2019. <https://doi.org/10.1021/jo00873a028>
9. Gawande, M. B., Polshettiwar, V., Varma, R. S., & Jayaram, R. V. (2007). An Efficient and Chemoselective Cbz-Protection of Amines Using Silica–Sulfuric Acid at Room Temperature. *Tetrahedron Letters*, 48(46), 8170–8173. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2007.09.091>
10. Benedetti, E., Pegoraro, C., Toniolo, C., De Marco, M., Nemethy, G., & Scheraga, H. A. (1983). Preferred Conformation of the Benzyloxycarbonyl-Amino Group in Peptides. *International Journal of Peptide and Protein Research*, 21(2), 163–173. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3011.1983.tb03090.x>
11. Tena-Solsona, M., Angulo-Pachón, C. A., Escuder, B., & Miravet, J. F. (2014). Mechanistic Insight into the Lability of the Benzyloxycarbonyl (Z) Group in N-Protected Peptides Under Mild Basic Conditions. *European Journal of Organic Chemistry*, 2014(16), 3372–3378. <https://doi.org/10.1002/ejoc.201400154>

12. Schirmeister-Tichy, H., Alvarado, G. G., & Pfeleiderer, W. (1999). The 9-Fluorenylmethoxycarbonyl (Fmoc) Group and Its Use in Oligonucleotide Synthesis. *Nucleosides and Nucleotides*, 18(6–7), 1219–1220. <https://doi.org/10.1080/07328319908044667>
13. Fields, G. B. (n.d.). Methods for Removing the Fmoc Group. *Peptide Synthesis Protocols*, 17–28. <https://doi.org/10.1385/0-89603-273-6:17>
14. Cheikh, W., Rózsa, Z. B., Camacho López, C. O., Mizsey, P., Viskolcz, B., Szőri, M., & Fejes, Z. (2019). Urethane Formation with an Excess of Isocyanate or Alcohol: Experimental and Ab Initio Study. *Polymers*, 11(10), 1543. <https://doi.org/10.3390/polym11101543>
15. Gertig, C., Erdkamp, E., Ernst, A., Hemprich, C., Kröger, L. C., Langanke, J., Bardow, A., & Leonhard, K. (2021). Reaction Mechanisms and Rate Constants of Auto-Catalytic Urethane Formation and Cleavage Reactions. *ChemistryOpen*, 10(5), 534–544. <https://doi.org/10.1002/open.202000150>
16. Lee, D.-W., Kim, H.-N., & Lee, D.-S. (2019). Introduction of Reversible Urethane Bonds Based on Vanillyl Alcohol for Efficient Self-Healing of Polyurethane Elastomers. *Molecules*, 24(12), 2201. <https://doi.org/10.3390/molecules24122201>
17. Jarowicki, K., & Kocienski, P. (2001). Protecting Groups. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*, (18), 2109–2135. <https://doi.org/10.1039/b103282h>
18. Di-tert-butyl dicarbonate. (n.d.). Wikipedia, The Free Encyclopedia. Wikimedia Foundation. https://en.wikipedia.org/wiki/Di-tert-butyl_dicarbonate. Accessed 2 Mar. 2025.
19. Fort, R. C., & Schleyer, P. von R. (1964). Adamantane: Consequences of the Diamondoid Structure. *Chemical Reviews*, 64(3), 277–300. <https://doi.org/10.1021/cr60229a004>
20. Kevill, D. N., Kyong, J. B., & Weitz, F. L. (1990). Solvolysis-Decomposition of 1-Adamantyl Chloroformate: Evidence for Ion Pair Return in 1-Adamantyl Chloride Solvolysis. *The Journal of Organic Chemistry*, 55(14), 4304–4311. <https://doi.org/10.1021/jo00301a019>
21. Carey, R. I., Bordas, L. W., Slaughter, R. A., Meadows, B. C., Wadsworth, J. L., Huang, H., ... Furusjö, E. (2009). Preparation and Properties of N α -Bpoc-Amino Acid Pentafluorophenyl Esters. *The Journal of Peptide Research*, 49(6), 570–581. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3011.1997.tb01165.x>
22. Wang, P. (2013). Photolabile Protecting Groups: Structure and Reactivity. *Asian Journal of Organic Chemistry*, 2(6), 452–464. <https://doi.org/10.1002/ajoc.201200197>
23. Juillerat, M., & Bargetzi, J. P. (1976). A New Reagent for the Cleavage of NPS-Amino Protecting Groups in Peptide Synthesis. *Helvetica Chimica Acta*, 59(3), 855–866. <https://doi.org/10.1002/hlca.19760590315>

24. Jiang, J., Li, X., Zhu, P., Li, D., Han, X., Cui, Q., & Zhu, H. (2017). Effect of Pressure on 4-Toluenesulfonyl Azide Studied by Raman Scattering and Synchrotron X-ray Diffraction. *The Journal of Physical Chemistry C*, 121(2), 1032–1039. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.6b11016>
25. Zaera, F. (1992). Preparation and Reactivity of Alkyl Groups Adsorbed on Metal Surfaces. *Accounts of Chemical Research*, 25(6), 260–265. <https://doi.org/10.1021/ar00018a003>
26. Sieber, P., & Riniker, B. (1991). Protection of Carboxamide Functions by the Trityl Residue. Application to Peptide Synthesis. *Tetrahedron Letters*, 32(6), 739–742. [https://doi.org/10.1016/s0040-4039\(00\)74872-6](https://doi.org/10.1016/s0040-4039(00)74872-6)
27. Dangles, O., Guibe, F., Balavoine, G., Lavielle, S., & Marquet, A. (1987). Selective Cleavage of the Allyl and (Allyloxy)carbonyl Groups Through Palladium-Catalyzed Hydrostannolysis with Tributyltin Hydride. Application to the Selective Protection-Deprotection of Amino Acid Derivatives and in Peptide Synthesis. *The Journal of Organic Chemistry*, 52(22), 4984–4993. <https://doi.org/10.1021/jo00231a027>
28. Sun, P., Weinreb, S. M., & Shang, M. (1997). *tert*-Butylsulfonyl (Bus), a New Protecting Group for Amines. *The Journal of Organic Chemistry*, 62(24), 8604–8608. <https://doi.org/10.1021/jo971455i>
29. Jackson, G., Jones, H. F., Petursson, S., & Webber, J. M. (1982). Diphenylmethylation of Carbohydrate Hydroxyl Groups by the Reaction with Diazo(diphenyl)methane. *Carbohydrate Research*, 102, 147–157. [https://doi.org/10.1016/S0008-6215\(00\)88058-1](https://doi.org/10.1016/S0008-6215(00)88058-1)
30. Fuertaichem. (n.d.). 1-Chloroethyl Chloroformate Supplier. Fuertaichem. Retrieved March 9, 2025, from <https://cz.fuertaichem.net/int-of-cefpodoxime-proxetil/1-chloroethyl-chloroformate-supplier.html>
31. Goulart, T. A. C., et al. (2022). Selective 5-Exo-Dig versus 6-Endo-Dig Cyclization of Benzoimidazole Thiols with Propargyl Alcohols. *Advanced Synthesis & Catalysis*, 364(12), 1989–1997. <https://doi.org/10.1002/adsc.202200254>
32. Paredes, R., & Perez, R. L. (1998). Borderline Mechanisms Involving Ion-Molecule Pairs for the Nucleophilic Substitution Reactions of Benzhydrol and Its Derivatives: Facile Formation and Cleavage of Diphenylmethyl Ethers for the Protection of Hydroxyl Groups. *Tetrahedron Letters*, 39(13), 2037–2038. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(98\)00181-6](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(98)00181-6)
33. Poss, M. A., & Reid, J. A. (1992). The Use of Diphenylmethyl as a Sulfonamide Protecting Group. *Tetrahedron Letters*, 33(48), 7291–7292. [https://doi.org/10.1016/s0040-4039\(00\)60168-5](https://doi.org/10.1016/s0040-4039(00)60168-5)
34. Tolstyakov, V. V., & Tselinskii, I. V. (2004). Diphenylmethyl Protective Group in the Synthesis of 5-Substituted 3-Nitro-1H-1,2,4-triazoles. *Russian Journal of General Chemistry*, 74(3), 399–404. <https://doi.org/10.1023/b:rugc.0000030397.195>

35. Saudi, M., & van Aerschot, A. (2013). A Straightforward Diphenylmethyl Protection Method and Deprotection of Some Pyrimidine Nucleosides. *Molecules*, 18(7), 8524–8534. <https://doi.org/10.3390/molecules18078524>
36. Iris Biotech GmbH. (n.d.). Protecting Groups in SPPS. Retrieved from <https://iris-biotech.de/en/blog/protecting-groups-in-spps.html>
37. Dudášová, N. (2015). Syntéza a fotochemické vlastnosti derivátů propiolové kyseliny [Bachelor's thesis, Masaryk University]. Faculty of Science, Department of Chemistry. Supervisor: Prof. RNDr. Petr Klán, Ph.D.
38. O'Hagan, M. P., Ramos-Soriano, J., Morten, M. J., & Brown, T. (2023). Photocleavable Ortho-Nitrobenzyl-Protected DNA Architectures and Their Applications. *Chemical Society Reviews*, 52(4), 1397–1412. <https://doi.org/10.1039/D2CS00910C>
39. Bartoli, S., Jensen, K. B., & Kilburn, J. D. (2003). Trifluoroacetyl as an Orthogonal Protecting Group for Guanidines. *The Journal of Organic Chemistry*, 68(24), 9416–9422. <https://doi.org/10.1021/jo0348874>
40. Yamashiro, D., & Li, C. H. (1973). Protection of Tryptophan with the Formyl Group in Peptide Synthesis. *The Journal of Organic Chemistry*, 38(15), 2594–2597. <https://doi.org/10.1021/jo00955a004>
41. Hwang, T.-L., Hung, C.-H., Hsu, C.-Y., Huang, Y.-T., Tsai, Y.-C., & Hsieh, P.-W. (2013). Design and Synthesis of Tryptophan Containing Dipeptide Derivatives as Formyl Peptide Receptor 1 Antagonist. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 11(22), 3742–3748. <https://doi.org/10.1039/c3ob40215k>
42. Andruszkiewicz, R., Radowski, M., & Czajgucki, Z. (2005). Efficient Synthesis of Orthogonally Protected Spermidine and Norspermidine Derivatives. *Synthetic Communications*, 35(8), 1085–1094. <https://doi.org/10.1081/scc-200054211>
43. Carl Roth GmbH + Co. KG. (2023, June 14). Bezpečnostní list: Difenylmethanol (Version 3.0). Retrieved from SDB-225Y-CZ-CS.pdf
44. MetwareBio. (n.d.). Unlocking the Power of Spermidine: The Key to Cellular Health and Longevity. Retrieved from <https://www.metwarebio.com/unlocking-cellular-longevity-with-spermidine/>
45. Peñas-Sanjuán, A., Chica-Armenteros, J. J., Cruz-Sánchez, R., García-Gallarín, C., & Melguizo, M. (2023). Sequential Nitrile Amidination–Reduction as a Straightforward Procedure to Selective Linear Polyamine Preparation. *The Journal of Organic Chemistry*, 88(24), 17274–17283. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.3c02128>
46. Jelínková, K. (2020). Syntéza a supramolekulární chování multitopických ligandů na bázi kubanu [Master's thesis, Tomas Bata University in Zlín]. ISBN 978-80-7454-953-3.
47. Patil, D., Ganorkar, R. R., Kardile, R., Bhoite, M., Jadhav, A., Gundal, R., & Suresh, G. (2018). Dehydration of Amides to Nitriles under Conditions of a

Catalytic Appel Reaction. *Organic Letters*, 20(3), 763–766.
<https://doi.org/10.1021/acs.orglett.7b03862>

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

DCE	1,2-dichlorethan
DCM	dichlormethan
DEE	diethylether
DMF	dimethylformamid
DNA	deoxyribonukleová kyselina
GC-MS	plynová chromatografie s hmotnostně-spektrometrickou detekcí
IR	infračervená spektroskopie
LG	leaving group
NMR	nukleární magnetická rezonance
RNA	ribonukleová kyselina
RT	pokožová teplota (room temperature)
RVO	rotační vakuová odparka
TFA	kyselina trifluoroctová
THF	tetrahydrofuran
THP	tetrahydropyranyl
TLC	tenkovrstvá chromatografie