

**UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO**

NEŽA TRDINA

**NAČRTOVANJE IN SINTEZA NEIONOGENIH
AMFIFILNIH MIMETIKOV GLIKOLIPIDA**

**DESIGN AND SYNTHESIS OF NONIONOGENE
AMPHYPHYLIC GLYCOLIPIDE MIMETICS**

DIPLOMSKA NALOGA

Ljubljana, 2010

Diplomsko delo sem opravljala na Fakulteti za farmacijo pod mentorstvom izr. prof. dr. Aleša Obreze, mag. farm. in somentorstvom asist. dr. Janeza Mravljaka, mag. farm.

Analize NMR so opravili na Fakulteti za kemijo in kemijsko tehnologijo, masne analize pa na Inštitutu Jožef Stefan v Ljubljani.

Zahvala

Mentorju izr. prof. dr. Alešu Obreza, mag. farm. in somentorju asist. dr. Janezu Mravljaku, mag. farm. se iskreno zahvaljujem za strokovno vodenje in pomoč pri opravljanju eksperimentalnega dela in pisanju diplomske naloge. Zahvaljujem se tudi vsem ostalim zaposlenim na Katedri za farmacevtsko kemijo za pomoč in spodbude pri delu v laboratoriju ter mojim domačim in prijateljem, ki so verjeli vame in me spodbujali v času mojega študija.

Izjava

Izjavljam, da sem diplomsko nalogo izdelala samostojno pod mentorstvom izr. prof. dr. Aleša Obreze, mag. farm. in somentorstvom asist. dr. Janeza Mravljaka, mag. farm.

Neža Trdina

Martinj Vrh, oktober 2010

Predsednik komisije: prof. dr. Stane Srčič, mag. farm.

Član komisije: doc. dr. Iztok Grabnar, mag. farm.

VSEBINA

1	POVZETEK	5
2	ABSTRACT	6
3	SEZNAM OKRAJŠAV	7
4	UVOD.....	8
4.1	POVRŠINSKO AKTIVNE SNOVI.....	8
4.1.1	PAS, KI TEMELJIJO NA SLADKORJIH	9
4.1.2	NARAVNE PAS.....	9
4.2	BIOLOŠKE MEMBRANE	10
4.3	OKSIDATIVNI STRES.....	12
4.4	LIPIDNA PEROKSIDACIJA.....	13
4.5	ANTIOKSIDANTI	14
4.5.1	OKSIMI KOT ANTIOKSIDANTI	15
5	NAČRT DELA.....	17
5.1	REAKCIJSKA SHEMA.....	18
6	MATERIALI IN METODE	20
7	EKSPERIMENTALNI DEL.....	22
7.1	SPLOŠNA PREDPISA ZA SINTEZO N-((2(R/S),3R,4R,5S,6R)-2,4,5-TRIHIDROKSI-6-(HIDROKSIMETIL)TETRAHIDRO-2H-PIRAN-3-IL)ALKILAMIDOV	22
7.2	SPLOŠNI PREDPIS ZA SINTEZO (2(R/S),3R,4R,5S,6R)-3-ALKILAMIDO-6-(TRITILOKSIMETIL)TETRAHIDRO-2H-PIRAN-2,4,5-TRIIL TRIACETATOV	27
7.3	SPLOŠNI PREDPIS ZA SINTEZO (2(R/S),3R,4R,5S,6R)-6-(HIDROKSIMETIL)-3-ALKILAMIDOTETRAHIDRO-2H-PIRAN-2,4,5-TRIIL TRIACETATOV	35
7.4	SPLOŠNI PREDPIS ZA SINTEZO (2(R/S),3R,4R,5S,6R)-6-FORMIL-3-ALKILAMIDOTETRAHIDRO-2H-PIRAN-2,4,5-TRIIL TRIACETATOV	40
7.5	SPLOŠNI PREDPIS ZA SINTEZO N-((1(E,Z),2R,3R,4S,6(E,Z)-3,4,5-TRIHIDROKSI-1,6-BIS(HIDROKSIIMINO)HEKSAN-2-IL)ALKILAMIDOV	45

7.6	SPLOŠNI PREDPIS ZA SINTEZO <i>N</i> -((1(<i>E,Z</i>),2 <i>R</i> ,3 <i>R</i> ,4 <i>S</i>)-3,4,5,6-TETRAHIDROKSI-1-(HIDROKSIIMINO)HEKSAN-2-IL)ALKILAMIDOV	48
8	REZULTATI IN RAZPRAVA SINTEZE SPOJIN.....	53
8.1	REZULTATI	53
8.2	RAZPRAVA	55
8.2.1	Razprava k sintezi <i>N</i> -((2(<i>R/S</i>),3 <i>R</i> ,4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> ,6 <i>R</i>)-2,4,5-trihidroksi-6-(hidroksimetil) tetrahidro-2 <i>H</i> -piran-3-il)alkilamidov	55
8.2.2	Razprava k sintezi (2(<i>R/S</i>),3 <i>R</i> ,4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> ,6 <i>R</i>)-3-alkilamido-6-(tritoloksimetil) tetrahidro-2 <i>H</i> -piran-2,4,5-triil triacetatov	55
8.2.3	Razprava k sintezi (2(<i>R/S</i>),3 <i>R</i> ,4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> ,6 <i>R</i>)-6-(hidroksimetil)-3-alkilamido tetrahidro-2 <i>H</i> -piran-2,4,5-triil triacetatov	56
8.2.4	Razprava k sintezi (2(<i>R/S</i>),3 <i>R</i> ,4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> ,6 <i>R</i>)-6-formil-3-alkilamidotetrahidro-2 <i>H</i> -piran-2,4,5-triil triacetatov.....	56
8.2.5	Razprava k sintezi <i>N</i> -((1(<i>E,Z</i>),2 <i>R</i> ,3 <i>R</i> ,4 <i>S</i> ,6(<i>E,Z</i>)-3,4,5-trihidroksi-1,6-bis(hidroksiimino)heksan-2-il)alkilamidov	57
8.2.6	Razprava k sintezi <i>N</i> -((1(<i>E,Z</i>),2 <i>R</i> ,3 <i>R</i> ,4 <i>S</i>)-3,4,5,6-tetrahidroksi-1-(hidroksiimino)heksan-2-il)alkilamidov	57
9	SKLEP	58
10	VIRI IN LITERATURA.....	59

1 POVZETEK

Glikolipidi predstavljajo pomembno skupino organskih molekul, ki se pojavljajo v naravi. V vseh živalskih celicah se nahajajo na zunanji plasti lipidnega dvosloja biološke membrane. Od tkiva do tkiva in med posamezniki se strukturno močno razlikujejo. Značilnost glikolipidov in drugih membranskih lipidov je amfifilnost, ki omogoča njihovo združevanje v vodnem okolju v stabilno dvoslojno razporeditev, ki jo vzdržujejo hidrofobne interakcije.

Površinsko aktivne snovi so pogosto uporabljane spojine v vsakodnevnem življenju, uporabljajo pa se tudi v industriji polimerov, tekstilni, papirni, kozmetični, farmacevtski, prehrabeni in drugih vrstah industrije kot detergenti, močljivci, emulgatorji in solubilizatorji. Lahko so sinteznega, polysinteznega ali naravnega izvora.

Tekom diplomskega dela smo sintetizirali nove glikolipidne mimetike z oksimsko skupino, ki so potencialno primerni za uporabo v dvofaznih sistemih, kot so emulzije O/V ali V/O, mikroemulzije, ipd. Pri predhodnih eksperimentih so amfifilne spojine z oksimsko skupino izkazovale antioksidativne lastnosti.

Za vse pripravljene spojine je značilno, da imajo polarno glavo in napolarni rep. Polarno glavo predstavlja modificirana sladkorna (monosaharidna) molekula, lipofilni del molekule pa predstavljajo različno dolge alkilne verige.

Sintetizirali smo dva tipa spojin: spojine z eno oksimsko skupino in spojine z dvema oksimskima skupinama. Pri sintezi obeh tipov spojin smo kot izhodno spojino uporabili glukozaminijev klorid, na katerega smo pripeli kislinske kloride z različno dolgimi alkilnimi verigami, nakar smo izvajali kemične pretvorbe na sladkornem delu molekule. Pripravili smo 8 končnih spojin, ki jih bomo v prihodnosti tudi uporabili kot stabilizatorje (emulgatorje) v nekaterih farmacevtskih sistemih in jih ovrednotili kot potencialne antioksidante.

2 ABSTRACT

Glycolipids represent an important group of organic molecules we can come across in nature. In all animal cells they can be found in the outer membrane leaflet of the lipid bilayer of the biological membrane. From tissue to tissue and amongst individual examples they are structurally very different. Typical feature of glycolipids and other membrane lipids is their amphiphilic nature which enables their assemblage in water into a stable double layer position which is kept by hydrophobic interactions.

Surfactants are often used in every day life, they are also put to use in polymer industry, textile, paper, cosmetic, pharmaceutical and food industries, in all other kinds of industries as detergents, wetting agents and emulsifiers. They can be synthetic, polysynthetic surfactants or biosurfactants.

Through the process of writing the diploma thesis we have synthesized new glycolipid mimetics with oxime group which could be potentially used in two-phase systems such as emulsions O/W or W/O, microemulsions. In earlier experiments the amphiphilic compounds with oxime groups showed antioxidant properties.

It is typical of all these compounds that they have polar and lipophilic residues. The polar head is represented by modified sugar (monosaccharide molecule). The lipophilic part of the molecule is represented by an alkyl chain of varying length.

We have synthesized two types of compounds: compounds with one oxime group and compounds with two oxime groups. When we carried out synthesis of the two types of compounds we used glucosamine hydrochloride as the starting compound onto which we attached acyl chloride with different length of alkyl chain. Then we carried out chemical conversions in the sugar part of the molecule. We have prepared eight final compounds which are going to be used as stabilizers (emulsifiers) in some pharmaceutical systems and which are going to be examined as potential antioxidants.

3 SEZNAM OKRAJŠAV

d	dublet (NMR)
DM	Dess-Martin perjodinan 15 % raztopina v diklorometanu
DMAp	dimetilaminopiridin
J	sklopitvena konstanta (NMR)
KMK	kritična micelska koncentracija
LH	molekula fosfolipida
LP	lipidna peroksidacija
m	multiplet (NMR)
Mr	molekulska masa
NMR	jedrska magnetna resonanca
O/V	emulzije tipa olje/voda, hidrofilne emulzije
PAS	površinsko aktivne spojine
PNMK	polinenasičene maščobne kisline
ppm	en del na milijon delov (NMR)
Py	piridin
Rf	retencijski faktor (TLC)
s	singlet (NMR)
t	triplet (NMR)
TLC	tankoplastna kromatografija
Tt	temperatura tališča
V/O	emulzije tipa voda/olje, hidrofobne emulzije
η	izkoristek reakcije

4 UVOD

4.1 POVRŠINSKO AKTIVNE SNOVI

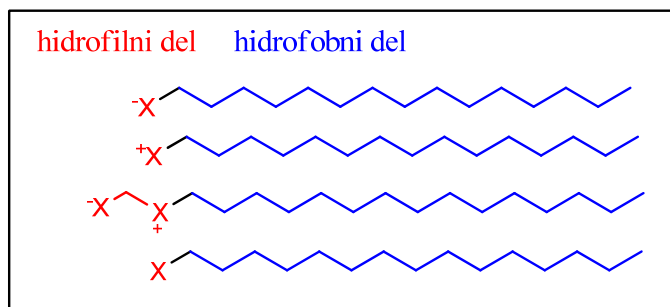
Površinsko aktivne snovi (PAS) so zelo razširjene spojine, katerih svetovna letna proizvodnja je približno 10 milijonov ton. Uvrščamo jih med najpogosteje uporabljane kemikalije v vsakodnevem življenju in so pomembne surovine in reagenti v industriji polimerov, tekstilni, papirni, kozmetični, farmacevtski, prehrambeni industriji kot detergenti, močljivci, emulgatorji, solubilizatorji (1, 2).

PAS so molekule, ki imajo v svoji kemijski strukturi hidrofobno in hidrofilno področje, so torej amfifilne spojine (1). Lahko so sinteznega ali naravnega izvora (2). Zanje je značilno, da se urejajo na medfaznih površinah in tako povzročajo padec medfazne napetosti (3, 2). V raztopinah se amfifilne molekule nabirajo na mejnih površinah, ko pa pride do nasičenja vseh mejnih površin, so molekule prisiljene ostati v notranjosti raztopine - tako nastanejo asociati - miceli. Koncentracijo, pri kateri se pričnejo tvoriti, imenujemo kritična micelska koncentracija (KMK). Miceli so lahko različnih oblik: sferični, valjasti ali plastni. Če v raztopini amfifilne spojine nastanejo miceli, se spremenijo nekatere fizikalno-kemijske lastnosti raztopine, na primer: refrakcija, osmotski tlak, prevodnost, difuzija, sipanje svetlobe, viskoznost (4).

Glede na kemijsko sestavo hidrofilnega področja oziroma glede na obnašanje v vodnem mediju delimo PAS na (3, 4):

1. anionske PAS - hidrofilni del spojine predstavlja negativno nabita skupina
 - soli karboksilnih kislin
 - soli sulfonskih kislin
 - estri žveplove(VI) kisline
 - estri fosforne/polifosforne kisline
2. kationske PAS - hidrofilni del spojine predstavlja pozitivno nabita skupina
 - kvaterne amonijeve spojine
 - piridinske spojine

3. amfiionske PAS - hidrofilni del spojine predstavljata negativno in pozitivno nabiti skupini. Pogosto je pozitivna skupina amin ali kvaterna amonijeve sol, negativna skupina pa je lahko sulfonatna, sulfatna, karboksilatna ali fosfatna skupina.
4. neionske PAS - hidrofilni del spojine je brez naboja: delni estri večvalentnih alkoholov, etri in estri polietilenglikolov, steroli



Slika 1: Razdelitev PAS glede na kemijsko sestavo hidrofilnega področja na anionske, kationske, amfiionske, neionske

4.1.1 PAS, KI TEMELJIJO NA SLADKORJIH

Pri površinsko aktivnih snoveh, ki temeljijo na sladkorjih, predstavlja pogosto hidrofojni del dolga alkilna veriga, hidrofilno glavo pa sladkorna komponenta (npr. glukoza, saharoza). Prednosti teh PAS so: da so biološko razgradljive, neagresivne do kože in da se pridobivajo iz obnovljivih virov. Komercialno dostopne so v trdni obliki ali v obliki tekočine. Uporabljajo jih pri ekstrakcijah, čiščenju in izolaciji membranskih proteinov in za povečanje koloidne stabilnosti liposomov (5). Če kot sladkorno komponento uporabimo glukozamin, imamo dve različni funkcionalni skupini (NH_2 in OH), ki ju lahko derivatiziramo (5). Glede na kemijsko zgradbo oziroma glede na obnašanje v vodnem mediju poznamo več vrst PAS, ki so derivati glukozamina:

- neionske, pri katerih je amino skupina derivatizirana kot amid,
- kationske, pri katerih je amino skupina pretvorjena v kvaterno amonijevo sol,
- anionske, pri katerih je na sladkor pripeta karboksilna ali sulfonatna skupina (6).

Raziskave so pokazale, da je odvisnost kritične micelske koncentracije (KMK) od dolžine alkilne verige podobna kot pri drugih ionskih PAS, in sicer se z večanjem dolžine alkilne verige KMK zmanjšuje (5, 6).

4.1.2 NARAVNE PAS

PAS lahko po izvoru razdelimo na sintezne, polsintezne in naravne. Sinteze PAS se pridobivajo z organskimi kemijskimi reakcijami, medtem ko naravne proizvajajo različni mikroorganizmi, kot so bakterije, glive, kvasovke (7). Naravne PAS stereoselektivno sintetizirajo encimi v mikroorganizmih iz enostavnih molekul (1). Mnoge naravne PAS se proizvajajo iz poceni naravnih virov, kot so rastlinsko olje, ogljikovi hidrati in celo industrijski odpadni produkti (1, 8). Z večanjem okoljskega ozaveščanja te PAS postajajo vedno bolj pomembne, saj so veliko bolj okoljsko sprejemljive kot sintezne (1). Razvoj naravnih PAS se je povečal z razvojem biotehnologije. Zaradi pogosto obsežne in sofisticirane strukture jih je težko izdelati sintezno (1).

Prednosti naravnih PAS v primerjavi s sintezniimi so (1, 7):

- več funkcionalnih skupin,
- visoka biološka razgradljivost in nizka toksičnost,
- nizka KMK in visoka površinska aktivnost,
- ne dražijo kože (1, 7).

Glede na strukturo hidrofilnega dela naravne PAS razdelimo v (1):

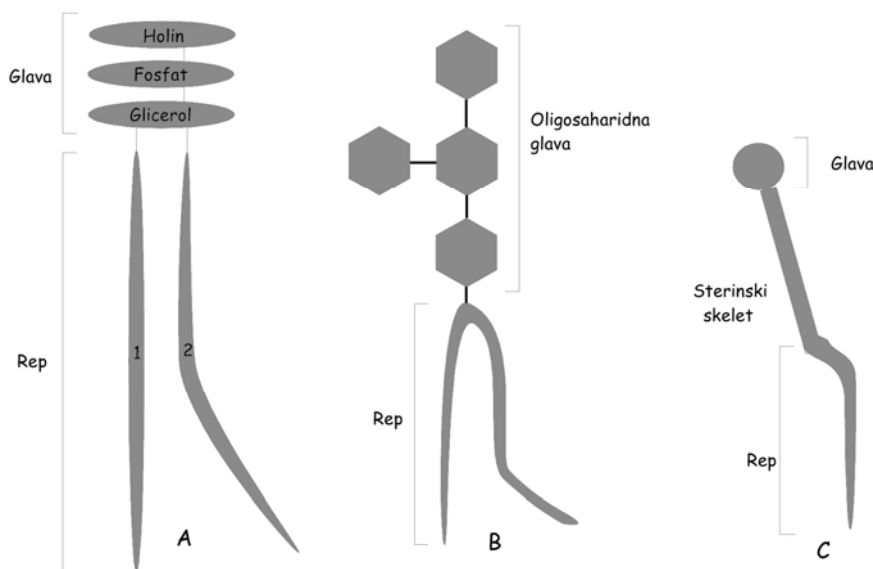
- PAS tipa glikolipidov,
- PAS tipa maščobnih kislin,
- PAS tipa lipopeptidov,
- PAS tipa polimerov.

4.2 BIOLOŠKE MEMBRANE

Biološke membrane, med katere štejemo plazmalemo in membrane notranjih celičnih struktur, so vključene v številne življenjsko pomembne procese. Plazmalema ločuje notranjost celice od njenega okolja in z omejeno in selektivno prepustnostjo in aktivnim transportom vzdržuje razliko koncentracij različnih snovi med notranjostjo in okoljem. Biološka membrana omogoča prevajanje živčnih impulzov po telesu, sodeluje pri procesih celičnega dihanja in fotosinteze pri rastlinah. Opravlja imunološke funkcije, sodeluje pri sintezi ter pri transportu snovi s fagocitozo in pinocitozo (9).

Vsaka vrsta celic in organelov ima posebno vlogo, ki je odvisna tudi od lastnosti njihovih membran. Osnovno strukturno ogrodje, ki je enako pri vseh bioloških membranah ne glede na njihovo funkcijo, je lipidni dvosloj v katerem so zasidrane proteinske molekule (10).

Tri najpomembnejše skupine lipidov, ki sestavljajo membrano so: fosfolipidi, holesterol in glikolipidi (11) (Slika 2). Membranski lipidi imajo skupno značilnost, amfifilnost, ki omogoča njihovo združevanje v vodnem okolju v stabilno dvoslojno razporeditev, ki jo vzdržujejo hidrofobne interakcije (10).



Slika 2: Silhuete molekul fosfolipida (A), glikolipida (B) in holesterola (C).

Fosfolipidi so estri fosforjeve(V) kisline in so najpogostejši membranski lipidi. Alkoholna komponenta estra je glicerol, ki ima dve –OH skupini zaestreni z maščobnima kislinama, eno pa s fosforjevo kislino, na katero je vezana določena organska molekula (9). S kombinacijo različnih maščobnih kislin in skupin, ki so vezane na fosfatno skupino, dobimo različne fosfogliceride, npr.: fosfatidiletanolamin, fosfatidilserin, fosfatidilholin (11).

Glikolipidi se od fosfolipidov razlikujejo po tem, da ne vsebujejo fosforjeve kisline, temveč sladkor. Običajno je to galaktoza, redkeje glukoza, lahko pa je sladkorjev tudi več (9). Glikolipidi se nahajajo le na zunanji plasti lipidnega dvosloja biološke membrane. Najdemo jih v vseh živalskih celicah. Od tkiva do tkiva in od osebkov do osebkov se močno razlikujejo (11). Glikolipidi imajo poleg formuliranja strukture membrane tudi druge posebne celične naloge: prepoznavanje na celični površini, naloge pri tkivno specifičnem povezovanju celic in naloge pri prevajanju živčnih impulzov (10).

Molekula holesterola vsebuje sterinski skelet, na katerega je na mestu 3 vezana –OH skupina, na mestu 17 pa 1,5-dimetilheksilna veriga. Holesterol prispeva k togosti celične membrane in zmanjša prepustnost membrane za manjše nepolarne molekule (10).

Natančnejše študije lipidnih dvoslojev so pokazale, da je membrana asimetrična (10). Tako je npr. v eritrocitni plazemski membrani zunanja plast sestavljena pretežno iz fosfatidilholina in sfingomielina, notranja plast pa iz fosfatidiletanolamina, fosfatidilserina in fosfatidilinozitola (10). To je zelo pomembno pri opravljanju celične funkcije, še posebno pri prehajanju zunajceličnih signalov v znotrajcelične.

Zelo pomemben del biološke membrane so membranski proteini, ki opravijo večino specifičnih nalog (npr. so encimi, receptorski proteini, transportni proteini). Razlikujejo se v strukturi in po tem kje v membrani ležijo (11).

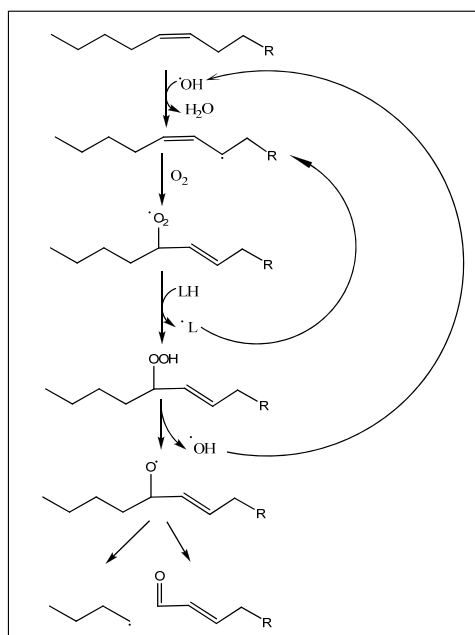
4.3 OKSIDATIVNI STRES

Oksidativni stres je posledica porušanja ravnotežja med prooksidativnimi in antioksidativnimi procesi v celici (12). V normalnih pogojih so v organizmu glavni viri radikalov in reaktivnih kisikovih spojin: mitohondriji (superoksid in vodikov peroksid), peroksisomi (vodikov peroksid), citokrom P450 in aktivirani fagociti (dušikov oksid, superoksid in hipoklorit). V bolezenskih stanjih je endogena produkcija radikalov in/ali reaktivnih kisikovih spojin povečana in poteka nenadzorovano na mestu poškodbe ali obolenja (13). Pri oksidativnem stresu manjšega obsega se celice same obranijo učinkov radikalov z razpoložljivimi antioksidanti, z njihovo povečano tvorbo in regeneracijo. Pri oksidativnem stresu večjega obsega pride tudi do motenj v presnovi celice, poškodbe DNA, lipidne peroksidacije, poškodb membranskih transportnih sistemov in večanja koncentracije kalcijevih ionov v celici (13). Frekvenca poškodb DNA je lahko različna. Če je frekvenca okvar majhna in niso prizadeti pomembnejši geni, govorimo o staranju, procesu, ko postopno slabijo posamezne fiziološke funkcije organizma. V primeru prizadetosti določene skupine genov v določenem organu imamo opraviti s kakšno od degenerativnih obolenj (Alzheimerjeva bolezen). V posebnih primerih pa je lahko nabor naključnih mutacij takšen, da se normalna celica pretvori v rakavo. Oksidativni stres lahko povzroča številne bolezni, med katerimi so poleg že prej omenjenih tudi vnetne bolezni (artritis, glomerulonefritis), Parkinsonova bolezen, srčne bolezni, hemokromatoze, mišična distrofija, emfizem, želodčne razjede, bolezni, ki so posledica kajenja ali prekomernega uživanja alkohola ter številne druge (14, 15).

4.4 LIPIDNA PEROKSIDACIJA

Lipidna peroksidacija (LP) je serija radikalskih in oksidativnih sprememb polinenasičenih maščobnih kislin (PNMK) (13), ki na koncu privedejo do propada celične membrane, izpada funkcije membranskih encimov in prenosa signalov v celico preko transmembranskih receptorskih sistemov (16). Za sprožitev LP sta dovolj reaktivna hidroksilni radikal in singletni kisik. Superoksidni anionski radikal ni dovolj reaktiven za sprožitev LP, poleg tega mu negativen naboj preprečuje vstop v hidrofolno sredico membrane (13). K širitvi procesa LP pomembno prispevajo lipidni in drugi sekundarno nastali radikali ter železovi in bakrovi ioni. V zdravem tkivu je ta faza običajno kratka, ker jo ustavijo zadostne količine antioksidantov v celici. Pri bolezenskih stanjih pa je pogosto povečano nastajanje hidroksilnega radikala in singletnega kisika, pomanjkanje antioksidantov in večje sproščanje železa in bakra iz skladišč (13).

Tarča LP so pretežno nenasičene maščobne kisline v fosfolipidih, holesterol in retinol. LP prizadene proteine in njihovo funkcijo neposredno in posredno. Pride do spremembe strukture proteinov, modifikacije posameznih aminokislin in prečnega povezovanja, posredno pa je funkcija membranskih encimov spremenjena zaradi spremembe v hidrofolnem okolju membranskih encimov (13).



Slika 3. Shema lipidne peroksidacije

Končni produkti LP so različni aldehidi, ketoni, epoksidi, nižje maščobne kisline in različni krajši ogljikovodiki: etan, etilen, pentan. LP se konča, ko je porabljen eden od substratov ali ko antioksidanti nevtralizirajo vse radikale (13).

Zaščito pred LP in njenimi posledicami si organizem zagotavlja:

- s strukturno organizacijo lipidov v biološki membrani. Ugotovili so, da se pod enakimi pogoji lipidne dvojne plasti bistveno kasneje oksidirajo kot posamezne maščobne kisline ali preproste micelarne strukture.
- z vezavo ionov prehodnih kovin (Fe^{2+} , Cu^{+}) v proteinske komplekse od koder ne morejo posegati v oksidativne reakcije, pretvorbe peroksidov in tako stimulirati LP.
- z encimi: superoksid dismutaza (SOD - dismutacija superoksida v vodikov peroksid in kisik), katalaza (pretvorba vodikovega peroksida v vodo in kisik) in glutation peroksidaza.
- z endogenimi in eksogenimi antioksidanti (13).

4.5 ANTIOKSIDANTI

Antioksidant je vsaka snov, ki zmanjša oksidacijo drugih snovi v celici, največkrat tako, da prepreči nastajanje radikalov.

Glede na mehanizem delovanja delimo antioksidante v tri skupine:

- Preventivni antioksidanti vežejo nase kovinske ione in s tem preprečijo ali zmanjšajo hitrost nastajanja radikalov. V to skupino uvrščamo nizkomolekularne kelatorje, transferin, ceruloplazmin in albumin.
- Encimski antioksidanti se nahajajo v celicah (superoksidna dismutaza (SOD), glutation peroksidaza, katalaza). Ti encimi katalizirajo pretvorbo radikalov in reaktivnih kisikovih in dušikovih zvrsti v manj reaktivne produkte.
- Antioksidanti, ki so donorji elektronov, reagirajo z radikali, preden le ti reagirajo z drugimi molekulami. Tak antioksidant se oksidira v relativno stabilen in nereaktiven radikal, ki se bodisi regenerira ali pa se izloči iz organizma. V tej skupini je mnogo predstavnikov: vitamin C, vitamin E, ubikinol 10, različni betakaroteni, bilirubin, tiolne spojine, organske kisline, flavoni, polifenoli (12).

Vpletenost antioksidantov v preprečevanje razvoja patoloških procesov in zaviranje procesov staranja povečuje pomen razvoja antioksidantov kot zdravilnih učinkovin. Z njihovo pravilno uporabo bi razvoj mnogih bolezni preprečili ali upočasnili že na samem

začetku. Bolezenska stanja pri katerih bi bila smiselna pravočasna preventiva z antioksidanti so vnetna obolenja (modulacija bolečine, Crohnova bolezen, osteoartritis, revmatoidni artritis, dermatitis/psoriza), zaviranje rasti tumorjev, zmanjšanje neželenih učinkov povezanih z radiacijsko boleznijo in kemoterapijo, ishemija, motnje perfuzije, šok (septični/citokini/interleukini), presaditev organov, srčna kap, astma (12).

4.5.1 OKSIMI KOT ANTIOKSIDANTI

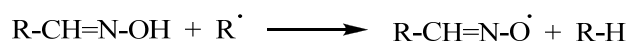
Oksimi so spojine, ki jih v farmaciji največ uporabljamo za ponovno aktivacijo z organofosfati zaviranih acetilholinesteraz (AChE) (npr. pralidoksim). Organofosfati so klasični ireverzibilni zaviralci holinesteraz, ki jih pretežno uporabljamo kot pesticide, in lahko povzročijo oksidativni stres pri podganah, miših in v človeškem organizmu, vendar natančen mehanizem še ni popolnoma znan. V raziskavah, so se spojine, ki delujejo kot reaktivatorji acetilholinesteraz z antioksidativnimi lastnostmi, izkazale za dober pristop pri zdravljenju zastrupitev z organofosfati (17).

Ley in sodelavci so raziskovali antioksidativne lastnosti kateholoksimov v primerjavi z ustreznimi benzaldehidi in acetofenoni. Ugotovili so, da kateholoksimi zelo dobro vežejo radikale in so v primerjavi z ustreznimi benzaldehidi in acetofenoni boljši antioksidanti. Kateholoksimi so se izkazali za zelo dobre antioksidante pri preprečevanju oksidacije lipidov, zato bi jih lahko uporabljali kot stabilizatorje v kozmetičnih, prehrabnih in drugih pripravkih (18).

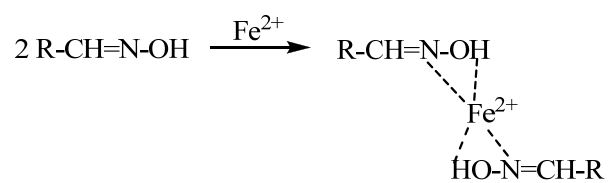
Pri ugotavljanju antioksidativnih lastosti spojine butan-2,3-dion tiosemikarbazon oksim so ugotovili, da oksim reagira z radikali (hidroksilni radikal, NO[•]) in reaktivnimi kisikovimi spojinami (vodikov peroksid) ter kelira kovinske ione. Poleg tega oksim nevtralizira lipidno peroksidacijo povzročeno z različnimi oksidativnimi spojinami (17). Oksimi lahko preprečijo tudi serumsko oksidacijo in oksidacijo LDL ter s tem nastanek in razvoj ateroskleroze (19).

Oksimi delujejo antioksidativno ker:

- neposredno reagirajo z radikali



- kelirajo kovinske ione

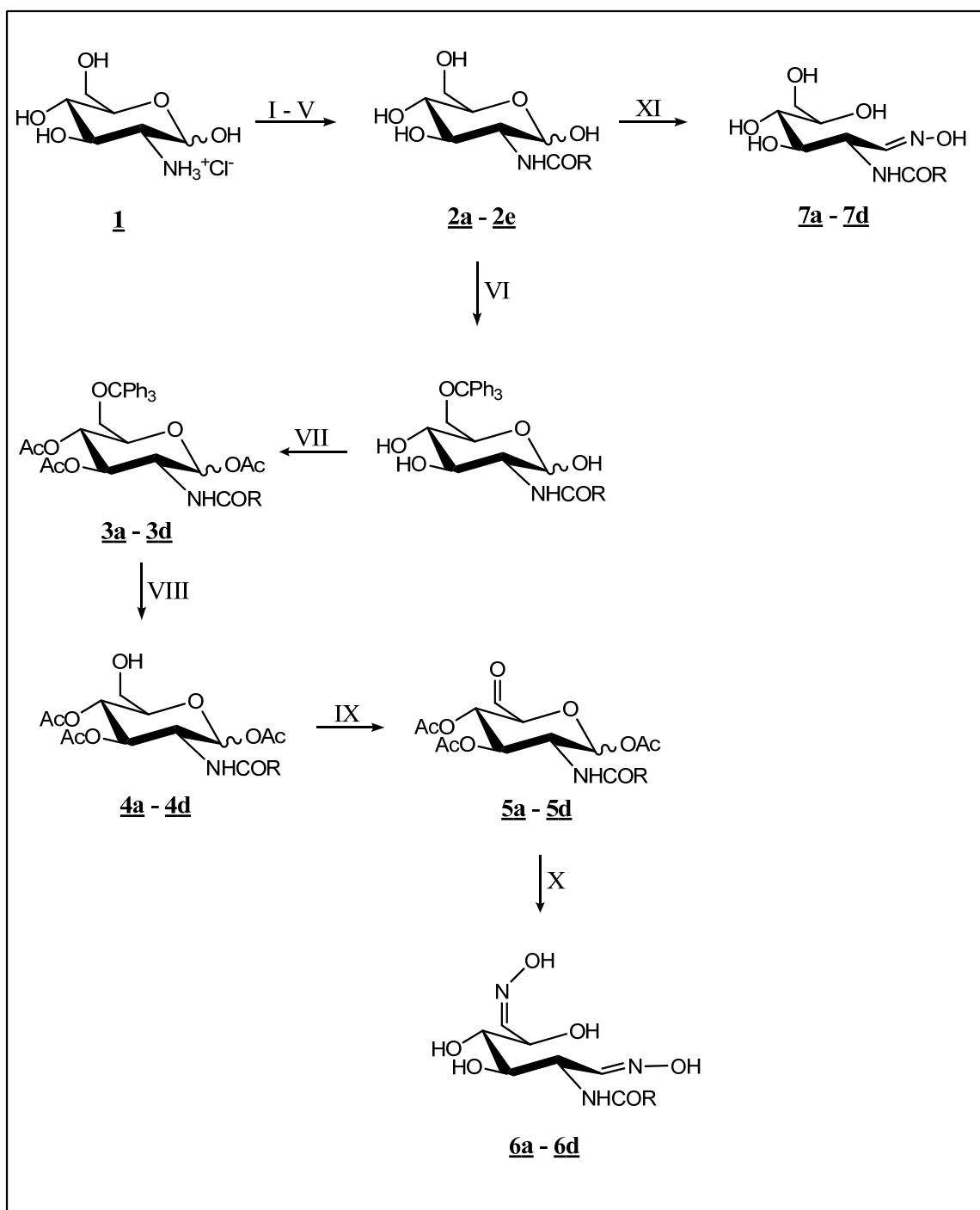


5 NAČRT DELA

Namen te diplomske naloge je načrtovanje in sinteza mimetikov glikolipida, ki imajo na sladkornem delu molekule vezane oksimske skupine, in bi jih lahko uporabljali kot amfifilne antioksidante. Za doseganje tega cilja bomo upoštevali zakonitosti, ki so nujne pri načrtovanju glikomimetikov z antioksidativnim delovanjem. Polarni del molekule bodo predstavljali modificirana sladkorna molekula in funkcionalna skupina z antioksidativnim delovanjem, nepolarni del molekule pa različno dolge alkilne verige.

Sintetizirali bomo dva tipa spojin: spojine z eno oksimsko skupino in skupine z dvema oksimskima skupinama. Pri obeh tipih spojin bomo kot izhodno spojino uporabili glukozaminijev klorid, na katerega bomo pripeli različno dolge alkilne verige z ustreznimi kislinskimi kloridi. Nadaljnja sinteza se bo razlikovala pri obeh skupinah spojin. Pri spojinah z eno oksimsko skupino bomo dodali hidroksilamin, ki bo reagiral s cikličnim ketalom z anomerno -OH skupino. Pri spojinah z dvema oksimskima skupinama bomo najprej selektivno zaščitili primarno -OH skupino s tritilno skupino, ostale hidroksilne skupine pa z acetilnimi skupinami. Selektivni odščiti tritilne skupine v kislem bo sledila oksidacija primarne OH skupine v aldehydno skupino z Dess-Martinovim perjodinanom (15 ut % raztopina v diklorometanu). Potem bomo dodali hidroksilamin, ki bo reagiral z aldehydom in cikličnim ketalom z anomerno -OH skupino. Dodali bomo prebitek hidroksilamina, zato da bomo v alkalnem s hidrolizo acetatnih estrov odstranili tudi acetatno zaščito.

5.1 REAKCIJSKA SHEMA



I: $\text{C}_7\text{H}_{15}\text{-COCl}$, NaHCO_3 , H_2O , dioksan / $\text{C}_7\text{H}_{15}\text{-COCl}$, NaOMe

II: $\text{C}_9\text{H}_{19}\text{-COCl}$, NaHCO_3 , H_2O , dioksan / $\text{C}_9\text{H}_{19}\text{-COCl}$, NaOMe

III: $\text{C}_{11}\text{H}_{23}\text{-COCl}$, NaHCO_3 , H_2O , dioksan / $\text{C}_{11}\text{H}_{23}\text{-COCl}$, NaOMe

IV: $\text{C}_{13}\text{H}_{27}\text{-COCl}$, NaHCO_3 , H_2O , dioksan / $\text{C}_{13}\text{H}_{27}\text{-COCl}$, NaOMe

V: $\text{C}_{15}\text{H}_{31}\text{-COCl}$, NaHCO_3 , H_2O , dioksan / $\text{C}_{15}\text{H}_{31}\text{-COCl}$, NaOMe

VI: Ph_3CCl , DMAP, Py

VII: Ac_2O

VIII: FeCl_3 , H_2O

IX: DM, CH_2Cl_2

X: NH_2OH , brezvodni EtOH

XI: NH_2OH , Py

6 MATERIALI IN METODE

Kemikalije in topila

Pri delu smo uporabili reagente in topila naslednjih proizvajalcev: Acros Organics, Sigma-Aldrich, Fluka in Merck.

Aparature

Standardna laboratorijska oprema: laboratorijska tehtnica, rotavapor, magnetni mešalnik, membranska črpalka, UV-lučka z UV-kabinetom, aparatura za flash kromatografijo (Isolera)

Risanje struktur

Za risanje in poimenovanje spojin, napovedovanje in pomoč pri interpretaciji ^1H spektrov in molekulsko modeliranje smo uporabljali računalniški program ChemBioDraw Ultra, proizvajalca CambridgeSoft.

Kromatografske metode

Tankoplastna kromatografija (TLC)

Tankoplastno kromatografijo smo uporabljali kot analizno metodo, s katero smo spremljali potek reakcij ter izolacijo naših spojin. Za tankoplastno kromatografijo smo uporabljali TLC plošče Merck DC Fertigplatten Kieselgel 60 GF₂₅₄ z 0,25 mm debelim nanosom silikagela na aluminijastem nosilcu. Uporabljali smo različne mobilne faze, ki so navedene pri vsaki spojini posebej. Za detekcijo spojin na kromatografskih ploščah smo uporabljali UV svetilko z valovno dolžino $\lambda=254$ nm in orositvene reagente: fosfor-molibdenovo kislino, žveplovno(VI) kislino, 2,4-dinitrofenilhidrazin.

Kolonska kromatografija pod povišanim tlakom (Flash)

Uporabljali smo jo za ločevanje zmesi spojin. Uporabljali smo steklene kolone različnih velikosti (glede na količino spojine). Kot stacionarno fazo smo uporabljali silikagel z velikostjo delcev 0,040-0,063 mm (proizvajalec Merck). Uporabljena mobilna faza je navedena pri posamezni spojini.

IsoleraTM (Biotage)

Nekaj spojin smo očistili na Isoleri (avtomatiziran in računalniško krmiljen sistem za kolonsko kromatografijo).

Spektroskopske metode**Jedrska magnetna resonanca (NMR)**

NMR spektre so nam posneli na Bruker Advance DPX₃₀₀ spektrometru pri 300,15 MHz (¹H) v Nacionalnem centru za jedrsko magnetno resonanco visoke ločljivosti na Fakulteti za kemijo in kemijsko tehnologijo Univerze v Ljubljani. Vzorce so raztopili v devteriranih topilih: DMSO-d₆, CDCl₃ ali piridinu-d₅. Kot interni standard so uporabljali TMS. Spektre smo obdelali z računalniškim programom NMRnotebook.

Masna spektrometrija (MS)

Masni spektri so bili posneti na spektrometru Varian-MAT 311 A z EI in, ESI tehniko na Inštitutu Jožef Stefan v Ljubljani.

Infrardeča spektroskopija (IR)

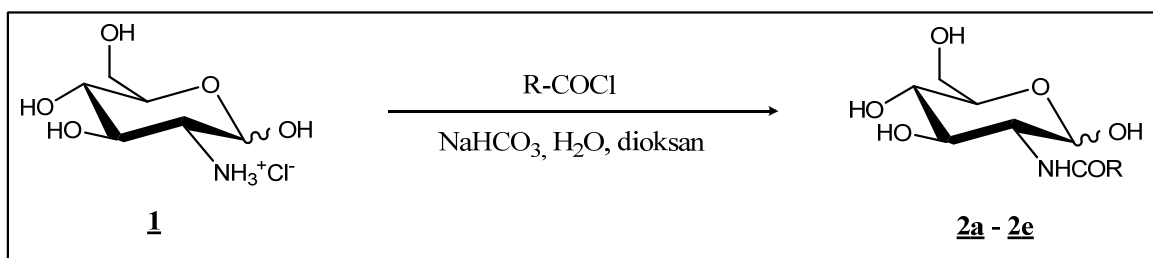
IR spektre so posneli na spektrofotometru Perkin Elmer 1600 FT-IR System, Spectrum BX na Fakulteti za farmacijo v Ljubljani.

Tališče

Temperaturo tališč naših spojin smo določali s Kofflerjevim mikroskopom z ogrevalno mizico znamke Leica. Temperature tališč niso korigirane.

7 EKSPERIMENTALNI DEL

7.1 SPLOŠNA PREDPISA ZA SINTEZO *N*-((2(*R/S*),3*R*,4*R*,5*S*,6*R*)-2,4,5-TRIHIDROKSI-6-(HIDROKSIMETIL)TETRAHIDRO-2*H*-PIRAN-3-IL)ALKILAMIDOV



Spojina **2a**: $\text{-C}_7\text{H}_{15}$

Spojina **2b**: $\text{-C}_9\text{H}_{19}$

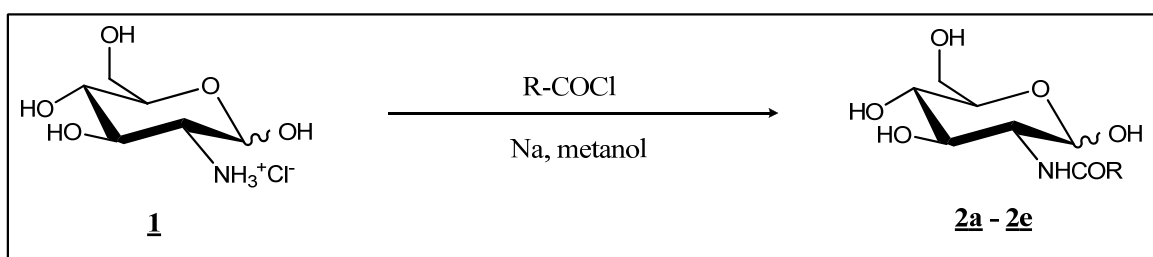
Spojina **2c**: $\text{-C}_{11}\text{H}_{23}$

Spojina **2d**: $\text{-C}_{13}\text{H}_{27}$

Spojina **2e**: $\text{-C}_{15}\text{H}_{31}$

Postopek 1:

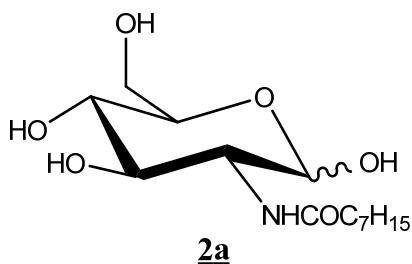
3,00 g (13,9 mmol) glukozaminijevega klorida in 2,35 g (28 mmol) NaHCO_3 smo raztopili v 50 mL vode. Med mešanjem na ledeni kopeli smo po kapljicah dodali 50 mL dioksana, kateremu smo dodali 15,3 mmol ustreznega kislinskega klorida. Reakcijsko zmes smo mešali čez noč pri sobni temperaturi. Naslednji dan smo oborino odfiltrirali s presesavanjem. Tako dobljen produkt smo na koncu prekrystalizirali iz metanola in ga posušili na zraku. Dobili smo bele trdne spojine, ki smo jih nato uporabili pri nadaljnji sintezi.



Postopek 2:

1,22 g natrija (53,17 mmol) smo po manjših koščkih dodajali v 30 mL metanola. Zmes smo po potrebi hladili na ledeni kopeli. Ko je ves natrij zreagirala, smo raztopini dodali 11,56 g glukozaminijevega klorida (53,62 mmol). Čez tri minute smo nastalo oborino odfiltrirali s presesavanjem. Matičnici med mešanjem na ledeni kopeli smo dodali 51,49 mmol ustreznega kislinskega klorida. Reakcijsko zmes smo mešali tri minute. Po treh minutah smo oborino odfiltrirali s presesavanjem. Tako dobljeni produkt smo spirali z zmesjo dietileter-metanol v razmerju 1:1. Na koncu smo produkt posušili na zraku.

***N*-((2(*R/S*),3*R*,4*R*,5*S*,6*R*)-2,4,5-trihidroksi-6-(hidroksimetil) tetrahidro-2*H*-piran-3-il)oktanamid**



$\eta=0,10$ (postopek 1); $\eta=0,54$ (postopek 2)

Mr=305 g/mol

Elementna sestava: C₁₄H₂₇NO₆

Tt=215 - 217 °C

Rf=0

(silikagel, diklorometan/metanol=5/1)

Bel prašek

Analize *N*-((2(*R/S*),3*R*,4*R*,5*S*,6*R*)-2,4,5-trihidroksi-6-(hidroksimetil)tetrahidro-2*H*-piran-3-il)oktanamida

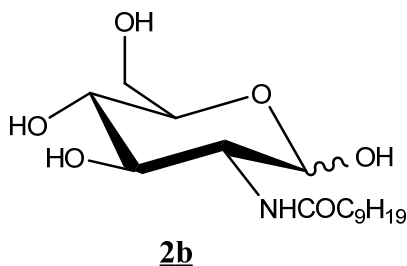
¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (zmes α in β oblike): δ = 0,83 (t, 3H, J=6,4 Hz, CH₃); 1,22 (m, 8H, CH₂); 1,44 (m, 2H, CH₂-CH₂-CO); 2,05 (m, 2H, CH₂-CH₂-CO); 3,06 (m, 1H, H5); 3,46 (dd, 1H, J=5,3 Hz, 4,5 Hz, H6); 3,56 (dd, 1H, J=5,3 Hz, 4,5 Hz, H6'); 4,35 (t, 0,7H, J=5,7 Hz, H2); 4,4 (t, 0,3H, H2); 4,7 (m, 0,3H, H4); 4,82 (m, 0,7H, H4); 4,85 (m, 0,3H, H3); 4,89 (m, 0,7H, H3); 6,33 (d, 0,7H, J=4,4 Hz, NH); 6,4 (d, 0,3H, J=6,4 Hz, NH); 7,43 (d, 0,7H, J=7,8 Hz, H1); 7,59 (d, 0,3H, J=8 Hz, H1) ppm

MS ESI: m/z (%): 306 (MH⁺, 15%), 328 ((M+Na)⁺, 100%), 344 ((M+K)⁺, 6%)

MS (HR) (MH⁺): 306,1917; izmerjeno: 306,1910

IR (KBr): ν = 3788, 3371, 2929, 2853, 2348, 1641, 1563, 1552, 1425, 1330, 1289, 1128, 1081, 1022 cm⁻¹

***N*-((2(*R/S*),3*R*,4*R*,5*S*,6*R*)-2,4,5-trihidroksi-6-(hidroksimetil) tetrahidro-2*H*-piran-3-il)dekanamid**



$\eta=0,20$ (postopek 1); $\eta=0,36$ (postopek 2)

$M_r=333$ g/mol

Elementna sestava: $C_{16}H_{31}NO_6$

$T_t=206$ °C

$R_f=0$

(silikagel, etilacetat/metanol=1/1)

Bel prašek

Analize *N*-((2(*R/S*),3*R*,4*R*,5*S*,6*R*)-2,4,5-trihidroksi-6-(hidroksimetil)tetrahidro-2*H*-piran-3-il)dekanamida

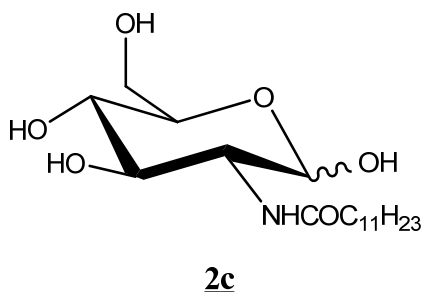
1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) (zmes α in β oblike): δ 0,86 (t, 3H, $J=6,4$ Hz, CH_3); 1,24 (m, 12H, CH_2); 1,46 (m, 2H, CH_2-CH_2-CO); 2,07 (m, 2H, CH_2-CH_2-CO); 3,08 (m, 1H, H5); 3,48 (dd, 1H, $J=5,3$ Hz, 4,5 Hz, H6); 3,59 (dd, 1H, $J=5,3$ Hz, 4,5 Hz, H6'); 4,38 (t, 0,7H, $J=5,7$ Hz, H2); 4,43 (t, 0,3H, H2); 4,75 (m, 0,3H, H4); 4,85 (m, 0,7H, H4); 4,88 (m, 0,3H, H3); 4,92 (m, 0,7H, H3); 6,36 (d, 0,7H, $J=4,4$ Hz, NH); 6,43 (d, 0,3H, $J=6,4$ Hz, NH); 7,45 (d, 0,7H, $J=7,8$ Hz, H1); 7,62 (d, 0,3H, $J=8$ Hz, H1) ppm

MS ESI: m/z (%): 334 (MH^+ , 48%), 356 ($(M+Na)^+$, 33%), 372 ($(M+K)^+$, 6%)

MS (HR) (MH^+): 334,2230; izmerjeno: 334,2225

IR (KBr): $\nu = 3788, 3660, 3297, 2921, 2851, 2348, 2281, 1641, 1563, 1552, 1425, 1330, 1273, 1128, 1081, 1022$ cm^{-1}

***N*-((2(*R/S*),3*R*,4*R*,5*S*,6*R*)-2,4,5-trihidroksi-6-(hidroksimetil) tetrahidro-2*H*-piran-3-il)DODEKanamid**



$\eta=0,50$ (postopek 1); $\eta=0,54$ (postopek 2)

$M_r=361$ g/mol

Elementna sestava: $C_{18}H_{35}NO_6$

$T_t=200$ °C

$R_f=0$

(silikagel, diklorometan/metanol=5/1)

Bel prašek

Analize *N*-((2(*R/S*),3*R*,4*R*,5*S*,6*R*)-2,4,5-trihidroksi-6-(hidroksimetil)tetrahidro-2*H*-piran-3-il)dodekanamida

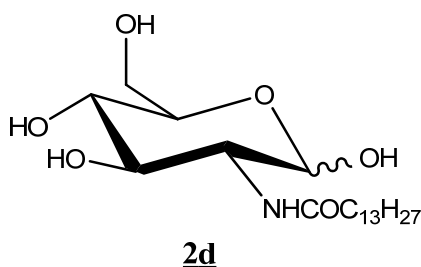
¹H NMR (300 MHz, piridin-*d*₅) (zmes *α* in *β* oblike): δ 0,85 (t, 3H, *J*=6,3 Hz, CH₃); 1,23 (m, 16H, CH₂); 1,81 (m, 2H, CH₂-CH₂-CO); 2,5 (m, 2H, CH₂-CH₂-CO); 4,22 (m, 0,3H, H5); 4,27 (m, 0,7H, H5); 4,39 (dd, 1H, H6); 4,51 (dd, 1H, H6'); 4,69 (m, 1H, H2); 4,77 (m, 1H, H4); 4,90 (m, 1H, H3); 5,38 (d, 0,3H, *J*=8,1 Hz, NH); 5,99 (d, 0,7H, *J*=3,4 Hz, NH); 8,6 (d, 0,7H, *J*=8,3 Hz, H1); 8,99 (d, 0,3H, H1) ppm

MS ESI: *m/z* (%): 384 ((*M*+Na)⁺, 100%)

MS (HR) ((*M*+Na)⁺): 384,2362; izmerjeno: 384,2360

IR (KBr): ν = 3292, 3101, 2921, 2850, 2364, 2344, 1636, 1618, 1559, 1541, 1421, 1250, 1219, 1184, 1117, 1093, 1066, 1032, 913 cm⁻¹

***N*-((2(*R/S*),3*R*,4*R*,5*S*,6*R*)-2,4,5-trihidroksi-6-(hidroksimetil) tetrahidro-2*H*-piran-3-il)tetradekanamid**



η=0,44 (postopek 1); η=0,55 (postopek 2)

Mr=389 g/mol

Elementna sestava: C₂₀H₃₉NO₆

Tt=198 °C

Rf=0

(silikagel, diklorometan/metanol=5/1)

Bel prašek

Analize *N*-((2(*R/S*),3*R*,4*R*,5*S*,6*R*)-2,4,5-trihidroksi-6-(hidroksimetil)tetrahidro-2*H*-piran-3-il)tetradekanamida

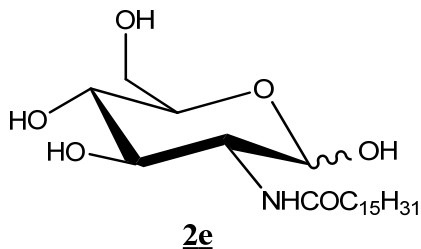
¹H NMR (300 MHz, piridin-*d*₅) (zmes *α* in *β* oblike): δ 0,84 (t, 3H, *J*=6,3 Hz, CH₃); 1,23 (m, 20H, CH₂); 1,81 (m, 2H, CH₂-CH₂-CO); 2,5 (m, 2H, CH₂-CH₂-CO); 4,18 (m, 0,3H, H5); 4,27 (m, 0,7H, H5); 4,38 (dd, 1H, H6); 4,51 (dd, 1H, H6'); 4,7 (m, 1H, H2); 4,77 (m, 1H, H4); 4,89 (m, 1H, H3); 5,38 (d, 0,3H, *J*=8,1 Hz, NH); 6,0 (d, 0,7H, *J*=3,4 Hz, NH); 8,6 (d, 0,7H, *J*=8,3 Hz, H1); 9 (d, 0,3H, H1) ppm

MS ESI: *m/z* (%): 412 ((*M*+Na)⁺, 100%)

MS (HR) ((*M*+Na)⁺): 412,2675; izmerjeno: 412,2665

IR (KBr): ν = 3789, 3408, 2918, 2850, 2348, 2281, 1629, 1287, 1021 cm⁻¹

***N*-((2(*R/S*),3*R*,4*R*,5*S*,6*R*)-2,4,5-trihidroksi-6-(hidroksimetil) tetrahidro-2*H*-piran-3-il)palmitamid**



$\eta=0,50$ (postopek 1); $\eta=0,60$ (postopek 2)

$M_r=417$ g/mol

Elementna sestava: $C_{22}H_{43}NO_6$

$T_t=196-198$ °C

$R_f=0$

(silikagel, diklorometan/metanol=5/1)

Bel prašek

Analize *N*-((2(*R/S*),3*R*,4*R*,5*S*,6*R*)-2,4,5-trihidroksi-6-(hidroksimetil)tetrahidro-2*H*-piran-3-il)palmitamida

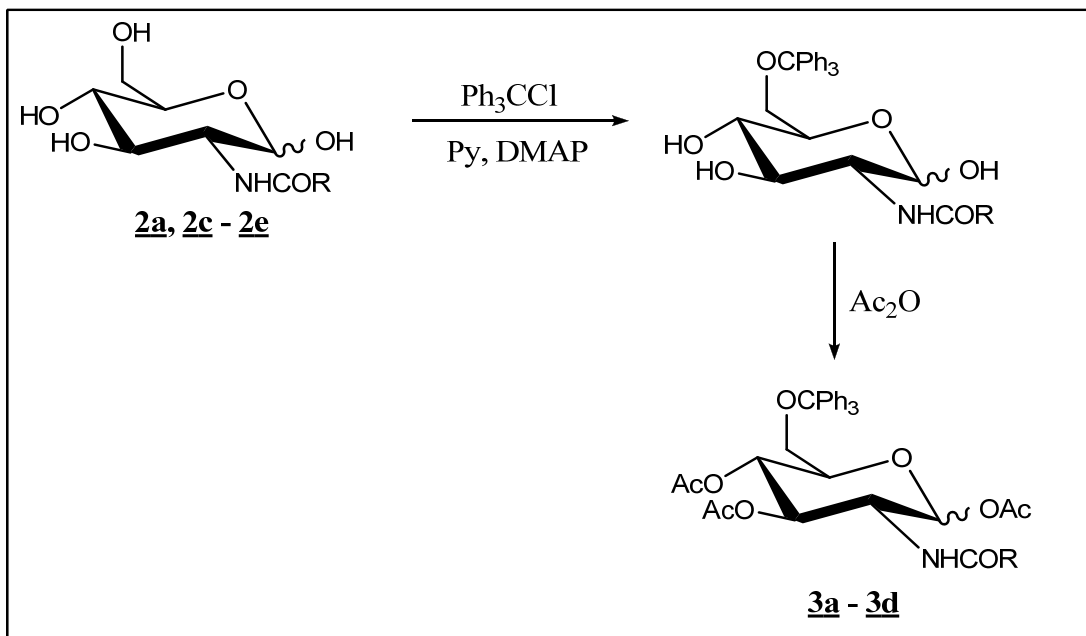
1H NMR (300 MHz, piridin- d_5) (zmes α in β oblike): δ 0,85 (t, 3H, $J=6,2$ Hz, CH_3); 1,23 (m, 24H, CH_2); 1,82 (m, 2H, CH_2-CH_2-CO); 2,5 (m, 2H, CH_2-CH_2-CO); 4,26 (m, 1H, H_5); 4,38 (dd, 1H, $J=11,9$ Hz, 5,6 Hz, H_6); 4,52 (m, 1H, H_6'); 4,69 (t, 1H, H_2); 4,76 (m, 1H, H_4); 4,91 (m, 1H, H_3); 5,37 (d, 0,2H, $J=8,5$ Hz, NH); 5,99 (d, 0,8H, $J=3,4$ Hz, NH); 8,6 (d, 0,8h, $J=8,6$ Hz, H_1); 8,98 (d, 0,2H, $J=8,6$ Hz, H_1) ppm

MS ESI: m/z (%): 418 (MH^+ , 13%), 440 ($(M+Na)^+$, 100%)

MS (HR) ($(M+Na)^+$): 440,2988; izmerjeno: 440,2978

IR (KBr): $\nu = 3788, 3402, 2918, 2850, 2348, 2281, 1755, 1629, 1229, 1128, 1024$ cm^{-1}

7.2 SPLOŠNI PREDPIS ZA SINTEZO (2(R/S),3R,4R,5S,6R)-3-ALKILAMIDO-6-(TRITILOKSIMETIL)TETRAHIDRO-2H-PIRAN-2,4,5-TRIIL TRIACETATOV



Spojina **3a**: $\text{-C}_7\text{H}_{15}$

Spojina **3b**: $\text{-C}_{11}\text{H}_{23}$

Spojina **3c**: $\text{-C}_{13}\text{H}_{27}$

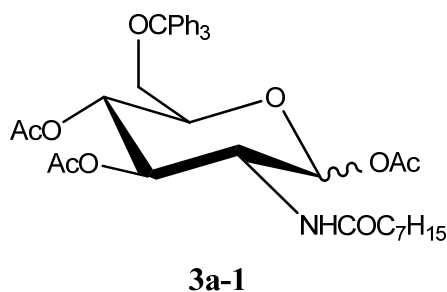
Spojina **3d**: $\text{-C}_{15}\text{H}_{31}$

Postopek:

V 40 mL piridina smo suspendirali 14,39 mmol spojine **2**. Suspenziji smo dodali 88 mg (0,72 mmol) DMAP in 6,85 g (24,56 mmol) Ph_3CCl . Reakcijsko zmes smo nato 2 uri segrevali na $75\text{ }^\circ\text{C}$ v atmosferi argona in nato 2 dni na sobni temperaturi. Potek reakcije smo spremljali s TLC. Zmes smo nato ohladili na ledeni kopeli in ji po kapljicah dodali 87,62 mmol Ac_2O . Reakcijsko zmes smo mešali čez noč na sobni temperaturi v atmosferi argona. Naslednji dan smo zmesi dodali nekaj ledene vode in 100 mL dietiletra, fazi smo ločili, vodno fazo smo nato spirali z 2 x 100 mL etra. Organske faze smo združili in sušili z Na_2SO_4 . Tako dobljenemu produktu smo pod znižanim tlakom odparili topilo. Produkt smo očistili s kolonsko kromatografijo z uporabo mobilnih faz petroleter/etilacetat=4:1,

3:1, 2:1, katerim smo dodali 3‰ trietilamina.

(2(*R/S*),3*R*,4*R*,5*S*,6*R*)-3-oktanamido-6-(tritolosimetil) tetrahidro-2*H*-piran-2,4,5-triil triacetat



$\eta=0,05$

Mr=673 g/mol

Elementna sestava: C₃₉H₄₇NO₉

Rf=0,08

(silikagel, cikloheksan/etilacetat=4/1)

Tt=75-77 °C

Svetlo rumen prašek

Analize (2(*R/S*),3*R*,4*R*,5*S*,6*R*)-3-dekanamido-6-(tritolosimetil) tetrahidro-2*H*-piran-2,4,5-triil triacetata

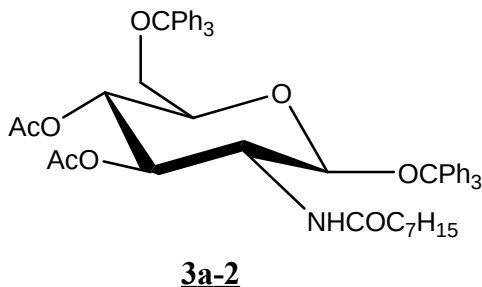
¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) (zmes α in β oblike): δ 0,9 (t, 3H, J=6,2 Hz, CH₃); 1,29 (m, 8H, CH₂); 1,58 (m, 2H, CH₂-CH₂-CO); 1,75, 2,04, 2,16, (3m, 11H, CH₂-CH₂-CO, 3 CH₃CO); 3,09 (m, 1H, H₆); 3,29 (m, 1H, H_{6'}); 3,67 (m, 0,3H, H₅); 3,9 (m, 0,7H, H₅); 4,14 (m, 0,7H, H₂); 4,38 (m, 0,3H, H₂); 5,06 (m, 0,3H, H₄); 5,21 (m, 0,7H, H₄); 5,36 (m, 0,7H, H₃); 5,53 (d, 0,7H, J=9,3 Hz, NH); 5,69 (d, 0,3H, J=8,5Hz, NH); 6,31 (d, 1H, J=3,6 Hz, H₁); 7,15-7,5 (m, 15H, CPh₃) ppm

MS ESI: m/z (%): 696 ((M+Na)⁺, 100%)

MS (HR) ((M+Na)⁺): 696,3149; izmerjeno: 696,3167

IR (KBr): ν = 3854, 3384, 3300, 3086, 3034, 3060, 2955, 2930, 2856, 2365, 2344, 1960, 1752, 1683, 1654, 1597, 1543, 1491, 1449, 1369, 1218, 1155, 1126, 1075, 1042, 1014, 933, 900 cm⁻¹

(2R,3S,4R,5R,6S)-5-oktanamido-6-(tritoloksi)-2-(tritolksimetil)tetrahidro-2H-piran-3,4-diil diacetat



$\eta=0,02$

Mr=873 g/mol

Elementna sestava: C₅₆H₅₉NO₈

Rf=0,29

(silikagel, cikloheksan/etilacetat=4/1)

Tt=82-83°C

Svetlo rumen prašek

Analize (2R,3S,4R,5R,6S)-5-oktanamido-6-(tritoloksi)-2-(tritolksimetil)tetrahidro-2H-piran-3,4-diil diacetata

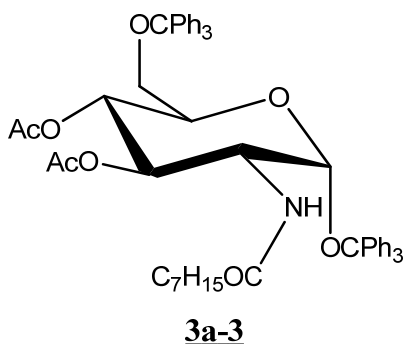
¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 0,91 (t, 3H, J=6,4 Hz, CH₃); 1,3 (m, 8H, CH₂); 1,57 (m, 2H, CH₂-CH₂-CO); 2 (m, 8H, CH₂-CH₂-CO, 2xCH₃CO); 3,07 (m, 1H, H₆); 3,34 (m, 1H, H_{6'}); 3,6 (m, 1H, H₅); 4,47 (d, J=3,3 Hz, 1H, H₂); 5,02 (t, 1H, J=9,8 Hz, H₄); 5,33 (t, 1H, J=10 Hz, H₃); 5,67 (d, 1H, J=9,3 Hz, NH); 6,18 (d, 1H, J=3,3 Hz, H₁), 7 -7,6 (m, 30H, 2xCPh₃) ppm

MS ESI: m/z (%): 896 ((M+Na)⁺, 48%)

MS (HR) ((M+Na)⁺): 896,4138; izmerjeno: 896,4117

IR (KBr): ν = 3854, 3431, 3084, 3057, 3031, 2928, 2873, 2856, 2363, 2344, 2128, 1960, 1910, 1750, 1684, 1596, 1559, 1490, 1466, 1448, 1368, 1319, 1240, 1215, 1155, 1104, 1033, 1013, 927, 900 cm⁻¹

(2*R*,3*S*,4*R*,5*R*,6*R*)-5-oktanamido-6-(tritoloksi)-2-(tritolksimetil)tetrahidro-2*H*-piran-3,4-diil diacetat



$\eta=0,02$

$M_r=873 \text{ g/mol}$

Elementna sestava: $C_{56}H_{59}NO_8$

$R_f=0,14$

(silikagel, cikloheksan/etilacetat=4/1)

$T_t=95-97^\circ\text{C}$

Svetlo rumen prašek

Analize (2*R*,3*S*,4*R*,5*R*,6*R*)-5-oktanamido-6-(tritoloksi)-2-(tritolksimetil)tetrahidro-2*H*-piran-3,4-diil diacetata

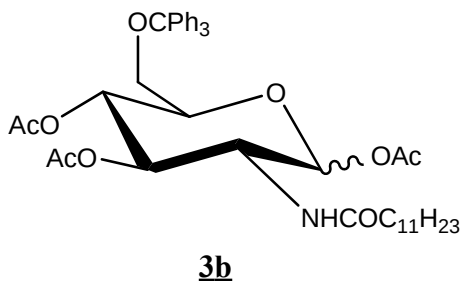
^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 0,91 (t, 3H, $J=6,6 \text{ Hz}$, CH_3); 1,28 (m, 8H, CH_2); 1,55-2,14 (m, 10H, CH_2 - CH_2 -CO, $2 \times \text{CH}_3\text{CO}$); 2,78 (m, 1H, H5); 2,91 (m, 2H, H6, H6'); 3,96 (d, 1H, $J=8,1 \text{ Hz}$, H2); 4,62 (m, 1H, H4); 4,76 (m, 1H, H3); 5,08 (d, 1H, $J=9,2 \text{ Hz}$, NH); 5,12 (d, 1H, $J=9,2 \text{ Hz}$, H1); 7,1-7,6 (m, 30H, $2 \times \text{CPh}_3$) ppm

MS ESI: m/z (%): 896 ($(M+\text{Na})^+$, 100%)

MS (HR) ($(M+\text{Na})^+$): 896,4138; izmerjeno: 896,4162

IR (KBr): $\nu = 3272, 3058, 2928, 2856, 1751, 1648, 1596, 1559, 1491, 1449, 1365, 1319, 1236, 1156, 1040 \text{ cm}^{-1}$

(2(*R/S*),3*R*,4*R*,5*S*,6*R*)-3-dodekanamido-6-(tritoloksimetil) tetrahidro-2*H*-piran-2,4,5-triil triacetat



$\eta=0,26$

$M_r=729$ g/mol

Elementna sestava: $C_{43}H_{55}NO_9$

$R_{f1}=0,42$, $R_{f2}=0,32$ (dve lisi – α in β oblika) (silikagel, petrol/etilacetat=2/1)

$T_t=63-64$ °C

Svetlo rumen prašek

Analize (2(*R/S*),3*R*,4*R*,5*S*,6*R*)-3-dodekanamido-6-(tritoloksimetil) tetrahidro-2*H*-piran-2,4,5-triil triacetata

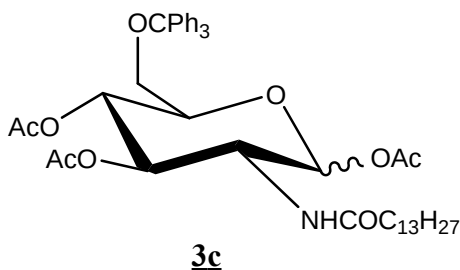
1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) (zmes α in β oblike): δ 0,9 (t, 3H, $J=6,4$ Hz, CH_3); 1,27 (m, 16H, CH_2); 1,58 (m, 2H, $\underline{CH}_2-CH_2-CO$); 1,75 (m, 2H, $CH_2-\underline{CH}_2-CO$); 2,12 (m, 9H, $3 \times CH_3-CO$); 3,05 (m, 0,7H, H6); 3,12 (m, 0,3H, H6); 3,29 (m, 1H, H6'); 3,66 (m, 0,3H, H5); 3,9 (m, 0,7H, H5); 4,37 (m, 0,3H, H2); 4,56 (m, 0,7H, H2); 5,06 (m, 0,3H, H4); 5,2 (m, 0,7H, H4); 5,25 (m, 0,3H, H3); 5,35 (m, 0,7H, H3); 5,43 (m, 0,3H, NH); 5,5 (m, 0,7H, NH); 5,69 (d, 0,3H, $J=8,6$ Hz, H1); 6,31 (d, 0,7H, $J=3,7$ Hz, H1); 7,2-7,6 (m, 15H, CPh_3) ppm

MS ESI: m/z (%): 752 ($(M+Na)^+$, 18%)

MS (HR) ($(M+Na)^+$): 752,3775; izmerjeno: 752,3781

IR (KBr): $\nu = 3297, 3086, 3060, 3033, 2926, 2854, 2366, 2344, 1960, 1755, 1654, 1597, 1543, 1491, 1465, 1449, 1367, 1218, 1154, 1128, 1041, 1013, 933, 900$ cm^{-1}

(2(*R/S*),3*R*,4*R*,5*S*,6*R*)-3-tetradekanamido-6-(tritoloksimetil)tetrahidro-2*H*-piran-2,4,5-triil triacetat



$\eta=0,11$

$M_r=757$ g/mol

Elementna sestava: $C_{45}H_{59}NO_9$

$R_{f1}=0,44$, $R_{f2}=0,34$ (dve lisi – α in β oblika)

(silikagel, petrol/etilacetat=2/1)

$T_t=58-59$ °C

Svetlo rumen prašek

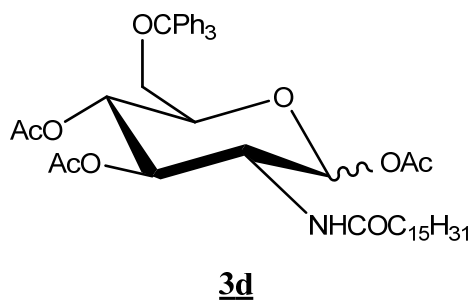
Analize (2(*R/S*),3*R*,4*R*,5*S*,6*R*)-3-tetradekanamido-6-(tritoloksimetil) tetrahidro-2*H*-piran-2,4,5-triil triacetata

1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) (zmes α in β oblike): δ 0,9 (t, 3H, $J=6,6$ Hz, CH_3); 1,27 (m, 20H, CH_2); 1,58 (m, 2H, CH_2-CH_2-CO); 1,75 (m, 2H, CH_2-CH_2-CO); 2,1 (m, 9H, 3x CH_3-CO); 3,08 (m, 1H, H6); 3,3 (m, 1H, H6'); 3,65 (m, 0,3H, H5); 3,9 (m, 0,7H, H5); 4,56 (m, 0,7H, H2); 4,75 (m, 0,3H, H2); 5,07 (m, 0,3H, H4); 5,2 (m, 0,7H, H4); 5,32 (m, 1H, H3); 5,44 (m, 0,3H, NH); 5,52 (m, 0,7H, $J=8,9$ Hz, NH); 5,69 (d, 0,3H, $J=8,6$ Hz, H1); 6,31 (d, 0,7H, $J=3,7$ Hz, H1); 7,2-7,6 (m, 15H, CPh_3) ppm

MS ESI: m/z (%): 780 ($(M+Na)^+$, 9%)

IR (KBr): ν = 3904, 3854, 3821, 3430, 3298, 3060, 3033, 2926, 2854, 2366, 2345, 1960, 1755, 1683, 1654, 1597, 1543, 1491, 1466, 1449, 1367, 1218, 1154, 1128, 1077, 1041, 1014, 933, 900 cm^{-1}

(2(*R/S*),3*R*,4*R*,5*S*,6*R*)-3-palmitamido-6-(tritolksimetil) tetrahidro-2*H*-piran-2,4,5-triil triacetat



$\eta=0,40$

$M_r=785$ g/mol

Elementna sestava: $C_{47}H_{63}NO_6$

$R_{f1}=0,49$, $R_{f2}=0,44$ (dve lisi – α in β oblika)

(silikagel, petrol/etilacetat=2/1)

$T_t=52-53$ °C

Svetlo rumen prašek

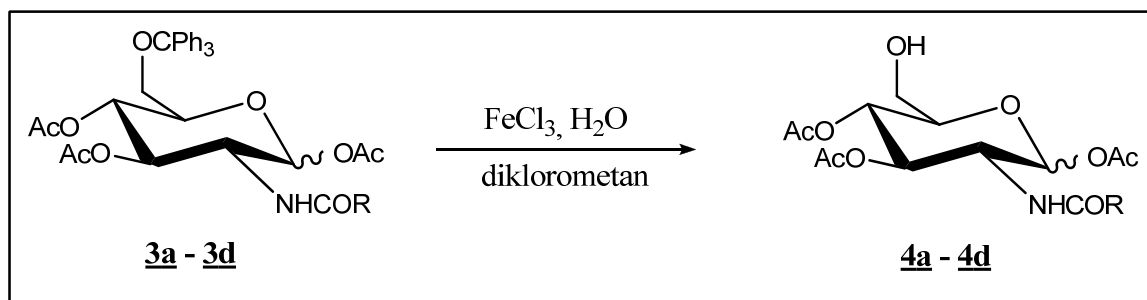
Analize (2(*R/S*),3*R*,4*R*,5*S*,6*R*)-3-tetradekanamido-6-(tritolksimetil) tetrahidro-2*H*-piran-2,4,5-triil triacetata

1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) (zmes α in β oblike): δ 0,9 (t, 3H, $J=6,5$ Hz, CH_3); 1,25 (m, 24H, CH_2); 1,58 (m, 2H, CH_2-CH_2-CO); CH_2-CH_2-CO); 2,1 (m, 11H, $3 \times CH_3-CO$, CH_2-CH_2-CO); 3,08 (m, 1H, H6); 3,3 (m, 1H, H6'); 3,62 (m, 0,3H, H5); 3,9 (m, 0,7H, H5); 4,58 (m, 0,7H, H2); 4,75 (m, 0,3H, H2); 5,05 (m, 0,3H, H4); 5,2 (m, 0,7H, H4); 5,38 (m, 1H, H3); 5,44 (m, 0,3H, NH); 5,52 (m, 0,7H, $J=8,9$ Hz, NH); 5,7 (d, 0,3H, $J=8,6$ Hz, H1); 6,32 (d, 0,7H, $J=3,7$ Hz, H1); 7,2-7,6 (m, 15H, CPh_3) ppm

MS ESI: m/z (%): 808 ($(M+Na)^+$, 7%), 824 ($(M+K)^+$, 2%)

IR (KBr): $\nu = 3447, 3062, 3034, 2926, 2854, 2346, 1756, 1654, 1543, 1491, 1449, 1367, 1218, 1154, 1129, 1078, 1041, 1013, 935, 900$ cm^{-1}

7.3 SPLOŠNI PREDPIS ZA SINTEZO (2(R/S),3R,4R,5S,6R)-6-(HIDROKSIMETIL)-3-ALKILAMIDOTETRAHIDRO-2H-PIRAN-2,4,5-TRIIL TRIACETATOV



Spojina **4a**: -C₇H₁₅

Spojina **4b**: -C₁₁H₂₃

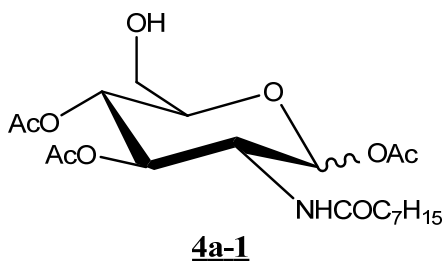
Spojina **4c**: -C₁₃H₂₇

Spojina **4d**: -C₁₅H₃₁

Postopek:

0,39 mmol spojine **3** smo raztopili v 4 mL diklorometana. Raztopini smo dodali 0,77 mmol FeCl₃ in 3 kapljice destilirane vode. Reakcijsko zmes smo mešali na sobni temperaturi in s TLC spremljali potek reakcije. Po 2 urah, ko na TLC skoraj nismo več zaznali izhodne spojine, smo zmesi dodali še nekaj diklorometana in destilirane vode. Organsko in vodno fazo smo potem ločili. Organsko fazo smo sprali 2 x 10 mL H₂O in vodno fazo 1 x 20 mL diklorometanom. Potem smo združili vse organske faze in jih sušili z Na₂SO₄. Tako dobljenemu produktu smo pod znižanim tlakom odparili topilo. Produkt smo očistili s kolonsko kromatografijo z uporabo mobilnih faz diklorometan, diklorometan/metanol=50/1, 40/1, 30/1.

(2(*R/S*),3*R*,4*R*,5*S*,6*R*)-6-(hidroksimetil)-3-oktanamidotetrahidro-2*H*-piran-2,4,5-triil triacetat



$\eta=0,44$

$M_r=431$ g/mol

Elementna sestava: $C_{20}H_{33}NO_9$

$R_f=0,19$

(silikagel, diklorometan/metanol=20/1)

Bela viskozna tekočina

Analize (2(*R/S*),3*R*,4*R*,5*S*,6*R*)-6-(hidroksimetil)-3-oktanamidotetrahidro-2*H*-piran-2,4,5-triil triacetata

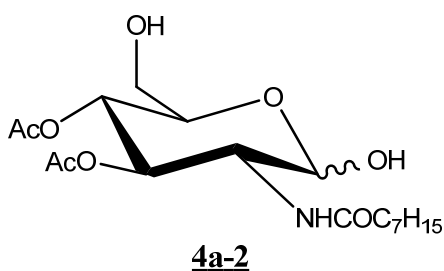
1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ 0,84 (t, 3H, $J=6,5$ Hz, CH_3); 1,23 (m, 8H, CH_2); 1,52 (m, 2H, CH_2-CH_2-CO); 2,07 (m, 11H, CH_2-CH_2-CO , 3 CH_3CO); 3,6 (m, 2H, H6, H6'); 3,64 (s, 1H, CH_2-OH); 3,78 (m, 1H, H5); 4,42 (m, 1H, H2); 5,12 (t, 1H, $J=9,7$ Hz, H4); 5,25 (m, 1H, H3); 5,55 (d, 1H, $J=8,77$ Hz, NH); 6,16 (d, 1H, $J=3,7$ Hz, H1) ppm

MS ESI: m/z (%): 454 ($(M+Na)^+$, 62%), 470 ($(M+K)^+$, 18%)

MS (HR) ($(M+Na)^+$): 454,2053; izmerjeno: 454,2043

IR (KBr): $\nu = 3309, 2936, 1750, 1658, 1537, 1373, 1229, 1035$ cm^{-1}

(3*S*,4*R*,5*R*,6(*R/S*))-6-hidroksi-3-oktanamidotetrahidro-2*H*-piran-2,4-diil diacetat



$M_r=389$ g/mol

Elementna sestava: $C_{18}H_{31}NO_8$

$R_f=0,13$

(silikagel, diklorometan/metanol=20/1)

Rumena viskozna tekočina

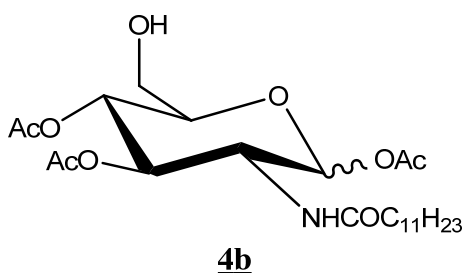
Analize (3*S*,4*R*,5*R*,6(*R/S*))-6-hidroksi-3-oktanamidotetrahidro-2*H*-piran-2,4-diil diacetata

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) (zmes α in β oblike): δ 0,84 (t, 3H, J=6,3 Hz, CH₃); 1,24 (m, 8H, J=2,4 Hz, CH₂); 1,54 (m, 2H, J=7,2 Hz, CH₂-CH₂-CO); 2,06 (m, 8H, CH₂-CH₂-CO, 2xCH₃CO); 3,56 (m, 2H, H₆, H_{6'}); 3,71 (s, 1H, CH₂-OH); 3,88 (m, 1H, H₅); 4,43 (d, 0,2H, H₂); 4,58 (d, 0,8H, J=8,3 Hz, H₂); 5 (t, 1H, J=9,5 Hz, H₄); 5,16 (m, 0,2H, H₃); 5,26 (m, 0,8H, H₃); 5,68 (d, 0,8H, J=8,9 Hz, NH); 5,75 (d, 0,2H, J=9,7 Hz, NH); 6,2 (d, 1H, H₁) ppm

MS ESI: m/z (%): 372 (MH⁺-H₂O, 57%)

IR (KBr): ν = 3446, 3093, 2959, 2930, 2859, 2359, 1749, 1652, 1559, 1457, 1374, 1241, 1161, 1084, 1047, 996, 904 cm⁻¹

(2(*R/S*),3*R*,4*R*,5*S*,6*R*)-6-(hidroksimetil)-3-dodekanamidotetrahidro-2*H*-piran-2,4,5-triil triacetat



η =0,56

Mr=487 g/mol

Elementna sestava: C₂₄H₄₁NO₉

R_{f1}=0,12, R_{f2}=0,06 (α in β oblika)

(silikagel, diklorometan/metanol=20/1)

Rumena viskozna tekočina

Analize (2(*R/S*),3*R*,4*R*,5*S*,6*R*)-6-(hidroksimetil)-3-dodekanamidotetrahidro-2*H*-piran-2,4,5-triil triacetata

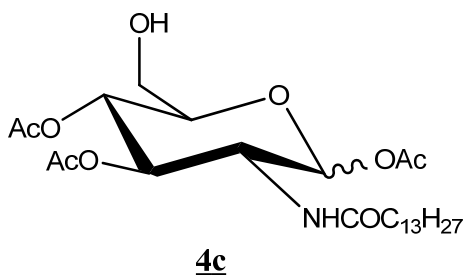
¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 0,85 (t, 3H, J=6,5 Hz, CH₃); 1,22 (m, 16H, CH₂); 1,51 (m, 2H, CH₂-CH₂-CO); 2,07 (m, 11H, CH₂-CH₂-CO, 3xCH₃CO); 3,55 (dd, 1H, J=12,7 Hz, 4,6 Hz, H₆); 3,66 (dd, 1H, J=12,3 Hz, 2,5 Hz, H_{6'}); 3,78 (m, 1H, H₅); 4,42 (m, 1H, H₂); 5,12 (t, 1H, J=9,8 Hz, H₄); 5,26 (m, 1H, H₃); 5,54 (d, 1H, J=8,4 Hz, NH); 6,16 (d, 1H, J=9,7 Hz, H₁) ppm

MS ESI: m/z (%): 510 ((M+Na)⁺, 91%)

MS (HR) ((M+Na)⁺): 510,2679; izmerjeno: 510,2696

IR (KBr): ν = 3307, 3061, 2925, 2854, 2347, 2125, 1752, 1655, 1542, 1465, 1458, 1437, 1369, 1223, 1151, 1132, 1084, 1042, 1014, 938 cm⁻¹

(2(*R/S*),3*R*,4*R*,5*S*,6*R*)-6-(hidroksimetil)-3-tetradekanamidotetrahidro-2*H*-piran-2,4,5-triil triacetat



$\eta=0,53$

$M_r=515$ g/mol

Elementna sestava: $C_{26}H_{45}NO_9$

$R_{f1}=0,09$, $R_{f2}=0,04$ (α in β oblika)

(silikagel, diklorometan/metanol=40/1)

Rumena viskozna tekočina

Analize (2(*R/S*),3*R*,4*R*,5*S*,6*R*)-6-(hidroksimetil)-3-tetradekanamidotetrahidro-2*H*-piran-2,4,5-triil triacetata

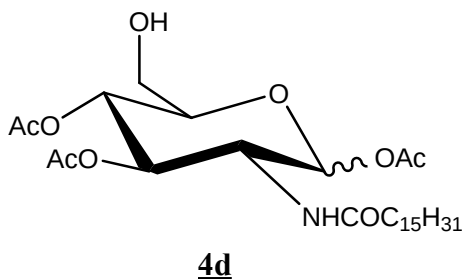
1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) (zmes α in β oblike): δ 0,85 (t, 3H, $J=6,5$ Hz, CH_3); 1,22 (m, 20H, CH_2); 1,51 (m, 2H, CH_2-CH_2-CO); 2,07 (m, 11H, CH_2-CH_2-CO , $3 \times CH_3CO$); 3,56 (m, 1H, H6); 3,66 (m, 2H, CH_2-OH , H6'); 3,78 (m, 1H, H5); 4,43 (d, 1H, H2); 5,13 (m, 1H, H4); 5,26 (m, 1H, H3); 5,53 (d, 0,7H, $J=8,8$ Hz, NH); 5,67 (d, 0,3H, $J=8,8$ Hz, NH); 6,16 (d, 1H, $J=3,6$ Hz, H1) ppm

MS ESI: m/z (%): 538 ($(M+Na)^+$, 45%)

MS (HR) ($(M+Na)^+$): 538,2992; izmerjeno: 538,3004

IR (KBr): $\nu = 3310, 2925, 2853, 2246, 1795, 1755, 1658, 1537, 1373, 1224, 1135, 1036, 933$ cm^{-1}

(2(*R/S*),3*R*,4*R*,5*S*,6*R*)-6-(hidroksimetil)-3-palmitamidotetrahidro-2*H*-piran-2,4,5-triil triacetat



$\eta=0,67$

Mr=543 g/mol

Elementna sestava: C₂₈H₄₉NO₉

Tt=77 °C

Rf=0,09

(silikagel, diklorometan/metanol=40/1)

Bela trdna snov

Analize (2(*R/S*),3*R*,4*R*,5*S*,6*R*)-6-(hidroksimetil)-3-palmitamidotetrahidro-2*H*-piran-2,4,5-triil triacetata

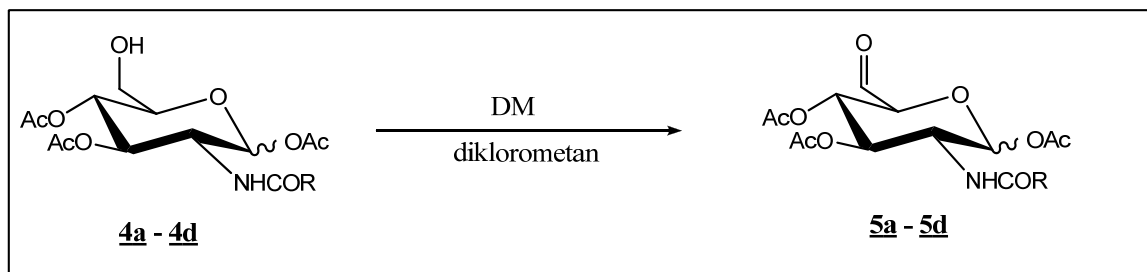
¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 0,87 (t, 3H, J=6,5 Hz, CH₃); 1,25 (m, 24H, CH₂); 1,54 (m, 2H, CH₂-CH₂-CO); 2,11 (m, 11H, CH₂-CO, CO-CH₃); 3,63 (m, 3H, H₆, H_{6'}, CH₂-OH); 3,8 (m, 1H, H₅); 4,45 (m, 1H, H₂); 5,15 (t, 1H, H₄); 5,28 (dd, 1H, J=10,9 Hz, 9,5 Hz, H₃); 5,52 (d, 1H, J=8,9 Hz, NH); 6,18 (d, 1H, J=3,7 Hz, H₁) ppm

MS ESI: m/z (%): 566 ((M+Na)⁺, 7,3%), 582 ((M+K)⁺, 4,8%)

MS (HR) ((M+Na)⁺): 566,3305; izmerjeno: 566,3293

IR (KBr): ν = 3904, 3854, 3822, 3483, 3326, 3057, 2919, 2850, 2637, 2366, 2345, 1752, 1649, 1534, 1473, 1466, 1457, 1438, 1373, 1264, 1229, 1134, 1104, 1070, 1042, 1025, 985 cm⁻¹

7.4 SPLOŠNI PREDPIS ZA SINTEZO (2(R/S),3R,4R,5S,6R)-6-FORMIL-3-ALKILAMIDOTETRAHIDRO-2H-PIRAN-2,4,5-TRIIL TRIACETATOV



Spojina **5a**: -C₇H₁₅

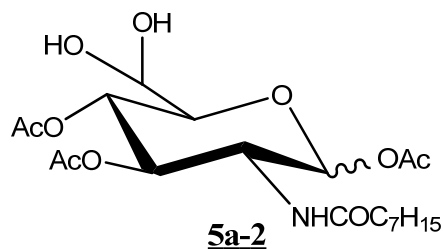
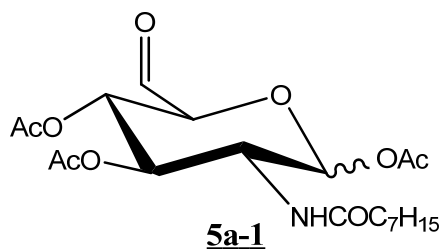
Spojina **5b**: -C₁₁H₂₃

Spojina **5c**: -C₁₃H₂₇

Spojina **5d**: -C₁₅H₃₁

Postopek:

0,26 mmol spojine **4** smo najprej prepili z argonom. Potem smo spojini pod argonovo atmosfero dodali 5 mL brezvodnega diklorometana. Spojina se je takoj raztopila. Raztopini smo dodali 0,65 mL raztopine DM. Zmes smo mešali v argonovi atmosferi na sobni temperaturi 1,5 ure. Po tem času smo spojini dodali 5 mL nasičene vodne raztopine NaHCO₃ in 0,743 g Na₂S₂O₃. Suspenzijo smo mešali še 30 minut. Vodno in organsko fazo smo potem ločili, vodno fazo smo spirali še z 2 x 10 mL diklorometanom. Organske faze smo združili in jih sušili z Na₂SO₄. Tako dobljenemu produktu smo pod znižanim tlakom odparili topilo. Produkt smo očistili s kolonsko kromatografijo z uporabo mobilne faze diklorometan/metanol=40/1. Produkt smo na koncu prepili z argonom in shranili v zamrzovalniku.

(2(R/S),3R,4R,5S,6R)-6-formil-3-oktanamidotetrahidro-2H-piran-2,4,5-triil triacetat

$\eta=0,49$

$M_r=429$ g/mol

Elementna sestava: $C_{20}H_{31}NO_9$

$R_f=0,13$ (silikagel, diklorometan/metanol=20/1)

Rumena viskozna tekočina

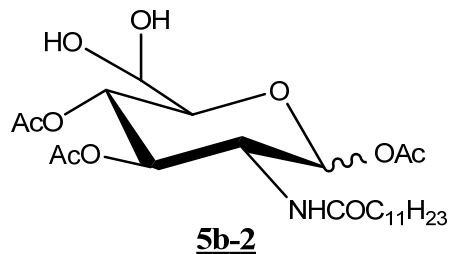
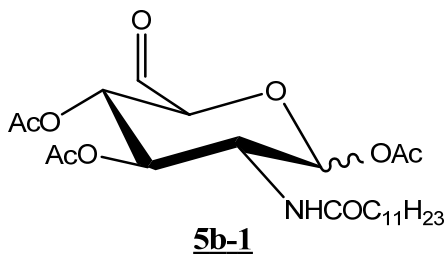
Analize (2(R/S),3R,4R,5S,6R)-6-(hidroksimetil)-3-oktanamidotetrahidro-2H-piran-2,4,5-triil triacetat

1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) (zmes α in β oblike, zmes aldehydne in acetalne oblike): δ 0,84 (t, 3H, $J=6,4$ Hz, CH_3); 1,22 (m, 8H, $J=1,4$ Hz, CH_2); 1,51 (m, 2H, CH_2-CH_2-CO); 2,04 (m, 11H, CH_2-CO , 3 x $CO-CH_3$); 3,36 (d, 1H, $J=5,3$ Hz, H5); 3,79 (m, 0,8H, H6-acetal); 4,43 (m, 1H, H2); 5,20 (m, 2H, H4, H3); 5,58 (m, 1H, NH); 6,1 (d, 0,1H, $J=3,6$ Hz, H1); 6,15 (d, 0,4H, $J=3,6$ Hz, H1); 6,19 (d, 0,3H, $J=3,5$ Hz, H1); 6,24 (d, 0,2H, $J=3,6$ Hz, H1); 9,5 (d, 0,2H, $J=2$ Hz, H6-aldehyd) ppm

MS ESI: m/z (%): 470 ($M(acetal)Na^+$, 19%), 484 (100%), 485 ($M(acetal)K^+$, 24%)

IR (KBr): $\nu = 3320, 2932, 2361, 1750, 1657, 1539, 1374, 1224, 1136, 1036, 936$ cm^{-1}

(2(*R/S*),3*R*,4*R*,5*S*,6*R*)-6-formil-3-dodekanamidotetrahydro-2*H*-piran-2,4,5-triil triacetat



$\eta=0,62$

$M_r=485$ g/mol

Elementna sestava: $C_{24}H_{39}NO_9$

$R_{f1}=0,22$, $R_{f1}=0,15$, (silikagel, diklorometan/metanol=20/1)

Rumena viskozna tekočina

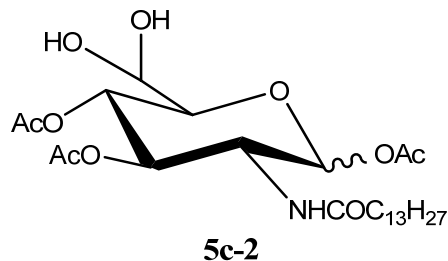
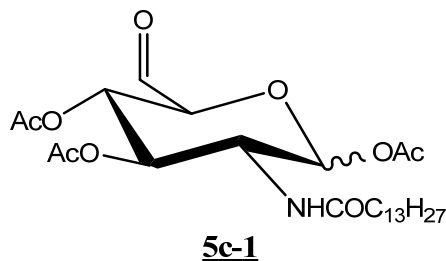
Analize (2(*R/S*),3*R*,4*R*,5*S*,6*R*)-6-(hidroksimetil)-3-dodekanamidotetrahydro-2*H*-piran-2,4,5-triil triacetata

1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) (zmes α in β oblike, zmes aldehidne in acetalne oblike): δ 0,85 (t, 3H, $J=6,5$ Hz, CH_3); 1,23 (m, 16H, CH_2); 1,53 (m, 2H, $\underline{CH}_2$ - CH_2 -CO); 2,08 (m, 11H, $\underline{CH}_2$ -CO, 3xCO- $\underline{CH}_3$); 3,37 (d, 1H, $J=6,1$ Hz, H5); 3,8 (dd, 0,4H, $J=8,9$ Hz, 2,0 Hz, H6-acetal); 4,04 (m, 0,3H, $J=9,6$ Hz, 2,1 Hz, H6-acetal); 4,44 (m, 1H, H2); 5,22 (m, 2H, H4, H3); 5,52 (m, 1H, NH); 6,11 (d, 0,1H, $J=5,98$ Hz, H1); 6,16 (d, 0,3H, $J=3,7$ Hz, H1); 6,2 (d, 0,3H, $J=3,6$ Hz, H1); 6,25 (d, 0,3H, $J=3,6$ Hz, H1); 9,51 (d, 0,3H, $J=2,1$ Hz, H6-aldehid) ppm

MS ESI: m/z (%): 458 (100%)

IR (KBr): ν = 3430, 2927, 2856, 2371, 1752, 1654, 1542, 1437, 1375, 1222, 1155, 1046, 1014, 938 cm^{-1}

(2(*R/S*),3*R*,4*R*,5*S*,6*R*)-6-formil-3-dodekanamidotetrahidro-2*H*-piran-2,4,5-triil triacetat



$\eta=0,94$

$M_r=513$ g/mol

Elementna sestava: $C_{26}H_{43}NO_9$

$R_f=0,26$ (silikagel, diklorometan/metanol=20/1)

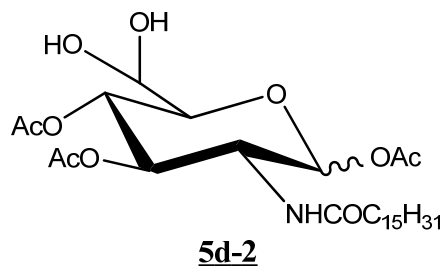
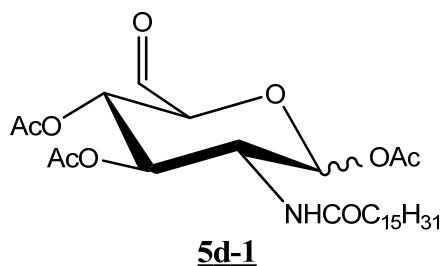
Rumena viskozna tekočina

Analize (2(*R/S*),3*R*,4*R*,5*S*,6*R*)-6-(hidroksimetil)-3-tetradekanamidotetrahidro-2*H*-piran-2,4,5-triil triacetata

1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) (zmes α in β oblike, zmes aldehydne in acetalne oblike): δ 0,85 (t, 3H, $J=6,5$ Hz, CH_3); 1,23 (m, 20H, CH_2); 1,51 (m, 2H, CH_2-CH_2-CO); 2,07 (m, 11H, CH_2-CO , 3x $CO-CH_3$); 3,37 (d, 1H, $J=6,1$ Hz, H5); 3,8 (m, 0,5H, H6-acetal); 4,04 (dd, 0,3H, $J=9,5$ Hz, 2,1 Hz, H6-acetal); 4,46 (m, 1H, H2); 5,23 (m, 2H, H4, H3); 5,53 (m, 1H, NH); 6,11 (d, 0,2H, $J=3,9$ Hz, H1); 6,16 (d, 0,3H, $J=3,6$ Hz, H1); 6,2 (d, 0,2H, $J=3,6$ Hz, H1); 6,25 (d, 0,3H, $J=3,6$ Hz, H1); 9,51 (d, 0,2H, $J=2,1$ Hz, H6-aldehyd) ppm

MS ESI: m/z (%): 486 (100%), 554 ($M(acetal)Na^+$, 8%), 570 ($M(acetal)K^+$, 8%)

IR (KBr): $\nu = 3310, 2925, 2853, 2354, 1801, 1750, 1702, 1696, 1685, 1657, 1542, 1442, 1374, 1369, 1340, 1224, 1190, 1134, 1039, 935$ cm^{-1}

(2(R/S),3R,4R,5S,6R)-6-formil-3-palmitamidotetrahidro-2H-piran-2,4,5-triil triacetat

$\eta=0,82$

Mr=541 g/mol

Elementna sestava: C₂₈H₄₇NO₉

R_f₁=0,29 (silikagel, diklorometan/metanol=20/1)

Rumena viskozna tekočina

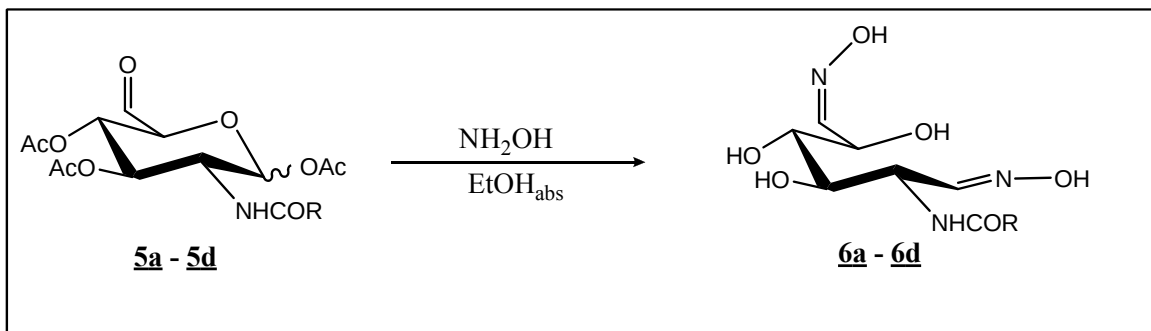
Analize (2(R/S),3R,4R,5S,6R)-6-(hidroksimetil)-3-pakmitanamidotetrahidro-2H-piran-2,4,5-triil triacetata

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) (zmes α in β oblike, zmes aldehidne in acetalne oblike): δ 0,85 (t, 3H, J=6,5 Hz, CH₃); 1,23 (m, 24H, CH₂); 1,51 (m, 2H, CH₂-CH₂-CO); 2,1 (m, 11H, CH₂-CO, 3xCO-CH₃); 3,37 (d, 1H, J=6,2 Hz, H5); 3,8 (dd, 0,4H, J=9,1 Hz, 2,2 Hz, H6-acetal); 4,04 (dd, 0,3H, J=9,5 Hz, 2,0 Hz, H6-acetal); 4,46 (m, 1H, H2); 5,23 (m, 2H, H4, H3); 5,51 (m, 1H, NH); 6,17 (d, 0,3H, J=3,7 Hz, H1); 6,2 (d, 0,3H, J=3,7 Hz, H1); 6,25 (d, 0,4H, J=3,6 Hz, H1); 9,51 (d, 0,3H, J=2,1 Hz, H6-aldehid) ppm

MS ESI: m/z (%): 596 (M(acetal)K⁺, 22%), 514 (100%)

IR (KBr): ν = 3308, 3063, 2924, 2853, 2347, 2116, 1754, 1659, 1651, 1538, 1466, 1455, 1435, 1371, 1222, 1153, 1132, 1045, 1014, 938 cm⁻¹

7.5 SPLOŠNI PREDPIS ZA SINTEZO *N*-((1(*E,Z*),2*R*,3*R*,4*S*,6(*E,Z*)-3,4,5-trihidroksi-1,6-bis(hidroksiimino)heksan-2-il)alkilamidov



Spojina **6a**: -C₇H₁₅

Spojina **6b**: -C₁₁H₂₃

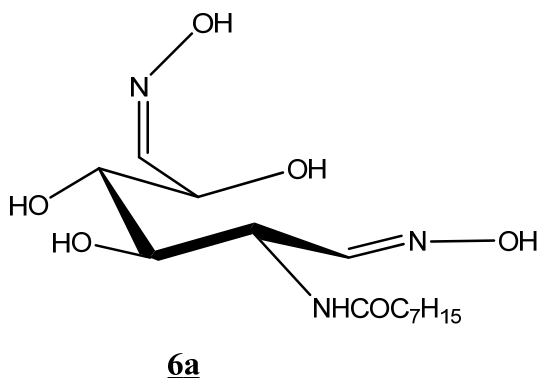
Spojina **6c**: -C₁₃H₂₇

Spojina **6d**: -C₁₅H₃₁

Postopek:

1,08 mmol spojine **5** smo raztopili v 25 mL absolutnega etanola. Raztopini smo dodali 7,56 mmol NH₂OH. Zmes smo mešali čez noč pri temperaturi 40 °C. Tako dobljenemu produktu smo pod znižanim tlakom odparili topilo. Produkt smo očistili s kolonsko kromatografijo z uporabo mobilnih faz diklorometan/metanol=7/1, 6/1, 5/1, 4/1.

N-((1(*E,Z*),2*R*,3*R*,4*S*,6(*E,Z*)-3,4,5-trihidroksi-1,6-bis(hidroksiimino)heksan-2-il)oktanamid



$\eta=0,99$

Mr=333 g/mol

Elementna sestava: C₁₄H₂₇N₃O₆

Rf=0,41

(silikagel, diklorometan/metanol=5/1)

Bela viskozna tekočina

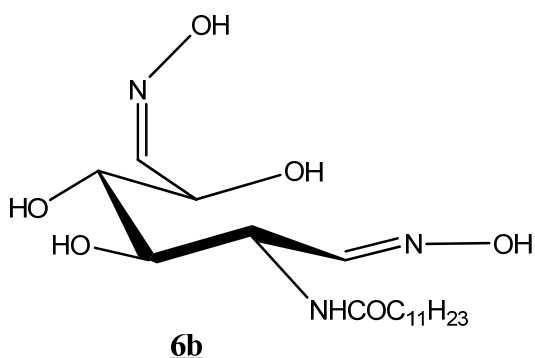
Analize *N*-((1(*E,Z*),2*R*,3*R*,4*S*,6(*E,Z*)-3,4,5-trihidroksi-1,6-bis(hidroksiimino)heksan-2-il)oktanamida

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) (zmes *Z* in *E* oblike): δ 0,75 (t, 3H, J=6,5 Hz, CH₃); 1,2 (m, 8H, CH₂); 1,73 (m, 2H, CH₂-CH₂-CO); 2,38 (m, 2H, CH₂-CO); 4,56 (m, 0,8H, H5); 4,66 (m, 0,2H, H5); 4,92 (m, 0,2H, H4); 5 (m, 0,8H, H4); 5,24 (t, 1H, J=7,0 Hz, H3); 5,82 (m, 1H, H2); 8,27 (m, 2H, H1, H6); 8,77 (m, 1H, NH); 11,56 (širok signal, 1H, N-OH); 12,88 (širok signal, 1H, N-OH) ppm

MS ESI: m/z (%): 332 ((M-H⁺)⁻, 100%)

IR (KBr): ν = 3242, 2926, 2855, 2360, 2343, 1651, 1645, 1634, 1557, 1435, 1375, 1323, 1303, 1089, 1043, 987 cm⁻¹

***N*-((1(*E,Z*),2*R*,3*R*,4*S*,6(*E,Z*)-3,4,5-trihidroksi-1,6-bis(hidroksiimino)heksan-2-il)dodekanamid**



η=0,76

Mr=389 g/mol

Elementna sestava: C₁₈H₃₅N₃O₆

Rf=0,37

(silikagel, diklorometan/metanol=5/1)

Tt=158 °C

Rumen prašek

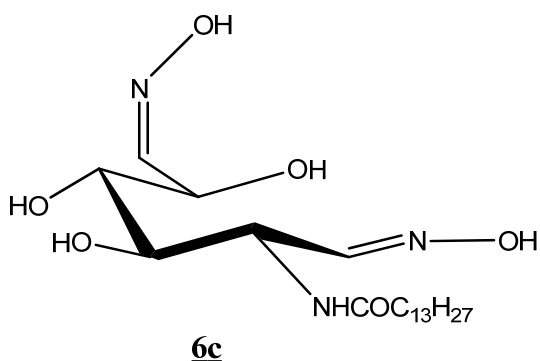
Analize *N*-((1(*E,Z*),2*R*,3*R*,4*S*,6(*E,Z*)-3,4,5-trihidroksi-1,6-bis(hidroksiimino)heksan-2-il)dodekanamida

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) (zmes *Z* in *E* oblike): δ 0,84 (t, 3H, J=6,6 Hz, CH₃); 1,17 (m, 16H, CH₂); 1,76 (m, 2H, CH₂-CH₂-CO); 2,41 (t, 2H, J=7,4 Hz, CH₂-CO); 4,56 (dd, 1H, J=7,5 Hz, 2,8 Hz, H5); 5,01 (m, 1H, H4); 5,24 (t, 1H, J=7,2 Hz, H3); 5,82 (m, 1H, H2); 8,28 (m, 2H, H1, H6); 8,75 (d, 1H, J=8,0 Hz, NH); 12,86 (s, 1H, N-OH); 12,92 (s, 1H, N-OH) ppm

MS ESI: m/z (%): 388 ((M-H⁺)⁻, 100%)

IR (KBr): ν = 3286, 2915, 2849, 2365, 2345, 1655, 1618, 1560, 1465, 1376, 1324, 1294, 1251, 1221, 1197, 1144, 1117, 1090, 1065, 1047, 1016, 985, 957 cm⁻¹

***N*-((1(*E,Z*),2*R*,3*R*,4*S*,6(*E,Z*)-3,4,5-trihidroksi-1,6-bis(hidroksiimino)heksan-2-il)tetradekanamid**



$\eta=0,81$
 $M_r=417$ g/mol
 Elementna sestava: $C_{20}H_{39}N_3O_6$
 $R_f=0,4$
 (silikagel, diklorometan/metanol=5/1)
 $T_t=115-116$ °C
 Rumena prašek

Analize *N*-((1(*E,Z*),2*R*,3*R*,4*S*,6(*E,Z*)-3,4,5-trihidroksi-1,6-bis(hidroksiimino)heksan-2-il)tetradekanamida

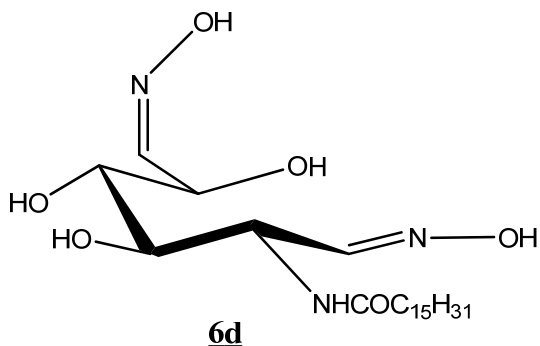
1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) (zmes *Z* in *E* oblike): δ 0,84 (t, 3H, $J=6,5$ Hz, CH_3); 1,20 (m, 20H, CH_2); 1,76 (m, 2H, $\underline{CH}_2$ - CH_2 -CO); 2,42 (t, 2H, $J=7,5$ Hz, $\underline{CH}_2$ -CO); 4,56 (dd, 0,8H, $J=7,7$ Hz, 2,8 Hz, H5); 4,65 (m, 0,2H, H5); 4,91 (m, 0,2H, H4); 5,0 (m, 0,8H, H4); 5,23 (m, 1H, H3); 5,82 (m, 0,8H, H2); 6,08 (m, 0,2H, H2); 8,27 (m, 2H, H1, H6); 8,76 (d, 1H, $J=7,75$ Hz, NH); 11,65 (širok signal, 1H, N-OH); 12,86 (širok signal, 1H, N-OH) ppm

MS ESI: m/z (%): 418 (MH^+ , 33 %); 440 ($(M+Na)^+$, 100%)

MS (HR) (MH^+): 418,2917; izmerjeno: 418,2900

IR (KBr): $\nu = 3244, 2916, 2849, 2367, 2345, 1655, 1560, 1458, 1375, 1323, 1292, 1266, 1218, 1090, 1066, 1045, 1017, 986, 958$ cm^{-1}

***N*-((1(*E,Z*),2*R*,3*R*,4*S*,6(*E,Z*)-3,4,5-trihidroksi-1,6-bis(hidroksiimino)heksan-2-il)palmitamid**



$\eta=0,84$
 $M_r=445$ g/mol
 Elementna sestava: $C_{22}H_{43}N_3O_6$
 $T_t=100-101$ °C
 $R_f=0,35$
 (silikagel, diklorometan/metanol=5/1)
 Bel prašek

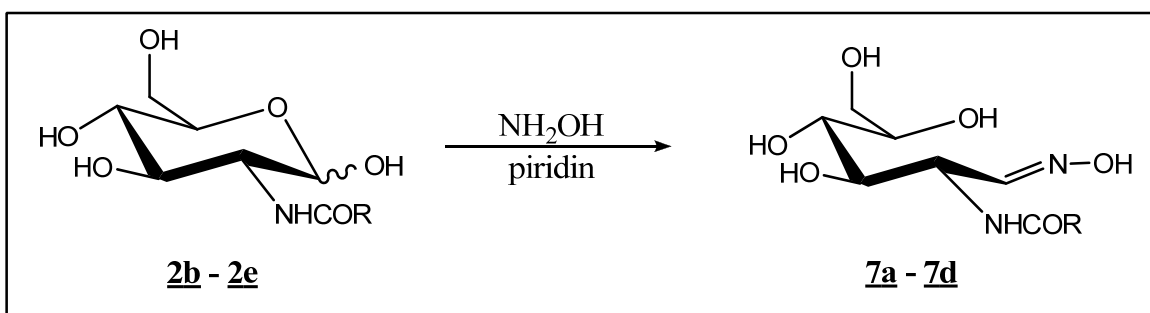
Analize *N*-((1(*E,Z*),2*R*,3*R*,4*S*,6(*E,Z*)-3,4,5-trihidroksi-1,6-bis(hidroksiimino)heksan -2-il)palmitamida

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) (zmes *Z* in *E* oblike): δ 0,84 (t, 3H, J=6,4 Hz, CH₃); 1,20 (m, 24H, CH₂); 1,76 (m, 2H, CH₂-CH₂-CO); 2,4 (m, 2H, CH₂-CO); 4,55 (dd, 0,8H, J=7,5 Hz, 2,4 Hz, H5); 4,65 (m, 0,2H, H5); 4,91 (m, 0,2H, H4); 5,0 (m, 0,8H, H4); 5,22 (m, 1H, H3); 5,81 (m, 0,8H, H2); 6,08 (m, 0,2H, H2); 8,26 (m, 2H, H1, H6); 8,76 (m, 1H, NH); 11,6 (širok signal, 1H, N-OH); 12,85 (širok signal, 1H, N-OH) ppm

MS ESI: m/z (%): 444 ((M-H)⁺), 100 %

IR (KBr): ν = 3904, 3854, 3822, 3421, 2917, 2849, 2369, 2345, 1654, 1560, 1458, 1375, 1294, 1229, 1090, 1045, 1017, 987, 957 cm⁻¹

7.6 SPLOŠNI PREDPIS ZA SINTEZO *N*-((1(*E,Z*),2*R*,3*R*,4*S*)-3,4,5,6-TETRAHIDROKSI-1-(HIDROKSIIMINO)HEKSAN-2-IL)ALKILAMIDOV



Spojina **7a**: -C₉H₁₉

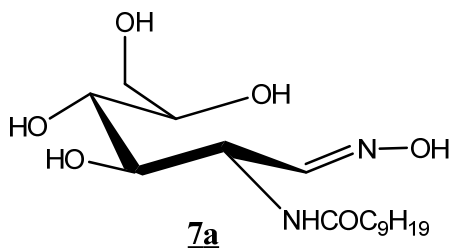
Spojina **7b**: -C₁₁H₂₃

Spojina **7c**: -C₁₃H₂₇

Spojina **7d**: -C₁₅H₃₁

Postopek:

1,39 mmol spojine **2** smo suspendirali v 10 mL piridina in dodali 7,8 mmol NH_2OH . Zmes smo mešali dva dni pri temperaturi 40 °C. Tako dobljenemu produktu smo pod znižanim tlakom odparili topilo. Produkt smo očistili s kolonsko kromatografijo (suhi nanos) z uporabo mobilne faze diklorometan/metanol/ $\text{NH}_3(\text{aq})=78/30/2$

***N*-((1(*E,Z*),2*R*,3*R*,4*S*-3,4,5,6-tetrahidroksi-1-(hidroksiimino)heksan-2-il)dekanamid** $\eta=0,11$

Mr=348 g/mol

Elementna sestava: C₁₆H₃₂N₂O₆

Tt=115 °C

Rf=0,52

(silikagel, etilacetat/metanol=2/1)

Svetlo rumen prašek

Analize *N*-((1(*E,Z*),2*R*,3*R*,4*S*-3,4,5,6-tetrahidroksi-1-(hidroksiimino)heksan-2-il)dekanamida

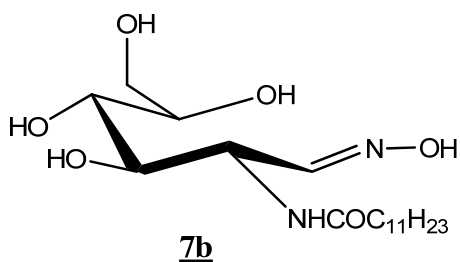
¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) (zmes *Z* in *E* oblike): δ 0,82 (t, 3H, J=6,8 Hz, CH₃); 1,14 (m, 12H, CH₂); 1,74 (m, 2H, CH₂-CH₂-CO); 2,38 (m, 2H, CH₂-CO); 4,4 (m, 4H, H4, H5, H6, H6'); 4,97 (dd, 0,7H, J=5,8 Hz, 2,3 Hz, H3); 5,16 (dd, 0,3H, J=4,9 Hz, 3,2 Hz, H3); 5,74 (m, 0,7H, H2); 6,26 (m, 0,3H, H2); 7,42 (d, 0,3H, J=6,1 Hz, H1); 8,24 (d, 0,7H, J=5,9 Hz, H1); 8,7 (m, 1H, NH); 12,86 (širok signal, 0,7H, N-OH); 13,33 (širok signal, 0,3H, N-OH) ppm

¹³C NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 14,26; 22,87; 26,22; 29,49; 29,67; 32,02; 36,79; 53,48; 65,10; 71,17; 72,18; 72,79; 73,16; 73,26; 74,14; 79,07; 79,50; 79,93; 151,16; 173,52 ppm

MS ESI: m/z (%): 349 (MH⁺, 10 %), 371 ((M+Na)⁺, 100 %)

MS (HR) ((M+Na)⁺): 371,2158; izmerjeno: 371,2163

IR (KBr): ν = 3312, 2955, 2922, 2851, 2345, 1648, 1545, 1466, 1376, 1333, 1299, 1268, 1215, 1081, 1022, 928 cm⁻¹

***N*-((1(*E,Z*),2*R*,3*R*,4*S*-3,4,5,6-tetrahidroksi-1-(hidroksiimino)heksan-2-il)dodekanamid** $\eta=0,36$

Mr=376 g/mol

Elementna sestava: C₁₈H₃₆N₂O₆

Tt=97 °C

Rf=0,31 (silikagel,

diklorometan/metanol/NH_{3(aq)}=78/30/2)

Svetlo rumen prašek

Analize *N*-((1(*E,Z*),2*R*,3*R*,4*S*-3,4,5,6-tetrahidroksi-1-(hidroksiimino)heksan-2-il)dodekanamida

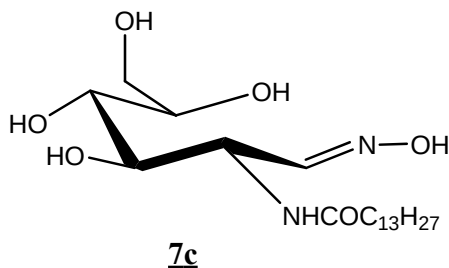
¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) (zmes *Z* in *E* oblike): δ 0,83 (t, 3H, J=6,8 Hz, CH₃); 1,2 (m, 16H, CH₂); 1,75 (m, 2H, CH₂-CH₂-CO); 2,39 (t, 2H, J=7,3 Hz, CH₂-CO); 4,4 (m, 4H, H₄, H₅, H₆, H_{6'}); 4,99 (dd, 0,7H, J=5,9 Hz, 2,3 Hz, H₃); 5,17 (dd, 0,3H, J=4,8 Hz, 3,0 Hz, H₃); 5,76 (m, 0,7H, H₂); 6,28 (m, 0,3H, H₂); 7,43 (d, 0,3H, J=6,2 Hz, H₁); 8,25 (d, 0,7H, J=6,0 Hz, H₁); 8,75 (m, 1H, NH); 13,75 (širok signal, 1H, N-OH) ppm

MS ESI: m/z (%): 377 (MH⁺, 39 %), 399 ((M+Na)⁺, 100 %)

MS (HR) (MH⁺): 377,2652; izmerjeno: 377,2633

IR (KBr): ν = 3288, 2916, 2849, 1993, 1649, 1545, 1403, 1307, 1251, 1081, 1027, 932 cm⁻¹

***N*-((1(*E,Z*),2*R*,3*R*,4*S*-3,4,5,6-tetrahidroksi-1-(hidroksiimino)heksan-2-il)tetradekanamid**



$\eta=0,64$

$M_r=404$ g/mol

Elementna sestava: $C_{20}H_{40}N_2O_6$

$T_t=119$ °C

$R_f=0,57$ (silikagel,

diklorometan/metanol/ $NH_3(aq)$ =78/30/2)

Svetlo rumen prašek

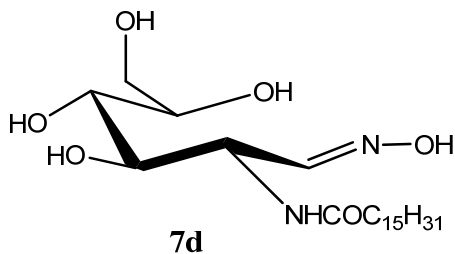
Analize *N*-((1(*E,Z*),2*R*,3*R*,4*S*-3,4,5,6-tetrahidroksi-1-(hidroksiimino)heksan-2-il)tetradekanamida

1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) (zmes *Z* in *E* oblike): δ 0,85 (t, 3H, $J=6,4$ Hz, CH_3); 1,21 (m, 20H, CH_2); 1,77 (m, 2H, CH_2-CH_2-CO); 2,39 (t, 1H, $J=7,4$ Hz, CH_2-CO); 2,51 (t, 1H, $J=7,4$ Hz, CH_2-CO); 4,44 (m, 4H, H4, H5, H6, H6'); 5 (dd, 0,7H, $J=5,8$ Hz, 2,3 Hz, H3); 5,19 (dd, 0,3H, $J=4,8$ Hz, 3,0 Hz, H3); 5,76 (m, 0,7H, H2); 6,30 (m, 0,3H, H2); 7,45 (d, 0,3H, $J=7,45$ Hz, H1); 8,27 (d, 0,7H, $J=6,0$ Hz, H1); 8,74 (m, 1H, NH); 12,88 (širok signal, 1H, N-OH) ppm

MS ESI: m/z (%): 405 (MH^+ , 61 %), 427 ($(M+Na)^+$, 100 %)

MS (HR) (MH^+): 405,2965; izmerjeno: 405,2971

IR (KBr): ν = 3854, 3291, 2955, 2918, 2850, 2345, 1701, 1684, 1648, 1543, 1498, 1467, 1405, 1385, 1308, 1284, 1260, 1238, 1215, 1082, 1027, 931 cm^{-1}

***N*-((1(*E,Z*),2*R*,3*R*,4*S*-3,4,5,6-tetrahidroksi-1-(hidroksiimino)heksan-2-il)palmitamid** $\eta=0,76$

Mr=432 g/mol

Elementna sestava: C₂₂H₄₄N₂O₆

Tt=162 °C

Rf=0,45 (silikagel,

diklorometan/metanol/NH_{3(aq)}=78/30/2)

Bel prašek

Analize *N*-((1(*E,Z*),2*R*,3*R*,4*S*-3,4,5,6-tetrahidroksi-1-(hidroksiimino)heksan-2-il)palmitamida

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) (zmes *Z* in *E* oblike): δ 0,85 (t, 3H, J=6,4 Hz, CH₃); 1,23 (m, 24H, CH₂); 1,76 (m, 2H, CH₂-CH₂-CO); 2,4 (t, 2H, J=7,5 Hz, CH₂-CO); 4,4 (m, 4H, H4, H5, H6, H6'); 5 (dd, 0,7H, J=5,8 Hz, 2,3 Hz, H3); 5,19 (dd, 0,3H, J=4,8 Hz, 3,0 Hz, H3); 5,78 (m, 0,7H, H2); 6,30 (m, 0,3H, H2); 7,44 (d, 0,3H, J=6,2 Hz, H1); 8,26 (d, 0,7H, J=6,0 Hz, H1); 8,74 (m, 1H, NH); 12,9 (širok signal, 1H, N-OH) ppm

MS ESI: m/z (%): 431 ((M-H⁺)⁻, 18 %), 467 (M+Cl⁻, 100 %)

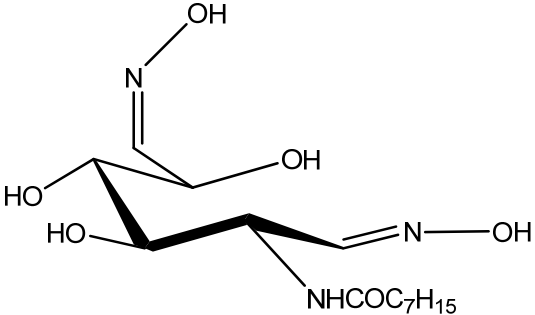
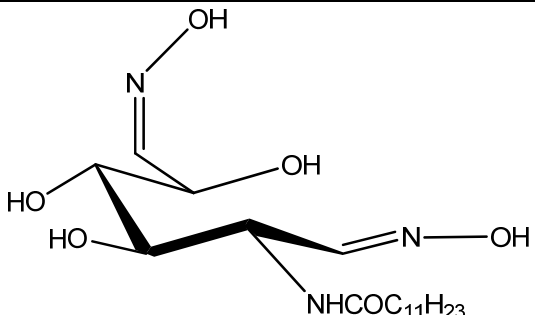
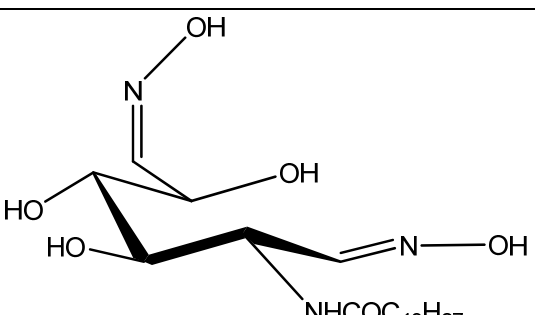
MS (HR) ((M-H⁺)⁻): 431,3121; izmerjeno: 431,3104

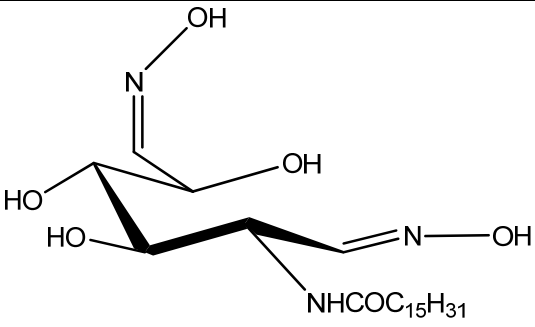
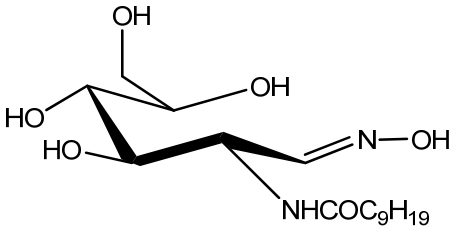
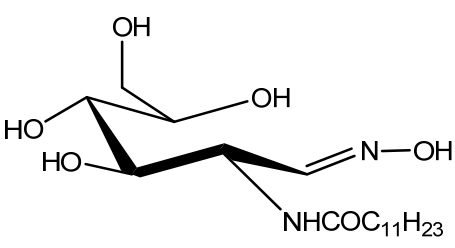
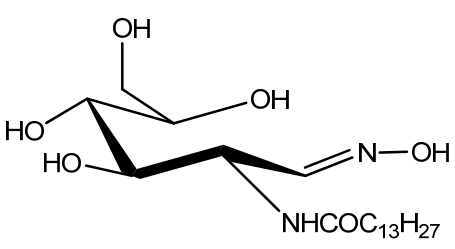
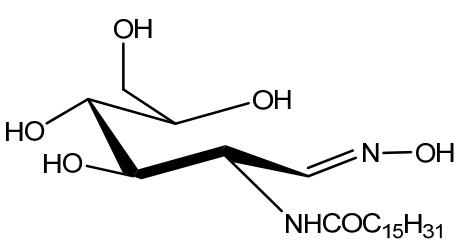
IR (KBr): ν = 3903, 3853, 3839, 3821, 3801, 3392, 3291, 3050, 2953, 2917, 2849, 2361, 2343, 2018, 1653, 1647, 1636, 1558, 1541, 1507, 1472, 1463, 1404, 1313, 1284, 1249, 1230, 1211, 1083, 1017, 935 cm⁻¹

8 REZULTATI IN RAZPRAVA SINTEZE SPOJIN

8.1 REZULTATI

V okviru diplomske naloge smo sintetizirali sledeče spojine, za katere domnevamo, da bodo izkazovale antioksidativne lastnosti.

STRUKTURA SPOJINE	ŠTEVILKA SPOJINE	STRAN
	<u>6a</u>	44
	<u>6b</u>	45
	<u>6c</u>	46

	<u>6d</u>	46
	<u>7a</u>	48
	<u>7b</u>	49
	<u>7c</u>	50
	<u>7d</u>	51

8.2 RAZPRAVA

8.2.1 Razprava k sintezi *N*-((2(*R/S*),3*R*,4*R*,5*S*,6*R*)-2,4,5-trihidroksi-6-(hidroksimetil) tetrahidro-2*H*-piran-3-il)alkilamidov

Spojine **2a** - **2e** smo pripravili po dveh postopkih. Oba postopka temeljita na istem principu. Z bazo, ki je v prvem primeru NaHCO₃, v drugem pa NaOMe, povečamo nukleofilnost glukozaminijevega klorida, tako da amonijevo sol pretvorimo v primarni amin. Ob dodatku ustreznega kislinskega klorida poteče nukleofilna substitucija in pri tem nastane amid. Postopka se med seboj razlikujeta v izkoristku reakcije. Izkoristki reakcij po drugem postopku so boljši kot po prvem postopku. Do razlike v izkoristkih pride verjetno zaradi večje topnosti produktov reakcij v zmesi voda / dioksan kot v metanolu. Pri nastalih spojinah smo imeli problem s topnostjo, tako da smo morali za snemanje ¹H NMR spektrov uporabiti devteriran piridin. Po obeh postopkih dobimo produkt, ki je zmes α in β oblike v razmerju 0,7/0,3 za spojine **2a**, **2b**, **2c**, **2d** oz. 0,8/0,2 za spojino **2e**, kar smo ugotovili iz ¹H NMR spektra spojin, saj so bili signali za CH skupine sladkorne komponente podvojeni. Spojine **2a-e**, ki imajo različno dolgo alkilno verigo, se razlikujejo v temperaturi tališča, ki z daljšanjem alkilne verige pada. V IR spektru smo opazili signal za NH amidne skupine pri 3400 cm⁻¹.

8.2.2 Razprava k sintezi (2(*R/S*),3*R*,4*R*,5*S*,6*R*)-3-alkilamido-6-(tritoloksimetil) tetrahidro-2*H*-piran-2,4,5-triil triacetatov

V tej stopnji smo selektivno zaščitili hidroksilne skupine: primarno OH skupino s tritilno zaščitno skupino, ostale OH skupine z acetilnimi zaščitnimi skupinami. Ker je tritilna skupina zelo velika skupina, zato pri običajnih pogojih reakcije reagira le s primarnimi OH skupinami, ki so sterično manj ovirane. DMAP je pri reakciji nukleofilni katalizator, katalitični učinek pri reakciji ima tudi topilo piridin.

Pri spojini z najkrajšo alkilno verigo (**3a**) je reakcija s Ph₃CCl potekla tudi na anomerni OH skupini, ker je ta OH skupina manj sterično ovirana kot pri drugih spojinah. Tako smo izolirali tri spojine: **3a-1**, **3a-2** in **3a-3**. Pri spojini **3a-1** je reakcija s Ph₃CCl potekla samo na primarni OH skupini, na ostalih OH skupinah pa je potekla reakcija acetiliranja. Pri spojinah **3a-2** in **3a-3** pa je reakcija pripenjanja tritilne skupine potekla tako na primarni,

kot na anomerni OH skupini. Ločeno smo izolirali α (spojina **3a-3**) in β obliko (spojina **3a-2**).

8.2.3 Razprava k sintezi (2(R/S),3R,4R,5S,6R)-6-(hidroksimetil)-3-alkilamido tetrahidro-2H-piran-2,4,5-triil triacetatov

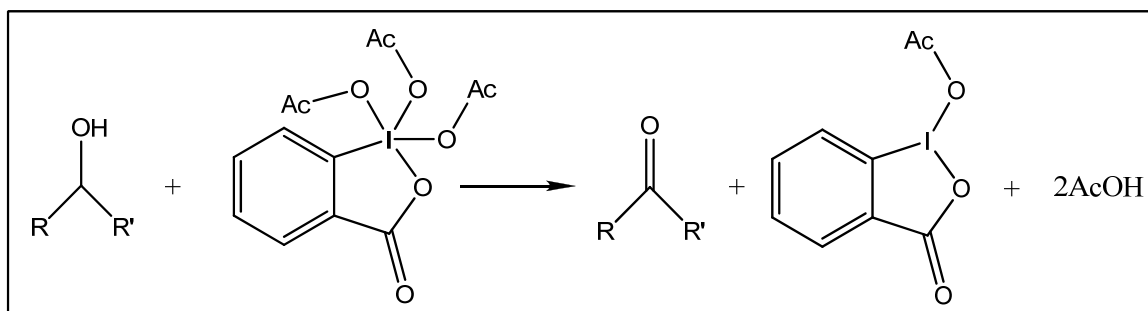
Pri tej sintezi smo odstranili tritilno zaščito pod kislimi pogoji. FeCl_3 je Lewisova kislina in ob dodatku vode potečeta reakciji: $\text{FeCl}_3 + 6\text{H}_2\text{O} \rightarrow (\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6)^{3+} + 3\text{Cl}^-$, $(\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6)^{3+} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow (\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_5\text{OH})^{2+} + \text{H}_3\text{O}^+$. Kot stranski produkt nastane tritilni karbokation. Ob prisotnosti vode reakcija poteče do trifenilmetanola (20).

Dobili smo viskozne tekočine, razen pri spojini z najdaljšo alkilno verigo, kjer smo dobili prašek. Reakcijo smo spremljali s TLC (mobilna faza petroleter/etilacetat=2/1). Ko je reakcija potekla, je lisa izhodne spojine izginila, nastali pa sta dve novi lisi. Lisa, ki ima enkrat večji R_f kot izhodna spojina, se je videla pod UV svetilko in z orositvenim reagentom H_2SO_4 se je obarvala rumeno. Ta lisa je predstavljala ostanke tritilne zaščite. Druga lisa, ki ima nižji R_f od izhodne spojine, se po orositvi ni takoj obarvala, ampak je šele po segrevanju nastala rjava lisa.

V primeru **4a** nastaneta spojini **4a-1** in **4a-2**, saj smo kot izhodno spojino vzeli zmes spojin **3a-1**, **3a-2** in **3a-3**.

8.2.4 Razprava k sintezi (2(R/S),3R,4R,5S,6R)-6-formil-3-alkilamidotetrahidro-2H-piran-2,4,5-triil triacetatov

Ob dodatku DKM se je spojina **4** takoj raztopila, nastala je rumena raztopina, ki pa se je ob dodatku oksidanta DM obarvala rožnato. Dess-Martinov perjodinan (DM) je šibek oksidant, ki se uporablja za selektivno oksidacijo primarnega in sekundarnega alkohola v aldehyd ali keton (21).



Reakcije nismo mogli spremljati s TLC, ker se R_f produkta skoraj ne spremeni glede na R_f izhodne spojine. Ko smo dodali NaHCO_3 in $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, se je raztopina zopet obarvala rumeno. $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ je reagiral s preostalim DM, ki se ni porabil pri oksidaciji alkohola.

Iz NMR spekta ugotovimo, da so v produktu prisotne aldehydna in acetalna oblika ter α in β oblika. Aldehydna in acetalna oblika sta v razmerju: aldehyd/acetal=0,2/0,8. V IR spektru smo opazili signal za aldehydno skupino pri 2900 cm^{-1} . V vodnih raztopinah imamo vedno imamo ravnotežje med aldehydno in acetalno obliko, ki je navadno močno v smeri aldehyda. Izjema so spojine z močno elektron privlačnimi skupinami na alfa c-atomu in sladkorji, kjer je znaten delež spojine v acetalni obliki.

8.2.5 Razprava k sintezi *N*-((1(*E,Z*),2*R*,3*R*,4*S*,6(*E,Z*)-3,4,5-trihidroksi-1,6-bis(hidroksiimino)heksan-2-il)alkilamidov

Spojine **5** so bile v brezvodnem etanolu slabo topne. Dodali smo hidroksilamin, ki smo ga predhodno pripravili iz hidroksilamonijevega klorida in NaOEt. Nukleofilni dušikov atom hidroksilamina se adira na aldehydno skupino, sledi eliminacija vode in nastanek oksima. Dodali smo prebitek hidroksilamina, zato da smo v alkalnem s hidrolizo acetatnih estrov odstranili zaščito s preostalimi hidroksilnimi skupin.

Vse spojine, ki nastanejo, so praški razen spojine **6a**, ki je viskozna tekočina. Pri spojinah, ki so v obliki praškov temperatura tališča pada od $158\text{ }^\circ\text{C}$ do $100\text{ }^\circ\text{C}$ (spojine z daljšo alkilno verigo imajo nižje tališče). V NMR spektru pri vseh štirih spojinah vidimo značilna signala oksimskih OH skupin pri približno 11 - 13 ppm, signal za aldehydno skupino pa izgine.

8.2.6 Razprava k sintezi *N*-((1(*E,Z*),2*R*,3*R*,4*S*)-3,4,5,6-tetrahidroksi-1-(hidroksiimino)heksan-2-il)alkilamidov

Spojino **7a** smo sintetizirali v brezvodnem etanolu. Zaradi zelo slabe topnosti izhodne spojine je bil izkoristek reakcije slab ($\eta=0,11$), zato smo pri sintezi ostalih spojin uporabili topilo piridin. Reakcijo smo spremljali s TLC (mobilna faza: diklorometan/metanol/amonijak =78/30/2). Izhodna spojina ima zelo nizek R_f , zaostaja blizu štartne linije, produkt pa ima precej višji R_f .

9 SKLEP

Oksidacije so med najpogostejšimi vzroki za kemijsko nestabilnost učinkovin, zato so izjemnega pomena pogoji shranjevanja teh učinkovin ter ustrezna zaščita z uporabo antioksidantov. Antioksidanti so snovi, ki že v nizkih koncentracijah zavirajo ali preprečijo delovanje škodljivih kisikovih spojin in jih uporabljamo za zaščito učinkovin in pomožnih snovi pred oksidativnim kvarjenjem.

V okviru diplomskega dela smo sintetizirali nove neionogene amfifilne mimetike glikolipida s potencialnim antioksidativnim delovanjem. Za dosego tega cilja smo upoštevali določene zakonitosti, ki so nujne pri načrtovanju amfifilnih molekul z antioksidativnim delovanjem. Polarni del molekule predstavlja modificiran sladkor in funkcionalna skupina z antioksidativnim delovanjem (oksimska skupina), nepolarni del molekule pa različno dolge alkilne verige.

Sintetizirali smo miligramske količine sledečih snovi s potencialno antioksidativnim delovanjem: **6a**, **6b**, **6c**, **6d**, **7a**, **7b**, **7c**, **7d**.

10 VIRI IN LITERATURA

1. Dai Kitamoto, Tomotake Morita, Tokuma Fukuoka, Masa-aki Konishi, Tomohiro Imura: Self-assembling properties of glycolipid biosurfactants and their potential applications, *Current Opinion in Colloid & Interface Science* 2009; 14: 315–328.
2. V.B. Fainerman, D. Möbius, R. Miller: *Surfactants: Chemistry, Interfacial Properties, Applications, Studies in interface science*, Vol. 13, Elsevier 2001.
3. Milton J. Rosen: *Surfactants and interfacial phenomena*, tretja izdaja, 2004; 1-30.
4. Stanko Srčič: Farmacevtska tehnologija za srednjo stopnjo, *Didakta* 1997, 128-140
5. Reinaldo C. Bazito and Omar A. El Seoud: Sugar-Based Cationic Surfactants: Synthesis and Aggregation of Methyl 2-Acylamido-6-trimethylammonio-2,6-dideoxy-D-glucopyranoside Chlorides, *Journal of Surfactants and Detergents*, October 2001), Vol. 4, No. 4.
6. Reinaldo C. Bazito, Omar A. El Seoud: Sugar-based anionic surfactants: synthesis and micelle formation of sodium methyl 2-acylamido-2-deoxy-6-O-sulfo-D-glucopyranosides, *Carbohydrate Research* 2001; 332: 95–102.
7. Ahmed Abdel-Megeed, Fahad N. Almajhdi: Novel Extracellular Glycolipids from *Pseudomonas frederiksbergensis*, *World Applied Science Journal* 2009; 6: 839-848.
8. Tomotake Morita, Tokuma Fukuoka, Masaaki Konishi, Tomohiro Imura Shuheii Yamamoto, Masaru Kitagawa, Atsushi Sogabe, Dai Kitamoto: Production of a novel glycolipid biosurfactant, mannosylmannitol lipid, by *Pseudozyma parantarctica* and its interfacial properties, *Appl Microbiol Biotechnol* 2009; 83:1017–1025.
9. Kornhauser A., Perpar M.: *Organska kemija*. Državna založba Slovenije, Ljubljana 1977.
10. Rodney Boyer: *Temelji biokemije*, Študentska založba, 2005, 217-237.
11. Alberts, Yohnson, Lewis, Raff, Walter: *Molecular Biology of the Cell*, Fifth Edition, Garland Science 2008, 617-650.
12. Perdih A., Pečar S.: Katalitični antioksidanti kot nove zdravilne učinkovine. *Farmacevtski vestnik* 2006; 57: 24-29.
13. Manček B., Pečar S.: Radikali in zaščita pred poškodbami z radikali v bioloških sistemih, *Farmacevtski Vestnik* 2001; 52: 133-144.

14. Pečar S.: Radikali v našem življenju, *Kemija v šoli* 2006; 18(3): 13-19
15. McCord M.J.: The Evolution of Free Radicals and Oxidative Stress, *Excerpta Medica* 2000; 108: 652-659
16. Kreft S., Pečar S.: Vloga radikalov pri obolenjih, *Farmacevtski vestnik* 1998; 49: 469-481.
17. Puntel O.G., de Carvalho R.N., Gubert P., Palma S.A., Dalla Corte L.C., Ávila S.D., Pereira E.M., Carratu S.V., Bresolin L., Batista Teixeira da Rocha J., Antunes Soares A.F.: Butane-2,3-dionethiosemicarbazone: An oxime with antioxidant properties, *Chemico-Biological Interactions* 2009; 177(2): 153-160.
18. Jakob P. Ley, Heinz-Jürgen Bertram: Catecholoximes as powerful antioxidants for highly unsaturated lipids, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 2002; 104: 319-323.
19. Rafael de Lima Portella, Rômulo Pillon Barcelos, Andreza Fabro de Bem, Vanessa Santana Carratu Leandro Bresolin, João Batista Teixeira da Rocha, Félix Alexandre Antunes Soares: Oximes as inhibitors of low density lipoprotein oxidation, *Life Sciences* 2008; 83: 878-885.
20. Clayden J., Greeves N., Warren S., Wothers P.: *Organic Chemistry*, Qxford University Press 2001; 1370-1371.
21. Dess D.B., Martin J.C.: Readily accessible 12-I-5 oxidant for the conversion of primary and secondary alcohols to aldehydes and ketones, *J. Org. Chem.* 1983; 48: 4155.