

Univerzita Hradec Králové  
Přírodovědecká fakulta  
Katedra chemie

**Syntéza chirálních sukcinimidů jako potenciálních  
agonistů TLR2 receptorů**

**Diplomová práce**

Autor: Bc. Zuzana Kohoutová  
Studijní program: N1407 Chemie  
Studijní obor: Bioorganická chemie a toxikologie škodlivin

Vedoucí práce: RNDr. Dávid Maliňák, PhD.



## Zadání diplomové práce

<b>Autor:</b>	<b>Bc. Zuzana Kohoutová</b>
Studium:	S18CH015NP
Studijní program:	N1407 Chemie
Studijní obor:	Bioorganická chemie a toxikologie škodlivin
<b>Název diplomové práce:</b>	<b>Syntéza chirálních sukcinimidů jako potenciálních agonistů TLR2 receptorů</b>
Název diplomové práce AJ:	Synthesis of chiral succinimides as potential agonists of TLR2 receptors

### **Cíl, metody, literatura, předpoklady:**

1. Rešerše syntézy a biologické aktivity sloučenin využívaných jako ligandy TLR2 receptorů popsaných v odborné literatuře.
2. Syntéza, určení struktury a fyzikálně-chemických vlastností nově připravených chirálních sukcinimidů, které budou následně poskytnuty na biologické testování jako potenciální agonisté TLR2 receptorů.
3. Sepsání diplomové práce.

Databáze Reaxys, Chemical abstract, Web of Science, Scopus

Garantující pracoviště:	Katedra chemie, Přírodovědecká fakulta
Vedoucí práce:	RNDr. Dávid Maliňák, PhD.
Oponent:	RNDr. Miroslav Psotka, PhD.
Datum zadání závěrečné práce:	26.6.2019

## **Prohlášení**

„Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracovala samostatně a že jsem v seznamu použité literatury uvedla všechny zdroje, ze kterých jsem čerpala.“

V Hradci Králové dne 30.7.2020

Zuzana Kohoutová

## **Poděkování**

Velice děkuji RNDr. Dávidu Maliňákovi, PhD. za pomoc při práci v laboratoři, za předání zkušeností a připomínky k tomuto textu. Další poděkování patří doc. PharmDr. Jiřímu Kunešovi, CSc. a Ing. Janě Svobodové, PhD. za měření NMR spekter všech připravených sloučenin. Poslední poděkování patří PharmDr. Adamu Skarkovi, Ph.D. za změření enantiomerní čistoty a diastereoizomerního poměru a PharmDr. Rudolfu Andrýsovi za měření hmotnostních spekter všech mých produktů.

## **Anotace**

Tato diplomová práce je zaměřena na syntézu chirálních sukcinimidů jako potenciálních agonistů TLR2 receptorů. V teoretické části jsou popsány Toll-Like receptory (TLR) se zaměřením na TLR2 a molekuly působící jako agonisté a antagonisté. Dále se teoretická část zabývá adjuvans a Diels-Alderovou reakcí, která byla důležitým krokem při syntéze výchozí látky pro přípravu jednotlivých chirálních derivátů. Praktická část je zaměřena na tříkrokovou syntézu jednotlivých produktů a na mechanismy reakcí. Připravené deriváty sukcinimidů budou dále poskytnuty na *in vitro* biologické testování jako potenciální agonisté TLR2. Připravené sloučeniny byly charakterizovány pomocí NMR a MS analytických metod.

## **Klíčová slova**

sukcinimidové deriváty, TLR, TLR2, adjuvans, chirální sloučeniny, Diels-Alderova reakce

## **Anotation**

This diploma thesis is focused on the synthesis of chiral succinimides as potential agonists of TLR2 receptors. The theoretical part describes Toll-Like receptors (TLR) with a focus on TLR2 and their agonists and antagonists. Furthermore the theoretical part is focused on the adjuvants and the Diels-Alder reaction, which was an important step in the synthesis of the starting compound for the preparation of individual chiral derivatives. The practical part is focused on the three-step synthesis of individual products and on reaction mechanisms. Prepared succinimide derivatives will be further provided for *in vitro* biological testing as potential agonists of TLR2. The prepared compounds were characterized by NMR and MS analytical methods.

## **Keywords**

succinimide derivatives, TLR, TLR2, adjuvants, chiral compounds, Diels-Alder reaction

# Obsah

Úvod.....	9
1 Teoretická část .....	11
1.1 TLR.....	11
1.1.1 TLR signalizace.....	12
1.1.2 TLR2 .....	13
1.1.3 Agonisté TLR2.....	14
1.1.4 Antagonisté TLR2 .....	17
1.2 Adjuvans.....	18
1.3 Diels-Alderova reakce .....	19
1.3.1 Diels-Alderova reakce anthracenu .....	22
2 Design.....	24
3 Cíle práce.....	25
4 Výsledky a diskuse.....	26
4.1 Příprava chirálních derivátů z anthracenu .....	26
4.2 Příprava chirálních derivátů z 9-methylanthracenu .....	30
5 Experimentální část.....	38
5.1 Syntéza chirálních derivátů z anthracenu .....	39
5.1.1 Postup přípravy bicycklického anhydridu z anthracenu .....	39
5.1.2 Postup přípravy sukcinimidu z bicycklického anhydridu .....	40
5.1.3 Postup přípravy chirálních derivátů sukcinimidu 24-35.....	41
5.2 Syntéza chirálních derivátů z 9-methylanthracenu .....	49
5.2.1 Postup přípravy bicycklického anhydridu z 9-methylanthracenu .....	49
5.2.2 Postup přípravy sukcinimidu z bicycklického anhydridu .....	50
5.2.3 Postup přípravy chirálních derivátů sukcinimidu 36-47.....	52
6 Závěr.....	65
7 Použitá literatura.....	66

## Seznam použitých zkratek v textu

AcOH	kyselina octová
APC	antigen prezentující buňka
AP-1	aktivátorový protein 1
CFA	kompletní Freundovo adjuvans
CNS	centrální nervová soustava
CpG	cytosin-fosfát-guanin
DAMP	molekulární vzorce spojené s poškozením buněk
DC	dendritické buňky
DMF	<i>N,N</i> -dimethylformamid
dr	diastereoizomerní poměr
ee	enantiomerní nadbytek
ekv	ekvivalent
ER	endoplazmatické retikulum
Et <sub>3</sub> N	triethylamin
EtOAc	ethylacetát
FMO	hraniční molekulární orbital
HATU	1-[Bis(dimethylamino)methylen]-1 <i>H</i> -1,2,3-triazolo[4,5- <i>b</i> ]pyridinium 3-oxid hexafluorofosfát
HMGB1	high mobility group box protein 1
HOMO	nejvyšší obsazený molekulový orbital
HPLC	vysokoučinná kapalinová chromatografie
<i>h</i> TLR4	lidský TLR4
IKK	inhibitor kaskády NF- $\kappa$ B
IRAK	kinázy spojené s receptorem interleukin-1
l.t.	laboratorní teplota
$\lambda$	vlnová délka

LPS	lipopolysacharid
LRR	repetice bohaté na leucin
LTA	kyselina lipoteichoová
LUMO	nejnižší neobsazený molekulový orbital
MAPK	mitogenem aktivovaná proteinová kináza
MS	hmotnostní spektrometrie
NKC	přirozené usmrcující buňky
NMR	nukleární magnetická rezonance
PAMP	molekulární vzorce spojené s patogenem
PRR	receptory rozpoznávající patogen
s.d.	směs diastereoizomerů
$S_NAc$	nukleofilní acylová substituce
ssDNA	jednořetězcová DNA
ssRNA	jednořetězcová RNA
TAK1	komplex aktivovaný ubiquitinem
TIR	toll-interleukin-1
TLC	tenkovrstvá chromatografie
TLR	toll-like receptor
UV	ultrafialové záření
vyt.	výtěžek



# Úvod

Imunitní systém je životně důležitý při ochraně těla před infekčním onemocněním nebo například rakovinou [1]. Lidská imunitní odpověď je zprostředkována dvěma paralelními imunitními složkami. Vrozený imunitní systém reaguje na patogeny a abnormální buňky prostřednictvím různých typů struktur, mezi které patří například dendritické buňky (DC), makrofágy, neutrofilů a přírodní usmrcující buňky (NKC). Představuje tak první linii obrany u savců. Adaptivní systém imunitní odpovědi reaguje na patogeny a abnormální buňky prostřednictvím systému T buněk a B buněk. Tyto složky následně neutralizuje jednotlivě, pomocí receptorů T buněk a protilátek [2]. Toll like receptory (TLR) jsou aktivovány jako součást vrozeného imunitního systému rozpoznávajícího makromolekulární složky mikroorganismů. Struktury, které jsou těmito receptory rozpoznávány, patří mezi molekulární vzorce spojené s patogenem (PAMP) nebo molekulární vzorce spojené s poškozením buněk (DAMP) [3]. Aktivace TLR je prvním krokem při stimulaci imunitního systému, aby reagoval na dané onemocnění. Po aktivaci vrozený imunitní systém spouští produkci cytokinů a chemokinů a indukuje adaptivní imunitní systém [4].

Agonisté TLR amplifikují odpověď imunitního systému. Stali se předním terapeutickým cílem pro léčbu infekčních chorob, rakoviny a alergií [1]. Antagonisté mají terapeutickou úlohu naopak při potlačování nadměrných imunitních odpovědí, ke kterým dochází u chronických zánětlivých a autoimunitních onemocnění [5]. S mnoha agonisty TLR se v současné době pracuje v klinických studiích nebo jsou schválené imunostimulanty kvůli jejich schopnosti řídit vrozenou i získanou imunitu. Proto jsou vyhledávané jako adjuvans ve vakcínách. Četné studie ukázaly, že konjugace TLR agonistů s jinými molekulami mohou příznivě ovlivnit jejich účinnost, toxicitu, farmakokinetiku nebo funkci [6].

Vakcinace byla od svého zavedení jedním z velkých úspěchů imunologie. U lidí je rozsáhlé používání očkovacích látek odpovědné např. za eradikaci neštovic, jakož i za významné zlepšení veřejného zdraví a omezení nemocí [7]. Adjuvans hrají klíčovou roli v účinnosti vakcíny. Jsou to komponenty přidávané do vakcín, které nespecificky

zvyšují rychlost, velikost, formát nebo kvalitu imunitní odpovědi. Jsou klíčovým aspektem vývoje moderních vakcín a v posledních dvou desetiletích byly hlavním předmětem výzkumu a vývoje vakcín [8].

Cílem této práce je příprava chirálních derivátů sukcinimidů tříkrokovou syntézou zahrnující Diels-Alderovu reakci a nukleofilní acylovou substituci ( $S_NAc$ ). Tyto sloučeniny jsou odvozeny od struktury, která byla pomocí virtuálního screeningu nadokována na TLR4. Jelikož všechny TLR patří do jedné skupiny receptorů, dá se tedy očekávat u těchto struktur účinek i na TLR2. Jedná se o chirální molekuly odvozené od nejlepších kandidátů, které už byly publikované [9]. Tyto nízkomolekulární látky by mohly být následně využity jako potenciální agonisté TLR2 receptorů. Bude také zkoumán vliv chirálního centra v molekule na *in vitro* biologickou aktivitu, jelikož u produktů se jedná o čisté enantiomery nebo diastereoizomerní směsi.

# 1 Teoretická část

## 1.1 TLR

TLR jsou základní skupinou receptorů rozpoznávajících patogen (PRR), které identifikují mikrobiální složky a přispívají k regulaci vrozených a adaptivních imunitních odpovědí proti infekčním agens. Hrají zásadní roli při identifikaci PAMP a DAMP [10]. PAMP jsou složky, které pocházejí z mikroorganismů, jako jsou například peptidoglykan, lipopolysacharid (LPS), flagellin a mikrobiální nukleové kyseliny. Většina endogenních DAMP vzniká zanikáním hostitelských buněk po buněčném stresu (jako je oxidační stres) nebo poškození tkáně, například tepelným šokem [11]. Vazba TLR na PAMP nebo DAMP indukuje různé intracelulární signální dráhy, které vedou k expresi prozánětlivých cytokinů a chemokinů a regulují typ, rozsah nebo trvání zánětlivé odpovědi [12].

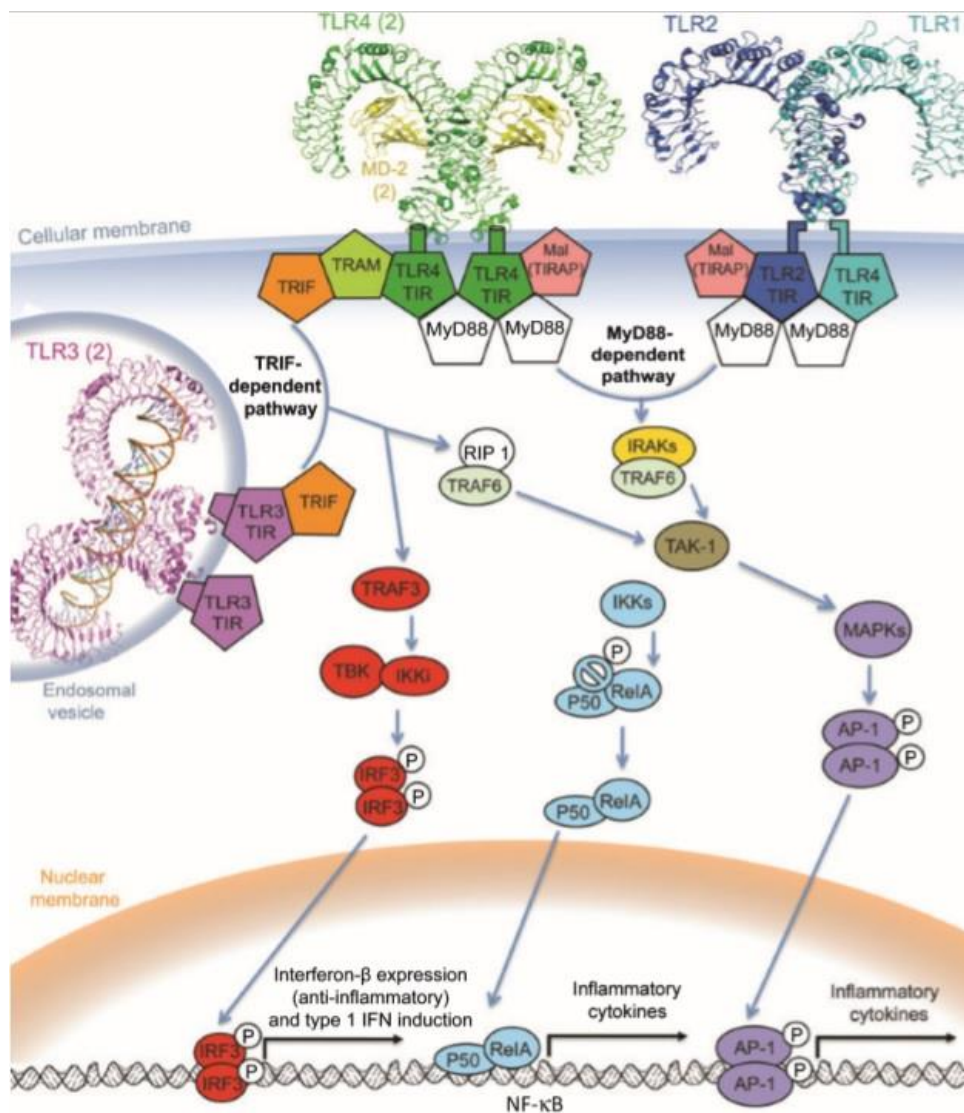
TLR jsou transmembránové receptory, které se nacházejí převážně v imunitních buňkách. Skupina lidských TLR zahrnuje 10 funkčních receptorů, které jsou exprimovány jak na buněčném povrchu (TLR1, 2, 4, 5 a 6), tak intracelulárně v endozomálních kompartmentech (TLR 3, 4, 7, 8 a 9) [13]. Buněčná lokalizace TLR odráží původ ligandu, který je zodpovědný za vyvolání reakce. Všechny TLR jsou syntetizovány v endoplazmatickém retikulu (ER). Následně jsou transportovány do Golgiho aparátu a poté jsou umístěny na buněčný povrch nebo do intracelulárních kompartmentů, například endozomů. TLR nacházející se na buněčném povrchu reagují na extracelulární složky patogenů, včetně lipoproteinů (TLR1, 2 a 6), lipopolysacharidů (TLR4) a bakteriálních bičků (TLR5). Endozomální TLR rozpoznávají složky z intracelulárních kompartmentů patogenů, jako je dvouvláknová RNA (dsRNA) (TLR3), jednořetězcová RNA (ssRNA) (TLR7 a 8) a nemetylovaná DNA cytosin-fosfát-guanin (CpG) (TLR9) [14]. Vazba ligandů na TLR indukuje homo- nebo heterodimerizaci TLR receptorů a následnou signalizaci dvěma odlišnými cestami, MyD88-dependentní (TLR 1, 2 a 4–9) a TRIF-závislou cestou (TLR3 a 4) [15].

Ačkoli jsou TLR podobné ve strukturách a intracelulárních signálech, liší se v rozpoznávání jednotlivých PAMP a DAMP. Strukturně jsou to glykoproteiny typu I složené z intracelulární homologické domény toll-interleukinu-1 (TIR), jediné

transmembránové helixové domény a solenoidní ektodomény. Ektodoména je zodpovědná za rozpoznávání patogenů a je tvořena 16–28 různými repetičními doménami bohatými na leucin (LRR) [16].

### 1.1.1 TLR signalizace

TLR signalizace probíhá prostřednictvím dvou hlavních signálních drah. První, méně používanou cestou, je TRIF-dependenční dráha, kterou využívá pouze TLR3 a TLR4. Druhým typem je MyD88-dependenční dráha (Obrázek 1) [17].



Obrázek 1: Signalizační dráhy TLR [18].

Všechny TLR s výjimkou TLR3 a TLR4 používají výhradně cestu MyD88 (TLR4 využívá obě cesty) [17]. Jelikož cílem této práce je příprava potenciálních agonistů TLR2, využívanou cestou bude Myd88-dependentní dráha. MyD88 je cytosolový adaptérový protein s „doménou smrti“ a distální TIR doménou. Signál MyD88 je přenášen do skupiny kináz spojených s receptorem interleukin-1 (IRAK) prostřednictvím interakce smrtících domén MyD88 a IRAK4. Tímto procesem následně spouští fosforylační kaskádu aktivující transkripční faktory NF- $\kappa$ B. Klíčový komplex aktivovaný ubiquitinem (TAK1) vysílá signál prostřednictvím kaskády mitogenem aktivované proteinové kinázy (MAPK) nebo komplexu zapojeného do aktivace NF- $\kappa$ B, inhibitoru kaskády NF- $\kappa$ B (IKK). Tyto cesty indukují aktivaci NF- $\kappa$ B aktivátorového proteinu-1 (AP-1) a heterodimerů RelA / P50. Faktory AP-1 a RelA / P50 NF- $\kappa$ B přímo regulují prozánětlivou cytokinovou transkripci [19].

NF- $\kappa$ B řídí expresi genů, které regulují širokou škálu biologických procesů v centrální nervové soustavě (CNS), jako je neurogeneze a diferenciace. Tento transkripční faktor je nezbytný pro přežití neuronů a jeho aktivace může chránit neurony před oxidačním stresem nebo ischemickou neurodegenerací. Zatímco NF- $\kappa$ B je spojen s neuroprotektivními přínosy, může také přispívat k zánětlivým reakcím a apoptotické buněčné smrti po poranění mozku nebo mrtvici. Signalizační dráha závislá na MyD88 je důležitým aktivátorem NF- $\kappa$ B a následných neuroregulačních účinků signalizace NF- $\kappa$ B [20].

### **1.1.2 TLR2**

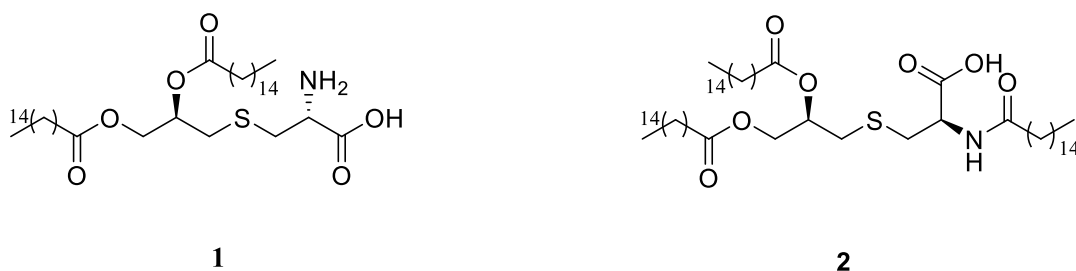
TLR2 identifikace, molekulární charakterizace a klonování byly poprvé publikovány v roce 1998 společně s TLR1, TLR3, TLR4 a TLR5 [21]. Více než deset let rozsáhlého výzkumu prokázalo důležitost TLR2 v imunitě obratlovců. Tento receptor je dosud jediným TLR, který tvoří kromě homodimerů také funkční heterodimery s více než dvěma dalšími typy TLR. Dále existuje velice vysoký počet strukturně odlišných agonistů TLR2, což umožňuje rozpoznávání velkého množství různorodých PAMP. Mezi takové struktury patří různé typy molekul ze všech mikrobiálních druhů, včetně virů, hub, bakterií a parazitů. Díky této rozmanitosti je tedy u agonistů TLR2 obtížné definovat jasný vztah mezi strukturou a funkcí. Exprese TLR2 byla detekována v

imunitních, endoteliálních a epitelálních buňkách. Tato všudypřítomnost je v souladu se širokým rozsahem úloh a funkcí TLR2 [22].

Podobně jako jiné TLR je i TLR2 transmembránový protein typu I, který obsahuje extracelulární LRR, po nichž následuje hydrofobní transmembránová doména a cytoplasmová TIR doména. TLR2 rozpoznává mikrobiální PAMP ve své homodimerní formě nebo alternativně jako heterodimer s TLR1 nebo TLR6. Aktivuje tak různé intracelulární signální molekuly a transkripční faktory [23]. TLR2 dokáže rozeznat několik PAMP, jako jsou bakteriální makromolekuly buněčné stěny (peptidoglykan, lipoprotein, kyselina lipoteichoová a glykoproteiny) a DAMP, které iniciují a udržují neinfekční zánětlivou odpověď, včetně glykosaminoglykan hyaluronanu, proteinů tepelného šoku, high mobility group box protein 1 (HMGB1) a defensinu [11]. Je zajímavé, že lidský gen CD14, který se účastní rozpoznávání LPS zvyšuje aktivaci TLR2. Proto se zdá, že LPS je dalším možným ligandem TLR2 receptoru, který je spojený s proteiny tepelného šoku. Gen CD14 kóduje protein, který je součástí přirozeného imunitního systému [16].

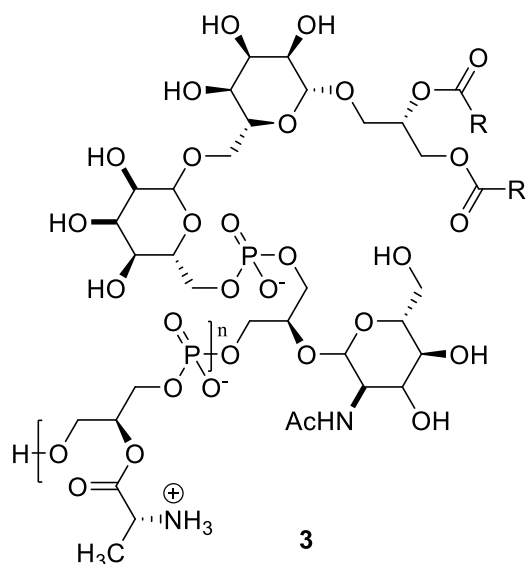
### 1.1.3 Agonisté TLR2

Prototypoví agonisté TLR2 jsou třídou bakteriálních di- nebo triacylovaných lipoproteinů, lipopeptidů a jejich syntetických analogů s N-koncovými di- nebo tripalmitoylovanými cysteinovými zbytky - Pam2Cys (**1**), respektive Pam3Cys (**2**) (Obrázek 2). Sloučeniny **1** a **2** vážou TLR2 prostřednictvím dvou esterově vázaných palmitoyl řetězců. N-terminální acylace určuje TLR1 nebo TLR6 specificitu - N-koncová mastná kyselina váže TLR1 a volný N-terminální amin váže TLR6 [1].



**Obrázek 2:** Struktury sloučenin Pam2Cys (**1**) a Pam3Cys (**2**).

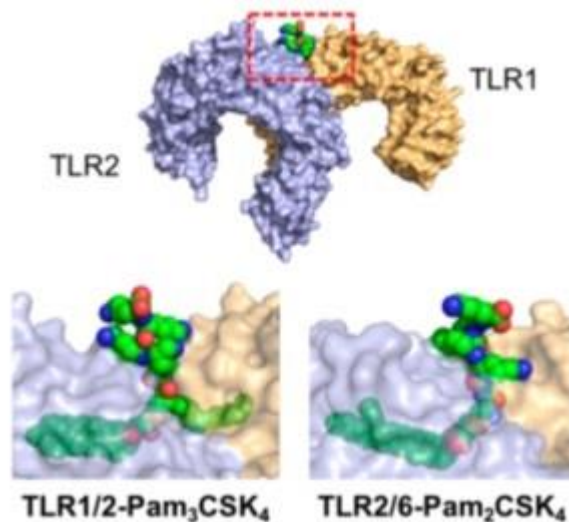
Cysteinové deriváty **1** a **2** často obsahují peptidovou část SK4, která zvyšuje adjuvantní účinek agonisty a rozpustnost ve vodě [1]. Jsou agonisty TLR2, které se nejčastěji nacházejí v biokonjugátech kvůli jejich dobře definované chemické struktuře, snadnosti výroby a nepřítomnosti přírodních endotoxinů. Jednou výjimkou je ligand TLR2-TLR6, kyselina lipoteichoová (LTA, **3**) (Obrázek 3), hlavní složka buněčné stěny gram pozitivních bakterií. LTA byla konjugována k oběma CpG oligodeoxynukleotidům, což jsou oblasti DNA, kde za cytosinovým nukleotidem následuje guaninový nukleotid v lineární sekvenci bází podél jeho směru 5' → 3'. Další strukturou, se kterou byla konjugována je buněčný povrch buněk Lewis Lung Carcinoma. V obou případech byla konjugace LTA dosažena vytvořením amidové vazby primárních aminů D-alaninů postranního řetězce s *N*-hydroxysukcinimidovými estery [24]. Navzdory své vysoké účinnosti nebyla LTA použita v biokonjugaci tak rozsáhle jako sloučeniny **1** a **2**, protože LTA bez endotoxinů je obtížné vyrobit a tento proces je proto nákladný. Kromě toho výše uvedené konjugační strategie pro LTA poskytují směs strukturálně rozmanitých LTA-konjugátů s vysokou molekulovou hmotností. Naopak **1** a **2** jsou synteticky přístupné a jejich konjugáty mohou být strukturálně homogenní [1].



**Obrázek 3:** Struktura LTA (3).

Triacylovaní agonisti TLR2-TLR1 Pam3Cys (2) a Pam3CSK4 jsou široce používány jako konjugáty pro vytvoření „samoadjuvančních“ vakcín. Tyto deriváty jsou snadno syntetizovatelné, strukturálně dobře definované, komerčně dostupné a netrpí nevýhodami spojenými s LTA [25]. Konjugace s těmito sloučeninami probíhá hlavně přes C-koncovou karboxylovou skupinu, aby se zabránilo narušení N-koncových lipidových interakcí s receptory. Začlenění 1 a 2 do vakcín na bázi peptidů lze snadno dosáhnout standardní syntézou peptidů na pevné fázi [1]. Vazba na TLR2-TLR1 heterodimer probíhá na základě navázání dvou acylovaných řetězců do hydrofobní oblasti TLR2 a zbývající řetězec je navázán do hydrofobního kanálu TLR1 (Obrázek 4). Kromě toho je vazba agonistů do tohoto místa stabilizována pomocí nevazebných interakcí, především vodíkových vazeb a hydrofobních interakcí [26].





**Obrázek 4:** Heterodimer TLR2/TLR1 s navázaným ligandem [1].

#### 1.1.4 Antagonisté TLR2

Nadměrná aktivace TLR je nevyhnutelně zapojena do patogeneze mnoha zánětlivých onemocnění. Předpokládá se tedy, že inhibice signálních drah TLR bude účinnou terapeutickou strategií pro potlačení nežádoucích zánětlivých odpovědí souvisejících s onemocněním. Obecně lze inhibici TLR dosáhnout dvěma hlavními strategiemi: 1) blokování vazby ligandů TLR na receptor; 2) interferování intracelulárních signálních drah k zastavení signální transdukce. V souladu s tím byla vyvinuta různá terapeutická činidla inhibující TLR signalizaci pro kontrolu nadměrného zánětu. Mohou být klasifikovány jako inhibitory malých molekul, protilátky, oligonukleotidy, analogy lipidu-A, mikroRNA a nové vznikající nano-inhibitory [27].

Z výše uvedených skupin patří mezi antagonisty TLR2 protilátky. Nejtatraktivnějším rysem terapeutických protilátek je jejich lepší specifita vůči cílům léčiv ve srovnání s jinými typy léčiv, a proto se v dnešní době těší velké pozornosti, zejména pro imunoterapii. Protilátky však stále mají řadu omezení, včetně vysokých nákladů na výrobu, špatné penetrace buněk a tkání a rizika imunogenicity [28]. Slibným pokrokem je OPN-305, což je první plně humanizovaná IgG4 monoklonální TLR2-specifická protilátka. Předklinické studie prokázaly účinnost této sloučeniny při blokování TLR2 zprostředkované produkce prozánětlivých cytokinů *in vitro* a ve zvířecích modelech poškození ischemicko-reperfuzního poranění. Úspěch studie této

protilátky naznačuje, že se jedná o dobře tolerovaného antagonistu TLR2 využitelného při transplantaci pevných orgánů [29]. Další anti-TLR2 protilátka s terapeutickým potenciálem je T2.5. Tento antagonist je schopen snížit nervovou smrt a zánětlivé odpovědi v modelu přechodné mozkové ischemie [30]. Celkově tyto studie naznačují, že blokování signalizace TLR2 je terapeuticky prospěšné pro sepsu a poruchy vaskulárního systému [27].

## 1.2 Adjuvans

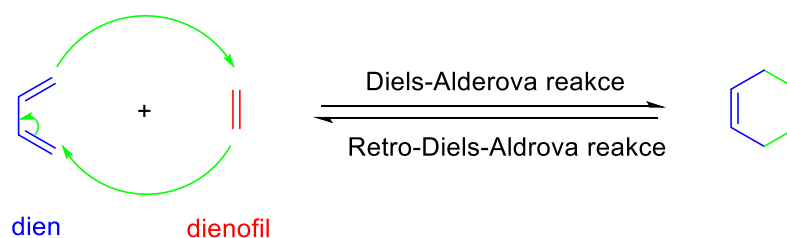
Vakcíny jsou biologické produkty, které vytvářejí imunitní ochranu proti vnější nebo vnitřní hrozbě stimulací vrozené a adaptivní imunity. Stimulace imunitní odpovědi a tvorba paměti jsou hlavními základy očkování. Vakcíny splňují svůj cíl tím, že podněcují vrozenou imunitní odpověď a aktivují buňky prezentující antigen (APC). Následně způsobují adaptivní imunitní odpověď. Koncept adjuvans byl navržen na začátku 20. století, kdy tradiční vakcína nedokázala vyvolat účinnou imunitní odpověď s difterickými a tetanovými purifikovanými toxoidy. Adjuvans je součástí vakcíny, která si klade za cíl posílit imunitní odpověď. Složky pomocných látek prošly procesem změn z přírodních surovin na umělé syntetické sloučeniny. První adjuvans byly hliníkové sloučeniny objevené v roce 1926 a po mnoho let jsou hlavními adjuvans vakcín [31]. Další pomocné látky, jako je kompletní Freundovo adjuvans (CFA) a LPS, nebyly vhodné pro člověka kvůli jejich profilu toxicity. Dosud používané licencované adjuvans v humánních vakcínách zahrnují hlinité soli, emulze olej ve vodě, virozomy a AS04 [32].

Účinné adjuvans by mělo mít delší retenční čas v místě podání, aby se podpořila stimulace lokálního imunitního systému a zabránilo potenciálně škodlivému zánětu mimo cíl. Očekává se, že dokonalé vakcínové adjuvans bude provádět tři akce: 1) poskytne uspokojivé množství antigenů ve správném místě a koncentraci, které budou prezentovány APC; 2) zvýšení produkce kostimulačních molekul; a 3) poskytují stimulační cytokiny. Adjuvans skutečně snižují požadované množství antigenů nebo časté podávání vakcíny zlepšením imunizace a zvýšením imunogenicity antigenu. Nespecifická adjuvans, která by mohla modulovat imunitní odpověď a působit jako

system dodávání antigenu, zahrnují minerální soli, emulze, lipozomy/virozomy a mikročástice [33].

### 1.3 Diels-Alderova reakce

Diels-Alderova reakce je pericyklická reakce, která nevyžaduje žádnou kovovou katalýzu. Je to jedna z nejužitečnějších reakcí v syntetické organické chemii a materiálovém designu. Popsali ji Otto Diels a Kurt Alder v roce 1928 [34]. Jedná se o [4+2] cykloadici konjugovaného dienu, obsahujícího 4  $\pi$ -elektrony, a substituovaného alkenu, obsahujícího 2  $\pi$ -elektrony (také nazývaného dienofil). Během tohoto děje se těchto šest  $\pi$ -elektronů přeskupí za vzniku cyklického šestičlenného produktu (Schéma 1) [35].

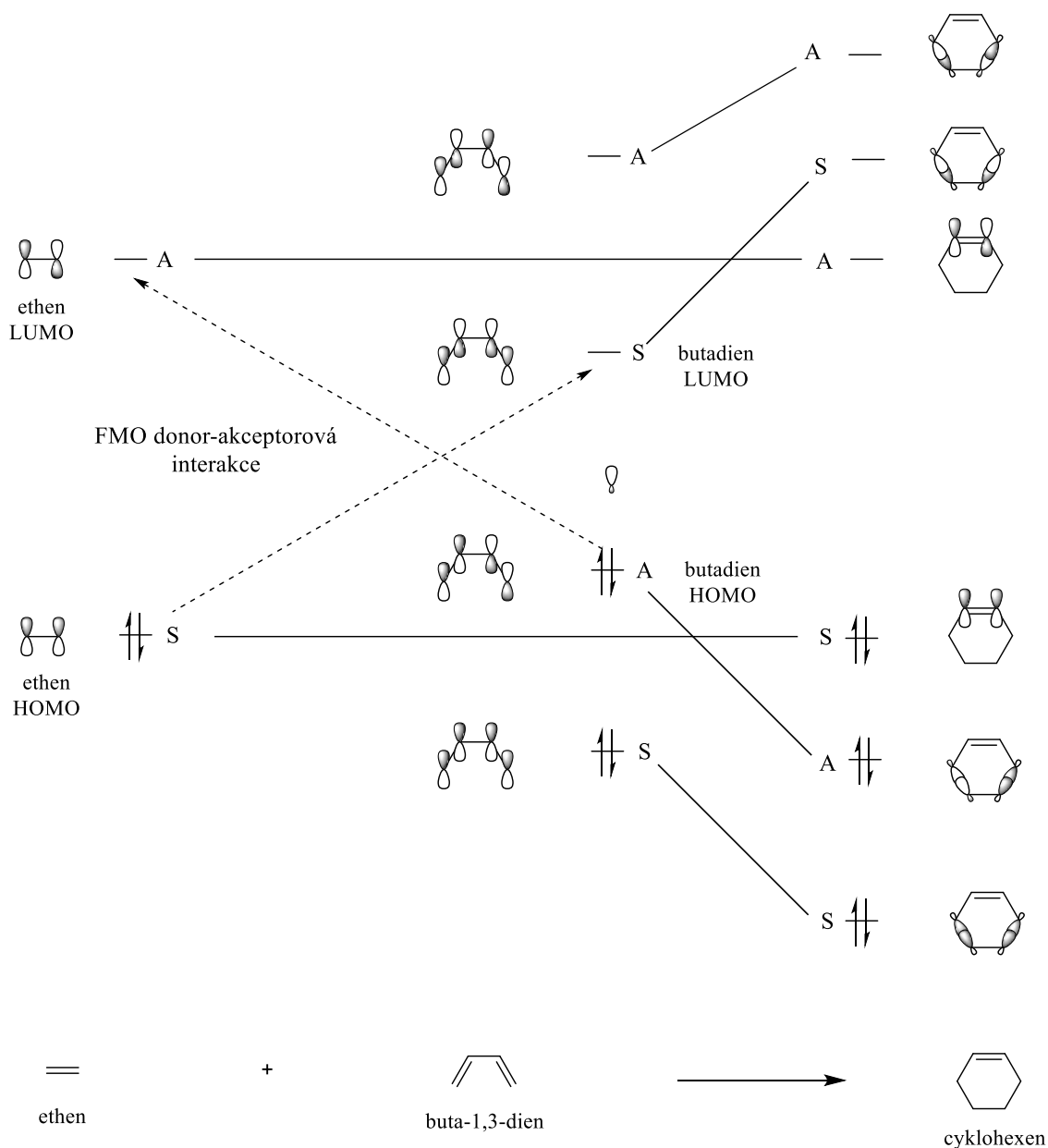


**Schéma 1:** Mechanismus Diels-Alderovy reakce.

Pokud jsou dien i dienofil součástí stejné molekuly, reakce se obvykle označuje jako intramolekulární cykloadice, v opačném případě se jedná o intermolekulární cykloadici [35]. Reakce probíhá mnohem rychleji, pokud dienofily „chudé“ na elektrony reagují s dieny „bohatými“ na elektrony. Proto se využívá substitucí elektronakceptorních skupin v případě dienofilů a naopak substitucí elektrondonorních skupin na dienech. Pokud se jedná o cyklické dieny nebo dienofily, vytvoří se přemostěný produkt, který může být buď endo- nebo exo-orientovaný. Poměr endo- a exo- izomerů se však může lišit v závislosti na tom, zda je reakce kineticky nebo termodynamicky řízena [36].

Orbitální interakce ve většině pericyklických reakcích mohou být analyzovány na základě posouzení hraničních molekulárních orbitalů (FMO) reaktantů a jejich

relativních energií. Pozornost je zaměřena na nejvyšší obsazené molekulární orbitály (HOMO) a nejnižší neobsazené molekulární orbitály (LUMO) reaktantů. Právě tyto orbitály tvoří hraniční molekulární orbitály (Schéma 2). Teorie FMO bere v úvahu pouze orbitály reaktantů a analyzuje interakce HOMO a LUMO mezi nimi [37]. V principu pro Diels-Alderovu reakci zahrnuje dva páry interakcí HOMO a LUMO, ale protože FMO teorie se zaměřuje na oddělení energie mezi interagujícími orbitály, často postačuje zvážit jedinou reaktivní interakci. Obvykle je taková analýza zaměřena na interakci mezi HOMO dienu a LUMO dienofilu, ačkoli byly hlášeny i reakce zahrnující obrácenou situaci. FMO zahrnuje koncept přenosu náboje mezi reaktanty. To znamená, že hustota elektronů se přenáší z obsazeného orbitalu (obvykle HOMO) jednoho reaktantu na neobsazený orbital (obvykle LUMO) druhého reaktantu a v tomto smyslu teorie FMO předpokládá orbitální křížení [38]. Teorie FMO je v současném kontextu obzvláště výhodná, protože její aplikace je omezena pouze na posouzení orbitalů reakčních složek a jejich energií. FMO teorie také naznačuje, že příslušná energetická mezera mezi HOMO a LUMO jednotlivých reaktantů by měla poskytovat vynikající inverzní index chemické reaktivity. Tato molekulární energetická mezera tak může být považována za měřítko chemické reaktivity-čím větší je mezera, tím nižší je reaktivita [39].



**Schéma 2:** Interakce HOMO a LUMO orbitalů dienu a dienofilu. Orbitály jsou klasifikovány jako S (symetrický) a A (asymetrický) [37].

Diels-Alderova reakce hraje zásadní roli v syntetické organické chemii a její význam pro farmaceutické nebo biomedicínské aplikace neustále roste. Vhodné dvojice dien-dienofil jsou poměrně snadno dostupné [35].

### 1.3.1 Diels-Alderova reakce anthracenu

Mechanismus termické [4+2] cykloadiční reakce anthracenu s dienofilem byl zdrojem mnoha dohadů. Stereochemie reakce zahrnuje výhradní *cis*-adici dienofilů k anthracenu, kde se v produktu zachovává *cis* nebo *trans* stereochemie dienofilů. Retence stereochemie vedla ke koordinovanému mechanismu, kde se nové vazby vytvářejí současně buď přímým přidáním, nebo prostřednictvím přechodného náboje. Další možností je dvoustupňový reakční mechanismus, kde reakce probíhá prostřednictvím zwitterionického nebo diradického intermediátu [40]. Vliv rozpouštědla na rychlost reakce byl studován mnoha výzkumnými skupinami. Schopnost rozpouštědla „dodávat“ elektrony se ukázala jako faktor, který ovlivňuje rychlost reakce. Rozpouštědla „dodávající“ elektrony zvyšují solvataci dienofilů, což může snižovat reakční rychlost. Rozpouštědla, která „přijímají“ elektrony, mohou v některých případech zvýšit rychlost reakce stabilizací přechodného stavu. Aromatická rozpouštědla způsobují velké zvýšení reaktivity s dienofily. Obecně se však ukázalo, že vliv rozpouštědla na rychlost reakce, nezávisle na zkoumaném systému, je relativně malý [41]. Rychlost Diels-Alderovy reakce anthracenu se zdá být mnohem více řízena teplotou a substitučními efekty. Protože Diels-Alderova reakce anthracenu je rovnovážným procesem, změny teploty mají rozhodující vliv na polohu rovnováhy. Nižší reakční teploty spojené s přebytkem dienofilů mohou zvýšit rychlost reakce, zatímco vyšší teploty mohou ve skutečnosti podporovat retro Diels-Alderovu reakci [42].

Bylo shledáno, že substituční efekty jsou mnohem složitější, ať už se jedná o substituenty na anthracenu, substituenty na dienofílech, nebo o kombinaci těchto dvou znaků. Obecně lze reaktivitu anthracenu zvýšit substitucí skupinami poskytujícími elektrony v polohách C9 a C10, zatímco substituenty odebírající elektrony mají opačný účinek. V některých případech však sterický efekt substituentů může snížit rychlost reakce potlačením elektronových efektů [41, 42]. Druhy dienofilů používaných v Diels-Alderových reakcích anthracenu spadají přibližně do čtyř tříd, jmenovitě 1) a,b-nenasycené karbonyly, 2) alkeny vázané na heteroatom nebo halogen, 3) alkeny a alkyny a 4) heterodienofily [40].

První hlášená cykloadice dienofilu, v tomto případě anhydridu kyseliny maleinové na anthracen prostřednictvím fúzní reakce při 260 °C, byla provedena

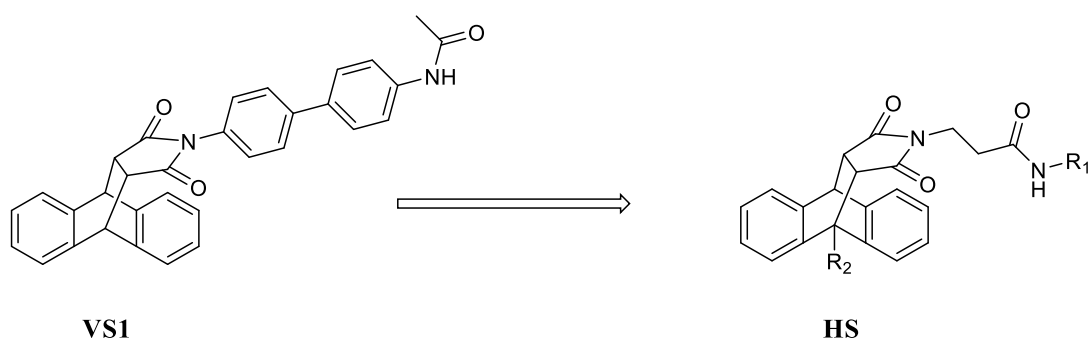
Dielsem a Alderem v roce 1931 [43]. Následně Clar získal stejný adukt zahřátím roztoku dvou reakčních složek ve směsi xylenů [44]. Termická reakce anthracenu s různými dienofilními deriváty anhydridu kyseliny maleinové (např. substituované anhydridy kyseliny maleinové a *N*-substituované maleimidy) se od té doby stala jednou z nejlépe studovaných reakcí anthracenu [42].

## 2 Design

Pomocí virtuálního vysokorychlostního screeningu byly identifikovány struktury s vysokou vazebnou energií v *h*TLR4 (lidský TLR4) [9]. Jako zdroj velkého počtu ligandů sloužila databáze ZINC. Na základě známých agonistů/antagonistů TLR4 bylo z virtuální knihovny obsahující 130 000 sloučenin vybráno 9 700 struktur. Dalších 300 struktur bylo vybráno z dříve publikovaných prací a z interní databáze sloučenin. Následně byla celá sada těchto 10 000 sloučenin vložena do aktivního místa komplexu *h*TLR4/MD2 a byly vypočteny odhady vazebné energie. Kandidát s nejlepším hodnocením identifikovaný v této studii (VS1) vykazoval *in silico* energii -15,1 kcal/mol pro receptor *h*TLR4/MD2 [9].

Ačkoli tato známá struktura vykazuje poměrně dobrou energii *in silico* v *h*TLR4/MD2, je těžko rozpustná ve vodě, a tak vyžaduje další strukturální optimalizaci, aby bylo dosaženo lepších farmakologických vlastností. Touto optimalizací vznikla hlavní struktura (HS) pro syntézu derivátů sukcinimidů jako potenciálních adjuvans (Schéma 3) [9].

Jelikož všechny TLR patří do jedné rodiny receptorů, byly výsledky tohoto screeningu využity při návrhu potenciálních agonistů TLR 2 receptorů.



R<sub>1</sub> = (S)-ethylbenzyl, (R)-ethylbenzyl, (S)-1-hydroxymethyl-1-fenylmethyl, (R)-1-hydroxymethyl-1-fenylmethyl, (S)-2-methyl-2-fenylethyl, (R)-2-methyl-2-fenylethyl, (S)-2-hydroxy-2-fenylethyl, (R)-2-hydroxy-2-fenylethyl, (S)-1-methyl-1-(4-methyl)fenylmethyl, (R)-1-methyl-1-(4-methyl)fenylmethyl, (S)-1-methyl-1-(4-methoxy)fenylmethyl, (R)-1-methyl-1-(4-methoxy)fenylmethyl

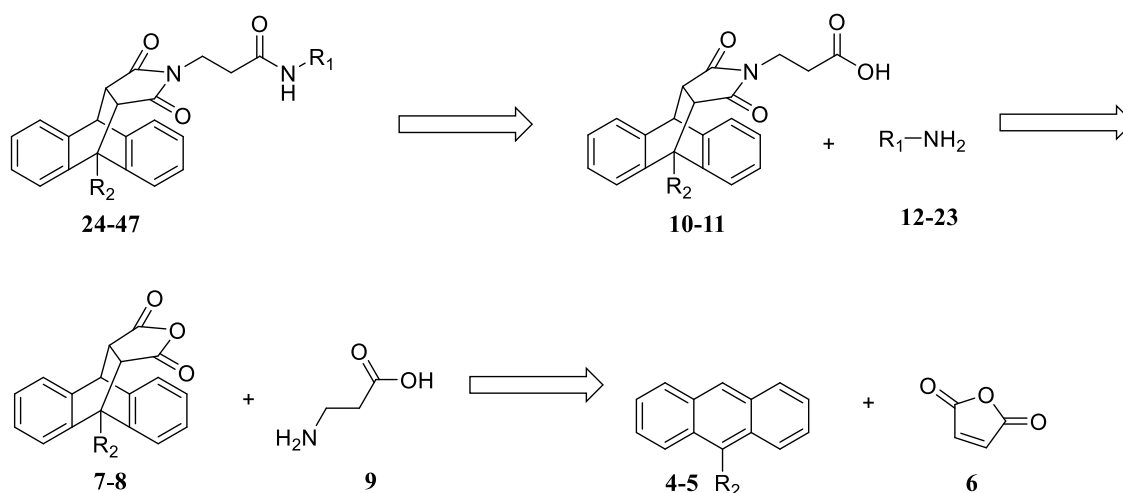
R<sub>2</sub> = H, CH<sub>3</sub>

**Schéma 3:** Optimalizace struktury VS1.



### 3 Cíle práce

Cílem této diplomové práce je příprava dvanácti derivátů sukcinimidů **24-35** z anthracenu a dvanácti derivátů sukcinimidů **36-47** z 9-methylantracenu. Tato syntéza probíhá mechanismem  $S_NAc$  výchozí kyseliny **10-11** s příslušným chirálním aminem **12-23**. Syntéza těchto látek zahrnuje i přípravu výchozích anhydridů **7-8** mechanismem Diels-Alderovy reakce a z nich následně syntézu výchozích kyselin **10-11** mechanismem  $S_NAc$ . Účelem přípravy těchto derivátů je jejich potenciální použití jako adjuvans prostřednictvím agonismu na TLR2 receptorech. Všechny konečné produkty budou připraveny ve formě jednotlivých čistých (*R*-) a (*S*-) enantiomerů a diastereoizomerů, které nebudou separované (Schéma 4). Po nasyntetizování všech těchto sloučenin bude následovat biologické *in vitro* testování, které není součástí této diplomové práce.



$R_1$  = (*S*)-ethylbenzyl, (*R*)-ethylbenzyl, (*S*)-1-hydroxymethyl-1-fenylmethyl, (*R*)-1-hydroxymethyl-1-fenylmethyl, (*S*)-2-methyl-2-fenylethyl, (*R*)-2-methyl-2-fenylethyl, (*S*)-2-hydroxy-2-fenylethyl, (*R*)-2-hydroxy-2-fenylethyl, (*S*)-1-methyl-1-(4-methyl)fenylmethyl, (*R*)-1-methyl-1-(4-methyl)fenylmethyl, (*S*)-1-methyl-1-(4-methoxy)fenylmethyl, (*R*)-1-methyl-1-(4-methoxy)fenylmethyl

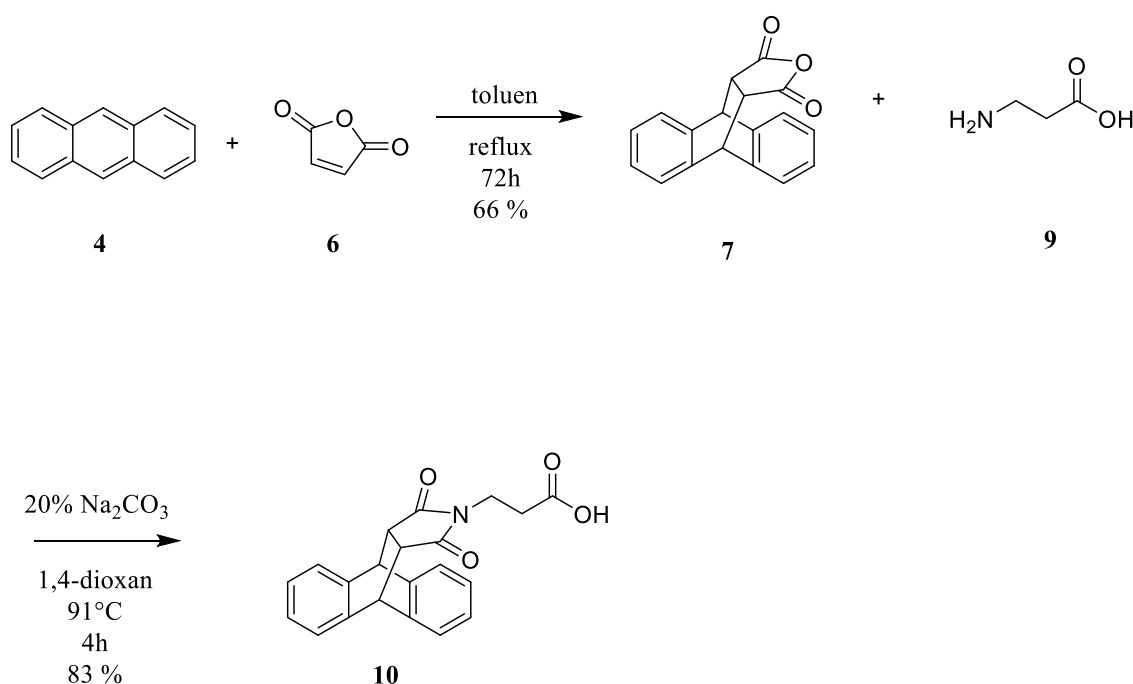
$R_2$  = H,  $CH_3$

**Schéma 4:** Retrosyntetická analýza tříkrokové syntézy chirálních produktů **24-47**.

## 4 Výsledky a diskuse

### 4.1 Příprava chirálních derivátů z anthracenu

Syntéza těchto derivátů se skládala ze tří kroků, které zahrnovaly Diels-Alderovu reakci (pericyklickou reakci) a  $S_NAc$  (Schéma 5).

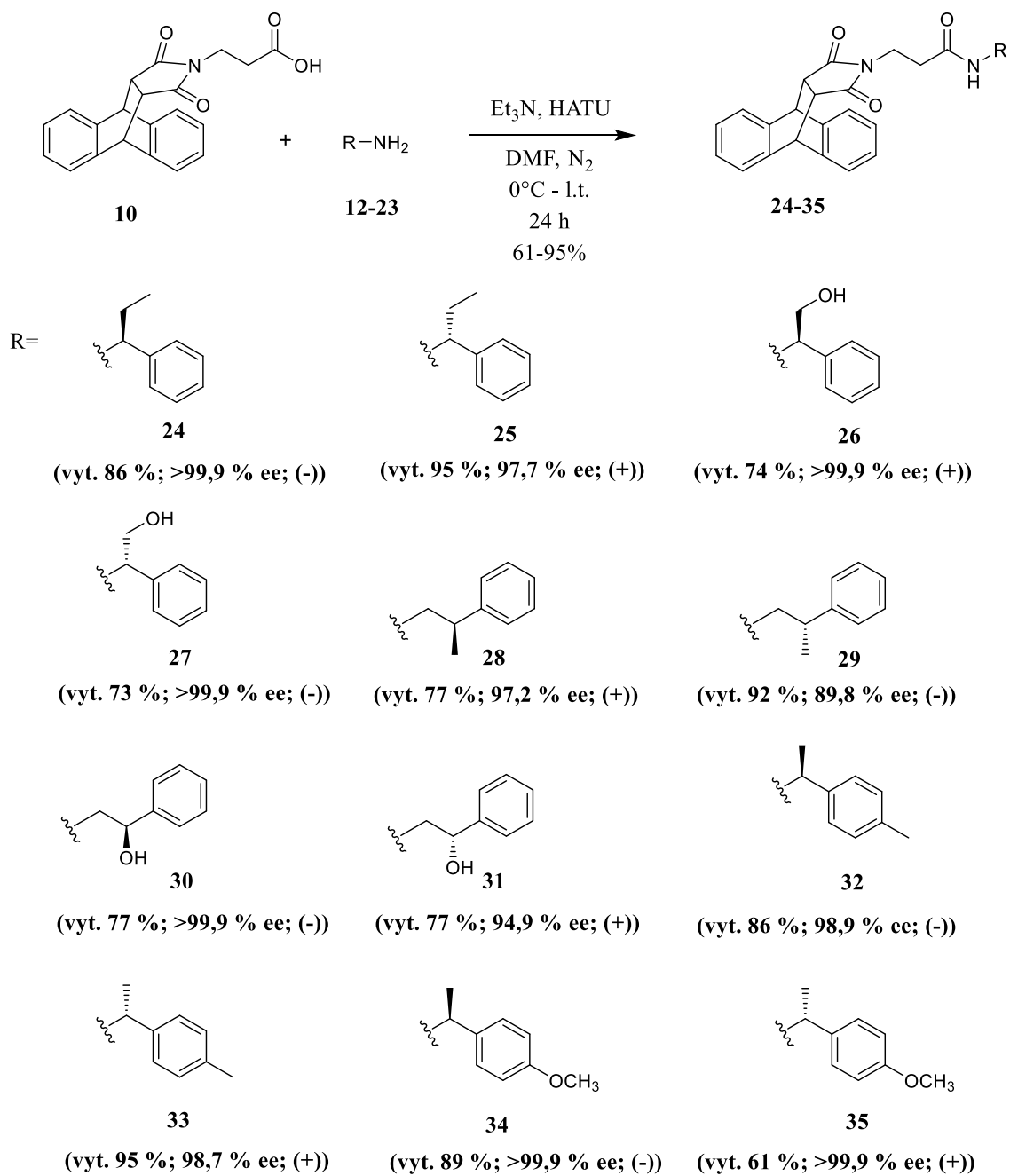


**Schéma 5:** Příprava výchozí látky **10** pro syntézu derivátů **24-35**.

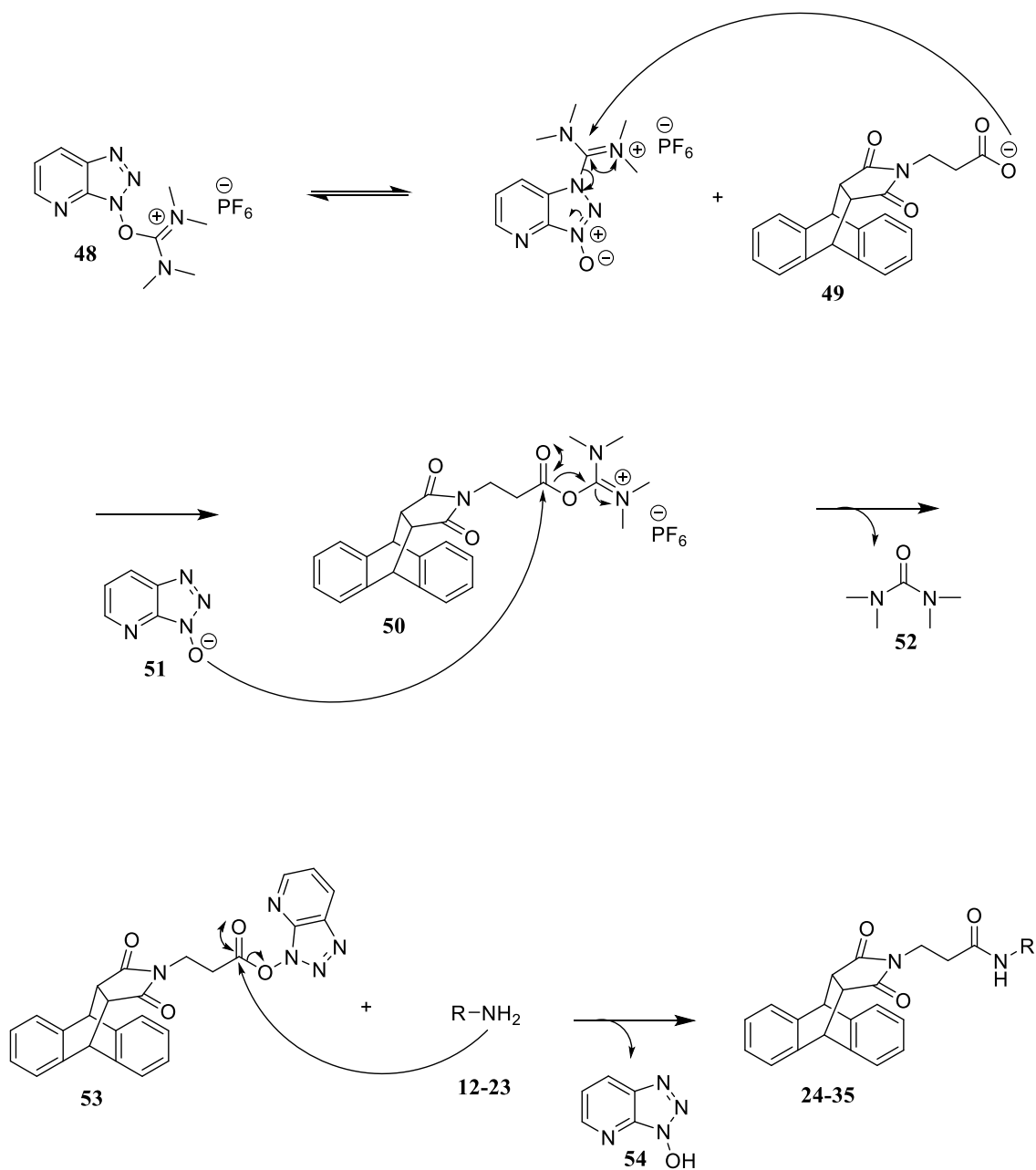
K syntéze anhydridu **7** pro první sadu produktů byly použity komerčně dostupné látky: anthracen (**4**), malein anhydrid (**6**) a jako rozpouštědlo byl použit toluen. Mechanismem této syntézy byla Diels-Alderova cykloadiční reakce [45].

Dalším krokem syntézy byla přeměna sloučeniny **7** na sukcinimid **10** reakcí s  $\beta$ -alaninem (**9**) za použití 20% vodního roztoku  $Na_2CO_3$  [46]. Mechanismem reakce byla  $S_NAc$ . Byly použity komerčně dostupné látky:  $\beta$ -alanin (**9**),  $Na_2CO_3$ , 1M HCl a jako rozpouštědlo 1,4-dioxan.

Posledním krokem byla příprava série chirálních amidů **24-35** z kyseliny **10** (Schéma 6) s použitím *N,N*-dimethylformamidu (DMF) jako rozpouštědla. Tato reakce probíhala mechanismem  $S_NAc$ . Reakcí výchozí kyseliny **10**, ze které byl vytržen proton pomocí triethylaminu ( $Et_3N$ ), s HATU (**48**) došlo ke vzniku intermediátu **50** za odštěpení anionu **51**. Prostřednictvím nukleofilního ataku tohoto anionu na tento intermediát poté došlo ke vzniku aktivního esteru **53**. Následnou reakcí tohoto aktivního esteru s nukleofielm - příslušným chirálním aminem **12-23**, došlo ke vzniku chirálního amidu **24-35** prostřednictvím nukleofilního ataku aminu na karboxylový uhlík esteru. (Schéma 7). Při této reakci vznikala jako vedlejší produkt tetramethylmočovina (**52**), která musela být odstraněna pomocí dvou čistících metod – extrakce a sloupcové chromatografie. Výtěžek (vyt.) těchto produktů se pohyboval v rozmezí 61-95 %.

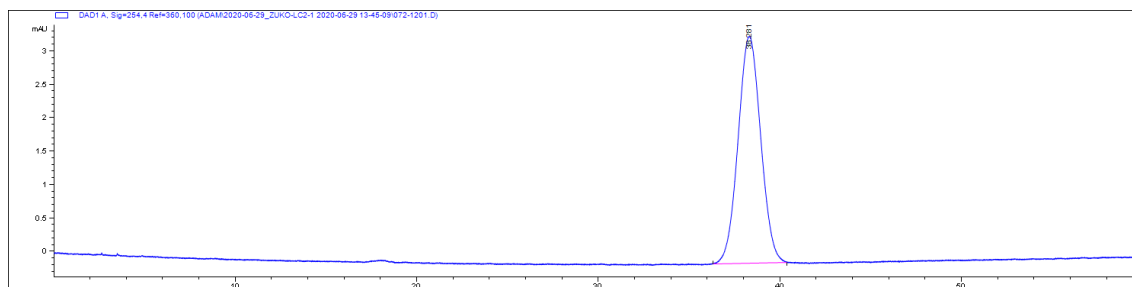


**Schéma 6:** Příprava finálních produktů **24-35**.

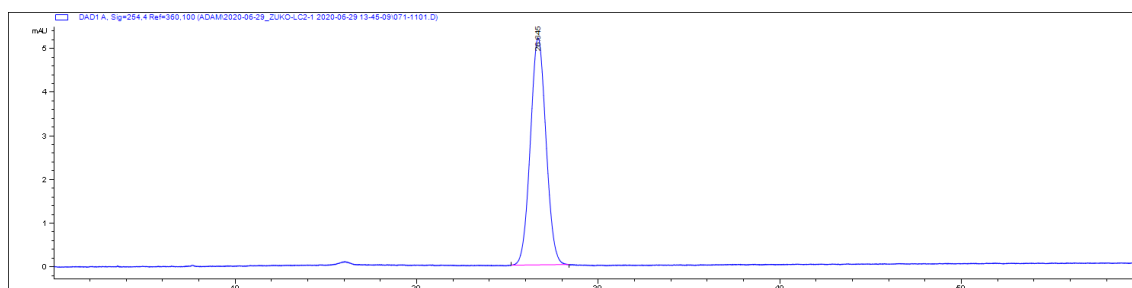


**Schéma 7:** Mechanismus  $\text{S}_{\text{N}}\text{Ac}$  při přípravě sloučenin **24-35**.

U všech konečných produktů **24-35** byla stanovena enantiomerní čistota, kdy enantiomerní nadbytek (ee) byl  $\geq 89,8\%$ , tudíž ve všech případech výrazně převažoval pouze jeden z enantiomerů (Obrázek 5 a 6).



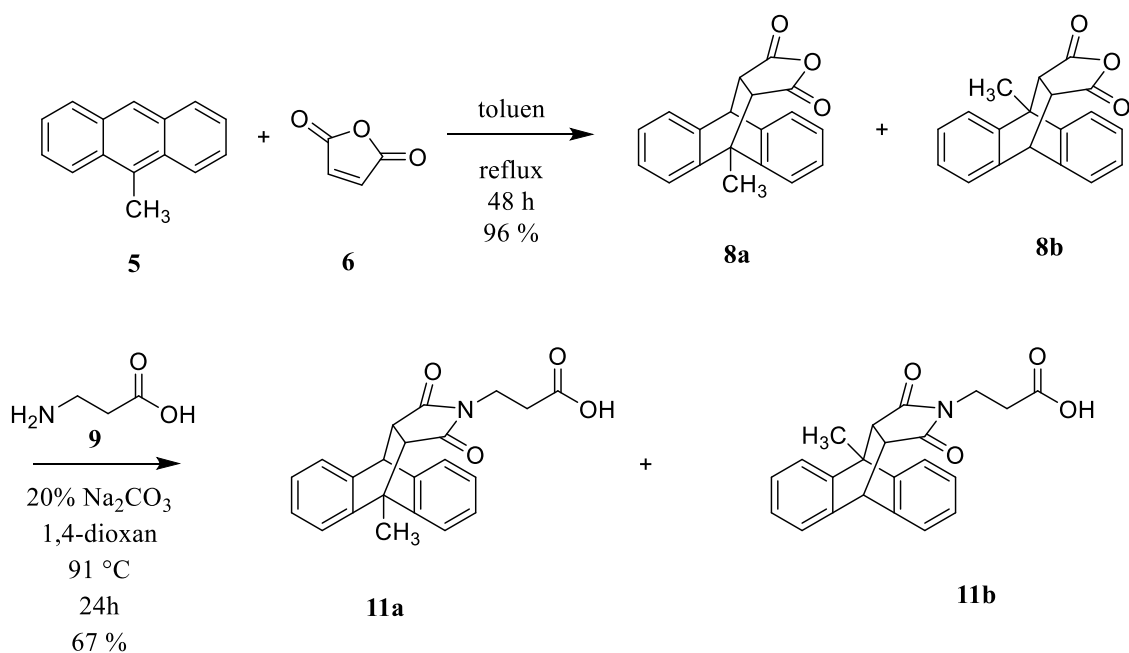
**Obrázek 5:** Chromatogram enantiomerní čistoty látky **34**.



**Obrázek 6:** Chromatogram enantiomerní čistoty látky **35**.

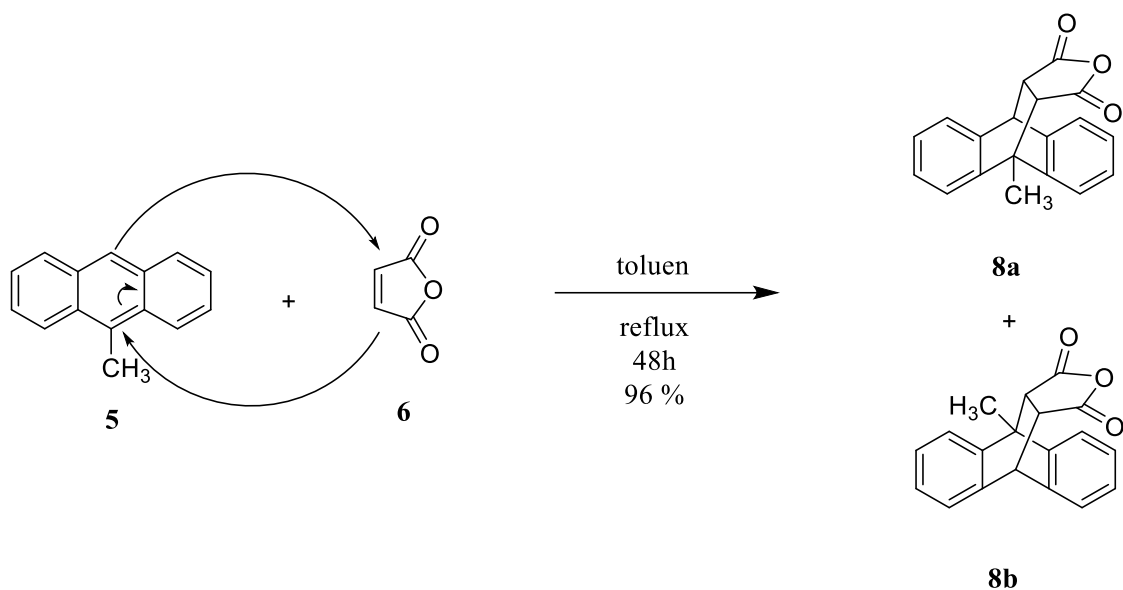
## 4.2 Příprava chirálních derivátů z 9-methylantracenu

Příprava derivátů z 9-methylantracenu (**5**) probíhala také ve třech krocích zahrnujících Diels-Alderovu reakci a  $S_NAc$  (Schéma 8).



**Schéma 8:** Příprava výchozí látky **11** pro syntézu produktů **36-47**.

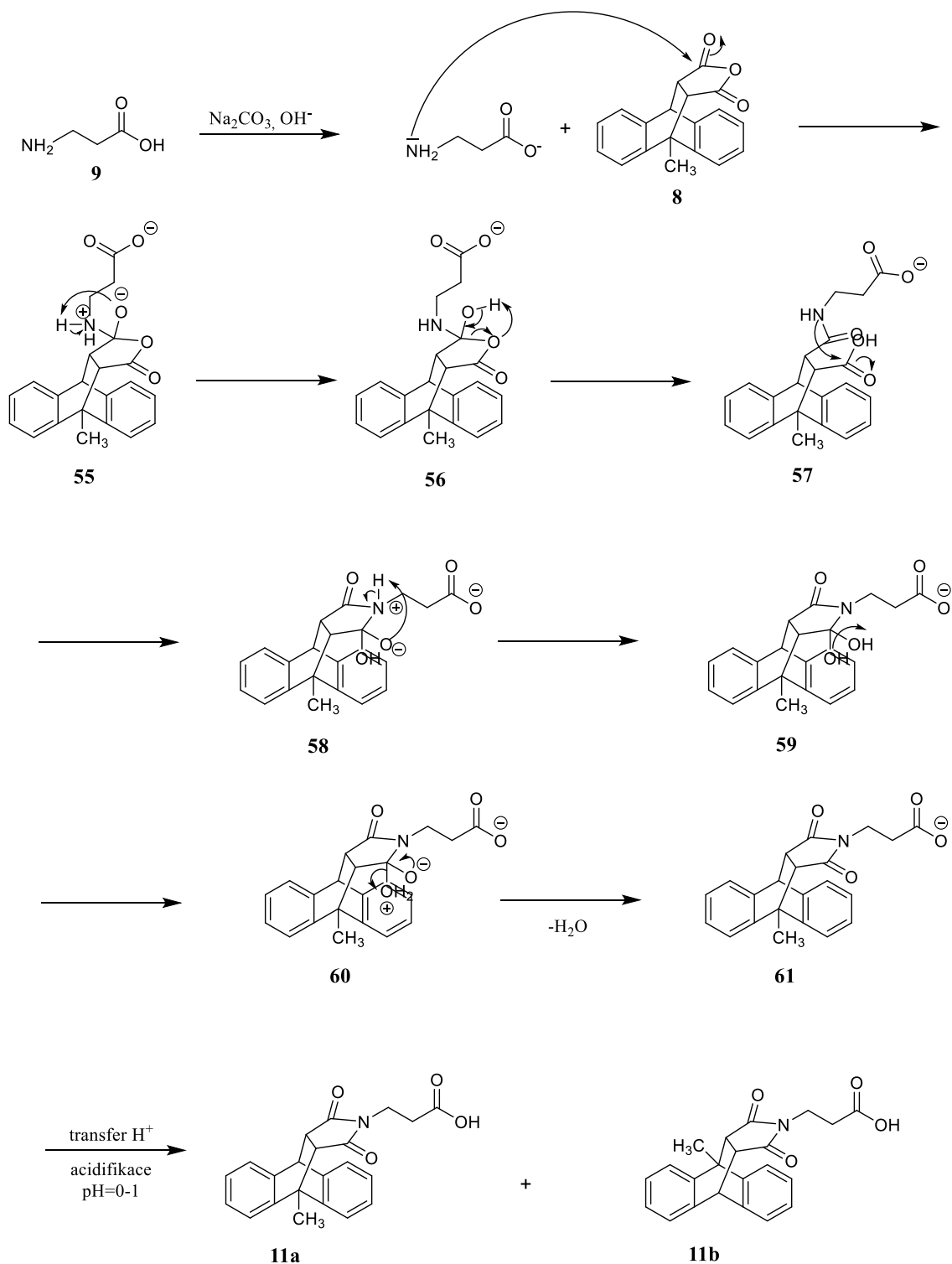
V prvním kroku byl použit jako výchozí látka pro přípravu anhydridu **8** komerčně dostupný 9-methylantracen (**5**), maleinanhidrid (**6**) a toluen jako rozpouštědlo. Reakce probíhala mechanismem Diels-Alderovy reakce, kde má **5** roli dienu a anhydrid **6** vystupuje jako dienofil (Schéma 9). Reaktivita dienu **5** byla zvýšena oproti anthracenu (**4**) díky přítomnosti methylového substituentu v poloze C9 na dienu, který svým kladným indukčním efektem zvyšuje energii HOMO dienu. Tím dochází ke zmenšení energetické mezery mezi HOMO a LUMO orbitaly reaktantů, a tedy ke zvýšení reaktivity při Diels-Alderově reakci (vyt. derivát **7** – 66 % vyt. derivát **8** – 96 %). Zároveň v tomto případě dochází kvůli přítomnosti methylové skupiny ke vzniku směsi dvou enantiomerů označovaných jako „syn“ a „anti“. Důvodem je vznik dvou nových stereogenních center na uhlících C11 a C15. Anhydrid byl tedy získaný ve formě enantiomerní směsi. Reakce probíhala za refluxu po dobu 48 h. Toluén, jako nepolární rozpouštědlo, stabilizuje tranzitní stav reakce.



**Schéma 9:** Mechanismus Diels-Alderovy reakce při přípravě sloučeniny **8**.

Druhým krokem byla opět přeměna bicyckého anhydridu **8**, připraveného v prvním kroku, na sukcinimid **11**. Byla použita komerčně dostupná látka **9** a jako rozpouštědlo 1,4-dioxan. Reakce probíhala mechanismem  $S_NAc$ . Nejprve došlo k deprotonizaci hydroxylové skupiny  $\beta$ -alaninu pomocí 20% roztoku  $Na_2CO_3$ . Následně v tomto bazickém prostředí proběhnul nukleofilní atak aminoskupiny  $\beta$ -alaninu na karbonylovém uhlíku cyckického anhydridu **8** za vzniku tetraedrického intermediátu **56**, který je nestabilní. Proto poté došlo k eliminaci dobře odstupující skupiny za vzniku amidokarboxylového derivátu **57**. Následoval další nukleofilní atak na karboxylovém uhlíku, na který se nukleofilně adoval amidový dusík za vzniku intermediátu **59**. Následným přeskupením protonu a odštěpením vody došlo ke vzniku soli **61** jejíž acidifikací na pH 0-1 pomocí 1M HCl vznikla příslušná kyselina **11** ve formě enantiomerní směsi **11a** a **11b** (Schéma 10). Methyllová skupina v poloze C9 svým kladným indukčním efektem pravděpodobně znesnadňovala oba nukleofilní ataky při této reakci, a tak bylo nutné prodloužit reakční čas oproti přípravě derivátu **10**. I přes delší reakční čas byla v produktu přítomna výchozí látka **8** (vyt. derivát **10** – 83 %; vyt. derivát **11** – 67 %). Muselo tedy dojít k přečištění produktu pomocí sloupcové chromatografie.

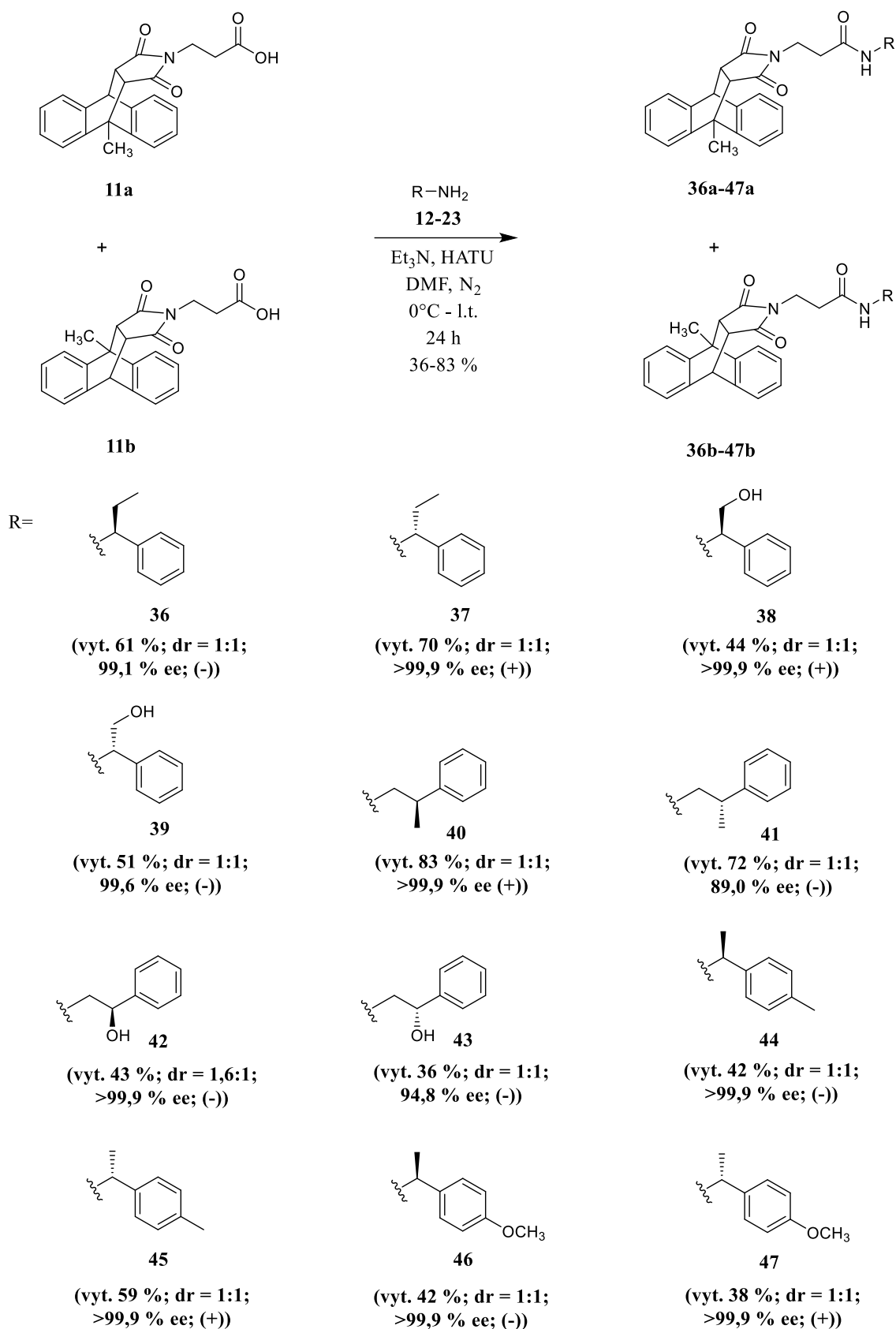




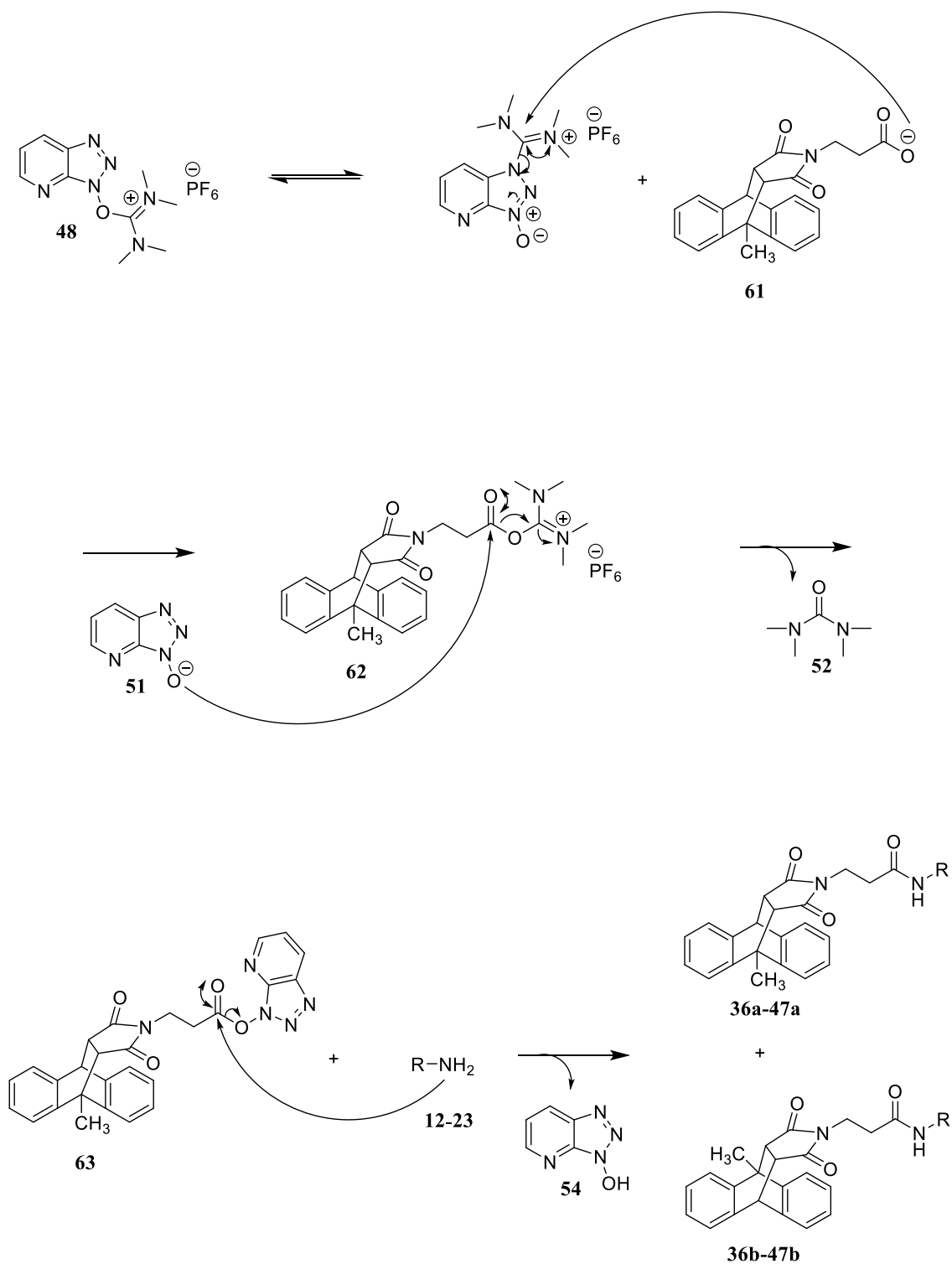
**Schéma 10:** Mechanismus  $\text{S}_{\text{N}}\text{Ac}$  při přípravě sloučeniny 11.

Posledním krokem byla příprava jednotlivých derivátů 36-47 z připravené kyseliny 11 (Schéma 11). Reakce probíhala mechanismem  $\text{S}_{\text{N}}\text{Ac}$  a jako rozpouštědlo byl použit DMF. Nejdříve došlo k vytržení protonu z karboxylové skupiny kyseliny pomocí  $\text{Et}_3\text{N}$ .

Následně reagoval tento karboxylát **61** s HATU (**9**) za vzniku intermediátu **62** a za odštěpení anionu **51**. Tento anion poté atakoval karbonylový uhlík intermediátu **62** za vzniku aktivního esteru **63**. Následně prostřednictvím nukleofilního ataku příslušného chirálního aminu **12-23** na karbonylový uhlík docházelo ke vzniku chirálních derivátů sukcinimidů **36-47** (Schéma 12). Při nukleofilním ataku anionu **51** na intermediát **62** vznikala jako vedlejší produkt také tetramethylmočovina (**52**), která musela být odstraněna pomocí dvou čistících metod – extrakce a sloupcové chromatografie. Výtěžek (vyt.) těchto produktů se pohyboval v rozmezí 36-83 %.



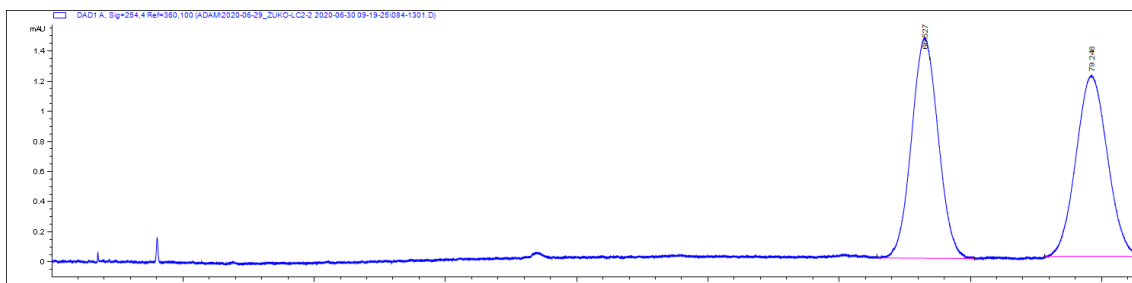
**Schéma 11:** Příprava finálních produktů **36-47**.



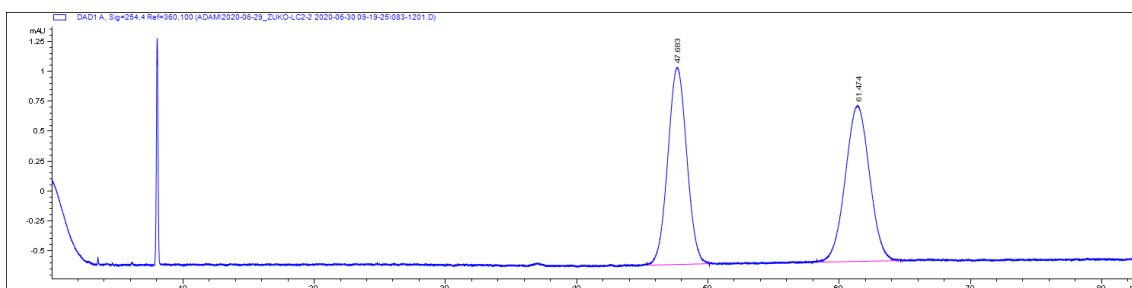
**Schéma 12:** Mechanismus  $S_NAc$  při přípravě sloučenin 36-47.

Vzhledem k tomu, že došlo k navázání chirální sloučeniny (aminu) s pevně daným stereogenním centrem, docházelo v tomto kroku ke vzniku směsi dvou diastereoizomerů. Tyto izomery nebyly separované a sloučeniny byly izolované jako

směs diastereoizomerů (s.d.). Diastereoizomerní poměr (dr) sloučenin **36-47** byl určený až po purifikaci chirální kolonovou chromatografií a téměř ve všech případech byl roven 1:1. (Obrázek 7 a 8). U těchto sloučenin byl zároveň stanoven i ee, který byl  $\geq 89,0\%$ .



**Obrázek 7:** Chromatogram směsi diastereoizomerů u sloučeniny **44**.



**Obrázek 8:** Chromatogram směsi diastereoizomerů u sloučeniny **45**.

Průběh všech reakcí byl sledován pomocí tenkovrstvé chromatografie (TLC). Struktura všech konečných produktů byla stanovena pomocí NMR a MS analýz. Nekalibrovaná HPLC čistota (UV;  $\lambda = 254$  nm) všech konečných produktů byla  $\geq 95\%$ .

Všechny připravené produkty **24-47** budou poskytnuty na biologické *in vitro* testování jako potenciální agonisti TLR2. Bude zkoumán vliv geometrie na stereogenním centru na biologickou aktivitu, a také vliv přítomnosti elektrondonorní methylové skupiny na anthracenovém kruhu na biologickou aktivitu.

## 5 Experimentální část

Veškeré chemikálie a rozpouštědla použité pro syntézu byly dodány firmou Sigma-Aldrich a VWR International (Česká republika). Průběh všech reakcí byl sledován metodou TLC. K této kontrole byly používány destičky Merck Silica gel 60 F<sub>254</sub> (Sigma-Aldrich, Česká republika) (mobilní fáze: heptan/EtOAc 1/1, heptan/EtOAc 1/5, heptan/EtOAc 3/2 a heptan/EtOAc 2/1 s obsahem 1 % AcOH). Detekce probíhala pod UV lampou (CAMAG, VWR International, Česká republika) při vlnové délce 254 nm. Teploty tání produktů byly stanoveny pomocí bodotávku Büchi B-545 (Donau Lab, Česká republika) bez korekce.

<sup>1</sup>H a <sup>13</sup>C NMR spektra všech produktů byla měřena při laboratorní teplotě v deuterovaném dimethylsulfoxidu (DMSO-*d*<sub>6</sub>) a v deuterovaném chloroformu (CDCl<sub>3</sub>-*d*) na FT NMR spektrometru Varian S500 (499,87 MHz pro <sup>1</sup>H a 125,71 MHz pro <sup>13</sup>C) (Varian Comp. Palo Alto, USA) a FT NMR spektrometru Avance NEO 500 MHz (499,87 MHz pro <sup>1</sup>H a 125,71 MHz pro <sup>13</sup>C) (Bruker, Německo). Chemické posuny ( $\delta$ ) protonů v <sup>1</sup>H NMR a uhlíků v <sup>13</sup>C NMR spektrech jsou uváděny v jednotkách ppm. V <sup>1</sup>H NMR spektrech jsou chemické posuny signálů uváděny vzhledem k centrálnímu píku DMSO-*d*<sub>6</sub> ( $\delta = 2,50$  ppm), či k centrálnímu píku CDCl<sub>3</sub>-*d* ( $\delta = 7,26$  ppm) a v <sup>13</sup>C NMR spektrech vzhledem k centrálnímu píku DMSO-*d*<sub>6</sub> ( $\delta = 39,43$  ppm) nebo centrálnímu píku CDCl<sub>3</sub>-*d* ( $\delta = 77,00$  ppm). Interakční konstanty (*J*) jsou uvedeny v Hz. Spinová multiplicita je vyjádřena jako s (singlet), d (dublet), t (triplet), dd (dublet dubletu) nebo m (multiplet). Hmotnostní spektra byla získána pomocí elektrosprejové ionizace (ESI/MS) a selekcí iontu prostřednictvím trojitého quadrupólu na přístroji Agilent 6470. Získaná spektra byla vyhodnocena pomocí programu MassHunter Qualitative Analysis B.07.00 (Agilent Technologies, Santa Clara, USA).

Specifické optické otáčivosti byly změřené při laboratorní teplotě na digitálním polarimetru Krüss P8000 (Fisher Scientific, Česká republika) v 10 cm kyvetě v CHCl<sub>3</sub> a v práci jsou prezentovány jako:  $[\alpha]_D^{26}$  (c 0,05 g/100 ml, CHCl<sub>3</sub>). Enantiomerní čistota a diastereoizomerní poměr byly analyzovány na chromatografickém přístroji Agilent 1260 Series, který byl vybavený kolonou Phenomenex Lux Celulose-2 (250 x 4,6 mm, 5  $\mu$ m, P/N: 00G-4457-E0) a ochrannou kolonou (4 x 3,0 mm, AJ0-8403). Mobilní fáze A (20 mM octan amonný, pH = 4,1) a B (gradient grade CH<sub>3</sub>CN) byla udržovaná při

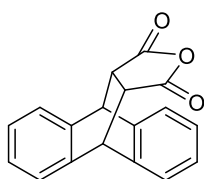
izokratickem poměru 45:55 a průtoků 1 ml/min. Separovaný vzorek byl udržován při teplotě 15 °C a teplota kolony byla 10 °C. Sloučeniny byly detekované pomocí detektoru DAD při vlnové délce 254 a 280 nm. Nekalibrovaná čistota byla vypočítaná jako hodnota složené plochy na celkovou hodnotu plochy.

## 5.1 Syntéza chirálních derivátů z anthracenu

### 5.1.1 Postup přípravy bicyckického anhydridu z anthracenu

Ke směsi anthracenu (**4**) (10,00 g; 56,11 mmol; 1,0 ekv) v toluenu (200 ml) byl přidán maleinanhydrid (**6**) (6,60 g; 67,33 mmol; 1,2 ekv) a tato směs byla refluxována po dobu 72 h. Průběh reakce byl kontrolován pomocí TLC. Následně byla směs ochlazená na l.t, poté na 0 °C a nechala se míchat 0,5 h. Poté byl produkt, který při 0 °C precipitoval, odfiltrován za sníženého tlaku (promyt pomocí EtOAc) a následně rekrystalizován v EtOAc [45].

#### (9,10-dihydroanthracen-9,10-diyl)anhydrid kyseliny jantarové, **7**.



Získaná sloučenina **7** byla izolována jako bílá pevná látka. C<sub>18</sub>H<sub>12</sub>O<sub>3</sub>.

M = 276,29 g.mol<sup>-1</sup>.

Výtěžnost: 10,21 g (66 %)

T<sub>t</sub> = >250,0 °C; lit. 263,0-265,0 °C [47]

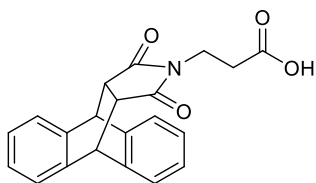
**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** δ 3,64-3,68 (m; 2H), 4,87-4,89 (m; 2H), 7,16-7,21 (m; 4H), 7,34 (dd; *J* = 3,3; 5,4 Hz; 2H), 7,48 (dd; *J* = 3,3; 5,4 Hz; 2H) ppm.

**<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** δ 44,2; 47,8; 124,4; 124,8; 126,4; 127,0; 139,0; 141,0; 171,4 ppm.

### 5.1.2 Postup přípravy sukcinimidu z bicycklického anhydridu

Anhydrid (**7**) (10,00 g; 36,21 mmol; 1,0 ekv) byl rozpuštěn v 1,4-dioxanu (140 ml) a tato směs byla zahřáta na 105 °C. Poté byla směs ochlazená na 60 °C a byl přidán β-alanin (**9**) (4,84 g; 54,31 mmol; 1,5 ekv) v 20% vodném roztoku Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (18 ml). Následně byla směs zahřáta na 91 °C a nechala se míchat po dobu 4 h. Průběh reakce byl kontrolován pomocí TLC. Po 4 h byla směs ochlazená na l.t. a následovala acidifikace na pH 0-1 pomocí 1M HCl. Po acidifikaci došlo k precipitaci bílé krystalické látky, která byla následně odfiltrována přes fritu. Tento sukcinimid byl poté promýván vodou a malým množstvím EtOH. Poté byla provedena rekrystalizace v EtOH, směs byla opět zfiltrována a následně vysušena [48].

#### 2,3-(9,10-dihydroanthracen-9,10-diyl)-N-sukcinimid-propanová kyselina, **10**.



Sloučenina **10** byla získána jako bílá pevná látka.

C<sub>21</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>4</sub>.

M = 347,37 g.mol<sup>-1</sup>.

Výtěžnost: 10,38 g (83 %)

T<sub>i</sub> = 205,0-207,0 °C; lit. 218,0 °C [46]

<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 1,44-1,47 (m; 2H), 3,14-3,17 (m; 2H), 3,23-3,25 (m; 2H), 4,76-4,79 (m; 2H), 7,13-7,17 (m; 4H), 7,24 (dd; *J* = 3,3; 5,2 Hz; 2H), 7,47 (dd; *J* = 3,3; 5,2 Hz; 2H), 12,35 (s; 1H) ppm.

<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 30,8; 33,0; 44,5; 46,2; 124,2; 124,6; 126,2; 126,4; 139,1; 141,6; 171,3; 176,2 ppm.

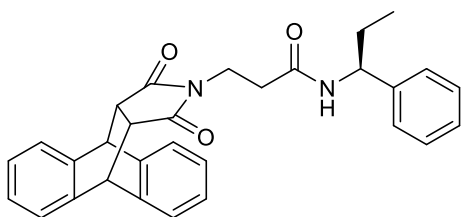
MS (ESI<sup>+</sup>): [M]<sup>+</sup>: vypočítaná hodnota pro C<sub>21</sub>H<sub>18</sub>NO<sub>4</sub><sup>+</sup> (m/z): 348,1; experimentální hodnota: 348,1.



### 5.1.3 Postup přípravy chirálních derivátů sukcinimidu 24-35

Výchozí látka **10** (0,20 g; 0,58 mmol; 1,1 ekv) byla rozpuštěna v DMF (0,8 ml). Tato směs byla ochlazena na 0 °C. Následně byl přidán Et<sub>3</sub>N (0,16 ml; 1,15 mmol; 2,2 ekv), poté příslušný chirální amin **12-13** (0,07 ml; 0,52 mmol; 1,0 ekv), **14-15** (0,072 g; 0,52 mmol; 1,0 ekv), **16-17** (0,08 ml; 0,52 mmol; 1,0 ekv), **18-19** (0,072 g; 0,52 mmol; 1,0 ekv), **20-21** (0,08 ml; 0,52 mmol; 1,0 ekv), **22-23** (0,08 ml; 0,52 mmol; 1,0 ekv) a nakonec HATU (0,32 g; 0,84 mmol; 1,6 ekv). Směs byla míchána 0,5 h při 0 °C a 24 h při l.t. Reakce po celou dobu probíhala v inertní dusíkové atmosféře. Poté byla směs smíchána s 6 ml EtOAc a následovala extrakce s ledovou H<sub>2</sub>O (3 ml), nasyceným vodním roztokem NaHCO<sub>3</sub> (3 ml), ledovou H<sub>2</sub>O (3 ml), 0,5 N HCl (2 ml) a nasyceným vodním roztokem NaCl (3 ml). Po extrakci bylo provedeno vysušení organické fáze pomocí bezvodého Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a směs byla zfiltrována. Po filtraci byl odpařen EtOAc za vakua a následovala sloupcová chromatografie. Jako mobilní fáze byla použita u látek **24-25** a **28-33** směs heptan/EtOAc 1/1, u sloučenin **26-27** heptan/EtOAc 1/5 a u sloučenin **34-35** heptan/EtOAc 3/2. Po ukončení sloupcové chromatografie byla mobilní fáze odpařena a produkt byl vysušen.

#### *N*-(((*S*)-ethylbenzyl)aminopropyl-3-on)-2,3-(9,10-dihydroanthracen-9,10-diyl)sukcinimid, **24**.



Získaná látka **24** byla izolována ve formě bílé pevné látky. C<sub>30</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>.

M = 464,57 g.mol<sup>-1</sup>.

Výtěžnost: 209 mg (86 %)

Tt = 92,0-94,0 °C

[α]<sub>D</sub><sup>26</sup> = -39

>99,9 % ee

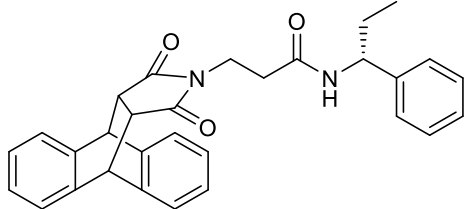
<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 0,77 (t; *J* = 7,3 Hz; 3H), 1,45-1,57 (m; 2H), 1,59-1,65 (m; 2H), 3,08-3,14 (m; 2H), 3,21-3,23 (m; 2H), 4,56-4,61 (m; 1H), 4,77-4,79 (m;

2H), 7,11-7,24 (m; 9H), 7,28-7,31 (m; 2H), 7,46 (dd;  $J = 3,3; 5,4$  Hz; 2H), 8,24 (d;  $J = 8,4$  Hz; 1H) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  10,9; 28,9; 32,5; 34,1; 44,5; 46,2; 53,9; 124,1; 124,5; 126,2; 126,3; 126,4; 126,5; 128,1; 139,0; 141,6; 143,4; 167,9; 176,2 ppm.

MS (ESI<sup>+</sup>): [M]<sup>+</sup>: vypočítaná hodnota pro C<sub>30</sub>H<sub>29</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>+</sup> (m/z): 465,2; experimentální hodnota: 465,3.

***N*-(((*R*)-ethylbenzyl)aminopropyl-3-on)-2,3-(9,10-dihydroanthracen-9,10-diy)l)sukcinimid, 25.**



Sloučenina **25** byla izolována ve formě pevné bílé látky. C<sub>30</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>.

$M = 464,57$  g.mol<sup>-1</sup>.

Výtěžnost: 230 mg (95 %)

$T_f = 136,9-138,9$  °C

$[\alpha]_D^{26} = +21$

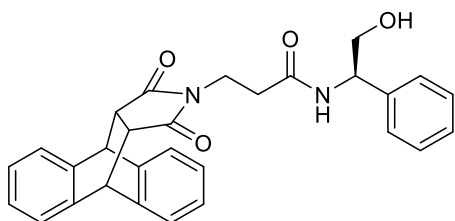
97,7 % ee

$^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  0,77 (t;  $J = 7,3$  Hz; 3H), 1,45-1,57 (m; 2H), 1,59-1,65 (m; 2H), 3,08-3,15 (m; 2H), 3,21-3,23 (m; 2H), 4,56-4,61 (m; 1H), 4,77-4,78 (m; 2H), 7,11-7,24 (m; 9H), 7,28-7,31 (m; 2H), 7,46 (dd;  $J = 3,2; 5,4$  Hz; 2H), 8,24 (d;  $J = 8,4$ ; 1H) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  10,9; 28,9; 32,5; 34,1; 44,5; 46,1; 53,9; 124,1; 124,5; 126,2; 126,3; 126,4; 126,5; 128,1; 138,0; 141,6; 143,4; 167,9; 176,2 ppm.

MS (ESI<sup>+</sup>): [M]<sup>+</sup>: vypočítaná hodnota pro C<sub>30</sub>H<sub>29</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>+</sup> (m/z): 465,2; experimentální hodnota: 465,3.

***N*-(((*R*)-1-hydroxymethyl-1-fenylmethyl)aminopropyl-3-on)-2,3-(9,10-dihydroanthracen-9,10-diyl)sukcinimid, 26.**



Sloučenina **26** byla izolována ve formě bílé pevné látky. C<sub>29</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>.

M = 466,54 g.mol<sup>-1</sup>.

Výtěžnost: 180 mg (74 %)

Tt = 90,0-92,0 °C

[α]<sub>D</sub><sup>26</sup> = +33

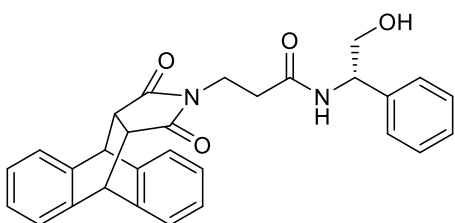
>99,9 % ee

<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 1,48-1,63 (m; 2H), 3,11-3,15 (m; 2H), 3,22-3,24 (m; 2H), 3,49 (t; *J* = 6,1 Hz; 2H), 4,73-4,82 (m; 4H), 7,11-7,31 (m; 11 H), 7,47 (dd; *J* = 3,3; 5,3 Hz; 2H), 8,24 (d; *J* = 8,2 Hz; 1H) ppm.

<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 32,5; 34,1; 44,5; 46,2; 54,9; 64,4; 124,1; 124,5; 126,2; 126,4; 126,7; 126,8; 127,9; 139,0; 141,0; 141,6; 168,2; 176,2 ppm.

MS (ESI<sup>+</sup>): [M]<sup>+</sup>: vypočítaná hodnota pro C<sub>29</sub>H<sub>27</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub><sup>+</sup> (m/z): 467,2; experimentální hodnota: 467,3.

***N*-(((*S*)-1-hydroxymethyl-1-fenylmethyl)aminopropyl-3-on)-2,3-(9,10-dihydroanthracen-9,10-diyl)sukcinimid, 27.**



Látka **27** byla získána ve formě bílé pevné sloučeniny. C<sub>29</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>.

M = 466,54 g.mol<sup>-1</sup>.

Výtěžnost: 177 mg (73 %)

Tt = 83,3-85,3 °C

[α]<sub>D</sub><sup>26</sup> = -46

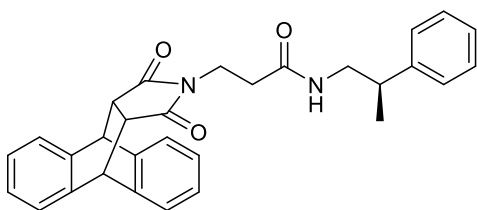
>99,9 % ee

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** δ 1,48-1,63 (m; 2H), 3,11-3,14 (m; 2H), 3,21-3,24 (m; 2H), 3,49 (t; *J* = 6,1 Hz; 2H), 4,74-4,82 (m; 4H), 7,11-7,31 (m; 11H), 7,47 (dd; *J* = 3,2; 5,3 Hz; 2H), 8,23 (d; *J* = 8,2 Hz; 1H) ppm.

**<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** δ 32,5; 34,1; 44,5; 46,2; 54,9; 64,4; 124,1; 124,5; 126,2; 126,4; 126,7; 126,8; 127,9; 139,0; 141,0; 141,6; 168,2; 176,3 ppm.

MS (ESI<sup>+</sup>): [M]<sup>+</sup>: vypočítaná hodnota pro C<sub>29</sub>H<sub>27</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub><sup>+</sup> (m/z): 467,2; experimentální hodnota: 467,2.

***N*-(((*R*)-2-methyl-2-fenylethyl)aminopropyl-3-on)-2,3-(9,10-dihydroanthracen-9,10-diy)l)sukcinimid, 28.**



Sloučenina **28** byla izolována ve formě bílé pevné látky. C<sub>30</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>.

*M* = 464,57 g.mol<sup>-1</sup>.

Výtěžnost: 187 mg (77 %)

Tt = 86,0-88,0 °C

[α]<sub>D</sub><sup>26</sup> = +35

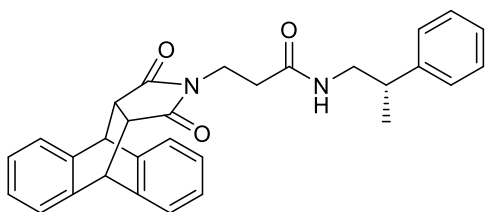
97,2 % ee

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** δ 1,12 (d; *J* = 7,0 Hz; 3H), 1,36-1,39 (m; 2H), 2,78-2,85 (m; 1H), 3,05-3,16 (m; 4H), 3,20-3,22 (m; 2H); 4,76-4,78 (m; 2H), 7,08-7,22 (m; 9H), 7,26-7,30 (m; 2H), 7,46 (dd; *J* = 3,3; 5,3 Hz; 2H), 7,82 (t; *J* = 5,7 Hz; 1H) ppm.

**<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** δ 19,1; 32,5; 34,0; 38,8; 44,5; 45,4; 46,1; 124,1; 124,5; 126,1; 126,2; 126,4; 126,9; 128,1; 139,0; 141,6; 144,6; 168,4; 176,2 ppm.

MS (ESI<sup>+</sup>): [M]<sup>+</sup>: vypočítaná hodnota pro C<sub>30</sub>H<sub>29</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>+</sup> (m/z): 465,2; experimentální hodnota: 465,3.

***N*-(((*S*)-2-methyl-2-fenylethyl)aminopropyl-3-on)-2,3-(9,10-dihydroanthracen-9,10-diyl)sukcinimid, 29.**



Sloučenina **29** byla získána ve formě pevné bílé látky. C<sub>30</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>.

M = 464,57 g.mol<sup>-1</sup>.

Výtěžnost: 223 mg (92 %)

Tt = 117,6-119,6 °C

[α]<sub>D</sub><sup>26</sup> = -25

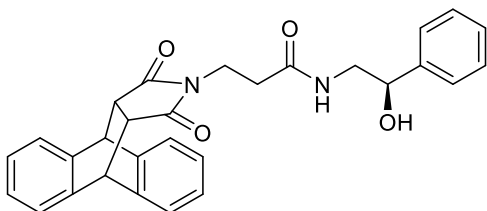
89,8 % ee

<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 1,12 (d; *J* = 7,0 Hz; 3H), 1,36-1,39 (m; 2H), 2,78-2,85 (m; 1H), 3,04-3,15 (m; 4H), 3,20-3,21 (m; 2H), 4,76-4,78 (m; 2H), 7,10-7,22 (m; 9H), 7,26-7,30 (m; 2H), 7,46 (dd; *J* = 3,3; 5,4 Hz; 2H), 7,82 (t; *J* = 5,7 Hz; 1H) ppm.

<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 19,1; 32,5; 34,0; 38,8; 44,5; 45,4; 46,1; 124,1; 124,5; 126,1; 126,2; 126,4; 126,9; 128,1; 139,0; 141,6; 144,6; 168,4; 176,2 ppm.

MS (ESI<sup>+</sup>): [M]<sup>+</sup>: vypočítaná hodnota pro C<sub>30</sub>H<sub>29</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>+</sup> (m/z): 465,2; experimentální hodnota: 465,2.

***N*-(((*R*)-2-hydroxy-2-fenylethyl)aminopropyl-3-on)-2,3-(9,10-dihydroanthracen-9,10-diyl)sukcinimid, 30.**



Sloučenina **30** byla získána ve formě bílé pevné látky. C<sub>29</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>.

M = 466,54 g.mol<sup>-1</sup>

Výtěžnost: 187 mg (77 %)

Tt = 86,0-88,0 °C

[α]<sub>D</sub><sup>26</sup> = -27

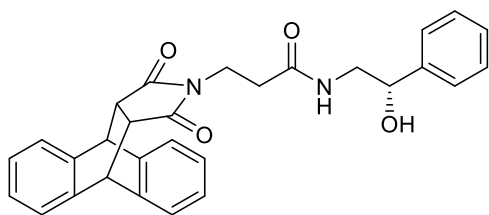
>99,9 % ee

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** δ 1,38-1,48 (m; 2H), 3,00-3,05 (m; 1H), 3,08-3,11 (m; 2H), 3,16-3,21 (m; 1H); 3,22-3,24 (m; 2H), 4,53-4,57 (m; 1H), 4,77-4,78 (m; 2H), 5,39 (d; *J* = 4,4 Hz; 1H), 7,12-7,17 (m; 4H), 7,22-7,25 (m; 3H), 7,28-7,33 (m; 4H), 7,47 (dd; *J* = 3,3; 5,4 Hz; 2H), 7,89 (t; *J* = 5,7 Hz; 1H) ppm.

**<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** δ 32,3; 34,0; 44,5; 46,2; 46,7; 71,0; 124,1; 124,5; 125,8; 126,2; 126,4; 126,9; 127,9; 139,0; 141,6; 143,5; 168,7; 176,2 ppm.

MS (ESI<sup>+</sup>): [M]<sup>+</sup>: vypočítaná hodnota pro C<sub>29</sub>H<sub>27</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub><sup>+</sup> (m/z): 467,2; experimentální hodnota: 467,3.

***N*-(((*S*)-2-hydroxy-2-fenylethyl)aminopropyl-3-on)-2,3-(9,10-dihydroanthracen-9,10-diyl)sukcinimid, 31.**



Připravená látka **31** byla získána jako bílá pevná sloučenina. C<sub>29</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>.

M = 466,54 g.mol<sup>-1</sup>

Výtěžnost: 188 mg (77 %)

Tt = 80,0-82,0 °C

[α]<sub>D</sub><sup>26</sup> = +63

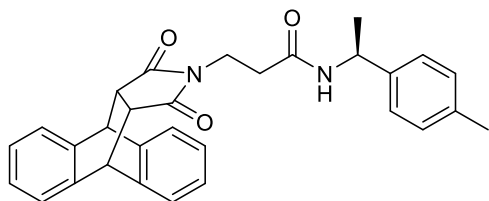
94,9 % ee

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** δ 1,39-1,48 (m; 2H), 3,0-3,05 (m; 1H), 3,08-3,11 (m; 2H), 3,16-3,20 (m; 1H), 3,22-3,23 (m; 2H), 4,53-4,57 (m; 1H), 4,77-4,78 (m; 2H), 5,39 (d; *J* = 4,4 Hz; 1H), 7,12-7,17 (m; 4H), 7,22-7,25 (m; 3H), 7,28-7,33 (m; 4H), 7,47 (dd; *J* = 3,2; 5,4 Hz; 2H), 7,89 (t; *J* = 5,7 Hz; 1H) ppm.

**<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** δ 32,3; 34,0; 44,5; 46,2; 46,7; 71,0; 124,1; 124,5; 125,8; 126,2; 126,4; 127,9; 139,0; 141,6; 143,5; 168,7; 176,2; 176,3 ppm.

MS (ESI<sup>+</sup>): [M]<sup>+</sup>: vypočítaná hodnota pro C<sub>29</sub>H<sub>27</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub><sup>+</sup> (m/z): 467,2; experimentální hodnota: 467,3.

***N*-(((*S*)-1-methyl-1-(4-methyl)fenylmethyl)aminopropyl-3-on)-2,3-(9,10-dihydroanthracen-9,10-diyl)sukcinimid, 32.**



Získaná látka **32** byla izolována jako pevná bílá sloučenina. C<sub>30</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>.

M = 464,57 g.mol<sup>-1</sup>

Výtěžnost: 208 mg (86 %)

Tt = 168,2-170,2 °C

[α]<sub>D</sub><sup>26</sup> = -45

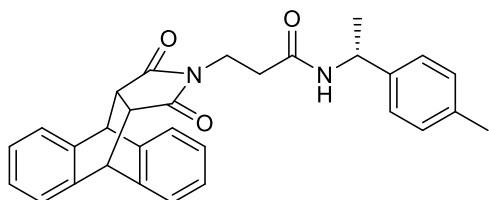
98,9 % ee

<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 1,26 (d; *J* = 7,0 Hz; 3H), 1,44-1,55 (m; 2H), 2,25 (s; 3H), 3,09-3,13 (m; 2H), 3,21-3,22 (m; 2H), 4,75-4,81 (m; 3H), 7,08-7,18 (m; 8H), 7,22-7,24 (m; 2H), 7,46 (dd; *J* = 3,2; 5,4 Hz; 2H), 8,24 (d; *J* = 8,1 Hz; 1H) ppm.

<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 20,5; 22,1; 32,5; 34,1; 44,5; 46,2; 47,3; 124,1; 124,5; 125,8; 126,2; 126,4; 128,6; 135,5; 139,0; 141,4; 141,6; 167,5; 176,2 ppm.

MS (ESI<sup>+</sup>): [M]<sup>+</sup>: vypočítaná hodnota pro C<sub>30</sub>H<sub>29</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>+</sup> (m/z): 465,2; experimentální hodnota: 465,3.

***N*-(((*R*)-1-methyl-1-(4-methyl)fenylmethyl)aminopropyl-3-on)-2,3-(9,10-dihydroanthracen-9,10-diyl)sukcinimid, 33.**



Získaná látka **33** byla izolována jako pevná bílá sloučenina. C<sub>30</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>.

M = 464,57 g.mol<sup>-1</sup>

Výtěžnost: 230 mg (95 %)

Tt = 178,9-180,9 °C

[α]<sub>D</sub><sup>26</sup> = +35

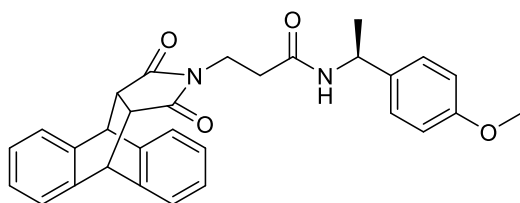
98,7 % ee

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** δ 1,26 (d; *J* = 7,0; 3H), 1,46-1,55 (m; 2H), 2,25 (s; 3H), 3,10-3,13 (m; 2H), 3,20-3,23 (m; 2H), 4,76-4,81 (m; 3H), 7,09-7,17 (m; 8H), 7,21-7,25 (m; 2H), 7,46 (dd; *J* = 3,2; 5,4 Hz; 2H), 8,24 (d; *J* = 8,1 Hz; 1H) ppm.

**<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** δ 20,5; 22,1; 32,5; 34,1; 44,5; 46,2; 47,3; 124,1; 124,5; 125,8; 126,2; 126,4; 128,6; 135,5; 139,0; 141,4; 141,6; 167,5; 176,2 ppm.

MS (ESI<sup>+</sup>): [M]<sup>+</sup>: vypočítaná hodnota pro C<sub>30</sub>H<sub>29</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>+</sup> (m/z): 465,2; experimentální hodnota: 465,3.

***N*-(((*S*)-1-methyl-1-(4-methoxy)fenylmethyl)aminopropyl-3-on)-2,3-(9,10-dihydroanthracen-9,10-diyl)sukcinimid, 34.**



Získaná látka **34** byla izolována jako bílá pevná látka. C<sub>30</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>.

M = 480,56 g.mol<sup>-1</sup>

Výtěžnost = 223 mg (89 %)

Tt = 116,0-118,0 °C

[α]<sub>D</sub><sup>26</sup> = -41

>99,9 % ee

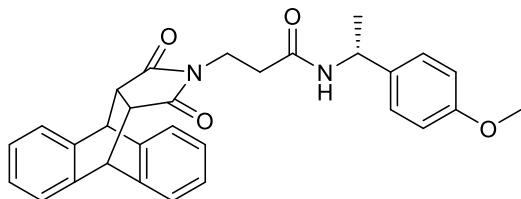
**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** δ 1,27 (d; *J* = 7,0 Hz; 3H), 1,44-1,54 (m; 2H), 3,10-3,14 (m; 2H), 3,22-3,23 (m; 2H), 3,34-3,35 (m; 1H), 3,72 (s; 3H), 4,77-4,80 (m; 2H); 6,83-6,89 (m; 2H), 7,13-7,18 (m; 6H), 7,22-7,25 (m; 2H), 7,47 (dd; *J* = 3,3; 5,4 Hz; 2H), 8,23 (d; *J* = 8,1 Hz; 1H) ppm.

**<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** δ 22,7; 33,0; 34,7; 45,1; 46,7; 47,5; 55,5; 114,0; 124,7; 125,1; 126,8; 127,0; 127,6; 137,0; 139,6; 142,2; 158,5; 168,0; 176,8 ppm.

MS (ESI<sup>+</sup>): [M]<sup>+</sup>: vypočítaná hodnota pro C<sub>30</sub>H<sub>29</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub><sup>+</sup> (m/z): 481,2; experimentální hodnota: 481,3.



***N*-(((*R*)-1-methyl-1-(4-methoxy)fenylmethyl)aminopropyl-3-on)-2,3-(9,10-dihydroanthracen-9,10-diyl)sukcinimid, 35.**



Získaná látka **35** byla izolována jako pevná bílá sloučenina. C<sub>30</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>.

M = 480,56 g.mol<sup>-1</sup>

Výtěžnost = 152 mg (61 %)

Tt = 123,0-125,0 °C

[α]<sub>D</sub><sup>26</sup> = +90

>99,9 % ee

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** δ 1,27 (d; *J* = 7,0 Hz; 3H), 1,44-1,54 (m; 2H), 3,10-3,13 (m; 2H), 3,22-3,23 (m; 2H), 3,34-3,35 (m; 1H), 3,72 (s; 3H), 4,77-4,80 (m; 2H), 6,85-6,87 (m; 2H), 7,13-7,18 (m; 6H), 7,22-7,24 (m; 2H), 7,47 (dd; *J* = 3,3; 5,3 Hz; 2H), 8,23 (d; *J* = 8,1 Hz; 1H) ppm.

**<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** δ 22,7; 33,0; 34,7; 45,1; 46,7; 47,5; 55,5; 114,0; 124,7; 125,1; 126,8; 127,0; 127,6; 137,0; 139,6; 142,2; 158,5; 168,0; 176,8 ppm.

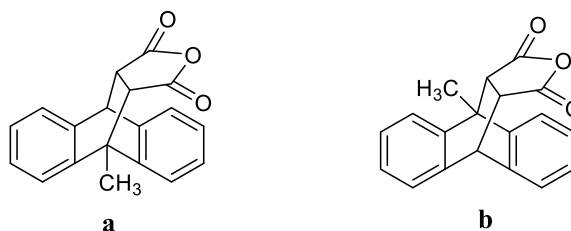
MS (ESI<sup>+</sup>): [M]<sup>+</sup>: vypočítaná hodnota pro C<sub>30</sub>H<sub>29</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub><sup>+</sup> (m/z): 481,2; experimentální hodnota: 481,2.

## 5.2 Syntéza chirálních derivátů z 9-methylantracenu

### 5.2.1 Postup přípravy bicyklického anhydridu z 9-methylantracenu

Ke směsi 9-methylantracenu (**5**) (9,00 g; 46,81 mmol; 1,0 ekv) v toluenu (170 ml) byl přidán maleinanhydrid (**6**) (5,50 g; 56,17 mmol; 1,2 ekv) a směs byla refluxována po dobu 48 h. Následně byla směs ochlazená na l.t. a poté se nechala míchat 0,5 h při 0 °C. Následovala filtrace za sníženého tlaku a vysušení pevného produktu.

**((11*S*,15*S*)-9-methyl-9,10-dihydroanthracen-9,10-diyl)anhydrid kyseliny jantarové, **8a**; ((11*R*,15*R*)-9-methyl-9,10-dihydroanthracen-9,10-diyl)anhydrid kyseliny jantarové, **8b**.**



Sloučenina **8** byla získána jako hnědá pevná látka ve formě enantiomerní směsi (**8a** a **8b**). C<sub>19</sub>H<sub>14</sub>O<sub>3</sub>.

M = 290,32 g.mol<sup>-1</sup>.

Výtěžnost: 13,04 g (96 %)

T<sub>i</sub> = 265,8-267,8 °C

[α]<sub>D</sub><sup>26</sup> = +8

5,8 % ee

<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>-*d*): δ 2,29 (s; 3H), 3,15 (d; *J* = 9,2 Hz; 1H), 3,58 (dd; *J* = 3,5; 9,2 Hz; 1H), 4,80 (d; *J* = 3,5 Hz; 1H), 7,19-7,26 (m; 4H), 7,33-7,35 (m; 2H), 7,38-7,41 (m; 2H) ppm.

<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>-*d*): δ 15,0; 45,0; 45,3; 49,4; 51,8; 122,1; 122,4; 124,0; 125,1; 127,0; 126,9; 127,5; 127,6; 138,2; 140,6; 141,2; 143,6; 169,4; 170,5 ppm.

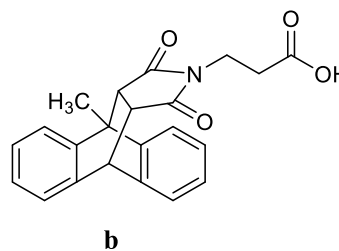
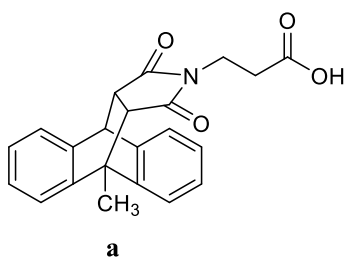
### 5.2.2 Postup přípravy sukcinimidu z bicyckického anhydridu

Anhydrid (**8**) (4,00 g; 13,78 mmol; 1,0 ekv) byl rozpuštěn v 1,4-dioxanu (61 ml) a tato směs byla zahřáta na 105 °C. Poté byla směs ochlazena na 60 °C a byl přidán β-alanin (**9**) (1,84 g; 20,67 mmol; 1,5 ekv) v 20% vodném roztoku Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (8 ml). Následně byla směs zahřáta na 91 °C a nechala se míchat 24 h. Poté následovalo ochlazení na l.t. a přidání 60 ml H<sub>2</sub>O. Následně byla provedena acidifikace pomocí 1 M HCl na hodnotu pH 0-1. Bílá pevná látka, která vznikla acidifikací byla odfiltrována za

sníženého tlaku a promyta H<sub>2</sub>O a trochou EtOH. Poté byla tato látka smíchána s heptanem (160 ml) a směs se nechala refluxovat 40 min. Dalším krokem byla filtrace za horka za sníženého tlaku (promýváno horkým heptanem). Následovala sloupcová chromatografie. Jako mobilní fáze byla použita směs heptan/EtOAc 2/1 + 1% AcOH. Po ukončení sloupcové chromatografie byla mobilní fáze odpařena a produkt byl vysušen. Produkt byl izolován ve formě enantiomerní směsi.

**2,3-((11*S*,15*S*)-9-methyl-9,10-dihydroanthracen-9,10-diyl)-*N*-sukcinimid-propanová kyselina; 11a,**

**2,3-((11*R*,15*R*)-9-methyl-9,10-dihydroanthracen-9,10-diyl)-*N*-sukcinimid-propanová kyselina; 11b.**



Sloučenina **11** byla získána jako bílá pevná látka ve formě enantiomerní směsi. C<sub>22</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>4</sub>.

M = 361,40 g.mol<sup>-1</sup>.

Výtěžnost: 3,32 g (67 %)

T<sub>i</sub> = 198,2-200,2 °C

[α]<sub>D</sub><sup>26</sup> = -3

0,8 % ee

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>-*d*):** δ 1,66-1,77 (m; 2H), 2,28 (s; 3H), 2,83 (d; *J* = 8,3 Hz; 1H), 3,26 (dd; *J* = 3,4; 8,3 Hz; 1H), 3,37-3,40 (m; 2H), 4,77 (d; *J* = 3,4 Hz; 1H), 7,14-7,23 (m; 4H), 7,27-7,29 (m; 2H), 7,38-7,41 (m; 2H) ppm.

**<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>-*d*):** δ 15,2; 30,7; 33,1; 54,0; 45,5; 48,2; 50,4; 122,1; 122,2; 123,8; 125,0; 126,6; 126,8; 126,9; 138,7; 141,1; 141,6; 144,3; 175,6; 175,8; 176,4 ppm.

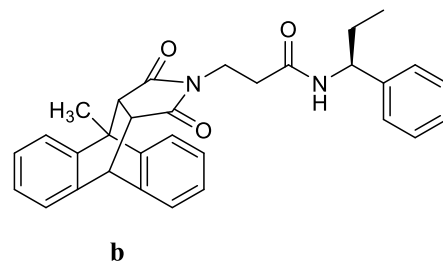
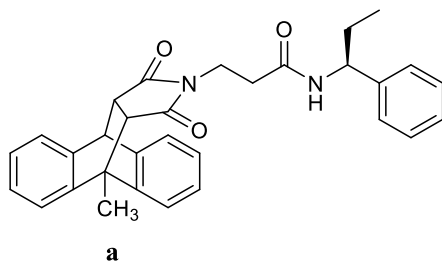
MS (ESI<sup>+</sup>): [M]<sup>+</sup>: vypočítaná hodnota pro C<sub>22</sub>H<sub>20</sub>NO<sub>4</sub><sup>+</sup> (m/z): 362,1; experimentální hodnota: 362,2.

### 5.2.3 Postup přípravy chirálních derivátů sukcinimidu 36-47

Výchozí látka **11** (0,15 g; 0,42 mmol; 1,1 ekv) byla rozpuštěna v DMF (0,6 ml). Tato směs byla ochlazena na 0 °C. Následně byl přidán Et<sub>3</sub>N (0,12 ml; 0,83 mmol; 2,2 ekv), poté příslušný chirální amin **12-13** (0,05 ml; 0,38 mmol; 1,0 ekv), **14-15** a **18-19** (137 mg; 0,38 mmol; 1,0 ekv), **16-17** (0,06 ml; 0,38 mmol; 1,0 ekv), **20-23** (0,06 ml; 0,38 mmol; 1,0 ekv) a nakonec HATU (0,23 g; 0,60 mmol; 1,6 ekv). Směs byla míchána 0,5 h při 0 °C a poté 24 h při l.t. Následně byl přidán EtOAc (6 ml) a byla provedena extrakce s ledovou H<sub>2</sub>O (3 ml), nasyceným vodním roztokem NaHCO<sub>3</sub> (3 ml), ledovou H<sub>2</sub>O (3 ml), 0,5 N HCl (2 ml) a nakonec nasyceným vodním roztokem NaCl (3 ml). Poté byla organická fáze vysušena pomocí bezvodého Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, byla provedena filtrace a EtOAc byl odpařen. Následovala sloupcová chromatografie. Jako mobilní fáze byla použita u sloučenin **36, 37, 40, 41, 44, 45** heptan/EtOAc 1/1, u sloučenin **38, 39, 42, 43** heptan/EtOAc 1/5 a u sloučenin **46, 47** heptan/EtOAc 2/3. Po ukončení sloupcové chromatografie byla odpařena mobilní fáze a produkt byl vysušen. Všechny produkty byly získány ve formě s.d.

*N*-(((*S*)-ethylbenzyl)aminopropyl-3-on)-2,3-((11*S*,15*S*)-9-methyl-9,10-dihydroanthracen-9,10-diyl)sukcinimid, **36a**;

*N*-(((*S*)-ethylbenzyl)aminopropyl-3-on)-2,3-((11*R*,15*R*)-9-methyl-9,10-dihydroanthracen-9,10-diyl)sukcinimid, **36b**.



Sloučenina **36** byla získána jako bílá pevná látka ve formě s.d. C<sub>31</sub>H<sub>30</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>.

$M = 478,59 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ .

Výtěžnost: 111 mg (61 %)

$T_f = 163,0\text{-}165,0 \text{ }^\circ\text{C}$

$[\alpha]_D^{26} = -26$

99,1 % ee

dr = 1:1

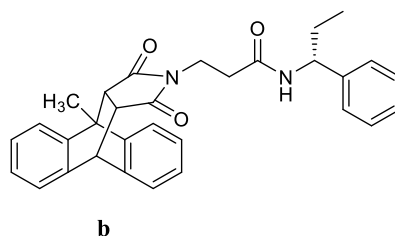
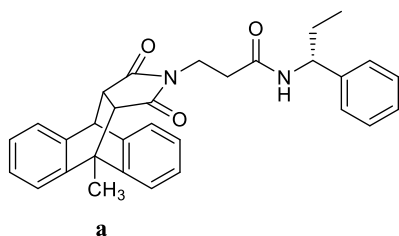
**$^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3\text{-}d$ ):**  $\delta$  0,85 (t;  $J = 7,4 \text{ Hz}$ ; 3H), 1,51-1,65 (m; 2H), 1,75-1,86 (m; 2H), 2,26 (2 x s; 3H; s.d.), 2,79 (dd;  $J = 5,0; 8,3 \text{ Hz}$ ; 1H), 3,20-3,23 (m; 1H), 3,36-3,39 (m; 2H), 4,73-4,75 (m; 1H), 4,77-4,81 (m; 1H), 5,73-5,77 (m; 1H), 7,07-7,15 (m; 2H), 7,17-7,28 (m; 7H), 7,34-7,40 (m; 4H) ppm.

**$^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz,  $\text{CDCl}_3\text{-}d$ ):**  $\delta$  15,2; 28,9; 29,0; 33,8; 34,2; 45,0; 45,5; 48,2; 48,2; 50,3; 50,3; 54,9; 122,0; 122,2; 123,8; 125,0; 126,6; 126,8; 127,4; 128,6; 138,8; 138,8; 141,2; 141,5; 141,8; 144,2; 168,4; 168,5; 175,8; 175,9; 176,5; 176,5 ppm.

MS (ESI<sup>+</sup>):  $[\text{M}]^+$ : vypočítaná hodnota pro  $\text{C}_{31}\text{H}_{31}\text{N}_2\text{O}_3^+$  (m/z): 479,2; experimentální hodnota: 479,3.

***N*-(((*R*)-ethylbenzyl)aminopropyl-3-on)-2,3-((11*S*,15*S*)-9-methyl-9,10-dihydroanthracen-9,10-diyl)sukcinimid, 37a.**

***N*-(((*R*)-ethylbenzyl)aminopropyl-3-on)-2,3-((11*R*,15*R*)-9-methyl-9,10-dihydroanthracen-9,10-diyl)sukcinimid, 37b.**



Sloučenina **37** byla izolována jako bílá pevná látka ve formě s.d.  $\text{C}_{31}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_3$ .

$M = 478,59 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ .

Výtěžnost: 127 mg (70 %)

$T_f = 161,9-163,9 \text{ } ^\circ\text{C}$

$[\alpha]_D^{26} = +32$

>99,9 % ee

dr = 1:1

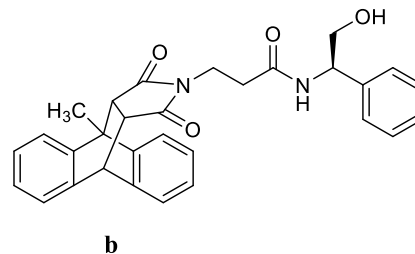
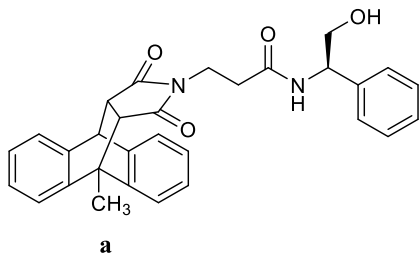
**$^1\text{H NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ -*d*):**  $\delta$  0,85 (t;  $J = 7,4$  Hz; 3H), 1,53-1,63 (m; 2H), 1,75-1,86 (m; 2H), 2,26 (2 x s; 3H; s.d.), 2,79 (dd;  $J = 4,9; 8,3$  Hz; 1H); 3,20-3,23 (m; 1H), 3,36-3,39 (m; 2H), 4,74-4,75 (m; 1H), 4,77-4,81 (m; 1H), 5,74-5,78 (m; 1H), 7,08-7,15 (m; 2H), 7,17-7,28 (m; 7H), 7,34-7,40 (m; 4H) ppm.

**$^{13}\text{C NMR}$  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ -*d*):**  $\delta$  15,2; 28,9; 28,9; 33,8; 34,2; 45,0; 45,5; 48,2; 48,2; 50,3; 50,3; 54,9; 122,0; 122,2; 123,8; 125,0; 126,6; 126,8; 126,8; 127,4; 128,6; 138,8; 138,8; 141,2; 141,5; 141,8; 144,2; 168,4; 168,5; 175,8; 175,9; 176,5; 176,5 ppm.

MS (ESI<sup>+</sup>):  $[\text{M}]^+$ : vypočítaná hodnota pro  $\text{C}_{31}\text{H}_{31}\text{N}_2\text{O}_4^+$  (m/z): 479,2; experimentální hodnota: 479,3.

***N*-(((*R*)-1-hydroxymethyl-1-fenylmethyl)aminopropyl-3-on)-2,3-((11*S*,15*S*)-9-methyl-9,10-dihydroanthracen-9,10-diyl)sukcinimid, 38a.**

***N*-(((*R*)-1-hydroxymethyl-1-fenylmethyl)aminopropyl-3-on)-2,3-((11*R*,15*R*)-9-methyl-9,10-dihydroanthracen-9,10-diyl)sukcinimid, 38b.**



Sloučenina **38** byla získána ve formě bílé pevné látky jako s.d.  $\text{C}_{30}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_4$ .

$M = 480,56 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ .

Výtěžnost: 80 mg (44 %)

$T_i = 86,1-88,1 \text{ } ^\circ\text{C}$

$[\alpha]_D^{26} = +2$

$>99,9 \text{ } \%$  ee

dr = 1:1

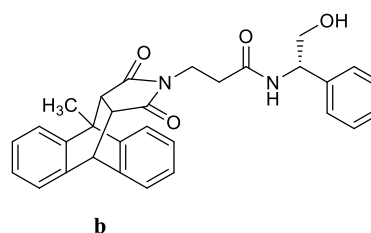
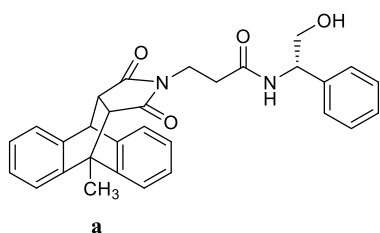
**$^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ -*d*):**  $\delta$  1,56-1,76 (m; 2H), 2,26 (2 x s; 3H, s.d.), 2,82 (d;  $J = 8,3 \text{ Hz}$ ; 1H), 3,23-3,26 (m; 1H), 3,39-3,42 (m; 2H), 3,83-3,91 (m; 2H), 4,74-4,76 (m; 1H), 4,97-5,01 (m; 1H), 6,12-6,19 (m; 1H), 7,05-7,40 (m; 13H) ppm.

**$^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ -*d*):**  $\delta$  15,2; 34,0; 34,2; 34,3; 45,0; 45,5; 45,6; 48,2; 48,3; 50,4; 50,4; 55,8; 55,9; 66,1; 66,3; 122,1; 122,2; 122,3; 123,8; 125,0; 125,0; 126,6; 126,6; 126,7; 126,8; 126,9; 128,0; 128,9; 138,7; 138,8; 138,9; 138,9; 141,3; 141,3; 141,5; 141,6; 144,2; 144,2; 170,0 170,0; 175,8; 176,1; 176,5; 176,8 ppm.

MS (ESI<sup>+</sup>):  $[\text{M}]^+$ : vypočítaná hodnota pro  $\text{C}_{30}\text{H}_{29}\text{N}_2\text{O}_4^+$  (m/z): 481,2; experimentální hodnota: 481,3.

***N*-(((*S*)-1-hydroxymethyl-1-fenylmethyl)aminopropyl-3-on)-2,3-((11*S*,15*S*)-9-methyl-9,10-dihydroanthracen-9,10-diyl)sukcinimid, 39a.**

***N*-(((*S*)-1-hydroxymethyl-1-fenylmethyl)aminopropyl-3-on)-2,3-((11*R*,15*R*)-9-methyl-9,10-dihydroanthracen-9,10-diyl)sukcinimid, 39b.**



Sloučenina **39** byla získána jako bílý olej ve formě s.d.  $\text{C}_{30}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_4$ .

$M = 480,56 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ .

Výtěžnost: 93 mg (51 %)

$[\alpha]_D^{26} = -16$

99,6 % ee

dr = 1:1

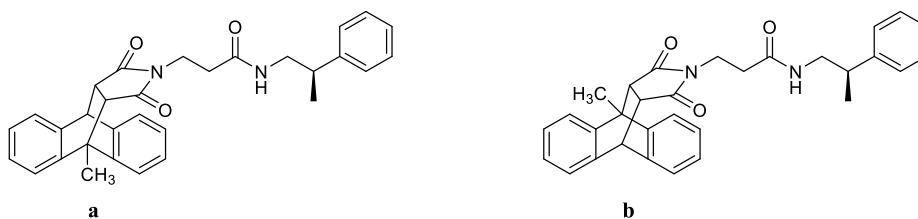
**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>-d):** δ 1,59-1,76 (m; 2H), 2,26 (2 x s; 3H), 2,81-2,83 (m; 1H), 3,22-3,24 (m; 1H), 3,36-3,40 (m; 2H), 3,79-3,87 (m; 2H), 4,74-4,75 (m; 1H), 4,96-5,0 (m; 1H), 6,35-6,40 (m; 1H), 7,06-7,39 (m; 13H) ppm.

**<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>-d):** δ 15,3; 33,9; 34,0; 34,4; 34,4; 45,1; 45,6; 45,6; 48,3; 48,3; 50,4; 55,7; 55,8; 65,9; 65,9; 66,1; 122,1; 122,2; 122,3; 123,9; 125,0; 125,1; 126,7; 126,7; 126,9; 126,9; 127,9; 128,8; 138,9; 138,3; 139,0; 139,0; 141,4; 141,6; 141,6; 144,3; 170,0; 170,0; 175,9; 176,1; 176,6; 176,9 ppm.

MS (ESI<sup>+</sup>): [M]<sup>+</sup>: vypočítaná hodnota pro C<sub>21</sub>H<sub>18</sub>NO<sub>4</sub><sup>+</sup> (m/z): 481,2; experimentální hodnota: 481,4.

***N*-(((*R*)-2-methyl-2-fenylethyl)aminopropyl-3-on)-2,3-((11*S*,15*S*)-9-methyl-9,10-dihydroanthracen-9,10-diyl)sukcinimid, 40a.**

***N*-(((*R*)-2-methyl-2-fenylethyl)aminopropyl-3-on)-2,3-((11*R*,15*R*)-9-methyl-9,10-dihydroanthracen-9,10-diyl)sukcinimid, 40b.**



Získaná sloučenina **40** byla izolována jako bíá pevná látka ve fomrě s.d. C<sub>31</sub>H<sub>30</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. M = 478,59 g.mol<sup>-1</sup>.

Výtěžnost: 151 mg (83 %)

T<sub>i</sub> = 61,6-63,6 °C

[α]<sub>D</sub><sup>26</sup> = +28

>99,9 % ee



dr = 1:1

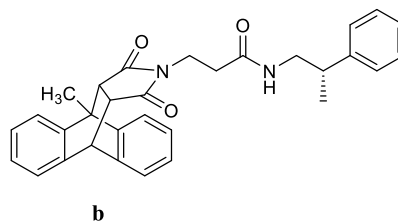
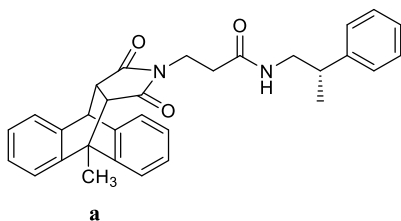
**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>-d):** δ 1,25 (d; *J* = 7,0 Hz; 3H), 1,32-1,46 (m; 2H), 2,26 (2 x s; 3H; s.d.), 2,78 (d; *J* = 8,2 Hz; 1H), 2,85-2,93 (m; 1H), 3,12-3,22 (m; 2H), 3,30-3,33 (m; 2H), 3,51-3,57 (m; 1H), 4,72-4,74 (m; 1H), 5,15-5,19 (m; 1H), 6,98-7,07 (m; 2H), 7,16-7,27 (m; 7H), 7,34-7,39 (m; 4H) ppm.

**<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>-d):** δ 15,3; 19,4; 33,5; 34,2; 40,0; 45,1; 45,6; 45,9; 48,2; 50,3; 122,1; 122,3; 123,9; 125,0; 126,5; 126,7; 126,7; 126,8; 127,2; 128,8; 139,0; 141,4; 141,6; 144,0; 144,3; 169,2; 175,8; 176,5 ppm.

MS (ESI<sup>+</sup>): [M]<sup>+</sup>: vypočítaná hodnota pro C<sub>31</sub>H<sub>31</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>+</sup> (m/z): 479,2; experimentální hodnota: 479,4.

***N*-(((*S*)-2-methyl-2-fenylethyl)aminopropyl-3-on)-2,3-((11*S*,15*S*)-9-methyl-9,10-dihydroanthracen-9,10-diyl)sukcinimid, 41a.**

***N*-(((*S*)-2-methyl-2-fenylethyl)aminopropyl-3-on)-2,3-((11*R*,15*R*)-9-methyl-9,10-dihydroanthracen-9,10-diyl)sukcinimid, 41b.**



Sloučenina **41** byla získána jako bílá pevná látka ve formě s.d. C<sub>31</sub>H<sub>30</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>.

M = 478,59 g.mol<sup>-1</sup>.

Výtěžnost: 131 mg (72 %)

T<sub>i</sub> = 181,0-183,0 °C

[α]<sub>D</sub><sup>26</sup> = -36

89,0 % ee

dr = 1:1

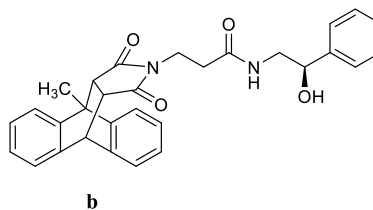
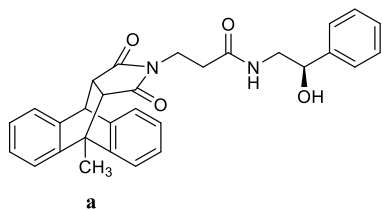
**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>-d):** δ 1,25 (d; *J* = 7,0 Hz; 3H), 1,33-1,45 (m; 2H), 2,26 (2 x s; 3H; s.d.), 2,78 (d; *J* = 8,0 Hz; 1H), 2,85-2,93 (m; 1H), 3,12-3,22 (m; 2H), 3,30-3,33 (m; 2H), 3,51-3,57 (m; 1H), 4,73-4,74 (m; 1H), 5,14-5,18 (m; 1H), 6,98-7,07 (m; 2H), 7,18-7,26 (m; 7H), 7,34-7,39 (m; 4H) ppm.

**<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>-d):** δ 15,3; 19,4; 33,5; 34,2; 39,7; 45,1; 45,6; 45,9; 48,2; 50,3; 122,1; 122,3; 123,9; 125,0; 126,5; 126,7; 126,7; 126,8; 127,2; 128,8; 139,0; 141,4; 141,6; 144,0; 144,3; 169,2; 175,8; 176,5 ppm.

MS (ESI<sup>+</sup>): [M]<sup>+</sup>: vypočítaná hodnota pro C<sub>31</sub>H<sub>31</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>+</sup> (m/z): 479,2; experimentální hodnota: 479,4.

***N*-(((*R*)-2-hydroxy-2-fenylethyl)aminopropyl-3-on)-2,3-((11*S*,15*S*)-9-methyl-9,10-dihydroanthracen-9,10-diyl)sukcinimid, 42a.**

***N*-(((*R*)-2-hydroxy-2-fenylethyl)aminopropyl-3-on)-2,3-((11*R*,15*R*)-9-methyl-9,10-dihydroanthracen-9,10-diyl)sukcinimid, 42b.**



Sloučenina **42** byla získána jako bílá bílý olej ve formě s.d. C<sub>30</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>.

M = 480,56 g.mol<sup>-1</sup>.

Výtěžnost: 79 mg (43 %)

[α]<sub>D</sub><sup>26</sup> = -42

>99,9 % ee

dr = 1,6:1

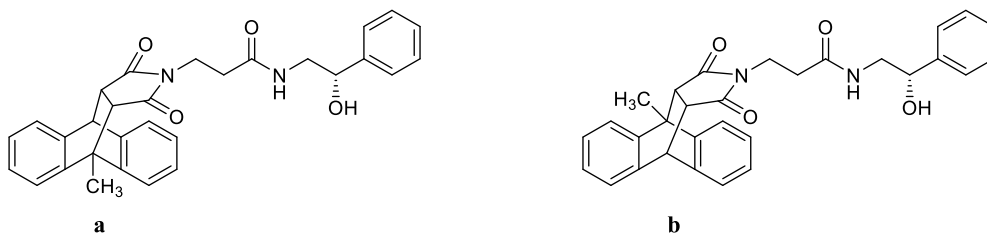
**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>-d):** δ 1,52-1,66 (m; 2H), 2,27 (2 x s; 3H; s.d.), 2,83 (d; *J* = 8,3 Hz; 1H), 3,20-3,27 (m; 2H), 3,31-3,44 (m; 2H), 3,58-3,64 (m; 1H), 4,74-4,77 (m; 1H), 4,80-4,85 (m; 1H), 5,86-5,90 (m; 1H), 7,10-7,40 (m; 13H) ppm.

**<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>-d):** δ 14,2; 15,3; 21,1; 33,7; 33,8; 34,3; 34,3; 45,1; 45,6; 47,5; 47,5; 48,3; 48,3; 50,4; 60,4; 73,3; 73,4; 122,1; 122,3; 122,3; 123,9; 125,0; 125,8; 126,6; 126,7; 126,8; 126,9; 127,9; 128,6; 139,0; 141,4; 141,4; 141,6; 141,7; 144,3; 170,7; 170,8; 175,8; 176,0; 176,6; 176,8 ppm.

MS (ESI<sup>+</sup>): [M]<sup>+</sup>: vypočítaná hodnota pro C<sub>30</sub>H<sub>29</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub><sup>+</sup> (m/z): 481,2; experimentální hodnota: 481,3.

***N*-(((*S*)-2-hydroxy-2-fenylethyl)aminopropyl-3-on)-2,3-(((1*S*,15*S*)-9-methyl-9,10-dihydroanthracen-9,10-diyl)sukcinimid, 43a.**

***N*-(((*S*)-2-hydroxy-2-fenylethyl)aminopropyl-3-on)-2,3-(((1*R*,15*R*)-9-methyl-9,10-dihydroanthracen-9,10-diyl)sukcinimid, 43b.**



Sloučenina **43** byla získána jako bílý olej ve formě s.d. C<sub>30</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>.

M = 480,56 g.mol<sup>-1</sup>.

Výtěžnost: 66 mg (36 %)

[α]<sub>D</sub><sup>26</sup> = -4

94,8 % ee

dr = 1:1

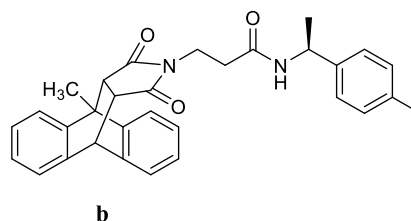
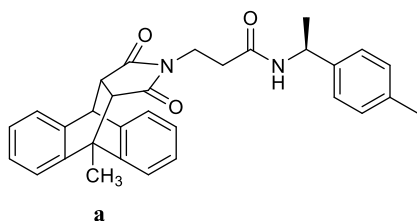
**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>-d):** δ 1,54-1,65 (m; 2H), 2,25 (s; 3H), 2,80 (d; *J* = 8,2 Hz; 1H), 3,19-3,26 (m; 2H), 3,31-3,41 (m; 2H), 3,54-3,60 (m; 1H), 4,73-4,74 (m; 1H), 4,76-4,79 (m; 1H), 6,01-6,02 (m; 1H), 7,10-7,37 (m; 13H) ppm.

**<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>-d):** δ 14,2; 15,3; 21,1; 33,6; 33,8; 34,3; 45,1; 45,6; 47,4; 47,4; 48,3; 50,4; 60,4; 73,2; 73,3; 122,1; 122,3; 122,3; 123,9; 125,0; 125,9; 126,6; 126,7; 126,8; 126,9; 127,9; 128,6; 138,9; 141,4; 141,4; 141,6; 141,6; 141,7; 144,3; 170,8; 175,9; 176,1; 176,7; 176,9 ppm.

MS (ESI<sup>+</sup>): [M]<sup>+</sup>: vypočítaná hodnota pro C<sub>30</sub>H<sub>29</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub><sup>+</sup> (m/z): 481,2; experimentální hodnota: 481,4.

***N*-(((*S*)-1-methyl-1-(4-methyl)fenylmethyl)aminopropyl-3-on)-2,3-(((11*S*,15*S*)-9-methyl-9,10-dihydroanthracen-9,10-diy)l)sukcinimid, 44a.**

***N*-(((*S*)-1-methyl-1-(4-methyl)fenylmethyl)aminopropyl-3-on)-2,3-(((11*R*,15*R*)-9-methyl-9,10-dihydroanthracen-9,10-diy)l)sukcinimid, 44b.**



Sloučenina **44** byla získána jako bílá pevná látka ve formě s.d. C<sub>31</sub>H<sub>30</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>.

M = 478,59 g.mol<sup>-1</sup>.

Výtěžnost: 76 mg (42 %)

T<sub>i</sub> = 157,0-159,0 °C

[α]<sub>D</sub><sup>26</sup> = -42

>99,9 % ee

dr = 1:1

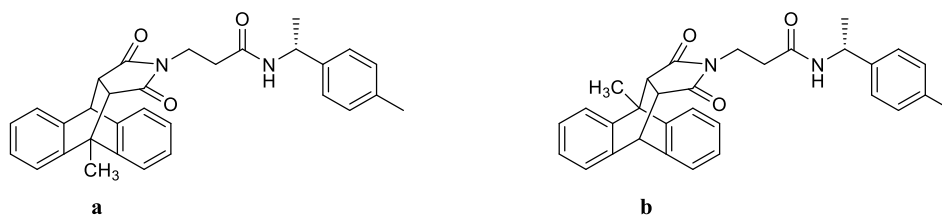
**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>-d):** δ 1,44 (d; *J* = 6,9 Hz; 3H), 1,49-1,63 (m; 2H), 2,26 (2 x s; 3H; s.d.), 2,33 (s; 3H), 2,78 (dd; *J* = 5,2; 8,3 Hz; 1H), 3,19-3,22 (m; 1H), 3,34-3,43 (m; 2H), 4,74 (d; *J* = 3,4 Hz; 1H), 4,98–5,04 (m; 1H), 5,61-5,66 (m; 1H), 7,07-7,23 (m; 10H), 7,36-7,40 (m; 2H) ppm.

**<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>-d):** δ 15,3; 21,1; 21,5; 33,8; 34,3; 45,1; 45,6; 48,3; 48,5; 50,4; 122,1; 122,3; 123,9; 125,0; 126,3; 126,6; 126,8; 129,4; 137,2; 138,9; 140,0; 141,3; 141,7; 144,3; 168,3; 175,8; 176,5 ppm.

MS (ESI<sup>+</sup>): [M]<sup>+</sup>: vypočítaná hodnota pro C<sub>31</sub>H<sub>31</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>+</sup> (m/z): 479,2; experimentální hodnota: 479,3.

***N*-(((*R*)-1-methyl-1-(4-methyl)fenylmethyl)aminopropyl-3-on)-2,3-((11*S*,15*S*)-9-methyl-9,10-dihydroanthracen-9,10-diy)sukcinimid, 45a.**

***N*-(((*R*)-1-methyl-1-(4-methyl)fenylmethyl)aminopropyl-3-on)-2,3-((11*R*,15*R*)-9-methyl-9,10-dihydroanthracen-9,10-diy)sukcinimid, 45b.**



Získaná sloučenina **45** byla izolována jako bílá pevná látka ve formě s.d. C<sub>31</sub>H<sub>30</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>.

M = 478,59 g.mol<sup>-1</sup>.

Výtěžnost: 108 mg (59 %)

T<sub>i</sub> = 157,8-159,6 °C

[α]<sub>D</sub><sup>26</sup> = +30

>99,9 % ee

dr = 1:1

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>-d):** δ 1,44 (d; *J* = 6,9 Hz; 3H), 1,49-1,63 (m; 2H), 2,26 (2 x s; 3H; s.d.), 2,33 (s; 3H), 2,78 (dd; *J* = 5,1; 8,3 Hz; 1H), 3,19-3,22 (m; 1H), 3,34-3,43

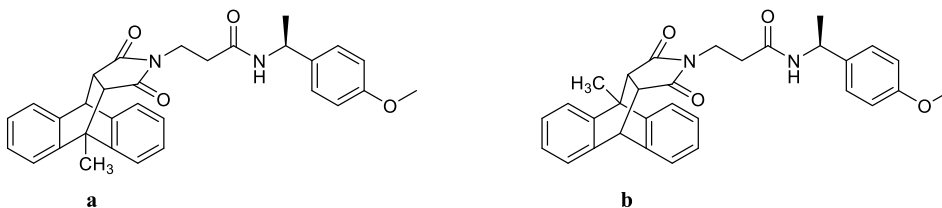
(m; 2H), 4,74 (d;  $J = 3,4$  Hz; 1H), 4,98-5,04 (m; 1H), 5,62-5,66 (m; 1H), 7,07-7,23 (m; 10H), 7,36-7,39 (m; 2H) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ -*d*):  $\delta$  15,3; 21,2; 21,6; 33,8; 34,3; 45,1; 45,6; 48,3; 48,5; 50,4; 122,1; 122,3; 123,9; 125,0; 126,3; 126,6; 126,8; 129,4; 137,2; 138,9; 140,0; 141,3; 141,7; 144,3; 168,3; 175,8; 176,5 ppm.

MS (ESI<sup>+</sup>):  $[\text{M}]^+$ : vypočítaná hodnota pro  $\text{C}_{31}\text{H}_{31}\text{N}_2\text{O}_3^+$  ( $m/z$ ): 479,2; experimentální hodnota: 479,3.

***N*-(((*S*)-1-methyl-1-(4-methoxy)fenylmethyl)aminopropyl-3-on)-2,3-((11*S*,15*S*)-9-methyl-9,10-dihydroanthracen-9,10-diyl)sukcinimid, 46a.**

***N*-(((*S*)-1-methyl-1-(4-methoxy)fenylmethyl)aminopropyl-3-on)-2,3-((11*R*,15*R*)-9-methyl-9,10-dihydroanthracen-9,10-diyl)sukcinimid, 46b.**



Sloučenina **46** byla izolována jako bílá pevná látka ve formě s.d.  $\text{C}_{31}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_4$ .

$M = 494,59 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ .

Výtěžnost: 78 mg (42 %)

$T_i = 153,3\text{-}155,3 \text{ }^\circ\text{C}$

$[\alpha]_D^{26} = -48$

>99,9 % ee

dr = 1:1

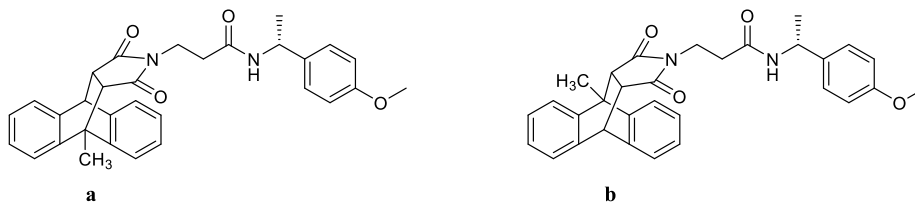
**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>-d):** δ 1,44 (d; *J* = 6,9 Hz; 3H), 1,49-1,62 (m; 2H), 2,26 (2 x s; 3H; s.d.), 2,79 (dd; *J* = 4,8; 8,3 Hz; 1H), 3,20-3,23 (m; 1H), 3,37-3,40 (m; 2H), 3,79 (s; 3H), 4,74 (d; *J* = 3,4 Hz; 1H), 4,97-5,03 (m; 1H), 5,60-5,64 (m; 1H), 6,87-6,89 (m; 2H), 7,07-7,24 (m; 8H), 7,36-7,40 (m; 2H) ppm.

**<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>-d):** δ 15,3; 21,5; 33,9; 34,3; 45,1; 45,6; 48,2; 48,3; 50,4; 55,3; 114,0; 122,1; 122,3; 123,9; 125,0; 126,6; 127,5; 135,1; 139,0; 141,3; 141,6; 144,3; 158,9; 168,3; 175,8; 176,5 ppm.

MS (ESI<sup>+</sup>): [M]<sup>+</sup>: vypočítaná hodnota pro C<sub>31</sub>H<sub>31</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub><sup>+</sup> (m/z): 495,2; experimentální hodnota: 495,4.

***N*-(((*R*)-1-methyl-1-(4-methoxy)fenylmethyl)aminopropyl-3-on)-2,3-(((11*S*,15*S*)-9-methyl-9,10-dihydroanthracen-9,10-diy)l)sukcinimid, 47a.**

***N*-(((*R*)-1-methyl-1-(4-methoxy)fenylmethyl)aminopropyl-3-on)-2,3-(((11*R*,15*R*)-9-methyl-9,10-dihydroanthracen-9,10-diy)l)sukcinimid, 47b.**



Sloučenina **47** byla získána jako bílá pevná látka ve formě s.d. C<sub>31</sub>H<sub>30</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>.

M = 494,59 g.mol<sup>-1</sup>.

Výtěžnost: 71 mg (38 %)

T<sub>i</sub> = 151,5-153,5 °C

[α]<sub>D</sub><sup>26</sup> = +36

>99,9 % ee

dr = 1:1

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>-*d*):** δ 1,44 (d; *J* = 6,9 Hz; 3H), 1,49-1,62 (m; 2H), 2,26 (s; 3H), 2,79 (dd; *J* = 4,8; 8,3 Hz; 1H), 3,20-3,23 (m; 1H), 3,37-3,40 (m; 2H), 3,79 (s; 3H), 4,74 (d; *J* = 3,4 Hz; 1H), 4,97-5,03 (m; 1H), 5,60-5,64 (m; 1H), 6,87-6,89 (m; 2H), 7,07-7,24 (m; 8H), 7,36-7,39 (m; 2H) ppm.

**<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>-*d*):** δ 15,3; 21,5; 33,9; 34,3; 45,1; 45,6; 48,2; 48,3; 50,4; 55,3; 114,0; 122,1; 122,3; 123,9; 125,0; 126,6; 126,8; 127,5; 135,1; 138,9; 141,3; 141,6; 144,3; 158,9; 168,3; 175,8; 176,5 ppm.

MS (ESI<sup>+</sup>): [M]<sup>+</sup>: vypočítaná hodnota pro C<sub>31</sub>H<sub>31</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub><sup>+</sup> (m/z): 495,2; experimentální hodnota: 495,4.



## 6 Závěr

V této diplomové práci byly sepsány základní poznatky o TLR, adjuvans a o Diels-Alderově reakci. Teoretická část byla zaměřena na TLR receptory, především na TLR2, jejich signalizaci a na agonisty a antagonisty těchto receptorů. Dále byla v teoretické části popsána Diels-Alderova reakce se zaměřením na Diels-Alderovy reakce anthracenu.

Praktická část byla zaměřena na syntézu nových potenciálních agonistů TLR2. Jednalo se o chirální deriváty sukcinimidů **24-47**. Cíle práce byly splněny. Diels-Alderovou reakcí byly nejdříve připraveny anhydridy **7-8** a následnou nukleofilní acylovou substitucí  $\beta$ -alaninu **9** s těmito anhydridy byly připraveny výchozí kyseliny **10** a **11**. Z těchto výchozích látek byly následně nukleofilní acylovou substitucí připraveny dvě sady jednotlivých chirálních derivátů sukcinimidů **24-35** a **36-47**. Problémem při syntéze těchto produktů byl vznik vedlejšího produktu tetramethylmočoviny (**52**), která musela být odstraněna pomocí dvou různých separačních metod – extrakce a sloupcové chromatografie. Konečné produkty byly získány v čistotě  $\geq 95$  % (nekalibrovaná čistota určena pomocí metody HPLC (UV;  $\lambda = 254$  nm)), z čehož vyplývá, že postupy pro tuto syntézu byly zvoleny správně. Rozsah výtěžků všech konečných produktů byl 36-95 %.

Struktury všech připravených látek byly stanoveny pomocí NMR a MS analytických metod, kromě struktur **7** a **8**, které nebylo možné charakterizovat pomocí MS z důvodu jejich rozkladu při této analýze. U látek, které byly izolovány ve formě pevných sloučenin byly stanoveny teploty tání. Dále byly u všech konečných produktů stanoveny hodnoty specifické otáčivosti, enantiomerní nadbytek u látek **24-47** a diastereoizomerní poměr u látek **36-47**. Dalším krokem ve vývoji těchto připravených potenciálních agonistů TLR2 bude testování jejich *in vitro* biologické aktivity. Testy budou provedeny za účelem ověření, zda tyto chirální sukcinimidy mají vhodné vlastnosti k tomu, aby mohly působit jako agonisté TLR2, a zda by tedy v budoucnu mohly být využívány jako adjuvans ve vakcínách. Zároveň bude také zkoumán vliv geometrie na stereogenních centrech na biologickou aktivitu, protože lidské tělo je chirálním prostředím, a tak se aktivita jednotlivých izomerů může lišit. Také bude zkoumán vliv methylové skupiny jako elektrondonoru.

## 7 Použitá literatura

- [1] IGNACIO, Bob J., Tyler J. ALBIN, Aaron P. ESSER-KAHN a Martijn VERDOES. Toll-like Receptor Agonist Conjugation: A Chemical Perspective. *Bioconjugate Chemistry*. **2018**, 29(3), 587–603.
- [2] CZARNIECKI, Michael. Small Molecule Modulators of Toll-like Receptors. *Journal of Medicinal Chemistry*. **2008**, 51(21), 6621–6626.
- [3] ARORA, Shweta, Shaniya AHMAD, Rasha IRSHAD, Yamini GOYAL, Sahar RAFAT, Neha SIDDIQUI, Kapil DEV, Mohammad HUSAIN, Shakir ALI, Anant MOHAN a Mansoor Ali SYED. TLRs in pulmonary diseases. *Life Sciences*. **2019**, 233, 116671.
- [4] STEINHAGEN, Folkert, Takeshi KINJO, Christian BODE a Dennis M. KLINMAN. TLR-based immune adjuvants. *Vaccine*. **2011**, 29(17), 3341–3355.
- [5] PATRA, Mahesh Chandra a Sangdun CHOI. Recent progress in the development of Toll-like receptor (TLR) antagonists. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*. **2016**, 26(6), 719–730.
- [6] XU, Zhenghui a Peter Michael MOYLE. Bioconjugation Approaches to Producing Subunit Vaccines Composed of Protein or Peptide Antigens and Covalently Attached Toll-Like Receptor Ligands. *Bioconjugate Chemistry*. **2018**, 29(3), 572–586.
- [7] VOIGT, Emily A., Richard B. KENNEDY a Gregory A. POLAND. Defending against smallpox: a focus on vaccines. *Expert Review of Vaccines*. **2016**, 15(9), 1197–1211.
- [8] YOUNG, Alan J. Adjuvants. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. **2019**, 35(3), 391–403.
- [9] HONEGR, Jan, David MALINAK, Rafael DOLEZAL, Ondrej SOUKUP, Marketa BENKOVA, Lukas HROCH, Ondrej BENEK, Jana JANOCKOVA, Kamil KUCA a Roman PRYMULA. Rational design of novel TLR4 ligands by in silico screening and their functional and structural characterization in vitro. *European Journal of Medicinal Chemistry*. **2018**, 146, 38–46.
- [10] O'NEILL, Luke A. J., Douglas GOLENBOCK a Andrew G. BOWIE. The history of Toll-like receptors — redefining innate immunity. *Nature Reviews Immunology*. **2013**, 13(6), 453–460.
- [11] NEMATI, Maryam, Tiziana LARUSSA, Hossein KHORRAMDELAZAD, Merat MAHMOODI a Abdollah JAFARZADEH. Toll-like receptor 2: An important immunomodulatory molecule during Helicobacter pylori infection. *Life Sciences*. **2017**, 178, 17–29.
- [12] DE NARDO, Dominic. Toll-like receptors: Activation, signalling and transcriptional modulation. *Cytokine*. **2015**, 74(2), 181–189.
- [13] IWASAKI, Akiko a Ruslan MEDZHITOV. Toll-like receptor control of the adaptive

immune responses. *Nature Immunology*. **2004**, 5(10), 987–995.

[14] MEDZHITOV, Ruslan. Toll-like receptors and innate immunity. *Current Biology*. **2017**, 27(12), R577–R578.

[15] YAMAMOTO, M. Role of Adaptor TRIF in the MyD88-Independent Toll-Like Receptor Signaling Pathway. *Science*. **2003**, 301(5633), 640–643.

[16] AHMADISHOAR, Shiva a Ashraf KARIMINIK. Toll-like receptor 2 and its roles in immune responses against *Legionella pneumophila*. *Life Sciences*. **2017**, 188, 158–162.

[17] AKIRA, Shizuo, Satoshi UEMATSU a Osamu TAKEUCHI. Pathogen Recognition and Innate Immunity. *Cell*. **2006**, 124(4), 783–801.

[18] BUCHANAN, Madison M., Mark HUTCHINSON, Linda R. WATKINS a Hang YIN. Toll-like receptor 4 in CNS pathologies: Toll-like receptor 4 in CNS pathologies. *Journal of Neurochemistry*. **2010**, 114(1), 13-27.

[19] KAWAI, T a S AKIRA. TLR signaling. *Cell Death and Differentiation*. **2006**, (13), 816–825.

[20] SARNICO, Ilenia, Annamaria LANZILLOTTA, Flora BORONI, Marina BENARESE, Manuela ALGHISI, Markus SCHWANINGER, Ioana INTA, Leontino BATTISTIN, PierFranco SPANO a Marina PIZZI. NF- $\kappa$ B p50/RelA and c-Rel-containing dimers: opposite regulators of neuron vulnerability to ischaemia. *Journal of Neurochemistry*. **2009**, 108(2), 475–485.

[21] ROCK, F. L., G. HARDIMAN, J. C. TIMANS, R. A. KASTELEIN a J. F. BAZAN. A family of human receptors structurally related to *Drosophila* Toll. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. **1998**, 95(2), 588–593.

[22] OLIVEIRA-NASCIMENTO, Laura, Paola MASSARI a Lee M. WETZLER. The Role of TLR2 in Infection and Immunity. *Frontiers in Immunology*. **2012**, 3, 79.

[23] BAGHERI, Vahid, Azam ASKARI, Mohammad Kazemi ARABABADI a Derek KENNEDY. Can Toll-Like Receptor (TLR) 2 be considered as a new target for immunotherapy against hepatitis B infection? *Human Immunology*. **2014**, 75(6), 549–554.

[24] SCHWANDNER, Ralf, Roman DZIARSKI, Holger WESCHE, Mike ROTHE a Carsten J. KIRSCHNING. Peptidoglycan- and Lipoteichoic Acid-induced Cell Activation Is Mediated by Toll-like Receptor 2. *Journal of Biological Chemistry*. **1999**, 274(25), 17406–17409.

[25] LUO, Yin, Olga V. FRIESE, Herbert A. RUNNELS, Lakshmi KHANDKE, Gary ZLOTNICK, Ann AULABAUGH, Thomas GORE, Eugene VIDUNAS, Stephen W. RASO, Elena NOVIKOVA, Emilia BYRNE, Michael SCHLITTLER, Donald STANO, Robert L. DUFIELD, Sandeep KUMAR, Annaliesa S. ANDERSON, Kathrin U JANSEN a Jason C. ROUSE. The Dual Role of Lipids of the Lipoproteins in Trumenba, a Self-Adjuvanting Vaccine Against Meningococcal Meningitis B Disease. *The AAPS Journal*. **2016**, 18(6), 1562–1575.

[26] MANAVALAN, Balachandran, Shaherin BASITH a Sangdun CHOI. Similar Structures but Different Roles – An Updated Perspective on TLR Structures. *Frontiers in Physiology*. **2011**, 2, 41.

- [27] GAO, Wei, Ye XIONG, Qiang LI a Hong YANG. Inhibition of Toll-Like Receptor Signaling as a Promising Therapy for Inflammatory Diseases: A Journey from Molecular to Nano Therapeutics. *Frontiers in Physiology*. **2017**, 8, 508.
- [28] SUZUKI, Masami, Chie KATO a Atsuhiko KATO. Therapeutic antibodies: their mechanisms of action and the pathological findings they induce in toxicity studies. *Journal of Toxicologic Pathology*. **2015**, 28(3), 133–139.
- [29] NIC AN ULTAIGH, Sinéad, Tajvur P SABER, Jennifer MCCORMICK, Mary CONNOLLY, Jerome DELLACASAGRANDE, Brian KEOGH, William MCCORMACK, Mary REILLY, Luke A O'NEILL, Peter MCGUIRK, Ursula FEARON a Douglas J VEALE. Blockade of Toll-like receptor 2 prevents spontaneous cytokine release from rheumatoid arthritis ex vivo synovial explant cultures. *Arthritis Research & Therapy*. **2011**, 13(1), R33.
- [30] MENG, Guangxun, Mark RUTZ, Matthias SCHIEMANN, Jochen METZGER, Alina GRABIEC, Ralf SCHWANDNER, Peter B. LUPPA, Frank EBEL, Dirk H. BUSCH, Stefan BAUER, Hermann WAGNER a Carsten J. KIRSCHNING. Antagonistic antibody prevents toll-like receptor 2–driven lethal shock-like syndromes. *Journal of Clinical Investigation*. **2004**, 113(10), 1473–1481.
- [31] GARÇON, Nathalie, Geert LEROUX-ROELS a Wen-Fang CHENG. Vaccine adjuvants. *Perspectives in Vaccinology*. **2011**, 1(1), 89–113.
- [32] SHI, Shuting, Haoru ZHU, Xinyu XIA, Zhihui LIANG, Xuehu MA a Bingbing SUN. Vaccine adjuvants: Understanding the structure and mechanism of adjuvanticity. *Vaccine*. **2019**, 37(24), 3167–3178.
- [33] KESHAVARZ-FATHI, Mahsa a Nima REZAEI. Vaccines, Adjuvants, and Delivery Systems. *Vaccines for Cancer Immunotherapy*. **2019**, 45–59.
- [34] DIELS, Otto a Kurt ALDER. Synthesen in der hydroaromatischen Reihe. *Justus Liebig's Annalen der Chemie*. **1928**, 460(1), 98–122.
- [35] GREGORITZA, Manuel a Ferdinand P. BRANDL. The Diels–Alder reaction: A powerful tool for the design of drug delivery systems and biomaterials. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. **2015**, 97, 438–453.
- [36] HOFFMANN, Roald a R.B. WOODWARD. Orbital Symmetries and endo-exo Relationships in Concerted Cycloaddition Reactions. *Journal of the American Chemical Society*. **1965**, (19), 4388–4389.
- [37] SARKAR, Santanu, Elena BEKYAROVA a Robert C. HADDON. Chemistry at the Dirac Point: Diels–Alder Reactivity of Graphene. *Accounts of Chemical Research*. **2012**, 45(4), 673–682.
- [38] TOWNSHEND, R. E., G. RAMUNNI, G. SEGAL, W. J. HEHRE a L. SALEM. Organic transition states. V. The Diels-Alder reaction. *Journal of the American Chemical Society*. **1976**, 98(8), 2190–2198.
- [39] HOUK, Kendall N. The Frontier Molecular Orbital Theory of Cycloaddition Reactions. *Accounts of Chemical Research*. **1976**, 8(11), 361–369.

- [40] ATHERTON, J.C.C. a S. JONES. Diels–Alder reactions of anthracene, 9-substituted anthracenes and 9,10-disubstituted anthracenes. *Tetrahedron*. **2003**, 59(46), 9039–9057.
- [41] LOTFI, M. a R.M.G ROBERTS. Kinetics and mechanism of diels-alder addition of tetracyanoethylene to anthracene derivatives - II: Solvent effects. *Tetrahedron*. **1979**(18), 2137–2141.
- [42] BACHMANN, W.E. a M.C. KLOETZEL. The Reaction between Maleic Anhydride and Polycyclic Hydrocarbons. *Journal of American Chemical Society*. **1938**, (2), 481–485.
- [43] DIELS, Otto a Kurt ALDER. Synthesen in der hydroaromatischen Reihe. VIII. Mitteilung: Dien-Synthesen des Anthracens. Anthracen-Formel. *Justus Liebig's Annalen der Chemie*. **1931**, 486(1), 191–202.
- [44] CLAR, E. Zur Kenntnis mehrkerniger aromatischer Kohlenwasserstoffe und ihrer Abkömmlinge, XI. Mitteil.: Über die Konstitution des Anthracens, II.: Bemerkungen zu einer Arbeit von Otto Diels und Kurt Alder. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft (A and B Series)*. **1931**, 64(8), 2194–2200.
- [45] SANHES, Delphine, Isabelle FAVIER, Nathalie SAFFON, Emmanuelle TEUMA a Montserrat GÓMEZ. Stereo-specific synthesis of hydroanthracene-dicarboximides. *Tetrahedron Letters*. **2008**, 49(47), 6720–6723.
- [46] WEBER, Edwin, Stephan FINGE a Ingeborg CSOREGH. Modular Design of Hosts Involving a Rigid Succinimide Framework and N-Bonded Lateral Groups. Crystalline Inclusion Properties and Crystal Structures of Inclusion Compounds with Dioxane, MeOH, and DMF. *Journal of Organic Chemistry*. **1961**, 56(26), 7281-7288.
- [47] CEYLAN, Sascha, Ludovic COUTABLE, Jens WEGNER a Andreas KIRSCHNING. Inductive Heating with Magnetic Materials inside Flow Reactors. *Chemistry - A European Journal*. **2011**, 17(6), 1884–1893.
- [48] BOŽÍKOVÁ, Slavomíra. Syntéza nových typov sukcinimidov ako potenciálnych adjuvans. Diplomová práca, **2019**. Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové.