

Katedra organické chemie  
Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci



**Využití Mitsunobu reakce pro zavedení nechráněných  
monosacharidů na sloučeniny obsahující kyselý vodík**

Diplomová práce

Autor: Ngoc Mai Nguyen  
Studijní program: N1407 Chemie  
Studijní obor: Organická chemie  
Forma studia: Prezenční  
Vedoucí práce: doc. RNDr. Jakub Stýskala Ph.D.

**Olomouc 2017**

**Prohlášení:**

Prohlašuji, že jsem tuto diplomovou práci vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které byly v práci využity, jsou v seznamu použité literatury. Souhlasím s tím, že tato práce je prezenčně zpřístupněna v knihovně Katedry organické chemie, Přírodovědecké fakulty, Univerzity Palackého v Olomouci.

V Olomouci dne .....

.....

Podpis

Bibliografická identifikace:

Jméno a příjmení autora:	Nguyen Ngoc Mai
Název práce:	Využití Mitsunobu reakce pro zavedení nechráněných monosacharidů na sloučeniny obsahující kyselý vodík
Typ práce:	Diplomová práce
Pracoviště:	Katedra organické chemie
Vedoucí práce:	Doc. RNDr. Jakub Stýskala, Ph.D.
Rok obhajoby práce:	2017
Abstrakt:	Hlavním cílem této práce bylo ověřit možnost a pokusit se nalézt podmínky pro zavedení nechráněných monosacharidů na sloučeniny obsahující ve své struktuře kyselé N-H, O-H a S-H vazby.
Klíčová slova:	Mitsunobu reakce, glykosidy
Počet stran:	87
Počet příloh:	4
Jazyk:	čeština

Bibliographical identification:

Author's first name and surname: Ngoc Mai Nguyen  
Title: Use of the Mitsunobu reaction to introduce unprotected monosacharides to compounds containing acidic hydrogen  
Type of thesis: Diploma  
Department: Department of Organic Chemistry  
Supervisor: Doc. RNDr. Jakub Stýskala, Ph.D.  
Year of presentation: 2017  
Abstract: The main aim of this work was to verify the possibility and try to find conditions for introducing unprotected monosaccharides into compounds containing acidic N-H, O-H and S- H bonds in their structure.  
Key words: Mitsunobu reaction, glycosides  
Number of pages: 87  
Number of appendices: 4  
Language: Czech

## Poděkování

Tímto bych chtěla poděkovat své rodině a hlavně svému příteli Jakobovi za podporu v těžkých chvílích během mého studia. Především bych chtěla poděkovat panu Doc. RNDr. Jakobu Stýskalovi, Ph.D. za jeho nekonečnou trpělivost a ochotu mi vždy ve všem pomoci. Dále bych chtěla poděkovat všem členům Katedry organické chemie za vstřícný přístup a cenné rady, které mi poskytli.

Tato závěrečná práce vznikla za podpory projektu studentské grantové soutěže na UP s registračním číslem IGA\_PrF\_2017\_009 (Vývoj nových biologicky aktivních látek).

# Obsah

<b>1. Úvod.....</b>	<b>8</b>
<b>2. Teoretická část.....</b>	<b>10</b>
<b>2.1 Mitsunobu reakce.....</b>	<b>10</b>
2.1.1 Obecné informace .....	10
2.1.2 Reakční komponenty.....	11
2.1.3 Mechanismus reakce .....	15
2.1.4 Rozsah reakce.....	18
<b>2.2 Metody pro přípravu glykosidů.....</b>	<b>30</b>
2.2.1 Glykosylace na atomu kyslíku .....	30
2.2.2 Glykosylace na atomu dusíku .....	39
2.2.3 Glykosylace na atomu uhlíku.....	46
2.2.4 Glykosylace na atomu síry .....	49
2.2.5 Glykosylace pomocí Mitsunobu reakce .....	50
<b>3. Výsledky a diskuze .....</b>	<b>54</b>
<b>3.1 Optimalizace Mitsunobu reakce s 5-brompyridin-3-karboxylovou kyselinou (V) a D-ribosou (I) .....</b>	<b>54</b>
3.1.1 Studium struktury pomocí NMR.....	58
<b>3.2 Reakce hexos s 5-brompyridin-3-karboxylovou kyselinou (V) .....</b>	<b>61</b>
<b>3.3 Reakce hexos s fenolem (IX) a jeho nitroizomery .....</b>	<b>62</b>
3.3.1 Reakce D-glukosy (II) s fenolem (IX) .....	62
3.3.2 Reakce hexos s 4-nitrofenolem (XI) .....	63
3.3.3 Reakce hexos s 3-nitrofenolem (XV).....	64
3.3.4 Reakce hexos s 2-nitrofenolem (XIX) .....	66
<b>3.4 Reakce <math>\beta</math>-D-galakto-(1,4)-D-glukopyranosidu (XXIII) s izomery nitrofenolu ....</b>	<b>67</b>
<b>3.5 Reakce hexos s izomery nitrothiofenolu.....</b>	<b>68</b>
<b>3.6 Reakce hexos s deriváty 6-azauracilu.....</b>	<b>69</b>
3.6.1 Reakce D- glukosy (II) s 1- fenyl-5-(2-hydroxyfenyl)-6-azauracilem (XXIX) ..	69
3.6.2 Reakce D-glukosy (II) s 5-(2-acetoxyfenyl)-1-fenyl-6-azauracilem (XXXI);....	70
<b>3.7 Reakce D-glukosy (II) se sacharinem (XXXIII) .....</b>	<b>71</b>
<b>4. Experimentální část .....</b>	<b>72</b>

<b>5.</b>	<b>Seznam zkratek .....</b>	<b>80</b>
<b>6.</b>	<b>Závěr .....</b>	<b>81</b>
<b>7.</b>	<b>Seznam použité literatury.....</b>	<b>84</b>
<b>8.</b>	<b>Přílohy .....</b>	<b>88</b>

# 1. Úvod

Monosacharidy jsou klíčovým intermediátem pro přípravu oligosacharidů, glykopeptidů či modifikovaných nukleosidů, kde jsou glykosidické struktury zakomponovány v DNA, RNA nebo v kofaktorech jako je například ATP nebo NAD. Řada těchto cukerných derivátů našla uplatnění zejména ve farmacii, dále pak v potravinářské, biotechnologické nebo biochemické sféře. Zajímavou skupinou jsou také glykosidy vykazující chromoforní vlastnosti, mezi něž patří například *O*-arylribofuranosidy, které se využívají pro detekci enzymatické aktivity genových markerů. Avšak největší využití nachází především v lékařství jako terapeutika díky svému antivirovému, antileukemickému nebo antidiabetickému účinku a řadě dalších. Jedním z nich je například 4- (hydroxymethyl)fenyl- $\beta$ -D-glukopyranosid známý také pod názvem Gastrodin, který se využívá k léčbě demence nebo migrén. K léčbě rakoviny se naopak používá Galdenamycin. Jedná se o benzochinonový derivát navázaný na ansamycin, kdy zavedením  $\beta$ -D-galaktosy do polohy C'17 se zvýší rozpustnost a tím tak účinek dané látky<sup>1,2</sup>.

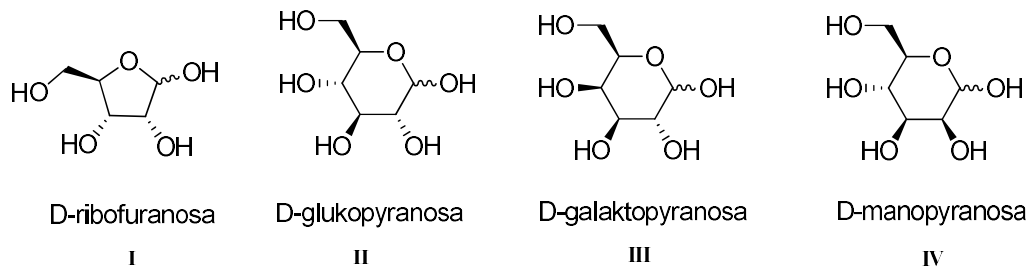
Látek vykazující biologickou aktivitu je celá škála, avšak jednou z hlavních překážek při syntéze těchto sloučenin může být jejich nízká rozpustnost ve fyziologickém prostředí. Jedním z možných způsobů, jak tomuto problému předejít, je zavedení monosacharidových jednotek na danou organickou molekulu, čímž by se zvýšila rozpustnost ve fyziologickém prostředí.

Metod, jak zavést cukerný zbytek na organickou molekulu, je celá řada, nicméně většina těchto reakcí vyžaduje, aby byl daný monosacharid chráněný, což může vést k zdlouhavému přečišťování či deprotekcii hydroxyskupin. Z tohoto pohledu se zdá být výhodná Mitsunobu reakce, převážně díky svým mírným reakčním podmínkám, jednoduché proveditelnosti, stereoselektivitě reakce či vysokým výtěžkům.

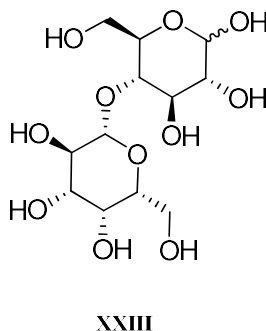
Jelikož zavádění nechráněných monosacharidů na aglykon za Mitsunobu podmínek nebylo doposud podrobně probádáno, bylo cílem této diplomové práce ověřit možnost a najít optimální podmínky pro zavedení nechráněných monosacharidů na sloučeniny obsahující kyselý vodík na atomu dusíku, síře a kyslíku.



Ze zástupců nechráněných monosacharidů byla vybrána D-ribose (**I**), D-glukosa (**II**), D- galaktosa (**III**) a D-manosa (**IV**), z disacharidů byla vybrána laktóza (**XXIII**).



Obr. 1 Zvolené nechráněné monosacharidy pro Mitsunobu reakci



Obr. 2 Zvolený disacharid pro Mitsunobu reakci

Při optimalizaci podmínek Mitsunobu reakce byl zvolen jako výchozí derivát 5- brom-pyridin-3-karboxylová kyselina (**V**), jelikož se acidita vodíku na karboxylové skupině zdála pro tuto metodu dostačující. Dalším z důvodů byla také přítomnost atomu bromu, který měl usnadnit detekci produktu na LC/MS.

Reakce byly dále prováděny na sloučeninách obsahující kyselý vodík na atomu kyslíku, mezi něž patřily: benzoová kyselina, fenol (**IX**) a izomery nitrofenolu. Ze sloučenin obsahující kyselý vodík na atomu síry byly zvoleny izomery nitrothiolu. Stejně experimentální podmínky byly také aplikovány na heterocyklické sloučeniny, obsahující kyselé vodíky na atomu dusíku, mezi něž patřily převážně deriváty 6- azauracilu.

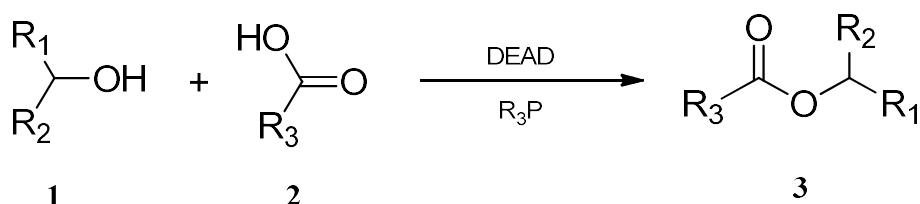
## 2. Teoretická část

Jelikož je tato práce zaměřená na Mitsunobu reakci a způsob zavádění monosacharidových jednotek do organických molekul, jsou v této kapitole uvedeny obecné informace týkající se Mitsunobu reakce. Dále je v této kapitole uveden stručný přehled obecných možností glykosylace organických sloučenin.

### 2.1 Mitsunobu reakce

#### 2.1.1 Obecné informace

Mitsunobu reakce byla poprvé popsána v roce 1967 chemikem Oyo Mitsunobem (1934-2003), podle něhož byla také pojmenována. Na úplném počátku byla reakce používána pro syntézu esterů karboxylových kyselin za použití diethylazodicarboxylátu (DEAD) a trifenyl- či trialkyl fosfinu. S postupem času se však začaly objevovat různé modifikace reakce, které vedly k tvorbě thioesterů, aminů, azidů, etherů, thiokyanidů apod.



*Schéma 1*

Reakce představuje v současné době metodu, pomocí které lze připravit nepřeborné množství sloučenin za mírných podmínek s relativně dobrými výtěžky<sup>3, 4</sup>. Dalším důvodem, proč má reakce široké využití v organických syntézách či medicíně je také její stereospecifita<sup>5</sup>. Dochází zde totiž k nukleofilní substituci mezi primárním či sekundárním alkoholem a nukleofilem za přítomnosti trojmocného fosforu. Pokud zde figuruje jako substrát opticky aktivní sekundární alkohol, dochází zde k úplné inverzi na stereogenním centru.

Významnou roli zde také hraje míra kyselosti vodíku, který je vázán na nukleofilu Nu, kdy by hodnota pK neměla být vyšší jak 15, je však doporučeno, aby se pK pohybovalo pod hodnotou 11<sup>6,7</sup>.

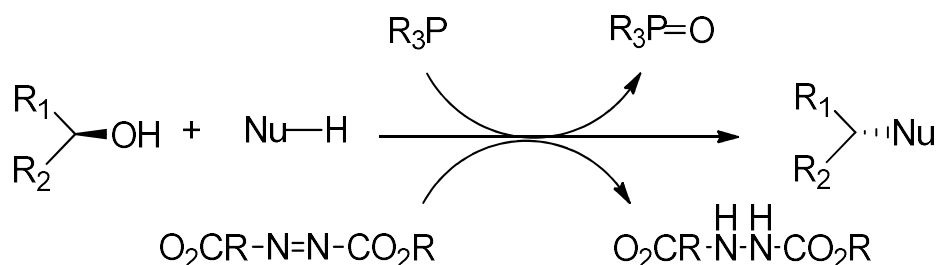


Schéma 2

## 2.1.2 Reakční komponenty

### 2.1.2.1 Substrát

Jak už bylo zmíněno, jako substrát zde vystupuje primární či sekundární alkohol, avšak při použití primárního alkoholu zde není využita stereoselektivita reakce. Obecně je však známé, že reakce probíhá mnohem lépe pro alkoholy, které jsou stericky méně bráněné. Co se týče sekundárních chirálních alkoholů, pokud nejsou stericky bráněné, dochází zde ke kompletní inverzi konfigurace na chirálním centru. Nelze ani vyloučit reakce s terciárními alkoholy, ačkoliv reaktivita těchto alkoholů není příliš velká<sup>5</sup>.

### 2.1.2.2 Nukleofil

Nukleofilem je zde sloučenina obsahující kyselý vodík nejlépe při pK < 11, to se týká sloučenin tvořící vazbu O-H, N-H a S-H. Z čehož tedy vyplývá, že při použití Mitsunobu podmínek dochází k tvorbě vazby C-O, C-S, C-N, může však dojít i k intramolekulární reakci, která vede k tvorbě laktonů, laktamů, cyklických etherů či tvorbě vazby C-C<sup>8</sup>.

### 2.1.2.3 Rozpouštědlo

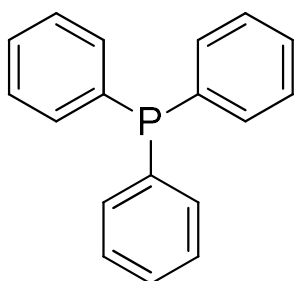
Obvykle se pro reakci používají aprotická rozpouštědla jako je tetrahydrofuran (THF), toluen, diethylether, dichlormethan, někdy se však využívají i polárnější rozpouštědla jako je například dimethylformamid (DMF), ethyl acetát nebo acetonitril.

### 2.1.2.4 Činidla

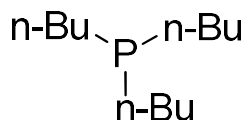
Pro provedení Mitsunobu reakce jsou potřebné dva typy činidel. Deriváty fosfinu a azodikarboxyláty.

#### Činidlo obsahující P<sup>III</sup>

Mezi nejčastěji používané sloučeniny zde patří trifenylofosfin (**4**) nebo tributylfosfin (**5**), převážně díky jejich komerční dostupnosti a nízké toxicitě<sup>8,9</sup>.



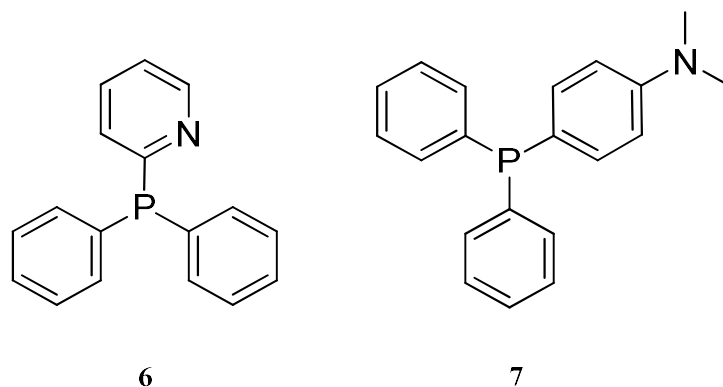
4



5

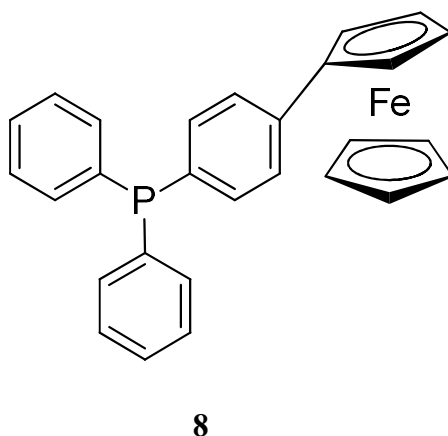
Schéma 3

Kromě toho se také často využívá difenyl(2-pyridyl)fosfin (**6**) či (4-dimethylaminofenyl)bifenylofosfin (**7**) umožňující lepší zpracování reakční směsi. Během reakce totiž vzniká nežádoucí fosfin-oxid, avšak volbou vhodného fosfinu se můžeme vyhnout zdlouhavému chromatografickému čištění, kdy nežádoucí meziproduct oddělíme promytím zředěnou HCl, extrakcí či pouhou filtrací<sup>10,11</sup>.



*Schéma 4*

K dalším velice používaným fosfinům také patří ferrocenyl-fosfin (**8**). Po skončení reakce je totiž možné Fe oxidovat na  $\text{Fe}^+$ , to vede k nerozpustnosti fosfinu v méně polárních rozpouštědlech a usnadní tak dělení reakční směsi <sup>11</sup>.



*Schéma 5*

### Činidlo obsahující azo-skupinu

Vzhledem k snadné komerční dostupnosti patří mezi nejpoužívanější činidla diethylazodikarboxylát (DEAD) (**9**) a diisopropylazodikarboxylát (DIAD) (**10**). Kvůli relativně vysoké toxicitě DEADu (**9**) je postupně toto činidlo nahrazováno DIADem (**10**), který není tak nebezpečný.



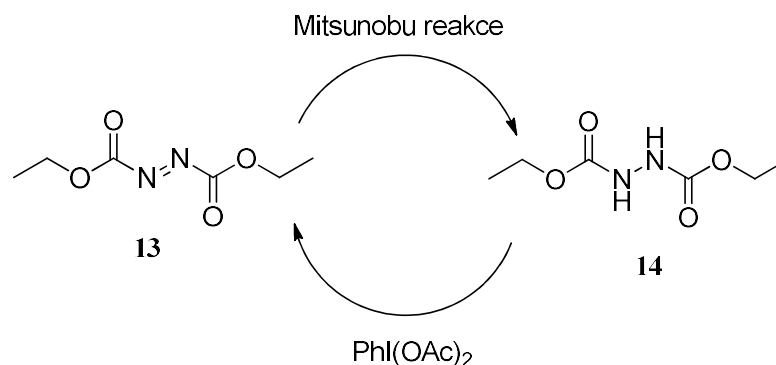


Schéma 8

### 2.1.3 Mechanismus reakce

Přestože Mitsunobu reakce je široce užívaná v organické chemii, její mechanismus není doposud zcela probádán, to se týká zejména jednotlivých mezistupňů reakce. Existuje řada teorií, jakým směrem se reakce může ubírat. Pro představu je zde znázorněn příklad esterifikace za Mitsunobu podmínek ve *Schématu 9*.

V prvním kroku zde dochází k ireverzibilní reakci trifenylofosfinu s danou azosloučeninou (**15**), to vede k tvorbě Morrison-Brunn-Husigen (MBH) betainu (**16**), jehož struktura byla ověřena pomocí NMR <sup>31</sup>P a ESI-MS <sup>14</sup>. Následně do reakční směsi vstupuje karboxylová kyselina, která je deprotonována daným betainem za uvolnění hydrazinoderivátu (**17**). V dalším kroku dochází k S<sub>N</sub> alkoholem (**18**) za vzniku alkoxyfosfoniové soli (**20**) a redukované formy azodikarboxylátu (**19**). Alkoxyfosfoniová sůl (**20**) pak působením karboxylátu přechází na konečný produkt (**21**), což je také doprovázeno tvorbou fosfin-oxidu. Vzniklý produkt má opačnou konfiguraci než výchozí látka. Tento mechanismus je však uvažován pro stericky nebráněné alkoholy <sup>8</sup>.

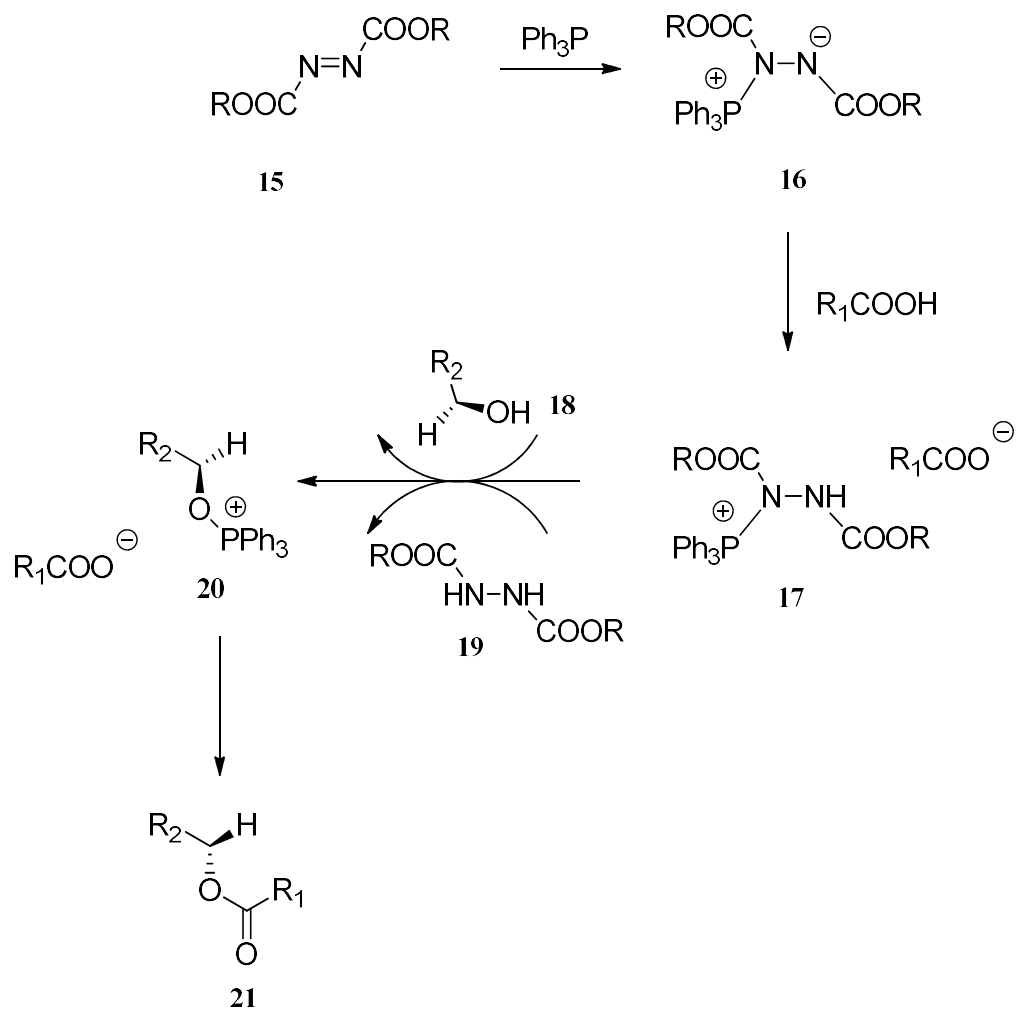


Schéma 9

Ve fázi 2, kdy do reakční směsi vstupuje kyselina za vzniku fosfoniového kationtu (**22**), zde může dojít k degradaci, kdy vzniká trifenylofosfin-oxid (**24**) a daný hydrazinoderivát (**23**)<sup>8</sup>.

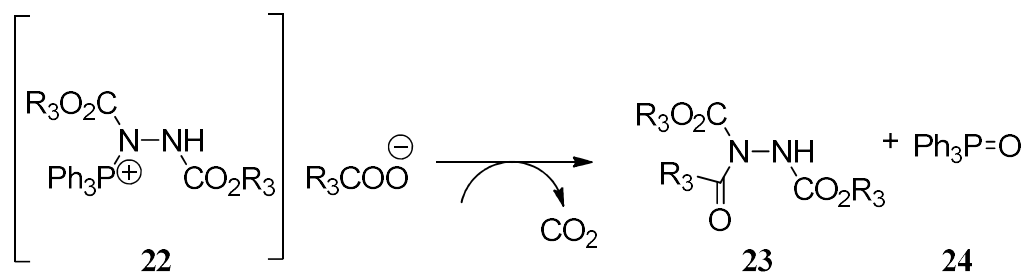
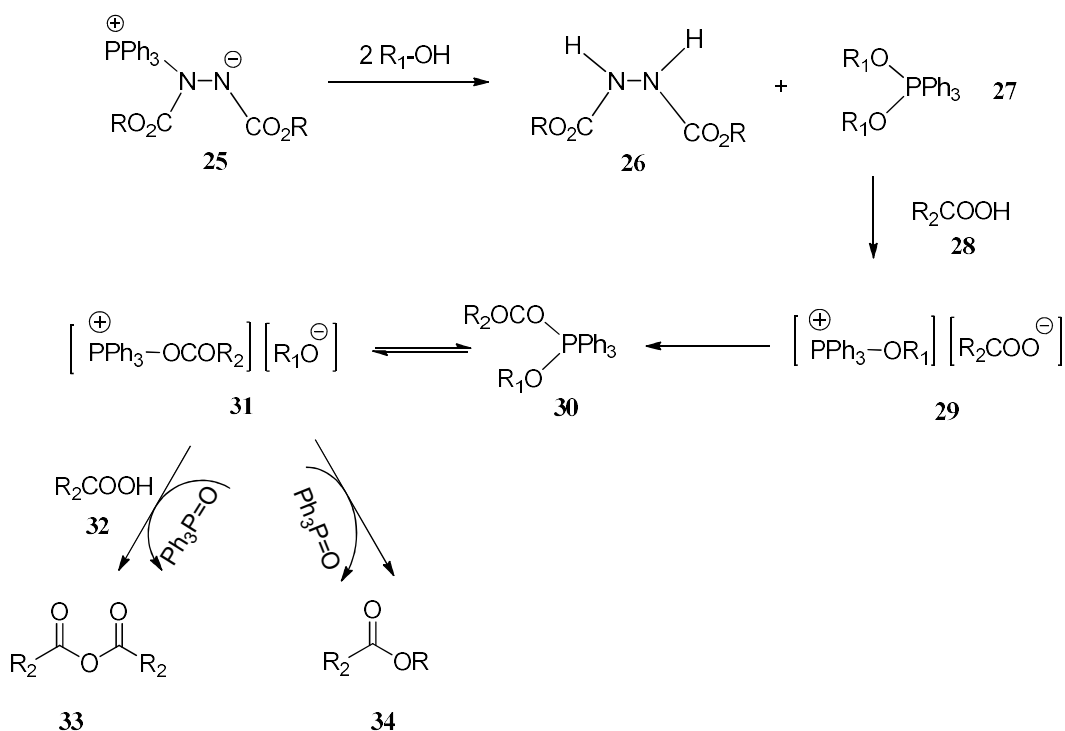


Schéma 10



Další možnou alternativou reakce je skutečnost, že při tvorbě Morrison-Brunn-Husigen (MBH) betainu (**25**) do reakční směsi nevstupuje jako první kyselina ale dva ekvivalenty alkoholu, přičemž vzniká fosforan (**27**) a hydrazinový derivát (**26**). Poté interaguje pentakoordinovaný fosforan s danou kyselinou (**28**), kdy dochází stejně jako ve výše zmíněném mechanismu k tvorbě alkoxyfosfoniové soli (**29**). V tomto případě nastává určitá rovnováha mezi danou solí (**31**) a fosforanem (**30**), jestliže do reakce vstupuje další molekula kyseliny (**32**), vzniká anhydrid (**33**). Pokud však ne, dochází k rozpadu intermediátu na ester s retencí konfigurace (**34**). Průběh reakce je znázorněn ve *Schématu 11*.



*Schéma 11*

K retenci může také dojít, pokud je alkohol (**38**) stericky bráněn, kdy je přednostně atakován acyl acyloxyfosfoniové soli (**37**), která je v rovnováze s fosforanem (**41**) viz *Schéma 12*<sup>15, 16</sup>.

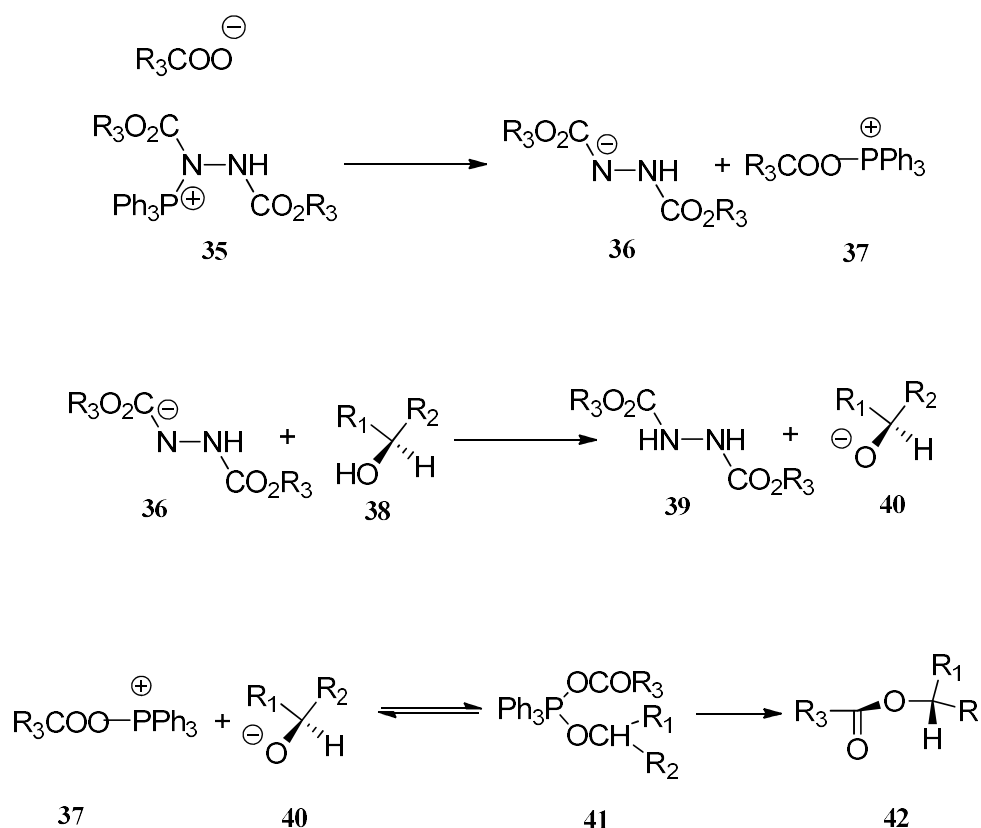


Schéma 12

## 2.1.4 Rozsah reakce

Jak už bylo zmíněno, Mitsunobu reakce patří mezi nejužitečnější a nejuniverzálnější reakce v organické syntéze, s jejíž pomocí lze vytvořit vazbu C-O, C-S, C-N i C-C. Slouží také jako klíčový krok při syntéze mnoha přírodních látek, mezi které patří například mycalamide A nebo murisolin<sup>17, 18</sup>. V následujících kapitolách budou uvedeny jednotlivé příklady těchto reakcí.

### 2.1.4.1 Tvorba vazby C-O

#### Příprava esterů karboxylových kyselin

Reakce alkoholů s karboxylovými kyselinami při laboratorní či nižší teplotě okolo 0 °C vedou k tvorbě esterů ve velmi dobrých výtěžcích. Pokud použitý alkohol je chirální, vzniká ester s opačnou konfigurací s vysokou enantiomerní čistotou. Hodnota pK

kyseliny by měla být nižší jak 11. Jak pK kyseliny ovlivňuje průběh reakce, bylo studováno na esterifikaci kyselin (-)-mentolem (**43**) (Schéma 13) <sup>19</sup>.

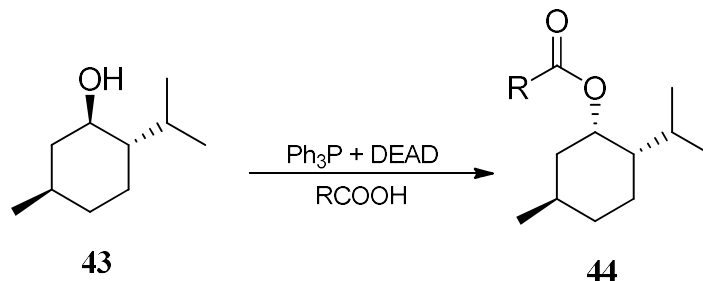


Schéma 13

Vliv byl pozorován u substituovaných nitrobenzoových kyselin a pikolinové kyseliny za mírných podmínek v přítomnosti octanu měďnatého a methanolu. Při použití vhodné báze například  $\text{NaOH}$ ,  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , lze daný ester hydrolyzovat zpátky na výchozí alkohol s opačnou konfigurací <sup>19, 20</sup>.

Další zajímavostí je schopnost reakce rozlišit fenolický a alkoholický hydroxyl. Esterifikace probíhá převážně na OH skupině na alkoholickém hydroxylu, tato vlastnost se stala pozitivním přínosem pro syntézu (-)-oleocanthalu (**47**) (Schéma 14).

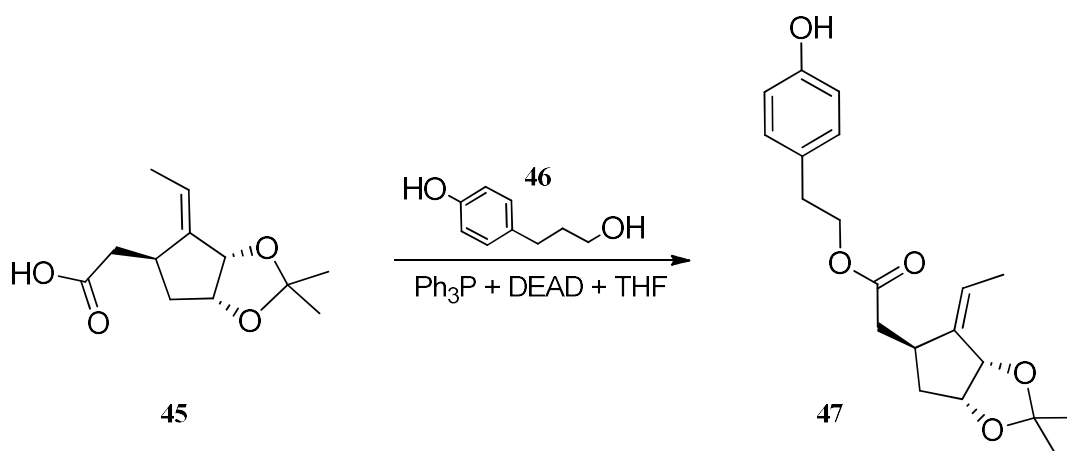
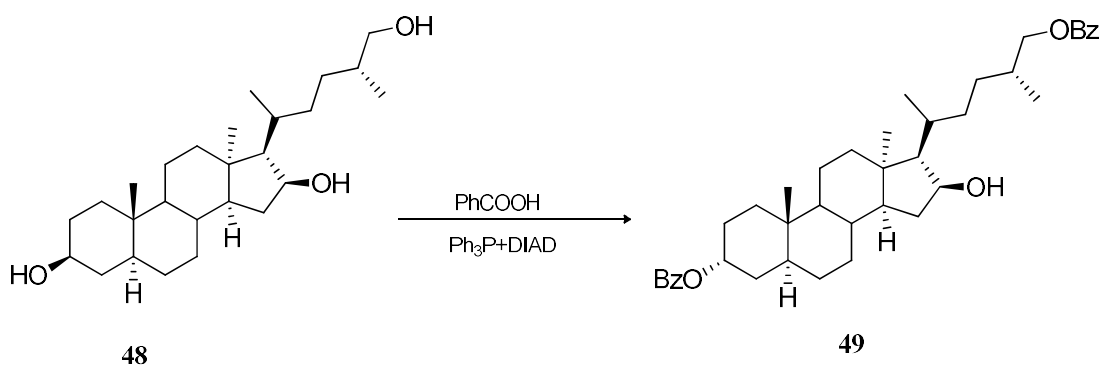


Schéma 14

Jestliže se v systému vyskytuje více sekundárních OH skupin, je více jak pravděpodobné, že reakce bude přednostně probíhat na těch, které jsou stericky méně bráněné. Jako příklad je zde uvedena syntéza intermediátu pavonininu (**49**)<sup>21</sup>.



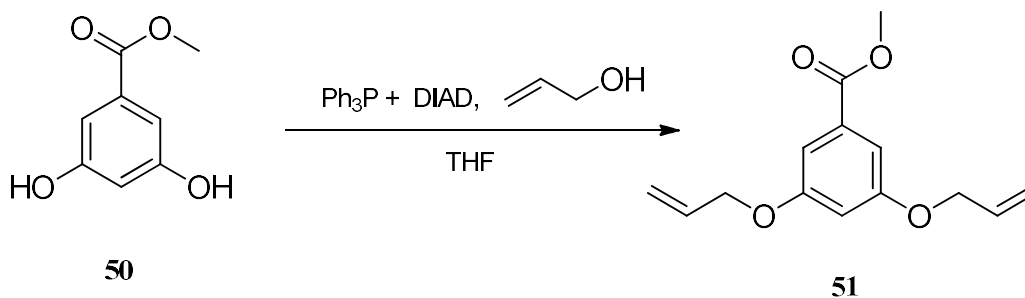
*Schéma 15*

Může dojít také k intramolekulární esterifikaci vedoucí k tvorbě laktonů. Je obtížné předem určit, zda vznikne produkt s opačnou či retenční konfigurací, opět zde figuruje prostorové uspořádání alkoholu i karboxylu v molekule<sup>22</sup>.

### Tvorba etherové vazby

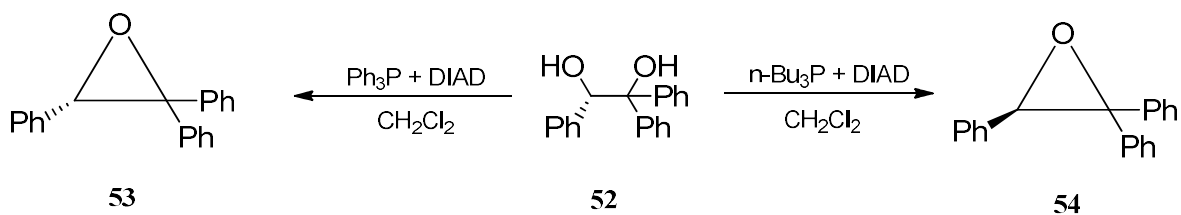
Fenoly a alkoholy se silně elektronegativními skupinami mohou v Mitsunobu reakci vystupovat také jako nukleofily. Pokud substrátem je diol, dochází zde k dehydrataci na obou OH skupinách. Reakce se tedy může ubírat dvěma cestami, dochází buď k tvorbě intra- či intermolekulární etherické vazby<sup>8</sup>.

Intermolekulární reakce se často využívá při syntéze alkyl-aryl etherů za mírných podmínek, z tohoto pohledu se reakce zdá být užitečná pro syntézu biologicky aktivních či syntetických látek. Jako příklad je uvedena reakce syntézy perfluorovaných dendronů (**51**) (*Schéma 16*)<sup>23</sup>.



*Schéma 16*

Intramolekulární reakce vedou k tvorbě epoxidových kruhů, není však podmínkou, aby nukleofil musel být silně kyselý, i tak vzniká produkt ve vysokých výtěžcích. Zvláštní však je, že volba fosfinu rozhoduje, zda dojde k inverzi nebo retenci konfigurace, což je znázorněno ve *Schématu 17* <sup>24</sup>.



*Schéma 17*

#### 2.1.4.2 Tvorba vazby C-S

Způsobů, jak vytvořit C-S vazbu za Mitsunobu podmínek, existuje celá řada. Nukleofilem je v tomto případě sloučenina obsahující kyselý vodík na atomu síry. Je však nutné, aby byla daná látka aktivována, proto bývají preferovány spíše thiokyseliny než thioly. Výsledným produktem jsou thioestery <sup>25</sup>.

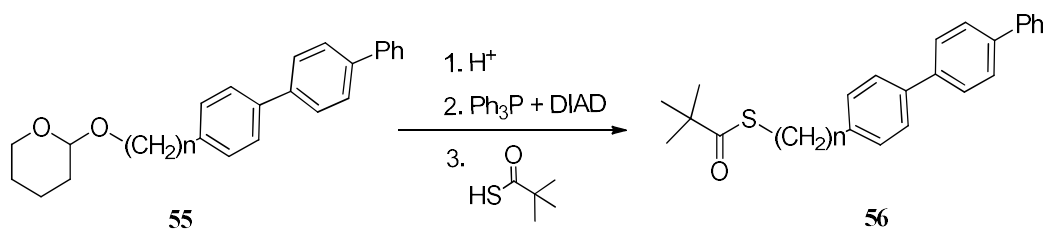


Schéma 18

Další možnou cestou, jak připravit thioly z primárních alkoholů, je substituce OH skupiny za použití sirného nukleofilu. Alifatický alkohol (**57**), který zde vystupuje jako substrát, reaguje za Mitsunobu podmínek s dimethyldithiakarbamátem (Ziram), to vede k tvorbě substituovaného dimethyldithiakarbamátu (**58**). Volbou vhodného redukčního činidla například  $\text{LiAlH}_4$  vzniká v konečné fázi thiol (**59**) (Schéma 19) <sup>26</sup>.

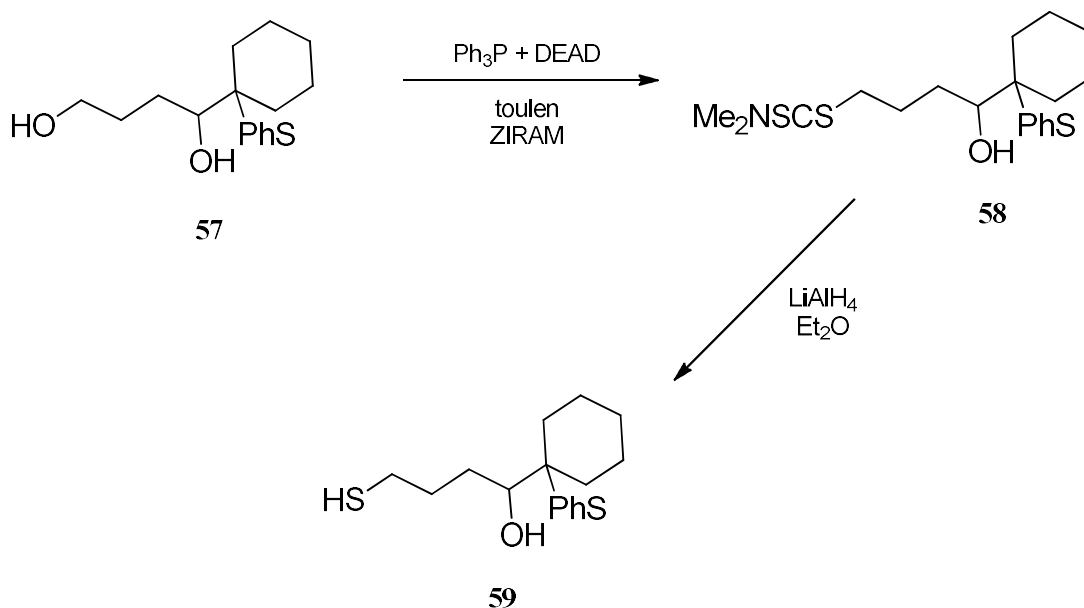


Schéma 19

Ve velice vysokých výtěžcích také vznikají dithiokarbamáty pomocí tzv. „one pot“ syntézy, kdy je sirným činidlem sirouhlík  $\text{CS}_2$ . Jako příklad je uvedena reakce primárního alkoholu (**60**) s primárním aminem (**61**) za použití sirouhlíku.

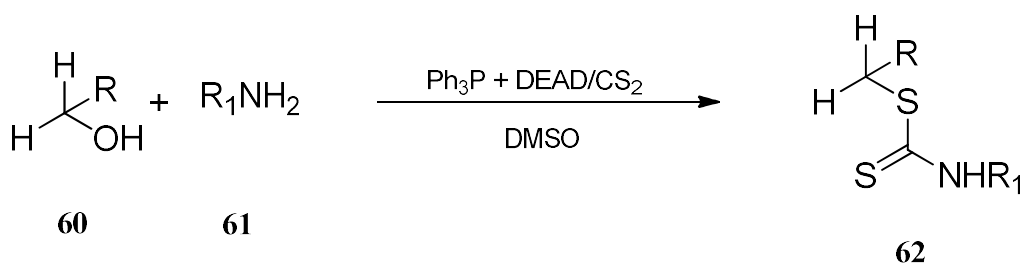


Schéma 20

Na podobném principu se srovnatelnými výchozími látkami lze připravit také karbamáty, xantháty, thiokarbonáty nebo deriváty močoviny<sup>8,27</sup>.

### 2.1.4.3 Tvorba vazby C-C

Při syntéze léčiv či přírodních produktů bývá klíčovým stupněm tvorba vazby C-C, není tedy velkým překvapením, že se neustále objevují nové strategie, jak reakci zdokonalit pro lepší výtěžek. Za Mitsunobu podmínek lze také vytvořit vazbu uhlík-uhlík, avšak zda reakce proběhne či ne a v jakých výtěžích, rozhoduje opět míra kyselosti vodíku vázaného na nukleofilu. Pro méně kyselé nukleofily se místo  $\text{Ph}_3\text{P}$  spíše využívá  $\text{Bu}_3\text{P}$  nebo  $\text{Me}_3\text{P}$  ze sterických důvodů. Bylo totiž prokázáno, že reakce s méně kyselými nukleofily probíhaly mnohem lépe u  $\text{Me}_3\text{P}$  než u  $(\text{cyklohexyl})_3\text{P}$ , u kterého naopak neprobíhaly vůbec. Jako příklad je zde znázorněna reakce (Schéma 21), kde jako nukleofilní činidlo vystupuje triethyl-methantrikarboxylát (TEMT). Zmíněné činidlo se původně také používalo pro alkylation primárních, benzylových a allylových alkoholů<sup>28</sup>.

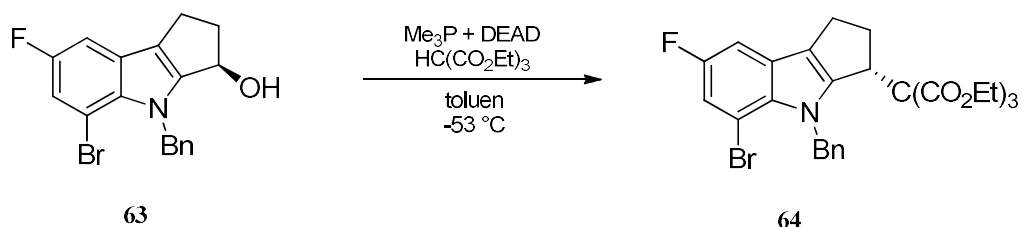


Schéma 21

Podobným způsobem probíhá i přeměna primárních či sekundárních alkoholů na nitrilovou skupinu, kdy se jako nukleofil využívá kyanid lithný nebo acetonkyanhydrin. V tomto případě se zdá být výhodná kombinace  $\text{Bu}_3\text{P}$  s  $N, N, N', N'$ -tetramethylazodikarbonamidem (TMAD) <sup>29</sup>.

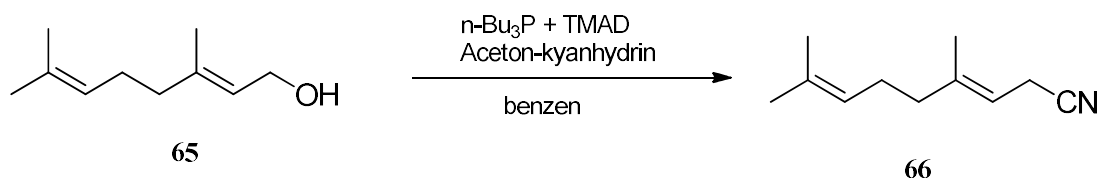


Schéma 22

#### 2.1.4.4 Další možné reakce za Mitsunobu podmínek

Za těchto podmínek lze také halogenovat hydroxyderiváty, které obsahují kromě OH skupiny i další reaktivní funkční skupiny. Jako halogenační činidlo se nejčastěji používá kovová sůl ( $\text{LiX}$ ,  $\text{ZnX}_2$  apod.). Tyto podmínky byly použity například pro syntézu prekursoru levoflotaxinu (**69**), který vykazuje vysoké antibakteriální účinky <sup>30</sup>.

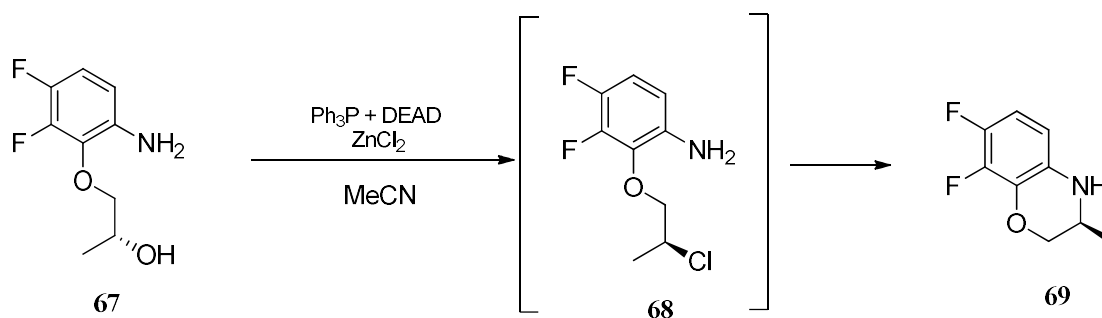


Schéma 23

Pokud je v Mitsunobu reakci použit oxid uhličitý  $\text{CO}_2$  v přítomnosti alkylaminů (**70**), vznikají isokyanáty (**71**) <sup>31</sup>.



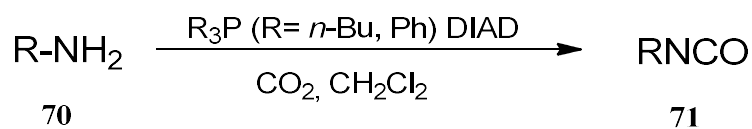


Schéma 24

U aromatických aminů je reakce trochu složitější, výsledek reakce závisí na charakteru daného aminu, kdy můžou vzniknout další vedlejší produkty, mezi něž patří například karbamoylhydrazin (**74**), triazolín (**75**) nebo isokyanát (**73**) (Schéma 25)<sup>32</sup>.

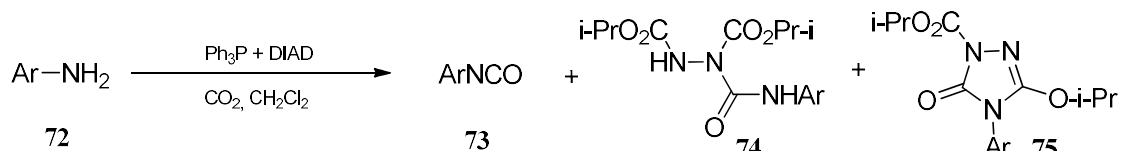


Schéma 25

Oximy obsahující skupinu =N-OH mohou vystupovat také jako nukleofil, ve většině případů dochází k intramolekulární reakci, tato vlastnost se využívá například při syntéze benzisoxazolinonů či dalších heterocyklických sloučenin (Schéma 26)<sup>33</sup>.

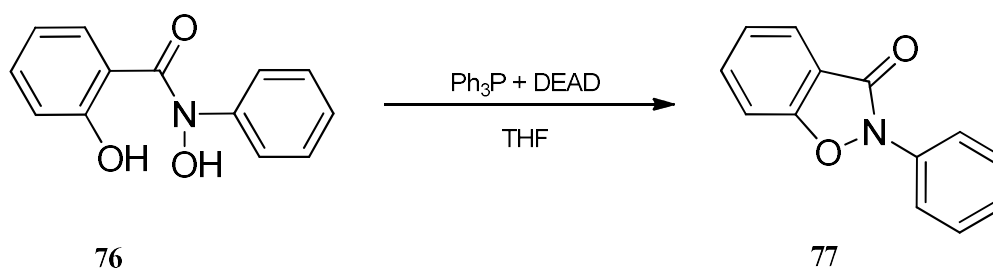


Schéma 26

#### 2.1.4.5 Tvorba C-N vazby

V současné době je také předmětem velkého zájmu hledání možných alternativ syntézy heterocyklických sloučenin. Důvodem je obrovské zastoupení dusíkatých sloučenin v léčivech, ve formě aminokyselin, nukleových bází apod. Z tohoto pohledu se zdá být výhodné, vytvořit vazbu C-N pomocí Mitsunobu činidel. Stejně jak v předešlých případech i tady je reakce limitována aciditou N-H nukleofilu. Za Mitsunobu podmínek lze *N*-alkylaci docílit tvorby nejen primárních, ale i sekundárních a terciárních aminů. Jednotlivé příklady reakcí budou uvedeny v následujících kapitolách <sup>8</sup>.

#### *N*-alkylace za použití ftalimidu

Allylové aminy bývají považovány za důležitou skupinu látek, jelikož často vystupují jako intermediáty v mnoha organických syntézách. Allylové aminy lze připravit z odpovídajících nenasycených alkoholů reagujících s ftalimidy. V konečném stádiu pak dochází ke štěpení ftalimidu methylaminem či hydrazinem. Na rozdíl od hydrazinu se methylamin osvědčil jako šetrnější způsob, jak odstranit danou skupinu či zabránit allylovému přesmyku zejména u heterocyklických sloučenin. Tento postup se využívá například u syntézy farnesyl aminu (**81**), který může vystupovat jako inhibitor v některých biochemických procesech (*Schéma 27*) <sup>34</sup>.

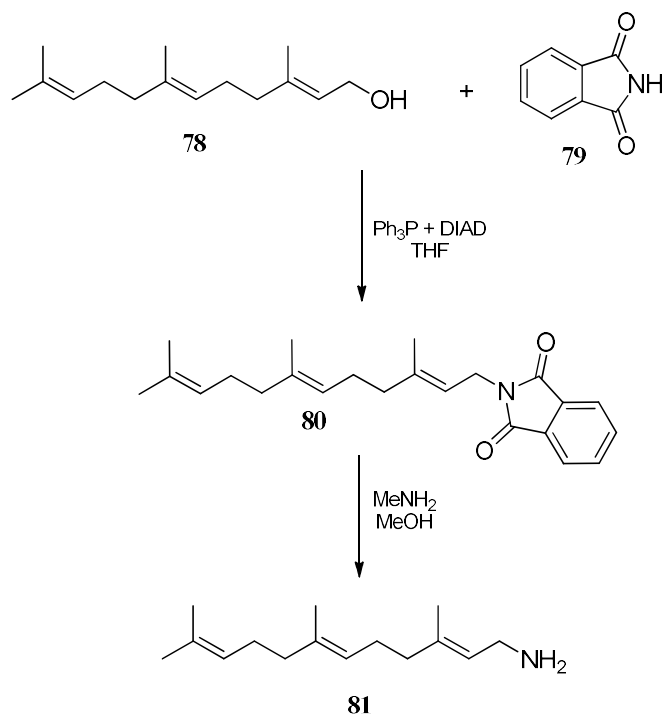


Schéma 27

V další reakci je znázorněna konverze allylového alkoholu (**82**) na aminoallylový derivát (**83**), kdy došlo k inverzi konfigurace, tentokrát byl k deprotekcii využit hydrazin (Schéma 28)<sup>35</sup>.

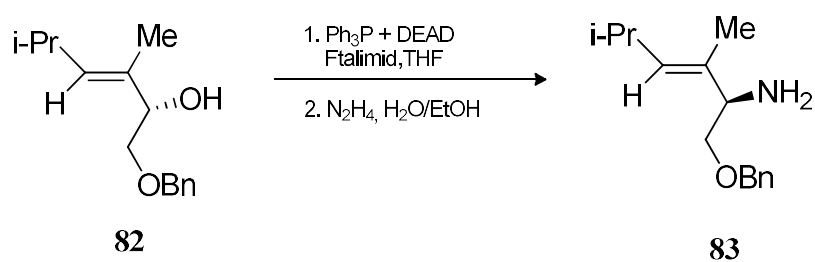
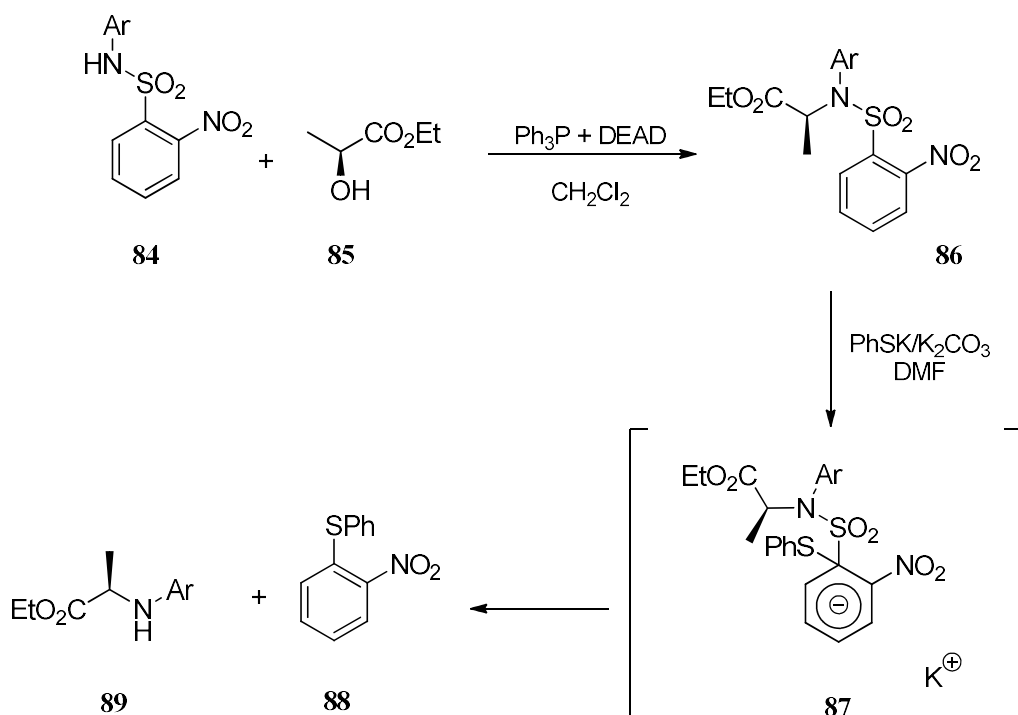


Schéma 28

## Sulfonamidy jako nukleofilní činidlo

Fukuyama-Mitsunobu reakce je jednou z dalších modifikací této metody umožňující přípravu sekundárních aminů, kdy jako nukleofil zde vystupuje sekundární sulfonamid. Mezi nejčastěji využívané sulfonamidy lze zařadit například ortho-

nitrobenzensulfonamid nebo jeho izomer para-nitrobenzensulfonamid či 2,4-dinitrobenzensulfonamid<sup>36</sup>. Jedná se o dvou krokovou syntézu, kdy po *N*-alkylaci je nutné sulfonamidovou skupinu odstranit použitím například vhodného thiolu v bazickém prostředí (K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, DBU, apod.), finálním produktem je pak sekundární amin viz *Schéma 29*<sup>37</sup>.



*Schéma 29*

V poslední době bývá s oblibou využíván jako nukleofilní činidlo *N*-trifluormethansulfonamid (**91**) například při syntéze analogu Clavizepinu (**93**), důvodem je vyšší výtěžnosti reakce (*Schéma 30*)<sup>38</sup>.

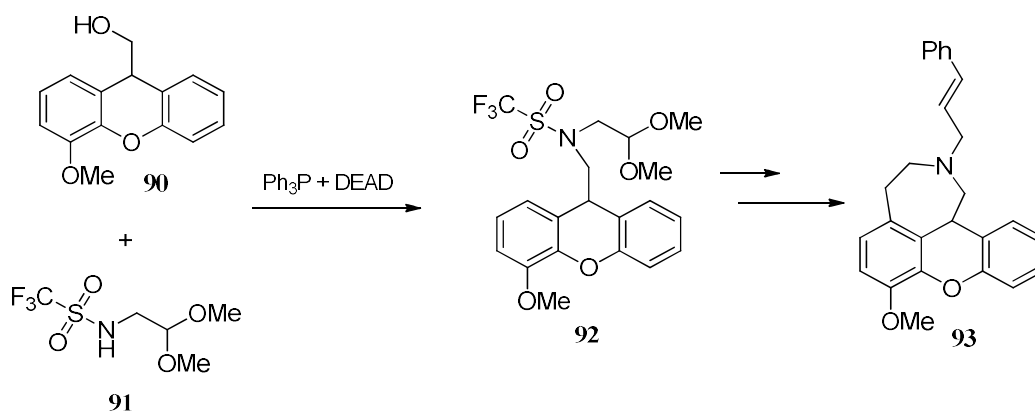


Schéma 30

### Azidy jako nukleofily

Jako vhodný zdroj azidů, jež se dá použít pro reakci, lze zařadit celou řadu látek, mezi něž patří například azidovodíková kyselina ( $\text{HN}_3$ ), trimethylsilylazid ( $\text{Me}_3\text{SiN}_3$ ), difenylfosforylazid (DPPA), azid sodný apod. Reakce probíhá relativně snadno, dochází zde ke konverzi OH skupiny na  $-\text{N}_3$  skupinu s opačnou konfigurací (Schéma 31). Použitím vhodného činidla může být následně transformována na jinou funkční skupinu. To je možná další důvodem širokého využití této metody v dalších organických syntézách<sup>39</sup>.

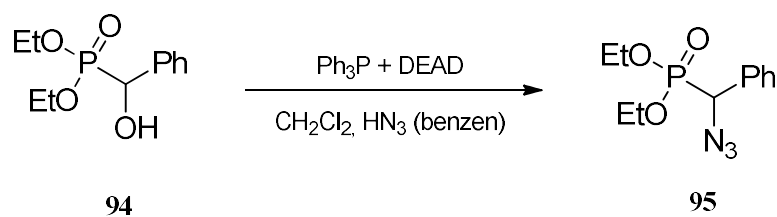


Schéma 31

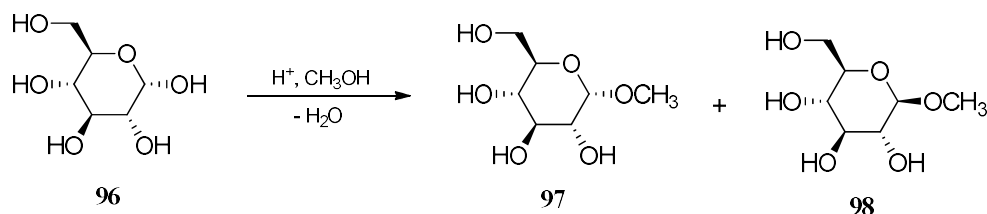
## 2.2 Metody pro přípravu glykosidů

Glykosidy představují širokou oblast sloučenin, které obsahují ve své molekule navázaný sacharid. Do této skupiny spadají i nukleosidy, které mají využití hlavně ve farmaceutickém průmyslu pro léčbu virových či nádorových onemocnění. Není tedy divu, že je přípravě glykosidů věnována tak velká pozornost <sup>40</sup>.

V těchto případech se nejčastěji zavádí cukerný zbytek na atom dusíku, kyslíku či síry, avšak byly publikovány i metody pomocí níž, lze připravit selenoglykosidy nebo C-glykosidy. Neustále se zde objevují nové ať už enzymaticky či neenzymaticky katalyzované reakce a jejich modifikace. Ovšem řada těchto metod využívá jako substráty protektivní monosacharidy s volnou poloacetalovou skupinou <sup>41</sup>. V následujících stranách této diplomové práce je uveden stručný přehled možností modifikace organických sloučenin cukerným zbytkem.

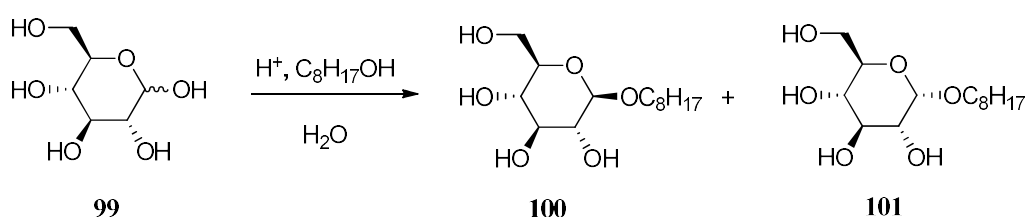
### 2.2.1 Glykosylace na atomu kyslíku

Jak už bylo zmíněno glykosidy představují širokou skupinu látek vyskytující se hojně v přírodě. Už v minulosti bylo zavádění sacharidů na atom kyslíku poměrně populární zejména také kvůli tomu, že řada těchto sloučenin vykazuje biologickou aktivitu. Postupem času se tedy začaly objevovat nové a nové postupy, jak připravit dané O-glykosidy, které figurovaly jako finální produkt při totálních syntézách <sup>2</sup>. Mezi nejznámější a zároveň nejstarší reakci lze zařadit Fischerovu glykosylaci, kdy sacharid reaguje s alkoholem za přítomnosti silné kyseliny (*Schéma 32*) <sup>42, 43</sup>.



*Schéma 32*

Tato strategie je vhodná pro přípravu jednoduchých *O*-glukosidů, kdy jako nukleofil vystupuje alifatický alkohol. Výhodou této metody je, že nevyžaduje pokrytí volných OH skupin a není časově náročná. Nicméně se také ukázalo, že tento postup není stereoselektivní, jelikož dochází často k tvorbě směsi anomerů. Původně byla tato metoda využívána pro přípravu alifatických glukosidů, mezi něž patřily například *n*-oktyl- $\beta$ -D-glukosid (*Schéma 33*) nebo *n*-dodecyl- $\beta$ -D-maltosid, u nichž se mimo jiné také ukázalo, že zvyšují rozpustnost membránových proteinů<sup>43, 44</sup>.



*Schéma 33*

Jako praktický způsob, jak provést Fischerovu glykosylaci, se osvědčila i metoda, kdy dochází k ochránění nejprve alkoholu či kyseliny trimethylsilyl chloridem (TMSCl) za vyloučení HCl, který funguje jako katalyzátor reakce (*Schéma 34*)<sup>45</sup>.

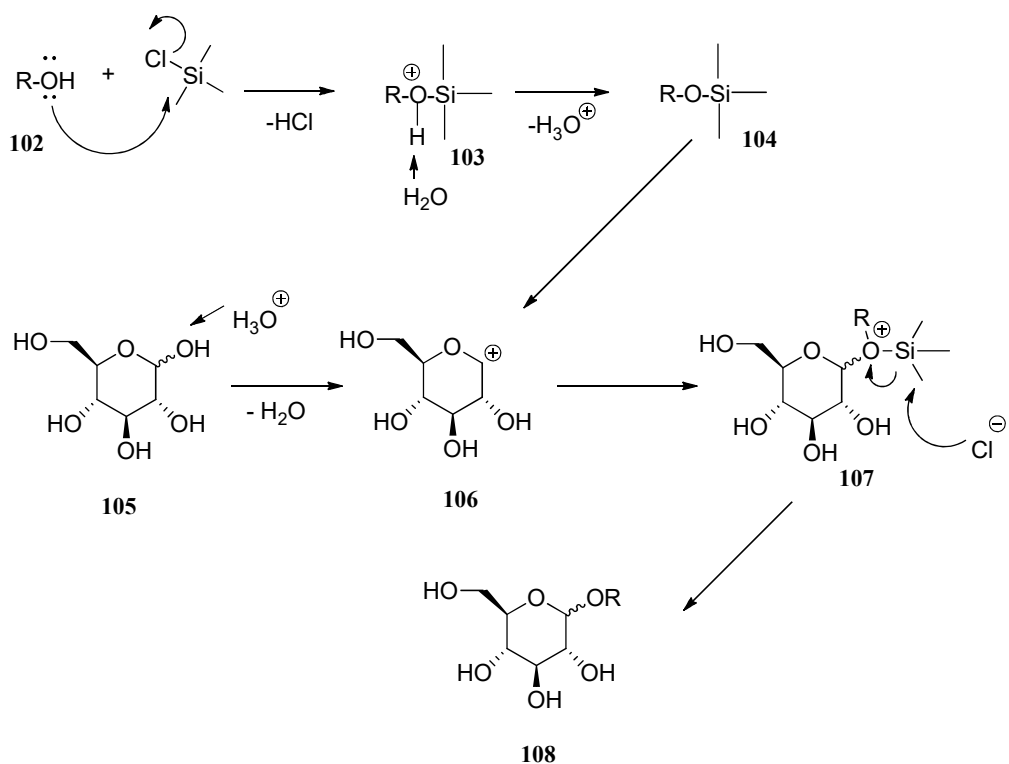


Schéma 34

Obdobou Fisherovy reakce je Koenigs-Knorrova syntéza. V tomto případě figuruje jako substrát chráněný glykosyl-halogenid reagující s arylovým nebo alifatickým hydroxyderivátem za přítomnosti stříbrné soli, která může být také nahrazena CaCl<sub>2</sub>, CaSO<sub>4</sub> nebo Lewisovou kyselinou (BF<sub>3</sub>.OEt<sub>2</sub>, ZnF<sub>2</sub>, apod.) (Schéma 35) <sup>43,44</sup>.

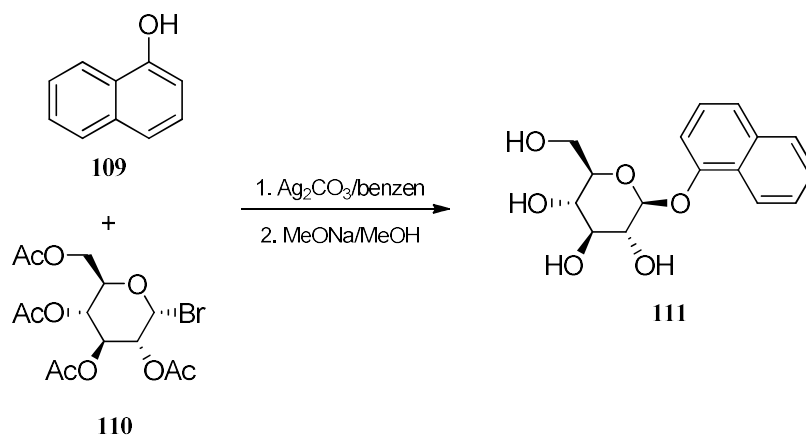
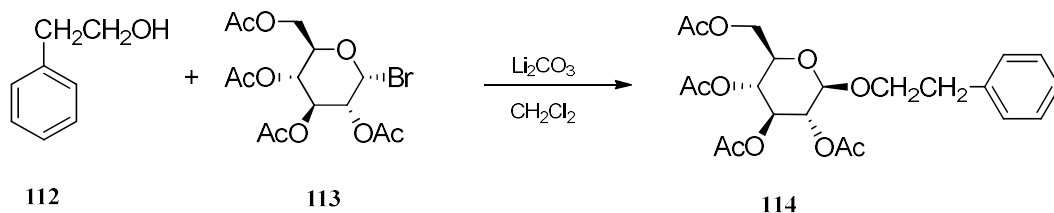


Schéma 35

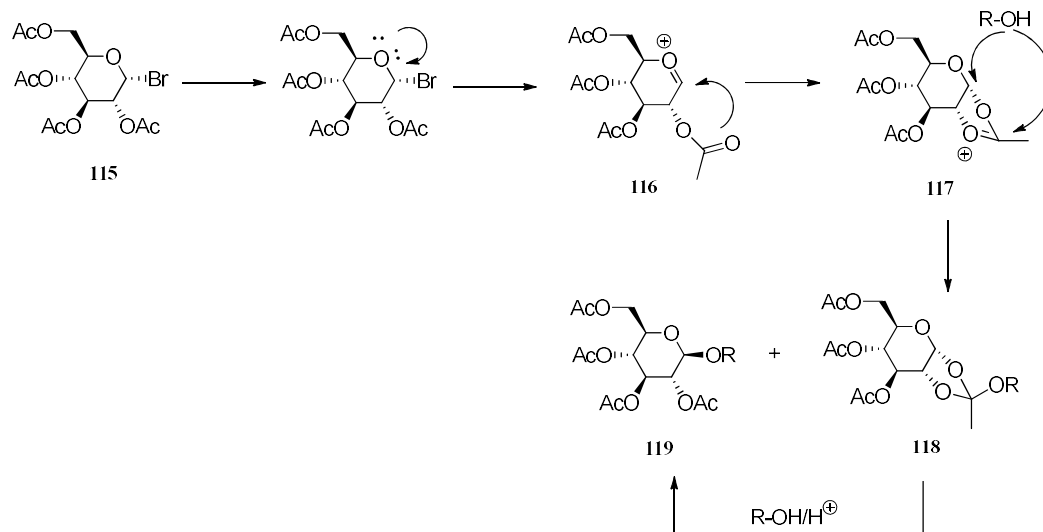


Kvůli komplikované separaci produktu se začal používat také  $\text{Li}_2\text{CO}_3$ , který je vhodný i pro nenasyčené nebo aromatické hydroxysloučeniny viz *Schéma 36* <sup>46</sup>.



*Schéma 36*

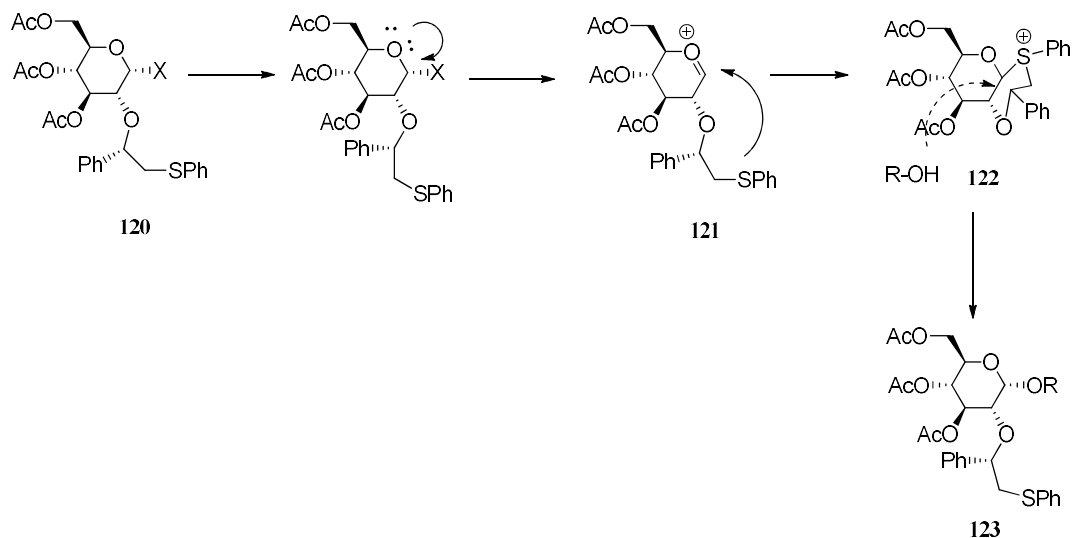
Co se týče stereoselektivity reakce, pokud je na C'2 acetátová skupina, při odstoupení halogenidu může dojít k intramolekulární reakci. Acetátová skupina na C'2 s C'1 vytváří orthoester, tento intermediát pak způsobuje začlenění nukleofilu přednostně do polohy  $\beta$  (*Schéma 37*).



*Schéma 37*

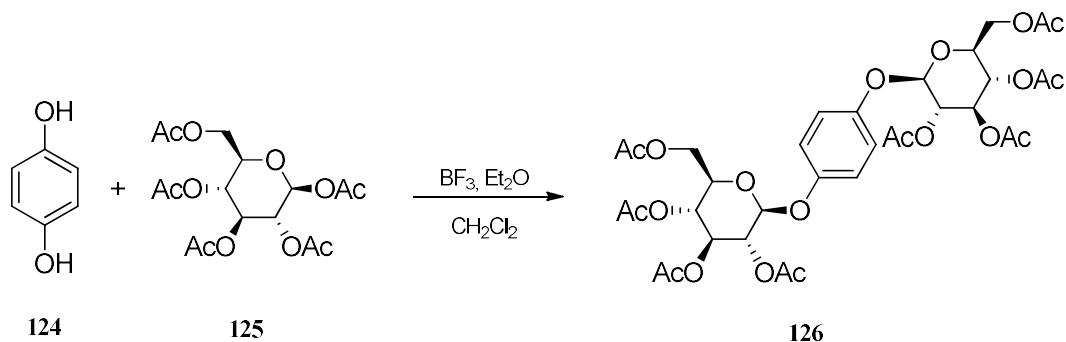
Postupně se však začaly objevovat nové způsoby, jak lze stereoselektivně získat  $\alpha$ -anomery. Jedním z nich je ochránění hydroxyskupiny na uhlíku v pozici 2 (1*S*)-fenyl-2-(fenylsulfanyl)ethylovou skupinou, která se sousední hydroxyskupinou

vytváří tzv. neklasický sulfoniový iont (**122**), který je posléze vytěsněn atakem nukleofilu, čímž vzniká stereoselektivně  $\alpha$ - anomer (**123**) viz *Schéma 38* <sup>47</sup>.



*Schéma 38*

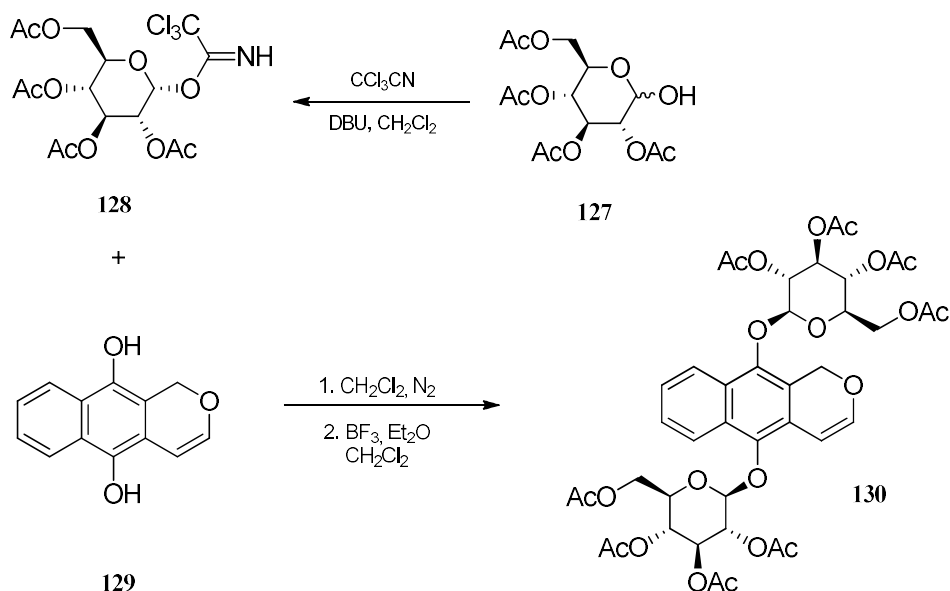
Koenigs-Knorrovou syntézou byl také úspěšně připraven  $\beta$ -D-glukopyranosid hydrochinonu, kdy došlo k tvorbě C-O vazby na obou hydroxyskupinách <sup>44, 48</sup>.



*Schéma 39*

Ovšem ne vždy za těchto podmínek může dojít k diglykosylaci. Je zvláštní, že při reakci chráněného monosacharidu s dalšími deriváty odvozenými od hydrochinonu reakce neproběhla. Bylo nutné nejprve danou anomerní skupinu aktivovat vhodným činidlem,

v případě pentalongin hydrochinonu (**129**) došlo k aktivaci pomocí trichloracetonnitrilu za přítomnosti DBU na trichloracetimidát (**128**) (viz *Schéma 40*)<sup>49</sup>.



*Schéma 40*

Tímto způsobem lze připravit i málo reaktivní manosidy, jejichž anomerní skupinu bylo také nutné převést na trichloracetimidátový derivát (**131**), který posléze za katalýzy Lewisovou kyselinou poskytl s 4-nitrobenzylalkoholem (**132**)  $\alpha$ -mannosid (**133**). Pokud v systému není přítomna Lewisova kyselina, vzniká opačný anomer (**134**) (*Schéma 41*)<sup>47, 50</sup>.

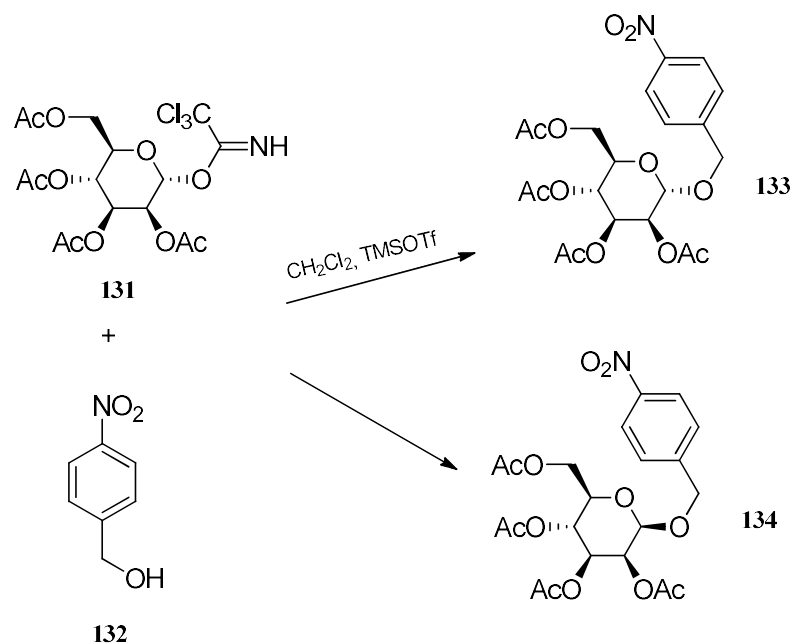


Schéma 41

Aromatický aglykon lze zavést na cukerný zbytek Michaelovou reakcí (Schéma 42), kdy dochází ke kondenzaci  $\alpha$ -glykosyl halogenidu (135) s draselnou solí daného aromátu (136). V důsledku působení sousedních hydroxyskupin vzniká výhradně  $\beta$ -*O*-glykosid (137) <sup>47</sup>.

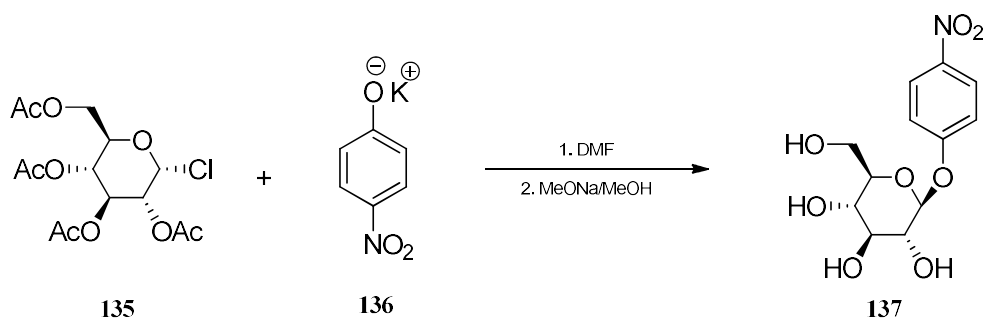
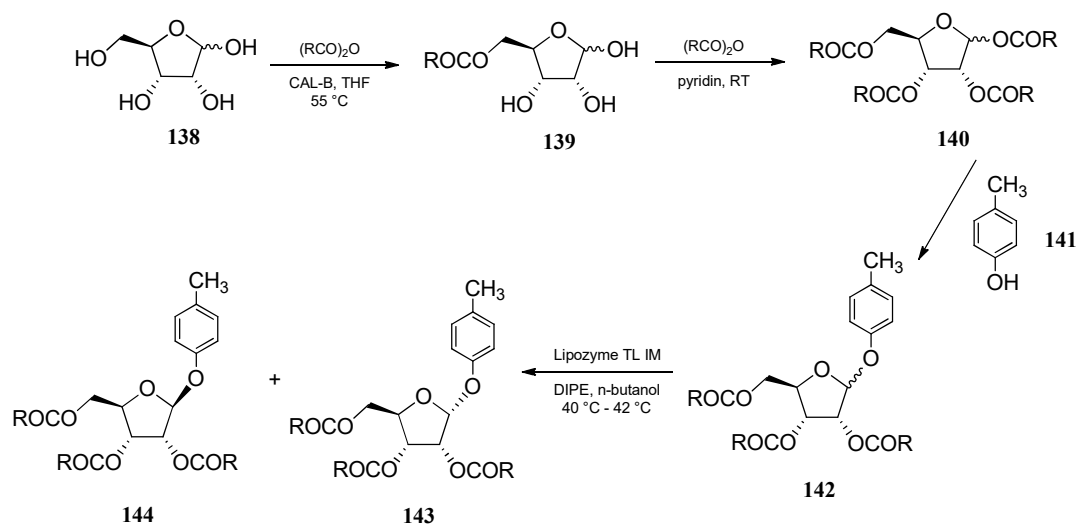


Schéma 42

Velká skupina ať už synteticky připravených či přírodních nukleosidů nebo oligonukleotidů je zastoupeno spíše v  $\beta$ -formě, využití jejich  $\alpha$ -anomerů například jako potenciální terapeutická činidla je výrazně limitováno, zejména kvůli obtížné

syntéze či komplikované separaci těchto anomerů. U enzymatických reakcí lze značně usnadnit separaci anomerů, pokud je daný sacharid nejprve ochráněn vhodnou skupinou, použitím vhodného enzymu dojde pak k deprotekcí anomerní hydroxyskupiny, která interaguje s nukleofilem. Po tvorbě vazby mezi sacharidem a necukerným zbytkem, je pak směs anomerů lépe separovatelná použitím vhodného enzymu viz *Schéma 43* <sup>51</sup>.



*Schéma 43*

Jelikož transformace výchozích látek na glykosid často zahrnuje více chemických operací, použití různých katalyzátoru, rozpouštědel apod., může při těchto transformacích vznikat mnoho nežádoucích vedlejších produktů, které jsou těžko separovatelné. Další překážkou může být dvoufázový systém, kdy je organická látka rozpustná v organickém rozpouštědle a reagent ve vodě, dochází tak ke značnému zpomalení reakce, která probíhá jen u fázového rozhraní. Tomuto problému se dá předejít katalýzou fázovým přenosem, jehož princip spočívá v přenosu generovaného aniontu z vodné nebo pevné fáze do fáze organické pomocí lipofilního kationtu, kde reakce probíhá (*Schéma 44*). Nejčastěji používanými přenašeči bývají kvarterní amoniové soli, crown-ethery nebo kryptandy <sup>52, 53</sup>.

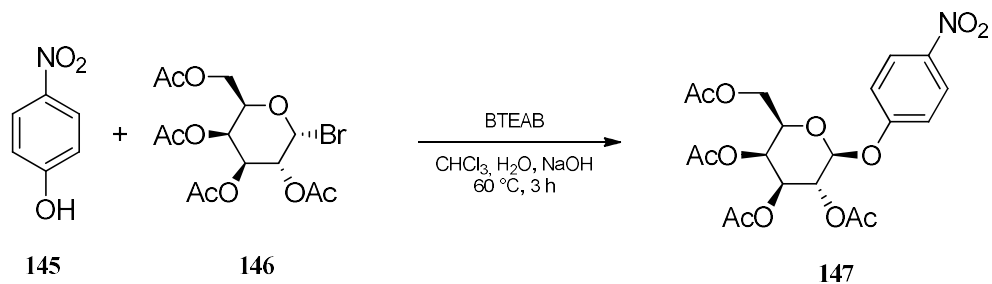


Schéma 44

Další zajímavou glykosylační metodou je tzv. IAD metoda, kdy dochází k intramolekulární reakci na pětičlenných cyklech mezi uhlíkem C'2 a anomerním uhlíkem C'1. Jedná se o 1,2-*cis* glykosylaci chráněného sacharidu s volnou hydroxyskupinou na uhlíku C'2, kdy se aglykonový zbytek přeneseme z uhlíku C'2 na anomerní uhlík (Schéma 45) <sup>54</sup>.

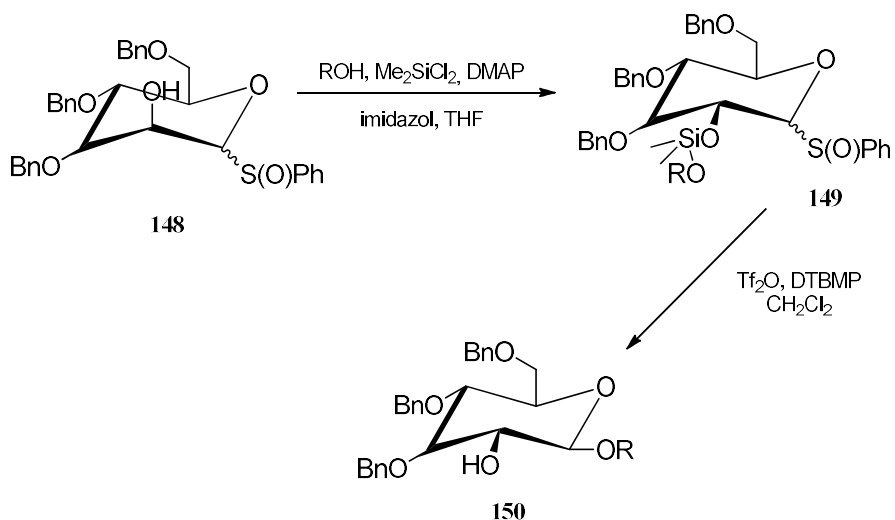


Schéma 45

## 2.2.2 Glykosylace na atomu dusíku

*N*-glykosidy jsou generovány připojením sacharidového zbytku na aglykon přes atom dusíku. Metod jak lze připravit *N*-glykosidy je celá řada, mezi klasické metody patří opět Michaelova reakce (Schéma 46), pomocí níž lze získat v bazickém prostředí furanosové deriváty navázané na atom dusíku <sup>44</sup>.

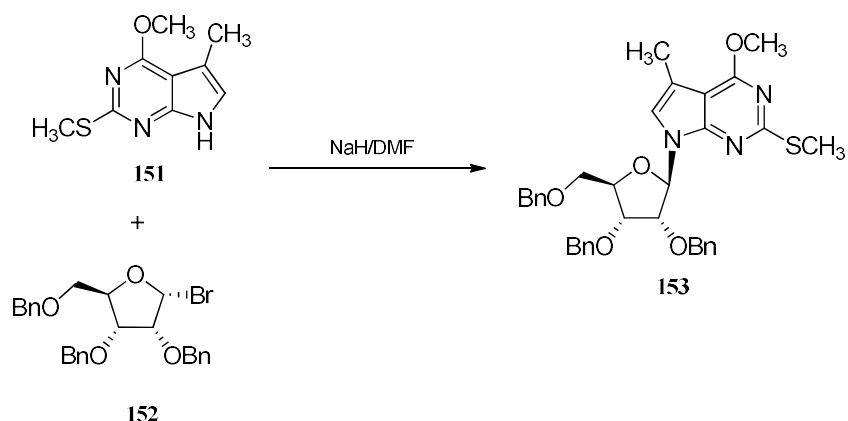


Schéma 46

Další alternativou glykosylace je fúzní reakce, která probíhá v kyselém prostředí, podstata této metody spočívá v interakci kyselého heterocyklického systému (154) s peracylovaným sacharidem (155) při 150 – 155 °C, přičemž lze reakci podpořit použitím katalytického množství Lewisovy kyseliny <sup>55</sup>.

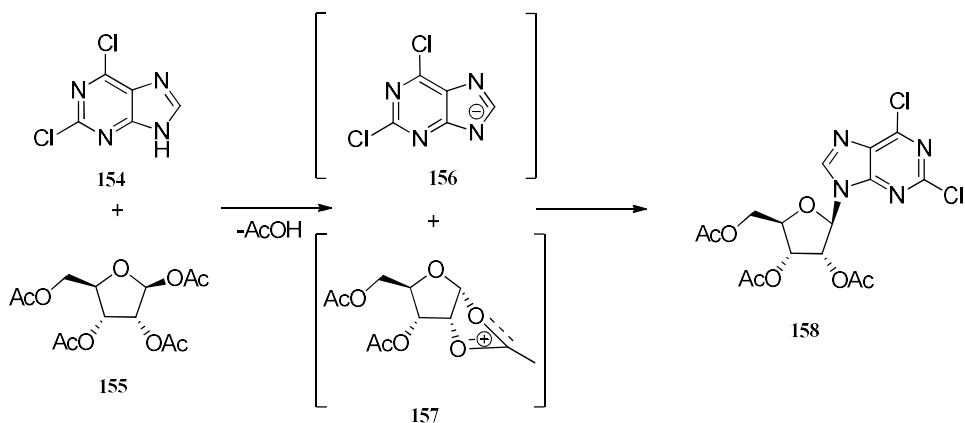


Schéma 47

Reakcí chráněných glykosylhalogenidů s daným heterocyklickým systémem za účasti stříbrných solí nejčastěji v prostředí dusíkatých bází, dochází k formaci na požadované *N*-glykosidy, tato metoda je známá jako Fischer-Helferichova reakce (Schéma 48). Původní uspořádání reakce spočívalo v zahřátí acetobromglukosy (**160**) se stříbrnou solí 2,6,8-trichlorpurinu (**159**) v xylenu <sup>47</sup>.

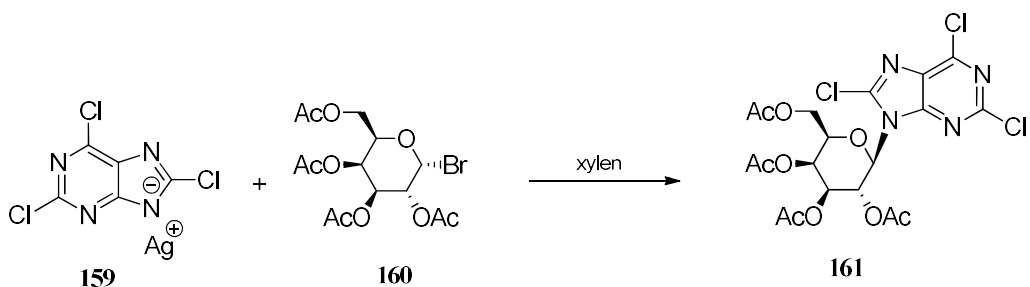


Schéma 48

Kvůli však nižší polaritě, rozpustnosti a reaktivitě začala být stříbrná sůl postupně nahrazována za soli rtuti <sup>42, 44</sup>. Tato modifikovaná reakce je známá jako Davol-Lowyho reakce (Schéma 49). Na základě těchto podmínek byly připraveny chlorpurinové nukleosidy, kdy bylo zjištěno, že uspořádání glykosyl halogenidu může ovlivnit regioselektivitu reakce. Při reakci s acetobromglukosou (**165**) vznikal *N*-7 regioizomer (**166**), zatímco za stejných podmínek s acetochloribosou (**163**) vznikal *N*-9 regioizomer (**164**) <sup>44</sup>.

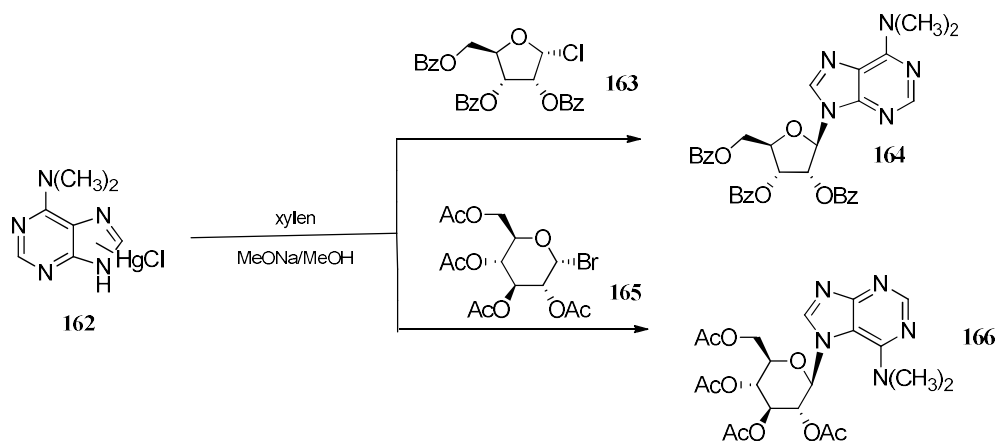
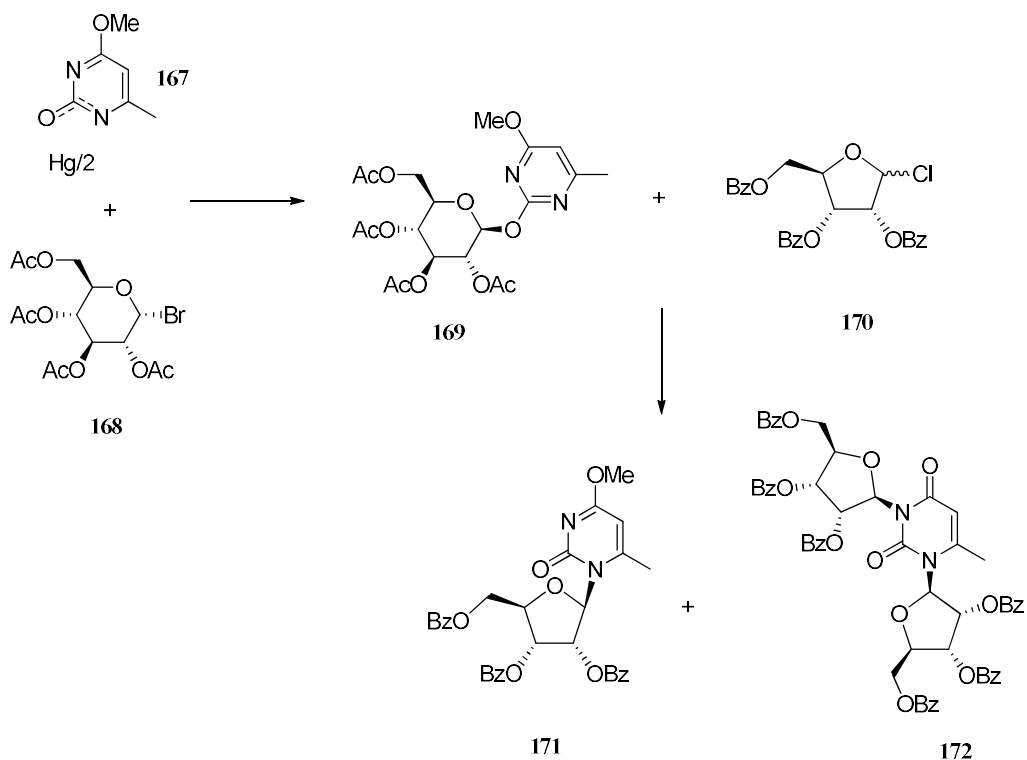


Schéma 49



Při reakci rtuťné soli uracilových či cytosinových derivátů s glykosyl halogenidem vzniká přednostně *O*-glykosid (**169**), který však může přesmykem nebo dalším sledem reakcí interagovat s jiným halogen sacharidem vedoucí k formaci požadovaného *N*-glykosidu (*Schéma 50*)<sup>55</sup>.



*Schéma 50*

Kromě stříbrné nebo rtuťné soli se využívá také sodná sůl (**173**), pomocí níž lze provést syntézu 2'-deoxy- $\beta$ -D-ribofuranosylových derivátů viz *Schéma 51*<sup>56</sup>.

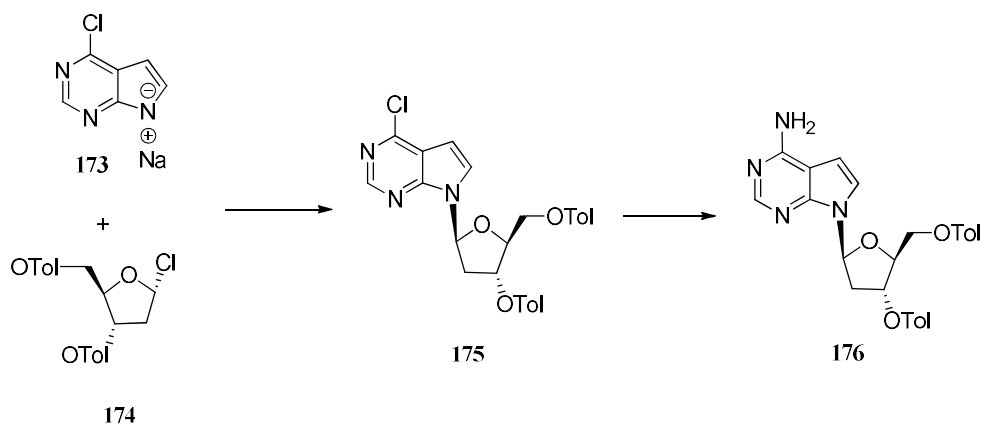


Schéma 51

Další velice významnou reakcí je Hilbert-Johnsova reakce (Schéma 52), jejíž počátky sahají až do roku 1930. Reakce probíhá poměrně snadno, kdy dochází k zahřátí obou složek za sníženého tlaku. Původní metoda vycházela z reakce chráněného halogen sacharidu (178), který zde zaujímal pozici jako elektrofil s heterocyklickým nukleofilem (177)<sup>57</sup>.

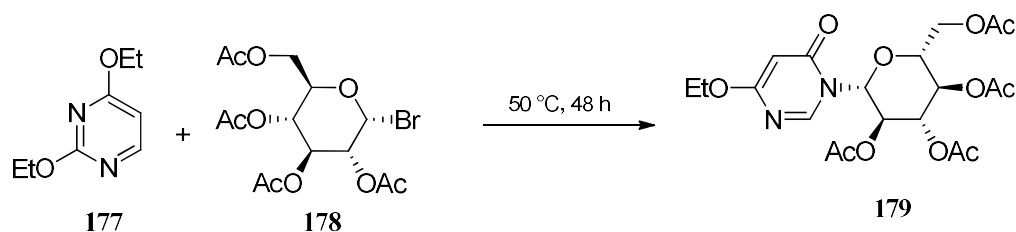


Schéma 52

Reakce nemusí být vždy stereoselektivní, při reakci 2,4-dimethoxy-pyrimidinu (180) s 1-chlor-2'-deoxy-3,5-di-*O-p*-toluoyl- $\alpha$ -D-erythro-pentafuranosou (181) vzniká směs anomerů, kdy převládá spíše  $\alpha$ -anomer (182). Je pravděpodobné, že v tomto případě reakce probíhala spíše mechanismem S<sub>N</sub>1 viz Schéma 53. Proč se reakce ubírala touto dráhou si lze odůvodnit dvěma faktory: prvním faktorem je, že objemná *p*-tolyllová skupina na C'5 stericky brání nukleofilnímu ataku z polohy  $\beta$ . Druhým faktorem je tvorba tzv. cyklického iontu, který reaguje stereospecificky za tvorby  $\alpha$ -anomeru<sup>58</sup>.

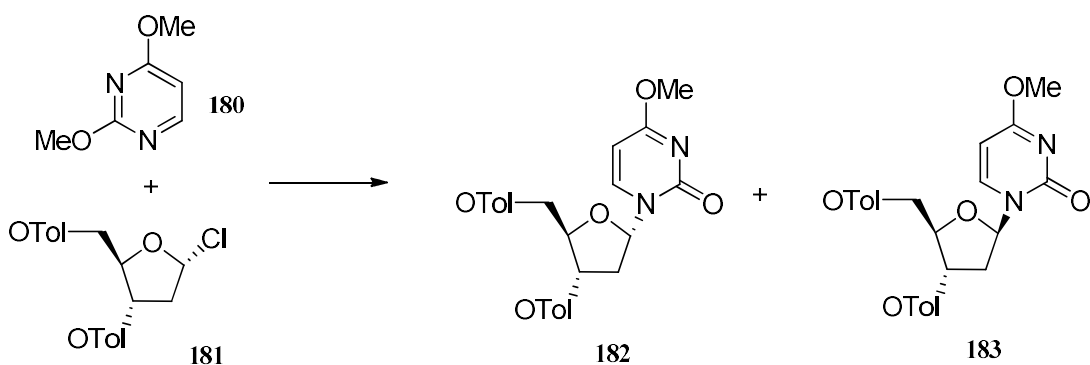


Schéma 53

Postupem času se začaly objevovat různé variace reakce. Díky tomu došlo k objevu velice známé Vorbrüggenovy metody (Schéma 54). Jako iniciátor reakce se využívá trifluormethansulfonát (TMSOTf) v 1,2-dichlorethanu nebo acetonitrilu, jehož katalytické množství vytváří intermediát. Princip spočívá v interakci peracylovaného sacharidu (**185**) nejčastěji s pyrimidinovou bází pokrytou silylovou skupinou (**186**). Bylo zjištěno, že silylace nukleofilu vede k vyšší rozpustnosti v organických rozpouštědlech, mimo jiné silylované heterocykly jsou také silnějšími nukleofily než alkoxyheterocykly<sup>59</sup>.

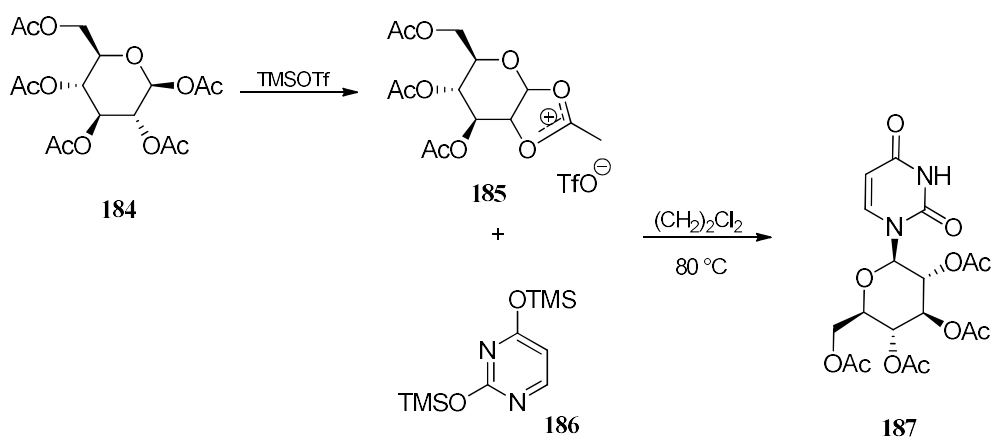
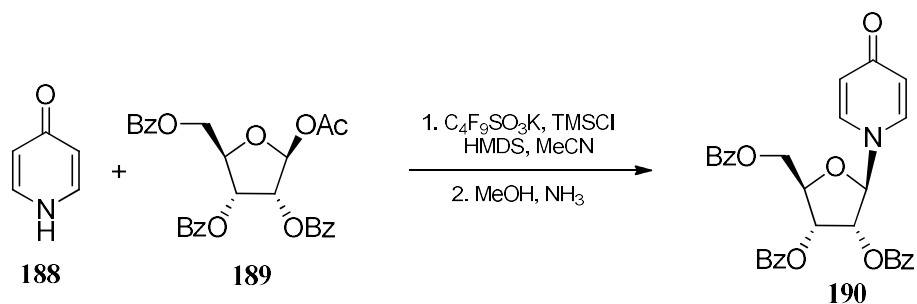


Schéma 54

Reakci lze také katalyzovat dalšími silylovanými Lewisovými kyselinami TMSOCl<sub>4</sub> (trimethylsilyl chloristan), TMSOCl (trimethylsilyl chlorid) apod.,

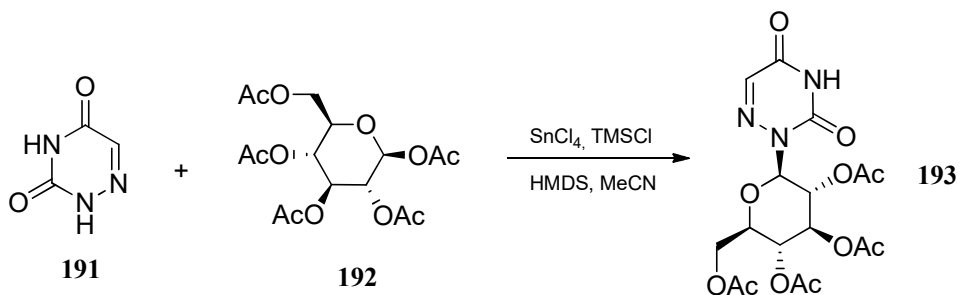
které v porovnání s běžnými Lewisovými kyselinami, poskytovaly mnohem vyšší výtěžky viz *Schéma 55* <sup>60</sup>.



*Schéma 55*

Zajímavou metodou jak lze připravit nukleosidy představuje tzv. „one pot“ reakce (*Schéma 56*), která zahrnuje kombinaci několika odlišných reakcí probíhající v polárním prostředí v jednom kroku mezi ně patří například:

- Silylace heterocyklu.
- Silylace triflátové nebo nonflátové soli za tvorby TMSOTf nebo  $(CH_3)_3SiOSO_2(CF_2)_3CF_3$  pokud v reakci nevystupuje  $SnCl_4$  jako katalyzátor.
- Syntéza nukleosidu za přítomnosti Lewisovy kyseliny <sup>61</sup>.



*Schéma 56*

Metod, kdy lze připravit glykosidy z nechráněných monosacharidů, není mnoho, jednou z nich je již zmíněná původní Fischerova syntéza či enzymaticky katalyzovaná reakce. Pro představu jsou zde znázorněny kroky enzymatické přeměny in situ z uridinu na daný purin nukleosid (**197**) (Schéma 57). V prvním kroku dochází k fosforylaci uridinu (**194**) pomocí uridinofosforylasy. Odpovídající pentosa-1-fosfát (**195**) po té reaguje s purinovou bází (**196**), za účasti enzymu purinnukleosid fosforylasy vzniká pak purinový nukleosid (**197**)<sup>62</sup>.

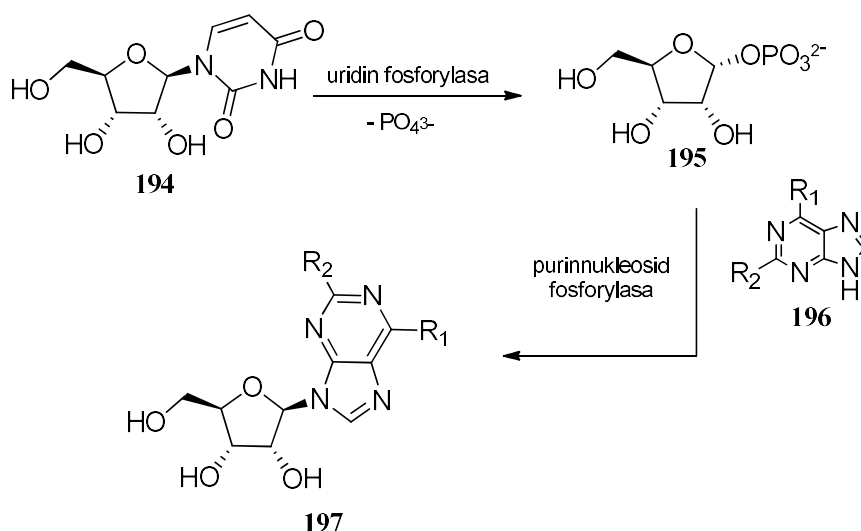


Schéma 57

Touto metodou lze provést stejným způsobem transglykosylaci 2- deoxy- thymidinu (**198**) s 6-dimethylaminopurinovu bází (**200**) za vzniku odpovídajícího 2'- deoxypurin nukleosidu (**201**)<sup>63</sup>.

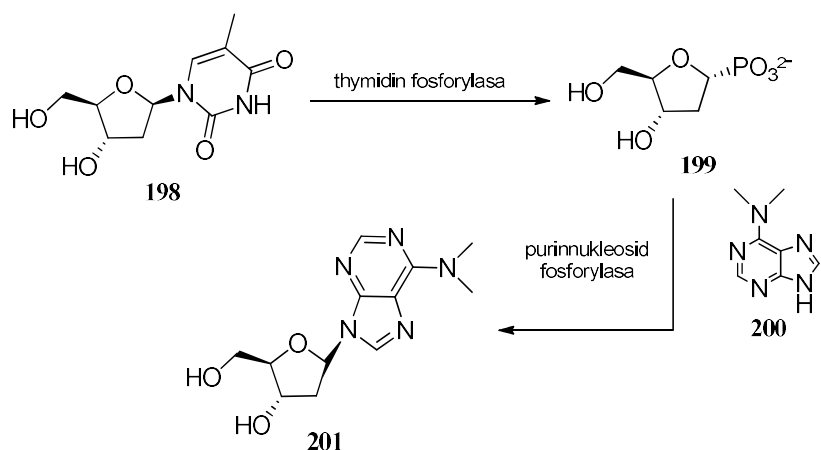


Schéma 58

### 2.2.3 Glykosylace na atomu uhlíku

Formace *C*-glykosidové vazby spočívá v navázání silně nukleofilního uhlíku na elektrofilní centrum daného sacharidu. Nukleofilem mohou být nejčastěji nitrilové, organokovové, vinyl silylové sloučeniny či aktivované aromáty. Vhodným elektrofilem bývají například sacharidy s dobře odstupující skupinou, 1,2-anhydridy sacharidů, laktony, glykaly apod. Avšak reakční podmínky mohou značně ovlivnit průběh reakce, kdy jako konkurenční reakce probíhá *O*-glykosylace. Příkladem je zde syntéza *C*- a *O*- flavonoidu, kdy za katalýzy Lewisovou kyselinou došlo spíše k formaci vazby na uhlíku (**204**). Pokud však reakce probíhala za stejných podmínek v kyselém prostředí převažoval spíše *O*-flavonoid (**205**)<sup>44</sup>.

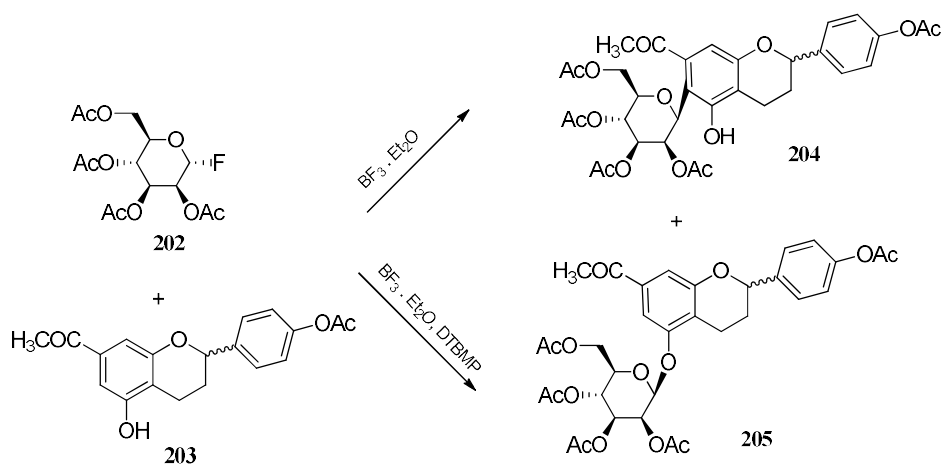
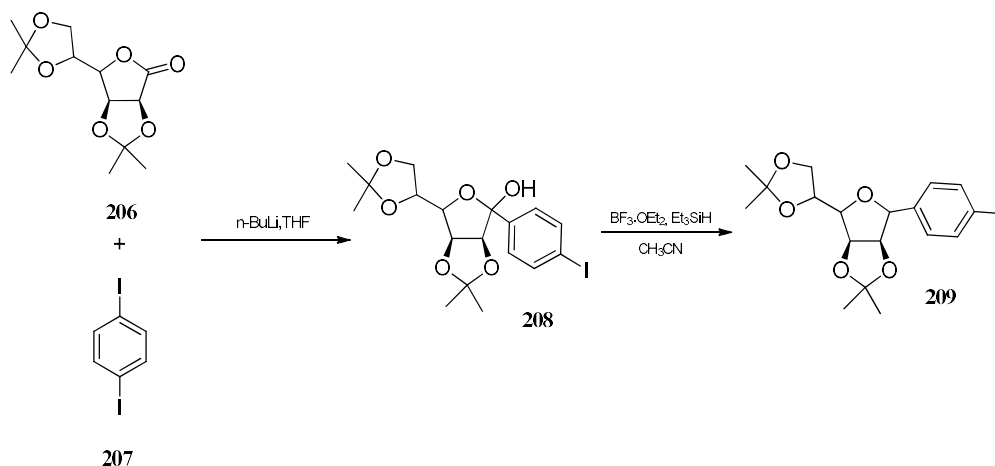


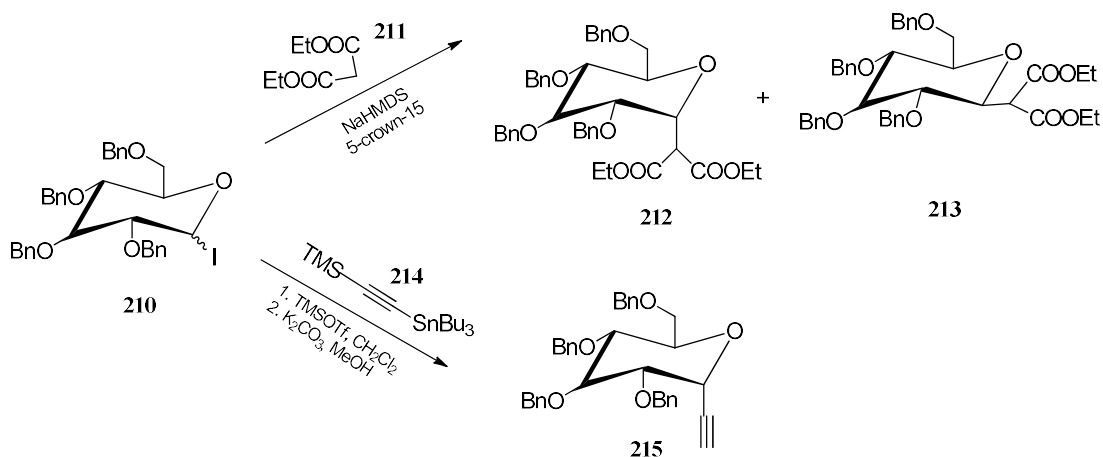
Schéma 59

Na jiném principu jsou založeny reakce s laktony (**206**), kdy nejprve reakcí s organokovovým činidlem, dochází k tvorbě terciálního alkoholu (**208**), který je posléze působením Lewisovy kyseliny redukován (*Schéma 60*)<sup>44</sup>.



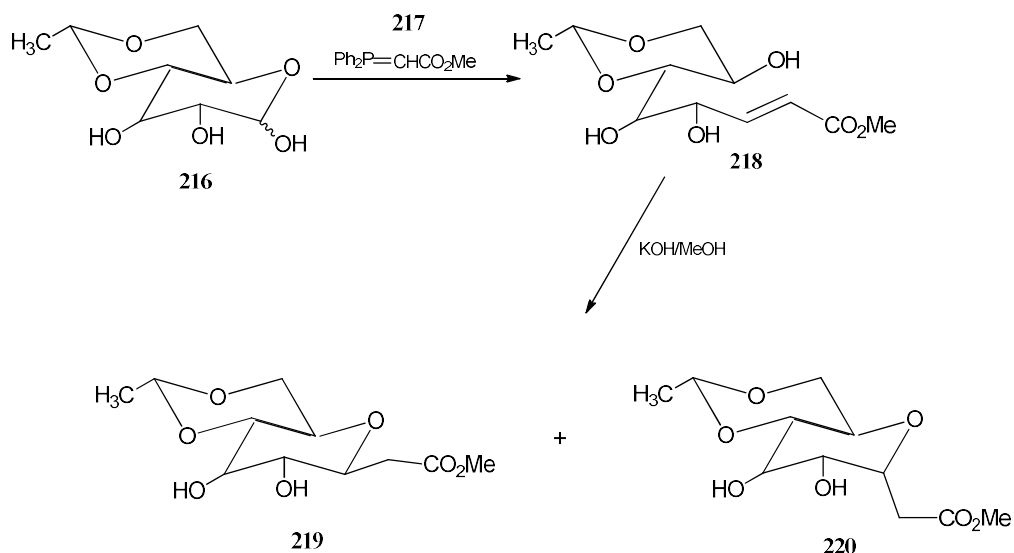
*Schéma 60*

Tvorba vazby C-C nemusí probíhat pouze mezi sacharidem a aromátem, na cukerný zbytek lze poměrně snadno zavést i alifatický zbytek, který však musí obsahovat skupinu se záporným indukčním efektem viz *Schéma 61*<sup>44</sup>.



*Schéma 61*

Pro formaci *C*-glykosidové vazby lze využít Wittigův ylid (**217**), který zapříčiní otevření cyklického kruhu za vzniku nenasyceného meziprojektu (**218**), který je nestálý a cyklizuje se zpátky na sacharid. Výsledkem reakce jsou dva anomerní produkty viz *Schéma 62*.



*Schéma 62*

Pro přípravu biologicky aktivních *C*-glykosidů (glycerolipidů, aromatických aminokyselin apod.) se využívá Ramberg-Bäcklundova metoda (*Schéma 63*). Tento poměrně nový postup vychází z pokrytého *S*-glykosidu, kdy je atom síry sledem reakcí oxidován na sulfonový derivát. Během reakce dochází k přesmyku, který je doprovázen vytěsněním sulfonové skupiny<sup>44</sup>.



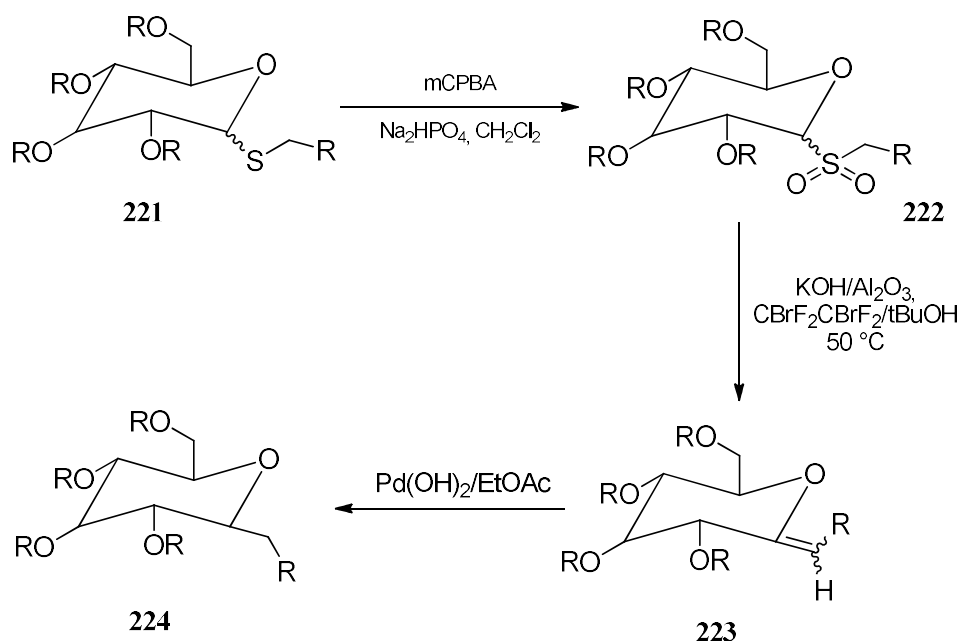


Schéma 63

## 2.2.4 Glykosylace na atomu síry

V poslední době byla věnována také velká pozornost přípravě *S*-glykosidů, jelikož představují potencionální antimikrobiální a antivirové činidlo, či léčivo proti HIV-1. Dalším důvodem zájmu o tyto sloučeniny byl ten, že přítomnost thiofilní skupiny zajišťuje regioselektivní průběh reakce, navíc díky své stabilitě mohou sloužit jako glykosylový donor během chemických transformací. Jednou z nich byla již zmíněná Ramberg-Bäcklundova metoda. Bohužel je použití těchto látek limitováno jejich značnou toxicitou, vysokou cenou nebo obtížnou manipulací.

Glykosylace probíhá lépe, pokud je thio skupina aktivována v bazickém prostředí za tvorby soli nebo použitím silylačního činidla, následnou reakcí s furanosovým či pyranosovým sacharidem dochází k inverzi konfigurace na anomerním uhlíku viz Schéma 64 a Schéma 65<sup>44, 64</sup>.

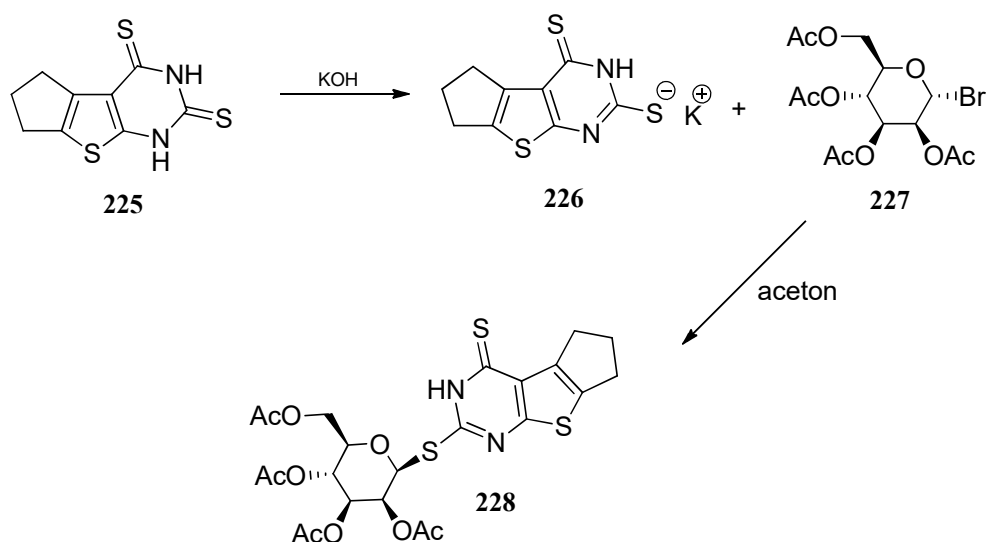


Schéma 64

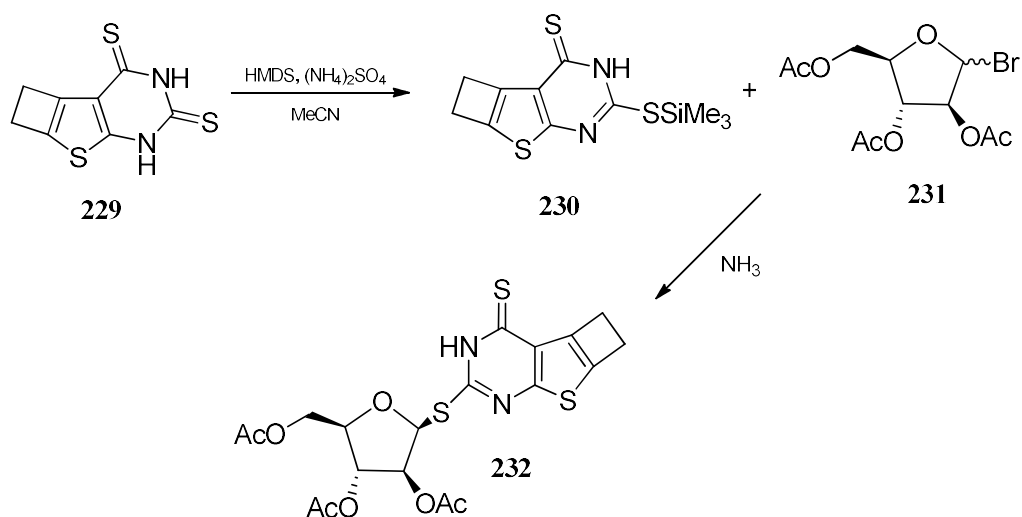


Schéma 65

## 2.2.5 Glykosylace pomocí Mitsunobu reakce

Velké množství farmaceuticky důležitých molekul obsahují ve své struktuře nuklobáze. Klíčovým parametrem tedy bývá tvorba vazby mezi nukleobází a daným sacharidem. Samozřejmě je nutné brát také v potaz vhodné reakční podmínky, aby finální produkt vykazoval co nejlepší vlastnosti. Z tohoto pohledu se nabízí jako vhodná metoda Mitsunobu reakce, jelikož probíhá za mírných reakčních podmínek. Existuje i řada publikací, kde je potvrzeno, že touto technikou lze získat *O*, *C* i *N*-glykosidy.

Avšak u drtivé většiny těchto reakcí je nutné v aktivovat chráněný 1-hydroxysacharid Mitsunobu činidly, který posléze reaguje s vhodnou bází<sup>8,65</sup>.

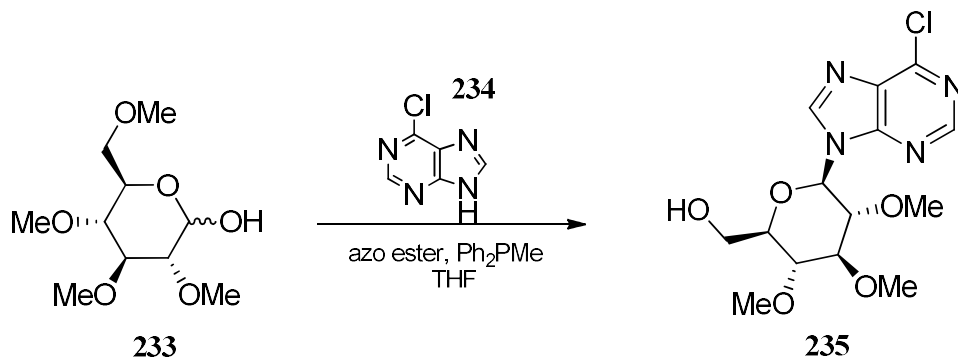


Schéma 66

Pokud jsou v systému přítomny na C'1 a C'5 volné hydroxyskupiny, může Mitsunobu činidlo vytvořit s těmito skupinami cyklický 1,5-fosfátový intermediát (238), který s cínatými deriváty heterocyklických sloučenin (239) poskytuje nukleosidy v relativně vysokých výtěžcích (Schéma 67)<sup>55</sup>.

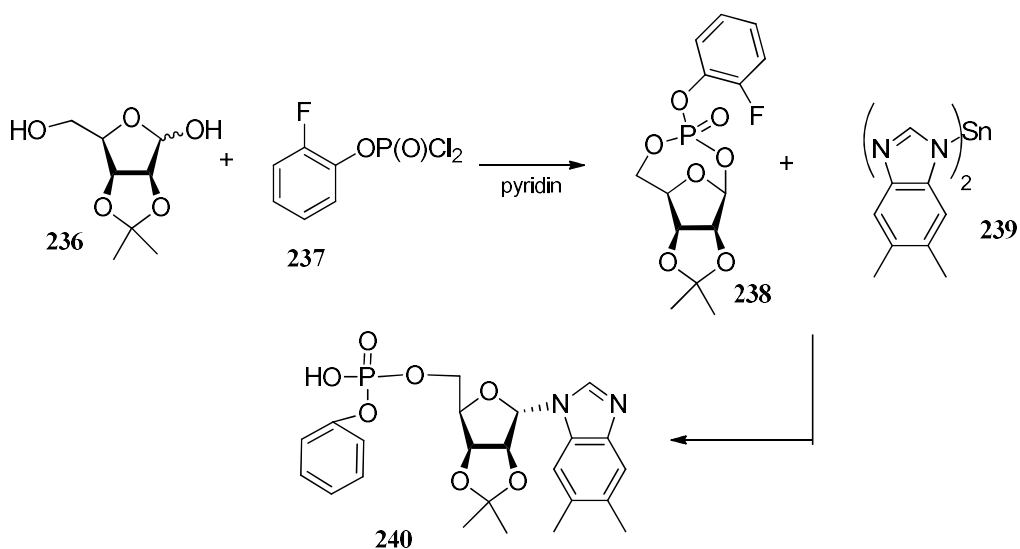


Schéma 67

Za Mitsunobu podmínek lze získat C-glykosidy reakcí přes O-glykosidy, kdy v přítomnosti Lewisovy kyseliny  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  dochází k přesmyku cukerného zbytku z kyslíku na uhlík (schéma 68).

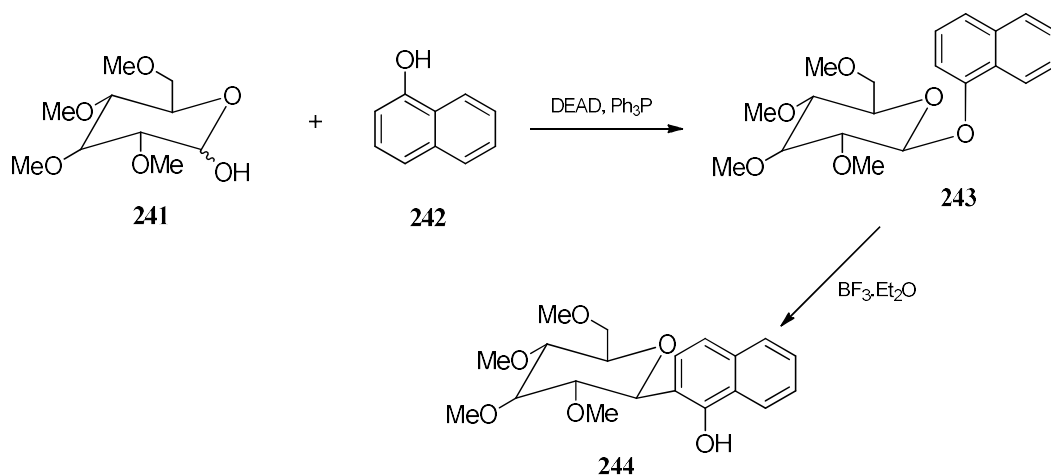


Schéma 68

Regio- a stereoselektivita reakce se odvíjí od prostorového uspořádání či chemických vlastností výchozích komponent, to může průběh reakce značně zkomplikovat a často vést k tvorbě isomerů, které není tak jednoduché od sebe separovat. Další nevýhodou je poměrně pracná a zdlouhavá reakce, jelikož je nutné daný monosacharid ochránit vhodnými skupinami, poté aktivovat anomerní skupinu a až poté je možné zavést sacharid do organické molekuly. A až poté následuje deprotektce hydroxyskupin. Tato několika kroková operace bývá doprovázena tvorbou řady meziproductů či vedlejších složek, které je někdy obtížné separovat z reakční směsi. Další negativum této metody může být nepříznivý vliv Mitsunobu činidel na rozpustnost daných sacharidů a nukleobází <sup>44</sup>.

Už v minulosti se objevilo pár publikací, kde byla věnována pozornost, zavádění nechráněných cukerných zbytků do organických sloučenin Mitsunobu cestou. Jednou z nich je reakce nechráněné D-ribosy s isopropanolem, jež byla katalyzována chloristanem lithným, z Mitsunobu činidel byla použita kombinace trifenylofosfinu a tetrabrommethanu. Dochází zde k otevírání kruhu a ustavení určité rovnováhy

mezi furanosovým a pyranosovým derivátem. Jako majoritní produkt zde vznikl pyranosid ve formě  $\beta$  anomeru (Schéma 69)<sup>66</sup>.

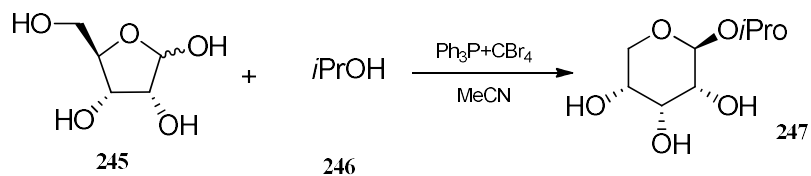


Schéma 69

Další příkladem je zavedení nechráněného cukereného zbytku na samotný fenol, kdy jako činidla byly zvoleny  $(n\text{Bu})_3\text{P}$  s DEADem, i v tomto případě převažoval  $\beta$  anomer viz Schéma 70.

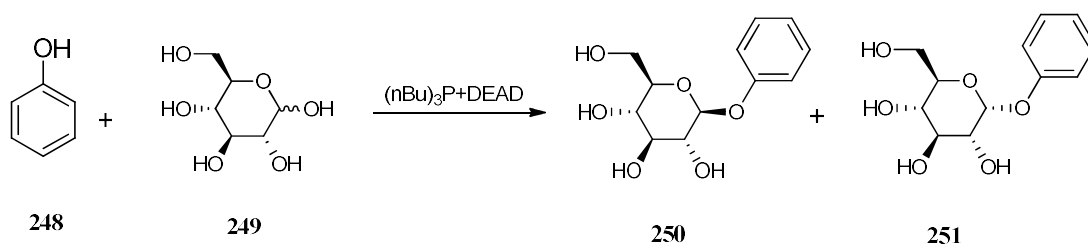


Schéma 70

### 3. Výsledky a diskuze

Úkolem této práce bylo ověřit možnost a následně se pokusit najít podmínky pro zavedení nechráněných cukerných zbytků na organickou molekulu obsahující kyselý atom vodíku za Mitsunobu podmínek. Mělo jít zejména o reakce D-ribosy (**I**), D-glukosy (**II**), D-galaktosy (**III**) a D-manosy (**IV**) se sloučeninami obsahující karboxyl, fenolickou OH skupinu, kyselý vodík na atomu dusíku v heterocyklech a SH skupinu vázanou na aromát.

Toto téma se může zdát jako hodně odvážné, jelikož se do reakcí za Mitsunobu podmínek využívají substráty, které obsahují více OH skupin než je běžné. Základní předpoklad pro tyto reakce byl, že by reaktivnější mohly být poloacetalové hydroxyly, které by se primárně účastnily reakcí. Předběžné experimenty s deriváty 6-azauracilu, 4-nitrofenolem (**XI**) a 5-brompyridin-3-karboxylovou kyselinou (**V**) se jevíly velice slibně. LC/MS spektra totiž potvrdily, že se podařilo získat čisté látky. To bylo hlavním důvodem, proč se problematika uchýlila touto cestou.

#### 3.1 Optimalizace Mitsunobu reakce s 5-brompyridin-3-karboxylovou kyselinou (**V**) a D-ribosou (**I**)

Prvotní experimenty byly prováděny s 5-brompyridin-3-karboxylovou kyselinou (**V**), jež byla zvolena jako modelová, a na které také probíhaly optimalizační experimenty. Byla zvolena z důvodu obsahu bromu, který měl sloužit jako značka při identifikaci produktu či meziproduktů syntéz. Volba heterocyklického systému pak měla usnadňovat ionizaci produktu při LC/MS analýzách. Ze zástupců monosacharidů byla zvolena D-ribosa (**I**).

Hlavní podstatou této optimalizace bylo získat jednotný produkt (**VI**), který by na LC/MS měl molekulovou hmotnost 332,98, za předpokladu vzniku ribosidu (*Schéma 71*). Průběh reakce, procentuální konverze a čistota látky byla sledována pomocí LC/MS, kdy se určovala HPLC čistota. Ta byla vyjádřena dle relativního zastoupení všech látek obsahující atom bromu za předpokladu, že požadovaný jednotný

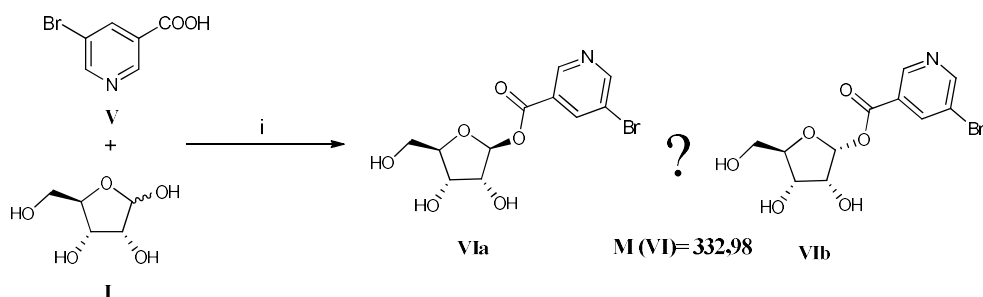
produkt měl vzhledem k ostatním reakčním vedlejším složkám nejvyšší intenzitu. Úkolem bylo zjistit, zda typ rozpouštědla, pořadí a látkové množství komponent a později i teplota ovlivní průběh reakce. Z činidel byly vybrány nejpoužívanější komponenty pro Mitsunobu reakci DIAD a trifenyfosfin. Z rozpouštědel byl testován THF, dioxan a vzhledem k nižší rozpustnosti monosacharidů také DMF.

Prvotní reakce probíhala v THF, kdy po přidání Mitsunobu činidel trifenyfosfinu (0,4 mmol) a DIADu (0,4 mmol) došlo zhruba po 5-10 minutách tvorbě MBH komplexu, který se vizuálně projevil vysrážením z THF roztoku. Poté byla přidána kyselina (**V**) (0,25 mmol) a zhruba po dalších 5 minutách byla přidána ribosa (**I**) (0,25 mmol). Vzorek byl odebrán po 24 h. Pomocí LC/MS bylo zjištěno, že se v reakční směsi vyskytuje pík s molekulovou hmotností našeho žádaného produktu, kdy HPLC čistota byla 50 %. V dalším experimentu byly ponechány stejné reakční podmínky i typ rozpouštědla, avšak s tím rozdílem, že po tvorbě MBH komplexu, byla zároveň přidána kyselina (**V**) i D-ribosa (**I**). HPLC čistota zde byla o něco nižší 40 %. Následující pokus spočíval v záměně pořadí komponent, kdy po tvorbě MBH komplexu, byl nejprve přidán sacharid (**I**) a po cca 5 min kyselina (**V**). Reakční podmínky, typ rozpouštědla i poměry látkových množství jednotlivých složek byly stejné jako v předchozích experimentech. Nicméně HPLC čistota zde byla znatelně nižší pouze 5 %.

Ve snaze zvýšit rozpustnost sacharidu (**I**) byl v další reakci použit DMF. Látková množství Mitsunobu činidel i výchozích komponent zůstala zachována. Nejprve byla přidána kyselina (**V**) a poté až sacharid (**I**), bohužel HPLC čistota byla pouze 5 %. Výsledek se nelišil ani v případě, že za stejných reakčních podmínek byly přidány výchozí komponenty zároveň, HPLC čistota byla opět 5 %. Vzhledem k přítomnosti nezreagované ribosy (**I**), byl poměr činidel ku výchozím látkám zvýšen z 1,6:1 na 3,2:1. Jelikož se DMF neosvědčil jako vhodnější rozpouštědlo, reakce probíhala opět v THF. HPLC čistota produktu zde byla 45 %. Jelikož bylo zpozorováno, že změna poměrů jednotlivých složek hraje určitou roli, byl tentokrát změněn poměr na 1:1 (činidla:výchozí látky), avšak HPLC čistota zde byla pouze 5 %. Všechny reakce byly prováděny za laboratorní teploty v inertní atmosféře za vyloučení vzdušné vlhkosti.

Ze zvolených rozpouštědel bylo dosaženo vyšších výsledků s THF. Bylo také zjištěno, že pořadí jednotlivých komponent hraje významnou roli pro získání jednotného žádaného produktu o zmíněné molekulové hmotnosti. Jako startovací bod byla tvorba

MBH komplexu, pokud byl nejprve přidán sacharid (**I**) a poté až nukleofil (**V**), konverze kyseliny (**V**) byla výrazně nižší. Konverze byla nižší i v případě, kdy byly komponenty přidány zároveň. Při pozorování vlivu látkového množství na průběh reakce, byla dosažena nejvyšší konverze při použití 0,4 mmol Ph<sub>3</sub>P a DIADu a 0,25 mmol výchozích látek, tedy za podmínek A (*Tabulka č. 1*).



*Schéma 71* (i) DIAD+Ph<sub>3</sub>P/THF, RT, 24 h

*Tabulka č. 1* Optimalizace reakce D-ribosy (**I**) s kyselinou (**V**)

Exper.	Činidla (mmol)	Rozp.	1. komponenta (mmol)	2. komponenta (mmol)	*HPLC čistota
<b>A)</b>	0,4 DIAD + 0,4 Ph <sub>3</sub> P	THF	0,2 kyseliny	0,2 ribosy	50 % **
<b>B)</b>	0,4 DIAD + 0,4 Ph <sub>3</sub> P	THF	0,2 kys. + 0,2 rib.	-	40 %
<b>C)</b>	0,4 DIAD + 0,4 Ph <sub>3</sub> P	THF	0,2 ribosy	0,2 kyseliny	5 %
<b>D)</b>	0,4 DIAD + 0,4 Ph <sub>3</sub> P	DMF	0,2 kyseliny	0,2 ribosy	5 %
<b>E)</b>	0,4 DIAD + 0,4 Ph <sub>3</sub> P	DMF	0,2 kys. + 0,2 rib.	-	5 %
<b>F)</b>	0,8 DIAD + 0,8 Ph <sub>3</sub> P	THF	0,2 kyseliny	0,2 ribosy	45 %
<b>G)</b>	0,4 DIAD + 0,4 Ph <sub>3</sub> P	THF	0,4 kyseliny	0,2 ribosy	5 %
<b>H)</b>	0,4 DIAD + 0,4 Ph <sub>3</sub> P	THF	0,2 kyseliny	0,3 ribosy	10 %
<b>CH)</b>	0,4 DIAD + 0,4 Ph <sub>3</sub> P	dioxan	0,2 kyseliny	0,2 ribosy	35 %
<b>I)</b>	0,4 DIAD + 0,4 Bu <sub>3</sub> P	THF	0,2 kyseliny	0,2 ribosy	25 %

\* HPLC čistota byla určena na základě vztahu  $x_i (\%) = (A_i / \sum A_j) \cdot 100$  A<sub>j</sub>-zastoupení všech reakčních složek obsahující atom bromu, A<sub>i</sub>- zastoupení požadovaného produktu M=332,98 (nejintenzivnější pík o této molekulové hmotnosti).

\*\* Výtěžek preparativní reakce po purifikaci na HPLC 8 %.



Jelikož byly reakce prováděny s nechráněným monosacharidem, bylo zde riziko, že k reakci může dojít i na dalších OH skupinách, což bylo navíc patrné i z LC/MS analýzy přítomností dalších minoritních látek o stejné molekulové hmotnosti. Proto se tu nabízela možnost provést reakci při nižších teplotách, čímž by sice došlo ke zpomalení průběhu reakce, ale také ke snížení reaktivity dalších hydroxyskupin a tím tak podpoření reakce na poloacetalové hydroxyskupině. Reakce byly provedeny za podmínek A (viz *Tabulka č.1*), za laboratorní teploty, při 0 °C, - 10 °C a při -20 °C. Jako modelová reakce byla opět zvolena reakce s 5-brompyridin-3-karboxylovou kyselinou (**V**) a D-ribosou (**I**). Bylo zjištěno, že při 0 °C byla konverze výchozí látky o poznání vyšší než za laboratorní teploty. Nicméně u nižších teplot pod 0 °C, nastával problém s rozpustností D-ribosy (**I**), což nepříznivě ovlivnilo průběh reakce (viz *Tabulka č.2*).

*Tabulka č. 2 Vliv teploty na průběh reakce \**

Exper.	1. komponenta	2. komponenta	Rozp.	Teplota	HPLC čistota **
<b>a)</b>	5-brompyridin-3-karb.kys.	D-ribosa	THF	RT	50 %
<b>b)</b>	5-brompyridin-3-karb.kys.	D-ribosa	THF	0 °C	60 %
<b>c)</b>	5-brompyridin-3-karb.kys.	D-ribosa	THF	- 10 °C	5 %
<b>d)</b>	5-brompyridin-3-karb.kys.	D-ribosa	THF	- 20 °C	3 %

\* Podmínky A) z Tabulky č.1

\*\* HPLC čistota byla určena na základě vztahu  $x_i (\%) = (A_i / \sum A_j) \cdot 100$  A<sub>j</sub>-zastoupení všech reakčních složek obsahující atom bromu, A<sub>i</sub>- zastoupení požadovaného produktu M=332,98 (nejintenzivnější pík o této molekulové hmotnosti).

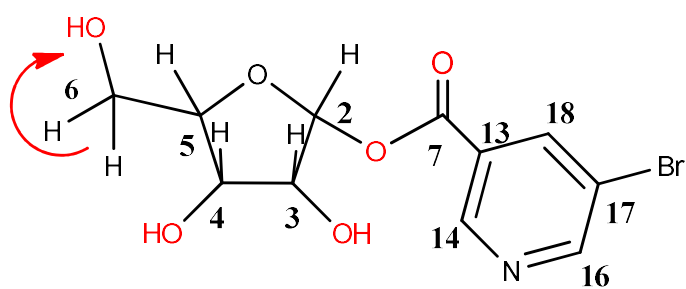
Na základě optimalizačních parametrů bylo přikročeno k preparativní syntéze ve snaze získat čistou látku z reakční směsi. Nabízela se tu možnost použít sloupcovou chromatografii, bylo tu však riziko, že během purifikace by byl produkt znečištěn vedlejšími produkty, což by vedlo k dalším procesům přečišťování vzorku. Proto byla nejprve zvolena extrakční metoda, která měla reakční směs zjednodušit a jednoduchým postupem oddělit nepolární látky od polárních, jež by byly ve vodě rozpustné. Z toho důvodu byla provedena nejprve extrakce odpadku reakční směsi v systému voda:DCM. Jelikož byl produkt polárního charakteru, předpokládalo se, že bude přecházet do vodné části, a naopak nepolární složky, mezi které patřil například trifenylyfosfin-oxid, budou přecházet do DCM části. Vodná část byla extrahována 3x. V každém extrakčním kroku

byla provedena na LC/MS analýza DCM extraktů, kdy bylo zjištěno, že během extrakce produkt přechází do DCM fáze. Za účelem snížení polarity byl v dalších operacích DCM nahrazen za toluen. Pomocí extrakce se sice podařilo reakční směs značně zjednodušit, což také potvrdil záznam z LC/MS, v němž se vyskytoval víceméně jednotný produkt. Nicméně pomocí TLC, kdy byl k detekci použit orcinol s kyselinou sírovou, bylo patrné, že během extrakce do polární části nepřechází nejen produkt, ale i nezreagovaná ribosa (**I**), kterou na LC/MS nelze detekovat. K získání čistého produktu, bylo dosaženo až po použití preparativní HPLC. Výtěžek této preparativní reakce po purifikaci byl 8 %.

### 3.1.1 Studium struktury pomocí NMR

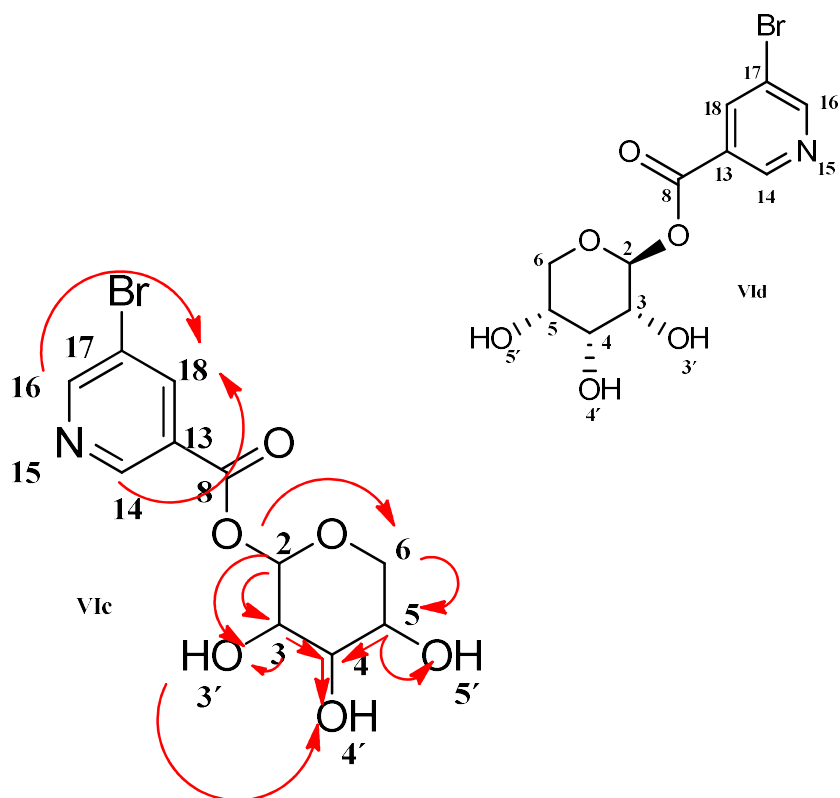
Ve snaze určit přesnou strukturu (**VIa**, **VIb**) nebo (**VIc**) vzniklého glykosidu, byla změřena na NMR 1-D i 2-D spektra. Avšak vzhledem k spin-spinovým interakcím vodíkových atomů v cukerném zbytku bylo velice obtížné strukturu určit. Pro snazší interpretaci spektra, byla přidána kapka deuterované vody, aby došlo k eliminaci OH skupin ve spektru. Avšak kapka D<sub>2</sub>O měla destruktivní účinek, jelikož byl vzniklý produkt velice citlivý na hydrolyzu.

Experiment byl zopakován, tentokrát však byly změřeny i spektra přes prostor pomocí <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H ROESY. Velkým překvapením bylo, že produkt nebyl ve formě furanosidu (**VIa**, **VIb**), jak se původně předpokládalo, ale ve formě pyranosidu (**VIc**), což bylo zjištěno na základě chybějících cross píků vodíku na uhlíku v pozici 6 s vodíkem na OH skupině dle *Schématu 73*, které se naopak u furanosidů vyskytují (*Schéma 72*). Dále bylo ze spektra patrné, že dochází k interakcím vodíků, vázaných na uhlících v pozici 3,4,5 (*Schéma 73*), z čehož lze usoudit, že se nachází na stejné straně. Avšak vyskytla se tu určitá nejasnost ve smyslu určení typu anomeru z vodíkového spektra. Na základě známých poznatků se hodnota interakční konstanty  $\alpha$  anomeru pohybuje v rozmezí od 2-5 Hz a u  $\beta$  anomeru od 7-9 Hz. Bohužel však nebylo možné z interakční konstanty, která měla hodnotu  $J = 5.7$  Hz, určit, zda se jedná o  $\alpha$  nebo  $\beta$  anomer. Z <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H ROESY taky není moc zřejmé na základě intenzit cross píků zda se jedná  $\alpha$  nebo  $\beta$  anomer. Na základě získaných poznatků lze předpokládat, že se jedná spíše o  $\beta$  anomer D-ribopyranosidu (**VIId**)



VIa

*Schéma 72* Znázornění struktury hypotetického furanosidu (VIa nebo VIb) se štěpením daných vodíků přes prostor



*Schéma 73* Znázornění hypotetické (VIc) a skutečné (VIId) struktury pyranosidu se štěpením daných vodíků přes prostor

Během řešení diplomové práce bylo zjištěno, že se touto oblastí zajímá i pan prof. Michal Hocek, který se zabýval zaváděním nechráněné ribosy na purinové deriváty. Tato publikace uvádí, že reakce s D-ribosou mohou být komplikovanější, jelikož dochází za daných podmínek k otevírání kruhu a ustavení rovnováhy mezi furanosovým

a pyranosovým derivátem, přičemž vzniká jako majoritní produkt pyranosový derivát v poloze  $\beta$  (Schéma 74) <sup>67</sup>. Srovnáním naměřených APT spekter sloučeniny (VI) s APT spektry sloučenin s furanosovým a pyranosovým cyklem, publikovaných v této práci, byla upozorována značná podobnost v cukerné části příslušných pyranosidů. Naopak se APT spektra sloučeniny (VI) dosti lišily od spekter furanosidů. To byl další fakt, který potvrdil, že látka (VI) má strukturu ve formě pyranosového cyklu (VI $d$ ).

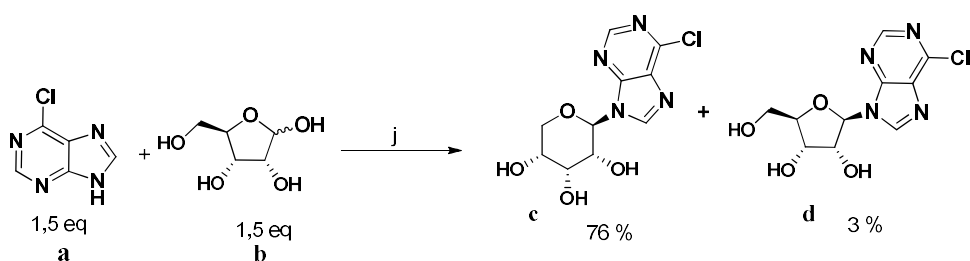


Schéma 74 (j) 1,5 eq P(n-Bu)<sub>3</sub>+1,5 eq DEAD+DBU/MeCN <sup>67</sup>

To že reakce s D-ribosou (I) mohou být takto komplikovanější, bylo ověřeno změřením NMR spekter v DMSO-*d*<sub>6</sub>, kde díky rovnováze bylo pozorováno v <sup>13</sup>C NMR spektru místo 5 20 signálů viz Schéma 75.

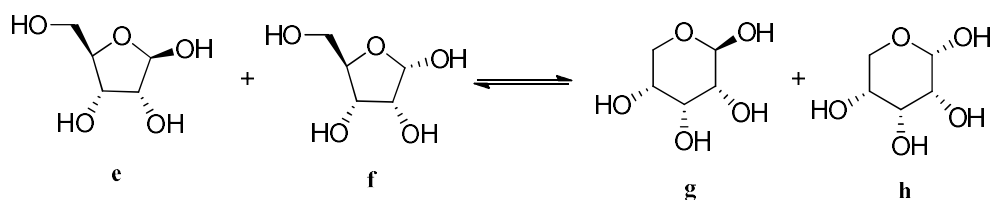


Schéma 75

## 3.2 Reakce hexos s 5-brompyridin-3-karboxylovou kyselinou (V)

Zpočátku bylo centrum našeho zájmu zaměřeno na syntézu ribosidů. Vzhledem ke komplikovaným rovnováhám D-ribosy (I), byla pozornost věnována spíše reakcím s hexosami, kde rovnováha tak komplikovaná není.

Za výše zmíněných nalezených optimálních podmínek byly provedeny podobné reakce 5-brompyridin-3-karboxylové kyseliny (V) s D-glukosou (II) a D-galaktosou (III) (Schéma 76). Na základě LC/MS analýzy byly v reakční směsi produkty o žádané molekulové hmotnosti detekovány. Nicméně během zpracování reakčních směsí došlo pravděpodobně k jejich hydrolyze, protože dále produkt nebyl detekován.

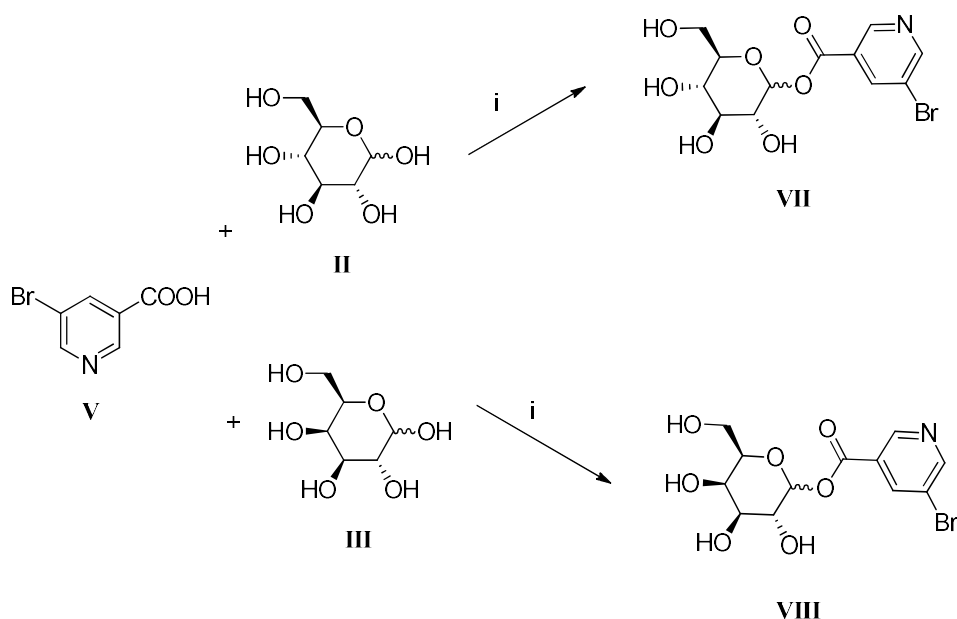


Schéma 76 (i) DIAD+Ph<sub>3</sub>P/THF, RT, 24 h

Touto reakcí nebyly bohužel získány cenné deriváty s navázanou glukosou (II) či galaktosou (III), které by mohly na základě pokročilých NMR měření objasnit přesnou polohu navázání hexosy na karboxylu, ať už z pohledu anomerů tak i polohy OH skupiny. Podobné výsledky byly získány i reakcí s kyselinou benzoovou.

Z pohledu špatné rozpustnosti hexos, je zde nutné říci, že použité rozpouštědlo THF pro hexosy není příliš optimální, kvůli jejich malé rozpustnosti v THF. Avšak ani DMF se neukázalo jako lepší rozpouštědlo pro dané reakce viz Optimalizace podmínek Mitsunobu reakce s 5-brompyridin-3-karboxylovou kyselinou (V) a D-ribosou (I) v kapitole 4.1.

### 3.3 Reakce hexos s fenolem (IX) a jeho nitroizomery

Vzhledem k tomu, že produkty reakce hexos s kyselinami byly nestabilní a citlivé k hydrolyze, byla provedena série experimentů se sloučeninami mající kyselé vodíky ve fenolech.

#### 3.3.1 Reakce D-glukosy (II) s fenolem (IX)

Při zavádění nechráněného monosacharidu na samotný fenol (IX) dle obecného postupu ani postupu převzatého z literatury<sup>67</sup> nebyl produkt detekován. Neúspěch reakce si lze vysvětlit tím, že kyselost vodíku na OH skupině nebyla dostačující. Z toho důvodu bylo přistoupeno ke změně Mitsunobu reagentů, které se běžně používají pro sloučeniny s méně kyselým vodíkem. Vyzkoušena byla kombinace ADDP/Bu<sub>3</sub>P a TMAD/Bu<sub>3</sub>P. Výsledná reakční směs byla velice komplikovaná, kromě minoritního obsahu látky s požadovaným molekulárním iontem zde byly ve větší míře patrné i adukty glukosy s TMADem či ADDP. Z toho důvodu nemělo v reakci smysl pokračovat (Schéma 77).

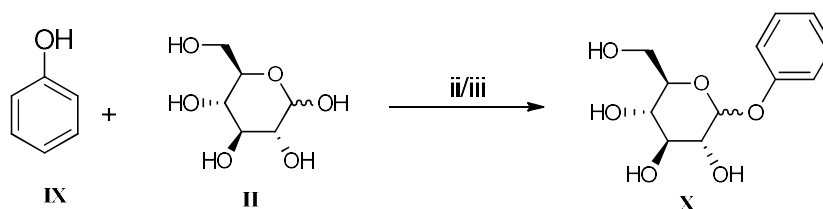
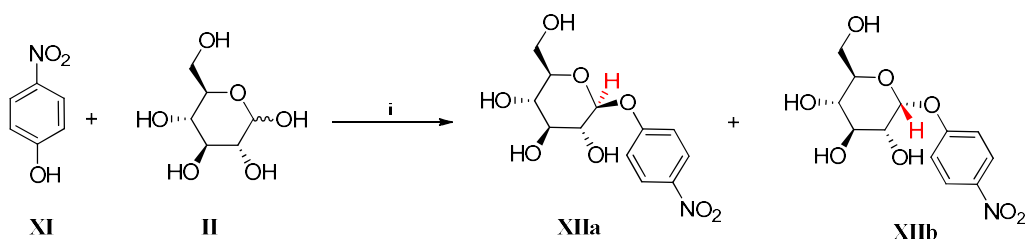


Schéma 77 (ii) ADDP+Bu<sub>3</sub>P/THF, RT, 24 h, (iii) TMAD+Bu<sub>3</sub>P/THF, RT, 24 h

### 3.3.2 Reakce hexos s 4-nitrofenolem (XI)

Komplikace v případě fenolu (IX) vedly k myšlence zvýšit kyselost fenolické OH skupiny použitím izomerů odvozených od nitrofenolu. Je totiž obecně známé, že přítomné silně elektronegativní skupiny odčerpávají elektrony, čímž se tak zvýší kyselost daných vodíků.

První sled reakcí byl zahájen s D-glukosou (II) a 4-nitrofenolem (XI). Reakce byla provedena dle obecného postupu. Výtěžek reakce byl 16 %. Po zpracování a přečištění vzorku, byla struktura sloučeniny ověřena pomocí NMR. Kvůli riziku reakce i na dalších nechráněných OH skupinách, zejména na primární OH skupině v poloze 6 glukosy (II), bylo nutné porovnat NMR spektra produktu se spektry komerčně získaného standardu 4-nitrofenyl- $\beta$ -D-glukopyranosidu. Srovnáním NMR spekter bylo zjištěno, že jsou shodná, což bylo důležitý důkaz toho, že došlo k tvorbě C-O vazby na anomerní hydroxyskupině v poloze  $\beta$ . Tento  $\beta$  anomer (XIIa) byl také potvrzen interakční konstantou poloacetalového vodíku při 5.08 ppm hodnotou  $J= 7.27$  Hz. V NMR spektru byla ale i patrná nečistota. Z interakční konstanty vodíku této nečistoty  $J= 3.11$  Hz při 5.61 ppm bylo usouzeno, že se jedná  $\alpha$ - anomer (XIIb) viz *Schéma 78*.

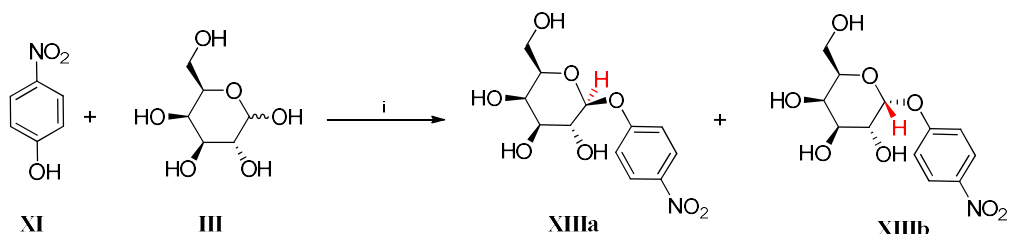


*Schéma 78* (i) DIAD+Ph<sub>3</sub>P/THF, RT, 24 h, 16 %,  $\alpha$ : $\beta$  byl 2:25

Jelikož výtěžek reakce nebyl příliš vysoký, reakce byla zopakována za reakčních podmínek převzatých z literatury, které byly použity prof. Hockem pro reakci s D-ribosou (viz postup v experimentální části) <sup>67</sup>. Je zajímavé, že produkt nebyl na LC/MS detekován.

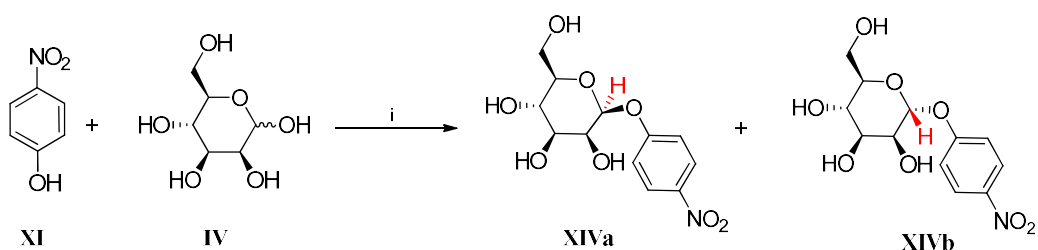
Průslušný galaktosid (XIIIa) byl připraven za stejných podmínek jako glukosid (XIIa), výtěžek reakce byl 20 %. Podle výše uvedené reakce s D-glukosou (II) lze z interakční konstanty NMR spektra předpokládat, že i v tomto případě se jednalo o směs

dvou anomerů, z nichž převládal  $\beta$ -anomer (**XIIIa**) viz *Schéma 79*. Opět se potvrdilo, že pokud byla reakce zahájena v bazickém prostředí dle postupu převzatého z literatury, produkt nebyl detekován <sup>67</sup>.



*Schéma 79* (i) DIAD+Ph<sub>3</sub>P/THF, RT, 24 h, 20 %,  $\alpha$ : $\beta$  byl 3:10

V případě syntézy produktu 4-nitrofenolu (**XI**) s manosou (**IV**) byl výtěžek podstatně nižší jak u galaktosy (**III**) a glukosy (**II**). Na LC/MS byl patrný jednotný pík produktu, nicméně během separace na preparativní HPLC se začaly objevovat dva píky blízko sebe, jejichž integrální plocha byla velice podobná. Vzhledem k tomu izolace čistého produktu byla velice obtížná. Frakce byly změřeny pouze na LC/MS, jelikož obě měly stejný molekulární iont, lze se domnívat, že se jednalo o polohové izomery nebo nejpravděpodobněji o anomery (**XIVa**, **XIVb**) (*Schéma 80*).



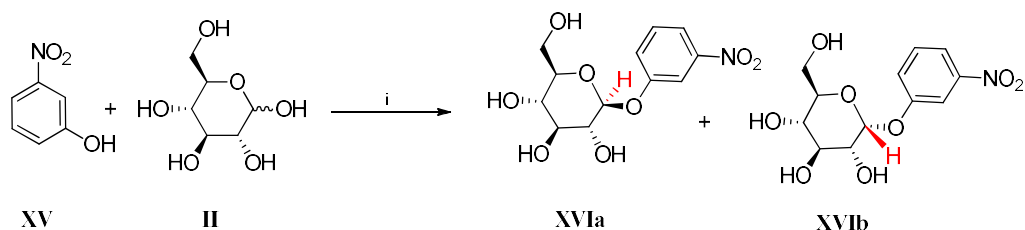
*Schéma 80* (i) DIAD+Ph<sub>3</sub>P/THF, RT, 24 h

### 3.3.3 Reakce hexos s 3-nitrofenolem (**XV**)

Jelikož se podařilo připravit *O*-glykosidy u 4-nitrofenolů (**XI**) a potvrdit i jejich strukturu, byla provedena další série experimentů s deriváty fenolu, kdy byla -NO<sub>2</sub> skupina v poloze *meta*.

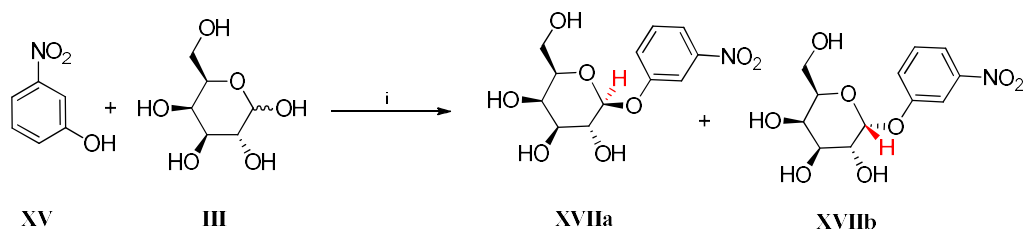


Za obdobných podmínek byla provedena reakce 3-nitrofenolu (**XV**) s glukosou (**II**) (*Schéma 81*). I v tomto případě se v izolovaném produktu vyskytoval  $\beta$  anomer (**XVIa**) se zanedbatelnými stopami  $\alpha$  anomeru (**XVIb**). Výtěžek reakce byl 7 %.



*Schéma 81* (i) DIAD+Ph<sub>3</sub>P/THF, RT, 24 h, 7 %,  $\alpha$ : $\beta$  byl 1:10

Reakce byla zopakována i s další hexosou tentokrát s D-galaktosou (**III**). Výtěžek reakce se bohužel příliš nelišil. Pomocí LC/MS byl produkt detekován, nicméně z NMR spekter bylo zjištěno, že se jedná opět o směs izomerů, kdy převažoval  $\beta$  anomer (**XVIIa**) viz *Schéma 82*.



*Schéma 82* (i) DIAD+Ph<sub>3</sub>P/THF, RT, 24 h, 16 %,  $\alpha$ : $\beta$  byl 1:20

Jako další monosacharid byla zvolena D-manosa (**IV**). Reakce byla provedena za standardních podmínek jako u předešlých sacharidů. I v tomto případě byla izolace produktu značně komplikovaná, opět se během purifikace na preparativní HPLC objevovaly překrývající se dva signály, které nebylo možné od sebe izolovat. Lze tedy předpokládat, že se jednalo opět o směs dvou anomerů (*Schéma 83*).

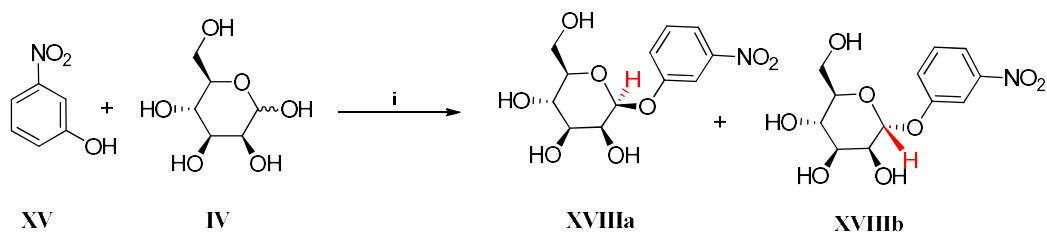


Schéma 83 (i) DIAD+Ph<sub>3</sub>P/THF, RT, 24 h

### 3.3.4 Reakce hexos s 2-nitrofenolem (XIX)

Na základě úspěšně připravených *O*-glykosidů s 4-nitro (XI) a 3-nitrofenoly (XV), byl zvolen jako další nukleofil 2-nitrofenol (XIX) reagující s D-glukosou (II). Důvodů bylo hned několik, jednak sledovat vliv polohy nitroskupiny na benzenovém jádře na výtěžek a selektivitu reakce a dalším důvodem mělo být usnadnění interpretace spekter. Srovnáním NMR spekter izolované látky s komerčně získaným standardem 2-nitrofenyl- $\beta$ -D-glukopyranosidem. Jak se později ukázalo, poloha nitroskupiny zde nehrála důležitou roli, jelikož výtěžek reakce se od předchozích experimentů příliš nelišil. Při porovnání spekter produktu a standardu, bylo jednoznačně potvrzeno, že se skutečně jedná o 2-nitrofenyl- $\beta$ -D-glukopyranosid (XXa), přičemž produkt opět obsahoval nepatrné množství  $\alpha$  anomeru (XXb). Výtěžek reakce byl 5 % viz Schéma 84.

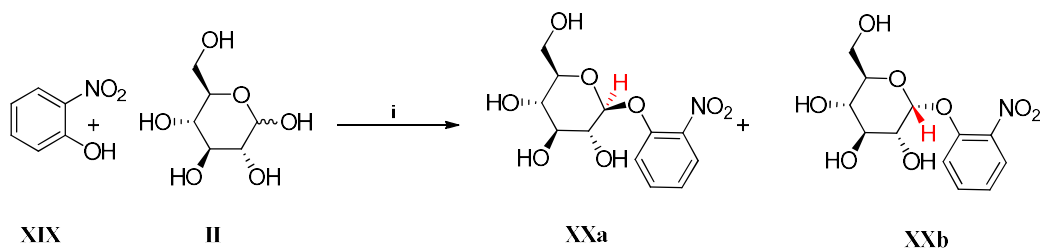


Schéma 84 (i) DIAD+Ph<sub>3</sub>P/THF, RT, 24 h, 5 %,  $\alpha$ : $\beta$  byl 1:10

Reakce byla provedena i s D-galaktosou (III). Výtěžek reakce zde byl 12 %. Z NMR spekter bylo patrné, že se jedná o směs dvou anomerů, kdy převládá  $\beta$  anomer (XXIa).

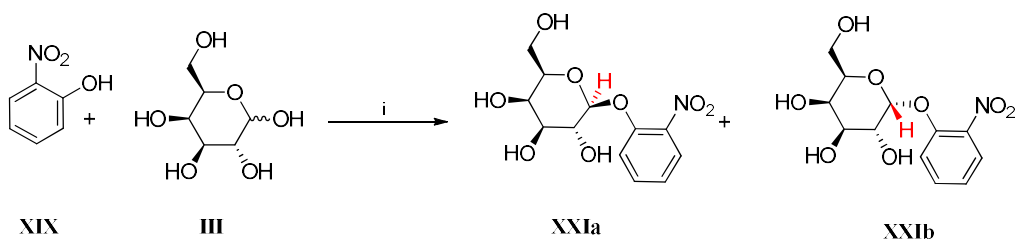


Schéma 85 (i) DIAD+Ph<sub>3</sub>P/THF, RT, 24 h, 12 %,  $\alpha$ : $\beta$  byl 1:10

Dále byla provedena za standardních podmínek reakce i s D-manosou (IV). Obecně lze říci, že reakce s manosou (IV) probíhají podstatně hůře, nejen že výtěžky jsou v porovnání s ostatními sacharidy nejnižší, ale už i během procesu přečišťování produktu bylo obtížné látku izolovat. Není tedy překvapením, že ani změna polohy skupiny NO<sub>2</sub> na aromatickém derivátu nepřispěla k lepším výsledkům reakce a ani neulehčila separaci produktu (Schéma 86).

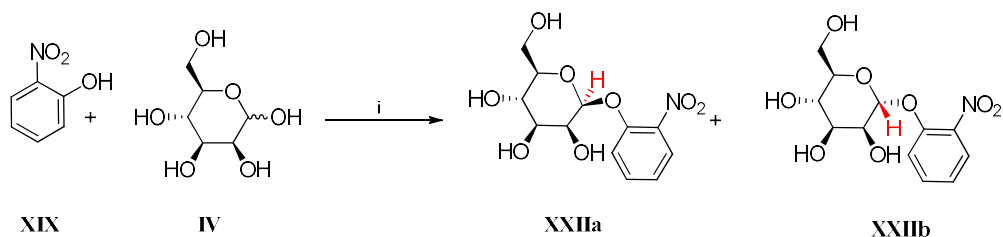
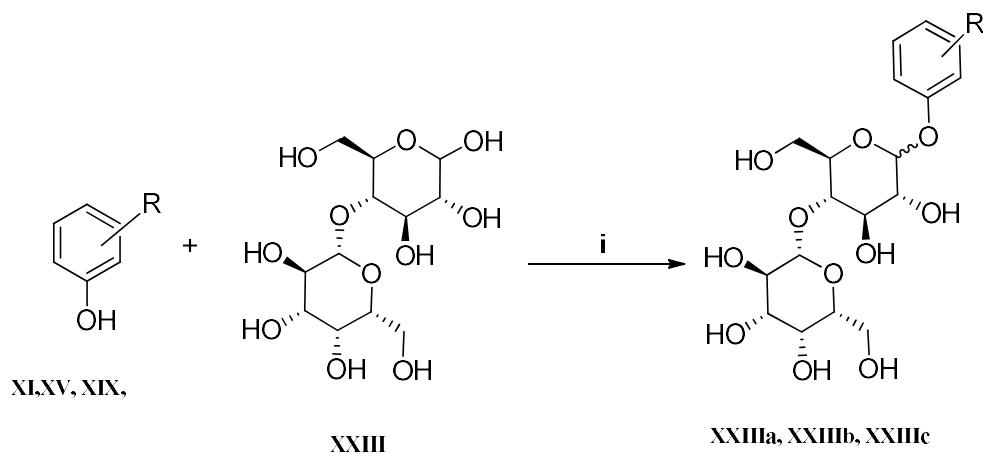


Schéma 86 (i) DIAD+Ph<sub>3</sub>P/THF, RT, 24 h

### 3.4 Reakce $\beta$ -D-galacto-(1,4)-D-glukopyranosidu (XXIII) s izomery nitrofenolu

Jelikož se podařilo zavést nechráněné monosacharidy na izomery nitrofenolu, jevila se jako velice zajímavá reakce s nechráněným disacharidem  $\beta$ -D-galacto-(1,4)-D-glukopyranosidem (XXIII) neboli laktózou. Jako nukleofily obsahující kyselé O-H vazby byly opět testovány izomery nitrofenolu v poloze *ortho*, *meta* a *para*. Postup přípravy byl stejný jako v případě monosacharidů. Výtěžky reakcí se u jednotlivých experimentů nepatrně lišily, z toho lze usoudit, že poloha -NO<sub>2</sub> skupiny neměla vliv na výtěžek reakce. Reakční směsi byly změřeny na LC/MS, kdy spektra potvrdila, že se v reakční směsi skutečně vyskytuje požadovaný produkt. Dané přečištěné látky byly

změřeny na NMR. Počet uhlíků z  $^{13}\text{C}$  NMR spektra odpovídal počtu uhlíků požadovaného produktu, avšak kvůli komplikovanosti  $^1\text{H}$  NMR spekter nebylo možné jednoznačně určit o jaký izomer se jedná. Na základě předešlých výsledků reakce monosacharidů s izomery nitrofenolu, lze usoudit, že reakce opět probíhala na reaktivním poloacetalovém uhlíku.

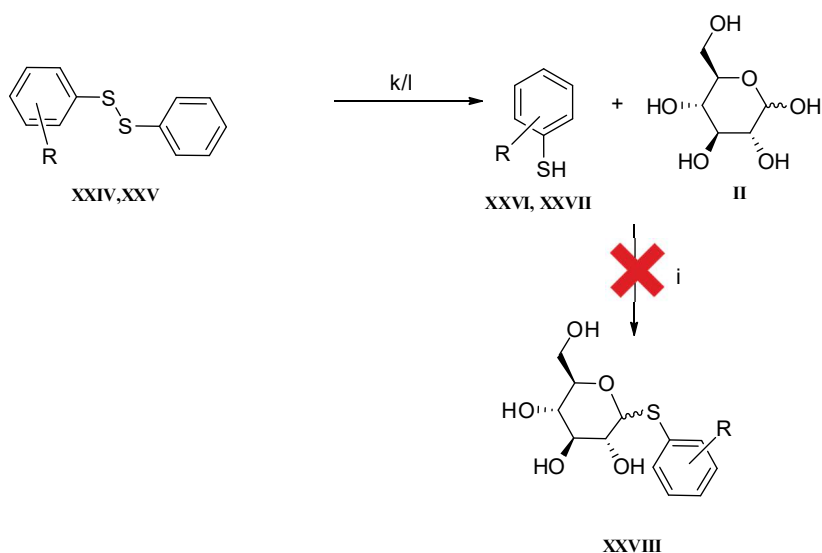


*Schéma 87* R= NO<sub>2</sub>, (i) DIAD+Ph<sub>3</sub>P/THF, RT, 24 h, 5 %

### 3.5 Reakce hexos s izomery nitrothiofenolu

Na základě relativně úspěšných reakcí nitrofenolové řady, bylo velkou výzvou provést experimenty i se sirnými analogy nitrofenolu.

První reakce byla zahájena s 2-nitrothiofenolem (XXVI), který byl připravený z disulfidu (XXIV) podle návodu z literatury <sup>68</sup>. Z řady sacharidů byla zvolena D-glukosa (II). Pro reakci byly použity standardní podmínky, bohužel dle záznamu LC/MS, se v reakční směsi vyskytovala pouze výchozí látka, produkt nebyl detekován viz *Schéma 88*.



*Schéma 88* (k) NaBH<sub>4</sub>/THF, RT, (XXVI) 70 %; (l) NaBH<sub>4</sub>/MeOH, RT, (XXVII) 65 %; (i) DIAD+Ph<sub>3</sub>P/THF, RT, 24 h

V druhém pokusu byl 2-nitrothiofenol (XXVI), zaměněn za 4-nitrothiofenol (XXVII), který byl připraven redukcí 1,2-bis(4-nitrofenyl)disulfidu (XXV) (*Schéma 88*)<sup>69</sup>. Avšak ke konverzi výchozí látky nepomohla ani změna polohy nitroskupiny na aromatickém jádře.

### 3.6 Reakce hexos s deriváty 6-azauracilu

Další myšlenkou byla možnost zavést nechráněný monosacharid na heterocyklus, obsahující kyselý atom vodíku na N-H vazbě. Ze zástupců 6-azauracilu byl zvolen 1- fenyl-5-(2-hydroxyfenyl)-6-azauracil (XXIX) a 5-(2-acetoxyfenyl)-1-fenyl-6-azauracil (XXXI).

#### 3.6.1 Reakce D- glukosy (II) s 1- fenyl-5-(2-hydroxyfenyl)-6-azauracilem (XXIX)

Mezi prvotní reakci patřila reakce nechráněné D-glukosy (II) s 1- fenyl-5-(2-hydroxyfenyl)-6-azauracilem (XXIX). Reakce probíhala za standardních optimalizovaných podmínek. Po zpracování reakční směsi byl vzorek změřen na LC/MS.

Z LC/MS záznamu byl detekován jednotný pík o molekulové hmotnosti požadovaného produktu. Nicméně během purifikace na preparativním HPLC se objevovaly 2 signály, které se překrývaly, tudíž bylo téměř nemožné je od sebe oddělit. Tomu také odpovídá NMR spektrum, kde byl dvojnásobný počet uhlíků, než má požadovaný produkt. To si lze vysvětlit dvěma způsoby. První teorií bylo, že daný heterocyklus tvoří dvě reaktivní centra. Jako první centrum zde vystupuje volná OH skupina na aromátu a druhá N-H vazba daného heterocyklu. Předpokládalo se však, že vodík na atomu dusíku vykazuje vyšší aciditu, tudíž by mělo dojít primárně k tvorbě vazby C-N. Další alternativní vysvětlení je, že se jednalo o směs dvou anomerů. Avšak vzhledem ke komplexnosti vodíkového spektra, nebylo možné určit, zda se jedná o směs anomerů nebo různých látek (Schéma 89). Výtěžek reakce byl 14 %.

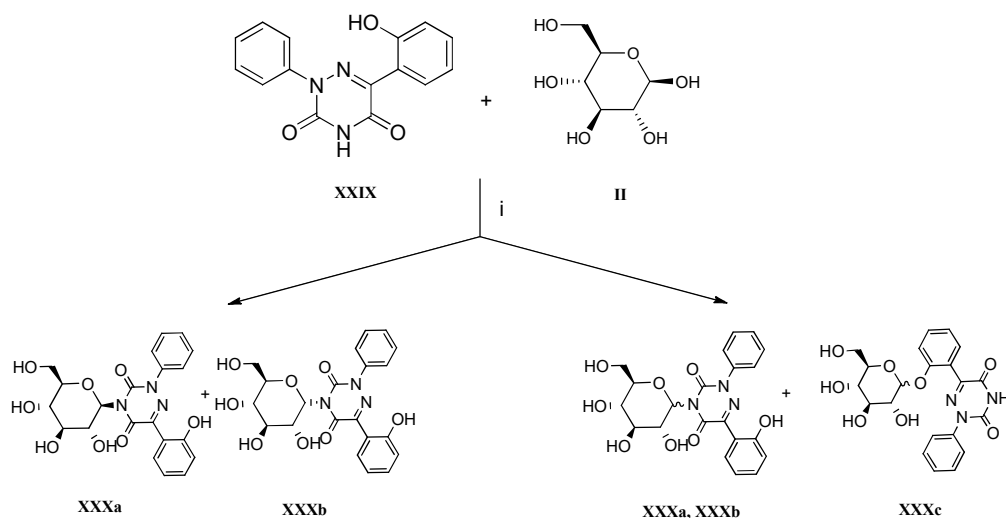


Schéma 89 (i) DIAD+Ph<sub>3</sub>P/THF, RT, 24 h, 14 %

### 3.6.2 Reakce D-glukosy (II) s 5-(2-acetoxifenyl)-1-fenyl-6-azauracilem (XXXI);

Kvůli možné tvorbě izomerů lišící se vazbou na atomu kyslíku nebo na atomu dusíku, byla OH skupina ochráněná acetoxyskupinou, čímž se snížil počet reakčních center a tím se tak měla usnadnit cesta objasnění navázání D-glukosy (II) na *N*-nukleofil. V <sup>13</sup>C uhlíkovém spektru byl opět přítomen dvojnásobný počet uhlíků. I přestože se předpokládalo, že dojde k zjednodušení vodíkového spektra z NMR, opět nebylo možné

vzhledem ke komplexnosti spektra určit, jestli se jedná o anomery nebo izomery. Výtěžek reakce byl 9 % (Schéma 90).

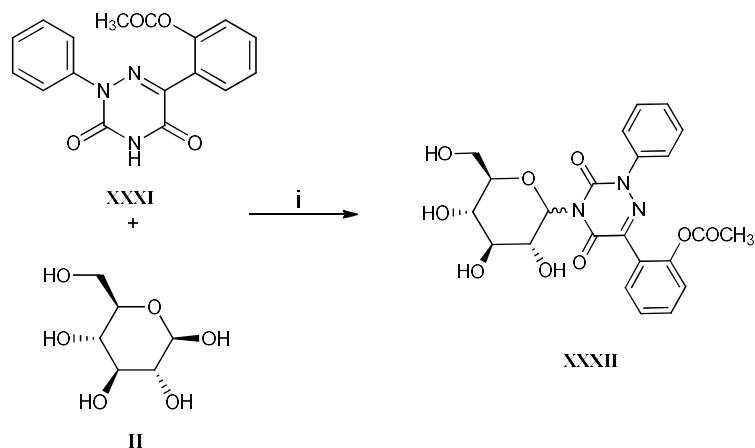


Schéma 90 (i) DIAD+Ph<sub>3</sub>P/THF, RT, 24 h, 9 %

### 3.7 Reakce D-glukosy (II) se sacharinem (XXXIII)

Z řady heterocyklických sloučenin byl jako další derivát vybrán sacharin (XXXIII), jelikož se předpokládalo, že acidita vodíku navázaného na atom dusíku, by měl být pro Mitsunobu dostačující. Jako monosacharid byla zvolena D-glukosa (II), jelikož z řad reakcí poskytovala ve srovnání s dalšími monosacharidy lepší výsledky. Reakce byla provedena za standardních podmínek, bohužel po zpracování reakční směsi, produkt na LC/MS nebyl detekován. Konverzi výchozích složek nepomohla ani změna rozpouštědel za dioxan nebo DMF.

## 4. Experimentální část

### Obecné informace

Všechny reakce byly prováděny v inertní atmosféře za vyloučení vzdušné vlhkosti. Jednotlivé sacharidy byly vysušené při vhodné teplotě odpovídající pro daný sacharid. K měření NMR spekter byl použit NMR spektrometr JEOL při 400 MHz ( $^1\text{H}$ : 399,78 MHz;  $^{13}\text{C}$ : 100,53 MHz) nebo při 500 MHz ( $^1\text{H}$ : 500 MHz;  $^{13}\text{C}$ : 121 MHz). Měření byla prováděna za laboratorní teploty, přičemž vzorky byly rozpuštěny a následně měřeny v DMSO- $d_6$ . Chemické posuny signálů ( $\delta$ ) byly referencovány na střed signálu daného rozpouštědla (DMSO- $d_6$ : 2,50 ppm; 39,51 ppm), pomocí softwaru JEOL Delta v5.0.5. Všechny vzorky byly analyzovány na LC-MS a vyhodnoceny pomocí softwaru Excalibur. Měření hmotnostních spekter bylo realizováno na přístroji TSQ Quantum Acces (Thermo Scientific, USA) a ACQUITY UPLC, PDA/QDA (Waters, USA). K TLC chromatografii byly použity aluminiové desky pokryté silikagelem 60 F254 značky Merck. Purifikace vzorků byla prováděna na preparativní HPLC Agilent za použití C18 reverzní fáze (sloupec 19x100 mm; 5 $\mu\text{m}$  částic), nárůst gradientu 10% - 50%  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ -6 min.

### Příprava $\beta$ -D-ribopyranosyl-5-brompyridin-3-karboxylátu (VIId)

Do míchaného roztoku trifenylfosfinu (104 mg; 0,4 mmol) v bezvodém THF (2 ml) byl přidán přes septum za inertních podmínek prostřednictvím kalibrované stříkačky s jehlou DIAD (80  $\mu\text{l}$ ; 0,4 mmol). Po tvorbě MBH betainu, který se vizuálně projevil vysrážením z THF roztoku (cca 5-10 min), byla přidána 5-brompyridin-3-karboxylová kyselina (V) (51 mg; 0,25 mmol). Zhruba po dalších 5 minutách byla přidána D-ribosa (I) (37 mg; 0,25 mmol). Reakce probíhala v inertní atmosféře za vyloučení vzdušné vlhkosti. Po 24 h byla reakční směs zahuštěna na vakuové odparce. Poté byla k odparku přidána  $\text{H}_2\text{O}$  (5 ml). Vodná fáze pak byla extrahována toluenem (3x3 ml). Vzhledem k pomalé separaci složek, extrakce trvala cca 30 min. Získaný vodný extrakt byl zmražen a následně lyofilizován v lyofilizátoru. Výsledný produkt byl ve formě bílé vatičky. Po vysušení byl vzorek zvážen a rozpuštěn v systému MeCN a voda v poměru



(1:1, *V/V*) tak, aby výsledná koncentrace vzorku byla (30 mg/ml). Vzorek byl pak purifikován na preparativním HPLC. Získané homogenní frakce byly spojeny a částečně zahuštěny na RVO (na odstranění MeCN), zmrazeny a následně lyofilizovány v lyofilizátoru.

Tento postup byl opakován i ve větším měřítku za použití 14,5x množství vstupních látek s výtěžkem 8 % (49 mg).

**C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>BrNO<sub>6</sub>** (M= 332,98)

Struktura byla ověřena na MS (APCI, *m/z*): 333,91 [M+H]<sup>+</sup>; 374,91 [M+41(MeCN)+H]<sup>+</sup>

HRMS (HESI, *m/z*) spočítáno pro C<sub>11</sub>H<sub>13</sub>BrNO<sub>6</sub><sup>+</sup> 333,9921 [M+H]<sup>+</sup>; nalezeno 333,9926

<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm 3.60, 1 H, m, HC<sup>3</sup>; 3.63, 1 H, m, 10.2, H<sub>a</sub>C<sup>6</sup>; 3.68, 1 H, m, HC<sup>5</sup>; 3.74, 1 H, dd, 10.2, 2.8, H<sub>b</sub>C<sup>6</sup>; 3.92, 1 H, m, HC<sup>4</sup>; 4.96, 1 H, d, 5.7, HO<sup>5'</sup>; 4.97, 1 H, d, 5.7, HO<sup>4'</sup>; 5.30, 1 H, d, 5.7, HO<sup>3'</sup>; 5.91, 1 H, d, 5.6, HC<sup>2</sup>; 8.51, 1 H, t, 2.0, HC<sup>18</sup>; 8.97, 1 H, d, 2.0, HC<sup>16</sup>; 9.07, 1 H, d, 2.0, HC<sup>14</sup>.

<sup>13</sup>C NMR (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm 65.76 (C6); 68.22 (C5); 68.34 (C4); 69.96 (C3); 95.55 (C2); 120.88 (C17); 127.39 (C13); 139.85 (C18); 149.34 (C14); 155.34 (C16); 163.07 (C8).

## **Obecný postup přípravy glykosidů v bazickém prostředí**

Tento postup byl proveden na základě převzaté literatury <sup>67</sup>. Experiment byl prováděn za laboratorní teploty v inertní atmosféře za vyloučení vzdušné vlhkosti. Do míchaného roztoku bezvodého MeCN (10 ml) byl za inertních podmínek přidán daný nukleofil (1 mmol). Zhruba po 5 min bylo přidáno přes septum prostřednictvím kalibrované stříkačky s jehlou DBU (150 μl; 2,1 mmol). Reakční směs byla míchána cca 15 min, poté byla směs ochlazená v ledové lázni na 0 °C. Pomocí stříkačky s jehlou byl pak přes septum do reakční směsi nejprve přidán DIAD (420 μl) a poté Bu<sub>3</sub>P (530 μl). Po 10 minutách byl přidán daný monosacharid (2 mmol). Směs byla míchána 24 h, poté byla zneutralizována HCl. V dalším kroku byl vzorek zahuštěn na vakuové odparce. Následně byla k odparku přidána H<sub>2</sub>O (15 ml). Vodná fáze byla extrahována toluenem (3x8 ml). Extrakce trvala cca 30 min. Získaný vodný extrakt byl zmrazen a následně

lyofilizován v lyofilizátoru. Po vysušení byl vzorek zvážen a rozpuštěn v systému MeCN:voda v poměru (1:1, *V/V*) tak, aby výsledná koncentrace vzorku byla (30 mg/ml). Vzorek byl pak purifikován na preparativním HPLC. Sloučené homogenní frakce byly částečně zahuštěny na RVO (kvůli odstranění MeCN), zmraženy a následně lyofilizovány v lyofilizátoru (tímto způsobem byla zkoušena reakce 4-nitrofenolu (XI) s D-glukosou (II), D-galaktosou (III) a reakce fenolu (IX) s D-glukosou (II)).

## Obecný postup přípravy glykosidů s izomery nitrofenolu

Do míchaného roztoku trifenylofosfinu (104 mg; 0,4 mmol) v bezvodém THF (2 ml) byl přidán přes septum za inertních podmínek prostřednictvím kalibrované stříkačky s jehlou DIAD (80  $\mu$ l; 0,4 mmol). Po tvorbě MBH betainu, který se vizuálně projevil vysrážením z THF roztoku (cca 5-10 min), byl přidán daný izomer nitrofenolu (35 mg; 0,25 mmol). Zhruba po dalších 5 minutách byl přidán daný monosacharid (45 mg; 0,25 mmol) či disacharid (86 mg; 0,25 mmol). Reakce probíhala v inertní atmosféře za vyloučení vzdušné vlhkosti. Po 24 h byla reakční směs zahuštěna na vakuové odparce. Poté byla k odparku přidána H<sub>2</sub>O (5 ml). Vodná fáze pak byla extrahována toluenem (3x3 ml). Vzhledem k pomalé separaci vrstev, trvala extrakce cca 30 min. Získaný vodný extrakt byl zmražen a následně lyofilizován v lyofilizátoru. Po vysušení byl vzorek zvážen a rozpuštěn v systému MeCN:voda v poměru (1:1, *V/V*) tak, aby výsledná koncentrace vzorku byla (30 mg/1 ml). Vzorek byl pak purifikován na preparativním HPLC. Získané homogenní frakce byly slity a částečně zahuštěny na RVO (kvůli odstranění MeCN), zmraženy a následně lyofilizovány v lyofilizátoru.

## Příprava 4-nitrofenyl- $\beta$ -D-glukopyranosidu (XIIa)

Příprava glukosidu (XIIa) byla provedena podle obecného postupu. Vzorek byl po vysušení v lyofilizátoru ve formě žlutého medu (64 mg), který byl rozpuštěn v systému MeCN:voda (2,4 ml). Následně byl produkt přečištěn pomocí preparativní HPLC. Jednotlivé frakce byly sbírány od 3,8 – 4,15 min.

Výtěžek reakce byl 16 % (12 mg). Poměr anomerů  $\alpha$ : $\beta$  byl 2:25.

**C<sub>12</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>8</sub>** (M= 301,08)

Struktura byla ověřena na MS (APCI,  $m/z$ ): 346,02  $[M+46-H]^-$  (stejný molekulární iont byl naměřen i u komerčně získaného standardu).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  ppm (chybící protony se pravděpodobně vyskytují v píku  $\text{H}_2\text{O}$ ), 3.68 (d,  $J= 10.9$  Hz, 1 H), 4.58 (s, 1 H), 5.08 (d,  $J= 7.27$  Hz 1 H), 5.45 (s, 1 H), 7.21 (d,  $J= 8.82$  Hz 2 H), 8.20 (d,  $J= 9.34$  Hz 2 H).

$^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  ppm 60.7, 69.7, 73.3, 76.6, 77.4, 100.0, 116.8, 125.9, 141.7, 162.7.

### **Příprava 4-nitrofenyl- $\beta$ -D-galaktopyranosidu (XIIIa)**

Galaktosid (XIIIa) byl připraven dle obecného postupu. Vzorek byl po lyofilizaci ve formě bílo-žluté vatičky (47,8 mg), která byla rozpuštěna v roztoku MeCN:voda (2,4 ml). Následně byl vzorek purifikován na preparativní HPLC, kdy byly frakce sbírány od 3,7– 4,7 min.

Výtěžek reakce byl 20 % (15 mg). Poměr anomerů  $\alpha:\beta$  byl 3:10.

$\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{NO}_8$  (M= 301,08)

Struktura byla ověřena na MS (APCI,  $m/z$ ): 346,07  $[M+46-H]^-$

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  ppm (chybící protony se pravděpodobně vyskytují v píku  $\text{H}_2\text{O}$ ), 4.03 – 4.53 (m, 6 H), 5.71 (d,  $J= 7.79$  Hz 1 H), 7.91 (d,  $J= 9.34$  Hz 2 H), 8.90 (d,  $J= 9.34$  Hz 2 H).

$^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  ppm 59.9, 67.9, 69.9, 72.7, 75.9, 100.3, 116.3, 125.5, 141.6, 162.6.

### **Příprava 3-nitrofenyl- $\beta$ -D-glukopyranosidu (XVIa)**

Postup přípravy byl stejný jako u předchozích izomerů. Po vysušení byl vzorek ve formě žluté vatičky (27 mg). Následně byl vzorek rozpuštěn v systému MeCN:voda (1,5 ml) a připraven k purifikaci. Během separace na HPLC byla sbírána frakce ve 4,2- 4,65 min.

Výtěžek reakce byl 7 % (5 mg). Poměr anomerů  $\alpha:\beta$  1:10.

$\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{NO}_8$  (M= 301,08)

Struktura byla ověřena na MS (APCI,  $m/z$ ): 346,07 [M+46-H]<sup>-</sup>

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm (chybící protony se pravděpodobně vyskytují v píku H<sub>2</sub>O), 3.68 (d,  $J$ = 11.45 Hz 1 H), 5.00 (d,  $J$ = 7.33 Hz 1 H) 7.49 (d,  $J$ = 8.70 Hz 1 H), 7.59 (t,  $J$ = 8.24 Hz 1 H), 7.80 (t,  $J$ = 2.29 Hz 1 H), 7.87 (d,  $J$ = 6.87 Hz 1 H).

<sup>13</sup>C NMR (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm 60.4, 69.4, 76.3, 77.1, 100.4, 110.6, 116.5, 122.7, 130.3, 148.5, 157.6, 172.2.

### **Příprava 3-nitrofenyl-β-D-galaktopyranosidu (XVIIa)**

Daný galaktosid (XVII) byl připravený dle obecného postupu. Po lyofilizaci byl vzorek ve formě oranžovo-žluté vatičky (27 mg). Produkt byl následně připraven k purifikaci na preparativní HPLC, kdy byl rozpuštěn v systému MeCN:voda (1,5 ml). Frakce byla sbírána ve 4,3-5,1 min.

Výtěžek reakce byl 16 % (12 mg). Poměr anomerů  $\alpha$ : $\beta$  byl 1:20.

**C<sub>12</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>8</sub>** (M= 301,08)

Struktura byla ověřena na MS (APCI,  $m/z$ ): 346,10 [M+46-H]<sup>-</sup>

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm (chybící protony se pravděpodobně vyskytují v píku H<sub>2</sub>O), 4.95 (d,  $J$ = 7,79 Hz 1 H), 7.48 (d,  $J$ = 5.95 Hz 1 H), 7.57 (t,  $J$ = 8.24 Hz 1 H), 7.80 (t,  $J$ = 1.83 Hz 1 H), 7.86 (d,  $J$ = 9.62 Hz 1 H).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm 60.0, 67.8, 69.8, 72.8, 75.4, 101.0, 110.7, 116.3, 123.1. 130.4, 148.4, 157.8.

### **Příprava 2-nitrofenyl-β-D-glukopyranosidu (XXa)**

Glukosid (XXa) byl připraven standardním způsobem jako u předešlých izomerů. Po zpracování reakční směsi byl vzorek ve formě žluté vatičky (36 mg). Ten pak byl rozpuštěn v systému MeCN:voda (1,8 ml). Při přečišťování vzorku na preparativním HPLC, byla frakce sbírána v 3,8-4,35 min.

Výtěžek reakce byl 5 % (3,6 mg). Poměr anomerů  $\alpha$ : $\beta$  byl 1:10.

**C<sub>12</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>8</sub>** (M= 301,08)

Struktura byla ověřena na MS (APCI,  $m/z$ ): 346,01 [M+46-H]<sup>-</sup>, 319,07 [M+17(NH<sub>3</sub>)+H]<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, D<sub>2</sub>O) δ ppm (chybící protony se pravděpodobně vyskytují v píku H<sub>2</sub>O), 5.06 (d,  $J= 7,33$  Hz 1 H), 7.14 (t, d,  $J= 7,33$  Hz 1 H), 7.39 (d,  $J= 8.79$  Hz 1H), 7.59 (t,  $J= 8.79$  Hz 1 H), 7.81 (d,  $J= 8.06$  Hz 1 H).

<sup>13</sup>C NMR (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm 60.0, 69.1, 72.8, 76.4, 77.4, 100.2, 116.5, 121.6, 124.8, 134.1, 140.1, 149.5.

### **Příprava 2-nitrofenyl-D-galaktopyranosidu (XXIa)**

Reakce byla provedena podle obecného návodu přípravy *O*-nitrofenylglykosidů. Po vysušení byl vzorek ve formě bílé vatičky (29,5 mg). Následně byla látka rozpuštěna v systému MeCN:voda (1,5 ml) a připravena k purifikaci na preparativní HPLC. Při separaci na HPLC byla frakce sbírána v 3,65-4,2 min.

Výtěžek reakce byl 12 % (8,7 mg). Poměr anomerů  $\alpha:\beta$  byl 1:10.

**C<sub>12</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>8</sub>** (M= 301,08)

Struktura byla ověřena na MS (APCI,  $m/z$ ): 346,03 [M+46-H]<sup>-</sup>, 319,07 [M+17(NH<sub>3</sub>)+H]<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm (chybící protony se pravděpodobně vyskytují v píku H<sub>2</sub>O), 3.69 (d,  $J= 2.75$  Hz 1 H) 5.03 (d,  $J= 7.79$  Hz 1 H) 7.17 (t,  $J= 8.24$  Hz 1 H) 7.41 (d,  $J= 7.79$  Hz 1 H) 7.63 (t,  $J= 8.70$  Hz 1 H) 7.83 (d,  $J= 6.41$  Hz 1 H).

<sup>13</sup>C NMR (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm 59.9, 67.5, 70.0, 73.1, 75.4, 100.8, 116.6, 120.9, 124.4, 133.5, 140.0, 149.4.

### **Příprava 4-nitrofenyl-β-D-galakto-(1,4)-D-glukopyranosidu (XXIIIa)**

Postup zavedení disacharidu na 4-nitrofenol (XI) byl stejný jako při zavádění monosacharidu na daný nukleofil. Po zpracování reakční směsi byl vzorek ve formě bílé vatičky (60 mg). Vzorek byl rozpuštěn v systému MeCN:voda (3 ml) a připraven na purifikaci pomocí preparativní HPLC. Frakce byly sbírány ve 4,5-5 min.

Výtěžek reakce byl 5 % (5,3 mg). Poměr anomerů  $\alpha:\beta$  nelze určit.

**C<sub>18</sub>H<sub>25</sub>NO<sub>13</sub>** (M= 463,13)

Struktura byla ověřena na MS (APCI,  $m/z$ ): 462,84 [M-H]<sup>-</sup>, 480,96 [M+17(NH<sub>3</sub>)+H]<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm (chybící protony se pravděpodobně vyskytují v píku H<sub>2</sub>O), 4.22 (d,  $J$ = 6.87 Hz 1 H), 4.50-4.70 (m, 2 H), 4.82 (s, 1 H), 5.17 (d,  $J$ = 7.79 Hz, 1 H), 7.22 (d,  $J$ = 9.62 Hz 2 H), 8.2 (d,  $J$ = 9.16 Hz 2 H).

<sup>13</sup>C NMR (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm 60.5, 68.2, 70.6, 72.9, 73.3, 74.6, 75.1, 75.6, 79.8, 87.5, 99.4, 103.8, 116.6, 125.8, 141.8, 162.1.

### **Příprava 3-nitrofenyl-β-D-galakto-(1,4)-D-glukopyranosidu (XXIIIb)**

Postup přípravy glykosidu byl (XXIIIb) stejný jako v předchozích experimentech. Po zpracování reakční směsi byl vzorek ve formě bílé vatičky (43 mg). Vzorek byl rozpuštěn v systému MeCN:voda (2,2 ml) a připraven na purifikaci pomocí preparativní HPLC. Frakce byly sbírány ve 4,42-4,84 min.

Výtěžek reakce byl 5 % (5 mg). Poměr anomerů  $\alpha$ : $\beta$  nelze určit.

**C<sub>18</sub>H<sub>25</sub>NO<sub>13</sub>** (M= 463,13)

Struktura byla ověřena na MS (APCI,  $m/z$ ): 461,89 [M-H]<sup>-</sup>, 480,96 [M+17(NH<sub>3</sub>)+H]<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm (chybící protony se pravděpodobně vyskytují v píku H<sub>2</sub>O), 4.23 (d,  $J$ = 7.33 Hz 1 H), 4.52 (d,  $J$ = 4.58, 2 H), 4.62-4.67 (m, 4 H), 4.78 (m, 4 H), 5.10 (m, 4 H), 5.56 (d,  $J$ = 5.04 Hz 2 H), 7.49 (d,  $J$ = 5.95 Hz, 1 H), 7.59 (t,  $J$ = 8.24 Hz 1 H), 7.81 (t,  $J$ = 2.29 Hz 1 H), 7.88 (d,  $J$ = 5.95 Hz, 1 H).

<sup>13</sup>C NMR (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm 60.1, 60.5, 68.2, 70.6, 72.9, 73.3, 74.6, 75.1, 75.6, 80.0, 100.0, 103.8, 110.9, 116.8, 123.2, 130.6, 148.5, 157.9.

### **Příprava 2-nitrofenyl-β-D-galakto-(1,4)-D-glukopyranosidu (XXIIIc)**

Příprava daného glykosidu (XXIIIc) byla stejná jako u předchozích izomerů. Po zpracování reakční směsi byl vzorek ve formě bílé vatičky (72,7 mg). Vzorek byl rozpuštěn v systému MeCN:voda (3,6 ml) a připraven k přečištění na preparativní HPLC. Jednotlivé frakce byly sbírány ve 4,55-4,69 min.

Výtěžek reakce byl 5 % (5 mg). Poměr anomerů  $\alpha$ : $\beta$  nelze určit.

**C<sub>18</sub>H<sub>25</sub>NO<sub>13</sub>** (M= 463,13)

Struktura byla ověřena na MS (APCI, *m/z*): 462,91 [M-H]<sup>-</sup>, 521.92 [M+60(CH<sub>3</sub>COOH)- H]<sup>-</sup>, 480,94 [M+17(NH<sub>3</sub>)+H]<sup>+</sup>.

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm (chybící H se pravděpodobně vyskytují v píku H<sub>2</sub>O), 4.23 (d, *J*= 6.87 1 H), 4.52 (d, *J*= 4.58 Hz 1 H), 4.58-4.73 (m, 2 H), 4.80 (s, 1 H), 5.09 (d, *J*= 3.66 Hz 1 H), 5.18 (d, *J*= 7,79 Hz 1 H), 5.48 (d, *J*= 5.04 Hz 1 H), 7.16 (t, *J*= 7.79 Hz, 1 H), 7.43 (d, *J*= 8.70 Hz 1 H), 7.62 (t, *J*= 8.70 Hz, 1 H), 7.83 (d, *J*= 9.62 Hz, 1 H).

## 5. Seznam zkratek

ADDP	1,1-(Azodikarbonyl)dipiperidin
BTEAB	Benzyltriethylamonium bromid
DBU	1,8-Diazobicykloundec-7-en
DCM	Dichlormethan
DEAD	Diethyl-azodikarboxylát
DIAD	Diisopropyl-azodikarboxylát
DMF	Dimethylformamid
DTBMP	2,6-Di- <i>terc</i> -butyl-4-methylpyridin
DPPA	Difenyl-fosforylazid
EtOAc	Ethyl-acetát
HMDS	Hexamethyldisililazan
TEMT	Triethyl-methantrikarboxylát
THF	Tetrahydrofuran
TMAD	<i>N,N,N',N'</i> -Tetramethylazodikarboxamid
TMSCl	Trimethylsilyl chlorid
TMSOTf	Trimethylsilyl-trifluormethansulfonát
TMSClO <sub>4</sub>	Trimethylsilyl chloristan
MBH betain	Morrison-Brunn-Huisgen betain
mCPBA	3-Chlorperoxybenzoová kyselina
MeCN	Acetonitril
MeOH	Methanol
<i>n</i> -Bu	<i>n</i> -Butyl
<i>t</i> -BuOH	<i>Terc</i> -butanol
Ph <sub>2</sub> PMe	Difenyl-(methyl)-fosfin
ZIRAM	Sloučenina zinku s dimethyldithiakarbamátem



## 6. Závěr

Úkolem této práce bylo ověřit možnost a následně se pokusit najít podmínky pro zavedení nechráněných cukerných zbytků na organickou molekulu obsahující kyselý atom vodíku za Mitsunobu podmínek.

Při hledání optimálních podmínek pro zamýšlené reakce s monosacharidy za Mitsunobu podmínek bylo u modelové sloučeniny (**V**) s D-ribosou (**I**) zjištěno, že nejen poměr jednotlivých reakčních složek, ale i pořadí výchozích komponent hraje významnou roli pro získání žádaného produktu. Pokud po tvorbě MBH komplexu bylo pořadí komponent zaměněno a byl nejprve přidán sacharid (**I**) a poté až nukleofil (**V**) nebo komponenty byly přidány zároveň, výtěžek reakce byl výrazně nižší. Za účelem snížení reaktivity volných hydroxyskupin na monosacharidu (**I**) a naopak podpoření reakce na poloacetalovém hydroxyly byl zkoumán vliv teploty na průběh reakce. Na základě vyhodnocených výsledků byl výtěžek reakce při 0 ° o poznání vyšší než za laboratorní teploty. Avšak u reakcí, které probíhaly při nižších teplotách, se zvyrazňoval problém s rozpustností daného sacharidu (**I**). Je totiž obecně známo, že sacharidy jsou hůře rozpustné v organických rozpouštědlech, tudíž pak i nižší teploty pod 0 °C nepřispívaly příznivě ke konverzi výchozí látky. Ze zkoušených rozpouštědel, se zdál být vhodnějším rozpouštědlem THF. V souvislosti optimalizace Mitsunobu reakce byla mimo jiné vyvinuta metoda umožňující zjednodušení reakční směsi, která byla založena na extrakci v dvoufázovém systému. Tato metoda se opírala o fakt, že cílené produkty přecházely do vodné fáze, zatímco nežádoucí vedlejší produkty přecházely do fáze organické, čímž se celý proces purifikace produktu na preparativní HPLC značně zjednodušil.

K velkému překvapení během studia struktury vzniklého produktu (**VI**) bylo z <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H ROESY spekter zjištěno, že při reakci s D-ribosou (**I**) dochází k otevírání cyklu a nastává zde určitá rovnováha mezi furanosovým a pyranosovým derivátem. Jako majoritní produkt zde vznikal pyranosový cyklus (**VI<sub>d</sub>**) viz *Schéma 73*, tento fakt lze odůvodnit chybějícími cross píky vodíku na uhlíku v pozici 6 s vodíkem na OH skupině dle *Schématu 73*, které se naopak u furanosidů běžně vyskytují. Dalším důležitým poznatkem bylo, že se hydroxylové skupiny na uhlících v pozici 3, 4, 5, vyskytují na stejné straně, což se také projevovalo silnými interakcemi mezi jednotlivými

vodíky. Avšak zavádějící bylo určení polohy vodíku na anomerním uhlíku. Z interakční konstanty vodíku na atomu uhlíku v poloze 2 (*Schéma 73*) totiž nebylo možné jednoznačně určit, zda se jedná o  $\alpha$  nebo  $\beta$  anomer.

I když optimalizace byla prováděna s D-ribosou (**I**) a 5-brompyridin-3-karboxylovou kyselinou (**V**), tak reakce D-ribosy (**I**) s dalšími substráty byla hodně problematická ve smyslu bohatosti reakční směsi a komplikovanosti izolace produktu. Z toho důvodu pak byly optimalizované podmínky aplikovány na vybrané zástupce organických sloučenin mající ve své struktuře kyselý atom vodíku vázaný na dusík, kyslík a síru. Z monosacharidů byla zvolena D-glukosa (**II**), D-galaktosa (**III**) a D-manosa (**IV**), z disacharidů byla testována laktóza (**XXIII**).

Při zavádění nechráněných monosacharidů na samotný fenol (**IX**) nebyl produkt detekován, ačkoliv se předpokládalo, že kyselost vodíku pro Mitsunobu reakci je dostačující. Ani změna Mitsunobu činidel nějak obzvlášť nepřispěla k lepší konverzi výchozí látky, jelikož se v reakční směsi vyskytovaly kromě minoritního množství požadované látky také ve větší míře adukty monosacharidu s Mitsunobu činidly. Bylo tedy nutné zvýšit kyselost vodíku na -OH skupině, přítomností silně elektronegativního substituentu na aromatickém jádře. Proto byly použity izomery nitrofenolu v poloze *ortho*, *meta* a *para*. Srovnáním NMR spekter komerčně získaných standardů bylo zjištěno, že se podařilo připravit *O*-glykosidy vázané na anomerním uhlíku. U připravených D-glukosidů a D-galaktosidů převažoval spíše  $\beta$  anomer. Současně se zde vyskytovalo minoritní množství  $\alpha$  anomeru. Co se týče reakcí s D-manosou (**IV**), reakce byly poněkud komplikovanější z pohledu izolace výsledného produktu, jelikož se během purifikace na preparativní HPLC objevovaly ve všech případech dva píky s velice podobnou integrální plochou, které bylo obtížné od sebe oddělit. Mohlo se jednat o směs dvou anomerů nebo polohových izomerů. Avšak na základě získaných poznatků se lze domnívat, že se spíše jednalo o směs dvou anomerů.

Při reakci s laktózou byly výtěžky u jednotlivých izomerů nitrofenolu téměř stejné, i přestože počet uhlíků z uhlíkových spekter odpovídal počtu žádaného jednotného produktu, nebylo možné z vodíkových NMR spekter zjistit zda se jedná o směs anomerů či izomerů.

Na základě příznivých výsledků s izomery nitrofenolu, byly reakce provedeny za standardních podmínek i s jejich sirnými analogy a to v poloze *para* a *ortho*. K velkému překvapení však ani v jednom případě nebyl produkt detekován.

Testovány byly také heterocyklické sloučeniny, obsahující kyselé N-H vazby, mezi něž patřily převážně deriváty 6-azauracilu. Reakce ale byly komplikované z pohledu komplexní reakční směsi, které bylo obtížné zjednodušit. Tomu také odpovídaly i nízké výtěžky jednotlivých reakcí. Vzhledem ke komplikovanosti NMR spekter nebylo možné určit, zda se jedná o směs dvou látek nebo anomerů.

Pro zavedení nechráněných sacharidů do organických molekul se nám zpočátku jevila Mitsunobu reakce velice slibně. Avšak během cesty našeho bádání, jsme se setkávali s řadou problémů týkajících se izolace či stability produktu. Ze série experimentů jsme došli k závěru, že reakce probíhaly nejlépe na izomerech nitrofenolu, avšak výtěžky byly velice nízké. Tuto metodu čeká ještě dlouhá cesta, je potřeba dále optimalizovat reakční podmínky a co je nejdůležitější, najít správné reaktanty, které svými vlastnostmi pomohou zjednodušit celý proces od přípravy až po identifikaci a interpretaci spekter.

## 7. Seznam použité literatury

- (1) Cheng, H.; Cao, X.; Xian, M.; Fang, L.; Cai, T. B.; Ji, J. J.; Tunac, J. B.; Sun, D.; Wang, P. G. *J. Med. Chem.* **2005**, *48* (2), 645–652.
- (2) Li, Y. W.; Ma, C. L. *J. Serbian Chem. Soc.* **2015**, *79* (10), 1205–1212.
- (3) Mitsunobu, O.; Yamada, M. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1967**, *40* (10), 2380–2382.
- (4) Mitsunobu, O.; Yamada, M.; Mukaiyama, T. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1967**, *40* (4), 935–939.
- (5) Fletcher, S. *Org. Chem. Front.* **2015**, *2* (6), 739–752.
- (6) But, T. Y. S.; Toy, P. H. *Chem. Asian J.* **2007**, *2* (11), 1340–1355.
- (7) Camp, D.; Jenkins, I. D. *J. Org. Chem.* **1989**, *54* (13), 3045–3049.
- (8) Swamy, K. C. K.; Kumar, N. N. B.; Balaraman, E.; Kumar, K. V. P. *Chem. Rev.* **2009**, *109* (6), 2551–2651.
- (9) Mitsunobu, O. *Synthesis (Stuttg.)* **1981**, *1981* (1), 1–28.
- (10) Camp, D.; Jenkins, I. D. *Aust. J. Chem.* **1988**, *41* (12), 1835–1839.
- (11) Fleckenstein, C. A.; Plenio, H. *Adv. Synth. Catal.* **2006**, *348* (9), 1058–1062.
- (12) Tsunoda, T.; Itô, S. *J. Synth. Org. Chem. Japan* **1994**, *52* (2), 113–120.
- (13) But, T. Y. S.; But, T. Y. S.; Toy, P. H.; Toy, P. H. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 9636–9637.
- (14) Wilson, S. R.; Perez, J.; Pasternak, A. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115* (5), 1994–1997.
- (15) Ahn, C.; Correia, R.; DeShong, P. *J. Org. Chem.* **2002**, *67* (6), 1751–1753.
- (16) von Itzstein, M.; Jenkins, I. D. *Aust. J. Chem.* **1983**, *36* (3), 557–563.
- (17) Kagawa, N.; Ihara, M.; Toyota, M. *J. Org. Chem.* **2006**, *71* (18), 6796–6805.
- (18) Hattori, Y.; Kimura, Y.; Moroda, A.; Konno, H.; Abe, M.; Miyoshi, H.; Goto, T.; Makabe, H. *Chem. - An Asian J.* **2006**, *1* (6), 894–904.
- (19) Sammakia, T.; Jacobs, J. S. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40* (14), 2685–2688.
- (20) Smith, A. B.; Safonov, I. G.; Corbett, R. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124* (37), 11102–11113.
- (21) Williams, J. R.; Gong, H.; Hoff, N.; Olubodun, O. I. *J. Org. Chem.* **2005**, *70* (26), 10732–10736.
- (22) Kurihara, T.; Nakajima, Y.; Mitsunobu, O. *Tetrahedron Lett.* **1976**, *17* (28), 2455–2458.
- (23) Luscombe, C. K.; Proemmel, S.; Huck, W. T. S.; Holmes, A. B.; Fukushima, H. *J. Org. Chem.* **2007**, *72* (15), 5505–5513.

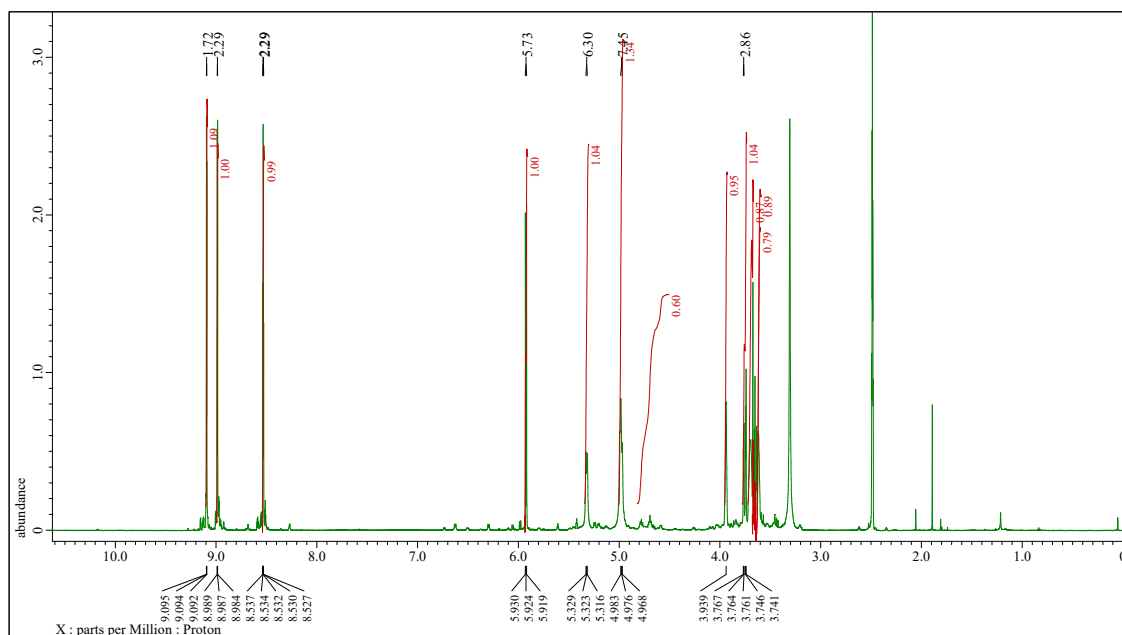
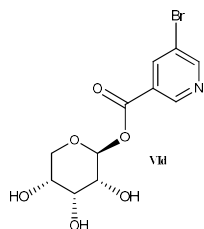
- (24) García-Delgado, N.; Riera, A.; Verdager, X. *Org. Lett.* **2007**, *9* (4), 635–638.
- (25) Müller, J.; Brunnbauer, M.; Schmidt, M.; Zimmermann, A.; Terfort, A. *Synthesis (Stuttg.)* **2005**, No. 6, 998–1004.
- (26) Schulze, O.; Voss, J.; Adiwidjaja, G.; Olbrich, F. *Carbohydr. Res.* **2004**, *339* (10), 1787–1802.
- (27) Chaturvedi, D.; Ray, S. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47* (8), 1307–1309.
- (28) Hillier, M. C.; Desrosiers, J. N.; Marcoux, J. F.; Grabowski, E. J. J. *Org. Lett.* **2004**, *6* (4), 573–576.
- (29) Tsunoda, T.; Uemoto, K.; Nagino, C.; Kawamura, M.; Kaku, H.; Itô, S. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40* (41), 7355–7358.
- (30) Carrasco, N.; Ginsburg, D.; Du, Q.; Huang, Z. *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids* **2001**, *20* (9), 1723–1734.
- (31) Saylik, D.; Horvath, M. J.; Elmes, P. S.; Jackson, W. R.; Lovel, C. G.; Moody, K. *J. Org. Chem.* **1999**, *64* (11), 3940–3946.
- (32) Horvath, M. J.; Saylik, D.; Elmes, P. S.; Jackson, W. R.; Lovel, C. G.; Moody, K. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40* (2), 363–366.
- (33) Kai, H.; Nakai, T. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42* (39), 6895–6897.
- (34) Sen, S. E.; Roach, S. L. *Synthesis (Stuttg.)* **1995**, *24* (7), 756–758.
- (35) Roush, W. R.; Straub, J. A.; Brown, R. J. *J. Org. Chem.* **1987**, *52* (23), 5127–5136.
- (36) Fukuyama, T.; Jow, C. K.; Cheung, M. *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36* (36), 6373–6374.
- (37) Fukuyama, T.; Cheung, M.; Kan, T. *Synlett* **1999**, *1999* (8), 1301–1303.
- (38) De La Fuente, M. C.; Pullan, S. E.; Biesmans, I.; Domínguez, D. *J. Org. Chem.* **2006**, *71* (10), 3963–3966.
- (39) M. Afonso, C.; Teresa Barros, M.; S. Godinho, L.; D. Maycock, C. *Tetrahedron* **1994**, *50* (32), 9671–9678.
- (40) De Clercq, E.; Holý, A. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2005**, *4* (November), 928–940.
- (41) Romeo, G.; Chiacchio, U.; Corsaro, A.; Merino, P. *Chem. Rev.* **2010**, *110* (6), 3337–3370.
- (42) Fischer, E.; Helferich, B. *Chem. Ber.* **1914**, *47*, 210–235.
- (43) Balzer, D.; Lüders, H. *Nonionic Surfactants: Alkyl Polyglucosides*; CRC Press, 2002; Vol. 91.
- (44) Brito-Arias, M. *Synthesis and characterization of glycosides*, Second.; Springer Nature, 2007.
- (45) Izumi, M.; Fukase, K.; Kusumoto, S. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **2002**, *66* (1), 211–214.

- (46) Joshi, V. Y.; Sawant, M. R. *Indian J. Chem.* **2006**, *45B* (Feb-2006), 461–465.
- (47) Kim, J. H.; Yang, H.; Park, J.; Boons, G. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127* (34), 12090–12097.
- (48) Smits, E.; Engberts, N. *J. Chem. Soc., Perkin Trans.* **1996**, *1* (11), 2873–2877.
- (49) Van Nguyen, T.; Claessens, S.; Habonimana, P.; Tehrani, K. A.; Van Puyvelde, L.; De Kimpe, N. *Synlett* **2006**, No. 15, 2469–2471.
- (50) Lindhorst, T. K.; Kötter, S.; Kubisch, J.; Krallmann-Wenzel, U.; Ehlers, S.; Khôen, V. *European J. Org. Chem.* **1998**, No. 8, 1669–1674.
- (51) Sharma, R. K.; Singh, S.; Tiwari, R.; Mandal, D.; Olsen, C. E.; Parmar, V. S.; Parang, K.; Prasad, A. K. *Bioorganic Med. Chem.* **2012**, *20* (23), 6821–6830.
- (52) Goldberg Juri. *Phase Transfer Catalysis: Selected Problems and Applications*; Science Publishers S.A., 1992.
- (53) Dess, D.; Kleine, H. P.; Weinberg, D. V; Kaufman, R. J.; Sidhu, R. S. *Synthesis (Stuttg)*. **1981**, 883–885.
- (54) Cumpstey, I. *Carbohydr. Res.* **2008**, *343* (10–11), 1553–1573.
- (55) Vorbrüggen, H.; Pohlenz, C. R. *Handbook of Nucleoside Synthesis*; 2001.
- (56) Kazimierczuk, Z.; Cottam, H. B.; Revankar, G. R.; Robins, R. K. *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106* (1), 6379–6382.
- (57) Hilbert, G. E.; Johnson, T. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1930**, *52* (5), 2001–2007.
- (58) Prystaš, M.; Farkaš, J.; Šorm, F. *Collect. Czechoslov. Chem. Commun.* **1965**, *30* (9), 3123–3133.
- (59) Birkofer, L.; Ritter, A.; Kühlthau, H. *Chem. Ber.* **1964**, *97* (4), 934–945.
- (60) Vorbrüggen, H.; Kroliekiewicz, K.; Bennua, B. *Chem. Ber.* **1981**, *114* (4), 1234–1255.
- (61) Vorbrüggen, H.; Bennua, B. *Tetrahedron Lett.* **1978**, *19* (15), 1339–1342.
- (62) Hanrahan, J. R.; Hutchinson, D. W. *J. Biotechnol.* **1992**, *23* (2), 193–210.
- (63) Krenitsky, T. A.; Koszalka, G. W.; Tuttle, J. V. *Biochemistry* **1981**, *20* (12), 3615–3621.
- (64) Hafez, H. N.; Hussein, H. A. R.; El-Gazzar, A. R. B. A. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45* (9), 4026–4034.
- (65) Szarek, W. A.; Depew, C.; Jarrell, H. C.; Jones, J. K. N. *J. C. S. Chem. Comm.* **1975**, 648–649.
- (66) Schmalisch, S.; Mahrwald, R. *Org. Lett.* **2013**, *15* (22), 5854–5857.
- (67) Downey, A. M.; Richter, C.; Pohl, R.; Mahrwald, R.; Hocek, M. *Org. Lett.* **2015**, *17* (18), 4604–4607.
- (68) Cashman, J. R.; Olsen, L. D.; Young, G.; Bern, H. *Chem Res Toxicol* **1989**, *2* (6), 392–399.

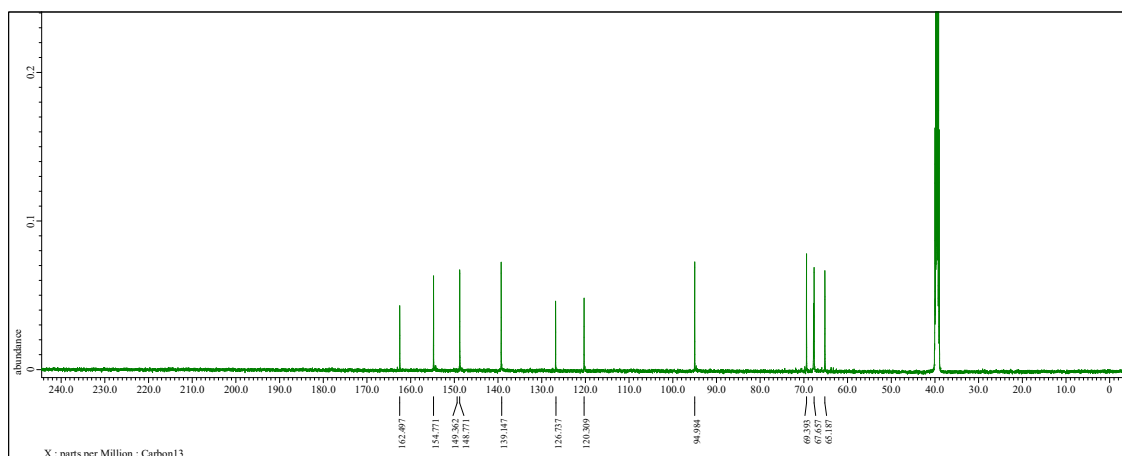
(69) Ookawa, A.; Yokoyama, S.; Soai, K. *Synth. Commun.* **2006**, *16* (7), 819–825.

# 8. Přílohy

## <sup>1</sup>H NMR Spektrum sloučeniny (VIId)

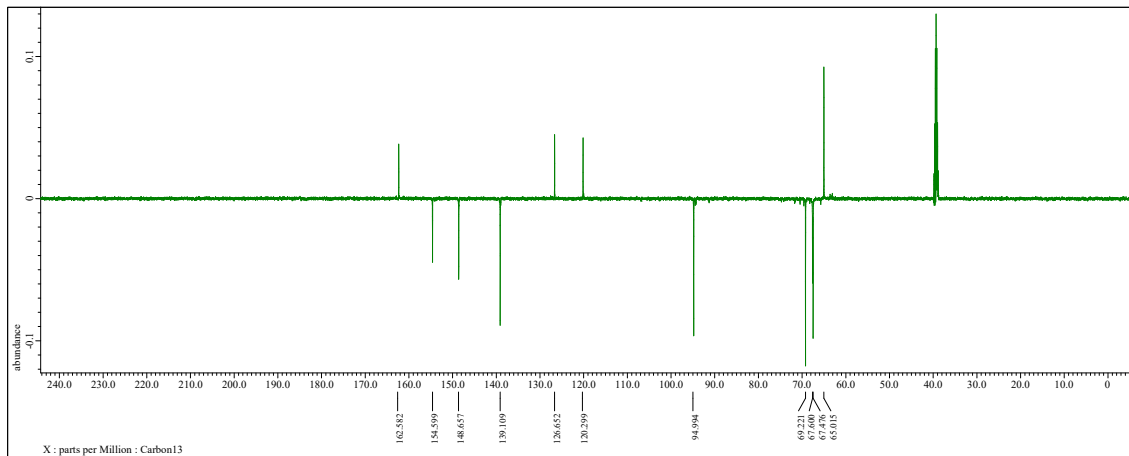


## <sup>13</sup>C NMR Spektrum sloučeniny (VIId)

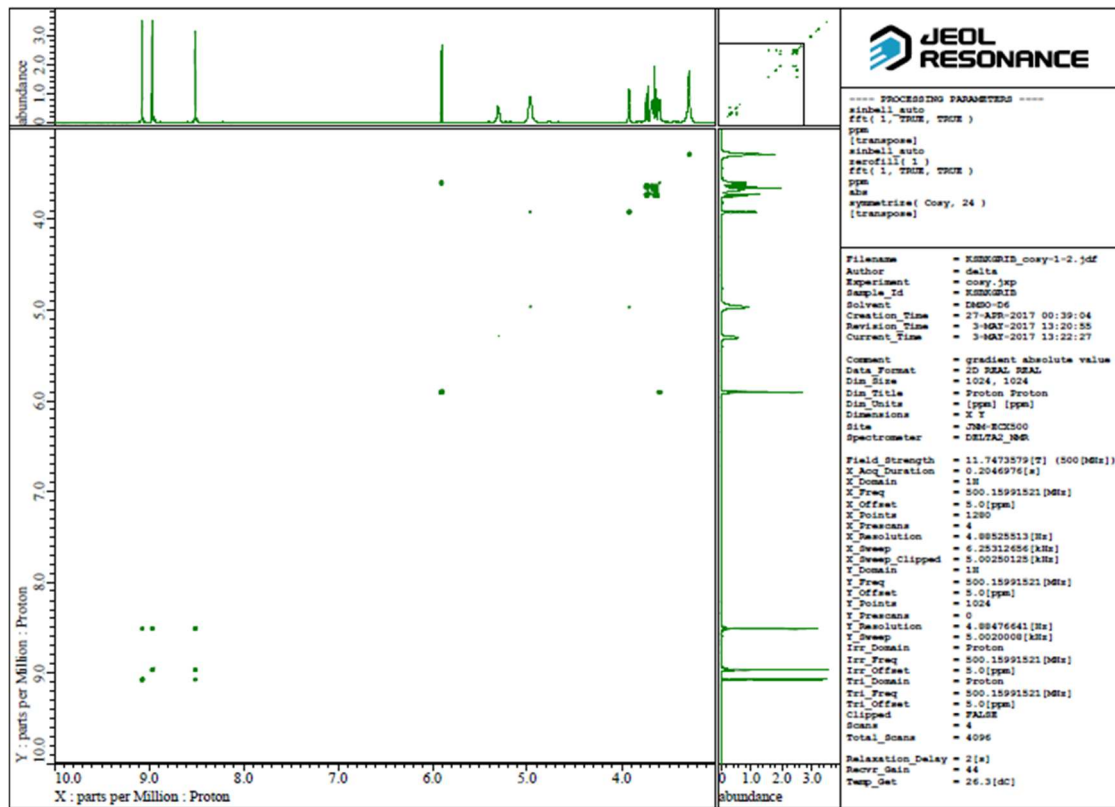




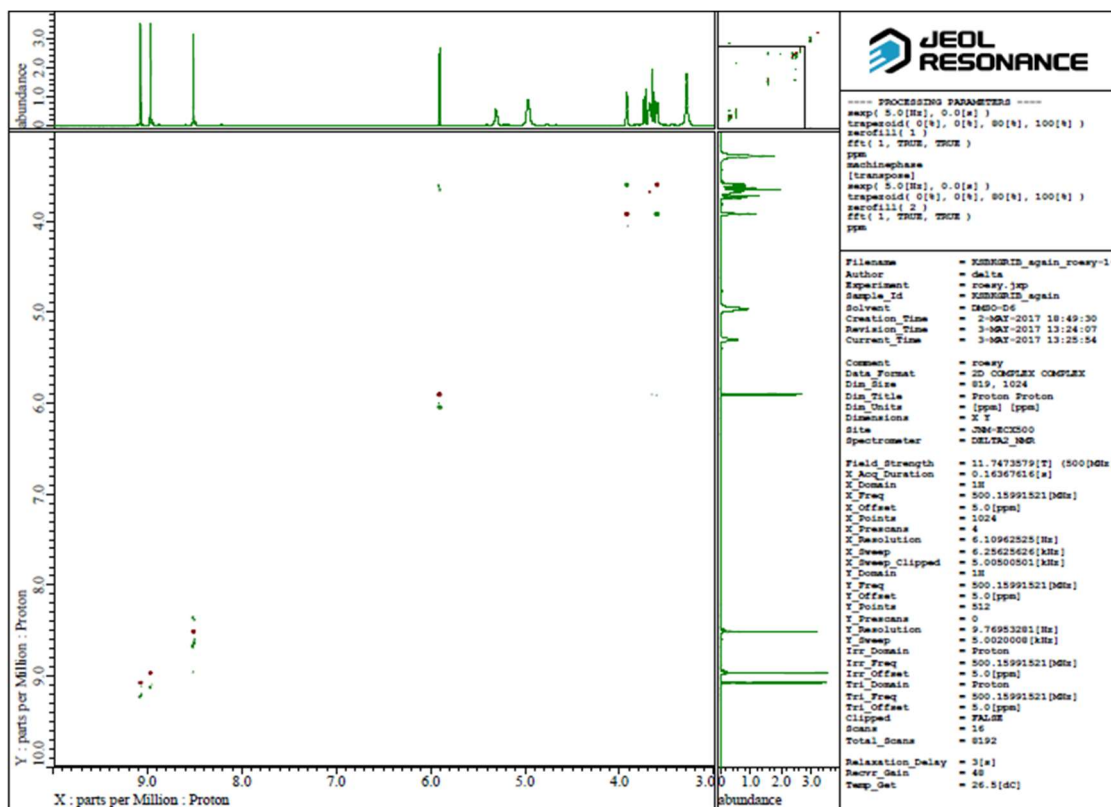
## NMR APT Spektrum sloučeniny (VIId)



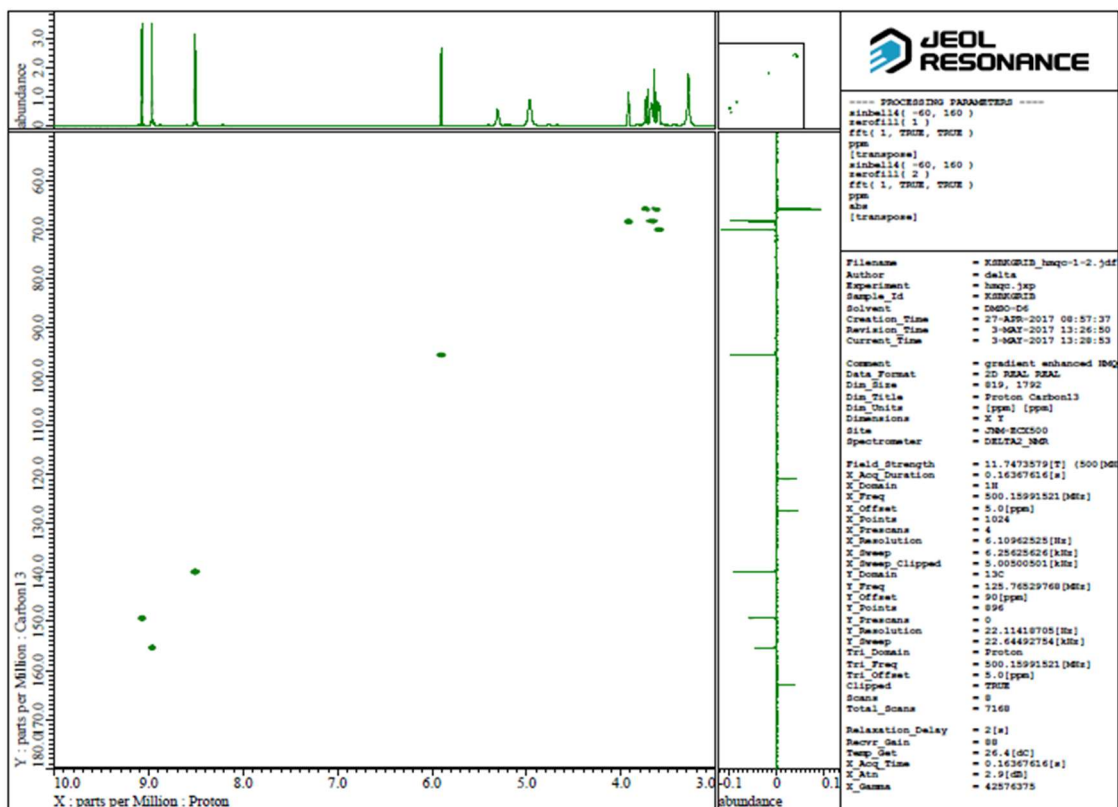
## $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ NMR COSY Spektrum sloučeniny (VIId)



# $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ NMR ROESY Spektrum sloučeniny (VIId)



# NMR HMQC Spektrum sloučeniny (VIId)



# NMR HMBC Spektrum sloučeniny (VIId)

