

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Chemie
Studijní obor: Medicinální chemie



Bc. Ondřej Smolka

Syntéza analogů nukleosidů založených na derivátech 2-deoxy-2-fluor- a 3-deoxy-3-fluor-D-
ribosy a pyrazinu

Synthesis of nucleoside analogs based on derivatives of 2-deoxy-2-fluoro- and 3-deoxy-3-
fluoro-D-ribose and pyrazines

Diplomová práce

Vedoucí závěrečné práce/Školitel: doc. RNDr. Jindřich Jindřich, CSc.

Praha, 2020

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 13. 8. 2020

Podpis

Abstrakt

Tato diplomová práce se zabývá syntézou prolečiv analogů nukleosidfosfonátů odvozených od 6-fluor-3-hydroxypyrazin-2-karboxamidu (T-705) a 3-hydroxypyrazin-2-karboxamidu (T-1105). Látky T-705 a T-1105 vystupují jako inhibitory RNA polymerázy chřipkového viru. Obě látky mimikují přirozené nukleobáze, takže jejich fluorované nukleosid fosfonáty mohou být také biologicky aktivní.

V rámci práce byly připraveny deriváty 2-deoxy-2-fluor-D-ribosy (2-FdR). Kvůli komplikacím během syntézy derivátů 3-deoxy-3-fluor-D-ribosy (3-FdR) byly připraveny deriváty 5-deoxy-5-fluor-D-xylosy (5-FdX). Syntéza vycházela z D-arabinosy (2-FdR) a D-xylosy (3-FdR a 5-FdX). Po zavedení vhodných chránících skupin byla provedena deoxyfluorace. Následovalo selektivní odchránění a vazba fosfonátu. Poté byly připraveny nukleosidy silyl-Hilbert-Johnsonovou metodou a jejich bis-POM deriváty.

Klíčová slova: favipiravir (T-705), T-1105, prolečiva, fosfonáty, fluorované nukleosidy

Abstract

This thesis deals with the synthesis of prodrugs based on analogs of nucleoside phosphonates derived from 6-fluoro-3-hydroxypyrazine-2-carboxamide (T-705) and 3-hydroxypyrazine-2-carboxamide (T-1105). T-705 and T-1105 act as inhibitors of an influenza RNA polymerase. Both compounds mimic naturally occurring nucleobases, so their fluorinated nucleoside phosphonates could also be biologically active.

Derivatives of 2-deoxy-2-fluoro-D-ribose (2-FdR) were prepared in this work. Because of complications during the synthesis of 3-deoxy-3-fluoro-D-ribose (3-FdR) derivatives, 5-deoxy-5-fluoro-D-xylose (5-FdX) derivatives were prepared instead. Deoxyfluorination was done after incorporation of suitable protecting groups followed by selective deprotection and phosphonate binding. Furthermore nucleosides were synthesised using silyl-Hilbert-Johnson method and their bis-POM derivatives were also prepared.

Key words: favipiravir (T-705), T-1105, prodrugs, phosphonates, fluorinated nucleosides

Obsah

Použité zkratky	6
1. Úvod.....	8
2. Cíle práce	9
3. Přehled problematiky	10
3.1. Chřipka	10
3.1.1. Životní cyklus viru	10
3.1.2. Protichřipková léčiva.....	12
3.2. Nukleosidy.....	13
3.2.1. Fluorované nukleosidy	14
3.3. Deriváty pyrazinu T-705 a T-1105	15
3.3.1. Ovlivnění replikace RNA.....	15
3.3.2. Aktivace a stabilita	16
3.4. Proléčiva	17
3.4.1. Dvoudílná proléčiva	17
3.4.2. Trojdílná proléčiva	18
3.4.3. Fosfonáty a fosfáty	18
3.4.3.1. Průnik nukleosidů do buňky.....	19
3.4.3.2. Acyloxyalkylestery od fosf(on)átů.....	20
3.5. Syntéza.....	22
3.5.1. Syntéza fluorovaných cukrů.....	22
3.5.2. Syntéza fosfonátů	23
3.5.3. Syntéza <i>N</i> -nukleosidů – silyl-Hilbert-Johnsonova metoda	23
3.5.4. Syntéza POM proléčiv	25
4. Výsledky a diskuse	27
4.1. Koncept syntézy	27
4.2. Syntéza triflátu od fosfonátu.....	28
4.3. Syntéza derivátů 2-deoxy-2-fluor-D-ribosy (2-FdR).....	29
4.4. Syntéza derivátů 3-deoxy-3-fluor-D-ribosy (3-FdR).....	33
4.4.1. Použití objemné chránicí skupiny	36
4.5. Syntéza derivátů 5-deoxy-5-fluor-D-xylosy (5-FdX)	39
5. Experimentální práce	42

5.1.	Obecné postupy a chemikálie	42
5.2.	Syntéza fosfonomethyl triflátu	43
5.3.	Syntéza derivátů 2-deoxy-2-fluor-D-ribosy	44
5.4.	Syntéza derivátů 3-deoxy-3-fluor-D-ribosy	54
5.4.1.	Syntéza supertritylové chránící skupiny.....	59
5.5.	Syntéza derivátů 5-deoxy-5-fluor-D-xylosy	62
6.	Závěr	71
7.	Poděkování.....	72
8.	Literatura.....	73

Použité zkratky

(-)ssRNA – jednovláknová RNA negativního smyslu (Single Strand)

(+)ssRNA – jednovláknová RNA pozitivního smyslu

Ac – acetyl

BSA – *N,O*-bis(trimethylsilyl)acetamid

Bu – butyl

Bz – benzoyl

cRNA – komplementární RNA (Complementary)

DAST – diethyl(trifluorsulfid)amin

DCE – 1,2-dichlorethan

DCM – dichlormethan

DIPEA – *N,N*-diisopropylethylamin

DMAP – *N,N*-dimethylaminopyridin

DMF – dimethylformamid

DMSO – dimethylsulfoxid

ESI – ionizace elektrosprejem (Electrospray Ionization)

Et – ethyl

2-FdR – 2-deoxy-2-fluor-D-ribosa

3-FdR – 3-deoxy-3-fluor-D-ribosa

5-FdX – 5-deoxy-5-fluor-D-xylosa

HA – hemaglutinin

HEF – hemaglutinin-esteráza fúzní protein

HGPTR – hypoxanthin-guanin fosforibosyltransferáza

HMDS – hexamethyldisilazan

HRMS – hmotnostní spektrometrie s vysokým rozlišením (High Resolution Mass Spektrometry)

konc. HCl – koncentrovaná kyselina chlorovodíková (35%)

Me – methyl

mRNA – mediátorová RNA

MS – hmotnostní spektrometrie (Mass Spectrometry)

NA – neuraminidáza

nBu – but-1-yl

NMP – *N*-methyl-2-pyrolidon

NMR – nukleární magnetická rezonance
POM – pivaloyloxymethyl
Pr – prop-1-yl
RNP – komplex RNA dependentní RNA polymerázy s (-)ssRNA obalenou nukleoproteiny
RP silikagel – reversní silikagel (Reversed Phase)
RVO – rotační vakuová odparka
sTr – supertrityl (tris(4-*terc*-butylfenyl)methyl)
T-705 – 6-fluor-3-hydroxypyrazin-2-karboxamid
T-1105 – 3-hydroxypyrazin-2-karboxamid
TBAF – tetrabutylamonium fluorid
TBAI – tetrabutylamonium jodid
TBDPS – *terc*-butyldifenylsilyl
t-Bu – *terc*-butyl
Tf – triflyl (trifluormethansulfonyl)
THF – tetrahydrofuran
TLC – chromatografie na tenké vrstvě (Thin Layer Chromatography)
UV – ultrafialové záření
WHO – Světová zdravotnická organizace (World Health Organization)

1. Úvod

Každý rok umírají na celém světě statisíce lidí na zdravotní komplikace způsobené chřipkovým onemocněním. Neustále se zvyšuje množství virových kmenů, které jsou imunní vůči současným léčivům. Stále jsou tedy vyvíjeny nové léky, které by překonaly virovou rezistenci. Mezi ně patří i favipiravir (T-705), který je již schválený v Japonsku pro léčbu komplikovaných chřipkových onemocnění, a jeho defluoro analog (T-1105).¹ Obě látky fungují jako inhibitory virové polymerázy, čímž znemožňují replikaci virové RNA. Při použití nižší dávky léčiva nemusí dojít k terminaci replikace, ale může dojít k začlenění metabolitů těchto látek do vznikající RNA a tím způsobit mutaci viru.²⁻⁴

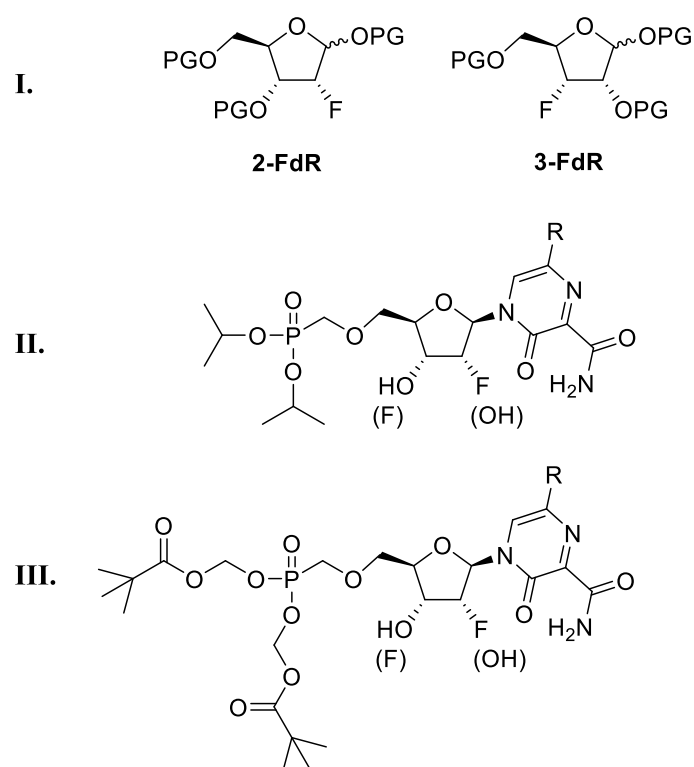
Obě látky mají schopnost mimikovat přirozené nukleobáze¹, takže je možné připravit jejich nukleosidy a nukleotidy. Prvním krokem biotransformace je fosforibosylace, která ovšem probíhá velmi pomalu, a proto je vhodné báze T-705/T-1105 podávat rovnou ve formě fosforibosylovaného nebo fosfonoribosylovaného proléčiva.⁵ Zde je nutné použít skupiny, které jsou snadno odbouratelné buněčnými mechanismy např. pivaloyloxymethyl (POM).⁶ POM-fosfonátová proléčiva s bází T-705/T-1105 by měla být schopna snadno proniknout skrz buněčnou membránu právě díky maskování záporných nábojů na fosfonátu. Díky již přítomnému fosfonátu v molekule odpadá problematický první krok biotransformace a látka může být dvojnásobně fosforylována pomocí buněčných kinas za vzniku biologicky aktivní sloučeniny. Transformací T-705/T-1105 na nukleosidové proléčivo by mělo dojít ke zvýšení jejich biologické dostupnosti.

2. Cíle práce

Cíle mé diplomové práce byly následující (obrázek 1):

- I. Syntéza derivátů 2-deoxy-2-fluor- (2-FdR) a 3-deoxy-3-fluor-D-ribosy (3-FdR).
- II. Syntéza fluorovaných nukleosidů obsahujících fosfonátovou skupinu a báze T-705/T-1105.
- III. Syntéza proléčiv s pivaloyloxymethylovou (POM) skupinou.

Připravené látky budou odeslány do vědecké skupiny Lieve Naesens v KU Leuven v Belgii na testování jejich biologické aktivit vůči virům včetně chřipky.



() = platí pro 3-FdR
PG = chránicí skupina
R = F (T-705) nebo H (T-1105)

Obrázek 1: Cílové sloučeniny

3. Přehled problematiky

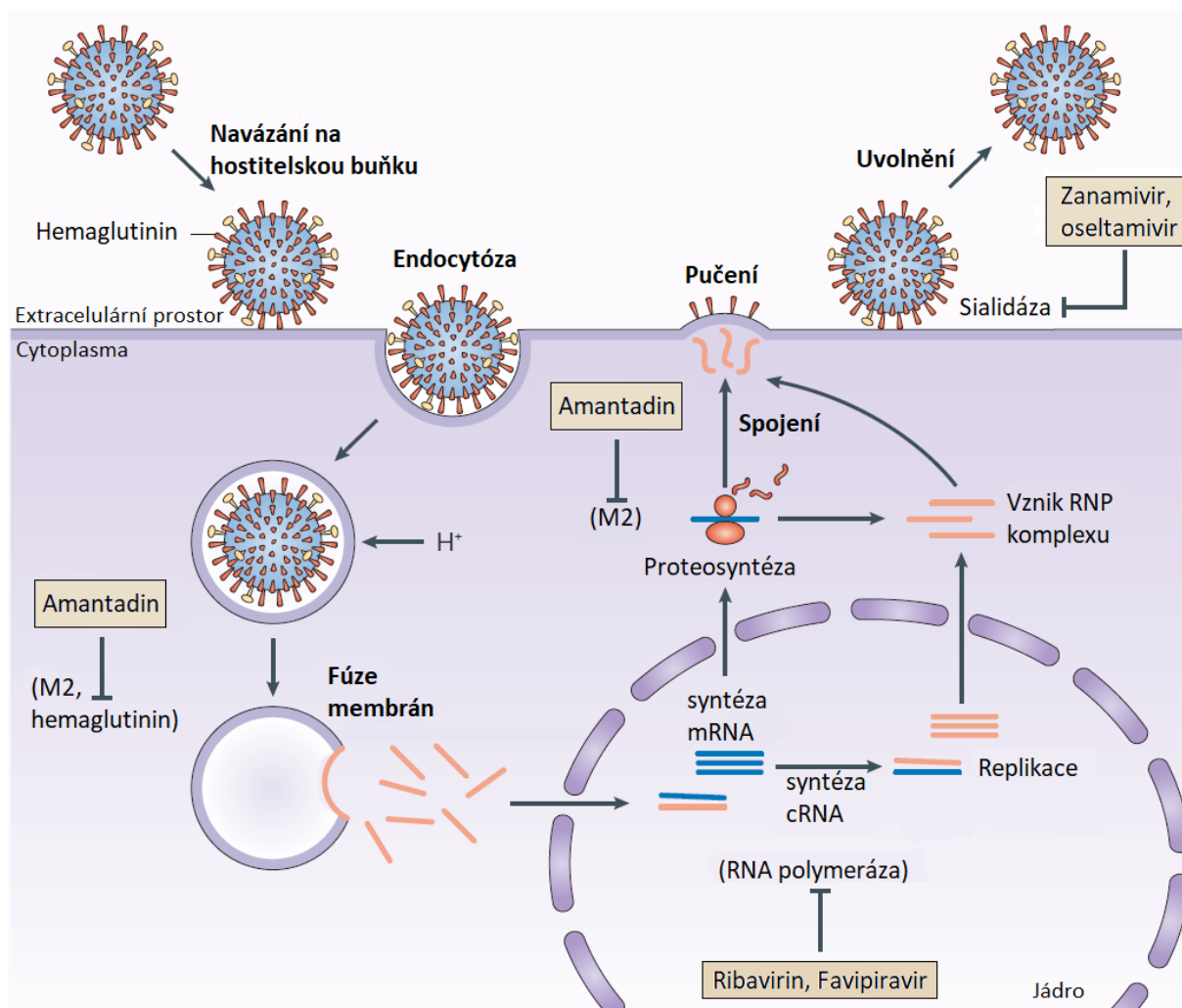
3.1. Chřipka

Na celém světě dochází každý rok ke vzniku sezónních chřipkových onemocnění, která jsou způsobena chřipkovým virem. Jedná se o (-)ssRNA (jednovláknová RNA pozitivního smyslu) virus z čeledi *Orthomyxoviridae*.⁷ Onemocnění se projevuje především akutní infekcí dýchacího systému. Podle údajů WHO (Světová zdravotnická organizace) každý rok viru podlehnou 290 000 až 650 000 lidí.

Existují 4 základní typy chřipkových virů – A, B, C a D. Viry typu A představují největší hrozbu pro lidi, protože mají schopnost způsobovat pandemie. Tyto viry jsou dále děleny do subtypů podle kombinací povrchových proteinů hemaglutininu (HA) a neuraminidasy (NA). Aktuálně existuje 18 různých HA subtypů a 11 NA. Podle zdroje, ze kterého původně virus pochází, můžeme infekci klasifikovat jako např. ptačí [A(H5N1) a A(H9N2)] nebo prasečí [A(H1N1) a A(H3N2)] chřipku. Subtyp A(H1N1) je zodpovědný za pandemii chřipky z roku 2009. Viry typu B se nedělí na subtypy, ale dělí se podle rodokmenu. Momentálně se vyskytující viry patří do rodokmenu B/Yamagata nebo B/Victoria. Viry typu C se vyskytují zřídka a způsobují pouze méně závažné infekce. Viry typu D napadají hlavně dobytek a zatím není znám jejich přenos na člověka.^{8,9}

3.1.1. Životní cyklus viru

Viry se mohou replikovat pouze v živé buňce.¹⁰ Životní cyklus chřipkového viru¹¹ (obrázek 2) začíná rozpoznáním (navázáním na) kyselinu *N*-acetylneuraminovou (kyselina sialová), nacházející se na povrchu buňky, pomocí glykoproteinu hemaglutininu (HA, chřipka A a B) nebo hemaglutinin-esteráza fúzního proteinu (HEF, chřipka C). Navázaný virion je endocytován do buňky. Kyselé prostředí endozomu je důležité pro rozbalení viru, které může proběhnout dvěma způsoby. Zaprvé, kyselé pH způsobí konformační změnu HA, čímž dojde k odhalení fúzního peptidu, který zprostředkuje spojení virové obálky s endozomální membránou. Tím dojde k otevření póru, kterým se uvolní virové RNP (komplex RNA dependentní RNA polymerázy s (-)ssRNA obalenou nukleoproteiny) do cytoplasmu hostitelské buňky. Zadruhé, H⁺ ionty prochází dovnitř virové částice pomocí M2 kanálu (protein nacházející se pouze u virů chřipky A). Acidifikací vnitřního prostředí virionu dojde k porušení protein-proteinových interakcí virové obálky a tím k uvolnění virové RNP do cytoplasmu.¹² Uvolněné virové RNP jsou dopraveny buněčnými mechanismy do jádra.



Obrázek 2: Životní cyklus chřipkového viru s vyznačením míst zásahu některých léčiv (převzato z literatury¹³ a upraveno).

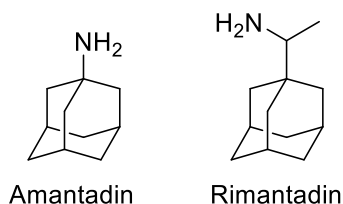
V jádře nejprve dochází k syntéze dvou druhů RNA za pomoci RNA dependentní RNA polymerázy a (-)ssRNA. Jedním druhem je mediátorová RNA (mRNA), která slouží jako templát pro syntézu virových proteinů a tím druhým je komplementární RNA (cRNA), která slouží jako templát pro syntézu nové (-)ssRNA.¹¹

Z virové mRNA probíhá syntéza virových proteinů na ribozomech do endoplasmatického retikula. Vzniklé proteiny jsou transportovány k povrchu buňky přes Golgiho aparát.¹¹

Nasyntetizovaná virová (-)ssRNA vytvoří RNP komplex s nukleoproteiny a RNA dependentní RNA polymerázou. Komplex se spojí s nasyntetizovanými proteiny a nový virus začne pučet z hostitelské buňky. Vznikající virus je obalen hostitelskou membránou s vlastními proteiny NA, HA a M2. Nově vzniklý virion je přichycen k membráně hostitelské buňky interakcí mezi HA a kyselinou *N*-acetylneuraminovou. Virionová částice je pak uvolněna z povrchu buňky sialidázovou aktivitou NA proteinu.¹¹

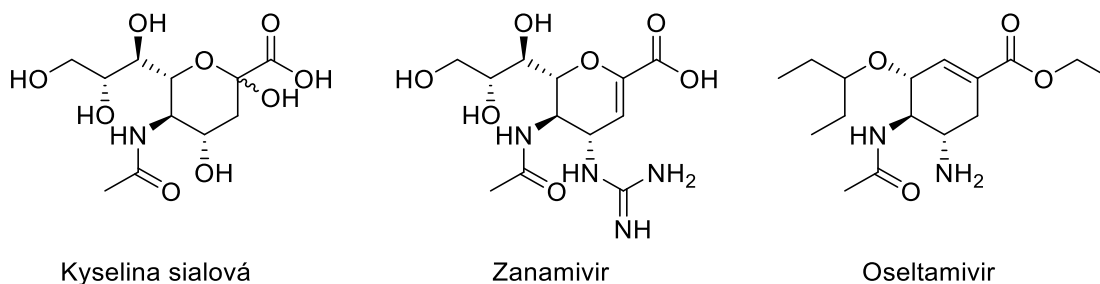
3.1.2. Protichřipková léčiva

Amantadin¹⁴ (obrázek 3) byl objeven v šedesátých letech minulého století jako první lék na chřipku A následovaný jeho derivátem rimantadinem¹⁵ (obrázek 3). Jedná se o inhibitory M2 kanálu, které zabraňují průtoku H⁺ iontů dovnitř virové částice a tím vylití obsahu virionu do cytosolu hostitelské buňky. Od inhibitorů M2 kanálu se v poslední době upouští, protože velké množství virů chřipky A je vůči nim rezistentní a viry chřipky B se těmito látkami vůbec léčit nedají.¹⁶



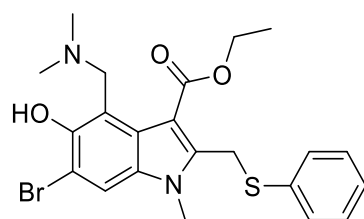
Obrázek 3: Inhibitory M2 kanálu chřipky A.

Inhibitory neuraminidázy tvoří další skupinu protichřipkových léčiv. Tyto látky zabraňují uvolnění nově vzniklého virionu z hostitelské buňky tak, že nasedají do aktivního místa enzymu neuraminidázy. Tento enzym štěpí glykosidickou vazbu mezi kyselinou sialovou (obrázek 4) a galaktosou na kterou je navázána, a tím dojde k uvolnění virionu z membrány hostitelské buňky.¹³ Mezi inhibitory neuraminidázy (obrázek 4) patří například zanamivir¹⁷ a oseltamivir¹⁸, který funguje jako proléčivo, u kterého v organismu dochází k hydrolyze esteru a uvolnění aktivního inhibitoru.



Obrázek 4: Kyselina sialová a inhibitory neuraminidázy.

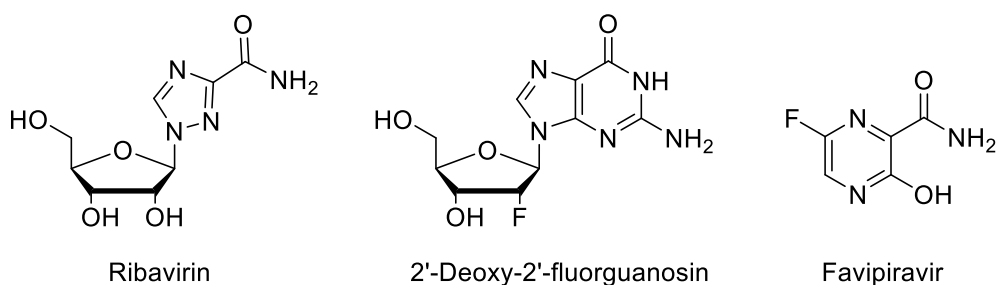
Další možnost inhibice chřipkového viru představují látky, které cílí na hemagglutinin.¹⁹ Jak bylo zmíněno v kapitole 3.1.1., HA je zodpovědný za vstup viru do hostitelské buňky a také za uvolnění obsahu virionu do cytosolu buňky. Umifenovir²⁰ (obrázek 5) patří do skupiny inhibitorů HA a je schválen pro použití v Rusku a Číně pod komerčním názvem Arbidol.



Umifenovir

Obrázek 5: Umifenovir (Arbidol).

Slibný cíl antivirotik představuje virová polymeráza. Existuje již několik látek, které inhibují její funkci. Mezi tyto látky patří například ribavirin²¹ (obrázek 6), který se spíše používá pro léčbu hepatitidy C (HCV)²², a 2'-deoxy-2'-fluorguanosin (FdG)²³ (obrázek 6). Velice slibnou látkou je fluorovaný derivát pyrazinu favipiravir (T-705)¹ (obrázek 6). Favipiravir byl objeven (2000)²⁴ a schválen (2014)²⁵ v Japonsku, ale ve zbytku světa jeho schválení brzdí prokázaný mutagenní efekt na virový genom.² Mimo jiné i proto je v hledáčku mnoha výzkumných týmů včetně našeho.



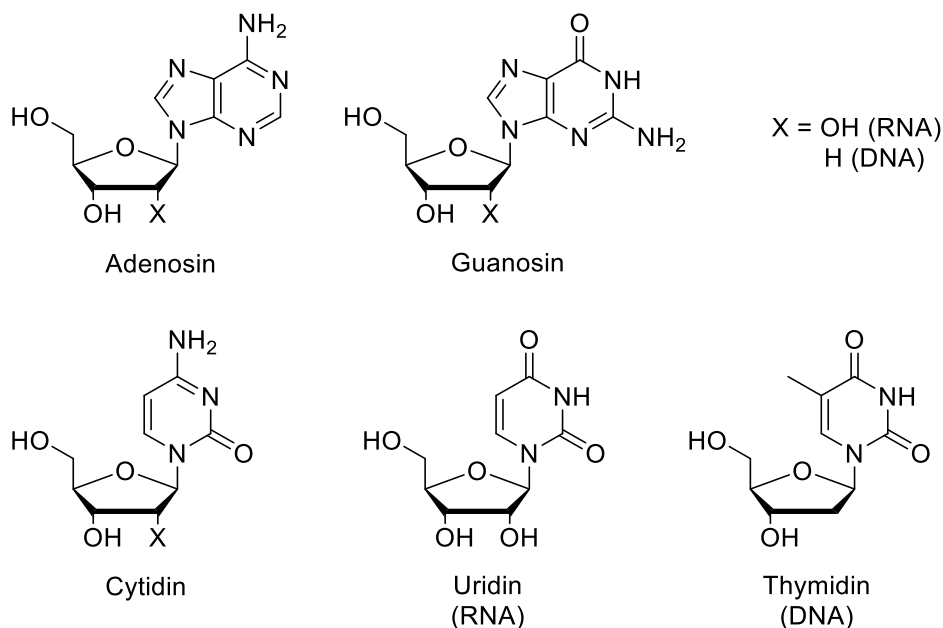
Obrázek 6: Inhibitory virové polymerázy.

3.2. Nukleosidy

Nukleosidy jsou základní stavební jednotkou nukleových kyselin, jejichž význam nespočívá pouze v přenosu genetické informace, ale také se podílí na mnoha regulačních procesech v organismech. Proto byly a jsou jejich modifikace, za účelem získání derivátů pro použití jako cytostatika, antivirotika nebo antibiotika, předmětem racionálního návrhu léčiv.²⁶

Nukleosidy se skládají z nukleobáze a D-ribózy (v případě RNA) nebo 2-deoxy-D-ribózy (v případě DNA), které jsou spojené přes *N*-glykosidickou vazbu. Základními nukleosidy jsou adenosin, guanosin, cytidin, thymidin a uridin (obrázek 7). Nukleosidy, které mají fosfátovou skupinu nebo její náhradu na hydroxyly v poloze 5, se nazývají nukleotidy. Modifikace nukleosidů a nukleotidů může probíhat na kterékoli části struktury. Nejlepší je to provést tak, aby vzniklý nukleosidový nebo nukleotidový analog mimikoval přírodní sloučeninu a mohl tak

být rozpoznán buněčnými nebo virovými enzymy. Změny zanesené do struktury pak mohou vést k znemožnění replikace případně k inhibici jiného biologického procesu.²⁶

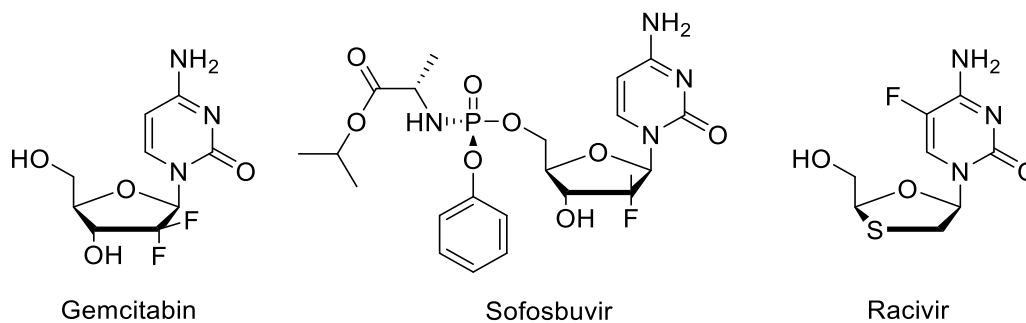


Obrázek 7: Přírodně se vyskytující nukleosidy.

3.2.1. Fluorované nukleosidy

Fluorované nukleosidy vykazují širokou škálu biologické aktivity. Jejich deriváty jsou používány při protinádorové a antivirové terapii a také při PET zobrazování. Zavedením fluorového atomu do molekuly lze zlepšit chemické, fyzikální a biologické vlastnosti molekuly. Atom fluoru zvyšuje lipofilitu molekuly a spolu s jeho malou velikostí, která je podobná atomu vodíku, zlepšuje membránovou permeabilitu, čímž lze zvýšit orální biologickou dostupnost látky. Svoji vysokou elektronegativitou ovlivňuje acidobazické vlastnosti okolních funkčních skupin a tím tedy i pK_A molekuly jako celku. Vysoce polarizovaná vazba C-F často zvyšuje stabilitu molekuly. Fluor je často využíván jako náhrada H nebo OH, kdy dochází k minimálním sterickým změnám, ale k významným změnám při tvorbě vodíkových můstků. Díky tomu může dojít k zablokování oxidativního metabolismu a vzniku nežádoucích metabolitů.^{27–29}

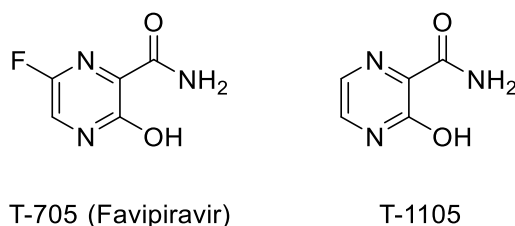
Jedním z léčiv, které mají na cukerné části fluor, je gemcitabin³⁰ (obrázek 8). Byl objeven v roce 1990 a dodnes se používá proti několika druhům nádorových onemocnění.^{31,32} V roce 2009 bylo objeveno proléčivo sofosbuvir³³ (obrázek 8), který se používá při léčbě hepatitidy C (HCV). Racivir³⁴ (obrázek 8) je nukleosidový analog, který je vyvíjen jako inhibitor reversní transkriptázy. Látka je při klinických zkouškách používána ve formě racemické směsi pro léčbu HIV a hepatitidy B.³⁵



Obrázek 8: Fluorovaná léčiva.

3.3. Deriváty pyrazinu T-705 a T-1105

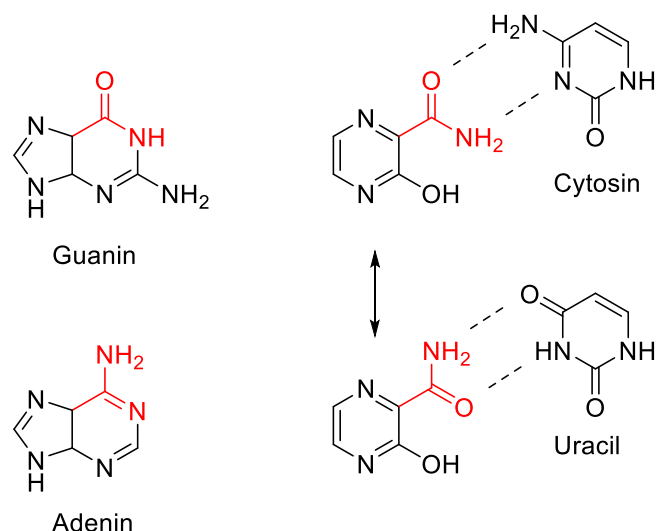
Deriváty pyrazinu T-705 (favipiravir) a T-1105 (obrázek 9) byly vyvinuty firmou Toyama Chemical Co., Ltd. v Japonsku. Favipiravir vykazuje antivirovou aktivitu proti RNA virům, mezi které patří viry chřipky A (H1N1, H2N2 a H3N2), B i C³⁶, Chikungunya virus³⁷, Lassa virus³⁸, Ebola virus³⁹ a další.



Obrázek 9: Chemická struktura látek T-705 (favipiravir) a T-1105.

3.3.1. Ovlivnění replikace RNA

Deriváty T-705 a T-1105 se mohou chovat jako běžné purinové nukleosidy (adenosin a guanosin), protože obsahují rotující karboxamidovou skupinu (obrázek 10).¹ Díky tomu tyto látky vykazují mutagenní efekt^{2-4,40}, protože mohou být inkorporovány virovou polymerázou do nově vznikající RNA místo adenosinu a/nebo guanosinu. Nově vzniklé viry nesoucí mutaci ve své RNA jsou neinfekční a po vysazení těchto látek dochází k jejich rychlému úmrtí. Při použití vyšších koncentrací látek T-705 nebo T-1105 nebyl mutagenní efekt pozorován, protože dochází k okamžitému zastavení replikace virové RNA.



Obrázek 10: Mimikování adeninu a guaninu pomocí rotace karboxamidové skupiny.

3.3.2. Aktivace a stabilita

In vitro bylo prokázáno, že za aktivaci T-705 a T-1105 je zodpovědný enzym hypoxanthin-guanin fosforibosyltransferáza (HGPRT).⁵ Fosforibosylace pyrazinových derivátů enzymem HGPRT probíhá poměrně pomalu. Vzniklý nukleosid monofosfát je následně dvojnásobně fosforylován na nukleosid trifosfát, který již představuje účinnou látku (schéma 1).

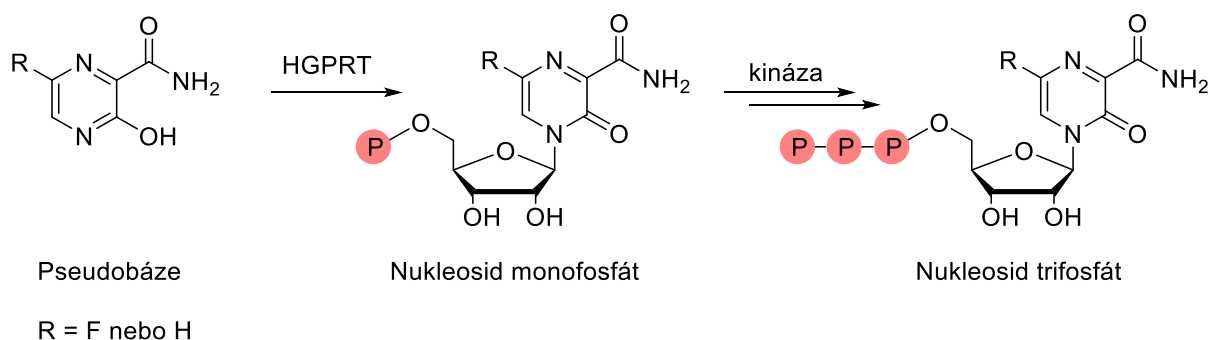


Schéma 1: Aktivace pseudobází T-705 a T-1105.

Nízkou efektivitu fosforibosylace lze obejít použitím derivátu ve formě ribonukleosidu. Chvilí poté, co byla připravena látka T-1105, byl připraven i její ribonukleosid (T-1106).⁴¹ Ovšem v případě T-705 to trvalo o něco déle (ribonukleosid připraven v roce 2017), protože atom fluoru je náchylný k nukleofilní substituci pokud je látka *N*-alkylována. V bazickém prostředí dochází k záměně atomu fluoru za hydroxylovou skupinu, která podléhá přesmyku do laktimové formy (schéma 2), a následně dochází k hydrolyze ve vodném prostředí a k destrukci nukleobáze.⁴²

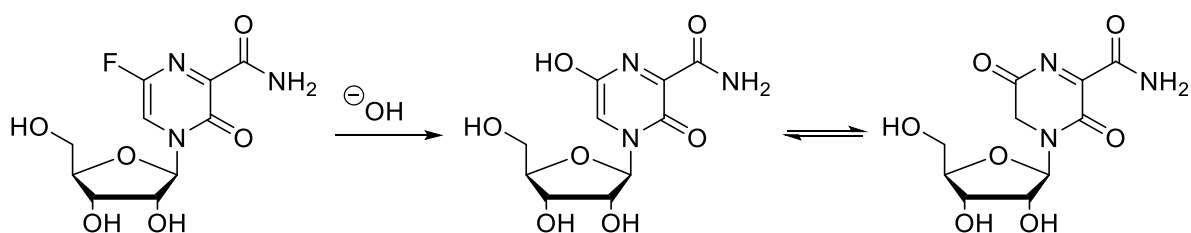
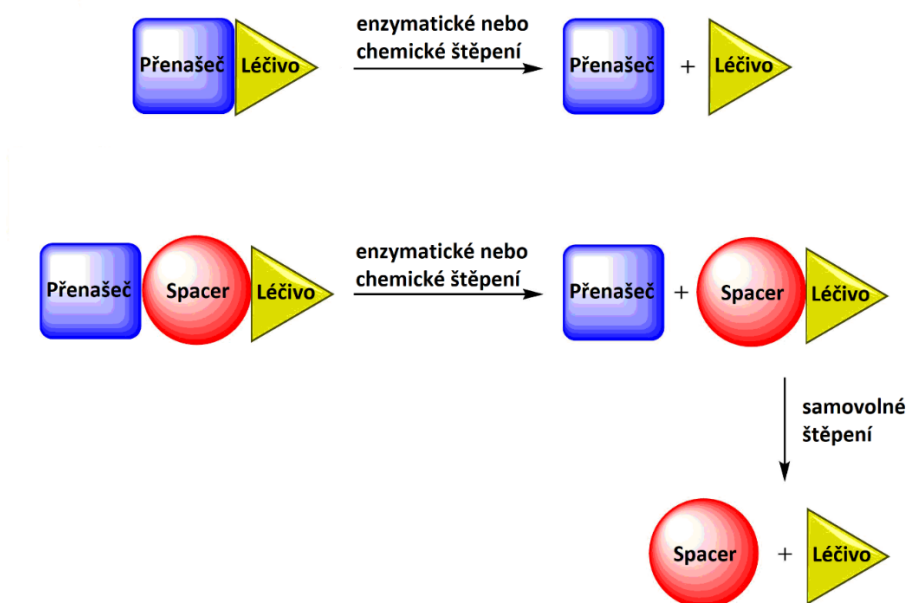


Schéma 2: Rozklad ribonukleosidu látky T-705 v bazickém prostředí.

3.4. Proléčiva

Koncept proléčiva byl poprvé definován Albertem⁴³ (1958) jako látky, která se pomocí chemických nebo enzymatických transformací *in vivo* přemění na aktivní léčivo. Albert navrhl, že přeměna léčiva na proléčivo může být využita k optimalizaci jeho fyzikálně-chemických, farmakologických a toxikologických vlastností. Proléčiva mohou být ve formě molekuly složené z přenašeče (případně i spaceru) a léčiva (obrázek 11), nebo se může jednat o inaktivní formu léku, která musí být aktivovaná např. transformací funkčních skupin *in vivo*.⁴⁴



Obrázek 11: Dvoudílný (nahore) a trojdílný (dole) přístup k designu proléčiv. (vytvoreno podle literatury⁴⁴).

3.4.1. Dvoudílná proléčiva

Dvoudílná proléčiva se skládají z přenašeče a farmakologicky aktivního léčiva (obrázek 11 nahore). Přenašeč zajišťuje, aby se sloučenina dostala do místa určení. Proléčivo je zde rozpoznáno specifickým enzymem, který rozštěpí vazbu přenašeč-léčivo a dojde tak k uvolnění aktivní látky. Neúspěch tohoto designu může spočívat v nízké stabilitě vazby přenašeč-léčivo.

Případně může být enzymu znemožněn přístup k rozštěpení vazby kvůli elektronickým a sterickým vlivům molekuly jako celku.⁴⁴

Schéma 3 zobrazuje *in vivo* štěpení proléčiva γ -glutamylsulfamethazolu, které má účinkovat v ledvinách. Doručení léčiva je založeno na poměrně vysoké aktivitě enzymu γ -glutamyltranspeptidasy v ledvinách.⁴⁵

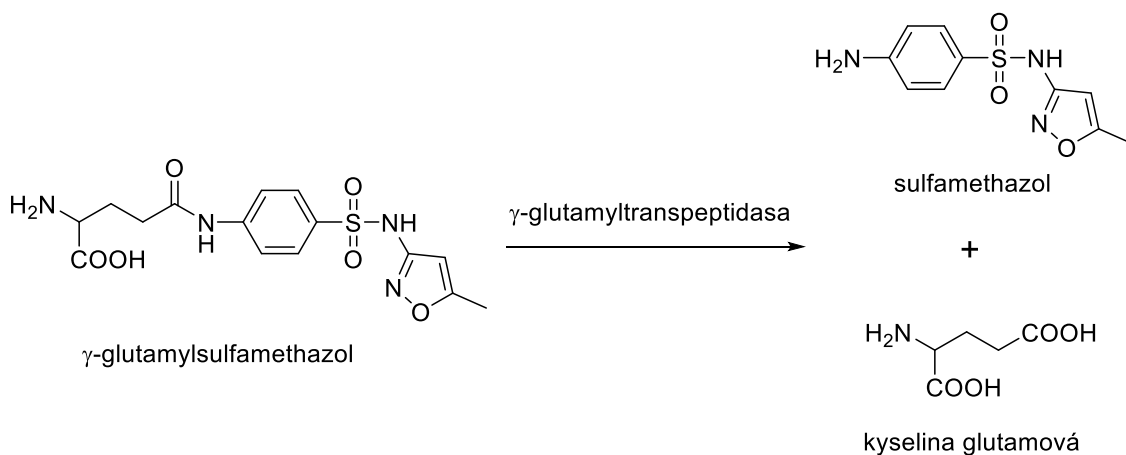


Schéma 3: *In vivo* štěpení proléčiva γ -glutamylsulfamethazolu.⁴⁵

3.4.2. Trojdílná proléčiva

Zmíněné komplikace dvoudílného designu v kapitole 3.4.1. lze obejít přidáním spaceru mezi přenašeč a léčivo (obrázek 11 dole), takže bude probíhat enzymatické štěpení vazby přenašeč-spacer. Jakmile dojde k rozštěpení této vazby, vazba spacer-léčivo podlehne samovolné hydrolyze za fyziologických podmínek a uvolní se aktivní léčivo.⁴⁴

3.4.3. Fosfonáty a fosfáty

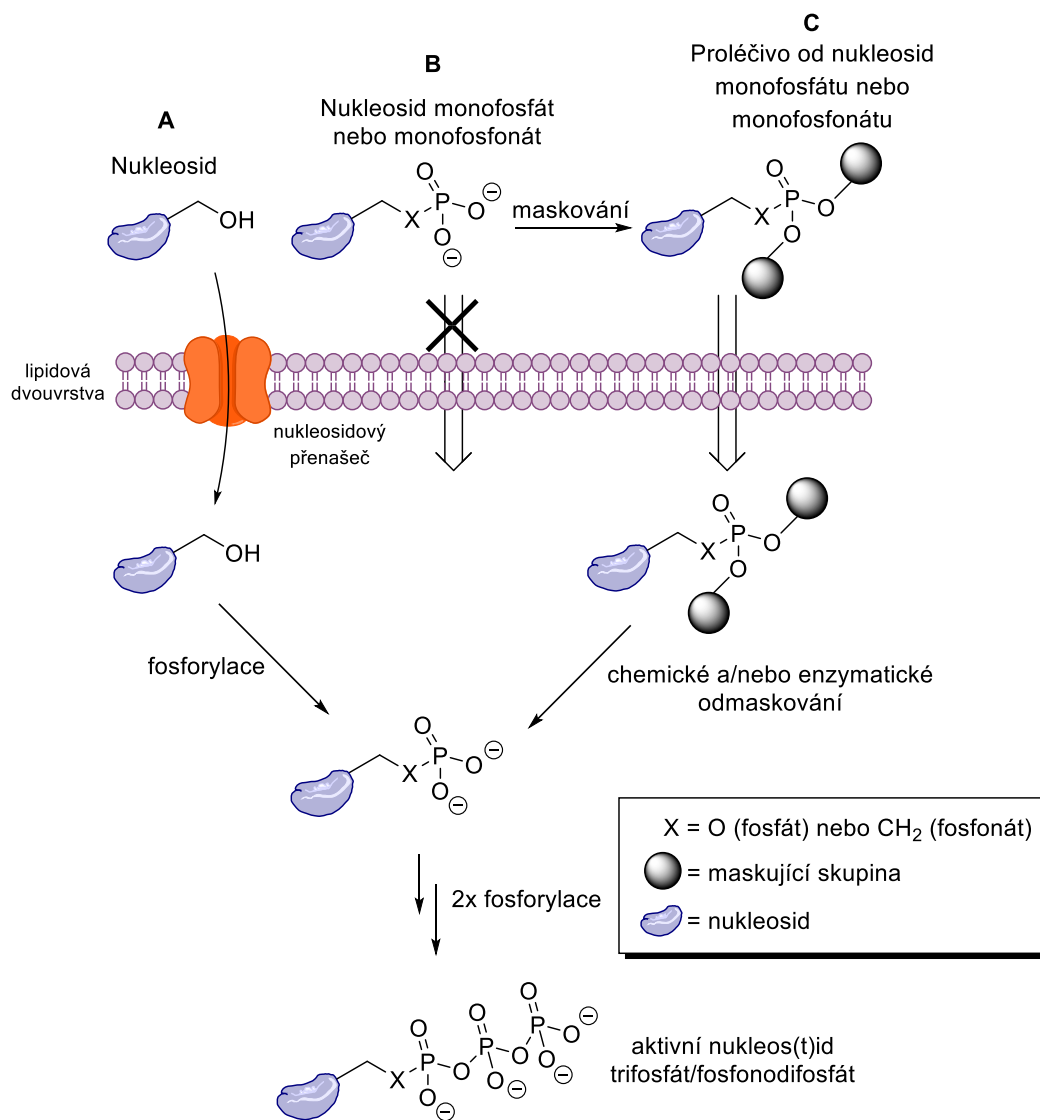
Deriváty léčiv obsahující fosfáty a fosfonáty mají vysoký negativní náboj za fyziologických podmínek. Látka má pak nízkou biologickou dostupnost a špatně proniká do buňky skrz buněčnou membránu, a proto není možné dosáhnout vysoké koncentrace léčiva v místě účinku. Fosfátové deriváty jsou dále omezeny jejich nízkou stabilitou ve mnoha biologických tekutinách kvůli přítomnosti enzymu fosfatasy. Navzdory zmíněným nevýhodám patří nukleosid fosfáty a fosfonáty mezi důležité deriváty v oblastech protinádorové a antivirové terapie.⁶

3.4.3.1. Průnik nukleosidů do buňky

Obrázek 12 zobrazuje vstup nukleosidu do buňky. Volný nukleosid (**A**) může být transportován do buňky přes nukleosidový transportér. Molekula může být dále fosforylována za vzniku nukleotidu.⁴⁶

Molekula nukleosidu, která již obsahuje fosfátovou nebo fosfonátovou skupinu (**B**), nemůže použít nukleosidový transportér ani není schopna volně projít skrz membránu, protože kyslíky na fosfátu/fosfonátu mají záporný náboj při fyziologickém pH. Je tedy vhodné tento záporný náboj maskovat snadno odstranitelnými skupinami za fyziologických podmínek.⁴⁶

Maskovaný nukleosid monofosfát/monofosfonát (**C**) může projít skrz buněčnou membránu. Jakmile se sloučenina dostane do buňky, dojde k chemickému a/nebo enzymatickému odštěpení maskujících skupin. Takto odchráněný nukleosid je následně 2× fosforylován za vzniku nukleotid trifosfátu nebo nukleosid fosfonodifosfátu a již vykazuje farmakologickou aktivitu.⁴⁶



Obrázek 12: Průnik nukleosidů buněčnou membránou a jejich osud v buňce. (vytvořeno podle literatury⁴⁶).

3.4.3.2. Acyloxyalkylestery od fosf(on)átů

Acyloxyalkylestery jsou jedny z nejběžnějších proléčiv od fosfátů a fosfonátů. Enzymatickým štěpením karboxylátového nebo karbonátového esteru dochází ke vzniku oxymethylového intermediátu, který rychle ztrácí formaldehyd za vzniku acyloxyalkylmonoesteru (schéma 4). Hydrolýza monoesteru může proběhnout za stejných podmínek, nebo může být katalyzována fosfodiesterasou.⁶

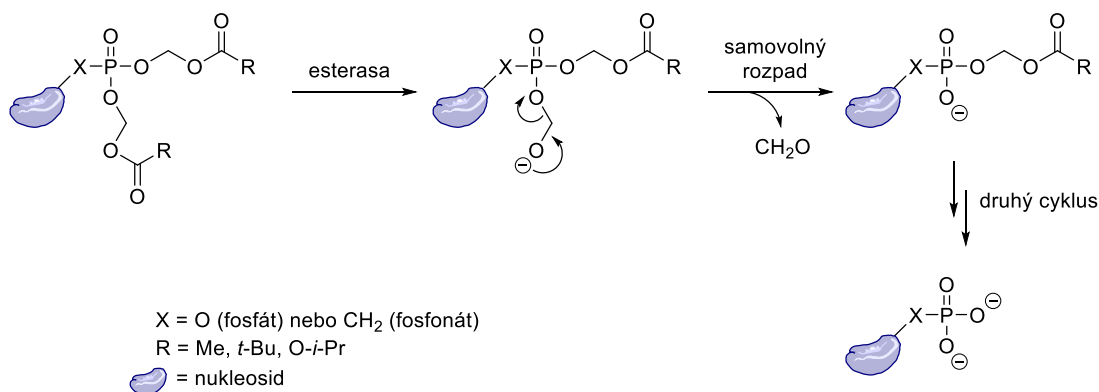
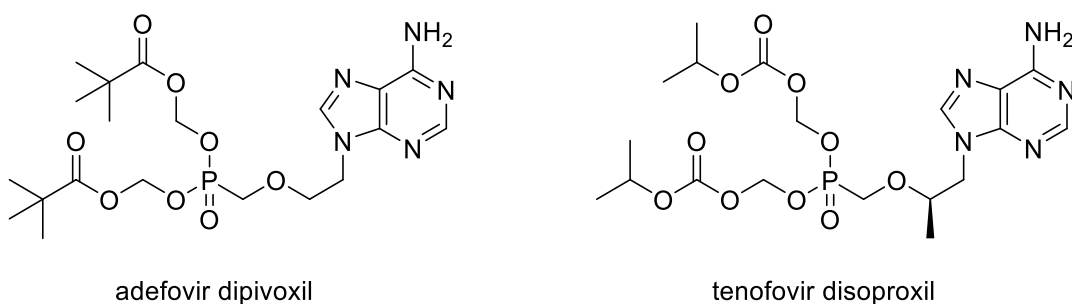


Schéma 4: Aktivace acyloxyalkylesterových prolečiv.⁶

Esterasy, které jsou zodpovědné za transformaci těchto prolečiv spolu s karboxylesterasou, paraoxonasou a cholinesterasou⁴⁷, se nacházejí ve mnoha tkáních v lidském těle ve vysokých koncentracích. Orální biologická dostupnost může být limitována nežádoucím štěpením prolečiva v tenkém střevě kvůli přítomnosti esterasy. Jakmile dojde k absorpci, prolečiva jsou rychle rozštěpena esterasy v krvi a ostatních tkáních za uvolnění aktivního léku.⁶ Obrázek 13 zobrazuje dvě prolečiva používaná v antivirové terapii. Adefovir dipivoxil se používá na hepatitidu B⁴⁸ a tenofovir disoproxil na HIV⁴⁹.



Obrázek 13: Acyloxyalkylesterová prolečiva používaná při antivirové terapii.

3.5. Syntéza

3.5.1. Syntéza fluorovaných cukrů

Pro syntézu 2-deoxy-2-fluor-D-ribosy **1-3** a 3-deoxy-3-fluor-D-ribosy lze použít reakce založené na nukleofilní substituci s inverzí konfigurace (schéma 5). Jedním z nejběžněji používaných činidel je diethyl(trifluorsulfanyl)amin (DAST). DAST nejprve vytvoří s ochráněným alkoholem **1-1** intermediát **1-2**, který okamžitě reaguje s HF uvolněným při vzniku intermediátu **1-2** *in situ*. Reakce se obvykle provádí v bezvodém nepolárním rozpouštědle (DCM) za přítomnosti báze (pyridin) při teplotách od -20 °C do 25 °C.⁵⁰⁻⁵³ Nevýhodou použití tohoto činidla je, že často dochází ke vzniku eliminačních produktů, případně i produktů S_N1 reakce. DAST není příliš stabilní, prudce reaguje s vodou a při zahřívání na vyšší teploty může vybuchovat.⁵⁴ Další možností je použití trifluormethansulfonátu jako dobře odstupující skupiny, která pak může být nukleofilně substituována fluoridovým aniontem z tetra-*N*-butylamonium fluoridu (TBAF). Pro esterifikaci volného hydroxyly se používá anhydrid kyseliny trifluormethansulfonové (Tf₂O) v bezvodém aprotickém rozpouštědle (DCM) za přítomnosti báze (pyridin, 2,6-lutidin). Vlastní nukleofilní substituce se provádí v polárním aprotickém rozpouštědle (THF).^{55,56}

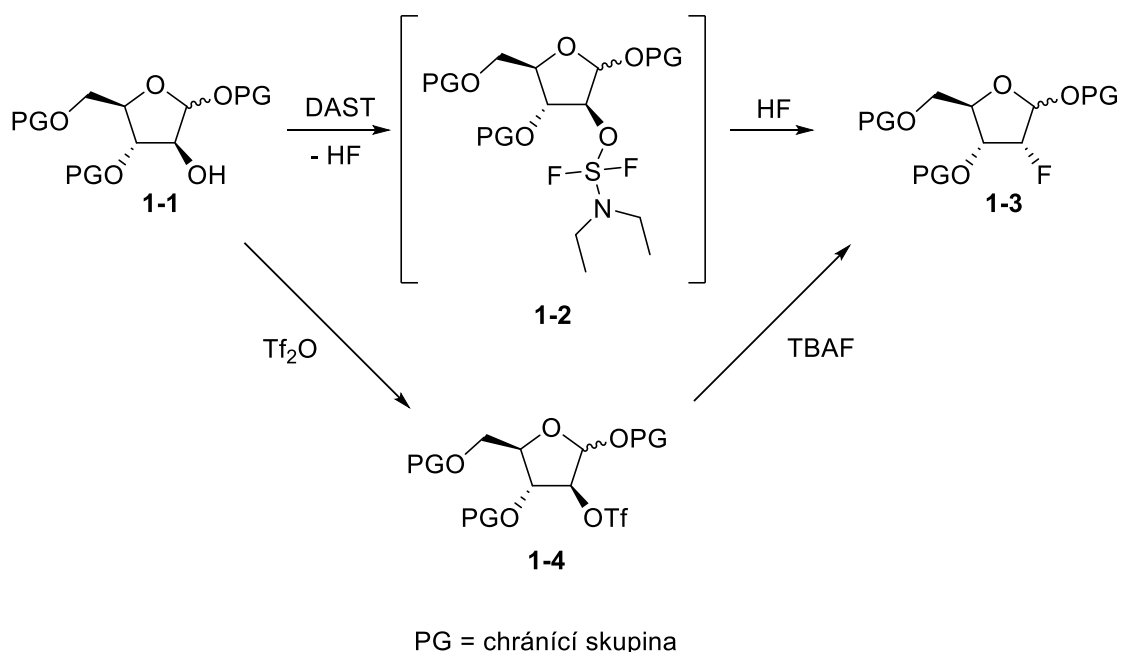


Schéma 5: Způsob přípravy deoxyfluorovaných sacharidů.

3.5.2. Syntéza fosfonátů

Fosfonát **2-3** lze připravit reakcí mezi vhodně ochráněným sacharidem **2-2**, který vystupuje jako nukleofil, a dialkylmethylfosfonátem s dobře odstupující skupinou **2-1** (schéma 6). Reakce se obvykle provádí v přítomnosti silné báze (NaH) a v aprotických rozpouštědlech (THF, Et₂O) při teplotách kolem 0 °C.^{57,58}

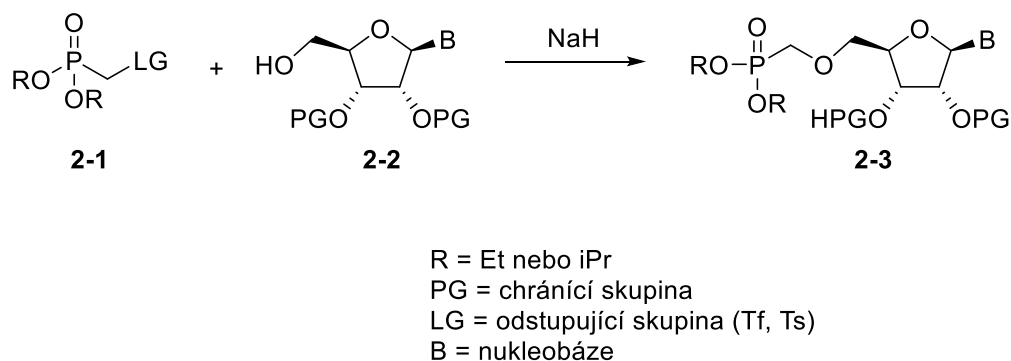


Schéma 6: Způsob přípravy fosfonátů.

Chránící skupiny z fosfonátu je možné odstranit transsilylací s následnou hydrolyzou⁵⁷ nebo přímou hydrolyzou v mikrovlnném reaktoru vodným roztokem kyseliny chlorovodíkové.⁵⁹ U starší metody transsilylace se používají trimethylsilylhalogenidy, které jsou toxické a citlivé na vlhkost.

3.5.3. Syntéza *N*-nukleosidů – silyl-Hilbert-Johnsonova metoda

Nejrozšířenějším způsobem přípravy pyrimidinových, purinových a jiných heterocyklických *N*-nukleosidů je silyl-Hilbert-Johnsonova metoda (schéma 7).^{42,60–63} Pro syntézu nukleosidů se používají cukry s vhodnými chránícími skupinami, které mohou participovat při reakci. Tímto způsobem se dá zvýšit selektivita pro β anomer vůči α anomeru. Jako participující skupiny se běžně používají acetyly (Ac) nebo benzoyly (Bz). Nejčastějším donorem cukerné části je 1-*O*-acetyl sacharid (např. **3-2**), který reaguje s per-silylovanou heterocyklickou bází (např. **3-1**). Reakce vyžaduje stechiometrické množství silné Lewisovské kyseliny (např. SnCl₄, TMSOTf nebo BF₃·OEt₂) pro zajištění vysokého výtěžku *N*-glykosylace.

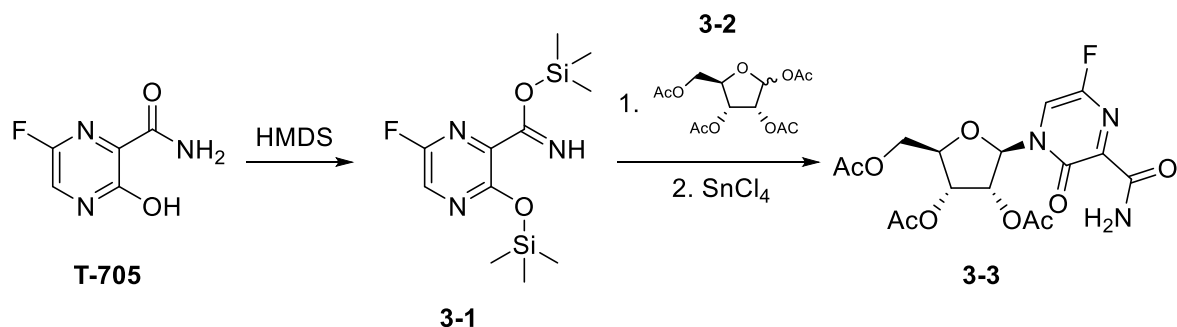


Schéma 7: Příprava T-705 nukleosidu silyl-Hilbert-Johnsonovou metodou.

Schéma 8 zobrazuje možné cesty Hilbert-Johnsonovy reakce. V případě **cesty A**, kdy se nechá pentaacetylovaná ribosa (**3-4**) reagovat s SnCl_4 , vzniká intramolekulární cyklizací oxoniový ion (**3-5**). Ten může být nukleofilně atakován silylovanou bází (**3-6**). Přidáním vody dojde k odstranění silylových skupin za vzniku produktu (**3-8**). Během **cesty B** se nejprve vytvoří peracetylribofuranosyl chlorid (**3-7**), který následně poskytne cyklický kation (**3-5**). Ten může být opět nukleofilně atakován silylovanou bází (**3-6**) za vzniku produktu (**3-8**).⁶⁴

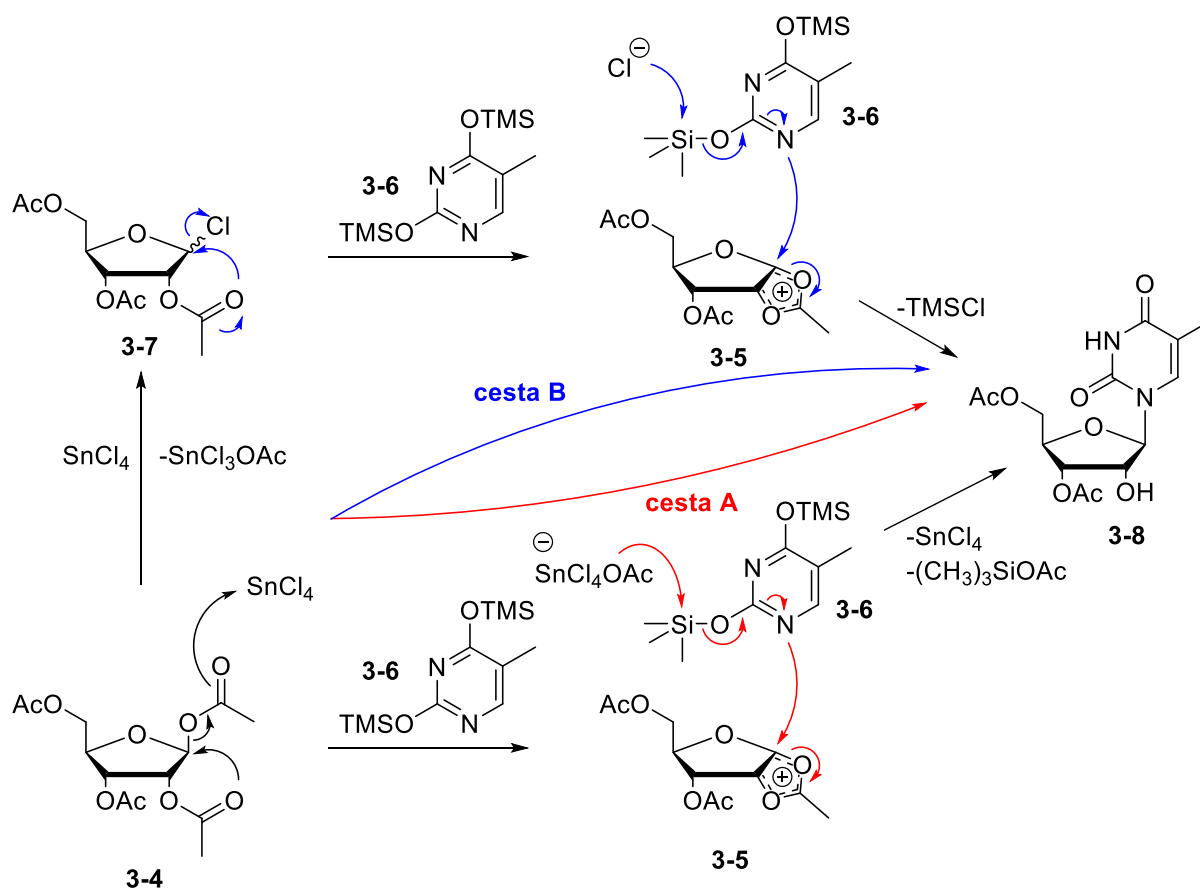


Schéma 8: Mechanismus silyl-Hilbert-Johnsonovy reakce.⁶⁴

3.5.4. Syntéza POM proléčiv

Poměrně rozšířenou metodou přípravy bis-POM derivátů je reakce ochráněného fosf(on)átu s POM-Cl (schéma 9). Reakce se provádí v polárních aprotických rozpouštědlech (DMF, NMP) v přítomnosti báze (Et₃N, DIPEA). Směs musí být často zahřívána, nebo se musí počítat s dlouhými reakčními časy. Bis-POM produkty bývají izolovány za využití standardních chromatografických metod buď na klasickém silikagelu nebo za použití reverzního.⁶⁵⁻⁶⁷

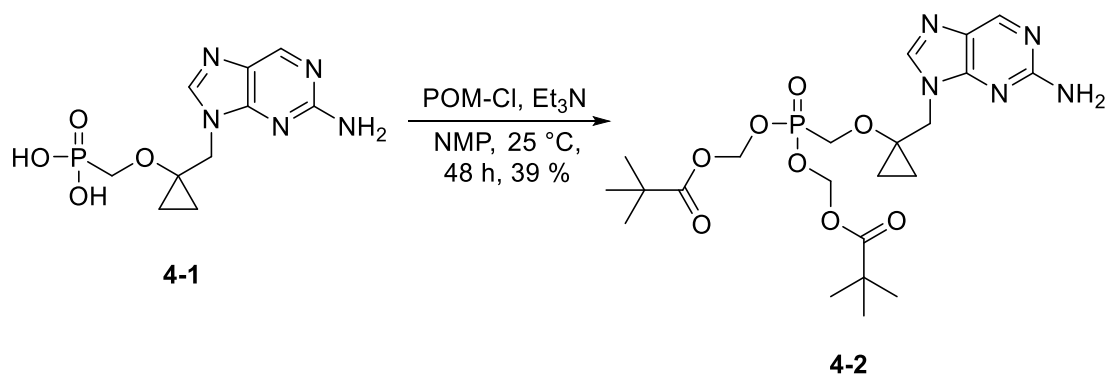


Schéma 9: Příprava bis-POM proléčiv.⁶⁶

Kang a kol.⁶⁸ aktivovali fosfát 4-3 převedením na tributylcínovou sůl 4-4 za použití methoxy dibutylcínu (schéma 10). Následný kapling s POM-I v přítomnosti TBABr poskytl bis-POM derivát 4-5 ve slušném výtěžku 75 %. Omezení této metody spočívá především v použití cínových sloučenin, které jsou toxické a zbytky jejich solí ve finálním produktu pak mohou zkreslovat výsledky při biologickém testování.

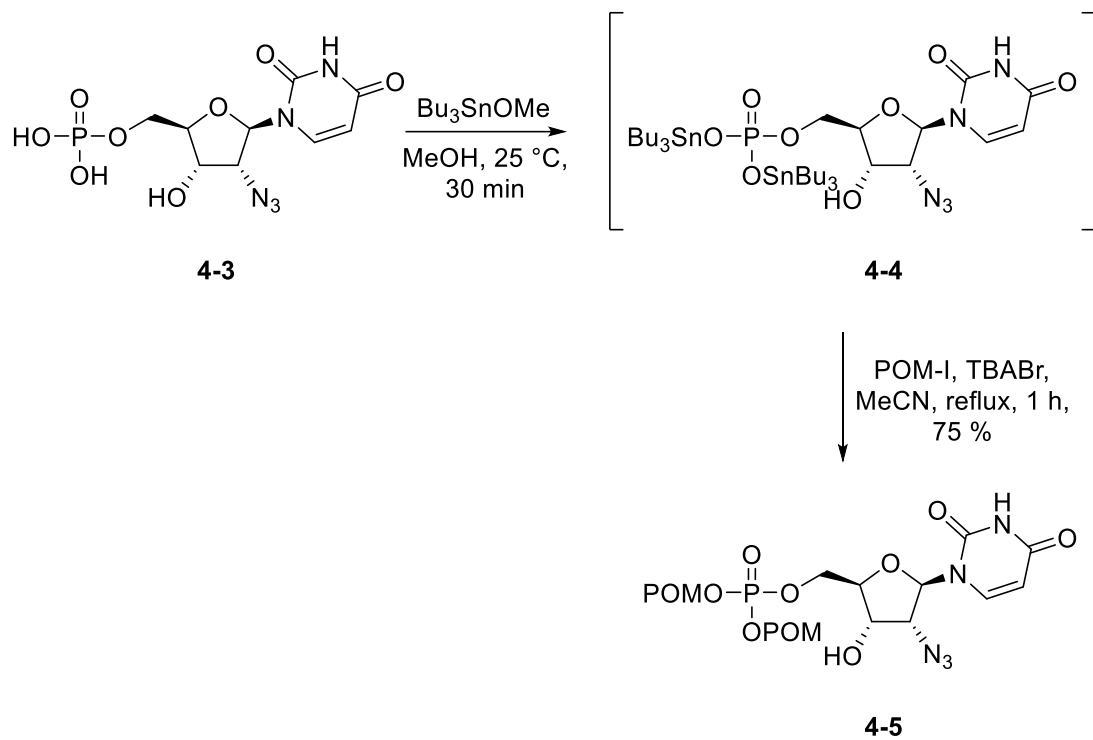


Schéma 10: Příprava bis-POM proléčiva aktivací fosfátu přes sloučeninu cínu.⁶⁸

4. Výsledky a diskuse

4.1. Koncept syntézy

Cílem této diplomové práce byla syntéza pro léčiv od deoxy-fluorovaných nukleosidů bázi T-705 a T-1105. Původně mely být připraveny deriváty 2-deoxy-2-fluor-D-ribosy (2-FdR, schéma 11) a 3-deoxy-3-fluor-D-ribosy (3-FdR), ale v případě 3-fluor derivátu došlo ke komplikacím, které se nepodařilo vyřešit, a tak byly místo toho syntetizovány deriváty 5-deoxy-5-fluor-D-xylosy (5-FdX). Koncept syntézy 5-FdX je podobný 3-FdR, pouze se fluor nachází v molekule v poloze 5 a fosfonát v poloze 3. Nukleosidy byly syntetizovány pomocí silyl-Hilbert-Johnsonovy metody.

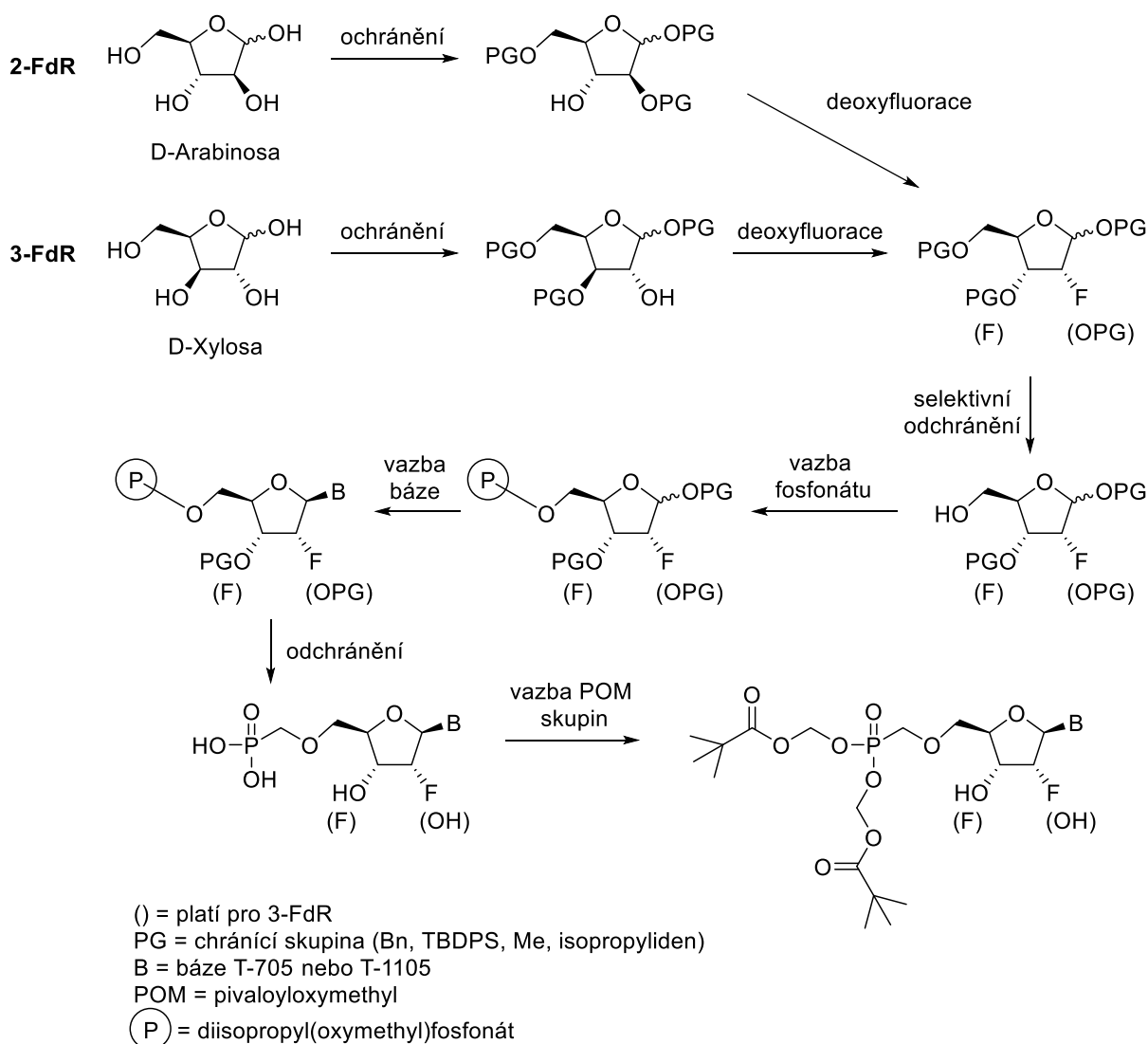


Schéma 11: Koncept syntézy 2-FdR (a 3-FdR).

4.2. Syntéza triflátu od fosfonátu

Výchozí látkou pro syntézu diisopropyl(hydroxymethyl)fosfonátu **1** byl diisopropylfosfonát, který byl připraven kolegyní⁶⁹ (Mgr. Ema Chaloupecká) v rámci její diplomové práce. Látka **1** tedy byla připravena reakcí⁷⁰ diisopropylfosfonátu s paraformaldehydem (schéma 12). Produkt byl čištěn pouze extrakcí, protože případná přítomnost nedoreagované výchozí látky nevadila při následné triflaci.

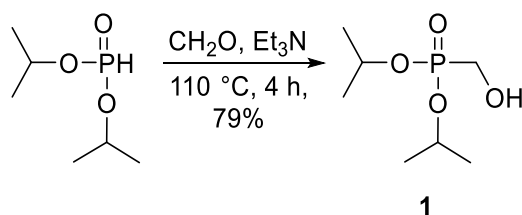


Schéma 12: P-alkylace fosfonátu paraformaldehydem.

Příprava látky **3** byla nejdříve vyzkoušena podle literatury⁵⁷ s $n\text{-BuLi}$ a chloridem kyseliny trifluormethansulfonové (reakce I, schéma 13). Autoři dostali jako hlavní produkt látku **3** a jejich produkt neobsahoval ani stopy látky **2**. V mém případě to bylo přesně naopak. Reakce poskytla jako hlavní produkt dimer **2** spolu se stopami látky **3**. Látky **2** a **3** byly určeny pomocí MS. Problém bude pravděpodobně v publikovaném postupu práce, kdy se k velkému nadbytku organolithné sloučeniny přidává Tf_2O . Vzniklý fosfonotriflát rovnou reaguje s přítomnou organolithnou sloučeninou za vzniku dimeru **2**. Triflace tedy byla provedena za použití anhydridu kyseliny trifluormethansulfonové a báze 2,6-lutidinu (reakce II, schéma 13).⁷¹ Reakce byla hotová za 2 hodiny a nedocházelo ke vzniku dimeru **2**, ale pouze požadovaného fosfonotriflátu **3**.

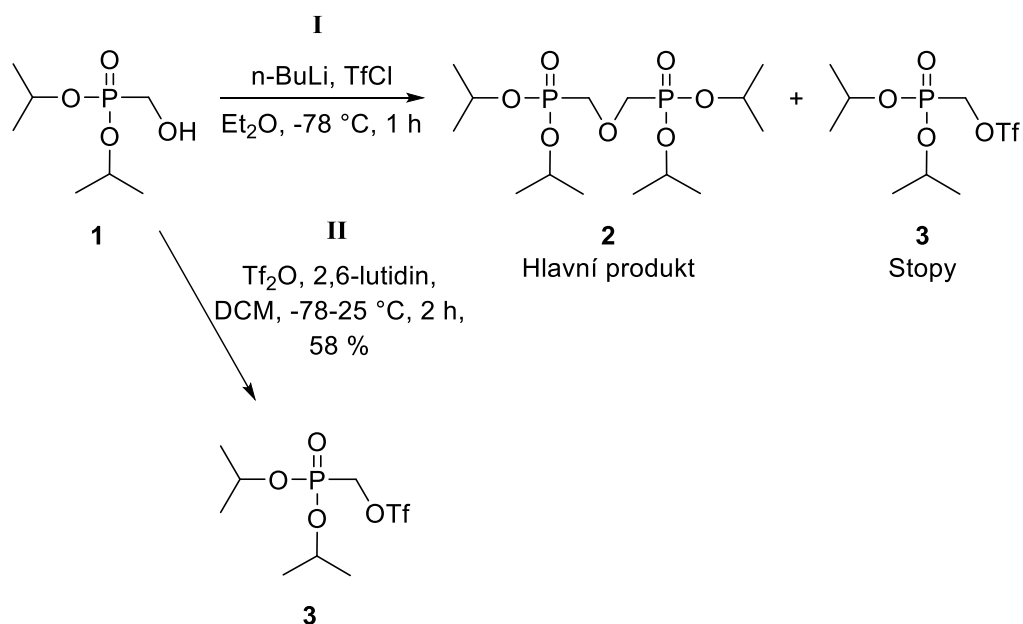


Schéma 13: Triflace volného hydroxyly fosfonátu.

4.3. Syntéza derivátů 2-deoxy-2-fluor-D-ribosy (2-FdR)

Pro syntézu derivátu 2-deoxy-2-fluor-D-ribosy byla jako výchozí látka použita D-arabiosa. Prvním krokem syntézy bylo selektivní ochránění primárního hydroxyly (látka 4). Jako chránící skupina byl použit objemný *tert*-butyldifenylsilyl (TBDPS). Silylová skupina byla zavedena do molekuly reakcí D-arabiosy s *tert*-butyldifenylsilyl chloridem (TBDPSCl) v přítomnosti imidazolu (schéma 14) za vzniku látky 4.⁷²

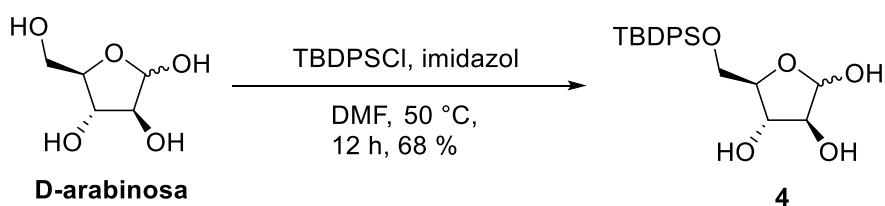


Schéma 14: Chránění hydroxyly v poloze 5 objemnou silylovou skupinou (TBDPS).

Dalším krokem syntézy bylo ochránění hydroxyly v poloze 1 a 2 (schéma 15). Zde byla využita isopropylidenová chránící skupina. Ta byla do molekuly zavedena reakcí látky 4 s 2,2-dimethoxypropanem, která byla katalyzována kafsulfonovou kyselinou, za vzniku látky 5.⁷³

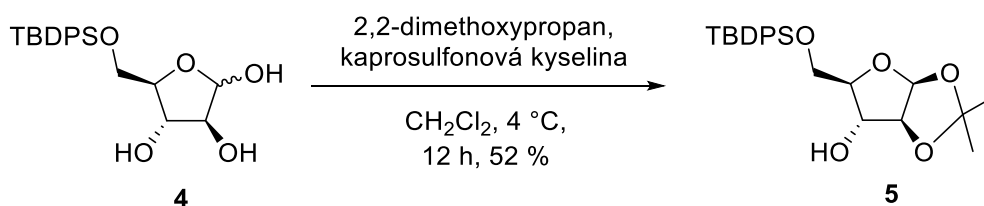


Schéma 15: Chránění hydroxylů v poloze 1 a 2 isopropylidenovou skupinou.

Látka **6** byla připravena reakcí, při které byla nahrazena silylová chránící skupina (TBDPS) z látky **5** benzylovou (Bn) spolu s ochráněním hydroxylu v poloze 3 (schéma 16). Reakce byla provedena s čerstvě nadrceným KOH za varu v THF.⁵⁵

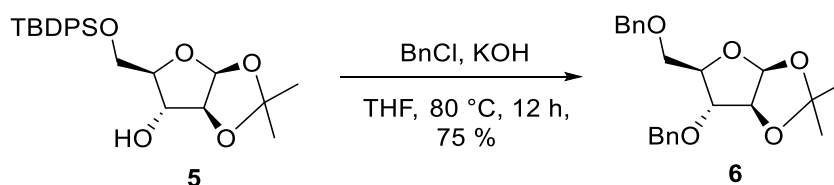


Schéma 16: Odstranění silylové chránící skupiny (TBDPS) a ochránění volných hydroxylů benzyly (Bn).

V následující reakci byla látka **6** rozpuštěna v methanolu a za katalýzy kaptosulfonovou kyselinou došlo k ochráněním hydroxylu v poloze 2 a vzniku methyl-arabinofuranosidu **7** (schéma 17).⁵⁵

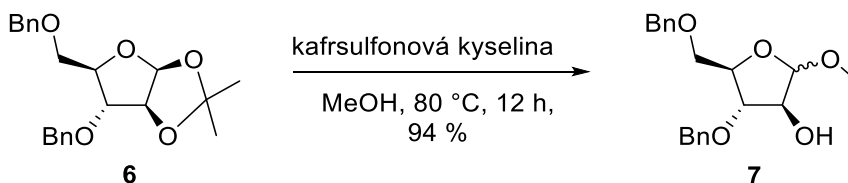


Schéma 17: Odstranění isopropylidenové skupiny a tvorba methyl-arabinofuranosidu.

Pro deoxyfluoraci látky **7** byla nejdříve přeměněna volná hydroxylová skupina na dobře odstupující skupinu pomocí anhydridu kyseliny trifluormethansulfonové. Vzniklá dobře odstupující skupina (TfO) byla nahrazena fluorem z tetrabutylamonium fluoridu (TBAF).⁵⁵ Reakce (schéma 18) poskytla pouze β -anomer v poměrně nízkém výtěžku 33 %. TBAF bylo používáno jako 1M roztoku trihydrátu v THF. Reakce byla vyzkoušena s vysušeným roztokem TBAF (pomocí molekulových sít) a i s „mokrým“ činidlem. Vliv vody na výtěžek nebyl pozorován.

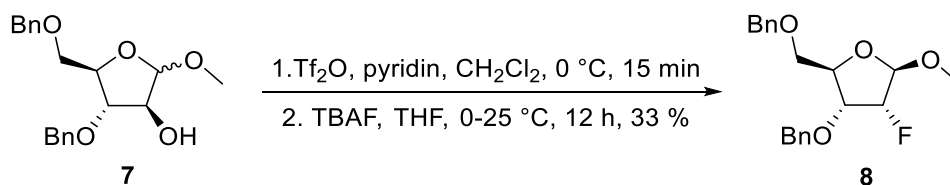


Schéma 18: Deoxyfluorace methyl-arabinofuranosidu.

V dalším kroku bylo potřeba selektivně ochránit hydroxyl v poloze 5 u látky **8**. Pro reakci byly vyzkoušeny různé podmínky (schéma 19). Reakce II⁷⁴ a III⁷⁵ sice vedly k monobenzylované látce **9b**, ale bohužel se jednalo o nesprávný regioisomer. Nežádoucí produkt reakce II byl analyzován pouze pomocí TLC, podle kterého proběhla s plnou konverzí, a nežádoucí produkt **9b** tedy nebyl izolován. V případě reakce IV⁷⁶ došlo k odstranění obou benzylových skupin (látka **9c**), což bylo stanoveno pomocí MS a látka tedy nebyla izolována. V této reakci docházelo k zahřátí reakční směsi během přidávání činidel, což pravděpodobně vedlo k dvojnásobnému ochránění. Nakonec bylo dosaženo selektivního ochránění polohy 5 za použití katalytické hydrogenace H₂ na Pd/C (reakce I, schéma 19) ve směsi EtOH/EtOAc 2/1 za vzniku látky **9a**.⁷⁶ Reakční směs byla probublávána vodíkem. Reakci bylo nutné průběžně sledovat na TLC, aby nedošlo k odstranění benzyly v poloze 3.

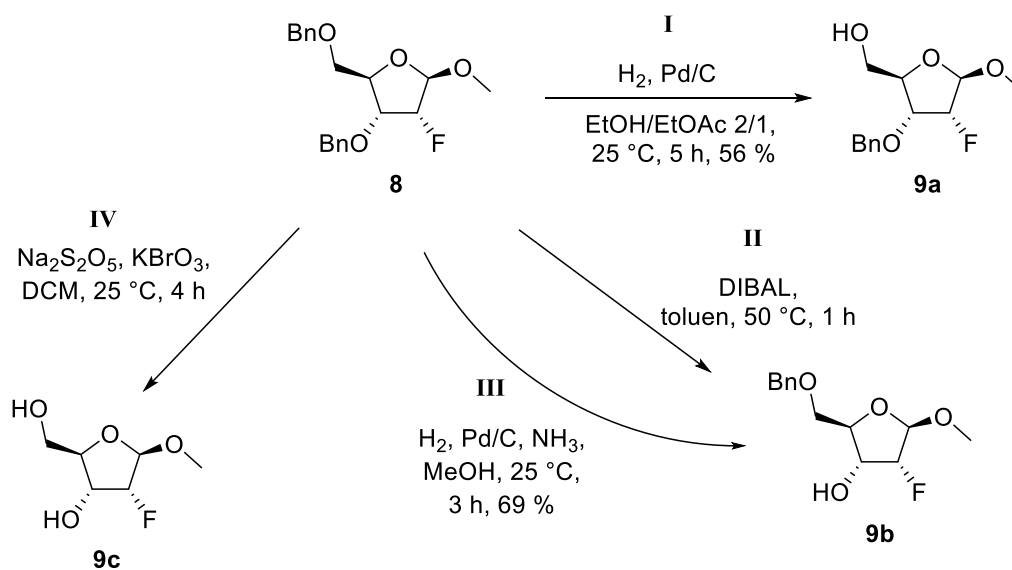


Schéma 19: Selektivní ochránění hydroxyly v poloze 5.

Látka **10** byla připravena reakcí látky **9a** a dříve připraveného fosfonátu **3** (schéma 20) na základě literatury.⁵⁷ Jedná se o novou látku. Reakce byla nejdříve prováděna v MeCN, kde byl výtěžek 55 %. Změnou rozpouštědla na THF se podařilo zvýšit výtěžek na 74 %. V reakci se používá nadbytek látky **3**, jejíž část se dá získat zpět po přečištění sloupcovou chromatografií.

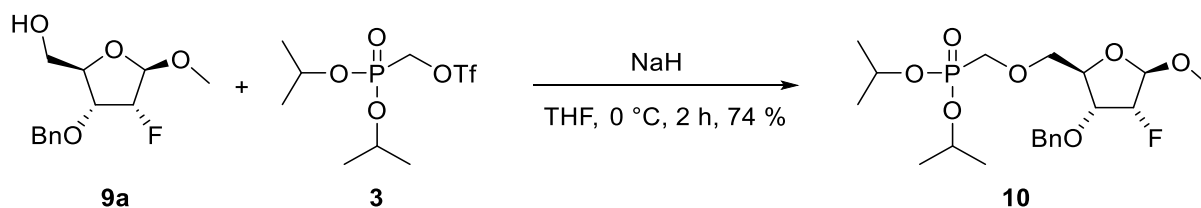


Schéma 20: Vázání fosfonátu na volný hydroxyl 2-deoxy-2-fluor-ribosidu.

V následujícím kroku (schéma 21) byla látka **10** přeměněna na acetyl-ribosid **11**. Reakce probíhala ve 2 krocích.^{55,77} Nejprve byla odstraněna methylová skupina pomocí 80% kyseliny octové při 100 °C. Kyselina byla následně odpařena z reakční směsi a odparek byl rovnou použit v další reakci bez přečištění. Vlastní acetylace probíhala v pyridinu s acetanhydridem za katalýzy *N,N*-dimethylaminopyridinem (DMAP). Reakce poskytla pouze β anomer ve výtěžku 78 %. Připravená látka **11** byla dále vázána na nukleobáze T-705 a T-1105.

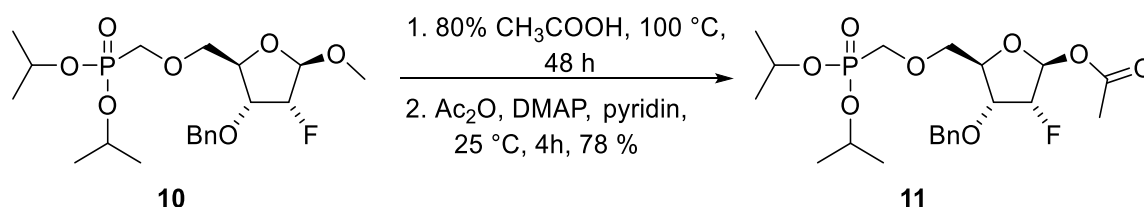


Schéma 21: Transformace methyl-ribosidu na acetyl-ribosid.

Fluorované deoxyribonukleosidy **12** a **13** byly připraveny silyl-Hilbert-Johnsonovou reakcí (schéma 22). Nejprve byla samotná báze T-705/T-1105 suspendována v hexamethyldisilazanu (HMDS) a zahřáta na 140 °C po dobu 1 hodiny, během čehož došlo k rozpuštění báze a tím jejímu silylování. Následně byl HMDS vakuově oddestilován při 30 °C. Bylo nutné baňku nezahřívát, protože jinak docházelo k sublimaci silylované báze a tím ke ztrátám. V dalším kroku byla látka **11** rozpuštěna v suchém dichlorethanu (DCE), přidána k destilačnímu zbytku a následována postupným přidávkem Lewisovy kyseliny SnCl_4 . Reakční směs bylo po naředění DCM a vytřepání s nasyc. NaHCO_3 nutné přefiltrovat přes křemelinu, protože vzniklou emulzi se nepodařilo rozdělit na jednotlivé fáze. Aby se minimalizovaly ztráty produktu, bylo nutné křemelinu několikrát rozmíchat v DCM a přefiltrovat. Látku **12** bylo nutné přečistit na 2 kolonách, kdy byla nejprve izolována směs α/β nukleosidů v DCM/MeOH 20/1, které byly následně rozděleny na koloně v EtOAc/aceton 2/1. Celkový výtěžek reakce dosáhl slušných 70 %. V případě látky **13** se nepodařilo rozdělit α/β anomery. Celkový výtěžek reakce byl pouze 48 % a poměr anomerů α/β byl 29/71 podle NMR.

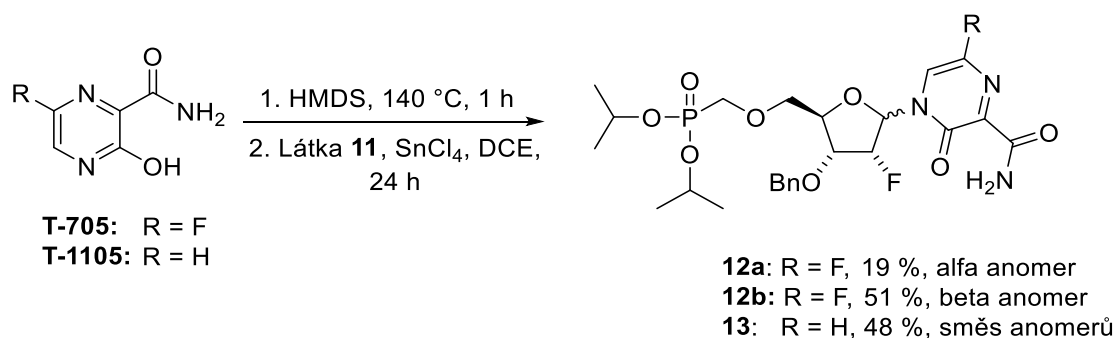


Schéma 22: Syntéza 2-deoxyfluorovaného ribonukleosidu s bázemi T-705 a T-1105.

V následující reakci měly být odstraněny chránicí skupiny z fosfonátu a ideálně i benzylyl v poloze 3'. Nejprve byla vyzkoušena reakce v mikrovlnném reaktoru za teplot od 80 do 130 °C.⁵⁹ Při teplotách nad 100 °C stačilo k plné konverzi 20 minut, ale při 80 °C musela reakce běžet 2 hodiny. Bohužel docházelo k destrukci látky a vzniku nerozpustné sraženiny. Od reakce v mikrovlnném reaktoru tedy bylo upuštěno a následně bylo vyzkoušeno odchránění za použití TMSBr v suchém DCM při 50 °C.⁵⁷ Analýzou směsi na MS bylo zjištěno, že sice k odstranění isopropylů dochází, ale zároveň dochází k vazbě Br do molekuly pravděpodobně místo benzylylu.⁷⁸ Jako poslední možnost byla vyzkoušena reakce s katalytickým množstvím TfOH v suchém toluenu při 50 °C.⁷⁹ Podle MS zde opět došlo k odchránění isopropylů, ale také byla benzylová skupina nahrazena triflátem.

Látka **13** tedy nejprve byla hydrogenována ve směsi s 10% Pd/C v EtOH. Podle MS zde docházelo přednostně k redukci násobných vazeb v dihydropyrazinovém jádře (1× redukována m/z 566 a 2× redukována m/z 568) před odstraněním benzylylu.

4.4. Syntéza derivátů 3-deoxy-3-fluor-D-ribosy (3-FdR)

Jako výchozí látka pro syntézu derivátů 3-deoxy-3-fluor-D-ribosy byla použita D-xylosa. Prvním krokem bylo ochránění hydroxylů v poloze 1 a 2 (schéma 23) za vzniku látky **14**. Zde bylo nutné dodržet reakční dobu pouze na 30 minutách, protože při delším reakčním času docházelo k dalšímu zavedení isopropylidenu do polohy 3 a 5.⁸⁰

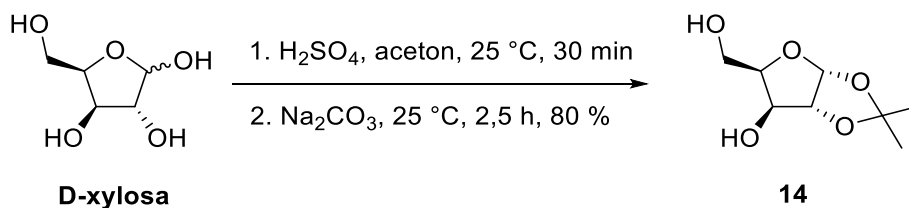


Schéma 23: Zavedení isopropylidénové skupiny do molekuly xylosy.

Dalším krokem bylo selektivní ochránění hydroxyly v poloze 5 benzylovou (Bn) skupinou (schéma 24). Nejprve byla vyzkoušena reakce látky **14** s NaH a BnBr (reakce I, schéma 24).⁸¹ Při této reakci docházelo k zavedení benzyly přednostně do polohy 3 (látka **15b**) a vznikala tak směs látek **15a** a **15b** v poměru 1:10.

Dále byla vyzkoušena reakce s oxidem stříbrným (reakce II, schéma 24).⁸² Zde bylo dosaženo lepšího poměru regioisomerů (3:1) než v předešlé reakci.

Nejllepšího výsledku bylo dosaženo při použití dibutylcínoxidu s toluenem a s Dean-Starkovým nástavcem pro azeotropické oddestilování vody (reakce III, schéma 24).⁸³ Po této reakci bylo rozpouštědlo oddestilováno z reakční směsi a další krok probíhal již bez rozpouštědla. Zde se podařilo selektivně připravit látku **15a**, kdy reakční směs obsahovala pouze stopy nežádoucího regioisomeru **15b**.

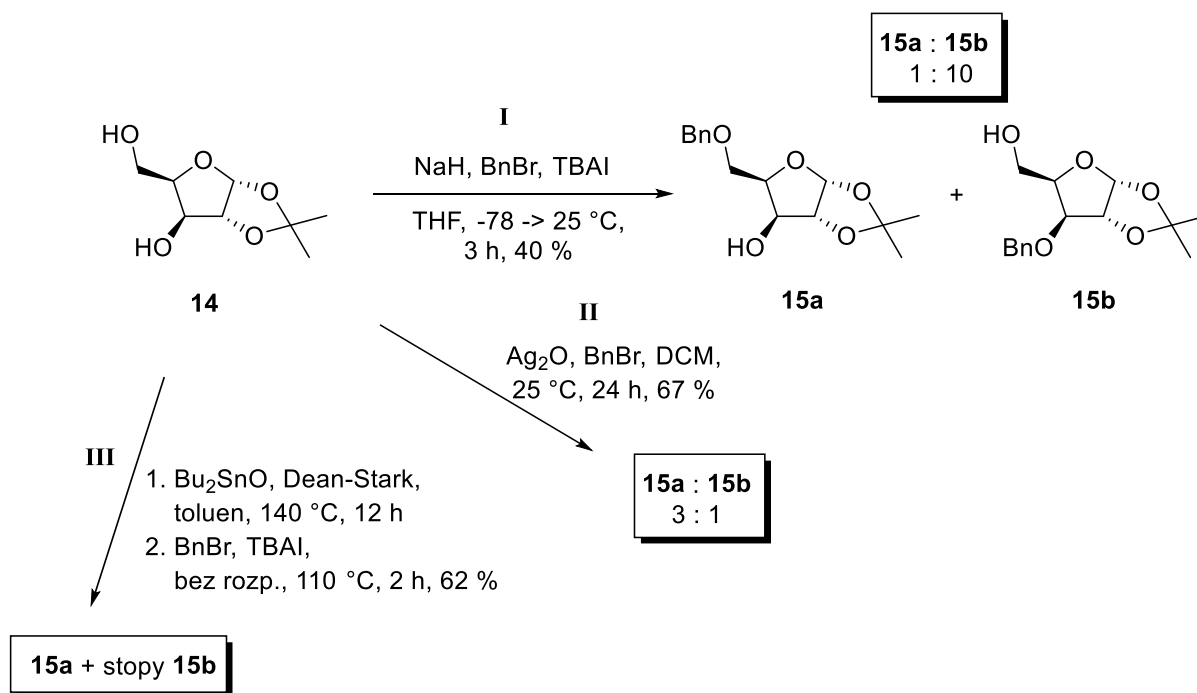


Schéma 24: Selektivní benzylace hydroxyly v poloze 5.

Deoxyfluorace látky **15a** (schéma 25) se ukázala jako poměrně problematický krok. Pro reakci byly vyzkoušeny různé reakční podmínky (tabulka 1), ale nikdy se nepodařilo připravit požadovanou látku **17**. Ve všech případech (experimenty I⁸¹, II⁵⁵, III, IV a V⁵¹; tabulka 1) docházelo ke vzniku látky **16**. Látka **15a** ochotně podléhala eliminaci pravděpodobně kvůli *trans* orientaci hydroxyly v poloze 3 a vodíku v poloze 4.

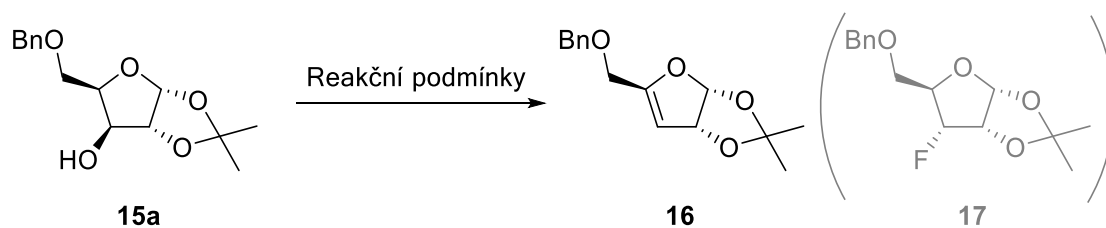


Schéma 25: Deoxyfluorace ochráněné xylosy. Tabulka 1 obsahuje použité reakční podmínky.

Tabulka 1: Optimalizace podmínek deoxyfluorace.

Experiment	Reakční podmínky	Výsledek	Výtěžek
I	DAST, pyridin, DCM, -40-25 °C, 12 h	eliminace (16)	59 %
II	1. Tf ₂ O, pyridin, DCM, 0 °C, 15 min 2. TBAF, THF, 0-25 °C, 12 h	eliminace (16)	59 %
III	1. Tf ₂ O, pyridin, DCM, 0 °C, 15 min 2. KF, 18-crown-6, toluen, 25 °C, 12 h	eliminace (16)	neizolováno
IV	1. Tf ₂ O, pyridin, DCM, 0 °C, 15 min 2. KHF ₂ , 18-crown-6, THF, 25-60 °C, 12 h	eliminace (16)	neizolováno
V	PyFluor, DBU, toluen, 25-120 °C, 12 h	eliminace (16)	67 %

Podle literatury⁸⁴ by látka **20** měla být připravena z TBDPS ochráněné xylosy **18**. Bylo tedy provedeno selektivní ochránění hydroxyly v poloze 5 (látka **14**) *tert*-butyldifenylsilylovou (TBDPS) skupinou (schéma 26).⁸⁵ Reakce proběhla velmi dobře ve vysokém výtěžku 96 %.

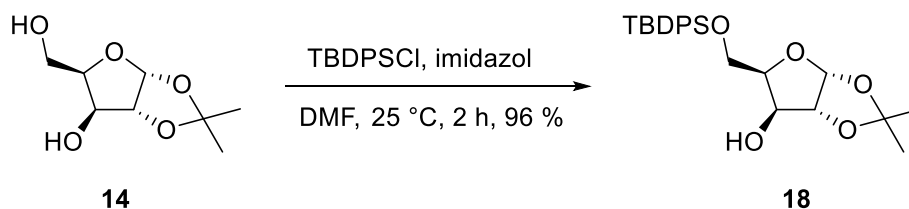


Schéma 26: Zavedení silylové skupiny do polohy 5.

Jak již bylo zmíněno, deoxyfluorací látky **18** by měla vzniknout látka **20**. Nejprve bylo nutné přeměnit hydroxyl na dobře odstupující triflát a ten pak nahradit fluorem. Při reakci mělo dojít nejen ke vzniku fluorované látky, ale také rovnou k odstranění silylové skupiny. Bohužel i v tomto případě nedošlo k deoxyfluoraci, ale pouze k eliminaci za vzniku látky **19**.

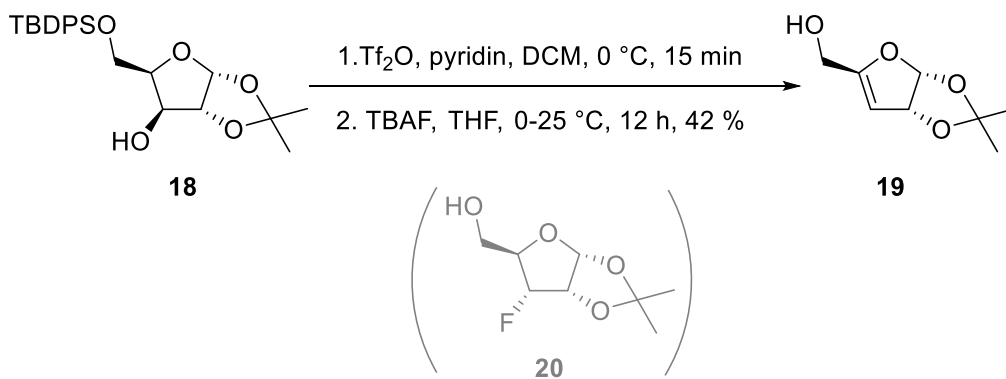


Schéma 27: Deoxyfluorace látky 18.

4.4.1. Použití objemné chránící skupiny

Napadlo nás, že použitím stericky náročné chránící skupiny hydroxyly v poloze 5 by mohlo dojít k omezení přístupu báze k atomu H v poloze 4, a tím by tedy mohlo být zabráněno eliminační reakci. Jako chránící skupina byl navržen supertrityl (tris(4-*tert*-butylfenyl)methyl; sTr). Jeho syntéza vycházela z 1-brom-4-*tert*-butylbenzenu (schéma 28) za vzniku supertrityl alkoholu **21**.⁸⁶ V prvním kroku byla připravena organolithná sloučenina, která byla posléze adována na diethylkarbonát. Produkt **21** byl přečištěn extrakcí a poté byl izolován vysrážením z hexanu.

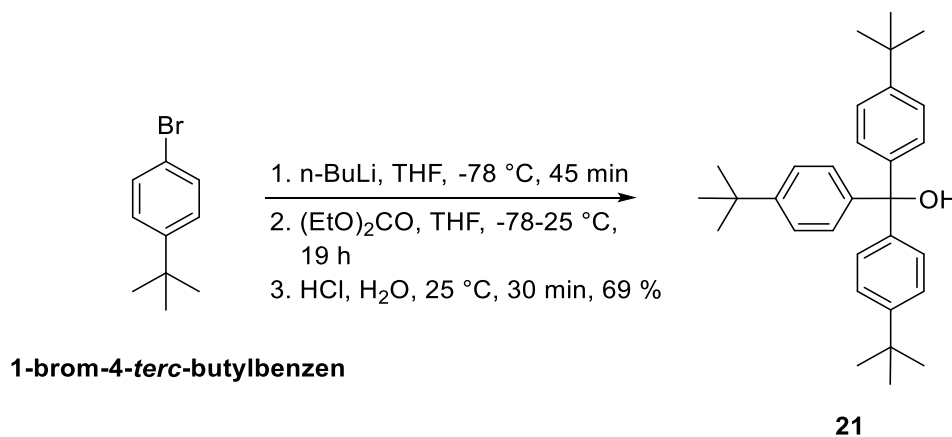


Schéma 28: Syntéza supertrityl alkoholu.

Hydroxylová skupina látky **21** byla v následující reakci nahrazena chlorem z acetylchloridu za vzniku látky **22**.⁸⁷ Reakce byla provedena za varu v suchém toluenu. Po ukončení zahřívání již vypadával produkt z roztoku ve formě sraženiny, jejíž vznik byl podpořen přidáním hexanu. Vysrážená látka již nepotřebovala další čištění.

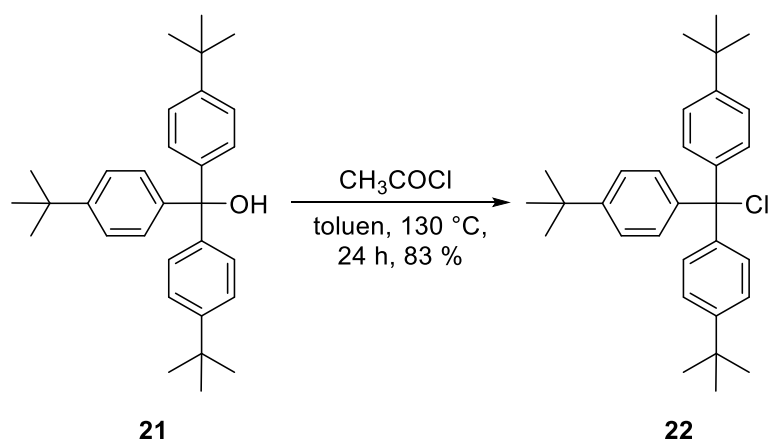


Schéma 29: Syntéza supertrityl chloridu.

Supertritylová skupina (sTr) byla zavedena do molekuly xylosy reakcí látky **14** a supertrityl chloridu **22** (sTrCl) v suchém pyridinu při $60\text{ }^\circ\text{C}$ (schéma 30).⁸⁸ Zvýšené teploty bylo zapotřebí zejména pro rozpuštění supertrityl chloridu **22**. Produkt byl izolován sloupcovou chromatografií a látka **23** byla získána ve formě bílého prášku.

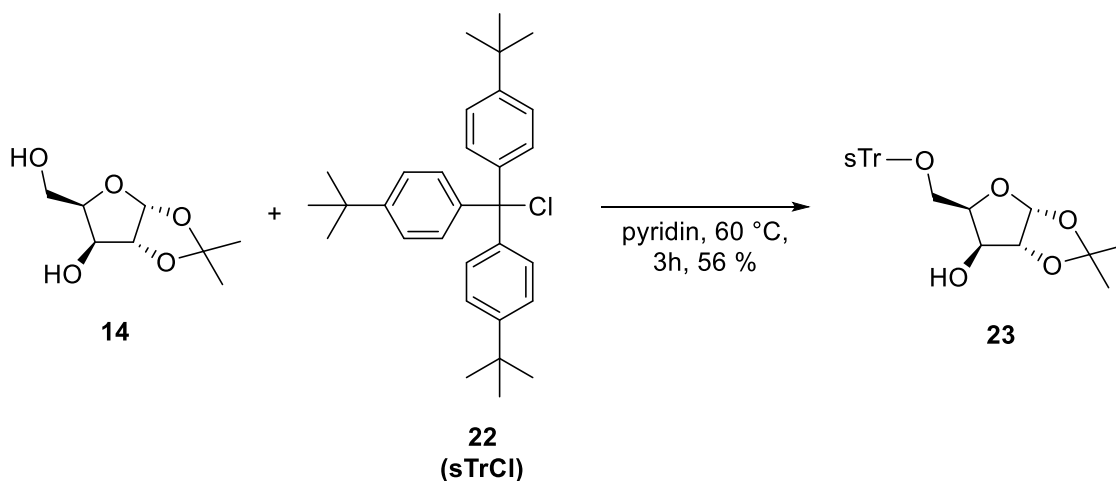


Schéma 30: Ochránění primárního hydroxyly supertritylovou skupinou.

Následná reakce⁵¹ látky **23** s PyFluorem a DBU při $60\text{ }^\circ\text{C}$ poskytla pouze reakční intermediát **24**, který se nepodařilo dostatečně vyčistit, ale podle NMR mohl být výtěžek reakce přibližně 90 %. Při této teplotě k eliminaci nedocházelo, ale zároveň ani nedocházelo k substituci sulfonové skupiny za atom fluoru.

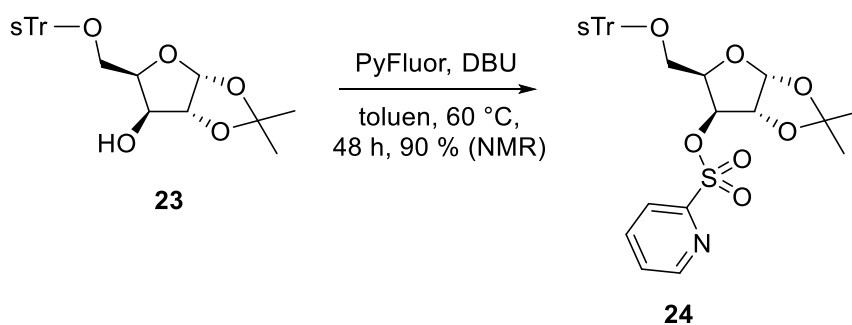


Schéma 31: Vznik intermediátu při deoxyfluoraci pomocí PyFluoru.

Reakce byla provedena znovu při 130 °C (schéma 32). Podle TLC došlo k úplné konverzi na látku **24**, která ovšem postupně odreagovala na eliminační produkt **25**, což bylo ověřeno pomocí ESI-MS. Nebylo usilováno o proběhnutí reakce do plné konverze, a tedy ani nebyl stanoven výtěžek.

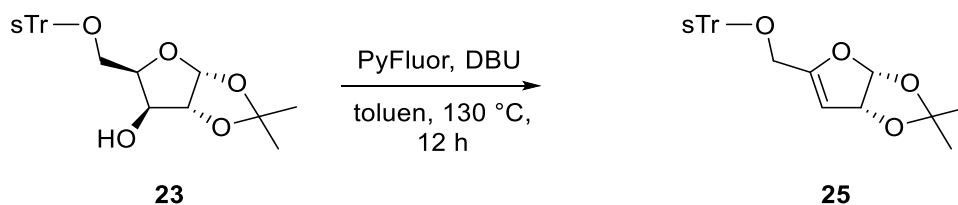


Schéma 32: Deoxyfluorace pomocí PyFluoru za vzniku eliminačního produktu.

Dále byla vyzkoušena reakce, kdy byl nejprve přeměněn hydroxyl látky **23** na triflát, který měl být následně substituován za atom fluoru (schéma 33).⁵⁵ Bohužel i zde docházelo ke vzniku eliminačního produktu **25**.

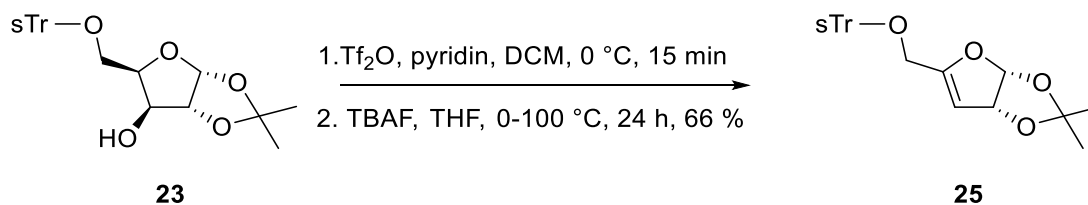


Schéma 33: Vznik eliminačního produktu při deoxyfluoraci.

4.5. Syntéza derivátů 5-deoxy-5-fluor-D-xylosy (5-FdX)

Pro syntézu byl využit původně nežádoucí produkt **15b** (reakce I, schéma 24). Volný hydroxyl v poloze 5 byl nejprve přeměněn na triflát, který byl následně nahrazen nukleofilní substitucí za atom fluoru z TBAF (schéma 34).⁵⁵ Bohužel i v tomto případě reakce proběhla v poměrně nízkém výtěžku 35 %.

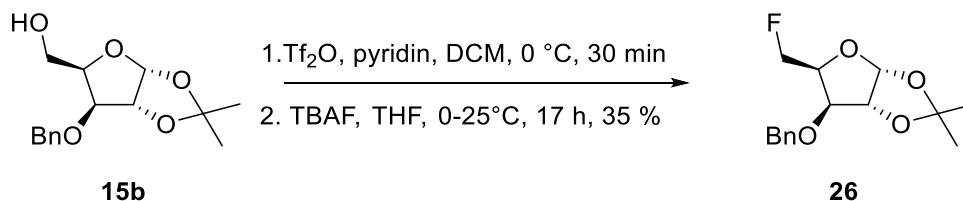


Schéma 34: Deoxyfluorace ochráněné xylosy.

Z látky **26** byla odstraněna benzylová chránící v poloze 3.⁸⁹ Narozdíl od selektivního odstranění benzylové skupiny (reakce I, schéma 19), kdy byla směs probublávána H₂ ve směsi EtOH/EtOAc 2/1, byla reakce provedena pouze v EtOH a vodík byl dodáván z balónku (schéma 35).

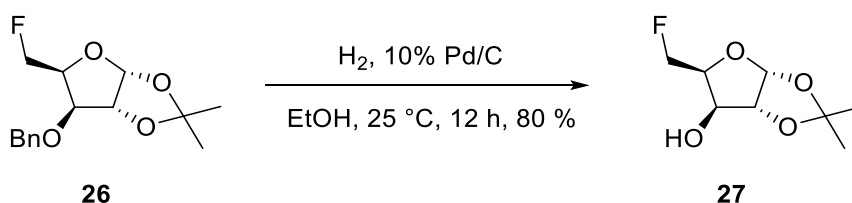


Schéma 35: Odchránění hydroxyly v poloze 3.

Na volný hydroxyl látky **27** byl navázán diisopropyl fosfonát. Reakce⁵⁷ (schéma 36) byla provedena s menším nadbytkem fosfonátu **3** než v případě syntézy látky **10** (schéma 20). Podmínky pro reakci byly totožné kromě reakční doby, která byla zkrácena. Bylo dosaženo lepšího výtěžku.

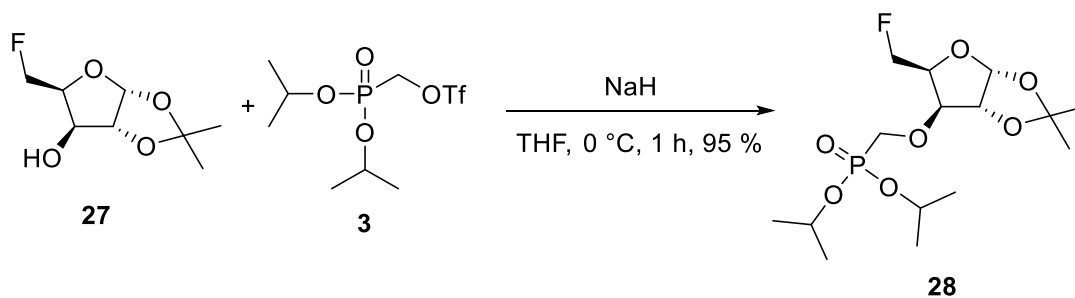


Schéma 36: Vázání fosfonátu na fluorovanou xylosu.

Dalším krokem bylo odstranění isopropylidenové chránicí skupiny (schéma 37). Reakce probíhala za stejných podmínek, jako příprava látky **11**, pouze s jinými reakčními časy. V tomto případě byla získána směs α/β anomerů látky **29** v poměru 62/38 (stanoveno pomocí $^1\text{H-NMR}$).

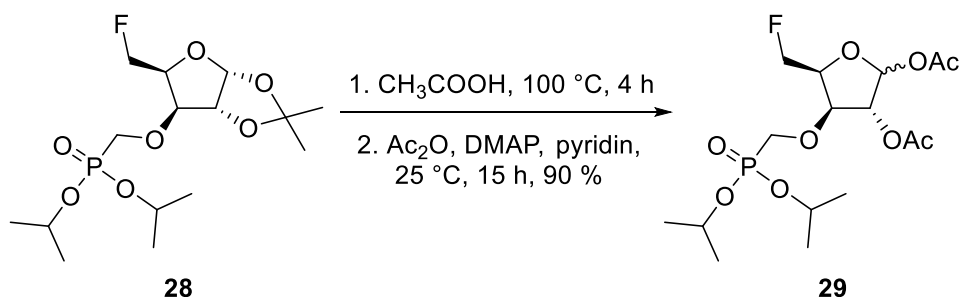


Schéma 37: Odstranění isopropylidenové skupiny a acetylace volných hydroxylů.

Nukleosidy **30** a **31** byly připraveny stejně jako v případě 2-FdR (schéma 38). Opět byla využita silyl-Hilbert-Johnsonova metoda. Díky participujícímu efektu acetylů v poloze 2' vznikal přednostně preferovaný β anomer, avšak výtěžek reakce dosáhl pouze 43 % respektive 50 %.

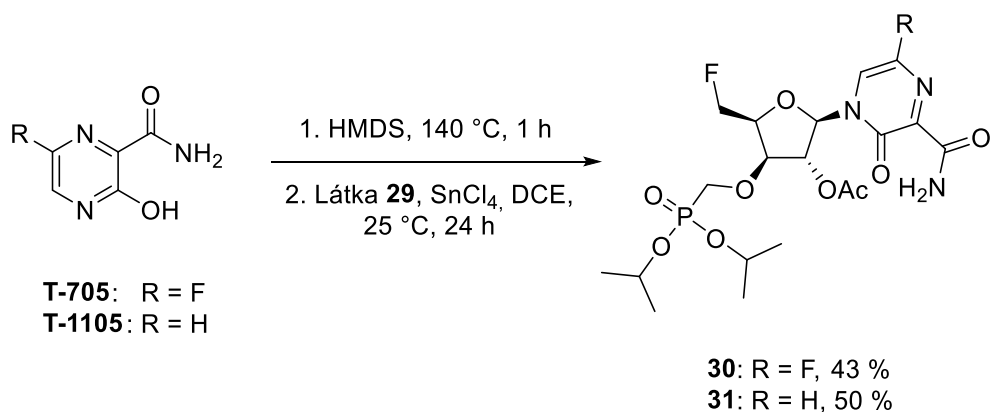


Schéma 38: Příprava 5-deoxyfluor nukleosidů s bázemi T-705 a T-1105.

V následující reakci měly být odstraněny chránicí skupiny z fosfonátu a acetyl v poloze 2' podobně jako v případě 2-FdR. Opět reakce v mikrovlnném reaktoru ani TMSBr neposkytly požadovaný produkt. Při reakci s TMSBr docházelo k substituci acetyloxy skupiny za brom. Bylo tedy provedeno nejprve odchránění hydroxylu v poloze 2' látky **31** (schéma 39). Reakce proběhla ve směsi MeOH/H₂O/Et₃N 7/3/1 při laboratorní teplotě.⁴² Výtěžek látky **33** byl slušných 76 %. Tento postup ovšem nebylo možné aplikovat na látku **30**, protože docházelo k nukleofilní substituci atomu F na bázi. Pro tuto látku bylo vyzkoušeno odchránění vodným roztokem HCl v MeOH. Zde ovšem opět docházelo k destrukci báze, nejspíš kvůli použití vodné HCl. Deacetylace látky **30** byla nakonec provedena za použití dibutylcín oxidu

v refluxujícím methanolu (schéma 39) během 48 hodin.⁴² Produkt **32** byl přečištěn sloupcovou chromatografií a byl získán ve výtěžku 66 %.

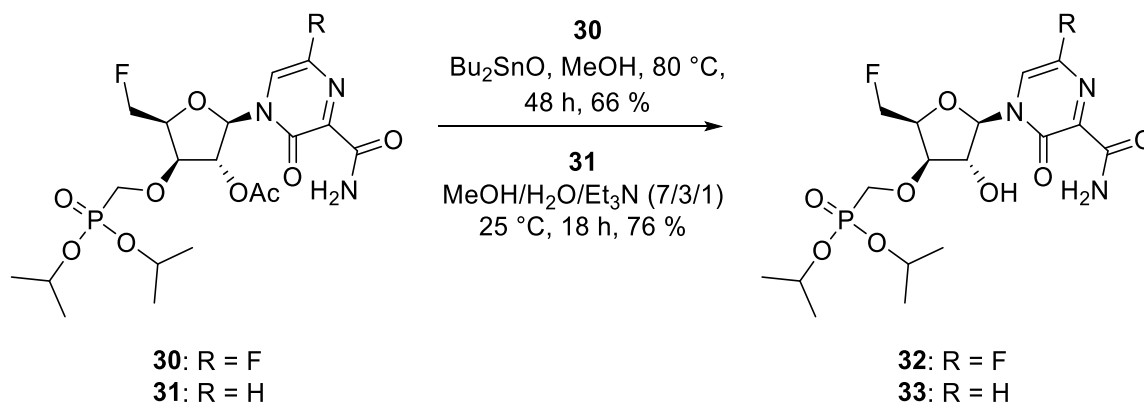


Schéma 39: Odchránění hydroxyly v poloze 2' za použití rozdílných reakčních podmínek kvůli nízké stabilitě báze T-705.

Odstraněním acetylu z polohy 2' látky **31** byla eliminována možnost vázání Br na kruh xylosy. Bylo tedy možné použít pro odstranění isopropylů TMSBr v DCM (schéma 40).⁶⁶ Vzniklý bis-TMS ester byl hydrolyzován vytřepáním mezi vodu a DCM. Voda byla následně odpařena na RVO při 60 °C. Látku **34** se nepodařilo dostatečně přečistit na RP silikagelu pro naměření NMR a tak bylo změřeno pouze ESI-MS.

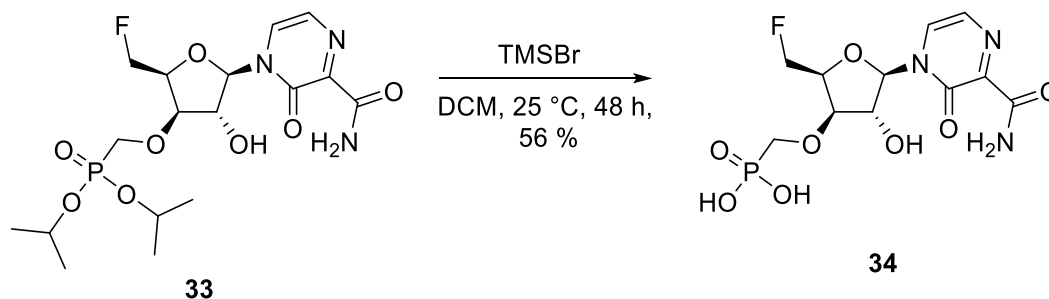


Schéma 40: Uvolnění fosfonové kyseliny z diisopropylesteru.

5. Experimentální práce

5.1. Obecné postupy a chemikálie

Běžné chemikálie byly zakoupeny od firem Lach-Ner a Penta, speciální chemikálie pak od firem Sigma-Aldrich a Fluorochem. Rozpouštědla používaná v reakcích byla před použitím predestilována. Voda byla používána deionizovaná. Rozpouštědla byla odpařována na rotační vakuové odparce (RVO) firmy Büchi nebo Heidolph při teplotách do 50 °C. Pro detekci látek na TLC byla použita následující činidla:

- D1: ponoření do 50% roztoku H₂SO₄ s následným zahřátím horkovzdušnou pistolí na 250 °C
- D2: ponoření do bazického roztoku KMnO₄ (1,5 g KMnO₄, 10 g K₂CO₃, 1,25 ml 10% NaOH ve 250 ml H₂O) s následným zahřátím horkovzdušnou pistolí na 250 °C
- D3: ponoření do 1% roztoku 4-(4-nitrobenzyl)pyridinu v ethanolu s následným zahřátím horkovzdušnou pistolí na 250 °C a ponoření do vodného roztoku NH₃
- D4: detekce pomocí UV lampy při vlnové délce 254 nm (látky zhášející fluorescenci) a 366 nm (fluoreskující látky)
- D5: ponoření do roztoku *p*-anisaldehydu (7,5 g *p*-anisaldehydu, 125 ml EtOH, 1,25 ml konc. H₂SO₄) s následným zahřátím horkovzdušnou pistolí na 250 °C

Preparativní sloupcová chromatografie byla prováděna na Silikagelu 60 (40–63 μm) a na reversním silikagelu LiChroprep RP-18 (40–63 μm), které byly zakoupeny od firmy Merck. Flash chromatografie byla prováděna na sypaných kolonách za použití přístroje Compact Preparative System od firmy Ecom.

Pro monitorování reakcí byly používány hliníkové TLC destičky pokryté silikagelem 60 F₂₅₄ nebo reversním silikagelem 60 RP-18 F₂₅₄S, oboje od firmy Merck.

MS spektra byla měřena na přístroji LCMS 2020 Shimadzu, jako rozpouštědlo byl použit methanol nebo acetonitril (oboje HPLC kvalita). HRMS spektra byla měřena na přístroji Agilent 6530Q-TOF MS.

NMR spektra byla měřena na přístroji Bruker Avance III HD 400. Struktury produktů, uvedené v popisech jejich přípravy, jsou číslovány pro přiřazení signálů ¹H a ¹³C NMR. Ve výpisu spekter jsou použity desetinné tečky (.) místo desetinné čárky (,) pro lepší přehlednost.

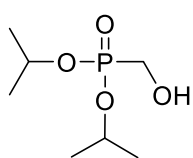
^1H a ^{13}C spektra jsou referencována na zbytkový signál rozpouštědla – CDCl_3 (7.26 a 77.16 ppm). Pro referenci ^{19}F spekter byl použit hexafluorbenzen (-163.9 ppm).

Optická rotace byla měřena na přístroji Rudolph Research AUTOPOL III při 589 nm (sodíková výbojka). Hodnoty $[\alpha]_D^{25}$ jsou udávány spolu s koncentrací (c, g/100 ml) a rozpouštědlem.

IČ spektra byla měřena metodou DRIFTS smísením vzorku s KBr na přístroji Thermo Nicolet AVATAR 370 FT-IR.

5.2. Syntéza fosfonomethyl triflátu

Diisopropyl(hydroxymethyl)fosfonát (1)



Diisopropylfosfonát (20 g; 120,37 mmol) byl smíchán s paraformaldehydem (3,9 g; 132,4 mmol) pod argonovou atmosférou. Směs byla zahřívána na 140 °C po dobu 4 hodin. Po vychladnutí na pokojovou teplotu byla směs naředěna EtOAc (200 ml) a vytřepána s nasyc. NaCl (100 ml). Organická frakce byla vysušena MgSO_4 . Sušidlo bylo odfiltrováno a filtrát byl odpařen na RVO při 40 °C. Bylo získáno 18,6 g lehce nažloutlého oleje ve výtěžku 79 %. Látka byla dále použita bez přečištění.

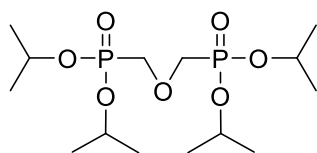
$R_F = 0.10$ (hexan/EtOAc 4/1).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 4.80 - 4.68$ (m, 1H), 3.89 – 3.76 (m, 3H), 1.33 (dd, $J = 6.2, 1.4$ Hz, 7H) ppm. Spektrum je shodné s literaturou.⁹⁰

^{31}P NMR (162 MHz, CDCl_3) $\delta = 22.43$ ppm. Spektrum je shodné s literaturou.⁹⁰

Pro $[\text{C}_7\text{H}_{21}\text{O}_4\text{P}+\text{Na}]^+$ vypočteno Mr: 219.076; ESI-MS: m/z 219 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

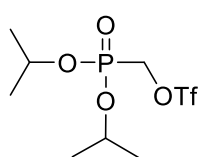
Tetraisopropyl(oxybis(methylen))bis(fosfonát) (2)



Látka **1** (79,5 mg; 0,41 mmol) byla rozpuštěna v suchém Et_2O (0,5 ml) pod argonovou atmosférou. Vzniklá směs byla ochlazená na -78 °C. Postupně bylo přikapáno nBuLi (0,17 ml; 0,43 mmol; 2,5M roztok v toluenu) a následně chlorid kyseliny trifluormethansulfonové (45 μl ; 43 mmol). Reakční směs byla míchána hodinu při -78 °C. Reakce byla sledována na TLC ve směsi hexan/EtOAc 3/1 (detekce D2). Byl přidán nasyc. NH_4Cl (1,5 ml). Organická frakce byla vytřepána s vodou (1,5 ml) a nasyc. NaCl (1,5 ml). Organická frakce byla odpařena na RVO při 30 °C. Odparek (38,9 mg) byl analyzován na ESI-MS.

Pro $[C_{14}H_{32}O_7P_2+Na]^+$ vypočteno Mr: 397.152; ESI-MS: m/z 397 $[M+Na]^+$.

Diisopropylfosfonomethyl-trifluormethansulfonát (3)



Látka **1** (8,19 g; 41,72 mmol) byla rozpuštěna v suchém DCM (140 ml) pod argonovou atmosférou. Následně byl přidán 2,6-lutidin (7,4 ml; 62,58 mmol) a směs byla vychlazena na $-78\text{ }^\circ\text{C}$. Postupně byl přikapán Tf_2O (7,0 ml; 41,72 mmol) a vzniklá směs byla míchána 1 hodinu při této teplotě. Poté byla odebrána chladicí lázeň a reakční směs byla míchána 1 hodinu při $25\text{ }^\circ\text{C}$. Reakce byla sledována na TLC v EtOAc (detekce D2). Po doběhnutí reakce byla přidána voda (50 ml). Fáze byly odděleny a organická byla vytřepána s 1M HCl (50 ml), nasyc. $NaHCO_3$ (50 ml) a nasyc. NaCl (50 ml). Organická frakce byla vysušena Na_2CO_3 . Sušidlo bylo odfiltrováno a filtrát byl odpařen na RVO při $40\text{ }^\circ\text{C}$. Odparek byl přečištěn na koloně (100 g silikagelu) ve směsi hexan/EtOAc 3/1. Frakce s produktem byly odpařeny při $40\text{ }^\circ\text{C}$ a dosušeny pomocí rotační olejové pumpy při $40\text{ }^\circ\text{C}$. Bylo získáno 7,95 g žlutého oleje ve výtěžku 58 %.

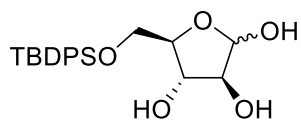
$R_F = 0.77$ (EtOAc).

1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) $\delta = 4.80$ (dp, $J = 12.4, 6.2$ Hz, 2H), 4.54 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H), 1.37 (dd, $J = 6.2, 3.6$ Hz, 12H) ppm. Spektrum je shodné s literaturou.⁵⁷

^{31}P NMR (162 MHz, $CDCl_3$) $\delta = 10.03$ ppm.

5.3. Syntéza derivátů 2-deoxy-2-fluor-D-ribosy

5-O-*tert*-Butyldiphenylsilyl-D-arabinofuranosa (4)



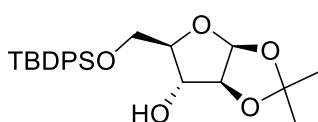
D-Arabinosa (20,1 g; 133,88 mmol) byla smíchána se suchým DMF (420 ml) pod argonovou atmosférou. Byl přidán imidazol (13,8 g; 200,83 mmol) a směs byla zahřáta na $50\text{ }^\circ\text{C}$. Po rozpuštění veškeré arabinosy byl postupně přidán TBDPSCl (39,1 ml; 147,27 mmol) přikapávací nálevkou během 15 minut. Reakce byla ponechána při $50\text{ }^\circ\text{C}$ 24 hodin. Reakce byla průběžně sledována na TLC ve směsi PrOH/ H_2O /EtOAc/ NH_3 v poměru 6/3/1/1 (detekce D1 a D4). Přebytečné DMF bylo oddestilováno za sníženého tlaku při $50\text{ }^\circ\text{C}$. Destilační zbytek byl rozpuštěn ve DCM (400 ml) a postupně vytřepán s 1M HCl (400 ml) a nasyc. $NaHCO_3$ (300 ml). Organická frakce byla vysušena $MgSO_4$. Sušidlo bylo odfiltrováno a filtrát byl odpařen na RVO při $40\text{ }^\circ\text{C}$. Odparek byl nanesen na kolonu z 1,2 kg silikagelu, kde byl přečištěn v MF DCM/MeOH 20/1. Frakce s produktem byly odpařeny. Odparek byl dosušen pomocí rotační olejové pumpy při $60\text{ }^\circ\text{C}$. Bylo získáno 35,4 g směsi α a β anomerů ve formě nažloutlého oleje o výtěžku 68 %.

$R_F = 0.43$ (DCM/MeOH 20/1).

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.76\text{--}7.61$ (m, 4H), $7.51\text{--}7.33$ (m, 6H), 5.43 (s, 1H), 5.30 (s, 1H), 4.34 – 3.66 (m, 6H), 1.15–0.99 (m, 9H) ppm. Spektrum je shodné s literaturou.⁷³

Pro $[\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{O}_5\text{Si}+\text{Na}]^+$ vypočteno Mr: 411.160; ESI-MS: m/z 411 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

5-*O*-*tert*-Butyldiphenylsilyl-1,2-*O*-isopropyliden- β -D-arabinofuranosa (5)



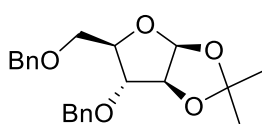
Látka **4** (554,2 mg; 1,43 mmol) byla rozpuštěna v suchém DCM (10 ml). Pod argonovou atmosférou byl přidán 2,2-dimethoxypropan (0,36 ml; 2,85 mmol) následovaný přidáním (1*S*)-(+)-10-kafrsulfonové kyseliny (34 mg; 0,14 mmol). Směs byla míchána přes noc při 4 °C. Průběh reakce byl sledován na TLC ve směsi DCM/MeOH 20/1 (detekce D1 a D4). Reakční směs byla neutralizována přidáním Et_3N (kontrola pH papírkem) a následně byla míchána 15 minut. Poté bylo odpařeno rozpouštědlo na RVO při 40 °C. Odparek (1,37 g) byl adsorbován na silikagel (7 g). Látka adsorbovaná na silikagelu byla přečištěna na koloně (60 g silikagelu). Jako mobilní fáze byla použita směs hexan/EtOAc 8/2. Frakce s produktem byly odpařeny a dosušeny pomocí rotační olejové pumpy při 60 °C. Bylo získáno 315,2 mg nažloutlého oleje ve výtěžku 52 %.

$R_F = 0.51$ (hexan/EtOAc 8/2).

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.69\text{--}7.64$ (m, 4H), $7.46\text{--}7.35$ (m, 6H), 5.88 (d, $J = 4.1$ Hz, 1H), 4.55 (d, $J = 4.1$ Hz, 1H), 4.43 (t, $J = 3.1$ Hz, 1H), 4.05 (m, 1H), 3.87 – 3.78 (m, 2H), 1.89 (d, $J = 4.3$ Hz, 1H), 1.60 (s, 1H), 1.33 (s, 3H), 1.29 (s, 3H), 1.06 (s, 9H) ppm. Spektrum je shodné s literaturou.⁷³

Pro $[\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{O}_5\text{Si}+\text{Na}]^+$ vypočteno Mr: 451.192; ESI-MS: m/z 451 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ a 467 $[\text{M}+\text{K}]^+$.

3,5-Di-*O*-benzyl-1,2-*O*-isopropyliden- β -D-arabinofuranosa (6)



Látka **5** (818,5 mg; 1,91 mmol) byla rozpuštěna v suchém THF (20 ml) pod argonovou atmosférou. KOH (4,75 g; 17,19 mmol) byl nadrcen na jemný prášek a přidán k roztoku. Následně byl přidán BnCl (1,33 ml; 11,46 mmol). Výsledná směs byla zahřívána na 80 °C přes noc. Reakce byla sledována na TLC ve směsi DCM/MeOH 20/1 (detekce D1 a D4). Směs byla přefiltrována a filtrační koláč byl promyt THF (3 × 20 ml). Filtrát byl odpařen na RVO při 40 °C. Odparek (2,51 g) byl rozpuštěn v CHCl_3 (100 ml), adsorbován na silikagel (12,5 g) a následně přečištěn na koloně (125 g silikagelu) s mobilní fází hexan/EtOAc 7/3. Frakce s produktem byly odpařeny a odparek byl

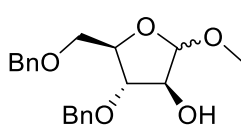
dosušen pomocí rotační olejové pumpy při 60 °C. Bylo získáno 525,6 mg lehce nažloutlého oleje ve výtěžku 74 %.

$R_F = 0.17$ (hexan/EtOAc 8/2).

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.37 - 7.26$ (m, 10H), 5.90 (d, $J = 4.0$ Hz, 1H), 4.65 (d, $J = 4.1$ Hz, 1H), 4.63 – 4.52 (m, 4H), 4.27 (td, $J = 6.3, 3.0$ Hz, 1H), 4.03 (d, $J = 2.9$ Hz, 1H), 3.64 (d, $J = 6.2$ Hz, 2H), 1.44 (s, 3H), 1.33 (s, 3H) ppm. Spektrum je shodné s literaturou.⁵⁵

Pro $[\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{O}_5 + \text{Na}]^+$ vypočteno Mr: 370.178; ESI-MS: m/z 393 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ a 409 $[\text{M} + \text{K}]^+$.

Methyl-3,5-di-*O*-benzyl-*D*-arabinofuranosid (7)



Látka **6** (0,4953 g; 1,34 mmol) byla rozpuštěna v MeOH (10 ml). Byla přidána (1*S*)-(+)-10-kafrsulfonová kyselina (10 mg; 0,04 mmol). Směs byla zahřívána přes noc pod argonovou atmosférou. Reakce byla

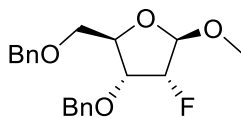
sledována na TLC ve směsi hexan/EtOAc 8/2 (detekce D1 a D4). Směs byla neutralizována kapkou Et_3N . Rozpouštědlo bylo odpařeno na RVO při 40 °C. Odparek (0,68 g) byl adsorbován na silikagel (3,5 g) a přečištěn na koloně (35 g silikagelu) ve směsi hexan/EtOAc 6/4. Frakce s produktem byly odpařeny a odparek byl dosušen pomocí rotační olejové pumpy při 60 °C. Bylo získáno 386,2 mg lehce nažloutlého oleje ve výtěžku 84 %.

$R_F = 0.20$ (hexan/EtOAc 8/2).

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.69 - 7.64$ (m, 4H), 7.46 – 7.35 (m, 6H), 5.88 (d, $J = 4.1$ Hz, 1H), 4.55 (d, $J = 4.1$ Hz, 1H), 4.43 (t, $J = 3.1$ Hz, 1H), 4.05 (m, 1H), 3.87 – 3.78 (m, 2H), 1.89 (d, $J = 4.3$ Hz, 1H), 1.60 (s, 1H), 1.33 (s, 3H), 1.29 (s, 3H), 1.06 (s, 9H) ppm. Spektrum je shodné s literaturou.⁵⁵

Pro $[\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{O}_5\text{Si} + \text{Na}]^+$ vypočteno Mr: 451.192; ESI-MS: m/z 451 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ a 467 $[\text{M} + \text{K}]^+$.

Methyl-2-deoxy-2-fluor-3,5-di-*O*-dibenzyl- β -*D*-ribofuranosid (8)



Látka **7** (3,26 g; 9,46 mmol) byla rozpuštěna v suchém DCM (60 ml) pod argonovou atmosférou. K roztoku byl přidán suchý pyridin (3,0 ml; 37,82 mmol) a směs byla vychlazena na 0 °C. Postupně byl přikapán Tf_2O (2,02

ml; 12,29 mmol) a směs byla míchána 15 minut. Reakce byla sledována na TLC ve směsi hexan/EtOAc 8/2 (detekce D1, D3 a D4). Nadbytek anhydridu byl hydrolyzován přidavkem vody (10 ml). Fáze byly odděleny a organická byla odpařena na RVO při 40 °C. Odparek byl dosušen pomocí rotační olejové pumpy při 40 °C během 1 hodiny. Následně byl rozpuštěn v THF (60 ml). Vzniklá směs byla vychlazena na 0 °C. Během 20 minut byl přikapán TBAF

(47,3 ml; 47,3 mmol; 1M roztok v THF). Směs byla míchána při 25 °C přes noc. Reakce byla monitorována na TLC ve stejné směsi se stejnou detekcí. Reakční směs byla naředěna Et₂O (100 ml) a vytřepána s nasyc. NH₄Cl (3 × 100 ml). Etherová frakce byla vysušena MgSO₄. Sušidlo bylo odfiltrováno a filtrát byl odpařen na RVO při 30 °C. Odparek (4,05 g) byl adsorbován na silikagel (20 g) a přečištěn na koloně (100 g silikagelu) ve směsi hexan/EtOAc 9/1. Frakce s produktem byly odpařeny a odparek byl dosušen pomocí rotační olejové pumpy při 60 °C. Bylo získáno 1,08 g lehce nažloutlého oleje ve výtěžku 33 %.

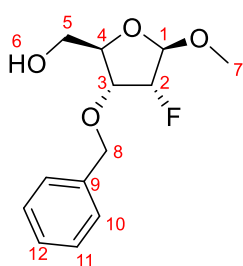
$R_F = 0.51$ (hexan/EtOAc 8/2).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): $\delta = 7.38 - 7.27$ (m, 10H), 5.01 (d, $J = 10.6$ Hz, 1H), 4.84 – 4.52 (m, 5H), 4.34 – 4.26 (m, 1H), 4.08 (ddd, $J = 24.6, 7.7, 3.7$ Hz, 1H), 3.68 – 3.49 (m, 2H), 3.33 (s, 3H) ppm. Spektrum je shodné s literaturou.⁵⁵

¹⁹F NMR (376 MHz, CDCl₃): $\delta = -209.50$ (ddd, $J = 53.3, 24.5, 10.6$ Hz) ppm.

Pro [C₂₀H₂₃FO₄+Na]⁺ vypočteno Mr: 369.148; ESI-MS: m/z 369 [M+Na]⁺.

Methyl-3-O-benzyl-2-deoxy-2-fluor- β -D-ribofuranosid (9a)



10% Pd/C (0,9 g; 0,85 mmol) bylo zalito EtOH (90 ml). Vzniklá suspenze byla probublávána H₂ po dobu 1 hodiny. Látka **8** (2,94 g; 8,48 mmol) byla rozpuštěna ve směsi EtOH/EtOAc 2/1 (90 ml) a přidána k suspenzi Pd/C. Směs byla probublávána H₂ po dobu 8 hodin při 25 °C. Reakce byla průběžně sledována na TLC ve směsi hexan/EtOAc 7/3 (detekce D1 a D4). Katalyzátor byl odfiltrován a promyt EtOH (300 ml). Filtrát byl

odpařen na RVO při 50 °C. Odparek (2,16 g) byl adsorbován na silikagel (11 g) a přečištěn na koloně (70 g silikagelu) ve směsi hexan/EtOAc 7/3. Frakce s produktem byly odpařeny při 40 °C a odparek byl dosušen pomocí rotační olejové pumpy při 60 °C. Bylo získáno 1,45 g bezbarvého oleje ve výtěžku 67 %.

$R_F = 0.34$ (hexan/EtOAc 7/3).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) $\delta = 7.40 - 7.27$ (m, 5H, 5×CH, **H-10**, **H-11** a **H-12**), 5.01 (d, $J = 10.9$ Hz, 1H, CH, **H-1**), 4.77 (dd, $J = 53.2, 3.2$ Hz, 1H, CH, **H-2**), 4.63 (dd, $J = 43.1, 11.6$ Hz, 2H, CH₂, **H-8**), 4.28 – 4.12 (m, 2H, 2×CH, **H-3** a **H-4**), 3.84 (dt, $J = 12.1, 2.9$ Hz, 1H, 0.5×CH₂, **H-8**), 3.60 (ddd, $J = 12.2, 8.5, 3.4$ Hz, 1H, 0.5×CH₂, **H-8**), 3.41 (s, 3H, CH₃, **H-7**), 1.85 (s, 1H, OH, **H-6**) ppm.

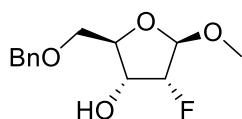
^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) $\delta = 137.39$ (C-9), 128.69 (2 \times C, C-11), 128.29 (C-12), 128.06 (2 \times C, C-10), 106.17 (d, $J = 29.8$ Hz, C-1), 91.46 (d, $J = 185.6$ Hz, C-2), 81.94 (C-4), 76.40 (d, $J = 15.7$ Hz, C-3), 73.06 (C-8), 62.37 (C-5), 55.91 (C-7) ppm.

^{19}F NMR (376 MHz, CDCl_3): $\delta = -210.99$ (ddd, $J = 53.1, 24.1, 10.9$ Hz) ppm.

Pro $[\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{FO}_4+\text{Na}]^+$ vypočteno Mr: 279.1003; ESI-HRMS: m/z 279.1004 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

IČ (KBr): $\nu_{\text{max}} = 3458, 3088, 3067, 3031, 2995, 2926, 2872, 2836, 1455, 1401, 1362, 1308, 1263, 1198, 1132, 1102, 1081, 1045, 970, 949, 931, 893, 863, 833, 785, 743, 701$ cm^{-1} .

Methyl-5-*O*-benzyl-2-deoxy-2-fluor- β -D-ribofuranosid (9b)



a) 10% Pd/C (7,1 mg; 0,01 mmol) bylo v baňce evakuováno a nasyceno H_2 (celkem 3 \times). Následně byl přidán roztok MeOH (0,5 ml) obsahující látku **8** (23,2 mg; 0,07 mmol) a koncentrovaný vodný roztok amoniaku (5 μl ; 0,03 mmol). Směs byla míchána 2 hodiny pod H_2 atmosférou z balónku. Reakce byla monitorována na TLC ve směsi hexan/EtOAc 7/3 (detekce D1 a D4). Směs byla přefiltrována a filtrační koláč byl promyt MeOH (10 ml). Filtrát byl odpařen na RVO při 50 $^\circ\text{C}$. Odparek byl adsorbován na silikagel (100 mg) a přečištěn na koloně (1 g silikagelu) ve směsi hexan/EtOAc 7/3. Frakce s produktem byly odpařeny. Bylo získáno 12 mg bezbarvého oleje ve výtěžku 69 %.

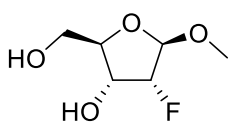
b) Látka **8** (13,8 mg; 0,04 mmol) byla rozpuštěna v suchém toluenu (0,2 ml) pod argonovou atmosférou. K roztoku byl přidán DIBAL-H (0,4 ml; 0,4 mmol; 1M roztok v toluenu). Vzniklá směs byla míchána 4 hodiny při 50 $^\circ\text{C}$. Reakce byla monitorována na TLC ve směsi hexan/EtOAc 7/3 (detekce D1 a D4). Podle TLC docházelo ke vzniku nežádoucího regioisomeru, proto reakce nebyla dále zpracována.

$R_F = 0.46$ (hexan/EtOAc 7/3).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) $\delta = 7.38 - 7.27$ (m, 5H), 5.00 (d, $J = 10.7$ Hz, 1H), 4.75 (dd, $J = 53.5, 3.9$ Hz, 1H), 4.62 (s, 2H), 4.27 (dtd, $J = 23.7, 7.9, 4.0$ Hz, 1H), 4.10 (ddd, $J = 7.5, 6.0, 4.0$ Hz, 1H), 3.71 - 3.57 (m, 2H), 3.35 (s, 3H), 2.09 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H) ppm. Spektrum je shodné s literaturou.⁹¹

Pro $[\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{FO}_4+\text{Na}]^+$ vypočteno Mr: 279.101; ESI-MS: m/z 279 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

Methyl-2-deoxy-2-fluor- β -D-ribofuranosid (9c)

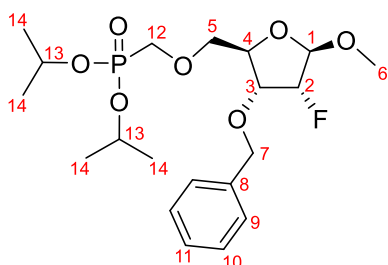


Látka **8** (25,6 mg; 0,07 mmol) byla rozpuštěna v DCM (0,5 ml). Postupně byl přidán vodný roztok KBrO₃ (24,7 mg; 0,15 mmol; v 0,2 ml vody) a vodný roztok Na₂S₂O₅ (28,1 mg; 0,15 mmol; v 0,3 ml vody). Vzniklá směs byla míchána 4 hodiny při 25 °C. Reakce byla monitorována na TLC ve směsi hexan/EtOAc 7/3 (detekce D1 a D4). Podle TLC došlo k nežádoucímu odchránění obou hydroxylů a reakce tedy nebyla dále zpracována.

$R_F = 0.08$ (hexan/EtOAc 7/3).

Pro [C₆H₁₁FO₄+Na]⁺ vypočteno Mr: 189.054; ESI-MS: m/z 189 [M+Na]⁺.

Methyl-2-deoxy-2-fluor-5-O-diisopropylfosfonomethyl- β -D-ribofuranosid (10)



Látky **9a** (1,43 g; 5,58 mmol) a **3** (3,66 g, 11,16 mmol) byly rozpuštěny v suchém THF (30 ml) pod argonovou atmosférou. Vzniklý roztok byl vychlazen na 0 °C. Postupně byl přidán NaH (0,27 g; 6,70 mmol; 60% disperze v minerálním oleji). Směs byla míchána při 0 °C 1,5 hodiny. Reakce byla průběžně sledována na TLC ve směsi hexan/EtOAc 1/4 (detekce D1 a D4). Při 0 °C byla postupně přidána voda (30 ml). Vzniklá směs byla extrahována CHCl₃ (3 × 60 ml). Chloroformová frakce byla vysušena Na₂CO₃. Sušidlo bylo odfiltrováno, filtrační koláč byl promyt CHCl₃ (100 ml) a filtrát byl odpařen na RVO při 40 °C. Odparek (4,95 g) byl adsorbován na silikagel (25 g) a přečištěn na koloně (100 g silikagelu) ve směsi hexan/EtOAc 1/3. Frakce s produktem byly odpařeny a odparek byl dosušen pomocí rotační olejové pumpy při 60 °C. Bylo získáno 2,00 g lehce nažloutlého oleje ve výtěžku 82 %.

$R_F = 0.54$ (hexan/EtOAc 1/4).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): $\delta = 7.39 - 7.27$ (m, 5H, 5×CH, **H-9**, **H-10** a **H-11**), 4.98 (d, $J = 10.6$ Hz, 1H, CH, **H-1**), 4.81 – 4.53 (m, 5H, 3×CH a CH₂, **H-2**, **H-7** a **H-13**), 4.29 – 4.21 (m, 1H, CH, **H-4**), 4.02 (ddd, $J = 24.4, 7.8, 3.6$ Hz, 1H, CH, **H-3**), 3.84 – 3.75 (m, 3H, 1.5×CH₂, **H-5** a **H-12**), 3.67 – 3.59 (m, 1H, 0.5×CH₂, **H-5**), 3.35 (s, 3H, CH₃, **H-6**), 1.36 – 1.29 (m, 12H, 4×CH₃, **H-14**) ppm.

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃): $\delta = 137.43$ (**C-8**), 128.64 (2×C, **C-10**), 128.21 (**C-11**), 128.04 (2×C, **C-9**), 105.83 (d, $J = 29.3$ Hz, **C-1**), 91.06 (d, $J = 185.3$ Hz, **C-2**), 80.13 (**C-4**), 77.83 (d, $J = 15.7$ Hz, **C-3**), 74.30 (d, $J = 10.1$ Hz, **C-5**), 72.92 (**C-7**), 71.18 (d, $J = 6.7$ Hz, 2×C, **C-13**), 66.41 (d, $J = 166.9$ Hz, **C-12**), 55.26 (**C-6**), 24.41 – 23.98 (m, 4×C, **C-14**) ppm.

^{19}F NMR (376 MHz, CDCl_3): $\delta = -211.69$ (ddd, $J = 53.2, 24.4, 10.6$ Hz) ppm.

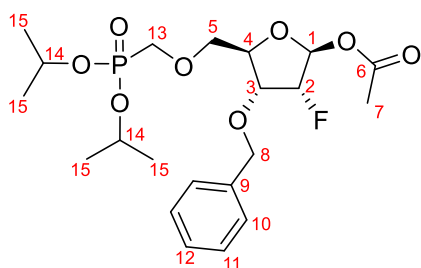
^{31}P NMR (162 MHz, CDCl_3) $\delta = 19.09$ ppm.

Pro $[\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{FO}_7\text{P}^+\text{Na}]^+$ vypočteno Mr: 457.1762; ESI-HRMS: m/z 457.1769 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

IČ (KBr): 3085, 3067, 3034, 2977, 2929, 2875, 2836, 1452, 1374, 1308, 1254, 1201, 1177, 1141, 1108, 1069, 1039, 988, 905, 890, 785, 749, 701 cm^{-1} .

$[\alpha]_D^{25} = -8.5^\circ$ ($c = 0.071$, CHCl_3).

1-*O*-Acetyl-2-deoxy-2-fluor-5-*O*-diisopropylfosfonomethyl- β -D-ribofuranosa (11)



Látka **10** (1,60 g; 3,82 mmol) byla rozpuštěna v 80% CH_3COOH (30 ml) pod argonovou atmosférou. Vzniklý roztok byl zahříván 51 hodin na 100 °C. Reakce byla sledována pomocí ESI-MS. Reakční směs byla odpařena na RVO při 60 °C. Odparek byl rozpuštěn v pyridinu (30 ml). Byl přidán Ac_2O (12 ml; 125,9 mmol) a DMAP (10 mg;

0,08 mmol) a směs byla míchána pod argonovou atmosférou při 25 °C 3 hodiny. Průběh reakce byl opět sledován pomocí ESI-MS. Pyridin byl z reakční směsi vakuově oddestilován při 30 °C. Destilační zbytek byl rozpuštěn v EtOAc (100 ml) a vytřepán postupně 1M HCl (50 ml), nasyc. NaHCO_3 (50 ml) a nasyc. NaCl (50 ml). Spojené vodné frakce byly vytřepány s EtOAc (50 ml). Organické frakce byly vysušeny Na_2CO_3 . Sušidlo bylo odfiltrováno a filtrát byl odpařen na RVO při 40 °C. Odparek (1,89 g) byl přečištěn na koloně (40 g silikagelu) ve směsi hexan/EtOAc 1/5. Frakce s produktem byl odpařeny na RVO při 40 °C. Bylo získáno 1,37 g žlutého oleje ve výtěžku 78 %.

$R_F = 0.43$ (hexan/EtOAc 1/4).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.40 - 7.28$ (m, 5H, 5 \times CH, **H-10**, **H-11** a **H-12**), 6.22 (d, $J = 10.4$ Hz, 1H, CH, **H-1**), 4.88 (d, $J = 3.6$ Hz, 0.5H, 0.5 \times CH, **H-2**), 4.79 – 4.59 (m, 4.5H, 3 \times CH a CH_2 , **H-2**, **H-14** a **H-8**), 4.31 – 4.24 (m, 1H, CH, **H-4**), 4.16 (ddd, $J = 23.9, 8.0, 3.6$ Hz, 1H, CH, **H-3**), 3.86 – 3.69 (m, 4H, 2 \times CH_2 , **H-5** a **H-13**), 2.07 (s, 3H, CH_3 , **H-7**), 1.31 (t, $J = 5.9$ Hz, 12H, 4 \times CH_3 , **H-15**) ppm.

^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3): $\delta = 169.01$ (**C-6**), 137.14 (**C-9**), 128.56 (2 \times C, **C-11**), 128.18 (**C-12**), 127.84 (2 \times C, **C-10**), 97.80 (d, $J = 31.9$ Hz, **C-1**), 90.82 (d, $J = 188.0$ Hz, **C-2**), 81.03 (**C-4**), 76.44 (d, $J = 15.9$ Hz, **C-3**), 72.95 (**C-8**), 72.37 (d, $J = 10.0$ Hz, **C-5**), 71.04 (t, $J = 6.1$ Hz,

2×C, C-14), 66.46 (d, $J = 167.5$ Hz, C-13), 24.06 (dq, $J = 6.6, 2.6, 2.0$ Hz, 4×C, C-15), 21.05 (C-7) ppm.

^{19}F NMR (376 MHz, CDCl_3): $\delta = -211.24$ (ddd, $J = 52.5, 23.9, 10.5$ Hz) ppm.

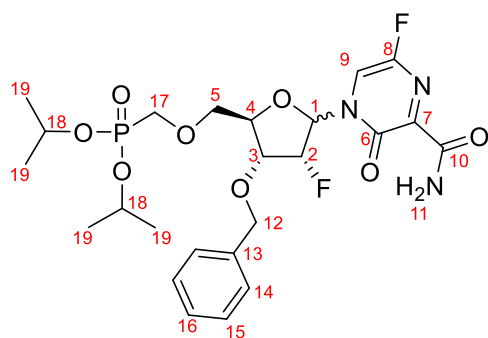
^{31}P NMR (162 MHz, CDCl_3): $\delta = 18.96$ ppm.

Pro $[\text{C}_{21}\text{H}_{32}\text{FO}_8\text{P}^+\text{Na}]^+$ vypočteno Mr: 485.1711; ESI-MS: m/z 485 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

IČ (KBr): $\nu_{\text{max}} = 3085, 3058, 3031, 2980, 2929, 2872, 1751, 1377, 1234, 1180, 1144, 1126, 1105, 988, 905, 890, 788, 749, 698$ cm^{-1} .

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +3.5^\circ$ ($c = 0.087, \text{CHCl}_3$).

1-(2'-Deoxy-2'-fluor-5'-*O*-diisopropylfosfonomethyl- α -D-ribofuranosyl)-3-karbamoyl-5-fluor-2-oxopyrazin (12a) a 1-(2'-Deoxy-2'-fluor-5'-*O*-diisopropylfosfonomethyl- β -D-ribofuranosyl)-3-karbamoyl-5-fluor-2-oxopyrazin (12b)



Fluorovaná báze T-705 (59,2 mg; 0,37 mmol) byla zalita HMDS (1 ml). Směs byla zahřívána hodinu na 140°C pod argonovou atmosférou. Následně bylo rozpouštědlo vakuově oddestilováno při 30°C . Látka **11** (142,7 mg; 0,31 mmol) byla rozpuštěna v suchém DCE (3 ml) a přidána k destilačnímu zbytku. Postupně bylo přidáno SnCl_4 (0,74 ml; 0,74 mmol; 1M roztok

v DCM). Směs byla míchána 24 hodin při 25°C . Reakce byla monitorována na TLC ve směsi DCM/MeOH 20/1 (detekce D4 a D5). Reakční směs byla naředěna DCM (20 ml) a vytřepána nasyc. NaHCO_3 (20 ml). Vzniklá sraženina byla přefiltrována přes křemelinu. Filtrační koláč byl intenzivně promyt DCM (60 ml). Fáze ve filtrátu byly odděleny v dělicí nálevce a vodná byla extrahována DCM (2×20 ml). Spojené organické frakce byly vysušeny MgSO_4 . Sušidlo bylo odfiltrováno a filtrát byl odpařen na RVO při 40°C . Odparek (220 mg) byl přečištěn na koloně (22 g silikagelu) ve směsi DCM/MeOH 20/1. Frakce s produktem byly odpařeny na RVO při 40°C . α/β anomery byly rozděleny na koloně (12 g silikagelu) ve směsi EtOAc/acetone 2/1. Frakce s produkty byly odpařeny na RVO při 40°C . Odparky byly dosušeny pomocí rotační olejové pumpy při 40°C . Bylo získáno 33 mg α anomeru (19 %) a 88,8 mg β anomeru (51 %). Oba byly ve formě žlutého oleje.

$R_F = 0.48$ (DCM/MeOH 20/1).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , **12a**): $\delta = 9.07$ (s, 1H, $0.5\times\text{NH}_2$, H-11), 7.70 (d, $J = 5.8$ Hz, 1H, CH, H-9), 7.41 – 7.28 (m, 5H, $5\times\text{CH}$, H-14, H-15 a H-16), 6.37 (dd, $J = 15.1, 3.6$ Hz, 1H, CH, H-1), 6.32 (s, 1H, $0.5\times\text{NH}_2$, H-11), 5.43 (dt, $J = 53.2, 3.7$ Hz, 1H, CH, H-2), 4.82 – 4.68 (m, 4H, $2\times\text{CH}$ a $0.5\times\text{CH}_2$, H-12 a H-18), 4.60 (d, $J = 11.5$ Hz, 1H, $0.5\times\text{CH}_2$, H-12), 4.54 (dd, $J = 6.2, 2.5$ Hz, 1H, CH, H-4), 4.34 (ddd, $J = 18.5, 6.9, 3.8$ Hz, 1H, CH, H-3), 3.91 (dd, $J = 11.3, 2.0$ Hz, 1H, $0.5\times\text{CH}_2$, H-5), 3.81 – 3.76 (m, 3H, $1.5\times\text{CH}_2$, H-5 a H-17), 1.33 (m, 12H, $4\times\text{CH}_3$, H-19) ppm.

^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3 , **12a**): $\delta = 162.05, 154.70, 148.13$ (d, $J = 224.5$ Hz, C-8), 136.64 (C-13), 128.85($2\times\text{C}$, C-15), 128.63 (C-16), 128.10 ($2\times\text{C}$, C-14), 115.53 (d, $J = 55.9$ Hz, C-9), 87.60 (d, $J = 198.3$ Hz, C-2), 87.27 (d, $J = 15.9$ Hz, C-1), 82.70 (C-4), 76.68 (d, $J = 15.9$ Hz, C-3), 73.39 (C-12), 71.76 – 71.28 (m, $3\times\text{C}$, C-5 a C-18), 66.71 (d, $J = 168.2$ Hz, C-17), 24.47 – 23.93 (m, $4\times\text{C}$, C-19) ppm.

^{19}F NMR (376 MHz, CDCl_3 , **12a**): $\delta = -105.31$ (d, $J = 5.8$ Hz, T-705), -213.94 (dt, $J = 52.8, 16.7$ Hz) ppm.

^{31}P NMR (162 MHz, CDCl_3 , **12a**): $\delta = 18.53$ ppm.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , **12b**): $\delta = 9.11$ (s, 1H, $0.5\times\text{NH}_2$, H-11), 8.22 (d, $J = 5.5$ Hz, 1H, CH, H-8), 7.35 (m, 4H, $4\times\text{CH}$, H-14, H-15 a H-16), 6.32 (s, 1H, $0.5\times\text{NH}_2$, H-11), 6.25 (d, $J = 15.3$ Hz, 1H, CH, H-1), 5.04 (dd, $J = 51.3, 2.7$ Hz, 1H, CH, H-2), 4.82 – 4.68 (m, 3H, $0.5\times\text{CH}_2$ a $2\times\text{CH}$, H-12 a H-18), 4.57 (d, $J = 11.5$ Hz, 1H, $0.5\times\text{CH}_2$, H-12), 4.41 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H, CH, H-4), 4.24 – 4.09 (m, 2H, CH a $0.5\times\text{CH}_2$, H-3 a H-5), 3.84 – 3.80 (m, 1H, $0.5\times\text{CH}_2$, H-5), 3.78 (dd, $J = 7.6, 2.4$ Hz, 2H, CH_2 , H-17), 1.37 – 1.26 (m, 12H, $4\times\text{CH}_3$, H-19) ppm.

^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3 , **12b**): $\delta = 154.84, 136.79$ (C-13), 128.80 – 128.00 (m, $8\times\text{C}$, C-6, C-7, C-8, C-14, C-15 a C-16), 114.96 (C-9), 91.05 (d, $J = 193.9$ Hz, C-2), 90.08 (d, $J = 33.7$ Hz, C-1), 81.56 (C-4), 73.75 (d, $J = 16.4$ Hz, C-3), 73.20 (C-12), 71.72 – 71.43 (m, $2\times\text{C}$, C-18), 69.49 (d, $J = 8.0$ Hz, C-5), 66.34 (d, $J = 166.9$ Hz, C-17), 24.14 (q, $J = 4.7$ Hz, $4\times\text{C}$, C-19) ppm.

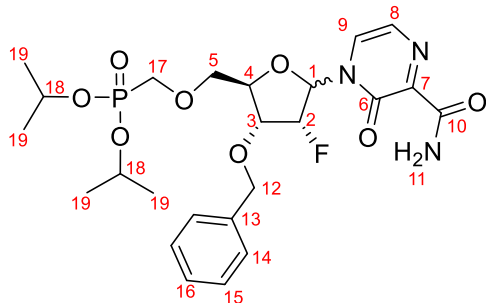
^{19}F NMR (376 MHz, CDCl_3 , **12b**): $\delta = -102.82$ (d, $J = 5.7$ Hz, T-705), -204.71 (ddd, $J = 51.4, 22.2, 15.5$ Hz) ppm.

^{31}P NMR (162 MHz, CDCl_3 , **12b**): $\delta = 18.42$ ppm.

Pro $[\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{F}_2\text{N}_3\text{O}_8\text{P}+\text{Na}]^+$ vypočteno Mr: 582.1787; ESI-HRMS: m/z 582.1785 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

IC̄ (KBr, **12b**): ν_{\max} = 3606, 3356, 3194, 3074, 3032, 2981, 2935, 2873, 2789, 1695, 1558, 1495, 1456, 1435, 1387, 1377, 1329, 1308, 1228, 1180, 1120, 1093, 993, 920, 906, 891, 827, 808, 754, 717, 700, 687, 638, 629, 615, 553, 542, 509, 482 cm^{-1} .

1-(2'-Deoxy-2'-fluor-5'-O-diisopropylfosfonomethyl-D-ribofuranosyl)-3-karbamoyl-2-oxopyrazin (**13**)



Báze T-1105 (53,3 mg; 0,38 mmol) byla zalita HMDS (1 ml). Směs byla zahřívána hodinu na 140 °C pod argonovou atmosférou. Následně bylo rozpouštědlo vakuově oddestilováno při 30 °C. Látka **11** (151,2 mg; 0,35 mmol) byla rozpuštěna v suchém DCE (3 ml) a přidána k destilačnímu zbytku. Postupně bylo přidáno SnCl_4 (0,80 ml; 0,80 mmol; 1M roztok v DCM). Směs byla míchána 24 hodin při 25 °C. Reakce byla monitorována na TLC ve směsi DCM/MeOH 20/1 (detekce D4 a D5). Reakční směs byla naředěna DCM (20 ml) a vytřepána nasyc. NaHCO_3 (20 ml). Vzniklá sraženina byla přefiltrována přes křemelinu. Filtrační koláč byl intenzivně promyt DCM (60 ml). Fáze ve filtrátu byly odděleny v dělicí nálevce a vodná byla extrahována DCM (2 × 20 ml). Spojené organické frakce byly vysušeny MgSO_4 . Sušidlo bylo odfiltrováno a filtrát byl odpařen na RVO při 40 °C. Odparek byl přečištěn pomocí flash chromatografie v gradientu DCM/MeOH 100/0 až 90/10. Frakce s produktem byly odpařeny na RVO při 40 °C. Odparek byl dosušen pomocí rotační olejové pumpy při 40 °C. Bylo získáno 92 mg směsi α/β anomerů v poměru 29/71 ve formě nažloutlého oleje ve výtěžku 48 %.

R_F = 0.39 (DCM/MeOH 20/1).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ = 9.10 (s, 1H), 0.5× NH_2 , **H-11 β**), 9.03 (s, 0.34H, 0.5× NH_2 , **H-11 β**), 8.36 (d, J = 4.0 Hz, 1H, CH, **H-8 β**), 7.91 (d, J = 3.6 Hz, 1H, CH, **H-9 β**), 7.77 (d, J = 3.9 Hz, 0.4H, CH, **H-8 α**), 7.72 (d, J = 4.0 Hz, 0.4H, **H-9 α**), 7.40 – 7.29 (m, 8.9H, 10×CH, **H-14**, **H-15** a **H-16**), 6.36 (dd, J = 16.4, 3.4 Hz, 0.4H, CH, **H-1 α**), 6.27 (d, J = 15.6 Hz, 1H, CH, **H-1 β**), 6.22 (s, 1.35H, 0.5× NH_2 , **H-11**), 5.38 (dt, J = 53.4, 3.6 Hz, 0.4H, CH, **H-2 α**), 5.02 (dd, J = 51.4, 3.5 Hz, 1H, CH, **H-2 β**), 4.81 – 4.68 (m, 3.2H, 4×CH a 0.5× CH_2 , **H-12 α** a **H-18**), 4.61 (dd, J = 78.5, 11.5 Hz, 2H, CH_2 , **H-12 β**), 4.60 (d, J = 11.5 Hz, 0.4H, 0.5× CH_2 , **H-12 α**), 4.40 (d, J = 8.9 Hz, 1H, CH, **H-4 β**), 4.37 – 4.25 (m, 0.8H, 2×CH, **H-3 α** a **H-4 α**), 4.18 – 4.05 (m, 3H, CH a CH_2 , **H-3 β** a **H-5 β**), 3.95 – 3.90 (m, 0.4H, 0.5× CH_2 , **H-5 α**), 3.82 – 3.71 (m, 3.2H, 2.5× CH_2 , **H-5 α** a **H-17**), 1.37 – 1.21 (m, 16.8H, 8× CH_3 , **H-19**) ppm.

^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3): $\delta = 163.19, 155.52$ (C-7 β), 143.50 (C-7 α), 136.78 (C-13), 129.08 – 127.74 (m, 12 \times C, C-8 β , C-9 α , C-14, C-15 a C-16), 126.05 (C-9 β), 124.75 (C-8 α), 91.15 (d, $J = 193.5$ Hz, C-2 β), 89.30 (d, $J = 34.0$ Hz, C-1 β), 87.45 (d, $J = 199.4$ Hz, C-2 α), 86.54 (d, $J = 13.8$ Hz, C-1 α), 82.28 (C-4 α), 81.08 (C-4 β), 76.63 (C-3 α), 73.79 (d, $J = 16.5$ Hz, C-3 β), 73.29 (C-12 α), 73.13 (C-12 β), 71.72 – 71.25 (m, 5 \times C, C-5 α a C-18), 69.75 (d, $J = 12.4$ Hz, C-5 β), 66.84 (d, $J = 167.9$ Hz, C-17 α), 66.24 (d, $J = 169.4$ Hz, C-17 β), 24.33 – 24.11 (m, 8 \times C, C-19) ppm.

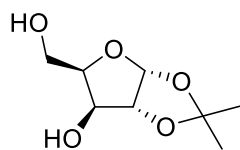
^{19}F NMR (376 MHz, CDCl_3): $\delta = -204.57$ (ddd, $J = 51.6, 23.4, 15.8$ Hz, β -anomer), -214.27 (dt, $J = 53.3, 19.0$ Hz, α -anomer) ppm.

^{31}P NMR (162 MHz, CDCl_3): $\delta = 18.58$ (α -anomer), 18.37 (β -anomer) ppm.

Pro $[\text{C}_{24}\text{H}_{33}\text{FN}_3\text{O}_8\text{P}+\text{H}]^+$ vypočteno Mr: 542.2062; ESI-MS: m/z 542.2062 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

5.4. Syntéza derivátů 3-deoxy-3-fluor-D-ribosy

1,2-*O*-Isopropyliden- α -D-xylofuranosa (14)



D-Xylosa (20,0 g; 133,22 mmol) byla smíchána se směsí acetonu (520 ml) a 96% H_2SO_4 (20 ml; 359,69 mmol). Vzniklá směs byla míchána 30 minut. Za externího chlazení na 0 °C byl postupně přidán vodný roztok (220 ml)

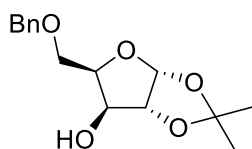
Na_2CO_3 (26 g, 245,12 mmol). Směs byla míchána 2,5 hodiny při 25 °C. Postupně byl přidán pevný Na_2CO_3 (14 g, 131,89 mmol). Směs byla přefiltrována a filtrát byl odpařen na RVO při 50 °C. Odparek (30,5 g) byl přečištěn na koloně (400 g silikagelu) s mobilní fází $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 20/1 a 9/1. Frakce s produktem byly odpařeny a odparek byl dosušen pomocí rotační olejové pumpy při 60 °C. Bylo získáno 19,6 g lehce nažloutlého oleje ve výtěžku 77 %, který později vykrytalizoval.

$R_F = 0.54$ ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 9/1).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 5.99$ (d, $J = 3.7$ Hz, 1H), 4.52 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H), 4.33 (s, 1H), 4.20–3.92 (m, 4H), 2.60 (s, 1H), 1.49 (s, 3H), 1.32 (s, 3H) ppm. Spektrum je shodné s literaturou.⁸⁰

Pro $[\text{C}_8\text{H}_{14}\text{O}_5+\text{Na}]^+$ vypočteno Mr: 213,074; ESI-MS: m/z 213 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

5-*O*-Benzyl-1,2-*O*-isopropyliden- α -D-xylofuranosa (**15a**)



Látka **14** (16,9 g; 88,9 mmol) byla smíchána s toluenem (300 ml). Byl přidán dibutylcín oxid (23,7 g; 93,3 mmol). Směs byla zahřívána 19 hodin na 140 °C v Dean-Starkově aparatuře pro odstranění vznikající vody.

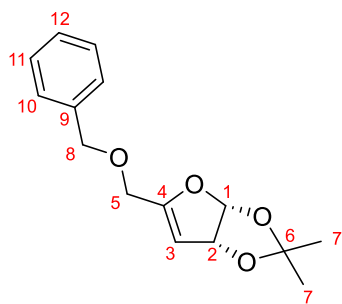
Toluen byl oddestilován. Směs byla vychlazena na 100 °C. Byl přidán TBAI (16,7 g; 44,4 mmol) a BnBr (16,1 ml; 133,28 mmol). Směs byla zahřívána na 110 °C. Reakce byla monitorována na TLC ve směsi CHCl₃/aceton 9/1 (detekce D1 a D4). Po 2 hodinách bylo ukončeno zahřívání a směs byla ponechána k vychladnutí na pokojovou teplotu. Byl přidán EtOAc (300 ml) a nasyc. NaHCO₃ (300 ml) směs byla intenzivně míchána 1 hodinu. Vzniklá sraženina byla odfiltrována. Fáze byly rozděleny a organická fáze byla vytřepána s nasyc. NaCl (300 ml). Organická frakce byla odpařena na RVO při 40 °C. Odparek (30,3 g) byl přečištěn na koloně (500 g silikagelu) ve směsi CHCl₃/aceton 10/1. Frakce s produktem byly odpařeny a odparek byl dosušen pomocí rotační olejové pumpy při 60 °C. Bylo získáno 15,5 g nažloutlého oleje ve výtěžku 62 %, který později vykrytalizoval.

$R_F = 0.63$ (CHCl₃/aceton 9/1).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): $\delta = 7.39 - 7.27$ (m, 5H), 5.98 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H), 4.68 – 4.55 (m, 2H), 4.51 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H), 4.29 (t, $J = 3.0$ Hz, 1H), 4.25 (q, $J = 3.7$ Hz, 1H), 3.98 – 3.89 (m, 2H), 3.59 (d, $J = 3.3$ Hz, 1H), 1.48 (s, 3H), 1.32 (s, 3H) ppm. Spektrum je shodné s literaturou.⁸³

Pro [C₁₅H₂₀O₅+Na]⁺ vypočteno Mr: 303.121; ESI-MS: m/z 303 [M+Na]⁺.

5-*O*-Benzyl-3-deoxy-1,2-*O*-isopropyliden- α -D-glyceropent-3-enofuranosa (**16**) – pokusy o přípravu 5-*O*-benzyl-3-deoxy-3-fluor-1,2-*O*-isopropyliden- α -D-xylofuranosy (**17**)



a) Látka **15a** (18,4 mg; 0,07 mmol) byla rozpuštěna suchém DCM (0,5 ml) pod argonovou atmosférou. Byl přidán suchý pyridin (0,106 ml; 1,31 mmol) a směs byla vychlazena na -40 °C. Následně byl přikapán DAST (37 μ l; 0,26 mmol) a směs byla hodinu míchána při -40 °C. Chlazení bylo odebráno a reakce byla míchána přes noc při 25 °C. Reakce byla monitorována na TLC ve

směsi hexan/EtOAc 6/4 (detekce D1). Reakční směs byla postupně přikapána do nasyc. NaHCO₃ (0,5 ml), který byl vychlazena na 0 °C. Fáze byly odděleny a organická byla odpařena na RVO při 40 °C. Odparek (0,1036 g) byl adsorbován na silikagel (0,5 g) a přečištěn na koloně (10 g silikagelu) ve směsi hexan/EtOAc 9/1. Frakce s produktem byly odpařeny a odparek byl

dosušen pomocí rotační olejové pumpy při 60 °C. Bylo získáno 10,9 mg lehce nažloutlého oleje ve výtěžku 59 %.

b) Látka **15a** (20,3 mg; 0,07 mmol) byla rozpuštěna v suchém DCM (0,5 ml) pod argonovou atmosférou. Byl přidán suchý pyridin (23 μ l; 0,29 mmol) a vzniklá směs byla vychlazena na 0 °C. Následně byl přikapán anhydrid kyseliny trifluormethansulfonové (16 μ l; 0,09 mmol) a směs byla míchána 15 minut při 0 °C. Reakce byla monitorována na TLC ve směsi hexan/EtOAc 1/1 (detekce D1, D3 a D4). Následně byla přidána voda (0,5 ml). Fáze byly odděleny a organická byla odpařena na RVO při 40 °C. Odparek byl dosušen pomocí rotační olejové pumpy při 40 °C během 1 hodiny. Následně byl rozpuštěn v suchém THF (0,5 ml) pod argonovou atmosférou a směs byla vychlazena na 0 °C. Během 10 minut byl přikapán TBAF (0,36 ml; 0,36 mmol; 1M roztok v THF). Reakce byla hodinu míchána při 0 °C a následně 4 hodiny při 25 °C. Průběh reakce byl sledován na TLC ve směsi hexan/EtOAc 8/2 (detekce D1, D3 a D4). Reakční směs byla odpařena na RVO při 25 °C. Odparek byl adsorbován na silikagel (0,6 g) a přečištěn na koloně (5 g silikagelu) ve směsi hexan/EtOAc 9/1. Frakce s produktem byly odpařeny při 40 °C a odparek byl dosušen pomocí rotační olejové pumpy při 60 °C. Bylo připraveno 12 mg lehce nažloutlého oleje ve výtěžku 59 %.

c) Látka **15a** (15,0 mg; 0,05 mmol) byla rozpuštěna v suchém DCM (0,5 ml) pod argonovou atmosférou. Byl přidán suchý pyridin (17 μ l; 0,21 mmol) a roztok byl vychlazen na 0 °C. Následně byl přikapán Tf₂O (12 μ l; 0,07 mmol) a vzniklá směs byla míchána 15 minut při 0 °C. Reakce byla monitorována na TLC ve směsi hexan/EtOAc 1/1 (detekce D1, D3 a D4). Následně byla přidána voda (0,5 ml). Fáze byly odděleny a organická byla odpařena na RVO při 40 °C. Odparek byl dosušen pomocí rotační olejové pumpy při 40 °C během 1 hodiny. Odparek byl rozpuštěn v toluenu (0,2 ml). Následně byl přidán 18-crown-6 (28,3 mg; 0,11 mmol) a fluorid draselný (44,4 mg; 0,54 mmol). Směs byla míchána při 25 °C 12 hodin. Reakce byla sledována na TLC ve směsi hexan/EtOAc 8/2 (detekce D1 a D4). Podle TLC reakce ještě úplně nedoreagovala, ale ve směsi již vznikl ve velkém množství eliminační produkt. Reakce byla ukončena a nebyla dále zpracována.

d) Látka **15a** (12,1 mg; 0,03 mmol) byla rozpuštěna v suchém DCM (0,5 ml) pod argonovou atmosférou. Byl přidán suchý pyridin (14 μ l; 0,17 mmol) a roztok byl vychlazen na 0 °C. Následně byl přikapán Tf₂O (9 μ l; 0,06 mmol) a vzniklá směs byla míchána 15 minut při 0 °C. Reakce byla monitorována na TLC ve směsi hexan/EtOAc 1/1 (detekce D1, D3 a D4). Následně byla přidána voda (0,5 ml). Fáze byly odděleny a organická byla odpařena na RVO při 40 °C. Odparek byl dosušen pomocí rotační olejové pumpy při 40 °C během 1 hodiny. Odparek byl

pak rozpuštěn v suchém THF (0,2 ml) pod argonovou atmosférou. Následně byl přidán 18-crown-6 (15,5 mg; 0,06 mmol) a KHF_2 (4,6 mg; 0,06 mmol). Vzniklá směs byla míchána 1 hodinu při 25 °C. Následně byla teplota zvýšena na 2 hodiny na 40 °C. Poté přes noc na 60 °C. Reakce byla sledována na TLC ve směsi hexan/EtOAc 8/2 (detekce D1 a D4). Podle TLC docházelo k eliminaci. Reakce byla ukončena a nebyla dále zpracována.

e) Látka **15a** (152,8 mg; 0,55 mmol) byla rozpuštěna v toluenu (0,5 ml). K roztoku byl přidán PyFluor (123 mg; 0,76 mmol) a DBU (0,17 ml; 1,09 mmol). Reakční směs byla míchána přes noc při 25 °C. Reakce byla sledována na TLC ve směsi hexan/EtOAc 1/1 (detekce D1 a D4). Protože nedocházelo k žádné reakci, reakční směs byla zahřívána na 60 °C 2 hodiny. Stále nedocházelo k žádné reakci, tak byla směs zahřáta na 80 °C na 2 hodiny a pak na 120 °C přes noc. Následně byla reakční směs odpařena na RVO při 40 °C. Odparek byl adsorbován na silikagel (2,25 g) a přečištěn na koloně (10 g silikagelu) ve směsi hexan/EtOAc 8/2. Frakce s produktem byly odpařeny a odparek byl dosušen pomocí rotační olejové pumpy při 60 °C. Bylo připraveno 103,6 mg lehce nažloutlého oleje ve výtěžku 67 %.

$R_F = 0.55$ (hexan/EtOAc 8/2).

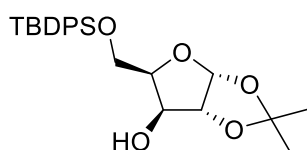
$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.38 - 7.27$ (m, 5H, $5 \times \text{CH}$, **H-10**, **H-11** a **H-12**), 6.09 (d, $J = 5.3$ Hz, 1H, CH, **H-1**), 5.32 – 5.29 (m, 1H, CH, **H-2**), 5.23 (dt, $J = 2.2, 1.0$ Hz, 1H, CH, **H-3**), 4.59 (s, 2H, CH_2 , **H-8**), 4.05 (t, $J = 1.0$ Hz, 2H, CH_2 , **H-5**), 1.48 (s, 3H, CH_3 , **H-7**), 1.45 (s, 3H, CH_3 , **H-7**) ppm.

$^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ 158.86 (**C-4**), 137.68 (**C-9**), 128.59 ($2 \times \text{C}$, **C-11**), 127.99 (**C-12**), 127.92 ($2 \times \text{C}$, **C-10**), 112.31 (**C-6**), 106.51 (**C-1**), 100.03 (**C-3**), 83.63 (**C-2**), 73.20 (**C-8**), 64.98 (**C-5**), 28.27 (**C-7**), 27.98 (**C-7**) ppm.

IČ (KBr): $\nu_{\text{max}} = 3111, 3087, 3062, 3030, 2989, 2937, 2860, 2810, 2762, 2629, 1955, 1873, 1815, 1724, 1668, 1604, 1585, 1496, 1412, 1383, 1373, 1319, 1250, 1211, 1182, 1157, 1078, 1045, 1007, 951, 924, 897, 850, 823, 739, 698, 669, 606, 577, 559, 538, 503, 469 \text{ cm}^{-1}$.

Pro $[\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{O}_4 + \text{H}]^+$ vypočteno M_r : 263.1278; ESI-HRMS: m/z 263.1270 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

5-*O*-(*tert*-Butyldifenylsilyl)-1,2-*O*-isopropyliden- α -D-xylofuranosa (**18**)



Směs látky **14** (2,12 g; 11,19 mmol) a imidazolu (1,92 g; 27,96 mmol) byla rozpuštěna v suchém DMF (50 ml) pod argonovou atmosférou. Postupně byl přikapán TBDPSCl (3,85 ml; 14,54 mmol).

Vzniklá směs byla míchána 2 hodiny při 25 °C. Reakce byla monitorována na TLC ve směsi

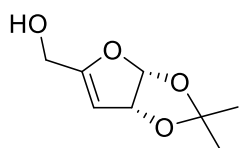
hexan/EtOAc 10/1 (detekce D1 a D4). Poté byla reakční směs nalita do směsi drceného ledu a vody. Byl přidán EtOAc (100 ml) a fáze byly odděleny. Organická fáze byla postupně vytřepána nasyc. NH₄Cl (100 ml), nasyc. NaHCO₃ (100 ml) a nasyc. NaCl (100 ml). Organická frakce byla vysušena Na₂SO₄. Sušidlo bylo odfiltrováno a filtrát byl odpařen na RVO při 40 °C. Odparek (6,35 g) byl adsorbován na silikagel (30 g) a přečištěn na koloně (120 g silikagelu) ve směsi hexan/EtOAc 7/3. Frakce s produktem byly odpařeny a odparek byl dosušen pomocí rotační olejové pumpy při 60 °C. Bylo získáno 4,6 g lehce nažloutlého oleje ve výtěžku 96 %.

$R_F = 0.14$ (hexan/EtOAc 10/1).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): $\delta = 7.72$ (dt, $J = 6.5, 1.6$ Hz, 2H), 7.69 – 7.66 (m, 2H), 7.48 – 7.37 (m, 6H), 6.01 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H), 4.55 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H), 4.37 (t, $J = 2.6$ Hz, 1H), 4.16 – 4.09 (m, 3H), 4.04 (d, $J = 3.2$ Hz, 1H), 1.47 (s, 3H), 1.33 (s, 3H), 1.05 (s, 9H). Spektrum je shodné s literaturou.⁸⁵

Pro [C₂₄H₃₂O₅Si+Na]⁺ vypočteno Mr: 451.192; ESI-MS: m/z 451 [M+Na]⁺.

3-Deoxy-1,2-O-isopropyliden- α -D-glyceropent-3-enofuranosa (19) – pokus o přípravu 3-deoxy-3-fluor-1,2-O-isopropyliden- α -D-xylofuranosy (20)



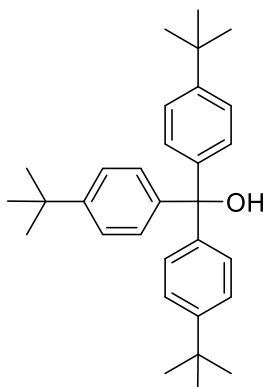
Látka **18** (49,9 mg; 0,12 mmol) byla rozpuštěna v suchém DCM (0,5 ml) pod argonovou atmosférou. Byl přidán suchý pyridin (38 μ l; 0,47 mmol) a vzniklá směs byla vychlazena na 0 °C. Postupně byl přikapán Tf₂O (25 μ l; 0,15 mmol). Směs byla míchána 15 minut při 0 °C. Reakce byla monitorována na TLC ve směsi hexan/EtOAc 8/2 (detekce D1, D3 a D4). Byla přidána voda (0,5 ml) pro přerušování reakce. Fáze byly odděleny a organická byla odpařena na RVO při 30 °C. Odparek byl dosušen pomocí rotační olejové pumpy při 25 °C během 1 hodiny. Následně byl rozpuštěn v suchém THF (0,5 ml) a vzniklá směs byla vychlazena na 0 °C. Ke směsi bylo postupně přikapáno TBAF (0,58 ml; 0,58 mmol; 1M roztok v THF). Poté byla směs hodinu míchána při 0 °C a pak hodinu při 25 °C. Reakce byla sledována na TLC ve směsi hexan/EtOAc 8/2 a 1/1 (detekce D1, D3 a D4). Reakční směs byla odpařena na RVO při 30 °C. Odparek (205 mg) byl adsorbován na silikagel (1 g) a přečištěn na koloně (5 g silikagelu). Frakce s produktem byly odpařeny při 40 °C. Bylo získáno 9,5 mg lehce nažloutlého oleje ve výtěžku 42 %.

$R_F = 0.66$ (hexan/EtOAc 1/1).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): $\delta = 6.09$ (d, $J = 5.2$ Hz, 1H), 5.33 – 5.28 (m, 1H), 5.19 (dt, $J = 2.2, 1.0$ Hz, 1H), 4.18 (s, 2H), 1.78 (s, 1H), 1.47 (s, 3H), 1.44 (s, 3H). Spektrum je shodné s literaturou.⁹²

5.4.1. Syntéza supertritylové chránící skupiny

Tris(4-*tert*-butylphenyl)methanol (**21**)

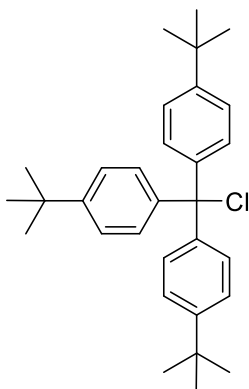


1-Brom-4-*tert*-butylbenzen (2,27 ml; 12,70 mmol) byl rozpuštěn v THF (30 ml, čerstvě nadestilované) pod argonovou atmosférou. Roztok byl vychlazen na -78 °C. Během 10 minut bylo přikapáno nBuLi (5,08 ml; 12,70 mmol; 2,5M roztok v toluenu). Vzniklá směs byla míchána 45 minut. Následně byl přikapán diethylkarbonát (0,52 ml; 4,23 mmol) a směs byla míchána 15 minut při -78 °C. Poté byla odebrána chladicí lázeň a reakční směs byla míchána přes noc při 25 °C. Do reakční směsi byla přidána 1M HCl (30 ml) a směs byla míchána 30 minut. Následně byla extrahována Et₂O (60 ml). Vodná frakce byla znovu extrahována Et₂O (30 ml). Spojené etherové frakce byly vytřepány s nasyc. NaHCO₃ (30 ml), vodou (30ml) a nasyc. NaCl (30 ml). Organická frakce byla vysušena MgSO₄. Sušidlo bylo odfiltrováno a filtrát byl odpařen na RVO při 30 °C. Odparek byl vysrážen ledovým hexanem (2 × 15 ml). Vzniklá sraženina byla odfiltrována a vysušena pomocí rotační olejové pumpy při 60 °C. Bylo získáno 1,26 g bílého prášku ve výtěžku 69 %.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 7.34 – 7.29 (m, 6H), 7.22 – 7.16 (m, 6H), 2.72 (s, 1H), 1.31 (s, 27H) ppm. Spektrum je shodné s literaturou.⁸⁷

Pro [C₃₁H₄₀O+Na]⁺ vypočteno Mr: 451.298; ESI-MS: m/z 451 [M+Na]⁺ a 483 [M+Na+CH₃OH]⁺.

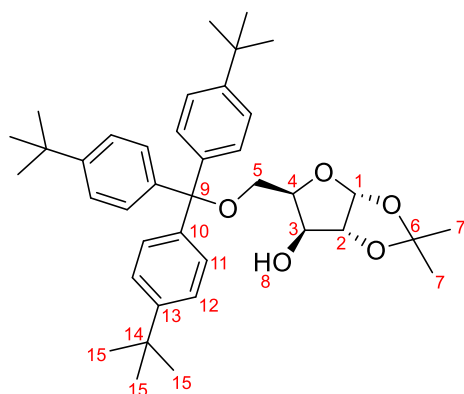
Tris(4-*tert*-butylphenyl)methyl chlorid (**22**)



Látka **21** (1,26 g; 2,94 mmol) byla rozpuštěna v suchém toluenu (8 ml) pod argonovou atmosférou. Následně byl přidán čerstvě nadestilovaný acetyl chlorid (2,1 ml; 29,36 mmol). Vzniklá směs byla zahřívána na 130 °C 24 hodin. Po vychladnutí směsi na laboratorní teplotu byl přidán hexan (10 ml) a baňka byla umístěna do lednice na 24 hodin. Vzniklý precipitát byl odfiltrován a dosušen pomocí rotační olejové pumpy při 60 °C. Bylo připraveno 1,09 g béžového prášku ve výtěžku 83 %.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 7.33 – 7.28 (m, 1H), 7.18 – 7.14 (m, 1H), 1.33 (s, 5H) ppm. Spektrum je shodné s literaturou.⁸⁷

1,2-*O*-Isopropyliden-5-*O*-tris(4-*tert*-butylfenyl)methyl- α -D-xylofuranosa (23)



Látky **14** (127,2 mg; 0,67 mmol) a **22** (328,9 mg; 0,74 mmol) byly zalaty suchým pyridinem (2 ml) pod argonovou atmosférou. Vzniklá suspenze byla zahřáta na 60 °C, aby došlo k jejímu rozpuštění. Roztok byl následně zahříván 3 hodiny. Reakce byla sledována na TLC ve směsi hexan/EtOAc 7/3 (detekce D1 a D4). Reakční směs byla naředěna Et₂O (10 ml) a vytřepána postupně s 1M HCl (2 × 10 ml), nasyc. NaHCO₃ (10 ml)

a nasyc. NaCl (10 ml). Etherová frakce byla vysušena Na₂CO₃. Sušidlo bylo odfiltrováno a filtrát byl odpařen na RVO při 40 °C. Odparek byl přečištěn na koloně (10 g silikagelu) v CHCl₃. Frakce s produktem byly odpařeny a odparek byl dosušen pomocí rotační olejové pumpy při 60 °C. Bylo získáno 226,5 mg bílého prášku ve výtěžku 56 %.

$R_F = 0.80$ (hexan/EtOAc 7/3).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): $\delta = 7.41 - 7.27$ (m, 12H, 12×CH, **H-11** a **H-12**), 6.02 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H, CH, **H-1**), 4.54 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H, CH, **H-2**), 4.27 (dq, $J = 11.5, 2.8$ Hz, 2H, 2×CH, **H-3** a **H-4**), 3.63 – 3.42 (m, 3H, CH₂ a OH, **H-5** a **H-8**), 1.48 (s, 3H, CH₃, **H-7**), 1.33 (s, 3H, CH₃, **H-7**), 1.30 (s, 27H, 9×CH₃, **H-15**) ppm.

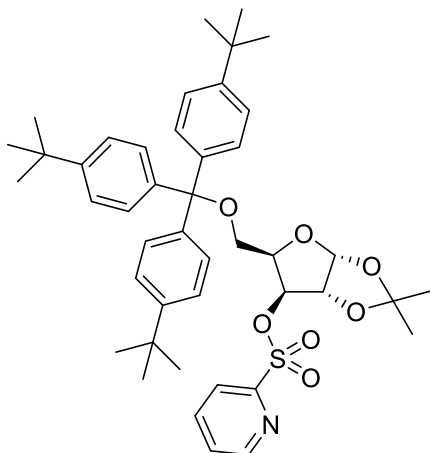
¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 149.94 (3×C, **C-13**), 140.54 (3×C, **C-10**), 128.31 (6×C, **C-11** nebo **C-12**), 124.94 (6×C, **C-11** nebo **C-12**), 111.61 (**C-6**), 105.14 (**C-1**), 87.31 (**C-9**), 85.32 (**C-2**), 78.59 (**C-3**), 76.58 (**C-4**), 61.87 (**C-5**), 34.58 (3×C, **C-14**), 31.48 (9×C, **C-15**), 26.96 (**C-7**), 26.33 (**C-7**) ppm.

Pro [C₃₉H₅₂O₅+Na]⁺ vypočteno Mr: 623.3712; ESI-HRMS: m/z 623.3713 [M+Na]⁺.

IČ (KBr): $\nu_{\max} = 3446, 3091, 3034, 2956, 2899, 2863, 1509, 1455, 1401, 1359, 1269, 1213, 1162, 1108, 1075, 1015, 1006, 923, 887, 863, 845, 824, 755, 704, 588$ cm⁻¹.

$[\alpha]_D^{25} = +17.3^\circ$ (c = 0.075 mg, CHCl₃).

1,2-*O*-Isopropyliden-3-*O*-(pyridin-2-ylsulfonyl)-5-*O*-tris(4-*tert*-butylfenyl)methyl- α -D-xylofuranosa (24)

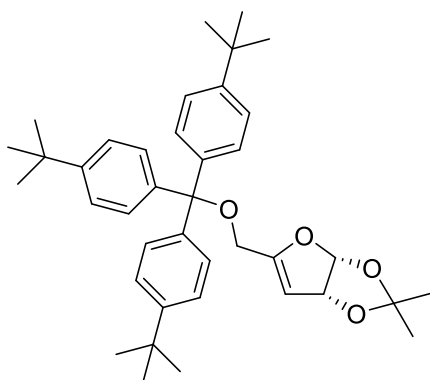


Látka **23** (13,4 mg; 0,02 mmol) a PyFluor (5,0 mg; 0,03 mmol) byla rozpuštěna v toluenu (0,3 ml). Bylo přidáno DBU (7 μ l; 0,04 mmol). Vzniklá směs byla míchána 48 hodin při 60 °C. Reakce byla monitorována na TLC ve směsi hexan/EtOAc 9/1 (detekce D1 a D4). Reakční směs byla odpařena na RVO při 40 °C. Odparek byl adsorbován na silikagel (0,14 g) a přečištěn na koloně (0,7 g silikagelu). Frakce s produktem byly odpařeny a odparek byl dosušen pomocí rotační olejové pumpy při 60 °C. Bylo získáno 16 mg žlutého oleje ve výtěžku 96 %.

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 8.45 (ddd, J = 4.7, 1.7, 0.8 Hz, 1H), 7.95 (dt, J = 7.9, 1.0 Hz, 1H), 7.83 (td, J = 7.8, 1.7 Hz, 1H), 7.41 (ddd, J = 7.7, 4.7, 1.1 Hz, 1H), 7.28 – 7.19 (m, 15H), 5.91 (d, J = 3.8 Hz, 1H), 5.22 (d, J = 2.9 Hz, 1H), 4.84 (d, J = 3.8 Hz, 1H), 4.26 (td, J = 5.8, 2.9 Hz, 1H), 3.35 (ddd, J = 71.6, 10.4, 5.9 Hz, 2H), 1.48 (s, 3H), 1.31 (s, 27H), 1.26 (s, 3H).

Pro $[\text{C}_{44}\text{H}_{55}\text{NO}_7\text{S}+\text{H}+\text{Na}]^+$ vypočteno Mr: 765.367; ESI-MS: m/z 765 $[\text{M}+\text{H}+\text{Na}]^+$.

1,2-*O*-Isopropyliden-5-*O*-tris(4-*tert*-butylfenyl)methyl- α -D-glyceropent-3-enofuranosa (25)



a) Látka **24** (18,6 mg; 0,03 mmol) byla rozpuštěna v toluenu (0,3 ml). Byl přidán PyFluor (7 mg; 0,04 mmol) a DBU (9 μ l; 0,06 mmol). Směs byla zahřívána 15 hodin na 130 °C. Reakce byla monitorována pomocí TLC ve směsi hexan/EtOAc 7/3 (detekce D1 a D4). Pomocí ESI-MS bylo zjištěno, že vzniká pouze eliminační produkt a reakce nebyla dále zpracována.

b) Látka **24** (20,2 mg; 0,03 mmol) byla rozpuštěna v suchém DCM (0,5 ml) pod argonovou atmosférou. Byl přidán suchý pyridin (11 μ l; 0,13 mmol) a vzniklá směs byla vychlazena na 0 °C. Následně byl přikapán anhydrid kyseliny trifluormethansulfonové (7 μ l; 0,04 mmol) a směs byla míchána 15 minut při 0 °C. Reakce byla monitorována na TLC ve směsi hexan/EtOAc 7/3 (detekce D1, D3 a D4). Následně byla přidána voda (0,5 ml). Fáze byly odděleny a organika byla odpařena na RVO při 40 °C. Odparek byl dosušen pomocí rotační

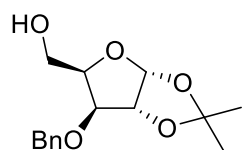
olejové pumpy při 40 °C během 1 hodiny. Následně byl rozpuštěn v suchém THF (0,5 ml) pod argonovou atmosférou a směs byla vychlazena na 0 °C. Během 10 minut byl přikapán TBAF (0,168 ml; 0,168 mmol; 1M roztok v THF). Reakce byla hodinu míchána při 0 °C a následně 12 hodin při 25 °C. Podle TLC nedocházelo k žádné reakci. Směs byla zahřívána 3 hodiny na 60 °C a poté 20 hodin na 100 °C. Následně byla reakční směs odpařena při 40 °C. Odparek byl přečištěn na koloně (2 g silikagelu) v DCM. Frakce s produktem byly odpařeny při 40 °C. Odparek byl dosušen pomocí rotační olejové pumpy při 60 °C. Bylo získáno 13 mg bezbarvého oleje ve výtěžku 66 %.

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.37 - 7.27$ (m, 12H), 6.05 (d, $J = 5.2$ Hz, 1H), 5.38 (dt, $J = 2.3, 1.2$ Hz, 1H), 5.33 (dq, $J = 3.7, 1.1$ Hz, 1H), 3.66 – 3.60 (m, 2H), 1.51 (s, 3H), 1.46 (s, 3H), 1.30 (s, 27H) ppm.

Pro $[\text{C}_{39}\text{H}_{50}\text{O}_4 + \text{Na}]^+$ vypočteno Mr: 605.360; ESI-MS: m/z 605 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

5.5. Syntéza derivátů 5-deoxy-5-fluor-D-xylosy

3-*O*-Benzyl-1,2-*O*-isopropyliden- α -D-xylofuranosa (15b)



NaH (2,14 g; 53,41 mmol; 60% disperze v minerálním oleji) byl zalit suchým THF (120 ml) pod argonovou atmosférou. Vzniklá směs byla vychlazena na -78 °C. Látka **11** (9,23 g; 48,55 mmol) byla rozpuštěna v suchém THF (100 ml) a postupně přikapána k suspenzi hydridu. Následně byl přidán TBAI (9,15 g; 24,28 mmol) a během 10 minut byl přikapán BnBr (6,5 ml; 53,41 mmol). Vzniklá směs byla míchána 10 minut při -78 °C. Směs byla volně ohřáta na 25 °C a míchána 5 hodin. Reakce byla monitorována na TLC ve směsi DCM/MeOH 9/1 (detekce D1). Poté byla vychlazena na 0 °C. Pomalu byl přidán nasyc. NH_4Cl (50 ml) a směs byla míchána 15 minut. Následně byla přidána voda (100 ml) a směs byla extrahována EtOAc (3×150 ml). Organická frakce byla vysušena MgSO_4 , sušidlo bylo odfiltrováno a filtrát byl odpařen na RVO při 40 °C. Odparek (25 g) byl adsorbován na silikagel (125 g) a přečištěn na koloně (400 g silikagelu) ve směsi hexan/EtOAc 3/2. Frakce s produktem byly odpařeny na RVO při 40 °C a odparek byl dosušen pomocí rotační olejové pumpy při 60 °C. Bylo získáno 5,45 g bezbarvého oleje ve výtěžku 40 %, který později vykrytalizoval.

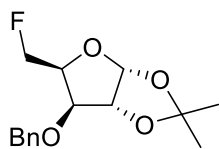
$R_F = 0.57$ (hexan/EtOAc 9/1).

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.40 - 7.28$ (m, 5H), 5.99 (d, $J = 3.9$ Hz, 1H), 4.72 (d, $J = 12.0$ Hz, 1H), 4.64 (d, $J = 3.9$ Hz, 1H), 4.49 (d, $J = 12.0$ Hz, 1H), 4.28 (q, $J = 4.9$ Hz, 1H), 4.02

(d, $J = 3.5$ Hz, 1H), 3.99 – 3.91 (m, 1H), 3.91 – 3.80 (m, 1H), 2.17 (s, 1H), 1.49 (s, 3H), 1.33 (s, 3H) ppm. Spektrum je shodné s literaturou.⁹³

Pro $[C_{15}H_{20}O_5+Na]^+$ vypočteno Mr: 303.121; ESI-MS: m/z 303 $[M+Na]^+$.

3-*O*-Benzyl-5-deoxy-5-fluor-1,2-*O*-isopropyliden- α -D-xylofuranosa (26)



Látka **15b** (2,80 g; 9,99 mmol) byla rozpuštěna v suchém DCM (50 ml) pod argonovou atmosférou. Byl přidán suchý pyridin (3,22 ml; 39,94 mmol). Směs byla vychlazená na 0 °C. Postupně byl přikapán Tf_2O (2,18 ml; 12,98 mmol). Směs byla míchána 15 minut při 0 °C. Reakce byla sledována na TLC ve směsi hexan/EtOAc 3/2 (detekce D1 a D4). Do reakční směsi byla přidána voda (10 ml). Fáze byly odděleny a organická byla odpařena na RVO při 30 °C. Odparek byl dosušen na rotační olejové pumpě při 30 °C během 1 hodiny. Následně byl rozpuštěn v suchém THF (50 ml) pod argonovou atmosférou. Roztok byl vychlazen na 0 °C. Postupně byl přikapán TBAF (49,9 ml; 49,93 mmol; 1M roztok v THF) během 30 minut. Poté byla směs volně ohřáta na 25 °C a míchána 17 hodin. Reakční směs byla odpařena na RVO při 30 °C. Odparek (37 g) byl adsorbován na silikagel (150 g) a přečištěn na koloně (400 g silikagelu) ve směsi hexan/EtOAc 8/2. Frakce s produktem byly odpařeny na RVO při 40 °C. Odparek byl dosušen na pomoci rotační olejové pumpy při 60 °C. Bylo získáno 0,983 g nažloutlého oleje ve výtěžku 35 %.

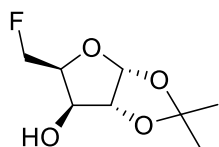
$R_F = 0.54$ (hexan/EtOAc 8/2).

1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 7.40 - 7.28$ (m, 5H), 5.96 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H), 4.72 – 4.43 (m, 6H), 4.02 (d, $J = 3.4$ Hz, 1H), 1.50 (s, 3H), 1.33 (s, 3H) ppm. Spektrum je shodné s literaturou.⁹⁴

^{19}F NMR (376 MHz, $CDCl_3$): $\delta = -231.33$ (dd, $J = 46.9, 14.1$ Hz).

Pro $[C_{15}H_{19}FO_4+Na]^+$ vypočteno Mr: 305.117; ESI-MS: m/z 305 $[M+Na]^+$.

5-Deoxy-5-fluor-1,2-*O*-isopropyliden- α -D-xylofuranosa (27)



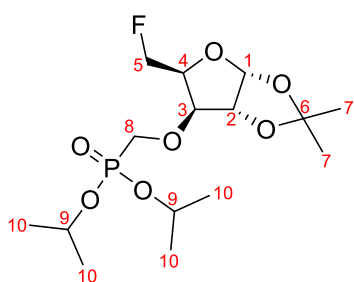
Látka **26** (927,1 mg; 3,28 mmol) byla rozpuštěna v EtOH (20 ml). Bylo přidáno 10% Pd/C (93 mg; 0,09 mmol). Směs byla hydrogenována H_2 z balonku po dobu 12 hodin. Reakce byla monitorována na TLC ve směsi hexan/EtOAc 8/2 (detekce D1 a D4). Katalyzátor byl odfiltrován a promyt EtOH (150 ml). Filtrát byl odpařen na RVO při 50 °C. Odparek (0,65 g) byl adsorbován na silikagel (3,2 g) a přečištěn na koloně (15 g silikagelu) ve směsi hexan/EtOAc 6/4. Frakce s produktem byly odpařeny na RVO při 40 °C. Odparek byl dosušen pomocí rotační olejové pumpy při 60 °C. Bylo získáno 504,6 mg bezbarvého oleje ve výtěžku 80 %, který později vykrytalizoval.

$R_F = 0.57$ (hexan/EtOAc 6/4).

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 5.97$ (d, $J = 3.6$ Hz, 1H), 4.72 (dddd, $J = 46.7, 18.6, 10.0, 5.2$ Hz, 2H), 4.52 (dd, $J = 3.6, 1.3$ Hz, 1H), 4.39 (dtd, $J = 16.5, 5.2, 2.9$ Hz, 1H), 4.32 (d, $J = 2.9$ Hz, 1H), 2.07 (s, 1H), 1.50 (s, 3H), 1.32 (s, 3H) ppm. Spektrum je shodné s literaturou.⁹⁵

Pro $[\text{C}_8\text{H}_{13}\text{FO}_4+\text{Na}]^+$ vypočteno Mr: 215.070; ESI-MS: m/z 215 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

5-Deoxy-5-fluor-3-*O*-diisopropylfosfonomethyl-1,2-*O*-isopropyliden- α -D-xylofuranosa (28)



Látky **27** (480 mg; 2,50 mmol) a **3** (984 mg; 3 mmol) byly rozpuštěny v suchém THF (10 ml) pod argonovou atmosférou. Směs byla vychlazena na 0 °C. Postupně byl přidán NaH (120 mg; 3,00 mmol; 60% disperze v minerálním oleji). Vzniklá směs byla míchána 1 hodinu při 0 °C. Reakce byla monitorována pomocí TLC ve směsi hexan/EtOAc 1/1 (detekce D5). Opatrně

byla přidána voda (20 ml) a směs byla extrahována CHCl_3 (3 \times 20 ml). Spojené organické frakce byly vysušeny Na_2CO_3 . Sušidlo bylo odfiltrováno a filtrát byl odpařen na RVO při 40 °C. Odparek (1,16 g) byl přečištěn na koloně (23 g silikagelu) ve směsi hexan/EtOAc 1/4. Frakce s produktem byly odpařeny na RVO při 40 °C. Odparek byl dosušen pomocí rotační olejové pumpy při 60 °C. Bylo získáno 882 mg žlutého oleje ve výtěžku 95 %.

$R_F = 0.51$ (hexan/EtOAc 1/4).

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 5.92$ (d, $J = 3.7$ Hz, 1H, CH, **H-1**), 4.78 – 4.43 (m, 6H, 4 \times CH a CH_2 , **H-2**, **H-4**, **H-5** a **H-9**), 4.06 (d, $J = 3.3$ Hz, 1H, CH, **H-3**), 3.78 (ddd, $J = 39.2, 13.8, 9.1$ Hz, 2H, CH_2 , **H-8**), 1.49 (s, 3H, CH_3 , **H-7**), 1.34 (s, 3H, CH_3 , **H-7**), 1.33 – 1.30 (m, 12H, 4 \times CH_3 , **H-10**) ppm.

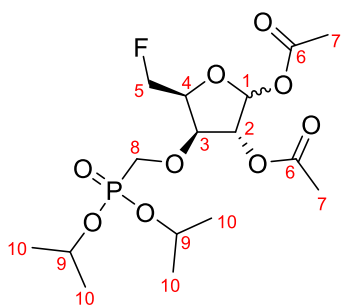
$^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, CDCl_3): $\delta = 112.28$ (**C-6**), 105.36 (**C-1**), 84.72 (dd, $J = 9.6, 5.6$ Hz, **C-3**), 82.05 (**C-2**), 81.10 (d, $J = 166.0$ Hz, **C-5**), 78.60 (d, $J = 23.5$ Hz, **C-4**), 71.47 (t, $J = 6.8$ Hz, 2 \times C, **C-9**), 65.04 (d, $J = 169.0$ Hz, **C-8**), 26.98 (**C-7**), 26.44 (**C-7**), 24.28 - 23.07 (m, 4 \times C, **C-10**) ppm.

$^{19}\text{F NMR}$ (376 MHz, CDCl_3): $\delta = -231.14$ (td, $J = 46.3, 14.1$ Hz) ppm.

$^{31}\text{P NMR}$ (162 MHz, CDCl_3): $\delta = 17.89$ ppm.

Pro $[\text{C}_{15}\text{H}_{28}\text{FO}_7\text{P}+\text{Na}]^+$ vypočteno Mr: 393.1449; ESI-MS: m/z 393 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

5-Deoxy-5-fluor-1,2-*O*-diacetyl-3-*O*-diisopropylfosfonomethyl-D-xylofuranosa (29)



Látka **28** (442,0 mg; 1,19 mmol) byla rozpuštěna v 80% CH₃COOH (10 ml) pod argonovou atmosférou. Vzniklý roztok byl zahříván 4 hodiny na 100 °C. Reakce byla sledována pomocí TLC ve směsi hexan/EtOAc 1/4 (detekce D5). Poté byla reakční směs odpařena na RVO při 50 °C. Odparek byl rozpuštěn v pyridinu (10 ml). Byl přidán Ac₂O (4 ml; 41,77 mmol) a DMAP (10 mg; 0,08 mmol) a směs byla míchána pod argonovou atmosférou při 25 °C 15 hodin. Průběh reakce byl sledován na TLC ve stejné směsi. Pyridin byl z reakční směsi vakuově oddestilován při 50 °C. Destilační zbytek byl rozpuštěn v EtOAc (50 ml) a vytřepán postupně 1M HCl (50 ml), nasyc. NaHCO₃ (50 ml) a nasyc. NaCl (50 ml). Spojené vodné frakce byly vytřepány s EtOAc (50 ml). Organické frakce byly vysušeny MgSO₄. Sušidlo bylo odfiltrováno a filtrát byl odpařen na RVO při 40 °C. Odparek (0,65 g) byl přečištěn pomocí flash chromatografie v gradientu EtOAc/hexan 50/50 až 100/0. Frakce s produktem byl odpařeny na RVO při 40 °C. Bylo získáno 445,6 mg směsi α/β anomerů ve formě žlutého oleje ve výtěžku 90 %. Podle ¹H NMR se ve směsi nacházelo 62 % α anomeru a 38 % β .

$R_F = 0.37$ (hexan/EtOAc 1/4).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): $\delta = 6.41$ (d, $J = 4.6$ Hz, 1H, CH, **H-1 α**), 6.16 (s, 0.61H, CH, **H-1 β**), 5.23 – 5.18 (m, 1.6H, 2 \times CH, **H-2**), 4.81 – 4.42 (m, 9.55H, 5 \times CH a 2 \times CH₂, **H-3 α** , **H-4**, **H-5** a **H-8**), 4.21 (d, $J = 5.4$ Hz, 0.65H, CH, **H-3 β**), 4.00 – 3.73 (m, 3.42H, 2 \times CH₂, **H-8**), 2.11 (s, 1.75H, CH₃, **H-7 β**), 2.09 (s, 2.76H, CH₃, **H-7 α**), 2.08 (s, 1.91H, **H-6 α**), 2.06 (s, 2.76H, CH₃, **H-6 α**), 1.33 (m, 20.48H, 8 \times CH₃, **H-10**) ppm.

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃): $\delta = 169.79$ (**C-6 β**), 169.69 (**C-6 α**), 169.63 (**C-6 β**), 169.41 (**C-6 α**), 99.58 (**C-1 β**), 93.56 (**C-1 α**), 83.40 (dd, $J = 9.6, 6.2$ Hz, **C-3 β**), 82.95, 82.19 (dd, $J = 9.9, 4.4$ Hz, **C-3 α**), 81.64, 81.42, 81.28, 80.43 (d, $J = 171.0$ Hz, **C-8**), 79.33 (**C-2 β**), 77.21 (d, $J = 20.6$ Hz, **C-4**), 76.36 (**C-2 α**), 71.55 (t, $J = 6.3$ Hz, 2 \times C, **C-9 α**), 71.40 (dd, $J = 6.6, 2.8$ Hz, 2 \times C, **C-9 β**), 65.74 (d, $J = 168.4$ Hz, **C-5 α**), 64.47 (d, $J = 168.8$ Hz, **C-5 β**), 24.33 – 24.01 (m, 8 \times C, **C-10**), 21.24 (**C-7 β**), 21.03 (**C-7 α**), 20.91 (**C-7 β**), 20.63 (**C-7 α**) ppm.

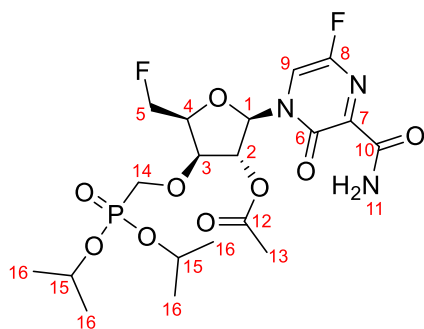
¹⁹F NMR (376 MHz, CDCl₃): $\delta = -225.76$ (dd, $J = 45.4, 13.6$ Hz), -228.37 (dd, $J = 46.5, 22.2$ Hz) ppm.

³¹P NMR (162 MHz, CDCl₃): $\delta = 17.86$ (β), 17.60 (α) ppm.

Pro [C₁₆H₂₈FO₉P+H]⁺ vypočteno Mr: 415.1528; ESI-HRMS: m/z 415.1526 [M+H]⁺.

IČ (KBr): ν_{\max} = 3637, 3460, 3280, 2981, 2937, 2881, 1755, 1658, 1558, 1468, 1452, 1435, 1375, 1238, 1221, 1178, 1142, 1105, 1084, 1003, 991, 937, 891, 837, 802, 781, 760, 721, 609, 575, 552, 534, 509, 451, 426 cm^{-1} .

1-(2'-*O*-Acetyl-5'-deoxy-5'-fluor-3'-*O*-diisopropylfosfonomethyl- β -D-xylofuranosyl)-3-karbamoyl-5-fluor-2-oxopyrazin (30)



Fluorovaná báze T-705 (66,1 mg; 0,41 mmol) byla zalita HMDS (1 ml). Směs byla zahřívána hodinu na 140 °C pod argonovou atmosférou. Následně bylo rozpouštědlo vakuově oddestilováno při 30 °C. Látka **16** (117,6 mg; 0,34 mmol) byla rozpuštěna v suchém DCE (2 ml) a přidána k destilačnímu zbytku. Postupně byl přidán SnCl_4 (0,83 ml; 0,83 mmol; 1M roztok v DCM). Směs byla míchána 24

hodin při 25 °C. Reakce byla monitorována na TLC ve směsi DCM/MeOH 20/1 (detekce D4 a D5). Reakční směs byla naředěna DCM (15 ml) a vytřepána nasyc. NaHCO_3 (10 ml). Vzniklá sraženina byla přefiltrována přes křemelinu. Filtrační koláč byl intenzivně promyt DCM (60 ml). Fáze ve filtrátu byly odděleny v dělicí nálevce a vodná byla extrahována DCM (2 × 20 ml). Spojené organické frakce byly vysušeny MgSO_4 . Sušidlo bylo odfiltrováno a filtrát byl odpařen na RVO při 40 °C. Odparek (161 mg) byl přečištěn pomocí flash chromatografie v gradientu DCM/MeOH 100/0 až 80/20. Frakce s produktem byl odpařeny na RVO při 40 °C. α/β anomery byly rozděleny opět pomocí flash chromatografie v gradientu EtOAc/aceton 100/0 až 50/50. Frakce s produktem byly odpařeny na RVO při 40 °C. Odparek byl dosušen pomocí rotační olejové pumpy při 40 °C. Bylo získáno 75,6 mg žlutého oleje ve výtěžku 43 %.

R_F = 0.40 (DCM/MeOH 20/1).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ = 9.07 (s, 1H, 0.5× NH_2 , **H-11**), 7.74 (d, J = 5.7 Hz, 1H, CH, **H-9**), 6.50 (s, 1H, 0.5× NH_2 , **H-11**), 6.15 (s, 1H, CH, **H-1**), 5.29 (d, J = 1.6 Hz, 1H, CH, **H-2**), 5.01 – 4.56 (m, 5H, 3×CH a CH_2 , **H-4**, **H-5** a **H-15**), 4.20 (d, J = 3.5 Hz, 1H, CH, **H-3**), 3.79 (d, J = 8.4 Hz, 2H, CH_2 , **H-14**), 2.20 (s, 3H, CH_3 , **H-13**), 1.32 – 1.23 (m, 12H, 4× CH_3 , **H-16**) ppm.

^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3): δ = 169.53 (**C-12**), 162.37 (**C-10**), 155.00 (**C-6**), 148.17 (d, J = 224.0 Hz, **C-8**), 139.01 (d, J = 17.7 Hz, **C-7**), 115.00 (d, J = 56.3 Hz, **C-9**), 91.20 (**C-1**), 82.81 (dt, J = 7.7, 5.5 Hz, **C-3**), 82.55 (d, J = 22.1 Hz, **C-4**), 80.38 (d, J = 170.5 Hz, **C-5**), 78.75 (**C-2**), 71.84 (dd, J = 12.0, 6.7 Hz, 2×C, **C-15**), 65.19 (d, J = 168.5 Hz, **C-14**), 24.48 – 23.67 (m, 4×C, **C-16**), 20.90 (**C-13**) ppm.

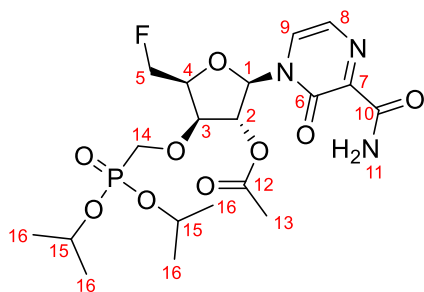
^{19}F NMR (376 MHz, CDCl_3): $\delta = -104.57$ (d, $J = 5.8$ Hz, T-705), -231.10 (td, $J = 47.4, 46.6, 17.0$ Hz) ppm.

^{31}P NMR (162 MHz, CDCl_3): $\delta = 17.27$ ppm.

Pro $[\text{C}_{19}\text{H}_{28}\text{F}_2\text{N}_3\text{O}_9\text{P}+\text{H}]^+$ vypočteno Mr: 512.1604; ESI-MS: m/z 512.1605 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

IČ (KBr): $\nu_{\text{max}} = 3575, 3363, 3195, 3116, 2980, 2930, 1755, 1689, 1559, 1496, 1466, 1435, 1375, 1344, 1311, 1228, 1180, 1122, 1103, 1084, 999, 939, 891, 870, 823, 810, 768, 690, 644, 606, 561, 521, 455$ cm^{-1} .

1-(2'-*O*-Acetyl-5'-deoxy-5'-fluor-3'-*O*-diisopropylfosfonomethyl- β -D-xylofuranosyl)-3-karbamoyl-2-oxypyrazin (31)



Báze T-1105 (45,1 mg; 0,32 mmol) byla zalita HMDS (1 ml). Směs byla zahřívána hodinu na 140 $^{\circ}\text{C}$ pod argonovou atmosférou. Následně bylo rozpouštědlo vakuově oddestilováno při 30 $^{\circ}\text{C}$. Látka **16** (122 mg; 0,29 mmol) byla rozpuštěna v suchém DCE (2 ml) a přidána k destilačnímu zbytku. Postupně byl přidán SnCl_4 (0,68 ml;

0,68 mmol; 1M roztok v DCM). Směs byla míchána 24 hodin při 25 $^{\circ}\text{C}$. Reakce byla monitorována na TLC ve směsi DCM/MeOH 20/1 (detekce D4 a D5). Reakční směs byla naředěna DCM (15 ml) a vytřepána nasyc. NaHCO_3 (10 ml). Vzniklá sraženina byla přefiltrována přes křemelinu. Filtrační koláč byl intenzivně promyt DCM (60 ml). Fáze ve filtrátu byly odděleny v dělicí nálevce a vodná byla extrahována DCM (2×20 ml). Spojené organické frakce byly vysušeny MgSO_4 . Sušidlo bylo odfiltrováno a filtrát byl odpařen na RVO při 40 $^{\circ}\text{C}$. Odparek (158 mg) byl přečištěn pomocí flash chromatografie v gradientu DCM/MeOH 100/0 až 90/10. Frakce s produktem byl odpařeny na RVO při 40 $^{\circ}\text{C}$. Odparek byl dosušen pomocí rotační olejové pumpy při 40 $^{\circ}\text{C}$. Bylo získáno 72,7 mg nažloutlého prášku ve výtěžku 50 %.

$R_F = 0.33$ (DCM/MeOH 20/1).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 9.03$ (s, 1H, $0.5 \times \text{NH}_2$, H-11), 7.85 – 7.76 (m, 2H, $2 \times \text{CH}$, H-8 a H-9), 6.32 (s, 1H, $0.5 \times \text{NH}_2$, H-11), 6.19 (s, 1H, CH, H-1), 5.21 (s, 1H, CH, H-2), 5.01 – 4.55 (m, 5H, $3 \times \text{CH}$ a CH_2 , H-4, H-5 a H-15), 4.23 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H, CH, H-3), 3.76 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H, CH_2 , H-14), 2.19 (s, 3H, CH_3 , H-13), 1.32 – 1.23 (m, 12H, $4 \times \text{CH}_3$, H-16) ppm.

^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3): $\delta = 169.55$ (C-12), 163.20 (C-10), 155.55 (C-6), 143.61 (C-7), 127.38 (C-9), 124.96 (C-8), 90.26 (C-1), 82.73 (t, $J = 6.7$ Hz, C-3), 82.24 (d, $J = 22.1$ Hz, C-4), 80.56 (d, $J = 169.9$ Hz, C-5), 79.00 (C-2), 71.61 (dd, $J = 18.3, 6.7$ Hz, $2\times\text{C}$, C-15), 64.91 (d, $J = 168.4$ Hz, C-14), 24.58 – 23.68 (m, $4\times\text{C}$, C-16) ppm.

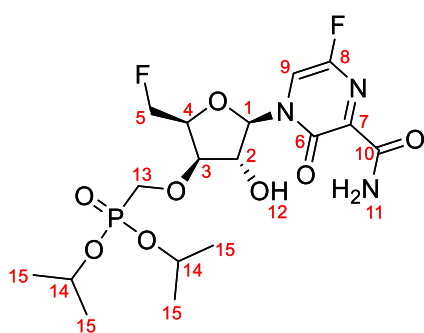
^{19}F NMR (376 MHz, CDCl_3): $\delta = -231.08$ (td, $J = 47.7, 47.1, 16.3$ Hz) ppm.

^{31}P NMR (162 MHz, CDCl_3): $\delta = 17.51$ ppm.

Pro $[\text{C}_{19}\text{H}_{29}\text{FN}_3\text{O}_9\text{P}+\text{Na}]^+$ vypočteno Mr: 516.152; ESI-MS: m/z 516 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

IČ (KBr): $\nu_{\text{max}} = 3371, 3178, 3089, 3033, 2981, 2931, 2877, 1689, 1564, 1489, 1456, 1387, 1375, 1319, 1238, 1176, 1126, 1101, 1049, 993, 906, 891, 870, 810, 752, 717, 700, 648, 625, 588, 552, 509$ cm^{-1} .

1-(5'-deoxy-5'-fluor-3'-*O*-diisopropylfosfonomethyl- β -D-xylofuranosyl)-3-karbamoyl-2-oxopyrazin (32)



Látka **30** (22,4 mg; 0,04 mmol) spolu s Bu_2SnO (4,5 mg; 0,02 mmol) byla zalita suchým MeOH (1,0 ml). Směs byla zahřívána pod argonovou atmosférou na 80 $^\circ\text{C}$ 48 hodin. Reakce byla monitorována na TLC ve směsi DCM/MeOH 20/1 (detekce D4 a D5). Rozpouštědlo bylo odpařeno na RVO při 40 $^\circ\text{C}$. Odparek byl přečištěn na koloně (2 g silikagelu) v mobilní fázi DCM/MeOH 20/1. Frakce

s produktem byly odpařeny na RVO při 30 $^\circ\text{C}$. Odparek byl dosušen pomocí rotační olejové pumpy při 30 $^\circ\text{C}$. Bylo získáno 13,5 mg nažloutlého prášku ve výtěžku 66 %.

$R_F = 0.33$ (DCM/MeOH 20/1).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 8.97$ (s, 1H, $0.5\times\text{NH}_2$, H-11), 7.78 (d, $J = 5.6$ Hz, 1H, CH, H-9), 7.01 (s, 1H, $0.5\times\text{NH}_2$, H-11), 5.97 (s, 1H, CH, H-1), 4.97 – 4.57 (m, 5H, $3\times\text{CH}$ a CH_2 , H-4, H-5 a H-14), 4.51 (s, 1H, CH, H-2), 4.21 (s, 1H, CH, H-3), 3.78 (d, $J = 7.1$ Hz, 2H, CH_2 , H-13), 1.37 – 1.21 (m, 12H, $4\times\text{CH}_3$, H-15) ppm.

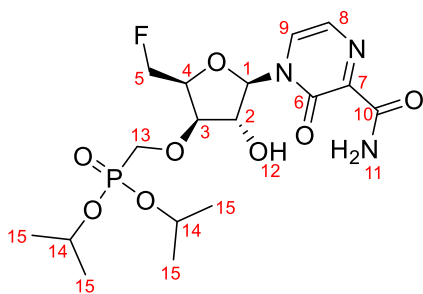
^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3): $\delta = 162.95$ (C-10), 155.20 (C-6), 147.99 (d, $J = 223.7$ Hz, C-8), 138.12 (C-7), 115.73 (d, $J = 56.8$ Hz, C-9), 94.46 (C-1), 85.18 (dd, $J = 9.3, 4.6$ Hz, C-3), 82.10 (d, $J = 21.2$ Hz, C-4), 80.94 (d, $J = 170.2$ Hz, C-5), 78.46 (C-2), 71.81 (t, $J = 7.3$ Hz, $2\times\text{C}$, C-14), 65.07 (d, $J = 168.8$ Hz, C-13), 24.42 – 23.87 (m, $4\times\text{C}$, C-15) ppm.

^{19}F NMR (376 MHz, CDCl_3): $\delta = -104.96, -231.11$ (dd, $J = 45.9, 23.4$ Hz) ppm.

^{31}P NMR (162 MHz, CDCl_3): $\delta = 17.95$ ppm.

Pro $[\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{F}_2\text{N}_3\text{O}_8\text{P}+\text{Na}]^+$ vypočteno Mr: 492.1318; ESI-MS: m/z 492 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

1-(5'-Deoxy-5'-fluor-3'-*O*-diisopropylfosfonomethyl- β -D-xylofuranosyl)-3-karbamoyl-2-oxopyrazin (33)



Látka **31** (46,4 mg; 0,09 mmol) byla rozpuštěna ve směsi MeOH/H₂O/Et₃N 7/3/1 (1 ml). Vzniklý roztok byl míchán pod argonovou atmosférou 18 hodin při 25 °C. Reakce byla monitorována na TLC ve směsi DCM/MeOH 20/1 (detekce D4 a D5). Reakční směs byla odpařena na RVO při 40 °C. Odparek byl přečištěn pomocí flash chromatografie v gradientu DCM/MeOH 100/0 až 50/50. Frakce s produktem byly odpařeny na RVO při 40 °C. Odparek byl dosušen pomocí rotační olejové pumpy při 40 °C. Bylo získáno 32,1 mg nažloutlé sklovité látky ve výtěžku 76 %.

$R_F = 0.22$ (DCM/MeOH 20/1).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 8.98$ (s, 1H, 0.5×NH₂, **H-11**), 7.87 (s, 1H, CH, **H-8**), 7.78 (s, 1H, CH, **H-9**), 6.78 (s, 1H, 0.5×NH₂, **H-11**), 5.97 (s, 1H, CH, **H-1**), 4.94 – 4.59 (m, 5H, 3×CH a CH₂, **H-4**, **H-5** a **H-14**), 4.43 (s, 1H, CH, **H-2**), 4.27 (s, 1H, CH, **H-3**), 3.77 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H, CH₂, **H-13**), 3.37 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H, OH, **H-12**), 1.26 (dt, $J = 15.7, 5.9$ Hz, 12H, 4×CH₃, **H-15**) ppm.

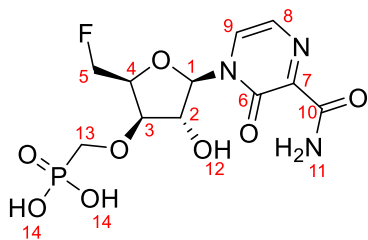
^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3): $\delta = 163.83$ (**C-10**), 155.93 (**C-6**), 142.81 (**C-7**), 128.02 (**C-9**), 124.97 (**C-8**), 93.58 (**C-1**), 85.25 (dd, $J = 9.1, 4.3$ Hz, **C-3**), 81.57 (d, $J = 21.0$ Hz, **C-4**), 81.05 (d, $J = 170.1$ Hz, **C-5**), 79.00 (**C-2**), 71.71 (dd, $J = 6.7, 2.7$ Hz, 2×C, **C-14**), 65.14 (d, $J = 168.7$ Hz, **C-13**), 24.39 – 23.88 (m, 4×C, **C-15**) ppm.

^{19}F NMR (376 MHz, CDCl_3): $\delta = -163.90, -231.02$ (dd, $J = 47.5, 22.3$ Hz) ppm.

^{31}P NMR (162 MHz, CDCl_3): $\delta = 18.05$ ppm.

Pro $[\text{C}_{17}\text{H}_{27}\text{FN}_3\text{O}_8\text{P}+\text{Na}]^+$ vypočteno Mr: 474.142; ESI-MS: m/z 474 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

**1-(5'-Deoxy-5'-fluor-3'-O-fosfonomethyl-β-D-xylofuranosyl)-3-karbamoyl-2-oxopyrazin
(34)**



Látka **33** (10,7 mg; 0,02 mmol) byla rozpuštěna v suchém DCM (0,3 ml) pod argonovou atmosférou. Byl přidán TMSBr (32 μl; 0,24 mmol) a směs byla míchána při 25 °C 48 hodin. Reakce byla monitorována pomocí TLC ve směsi DCM/MeOH 20/1 (detekce D4 a D5). Následně byla reakční směs odpařena na RVO při 30 °C. Odparek byl rozdělen mezi DCM (1 ml) a vodu (1 ml). Po rozdělení byla organická frakce znovu vytřepána s vodou (3 × 1 ml). Spojené vodné frakce byly odpařeny na RVO při 60 °C. Odparek byl přečištěn pomocí flash chromatografie na RP koloně v gradientu MeOH/H₂O 0/100 až 20/80. Frakce s produktem byly odpařeny na RVO při 60 °C a odparek byl dosušen pomocí rotační olejové pumpy při 60 C. Bylo získáno 4,9 mg bílého prášku ve výtěžku 56 %, který ovšem nebyl dostatečně čistý pro NMR.

$R_F = 0.00$ (DCM/MeOH 20/1). Pro $[C_{11}H_{14}FN_3O_8P]^-$ vypočteno Mr: 366.0508; ESI-MS: m/z 366 [M]⁻.

6. Závěr

V rámci této diplomové práce byly připraveny deriváty 2-deoxy-2-fluor-D-ribosy (2-FdR) a 5-deoxy-5-fluor-D-xylosy (5-FdX). Původně plánované deriváty 3-deoxy-3-fluor-D-ribosy se nepodařilo připravit, protože během deoxyfluorace docházelo neustále ke vzniku eliminačních produktů. 5-FdX byly připraveny za využití původně nežádoucího vedlejšího produktu během syntézy 3-FdR.

Od látek 2-FdR a 5-FdX byly syntetizovány fosfonáty, které byly následně vázány na báze T-705 a T-1105. V případě derivátu 2-FdR s bází T-1105 se nepodařilo rozdělit α/β anomery, ale u ostatních látek se to podařilo.

Jako kámen úrazu se ukázalo následné odstraňování chránících skupin. Deriváty nesoucí bázi T-705 byly velmi nestabilní, ale přeci jen se nakonec podařilo odstranit acetyl v poloze 2'. Kvůli nedostatku času se již nepodařilo odstranit isopropyly z fosfonátu a tedy ani připravit bis-POM pro léčivo.

V případě T-1105 bylo ochránění úspěšné pouze u derivátu 5-FdX, protože u 2-FdR bylo nutné odstranit benzylovou skupinu, která se nejběžněji odstraňuje katalytickou hydrogenací, při čemž docházelo k redukci násobných vazeb v dihydropyrazinovém jádru. Ovšem ani zde se kvůli nedostatku času již nepodařilo připravit bis-POM pro léčivo.

Řešením problému s odstraněním benzyly v poloze 3 u derivátů 2-FdR by mělo být jeho nahrazení za acetyl ještě před syntézou nukleosidu s bází T-705/T-1105. Acetyl by se pak následně odstranil stejně jako v případech 5-FdX.

Z připravených látek by se mohla pro testování biologické aktivity použít pouze **43** (derivát 5-FdX), ale kvůli komplikacím při čištění se jí nepodařilo získat čistou.

7. Poděkování

V první řadě bych rád poděkoval svému školiteli doc. RNDr. Jindřichu Jindřichovi, CSc. za vedení této diplomové práce a za cenné rady při řešení problémů. Dále kolegům z laboratoří 135 a 131 za vytvoření příjemného pracovního prostředí. Mgr. Petrovi Kasalovi za praktické rady v laboratoři a asistenci s interpretací 2D-NMR spekter. Také bych chtěl poděkovat RNDr. Martinu Štíchovi za měření HRMS spekter, Mgr. Michalu Urbanovi za měření UV a IČ spekter a Mgr. Bohunce Šperlichové za měření optické otáčivosti.

Na závěr bych chtěl poděkovat mé rodině a přátelům za podporu a trpělivost během mého studia a při vypracování této práce.

8. Literatura

- (1) Furuta, Y.; Takahashi, K.; Kuno-Maekawa, M.; Sangawa, H.; Uehara, S.; Kozaki, K.; Nomura, N.; Egawa, H.; Shiraki, K. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2005**, *49*, 981–986.
- (2) Arias, A.; Thorne, L.; Goodfellow, I. *eLife* **2014**, *3*, e03679.
- (3) Escribano-Romero, E.; Oya, N. de; Domingo, E.; Saiz, J. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2017**, *61*, e01400–17.
- (4) Baranovich, T.; Wong, S.-S.; Armstrong, J.; Marjuki, H.; Webby, R. J.; Webster, R. G.; Govorkova, E. A. *J. Virol.* **2013**, *87*, 3741–3751.
- (5) Naesens, L.; Guddat, L. W.; Keough, D. T.; Kuilenburg, A. B. van; Meijer, J.; Voorde, J.; Balzarini, J. *Mol. Pharmacol.* **2013**, *84*, 615–629.
- (6) Hecker, S. J.; Erion, M. D. *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 2328–2345.
- (7) WHO | Influenza <http://www.who.int/biologicals/vaccines/influenza/en/> (accessed Feb 24, 2020).
- (8) Influenza (Avian and other zoonotic) [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/influenza-\(avian-and-other-zoonotic\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/influenza-(avian-and-other-zoonotic)) (accessed Feb 24, 2020).
- (9) Influenza (Seasonal) [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/influenza-\(seasonal\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/influenza-(seasonal)) (accessed Feb 24, 2020).
- (10) Smith, A. E.; Helenius, A. *Science* **2004**, *304*, 237–242.
- (11) Bouvier, N. M.; Palese, P. *Vaccine* **2008**, *26*, D49–D53.
- (12) Martin, K.; Helenius, A. *J. Virol.* **1991**, *65*, 232–244.
- (13) von Itzstein, M. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2007**, *6*, 967–974.
- (14) Grunert, R. R.; McGahen, J. W.; Davies, W. L. *Virology* **1965**, *26*, 262–269.
- (15) Wingfield, W. L.; Pollack, D.; Grunert, R. R. *N. Engl. J. Med.* **1969**, *281*, 579–584.
- (16) Pinto, L. H.; Lamb, R. A. *J. Biol. Chem.* **2006**, *281*, 8997–9000.
- (17) von Itzstein, M.; Wu, W.-Y.; Kok, G. B.; Pegg, M. S.; Dyason, J. C.; Jin, B.; Van Phan, T.; Smythe, M. L.; White, H. F.; Oliver, S. W.; et al. *Nature* **1993**, *363*, 418–423.
- (18) Kim, C. U.; Lew, W.; Williams, M. A.; Liu, H.; Zhang, L.; Swaminathan, S.; Bischofberger, N.; Chen, M. S.; Mendel, D. B.; Tai, C. Y.; et al. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 681–690.
- (19) Yang, J.; Li, M.; Shen, X.; Liu, S. *Viruses* **2013**, *5*, 352–373.
- (20) Boriskin, Y. S.; Leneva, I. A.; Polyak, E.-I. P. and S. J. *Curr. Med. Chem.* **2008**, *10*, 997–1005.
- (21) Oxford, J. S. *J. Gen. Virol.* **1975**, *28*, 409–414.

- (22) Paeshuyse, J.; Dallmeier, K.; Neyts, J. *Curr. Opin. Virol.* **2011**, *1*, 590–598.
- (23) Tisdale, M.; Appleyard, G.; Tuttle, J. V.; Nelson, D. J.; Nusinoff-Lehrman, S.; Nakib, W. A.; Stables, J. N.; Purifoy, D. J. M.; Powell, K. L.; Darby, G. *Antivir. Chem. Chemother.* **1993**.
- (24) Furuta, Y.; Egawa, H. WO0010569 (A1).
- (25) Hayden, F.; Shindo, N. *Curr. Opin. Infect. Dis.* **2019**, *32*, 176–186.
- (26) Seley-Radtke, K. L.; Yates, M. K. *Antivir. Res.* **2018**, *154*, 66–86.
- (27) Ismail, F. M. D. *J. Fluor. Chem.* **2002**, *118*, 27–33.
- (28) Park, B. K.; Kitteringham, N. R.; O’Neill, P. M. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **2001**, *41*, 443–470.
- (29) Cavaliere, A.; Probst, K. C.; Westwell, A. D.; Slusarczyk, M. *Future Med. Chem.* **2017**, *9*, 1809–1833.
- (30) Hertel, L. W.; Boder, G. B.; Kroin, J. S.; Rinzel, S. M.; Poore, G. A.; Todd, G. C.; Grindey, G. B. *Cancer Res.* **1990**, *50*, 4417–4422.
- (31) de Sousa Cavalcante, L.; Monteiro, G. *Eur. J. Pharmacol.* **2014**, *741*, 8–16.
- (32) Bastiancich, C.; Bastiat, G.; Lagarce, F. *Drug Discov. Today* **2018**, *23*, 416–423.
- (33) Sofia, M. J.; Bao, D.; Chang, W.; Du, J.; Nagarathnam, D.; Rachakonda, S.; Reddy, P. G.; Ross, B. S.; Wang, P.; Zhang, H.-R.; et al. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 7202–7218.
- (34) Schinazi, R. F.; McMillan, A.; Cannon, D.; Mathis, R.; Lloyd, R. M.; Peck, A.; Sommadossi, J. P.; Clair, M. S.; Wilson, J.; Furman, P. A. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1992**, *36*, 2423–2431.
- (35) Hurwitz, S. J.; Otto, M. J.; Schinazi, R. F. *Antivir. Chem. Chemother.* **2005**, *16*, 117–127.
- (36) Furuta, Y.; Takahashi, K.; Fukuda, Y.; Kuno, M.; Kamiyama, T.; Kozaki, K.; Nomura, N.; Egawa, H.; Minami, S.; Watanabe, Y.; et al. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2002**, *46*, 977–981.
- (37) Delang, L.; Segura Guerrero, N.; Tas, A.; Quérat, G.; Pastorino, B.; Froeyen, M.; Dallmeier, K.; Jochmans, D.; Herdewijn, P.; Bello, F.; et al. *J. Antimicrob. Chemother.* **2014**, *69*, 2770–2784.
- (38) Oestereich, L.; Rieger, T.; Lüdtke, A.; Ruibal, P.; Wurr, S.; Pallasch, E.; Bockholt, S.; Krasemann, S.; Muñoz-Fontela, C.; Günther, S. *J. Infect. Dis.* **2016**, *213*, 934–938.
- (39) Oestereich, L.; Lüdtke, A.; Wurr, S.; Rieger, T.; Muñoz-Fontela, C.; Günther, S. *Antivir. Res.* **2014**, *105*, 17–21.

- (40) Vanderlinden, E.; Vrancken, B.; Houdt, J. V.; Rajwanshi, V. K.; Gillemot, S.; Andrei, G.; Lemey, P.; Naesens, L. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2016**, *60*, 6679–6691.
- (41) Julander, J. G.; Furuta, Y.; Shafer, K.; Sidwell, R. W. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2007**, *51*, 1962–1966.
- (42) Huchting, J.; Winkler, M.; Nasser, H.; Meier, C. *ChemMedChem* **2017**, *12*, 652–659.
- (43) Albert, A. *Nature* **1958**, *182*, 421–423.
- (44) Cooperwood, J. S.; Gumina, G.; Boudinot, F. D.; Chu, C. K. In *Recent Advances in Nucleosides: Chemistry and Chemotherapy*; Chu, C. K., Ed.; Elsevier: Amsterdam, 2002; pp 91–147.
- (45) Stella, V. J.; Himmelstein, K. J. *J. Med. Chem.* **1980**, *23*, 1275–1282.
- (46) Thornton, P. J.; Kadri, H.; Miccoli, A.; Mehellou, Y. *J. Med. Chem.* **2016**, *59*, 10400–10410.
- (47) Liederer, B. M.; Borchardt, R. T. *J. Pharm. Sci.* **2006**, *95*, 1177–1195.
- (48) Starrett, J. E. Jr.; Tortolani, D. R.; Russell, J.; Hitchcock, M. J. M.; Whiterock, V.; Martin, J. C.; Mansuri, M. M. *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 1857–1864.
- (49) Arimilli, M.; Kim, C.; Dougherty, J.; Mulato, A.; Oliyai, R.; Shaw, J.; Cundy, K.; Bischofberger, N. *Antivir. Chem. Chemother.* **1997**, *8*, 557–564.
- (50) Card, P. J. *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 393–395.
- (51) Nielsen, M. K.; Ugaz, C. R.; Li, W.; Doyle, A. G. *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137*, 9571–9574.
- (52) Shen, G. H.; Hong, J. H. *Carbohydr. Res.* **2018**, *463*, 47–106.
- (53) Ren, H.; An, H.; Hatala, P. J.; Jr, W. C. S.; Tao, J.; He, B. *Beilstein J. Org. Chem.* **2015**, *11*, 2509–2520.
- (54) Messina, P. A.; Mange, K. C.; Middleton, W. J. *J. Fluor. Chem.* **1989**, *42*, 137–143.
- (55) Larsen, C. H.; Ridgway, B. H.; Shaw, J. T.; Smith, D. M.; Woerpel, K. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 10879–10884.
- (56) Su, T.-L.; Klein, R. S.; Fox, J. J. *J. Org. Chem.* **1981**, *46*, 1790–1792.
- (57) Dumbre, S. G.; Jang, M.-Y.; Herdewijn, P. *J. Org. Chem.* **2013**, *78*, 7137–7144.
- (58) Pradere, U.; Garnier-Amblard, E. C.; Coats, S. J.; Amblard, F.; Schinazi, R. F. *Chem. Rev.* **2014**, *114*, 9154–9218.
- (59) Jansa, P.; Baszczyński, O.; Procházková, E.; Dračinský, M.; Janeba, Z. *Green Chem.* **2012**, *14*, 2282–2288.
- (60) Niedballa, U.; Vorbrueggen, H. *J. Org. Chem.* **1976**, *41*, 2084–2086.

- (61) Guo, S.; Xu, M.; Guo, Q.; Zhu, F.; Jiang, X.; Xie, Y.; Shen, J. *Bioorg. Med. Chem.* **2019**, *27*, 748–759.
- (62) Gao, J.; Luo, X.; Li, Y.; Gao, R.; Chen, H.; Ji, D. *Chem. Biol. Drug Des.* **2015**, *85*, 245–252.
- (63) Griffon, J.-F.; Mathé, C.; Faraj, A.; Aubertin, A.-M.; Clercq, E. D.; Balzarini, J.; Sommadossi, J.-P.; Gosselin, G. *Eur. J. Med. Chem.* **2001**, *36*, 447–460.
- (64) Liang, C.; Ju, W.; Ding, S.; Sun, H.; Mao, G. *Mol. J. Synth. Chem. Nat. Prod. Chem.* **2017**, *22*.
- (65) Gunic, E.; Girardet, J.-L.; Ramasamy, K.; Stoisavljevic-Petkov, V.; Chow, S.; Yeh, L.-T.; Hamatake, R. K.; Raney, A.; Hong, Z. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 2452–2455.
- (66) Choi, J.-R.; Cho, D.-G.; Roh, K. Y.; Hwang, J.-T.; Ahn, S.; Jang, H. S.; Cho, W.-Y.; Kim, K. W.; Cho, Y.-G.; Kim, J.; et al. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 2864–2869.
- (67) Benzaria, S.; Pélicano, H.; Johnson, R.; Maury, G.; Imbach, J.-L.; Aubertin, A.-M.; Obert, G.; Gosselin, G. *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 4958–4965.
- (68) HongKang, S.; Sinhababu, A. K.; Cho, M. J. *Nucleosides Nucleotides* **1998**, *17*, 1089–1098.
- (69) Chaloupecká, E. Diplomová práce, Univerzita Karlova: Praha, 2019.
- (70) Kiyokawa, K.; Suzuki, I.; Yasuda, M.; Baba, A. *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, *2011*, 2163–2171.
- (71) Pinto, S. M.; Lourenço, M. A.; Calvete, M. J.; Abreu, A. R.; Rosado, M. T.; Burrows, H. D.; Pereira, M. M. *Inorg. Chem.* **2011**, *50*.
- (72) Soares, F. da P.; Silva, M. J. e; Doboszewski, B. *Carbohydr. Res.* **2013**, *380*, 143–148.
- (73) Airoidi, C.; Merlo, S.; Nicotra, F. *J. Carbohydr. Chem.* **2010**, *29*, 30–38.
- (74) Lecourt, T.; Herault, A.; Pearce, A. J.; Sollogoub, M.; Sinaÿ, P. *Chem. - Eur. J.* **2004**, *10*, 2960–2971.
- (75) Sajiki, H. *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 3465–3468.
- (76) Popsavin, V.; Benedeković, G.; Srećo, B.; Francuz, J.; Popsavin, M.; Kojić, V.; Bogdanović, G.; Divjaković, V. *Tetrahedron* **2009**, *65*, 10596–10607.
- (77) Yoda, H.; Kawauchi, M.; Takabe, K. *Synlett* **1998**, *1998*, 137–138.
- (78) Jung, M. E.; Lyster, M. A. *J. Org. Chem.* **1977**, *42*, 3761–3764.
- (79) Li, C.; Saga, Y.; Onozawa, S.; Kobayashi, S.; Sato, K.; Fukaya, N.; Han, L.-B. *J. Org. Chem.* **2020**.
- (80) Moravcová, J.; Čapková, J.; Staněk, J. *Carbohydr. Res.* **1994**, *263*, 61–66.

- (81) De, S.; De Jonghe, S.; Herdewijn, P. *J. Org. Chem.* **2017**, *82*, 9464–9478.
- (82) Bouzide, A.; Sauvée, G. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 5945–5948.
- (83) Alper, P. B.; Hendrix, M.; Sears, P.; Wong, C.-H. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 1965–1978.
- (84) Elliott, R.; Fleet, G.; Vogt, K.; Wilson, F.; Wang, Y.; Witty, D.; Storer, R.; Myers, P.; Wallis, C. *Tetrahedron Asymmetry* **1990**, *1*, 715–718.
- (85) Kim, J.; Weledji, Y. N.; Greenberg, M. M. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 6100–6104.
- (86) Steemers, L.; Wanner, M. J.; Ehlers, A. W.; Hiemstra, H.; van Maarseveen, J. H. *Org. Lett.* **2017**, *19*, 2342–2345.
- (87) Kronast, A.; Reiter, D.; Altenbuchner, P. T.; Vagin, S. I.; Rieger, B. *Macromolecules* **2016**, *49*, 6260–6267.
- (88) Adibekian, A.; Bindsch dler, P.; Timmer, M. S. M.; Noti, C.; Schützenmeister, N.; Seeberger, P. H. *Chem. – Eur. J.* **2007**, *13*, 4510–4522.
- (89) Gopishetty, B.; Zhu, J.; Rajan, R.; Sobczak, A. J.; Wnuk, S. F.; Bell, C. E.; Pei, D. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 1243–1250.
- (90) Sowa, S.; Pietrusiewicz, K. M. *Eur. J. Org. Chem.* **2019**, *2019*, 923–938.
- (91) Mikhailopulo, I. A.; Sivets, G. G. *Synlett* **1996**, *1996*, 173–174.
- (92) Radha Krishna, P.; Manjuvani, A.; Narsingam, M.; Raju, G. *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, *2010*, 813–817.
- (93) Mishra, N.; Singh, A. S.; Agrahari, A. K.; Singh, S. K.; Singh, M.; Tiwari, V. K. *ACS Comb. Sci.* **2019**, *21*, 389–399.
- (94) Kent, P. W.; Young, R. C. *Tetrahedron* **1971**, *27*, 4057–4064.
- (95) Hadwiger, P.; Mayr, P.; Nidetzky, B.; St tzt, A. E.; Tauss, A. *Tetrahedron Asymmetry* **2000**, *11*, 607–620.