

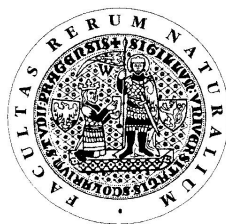
UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

Přírodovědecká fakulta

Katedra organické a jaderné chemie

Studijní program: Chemie

Studijní obor: Organická chemie



Anton Škríba

**PŘÍPRAVA α -(1 \rightarrow 4)-GLYKOSIDICKY VÁZANÝCH
DISACHARIDŮ OBSAHUJÍCÍCH D-GLUKOSAMINOVÉ
JEDNOTKY**

Preparation of α -(1 \rightarrow 4)-linked disaccharides containing
D-glucosamine units

Diplomová práce

Vedoucí diplomové práce: RNDr. Jan Veselý, Ph.D.

Praha 2011

Prehlásenie

Prehlasujem, že som túto diplomovú prácu vypracoval samostatne a že som uviedol všetky použité informačné zdroje a literatúru. Táto práca ani jej podstatná časť nebola predložená k získaniu iného alebo rovnakého akademického titulu.

Som si vedomý toho, že prípadné využitie výsledkov, získaných v tejto práci, mimo Univerzitu Karlovu v Prahe je možné iba po písomnom súhlase tejto univerzity.

V Prahe dňa 15. 8. 2011

Pod'akovanie

Na prvom mieste by som rád poďakoval svojim školiteľom RNDr. Janovi Veselému, Ph.D. a RNDr. Jiřímu Kroutilovi, Ph.D. za vynikajúce vedenie mojej práce, za pomoc pri riešení vzniknutých problémov, za čas ktorý mi venovali a za ich trpezlivosť.

Ďalej by som rád poďakoval Mgr. Simone Hybelbauerovej, Ph.D. za školenie v oblasti merania NMR spektier a za pomoc pri ich interpretácii a RNDr. Martinovi Štíchovi za zmeranie hmotnostných spektier.

Rád by som tiež poďakoval Mgr. Robertovi Betíkovi za vytvorenie príjemnej pracovnej atmosféry v laboratóriu a za jeho praktické rady pri riešení experimentálnych problémov.

Zvláštne poďakovanie patrí mojej rodine, ktorá mi umožnila študovať a po celú dobu štúdia ma podporovala.

Abstrakt

Táto diplomová práca sa zaoberá vypracovaním syntézy disacharidu zloženého z dvoch glukozamínových jednotiek s 1,2-*cis*-(1→4)-*O*-glykozidickou väzbou s pripojeným ramienkom na redukujúcom konci, zakončeným azidovou funkčnou skupinou.

Prvá časť je zameraná na prípravu glykozylakceptoru a glykozyl donoru odvodených od D-glukozamínu, vhodných pre tvorbu 1,2-*cis*-(1→4)-*O*-glykozidickej väzby.

Druhá časť tejto práce zahŕňa optimalizáciu podmienok glykozylačnej reakcie a následnú transformáciu disacharidového GlcNAc- α -(1→4)-GlcNAc skeletu.

Abstract

The aim of this diploma thesis is a preparation of disaccharide composed from two glucosamine units with 1,2-*cis*-(1→4)-*O*-glycosidic bond with the attached linker on reducing end, containing an azide functional group.

The first part is focused on synthesis of glycosyl acceptor and glycosyl donor, derived from D-glucosamine, suitable for the construction of 1,2-*cis*-(1→4)-*O*-glycosidic linkage.

The second part of this work describes the optimization of the glycosylation reaction conditions and also subsequent transformation of disaccharide GlcNAc- α -(1→4)-GlcNAc skeleton.

Obsah

Zoznam skratiek	7
1. Úvod	9
2. Súčasný stav problematiky	10
2.1 Využitie <i>O</i> -glykozidicky viazaných oligosacharidov v biomedicíne	10
2.2 <i>O</i> -Glykozylačné reakcie	10
2.2.1 Glykozylačné reakcie 2-amino-2-deoxy-D-hexopyranóz s participujúcou skupinou.....	11
2.2.2 Glykozylačné reakcie 2-amino-2-deoxy-D-hexopyranóz s neparticipujúcou skupinou.....	14
2.3 Glykozyldonory používané v glykozylačných reakciách	17
3. Ciele diplomovej práce	21
4. Retrosyntetická analýza	22
5. Diskusia a výsledky	23
5.1 Príprava glykozylakceptoru	23
5.2 Príprava glykozyldonoru.....	25
5.3 Glykozylácia a následná transformácia disacharidového skeletu.....	29
6. Experimentálna časť	32
6.1 Obecná časť	32
6.2 Postupy.....	33
7. Záver	46
Zoznam použitej literatúry	47

Zoznam skratiek

Ac	acetyl
Bn	benzyl
Bu	butyl
Bz	benzoyl
BSM	benzensulfinyl morfín
CAN	dusičnan amónno-céričitý
CB	karboxybenzyl
DAST	λ^4 - <i>N,N</i> -dietylamino-trifluór-sulfán
DBU	1,8-diazobicyklo[5.4.0]undec-7-én
DIPEA	<i>N,N</i> -diizopropyletylamín
DMAP	4-dimetylamino-pyridín
DMF	<i>N,N</i> -dimetylformamid
DOTA	1,4,7,10-tetraazacyklododekán-1,4,7,10-tetraoctová kyselina
DTBMP	2,6-di- <i>tert</i> -butyl-4-metylpyridín
Et	etyl
ESI	Electrospray ionization (<i>angl.</i>)
GlcNAc	2-acetamido-2-deoxy-glukopyranóza
GP	glykozylpromotor
Me	metyl
MRI	magnetická rezonancia
MS	hmotnostná spektrometria
NBS	<i>N</i> -bromsukcinimid
NIS	<i>N</i> -jódsukcinimid
NMR	nukleárna magnetická rezonancia
NPhth	ftalimidyl
Ph	fenyl
Pd/C	paládium na uhlí
PTSA	<i>p</i> -toluénsulfónová kyselina
RVO	rotačná vákuová odparka
STol	<i>p</i> -toluénsulfanyl
TBAI	jodid tetrabutylamónny

TCAN	trichlóracetonitril
Tf	trifluómetánsulfonyl
Tf ₂ O	anhydrid kyseliny trifluómetánsulfonovej
TFA	kyselina trifluóoctová
THF	tetrahydrofurán
TLC	tenkovrstvá chromatografia
TMS	trimetylsilyl
TMSOTf	trimetylsilyl-trifluómetánsulfonát
TBSOTf	<i>tert</i> -butyl-dimetylsilyl-trifluómetánsulfonát
Ts	<i>p</i> -toluénsulfonyl

1. Úvod

„Oligosaccharide synthesis is more difficult than DNA or peptide synthesis“

Essentials of Glycobiology¹

Sacharidy a ich deriváty patria medzi najzastúpenejšie látky v prírode s množstvom významných funkcií. Sú zdrojom energie pre rastliny a živočíchy, stavebným materiálom bunčných stien, súčasťou nukleových kyselín ako nositeľov genetickej informácie a tiež prekursorami v biosyntéze lipidov či proteínov.

Okrem nesporného biologického významu, majú sacharidy svoje miesto aj v oblasti organickej syntézy. Ich výhodou je ľahká dostupnosť z prírodných materiálov (obnoviteľných zdrojov) a možnosť syntézy enantiomérne čistých látok, vďaka niekoľkým chirálnym centráram na sacharide.

Základy chémie sacharidov položil nemecký chemik Emil Fischer na konci 19. storočia a ich následný výskum dal vzniknúť novým odvetviám chémie ako stereochemia či konformačná analýza. V dnešnej dobe sa pozornosť chemikov sústreďí na interdisciplinárne využitie sacharidov hlavne v biológii a medicíne.

Z pomedzi všetkých sacharidov tvoria veľkú skupinu *O*-glykozidy 2-amino-2-deoxysacharidov². Biologický výskum tohto typu oligosacharidov získava v posledných rokoch viac pozornosti a s tým súvisiacu snahu o ich totálnu syntézu. Avšak pripraviť tieto oligosacharidy je obzvlášť zložitý syntetický problém, hlavne pokiaľ sa jedná o stereoselektívnu syntézu.

Táto diplomová práca sa zaoberá syntézou definovanej disacharidovej jednotky ako modelového ligandu pre možné využitie v biomedicíne.

2. Súčasný stav problematiky

2.1 Využitie *O*-glykozidicky viazaných oligosacharidov v biomedicíne

V dnešnej dobe sa mnoho vedeckých štúdií zaoberá využitím oligosacharidových ligandov v rozpoznávaní biologických procesov^{3,4}. Tieto procesy sú závislé na proteín-sacharidových interakciách a zahrňujú bunečnú apoptózu⁵, zápaly^{6,7}, rakovinové procesy^{8,9}, bakteriálne^{10,11} a vírusové^{12,13} infekcie ako aj procesy oplodnenia^{14,15} a vrodenú imunitu^{16,17}. Princípom uvedeného sledovania biologických procesov sú interakcie proteínov (tzv. lektínov³) so špecifickými oligosacharidmi. Tieto interakcie je možné vizualizovať (MRI kontrastné látky¹⁸). Interakcie lektínov so sacharidmi sú obecné založené na slabých väzbách (vodíkové a lipofilné), avšak celková sila väzieb je znásobená tzv. multivalentnými interakciami^{3,19}. Jednou z významných podskupín lektínov, ktoré sa zúčastňujú týchto procesov ako markery sú tzv. galektíny²⁰ a fikoríny^{21,22}. Syntéza mnohých oligosacharidov u ktorých bola pozorovaná interakcia s týmito lektínmi je dobre známa²³. Avšak niekedy ide o dnes už staršie postupy využívajúce zlúčenín ťažkých kovov, ktoré sa nedajú úplne eliminovať z pripravených oligosacharidov a tak nie sú vhodné pre prípadné využitie v biomedicíne.

2.2 *O*-Glykozylačné reakcie

Syntéza oligosacharidov je založená na *O*-glykozylačnej reakcii, ktorá spočíva v spojení dvoch sacharidových jednotiek, glykozylakceptoru a glykozyl donoru. Formálne ide o nukleofilnú substitúciu odstupujúcej skupiny na anomérnom uhlíku C(1) glykozyl donoru voľnou hydroxylovou skupinou glykozylakceptoru (Schéma 1). U 2-amino-2-deoxy-hexopyranózu môžeme rozdeliť mechanizmus na 2 základné typy: s participujúcou a s neparticipujúcou skupinou na C(2) glykozyl donoru.

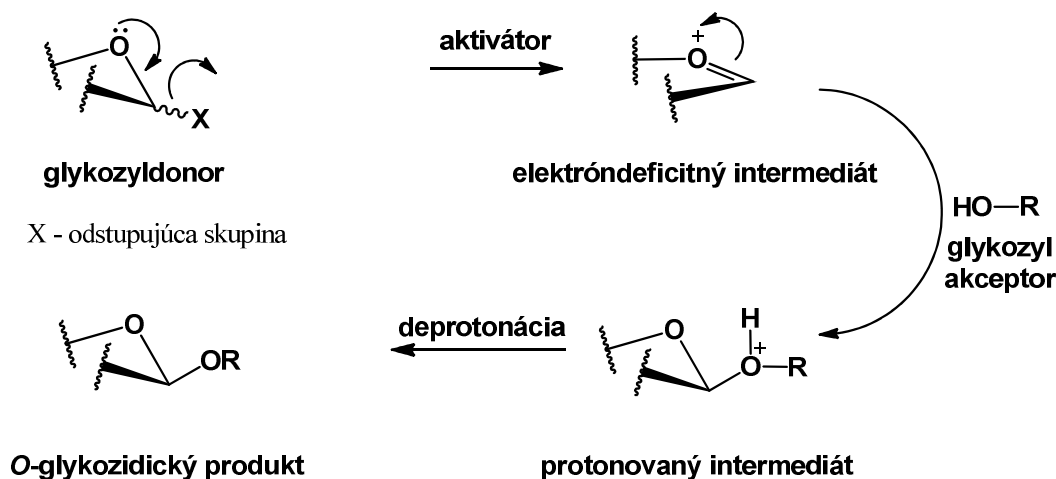
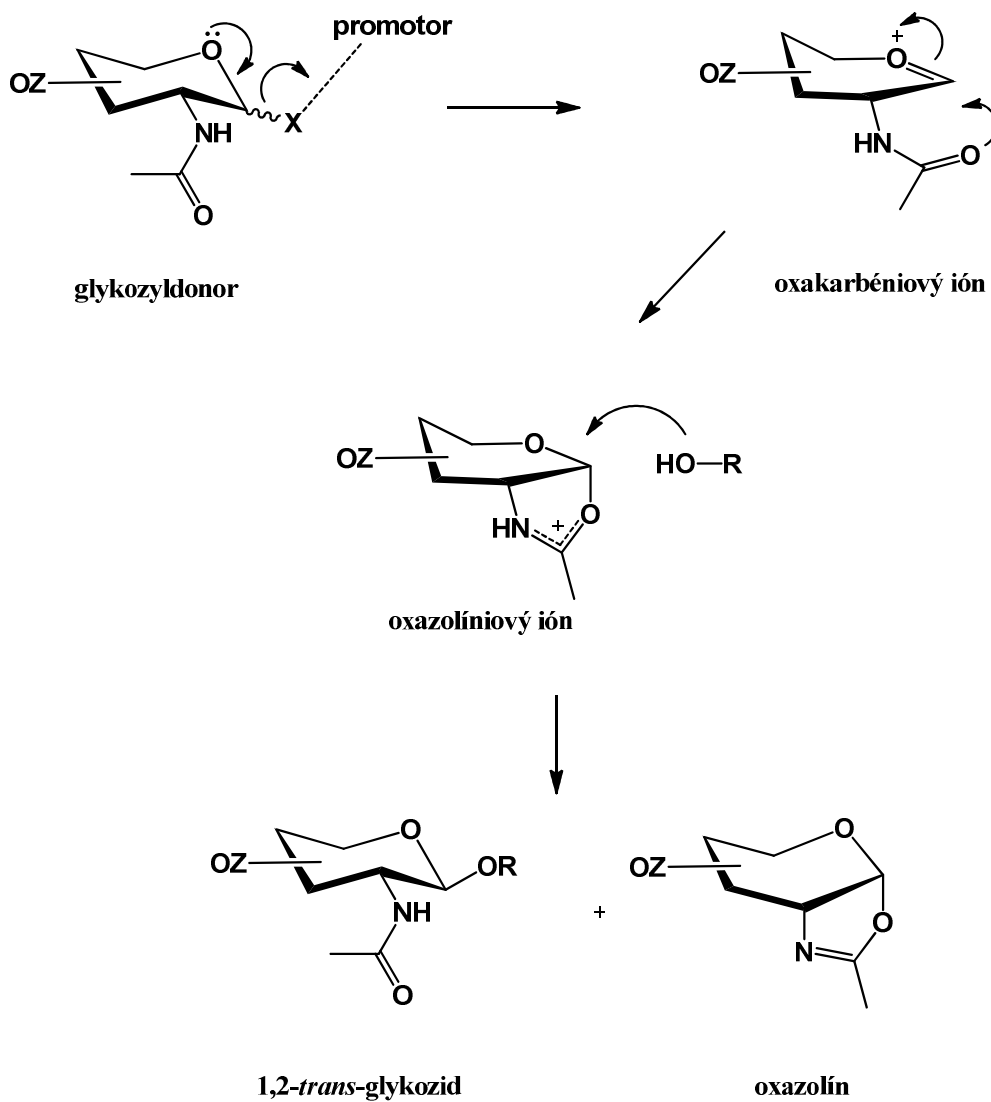


Schéma 1. Obecný mechanizmus glykozylačnej reakcie.

2.2.1 Glykozylačné reakcie 2-amino-2-deoxy-D-hexopyranóz s participujúcou skupinou

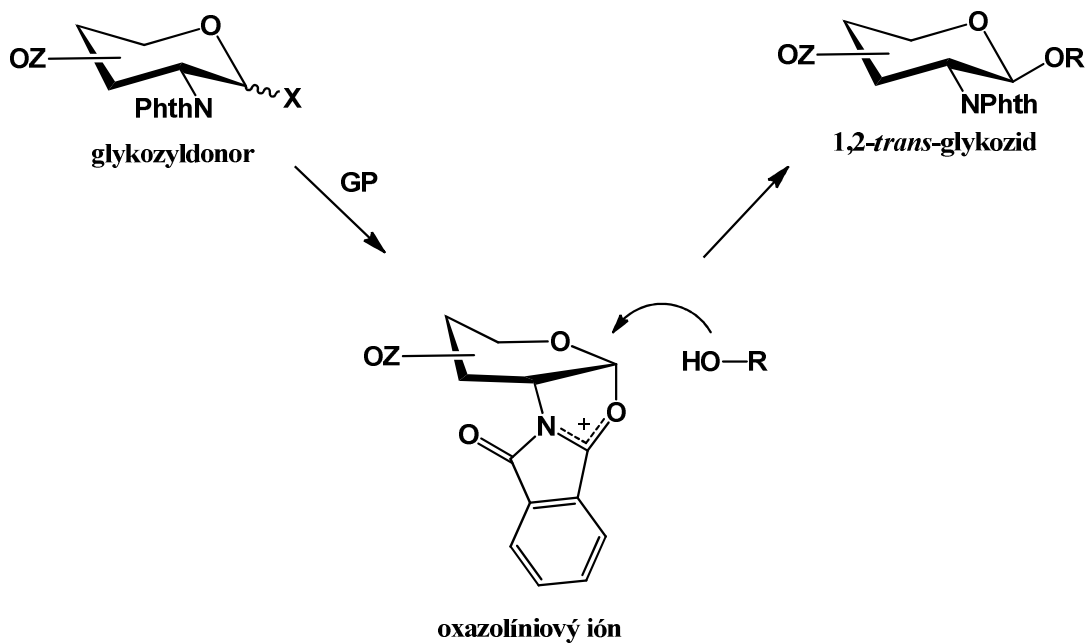
Prvý typ glykozylácie s participujúcou skupinou ako prvý popísal Koenigs-Knorr²⁴. Mechanizmus tejto reakcie (Schéma 2) je založený na aktivácii odstupujúcej skupiny X (napr. Br, OAc, SR) glykozyldonoru promotorom – aktivátorom (napr. AgClO₄, TMSOTf, BF₃·Et₂O). To má za následok tvorbu intermediátu, oxakarbéniového iónu. Táto elektrón deficitná molekula je vďaka prítomnosti participujúcej NHAc skupiny stabilizovaná vznikom oxazolíniového iónu. Následný nukleofilný atak voľnou hydroxylovou skupinou môže prebehnúť zo strany, ktorá nie je stéricky bránená. Výsledným produktom je tak 1,2-*trans*-glykozid. Častým nežiaducim produktom tejto reakcie je relatívne stabilný oxazolín. Zabrániť tejto konkurenčnej reakcii je možné použitím nadbytku reaktívnych glykozylakceptorov vo forme primárnych alkoholov²⁵. To zas obmedzuje použitie tejto metódy na prípravu (1→6)-*O*-glykozidickej väzby oligosacharidov.



Z - systém chrániacích skupín na sacharide
 X - odstupujúca skupina

Schéma 2. Mechanizmus glykozylácie s participujúcou skupinou.

Veľkým posunom v glykozylačných reakciách s participujúcou skupinou je tzv. ftalimidová metóda, ktorú popísal Lemieux²⁶ (Schéma 3). Ftalimidová skupina glykozyldonorou participuje v glykozylačnej reakcii za vzniku oxazolíniového iónu. Vzhľadom k tomu, že nemôže dochádzať k vzniku stabilného oxazolínu, vedie táto metóda jednoznačne k tvorbe 1,2-*trans*-glykozidu. Navyše je táto metóda využiteľná pre málo reaktívne glykozylakceptory (tvorba 1→2, 1→3, 1→4 glykozidov).



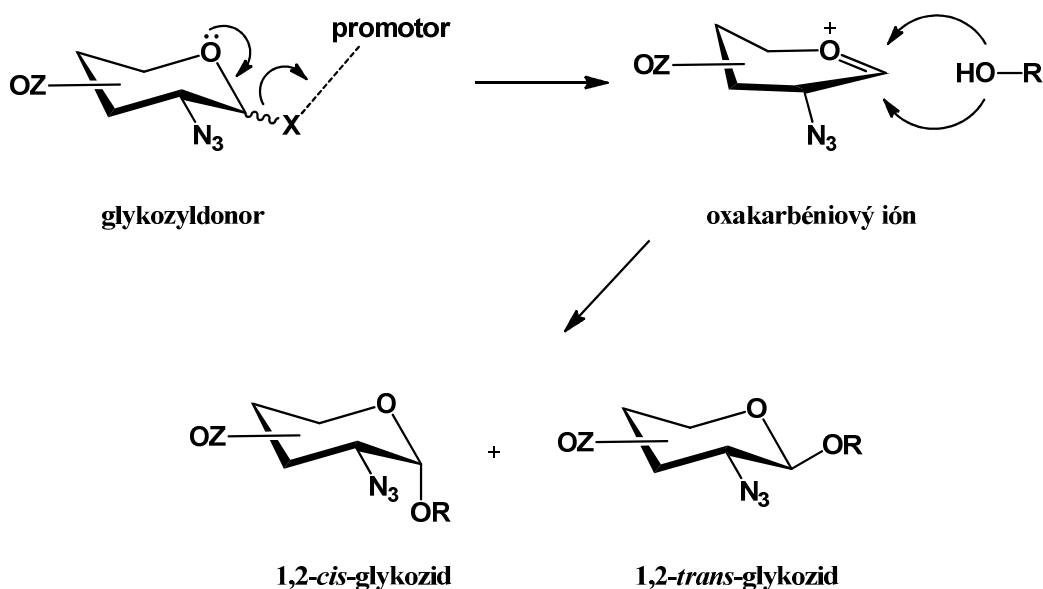
Z - systém chrániacích skupín na sacharide
X - odstupujúca skupina

Schéma 3. Ftalimidová glykozylačná metóda.

2.2.2 Glykozylačné reakcie 2-amino-2-deoxy-D-hexopyranóz s neparticipujúcou skupinou

Mechanizmus glykozylačných reakcií 2-amino-2-deoxy-D-hexopyranóz s neparticipujúcou skupinou

Druhou veľkou skupinou je glykozylácia s neparticipujúcou skupinou ako napríklad azidová funkčná skupina, ktorá sa využíva na prípravu 1,2-*cis*-glykozidov. Mechanizmus reakcie (Schéma 4) je zahájený rovnako aktiváciou odstupujúcej skupiny X promotorom a vznikom oxakarbéniového iónu. Vzhľadom k neprítomnosti participujúcej skupiny nedochádza k vzniku oxazolíniového iónu a tým sa sprístupní aj druhá strana k nukleofilnému ataku voľnou hydroxylovou skupinou. Výsledkom je potom zmes α a β -anomérov. Stereochemia vznikajúcich produktov je do veľkej miery ovplyvnená charakterom použitého rozpúšťadla a reakčnou teplotou. Použitím polárnejších rozpúšťadiel (napr. Et₂O, THF) a vyšších teplôt (nad -30 °C) spolu s predĺžením reakčnej doby vedie k tvorbe termodynamicky preferovaného α -anoméru²⁷ (napr. 1,2-*cis* u glukopyranozidov).



Z - systém chrániacich skupín na sacharide
X - odstupujúca skupina

Schéma 4. Mechanizmus glykozylácie bez participujúcej skupiny.

Zavedenie azidovej skupiny do sacharidového skeletu

Ako bolo uvedené v kapitole 2.2.1 syntéza α -(1 \rightarrow 4)-glykozidicky viazaných glukozamínových jednotiek (1,2-*cis*-glykozidov) vylučuje použitie participujúcej skupiny (NHAc, NPhth) na C(2). Vzhľadom k tomuto faktoru sa ako najvhodnejší spôsob ich prípravy javí zavedenie azidovej (neparticipujúcej) skupiny na C(2) a po glykozylačnom kroku redukcia azidu na amín. Jednu z možností ako zaviesť azidovú skupinu do sacharidového skeletu popísal Lemieux a Ratcliffe²⁸. Jedná sa o tzv. azidonitráciu (Schéma 5). Výhodou tejto reakcie je jej vysoká regioselektivita, na druhej strane sa jedná o reakciu pomerne nestereoselektívnu. Napríklad v reakcii uvedenej na obrázku môže azid atakovať polohu C(2) z oboch strán s podobnou pravdepodobnosťou a tak vzniká zmes gluko a manopyranózy. V literatúre sa objavili aj ďalšie modifikácie vychádzajúce z glykállov ako napríklad nitrácia nasledovaná Michaelovou adíciou²⁹ či „one-pot“ syntéza poskytujúca *O*-glykozidickú väzbu na C(1) spolu s acetamidovou skupinou na C(2)³⁰. U týchto reakcií je však hlavným produktom 1,2-*trans*-glykozidická väzba.

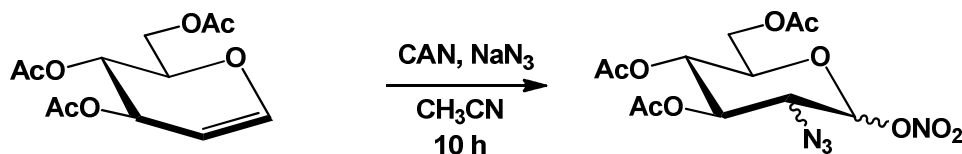
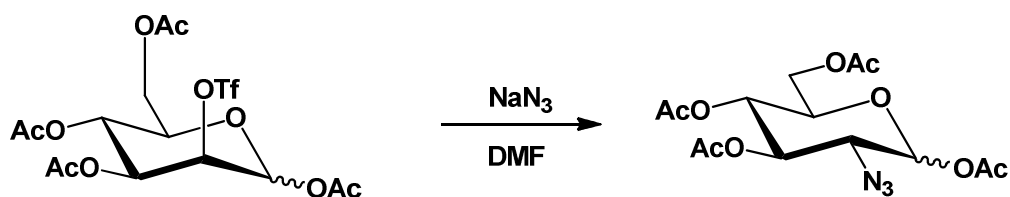


Schéma 5. Zavedenie azidu azidonitráciou.

Ďalší spôsob zavedenia azidu je založený na reakcii prebiehajúcou S_N2 mechanizmom (Schéma 6). Nukleofilný atak azidového aniónu do polohy C(2) s dobre odstupujúcou skupinou, poskytne produkt so zmenou konfigurácie z mano na glukopyranózu³¹. Pri tejto reakcii je možné použiť aj ďalšie zdroje azidových aniónov ako LiN₃³², Bu₄NN₃³³, TMSN₃³⁴.

Schéma 6. Zavedenie azidu spolu so zmenou konfigurácie mano \rightarrow gluko.

Menej používanou zato však efektívnou metódou zavedenia azidu do polohy C(2) je využitie epoxidov³⁵. Otvorenie oxiránového kruhu azidom sodným poskytne stereoselektívne produkt s azidom v polohe C(2) (Schéma 7).

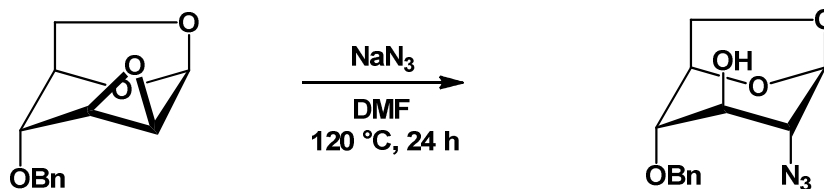


Schéma 7. Zavedenie azidu otvorením oxiránového kruhu.

Využitie azidovej skupiny pre prípravu derivátov 2-amino-2-deoxy-D-hexopyranóz

Ako už bolo uvedené, po glykozylačnom kroku je možné previesť azid na amín a jeho deriváty. Obvykle sa jedná o proces prebiehajúci v dvoch krokoch, a to redukčnom a substitučnom.

Redukovať azid na amín je možné mnohými spôsobmi ako napríklad katalytickou hydrogenáciou^{36,37}, redukciou hydridmi kovov³⁸⁻⁴⁰, Staudingerovou reakciou⁴¹ (Schéma 8), systémom $\text{Zn}/\text{NH}_4\text{Cl}$ ⁴², H_2S ⁴³ a ďalšími⁴⁴.

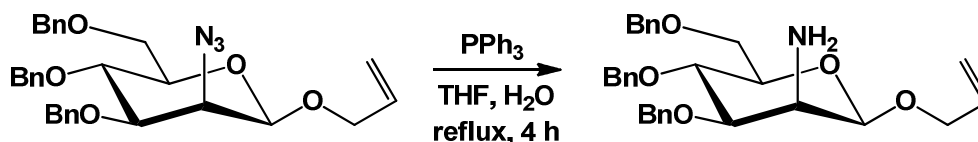


Schéma 8. Redukcia azidu pomocou Staudingerovej reakcie

Po redukčnom kroku je možné amín ochrániť napríklad acetátovou skupinou pomocou dobre známeho systému $\text{Ac}_2\text{O}/\text{pyridín}$. V literatúre je možné nájsť aj jednokrokové prevedenie azidovej skupiny na NHAc skupinu pomocou kyseliny tiooctovej⁴⁵.

2.3 Glykozyldonory používané v glykozylačných reakciách

Glykozylhalogenidy

Ako prvé glykozyldonory boli použité glykozylbromidy a glykozylchloridy Königsom a Knorrom²⁴. Pripravujú sa z 1-*O*-acetátov s plynným halogénvodíkom prípadne s TiBr_4 ⁴⁶ alebo reakciou voľnej hydroxylovej skupiny na anomérnom uhlíku s oxalylbromidom či acetylchloridom^{47,48}.

Ďalšou skupinou sú glykozylfluoridy, ktoré prvý krát použil Mukaiyama⁴⁹. Veľký prínos v oblasti použitia glykozylfluoridov a ich aplikáciu na syntézu prírodných látok publikoval Nicolaou⁵⁰. Ich hlavná výhoda spočíva vo vysokej tepelnej a chemickej stabilite (vzhľadom k ostatným glykozylhalogenidom). Pripravujú sa zo sacharidov s voľnou hydroxylovou skupinou na anomérnom uhlíku reakciou TiF_4 ⁵¹, či priamo z tioglykozidov pomocou DAST/NBS činidla⁵².

Glykozyljodidy boli vzhľadom k príliš vysokej reaktivite dlho považované za nevhodný glykozyldonor pre syntetické použitie. Na druhej strane ich veľkou výhodou je kratšia reakčná doba, stereoselektivita a výťažok⁵³. Pripravujú sa napríklad z 1-*O*-acetátov reakciou s TMSI ⁵⁴.

Najčastejšie glykozylpromotory používané na aktiváciu glykozylhalogenidov sú soli ťažkých kovov (AgClO_4 , Ag_2CO_3 , HgBr_2 , HgI_2)^{55, 56} a Lewisove kyseliny (SnCl_4 , $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$, TiF_4 , Tf_2O)⁵⁷⁻⁵⁹. Veľkým prínosom v tejto oblasti je použitie kvartérnych amóniových solí pre *in situ* anomerizácie⁶⁰. Najmä u glykozyljodidov nahradili kvartérne amóniové soli spolu s Hünigovou bázou (DIPEA) ostatné glykozylpromotory a sú vhodné na prípravu 1,2-*cis*-glykozidickej väzby (Schéma 9)⁵³.

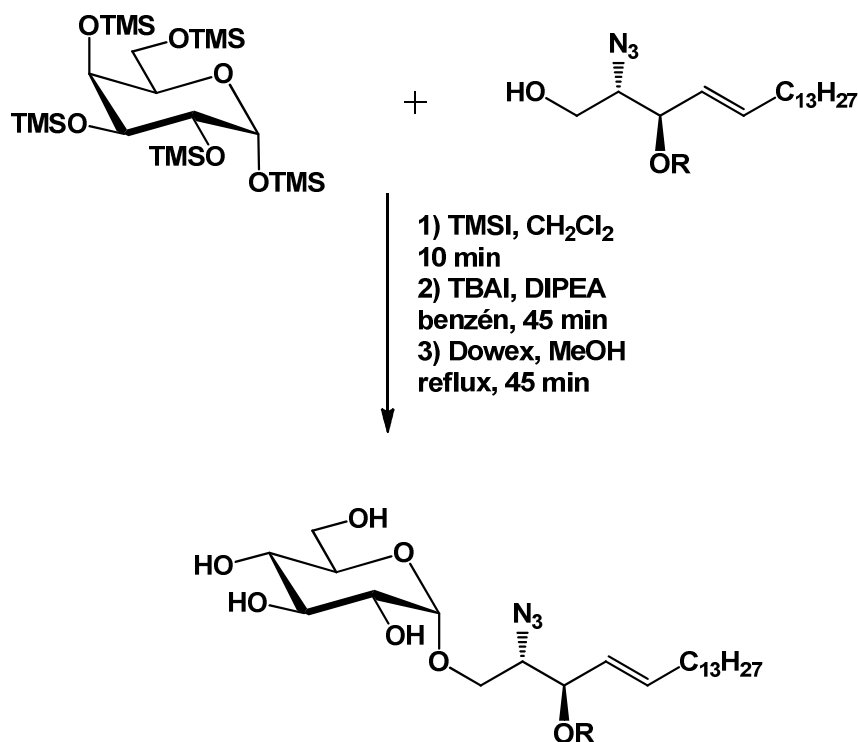


Schéma 9. Použitie glykozylijodidu a kvartérnej amóniovej soli v glykozylačnom procese.

Tioglykozidy

Tioglykozidy sú významnou skupinou glykozyldonorov. Prvú zmienku o priamom použití tioglykozidov ako glykozyldonorov publikoval Ferrier⁶¹. Ich výhodou je dobrá chemická stabilita, ktorá umožňuje ich použitie ako chrániacej skupiny pre anomérnu polohu. Preto môžu byť tioglykozidy využité ako glykozyldonor a zároveň glykozylakceptor pri syntéze zložitejších oligosacharidov⁶². Tioglykozidy sa najčastejšie pripravujú reakciou 1-*O*-acetátu s príslušným tiolom za katalýzy Lewisovou kyselinou, hlavne BF₃·Et₂O⁶³.

Pre aktiváciu tioglykozidov sa používajú napríklad systémy NIS/Tf₂O⁶⁴, NIS/HClO₄-silikagel⁶⁵ a NBS/Bi(OTf)₃⁶⁶. V posledných rokoch sa začali používať organosírne zlúčeniny ako promotory pre aktiváciu tioglykozidov. Príkladom je syntéza tetrasacharidu z tioglykozidov, pri ktorej bol použitý ako glykozypromotor systém BSM/Tf₂O (Schéma 10)⁶⁷.

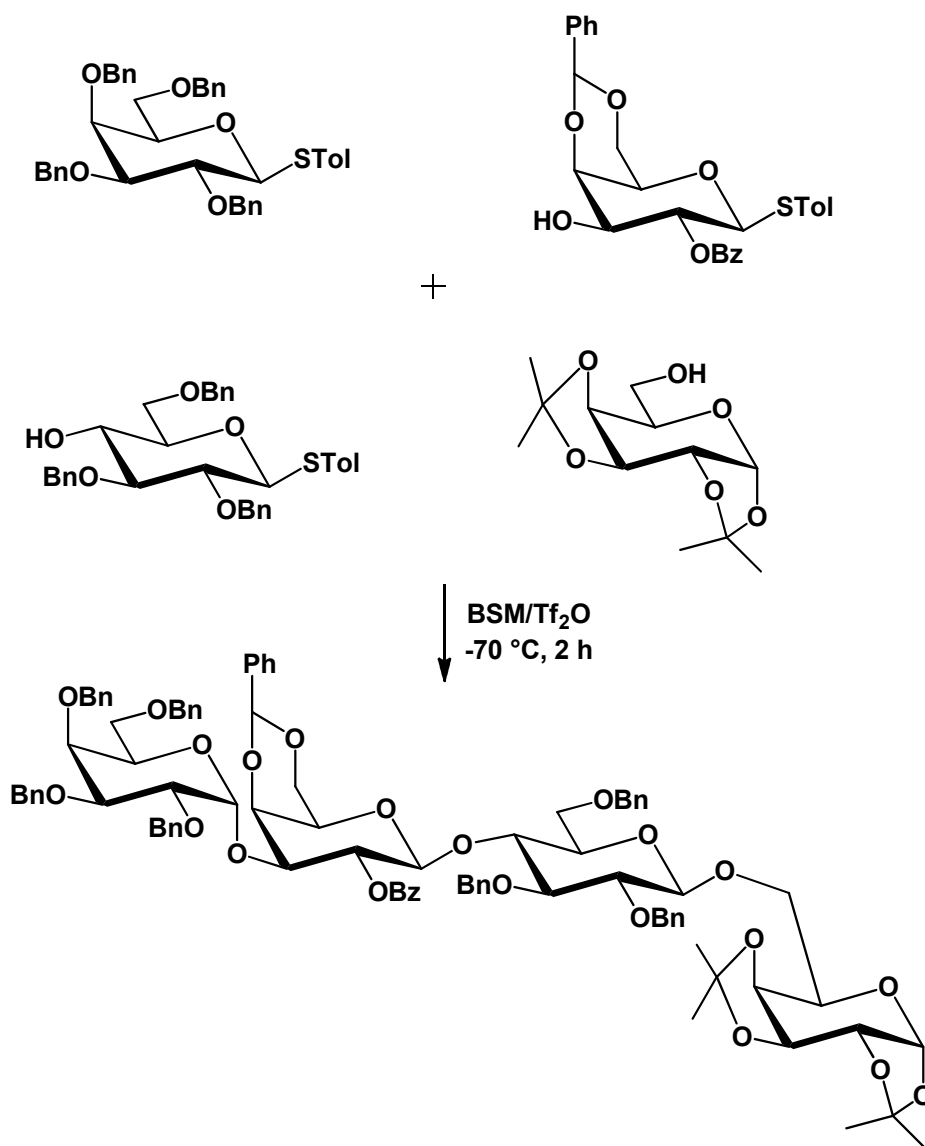


Schéma 10. Tioglykozid ako glykozyldonor a súčasne glykozylakceptor.

Trichlóracetimidáty

Trichlóracetimidáty ako prvý podrobnejšie preskúmal Schmidt⁶⁸. Pripravujú sa reakciou voľnej hydroxylovej skupiny na anomérom uhlíku s trichlóracetónitrilom v prítomnosti bázy ako DBU, K₂CO₃ a NaH.

Najviac používanými glykozylpromotormi sú Lewisove kyseliny ako TMSOTf, TBSOTf⁶⁸ a BF₃·Et₂O⁶⁹. Z pomedzi všetkých glykozyldonorov sú práve trichlóracetimidáty najčastejšie používanými hlavne pre ich ľahkú prípravu, relatívnu stabilitu a univerzálne použitie. Trichlóracetimidáty sú jedny z mála glykozyldonorov vhodných na prípravu 1,2-*cis*-glykozidov (Schéma 11)⁷⁰.

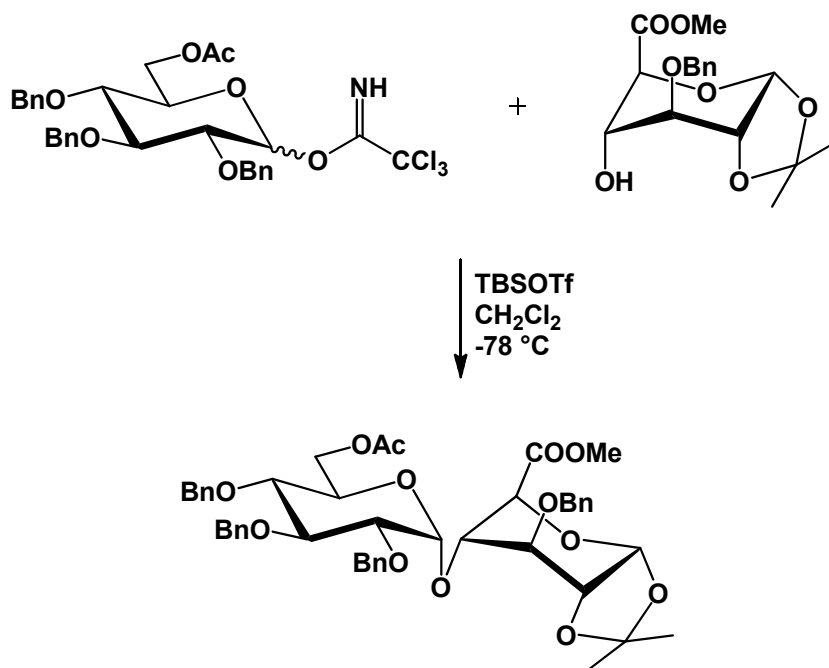


Schéma 11. Trichloroacetimidátová metóda vhodná na prípravu 1,2-*cis*-glykozidov.

Ďalšie glykozyldonory

Medzi ďalšie glykozyldonory používané v posledných rokoch patria 4-pentenylglykozidy, oxazolíny, karboxybenzyl glykozidy (Schéma 12), glykozyl tioamidy, 1-*O*-acetylderiváty, glykozyl sulfoxidy a ďalšie^{71,72}.

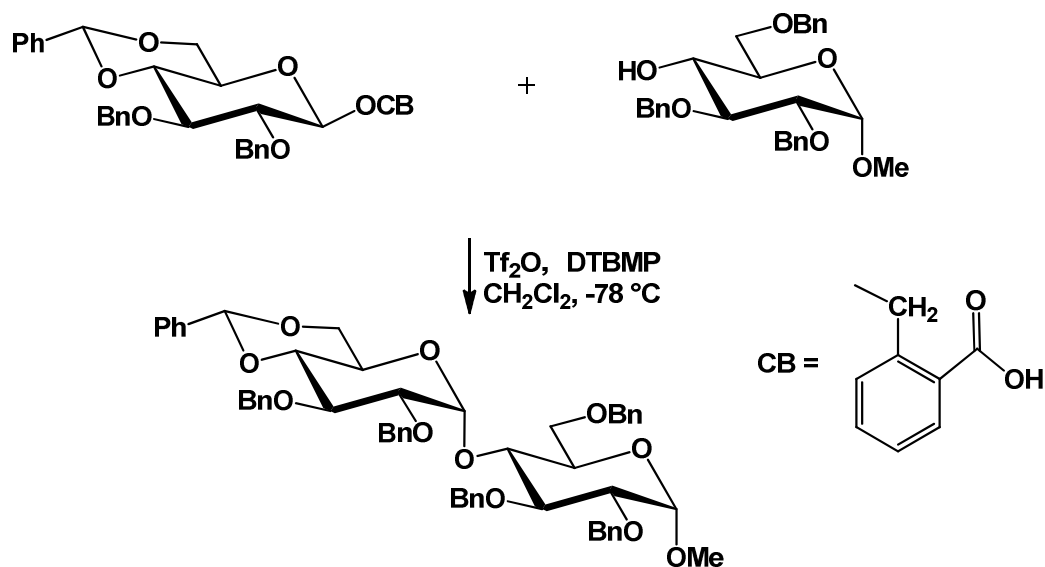
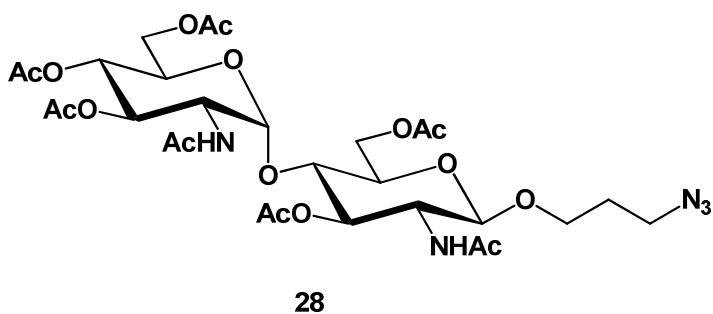


Schéma 12. Využitie karboxybenzylovej odstupujúcej skupiny v glykozylačnej reakcii.

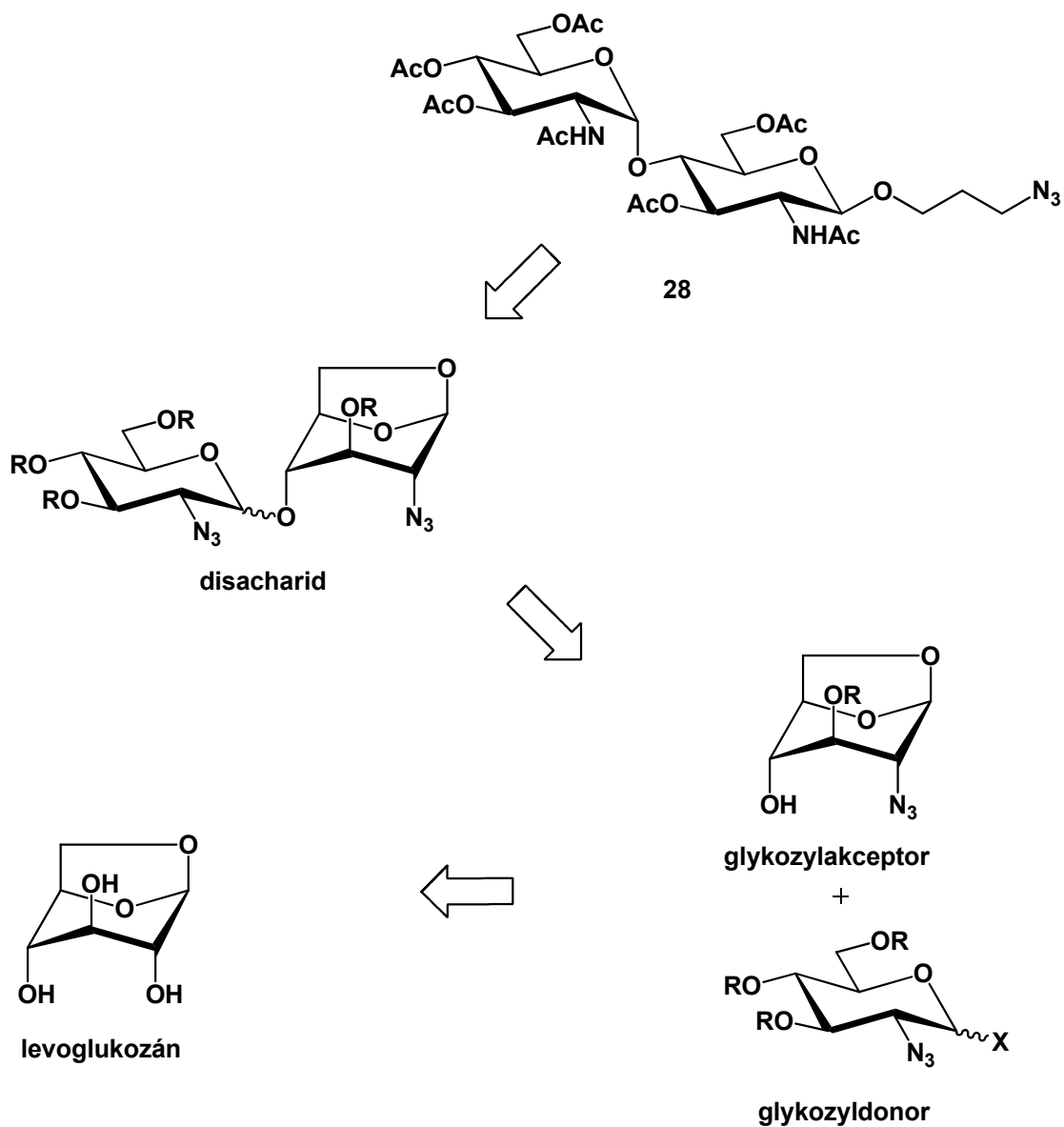
3. Ciele diplomovej práce

V rámci spoločného projektu našej katedry a Katedry anorganickej chémie bolo stanovené za cieľ tejto diplomovej práce vypracovať syntézu peracetylovaného disacharidu **28**, zloženého z dvoch glukozamínových jednotiek s 1,2-*cis*-(1→4)-*O*-glykozidickou väzbou, obsahujúceho ramienko na redukujúcom konci, ktoré je zakončené azidovou skupinou. Tento cieľ zahŕňal niekoľko čiastkových úloh:

1. Príprava glykozylakceptoru, s voľnou hydroxylovou skupinou na C(4), vhodného pre výstavbu (1→4)-*O*-glykozidickej väzby.
2. Príprava vhodného glykozyl donoru s neparticipujúcou skupinou umožňujúceho tvorbu 1,2-*cis*-glykozidickej väzby.
3. Vypracovanie vhodnej glykozylačnej metódy a optimalizácia reakčných podmienok, vedúcich k tvorbe α -(1→4)-viazaných dvoch glukozamínových jednotiek
4. Príprava navrhnutého disacharidu **28** vhodného pre naviazanie makromolekuly (DOTA) s potenciálnym využitím v MRI diagnostike.



4. Retrosyntetická analýza



X - odstupujúca skupina
R - vhodné chrániace skupiny

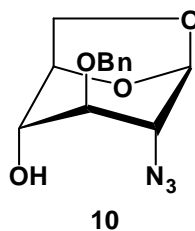
Schéma 13. Retrosyntetická analýza.

Pre prípravu navrhutej cieľovej látky **28** obsahujúcej ramienko s azidovou skupinou sa ako najvýhodnejšie javí využitie blokovej syntézy. Disacharidová jednotka, ľahko transformovateľná na **28**, sa dá pripraviť z príslušných stavebných jednotiek – glykozyldonoru a glykozylakceptoru. Pre ich prípravu je možné využiť dobre dostupnej 1,6-anhydro- β -D-glukopyranózy (levoglukožánu) (Schéma 13).

5. Diskusia a výsledky

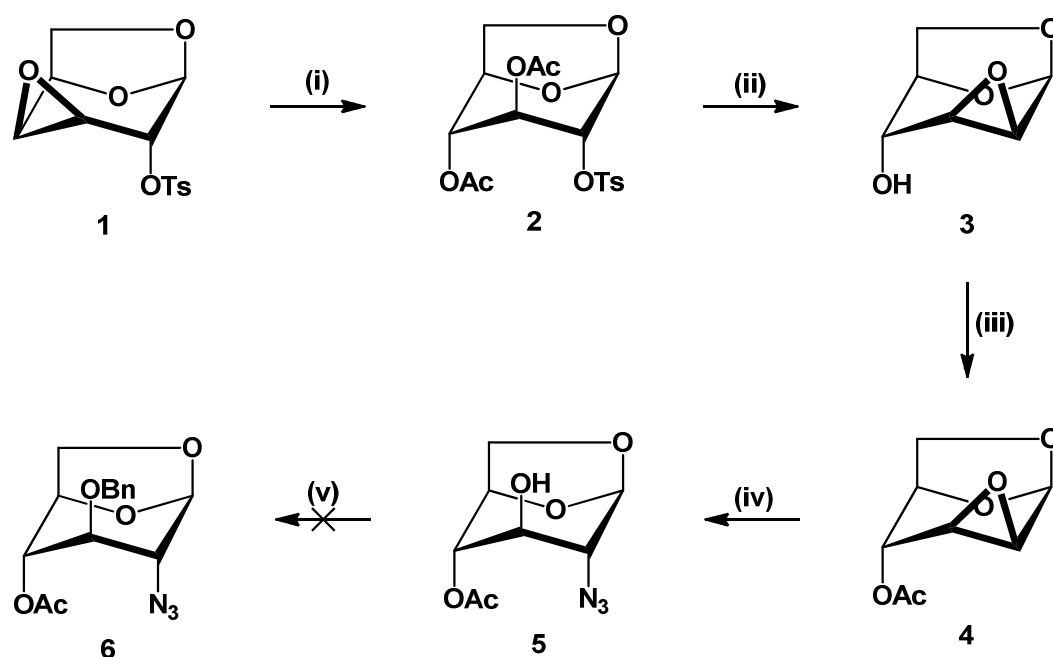
5.1 Príprava glykozylakceptoru

V rámci tejto práce bolo nutné najprv pripraviť glykozylakceptor s glukopyranózovým skeletom, s azidovou skupinou na C(2) a voľnou hydroxylovou skupinou na C(4), ktorý je vhodný pre krokovú výstavbu oligosacharidov s (1→4)-*O*-glykozidickou väzbou. Voľná hydroxylová skupina glukopyranózy v 4C_1 konformácii vykazuje nízku reaktivitu⁷³. Naopak inverzná 1C_4 konformácia, ktorá je zafixovaná vďaka 1,6-anhydro skeletu vykazuje zvýšenú reaktivitu výhodnú pre glykozylačné reakcie⁷⁴. Preto bola zvolená 1,6-anhydro-2-azido-3-*O*-benzyl-2-deoxy-β-D-glukopyranóza **10** ako vhodný akceptor.



Jeho príprava bola navrhnutá podľa dostupných predpisov v literatúre s malými modifikáciami v niektorých krokoch^{75,76} (Schéma 14). Ako východisková látka pre túto syntézu bola použitá 1,6:3,4-dianhydro-2-*O*-*p*-toluénsulfonyl-β-D-galaktopyranóza **1**, ktorá je ľahko pripraviteľná v dvoch krokoch priamo z levoglukošanu⁷⁷. Acetolýza látky **1** s acetanhydridom za katalýzy $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ poskytla diacetát **2** vo výťažku 79 %. Je treba podotknúť, že u tejto reakcie je dôležité dodržať vyššiu teplotu (100 °C) a suché prostredie, aby sa predišlo vzniku monoacetylovaného produktu⁷⁵. Manoepoxid **3** bol pripravený z diacetátu **2** pomocou ionexu IRA 400 v OH^- cykle⁷⁸. Výťažok tejto reakcie bol 92 %. U tohto typu reakcií sa často používa ako reagent metoxid sodný, avšak reakciou s látkou **2** by mohlo dochádzať k nežiaducim izomerizáciám na altroepoxid⁷⁵. Ochránením voľnej hydroxylovej skupiny manoepoxidu **3** acetylom pomocou acetanhydridu v pyridíne bol získaný acetát **4** vo výťažku 89 %. Následné otvorenie oxiránového kruhu azidom sodným s NH_4Cl v zmesi EtOH – voda (4:1) poskytlo azid **5**. V literatúre⁷⁵ uvedený postup čistenia reakčnej zmesi extrakciou medzi CHCl_3 a vodu

bol nahradený metódou kontinuálnej extrakcie na Soxhletovej aparatúre s CH_2Cl_2 ako extrakčným činidlom. Touto modifikáciou došlo k zvýšeniu výťažku reakcie na 58 % (lit.⁷⁵ 37 %). Ako chrániacu skupinu pre voľný hydroxyl azidu **5** sme zvolili benzyl. Benzylácia s benzylbromidom v zmesi THF – DMF (5:1), za použitia NaH ako bázy a TBAI ako katalyzátoru medzifázového prechodu neposkytla žiadaný produkt. Ani ďalší pokus o benzyláciu pomocou benzylalkoholu za katalýzy Lewisovou kyselinou $\text{Sc}(\text{CF}_3\text{SO}_3)_3$ ⁷⁹ nevedol k žiadanému produktu **6**.

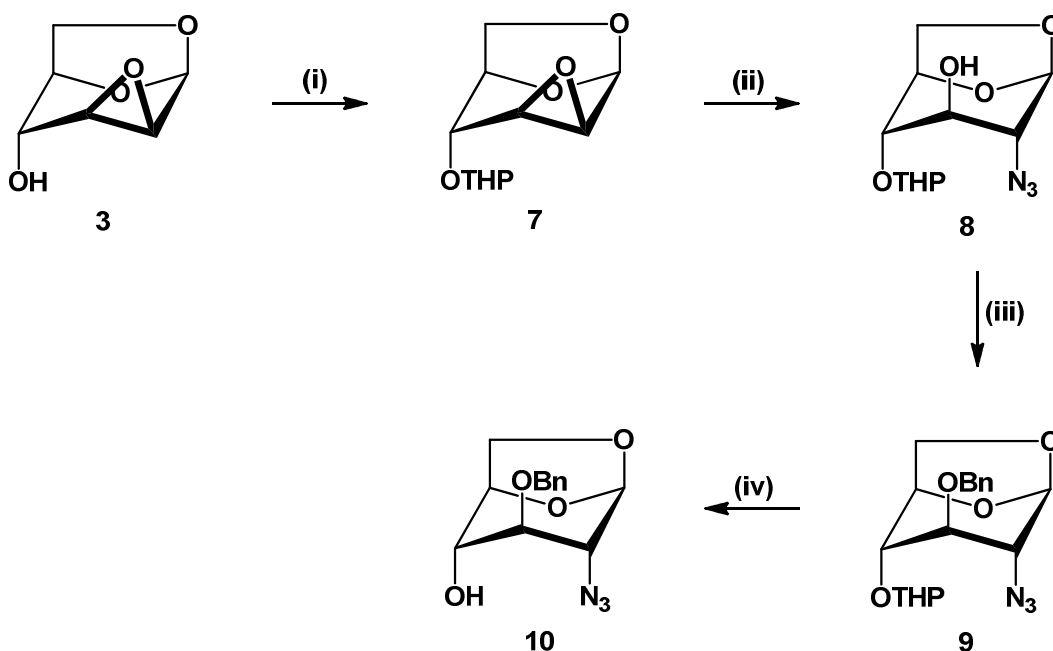


(i) Ac_2O , $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$, CH_3COOH , 25 až 100 °C, 79 %; (ii) ionex v OH^- , MeOH, 25 °C, 92 %; (iii) Ac_2O , DMAP, pyridín, 25 °C, 89 %; (iv) NaN_3 , NH_4Cl , etanol-voda (4:1), 78 °C, 58 %; (v) metóda A: BnBr, NaH, TBAI, THF-DMF (6:1), -40 až 25 °C, 0 %; metóda B: BnOH, $\text{Sc}(\text{CF}_3\text{SO}_3)_3$, 25 °C, 0 %.

Schéma 14. Pokus o syntézu glykozylakceptoru.

Na základe neúspešných pokusov o benzyláciu azidu **5** sme zmenili stratégiu pre prípravu akceptoru **10**. Náš nový prístup bol založený na využití tetrahydropyranylového chránenia voľnej hydroxylovej skupiny manoepoxidu **3** na základe predpisu uvedeného v literatúre⁷⁵. Akceptor **10** bol pripravený v štyroch krokoch nasledujúcim postupom (Schéma 15): Tetrahydropyranyléter **7** bol pripravený reakciou manoepoxidu **3** s 3,4-dihydro-2*H*-pyránom v 1,4-dioxáne za katalýzy *p*-toluénsulfónovou kyselinou vo výťažku 75 %. Otvorenie oxiránového kruhu azidom sodným za rovnakých podmienok ako pre látku **4** poskytlo azid **8** s voľnou

hydroxylovou skupinou v polohe C(3). Benzyláciou azidu **8** benzylbromidom s NaH a TBAI v sústave THF – DMF (4:1) bol získaný produkt **9** s benzyléterom v polohe C(3) vo výťažku 82 % (z **7**). Posledný krok k príprave akceptoru **10** bolo odstránenie tetrahydropyranylovej chrániacej skupiny pomocou konc. kyseliny chlór vodíkovej v EtOH. Táto reakcia prebehla vo výťažku 69 %. Celkovo bol glykozylakceptor **10** pripravený v šiestich krokoch z derivátu **1**, s celkovým výťažkom 31 % .



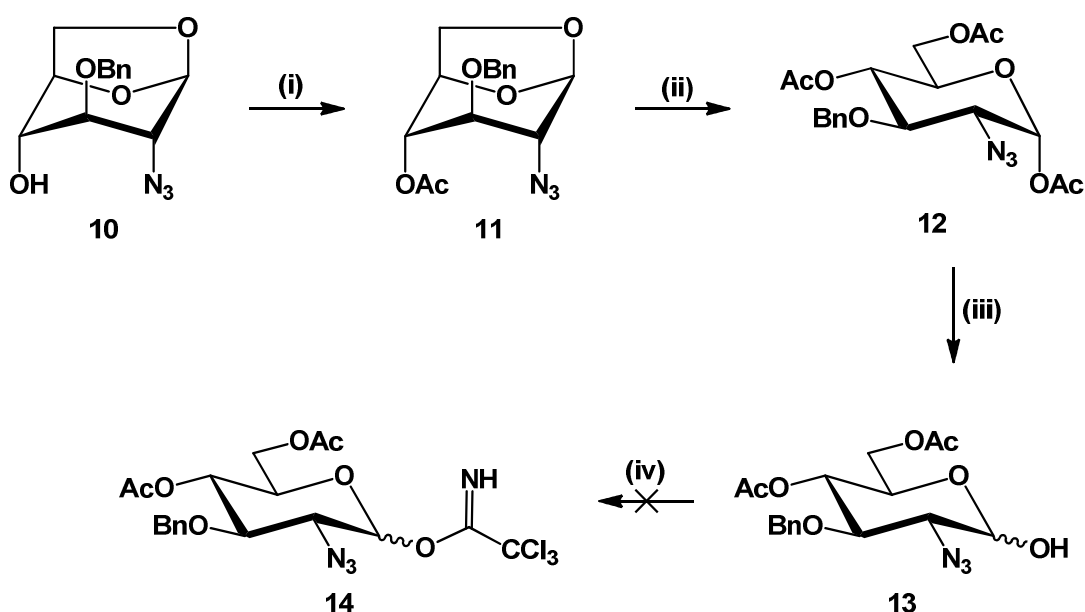
(i) 3,4-Dihydro-2H-pyrán, PTSA, 1,4-dioxán, 25 °C, 75 %; (ii) NaN₃, NH₄Cl, etanol-voda (4:1), 78 °C; (iii) BnBr, NaH, TBAI, THF-DMF (4:1), -40 až 25 °C, 82 % z **7**; (iv) konc. HCl, EtOH, 25 °C, 69 %.

Schéma 15. Syntéza glykozylakceptoru.

5.2 Príprava glykozyl donoru

V ďalšej časti syntézy bolo potreba pripraviť vhodný glykozyl donor, umožňujúci tvorbu 1,2-*cis*-(1→4)-glykozidicky viazaných 2-amino-2-deoxyglukopyranózových jednotiek. K jeho príprave bola navrhnutá kroková výstavba, ktorá spočívala v modifikácii funkčných skupín už pripraveného glykozylakceptoru **10** (Schéma 16). Reakciou akceptoru **10** s acetanhydridom v pyridíne bola ochránená voľná hydroxylová skupina na C(4). Vzniknutý acetát **11** bol po potvrdení identity pomocou NMR bez ďalšieho čistenia použitý do nasledujúcej reakcie. Kyslo katalyzované otvorenie 1,6-anhydro kruhu, postupom uvedeným v literatúre⁸⁰, pomocou

acetanhydridu a konc. H_2SO_4 poskytlo triacetát **12** vo výťažku 50 % (z **10**). Po kryštalizácii bol získaný α -anomér vo výťažku 51 %. Poloacetál **13**, bol pripravený reakciou triacetátu **12** s octanom amónnym v DMF⁸¹. Výsledkom tejto reakcie bola zmes α a β -anomérov vo výťažku 68 %. Pokus o prípravu trichlóracetimidátu **14** reakciou poloacetálu **13** s trichlóracetonitrilom v toluéne za bázičkej katalýzy DBU²⁷ poskytol zmes látok, z ktorých ani jedna neobsahovala trichlóracetimidátovú skupinu. Tento predpoklad bol určený na základe NMR spektra reakčnej zmesi. Ani ďalší experiment so zmenou báze za K_2CO_3 a zmenou rozpúšťadla za CH_2Cl_2 nevedol k žiadanému produktu.

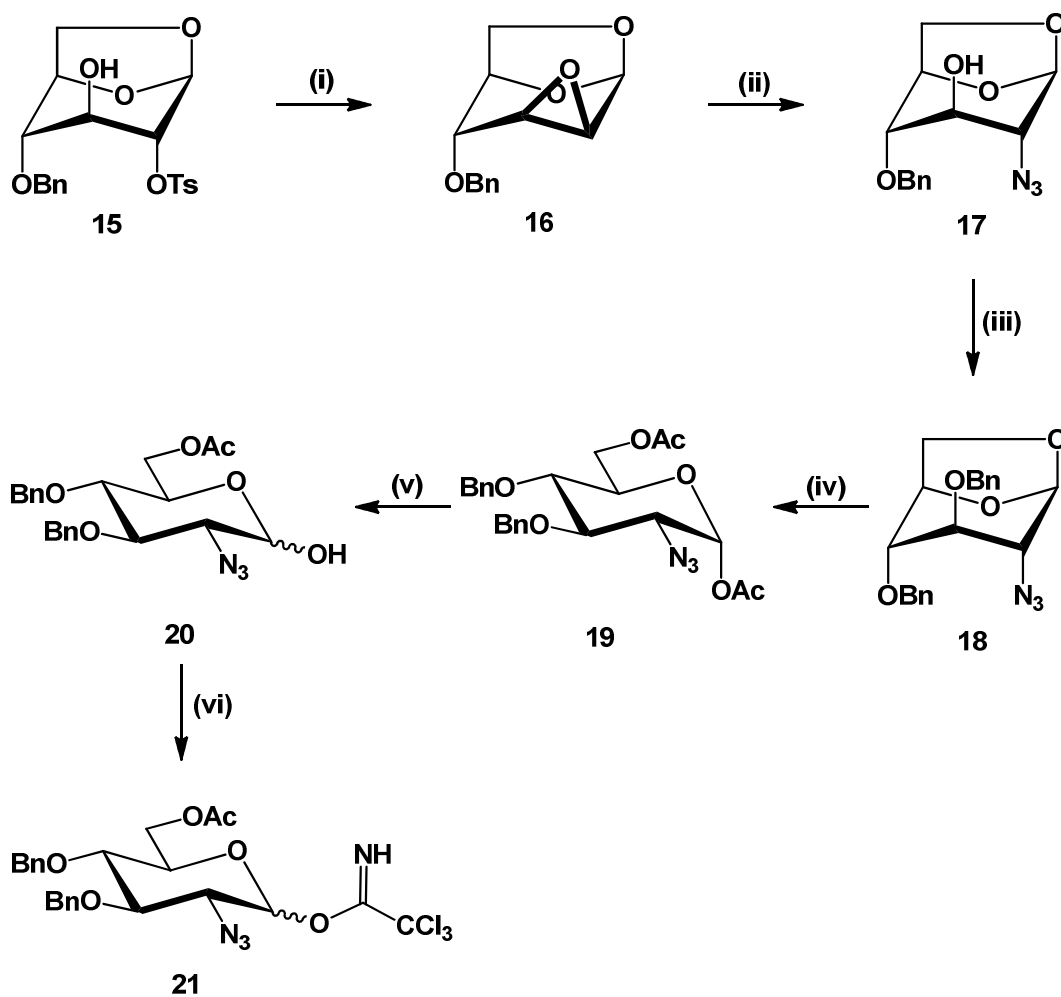


(i) Ac_2O , pyridín, 0 až 25 °C; (ii) Ac_2O , konc. H_2SO_4 , -20 až 25 °C, 50 % z **10**;
 (iii) NH_4OAc , DMF, 25 °C, 68 %; (iv) metóda A: TCAN, DBU, toluén, 0 až 25 °C, 0 %; metóda B: TCAN, K_2CO_3 , CH_2Cl_2 , 0 až 25 °C, 0 %.

Schéma 16. Pokus o syntézu glykozyldonoru.

Spolu s vyššie uvedenou neúspešnou syntézou bola navrhnutá príprava glykozyldonoru (Schéma 17) vychádzajúca z 1,6-anhydro-4-*O*-benzyl-2-*O*-*p*-toluénsulfonyl- β -D-glukopyranózy **15**, ktorá bola pripravená na našej katedre z látky **1** podľa predpisu v literatúre⁷³. Reakcia tozylderivátu 1,6-anhydro-glukopyranózy **15** s metoxidom sodným v CHCl_3 poskytla 1,6:2,3-dianhydroderivát **16** vo výťažku 95 %. Nukleofilné otvorenie vzniknutého 2,3-anhydro kruhu azidom sodným poskytlo azid **17** vo výťažku 92 %. Zavedenie benzylovej chrániacej skupiny na voľný hydroxyl na C(3)

azidu **17** reakciou s benzylbromidom, NaH, TBAI v sústave THF – DMF (4:1) poskytlo dibenzylderivát **18** vo výťažku 81 %. Acetolýzou 1,6-anhydro kruhu dibenzylderivátu **18**, pomocou acetanhydridu s konc. H₂SO₄ bol pripravený diacetát **19**, vo výťažku 70 %. Selektívnou deacetyláciou diacetátu **19** octanom amónnym v DMF bol získaný poloacetál **20**. Výsledkom reakcie bola zmes α a β -anomérov (10:1) vo výťažku 80 %. Pre túto reakciu bola vyskúšaná zmena rozpúšťadla DMF za systém THF – MeOH (1:1), ktorá poskytla rovnaký výsledok. Výhodou tohto systému rozpúšťadiel je jednoduchšie čistenie zmesi, naopak nevýhodou je dlhšia reakčná doba (5 dní). Glykozyldonor **21** bol pripravený reakciou poloacetálu **20** s trichlóracetonitrilom za katalýzy K₂CO₃ v CH₂Cl₂. Výsledkom bola zmes α a β -anomérov (1:10) vo výťažku 84 %. U tejto reakcie bol zmenou K₂CO₃ za DBU a CH₂Cl₂ za toluén dosiahnutý podobný výťažok (83 %), táto modifikácia však poskytla zmes α a β -anomérov v pomere 1:1. Celkovo bol glykozyldonor **21** pripravený v šiestich krokoch z derivátu **15**, s celkovým výťažkom 33 %.



(i) Na / MeOH, CHCl₃, 0 až 25 °C, 95 %; (ii) NaN₃, NH₄Cl, EtOH-voda (4:1), 78 °C, 92 %; (iii) BnBr, NaH, TBAI, THF-DMF (4:1), -40 až 25 °C, 81 %; (iv) Ac₂O, konc. H₂SO₄, CH₃NO₂, 5 až 25 °C, 70 %; (v) NH₄OAc, DMF, 25 °C, 80 % (10:1 α/β); (vi) metóda A: TCAN, DBU, toluén, 0 až 25 °C, 83 % (1:1, α/β); metóda B: TCAN, K₂CO₃, CH₂Cl₂, 0 až 25 °C, 84 % (1:10, α/β).

Schéma 17. Syntéza glykozyldonoru.

5.3 Glykozylácia a následná transformácia disacharidového skeletu

Ďalšou úlohou bolo overenie či pripravený glykozyldonor **21** a glykozylakceptor **10** sú vhodné pre syntézu disacharidu s α -(1 \rightarrow 4)-viazanými 2-azido-2-deoxyglukopyranózovými jednotkami a následná transformácia disacharidového skeletu (Schéma 18). Glykozylačná reakcia glykozyldonoru **21** s glykozylakceptorom **10** v prítomnosti TMSOTf v CH_2Cl_2 ⁸² poskytla disacharid **22** vo výťažku 63 % ako zmes α a β -anomérov (3:1). Zmena reakčných podmienok (rozpúšťadlo, teplota) nevedla k lepšiemu pomeru anomérov v prospech α ani k lepšiemu výťažku (Tabuľka 1).

Rozpúšťadlo	Teplota	Čas	Výťažok	α : β *
CH_2Cl_2	-45 až 25 °C	24 h	67 %	3:1
Et_2O	-45 až 25 °C	24 h	61 %	3:1
CH_3CN	-45 až 25 °C	24 h	54 %	1:3
Et_2O	0 až 25 °C	24 h	49 %	2:1

*určené podľa $^1\text{H NMR}$

Tabuľka 1. Výsledky glykozylačnej reakcie látky **21** s **10** za rôznych podmienok

Po viacerých neúspešných pokusoch separovať α a β diastereoméry chromatografiou na silikageli bol disacharid **22** použitý do ďalších reakcií ako ich zmes. Pokus o katalytickú debenzyláciu a súčasne redukciu azidov disacharidu **22** s vodíkom za katalýzy Pd/C v 1,4-dioxáne⁴⁶ nevedol k žiadanému produktu. Podľa priebežnej kontroly pomocou $^1\text{H NMR}$ a TLC dochádzalo iba k čiastočnej redukcii azidov na amíny, prípadne k parciálnej debenzylácii. Ani zmena rozpúšťadla (etanol, kyselina octová), zvýšenie teploty (40 °C), či predĺženie reakčnej doby (3-5 dní) neposkytlo výrazné zlepšenie.

Vzhľadom k tomuto faktu bola vyskúšaná samostatná redukcia azidovej skupiny na amínovú a následné ochránenie amínu acetátom. Pokus o redukciu dvoch azidových skupín disacharidu **22** pomocou H_2S , či priame prevedenie na NHAc pomocou kyseliny tiooctovej neposkytlo žiadaný produkt. Redukcia Staudingerovou reakciou s PPh_3

a následná acetylácia s Ac_2O v pyridíne síce poskytla *N*-acetát **23** (potvrdené pomocou hmotnostnej spektrometrie). Avšak žiaden pokus o separáciu od vedľajšieho produktu tejto reakcie, trifenyľfosfín oxidu, nebol úspešný.

Pre prípravu *N*-acetátu **23** bola zvolená redukcia azidových skupín disacharidu **22** s NaBH_4 a $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ v zmesi THF–voda⁸³ a následnou acetyláciou s acetanhydridom. Táto reakcia poskytla zmes anomérov vo výťažku 77 %. Úspešnou separáciou anomérov chromatografiou na silikageli bol získaný *N*-acetát **23** ako čistý α -(1→4)-anomér vo výťažku 58 % (z **22**). Acetolýza 1,6-anhydrokruhu *N*-acetátu **23** pomocou Ac_2O za kyslej katalýzy s TFA poskytla α -acetát **24** vo výťažku 75 %. Debenzyláciou α -acetátu **24** hydrogenolýzou za katalýzy Pd/C a následnou acetyláciou pomocou acetanhydridu v pyridíne bol získaný peracetát **25** vo výťažku 65 %. Poloacetál **26** bol pripravený selektívnou deacetyláciou pomocou NH_4OAc v zmesi THF – MeOH (1:1) vo výťažku 73 %.

Finálna časť syntézy zahrňovala tvorbu odstupujúcej skupiny na anomérnom uhlíku C(1') a následné pripojenie ramienka glykozylačnou metódou. Poloacetál **26** reagoval s trichlóracetonitrilom za katalýzy K_2CO_3 v CH_2Cl_2 . Výsledný produkt bol prečistený a následne použitý do reakcie s azidoalkoholom **27** za aktivácie pomocou TMSOTf. Vzhľadom k prítomnosti participujúcej skupiny na C(2') bol výsledkom glykozylačnej reakcie disacharid **28**, s β -glykozidicky viazaným ramienkom, vo výťažku 47 %.

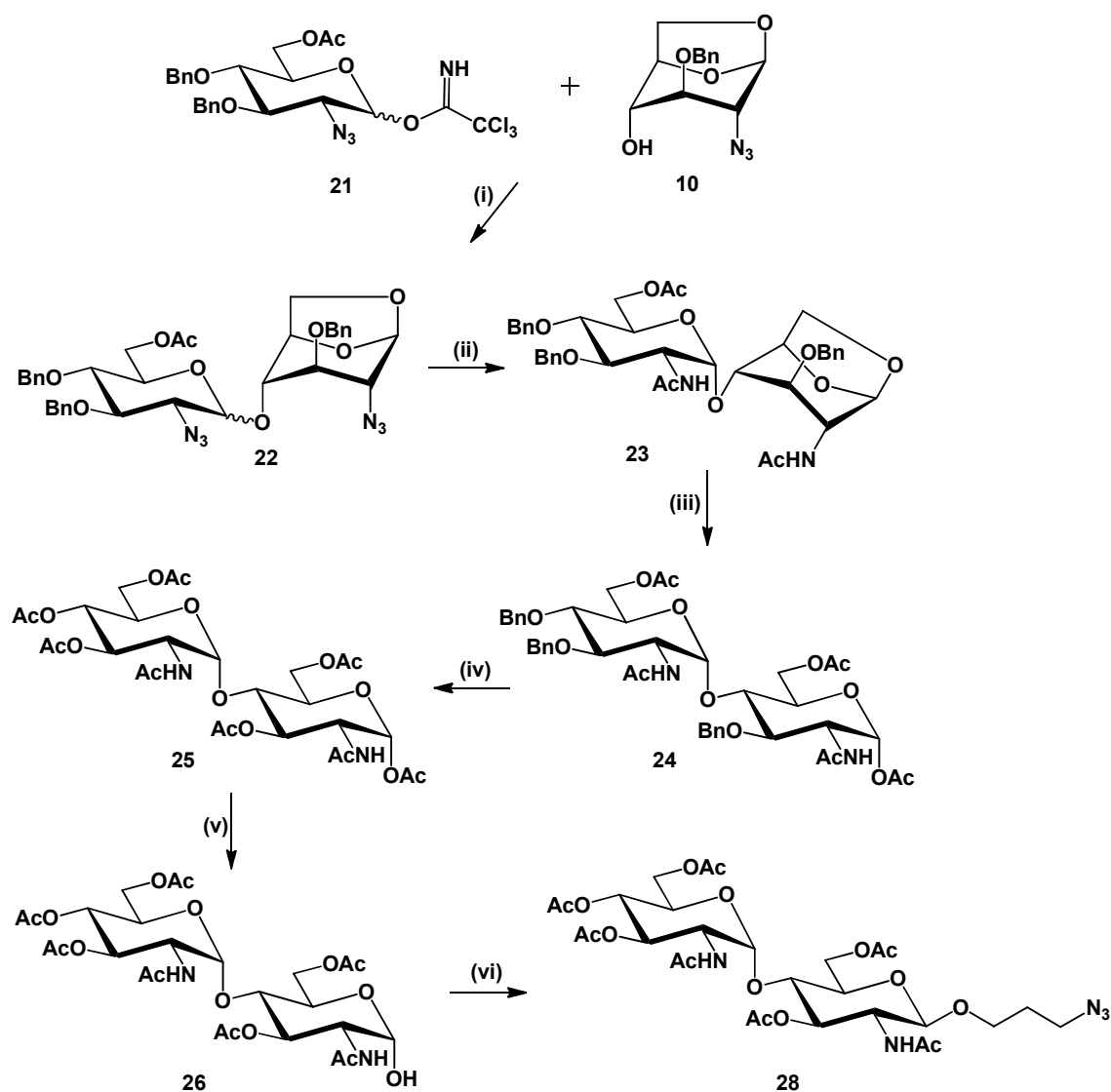


Schéma 18. Glykozylácia a transformácia disacharidu.

6. Experimentálna časť

6.1 Obecná časť

Teploty topenia boli stanovené na Koflerovom vyhrievanom bloku a nie sú korigované.

NMR spektrá boli namerané na prístroji Varian ^{UNITY}INOVA 300 (¹H pri 300 MHz) alebo na prístroji Bruker AVANCE III 600 (¹H pri 600 MHz) pri teplote 25 °C v CDCl₃ za použitia tetrametylsilánu ako vnútorného štandardu. ¹³C NMR spektrá (100 MHz) boli merané za rovnakých podmienok a s použitím protónového dekaplingu.

ESI hmotnostné spektrá boli merané v pozitívnom móde na prístroji Esquire 3000 od firmy Bruker.

Priebeh reakcií bol sledovaný tenkovrstvou chromatografiou na komerčných doskách KIESELGEL 60 F254 od firmy Merck. Látky boli detegované pod UV svetlom (254 nm) a následne ponorením do roztoku anisaldehydu v kyseline sírovej a zahriatím teplovzdušnou pištoľou. Pre sacharidy s voľnou amínovou skupinou 1% roztokom ninhydrínu v etanole.

Pre stĺpcovú chromatografiu bol použitý Silica gel 60 (40 – 63 μm) od firmy Fluka alebo Kieselgel 60 (63 – 200 μm) od firmy Merck.

Rozpúšťadlá boli odparené na rotačnej vákuovej odparke (Buchi Rotavapor R-200) pri teplotách 25 °C – 50 °C. Suchý acetón bol pripravený destiláciou z oxidu fosforečného, dichlórmetán destiláciou z hydridu vápenatého, pyridín stáťím 8 h nad hydroxidom sodným a destiláciou z hydridu vápenatého, tetrahydrofurán a dietyléter destiláciou z tetrahydridohlinitanu lítneho, toluén destiláciou zo sodíku. *N,N*-dimetylformamid, dimetylsulfoxid, 1,4-dioxán a metanol boli použité komerčne dostupnej HPLC čistoty. Kyselina octová bola prečistená destiláciou z manganistanu draselného. Dihydropyrán bol prečistený stáťím nad uhličitanom sodným a destiláciou zo sodíku. Všetky ostatné chemikálie boli komerčné (Aldrich, Fluka, Merck).

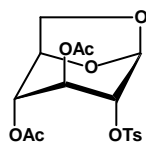
Molekulové sitá 4Å (Fluka) boli aktivované 8 h pri teplote 300 °C a tlaku 20 Pa. Kryštalické látky boli vysušené stáťím nad P₂O₅ v evakuovanom exikátore.

Poznámka k číslovaniu v NMR spektrách: Disacharidová jednotka vzniknutá z glykozylakceptoru je číslovaná s apostrofom a z glykozyldonoru bez apostrofu

6.2 Postupy

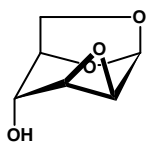
Príprava glyozylakceptoru

3,4-Di-*O*-acetyl-1,6-anhydro-2-*O*-*p*-toluénsulfonyl- β -D-glukopyranóza (**2**)



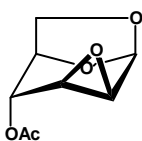
K roztoku 1,6:3,4-Dianhydro-2-*O*-*p*-toluénsulfonyl- β -D-galaktopyranózy **1** (10,0 g, 34 mmol) v kyseline octovej (120 ml) bol pridaný anhydrid kyseliny octovej (3,5 ml) a vzniknutá suspenzia bola miešaná pri 100 °C až do úplného rozpustenia. Po ochladení na laboratórnu teplotu bol pod argónom pridaný eterát fluoridu boritého (3,0 ml, 24 mmol) a reakčná zmes bola ohriata na 100 °C. Pri tejto teplote bola miešaná 2 h. Priebeh reakcie bol sledovaný na TLC v etylacetáte. Potom bola reakčná zmes, s prídavkom toluénu, odparená na RVO až do vymiznutia zápachu kyseliny octovej. Kryštalizáciou odparku zo zmesi etanol – metanol – voda bolo získaných 10,6 g (79 %) bielej kryštalickej látky **2**. NMR spektrá súhlasili s literatúrou⁷⁵.

1,6:2,3-Dianhydro- β -D-manopyranóza (**3**)

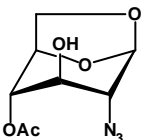


Metóda A: K roztoku látky **2** (9,5 g, 24 mmol) v metanole (200 ml) bola za stáleho miešania pridaná suspenzia aktivovaného ionexu Amberlyst IRA 410 v OH⁻ forme (50 g) a reakčná zmes bola miešaná 1 h pri laboratórnej teplote. Priebeh reakcie bol sledovaný na TLC v etylacetáte. Potom bola reakčná zmes prefiltrovaná, ionex premytý metanolom a filtrát odparený na RVO. Kryštalizáciou odparku zo zmesi etanol – dietyléter bolo získaných 3,13 g (92 %) bielej kryštalickej látky **3**. NMR spektrá súhlasili s literatúrou⁸⁴.

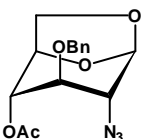
Metóda B: K roztoku látky **16** (41,5 g, 177 mmol) v etanole (500 ml) bolo pridané 10% Pd/C (12 g) a zmes bola miešaná vo vodíkovej atmosfére (balónik napustený vodíkom) 1h pri 40 °C. Priebeh reakcie bol sledovaný na TLC v etylacetáte. Následne bola zmes prefiltrovaná cez kremelinu, odparená na RVO a vysušená kódestiláciou s benzénom (4×20 ml). Kryštalizáciou odparku zo zmesi etanol – dietyléter bolo získaných 20,1 g (71 %) bielej kryštalickej látky **3**. NMR spektrá súhlasili s literatúrou⁸⁴.

4-O-Acetyl-1,6:2,3-dianhydro- β -D-manopyranóza (4)

K roztoku 1,6:2,3-Dianhydro- β -D-manopyranózy **3** (1,8 g, 12 mmol) v suchom pyridíne (10 ml) bolo pridané katalytické množstvo DMAP (30 mg), acetanhydrid (2,5 ml) a vzniknutá reakčná zmes bola miešaná 2 h pri laboratórnej teplote. Priebeh reakcie bol sledovaný na TLC v etylacetáte. Následne bola reakčná zmes zahustená na RVO s prídavkom toluénu (5×10 ml). Odparok bol rozpustený v dichlórmetáne (50 ml), premytý 5% kyselinou chlór vodíkovou (10 ml), nasýteným roztokom hydrogénuhličitanu sodného (10 ml) a vodou (10 ml). Organická fáza bola vysušená bezvodým síranom horečnatým a odparená na RVO. Chromatografiou odparku na silikageli v sústave hexán – etylacetát (3:1 → 3:2) a následnou kryštalizáciou z etanolu bolo získaných 2,05 g (89 %) bielej kryštalickej látky **4**. NMR spektrá súhlasili s literatúrou⁸⁵.

4-O-Acetyl-1,6-anhydro-2-azido-2-deoxy- β -D-manopyranóza (5)

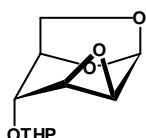
Suspenzia látky **4** (1,95 g, 10,5 mmol), azidu sodného (6,0 g, 92 mmol) a chloridu amónneho (6,0 g, 112 mmol) v etanole (40 ml) a vode (10 ml) bola refluxovaná pod spätným chladičom 3 dni. Priebeh reakcie bol sledovaný na TLC v etylacetáte. Potom bola do reakčnej zmesi priliata voda (20 ml) a zmes bola zahustená na minimálny objem s acetonitrilom na RVO. Do odparku bol pridaný silikagel (20 g) a takto zakotvená reakčná zmes bola extrahovaná metódou kontinuálnej extrakcie na Soxhletovom extraktore. Ako rozpúšťadlo bol použitý dichlórmetán, ktorý bol následne odparený na RVO. Kryštalizáciou z dichlórmetánu bolo získaných 1,41 g (58 %) látky **5**. NMR spektrá súhlasili s literatúrou⁷⁶.

Pokus o syntézu 4-O-acetyl-1,6-anhydro-2-azido-3-O-benzyl-2-deoxy- β -D-manopyranózy (6)

Metóda A: Látka **5** (100 mg, 0,44 mmol) bola rozpustená v suchom tetrahydrofuráne (10 ml) a *N,N*-dimetylformamide (2 ml). Roztok bol ochladený na -40 °C a pod argónom bol pomaly pridaná 50% suspenzia hydridu sodného (31 mg, 0,65 mmol) v suchom tetrahydrofuráne (2 ml) v priebehu 1 h. Následne bol do zmesi pridaný jodid tetrabutylamónny (18 mg, 0,05 mmol), benzylbromid (57 μ l, 0,48 mmol) a reakčná zmes bola miešaná 24 h pri laboratórnej teplote. Priebeh reakcie bol sledovaný na TLC v etylacetáte. Detekciou podľa ¹H NMR nebol preukázaný žiadany produkt.

Metóda B: Látka **5** (100 mg, 0,44 mmol) bola rozpustená v nitrometáne (5 ml) a k roztoku bol pridaný benzylalkohol (91 μ l, 0,87 mmol) a $\text{Sc}(\text{CF}_3\text{SO}_3)_3$ (214 mg, 0,44 mmol) a reakčná zmes bola miešaná za laboratórnej teploty. Priebeh reakcie bol sledovaný na TLC v etylacetáte. Detekciou podľa ^1H NMR nebol preukázaný žiadany produkt.

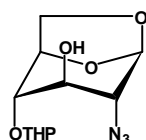
1,6:2,3-Dianhydro-4-*O*-(tetrahydro-2-pyranyl)- β -D-manopyranóza (**7**)



K roztoku látky **3** (20,0 g; 139 mmol) v 1,4-dioxáne (150 ml) bol za stáleho miešania pridaný 3,4-dihydro-2*H*-pyrán (17,7 ml, 194 mmol) a *p*-toluénsulfónová kyselina (0,16 g, 0,8 mmol). Reakcia bola miešaná pri laboratórnej teplote a sledovaná na TLC v etylacetáte. Po 12 h bola do reakčnej zmesi znova pridaná *p*-toluénsulfónová kyselina (0,32 g) a reakcia bola miešaná ešte 4h. Potom bola reakčná zmes naliata do chloroformu (400 ml), premytá 10% hydrogénuhličitanom sodným (200 ml), vodou (200 ml), nasýteným roztokom chloridu sodného (200 ml), vysušená bezvodým síranom horečnatým a odparená na RVO. Kryštalizáciou odparku zo zmesi dietyléter – hexán bolo získaných 23,7 g (75 %) bielej kryštalickej látky **7**. Látka bola charakterizovaná ako **9**.

MS: pre $\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{O}_5$ vypočítaných: monoizotopická hmotnosť 228,1, nájdených m/z : 251,3 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

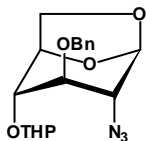
1,6-Anhydro-2-azido-2-deoxy-4-*O*-(tetrahydro-2-pyranyl)- β -D-glukopyranóza (**8**)



Suspenzia látky **7** (12,3 g, 54 mmol), azidu sodného (21,5 g, 330 mmol) a chloridu amónneho (21,5 g, 398 mmol) v etanole (300 ml) a vode (75 ml) bola refluxovaná pod spätným chladičom 4 dni. Priebeh reakcie bol sledovaný na TLC v etylacetáte. Potom bola do reakčnej zmesi priliata voda (100 ml), zmes bola zahustená na RVO a vodná fáza bola extrahovaná chloroformom (4 \times 50 ml). Spojené organické fázy boli vysušené bezvodým síranom horečnatým a odparené na RVO. Bez ďalšieho čistenia bolo získaných 13,9 g nažltutej olejovitej látky **8**. Látka bola charakterizovaná ako **9**.

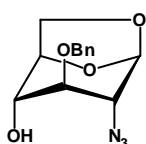
MS: pre $\text{C}_{11}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_5$ vypočítaných: monoizotopická hmotnosť 271,1, nájdených m/z : 294,2 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

1,6-Anhydro-2-azido-3-*O*-benzyl-2-deoxy-4-*O*-(tetrahydro-2-pyranyl)- β -D-glukopyranóza (9)



Látka **8** (11,5 g) bola rozpustená v suchom tetrahydrofuráne (50 ml) a *N,N*-dimetylformamide (15 ml). Roztok bol ochladený na $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ a pod argónom bol pomaly pridaná 50% suspenzia hydridu sodného (3,0g, 125 mmol) v suchom tetrahydrofuráne (10 ml) v priebehu 1 h. Následne bol do zmesi pridaný jodid tetrabutylamónny (140 mg, 0,38 mmol), benzylbromid (5,5 ml, 46 mmol) a reakčná zmes bola miešaná 24 h pri laboratórnej teplote. Priebeh reakcie bol sledovaný na TLC v sústave toluén – acetón (9:1). Potom bola zmes naliata do vody (400 ml), zneutralizovaná 5% kyselinou chlór vodíkovou a extrahovaná dichlórmetánom (3 \times 200 ml). Spojené organické fázy boli vysušené bezvodým síranom horečnatým a odparené na RVO. Vysušením odparku pri laboratórnej teplote a tlaku 80 Pa bolo získaných 13,25 g (82 % z **7**) nažltutej olejovitej látky **9**. NMR spektrá súhlasili s literatúrou⁷⁶.

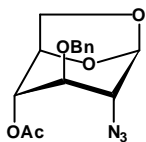
1,6-Anhydro-2-azido-3-*O*-benzyl-2-deoxy- β -D-glukopyranóza (10)



K roztoku látky **9** (13,2 g, 37 mmol) v etanole (150 ml) bola po kvapkách pridaná konc. kyselina chlór vodíková (20,0 ml, 652 mmol) a reakčná zmes bola miešaná 1 h pri laboratórnej teplote. Priebeh reakcie bol sledovaný na TLC v sústave hexán – etylacetát (5:1). Potom bola reakčná zmes zneutralizovaná prídavkom hydrogénuhličitanu sodného a odparením na RVO s etanolom. Chromatografiou odparku na silikageli v sústave toluén – acetón (9:1) a následnou kryštalizáciou zo zmesi etylacetát – dietyléter – petroléter bolo získaných 6,97 g (69 %) bielej kryštalickej látky **10**. NMR spektrá súhlasili s literatúrou⁷⁶.

Príprava glykozyl donoru

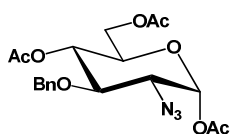
4-*O*-Acetyl-1,6-anhydro-2-azido-3-*O*-benzyl-2-deoxy- β -D-manopyranóza (11)



K roztoku látky **10** (5,0 g, 18 mmol) v suchom pyridíne (125 ml) bol pri $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ pridaný acetanhydrid (25 ml) a reakčná zmes bola miešaná 24 h pri laboratórnej teplote. Priebeh reakcie bol sledovaný na TLC v sústave hexán – etylacetát (5:1). Následne bola reakčná zmes zahustená na RVO s prídavkom toluénu (5 \times 100 ml). Odparok bol rozpustený v dichlórmetáne (200 ml), premytý 5% kyselinou chlór vodíkovou (50 ml), nasýteným roztokom hydrogénuhličitanu sodného

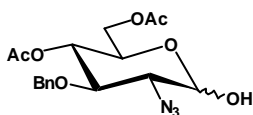
(50 ml) a vodou (50 ml). Organická fáza bola vysušená bezvodým síranom horečnatým a odparená na RVO. Bez ďalšieho čistenia bolo získaných 5,6 g žltej olejovitej látky **11**. NMR spektrá súhlasili s literatúrou⁷⁶.

1,4,6-Tri-*O*-acetyl-2-azido-3-*O*-benzyl-2-deoxy- α -D-glukopyranóza (**12**)



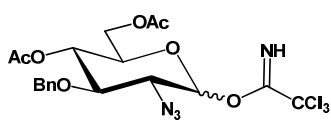
K roztoku látky **11** (0,34 g) v acetanhydride (22,6 ml) bola pri -20 °C po malých pridaných dávkach konc. kyselina sírová (0,2 ml). Reakcia bola miešaná 2 h pri laboratórnej teplote a sledovaná na TLC v sústave hexán – etylacetát (5:1). Následne bola reakčná zmes zneutralizovaná 10% hydrogénuhličitanom sodným a zahustená na RVO s prídavkom toluénu (4×50 ml). Odparok bol rozpustený v dichlórmetáne (100 ml), premytý vodou (2×50 ml) a organická fáza bola vysušená bezvodým síranom horečnatým a odparená na RVO. Chromatografiou odparku na silikageli v sústave hexán – etylacetát (1:1) a následnou kryštalizáciou v sústave dietyléter – hexán bolo získaných 0,23g (50 % z **10**) bielej kryštalickej látky **12**. NMR spektrá súhlasili s literatúrou⁸⁰.

4,6-Di-*O*-acetyl-2-azido-3-*O*-benzyl-2-deoxy- α,β -D-glukopyranóza (**14**)



K roztoku látky **12** (500 mg, 1,33 mmol) v suchom *N,N*-dimetylformamide (10 ml) bol za stáleho miešania pridaný octan amónny (200 mg, 2,60 mmol). Reakčná zmes bola miešaná 24 h pri laboratórnej teplote a sledovaná na TLC v sústave hexán – etylacetát (5:1). Následne bol dimetylformamid odparený pri 50 °C a tlaku 80 Pa. Odparok bol rozpustený v dichlórmetáne (50 ml), premytý nasýteným roztokom chloridu sodného (20 ml) a vodou (2×20 ml). Organická fáza bola vysušená bezvodým síranom horečnatým a odparená na RVO. Chromatografiou odparku na silikageli v sústave hexán – etylacetát (1:1) bolo získaných 340 mg (68 %) nažltutej olejovitej látky **13**. NMR spektrá súhlasili s literatúrou⁸⁶.

Pokus o syntézu *O*-(4,6-Di-*O*-acetyl-2-azido-3-*O*-benzyl-2-deoxy- α,β -D-glukopyranozyl) trichlóracetimidátu (**15**)

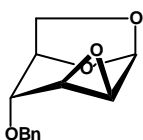


Metóda A: Látka **13** (100 mg, 0,26 mmol) bola vysušená 4 h pri laboratórnej teplote a tlaku 80 Pa. Následne bola rozpustená v suchom toluéne (10 ml) a roztok bol ochladený na 0 °C. Pri tejto teplote bol pod argónom, za stáleho miešania, pridaný

trichlóracetónitril (156 μ l, 1,56 mmol) a 1,8-diazabicyklo[5.4.0]-undec-7-én (52 μ l, 0,05 mmol) a priebeh reakcie bol sledovaný na TLC v sústave toluén – etylacetát (2:1). Detekciou podľa ^1H NMR nebol preukázaný žiadaný produkt.

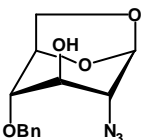
Metóda B: Látka **13** (240 g, 0,63 mmol) bola vysušená 4 h pri laboratórnej teplote a tlaku 80 Pa. Následne bola rozpustená v suchom dichlórmetáne (10 ml) a roztok bol ochladený na 0 °C. Pri tejto teplote bol pod argónom, za stáleho miešania, pridaný trichlóracetónitril (380 μ l, 3,80 mmol) a uhličitan draselný (0,52 g, 3,7 mmol) a priebeh reakcie bol sledovaný na TLC v sústave toluén – etylacetát (2:1). Detekciou podľa ^1H NMR nebol preukázaný žiadaný produkt.

4-*O*-Benzyl-1,6:2,3-dianhydro- β -D-manopyranóza (**16**)

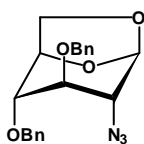


K roztoku **1,6** anhydro-4-*O*-benzyl-2-*O*-*p*-toluénsulfonyl- β -D-glukopyranózy **15** (100,0 g, 246 mmol) v chloroforme (1000 ml) bol pridaný sodík (25 g) v metanole (500 ml) v priebehu 30 min. pri 0 °C. Reakčná zmes bola následne miešaná 24 h pri laboratórnej teplote v banke opatrenej chlórkalciovou trubicou naplnenou hydroxidom draselným. Priebeh reakcie bol sledovaný na TLC v sústave toluén – acetón (5:1). Potom bola zmes naliata do vody (2 l) a vzniknutá emulzia bola prefiltrovaná cez filtračný papier. Oddelená vodná fáza bola zahustená na 500 ml a extrahovaná chloroformom (4 \times 50 ml). Spojené organické fázy boli vysušené bezvodým síranom horečnatým a odparené na RVO. Kryštalizáciou odparku zo zmesi dietyléter – petroléter bolo získaných 54,7 g (95 %) bielej kryštalickej látky **16**. NMR spektrá súhlasili s literatúrou⁸⁴.

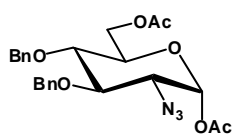
1,6-Anhydro-2-azido-4-*O*-benzyl-2-deoxy- β -D-glukopyranóza (**17**)



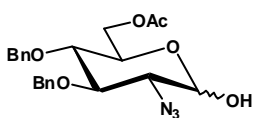
Suspenzia látky **16** (14,8 g, 63 mmol), azidu sodného (25,9 g, 398 mmol) a chloridu amónneho (25,9 g, 484 mmol) v etanole (300 ml) a vode (75 ml) bola refluxovaná pod spätným chladičom 4 dni. Priebeh reakcie bol sledovaný na TLC v sústave toluén – acetón (5:1). Potom bola do reakčnej zmesi priliata voda (100 ml), zmes zahustená na RVO a vodná fáza bola extrahovaná chloroformom (4 \times 50 ml). Spojené organické fázy boli vysušené bezvodým síranom horečnatým a odparené na RVO. Kryštalizáciou odparku zo zmesi etanol – voda bolo získaných 16,1 g (92 %) bielej kryštalickej látky **17**. NMR spektrá súhlasili s literatúrou⁴⁶.

1,6-Anhydro-2-azido-3,4-di-*O*-benzyl-2-deoxy- β -D-glukopyranóza (18)

Látka **17** (10,0 g, 36 mmol) bola rozpustená v suchom tetrahydrofuráne (50 ml) a *N,N*-dimetylformamide (15 ml). Roztok bol ochladený na -40°C a pod argónom bol pomaly pridaná 50% suspenzia hydridu sodného (2,6g, 108 mmol) v suchom tetrahydrofuráne (10 ml) v priebehu 1 h. Následne bol do zmesi pridaný jodid tetrabutylamónny (140 mg, 0,38 mmol), benzylbromid (4,7 ml, 40 mmol) a reakčná zmes bola miešaná 48 h pri laboratórnej teplote. Priebeh reakcie bol sledovaný na TLC v sústave toluén – acetón (9:1). Potom bola zmes naliata do vody (400 ml), zneutralizovaná 5% kyselinou chlórvoďíkovou a extrahovaná dichlórmetánom (3 \times 200 ml). Spojené organické fázy boli vysušené bezvodým síranom horečnatým a odparené na RVO. Chromatografiou odparku na silikageli v sústave toluén – acetón (20:1) a následnou kryštalizáciou z dietyléteru bolo získaných 10,8 g (81 %) bielej kryštalickej látky **18**. NMR spektrá súhlasili s literatúrou⁴⁶.

1,6-Di-*O*-acetyl-2-azido-3,4-di-*O*-benzyl-2-deoxy- α -D-glukopyranóza (19)

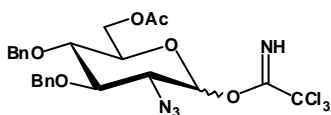
K roztoku látky **18** (10,8g, 29 mmol) v nitrometáne (100 ml) bol pri -5°C pridaný acetanhydrid (10 ml) a po malých dávkach konc. kyselina sírová (0,4 ml). Reakcia bola miešaná 5 h pri laboratórnej teplote a sledovaná na TLC v sústave hexán – etylacetát (3:2). Následne bola reakčná zmes zneutralizovaná 10% hydrogénuhličitanom sodným a zahustená na RVO s prídavkom toluénu (4 \times 50 ml). Odparok bol rozpustený v dichlórmetáne (300 ml), premytý vodou (700 ml) a organická fáza bola vysušená bezvodým síranom horečnatým. Po odparení dichlórmetánu na RVO bolo kryštalizáciou z metanolu získaných 9,7 g (70 %) bielej kryštalickej látky **19**. NMR spektrá súhlasili s literatúrou⁴⁶.

6-*O*-Acetyl-2-azido-3,4-di-*O*-benzyl-2-deoxy- α,β -D-glukopyranóza (20)

K roztoku látky **19** (2,46g, 5,2 mmol) v suchom *N,N*-dimetylformamide (10 ml) bol za stáleho miešania pridaný octan amónny (0,8g, 10 mmol). Reakčná zmes bola miešaná 24 h pri laboratórnej teplote a sledovaná na TLC v sústave hexán – etylacetát (1:1). Druhý deň bol pridaný 1 ekvivalent octanu amónneho (0,4 g) a zmes bola miešaná ďalších 24 h. Následne bol dimetylformamid odparený pri 50°C a tlaku 80 Pa. Odparok bol rozpustený v dichlórmetáne (50 ml), premytý nasýteným roztokom chloridu sodného

(100 ml) a vodou (2×100 ml). Organická fáza bola vysušená bezvodým síranom horečnatým a odparená na RVO. Chromatografiou odparku na silikageli v sústave hexán – etylacetát (2:1) bolo získaných 1,78 g (80 %) nažltutej olejovitej látky **20** (10:1, α/β). NMR spektrá súhlasili s literatúrou⁸⁷.

O-(6-O-Acetyl-2-azido-3,4-di-O-benzyl-2-deoxy- α,β -D-glukopyranozyl) trichlóracetimidát (21)

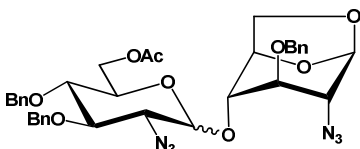


Metóda A: Látka **20** (0,20 g, 0,5 mmol) bola vysušená 4 h pri laboratórnej teplote a tlaku 80 Pa. Následne bola rozpustená v suchom toluéne (10 ml) a roztok bol ochladený na 0 °C. Pri tejto teplote bol pod argónom, za stáleho miešania, pridaný trichlóracetónitril (0,75 ml, 7,5 mmol) a 1M roztok 1,8-diazabicyklo[5.4.0]-undec-7-énu v toluéne (0,10 ml, 0,1 mmol) a priebeh reakcie bol sledovaný na TLC v sústave hexán – etylacetát (2:1). Po 1h bola organická fáza premytá vodou (2×5 ml), vysušená bezvodým síranom horečnatým a odparená na RVO. Chromatografiou odparku na silikageli v sústave hexán – etylacetát (9:1 → 3:1) bolo získaných 0,22g (83 %) nažltutej olejovitej látky **21** (1:1, α/β). NMR spektrá súhlasili s literatúrou^{70,88}.

Metóda B: Látka **20** (0,38 g, 0,9 mmol) bola vysušená 4 h pri laboratórnej teplote a tlaku 80 Pa. Následne bola rozpustená v suchom dichlórmetáne (10 ml) a roztok bol ochladený na 0 °C. Pri tejto teplote bol pod argónom, za stáleho miešania, pridaný trichlóracetónitril (0,63 ml, 6,3 mmol) a uhličitan draselný (0,37g, 2,7 mmol) a priebeh reakcie bol sledovaný na TLC v sústave hexán – etylacetát (2:1). Po 3 h bola organická fáza premytá vodou (2×5 ml), vysušená bezvodým síranom horečnatým a odparená na RVO. Chromatografiou odparku na silikageli v sústave hexán – etylacetát (9:1 → 3:1) bolo získaných 0,42g (84 %) nažltutej olejovitej látky **21** (1:10, α/β). NMR spektrá súhlasili s literatúrou^{70,88}.

Glykozylácia a následná transformácia disacharidového skeletu

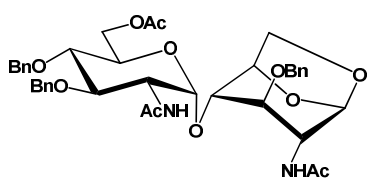
6-O-Acetyl-2-azido-3,4-di-O-benzyl-2-deoxy- α,β -D-glukopyranozyl-(1→4)-1,6-anhydro-2-azido-3-O-benzyl-2-deoxy- β -D-glukopyranozid (22)



Zmes látok **10** (349 mg, 1,26 mmol), **21** (852 mg, 1,49 mmol) a aktivovaných molekulových sít 4Å (0,8 g) boli vysušené 4 h pri laboratórnej teplote a tlaku 80 Pa.

Aparatúra bola prepláchnutá argónom, do zmesi bol pridaný suchý dichlórmetán (30 ml) a po rozpustení bola zmes ochladená na $-45\text{ }^{\circ}\text{C}$. Pri tejto teplote bol za stáleho miešania pod argónom pridaný trimetylsilyl-trifluórméťansulfonát (270 μl , 1,49 mmol). Reakčná zmes bola pri laboratórnej teplote miešaná 24 h a priebeh reakcie bol sledovaný na TLC v sústave toluén – etylacetát (4:1). Reakčná zmes bola prefiltrovaná cez kremelinu, premytá nasýteným roztokom hydrogénuhličitanu sodného (10 ml), vodou (10 ml), vysušená bezvodým síranom horečnatým a odparená na RVO. Chromatografiou odparku na silikageli v sústave toluén – etylacetát (10:1) bolo získaných 580 mg (67 %) bielej kryštalickej látky **22** (3:1, α/β). NMR spektrá súhlasili s literatúrou⁸⁹.

2-Acetamido-6-O-acetyl-3,4-di-O-benzyl-2-deoxy- α -D-glukopyranozyl-(1 \rightarrow 4)-2-acetamido-1,6-anhydro-3-O-benzyl-2-deoxy- β -D-glukopyranozid (23**)**



Látka **22** (1,08 g, 1,6 mmol) bola rozpustená v tetrahydrofuráne (90 ml) a vode (30 ml) a ochladená na $0\text{ }^{\circ}\text{C}$. Pri tejto teplote bol za stáleho miešania pridaný hexahydrát chloridu kobaltnatého (187 mg, 0,79 mmol) a tetrahydridoboritan sodný (300 mg, 7,90 mmol). Reakčná zmes bola miešaná 4 h pri laboratórnej teplote a priebeh reakcie bol sledovaný na TLC v sústave dichlórmetán - metanol (10:1). Po zreagovaní väčšiny východiskovej látky bola zmes opäť ochladená na $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ a pri tejto teplote bol pridaný acetanhydrid (10 ml) a reakčná zmes bola miešaná pri laboratórnej teplote 12 h. Priebeh reakcie bol sledovaný na TLC v etylacetáte. Následne bol tetrahydrofurán odparený na RVO, zvyšok reakčnej zmesi bol zneutralizovaný 5% roztokom hydrogénuhličitanu sodného, extrahovaný dichlórmetánom (3 \times 50 ml) a spojené organické fázy boli premyté vodou (50 ml), nasýteným roztokom chloridu sodného (50 ml), vysušené bezvodým síranom horečnatým a odparené na RVO. Chromatografiou odparku na silikageli v sústave hexán – etylacetát (1:1 \rightarrow 0:1) bolo získaných 0,66 g (58 %) bielej kryštalickej látky **23**. $[\alpha]_{\text{D}} = +15,4^{\circ}$ (c 0,26; CDCl_3).

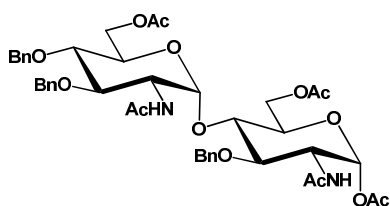
^1H NMR (600 MHz, CDCl_3): δ 7,37 – 7,27 (m, 15H, 3 \times Ph); 6,04 (d, 1H, $J = 9,2$ Hz, NHAc'); 5,34 – 5,33 (m, 2H, H-1', NHAc); 4,86 – 4,84 (m, 3H, H-1, CH_2Ph); 4,77 (d, 1H, $J = 12,1$ Hz, $J = 12,2$ Hz, CH_2Ph); 4,64 – 4,61 (m, 3H, H-5', CH_2Ph); 4,53 (d, 1H, $J = 12,2$ Hz, CH_2Ph); 4,38 (dd, 1H, $J_1 = 11,9$ Hz, $J_2 = 2,2$ Hz, H-6_{en}); 4,22 – 4,13 (m, 4H, H-2, H-2', H-6_{ex}, H-6_{en}'); 4,04-4,01 (m, 1H, H-5); 3,74 (dd, 1H, $J_1 = 7,1$ Hz, $J_2 = 6,2$

Hz, H-6_{ex}'); 3,64 (t, 1H, $J = 8,5$ Hz, H-3); 3,59 (t, 1H, $J = 8,5$ Hz, H-4); 3,54 (br s, 1H, H-4'); 3,30 (br s, 1H, H-3'); 2,03 (s, 3H, OCOCH₃); 1,95 (s, 3H, OCOCH₃); 1,75 (s, 3H, OCOCH₃).

¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃): δ 170,67 (COCH₃); 169,93 (COCH₃); 169,19 (COCH₃); 137,88 (Ph); 137,43 (Ph); 137,22 (Ph); 128,79 (Ph); 128,65 (Ph); 128,58 (Ph); 128,52 (Ph); 128,41 (Ph); 128,20 (Ph); 128,16 (Ph); 128,12 (Ph); 128,08 (Ph); 127,97 (Ph); 127,83 (Ph); 127,71 (Ph); 127,66 (Ph); 127,58 (Ph); 100,65 (C-1'); 97,94 (C-1); 79,36 (C-3); 77,87 (C-4); 76,52 (C-4'); 76,11 (C-3') 75,00 (CH₂Ph); 74,65 (CH₂Ph); 74,52 (C-5'); 71,60 (CH₂Ph); 70,24 (C-5); 65,02 (C-6'); 62,73 (C-6); 52,25 (C-2); 47,87 (C-2'); 23,26 (COCH₃); 23,24 (COCH₃); 20,77 (COCH₃).

MS: pre C₃₉H₄₆N₂O₁₁ vypočítaných: monoizotopická hmotnosť 718,3; nájdených m/z : 741,3 [M+Na]⁺.

2-Acetamido-6-O-acetyl-3,4-di-O-benzyl-2-deoxy- α -D-glukopyranozyl-(1 \rightarrow 4)-2-acetamido-1,6-di-O-acetyl-3-O-benzyl-2-deoxy- α -D-glukopyranozid (24)



K látke **23** (75 mg, 0,11 mmol) bol pri 0 °C pridaný acetanhydrid (9 ml) a kyselina trifluóroctová (1 ml) a reakčná zmes bola miešaná 24h pri laboratórnej teplote. Pribeh reakcie bol sledovaný na TLC

v etylacetáte. Následne bola zmes odparená na RVO s prídavkom toluénu (5×10 ml). Chromatografiou odparku na silikageli v sústave hexán – etylacetát (1:1 \rightarrow 0:1) a kryštalizáciou zo zmesi etylacetát - hexán bolo získaných 64 mg (75 %) bielej kryštalickej látky **24**.

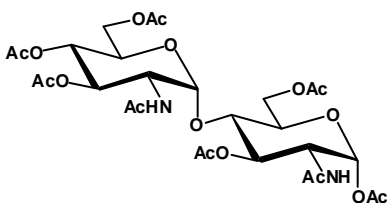
¹H NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 7,36 – 7,23 (m, 15H, 3×Ph); 6,30 (d, 1H, $J = 9,7$ Hz, NHAc'); 6,05 (d, 1H, $J = 3,4$ Hz, H-1); 5,08 (d, 1H, $J = 8,9$ Hz, NHAc); 4,94 (d, 1H, $J = 3,3$ Hz, H-1'); 4,84 – 4,78 (m, 4H, 2×CH₂Ph); 4,62 – 4,48 (m, 6H, H-2, H-6_{en}, 2×CH₂Ph); 4,3 – 4,21 (m, 4H, H-2', H-6_{ex}, H-6_{en}', H-6_{ex}'); 4,03-4,01 (m, 1H, H-5'); 3,84 – 3,77 (m, 3H, H-3, H-4, H-5); 3,72 (t, 1H, $J = 8,8$ Hz H-3'); 3,60 (t, 1H, $J = 8,8$ Hz, H-4'); 2,16 (s, 3H, COCH₃); 2,09 (s, 3H, COCH₃); 2,06 (s, 3H, COCH₃); 1,80 (s, 3H, COCH₃); 1,54 (s, 3H, COCH₃).

¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃): δ 170,69 (COCH₃); 170,37 (COCH₃); 170,36 (COCH₃); 169,80 (COCH₃); 168,56 (COCH₃); 137,97 (Ph); 137,40 (Ph); 136,51 (Ph); 128,93 (Ph); 128,72 (Ph); 128,58 (Ph); 128,45 (Ph); 128,31 (Ph); 128,17 (Ph); 128,14 (Ph); 127,83 (Ph); 100,01 (C-1); 91,24 (C-1'); 80,27 (C-3'); 78,82 (C-3); 77,61 (C-4'); 77,48

(C-4); 74,97 (CH₂Ph) 74,68 (CH₂Ph); 74,42 (CH₂Ph); 71,63 (C-5); 71,03 (C-5'); 62,82 (C-6'); 62,15 (C-6); 52,75 (C-2'); 50,90 (C-2); 23,19 (COCH₃); 22,77 (COCH₃); 20,95 (COCH₃); 20,84 (COCH₃); 20,77 (COCH₃).

MS: pre C₄₃H₅₂N₂O₁₄ vypočítaných: monoizotopická hmotnosť 820,3; nájdených *m/z*: 843,3 [M+Na]⁺.

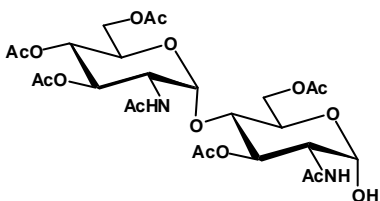
2-Acetamido-3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-deoxy- α -D-glukopyranozyl-(1→4)-2-acetamido-1,3,6-tri-*O*-acetyl-2-deoxy- α -D-glukopyranozid (25)



K roztoku látky **24** (0,39 g, 0,5 mmol) v kyseline octovej (20 ml) bolo pridané 10 % paládium na uhlí (70 mg) a zmes bola miešaná vo vodíkovej atmosfére (balónik napustený vodíkom) 24 h pri 40 °C. Priebeh reakcie bol sledovaný na TLC v sústave dichlórmetán –

metanol (5:1). Potom bola zmes prefiltrovaná cez kremelinu a cez krátky stĺpec silikagelu a odparená na RVO s prídavkom toluénu (5×50 ml). Odparok bol bez ďalšieho čistenia rozpustený v pyridíne (5 ml), pridané bolo katalytické množstvo DMAP (10 mg) a pri 0 °C bol prikvapkaný acetanhydrid (1 ml). Reakčná zmes bola miešaná 12 h pri laboratórnej teplote a sledovaná na TLC v sústave dichlórmetán – metanol (15:1). Potom bola reakčná zmes zahustená na RVO a rozpustená v dichlórmetáne (20 ml). Organická fáza bola premytá 5 % kyselinou chlór vodíkovou (5 ml), nasýteným roztokom hydrogenuhličitanu sodného (5 ml), vodou (5 ml), vysušená bezvodým síranom horečnatým a odparená na RVO. Chromatografiou odparku na silikageli a následnou kryštalizáciou z metanolu bolo získaných 0,21 g (65 %) látky **25**. NMR spektrá súhlasili s literatúrou⁷⁶.

2-Acetamido-3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-deoxy- α -D-glukopyranozyl-(1→4)-2-acetamido-3,6-di-*O*-acetyl-2-deoxy- α -D-glukopyranozid (26)



K roztoku látky **25** (190 mg, 0,28 mmol) v tetrahydrofuráne (5 ml) a metanole (5ml) bol za stáleho miešania pridaný octan amónny (50 mg, 0,65 mmol).

Reakčná zmes bola miešaná 3 dni pri laboratórnej teplote a sledovaná na TLC v sústave dichlórmetán – metanol (15:1). Následne bola reakčná zmes odparená na RVO. Chromatografiou odparku na silikageli v sústave

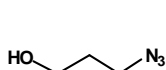
dichlórmetán – metanol (50:1→20:1) bolo získaných 130 mg (73 %) látky **26** a 25 mg východiskovej látky **25**.

^1H NMR (600 MHz, CDCl_3): δ 5,97 (d, 1H, $J = 9,5$ Hz, NHAc); 5,70 (d, 1H, $J = 9,8$ Hz, NHAc'); 5,39 (dd, 1H, $J_1 = 10,6$ Hz, $J_2 = 9,1$ Hz, H-3); 5,26 (d, 1H, $J = 3,9$ Hz, H-1); 5,22 (d, 1H, $J = 3,4$ Hz, H-1'); 5,16 (t, 1H, $J = 9,7$ Hz, H-4'); 5,10 (t, 1H, $J = 9,8$ Hz, H-3'); 4,50-4,48 (m, 1H, H-6_{en}); 4,40-4,36 (m, 1H, H-2); 4,25-4,21 (m, 2H, H-2, H-6_{ex}); 4,1-4,15 (m, 2H, H-4, H-6_{ex}); 4,05 (dd, 1H, $J_1 = 12,4$ Hz, $J_2 = 2,1$ Hz, H-6_{en}); 4,00 (t, 1H, $J = 9,2$ Hz, H-5); 3,96-3,94 (m, 1H, H-5'); 2,14 (s, 3H, COCH_3); 2,11 (s, 3H, COCH_3); 2,03 (s, 3H, COCH_3); 2,03 (s, 3H, COCH_3); 2,02 (s, 3H, COCH_3); 1,95 (s, 3H, COCH_3); 1,93 (s, 3H, COCH_3).

^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3): δ 171,89 (COCH_3); 171,58 (COCH_3); 170,76 (COCH_3); 170,64 (COCH_3); 170,46 (COCH_3); 170,37 (COCH_3); 160,09 (COCH_3); 97,99 (C-1); 91,45 (C-1'); 73,81 (C-3); 73,32 (C-5); 70,67 (C-3'); 69,08 (C-5'); 67,94 (C-4); 67,56 (C-4'); 62,87 (C-6); 61,43 (C-6'); 52,39 (C-2); 51,47 (C-2'); 23,02 (COCH_3); 22,92 (COCH_3); 20,89 (COCH_3); 20,82 (COCH_3); 20,67 (COCH_3); 20,64 (COCH_3); 20,56 (COCH_3).

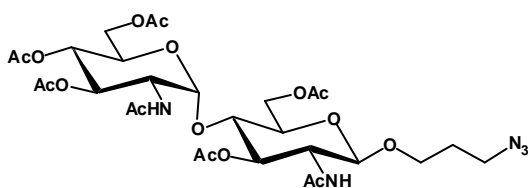
MS: pre $\text{C}_{26}\text{H}_{38}\text{N}_2\text{O}_{16}$ vypočítaných: monoizotopická hmotnosť 634,2; nájdených m/z : 657,2 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

3-Azido-1-propanol (27)



Do suspenzie azidu sodného (1,9 g, 29 mmol) v *N,N*-dimetylformamide (10 ml) bol pridaný 3-chlór-1-propanol (2,0 ml, 24 mmol) a reakčná zmes bola miešaná 48 h pri 100 °C. Potom bol do reakčnej zmesi priliaty dietyléter (20 ml) a organická fáza bol premytá nasýteným roztokom chloridu sodného (5×10 ml), vysušená bezvodým síranom horečnatým. Odparením rozpúšťadla na RVO bolo získaných 2,3 g (95 %) bezfarebnej kvapaliny **27**. NMR spektrá súhlasili s literatúrou⁹⁰.

2-Acetamido-3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-deoxy- α -D-glukopyranozyl-(1→4)-2-acetamido-1-*O*-(3-azidopropyl)-3,6-di-*O*-acetyl-2-deoxy- β -D-glukopyranozid (28)



Látka **26** (60 mg, 0,10 mmol) bola vysušená 4 h pri laboratórnej teplote a tlaku 80 Pa. Následne bola rozpustená v suchom dichlórmetáne (10 ml) a roztok bol ochladený na 0°C. Pri tejto teplote bol pod argónom, za stáleho miešania, pridaný

trichlóracetonitril (57 μ l, 0,57 mmol) a uhličitan draselný (0,10 g, 0,7 mmol) a priebeh reakcie bol sledovaný na TLC v etylacetáte. Po 5 h bola organická fáza premytá vodou (2 \times 5 ml), vysušená bezvodým síranom horečnatým a odparená na RVO. Chromatografiou odparku na silikageli v etylacetáte bolo získaných 50 mg bezfarebnej olejovitej látky, ktorá bola hneď použitá do nasledujúcej reakcie.

Zmes tejto látky (50 mg), **27** (12 mg, 0,12 mmol) a aktivovaných molekulových síť 4Å (0,1 g) boli vysušené 4 h pri laboratórnej teplote a tlaku 80 Pa. Aparatúra bola prepláchnutá argónom, do zmesi bol priliaty suchý dichlórmétán (5 ml) a po rozpustení bola zmes ochladená na -45 °C. Pri tejto teplote bol za stáleho miešania pod argónom pridaný trimetylsilyl-trifluórmetánsulfonát (10 μ l, 0,06 mmol). Reakčná zmes bola pri laboratórnej teplote miešaná 24 h a priebeh reakcie bol sledovaný na TLC v etylacetáte. Reakčná zmes bola prefiltrovaná cez kremelinu a odparená na RVO. Chromatografiou odparku na silikageli v etylacetáte bolo získaných 32 mg (47 %) bielej kryštalickej látky **28**.

^1H NMR (600 MHz, CDCl_3): δ 5,54 (d, 1H, $J = 9,7$ Hz, NHAc); 5,49 (d, 1H, $J = 9,0$ Hz, NHAc'); 5,19 (m, 2H, H-1, H-3'); 5,12 (t, 1H, $J = 9,3$ Hz, H-4); 5,06 (t, 1H, $J = 9,9$ Hz, H-3); 4,55 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz, H-1'); 4,46 (dd, 1H, $J_1 = 11,9$ Hz, $J_2 = 2,4$ Hz, H-6_{en}'); 4,33 (td, 1H, $J_1 = 10,5$ Hz, $J_2 = 3,9$ Hz, H-2); 4,20 (dd, 1H, $J_1 = 12,5$ Hz, $J_2 = 4,6$ Hz, H-6_{ex}); 4,14 (dd, 1H, $J_1 = 11,5$ Hz, $J_2 = 4,7$ Hz, H-6_{ex}'); 4,03 (dd, 1H, $J_1 = 12,5$ Hz, $J_2 = 2,2$ Hz, H-6_{en}); 3,94 – 3,88 (m, 3H, H-5, H-4', $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}_3$); 3,84 (m, 1H, H-2'); 3,63 (ddd, 1H, $J_1 = 9,5$ Hz, $J_2 = 4,7$ Hz, $J_3 = 2,6$ Hz, H-5'); 3,58 – 3,54 (m, 1H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}_3$); 3,36 (m, 2H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}_3$); 2,11 (s, 3H, COCH_3); 2,08 (s, 3H, COCH_3); 2,01 (s, 6H, $2\times\text{COCH}_3$); 1,99 (s, 3H, COCH_3); 1,92 (s, 3H, COCH_3); 1,90 (s, 3H, COCH_3); 1,88 – 1,76 (m, 2H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}_3$).

^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3): δ 171,50 (COCH_3); 171,45 (COCH_3); 170,59 (COCH_3); 170,56 (COCH_3); 170,43 (COCH_3); 170,29 (COCH_3); 169,10 (COCH_3); 100,76 (C-1'); 97,82 (C-1); 75,13 (C-3'); 73,42 (C-4'); 72,31 (C-5'); 70,52 (C-3); 69,11 (C-5); 67,56 (C-4); 66,17 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}_3$); 62,90 (C-6'); 61,52 (C-6); 54,70 (C-2'); 51,50 (C-2); 48,00 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}_3$); 28,89 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}_3$); 23,22 (COCH_3); 22,99 (COCH_3); 20,90 (COCH_3); 20,81 (COCH_3); 20,66 (COCH_3); 20,62 (COCH_3); 20,56 (COCH_3).

MS: pre $\text{C}_{29}\text{H}_{43}\text{N}_5\text{O}_{16}$ vypočítaných: monoizotopická hmotnosť 717,3; nájdených m/z : 740,3 $[\text{M}+\text{Na}]^+$

7. Záver

Táto diplomová práca sa zaoberá prípravou disacharidu **28** zloženého z dvoch glukozamínových jednotiek s 1,2-*cis*-(1→4)-*O*-glykozidickou väzbou s pripojeným ramienkom na redukujúcom konci, zakončeným azidovou skupinou.

V prvej časti práce bol pripravený glykozylakceptor **10** (kap. 5.1) s voľnou hydroxylovou skupinou na C(4) v celkovom výťažku 31% (6 krokov z **1**). V priebehu tejto časti práce bolo najprv použité acetylové chránenie pre voľnú hydroxylovú skupinu mannoepoxidu **3**. Tento prekursor však následnými úpravami sacharidového skeletu neposkytol žiadaný produkt. Preto bol zvolený tetrahydropyranyléter ako chrániaca skupina. Touto cestou bola vypracovaná efektívna syntéza, s dobrými výťažkami v jednotlivých krokoch, vedúca k tvorbe glykozylakceptoru **10**.

Druhá časť tejto práce zahrňovala prípravu glykozyldonoru (kap. 5.2) s odstupujúcou skupinou na anomérom uhlíku a azidovou neparticipujúcou skupinou na C(2). Najprv bola zvolený glykozylakceptor **10** ako prekursor k príprave žiadaného glykozyldonoru. Vzhľadom k nepresvedčivým výsledkom bol ako východisková látka zvolený tozylderivát 1,6-anhydro-glukopyranózy **15**. Takto bol vypracovaný úspešný syntetický postup vedúci k tvorbe trichlóracetimidátu **21** v celkovom výťažku 33 % (6 krokov z **15**).

V ďalšej časti práce (kap. 5.3) bola vypracovaná glykozylačná metóda poskytujúca disacharid **22** s α -(1→4) usporiadaním. Štúdiom reakčných podmienok glykozylácie bol ako najvhodnejšie rozpúšťadlo zvolený dichlórmetán, ktorý poskytoval zmes α a β anomérov v pomere 3:1. Na rozdiel od teórie uvedenej v odbornej literatúre nebolo zmenou rozpúšťadla a zmenou teploty dosiahnutého lepšieho pomeru v prospech α -glykozidu.

Finálna časť syntézy (kap. 5.3) zahrňovala transformáciu disacharidového skeletu, vedúcu k tvorbe disacharidu **28**, ktorý obsahuje ramienko s azidovou skupinou. To zahrňovalo acetolýzu, redukciu azidovej skupiny pomocou NaBH₄, debenzyláciu, acetyláciu, selektívnu deacetyláciu a glykozylačnú reakciu.

Zoznam použitej literatúry

1. Varki, A. a kol. *Essentials of Glycobiology*. Cold Spring Harbor (NY): Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999, s. 600.
2. Bongat, A.; Demchenko, A. *Carbohydr. Res.* **2007**, *342*, 374.
3. Jayaraman, N. *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *38*, 3463.
4. Banoub, J.; Boullanger, P.; Lafont, D. *Chem. Rev.* **1992**, *92*, 1167.
5. Schulze-Osthoff, K.; Ferrari, D.; Los, M.; Wesselborg, S.; Peter, M. E. *Eur. J. Biochem.* **1998**, *254*, 439.
6. Rossi, D.; Zlotnik, A. *Annu. Rev. Immunol.* **2000**, *18*, 217.
7. Kaminska, B. *BBA-Proteins. Proteom.* **2005**, *1754*, 253.
8. Mislovicova, D.; Gemeiner, P.; Kozarova, A.; Kozar, T. *Biologia* **2009**, *64*, 1.
9. Hundsberger, H.; Verin, A.; Wiesner, C.; Pfluger, M.; Dulebo, A.; Schutt, W.; Lasters, I.; Mannel, D. N.; Wendel, A.; Lucas, R. *Front. Biosci.* **2008**, *13*, 5374.
10. Touaibia, M.; Roy, R. *Mini-Rev. Med. Chem.* **2007**, *7*, 1270.
11. Ip, W. K. E.; Takahashi, K.; Ezokowitz, R. A.; Stuart, L. M. *Immunol. Rev.* **2009**, *230*, 9.
12. Lekkerkerker, A. N.; van Kooyk, Y.; Geijtenbeek, T. B. H. *Curr. HIV Res.* **2006**, *4*, 169.
13. Wu, L.; KewalRamani, V. N. *Nat. Rev. Immunol.* **2006**, *20*, 859.
14. Huang, Y.; Huang, J. H.; Xie, Q. J.; Yao, S. Z. *Prog. Chem.* **2008**, *20*, 942.
15. Tregoning, J. S.; Schwarze, J. *Clin. Microbiol. Rev.* **2010**, *23*, 74.
16. Garlatti, V.; Martin, L.; Lacroix, M.; Gout, E.; Arlaud, G. J.; Thielens, N. M.; Gaboriaud, C. *Journal of Innate Immunity*, **2010**, *2*, 17.
17. Soltanian, S.; Stuyven, E.; Cox, E.; Sorgeloos, P.; Bossier, P. *Crit. Rev. Microbiol.* **2009**, *35*, 109.
18. Bernsen, M. R.; Moelker, A. D.; Wielopolski, P. A.; van Tiel, S. T.; Krestin, G. P. *Eur. Radiol.* **2010**, *20*, 255.
19. Lee, Y. C.; Lee, R. T. *Accounts Chem. Res.* **1995**, *28*, 321.
20. Klyosov, A. A.; Witczak, Z. J.; Platt, D. *Galectins*. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc., 2008.
21. Zhang, X. L.; Ali, M. A. M. *Adv. Exp. Med. Biol.* **2008**, *632*, 105.
22. Holmskov, U.; Thiel, S.; Jensenius, J. C. *Annu. Rev. Immunol.* **2003**, *21*, 547.

23. Ernst, B.; Hart, G. W.; Sinay, P. *Carbohydrates in Chemistry and Biology*. New York: Willey-VCH, 2000.
24. Königs, W.; Knorr, E. *Chem. Ber.* **1901**, *34*, 957.
25. Lee, R. T.; Lee, Y. C. *Carbohydr. Res.* **1974**, *37*, 193.
26. Lemieux, R. U.; Takeda, T.; Chung, B. Y. *A.C.S. Symp. Ser.* **1976**, *39*, 90.
27. Veselý, J. *Disertační práce*, UK, Praha **2005**.
28. Lemieux, R. U.; Ratcliffe, R. M. *Can. J. Chem.* **1979**, *57*, 1244.
29. Barroca, N.; Schmidt, R. R. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 1551.
30. Gin, D. Y.; Liu, J. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 9789.
31. Pavliak, V.; Kovac, P. *Carbohydr. Res.* **1991**, *210*, 333.
32. Karpiesiuk, V.; Banaszek, A.; Zamojski, A. *Carbohydr. Res.* **1989**, *186*, 156.
33. Yamamoto, T.; Nishuichi, Y.; Teshima, T.; Matsuoka, H.; Yamada, K. *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 6876.
34. Anilkumar, G.; Nair, L. G.; Olsson, L.; Daniels, J. K.; Fraser-Reid, B. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 7605.
35. Wang, L. X.; Sakairi, N.; Kuzuhara, H. *J. Chem. Soc., Perkin Trans.1* **1990**, 1677.
36. Sajiki, H. *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 3465.
37. Chandrasekhar, S.; Prakash, S. Y.; Rao, C. L. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 2196.
38. Benati, L.; Bencivenni, G.; Leardini, R.; Nanni, D.; Minozzi, M.; Spagnolo, P.; Scialpi, R.; Zanardi, G. *Org. Lett.*, **2006**, *8*, 2499.
39. Hering, K. W.; Karaveg, K.; Moremem, K. W.; Pearson, W. H. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 9892.
40. O'Brien, A.; Lynch, C.; O'Boyle, K. M.; Murphy, P. V. *Carbohydr. Res.* **2004**, *339*, 2343.
41. Prospero, D.; Silvia, R.; Lay, L.; Rencurosi, A.; Russo, G. *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, *2*, 395.
42. Lin, W.; Zhang, X.; He, Z.; Jin, Y.; Gong, L.; Mi, A. *Synt. Commun.* **2002**, *32*, 3279.
43. Popelová, A.; Kefurt, K.; Hlaváčková, M.; Moravcová, J. *Carbohydr. Res.* **2005**, *340*, 161.
44. Scriven, E. F. V.; Turnbull, K. *Chem. Rev.* **1988**, *88*, 297.
45. Li, Q.; Su, B.; Li, H.; Meng, X.; Cai, M.; Li, Z.; Zhou, R.; Suo, T. *Carbohydr. Res.* **2003**, *338*, 207.

46. Paulsen, H.; Stenzel, W. *Chem. Ber.* **1978**, *111*, 2334.
47. Weygard, F.; Ziemann, H.; Bestmann, H. J. *Chem. Ber.* **1958**, *91*, 2534.
48. Wessel, P.; Bundle, D. J. *Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1985**, 2251.
49. Mukaiyama, T.; Murai, Y.; Shoda, S. *Chem. Lett.* **1981**, *10*, 431.
50. Nicolaou, K. C.; Dolle, R. E.; Papahatjis, D. P.; Randall, J. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 4189.
51. Miethchen, R.; Hager, C.; Hein, M. *Synthesis* **1997**, 159.
52. Nicolaou, K. C.; Randall, J. L.; Furst, G. T. *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 5556.
53. Du, W.; Gervay-Hague, J. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 2063.
54. Gervay, J.; Nguyen, T. N.; Hadd, M. J. *Carbohydr. Res.* **1997**, *300*, 119.
55. Wulff, G.; Roehle, G. *Angew. Chem., Int. Ed.* **1974**, *13*, 157.
56. Bock, K.; Meldal, M. *Acta. Chem. Scand. B.* **1983**, *B37*, 775.
57. Ogawa, T.; Matsui, M. *Carbohydr. Res.* **1976**, *51*, C13.
58. Kreuzer, M.; Thiem, J. *Carbohydr. Res.* **1986**, *149*, 347.
59. Wessel, H. P. *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 6863.
60. Lemieux, R. U.; Hayami, J. I. *Can. J. Chem.* **1965**, *43*, 2162.
61. Ferrier, R. J.; Hay, R. W.; Vethaviasar, N. *Carbohydr. Res.* **1973**, *27*, 55.
62. Codée, J. D. C.; Litjens, R. E. J. N.; van den Bos, L. J.; Overkleeft, H. S.; van der Marel, G. A. *Chem. Soc. Rev.* **2005**, *34*, 769.
63. Tai, C. A.; Kulkarni, S. S.; Hung, S. C. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 8719.
64. Veeneman, G. H.; van Leeuwen, S. H.; van Boom, J. H. *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 1331.
65. Mukherjee, C.; Misra, A. K. *Synthesis* **2007**, 683.
66. Valerio, S.; Iadonisi, A.; Adinolfi, M.; Ravida, A. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 6097.
67. Wang, C.; Wang, H.; Huang, X.; Zhang, L. H.; Ye, X. S. *Synlett* **2006**, 2846.
68. Schmidt, R. R.; Michel, J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1980**, *19*, 731.
69. Schmidt, R. R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1986**, *25*, 212.
70. Orgueira, H. A.; Bartolozzi, A.; Schell, P.; Litjens, R. E. J. N.; Palmacci, E. R.; Seeberger, P. H. *Chem. Eur. J.* **2003**, *9*, 140.
71. Toshima, K.; Tatsuta, K. *Chem. Rev.* **1993**, *93*, 1503.
72. Zhu, X.; Schmidt, R. R. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2009**, *48*, 1900.
73. Williams, J. M.; Richardson, A. C. *Tetrahedron* **1967**, *23*, 1369.
74. Shapiro, D.; Acher, A. J.; Rabinsohn, Y.; Diver-Haber, A. *J. Org. Chem.* **1971**, *36*, 832.

75. Doležalová, J.; Trnka, T.; Černý, M. *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1982**, *47*, 2415.
76. Paulsen, H.; Stenzel, W. *Chem. Ber.* **1978**, *111*, 2348.
77. Grindley, T. B.; Reimer, G. J.; Kralovec, J.; Brown, R. G.; Anderson, M. *Can. J. Chem.* **1987**, *65*, 1065.
78. Staněk, J.; Černý, M.; *Synthesis* **1972**, 698.
79. Noji, M.; Ohno, T.; Fuji, K.; Futaba, N.; Tajima, H.; Ishii, K. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 9340.
80. Paulsen, H.; Richter, A.; Sinnwell, V.; Stenzel, W. *Carbohydr. Res.* **1978**, *64*, 339.
81. Chittaboina, S.; Hodges, B.; Wang, Q. *Lett. Org. Chem.* **2006**, *3*, 35.
82. Takatani, M.; Nakama, T.; Kubo, K.; Manabe, S.; Nakahura, Y.; Ito, Y.; Nakahara, Y. *Glycoconjugate J.* **2000**, *17*, 361.
83. Amin, M. N.; Ishiwata, A.; Ito, Y. *Tetrahedron* **2007**, *63*, 8181.
84. Heseck, D.; Lee, M.; Zhang, M.; Noll, B. C.; Mobashery, S. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 5187.
85. Budešinský, M.; Černý, M.; Trnka, T.; Vašíčková, S. *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1979**, *44*, 1965.
86. Chelain, E.; Czernicki, S.; Chmielewski, M.; Kaluza, Z. *J. Carb. Chem.* **1996**, *15*, 571.
87. Codée, J. D. C.; Stubba, B.; Schiattarella, M.; Overkleeft, H. S.; van Boeckel, C. A. A.; van Boom, J. H.; van der Marel, G. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 3767.
88. Ogawa, S.; Ashiura, M.; Uchida, C. *Carbohydr. Res.* **1998**, *370*, 83.
89. Morais, L. L.; Bennis, K.; Ripoche, I.; Liao, L.; Auzanneau, F. I.; Gelas, J. *Carbohydr. Res.* **2003**, 338, 1369.
90. Conrad, P. C.; Kwiatkowski, P. L.; Fuchs, P. L. *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 586.