

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Katedra organické a jaderné chemie

**Syntéza monosubstituovaných derivátů  
cyklodextrinů**

Diplomová práce

Vedoucí diplomové práce: doc. RNDr. Jindřich Jindřich, CSc.

Vypracoval: Michal Řezanka

**Praha 2007**

Prohlašuji, že jsem tuto práci vypracoval samostatně pod odborným vedením doc. RNDr. Jindřicha Jindřicha, CSc. a že řádně cituji všechna převzatá data a skutečnosti.

V Praze dne 3. 5. 2007



.....

Michal Řezanka

## Poděkování

V první řadě bych rád poděkoval svému školiteli panu doc. RNDr. Jindřichu Jindřichovi, CSc. za vedení při vypracovávání diplomové práce. Ještě větší dík mu však patří za jeho milý a vstřícný přístup i neustálé vtípkování, kterým mě i přes četné experimentální neúspěchy udržoval v dobrém rozmaru.

Svůj dík bych rád také vyjádřil spolupracovníkům z laboratoří 139, 135 a 131, za cenné experimentální rady a za vytvoření příjemného pracovního prostředí.

Paní RNDr. Ivě Rudovské, PhD. děkuji za měření NMR spekter, za pomoc s interpretací jejich 2D variant, za zasvěcení do luštění těchto spekter a za výborné přednášky NMR I a II. Za měření spekter a fyzikálních vlastností připravených látek též děkuji panu RNDr. Martinu Štichovi (MS), panu Mgr. Petru Novákovi (HRMS) a paní Mgr. Bohunce Šperlichové (optická rotace).

Velký dík bych pak chtěl vyjádřit především svým rodičům, prarodičům, bratřím a své partnerce za všestrannou podporu během celého studia.

# Obsah

Seznam zkratk	5
1. Úvod	6
2. Cíle diplomové práce	7
3. Teoretická část	8
3.1 Cyklodextriny	8
3.1.1 Struktura a vlastnosti	8
3.1.2 Tvorba inkluzních komplexů	10
3.1.3 Výroba	12
3.2 Monoderiváty cyklodextrinů	13
3.2.1 Substituce v poloze 2- <i>O</i>	14
3.2.2 Substituce v poloze 3- <i>O</i>	16
3.2.3 Substituce v poloze 6- <i>O</i>	17
3.2.4 Použití	18
3.3 Modifikace dvojné vazby	20
3.4 2D NMR techniky	25
3.5 Přístup k řešení diplomové práce	25
4. Experimentální část	30
4.1 Použité přístroje a chemikálie	30
4.2 Použité postupy a metody	31
4.2.1 Postup při určování polohy substituentu na cyklodextrinech	31
4.2.2 Ostatní postupy a metody	35
4.3 Pracovní postupy	36
5. Výsledky a diskuze	49
5.1 Příprava monocinnamyl a monoallyl derivátů	49
5.2 Derivatizace dvojné vazby	51
5.2.1 Příprava formylmethyl derivátů	51
5.2.2 Příprava karboxymethyl derivátů	51
6. Závěr	54
Seznam literatury	55

## Seznam zkratek

Ac	acetyl
Bn	benzyl
Bz	benzoyl
CD	cyklodextrin
CGT-asa	cyklomaltodextrin glukanoferasa
COSY	correlated spectroscopy
DEPT	distortionless enhancement by polarization transfer
DMF	<i>N,N</i> -dimethylformamid
DMSO	dimethylsulfoxid
DMT	dimethoxytrityl
ekv.	ekvivalent
HMBC	heteronuclear multiple bond coherence
HPLC	high performance liquid chromatography (vysokoučinná kapalinová chromatografie)
HRMS	high-resolution mass spectrometry (hmotnostní spektrometrie s vysokým rozlišením)
HSQC	heteronuclear single quantum coherence
lab.	laboratorní
Me	methyl
MS	mass spectrometry (hmotnostní spektrometrie)
NMR	nuclear magnetic resonance (nukleární magnetická rezonance)
Ph	fenyl
Pr	propyl
<i>i</i> -Pr	<i>iso</i> -propyl
R <sub>f</sub>	retenční faktor
RVO	rotační vakuová odparka
TBDMS	<i>tert</i> -butyldimethylsilyl
TLC	thin layer chromatography (tenkovrstvá chromatografie)
UV	ultraviolet (ultrafialový ve smyslu ultrafialové oblasti spektra)

# 1. Úvod

Cyklodextriny jsou cyklické oligosacharidy, jejichž významnou vlastností je schopnost komplexovat do své kavity lipofilní látky vhodné velikosti a tvaru. S touto vlastností souvisí i jejich využití v mnoha odvětvích průmyslu.

Ve farmaceutickém průmyslu jsou využívány především k solubilizaci léčiv, jejich prodlouženému uvolňování<sup>1</sup> a odstranění hořké chuti, v potravinářském průmyslu k maskování špatné chuti<sup>2</sup> a stabilizaci vonných látek, v kosmetickém a textilním průmyslu k maskování pachů, stabilizaci vůní a jejich prodlouženému uvolňování<sup>3</sup>. V neposlední řadě jsou cyklodextriny využívány pro svoji schopnost katalyzovat reakce (umělé enzymy)<sup>4</sup> a v analytické chemii pro separace strukturně blízkých látek<sup>5</sup>.

Další rozvoj použití cyklodextrinů je limitován jejich vlastnostmi, a proto je v současné době investováno mnoho prostředků do jejich funkcionalizace, a tím zlepšení jejich rozpustnosti, schopnosti komplexace atd.

Příprava série monosubstituovaných\* derivátů cyklodextrinů, které je možné použít jako prekurzory pro téměř neomezené množství monosubstituovaných derivátů, je z hlediska syntézy derivátů cyklodextrinů klíčová.

Tato diplomová práce byla finančně podporována granty MŠM 0021620857, MŠM 113100001 a GAUK 424/2004/B-CH/PřF.

---

\* V rámci této práce se monosubstituovaným derivátem rozumí i deriváty, které jsou na všech ostatních hydroxylových skupinách methylovány, acetylovány apod.

## 2. Cíle diplomové práce

Aby bylo možné rozšířit možnosti aplikace cyklodextrinů, je třeba připravit jejich vhodné deriváty. Zatímco příprava regioselektivně substituovaných cyklodextrinů je obtížná, modifikace monosubstituovaného cyklodextrinu je poměrně snadná. Proto je třeba nahradit hydroxylové skupiny cyklodextrinů vhodnou funkční skupinou, která by mohla být dále široce modifikovatelná. Tímto způsobem by pak bylo možno připravit velké množství derivátů cyklodextrinů s požadovanými vlastnostmi.

Jako vhodné alkylační činidlo pro monoderivatizaci byl vybrán allyl bromid a cinnamyl bromid, jelikož při alkylaci dochází k substituci na uhlíku allylového typu a jelikož obě alkylační činidla obsahují nearomatickou dvojnou vazbu, kterou lze transformovat řadou způsobů<sup>6-10</sup>.

Zatímco příprava vhodných monosubstituovaných derivátů  $\beta$ -cyklodextrinu již byla publikována<sup>6,11-13</sup>, pro  $\alpha$ - a  $\gamma$ -cyklodextrin nebyly zatím kompletní řady monosubstituovaných derivátů připraveny.

Základní cíle této práce je možné shrnout do následujících bodů.

- Nalezení vhodných experimentálních podmínek pro alkylaci  $\alpha$ -cyklodextrinu allyl nebo cinnamyl bromidem s použitím hydroxidu sodného jako báze s cílem připravit 2<sup>1</sup>-O-, 3<sup>1</sup>-O- a 6<sup>1</sup>-O-allyl nebo 2<sup>1</sup>-O-, 3<sup>1</sup>-O- a 6<sup>1</sup>-O-cinnamyl deriváty  $\alpha$ -cyklodextrinu jako vhodné prekurzory pro další derivatizaci.
- Ověření možnosti modifikace těchto prekurzorů přípravou formylmethyl a karboxymethyl derivátů.

## 3. Teoretická část

### 3.1 Cyklodextriny

První zmínka o látce, která byla později identifikována jako cyklodextrin, byla publikována<sup>14</sup> v roce 1891. Rozkladem škrobu pomocí *Bacillus amylobacter* (tato kultura zřejmě nebyla čistá a obsahovala také *Bacillus macerans*) získal Villiers okolo 3 g krystalické látky z 1 kg škrobu a určil její strukturu jako  $(C_6H_{10}O_5)_2 \cdot 3H_2O$ . Tuto sloučeninu Villiers pojmenoval jako „celulosin“, protože se podobala celulóse její odolností vůči kyselé hydrolyze a protože nevykazovala redukční schopnosti.

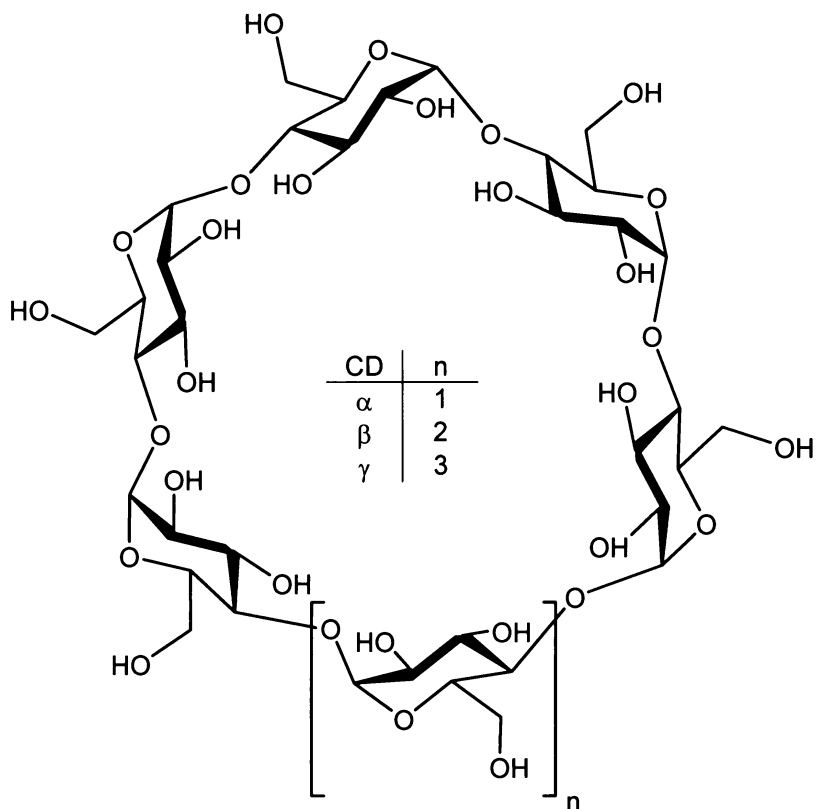
O 12 let později Schardinger při studiu rozkladu škrobu mikroorganismy izoloval malé množství dvou krystalických produktů<sup>15</sup>. Tyto látky se zdály identické s „celulosiny“, které izoloval Villiers. Svým výzkumem Schardinger položil základy cyklodextrinové chemie.

S postupem let se zájem o cyklodextriny nadále zvětšoval<sup>16</sup>, v roce 1981 byla uspořádána první mezinárodní konference o cyklodextrinech a v současné době se s cyklodextriny setkáváme takřka na každém kroku (viz. přídatná látka E 459 apod.).

#### 3.1.1 Struktura a vlastnosti

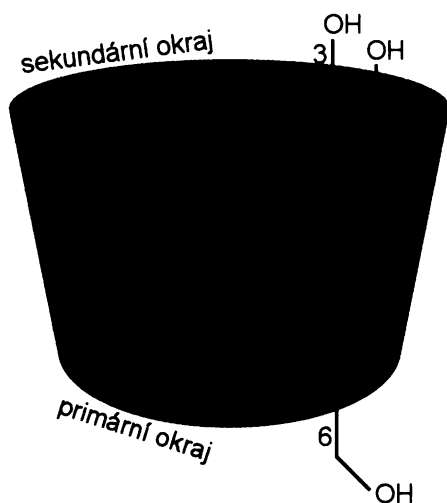
Cyklodextriny jsou cyklické oligosacharidy složené z  $\alpha$ -D-glukopyranosových jednotek v konformaci  ${}^4C_1$  vzájemně spojených  $\alpha(1 \rightarrow 4)$  glykosidickými vazbami. Do cyklu je nejčastěji spojeno 6, 7 nebo 8 glukopyranosových jednotek a jsou označovány jako  $\alpha$ -,  $\beta$ - nebo  $\gamma$ -CD (obrázek 3.1). Byl také připraven pre- $\alpha$ -CD s pěti glukosovými jednotkami v cyklu<sup>17</sup> a cyklodextriny až s 60 jednotkami glukosy v cyklu<sup>18</sup>.





**Obrázek 3.1 – Struktura cyklodextrinů**

Cyklodextriny mají tvar dutého komolého kužele (obrázek 3.2), na jehož jednom okraji jsou primární hydroxylové skupiny a na druhém sekundární hydroxylové skupiny. Dovnitř kavity jsou orientovány C-H vazby a kyslíkové atomy glykosidických můstků. Tyto nepolární vazby jsou příčinou značné lipofility kavity, zatímco vysoký počet hydroxylových skupin způsobuje dobrou rozpustnost cyklodextrinů ve vodě (s výjimkou  $\beta$ -CD, viz. dále).



**Obrázek 3.2 – Tvar cyklodextrinu**

Hydroxylové skupiny na C-2 jedné glukopyranosové jednotky mohou tvořit vodíkové vazby s hydroxylovou skupinou na C-3 na sousední glukopyranosové jednotce. V  $\beta$ -CD tvoří tyto vodíkové vazby celý pás, a proto je molekula velmi rigidní. Tyto vodíkové vazby jsou patrně i příčinou toho, že  $\beta$ -CD je ze všech běžných cyklodextrinů ve vodě nejméně rozpustný.

Pás vodíkových vazeb v  $\alpha$ -CD je neúplný, protože jedna glukopyranosová jednotka je mírně deformována. V důsledku této nesouměrnosti mohou být místo šesti možných vodíkových vazeb plně vytvořeny pouze čtyři.  $\gamma$ -CD má více flexibilní strukturu, a proto je z těchto tří cyklodextrinů nejvíce rozpustný ve vodě.

Tabulka 3.1 ukazuje základní strukturní rysy a vybrané fyzikální vlastnosti cyklodextrinů.

**Tabulka 3.1 Vlastnosti cyklodextrinů<sup>19</sup>**

	$\alpha$ -CD	$\beta$ -CD	$\gamma$ -CD
Počet glukosových jednotek	6	7	8
Molární hmotnost [g.mol <sup>-1</sup> ]	973	1135	1297
Rozpustnost ve vodě při 25 °C [g/100 ml]	14,5	1,85	23,2
Průměr kavity (horní – dolní) [nm]	0,47 – 0,52	0,60 – 0,64	0,75 – 0,83
Přibližný objem kavit v 1 g CD [ml]	0,10	0,14	0,20
Krystalová voda [hmotnostní %]	10,2	13,2 – 14,5	8,1 – 17,7

Za standardních experimentálních podmínek nepodléhají cyklodextriny ve větší míře degradaci. Jsou poměrně stabilní v alkalických roztocích a do určité míry jsou odolné i vůči kyselé hydrolyze (ta nastává při pH nižším než 3,5 a teplotě vyšší než 60 °C)<sup>20</sup>.

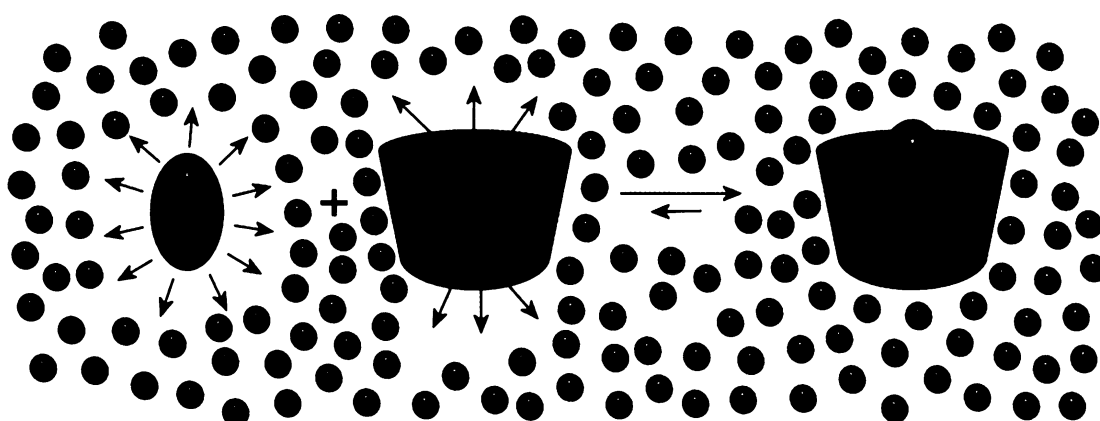
### 3.1.2 Tvorba inkluzních komplexů

Nejdůležitější vlastností cyklodextrinů je jejich schopnost tvořit pevné inkluzní komplexy (komplexy hostitel-host) s celou řadou pevných, kapalných i plyných sloučenin. Tyto komplexy jsou tvořeny látkou (hostitelem), která ve své molekule obsahuje kavitu (dutinu), a látkou (hostem), která má odpovídající strukturní vlastnosti a obsadí tuto kavitu.

Komplex mezi hostitelem a hostem není trvalý, ale jedná se o dynamickou rovnováhu, při které vznikají a zanikají nekovalentní vazby mezi nepolární skupinou

hosta a lipofilní dutinou cyklodextrinu. Síla vazby závisí na sterické shodě daného hosta s vnitřním prostorem kavity a interakcích mezi atomy hostitele a hosta.

Ve vodných roztocích je nepolární kavita cyklodextrinu vyplněna polárními molekulami vody, pro které je toto umístění energeticky nevýhodné. Tyto molekuly nemohou tvořit stejné vodíkové vazby jako ve volné kapalině, a jsou proto nazývány „vysokoenergetické“ molekuly vody. Vstupem nepolárního hosta vhodné velikosti a tvaru do kavity cyklodextrinu dojde k přesunu „vysokoenergetických“ molekul vody do okolní kapaliny, a tím dojde ke snížení energie celého systému (obrázek 3.3).



Obrázek 3.3 – Tvorba inkluzního komplexu

Nejpravděpodobnější model interakce mezi cyklodextrinem a hostem je dán vstupem méně hydrofilní části molekuly hosta do kavity cyklodextrinu, přičemž více hydrofilní část zůstává na primárním nebo sekundárním okraji kavity<sup>21</sup>. V mnoha případech jsou hydrofobní a van der Waalsovy interakce hlavními intermolekulárními silami zodpovědnými za tvorbu stabilních supramolekulárních komplexů, ale jejich příspěvky není možné přesně rozlišit.

Hydrofobní dutina cyklodextrinu je ve vodném prostředí vhodným hostitelem pro celou řadu organických látek převážně lipofilního charakteru (lineární či větvené uhlovodíky, aldehydy, ketony, alkoholy, organické kyseliny, vyšší mastné kyseliny, aromáty, halogenderiváty, aminy a další)<sup>5</sup>, ale jsou známy i komplexy vzácných plynů, anorganických sloučenin neutrální i iontové povahy<sup>22</sup> nebo komplexy v plynné fázi<sup>23</sup>.

Cyklodextriny tvoří komplexy s nepolárními látkami v různých poměrech, z nichž nejčastější je poměr hostitel : host 1:1 (lit.<sup>21</sup>). Poměry 2:1 (lit.<sup>24</sup>), 1:2 (lit.<sup>25</sup>) a ostatní<sup>26,27</sup> jsou méně časté.

Komplexace hosta v cyklodextrinech má významný dopad na jeho fyzikálně-chemické vlastnosti, z nichž jsou nejdůležitější níže uvedené důsledky interakce mezi špatně rozpustným hostem a cyklodextrinem ve vodném roztoku<sup>16</sup>.

- Významně vzroste koncentrace hosta převedeného do roztoku a současně se sníží rozpustnost cyklodextrinu. Výjimkou je komplexace nabitého hosta nebo hosta tvořícího vodíkové vazby (např. fenol), kdy dojde ke zvýšení rozpustnosti cyklodextrinu.
- Změní se spektrální data. Například se změní chemické posuny anizotropně stíněných jader v NMR spektrech nebo se změní maximum v UV spektru o několik nm a zvýší se fluorescence.
- Změní se reaktivita komplexované látky. V převážné většině se sníží, protože je host chráněn od okolního prostředí. Cyklodextrin však může sloužit jako „umělý enzym“, neboť při komplexaci dochází k urychlení reakce nebo změně reakční cesty.
- Sníží se těkavost hosta.

Při interakci v pevné fázi se vlastnosti komplexované látky mění také.

- Host je rozptýlen na molekulární úrovni v cyklodextrinové matici tvořící tak mikrokrytalický, nebo amorfní prášek.
- Komplexovaná látka je efektivně chráněna před reakcemi, vyjma reakcí s hydroxylovými skupinami cyklodextrinu nebo reakcí jimi katalyzovaných.
- Sublimace a těkavost je snížena na velmi malou úroveň.
- Komplex je hydrofilní a rozpustný.

Komplexační konstanty komplexů cyklodextrinů s velkou řadou látek lze nalézt v přehledném článku<sup>21</sup>.

### 3.1.3 Výroba

Cyklodextriny jsou produkovány enzymem cyklomaltodextrin glukanotransferasou (EC 2.4.1.19) syntetizovaným mnoha mikroorganismy<sup>28</sup> – *Bacillus macerans*, *B. stearothermophilus*, *B. circulans*, *Klebsiella pneumoniae*, *K. oxytoca*, *Micrococcus luteus*, *Thermoanaerobacterium thermosulfurigenes* a dalšími.

Výroba cyklodextrinů spočívá v rozpuštění škrobu za zvýšené teploty a jeho částečné hydrolyze. Po přidání CGT-asy a proběhnutí enzymatické cyklizace jsou jednotlivé cyklodextriny separovány ze směsi. Další možností je přidání komplexačního činidla do reakční směsi, čímž se zvýší selektivita pro daný typ CD. Pro přednostní tvorbu  $\alpha$ -CD je přidáván dekan-1-ol, pro  $\beta$ -CD toluen a pro  $\gamma$ -CD cyklohexadecenol<sup>16</sup>. Nedávno byla publikována podrobná studie použití komplexačních činidel při tvorbě cyklodextrinů<sup>29</sup>.

Postup na výrobu cyklodextrinů je neustále zlepšován. Je možné modifikovat brambory tak, aby byla inhibována syntéza amylosy a vznikal pouze amylopektin. Tento škrob kombinuje výhody čistého přírodního amylopektinu a malého obsahu lipidů a proteinů<sup>30</sup>.

Specifický druh *Klebsiella oxytoca* No. 19-1 produkuje CGT-asu schopnou konvertovat škrob na  $\alpha$ -CD s výtěžkem blížícím se 100 %<sup>31</sup>.  $\alpha$ -CD je také možné připravit CGT-asou izolovanou z *Bacillus macerans*. Z částečně hydrolyzovaného škrobu je cyklodextrin syntetizován při teplotě 15 – 40 °C v přítomnosti cyklohexanu. Takto vzniká  $\alpha$ -cyklodextrin prostý  $\gamma$ -cyklodextrinu<sup>32</sup>.

$\beta$ -CD lze enzymaticky připravit ze směsi oligosacharidů složených z 2 – 10 jednotek glukosy v přítomnosti organického rozpouštědla při teplotě menší než 40 °C<sup>33</sup>.

Přidáním alifatického ketonu či alkoholu a cyklické sloučeniny s 12 atomy do reakční směsi CGT-asy a hydrolyzovaného škrobu lze připravit  $\gamma$ -CD<sup>34</sup>. Alternativní metodou výroby  $\gamma$ -CD je využití modifikované CGT-asy<sup>35</sup>, ze které bylo odebráno 3 až 8 aminokyselin z pozic aminokyselin 155 až 195, nebo kde byl pozměněn úsek mezi 180. a 240. pozicí aminokyselin<sup>36</sup>.

### 3.2 Monoderiváty cyklodextrinů

Cyklodextriny jsou modifikovány z mnoha důvodů – pro zvýšení rozpustnosti, lepší komplexační vlastnosti, možnost cyklodextrin pevně zakotvit na jiném materiálu atd.

Strategie pro modifikaci záleží na účelu produktu. Například pokud požadujeme hodně rozpustný cyklodextrin pro farmaceutický průmysl, potom zvolíme náhodnou konverzi hydroxylových skupin např. na sulfátové (nebo jiné

hydrofilní) skupiny a produkt bude mít požadované vlastnosti. Tento produkt však není homogenní a nemůže být přesně charakterizován. Pro zakotvení cyklodextrinu na nějaký nosič se většinou používají monosubstituované deriváty<sup>1</sup>.

Monoderivatizace cyklodextrinů je pro chemiky velká výzva, jelikož hydroxylové skupiny přítomné v polohách 2, 3 a 6 si při substituci navzájem konkurují, a činí tak monoderivatizaci velice obtížnou. Hydrofobní kavita cyklodextrinu má tendenci interferovat se substitučním činidlem a směřovat reakci na jinou hydroxylovou skupinu, než bylo původně zamýšleno.

Při monoderivatizaci cyklodextrinů musí být vzaty v úvahu dva hlavní faktory: nukleofilita hydroxylových skupin a schopnost cyklodextrinu komplexovat použité činidlo. V cyklodextrinu jsou tři typy hydroxylových skupin. Hydroxylové skupiny v poloze 6 jsou nejvíce bazické (nejméně kyselé a často nejvíce nukleofilní), v poloze 2 jsou nejvíce kyselé a v poloze 3 jsou nejméně přístupné<sup>37</sup>.

Při deprotonaci všech hydroxylových skupin nadbytkem báze elektrofilní činidlo atakuje polohu 6, protože je nejvíce přístupná. Více reaktivní činidla atakují hydroxylové skupiny méně selektivně, tudíž nereagují jenom s hydroxylovými skupinami v poloze 6, ale také se skupinami na sekundárním okraji, zatímco méně reaktivní činidlo reaguje v poloze 6 selektivněji.

Jelikož jsou hydroxylové skupiny v poloze 2 nejkyselejší<sup>38</sup>, jsou deprotonovány jako první. Takto vytvořený oxyanion je nukleofilnější než ostatní nedeponované hydroxylové skupiny. Tato situace je ale komplikována přenosem protonu mezi polohou 2 a 6, což může vést ke směsi 2-*O* a 6-*O* derivátů.

Další důležitou roli hraje rozpouštědlo, zvláště pak v síle a orientaci komplexu činidla s cyklodextrinem. Je-li komplex silný, převažující produkt bude řízen orientací činidla. Pokud je však komplex slabý, tvorba produktu bude řízena nukleofilitou jednotlivých hydroxylových skupin. Vzhledem k výše uvedeným okolnostem jsou běžně dosahované výtěžky monosubstituovaných derivátů v řádu procent, maximálně několika málo desítek procent<sup>37</sup>.

### 3.2.1 Substituce v poloze 2-*O*

Na sekundárním okraji cyklodextrinu je dvojnásobný počet hydroxylových skupin a vodíkové vazby mezi těmito skupinami v polohách 2 a 3 je činí méně

pohyblivějšími ve srovnání s hydroxylovými skupinami na primárním okraji cyklodextrinu. Tyto faktory jsou příčinou menší reaktivity a obtížnější modifikace sekundárního okraje na rozdíl od primárního.

Ačkoliv byly syntetizovány persubstituované alkyl ethery<sup>39,40</sup>, není známo mnoho případů monoderivátů<sup>37</sup> v pozici 2.

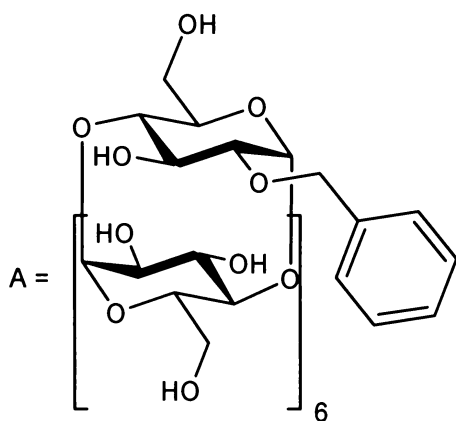
2<sup>1</sup>-*O*-methyl, 2<sup>1</sup>-*O*-ethyl a 2<sup>1</sup>-*O*-allyl-β-cyklodextriny byly připraveny přímou modifikací β-CD dimethyl sulfátem, diethyl sulfátem a allyl bromidem ve vodném roztoku NaOH (výtěžky 1 %, 2 % a 10 %) <sup>11</sup>. V témže roce byl rovněž připraven 2<sup>1</sup>-*O*-allyl-β-cyklodextrin reakcí β-CD s allyl bromidem v suchém DMSO s LiH jako bázi a za přítomnosti LiI (výtěžek 27 %) <sup>12</sup>. 2<sup>1</sup>-*O*-allyl-β-cyklodextrin byl též připraven reakcí β-CD s allyl bromidem v suchém DMF a bázi NaH (výtěžek 4 %) <sup>41</sup>.

Jiným přímým přístupem k monoderivátům je pyrolýza pevných komplexů cyklodextrinů s aromatickými diazo sloučeninami inzercí karbenu do hydroxylové skupiny <sup>42</sup>. Směsi 2<sup>1</sup>-*O*-, 3<sup>1</sup>-*O*- a 6<sup>1</sup>-*O*-alkylcyklodextrinů jsou separovány HPLC.

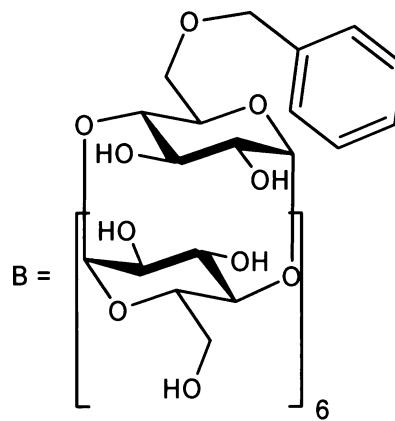
V nedávné době byla vypracována studie závislosti výtěžku na použitém rozpouštědle a bázi pro deriváty substituované v poloze 2, které byly připraveny alkyací β-CD benzyl bromidem (tabulka 3.2).

**Tabulka 3.2 Benzylace β-CD za různých podmínek<sup>43</sup>**

Rozpouštědlo		Báze				
		NaH	NaOH	EtONa	NaNH <sub>2</sub>	LDA
DMF	Produkt	směs A + B	bez substituce	A	směs A + B	směs A + B
	Celkový výtěžek (%)	5,5	0	11	10	24
DMSO	Produkt	A	A	A	A	A
	Celkový výtěžek (%)	14	17	23	18	30



2<sup>1</sup>-*O*-benzyl-β-cyklodextrin



6<sup>1</sup>-*O*-benzyl-β-cyklodextrin

Zajímavostí při přípravě derivátů v poloze 2 je syntéza 2<sup>1</sup>-*O*-vinylbutandioyl-β-cykloextrinu transesterifikací divinyl butandioátu alkalickou proteasou z *Bacillus subtilis* v DMF<sup>44</sup>.

### Známé deriváty (z hlediska cílů diplomové práce)

2<sup>1</sup>-*O*-allyl-α-cykloextrin byl připraven reakcí α-CD s allyl bromidem v suchém DMSO s LiH jako bází a za přítomnosti LiI při 55 °C (výtěžek 24 %) <sup>12</sup>. Při této reakci vznikl jako vedlejší produkt 6<sup>1</sup>-*O*-allyl-α-cykloextrin.

2<sup>1</sup>-*O*-formylmethyl-α-cykloextrin byl připraven ozonolýzou 2<sup>1</sup>-*O*-allyl-α-cykloextrinu ve směsi MeOH : H<sub>2</sub>O (1:1) při 0 °C po dobu 2 hodin a následnou redukcí methylsulfidem. Vzniklý aldehyd však nebyl izolován ani charakterizován <sup>12</sup>. 2<sup>1</sup>-*O*-formylmethyl-α-cykloextrin byl rovněž připraven ozonolýzou 2<sup>1</sup>-*O*-allyl-α-cykloextrinu ve směsi MeOH : H<sub>2</sub>O (1:1) při 0 °C po dobu 4 hodin a následnou redukcí dimethylsulfidem. Vzniklý aldehyd však nebyl charakterizován a nejsou pro jeho přípravu uvedeny přesné experimentální podmínky ani výtěžek <sup>45</sup>. V literatuře <sup>46</sup> je dokonce popsána příprava 2<sup>1</sup>-*O*-formylmethyl-α-cykloextrinu ozonolýzou z 2<sup>1</sup>-*O*-allyl-β-cykloextrinu! Bez uvedení přesného experimentálního provedení a charakterizace reaktantu a produktu však tato reakce postrádá důvěryhodnost.

Per-*O*-acetyl-2<sup>1</sup>-*O*-karboxymethyl-α-cykloextrin byl připraven peracetylací 2<sup>1</sup>-*O*-formylmethyl-α-cykloextrinu acetanhydridem v pyridinu při 80 °C po dobu 20 hodin a následnou oxidací produktu pomocí NaClO<sub>2</sub> a NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> při 0 °C přes noc (výtěžek 75 %) <sup>12</sup>. 2<sup>1</sup>-*O*-karboxymethyl-α-cykloextrin byl připraven deacetylací předchozí sloučeniny pomocí MeONa v MeOH přes noc (výtěžek 88 %) <sup>12</sup>. 2<sup>1</sup>-*O*-karboxymethyl-α-cykloextrin byl připraven i reakcí α-CD v suchém DMF s jodoctanem sodným a NaH jako bází. Byl však připraven pouze jako součást směsi s více substituovanými 2-*O*-karboxymethyl deriváty a nebyl izolován čistý <sup>47</sup>.

### 3.2.2 Substituce v poloze 3-*O*

Přímá selektivní substituce do polohy 3 je velmi komplikovaná a obtížná následkem vysoké reaktivity hydroxylových skupin v polohách 2 a 6. Většina derivátů v poloze 3 se získává reakcí *manno*-2<sup>1</sup>,3<sup>1</sup>-epoxy-cykloextrinu s nukleofilem <sup>37</sup>.



3<sup>1</sup>-*O*-alkylcyklodextriny se připravují ochráněním primárních hydroxylových skupin TBDMS a reakcí tohoto intermediátu se specifickým alkylhalogenidem (*N*-methyl-4-(chlormethyl)-2-nitroanilinem) v lutidinu při vysoké teplotě<sup>48</sup>. Tato metoda se však nedá zobecnit na ostatní alkylační činidla.

Obecnějším principem substituce v poloze 3 je pyrolýza pevných komplexů cyklodextrinů s aromatickými diazo sloučeninami inzercí karbenu do hydroxylové skupiny<sup>42</sup>. Směsi 2<sup>1</sup>-*O*-, 3<sup>1</sup>-*O*- a 6<sup>1</sup>-*O*-alkylcyklodextrinů jsou separovány HPLC.

Další možností substituce je reakce allyl bromidu s β-CD ve vodě a bázi NaOH. Po oddělení cyklodextrinu a vícesubstituovaných derivátů je směs monoderivátů peracetylována a per-*O*-acetyl-3<sup>1</sup>-*O*-allyl-β-cyklodextrin je oddělen chromatografií (výtěžek 2 % – 2 kroky)<sup>6</sup>.

Významným pokrokem v substituci do polohy 3 byla syntéza 3<sup>1</sup>-*O*-cinnamyl-β-cyklodextrinu reakcí β-CD s cinnamyl bromidem ve směsi H<sub>2</sub>O : MeCN a bázi NaOH (výtěžek 32 %)<sup>13</sup>. Vysoký výtěžek je důsledkem komplexace cinnamyl bromidu do kavity cyklodextrinu a natočením reakčního centra k hydroxylové skupině v poloze 3.

#### **Známé deriváty** (z hlediska cílů diplomové práce)

V současné době nejsou známy žádné 3<sup>1</sup>-*O*-cinnamyl-, 3<sup>1</sup>-*O*-allyl-, 3<sup>1</sup>-*O*-formylmethyl- ani 3<sup>1</sup>-*O*-karboxymethyl-α-cyklodextriny.

### **3.2.3 Substituce v poloze 6-*O***

Přímý přístup k 6<sup>1</sup>-*O*-alkyl derivátům cyklodextrinů je možný selektivní monosubstitucí, avšak čistota daných látek je v některých případech sporná, protože není podpořena dostatečným množstvím spektrálních dat. Jedná se o alkylaci β-CD 5-brompent-1-enem v suchém DMF a bázi NaH (výtěžek 17 %)<sup>49</sup>, *p*-kyanobenzyl bromidem ve vodném roztoku NaOH (výtěžek 86 %)<sup>50</sup> nebo alkylaci α-CD 4-(methylamino)-3-nitrobenzyl chloridem v 2,6-lutidinu (výtěžek 34 %)<sup>51</sup>.

Jiným přímým přístupem k monoderivátům substituovaným v poloze 6 je pyrolýza pevných komplexů cyklodextrinů s aromatickými diazo sloučeninami inzercí karbenu do hydroxylové skupiny<sup>42</sup>. Směsi 2<sup>1</sup>-*O*-, 3<sup>1</sup>-*O*- a 6<sup>1</sup>-*O*-alkylcyklodextrinů jsou separovány HPLC.

Další možností substituce je reakce allyl bromidu s  $\beta$ -CD ve vodě a bázi NaOH. Po oddělení cyklodextrinu a vícesubstituovaných derivátů je směs monoderivátů peracetylována a per-*O*-acetyl-6<sup>1</sup>-*O*-allyl- $\beta$ -cyklodextrin je oddělen chromatografií (výtěžek 6 % – 2 kroky)<sup>13</sup>. Volný (neperacetylovaný) derivát lze získat deacetylací pomocí MeONa v MeOH (výtěžek 59 %)<sup>13</sup>.

#### Znamé deriváty (z hlediska cílů diplomové práce)

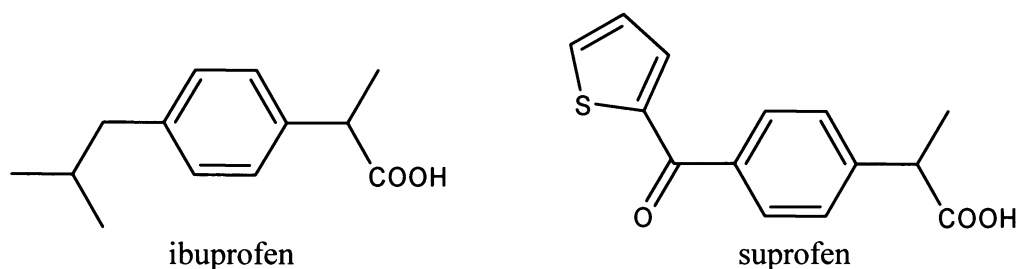
6<sup>1</sup>-*O*-allyl- $\alpha$ -cyklodextrin byl připraven jako vedlejší produkt při přípravě 2<sup>1</sup>-*O*-allyl cyklodextrinu (viz. kapitola 3.2.1) přibližně v 6% výtěžku, avšak nebyl připraven čistý a nebyl charakterizován<sup>12</sup>.

6<sup>1</sup>-*O*-karboxymethyl- $\alpha$ -cyklodextrin byl připraven reakcí  $\alpha$ -CD v suchém DMF s jodoctanem sodným a pyridinem jako bázi. Byl však připraven pouze jako součást směsi s více substituovanými 6-*O*-karboxymethyl deriváty a nebyl izolován čistý<sup>47</sup>.

#### 3.2.4 Použití

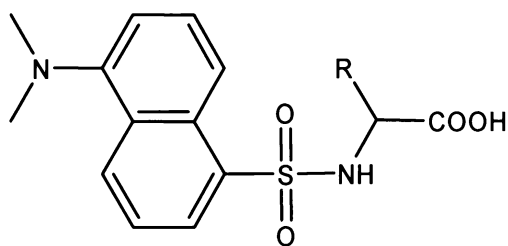
Monosubstituované cyklodextriny nacházejí uplatnění především v analytické chemii, konkrétně v kapilární zónové elektroforéze a v kapalinové chromatografii, kde se používají k dělení látek strukturně blízkých i k separaci enantiomerů<sup>52-56</sup>.

Při použití 6<sup>1</sup>-deoxy-6<sup>1</sup>-(3-hydroxypropyl)amino- $\beta$ -cyklodextrinu v kapilární elektroforéze lze rozdělit racemické směsi protizánětlivých léčiv – ibuprofenu, suprofen (obrázek 3.4) a jim podobných sloučenin<sup>52</sup>.



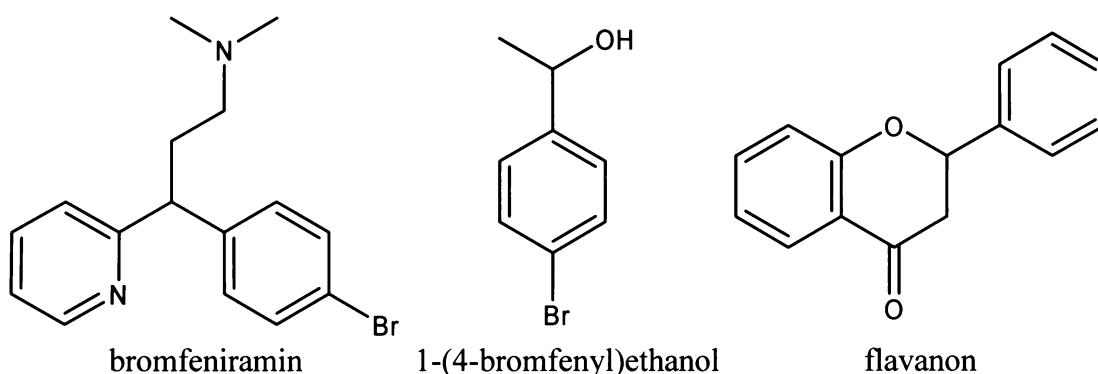
Obrázek 3.4 – Protizánětlivá léčiva

Racemické směsi dansyl derivátů aminokyselin (obrázek 3.5) lze separovat pomocí 6<sup>1</sup>-*N*-allylammonium-6<sup>1</sup>-deoxy- $\beta$ -cyklodextrin chloridu kapilární elektroforézou<sup>53</sup>. Popsány jsou i další enantiomerní separace kapilární elektroforézou za použití monosubstituovaných cyklodextrinů<sup>54,55</sup>.



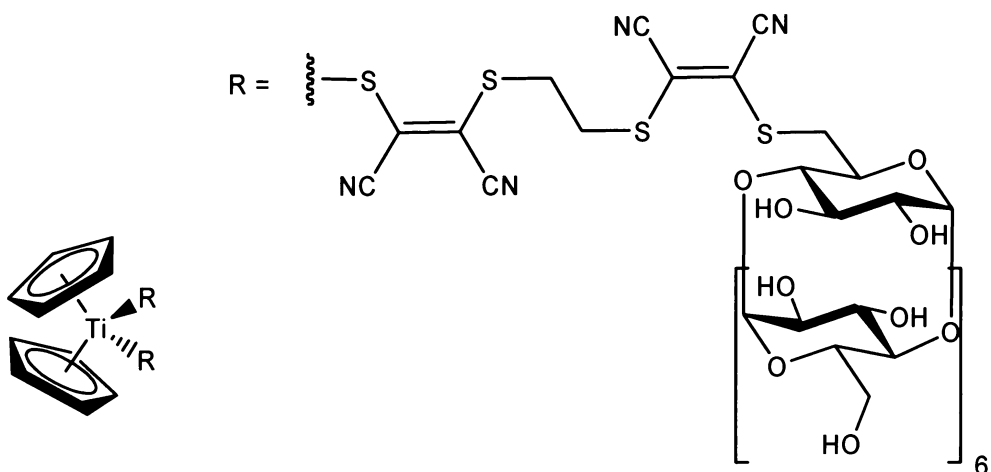
**Obrázek 3.5 – Dansyl deriváty aminokyselin (R je postranní řetězec aminokyseliny)**

Per-*O*-methyl-6<sup>1</sup>-*N*-allylamino-6<sup>1</sup>-deoxy- $\beta$ -cyklodextrin lze použít po navázání na silikagel jako stacionární fázi pro enantiomerní separace pomocí HPLC<sup>56</sup>. Takto lze rozdělit racemické směsi bromfeniraminu, 1-(4-bromfenyl)ethanolu, flavanonu a jeho derivátů (obrázek 3.6), suprofenu (obrázek 3.4) a dalších látek.



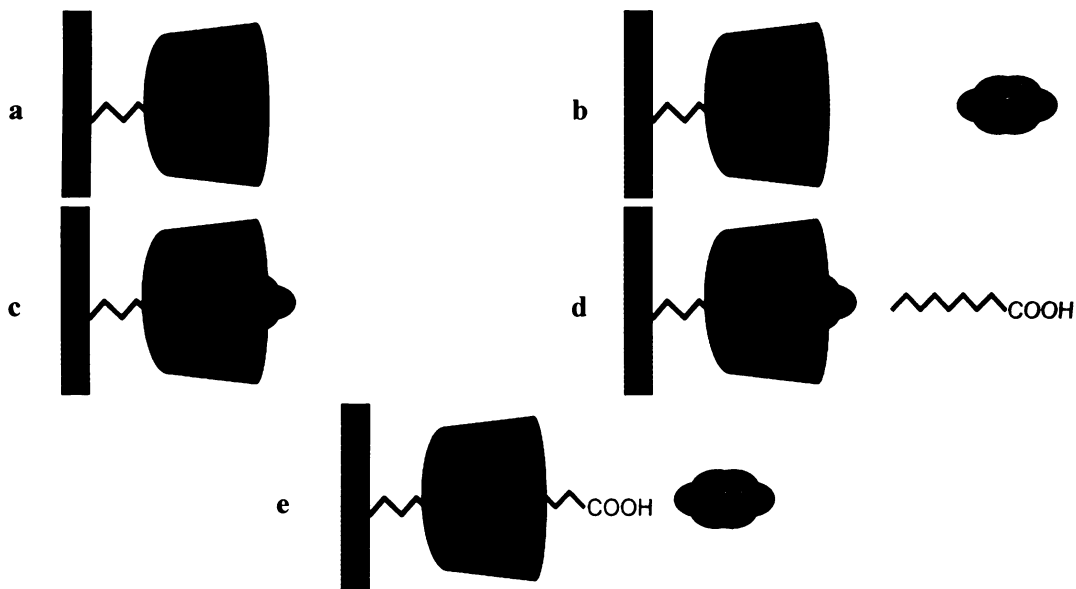
**Obrázek 3.6 – Látky separované HPLC se stacionární fází modifikovanou derivátem  $\beta$ -cyklodextrinu**

Monoderiváty cyklodextrinů našly použití také v ostatních odvětvích lidské činnosti. Lze je použít pro syntézu derivátu titanocenu (obrázek 3.7), který má protinádorové účinky<sup>57</sup>, nebo po navázání na nanočástice zlata pro následnou extrakci [60]fullerenu<sup>58</sup>. Po navázání monosubstituovaných cyklodextrinů na porézní křemík je lze použít jako fotoluminiscenční senzory<sup>59</sup>.



**Obrázek 3.7 – Derivát titanocenu**

V textilním průmyslu můžeme najít zajímavou aplikaci monoderivátů cyklodextrinů<sup>60,61</sup>.  $\beta$ -Cyklodextriny jsou pomocí vhodného spaceru (např. glyceryletheru) uchyceny na vlákno textilie (obrázek 3.8a). Před použitím je oblečení navoněno (obrázek 3.8b), čímž se kavita cyklodextrinu naplní vonnou látkou (parfémem) (obrázek 3.8c). Při pocení dochází k produkci mastných kyselin (obrázek 3.8d), které z cyklodextrinu vytěsní parfém a uvolní ho do okolí (obrázek 3.8e). Tím je nepříjemný pach zachycen a je cítit pouze libě vonící parfém.



**Obrázek 3.8 – Využití monosubstituovaných cyklodextrinů v textilním průmyslu**

### 3.3 Modifikace dvojně vazby

Nearomatickou dvojnou vazbu je možné modifikovat mnoha způsoby, z nichž je z hlediska dalšího syntetického využití velice významná příprava aldehydů a karboxylových kyselin. Aldehydy mohou být například podrobeny Wittigově

reakci<sup>10</sup> a na karboxylové kyseliny může být amidickou vazbou navázána celá řada substituentů<sup>7-9</sup>.

Oxidativní štěpení dvojné vazby na karboxylovou kyselinu je možno provést NaIO<sub>4</sub> a RuCl<sub>3</sub> (tabulka 3.3).

**Tabulka 3.3 Oxidativní štěpení dvojné vazby pomocí NaIO<sub>4</sub>/RuCl<sub>3</sub>**

Reaktant	Produkt	Výtěžek	Provedení reakce	Lit.
		94 %	a	62
		67 %	b	63
		85 %	c	13
		82 %	c	13


### Provedení reakcí

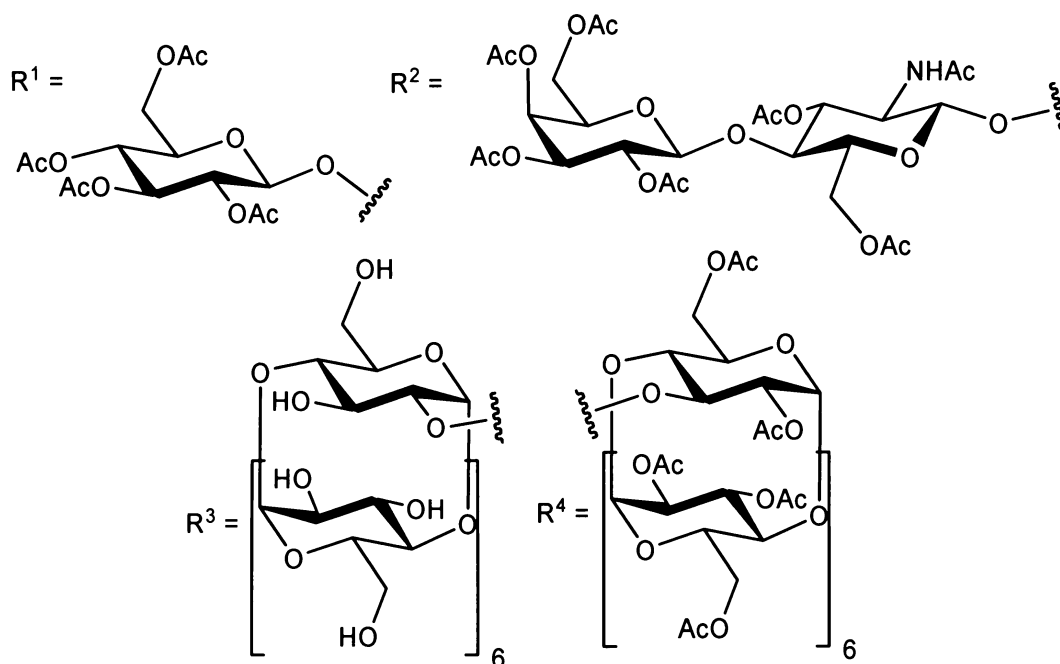
- NaIO<sub>4</sub> a RuCl<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O byly přidány do roztoku pent-4-enyl derivátu ve směsi CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> : MeCN : H<sub>2</sub>O (2:2:3) a reakční směs byla míchána 2 hodiny. Po této době byl přidán další NaIO<sub>4</sub> a reakční směs byla opět míchána 2 hodiny.
- Do roztoku allyl derivátu ve směsi CCl<sub>4</sub>, MeCN a H<sub>2</sub>O byl přidán NaIO<sub>4</sub>. Do tohoto dvoufázového roztoku byl přidán RuCl<sub>3</sub>·3H<sub>2</sub>O a reakční směs byla míchána 2 hodiny.

c) K allyl (cinnamyl) derivátu rozpuštěnému ve směsi MeCN : H<sub>2</sub>O (1:1) byl přidán nasycený roztok NaIO<sub>4</sub> a 5% roztok RuCl<sub>3</sub>. Reakční směs byla míchána 2 hodiny.

Oxidativní štěpení dvojně vazby na aldehyd je možno provést reduktivní ozonolýzou (tabulka 3.4). Jako redukční činidlo se nejběžněji používá Me<sub>2</sub>S.

**Tabulka 3.4 Oxidativní štěpení dvojně vazby ozonem**

Reaktant	Produkt	Výtěžek	Provedení reakce	Lit.
		80 %	a	62
		70 %	b	64
		*	c	12
		70 %	d	65



\* výtěžek není uveden, čistý aldehyd nebyl izolován

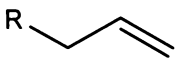
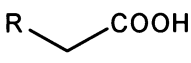
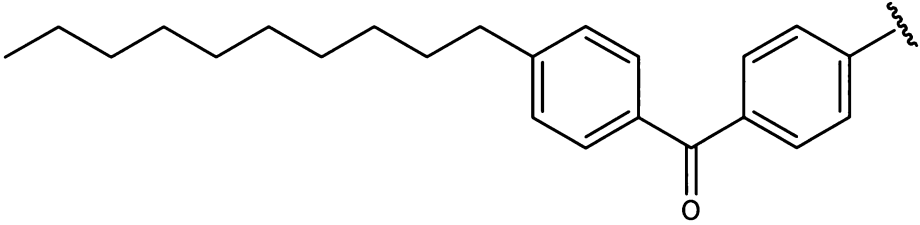
### Provedení reakcí

a) Roztok pent-4-enyl derivátu v suchém CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> byl ozonolyzován při -78 °C 15 minut a reakce byla ukončena přidávkem Me<sub>2</sub>S.

- b) Do roztoku allyl derivátu v  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  byl 15 minut zaváděn ozon při  $-78\text{ }^\circ\text{C}$  a reakce byla ukončena přidavkem  $\text{Me}_2\text{S}$ .
- c) Roztokem allyl derivátu ve směsi  $\text{MeOH} : \text{H}_2\text{O}$  (1:1) byl při  $0\text{ }^\circ\text{C}$  probubláván ozon 2 hodiny a reakce byla ukončena přidavkem  $\text{Me}_2\text{S}$ .
- d) Do roztoku cinnamyl derivátu ve směsi  $\text{CHCl}_3 : \text{MeOH}$  (1:1) byl 10 minut zaváděn ozon při  $-78\text{ }^\circ\text{C}$  a reakce byla ukončena přidavkem  $\text{Me}_2\text{S}$ .

Ozonolýzu je možné také provést v oxidativní variantě (tabulka 3.5).

**Tabulka 3.5 Oxidativní ozonolýza dvojně vazby**

Reaktant	Produkt	Výtěžek	Provedení reakce	Lit.
		59 %	a	66
R =				

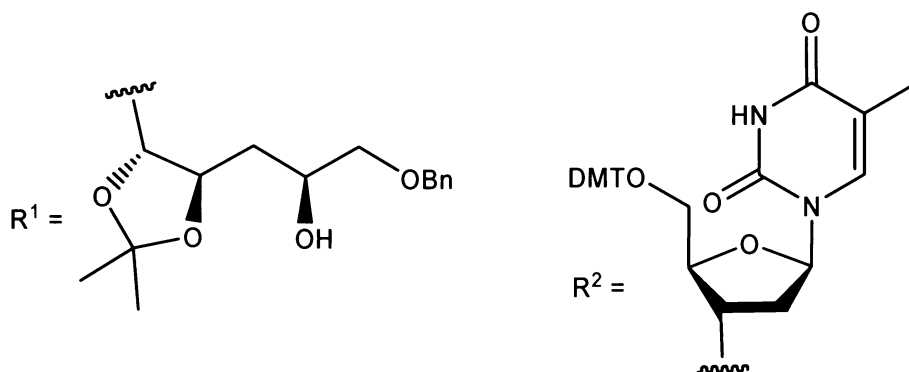
### Provedení reakcí

- a) Roztokem allyl derivátu v acetonu byl při  $-50\text{ }^\circ\text{C}$  probubláván ozon 30 minut. Poté byla reakční směs ponechána, aby se samovolně ohřála na  $0\text{ }^\circ\text{C}$  a bylo k ní přidáno Jonesovo činidlo ( $\text{CrO}_3 : \text{H}_2\text{SO}_4 : \text{H}_2\text{O}$  (1:3:2)). Reakční směs byla míchána přes noc a reakce byla ukončena přidavkem propan-2-olu.

Oxidaci aldehydu na karboxylovou kyselinu lze provést jodem v zásaditém prostředí (tabulka 3.6) nebo Jonesovým činidlem (tabulka 3.7).

**Tabulka 3.6 Oxidace aldehydu na karboxylovou kyselinu jodem**

Reaktant	Produkt	Výtěžek	Provedení reakce	Lit.
$R^1-CHO$	$R^1-COOH$	79 %	a	67
$R^2-CHO$	$R^2-COOH$	93 %	b	68

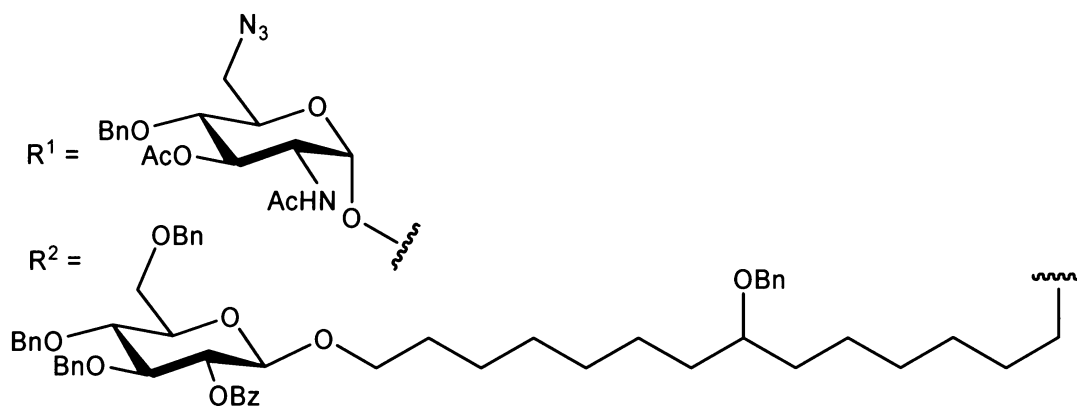


### Provedení reakcí

- K roztoku aldehydu v 70% vodném dioxanu byly přidány roztoky  $K_2CO_3$ ,  $KHCO_3$  ve vodě a po kapkách za míchání roztok KI a  $I_2$  ve vodě. Reakční směs byla míchána při laboratorní teplotě 1,75 hodiny. Reakce byla ukončena přidavkem  $Na_2S_2O_3$ .
- K roztoku aldehydu ve směsi  $H_2O : MeCN$  (1:1) ochlazenému na  $0\text{ }^\circ C$  byl přidán roztok KOH ve vodě a roztok  $I_2$  v MeCN. Reakční směs byla míchána 10 minut.

**Tabulka 3.7 Oxidace aldehydu na karboxylovou kyselinu Jonesovým činidlem**

Reaktant	Produkt	Výtěžek	Provedení reakce	Lit.
$R^1-CHO$	$R^1-COOH$	86 %	a	63
$R^2-CHO$	$R^2-COOH$	84 %	b	69





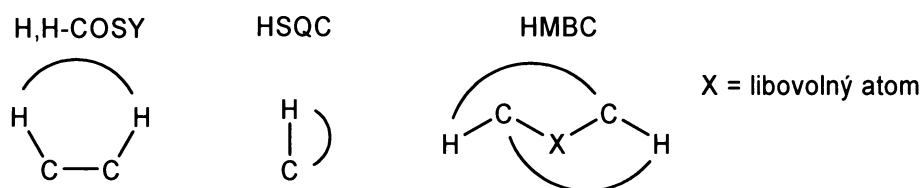
## Provedení reakcí

- Jonesovo činidlo bylo přidáno do roztoku aldehydu v acetonu a reakční směs byla sonifikována 30 minut. Reakce byla ukončena přidavkem propan-2-olu.
- Jonesovo činidlo bylo přidáno do roztoku aldehydu v acetonu ochlazeného na 0 °C a reakční směs byla míchána 2 hodiny.

## 3.4 2D NMR techniky

Při určování polohy substituentů na cyklodextrinech se nejvíce používají rentgenostrukturní analýza<sup>70</sup> a 2D NMR techniky<sup>13</sup>.

Z 2D NMR technik jsou pro určení struktury nejdůležitější H,H-COSY a inverzní techniky HSQC a HMBC. H,H-COSY umožňuje sledovat interakci sousedních vodíkových jader, HSQC umožňuje přiřazení uhlíkových jader a na ně přímo vázaných atomů vodíku a HMBC umožňuje sledovat interakci vodíkových a uhlíkových jader přes více vazeb<sup>71</sup> (obrázek 3.9).

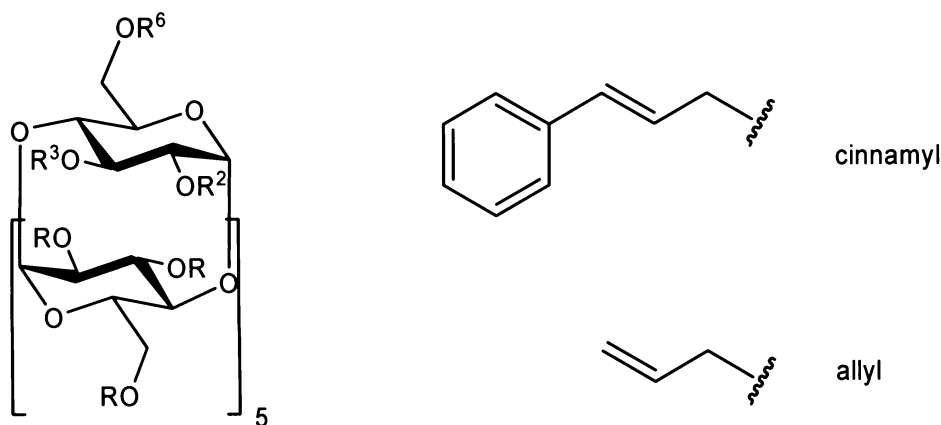


Obrázek 3.9 – Interakce jader v 2D NMR technikách

Příklad určení polohy substituentu na cyklodextrinu je uveden v kapitole 4.2.1.

## 3.5 Přístup k řešení diplomové práce

Cílem diplomové práce je připravit sérii 2<sup>1</sup>-O-, 3<sup>1</sup>-O- a 6<sup>1</sup>-O-allyl nebo 2<sup>1</sup>-O-, 3<sup>1</sup>-O- a 6<sup>1</sup>-O-cinnamyl derivátů  $\alpha$ -CD a ověřit možnost jejich modifikace přípravou formylmethyl a karboxymethyl derivátů. Struktura připravovaných látek je ukázána na obrázku 3.10. Výchozí sloučeninou bude  $\alpha$ -cyklodextrin (obrázek 3.1, n = 1).

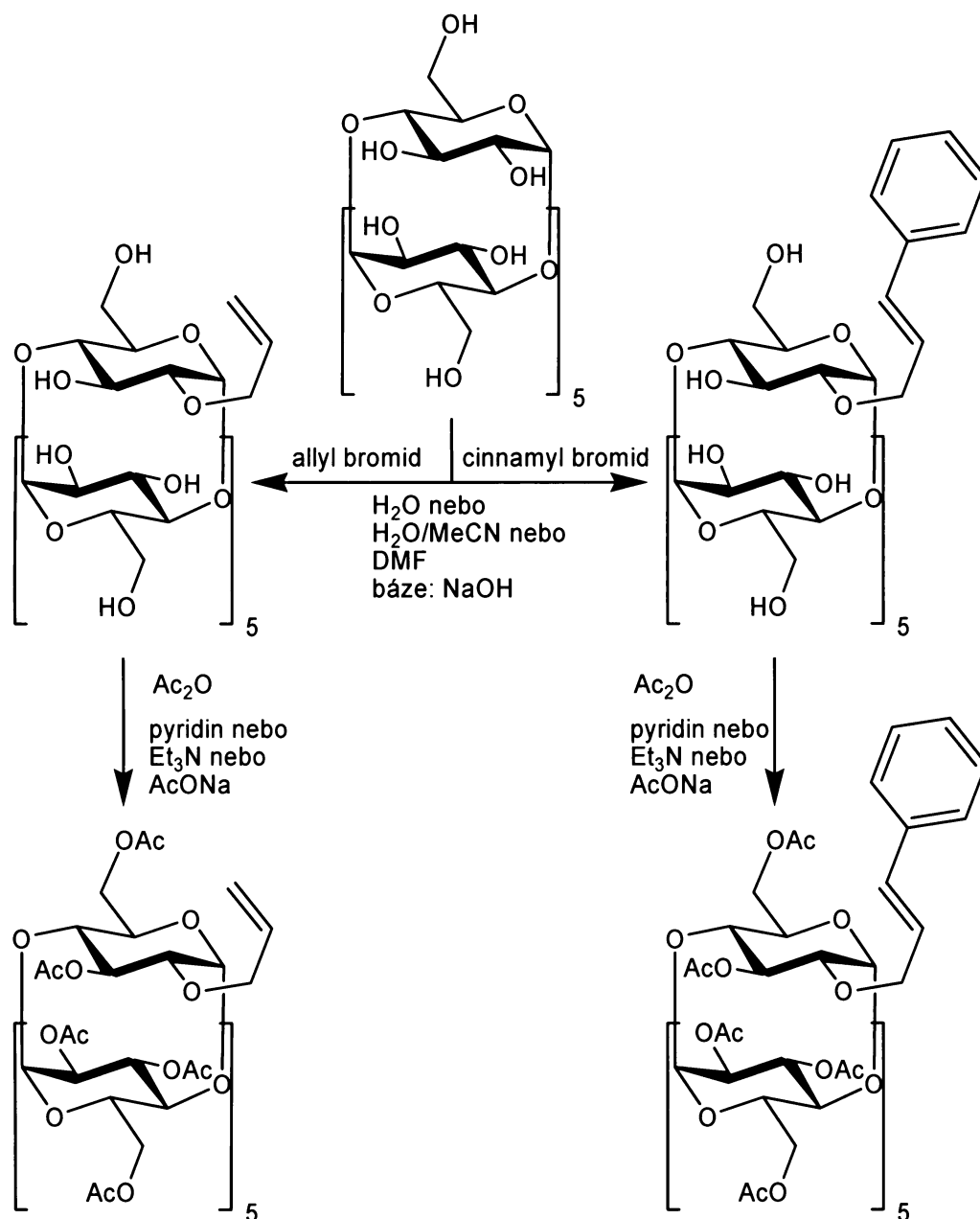


Sloučenina	Název	R	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	R <sup>6</sup>
1	2 <sup>1</sup> - <i>O</i> -cinnamyl- $\alpha$ -cyklodextrin	-H	cinnamyl	-H	-H
2	3 <sup>1</sup> - <i>O</i> -cinnamyl- $\alpha$ -cyklodextrin	-H	-H	cinnamyl	-H
3	6 <sup>1</sup> - <i>O</i> -cinnamyl- $\alpha$ -cyklodextrin	-H	-H	-H	cinnamyl
4	2 <sup>1</sup> - <i>O</i> -allyl- $\alpha$ -cyklodextrin	-H	allyl	-H	-H
5	3 <sup>1</sup> - <i>O</i> -allyl- $\alpha$ -cyklodextrin	-H	-H	allyl	-H
6	6 <sup>1</sup> - <i>O</i> -allyl- $\alpha$ -cyklodextrin	-H	-H	-H	allyl
7	per- <i>O</i> -acetyl-2 <sup>1</sup> - <i>O</i> -cinnamyl- $\alpha$ - -cyklodextrin	Ac	cinnamyl	Ac	Ac
8	per- <i>O</i> -acetyl-3 <sup>1</sup> - <i>O</i> -cinnamyl- $\alpha$ - -cyklodextrin	Ac	Ac	cinnamyl	Ac
9	per- <i>O</i> -acetyl-6 <sup>1</sup> - <i>O</i> -cinnamyl- $\alpha$ - -cyklodextrin	Ac	Ac	Ac	cinnamyl
10	per- <i>O</i> -acetyl-2 <sup>1</sup> - <i>O</i> -allyl- $\alpha$ -cyklodextrin	Ac	allyl	Ac	Ac
11	per- <i>O</i> -acetyl-3 <sup>1</sup> - <i>O</i> -allyl- $\alpha$ -cyklodextrin	Ac	Ac	allyl	Ac
12	per- <i>O</i> -acetyl-6 <sup>1</sup> - <i>O</i> -allyl- $\alpha$ -cyklodextrin	Ac	Ac	Ac	allyl
13	per- <i>O</i> -acetyl-2 <sup>1</sup> - <i>O</i> -formylmethyl- $\alpha$ - -cyklodextrin	Ac	-CH <sub>2</sub> CHO	Ac	Ac
14	per- <i>O</i> -acetyl-3 <sup>1</sup> - <i>O</i> -formylmethyl- $\alpha$ - -cyklodextrin	Ac	Ac	-CH <sub>2</sub> CHO	Ac
15	per- <i>O</i> -acetyl-6 <sup>1</sup> - <i>O</i> -formylmethyl- $\alpha$ - -cyklodextrin	Ac	Ac	Ac	-CH <sub>2</sub> CHO
16	per- <i>O</i> -acetyl-2 <sup>1</sup> - <i>O</i> -karboxymethyl- $\alpha$ - -cyklodextrin	Ac	-CH <sub>2</sub> COOH	Ac	Ac
17	per- <i>O</i> -acetyl-3 <sup>1</sup> - <i>O</i> -karboxymethyl- $\alpha$ - -cyklodextrin	Ac	Ac	-CH <sub>2</sub> COOH	Ac
18	per- <i>O</i> -acetyl-6 <sup>1</sup> - <i>O</i> -karboxymethyl- $\alpha$ - -cyklodextrin	Ac	Ac	Ac	-CH <sub>2</sub> COOH

**Obrázek 3.10 – Struktura připravovaných látek**

Prvním krokem bude monosubstituce  $\alpha$ -cyklodextrinu cinnamyl nebo allyl bromidem. Jako báze byl pro tuto reakci vybrán hydroxid sodný, protože byl již dříve

úspěšně použit při syntézách monosubstituovaných derivátů cyklodextrinů<sup>6,13</sup> a může být použit, na rozdíl od většiny ostatních bází, v širokém spektru rozpouštědel. Jako rozpouštědlo může být použita voda<sup>6,13,50</sup>, směs acetonitril a voda<sup>13</sup> nebo DMF<sup>41,49</sup> (obrázek 3.11).



**Obrázek 3.11 – Schéma alkylace a peracetylce; toto schéma obdobně platí též pro 3<sup>1</sup>-O a 6<sup>1</sup>-O substituované deriváty**

Pokud se nepodaří rozdělit jednotlivé izomery, jako v lit.<sup>6,13</sup>, bude přistoupeno k peracetylaci a rozdělení monosubstituovaných derivátů jako peracetátů. Pokud se podaří jednotlivé monosubstituované deriváty rozdělit neacetylované, bude dalším

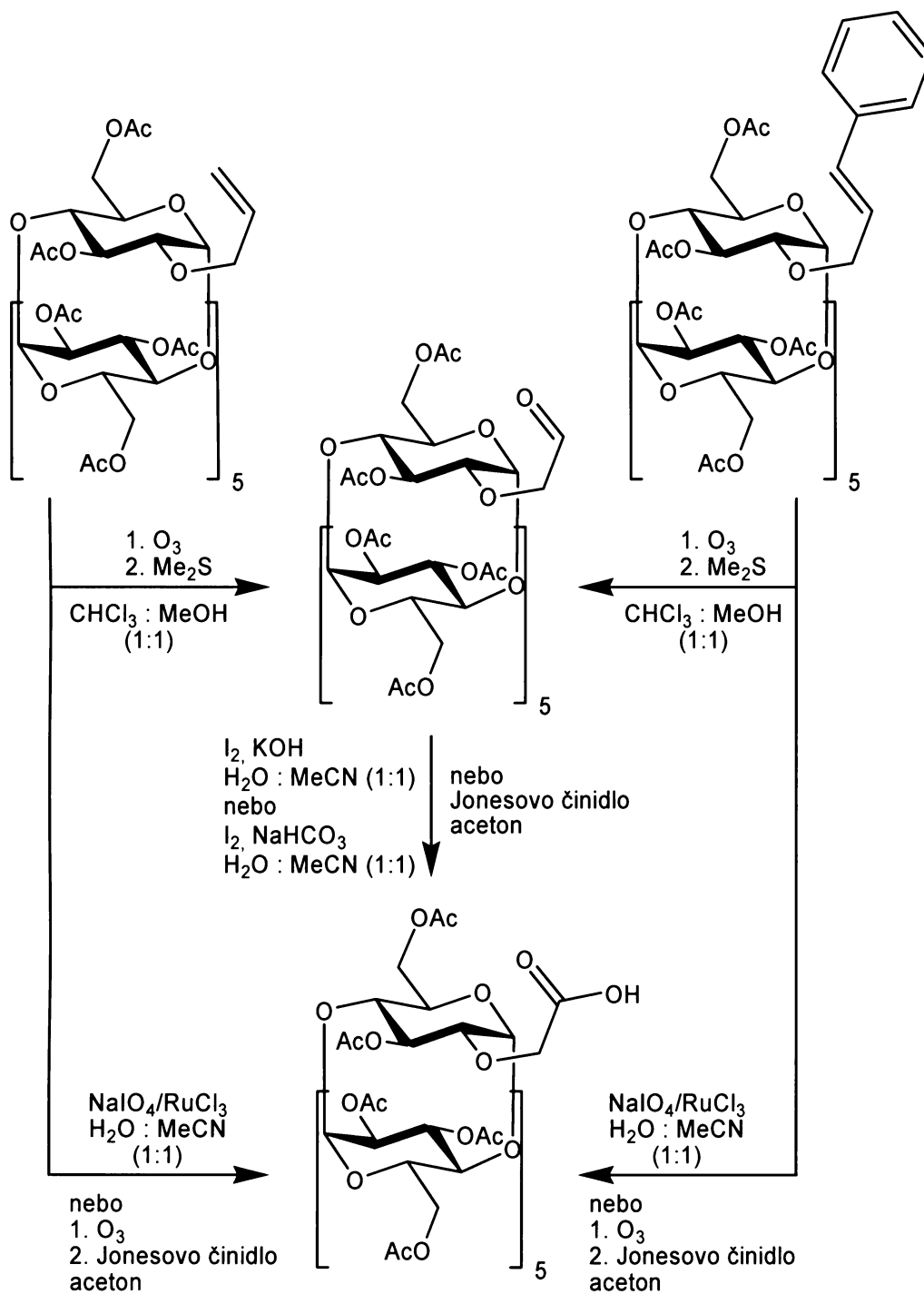
krokem též peracetylce, jelikož peracetylované deriváty jsou méně náchylné k vedlejším reakcím.

Peracetylce bude prováděna acetanhydridem v pyridinu<sup>6,12,13</sup> acetanhydridem v Et<sub>3</sub>N<sup>6,13</sup> nebo acetanhydridem s octanem sodným (obrázek 3.11).

Pokud se podaří syntetizovat 2<sup>1</sup>-*O*-allyl i 2<sup>1</sup>-*O*-cinnamyl derivát, bude pro další reakce vybrán ten, který má větší výtěžek. Obdobně bude postupováno i pro 3<sup>1</sup>-*O* a 6<sup>1</sup>-*O* deriváty. Monosubstituované deriváty budou podrobeny oxidaci dvojně vazby na karboxylovou kyselinu jodistanem sodným s chloridem ruthenitým jako katalyzátorem a reduktivní ozonolýze (obrázek 3.12) podle postupů<sup>13,65</sup> popsanych v kapitole 3.3.

Další možností přípravy karboxylových kyselin je oxidativní ozonolýza<sup>66</sup>, oxidace aldehydů jodem v zásaditém prostředí<sup>67,68</sup> nebo oxidace aldehydů Jonesovým činidlem<sup>63,69</sup> (obrázek 3.12). Postupy jsou rovněž uvedeny v kapitole 3.3.

Deacetylce peracetylovaných monosubstituovaných derivátů je běžně prováděna v literatuře<sup>7,12,13,72</sup>, avšak v této práci nebudou volné (neperacetylované) formylmethyl a karboxymethyl deriváty připravovány, protože pro další využití v organické syntéze jsou výhodnější peracetylované deriváty.



**Obrázek 3.12 – Schéma oxidativního štěpení dvojné vazby a oxidace aldehydů; toto schéma obdobně platí též pro 3<sup>1</sup>-O a 6<sup>1</sup>-O substituované deriváty**

## 4. Experimentální část

### 4.1 Použité přístroje a chemikálie

NMR spektra byla měřena na přístrojích Varian <sup>UNITY</sup> *INOVA* 400 (rezonanční frekvence měřených jader byly 399,95 MHz pro <sup>1</sup>H a 100,58 MHz pro <sup>13</sup>C) a Varian VNMRS 300 (rezonanční frekvence měřených jader byly 299,94 MHz pro <sup>1</sup>H a 75,43 MHz pro <sup>13</sup>C). V níže uvedeném textu jsou přístroje označeny tak, jak je uvedeno v tabulce 4.1. 2D spektra byla měřena vždy na NMR (1). Všechny uvedené hodnoty chemických posunů jsou v jednotkách ppm, interakční konstanty jsou v Hz.

**Tabulka 4.1 - Označení NMR spektrometrů**

Přístroj	Označení
Varian <sup>UNITY</sup> <i>INOVA</i> 400	NMR (1)
Varian VNMRS 300	NMR (2)

Ve výpisech NMR spekter jsou atomy glukosové jednotky cyklodextrinu nesoucí allyl, cinnamyl, formylmethyl nebo karboxymethyl označeny indexem<sup>1</sup> a atomy těchto substituentů jsou číslovány ve shodě s obrázkem 4.1a a označeny apostrofem'. Pořadí ostatních glukosových jednotek vzhledem k monosubstituované glukosové jednotce není dále rozlišeno.

HRMS spektra byla měřena na přístroji Bruker APEX-Q FTMS (9.4 T, combisource) s kalibrací do molekulové hmotnosti 1400. Potvrzení molekulových hmotností sloučenin s molární hmotností vyšší než 1400 bylo proto provedeno na dvojnásobně nabitých iontech. Vzorky byly rozpuštěny ve směsi MeOH : 6% AcOH (1:1). U těchto spekter je uveden rozdíl  $\Delta$  vypočtené a naměřené hodnoty.

Hmotnostní spektra byla měřena na přístroji Bruker ESQUIRE 3000 ES-ion trap. Všechna spektra byla měřena v pozitivním modu, ionizace byla prováděna elektrosprejem. Vzorky byly rozpuštěny v methanolu.

Teploty tání (T. t.) byly měřeny na Koflerově bloku.

Specifická optická rotace byla měřena polarimetrem Rudolph Research AUTOPOL<sup>®</sup> III při teplotě 25 °C a při vlnové délce sodíkového dubletu. Hodnoty specifické optické rotace ( $[\alpha]_D^{25}$ ) jsou udány v  $10^{-1} \text{ cm}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ .

Při ozonolyze byl jako generátor ozonu používán přístroj Ozone Tech Systems ACT-3000.

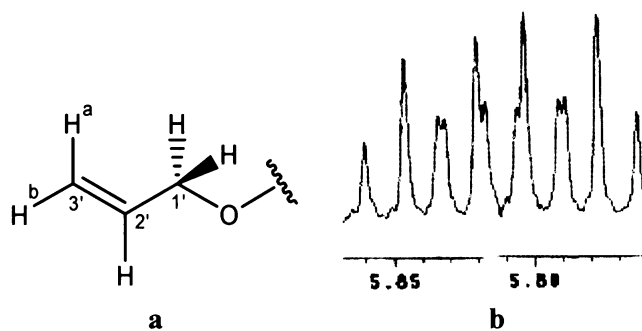
Použité speciální chemikálie (*E*)-cinnamylbromid, allylbromid a chlorid ruthenitý byly zakoupeny od firmy Aldrich.  $\alpha$ -Cyklodextrin byl zakoupen od firmy Wacker. Běžná rozpouštědla a chemikálie byly zakoupeny od firem Lab-Scan, Lachema a Penta.

## 4.2 Použité postupy a metody

### 4.2.1 Postup při určování polohy substituentu na cyklodextrinech

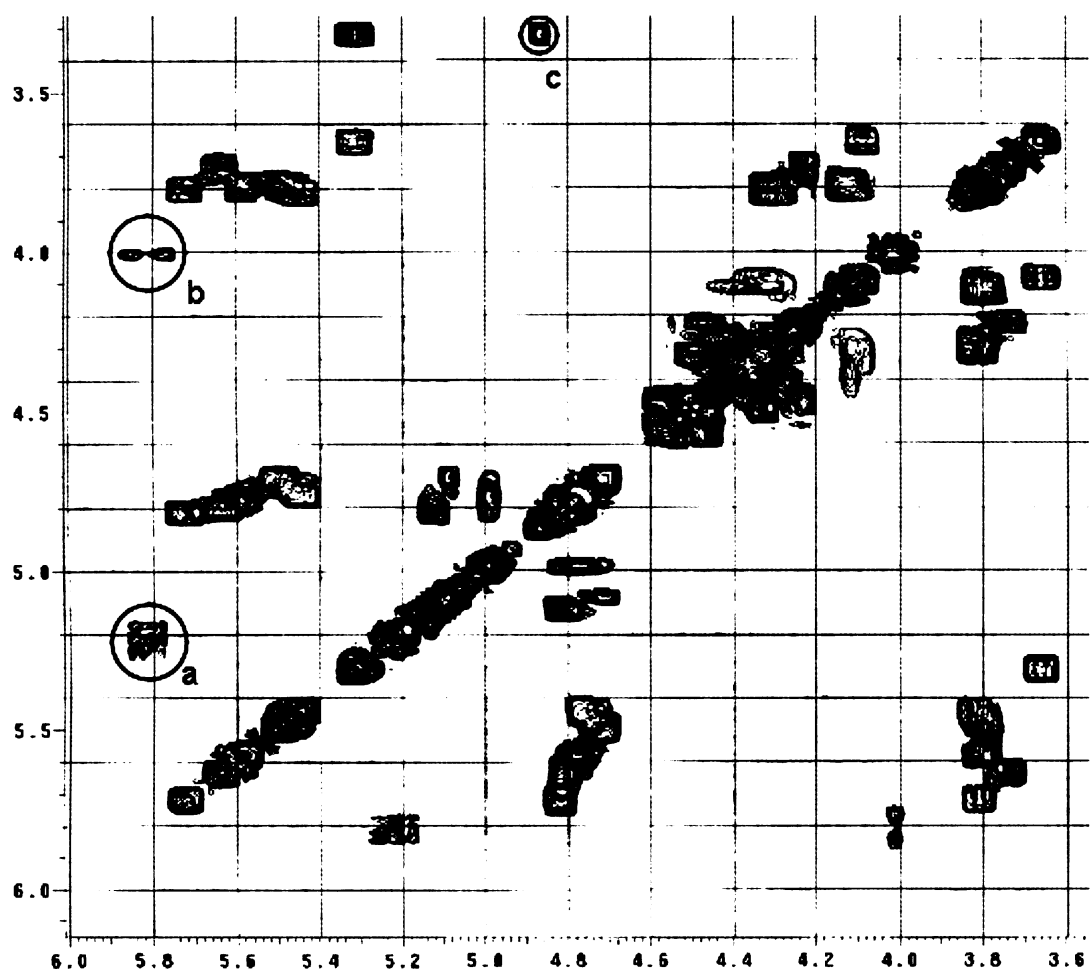
Polohy substituentů na  $\alpha$ -cyklodextrinech byly určeny postupem popsaným v následujícím příkladu, kde je popsána identifikace  $\alpha$ -CD substituovaného allylovou skupinou, který byl syntetizován v rámci diplomové práce. Určování struktury bylo provedeno na peracetylovaném derivátu, jelikož jsou jeho spektra přehlednější než spektra volného (neperacetylovaného) derivátu.

Prvním krokem při určování struktury je nalezení charakteristického multipletu pro H-2' (obrázek 4.1a). Jedná se o triplet dubletu dubletu  $\delta = 5,81$  ppm (obrázek 4.1b).



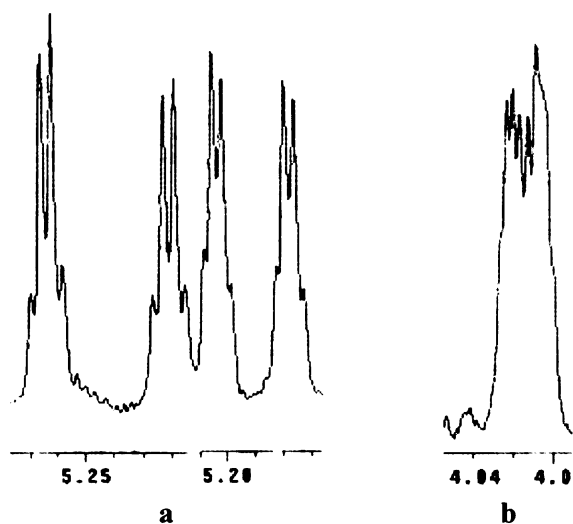
Obrázek 4.1 – Charakteristický multiplet H-2'

V H,H-COSY spektru má H-2' kontakt na H-3'a, H-3'b (obrázek 4.2a) a na oba vodíky H-1' (obrázek 4.2b).



Obrázek 4.2 – H,H-COSY spektrum

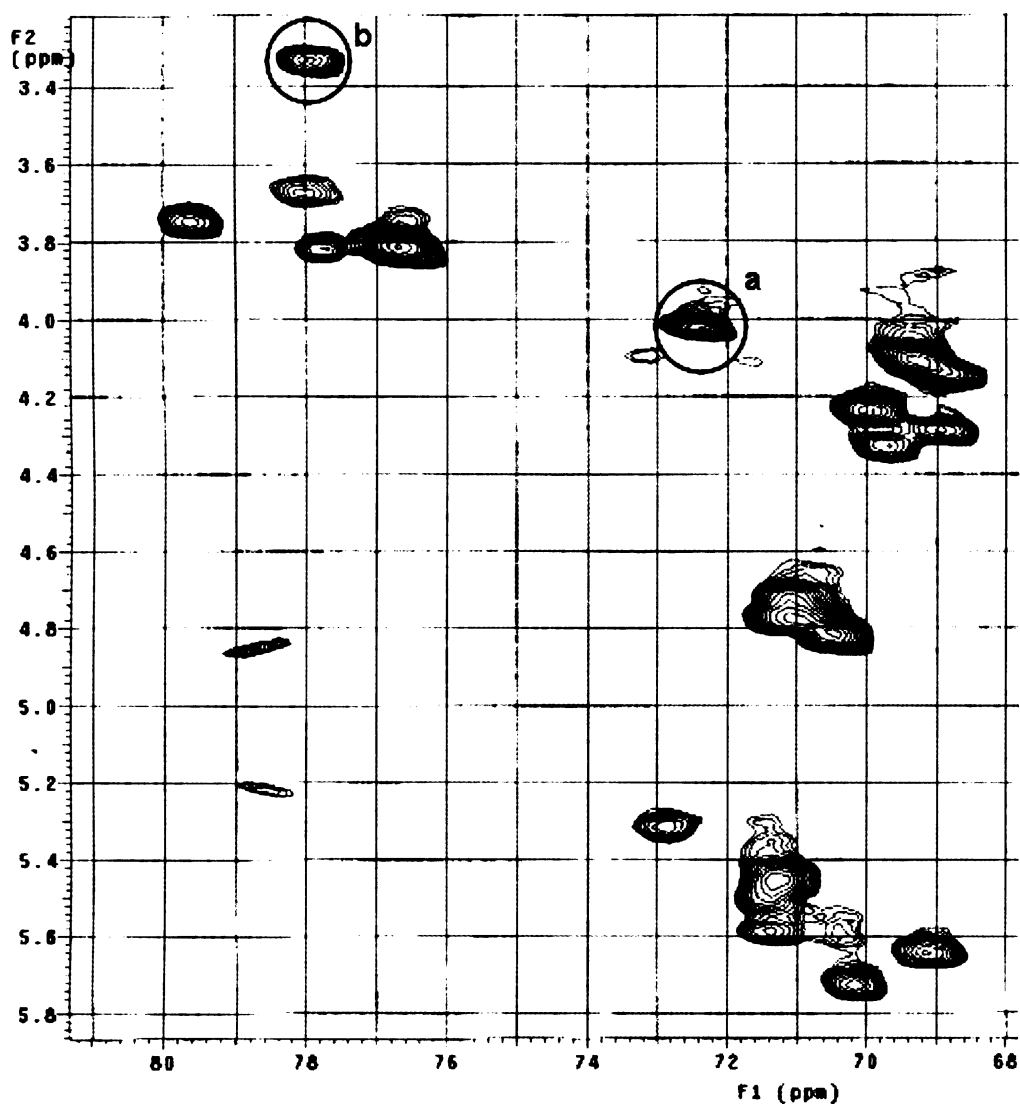
Těmto kontaktům odpovídají ve  $^1\text{H}$  spektru signály  $\delta = 5,24$  ppm,  $\delta = 5,19$  ppm (obrázek 4.3a) a  $\delta = 4,01$  ppm (obrázek 4.3b). Tím je přiřazeno  $^1\text{H}$  spektrum allylu: 4,01 m, 2 H, (H-1'); 5,19 dq, 1 H,  $J(1',3'b) = J(3'a,3'b) = 1,3$ ,  $J(2',3'b) = 10,3$  (H-3'b); 5,24 dq, 1 H,  $J(1',3'a) = J(3'a,3'b) = 1,5$ ,  $J(2',3'a) = 17,2$  (H-3'a); 5,81 tdd, 1 H,  $J(1',2') = 5,7$ ,  $J(2',3'b) = 10,4$ ,  $J(2',3'a) = 17,1$  (H-2').



Obrázek 4.3 – Vodíky allylové skupiny

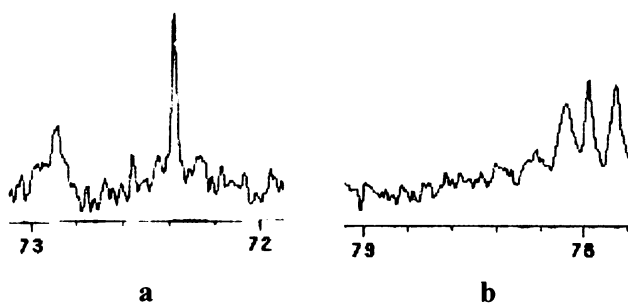


Dále je třeba nalézt signál C-1' pomocí krosníku s H-1' ( $\delta = 4,01$  ppm) v HSQC spektru (obrázek 4.4a).



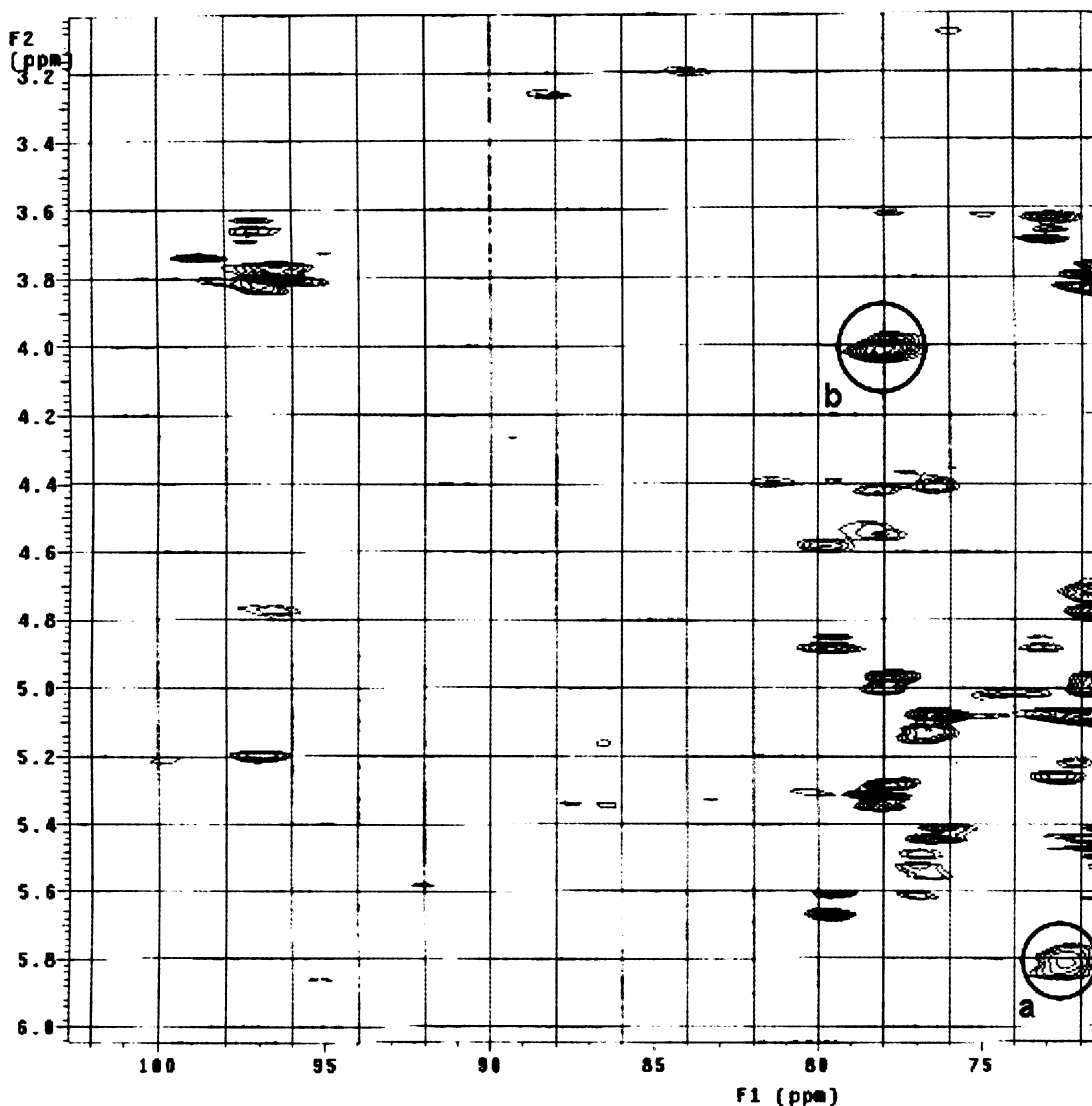
Obrázek 4.4 – HSQC spektrum

Je zde jediný krosník, který odpovídá  $^{13}\text{C}$  signálu při  $\delta = 72,38$  ppm (obrázek 4.5a)



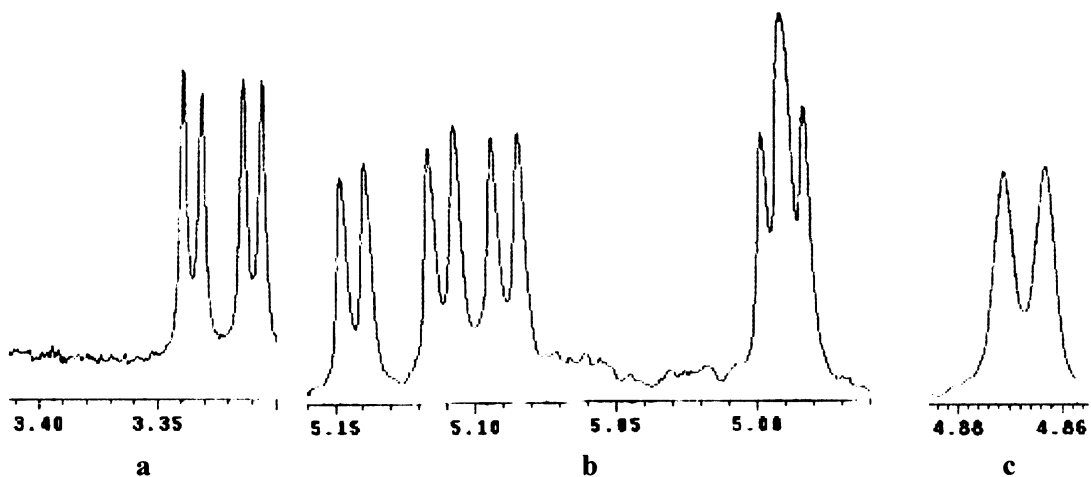
Obrázek 4.5 –  $^{13}\text{C}$  spektrum

Následujícím krokem je zjištění krosníků s H-1' ( $\delta = 4,01$  ppm) nebo C-1' ( $\delta = 72,38$  ppm) v HMBC spektru (obrázek 4.6).



Obrázek 4.6 – HMBC spektrum

C-1' má v HMBC spektru krosník pouze s H-2'a (obrázek 4.6a), kdežto H-1' má krosník s jedním z uhlíků glukosy (obrázek 4.6b). Jedná se o uhlík C-x  $\delta = 77,98$  ppm (obrázek 4.5b). Na tento uhlík je vázaný vodík H-x ( $\delta = 3,32$  ppm) (obrázek 4.7a), který má s C-x krosník v HSQC spektru (obrázek 4.4b).



Obrázek 4.7 –  $^1\text{H}$  spektrum

Na obrázku 4.7b a 4.7c je vidět 6 dubletů odpovídajících šesti vodíkům na C-1 glukosových jednotek. Jelikož má H-x ( $\delta = 3,32$  ppm) v H,H-COSY spektru krosník s H-1 ( $\delta = 4,87$  ppm) (obrázek 4.2c), musí být vodík H-1 vodíkem H-1<sup>1</sup> (vodíkem na glukose nesoucí allylovou skupinu) a H-x vodíkem na uhlíku 2, tedy H-x je H-2<sup>1</sup> a C-x je C-2<sup>1</sup>. Tím jsou důležité vodíky na glukose nesoucí allylovou skupinu přiřazeny: 4,87 d, 1 H,  $J(1^1,2^1) = 3,2$  (H-1<sup>1</sup>); 3,32 dd, 1 H,  $J(1^1,2^1) = 3,1$ ,  $J(2^1,3^1) = 10,1$  (H-2<sup>1</sup>). Hledaný derivát je tedy per-*O*-acetyl-2<sup>1</sup>-*O*-allyl- $\alpha$ -cyklodextrin.

#### 4.2.2 Ostatní postupy a metody

Tenkvrstvá chromatografie byla prováděna na destičkách DC-Alufolien Kieselgel 60 F<sub>254</sub> (MERCK, Darmstadt, Germany). Detekce byla prováděna UV lampou při 254 nm (cinnamyl deriváty) nebo ponořením destičky do 50% kyseliny sírové a žiháním horkovzdušnou pistolí. Složení mobilních fází pro TLC bylo podobné nebo stejné jako složení mobilních fází pro sloupcovou chromatografii uvedené u jednotlivých sloučenin. Orientační kvantifikace skvrn na TLC destičkách byla prováděna programem ImageJ 1.37v.

Pro preparativní sloupcovou chromatografii byl použit silikagel Fluka Silica gel 60 (40-63  $\mu\text{m}$ ; Fluka, Neu-Ulm, Switzerland). Rozpouštědla pro sloupcovou chromatografii byla před použitím destilována.

Rozpouštědla byla odpařována na RVO při teplotách 20 – 50 °C nebo vakuovou destilační aparaturou připojenou na olejovou vývěvu s vymražovačkou. Na olejové pumpě byly též dosušovány produkty.

Ozonolýza byla prováděna pomocí upraveného přístroje na generování ozonu, kdy byl do přístroje přiváděn malým proudem kyslík z tlakové bomby a vzniklý ozon byl zaváděn do reakční směsi.

### 4.3 Pracovní postupy

#### 2<sup>1</sup>-*O*-Cinnamyl- $\alpha$ -cyklodextrin (1)

Metoda A: K roztoku  $\alpha$ -CD (10 g, 9,25 mmol) v DMF (200 ml) byl přidán cinnamyl bromid (1,4 ml, 9,25 mmol) a jemně rozetřený NaOH (0,74 g, 18,5 mmol). Směs byla míchána při laboratorní teplotě 20 hodin. DMF byl oddestilován za sníženého tlaku a produkt byl vysušen na olejové pumpě. Vzniklá směs  $\alpha$ -CD, mono a vícesubstituovaných derivátů byla čištěna sloupcovou chromatografií. Chromatografie byla provedena 3 $\times$  – vždy adsorpcí na silikagel a následným rozdělením na 250 g silikagelu za použití eluční soustavy CHCl<sub>3</sub> : MeOH : H<sub>2</sub>O (10:12:3) u první chromatografie a CHCl<sub>3</sub> : MeOH : H<sub>2</sub>O (4:5:1) u druhé a třetí chromatografie. Takto byl získán 3<sup>1</sup>-*O*-cinnamyl- $\alpha$ -cyklodextrin (2) jako vedlejší produkt a 2<sup>1</sup>-*O*-cinnamyl- $\alpha$ -cyklodextrin (1) ve výtěžku 1,55 g (15 %). Poloha substituentu byla určena po peracetylaci porovnáním se standardem (7).

Metoda B (upravený postup podle lit.<sup>50</sup>): K suspenzi  $\alpha$ -CD (10 g, 9,25 mmol) ve vodě (4,6 ml) byl přidán cinnamyl bromid (2 ml, 13,88 mmol) a roztok NaOH (1,85 g, 46,26 mmol) ve vodě (16,7 ml). Směs byla míchána 25 hodin při teplotě 50 °C a reakce byla ukončena přidavkem kyseliny octové (1,8 ml). Reakční směs byla odpařena na RVO a extrahována 100 ml MeOH za varu (10 minut, reflux). Extrakt byl odpařen na RVO a vzniklá směs  $\alpha$ -CD, mono a vícesubstituovaných derivátů byla čištěna sloupcovou chromatografií. Chromatografie byla provedena adsorpcí na silikagel (25 g) a následným rozdělením na 275 g silikagelu za použití eluční soustavy CHCl<sub>3</sub> : MeOH : H<sub>2</sub>O (5:4:1). Takto byl získán 3<sup>1</sup>-*O*-cinnamyl- $\alpha$ -cyklodextrin (2) jako vedlejší produkt a 2<sup>1</sup>-*O*-cinnamyl- $\alpha$ -cyklodextrin (1) ve výtěžku 576 mg (5,7 %). Poloha substituentu byla určena po peracetylaci porovnáním se standardem (7).

T. t. 255 °C (rozklad),  $[\alpha]_D^{25} +54^\circ$  (MeOH).

<sup>1</sup>H NMR (2) (DMSO-*d*<sub>6</sub>, CD<sub>3</sub>COOD): 3,26-4,98 m, 42 H, (H-1, H-2, H-3, H-4, H-5, H-6); 4,32 dd, 1 H,  $J(1',2') = 6,8$ ,  $J(1',1') = 12,8$  (H-1'); 4,44 dd, 1 H,

$J(1',2') = 6,2$ ,  $J(1',1') = 13,2$  (H-1'); 6,30 dt, 1 H,  $J(1',2') = 6,3$ ,  $J(2',3') = 16,0$  (H-2'); 6,63 d, 1 H,  $J(2',3') = 16,0$  (H-3'); 7,20-7,44 m, 5 H, (Ph).

HRMS: pro  $C_{45}H_{68}O_{30}$  vypočteno 1088,3795 (pro  $[M + H]^+$  vypočteno 1089,3873), naměřeno 1089,3877  $[M + H]^+$ ,  $\Delta = 0,4$  ppm.

### **3<sup>1</sup>-O-Cinnamyl- $\alpha$ -cyklodextrin (2)**

3<sup>1</sup>-O-cinnamyl- $\alpha$ -cyklodextrin (2) vznikl jako vedlejší produkt při přípravě 2<sup>1</sup>-O-cinnamyl- $\alpha$ -cyklodextrinu (1). Metodou A byl připraven ve výtěžku 390 mg (3,9 %) a metodou B ve výtěžku 740 mg (7,3 %). Poloha substituentu byla určena po peracetylaci porovnáním se standardem (8).

T. t. 260 °C (rozklad),  $[\alpha]_D^{25} +76^\circ$  (H<sub>2</sub>O).

<sup>1</sup>H NMR (2) (DMSO-*d*<sub>6</sub>, CD<sub>3</sub>COOD): 3,20-4,80 m, 42 H, (H-1, H-2, H-3, H-4, H-5, H-6); 4,55 m, 2 H, (H-1'); 6,41 dt, 1 H,  $J(1',2') = 6,7$ ,  $J(2',3') = 16,0$  (H-2'); 6,60 d, 1 H,  $J(2',3') = 15,9$  (H-3'); 7,28-7,45 m, 5 H, (Ph).

HRMS: pro  $C_{45}H_{68}O_{30}$  vypočteno 1088,3795 (pro  $[M + H]^+$  vypočteno 1089,3873), naměřeno 1089,3924  $[M + H]^+$ ,  $\Delta = 5$  ppm.

### **Per-O-acetyl-2<sup>1</sup>-O-cinnamyl- $\alpha$ -cyklodextrin (7)**

K roztoku  $\alpha$ -CD (1 g, 0,93 mmol) v DMF (20 ml) byl přidán cinnamyl bromid (0,14 ml, 0,93 mmol) a jemně rozetřený NaOH (74 mg, 1,85 mmol). Směs byla míchána při laboratorní teplotě 20 hodin a reakce byla ukončena přidávkem kyseliny octové (1,8 ml). DMF byl oddestilován za sníženého tlaku a produkt byl vysušen na olejové pumpě. Vzniklá směs  $\alpha$ -CD, mono a vícesubstituovaných derivátů byla čištěna sloupcovou chromatografií. Chromatografie byla provedena adsorpcí na silikagel (9 g) a následným rozdělením na 180 g silikagelu za použití eluční soustavy PrOH : H<sub>2</sub>O : NH<sub>3</sub> (9:3:1). Takto byla získána směs monosubstituovaných derivátů, která byla peracetylována acethanhydridem (4 ml) v pyridinu (4 ml) 20 hodin při 80 °C. Po odpaření reakční směsi na RVO byly peracetylované monosubstituované deriváty čištěny sloupcovou chromatografií na silikagelu (30 g) za použití eluční soustavy CHCl<sub>3</sub> : MeOH (100:1). Takto byl získán per-O-acetyl-3<sup>1</sup>-O-cinnamyl- $\alpha$ -cyklodextrin (8) jako vedlejší produkt a per-O-acetyl-2<sup>1</sup>-O-cinnamyl- $\alpha$ -cyklodextrin (7) ve výtěžku 89 mg (5,3 % – počítáno na  $\alpha$ -CD).

T. t. 133 °C,  $[\alpha]_D^{25} +84^\circ$  (CHCl<sub>3</sub>).

Podle H,H-COSY spektra je chemický posun vodíků cinnamylové methylenové skupiny 4,19 (krospíky s vodíky na dvojné vazbě). Tyto atomy vodíku mají v HMBC spektru krospík na uhlík 78,10, na který je vázán vodík při 3,38. Tento vodík patří podle H,H-COSY mezi H-2 vodíky  $\alpha$ -CD. Proto musí být cinnamylová skupina vázána v poloze 2.

<sup>1</sup>H NMR (1) (CDCl<sub>3</sub>): 1,98-2,29 m, 51 H, (Ac); 3,38 dd, 1 H,  $J(1^1,2^1) = 3,1$ ,  $J(2^1,3^1) = 10,2$  (H-2<sup>1</sup>); 3,66 t, 1 H,  $J(3^1,4^1) = J(4^1,5^1) = 9,3$  (H-4<sup>1</sup>); 3,74-3,84 m, 5 H, (H-4); 4,07-4,57 m, 20 H, (H-5, H-6, H-1'); 4,71 dd, 1 H,  $J(1,2) = 3,8$ ,  $J(2,3) = 10,2$  (H-2); 4,77 dd, 1 H,  $J(1,2) = 3,5$ ,  $J(2,3) = 10,2$  (H-2); 4,78 dd, 1 H,  $J(1,2) = 3,6$ ,  $J(2,3) = 10,3$  (H-2); 4,82 dd, 1 H,  $J(1,2) = 3,7$ ,  $J(2,3) = 10,4$  (H-2); 4,82 dd, 1 H,  $J(1,2) = 3,6$ ,  $J(2,3) = 10,7$  (H-2); 4,90 d, 1 H,  $J(1^1,2^1) = 3,2$  (H-1<sup>1</sup>); 4,99 d, 2 H,  $J(1,2) = 3,6$  (H-1); 5,09 d, 1 H,  $J(1,2) = 3,8$  (H-1); 5,11 d, 1 H,  $J(1,2) = 3,7$  (H-1); 5,15 d, 1 H,  $J(1,2) = 3,6$  (H-1); 5,34 dd, 1 H,  $J(3^1,4^1) = 8,9$ ,  $J(2^1,3^1) = 9,8$  (H-3<sup>1</sup>); 5,45 dd, 1 H,  $J(3,4) = 8,7$ ,  $J(2,3) = 10,3$  (H-3); 5,50 dd, 1 H,  $J(3,4) = 8,6$ ,  $J(2,3) = 10,2$  (H-3); 5,59 dd, 1 H,  $J(3,4) = 8,6$ ,  $J(2,3) = 9,8$  (H-3); 5,66 dd, 1 H,  $J(3,4) = 8,8$ ,  $J(2,3) = 10,6$  (H-3); 5,73 dd, 1 H,  $J(3,4) = 9,4$ ,  $J(2,3) = 10,2$  (H-3); 6,19 dt, 1 H,  $J(1',2') = 6,1$ ,  $J(2',3') = 15,9$  (H-2'); 6,55 d, 1 H,  $J(2',3') = 16,1$  (H-3'); 7,24-7,39 m, 5 H, (Ph).

<sup>13</sup>C NMR (1) (CDCl<sub>3</sub>): 20,45-21,00, 17 C, (CH<sub>3</sub>(CO)-); 62,82-63,32, 6 C, (C-6); 68,70-71,44, 16 C, (C-2, C-3, C-5); 72,16, 1 C, (C-1'); 72,86, 1 C, (C-3<sup>1</sup>); 76,50-79,58, 5 C, (C-4); 78,10, 2 C, (C-2<sup>1</sup>, C-4<sup>1</sup>); 95,75-97,18, 5 C, (C-1); 98,82, 1 C, (C-1<sup>1</sup>); 125,46, 1 C, (C-2'); 126,41, 2 C, (Ph); 128,11, 1 C, (Ph); 128,72, 2 C, (Ph); 132,96, 1 C, (C-3'); 136,00, 1 C, (Ph); 169,06-170,91, 17 C, (CH<sub>3</sub>(CO)-).

HRMS: pro C<sub>79</sub>H<sub>102</sub>O<sub>47</sub> vypočteno 1802,5591 (pro [M + Na + Na]<sup>2+</sup> vypočteno 924,2694), naměřeno 924,2709 [M + Na + Na]<sup>2+</sup>,  $\Delta = 2$  ppm.

### **Per-O-acetyl-3<sup>1</sup>-O-cinnamyl- $\alpha$ -cyklodextrin (8)**

K suspenzi 3<sup>1</sup>-O-cinnamyl- $\alpha$ -cyklodextrinu (2) (278 mg, 0,255 mmol) v acetanhydridu (10 ml) byl přidán octan sodný (200 mg). Reakce byla míchána 23 hodin při 90 °C. Po té byla reakční směs ponechána, aby se samovolně ochladila, a bylo k ní přidáno 10 ml CHCl<sub>3</sub> a byla protřepána s 20 ml vody. Odpařením

organické fáze byl získán per-*O*-acetyl-3<sup>1</sup>-*O*-cinnamyl- $\alpha$ -cyklodextrin (**8**) ve výtěžku 334 mg (5,3 % – počítáno na  $\alpha$ -CD).

Per-*O*-acetyl-3<sup>1</sup>-*O*-cinnamyl- $\alpha$ -cyklodextrin (**8**) byl také připraven jako vedlejší produkt při přípravě per-*O*-acetyl-2<sup>1</sup>-*O*-cinnamyl- $\alpha$ -cyklodextrinu (**7**) ve výtěžku 53 mg (3,2 % – počítáno na  $\alpha$ -CD).

T. t. 110 °C,  $[\alpha]_D^{25} +87^\circ$  (CHCl<sub>3</sub>).

Podle H,H-COSY spektra je chemický posun vodíků cinnamylové methylenové skupiny 4,45 a 4,89 (krospíky s vodíky na dvojně vazbě). Těmto vodíkům odpovídá uhlík při 74,86 (podle HSQC spektra), se kterým má krospík v HMBC spektru vodík při 4,19. Tento vodík patří podle H,H-COSY mezi H-3 vodíky  $\alpha$ -CD. Proto musí být cinnamyllová skupina vázána v poloze 3.

<sup>1</sup>H NMR (1) (CDCl<sub>3</sub>): 1,94-2,23 m, 51 H, (Ac); 3,73-3,86 m, 6 H, (H-4); 4,10-4,52 m, 18 H, (H-5, H-6); 4,19 dd, 1 H,  $J(3^1,4^1) = 8,6$ ,  $J(2^1,3^1) = 10,6$  (H-3<sup>1</sup>); 4,45 m, 1 H, (H-1'); 4,70 dd, 1 H,  $J(1,2) = 3,5$ ,  $J(2,3) = 10,3$  (H-2); 4,76 dd, 1 H,  $J(1,2) = 3,5$ ,  $J(2,3) = 10,8$  (H-2); 4,79 dd, 1 H,  $J(1,2) = 3,6$ ,  $J(2,3) = 10,6$  (H-2); 4,82 dd, 1 H,  $J(1,2) = 3,3$ ,  $J(2,3) = 10,5$  (H-2); 4,83 dd, 1 H,  $J(1,2) = 3,5$ ,  $J(2,3) = 10,5$  (H-2); 4,85 dd, 1 H,  $J(1,2) = 3,7$ ,  $J(2,3) = 10,1$  (H-2); 4,89 m, 1 H, (H-1'); 5,01 d, 1 H,  $J(1,2) = 3,5$  (H-1); 5,04 d, 1 H,  $J(1,2) = 3,6$  (H-1); 5,06 d, 1 H,  $J(1,2) = 3,6$  (H-1); 5,07 d, 1 H,  $J(1,2) = 3,8$  (H-1); 5,09 d, 1 H,  $J(1,2) = 3,6$  (H-1); 5,11 d, 1 H,  $J(1,2) = 3,3$  (H-1); 5,48 dd, 1 H,  $J(3,4) = 8,6$ ,  $J(2,3) = 10,3$  (H-3); 5,49 dd, 1 H,  $J(3,4) = 9,0$ ,  $J(2,3) = 10,4$  (H-3); 5,59 dd, 1 H,  $J(3,4) = 8,7$ ,  $J(2,3) = 10,4$  (H-3); 5,61 dd, 1 H,  $J(3,4) = 8,5$ ,  $J(2,3) = 10,3$  (H-3); 5,72 dd, 1 H,  $J(3,4) = 8,7$ ,  $J(2,3) = 10,4$  (H-3); 6,28 dt, 1 H,  $J(1',2') = 5,1$ ,  $J(2',3') = 16,2$  (H-2'); 6,62 d, 1 H,  $J(2',3') = 16,1$  (H-3'); 7,20-7,37 m, 5 H, (Ph).

<sup>13</sup>C NMR (1) (CDCl<sub>3</sub>): 20,66-21,07, 17 C, (CH<sub>3</sub>(CO)-); 62,75-63,32, 6 C, (C-6); 68,82-71,49, 16 C, (C-2, C-3, C-5); 72,03, 1 C, (C-2<sup>1</sup>); 74,86, 1 C, (C-1'); 76,68-77,79, 5 C, (C-4); 77,89, 1 C, (C-3<sup>1</sup>); 81,41, 1 C, (C-4<sup>1</sup>); 96,16-97,86, 6 C, (C-1); 126,28, 2 C, (Ph); 126,93, 1 C, (C-2'); 127,35, 1 C, (Ph); 128,50, 2 C, (Ph); 130,18, 1 C, (C-3'); 136,99, 1 C, (Ph); 169,20-170,89, 17 C, (CH<sub>3</sub>(C=O)-).

HRMS: pro C<sub>79</sub>H<sub>102</sub>O<sub>47</sub> vypočteno 1802,5591 (pro [M + H + K]<sup>2+</sup> vypočteno 921,2653), naměřeno 921,2645 [M + H + K]<sup>2+</sup>,  $\Delta = -0,9$  ppm.

### Per-*O*-acetyl-2<sup>1</sup>-*O*-allyl- $\alpha$ -cyklodextrin (10)

K roztoku  $\alpha$ -CD (1 g, 0,93 mmol) v DMF (24 ml) byl přidán allyl bromid (80  $\mu$ l, 0,93 mmol) a jemně rozetřený NaOH (74 mg, 1,85 mmol). Směs byla míchána při laboratorní teplotě 20 hodin a reakce byla ukončena přidavkem kyseliny octové (0,5 ml). DMF byl oddestilován na RVO a zbytkový DMF byl z produktu kodestilován s toluenem. Vzniklá směs  $\alpha$ -CD, mono a vícesubstituovaných derivátů byla čištěna sloupcovou chromatografií. Chromatografie byla provedena adsorpcí na silikagel (2 g) a následným rozdělením na 50 g silikagelu za použití eluční soustavy PrOH : H<sub>2</sub>O : NH<sub>3</sub> (9:3:1). Takto získaná směs monosubstituovaných derivátů byla peracetylována acetanhydridem (5 ml) s octanem sodným (100 mg) 18 hodin při 80 °C. Poté byla reakční směs ponechána, aby se samovolně ochladila, a bylo k ní přidáno 20 ml CHCl<sub>3</sub> a byla protřepána 20 ml nasyceného roztoku NaHCO<sub>3</sub>. Odpařením organické fáze byly získány peracetylované monosubstituované deriváty, které byly čištěny sloupcovou chromatografií na silikagelu (20 g) za použití eluční soustavy CHCl<sub>3</sub> : MeOH (100:1). Takto byla získána směs per-*O*-acetyl-3<sup>1</sup>-*O*-allyl- $\alpha$ -cyklodextrinu (11) a per-*O*-acetyl-6<sup>1</sup>-*O*-allyl- $\alpha$ -cyklodextrinu (12) ve výtěžku 36 mg (2,3 % – počítáno na  $\alpha$ -CD) jako vedlejší produkt a per-*O*-acetyl-2<sup>1</sup>-*O*-allyl- $\alpha$ -cyklodextrin (10) ve výtěžku 98 mg (6,1 % – počítáno na  $\alpha$ -CD).

T. t. 140 °C,  $[\alpha]_D^{25} +98^\circ$  (CHCl<sub>3</sub>).

Podle H,H-COSY spektra je chemický posun vodíků allylové methylenové skupiny neležící na dvojně vazbě 4,01 (krospíky s vodíky na dvojně vazbě). Tyto vodíkové atomy mají v HMBC spektru krospík na uhlík 77,97, na který je vázán vodík při 3,32. Tento vodík patří podle H,H-COSY mezi H-2 vodíky  $\alpha$ -CD. Proto musí být allylová skupina vázána v poloze 2.

<sup>1</sup>H NMR (1) (CDCl<sub>3</sub>): 1,99-2,29 m, 51 H, (Ac); 3,32 dd, 1 H,  $J(1^1,2^1) = 3,1$ ,  $J(2^1,3^1) = 10,1$  (H-2<sup>1</sup>); 3,66 t, 1 H,  $J(3^1,4^1) = J(4^1,5^1) = 9,2$  (H-4<sup>1</sup>); 3,72-3,84 m, 5 H, (H-4); 4,01 m, 2 H, (H-1'); 4,07-4,59 m, 18 H, (H-5, H-6); 4,71 dd, 1 H,  $J(1,2) = 3,8$ ,  $J(2,3) = 10,2$  (H-2); 4,77 dd, 1 H,  $J(1,2) = 3,5$ ,  $J(2,3) = 10,2$  (H-2); 4,77 dd, 1 H,  $J(1,2) = 3,6$ ,  $J(2,3) = 10,4$  (H-2); 4,81 dd, 1 H,  $J(1,2) = 3,7$ ,  $J(2,3) = 10,7$  (H-2); 4,82 dd, 1 H,  $J(1,2) = 3,9$ ,  $J(2,3) = 10,3$  (H-2); 4,87 d, 1 H,  $J(1^1,2^1) = 3,2$  (H-1<sup>1</sup>); 4,99 d, 1 H,  $J(1,2) = 3,1$  (H-1); 4,99 d, 1 H,  $J(1,2) = 2,9$  (H-1); 5,09 d, 1 H,  $J(1,2) = 3,8$  (H-1); 5,11 d, 1 H,  $J(1,2) = 3,6$  (H-1); 5,14 d, 1 H,  $J(1,2) = 3,5$  (H-1); 5,19 dq, 1 H,



$J(1',3'b) = J(3'a,3'b) = 1,3$ ,  $J(2',3'b) = 10,3$  (H-3'b); 5,24 dq, 1 H,  $J(1',3'a) = J(3'a,3'b) = 1,5$ ,  $J(2',3'a) = 17,2$  (H-3'a); 5,31 dd, 1 H,  $J(3^1,4^1) = 9,0$ ,  $J(2^1,3^1) = 9,9$  (H-3<sup>1</sup>); 5,44 dd, 1 H,  $J(3,4) = 8,7$ ,  $J(2,3) = 10,2$  (H-3); 5,50 dd, 1 H,  $J(3,4) = 8,7$ ,  $J(2,3) = 10,1$  (H-3); 5,59 dd, 1 H,  $J(3,4) = 8,7$ ,  $J(2,3) = 10,3$  (H-3); 5,64 dd, 1 H,  $J(3,4) = 9,0$ ,  $J(2,3) = 10,6$  (H-3); 5,73 dd, 1 H,  $J(3,4) = 9,1$ ,  $J(2,3) = 10,1$  (H-3); 5,81 tdd, 1 H,  $J(1',2') = 5,7$ ,  $J(2',3'b) = 10,4$ ,  $J(2',3'a) = 17,1$  (H-2').

<sup>13</sup>C NMR (1) (CDCl<sub>3</sub>): 20,60-20,93, 17 C, (CH<sub>3</sub>(CO)-); 62,95-63,32, 6 C, (C-6); 68,74-71,49, 16 C, (C-2, C-3, C-5); 72,36, 1 C, (C-1'); 72,87, 1 C, (C-3<sup>1</sup>); 76,48-79,59, 5 C, (C-4); 77,97, 1 C, (C-2<sup>1</sup>); 78,07, 1 C, (C-4<sup>1</sup>); 95,83-97,20, 5 C, (C-1); 98,69, 1 C, (C-1<sup>1</sup>); 117,77, 1 C, (C-2'); 134,47, 1 C, (C-3'); 169,01-170,97, 17 C, (CH<sub>3</sub>(CO)-).

HRMS: pro C<sub>73</sub>H<sub>98</sub>O<sub>47</sub> vypočteno 1726,5278 (pro [M + H + K]<sup>2+</sup> vypočteno 883,2497), naměřeno 883,2485 [M + H + K]<sup>2+</sup>, Δ = -1 ppm.

### **Per-*O*-acetyl-3<sup>1</sup>-*O*-allyl-α-cyklodextrin (11)**

Per-*O*-acetyl-3<sup>1</sup>-*O*-allyl-α-cyklodextrin (11) byl připraven podle upraveného postupu<sup>50</sup>. K suspenzi α-CD (1 g, 0,93 mmol) ve vodě (0,47 ml) byl přidán allyl bromid (120 μl, 1,39 mmol) a roztok NaOH (185 mg, 4,63 mmol) ve vodě (1,85 ml). Směs byla míchána 20 hodin při teplotě 50 °C a reakce byla ukončena přidávkem kyseliny octové (0,2 ml). Reakční směs byla odpařena na RVO. Vzniklá směs α-CD, mono a vícesubstituovaných derivátů byla čištěna sloupcovou chromatografií. Chromatografie byla provedena adsorpcí na silikagel (1,5 g) a následným rozdělením na 50 g silikagelu za použití eluční soustavy PrOH : H<sub>2</sub>O : NH<sub>3</sub> (9:3:1). Takto získaná směs monosubstituovaných derivátů byla peracetylována acetanhydridem (5 ml) s octanem sodným (150 mg) 17 hodin při 80 °C. Po té byla reakční směs ponechána, aby se samovolně ochladila, a bylo k ní přidáno 20 ml CHCl<sub>3</sub> a byla protřepána 20 ml vody. Odpařením organické fáze byly získány peracetylované monosubstituované deriváty, které byly čištěny sloupcovou chromatografií na silikagelu (50 g) za použití eluční soustavy CHCl<sub>3</sub> : MeOH (100:1). Takto byla získána směs per-*O*-acetyl-2<sup>1</sup>-*O*-allyl-α-cyklodextrinu (10) a per-*O*-acetyl-6<sup>1</sup>-*O*-allyl-α-cyklodextrinu (12) ve výtěžku 268 mg (17 % – počítáno na α-CD) jako vedlejší produkt a per-*O*-acetyl-3<sup>1</sup>-*O*-allyl-α-cyklodextrin (11) ve výtěžku 59 mg (3,7 % – počítáno na α-CD).

T. t. 126 °C,  $[\alpha]_D^{25} +86^\circ$  (CHCl<sub>3</sub>).

Podle H,H-COSY spektra je chemický posun vodíků allylové methylenové skupiny neležící na dvojně vazbě 4,30 a 4,64 (krospíky s vodíky na dvojně vazbě). Těmto vodíkům odpovídá uhlík při 74,84 (podle HSQC spektra), se kterým má krospík v HMBC spektru vodík při 4,12. Tento vodík patří podle H,H-COSY mezi H-3 vodíky  $\alpha$ -CD. Proto musí být allylová skupina vázána v poloze 3. Dále byl v HMBC spektru nalezen krospík vodíku při 4,30 s uhlíkem při 76,89, na který je vázán H-3 při 4,12 (podle HSQC spektra).

<sup>1</sup>H NMR (1) (CDCl<sub>3</sub>): 2,00-2,23 m, 51 H, (Ac); 3,69-3,85 m, 6 H, (H-4); 4,07-4,53 m, 20 H, (H-5, H-6, H-1'); 4,12 dd, 1 H,  $J(3^1,4^1) = 8,4$ ,  $J(2^1,3^1) = 10,1$  (H-3<sup>1</sup>); 4,64 m, 1 H, (H-1'); 4,69 dd, 1 H,  $J(1,2) = 3,6$ ,  $J(2,3) = 10,3$  (H-2); 4,75 dd, 1 H,  $J(1,2) = 3,4$ ,  $J(2,3) = 10,7$  (H-2); 4,78 dd, 2 H,  $J(1,2) = 3,5$ ,  $J(2,3) = 10,7$  (H-2); 4,80 dd, 1 H,  $J(1,2) = 3,6$ ,  $J(2,3) = 10,4$  (H-2); 4,82 dd, 1 H,  $J(1,2) = 3,6$ ,  $J(2,3) = 10,5$  (H-2); 5,01 d, 1 H,  $J(1,2) = 3,5$  (H-1); 5,03 d, 1 H,  $J(1,2) = 3,5$  (H-1); 5,06 d, 2 H,  $J(1,2) = 3,6$  (H-1); 5,08 d, 1 H,  $J(1,2) = 3,4$  (H-1); 5,10 d, 1 H,  $J(1,2) = 3,5$  (H-1); 5,14 dq, 1 H,  $J(1',3'b) = J(3'a,3'b) = 1,5$ ,  $J(2',3'b) = 10,7$  (H-3'b); 5,30 dq, 1 H,  $J(1',3'a) = J(3'a,3'b) = 1,8$ ,  $J(2',3'a) = 17,2$  (H-3'a); 5,48 dd, 1 H,  $J(3,4) = 8,5$ ,  $J(2,3) = 10,3$  (H-3); 5,48 dd, 1 H,  $J(3,4) = 8,9$ ,  $J(2,3) = 10,4$  (H-3); 5,58 dd, 1 H,  $J(3,4) = 8,5$ ,  $J(2,3) = 10,2$  (H-3); 5,63 dd, 1 H,  $J(3,4) = 8,6$ ,  $J(2,3) = 10,3$  (H-3); 5,68 dd, 1 H,  $J(3,4) = 8,9$ ,  $J(2,3) = 10,5$  (H-3); 5,95 tdd, 1 H,  $J(1',2') = 5,2$ ,  $J(2',3'b) = 10,4$ ,  $J(2',3'a) = 17,1$  (H-2').

<sup>13</sup>C NMR (1) (CDCl<sub>3</sub>): 20,67-21,11, 17 C, (C-CH<sub>3</sub>(CO)-); 62,80-63,35, 6 C, (C-6); 68,79-71,48, 16 C, (C-2, C-3, C-5); 72,23, 1 C, (C-2<sup>1</sup>); 74,84, 1 C, (C-1'); 76,50-77,73, 5 C, (C-4); 76,89, 1 C, (C-3<sup>1</sup>); 81,44, 1 C, (C-4<sup>1</sup>); 96,04-97,59, 6 C, (C-1); 115,77, 1 C, (C-3'); 135,46, 1 C, (C-2'); 169,16-170,81, 17 C, (CH<sub>3</sub>(C=O)-).

HRMS: pro C<sub>73</sub>H<sub>98</sub>O<sub>47</sub> vypočteno 1726,5278 (pro [M + H + K]<sup>2+</sup> vypočteno 883,2497), naměřeno 883,2487 [M + H + K]<sup>2+</sup>,  $\Delta = -1$  ppm.

### Per-*O*-acetyl-6<sup>1</sup>-*O*-allyl- $\alpha$ -cyklodextrin (12)

K roztoku NaOH (1,25 g, 31 mmol) a  $\alpha$ -CD (1 g, 0,93 mmol) ve vodě (5 ml) ochlazenému na 0 °C byl přidán allyl bromid (120  $\mu$ l, 1,39 mmol). Po samovolném ohřátí na laboratorní teplotu byla při této teplotě reakční směs míchána 5 dní a reakce byla ukončena přidavkem kyseliny octové (1,5 ml). Reakční směs byla odpařena na RVO. Vzniklá směs  $\alpha$ -CD, mono a vícesubstituovaných derivátů byla čištěna sloupcovou chromatografií. Chromatografie byla provedena adsorpcí na silikagel (2,5 g) a následným rozdělením na 45 g silikagelu za použití eluční soustavy PrOH : H<sub>2</sub>O : NH<sub>3</sub> (9:3:1). Takto získaná směs monosubstituovaných derivátů byla peracetylována acetanhydridem (10 ml) s octanem sodným (150 mg) 7 hodin při 100 °C. Poté byla reakční směs ponechána, aby se samovolně ochladila, a bylo k ní přidáno 8 ml CHCl<sub>3</sub> a byla protřepána 20 ml vody. Odpařením organické fáze byly získány peracetylované monosubstituované deriváty, které byly čištěny sloupcovou chromatografií na silikagelu (20 g) za použití eluční soustavy CHCl<sub>3</sub> : MeOH (100:1). Takto byl získán per-*O*-acetyl-6<sup>1</sup>-*O*-allyl- $\alpha$ -cyklodextrin (12) ve výtěžku 201 mg (13 % – počítáno na  $\alpha$ -CD).

T. t. 139 °C,  $[\alpha]_D^{25} +106^\circ$  (CHCl<sub>3</sub>).

Podle H,H-COSY spektra je chemický posun vodíků allylové methylenové skupiny neležící na dvojné vazbě 4,03 (krospíky s vodíky na dvojné vazbě). Těmto vodíkům odpovídá uhlík při 72,45 (podle HSQC spektra), se kterým má krospík v HMBC spektru vodík při 3,66. Tomuto vodíku odpovídá uhlík při 68,27 (podle HSQC spektra), který patří podle DEPT spektra mezi C-6 uhlíky  $\alpha$ -CD. Proto musí být allylová skupina vázána v poloze 6.

<sup>1</sup>H NMR (2) (CDCl<sub>3</sub>): 2,02-2,21 m, 51 H, (Ac); 3,66-4,50 m, 26 H, (H-4, H-5, H-6, H-1'); 4,72-4,85 m, 6 H, (H-2); 5,02 d, 1 H,  $J(1,2) = 3,4$  (H-1); 5,03 d, 1 H,  $J(1,2) = 3,2$  (H-1); 5,07 d, 1 H,  $J(1,2) = 3,8$  (H-1); 5,08 d, 1 H,  $J(1,2) = 3,7$  (H-1); 5,09 d, 1 H,  $J(1,2) = 4,3$  (H-1); 5,11 d, 1 H,  $J(1,2) = 4,0$  (H-1); 5,20 dq, 1 H,  $J(1',3'b) = J(3'a,3'b) = 1,3$ ,  $J(2',3'b) = 10,3$  (H-3'b); 5,28 dq, 1 H,  $J(1',3'a) = J(3'a,3'b) = 1,5$ ,  $J(2',3'a) = 17,2$  (H-3'a); 5,48 dd, 1 H,  $J(3,4) = 8,6$ ,  $J(2,3) = 10,2$  (H-3); 5,48 dd, 1 H,  $J(3,4) = 8,4$ ,  $J(2,3) = 10,3$  (H-3); 5,53 dd, 1 H,  $J(3,4) = 8,5$ ,  $J(2,3) = 10,3$  (H-3); 5,58 dd, 1 H,  $J(3,4) = 9,1$ ,  $J(2,3) = 10,0$  (H-3); 5,60

dd, 1 H,  $J(3,4) = 8,6$ ,  $J(2,3) = 10,3$  (H-3); 5,61 dd, 1 H,  $J(3,4) = 9,0$ ,  $J(2,3) = 10,2$  (H-3); 5,95 tdd, 1 H,  $J(1',2') = 5,2$ ,  $J(2',3'b) = 10,4$ ,  $J(2',3'a) = 17,2$  (H-2').

$^{13}\text{C}$  NMR (2) ( $\text{CDCl}_3$ ): 20,75-20,84, 17 C, ( $\underline{\text{C}}\text{H}_3(\text{CO})-$ ); 63,07-63,21, 5 C, (C-6); 68,27, 1 C, (C-6<sup>1</sup>); 69,00-71,52, 18 C, (C-2, C-3, C-5); 72,45, 1 C, (C-1'); 76,57-77,70, 6 C, (C-4); 96,16-97,13, 6 C, (C-1); 117,59, 1 C, (C-3'); 134,25, 1 C, (C-2'); 169,04-170,78, 17 C, ( $\text{CH}_3(\underline{\text{C}}\text{O})-$ ).

HRMS: pro  $\text{C}_{73}\text{H}_{98}\text{O}_{47}$  vypočteno 1726,5278 (pro  $[\text{M} + \text{H} + \text{K}]^{2+}$  vypočteno 883,2497), naměřeno 883,2475  $[\text{M} + \text{H} + \text{K}]^{2+}$ ,  $\Delta = -2$  ppm.

### Per-*O*-acetyl-2<sup>1</sup>-*O*-formylmethyl- $\alpha$ -cyklodextrin (13)

Do roztoku per-*O*-acetyl-2<sup>1</sup>-*O*-allyl- $\alpha$ -cyklodextrinu (10) (17 mg, 9,8  $\mu\text{mol}$ ) ve směsi  $\text{CHCl}_3$  (1 ml) a MeOH (1 ml) byl zaváděn ozon při  $-78$  °C po dobu 10 minut. Reakce byla ukončena přidávkem  $\text{Me}_2\text{S}$  (0,5 ml) a reakční směs byla odpařena na RVO. Produkt byl čištěn sloupcovou chromatografií na silikagelu (3 g) za použití eluční soustavy  $\text{CHCl}_3$  : MeOH (100:1) (100 ml) a  $\text{CHCl}_3$  : MeOH (20:1) (50 ml). Takto byl získán per-*O*-acetyl-2<sup>1</sup>-*O*-formylmethyl- $\alpha$ -cyklodextrin (13) ve výtěžku 14 mg (82 %).

T. t. 138 °C,  $[\alpha]_D^{25} +100^\circ$  ( $\text{CHCl}_3$ ).

$^1\text{H}$  NMR (2) ( $\text{CDCl}_3$ ): 1,95-2,25 m, 51 H, (Ac); 3,37 dd, 1 H,  $J(1^1,2^1) = 3,2$ ,  $J(2^1,3^1) = 9,6$  (H-2<sup>1</sup>); 3,64-3,90 m, 6 H, (H-4); 4,13-4,55 m, 18 H, (H-5, H-6); 4,26 s, 2 H, (H-1'); 4,72-4,84 m, 5 H, (H-2); 4,98 d, 1 H,  $J(1,2) = 3,6$  (H-1); 5,00 d, 1 H,  $J(1,2) = 3,5$  (H-1); 5,07 d, 1 H,  $J(1,2) = 3,7$  (H-1); 5,11 d, 1 H,  $J(1,2) = 3,0$  (H-1); 5,12 d, 1 H,  $J(1,2) = 3,7$  (H-1); 5,14 d, 1 H,  $J(1,2) = 3,6$  (H-1); 5,42 t, 1 H,  $J(2,3) = J(3,4) = 8,9$  (H-3); 5,45 dd, 1 H,  $J(3,4) = 8,8$ ,  $J(2,3) = 10,1$  (H-3); 5,50 dd, 1 H,  $J(3,4) = 8,7$ ,  $J(2,3) = 10,7$  (H-3); 5,53 dd, 1 H,  $J(3,4) = 8,6$ ,  $J(2,3) = 10,7$  (H-3); 5,61 dd, 1 H,  $J(3,4) = 8,8$ ,  $J(2,3) = 10,4$  (H-3); 5,69 dd, 1 H,  $J(3,4) = 8,9$ ,  $J(2,3) = 10,0$  (H-3); 9,62 s, 1 H, (-CHO).

$^{13}\text{C}$  NMR (2) ( $\text{CDCl}_3$ ): 20,60-20,88, 17 C, ( $\underline{\text{C}}\text{H}_3(\text{CO})-$ ); 62,87-63,20, 6 C, (C-6); 68,89-71,61, 18 C, (C-2, C-3, C-5); 76,57-77,42, 6 C, (C-4); 96,32-96,83, 6 C, (C-1); 169,05-170,84, 17 C, ( $\text{CH}_3(\underline{\text{C}}\text{O})-$ ); 198,93, 1 C, (-CHO).

MS: pro  $\text{C}_{72}\text{H}_{96}\text{O}_{48}$  vypočteno 1728,5 (pro  $[\text{M} + \text{MeOH} + \text{Na}]^+$  vypočteno 1783,5), naměřeno 1783,2  $[\text{M} + \text{MeOH} + \text{Na}]^+$ .

### **Per-*O*-acetyl-3<sup>1</sup>-*O*-formylmethyl- $\alpha$ -cyklodextrin (14)**

Do roztoku per-*O*-acetyl-3<sup>1</sup>-*O*-cinnamyl- $\alpha$ -cyklodextrinu (**8**) (316 mg, 0,18 mmol) ve směsi CHCl<sub>3</sub> (3,5 ml) a MeOH (3,5 ml) byl zaváděn ozon při -78 °C po dobu 10 minut. Reakce byla ukončena přidavkem Me<sub>2</sub>S (0,5 ml) a reakční směs byla odpařena na RVO. Produkt byl čištěn sloupcovou chromatografií na silikagelu (35 g) za použití eluční soustavy CHCl<sub>3</sub> : MeOH (100:1) (500 ml) a CHCl<sub>3</sub> : MeOH (20:1) (200 ml). Takto byl získán per-*O*-acetyl-3<sup>1</sup>-*O*-formylmethyl- $\alpha$ -cyklodextrin (**14**) ve výtěžku 215 mg (70 %).

T. t. 145 °C,  $[\alpha]_D^{25} +110^\circ$  (CHCl<sub>3</sub>).

<sup>1</sup>H NMR (2) (CDCl<sub>3</sub>): 1,97-2,22 m, 51 H, (Ac); 3,74-3,86 m, 6 H, (H-4); 4,05-4,51 m, 19 H, (H-5, H-6, H-3<sup>1</sup>); 4,55 d, 1 H,  $J(1',1') = 18,7$  (H-1'); 4,69 dd, 1 H,  $J(1^1,2^1) = 3,5$ ,  $J(2^1,3^1) = 10,3$  (H-2<sup>1</sup>); 4,76-4,83 m, 5 H, (H-2); 4,94 d, 1 H,  $J(1',1') = 18,7$  (H-1'); 5,01 d, 1 H,  $J(1,2) = 3,4$  (H-1); 5,03 d, 1 H,  $J(1,2) = 3,5$  (H-1); 5,04 d, 1 H,  $J(1,2) = 3,6$  (H-1); 5,07 d, 1 H,  $J(1,2) = 3,2$  (H-1); 5,11 d, 1 H,  $J(1,2) = 3,6$  (H-1); 5,13 d, 1 H,  $J(1,2) = 3,6$  (H-1); 5,44 dd, 1 H,  $J(3,4) = 8,5$ ,  $J(2,3) = 10,2$  (H-3); 5,49 dd, 1 H,  $J(3,4) = 9,0$ ,  $J(2,3) = 10,3$  (H-3); 5,54 dd, 1 H,  $J(3,4) = 8,5$ ,  $J(2,3) = 10,4$  (H-3); 5,61 dd, 1 H,  $J(3,4) = 8,3$ ,  $J(2,3) = 10,0$  (H-3); 5,67 dd, 1 H,  $J(3,4) = 8,8$ ,  $J(2,3) = 10,3$  (H-3); 9,69 s, 1 H, (-CHO).

<sup>13</sup>C NMR (2) (CDCl<sub>3</sub>): 20,65-21,02, 17 C, (CH<sub>3</sub>(CO)-); 62,63-63,22, 6 C, (C-6); 68,71-71,91, 17 C, (C-2, C-3, C-5); 76,19-80,81, 6 C, (C-4, C-3<sup>1</sup>); 80,04, 1 C, (C-1'); 80,81, 1 C, (C-4<sup>1</sup>); 96,06-97,41, 6 C, (C-1); 169,26-170,83, 17 C, (CH<sub>3</sub>(CO)-); 199,01, 1 C, (-CHO).

MS: pro C<sub>72</sub>H<sub>96</sub>O<sub>48</sub> vypočteno 1728,5 (pro [M + MeOH + Na]<sup>+</sup> vypočteno 1783,5), naměřeno 1783,8 [M + MeOH + Na]<sup>+</sup>.

### **Per-*O*-acetyl-6<sup>1</sup>-*O*-formylmethyl- $\alpha$ -cyklodextrin (15)**

Do roztoku per-*O*-acetyl-6<sup>1</sup>-*O*-allyl- $\alpha$ -cyklodextrinu (**12**) (60 mg, 0,035 mmol) ve směsi CHCl<sub>3</sub> (0,6 ml) a MeOH (0,6 ml) byl zaváděn ozon při -40 °C po dobu 10 minut. Reakce byla ukončena přidavkem Me<sub>2</sub>S (0,5 ml) a reakční směs byla odpařena na RVO. Produkt byl čištěn sloupcovou chromatografií na silikagelu (8 g) za použití eluční soustavy CHCl<sub>3</sub> : MeOH (100:1). Takto byl získán per-*O*-acetyl-6<sup>1</sup>-*O*-formylmethyl- $\alpha$ -cyklodextrin (**15**) ve výtěžku 43 mg (72 %).

T. t. 141 °C,  $[\alpha]_D^{25} +98^\circ$  (CHCl<sub>3</sub>).

<sup>1</sup>H NMR (2) (CDCl<sub>3</sub>): 2,03-2,18 m, 51 H, (Ac); 3,78-3,86 m, 6 H, (H-4); 3,96-4,52 m, 18 H, (H-5, H-6); 4,22 s, 2 H, (H-1'); 4,74-4,84 m, 6 H, (H-2); 5,01-5,11 m, 6 H, (H-1); 5,47 dd, 1 H,  $J(3,4) = 8,6$ ,  $J(2,3) = 10,3$  (H-3); 5,49 dd, 1 H,  $J(3,4) = 8,5$ ,  $J(2,3) = 10,2$  (H-3); 5,57 dd, 1 H,  $J(3,4) = 8,4$ ,  $J(2,3) = 10,4$  (H-3); 5,59 dd, 2 H,  $J(3,4) = 8,8$ ,  $J(2,3) = 10,1$  (H-3); 5,61 dd, 1 H,  $J(3,4) = 8,7$ ,  $J(2,3) = 10,5$  (H-3); 9,70 s, 1 H, (-CHO).

<sup>13</sup>C NMR (2) (CDCl<sub>3</sub>): 20,74-20,82, 17 C, (CH<sub>3</sub>(CO)-); 63,00, 6 C, (C-6); 69,00-71,47, 18 C, (C-2, C-3, C-5); 76,46-77,57, 6 C, (C-4); 96,24-96,84, 6 C, (C-1); 169,12-170,73, 17 C, (CH<sub>3</sub>(CO)-); 199,60, 1 C, (-CHO).

MS: pro C<sub>72</sub>H<sub>96</sub>O<sub>48</sub> vypočteno 1728,5 (pro [M + MeOH + Na]<sup>+</sup> vypočteno 1783,5), naměřeno 1783,8 [M + MeOH + Na]<sup>+</sup>.

#### **Per-*O*-acetyl-2<sup>1</sup>-*O*-karboxymethyl- $\alpha$ -cyklodextrin (16)**

K míchanému roztoku per-*O*-acetyl-2<sup>1</sup>-*O*-formylmethyl- $\alpha$ -cyklodextrinu (13) (29 mg, 0,017 mmol) v acetonu (0,6 ml) ochlazenému na 0 °C bylo po kapkách přidáno Jonesovo činidlo (26  $\mu$ l roztoku 0,5 g CrO<sub>3</sub> v 0,45 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 3,8 ml H<sub>2</sub>O, 0,025 mmol). Reakční směs byla míchána 10 minut a reakce byla ukončena přidáním *i*-PrOH (1 ml). Po ohřátí na laboratorní teplotu byla reakční směs vytřepána mezi chloroform (10 ml) a vodu (10 ml). Organická fáze byla protřepána roztokem Chelatonu III (110 mg v 10 ml vody) a odpařena na RVO. Produkt byl čištěn sloupcovou chromatografií na silikagelu (3 g) za použití eluční soustavy CHCl<sub>3</sub> : MeOH (20:1) (100 ml), CHCl<sub>3</sub> : MeOH (10:1) (50 ml) a CHCl<sub>3</sub> : MeOH (4:1) (125 ml). Produkt byl dočištěn rozpuštěním v CHCl<sub>3</sub> (10 ml) a protřepáním roztokem kyseliny chlorovodíkové (0,2 ml v 20 ml vody). Takto byl získán per-*O*-acetyl-2<sup>1</sup>-*O*-karboxymethyl- $\alpha$ -cyklodextrin (16) ve výtěžku 24 mg (82 %).

T. t. 144 °C,  $[\alpha]_D^{25} +78^\circ$  (CHCl<sub>3</sub>).

<sup>1</sup>H NMR (1) (CDCl<sub>3</sub>): 1,99-2,24 m, 51 H, (Ac); 3,53 dd, 1 H,  $J(1^1,2^1) = 3,1$ ,  $J(2^1,3^1) = 8,8$  (H-2<sup>1</sup>); 3,66-3,85 m, 6 H, (H-4); 4,14-4,52 m, 20 H, (H-5, H-6, H-1'); 4,73-4,82 m, 5 H, (H-2); 5,00 d, 1 H,  $J(1,2) = 3,5$  (H-1); 5,02 d, 1 H,  $J(1,2) = 3,4$  (H-1); 5,08 d, 1 H,  $J(1,2) = 3,8$  (H-1); 5,08 d, 1 H,  $J(1,2) = 3,5$  (H-1); 5,11 d, 2 H,  $J(1,2) = 3,7$  (H-1); 5,41 m, 1 H, (H-3); 5,47 dd, 1 H,  $J(3,4) = 8,7$ ,  $J(2,3) = 10,3$  (H-3);

5,48 dd, 1 H,  $J(3,4) = 8,7$ ,  $J(2,3) = 10,1$  (H-3); 5,52 dd, 1 H,  $J(3,4) = 8,6$ ,  $J(2,3) = 10,3$  (H-3); 5,58 dd, 1 H,  $J(3,4) = 8,5$ ,  $J(2,3) = 10,5$  (H-3); 5,66 m, 1 H, (H-3).

MS: pro  $C_{72}H_{96}O_{49}$  vypočteno 1744,5 (pro  $[M + Na]^+$  vypočteno 1767,5), naměřeno 1767,7  $[M + Na]^+$ .

#### **Per-*O*-acetyl-3<sup>1</sup>-*O*-karboxymethyl- $\alpha$ -cyklodextrin (17)**

K míchanému roztoku per-*O*-acetyl-3<sup>1</sup>-*O*-formylmethyl- $\alpha$ -cyklodextrinu (14) (80 mg, 0,046 mmol) v acetonu (1,6 ml) ochlazenému na 0 °C bylo po kapkách přidáno Jonesovo činidlo (69  $\mu$ l roztoku 0,5 g  $CrO_3$  v 0,45 ml  $H_2SO_4$  a 3,8 ml  $H_2O$ , 0,069 mmol). Reakční směs byla míchána 10 minut a reakce byla ukončena přidáním *i*-PrOH (2 ml). Po ohřátí na laboratorní teplotu byla reakční směs vytřepána mezi chloroform (20 ml) a vodu (20 ml). Organická fáze byla odpařena na RVO. Produkt byl čištěn sloupcovou chromatografií na silikagelu (8 g) za použití eluční soustavy  $CHCl_3$  : MeOH (20:1) (100 ml),  $CHCl_3$  : MeOH (10:1) (50 ml) a  $CHCl_3$  : MeOH (4:1) (250 ml). Produkt byl od iontů  $Cr^{3+}$  dočištěn rozpuštěním v  $CHCl_3$  a protřepáním roztokem Chelatonu III (78 mg v 10 ml vody). Takto byl získán per-*O*-acetyl-3<sup>1</sup>-*O*-karboxymethyl- $\alpha$ -cyklodextrin (17) ve výtěžku 71 mg (87 %).

T. t. 148 °C,  $[\alpha]_D^{25} +104^\circ$  ( $CHCl_3$ ).

<sup>1</sup>H NMR (2) ( $CDCl_3$ ): 2,01-2,23 m, 51 H, (Ac); 3,74-3,86 m, 6 H, (H-4); 4,07-4,56 m, 20 H, (H-5, H-6, H-1', H-3<sup>1</sup>); 4,70 dd, 1 H,  $J(1^1,2^1) = 3,5$ ,  $J(2^1,3^1) = 10,3$  (H-2<sup>1</sup>); 4,68-4,87 m, 6 H, (H-2, H-1'); 5,01 d, 1 H,  $J(1,2) = 3,4$  (H-1); 5,03 d, 1 H,  $J(1,2) = 3,8$  (H-1); 5,04 d, 1 H,  $J(1,2) = 4,4$  (H-1); 5,08 d, 1 H,  $J(1,2) = 3,2$  (H-1); 5,12 d, 1 H,  $J(1,2) = 3,7$  (H-1); 5,14 d, 1 H,  $J(1,2) = 3,6$  (H-1); 5,42-5,70 m, 5 H, (H-3).

MS: pro  $C_{72}H_{96}O_{49}$  vypočteno 1744,5 (pro  $[M + Na]^+$  vypočteno 1767,5), naměřeno 1767,8  $[M + Na]^+$ .

#### **Per-*O*-acetyl-6<sup>1</sup>-*O*-karboxymethyl- $\alpha$ -cyklodextrin (18)**

K míchanému roztoku per-*O*-acetyl-6<sup>1</sup>-*O*-formylmethyl- $\alpha$ -cyklodextrinu (15) (25 mg, 0,014 mmol) v acetonu (0,5 ml) ochlazenému na 0 °C bylo po kapkách přidáno Jonesovo činidlo (22  $\mu$ l roztoku 0,5 g  $CrO_3$  v 0,45 ml  $H_2SO_4$  a 3,8 ml  $H_2O$ ,

0,022 mmol). Reakční směs byla míchána 10 minut a reakce byla ukončena přidávkem *i*-PrOH (1 ml). Po ohřátí na laboratorní teplotu byla reakční směs vytřepána mezi chloroform (10 ml) a vodu (10 ml). Organická fáze byla protřepána roztokem Chelatonu III (78 mg v 10 ml vody) a odpařena na RVO. Produkt byl čištěn sloupcovou chromatografií na silikagelu (3 g) za použití eluční soustavy CHCl<sub>3</sub> : MeOH (20:1) (100 ml), CHCl<sub>3</sub> : MeOH (10:1) (50 ml) a CHCl<sub>3</sub> : MeOH (4:1) (125 ml). Produkt byl dočištěn rozpuštěním v CHCl<sub>3</sub> (10 ml) a protřepáním roztokem kyseliny chlorovodíkové (0,2 ml v 20 ml vody). Takto byl získán per-*O*-acetyl-6<sup>1</sup>-*O*-karboxymethyl- $\alpha$ -cyklodextrin (**18**) ve výtěžku 21 mg (83 %).

T. t. 143 °C,  $[\alpha]_D^{25} +92^\circ$  (CHCl<sub>3</sub>).

<sup>1</sup>H NMR (1) (CDCl<sub>3</sub>): 2,03-2,18 m, 51 H, (Ac); 3,76-4,58 m, 24 H, (H-4, H-5, H-6); 4,09 d, 1 H,  $J(1',1') = 16,9$  (H-1'); 4,30 d, 1 H,  $J(1',1') = 16,9$  (H-1'); 4,75-4,86 m, 6 H, (H-2); 5,03 d, 1 H,  $J(1,2) = 3,5$  (H-1); 5,05 d, 2 H,  $J(1,2) = 3,8$  (H-1); 5,06 d, 1 H,  $J(1,2) = 3,9$  (H-1); 5,08 d, 1 H,  $J(1,2) = 3,7$  (H-1); 5,09 d, 1 H,  $J(1,2) = 3,8$  (H-1); 5,45-5,57 m, 6 H, (H-3).

MS: pro C<sub>72</sub>H<sub>96</sub>O<sub>49</sub> vypočteno 1744,5 (pro [M + Na]<sup>+</sup> vypočteno 1767,5), naměřeno 1767,6 [M + Na]<sup>+</sup>.



## 5. Výsledky a diskuze

### 5.1 Příprava monocinnamyl a monoallyl derivátů

Prvním krokem syntézy produktů je příprava 2<sup>1</sup>-*O*-, 3<sup>1</sup>-*O*- a 6<sup>1</sup>-*O*-cinnamyl derivátů  $\alpha$ -cyklodextrinu (**1** – **3**) a jejich peracetylace.

Postupem pro přípravu per-*O*-acetyl-2<sup>1</sup>-*O*-cinnamyl- $\alpha$ -cyklodextrinu (**7**) byla připravena směs monocinnamyl derivátů, které byly následně peracetylovány, separovány a charakterizovány 2D NMR technikami. Tímto způsobem se podařilo připravit per-*O*-acetyl-2<sup>1</sup>-*O*-cinnamyl- $\alpha$ -cyklodextrin (**7**) a per-*O*-acetyl-3<sup>1</sup>-*O*-cinnamyl- $\alpha$ -cyklodextrin (**8**).

Aby bylo možné optimalizovat reakční podmínky pro cinnamylaci  $\alpha$ -CD, bylo potřeba nalézt vhodnou mobilní soustavu, která by byla na TLC schopna rozdělit jednotlivé volné (neperacetylované) monocinnamyl deriváty. Peracetylované deriváty je na TLC sice možné rozdělit v soustavě CHCl<sub>3</sub> : MeOH (20:1), ale per-*O*-acetyl- $\alpha$ -cyklodextrin má stejný R<sub>f</sub> jako per-*O*-acetyl-2<sup>1</sup>-*O*-cinnamyl- $\alpha$ -cyklodextrin (**7**), takže pouhou peracetylací reakční směsi po cinnamylaci  $\alpha$ -CD by nebylo možné tuto reakční směs monoderivátů kvantifikovat. Jako vhodná eluční soustava pro dělení monocinnamyl derivátů se ukázala směs CHCl<sub>3</sub> : MeOH : H<sub>2</sub>O (4:5:1).

Pro zjištění závislosti výtěžku na množství báze a teplotě reakce byla provedena série devíti orientačních reakcí cinnamyl bromidu s  $\alpha$ -CD v DMF s 2 ekv., 5 ekv. a 30 ekv. NaOH při teplotách 0, 20 a 50 °C. Nejlepší výtěžky 2<sup>1</sup>-*O*- a 3<sup>1</sup>-*O*-cinnamyl- $\alpha$ -cyklodextrinu vykazovala reakce při použití 2 ekv. NaOH za laboratorní teploty. V kapitole 3.2 je popsána možnost modifikace polohy 6 za použití nadbytku báze. Při výše uvedené sérii reakcí s 30 ekv. báze nebyl při žádné reakci vznik žádného derivátu pozorován. Pravděpodobně zde přednostně dochází k hydrolyze cinnamyl bromidu. Vnik 6-*O*- derivátu nebyl pozorován ani při ostatních reakcích. Cinnamyl bromid je pravděpodobně komplexován do kavity  $\alpha$ -CD, a proto dochází k reakci pouze v poloze 2 a 3.

Vzhledem k výše uvedeným faktům byly 2<sup>1</sup>-*O*- a 3<sup>1</sup>-*O*-cinnamyl deriváty připraveny metodou A.

Jelikož se ve výše popsaných reakcích nepodařilo připravit 6<sup>1</sup>-*O*-cinnamyl derivát, byla vyzkoušena jeho příprava podle literatury<sup>50</sup>, kde byl připraven 6<sup>1</sup>-*O*-(*p*-kyanobenzyl) derivát (viz. kapitola 3.2.3). Po rozdělení produktů a jejich peracetylaci bylo porovnáním se standardy zjištěno, že nevznikl 6<sup>1</sup>-*O* derivát. Zato však při této reakci vznikl 2<sup>1</sup>-*O*-cinnamyl- $\alpha$ -cyklodextrin (**1**) a 3<sup>1</sup>-*O*-cinnamyl- $\alpha$ -cyklodextrin (**2**). Opět je zde zřejmě cinnamyl bromid komplexován do kavity  $\alpha$ -CD, a proto dochází k reakci pouze v poloze 2 a 3.

Dále byla vyzkoušena orientační reakce cinnamyl bromidu s  $\alpha$ -CD ve směsi H<sub>2</sub>O : MeCN (3:1) podle literatury<sup>13</sup>. Výtěžky pro 2<sup>1</sup>-*O*- a 3<sup>1</sup>-*O*-cinnamyl deriváty byly podobné jako v případě použití DMF.

Příprava monoallyl derivátů vycházela ze zkušeností při přípravě monocinnamyl derivátů. Směsi volných monoallyl derivátů se však chromatograficky nepodařilo rozdělit ani při použití eluční soustavy CHCl<sub>3</sub> : MeOH : H<sub>2</sub>O (4:5:1). Směsi peracetylovaných monoallyl derivátů lze od sebe oddělit v eluční soustavě CHCl<sub>3</sub> : MeOH (100:1) jen obtížně, jelikož mají podobný R<sub>f</sub>, jenž vzrůstá od 2<sup>1</sup>-*O* přes 6<sup>1</sup>-*O* k 3<sup>1</sup>-*O* derivátu. Jiné eluční soustavy s běžně dostupnými rozpouštědly však neposkytují lepší výsledky.

Peracetylace monosubstituovaných cyklodextrinů byla prováděna převážně acetanhydridem s octanem sodným, jelikož při použití pyridinu může docházet k polymeraci 6<sup>1</sup>-*O* derivátů. Při peracetylaci 2<sup>1</sup>-*O*-cinnamyl- $\alpha$ -cyklodextrinu (**1**) za použití octanu sodného docházelo k bočné reakci, kdy vznikal peracetylovaný  $\alpha$ -cyklodextrin. Tohoto jevu by mohlo být s výhodou využito při čištění 3<sup>1</sup>-*O*-cinnamyl- $\alpha$ -cyklodextrinu (**2**). Při peracetylaci jiných monosubstituovaných derivátů nebyl tento jev pozorován. Per-*O*-acetyl-2<sup>1</sup>-*O*-cinnamyl- $\alpha$ -cyklodextrin (**7**) a per-*O*-acetyl- $\alpha$ -cyklodextrin se od sebe nepodařilo chromatograficky rozdělit. Peracetylovaný  $\alpha$ -cyklodextrin lze oddělit až po převedení cinnamylu na formylmethyl.

Ověření možnosti modifikace připravených látek bylo provedeno na 2<sup>1</sup>-*O*- a 6<sup>1</sup>-*O*-allyl- a 3<sup>1</sup>-*O*-cinnamyl- $\alpha$ -cyklodextrinu, jelikož u nich bylo z dvojic allyl – cinnamyl dosaženo nejvyšších výtěžků (tabulka 5.1).

**Tabulka 5.1 Srovnání alkylačních podmínek při přípravě peracetylovaných monoallyl a monocinnamyl derivátů**

Příprava sloučeniny:	Alkylační činidlo	Ekv. NaOH	Rozpouštědlo	Teplota	Výtěžek po peracetylaci (vztažený na $\alpha$ -CD)
7	cinnamyl bromid	2	DMF	lab.	5,3 %
8	cinnamyl bromid	5	H <sub>2</sub> O	50 °C	5,3 %
10	allyl bromid	2	DMF	lab.	6,1 %
11	allyl bromid	5	H <sub>2</sub> O	50 °C	3,7 %
12	allyl bromid	30	H <sub>2</sub> O	0 °C → lab.	13 %

## 5.2 Derivatizace dvojně vazby

### 5.2.1 Příprava formylmethyl derivátů

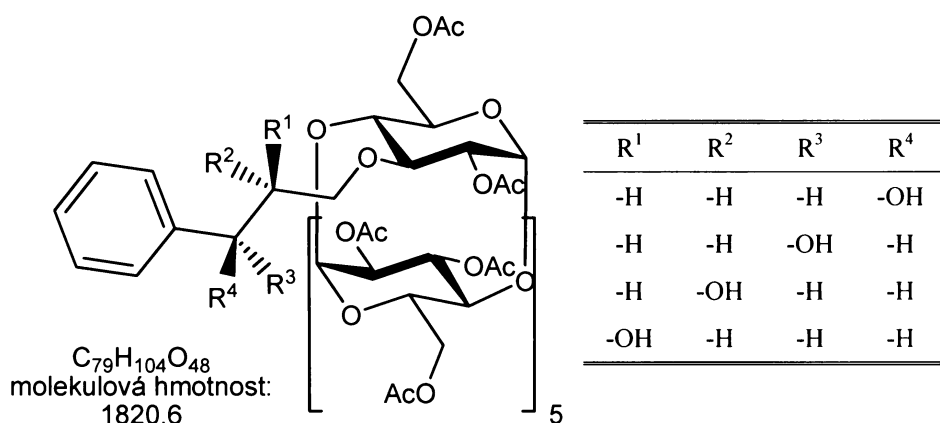
Formylmethyl deriváty byly připraveny reduktivní ozonolýzou z odpovídajících monosubstituovaných derivátů ve výtěžcích, které jsou uvedeny v tabulce 5.2 a které odpovídají výtěžkům běžně dosahovaným v literatuře (viz. kapitola 3.3).

**Tabulka 5.2 Výtěžky reduktivní ozonolýzy**

Příprava sloučeniny:	Výtěžek
13	82 %
14	70 %
15	72 %

### 5.2.2 Příprava karboxymethyl derivátů

Reakcí per-*O*-acetyl-3<sup>1</sup>-*O*-cinnamyl- $\alpha$ -cyklodextrinu (**8**) s NaIO<sub>4</sub> za katalýzy RuCl<sub>3</sub> ve směsi H<sub>2</sub>O : MeCN (1:1) podle literatury<sup>13</sup> se per-*O*-acetyl-3<sup>1</sup>-*O*-karboxymethyl- $\alpha$ -cyklodextrin (**17**) nepodařilo připravit čistý. Meziproduct při této reakci, který byl izolován sloupcovou chromatografií, má v hmotnostním spektru pík 1820,0 v negativním a 1844,0 v pozitivní modu. Lze tedy usuzovat, že se jedná o ionty [M-H]<sup>-</sup> a [M+Na]<sup>+</sup>, které odpovídají derivátům vzniklým adicí vody na dvojnou vazbu (obrázek 5.1). Meziproductem může být jeden nebo více těchto derivátů.



**Obrázek 5.1 – Možné meziprodukty při oxidaci jodistanem sodným za katalýzy chloridem ruthenitým**

Při reakční době 2 hodiny byl poměr reaktantu a produktu zhruba 1:1 (podle TLC). Při prodloužení reakční doby (22 hodin) meziprodukt sice vymizí, ale dochází k částečné deacetylaci produktu. Tyto deacetylované deriváty se nepodařilo od požadovaného produktu oddělit, proto se i přes četné optimalizační kroky *per-O*-acetyl-3<sup>1</sup>-*O*-karboxymethyl- $\alpha$ -cyklodextrin (**17**) nepodařilo tímto způsobem připravit čistý.

Při ozonolýze *per-O*-acetyl-6<sup>1</sup>-*O*-allyl- $\alpha$ -cyklodextrinu (**12**) v acetonu při -78 °C a následné oxidaci Jonesovým činidlem při 0 °C vzniká směs produktů, ve které je přítomen i *per-O*-acetyl-6<sup>1</sup>-*O*-karboxymethyl- $\alpha$ -cyklodextrin (**18**), ale pouze zhruba v 30% výtěžku (podle TLC).

Vzhledem k neúspěšné přímé přípravě byla pro přípravu karboxymethyl derivátů zvolena oxidace jodem v zásaditém prostředí, kdy byla k roztoku *per-O*-acetyl-3<sup>1</sup>-*O*-formylmethyl- $\alpha$ -cyklodextrinu (**14**) ve směsi H<sub>2</sub>O : MeCN (1:1) ochlazenému na 0 °C přidána báze a roztok jodu v acetonitrilu. Reakční směs byla míchána při této teplotě 10 minut a reakce byla ukončena přidávkem thiosíranu sodného. Pokud byl jako báze použit NaHCO<sub>3</sub>, reakce neprobíhala, a pokud byl použit KOH reakce sice probíhala, ale docházelo ve velké míře k deacetylaci produktu.

Pro přípravu karboxymethyl derivátů byla úspěšná až oxidace formylmethyl derivátů Jonesovým činidlem ve výtěžcích, které jsou uvedeny v tabulce 5.3 a které odpovídají výtěžkům běžně dosahovaným v literatuře (viz. kapitola 3.3).

**Tabulka 5.3 Výtěžky oxidace Jonesovým činidlem**

Příprava sloučeniny:	Výtěžek
<b>16</b>	82 %
<b>17</b>	87 %
<b>18</b>	83 %

## 6. Závěr

V této diplomové práci byla připravena série monosubstituovaných derivátů  $\alpha$ -cyklodextrinu vhodných k dalšímu použití v organické syntéze.

Byly nalezeny vhodné experimentální podmínky pro přípravu peracetylovaných 2<sup>1</sup>-O-, 3<sup>1</sup>-O- a 6<sup>1</sup>-O-allyl a 2<sup>1</sup>-O- a 3<sup>1</sup>-O-cinnamyl derivátů  $\alpha$ -cyklodextrinu. Tyto deriváty byly taktéž charakterizovány pomocí 2D NMR technik, čímž byla určena poloha substituentu. Tímto byla připravena kompletní série 2<sup>1</sup>-O-, 3<sup>1</sup>-O- a 6<sup>1</sup>-O monosubstituovaných derivátů  $\alpha$ -cyklodextrinů. V případě cinnamylových derivátů se nepodařilo připravit 6<sup>1</sup>-O derivát, protože zde zřejmě dochází ke komplexaci cinnamyl bromidu do kavity  $\alpha$ -cyklodextrinu, přičemž nearomatický řetězec je natočen směrem k sekundárnímu okraji  $\alpha$ -cyklodextrinu. Tento fenomén byl pozorován i u  $\beta$ -cyklodextrinu<sup>13</sup>.

Postup pro přípravu 6<sup>1</sup>-O-allyl- $\alpha$ -cyklodextrinu nalezený v této diplomové práci je v naší pracovní skupině používán pro přípravu 6<sup>1</sup>-O-allyl a 6<sup>1</sup>-O-propargyl derivátů  $\beta$ -cyklodextrinu se skvělými výtěžky přesahujícími 25 %.

Ověření možnosti modifikace připravených látek bylo provedeno na 2<sup>1</sup>-O- a 6<sup>1</sup>-O-allyl- a 3<sup>1</sup>-O-cinnamyl- $\alpha$ -cyklodextrinu, jelikož u nich bylo z dvojic allyl – cinnamyl dosaženo nejvyšších výtěžků.

Bylo provedeno štěpení dvojně vazby reduktivní ozonolýzou a touto reakcí byl připraven 2<sup>1</sup>-O-, 3<sup>1</sup>-O- a 6<sup>1</sup>-O-formylmethyl- $\alpha$ -cyklodextrin.

Oxidativní štěpení dvojně vazby jodistanem sodným za katalýzy chloridem ruthenitým podle lit.<sup>13</sup> nebylo úspěšné, jelikož při této reakci docházelo k částečné deacetylaci. Oxidace formylmethyl derivátů na karboxymethyl deriváty jodem v zásaditém prostředí úspěšné rovněž nebylo. 2<sup>1</sup>-O-, 3<sup>1</sup>-O- a 6<sup>1</sup>-O-karboxymethyl- $\alpha$ -cyklodextrin se podařilo úspěšně připravit až oxidací Jonesovým činidlem.

## Seznam literatury

1. Hedges A. R.: *Chem. Rev.* **1998**, 98, 2035.
2. Szejtli J., Szente L.: *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2005**, 61, 115.
3. Hashimoto H.: *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **2002**, 44, 57.
4. Breslow R., Dong S. D.: *Chem. Rev.* **1998**, 98, 1997.
5. Singh M., Sharma R., Banerjee U. C.: *Biotechnol. Adv.* **2002**, 20, 341.
6. Diviš, M.: *Bakalářská práce*. Univerzita Karlova, Praha 2006.
7. Smrček, J.: *Bakalářská práce*. Univerzita Karlova, Praha 2005.
8. Pudilová, H.: *Bakalářská práce*. Univerzita Karlova, Praha 2003.
9. Beran, A.: *Diplomová práce*. Univerzita Karlova, Praha 2007.
10. Kusák, M.: *Diplomová práce*. Univerzita Karlova, Praha 2002.
11. Jindrich J., Pitha J., Lindberg B., Seffers P., Harata K.: *Carbohydr. Res.* **1995**, 266, 75.
12. Hanessian S., Benalil A., Laferriere C.: *J. Org. Chem.* **1995**, 60, 4786.
13. Jindrich J., Tislerova I.: *J. Org. Chem.* **2005**, 70, 9054.
14. Villiers A.: *Compt. Rend.* **1891**, 112, 536.
15. Schardinger F.: *Z. Unters. Nahr. Genussm.* **1903**, 6, 865.
16. Szejtli J.: *Chem. Rev.* **1998**, 98, 1743.
17. Nakagawa T., Ueno K., Kashiwa M., Watanabe J.: *Tetrahedron Lett.* **1994**, 35, 1921.
18. Terada Y., Yanase M., Takata H., Takaha T., Okada S.: *J. Biol. Chem.* **1997**, 272, 15729.
19. Easton C. J., Linclon S. F.: *Modified Cyclodextrins: Scaffolds and Templates for Supramolecular Chemistry*, Imperial College Press, London 1999.
20. Li S., Purdy W. C.: *Chem. Rev.* **1992**, 92, 1457.
21. Rekharsky M. V., Inoue Y.: *Chem. Rev.* **1998**, 98, 1875.
22. Rekharsky M. V., Inoue Y.: *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 813.
23. Lebrilla C. B.: *Acc. Chem. Res.* **2001**, 34, 653.

24. Juan Y., Wang Y. L., Rassat A., Zhang Y. M., Sinay P.: *Tetrahedron* **2004**, *60*, 12163.
25. Funasaki N., Ishikawa S., Neya S.: *J. Phys. Chem. B* **2004**, *108*, 9593.
26. Shen X. H., Belletete M., Durocher G.: *J. Phys. Chem. B* **1998**, *102*, 1877.
27. Liu Y., Chen G. S., Zhang H. Y., Song H. B., Ding F.: *Carbohydr. Res.* **2004**, *339*, 1649.
28. Tonkova A.: *Enzyme Microb. Technol.* **1998**, *22*, 678.
29. Abelyan V. A., Balayan A. M., Manukyan L. S., Afyan K. B., Meliksetyan V. S., Andreasyan N. A., Markosyan A. A.: *Appl. Biochem. Microbiol.* **2002**, *38*, 527.
30. Grull D., Stifter U.: *US Patent* **2001**, 6 235 505.
31. Choi J. Y., Lee J. H., Choi K. H., Kwon I. B.: *US Patent* **1996**, 5 492 829.
32. Shieh W. J., Hedges A. R.: *US Patent* **1994**, 5 326 701.
33. Karube I., Yoshida N.: *US Patent* **1996**, 5 556 775.
34. Schulz G. E., Parsiegla G.: *US Patent* **2002**, 6 472 192.
35. Shieh W.: *US Patent* **1996**, 5 550 222.
36. Schulz G. E., Candussio A.: *US Patent* **1995**, 5 474 917.
37. Khan A. R., Forgo P., Stine K. J., D'Souza V. T.: *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 1977.
38. Rong D., D'Souza V. T.: *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 4275.
39. Leydet A., Moullet C., Roque J. P., Witvrouw M., Pannecouque C., Andrei G., Snoeck R., Neyts J., Schols D., De Clercq E.: *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 4927.
40. Ni J. H., Singh S., Wang L. X.: *Carbohydr. Res.* **2002**, *337*, 217.
41. Wenz G., Hofler T.: *Carbohydr. Res.* **1999**, *322*, 153.
42. Smith S. H., Forrest S. M., Williams D. C., Cabell M. F., Acquavella M. F., Abelt C. J.: *Carbohydr. Res.* **1992**, *230*, 289.
43. Masurier N., Estour F. O., Lefvre B., Brasme B., Masson P., Lafont O.: *Carbohydr. Res.* **2006**, *341*, 935.
44. Xiao Y. M., Wu Q., Wang N., Lin X. F.: *Carbohydr. Res.* **2004**, *339*, 1279.
45. Tojima T., Katsura H., Han S. M., Tanida F., Nishi N., Tokura S., Sakairi N.: *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **1998**, *36*, 1965.



46. Tojima T., Katsura H., Nishiki M., Nishi N., Tokura S., Sakairi N.: *Carbohydr. Polym.* **1999**, *40*, 17.
47. Dignam C. F., Randall L. A., Blacken R. D., Cunningham P. R., Lester S. K. G., Brown M. J., French S. C., Aniagyei S. E., Wenzel T. J.: *Tetrahedron Asymm.* **2006**, *17*, 1199.
48. Tian S. P., Forgo P., DSouza V. T.: *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 8309.
49. Bai Z. W., Ching C. B., Ng S. C.: *Chromatographia* **2003**, *58*, 43.
50. Maksimov A. L., Sakharov D. A., Filippova T. Y., Zhuchkova A. Y., Karakhanov E. A.: *Ind. Eng. Chem. Res.* **2005**, *44*, 8644.
51. Tian S. P., Zhu H. H., Forgo P., D'Souza V. T.: *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 2624.
52. Fradi I., Servais A. C., Pedrini M., Chiap P., Ivanyi R., Crommen J., Fillet M.: *Electrophoresis* **2006**, *27*, 3434.
53. Tang W. H., Muderawan I. W., Ong T. T., Ng S. C.: *Anal. Chim. Acta* **2005**, *546*, 119.
54. Gahm K. H., Stalcup A. M.: *Anal. Chem.* **1995**, *67*, 19.
55. Ivanyi R., Jicsinszky L., Juvancz Z.: *Electrophoresis* **2001**, *22*, 3232.
56. Lai X. H., Ng S. C.: *J. Chromatogr. A* **2004**, *1059*, 53.
57. Lu Z. D., Lu C. S., Ren X. M., Meng Q. J.: *J. Organomet. Chem.* **2006**, *691*, 5895.
58. Liu Y., Yang Y. W., Chen Y.: *Chem. Commun.* **2005**, 4208.
59. Trojan T., Jindrich J., Vrkoslav V., Jelinek I., Dian J.: *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **2007**, *57*, 343.
60. Szejtli J.: *Starch-Starke* **2003**, *55*, 191.
61. Buschmann H. J., Knittel D., Schollmeyer E.: *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **2001**, *40*, 169.
62. Buskas T., Soderberg E., Konradsson P., Fraser-Reid B.: *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 958.
63. Ghosh M., Dulina R. G., Kakarla R., Sofia M. J.: *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 8387.
64. Kajihara Y., Kamiyama D., Yamamoto N., Sakakibara T., Izumi M., Hashimoto H.: *Carbohydr. Res.* **2004**, *339*, 1545.
65. Hezký P.: Nепублиkované výsledky.
66. Gan Y. H., Wang P. Z., Spencer T. A.: *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 9487.

67. Kinoshita M., Morioka M., Taniguchi M., Shimizu J.: *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1987**, *60*, 4005.
68. Liu X. J., Xie W., Huang R. H.: *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 3775.
69. Wagner B., Heneghan M., Schnabel G., Ernst B.: *Synlett* **2003**, 1303.
70. Hanessian S., Benalil A., Simard M., Belangergariépy F.: *Tetrahedron* **1995**, *51*, 10149.
71. Friebolin H.: *Basic One- and Two-Dimensional NMR Spectroscopy*, WILEY-VCH Verlag GmbH, Weinheim 1998.
72. Trojan T.: *Diplomová práce*. Univerzita Karlova, Praha 2005.

# Syntéza monosubstituovaných derivátů cyklodextrinů

## Abstrakt

Tato diplomová práce je zaměřena na přípravu monoderivátů  $\alpha$ -cyklodextrinu jako prekurzorů pro další syntézu v oblasti chemie cyklodextrinů. Velmi výhodnými skupinami pro tuto monoderivatizaci jsou allylová nebo cinnamylová skupina, jelikož obsahují nearomatickou dvojnou vazbu, která je široce modifikovatelná. V rámci této diplomové práce byly připraveny peracetylované 2<sup>1</sup>-*O*-, 3<sup>1</sup>-*O*- a 6<sup>1</sup>-*O*-allyl a 2<sup>1</sup>-*O*- a 3<sup>1</sup>-*O*-cinnamyl deriváty  $\alpha$ -cyklodextrinu ve výtěžcích 3,7 – 13 %. Poloha allylové a cinnamylové skupiny byla určena pomocí 2D NMR technik. Možnost derivatizace allyl a cinnamyl derivátů byla ověřena reduktivní ozonolýzou peracetylovaných 2<sup>1</sup>-*O*- a 6<sup>1</sup>-*O*-allyl a 3<sup>1</sup>-*O*-cinnamyl derivátů za vzniku peracetylovaných 2<sup>1</sup>-*O*-, 3<sup>1</sup>-*O*- a 6<sup>1</sup>-*O*-formylmethyl derivátů. Tyto aldehydy byly oxidovány Jonesovým činidlem za vzniku peracetylovaných 2<sup>1</sup>-*O*-, 3<sup>1</sup>-*O*- a 6<sup>1</sup>-*O*-karboxymethyl derivátů.

**Klíčová slova:** cyklodextriny, monosubstituce, allyl, cinnamyl, formylmethyl, karboxymethyl

# Synthesis of monosubstituted derivatives of cyclodextrins

## Abstract

This thesis is focused on a preparation of a set of exactly defined monosubstituted derivatives of  $\alpha$ -CD for subsequent utilization in organic synthesis. Cinnamyl or allyl group is very suitable for the preparation of monosubstituted derivatives of CD, because these groups contain nonaromatic double bond, which can be widely modified. Peracetylated 2<sup>1</sup>-*O*-, 3<sup>1</sup>-*O*-, and 6<sup>1</sup>-*O*-allyl and 2<sup>1</sup>-*O*- and 3<sup>1</sup>-*O*-cinnamyl derivatives of  $\alpha$ -CD mentioned in this thesis were prepared in yields 3.7 – 13 %. Position of allyl and cinnamyl group was determined by 2D NMR techniques. Possibility of derivatization of allyl and cinnamyl derivatives was exemplified by transformation of peracetylated 2<sup>1</sup>-*O*-, and 6<sup>1</sup>-*O*-allyl and 3<sup>1</sup>-*O*-cinnamyl derivatives to peracetylated 2<sup>1</sup>-*O*-, 3<sup>1</sup>-*O*-, and 6<sup>1</sup>-*O*-formylmethyl derivatives via reductive ozonolysis. These aldehydes were oxidized by Jones reagent to 2<sup>1</sup>-*O*-, 3<sup>1</sup>-*O*-, and 6<sup>1</sup>-*O*-carboxymethyl derivatives.

**Keywords:** cyclodextrins, monosubstitution, allyl, cinnamyl, formylmethyl, carboxymethyl