

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Katedra organické a jaderné chemie

SYNTÉZA REGIOSELEKTIVNĚ MONOSUBSTITUOVANÉHO
DERIVÁTU CYKLODEXTRINU VHODNÉHO PRO NAVÁZÁNÍ
NA PEVNOU FÁZI

Bakalářská práce

Klinická a toxikologická analýza

Tereza Šálová


Praha, červen 2006

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vypracovala samostatně, pod vedením školitele RNDr. Jindřicha Jindřicha, a že jsem všechny použité prameny řádně citovala.

Jsem si vědoma toho, že případné využití výsledků, získaných v této práci, mimo Univerzitu Karlovu v Praze je možné pouze po písemném souhlasu této univerzity.

V Praze dne.....6.12.2016.....



.....

podpis

Obsah

Obsah	3
Použité zkratky.....	4
1. Cíl práce	5
2. Úvod.....	6
3. Přehled problematiky	7
3.1 Struktura a vlastnosti cyklodextrinů	7
3.1.1 Struktura cyklodextrinů.....	8
3.1.2 Tvorba inkluzních komplexů	9
3.2. Deriváty cyklodextrinů	10
3.2.1 Monosubstituované deriváty	10
3.2.2 Deriváty cyklodextrinů se sensorovými vlastnostmi	11
3.3. Sensorová analýza.....	11
3.3.1 Porézní křemík	12
4. Metodika práce, výsledky a diskuse	13
4.1 Koncepce syntézy	13
4.2 Syntéza cyklodextrinového derivátu vhodného pro navázání na pevnou fázi	14
4.2.1 Regioselektivní monosubstituce cyklodextrinu	14
4.2.2 Peracetylace a oxidace	15
4.2.3 Spojení CD-derivátu s 3-aminopropyltrimethoxysilanem	16
4.3 Syntéza raménka	17
5. Experimentální část.....	19
5.1 Použité postupy, chemikálie	19
5.2 Pracovní postupy.....	20
6. Závěr	23
7. Poděkování.....	24
8. Seznam použité literatury.....	25

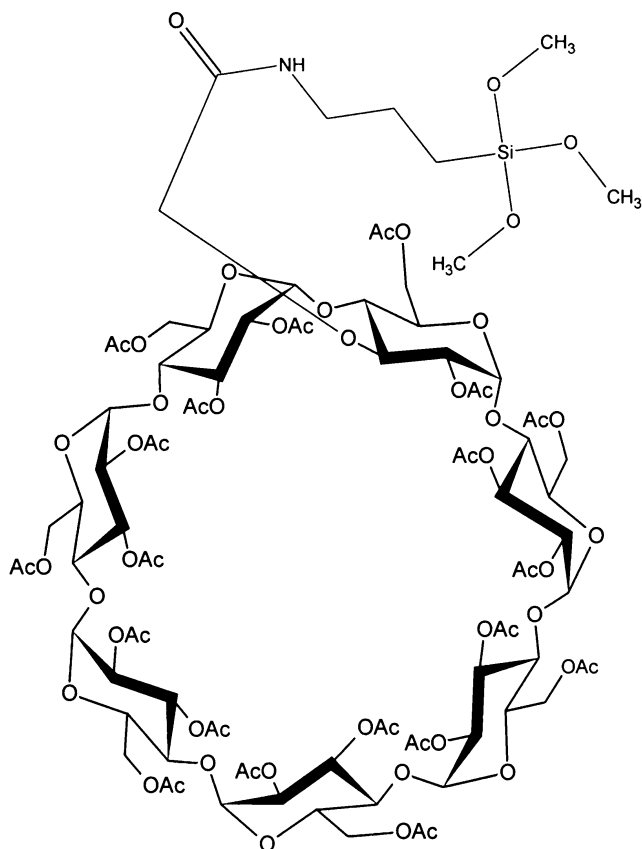
Použité zkratky

Ac	acetyl
CD	cyklodextrin
cinnamyl	3-fenyl-prop-2-enyl
DCC	<i>N,N'</i> -dicyklohexylkarbodiimid
DCM	dichlormethan
DMAP·HCl	4-dimethylaminopiridin hydrochlorid
DMF	<i>N,N</i> -dimethylformamid
DMSO	dimethylsulfoxid
Et	ethyl
HOBt	1-hydroxybenztriazol
NMR	nukleární magnetická rezonance
SAMs	self-assembled monolayers
TLC	thin layer chromatography
tosyl	<i>p</i> -toluensulfonyl

1. Cíl práce

Tato práce je součástí projektu, který směřuje k přípravě chemosenzorů založených na cyklodextrinech vázaných na pevnou fázi. Cílem mé práce bylo připravit regioselektivně monosubstituovaný cyklodextrinový derivát (viz obr. 1) vhodný k navázání na porézní křemík nebo na sklo prostřednictvím trimethoxysilanové skupiny. Jako výchozí látky syntézy byly použity 3-aminopropyltrimethoxysilan a β -cyklodextrin.

Druhým cílem bylo vypracovat metodiku přípravy ramének proměnlivé délky založených na oligoethylenglykolech, vhodných k prodloužení vzdálenosti cyklodextrinového derivátu od pevné fáze. Jako výchozí látka syntézy byl zvolen diethylenglykol, který je ekonomicky výhodný a snadno dostupný.



Obr. 1. Struktura cílového cyklodextrinového derivátu

2. Úvod

Cyklodextriny jsou cyklické oligosacharidy. Patří do skupiny přírodních látek vznikajících enzymatickou degradací škrobu. Enzymy katalyzující tento proces se nazývají cyklodextrinové glykosyltransferázy a jsou přítomné v bakteriích *Baccillus macerans*, *Baccillus megaterium* a *Klebsiella oxytoca*¹.

Nejdůležitější a nejvíce využívaná vlastnost těchto látek je tvorba inkluzních komplexů s řadou organických i anorganických látek lipofilní povahy, vhodné struktury a velikosti ve vodném prostředí. Toto chování je způsobeno tvarem a strukturou molekuly cyklodextrinu, která má tvar komolého kužele s dutinou hydrofóbního charakteru.

Díky nízké toxicitě a biodegradabilitě jsou využívány v potravinářském nebo kosmetickém průmyslu. Využití nacházejí také v průmyslu farmaceutickém, například k zapouzdření léčiv, kdy zvyšují jejich rozpustnost nebo slouží ke kontrolovatelnému uvolňování léčiva.

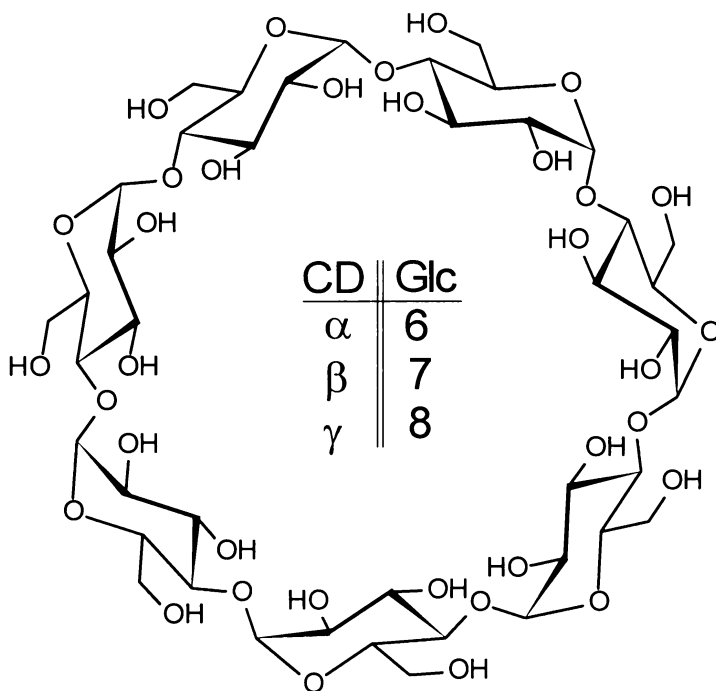
Dále mohou být použity k detekci iontů a malých organických molekul, založené na slabých nekovalentních interakcích mezi receptorem a detekovaným analytem a využity tak v chemosenzorických aplikacích. Ke sledování přítomnosti hostující molekuly stanovené látky může být cyklodextrinový derivát navázán pomocí vhodného raménka na pevnou fázi, což umožňuje opakované stanovení sledovaného analytu.

Právě syntéza cyklodextrinového derivátu vhodného pro navázání na pevnou fázi je cílem této práce.

3. Přehled problematiky

3.1 Struktura a vlastnosti cyklodextrinů

Cyklodextriny (CD), nazývané také jako cykloglukany, cykloamylosy, cykloglukopyranosy nebo Schardingerovy dextriny, byly poprvé popsány v roce 1891 Villiersem² při studiu produktů metabolismu škrobu bakterie *Bacillus amylobacter*. Jejich cyklická struktura byla objasněna o 45 let později Freudenbergem³.



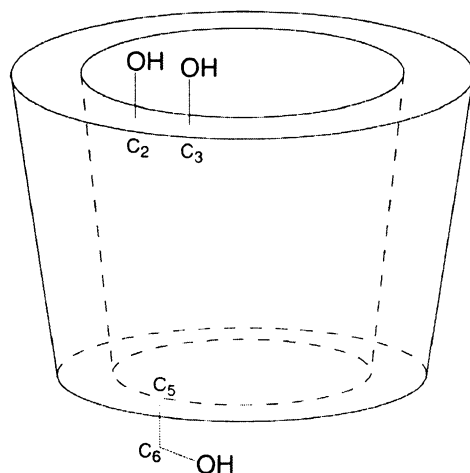
Obr. 2. Struktura molekuly cyklodextrinu

3.1.1 Struktura cyklodextrinů

Cyklodextriny jsou cyklické oligomery α -D-glukopyranosy. Její glukopyranosové jednotky (Glc) jsou spojeny α -(1 \rightarrow 4)-O-glykosidickou vazbou (viz obr. 2). Nejčastěji používané molekuly cyklodextrinů jsou tvořeny 6, 7 nebo 8 glukosovými jednotkami. Podle počtu těchto jednotek se označují jako α -, β - a γ -cyklodextriny. Méně běžné jsou cyklodextriny s počtem jednotek 5, 9 a více.

Rozmístění D-glukopyranosových jednotek tvoří kónickou strukturu, přičemž jejich C-H a C-O-C vazby jsou orientovány dovnitř a hydroxylové skupiny umístěné na okrajích kónusu jsou orientovány ven z molekuly. Proto je kavita CD relativně hydrofobní a vnější část hydrofilní. Z tohoto důvodu jsou cyklodextriny rozpustné ve vodě a v některých dalších polárních rozpouštědlech, jako je například DMF, DMSO nebo pyridin.

Sekundární hydroxylové skupiny na uhlících C-2 a C-3 jsou situovány na širší straně cyklodextrinové molekuly, zatímco primární hydroxylové skupiny na uhlících C-6 se nachází na užší straně molekuly a mají schopnost rotovat kolem vazby mezi uhlíky C-5 a C-6 (viz obr. 3). Za normálních okolností jsou však orientovány do středu makrocyclu.



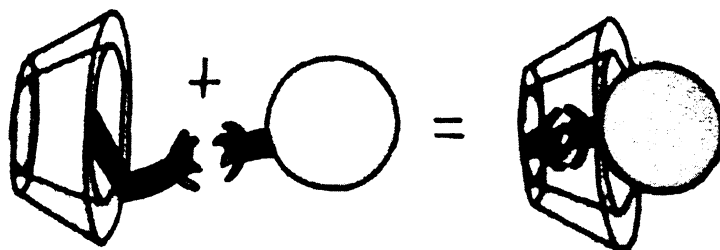
Obr. 3. Schématický model molekuly cyklodextrinu

Hydroxylová skupina v poloze C-2 jedné glukosové jednotky tvoří vodíkovou vazbu s hydroxylem na uhlíku C-3 vedlejší glukosové jednotky. Vzniká tak pás vodíkových můstků, který přispívá ke stabilitě konformace molekuly a ovlivňuje její rozpustnost. Tyto vodíkové vazby jsou nejsilnější u β -CD a přispívají tak k jeho rigiditě a k jeho nižší rozpustnosti. Díky těmto vlastnostem a nízké ceně je nejvíce využíván.

3.1.2 Tvorba inkluzních komplexů

Cyklodextriny mají schopnost tvořit komplexy s řadou látek. Interakce typu hostitel-host (viz obr. 4) vede k pohlcení hostující molekuly kavitou oligosacharidu. Řídícími silami pro komplexaci jsou nekovalentní vazby: van der Waalsovy síly, vodíkové vazby, hydrofobní interakce a energetická stabilizace, založená na samovolném přechodu do energeticky výhodného stavu výměnou molekul vody za nepolární organické látky díky méně polární dutině cyklodextrinu. Velikost dutiny, která je dána počtem glukosových jednotek v molekule cyklodextrinu, určuje nejvhodnější velikost komplexované molekuly a tím i sílu komplexu:

- α -CD tvoří nejsilnější komplexy s látkami s alifatickým řetězcem
- β -CD s malými aromatickými sloučeninami
- γ -CD s většími molekulami



Obr. 4. Tvorba inkluzního komplexu

Z termodynamických dat vyplývá, že vznik inkluzního komplexu způsobuje nezanedbatelné změny v konformaci molekuly, zahrnující také přeuspořádání původní sítě vodíkových můstků v molekule cyklodextrinu⁴. Vznik inkluzního komplexu tak má velký vliv na fyzikálně chemické vlastnosti cyklodextrinu i komplexované molekuly¹. Ve většině případů se snižuje jejich reaktivita, v jiných případech se naopak zvyšuje a cyklodextriny pak mohou sloužit jako katalyzátory chemické reakce⁵. Při komplexaci se mění jejich spektrální vlastnosti, snižuje se difúze komplexované molekuly a mění se jejich rozpustnost.

Díky schopnosti cyklodextrinů tvořit inkluzní komplexy nachází uplatnění i v mnoha dalších aplikacích, kde mohou sloužit jako nosiče či stabilizátory účinných látek.

3.2. Deriváty cyklodextrinů

Deriváty cyklodextrinů se připravují především modifikací hydroxylových skupin na uhlících C-2, C-3 a C-6. Díky nukleofilnímu charakteru hydroxylových skupin se při tvorbě derivátů využívá elektrofilních činidel, jako jsou činidla acylační nebo alkylační.

3.2.1 Monosubstituované deriváty

Při monomodifikaci cyklodextrinů dochází k reakci pouze jedné hydroxylové skupiny. Selektivní syntéza 2¹-*O*-, 3¹-*O*- nebo 6¹-*O*-monosubstituovaných derivátů je díky množství hydroxylových skupin v molekule obtížná. Všechny tyto skupiny mohou reagovat s přístupujícím činidlem.

Na každé glukosové jednotce cyklodextrinu jsou přítomny tři typy hydroxylových skupin. Nejreaktivnější skupinou je hydroxylová skupina v poloze 6, která je nejbazičtější a nejvíce nukleofilní. Hydroxyl v poloze 2 je nejkyselejší a hydroxylová skupina v poloze 3 cyklodextrinové molekuly je stericky nejvíce bráněna a proto nejméně reaktivní⁶. Díky větší reaktivitě hydroxylových skupin v polohách 2 a 6 je přímá reakce v poloze 3 nejobtížnější. K úspěšné modifikaci polohy 3 vede výběr takového elektrofilního činidla, které vytvoří s molekulou cyklodextrinu inkluzní komplex a přitom bude reaktivní skupina tohoto činidla orientována k této hydroxylové skupině⁷.

3.2.2 Deriváty cyklodextrinů se sensorovými vlastnostmi

Funkční skupina kovalentně vázaná na cyklodextrin může tvořit intramolekulární inkluzní komplex. Je-li v roztoku přítomna jiná hostující molekula, dojde k vytvoření rovnováhy komplexů intramolekulárního, intermolekulárního a jejich kombinací. Toho lze využít v případě, že funkční skupina je schopna převádět informaci o novém rovnovážném stavu do měřitelného signálu a působit tedy jako transducer. Poté analýzou měřitelného signálu sledované směsi získáme informace o hostujících molekulách. Takové studie byly prováděny například s cyklodextrinovými deriváty s dansylovou⁸, pyrenovou⁹, fluoresceinovou¹⁰ nebo naftalenovou skupinou¹¹.

3.3. Sensorová analýza

Sensorová analýza je založena na interakci receptoru s analytem, která je pomocí transduceru (převodníku) monitorována. Výsledkem tohoto procesu je analyticky měřitelný signál.

Nejcitlivějšími transducery jsou fluorofory. Fluorofor je obvykle připojen kovalentní vazbou k rozpoznávací receptorové části. Detekce substrátu bývá obvykle založena na zhášení fluorescence, nebo naopak na výrazném zvýšení fluorescence vazbou substrátu.

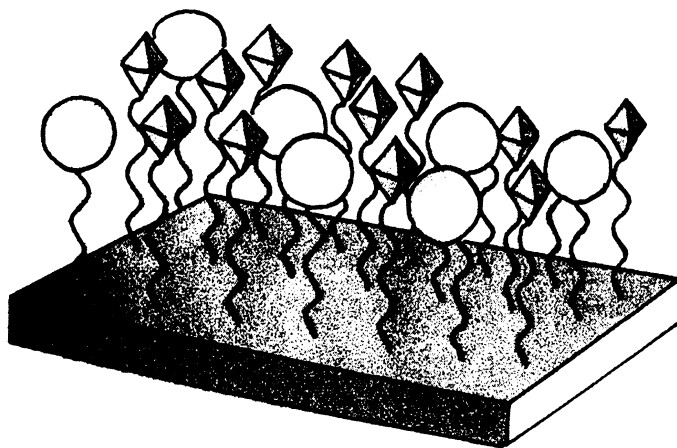
Základním přínosem sensorové analýzy je, že sensorové uspořádání umožňuje opakované stanovení sledovaného analytu díky reverzibilní tvorbě nekovalentního komplexu s analytem a možnosti prosté regenerace receptoru. Plošné omezení systému, jako je například metoda SAMs¹², usnadňuje proces sensorového snímání. Jedna z nových metodologií¹³ (viz obr.5) na rozdíl od jiných, umožňuje vazbu fluoroforu a receptoru na pevný podklad odděleně, jako samostatné molekuly. Příprava sensorových sad se tak značně zjednodušuje od sensorových sad, připravovaných vázáním molekul obsahujících kovalentně vázající fluorofor – receptor.

Sensorová analýza je vedle uplatnění v klinické praxi stále více využívána při kontrole výrobních procesů, nejčastěji v potravinářském průmyslu a monitorování znečištění životního prostředí, především znečištění pitné vody.

3.3.1 Porézní křemík

Porézní křemík po ozáření při laboratorní teplotě vykazuje fotoluminiscenci ve viditelné oblasti¹⁴. Ukotvením cyklodextrinu na porézní křemík se jeho povrch stabilizuje a vzhledem ke komplexačním vlastnostem cyklodextrinu je možné při interakci s analytem pozorovat specifickou spektrální odezvu. Ta může být ovlivněna prostorovou orientací cyklodextrinu, délkou připojovacího raménka a způsobem jeho ukotvení.

Jedna z látek, která se využívá k vázání molekul na pevný podklad je 3-aminopropyltrimethoxysilan. Trimethoxysilanová skupina se používá ke kovalentnímu vázání na pevný povrch obsahující Si-OH vazby, například silikagel, sklo nebo oxidovaný porézní křemík. Aminová skupina naopak umožňuje kovalentně vázat molekuly pomocí snadno připravitelné amidové vazby.



Obr. 5. Kovalentní vázání fluoroforových a receptorových molekul na pevný podklad odděleně, jako samostatné molekuly

4. Metodika práce, výsledky a diskuse

4.1 Koncepce syntézy

Pro syntézu cyklodextrinového derivátu byly použity jako výchozí látky β -cyklodextrin a 3-aminopropyltrimethoxysilan. Ke spojení obou látek byla použita amidová vazba aminové skupiny přítomné ve výchozí látce 3-aminopropyltrimethoxysilanu s 3-*O*-karboxymethylovým derivátem β -cyklodextrinu.

Syntéza 3-*O*-karboxymethylového derivátu β -cyklodextrinu byla provedena v následujících krocích¹⁵:

- monomodifikace hydroxylové skupiny v poloze 3 cinnamylbromidem
- peracetylace (ochrana hydroxylových skupin)
- oxidace (zavedení karboxylové skupiny)

Nakonec byl tento derivát β -cyklodextrinu spojen amidovou vazbou s 3-aminopropyltrimethoxysilanem za využití DCC jako reagentu¹⁶.

Dále byla provedena syntéza raménka vhodného k prodloužení postranního řetězce dosud připraveného cyklodextrinového derivátu, které bude do budoucna využito k modifikaci chemosenzorických vlastností tohoto derivátu. Metodika syntézy byla vypracována na oligoethylenglykolu, který je ekonomicky výhodný a tedy snadno dostupný. Jako výchozí látka pro syntézu byl vybrán diethylenglykol. Molekula diethylenglykolu musí být na svých koncích opatřena vhodnými skupinami, které umožní připojení 3-aminopropyltrimethoxysilanu a následně cyklodextrinového derivátu. Jako vhodné skupiny byly zvoleny karboxylová skupina a azidová skupina, kterou lze v jednom kroku převést na aminovou skupinu a které tak umožní připojení obou látek amidovou vazbou. Vlastní syntéza raménka byla provedena následujícími reakcemi:

- tosylace jednoho konce molekuly
- nahrazení tosyly azidem
- reakce alkoholátu s *t*-butylbromoctovou kyselinou (prodloužení raménka)
- hydrolýza *t*-butylesteru za vzniku karboxylové kyseliny

Produkty jednotlivých reakcí byly separovány pomocí sloupcové chromatografie na silikagelu. Struktura a čistota látek byla hodnocena pomocí hmotnostních spekter a NMR spekter. Průběh reakcí byl sledován pomocí TLC.

4.2 Syntéza cyclodextrinového derivátu vhodného pro navázání na pevnou fázi

4.2.1 Regioselektivní monosubstituce cyclodextrinu

K monomodifikaci β -CD v poloze 3 byl jako elektrofilní činidlo použit (*E*)-cinnamylbromid. Ten se ve vodném prostředí komplexuje do hydrofobní dutiny β -CD tak, že reaktivní skupina molekuly činidla (uhlík nesoucí atom bromu) je orientována k poloze 3 cyclodextrinu. Tato strategie využívající vzniku inkluzního komplexu mezi β -CD a činidlem použitým k monomodifikaci polohy 3 cyclodextrinu byla v literatuře¹⁵ popsána jako nejschůdnější a nejúspěšnější. Další výhodou použití tohoto činidla je přítomnost dvojné vazby allylového typu, kterou lze vhodným oxidativním štěpením převést až na karboxylovou¹⁵ kyselinu, která je pak využita k připojení 3-aminopropyltrimethoxysilanu amidovou vazbou.

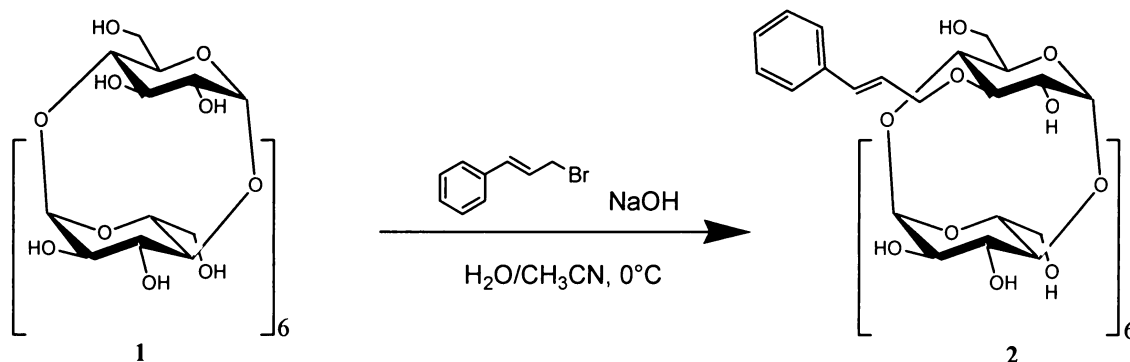


Schéma 1. Reakce β -CD s cinnamylbromidem

Reakce β -CD **1** s (*E*)-cinnamylbromidem byla provedena ve vodném roztoku NaOH (viz schéma 1). Pro lepší rozpuštění β -CD byla zvolena směs voda-acetonitril v poměru 3:1. Substituované produkty byly od nezreagovaného β -CD odděleny extrakcí horkým methanolem. Následně byla směs čištěna chromatograficky na sloupci silikagelu pro

odstranění disubstituovaných derivátů CD. K odstranění 2¹-O a 6¹-O-derivátů CD byla použita rekrystalizace z vody. Vyloučené krystaly produktu byly odfiltrovány a usušeny.

4.2.2 Peracetylace a oxidace

V druhém kroku byl připravený 3¹-O-cinnamyl-β-CD **2** peracetylován pomocí Ac₂O v pyridinu (viz schéma 2). Tato reakce slouží k ochraně zbývajících volných hydroxylových skupin před oxidací, která následuje v dalším kroku. Produkt **3** byl čištěn chromatograficky na sloupci silikagelu v soustavě chloroform, methanol v poměru 10:1.

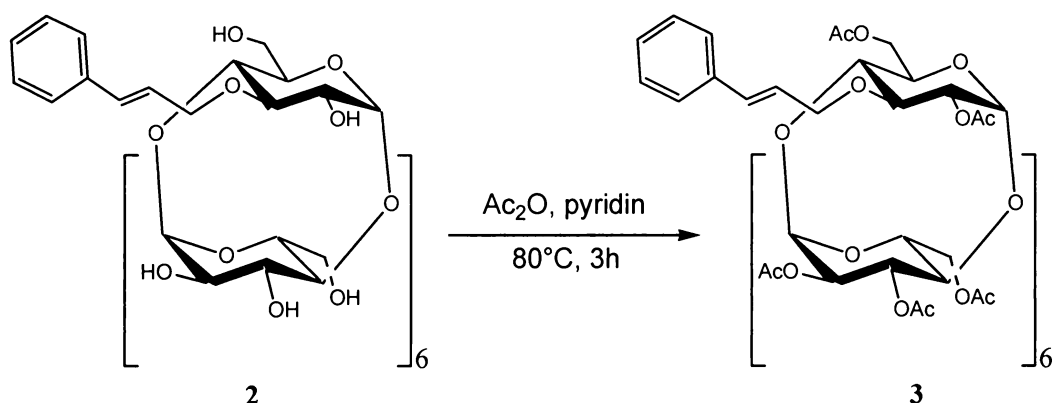


Schéma 2. Peracetylace 3¹-O-cinnamyl-β-CD

Následně byla dvojná vazba allylového typu v cinnamylovém zbytku oxidativním štěpením převedena na karboxylovou skupinu (viz schéma 3). Jako oxidační činidlo byl použit NaIO₄ v přítomnosti RuCl₃. Po zreagování výchozí látky **3** byl produkt **4** z reakční směsi extrahován chloroformem. Odpařený extrakt byl čištěn na sloupci silikagelu v soustavě chloroform, methanol s gradientem v poměru 20:1 až 5:1.

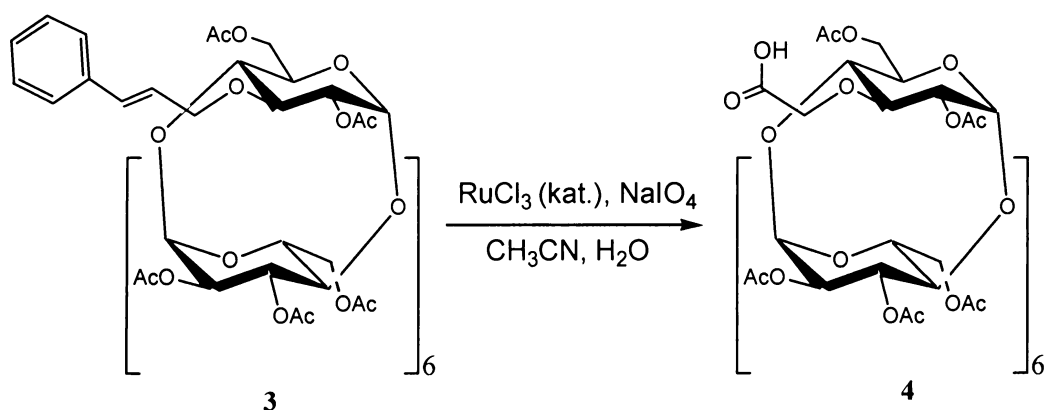


Schéma 3. Oxidativní štěpení dvojně vazby 3-O-cinnamylového derivátu β-CD

4.2.3 Spojení CD-derivátu s 3-aminopropyltrimethoxysilanem

Reakce je založena na tvorbě amidové vazby mezi karboxylovou a aminovou skupinou (viz schéma 4). Ke spojení byla zvolena metoda standardně používaná při syntéze peptidů a použita úspěšně v syntéze podobných derivátů cyklodextrinu¹⁶. Jako katalyzátor byl použit DMAP·HCl, kondenzačním činidlem reakce byl DCC. Reakce byla prováděna v běžném nepolárním rozpouštědle CH₂Cl₂. Získaný produkt **6** byl přečištěn chromatograficky na sloupci silikagelu v mobilní fázi ethylacetátu.

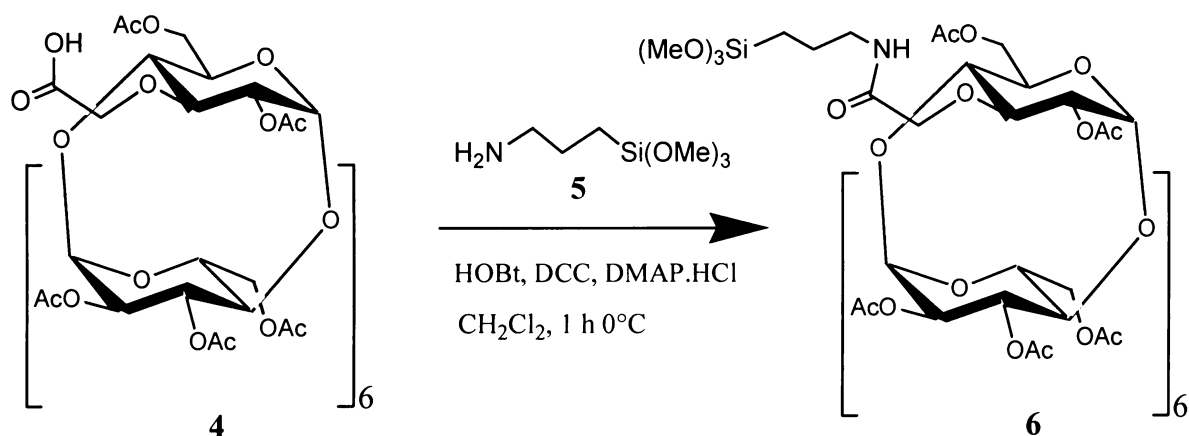


Schéma 5. Tvorba amidové vazby mezi 3-*O*-karboxymethylenovým derivátem β-CD a 3-aminopropyltrimethoxysilanem

4.3 Syntéza raménka

Jako výchozí látka pro syntézu raménka byl vybrán diethylenglykol **7**, který díky přítomnosti kyslíkových atomů v uhlíkaté kostře je méně hydrofobní, než čistě uhlíkatý řetězec, a méně se komplexuje do dutiny β -CD než fluorofor. Hydroxylová skupina na konci řetězce je vhodná pro reakci s tosylchloridem (viz schéma 5)¹⁷. Získaná látka **8**, bezbarvá olejovitá kapalina, byla čištěna chromatograficky v soustavě dichlormethan, methanol v poměru 50:1.

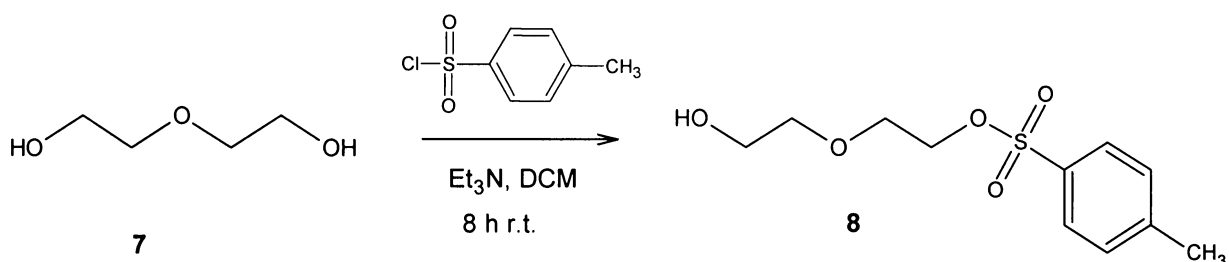


Schéma 5. Tosylace diethylenglykolu

Dalším krokem byla náhrada tosylové skupiny za azid (viz schéma 6)¹⁶. K reakci byl použit přebytek azidu sodného, aby zreagovala všechna výchozí látka **8**. Reakční směs byla následně extrahována diethyletherem a získaný produkt **9**, bezbarvá olejovitá kapalina, byl čištěn chromatograficky na sloupci silikagelu v soustavě chloroform, methanol s gradientem v poměru 40:1 až 20:1.

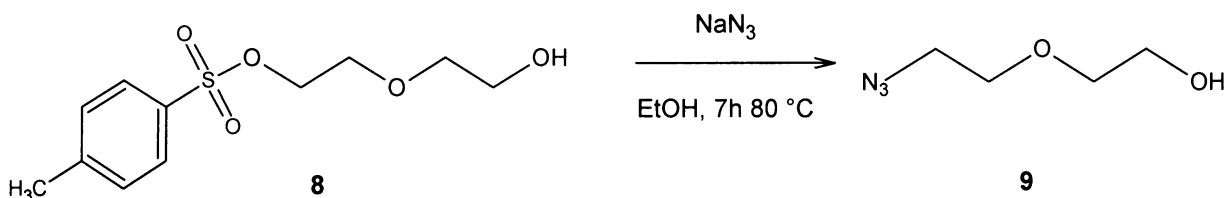


Schéma 6. Substituce tosyly azidem

5. Experimentální část

5.1 Použité postupy, chemikálie

NMR spektra byla měřena na přístroji Varian ^{UNITY} INOVA 400 při frekvenci 399,95 MHz (¹H). Jako rozpouštědlo byl používán CDCl₃. Chemické posuny (δ-stupnice) jsou uvedeny v ppm.

ESI hmotnostní spektra byla změřena v pozitivním módu na přístroji Esquire 3000 firmy Bruker. Vzorky byly rozpuštěny v methanolu nebo chloroformu.

Tenkvrstvá chromatografie (TLC) byla prováděna na silikagelových deskách DC-Alufolien Kieselgel 60 F₂₅₄ (Merk, Darmstadt, Germany). K vyvíjení byly použity následující soustavy:

- S₁: n-propanol, voda, ethylacetát, konc. amoniak v poměru 6:3:1:1
- S₂: chloroform, methanol v poměru 10:1
- S₃: dichlormethan, methanol v poměru 50:1
- S₄: chloroform, methanol v poměru 3:1
- S₅: ethylacetát

Detekce látek na TLC byla prováděna karbonizací, ponořením do 50% H₂SO₄ a následným zahřátím, pro látky obsahující cyklodextrin. Při přípravě látky 8 byla k detekci použita UV-lampa, u látek ostatních byl použit vodný roztok KMnO₄.

Pro sloupcovou chromatografii byl používán silikagel Fluka Silica gel 60 (40-63 μm). Rozpouštědla byla odpařována na rotační vakuové odparce při teplotách do 50 °C. Produkty jednotlivých reakcí byly sušeny na olejové pumpě za pomoci vakua.

5.2 Pracovní postupy

3¹-O-Cinnamyl-β-CD (2)¹⁵. β-CD **1** (20 g, 16,1 mmol) byl rozpuštěn ve směsi vody (540 ml) a acetonitrilu (180 ml). Reakční směs byla ochlazena na 0 °C a následně byl přidán roztok cinnamylbromidu (3,51 g, 18 mmol) v acetonitrilu (10,8 ml). Po 5 minutách míchání a chlazení byl přidán roztok NaOH (1,44 g, 36 mmol) ve vodě (3,6 ml). Směs byla míchána přes noc při laboratorní teplotě. Reakce byla ukončena neutralizací reakční směsi přidáním kyseliny octové (11,5 ml). Průběh reakce byl sledován pomocí TLC v soustavě S₁. Neutrální směs byla odpařena. Odparek byl extrahován methanolem (3 × 360 ml) za horka, směs byla 30 minut refluxována a poté přefiltrována přes skleněnou fritu, methanolové extrakty byly spojeny a odpařeny. Získaná směs byla rozpuštěna v horké destilované vodě, přidáno 108 g SiO₂ a výsledná suspenze byla odpařena. Hmotnost získané směsi byla 142,1 g.

Získaná směs byla následně čištěna chromatograficky na koloně o objemu 707 cm³ v soustavě azeotrop propanol - voda, amoniak v poměru 10:1. Na kolonu bylo naadsorbováno 39,8 g z celkového množství získané směsi. Frakce obsahující monoderivát byly spojeny a odpařeny. Odparek (1 g), byl přečištěn opakovanou rekrystalizací z vody. Výtěžek činil 0,7 g (13%).

Per-O-acetyl-3¹-O-cinnamyl-β-CD (3)¹⁵. Látka **2** (0,7 g, 0,56 mmol) byla rozpuštěna v pyridinu (7 ml) a následně byl k roztoku přidán acetanhydrid (7 ml). Směs byla přes noc zahřívána a míchána při 90 °C na olejové lázni. Průběh reakce byl sledován pomocí TLC v soustavě S₂. Po zchladnutí byla reakční směs odpařena a odparek byl kdestilován s toluenem (5 × 14 ml). Získaný produkt byl čištěn na sloupci silikagelu (20 g) v soustavě chloroform, methanol v poměru 10:1. Výtěžek byl 1,1 g (94%).

Per-O-acetyl-3¹-O-carboxymethyl-β-CD (4)¹⁵. Látka **3** (1 g, 0,48 mmol) byla rozpuštěna v acetonitrilu (10 ml). Poté byl k roztoku přidán nasycený roztok NaIO₄ (10 ml) a 1% roztok RuCl₃ (375 μl). Reakční směs byla míchána přes noc při laboratorní teplotě. Průběh reakce byl sledován pomocí TLC v soustavě S₂. Následně byla reakční směs extrahována chloroformem (3 × 40 ml). Spojené extrakty byly promyty 1% roztokem

Na₂S₂O₅ (3 × 75 ml) a sušeny MgSO₄. Sušidlo bylo odfiltrováno a roztok odpařen. Získaná látka (1,1 g) byla čištěna chromatograficky na sloupci silikagelu (50 g) v soustavě chloroform, methanol v poměru 20:1, 10:1 a 5:1. Výtěžek byl 800 mg (80%).

(3-[(Per-*O*-acetyl-β-CD-3¹-*O*-yl)-acetylamino]-propyl)-trimethoxysilan (6). Látka **4** (200 mg, 0,10 mmol) byla rozpuštěna v CH₂Cl₂ (7 ml). K roztoku byl přidán HOBt (25,3 mg, 0,19 mmol), DCC (39,8 mg, 0,19 mmol) a DMAP·HCl (9,4 mg, 0,06 mmol). Po zchlazení reakční směsi na 0 °C byla přidána látka **5** a reakční směs byla míchána a udržována na 0 °C po dobu 1 h. Průběh reakce byl sledován pomocí TLC v soustavě S₅. Následně byla směs čištěna na sloupci silikagelu (5 g) za použití ethylacetátu jako mobilní fáze. Výtěžek byl 80 mg (37%). ¹H-NMR: 0,59 – 0,64 t (2H, Si-CH₂), 3,56 s (9H, Si(OCH₃)₃), 6,51 t (1H, NH). Pro C₉₀H₁₂₇NO₅₉Si vypočteno M_r 2195,0, ESI MS: m/z 2218,0 [M + Na]⁺.

5-[(*p*-Toluensulfonyl)oxy]-3-oxapentanol (8)¹⁷. K roztoku bezvodého diethylglykolu **7** (28,3 g, 0,27 mol), triethylaminu (14 ml) a dichlormethanu (250 ml) byl přidán *p*-toluensulfonyl chlorid (9,55 g, 50 mmol). Výsledná směs byla míchána po dobu 8 hodin při laboratorní teplotě. Průběh reakce byl sledován pomocí TLC v soustavě S₃. Po promytí reakční směsi roztokem 5% HCl (150 ml) s nasyceným roztokem NaCl (150 ml) a následně 5% roztokem NaHCO₃ (300 ml) byla organická vrstva sušena MgSO₄. Sušidlo bylo odfiltrováno a roztok odpařen. Získaná látka (11 g) byla čištěna chromatograficky na sloupci silikagelu (300 g) v soustavě dichlormethan, methanol v poměru 50:1. Výtěžek byl 8 g (61%) bezbarvé olejovité kapaliny.

2-(2-azidoethoxy)ethanol (9). Látka **8** (4 g, 15,3 mmol) byla rozpuštěna v ethanolu (80 ml) a k roztoku byl přidán azid sodný (1,5 g, 23,1 mmol). Směs byla míchána a refluxována do doby vymizení výchozí látky **8**. Průběh reakce byl sledován pomocí TLC v soustavě S₂. Poté byla reakční směs odpařena a odparek byl protřepán diethyletherem (2 × 40 ml) a nerozpuštěná část byla vždy odfiltrována. Extrakty diethyletheru byly spojeny a odpařeny. Získaný produkt byl čištěn chromatograficky na sloupci silikagelu (30 g) v soustavě chloroform, methanol v poměru 40:1 a 20:1. Bylo získáno 1,6 g (80%) bezbarvé olejovité kapaliny. ¹H-NMR: 2,59 s (1H), 3,41 – 3,44 t (J 5,2 Hz, 2H), 3,60 – 3,63 t (J 4 Hz,

2H), 3,69 – 3,71 t (J 4,8 Hz, 2H), 3,75 – 3,77 t (J 5,6 Hz, 2H). Pro $C_4H_9O_2N_3$ vypočteno M_r 131,1, ESI MS: m/z 154,1 $[M+Na]^+$.

***tert*-Butyl ester kyseliny 8-azido-3,6-dioxaoktanové (11).** Látka **9** (200 mg, 1,53 mmol) byla rozpuštěna ve vysušeném DMF (15,4 ml) a roztok byl ochlazen na 0 °C. Pod atmosférou argonu byla k reakční směsi přidána 60% suspenze NaH v oleji (122,03 mg, 3,05 mmol). Po 5 minutách, poté co se přestal uvolňovat vodík, byla přidána *t*-butylesterbromoctová kyselina (338 μ l, 1,14 mmol) a reakční směs míchána 6 hodin při laboratorní teplotě. Průběh reakce byl sledován pomocí TLC v soustavě S_5 . Po zředění reakční směsi ethylacetátem (20 ml) a promytí H_2O (20 ml), byla organická vrstva sušena $MgSO_4$. Sušidlo bylo odfiltrováno a roztok odpařen. Získaný produkt byl čištěn chromatograficky na sloupci silikagelu (35 g) v soustavě toluen, ethylacetát v poměru 10:1 a 0:1. Bylo získáno 133,5 mg (36%) bezbarvé olejovité kapaliny. 1H -NMR: 1,48 s (9H), 3,39 – 3,42 t (J 4 Hz, 2H), 3,68 – 3,75 m (6H), 4,04 s (2H). Pro $C_{10}H_{19}O_4N_3$ vypočteno M_r 245,3, ESI MS: m/z 268,0 $[M + Na]^+$.

8-azido-3,6-dioxaoktanová kyselina (12). Látka **11** (5,2 mg, 0,021 mmol) byla rozpuštěna v kyselině mravenčí (200 μ l) a míchána při laboratorní teplotě 20 h. Průběh reakce byl sledován pomocí TLC v soustavě S_5 . Poté byla reakční směs zředěna toluenem (500 μ l) a odpařena. Bylo získáno 2,5 mg (62,5%) bezbarvé olejovité kapaliny. 1H -NMR: 3,43 – 3,46 t (J 8 Hz, 2H), 3,70 – 3,73 m (4H), 3,79 – 3,81 m (3H), 4,19 s (2H). Pro $C_6H_{11}O_4N_3$ vypočteno M_r 189,2, ESI MS: m/z 188,1 $[M - H]^-$.

6. Závěr

Cílem práce bylo syntetizovat regioselektivně monosubstituovaný derivát cyklodextrinu vhodný pro navázání na pevnou fázi. Jako výchozí látky syntézy byly použity β -CD **1** a 3-aminopropyltrimethoxysilan **5**. Syntézy bylo dosaženo ve čtyřech krocích. β -CD byl převeden ve třech krocích na per-*O*-acetyl-3¹-*O*-karboxymethyl- β -CD metodami již popsány¹⁵ a byl tak vybaven vhodnou funkční skupinou pro přípravu cílového CD-derivátu. Požadovaný cyklodextrinový derivát byl syntetizován za vytvoření amidové vazby s 3-aminopropyltrimethoxysilanem **5**. Cílový CD-derivát vzhledem k jeho obtížnému čištění, kdy dochází k rozkladu na silikagelu, nebyl získán v požadované čistotě. Signály důležitých skupin v NMR spektru a naměřené ESI hmotnostní spektrum však identifikují připravený cyklodextrinový derivát jako správný.

Současně byla provedena syntéza raménka vhodného k prodloužení postranního řetězce připravovaného cyklodextrinového derivátu. 8-Azido-3,6-dioxaoktanová kyselina **12** byla syntetizována z diethylenglykolu **7** rovněž ve čtyřech krocích. U poslední reakce bylo při výběru vhodných podmínek přihlédnuto k publikovaným popisům syntéz podobných látek. Z důvodu nedostatku času byl poslední krok syntézy proveden úspěšně pouze v malém množství.

Produkty jednotlivých reakcí byly charakterizovány pomocí NMR a hmotnostních spekter.

Byl připraven zcela nový cyklodextrinový derivát **6**, který bude po zakotvení na pevnou fázi využit v chemosenzorických aplikacích. Současně byla úspěšně připravena i nová látka 8-azido-3,6-dioxaoktanová kyselina **12**, která bude využita k prodloužení postranního řetězce připraveného cyklodextrinového derivátu **6** a umožní tak modifikaci senzorických vlastností.

7. Poděkování

Ráda bych zde poděkovala všem lidem, kteří přispěli k vypracování této práce. Především RNDr. Jindřichu Jindřichovi, CSc. za vedení bakalářské práce.

Dále Mgr. Ivě Tišlerové za měření NMR spekter a RNDr. Martinu Štíchovi za měření hmotnostních spekter.

Zároveň děkuji svým spolupracovníkům a kolegům v ostatních laboratořích za ochotu, všestrannou pomoc a příjemnou pracovní atmosféru.

8. Seznam použité literatury

1. Szejtli J.: Chem.Rev. **1998**, 98, 1743.
2. Villiers A.: Compt. Rend. **1891**, 112, 536.
3. Freudenberg K., Blomquist G., Ewald L., Soff K.: Ber. Dtsch. Chem. Ges. **1936**, 69, 1258.
4. Inoue Y., Hakushi T., Liu Y., Tong L. H., Shen B. J., Jin D. S.: J. Am. Chem. Soc. **1993**, 115, 475.
5. Breslow R., Dong D. S.: Chem. Rev. **1998**, 98, 1997 – 2011.
6. Rao T. C., Pitha J.: Carbohydr. Res. **1991**, 220, 209 – 213.
7. Fujita K., Tahara T., Hmoto T., Koga T.: J. Am. Chem. Soc. **1986**, 108, 2030.
8. (a) Narita M., Itoh J., Kikuchi T., Hamada F.: J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem. **2002**, 42, 107. (b) Corradini R., Paganuzzi C., Marchelli R., Pagliari S., Sforza S., Dossena A., Galaverna G., Duchateau A.: Chirality **2003**, 15, S30-S39.
9. Narita M., Tashiro E., Hamada F.: J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem. **2002**, 42, 137-144.
10. Hamada F., Ishikawa K., Higuchi Y., Akagami Y., Ueno A.: J. Incl. Phenom. Mol. Recogn. Chem. **1996**, 25, 283-294.
11. Narita M., Tashiro E., Higuchi Y., Akagami Y., Ueno A.: J. Incl. Phenom. Mol. Recogn. Chem. **1996**, 25, 283 – 294.
12. Nizzo R. G., Allara D. L.: J. Am. Chem. Soc. **1983**, 105, 4481 – 4483.
13. Basabe-Desmots L., Beld J., Zimmerman R. S., Hernando J., Mela P., Parajó M. F. G., van Hulst N. F., van den Berg A., Reinhoudt D. N., Crego-Calama M.: J. Am. Chem. Soc. **2004**, 126, 7293 – 7299.
14. Canham L. T.: Appl. Phys. Lett. **1990**, 57, 1046.
15. Jindřich J., Tišlerová I.: J. Org. Chem. **2005**, 70, 9054 – 9055.
16. Smrček J.: Bakalářská práce, PřF UK Praha, **2005**.
17. van Ameijde J., Liskamp M. J. R.: Org. Biomol. Chem. **2003**, 1, 2661 – 2669.
18. Svedhem S., Hollander C. – A., Shi J., Konradsson P., Liedberg B., Svensson C. T. S.: J.Org. Chem. **2001**, 13, 4494 – 4503.
19. Blomberg D., Hedenström M., Kreye P., Sethson I., Brickmann K., Kihlberg J.: J. Org. Chem. **2004**, 69, 3500 – 3508.