

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA
KATEDRA ORGANICKÉ A JADERNÉ CHEMIE



MARTINA WERNEROVÁ

PRÍPRAVA SACHARIDOVÝCH JEDNOTIEK D-HEXÓZAMÍNOVÉHO TYPU
A ICH VYUŽITIE V SYNTÉZE OLIGOSACHARIDOV

SYNTHESIS OF SACCHARIDE BUILDING UNITS OF D-HEXOSAMINE TYPE
AND THEIR APPLICATION IN THE OLIGOSACCHARIDE SYNTHESIS

DIZERTAČNÁ PRÁCA

Školiteľ: Prof. RNDr. Tomáš Trnka, CSc.
Konzultant: RNDr. Miroslav Ledvina, CSc.

PRAHA, 2011

Prehlásenie:

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

V Prahe, 12.05.2011

Martina Wernerová

Pod'akovanie

Rada by som na tomto mieste pod'akovala môjmu školiteľovi Prof. RNDr. Tomášovi Trnkovi, CSc., ktorý ma zoznámil s problematikou cukernej chémie, za jeho starostlivosť, ochotu kedykoľvek pomôcť a poradiť, a tiež za jeho trpezlivosť a pochopenie počas celého môjho štúdia. Moje úprimné pod'akovanie patrí aj RNDr. Miroslavovi Ledvinovi, CSc., ktorý ma ochotne prijal do svojej skupiny, všestranne ma podporoval a dovolil mi spoznať ho nielen ako excelentného chemika, ale aj ako skvelého človeka. Chcem sa tiež pod'akovať Prof. RNDr. Miloslavovi Černému, DrSc. za prínosnú spoluprácu, podnetné diskusie a za jeho večne optimistický prístup.

Za pomoc pri meraní a interpretácii NMR spektier ďakujem Ing. Davidovi Šamanovi, CSc., a rovnako aj RNDr. Milošovi Buděšínskému, CSc. a Mgr. Martinovi Dračínskému, Ph.D., ktorí sa navyše ujali kvantovo chemických výpočtov. Ďakujem tiež pracovníkom analytických laboratórií ÚOCHB AV ČR za zmeranie elementárnych analýz, hmotnostých a IR spektier a špeciálne Ing. Lucii Holasovej za zmeranie optických rotácií a Ing. Pavlovi Fiedlerovi za interpretáciu IR spektier.

Taktiež sa chcem pod'akovať všetkým kolegom z oboch pracovísk za vytvorenie príjemnej pracovnej atmosféry. Obzvlášť ďakujem pani Jane a Mirkovi, ktorí pri mne stáli na začiatku môjho pražského pôsobenia, Aničke, Honzovi a Matyášovi za ich pomoc s riešením grantov a písaním publikácií, Danovi a Pavlovi za nekonečné diskusie nielen o chémii, a samozrejme pani Součkovej, ktorá svojim elánom a vyžarovaním tvorí „dušu“ laboratória. A za jedinečnú životnú skúsenosť ďakujem Prof. Tomášovi Hudlickému.

V neposlednom rade chcem pod'akovať mojím rodičom, sestre Mirke a skvelým priateľom za to, že nešetrili povzbudením a boli pre mňa nesmiernou oporou počas celého štúdia. Obrovské ďakujem patrí aj môjmu manželovi Lukášovi, ktorý ma všemožne podporoval a nikdy vo mňa neprestal veriť.

Abstrakt

2-Amino-2-deoxysacharidy sa vyskytujú v mnohých biologicky významných glykokonjugátoch a prírodných oligosacharidoch, v ktorých sú vzájomné viazané 1,2-*cis*-, alebo častejšie 1,2-*trans*-*O*-glykozidickou väzbou. Aminosacharidy sú nevyhnutnou súčasťou rozpoznávania na bunkovej úrovni, s čím súvisí ich použitie vo výskume spojenom s poruchami imunitného systému. S rastúcim dopytom po týchto biologicky významných látkach rastie aj snaha o rozvinutie syntetických metód umožňujúcich ich prípravu.

Táto práca sa zaoberá problematikou prípravy vetvených oligosacharidov, odvodených od 2-amino-2-deoxysacharidov. Monosacharidové stavebné bloky s *gluko*-, *galakto*- a *mano*-konfiguráciou boli navrhnuté s ohľadom na požadované vetvenie oligosacharidu s definovaným usporiadaním *O*-glykozidickej väzby. Syntéza glykozylakceptorov, vhodných pre prípravu dianterných trisacharidov, bola založená na *trans*-diaxiálnom otvorení oxiránového kruhu 1,6:2,3-dianhydrocukrov azidovým iónom. Príprava glykozylakceptorov, určených pre syntézu triantenárnych tetrasacharidov, vychádzala z komerčne dostupných D-glukózamínu a D-galaktózamínu. Do anomérnej polohy glykozylakceptorov bola viacerými spôsobmi zavedená *n*-pentenylová chrániaca skupina, slúžiaca ako prekursor pri tvorbe bifunkčného ramienka. U dvoch látok bola taktiež pomocou ozonolýzy overená možnosť transformácie dvojnej väzby *n*-pentenylového zvyšku na aldehyd, prípadne jeho chránenú formu.

Pri príprave oligosacharidov závisela voľba použitej glykozylačnej metódy od požadovanej konfigurácie *O*-glykozidickej väzby. Trisacharid obsahujúci 1,2-*cis*-glykozidické väzby, bol pripravený pomocou trichlóracetimidátovej glykozylačnej metódy, s využitím glykozyldonoru obsahujúcom v polohe C-2 neparticipujúcu azidoskupinu. Naopak, tvorba oligosacharidov s 1,2-*trans*-glykozidickými väzbami bola založená na participácii ftalimidovej skupiny v polohe C-2 etyltioglykozidov, riadiaca glykozylačný proces požadovaným smerom.

V nadväznosti na výsledky získané pri syntéze 2-azidosacharidov z 1,6;2,3- a 1,6;3,4-dianhydrosacharidov bola prevedená tiež štúdia, zaoberajúca sa migráciou a *pseudo*-migráciou týchto α -hydroxy epoxidov. Popísané sú podmienky a priebeh izomerizácie, ako aj príprava halogénderivátov 1,6- β -D-hexopyranóz, pričom experimentálne získané dáta boli následne porovnané s teoretickými výpočtami.

Abstract

2-Amino-2-deoxysaccharides are present in many important classes of glycoconjugates and naturally occurring oligosaccharides, in which they are connected to other residues through either 1,2-*cis* or, more frequently, 1,2-*trans* glycosidic linkage. They are fundamental to biological processes such as cell-cell or cell-virus recognition, which makes them an attractive target in the study of immune system defects. With the growing demand for these biologically important derivatives, efforts to develop chemical methods for the synthesis of 2-amino oligosaccharides have also increased.

This work is focused on preparation of saccharide units, derived from D-glucosamine, D-galactosamine and D-mannosamine, and their application in the synthesis of branched oligosaccharides. Monosaccharide building blocks were designed in consideration of desired *O*-glycosidic bond configuration of oligosaccharides. Synthesis of glycosyl acceptors, suited for the synthesis of bi-antennary trisaccharides, was based on *trans*-diaxial oxirane ring opening of 1,6:2,3-dianhydrosugars by azide ion. Glycosyl acceptors for tetrasaccharide synthesis were prepared from commercially available D-glucosamine and D-galactosamine. The anomeric hydroxyl group was protected as *n*-pentenyl glycoside, which can be later used as a precursor of spacer arm. Transformation of double bond into another functionality was verified by ozonolysis of two *n*-pentenyl glycosides.

The glycosylation method used in the oligosaccharide synthesis was chosen according to desired configuration of glycosidic bond. Trisaccharide consisting of 1,2-*cis* connected D-*gluco* and D-*galacto* units was prepared by trichloroacetimidate method, with glycosyl donor having a non-participating azido group in position C-2. On the other hand, participating effect of phthalimido group on C-2 of ethylthioglycosides enabled stereoselective formation of 1,2-*trans*-glycosides.

Besides the synthesis of 2-azido derivatives, both 1,6;2,3- and 1,6;3,4-dianhydrosaccharides were also used in the study of epoxide migration and *pseudo*-migration of α -hydroxy epoxides. Moreover, various halogen derivatives of 1,6- β -D-hexopyranoses were prepared. NMR was used for following the reaction mechanism and analysis of reaction mixtures. Experimental data were compared with theoretical calculations.

Zoznam použitých skratiek

Ac	acetyl
Alloc	allyloxykarbonyl
Bn	benzyl
Boc	<i>tert</i> -butoxykarbonyl
Bu	butyl
Bz	benzoyl
CAN	nitrát ceričito-amónny, $(\text{NH}_4)_2\text{Ce}(\text{NO}_3)_6$
Cbz (Z)	benzyloxykarbonyl, $\text{BnOC}(\text{O})-$
DAST	Et_2NSF_3
DBU	1,8-diazabicyklo[5.4.0]undec-7-én
DCE	1,2-dichlóretán
DCM	dichlórmétán
DDQ	2,3-dichlóro-5,6-dikyano- <i>p</i> -benzochinón
DFT	teória funkcionálu hustoty (density functional theory, <i>angl.</i>)
DMAP	4-dimetylamínopyridín
DMF	<i>N,N</i> -dimetylformamid
DMSO	dimetylsulfoxid
DMTST	dimetyl(metyltio)sulfónium-trifluórmétánsulfonát, $(\text{CH}_3)_2\text{S}(\text{CH}_3\text{S})\text{OSO}_2\text{CF}_3$
ESI MS	electrospray ionization mass spectrometry (<i>angl.</i>)
Et	etyl
FAB MS	fast atom bombardement mass spectrometry (<i>angl.</i>)
Glc	glukóza
HMDS	1,1,1,3,3,3-hexametyldisilazán
IDCP	$\text{I}(2,4,6\text{-trimetylpyridín})_2\text{ClO}_4$
<i>i</i> -Pr	izopropyl, propán-2-yl
IR	infračervená spektroskopia, spektrá
Kalk.	kalkulované
Konf.	konformácia
LG	odstupujúca skupina (leaving group, <i>angl.</i>)
Man	manóza
Me	metyl

MHC	major histocompatibility complex (<i>angl.</i>)
MM+	molekulová mechanika
MS	hmotnostná spektrometria
NBS	<i>N</i> -brómsukcínimid
NIS	<i>N</i> -jódsukcínimid
NK	natural killer (<i>angl.</i>)
NMR	spektroskopia nukleárnej magnetickej resonancie
Pent	pent-4-én-1-yl
Ph	fenyl
Phth	ftaloyl
PMB	<i>p</i> -metoxybenzyl
Rozp.	rozpúšťadlo
TBAF	tetrabutylamóniumfluorid
TBDPS	<i>tert</i> -butyldifenylsilyl
TCAI	trichlóracetimidát
Tf	trifluórmétánsulfonyl
TFA	trifluóroctová kyselina
TfOH	trifluórmétánsulfónová kyselina
THF	tetrahydrofurán
TLC	tenkovrstvá chromatografia
TMS	trimetylsilyl alebo tetrametylsilán
Troc	2,2,2-trichlóretoxykarbonyl
Ts	tozyl (<i>p</i> -toluénsulfonyl)
t.t.	teplota topenia
TTBP	2,4,6-tri- <i>t</i> -butylpyrimidín

1 ÚVOD	1
2 SÚČASNÝ STAV PROBLEMATIKY	3
2.1 PREHLAD HLAVNÝCH POUŽÍVANÝCH GLYKOZYLAČNÝCH METÓD.....	3
2.2 VÝZNAM A SYNTÉZA 2-AMINO-2-DEOXY-SACHARIDOV.....	10
2.2.1 Syntéza 2-amino-2-deoxysacharidov z glykalov.....	11
2.2.2 Syntéza 2-amino-2-deoxysacharidov pomocou nukleofilnej substitúcie v polohe C-2	14
2.2.3 Syntéza 2-amino-2-deoxysacharidov pomocou zavádzania chránenej formy aminoskupiny do polohy C-2	16
3 CIELE DIZERTAČNEJ PRÁCE	21
4 VÝSLEDKY A DISKUSIA	23
4.1 PRÍPRAVA MONOSACHARIDOVÝCH JEDNOTIEK	23
4.1.1 Syntéza stavebných blokov odvodených od 2-amino-2-deoxyglukopyranózy a 2-amino-2-deoxygalaktopyranózy	23
4.1.2 Epoxidová migrácia a <i>pseudo</i> -migrácia	33
4.1.3 Príprava glykozyldonorov odvodených od 2-amino-2-deoxygalaktopyranózy a 2-amino-2-deoxymanopyranózy	41
4.2 PRÍPRAVA OLIGOSACHARIDOV	42
5 EXPERIMENTÁLNA ČASŤ	49
6 ZÁVER	105
7 LITERATÚRA	107

1 Úvod

Sacharidy tvoria mimoriadne dôležitú skupinu prírodných látok a plnia v živých organizmoch množstvo významných úloh. Polysacharidy slúžia napríklad ako zdroj energie (škrob, glykogén) a tvoria taktiež stavebné jednotky bunkových stien (celulóza a chitín). Monosacharid ribóza je zase dôležitou zložkou koenzýmov (ATP, NAD, FAD) a spolu s deoxyribózou tvoria štruktúrnu kostru RNA a DNA. Sacharidy sa taktiež môžu viazať s inými typmi biologických molekúl a vytvárať tak glykokonjugáty.

Polysacharidy, glykoproteíny a iné glykokonjugáty sú súčasťou povrchu prokaryotických a eukaryotických buniek. Molekuly obsahujúce sacharidovú časť, sú vďaka veľkému množstvu dostupných stavebných jednotiek a možnostiam vzájomného viazania extrémne rôznorodé a sú schopné pojať obrovské množstvo informácií. Práve táto obrovská rozmanitosť, ktorá mnohonásobne prevyšuje štruktúrnu rozmanitosť nukleových kyselín a proteínov, umožňuje sacharidom obsiahnutým na povrchu buniek sprostredkovať široký rozsah dôležitých medzibunkových rozpoznávacích procesov. Oplodnenie, apoptóza, špecializácia a vývoj buniek (a s tým spojená diferenciácia tkanív), ako aj metastáza nádorovej bunky sú len niektoré z procesov, ktoré môžu byť spustené až keď povrchový sacharid rozozná biologický ligand.¹ Patrí sem taktiež klasifikácia krvných skupín podľa systému AB0. Na princípe biologického rozpoznávania na bunkovej úrovni sú založené aj mnohé ďalšie normálne i chorobné procesy v živých organizmoch – bunková adhézia, transportný systém vo vnútri bunky, vznik infekcie, či bunková signalizácia.

V súčasnosti narastá záujem o účinný prístup k oligosacharidom a glykokonjugátom, ktorý by prehĺbil naše znalosti glykobiológie a urýchlil rozvoj terapeutických látok.

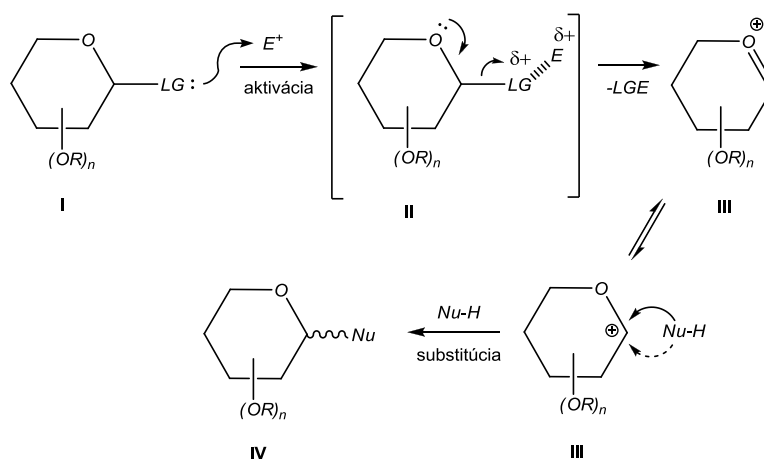
Dôkladné porozumenie vzťahom medzi sacharidmi a biologickou aktivitou však zostávajú limitované dostupnosťou jednoduchých a efektívnych glykozylačných metód. Vypracovanie účinných postupov na výstavbu oligosacharidov z monosacharidových jednotiek predstavuje jednu z najťažších úloh v organickej syntéze.

2 Súčasný stav problematiky

Množstvo pokusov o zdokonalenie syntézy komplexných oligosacharidov súvisí s metódami tvorby glykozidickej väzby, ktorá je hlavným prostriedkom umožňujúcim spájanie monosacharidových stavebných jednotiek do oligosacharidových štruktúr. Glykozidická väzba predstavuje nové centrum chiralít, ktoré so sebou často prináša prekážky spojené so stereoselektivitou syntézy.

2.1 Prehľad hlavných používaných glykozylačných metód

Zo známych spôsobov glykozylácie zostáva preferovaný prístup, v ktorom má sacharid, poskytujúci svoj anomérny uhlík do novovzniknutej anomérnej väzby (glykozyldonor), úlohu elektrofilu. Jeho príslušný väzobný partner (glykozylakceptor) tak zase funguje ako nukleofil. Táto stratégia je typicky založená na použití selektívne chráneného glykozyldonoru **I** (Obr. 1), ktorého anomérne centrum obsahuje pripojenú odstupujúcu skupinu (LG). V prítomnosti vhodného elektrofilného aktivátora (E^+) dochádza k zníženiu elektrónovej hustoty na anomérnej skupine (**II**) a jej následnému odštiepeniu za vzniku stabilizovaného oxokarbéniového iónu **III**. Nukleofilná substitúcia glykozylakceptorom (Nu-H), ktorý môže atakovať **III** z oboch strán kruhu, tak završuje tvorbu glykokonjugátu **IV**.

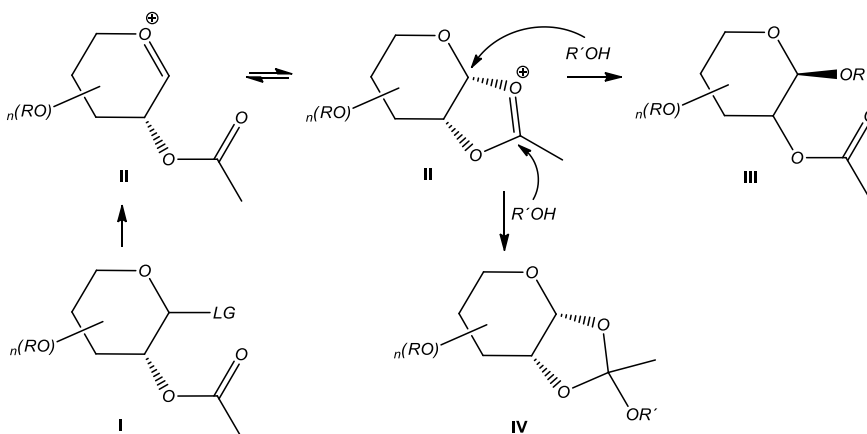


OBR. 1 Všeobecná schéma priebehu glykozylačnej reakcie

Pri *O*-glykozyláciách býva nukleofilom hydroxyskupina alkoholu alebo iného sacharidu, u *N*-glykozylácií je to aminoskupina glykozylakceptoru. Tento princíp riadi väčšinu známych glykozylačných procesov a funguje v spájaní nielen

s jednoduchými nukleofilmi, ale aj s glykozylakceptormi oligosacharidového, peptidového, či lipidového typu.

Kľúčovými aspektmi ovplyvňujúcimi stereochemiu glykozylácie sú odstupujúca skupina LG na anomérnom uhlíku C-1 glykozyl donoru **I** a taktiež chrániaca skupina (*O*- alebo *N*-chránenie) na susednom uhlíku C-2. Participujúca chrániaca skupina, obsahujúca voľné elektrónové páry, je schopná stabilizovať planárny oxokarbéniový ión tvorbou cyklického medziproduktu **II**, čím dochádza k vzniku 1,2-*trans*-glykozidu **III** (Obr. 2). Neparticipujúca skupina toho nie je schopná, preto je vznik produktov ovplyvnený inými faktormi (polarita a koordinačné schopnosti rozpúšťadla, reakčná teplota, doba reakcie, anomérny efekt). Polarita rozpúšťadla sa prejavuje v preferencii S_N1 alebo S_N2 priebehu reakcie. Zatiaľ čo v polárnych rozpúšťadlách dochádza k stabilizácii oxokarbéniového iónu (S_N1 mechanizmus), v nepolárnych rozpúšťadlách (halogénované rozpúšťadlá) je preferovaný S_N2 mechanizmus s inverziou konfigurácie na C-1. Vo všeobecnosti vedie použitie polárnych rozpúšťadiel (étery, napr. THF), vyšších teplôt (nad $-30\text{ }^\circ\text{C}$) a dlhších reakčných časov k vzniku termodynamicky preferovaného produktu: α -glykozidu.

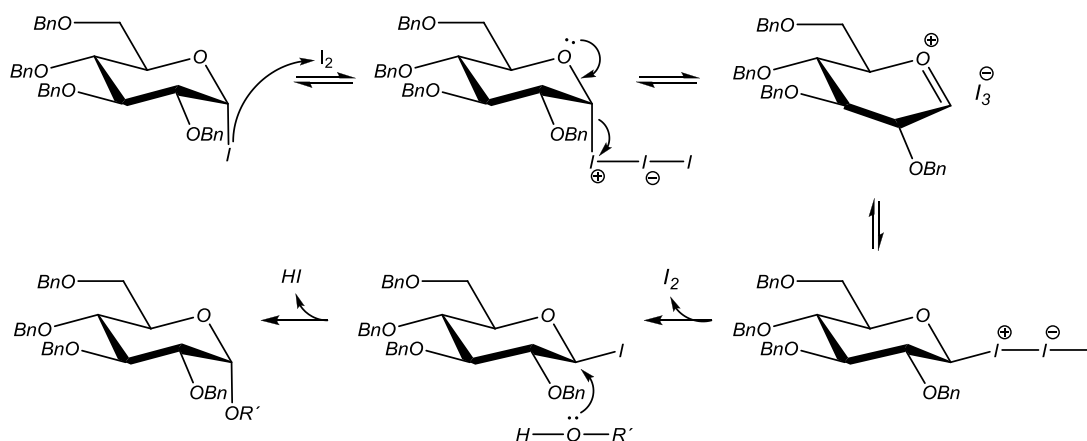


OBR. 2 Vplyv participujúcej skupiny v polohe C-2 na stereoselektivitu glykozylácie

Glykozylačná reakcia obyčajne prebieha v prítomnosti aktivátora (promótor), ktorého charakter taktiež vplýva na priebeh glykozylácie. Interakcia odstupujúcej skupiny LG, ktorá je v *cis* orientácii k substituentu na uhlíku C-2, s nerozpustným aktivátorom bráni prístupu akceptoru z „*cis*-strany“ a vedie k tvorbe 1,2-*trans*-glykozidu. Použitie rozpustného promótoru a glykozyl donoru s neparticipujúcim substituentom v polohe C-2 zase umožňuje prípravu 1,2-*cis*-glykozidov.

Výber odstupujúcej skupiny glykozylonoru závisí na type produktu (jednoduchý glykozid vs. komplexný oligosacharid) a zvolenej stratégii syntézy. Medzi najdlhšie používané odstupujúce skupiny patria glykozylhalogenidy, trichlóracetimidáty, fosfáty/fosfity, estery/karbonáty/tiokarbonáty a rôzne aryloxyskupiny. Podobne sa ako výborné odstupujúce skupiny používajú aj 4-pentenylglykozidy, glykozylsulfidy či sulfoxidy, ktoré zároveň slúžia ako stabilné formy chránenia anomérnej polohy.

Glykozylhalogenidy sú najstaršou známou skupinou glykozylonorov. Sú pomerne ľahko dostupné: reakciou 1-*O*-acetátov so suchým halogénvodíkom sa dajú pripraviť glykozylbromidy, chloridy² a jodidy;^{3,4} stabilnejšie glykozylfluoridy^{5,6} môžu byť pripravené reakciou látok s voľnou hydroxylovou skupinou alebo tioglykozidov s DAST. Pre aktiváciu glykozylbromidov a chloridov sa najčastejšie používajú soli ťažkých kovov (AgOTf, AgClO₄, HgBr₂, Hg(CN)₂), Bu₄NBr⁷ či I₂/DDQ⁸ (vhodný pre prípravu α-glykozidov za podmienok *in situ* anomerizácie východiskového α-glykozylhalogenidu) a Lewisove kyseliny (SnCl₄, BF₃.OEt₂). Ako promótoary glykozylfluoridov sa používajú Lewisove kyseliny alebo strieborné soli v prítomnosti zlúčenín prvkov IV.B skupiny, ktoré vykazujú afinitu k fluóru (napr. SnCl₂/AgClO₄, Cp₂HfCl₂/AgClO₄). Glykozyljodidy, ktoré sa do pozornosti dostávajú najmä v poslednom období, boli často považované za príliš reaktívne substráty pre syntetické využitie. Ako však bolo ukázané vo viacerých prácach,^{9, 10} ich reaktivita umožňuje výrazne skrátenie reakčných časov, zvýšenie efektivity a stereoselektivity oproti glykozylchloridom a bromidom.



Glykozyljodidy poskytujú aktiváciu v bázických podmienkach β -glykozidy; zatiaľ čo *in situ* anomerizácia α -glykozyljodidu býva využitá pre selektívnu syntézu α -glykozidov.^{11,12} K ich aktivácii sa používa napr. $N(\text{Bu})_4\text{I}$ v kombinácii s diizopropyletylamínom,⁹ I_2 -HMDS (Schéma 1),¹⁰ alebo rôzne trialkylfosfínokidy.¹³

Trichlóracetimidáty^{14,15} sú veľmi účinné glykozyldonory, ktorých výhoda spočíva v jednoduchšej príprave (bázicky katalyzovaná reakcia anomérnej hydroxylovej skupiny s CCl_3CN) a pomerne miernych podmienkach glykozylačných reakcií. Voľbou reakčných podmienok je možné kontrolovať pomer vznikajúcich α/β trichlóracetimidátov **II** a **III** (Schéma 2). Ich aktivácia prebieha zvyčajne Lewisovými kyselinami ($\text{BF}_3\cdot\text{OEt}_2$, TMSOTf , SnCl_4), ktoré majú spolu s použitým rozpúšťadlom vplyv na stereoselektivitu glykozylačnej reakcie.

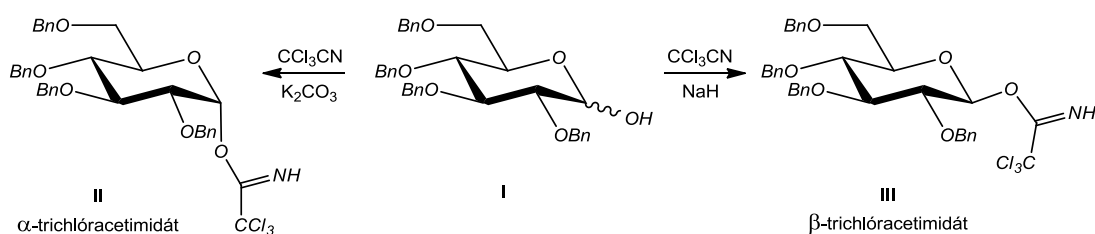


SCHÉMA 2 Vplyv reakčných podmienok na tvorbu α - resp. β -trichlóracetimidátu

Ďalšiu skupinu používaných glykozyldonorov tvoria tioglykozidy,^{16,17} ktoré sú ľahko dostupné reakciou 1-*O*-acetátov s tiolom za kyslých podmienok, a na rozdiel od trichlóracetimidátov môžu byť po izolácii skladované dlhšiu dobu. Glykozylácia následne prebieha priamo za aktivácie cez sulfóniový ión (promótor napr. MeOTf , DMTST , NBS , NIS), alebo po transformácii na iný typ glykozyldonoru (halogenidy, trichlóracetimidáty alebo pentenylglykozidy). Pre tioglykozidy má na reaktivitu glykozyldonoru vplyv aj charakter substituenta na atóme síry (pokles reaktivity je v smere $\text{SEt} > \text{SMe} > \text{SPh} >> \text{SCHPh}_2$; Schéma 3).¹⁸

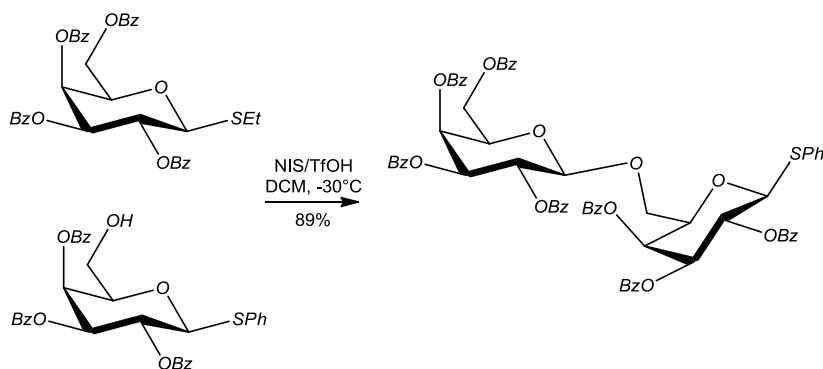
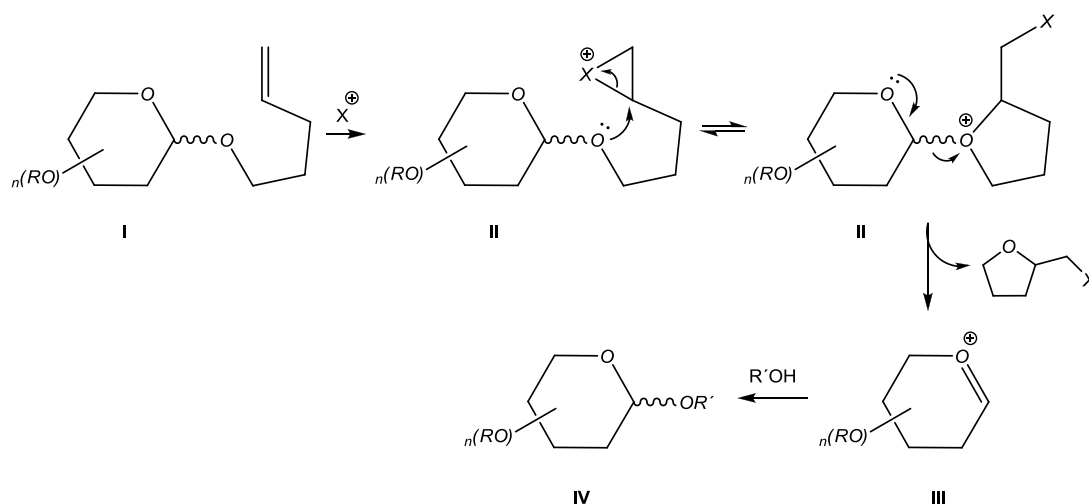


SCHÉMA 3 Rozlíšenie reaktivity glykozyldonoru u tioglykozidov

Anomérne halogenidy alebo acetáty predstavujú spoľahlivé glykozyldonory pre prípravu glykozidov jednoduchých alkoholov. Tioglykozidy a imidáty sa často volia pre prípravu komplexných oligosacharidov s objemnými glykozylakceptormi.

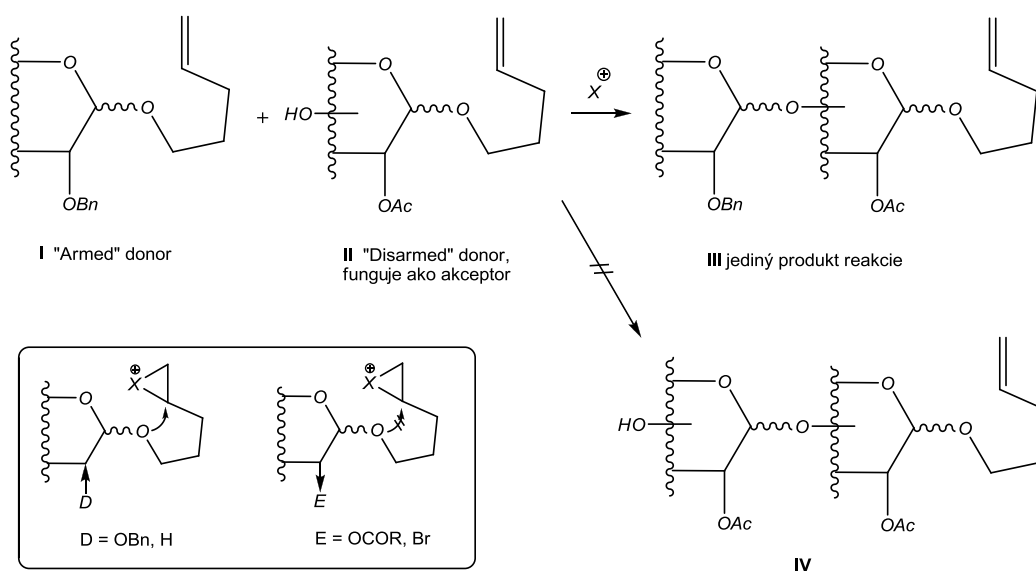
Fraser-Reid a kol. začali v roku 1988¹⁹ používať *n*-pentenylglykozidy, ktoré sa odvtedy osvedčili v syntéze oligosacharidov. Známe sú predovšetkým využitím ako glykozyldonory alebo glykozylakceptory, pričom *n*-pentenylový zvyšok môže byť následne použitý ako prekursor pri tvorbe „spacer arm“, slúžiacemu k pripojeniu oligosacharidového zvyšku na príslušný biologický nosič pomocou modifikácie terminálnej dvojnej väzby. 4-Pentenylglykozidy sa pripravujú glykozylačnou reakciou 4-pentén-1-olu a voľného sacharidu, prípadne z iného glykozyldonoru, a bežne sa aktivujú kationom jódu (napr. NIS/TfOH, IDCP).²⁰ Po halogenácii dvojnej väzby (**II**) dochádza k cyklizácii a následnému odstúpeniu substituovaného tetrahydrofuránu za vzniku oxokarbéniového iónu **III** (Obr. 3). Veľkou výhodou je, že *n*-pentenylová skupina môže byť na sacharid naviazaná na začiatku syntézy, čím vlastne vznikne normálny glykozid, ktorý bude stabilný voči širokému spektru činidiel. Dvojná väzba 4-pentenylglykozidov umožňuje zavedenie rôznych funkčných skupín (hydroxylová skupina, maskovaný amín alebo tiol, aldehydová či karboxylová skupina),²¹ vhodných pre prípravu *neo*-glykokonjugátov alebo priamo použiteľných v biologických experimentoch. *N*-pentenylglykozidy poskytujú reakciu s brómom za neutrálnych podmienok (DCM) aj priamo glykozylbromidy.²²



OBR. 3 Mechanizmus aktivácie 4-pentenylglykozidov

U pentenylglykozidov sa uplatňuje aj tzv. „armed/disarmed“ teória^{23,24} pre prípravu oligosacharidov, ktorá umožňuje rozlíšiť reaktivitu dvoch glykozyldonorov

(s rovnakou odstupujúcou skupinou) v zmesi. Štúdium týchto substrátov ukázalo, že rozdiely v reaktivite závisia na povahe C-2 substituenta: „armed“ donor má v polohe C-2 naviazané skupiny s elektrón-donorným efektom, typicky étery. Naopak „disarmed“ donor bude obsahovať skupiny s elektrón-akceptorným charakterom, najmä estery. Pretože je elektrónová hustota na glykozidickom kyslíku u „disarmed“ donoru **II** znížená, bude nukleofilný atak na cyklický halóniový ión preferovaný u „armed“ donoru **I** (Obr. 4) – dochádza k chemoselektívnej aktivácii „armed“ donora. Dva pentenylglykozidy tak môžu navzájom reagovať bez hrozby homodimerizácie v prípade, že glykozylakceptor bude niesť na uhlíku C-2 acylovú chrániacu skupinu. Systém môže byť časom prevedený na „armed“ tým, že bude ester na uhlíku C-2 nahradený éterom a následná glykozylačná reakcia tak povedie k vzniku trisacharidu. Podobným „armed/disarmed“ párom ako je éter/ester, je takisto aj 2-deoxysacharid/halogenid.



OBR. 4 Znárodnenie uplatnenia „armed/disarmed“ teórie u 4-pentenylglykozidov

Okrem rozdielnych C-2 substituentov sa k rozlíšeniu reaktivity dvoch glykozyldonorov používa aj torzná deaktivácia^{25,26} (Schéma 4). Keďže počas tvorby oxokarbéniového iónu dochádza k deformácii pyranózového kruhu, môže byť tento proces značne sťažený prítomnosťou ďalšieho kruhu (benzylidén alebo acetonid), ktorý „uzamkne“ sacharid do rigidnej stoličkovej konformácie.^{27,28}

V oligosacharidovej chémii sa používajú aj ďalšie typy glykozyldonorov, napr. 1,2-*trans*-acetáty,²⁹ selenoglykozidy a glykozylylkarbény,³⁰ či tioimidáty (*S*-benzoxazolyl a *S*-tiazoliny).³¹

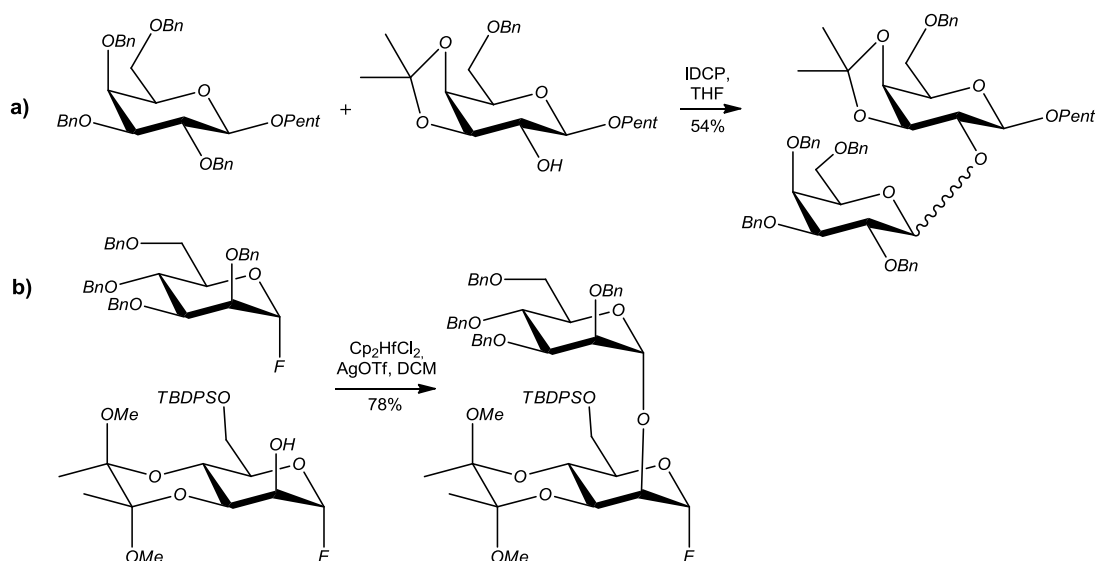
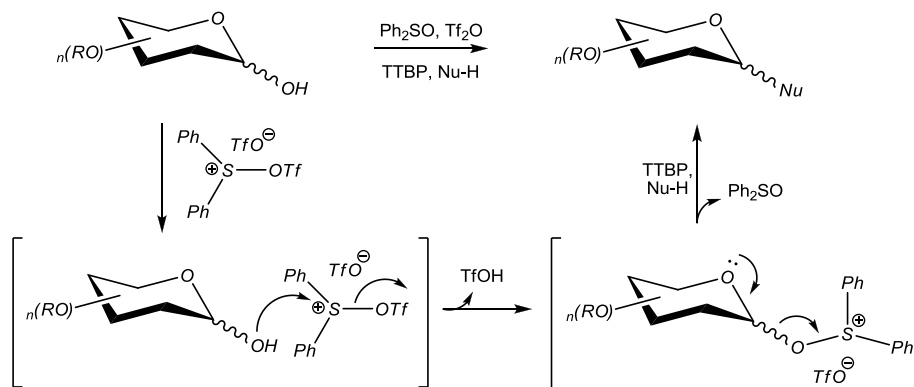


SCHÉMA 4 Príklady využitia torznej deaktivácie v glykozylačných reakciách

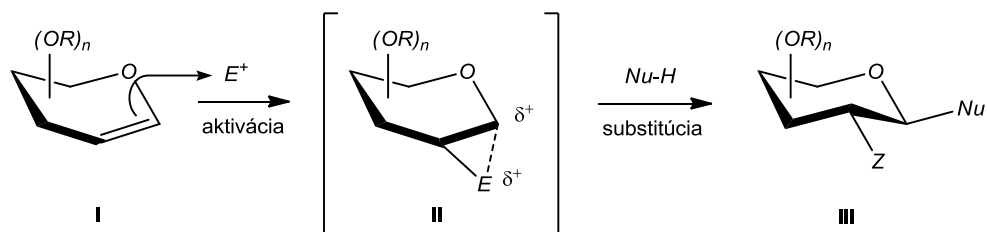
Jeden z priamejších prístupov glykozylácie zahŕňa triedu C-1 hydroxyglykozyldonorov, kde počas kontrolovaného dehydratívneho procesu dochádza k substitúcii voľnej anomérnej hydroxylovej skupiny.³² V princípe ide o generovanie účinného glykozyldonoru priamo v reakčnej zmesi, kedy sa ako aktivačné činidlá používajú Lewisové kyseliny, sulfóniové a fosfóniové soli a aktivované sulfonylhalogenidy. Táto metóda je výhodná, lebo minimalizuje počet operácií počas glykozylačného procesu.



OBR. 5 Mechanizmus dehydratívnej glykozylačnej metódy

Okrem glykozyldonorov obsahujúcich odstupujúcu skupinu, sa v syntéze oligosacharidov používajú tiež glykaly³³ **I** (Obr. 6). Prítomnosť 1,2-dvojnovej väzby v molekule umožňuje prístup rôznych elektrofilných činidiel (E^+). Na aktivovaný glykozyldonor **II** sa následne naviaže príslušný nukleofilný glykozylakceptor (Nu-H)

za vzniku glykokonjugátu **III**. Pomocou týchto metód je možné súčasne s tvorbou anomérnej väzby zaviesť do polohy C-2 rôzne funkčné skupiny (Z).



OBR. 6 Obecná schéma glykozylačnej reakcie glykalov

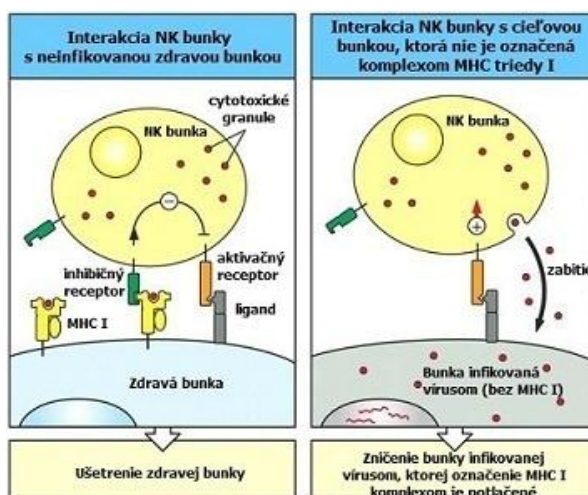
Glykaly sa používajú taktiež v syntéze 2-deoxyglykozidov (pomocou glykozylácie podľa Danishefskeho alebo cez 2-halogén-medziprodukty) alebo ako prekursor C-glykozidov.³⁴

Mnohé zo spomenutých glykozylačných techník našli svoje uplatnenie aj v syntéze glykozidov odvodených od 2-amino-2-deoxysacharidov.

2.2 Význam a syntéza 2-amino-2-deoxysacharidov

2-Amino-2-deoxysacharidy sa vyskytujú v najdôležitejších triedach glykokonjugátov a prírodných oligosacharidov, v ktorých sú vzájomne viazané najčastejšie 1,2-*trans* glykozidickou väzbou.^{35,36,37} Napríklad 2-acetamido-2-deoxyglykozidy s *gluko*- a *galakto*-konfiguráciou sú zastúpené v živých organizmoch vo forme glykokonjugátov (glykolipidy, lipopolysacharidy, glykoproteíny)³⁵, glykozaminoglykánov (heparín, hyalurónová kyselina)³⁸ a v oligosacharidoch krvných skupín.³⁹ Aminosacharidy na povrchu bunkových stien zase zohrávajú významnú úlohu ako ligandy pre receptory proteínových molekúl (enzýmy,⁴⁰ protilátky,⁴¹ lektíny)⁴² a zúčastňujú sa interakcií medzi protilátkami a antigénmi.⁴³

Napr. oligosacharidy obsahujúce 1,2-*cis*- a 1,2-*trans*- viazané *N*-acetyl-D-hexóزامínové jednotky sa ukazujú byť potenciálnymi



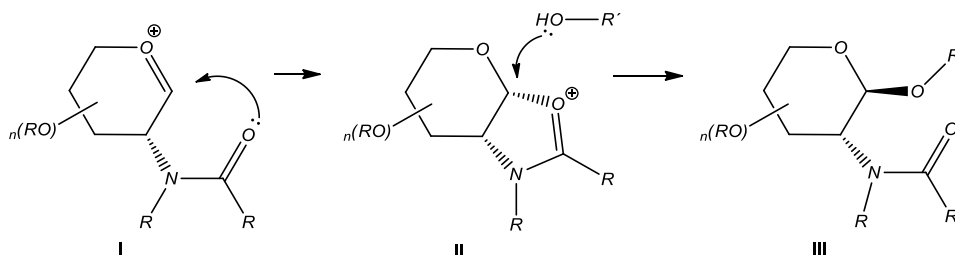
OBR. 7 Mechanizmus účinku NK lymfocytov

aktivujúcich lektínových receptorov NK

lymfocytov (natural killer cells).^{44,45} Tieto lektínové receptory sú schopné rozoznať oligosacharidové štruktúry prítomné na povrchu rakovinových buniek a iniciovať ich rozpad pomocou buniek imunitného systému (Obr. 7).⁴⁶

S rastúcim dopytom po týchto biologicky významných látkach rastie aj snaha o rozvinutie syntetických metód umožňujúcich ich prípravu.

Syntéza 2-amino-2-deoxysacharidov je možná dvoma spôsobmi: prvý vychádza priamo z 2-aminocukru; zatiaľ čo v druhom je aminoskupina zavedená do molekuly sacharidu. Charakter chrániacej skupiny na aminoskupine susediacej s anomérnym uhlíkom glykozyldonoru zásadne ovplyvňuje priebeh glykozylácie, preto je modifikácia aminoskupiny volená v závislosti na požadovanej konfigurácii glykozidickej väzby. K prednostnému vzniku 1,2-*trans*-glykozidov **III** dochádza pri použití glykozyldonorov s participujúcim *N*-substituentom **I**, ktorého voľné elektrónové páry stabilizujú oxokarbéniový ión tvorbou cyklického medziproduktu **II** (Obr. 8). Neparticipujúca chrániaca skupina sa do molekuly glykozyldonoru zavádza najmä v prípadoch, kedy je požadovaný vznik 1,2-*cis*-glykozidov.

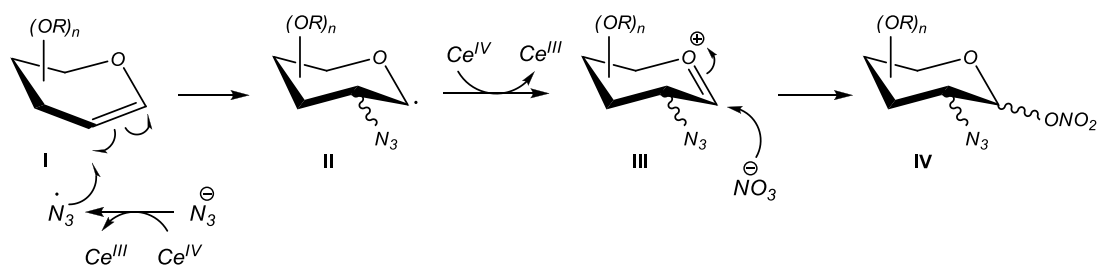


OBR. 8 Vplyv participujúceho substituenta na priebeh glykozylácie

2.2.1 Syntéza 2-amino-2-deoxysacharidov z glykalov

Pri vnášaní chránenej formy aminoskupiny do molekuly sacharidu sa často ako východiskové štruktúry využívajú glykaly (**I**, Obr. 9). Týmto spôsobom je možné zaviesť do polohy C-2 maskovanú formu aminoskupiny za súčasného vzniku väzby na anomérnom uhlíku.

Na zavedenie neparticipujúcej azidoskupiny sa bežne používa azidonitračná metóda, publikovaná Lemieuxom a Ratcliffeom v roku 1979.⁴⁷ Reakcia glykalu s NaN_3 a dusičnanom ceričito-amónnym v CH_3CN prebieha pravdepodobne radikálovým mechanizmom⁴⁸ a poskytuje regioselektívne 2-azido-2-deoxy-1-*O*-nitráty (**IV**). Stereoselektivita na oboch uhlíkoch C-1 a C-2 závisí na štruktúre východiskového glykalu, obecné ale dochádza k vzniku zmesi epimérov.



OBR. 9 Radikálový mechanizmus azidonitračnej reakcie

Nitrát je následne prevedený na vhodnejší glykozyldonor (napr. halogenid⁴⁷ alebo tioglykozid).⁴⁹ Rovnako aj neparticipujúca azidoskupina môže byť transformovaná na participujúcu skupinu (napr. NPhth),⁵⁰ redukovaná na aminoskupinu (napr. H₂/Pd),⁵¹ alebo reakciou s kyselinou tiooctovou prevedená priamo na acetamidoderivát.⁵² Barchi Jr. a kol. publikoval v roku 2003 prípravu prekursorov 2-acetamido-*n*-pentenylglykozidov z D-galaktózy (Schéma 5).⁵³ Kľúčovými krokmi boli azidonitrácia 3,4,6-tri-*O*-acetyl-1,5-anhydro-2-deoxy-D-*lyxo*-hex-1-enitolu (**I**), nasledovaná substitúciou nitrátu za súčasnej hydrolyzy acetátov pomocou sodného alkoholátu 4-pentén-1-olu.

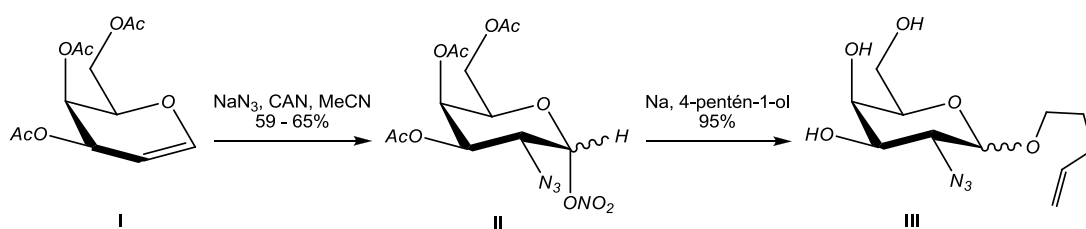


SCHÉMA 5 Syntéza pent-4-enyl-2-azido-2-deoxy- α,β -D-galaktopyranozidu

S cieľom predísť transformácii azidonitrátov na účinnejšie glykozyldonory bol do chémie sacharidov zavedený azidofenylsenačný proces,⁵⁴ ktorý umožnil priamu prípravu selenoglykozidov. Reakcia glykalu s NaN₃, PhI(OAc)₂ a (PhSe)₂ v DCM prebiehala v nízkych výt'ážkoch, preto bol málo rozpustný NaN₃ nahradený rozpustnejším trimetylsilylazidom.⁵⁵

Ďalším z možných spôsobov zavedenia atómu dusíka do polohy C-2 je nitrácia glykalov nasledovaná Michaelovou adíciou. Táto metóda bola prvýkrát popísaná Lemieuxom,^{56,57} ktorý transformáciu tri-*O*-acetylglukalu na odpovedajúci 2-nitroglukal využil pri príprave metyl tri-*O*-acetyl-2-deoxy-2-nitro-D-glukopyranozidov. Das a Schmidt v roku 1998 pripravili dokonca selektívne α - resp. β -2-deoxy-2-nitrogalaktopyranozidy **IV** (Schéma 6).⁵⁸ Reakcia perbenzylovaného

glykalu **Ia** s acetylnitrátom, generovaným *in situ* z HNO₃ a Ac₂O, poskytla derivát **IIa**, ktorý pôsobením roztoku Et₃N v DCM eliminoval na príslušný 2-nitroglalaktal **IIIa**. Následná Michaelova adícia alkoholu ROH na **IIIa** za mierne báziických podmienok poskytla ako hlavný produkt β-glykozid **IV**, zatiaľ čo použitie silnej bázy viedlo k stereoselektívnemu vzniku α-galaktopyranozidu. Nitrácia glykalov bola neskôr uplatnená aj v syntéze 2-nitro-1-tioglykozidov **V**.⁵⁹

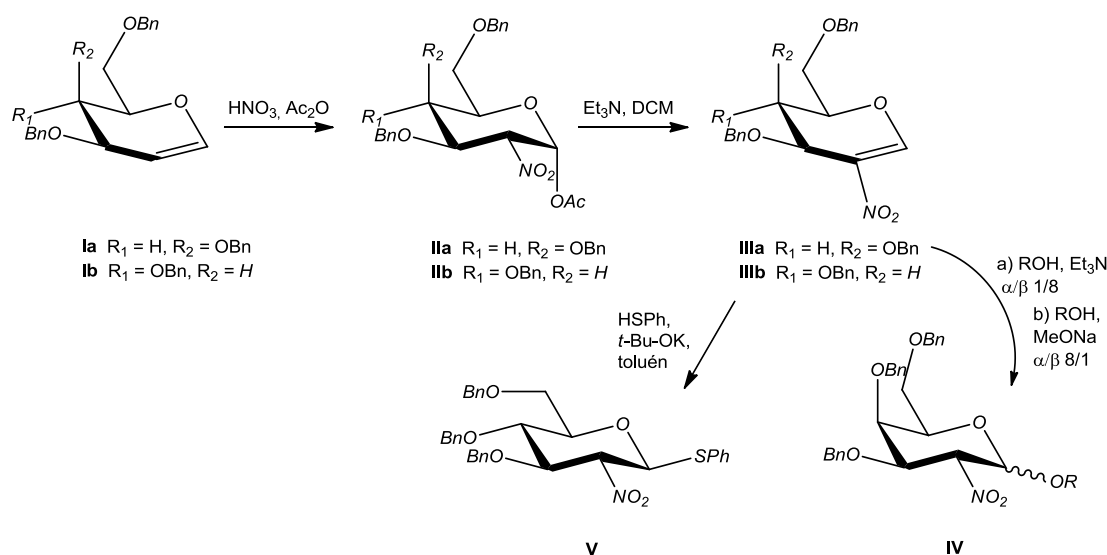


SCHÉMA 6 Príprava 2-deoxy-2-nitroglykozidov z glykalov

Glykaly umožňujú taktiež priamy prístup k 2-acetamido-2-deoxyglykozidom vďaka „one-pot“ procedúre, ktorú prvýkrát použil Gin.⁶⁰ V C-2-amidoglykozylačnej reakcii je perbenzylovaný glukal **I** aktivovaný sulfóniovým činidlom, ktoré vzniká *in situ* z tiantrén-5-oxidu a Tf₂O (Schéma 7). Intramolekulárnou substitúciou glykozylamidu **III** v polohe C-2 a následnou *N*-desilyláciou vzniká *N*-acylaziridín **IV**, ktorý prešmykom poskytuje oxazolín **V**. Jeho otvorenie jednoduchým alkoholom, prípadne iným glykozylakceptorom, prebieha stereoselektívne a ponúka tak prístup k 2-acetamido-2-deoxysacharidom s 1,2-*trans*-glykozidickou väzbou (**VII**). V alternatívnom prístupe (b) dochádza k počiatočnej *O*-adícii amidu AcNHSiMe₃ do polohy C-1 oxokarbéniového iónu **II** za vzniku α-glykozylimidátu **VI**. Následná intramolekulárna substitúcia na uhlíku C-2 poskytuje priamo oxazolín **V**, prekursor 2-acetamidoderivátu **VII**.

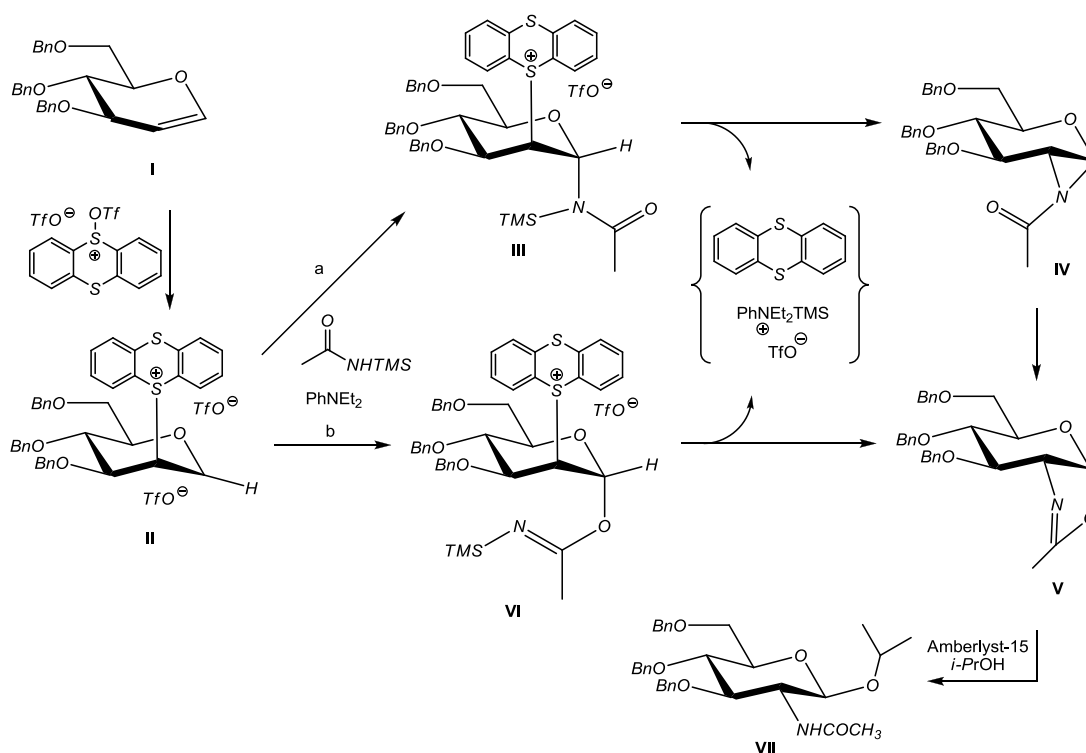
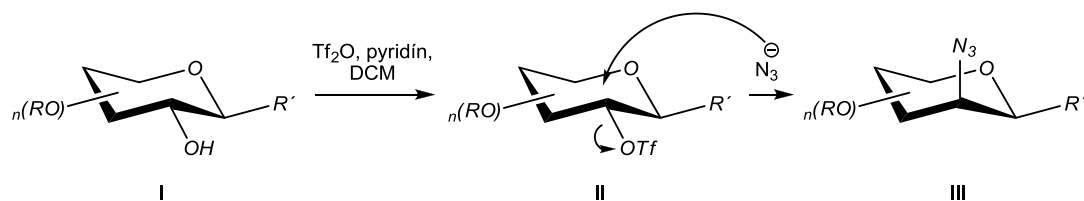


SCHÉMA 7 Priebeh C-2-amidoglykozylačnej reakcie

2.2.2 Syntéza 2-amino-2-deoxysacharidov pomocou nukleofilnej substitúcie v polohe C-2

Ďalšou veľmi rozšírenou metódou poskytujúcou 2-amino-2-deoxysacharidy je nukleofilná substitúcia s inverziou konfigurácie na uhlíku C-2. Priebeh reakcie závisí na povahe nukleofilu, type odstupujúcej skupiny aj použitého rozpúšťadla, či na strane sacharidového kruhu, na ktorom k substitúcii dochádza.

Princíp tejto metódy spočíva v transformácii hydroxylovej skupiny v polohe C-2 na dobre odstupujúcu skupinu a jej následnej substitúcii azidoskupinou, prístupujúcou z opačnej strany kruhu. Ako odstupujúca skupina sa obyčajne používa trifluórometánsulfonát (triflát), ktorý je oveľa reaktívnejší ako napríklad metánsulfonát (mezylát) alebo *p*-toluénsulfonát (tozylát). Zavedenie triflátového zvyšku do molekuly sacharidu prebieha typicky reakciou s Tf₂O a pyridínom v DCM.⁶¹ Jeho následná S_N2 substitúcia azidovým iónom, poskytujúca 2-azido-2-deoxyderivát, môže byť uskutočnená za rôznych reakčných podmienok: NaN₃⁶² alebo LiN₃⁶¹ v DMF, TMSN₃ a TBAF v THF⁶³ a pod. (Obr. 10).



OBR. 10 Mechanizmus substitúcie azidovým iónom

Schéma 8 uvádza príklad z praxe, kedy bol 2-amino-2-deoxyderivát **VI** s *mano*-konfiguráciou pripravený intramolekulárnou substitúciou *p*-toluénsulfónovej skupiny chráneného 1,6-anhydrosacharidu **I**.⁶⁴

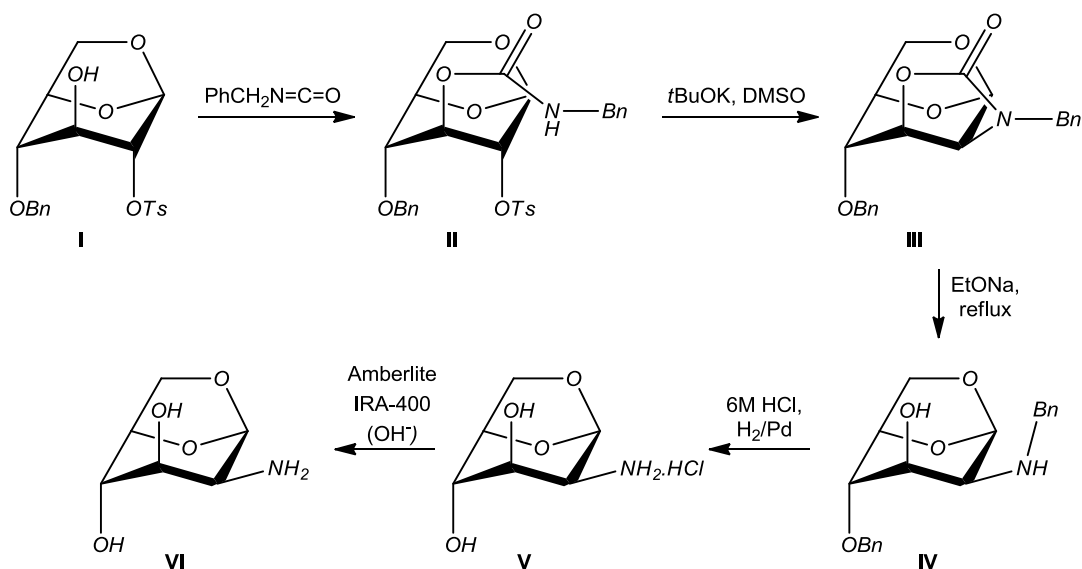


SCHÉMA 8 Príklad použitia S_N2 substitúcie pri príprave 2-amino-2-deoxycukrov

1,6:2,3-Dianhydro- β -D-hexopyranózy s *mano*- a *talo*-konfiguráciou, známe aj ako Černého epoxidy, sú taktiež vhodným východiskovým materiálom pre priame zavedenie azidoskupiny do polohy C-2. Keďže otváranie oxiránového kruhu azidovým iónom (NaN_3 v DMF pri 120 °C)⁶⁵ prebieha *trans*-diaxiálne,^{66,67} môžu byť týmto spôsobom pripravené len 2-azidoderiváty s *gluko*- a *galakto*-konfiguráciou. Získané 1,6-anhydro-2-azido-2-deoxysacharidy môžu byť použité v glykozylačnej reakcii priamo ako glykozylakceptory (**II**), alebo po otvorení 1,6-anhydromostíku prevedené na vhodné glykozyldonory (**III**, **VI**; Schéma 9).^{68,69,70,71}

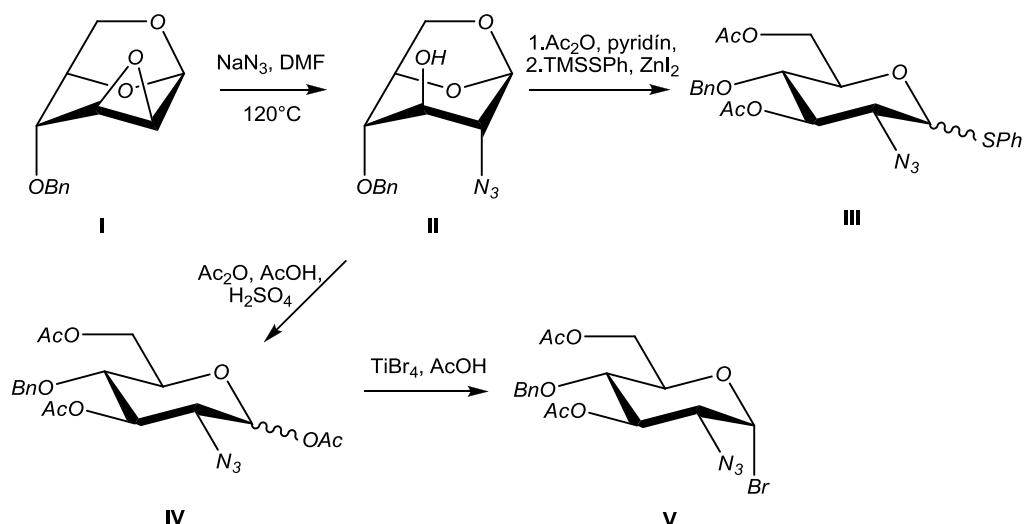


SCHÉMA 9 Využitie Černého epoxidov v syntéze 2-amino-2-deoxysacharidov

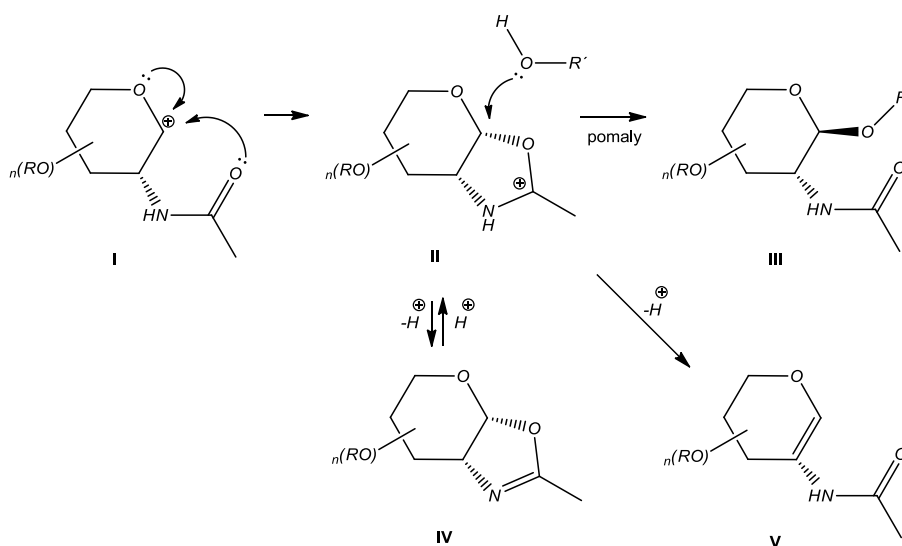
2.2.3 Syntéza 2-amino-2-deoxysacharidov pomocou zavádzania chránenej formy aminoskupiny do polohy C-2

Zníženie vysokej reaktivity aminoskupiny sa bežne rieši dočasnou premenou na amid, karbamát či imid, ktorý znižuje elektrónovú hustotu na atóme dusíka. Nevýhodou tohto prístupu je nárast počtu syntetických manipulácií, čo automaticky znižuje celkový výťažok. Ako už bolo spomenuté, výber chrániacej formy aminoskupiny môže zásadne ovplyvniť výslednú stereoselektivitu a zastúpenie produktov glykozylácie. Všeobecne sa volia také funkčné skupiny, ktoré budú nielen stabilné za reakčných podmienok, ale budú tiež podporovať a usmerňovať priebeh glykozylácie. V neposlednom rade by ideálna forma aminoskupiny mala byť ľahko odštiepitelná a transformovateľná na acetamidogrupinu.

Pretože je drvivá väčšina prírodných 2-amino-2-deoxysacharidov *N*-acetylovaná, bolo lákavé nájsť glykozylačný postup využívajúci priamo 2-acetamidoglykozyldonory. Participujúci efekt *N*-acetylovej skupiny tak bol uplatnený pri syntéze 1,2-*trans*-glykozidov pomocou oxazolínovej metódy.

U tohto typu glykozyldonoru dochádza k prešmyku oxokarbéniového iónu **I** na oxazolíniový kation **II**, ktorý reakciou s akceptorom R'OH poskytuje 1,2-*trans*-glykozid **III** (Obr. 11). Počas glykozylačnej reakcie však môže dochádzať k strate amidického protónu za vzniku vysoko stabilného oxazolínu **IV**, ktorý už nevykazuje vlastnosti dobrého glykozyldonora a často zostáva v reakčnej zmesi ako hlavný medziprodukt. Táto vedľajšia reakcia môže byť potlačená nadbytkom reaktívnych

glykozylakceptorov.⁷² Jeho spätné prevedenie na oxazolíniový ión a následné použitie v glykozylačnej reakcii je podmienené protonizáciou v silno kyslom prostredí.⁷³ Oxazolínová metóda našla svoje uplatnenie hlavne pri glykozyláciach veľmi reaktívnych alkoholov a primárnych glykozylakceptorov. Pripravené však boli už aj 2-acetamido-2-deoxy- β -D-glukopyranozidy, ktoré vznikli reakciou oxazolínu s glykozylakceptorom obsahujúcim sekundárnu hydroxylovú skupinu v prítomnosti bezvodého CuCl_2 alebo CuBr_2 za zvýšenej teploty.⁷⁴ Reakčné podmienky sú pomerne mierne a umožňujú tak predĺženie reakčných časov bez hrozby rozkladu produktov.

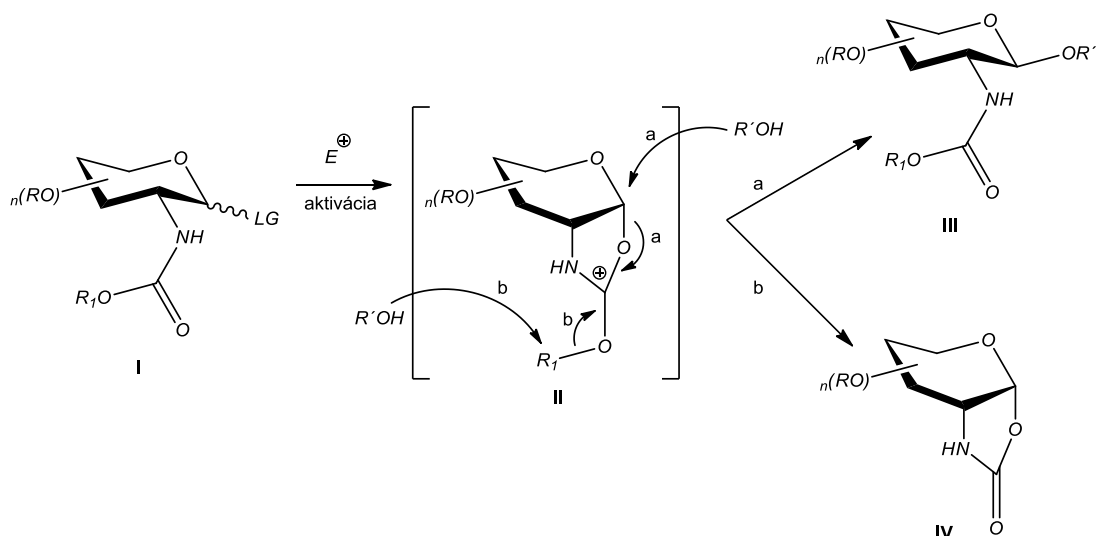


OBR. 11 Oxazolínová glykozylačná metóda

Okrem metyloxazolínov sa v glykozylačných reakciách používajú aj fenyln-, benzyl- či haloacetyloxazolíny. Navyše elektrónakceptórny efekt u halogén-substituovaných 2-acetamidov (napr. *N*-trichlór- alebo *N*-trifluóracetylované deriváty) posilňuje elektrofilný charakter anomárneho uhlíka oxazolíniového iónu a zvyšuje tým jeho reaktivitu.^{75,76}

Pre selektívnu prípravu oligosacharidov obsahujúcich 1,2-*trans*-glykozidicky viazané 2-amino-2-deoxyhexózy je tiež hojne využívaná metóda, založená na participácii funkčnej skupiny 2-*N*-alkoxykarbonylových derivátov **I** (Obr. 12). Glykozylakceptor ($\text{R}'\text{OH}$) môže k cyklickému azadioxokarbéniovému iónu **II**, ktorý vzniká aktiváciou karbamátovej funkčnej skupiny, pristupovať len z opačnej strany sacharidového kruhu do tzv. „*trans*-polohy“ (prístup a). U stéricky náročných glykozylakceptorov môže taktiež dochádzať k tvorbe cyklického karbamátu **IV**,

produktu nukleofilného ataku glykozylakceptoru na alkylový substituent azadioxokarbéniového derivátu **II** (prístup b).⁷⁷



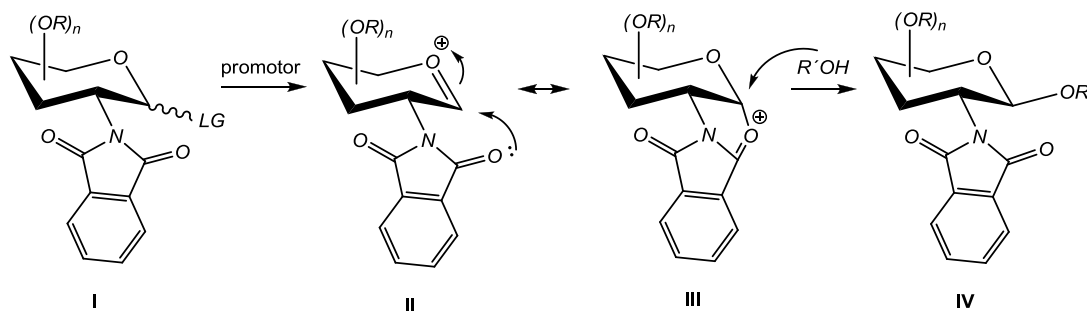
OBR. 12 Participácia 2-N-alkoxykarbonylovej funkčnej skupiny pri glykozylácii

Medzi najbežnejšie *N*-alkoxykarbonylové chrániace skupiny, využívané v glykozylačných reakciách, patria *N*-benzyloxykarbonylová (NHCbz al. NHZ),^{77,78,79} *N*-(*p*-nitrobenzyl)-oxykarbonylová (PNZ),⁸⁰ *N*-allyloxykarbonylová (NHAlloc),^{81,82} *N*-(*tert*-butyl)-oxykarbonylová (NHBoc)⁸⁰ a *N*-2,2,2-trichloretyloxykarbonylová (NHTroc)⁸³ funkčná skupina. Ako glykozylodonory (**I**) sa osvedčili glykozylhalogenidy (bromidy, chloridy) za aktivácie Ag⁺ či Hg²⁺, a taktiež trichlóracetimidáty, β-*O*-acetáty a tioglykozidy, aktivované pomocou Lewisových kyselín (TMSOTf, BF₃.Et₂O).

Avšak najosvedčenejšou metódou pre vznik 1,2-*trans*-glykozidickej väzby, používanej u 2-amino-2-deoxysacharidov, je ftalimidová metóda, ktorá bola do oligosacharidovej chémie zavedená v roku 1976.² Princíp tejto metódy spočíva v participácii ftalimidovej chrániacej skupiny, ktorá sa zúčastňuje delokalizácie kladného náboja na anomérnom uhlíku oxazoliniového iónu **III**, vzniknutého elektrofilnou aktiváciou glykozylodonoru **I** (Obr. 13). Aj v tomto prípade môže glykozylakceptor atakovať anomérnu polohu len zo stéricky prístupnej strany, čím dochádza k selektívnemu vzniku 1,2-*trans*-glykozidov. Absencia protónu u cyklického medziproduktu **III** navyše vylučuje tvorbu oxazolinov a oxazolidínov.

Ftalimidová skupina (NPhth) je do molekuly sacharidu typicky zavádzaná reakciou hydrochloridu amínu s anhydridom kyseliny ftálovej v prítomnosti bázy. Ako odstupujúce skupiny sa u 2-ftalimidoderivátov používajú halogenidy (aktivácia pomocou Ag⁺ alebo Hg²⁺ solí),⁸⁴ trichlóracetimidáty (aktivácia Lewisovými

kyselinami, napr. SnCl_4 , TMSOTf , $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$),^{85,86} β -tioglykozidy (aktivované napr. MeOTf , DMTST),⁸⁷ ale aj menej frekventované glykozyldonory ako napr. fenylselenylglykozidy.⁸⁸ K odštiepeniu ftalimidovej skupiny sa bežne používajú butylamín v MeOH ,⁸⁴ etyléndiamín v EtOH ,^{50,89} hydrazínhydrát v EtOH alebo MeOH ,⁹⁰ alebo dvojstupňovým procesom pomocou NaBH_4 .⁹¹



OBR. 13 Ftalimidová glykozylačná metóda

Podobne aj ďalšie spôsoby blokovania amino skupiny pomocou dvoch monovalentných prípadne jednej bivalentnej cyklickej skupiny vylučujú tvorbu stabilných oxazolínov. Medzi takéto substituenty radíme napr. tetrachlórfthalimidovú chrániacu skupinu (TCP),⁹² ktorá je ľahšie odstrániteľná ako ftalimidová skupina.

Hoci sú známe mnohé spôsoby prípravy oligosacharidov, je potrebné zdôrazniť, že stále platí konštatovanie Prof. Hansa Paulsena z roku 1982:⁹³ „Každá oligosacharidová syntéza zostáva nezávislým problémom, ktorého riešenie vyžaduje systematický výskum a značnú dávku know-how. Neexistujú žiadne univerzálne podmienky pre syntézu oligosacharidov.“

3 Ciele dizertačnej práce

V predkladanej práci pokračujem v dlhodobom projekte, ktorý sa zaoberá problematikou prípravy biologicky aktívnych glykokonjugátov. Mojou úlohou bolo pripraviť vetvené oligosacharidy obsahujúce 2-acetamido-2-deoxyhexopyranózové jednotky s *gluko-*, *galakto-* a *mano-*konfiguráciou, ktoré by bolo možné pomocou bifunkčného ramienka neskôr naviazať na lipidový či proteínový nosič a vytvoriť tak glykokonjugát.

Konkrétne ciele mojej dizertačnej práce boli stanovené takto:

- 1) Syntéza stavebných jednotiek odvodených od D-glukózamínu a D-galaktózamínu, vhodných pre prípravu triantenárnych homo- a heterooligosacharidov vetvených v polohách C-3 a C-6, z vhodne chránených dianhydrosacharidov.
- 2) Syntéza stavebných jednotiek odvodených od D-glukózamínu a D-galaktózamínu, vhodných pre prípravu vetvených tetrasacharidov.
- 3) Zavedenie bifunkčného ramienka do anomérnej polohy glykozylakceptoru, a overenie jednoduchosti jeho transformácie na karbonylovú funkčnú skupinu.
- 4) Vypracovanie vhodnej glykozylačnej metodiky pre cielenú prípravu vetvených 1,2-*cis* a 1,2-*trans*-viazaných oligosacharidov.

4 Výsledky a diskusia

4.1 Príprava monosacharidových jednotiek

Pre syntézu homo- a heterooligosacharidov bolo potrebné pripraviť viacero stavebných jednotiek s *gluko-*, *galakto-* a *mano-*konfiguráciou. Kvôli zjednodušeniu syntézy a zníženiu počtu reakčných krokov boli preto navrhnuté tak, aby bolo možné použiť jednu východiskovú látku pre prípravu hneď niekoľkých monosacharidových jednotiek.

4.1.1 Syntéza stavebných blokov odvodených od 2-amino-2-deoxyglukopyranózy a 2-amino-2-deoxygalaktopyranózy

Jedným z hlavných kritérií syntézy monosacharidových jednotiek s *gluko-* a *galakto-*konfiguráciou, vhodných pre syntézu dianterných oligosacharidov vetvených v polohách C-3 a C-6, bolo rozlíšenie jednotlivých hydroxylových skupín glykosylakceptoru. Selektívne chránenie polohy C-4 bolo v predchádzajúcich prípadoch^{94,95,96} riešené reduktívnym otvorením 4,6-*O*-benzylidénovej chrániacej skupiny. Zatiaľ čo systém trietylsilán/TFA⁹⁷ resp. NaBH₃CN-HCl⁹⁸ poskytol selektívne 6-*O*-benzyl-4-hydroxyderivát, otvorenie 4,6-*O*-benzylidénacetátu do polohy C-4 pomocou AlCl₃/BH₃.NMe₃⁹⁹ dávalo len zmes 4-*O*- a 6-*O*-benzyléterov.

Preto bol pre prípravu vhodne chránených 2-amino-2-deoxysacharidov zvolený prístup založený na otvorení oxiránového kruhu 1,6:2,3- a 1,6:3,4-dianhydrocukrov azidovým iónom. Rigidná štruktúra 1,6-anhydrosacharidov umožňuje vysokú regio- a stereokontrolu reakcií. Obrovskou výhodou je aj „chrániaca“ funkcia anhydroväzby. Po úspešnom zavedení funkčných skupín do ostávajúcich polôh C-2, C-3 a C-4 môže byť 1,6-anhydromostík štiepený za kyslých podmienok, čím je umožnená následná modifikácia funkčných skupín v polohách C-1 a C-6. Chránenie hydroxylových skupín bolo zaistené systémom *O*-benzylových a *O*-acetylových chrániacich skupín, ktoré sú stabilné za podmienok glykozylačnej reakcie.

Východiskovou látkou pre syntézu stavebných jednotiek s *gluko-*konfiguráciou bola 1,6-anhydro-β-D-glukopyranóza, tzv. levoglukozán. Známym spôsobom^{100,101} bol z neho pripravený 2-*O*-tozyl epoxid **2**, ktorý reakciou s benzylalkoholom poskytol derivát **3** v 57 % výťažku (Schéma 10). Z neho bol

reakciou s MeONa získaný epoxid **4**. Diaxiálnym otvorením oxiránového kruhu s NaN_3 ⁶⁵ bola do polohy C-2 zavedená azidová skupina, ktorá tak mohla slúžiť rovno ako chránená forma amínu. Pri tomto postupe boli všetky pripravené látky získané v kryštalickej forme v niekoľkokogramových množstvách, čím odpadla nutnosť chromatografického čistenia produktov. Syntézy týchto látok sú známe a ich ¹H NMR spektrá a body topenia boli v zhode s literatúrou (viď experimentálna časť). Acetyláciou hydroxylovej skupiny azidu **5** a následnou acetolýzou anhydridu **6** v Ac_2O v prítomnosti TFA bol vo vysokom výťažku získaný monosacharid **7** ($\alpha/\beta = 4/1$), ktorý mohol byť ďalej jednoducho transformovaný na glykozylakceptor resp. glykozyldonor.

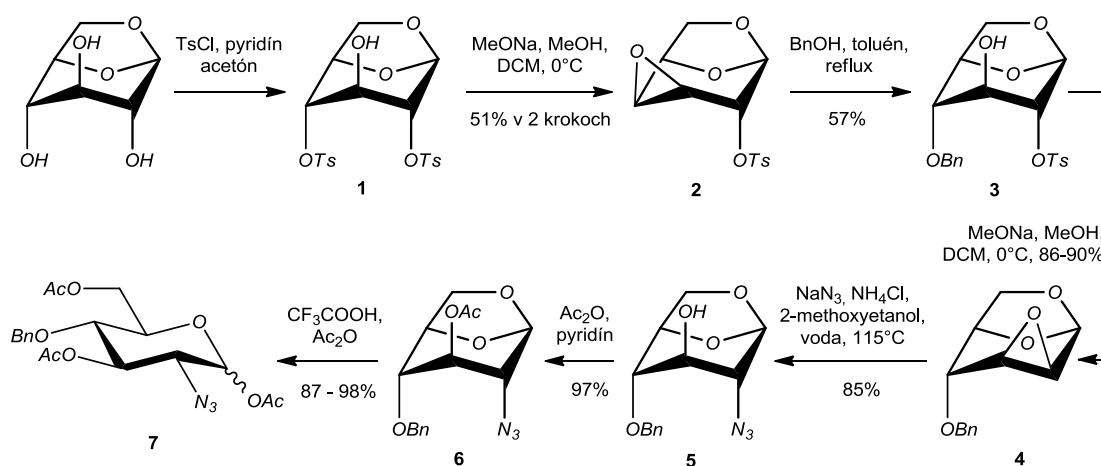


SCHÉMA 10 Syntéza prekursoru **7** pre prípravu glykozyldonorov a akceptorov

Ako prvý glykozylakceptor bol v troch krokoch pripravený benzyl-2-acetamido-4-*O*-benzyl-2-deoxy- α -D-glukopyranozid **10** (Schéma 11). Redukciou azidoskupiny **7** zinkom resp. H_2S a následnou acetyláciou amínu bol získaný acetamidoderivát **8**, ktorý reakciou s BnOH za katalýzy TfOH poskytol benzyl glykozid **9**. Reakcia bola prevedená v benzéne pri 75 °C modifikovaným postupom podľa literatúry¹⁰² a produkt **9** bol získaný v uspokojivom výťažku selektívne ako β -anomér (¹H NMR signál pre H-1: 4.38 ppm, d, 1H, $J_{1,2} = 8.2$ Hz). Zvýšenie teploty na 90 °C viedlo k miernemu zvýšeniu výťažku na 68%. Ani v tomto prípade nebol pozorovaný vznik α -anoméru. Zemplénova *O*-deacetylácia látky **9** poskytla glykozylakceptor **10** s voľnými hydroxylovými skupinami v polohách C-3 a C-6, vhodný pre prípravu diantenárnych trisacharidov s *gluko*-konfiguráciou na kľúčovom sacharide.

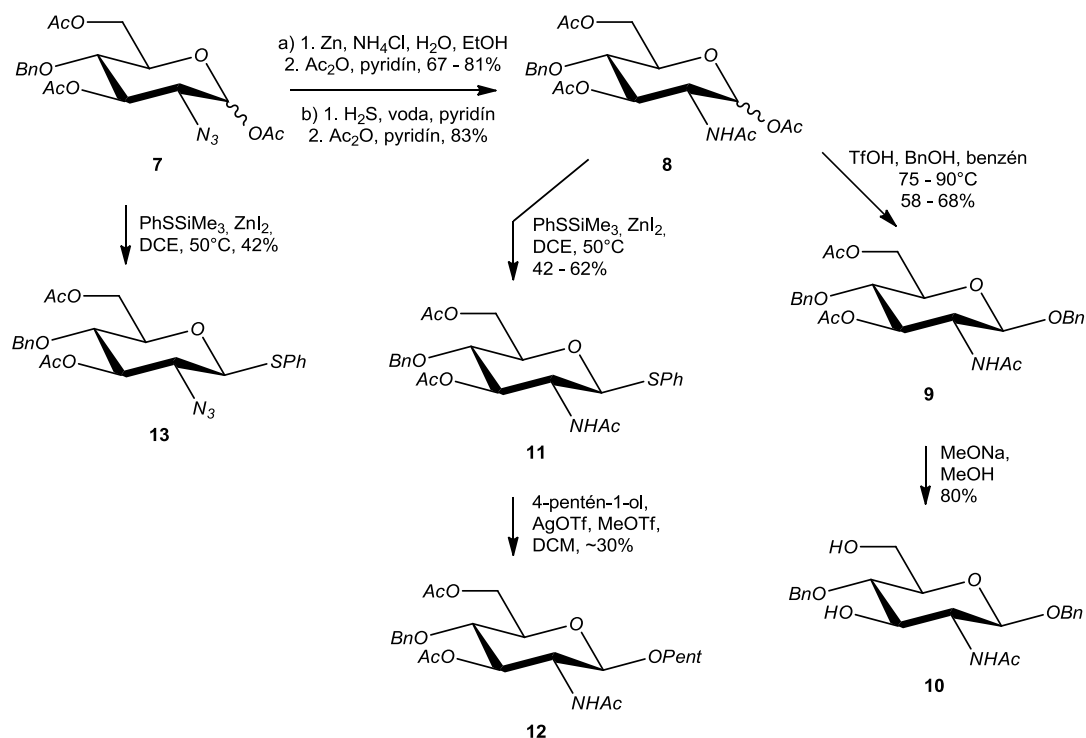


SCHÉMA 11 Syntéza látok **10**, **12** a **13** s *gluko*-konfiguráciou

Ďalším derivátom s *gluko*-konfiguráciou mal byť parciálne chránený 4-pentenylglykozid **12** (Schéma 11). 4-*O*-Pentenylová skupina v anomérnej polohe glykozylakceptoru plní nielen funkciu chrániacej skupiny, ale jej dvojná väzba umožňuje zavedenie rôznych funkčných skupín²¹ (hydroxylová skupina, maskovaný amín alebo tiol, aldehydová či karboxylová skupina), vhodných pre prípravu *neo*-glykokonjugátov alebo priamo použiteľných v biologických experimentoch. Navyše je aj dobrou odstupujúcou skupinou takže 4-pentenylglykozid môže v prípade potreby slúžiť aj ako glykozyl donor. Pokus o prevedenie 1-*O*-acetyl derivátu **8** na 4-pentenylglykozid **12** cez tioglykozidy ale nebol veľmi úspešný. Už reakcia látky **8** s PhSSiMe₃¹⁰³ poskytla β-tioglykozid **11** iba vo výťažku 42-62%. Keďže aj následná glykozylačná reakcia **11** so 4-pentén-1-olom katalyzovaná MeOTf v kombinácii s AgOTf prebiehala v nízkom výťažku, rozhodla som sa ustúpiť od syntézy acetamido-derivátu **12**. Chcela som taktiež zistiť, ako ovplyvní zámena participujúcej skupiny v polohe C-2 za neparticipujúcu skupinu výsledný výťažok, preto som aj azidoderivát **7** podrobila reakcii s PhSSiMe₃ v nadbytku ZnI₂. V tomto prípade bola náročná najmä izolácia produktu; opakovanou chromatografiou na silikagéli bol β-tioglykozid **13** získaný len v 42% výťažku. Stratégia prípravy 4-pentenylglykozidov cez fenylioglykozidy sa ukázala byť neefektívna a tak bol zvolený iný postup.

Zamerala som sa preto na prípravu glykozyltrichlóracetimidátov, ktoré ponúkali možnosť využitia nielen v syntéze 4-pentenylglykozidov, ale aj priameho použitia v glykozylačných reakciách pri príprave oligosacharidov. Deacetylácia anomérnej hydroxylovej skupiny azidu **7** (Schéma 12) benzylamínom¹⁰⁴ alebo butylamínom¹⁰⁵ v THF prebiehala spoľahlivo a poskytla voľný alkohol **14** vo vysokom výťažku (Tabuľka 1). Zastúpenie anomérov u látky **14** bolo stanovené pomocou ¹H NMR spektroskopie ako $\alpha/\beta = 5/2$ až $5/3$ [signály vybraných protónov v ¹H NMR spektre pre α -anomér: 5.62 ppm, dd, $J_{3,4} = 9.0$ Hz, $J_{2,3} = 10.6$ Hz (H-3); 5.36 ppm, d, $J_{1,2} = 3.5$ Hz (H-1); β -anomér: 5.11 ppm, dd, $J_{3,4} = 8.5$ Hz, $J_{2,3} = 10.4$ Hz (H-3); 4.73 ppm, d, $J_{1,2} = 8.0$ Hz (H-1)]. Selektívnou deacetyláciou **7** pomocou piperidínacetátu v THF bola získaná látka **14** v priemernom výťažku, zatiaľ čo pri použití etyléndiamínu dochádzalo k rozkladu východiskového azidu **7** (Tabuľka 1).

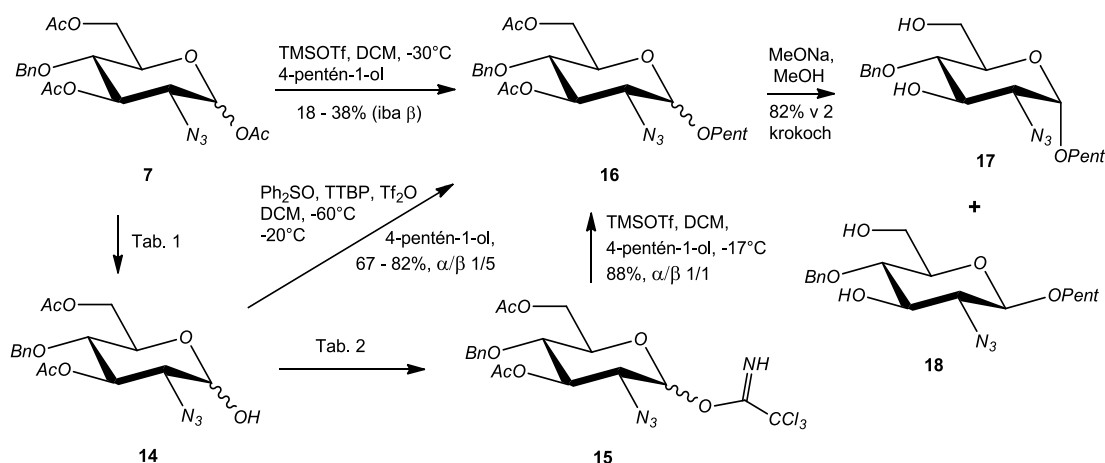


SCHÉMA 12 Syntéza glykozyldonoru **15** a glykozylakceptorov **17** a **18**

TABUĽKA I

Prehľad reakčných podmienok deacetylácie anomérnej hydroxylovej skupiny azidu **7**

Podmienky	BnNH ₂ , THF	BuNH ₂ , THF	Piperidínacetát, THF	(NH ₂) ₂ (CH ₂) ₂ , THF
Výťažok [%]	79-81	78-84	60	rozklad

Literatúra ponúkala bohaté možnosti prípravy trichlóracetimidátov, ani jedna z vyskúšaných metód však nebola stereošpecifická (Tabuľka 2). Reakcia alkoholu **14** s CCl₃CN a K₂CO₃¹⁰⁶ poskytla nedeliteľnú zmes anomérov **15** α/β v pomere 8/1 v priemernom výťažku (signály protónov H-1 v ¹H NMR spektrách u α -anoméru:

6.46 ppm, d, $J_{1,2} = 3.6$ Hz; β -anomér: 5.71 ppm, d, $J_{1,2} = 8.3$ Hz). Skrátenie reakčnej doby na 4 hodiny viedlo iba k minimálnemu zvýšeniu výťažku reakcie, pričom v získanej zmesi tentokrát prevládal β -anomér **15**. Oveľa lepšie výťažky (cca 80%) poskytla reakcia alkoholu **14** s DBU v DCM¹⁰⁷ pri 0 °C, kde bol pomer anomérnych α/β trichlóracetimidátov **15** blízky 1/1. Pre účely priameho použitia trichlóracetimidátu **15** ako glykozyldonoru v oligosacharidovej syntéze, ktorý by prednostne poskytoval vznik β -glykozidickej väzby, sa žiadalo zvýšiť zastúpenie α -anoméru v zmesi. To bolo docielené použitím DCE a zvýšením teploty na 25 °C podľa reakčných podmienok uvedených v literatúre.¹⁰⁸ Je potrebné zdôrazniť, že produkt **15** nebol stabilný a aj napriek uskladneniu pri nízkych teplotách (-25 °C) postupne prechádzal späť na východiskový alkohol **14**.

TABUĽKA II

Prehľad reakčných podmienok pre prípravu trichlóracetimidátu **15** z alkoholu **14**

Podmienky	K ₂ CO ₃ , CCl ₃ CN, DCM	DBU, CCl ₃ CN, DCM, 0 °C	DBU, CCl ₃ CN, DCE
Výťažok [%]	54-57	79-82	66-81
α/β	8/1, 4/7	4/3, 1/1	4/1, 7/1

Reakcia trichlóracetimidátu **15** so 4-pentén-1-olom katalyzovaná TMSOTf¹⁰⁹ pri 0 °C poskytla 4-pentenylglykozid **16** v 66% výťažku, ktorý sa podarilo zvýšiť znížením reakčnej teploty na -17 °C. Zastúpenie α/β anomérov bolo v oboch prípadoch blízke 1/1 (integrované signály protónov H-2 v ¹H NMR spektrách pre α -anomér: 3.08 ppm, dd, $J_{1,2} = 3.6$ Hz, $J_{2,3} = 10.7$ Hz; β -anomér: 3.38 ppm, dd, $J_{1,2} = 8.1$ Hz, $J_{2,3} = 10.5$ Hz). Kvôli spomínaným problémom so stabilitou trichlóracetimidátu **15** boli u látky **14** vyskúšané aj podmienky dehydratívnej glykozylácie.¹¹⁰ Reakciou so 4-pentén-1-olom v prítomnosti Ph₂SO a TTBP pri nízkej teplote bola získaná zmes α/β anomérov **16** v pomere 1/5. Pretože výťažky reakcie boli pomerne vysoké a odpadla nutnosť prípravy trichlóracetimidátu **15**, prísun α,β -4-pentenylderivátu **16** som riešila už len touto metódou.

Získané anoméry α a β síce neboli chromatograficky deliteľné, ale ich separácia bola možná v ochránenej forme. Zemplénovou deacetyláciou tak boli pripravené 4-pentenylglykozidy **17** a **18** s voľnými hydroxylovými skupinami v polohách C-4 a C-6.

Vyskúšala som taktiež priamu transformáciu acetátu **7** na 4-pentenylglykozid **16** podľa podmienok uvedených v literatúre.¹¹¹ Reakciou látky **7** so 4-pentén-1-olom v prítomnosti TMSOTf pri teplote -30 °C bol selektívne získaný produkt **16** s β -konfiguráciou. Ani predĺženie reakčného času na 48 h však nevedlo k zvýšeniu výťažku nad 38% a viac než polovicu zmesi tvoril nedoreagovaný acetát **7**. Ako najvhodnejšia metóda pre syntézu glykozylakceptorov **17** a **18** sa tak ukázala byť dvojkroková príprava pomocou dehydratívnej glykozylácie. Trichlóracetimidát **15** bol neskôr použitý ako glykozyldonor pri syntéze trisacharidov.

Syntéza derivátov s *galakto*-konfiguráciou bola v podstate založená na rovnakom princípe ako syntéza *gluko*-derivátov. Aj v tomto prípade bola pre zavedenie azidovej skupiny do polohy C-2 využitá metóda diaxiálneho otvorenia vhodne substituovaného epoxidu azidovým iónom. Východisková 1,6-anhydro-3,4-izopropylidén- β -D-galaktopyranóza (**19**) bola pripravená pyrolýzou monohydrátu α -laktózy a následnou kondenzáciou 1,6-anhydro- β -D-galaktopyranózy s acetónom podľa postupu uvedeného v literatúre.¹¹² Z 3,4-izopropylidéndervátu **19** bola reakciou s TsCl pripravená látka **20**,¹¹² ktorá refluxom vo vodnom roztoku kyseliny octovej (20%) poskytla 2-*O*-tozyl derivát **21**¹¹³ vo výťažku až 76% (Schéma 13). Po uzavretí oxiránového kruhu reakciou s MeONa nasledovala benzylácia voľnej hydroxylovej skupiny dianhydroderivátu **22**.¹¹⁴

Pre zavedenie azidovej skupiny do polohy C-2 boli najskôr zvolené rovnaké podmienky⁶⁵ ako u *gluko*-derivátu **4**. Reakcia s NaN_3 v zmesi 2-metoxyetanolu a vody však prebiehala dosť pomaly a aj po 24 h bola v roztoku pozorovaná prítomnosť východiskovej látky **23**. Použitím LiN_3 miesto NaN_3 sa podarilo skrátiť dobu reakcie až na 8 h a taktiež znížiť množstvo použitých reagentov. Dôvodom urýchlenia reakcie je nielen ľahká rozpustnosť LiN_3 v organických rozpúšťadlách, ale aj kooperačný efekt Li^+ .^{115,116} Reakciou epoxidu **23** s LiN_3 v DMF tak vznikol 2-azidoderivát **25** v peknom výťažku. Za zmienku stojí fakt, že okrem očakávaného 2-azidoderivátu **25** bol z reakčnej zmesi izolovaný aj produkt *trans*-diekvatoriálneho otvárania oxiránového kruhu. 3-Azidoderivát **24** s *ido*-konfiguráciou¹¹⁷ bol z reakcie získaný v 9% výťažku. Kyslo katalyzovaná acetolýza chráneného azidoderivátu **26** poskytla monosacharid **27**, ktorý mohol byť následne použitý v syntéze glykosylakceptorov **33** a **34**.

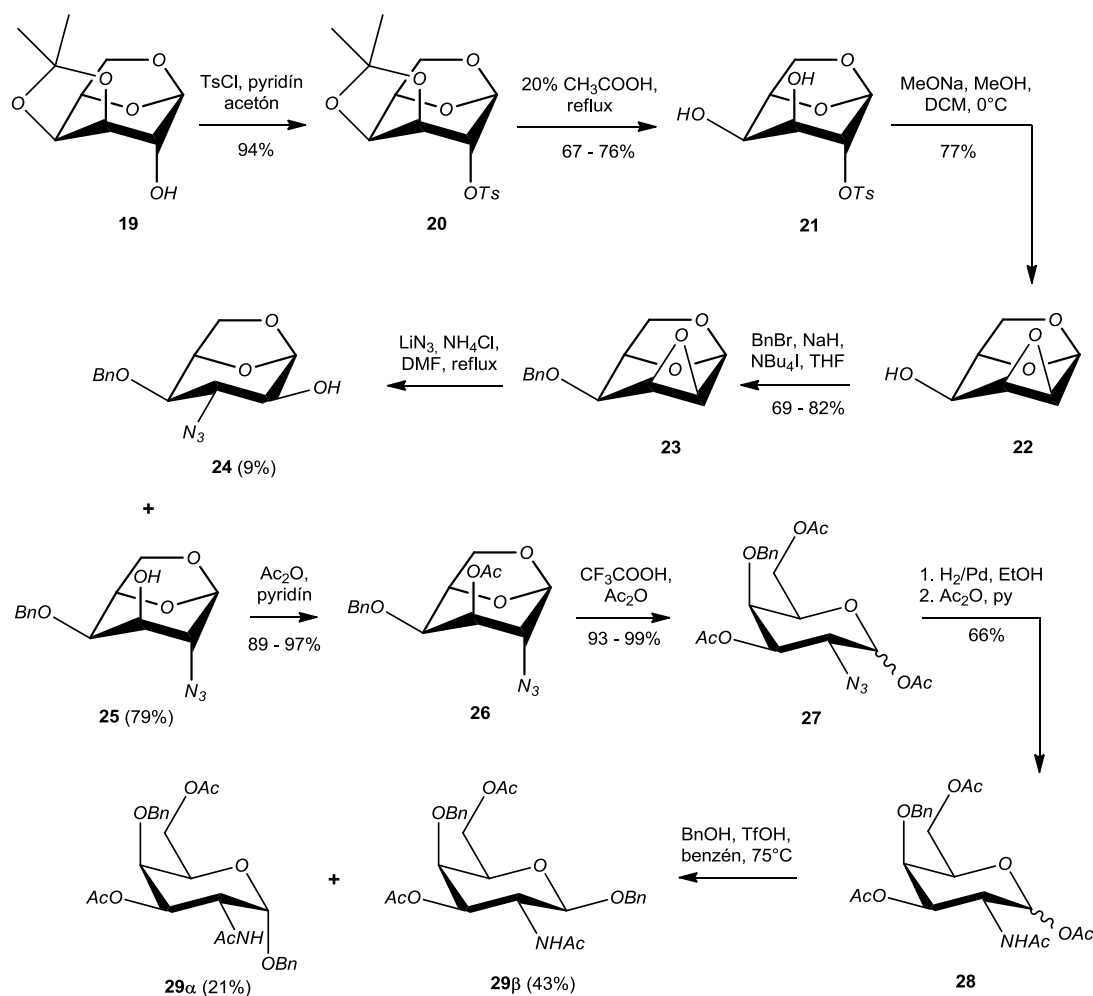


SCHÉMA 13 Syntéza prekursoru **27** s galakto-konfiguráciou

Azidoderivát **27** bol v dvoch krokoch prevedený na acetamidoderivát **28**, z ktorého bol reakciou s BnOH v prítomnosti TfOH pripravený benzylglykozid **29**. Derivát **29 α** bol izolovaný v 21% výťažku a derivát **29 β** vo výťažku 43%. Protón H-1 α -anoméru sa v ^1H NMR spektrách prejavil ako dublet pri 4.96 ppm s interakčnou konštantou $J_{1,2} = 3.7$ Hz, signál H-1 β -anoméru bol dublet pri 4.64 ppm ($J_{1,2} = 8.4$ Hz).

Látka **27** bola využitá aj pre prípravu 4-pentenylglykozidu **32** (Schéma 14). Najskôr bola prevedená selektívna deacetylácia anomérnej polohy 1-O-acetátu **27** pomocou piperidínacetátu v THF, ktorá poskytla alkohol **30** vo výťažku 89%. Podobne aj deacetylácia butylamínom v THF poskytla derivát **30** vo vysokom výťažku. Ten reakciou s CCl_3CN v prítomnosti DBU poskytol anomérnu zmes trichloracetimidátov **31**¹⁰⁸ v pomere $\alpha/\beta = 4/3$ (integrované signály protónov H-1

v ^1H NMR spektrách pre α -anomér: 5.40 ppm, d, $J_{1,2} = 3.5$ Hz; β -anomér: 4.63 ppm, d, $J_{1,2} = 8.0$ Hz).

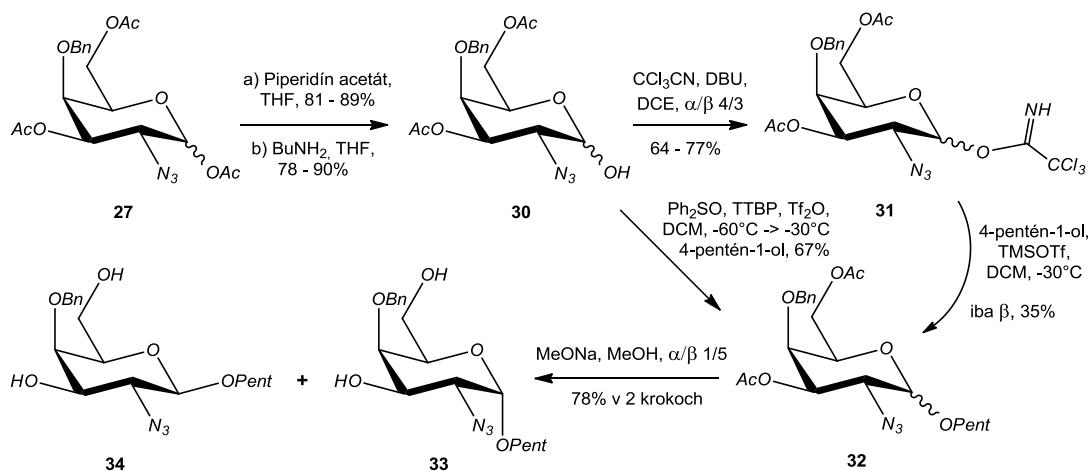


SCHÉMA 14 Schéma glykozylakceptorov **33** a **34**

Reakciu trichlóracetimidátu **31** so 4-pentén-1-olom za katalýzy TMSOTf bol selektívne získaný 4-pentenylglykozid **32** s β -konfiguráciou, ale celkový výťažok glykozylácie bol iba 35%. Rozhodla som sa preto zmeniť spôsob prípravy 4-pentenylglykozidu **32** a na látku **30** som aplikovala podmienky dehydratívnej glykozylácie, ktoré boli použité u alkoholu **14** s *gluko*-konfiguráciou. Po prvom pokuse bol z reakčnej zmesi izolovaný opäť iba β -anomér **32**, tentokrát v 67% výťažku. Protón H-1 sa v ^1H NMR spektre prejavil ako dublet pri 4.30 ppm s interakčnou konštantou $J_{1,2} = 8.0$ Hz. Pri prísune väčšieho množstva 4-pentenylglykozidu **32** bola prevedená už len rýchla chromatografia na malom stĺpci silikagélu a produkt bol použitý priamo do ďalšej reakcie. Analýzou ^1H NMR spektier produktu bola potvrdená prítomnosť β -anoméru **32**, ktorý tvoril približne 80% zmesi. Signály patriace α -anoméru nebolo možné kvôli vysokému prekrytiu priradiť. Deacetyláciou látky **32** podľa Zempléna však boli získané oba anomérne alkoholy **33** a **34** v zastúpení $\alpha/\beta = 1/5$. Celkový výťažok po dvoch krokoch (glykozylácia nasledovaná deacetyláciou) bol 78%. Deriváty **33** a **34** boli použité ako glykosylakceptory v syntéze trisacharidov.

Pri príprave glykozylakceptoru s *galakto*-konfiguráciou, vhodného pre syntézu tetrasacharidu, som vychádzala z hydrochloridu galaktózamínu (Schéma 15). Jeho acetyláciou s Ac_2O v pyridíne bol pripravený pentaacetát **35** vo výťažku 46-49%. V zmesi prevládala α -anomér, β -anomér tvoril iba 0-5%. Zvýšenie výťažku

acetylácie galaktózamínu až na 69% bolo dosiahnuté sonifikáciou¹¹⁸ s Ac₂O v Et₃N. Podľa postupu uvedeného v literatúre¹¹⁹ bola anomérna zmes látky **35** prevedená reakciou s 4-pentén-1-olom v prítomnosti TMSOTf priamo na 4-pentenylglykozid **36** v 50% výťažku. V závislosti od pomeru anomérov východiskového 1-*O*-acetátu **35** bolo zastúpenie α anoméru 4-pentenylglykozidu **36** 25-30%. *O*-Deacetyláciou derivátu **36** s MeONa v MeOH boli získané oba anoméry látky **37**, pričom do ďalších reakcií bol použitý už iba derivát **37 β** .

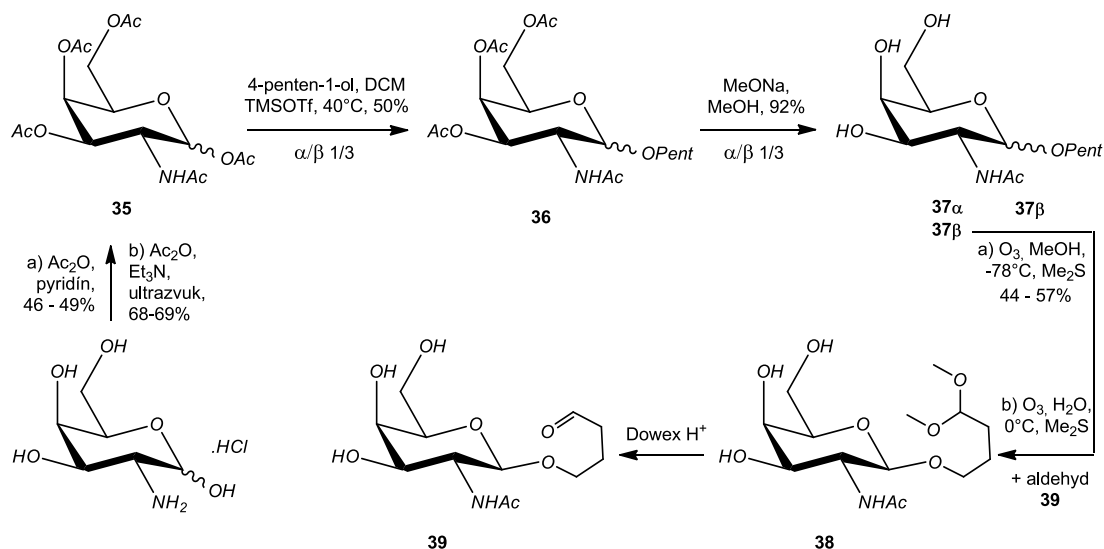


SCHÉMA 15 Syntéza glykozylakceptoru **37 β** a jeho následná ozonolýza

Okrem použitia v syntéze tetrasacharidu bol 4-pentenylglykozid **37 β** uplatnený aj pri štúdiu ozonolýzy dvojnej väzby. Cieľom bolo overenie jednoduchosti transformácie 4-*O*-pentenylovej skupiny na aldehyd, ktorý by mohol byť použitý pri ďalšom predlžovaní postranného reťazca alebo v oxímovej ligácii.

Ozonolýza látky **37** bola prevedená v MeOH pri -78 °C a ozonid bol rozložený prídavkom Me₂S. Po dvoch dňoch miešania pri laboratórnej teplote bola reakcia spracovaná a ako jediný produkt reakcie bol získaný dimetylacetál **38**. Rozhodla som sa preto zmeniť reakčné podmienky a ozonolýzu uskutočniť vo vodnom prostredí pri 0 °C. Po ukončení reakcie a rozložení ozonidu pomocou Me₂S som reakčnú zmes odparila do sucha a zo zvyšku bolo namerané ¹H NMR spektrum (v DMSO). V tomto prípade bol v spektrách pozorovaný signál na 9.5 ppm ako triplet, čo potvrdzuje prítomnosť aldehydu **39**. Taktiež hmotnostné spektrum obsahovalo signály pri 292 (M+H⁺) a 314 (M+Na⁺) odpovedajúce aldehydu **39**. ¹H NMR spektrum produktu bolo pomerne komplikované a na prvý pohľad obsahovalo

signály viacerých látok. Signály patriace dimetylacetálu **38** (napr. triplet pri 4.33 ppm patriaci protónu **H-4***) však pozorované neboli. Predpokladám teda, že aldehyd **39** s *galakto*-konfiguráciou môže rovnovážne vytvárať intramolekulárny hemiacetál alebo cyklický acetal s voľnými hydroxylovými skupinami, čo by vysvetľovalo komplikovanosť ^1H NMR spektier.

So snahou zistiť, či aj ozonolýzou v MeOH nedochádza k vzniku aldehydu **39**, som uskutočnila ešte jeden pokus. Podmienky ozonolýzy boli rovnaké ako v predchádzajúcom prípade: reakcia v MeOH pri $-78\text{ }^\circ\text{C}$. Asi po 5 minútach, kedy došlo k vzniku trvalého modrého zafarbenia roztoku, bol k reakčnej zmesi pridaný Me_2S a roztok bol miešaný pri laboratórnej teplote. Po 20 h bola odobratá polovica reakčnej zmesi, a po jej odparení bolo namerané ^1H NMR spektrum. To obsahovalo okrem signálov patriacich dimetylacetálu **38** aj signál aldehydického protónu. Zvyšok reakčnej zmesi, ktorý bol miešaný celkovo 48 h, poskytol po odparení pomerne čistý dimetylacetál **38**. Prítomnosť aldehydu **39** už pozorovaná nebola. Ukázalo sa teda, že aj ozonolýzou v MeOH dochádza k vzniku aldehydu **39**, ktorý následne reaguje so samotným rozpúšťadlom za tvorby acetálu **38**. V kyslom prostredí potom dochádza k štiepeniu dimetylacetálu **38** na aldehyd **39**, čo bolo dokázané pokusom. Malé množstvo dimetylacetálu **38** som rozpustila vo vode a roztok miešala 2 h s Dowexom 50 v H^+ cykle. Po prefiltrovaní reakčnej zmesi a odparení rozpúšťadla bol získaný produkt, ktorého hmotnostné a ^1H NMR spektrá odpovedali aldehydu **39**.

Glykozylakceptor **42** s *gluko*-konfiguráciou bol pripravený podobnou sekvenciou reakcií ako *galakto*-akceptor **37**. Acetylácia *N*-acetyl-glukózamínu poskytla acetylovaný produkt **40** vo vysokom výt'ažku, pričom zastúpenie anomérov α/β bolo 12/1 (Schéma 16). Reakciou hydrochloridu glukózamínu s Ac_2O v pyridíne

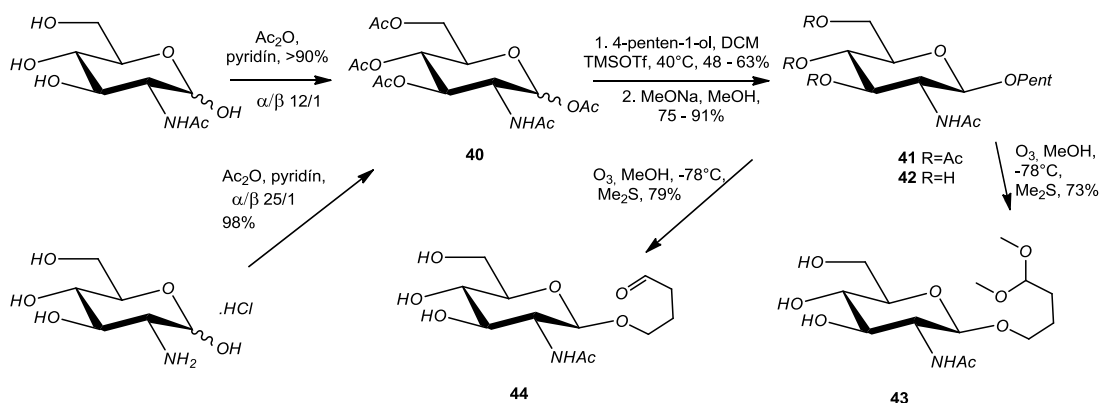


SCHÉMA 16 Príprava glykozylakceptoru **42** a jeho prevedenie na aldehyd **44**

bol dokonca získaný takmer výlučne α anomér látky **40** v kvantitatívnom výťažku. Obe reakcie prebiehali výborne aj v niekoľkogramových návážkoch.

Priebeh glykozylačnej reakcie so 4-pentén-1-olom závisel na množstve použitého acetátu **40**. Pri syntéze z 1 mmol (a menej) látky **40** bol 4-pentenylglykozid **41** získaný v 48-49% výťažku. Pokus o navýšenie syntézy z 10 mmol východiskového acetátu **40** sa však nepodaril a produkt **41** bol izolovaný len v 20% výťažku. Najlepšie výťažky 57-63% boli dosiahnuté pri použití 2 mmol acetátu **40**. Pri všetkých pokusoch boli podmienky reakcie aj postup spracovania reakčnej zmesi rovnaké a izolovaný bol vždy iba β -anomér. Zemplénova deacetylácia látky **41** následne poskytla žiadaný 4-pentenylglykozid **42**.

Aj u *gluko*-derivátu **42** bol ozonolýzou 4-*O*-pentylovej skupiny v MeOH získaný dimetylacetál **43**. Pri rozklade ozonidu s Me₂S, kratšom ako 24 h, sa podarilo izolovať aldehyd **44** v 79% výťažku. Neskorším opakovaním pokusu som ale dostala už iba zmes aldehydu **44** a acetálu **43**.

Môžem teda zhodnotiť, že ozonolýza 4-pentenylglykozidov s *gluko*- **42** aj *galakto*-konfiguráciou **37** v MeOH umožňuje pripraviť rovno chránenú formu aldehydu. Oba vzniknuté dimetylacetály **43** resp. **38** sú stabilné pevné látky, ktoré môžu byť jednoducho prevedené na požadovaný karbonyl až priamo pred ligáciou.

4.1.2 Epoxidová migrácia a *pseudo*-migrácia

Už v predchádzajúcej časti bolo ukázané, ako sa u 1,6-anhydrocukrov dajú *trans*-diaxiálnym otváraním oxiránového kruhu pomocou azidového iónu získať 2-amino-2-deoxysacharidy. Reakcia 4-*O*-benzyl epoxidu **23** však okrem očakávaného azidoderivátu **25** poskytla aj značné množstvo produktu **24** s *ido*-konfiguráciou (viď Schéma 13). Tento výsledok sa stal inšpiráciou k dôkladnému štúdiu vlastností a izomerizácie α -hydroxy epoxidov.

Je známe, že dianhydroderiváty s hydroxylovou skupinou v polohe *trans* voči oxiránovému kruhu, podliehajú v bázičných podmienkach izomerizácii. Tento jav, pôvodne nazývaný „epoxidová migrácia“,^{67,120,121} v súčasnosti známy ako „Paynov prešmyk“,^{122,123,124} je v skutočnosti intramolekulárna S_N2 reakcia vicinálneho alkoxidového iónu na oxiránový kruh, poskytujúca rovnovážnu zmes dvoch α -hydroxy epoxidov. 1,6:2,3-Dianhydro- β -D-manopyranóza^{125,126,127} (**45**) tak v

zásaditóm prostredí konvertuje na 1,6:3,4-dianhydro- β -D-altropyranózu (**47**) a 1,6:3,4-dianhydro- β -D-galaktopyranóza¹²⁸ (**46**) zase na 1,6:2,3-dianhydro- β -D-gulopyranózu (**48**) (Schémy 17 a 18).

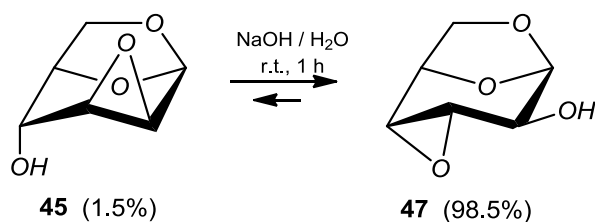


SCHÉMA 17

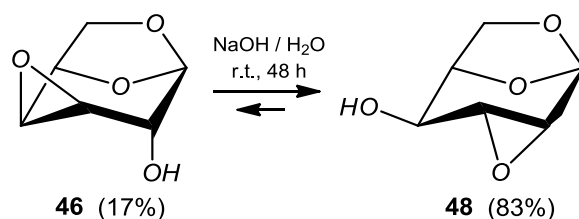


SCHÉMA 18

V roku 1979 bol Elbertom a spol.¹²⁹ prvýkrát popísaný ešte iný typ rovnováhy medzi 1,6:2,3-dianhydro- β -D-allopyranózou (**49**) a 1,6:3,4-dianhydro- β -D-allopyranózou (**50**) (Schéma 19), ku ktorej dochádzalo reakciou s jodidom sodným v acetóne za zvýšenej teploty. V tomto prípade, kedy dochádza k izomerizácii dianhydroderivátov, ktoré majú hydroxylovú skupinu orientovanú v *cis* polohe voči oxiránovému kruhu, hovoríme o epoxidovej *pseudo*-migrácii.

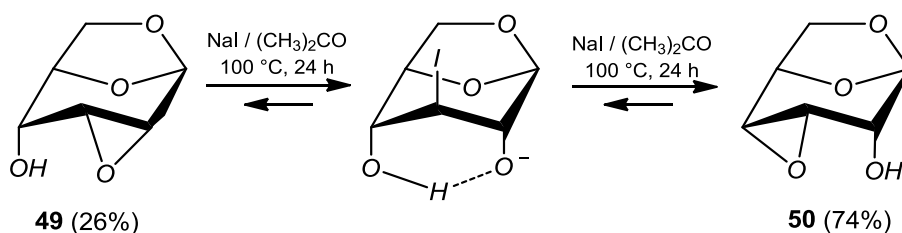


SCHÉMA 19

Pri tomto štúdiu epoxidovej migrácie a *pseudo*-migrácie všetkých ôsmych 1,6:2,3- a 1,6:3,4-dianhydro- β -D-hexopyranóz (**45-51**, **22**) som sa opierala hlavne o NMR spektroskopiu. Vďaka nej bolo možné sledovať priebeh reakcií a stanoviť zloženia reakčných zmesí.

Podmienky epoxidovej migrácie (roztok látky v deuterovanej vode obsahujúci NaOH za laboratórnej teploty) boli aplikované na všetky izoméry **45-51** a **22**. V prípade dianhydrohexóz **45-48** bol rovnovážny stav ustálený v priebehu niekoľkých hodín (Schéma 17 a 18). Podľa očakávania sa bázičné podmienky epoxidovej migrácie v *pseudo*-migrácii neuplatňujú a v roztokoch epoxidov **49**, **50** a **51** nebola ani po 24 hodinách pozorovaná žiadna zmena. Jediný rozdiel nastal u *talo*-epoxidu **22**, ktorý za rovnakých podmienok postupne prechádzal na známu 1,6-anhydro-3-deoxy- β -D-*treo*-hexopyranóz-4-ulózu¹³⁰ (**52**) (Schéma 20).

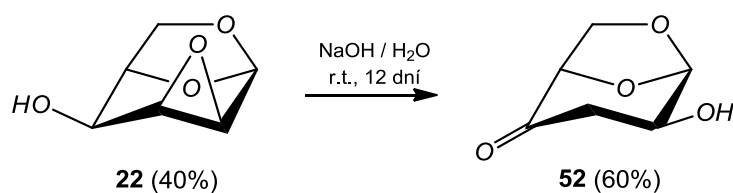
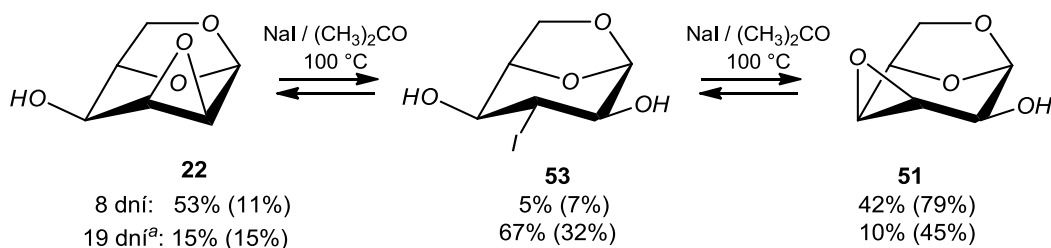


SCHÉMA 20

Priebeh epoxidovej *pseudo*-migrácie sa u dvojíc *allo*- (**49** a **50**) a *talo*-epoxidov (**22** a **51**) líšil. Zahrievaním roztokov *allo*-epoxidov **49** a **50** s jodidom sodným v acetóne (prípadne deuterovanom acetóne) na teplotu 100 °C dochádzalo k ustáľovaniu rovnovážnej zmesi. Nezávisle od východiskového izoméru obsahovala reakčná zmes po 24 hodinách oba epoxidy **49** a **50** v pomere 26:74 (Schéma 19). Epoxidová *pseudo*-migrácia prebiehala aj u 1,6:2,3- (**22**) a 1,6:3,4-dianhydro- β -D-talopyranózy (**51**) (Schéma 21), rýchlosť reakcie však bola podstatne nižšia ako u *allo*-epoxidov **49** a **50**. Pozoruhodné je, že v zmesi okrem druhého izoméru vznikala aj 1,6-anhydro-3-deoxy-3-jód- β -D-idopyranóza (**53**), ktorej podiel rástol s časom reakcie. Rovnováha nakoniec nebola dosiahnutá ani po 19 dňoch a zloženie reakčnej zmesi iba napovedá, aký je skutočný trend izomerizácie.

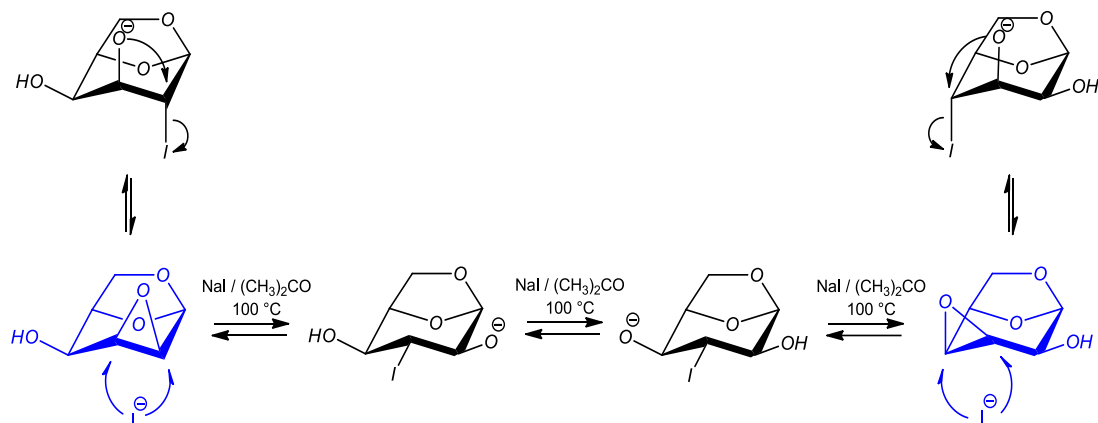


V zátvorke je uvedené zloženie zmesi ak bol ako východisková látka použitý epoxid **51**.

^aPomocou NMR bol pozorovaný vznik dvoch neidentifikovateľných produktov, vid' experimentálna časť.

SCHÉMA 21

Tvorba jódderivátu **53** bola využitá k navrhnutiu možného mechanizmu epoxidovej *pseudo*-migrácie (Obr. 14). Ide pravdepodobne o dvojkrokový proces, v ktorom ako medziprodukty vystupujú jódderiváty odpovedajúcich 1,6-anhydro- β -D-hexopyranóz. V alkalickom prostredí by tak mohlo dochádzať k ich deprotonácii a následne k opätovnému vzniku epoxidov.



OBR. 14 Pravdepodobný mechanizmus epoxidovej *pseudo*-migrácie

Rozdiely v ustáľovaní rovnovážneho stavu *allo*-epoxidov **49**, **50** oproti *talo*-epoxidom **22**, **51** je možné vysvetliť z hľadiska konformačného usporiadania. Ak otváranie oxiránového kruhu prebieha v súlade s Fürst-Plattnerovým pravidlom, tzn. *trans*-diaxiálne, vznikajú jódderiváty (a im odpovedajúce alkoholáty) veľmi ľahko a rýchlo. Tieto medziprodukty sa taktiež veľmi jednoducho menia späť na východiskové epoxidy alebo na ich izoméry, ak je to pre ne stéricky výhodnejšie. Toto sa deje napríklad u *allo*-epoxidov **49** a **50**, kde jodidový ión otvára oxiránový kruh v polohe C-3 a poskytuje tak alkoholát látky **54** (Schéma 19). Druhá možnosť otvorenia oxiránového kruhu u *allo*-epoxidov **49** a **50**, kedy by jodidový ión atakoval polohy C-2 alebo C-4, je stéricky sťažená prítomnosťou 1,6-anhydro väzby. Naopak, u *talo*-epoxidov **22** a **51** sú prednostne atakované práve polohy C-2 a C-4. Získané produkty s diaxiálnym usporiadaním jodidovej a alkoholátovej skupiny sa zase ľahko transformujú späť na východiskové epoxidy (Obr. 14). Jodidový anión môže atakovať aj polohu C-3, ktorá u *talo*-epoxidov **22** a **51** nie je tak stéricky bránená 1,6-anhydro väzbou. V tomto prípade sa však jedná o diekvatoriálne štiepenie oxiránového kruhu, ktoré prebieha veľmi pomaly a poskytuje pomerne stály 3-deoxy-3-jódderivát **53**. K tomu, aby sa z látky **53** mohli tvoriť izoméne epoxidy **22** a **51**, by musela byť jodidová skupina v antiplanárnom usporiadaní voči

oxidovému iónu. To znamená, že anhydrosacharid **53** by musel zaujímať $B_{O,3}$ konformáciu.

Kvôli objasneniu mechanizmu a identifikácii jeho medziproduktov bola pripravená 1,6-anhydro-3-deoxy-3-jód- β -D-glukopyranóza (**54**), získaná štiepením oxiránového kruhu epoxidu **49** jodovodíkom v dioxáne pri laboratórnej teplote (Schéma 22). Podobne bol reakciou *talo*-epoxidu **22** s jodovodíkom pripravený jódderivát **53** (Schéma 23). V reakčnej zmesi bol pozorovaný aj vznik 1,6-anhydro-2-deoxy-2-jódo- β -D-galakto-pyranózy (**55**; 24%), ktorú sa ale nepodarilo izolovať. Pre ďalšie účely bola preto použitá v zmesi s východiskovým epoxidom (**55**:**22** = 55:44). 1,6-Anhydro-3-deoxy-3-jód- β -D-*mano*-pyranóza (**56**) bola získaná reakciou z *altro*-epoxidu **47** (Schéma 24). Takto pripravené jódderiváty **53-56** boli následne prevedené na im odpovedajúce epoxidy reakciou s NaOH vo vode, prípadne v acetóne (Schémy 22-24).

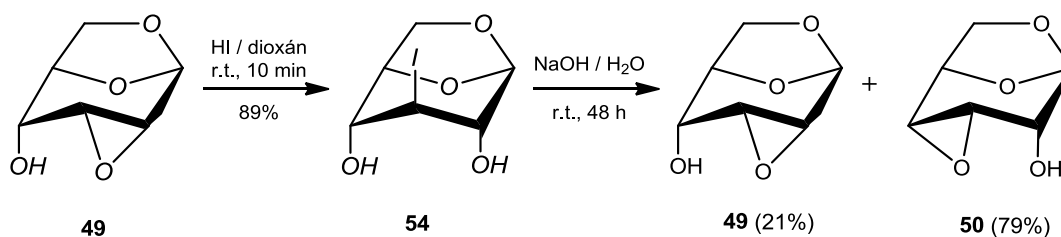


SCHÉMA 22

Jódderivát **54** poskytol v bázičných podmienkach vodného roztoku NaOH zmes oboch *allo*-epoxidov **49** a **50** v pomere 21/79. Výsledné zastúpenie izomérov v zmesi je veľmi blízke tomu, ktoré bolo získané epoxidovou *pseudo*-migráciou epoxidov **49** a **50** (Schéma 19). Vtedy síce nebola v reakčnej zmesi pozorovaná prítomnosť jódderivátu **54**, čo ale nie je v rozpore s navrhnutým mechanizmom izomerizácie, v ktorom je alkoholát látky **54** považovaný za medziprodukt.

Pridaním vodného roztoku NaOH k látke **53** bolo získané iba malé množstvo *talo*-epoxidov **22** a **51**. Situácia sa zmenila keď bol miesto vody použitý acetón. V priebehu 48 hodín sa v roztoku pri laboratórnej teplote ustálila rovnováha medzi epoxidmi **22** a **51** v pomere 20/80 (Schéma 23). Reakcia 2-jódderivátu **55** s vodným NaOH poskytla len východiskový epoxid **22**.

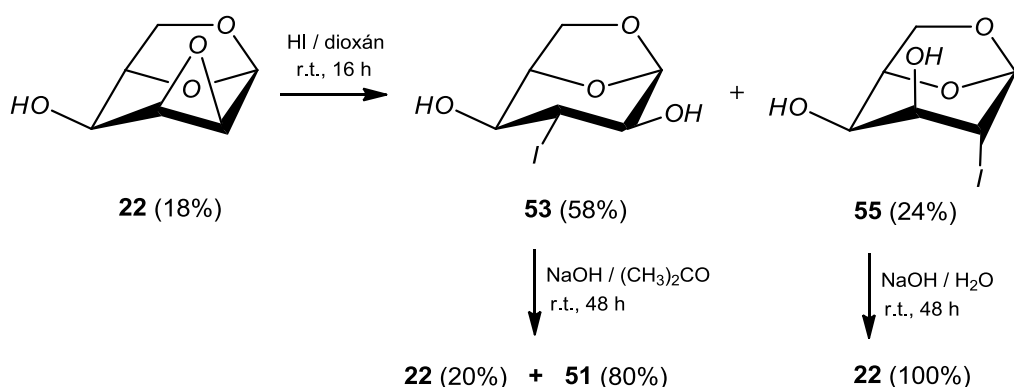


SCHÉMA 23

Rovnaký priebeh mala aj reakcia pripraveného 3-jódderivátu **56** vo vodnom NaOH, ktorá poskytla *altro*-epoxid **47** v kvantitatívnom výťažku (Schéma 24).

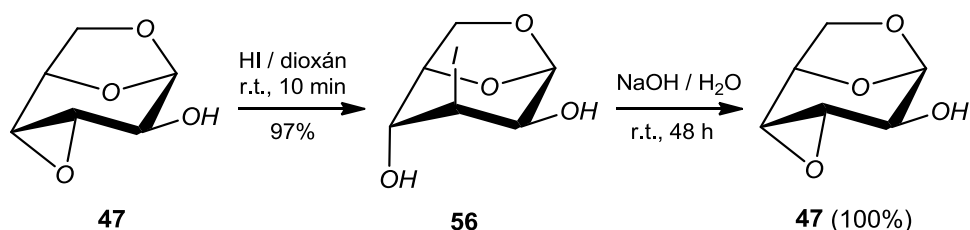


SCHÉMA 24

Nakoniec boli podmienkam epoxidovej *pseudo*-migrácie podrobené aj deriváty s *mano*- **45** a *gulo*-konfiguráciou **48**. Chcela som totiž zistiť, či bude katalýza jodidom sodným prebiehať aj u látok, ktoré majú oxiránový kruh a hydroxylovú skupinu v *trans* usporiadaní. V zatavenej sklenenej ampule som zahrievala roztok *mano*-epoxidu **45** s NaI v acetóne. Po 45 hodinách obsahovala reakčná zmes okrem východiskového izoméru aj *altro*-epoxid **47**, typický produkt epoxidovej migrácie, a malé množstvo 3-deoxy-3-jód- β -D-*altro*-pyranózy (**57**) (Schéma 25). Vznik *altro*-epoxidu **47** dokazuje, že jodidový anión môže v aprotickom rozpúšťadle pôsobiť ako báza. U *gulo*-derivátu **48** napriek očakávaniam žiadna reakcia neprebehla.

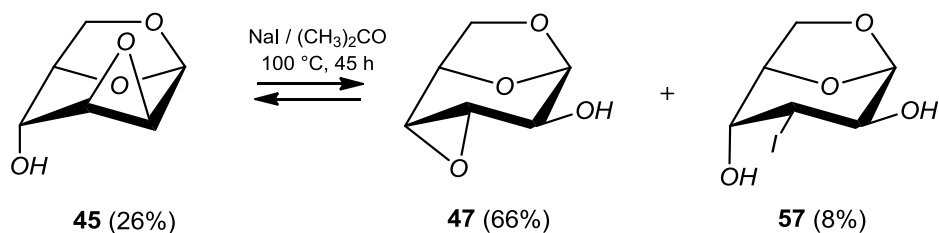


SCHÉMA 25

Pomocou ^1H a ^{13}C NMR spektier bolo možné stanoviť zloženie rovnovážnych zmesí a určiť štruktúru jednotlivých izomérov, prípadne medziproduktov reakcie. Takto získané údaje boli ešte porovnané s teoretickými výpočtami. Na rozdiel od jednoduchej MM+ metódy, ktorá sa ukázala ako nepostačujúca, kalkulácie získané DFT metódou dobre korešpondujú s experimentálnymi výsledkami a správne odhadujú prevažujúci izomér u všetkých epoxidových dvojíc (Tabuľka III, DFT metóda, prístup C). Podrobné výsledky teoretických výpočtov boli publikované v literatúre¹³¹ a sú uvedené aj v Tabuľke D v experimentálnej časti.

TABUĽKA III

Zloženie rovnovážnych zmesí epoxidových dvojíc **45–47**, **46–48**, **49–50** a **22–51** na základe vypočítaných hodnôt voľnej energie OH-rotamérov

Látka	Zloženie rovnovážnej zmesi [%]						
	Kalk. MM+			Kalk. DFT			NMR
	A)	B)	C)	A)	B)	C)	
45	27	27	26	0	0	1	1.5
47	73	73	74	100	100	99	98.5
46	7	8	7	78	69	15	17
48	93	92	93	22	31	85	83
49	67	70	69	17	17	8	26
50	33	30	31	83	83	92	74
22	66	60	62	1	1	46	20^a
51	34	40	38	99	99	54	80^a

^a Pomer izomérov bol získaný reakciou jódderivátu **53** s NaOD v acetóne (viď Schéma 23).

A) Vypočítané z rozdielu energií rotamérov s najnižšou energiou;

B) vypočítané z rozdielu energií a zastúpenia všetkých striedavých OH-rotamérov;

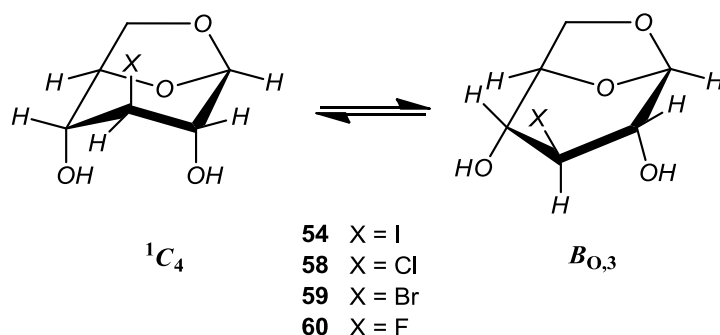
C) vypočítané z rozdielu energií *trans*-OH rotamérov;

D) stanovené z ^1H NMR spektier rovnovážnych zmesí epoxidov v roztoku D_2O + NaOD.

Prítomnosť jódu v látkach **53–57** bola potvrdená chemickým posunom ($\delta = 22\text{--}38$ ppm), charakteristickým pre uhlíky nesúce atóm jódu (Experimentálna časť, Tabuľka C). Pozorované vicinálne interakčné konštanty $J(2,3)$ a $J(3,4)$ (Experimentálna časť, Tabuľka B) po dosadení do Karplusovej rovnice¹³² poukazujú na prednostné zastúpenie stoličkovej konformácie (80–97%) u všetkých jódderivátov **53–57**.

Aby bolo možné určiť, ako vplýva typ substituentu v polohe C-3 na celkovú konformáciu pyranózového kruhu v *gluko*-3-halogenderivátoch, boli reakciou *allo*-

epoxidu **49** s chlorovodíkom resp. s bromovodíkom pripravené aj 3-chlór- a 3-brómderiváty **58** a **59**. Do teoretických kalkulácií boli zahrnuté aj NMR údaje pre 3-fluórderivát **60**¹³³ (Obr. 15).



OBR. 15 Stoličková vs. vaničková konformácia 3-deoxy-3-halogénlevoglukozánu

To, v akej konformácii sa nachádza pyranózový kruh 1,6-anhydro- β -D-glukopyranózových derivátov sa dá vo všeobecnosti vyčítať z ich vicinálnych interakčných konštánt $J(2,3)$ a $J(3,4)$. Obecne platí pravidlo, že čím vyššie sú hodnoty interakčných konštánt, tým väčšie je zastúpenie vaničkovej konformácie. V tomto prípade boli ale rozdielne hodnoty interakčných konštánt J ovplyvnené nielen samotným pomerom stoličková vs. vaničková konformácia, ale taktiež rozdielnou elektronegativitou halogénového atómu a použitým rozpúšťadlom. Aby boli NMR údaje jednotlivých derivátov porovnateľné, bolo pre merania pripravených látok **54**, **58** a **59** zvolené rovnaké rozpúšťadlo aké bolo použité u popísaného 3-fluórderivátu **60**, t.j. deuterovaný acetón.

Najskôr boli vypočítané očakávané hodnoty interakčných konštánt stoličkovej aj vaničkovej formy pre každý z halogénderivátov **54**, **58-60**. Tieto vypočítané hodnoty boli porovnané s pozorovanými hodnotami $J(2,3)$ a $J(3,4)$, a z nich bolo určené zastúpenie stoličkovej konformácie.

Z výsledkov v tabuľke IV vyplýva, že zastúpenie stoličkovej formy klesá s rastúcim objemom halogénového substituentu v polohe C-3 od fluórderivátu **60** (98%), cez chlórderivát **59** (62%) po brómderivát (55%), aby opäť vzrástlo u jódderivátu **54** (74%). *Gauche* interakcie medzi hydroxylovými skupinami a objemným atómom jódu pravdepodobne destabilizujú vaničkovú konformáciu látky **54** a spôsobujú tak nárast zastúpenia stoličkovej formy oproti chlór- a brómderivátom **59** a **58**.

TABUĽKA IV

Rovnováha medzi stoličkovou a vaničkovou konformáciou pyranózového kruhu u 1,6-anhydro-3-deoxy-3-halogén- β -D-*gluko*-pyranóz **54**, **58-60** stanovená na základe $^3J(\text{H,H})$.

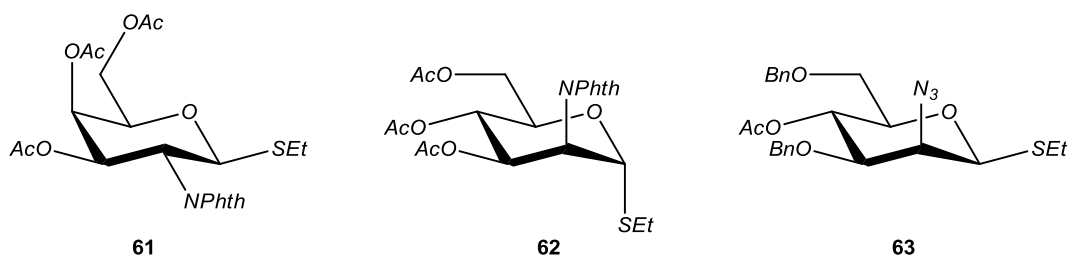
Látka	Halogén	Konf.	Vypočítané hodnoty J^a		Pozorované hodnoty J			Stoličková konformácia [%]	
			$J(2,3)$ [Hz]	$J(3,4)$ [Hz]	Rozp.	$J(2,3)$ [Hz]	$J(3,4)$ [Hz]	Kalk. z $J(2,3)$	Kalk. z $J(3,4)$
60	F	1C_4	1.53	1.48	(CD ₃) ₂ CO	1.7	1.7	97	96
		$B_{0,3}$	7.15	7.36					
58	Cl	1C_4	1.41	1.39	(CD ₃) ₂ CO	4.0	4.2	63	61
		$B_{0,3}$	8.51	8.64					
59	Br	1C_4	1.31	1.30	(CD ₃) ₂ CO	4.65	4.8	56	55
		$B_{0,3}$	8.90	9.02					
54	I	1C_4	1.14	1.14	CDCl ₃	2.4	2.6	85	83
		$B_{0,3}$	9.48	9.60	(CD ₃) ₂ CO	3.3	3.3	74	74
					D ₂ O	4.6	4.6	59	59

^a Torzné uhly pre stoličkovú ($\angle(\text{H}2,\text{H}3) = -79^\circ$, $\angle(\text{H}3,\text{H}4) = 80^\circ$) a vaničkovú konformáciu ($\angle(\text{H}2,\text{H}3) = -161^\circ$, $\angle(\text{H}3,\text{H}4) = 164^\circ$) boli použité z ref. 133. Interakčné konštanty pre stoličkovú aj vaničkovú konformáciu boli vypočítané dosadením do Karplusovej rovnice¹³².

Vplyv rozpúšťadla na veľkosť interakčných konštánt je možné pozorovať u 3-jódderivátu **54**, pre ktorý boli namerané nasledovné hodnoty: $J(2,3) = 2.4$ Hz a $J(3,4) = 2.6$ Hz v CDCl₃, $J(2,3) = J(3,4) = 3.3$ Hz v (CD₃)₂CO a $J(2,3) = J(3,4) = 4.6$ Hz v D₂O. Z nich bolo potom vypočítané zastúpenie stoličkovej formy, ktoré klesá z 84% v CDCl₃, na 74% v (CD₃)₂CO až k 59% v D₂O.

4.1.3 Príprava glykozyldonorov odvodených od 2-amino-2-deoxygalakto-pyranózy a 2-amino-2-deoxymanopyranózy

Okrem glykozyldonorov s neparticujúcou azidovou skupinou boli pre syntézu heterooligosacharidov navrhnuté aj glykozyldonory, ktoré by mali v polohe C-2 participujúcu skupinu. Stavebné jednotky **61** a **62** boli pripravené podľa známych predpisov²⁹ (Obr. 16). Do polohy C-2 bola zavedená ftalimidová skupina, ktorá slúži nielen ako chrániaca skupina, ale umožňuje tiež stereoselektívnu prípravu 1,2-*trans*-glykozidov. Ako odstupujúca skupina bola zvolená etyltioskupina.



OBR. 16 Glykozylodonory **61**, **62** a **63**

Ďalej bol tiež pripravený tioglykozid **63** s *mano*-konfiguráciou, ktorého azidoskupinu sa ale nepodarilo previesť na participujúcu NHTroc alebo NPhth skupinu.⁹⁶ Rovnako neúspešné boli aj pokusy o aktiváciu etyltioglykozidu **63** či jeho transformáciu na iné glykozylodonory. Pri redukcii azidovej skupiny u látky **63** dokonca dochádzalo k migrácii etylsulfanylovej skupiny (C-1) a aminoskupiny (C-2) s retenciou konfigurácie na oboch atómoch uhlíka. Derivát **63** sa ukázal byť ako nevhodný glykozylodonor, preto nebol v glykozylačných reakciách nakoniec použitý.

4.2 Príprava oligosacharidov

Ako prvé oligosacharidy boli pripravené diantenárne trisacharidy **65**, **66** a **69**, vetvené v polohách C-3 a C-6. Glykozylakceptory s *gluko*- a *galakto*-konfiguráciou mali do polohy C-2 zavedenú azidoskupinu, čím bola potlačená tvorba intra- a intermolekulárných mostíkov s voľnými OH skupinami glykozylakceptoru.¹³⁴

Pre prípravu trisacharidu obsahujúceho *gluko*-jednotky 1,2-*cis*-glykozidicky viazané na *galakto*-akceptor bol ako glykozylodonor zvolený trichlóracetimidát **15** (Schéma 26). Jeho reakcia s 4-*O*-pentenyl derivátom **34**, katalyzovaná TMSOTf, prebiehala v DCM pri -50 °C.

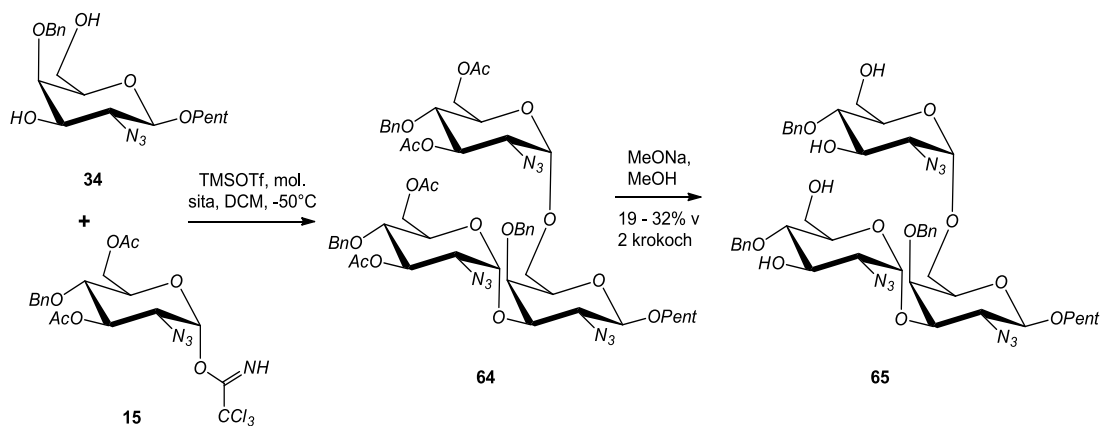


SCHÉMA 26 Syntéza trisacharidu **65**

Výsledkom glykozylácie však bola nedeliteľná zmes najmenej dvoch bližšie neurčených látok oligosacharidového typu. Frakcie, ktorých MS spektrum potvrdilo prítomnosť trisacharidovej jednotky boli spojené a podrobené reakcii s MeONa. Ako hlavný produkt deacetylácie bol izolovaný voľný trisacharid **65**, čo nepriamo potvrdilo štruktúru látky **64**. V ^1H NMR spektre voľného trisacharidu **65** sa protón H-1' *gluko*-jednotky viazanej *O*-glykozidickou väzbou do polohy C-3 *galakto*-akceptoru prejavil ako dublet na 5.10 ppm s interakčnou konštantou $J_{1',2'} = 3.7$ Hz. Signál protónu H-1'' (1,6-glykozidická väzba) bol zase dublet na 4.61 ppm ($J_{1'',2''} = 3.5$ Hz). Uvedené hodnoty interakčných konštánt potvrdzujú, že trisacharid **65** obsahuje dve 1,2-*cis*-glykozidické väzby. Nízky výťažok reakcie (19-32% vzhľadom na glykozylakceptor **34**) mohol byť okrem iného spôsobený aj nestálosťou trichlóracetimidátu **15** (vid' Kapitola 4.1.1).

Ďalej som sa sústredila už len na prípravu trisacharidov obsahujúcich 1,2-*trans*-glykozidické väzby. V tomto prípade boli ako glykozyldonory použité monosacharidové jednotky **61** a **62** s *galakto*- resp. *mano*-konfiguráciou, ktorých participujúca ftalimidová skupina v polohe C-2 mala riadiť priebeh glykozylácie požadovaným smerom.

Vetvený trisacharid **66** s *galakto*-konfiguráciou bol získaný reakciou *O*-acetylovaného ethyl-1-tioglykozidu **61** s glykozylakceptorom **34** (Schéma 27). Glykozylácia¹³⁵ bola prevedená v Et₂O pri 0 °C za prítomnosti MeOTf ako promotora a poskytla produkt **66** v 66% výťažku. Vznik 1,2-*trans*-glykozidických väzieb vetveného trisacharidu **50** potvrdzujú ^1H NMR spektrá, v ktorých sa signál protónu H-1' prejavil ako dublet na 5.38 ppm s interakčnou konštantou $J_{1',2'} = 8.4$ Hz, protón H-1'' zase ako dublet pri 5.28 ppm ($J_{1'',2''} = 8.5$ Hz).

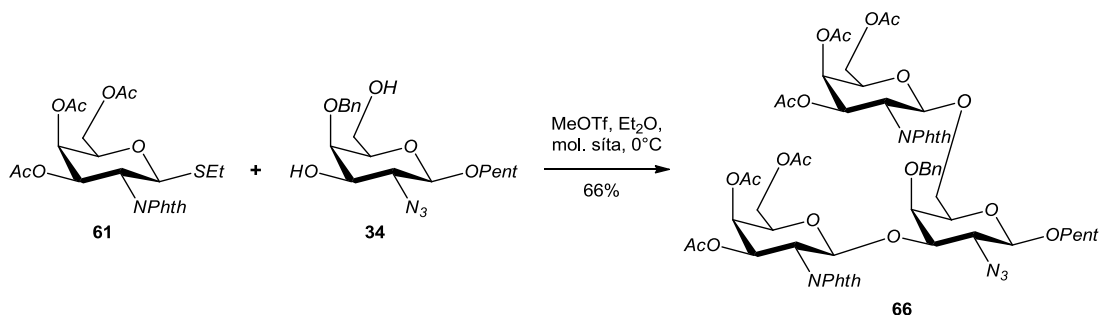
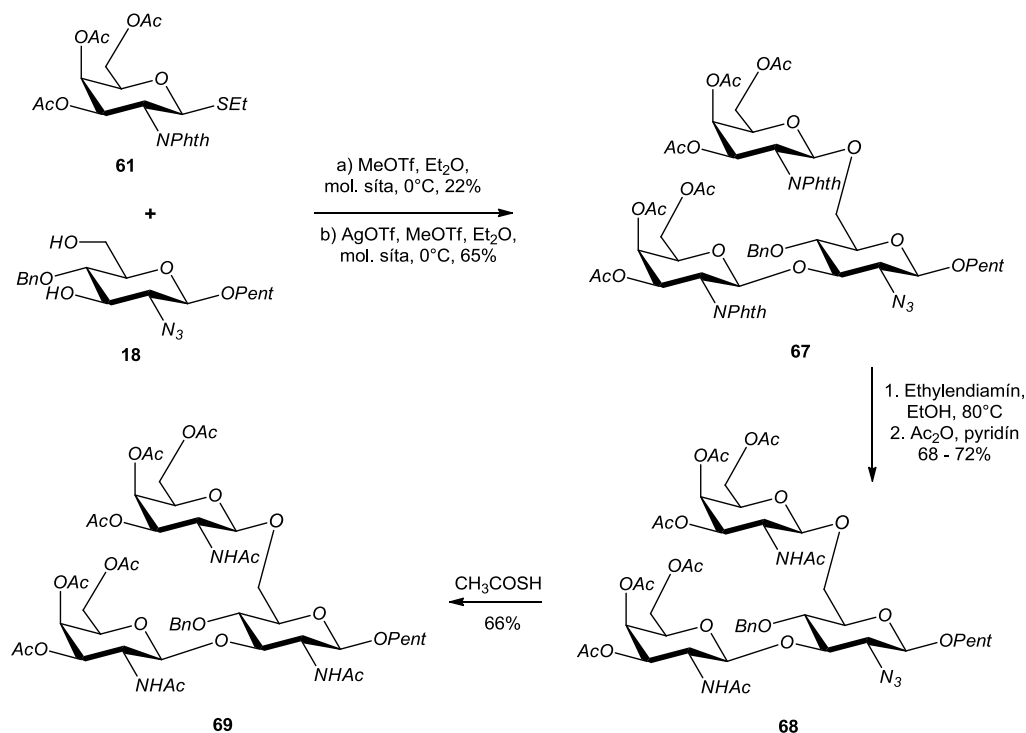


SCHÉMA 27 Syntéza vetveného trisacharidu **66**

Rovnaké podmienky glykozylácie ako v predchádzajúcom prípade boli aplikované aj pri príprave trisacharidu **67** (Schéma 28). Glykozylačná reakcia medzi

ethyl-1-tioglykozidom **61** a akceptorom **18** s *gluko*-konfiguráciou, katalyzovaná MeOTf, však poskytla žiadaný trisacharid **67** len v 22% výťažku.



SCHEMA 28 Syntéza trisacharidu **69**

Zvýšenie výťažku reakcie bolo docielené obmenou reakčných podmienok. Pridaním jedného ekvivalentu AgOTf k reakčnej zmesi došlo k potlačeniu nežiaducej *O*-metylácie voľných hydroxylových skupín glykozylakceptoru **18** prítomným MeOTf⁹⁴ a žiadaný produkt **67** bol získaný vo výťažku 65%. Rovnako dobrý výsledok bol dosiahnutý aj zmenou rozpúšťadla, kedy glykozylácia katalyzovaná MeOTf v DCM pri 0 °C poskytla trisacharid **67** v 62% výťažku. Analýzou ¹H NMR spektier bola opäť potvrdená prítomnosť iba 1,2-*trans*-glykozidických väzieb (pre H-1: 4.07 ppm, d, $J_{1,2} = 8.0$ Hz ; H-1': 5.58 ppm, d, $J_{1',2'} = 8.3$ Hz; pre H-1'': 5.34 ppm, d, $J_{1'',2''} = 8.4$ Hz).

Na tomto trisacharide bola tiež odskúšaná transformácia trisacharidu s ftalimido- a azidoskupinami na *N*-acetylovaný derivát. Ftalimidové skupiny boli odstránené reakciou s etyléndiamínom v EtOH⁷⁹ a získané surové voľné aminoskupiny boli ďalej acetylované Ac₂O v pyridíne za vzniku látky **68**. Výťažok reakcie bol cca 70%. Azidoskupina bola potom reakciou s kyselinou tiooctovou prevedená na *N*-acetylovú skupinu a produkt **69** bol izolovaný v 66% výťažku.

Ďalej boli pomocou ftalimidovej metódy pripravené vetvené trisacharidy obsahujúce D-manózamínové jednotky viazané 1,2-*trans*-glykozidickou väzbou na *gluko*-akceptor **17** a **18** resp. *galakto*-akceptor **34**. Reakciou glykozyldonoru **62** s β -4-*O*-pentynderivátom **18**, katalyzovanou MeOTf, bol ako jediný produkt reakcie izolovaný trisacharid **70** vo výťažku 42% (Schéma 29).

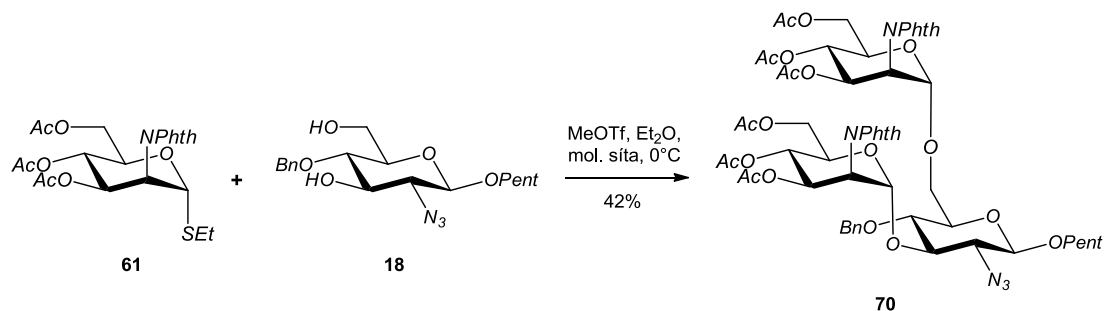


SCHÉMA 29 Syntéza vetveného trisacharidu **70**

V ¹H NMR spektrách bol protón H-1' dublet pri 5.53 ppm s veľmi nízkou hodnotou interakčnej konštanty $J_{1',2'} = 1.8$ Hz, ktorá odpovedá vzniku 1,2-*trans*-(1→3)-*O*-glykozidickej väzby. Naopak, protón H-1'' (5.51 ppm, d) D-manózamínovej jednotky viazanej na primárnu hydroxylovú skupinu glykozylakceptoru mal podstatne vyššiu hodnotu interakčnej konštanty $J_{1'',2''} = 5.0$ Hz. Obe D-manózamínové jednotky mali odlišné aj ďalšie interakčné konštanty. Protón H-4' bol triplet na 5.61 ppm a mal diaxiálnu interakciu $J_{4',3'} = J_{4',5'} = 9.0$ Hz s oboma susediacimi protónmi, zatiaľ čo protón H-4'', ktorý sa prejavil ako dd na 5.34 ppm, mal diaxiálnu interakciu iba s protónom H-5'' ($J_{4'',5''} = 5.1$ Hz, $J_{4'',5''} = 8.2$ Hz). Z uvedenej analýzy interakčných konštánt vyplýva, že manózamínová jednotka viazaná 1,2-*trans*-glykozidickou väzbou do polohy C-6 nezaujíma stoličkovú konformáciu, ale je s najväčšou pravdepodobnosťou v konformácii skríženej vaničky alebo v rovnováhe oboch konformácií.

Glykozyláciou donoru **62** s α -4-*O*-pentynderivátom **17** za rovnakých podmienok boli z reakčnej zmesi izolované dva hlavné produkty (Schéma 30). Cieľový trisacharid **71** bol získaný v 21% výťažku a disacharid **72** vo výťažku 26%.

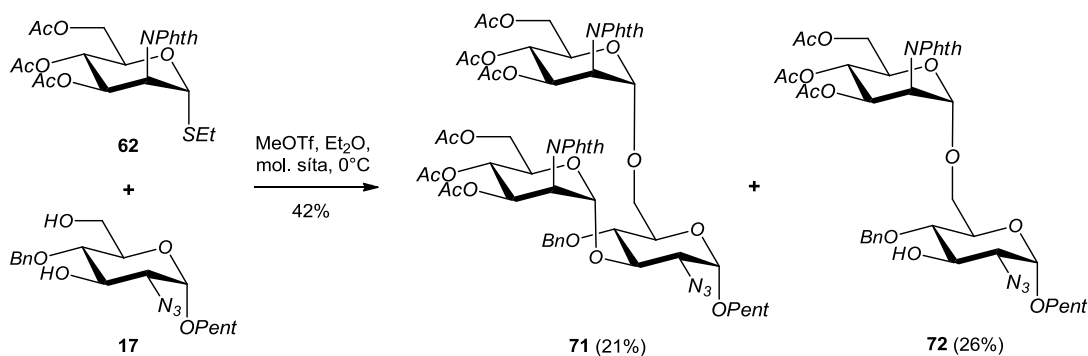


SCHÉMA 30 Syntéza trisacharidu **71**

^1H NMR spektrá oboch produktov **71** aj **72** opätovne potvrdili, že D-manózamínová jednotka viazaná do polohy C-6 zaujíma inú konformáciu ako D-manózamínová jednotka viazaná do polohy C-3. V prípade trisacharidu **71** mal protón H-1' (5.54 ppm, d, $J_{1',2'} = 1.4$ Hz) D-manózamínovej jednotky s 1,2-*trans*-(1→3)-*O*-glykozidickou väzbou diekvatoriálnu interakciu s protónom H-2', protón H-3' (5.48 ppm, dd, $J_{3',2'} = 6.6$ Hz, $J_{3',4'} = 9.5$ Hz) mal diaxiálnu interakciu s protónom H-4' a protón H-4' (5.63 ppm, t, $J_{4',3'} = J_{4',5'} = 9.6$ Hz) mal diaxiálne obe interakcie s protónmi H-3' a H-5'. Interakčná konštanta protónu H-1'' (5.62, d, $J_{1'',2''} = 5.4$ Hz) s protónom H-2'' mala ale pomerne vysokú hodnotu 5.4 Hz, ktorá odpovedá skôr axiálne-ekvatoriálnej interakcii protónov, rovnako ako obe interakcie protónu H-3'' (5.41 ppm, t, $J_{3'',2''} = J_{3'',4''} = 4.6$ Hz). Protón H-4'' (5.30 ppm, dd, $J_{4'',3''} = 4.7$ Hz, $J_{4'',5''} = 7.9$ Hz) mal diaxiálnu interakciu iba s protónom H-5''. Protón H-1' disacharidu **72** sa v ^1H NMR spektrách prejavil ako dublet na 5.49 ppm s hodnotou interakčnej konštanty $J_{1',2'} = 4.2$ Hz, protón H-4' zase ako dublet dubletu na 5.47 ppm s interakčnými konštantami $J_{4',3'} = 6.0$ Hz a $J_{4',5'} = 7.9$ Hz.

Tioglykozid **62** bol použitý aj v glykozylačnej reakcii s *galakto*-akceptorom **34**. Reakcia katalyzovaná MeOTf, poskytla vetvený trisacharid **73** vo výťažku 42% (Schéma 31).

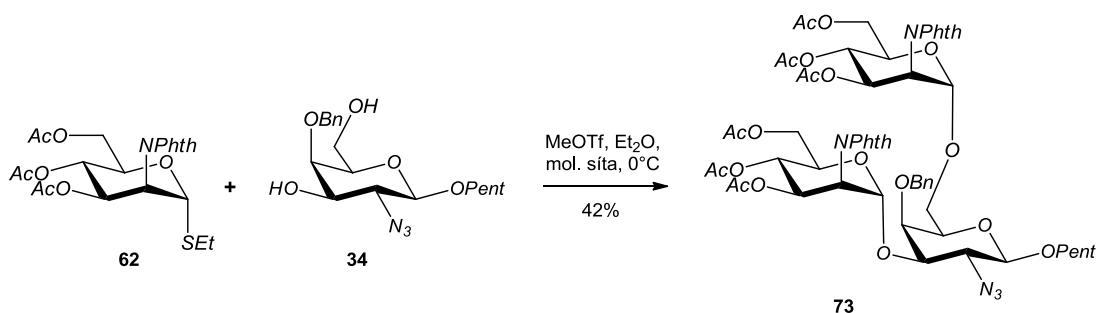
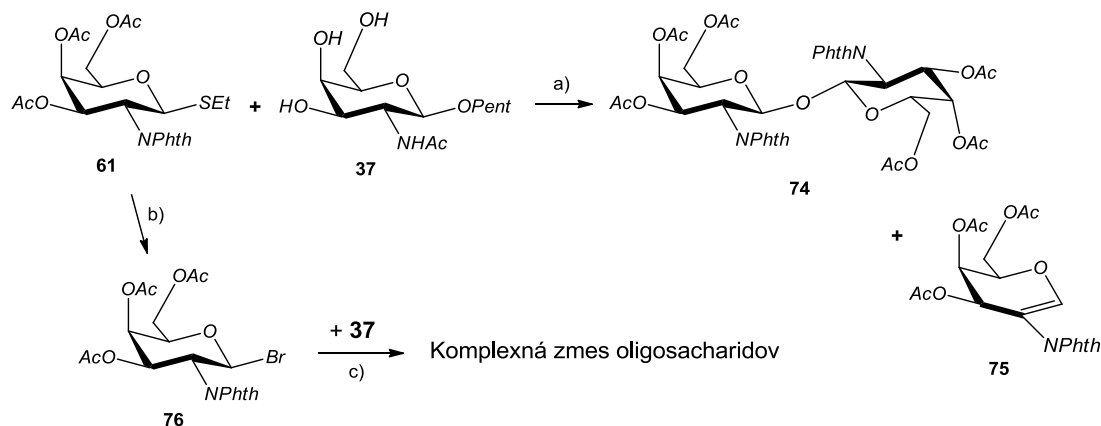


SCHÉMA 31 Syntéza vetveného trisacharidu **73**

Analýza interakčných konštánt **73** v ^1H NMR spektrách ukázala, že protón H-1' bol dublet na 5.76 ppm a mal interakčnú konštantu $J_{1',2'} = 4.3$ Hz. Protón H-1'' sa prejavil tiež ako dublet pri 5.14 ppm s interakčnou konštantou $J_{1'',2''} = 3.7$ Hz. Obom D-manózamínovým jednotkám chýbala diaxiálna konštantu u protónu H-3' (5.45 ppm, dd, $J_{3',2'} = 4.9$ Hz, $J_{3',4'} = 5.5$ Hz) resp. H-3'' (5.41 ppm, dd, $J_{3'',2''} = 5.4$ Hz, $J_{3'',4''} = 6.8$ Hz) a mali tak iba po jednej diaxiálnej konštante pre protóny H-4' (5.51 ppm, dd, $J_{4',3'} = 5.5$ Hz, $J_{4',5'} = 8.8$ Hz) resp. H-4'' (5.48 ppm, dd, $J_{4'',3''} = 6.8$ Hz, $J_{4'',5''} = 8.2$ Hz). Trisacharid **73** vďaka radiacim ftalimidovým skupinám obsahoval výlučne 1,2-*trans*-glykozidické väzby, jeho D-manózamínové jednotky však neboli v klasickej stoličkovej konformácii.

Nakoniec som sa pokúsila aj o prípravu vetveného tetrasacharidu, ktorý by obsahoval 1,2-*trans*-glykozidicky viazané jednotky s *galakto*-konfiguráciou. Ako glykozyldonor bol použitý tioglykozid **61** a ako glykozylakceptor bol použitý *N*-acetylgalaktózamín **37** s chránenou hydroxylovou skupinou v anomérnej polohe (Schéma 32). Glykozylačnou reakciou v Et_2O v prítomnosti MeOTf nedochádzalo k vzniku tetrasacharidu, dokonca nebol pozorovaný ani vznik trisacharidovej jednotky. Jediným izolovaným produktom reakcie tak bola látka **74**⁸⁴ trehalózového typu. Zámena rozpúšťadla za DCM alebo prídanie AgOTf k reakčnej zmesi nevedlo k zlepšeniu priebehu glykozylácie. V oboch prípadoch vznikol okrem disacharidu **74** aj galaktal **75**⁸⁴ ako produkt eliminácie glykozyldonoru. Disacharid **74** vznikal aj pri glykozylačnej reakcii katalyzovanej DMTST¹³⁶.



a) MeOTf, Et_2O , 0°C (**74**) alebo MeOTf, AgOTf, Et_2O , 0°C (**74** + **75**) alebo MeOTf, DCM, r.t. (**74** + **75**) alebo DMTST, DCM, 0°C (**74**);
b) 1M Br_2 , DCM, 0°C ; c) AgClO₄, Ag₂CO₃, DCM, -15°C

SCHÉMA 32

Preto bola stratégia syntézy tetrasacharidu zmenená a glykozyldonor **61** bol bezprostredne pred glykozyláciou prevedený na bromid **76**. Ten potom reagoval

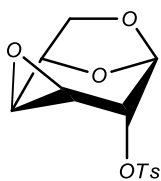
s galakto-akceptorom **37** za prítomnosti strieborných solí. Výsledkom reakcie však bola komplexná zmes najmenej dvoch bližšie neurčených látok oligosacharidového typu. Hmotnostné spektrá síce obsahovali signály patriace tetrasacharidu (1563) či trisacharidu (1146), ale tieto látky nebolo možné od seba oddeliť ani bližšie charakterizovať. Glykozylácia v DMF, DMSO či CH₃CN poskytla opäť iba komplexnú zmes látok. Nakoniec bolo v nezávislom experimente potvrdené, že akceptor **37** nie je stabilný za reakčných podmienok a v prítomnosti strieborných solí dochádza k jeho rozkladu.

Tetrasacharid obsahujúci D-galaktózamínové jednotky sa mi nepodarilo pripraviť. Prístup glykozyldonoru je sťažený nielen stericným bránením axiálnej hydroxylovej skupiny v polohe C-4, ale aj tvorbou intra- a intermolekulárnych vodíkových mostíkov^{134,137,138} u hydroxylových a acetamidových skupín.

5 Experimentálna časť

Teploty topenia kryštalických látok boli stanovené na Koflerovom bloku a nie sú korigované. ^1H a ^{13}C NMR spektra boli merané na prístrojoch Bruker AVANCE-500, Bruker AVANCE-400 alebo Varian UNITY INOVA 400 (^1H pri 500 alebo 400 MHz; ^{13}C pri 125 alebo 100 MHz). Chemické posuny (δ) protónov a uhlíkov sú udané v jednotkách ppm, interakčné konštanty (J) v Hz. Spektrá boli merané v deuterovaných rozpúšťadlách (CDCl_3 , CD_3OD , DMSO , $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ alebo D_2O), ako vnútorný štandard bol použitý TMS alebo centrálny pík rozpúšťadla. Priradenie protónových a uhlíkových signálov bolo uskutočnené pomocou dvojdimenzionálnych experimentov (H,H-COSY , H,C-HSQC , HMQC) a stereochemia bola potvrdená pomocou NOESY spektier. Optická otáčavosť bola meraná pri 589 nm a 22 °C na polarimetroch Perkin-Elmer 141 alebo Autopol IV (Rudolph Research Analytical, USA) a hodnoty $[\alpha]_{\text{D}}$ sú uvedené v $\text{deg}\cdot\text{cm}^2\cdot\text{g}^{-1}$. IR spektra boli merané v KBr tabletách alebo v CHCl_3 roztoku na prístroji Bruker IFS-55, vlnočty sú uvedené v cm^{-1} . ESI MS boli namerané na prístroji LCQ Classic (Thermo Finnigan), HR-ESI MS na Q-TOF micro (Waters). Elementárne analýzy (C, H, N) boli prevedené na prístroji PE 2400 Series II CHNS/O Analyzer (Perkin Elmer, USA), stanovenie Cl, Br a S titračnými metódami. Priebeh reakcií a čistota produktov bola kontrolovaná TLC chromatografiou na alumíniových platničkách Merck silica gel 60 F_{254} a boli detegované UV svetlom (254 nm), tepelnou karbonizáciou alebo 50% H_2SO_4 s následným zahriatím. Pre detekciu sacharidov s voľnou $-\text{NH}_2$ skupinou bol použitý tiež 1% etanolový roztok ninhydrínu a pre epoxidy Buchananovo činidlo.¹³⁹ Stĺpcová preparatívna chromatografia bola uskutočnená na silikagéli Fluka silica gel for flash chromatography 60 (230-400 mesh). Rozpúšťadlá použité pre chromatografiu (hexán, toluén, etylacetát) boli pred použitím destilované. Bezvodé rozpúšťadlá boli vydestilované z P_2O_5 (DMF , DCM , CHCl_3), horčíka (MeOH), sodíka (dioxán, Et_2O), LiAlH_4 (dioxán), KOH (pyridín), CaH_2 (DMSO , benzylalkohol) a K_2CO_3 (acetón) a boli uchovávané nad 4Å sítami. Azid litný bol pripravený podľa literatúry.¹⁴⁰ Rozpúšťadlá boli odparované na rotačnej vákuovej odparke. Chemikálie použité v experimentoch boli použité v komerčne dostupnom stave, bez ďalšieho čistenia.

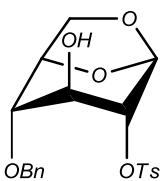
1,6:3,4-Dianhydro-2-*O-p*-toluénsulfonyl- β -D-galaktopyranóza (2)



K roztoku 1,6-anhydro- β -D-glukopyranózy (100 g; 0.617 mol) v zmesi suchého pyridínu a acetónu (600 ml, 1/1) bol po častiach pridaný *p*-toluénsulfonyl chlorid (250 g; 1.311 mol). Roztok bol ponechaný stáť 4 dni pri laboratórnej teplote. Potom bola k reakčnej zmesi počas 8 h pridávaná destilovaná voda (4×50ml). Po vypadnutí kryštálov bola reakčná zmes prefiltrovaná a produkt bol prepláchnutý destilovanou vodou (400 ml) a malým množstvom EtOH (100 ml). Získaná 1,6-anhydro-2,4-di-*O-p*-toluénsulfonyl- β -D-glukopyranóza (**1**) bola po rozpustení v DCM (380 ml) a MeOH (510 ml) ochladená na 0 °C a behom 30 min bol k nej za intenzívneho miešania prikvapkaný MeONa (51 g Na v 770 ml MeOH). Reakčná zmes bola následne miešaná 30 min pri 0 °C a cez noc pri laboratórnej teplote. Potom bola reakčná zmes vákuovo zahustená, rozpustená v DCM (430 ml) a premytá vodou (1.7 l). Po oddelení organickej vrstvy bola vodná vrstva opäť extrahovaná DCM (2×400 ml). Spojená organická vrstva bola sušená nad MgSO₄, prefiltrovaná a rozpúšťadlo bolo vákuovo odparené. Produkt bol za zvýšenej teploty rozpustený v EtOH (750 ml) a roztok bol ponechaný k voľnej kryštalizácii. Po dvoch dňoch boli kryštály prefiltrované, prepláchnuté studeným EtOH a následne vysušené. Získaný epoxid **2** (93.6 g; 51%) bol vo forme bezfarebných kryštálov; t.t. 148 °C, $[\alpha]_D = -43$ (c 1.02, DCM); lit.:¹⁰¹ t.t. (EtOH) 147-149 °C, $[\alpha]_D = -40$ (c 1.4 CHCl₃).

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 7.84 d, 2H, *J* 8.4 (Ar-H); 7.38 d, 2H, *J* 8.1 (Ar-H); 5.17 dd, 1H, *J* 1.1, 1.5 (H-1); 4.84 dd, 1H, *J* 4.9, 4.9 (H-5); 4.40 bs, 1H (H-2); 3.95 d, 1H *J* 6.7 (H-6a); 3.61 ddd, 1H, *J* 0.6, 4.1, 4.7 (H-4); 3.50 dd, 1H, *J* 4.9, 6.7 (H-6b); 3.15 dd, 1H *J* 1.5, 4.0 (H-3); 2.47 s, 3H (CH₃). ¹H NMR súhlasí s literatúrou.¹⁴¹

1,6-Anhydro-4-*O*-benzyl-2-*O-p*-toluénsulfonyl- β -D-glukopyranóza (3)

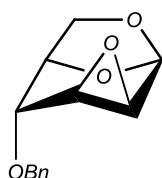


Reakčná zmes obsahujúca epoxid **2** (100 g; 0.335 mol), toluén (315 ml), benzyl alkohol (100 ml; 0.962 mol) a kys. *p*-toluénsulfónovú (10 g; 52.6 mmol) bola refluxovaná 2.5 h pri 110 °C. Po ochladení na laboratórnu teplotu bola zmes premytá vodou (2×200 ml), organická vrstva bola vysušená nad MgSO₄ a vákuovo zahustená. Kryštalizácia odparku z éteru poskytla 4-*O*-benzylderivát **3** (64.4 g; 40%). Spojením matečných lúhov viacerých

frakcií a ich následnou kryštalizáciou bol získaný ďalší produkt **3**, čím bola zvýšená priemerná výťažnosť reakcie až na 57%; t.t. 122-124 °C, $[\alpha]_D = -19$ (*c* 2.0, CHCl₃); lit.:¹⁰⁰ t.t. 126-127 °C, $[\alpha]_D = -18$ (*c* 1.4 CHCl₃).

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 7.82 d, 2H, *J* 8.4 (Ar-H); 7.36 – 7.30 m, 7H, (Ar-H); 5.33 dd, 1H, *J* 1.1, 1.1 (H-1); 4.69 d, 1H *J* 12.2 (CH₂Ph); 4.60 d, 1H *J* 12.2 (CH₂Ph); 4.57 dddd, 1H, *J* 1.1, 1.2, 1.2, 5.4 (H-5); 4.22 ddd, 1H, *J* 0.6, 0.8, 3.7 (H-2); 3.97 dddd, 1H *J* 1.1, 1.1, 3.7, 3.8 (H-4); 3.85 dd, 1H, *J* 0.9, 7.5 (H-6a); 3.63 dd, 1H, *J* 5.3, 7.5 (H-6b); 3.33 ddd, 1H *J* 0.7, 1.4, 3.8 (H-3); 2.44 s, 3H (CH₃). ¹H NMR súhlasí s literatúrou.^{142,143}

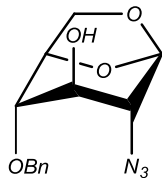
1,6:2,3-Dianhydro-4-*O*-benzyl-β-D-manopyranóza (4)



Anhydrid **3** (67.8 g; 0.167 mol) bol rozpustený v DCM (680 ml), ochladený na 0 °C a počas chladenia bol k roztoku pomaly pridaný MeONa (17.0 g Na v 340 ml MeOH). Potom bola zmes miešaná 24 h pri laboratórnej teplote, premytá vodou (2×700 ml) a vodná vrstva bola následne extrahovaná DCM (3×400 ml). Organická vrstva bola vysušená nad MgSO₄, prefiltrovaná a odparená do sucha. Kryštalizáciou z éteru bol získaný chránený epoxid **4** (35.1 g; 90%); t.t. 56 °C, $[\alpha]_D = -25.4$ (*c* 0.539, CHCl₃); lit.:¹²⁷ t.t. (éter/petroleum) 64 °C, $[\alpha]_D = -27$ (*c* 1.1 CHCl₃).

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 7.39 – 7.30 m, 5H, (Ph); 5.71 d, 1H, *J* 3.2 (H-1); 4.73 s, 2H, (CH₂Ph); 4.51 ddd, 1H, *J* 2.3, 2.4, 6.6 (H-5); 3.73 – 3.65 m, 3H (H-4, H-6a, H-6b); 3.45 t, 1H *J* 3.8 (H-2); 3.19 dd, 1H, *J* 1.5, 3.8 (H-3). ¹H NMR súhlasí s literatúrou.^{144,145}

1,6-Anhydro-2-azido-4-*O*-benzyl-2-deoxy-β-D-glukopyranóza (5)



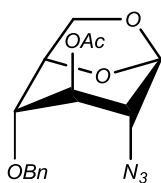
Zmes dianhydroderivátu **4** (19.0 g; 81.1 mmol), NaN₃ (19.0 g; 0.292 mol), NH₄Cl (19.0 g; 0.355 mol), 2-metoxyetanolu (190 ml) a vody (95 ml) bola za stáleho miešania zahrievaná 30 h na teplotu 115 °C. Reakcia bola monitorovaná pomocou TLC a po jej ukončení bola reakčná zmes ochladená na laboratórnu teplotu. Rozpúšťadlá boli odparené takmer do sucha a zvyšok bol rozpustený vo vode (200 ml) a extrahovaný DCM (3×100 ml). Organická vrstva bola vysušená nad MgSO₄, odfarbená aktívnym uhlím, prefiltrovaná a odparená do sucha. Odparok bol kryštalovaný z EtOH a poskytol azid

5 (15.7 g; 70%). Matečné lúhy viacerých frakcií boli spojené, prečistené na stĺpci silikagélu (hexán/EtOAc 1/4) a kryštalované, čím bola zvýšená priemerná výtťažnosť produktu na 85%; t.t. 94-96 °C, $[\alpha]_D = -5$ (c 0.618, CHCl₃); lit.:⁶⁵ t.t. (MeOH/voda) 102-105 °C, $[\alpha]_D = -7$ (c 0.4 CHCl₃); lit.¹⁴⁶: t.t. (MeOH) 96 °C, $[\alpha]_D = -6$ (c 1.1 CHCl₃).

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 7.39 – 7.30 m, 5H, (Ph); 5.47 t, 1H, *J* 1.3 (**H-1**); 4.69 d, 2H, *J* 1.4 (CH₂Ph); 4.62 dq, 1H, *J* 1.2, 5.4 (**H-5**); 3.95 dd, 1H, *J* 0.6, 7.5 (**H-6a**); 3.92 – 3.89 m, 1H (**H-3**); 3.70 dd, 1H, *J* 5.4, 7.5 (**H-6b**); 3.38 dm, 1H, *J* 3.5 (**H-4**); 3.24 dm, 1H *J* 3.5 (**H-2**). ¹H NMR súhlasí s literatúrou.^{65,146}

IR (CHCl₃): 3613 (OH); 2106 (N₃).

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



K azidu **5** (26 g; 93.8 mmol) rozpustenom v pyridíne (260 ml) bol pomaly prikvapkaný Ac₂O (13.3 ml; 0.14 mmol) a roztok bol ponechaný stáť pri laboratórnej teplote 2 dni. Po ukončení reakcie bola reakčná zmes vyliala do banky s rozdrveným ľadom. Po rozpustení bola vodná vrstva extrahovaná DCM (2×400 ml), spojené organické vrstvy boli vysušené nad MgSO₄, vákuovo zahustené a pyridín bol odparený viacnásobnou kodesťiláciou s toluénom. Získaný azidoderivát **6** (29.1 g; 97%) bol vo forme nažltlého oleja.

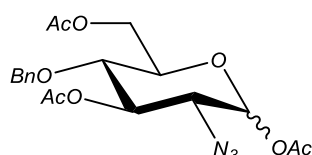
¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 7.42 – 7.28 m, 5H, (Ph); 5.51 t, 1H, *J* 1.7 (**H-1**); 5.06 ddd, 1H, *J* 1.4, 2.9, 4.4 (**H-3**); 4.84 d, 1H *J* 12.7 (CH₂Ph); 4.70 d, 1H *J* 12.5 (CH₂Ph); 4.62 dm, 1H, *J* 5.8 (**H-5**); 3.94 dd, 1H, *J* 1.2, 7.6 (**H-6a**); 3.76 dd, 1H, *J* 5.8, 7.6 (**H-6b**); 3.27 – 3.29 m, 1H (**H-4**); 3.21 – 3.22 m, 1H (**H-2**); 2.10 s, 3H (CH₃CO). ¹H NMR súhlasí s literatúrou.¹⁴⁶

¹³C NMR (CDCl₃, 101 MHz): 171.32 (CH₃CO), 139.11, 129.42, 129.03, 128.86 (Ph), 101.40 (C-1), 76.02 (C-5), 75.72 (C-4), 72.40 (CH₂Ph), 70.97 (C-3), 66.19 (C-6), 60.36 (C-2), 20.88 (CH₃CO). ¹³C NMR súhlasí s literatúrou.¹⁴⁷

IR (CHCl₃): 2106 (N₃); 1740, 1236 (OAc); 3031, 1496, 1455 (Ar).

1,3,6-Tri-*O*-acetyl-2-azido-4-*O*-benzyl-2-deoxy-α,β-D-glukopyranóza (**7**)

Anhydrid **6** (15.8 g; 49.48 mmol) bol rozpustený v CF₃COOH (55 ml; 0.718 mol) a Ac₂O (350 ml; 3.71 mol) a reakčná zmes bola miešaná cez noc pri laboratórnej



teplote. Potom bola zmes odparená do sucha, vytrepaná medzi vodu (100 ml) a DCM (2×150 ml) a organická fáza bola vysušená nad MgSO₄ a prefiltrovaná. Odparením rozpúšťadla a chromatografiou odparku na stĺpci silikagélu (toluén/EtOAc 20/1→10/1) bola získaná anomérna zmes 1-*O*-acetylderivátu **7** (20.5 g; 98%) v pomere $\alpha/\beta = 4/1$ vo forme nažltlého syruhu. $[\alpha]_D = +89.1$ (*c* 1.054, CHCl₃); ¹H NMR produktov boli určené zo zmesi.

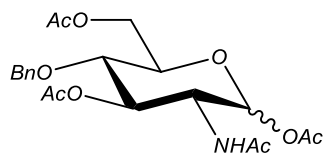
α -anomér: ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 7.38 – 7.22 m, 5H, (Ph); 6.26 d, 1H, *J* 3.5 (**H-1**); 5.56 dd, 1H, *J* 9.2, 10.5 (**H-3**); 4.62 d, 1H *J* 11.1 (CH₂Ph); 4.57 d, 1H *J* 11.0 (CH₂Ph); 4.28 – 4.26 m, 2H (**H-6a**, **H-6b**); 3.99 ddd, 1H, *J* 2.9, 3.1, 10.0 (**H-5**); 3.66 dd, 1H, *J* 9.3, 10.0 (**H-4**); 3.47 dd, 1H *J* 3.6, 10.6 (**H-2**); 2.17 s, 3H; 2.09 s, 3H; 2.06 s, 3H (3×CH₃CO).

¹³C NMR (CDCl₃, 101 MHz): 170.40, 169.73, 168.65 (3×CH₃CO), 136.93, 128.62, 128.27, 128.02 (Ph), 90.28 (**C-1**), 75.44 (**C-4**), 74.95 (**C-5**), 72.30 (CH₂Ph), 70.98 (**C-3**), 63.10 (**C-2**), 62.21 (**C-6**), 20.95, 20.85, 20.75 (3×CH₃CO).

β -anomér: ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 7.38 – 7.22 m, 5H, (Ph); 5.55 d, 1H, *J* 8.4 (**H-1**); 5.17 dd, 1H, *J* 9.0, 10.3 (**H-3**); 4.57 d, 1H *J* 11.0 (CH₂Ph); 4.53 d, 1H *J* 11.2 (CH₂Ph); 4.32 dd, 1H, *J* 2.2, 12.3 (**H-6a**); 4.23 dd, 1H, *J* 4.4, 12.3 (**H-6b**); 3.74 – 3.69, m, 1H (**H-5**); 3.61 dd, 1H, *J* 9.0, 9.8 (**H-4**); 3.55 dd, 1H, *J* 8.5, 10.3 (**H-2**); 2.18 s, 3H; 2.07 s, 3H; 2.06 s, 3H (3×CH₃CO). ¹H NMR súhlasí s literatúrou.¹⁴⁶

IR (CHCl₃): 2112 (N₃); 1751, 1227 (OAc); 3029 (Ar).

2-Acetamido-1,3,6-tri-*O*-acetyl-4-*O*-benzyl-2-deoxy- α,β -D-glukopyranóza (**8**)



Metóda a): K roztoku látky **7** (6.40 g; 15.19 mmol) v zmesi EtOH/voda (55 ml 4/1) bol za intenzívneho miešania pridaný NH₄Cl (1.93 g; 36.08 mmol) a práškový Zn (1.32 g; 20.19 mmol). Po troch hodinách miešania pri laboratórnej teplote bola reakcia ukončená prídavkom EtOAc (100 ml) a kvapalného amoniaku (5 ml), reakčná zmes bola prefiltrovaná cez kremelinu a premytá nasýteným roztokom NaCl (40 ml). Organická vrstva bola vysušená nad MgSO₄ a odparená do sucha. Odparok bol následne rozpustený v suchom pyridíne (50 ml) a po pridaní Ac₂O (10.9 ml; 0.115 mmol) bola zmes ponechaná stáť pri laboratórnej teplote 2 h. Rozpúšťadlá boli

odparené kodesťiláciou s toluénom a získaný produkt bol prečistený na stĺpci silikagélu (hexán/EtOAc 2/3), čím bol získaný acetamidoderivát **8** (4.51 g; 67%).

Metóda b): Roztok azidu **7** (1.0 g; 2.373 mmol) v pyridíne (14 ml) a vode (7 ml) bol sýtený H₂S po dobu 2 hod. Rozpúšťadlá boli následne odparené do sucha kodesťiláciou s toluénom, odparok bol rozpustený v suchom pyridíne (10 ml) a k zmesi bol pridaný Ac₂O (0.5 ml; 5.30 mmol). Reakčná zmes bola miešaná pri laboratórnej teplote a po 18 h bol opätovne pridaný Ac₂O (2 ml; 21.20 mmol). Po ďalších 6 h miešania bola reakcia ukončená, rozpúšťadla vákuovo odparené, pyridín kodesťilovaný s toluénom a odparok bol chromatografovaný na stĺpci silikagélu (hexán/EtOAc 7/3 → EtOAc). Získaná anomérna zmes acetamidoderivátu **8** (869 mg; 83%; α/β 4/1) bola vo forme bielej peny. [α]_D = +61.5 (c 0.455, CHCl₃). NMR spektrum α-anoméru bolo určené zo zmesi anomérov.

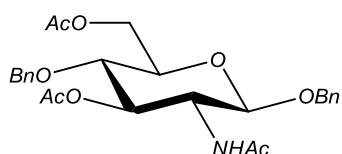
α-anomér: ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 7.45 – 7.25 m, 5H, (Ph); 6.13 d, 1H, *J* 3.6 (**H-1**); 5.65 bd, 1H, *J* 9.2 (NH); 5.33, dd, 1H, *J* 9.2, 11.1 (**H-3**); 4.69 d, 1H *J* 11.3 (CH₂Ph); 4.62 d, 1H *J* 11.3 (CH₂Ph); 4.42 ddd, 1H, *J* 3.4, 9.2, 11.1 (**H-4**); 4.31 dd, 1H, *J* 2.6, 12.4 (**H-6a**); 4.27 dd, 1H, *J* 3.4, 12.4 (**H-6b**); 3.93 ddd, 1H, *J* 3.0, 3.0, 10.0 (**H-5**); 3.77 dd, 1H, *J* 9.2, 9.8 (**H-2**); 2.18 s, 3H; 2.08 s, 3H; 2.06 s, 3H; 1.96 s, 3H (4×CH₃CO).

¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz): 171.67, 170.55, 170.10, 168.82 (4×CH₃CO), 137.06, 128.62, 128.25, 127.98 (Ph), 90.83 (**C-1**), 75.10 (**C-5**), 74.79 (**C-4**), 73.28 (CH₂Ph), 70.84 (**C-3**), 62.15 (**C-6**), 51.29 (**C-2**), 23.07 (CH₃CONH), 20.95, 20.91, 20.78 (3×CH₃CO).

IR (CHCl₃): 3434, 3374, 1682, 1513 (NH); 1742, 1233 (OAc); 3029, 1498, 1455 (Ar).

Pre C₂₁H₂₇NO₉ 437.44 MS (ESI): 460.0 (M+Na)⁺. Elementárna analýza pre C₂₁H₂₇NO₉ vypočítané: 57.66% C, 6.22% H, 3.20% N; nájdené: 56.90% C, 6.18% H, 3.03% N.

Benzyl-2-acetamido-3,6-di-O-acetyl-4-O-benzyl-2-deoxy-β-D-glukopyranozid (**9**)



Roztok acetamidoderivátu **8** (0.8 g; 1.83 mmol) v benzéne (27 ml) bol v argónovej atmosfére miešaný 30 min pri teplote 90 °C. Po pridaní TfOH (0.05 ml; 0.57 mmol) bola zmes miešaná ďalších 30 min pri teplote 90 °C a za týchto podmienok

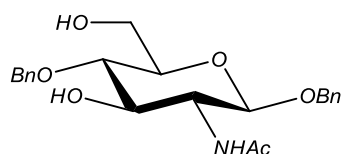
bol cez septum behom 20 min prikvapávaný roztok BnOH (1.9 ml; 18.34 mmol) v benzéne (5 ml). Po hodine miešania pri 90 °C bola zmes ochladená na laboratórnu teplotu, nariedená EtOAc (10 ml), pretrepaná nasýteným vodným roztokom NaHCO₃, organická vrstva bola extrahovaná vodou (10 ml), vysušená MgSO₄ a odparená do sucha. Chromatografia odparku (toluén → toluén/EtOAc 4/1) poskytla látku **9** (0.6 g; 68%) ako bezfarebný olej. Malá časť kryštalizovaná z EtOAc, získané biele kryštály s t.t. 168 °C; [α]_D = -54.4 (c 0.272, CHCl₃).

¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz): 7.39 – 7.21 m, 10 (Ph); 5.35 bd, 1H, *J* 9.5 (NH); 5.03 dd, 1H, *J* 8.9, 10.6 (H-3); 4.86 d, 1H *J* 12.3 (CH₂Ph); 4.62 d, 1H, *J* 11.3 (CH₂Ph'); 4.57 d, 1H *J* 12.3 (CH₂Ph); 4.57 d, 1H *J* 11.3 (CH₂Ph'); 4.41 dd, 1H, *J* 2.4, 12.0 (H-6a); 4.38 d, 1H, *J* 8.2 (H-1); 4.22 dd, 1H, *J* 4.6, 12.0 (H-6b); 4.14 ddd, 1H, *J* 8.2, 9.5, 10.6 (H-2); 3.68 dd, 1H, *J* 8.9, 9.5 (H-4); 3.54 ddd, 1H, *J* 2.4, 4.6, 9.5 (H-5); 2.08 s, 3H; 1.99 s, 3H (2×CH₃CO); 1.91 s, 3H (CH₃CONH)

¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz): 171.17 (CH₃CONH), 170.63, 170.01 (2×CH₃CO), 137.02, 137.29, 128.57, 128.44, 128.13, 127.96, 127.93, 127.91 (Ph), 99.68 (C-1), 75.53 (C-4), 75.22 (C-3), 74.70 (CH₂Ph'), 73.04 (C-5), 70.29 (CH₂Ph), 62.71 (C-6), 53.83 (C-2), 23.27 (CH₃CONH), 20.86, 20.86 (2×CH₃CO)

Pre C₂₆H₃₁NO₈ 485.53 MS (ESI): 508.2 (M+Na)⁺. Elementárna analýza pre C₂₆H₃₁NO₈ vypočítané: 64.32% C, 6.44% H, 2.88% N; nájdené: 64.18% C, 6.61% H, 3.00% N.

Benzyl-2-acetamido-4-*O*-benzyl-2-deoxy-β-D-glukopyranozid (**10**)



Roztok MeONa v MeOH (0.5 ml, 0.49 M) bol prikvapkaný k roztoku látky **9** (0.25 g; 0.51 mmol) v suchom MeOH (1.5 ml). Zmes bola miešaná 3 h pri laboratórnej teplote, neutralizovaná ionexom DOWEX 50 H⁺, prefiltrovaná a rozpúšťadlo bolo odparené. Kryštalizáciou z horúceho EtOH (40 ml) bola získaná látka **10** (165 mg; 80%) v podobe jemných bielych kryštálov s t.t. 242-244 °C; [α]_D = -42.3 (c 0.253, DMF).

¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz): 7.35 – 7.24 m, 10H (Ph); 4.86 d, 1H *J* 11.4 (CH₂Ph); 4.79 d, 1H, *J* 12.4 (CH₂Ph'); 4.58 d, 1H *J* 11.4 (CH₂Ph); 4.52 d, 1H, *J* 12.4 (CH₂Ph'); 4.41 d, 1H, *J* 8.3 (H-1); 3.70 bdd, 1H, *J* 2.0, 11.8 (H-6a); 3.59 – 3.55 m, 2H (H-2, H-3);

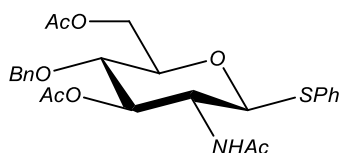
3.55 bdd, 1H, *J* 5.2, 11.8 (**H-6b**); 3.50 t, 1H, *J* 0.8 (6-OH); 3.31 dd, 1H, *J* 8.6, 9.8 (**H-4**); 3.21 ddd, 1H, *J* 2.0, 5.2, 9.8 (**H-5**); 1.83 s, 3H (**CH₃CONH**)

¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz): 169.84 (**CH₃CONH**), 139.26, 138.33, 128.35, 128.29, 127.88, 127.53, 127.51, 127.44 (Ph), 100.85 (**C-1**), 78.68 (**C-4**), 76.04 (**C-5**), 74.51 (**C-3**), 73.94 (**CH₂Ph**), 69.87 (**CH₂Ph'**), 60.86 (**C-6**), 56.16 (**C-2**), 23.02 (**CH₃CO**)

IR (KBr): 3286, 1654, 1563, 1311 (NH); 3435, 1073 (OH); 3090, 1498, 1453, 1116, 1092 (Ar).

Pre C₂₂H₂₇NO₆ 401.45 MS (ESD): 424.2 (M+Na)⁺. Elementárna analýza pre C₂₂H₂₇NO₆ vypočítané: 65.82% C, 6.78% H, 3.49% N; nájdené: 66.03% C, 6.91% H, 3.37% N.

Fenyl-2-acetamido-3,6-di-*O*-acetyl-4-*O*-benzyl-2-deoxy-1-*thio*-β-D-glukopyranozid (**11**)



Látka **8** (262 mg; 0.599 mmol) bola pod argónovou atmosférou rozpustená v suchom DCE (3.5 ml) a zohriata na teplotu 50 °C. Po pridaní ZnI₂ (1.34 g; 0.4.198 mmol) a

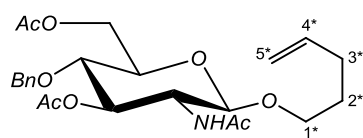
PhSSiMe₃ (460 μl; 2.43 mmol; po kvapkách) bola zmes miešaná 6.5 hod pri teplote 50 °C. Kontrola TLC (toluén/EtOAc 3/1) potvrdila vznik nového produktu. Reakčná zmes bola nariadená CHCl₃ (30 ml), prefiltrovaná cez kremelinu a pretrepaná nasýteným vodným roztokom NaHCO₃ (30 ml). Organická vrstva bola extrahovaná vodou (10 ml), vysušená MgSO₄ a odparená do sucha. Chromatografia odparku (toluén/EtOAc 1/1) poskytla látku **11** (180 mg; 62%) vo forme bielych kryštálov; t.t. 173-175 °C, [α]_D = -24.1 (c 0.174, CHCl₃).

¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz): 7.50 – 7.45 m, 7.35 – 7.21 m, 10H (Ph); 5.64 bd, 1H, *J* 9.7 (NH); 5.10 dd, 1H, *J* 8.5, 10.4 (**H-3**); 4.64 d, 1H, *J* 10.4 (**H-1**); 4.60 d, 1H *J* 11.3 (**CH₂Ph**); 4.56 d, 1H, *J* 11.3 (**CH₂Ph**); 4.39 dd, 1H, *J* 2.1, 12.0 (**H-6a**); 4.16 dd, 1H, *J* 5.1, 12.0 (**H-6b**); 4.15 ddd, 1H, *J* 9.7, 10.4, 10.4 (**H-2**); 3.63 dd, 1H, *J* 8.5, 9.7 (**H-4**); 3.60 ddd, 1H, *J* 2.1, 5.1, 9.7 (**H-5**); 2.04 s, 3H; 1.99 s, 3H (2×**CH₃CO**); 1.98 s, 3H (**CH₃CONH**)

¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz): 171.26, 170.54 (2 × **CH₃CO**), 169.96 (**CH₃CONH**), 137.15, 132.84, 132.22, 128.82, 128.59, 128.18, 127.93, 127.84 (Ph), 86.94 (**C-1**), 76.93 (**C-5**), 76.64 (**C-3**), 75.48 (**C-4**), 74.83 (**CH₂Ph**), 62.86 (**C-6**), 52.98 (**C-2**), 23.29 (**CH₃CONH**), 20.86, 20.81 (2×**CH₃CO**)

Pre $C_{25}H_{29}NO_7S$ 487.57 MS (ESI): 510.1 ($M+Na$)⁺. Elementárna analýza pre $C_{25}H_{29}NO_7S$ vypočítané: 61.59% C, 6.00% H, 2.87% N, 6.58% S; nájdené: 61.58% C, 5.88% H, 2.74% N, 6.72% S.

Pent-4-enyl-2-acetamido-3,6-di-O-acetyl-4-O-benzyl-2-deoxy- β -D-glukopyranozid (12)



K zmesi fenylioderivátu **11** (49 mg; 0.101 mmol), 4-pentén-1-olu (21 μ l; 0.206 mmol), AgOTf (25.7 mg; 0.100 mmol) a práškových molekulových sít 4Å (150 mg) v suchom DCM (1.6 ml) miešanej v tme v argónovej atmosfére 45 min bol cez septum pridaný MeOTf (23 μ l; 0.203 mmol) a zmes bola miešaná pri laboratórnej teplote. Rovnaké množstvo MeOTf bolo pridané ešte 2 \times , vždy po 12 h miešania. 12 h po poslednom prídavku MeOTf bol k zmesi ochladenej na -15 $^{\circ}$ C prikvapkaný suchý pyridín (0.3 ml) a reakčná zmes bola miešaná 1 h pri -15 $^{\circ}$ C a ďalšiu hodinu pri laboratórnej teplote. Po prefiltrovaní cez fritu a nariadení $CHCl_3$ bola zmes premytá nasýteným vodným roztokom $NaHCO_3$ (3 \times 5 ml), studeným 10%ným vodným roztokom $NaHSO_3$ (2 \times 8 ml) a 10%ným vodným roztokom $NaCl$ (2 \times 8 ml). Organická vrstva bola vysušená nad $MgSO_4$ a odparená. Chromatografia odparku na stĺpci silikagélu (toluén/EtOAc 10/1 \rightarrow 1/1) poskytla 4-pentenylderivát **12** (14 mg; 30%) ako bielu amorfnú látku a nedoreagovanú východiskovú látku **11** (11 mg; 23%). $[\alpha]_D^{25} = -21.6$ (*c* 0.273, $CHCl_3$).

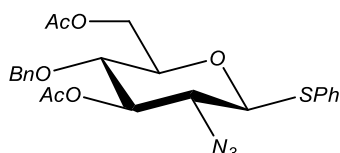
1H NMR ($CDCl_3$, 500 MHz): 7.37 – 7.23 m, 5H (Ph); 5.78 ddt, 1H, *J* 6.7, 6.7, 10.2, 17.1 (**H-4***); 5.50 bd, 1H, *J* 9.5 (NH); 5.10 dd, 1H, *J* 8.9, 10.7 (**H-3**); 5.00 dq, 1H, *J* 1.7, 1.7, 1.7, 17.1 (**H-5a***); 4.96 ddt, 1H, *J* 1.3, 1.3, 2.0, 10.2 (**H-5b***); 4.63 d, 1H, *J* 11.2 (CH_2Ph); 4.57 d, 1H, *J* 11.2 (CH_2Ph); 4.38 d, 1H, *J* 8.2 (**H-1**); 4.37 dd, 1H, *J* 2.3, 11.9 (**H-6a**); 4.22 dd, 1H, *J* 4.5, 11.9 (**H-6b**); 4.06 ddd, 1H, *J* 8.2, 9.5, 10.7 (**H-2**); 3.86 dt, 1H, *J* 6.2, 6.2, 9.6 (**H-1a***); 3.67 dd, 1H, *J* 8.9, 9.6 (**H-4**); 3.57 ddd, 1H, *J* 2.3, 4.5, 9.6 (**H-5**); 3.44 ddd, 1H, *J* 6.2, 7.3, 9.6 (**H-1b***); 2.12 – 2.00 m, 2H (**H-3a***, **H-3b***); 2.07 s, 3H; 2.02 s, 3H (2 \times CH_3CO); 1.96 s, 3H (CH_3CONH); 1.76 – 1.60 m, 2H (**H-2a***, **H-2b***)

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 125 MHz): 171.29, 170.78 (2 \times CH_3CO), 170.10 (CH_3CONH), 137.98 (**C-4***), 137.13, 128.59, 128.17, 127.96 (Ph), 114.93 (**C-5***), 101.26 (**C-1**), 75.33 (**C-4**), 75.09 (**C-3**), 74.74 (CH_2Ph), 72.80 (**C-5**), 68.90 (**C-1***), 62.65 (**C-6**),

53.88 (C-2), 29.88 (C-3*), 28.47 (C-2*), 23.37 (CH₃CONH), 20.94, 20.92 (2×CH₃CO)

Pre C₂₄H₃₃NO₈ 463.52 MS (ESI): 486.2 (M+Na)⁺. Elementárna analýza pre C₂₄H₃₃NO₈ vypočítané: 62.19% C, 7.18% H, 3.02% N; nájdené: 62.00% C, 7.27% H, 3.22% N.

Fenyl-3,6-di-O-acetyl-2-azido-4-O-benzyl-2-deoxy-1-tio-β-D-glukopyranozid (13)



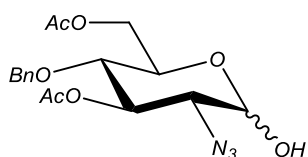
Látka **7** (108 mg; 0.256 mmol) bola rozpustená v suchom DCE (1.5 ml) pod argónovou atmosférou a zohriata na teplotu 50 °C. Potom bol k roztoku pridaný ZnI₂ (590 mg; 1.848 mmol) a behom 2 min po kvapkách aj PhSSiMe₃ (0.2 ml; 1.056 mmol) a zmes bola miešaná 8 hod pri teplote 50 °C. Po ochladení na laboratórnu teplotu bola reakčná zmes nariedená CHCl₃ (20 ml), pretrepaná nasýteným vodným roztokom NaHCO₃, organická vrstva bola premytá vodou (10 ml), vysušená nad MgSO₄ a odparená do sucha. Chromatografiou odparku (toluén → toluén/EtOAc 5/1) bol získaný fenyltioderivát **13** (50 mg; 42%) vo forme žltého medu; [α]_D = +31.6 (c 0.304, CHCl₃).

¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz): 7.60 – 7.46 m, 7.38 – 7.22 m, 10H (Ph); 5.17 t, 1H, *J* 9.4 (H-3); 4.57 d, 1H *J* 11.2 (CH₂Ph); 4.52 d, 1H, *J* 11.2 (CH₂Ph); 4.50 d, 1H, *J* 10.1 (H-1); 4.40 dd, 1H, *J* 2.2, 12.0 (H-6a); 4.20 dd, 1H, *J* 5.1, 12.0 (H-6b); 3.60 ddd, 1H, *J* 2.2, 5.1, 9.6 (H-5); 3.49 t, 1H, *J* 9.5 (H-4); 3.31 t, 1H, *J* 9.6 (H-2); 2.07 s, 3H; 2.04 s, 3H (2×CH₃CO)

¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz): 170.45, 169.64 (2 × CH₃CO), 136.96, 133.82, 129.00, 128.62, 128.60, 128.22, 127.99 (Ph), 85.87 (C-1), 77.20 (C-5), 75.89 (C-3), 75.53 (C-4), 74.70 (CH₂Ph), 63.23 (C-2), 62.70 (C-6), 20.86, 20.82 (2×CH₃CO)

Pre C₂₃H₂₅N₃O₆S 471.53 MS (ESI): 494.2 (M+Na)⁺. Elementárna analýza pre C₂₃H₂₅N₃O₆S vypočítané: 58.59% C, 5.34% H, 8.91% N, 6.80% S; nájdené: 58.35% C, 5.20% H, 9.12% N, 6.96% S.

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



Metóda a):^{104,106} K roztoku látky **7** (55 mg; 0.131 mmol) v suchom THF (0.3 ml) bol v argónovej atmosfére pridaný benzylamín (26 μl; 0.238 mmol) a reakčná zmes bola miešaná 18 hod pri laboratórnej teplote. Po odparení rozpúšťadla bol odparok

chromatografovaný na stĺpci silikagélu (toluén/EtOAc 3/1), čím bola získaná zmes anomérov látky **14** (40 mg; 81%; $\alpha/\beta = 5/3$) vo forme hnedého sirupu. $[\alpha]_D = +77.6$ (*c* 0.165, EtOH).

Metóda b): Látka **7** (150 mg; 0.356 mmol) bola rozpustená v suchom THF (3 ml), k roztoku bol pridaný piperidínacetát (188 mg; 1.29 mmol) a reakčná zmes bola miešaná dva dni pri laboratórnej teplote. Potom bola zmes odparená do sucha, extrahovaná medzi vodu (10 ml) a CHCl₃ (2×10 ml), organická vrstva bola vysušená nad MgSO₄, prefiltrovaná a zahustená. Chromatografia na silikagéli (toluén/EtOAc 10/1) poskytla zmes anomérov látky **14** (80 mg; 60%; $\alpha/\beta = 5/3$).

Metóda c):¹⁰⁵ K látke **7** (5.145 g; 12.21 mmol) rozpustenej v suchom THF (47 ml) bol v argónovej atmosfére pridaný n-BuNH₂ (1.9 ml; 19.22 mmol) a zmes bola miešaná cez noc pri laboratórnej teplote. Po doreagovaní (TLC toluén/EtOAc 3/1) bola reakčná zmes nariedená vodou (100 ml), extrahovaná CHCl₃ (1×120 ml, 2×80 ml) a organická vrstva bola premytá vodným roztokom KHSO₄ (8%, 160 ml) a vodou (200 ml). Potom bola organická vrstva vysušená nad MgSO₄, prefiltrovaná, odparená do sucha a odparok bol chromatografovaný na stĺpci silikagélu (toluén/EtOAc 10/1→7/1). Získaná bola zmes anomérov **14** (3.76 g; 81%; $\alpha/\beta = 5/2$).

α -anomér: ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz): 7.37 – 7.23 m, 5H (Ph); 5.62 dd, 1H, *J* 9.0, 10.6 (**H-3**); 5.36 d, 1H, *J* 3.5 (**H-1**); 4.63 d, 1H *J* 11.1 (CH₂Ph); 4.58 d, 1H, *J* 11.1 (CH₂Ph); 4.38 dd, 1H, *J* 1.9, 12.1 (**H-6a**); 4.20 ddd, 1H, *J* 1.9, 4.5, 9.6 (**H-5**); 4.18 dd, 1H, *J* 4.5, 12.1 (**H-6b**); 3.59 dd, 1H, *J* 9.0, 9.6 (**H-4**); 3.24 dd, 1H, *J* 3.5, 10.6 (**H-2**); 2.07 s, 3H; 2.07 s, 3H (2×CH₃CO)

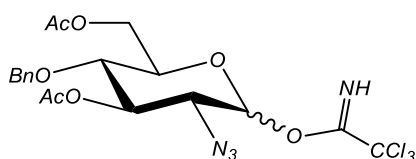
¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz): 170.72, 169.85 (2×CH₃CO), 137.17, 128.57, 128.14, 127.96 (Ph), 92.32 (C-1), 75.99 (C-4), 74.62 (CH₂Ph), 72.01 (C-3), 68.80 (C-5), 62.67 (C-6), 61.87 (C-2), 20.91 (2×CH₃CO)

β -anomér: ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz): 7.37 – 7.23 m, 5H (Ph); 5.11 dd, 1H, *J* 8.5, 10.4 (**H-3**); 4.73 d, 1H, *J* 8.0 (**H-1**); 4.58 d, 1H *J* 11.1 (CH₂Ph); 4.54 d, 1H, *J* 11.1 (CH₂Ph); 4.35 dd, 1H, *J* 1.8, 11.9 (**H-6a**); 4.23 dd, 1H, *J* 4.3, 11.9 (**H-6b**); 3.60 ddd, 1H, *J* 1.8, 4.3, 9.8 (**H-5**); 3.58 dd, 1H, *J* 8.5, 9.8 (**H-4**); 3.37 dd, 1H, *J* 8.0, 10.4 (**H-2**); 2.07 s, 3H; 2.07 s, 3H (2×CH₃CO)

^{13}C NMR (CDCl_3 , 125 MHz): 170.70, 169.79 ($2 \times \text{CH}_3\text{CO}$), 136.93, 128.61, 128.24, 128.03 (Ph), 96.05 (C-1), 75.60 (C-4), 74.72 (CH_2Ph), 74.04 (C-3), 73.14 (C-5), 65.24 (C-2), 62.61 (C-6), 20.91, 20.85 ($2 \times \text{CH}_3\text{CO}$)

Pre $\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_7$ 379.36 MS (ESI): 402.0 ($\text{M}+\text{Na}$)⁺. Elementárna analýza pre $\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_7$ vypočítané: 53.82% C, 5.58% H, 11.08% N; nájdené: 54.00% C, 5.49% H, 10.97% N.

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



Metóda a): Zmes alkoholu **14** (28 mg; 0.074 mmol) a K_2CO_3 (11 mg; 0.080 mmol) v suchom DCM (0.36 ml) bola miešaná v argónovej atmosfére pri laboratórnej teplote. Po 10 min. bol k roztoku cez septum pridaný CCl_3CN (0.074 ml; 0.73 mmol) a reakčná zmes bola miešaná pri laboratórnej teplote cez noc. Po odparení rozpúšťadla bol odparok chromatografovaný na stĺpci silikagélu (toluén/EtOAc 5/3). Získaná bola anomérna zmes trichlóracetimidátu **15** $\alpha/\beta = 8/1$ (21 mg; 54%) a nedoreagovaného alkoholu **14** (13 mg; 46%). Opakovaním pokusu (rovnaké navážky) so skrátenou reakčnou dobou 4 h bola získaná zmes anomérov **15** α/β v rozdielnom pomere 4/7 v mierne vyššom výťažku (57%). Produkt je nestály aj pri uskladnení pri teplote $-20\text{ }^\circ\text{C}$ a časom sa rozkladá späť na alkohol.

Metóda b): Monosacharid **14** (46 mg; 0.121 mmol) spolu s práškovými molekulovými sítami 4Å bol najskôr 4 hod sušený na olejovej pumpe a potom prepláchnutý argónom ($2 \times$). Po pridaní DCM (1.2 ml) bol roztok vychladený na $0\text{ }^\circ\text{C}$ a cez septum pridaný CCl_3CN (0.2 ml; 1.99 mmol) a DBU (2 μl ; 0.013 mmol). Zmes bola miešaná 30 min pri $0\text{ }^\circ\text{C}$, ohriata na laboratórnu teplotu, prefiltrovaná cez kremelinu a odparená do sucha. Chromatografiou na silikagéli (toluén/EtOAc 5/1) bola získaná zmes anomérov látky **15** $\alpha/\beta = 10/7$ (50 mg; 80%).

Metóda c): Postup je rovnaký ako u metódy b), líši sa len v pozitívom rozpúšťadle. Zámenou za DCE došlo k zvýšeniu selektivity $\alpha/\beta = 4/1$ až $7/1$ pri zachovaní výťažnosti (67-81%).

α -anomér: ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz): 8.80 bs, 1H (NH); 7.38 – 7.26 m, 5H (Ph); 6.46 d, 1H, J 3.6 (H-1); 5.63 dd, 1H, J 9.1, 10.6 (H-3); 4.62 d, 1H, J 11.1 (CH_2Ph); 4.58 d, 1H, J 11.1 (CH_2Ph); 4.32 dd, 1H, J 2.3, 12.3 (H-6a); 4.24 dd, 1H, J 4.1, 12.3

(**H-6b**); 4.15 dddd, 1H, *J* 0.6, 2.3, 4.1, 10.1 (**H-5**); 3.72 dd, 1H, *J* 9.1, 10.1 (**H-4**); 3.59 dd, 1H, *J* 3.6, 10.6 (**H-2**); 2.07 s, 3H; 2.05 s, 3H (2×CH₃CO)

¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz): 170.40, 169.56 (2×CH₃CO), 160.72 (OC=NH), 136.82, 128.65, 128.33, 128.19 (Ph), 94.42 (C-1), 90.54 (CCl₃), 75.36 (C-4), 74.86 (CH₂Ph), 72.05 (C-3), 71.28 (C-5), 62.14 (C-6), 61.06 (C-2), 20.88, 20.75 (2×CH₃CO)

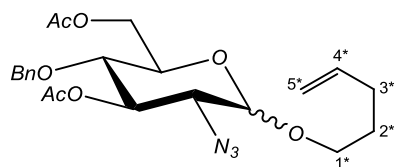
β-anomér: NMR stanovené zo zmesi anomérov; ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz): 8.78 bs, 1H (NH); 7.38 – 7.24 m, 5H (Ph); 5.71 d, 1H, *J* 8.3 (**H-1**); 5.19 dd, 1H, *J* 8.8, 10.0 (**H-3**); 4.59 d, 1H, *J* 11.2 (CH₂Ph); 4.55 d, 1H, *J* 11.2 (CH₂Ph); 4.35 dd, 1H, *J* 2.2, 12.2 (**H-6a**); 4.25 dd, 1H, *J* 4.2, 12.2 (**H-6b**); 3.74 ddd, 1H, *J* 2.2, 4.2, 9.8 (**H-5**); 3.71 dd, 1H, *J* 8.3, 10.0 (**H-2**); 3.69 dd, 1H, *J* 8.8, 9.8 (**H-4**); 2.08 s, 3H; 2.05 s, 3H (2×CH₃CO)

¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz): 170.47, 169.58 (2×CH₃CO), 160.62 (OC=NH); 136.87, 128.62, 128.28, 128.12 (Ph), 96.45 (C-1), 90.25 (CCl₃), 75.09 (C-4), 74.59 (CH₂Ph), 74.08 (C-3), 73.75 (C-5), 63.70 (C-2), 62.19 (C-6), 20.88, 20.81 (2×CH₃CO)

IR (CHCl₃): 3346 (NH); 2113 (N₃); 1746, 1229, 1020 (C=O); 1676 (C=NH); 800 (CCl₃); 3031, 1071 (Ar).

Pre C₁₉H₂₁Cl₃N₄O 523.75 MS (ESI): 546.9 (M+Na)⁺. Elementárna analýza pre C₁₉H₂₁Cl₃N₄O vypočítané: 43.57% C, 4.04% H, 20.31% Cl, 10.70% N; nájdené: 43.74% C, 4.12% H, 20.19% Cl, 10.58% N.

Pent-4-enyl-3,6-di-*O*-acetyl-2-azido-4-*O*-benzyl-2-deoxy- α,β -D-glukopyranozid (16)



Metóda a):¹⁰⁹ Zmes trichlóracetimidátu **15** (1.38 g; 2.64 mmol) a práškových molekulových sít 4 Å bola miešaná v suchom DCM (4.3 ml) v argónovej

atmosfére 20 min pri laboratórnej teplote. Po pridaní 4-pentén-1-olu (0.33 ml; 3.195 mmol) a ochladení zmesi na teplotu -17 °C bol cez septum po kvapkách pridaný čerstvo pripravený roztok TMSOTf (60 μl; 0.332 mmol) v suchom DCM (0.1 ml) a zmes bola miešaná 1.5 h. Po zreagovaní východiskovej látky (TLC toluén/EtOAc 2/1) bola reakcia ukončená prídavkom Et₃N (50 μl), prefiltrovaná cez kremelinu a vytrepaná s 10%ným vodným roztokom NaHSO₄ (30 ml). Organická vrstva bola

vysušená nad MgSO₄ a odparená do sucha. Flash chromatografiou odparku na stĺpci silikagélu (toluén → toluén/EtOAc 99/1) bola získaná nedeliteľná zmes α/β anomérov látky **16** (1.04 g; 88%) v pomere 1/1 vo forme svetložltého oleja. NMR bolo učené zo zmesi; $[\alpha]_D = +50.5$ (*c* 0.297, CHCl₃).

Metóda b):¹¹⁰ Látka **14** (2.165 g; 5.710 mmol) bola spolu s Ph₂SO (2.31 g; 11.42 mmol) a TTBP (3.55 g; 14.291 mmol) a práškovými molekulovými sitami 4Å sušená na olejovej vákuovej pumpe 1 h pri laboratórnej teplote. Potom bol pod argónovou atmosférou pridaný suchý DCM (143 ml) a zmes bola miešaná 30 min pri laboratórnej teplote. Po ochladení na -60 °C bol k zmesi pridaný Tf₂O (0.94 ml; 5.697 mmol) a zmes bola behom 1 h samovoľne ohriata na -25 °C. Pri tejto teplote bol k reakčnej zmesi po kvapkách pridaný roztok 4-pentén-1-olu (1.2 ml; 11.787 mmol) v suchom DCM (28 ml) a zmes bola samovoľne ohriata na laboratórnu teplotu a miešaná cez noc. Potom bola reakcia zastavená prídavkom Et₃N (8 ml; 57.40 mmol), zmes bola prefiltrovaná cez kremelinu a odparená do sucha. Flash chromatografia odparku (toluén/EtOAc 10/1) ponúkla 4-pentenylglykozid **16** (2.30 g; 90%) ako nedeliteľnú zmes anomérov α a β v pomere 1/5.

Metóda c):¹¹¹ 1-*O*-Acetát **7** (421 mg; 1.00 mmol) bol rozpustený v suchom DCM (4.3 ml) a k roztoku bol pridaný 4-pentén-1-ol (0.119 ml; 1.169 mmol). Po ochladení na -30 °C bol k roztoku pridaný TMSOTf (0.21 ml; 1.16 mmol) a reakčné zmes bola miešaná 2 h pri -30 °C a ďalších 18 h pri laboratórnej teplote. Reakcia bola ukončená prídavkom Et₃N (0.25 ml), prefiltrovaná cez kremelinu a odparená do sucha. Odparok bol vytrepáný medzi CHCl₃ (2×15 ml) a nasýtený vodný roztok KHSO₄ (10 ml), organická vrstva bola vysušená nad Na₂SO₄ a chromatografovaná na stĺpci silikagélu (toluén/EtOAc 20/1). Izolované boli dva produkty: východisková látka **7** (104 mg; 25%) a β -anomér látky **16** (95 mg; 21%).

α -anomér: ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz): 7.37 – 7.23 m, 5H (Ph); 5.80 ddt, 1H, *J* 6.7, 6.7, 10.2, 17.2 (**H-4***); 5.58 dd, 1H, *J* 8.9, 10.7 (**H-3**); 5.04 dq, 1H, *J* 1.8, 1.8, 1.8, 17.2 (**H-5a***); 4.98 ddt, 1H, *J* 1.7, 1.7, 2.0, 10.2 (**H-5b***); 4.94 d, 1H, *J* 3.6 (**H-1**); 4.62 d, 1H, *J* 11.2 (CH₂Ph); 4.57 d, 1H, *J* 11.2 (CH₂Ph); 4.31 dd, 1H, *J* 2.4, 12.1 (**H-6a**); 4.26 dd, 1H, *J* 4.4, 12.1 (**H-6b**); 3.96 ddd, 1H, *J* 2.4, 4.4, 10.0 (**H-5**); 3.92 dt, 1H, *J* 6.4, 6.4, 12.7 (**H-1a***); 3.57 dt, 1H, *J* 6.4, 6.4, 12.7 (**H-1b***); 3.57 dd, 1H, *J* 8.9, 10.0 (**H-4**); 3.08 dd, 1H, *J* 3.6, 10.7 (**H-2**); 2.20 – 2.13 m, 2H (**H-3a***, **H-3b***); 2.07 s, 3H; 2.06 s, 3H (2×CH₃CO); 1.78 – 1.71 m, 2H (**H-2a***, **H-2b***)

^{13}C NMR (CDCl_3 , 125 MHz): 170.58, 169.78 ($2\times\text{CH}_3\text{CO}$), 137.68 (C-4^*), 137.02, 128.58, 128.12, 128.02 (Ph), 115.23 (C-5^*), 98.08 (C-1), 74.69 (CH_2Ph), 72.90 (C-4), 72.17 (C-3), 69.75 (C-1^*), 68.69 (C-5), 62.65 (C-6), 61.18 (C-2), 30.15 (C-3^*), 28.84 (C-2^*), 20.94, 20.81 ($2\times\text{CH}_3\text{CO}$)

β -anomér: ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz): 7.37 – 7.23 m, 5H (Ph); 5.80 ddt, 1H, J 6.7, 6.7, 10.2, 17.2 (H-4^*); 5.08 dd, 1H, J 8.9, 10.5 (H-3); 5.04 dq, 1H, J 1.8, 1.8, 1.8, 17.2 (H-5a^*); 4.98 ddt, 1H, J 1.7, 1.7, 2.0, 10.2 (H-5b^*); 4.57 d, 1H, J 11.1 (CH_2Ph); 4.53 d, 1H, J 11.1 (CH_2Ph); 4.36 d, 1H, J 8.1 (H-1); 4.34 dd, 1H, J 1.8, 12.0 (H-6a); 4.22 dd, 1H, J 4.4, 12.0 (H-6b); 3.72 dt, 1H, J 6.6, 6.6, 12.9 (H-1a^*); 3.58 – 3.54 m, 2H (H-4 , H-5); 3.50 dt, 1H, J 6.4, 6.4, 12.9 (H-1b^*); 3.38 dd, 1H, J 8.1, 10.5 (H-2); 2.20 – 2.13 m, 2H (H-3a^* , H-3b^*); 2.07 s, 3H; 2.07 s, 3H ($2\times\text{CH}_3\text{CO}$); 1.78 – 1.71 m, 2H (H-2a^* , H-2b^*)

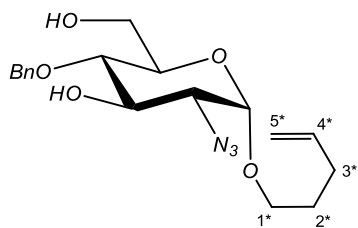
^{13}C NMR (CDCl_3 , 125 MHz): 170.57, 169.75 ($2\times\text{CH}_3\text{CO}$), 137.76 (C-4^*), 137.19, 128.57, 128.18, 127.95 (Ph), 115.13 (C-5^*), 101.99 (C-1), 76.10 (C-4), 75.81 (C-5), 74.69 (CH_2Ph), 74.00 (C-3), 67.95 (C-1^*), 64.23 (C-2), 62.65 (C-6), 29.92 (C-3^*), 28.45 (C-2^*), 20.92, 20.84 ($2\times\text{CH}_3\text{CO}$)

Pre $\text{C}_{22}\text{H}_{29}\text{N}_3\text{O}_7$ 447.48 MS (ESI): 470.2 ($\text{M}+\text{Na}$) $^+$. Elementárna analýza pre $\text{C}_{22}\text{H}_{29}\text{N}_3\text{O}_7$ vypočítané: 59.05% C, 6.53% H, 9.39% N; nájdené: 58.82% C, 6.57% H, 9.24% N.

Pent-4-enyl-2-azido-4-*O*-benzyl-2-deoxy- α -D-glukopyranozid (17) a pent-4-enyl-2-azido-4-*O*-benzyl-2-deoxy- β -D-glukopyranozid (18)

Anoméerna zmes látky **16** (2.20 g; 4.92 mmol) bola po rozpustení v roztoku MeONa (20 ml; 0.1M) ponechaná stáť cez noc pri laboratórnej teplote. Potom bola zmes odparená do sucha, extrahovaná medzi CHCl_3 (100 ml) a zriedenú HCl (20 ml; 5%), organická vrstva bola premytá vodou (50 ml), vysušená nad MgSO_4 , prefiltrovaná a vákuovo zahustená. Odparok bol následne chromatografovaný na stĺpci silikagélu (toluén/EtOAc 20/1). Oba anoméry **17** (α ; 380 mg; 21%) a **18** (β ; 1.305 g; 73%) boli izolované ako pevné biele látky.

Pre **17** t.t. 67-69 °C; $[\alpha]_D = +138.0$ (c 0.523, CHCl_3); ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz): 7.40 – 7.30 m, 5H (Ph); 5.79 ddt, 1H, J 6.6, 6.6, 10.2, 17.0 (H-4^*); 5.03 ddt, 1H, J 1.6, 1.6, 1.9, 17.0 (H-5a^*); 4.98 ddt, 1H, J 1.2, 1.2, 1.9, 10.2 (H-5b^*); 4.87 d, 1H, J 3.6 (H-1); 4.80 d, 1H, J 11.4 (CH_2Ph); 4.78 d, 1H, J 11.4 (CH_2Ph); 4.13 dd, 1H, J

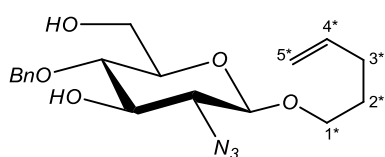


8.7, 10.4 (**H-3**); 3.83 dd, 1H, *J* 2.7, 12.0 (**H-6a**); 3.78 dd, 1H, *J* 3.6, 12.0 (**H-6b**); 3.70 bddd, 1H, *J* 2.7, 3.6, 9.9 (**H-5**); 3.69 dt, 1H, *J* 6.5, 6.5, 9.6 (**H-1a***); 3.50 dd, 1H *J* 8.7, 9.9 (**H-4**); 3.45 dt, 1H, *J* 6.3, 6.3, 9.6 (**H-1b***); 3.13 dd, 1H, *J* 3.6, 10.4 (**H-2**); 2.17 – 2.12 m, 2H (**H-3a***, **H-3b***); 1.74 – 1.68 m, 2H (**H-2a***, **H-2b***)

^{13}C NMR (CDCl₃, 125 MHz): 137.77 (**C-4***), 137.88, 128.71, 128.20, 128.06 (Ph), 115.14 (**C-5***), 97.84 (**C-1**), 78.01 (**C-4**), 75.01 (**CH₂Ph**), 71.66 (**C-3**), 70.88 (**C-5**), 67.63 (**C-1***), 62.99 (**C-2**), 61.62 (**C-6**), 30.14 (**C-3***), 28.52 (**C-2***)

IR (CHCl₃): 2103, 1264 (N₃); 3370, 3270, 1074, 1059 (OH); 2972, 1642, 998, 919 (vinyl); 3089, 1455, 1030, 742 (Ar).

Pre C₁₈H₂₅N₃O₅ 363.41 MS (ESI): 386.1 (M+Na)⁺. Elementárna analýza pre C₁₈H₂₅N₃O₅ vypočítané: 59.49% C, 6.93% H, 11.56% N; nájdené: 59.77% C, 6.87% H, 11.42% N.



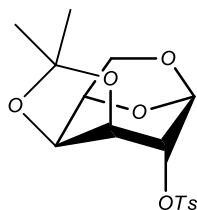
Pre **18** t.t. 93-97 °C; [α]_D = -7.4 (*c* 0.256, CHCl₃); ^1H NMR (CDCl₃, 500 MHz): 7.39 – 7.29 m, 5H (Ph); 5.81 ddt, 1H, *J* 6.7, 6.7, 10.2, 17.1 (**H-4***); 5.05 ddt, 1H, *J* 1.6, 1.6, 1.9, 17.1 (**H-5a***); 4.99 ddt, 1H, *J* 1.2, 1.2, 1.9, 10.2 (**H-5b***); 4.82 d, 1H, *J* 11.3 (**CH₂Ph**); 4.73 d, 1H, *J* 11.3 (**CH₂Ph**); 4.33 d, 1H, *J* 8.0 (**H-1**); 3.92 dt, 1H, *J* 6.3, 6.3, 9.5 (**H-1a***); 3.89 bdd, 1H, *J* 2.7, 12.0 (**H-6a**); 3.75 bdd, 1H, *J* 4.3, 12.0 (**H-6b**); 3.60 – 3.47 m, 2H (**H-3**, **H-4**); 3.56 dt, 1H, *J* 6.8, 6.8, 9.5 (**H-1b***); 3.33 ddd, 1H, *J* 2.7, 4.3, 9.3 (**H-5**); 3.28 dd, 1H, *J* 8.0, 9.9 (**H-2**); 2.20 – 2.14 m, 2H (**H-3a***, **H-3b***); 1.79 – 1.70 m, 2H (**H-2a***, **H-2b***)

^{13}C NMR (CDCl₃, 125 MHz): 137.81 (**C-4***), 137.84, 128.65, 128.16, 128.11 (Ph), 115.12 (**C-5***), 102.05 (**C-1**), 77.04 (**C-4**), 75.09 (**C-3**), 75.09 (**C-5**), 74.86 (**CH₂Ph**), 69.64 (**C-1***), 66.29 (**C-2**), 61.77 (**C-6**), 29.96 (**C-3***), 28.70 (**C-2***)

Pre C₁₈H₂₅N₃O₅ 363.41 MS (ESI): 386.1 (M+Na)⁺. Elementárna analýza pre C₁₈H₂₅N₃O₅ vypočítané: 59.49% C, 6.93% H, 11.56% N; nájdené: 59.21% C, 6.89% H, 11.77% N.

1,6-Anhydro-3,4-*O*-izopropylidén-2-*O*-*p*-toluénsulfonyl-β-*D*-glukopyranóza (**20**)

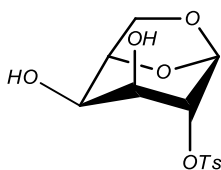
K roztoku 1,6-anhydro-3,4-izopropylidén-β-*D*-galaktopyranózy (**19**; 45 g; 0.223 mol) v zmesi suchého acetónu a pyridínu (270 ml, 1/1) bol pridaný TsCl (63 g; 0.330 mol)



a reakčná zmes bola ponechaná stáť pri laboratórnej teplote 24 h. Potom bola zmes prefiltrovaná, odparená do sucha a odparok bol extrahovaný medzi DCM (700 ml) a vodu (700 ml) s prídavkom 5%ného vodného roztoku KHSO_4 (40 ml). Vodná vrstva bola premytá DCM (400 ml) a spojené organické vrstvy boli vysušené nad MgSO_4 . Po prefiltrovaní bola zmes vákuovo zahustená a odparok bol rozpustený v EtOH (104 ml; reflux). Kryštalizáciou bol získaný 2-*O*-tosylderivát **20** (72.2 g; 91%), pričom kryštalizácia matečných lúhov z viacerých pokusov zvýšila celkovú výťažnosť na 94%; t.t. 124-125 °C, $[\alpha]_D = -63.8$ (c 1.023, CHCl_3); lit.:¹¹² t.t. (EtOH) 118-119 °C, $[\alpha]_D = -63$ (c 0.92, CHCl_3).

¹H NMR (CDCl_3 , 400 MHz): 7.84 d, 2H, *J* 8.4 (Ar-H); 7.37 d, 2H, *J* 8.0 (Ar-H); 5.24 dd, 1H, *J* 1.6, 1.6 (H-1); 4.51 – 4.47 m, 2H (H-3, H-5); 4.39 ddd, 1H *J* 0.9, 6.4, 7.3 (H-4); 4.13 dm, *J* 7.3 (H-2); 4.06 dd, 1H, *J* 1.7, 7.9 (H-6a); 3.55 dd, 1H, *J* 5.2, 7.6 (H-6b); 2.46 s, 3H; 1.49 s 3H; 1.24 s, 3H (3×CH₃).

1,6-Anhydro-2-*O*-*p*-toluénsulfonyl-β-D-glukopyranóza (21)

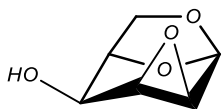


Zmes 3,4-izopropylidéndervivátu **20** (90.0 g; 0.253 mol) vo vodnom roztoku AcOH (20%; 1155 ml) bola refluxovaná 2 h do úplného zhydrolyzovania východiskovej látky (TLC hexán/EtOAc 1/1). Po ochladení na laboratórnu teplotu vypadli biele kryštály, ktoré boli odfiltrované a prepláchnuté studenou vodou. Rekryštalizácia z AcOH (20%; 182 ml) poskytla kryštalický produkt **21** (55.1 g; 69%), t.t. 103-104 °C. Matečné lúhy z viacerých frakcií boli spojené, prečistené na malom stĺpci silikagélu (EtOAc) a ich kryštalizáciou z AcOH bola získaná ďalšia hmota, čím došlo k zvýšeniu celkovej výťažnosti reakcie na 76%. Lit.:¹¹³ t.t. (20% AcOH) 114-115 °C.

¹H NMR (CDCl_3 , 400 MHz): 7.82 d, 2H, *J* 8.4 (Ar-H); 7.37 d, 2H, *J* 7.9 (Ar-H); 5.24 dd, 1H, *J* 1.4, 1.5 (H-1); 4.46 dd, 1H, *J* 1.2, 1.4 (H-2); 4.43 m, 1H (H-5); 4.25 d, 1H, *J* 7.8 (H-6a); 4.05 – 4.02 m, 2H (H-3, H-4); 3.62 dd, 1H *J* 4.9, 7.7 (H-6b); 3.04 d, 1H, *J* 5.8 (-OH); 3.01 d, 1H, *J* 7.9 (-OH); 2.46 s, 3H (CH₃).

1,6:2,3-Dianhydro-β-D-talopyranóza (22)

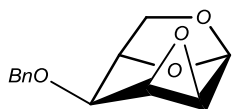
2-*O*-Tosylderivát **21** (61.40g; 0.194 mol) bol rozpustený v suchom MeOH (450 ml) a počas chladenia v kryocooleri bol k roztoku pridaný MeONa (13.39 g Na v 230 ml



MeOH). Potom bola zmes miešaná cez noc pri laboratórnej teplote. Po doreagovaní (TLC hexán/EtOAc 1/1) bola zmes neutralizovaná prídavkom HCl (5%; 265 ml) a odparená do sucha. Odparok bol rozpustený v EtOAc (500 ml), refluxovaný po dobu 10 min, mierne ochladený a za tepla prefiltrovaný cez fritu. Filtrát bol odparený a rekryštalovaný z EtOAc, čím bol získaný epoxid **22** (19.10 g; 68%) vo forme bezfarebných ihličiek, t.t. 123 °C. Kryštalizácia spojených matečných lúhov poskytla opäť kryštalický produkt, čím bola zvýšená celková výťažnosť reakcie na 77%. $[\alpha]_D = -90.2$ (c 0.338, CHCl₃); lit¹⁴⁸: t.t. 132 °C (acetón/éter), $[\alpha]_D = -88$ (c 0.76, voda).

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 5.67 d, 1H, *J* 3.1 (**H-1**); 4.42 dddd, 1H *J* 1.4, 1.4, 6.1, 6.3 (**H-5**); 4.43 ddd, 1H, *J* 3.1, 6.3, 9.0 (**H-4**); 4.00 dd, 1H, *J* 1.6, 7.8 (**H-6a**); 3.65 – 3.61, m, 2H (**H-6b**, **H-2**); 3.36 ddd, 1H *J* 1.2, 3.1, 4.1 (**H-3**); 2.29 d, 1H, *J* 8.8 (-OH). ¹H NMR súhlasí s literatúrou.¹⁴⁹

1,6:2,3-Dianhydro-4-*O*-benzyl-β-D-talopyranóza (**23**)

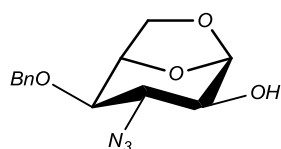


K roztoku dianhydrotalózy **22** (10 g; 69.38 mmol) v suchom THF (530 ml) bol za stáleho miešania po častiach pridaný 60%ný NaH (3.5 g; 0.146 mol). Po 15 min od rozpustenia NaH bol pridaný BnBr (17 ml; 0.143 mol) a N⁺(Bu)₄I⁻ (0.30 g; 0.812 mmol) a zmes bola miešaná 24 h pri laboratórnej teplote. Kvôli množstvu nedoreagovanej východiskovej látky (TLC hexán/EtOAc 3/1) boli do reakčnej zmesi opätovne pridané NaH (1.67 g; 69.59 mmol) a BnBr (8.25 ml; 69.36 mmol) a zmes bola miešaná ďalších 24 h. Potom bola reakcia ukončená, objem THF bol vákuovo zredukovaný na ¼, zmes bola prefiltrovaná cez kremelinu a rozpúšťadlá boli odparené. Chromatografická odparka na stĺpci silikagélu (hexán/EtOAc 3/1) poskytla benzylderivát **23** (11.22 g; 69%) vo forme bezfarebného oleja a nedoreagovaný alkohol **22** (2.4 g; 24%).

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 7.39 – 7.30 m, 5H (Ph); 5.64 d, 1H, *J* 2.9 (**H-1**); 4.83 d, 1H *J* 12.1 (**CH**₂Ph); 4.67 d, 1H *J* 11.9 (**CH**₂Ph); 4.36 dddd, 1H *J* 1.1, 1.7, 6.1, 7.2 (**H-5**); 4.13 dd, 1H, *J* 1.5, 7.1 (**H-6a**); 4.00 dd, 1H, *J* 2.9, 6.0 (**H-4**); 3.57 dd, 1H, *J* 6.3, 7.2 (**H-6b**); 3.53, dd, 1H, *J* 2.9, 4.1 (**H-2**); 3.29 ddd, 1H *J* 1.0, 2.9, 4.0 (**H-3**); ¹H NMR súhlasí s literatúrou.⁶⁸

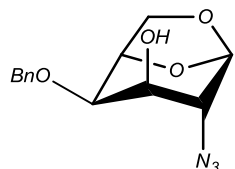
1,6-Anhydro-3-azido-4-*O*-benzyl-3-deoxy- β -D-idopyranóza (**24**) a 1,6-anhydro-2-azido-4-*O*-benzyl-2-deoxy- β -D-galaktopyranóza (**25**)

Epoxid **23** (10.10 g; 43.12 mmol) bol rozpustený v suchom DMF (110 ml) a do roztoku boli za stáleho miešania pridané LiN_3 (4.22 g; 86.19 mmol) a NH_4Cl (6.92 g; 0.129 mol). Reakčná zmes bola miešaná 16 h pri 115 °C. Po doreagovaní východiskového epoxidu (TLC toluén/acetón 10/1) bola zmes ochladená vzduchom na laboratórnu teplotu a DMF bolo vákuovo odparené. Zvyšok bol extrahovaný medzi vodu (100 ml) a DCM (2×200 ml), organická fáza bola vysušená nad MgSO_4 , prefiltrovaná a odparená do sucha. Chromatografiou odparku na stĺpci silikagélu (toluén/acetón 10/1) bol získaný 3-azidoderivát **24** (0.56 g; 5%) vo forme žltého syropu, 2-azidoderivát **25** (9.16 g; 78%) a ich nerozdelená zmes (0.7 g; 6%).



Pre **24** $[\alpha]_D = -96.9$ (*c* 0.454, CHCl_3); $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): 7.40 – 7.30 m, 5H, (Ph); 5.29 s, 1H (**H-1**); 4.73 d, 1H, *J* 11.8 (CH_2Ph); 4.62 d, 1H, *J* 11.6 (CH_2Ph); 4.41 dd, 1H, *J* 4.4., 4.6 (**H-5**); 4.11 d, 1H, *J* 7.9 (**H-6a**); 3.62 dd, 1H, *J* 5.0, 7.9 (**H-6b**); 3.58 ddd, 1H, *J* 0.9, 4.0, 8.9 (**H-3**); 3.48 – 3.43 m, 2H (**H-4**, **H-2**); 2.15 bs, 1H (-OH). $^1\text{H NMR}$ súhlasí s literatúrou.¹¹⁷

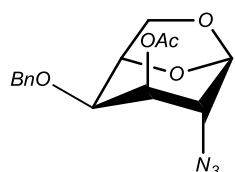
IR (CHCl_3): 3567 (OH); 2111 (N_3); 3028, 1455, 1133 (Ar).



Pre **25** $[\alpha]_D = 16.4$ (*c* 0.434, CHCl_3); $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): 7.42 – 7.33 m, 5H, (Ph); 5.43 dd, 1H, *J* 1.2, 1.4 (**H-1**); 4.70 d, 1H, *J* 11.8 (CH_2Ph); 4.66 d, 1H, *J* 11.8 (CH_2Ph); 4.44 bdd, 1H, *J* 4.7, 4.9 (**H-5**); 4.32 d, 1H, *J* 7.6 (**H-6b**); 4.08 dd, 1H, *J* 1.2, 4.9 (**H-3**); 3.81 dd, 1H, *J* 4.6, 4.6 (**H-4**); 3.66 dd, 1H, *J* 5.4, 7.3 (**H-6a**); 3.58 bs, 1H (**H-2**); 2.83 bs, 1H (-OH). $^1\text{H NMR}$ súhlasí s literatúrou.^{150,151}

IR (CHCl_3): 3558 (OH); 2107 (N_3); 3026, 1455, 1134 (Ar).

1,6-Anhydro-3-*O*-acetyl-2-azido-4-*O*-benzyl-2-deoxy- β -D-galaktopyranóza (**26**)



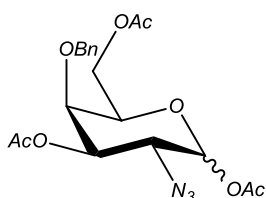
Zmes alkoholu **25** (20.25 g; 73.03 mmol) rozpusteného v pyridíne (200 ml) a Ac_2O (17.3 ml; 0.183 mol) bola ponechaná stáť 18 h pri laboratórnej teplote. Potom bol k zmesi pridaný nadbytok Ac_2O (7 ml; 74.19 mmol) a priebeh reakcie bol sledovaný pomocou TLC (toluén/ EtOAc 3/1). Po 4 h od prídavku Ac_2O bola zmes vyliata do kadičky s ľadom

a po jeho rozpustení bola extrahovaná DCM (2×300 ml). Organická vrstva bola vysušená nad MgSO₄, prefiltrovaná a zahustená. Chromatografiou odparku (toluén/EtOAc 10/1) bola získaná látka **26** (20.65 g; 89%) vo forme oleja. Acetylovaný azidoderivát **26** sa dá použiť do ďalšej reakcie aj priamo bez chromatografie. $[\alpha]_D = +11.6$ (*c* 0.491, CHCl₃).

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 7.38 – 7.28 m, 5H, (Ph); 5.42 dd, 1H, *J* 1.3, 1.3 (**H-1**); 5.38 ddd, 1H, *J* 1.4, 2.8, 5.2 (**H-3**); 4.62 d, 1H *J* 11.6 (CH₂Ph); 4.48 d, 1H *J* 11.6 (CH₂Ph); 4.62 dd, 1H, *J* 0.5, 5.1 (**H-5**); 4.39 dd, 1H, *J* 0.4, 7.4 (**H-6b**); 3.87 dddd, 1H, *J* 0.9, 1.1, 4.1, 5.4 (**H-4**); 3.70 dddd, 1H, *J* 0.5, 1.0, 5.2, 7.3 (**H-6a**); 3.49 dd, 1H, *J* 1.4, 1.6 (**H-2**); 2.12 s, 3H (CH₃CO). ¹H NMR súhlasí s literatúrou.¹⁵⁰

IR (CHCl₃): 2106 (N₃); 1740, 1236 (OAc); 3031, 1496, 1455 (Ar).

1,3,6-Tri-*O*-acetyl-2-azido-4-*O*-benzyl-2-deoxy- α,β -D-galaktopyranóza (**27**)

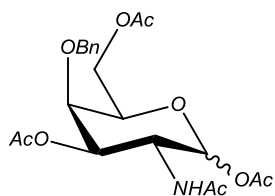


Zmes anhydrosacharidu **26** (20.65 g; 64.67 mmol), Ac₂O (350 ml; 3.71 mol) a CF₃COOH (52 ml; 0.679 mol) bola miešaná pri laboratórnej teplote. Po 3 h (TLC toluén/EtOAc 3/1) bola zmes zahustená na odparke, kodedilovaná s toluénom (2×) a dioxánom. Odparok bol vytrepaný medzi DCM (250 ml) a vodu (125 ml), organická vrstva bola vysušená nad MgSO₄, prefiltrovaná a zahustená. Následnou flash chromatografiou (toluén/EtOAc 7/1) bola získaná anomérna zmes látky **27** (26.9 g; 99%) vo forme svetložltého syropu. Pomer anomérov α/β bol podľa ¹H NMR stanovený ako 5/1. $[\alpha]_D = +87.3$ (*c* 0.229, CHCl₃). ¹H NMR produktov boli určené zo zmesi.

α -anomér: ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 7.40 – 7.30 m, 5H, (Ph); 6.30 dd, 1H, *J* 0.3, 3.7 (**H-1**); 5.27 dd, 1H, *J* 2.8, 11.1 (**H-3**); 4.71 d, 1H *J* 11.3 (CH₂Ph); 4.56 d, 1H *J* 11.3 (CH₂Ph); 4.15 – 4.03 m, 5H (**H-2**, **H-4**, **H-5**, **H-6a**, **H-6b**); 2.15 s, 3H; 2.13 s, 3H; 2.01 s, 3H (3×CH₃CO).

Vybrané signály pre **β -anomér:** ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz): 7.40 – 7.30 m, 5H, (Ph); 5.49 d, 1H, *J* 8.5 (**H-1**); 4.81 dd, 1H, *J* 3.0, 10.8 (**H-3**); 2.17 s, 3H; 2.11 s, 3H; 2.00 s, 3H (3×CH₃CO). ¹H NMR súhlasí s literatúrou.¹⁴⁷

2-Acetamido-1,3,6-tri-*O*-acetyl-4-*O*-benzyl-2-deoxy- α,β -D-galaktopyranóza (**28**)



Azidoderivát **27** (0.66 g; 1.566 mmol) bol rozpustený v suchom EtOH (21 ml) a po pridaní 10% Pd-C (cca 100 mg) bol obsah banky evakuovaný a následne za miešania hydrogenovaný vodíkom. Po 5 h obsahovala reakčná zmes ešte východiskový azid **27** (TLC EtOAc), preto bola opätovne hydrogenovaná cez noc. Potom bol vodík vákuovo odstránený, zmes bola prefiltrovaná cez kremelinu a rozpúšťadlo bolo odparené. Získaný aminoderivát bol rozpustený v suchom pyridíne (9 ml), k roztoku bol pridaný Ac₂O (2 ml; 21.20 mmol) a reakčná zmes bola ponechaná stáť pri laboratórnej teplote cez noc. Odparením rozpúšťadiel k destiláciou s toluénom (3×) a následnou chromatografiou odparku na stĺpci silikagélu (toluén/EtOAc 2/1→EtOAc) bola získaná anomérna zmes 2-acetamidoderivátov **28** (455 mg; 66%; $\alpha/\beta = 2/1$) vo forme bielej tuhej látky. $[\alpha]_D = +74.2$ (*c* 0.555, CHCl₃); ¹H NMR spektrum bolo určené zo zmesi.

α -anomér: ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 7.39 – 7.27 m, 5H, (Ph); 6.19 d, 1H, *J* 3.7 (**H-1**); 5.44 bd, 1H, *J* 9.2 (NH); 5.22, dd, 1H, *J* 2.7, 11.5 (**H-3**); 4.92 ddd, 1H, *J* 3.7, 9.4, 11.5 (**H-4**); 4.86 d, 1H *J* 11.4 (CH₂Ph); 4.59 d, 1H *J* 11.5 (CH₂Ph); 4.18 dd, 1H, *J* 5.8, 10.4 (**H-6a**); 4.13 – 4.04 m, 2H (**H-2**, **H-6b**); 3.88 dm, 1H, *J* 2.2 (**H-5**); 2.15 s, 3H; 2.10 s, 3H; 1.99 s, 3H; 1.94 s, 3H (4×CH₃CO).

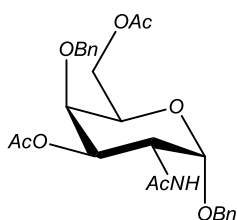
β -anomér: ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 7.39 – 7.27 m, 5H, (Ph); 5.66 d, 1H, *J* 8.7 (**H-1**); 5.40 bd, 1H, *J* 9.6 (NH); 5.05, dd, 1H, *J* 2.9, 11.2 (**H-3**); 4.83 d, 1H *J* 11.0 (CH₂Ph); 4.59 d, 1H *J* 11.5 (CH₂Ph); 4.64 – 4.55 m, 1H (**H-4**); 4.18 dd, 1H, *J* 5.8, 10.4 (**H-6a**); 4.10 – 4.03 m, 2H (**H-2**, **H-6b**); 3.77 dd, 1H, *J* 2.7, 9.9 (**H-5**); 2.10 s, 3H; 2.08 s, 3H; 1.99 s, 3H; 1.93 s, 3H (4×CH₃CO).

IR (CHCl₃): 3435, 3386, 1684, 1514, 1317 (NH); 1744, 1235, 1372, 1047 (OAc); 3028, 1497, 1455, 1080, 1029 (Ar).

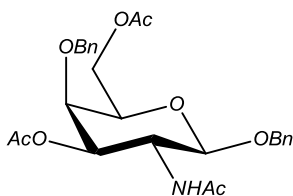
Pre C₂₁H₂₇NO₉ 437.44 MS (ESI): 460.1 (M+Na)⁺. Elementárna analýza pre C₂₁H₂₇NO₉ vypočítané: 57.66% C, 6.22% H, 3.20% N; nájdené: 57.59% C, 6.17% H, 3.14% N.

Benzyl-2-acetamido-3,6-di-O-acetyl-4-O-benzyl-2-deoxy- α -D-galaktopyranozid (29 α) a benzyl-2-acetamido-3,6-di-O-acetyl-4-O-benzyl-2-deoxy- β -D-galaktopyranozid (29 β)

K zmesi látky **28** (44 mg; 0.101 mmol) a TfOH (1 μ l; 0.01 mmol) v benzéne (0.4 ml) ohriatej na 75 °C bol behom 2 min cez septum prikvapkaný roztok BnOH (0.2 ml; 1.93 mmol) v benzéne (0.16 ml). Reakčná zmes bola 4.5 h miešaná pri teplote 75 °C a po ochladení bola ponechaná stáť pri laboratórnej teplote cez noc. Potom bola zmes nariadená EtOAc (0.5 ml) a odparená do sucha. Chromatografia odparku na stĺpci silikagélu (toluén/EtOAc 1/1) poskytla látku **29 α** (10 mg; 21%) vo forme bezfarebného syropu a látku **29 β** (20 mg; 43%) vo forme bieleho prášku.



Pre **29 α** $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz): 7.39 – 7.28 m, 5H (Ph); 5.59 bd, 1H, J 9.9 (NH); 5.18 dd, 1H, J 2.9, 11.3 (H-3); 4.96 d, 1H, J 3.7 (H-1); 4.96 d, 1H J 11.5 (CH_2Ph); 4.79 ddd, 1H, J 3.7, 9.9, 11.3 (H-2); 4.70 d, 1H, J 11.7 ($\text{CH}_2\text{Ph}'$); 4.56 d, 1H J 11.5 (CH_2Ph); 4.47 d, 1H J 11.7 ($\text{CH}_2\text{Ph}'$); 4.19 dd, 1H, J 6.5, 10.9 (H-6a); 4.09 dd, 1H, J 6.1, 10.9 (H-6b); 4.04 dt, 1H, J 1.3, 6.3, 6.3 (H-5); 3.87 dd, 1H, J 1.3, 2.9 (H-4); 2.06 s, 3H; 2.00 s, 3H ($2\times\text{CH}_3\text{CO}$); 1.91 s, 3H (CH_3CONH)
 $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 125 MHz): 171.21, 170.43 ($2\times\text{CH}_3\text{CO}$), 169.84 (CH_3CONH), 137.57, 136.84, 128.62, 128.46, 128.30, 128.20, 128.15, 127.97 (Ph), 97.01 (C-1), 74.92 (CH_2Ph), 73.88 (C-4), 71.69 (C-3), 69.77 ($\text{CH}_2\text{Ph}'$), 68.60 (C-5), 62.88 (C-6), 48.17 (C-2), 23.31 (CH_3CONH), 20.99, 20.78 ($2\times\text{CH}_3\text{CO}$)

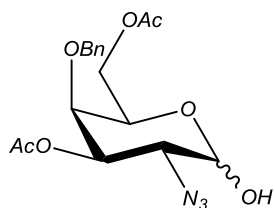


Pre **29 β** $[\alpha]_D = -26.2$ (c 0.432, CHCl_3); $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz): 7.38 – 7.27 m, 5H (Ph); 5.32 bd, 1H, J 8.7 (NH); 5.19 dd, 1H, J 3.0, 11.2 (H-3); 4.88 d, 1H J 12.1 (CH_2Ph); 4.78 d, 1H, J 11.6 ($\text{CH}_2\text{Ph}'$); 4.64 d, 1H, J 8.4 (H-1); 4.59 d, 1H J 12.1 (CH_2Ph); 4.58 d, 1H J 11.6 ($\text{CH}_2\text{Ph}'$); 4.30 dd, 1H, J 6.2, 11.1 (H-6a); 4.21 dt, 1H, J 8.5, 8.5, 11.2 (H-2); 4.11 dd, 1H, J 6.8, 11.1 (H-6b); 3.86 dd, 1H, J 1.1, 3.0 (H-4); 3.69 dt, 1H, J 1.1, 6.5, 6.5 (H-5); 2.04 s, 3H; 2.01 s, 3H ($2\times\text{CH}_3\text{CO}$); 1.91 s, 3H (CH_3CONH)
 $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 125 MHz): 170.81, 170.43 ($2\times\text{CH}_3\text{CO}$), 170.16 (CH_3CONH), 137.53, 137.18, 128.41, 128.40, 128.33, 128.10, 127.96, 127.90 (Ph), 99.55 (C-1),

74.85 (CH₂Ph'), 73.01, 72.94 (C-3, C-4), 72.09 (C-5), 70.38 (CH₂Ph), 62.40 (C-6), 51.85 (C-2), 23.46 (CH₃CONH), 20.89, 20.78 (2×CH₃CO)

Pre C₂₆H₃₁NO₈ 485.53 MS (ESI): 508.3 (M+Na)⁺. Elementárna analýza pre C₂₆H₃₁NO₈ vypočítané: 64.32% C, 6.44% H, 2.88% N; nájdené: 63.95% C, 6.53% H, 3.01% N.

3,6-Di-O-acetyl-2-azido-4-O-benzyl-2-deoxy- α,β -D-galaktopyranóza (**30**)



Metóda a): K monosacharidu **27** (340 mg; 0.807 mmol) rozpustenom v THF (7 ml) bol pridaný piperidínacetát (430 mg; 3.206 mmol) a zmes bola miešaná 3 dni pri laboratórnej teplote. Potom bola reakčná zmes extrahovaná medzi vodu (40 ml) a DCM (40 ml), organická vrstva bola vysušená nad MgSO₄, prefiltrovaná a odparená do sucha. Chromatografia odparku (hexán/EtOAc 3/1) poskytla monodeacetylovaný produkt **30** (248 mg; 81%) vo forme oleja.

Metóda b): Roztok látky **27** (1.27 g; 3.01 mmol) v THF (11.6 ml) bol po pridaní BuNH₂ (0.45 ml; 4.55 mmol) ponechaný stáť pri laboratórnej teplote. Priebeh reakcie bol sledovaný pomocou TLC (toluén/EtOAc 4/1). Zmes po 3.5 h neobsahovala žiadnu východiskovú látku, bola nariedená vodou (20 ml), extrahovaná CHCl₃ (3×40 ml) a organická fáza bola následne vytrepáná zriedenou HCl (5%; 50 ml) a premytá nasýteným vodným roztokom NaHCO₃ (40 ml). Zmes bola vysušená nad MgSO₄, odparená a chromatografovaná na stĺpci silikagélu (toluén/EtOAc 10/1). Látka **30** (1.025 g; 90%) boal izolovaná vo forme svetlohnedého viskózneho oleja ako nedeliteľná zmes anomérov $\alpha/\beta = 5/4$; $[\alpha]_D = +107.6$ (*c* 0.423, CHCl₃). NMR spektrum bolo určené zo zmesi.

α -anomér: ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz): 7.42 – 7.31 m, 5H (Ph); 5.40 d, 1H, *J* 3.5 (**H-1**); 5.34 dd, 1H, *J* 3.0, 11.0 (**H-3**); 4.71 d, 1H, *J* 11.3 (CH₂Ph); 4.55 d, 1H, *J* 11.5 (CH₂Ph); 4.28 ddt, 1H, *J* 0.6, 1.4, 6.3, 6.3 (**H-5**); 4.18 dd, 1H, *J* 6.4, 11.2 (**H-6a**); 4.08 dd, 1H, *J* 6.2, 11.2 (**H-6b**); 4.03 dd, 1H, *J* 1.4, 3.0 (**H-4**); 3.94 dd, 1H, *J* 3.5, 11.0 (**H-2**); 2.13 s, 3H; 2.03 s, 3H (2×CH₃CO)

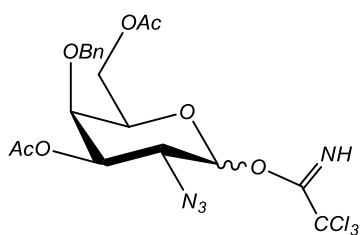
¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz): 170.51, 170.29 (2×CH₃CO), 137.25, 128.56, 128.22 (Ph), 92.42 (C-1), 75.27 (CH₂Ph), 74.34 (C-4), 71.25 (C-3), 68.30 (C-5), 62.48 (C-6), 58.35 (C-2), 20.91, 20.78 (2×CH₃CO)

β -anomér: $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz): 7.42 – 7.31 m, 5H (Ph); 4.75 dd, 1H, J 3.1, 10.9 (**H-3**); 4.71 d, 1H, J 11.3 (CH_2Ph); 4.62 d, 1H, J 8.0 (**H-1**); 4.55 d, 1H, J 11.5 (CH_2Ph); 4.23 dd, 1H, J 6.4, 11.3 (**H-6a**); 4.07 dd, 1H, J 6.1, 11.3 (**H-6b**); 3.89 dd, 1H, J 1.2, 3.1 (**H-4**); 3.82 dd, 1H, J 8.0, 10.9 (**H-2**); 3.71 ddd, 1H, J 1.2, 6.2, 6.2 (**H-5**); 2.11 s, 3H; 2.02 s, 3H ($2\times\text{CH}_3\text{CO}$)

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 125 MHz): 170.53, 170.26 ($2\times\text{CH}_3\text{CO}$), 137.12, 128.29, 128.19 (Ph), 96.46 (**C-1**), 75.17 (CH_2Ph), 73.93 (**C-3**), 72.95 (**C-4**), 72.46 (**C-5**), 62.70 (**C-6**), 62.46 (**C-2**), 20.85, 20.77 ($2\times\text{CH}_3\text{CO}$)

Pre $\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_7$ 379.36 MS (ESI): 402.0 ($\text{M}+\text{Na}$) $^+$. Elementárna analýza pre $\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_7$ vypočítané: 53.82% C, 5.58% H, 11.08% N; nájdené: 54.11% C, 5.49% H, 11.12% N.

***O*-(3,6-Di-*O*-acetyl-2-azido-4-*O*-benzyl-2-deoxy- α,β -D-glukopyranozyl) trichlóracetimidát (31)**



Do vysušenej banky obsahujúcej látku **30** (1.0 g; 2.64 mmol) a práškové molekulové síta 4Å v argónovej atmosfére bol cez septum pridaný suchý DCE (22 ml) a zmes bola miešaná pri laboratórnej teplote 15 min. Za stáleho miešania bol opäť cez septum pridaný CCl_3CN (3.33 ml; 33.21 mmol) a DBU (0.2 ml; 1.337 mmol). Po 50 min zmes neobsahovala východiskový alkohol (TLC toluén/EtOAc 3/1), rozpúšťadla boli vákuovo odparené a zvyšok bol chromatografovaný na stĺpci silikagélu (toluén/EtOAc 10/1 + 0.2% Et_3N). Získaná bola anomérna zmes trichlóracetimidátov **31** v pomere $\alpha/\beta = 4/3$ (1.06 g; 77%).

α -anomér: $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz): 7.39 – 7.29 m, 5H (Ph); 5.40 d, 1H, J 3.5 (**H-1**); 5.34 dd, 1H, J 2.9, 11.0 (**H-3**); 4.71 d, 1H, J 11.3 (CH_2Ph); 4.54 d, 1H, J 11.3 (CH_2Ph); 4.29 ddt, 1H, J 0.5, 1.3, 6.5, 6.5 (**H-5**); 4.18 dd, 1H, J 6.7, 11.2 (**H-6a**); 4.09 dd, 1H, J 6.2, 11.2 (**H-6b**); 4.03 dd, 1H, J 1.3, 2.9 (**H-4**); 3.94 dd, 1H, J 3.5, 11.0 (**H-2**); 2.13 s, 3H; 2.03 s, 3H ($2\times\text{CH}_3\text{CO}$)

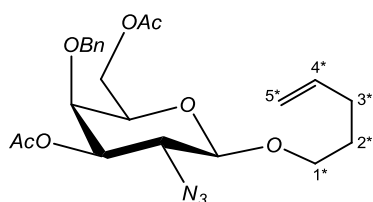
$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 125 MHz): 170.54, 170.30 ($2\times\text{CH}_3\text{CO}$), 163.49 (**C=NH**), 137.25, 128.56, 128.23, 128.20 (Ph), 93.00 (CCl_3), 92.42 (**C-1**), 75.28 (CH_2Ph), 74.35 (**C-4**), 71.25 (**C-3**), 68.31 (**C-5**), 62.71 (**C-6**), 58.37 (**C-2**), 20.92, 20.79 ($2\times\text{CH}_3\text{CO}$)

β -anomér: $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz): 7.39 – 7.29 m, 5H (Ph); 4.76 dd, 1H, J 3.0, 10.8 (**H-3**); 4.71 d, 1H, J 11.3 (CH_2Ph); 4.63 d, 1H, J 8.0 (**H-1**); 4.54 d, 1H, J 11.3 (CH_2Ph); 4.24 dd, 1H, J 6.7, 11.3 (**H-6a**); 4.07 dd, 1H, J 6.0, 11.3 (**H-6b**); 3.90 dd, 1H, J 1.2, 3.0 (**H-4**); 3.82 dd, 1H, J 8.0, 10.8 (**H-2**); 3.72 ddd, 1H, J 1.2, 6.4, 6.4 (**H-5**); 2.12 s, 3H; 2.03 s, 3H ($2 \times \text{CH}_3\text{CO}$)

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 125 MHz): 170.56, 170.26 ($2 \times \text{CH}_3\text{CO}$), 163.45 ($\text{C}=\text{NH}$), 137.08, 128.59, 128.33, 128.27 (Ph), 96.52 (**C-1**), 91.76 (CCl_3), 75.22 (CH_2Ph), 73.93 (**C-3**), 73.02 (**C-4**), 72.49 (**C-5**), 62.49 (**C-6**), 62.45 (**C-2**), 20.86, 20.77 ($2 \times \text{CH}_3\text{CO}$)

Pre $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{Cl}_3\text{N}_4\text{O}_7$ 523.75 MS (ESI): 546.9 ($\text{M}+\text{Na}$) $^+$. Elementárna analýza pre $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{Cl}_3\text{N}_4\text{O}_7$ vypočítané: 43.57% C, 4.04% H, 20.31% Cl, 10.70% N; nájdené: 43.68% C, 4.16% H, 20.16% Cl, 10.57% N.

Pent-4-enyl-3,6-di-*O*-acetyl-2-azido-4-*O*-benzyl-2-deoxy- β -D-galaktopyranozid (32)



Metóda a): Trichlóracetimidát **31** (0.134 mmol) bol spolu s 4-pentén-1-olom (15 μl ; 0.145 mmol) a práškovými molekulovými sítami 4Å miešaný v suchom DCM (1.1 ml) v argónovej atmosfére. Zmes

bola vychladená na $-30\text{ }^\circ\text{C}$ a pri tejto teplote k nej bol po kvapkách pridaný roztok TMSOTf (3 μl ; 0.017 mmol) v DCM (0.1 ml). Reakčná zmes bola prvých 30 min miešaná pri teplote $-30\text{ }^\circ\text{C}$, následne 50 min pri $-20\text{ }^\circ\text{C}$ a potom bola miešaná cez noc vo vychladenom médiu, ktorého teplota samovoľne dosiahla laboratórnu teplotu. Po pridaní Et_3N (0.1 ml; 0.717 mmol) bola zmes nariadená CHCl_3 (2 ml) a premytá zriedenou HCl (0.1 M; 1 ml). Vysušená organická vrstva (MgSO_4) bola vákuovo zahustená a flash chromatografia odparku (toluén/ EtOAc 7/1) poskytla selektívne β -anomér látky **32** (21 mg; 35%).

Metóda b): K zmesi alkoholu **30** (700 mg; 1.85 mmol), Ph_2SO (750 mg; 3.70 mmol), TTBP (1.24 g; 5.04 mmol) a práškových molekulových sít 4Å bol cez septum pridaný suchý DCM (46.2 ml). Po 30 min miešania v argónovej atmosfére pri laboratórnej teplote bola zmes ochladená na $-60\text{ }^\circ\text{C}$ a pri tejto teplote bol pridaný Tf_2O (308 μl ; 1.87 mmol). Teplota kúpeľa bola dvihnutá a pri $-40\text{ }^\circ\text{C}$ bol k zmesi po kvapkách pridaný roztok 4-pentén-1-olu (0.56 ml; 5.6 mmol) v suchom DCM (27.5 ml). Reakčná zmes bola miešaná celú noc vo vychladenom kúpeľi, ktorého teplota

pomaly rástla až na laboratórnu teplotu. 19 h po prídavku 4-pentén-1-olu bol pridaný Et₃N (2.5 ml) a zmes bola miešaná ďalších 10 min. Odparením rozpúšťadiel a následnou flash chromatografiou odparku (toluén/EtOAc 7/1) bola získaná látka **32** (920 mg β-anomér >90%), ktorá bola bez ďalšieho čistenia použitá v nasledujúcej reakcii.

¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz): 7.38 – 7.29 m, 5H (Ph); 5.81 ddt, 1H, *J* 6.7, 6.7, 10.2, 17.1 (**H-4***); 5.04 ddt, 1H, *J* 1.6, 1.6, 2.0, 17.1 (**H-5a***); 4.97 ddt, 1H, *J* 1.2, 1.2, 2.0, 10.2 (**H-5b***); 4.70 dd, 1H, *J* 3.0, 11.0 (**H-3**); 4.70 d, 1H, *J* 11.6 (**CH₂Ph**); 4.56 d, 1H, *J* 11.6 (**CH₂Ph**); 4.30 d, 1H, *J* 8.0 (**H-1**); 4.27 dd, 1H, *J* 6.2, 11.1 (**H-6a**); 4.05 dd, 1H, *J* 7.0, 11.1 (**H-6b**); 3.94 ddd, 1H, *J* 6.5, 6.5, 9.5 (**H-1a***); 3.86 dd, 1H *J* 1.1, 3.0 (**H-4**); 3.84 dd, 1H, *J* 8.0, 11.0 (**H-2**); 3.63 ddd, 1H, *J* 1.1, 6.2, 7.0 (**H-5**); 3.55 ddd, 1H, *J* 6.6, 7.0, 9.5 (**H-1b***); 2.19 – 2.11 m, 2H (**H-3a***, **H-3b***); 2.09 s, 3H; 2.00 s, 3H (2×CH₃CO); 1.79 – 1.63 m, 2H (**H-2a***, **H-2b***)

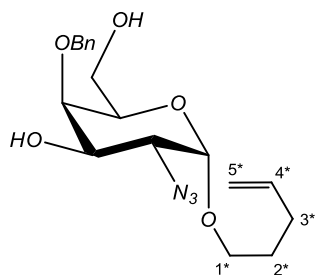
¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz): 170.34, 170.25 (2×CH₃CO), 137.92 (**C-4***), 137.31, 128.47, 128.34, 128.09 (Ph), 115.01 (**C-5***), 102.35 (**C-1**), 75.09 (**CH₂Ph**), 73.76 (**C-3**), 72.79 (**C-4**), 71.93 (**C-5**), 69.59 (**C-1***), 62.06 (**C-6**), 61.25 (**C-2**), 29.97 (**C-3***), 28.66 (**C-2***), 20.87, 20.74 (2×CH₃CO)

IR (CHCl₃): 2117, 554 (N₃); 1641, 1417, 996, 917 (C=C); 1745, 1242, 1049 (OAc); 3031, 1455, 1027, 1003 (Ar).

Pre C₂₂H₂₉N₃O₇ 447.48 MS (ESI): 470.1 (M+Na)⁺. Elementárna analýza pre C₂₂H₂₉N₃O₇ vypočítané: 59.05% C, 6.53% H, 9.39% N; nájdené: 59.19% C, 6.42% H, 9.23% N.

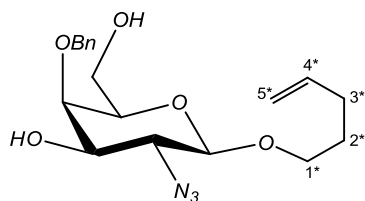
Pent-4-enyl-2-azido-4-O-benzyl-2-deoxy-α-D-galaktopyranozid (33) a pent-4-enyl-2-azido-4-O-benzyl-2-deoxy-β-D-galaktopyranozid (34)

Látka **32** (920 mg; získaná metódou b) bola rozpustená v 7 ml MeONa (0.01 M) a ponechaná stáť 1 h pri laboratórnej teplote. Po zneutralizovaní reakčnej zmesi zriedenou HCl (5%; kontrola pH) bola zmes odparená do sucha a extrahovaná medzi CHCl₃ (20 ml) a vodu (7 ml). Chromatografiou odparku (toluén/EtOAc 10/1) boli získané α-4-pentenylglykozid **33** (84 mg; biela amorfná látka) a β-4-pentenylglykozid **34** (436 mg; biela pevná látka) s celkovým výťažkom 78% po dvoch krokoch.



Pre **33** $[\alpha]_D = +144.1$ (c 0.179, CHCl_3); $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz): 7.40 – 7.32 m, 5H (Ph); 5.80 ddt, 1H, J 6.6, 6.6, 10.2, 17.0 (**H-4***); 5.03 ddt, 1H, J 1.6, 1.6, 1.9, 17.0 (**H-5a***); 4.98 ddt, 1H, J 1.2, 1.2, 1.9, 10.2 (**H-5b***); 4.94 d, 1H, J 3.5 (**H-1**); 4.74 s, 2H (CH_2Ph); 4.11 bdd, 1H, J 3.5, 10.9 (**H-3**); 3.90 dd, 1H J 1.4, 3.5 (**H-4**); 3.88 dddd, 1H, J 0.5, 1.4, 5.4, 6.8 (**H-5**); 3.82 dd, 1H, J 6.8, 11.0 (**H-6a**); 3.71 dt, 1H, J 6.6, 6.6, 9.7 (**H-1a***); 3.65 bdd, 1H, J 5.4, 11.0 (**H-6b**); 3.48 dd, 1H, J 3.5, 10.9 (**H-2**); 3.47 dt, 1H, J 6.4, 6.4, 9.7 (**H-1b***); 2.18 – 2.12 m, 2H (**H-3a***, **H-3b***); 1.75 – 1.69 m, 2H (**H-2a***, **H-2b***)
 $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 125 MHz): 137.86 (**C-4***), 137.60, 128.77, 128.48, 128.38 (Ph), 115.09 (**C-5***), 98.17 (**C-1**), 76.87 (**C-4**), 75.50 (CH_2Ph), 70.85 (**C-5**), 68.77 (**C-3**), 67.76 (**C-1***), 62.08 (**C-6**), 61.11 (**C-2**), 30.21 (**C-3***), 28.58 (**C-2***)

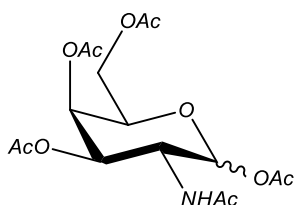
Pre $\text{C}_{18}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_5$ 363.41 MS (ESI): 386.1 ($\text{M}+\text{Na}$)⁺. Elementárna analýza pre $\text{C}_{18}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_5$ vypočítané: 59.49% C, 6.93% H, 11.56% N; nájdené: 59.61% C, 6.85% H, 11.70% N.



Pre **34** t.t. 131-133 °C; $[\alpha]_D = -6.7$ (c 0.252, CHCl_3); $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz): 7.40 – 7.31 m, 5H (Ph); 5.81 ddt, 1H, J 6.7, 6.7, 10.2, 17.1 (**H-4***); 5.04 ddt, 1H, J 1.6, 1.6, 2.0, 17.1 (**H-5a***); 4.98 ddt, 1H, J 1.2, 1.2, 2.0, 10.2 (**H-5b***); 4.78 d, 1H, J 11.7 (CH_2Ph); 4.73 d, 1H, J 11.7 (CH_2Ph); 4.26 d, 1H, J 7.9 (**H-1**); 3.94 ddt, 1H, J 6.2, 6.5, 9.4 (**H-1a***); 3.84 dd, 1H, J 7.0, 11.2 (**H-6a**); 3.76 dd, 1H, J 1.2, 3.3 (**H-4**); 3.60 dd, 1H, J 5.5, 11.2 (**H-6b**); 3.60 dd, 1H, J 7.9, 10.4 (**H-2**); 3.54 ddd, 1H, J 6.6, 7.0, 9.4 (**H-1b***); 3.47 dd, 1H, J 3.3, 10.4 (**H-3**); 3.46 ddd, 1H, J 1.2, 5.5, 7.0 (**H-5**); 2.20 – 2.13 m, 2H (**H-3a***, **H-3b***); 1.81 – 1.69 m, 2H (**H-2a***, **H-2b***)
 $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 125 MHz): 137.97 (**C-4***), 137.67, 128.68, 128.47, 128.29 (Ph), 115.01 (**C-5***), 102.51 (**C-1**), 75.12 (CH_2Ph), 75.05 (**C-5**), 74.49 (**C-4**), 72.90 (**C-3**), 69.50 (**C-1***), 64.83 (**C-2**), 61.76 (**C-6**), 29.99 (**C-3***), 28.71 (**C-2***)

Pre $\text{C}_{18}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_5$ 363.41 MS (ESI): 386.1 ($\text{M}+\text{Na}$)⁺. Elementárna analýza pre $\text{C}_{18}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_5$ vypočítané: 59.49% C, 6.93% H, 11.56% N; nájdené: 59.58% C, 7.08% H, 11.76% N.

2-Acetamido-1,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-2-deoxy- α,β -D-galaktopyranóza (35)



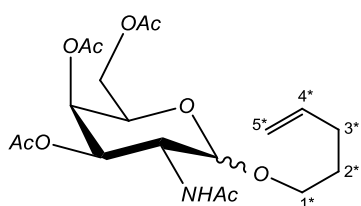
Metóda a): Galaktózamín hydrochlorid (2.16 g; 10.02 mmol) bol rozpustený v suchom pyridíne (17 ml) a za miešania v argónovej atmosfére bol k roztoku pridaný Ac_2O (17 ml; 0.180 mmol) a reakčná zmes bola miešaná 22 h pri laboratórnej teplote. Potom bola zmes vyliata do kadičky s ľadom, po jeho rozpustení bola látka vytrepaná medzi CHCl_3 (3×100 ml) a 1 M vodný roztok KHSO_4 (30 ml). Vysušením organickej fázy (MgSO_4) a jej odparením bola získaná pomerne čistá látka, ktorá bola úplne dočistená flash chromatografiou na silikagéli (EtOAc, látka nanosená v MeOH). Pentaacetát galaktózamínu **35** (1.80 g; 46%) bol získaný ako zmes bieleho vosku a syruhu, kde bolo zastúpenie α/β -anomérov v pomere 20/1.

Metóda b):¹¹⁸ Roztok galaktosamín hydrochloridu (502 mg; 2.328 mol), Ac_2O (4 ml; 42.39 mmol) a Et_3N (6.85 ml) bol sonifikovaný 25 min. Kontrola priebehu reakcie bola prevádzaná pomocou TLC (EtOAc) vždy po 8 min tak, aby reakčná zmes nebola sonifikovaná dlhšie ako 10 min vkuse. Rozpúšťadlá boli potom odparené, kodesťilované s toluénom a odparok bol chromatografovaný na stĺpci silikagélu (EtOAc). Získaný produkt **35** (628 mg; 69 %) mal α konfiguráciu.

α -anomér: $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): 6.25 d, 1H, J 3.6 (**H-1**); 5.46, dd, 1H, J 1.6, 3.6 (**H-4**); 5.43 bd, 1H, J 9.2 (**NH**); 5.25 dd, 1H, J 3.0, 11.4 (**H-3**); 4.76 ddd, 1H, J 3.6, 9.4, 11.6 (**H-6a**); 4.27 ddd, 1H, J 0.8, 6.6, 6.8 (**H-5**); 4.17– 4.07 m, 2H (**H-2**, **H-6b**); 2.21 s, 6H; 2.06 s, 6H; 1.98 s, 3H ($5 \times \text{CH}_3\text{CO}$). $^1\text{H NMR}$ súhlasí s literatúrou.¹⁵²

Vybrané signály pre **β -anomér:** $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): 5.72 d, 1H, J 9.2 (**H-1**); 5.61 bd, 1H, J 8.8 (**NH**); 5.38 dd, 1H, J 0.6, 3.2 (**H-4**); 5.10 dd, 1H, J 3.4, 11.1 (**H-3**); 2.17 s, 3H; 2.02 s, 3H ($2 \times \text{CH}_3\text{CO}$).

Pent-4-enyl-2-acetamido-3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-deoxy- α,β -D-galaktopyranozid (36)



K roztoku látky **35** (1.20 g; 3.08 mmol) v suchom DCM (20 ml), miešanému v argónovej atmosfére pri 40 °C, bol cez septum pridaný TMSOTf (0.67 ml; 3.70 mmol) a zmes bola miešaná 24 h pri 40 °C a ďalšie dva dni pri laboratórnej teplote. Po troch dňoch bol k zmesi pridaný 4-pentén-1-ol

(0.90 ml; 8.71 mmol) a priebeh reakcie bol sledovaný pomocou TLC (EtOAc). Po 4 h bola reakcia ukončená prídavkom Et₃N (0.42 ml; 3.0 mmol) a zmes bola miešaná ešte 10 min. Potom bola zmes neutralizovaná pretrepaním s 2M vodným roztokom KHSO₄, vysušená nad MgSO₄ a odparená. Chromatografia odparku (toluén/EtOAc 1/2) poskytla nažltlú látku **36** (638 mg; 50%), kde bolo zastúpenie α/β -anomérov v pomere 1/3. $[\alpha]_D = -24.2$ (*c* 0.066, CHCl₃); NMR spektrá boli určené zo zmesi anomérov.

Vybrané signály pre α -anomér: ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz): 5.59 d, 1H, *J* 9.6 (NH); 5.19 dd, 1H, *J* 3.2, 11.2 (H-3); 4.88 d, 1H, *J* 3.2 (H-1). ¹H NMR spektrá súhlasia s literatúrou.^{153,154}

β -anomér: ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz): 5.79 ddt, 1H, *J* 6.7, 10.1, 17.1 (H-4*); 5.41 bd, 1H, *J* 8.8 (NH); 5.36 dd, 1H, *J* 0.9, 3.4 (H-4); 5.31 dd, 1H, *J* 3.4, 11.2 (H-3); 5.01 dm, 1H, *J* 17.1 (H-5a*); 4.97 dm, 1H, *J* 10.2 (H-5b*); 4.71 d, 1H, *J* 8.3 (H-1); 4.17 dd, 1H, *J* 6.6, 11.3 (H-6a); 4.12 dd, 1H, *J* 7.0, 11.2 (H-6b); 3.96 – 3.88 m, 3H, (H-2, H-5, H-1a*); 3.50 dt, 1H, *J* 6.9, 9.5 (H-1b*); 2.14 s, 3H, (CH₃CO); 2.10 m, 2H (H-3a*, H-3b*); 2.05 s, 3H; 2.01 s, 3H; 1.96 s, 3H (3×CH₃CO); 1.70 m, 2H (H-2a*, H-2b*)

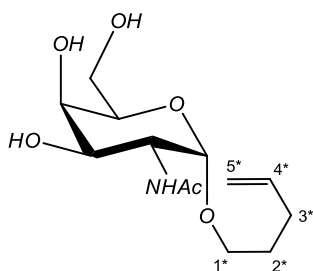
¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz): 170.47, 170.44, 170.26, 170.22 (4×CH₃CO), 137.92 (C-4*), 114.98 (C-5*), 100.96 (C-1), 70.59 (C-5), 69.81 (C-3), 69.24 (C-1*), 66.79 (C-4), 61.44 (C-6), 51.88 (C-2), 29.91 (C-2*), 28.60 (C-3*), 20.69 (4×CH₃CO)

Pre C₁₉H₂₉NO₉ 415.43 MS (ESI): 438.0 (M+Na)⁺. Elementárna analýza pre C₁₉H₂₉NO₉ vypočítané: 54.93% C, 7.04% H, 3.37% N; nájdené: 54.80% C, 6.88% H, 3.42% N.

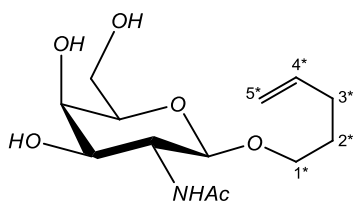
Pent-4-enyl-2-acetamido-2-deoxy- α -D-galaktopyranozid (37 α) a pent-4-enyl-2-acetamido-2-deoxy- β -D-galaktopyranozid (37 β)

Látka **36** (252 mg; 0.607 mmol) bola rozpustená v 0.05M roztoku MeONa (4.5 ml) a ponechaná stáť 45 min pri laboratórnej teplote. Po doreagovaní východiskovej látky (TLC CHCl₃/EtOH 5/2) bola reakčná zmes neutralizovaná prídavkom Dowexu H⁺, ktorý bol po 10 min miešania odfiltrovaný a zmes bola odparená do sucha. Chromatografiou odparku (CHCl₃/EtOH 20/1 → 6/1) bol získaný α -anomér **37 α** (41

mg; 23%) vo forme bezfarebného vosku, β -anomér **37 β** (104 mg; 59%) vo forme bielej kryštalickej látky, ako aj ich nerozdelená zmes (18 mg; 10%).



Pre **37 α** $[\alpha]_D = -54.8$ (*c* 0.467, MeOH); $^1\text{H NMR}$ (CD_3OD , 400 MHz): 5.85 ddt, 1H, *J* 7.0, 10.4, 17.2 (**H-4***); 5.04 dm, 1H, *J* 17.2 (**H-5a***); 4.96 dm, 1H, *J* 10.4 (**H-5b***); 4.85 d, 1H, *J* 2.1 (**H-1**); 4.17 dd, 1H, *J* 2.0, 4.4 (**H-4**); 4.06 dd, 1H, *J* 4.6, 6.6 (**H-3**); 3.97 dd, 1H, *J* 2.8, 6.8 (**H-2**); 3.77–3.63 m, 4H (**H-5**, **H-6a**, **H-6b**, **H-1a***); 3.44 m, 1H (**H-1b***); 2.19 – 2.12 m, 2H (**H-3a***, **H-3b***); 1.98 s, 3H (CH_3CO); 1.73 – 1.66 m, 2H (**H-2a***, **H-2b***). $^1\text{H NMR}$ je v súlade s literatúrou.¹⁵⁵

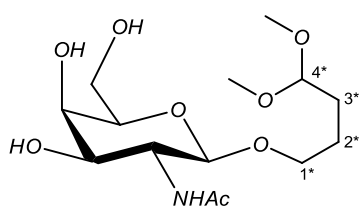


Pre **37 β** t.t. 183-186 °C; $[\alpha]_D = +7.0$ (*c* 0.398, MeOH); $^1\text{H NMR}$ (CD_3OD , 500 MHz): 5.82 ddt, 1H, *J* 6.7, 10.2, 17.1 (**H-4***); 5.00 dm, 1H, *J* 17.1 (**H-5a***); 4.94 dm, 1H, *J* 10.2 (**H-5b***); 4.36 d, 1H, *J* 8.4 (**H-1**); 3.93 – 3.87 m, 2H (**H-2**, **H-1a***); 3.83 ddd, 1H, *J* 0.5, 1.2, 3.3 (**H-4**); 3.77 dd, 1H, *J* 6.7, 11.3 (**H-6a**), 3.74 dd, 1H, *J* 5.5, 11.3 (**H-6b**); 3.60 dd, 1H, *J* 3.3, 10.7 (**H-3**); 3.51 – 3.47 m, 2H (**H-5**, **H-1b***); 2.11 m, 2H (**H-3a***, **H-3b***); 1.98 s, 3H (CH_3CO); 1.63 m, 2H (**H-2a***, **H-2b***)

$^{13}\text{C NMR}$ (CD_3OD , 125 MHz): 174.00 (CH_3CO), 139.46 (**C-4***), 115.21 (**C-5***), 103.07 (**C-1**), 76.63 (**C-5**), 73.25 (**C-3**), 69.75 (**C-1***), 69.68 (**C-4**), 62.50 (**C-6**), 54.36 (**C-2**), 31.22 (**C-2***), 30.06 (**C-3***), 23.02 (CH_3CO)

Pre $\text{C}_{13}\text{H}_{23}\text{NO}_6$ 289.32 MS (ESI): 311.8 ($\text{M}+\text{Na}$)⁺. Elementárna analýza pre $\text{C}_{13}\text{H}_{23}\text{NO}_6$ vypočítané: 53.97% C, 8.01% H, 4.84% N; nájdené: 53.78% C, 7.90% H, 4.72% N.

(4,4-Di-metoxy-butyl)-2-acetamido-2-deoxy- β -D-galaktopyranozid (**38**)



Roztok látky **37 β** (100 mg; 0.346 mmol) v MeOH (8 ml) bol vychladený na -78 °C a prebublávaný 5 min prúdom O_2 za stáleho miešania. Potom bol roztokom prebublávaný ozón do dosiahnutia stáleho modrého sfarbenia roztoku. Prebytočný ozón bol zo zmesi odstránený prebublávaním kyslíkom až do úplného odfarbenia roztoku. Po vytiahnutí reakčnej zmesi z chladiaceho kúpeľa bol ozonid rozložený prídavkom DMS (0.5 ml) a celá zmes bola

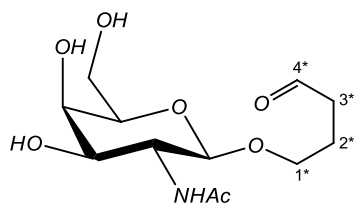
ponechaná stáť dva dni v digestori. Zmes bola potom odparená do sucha a chromatografovaná na silikagéli ($\text{CHCl}_3 \rightarrow \text{CHCl}_3/\text{EtOH}$ 5/1), čím bol získaný dimetylacetál **38** (64 mg; 55%) ako pevná biela látka, $[\alpha]_{\text{D}} = -13.1$ (c 0.061, DMSO).

$^1\text{H NMR}$ (DMSO, 500 MHz): 7.62 d, 1H, J 9.1 (NH); 4.59 dd, 1H, J 5.2, 6.2 (6-OH); 4.56 d, 1H, J 6.4 (3-OH); 4.48 d, 1H, J 4.4 (4-OH); 4.33 t, 1H, J 5.6 (H-4*); 4.20 d, 1H, J 8.4 (H-1); 3.72 – 3.66 m, 2H (H-2, H-1a*); 3.63 m, 1H (H-4); 3.55 – 3.45 m, 2H (H-6a, H-6b); 3.41 m, 1H (H-3); 3.34 m, 1H (H-1b*); 3.28 m, 1H (H-5); 3.19 s, 6H ($2 \times \text{OCH}_3$); 1.79 s, 3H (CH_3CO); 1.56 – 1.41 m, 4H (H-2a*, H-2b*, H-3a*, H-3b*)

$^{13}\text{C NMR}$ (DMSO, 125 MHz): 169.54 (CH_3CO), 103.87 (C-4*), 101.63 (C-1), 75.45 (C-5), 71.69 (C-3), 68.03 (C-1*), 67.71 (C-4), 60.66 (C-6), 50.53, 52.36 ($2 \times \text{OCH}_3$), 52.23 (C-2), 28.81 (C-3*), 24.54 (C-2*), 23.23 (CH_3CO)

Pre $\text{C}_{14}\text{H}_{27}\text{NO}_8$ 337.37 MS (ESI): 360.2 ($\text{M}+\text{Na}$)⁺. Elementárna analýza pre $\text{C}_{14}\text{H}_{27}\text{NO}_8$ vypočítané: 49.84% C, 8.07% H, 4.15% N; nájdené: 49.98% C, 7.97% H, 4.04% N.

3-Formylpropyl-2-acetamido-2-deoxy- β -D-galaktopyranozid (**39**)



4-Pentenylderivát **37 β** (28 mg; 0.10 mmol) bol rozpustený vo vode (10 ml), roztok bol vychladený na 0 °C a prebublávaný prúdom O_2 za stáleho miešania.

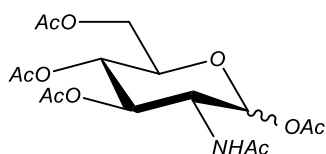
Potom bol roztokom prebublávaný ozón asi 15 min do stáleho modrého sfarbenia reakčnej zmesi a prebytočný ozón bol zo zmesi odstránený kyslíkom. Po vytiahnutí reakčnej zmesi z chladiaceho kúpeľa bol ozonid rozložený prídavkom Me_2S (1 ml) a celá zmes bola ponechaná stáť 24 h pri laboratórnej teplote. Následne bola reakčná zmes odparená do sucha a odparok (34 mg) bol charakterizovaný priamo bez ďalšieho čistenia.

Vybrané signály pre **39** $^1\text{H NMR}$ (DMSO, 400 MHz): 9.66 t, 1H, J 1.5 (H-4*); 7.66 – 7.62 dm, 1H, J 9.8 (NH); 4.21 d, 1H, J 8.6 (H-1)

Pre $\text{C}_{12}\text{H}_{21}\text{NO}_7$ 291.30 MS (ESI): 292.1 ($\text{M}+\text{H}$)⁺, 314.1 ($\text{M}+\text{Na}$)⁺.

2-Acetamido-1,3,4,6-tetra-O-acetyl-2-deoxy- α,β -D-glukopyranóza (**40**)

Metóda a):¹⁵⁶ Glukózamín hydrochlorid (432 mg; 2.00 mmol) bol rozpustený v suchom pyridíne (3.4 ml) a za miešania v argónovej atmosfére bol k roztoku pridaný



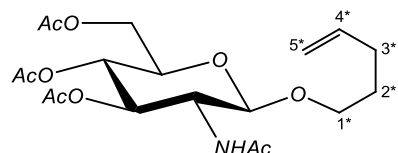
Ac₂O (3.4 ml; 3.60 mmol) a reakčná zmes bola miešaná pri laboratórnej teplote cez noc. Potom bola zmes vyliala do kadičky s ľadom, extrahovaná CHCl₃ (3×20 ml) a premytá 1 M vodným roztokom KHSO₄ (10 ml). Organická fáza bola vysušená nad MgSO₄, odparená a odparok bol prečistený na stĺpci silikagélu (EtOAc). Zastúpenie α/β-anomérov v získanom acetylovanom glukóزامíne **40** (755 mg; 97%) bolo 25/1.

Metóda b): Roztok *N*-acetylglukóزامínu (7.1 g; 32.10 mmol) v Ac₂O (36 ml; 0.382 mol) a suchom pyridíne (72 ml) bol miešaný 18 h pri laboratórnej teplote. Potom bola zmes vyliala do kadičky s ľadom, po jeho rozpustení bola extrahovaná CHCl₃ (3×250 ml) a organická vrstva bola premytá 2 M vodným roztokom KHSO₄ (90 ml) a následne vodou (50 ml). Rozpúšťadlá boli odparené k destiláciou s toluénom a odparok bol prečistený na stĺpci silikagélu (EtOAc). Produkt **40** (11.4 g; 91%) bol izolovaný ako zmes anomérov α/β = 12/1 v kryštalickej forme; t.t. 132-137 °C; [α]_D = +88.4 (c 0.650, CHCl₃);

α-anomér: ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 6.19 d, 1H, *J* 3.8 (**H-1**); 5.60 bd, 1H, *J* 8.8 (**NH**); 5.29 – 5.18 m, 2H (**H-3**, **H-4**); 4.53 – 4.47 m, 1H (**H-2**); 4.27 dd, 1H, *J* 4.0, 12.4 (**H-6a**); 4.08 dd, 1H, *J* 2.2, 12.4 (**H-6b**); 4.01 ddd, 1H, *J* 2.4, 4.0, 9.6 (**H-5**); 2.21 s, 3H; 2.10 s, 3H; 2.07 s, 3H; 2.06 s, 3H; 1.96 s, 3H (5×CH₃CO). ¹H NMR súhlasí s literatúrou.¹⁵⁷

β-anomér: ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 5.71 d, 1H, *J* 9.0 (**H-1**); 5.66 bd, 1H, *J* 9.2 (**NH**); 5.18 – 5.13 2H (**H-3**, **H-4**); 4.35 – 4.30 m, 1H (**H-2**); 4.28 dd, 1H, *J* 4.6, 12.4 (**H-6a**); 4.14 dd, 1H, *J* 2.2, 12.4 (**H-6b**); 3.82 ddd, 1H, *J* 2.4, 4.8, 9.6 (**H-5**); 2.17 s, 3H; 2.02 s, 3H (2×CH₃CO); 2.13 s, 3H; 2.10 s, 3H; 2.06 s, 3H; 2.05 s, 3H; 1.95 s, 3H (5×CH₃CO).

Pent-4-enyl-2-acetamido-3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-deoxy-β-D-glukopyranozid (**41**)

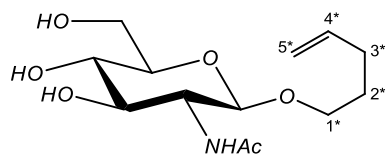


Látka **40** (797 mg; 2.048 mmol) bola rozpustená v suchom DCM (13 ml) a roztok bol miešaný v argónovej atmosfére pri 40 °C. Po 3 h bol cez septum pridaný TMSOTf (0.41 ml; 2.249 mmol) a reakčná zmes bola miešaná 40 h pri 40 °C. Potom bol k zmesi pridaný 4-pentén-1-ol (0.634 ml; 6.14 mmol) a priebeh reakcie bol sledovaný pomocou TLC (EtOAc). Po 3 h bola reakcia ukončená prídavkom Et₃N (0.1 ml) a zmes bola miešaná ešte 10 min. Následne bol roztok

neutralizovaný premytím s nasýteným vodným roztokom KHSO₄ (3 ml), organická vrstva bola premytá vodou (10 ml), vysušená nad MgSO₄ a odparená do sucha. Chromatografia odparku (toluén/EtOAc 1/2) poskytla selektívne β-anomér 4-pentenylglykozidu **41** (485 mg; 57%) vo forme bieleho vosku, [α]_D = -12.8 (c 0.462, CHCl₃).

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 5.80 ddt, 1H, *J* 6.2, 10.0, 17.0 (**H-4***); 5.56 bd, 1H, *J* 8.6 (**NH**); 5.32 dd, 1H, *J* 9.2, 10.6 (**H-3**); 5.08 dd, 1H, *J* 9.6, 9.8 (**H-4**); 5.02 dm, 1H, *J* 17.2 (**H-5a***); 4.98 dm, 1H, *J* 10.2 (**H-5b***); 4.69 d, 1H, *J* 8.4 (**H-1**); 4.28 dd, 1H, *J* 4.6, 12.2 (**H-6a**); 4.15 dd, 1H, *J* 2.8, 12.4 (**H-6b**); 3.92 – 3.81 m, 2H, (**H-2**, **H-1a***); 3.71 ddd, 1H, *J* 2.6, 4.8, 10.1 (**H-5**); 3.51 dt, 1H, *J* 6.6, 9.6 (**H-1b***); 2.12 – 2.08 m, 2H (**H-3a***, **H-3b***); 2.10 s, 3H; 2.05 s, 3H; 2.04 s, 3H; 1.97 s, 3H (4×CH₃CO); 1.73 – 1.65 m, 2H (**H-2a***, **H-2b***). ¹H NMR súhlasí s literatúrou.⁸⁹

Pent-4-enyl-2-acetamido-2-deoxy-β-D-glukopyranozid (**42**)

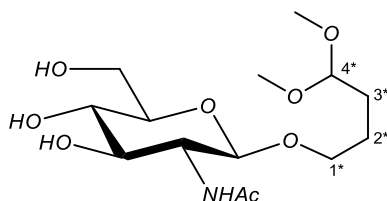


Látka **41** (1.127 mg; 2.71 mmol) bola rozpustená v 0.1M roztoku MeONa (13 ml) a miešaná 90 min pri laboratórnej teplote. Po kompletnej *O*-deacetylácii

východiskovej látky (TLC EtOAc/MeOH 6/1) bola reakcia neutralizovaná prídavkom Dowexu 50 H⁺, ktorý bol po 10 min miešania zo zmesi odfiltrovaný. Chromatografiou odparku (EtOAc/MeOH 10/1) bol získaný odchránený produkt **42** (710 mg; 90%) vo forme pevnej bielej látky; [α]_D = -16.6 (c 0.259, H₂O).

¹H NMR (D₂O, 500 MHz): 5.87 ddt, 1H, *J* 6.7, 10.3, 17.2 (**H-4***); 5.05 dm, 1H, *J* 17.3 (**H-5a***); 5.01 dm, 1H, *J* 10.2 (**H-5b***); 4.49 d, 1H, *J* 8.5 (**H-1**); 3.94 – 3.87 m, 2H (**H-6a**, **H-1a***); 3.72 m, 1H (**H-6b**), 3.67 dd, 1H, *J* 8.5, 10.3 (**H-2**); 3.60 dt, 1H, *J* 6.5, 10.2 (**H-1b***); 3.52 dd, 1H, *J* 8.8, 10.4 (**H-3**); 3.45 – 3.42 m, 2H (**H-4**, **H-5**); 2.07 m, 2H (**H-3a***, **H-3b***); 2.03 s, 3H (CH₃CO); 1.64 m, 2H (**H-2a***, **H-2b***). ¹H NMR súhlasí s literatúrou.¹⁵⁸

(4,4-Di-metoxy-butyl)-2-acetamido-2-deoxy-β-D-glukopyranozid (**43**)



Roztok látky **42** (26 mg; 0.090 mmol) v MeOH (8 ml) bol vychladený na -78 °C a za stáleho miešania prebublávaný 5 min. prúdom O₂. Potom bol roztokom prebublávaný ozónom do dosiahnutia

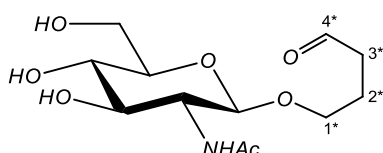
stáleho modrého sfarbenia roztoku. Prebytočný ozón bol zo zmesi odstránený prúdom kyslíka až do úplného odfarbenia roztoku. Po vytiahnutí reakčnej zmesi z chladiaceho kúpeľa bol ozonid rozložený prídavkom Me₂S (0.5 ml) a celá zmes bola ponechaná stáť 2 dni pri laboratórnej teplote. Potom bola zmes odparená do sucha a chromatografovaná na stĺpci silikagélu (CHCl₃/EtOH 3/1), čím bol získaný produkt **43** (22 mg; 73%) vo forme pevnej bielej látky, t.t. 139-142 °C, [α]_D = -26.7 (c 0.228, DMSO).

¹H NMR (DMSO, 500 MHz): 4.99 d, 1H, *J* 4.9 (4-OH); 4.90 d, 1H, *J* 5.4 (3-OH); 4.52 t, 1H, *J* 6.0 (6-OH); 4.33 t, 1H, *J* 5.6 (H-4*); 4.24 d, 1H, *J* 8.4 (H-1); 3.72 dt, 1H, *J* 6.0, 9.8 (H-1a*); 3.67 ddd, 1H, *J* 1.6, 5.9, 11.7 (H-6a); 3.47 – 3.38 m, 3H (H-2, H-6b, H-1b*); 3.26 m, 1H (H-3); 3.19 s, 6H (2×OCH₃); 3.07 – 3.04 m, 2H (H-4, H-5); 1.78 s, 3H (CH₃CO); 1.56 – 1.41 m, 4H (H-2a*, H-2b*, H-3a*, H-3b*)

¹³C NMR (DMSO, 125 MHz): 169.11 (CH₃CO), 103.86 (C-4*), 101.23 (C-1), 77.17 (C-5), 74.42 (C-3), 70.85 (C-4), 68.20 (C-1*), 61.26 (C-6), 55.52 (C-2), 52.54, 52.37 (2×OCH₃), 28.79 (C-3*), 24.48 (C-2*), 23.17 (CH₃CO)

Pre C₁₄H₂₇NO₈ 337.37 MS (ESI): 360.2 (M+Na)⁺. Elementárna analýza pre C₁₄H₂₇NO₈ vypočítané: 49.84% C, 8.07% H, 4.15% N; nájdené: 50.05% C, 7.90% H, 4.21% N.

3-Formylpropyl-2-acetamido-2-deoxy-β-D-glukopyranozid (**44**)



Roztok látky **42** (121 mg; 0.418 mmol) v MeOH (8 ml) bol vychladený na -78 °C a prebublávaný 5 min. prúdom O₂ do stáleho miešania. Potom bol roztokom prebublávaný ozón do dosiahnutia stáleho modrého sfarbenia roztoku. Prebytočný ozón bol zo zmesi odstránený prebublávaním kyslíkom až do úplného odfarbenia roztoku. Po vytiahnutí reakčnej zmesi z chladiaceho kúpeľa bol ozonid rozložený prídavkom Me₂S (0.5 ml) a celá zmes bola ponechaná stáť 24 h pri laboratórnej teplote. Zmes bola potom odparená do sucha a chromatografovaná na stĺpci silikagélu (CHCl₃/EtOH 8/1 → 3/1). Získaný aldehyd **44** (96 mg; 79%) bol vo forme pevnej bielej látky.

prebublávaný ozón do dosiahnutia stáleho modrého sfarbenia roztoku. Prebytočný ozón bol zo zmesi odstránený prebublávaním kyslíkom až do úplného odfarbenia roztoku. Po vytiahnutí reakčnej zmesi z chladiaceho kúpeľa bol ozonid rozložený prídavkom Me₂S (0.5 ml) a celá zmes bola ponechaná stáť 24 h pri laboratórnej teplote. Zmes bola potom odparená do sucha a chromatografovaná na stĺpci silikagélu (CHCl₃/EtOH 8/1 → 3/1). Získaný aldehyd **44** (96 mg; 79%) bol vo forme pevnej bielej látky.

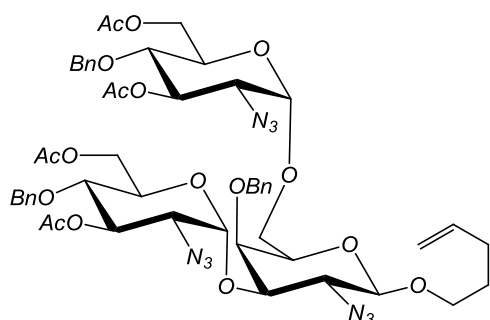
¹H NMR (DMSO, 500 MHz): 9.65 t, 1H, *J* 1.5 (H-4*); 7.69 d, 1H, *J* 8.9 (NH); 5.00 d, 1H, *J* 5.1 (4-OH); 4.92 d, 1H, *J* 5.4 (3-OH); 4.55 t, 1H, *J* 5.9 (6-OH); 4.23 d, 1H, *J* 8.5 (H-1); 3.71 dt, 1H, *J* 6.0, 6.0, 9.9 (H-1a*); 3.66 ddd, 1H, *J* 1.7, 5.9, 11.7

(**H-6a**); 3.46 – 3.42 m, 1H (**H-1b***); 3.42 – 3.39 m, 1H (**H-6b**); 3.41 – 3.37 m, 1H (**H-2**); 3.25 ddd, 1H, *J* 5.4, 8.3, 10.2 (**H-3**); 3.06 – 3.02 m, 2H (**H-4**, **H-5**); 2.43 dt, 2H, *J* 1.5, 7.1, 7.1 (**H-3a***, **H-3b***); 1.80 s, 3H (**CH₃CO**); 1.74 – 1.68 m, 2H (**H-2a***, **H-2b***)

¹³C NMR (DMSO, 125 MHz): 203.75 (**C-4***), 169.52 (**CH₃CO**), 101.35 (**C-1**), 77.33 (**C-5**), 74.60 (**C-3**), 70.94 (**C-4**), 67.80 (**C-1***), 61.38 (**C-6**), 55.68 (**C-2**), 40.13 (**C-3***), 23.42 (**CH₃CO**), 22.29 (**C-2***)

Pre C₁₂H₂₁NO₇ 291.30 MS (ESI): 291.9 (M+H)⁺, 314.1 (M+Na)⁺, 605.1 (2M+Na)⁺.
Elementárna analýza pre C₁₂H₂₁NO₇ vypočítané: 49.48% C, 7.27% H, 4.81% N; nájdené: 49.61% C, 7.40% H, 4.92% N.

Pent-4-enyl-3,6-di-*O*-acetyl-2-azido-4-*O*-benzyl-2-deoxy-β-D-glukopyranozyl-(1→3)-[3,6-di-*O*-acetyl-2-azido-4-*O*-benzyl-2-deoxy-β-D-glukopyranozyl-(1→6)]-2-azido-4-*O*-benzyl-2-deoxy-β-D-galaktopyranozid (64**)**

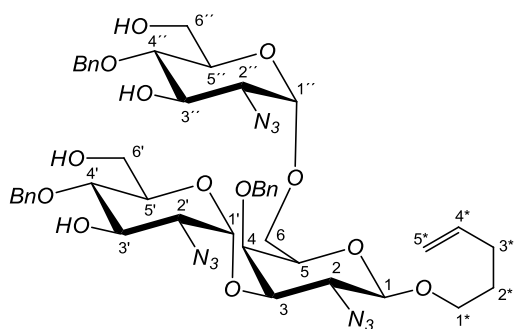


Zmes alkoholu **34** (153 mg; 0.421 mmol), trichlóracetimidátu **15** (483 mg; 0.925 mmol) a práškových molekulových sít 4 Å v suchom DCM (15 ml) bola miešaná 1 h v argónovej atmosfére pri laboratórnej teplote. Potom bola zmes ochladená a pri -50 °C k nej bol pridaný TMSOTf (185 μl; 1.024 mmol). Reakčná zmes bola miešaná 2 h pri -50 °C a potom bola miešaná vo vychladenom kúpeli, ktorého teplota postupne rástla až na laboratórnu teplotu. Po 16 h od prídavku TMSOTf zmes neobsahovala východiskovú látku (TLC toluén/EtOAc 3/1), bola nariedená CHCl₃ (50 ml) a prefiltrovaná cez kremelinu. Filtrát bol premytý nasýteným vodným roztokom NaHCO₃ (25 ml), vodou (25 ml) a organická vrstva bola po vysušení (Na₂SO₄) odparená do sucha. Chromatografiou odparku na stĺpci silikagélu (toluén/EtOAc 10/1) bola získaná nedeliteľná zmes minimálne dvoch bližšie neurčených trisacharidov (390 mg). Zmes bola použitá priamo v ďalšej reakcii.

Pre C₅₂H₆₃N₉O₁₇ 1086.11 MS (ESI): 1108 (M+Na)⁺.

Pent-4-enyl-2-azido-4-*O*-benzyl-2-deoxy- β -D-glukopyranozyl-(1 \rightarrow 3)-[2-azido-4-*O*-benzyl-2-deoxy- β -D-glukopyranozyl-(1 \rightarrow 6)]-2-azido-4-*O*-benzyl-2-deoxy- β -D-galaktopyranozid (65**)**

Odparok z predchádzajúcej reakcie (390 mg) bol rozpustený v MeONa (10 ml; 0.092 M) a bol ponechaný stáť pri laboratórnej teplote. Reakcia bola sledovaná pomocou TLC (toluén/EtOAc 3/1). Počas 4 h boli k roztoku pridané ešte dve dávky MeONa (10+5 ml). Po 1 h od posledného prídavku bola zmes odparená do sucha a chromatografia odparku na stĺpci silikagélu (CHCl₃→CHCl₃/MeOH 100/1) poskytla trisacharid **65** (125 mg; 32% vzhľadom na glykozylakceptor **34**) vo forme bezfarebného viskózneho sirupu; [α]_D = +96.1 (*c* 0.256, CHCl₃).



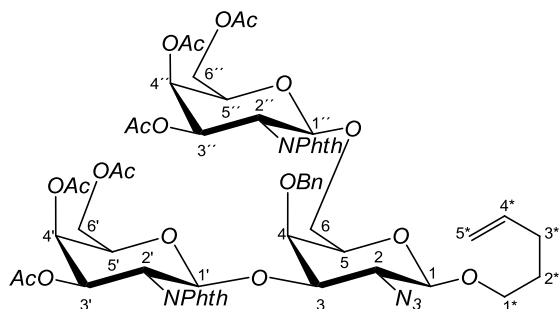
¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz): 7.41 – 7.28 m, 15H (Ph); 5.79 ddt, 1H, *J* 6.6, 6.6, 10.2, 17.1 (**H-4***); 5.10 d, 1H, *J* 3.7 (**H-1'**); 5.08 d, 1H, *J* 12.4 (CH₂Ph); 5.02 ddt, 1H, *J* 1.6, 1.6, 2.0, 17.1 (**H-5a***); 4.96 ddt, 1H, *J* 1.2, 1.2, 2.0, 10.2 (**H-5b***); 4.82 d, 1H, *J* 11.6 (CH₂Ph); 4.76 s, 2H (CH₂Ph); 4.75 d, 1H,

J 11.6 (CH₂Ph); 4.62 d, 1H, *J* 12.4 (CH₂Ph); 4.61 d, 1H, *J* 3.5 (**H-1''**); 4.22 d, 1H, *J* 7.9 (**H-1**); 4.18 dd, 1H, *J* 8.9, 10.3 (**H-3'**); 4.05 ddd, 1H, *J* 2.1, 3.2, 10.0 (**H-5'**); 4.05 dd, 1H, *J* 8.8, 10.0 (**H-3''**); 3.95 d, 1H, *J* 2.7 (**H-4**); 3.89 dt, 1H, *J* 6.1, 6.1, 9.4 (**H-1a***); 3.89 – 3.75 m, 4H, (**H-6a'**, **H-6b'**, **H-6a''**, **H-6b''**); 3.78 dd, 1H, *J* 7.9, 10.7 (**H-2**); 3.75 – 3.72 m, 1H (**H-6a**); 3.66 ddd, 1H, *J* 2.5, 3.8, 10.0 (**H-5''**); 3.54 dd, 1H, *J* 8.9, 10.0 (**H-4'**); 3.50 dd, 1H, *J* 2.7, 10.7 (**H-3**); 3.49 – 3.45 m, 2H, (**H-5**, **H-6a**); 3.48 dd, 1H, *J* 8.8, 10.0 (**H-4''**); 3.47 ddd, 1H, *J* 6.4, 7.3, 9.4 (**H-1b***); 3.41 dd, 1H, *J* 3.7, 10.3 (**H-2'**); 3.10 dd, 1H, *J* 3.5, 10.3 (**H-2''**); 2.15 – 2.10 m, 2H (**H-3a***, **H-3b***); 1.75 – 1.65 m, 2H (**H-2a***, **H-2b***)

¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz): 138.10 (Ph), 137.98 (**C-4***), 137.89, 137.77, 128.76, 128.76, 128.39, 128.29, 128.25, 128.07, 128.05, 128.01, 127.75 (Ph), 114.96 (**C-5***), 102.69 (**C-1**), 97.86 (**C-1''**), 95.39 (**C-1'**), 77.79 (**C-4''**), 77.65 (**C-4'**), 77.32 (**C-4**), 75.02, 74.80, 74.52 (CH₂Ph), 72.81 (**C-5**), 72.14 (**C-3'**), 71.57 (**C-5'**), 71.50 (**C-3''**), 71.32 (**C-4**), 71.11 (**C-5''**), 69.60 (**C-1***), 66.14 (**C-6**), 63.26 (**C-2'**), 62.79 (**C-2''**), 62.53 (**C-2**), 61.50 (**C-6'**), 61.39 (**C-6''**), 29.98 (**C-3***), 28.64 (**C-2***)

Pre $C_{44}H_{55}N_9O_{13}$ 917.39 MS (ESI): 940.3 ($M+Na$)⁺. Elementárna analýza pre $C_{44}H_{55}N_9O_{13}$ vypočítané: 57.57% C, 6.04% H, 13.73% N; nájdené: 57.99% C, 5.80% H, 13.71% N.

Pent-4-enyl-3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-deoxy-2-ftalimido- β -D-galaktopyranozyl-(1 \rightarrow 3)-[3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-deoxy-2-ftalimido- β -D-galaktopyranozyl-(1 \rightarrow 6)]-2-azido-4-*O*-benzyl-2-deoxy- β -D-galaktopyranozid (66**)**



Zmes glykozyldonoru **61** (118 mg; 0.246 mmol), glykozylakceptoru **34** (22 mg; 0.061 mmol) a práškových molekulových sít 4Å bola miešaná v suchom Et₂O (3.2 ml) v argónovej atmosfére pri laboratórnej teplote. Po

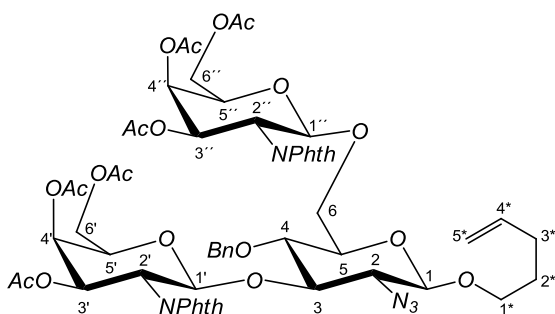
30 min bola zmes ochladená na 0 °C a k zmesi bol pridaný MeOTf (105 μ l; 0.928 mmol). Potom bola reakčná zmes voľne ohriata vzduchom na laboratórnu teplotu a miešaná cez noc. Odparením rozpúšťadiel a chromatografiou odparku na stĺpci silikagélu (toluén/EtOAc 10/1) bol získaný chránený trisacharid **66** (48 mg; 66%) vo forme žltého vosku, $[\alpha]_D = -17.8$ (c 0.270, CHCl₃).

¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz): 7.89 – 7.80 m, 4H; 7.76 – 7.70 m, 4H; 7.41 – 7.27 m, 5H (Ph); 5.86 dd, 1H, *J* 3.4, 11.5 (**H-3''**); 5.78 dd, 1H, *J* 3.4, 11.5 (**H-3'**); 5.69 ddt, 1H, *J* 6.6, 6.6, 10.3, 17.0 (**H-4***); 5.50 dd, 1H, *J* 1.2, 3.4 (**H-4'**); 5.46 dd, 1H, *J* 1.3, 3.4 (**H-4''**); 5.38 d, 1H, *J* 8.4 (**H-1'**); 5.28 d, 1H, *J* 8.5 (**H-1''**); 4.92 ddt, 1H, *J* 1.6, 1.6, 2.0, 17.0 (**H-5a***); 4.91 ddt, 1H, *J* 1.2, 1.2, 2.0, 10.3 (**H-5b***); 4.88 d, 1H, *J* 11.4 (CH₂Ph); 4.62 d, 1H, *J* 11.4 (CH₂Ph); 4.56 dd, 1H, *J* 8.4, 11.5 (**H-2'**); 4.45 dd, 1H, *J* 8.5, 11.5 (**H-2''**); 4.22 – 4.18 m, 2H (**H-6a'**, **H-6b'**); 4.18 dd, 1H, *J* 6.1, 11.1 (**H-6a''**); 4.13 dd, 1H, *J* 6.1, 11.1 (**H-6b''**); 4.05 dt, 1H, *J* 1.2, 6.7, 6.7 (**H-5'**); 4.03 dt, 1H, *J* 1.3, 6.1, 6.1 (**H-5''**); 3.95 d, 1H, *J* 7.9 (**H-1**); 3.66 dd, 1H, *J* 1.1, 2.9 (**H-4**); 3.63 – 3.60 m, 2H (**H-6a**, **H-6b**); 3.47 dt, 1H, *J* 6.0, 6.0, 9.6 (**H-1a***); 3.39 dd, 1H, *J* 2.9, 10.6 (**H-2**); 3.28 dt, 1H, *J* 1.1, 6.6, 6.6 (**H-5**); 3.15 dd, 1H, *J* 2.9, 10.6 (**H-3**); 3.15 ddd, 1H, *J* 5.8, 7.2, 9.6 (**H-1b***); 2.19 s, 3H; 2.17 s, 3H; 2.07 s, 3H; 2.05 s, 3H (4 \times CH₃CO); 1.97 – 1.91 m, 2H (**H-3a***, **H-3b***); 1.88 s, 3H; 1.83 s, 3H (2 \times CH₃CO); 1.47 – 1.35 m, 2H (**H-2a***, **H-2b***)

^{13}C NMR (CDCl₃, 125 MHz): 170.36, 170.34, 170.22, 170.22, 169.80, 169.74 (6×CH₃CO), 168.41, 167.49 138.05 (Ph), 137.99 (C-4*), 134.40, 131.50, 131.30, 128.88, 128.17, 127.84 (Ph), 114.79 (C-5*), 102.15 (C-1), 100.36 (C-1'), 98.12 (C-1''), 81.61 (C-3), 74.28 (C-4), 74.28 (CH₂Ph), 73.82 (C-5), 70.78 (C-5'), 70.74 (C-5''), 68.67 (C-1*), 68.55 (C-6), 67.81 (C-3'), 67.71 (C-3''), 66.59 (C-4''), 66.43 (C-4'), 62.44 (C-2), 61.14 and 61.09 (C-6', C-6''), 51.39 (C-2'), 51.36 (C-2''), 29.92 (C-3*), 28.54 (C-2*), 20.72, 20.72, 20.68, 20.68, 20.52, 20.49 (6×CH₃CO)

Pre C₅₈H₆₃N₅O₂₃ 1198.14 MS (ESI): 1220.3 (M+Na)⁺. Elementárna analýza pre C₅₈H₆₃N₅O₂₃ vypočítané: 58.14% C, 5.30% H, 5.85% N; nájdené: 58.37% C, 5.17% H, 6.11% N.

Pent-4-enyl-3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-ftalimido-β-D-galaktopyranozyl-(1→3)-[3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-deoxy-2-ftalimido-β-D-galaktopyranozyl-(1→6)]-2-azido-4-*O*-benzyl-2-deoxy-β-D-glukopyranozid (67)



Metóda a): Látka **61** (60 mg; 0.121 mmol) bola spolu s alkoholom **18** (22 mg; 0.061 mmol) a práškovými molekulovými sítami 4Å miešaná v suchom Et₂O (3.2 ml) 18 h pri laboratórnej teplote. Potom bol do

vychladenej zmesi pri 0 °C pridaný MeOTf (105 μl; 0.928 mmol) a zmes bola miešaná 20 h pri laboratórnej teplote. Reakcia bola ukončená prídavkom Et₃N (0.1 ml) a po 10 min miešania bola nariedená CHCl₃ (10 ml). Potom bola zmes prefiltrovaná cez kremelinu, premytá 1M roztokom KHSO₄ a vodou a organická vrstva bola vysušená nad MgSO₄ a odparená do sucha. Chromatografiou odparku na silikagéli (toluén/EtOAc 20/1 → 4/1) bol od zmesi oddelený bližšie neurčený disacharid (10 mg; MS (ESI): 803.3 (M+Na)⁺) a zvyšok (36 mg) bol čistený na TLC plastinke (CHCl₃ + kvapka MeOH, 2×). Získaný trisacharid **51** (16 mg; 22) bol vo forme sirupu, ktorý časom stuhol na sklovitú látku.

Metóda b): Zmes glykozylakceptoru **18** (73 mg; 0.201 mmol), glykozyldonoru **61** (383 mg; 0.80 mmol), AgOTf (51 mg; 0.198 mmol) a práškových molekulových sít 4Å bola miešaná v suchom Et₂O (3.2 ml) v argónovej atmosfére 30 min. Následne bola zmes vychladená na 0 °C a pri tejto teplote bol pridaný MeOTf (0.54 ml; 4.77 mmol). Zmes bola samovoľne ohriata na laboratórnu teplotu a miešaná cez noc.

Reakcia bola ukončená prídavkom Et₃N (0.33 ml), prefiltrovaná cez kremelinu, zahustená na odparke a extrahovaná medzi CHCl₃ (60 ml) a 1M roztok NaHCO₃ (12 ml). Organická vrstva bola premytá vodou, vysušená nad MgSO₄ a odparená do sucha. Chromatografiou odparku na stĺpci silikagélu (toluén/EtOAc 10/1) bola získaná látka **51** (156 mg; 65%). [α]_D = -14.3 (c 0.112, CHCl₃).

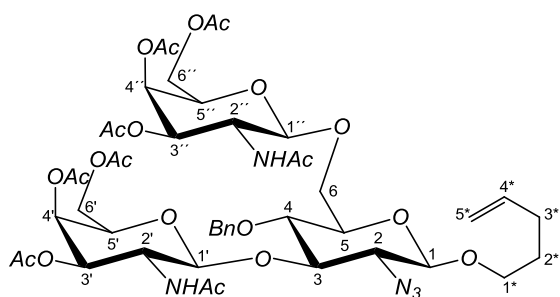
¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz): 7.93 – 7.85 m; 7.78 – 7.70 m; 7.32 – 7.23 m, 13H (Ph); 5.87 dd, 1H, *J* 3.5, 11.6 (**H-3''**); 5.76 dd, 1H *J* 3.4, 11.5 (**H-3'**); 5.73 ddt, 1H, *J* 6.6, 6.6, 10.2, 17.0 (**H-4***); 5.58 d, 1H, *J* 8.3 (**H-1'**); 5.45 dd, 1H, *J* 1.1, 3.4 (**H-4'**); 5.42 dd, 1H, *J* 1.2, 3.5 (**H-4''**); 5.34 d, 1H, *J* 8.4 (**H-1''**); 4.97 ddt, 1H, *J* 1.6, 1.6, 1.9, 17.0 (**H-5a***); 4.95 ddt, 1H, *J* 1.2, 1.2, 1.9, 10.2 (**H-5b***); 4.82 d, 1H, *J* 10.5 (CH₂Ph); 4.53 dd, 1H, *J* 8.4, 11.6 (**H-2''**); 4.47 dd, 1H, *J* 8.3, 11.5 (**H-2''**); 4.26 d, 1H, *J* 10.5 (CH₂Ph); 4.16 d, 2H, *J* 6.7 (**H-6a'**, **H-6b'**); 4.07 d, 1H, *J* 8.0 (**H-1**); 4.02 dd, 1H, *J* 8.1, 10.8 (**H-6a''**); 4.01 dd, 1H, *J* 1.8, 11.3 (**H-6a**); 4.01 dt, 1H, *J* 1.1, 6.7, 6.7 (**H-5'**); 3.96 ddd, 1H, *J* 1.2, 5.5, 8.1 (**H-5''**); 3.79 dd, 1H, *J* 5.5, 10.8 (**H-6b''**); 3.58 dd, 1H, *J* 6.2, 11.3 (**H-6b**); 3.58 dt, 1H, *J* 6.1, 6.1, 9.7 (**H-1a***); 3.48 dd, 1H, *J* 8.7, 10.1 (**H-3**); 3.30 dt, 1H, *J* 6.5, 6.5, 9.7 (**H-1b***); 3.28 ddd, 1H, *J* 1.8, 6.2, 10.0 (**H-5**); 3.11 dd, 1H, *J* 8.7, 10.0 (**H-4**); 2.92 dd, 1H, *J* 8.0, 10.1 (**H-2**); 2.18 s, 3H; 2.14 s, 3H, (2×CH₃CO); 2.03 – 1.96 m, 2H (**H-3a***, **H-3b***); 2.01s, 3H; 1.98 s, 3H; 1.86 s, 3H; 1.84 s, 3H (4×CH₃CO); 1.53 – 1.45 m, 2H (**H-2a***, **H-2b***)

¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz): 170.38, 170.31, 170.21, 170.16, 169.81, 169.77 (6×CH₃CO), 168.05, 167.68 (Ph), 137.85 (**C-4***), 137.71, 134.27, 131.28, 128.27, 127.84, 127.71 (Ph), 114.99 (**C-5***), 101.67 (**C-1**), 98.61 (**C-1'**), 98.07 (**C-1''**), 80.48 (**C-3**), 75.77 (**C-4**), 74.59 (CH₂Ph), 74.46 (**C-5**), 70.45 (**C-5'**), 70.35 (**C-5''**), 69.03 (**C-1***), 67.92 (**C-3'**), 67.72 (**C-3''**), 67.71 (**C-6**), 66.63 (**C-4'**), 66.35 (**C-4''**), 65.41 (**C-2**), 61.29 (**C-6'**), 60.58 (**C-6''**), 51.71 (**C-2'**), 51.19 (**C-2''**), 29.89 (**C-3***), 28.54 (**C-2***), 20.73, 20.68, 20.66, 20.64, 20.54, 20.51 (6×CH₃CO)

Pre C₅₈H₆₃N₅O₂₃ 1197.14 MS (ESI): 1220.3 (M+Na)⁺. Elementárna analýza pre C₅₈H₆₃N₅O₂₃ vypočítané: 58.14% C, 5.30% H, 5.85% N; nájdené: 57.99% C, 5.50% H, 5.94% N.

Pent-4-enyl-2-acetamido-3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-deoxy- β -D-galaktopyranozyl-(1 \rightarrow 3)-[2-acetamido-3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-deoxy- β -D-galaktopyranozyl-(1 \rightarrow 6)]-2-azido-4-*O*-benzyl-2-deoxy- β -D-glukopyranozid (68**)**

Roztok trisacharidu **67** (24 mg; 0.020 mmol) v absolútnom EtOH (0.6 ml) bol po pridaní etyléndiamínu (67 μ l; 1.00 mmol) za stáleho miešania zahrievaný 2 h na teplotu 80 °C. Po zreagovaní východiskovej látky (TLC toluén/EtOAc 3/1) bola zmes zahustená a kodestiláciou s toluénom odparená do sucha. Potom bol odparok rozpustený v suchom pyridíne (0.45 ml) a k roztoku bol pridaný Ac₂O (0.15 ml; 1.59 mmol). Zmes bola miešaná pri laboratórnej teplote do druhého dňa. Po odparení a kodestilácii s toluénom (3 \times) bol zvyšok chromatografovaný na stĺpci silikagélu (toluén/EtOAc 1/1 \rightarrow EtOAc), čím bola získaná pevná biela látka **68** (14 mg; 68%). $[\alpha]_D = -14.4$ (c 0.118, CHCl₃).



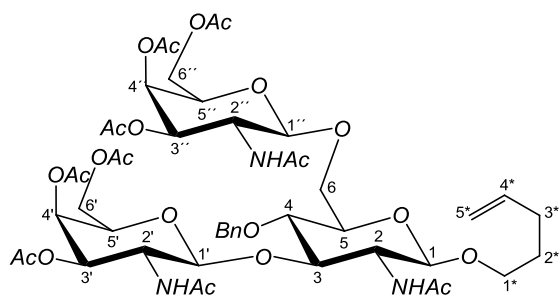
¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz): 7.38 – 7.27 m, 5H (Ph); 5.82 ddt, 1H, *J* 6.7, 6.7, 10.2, 17.1 (**H-4***); 5.61 bd, 1H, *J* 8.7 (NH^{*}); 5.47 bd, 1H, *J* 9.5 (NH^{''}); 5.35 dd, 1H, *J* 1.2, 3.4 (**H-4''**); 5.32 dd, 1H, *J* 1.2, 3.4 (**H-4'**); 5.28 dd, 1H, *J* 3.4, 11.2 (**H-3''**); 5.10 dd, 1H, *J* 3.4, 11.3 (**H-3'**); 5.05 dq, 1H, *J* 1.6, 1.6, 1.6, 17.1 (**H-5a***); 5.03 d, 1H, *J* 10.6 (CH₂Ph); 4.99 ddt, 1H, *J* 1.2, 1.2, 2.0, 10.2 (**H-5b***); 4.88 d, 1H, *J* 8.4 (**H-1'**); 4.72 d, 1H, *J* 8.4 (**H-1''**); 4.51 d, 1H, *J* 10.6 (CH₂Ph); 4.27 d, 1H, *J* 8.1 (**H-1**); 4.27 ddd, 1H, *J* 8.4, 9.5, 11.3 (**H-2'**); 4.11 d, 2H, *J* 6.8 (**H-6a'**, **H-6b'**); 4.10 dd, 1H, *J* 1.7, 10.8 (**H-6a**); 4.04 dd, 1H, *J* 7.7, 11.0 (**H-6a''**); 3.98 dt, 1H, *J* 8.5, 8.5, 11.2 (**H-2''**); 3.94 dt, 1H, *J* 6.2, 6.2, 9.5 (**H-1a***); 3.89 dd, 1H, *J* 6.0, 11.0 (**H-6b''**); 3.89 dt, 1H, *J* 1.2, 6.8, 6.8 (**H-5'**); 3.84 ddd, 1H, *J* 1.2, 6.0, 7.7 (**H-5''**); 3.70 dd, 1H, *J* 4.7, 10.8 (**H-6b**); 3.65 dd, 1H, *J* 8.4, 10.0 (**H-3**); 3.55 ddd, 1H, *J* 6.5, 7.0, 9.5 (**H-1b***); 3.46 – 3.40 m, 2H (**H-5**, **H-4**); 3.33 dd, 1H, *J* 8.1, 10.0 (**H-2**); 2.19 – 2.13 m, 2H (**H-3a***, **H-3b***); 2.14 s, 3H; 2.11 s, 3H; 2.02 s, 3H; 2.01 s, 3H; 2.00 s, 3H; 1.99 s, 3H; 1.90 s, 3H (8 \times CH₃CO); 1.78 – 1.70 m, 2H (**H-2a***, **H-2b***)

¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz): 170.72, 170.40, 170.40, 170.30, 170.26, 170.21, 170.17, 170.17 (8 \times CH₃CO), 138.16 (Ph), 137.87 (C-4*), 128.26, 127.95, 127.88 (Ph), 115.11 (C-5*), 101.76 (C-1'), 101.66 (C-1), 100.62 (C-1''), 80.77 (C-3), 75.46

(C-5), 74.58 (CH₂Ph), 74.15 (C-4), 70.73 (C-5'), 70.55 (C-5''), 70.51 (C-3'), 69.75 (C-3''), 69.43 (C-1*), 67.26 (C-6), 66.75 (C-4''), 66.46 (C-2), 66.32 (C-4'), 61.41 (C-6'), 60.79 (C-6''), 51.26 (C-2''), 51.08 (C-2'), 30.00 (C-3*), 28.68 (C-2*), 23.48, 20.67, 20.65, 20.64, 20.64, 20.64, 20.62, 20.61 (8×CH₃CO)

Pre C₄₆H₆₃N₅O₂₁ 1022.04 MS (ESI): 1044.3 (M+Na)⁺. Elementárna analýza pre C₄₆H₆₃N₅O₂₁ vypočítané: 54.06% C, 6.21% H, 6.85% N; nájdené: 53.75% C, 6.10% H, 6.59% N.

Pent-4-enyl-2-acetamido-3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-deoxy-β-D-galaktopyranozyl-(1→3)-[2-acetamido-3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-deoxy-β-D-galaktopyranozyl-(1→6)]-2-acetamido-4-*O*-benzyl-2-deoxy-β-D-glukopyranozid (69)



Roztok látky **68** (51 mg; 0.050 mmol) v CH₃COSH (1.3 ml) bol miešaný v argónovej atmosfére pri laboratórnej teplote po dobu 48 h. Po zredukovaní východiskového azidu **68** (TLC EtOAc) bola zmes odparená do sucha a zvyšok

bol chromatografovaný na stĺpci silikagélu (EtOAc → EtOAc/EtOH 3/1). Získaný *N*-acetylovaný trisacharid **69** (34 mg; 66%) bol vo forme tuhého vosku, [α]_D = -33.7 (c 0.086, MeOH).

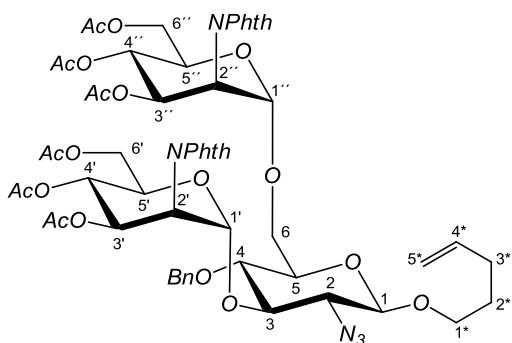
¹H NMR (CD₃OD, 500 MHz): 7.47 – 7.44 m, 2H; 7.38 – 7.34 m, 2H; 7.30 – 7.27m, 1H (Ph); 5.82 ddt, 1H, *J* 6.7, 6.7, 10.2, 17.0 (**H-4***); 5.34 dd, 1H, *J* 1.0, 3.4 (**H-4'**); 5.34 dd, 1H, *J* 1.0, 3.4 (**H-4''**); 5.30 dd, 1H, *J* 3.4, 11.3 (**H-3''**); 5.13 dd, 1H, *J* 3.4, 11.2 (**H-3'**); 5.10 d, 1H, *J* 10.4 (CH₂Ph); 5.02 ddt, 1H, *J* 1.5, 1.5, 2.1, 17.0 (**H-5a***); 4.96 ddt, 1H, *J* 1.2, 1.2, 2.1, 10.2 (**H-5b***); 4.93 d, 1H, *J* 8.2 (**H-1''**); 4.66 d, 1H, *J* 8.5 (**H-1'**); 4.53 d, 1H, *J* 10.4 (CH₂Ph); 4.28 d, 1H, *J* 8.3 (**H-1**); 4.15 dd, 1H, *J* 6.6, 11.2 (**H-6a'**); 4.12 dd, 1H, *J* 1.9, 10.6 (**H-6a**); 4.112 dd, 1H, *J* 6.6, 11.2 (**H-6b'**); 4.09 dd, 1H, *J* 6.6, 11.2 (**H-6a''**); 4.08 dd, 1H, *J* 8.5, 11.2 (**H-2'**); 4.01 t, 1H, *J* 9.7 (**H-3**); 3.99 dt, 1H, *J* 1.0, 6.6, 6.6 (**H-5'**); 3.96 dt, 1H, *J* 1.0, 6.6, 6.6 (**H-5''**); 3.96 dd, 1H, *J* 6.6, 11.2 (**H-6b''**); 3.85 dd, 1H, *J* 8.3, 9.8 (**H-2**); 3.85 dt, 1H, *J* 6.2, 6.2, 9.7 (**H-1a***); 3.85 dd, 1H, *J* 8.2, 11.3 (**H-2''**); 3.72 dd, 1H, *J* 5.6, 10.6 (**H-6b**); 3.51 ddd, 1H, *J* 1.9, 5.6, 9.8 (**H-5**); 3.44 t, 1H, *J* 9.8 (**H-4**); 3.44 ddd, 1H, *J* 6.7, 7.3, 9.7 (**H-1b***); 2.14 s, 3H (CH₃CO); 2.13 – 2.03 m, 2H (**H-3a***, **H-3b***); 2.04 s, 3H; 2.02 s, 3H; 2.02 s, 3H;

1.99 s, 3H; 1.97 s, 3H; 1.96 s, 3H; 1.95 s, 3H; 1.94 s, 3H; 1.94 s, 3H; 1.88 s, 3H (10×CH₃CO); 1.78 – 1.53 m, 2H (H-2a*, H-2b*)

¹³C NMR (CD₃OD, 125 MHz): 174.05, 173.56, 173.54, 172.13, 172.04, 172.02, 171.73 (7×CH₃CO), 140.00 (Ph), 139.38 (C-4*), 129.33, 129.30, 128.78 (Ph), 115.36 (C-5*), 102.54 (C-1'), 102.52 (C-1), 101.42 (C-1''), 80.20 (C-3), 77.71 (C-4), 75.74 (CH₂Ph), 75.43 (C-5), 71.98 (C-3'), 71.87 (C-5'), 71.48 (C-5''), 71.13 (C-3''), 69.82 (C-1*), 69.64 (C-6), 68.18 (C-4''), 67.97 (C-4'), 62.73 (C-6'), 62.27 (C-6''), 56.64 (C-2), 52.95 (C-2''), 51.71 (C-2'), 31.20 (C-3*), 30.09 (C-2*), 23.44, 23.20, 23.05, 20.63, 20.62, 20.57, 20.56 (7×CH₃CO)

Pre C₄₈H₆₇N₃O₂₂ 1038.05 MS (ESI): 1060.4 (M+Na)⁺. Elementárna analýza pre C₄₈H₆₇N₃O₂₂ vypočítané: 55.54% C, 6.51% H, 4.05% N; nájdené: 55.37% C, 6.57% H, 4.59% N.

Pent-4-enyl-3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-deoxy-2-ftalimido- α -D-manopyranozyl-(1 \rightarrow 3)-[3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-deoxy-2-ftalimido- α -D-manopyranozyl-(1 \rightarrow 6)]-2-azido-4-*O*-benzyl-2-deoxy- β -D-glukopyranozid (70**)**



K zmesi glykozyldonoru **62** (63 mg; 0.131 mmol), akceptoru **18** (23 mg; 0.064 mmol) a práškových molekulových sít 4Å miešaných v suchom Et₂O (3.2 ml) v argónovej atmosfére bol po ochladení na 0 °C pridaný MeOTf (105 μ l; 0.928 mmol).

Zmes bola voľne ohriata a miešaná 18 h pri laboratórnej teplote. Po doreagovaní (toluén/EtOAc 3/1) bol k zmesi pridaný Et₃N (0.1 ml) a po 5 min miešania bola zmes prefiltrovaná cez kremelinu, extrahovaná 1M roztokom KHSO₄ (2 ml) a vodou (2 ml) a organická vrstva bola vysušená nad MgSO₄ a odparená do sucha. Chromatografiou na silikagéli (toluén/EtOAc 10/1 \rightarrow 3/1) bol získaný produkt **70** (32 mg; 42%) ako bezfarebný sirup; [α]_D = -23.0 (*c* 0.473, CHCl₃).

¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz): 7.93 – 7.91 m, 2H; 7.83 – 7.81 m, 2H; 7.02 – 6.99 m, 2H; 6.91 – 6.87 m, 2H; 6.79 – 6.76 m, 5H (Ph); 5.81 ddt, 1H, *J* 6.7, 6.7, 10.2, 17.1 (H-4*); 5.61 t, 1H, *J* 9.0 (H-4'); 5.53 d, 1H, *J* 1.8 (H-1'); 5.51 d, 1H, *J* 5.0 (H-1''); 5.47 dd, 1H, *J* 6.4, 8.7 (H-3'); 5.40 t, 1H, *J* 4.8 (H-3''); 5.34 dd, 1H, *J* 5.1, 8.2 (H-4''); 5.04 ddt, 1H, *J* 1.6, 1.6, 2.0, 17.1 (H-5a*); 4.98 ddt, 1H, *J* 1.2, 1.2, 2.0, 10.2

(**H-5b***); 4.85 dd, 1H, *J* 1.8, 6.4 (**H-2'**); 4.85 dd, 1H, *J* 4.6, 5.0 (**H-2''**); 4.60 d, 1H, *J* 11.9 (**CH₂Ph**); 4.52 d, 1H, *J* 11.9 (**CH₂Ph**); 4.46 – 4.42 m, 1H (**H-5'**); 4.46 – 4.42 m, 1H (**H-6a'**); 4.35 dd, 1H, *J* 5.9, 12.1 (**H-6a''**); 4.27 – 4.25 m, 1H (**H-6b'**); 4.21 dd, 1H, *J* 3.1, 12.1 (**H-6b''**); 4.17 d, 1H, *J* 8.0 (**H-1**); 4.10 ddd 1H, *J* 3.1, 5.9, 8.2 (**H-5''**); 3.82 dt, 1H, *J* 6.3, 6.3, 9.6 (**H-1a***); 3.77 dd, 1H, *J* 2.6, 11.5 (**H-6a**); 3.75 dd, 1H, *J* 3.5, 11.5 (**H-6b**); 3.50 dd, 1H, *J* 9.0, 10.1 (**H-3**); 3.45 ddd, 1H, *J* 6.3, 7.1, 9.6 (**H-1b***); 3.34 dd, 1H, *J* 9.0, 9.8 (**H-4**); 3.25 ddd, 1H, *J* 2.6, 3.5, 9.8 (**H-5**); 2.71 dd, 1H, *J* 8.0, 10.1 (**H-2**); 2.17 s, 3H (**CH₃CO**); 2.17 – 2.12 m, 2H (**H-3a***, **H-3b***); 2.10s, 3H; 2.08 s, 3H; 2.08 s, 3H; 2.03 s, 3H; 1.89 s, 3H (5×**CH₃CO**); 1.73 – 1.65 m, 2H (**H-2a***, **H-2b***)

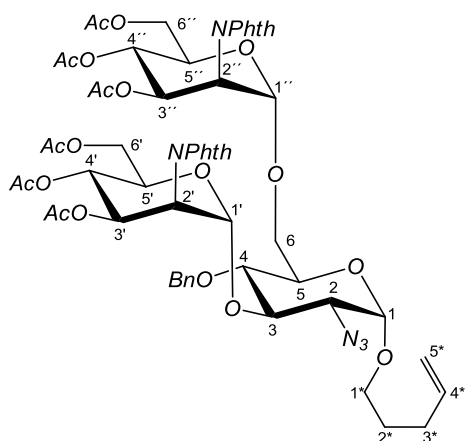
¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz): 170.93, 170.66, 170.03, 169.79, 169.74, 169.59 (6×**CH₃CO**), 167.66, 167.43 (Ph), 137.89 (**C-4***), 137.22, 134.50, 134.05, 131.40, 131.11, 127.85, 126.99, 126.00, 123.84, 123.46 (Ph), 115.03 (**C-5***), 102.14 (**C-1**), 98.42 (**C-1'**), 96.79 (**C-1''**), 78.49 (**C-4**), 77.39 (**C-3**), 74.22 (**C-5**), 74.02 (**CH₃CO**), 69.58 (**C-3''**), 69.16 (**C-1***), 69.10 (**C-5''**), 68.99 (**C-5'**), 68.90 (**C-3'**), 68.90 (**C-4''**), 66.96 (**C-4'**), 65.38 (**C-6'**), 64.41 (**C-2**), 62.63 (**C-6''**), 62.42 (**C-6'**), 51.54 (**C-2''**), 51.49 (**C-2'**), 29.97 (**C-3***), 28.63 (**C-2***), 20.87, 20.85, 20.83, 20.81, 20.72, 20.58 (6×**CH₃CO**)

Pre C₅₈H₆₃N₅O₂₃ 1198.14 MS (ESI): 1220.3 (M+Na)⁺. Elementárna analýza pre C₅₈H₆₃N₅O₂₃ vypočítané: 58.14% C, 5.30% H, 5.85% N; nájdené: 58.03% C, 5.41% H, 5.79% N.

Pent-4-enyl-3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-deoxy-2-ftalimido- α -D-manopyranozyl-(1→3)-[3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-deoxy-2-ftalimido- α -D-manopyranozyl-(1→6)]-2-azido-4-*O*-benzyl-2-deoxy- α -D-glukopyranozid (71) a pent-4-enyl-3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-deoxy-2-ftalimido- α -D-manopyranozyl-(1→6)-2-azido-4-*O*-benzyl-2-deoxy- α -D-glukopyranozid (72)

Do banky obsahujúcej donor **62** (70 mg; 0.146 mmol), akceptor **17** (24 mg; 0.065 mmol) a práškové molekulové sitá 4Å v argónovej atmosfére, bol cez septum pridaný suchý Et₂O (3.2 ml) a zmes bola miešaná 20 min pri laboratórnej teplote. Potom bola zmes vychladená na 0 °C a pri tejto teplote bol cez septum pridaný MeOTf (110 μ l; 0.97 mmol). Zmes bola miešaná vo vychladenom kúpeli, ktorého teplota voľne rástla na laboratórnu teplotu. Po 20 h zmes neobsahovala žiadnu z

východiskových látok (TLC toluén/EtOAc 3/1) a reakcia bola ukončená prídavkom Et₃N (0.12 ml). Zmes bola prefiltrovaná cez kremelinu, extrahovaná 2M roztokom KHSO₄ (2 ml) premytá vodou (5 ml) a organická vrstva bola po vysušení (MgSO₄) a odparení chromatografovaná na stĺpci silikagélu (toluén/EtOAc 5/1 → 3/1). Izolované boli dva hlavné produkty trisacharid **71** (16 mg; 21%) a disacharid **72** (20 mg; 26%), obidva vo forme bezfarebného vosku.

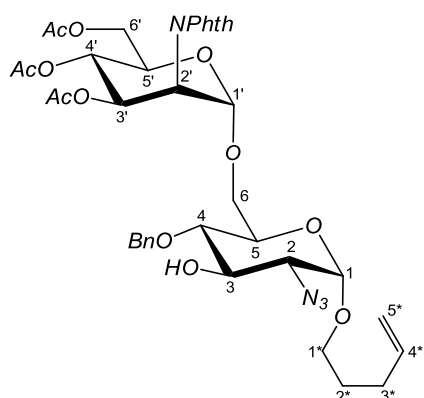


Pre **71** $[\alpha]_D = +27.6$ (*c* 0.544, CHCl₃);
¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz): 7.94 – 7.92 m, 2H; 7.85 – 7.84 m, 2H; 7.03 – 7.00 m, 2H; 6.88 – 6.85 m, 2H; 6.75 – 6.72 m, 1H (Ph); 5.76 ddt, 1H, *J* 6.6, 6.6, 10.2, 17.1 (**H-4***); 5.63 t, 1H, *J* 9.6 (**H-4'**); 5.62 d, 1H, *J* 5.4 (**H-1''**); 5.54 d, 1H, *J* 1.4 (**H-1'**); 5.48 dd, 1H, *J* 6.6, 9.5 (**H-3'**); 5.41 t, 1H, *J* 4.6 (**H-3''**);

5.30 dd, 1H, *J* 4.7, 7.9 (**H-4''**); 5.00 ddt, 1H, *J* 1.6, 1.6, 1.9, 17.1 (**H-5a***); 4.96 ddt, 1H, *J* 1.2, 1.2, 1.9, 10.2 (**H-5b***); 4.85 dd, 1H, *J* 4.4, 5.4 (**H-2''**); 4.75 dd, 1H, *J* 1.4, 6.6 (**H-2'**); 4.66 d, 1H, *J* 3.6 (**H-1**); 4.63 d, 1H, *J* 12.2 (CH₂Ph); 4.51 dd, 1H, *J* 4.6, 12.1 (**H-6a'**); 4.47 d, 1H, *J* 12.2 (CH₂Ph); 4.38 dd, 1H, *J* 6.3, 12.1 (**H-6a''**); 4.37 bddd, 1H, *J* 2.4, 4.6, 9.7 (**H-5'**); 4.28 dd, 1H, *J* 2.4, 12.1 (**H-6b''**); 4.23 dd, 1H, *J* 2.4, 12.1 (**H-6b'**); 4.14 bddd, 1H, *J* 2.4, 6.3, 7.9 (**H-5''**); 4.08 dd, 1H, *J* 8.9, 10.4 (**H-3**); 3.81 dd, 1H, *J* 3.4, 12.5 (**H-6a**); 3.73 dd, 1H, *J* 1.8, 12.5 (**H-6b**); 3.64 ddd, 1H, *J* 1.8, 3.4, 10.1 (**H-5**); 3.61 dt, 1H, *J* 6.9, 6.9, 9.7 (**H-1a***); 3.39 dt, 1H, *J* 6.2, 6.2, 9.7 (**H-1b***); 3.32 dd, 1H, *J* 8.9, 10.1 (**H-4**); 2.71 dd, 1H, *J* 3.6, 10.4 (**H-2**); 2.17 s, 3H; 2.13 s, 3H (2×CH₃CO); 2.12 – 2.07 m, 2H (**H-3a***, **H-3b***); 2.06 s, 3H; 2.05 s, 3H; 2.05 s, 3H; 1.87 s, 3H (4×CH₃CO); 1.71 – 1.61 m, 2H (**H-2a***, **H-2b***)

¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz): 171.01, 170.68, 170.01, 169.74, 169.71, 169.65 (6×CH₃CO), 167.79, 167.39 (Ph), 137.71 (**C-4***), 137.26, 134.79, 134.00, 131.35, 131.12, 127.81, 126.87, 125.76, 123.68, 123.45 (Ph), 115.16 (**C-5***), 99.10 (**C-1'**), 97.44 (**C-1**), 96.30 (**C-1''**), 79.08 (**C-4**), 75.24 (**C-3**), 73.81 (CH₂Ph), 70.39 (**C-5**), 69.70 (**C-3''**), 69.50 (**C-5''**), 69.35 (**C-5'**), 69.05 (**C-4''**), 68.63 (**C-3'**), 67.48 (**C-1***), 65.34 (**C-6**), 62.63 (**C-6'**), 62.44 (**C-6''**), 61.49 (**C-2**), 51.63 (**C-2''**), 51.54 (**C-2'**), 30.14 (**C-3***), 28.41 (**C-2***), 20.89, 20.88, 20.79, 20.79, 20.72, 20.57 (6×CH₃CO)

Pre $C_{58}H_{63}N_5O_{23}$ 1198.14 MS (ESI): 1220.3 ($M+Na$)⁺. Elementárna analýza pre $C_{58}H_{63}N_5O_{23}$ vypočítané: 58.14% C, 5.30% H, 5.85% N; nájdené: 57.91% C, 5.22% H, 5.99% N.



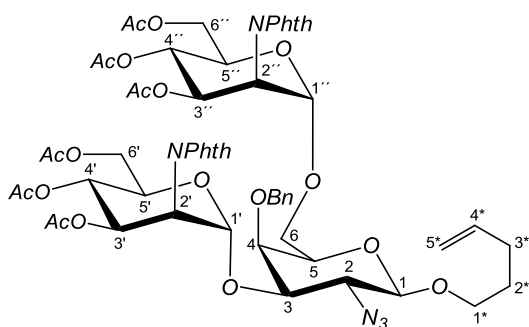
Pre **72** $[\alpha]_D = +56.6$ (c 0.491, $CHCl_3$); 1H NMR ($CDCl_3$, 500 MHz): 7.96 – 7.87 m, 2H; 7.78 – 7.74 m, 2H; 7.40 – 7.31 m, 5H (Ph); 5.76 ddt, 1H, J 6.6, 6.6, 10.2, 17.0 (**H-4***); 5.49 d, 1H, J 4.2 (**H-1'**); 5.47 dd, 1H, J 6.0, 7.9 (**H-4'**); 5.44 dd, 1H, J 4.9, 6.0 (**H-3'**); 5.00 ddt, 1H, J 1.6, 1.6, 2.0, 17.0 (**H-5a***); 4.96 ddt, 1H, J 1.2, 1.2, 2.0, 10.2 (**H-5b***); 4.90 dd, 1H, J 4.2, 4.9 (**H-2'**); 4.76 d, 1H, J 11.5 (CH_2Ph); 4.74 d, 1H, J 11.5 (CH_2Ph); 4.59 d, 1H, J 3.6 (**H-1**); 4.41 dd, 1H, J 5.9, 12.1 (**H-6a'**); 4.25 dd, 1H, J 3.1, 12.1 (**H-6b'**); 4.16 ddd, 1H, J 3.1, 5.9, 7.9 (**H-5'**); 4.00 dd, 1H, J 8.7, 10.4 (**H-3**); 3.94 dd, 1H, J 3.6, 12.1 (**H-6a**); 3.76 dd, 1H, J 1.9, 12.1 (**H-6b**); 3.68 ddd, 1H, J 1.9, 3.6, 10.0 (**H-5**); 3.61 dt, 1H, J 6.5, 6.5, 9.5 (**H-1a***); 3.37 dt, 1H, J 6.4, 6.4, 9.5 (**H-1b***); 3.35 dd, 1H, J 8.7, 10.0 (**H-4**); 2.76 dd, 1H, J 3.6, 10.4 (**H-2**); 2.17 – 2.05 m, 2H (**H-3a***, **H-3b***); 2.13 s, 3H; 2.10 s, 3H; 1.99 s, 3H ($3 \times CH_3CO$); 1.69 – 1.63 m, 2H (**H-2a***, **H-2b***)

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 125 MHz): 170.75, 169.99, 169.66 ($3 \times CH_3CO$), 167.76, 167.76, 137.90 (Ph), 137.82 (**C-4***), 134.47, 131.37, 128.68, 128.13, 127.92, 123.56 (Ph), 115.07 (**C-5***), 97.41 (**C-1**), 97.27 (**C-1'**), 78.08 (**C-4**), 71.70 (**C-3**), 70.26 (**C-5**), 69.46 (**C-3'**), 69.21 (**C-5'**), 68.44 (**C-4'**), 67.49 (CH_2Ph), 67.49 (**C-1***), 66.17 (**C-6**), 62.84 (**C-2**), 62.66 (**C-6'**), 51.56 (**C-2'**), 30.12 (**C-3***), 28.44 (**C-2***), 20.85, 20.80, 20.80 ($3 \times CH_3CO$)

Pre $C_{38}H_{44}N_4O_{14}$ 780.77 MS (ESI): 803.2 ($M+Na$)⁺. Elementárna analýza pre $C_{38}H_{44}N_4O_{14}$ vypočítané: 58.46% C, 5.68% H, 7.18% N; nájdené: 58.19% C, 5.60% H, 7.33% N.

Pent-4-enyl-3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-deoxy-2-ftalimido- α -D-manopyranozyl-(1 \rightarrow 3)-[3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-deoxy-2-ftalimido- α -D-manopyranozyl-(1 \rightarrow 6)]-2-azido-4-*O*-benzyl-2-deoxy- β -D-galaktopyranozid (73**)**

Zmes látok **62** (71 mg; 0.15 mmol), **34** (24 mg; 0.065 mmol) a práškových molekulových sít 4Å bola miešaná v suchom Et_2O (3.2 ml) v argónovej atmosfére po



dobu 20 min. Potom bola zmes ochladená na 0 °C a bol pridaný MeOTf (110 µl; 0.97 mmol). Následne bola reakčná zmes ohriata vzduchom na laboratórnu teplotu a miešaná cez noc. Reakcia bola ukončená (toluén/EtOAc 3/1, 2×) prídavkom Et₃N (0.12 ml) a po 5 min miešania bola zmes prefiltrovaná cez kremelinu, zahustená na odparke a extrahovaná medzi CHCl₃ (20 ml) a 1M vodný roztok KHSO₄ (10 ml). Organická vrstva bola premytá vodou (10 ml), vysušená nad MgSO₄ a odparená do sucha. Chromatografiou odparku (toluén/EtOAc 5/1 → 3/1) bol získaný len trisaccharid **73** (26 mg; 33%).

¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz): 7.84 – 7.81 m, 2H; 7.80 – 7.77 m, 2H; 7.74 – 7.72 m, 2H; 7.70 – 7.68 m, 2H; 7.08 – 6.99 m, 5H (Ph); 5.80 ddt, 1H, *J* 6.7, 6.7, 10.2, 17.1 (**H-4***); 5.76 d, 1H, *J* 4.3 (**H-1'**); 5.51 dd, 1H, *J* 5.5, 8.8 (**H-4'**); 5.48 dd, 1H, *J* 6.8, 8.2 (**H-4''**); 5.45 dd, 1H, *J* 4.9, 5.5 (**H-3'**); 5.41 dd, 1H, *J* 5.4, 6.8 (**H-3''**); 5.14 d, 1H, *J* 3.7 (**H-1''**); 5.03 ddt, 1H, *J* 1.6, 1.6, 2.0, 17.1 (**H-5a***); 4.97 ddt, 1H, *J* 1.2, 1.2, 2.0, 10.2 (**H-5b***); 4.93 dd, 1H, *J* 4.3, 4.9 (**H-2'**); 4.74 dd, 1H, *J* 3.7, 5.4 (**H-2''**); 4.60 d, 1H, *J* 11.3 (CH₂Ph); 4.45 dd, 1H, *J* 6.2, 12.2 (**H-6a''**); 4.45 ddd, 1H, *J* 2.8, 5.2, 8.8 (**H-5'**); 4.41 dd, 1H, *J* 5.2, 12.0 (**H-6a'**); 4.36 dd, 1H, *J* 2.8, 12.0 (**H-6b'**); 4.24 d, 1H, *J* 7.9 (**H-1**); 4.24 dd, 1H, *J* 3.2, 12.2 (**H-6b''**); 4.21 d, 1H, *J* 11.3 (CH₂Ph); 4.14 ddd, 1H, *J* 3.2, 6.2, 8.2 (**H-5''**); 3.88 dt, 1H, *J* 6.3, 6.3, 9.4 (**H-1a***); 3.81 dd, 1H, *J* 6.0, 9.6 (**H-6a**); 3.76 dd, 1H, *J* 7.9, 10.7 (**H-2**); 3.75 dd, 1H, *J* 1.0, 2.8 (**H-4**); 3.69 dd, 1H, *J* 2.8, 10.7 (**H-3**); 3.54 dt, 1H, *J* 1.0, 6.0, 6.1 (**H-5**); 3.50 ddd, *J* 6.3, 7.3, 9.4 (**H-1b***); 3.49 dd, 1H, *J* 6.1, 9.6 (**H-6b**); 2.18 s, 3H (CH₃CO); 2.17 – 2.09 m, 2H (**H-3a***, **H-3b***); 2.13 s, 3H; 2.08 s, 3H; 2.07 s, 3H; 1.98 s, 3H; 1.93 s, 3H (5×CH₃CO); 1.77 – 1.67 m, 2H (**H-2a***, **H-2b***)

¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz): 170.77, 170.71, 169.93, 169.79, 169.78, 169.62 (6×CH₃CO), 167.81, 167.74 (Ph), 137.92 (**C-4***), 137.54, 134.35, 131.26, 131.15, 128.05, 127.36, 127.22, 123.61, 123.55 (Ph), 114.99 (**C-5***), 102.59 (**C-1**), 96.41 (**C-1''**), 93.73 (**C-1'**), 76.10 (**C-3**), 74.98 (CH₂Ph), 72.78 (**C-5**), 72.54 (**C-4**), 69.78 (**C-3'**), 69.44 (**C-5''**), 69.36 (**C-1***), 69.26 (**C-3''**), 68.82 (**C-5'**), 68.43 (**C-4'**), 67.78 (**C-4''**), 66.30 (**C-6**), 62.69 (**C-6'**), 62.24 (**C-6''**), 62.12 (**C-2**), 51.75 (**C-2'**), 51.50 (**C-2''**), 29.96 (**C-3***), 28.65 (**C-2***), 20.86, 20.85, 20.79, 20.73, 20.70, 20.66 (6×CH₃CO)

Pre $C_{58}H_{63}N_5O_{23}$ 1198.14 MS (ESI): 1220.3 (M+Na)⁺. Elementárna analýza pre $C_{58}H_{63}N_5O_{23}$ vypočítané: 58.14% C, 5.30% H, 5.85% N; nájdené: 58.35% C, 5.24% H, 5.60% N.

Izomerizácia epoxidov v zásaditom vodnom roztoku sledovaná pomocou ¹H NMR

Každý z epoxidov **45-51** (~5 mg; 0.035 mmol) bol rozpustený v D₂O (0.5 ml) a bolo zmerané jeho ¹H NMR spektrum (viď Tabuľky A a B v prílohe). Potom bol k jednotlivým roztokom pridaný 10%ný NaOD (1 kvapka) a zmes bola ponechaná pri laboratórnej teplote. Pomocou opakovaných ¹H NMR meraní bolo sledované dosiahnutie a zloženie rovnovážneho stavu zmesi. U dvojice látok **45** a **47** bola rovnováha dosiahnutá už po 1 h, zloženie izomérov v zmesi bolo **45/47** = 3/197. Epoxidy **46** a **48** dosiahli rovnovážny stav po 48 h, ich zastúpenie v zmesi bolo **46/48** = 17/83. U ostatných látok nebol pozorovaný priebeh izomerizácie ani vznik vedľajších produktov.

Epoxidová migrácia 1,6:2,3-dianhydro-β-D-talopyranózy (22**) v zásaditom vodnom roztoku**

K epoxidu **22** (200 mg, 1.39 mmol) rozpustenom v D₂O (4.3 ml) bol pridaný 30%-ný roztok NaOD (0.6 ml) a reakčná zmes bola ponechaná bez miešania 12 dní pri laboratórnej teplote. Roztok bol potom neutralizovaný vychladenou 1M HCl (2.5 ml, do pH 8) a CH₃COOH (1 kvapka, do dosiahnutia pH 7) a lyofilizovaný. Extrakt z CDCl₃ bol použitý k určeniu zloženia reakčnej zmesi pomocou NMR merania. Výsledné zastúpenie látok bolo v pomere **22/52** = 40/60.

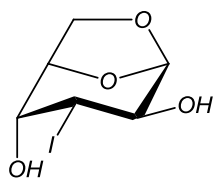
Izomerizácia epoxidov pomocou NaI, všeobecný postup

Roztok epoxidu a NaI v *d*₆-acetóne (prípadne v suchom acetóne), zatavený v sklenenej ampule, bol po určitú dobu zahrievaný na 100 °C. Potom bola reakčná zmes ochladená na laboratórnu teplotu a jej zloženie bolo stanovené pomocou NMR merania. V prípade, kedy nebolo použité deuterované rozpúšťadlo, bol suchý acetón najprv vákuovo odparený.

Izomerizácia 1,6:2,3-dianhydro-β-D-manopyranózy (45**)**

Epoxid **45**¹²⁵ (8.8 mg, 0.06 mmol) a NaI (16.4 mg, 0.11 mmol) v suchom acetóne (0.4 ml); zahrievané 1 h. Stanovené zloženie reakčnej zmesi bolo **45/47/57** = 26/66/8.

1,6-Anhydro-3-jód-3-deoxy- β -D-altropyranóza (57)



$^1\text{H NMR}$ $[(\text{CD}_3)_2\text{CO}, 500 \text{ MHz}]$: 5.35 s, 1H, J 1.6 (H-1); 4.61 ddd, 1H, J 0.9, 2.5, 5.4 (H-5); 4.36 dd, 1H, J 4.1, 10.3 (H-3); 3.97 dd, 1H, J 2.5, 4.1 (H-4); 3.915 m, 1H, J 0.9, 8.1 (H-6a); 3.88 dd, 1H, J 1.6, 10.3 (H-2); 3.73 dd, 1H, J 5.4, 8.1 (H-6b)

$^{13}\text{C NMR}$ $[(\text{CD}_3)_2\text{CO}, 125 \text{ MHz}]$: 103.40 (C-1), 77.19 (C-5), 74.20 (C-2), 72.19 (C-4), 66.64 (C-6), 36.85 (C-3). NMR určené zo zmesi.

Izomerizácia 1,6:3,4-dianhydro- β -D-galaktopyranózy (46)

Epoxid **46**¹²⁸ (7.9 mg, 0.05 mmol) a NaI (12.1 mg, 0.08 mmol) v suchom acetóne (0.8 ml). Aj po 24 h zahrievaní obsahovala reakčná zmes iba východiskovú látku **46**.

Izomerizácia 1,6:2,3-dianhydro- β -D-gulopyranózy (48)

Epoxid **48**¹²⁸ (8.3 mg, 0.06 mmol) a NaI (16 mg, 0.08 mmol) v d_6 -acetóne (0.8 ml). Počas 4 dní zahrievania nebol pozorovaný priebeh žiadnej reakcie.

Izomerizácia 1,6:2,3-dianhydro- β -D-alopyranózy (49)

Epoxid **49**¹⁵⁹ (7.6 mg, 0.05 mmol) a NaI (11.8 mg, 0.08 mmol) v d_6 -acetóne (0.8 ml); zahrievané 24 h. Stanovené zloženie reakčnej zmesi bolo **49/50** = 24/76.

Izomerizácia 1,6:3,4-dianhydro- β -D-alopyranózy (50)

Epoxid **66**¹⁵⁹ (25.5 mg, 0.177 mmol) a NaI (39.6 mg, 0.264 mmol) v suchom acetóne (2.5 ml); zahrievané 48 h. Stanovené zloženie reakčnej zmesi bolo **49/50** = 24/76.

Izomerizácia 1,6:2,3-dianhydro- β -D-talopyranózy (22)

Epoxid **22** (10.5 mg, 0.07 mmol) a NaI (16.8 mg, 0.11 mmol) v d_6 -acetóne (1.1 ml). Stanovené zloženie reakčnej zmesi po 8 dňoch zahrievania bolo **22/51/53** = 53/42/5; po 19 dňoch zahrievania bolo **22/51/53/neidentifikovateľné produkty** = 15/10/67/8.

Izomerizácia 1,6:3,4-dianhydro- β -D-talopyranózy (51)

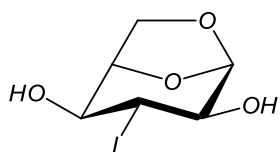
Epoxid **51**^{112,148} (9.6 mg, 0.07 mmol) a NaI (14.9 mg, 0.1 mmol) v d_6 -acetóne (1.1 ml). Stanovené zloženie reakčnej zmesi bolo **22/51/53/neidentifikovateľný produkt** = 11/79/7/3 po 8 dňoch zahrievania; **22/51/53/neidentifikovateľný produkt** = 15/45/32/8 po 19 dňoch zahrievania.

Príprava 1,6-anhydro-3-deoxy-3-jód- β -D-hexopyranóz. Všeobecný postup

K roztoku dianhydrohexopyranózy v suchom dioxáne bol pridaný 9%ný roztok HI v CHCl_3 a reakčná zmes bola ponechaná bez miešania po určitú dobu pri laboratórnej teplote. Potom bola zmes nariedená DCM (20 ml), extrahovaná vodou (3×20 ml) a vodná vrstva bola odparená. Odparok bol následne chromatografovaný na stĺpci silikagélu (toluén/EtOAc 3/1).

1,6-Anhydro-3-deoxy-3-jód- β -D-idopyranóza (53) a 1,6-anhydro-2-deoxy-2-jód- β -D-galaktopyranóza (55)

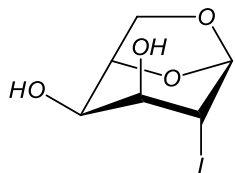
3-Jódderivát **53** bol pripravený z *talo*-epoxidu **22** (0.5 g, 3.5 mmol) reakciou s HI (3.9 ml) v dioxáne (20 ml) podľa všeobecného návodu (reakčná doba: cez noc). Reakčná zmes obsahovala 3-jódderivát **53**, 2-jódderivát **55** a východiskový epoxid **22** v pomere 58/24/18. Chromatografiou bola získaná nedeliteľná zmes látok **22/55** (45/55; 200 mg) a izolovaný produkt **53** (150 mg; 16%).



Pre **53** t.t. 125-126 °C; $[\alpha]_D = -73$ (*c* 0.35, MeOH); $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz): 5.24 d, 1H, *J* 1.5 (**H-1**); 4.41 ddd, 1H, *J* 0.5, 4.1, 5.0 (**H-5**); 4.13 m, 1H, *J* 0.8, 3.2, 4.1, 9.0 (**H-4**); 4.06 dd, 1H, *J* 0.5, 8.1 (**H-6a**); 3.83 bdt, 1H, *J* 1.5, 7.3, 9.0 (**H-2**); 3.80 t, 1H, *J* 9.0 (**H-3**); 3.75 m, 1H, *J* 0.8, 5.0, 8.1 (**H-6b**); 2.36 d, 1H, *J* 3.2 (4-OH); 2.08 d, 1H, *J* 7.3 (2-OH)

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 125 MHz): 101.00 (**C-1**), 76.96 (**C-2**), 75.07 (**C-5**), 73.96 (**C-4**), 64.79 (**C-6**), 38.05 (**C-3**)

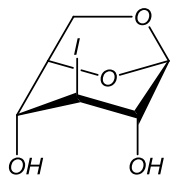
Elementárna analýza pre $\text{C}_6\text{H}_9\text{IO}_4$ (271.96) vypočítané: 26.49% C, 3.33% H, 46.65% I; nájdené: 26.57% C, 3.34% H, 46.36% I.



Pre **55** $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz): 5.61 dt, 1H, *J* 0.4, 0.4, 1.3, 1.4 (**H-1**); 4.48 tm, 1H, *J* 0.4, 0.7, 0.7, 1.2, 4.8 (**H-5**); 4.37 bm, 1H, *J* 0.6, 1.1, 4.2, 5.0, 8.8 (**H-4**); 4.36 dm, 1H, *J* 0.7, 7.8 (**H-6a**); 4.29 tm, 1H, *J* 1.2, 1.3, 1.4, 5.0, 7.5 (**H-3**); 4.25 m, 1H, *J* 0.6, 0.7, 1.4, 1.4 (**H-2**); 3.73 dddd, 1H, *J* 0.4, 1.1, 4.8, 7.8 (**H-6b**); 2.99 d, 1H, *J* 8.8 (4-OH); 2.94 d, 1H, *J* 7.5 (3-OH)

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 125 MHz): 102.03 (**C-1**), 75.50 (**C-5**), 73.74 (**C-3**), 65.21 (**C-6**), 62.73 (**C-4**), 27.38 (**C-3**). NMR určené zo zmesi.

1,6-Anhydro-3-deoxy-3-jód- β -D-glukopyranóza (54)



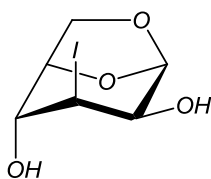
Bola pripravená z *allo*-epoxidu **49** (0.2 g, 1.4 mmol) v dioxáne (10 ml) a roztoku HI (1.4 ml) podľa všeobecného návodu (reakčná doba: 10 min). Látka **54** (0.33 g; 89%) bola získaná vo forme bezfarebného oleja; $[\alpha]_D = -64$ (*c* 0.15, H₂O).

¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz): 5.48 m, 1H, *J* 0.3, 0.3, 0.5, 0.6, 1.2, 1.8 (**H-1**); 4.58 m, 1H, *J* 0.3, 0.5, 0.9, 1.6, 1.9, 5.4, (**H-5**); 4.48 ddd, 1H, *J* 0.3, 0.9, 8.0 (**H-6a**); 4.12 m, 1H, *J* 0.6, 1.0, 1.9, 2.6 (**H-4**); 4.07 m, 1H, *J* 0.5, 1.0, 1.8, 2.4 (**H-2**); 4.04 m, 1H, *J* 1.2, 1.6, 2.4, 2.6 (**H-3**); 3.85 ddd, 1H, *J* 0.5, 5.4, 8.0 (**H-6b**); 2.90 bs, 1H, (4-OH); 2.90 bs, 1H, (2-OH)

¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz): 101.90 (**C-1**), 77.07 (**C-5**), 73.78 (**C-2**), 73.31 (**C-4**), 66.38 (**C-6**), 22.77 (**C-3**)

Elementárna analýza pre C₆H₉IO₄ (271.96) vypočítané: 26.49% C, 3.33% H, 46.65% I; nájdené: 26.54% C, 3.64% H, 46.29% I.

1,6-Anhydro-3-deoxy-3-jód- β -D-manopyranóza (56)



Bola pripravená reakciou *altro*-epoxidu **47**¹²⁵ (0.2 g, 1.4 mmol) a roztoku HI (1.4 ml) v dioxáne (10 ml) podľa všeobecného návodu (reakčná doba: 10 min). Výťažok reakcie bol 0.37 g (97%); t.t. 128.5-130.5 °C; $[\alpha]_D = -121$ (*c* 0.36, H₂O).

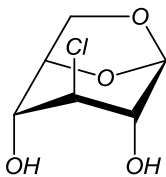
¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz): 5.43 m, 1H, *J* 0.3, 0.4, 0.5, 1.0, 2.2 (**H-1**); 4.55 dddd, 1H, *J* 1.0, 1.6, 2.4, 6.1 (**H-3**); 4.53 m, 1H, *J* 0.8, 1.9, 5.4 (**H-5**); 4.51 dd, 1H, *J* 0.8, 8.1 (**H-6a**); 4.38 m, 0.5, 0.9, 1.9, 2.4, 9.0 (**H-4**); 3.87 ddd, 1H, *J* 0.4, 5.4, 8.1 (**H-6b**); 3.15 dddd, 1H, *J* 0.9, 2.2, 6.1, 11.4 (**H-2**); 2.80 d, 1H, *J* 9.0 (4-OH); 2.32 d, 1H, *J* 11.4 (2-OH)

¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz): 101.66 (**C-1**), 76.93 (**C-5**), 74.73 (**C-4**), 67.00 (**C-6**), 65.43 (**C-2**), 34.74 (**C-3**)

Elementárna analýza pre C₆H₉IO₄ (271.96) vypočítané: 26.49% C, 3.33% H, 46.65% I; nájdené: 26.75% C, 3.41% H, 46.35% I.

1,6-Anhydro-3-deoxy-3-chlór- β -D-glukopyranóza (58)

K *allo*-epoxidu **49** (29 mg, 0.2 mmol) rozpustenom v suchom dioxáne (1.5 ml) bol pridaný roztok HCl v dioxáne (0.2 ml, 5.18 M). Reakčná zmes bola ponechaná bez



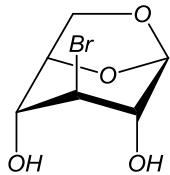
miešania pri laboratórnej teplote 20 h. Po odparení rozpúšťadla bol zvyšok nariadený CHCl_3 (10 ml), extrahovaný vodou (3×10 ml) a odparením vodnej vrstvy bol získaný 3-chlóorderivát **58** (27 mg, 75%) ako pevná biela látka; t.t. 49-51 °C; $[\alpha]_{\text{D}} = -83$ (c 0.336, H_2O).

$^1\text{H NMR}$ [$(\text{CD}_3)_2\text{CO}$, 500 MHz]: 5.32 bs, 1H, J 0.3, 0.8, 1.0 (**H-1**); 4.55 dq, 1H, J 1.0, 1.1, 1.6, 5.5 (**H-5**); 4.09 dd, 1H, J 1.0, 7.7 (**H-6a**); 3.81 m, 1H, J 0.8, 1.6, 4.2 (**H-4**); 3.81 m, 1H, J 0.8, 1.0, 4.0 (**H-2**); 3.70 ddd, 1H, J 0.3, 5.5, 7.7 (**H-6b**); 3.63 m, 1H, J 0.8, 1.1, 4.0, 4.2 (**H-3**)

$^{13}\text{C NMR}$ [$(\text{CD}_3)_2\text{CO}$, 125 MHz]: 103.68 (**C-1**), 78.28 (**C-5**), 74.32 (**C-2**), 74.03 (**C-4**), 66.93 (**C-6**), 62.27 (**C-3**)

Elementárna analýza pre $\text{C}_6\text{H}_9\text{ClO}_4$ (180.02) vypočítané: 39.91% C, 5.02% H, 19.63% Cl; nájdené: 39.98% C, 5.13% H, 19.70% Cl.

1,6-Anhydro-3-bróm-3-deoxy- β -D-glukopyranóza (**59**)



K roztoku *allo*-epoxidu **49** (29 mg, 0.2 mmol) v suchom dioxáne (1.5 ml) bol pridaný nasýtený roztok HBr v DCM (0.1 ml) a reakčná zmes bola ponechaná bez miešania 16 h pri laboratórnej teplote.

Keďže bola pomocou TLC zistená prítomnosť zvyškového epoxidu **49**, boli do reakčnej zmesi vždy po 5 h pridané dodatočné dávky HBr v DCM (2×0.1 ml). Reakcia bola ukončená napriek tomu že zmes ešte stále obsahovala stopy východiskovej látky. Po odparení rozpúšťadla bol odparok rozpustený v DCM (10 ml) a extrahovaný vodou (3×10 ml). Vodná vrstva bola vákuovo zahustená a chromatografovaná na stĺpci silikagélu (toluén/EtOAc 2/1). Získaná látka **59** (17 mg; 38%) bola vo forme bezfarebného sirupu; $[\alpha]_{\text{D}} = -54$ (c 0.286, H_2O).

$^1\text{H NMR}$ [$(\text{CD}_3)_2\text{CO}$, 500 MHz]: 5.32 bs, 1H, J 0.5, 0.8, 1.2 (**H-1**); 4.55 dq, 1H, J 0.9, 1.0, 1.45, 5.4 (**H-5**); 4.13 dd, 1H, J 1.0, 7.6 (**H-6a**); 3.94 ddd, 1H, J 0.5, 1.45, 4.8 (**H-4**); 3.84 tt, 1H, J 0.8, 0.9, 4.65, 4.8 (**H-3**); 3.77 dm, 1H, J 0.5, 1.2, 4.65 (**H-2**); 3.70 ddd, 1H, J 0.5, 5.4, 7.6 (**H-6b**)

$^{13}\text{C NMR}$ [$(\text{CD}_3)_2\text{CO}$, 125 MHz]: 103.88 (**C-1**), 78.66 (**C-5**), 75.14 (**C-2**), 74.62 (**C-4**), 67.32 (**C-6**), 53.95 (**C-3**)

Elementárna analýza pre $\text{C}_6\text{H}_9\text{BrO}_4$ (223.97) vypočítané: 32.02% C, 4.03% H, 35.51% Br; nájdené: 33.15% C, 4.33% H, 34.02% Br.

Prevedenie jódderivátov na epoxidy

Každý z jódderivátov **54**, **55** (nerozdelená zmes s epoxidom **22**) a **56** (~5 mg; 0.018 mmol) bol rozpustený v D₂O (0.5 ml) a bolo zmerané jeho ¹H NMR spektrum (viď Tabuľky A a B v prílohe). U látky **53** bol miesto D₂O použitý (CD₃)₂CO. Potom bol k jednotlivým roztokom pridaný 10%ný NaOD (1 kvapka) a zmes bola ponechaná pri laboratórnej teplote. Po 48 h bolo pomocou opätovného zmerania ¹H NMR spektra stanovené zloženie reakčnej zmesi. Reakciou jódderivátu **53** vznikla zmes epoxidov **22/51** v pomere 20/80, podobne derivát **54** poskytol zmes izomérov **49/50** = 21/79. V ¹H NMR spektrách zlúčenín **55**, **56** a **57** bola po 48 h pozorovaná prítomnosť iba jednej látky: jódderivát **55** poskytol výlučne epoxid **22**, oba deriváty **56** a **57** konvertovali na epoxid **47**.

TABUĽKA A

Chemické posuny protónov pre látky 22 a 45 - 59

Látka	Rozp.	H-1	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6en	H-6ex	OH
45	D ₂ O	5.83	3.64	3.24	4.06	4.52	3.74	3.74	--
	(CD ₃) ₂ CO	5.67	3.44	3.085	3.93	4.43	3.64	3.60	
46	D ₂ O	5.29	3.83	3.24	3.82	5.03	3.98	3.55	--
	(CD ₃) ₂ CO	5.11	3.64	3.035	3.63	4.895	3.87	3.43	2-OH: 4.60
47	D ₂ O	5.365	3.90	3.12	3.45	4.87	4.17	3.885	--
	(CD ₃) ₂ CO	5.21	3.67	2.88	3.20	4.71	4.07	3.78	2-OH: 4.04
48	D ₂ O	5.70	3.26	3.21	4.25	4.51	4.16	3.85	--
	(CD ₃) ₂ CO	5.51	2.95	3.01	4.175	4.41	4.14	3.68	4-OH: 4.90
49	D ₂ O	5.71	3.285	3.50	3.90	4.47	3.805	3.92	--
	(CD ₃) ₂ CO	5.61	3.16	3.45	3.93	4.46	3.805	3.87	
50	D ₂ O	5.255	3.74	3.43	3.47	4.86	4.09	3.78	--
	(CD ₃) ₂ CO	5.18	3.68	3.35	3.43	4.81	4.06	3.73	
22	D ₂ O	5.81	3.76	3.45	4.35	4.53	3.99	3.63	--
	(CD ₃) ₂ CO	5.625	3.535	3.24	4.24	4.38	4.05	3.465	
51	D ₂ O	5.35	3.96	3.43	3.94	5.01	3.96	3.58	--
	(CD ₃) ₂ CO	5.26	3.87	3.33	3.86	4.95	3.94	3.48	
52	CDCl ₃	5.59	4.16	2.95	--	4.50	3.97	3.94	2-OH: 2.07
				2.31					
53	CDCl ₃	5.24	3.83	3.80	4.13	4.41	4.06	3.75	2-OH: 2.08; 4-OH: 2.36
	D ₂ O	5.27	3.88	3.77	4.14	4.485	4.055	3.76	--
54	CDCl ₃	5.48	4.07	4.04	4.12	4.58	4.48	3.85	2-OH: 2.90; 4-OH: 2.90
	D ₂ O	5.47	4.035	3.87	4.17	4.65	4.28	3.81	--
	(CD ₃) ₂ CO	5.37	4.05	4.08	4.19	4.62	4.37	3.72	
55	CDCl ₃	5.61	4.25	4.29	4.37	4.48	4.36	3.73	3-OH: 2.94; 4-OH: 2.99
	D ₂ O	5.70	4.26	4.38	4.41	4.53	4.47	3.74	--
56	CDCl ₃	5.43	3.15	4.55	4.38	4.53	4.51	3.87	2-OH: 2.32; 4-OH: 2.80
	D ₂ O	5.45	3.33	4.455	4.54	4.63	4.58	3.86	--
57	(CD ₃) ₂ CO	5.35	3.88	4.36	3.97	4.61	3.915	3.73	
58	(CD ₃) ₂ CO	5.32	3.81	3.63	3.81	4.55	4.09	3.70	
59	(CD ₃) ₂ CO	5.32	3.77	3.84	3.94	4.55	4.13	3.70	

TABUĽKA B

Interakčné konštanty látok 22 a 45 - 59

Látka	Rozp.	6en,6ex	1,2	2,3	3,4	4,5	5,6en	5,6ex	1,3	1,5	1,6en	1,6ex	2,4	3,5	4,6ex
45 ^a	D ₂ O	^a	3.2	3.9	0.8	1.3	<i>i</i>	<i>i</i>			0.6	0.6	0.85	1.6	
	(CD ₃) ₂ CO	7.1	3.2	3.8	0.7	1.2	2.15	6.6			0.5	0.4	0.9	1.5	
46 ^b	D ₂ O	7.0	1.1	0.7	4.15	5.0	0.7	4.8	1.6		0.5	0.5	0.9	0.7	
	(CD ₃) ₂ CO	6.4	1.0	≤0.5	4.3	5.0	0.8	4.9	1.5		0.5	0.5	0.9	≤0.5	
47 ^c	D ₂ O	7.8	3.05	0	4.1	1.7	0.8	4.6	2.3	0.6		<0.3	0.9	0.7	
	(CD ₃) ₂ CO	7.4	3.1	0	4.0	1.6	0.7	4.5	2.3	0.55	≤0.5		1.0	0.7	
48	D ₂ O	8.5	1.2	4.0	0	5.25	2.1	6.3	0.7	0.4	0.65	<0.3	1.0	2.1	0.8
	(CD ₃) ₂ CO	7.9	1.0	3.9	0	5.3	2.1	6.2	0.6	0.4	0.6	~0.3	1.0	2.1	0.8
49	D ₂ O	8.45	1.3	4.15	4.9	1.0	2.3	6.8	0.7		0.55	0.45		2.0	
	(CD ₃) ₂ CO	8.2	1.3	4.0	4.8	1.1	2.4	6.7	0.75		0.5	0.5		1.9	
50	D ₂ O	7.7	0.9	4.5	4.3	1.8	0.7	4.6	2.1	0.6	<0.3	<0.3		0.8	
	(CD ₃) ₂ CO	7.5	0.7	4.8	4.1	1.7	0.7	4.5	2.1		~0.4	~0.4		0.75	0.4
22	D ₂ O	7.6	3.0	4.25	3.1	6.2	1.65	6.2			0.5	0.5		1.0	0.6
	(CD ₃) ₂ CO	6.9	3.0	4.1	3.0	6.0	1.7	6.2			0.6	0.6		1.0	0.6
51	D ₂ O	7.0	3.8	3.5	4.5	4.7	0.75	4.9	1.2		0.5	0.6			
	(CD ₃) ₂ CO	6.6	3.8	3.5	4.35	4.7	0.7	4.7	1.2			0.6			
52 ^d	CDCl ₃	8.4	2.8	7.0; 7.7	--	--	1.5	4.9	1.0	0.4				1.6	
53 ^e	CDCl ₃	8.1	1.5	9.0	9.0	4.1	0.5	5.0							0.8
	D ₂ O	8.3	1.8	9.7	9.95	4.1	1.0	5.0				0.3			1.0
54 ^f	CDCl ₃	8.0	1.8	2.4	2.6	1.9	0.9	5.4	1.2	0.3	0.3	0.5	1.0	1.6	
	D ₂ O	8.1	1.2	4.6	4.6	1.5	1.1	5.55	0.9		0.3	0.5		1.0	
	(CD ₃) ₂ CO	7.9	1.6	3.3	3.3	1.75	1.0	5.4	1.0			0.5	0.8	1.3	
55 ^g	CDCl ₃	7.8	1.4	1.4	5.0	4.2	0.7	4.8	1.3	0.4		0.4	0.6	1.2	1.1
	D ₂ O	7.7	1.5	1.3	4.8	4.0	0.7	5.2	1.2		0.4	0.5	0.5	1.3	1.2
56 ^h	CDCl ₃	8.1	2.2	6.1	2.4	1.9	0.8	5.4	1.0	0.3		0.4	0.9	1.6	
	D ₂ O	8.3	1.95	6.35	1.9	1.8	0.9	5.6	1.0			0.3	0.9	1.5	
57	(CD ₃) ₂ CO	8.1	1.6	10.3	4.1	2.5	0.9	5.4							
58	(CD ₃) ₂ CO	7.7	1.0	4.0	4.2	1.6	1.0	5.5	0.8			0.3	0.8	1.1	
59	(CD ₃) ₂ CO	7.6	1.2	4.65	4.8	1.45	1.0	5.4	0.8			0.5	0.5	0.9	

^a J(1,4) = 0.7;

^b J(2,OH) = 6.6;

^c J(2,OH) = 9.3;

^d J(2,OH) = 9.9, J(3eq,3ax) = 17.2;

^e J(2,OH) = 7.3, J(4,OH) = 3.2;

^f J(1,4) = 0.6, J(2,5) = 0.5;

^g J(3,OH) = 7.5, J(4,OH) = 8.8, J(2,5) = 0.7;

^h J(2,OH) = 11.4, J(4,OH) = 9.0, J(1,4) = 0.5;

ⁱ interakčné konštanty neboli odčítané.

TABUĽKA C
Chemické posuny uhlíkov C-13 pre látky **46**, **47** a **52 - 59**

Látka	Rozpúšťadlo	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6
46	(CD ₃) ₂ CO	101.82	66.68	50.60	53.34	72.59	65.01
47	(CD ₃) ₂ CO	100.38	66.62	51.81	50.75	70.60	57.80
52	CDCl ₃	101.33	69.56	43.15	202.52	77.93	66.77
53	CDCl ₃	101.00	76.96	38.05	73.96	75.07	64.79
54	CDCl ₃	101.90	73.78	22.77	73.31	77.07	66.38
	(CD ₃) ₂ CO	103.82	74.93	26.64	74.18	79.11	67.77
55	CDCl ₃	102.03	27.38	73.74	62.73	75.50	65.21
56	CDCl ₃	101.66	65.43	34.74	74.73	76.93	67.00
57	(CD ₃) ₂ CO	103.40	74.20	36.85	72.19	77.19	66.64
58	(CD ₃) ₂ CO	103.68	74.32	62.27	74.03	78.28	66.93
59	(CD ₃) ₂ CO	103.88	75.14	53.95	74.62	78.66	67.32

TABUĽKA D

Vypočítané hodnoty voľnej energie OH-rotamérov a zloženie rovnovážnych zmesí epoxidových dvojíc **45–47**, **46–48**, **49–50** a **22–51**

Látka	Energia [kcal/mol]			Gibbsova energia [Hartree]			Zloženie rovnovážnej zmesi [%]						
	(MM+) ^a			(DFT, B3LYP/6-31g**) ^a			Kalk. MM+			Kalk. DFT			NMR
	OH (g ₊)	OH (g ₋)	OH (t)	OH (g ₊)	OH (g ₋)	OH (t)	A)	B)	C)	A)	B)	C)	D)
45	<u>167.088</u>	<u>167.294</u>	167.159	-534.161630	<u>-534.166011</u>	-534.161470	27	27	26	0	0	1	1.5
47	<u>166.504</u>	<u>166.719</u>	166.534	-534.165140	<u>-534.171119</u>	-534.166076	73	73	74	100	100	99	98.5
46	<u>168.038</u>	<u>167.686</u>	167.798	<u>-534.168413</u>	-534.164789	-534.164922	7	8	7	78	69	15	17
48	<u>167.038</u>	<u>166.162</u>	166.271	<u>-534.165339</u>	<u>-534.167230</u>	-534.166656	93	92	93	22	31	85	83
49	<u>165.784</u>	<u>165.986</u>	165.843	→	<u>-534.170598</u>	-534.161334	67	70	69	17	17	8	26
50	<u>166.591</u>	<u>166.210</u>	166.328	<u>-534.172103</u>	←	-534.163649	33	30	31	83	83	92	74
22	<u>168.559</u>	<u>167.791</u>	167.917	<u>-534.165614</u>	-534.163138	-534.161894	66	60	62	1	1	46	20^b
51	<u>168.177</u>	<u>168.369</u>	168.219	-534.161716	<u>-534.170322</u>	-534.162035	34	40	38	99	99	54	80^b

^a Hodnoty energie rotamérov s najnižšou energiou sú napísané tučne. Podčiarknuté sú hodnoty energie rotamérov, ktoré môžu tvoriť intramolekulárne vodíkové väzby.

^b Pomer izomérov bol získaný reakciou jódo derivátu **53** s NaOD v acetóne (viď Schéma 23).

E) Vypočítané z rozdielu energií rotamérov s najnižšou energiou;

F) vypočítané z rozdielu energií a zastúpenia všetkých striedavých OH-rotamérov;

G) vypočítané z rozdielu energií *trans*-OH rotamérov;

H) stanovené z ¹H NMR spektier rovnovážnych zmesí epoxidov v roztoku D₂O + NaOD.

TABUĽKA E

Rovnováha medzi stoličkovou a vaničkovou konformáciou pyranózového kruhu u 1,6-anhydro-3-deoxy-3-halogén- β -D-gluko-pyranóz **54**, **58** - **60** stanovená na základe $^3J(\text{H,H})$.

Látka	Halogén	Konf.	Vypočítané hodnoty J^a		Pozorované hodnoty J			Stoličková konformácia [%]	
			$J(2,3)$ [Hz]	$J(3,4)$ [Hz]	Rozp.	$J(2,3)$ [Hz]	$J(3,4)$ [Hz]	Kalk. z $J(2,3)$	Kalk. z $J(3,4)$
60	F	1C_4	1.53	1.48	(CD ₃) ₂ CO	1.7	1.7	97	96
		$B_{0,3}$	7.15	7.36					
58	Cl	1C_4	1.41	1.39	(CD ₃) ₂ CO	4.0	4.2	63	61
		$B_{0,3}$	8.51	8.64					
59	Br	1C_4	1.31	1.30	(CD ₃) ₂ CO	4.65	4.8	56	55
		$B_{0,3}$	8.90	9.02					
54	I	1C_4	1.14	1.14	CDCl ₃	2.4	2.6	85	83
		$B_{0,3}$	(CD ₃) ₂ CO	3.3	3.3	74	74		
			D ₂ O	4.6	4.6	59	59		

^a Torzné uhly pre stoličkovú ($\angle(\text{H}_2, \text{H}_3) = -79^\circ$, $\angle(\text{H}_3, \text{H}_4) = 80^\circ$) a vaničkovú konformáciu ($\angle(\text{H}_2, \text{H}_3) = -161^\circ$, $\angle(\text{H}_3, \text{H}_4) = 164^\circ$) boli použité z referencie 133. Interakčné konštanty pre stoličkovú aj vaničkovú konformáciu boli vypočítané dosadením do Karplusovej rovnice.¹³²

TABUĽKA F

Vypočítané hodnoty energie OH-rotamérov a zastúpenie stoličkovej a vaničkovej konformácie v rovnovážnej zmesi u jednotlivých halogén derivátov (DFT B3LYP/6-311+g** použité pre látky **58** - **60** a B3LYP/3-21g** pre látku **54**)

2-OH,4-OH rotamér	60		58		59		54	
	stolička	vanička	stolička	vanička	stolička	vanička	stolička	vanička
g_+, g_+	-634.948869	-634.945085	-995.302580	-995.300645	-3109.222748	-3109.221339	-7422.660917	-7422.653111
g_+, t	^a	-634.945249	^a	^a	^a	^a	^a	-7422.652199
g_+, g_-	-634.941297	-634.947029	-995.294831	-995.303101	-3109.215068	-3109.223779	-7422.641019	-7422.654292
t, g_+	-634.948629	^a	-995.301845	^a	-3109.221821	^a	-7422.660250	^a
t, t	^a	^a	^a	^a	^a	^a	^a	^a
t, g_-	^a	^a	^a	^a	^a	^a	^a	^a
g_-, g_+	^a	-634.940961	^a	-995.295677	^a	-3109.216184	-7422.664019	-7422.649316
g_-, t	-634.948966	-634.942111	-995.302194	^a	-3109.222171	^a	^a	^a
g_-, g_-	-634.949258	-634.944072	-995.302912	-995.299725	-3109.223059	-3109.220383	-7422.661081	-7422.652368
Zloženie vypočítané z ΔG	96 %	4 %	65 %	35 %	50 %	50 %	100 %	0 %
Zloženie vypočítané z hodnôt J	96.5 %	3.5 %	62 %	38 %	55.5 %	44.5 %	74 %	26 %

^a Minimum energie pre dané rotaméry nebolo nájdené a optimalizácia vyústila do geometrie zhodnej s ďalším striedavým rotamérom.

6 Záver

Predložená dizertačná práca sa zaoberá prípravou sacharidových jednotiek D-hexóزامínového typu s *gluko-*, *galakto-* a *mano-*konfiguráciou, a ich následným použitím v syntéze vetvených homo- a heterooligosacharidov.

Prvá časť práce (kap. 4.1.1) je venovaná príprave vhodne chránených monosacharidových jednotiek odvodených od D-glukóزامínu a D-galaktóزامínu. Príprava 2-amino-2-deoxysacharidov **7** a **27**, ako navrhnutých syntónov pre syntézu stavebných blokov, bola založená na *trans*-diaxiálnom otvorení oxiránového kruhu 1,6:2,3-dianhydrocukrov azidovým iónom. Z týchto syntónov boli následne pripravené glykozylodonory (**15** a **31**) ako aj glykozylakceptory (**10**, **17**, **18**, **33**, **34**), vhodné pre syntézu diantenárnych trisacharidov. U kľúčových glykozylakceptorov bola do anomérnej polohy zavedená *n*-pentenylová chrániaca skupina, ktorá môže byť neskôr použitá ako prekursor pri tvorbe bifunkčného ramienka, slúžiaceho k pripojeniu oligosacharidového zvyšku na príslušný biologický nosič. Najefektívnejšou metódou prípravy 4-pentenylglykozidov sa ukázal byť dvojkrokový postup pomocou dehydratívnej glykozylácie, ktorý poskytoval vyššie výťažky ako priama transformácia z 1-*O*-acetátov či syntéza cez trichloracetimidátové medziprodukty. Ďalej bola vypracovaná syntéza stavebných jednotiek **37β** a **42**, určených pre prípravu vetvených tetrasacharidov. Na týchto látkach bola tiež overená možnosť transformácie dvojnej väzby *n*-pentenylového zvyšku na karbonylovú funkčnú skupinu. Ozonolýzou v MeOH boli pripravené jak aldehydy **39** a **44**, tak aj dimetylacetály **38** a **43** ako ich chránené, ľahko skladovateľné formy.

Druhá časť práce (kap. 4.1.2) sa zaoberá štúdiom epoxidovej migrácie a *pseudo*-migrácie 1,6;2,3- a 1,6;3,4-dianhydrosacharidov **22** a **45-51** a porovnaním experimentálne získaných výsledkov s teoretickými výpočtami. Popísané sú podmienky a priebeh izomerizácie u oboch typov α -hydroxy epoxidov (s -OH skupinou v *cis* resp. *trans* polohe voči oxiránovému kruhu), a taktiež príprava 3-jódderivátov **53**, **54** a **56** a ich použitie pri dôkaze navrhnutého mechanizmu epoxidovej *pseudo*-migrácie. Rovnako sú tu diskutované možné príčiny v rozdielnej rýchlosti ustáľovania rovnovážneho stavu medzi *allo*- **49**, **50** a *talo*-epoxidmi **22** a **51**. Pripravené boli aj 3-halogenderiváty **58** a **59**, u ktorých bol spolu s látkami **54** a **60** sledovaný vplyv typu substituenta v polohe C-3 na celkovú konformáciu

pyranózového kruhu. Na základe rozdielu medzi pozorovanými a očakávanými hodnotami interakčných konštánt bolo vypočítané zastúpenie stoličkovej formy, ktoré klesá s rastúcim objemom halogénového substituenta, s výnimkou 3-jódderivátu **54**.

V poslednej časti práce (kap. 4.2) je popísaná syntéza vetvených homo- a heterooligosacharidov **65**, **66**, **69**, **70**, **71** a **73**, zložených z D-glukózamínových, D-galaktózamínových a D-manózamínových jednotiek. Trisacharid **65**, obsahujúci 1,2-*cis*-glykozidické väzby, bol pripravený pomocou trichlóracetimidátovej glykozylačnej metódy. Pre tvorbu oligosacharidov s 1,2-*trans*-glykozidickými väzbami bola zase využitá participácia ftalimidovej skupiny v polohe C-2 etyltioglykozidov, riadiaca glykozylačný proces požadovaným smerom. Príprava potrebných glykozyl donorov s *galakto-* **61** a *mano-*konfiguráciou **62**, bola riešená známymi postupmi podľa literatúry²⁹ (kap. 4.1.3).

Výsledky dosiahnuté v tejto práci otvorili cestu k príprave ucelenej rady diantenárnych sacharidových epitopov D-hexózamínového typu, nesúcich na redukujúcom konci molekúl cez linker aldehydovú funkčnú skupinu. Tá umožňuje ich naviazanie na dendrimérne a nanoštrukturované systémy za podmienok oxímovej ligačnej techniky. Diantenárne trisacharidy uvedeného typu predstavujú jednak potenciálne ligandy aktivačných receptorov NK buniek a antigénreprezentujúcich buniek, ako aj molekulárne vektory pre smerovanie terapeutického karga k cieľovej bunke alebo tkanivu.

7 Literatúra

-
- ¹ Langenhan J. M., Thorson J. S.: *Curr. Org. Synth.* **2005**, 2, 59-81.
- ² Lemieux R. U., Takeda T., Chung B. Y.: *ACS Symp. Ser.* **1976**, 39, 90-115.
- ³ Fisher E., Fisher H.: *Chem. Ber.* **1910**, 2521-2536.
- ⁴ Chervin S. M., Abada P., Koreeda M.: *Org. Lett.* **2000**, 2, 369-372.
- ⁵ Shimizu M., Togo H., Yokoyama M.: *Synthesis* **1998**, 6, 799-822.
- ⁶ Toshima K.: *Carbohydr. Res.* **2000**, 327, 15-26.
- ⁷ Lemieux R. U., Hendriks K. B., Stick R. V., James K.: *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, 97, 4056-4062.
- ⁸ Kartha K. P. R., Aloui M., Field R. A.: *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37, 8807-8810.
- ⁹ Hadd M. J., Gervay J.: *Carbohydr. Res.* **1999**, 320, 61-69.
- ¹⁰ van Well R. M., Kartha K. P. R., Field R. A.: *J. Carbohydr. Chem.* **2005**, 24, 463-474.
- ¹¹ Meloncelli P. J., Martin A. D., Lowary T. L.: *Carbohydr. Res.* **2009**, 344, 1110-1122.
- ¹² Zhu X., Schmidt R. R.: *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, 48 (11), 1900-1934.
- ¹³ Mukaiyama T., Kobashi Y.: *Chem. Lett.* **2004**, 33, 10-11.
- ¹⁴ Schmidt R. R., Kinzy W.: *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1994**, 50, 21-123.
- ¹⁵ Schmidt R. R., Jung K.-H. in Hanessian S. (Ed.): *Preparative Carbohydrate Chemistry*, Marcel Dekker, **1997**, pp. 283-312.
- ¹⁶ Garegg P. J.: *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1997**, 52, 179-205.
- ¹⁷ Oscarson S. in Ernst B., Hart G. W., Sinay P. (Ed.): *Carbohydrates in Chemistry and Biology*, Wiley-VCH, **2008**, pp. 93-116.
- ¹⁸ Cao S., Hernández-Matéó F., Roy R.: *J. Carbohydr. Chem.* **1998**, 17, 609-631.
- ¹⁹ Mootoo D. R., Date V., Fraser-Reid B.: *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, 110, 2662-2663.
- ²⁰ Krag J., Christiansen M. S., Petersen J. G., Jensen H. J.: *Carbohydr. Res.* **2010**, 345, 872-879.
- ²¹ Buskas T., Söderberg E., Konradsson P., Fraser-Reid B.: *J. Org. Chem.* **2000**, 65, 958-963.
- ²² Fraser-Reid B., Mootoo D. R., Konradsson P., Udodong U. E., Andrews C. W., Ratcliffe A. J., Wu Z., Yu K. L.: *Pure & Appl. Chem.* **1989**, 61 (7), 1243-1256.
- ²³ Mootoo D. R., Konradsson P., Udodong U., Fraser-Reid B.: *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, 110, 5583-5584.
- ²⁴ Fraser-Reid B., López J. C., Gómez A. M., Uriel C.: *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, 7, 1387-1395.
- ²⁵ Fraser-Reid B., Wu Z., Andrews C. W., Skowronski E., Bowen J. P.: *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, 113, 1434-1435.
- ²⁶ Boltje T. J., Buskas T., Boons G. J.: *Nat. Chem.* **2009**, 1, 611-622.

-
- ²⁷ Crich D., Cai W., Dai Z.: *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 1291-1297.
- ²⁸ Manabe S., Ito Y.: *Current Bioactive Compounds* **2008**, *4*, 258-281.
- ²⁹ Veselý J., Ledvina M., Jindřich J., Šaman D., Trnka T.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* **2003**, *68*, 1264-1274.
- ³⁰ Briner K., Vasella A.: *Helv. Chim. Acta* **1992**, *75* (2), 621-637.
- ³¹ Pornsuriyasak P., Demchenko A. V.: *Tetrahedron Asymm.* **2005**, *16*, 433-439.
- ³² Gin D.: *J. Carbohydr. Chem.* **2002**, *21*, 645-665.
- ³³ Danishefsky S. J., Bilodeau M. T.: *Angew. Chem. Int. Ed.* **1996**, *35* (13-14), 1380-1419.
- ³⁴ Priebe W., Fokt I., Gryniewicz G. in Fraser-Reid B., Tatsuta K., Thiem J. (Eds): *Glycoscience*, Springer-Verlag, **2008**, pp. 700-735.
- ³⁵ Dwek R. A.: *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 683-720.
- ³⁶ Herzner H., Reipen T., Schultz M., Kunz H.: *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 4495-4537.
- ³⁷ Rai R., McAlexander I., Chang C.-W. T.: *Org. Prep. Proced. Int.* **2005**, *37*, 337-375.
- ³⁸ Casu B.: *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1985**, *43*, 51-134.
- ³⁹ Varki A.: *Glycobiology* **1993**, *3*, 97-130.
- ⁴⁰ Schauer R.: *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1982**, *40*, 131-234.
- ⁴¹ Hakomori S.: *Annu. Rev. Immunol.* **1984**, *2*, 103-126.
- ⁴² Shibuya N., Goldstein I. J., Broekaert W. I., Nsimba-Lubaki M., Peeters B., Peumans W. J.: *J. Biol. Chem.* **1987**, *262*, 1596-1601.
- ⁴³ Feizi T.: *Trends Biochem. Sci.* **1981**, *6*, 333-335.
- ⁴⁴ Krist P., Herkommerová-Rajnochová E., Rauvolfová J., Semeňuk T., Vavrušková P., Pavlíček J., Bezouška K., Petruš L., Křen V.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2001**, *287*, 11-20.
- ⁴⁵ Kovalová A., Ledvina M., Šaman D., Zyka D., Křen V., Bezouška K. a další: *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 4050-4065.
- ⁴⁶ Bezouška K., Yuen C. T., O'Brien J., Childs R. A., Chai W. G., Lawson A. M., Drbal K., Fišerová A., Pospíšil M., Feizi T.: *Nature* **1994**, *372*, 150-157.
- ⁴⁷ Lemieux R. U., Ratcliffe R. M.: *Can. J. Chem.* **1979**, *57* (10), 1244-1251.
- ⁴⁸ Trehanovsky W. S., Robbins M. D.: *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, *93* (20), 5256-5258.
- ⁴⁹ Paulsen H., Rauwald W., Weichert U.: *Liebigs Ann. Chem.* **1988**, *1*, 75-86.
- ⁵⁰ Hansson J., Garegg P. J., Oscarson S.: *J. Org. Chem.* **2001**, *66* (19), 6234-6243.
- ⁵¹ de Oliveira R. N., Cottier L., Sinou D., Srivastava R. M.: *Tetrahedron* **2005**, *61* (34), 8271-8281.
- ⁵² Fan R.-H., Achkar J., Hernández-Torres J. M., Wei A.: *Org. Lett.* **2005**, *7*, 5095-5098.
- ⁵³ Svarovsky S. A., Barchi Jr. J. J.: *Carbohydr. Res.* **2003**, *338*, 1925-1935.
- ⁵⁴ Czernecki S., Ayadi E., Randriamandimby D.: *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 8256-8260.

-
- ⁵⁵ Mironov Y. V., Sherman A. A., Nifantiev N. E.: *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 9107-9110.
- ⁵⁶ Lemieux R. U., Nagabhushan T. L., O'Neill I. K.: *Tetrahedron Lett.* **1964**, *5*, 1909-1916.
- ⁵⁷ Lemieux R. U., Nagabhushan T. L., O'Neill I. K.: *Can. J. Chem.* **1968**, *46*, 413-418.
- ⁵⁸ Das J., Schmidt R. R.: *Eur. J. Org. Chem.* **1998**, *8*, 1609-1613.
- ⁵⁹ Barroca N., Schmidt R. R.: *Org. Lett.* **2004**, *6*, 1551-1554.
- ⁶⁰ Di Bussolo V., Liu J, Huffman L. G., Jr., Gin D. Y.: *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 204-207.
- ⁶¹ Napr. Kloosterman M., de Nijs M. P., van Boom J. H.: *J. Carbohydr. Chem.* **1986**, *5*, 215-233.
- ⁶² Napr. Popelová A., Kefurt K., Hlaváčková M., Moravcová J.: *Carbohydr. Res.* **2005**, *340*, 161-166.
- ⁶³ Napr. Lu J., Jayaprakash K. N., Schlueter U., Fraser-Reid B.: *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 7540-7547.
- ⁶⁴ Černý M., Večerková H., Černý I., Pacák J.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1980**, *45*, 1837-1844.
- ⁶⁵ Karban J., Buděšínský M., Černý M., Trnka T.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* **2001**, *66* (5), 799-819.
- ⁶⁶ Černý M., Staněk J.: *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1977**, *34*, 23-178.
- ⁶⁷ Černý M.: *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **2003**, *58*, 121-198.
- ⁶⁸ Arndt S., Hsieh-Wilson L. C.: *Org. Lett.* **2003**, *5* (22), 4179-4182.
- ⁶⁹ Kulkarni S. S., Lee J.-C., Hung S.-C.: *Curr. Org. Chem.* **2004**, *8* (6), 475-509.
- ⁷⁰ Wang L. X., Sakairi N., Kuzuhara H.: *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1990**, 1677-1682.
- ⁷¹ Ganguli A. R. S., Coward J. K.: *Tetrahedron: Asymm.* **2005**, *16*, 411-424.
- ⁷² Lee R. T., Lee Y. C.: *Carbohydr. Res.* **1974**, *37*, 193-201.
- ⁷³ Salo W. L., Fletcher H. G., Jr.: *J. Org. Chem.* **1969**, *34* (10), 3189-3191.
- ⁷⁴ Wittmann V., Lennartz D.: *Eur. J. Org. Chem.* **2002**, *8*, 1363-1367.
- ⁷⁵ Kiso M., Anderson L.: *Carbohydr. Res.* **1985**, *136*, 309-323.
- ⁷⁶ Bongat A. F. G., Demchenko A. V.: *Carbohydr. Res.* **2007**, *342*, 374-406.
- ⁷⁷ Heyns K., Harrison R., Paulsen H.: *Chem. Ber.* **1967**, *100*, 271-279.
- ⁷⁸ Hashimoto S., Honda T., Ikegami S.: *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 1653-1654.
- ⁷⁹ Melean L. G., Love K. R., Seeberger P. H.: *Carbohydr. Res.* **2002**, *337*, 1893-1916.
- ⁸⁰ Boullanger P., Jouineau M., Bouammali B., Lafont D., Descotes G.: *Carbohydr. Res.* **1990**, *202*, 151-164.
- ⁸¹ Boullanger P., Banoub J., Descotes G.: *Can. J. Chem.* **1987**, *65*, 1343-1348.
- ⁸² Lafont D., Bouchu M.-N., Girard-Egrot A., Boullanger P.: *Carbohydr. Res.* **2001**, *336*, 181-194.

-
- ⁸³ Schultz M., Kunz H.: *Tetrahedron Lett.* **1992**, 33, 5319-5322.
- ⁸⁴ Kovalová A.: *Disertační práce*, UK, **2006**.
- ⁸⁵ Ma Z., Zhang J., Kong F.: *Carbohydr. Res.* **2004**, 339, 43-49.
- ⁸⁶ Gründler G., Schmidt R. R.: *Carbohydr. Res.* **1985**, 135, 203-218.
- ⁸⁷ Chernyak A., Oscarson S., Turek D.: *Carbohydr. Res.* **2000**, 329, 309-316.
- ⁸⁸ Mehta S., Pinto B. M.: *J. Org. Chem.* **1993**, 58, 3269-3276.
- ⁸⁹ Debenham J. S., Debenham S. D., Fraser-Reid B.: *Bioorg. Med. Chem.* **1996**, 4 (11), 1909-1918.
- ⁹⁰ Nilsson U., Magnusson G.: *Carbohydr. Res.* **1995**, 272, 9-16.
- ⁹¹ Dasgupta F., Garegg P. J.: *J. Carbohydr. Chem.* **1988**, 7, 701-707.
- ⁹² Olsson L., Kelberlau S., Jia Z. J., Fraser-Reid B.: *Carbohydr. Res.* **1998**, 314, 273-276.
- ⁹³ Paulsen H.: *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1982**, 21, 155-173.
- ⁹⁴ Zyka D.: *Disertační práce*, UK, **2000**.
- ⁹⁵ Veselý J.: *Disertační práce*, UK, **2005**.
- ⁹⁶ Veselý J., Rohlenová A., Džoganová M., Trnka T., Tišlerová I., Šaman D., Ledvina M.: *Synthesis* **2006**, 4, 699-705.
- ⁹⁷ DeNinno M. P., Etienne J. B., Duplantier K. C.: *Tetrahedron Lett.* **1995**, 36 (5), 669-672.
- ⁹⁸ Nilsson M., Norberg T.: *J. Carbohydr. Chem.* **1990**, 9, 1-14.
- ⁹⁹ Ghosh M., Dulina R. G., Kakarla R., Sofia M. J.: *J. Org. Chem.* **2000**, 65, 8387-8390.
- ¹⁰⁰ Černý M., Kalvoda L., Pacák J.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1968**, 33, 1143-1156.
- ¹⁰¹ Černý M., Gut V., Pacák J.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1961**, 26, 2542-2550.
- ¹⁰² Sowell C. G., Livesay M. T., Johnson D. A.: *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37 (5), 609-610.
- ¹⁰³ Buskas T., Garegg P. J., Konradsson P., Maloisel J.-L.: *Tetrahedron: Assym.* **1994**, 5 (11), 2187-2194.
- ¹⁰⁴ Sim M. M., Kondo H., Wong C.-H.: *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115 (6), 2260-2267.
- ¹⁰⁵ Nicolaou K. C., Pfefferkorn J. A., Roecker A. J., Cao G.-Q., Barluenga S., Mitchell H. J.: *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122 (41), 9939-9953.
- ¹⁰⁶ Cook B. N., Bhakta S., Biegel T., Bowman K. G., Armstrong J. I., Hemmerich S., Bertozzi C. R.: *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122 (36), 8612-8622.
- ¹⁰⁷ Lohman G. J. S., Seeberger P. H.: *J. Org. Chem.* **2004**, 69 (12), 4081-4093.
- ¹⁰⁸ Jacquinet J.-C.: *Carbohydr. Res.* **1990**, 199 (2), 153-181.
- ¹⁰⁹ Iyer S. S., Rele S. M., Baskaran S., Chaikof E. L.: *Tetrahedron* **2003**, 59 (5), 631-638.
- ¹¹⁰ Codée J. D. C., Hossain L. H., Seeberger P. H.: *Org. Lett.* **2005**, 7 (15), 3251-3254.
- ¹¹¹ Bouali A., Boullanger P., Lafont D., Fenet B.: *Carbohydr. Res.* **1992**, 228 (1), 81-93.
- ¹¹² Hann R. M., Hudson C. S.: *J. Am. Chem. Soc.* **1942**, 64 (10), 2435-2438.
- ¹¹³ Hann R. M., Hudson C. S.: *J. Am. Chem. Soc.* **1946**, 68 (9), 1867.

-
- ¹¹⁴ Kanai K., Sakamoto I., Ogawa S., Suami T.: *Bull. Chem. Soc. Japan.* **1987**, *60*, 1529-1531.
- ¹¹⁵ Chini M., Crotti P., Macchia F.: *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31* (32), 4661-4664.
- ¹¹⁶ Chini M., Crotti P., Macchia F.: *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31* (39), 5641-5644.
- ¹¹⁷ van der Klein P. A. M., Filemon W., Veeneman G. H., van der Marel G. A., van Boom J. H.: *J. Carbohydr. Chem.* **1992**, *11* (7), 837-848.
- ¹¹⁸ Deng S., Gangadharmath U., Chang C.-W. T.: *J. Org. Chem* **2006**, *71* (14), 5179-5185.
- ¹¹⁹ de Paz J.-L., Ojeda R., Barrientos Á. G., Penadés S., Martín-Lomas M.: *Tetrahedron: Asymm.* **2005**, *16*, 149-158.
- ¹²⁰ Newth F. H.: *J. Chem. Soc.* **1956**, 441-447.
- ¹²¹ Newth F. H.: *Quart. Rev.* **1959**, *13*, 30-47.
- ¹²² Payne G. B.: *J. Org. Chem.* **1962**, *27*, 3819-3822.
- ¹²³ Behrens C. H., Ko S. Y., Sharpless K. B., Walker F. J.: *J. Org. Chem.* **1985**, *50*, 5687-5696.
- ¹²⁴ Hanson R. N.: *Org. React.* **2002**, *60*, 1-156.
- ¹²⁵ Černý M., Pacák J., Staněk J.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1965**, *30*, 1151-1157.
- ¹²⁶ Staněk J. jr., Černý M.: *Synthesis* **1972**, *12*, 698-699.
- ¹²⁷ Trnka T., Černý M.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1971**, *36*, 2216-2225.
- ¹²⁸ Černý M., Buben I., Pacák J.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1963**, *28*, 1569-1578.
- ¹²⁹ Elbert T., Černý M., Defaye J.: *Carbohydr. Res.* **1979**, *76*, 109-119; vid' str. 112.
- ¹³⁰ Rennecke R.-W., Eberstein K., Köll P.: *Chem. Ber.* **1975**, *108*, 3652-3655.
- ¹³¹ Džoganová M., Černý M., Buděšínský M., Dračínský M., Trnka T.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* **2006**, *71* (10), 1497-1515.
- ¹³² Haasnoot C. A. G., de Leeuw F. A. A. M., Altona C.: *Tetrahedron* **1980**, *36*, 2783-2792.
- ¹³³ Grindley T. B., Cude A., Kralovic J., Thangarasa R. in Witczak Z. J. (Ed.): *Frontiers in Biomedicine and Biotechnology*, ATL Press, New York, **1994**, pp.147-164.
- ¹³⁴ Crich D., Dudkin V.: *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 6819-6825.
- ¹³⁵ Ágoston K., Kekékgyártó J., Hajkó J., Batta G., Lefebvre D. J., Kamerling J. P., Vliegthart F. G.: *Chem. Eur. J.* **2002**, *8* (1), 151-161.
- ¹³⁶ Garegg P. J., Maloisel J.-L., Oscarson S.: *Synthesis* **1995**, *4*, 409-414.
- ¹³⁷ Fowler P., Bernet B., Vasella A.: *Helv. Chim. Acta* **1996**, *79*, 269-287.
- ¹³⁸ Vasella A., Witzig C.: *Helv. Chim. Acta* **1995**, *78*, 1971-1982.
- ¹³⁹ Buchanan J. G., Schwarz J. C. P.: *J. Chem. Soc.* **1962**, 4770-4777.
- ¹⁴⁰ Hofman-Bang N.: *Acta Chem. Scand.* **1957**, *11* (3), 581-582.
- ¹⁴¹ Krohn K., Gehle D., Flörke U.: *Eur. J. Org. Chem.* **2005**, *13*, 2841-2848.

-
- ¹⁴² Grindley T. B., Reimer G. J., Kralovec J., Brown R. G., Anderson M.: *Can. J. Chem.* **1987**, *65*, 1065-1071.
- ¹⁴³ Rasmussen T. S., Jensen H. H.: *Org. Biomol. Chem.* **2010**, *8*, 433-441.
- ¹⁴⁴ Xue J., Guo Z.: *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42* (37), 6487-6489.
- ¹⁴⁵ Heseck D., Lee M., Zhang W., Noll B. C., Mobashery S.: *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 5187-5193.
- ¹⁴⁶ Paulsen H., Stenzel W.: *Chem. Ber.* **1978**, *111*, 2334-2347.
- ¹⁴⁷ Paulsen H., Richter A., Sinnwell V., Stenzel W.: *Carbohydr. Res.* **1978**, *64*, 339-364.
- ¹⁴⁸ James S. P., Smith F., Stacey M., Wiggins L. F.: *J. Chem. Soc.* **1946**, 625-628.
- ¹⁴⁹ Buděšínský M., Černý M., Trnka T., Vašíčková S.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1979**, *44*, 1965-1983.
- ¹⁵⁰ Paulsen H., Kolář Č., Stenzel W.: *Chem. Ber.* **1978**, *111*, 2358-2369.
- ¹⁵¹ Oberdorfer F., Haeckel R., Lauer G.: *Synthesis* **1998**, *2*, 201-206.
- ¹⁵² Naoyuki I., Yoshihide T., Shigeru O., Takeshi S.: *Bull. Chem. Soc. Japan* **2004**, *77* (6), 1181-1186.
- ¹⁵³ Allen J. R., Harris C. R., Danishefsky S. J.: *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 1890-1897.
- ¹⁵⁴ Lagnoux D., Darbre T., Schmitz M. L., Reymond J.-L.: *Chem. Eur. J.* **2005**, *11* (13), 3941-3950.
- ¹⁵⁵ Ojeda R., de Paz J. L., Barrientos Á. G., Martín-Lomas M., Penadés S.: *Carbohydr. Res.* **2007**, *342*, 448-459.
- ¹⁵⁶ Traar P., Belaj F., Francesconi K. A.: *Austr. J. Chem.* **2004**, *57* (11), 1051-1053.
- ¹⁵⁷ Kretschmar G., Stahl W.: *Tetrahedron* **1998**, *54*, 6341-6358.
- ¹⁵⁸ Cai Y., Ling C.-C., Bundle D. R.: *Org. Lett.* **2005**, *7* (18), 4021-4024.
- ¹⁵⁹ Černý M., Trnka T., Beran P., Pacák J.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1969**, *34*, 3377-3380.