

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

Přírodovědecká fakulta

Katedra organické a jaderné chemie

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Praha 2006

Klára Jenišťová

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

Přírodovědecká fakulta

Katedra organické a jaderné chemie

Příprava fluoro amino derivátů 1,6-anhydrohexos

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Praha 2006Klára Jeništová

Prohlašuji, že jsem předkládanou práci vypracovala samostatně pod odborným vedením svého školitele RNDr. Jiřího Kroutila, Ph.D. na katedře organické a jaderné chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v letech 2003 - 2006 a řádně citovala všechny literární prameny v práci uvedené.

.....*Klára Jenišťová*.....

V Praze dne 22. 3. 2006

Ráda bych na tomto místě poděkovala svému školiteli a vedoucímu diplomové práce RNDr. Jiřímu Kroutilovi, Ph.D. za zájem, připomínky a čas, který mně a mé práci věnoval. Také bych zde ráda poděkovala svým rodičům a bratrovi za finanční a hlavně psychickou podporu.

Dále pak mé poděkování patří Mgr. I. Tišlerové za měření NMR spekter, RNDr. M. Buděšínskému, CSc. za měření elementárních analýz, Mgr. B. Šperlichové za měření optických rotací a také celému kolektivu katedry organické a jaderné chemie, zvláště pak spolupracovníkům z laboratoře č. 132, za příjemné pracovní prostředí.

OBSAH

1. Seznam zkratek a symbolů.....	7
2. Úvod.....	8
3. Cíl práce.....	9
4. Teoretická část.....	10
4.1 <i>Obecná část.....</i>	10
4.2 <i>Využití modifikovaných struktur.....</i>	11
4.3 <i>Způsob zavedení atomu fluoru do molekuly.....</i>	12
4.4 <i>Reakce s DAST.....</i>	14
4.5 <i>Reakce s KHF₂.....</i>	15
4.6 <i>Fůrstovo-Plattnerovo pravidlo.....</i>	16
4.7 <i>NMR spektroskopie.....</i>	18
5. Experimentální část.....	20
5.1 <i>Obecná část.....</i>	20
5.2 <i>Příprava výchozích látek.....</i>	21
5.3 <i>Příprava fluorovaných derivátů.....</i>	35
5.3.1 <i>Reakce s DAST (CH₂Cl₂).....</i>	35
5.3.2 <i>Reakce s KHF₂.....</i>	42
5.3.2.1 <i>Působením H₂SO₄ (CH₂Cl₂).....</i>	42
5.3.2.2 <i>Působením H₂SO₄ (HOCH₂CH₂OH).....</i>	46
5.3.2.3 <i>Působením C₆H₅NCH₃ OTs.....</i>	48
5.3.2.4 <i>Působením C₅H₅NCH₃ OTs a Bu₄N[Ph₃SnF₂].....</i>	49
5.3.2.5 <i>Působením C₅H₅NCH₃ OTs a Bu₄N[Ph₃SnF₂] v závislosti na teplotě (studium teplotní závislosti).....</i>	54
5.4 <i>Denosylace fluorovaného derivátu.....</i>	57

6. Výsledky a diskuse	58
6.1 <i>Příprava výchozích látek</i>	58
6.1.1 <i>Příprava 1,6:3,4-dianhydro-β-D-allopyranosy</i>	58
6.1.2 <i>Příprava 1,6:2,3-dianhydro-β-D-allopyranosy</i>	59
6.1.3 <i>Příprava epiminů Mitsunobuovou reakcí</i>	59
6.1.4 <i>Příprava epiminů reductivní cyklizací azidotosylátů</i>	61
6.1.5 <i>Příprava nosylepiminů</i>	63
6.2 <i>Příprava fluorovaných derivátů</i>	64
6.2.1 <i>Reakce s DAST (CH₂Cl₂)</i>	64
6.2.2 <i>Reakce s KHF₂</i>	67
6.2.2.1 <i>Působením kyseliny sírové v dichlormethanu</i>	67
6.2.2.2 <i>Působením kyseliny sírové v ethylenglykolu</i>	69
6.2.2.3 <i>Reakce v prostředí C₆H₅ N⁺CH₃⁻OTs</i>	72
6.2.2.4 <i>Reakce v prostředí C₆H₅ N⁺CH₃⁻OTs a Bu₄N[Ph₃SnF₂]</i>	73
6.2.2.5 <i>Reakce v prostředí C₆H₅ N⁺CH₃⁻OTs a Bu₄N[Ph₃SnF₂] v závislosti na teplotě (studium teplotní závislosti)</i>	77
6.3 <i>Denosylace fluorovaného derivátu</i>	81
7. Závěr	84
8. Seznam použité literatury	86
9. Přílohy	90
<i>Příloha 1</i>	90
<i>Příloha 2</i>	91
10. Klíčová slova a abstrakt	94
11. Keywords and abstrakt	96

1. SEZNAM ZKRATEK A SYMBOLŮ

Ac	acetyl
Bn	benzyl
Nu	nukleofil
Ph	fenyl
Ns	2-nitrobenzensulfonyl (nosyl) 4 – methylbenzensulfonyl (p – toluensulfonyl,
Ts	tosyl)
Ms	methansulfonyl (mesyl)
DIAD	diisopropylazodikarboxylát
TPP	trifenylfosfin
THF	tetrahydrofuran
LAH	lithiumaluminiumhydrid
DMF	N,N - dimethylformamid
py	pyridin
DAST	(diethylamino)sulfur trifluorid
VRO	vakuová rotační odparka
Slouč. označené arabskými čísl. 1 – 37	sloučeniny, které jsem si připravila sama
Slouč. označené římskými čísl. i - xiii	sloučeniny, které mi byly poskytnuty školitelem

2. ÚVOD

Různorodé deriváty 1,6-anhydro- β -D-hexopyranos jsou pro své vlastnosti, kterými jsou vysoká chemická a teplotní stabilita skeletu a fixovaná konformace šestičlenného kruhu (jež se může vyskytovat ve dvou formách a to v židličkové konformaci, nebo vaničkové konformaci), využívány při sledování struktury a reaktivity reaktantu a dále také jako meziprodukty při přípravě širokého spektra organických látek. Od chvíle, kdy se na epiminy začalo dívat jako na případné výchozí sloučeniny pro syntézu chirálních přírodních i umělých aminosloučenin, byly vyhledávány reakce stericky rigidních *N*-benzyl- a *N*-tosylepimino derivátů 1,6-anhydro- β -D-hexopyranos.

Jednou z nejdůležitějších a zcela jistě v dnešní době i jednou z více detailně studovaných tříd sloučenin jsou epiminoderiváty 1,6-anhydro- β -D-hexopyranos, které v molekule obsahují aziridinový kruh. Obecně platí, že aziridiny jsou tříčlenné nasycené cyklické látky, obsahující dva atomy uhlíku a jeden heteroatom, kterým je v tomto případě atom dusíku. Přítomnost tříčlenného kruhu v molekule se projevuje jeho vysokou reaktivitou, jež je způsobena velkým sterickým nnutím kruhu. Proto dochází velmi snadno k jeho otvírání pomocí rozmanitých nukleofilních činidel a vzniku nových derivátů, jež pak mají nové zajímavé vlastnosti chemické i biologické podstaty. Jedná se většinou o přírodní látky, jako jsou antibiotika či inhibitory enzymů, a látky, které vykazují biologické účinky využitelné v lékařství nebo biochemickém průmyslu. Z chemického hlediska může dojít ke dvěma typům otevření aziridinového cyklu a to za vzniku buď stereoizomeru s *trans*-diaxiálním uspořádáním dle Fűrstova-Plattnerova pravidla, nebo stereoizomeru s *trans*-diekvatoriálním uspořádáním. Průběh reakcí otvírání aziridinového kruhu velmi záleží na konfiguraci výchozího epiminu a na typu použitého nukleofilního činidla. Předpoklad, že při reakci vzniká jen jeden izomer a to s *trans*-diaxiálním uspořádáním vzniklých vazeb v souladu s Fűrstovým-Plattnerovým pravidlem, se v praxi nepotvrdil. Naopak se ukazuje, že produktem reakcí nukleofilů s epiminoderiváty je směs stereoizomerů *trans*-diaxiálního a *trans*-diekvatoriálního otevření aziridinového kruhu, přičemž obvykle jeden z izomerů (často diaxiální) v izolované směsi výrazně převládá.

3. CÍL PRÁCE

Cíle diplomové práce jsou shrnuty v následujících bodech :

- a) připravit sérii výchozích epiminoderivátů 1,6-anhydro- β -D-hexopyranos substituovaných vhodnou chránicí/aktivující skupinou
- b) nalézt vhodné podmínky (rozpuštědlo, reakční teplota, tavidlo), při kterých se epiminoderiváty 1,6-anhydro- β -D-hexopyranos účinně otvírají fluoridovým aniontem jakožto nukleofilem se zohledněním výběru vhodného *N*-substituentu
- c) připravit fluorované epiminoderiváty 1,6-anhydro- β -D-hexopyranos reakcí s DAST se zřetelem na nalezení vhodných podmínek reakce (rozpuštědlo, reakční teplota)
- d) provést kompletní analýzu struktury připravených fluoro amino derivátů 1,6-anhydro- β -D-hexopyranos pomocí spektrálních metod (^1H , ^{13}C , ^{19}F NMR spektroskopie)

4. TEORETICKÁ ČÁST

4.1 Obecná část

Aziridiny jsou organické sloučeniny obsahující tříčlenný dusíkatý heterocyklus. Jedná se tedy o velmi jednoduché sloučeniny, které jsou ale pro své vlastnosti v organické chemii jednou z nejvíce studovaných skupin. Aziridiny jsou méně bazičtější než acyklické alifatické aminy a mohou být připraveny mnoha rozličnými postupy organické syntézy. Protože vazebný úhel v kruhu je v těchto sloučeninách asi 60° , což je podstatně méně než vazebný úhel $109,5^\circ$ nalezený pro normální uhlovodíky, dochází v nich k velkému pnutí kruhu, stejně jako u podobných molekul, kterými jsou cyklopropan či oxiran, a z tohoto důvodu jsou velmi reaktivní. Jednou z nejvíce se vyskytujících reakcí aziridinů je otevírání heterocyklického kruhu nukleofilními činidly¹⁻³. A právě tyto reakce jsou předmětem současného důkladného zkoumání.

Zatímco je nestálost a tím i vysoká reaktivita alifatických aziridinů v organické chemii velmi dobře známa a prostudována¹⁻³, tak příkladů úspěšného využití cukerných aziridinů (epiminů) je v literatuře neobyčejně málo⁴. Tato skutečnost je v protikladu s intenzivním syntetickým využitím cukerných epoxidů jako jsou 1,6:2,3-dianhydro- a 1,6:3,4-dianhydro- β -D-hexopyranosy⁵. Hlavním důvodem je poměrně nízká reaktivita aziridinového kruhu vůči ataku nukleofilního činidla a jeho následného otevření. Proto je pro zvýšení reaktivity aziridinů nezbytná protonace⁶⁻⁸, adice Lewisovské kyseliny^{9,10} či vhodná *N*-substituce^{8,11,12}.

Konfigurace vzniklého produktu je závislá⁴ hlavně na konfiguraci do reakce vstupujícího epiminu, na elektronových vlastnostech jeho *N*-substituentu a typu použitého nukleofilního činidla. Pro tyto reakce aziridinů je význam předpovědi konfigurace vznikajících produktů pomocí, na cukerné epoxidy, všeobecně užívaného Fűrstova-Plattnerova pravidla¹³ omezen. Obvykle dochází k vytvoření směsi diaxiálních a diekvatoriálních izomerů, přičemž ale diekvatoriální izomer může převážit jen ve zcela speciálních případech¹⁴⁻¹⁶. Nicméně dostatečný výklad ovlivnění řízení regioselectivity při otvírání aziridinového kruhu již byl uveden v literatuře^{4,8,14}.

4.2 Užití modifikovaných struktur

Cukry, u nichž došlo k substituci atomem fluoru, představují^{17,18} velmi významnou skupinu uměle připravených bioaktivních sloučenin, ve kterých přítomnost atomu fluoru způsobuje změnu jejich biochemických¹⁹⁻²¹ a farmakologických vlastností²². Například mohou působit jako kompetitivní či nekompetitivní inhibitory enzymů, nehydrolyzovatelná analoga přírodních látek a podobně.

Jejich další použití vychází z radioaktivního značení²³ přírodních látek, při kterém dochází k záměně atomu fluoru ^{19}F za radioaktivní izotop ^{18}F . Toho je například využito u ^{18}F -2-fluor-2-deoxy-D-glukosy²⁴ (^{18}F -FDG), která slouží v nukleární medicíně jako radiofarmakum při vyšetření pozitronovou emisní tomografií (PET), jež je jednou z nejmodernějších metod diagnostického zobrazení. Základním principem PET je detekce dvou anihilačních fotonů gama vzniklých ve tkáni při interakci pozitronu s elektronem, shromáždění dat a jejich počítačové převedení do formy obrazu. Pro vyšetření je potřeba do těla pacienta vpravit pozitronový zářič, kterým je právě uměle připravená ^{18}F FDG, která se pacientovi podá injekčně. Využití vyplývá ze zobrazení oblastí s vysokým metabolickým obratem glukosy v onkologii, kardiologii a neurochirurgii.

Také se uplatnilo širokého využití modifikovaných antibiotik²⁵. Hojně používaným, důležitým protirakovinným lékem jsou adriamycin a daunorubicin, jejichž použití je limitováno jejich vysokou toxicitou. Proto byla celosvětová snaha po mnoho let směřována ke zlepšení terapeutických vlastností anthracyklinů chemickou modifikací cukerné (glykonové), necukerné (aglykonové) složky či obou složek, jež měly mít za následek zvýšení protinádorové aktivity²⁶. Nejdříve byla změna cukerné složky založena na výměně přírodního daunosaminu^{27,28} (3-amino-2,3,6-trideoxy-L-lyxohexosy) za uměle syntetizovaný 3-amino-3-hydroxy analog daunorubicinu a adriomycinu, což mělo za následek zvýšenou protinádorovou aktivitu a nižší toxicitu. Později²⁸ byl zkoumán vliv zavedení atomu halogenu (Cl, Br, I) na uhlík C-2 těchto deaminovaných analogů, z něhož vyplynulo, že takto modifikované látky mají mnohem vyšší aktivitu *in vivo*. Tato studie ale nezahrnovala substituci atomem fluoru. Dalším krokem proto byla příprava²⁸ příbuzných aminocukrů nesoucích na uhlíku C-2 atom fluoru. U takto připravených látek silný elektronakceptorový indukční efekt způsobený

substitucí atomem fluoru zvyšuje stabilitu vůči hydrolytickému štěpení *in vivo* a navíc malý van der Waalsův poloměr fluoru má za následek minimální vliv na sterické požadavky nově vzniklého léčiva jako je jeho navázání či transport. Jinými slovy lze konstatovat, že zavedení atomu fluoru na uhlík C-2, má v konečné podobě stejné účinky jako kdyby na uhlík byl zaveden atom vodíku.

Jedním z dalších možných využití modifikací antibiotik je náhrada methoxy skupiny aminoglykosidového antibiotika sporaricinu A atomem fluoru, což vede ke snížení jeho toxicity a u axiálních a ekvatoriálních epimerů k antibakteriálním účinkům srovnatelným s původními sloučeninami^{29,30}.

Další důležitou modifikací je modifikace antibiotika kanamycinu^{31,32}. Kanamyciny jsou deaktivovány působením (fosforylací) enzymů rezistentních bakterií, které atakují OH-skupinu cukru na uhlíku C-2, C-3 nebo C-4. Jednou z možností přeměny kanamycinů na deriváty aktivní vůči působení rezistentních bakterií je odstranění OH-skupiny (vznik deoxyderivátů). Nejčastěji to bývá OH-skupina na uhlíku C-3. Uměle připravený 3-deoxykanamycin A, 3,4-dideoxykanamycin B a další podobné 3-deoxyderiváty úspěšně inhibují růst rezistentních bakterií. Druhá cesta spočívá v přípravě fluoroderivátů záměnou OH-skupiny cukru za atom fluoru. Fluorované deriváty jsou více efektivní než deoxyderiváty. Mezi výhody přítomnosti fluoru v molekule kanamycinů patří : atom fluoru je méně objemný než hydroxylová skupina, z hlediska elektronové hustoty je o něco více negativní než atom kyslíku a hlavně nemůže dojít k jeho fosforylaci. Substituce 3-hydroxylové skupiny kanamycinu za atom fluoru může být efektivnější i z důvodu vzniku fluoroderivátu, který oproti původní molekule kanamycinu má jen velmi málo pozměněné stereochemické a elektronické vlastnosti.

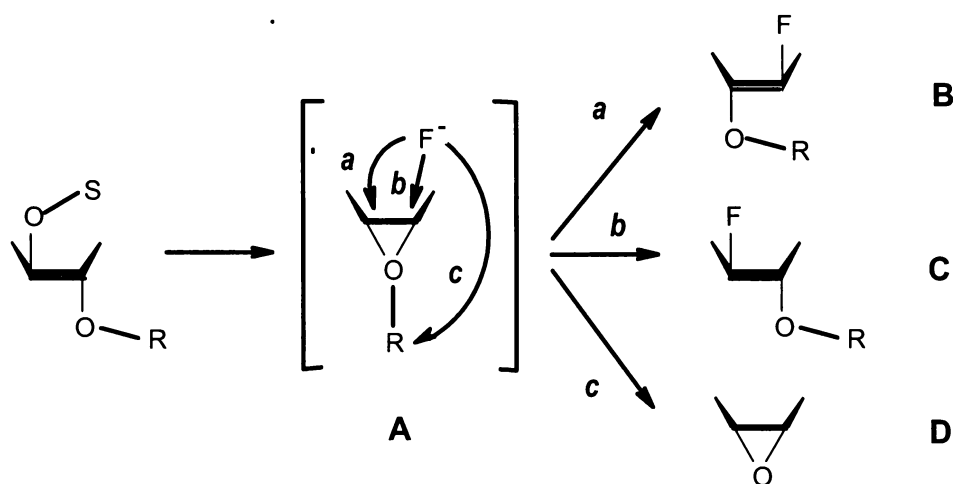
4.3 Způsob zavedení atomu fluoru do molekuly

Konstrukci fluorovaných organických sloučenin lze provést dvěma způsoby. První používanou metodou je použití předpřipravených fluorovaných intermediátů jako prekursorů k organické syntéze větších molekul.

Druhý syntetický postup je založen na zavedení fluoru do již existující molekuly. Zavedení atomu fluoru do molekuly cukru může být provedeno dvěma rozdílnými metodami. První metodou je nukleofilní substituce vhodné odstupující skupiny (například reakce s DAST, přehledný článek viz lit.³³) a druhou, častější metodou, je otevření oxiranového^{34,35} či aziridinového kruhu³⁶⁻³⁸ (například reakce s KHF_2).

Stejně jako pro mnoho nukleofilních substitučních reakcí tak i pro reakce s činidly obsahujícími fluoridový ion je typický jejich celkově malý (slabý) nukleofilní charakter. Proto je pro zvýšení reaktivity nutné do substrátu zavést dobře odstupující skupinu (jako je například DAST aktivovaná hydroxyskupina).

Zavedení atomu fluoru $\text{S}_{\text{N}}2$ substitucí má za následek vznik¹⁸ poměrně širokého spektra produktů v závislosti na polaritě použitého rozpouštědla či na přítomnosti jiné nukleofilní skupiny umístěné v blízkosti reakčního centra (viz. *schema 1*; O-S - označuje obecnou odstupující skupinu).



schema 1

To se dá vysvětlit¹⁸ následujícím způsobem. Substitucí při nahrazování odstupující skupiny (O-S) za molekulu rozpouštědla dochází ke vzniku pozitivně nabitého cyklického intermediátu v tranzitním stavu (A). Tento intermediát pak může rozdílnými cestami poskytnout tři různé produkty.

V prvním případě (cesta *a*) může dojít k otevření cyklického intermediátu a k substituci atomem fluoru na uhlíku, kde byla původně aktivující skupina, tedy s retencí konfigurace za vzniku produktu (B).

Druhou možností je (cesta *b*), že bude atakován druhý uhlík z uhlíkatého řetězce přítomný v cyklické struktuře intermediátu, což povede v konečném důsledku k přeskupení a migraci skupiny za vzniku produktu (C) a tedy k inverzi konfigurace na obou uhlících.

Třetí cesta (postup *c*), závislá na druhu přítomného intermediátu, v tomto případě oxoniové struktury (A), je založena na odstoupení substituentu navázaného na první atom uhlíku třetího člena cyklického intermediátu za vzniku anhydro produktu (D).

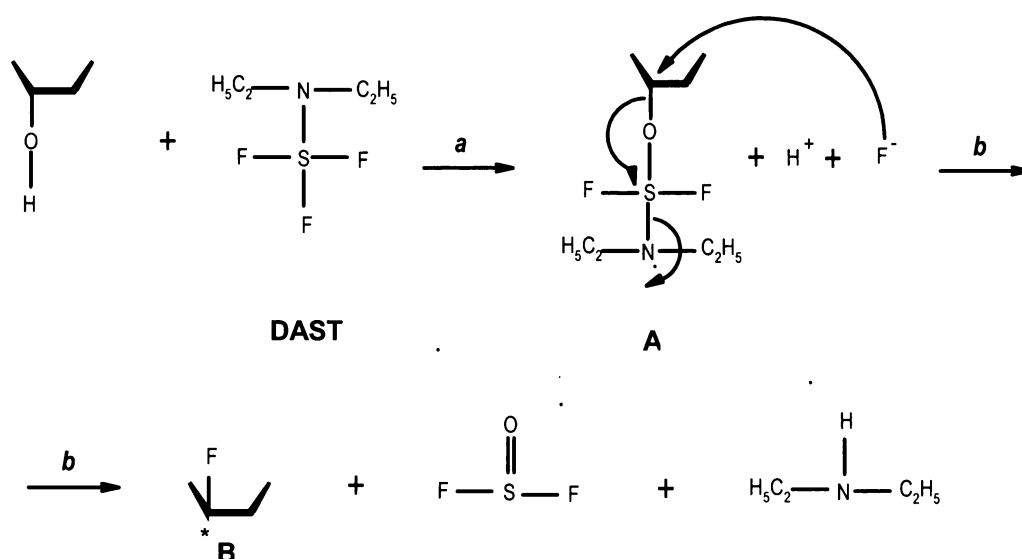
Při reakci je tedy aktivace, způsobena fluoridovým iontem přistupujícím z neobsazené strany, přenesena na dvě vzdálenější centra, tedy na uhlíkový atom, kde byla původně navázána účastníci se skupina a dále na první uhlíkový atom této skupiny. Další kroky reakce jsou závislé na nukleofilicitě odstupující skupiny a dále na jedné straně na míře individuálního nukleofilního charakteru obou účastníků se partnerů a na straně druhé na daných stereochemických možnostech. Každý z těchto parametrů je funkcí reakčních podmínek a je závislý na povaze a poloze ostatních neúčastníků se chránících skupin. To je důvodem, proč stejné typy reakcí poskytují rozdílné výsledky. Obzvláště, když je získán pouze jeden produkt v malém výtěžku.

4.4 Reakce s DAST

V podstatě stejný typ reakce je reakce volných OH-skupin s DAST (viz. *schema* 2). DAST (diethylaminosulfurtrifluorid, $(C_2H_5)_2NSF_3$) je moderním činidlem, používaným při nukleofilních fluoracích širokého spektra sloučenin. Jedná se o vysoce toxickou kapalinu světle žluté barvy o molekulové hmotnosti 161,19 g/mol a hustotě 1,22 g/ml (při 25°C).

Po jeho přidání do reakční směsi dochází^{26,39} v prvním velmi rychlém kroku (krok *a*) k reakci DAST s OH-skupinou za uvolnění HF a navázání vzniklé diethylaminosulfurdifluoridové skupiny na atom kyslíku. Ve druhém kroku (krok *b*) podléhá zniklá struktura $-SF_2ON(C_2H_5)_2$ (A), srovnatelná s odpovídajícím sulfonátovým derivátem, raději S_N2 substituci než eliminaci. Při substituci dochází k přístupu fluoridového iontu z opačné strany, než byla původně navázána hydroxylová

OH-skupina za vzniku produktu (**B**) a odstoupení nově zformovaných molekul SF₂O a HN(C₂H₅)₂. Výsledkem takovéto reakce je produkt s inverzí konfigurace.



schema 2

Při reakcích cukerných aziridinů (s konfigurací *D-manno*, *D-allo*, *D-galacto*, *D-talo*) 1,6-anhydro- β -D-hexopyranos s DAST v dichlormethanu nedochází k ataku aziridinového kruhu nukleofilem DAST (aziridinový kruh zůstává nedotčen), ale k aktivaci hydroxylové skupiny pomocí DAST, její následné S_N2 substituci atomem fluoru a tedy ke vzniku vicinálních fluoroaziridinů s inverzí konfigurace.

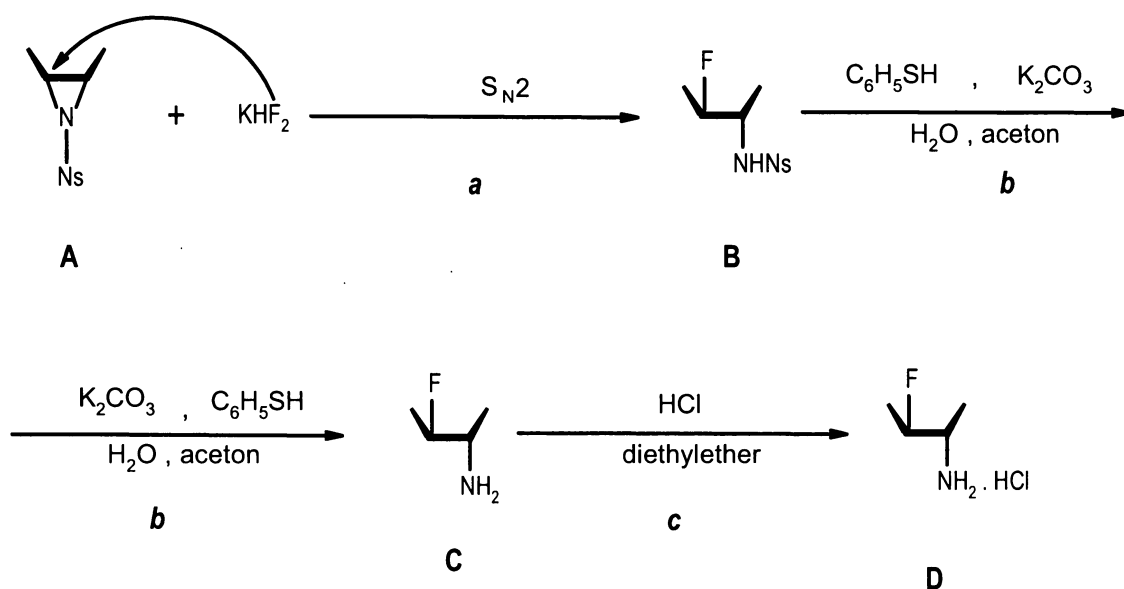
4.5 Reakce s KHF₂

Jedním z často užívaných fluoračních činidel v organické syntéze je hydrogendifluorid draselný (KHF₂). Jedná se o bílou, krystalickou, nehořlavou látku bez zápachu o relativní molekulové hmotnosti 78,11 g/mol a bodu tání +225°C.

Při pokusu o rozštěpení aziridinového kruhu *N*-tosylepiminů 1,6-anhydro- β -D-hexopyranos fluorovodíkem uvolněným z KHF₂, dochází pouze hydrolyze kruhu a ne k zavedení atomu fluoru do molekuly. Proto je nutné zaměnit málo reaktivní tosylovou skupinu, za více aktivující nosylovou skupinu. Mezi hlavní přednosti nosylové skupiny

patří její vysoká reaktivita⁴⁰⁻⁴² a možnost jejího, v dalším kroku uskutečnitelného, jednoduchého ochránění⁴²⁻⁴⁵.

Sled reakcí má následující kroky (*schema 3*)⁴⁶. Prvním krokem (krok *a*) je reakce *N*-2-nitrobenzensulfonylovaných epimino derivátů 1,6-anhydro- β -D-hexopyranos (**A**) s hydrogendifluoridem draselným, při kterém dochází k otevření aziridinového kruhu v souladu s Fůrstovým-Plattnerovým pravidlem za vzniku *trans*-diaxiálního produktu (**B**). Následným krokem (krok *b*) je ochránění připravených fluoronosylamidů benzothiolem v přítomnosti uhličitanu draselného, vody a acetonu za vzniku volných fluoroaminů (**C**), které jsou dále převáděny (krok *c*) na stabilní hydrochloridy (**D**).

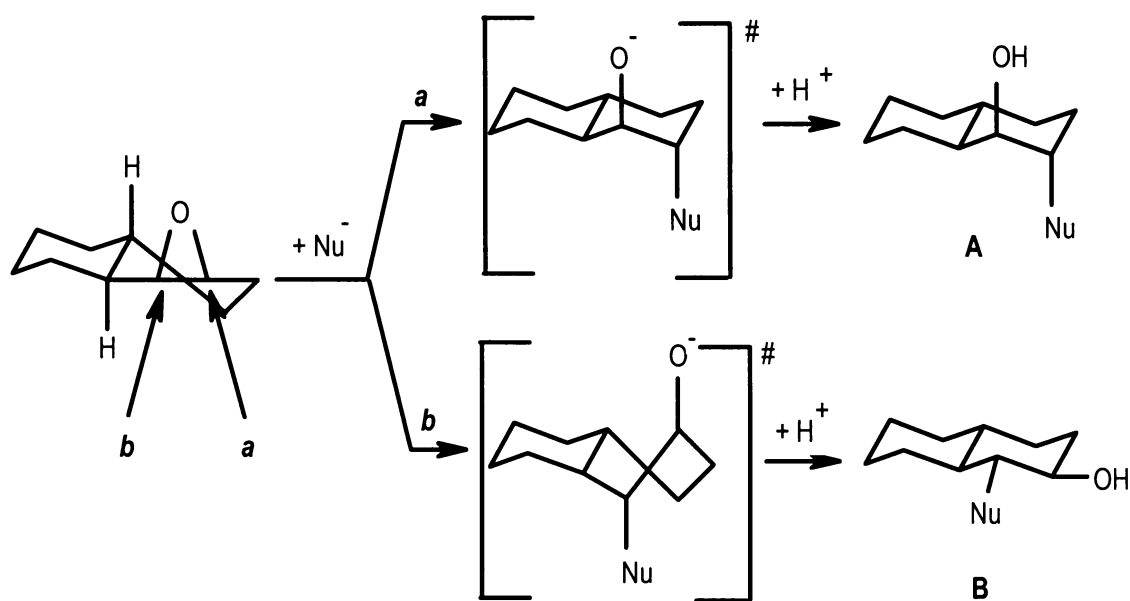


schema 3

4.6 Fůrstovo-Plattnerovo pravidlo

Při reakci aziridinových kruhů s nukleofilními činidly vznikají produkty s vysokou regioselektivitou. Obecně pro tříčlenný kruh připojený ke skeletu hexopyranosy při jeho otvírání platí⁴⁷, že může dojít ke vzniku dvou produktů o rozdílných konfiguracích v závislosti na způsobu otevření aziridinu (cesta *a* či *b*) a to *trans*-diaxiálního (**A**) či *trans*-diekvatoriálního produktu (**B**). Tento problém

regioselektivity je podrobně zakreslen v níže přiloženém obrázku (*schema 4*), kde jako atakovaný tříčlenný cyklus byl použit oxiranový kruh.



schema 4

Již v dávné době bylo zjištěno⁴⁸, že oxiranový kruh epoxidových derivátů steroidů nebo sacharidů je nukleofilními činidly přednostně otvírán za vzniku *trans*-diaxiálního produktu. Tento jev byl nazván Fűrstovo-Plattnerovo pravidlo¹³. Teoretické odůvodnění Fűrstova-Plattnerova pravidla, a tedy také vzniku *trans*-diaxiálního produktu, je možné pouze za předpokladu, že reakce probíhá $\text{S}_{\text{N}}2$ mechanismem⁴⁹.

Pro *trans*-diekvatoriální otevření oxiranového kruhu je zapotřebí, aby šestičlenný kruh v tranzitním stavu změnil svou konformaci z energeticky méně náročné židličkové konformace na energeticky podstatně náročnější zkříženou vaničku (twist konformace). Z kinetického hlediska je proto upřednostňována tvorba *trans*-diaxiálního produktu s nižší energií, který nevyžaduje změnu konformace. Většinou je rozdíl mezi energetickými hladinami dvou možných tranzitních stavů tak velký, že k *trans*-diekvatoriální otevření vůbec nedojde a výsledným produktem je tedy jen jeden stereoizomer.

U aziridinových cyklů ale otvírání nukleofilními činidly vede¹⁴ většinou ke vzniku směsi obou stereoizomerů a Fűrstovo-Plattnerovo pravidlo tak má omezenou platnost.

4.7 NMR spektroskopie

Nukleární magnetická rezonance (NMR) je spektroskopická metoda založená na výskytu jader s nenulovým jaderným spinem (např. ^{13}C , ^1H , ^{19}F), která zkoumá rozdělení energií jaderného spinu v magnetickém poli a přechody mezi jednotlivými spinovými stavy odpovídajícími energii v oblasti rádiových vln. Tato metoda však není metodou absolutní, a proto jí nelze provádět přesné určení tvaru molekul. NMR spektroskopie je jednou z nejdůležitějších oblastí strukturní analýzy používaných při objasnění stavby a stereochemie mnoha látek včetně cukrů, bílkovin, nukleových kyselin a mnoha dalších látek.

Nedávný rozvoj nových experimentálních postupů a základních elektronických součástí NMR spektrometrů vedl k tomu, že dosažené rozlišení a selektivita NMR experimentů umožňují velmi přesně popisovat strukturu a vnitřní pohyblivost širokého spektra látek a systémů. Značné pokroky v nukleární magnetické rezonanci v posledních několika letech jsou důsledkem zavedení vysoce citlivých spektrometrů (více než 800 MHz) kombinovaných s vysoce efektivními počítačovými systémy, vývoje nových NMR technik o vysoké citlivosti a také inovací, které mají za následek zlepšení rozlišení. Tím nejdůležitějším v tomto ohledu bylo: vývoj dvou- a více-dimenzionálních metod, zavedení převratných korelačních technik a inovace technologií, které ve svém důsledku značně zkracují dobu měření vzorku. Nejznámějším a nejsnáze měřitelným dvoudimenzionálním spektrem je tzv. COSY spektrum (^1H - ^1H COSY spektrum), které poskytuje přehlednou informaci o tom, jak spolu jednotlivé vodíkové atomy interagují.

Monosacharidy a jejich fluorované deriváty mohou být v mnoha případech jednoduše analyzovány⁵⁰ tradičními jedno-dimenzionálními (1D) NMR metodami srovnáním s ^1H a ^{13}C spektry analogických sloučenin. Ze spekter lze vyčíst základní parametry, jako jsou interakční konstanty a chemické posuny. Pokud je porovnání NMR spekter měřených látek s jejich analogy neúspěšné, je přidělení všech ^{13}C a ^1H signálů možné za použití ^1H , ^1H -COSY spektroskopie či ^1H , ^{13}C -HMQC korelovaných spekter.

Fluorované cukry⁵⁰ navíc obsahují NMR-aktivní jádro fluoru, které má pro NMR spektroskopii velmi příznivé vlastnosti, jakými jsou 100% přírodní čistota, vysoká citlivost a výrazné rozlišení chemických posunů. Chemické posuny ^{19}F či

spojení ^{19}F - ^1H , ^{19}F - ^{13}C , ^{19}F - ^{19}F jsou doplňkovými parametry, které mohou značně pomoci⁵⁰ při určování struktury a konformace látek. Zavedení atomu fluoru do molekuly cukru má v NMR spektrech (^1H , ^{13}C) za následek velký pozitivní chemický posun signálu sousedních atomů (protonů, uhlíků), tedy posunutí signálu směrem doleva ve spektru k vyšším hodnotám chemického posunu (ppm). To se dá vysvětlit⁵⁰ tím, že podle očekávání elektronegativní fluor odčerpává indukčním efektem elektrony, odhaluje jádro vodíku nebo uhlíku a tím zvyšuje jeho chemický posun.

Pro správné přiřazení signálů a získání NMR parametrů u oligosacharidů a polysacharidů je nutné použít vhodné 2D nebo multi-dimenzionální korelační metody, které umožňují správné určení struktury.

5. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

5.1 Obecná část

Teploty tání byly stanoveny na Koefflerově vyhřívaném stolku a nebyly korigovány. Optické rotace byly naměřeny na automatickém polarimetru typu Bendix-Ericsson ETL-NPL 143 A při teplotě v rozmezí 23 – 25 °C. ^1H ; ^{13}C a ^{19}F NMR spektra byla naměřena na FT NMR spektrometru Varian INOVA 400 (400 MHz pro jádra ^1H ; 100 MHz pro jádra ^{13}C a 376,3 MHz pro jádra ^{19}F) v CDCl_3 při teplotě 25 °C za použití TMS jako vnitřního standardu a v CD_3SOCD_3 při teplotě 25 °C. Pro strukturní přiřazení signálů jader byla použita 2D technika COSY.

Tenkovrstvá chromatografie byla prováděna na komerčních deskách fy MERCK DC Alufolien se silikagelem Kiesegel F₂₅₄. Látky byly detekovány : postříkáním roztokem anisaldehydu v kyselině sírové a zahřátím (pro sacharidy obecně); jodovými parami (pro aminosacharidy); ninhydrinem (1 % roztok v ethylacetátu, následovalo zahřátí, pro aminosacharidy) a dále použitím UV při 254 nm. Sloupcové chromatografie byly prováděny na silikagelu 60 fy MERCK (70 – 230 mesh). Soustavy rozpouštědel použité na vyvíjení TLC desek byly : S₁ = methanol-ethylacetát 1:2 s přídavkem 0,5 % NH₃; S₂ = ethylacetát; S₃ = hexan-ethylacetát 3:2; S₄ = hexan-ethylacetát 3:1; S₅ = hexan-dichlormethan 3:20.

Hmotnostní spektra byla změřena technikou FAB (Xe) na přístroji ZAB-EQ (VG Analytical, UK) a technikou ESI (MeOH) na přístroji Bruker ESQUIRE 3000.

Roztoky byly odpařovány na vakuové rotační odparce při teplotách v rozmezí 25 °C až 45 °C.

Čistota a sušení rozpouštědel : toluen sušen varem se sodíkem 24 hodin a destilován; methanol a ethanol sušeny hořčíkem a destilovány; petrolether odpovídá destilační frakci v rozmezí 40 – 60 °C; aceton sušen K₂CO₃ a destilován; pyridin sušen KOH a rektifikován na koloně; tetrahydrofuran byl destilován z LAH; ether byl sušen sodíkem a destilován z LAH.

5.2 Příprava výchozích látek

1) Příprava 1,6-anhydro-4-*O*-benzyl-2-*O*-*p*-toluensulfonyl- β -D-glukopyranosy (1)

1,6:3,4-dianhydro-2-*O*-*p*-toluensulfonyl- β -D-galaktopyranosa⁵¹ **1** (15,066 g ; 50,5 mmol) byla vsypána do roztoku benzylalkoholu (15,0 ml; 144,3 mmol) a toluenu (70,0 ml). Ke vzniklé směsi byl přikapán bortrifluoridetherát (0,5 ml) a směs pak byla za laboratorní teploty míchána po dobu 40 minut. Po rozpuštění veškerého tosylátu byla baňka zahřívána na teplotu 100 °C pod zpětným chladičem 130 minut do vymizení reaktantu. Po ochlazení na laboratorní teplotu byl produkt vysrážen diethyletherem (100, ml) a zfiltrován na Büchnerově nálevce. Výtěžek 13,801 g (67 %) 1,6-anhydro-4-*O*-benzyl-2-*O*-*p*-toluensulfonyl- β -D-glukopyranosy **1**. Produkt byl potvrzen porovnáním se standardem na TLC.

2) Příprava 1,6-anhydro-4-*O*-benzyl-3-*O*-methansulfonyl-2-*O*-*p*-toluensulfonyl- β -D-glukopyranosy (2)

1,6-anhydro-4-*O*-benzyl-2-*O*-*p*-toluensulfonyl- β -D-glukopyranosa **1** (12,042 g ; 29,6 mmol) byla přidána do bezvodého pyridinu (72,0 ml) a za stálého míchání v chladicí lázni (-9 °C) ke směsi v baňce byl z dělicí nálevky po kapkách po dobu 40 minut přidáván methansulfonylchlorid (7,1 ml ; 91,1 mmol). Směs v baňce byla při laboratorní teplotě míchána 3,5 hodiny do vymizení reaktantu. Roztok pak byl nalit na drcený led, vysrážené krystaly odsáty a vysušeny. Výsledné krystaly byly krystalovány ze směsi aceton-ethanol-voda. Výtěžek 11,896 g (83 %) 1,6-anhydro-4-*O*-benzyl-3-*O*-methansulfonyl-2-*O*-*p*-toluensulfonyl- β -D-glukopyranosy **2**. Produkt byl potvrzen porovnáním se standardem na TLC.

3) Příprava 1,6:2,3-dianhydro-4-*O*-benzyl- β -D-allopyranosy (3)

K roztoku 1,6-anhydro-4-*O*-benzyl-3-*O*-methansulfonyl-2-*O*-*p*-toluensulfonyl- β -D-glukopyranosy **2** (10,014 g ; 20,7 mmol) v THF (30,0 ml) byl po kapkách za stálého míchání a chlazení (-5 °C) z dělicí nálevky přikapán roztok sodíku (2,0 g) v methanolu (50,0 ml). Po 19 hodinách míchání za laboratorní teploty vymizel z reakční směsi reaktant a pH směsi bylo za chlazení v lázni voda-led upraveno 5 % roztokem HCl (34,0 ml) na hodnotu pH = 3. Po přidavku chloroformu (90,0 ml) byla směs v baňce míchána do dobu 5 dnů. Chloroformová vrstva byla oddělena, vodná fáze extrahována (3 x 90,0 ml) chloroformem, vysušena CaCl₂, odpařena na VRO a výsledný odparek byl krystalizován ze směsi aceton-ether-petrolether. Výtěžek 3,555 g (73 %) , 1,6:2,3-dianhydro-4-*O*-benzyl- β -D-allopyranosy **3**. Produkt byl potvrzen porovnáním se standardem na TLC.

4) **Příprava 1,6-anhydro-3-azido-4-*O*-benzyl-3-deoxy- β -D-glukopyranosy (4)**

Směs 1,6:2,3-dianhydro-4-*O*-benzyl- β -D-allopyranosy **3** (3,550 g ; 15,2 mmol), azidu sodného (3,55 g ; 54,6 mmol) a chloridu amonného (4,26 g ; 79,6 mmol) byla převrstvena 2-methoxyethanolem (36,0 ml) a vodou (11,0 ml), umístěna do silikonové lázně (110 °C) a refluxována po dobu 8 hodin. Reakční směs pak byla přefiltrována a krystaly promyty na fritě chloroformem (80,0 ml). Najímaný filtrát byl odpařen na VRO, odparek rozpuštěn v toluenu (100,0 ml), zfiltrován na koloně se silikagelem, zahuštěn na VRO a odparek krystalován ze směsi ethanol-methanol-voda. Výtěžek 4,201 g (84 %) 1,6-anhydro-3-azido-4-*O*-benzyl-3-deoxy- β -D-glukopyranosy **4**. Produkt byl potvrzen porovnáním se standardem na TLC.

5) **Příprava 1,6-anhydro-2-azido-4-*O*-benzyl-2-deoxy- β -D-glukopyranosy (5)**

Směs 1,6:2,3-dianhydro-4-*O*-benzyl- β -D-mannopyranosy⁵² **ii** (10,02 g ; 42,8 mmol), azidu sodného (10,02 g ; 154,1 mmol) a chloridu amonného (12,01 g ;

224,5 mmol) byla převrstvena 2-methoxyethanolem (100,0 ml) a vodou (30,0 ml), umístěna do silikonové lázně (110 °C) a refluxována po dobu 8 hodin. Reakční směs pak byla přefiltrována a krystaly promyty na fritě chloroformem (120,0 ml). Najímaný filtrát byl zahuštěn na VRO, odparek rozpuštěn přidávkem toluenu (150,0 ml), zfiltrován na koloně se silikagelem, promyt ethylacetátem, odpařen na VRO a odparek byl krystalován ze směsi ethanol-methanol-voda. Výtěžek 11,858 g (68 %) 1,6-anhydro-2-azido-4-*O*-benzyl-2-deoxy-β-D-glukopyranosy **5**. Produkt byl potvrzen porovnáním se standardem na TLC.

6) Příprava 1,6-anhydro-3-azido-4-*O*-benzyl-3-deoxy-2-*O*-*p*-toluensulfonyl-β-D-glukopyranosy (6)

K roztoku 1,6-anhydro-3-azido-4-*O*-benzyl-3-deoxy-β-D-glukopyranosy **4** (3,5 g ; 12,6 mmol) v bezvodém pyridinu (14,0 ml) byl za stálého míchání a chlazení v lázni voda-led opatrně přidán *p*-toluensulfonylchlorid (3,5 g ; 18,4 mmol). Směs byla za laboratorní teploty a míchání nechána reagovat po dobu 2 dnů do vymizení reaktantu. Poté byla nalita na drcený led, vzniklé krystaly odsáty na fritě, promyty vodou (500,0 ml) a krystalovány ze směsi aceton-ethanol-voda. Výtěžek 4,419 g (81 %) 1,6-anhydro-3-azido-4-*O*-benzyl-3-deoxy-2-*O*-*p*-toluensulfonyl-β-D-glukopyranosy **6**. Produkt byl potvrzen porovnáním se standardem na TLC.

7) Příprava 1,6-anhydro-2-azido-4-*O*-benzyl-2-deoxy-3-*O*-*p*-toluensulfonyl-β-D-glukopyranosy (7)

K roztoku 1,6-anhydro-2-azido-4-*O*-benzyl-2-deoxy-β-D-glukopyranosy **5** (8,05 g ; 29,0 mmol) v bezvodém pyridinu (31 ml) byl za stálého míchání a chlazení v lázni voda-led opatrně přidán *p*-toluensulfonylchlorid (8,05 g ; 42,2 mmol). Po rozpuštění tosylchloridu byla chladicí lázeň vyměněna za silikonovou a roztok v baňce zahříván na teplotu (80 °C) pod inertní atmosférou argonu po dobu 23 hodin a pak nechán reagovat za laboratorní teploty po dobu 2 dnů do vymizení reaktantu. Poté byla směs nalita na drcený led, vzniklé krystaly odsáty na fritě,

promyty vodou (750,0 ml) a krystalovány ze směsi aceton-ethanol-voda. Výtěžek 10,294 g (82 %) 1,6-anhydro-2-azido-4-*O*-benzyl-2-deoxy-3-*O*-*p*-toluensulfonyl-β-D-glukopyranosy **7**. Produkt byl potvrzen porovnáním se standardem na TLC.

8) Příprava 1,6-anhydro-4-*O*-benzyl-2,3-dideoxy-2,3-epimino-β-D-mannopyranosy (8)

K tetrahydridohlitanu litnému (0,264 g ; 6,9 mmol) byl za stálého míchání a chlazení v lázni voda-sůl-led (-8 °C) pod inertní atmosférou argonu pomalu přidán THF (30,0 ml) a roztok připravený z 1,6-anhydro-3-azido-4-*O*-benzyl-3-deoxy-2-*O*-*p*-toluensulfonyl-β-D-glukopyranosy **6** (0,703 g ; 1,63 mmol) a bezvodého THF (3,0 ml). Baňka se směsí byla nechána reagovat za stálého chlazení po dobu 2 hodin do vymizení reaktantu. Po zahřátí na laboratorní teplotu byl do baňky opatrně přidán nasycený roztok síranu sodného (0,5 ml), vše zfiltrováno na fritě s křemelinou a promyto ethylacetátem (100,0 ml). Filtrát byl zahuštěn na VRO a odparek krystalován ze směsi ethanol-ether-petrolether. Výtěžek 0,279 g (73 %) 1,6-anhydro-4-*O*-benzyl-2,3-dideoxy-2,3-epimino-β-D-mannopyranosy **8**. Produkt byl potvrzen porovnáním se standardem na TLC.

9) Příprava 1,6-anhydro-4-*O*-benzyl-2,3-dideoxy-2,3-epimino-β-D-allopyranosy (9)

K 1,6-anhydro-2-azido-4-*O*-benzyl-2-deoxy-3-*O*-*p*-toluensulfonyl-β-D-glukopyranose **7** (10,001 g ; 23,2 mmol) byl přidán THF (60,0 ml), za stálého míchání a chlazení opatrně přisypán NaBH₄ (1,762 g ; 46,6 mmol) a směs pak byla míchána za laboratorní teploty po dobu 7 dnů do vymizení reaktantu. Za chlazení v lázni voda-led byl k míchanému roztoku po kapkách přidán bezvodý methanol (6,0 ml). Baňka se směsí byla umístěna do silikonové lázně (100 °C), refluxována 10,5 hodiny a odpařena na VRO dosucha. Obsah baňky byl promyt dichlormethanem (3 x 10 ml). K najímaným extraktům bylo přidáno aktivní uhlí, sušidlo (Na₂SO₄), roztok byl zfiltrován na fritě s křemelinou, odpařen na VRO a

umístěn do mrazáku ke krystalizaci. Výtěžek 3,479 g (64 %) 1,6-anhydro-4-*O*-benzyl-2,3-dideoxy-2,3-epimino- β -D-allopyranosy **9**. Produkt byl potvrzen porovnáním se standardem na TLC.

10) Příprava 1,6-anhydro-2,3-dideoxy-2,3-epimino- β -D-mannopyranosy (10)

K 1,6-anhydro-4-*O*-benzyl-2,3-dideoxy-2,3-epimino- β -D-mannopyranose⁵³ **8** (1,436 g ; 6,2 mmol) bylo přidáno 10 % Pd na uhlí (250 mg), destilovaný ethanol (25,0 ml), 1,4 M roztok chlorovodíku v etheru (5,0 ml) , na zábrus baňky byl nasazen balonek naplněný vodíkem a směs byla za laboratorní teploty míchána po dobu 5 hodin do vymizení reaktantu. Směs pak byla neutralizována na ionexu Amberlit IRA 400 (8 g ; OH⁻ cyklus) v ethanolu, zfiltrována, promyta absolutním ethanol (20,0 ml), odpařena na VRO a odparek krystalován ze směsi ethanol-ether-petrolether. Výtěžek 0,538 g (61 %) 1,6-anhydro-2,3-dideoxy-2,3-epimino- β -D-mannopyranosy **10**. Produkt byl potvrzen porovnáním se standardem na TLC.

11) Příprava 1,6-anhydro-2,3-dideoxy-2,3-epimino- β -D-allopyranosy (11)

K 1,6-anhydro-4-*O*-benzyl-2,3-dideoxy-2,3-epimino- β -D-allopyranose⁵⁴ **9** (5,100 g ; 21,9 mmol) bylo přidáno 10 % Pd na uhlí (250 mg), destilovaný ethanol (90,0 ml), na zábrus baňky byl nasazen balonek naplněný vodíkem a směs byla za laboratorní teploty míchána po dobu 3 dnů. Provedením TLC (S₁) bylo zjištěno, že v reakční směsi se nachází dvě látky. Směs pak byla neutralizována na ionexu Amberlit IRA 400 (30 g ; OH⁻ cyklus) v methanolu, zfiltrována, promyta absolutním methanolem (50,0 ml) a odpařena na VRO. Vzniklý olej žluté barvy byl chromatografován na koloně se silikagelem (60 g), jako mobilní fáze byla použita směs S₁. První eluovaná látka byla charakterizována jako výchozí reaktant **9** (0,450 g). V pořadí druhou eluovanou látkou byl produkt **11**, který byl získán odpařením chromatografované kapaliny na VRO a krystalován ze směsi methanol-ether. Výtěžek 1,908 g (67 %) 1,6-

anhydro-2,3-dideoxy-2,3-epimino- β -D-allopyranosy **11**. Produkt byl potvrzen porovnáním se standardem na TLC.

12) Příprava 1,6-anhydro-2,4-di-O-benzyloxykarbonyl- β -D-glukopyranosy (12)

K 1,6-anhydro- β -D-glukopyranose **iii** (6,502 g ; 40,1 mmol) v bezvodém pyridinu (30,0 ml) byl za intenzivního míchání a chlazení v lázni voda-sůl-led (-12 °C) po kapkách po dobu 1 hodiny přidáván benzylochloformiát (23 ml ; 163,1 mmol). Chladicí lázeň byla odstraněna, směs nechána v klidu stát za laboratorní teploty 1 hodinu a pak nalita na drcený led (400 g). Vyloučené krystaly byly zfiltrvány, promyty studenou vodou (500,0 ml) a krystalovány z ethanolu. Protože naměřený bod tání krystalů byl v širokém intervalu 104 – 116 °C, byla provedena druhá krystalizace ze směsi chloroform-ether, po které byla teplota tání naměřena v rozmezí 115 – 117 °C. Výtěžek 10,965 g (64 %) 1,6-anhydro-2,4-di-O-benzyloxykarbonyl- β -D-glukopyranosy **12**. Produkt byl potvrzen porovnáním se standardem na TLC.

13) Příprava 2,4-di-O-benzyloxykarbonyl-1,6-anhydro-3-O-methansulfonyl- β -D-glukopyranosy (13)

K roztoku 1,6-anhydro-2,4-di-O-benzyloxykarbonyl- β -D-glukopyranosy **12** (9,742 g ; 22,6 mmol) v bezvodém pyridinu (56,0 ml) byl za míchání a chlazení v lázni voda-sůl-led (-15 °C) z přikapávací nálevky po dobu 15 minut přidáván methansulfonylchlorid (5 ml ; 64,6 mmol). Po ohřátí na laboratorní teplotu byla lázeň odstraněna a kapalina v baňce míchána přes noc. Druhý den byl obsah baňky nalit na drcený led (400 g), vysrážený produkt zfiltrován a promyt vodou (800,0 ml). K surovému produktu bylo přidáno aktivní uhlí s acetonem (100,0 ml), směs byla promíchána, zfiltrována, odpařena na VRO. Odparek byl krystalován ze směsi ethanol-voda. Výtěžek 9,517 g (83 %) 1,6-anhydro-2,4-di-O-benzyloxykarbonyl-3-O-methansulfonyl- β -D-glukopyranosy **13**. Produkt byl potvrzen porovnáním se standardem na TLC.

14) Příprava 1,6:3,4-dianhydro- β -D-allopyranosy (14)

K 1,6-anhydro-2,4-di-*O*-benzyloxykarbonyl-3-*O*-methansulfonyl- β -D-glukopyranose **13** (9,000 g ; 17,7 mmol) byl přidán chloroform (32,0 ml), směs umístěna do chladicí lázně voda-sůl-led (-10 °C) a za stálého míchání a chlazení byl do baňky z přikapávací nálevky po dobu 20 minut přidáván roztok methanolátu sodného, jenž byl připraven rozpuštěním sodíku (3,244 g ; 141,1 mmol) v methanolu (43,0 ml). Po odstranění chladicí lázně byl roztok za laboratorní teploty míchán 1,5 hodiny do vymizení reaktantu. Ke směsi v baňce byla přidána voda (23,0 ml), ethanol (12,0 ml) a velmi opatrně po kapkách koncentrovaná kyselina chlorovodíková (10,0 ml) pro úpravu pH na hodnotu pH = 7. Směs byla odpařena na VRO, odparek s přidavkem acetonu (3 x 50,0 ml) refluxován, získaná kapalina zfiltrována a odpařena na VRO. Poté byla do baňky přidána voda (50,0 ml) a směs destilována v aparatuře pro destilaci s vodní parou pro odstranění nadbytečného benzylalkoholu. Destilační zbytek byl odpařen na VRO, po přidavku dichlormethanu (35,0 ml) vysušen síranem sodným, zfiltrován, opět odpařen na VRO a krystalován ze směsi ethylacetát-petrolether. Výtěžek 0,822 g (32 %) 1,6:3,4-dianhydro- β -D-allopyranosy **14**. Produkt byl potvrzen porovnáním se standardem na TLC.

15) Příprava 1,6-anhydro-3-benzylamino-3-deoxy- β -D-glukopyranosy (15)

K 1,6:3,4-dianhydro- β -D-allopyranose **14** (1,794 g ; 12,4 mmol) byl přidán benzylamin (6,1 ml ; 55,8 mmol), baňka byla umístěna do silikonové lázně (160 °C) a pod inertní atmosférou argonu zahřívána a míchána po dobu 85 hodin. Po ochlazení na laboratorní teplotu byla kapalina v baňce odpařena na VRO, ke vzniklému oleji přidána voda (150,0 ml) a na aparatuře pro destilaci s vodní parou oddestilován nadbytečný benzylamin. Destilační zbytek byl odpařen na VRO, rozpuštěn v ethanolu (100,0 ml), zfiltrován, odpařen na VRO a odparek krystalován z ethanolu. Výtěžek 2,246 g (76 %) 1,6-anhydro-3-benzylamino-3-

deoxy- β -D-glukopyranosy **15**. Produkt byl potvrzen porovnáním se standardem na TLC.

16) Příprava 1,6-anhydro-3,4-(*N*-benzylepimino)-3,4-dideoxy- β -D-galaktopyranosy (16)

Směs 1,6-anhydro-3-benzylamino-3-deoxy- β -D-glukopyranosy **15** (2,058 g ; 8,2 mmol) a trifenylofosfinu (2,366 g) byla rozpuštěna v toluenu (100,0 ml), umístěna do chladicí lázně voda-led (-5 °C) a ke směsi v baňce byl z přikapávací nálevky za stálého chlazení a míchání po dobu 70 minut přidáván roztok získaný smísením toluenu (10,0 ml) a diisopropylazodikarboxylátu (1,9 ml). Po odstranění chladicí lázně byl roztok v baňce míchán za laboratorní teploty 3 dny do vymizení reaktantu, odpařen na VRO a vzniklý olej chromatografován na koloně se silikagelem (150 g). Jako mobilní fáze byla použita směs S₂. Eluovaná kapalina složená z epiminu a diisopropylhydrazodikarboxylátu byla odpařena na VRO a po dobu 2,5 dne ve vodní lázni (45 °C) hydrolyzována přidávkem 5 % roztoku hydroxidu sodného (20,0 ml) a ethanolu (30,0 ml). Roztok pak byl extrahován dichlormethanem (3 x 50,0 ml), organická fáze vysušena síranem sodným, zfiltrována, odpařena na VRO a krystalována ze směsi ethanol-ether-petrolether. Výtěžek 1,074 g (56 %) 1,6-anhydro-3,4-(*N*-benzylepimino)-3,4-dideoxy- β -D-galaktopyranosy **16**, bílé jehličky o b.t. 101 – 104 °C. Literatura⁵⁵ udává 103,5-104,5 °C.

17) Příprava 1,6-anhydro-2-benzylamino-2-deoxy- β -D-galaktopyranosy (17)

K 1,6:2,3-dianhydro- β -D-galaktopyranose⁵⁶ **iv** (0,031 g ; 0,2 mmol) byl přidán benzylamin (0,5 ml ; 4,6 mmol), baňka byla umístěna do silikonové lázně (160 °C) a pod inertní atmosférou argonu zahřívána a míchána po dobu 4 dnů. Po ochlazení na laboratorní teplotu byla kapalina v baňce odpařena na VRO, ke vzniklému oleji přidána voda (40,0 ml) a na aparatuře pro destilaci s vodní parou oddestilován nadbytečný benzylamin. Destilační zbytek byl odpařen na VRO,

rozpuštěn v ethanolu (30,0 ml), zfiltrován, odpařen na VRO a chromatografován na koloně se silikagelem (80 g). Jako mobilní fáze byla použita směs S₁. První eluovaná látka byla charakterizována jako výchozí reaktant **iv** (0,019 g). V pořadí druhou eluovanou látkou byl produkt **17**, který byl získán odpařením chromatografované kapaliny na VRO a krystalován ze ethanolu. Výtěžek 0,003 g (22 %) 1,6-anhydro-2-benzylamino-2-deoxy-β-D-galaktopyranosy **17**. Produkt byl potvrzen porovnáním se standardem na TLC.

18) Příprava 1,6-anhydro-3-benzylamino-3-deoxy-β-D-mannopyranosy (18)

K 1,6:3,4-dianhydro-β-D-altropyranose⁵⁷ v 2,257 g ; 15,7 mmol) byl přidán benzylamin (8,1 ml ; 74,2 mmol), baňka byla umístěna do silikonové lázně (160 °C) a pod inertní atmosférou argonu zahřívána a míchána po dobu 4 dnů. Po ochlazení na laboratorní teplotu byla kapalina v baňce odpařena na VRO, ke vzniklému oleji přidána voda (180,0 ml) a na aparatuře pro destilaci s vodní parou oddestilován nadbytečný benzylamin. Destilační zbytek byl odpařen na VRO, rozpuštěn v ethanolu (70,0 ml), zfiltrován, odpařen na VRO a odparek krystalován z ethanolu. Výtěžek 0,928 g (24 %) 1,6-anhydro-3-benzylamino-3-deoxy-β-D-mannopyranosy **18**. Produkt byl potvrzen porovnáním se standardem na TLC.

19) Příprava 1,6-anhydro-3,4-(N-benzylepimino)-3,4-dideoxy-β-D-talopyranosy (19)

Směs 1,6-anhydro-3-benzylamino-3-deoxy-β-D-mannopyranosy **18** (0,503 g ; 2,0 mmol) a trifenylofosfinu (0,578 g) byla rozpuštěna v toluenu (25,0 ml), umístěna do chladicí lázně voda-led (-5 °C) a ke směsi v baňce byl z přikapávací nálevky za stálého chlazení a míchání po dobu 70 minut přidáván roztok získaný smísením toluenu (5,0 ml) a diisopropylazodikarboxylátu (0,5 ml). Po odstranění chladicí lázně byl roztok v baňce míchán za laboratorní teploty 4 dny do vymizení reaktantu, odpařen na VRO a vzniklý olej chromatografován na koloně

se silikagelem (40 g). Jako mobilní fáze byla použita směs S₂. Eluovaná kapalina složená z epiminu a diisopropylhydrazodikarboxylátu byla odpařena na VRO a po dobu 2 dnů ve vodní lázni (45 °C) hydrolyzována přidavkem 5 % roztoku hydroxidu sodného (7,0 ml) a ethanolu (7,0 ml). Roztok pak byl extrahován dichlormethanem (5 x 25,0 ml), organická fáze vysušena síranem sodným, zfiltrována, odpařena na VRO a odparek krystalován ze směsi ethanol-ether-petrolether. Výtěžek 0,145 g (31 %) 1,6-anhydro-3,4-(*N*-benzylepimino)-3,4-dideoxy-β-D-talopyranosy **19**. Produkt byl potvrzen porovnáním se standardem na TLC.

20) Příprava 1,6-anhydro-2-benzylamino-2-deoxy-β-D-glukopyranosy (20)

K 1,6-anhydro-4-*O*-benzyl-2-benzylamino-2-deoxy-β-D-glukopyranose⁵⁵ **vi** (0,502 g; 1,5 mmol) bylo přidáno 10 % Pd na uhlí (200 mg), destilovaný methanol (10,0 ml), 1,4 M roztok kyseliny chlorovodíkové v etheru (3,0 ml), na zábrus baňky byl nasazen balonek naplněný vodíkem a směs byla za laboratorní teploty míchána po dobu 7 hodin do vymizení reaktantu. Směs pak byla neutralizována na ionexu Amberlite IRA 400 (5 g; OH⁻ cyklus) v methanolu, zfiltrována, promyta absolutním methanolem (20,0 ml), odpařena na VRO a odparek krystalován ze směsi ethanol-ether-petrolether. Výtěžek 0,232 g (63 %) 1,6-anhydro-2-benzylamino-2-deoxy-β-D-glukopyranosy **20**, krystalické látky o b.t. 139 – 146 °C. Vzorek byl charakterizován porovnáním se standardem (TLC, ¹H NMR).

21) Příprava 1,6-anhydro-4-*O*-benzyl-2,3-dideoxy-2,3-epimino-β-D-talopyranosy (21)

K tetrahydridohlinitanu litnému (0,515 g; 13,6 mmol) byl za stálého míchání a chlazení v lázni voda-sůl-led (-8 °C) pod inertní atmosférou argonu pomalu přidán THF (60,0 ml) a roztok připravený z 1,6-anhydro-3-azido-4-*O*-benzyl-3-deoxy-2-*O*-*p*-toluensulfonyl-β-D-galaktopyranosy⁵⁴ **vii** (1,377 g; 3,2 mmol) a

bezvodého THF (60,0 ml). Baňka se směsí byla nechána reagovat za stálého chlazení po dobu 90 minut do vymizení reaktantu. Po zahřátí na laboratorní teplotu byl do baňky opatrně přidán nasycený roztok síranu sodného (4,0 ml), vše zfiltrováno na fritě s křemelinou a promyto ethylacetátem (300,0 ml). Filtrát byl zahuštěn na VRO a odparek krystalován ze směsi ethanol-ether-petrolether. Výtěžek 0,720 g (97 %) 1,6-anhydro-4-*O*-benzyl-2,3-dideoxy-2,3-epimino- β -D-talopyranosy **21**. Produkt byl charakterizován srovnáním se standardem (^{13}C a ^1H NMR spektrum).

22) Příprava 1,6-anhydro-4-*O*-benzyl-2,3-dideoxy-2,3-(*N*-*o*-nitrobenzensulfonylepimino)- β -D-talopyranosy (22)

K 1,6-anhydro-4-*O*-benzyl-2,3-dideoxy-2,3-epimino- β -D-talopyranose **21** (0,720 g ; 3,1 mmol) byl za stálého míchání a chlazení v lázni ethanol-suchý led (-50 °C) pod inertní atmosférou argonu přidán THF (15,0 ml), triethylamin (0,7 ml) a nakonec po kapkách roztok získaný smísením THF (10,0 ml) a *o*-nitrobenzensulfonylchloridu (1,138 g ; 5,1 mmol). Směs v baňce byla míchána při teplotě chladicí lázně v rozmezí -40 až -25 °C po dobu 60 minut, pak byla přes noc uložena do lednice a druhý den nalita na drcený led (150,0 g). Získaná kapalina byla extrahována dichlormethanem (4 x 20,0 ml), spojené chloroformové extrakty byly promyty 5 % roztokem kyseliny chlorovodíkové (2 x 25,0 ml), 10 % roztokem hydrogenuhličitanu sodného (2 x 25,0 ml) a destilovanou vodou (2 x 25,0 ml). Získaná organická fáze byla vysušena síranem sodným, zfiltrována, odpařena na VRO a odparek krystalován ze směsi ethylacetát-ether-petrolether. Výtěžek 0,586 g (40 %) 1,6-anhydro-4-*O*-benzyl-2,3-dideoxy-2,3-(*N*-*o*-nitrobenzensulfonylepimino)- β -D-talopyranosy (**22**). Matečný louh byl odpařen na VRO a chromatografován na koloně se silikagelem (30 g). Jako mobilní fáze byla použita směs S_3 . V pořadí třetí eluovaná látka byla odpařena, krystalována ze směsi ethylacetát-ether-petrolether a charakterizována jako produkt **22**. Celkový výtěžek pak činil 0,665 g (45 %) 1,6-anhydro-4-*O*-benzyl-2,3-dideoxy-2,3-(*N*-*o*-nitrobenzensulfonylepimino)- β -D-talopyranosy **22**. Produkt byl charakterizován naměřeným ^1H NMR spektrem

(viz. **Příloha 2**); b.t. 139-142 °C; $[\alpha]_D -80^\circ$ (c 0,46, CHCl₃). Pro C₁₉H₁₈N₂O₇S (418,42) vypočteno: 54,54% C, 4,34% H, 6,70% N, 7,66% S a nalezeno 54,41% C, 4,53% H, 6,65% N, 7,52% S.

23) Příprava 1,6-anhydro-4-*O*-benzyl-2,3-dideoxy-2,3-(*N*-*o*-nitrobenzensulfonylepimino)-β-D-allopyranosy (23)

K 1,6-anhydro-2-azido-4-*O*-benzyl-2-deoxy-3-*O*-*p*-toluensulfonyl-β-D-glukopyranose **7** (2,702 g; 6,3 mmol) byl přidán THF (35,0 ml), za stálého míchání a chlazení opatrně přisypán NaBH₄ (0,449 g; 11,9 mmol) a směs pak byla míchána za laboratorní teploty pod inertní atmosférou argonu po dobu 5 dnů do vymizení reaktantu. Za chlazení v lázni voda-led byl k míchanému roztoku po kapkách přidán bezvodý methanol (6,0 ml). Baňka se směsí byla umístěna do silikonové lázně (85 °C), refluxována 23 hodin a odpařena na VRO dosucha. Obsah baňky byl extrahován dichlormethanem (3 x 15 ml). K najímaným extraktům bylo přidáno aktivní uhlí, sušidlo (Na₂SO₄), roztok byl zfiltrován na fritě s křemelinou a odpařen na VRO. Takto bylo získáno 1,344 g (92%; 5,8 mmol) surového produktu 1,6-anhydro-4-*O*-benzyl-2,3-dideoxy-2,3-epimino-β-D-allopyranosy (**9**), ke kterému byl (ihned bez čištění) za stálého míchání a chlazení v lázni ethanol-suchý led (-50 °C) pod inertní atmosférou argonu přidán THF (30,0 ml), triethylamin (1,2 ml) a nakonec po kapkách roztok získaný smísením THF (10,0 ml) a *o*-nitrobenzensulfonylchloridu (1,914 g; 8,6 mmol). Směs v baňce byla míchána při teplotě chladicí lázně v rozmezí -40 až -25 °C po dobu 60 minut, pak byla přes noc uložena do lednice a druhý den nalita na drcený led (200,0 g). Získaná kapalina byla extrahována dichlormethanem (3 x 30,0 ml), promyta 5% roztokem kyseliny chlorovodíkové (2 x 50,0 ml), 10% roztokem hydrogenuhličitanu sodného (2 x 25,0 ml) a destilovanou vodou (2 x 25,0 ml). Získaná organická fáze byla vysušena síranem sodným, zfiltrována, odpařena na VRO a odparek krystalován ze směsi ethylacetát-ether-petrolether. Výtěžek 2,003 g (83%) 1,6-anhydro-4-*O*-benzyl-2,3-dideoxy-2,3-(*N*-*o*-nitrobenzensulfonylepimino)-β-D-allopyranosy **23**. Produkt byl potvrzen porovnáním se standardem⁵⁸ na TLC.

24) Příprava 1,6-anhydro-2-*O*-benzyl-3,4-dideoxy-3,4-(*N*-*o*-nitrobenzensulfonylepimino)- β -D-galaktopyranosy (24)

K 1,6-anhydro-3-azido-2-*O*-benzyl-3-deoxy-4-*O*-*p*-toluensulfonyl- β -D-glukopyranose⁵⁴ **viii** (2,684 g ; 6,2 mmol) byl přidán THF (30,0 ml), za stálého míchání a chlazení opatrně přisypán NaBH₄ (0,469 g ; 12,5 mmol) a směs pak byla míchána za laboratorní teploty pod inertní atmosférou argonu po dobu 6 dnů do vymizení reaktantu. Za chlazení v lázni voda-led byl k míchanému roztoku po kapkách přidán bezvodý methanol (13,0 ml). Baňka se směsí byla umístěna do silikonové lázně (85 °C), refluxována 20 hodin a odpařena na VRO dosucha. Obsah baňky byl extrahován dichlormethanem (3 x 25 ml). K najímaným extraktům bylo přidáno aktivní uhlí, sušidlo (Na₂SO₄), roztok byl zfiltrován na fritě s křemelinou, odpařen na VRO a na dva dny uložen do exsikátoru nad P₂O₅. Tímto způsobem bylo získáno 1,295 g (89 % ; 5,6 mmol) surového produktu 1,6-anhydro-2-*O*-benzyl-3,4-dideoxy-3,4-epimino- β -D-galaktopyranosy **M1**, ke kterému byl (ihned bez čištění) za stálého míchání a chlazení v lázni ethanol-suchý led (-50 °C) pod inertní atmosférou argonu přidán THF (30,0 ml), triethylamin (1,2 ml) a nakonec po kapkách roztok získaný smísením THF (15,0 ml) a *o*-nitrobenzensulfonylchloridu (1,810 g ; 8,1 mmol). Směs v baňce byla míchána při teplotě chladicí lázně v rozmezí -40 až -25 °C po dobu 60 minut, pak byla přes noc uložena do lednice a druhý den nalita na drcený led (120,0 g). Získaná kapalina byla extrahována dichlormethanem (3 x 50,0 ml), promyta 5 % roztokem kyseliny chlorovodíkové (2 x 20,0 ml), 10 % roztokem hydrogenuhličitanu sodného (3 x 25,0 ml) a destilovanou vodou (2 x 40,0 ml). Získaná organická fáze byla vysušena síranem sodným, zfiltrována, odpařena na VRO a odparek krystalován ze směsi ethylacetát-ether-petrolether. Protože po 7 dnech látka nevykrystalovala, byl jako výsledný produkt brán získaný olej. Výtěžek 2,1491 g (93 %) 1,6-anhydro-2-*O*-benzyl-3,4-dideoxy-3,4-(*N*-*o*-nitrobenzensulfonylepimino)- β -D-galaktopyranosy **24**. Produkt byl potvrzen porovnáním se standardem⁵⁹ na TLC.

25) Příprava 1,6-anhydro-2,3,4-trideoxy-2,3-(*N*-o-nitrobenzensulfonylepimino)- β -D-lyxo-hexopyranosy (25)

K 1,6-anhydro-3-azido-3,4-dideoxy-2-*O*-*p*-toluensulfonyl- β -D-*arabino*-hexopyranose⁶⁰ **ix** (1,866 g ; 5,5 mmol) byl přidán THF (25,0 ml), za stálého míchání a chlazení přisypán NaBH₄ (0,424 g ; 11,2 mmol) a směs pak byla míchána za laboratorní teploty pod inertní atmosférou argonu po dobu 6 dnů do vymizení reaktantu. Za chlazení v lázni voda-led byl k míchanému roztoku po kapkách přidán bezvodý methanol (5,0 ml). Baňka se směsí byla umístěna do silikonové lázně (85 °C), refluxována 64 hodin a odpařena na VRO dosucha. Obsah baňky byl extrahován dichlormethanem (3 x 10 ml). K najímaným extraktům bylo přidáno aktivní uhlí, sušidlo (Na₂SO₄), roztok byl zfiltrován na fritě s křemelinou a odpařen na VRO za laboratorní teploty. K odparku v baňce byl (ihned bez čištění) za stálého míchání a chlazení v lázni ethanol-suchý led (-50 °C) pod inertní atmosférou argonu přidán THF (10,0 ml), triethylamin (0,5 ml) a nakonec po kapkách roztok získaný smísením THF (6,0 ml) a *o*-nitrobenzensulfonylchloridu (0,712 g ; 3,2 mmol). Směs v baňce byla míchána při teplotě chladicí lázně v rozmezí -40 až -25 °C po dobu 60 minut, pak byla přes noc uložena do lednice a druhý den nalita na drcený led (120,0 g). Získaná kapalina byla extrahována dichlormethanem (4 x 30,0 ml), promyta 5 % roztokem kyseliny chlorovodíkové (2 x 20,0 ml), 10 % roztokem hydrogenuhličitanu sodného (2 x 25,0 ml) a destilovanou vodou (2 x 25,0 ml). Získaná organická fáze byla vysušena síranem sodným, zfiltrována, odpařena na VRO a krystalována ze směsi ethylacetát-ether-petrolether. Výtěžek 0,652 g (37 %) 1,6-anhydro-2,3,4-trideoxy-2,3-(*N*-*o*-nitrobenzensulfonylepimino)- β -D-*lyxo*-hexopyranosy **25**. Produkt byl charakterizován naměřeným ¹H a ¹³C NMR spektrem (viz. **Příloha 2**); b.t. 156-159 °C; [α]_D -34,5° (c 0,23 , CHCl₃). Pro C₁₂H₁₂N₂O₆S (312,30) vypočteno: 46,15% C, 3,87% H, 8,97% N, 10,27% S a nalezeno: 46,20% C, 3,86% H, 10,34% S.

5.3 Příprava fluorovaných derivátů

5.3.1 Reakce s DAST (CH_2Cl_2)

26) Reakce 1,6-anhydro-2,3-dideoxy-2,3-epimino- β -D-mannopyranosy (10) s DAST

K roztoku 1,6-anhydro-2,3-dideoxy-2,3-epimino- β -D-mannopyranosy **10** (0,106 g ; 0,741 mmol) v dichlormethanu (1,0 ml) byl pod inertní atmosférou argonu za stálého míchání a chlazení v lázni pevný CO_2 -ethanol ($-50\text{ }^\circ\text{C}$) velmi opatrně po kapkách přidán DAST (290,0 μl ; 2,195 mmol). Kapalina pak byla po dobu 3 hodin míchána při teplotě lázně $-10\text{ }^\circ\text{C}$ (lázeň voda-NaCl-led), během nichž se barva směsi změnila ze žluté na hnědou. Baňka byla přes noc umístěna do mrazáku, druhý den do ní za míchání a chlazení v lázni voda-sůl-led byl opatrně přidán nasycený roztok hydrogenuhličitanu sodného (6,0 ml) a dichlormethan (2,0 ml). Organická vrstva byla oddělena a vodná fáze byla po přidání vody (20,0 ml) extrahována dichlormethanem (3 x 20,0 ml), k najímané organické fázi bylo přidáno aktivní uhlí, kapalina vysušena síranem sodným, zfiltrována přes sloupec silikagelu, odpařena na VRO a odparek krystalován ze směsi ethanol-ether-petrolether. Protože ani po pěti dnech produkt nevykrystaloval, byl obsah baňky odpařen a chromatografován na koloně se silikagelem (5 g). Jako mobilní fáze byla použita směs S_2 . Protože získaná látka po odpaření a krystalizaci ze směsi ethanol-ether-petrolether nevykrystalovala, byla charakterizována ve formě oleje. Naměřeným ^1H a ^{19}F NMR spektrem bylo zjištěno, že se v reakční směsi nenachází žádná fluorovaná látka a že při reakci došlo k polymeraci reaktantu.

27) Reakce 1,6-anhydro-2,3-dideoxy-2,3-epimino- β -D-allopyranosy (11) s DAST

K roztoku 1,6-anhydro-2,3-dideoxy-2,3-epimino- β -D-allopyranosy **11** (0,102 g ; 0,713 mmol) v dichlormethanu (1,0 ml) byl pod inertní atmosférou argonu za

stálého míchání a chlazení v lázni pevný CO₂-ethanol (-50 °C) velmi opatrně po kapkách přidán DAST (290,0 µl ; 2,195 mmol). Kapalina pak byla po dobu 2,5 hodin míchána při teplotě lázně -10 °C (lázeň voda-NaCl-led), během nichž se barva směsi změnila ze žluté na hnědou. Baňka byla přes noc umístěna do mrazáku, druhý den do ní za míchání a chlazení v lázni voda-sůl-led byl opatrně přidán nasycený roztok hydrogenuhličitanu sodného (7,0 ml) a dichlormethan (2,0 ml). Organická vrstva byla oddělena a vodná fáze byla po přidání vody (20,0 ml) extrahována dichlormethanem (3 x 20,0 ml), k najímané organické fázi bylo přidáno aktivní uhlí, kapalina vysušena síranem sodným, zfiltrována přes sloupec silikagelu, odpařena na VRO a odparek chromatografován na koloně se silikagelem (5 g). Jako mobilní fáze byla použita směs S₂. Protože získaná látka po odpaření a krystalizaci ze směsi ethanol-ether-petrolether nevykrystalovala, byla charakterizována ve formě oleje. Naměřeným ¹H a ¹⁹F NMR spektrem bylo zjištěno, že se v reakční směsi nenachází žádná fluorovaná látka a že při reakci došlo k polymeraci reaktantu.

28) **Reakce 1,6-anhydro-3-benzylamino-3-deoxy-β-D-mannopyranosy (18) s DAST**

K roztoku 1,6-anhydro-3-benzylamino-3-deoxy-β-D-mannopyranosy **18** (0,105 g ; 0,418 mmol) v dichlormethanu (2,0 ml) byl pod inertní atmosférou argonu za stálého míchání a chlazení v lázni pevný CO₂-ethanol (-50 °C) velmi opatrně po kapkách přidán DAST (170,0 µl ; 1,287 mmol). Kapalina pak byla po dobu 1 hodiny míchána při teplotě lázně 0 °C (lázeň voda-NaCl-led), na 5 dnů umístěna do mrazáku a poté za míchání a chlazení v lázni voda-sůl-led zneutralizována nasyceným roztokem hydrogenuhličitanu sodného (5,0 ml) a přidavkem dichlormethanu (5,0 ml). Organická vrstva byla oddělena a vodná fáze byla po přidání vody (30,0 ml) extrahována dichlormethanem (3 x 20,0 ml), k najímané organické fázi bylo přidáno aktivní uhlí, kapalina vysušena síranem sodným, zfiltrována, odpařena na VRO a odparek krystalován ze směsi ethanol-ether-petrolether. Protože produkt nevykrystaloval, byl charakterizován ve formě

oleje. Naměřeným ^1H a ^{19}F NMR spektrem bylo zjištěno, že se v reakční směsi nenachází žádná fluorovaná látka a že při reakci došlo k debenzylaci reaktantu.

29) Reakce 1,6-anhydro-2,3-(*N*-benzylepimino)-2,3-dideoxy- β -D-allopyranosy (x**) s DAST**

K roztoku 1,6-anhydro-2,3-(*N*-benzylepimino)-2,3-dideoxy- β -D-allopyranosy **x** (0,070 g ; 0,300 mmol) v dichlormethanu (1,0 ml) byl pod inertní atmosférou argonu za stálého míchání a chlazení v lázni pevný CO_2 -ethanol ($-50\text{ }^\circ\text{C}$) velmi opatrně po kapkách přidán DAST (120,0 μl ; 0,908 mmol). Kapalina pak byla po dobu 4 hodin míchána při teplotě lázně $-20\text{ }^\circ\text{C}$, během nichž se barva směsi změnila ze žluté na hnědou. Baňka byla na 20 hodin umístěna do mrazáku a pak do ní za míchání a chlazení v lázni voda-sůl-led byl opatrně přidán nasycený roztok hydrogenuhličitanu sodného (10,5 ml) a dichlormethan (2,0 ml). Organická vrstva byla oddělena a vodná fáze byla po přidání vody (25,0 ml) extrahována dichlormethanem (5 x 25,0 ml), k najímané organické fázi bylo přidáno aktivní uhlí a křemelina, kapalina vysušena síranem sodným, zfiltrována přes sloupec silikagelu, odpařena na VRO a odparek chromatografován na koloně se silikagelem (10 g). Jako mobilní fáze byla použita směs S_3 . Protože získaná látka po odpaření a krystalizaci ze směsi ethanol-ether-petrolether nevykrystalovala, byla charakterizována ve formě oleje. Naměřeným ^1H a ^{19}F NMR spektrem bylo zjištěno, že se v reakční směsi nenachází žádná fluorovaná látka a že při reakci došlo k hydrolyze reaktantu.

30) Reakce 1,6-anhydro-2-benzylamino-2-deoxy- β -D-glukopyranosy (20**) s DAST**

K roztoku 1,6-anhydro-2-benzylamino-2-deoxy- β -D-glukopyranosy **20** (0,101 g ; 0,402 mmol) v dichlormethanu (1,5 ml) byl pod inertní atmosférou argonu za stálého míchání a chlazení v lázni pevný CO_2 -ethanol ($-50\text{ }^\circ\text{C}$) velmi opatrně po kapkách přidán DAST (160,0 μl ; 1,211 mmol). Kapalina pak byla po dobu 1 hodiny míchána při teplotě lázně $-25\text{ }^\circ\text{C}$. Baňka se směsí byla na 2 dny umístěna

do mrazáku a pak za míchání a chlazení v lázni voda-sůl-led zneutralizována nasyceným roztokem hydrogenuhličitanu sodného (7,0 ml) a přidavkem dichlormethanu (2,0 ml). Organická vrstva byla oddělena a vodná fáze byla po přidání vody (30,0 ml) extrahována dichlormethanem (3 x 25,0 ml), najímaná organická fáze vysušena síranem sodným, zfiltrována přes skládaný filtr, odpařena na VRO a odparek krystalován ze směsi ethanol-ether-petrolether. Protože produkt nevykrystaloval, byl charakterizován ve formě oleje. Naměřeným ^1H a ^{19}F NMR spektrem bylo zjištěno, že se v reakční směsi nenachází žádná fluorovaná látka a že při reakci došlo k debenzylaci reaktantu.

31) **Reakce 1,6-anhydro-2-benzylamino-2-deoxy- β -D-galaktopyranosy (17) s DAST**

K roztoku 1,6-anhydro-2-benzylamino-2-deoxy- β -D-galaktopyranosy **17** (0,103 g ; 0,410 mmol) v dichlormethanu (2,0 ml) byl pod inertní atmosférou argonu za stálého míchání a chlazení v lázni pevný CO_2 -ethanol (-50 °C) velmi opatrně po kapkách přidán DAST (160,0 μl ; 1,211 mmol). Kapalína pak byla po dobu 3 hodin míchána při teplotě lázně -15 °C. Baňka byla přes noc umístěna do mrazáku, druhý den do ní za míchání a chlazení v lázni voda-sůl-led byl opatrně přidán nasycený roztok hydrogenuhličitanu sodného (6,0 ml) a dichlormethan (5,0 ml). Organická vrstva byla oddělena a vodná fáze byla po přidání vody (25,0 ml) extrahována dichlormethanem (5 x 15,0 ml), k najímané organické fázi bylo přidáno aktivní uhlí a křemelina, kapalina vysušena síranem sodným, zfiltrována přes sloupec silikagelu, odpařena na VRO a odparek krystalován ze směsi ethanol-ether-petrolether. Protože krystalovaná látka nevykrystalovala, byla charakterizována ve formě oleje. Naměřeným ^1H a ^{19}F NMR spektrem bylo zjištěno, že se v reakční směsi nenachází žádná fluorovaná látka a že při reakci došlo k debenzylaci reaktantu.

32) **Reakce 1,6-anhydro-3-benzylamino-3-deoxy- β -D-glukopyranosy (15) s DAST**

K roztoku 1,6-anhydro-3-benzylamino-3-deoxy- β -D-glukopyranosy **15** (0,104 g ; 0,414 mmol) v dichlormethanu (1,0 ml) byl pod inertní atmosférou argonu za stálého míchání a chlazení v lázni pevný CO₂-ethanol (-50 °C) velmi opatrně po kapkách přidán DAST (170,0 μ l ; 1,287 mmol). Kapalina pak byla při laboratorní teplotě míchána po dobu 25 hodin, během nichž se barva směsi změnila ze žluté na hnědou. Směs byla za intenzivního míchání při laboratorní teplotě zneutralizována 5 % roztokem hydrogenuhličitanu sodného (6,0 ml) a přidavkem dichlormethanu (5,0 ml). Organická vrstva byla oddělena a vodná fáze byla po přidání vody (20,0 ml) extrahována dichlormethanem (4 x 20,0 ml), k najímané organické fázi bylo přidáno aktivní uhlí, kapalina vysušena síranem sodným, zfiltrována přes skládaný filtr, odpařena na VRO a odparek chromatografován na koloně se silikagelem (12 g). Jako mobilní fáze byla použita směs S₃. Protože získaná látka po odpaření a krystalizaci ze směsi ethanol-ether-petrolether nevykrystalovala, byla charakterizována ve formě oleje. Naměřenými NMR spektry bylo zjištěno, že reakcí vzniklo stopové (neseparovatelné) množství 1,6-anhydro-3,4-(*N*-benzylepimino)-2,3,4-trideoxy-2-fluor- β -D-galaktopyranosy **26**, jejíž struktura byla určena pouze ze základního ¹H a ¹⁹F NMR spektra, a 0,096 g (49 %) 1,6-anhydro-2,3-(*N*-benzylepimino)-2,3,4-trideoxy-4-fluor- β -D-mannopyranosy **27**, jejíž struktura byla určena z ¹H, ¹³C a ¹⁹F NMR spektra (viz. *Příloha 2*); b.t. 115-118 °C; [α]_D -62,5° (c 0,22 , CHCl₃). Pro C₁₃H₁₄FNO₂ (235,25) vypočteno: 66,37% C, 6,00% H, 8,08% F, 5,95% N a nalezeno: 66,41% C, 5,59% H, 6,02% N, 8,15% F.

33) **Reakce 1,6-anhydro-3,4-(*N*-benzylepimino)-3,4-dideoxy- β -D-galaktopyranosy (16) s DAST**

K roztoku 1,6-anhydro-3,4-(*N*-benzylepimino)-3,4-dideoxy- β -D-galaktopyranosy **16** (0,104 g ; 0,446 mmol) v dichlormethanu (1,0 ml) byl pod inertní atmosférou argonu za laboratorní teploty a stálého míchání velmi opatrně

po kapkách přidán DAST (180,0 μ l ; 1,362 mmol). Kapalina byla za laboratorní teploty míchána po dobu 48 hodin, poté uložena na 3 dny do mrazáku a pak za intenzivního míchání při laboratorní teplotě zneutralizována nasyceným roztokem hydrogenuhličitanu sodného (5,0 ml) a přidavkem dichlormethanu (5,0 ml). Směs z baňky byla nalita do kádinky s dichlormethanem (40,0 ml) a nasyceným roztokem hydrogenuhličitanu sodného (25,0 ml) a míchána za laboratorní teploty 1 hodinu. Organická vrstva byla oddělena a vodná fáze po přidání vody (20,0 ml) extrahována dichlormethanem (4 x 15,0 ml), spojené organické fáze promyty vodou (2 x 20,0 ml), k najímané organické fázi bylo přidáno aktivní uhlí a křemelina, kapalina vysušena síranem sodným, zfiltrována přes sloupec silikagelu a odpařena na VRO. Odparek byl chromatografován na koloně se silikagelem (14 g), při níž jako mobilní fáze byla použita směs S₄. Chromatografií byly získány dvě látky. Protože získané látky po odpaření a krystalizaci ze směsi ethanol-ether-petrolether nevykrystalovaly, byly charakterizovány ve formě oleje. Naměřenými NMR spektry bylo zjištěno, že reakcí vzniklo 3,8 mg (4 %, neseparovatelné množství) 1,6-anhydro-3,4-(*N*-benzylepimino)-2,3,4-trideoxy-2-fluor- β -D-galaktopyranosy **26**, jejíž struktura byla určena pouze ze základního ¹H a ¹⁹F NMR spektra, a 42,2 mg (40 %) 1,6-anhydro-2,3-(*N*-benzylepimino)-2,3,4-trideoxy-4-fluor- β -D-mannopyranosy (**27**); b.t. 115-118 °C. Látka je identická se sloučeninou připravenou v bodu 32.

34) Reakce 1,6-anhydro-3,4-(*N*-benzylepimino)-3,4-dideoxy- β -D-talopyranosy (19**) s DAST**

K roztoku 1,6-anhydro-3,4-(*N*-benzylepimino)-3,4-dideoxy- β -D-talopyranosy **19** (0,110 g ; 0,472 mmol) v dichlormethanu (2,0 ml) byl pod inertní atmosférou argonu za laboratorní teploty a stálého míchání velmi opatrně po kapkách přidán DAST (190,0 μ l ; 1,438 mmol). Kapalina byla za laboratorní teploty míchána po dobu 7 dnů, poté byla nalita do kádinky s dichlormethanem (50,0 ml) a nasyceným roztokem hydrogenuhličitanu sodného (35,0 ml) a míchána za laboratorní teploty 1 hodinu. Organická vrstva byla oddělena a vodná fáze po

přidání vody (20,0 ml) extrahována dichlormethanem (4 x 20,0 ml), spojené organické fáze promyty vodou (2 x 20,0 ml), najímaná organická fáze byla vysušena síranem sodným, zfiltrována a odpařena na VRO. Protože získaná látka po odpaření a krystalizaci ze směsi ethanol-ether-petrolether nevykristalovala, byla charakterizována ve formě oleje. Naměřeným ^1H a ^{19}F NMR spektrem bylo zjištěno, že se v reakční směsi nenachází žádná fluorovaná látka a že při reakci došlo k polymeraci reaktantu.

5.3.2 Reakce s KHF_2

5.3.2.1 Působením H_2SO_4 (CH_2Cl_2)

35) Reakce 1,6-anhydro-3,4-(*N*-benzylepimino)-3,4-dideoxy- β -D-altropyranosy (xi) s KHF_2

Do teflonového autoklávu byla vsypána 1,6-anhydro-3,4-(*N*-benzylepimino)-3,4-dideoxy- β -D-altropyranosa⁶¹ xi (0,234 g ; 1,002 mmol), bezvodý KHF_2 (0,625 g ; 8,002 mmol) a přilít dichlormethan (10,0 ml). V digestoři byla ke směsi velmi opatrně přidána koncentrovaná kyselina sírová (560,0 μ l), autokláv okamžitě uzavřen (uvolňuje se HF) a utěsněn parafilmem. Autokláv s obsahem byl umístěn do silikonové lázně, za stálého míchání zahříván (85 – 90 °C) po dobu 96 hodin, po jejichž uplynutí a ochlazení na laboratorní teplotu byl do autoklávu za stálého míchání přidán dichlormethan (20,0 ml) a voda (50,0 ml). Organická vrstva byla oddělena a vodná fáze byla extrahována dichlormethanem (3 x 20,0 ml), spojené organické fáze byly promyty nasyceným roztokem hydrogenuhličitanu sodného (2 x 20,0 ml), najímaná organická fáze vysušena síranem sodným, zfiltrována, odpařena na VRO a odparek krystalován ze směsi ethanol-ether-petrolether. Vodná fáze (po extrakci) byla odpařena na VRO dosucha, vzniklá pevná látka míchána celkem 3 x vždy po dobu 20 minut s ethanolem (20,0 ml), získaná kapalina zfiltrována, odpařena a odparek krystalován ze směsi ethanol-ether-petrolether. Naměřeným 1H a ^{19}F NMR spektrem bylo zjištěno, že se v reakční směsi nenachází žádná fluorovaná látka a že při reakci došlo k polymeraci reaktantu.

36) Reakce 1,6-anhydro-2,3-dideoxy-2,3-epimino- β -D-allopyranosy (11) s KHF_2

Do teflonového autoklávu byla vsypána 1,6-anhydro-2,3-dideoxy-2,3-epimino- β -D-allopyranosa 11 (0,366 g ; 2,557 mmol), bezvodý KHF_2 (2,004 g ; 25,659 mmol) a přilít dichlormethan (5,0 ml). V digestoři byla ke směsi velmi opatrně

přidána koncentrovaná kyselina sírová (1,4 ml), autokláv okamžitě uzavřen (uvolňuje se HF) a utěsněn parafilmem. Autokláv s obsahem byl umístěn do silikonové lázně, za stálého míchání zahříván (85 – 90 °C) po dobu 4 dnů, po jejichž uplynutí a ochlazení na laboratorní teplotu byl do autoklávu za stálého míchání přidán dichlormethan (40,0 ml) a voda (120,0 ml). Organická vrstva byla oddělena, vodná fáze byla extrahována dichlormethanem (5 x 20,0 ml), najímané organické fáze byly promyty nasyceným roztokem hydrogenuhličitanu sodného (3 x 30,0 ml), najímaná organická fáze vysušena síranem sodným, zfiltrována, odpařena na VRO a odparek krystalován ze směsi ethanol-ether-petrolether. Vodná fáze (po extrakci) byla odpařena na VRO dosucha, vzniklá pevná látka míchána celkem 3 x vždy po dobu 20 minut s ethanolem (20,0 ml), získaná kapalina zfiltrována, odpařena a odparek na 2 dny uložen do exsikátoru nad P₂O₅. K vysušené látce byl pod septem přidán pyridin (4,0 ml), anhydrid kyseliny octové (1,4 ml) a směs se nechala za laboratorní teploty a stálého míchání reagovat 2 dny. Baňka se směsí byla míchána a zahřívána v silikonové lázni (50 °C) 21 hodin, poté nalita na drcený led (50 g), extrahována dichlormethanem (3 x 20,0 ml) a spojené organické fáze byly promyty 5 % roztokem kyseliny chlorovodíkové (2 x 25,0 ml). Najímaná organická fáze byla vysušena síranem sodným, zfiltrována, odpařena na VRO a odparek chromatografován na koloně se silikagelem (5 g). Jako mobilní fáze byla použita směs S₂. Získaná látka byla odpařena a krystalována ze směsi ethanol-ether-petrolether. Naměřeným ¹H a ¹⁹F NMR spektrem bylo zjištěno, že se v reakční směsi nenachází žádná fluorovaná látka a že při reakci došlo k debenzylaci reaktantu.

37) Reakce 1,6-anhydro-2,3-dideoxy-2,3-epimino-β-D-mannopyranosy (10) s KHF₂

Do teflonového autoklávu byla vsypána 1,6-anhydro-2,3-dideoxy-2,3-epimino-β-D-mannopyranosa **10** (0,219 g ; 1,530 mmol), bezvodý KHF₂ (1,199 g ; 15,352 mmol) a přilít dichlormethan (5,0 ml). V digestoři byla ke směsi velmi opatrně přidána koncentrovaná kyselina sírová (850,0 μl), autokláv okamžitě uzavřen

(uvolňuje se HF) a utěsněn parafilmem. Autokláv s obsahem byl umístěn do silikonové lázně, za stálého míchání zahříván (85 – 90 °C) po dobu 96 hodin, po jejichž uplynutí a ochlazení na laboratorní teplotu byl do autoklávu za stálého míchání přidán dichlormethan (30,0 ml) a voda (100,0 ml). Organická vrstva byla oddělena, vodná fáze byla extrahována dichlormethanem (5 x 20,0 ml), zneutralizována nasyceným roztokem hydrogenuhličitanu sodného (70,0 ml), najímaná organická fáze vysušena síranem sodným, zfiltrována, odpařena na VRO a odparek krystalován ze směsi ethanol-ether-petrolether. Vodná fáze (po extrakci) byla odpařena na VRO dosucha, vzniklá pevná látka míchána celkem 3 x vždy po dobu 20 minut s ethanolem (20,0 ml), získaná kapalina zfiltrována, odpařena a odparek krystalován ze směsi ethanol-ether-petrolether. Naměřeným ^1H a ^{19}F NMR spektrem bylo zjištěno, že se v reakční směsi nenachází žádná fluorovaná látka a že při reakci došlo k hydrolyze reaktantu.

38) **Reakce 1,6-anhydro-3,4-(*N*-benzylepimino)-3,4-dideoxy- β -D-galaktopyranosy (16) s KHF_2**

Do teflonového autoklávu byla vsypána 1,6-anhydro-3,4-(*N*-benzylepimino)-3,4-dideoxy- β -D-galaktopyranosa **16** (0,234 g ; 1,003 mmol), bezvodý KHF_2 (1,204 g ; 15,416 mmol) a přilít dichlormethan (5,0 ml). V digestoři byla ke směsi velmi opatrně přidána koncentrovaná kyselina sírová (560,0 μl), autokláv okamžitě uzavřen (uvolňuje se HF) a utěsněn parafilmem. Autokláv s obsahem byl umístěn do silikonové lázně, za stálého míchání zahříván (85 – 90 °C) po dobu 100 hodin, po jejichž uplynutí a ochlazení na laboratorní teplotu byl do autoklávu za stálého míchání přidán dichlormethan (30,0 ml) a voda (100,0 ml). Chloroformová vrstva byla oddělena, vodná fáze byla extrahována dichlormethanem (5 x 20,0 ml), zneutralizována nasyceným roztokem hydrogenuhličitanu sodného (70,0 ml), do najímané organické fáze byl přidán síran sodný a aktivní uhlí, kapalina zfiltrována přes silikagel, odpařena na VRO a krystalována ze směsi ethanol-ether-petrolether. Vodná fáze (po extrakci) byla odpařena na VRO dosucha, vzniklá pevná látka míchána celkem 3 x vždy po dobu 20 minut s ethanolem (25,0 ml), získaná kapalina zfiltrována a odpařena. K

odparku byl pod septem přidán pyridin (1,5 ml), anhydrid kyseliny octové (0,14 ml) a směs se nechala za laboratorní teploty a stálého míchání reagovat 24 hodin. Pak byl do baňky opět přidán pyridin (1,5 ml), anhydrid kyseliny octové (0,14 ml) a baňka se směsí byla míchána a zahřívána v silikonové lázni (50 °C) 24 hodin, poté nalita na drcený led (100 g). Organická vrstva byla oddělena, vodná fáze byla extrahována dichlormethanem (3 x 20,0 ml) a spojené organické fáze byly promyty 5 % roztokem kyseliny chlorovodíkové (2 x 25,0 ml). Najímaná organická fáze byla vysušena síranem sodným, zfiltrována, odpařena na VRO a odparek chromatografován na koloně se silikagelem (5 g). Jako mobilní fáze byl použit methanol. Získaná látka byla odpařena a odparek krystalován ze směsi ethanol-ether-petrolether. Naměřeným ^1H a ^{19}F NMR spektrem bylo zjištěno, že se v reakční směsi nenachází žádná fluorovaná látka a že při reakci došlo k polymeraci reaktantu.

39) Reakce 1,6-anhydro-4-O-benzyl-2,3-dideoxy-2,3-(*N*-o-nitrobenzensulfonylepimino)- β -D-allopyranosy (23) s KHF_2

Do teflonového autoklávu byla vsypána 1,6-anhydro-4-*O*-benzyl-2,3-dideoxy-2,3-(*N*-o-nitrobenzensulfonylepimino)- β -D-allopyranosa **23** (0,053 g ; 0,127 mmol), bezvodý KHF_2 (0,075 g ; 0,960 mmol) a přilít dichlormethan (2,0 ml). V digestoři byla ke směsi velmi opatrně přidána koncentrovaná kyselina sírová (10,0 μl), autokláv okamžitě uzavřen (uvolňuje se HF) a utěsněn parafilmem. Autokláv s obsahem byl umístěn do silikonové lázně, za stálého míchání zahříván (85 – 90 °C) po dobu 96 hodin, po jejichž uplynutí a ochlazení na laboratorní teplotu byl do autoklávu za stálého míchání přidán dichlormethan (10,0 ml) a voda (30,0 ml). Organická vrstva byla oddělena, vodná fáze byla extrahována dichlormethanem (3 x 15,0 ml), najímané organické fáze promyty nasyceným roztokem hydrogenuhličitanu sodného (2 x 15,0 ml), do najímané organické fáze byl přidán síran sodný, kapalina zfiltrována, odpařena na VRO a odparek krystalován ze směsi ethanol-ether-petrolether. Naměřeným ^1H a ^{19}F NMR spektrem bylo zjištěno, že z reakční směsi byl izolován pouze reaktant a k žádné reakci tedy nedošlo.

5.3.2.2 Působením H_2SO_4 ($HOCH_2CH_2OH$)

40) Reakce 1,6-anhydro-3,4-(*N*-benzylepimino)-3,4-dideoxy- β -D-altropyranosy (xi) s KHF_2

Do teflonového autoklávu byla vsypána 1,6-anhydro-3,4-(*N*-benzylepimino)-3,4-dideoxy- β -D-altropyranosa⁶¹ xi (0,500 g ; 2,144 mmol), bezvodý KHF_2 (1,676 g ; 21,457 mmol) a ethylenglykol (2,5 ml). V digestoři byla ke směsi velmi opatrně přidána koncentrovaná kyselina sírová (150,0 μ l), autokláv okamžitě uzavřen (uvolňuje se HF) a utěsněn parafilmem. Autokláv s obsahem byl umístěn do silikonové lázně, za stálého míchání zahříván (85 – 90 °C) po dobu 68 hodin, po jejichž uplynutí a ochlazení na laboratorní teplotu byl do autoklávu za stálého míchání přidán dichlormethan (2,0 ml) a nasycený roztok hydrogenuhličitanu sodného (6,0 ml) do neutrálního pH. Organická vrstva byla oddělena, vodná fáze byla po přidavku vody (10,0 ml) extrahována dichlormethanem (4 x 20,0 ml), do najímané organické fáze byl přidán síran sodný, kapalina zfiltrována přes křemelinu a odpařena na VRO. Vodná fáze (po extrakci) byla odpařena na VRO dosucha, vzniklá pevná látka míchána po dobu 60 minut s dichlormethanem (60,0 ml), získaná kapalina zfiltrována, odpařena a odparek byl přidán k odparku z organické fáze. Látka byla chromatografována na koloně se silikagelem (40 g). Jako mobilní fáze byla použita směs S_2 . Eluovaná látka byla odpařena, krystalována ze směsi ethanol-ether-petrolether a naměřenými 1H , ^{13}C a ^{19}F NMR spektry bylo zjištěno, že reakcí vzniklo 268,5 mg (49 %) 1,6-anhydro-4-benzylamino-3,4-dideoxy-3-fluor- β -D-mannopyranosy **28** (viz. *Příloha 2*); b.t. 94-96 °C, $[\alpha]_D -90^\circ$ (c 0,30, $CHCl_3$). Pro $C_{13}H_{16}FNO_3$ (253,27) vypočteno: 61,65% C, 6,37% H, 7,50% F, 5,53% N a nalezeno: 61,75% C, 6,32% H, 5,83% N, 7,51% F.

41) Reakce 1,6-anhydro-4-*O*-benzyl-2,3-(*N*-benzylepimino)-2,3-dideoxy- β -D-allopyranosy (xii) s KHF_2

Do teflonového autoklávu byla vsypána 1,6-anhydro-4-*O*-benzyl-2,3-(*N*-benzylepimino)-2,3-dideoxy- β -D-allopyranosa⁵⁵ **xii** (0,329 g ; 1,017 mmol), bezvodý KHF_2 (0,783 g ; 10,025 mmol) a ethylenglykol (1,5 ml). V digestoři byla ke směsi velmi opatrně přidána koncentrovaná kyselina sírová (60,0 μl), autokláv okamžitě uzavřen (uvolňuje se HF) a utěsněn parafilmem. Autokláv s obsahem byl umístěn do silikonové lázně, za stálého míchání zahříván (85 – 90 °C) po dobu 47 hodin, po jejichž uplynutí a ochlazení na laboratorní teplotu byl do autoklávu za stálého míchání přidán dichlormethan (3,0 ml) a nasycený roztok hydrogenuhličitanu sodného (10,0 ml) do neutrálního pH. Organická vrstva byla oddělena, vodná fáze byla po přidavku vody (15,0 ml) extrahována dichlormethanem (4 x 20,0 ml), do najímané organické fáze byl přidán síran sodný, kapalina zfiltrována, odpařena na VRO a odparek byl chromatografován na koloně se silikagelem (30 g). Jako mobilní fáze byla použita směs S_3 . Eluovaná látka byla odpařena, odparek krystalován ze směsi ethanol-ether-petrolether a naměřenými ^1H , ^{13}C a ^{19}F NMR spektry bylo zjištěno, že reakcí vzniklo 179,6 mg (51 %) 1,6-anhydro-4-*O*-benzyl-2-benzylamino-2,3-dideoxy-3-fluoro- β -D-glukopyranosy **29** (viz. *Příloha 2*); nekystalizující olej; $[\alpha]_{\text{D}} -37^\circ$ (c 1,04 , CHCl_3). HR MS (FAB) analýza – pro $\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{FNO}_3$ (M+H) vypočteno: 344,1662 a nalezeno 344,1728.

5.3.2.3 Působením $C_5H_5N^+CH_3^-OTs$

42) Reakce 1,6-anhydro-4-*O*-benzyl-2,3-dideoxy-2,3-(*N*-*o*-nitrobenzensulfonylepimino)- β -D-mannopyranosy (xiii) s KHF_2

Směs 1,6-anhydro-4-*O*-benzyl-2,3-dideoxy-2,3-(*N*-*o*-nitrobenzensulfonyl epimino)- β -D-mannopyranosy⁵⁸ **xiii** (0,213 g ; 0,509 mmol), bezvodého KHF_2 (0,404 g ; 5,172 mmol) a *N*-methylpyridinium tosylátu (0,610 g ; 2,299 mmol) byla za intenzivního míchání umístěna do silikonové lázně vyhřáté na 130 °C. Když se směs v baňce roztavila, byla teplota silikonové lázně snížena a udržována v rozmezí 110 až 120 °C po dobu 17 hodin. Směs v baňce byla ochlazená na laboratorní teplotu, byl do ní přidán ethylacetát (4,0 ml) a roztok byl míchán 1 hodinu. Organická vrstva byla oddělena, vodná fáze byla po přidavku vody (30,0 ml) extrahována dichlormethanem (3 x 20,0 ml), najímané organické fáze byly promyty 5 % roztokem hydrogenuhličitanu sodného (3 x 25,0 ml) a destilovanou vodou (2 x 20,0 ml). Najímaná organická fáze byla vysušena síranem sodným, zfiltrována a odpařena na VRO. Odparek byl chromatografován na koloně se silikagelem (18 g). Jako mobilní fáze byla použita směs S_3 . Eluovaná frakce byla odpařena a odparek krystalován ze směsi ethylacetát-ether-petrolether. Výtěžek 0,031 g (14 %) 1,6-anhydro-4-*O*-benzyl-2,3-dideoxy-3-(*N*-*o*-nitrobenzensulfonylamino)-2-fluor- β -D-glukopyranosy **30**. Produkt byl charakterizován naměřeným NMR spektrem ^{13}C , 1H a ^{19}F a porovnán s literaturou⁵⁸.

5.3.2.4 Působením $C_5H_5N^+CH_3^-OTs$ a $Bu_4N[Ph_3SnF_2]$

43) Reakce 1,6-anhydro-4-*O*-benzyl-2,3-dideoxy-2,3-(*N*-*o*-nitrobenzensulfonylepimino)- β -D-mannopyranosy (xiii) s KHF_2

Směs 1,6-anhydro-4-*O*-benzyl-2,3-dideoxy-2,3-(*N*-*o*-nitrobenzensulfonyl epimino)- β -D-mannopyranosy⁵⁸ **xiii** (0,213 g ; 0,509 mmol), bezvodého KHF_2 (0,403 g ; 5,160 mmol), *N*-methylpyridinium-tosylátu (0,607 g ; 2,288 mmol) a $Bu_4N[Ph_3SnF_2]$ (0,327 g ; 0,519 mmol) byla za intenzivního míchání umístěna do silikonové lázně vyhřáté na 130 °C. Když se směs v baňce roztavila, byla teplota silikonové lázně snížena a udržována v rozmezí 110 až 120 °C po dobu 17 hodin. Tavenina v baňce byla ochlazena na laboratorní teplotu, byl do ní přidán ethylacetát (5,0 ml) a roztok byl míchán 1 hodinu. Organická vrstva byla oddělena, vodná fáze byla po přidavku vody (30,0 ml) extrahována dichlormethanem (3 x 20,0 ml), najímané organické fáze byly promyty 5 % roztokem hydrogenuhličitanu sodného (3 x 20,0 ml) a destilovanou vodou (2 x 20,0 ml). Najímaná organická fáze byla vysušena síranem sodným, zfiltrována a odpařena na VRO. Odparek byl chromatografován na koloně se silikagelem (20 g). Jako mobilní fáze byla použita směs S_3 . Eluovaná látka byla odpařena a odparek krystalován ze směsi ethylacetát-ether-petrolether. Výtěžek 0,070 g (31 %) 1,6-anhydro-4-*O*-benzyl-2,3-dideoxy-3-(*N*-*o*-nitrobenzensulfonylamino)-2-fluor- β -D-glukopyranosy **30**. Produkt byl charakterizován naměřeným (1H a ^{19}F) NMR spektrem a je identický se sloučeninou připravenou výše.

44) Reakce 1,6-anhydro-4-*O*-benzyl-2,3-dideoxy-2,3-(*N*-*o*-nitrobenzensulfonylepimino)- β -D-allopyranosy (**23**) s KHF_2

Směs 1,6-anhydro-4-*O*-benzyl-2,3-dideoxy-2,3-(*N*-*o*-nitrobenzensulfonyl epimino)- β -D-allopyranosy **23** (0,100 g ; 0,239 mmol), bezvodého KHF_2 (0,019 g ; 0,240 mmol), *N*-methylpyridinium-tosylátu (0,276 g ; 1,040 mmol) a $Bu_4N[Ph_3SnF_2]$ (0,166 g ; 0,263 mmol) byla za intenzivního míchání pod inertní atmosférou argonu umístěna do silikonové lázně vyhřáté na 140 °C. Když se

směs v baňce roztavila, byla tavenina v ní míchána při nezměněné teplotě silikonové lázně po dobu 2 hodin. Tavenina byla ochlazena na laboratorní teplotu, byl do ní přidán ethylacetát (4,0 ml) a roztok byl míchán 1 den. Organická vrstva byla oddělena, vodná fáze byla po přidavku vody (30,0 ml) extrahována dichlormethanem (4 x 15,0 ml), najímané organické fáze byly promyty 5 % roztokem hydrogenuhličitanu sodného (2 x 15,0 ml) a destilovanou vodou (2 x 15,0 ml). Najímaná organická fáze byla vysušena síranem sodným, zfiltrována a odpařena na VRO. Odparek byl chromatografován na koloně se silikagelem (20 g). Jako mobilní fáze byla použita 3 % směs methanolu v dichlormethanu. Eluovaná látka byla odpařena a odparek krystalován ze směsi ethylacetát-ether-petrolether. Výtěžek 0,088 g (84 %) 1,6-anhydro-4-*O*-benzyl-2,3-dideoxy-2-(*N*-*o*-nitrobenzensulfonylamino)-3-fluor- β -D-glukopyranosy **31**; b.t. 98-101 °C; $[\alpha]_D -19$ (c 0,28, CHCl₃). Pro C₁₉H₁₉FN₂O₇S (438,4) vypočítáno: 52,05% C, 4,37% H, 4,33% F, 6,39% N, 7,31% S; nalezeno: 52,17% C, 4,36% H, 4,16% F, 6,14% N, 7,30% S. Produkt byl charakterizován naměřenými NMR spektry ¹H, ¹³C a ¹⁹F (viz. *Příloha 2*).

45) Reakce 1,6-anhydro-2-*O*-benzyl-3,4-dideoxy-3,4-(*N*-*o*-nitrobenzensulfonylepimino)- β -D-galaktopyranosy (24) s KHF₂

Směs 1,6-anhydro-2-*O*-benzyl-3,4-dideoxy-3,4-(*N*-*o*-nitrobenzensulfonyl epimino)- β -D-galaktopyranosy **24** (0,754 g ; 1,802 mmol), bezvodého KHF₂ (0,146 g ; 1,869 mmol), *N*-methylpyridinium-tosylátu (2,054 g ; 7,741 mmol) a Bu₄N[Ph₃SnF₂] (1,251 g ; 1,984 mmol) byla za intenzivního míchání pod inertní atmosférou argonu umístěna do silikonové lázně vyhřáté na 135 °C. Když se směs v baňce roztavila, byla teplota silikonové lázně snížena a udržována při teplotě 115 °C po dobu 2 hodin. Tavenina v baňce byla ochlazena na laboratorní teplotu, byl do ní přidán ethylacetát (30,0 ml), voda (10,0ml) a roztok byl míchán 1 den. Organická vrstva byla oddělena, vodná fáze byla po přidavku vody (50,0 ml) extrahována dichlormethanem (4 x 30,0 ml), najímané organické fáze byly promyty 5 % roztokem hydrogenuhličitanu sodného (2 x 30,0 ml) a destilovanou vodou (2 x 30,0 ml). Najímaná organická fáze byla vysušena

síranem sodným, zfiltrována a odpařena na VRO. Odparek byl chromatografován na koloně se silikagelem (70 g). Jako mobilní fáze byla použita směs S₃. Eluovaná látka byla odpařena a odparek krystalován ze směsi ethanol-ether-petrolether. Reakcí vzniklo stopové množství 1,6-anhydro-2-*O*-benzyl-3,4-dideoxy-4-fluor-3-(*N*-*o*-nitrobenzensulfonylamino)-β-D-galaktopyranosy **33**, jejíž struktura byla určena pouze ze základního ¹H a ¹⁹F NMR spektra, a 0,137 g (90 %) 1,6-anhydro-2-*O*-benzyl-3,4-dideoxy-4-fluor-3-(*N*-*o*-nitrobenzensulfonylamino)-β-D-glukopyranosy **32**, jejíž struktura byla určena z ¹H, ¹³C a ¹⁹F NMR spektra (viz. **Příloha 2**); b.t. 59-60 °C; [α]_D -61 (c 0,17, CHCl₃). Pro C₁₉H₁₉FN₂O₇S (438,4) vypočítáno: 52,05% C, 4,37% H, 4,33% F, 6,39% N, 7,31% S; nalezeno: 52,02% C, 4,39% H, 4,01% F, 6,26% N, 7,45% S.

46) Reakce 1,6-anhydro-2,3,4-trideoxy-2,3-(*N*-*o*-nitrobenzensulfonylepimino)-β-D-lyxo-hexopyranosy (25) s KHF₂

Směs 1,6-anhydro-2,3,4-trideoxy-2,3-(*N*-*o*-nitrobenzensulfonylepimino)-β-D-lyxo-hexopyranosy **25** (0,2038 g ; 0,621 mmol), bezvodého KHF₂ (0,049 g ; 0,627 mmol), *N*-methylpyridinium-tosylátu (0,705 g ; 2,657 mmol) a Bu₄N[Ph₃SnF₂] (0,428 g ; 0,679 mmol) byla za intenzivního míchání pod inertní atmosférou argonu umístěna do silikonové lázně vyhřáté na 140 °C. Když se směs v baňce roztavila, byla teplota silikonové lázně snížena a udržována při teplotě 120 °C po dobu 2 hodin. Tavenina v baňce byla ochlazena na laboratorní teplotu, byl do ní přidán ethylacetát (8,0 ml), voda (8,0ml) a roztok byl míchán 1 den. Organická vrstva byla oddělena, vodná fáze byla po přidavku vody (50,0 ml) extrahována dichlormethanem (4 x 25,0 ml), najímané organické fáze byly promyty 5 % roztokem hydrogenuhličitanu sodného (2 x 25,0 ml) a destilovanou vodou (2 x 25,0 ml). Najímaná organická fáze byla vysušena síranem sodným, zfiltrována a odpařena na VRO. Odparek byl chromatografován na koloně se silikagelem (60 g). Jako mobilní fáze byla použita směs S₃. První eluovaná látka byla po odpaření a krystalizaci ze směsi ethylacetát-ether-petrolether naměřeným ¹H a ¹⁹F NMR spektrem charakterizována ve výtěžku 0,054 g (25

%) jako 1,6-anhydro-2,3,4-trideoxy-2-fluor-3-(*N*-*o*-nitrobenzensulfonyl epimino)- β -D-*xylo*-hexopyranosy **34**. V pořadí druhou eluovanou látkou bylo po odpaření a krystalizaci ze směsi ethylacetát-ether-petrolether naměřeným ^1H a ^{19}F NMR spektrem charakterizováno ve výtěžku 0,110 g (51 %) 1,6-anhydro-2,3,4-trideoxy-3-fluor-2-(*N*-*o*-nitrobenzensulfonylepimino)- β -D-*arabino*-hexopyranosy **35**. Celkový výtěžek reakce tedy činil 0,164 g (76 %). Data pro látku **34** jsou: ^1H a ^{19}F NMR spektra (viz. **Příloha 2**); b.t. 146-149 °C; měření optické rotace a elementární analýza nebyly provedeny. Data pro látku **35** jsou: ^1H a ^{19}F NMR spektra (viz. **Příloha 2**); b.t. 166-171 °C; $[\alpha]_{\text{D}} +91,4^\circ$ (c 0,21, CHCl_3). Pro $\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{FN}_2\text{O}_6\text{S}$ (332,31) vypočteno: 43,37% C, 3,94% H, 5,72% F, 8,43% N, 9,65% S a nalezeno: 43,59% C, 4,02% H, 8,42% N, 9,85% S, 5,58% F.

47) Reakce 1,6-anhydro-4-*O*-benzyl-2,3-dideoxy-2,3-(*N*-*o*-nitrobenzensulfonylepimino)- β -D-talopyranosy (**22**) s KHF_2

Směs 1,6-anhydro-4-*O*-benzyl-2,3-dideoxy-2,3-(*N*-*o*-nitrobenzensulfonyl epimino)- β -D-talopyranosy **22** (0,211 g ; 0,504 mmol), bezvodého KHF_2 (0,042 g ; 0,538 mmol), *N*-methylpyridinium-tosylátu (0,570 g ; 2,148 mmol) a $\text{Bu}_4\text{N}[\text{Ph}_3\text{SnF}_2]$ (0,345 g ; 0,547 mmol) byla za intenzivního míchání pod inertní atmosférou argonu umístěna do silikonové lázně vyhřáté na 140 °C. Když se směs v baňce roztavila, byla tavenina v ní míchána při nezměněné teplotě silikonové lázně po dobu 160 minut. Tavenina v baňce byla ochlazená na laboratorní teplotu, byl do ní přidán ethylacetát (12,0 ml), voda (6,0 ml) a roztok byl míchán 2 hodiny. Organická vrstva byla oddělena, vodná fáze byla po přidavku vody (50,0 ml) extrahována dichlormethanem (4 x 30,0 ml), najímané organické fáze byly promyty 5 % roztokem hydrogenuhličitanu sodného (2 x 30,0 ml) a destilovanou vodou (2 x 30,0 ml). Najímaná organická fáze byla vysušena síranem sodným, zfiltrována přes křemelinu a odpařena na VRO. Odparek byl chromatografován na koloně se silikagelem (80 g). Jako mobilní fáze byla použita směs S_3 . Eluovaná látka byla odpařena, vysušena toluenem (3 x

25,0 ml) a krystalována ze směsi ethanol-ether-petrolether. Výtěžek 0,085 g (38 %) 1,6-anhydro-4-*O*-benzyl-2,3-dideoxy-3-(*N*-*o*-nitrobenzensulfonylamino)-2-fluor- β -D-galaktopyranosy **36**. Produkt byl charakterizován naměřeným ^1H a ^{19}F NMR spektrem (viz. **Příloha 2**); $[\alpha]_{\text{D}} +26^\circ$ (c 0,26, CHCl_3). MS ESI spektrum (MeOH matrice): 438 (M^+), 439 ($[\text{M}+\text{H}]^+$), 461 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$). $\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{FN}_2\text{O}_7\text{S}$ vyžaduje 438,09.

5.3.2.5 *Působením $C_5H_5N^+CH_3^-OTs$ a $Bu_4N[Ph_3SnF_2]$ v závislosti na teplotě (studium teplotní závislosti)*

48) Reakce 1,6-anhydro-4-O-benzyl-2,3-dideoxy-2,3-(*N*-o-nitrobenzensulfonylepimino)- β -D-allopyranosy (23) s KHF_2

Směs 1,6-anhydro-4-*O*-benzyl-2,3-dideoxy-2,3-(*N*-o-nitrobenzensulfonyl epimino)- β -D-allopyranosy **23** (0,051 g ; 0,122 mmol), bezvodého KHF_2 (0,010 g ; 0,128 mmol), *N*-methylpyridinium-tosylátu (0,088 g ; 0,332 mmol) a $Bu_4N[Ph_3SnF_2]$ (0,083 g ; 0,132 mmol) byla za intenzivního míchání pod inertní atmosférou argonu umístěna do silikonové lázně vyhřáté na 160 °C. Když se směs v baňce roztavila, byla teplota silikonové lázně snížena a udržována při teplotě 100 °C. Tavenina po 15 minutách ztuhla, a proto byla nechána bez míchání v silikonové lázni po dobu 105 minut. Směs v baňce byla ochlazená na laboratorní teplotu, byl do ní přidán ethylacetát (4,0 ml) a roztok byl míchán 1 den. Organická vrstva byla oddělena, vodná fáze byla po přidavku vody (30,0 ml) extrahována dichlormethanem (4 x 15,0 ml), najímané organické fáze byly promyty 5 % roztokem hydrogenuhličitanu sodného (2 x 15,0 ml) a destilovanou vodou (2 x 15,0 ml). Najímaná organická fáze byla vysušena síranem sodným, zfiltrována a odpařena na VRO. Odparek byl charakterizován naměřeným NMR spektrem 1H a ^{19}F . Výtěžek 6,4 mg (12 %) 1,6-anhydro-4-*O*-benzyl-2,3-dideoxy-2-(*N*-o-nitrobenzensulfonylamino)-3-fluor- β -D-glukopyranosy **31**.

49) Reakce 1,6-anhydro-4-O-benzyl-2,3-dideoxy-2,3-(*N*-o-nitrobenzensulfonylepimino)- β -D-allopyranosy (23) s KHF_2

Směs 1,6-anhydro-4-*O*-benzyl-2,3-dideoxy-2,3-(*N*-o-nitrobenzensulfonyl epimino)- β -D-allopyranosy **23** (0,051 g ; 0,122 mmol), bezvodého KHF_2 (0,010 g ; 0,128 mmol), *N*-methylpyridinium-tosylátu (0,090 g ; 0,339 mmol) a $Bu_4N[Ph_3SnF_2]$ (0,083 g ; 0,132 mmol) byla za intenzivního míchání pod inertní atmosférou argonu umístěna do silikonové lázně vyhřáté na 160 °C. Když se směs v baňce roztavila, byla teplota silikonové lázně snížena a udržována při

teplotě 120 °C po dobu 2 hodin. Tavenina v baňce byla ochlazena na laboratorní teplotu, byl do ní přidán ethylacetát (4,0 ml) a roztok byl míchán 1 den. Organická vrstva byla oddělena, vodná fáze byla po přidavku vody (30,0 ml) extrahována dichlormethanem (4 x 15,0 ml), najímané organické fáze byly promyty 5 % roztokem hydrogenuhličitanu sodného (2 x 15,0 ml) a destilovanou vodou (2 x 15,0 ml). Najímaná organická fáze byla vysušena síranem sodným, zfiltrována a odpařena na VRO. Odparek byl charakterizován naměřeným NMR spektrem ¹H a ¹⁹F. Výtěžek 14,5 mg (27 %) 1,6-anhydro-4-*O*-benzyl-2,3-dideoxy-2-(*N*-*o*-nitrobenzensulfonylamino)-3-fluor-β-D-glukopyranosy **31**.

50) Reakce 1,6-anhydro-4-*O*-benzyl-2,3-dideoxy-2,3-(*N*-*o*-nitrobenzensulfonylepimino)-β-D-allopyranosy (23) s KHF₂

Směs 1,6-anhydro-4-*O*-benzyl-2,3-dideoxy-2,3-(*N*-*o*-nitrobenzensulfonyl epimino)-β-D-allopyranosy **23** (0,100 g ; 0,239 mmol), bezvodého KHF₂ (0,019 g ; 0,240 mmol), *N*-methylpyridinium-tosylátu (0,276 g ; 1,040 mmol) a Bu₄N[Ph₃SnF₂] (0,166 g ; 0,263 mmol) byla za intenzivního míchání pod inertní atmosférou argonu umístěna do silikonové lázně vyhřáté na 140 °C. Když se směs v baňce roztavila, byla tavenina v ní míchána při nezměněné teplotě silikonové lázně po dobu 2 hodin. Tavenina byla ochlazena na laboratorní teplotu, byl do ní přidán ethylacetát (4,0 ml) a roztok byl míchán 1 den. Organická vrstva byla oddělena, vodná fáze byla po přidavku vody (30,0 ml) extrahována dichlormethanem (4 x 15,0 ml), najímané organické fáze byly promyty 5 % roztokem hydrogenuhličitanu sodného (2 x 15,0 ml) a destilovanou vodou (2 x 15,0 ml). Najímaná organická fáze byla vysušena síranem sodným, zfiltrována a odpařena na VRO. Odparek byl chromatografován na koloně se silikagelem (20 g). Jako mobilní fáze byla použita 3 % směs methanolu v dichlormethanu. Eluovaná látka byla odpařena a odparek krystalován ze směsi ethylacetát-ether-petrolether. Výtěžek 0,088 g (84 %) 1,6-anhydro-4-*O*-benzyl-2,3-dideoxy-2-(*N*-*o*-nitrobenzensulfonylamino)-3-fluor-β-D-glukopyranosy **31**. Produkt byl charakterizován naměřeným NMR spektrem ¹³C, ¹H a ¹⁹F.

51) Reakce 1,6-anhydro-4-*O*-benzyl-2,3-dideoxy-2,3-(*N*-*o*-nitrobenzensulfonylepimino)- β -D-allopyranosy (23) s KHF_2

Směs 1,6-anhydro-4-*O*-benzyl-2,3-dideoxy-2,3-(*N*-*o*-nitrobenzensulfonyl epimino)- β -D-allopyranosy **23** (0,051 g ; 0,122 mmol), bezvodého KHF_2 (0,010 g ; 0,128 mmol), *N*-methylpyridinium-tosylátu (0,088 g ; 0,332 mmol) a $\text{Bu}_4\text{N}[\text{Ph}_3\text{SnF}_2]$ (0,084 g ; 0,133 mmol) byla za intenzivního míchání pod inertní atmosférou argonu umístěna do silikonové lázně vyhřáté na 160 °C. Když se směs v baňce roztavila, byla tavenina v ní míchána při nezměněné teplotě silikonové lázně po dobu 2 hodin. Tavenina v baňce byla ochlazená na laboratorní teplotu, byl do ní přidán ethylacetát (4,0 ml) a roztok byl míchán 1 den. Organická vrstva byla oddělena, vodná fáze byla po přidavku vody (30,0 ml) extrahována dichlormethanem (4 x 15,0 ml), najímané organické fáze byly promyty 5 % roztokem hydrogenuhličitanu sodného (2 x 15,0 ml) a destilovanou vodou (2 x 15,0 ml). Najímaná organická fáze byla vysušena síranem sodným, zfiltrována a odpařena na VRO. Odparek byl charakterizován naměřeným NMR spektrem ^1H a ^{19}F . Výtěžek 19,4 mg (37 %) 1,6-anhydro-4-*O*-benzyl-2,3-dideoxy-2-(*N*-*o*-nitrobenzensulfonylamino)-3-fluor- β -D-glukopyranosy **31**.

5.4 Denosylace fluorovaného derivátu

52) Denosylace 1,6-anhydro-4-*O*-benzyl-2,3-dideoxy-2-(*N*-*o*-nitrobenzensulfonylamino)-3-fluor- β -D-glukopyranosy (31)

Směs 1,6-anhydro-4-*O*-benzyl-2,3-dideoxy-2-(*N*-*o*-nitrobenzensulfonylamino)-3-fluor- β -D-glukopyranosy **31** (0,069 g ; 0,157 mmol) a uhličitanu draselného (0,102 g ; 0,738 mmol) byla převrstvena bezvodým acetonem (3,0 ml) a vodou (0,3 ml). Za stálého míchání pod inertní atmosférou argonu byl ke směsi v baňce za laboratorní teploty přidán thiofenol (49,0 μ l ; 0,477 mmol) a vše se nechalo reagovat po dobu 80 minut (dokud provedením TLC ve směsi S₂ nevymizel veškerý reaktant). Obsah baňky byl rychle přefiltrován přes fritu s křemelinou, promyt ethanolem (30,0 ml), najímaná organická fáze odpařena na VRO a odparek chromatografován na koloně se silikagelem (10 g). Jako mobilní fáze byla použita směs S₂ a nakonec byla kolona vymyta absolutním ethanolem. Získaný volný epimin byl rozpuštěn ethanolem (0,4 ml) a za stálého chlazení v lázni voda-led k němu byl přidán 4 M roztok chlorovodíku v etheru (4,0 ml). Přítomná suspenze oleje a organické fáze byla odpařena, vzniklý olej byl vysušen suchým toluenem (3 x 25,0 ml) a poté na 5 dnů umístěn do exsikátoru nad P₂O₅. Naměřenými ¹H a ¹⁹F NMR spektry bylo zjištěno, že reakcí vzniklo 45,8 mg (99 %) hydrochloridu 2-amino-1,6-anhydro-4-*O*-benzyl-2,3-dideoxy-3-fluor- β -D-glukopyranosy **37**; [α]_D -18,5 (c 0,46, MeOH). HR MS (FAB): vypočítáno pro C₁₃H₁₇FNO₃ 254,1193, nalezeno: 254,1180 (M⁺). Produkt byl charakterizován naměřeným NMR spektrem ¹³C, ¹H a ¹⁹F (viz. *Příloha 2*).

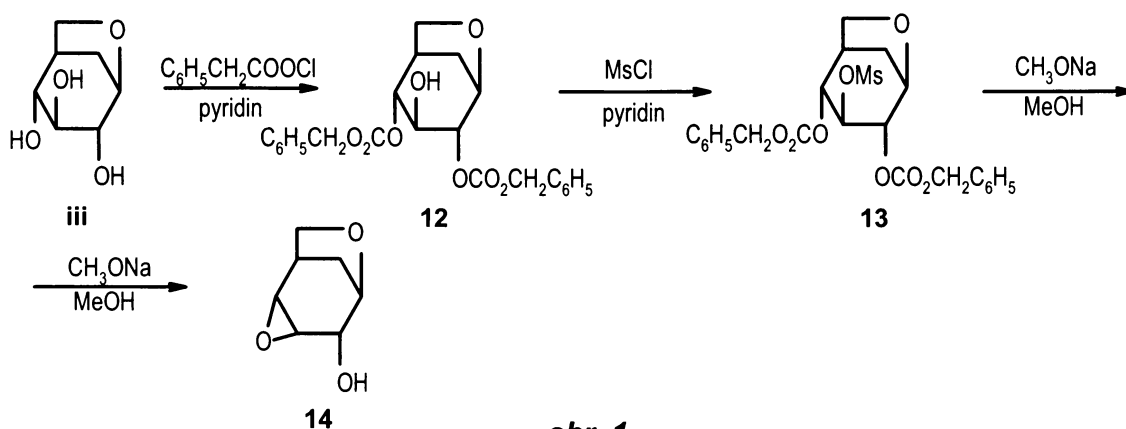
6. VÝSLEDKY A DISKUSE

6.1 Příprava výchozích látek

Základní stavební kámen celé diplomové práce spočíval v přípravě série epimino derivátů 1,6-anhydro- β -D-hexopyranos, jež se dají připravit dvěma rozdílnými postupy, a to Mitsunobuovou reakcí nebo reduktivní cyklizací derivátů vzniklých z 1,6:2,3 či 1,6:3,4-dianhydro- β -D-hexopyranos. Tyto epoxy deriváty 1,6-anhydro- β -D-hexopyranos se připravují sadou reakcí vycházejících z levoglukosanu (1,6-anhydro- β -D-glukopyranosy). Další skupinou výchozích látek byly nosylepiminy, které se připravují nosylací epimino derivátů 1,6-anhydro- β -D-hexopyranos.

6.1.1 Příprava 1,6:3,4-dianhydro- β -D-allopyranosy

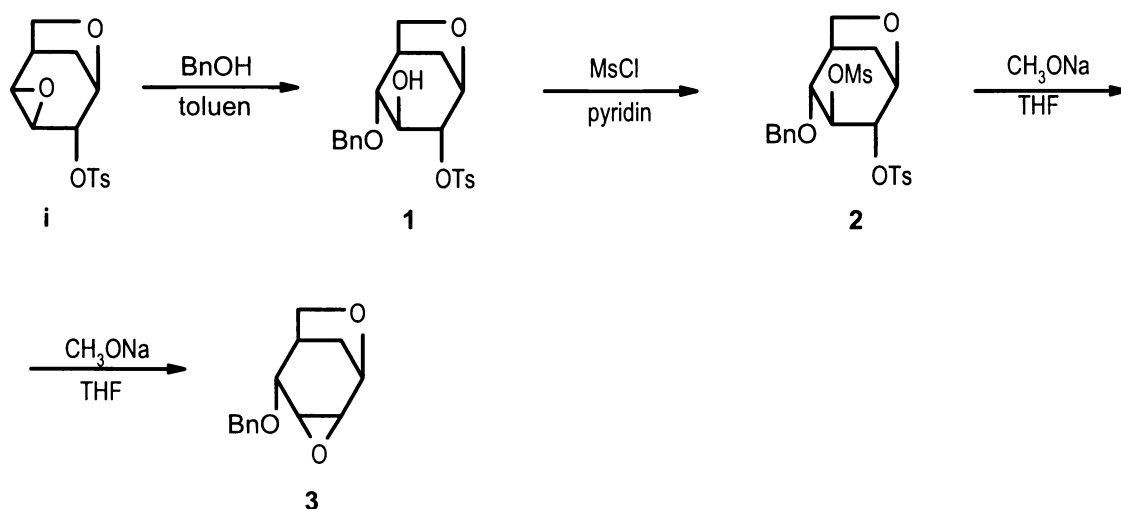
Příprava 3,4-epoxidu vycházela z levoglukosanu **iii** (1,6-anhydro- β -D-glukopyranosa), který se připravuje vakuovou pyrolýzou škrobu. Dle postupu popsaného v literatuře^{51,57} byl levoglukosan **iii** převeden reakcí s benzylchloroformiátem v pyridinu na dibenzyloxykarbonylderivát **12**, ten byl dále reakcí s mesylchloridem převeden na mesylderivát **13** a ten bazickou cyklizací v methanolátu sodném poskytl 1,6:3,4-dianhydro- β -D-allopyranosu **14** ve výtěžku 32 % (*obr. 1*).



obr. 1

6.1.2 Příprava 1,6:2,3-dianhydro- β -D-allopyranosy

Při syntéze 2,3-epoxy derivátu byl výchozí sloučeninou tosyloepoxid **i**, který reakcí s benzylalkoholem v toluenu po přidavku bortrifluoridetheratu poskytl benzyl derivát **1**. Ten pak byl působením methansulfonylchloridu v pyridinu za laboratorní teploty převeden na mesyl derivát **2**, který v přítomnosti methanolu sodného v THF poskytl po 19 hodinách míchání za laboratorní teploty 1,6:2,3-dianhydro-4-*O*-benzyl- β -D-allopyranosu **3** ve výtěžku 73 % (**obr. 2**).



obr. 2

6.1.3. Příprava epiminů Mitsunobuovou reakcí

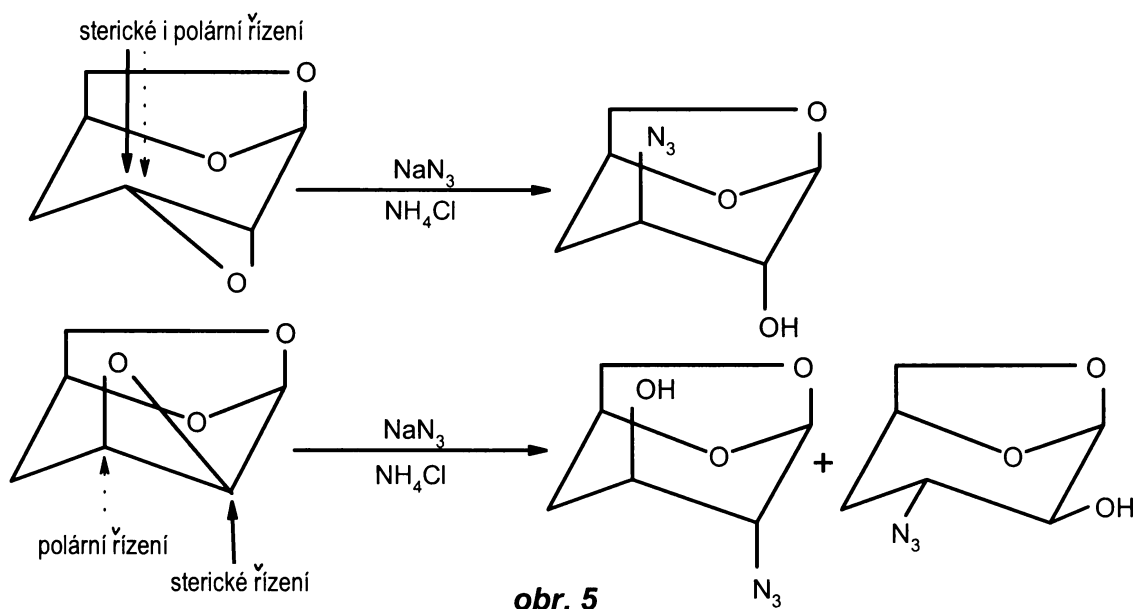
Pro Mitsunobuovu reakci jsou výchozími látkami *N*-benzylamino deriváty 1,6-anhydro- β -D-hexopyranos, které se připravují⁵⁵ otevřením oxiranových kruhů dianhydro derivátů reakcí s benzylaminem.

Vlastní Mitsunobuovou reakcí⁶² je nazývána reakce, při níž *N*-benzylamino deriváty 1,6-anhydro- β -D-hexopyranos reagují s diisopropylazodikarboxylátem v trifenylofosfinu za tvorby epimino derivátů 1,6-anhydro- β -D-hexopyranos podle následujícího schématu (**obr. 3**).

6.1.4 Příprava epiminů reaktivní cyklizací azidosylátů

Syntéza epiminů reaktivní cyklizací vycházející z epoxy derivátů je tří kroková reakce. Prvním krokem je reakce epoxy derivátu 1,6-anhydro- β -D-hexopyranosy s azidem sodným za vzniku azidoalkoholu, druhým krokem je tosylace volné OH-skupiny za vzniku azidosylátu a třetím krokem je redukce za uzavření epiminového kruhu.

V prvním kroku při otvírání epoxidového kruhu dochází k nukleofilnímu ataku cyklu, jenž je řízen dvěma vlivy⁵. Vysvětlení tohoto jevu je ukázáno na 2,3-*lyxo* a 2,3-*ribo* epoxidu (**obr. 5**). První vliv je sterický, vysvětluje se Fůrstovým-Plattnerovým pravidlem (mech. S_N2), jehož produktem je *trans*-diaxiální izomer. Druhý vliv je polární, při kterém dochází k ataku epoxidu v poloze 3 (mech. S_N1) z lépe přístupné strany kruhu a produktem je *trans*-diekvatoriální izomer. Pokud oba vlivy působí souhlasně, vznikne jen jeden produkt, v opačném případě vzniká směs izomerů. V případě epoxidů obsahujících volnou nebo substituovanou hydroxyskupinu vedle oxiranového kruhu je polární řízení prakticky vyloučeno a vznikají produkty podle Fůrstova-Plattnerova pravidla.

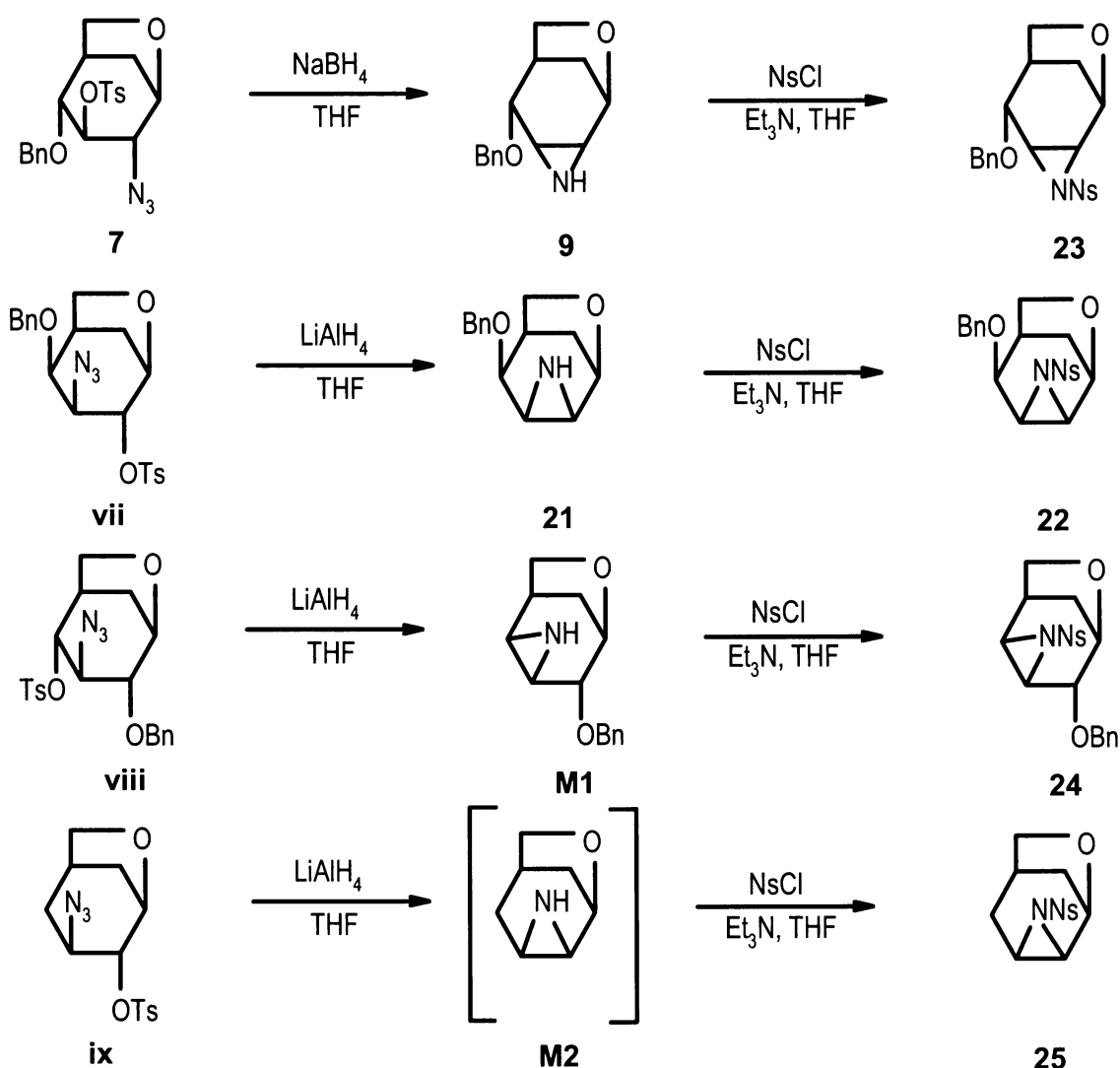


K otevření epoxidového kruhu 1,6:2,3-dianhydro-4-*O*-benzyl- β -D-hexopyranos **3** a **ii** bylo použito azidu sodného a chloridu amonného v prostředí 2-methoxyethanolu a

6.1.5 Příprava nosylepiminů

Syntéza^{58,59} nosylepiminů vycházela z reaktivní cyklizace azidosylátů **7**, **vii**, **viii** a **ix** pomocí redukčních činidel NaBH_4 či LiAlH_4 v THF, jejichž produkty byly nesubstituované epiminy **9**, **21**, **M1** a **M2** (**M1** nebyl čištěn, **M2** není izolovatelný) a ty pak byly následně převedeny účinkem nosylchloridu v triethylaminu a THF na konečné *N*-*o*-nitrobenzensulfonylepiminy **23**, **22**, **24** a **25** ve výtěžcích 37 %-93 %.

Nosylepiminy **22** a **25** jsou nově připravenými látkami, jejichž struktury byly jednoznačně prokázány NMR spektroskopií.



obr. 7

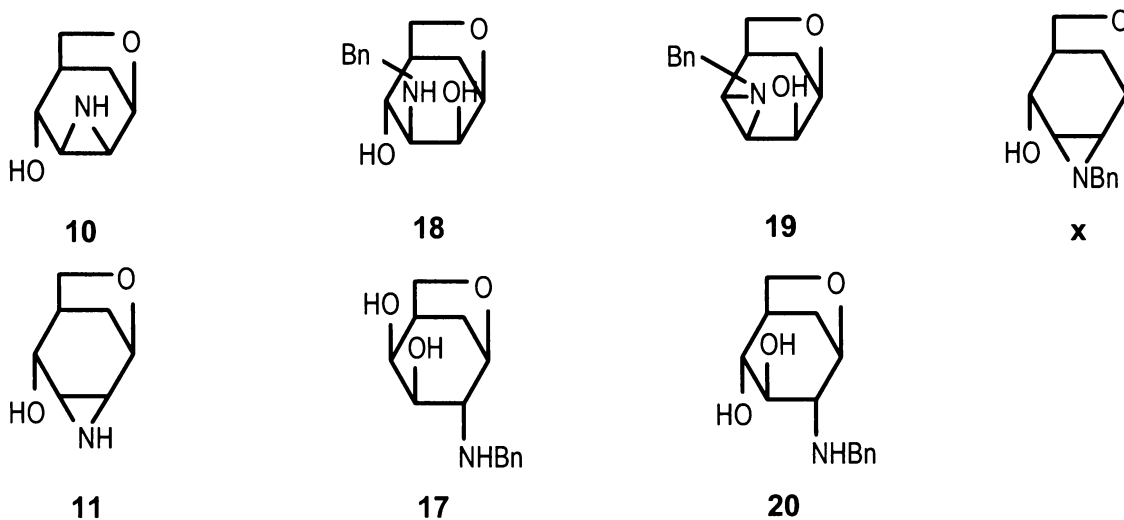
6.2 Příprava fluorovaných derivátů

6.2.1 Reakce s DAST (CH_2Cl_2)

V první sérii reakcí bylo k zavedení atomu fluoru na cukerný skelet použito fluorační činidlo diethylaminosulfurtrifluorid. Reakce byla provedena tak, že se k roztoku epimino či benzylamino derivátu 1,6-anhydro- β -D-hexopyranosy v dichlormethanu za chlazení a stálého míchání (-50°C) přidal DAST. Po ukončení reakce se za chlazení do baňky přidal nasycený roztok hydrogenuhličitanu sodného a dichlormethan. Organická vrstva byla oddělena, vodná fáze extrahována dichlormethanem, spojené organické fáze vysušeny a odpařeny. Protože se téměř ve všech případech v reakční směsi nacházela směs produktů (zjištěno provedením TLC), byl získaný odparek chromatografován na koloně se silikagelem.

Předpokládaným průběhem reakce je nahrazení volné hydroxyskupiny cukru atomem fluoru za vzniku fluoroderivátu, u epiminoderivátu vznik vicinálního fluoroaziridinu (zachování aziridinového kruhu).

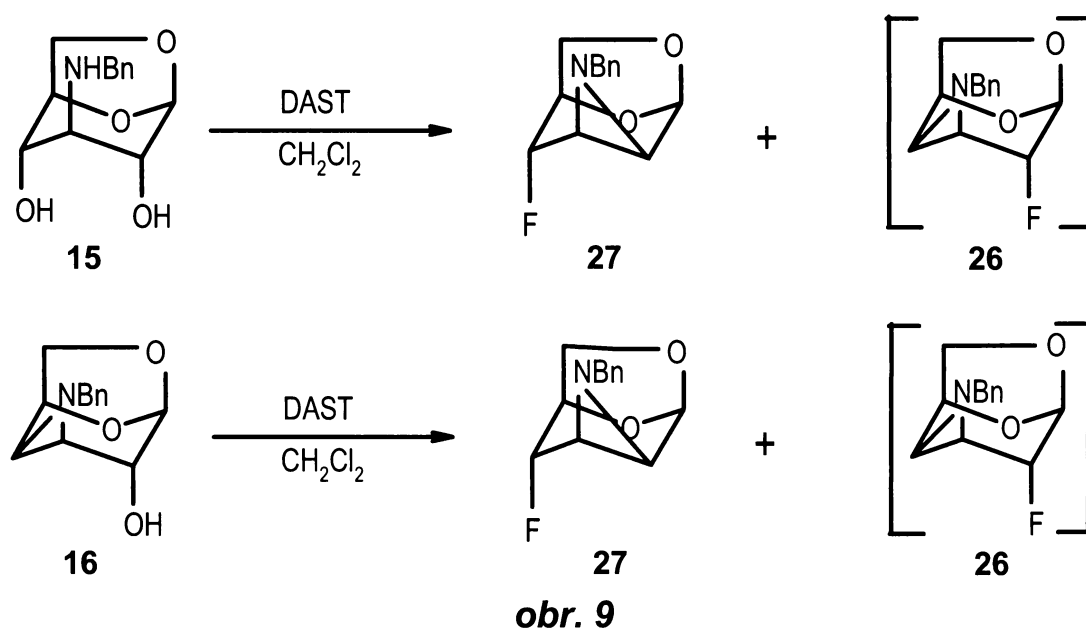
Reakce s DAST byla provedena se sérií epimino a amino derivátů 1,6-anhydro- β -D-hexopyranos **x**, **10**, **11**, **15**, **16**, **17**, **18**, **19** a **20**. Jak bylo zjištěno naměřenými NMR spektry (^{19}F , ^1H), látky **x**, **10**, **11**, **17**, **18**, **19** a **20** (*obr. 8*) neposkytly fluorované deriváty. Při reakci došlo k jejich polymeraci, debenzylaci nebo hydrolyze.



obr. 8

Reakcí aminoderivátu **16** a taktéž epiminu **15** s DAST v dichlormethanu vznikla směs dvou fluoroaziridinů stejného složení (*obr. 9*). Celkový výtěžek reakce vycházející z reaktantu **15** činil 49 %, z reaktantu **16** činil kolem 44 %. V obou případech byla majoritní složkou 1,6-anhydro-2,3-(*N*-benzylepimino)-2,3,4-trideoxy-4-fluor- β -D-mannopyranosa **27**, zatímco 1,6-anhydro-3,4-(*N*-benzylepimino)-2,3,4-trideoxy-2-fluor- β -D-galaktopyranosa **26** byla přítomna jen ve stopovém (neseparovatelném) množství.

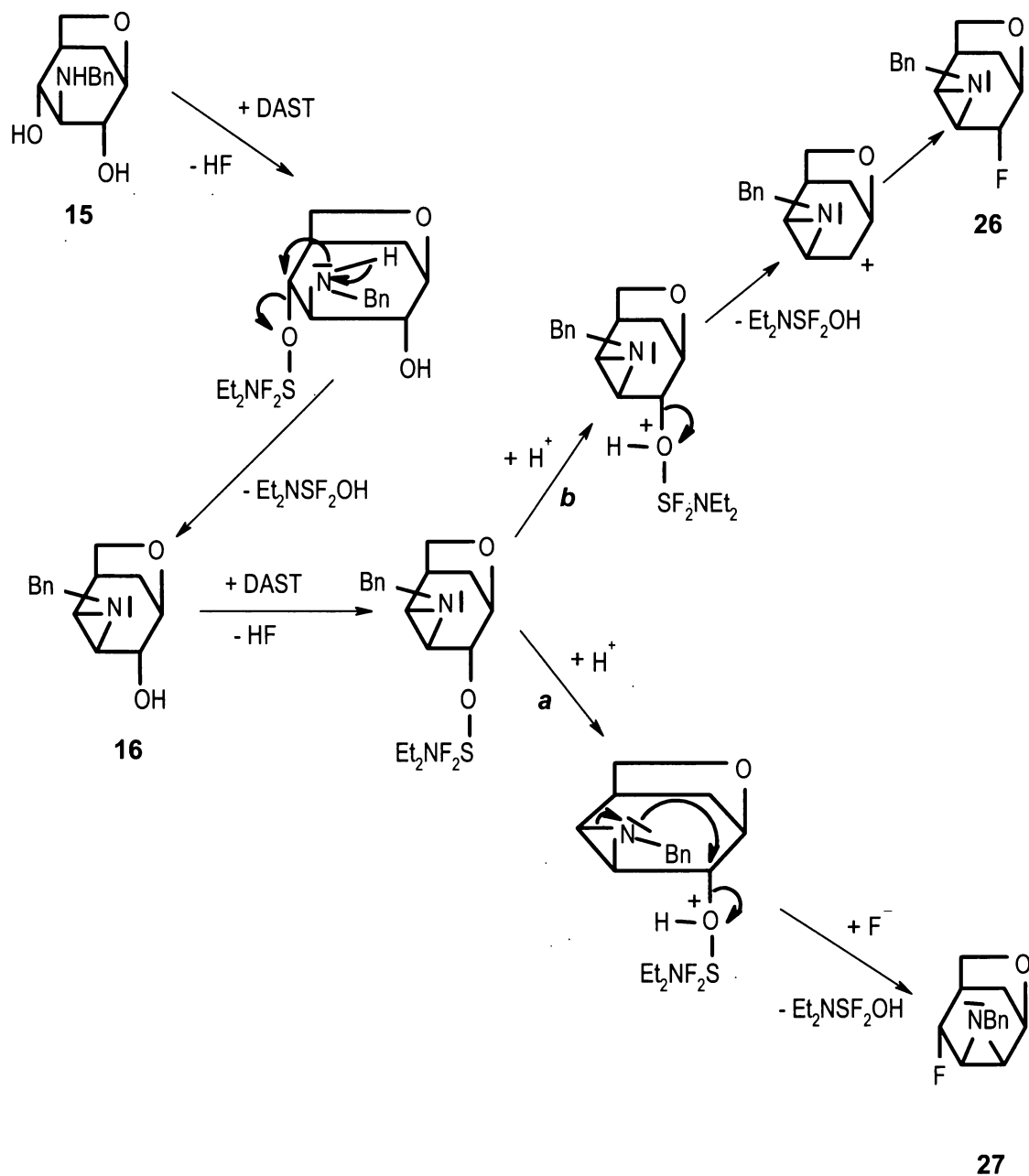
Fluoroaziridiny **27** a **26** jsou nově připravenými látkami, jejichž struktury byly jednoznačně prokázány NMR spektroskopii.



Vysvětlení vzniku fluoroaziridinů **26** a **27** je znázorněno na následujícím schématu (*obr. 10*). Z něj je vidět, proč dva různé reaktanty (**15** a **16**) reakcí poskytují stejné produkty (**26** a **27**). Je to dáno tím, že při reakci amino derivátu **15** s DAST dochází k aktivaci volné OH-skupiny cukru na uhlíku 4, následnému ataku uhlíku 4 volným elektronovým párem dusíku za odstoupení skupiny $\text{Et}_2\text{NSF}_2\text{OH}$ (vodík pochází z aminoskupiny cukru) a uzavření aziridinového kruhu. Touto cestou vznikne z aminoderivátu **15** epimin **16**.

Reakcí epiminu **16** s DAST dochází k aktivaci volné OH-skupiny na uhlíku 2. Zde může dojít buď (cesta *a*) k odstoupení skupiny $\text{Et}_2\text{NSF}_2\text{OH}$, přesmyku aziridinového kruhu (pozice 2,3) a navázání atomu fluoru na uhlík 4 z lépe přístupné strany za vzniku 4-fluoroepiminu **27**, nebo (cesta *b*) k odstoupení skupiny $\text{Et}_2\text{NSF}_2\text{OH}$

mechanismem S_N1 za vzniku karbokationtu na uhlíku 2, který je atakován fluoridovým iontem z lépe přístupné strany, což má za následek vznik 2-fluoroderivátu **26**.



obr. 10

V celkovém pohledu lze konstatovat, že k zavedení atomu fluoru na cukerný skelet se fluorační činidlo diethylaminosulfurtrifluorid ukázal jako ne příliš šťastná volba. Při jeho reakci s amino či epimino deriváty 1,6-anhydro-β-D-hexopyranos ve většině případů dochází ke vzniku směsi různých nefluorovaných produktů.

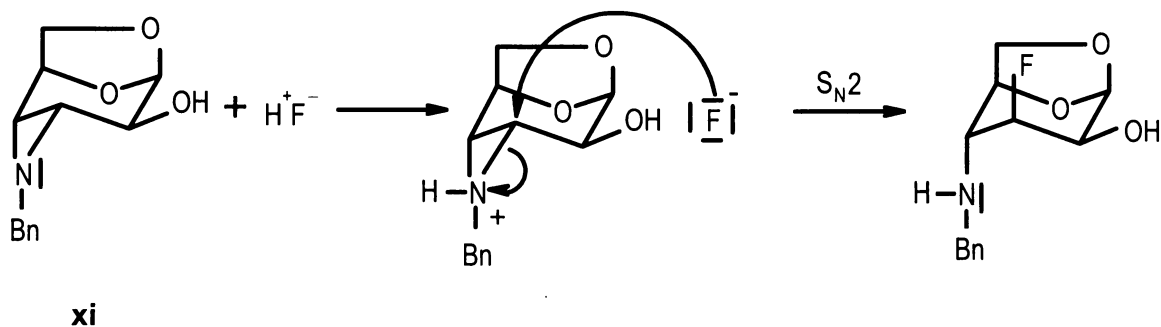
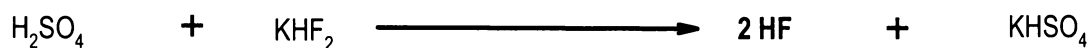
6.2.2 Reakce s KHF_2

Druhá série reakcí přípravy fluorovaných derivátů cukrů byla založena na použití fluoračního činidla hydrogendifluoridu draselného. Reakce s KHF_2 by se daly rozdělit do dvou skupin. Prvním typem byly reakce, kde se z KHF_2 uvolňoval fluorovodík působením kyseliny sírové *in situ*. Tento druh reakce byl proveden ve dvou různých rozpouštědlech a to dichlormethanu a ethylenglykolu. Druhým typem byly reakce, kdy byly cukr a fluorační činidlo KHF_2 převedeny do taveniny *N*-methylpyridinium-tosylátu, v níž probíhala fluorace přímo působením hydrogendifluoridového iontu.

6.2.2.1 Působením kyseliny sírové v dichlormethanu

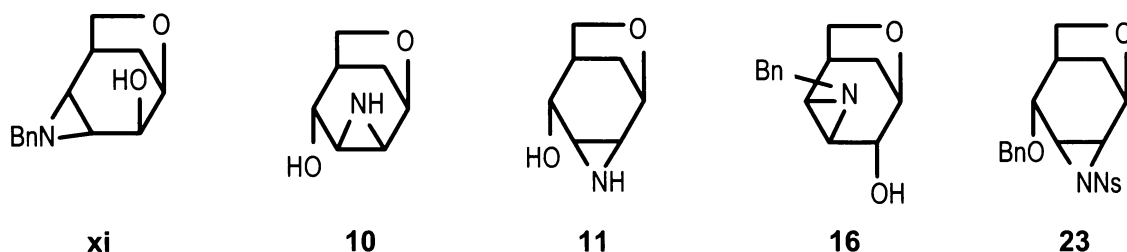
Příprava vicinálních fluoro aziridinů 1,6-anhydro- β -D-hexopyranos byla provedena tak, že v teflonovém autoklávu byly smíseny jednotlivé epiminy s hydrogendifluoridem draselným, směs byla převrstvena dichlormethanem a nakonec do ní byla v digestoři přidána koncentrovaná kyselina sírová. Autokláv musel být rychle uzavřen, aby z něho nevytěkaly fluorovodík vznikající reakcí KHF_2 s H_2SO_4 . Autokláv se směsí byl za stálého míchání zahříván na teplotu 90 °C. Po ukončení reakce byl do autoklávu přidán dichlormethan a voda, organická fáze oddělena, vodná fáze extrahována dichlormethanem, spojené organické fáze byly promyty nasyceným roztokem hydrogenuhličitanu sodného, vysušeny a odpařeny. Vzniklý odparek byl krystalován ze směsi ethanol-ether-petrolether (v některých případech musel být nejdříve přečištěn chromatografií).

Předpokládaný sled reakcí při fluoraci pomocí KHF_2 spočívá v přípravě fluoračního činidla (fluoridového/hydrogendifluoridového iontu) *in situ* a to reakcí hydrogendifluoridu draselného s kyselinou sírovou. Protože se kyselina sírová v dichlormethanu nerozpouští, dochází k protonizaci aziridinového kruhu cukru pouze protonem pocházejícím z molekuly fluorovodíku (slabá kyselina). Vzniklý protonizovaný aziridinový kruh cukru se potom otvírá fluoridovým iontem v souladu s Fůrstovým-Plattnerovým pravidlem mechanismem S_N2 za vzniku *trans*-diaxiálního izomeru (*obr. 11*).



obr. 11

Reakce s KHF_2 byla provedena se sérií epimino derivátů 1,6-anhydro- β -D-hexopyranos **xi**, **10**, **11**, **17** a **23**. Jak bylo zjištěno naměřenými NMR spektry (^{19}F , ^1H), látky **xi**, **10**, **11**, **17** a **23** (*obr. 12*) neposkytly fluorované deriváty. Při reakci došlo k jejich polymeraci, debenzylaci, hydrolyze, či izolaci výchozího reaktantu.



obr. 12

Série reakcí vycházejících z fluorace jednotlivých epiminů 1,6-anhydro- β -D-hexopyranos hydrogendifluoridem draselným v dichlormethanu nebyla úspěšná. Ani při jedné z provedených reakcí nedošlo k zavedení atomu fluoru na cukerný skelet. Proto bylo nutné tuto metodu modifikovat. Modifikace spočívala v záměně rozpouštědla dichlormethanu za ethylenglykol (viz. Oddíl 6.2.2.2).

6.2.2.2 Působením kyseliny sírové v ethylenglykolu

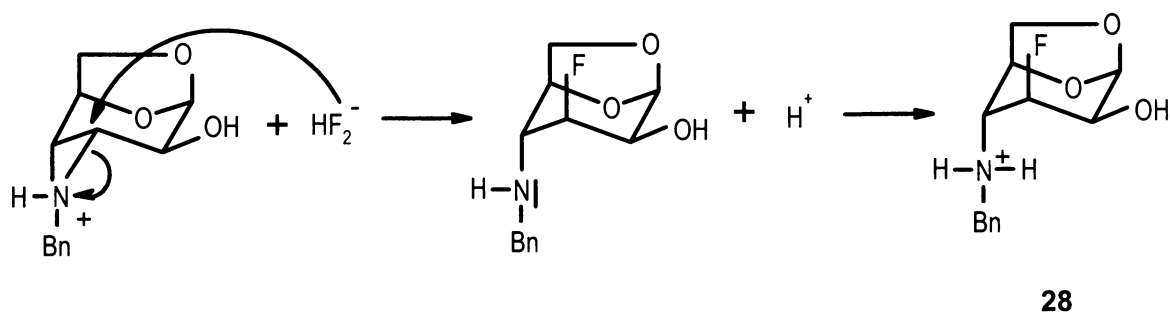
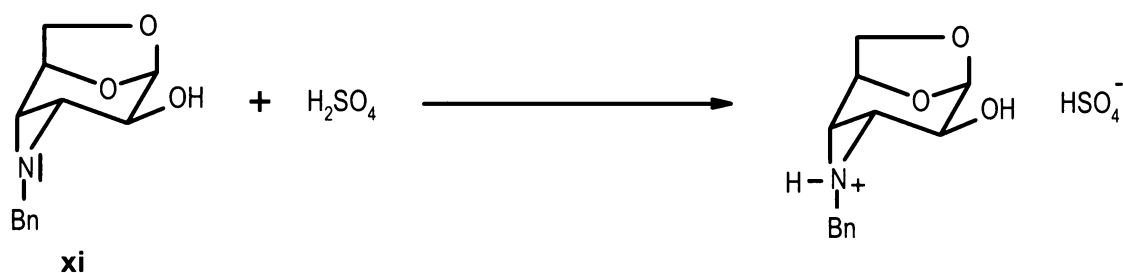
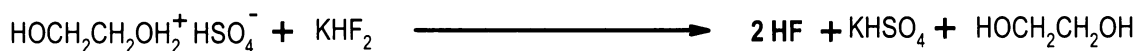
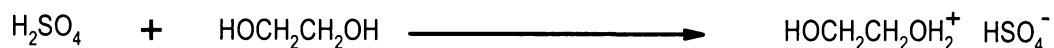
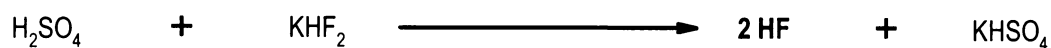
Jak bylo napsáno v předchozím oddíle (6.2.2.1), pro přípravu vicinálních fluoro aminů 1,6-anhydro- β -D-hexopyranos reakcí epiminů s fluoračním činidlem hydrogendifluoridem draselným, se jako rozpouštědlo dichlormethan neosvědčil, a proto bylo zapotřebí najít jiné rozpouštědlo, s dobrými vlastnostmi lépe vyhovujícími dané reakci, jež by vedlo k tvorbě fluorovaných cukrů.

Změnou rozpouštědla dichlormethanu na ethylenglykol sice došlo ke zvýšení toxicity, což se projevilo tak, že se při práci s ním muselo pracovat velmi opatrně a obezřetně, a také částečně ke ztížení zpracování reakční směsi po ukončení reakce, ale celkově změna rozpouštědla byla velkým přínosem, který vedl ke vzniku fluoro cukrů a to ve velmi příznivém výtěžku.

Pracovní postup přípravy fluoro aminů 1,6-anhydro- β -D-hexopyranos reakcí epiminů s KHF_2 v ethylenglykolu byl téměř stejný jako postup pro zavedení atomu fluoru na cukerný skelet působením hydrogendifluoridu draselného na epiminy v dichlormethanu popsany výše (viz. Oddíl 6.2.2.1).

Do teflonového autoklávu byla vsypána směs epiminu a KHF_2 , převrstvena ethylenglykolem, pak do směsi byla přidána koncentrovaná kyselina sírová, autokláv okamžitě uzavřen, aby neunikal vznikající fluorovodík, a umístěn do silikonové lázně vyhřáté na 90 °C. Po ukončení reakce byla do směsi přidána voda a roztok hydrogenuhličitanu sodného do neutrálního pH. Organická vrstva byla oddělena, vodná fáze extrahována dichlormethanem, spojené organické fáze byly vysušeny a odpařeny. Vzniklý odparek byl chromatografován na koloně se silikagelem a krystalován ze směsi ethanol-ether-petrolether.

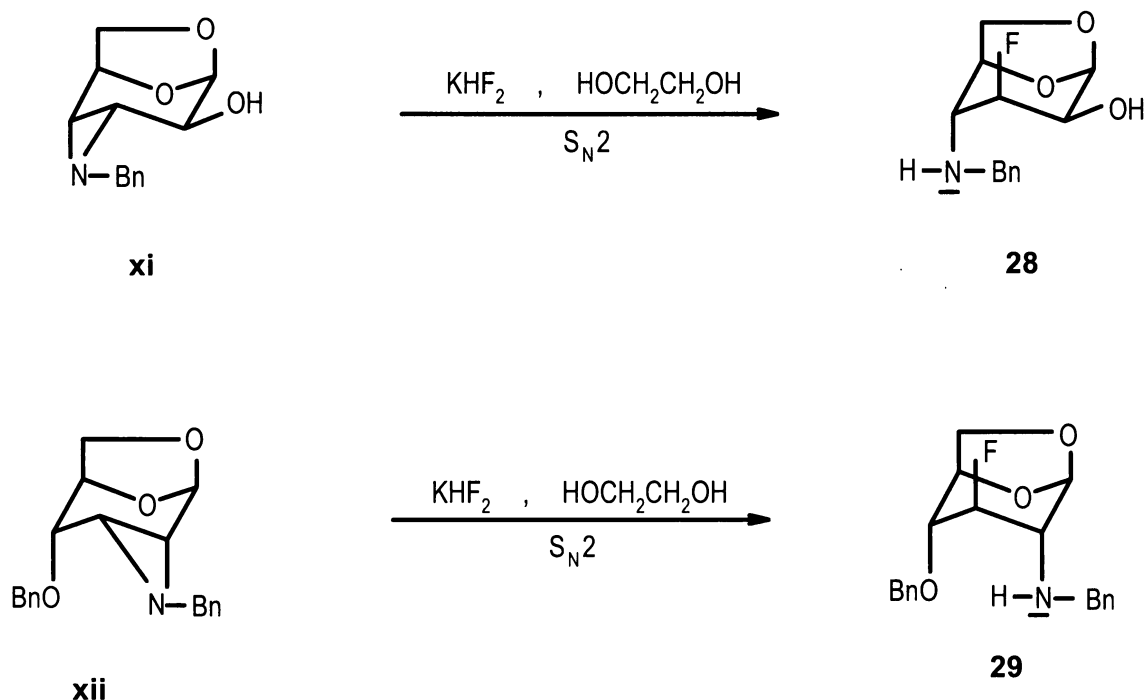
Předpokládaný průběh reakce epiminů s KHF_2 v ethylenglykolu je založen na přípravě fluoračního činidla *in situ* a to reakcí kyseliny sírové s hydrogendifluoridem draselným a dále reakcí hydrogendifluoridu draselného s protonizovanou formou ethylenglykolu. Protože v ethylenglykolu kyselina sírová disociuje, její vodíkový ion tak může protonizovat, kromě již uvedeného KHF_2 a ethylenglykolu, také aziridinový kruh cukru. V dalším kroku reakce dochází k otevření protonizovaného aziridinového kruhu cukru fluoridovým iontem $\text{S}_{\text{N}}2$ mechanismem za vzniku *trans*-diaxiálního izomeru v souladu s Fürstovým-Plattnerovým pravidlem (*obr. 13*).



obr. 13

Reakce s hydrogendifluoridem draselným v ethylenglykolu byla provedena se dvěma reaktanty a to s 1,6-anhydro-3,4-(*N*-benzylepimino)-3,4-dideoxy-β-D-altropyranosou **xi** a s 1,6-anhydro-4-*O*-benzyl-2,3-(*N*-benzylepimino)-2,3-dideoxy-β-D-allopyranosou **xii** (**obr. 14**), které reakcí poskytly fluorované deriváty. V případě epiminu **xi**, byla připravena 1,6-anhydro-4-benzylamino-3,4-dideoxy-3-fluor-β-D-mannopyranosa **28** ve výtěžku 49 % a v případě epiminu **xii** byla připravena 1,6-anhydro-4-*O*-benzyl-2-benzylamino-2,3-dideoxy-3-fluor-β-D-glukopyranosa **29** ve

výtěžku 51 %. Oba fluoro amino deriváty **28** a **29** jsou nově připravenými látkami, jejichž struktury byly jednoznačně prokázány NMR spektroskopií.



obr. 14

Reakce epiminu s hydrogendifluoridem draselným v ethylenglykolu se ukázala jako velmi dobrá metoda k zavedení atomu fluoru na aziridinový kruh cukru. Sice tento inovovaný postup byl vyzkoušen jen na dvou cukerných derivátech, ale dá se předpokládat, že bude s dobrým výtěžkem využitelný i pro přípravu dalších fluoro cukrů reakcí KHF_2 s jinými cukernými deriváty. Zdokonalení této metody založené na změně rozpouštědla z dichlormethanu na ethylenglykol má tyto tři hlavní výhody. První je zlepšení rozpustnosti. Druhou je vznik většího množství fluoračního činidla fluorovodíku *in situ*, což má za následek zvýšení jeho koncentrace v reakční směsi. A třetí výhodou je protonizace aziridinového kruhu cukru kyselinou sírovou, která se v ethylenglykolu narozdíl od dichlormethanu rozpouští. Určitou nevýhodou této metody je možnost vedlejší reakce, hydrolýzy 1,6-anhydro můstku, katalyzovaná kyselinou sírovou.

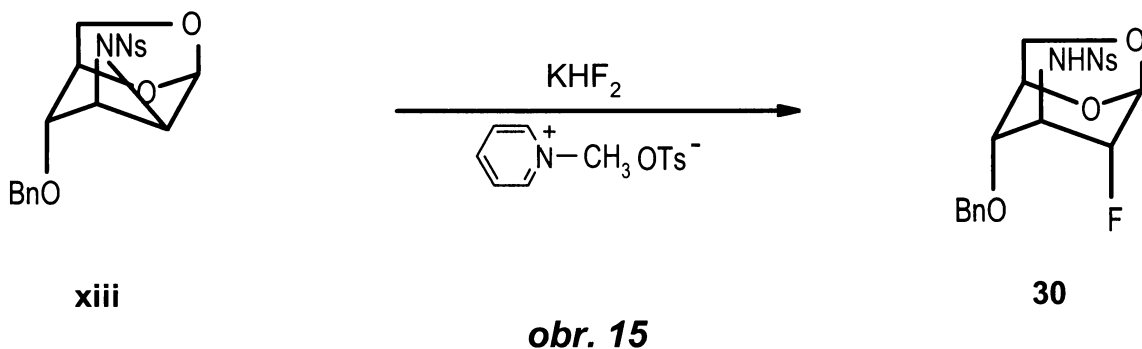
6.2.2.3 Reakce v prostředí $C_6H_5 N^+CH_3^- OTs$

Druhým typem reakcí, jak uvádí literatura, jež vedly k zavedení atomu fluoru do molekuly cukru, byly reakce, při kterých cukerné azidridiny reagovaly s fluoračním činidlem, hydrogendifluoridem draselným, v tavenině *N*-methylpyridinium-tosylátu. Fluorace tak v reakční směsi probíhala působením hydrogendifluoridového iontu.

Aby došlo k úspěšnému otevření aziridinového kruhu (dle předpokladu v souladu s Fůrstovým-Plattnerovým pravidlem) a vzniku vicinálních fluoro amino derivátů 1,6-anhydro- β -D-hexopyranos (*trans*-diaxiálních isomerů), musel být nejdříve aziridinový kruh cukru substituován silně elektronakceptorní 2-nitrobenzensulfonylovou skupinou. Volné či *N*-tosylované epiminy jsou vůči fluoridovému iontu jako nukleofilu jen velmi málo reaktivní a proto z nich žádné fluorované deriváty nevznikají.

Přítomnost *N*-methylpyridinium-tosylátu je velmi důležitá, neboť působí jako „ionic-liquid“ rozpouštědlo (přehledně viz lit.⁶³⁻⁶⁷), ve kterém hydrogendifluorid draselný může dobře disociovat, a dále jeho další výhodou je jeho použitelnost v širokém intervalu teplot.

Postup přípravy fluoro aminu cukru vycházel z reakce 1,6-anhydro-4-*O*-benzyl-2,3-dideoxy-2,3-(*N*-*o*-nitrobenzensulfonylepimino)- β -D-mannopyranosy **xiii** se směsí hydrogendifluoridu draselného a *N*-methylpyridinium-tosylátu při teplotě 120 °C. Po ukončení reakce, extrakci, promytí, vysušení a odpaření organické fáze byl vzniklý odparek chromatografován na koloně se silikagelem. Produktem reakce byla 1,6-anhydro-4-*O*-benzyl-2,3-dideoxy-3-(*N*-*o*-nitrobenzensulfonylamino)-2-fluor- β -D-glukopyranosa **30** ve výtěžku 14 % (*obr. 15*).



6.2.2.4 Reakce v prostředí $C_6H_5 N^+CH_3^-OTs$ a $Bu_4N[Ph_3SnF_2]$

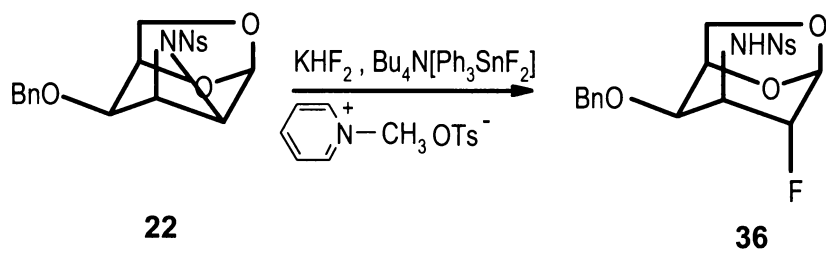
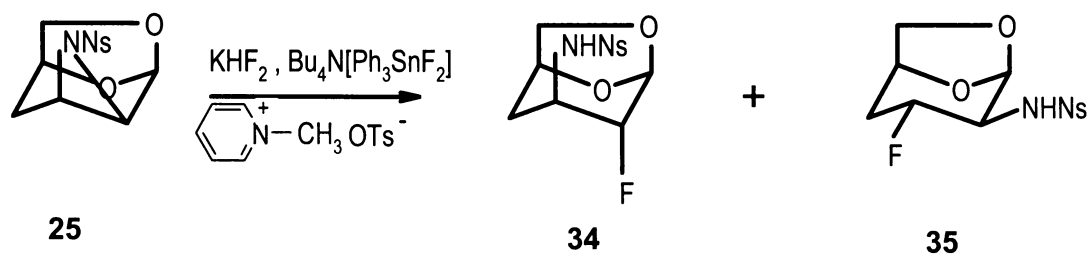
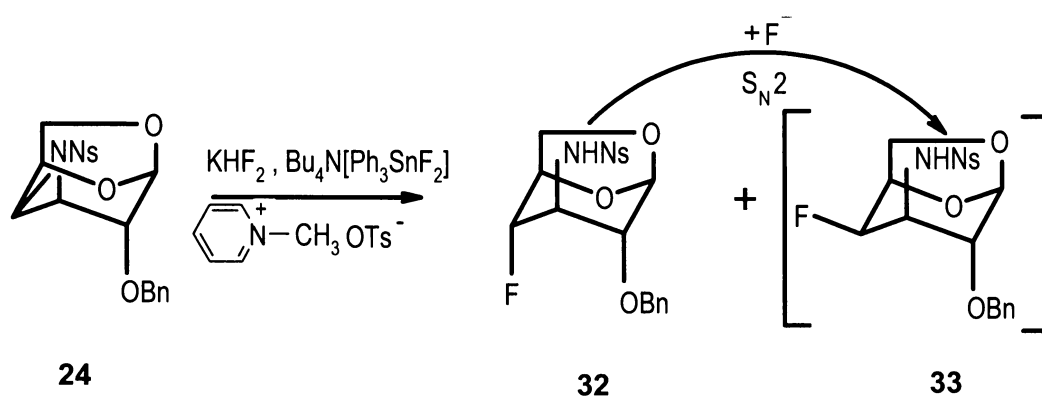
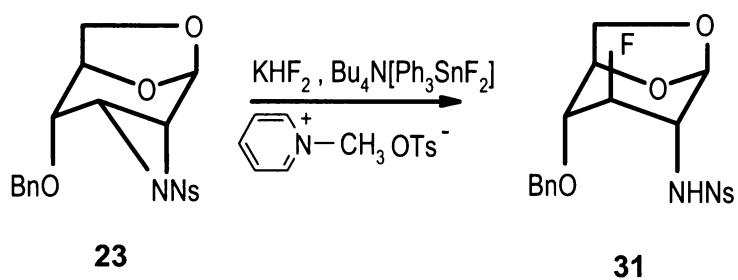
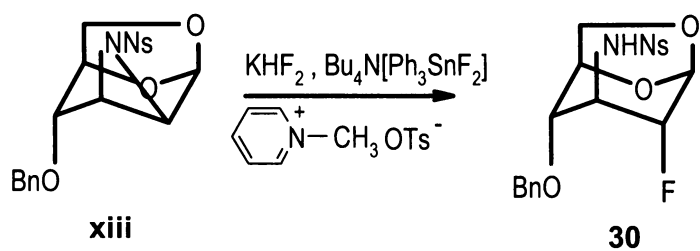
Jak jsem již napsala v předchozím oddělení (6.2.2.3), byla pro přípravu vicinálních fluoro aminů 1,6-anhydro- β -D-hexopyranos využita reakce aziridinů 1,6-anhydro- β -D-hexopyranos s hydrogendifluoridem draselným a *N*-methylpyridinium-tosylátem. Reakce sice vedla ke vzniku fluorovaného derivátu cukru, ale jen ve velmi malém výtěžku okolo 14 %, což je skutečně málo, a dá se proto říci, že použitelnost a aplikovatelnost této reakce vedoucí k zavedení atomu fluoru do molekuly cukru není příliš vhodnou metodou. Bylo proto nutné tento postup, pro zvýšení procentuálního výtěžku reakce, optimalizovat.

Modifikace této metody byla založena na přidání další reagentie, komplexu trifenyl-difluorocínčitanu tetrabutylamonného $Bu_4N[Ph_3SnF_2]$ do reakční směsi, který by mohl působit jako katalyzátor mezifázového přenosu.

Při přípravě v laboratoři bylo postupováno tak, že směs nosylovaných epiminů 1,6-anhydro- β -D-hexopyranos, KHF_2 a komplexu $Bu_4N[Ph_3SnF_2]$ ⁶⁸ byla pod atmosférou argonu zahřívána na silikonové lázni při teplotě v rozmezí 110 až 140 °C. Po ukončení reakce byla ke směsi přidána voda a ethylacetát, organická vrstava byla oddělena, vodná extrahována dichlormethanem, spojené organické fáze byly promyty, vysušeny a odpařeny. Odparek byl chromatografován na koloně se silikagelem a krystalován.

Předpokládaný průběh reakce vychází z nosylepiminů, kde přítomnost silně aktivující 2-nitrobenzensulfonylové skupiny je základním předpokladem pro zvýšení reaktivity aziridinového kruhu cukru a tím i jeho úspěšné otevření fluoridovým iontem S_N2 mechanismem za vzniku *trans*-diaxiálního fluorovaného izomeru v souhlasu s Fűrstovým-Plattnerovým pravidlem. Přítomnost *N*-methylpyridinium-tosylátu jako „ionic-liquid“ rozpouštědla způsobuje dobrou disociaci KHF_2 a dále působí jako tavidlo využitelné v širokém teplotním intervalu. Podle některých literárních pramenů⁶⁹ by komplex trifenyl-difluorocínčitanu tetrabutylamonného mohl působit jako katalyzátor mezifázového přenosu.

Při reakci byla použita série nosylovaných epiminů 1,6-anhydro- β -D-hexopyranos **xiii**, **23**, **24**, **25** a **22**, která poskytla sérii fluoro aminů 1,6-anhydro- β -D-hexopyranos **30**, **31**, **32**, **33**, **34**, **35** a **36** ve výtěžcích 31, 84, 90, 76 a 38 % (*obr. 16*).



obr. 16

U reaktantů **xiii**, **23** a **22** došlo k otevření aziridinového kruhu cukrů v souladu s předpokladem vzniku *trans*-diaxiálních produktů mechanismem S_N2 (dle Fůrstova-Plattnerova pravidla). Reakcí nosylepiminu **xiii** vznikla 1,6-anhydro-4-*O*-benzyl-2,3-dideoxy-3-(*N*-*o*-nitrobenzensulfonylamino)-2-fluor- β -D-glukopyranosa **30** ve výtěžku 31%, z nosylepiminu **23** vznikla 1,6-anhydro-4-*O*-benzyl-2,3-dideoxy-2-(*N*-*o*-nitrobenzensulfonylamino)-3-fluor- β -D-glukopyranosa **31** ve výtěžku 84 % a z reaktantu **22** ve výtěžku 38 % vznikla 1,6-anhydro-4-*O*-benzyl-2,3-dideoxy-3-(*N*-*o*-nitrobenzensulfonylamino)-2-fluor- β -D-galaktopyranosa **36**.

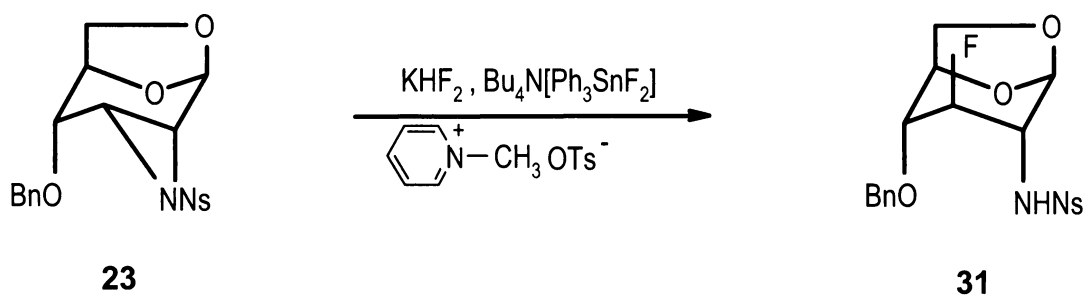
V případě reaktantu 1,6-anhydro-2-*O*-benzyl-3,4-dideoxy-3,4-(*N*-*o*-nitrobenzensulfonylepimino)- β -D-galaktopyranosy **24** došlo ke vzniku směsi dvou produktů a to 1,6-anhydro-2-*O*-benzyl-3,4-dideoxy-4-fluor-3-(*N*-*o*-nitrobenzensulfonylamino)- β -D-galaktopyranosy **33**, jež vznikla jen ve stopovém množství, a 1,6-anhydro-2-*O*-benzyl-3,4-dideoxy-4-fluor-3-(*N*-*o*-nitrobenzensulfonylamino)- β -D-glukopyranosy **32**. Pravděpodobnou příčinou vzniku látky **33** je následná nukleofilní substituce atomu fluoru v látce **32** fluoridovým aniontem. Celkový výtěžek reakce činil 90 %.

Reakcí 1,6-anhydro-2,3,4-trideoxy-2,3-(*N*-*o*-nitrobenzensulfonylepimino)- β -D-*lyxo*-hexopyranosy **25** vznikla směs produktů 1,6-anhydro-2,3,4-trideoxy-2-fluor-3-(*N*-*o*-nitrobenzensulfonylepimino)- β -D-*xylo*-hexopyranosy **34** a 1,6-anhydro-2,3,4-trideoxy-3-fluor-2-(*N*-*o*-nitrobenzensulfonylepimino)- β -D-*arabino*-hexopyranosy **35**. Fluoroderivátu **34**, který je produktem *trans*-diaxiálního otevření aziridinového kruhu (mechanismem S_N2 v souladu s Fůrstovým-Plattnerovým pravidlem) vzniklo 25 %, zatímco fluoroderivátu **35**, který je produktem *trans*-diekvatoriálního otevření aziridinového kruhu, vzniklo 51%. Celkový výtěžek reakce činil 76 %. Fluoroderivát **35** tvořil překvapivě majoritní část ve směsi produktů. Vysvětlení tohoto jevu je dáno působením dvou vlivů, které se při otvírání aziridinového kruhu, který v sousedství neobsahuje volnou či substituovanou hydroxyskupinu, nukleofilním činidlem mohou projevit. První vliv je sterický, který vede ke vzniku *trans*-diaxiálního izomeru mechanismem S_N2 (Fůrstovo-Plattnerovo pravidlo), a druhý je vliv polární, který má za následek vznik *trans*-diekvatoriálního produktu mechanismem S_N1 , tedy přes karbokationt, na nějž se pak fluoridový anion naváže z lépe přístupné strany (z opačné strany než je aziridinový kruh, který toto stranu selektivně stíní). Pokud oba vlivy

6.2.2.5 Reakce v prostředí $C_6H_5 N^+CH_3^- OTs$ a $Bu_4N[Ph_3SnF_2]$ v závislosti na teplotě (studium teplotní závislosti)

Sérií provedených reakcí, při kterých docházelo k otevření silně aktivovaného aziridinového kruhu 1,6-anhydro- β -D-hexopyranosy, jehož aktivace byla způsobena přítomností elektronakceptorové 2-nitrobenzensulfonylové skupiny, hydrogendifluoridovým iontem uvolněným z hydrogendifluoridu draselného v přítomnosti ko-nukleofilu^{69,70} trifenyldifluorocínčitanu tetrabutylamonného v iontové kapalině *N*-methylpyridinium-tosylátu, bylo dokázáno, že se tímto způsobem dají úspěšně připravit fluoro deriváty 1,6-anhydro- β -D-hexopyranos.

Dalším cílem mého zájmu v této oblasti byla optimalizace reakčních podmínek u tohoto typu reakcí, a to jmenovitě teploty, při které se směs nechala reagovat. Série „měření teplotní závislosti“ byla provedena na 1,6-anhydro-4-*O*-benzyl-2,3-dideoxy-2,3-(*N*-*o*-nitrobenzensulfonyl-epimino)- β -D-allopyranose **23**, jejíž úspěšná fluorace vedla ke vzniku 1,6-anhydro-4-*O*-benzyl-2,3-dideoxy-2-(*N*-*o*-nitrobenzensulfonyl amino)-3-fluor- β -D-glukopyranosy **31** (*obr. 18*).



obr. 18

Středem mého zájmu byl vliv teploty, při které reakce probíhala na množství zpětně izolovaného reaktantu, na množství vzniklého produktu a také na množství zformovaných vedlejších produktů. Sada teplot, kterou jsem si pro svá měření zvolila, měla hodnoty 100 °C, 120 °C, 140 °C a 160 °C.

Pracovní postup při „měření teplotní závislosti“ byl takový, že nejdříve byla do baňky vsypána směs cukru **23**, KHF_2 , $C_6H_5 N^+CH_3^- OTs$ a $Bu_4N[Ph_3SnF_2]$ a baňka se

směsí byla umístěna do silikonové lázně vyhřáté na 160 °C. Při této teplotě došlo roztavení všech složek v baňce (v průběhu cca 10 min), tedy k převedení směsi do kapalného skupenství. Teplota silikonové lázně pak byla snížena na 100 °C, 120 °C nebo 140 °C, či byla ponechána při teplotě 160 °C. V prvním případě, tedy po snížení teploty lázně na 100 °C, došlo během 15 minut ke ztuhnutí směsi v baňce. V ostatních případech směs v baňce zůstala kapalná až do ukončení reakce. Doba trvání reakce každého ze čtyř měření (100 °C, 120 °C, 140 °C a 160 °C) byla vždy stejná, tedy dvě hodiny. Po ukončení reakce byla směs zpracována postupem již popsáním v oddělení (6.2.2.4).

Výsledky, ke kterým jsem dospěla, jsou uvedeny v tabulce (*tab. I*) a pro lepší představivost i v grafu (*graf I*). Z nich vyplývá, že skutečně existuje optimální teplota pro tuto reakci a ta se pohybuje kolem 140 °C.

<i>Teplota</i> [°C]	<i>Izolovaný reaktant</i> 23 [%]	<i>Vedlejší produkt(y)</i> [%]	<i>Produkt</i> 31 [%]
100	93,71	0	11,99
120	91,63	0	26,97
140	0	0	84,18
160	1,63	21,8	36,74

tab. I

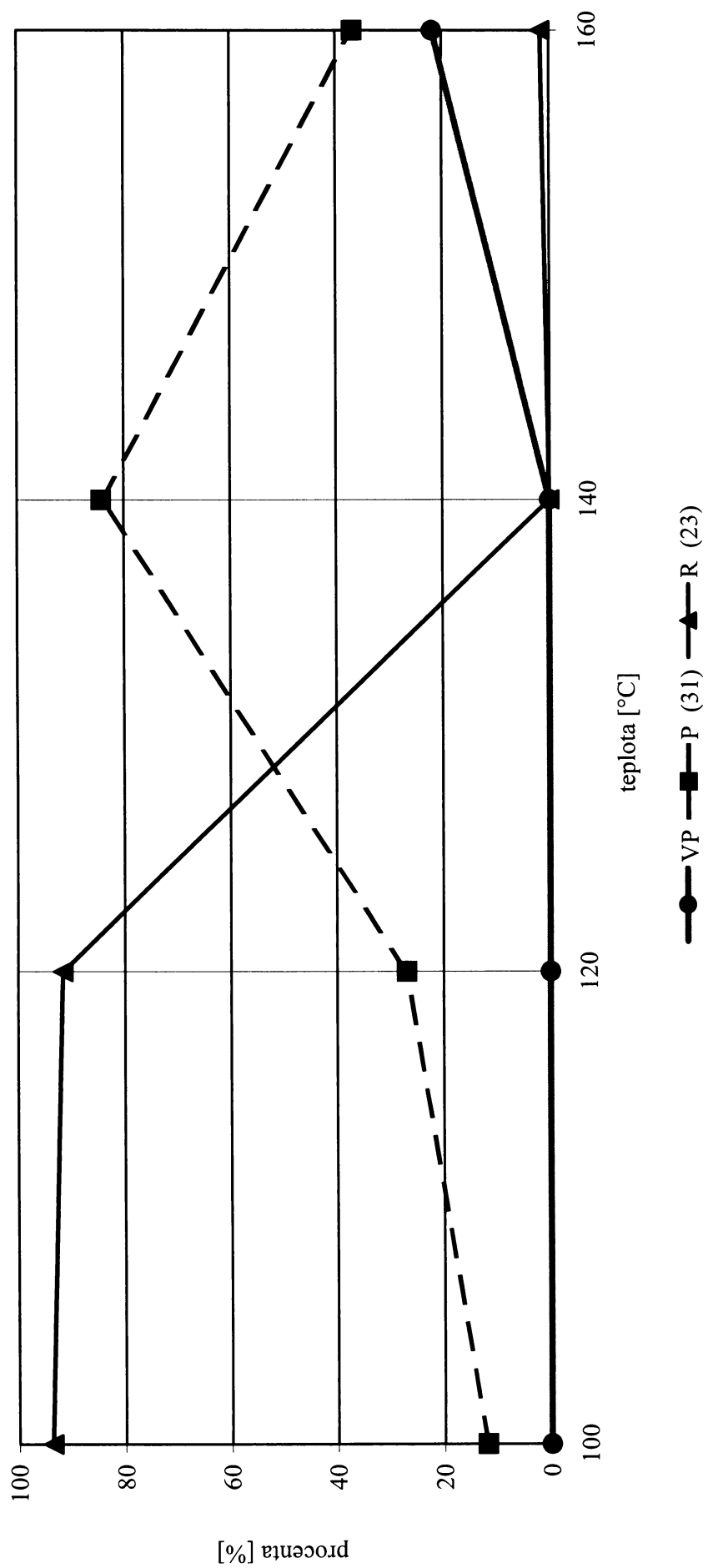
Reakcí provedenou při teplotě 100 °C vzniklo jen necelých 12 % produktu **31**. To, že bylo z reakční směsi izolováno více než 93 % reaktantu **23**, bylo způsobeno tím, že reakce probíhala pouze po dobu 15 minut, kdy se směs nacházela v kapalné formě, potřebné pro úspěšné otevření aziridinového kruhu hydrogendifluoridovým iontem za vzniku fluorovaného produktu **31**. Z toho plyne, že teplota 100 °C je pro tuto reakci příliš nízká (leží pod bodem tání *N*-methylpyridinium-tosylátu, 138-139 °C). Jediným kladem reakce při této teplotě je fakt, že při ní nedochází ke vzniku vedlejších produktů.

Výsledky získané pro měření při teplotě 120 °C jsou podobné výsledkům předchozím (100 °C). Důvodem je zřejmě skutečnost, že teplota 120 °C stále ještě není dostačující k úplnému převedení všech složek směsi do kapalné fáze potřebné k otevření aziridinového kruhu cukru. Sice reakcí nedošlo ke vzniku vedlejších produktů, ale výtěžek reakce byl stále velmi malý. Vzniklo jen kolem 27 % produktu **31** a zpětně bylo izolováno téměř 92 % reaktantu **23**.

Po ukončení reakce při teplotě 160 °C byla ze směsi zpětně izolována necelá 2 % reaktantu **23**. Reakce tak proběhla z více než 98 %, ale jak se ukázalo naměřeným NMR spektrem, nejednalo se jen o vznik fluorovaného produktu **31**, ale o vznik směsi tří produktů (produktu **31** a dvou vedlejších produktů). Proto po přepočítání bylo zjištěno, že reakcí vzniklo jen necelých 37 % produktu **31**. Z toho se tedy dá usoudit, že teplota 160 °C už je příliš vysoká. Dochází při ní vedle fluorace i k dalším reakcím za vzniku 22 % vedlejších produktů.

Jak již bylo uvedeno výše, výsledky získané pro reakce provedené při 140 °C byly ve všech ohledech nejpříznivější. Při této teplotě zreagoval veškerý přítomný reaktant **23**. Reakce tedy proběhla ze 100 % a vedla ke vzniku 84 % produktu **31**, aniž by došlo ke vzniku jakéhokoli množství a počtu vedlejších produktů.

Měření teplotní závislosti

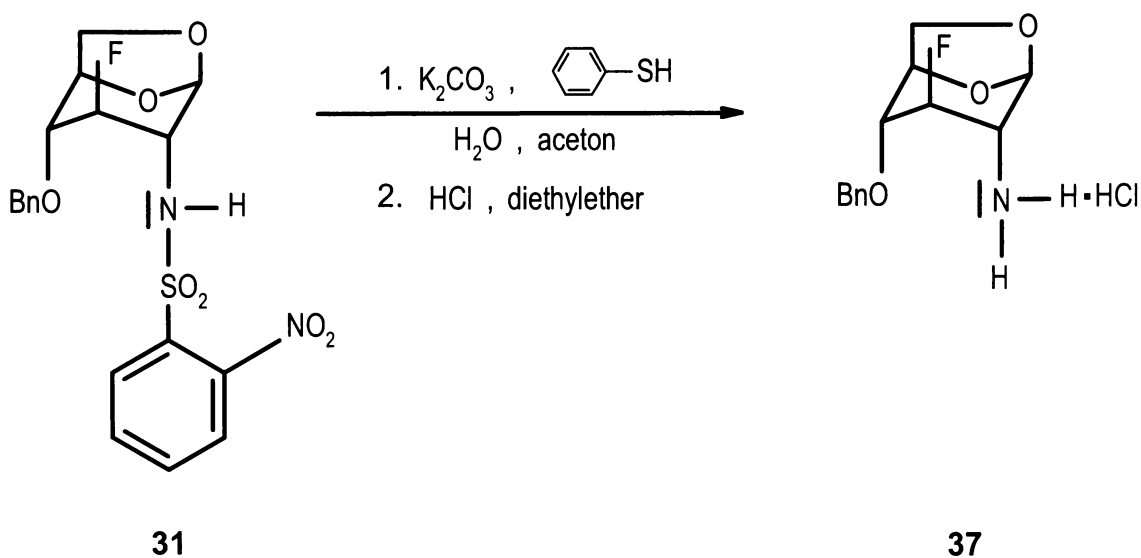


6.3 Denosylace fluorovaného derivátu

Posledním krokem série reakcí přípravy fluoro derivátů 1,6-anhydro- β -D-hexopyranos, bylo ochránění (tedy odstranění 2-nitrobenzensulfonylové skupiny) látek vzniklých reakcí cukerných substrátů s diethylaminosulfurtrifluoridem či hydrogendifluoridem draselným. Odstranění nosylu z atomu dusíku bylo provedeno dle postupu uvedeného v literatuře⁴⁵.

Pracovní postup denosylace spočíval v reakci připraveného fluorosulfonamidu 1,6-anhydro- β -D-hexopyranosy s uhličitanem draselným a thiofenolem ve směsi vody a acetonu (1:10). Reakční směs pak byla přefiltrována, promyta ethanolem a najímaná kapalina odpařena. Vzniklý odparek byl na silikagelu rozdělen na základě použití různých rozpouštědel jako mobilních fází na jednotlivé frakce. Takto oddělený produkt byl za stálého chlazení převeden přidavkem 4 M roztoku chlorovodíku v etheru na hydrochlorid fluoroaminu, který byl dále sušen kodesilací s toluenem.

Reakce byla provedena s 1,6-anhydro-4-O-benzyl-2,3-dideoxy-2-(*N*-o-nitrobenzensulfonylamino)-3-fluor- β -D-glukopyranosou **31**, která reakcí poskytla hydrochlorid 2-amino-1,6-anhydro-4-O-benzyl-2,3-dideoxy-3-fluor- β -D-glukopyranosy **37** ve výtěžku 99 % (*obr. 19*).



obr. 19

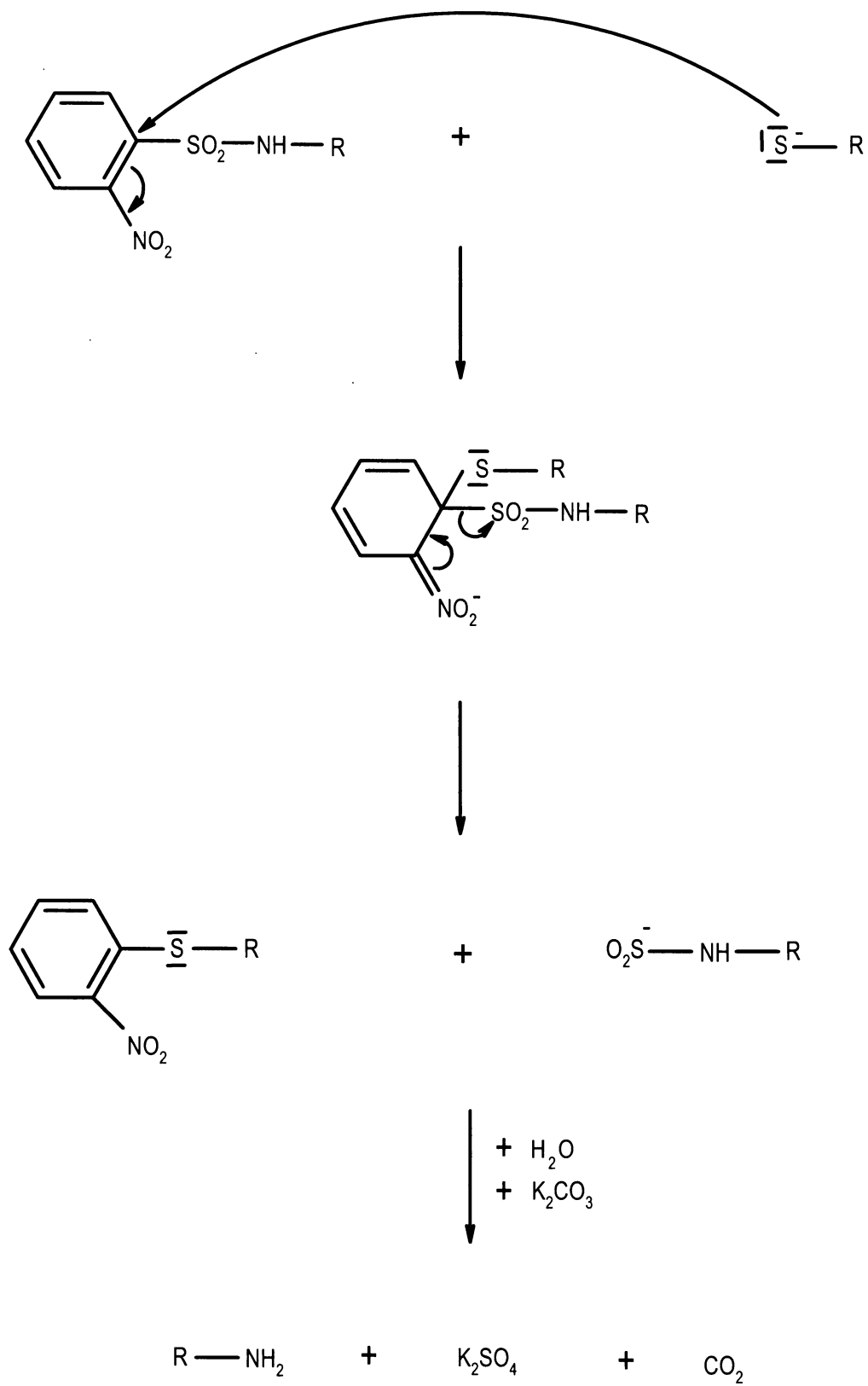
Izolovaný hydrochlorid 2-amino-1,6-anhydro-4-*O*-benzyl-2,3-dideoxy-3-fluor- β -D-glukopyranosy **37** byl nově připravenou látkou, jejíž struktura byla jednoznačně prokázána naměřenými NMR spektry.

Ze získaných spekter bylo zjištěno, že reakcí vzniká jen jeden stabilní produkt a nikoli směs produktů (hydrochlorid a zpětnou cyklizací vzniklý epimin). Tím bylo potvrzeno, že na rozdíl od ostatních halogenů⁵⁸ je fluoridový atom navázaný na cukerném skeletu 1,6-anhydro- β -D-hexopyranosy velmi stabilní a nedochází tak ke zpětné cyklizaci aziridinového kruhu cukru za vzniku epiminu.

Přítomnost 2-nitrobenzensulfonylové skupiny v molekule cukru byla důležitá pro přípravu fluoro amino derivátů 1,6-anhydro- β -D-hexopyranos, neboť sloužila jako silně elektronakceptorová skupina, díky jejíž přítomnosti v molekule se zvýšila reaktivita aziridinového kruhu cukru a mohlo tak dojít k zavedení atomu fluoru na cukerný skelet. Ale po úspěšném zabudování atomu fluoru na skelet 1,6-anhydro- β -D-hexopyranosy nebyla již 2-nitrobenzensulfonylová skupina potřebná, a proto mohlo dojít k jejímu odstranění z molekuly.

Typ reakce, při níž dochází k odstoupení 2-nitrobenzensulfonylové skupiny vázané na molekulu amino cukru působením báze (benzenthionu) se nazývá *ipso* substituce^{71,72}. Její průběh je podrobně zakreslen na následující straně (**obr. 20**) a popsat by se dal následovně.

V prvním kroku reakce dochází k přiblížení nukleofilního aniontu $C_6H_5-S^-$ k uhlíku, na němž je navázaný atom síry. Anion $C_6H_5-S^-$ se pak volným elektronovým párem na tento uhlík naváže, tím dojde k posunu vazby v benzenovém jádře směrem k atomu dusíku a tím i k porušení aromaticity benzenu. Posun vazby směrem ven z cyklu se projeví vytvořením záporného náboje na atomu dusíku. Druhým krokem je posun elektronového páru z atomu dusíku zpět na šestiuhlíkatý cyklus, čímž se opět obnoví aromaticita benzenového jádra, a zároveň přesunem elektronů v jádře dochází k odstoupení aniontu $R-NH-SO_2^-$, který byl původně navázán na aromatický cyklus. Reakcí vzniká aminosulfonátový anion, který se pak reakcí s uhličitánem draselným ve vodě rozpadá na amin, za vzniku vedlejších produktů síranu draselného a oxidu uhličitého.



obr. 20

7. ZÁVĚR

Na závěr bych ráda velmi jednoduše v pár větách uvedla fakta a skutečnosti, ke kterým jsem ve své práci dospěla.

Výsledky reakcí s použitím DAST jako fluoračního činidla se dají shrnout následovně. Dle předpokladu při reakci s diethylyminosulfurtrifluoridem došlo k aktivaci volné OH-skupiny cukru DAST a její následné výměně za atom fluoru, ovšem nikoli mechanismem S_N2 a tedy za vzniku produktu s inverzí konfigurace, ale mechanismem S_N1 za tvorby karbokationtu a následnému navázání atomu fluoru z lépe přístupné strany. Dále podle předpokládaného průběhu reakce nedošlo k ataku aziridinového kruhu cukru, i když u malého množství substrátu byla pozorována migrace kruhu. To se v konečném důsledku projevilo vznikem směsi dvou produktů, v níž převažoval produkt migrace aziridinového kruhu. V celkovém pohledu ale musím konstatovat, že použití fluoračního činidla DAST pro fluoraci cukerných aminů či epiminů 1,6-anhydro- β -D-hexopyranos se ukázalo jako nevhodné. To se dá nejlépe vystihnout čísly, kdy z devíti různých cukerných derivátů reagovaly pouze dva.

K zavedení atomu fluoru do molekuly cukru bylo dále použito fluorační činidlo hydrogendifluorid draselný. Při jeho použití vedly k úspěšnému zavedení atomu fluoru na cukerný skelet dva rozdílné postupy.

Prvním byla reakce epimino cukru s hydrogendifluoridem draselným a kyselinou sírovou ve dvou různých rozpouštědlech (dichlormethan a ethan-1,2-diol). Použití dichlormethanu se ukázalo být méně vhodné, neboť nedošlo k zabudování atomu fluoru na cukerný skelet a to ani v jednom z provedených pokusů. Reakce s ethylenglykolem naopak poskytly fluorované aminosacharidy. Procentuální výtěžek těchto reakcí se pohyboval kolem 50 % a při otvírání aziridinového kruhu cukru S_N2 mechanismem došlo v souladu s Fůrstovým-Plattnerovým pravidlem jen ke vzniku *trans*-diaxiálních izomerů. Tato modifikace reakcí cukrů s hydrogendifluoridem draselným v ethylenglykolu se ukázala jako vhodná a dobře aplikovatelná metoda pro přípravu fluoro derivátů 1,6-anhydro- β -D-hexopyranos.

Druhou úspěšnou cestou přípravy fluoroderivátů byla reakce nosylepiminů 1,6-anhydro- β -D-hexopyranosy s hydrogendifluoridem draselným v iontové kapalině *N*-methylpyridinium-tosylátu. Pro zvýšení výtěžku byly reakce provedeny za přídavku

komplexu trifenyl-difluorocínčitanu tetrabutylamonného do reakční směsi, který působil jako ko-nukleofil. Procentuální výtěžek fluoro derivátu se tak zvýšil ze 14 % na 31 % a v některých případech dokonce až na 90 %. Pro tento typ reakce byla důležitá substituce aziridinového kruhu cukru silně aktivující elektronakceptorovou skupinou (2-nitrobenzensulfonyl). Studium závislosti teploty, při které se reakční směs nechala reagovat, na procentuálním výtěžku fluorovaných produktů, vzniku vedlejších produktů a zpětně izolovaném reaktantu bylo zjištěno, že optimální teplota reakce se pohybuje kolem 140 °C.

Dále bylo zjištěno, že připravený fluoronosylamid se dá jednoduše odchránit působením benzenothiolu a uhličitanu draselného ve směsi vody a acetonu. Protože vzniklý produkt, volný amin, byl málo stabilní, byl přídavkem kyseliny chlorovodíkové v etheru převeden na stabilnější hydrochlorid.

Nyní na úplný závěr bych ráda udělala pomyslnou tečku za větou a poděkovala Grantové agentuře ČR (grant 203/02/D047) a Grantové agentuře UK (grant 311/2006/B-CH/PřF) za finanční pomoc, díky níž mohla tato práce vzniknout.

8. SEZNAM POUŽITÉ LITERARURY

1. D. Tanner: *Pure Appl. Chem.* **1993**, 65, 1319.
2. D. Tanner: *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1994**, 33, 599.
3. B. Zwanenburg: *Pure Appl. Chem.* **1999**, 71, 423.
4. J. Karban, J. Kroutil: *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **2006**, 60, 28.
5. M. Černý v *Frontiers in biomedicine and biotechnology. Levoglucosenone and Levoglucosans, Chemistry and Applications*; Z. J. Witzcak, Ed.; ATL Press: New York, 1994, str. 121.
6. C. F. Gibbs, L. Hough: *Carbohydr. Res.* **1971**, 18, 363.
7. D. H. Buss, L. Hough, A. C. Richardson: *J. Chem. Soc.* **1965**, 2736.
8. Y. Ali, A. C. Richardson, C. F. Gibbs, L. Hough: *Carbohydr. Res.* **1968**, 7, 255.
9. P. Crotti, L. Favero, C. Gardelli, F. Macchia, M. Pineschi: *J. Org. Chem.* **1995**, 60, 2514.
10. H. Shao, Q. Zhu, M. Goodman: *J. Org. Chem.* **1995**, 60, 790.
11. T. Tsuchiya, K. Ajito, S. Umezawa, A. Ikeda: *Carbohydr. Res.* **1984**, 126, 45.
12. R. D. Guthrie, D. Murphy: *J. Chem. Soc.* **1965**, 3828.
13. A. Fürst, P. A. Plattner v *12th Internat. Congr. Pure&Appl. Chem.* New York, 1951, str. 409.
14. J. Kroutil, T. Trnka, M. Buděšínský, M. Černý: *Eur. J. Org. Chem.* **2002**, 2449.
15. Y. Kobayashi, N. Taneichi, T. Tsuchiya, K. Koga: *Carbohydr. Res.* **1992**, 229, 363.
16. Y. Kobayashi, T. Tsuchiya, T. Ohgi, N. Taneichi, Y. Koyama: *Carbohydr. Res.* **1992**, 230, 89.
17. T. Tsuchiya: *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1990**, 48, 91.
18. K. Dax, M. Albert, J. Ortner, B. J. Paul: *Curr. Org. Chem.* **1999**, 3, 287.
19. G. Asif, S. J. Hurwitz, G. Gumina, C. K. Chu, H. M. McClure, R. F. Schinazi: *Antimicrob. Agents .Chemother.* **2005**, 49, 560.
20. C. H. Liang, S. L. Yao, Y. H. Chiu, P. Y. Leung, N. Robert, J. Seddon, P. Sears, C. K. Hwang, Y. Ichikawa, A. Romero: *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, 15, 1307.
21. J. N. Wang, Y. H. Jin, K. L. Rapp, M. Bennett, R. F. Schinazi, C. K. Chu: *J. Med. Chem.* **2005**, 48, 3736.

22. D. B. Werz, P. H. Seeberger: *Chem.-Eur. J.* **2005**, *11*, 3194.
23. C. Bettegowda, C. A. Foss, I. Cheong, Y. C. Wang, L. Diaz, N. Agrawal, J. Fox, J. Dick, L. H. Dang, S. B. Zhou, K. W. Kinzler, B. Vogelstein, M. G. Pomper: *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* **2005**, *102*, 1145.
24. J. Pacák, M. Černý: *Mol. Imag. Biol.* **2002**, *4*, 352.
25. G. W. J. Fleet, L. E. Fellows, P. W. Smith: *Tetrahedron* **1987**, *43*, 979.
26. S. Castillon, A. Dessinges, R. Faghih, G. Lukacs, A. Olesker, T. T. Thang: *J. Org. Chem.* **1985**, *50*, 4913.
27. L. H. B. Baptistella, A. J. Marsaioli, J. D. D. Filho, G. G. Deoliveira, A. B. Deoliveira, A. Dessinges, S. Castillon, A. Olesker, T. T. Thang, G. Lukacs: *Carbohydr. Res.* **1985**, *140*, 51.
28. H. H. Baer, A. Jaworskasobiesiak: *Carbohydr. Res.* **1985**, *140*, 201.
29. T. Tsuchiya, T. Torii, Y. Suzuki, S. Umezawa: *Carbohydr. Res.* **1983**, *116*, 277.
30. T. Tsuchiya, T. Torii, S. Umezawa, H. Umezawa: *J. . Antibiot.* **1982**, *35*, 1245.
31. Y. Takahashi, S. Tsuneda, T. Tsuchiya, Y. Koyama, S. Umezawa: *Carbohydr. Res.* **1992**, *232*, 89.
32. Y. Takahashi, T. Tsuchiya, S. Umezawa, H. Umezawa: *Carbohydr. Res.* **1991**, *210*, 221.
33. K. Dax, M. Albert, J. Ortner, B. J. Paul: *Carbohydr. Res.* **2000**, *327*, 47.
34. D. H. Thompson, C. B. Svendsen, C. Dimeglio, V. C. Anderson: *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 2945.
35. A. A. Nikitenko, B. M. Arshava, I. E. Mikerin, Y. E. Raifeld, V. J. Lee, S. A. Lang: *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 7087.
36. A. Kalaiselvan, S. C. Ammal, P. Venuvanalingam, H. Yamataka: *J. Phys. Chem. A* **2005**, *109*, 4829.
37. T. N. Wade: *J. Org. Chem.* **1980**, *45*, 5328.
38. A. R. Bassindale, P. A. Kyle, M. C. Soobramanien, P. G. Taylor: *J. Chem. Soc., Perkin 1* **2000**, 439.
39. R. P. Singh, J. M. Shreeve: *Synthesis* **2002**, 2561.
40. P. E. Maligres, M. M. See, D. Askin, P. J. Reider: *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 5253.

41. J. Farras, X. Ginesta, P. W. Sutton, J. Taltavull, F. Egeler, P. Romea, F. Urpi, J. Vilarrasa: *Tetrahedron* **2001**, *57*, 7665.
42. A. Fujiwara, T. Kan, T. Fukuyama: *Synlett* **2000**, 1667.
43. F. Cardullo, D. Donati, G. Merlo, A. Paio, M. Salaris, M. Taddei: *Synlett* **2005**, 2996.
44. H. Mao, G. J. Joly, K. Peeters, G. J. Hoornaert, F. Compernelle: *Tetrahedron* **2001**, *57*, 6955.
45. T. Fukuyama, M. Cheung, T. Kan: *Synlett* **1999**, 1301.
46. J. Kroutil, K. Jenistova: *Collect. Czech. Chem. Commun.* **2005**, *70*, 2075.
47. P. Deslongchamps v *Stereoelectronic Effects in Organic Chemistry*; Pergamon Press: 1983, str. 165.
48. N. R. Williams: *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1970**, *25*, 109.
49. E. J. Corey: *J. Am. Chem. Soc.* **1954**, *76*, 175.
50. M. Michalik, M. Hein, M. Frank: *Carbohydr. Res.* **2000**, 327, 185.
51. M. Černý, V. Gut, J. Pacak: *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1961**, *26*, 2542.
52. T. Trnka, M. Černý: *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1971**, *36*, 2216.
53. M. Černý, T. Elbert, J. Pacak: *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1974**, *39*, 1752.
54. J. Karban, M. Budesinsky, M. Černý, T. Trnka: *Collect. Czech. Chem. Commun.* **2001**, *66*, 799.
55. J. Kroutil, T. Trnka, M. Budesinsky, M. Černý: *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1998**, *63*, 813.
56. K. Matsumoto, T. Ebata, K. Koseki, K. Okano, H. Kawakami, H. Matsushita: *Heterocycles* **1992**, *34*, 1935.
57. M. Černý, J. Stanek, J. Pacak: *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1969**, *34*, 3377.
58. J. Kroutil, J. Karban, M. Buděšínský: *Carbohydr. Res.* **2003**, 338, 2825.
59. J. Kroutil, J. Karban: *Carbohydr. Res.* **2005**, 340, 503.
60. J. Karban, M. Buděšínský, J. Kroutil: *Collect. Czech. Chem. Commun* **2004**, *69*, 1939.
61. M. Lorenc: nepublikované výsledky.
62. O. Mitsunobu: *Synthesis* **1981**, 1.
63. C. E. Song, M. Y. Yoon, D. S. Choi: *Bull. Korean Chem. Soc.* **2005**, *26*, 1321.
64. T. Fukuyama, I. Ryu: *J. Synth. Org. Chem. Jpn.* **2005**, *63*, 503.

65. S. Z. Luo, Y. Y. Peng, B. L. Zhang, P. G. Wang, J. P. Cheng: *Curr. Org. Synth.* **2004**, *1*, 405.
66. C. K. Z. Andrade, L. M. Alves: *Curr. Org. Chem.* **2005**, *9*, 195.
67. D. B. Zhao, M. Wu, Y. Kou, E. Min: *Catal. Today* **2002**, *74*, 157.
68. M. Gingras: *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 7381.
69. M. Makosza, R. Bujok: *J. Fluor. Chem.* **2005**, *126*, 209.
70. M. Makosza, R. Bujok: *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 1385.
71. J. Traynham: *J. Chem. Educ.* **1983**, *60*, 937.
72. C. Alonso, M. M. Olmsted, M. H. Nantz, M. J. Kurth: *Chem. Commun.* **2001**, 639.

9. PŘÍLOHY

Příloha 1

V příloze 1 je uveden článek s názvem „Cleavage of the epimines of 1,6-anhydrohexoses with fluoride anion“.

citace:

Kroutil J., Jenišťová K.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* **2005**, *70*, 2075.

CLEAVAGE OF THE EPIMINES OF 1,6-ANHYDROHEXOSES WITH FLUORIDE ANIONJiří KROUTIL^{1,*} and Klára JENIŠTOVÁ²*Department of Organic and Nuclear Chemistry, Faculty of Science, Charles University, 128 43 Prague 2, Czech Republic; e-mail: ¹ kroutil@natur.cuni.cz, ² jenistova.klara@seznam.cz*Received August 18, 2005
Accepted November 12, 2005

Aziridine ring cleavage reactions of five *N*-tosylepimines (**2–6**) having *D*-*tal*o, *D*-*galact*o, *D*-*mann*o, and *D*-*allo* configurations with potassium hydrogendifluoride under various reaction conditions have been performed. The cleavage regioselectively afforded diaxial isomers of vicinal amino-fluoro derivatives of 1,6-anhydro- β -*D*-gluco- and mannopyranose **7–11** in 51–94% yields. Removal of 2-nitrobenzenesulfonyl protecting group with benzenethiol has been attempted in the case of compound **10**.

Keywords: Cleavage reactions; Fluorine; NMR spectroscopy; Aziridines; Aminosugars; Anhydrosugars; Fluorosugars; Carbohydrates.

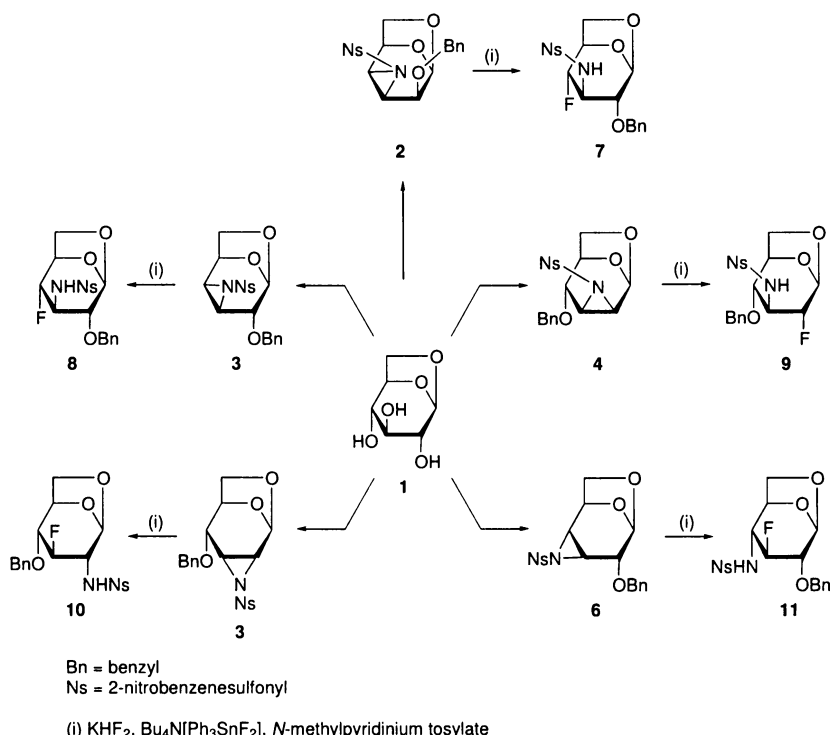
Carbohydrates substituted with fluorine represent^{1,2} an important family of synthetic modifications of natural bioactive compounds in which fluorine atom modifies their biochemical^{3–5} and pharmacological⁶ properties or is used for radiolabelling⁷ of natural compounds via carbohydrate substitution with ¹⁸F (e.g. 2-deoxy-2-fluoro-*D*-glucose⁸). The introduction of fluorine into carbohydrate molecule can be accomplished by various methods, the nucleophilic displacement^{9,10} and the cleavage of an oxirane^{11–13} or aziridine^{14–16} ring are the most common. We have recently^{17,18} found out that *N*-tosylepimines of 1,6-anhydro- β -*D*-hexopyranoses react with halides by *trans*-diaxial cleavage and elaborated experimental conditions for aziridine ring cleavage with chloride, bromide and iodide anions resulting in regioselective formation of a single isomer of the corresponding sulfonamide.

However, attempts to cleave *N*-tosylepimines also with fluoride led only to the recovery of insufficiently reactive starting tosylepimines¹⁹. Therefore, we switched to 2-nitrobenzenesulfonyl activating group exploiting its higher reactivity²⁰ and smooth deprotection^{21,22}, since *N*-tosyl group is also known as difficult to cleave²³ (especially in the presence of a halogen atom in the molecule^{24,25}). In this paper we present the aziridine ring cleavage

of *N*-2-nitrobenzenesulfonylated epimino derivatives (nosylepimines) of 1,6-anhydro- β -D-hexopyranoses with fluoride anion and subsequent *N*-deprotection of one of prepared sulfonamide (compound **10**) with benzenethiol.

RESULTS AND DISCUSSION

Starting nosylepimines **2–6** were prepared (Scheme 1) from 1,6-anhydro- β -D-glucopyranose (levoglucosan **1**, obtained by vacuum pyrolysis of starch according to a published procedure²⁶) via a synthetic sequence^{20,27} employing preparation of vicinal azidotosylates by azidolysis of 1,6:2,3- and 1,6:3,4-dianhydro- β -D-hexopyranoses and NaBH₄ reduction as the key steps for building of aziridine ring onto the sugar skeleton. Activating/protecting nosyl group was introduced by sulfonylation using 2-nitrobenzenesulfonyl chloride in a triethylamine–tetrahydrofuran mixture at -30 to -40 °C. Yields of the target nosylepimines were in the range 58–84%.



SCHEME 1

Cleavage of aziridine ring was attempted by various forms of fluoride anion. Utilization of neat tetrabutylammonium hydrogendifluoride²⁸ at 100 °C (as described in ref.²⁰ with 59% yield of **9**) was found to depend on reaction scale. We reached the reported yield on 0.1 mmol scale, but on 1 mmol scale the yield dropped to 7.5% due to the massive decomposition of the starting material. No way to improve it. Similar or worse yields were obtained for the rest of nosylepimines studied. Other reagents tried led to recovery of the starting material ((diethylamino)sulfur trifluoride, pyridinium polyhydrogenfluoride), to the complete decomposition of the reaction mixture (anhydrous TBAF, Bu₄NF, in acetonitrile) or yielded only small amounts of fluoro derivatives (33–38% in the reaction of **4** with melted KHF₂ at 240 °C, ref.²⁰) thus demonstrating the very low reactivity of fluoride as a nucleophile.

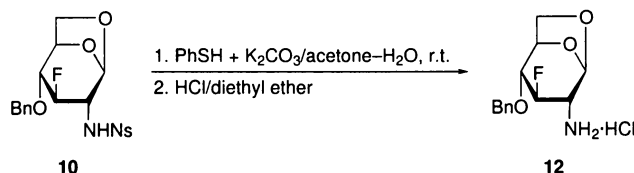
A difluorostannate complex Bu₄N[Ph₃SnF₂] reported^{29,30} as a successful replacement of KF and TBAF in nucleophilic substitution with fluoride was also tried with no detectable formation of fluoro derivatives at 150 °C. We therefore decided to use KHF₂ as the main nucleophile (due to available proton in the molecule necessary to complete the ring cleavage) and Bu₄N[Ph₃SnF₂] as co-nucleophile (its role is transporting in the process of phase-transfer catalysis, cf. refs^{29,31}) in an ionic-liquid solvent, *N*-methylpyridinium tosylate. The ionic-liquid solvent enables manipulation of all reagents and nosylepimines in solution in a wide range of temperatures. Optimal temperature for particular nosylepimine was estimated according its thermal instability and detectable (TLC) progress of the ring cleavage. Cleavage reactions without addition of *N*-methylpyridinium tosylate or in conventional dipolar aprotic solvent such as DMF or DMSO yielded only small amounts (up to 10%) of fluoro derivatives.

Under the optimal cleavage conditions, nosylepimines **2–6** afforded the corresponding fluoro derivatives **7–11** in the yields: 75, 72, 94, 51, and 68%, respectively.

In all cases, the cleavage of the aziridine ring proceeded stereochemically in accordance with the Fürst–Plattner rule³² prediction (*trans*-diaxial aziridine-ring opening). No diequatorial isomers were detected in the reaction mixtures.

Obtained sulfonamides can be easily deprotected by the treatment with benzenethiol and potassium carbonate in an acetone–water mixture as described earlier for the derivative **9** and some other halonosyl derivatives²⁰. In contrary to the other halogens, the fluorine atom is stable in all positions of the 6,8-dioxabicyclo[3.2.1]octane skeleton showing no tendency to back-cyclize aziridine ring under slightly alkaline conditions of nosyl-group

deprotection (cf. ref.²⁰). The stability was demonstrated on the fluoro derivative **10**, only compound **12** but no epimine was formed (Scheme 2).



SCHEME 2

The structure of fluoro derivatives **7–12** was determined by ^1H , ^{19}F and ^{13}C NMR spectroscopy (for NMR data, see Tables I–III). Structure assignment was achieved using correlated homonuclear 2D-COSY and heteronuclear ^1H , ^{13}C -2D-HMQC spectra. The presence of fluorine was detected in ^{19}F NMR spectra (chemical shift in the range -179 to -183 ppm) and from ^1H NMR spectra due to typical H,F couplings: geminal 44–45 Hz, vicinal 8–14 Hz and long-range 1.1–5.5 Hz. Similarly C,F coupling constants could be estimated from ^{13}C NMR spectra: geminal 182–189 Hz, vicinal 20–32 Hz and long-range 5–8 Hz. The *D-gluco* configuration for **8–11** was assigned on the basis of typical values^{13,33} for coupling constants: vicinal $\mathcal{J}(2,3)$, $\mathcal{J}(3,4)$, $\mathcal{J}(4,5) \approx 1.1$ – 1.9 Hz and long-range $\mathcal{J}(1,3)$, $\mathcal{J}(2,4)$, $\mathcal{J}(3,5) \approx 0.5$ – 1.8 Hz. The *D-manno* configuration of **7** manifested itself mainly by large coupling $\mathcal{J}(2,3) = 6.4$ Hz. Fluoro derivative **12** adopts the boat $B_{O,3}$ conformation as is indicated by higher values of couplings constants $\mathcal{J}(2,3) = 5.2$ Hz and $\mathcal{J}(3,4) = 5.9$ Hz (cf. ref.²⁰).

CONCLUSION

A successful procedure for the aziridine ring-cleavage in epimino derivatives of 1,6-anhydrohexoses with fluoride is reported. The procedure utilizes hydrogendifluoride anion together with $\text{Bu}_4\text{N}[\text{Ph}_3\text{SnF}_2]$ as co-nucleophile in ionic-liquid environment and enables the preparation of sugar amino fluorides via aziridine-ring cleavage on preparative scale (hundreds of milligrams). Other conditions have been also tested, but without success (very low or zero yields of the cleavage products). The prepared nosyl-amides can be easily deprotected under the formation of stable hydrochlorides of fluoroamines.

TABLE I
¹H NMR (400 MHz) and ¹⁹F NMR (376.3 MHz) chemical shifts (ppm) of compounds **7**, **8**, **10**, **11** (CDCl₃), and **12** (CD₃SOCD₃)

Comp.	H-1	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6en	H-6ex	OCH ₂	NH	Arom. H	F
7	5.48	3.64	3.95	4.91	4.67	4.40	3.82	4.22 4.04	6.80	6.9–8.11	–182.3
8	5.43	3.15	3.82	4.53	4.72	4.10	3.76	4.44 4.21	5.86	7.25–7.89 8.17–8.22	–179.0
10	5.31	3.82	4.48	3.45	4.58	3.99	3.74	4.62 4.58	6.14	7.28–7.38 7.71–7.83 8.15–8.17	–180.9
11	5.41	3.40	4.46	3.89	4.45	4.09	3.74	4.57 4.48	6.40	7.24–7.37 7.71–7.82 8.15–8.17	–180.0
12	5.45	3.65	4.75	3.68	4.79	3.91	3.68	4.69	8.33 (NH ₃ ⁺)	7.42–7.31	–176.5

TABLE II
Coupling constants ($J_{\text{H,H}}$ and $J_{\text{H,F}}$ in Hz) of compounds **7**, **8**, **10**, **11**, and **12**

Comp.	$J(1,2)$	$J(2,3)$	$J(3,4)$	$J(4,5)$	$J(5,6\text{en})$	$J(5,6\text{ex})$	$J(6\text{en},6\text{ex})$	$J(\text{gem})$ (OBn)	$J(\text{NH},x)$ $x=2,3,4$	$J(1,3)$	$J(2,4)$	$J(3,5)$
7	<0.5	6.4	1.7	1.7	≈0	5.5	8.1	11.75	^a	1.7	≈0	1.7
8	^a	1.9	1.9	1.7	≈0	5.0	8.2	12.3	8.1	1.6	<0.5	1.6
10	2.4	1.8	1.8	1.1	1.1	5.65	7.8	12.2	10.4	1.8	1.5	1.8
11	1.8	1.8	1.8	^a	1.1	5.6	7.8	12.2	10.0	1.8	1.8	1.8
12	<0.5	5.2	5.9	^a	≈0	4.7	7.2	^a	—	≈0	≈0	≈0

Comp.	$J(1,F)$	$J(2,F)$	$J(3,F)$	$J(4,F)$	$J(5,F)$	$J(6\text{en},F)$	$J(6\text{ex},F)$
7	≈0	≈0	8.7	44.0	8.7	5.5	<0.5
8	≈0	≈0	15.3	45.0	10.7	4.8	<0.5
10	≈0	13.1	44.4	13.1	<0.5	1.2	1.1
11	≈0	13.9	44.3	13.9	<0.5	1.2	1.1
12	≈0	14.3	34	27.5	≈0	≈0	≈0

^a The value could not be determined.

TABLE III
 ^{13}C NMR data (100.8 MHz) of compounds **7**, **8**, **10**, **11** (CDCl_3), and **12** (CD_3SOCD_3)

Comp.	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	Other carbons
7	99.45	70.89	53.47 (32.4)	90.36 (182.3)	74.17 (19.5)	64.59 (7.6)	OBn: 71.71 (OCH ₂), 130.57, 128.41 (2), 128.05, 127.32 (2) Ns: 147.50, 136.31, 133.47, 133.08, 132.63, 125.74
8	100.37	75.32	52.49 (29.8)	89.00 (189.0)	74.22 (21.70)	64.53 (8.4)	OBn: 71.71 (OCH ₂), 131.15, 128.55 (2), 128.03 (2), 127.63 Ns: 148.50, 136.55, 134.02, 133.44, 131.60, 125.56
10	100.30	52.92 (25.5)	87.61 (186.6)	73.25 (26.3)	73.06	65.12 (4.6)	OBn: 71.60 (OCH ₂), 130.17, 128.67 (2), 128.31, 127.95 (2) Ns: 147.60, 136.49, 134.86, 133.75, 133.15, 125.55
11	99.71	72.64 (23.2)	87.51 (186.9)	53.22 (28.3)	74.66	65.41 (5.3)	OBn: 72.42 (OCH ₂), 129.99, 128.32, 127.96 (2), 128.63 (2) Ns: 147.61, 136.51, 135.09, 133.74, 133.11, 125.58
12	99.34	56.02	79.21	70.69	74.38	64.87	OBn: 73.14 (OCH ₂), 137.66, 128.32 (2), 127.78 (2), 127.65

^a -(C,F) in Hz shown in parenthesis.

EXPERIMENTAL

Melting points were determined on a Boëtius melting-point microapparatus and are uncorrected. The optical rotations were measured on an Autopol III (Rudolph Research, Flanders (NJ), U.S.A.) polarimeter at 23 °C and are given in 10⁻¹ deg cm² g⁻¹. The ¹H and ¹³C NMR spectra were measured on a Varian INOVA-400 (¹H at 400 MHz and ¹³C at 100 MHz) instrument in CDCl₃ (referenced to TMS for ¹H and the chloroform signal at δ 77.0 ppm for ¹³C) at 25 °C. Correlated 2D techniques were used for the structural assignments. High-resolution mass spectra were recorded on a ZAB-EQ (VG Analytical, U.K.) instrument using the FAB method (Xe ionization). TLC was carried out on MERCK DC Alufolien with Kieselgel F₂₅₄ with hexane–ethyl acetate (3:2) solvent systems. TLC plates were visualized by UV detection at 254 nm and with an anisaldehyde solution in sulfuric acid. Column chromatography was performed on silica gel 60 MERCK (70–230 mesh ASTM) with hexane–ethyl acetate gradient. The solvents were evaporated on a vacuum rotary evaporator at 40 °C (unless stated otherwise). Petroleum ether refers to the 40–60 °C distillation fraction. Reactions were carried out under argon atmosphere. Starting epimines 2–6 were prepared using the published procedures (2,3-epimines²⁰, 3,4-epimines²⁷). Bu₄N[Ph₃SnF₂] was prepared according to refs^{29,30}. *N*-Methylpyridinium tosylate was prepared by mixing of commercially available methyl tosylate with an equivalent of dry pyridine at room temperature and drying of the resulting solid in a vacuum desiccator over P₂O₅. The ¹H and ¹⁹F NMR spectral parameters are given in Tables I and II, and those of ¹³C NMR spectra in Table III.

1,6-Anhydro-2-*O*-benzyl-3,4-dideoxy-4-fluoro-3-(*N*-2-nitrobenzene-1-sulfonamido)-β-D-mannopyranose (**7**)

Epimine **2** (211 mg, 0.50 mmol), KHF₂ (40 mg, 0.51 mmol), Bu₄N[Ph₃SnF₂] (352 mg, 0.55 mmol), and *N*-methylpyridinium tosylate (600 mg, 2.3 mmol) were mixed and placed in a silicon oil bath where the mixture melted and the temperature was maintained at 115 °C for 60 min. The brown mixture was cooled to room temperature and triturated with EtOAc (4 ml). The resulting suspension was partitioned between water (30 ml) and dichloromethane (60 ml). The extract was washed with 5% aqueous NaHCO₃, water and dried over anhydrous Na₂SO₄. After evaporation of dichloromethane, the residue was chromatographed on silica gel (25 g, hexane–EtOAc 3:2) to afford fluoro derivative **7**. Yield 167 mg (75%, EtOAc–Et₂O–petroleum ether); m.p. 157–159 °C; [α]_D -195 (c 0.28, CHCl₃). For C₁₉H₁₉FN₂O₇S (438.4) calculated: 52.05% C, 4.37% H, 4.33% F, 6.39% N, 7.31% S; found: 52.12% C, 4.34% H, 3.96% F, 6.20% N, 7.43% S.

1,6-Anhydro-2-*O*-benzyl-3,4-dideoxy-4-fluoro-3-(*N*-2-nitrobenzene-1-sulfonamido)-β-D-glucopyranose (**8**)

The same amounts of the epimine (**3**, 211 mg) and other reagents were worked up as is described for the preparation of compound **7**. The reaction proceeded at 100–110 °C for 4 h. Yield 160 mg of **8** (72%, EtOAc–Et₂O–petroleum ether); m.p. 59–60 °C; [α]_D -61 (c 0.17, CHCl₃). For C₁₉H₁₉FN₂O₇S (438.4) calculated: 52.05% C, 4.37% H, 4.33% F, 6.39% N, 7.31% S; found: 52.02% C, 4.39% H, 4.01% F, 6.26% N, 7.45% S.

1,6-Anhydro-4-*O*-benzyl-2,3-dideoxy-2-fluoro-3-(*N*-2-nitrobenzene-1-sulfonamido)- β -D-glucopyranose (**9**)

Epimine **4** (293 mg, 0.7 mmol), KHF_2 (40 mg, 0.7 mmol), $\text{Bu}_4\text{N}[\text{Ph}_3\text{SnF}_2]$ (485 mg, 0.77 mmol), and *N*-methylpyridinium tosylate (800 mg, 3 mmol) were mixed and placed in a silicone oil bath heated at 130 °C where the mixture melted. The temperature was lowered to 100 °C and maintained for 6 h. The brown mixture was further worked up as described for the derivative **7** to afford fluoroamine **9**. Yield 290 mg (94%, EtOAc–Et₂O–petroleum ether); m.p. 181–183 °C. The prepared compound was identical (¹H and ¹⁹F NMR data) with a sample already reported in literature²⁰.

1,6-Anhydro-4-*O*-benzyl-3,4-dideoxy-3-fluoro-2-(*N*-2-nitrobenzene-1-sulfonamido)- β -D-glucopyranose (**10**)

Epimine **5** (293 mg, 0.7 mmol), KHF_2 (40 mg, 0.7 mmol), $\text{Bu}_4\text{N}[\text{Ph}_3\text{SnF}_2]$ (485 mg, 0.77 mmol), and *N*-methylpyridinium tosylate (800 mg, 3 mmol) were mixed and placed in a silicon oil bath warmed at 140 °C where the mixture melted. The temperature was maintained for 2 h. The brown mixture was further worked up as described for compound **7** to afford fluoroamine **10**. Yield 157 mg (51%, EtOAc–Et₂O–petroleum ether); m.p. 98–101 °C; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -19$ (*c* 0.28, CHCl_3). For $\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{FN}_2\text{O}_7\text{S}$ (438.4) calculated: 52.05% C, 4.37% H, 4.33% F, 6.39% N, 7.31% S; found: 52.17% C, 4.36% H, 4.16% F, 6.14% N, 7.30% S.

1,6-Anhydro-2-*O*-benzyl-2,3-dideoxy-3-fluoro-4-(*N*-2-nitrobenzene-1-sulfonamido)- β -D-glucopyranose (**11**)

The same amounts of the epimine (**6**; 293 mg) and other reagents were worked up as is described for the preparation of compound **10**. The reaction proceeded 5 h. Yield 208 mg of **11** (68%, EtOAc–Et₂O–petroleum ether); m.p. 49–51 °C; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -24$ (*c* 0.19, CHCl_3). For $\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{FN}_2\text{O}_7\text{S}$ (438.4) calculated: 52.05% C, 4.37% H, 4.33% F, 6.39% N, 7.31% S; found: 52.11% C, 4.39% H, 4.44% F, 6.29% N, 7.41% S.

Deprotection with Benzenethiol. Typical Procedure

A fluoro derivative (0.1-mmol scale), potassium carbonate (10 equiv.), acetone (3 ml), benzenethiol (3 equiv.) and water (0.3 ml) were mixed up and stirred at room temperature until the starting fluoro derivative disappeared (45 min, TLC monitoring in a methanol–ethyl acetate 1:2). The yellow suspension was filtered through a pad of celite, celite washed with ethanol (30 ml) and combined filtrates were concentrated to yellow oil. The oil was chromatographed on silica gel (15 g, EtOAc–EtOH gradient elution) to afford free amine. The amine was dissolved in ethanol (1 ml) and a 1.4 M HCl solution in diethyl ether (1 ml) was added to form the corresponding hydrochloride. Resulting mixture was evaporated under diminished pressure and solid (or oily) residue was dried in vacuum desiccator over P_2O_5 .

2-Amino-1,6-anhydro-4-*O*-benzyl-2,3-dideoxy-3-fluoro- β -D-glucopyranose hydrochloride (**12**). Prepared from **10** (67 mg, 0.151 mmol), K_2CO_3 (210 mg, 1.51 mmol) and benzenethiol (46 μl , 0.45 mmol). Yield 42 mg (95%); $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -18.5$ (*c* 0.46, MeOH). HR MS (FAB): calculated for $\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{FNO}_3$ 254.1193, found: 254.1180 (M^+).

Financial support of the Grant Agency of the Czech Republic (grant No. 203/02/D047) is greatly acknowledged. The authors thank Dr I. Tišlerová for measurements of NMR spectra.

REFERENCES

1. Tsuchiya T.: *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1990**, *48*, 91.
2. Dax K., Albert M., Ortner J., Paul B. J.: *Curr. Org. Chem.* **1999**, *3*, 287.
3. Wang J. N., Jin Y. H., Rapp K. L., Bennett M., Schinazi R. F. Chu C. K.: *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 3736.
4. Asif G., Hurwitz S. J., Gumina G., Chu C. K., McClure H. M., Schinazi R. F.: *Antimicrob. Agents Chemother.* **2005**, *49*, 560.
5. Liang C. H., Yao S. L., Chiu Y. H., Leung P. Y., Robert N., Seddon J., Sears P., Hwang C. K., Ichikawa Y., Romero A.: *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 1307.
6. Werz D. B., Seeberger P. H.: *Chem.-Eur. J.* **2005**, *11*, 3194.
7. Bettegowda C., Foss C. A., Cheong I., Wang Y. C., Diaz L., Agrawal N., Fox J., Dick J., Dang L. H., Zhou S. B., Kinzler K. W., Vogelstein B., Pomper M. G.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2005**, *102*, 1145.
8. Pacák J., Černý M.: *Mol. Imag. Biol.* **2002**, *4*, 352.
9. Dax K., Albert M. in: *Glycoscience: Epimerisation, Isomerisation and Rearrangement Reactions of Carbohydrates* (S. V. Ley, J. Thiem, F. Vogtle, B. M. Trost, H. Yamamoto, A. De Meijere, K. N. Houk, H. Kessler, A. E. Stutz, S. L. Schreiber and J. M. Lehn, Eds), Vol. 215, p. 193. Springer Verlag, Berlin 2001.
10. Dax K., Albert M., Ortner J., Paul B. J.: *Carbohydr. Res.* **2000**, 327, 47.
11. Nikitenko A. A., Arshava B. M., Mikerin I. E., Raifeld Y. E., Lee V. J., Lang S. A.: *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 7087.
12. Černý M. in: *Frontiers in Biomedicine and Biotechnology, Levoglucosenone and Levoglucosans, Chemistry and Applications* (Z. J. Witczak, Ed.), p. 121. ATL Press, New York 1994.
13. Černý M., Staněk J.: *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1977**, *34*, 23.
14. Tsuchiya T., Takahashi Y., Kobayashi Y., Umezawa S., Umezawa H.: *J. Antibiot.* **1985**, *38*, 1287.
15. Tsuchiya T., Ajito K., Umezawa S., Ikeda A.: *Carbohydr. Res.* **1984**, *126*, 45.
16. Mikhailopulo I. A., Sivets G. G.: *Helv. Chim. Acta* **1999**, *82*, 2052.
17. Kroutil J., Trnka T., Budešínský M., Černý M.: *Eur. J. Org. Chem.* **2002**, 2002, 2449.
18. Kroutil J., Karban J., Trnka T., Budešínský M., Černý M.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* **2002**, *67*, 1805.
19. Kroutil J.: *Ph.D. Thesis*. Charles University, Prague 2000.
20. Kroutil J., Karban J., Budešínský M.: *Carbohydr. Res.* **2003**, *338*, 2825.
21. Mao H., Joly G. J., Peeters K., Hoornaert G. J., Compernelle F.: *Tetrahedron* **2001**, *57*, 6955.
22. Favre-Reguillon A., Segat-Dioury F., Nait-Bouda L., Cosma C., Siaugue J. M., Foss J., Guy A.: *Synlett* **2000**, 868.
23. Greene T. W., Wuts P. G. M.: *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3rd ed. J. Wiley, New York 1999.
24. Shimizu M., Ohno A., Yamada S.: *Chem. Pharm. Bull.* **2001**, *49*, 312.
25. Wnuk S. F., Bergolla L. A., Garcia P. I.: *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 3065.
26. Černý M., Trnka T., Redlich H.: *Carbohydr. Res.* **1988**, *174*, 349.

27. Kroutil J., Karban J.: *Carbohydr. Res.* **2005**, 340, 503.
28. Bosch P., Camps F., Chamorro E., Gasol V., Guerrero A.: *Tetrahedron Lett.* **1987**, 28, 4733.
29. Makosza M., Bujok R.: *J. Fluorine Chem.* **2005**, 126, 209.
30. Gingras M.: *Tetrahedron Lett.* **1991**, 32, 7381.
31. Makosza M., Bujok R.: *Tetrahedron Lett.* **2004**, 45, 1385.
32. Fürst A., Plattner P. A.: *12th International Congress of Pure and Applied Chemistry. Abstract of Papers*, p. 409, New York 1951.
33. Buděšínský M., Trnka T., Černý M.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1979**, 44, 1949.

Příloha 2

V příloze 2 jsou uvedena NMR data nově připravených sloučenin.

tab. II.

¹H NMR (400 MHz) a ¹⁹F NMR (376.3 MHz) chemické posuny (ppm) látek **22**, **25**, **26**, **27**, **28**, **29**, **31**, **32**, **33**, **34**, **35**, **36** (CDCl₃) a **37** (CD₃SOCD₃).

Sl.	H-1	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6en	H-6ex	OCH ₂	NH	C ₆ H _x (x=4,5)	F
22	5,72	3,71	3,42	3,55	4,41	4,10	4,09	4,88 4,59	-	7,31-7,35 7,71-7,78 8,31-8,33	-
25	5,75	3,55	3,25	α-2,36 β-2,04	4,51	3,68	3,67	-	-	7,76-7,85 8,27-8,29	-
26	5,31	4,46	1,98	2,36	4,78	3,98	3,41	-	NBn 3,75, 3,20	7,25-7,36	-188,2
27	5,76	2,01	2,30	4,64	4,54	3,93	3,71	-	NBn 3,60, 3,54	7,26-7,38	-180,9
28	5,36	3,04	4,80	3,67	4,52	4,02	3,79	3,96 3,92	-	7,27-7,36	-199,1
29	5,51	2,81	4,73	3,51	4,59	3,97	3,75	4,69 4,66	NBn: 3,91, 3,84	7,22-7,38	-180,4
31	5,31	3,82	4,48	3,45	4,58	3,99	3,74	4,62 4,58	6,14	7,28-7,38 7,71-7,83 8,15-8,17	-180,9
32	5,43	3,15	3,82	4,53	4,72	4,10	3,76	4,44 4,21	5,86	7,25-7,89 8,17-8,22	-179,0
33	5,52	^b	3,86	4,69	4,85	3,99	3,71	4,76 4,67	5,91	7,25-7,89 8,17-8,22 7,71-7,74	-183,9
34	5,49	4,09	3,85	α-1,76 β-2,43	4,57	5,30	4,17	-	6,14	7,77-7,79 7,88-7,91 8,13-8,15	-183,8
35	5,44	3,63	4,56	α-1,94 β-2,17	4,65	3,72- 3,78 ^a	3,72- 3,78 ^a	-	5,80	7,71-7,75 7,88-7,91 8,13-8,15	-188,3
36	5,46	4,59	4,17	3,90	4,38	4,25	3,65	4,34 4,27	6,24	7,30-7,07 7,65-8,15	-184,9
37	5,45	3,65	4,75	3,68	4,79	3,91	3,68	4,69	8,33 (NH ₃ ⁺)	7,42-7,31	-176,5

^a – spektrum vyššího řádu; ^b – chemický posun nebylo možno odečíst.

tab. III.

Interakční konstanty ($J_{H,H}$ a $J_{H,F}$; Hz) sloučenin **22**, **25**, **26**, **27**, **28**, **29**, **31**, **32**, **33**, **34**, **35**, **36** ($CDCl_3$) a **37** (CD_3SOCD_3).

Sl.	J(1,2)	J(2,3)	J(3,4)	J(4,5)	J(5,6 _{en})	J(5,6 _{ex})	J(6 _{en} ,6 _{ex})	J _{gem}	J _{NH,x} x=2,3,4	J(1,3)	J(2,4)	J(3,5)
22	3,7	7,3	6,1	6,1	<1	4,4	7,8	11,5	-	-	-	-
25	4,0	7,1	α -5,6 β -0	α -0 β -0	b	b	b	-	-	<1	-	-
26	1,4	1,7	6,4	6,1	<1	5,9	6,0	13,3	-	1,2	-	-
27	3,9	6,1	1,7		1,5	6,9	7,2	14,3	-	-	-	-
28	1,2	4,4	1,7	<1	<1	5,9	7,8	13,4	-	-	1,7	-
29	1,7	1,7	1,7	<1	1,1	5,1	7,6	OBn 12,0	NBn 13,2	1,7	1,7	1,7
31	2,4	1,8	1,8	1,1	1,1	5,65	7,8	12,2	10,4	1,8	1,5	1,8
32		1,9	1,9	1,7	\approx 0	5,0	8,2	12,3	8,1	1,6	<0,5	1,6
33	b	1,7	6,9	b	<1	5,1	8,1	12,4	8,4	-	-	-
34^a	<1	<1	β -5,4	β -5,4	b	b	b	-	9,3	-	-	-
35	1,5	8,4	α -10,1 β -6,8	α -4,4 β -1,7	b	b	b	-	9,5	-	-	-
36	<1	2,0	6,7	4,3	<1	4,7	8,2	12,2	7,6	-	-	-
37	<0,5	5,2	5,9	-	\approx 0	4,7	7,2	-	-	\approx 0	\approx 0	\approx 0

	J(1,F)	J(2,F)	J(3,F)	J(4,F)	J(5,F)	J(6 _{ex} ,F)	J(6 _{en} ,F)
26	7,3	47,3	12,9	-	-	1,3	-
27	-	-	10,9	48,1	15,9	2,7	1,5
28	-	23,4	49,1	14,4	-	3,4	-
29	-	16,4	44,9	14,2	-	2,2	1,1
31	\approx 0	13,1	44,4	13,1	<0,5	1,2	1,1
32	\approx 0	\approx 0	15,3	45,0	10,7	4,8	<0,5
33	-	-	17,3 ^d	45,5	0 ^d	-	-
34	-	45,2	15,6	-	-	-	-
35	5,6	13,9	50,1	α -14,9	5,3	-	-
36^c	-	45,0	14,0	-	-	-	-
37	\approx 0	14,3	34	27,5	\approx 0	\approx 0	\approx 0

^a – $J(4\alpha,4\beta) = 15,2$ Hz; ^b – interakční konstantu nelze odečíst (spektrum vyššího řádu); ^c – $J(6_{ex},4) = 1,2$ Hz; ^d – hodnoty mohou být vzájemně zaměněny.

tab. IV.

¹³C NMR data (100.8 MHz) sloučenin **25**, **27**, **28**, **29**, **31**, **32**, **34** (CDCl₃) a **37** (CD₃SOCD₃).

Sl. ^a	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	Ostatní uhlíkové atomy
25	96,00	45,17	34,77	27,98	67,54 ^b	67,91 ^b	Ns: 134,37, 132,53, 130,94(2), 124,84(2)
27	98,22	43,10	34,73 (37,4)	86,62 (173,2)	71,94 (21,4)	64,49 (9,8)	NBn: 62,77, 138,16, 128,42(2), 127,47(2), 127,16
28	101,4	66,4 (16,9)	89,9 (180,0)	58,29 (23,8)	65,8 (5,9)	51,4	OBn: 73,9, 128,6(2), 128,1(2), 127,51(2)
29	101,6	56,7 (20,1)	87,0 (184,5)	74,9 (26,6)	64,9 (4,1)	51,1	OBn: 73,3, NBn: 71,6 139,5, 137,1, 128,58(2), 128,43(2), 128,0(2), 127,7(2), 127,1(2)
31	100,30	52,92 (25,5)	87,61 (186,6)	73,25 (26,3)	73,06	65,12 (4,6)	OBn: 71,60 (OCH ₂), 130,17, 128,67 (2), 128,31, 127,95 (2) Ns: 147,60, 136,49, 134,86, 133,75, 133,15, 125,55
32	100,37	75,32	52,49 (29,8)	89,00 (189,0)	74,22 (21,70)	64,53 (8,4)	OBn: 71,71 (OCH ₂), 131,15, 128,55 (2), 128,03 (2), 127,63 Ns: 148,50, 136,55, 134,02, 133,44, 131,60, 125,56
34	101,9 (10,7)	60,0 (18,0)	89,6 (185,1)	35,0 (18,8)	72,7 (11,1)	68,4	Ns: 147,60, 134,67, 133,47, 132,88, 131,00, 125,36
37	99.34	56.02	79.21	70.69	74.38	64.87	OBn: 73.14 (OCH ₂), 137.66, 128.32 (2), 127.78 (2), 127.65

^a – v závorce jsou uvedeny hodnoty $J(C,F)/\text{Hz}$; ^b – hodnoty mohou být vzájemně zaměněny.

10. ABSTRAKT A KLÍČOVÁ SLOVA

Klíčová slova

- sacharidy
- epiminy
- fluorace
- fluorocukry
- 1,6-anhydrosacharidy
- NMR spektroskopie
- aziridiny
- regiosektivita
- DAST

Abstrakt

Nejprve byla sérií syntetických reakcí připravena sada pěti aziridinů 1,6-anhydrohexos mající *D-manno*, *D-allo*, *D-galacto* and *D-talo* konfiguraci. Z 1,6:2,3- a 1,6:3,4-dianhydro- β -D-hexopyranos byly azidolýzou a tosyací připraveny vicinální azidosylyáty, které byla následně redukovány za použití NaBH₄ nebo LiAlH₄. Takto byl zaveden do molekuly aziridinový kruh. Z volných aziridinů byly dále připraveny *N*-substituované epiminy ve výtěžcích 61-67 %.

Fluorace pomocí DAST byla založena na reakci *N*-benzylovaných epiminů majících volnou hydroxyskupinu ve vicinální poloze s diethylaminosulfurtrifluoridem v dichlormethanu, při které se hydroxylová skupina nahradí fluorem a vzniknou vicinální fluoroaziridiny. V žádném z provedených pokusů nereagoval DAST s aziridinovým kruhem. Z devíti různých výchozích cukerných epiminů ale pouze dva poskytly žádané produkty ve výtěžcích okolo 45 %.

Pro reakci s KHF₂ musela být zavedena do molekuly epiminu aktivující nosylová skupina. Chránicí a současně aktivující 2-nitrobenzensulfonylová skupina byla

připravena účinkem 2-nitrobenzenesulfonyl chloridu ve směsi triethylamin-tetrahydrofuran při teplotě -30 až -40 °C. Výtěžek cílových nosylepiminů se pohyboval v rozmezí 37-93 %.

Otevření aziridinového kruhu *N*-nosylepiminů bylo provedeno použitím hydrogendifluoridu draselného za různých reakčních podmínek. Reakcí přednostně vznikly, v souladu s Fűrstovým-Plattnerovým pravidlem, *trans*-diaxiální isomery vicinálních fluoro amino derivátů 1,6-anhydro- β -D-hexopyranos ve výtěžku 31-90 %. V některých případech byly v reakční směsi přítomny diekvatoriální isomery.

Chránící 2-nitrobenzenesulfonylová skupina byla odstraněna reakcí s benzenthiolem a uhličitanem draselným ve směsi aceton-voda. Odchránění bylo vyzkoušeno pouze na jednom fluoroderivátu.

Struktury všech připravených fluoroderivátů byly potvrzeny NMR spektroskopii.

11. ABSTRACT AND KEYWORDS

Keywords

- saccharides
- epimines
- fluorination
- fluorosugars
- 1,6-anhydrosugars
- NMR spectroscopy
- aziridines
- regioselectivity
- DAST

Abstract

A series of five aziridine derivatives of 1,6-anhydrohexoses having *D-manno*, *D-allo*, *D-galacto* and *D-talo* configurations has been prepared via the following synthetic reactions. From 1,6:2,3- and 1,6:3,4-dianhydro- β -D-hexopyranoses, vicinal azido tosylates have been prepared by azidolysis and subsequent tosylation. The aziridine ring was built up by reduction of azido tosylates by NaBH₄ or LiAlH₄ and *N*-substituted derivatives were also prepared. By this sequence the aziridine derivatives have been prepared in 61-67 % yields.

The fluorination by DAST consisted of the reaction of *N*-benzylated epimines having free OH-group in the vicinity of the aziridine ring with diethyl amino sulphur trifluoride (DAST) in dichloromethane. Vicinal fluoro aziridines thus obtained have arisen via direct displacement of DAST-activated hydroxyl group by fluoride. In no case the aziridine ring was affected by DAST. From nine different starting sugar epimines, only two derivatives afforded the desired products with the yields around 45 %.

For fluorination by KHF_2 , activating nosyl group had to be introduced on nitrogen atom of the aziridine ring. The *N*-substitution by 2-nitrobenzenesulfonyl group was done by sulfonylation using 2-nitrobenzenesulfonyl chloride in a triethylamine-tetrahydrofuran mixture at -30 at -40 °C. Yields of the target nosylepimines were in the range 37–93 %.

Aziridine ring-opening reactions of *N*-nosylepimines with potassium hydrogendifluoride under various reaction conditions have been performed to introduce fluoride atom onto sugar skeleton. As predicted by the Fürst-Plattner rule, *trans*-diaxial isomers of the vicinal amino fluoro derivatives of 1,6-anhydro- β -D-hexopyranoses were preferentially formed in 31-90 % yields. For some epimines, diequatorial isomers have been detected in the reaction mixtures.

2-Nitrobenzenesulfonyl group has been removed from products of the cleavage by reaction with benzenethiol and potassium carbonate in an acetone-water mixture. The deprotection has been demonstrated on one fluoro derivative only.

The structure of fluoro derivatives was determined by NMR spectroscopy.