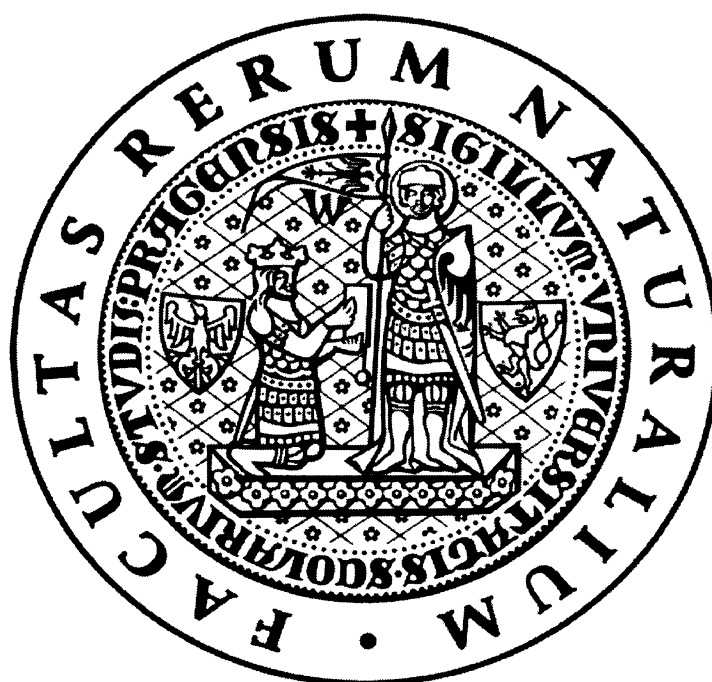


Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Katedra organické a jaderné chemie



**PŘÍPRAVA GLYKOSYLDONORŮ
ODVOZENÝCH OD D-MANNOSAMINU
VHODNÝCH PRO VÝSTAVBU OLIGOSACHARIDŮ
S (1→4)-GLYKOSIDICKOU VAZBOU**

Diplomová práce

studijního oboru klinická a toxikologická analýza

Jakub Smrček

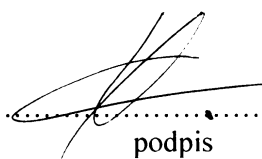
Praha, 2007

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto diplomovou práci vypracoval samostatně, pod vedením školitele doc. RNDr. Jidřicha Jindřicha, CSc. a že jsem všechny použité prameny řádně citoval.

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

V Praze dne.....4.5.2007.....

..........
podpis

Předmětová hesla:

Organická chemie, syntéza.

Klíčová slova:

Sacharidy, oligosacharidy, 2-amino-2-deoxy-D-hexopyranosy, D-mannosamin, glykosyldonory, *O*-glykosylace, orthogonální chránění.

Obsah

OBSAH	3
1. ÚVOD	5
2. CÍL PRÁCE	6
3. PŘEHLED PROBLEMATIKY	7
3.1 2-AMINO-2-DEOXY-D-HEXOPYRANOSY	7
3.2 O-GLYKOSYLACE	8
3.2.1 O-Glykosylace u 2-amino-2-deoxysacharidů	8
3.2.1 Chráncí skupiny participující	9
3.2.2 Chráncí skupiny neparticipující	10
3.2.3 Glykosyldonory	11
3.2.4 Chránění hydroxylových skupin	14
4. METODIKA PRÁCE, VÝSLEDKY A DISKUZE	16
4.1 DESIGN STAVEBNÍCH JEDNOTEK	16
4.2 PŘÍPRAVA GLYKOSYL DONOROVÝCH JEDNOTEK	17
4.2.1 Koncepce syntézy.....	17
4.2.2 Selektivní ochrana OH skupiny na uhlících C1, C3, C4 a C6.....	18
4.2.3 Substituce OH skupiny v poloze C2 azidovou	20
4.2.4 Změna chráncí skupiny na uhlíku C4	21
5. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	26
5.1. POUŽITÉ POSTUPY, CHEMIKÁLIE	26
5.2. PRACOVNÍ POSTUPY	27
6. ZÁVĚR	36
7. PODĚKOVÁNÍ	37
8. SEZNAM ZKRATEK	38
9. LITERATURA	40

1. Úvod

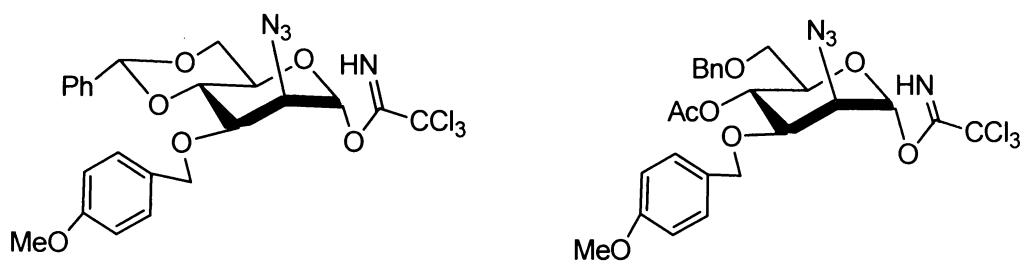
Sacharidy a látky obsahující sacharidovou část, jako jsou glykoproteiny a glykolipidy, jsou ve velké míře přítomny v přírodě a zejména pak v živých organismech. Zde nalézají uplatnění nejen při tvorbě buněčných stěn a membrán, nebo jako zásoba energie, ale jsou významné i v oblasti přenosu a zpracování biologických informací¹. Význam sacharidů v přírodě tkví v jejich velké variabilitě. Sacharidy se mohou lišit počtem cukerných jednotek (monosacharidy, oligosacharidy, polysacharidy), způsobem jejich vazby (1,2-*cis*, 1,2-*trans*, 1→2, 1→4, 1→6 ...), a také prostorovou strukturou (lineární, větvené, cyklické).

Oligosacharidy lze uměle připravit z vhodně chráněných sacharidových jednotek, které se dají účelně propojovat, pomocí *O*-glykosylačních reakcí krokovou syntézou. Prostřednictvím vhodné funkcionalizace se takto dají syntetizovat deriváty přírodních oligosacharidů, které by bylo nesnadné nebo nemožné připravit jejich přímou derivatizací.

Tato práce se zabývá právě přípravou orthogonálně chráněných glykosyldonorových jednotek vhodných pro výstavbu oligosacharidů s 1,2-*trans*-(1→4) glykosidickou vazbou. Konkrétně se jedná o glykosyldonory odvozené od 2-amino-2-deoxy-D-mannopyranosy, které, na rozdíl od analogických látek v *galakto* a zejména *gluko* konfiguraci, byly doposud velmi málo využívány².

2. Cíl práce

Cílem této diplomové práce bylo syntetizovat dvě nové monosacharidové orthogonálně chráněné glykosyldonorové jednotky (viz Obr.1) odvozené od struktury D-mannosaminu, které by byly vhodné jako základní stavební jednotky pro krokovou výstavbu oligosacharidů, jež budou snadno regioselektivně funkcionalizovatelné.



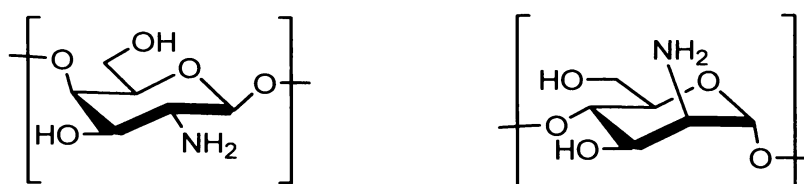
Obr. 1

3. Přehled problematiky

3.1 2-Amino-2-deoxy-D-hexopyranosy

2-Amino-2-deoxy-D-hexopyranosové jednotky, zejména ty v *gluko*, *manno* a *galakto* konfiguracích, se v přírodě často vyskytují jako strukturní jednotky v mnoha různých biologicky významných oligosacharidech a jejich konjugátech, které mají rozličné biologické funkce a aktivity. Hrají kupříkladu klíčovou roli při rozpoznávání a interakcích mezi buňkami, bakteriemi a viry^{3,4}. *N*-acetylglukosaminové jednotky spojené 1,2-*trans*-(1→4) vazbou tvoří významný strukturní polysacharid chitin⁵, cukernou část peptidoglykanu buněčných stěn bakterií^{6,7}, a také jsou významnou součástí *N*-glykoproteinů⁸. *N*-acetyl-D-mannosaminové jednotky spojené 1,2-*trans*-(1→4) vazbou jsou podstatnou částí struktury mnoha kapsulárních polysacharidů^{9,10,11,12} a lipopolysaccharidů^{13,14} bakterií. Toho se s výhodou používá při konstrukci antibakteriálních léčiv^{15,16,17,18}. Oligosaccharidy obsahující 1,2-*trans* vazbu složené z *N*-acetyl-D-galaktosaminových a *N*-acetyl-D-mannosaminových jednotek se jeví také vhodné jako možná mimetika ligandů receptorů přirozených zabíječských buňek, neboť vazebné afinity *N*-acetyl-D-mannosaminu a *N*-acetyl-D-galaktosaminu jsou větší než u *N*-acetyl-D-glukosaminu a v případě chito oligomerů, se tato aktivita zvyšuje s prodloužením sacharidového řetězce¹⁹.

Oligosaccharidy tvořené 1,2-*trans*-(1→4) vazbou vázanými 2-amino-2-deoxy-D-hexopyranosovými jednotkami obsahující ekvatoriálně-axiálně orientovanou (1→4)-*O*-vazbu (viz Obr 2) splňují základní podmínku pro cyklizaci, a tedy pro případnou syntézu 2-amino-2-deoxy-cyklomanninových analogů cyklodextrinu²⁰.



Obr. 2

3.2 O-Glykosylace

O-Glykosylační reakce jsou v podstatě nukleofilní substituce probíhající na anomerním uhlíku C-1 za vzniku acetalové C-O vazby. Odstupující skupina na uhlíku C-1 glykosyldonoru je v přítomnosti vhodného glykosylpromotoru nahrazena volnou hydroxylovou skupinou glykosylakceptoru (viz Schéma 1). Pro zvýšení výtěžku reakce bývá někdy v reakční směsi přítomen také tzv. scavenger, jehož úkolem je odstraňovat vznikající kyseliny a radikály. Nejvíce užívanými scavengery jsou kolidin, CdCO_3 a 1,1,3,3-tetramethylmočovina (TMU).

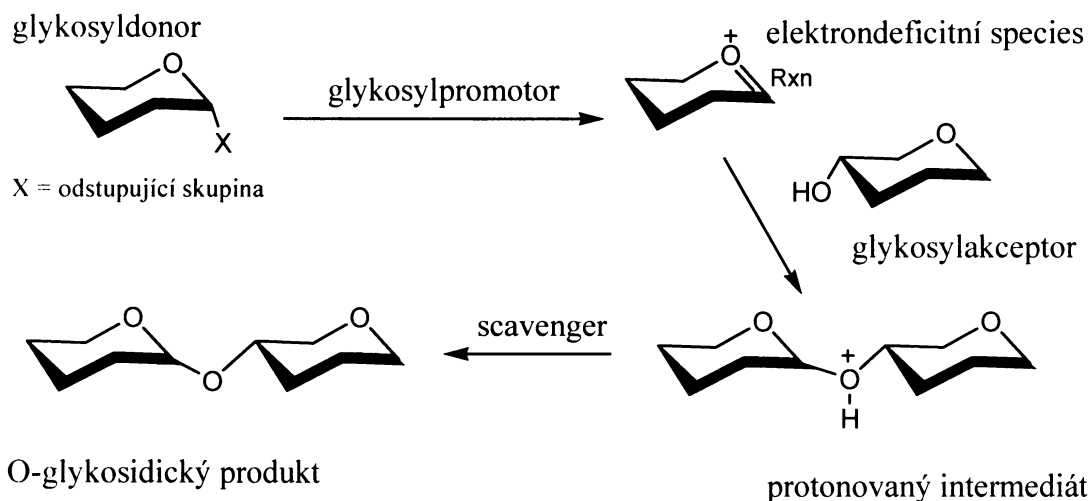


Schéma 1

3.2.1 O-Glykosylace u 2-amino-2-deoxysacharidů

U 2-amino-2-deoxysacharidů však přítomnost aminoskupiny na uhlíku C-2 přináší nové možnosti pro glykosylační reakce těchto sloučenin. Mimo metod, které jsou obdobou postupů používaných u sacharidů bez aminoskupiny, existují i glykosylační reakce specifické pro 2-amino-2-deoxysacharidy využívající přítomnosti aminoskupiny v poloze C-2.

Průběh glykosylační reakce může být rovněž ovlivněn funkčními skupinami vázanými na skelet sacharidu. Zejména pak chránicí skupinou aminoskupiny na

uhlíku C-2, tedy v sousedství anomerního uhlíku glykosyldonoru. Charakter chránicí skupiny ovlivňuje svou participací (případně neparticipací) stereochemii reakce a tím i složení produktů, tedy vznik 1,2-*trans*-glykosidu (α -glykosidu) nebo 1,2-*cis*-glykosidu (β -glykosidu).

Pro tvorbu oligosacharidů prostřednictvím *O*-glykosylace využívajících 2-amino-2-deoxy-D-hexopyranosových glykosyldonorů byla vypracována a publikována řada postupů, jež využívají různé glykosyldonorové skupiny a různé skupiny pro ochranu aminoskupiny na uhlíku C-2 .

3.2.1 Chránicí skupiny participující

Nejstarší v minulosti užitá chránicí skupina byla participující N-acylová, která byla použita při Koenigs-Knorrově reakci²¹. Používá se rovněž při tzv. oxazolinové metodě, jež byla z Koenigs-Knorrovy reakce odvozena. Tyto reakce jsou v oligosacharidové syntéze využitelné především při syntéze 1,2-*trans*-(1→6)-*O*-vázaných oligosacharidů^{22, 23}.

Nejčastěji využívaná chránicí participující skupina je ftalimidová. Tu zavedl poprvé v roce 1976 Lemieux²⁴ a její použití vede převážně k 1,2-*trans*-glykosidům, díky vzniku cyklického silně delokalizovaného iontu, který výrazně brání přístupu akceptoru z *cis* polohy (viz Schéma 2). Tato metoda byla s úspěchem použita i pro málo reaktivní glykosylakceptory, jako je např. sekundární 4-OH skupina glukopyranos²⁵, a také i objemných oligosacharidů²⁶.

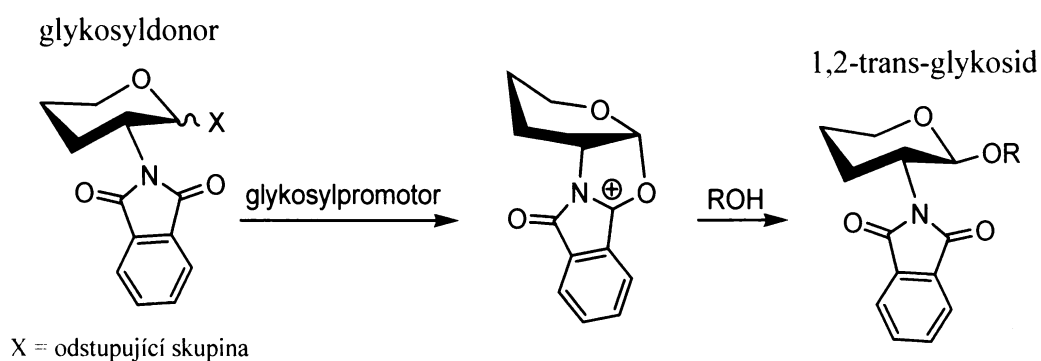


Schéma 2

3.2.2 Chránicí skupiny neparticipující

Takzvané neparticipující chránicí skupiny jsou ty, které nezasahují do průběhu glykosylace. Selektivita glykosylace s neparticipující skupinou je výrazně nižší, závisí na reakčních podmínkách a charakteru odstupující skupiny glykosyl donoru a lze ji aplikovat na přípravu jak 1,2-*trans*- tak i 1,2-*cis*-glykosidů.

Jako neparticipujících chráněná skupina aminu na uhlíku C-2 je nejčastěji využívána azidová skupina. Ta byla v minulosti^{27, 28, 29, 30} úspěšně využita při přípravě 1,2-*trans*- i 1,2-*cis*-glykosidů, přičemž selektivita reakce byla podmíněna konfigurací glykosyldonorové jednotky (viz Schéma 3) a dále byla ovlivněna i typem použitého glykosylpromotoru. Reakce *a* byla podporována přítomností nerozpustného glykosylpromotoru, naopak reakce *b* použitím promotoru rozpustného. Jako promotory zde byly užity Ag^+ a Hg^+ sole a jako odstupující skupiny halogenidy.

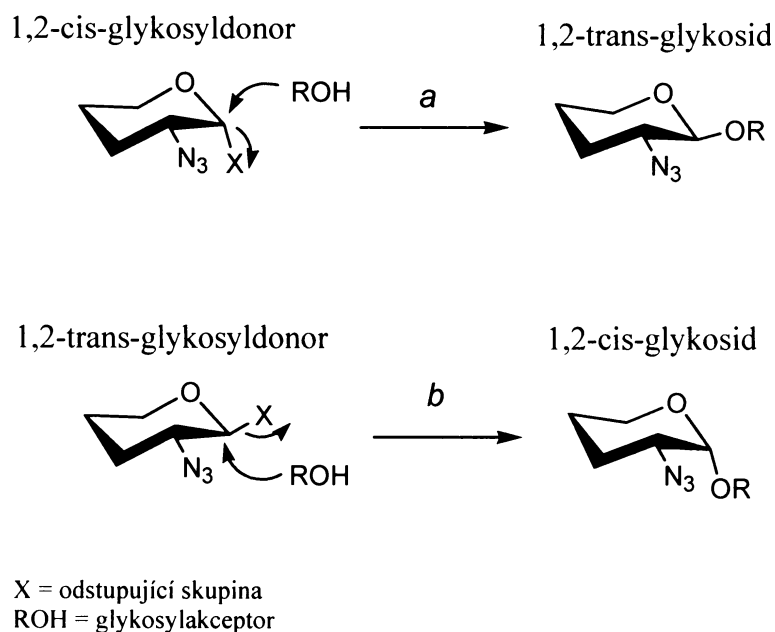


Schéma 3

3.2.3 Glykosyldonory

Glykosylhalogenidy

Nejdéle využívanými glykosyldonory jsou glykosylhalogenidy. Glykosylbromidy a glykosylchloridy byly užity již na přelomu 19. a 20. století pány Koenigsem a Knorrem²¹. Vhodné jsou zejména pro tvorbu 1,2-*trans*-glykosidických vazeb. Jako glykosylpromotory se při těchto reakcích využívají sole těžkých kovů (Ag^+ a Hg^+)^{27, 28}, Lewisovy kyseliny ($\text{BF}_3\cdot\text{OEt}_2$, SnCl_4 , $\text{Sn}(\text{OTf})_2$)^{31, 32} či tetrabutylamoniumbromid³³.

V 80. letech minulého století byly poprvé použity glykosylfluoridy³⁴. Pro aktivaci byla použita směs SnCl_2 a AgClO_4 . Dále byly k tomuto účelu použity Lewisovy kyseliny ($\text{BF}_3\cdot\text{OEt}_2$, TiF_4 , Tf_2O a TMSOTf)^{35, 36} a také sloučeniny Ag^+ solí v přítomnosti sloučenin prvků IV.B skupiny (např. Cp_2ZrCl_2 či Cp_2HfCl_2 s AgClO_4)³⁷.

1-O-Acyl deriváty

Poprvé bylo použití 1-*O*-acyl derivátů sacharidů v glykosylačních reakcích popsáno Helferichem v roce 1933³⁸. Jednalo se o reakce 1-*O*-acetyl derivátů sacharidů s fenolem, k aktivaci byl použit ZnCl_2 , případně TsOH . Acetylová skupina je v této oblasti dodnes nejvíce užívaná, další používané acylové skupiny jsou benzoylová a bromacetylová skupina. Jako glykosyl promotory jsou nejčastěji používány Lewisovy kyseliny, jako jsou například $\text{BF}_3\cdot\text{OEt}_2$, TMSOTf , TrClO_4 atd.. Výhoda 1-*O*-acyl derivátů sacharidů spočívá především v jejich snadné přípravě.

Thioglykosidy

Další významné glykosyldonory jsou thioglykosidy. Jejich použití v této roli poprvé popsal v roce 1973 Ferrier³⁹, který jako thiofilní aktivátor použil HgSO_4 . Další používané aktivátory pro glykosylace s thioglykosidy jsou Hg_2Cl_2 ⁴⁰, $\text{Cu}(\text{OTf})_2$ ⁴¹, $\text{Pd}(\text{ClO}_4)_2$ ⁴², NIS-TFA, AgOTf , $\text{AgOTf}\cdot\text{Br}_2$ ⁴³, NBS⁴⁴, MeOTf ⁴⁵, DMTST ⁴⁶. Výhodou thioglykosidů je též jejich snadná převoditelnost na jiné odstupující skupiny, jako jsou glykosylbromidy a glykosylfluoridy⁴⁷. Thioglykosidy mohou být rovněž oxidovány na fenylsulfoxidové⁴⁸ či fenylsulfonové skupiny⁴⁹.

Trichloracetimidáty

Použití trichloracetimidátů jako glykosyldonorů bylo poprvé publikováno v roce 1976⁵⁰, ale jejich širší uplatnění souvisí až se Schmidtem rozpracovanou trichloracetátovou glykosylační metodou^{51, 52}. Tato metoda byla užita při přípravě některých antibiotik a jiných složitých přírodních glykosidů⁵³.

Výhody trichloracetimidátů jsou jejich chemická stabilita, relativně vysoká teplotní stálost a v neposlední řadě také snadná příprava z příslušných sacharidů s volnou anomerní skupinou reakcí s acetonitrilem v přítomnosti báze (NaH, DBU, K₂CO₃). Glykosylace se provádí za mírných podmínek a bývá katalyzována BF₃.OEt₂, TMSOTf nebo CCl₃CHO.

4-Pentylglykosidy

Další používané glykosyldonory jsou 4-pentenylglykosidy, které se připravují z příslušných sacharidů s volnou anomerní skupinou reakcí a 4-pentenylalkoholem za kyselé katalýzy. Glykosylace v tomto případě neprobíhá obvyklým mechanismem (viz Schéma 1), ale za tvorby cyklického elektrondeficitního meziproductu, kde je kladný náboj lokalizován na kyslíku v poloze C-1 (viz Schéma 4). Jako glykosylpromotory se užívají například NIS-TfOH a NIS-Et₃SiOTf⁵⁴.

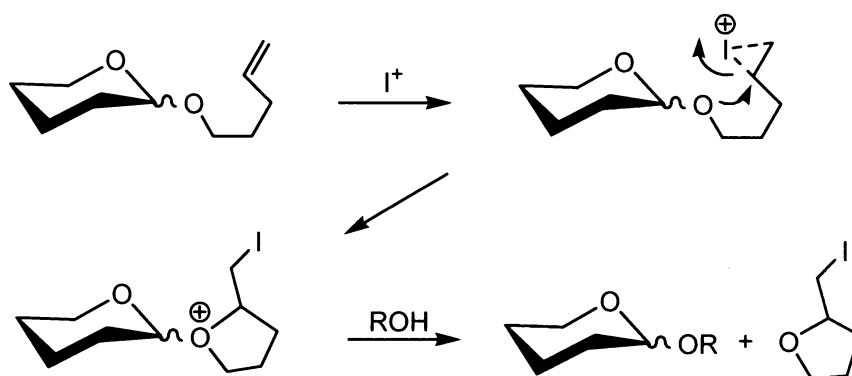


Schéma 4

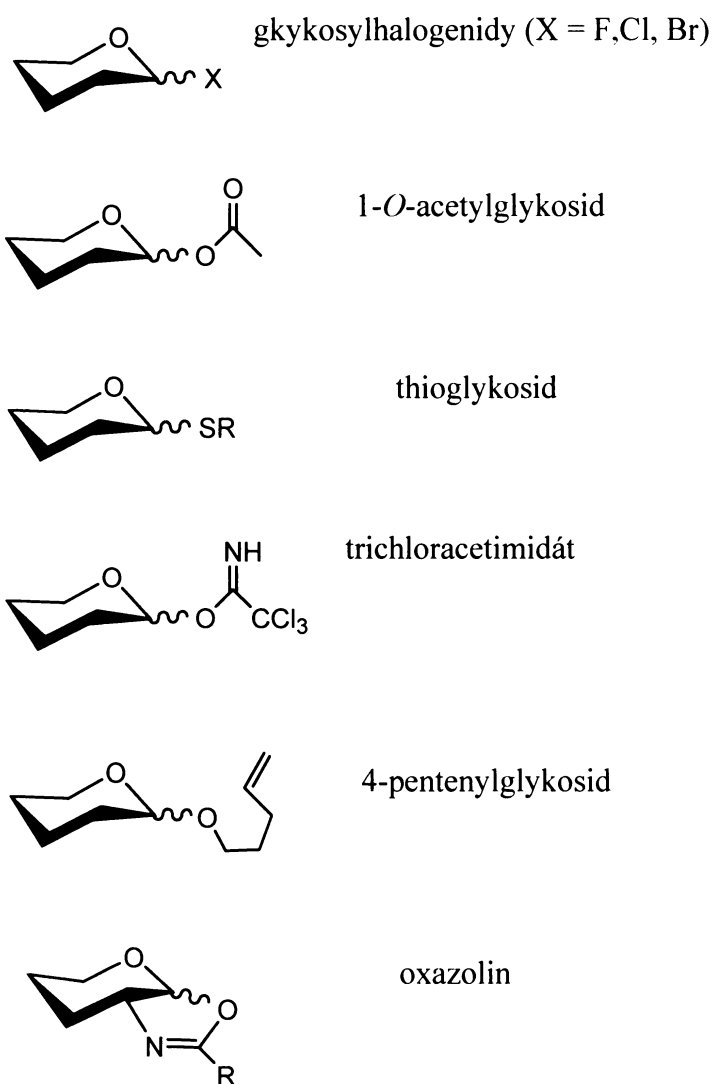
Oxazolininy

Použití oxazolinů jako glykosyl donorů vychází z Koenigs-Knorrovy reakce, kde je oxazolinový iont jeden z meziproductů reakce. Nejběžněji používané

oxazoliny pro glykosylační reakce jsou methyl oxazoliny. Dále se v menší míře využívají fenyl-, chlormethyl- a benzyl-oxazoliny⁵⁵.

Ostatní používané glykosyldonory

V menší míře se jako glykosyldonorů používá ještě celá řada derivátů sacharidů. Patří sem například sacharidy s volnou anomerní hydroxylovou skupinou používané hlavně pro přípravu jednoduchých glykosidů, dále také 1-*O*-silyl glykosidy (především TMS a TBS glykosidy), 1-*O*- a 1-*S*-karbonáty sacharidů, 1-*O*-sulfonylglykosidy a 1-*O*-deriváty fosfátů, selenoglykosidy a glykosylkarbeny⁵⁶.



Obr. 3 Přehled běžných glykosyldonorů

3.2.4 Chránění hydroxylových skupin

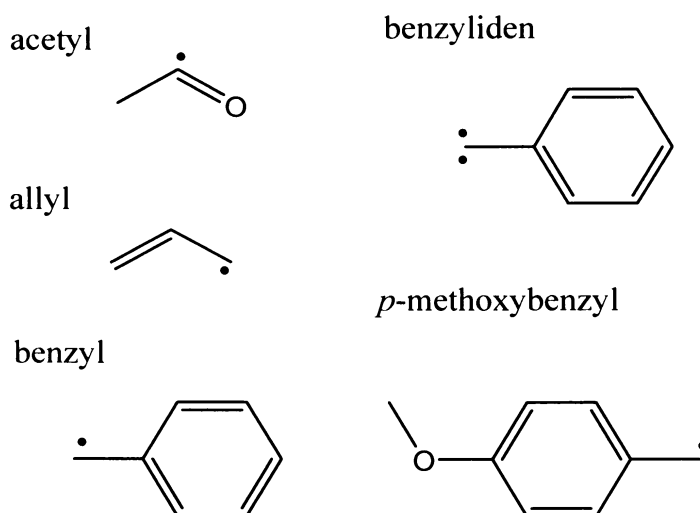
Pro chránění hydroxylových skupin se při syntéze 2-amino-2-deoxy-D-hexopyranosových derivátů využívá celá řada chránicích skupin. Existují dva hraniční přístupy, buď jsou všechny OH-skupiny molekuly chráněny stejnou skupinou, nebo je selektivně chráněn každý hydroxyl. V tomto případě hovoříme o tzv. orthogonálním chránění. Výhoda orthogonálně chráněných stavebních jednotek spočívá především ve snadné selektivní funkcionalizaci hydroxylových skupin v libovolné poloze výsledného oligosacharidu. To je jinak zejména u cyklických forem oligosacharidů zatím obtížně řešitelný problém.

Pro ochranu hydroxylových skupin v polohách C-4 a C-6 je často využívána benzylidenová chránicí skupina. Její výhoda spočívá nejen v tom, že jejím prostřednictvím lze ochránit dvě OH skupiny najednou během jednoho kroku, ale lze ji i selektivně štěpit a odchránit tak buď hydroxyl v poloze C-4 nebo C-6, přičemž druhý hydroxyl zůstává chráněn benzylovou skupinou. Pro odchránění hydroxyly v poloze C-6 bylo v minulosti^{57, 58} úspěšně využito reakce s BH_3 za přítomnosti TMSOTf. Pro odchránění hydroxyly v poloze C-4 pak reakce s Et_3SiH^2 nebo NaBH_3CN ^{59, 60} v kyselém prostředí. Odstranění benzylu se provádí kyselou hydrolyzou za mírných podmínek⁶¹ nebo hydrogenací.

Další využívanou chránicí skupinou je skupina acetylová. Ta může být využita nejen jako chránicí skupina, ale též jako odstupující skupina na anomerním uhlíku C-1 glykosyldonoru (viz kap. 3.2.3 Glykosyldonory). OH-skupina chráněná acylem může být selektivně odchráněna i v přítomnosti benzylových a benzylidenových chránicích skupin na 2-amino-2-deoxy-D-hexopyranosovém skeletu například pomocí PhCH_2NH_2 ⁶² nebo prostřednictvím NaOMe v methanolu^{63, 64}.

Methoxybenzylová skupina je méně využívána. Ale vzhledem ke svým podobným vlastnostem s často užitou benzylovou skupinou lze předpokládat, že koncepce syntézy využitá pro konstrukci podobné látky lišící se právě ve výše zmíněné chránicí skupině bude úspěšná i v tomto případě. Na druhou stranu je výhodou methoxybenzylu jeho snadnější odstranitelnost a to i vedle azidové a benzylové případně benzylidenové skupiny na cukerném skeletu, jak již bylo popsáno v literatuře^{65, 66, 67} reakcí s 2,3-dichloro-5,6-dikyano-1,4-benzochinonem (DDQ).

Pro chránění uhlíku v poloze C-1 se používá při syntéze glykosyldonoru buď přímo odstupující skupina, nebo je po dobu syntézy chráněna vhodnou snadno selektivně odstranitelnou skupinou. Pro tuto roli se hodí například allylová skupina. Tu lze snadno převést přesmykem na *O*-propylenovou skupinu, která obsahuje acidolabilní vinyletherové seskupení. Allylovou skupinu je samozřejmě možné použít i k ochraně hydroxylů na jiných uhlících, např. v literatuře² byla použita k ochraně uhlíku C-3 vedle acetylové (C-4) a benzylové (C-6) chránicí skupiny. Selektivní deallylace se provádí buď pomocí aktivace 1,5-cyklooktadienbis(methylodifenylfosfin)iridium hexafluorofosfátem a následně reakcí s I₂⁶⁸ nebo HgO/HgCl₂⁶⁹ nebo reakcí katalyzovanou PdCl₂ ve vodném roztoku kyseliny octové za přítomnosti octanu⁷⁰ případně ve směsi suchého MeOH a suchého EtOH².



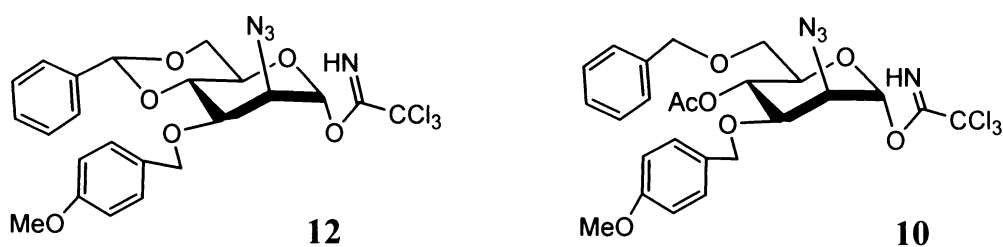
Obr. 4 Přehled použitých chránicích skupin

4. Metodika práce, výsledky a diskuze

4.1 Design stavebních jednotek

Při návrhu designu syntetizovaných jednotek jsme vycházeli z publikovaných výsledků syntéz v minulosti připravených obdobných glykosyldonorů. Nově byla pro chránění hydroxylové skupiny na uhlíku v poloze C-3 použita p-methoxybenzyllová skupina namísto dříve užití benzylové.

Navrženy byly dvě nové glykosyldonorové jednotky (viz Obr. 5), které se od sebe liší ochranou hydroxylových skupin na uhlících C-4 a C-6. U látky **12** jsou oba hydroxyly chráněny bezylidenovou skupinou na rozdíl od glykosyldonoru **10**, kde je OH-skupina na uhlíku C-6 chráněna benzylovou skupinou a hydroxyl v poloze C-4 je chráněn acylem. Jak je zřejmé ze schéma 5 (str.17), byl pro obě látky použit shodný prekurzor **6** obsahující benzylidenovou skupinu. Ta by byla (na syntetické cestě vedoucí ke glykosyldonoru **10**) následně reduktivně štěpena za vzniku benzylové skupiny a současného ochrání hydroxyly na uhlíku C-4, jenž by byl následně chráněn acetylací. Tím je nejen zaručena úplná orthogonalita látky **10**, ale také možnost pro její použití po glykosylaci a odstranění acetylu jako selektivního glykosylakceptoru pro tvorbu oligosacharidů s (1→4)-glykosidickou vazbou. Látka **12** není na první pohled zcela orthogonálně chráněna, ale i zde může být selektivně ochráněna OH-skupina jak na uhlíku C-6 tak i na uhlíku C-4 (viz kap 3.2.4 Chránění hydroxylových skupin). Jako chráněná aminová skupina byla v poloze C-2 použita neparticipující azidová skupina (viz kapitola 3.2.2 Chránicí skupiny neparticipující) V anomerní poloze byla zvolena trichloracetimidová skupina, která je vhodná pro roli "glykosyldonorové" odstupující skupiny při glykosylaci (viz kapitoly 3.2.3 Glykosyldonor a 3.2.2 Chránicí skupiny neparticipující).



Obr. 5

4.2 Příprava glykosyl donorových jednotek

4.2.1 Koncepce syntézy

Postup přípravy vychází z koncepce syntézy podobných látek popsanych v literatuře². Jako výchozí látka byla použita D-glukosa a celá syntéza (viz Schéma 5) by se dala rozdělit do čtyř logických částí:

- A Selektivní ochrana OH skupin na uhlicích C1, C3, C4 a C6.
- B Substituce OH skupiny v poloze C2 skupinou azidovou, změna konfigurace (*gluko* → *manno*).
- C Změna chránicí skupiny na uhlíku C4.
- D Výměna chránicí skupiny v poloze C1 za skupinu vhodnou pro glykosylaci.

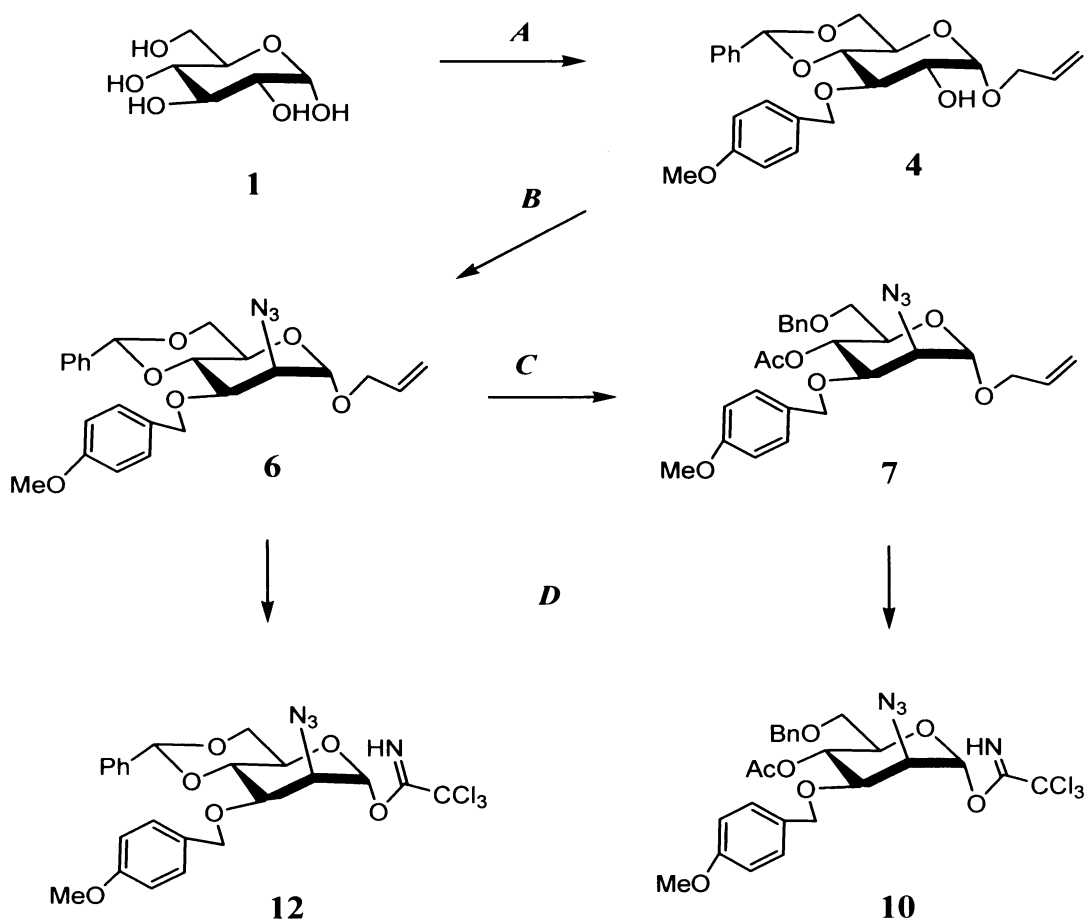
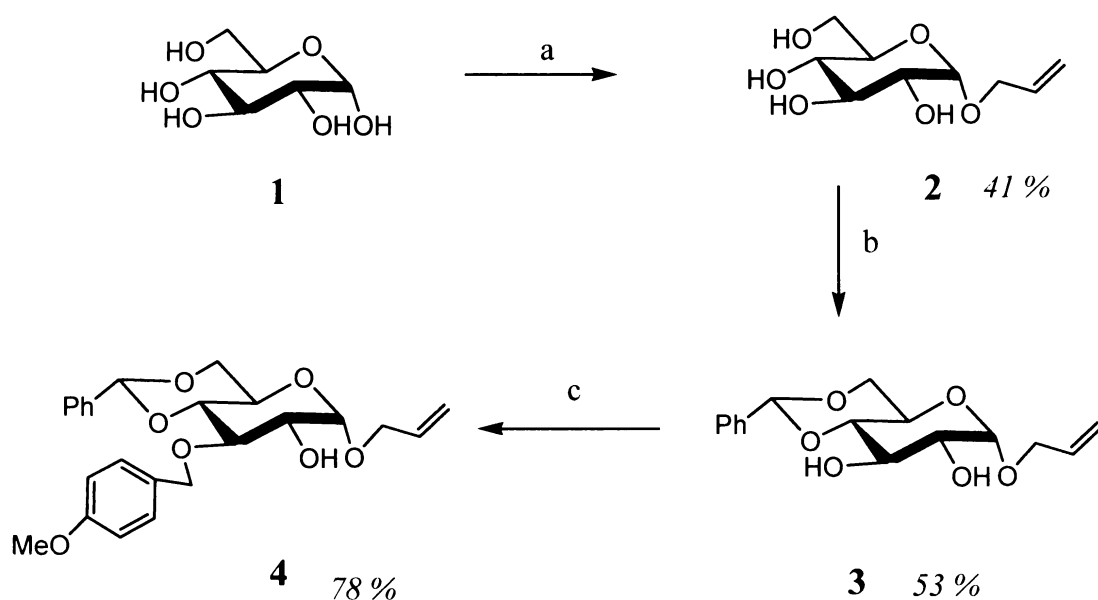


Schéma 5

4.2.2 Selektivní ochrana OH skupin na uhlících C1, C3, C4 a C6

Ochrana volných hydroxylových skupin uhlíků C1, C3, C4 a C6 byla uskutečněna ve třech krocích (viz Schéma 6). První dva A a B byly reprodukcí již publikovaných reakcí². V třetím kroku C, tedy při ochraně hydroxylové skupiny na uhlíku C3, byla nově použita *p*-methoxybenzyllová skupina. I zde použité reakční podmínky vycházely z podmínek nalezených v literatuře², kde byly užity při přípravě obdobné látky, u níž byla k ochraně hydroxylylu na třetím uhlíku užita benzylová skupina.



- a) Dowex 50X8, AlOH, 98 °C, 90 min
b) DMF, alfa,alfa-dimethoxytoluen, *p*-TsOH., 80 °C, 21 h
c) 1. MeOH, Bu₂SnO, 65 °C, 90 min
2. DMF, *p*-methoxybenzyl bromid, CsF, r.t., 7 h

Schéma 6

V prvním kroku byla ochráněna hydroxylová skupina α -D-glukosy 1 na uhlíku v poloze C-1 allylovou skupinou. Reakce byla provedena za přítomnosti ionexu Dowex 50 v suchém allyl alkoholu pod ochrannou argonovou atmosférou.

Vzniklý alkyl α -D-glukopyranosid **2** byl z reakční směsi získán krystalizací z ethylacetátu. Výtěžek reakce byl srovnatelný s výtěžkem publikovaným.

Následujícím krokem bylo chránění OH-skupin na uhlicích C-4 a C-6 benzylidenovou skupinou. Ta byla uskutečněna prostřednictvím reakce látky **2** s mírným nadbytkem α,α -dimethoxytoluenu v suchém DMF za přítomnosti *p*-toluensulfonové kyseliny v argonové atmosféře. Na rozdíl od postupu z literatury nebylo rozpouštědlo odstraněno vytřepáním reakční směsi do soustavy voda-toluen, ale reakční směs byla neutralizována 20% roztokem NH_4OH a rozpouštědlo následně oddestilováno za sníženého tlaku. Produkt reakce byl čištěn rekrystalizací z propanolu a také u této reakce byl výtěžek v dobré shodě s publikovanou hodnotou.

Látka **4** byla v následujícím kroku připravena reakcí, kdy byla látka **3** zahřívána s Bu_2SnO v methanolu a po odpaření rozpouštědla následně míchána v suchém DMF v přítomnosti *p*-methoxybenzyl bromidu za katalýzy CsF pod argonovou atmosférou.

Tato reakce byla provedena, jednak s komerčně dostupným *p*-methoxybenzyl bromidem, tak i s toutou látkou připravenou z anisyl alkoholu **13** substitucí OH skupiny za brom pomocí PBr_3 v dichlormethanu (viz Schéma 7) pod argonovou atmosférou. Vzniklý *p*-methoxybenzyl bromid **14** byl čištěn destilací za sníženého tlaku. Při destilaci ovšem docházelo k rozkladu žádané látky, proto bylo u reakce *c* vyzkoušeno přidání neseparovaného odparku organické fáze výtřepku reakční směsi namísto čisté látky **14**. Tato reakce proběhla úspěšně a výtěžek byl srovnatelný s výtěžkem reakce s čistým komerčně dostupným *p*-methoxybenzyl bromidem.

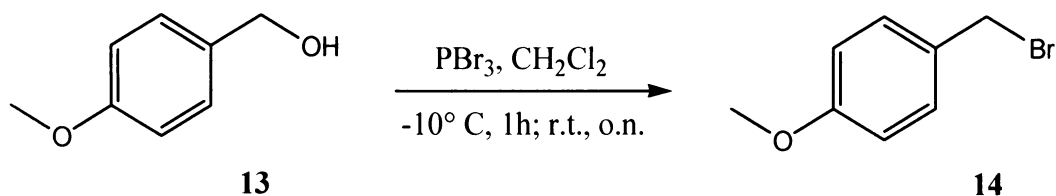
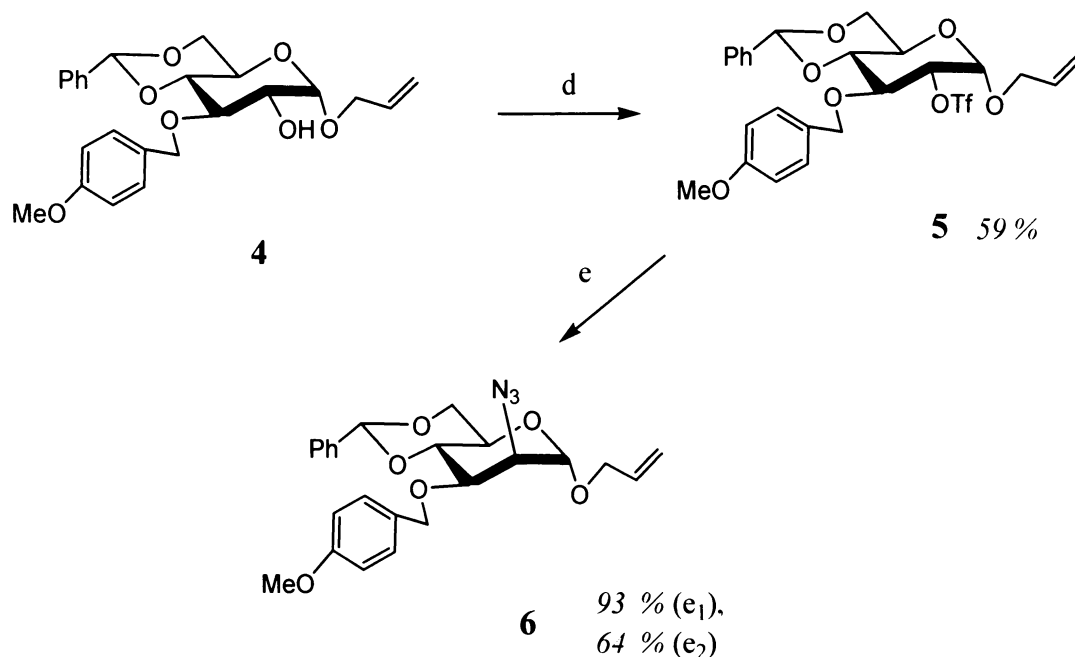


Schéma 7

4.2.3 Substituce OH skupiny v poloze C2 azidovou

Glukopyranosid **4** byl následně ve dvou krocích (viz Schéma 8) převeden na 2-deoxy-mannopyranosid **6**. Obě reakce byly obdobou již publikovaných postupů použitých při syntéze podobných látek².



d) CH₂Cl₂, pyridin, anhydrid trifluoromethansulfonové kys., -30 °C, 30 min; 0 °C, 1 h
e) DMF, LiN₃ (e₁) nebo NaN₃ (e₂), 120 °C, 18 h

Schéma 8

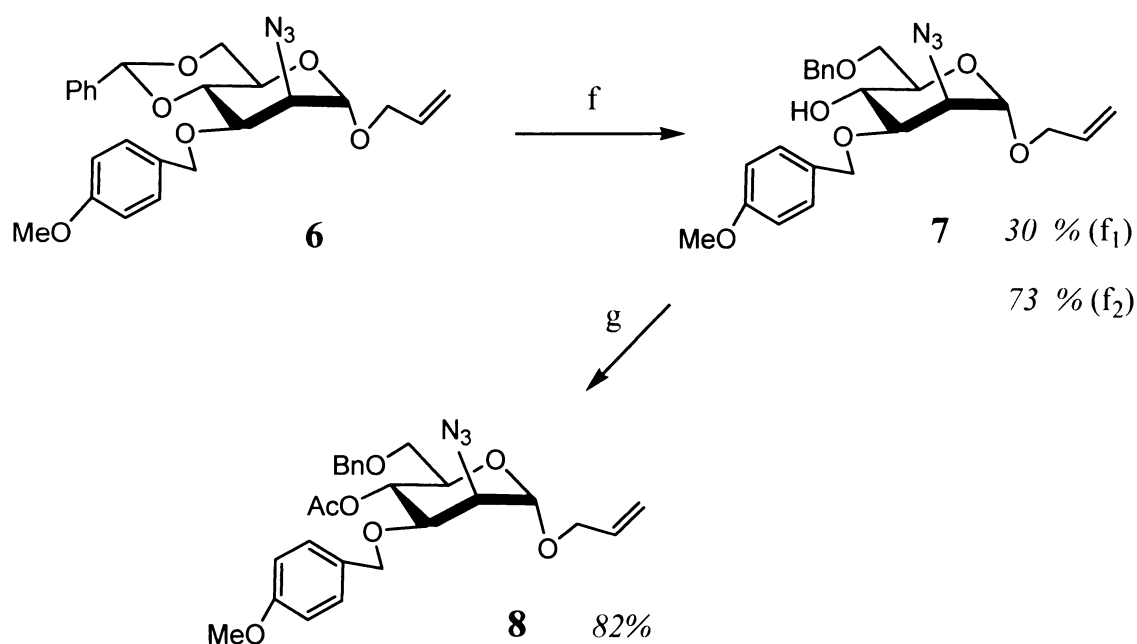
V prvním kroku *d* byl vodík hydroxylové skupiny na uhlíku v poloze C-2 vyměněn za trifluormethansulfonát. Reakce byla prováděna v suchém dichlormethanu za přítomnosti pyridinu pod ochranou argonové atmosféry. Ze směsi organických produktů reakce *d* byla látka **5** separována na rozdíl od původního postupu nikoli sloupcovou chromatografií, ale krystalizací z methanolu.

Druhý krok *e*, tedy zavedení chráněné aminoskupiny v podobě skupiny azidové a změna konfigurace z *gluko* u látky **5** na *manno* látky **6**, byl proveden pomocí reakce s nadbytkem azidu alkalického kovu v suchém DMF. Reakce byla prováděna jednak azidem lihtným *e*₁ a také s ekonomicky výhodnějším a lépe

komerčně dostupným azidem sodným e_2 . V obou případech proběhla reakce úspěšně s dobrým výtěžkem, ale v případě použití lithného azidu by se výtěžek dal označit spíše jako výborný. Syntetizovaná látka **6** byla sirupovitého charakteru a tedy nemohla být krystalována a byla čištěna prostřednictvím sloupcové chromatografie.

4.2.4 Změna chránicí skupiny na uhlíku C4

Pro tvorbu glykosyl donoru **10** bylo nyní nutné odchránit hydroxylovou skupinu v poloze C-4 reduktivním otevřením benzylidenového kruhu látky **6**, přičemž hydroxyl v poloze C6 zůstává chráněn benzylovou skupinou. Následně byla volná OH-skupina látky **7** ochráněna acetylací. Vzniklý manopyranosid **8** je tak zcela orthogonálně chráněn.



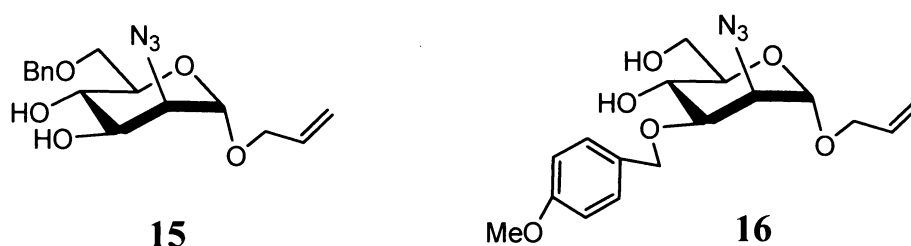
f₁) CH₂CL₂, CF₃COOH, Et₃SiH, 0 °C, 1 h

f₂) THF, HCl.Et₂O, NaBH₃CN, MO, molekulová síta 0 °C, 1 h

g) Ac₂O, pyridine, r.t., 20 h

Schéma 9

Pro reduktivní štěpení vazby mezi kyslíkem v poloze C-4 a uhlíkem byla nejprve použita reakce f_1 s triethylsilanem za přítomnosti kyseliny trifluoroctové v suchém dichlormethanu pod ochranou argonové atmosféry. Tato reakce byla modifikací reakce nalezené v literatuře², kde byla použita pro stejný účel u velmi podobné látky a vykazovala výborný výtěžek 92 %. Naproti tomu výtěžek reakce f_1 byl oproti publikovanému zhruba třetinový tedy pohyboval se za daných podmínek (viz Schéma 9) okolo 30 %. Mimo vzniku syntetizované látky **7** vykazovala TLC sledující reakci i tvorbu látky s nižším R_f. Tato látka **15** byla izolována sloupcovou chromatografií a pomocí techniky ESI MS u ní bylo naměřena hodnota m/z rovna 357.9, což by odpovídalo nejen otevření benzyldenového kruhu, ale i ztrátě chránicí p-methoxybenzylové skupiny, tedy odchránění hydroxyly na uhlíku v poloze C-3 (viz Obr.6). Reakce byla opakována několikrát v malém měřítku za měněných reakčních podmínek, avšak ani při snížení teploty reakce (až na -30° C) nevykazoval žádný z produktů přednostní tvorbu.



Obr. 6

Vzhledem k malému výtěžku byla pro tento krok vyzkoušena modifikace reakce f_2 nalezené v literatuře^{2, 59, 60} použité u přípravy podobných látek a to i v přítomnosti azidové tak i methoxybenzylové skupiny skupiny na cukerném skeletu.

Nejprve byla vyzkoušena modifikace metody, kdy jako bezvodá kyselina byla použita, namísto etherického roztoku HCl užitého v literatuře, kyselina trifluoroctová. Tato reakce probíhala velmi neochotně a výsledkem byla směs produktů, kde byla podle TLC syntetizovaná látka **7** zastoupena jen v malém množství, vyšší zastoupení vykazovaly látky **15** a **16**.

Následně byla tato metoda f_2 vyzkoušena podle původních reakčních podmínek experimentu z literatury⁶⁰. Reakce byla tedy prováděna s

kyanoborohydridem sodným v suchém THF za přítomnosti aktivovaných molekulových sít pod ochranou argonovou atmosférou. Množství přidávaného roztoku chlorovodíku v etheru bylo detekováno změnou barvy reakční směsi ze žluto-oranžové na růžovo-červenou, což bylo zajištěno přidáním malého množství methylované do reakční směsi. Výtěžek této reakce f_2 byl více než dvojnásobně větší než u reakce f_1 . Produkt reakce **7** byl dále přečištěn sloupcovou chromatografií.

V následném kroku byla volná hydroxylová skupina na uhlíku C-3 ochráněna acetylací. Ta byla provedena podle obvyklého postupu anhydridem kyseliny octové v suchém pyridinu za laboratorní teploty pod ochranou argonové atmosféry (viz Schéma 9).

4.2.5 Výměna chránicí skupiny v poloze C1 za skupinu vhodnou pro glykosylaci

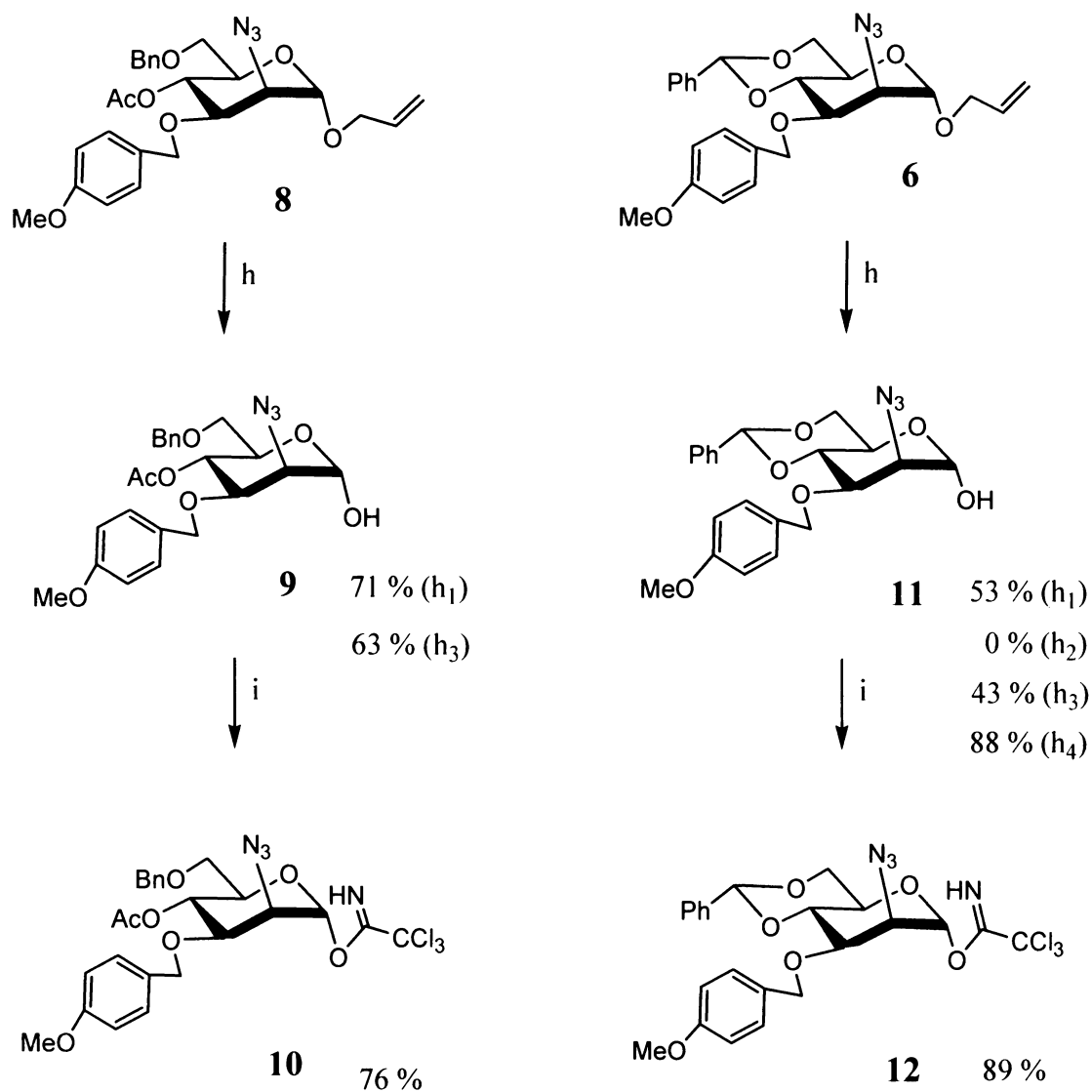
Poslední fází přípravy glykosyldonorových jednotek byla výměna chránicí allylové skupiny na anomerním uhlíku C-1 skupinou, která bude vhodná jako odstupující skupina při glykosylaci. Pro tuto roli byla vybrána trichloracetimidová skupina a při volbě reakčních podmínek bylo využito již publikovaných postupů² (viz Schéma 10).

Výměna probíhala ve dvou krocích. Nejprve byla z anomerního uhlíku odstraněna chránicí allylová skupina, aby mohl být následně volný hydroxyl funkcionalizován reakcí s trichloracetonitrilem.

Pro deallylaci byla použita reakce h_1 využívající katalytického působení PdCl_2 , jež byla obdobou postupu nalezeného v literatuře². Jako rozpouštědlo byla použita směs suchého etanolu se suchým metanolem v poměru 1:1. Reakce probíhala za laboratorní teploty pod ochranou argonové atmosféry. Při syntéze látky **9** byl výtěžek uspokojivý a opakování reakce vedlo k velmi podobné hodnotě. Výtěžek reakce při přípravě látky **11** byl nižší a při opakování reakce se výtěžky poměrně značně lišily. Mimo deallylace docházelo mimo jiné i k odštěpení benzyldenové skupiny.

Proto byla pro odštěpení allylu vyzkoušena i reakce h_2 katalyzovaná 1,5-cyklooktadienbis(methyldifenylfosfin)iridium hexafluorofosfátem, která byla

také pro přípravu podobné látky popsána v literatuře². Tato reakce poskytla směs látek nepřehlednou na TLC. Signál syntetizované látky **11** nebyl přítomen na ESI MS⁺ spektru.



- h₁) MeOH/EtOH 1:1, PdCl₂, r.t., o.n.
 h₂) THF, Ir-Kat., H₂, 50° C, 2h; I₂, H₂O, r.t., o.n.
 h₃) AcOH/H₂O 1:20, AcONa, PdCl₂, r.t., o.n.
 h₄) MeOH/EtOH 1:1, PdCl₂, molekulová síta, r.t., o.n.
 i) Toluen, DBU, CCl₃CN, 0° C, 30 min; r.t., o.n.

Schéma 10

Další vyzkoušenou metodou byla obdoba reakce h_1 , tedy za použití PdCl_2 , ale nikoli v katalytickém množství, nýbrž v mírném nadbytku. Jako rozpouštědlo byl v této reakci h_3 použit vodný roztok kyseliny octové v přítomnosti octanu sodného. Tyto reakční podmínky byly nalezeny v literatuře⁷⁰ pro deallylaci podobné látky. Tato metoda byla použita pro přípravu obou látek **9** i **11**. ESI MS^+ vykazovalo podobné zastoupení produktů jako za podmínek reakce h_1 . (Na TLC výsledné reakční směsi pro látku **9** byly zřetelnější, tedy i ve větším množství zastoupeny, vedlejší produkty reakce s nižším Rf.

Reakce h_1 byla pro přípravu láky **11** ještě inovována přidáním aktivovaných molekulových sít (pro odstranění případných stop vlhkosti) do reakční směsi. Reakce h_1 za takto upravených podmínek byla provedena opakovaně. Kontrolní TLC vykazovala téměř výlučnou tvorbu žádaného produktu **11** a pokaždé byl dosažen velmi dobrý výtěžek.

Závěrečný krok přípravy glykosyldodorových jednotek byl proveden reakcí 2-deoxy- α -D-mannopyranosidových derivátů **9** a **11** s volnou OH-skupinou v anomerní poloze s trichloroacetonitrilem za přítomnosti báze DBU v suchém toluenu. Obě reakce proběhly bez problémů a s vysokými výtěžky, které byly obdobné publikovaným u podobných látek².

5. Experimentální část

5.1. Použité postupy, chemikálie

ESI hmotnostní spektra byla změřena v pozitivním módu na přístroji Esquire 3000 firmy Bruker, jako rozpouštědla byly užívány chloroform a methanol.

Optické otáčivosti byly měřeny na polarimetru Perkin-Elmer 141 při 22 °C a jsou udány v $\text{deg.cm}^3 \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{dm}^{-1}$.

NMR spektra byla měřena na přístroji Varian ^{UNITY} INOVA 400 při frekvenci 399,95 MHz (¹H), 100,58 MHz (¹³C) Jako rozpouštědlo byl používán CDCl₃. Chemické posuny (δ -stupnice) jsou uvedeny v ppm.

K provádění tenkovrstvé chromatografie (TLC) byly používány silikagelové desky DC-Alufolien Kiesegel 60 F₂₅₄ (Merk, Darmstadt, Germany). K jejich vyvíjení byly použity soustavy:

S₁: ethylacetát, propanol. V poměru 1:1

S₂: ethylacetát, toluen. V poměru 1:1

S₃: ethylacetát, toluen. V poměru 1:5

Detekce látek na TLC byla prováděna karbonizací (ponoření do 50% H₂SO₄ a následné zahřátí) případně pomocí UV-lampy.

Pro preparativní sloupcovou chromatografii byl používán silikagel Fluka Silicia gel 60 (40-63 μm ; Fluka, Neu-Ulm, Switzerland).

Rozpouštědla byla odpařována na rotačních vakuových odparkách Büchi rotavapor R-114 při teplotách nepřekračujících 50 °C.

Suchý dichlormethan byl získán destilací z oxidu fosforečného a uchováván nad molekulovými sítmi 4Å. Suchý methanol a suchý ethanol byly vydestilovány z hořčíku po aktivaci pomocí I₂. Toluén byl sušen destilací se sodíkem. Suchý THF byl připraven vydestilováním z LAH.

Molekulová síta byla aktivována opakovaným zahřátím v mikrovlné troubě a následným sušením za sníženého tlaku.

5.2. Pracovní postupy

Allyl α -D-glukopyranosid (2). Roztok D-glukosy **1** (90 g, 0,5 mol) v suchém allyl alkoholu v přítomnosti ionexu Dowex-50 X-8 v H⁺ cyklu byl zahříván pod refluxem. Reakce byla sledována pomocí TLC v soustavě S₁. Po 90 min. bylo ukončeno zahřívání a po zchladnutí byl ionex odstraněn filtrací. Filtrát byl odpařen a následně čištěn rekrystalizací z ethylacetátu (11). Vyloučné krystaly byly odsáty. Matečný louh byl odpařen a znovu podroben rekrystalizaci z ethylacetátu. Celý proces byl opakován 3×. Poté již matečný louh podle TLC (S₁) obsahoval jen malé množství produktu a nebyl dále zpracováván. Výtěžek reakce byl 45,5 g (41 %) bílé pevné látky.

Pro C₉H₁₆O₆ vypočteno relativní molekulová hmotnost 220,22 monoisotopická hmotnost 220,09. ESI MS, *m/z*: 242,4 [M + Na]⁺. ESI MS, *m/z*: XX [M + Na]⁺. ¹H NMR: (CDCl₃, 400 MHz): δ (ppm) = 1,88 (4H); 3,36 - 3,40 dd (J= 14Hz, 1H); 3,50 - 3,57 m (1H); 3,58 - 3,60 d (J = 5Hz, 2H); 3,65 - 3,74 m (2H); 3,88 - 3,94 m (1H); 4,03 - 4,09 m (1H); 4,78 - 4,79 d (J = 4 Hz, 1H); 5,07 - 5,11 m (1H); 5,17 - 5,22 m (1H); 5,76 - 5,85 m (1H)

Allyl 4,6-O-benzyliden- α -D-glukopyranosid (3). Látka **2** (33 g, 150 mmol) byla rozpuštěna v suchém DMF (450 ml). K tomuto roztoku byl následně přidán α , α -dimethoxy-toluen (25 ml, 167 mmol) a *p*-toluensulfonová kyselina (0,5 g, 3 mmol). Reakční směs byla míchána a zahřívána na 80 °C po dobu 21 h. Reakce probíhala pod ochranou argonové atmosféry a její průběh byl kontrolován pomocí TLC v soustavě S₂. Následně byl přidán 20% roztok NH₄OH (0,5 ml) a z reakční směsi bylo oddestilováno (50 °C, 20 Pa) rozpouštědlo. Z vzniklé směsi byl produkt získán rekrystalizací z 1-propanolu (3×). Bylo získáno 24,4 g (53 %) bílých krystalů syntetizované látky.

Pro C₁₆H₂₀O₆ vypočteno relativní molekulová hmotnost 308,33 monoisotopická hmotnost 308,13. ESI MS, *m/z*: 330,6 [M + Na]⁺. [α]_D +93,5° (*c* 0,9; chloroform). ¹H NMR: (CDCl₃, 400 MHz): δ (ppm) = 2,10 s (2H); 3,47 - 4,10 m (6H); 4,22 - 4,31 m (2H); 4,95 - 4,69 d (J = 5Hz, 1H); 5,24 - 5,36 m (2H); 5,54 s (1H); 5,87 - 5,98 m (1H); 7,26 - 7,38 m (5H).

Allyl 3-*O*-*p*-methoxybenzyl-4,6-*O*-benzyliden- α -D-glukopyranosid (4).

Směs látky **3** (15 g, 49mmol) a dibutylcín oxidu (15 g, 60mmol) byla rozpuštěna v suchém MeOH (700 ml) a zahřívána pod refluxem v argonové atmosféře po dobu 1,5h. Následně byla směs odpařena a dosušena za sníženého tlaku (20 Pa). K odparku byl přidán suchý DMF (800 ml), *p*-methoxybenzyl bromid (9 ml, 60 mmol) a fluorid cesný (7,7 g, 51 mmol). Směs byla míchána pod argonovou atmosférou při laboratorní teplotě po dobu 7 hod. Reakce byla sledována pomocí TLC v soustavě S₃. Po ukončení míchání byla reakční směs zpracována vytřepáním vodou do toluenu (3 × 500 ml). Organická fáze byla dále promyta nasyceným roztokem NaF(200 ml) a po sušení bezvodým MgSO₄ odpařena. Produkt reakce, bílá krystalická látka, byl získán krystalizací z toluenu (2 ×). Výtěžek reakce byl 16,2g (78 %).

Pro C₂₄H₂₈O₇ bylo vypočteno: relativní molekulová hmotnost 428,47 monoisotopická hmotnost 428,18. ESI MS, *m/z*: 450,8 [M + Na]⁺. [α]_D +57,1° (*c* 0,8; chloroform). ¹H NMR: (CDCl₃, 400 MHz): δ (ppm) = 2,32 s (1H); 3,61 - 3,92 m (8H); 4,03 - 4,09 q (J = 19 Hz, 1H); 4,21 - 4,31 m (2H); 4,70 - 4,76 d (J = 11Hz, 1H); 4,87 - 4,96 m (2H); 5,21 - 5,25 d (J = 10 Hz, 1H); 5,30 - 5,36 d (J = 18 Hz, 1H); 5,58 s (1H); 5,87 - 5,80 m (J = 39 Hz, 1H); 6,82 - 6,86 d (J = 12 Hz, 2H); 7,28 - 7, 51 m (7H). ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ (ppm) = 55,24; 62,80; 68,73; 68,96; 72,36; 74,51; 76,60; 81,95; 97,97; 101,23; 113,77 (2C); 118,23; 125,99 (2C); 126,31; 128,22, 128,27; 129,65 (2C); 129,72; 133,38; 137,34; 159,26.

Allyl 3-*O*-*p*-methoxybenzyl-4,6-*O*-benzyliden-2-*O*-trifluoromethansulfonyl- α -D-glukopyranosid (5). Látka **4** (4,3 g, 10 mmol) byla sušena po dobu 4 h za sníženého tlaku (20 Pa) při laboratorní teplotě. Poté byla rozpustěna ve směsi suchého dichlormethanu (120 ml) a suchého pyridinu (6 ml). Vzniklý roztok byl ochlazen na -30 °C a po kapkách byl během 30 minut přidán anhydrid trifluoromethansulfonové kyseliny (3 ml, 18 mmol). Následně byla teplota reakce zvýšena na 0 °C a při této teplotě míchána ještě 1 h. Reakce byla prováděna pod ochranou argonové atmosféry a její průběh byl kontrolován pomocí TLC v soustavě S₃. Reakční směs byla pak naředěna dichlormetanem (200 ml), promyta ledově chladným roztokem NaHCO₃ (200 ml) a vodou (200 ml), sušena bezvodým MgSO₄

a odpařena. Z odparku byl produkt získán rekrystalizací z MeOH (3×). Bylo získáno 3,3 g (59 %) požadované látky ve formě bílých jehličkovitých krystalů.

Pro $C_{25}H_{27}F_3O_9S$ bylo vypočteno: relativní molekulová hmotnost 560,54; monoisotopická hmotnost 560,13. ESI MS, m/z : 581,9 $[M + Na]^+$. $[\alpha]_D +57,6^\circ$ (c 1,0; chloroform). 1H NMR: ($CDCl_3$, 400 MHz): δ (ppm) = 3,66 - 3,82 m (5H); 3,91 - 3,98 dt ($J = 19$ Hz), 4,02 - 4,10 q ($J = 17$ Hz), 4,11- 4,18 t ($J = 18$ Hz), 4,23 - 4,32 m (5H); 4,70 - 4,80 m (3H); 5,57 s (H1); 5,85 - 5,97 m (2H); 6,82 - 6,86 d (2H); 7, 25 - 7,45 m (7H). ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz): δ (ppm) = 55,23; 62,47; 68,63; 69,16; 75,00; 74,71; 75,33; 82,04; 83,51; 95,50; 101,46; 113,73 (2C); 119,00; 125,96 (2C); 128,23 (2C); 129,14; 129,49; 129,98 (2C); 132,55; 136,90; 159,42.

Allyl 2-azido-3-O-p-methoxybenzyl-4,6-O-benzyliden-2-deoxy- α -D-mannopyranosid (6).

metoda e₁: Látka **5** (2,1 g, 3,7 mmol) byla po sušení po dobu 3 h při 20 Pa za laboratorní teploty rozpuštěna v suchém DMF (60 ml). K roztoku byl přidán LiN_3 (1 g, 20,4 mmol) a následně byla tato směs zahřívána na 120 °C pod argonovou atmosférou přes noc. Průběh reakce byl sledován prostřednictvím TLC v soustavě S_3 . Po zchladnutí byla reakční směs zahuštěna destilací (42 °C, 20 Pa) na přibližně 10 ml. Destilační zbytek byl naředěn toluenem (100 ml), promyt vodou (2 × 80 ml), sušen bezvodým $MgSO_4$ a odpařen. Produkt byl dále čištěn sloupcovou chromatografií přes silicagel (90 g) v soustavě toluen-ethylacetát (20:1). Frakce obsahující produkt (200 - 360 ml) byly spojeny a odpařeny. Bylo získáno 1,6 g (93 %) bezbarvé sirupovité látky

metoda e₂: Látka **5** (2,6 g, 4,7 mmol) byla po sušení po dobu 3 h při 20 Pa za laboratorní teploty rozpuštěna v suchém DMF (70 ml). K roztoku byl přidán NaN_3 (1,8 g, 27 mmol) a následně byla tato směs zahřívána na 120 °C pod argonovou atmosférou přes noc. Průběh reakce byl sledován prostřednictvím TLC v soustavě S_3 . Po zchladnutí byla reakční směs zahuštěna destilací (42 °C, 20 Pa) na objem asi 20 ml. Destilační zbytek byl naředěn toluenem (150 ml), promyt vodou (2 × 100 ml), sušen bezvodým $MgSO_4$ a odpařen. Produkt byl přečištěn sloupcovou chromatografií přes silicagel (30 g) v soustavě hexan-ethylacetát (10:1). Frakce obsahující produkt (40 - 180 ml) byly spojeny a odpařeny. Bylo získáno 1,4 g (64 %) bezbarvé sirupovité látky.

Pro $C_{24}H_{27}N_3O$ bylo vypočteno: relativní molekulová hmotnost 453,49 monoisotopická hmotnost 453,19. ESI MS, m/z : 475,6 $[M + Na]^+$. $[\alpha]_D^{+40.5^\circ}$ (c 1,3; chloroform). 1H NMR: ($CDCl_3$, 400 MHz): δ (ppm) = 2,35 s (1H); 3,79 - 4,25 m (8 H) 4,65 - 4,67 d (J = 12 Hz, 1H); 4,79 - 4,84 d (J = 11 Hz, 1H); 5,20 - 5,22 dt (J = 4 Hz, 1H); 5,23 - 5,26 m (2H); 5,29 - 5,31 dt (J = 5Hz, 1H); 5,62 s (1H); 5,82 - 5,92 m (1H); 6,85 - 6,87 dt (J = 22Hz, 2H); 7,25 - 7,55 m (7H). ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz): δ (ppm) = 55,20; 62,67; 63,85; 68,17; 68,60; 72,95; 75,30; 78,94; 98,16; 101,50; 113,75 (2C); 118,09; 125,99 (2C); 128,17 (2C); 128,90; 129,20 (2C); 130,03, 133,05; 137,35; 159,21.

Allyl 2-azido-3-O-p-methoxybenzyl-6-O-benzyl-2-deoxy- α -D-mannopyranosid (7).

metoda f_1 : Látka **6** (650 mg, 1,43 mmol) byla rozpuštěna v suchém dichlormethanu (50 ml). Po zchlazení na 0 °C byl přidán triethylsilan (1 ml, 6,25 mmol) a kyselina trifluoroctová (0,5 ml, 6,5 mmol). Reakce byla prováděna pod ochranou argonové atmosféry a její průběh byl kontrolován pomocí TLC v soustavě S_3 . Reakční směs byla míchána při této teplotě po dobu 3 h a ukončena přidáním nasyceného vodného roztoku $NaHCO_3$ (60 ml). Roztok byl protřepán rozdělen. Organická fáze byla promyta vodou (50 ml) a usušena bezvodým $MgSO_4$ a odpařena. Směs látek byla rozdělena sloupcovou chromatografií na silikagelu (25 g) v soustavě toluen-ethylacetát (20:1). Syntetizovaná látka byla přítomna ve frakcích 860 - 980 ml, ty byly spojeny a odpařeny. Výtěžek reakce byl 197 mg (30 %) v podobě bezbarvé sirupovité látky.

metoda f_2 : Směs látky **6** (200 mg, 0,44 mmol), aktivovaných molekulových sít (2g, 4 Å) , $NaCNBH$ (70 mg, 1,13 mmol) a malého množství methyloranže byla rozpuštěna v THF (10 ml). Po zchlazení směsi byl přidán roztok HCl v Et_2O (c = 2,5M, asi 2 ml) dokud se žluto-oranžové zbarvení reakční směsi nezměnilo v růžovočervené. Reakce byla sledována pomocí TLC v soustavě S_3 a míchána při stejné teplotě po dobu přibližně 75 min. Následně byla směs naředěna Et_2O (10 ml) a neutralizována nasyceným roztokem $NaHCO_3$. Organická vrstva byla oddělena a promyta vodou (2×20 ml) a po usušení $MgSO_4$ odpařena. Produkt byl z reakční směsi separován sloupcovou chromatografií na silicagelu v soustavě

toluen-ethylacetát (20:1). Syntetizovaná látka byla byla přítomna ve frakcích 80 - 220 ml, ty byly spojeny a odpařeny. Bylo získáno 145 mg (73 %) bezbarvé sirupovité látky.

Pro $C_{24}H_{29}N_3O_6$ vypočteno relativní molekulová hmotnost 455,50, monoisotopická hmotnost 455,21. ESI MS, m/z : 478,0. $[\alpha]_D +18,3^\circ$ (c 1,6; chloroform). 1H NMR: ($CDCl_3$, 400 MHz): δ (ppm) = 2,35 s (1H); 2,51 s (1H); 3,73 - 4,00 m (8H); 4,13 - 4,16 dt (J = 8 Hz, 1H); 4,17 - 4,20 dt (J = 8 Hz, 1H); 4,53 - 4,70 m (4H), 4,83 d (J = 2 Hz, 1H); 5,18 - 5,31 m (2H); 5,81 - 5,94 m (1H); 6,87 - 6,91 dt (J = 11 Hz, 2H); 7,23 - 7,34 m (7H). ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz): δ (ppm) = 55,23; 60,35; 67,68; 68,03; 69,89; 72,07; 73,51; 78,99; 97,33; 101,50; 113,99 (2C); 117,76; 127,57 (2C); 128,18; 128,34 (2C); 129,02; 129,68 (2C); 133,31; 138,18; 159,49.

Allyl 4-*O*-acetyl-2-azido-3-*O*-*p*-methoxybenzyl-6-*O*-benzyl-2-deoxy- α -D-mannopyranosid (8). K roztoku látky 7 (56 mg, 0,12 mmol) v suchém pyridinu (2 ml) byl přidán acetanhydrid (0,15 ml, 1,36 mmol). Tato směs byla míchána za laboratorní teploty přes noc pod argonovou atmosférou. Vývoj reakce byl kontrolován TLC v soustavě S_3 . Po ukončení míchání byla reakční směs naředěna toluenem (7 ml) a tento roztok byl postupně třepán s 1M vodným roztokem HCl (2×4 ml), nasyceným vodným roztokem $NaHCO_3$ (2×4 ml) a vodou (2×4 ml), sušen bezvodým $MgSO_4$ a odpařen. Produkt reakce byl přečištěn přes krátký sloupec silicagelu (3 g) v soustavě toluen-ethylacetát (15:1). Bylo získáno 50 mg (82 %) syntetizované látky sirupovitěho charakteru.

Pro $C_{26}H_{31}N_3O_7$ vypočteno relativní molekulová hmotnost 497,54, monoisotopická hmotnost 497,22. ESI MS, m/z : 519,8. $[\alpha]_D +38,6^\circ$ (c 0,8; chloroform). 1H NMR: ($CDCl_3$, 400 MHz): δ (ppm) = 1,91 s (3H); 2,35 s (1H); 3,74 - 4,01 m (8 H); 4,15 - 4,17 dt (J = 7 Hz, 1H); 4,53 - 4,70 m (4H), 4,83 d (J = 2 Hz, 1H); 5,19 - 5,30 m (2H); 5,82 - 5,95 m (1H); 6,86 - 6,88 dt (J = 11 Hz, 2H); 7,23 - 7,37 m (7H). ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz): δ (ppm) = 20,84; 55,23; 61,12; 68,18; 68,48; 69,55; 70,27; 71,97; 73,50; 76,31; 97,09; 113,84 (2C); 117,84; 127,55; 127,70 (2C); 128,27 (2C); 129,34 (2C); 129,75; 133,28; 138,18; 159,49; 169,65.

4-*O*-Acetyl-2-azido-3-*O*-*p*-methoxybenzyl-6-*O*-benzyl-2-deoxy- α -D-mannopyranosid (9).

metoda *h*₁: Látka **8** (30 mg, 0,06 mmol) byla rozpuštěna ve směsi suchého MeOH a suchého EtOH v poměru 1:1 (3 ml). Tento roztok byl po přidání PdCl₂ (2 mg, 0,01 mmol) míchán pod argonovou atmosférou přes noc. Reakce byla sledována pomocí TLC v soustavě S₃. Reakce byla ukončena naředěním MeOH (5 ml). Následně byla směs filtrována přes sloupec křemeliny a odpařena. Čistý produkt byl získán pomocí chromatografie na sloupci silicagelu (3 g) s eluční směsí toluen-ethylacetát (10:1), frakce obsahující žádanou látku (42 - 72 ml) byly spojeny a odpařeny. Výtěžek reakce byl 20 mg (71 %).

metoda *h*₃: Látka **8** (12 mg, 0,02 mmol) byla rozpuštěna ve směsi vody a kyseliny octové v poměru 20:1 (0,5 ml). Tento roztok byl po přidání PdCl₂ (10 mg, 0,05 mmol) a octanu sodného (6 mg, 0,07 mmol) míchán noc. Reakce byla sledována pomocí TLC v soustavě S₃. Reakce byla ukončena naředěním EtOAc (0,5 ml) a poté vytřepána nasyceným roztokem hydrogenuhličitanu sodného. Následně byla směs filtrována přes sloupec křemeliny a odpařena. Čistý produkt byl získán pomocí chromatografie na sloupci silicagelu (2 g) s eluční směsí toluen-ethylacetát (10:1), frakce obsahující žádanou látku (8- 20 ml) byly spojeny a odpařeny. Výtěžek reakce byl 7 mg (63 %).

Pro C₂₃H₂₇N₃O₇ vypočteno relativní molekulová hmotnost 457,48 monoisotopická hmotnost 457,18. ESI MS, *m/z*: 480,0 [M + Na]⁺. [α]_D+26,3° (*c* 1,2; chloroform). ¹H NMR: (CDCl₃, 400 MHz): δ (ppm) = 2,04 s (3H); 2,09 dd (*J* = 3 Hz, 1H), 2,35 s (1H); 3,43 - 3,57 m (3 H); 3,76 - 3,81 m (3H); 3,96 - 3,97 d (*J* = 5Hz, 1H); 3,99 - 4,00 d (*J* = 5Hz, 1H); 4,47 - 4,60 m (4H); 5,11- 5,14 m (1H); 6,86 - 6,90 m (2H); 7,22 - 7,31 m (7H). ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ (ppm) = 20,82; 55,23; 61,31; 68,42; 69,70; 69,12; 71,92; 73,50; 75,66; 92,60; 113,84 (2C); 127,89; 128,06 (2C); 128,34 (2C); 129,37 (2C); 129,70; 137,50; 159,38; 169,79.

2-Azido-3-O-p-methoxybenzyl-4,6-O-benzyliden-2-deoxy- α -D-mannopyranosid (11).

metoda h_1 : Látka **6** (30 mg, 0,07 mmol) byla rozpuštěna ve směsi suchého MeOH a suchého EtOH v poměru 1:1 (3 ml). Tento roztok byl po přidání PdCl₂ (2 mg, 0,01 mmol) míchán pod argonovou atmosférou přes noc. Reakce byla sledována pomocí TLC v soustavě S₃. Reakce byla ukončena naředěním MeOH (5 ml). Následně byla směs filtrována přes sloupec křemeliny a odpařena. Čistý produkt byl získán pomocí chromatografie na sloupci silicagelu (3 g) s eluční směsí toluen-ethylacetát (10:1), frakce obsahující žádanou látku (24 - 48 ml) byly spojeny a odpařeny. Výtěžek reakce byl 14 mg (53 %).

metoda h_2 : Látka **6** (58 mg, 0,13 mmol) v přítomnosti 1,5-cyklooktadienbis(methyl-difenylfosfin)iridium hexafluorofosfátu byla rozpuštěna v suchém THF (2 ml). Poté byl do reakční směsi přiváděn plynný H₂ po dobu 3 min. Následně byla reakční směs zahřívána po dobu 2h. Celý tento postup byl prováděn pod ochranou argonové atmosféry. Po zchladnutí reakční směsi na laboratorní teplotu bylo přidáno 80 mg I₂ (0,4 mmol) a 0,25 ml vody. Reakce byla dále míchána po dobu 2 h a sledována pomocí TLC v soustavě S₃. Reakce byla ukončena naředěním ethylacetátem (6 ml) a přebytek I₂ odstraněn vytrháním s nasyceným roztokem Na₂S₂O₃. Organická vrstva byla oddělena a sušena MgSO₄ a odpařena. Vzhledem k velkému množství produktů reakce dekováných kontrolními TLC a nepřítomnosti signálu iontu syntetizované látky **11** ve ESI MS⁺ spektru nebyla reakční směs dále zpracovávána.

metoda h_3 : Látka **6** (10 mg, 0,02 mmol) byla rozpuštěna ve směsi vody a kyseliny octové v poměru 20:1 (0,5 ml). Tento roztok byl po přidání PdCl₂ (10 mg, 0,05 mmol) a octanu sodného (6 mg, 0,07 mmol) míchán přes noc. Reakce byla sledována pomocí TLC v soustavě S₃. Reakce byla ukončena naředěním EtOAc (0,5 ml) a poté vytřepána nasyceným roztokem hydrogenuhličitanu sodného. Následně byla směs filtrována přes sloupec křemeliny a odpařena. Čistý produkt byl získán pomocí chromatografie na sloupci silicagelu (2 g) s eluční směsí toluen-ethylacetát (10:1). frakce obsahující žádanou látku (6 - 10 ml) byly spojeny a odpařeny. Výtěžek reakce byl 4 mg (43 %).

metoda h_4 : K látce **6** (96 mg, 0,22 mmol), PdCl₂ (4 mg, 0,02 mmol) a 50 mg aktivovaných molekulových sít (4 Å) byla přidána směs suchého MeOH a suchého EtOH v poměru 1:1 (6 ml). Tato směs míchán pod argonovou atmosférou přes noc.

Reakce byla sledována pomocí TLC v soustavě S₃. Reakce byla ukončena naředěním MeOH (10 ml). Následně byla směs filtrována přes sloupec křemeliny a odpařena. Čistý produkt byl získán pomocí chromatografie na sloupci silicagelu (6 g) s eluční směsí toluen-ethylacetát (10:1), frakce obsahující žádanou látku (10 -60 ml) byly spojeny a odpařeny. Výtěžek reakce byl 72 mg (88 %).

Pro C₂₁H₂₃N₃O₆ vypočteno relativní molekulová hmotnost 413,42 monoisotopická hmotnost 413,16. ESI MS, *m/z*: 436,0 [M + Na]⁺. [α]_D +9,9° (*c* 1,3; chloroform). ¹H NMR: (CDCl₃, 400 MHz): δ (ppm) = 2,04 s (1H); 2,14 s (1H); 3,21 - 3,22 d (J = 3 Hz, 1H); 3,31- 3,4 m (1H); 3,77 - 4,01 m (5 H); 4,65 - 4,66 dd (J = 14 Hz, 1H); 4,80 - 4,84 m (2H); 5,13 d (J= 2Hz, 1H); 5,62 d (J= 8Hz, 1H); 6,85 - 6,88 m (2H); 7,28 - 7,48 m (7H). ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ (ppm) = 55,24; 62,87; 67,05; 68,36; 68,70; 72,93; 74,77; 93,77; 101,61; 113,81 (2C); 126,00 (2C); 128,20 (2C); 128,94; 129,27 (2C); 130,06, 137,38; 159,28.

***O*-(4-*O*-acetyl-2-azido-3-*O*-*p*-methoxybenzyl-6-*O*-benzyl-2-deoxy- α -D-mannopyranosid) trichloroacetimidát (10)**

Látka **9** (25 mg, 0,05mmol) byla po sušení po dobu 4 hodin za sníženého tlaku (20 Pa) rozpuštěna v suchém toluenu (4 ml). Vzniklá směs byla zchlazena na 0°C a poté do ní byl přidán trichloroacetonitril (0,1ml, 0,48 mmol) and 1M roztok DBU v toluenu (0,1 ml, 0,1 mmol). Následně byla reakční směs zahřáta na laboratorní teplotu a míchána přes noc. Reakce byla sledována pomocí TLC v soustavě S₃ a ukončena naředěním ethylacetátem a neutralizací 2.5M vodného roztoku NH₄CL (2,5 ml). Organická vrstva byla oddělena a promyta vodou (2×5 ml) a po usušení MgSO₄ odpařena. Produkt byl z reakční směsi odseparován prostřednictvím chromatografie na sloupci silicagelu (5 g) v soustavě toluen-ethylacetát (25:1). Syntetizovaná látka byla přítomna ve frakcích 40 - 80 ml, ty byly spojeny a odpařeny. Bylo získáno 25 mg (76 %) nažloutlé sirupovité látky.

Pro C₂₅H₂₇Cl₃N₄O₇ vypočteno relativní molekulová hmotnost 601,86 monoisotopická hmotnost 600,09. ESI MS, *m/z*: 622,7 [M + Na]⁺. [α]_D +40,5° (*c* 0,8; chloroform). ¹H NMR: (CDCl₃, 400 MHz): δ (ppm) = 1,95 s (3H); 2,09 m (1H); 3,53 - 3,55 d (J = 5 Hz, 2 H); 3,80 s (3H); 3,88 - 3,92 m (1H); 3,96 - 4,03 m (1H); 4,50 - 4,64 m (4H); 5,33- 5,41 t (J = 19Hz, 1H); 6,17 - 6,20 d (J = 2Hz, 1H);

6,85 - 6,88 m (2H); 7,18 - 7,31 m (7H); 8,65 s (1H). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz): δ (ppm) = 20,84; 55,26; 59,74; 67,72; 69,07; 72,38; 73,02; 73,50; 75,33; 95,77; 113,97 (2C); 127,60; 127,87 (2C); 128,28 (2C); 129,23; 129,84 (2C); 137,79; 159,61; 159,79; 169,52.

***O*-(2-azido-3-*O*-*p*-methoxybenzyl-4,6-*O*-benzyliden-2-deoxy- α -D-mannopyranosid) trichloroacetimidát (12)**

Látka **11** (55 mg, 0,06 mmol) byla po sušení po dobu 4 hodin za sníženého tlaku (20 Pa) rozpuštěna v suchém toluenu (5 ml). Vzniklá směs byla zchlazena na 0°C a poté do ní byl přidán trichloroacetonitril (0,15 ml, 0,72 mmol) and 1M roztok DBU v toluenu (0,15 ml, 0,15 mmol). Následně byla reakční směs zahřáta na laboratorní teplotu a míchána přes noc. Reakce byla sledována pomocí TLC v soustavě S_3 a ukončena naředěním ethylacetátem a neutralizací 2.5M vodného roztoku NH_4Cl (5 ml). Organická vrstva byla oddělena a promyta vodou (2×5 ml) a po usušení MgSO_4 odpařena. Produkt byl z reakční směsi odseparován prostřednictvím chromatografie na sloupci silicagelu (5 g) v soustavě toluen-ethylacetát (25:1). Syntetizovaná látka byla přítomna ve frakcích 0 - 30 ml, ty byly spojeny a odpařeny. Bylo získáno 66 mg (89 %) nažloutlé sirupovité látky.

Pro $\text{C}_{23}\text{H}_{23}\text{Cl}_3\text{N}_4\text{O}_6$ vypočteno relativní molekulová hmotnost 557,81 monoisotopická hmotnost 556,87. ESI MS, m/z : 587,7 $[\text{M} + \text{Na}]^+$. $[\alpha]_D^{+31,8^\circ}$ (c 1,9; chloroform). ^1H NMR: (CDCl_3 , 400 MHz): δ (ppm) = 3,80 s (3H); 3,94 - 4,01 m (2H); 4,13 - 4,21 m (3H); 4,64 - 4,70 d ($J = 12$ Hz, 1H); 4,85 - 4,90 d ($J = 12$ Hz, 2H); 5,65 s (1H); 6,14 - 6,15 d ($J = 2$ Hz, 1H) 6,85 - 6,87 m (2H); 7,25 - 7,39 m (7H); 8,66 s (1H). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz): δ (ppm) = 55,24; 61,35; 66,60; 68,31; 73,37; 74,40; 78,28; 96,40; 101,58; 113,90 (2C); 125,97 (2C); 128,23 (2C); 129,00; 129,68 (3C); 137,10; 159,48; 159,94.

6. Závěr

V rámci diplomové práce byly syntetizovány dvě nové orthogonálně chráněné glykosyldonorové stavební jednotky odvozené od D-mannosaminu, vhodné pro výstavbu oligosacharidů s (1→4)-*O*-glykosidickou vazbou.

Z D-glukosy **1** byl v pěti krocích připraven mannoypyranosid **6** podle postupů z literatury², v poloze C3 byla nově použita *p*-methoxybenzylová skupina, která je snáze selektivně odstranitelná. Všechny pevné láky **2-5** byly úspěšně čištěny rekrystalizací. Výtěžky těchto reakcí byly srovnatelné s výtěžky publikovanými.

Při přípravě látky **7** reduktivním štěpením benzyldenového kruhu se jako nejvhodnější metoda jeví použití reakce s NaBH₃CN a etherickým roztokem HCl v suchém tetrahydrofuranu.

Pro deallylaci hydroxyly na anomerním uhlíku C-1 je z vyzkoušených podmínek nejlepší použití PdCl₂ ve směsi suchého MeOH a EtOH. Jako vhodné se jeví i přidání aktivovaných molekulových sít do reakční směsi pro odsranění případných stop vody. Závěrečné reakce tedy funkcionalizace hydroxyly v poloze C-1 skupinou vhodnou pro glykosylaci byla provedena podle obvyklého postupu z literatury².

Látky **10** a **12** budou dále použity k provedení série glykosylačních reakcí, jež již byly prováděny s podobnými látkami².

7. Poděkování

Zde bych rád poděkoval lidem, kteří přispěli k vypracování této práce. V první řadě Doc. RNDr. Jindřichu Jindřichovi za laskavé a vlídné vedení diplomové práce a Mgr. Janu Veselému PhD za nápad abych se věnoval právě této problematice. I všem ostatním spolupracovníkům v laboratoři zejména pak Bc. Antonínu Beranovi, Michalu Řezankovi a RNDr. Viktoru Bakosovi za vytvoření klidného příjemného pracovního prostředí. V poslední řadě i Bc. Martinu Divišovi, který mne naučil si tohoto klidu vážit.

Dále kolegům v ostatních laboratořích za ochotu a všestrannou pomoc. Můj velký dík náleží i Mgr. Ivě Tišlerové a Mgr. Simoně Hybelbaurové za měření NMR spekter a RNDr. Martinu Štíchovi a Mgr. Michalu Valáškoví za měření hmotnostních spekter.

V uplném závěru bych ještě poděkoval rodičům, jejichž zásluhy snad ani nemá cenu zde dále komentovat a slečně Terezce Sovové, jejíž zásluhy zde komentovat se snad ani nehodí. A konečně všem pozorným i nepozorným čtenářům této práce.

Děkuji!

8. Seznam zkratek

Ac	acetyl
Ac ₂ O	anhydrid kyseliny octové
AgOTf	trifluormethansulfonát stříbrný
All	allyl
Bn	benzyl
Cp	cyklopentadien
DBU	1,8-diazabicyklo[5.4.0]undec-7-en
DDQ	2,3-dichloro-5,6-dikyano-1,4-benzochinon
DMF	<i>N,N</i> -dimethylformamid
DMTSF	dimethyl(methylthio)sulfonium tetrafluoroborát
DMTST	dimethyl(methylthio)sulfonium tetrafluormethansulfonát
ESI	electron spray impact
Et	ethyl
Ir-Kat.	1,5-cyklooktadienbis(methyldifenylfosfin)iridium hexafluorofosfát
Me	methyl
MeOTf	trifluormethansulfonát methylnatý
MS	mass spectrometry, hmotnostní spektrometrie
NBS	<i>N</i> -bromsukcimid
NIS	<i>N</i> -iodsukcimid
NMR	nukleární magnetická rezonance
o.n.	over night, přes noc
OTf	triflát, trifluormethansulfonát
Ph	fenyl

r.t.	room teperature, pokojová (laboratorní) teplota
TFA	kyselina trifluoroctová
THF	tetrahydrofuran
TLC	thin layer chromatography, tenkovrstvá chromatografie
TBS	<i>terc</i> -butyldimethylsilyl
TMS	tetramethylsilan
TMSOTf	trimethylsilyl-trifluoromethansulfonát
TMU	1,1,3,3-tetramethylmočovina
Tf ₂ O	anhydrid kyseliny trifluormethansulfonové
Tr	trifenylmethyl
Ts	tosyl, <i>p</i> -toluensulfonyl

9. Literatura

1. Kennedy J. F., White C. A.: *Bioactive Carbohydrates in Chemistry, Biochemistry and Biology*, **1983**, New York
2. Veselý J., Rohlenová J., Džoganová M., Trnka T., Tišlerová I., Šaman D., Ledvina M.: *Synthesis* **2006**, *4*, 699. Veselý J.: Thesis **2005**, Praha.
3. Varki A.: *Glycobiology* **1993**, *3*, 97.
4. Dwek R.A.: *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 683.
5. Aly M. R. E., Ibrahim E. S. I., El Ashry E. S. H., Schmidt R. R.: *Carbohydr. Res.* **2001**, *331*, 129.
6. Baschang G.: *Tetrahedron* **1989**, *45*, 633.
7. Ledvina M., Zyka D., Ježek J., Trnka T., Šaman D.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1998**, *63*, 577.
8. Banoub J.: *Chem. Rev.* **1992**, *92*, 1167.
9. Lugowski C., Romanowska E., Kenne L., Lindberg B.: *Carbohydr. Res.* **1983**, *118*, 173.
10. Beynon L. M., Richards J. C., Perry M. B., Kniskern P. J.: *Can. J. Chem.* **1992**, *70*, 218.
11. Jennings H. J., Rosell K. G., Carlo D. J.: *Can. J. Chem.* **1980**, *58*, 1069.
12. Ohno N., Yadomae T., Miyazaki T.: *Carbohydr. Res.* **1980**, *80*, 297.
13. Katzenellenbogen E., Jennings, H. J.: *Carbohydr. Res.* **1983**, *124*, 235.
14. Osa Y., Kaji E., Takahashi K., Hirooka M., Zen S., Lichtenthaler F. W.: *Chem. Lett.* **1993**, *23*, 1567.
15. Jennings H. J.: *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1983**, *41*, 155.
16. Nilsson M., Norberg T.: *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1998**, Vol, 1699.
17. Kaji E., Lichtenthaler F. W., Osa Y., Takahashi K., Zen S.: *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1995**, *68*, 2401.
18. Bousquet E., Khitri M., Lay L., Nicotra F., Panza L., Russo G.: *Carbohydr. Res.* **1998**, *311*, 171.
19. Krist P., Herkommerová-Rajnochová E., Rauvolfová J., Semeňuk T., Vavrušková P., Pavlíček J., Bezouška K., Petruš L., Křen V.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2001**, *287*, 11.

20. Gattuso G., Nepogodiev S. A., Stoddart J. F.: *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 1919.
21. Koenigs W., Knorr E.: *Chem. Ber.* **1901**, *34*, 957.
22. Stockl W.P., Wiedmann H.: *J. Carbohydr. Chem.* **1989**, *8*, 169.
23. Anderson L., Nashed M. A.: *Carbohydr. Res.* **1981**, *92*, C5.
24. Lemieux R. U., Takeda T., Chung B.Y.: *A. C. S. Symp. Ser.* **1976**, *39*, 90.
25. Silwains B. A., El-Sokkary R. I., Nashed M. A., Paulsen H.: *J. Carbohydr. Chem.* **1991**, *10*, 1067.
26. Wessel H. P., Iversen T., Bundle D. R.: *Carbohydr. Res.* **1984**, *130*, 5.
27. Kunz H., Birnbach S.: *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1986**, *25*, 360.
28. Paulsen H., Schultz M., Klamann J.-D., Waller B., Paal M.: *Liebigs. Ann. Chem.* **1985**, 2028.
29. Lemieux R. U., Hendricks K. B., Stick R. V., James K.: *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, *97*, 4056.
30. Paulsen H., Paal M.: *Carbohydr. Res.* **1985**, *135*, 71.
31. Ogawa T., Matsui M.: *Carbohydr. Res.* **1976**, *51*, C13.
32. Lubineau A., Malleron A.: *Tetrahedron Lett.* **1985**, *26*, 1713.
33. Lemieux R. U., Hayami J. I.: *Can. J. Chem.* **1965**, *43*, 2162.
34. Mukaiyama T., Murai Y., Shoda S. *Chem. Lett.* **1981**, 431.
35. Hashimoto s., Hayashi M., Noyori R.: *Tetrahedron Lett.* **1984**, *25*, 1379.
36. Kreuzer M., Thiem J.: *Carbohydr. Res.* **1986**, *149*, 347.
37. Matsumoto T., Katsuki M., Suzuki K.: *Chem. Lett.* **1989**, 437.
38. Helferich B., Shimitz-Hillebrecht E.: *Chem. Ber.* **1933**, *66*, 378.
39. Ferrier R.J., Hay R. W., Vethaviasar N.: *Carbohydr. Res.* **1973**, *27*, 55.
40. Tsai T. Y. R., Jin H., Wiesner K.: *Can. J. Chem.* **1984**, *62*, 1403.
41. Mukaiyama T., Nakatsuki T., Shoda S.: *Chem. Lett.* **1979**, 487.
42. Woodward R.B. a kol.: *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 3215.
43. Kihlberg J. O., Leigh D. A., Bundle D. R.: *J. Org.Chem.* **1990**, *55*, 2860.
44. Nikolau K. C., Seitz S. P., Papahatjis D. P.: *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *105*, 2430.
45. Lönn H.: *Carbohydr. Res.* **1985**, *139*, 115.
46. Fügedi P., Garegg P. J.: *Carbohydr. Res.* **1986**, *149*, C9.
47. Nikolau K. C., Dolle R. E., Papahatjis D. P., Randall J. L.: *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 4189.

48. Kahne D., Walker S., Cang Y., Van Engen D.: *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 6881.
49. Brown D. S., Ley S. V., Vile S.: *Tetrahedron Lett.* **1988**, *29*, 4873.
50. Pougny J.-R., Sinay P.: *Tetrahedron Lett.* **1976**, 4073.
51. Schmidt R. R., Grundler G.: *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1983**, *22*, 776.
52. Schmidt R. R., Michel J.: *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1980**, *19*, 731.
53. Maloisel J.-L., Vasella A., Trost B. M., van Vranken D. L.: *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1991**, 1099.
54. Frazer-Reid B., Wu Z., Udodong U. E., Ottosson H.: *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 6068.
55. Kiso M., Anderson L.: *Carbohydr. Res.* **1979**, *72*, C12.
56. Briner K., Vasella.: *Helv. Chim. Acta* **1992**, *75*, 621.
57. Reiner M., Schmidt R. R.: *Tetrahedron: Asymmetry* **2000**, *11*, 319.
58. Hung S.-C., Thopate S. R., Chi F.-C., Chang S.-W., Lee J.-C., Wang C.-C., Wen Y.-S.: *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 3153.
59. Veda T., Feng F., Sadamoto R.: *Org. Lett.*, **2004**, *6(11)*, 1753.
60. Gavard O., Hersant Y.: *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, *18*, 3603.
61. Paulsen H., Helpap B., Lorentzen J. P.: *Liebigs Ann. Chem.* **1987**; 431.
62. Tailler D., Jaquinet J.-C., Noirot A.-M., Beau J.-M.: *J. Chem. Soc., Perkin Trans.* **1992**, *23*, 3163.
63. Paulsen H., Kolar C.: *Chem. Ber.* **1981**, *114*, 306.
64. Paulsen H., Lorentzen J. P.: *Carbohydr. Res.* **1987**, *165*, 207.
65. Ito Y., Nunomura S., Shibayama S., Ogawa T.: *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 1821.
66. Catelani G., Marra A., Paquet F., Sinay P.: *Carbohydr. Res.* **1986**, *155*, 131.
67. Chandrasekhar S., Sumithra G., Yadav J. S.: *Tetrahedron Lett.* **1996**, *36*, 1645.
68. Watanabe Y., Miura K., Shiozaki M., Kanai S., Kurakata S., Nishijima M.: *Carbohydr. Res.* **2001**, *332*, 257.
69. Paulsen H., Adermann K.: *Carbohydr. Res.* **1988**, *175*, 163.
70. Draghetti V., Poletti L., Prospero D., Lay L.: *J. Carbohydr. Chem.* **2001**, *20*, 813.