

Glykosylace 4-hydroxy-1,2-dihydrochinolin-2-onů přes silylované meziprodukty

Bc. Martina Cukrová

Diplomová práce
2012



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav chemie

akademický rok: 2011/2012

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Martina CUKROVÁ**
Osobní číslo: **T10434**
Studijní program: **N 2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Chemie potravin a bioaktivních látek**

Téma práce: **Glykosylace 4-hydroxy-1,2-dihydrochinolin-2-onů
přes silylované meziprodukty**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. Vypracujte literární studii na dané téma.

II. Praktická část

1. Připravte výchozí látky.
2. Provedte silylace vybraných 4-hydroxychinolin-2(1H)-onů, produkty silylace podrobte reakci s 1 O-acetyl-2,3,5-tri-O-benzoyl-beta-D-ribofuranosou nebo s jiným chráněným monosacharidem a konečné produkty izolujte.



Rozsah diplomové práce:
Rozsah příloh:
Forma zpracování diplomové práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

- [1] McMurry J.: Organická chemie. VUTIUM, Brno 2007
- [2] Svoboda J.: Organická syntéza I. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Praha 2000
- [3] Databáze Reaxys a SciFinder

Vedoucí diplomové práce: **Ing. Roman Kimmel, Ph.D.**
Ústav chemie
Datum zadání diplomové práce: **10. února 2012**
Termín odevzdání diplomové práce: **7. května 2012**

Ve Zlíně dne 10. února 2012


doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan




prof. Ing. Antonín Klásek, DrSc.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno: MARTINA CVKROVA '.....

Obor: CHTP.....

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60³⁾ odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60³⁾ odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 4.5.2012.....

.....
.....
.....

¹⁾ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevydělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlázení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnožení.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

²⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacímu zařízení (školní dílo).

³⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpirá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užit či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělků jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlídí k výši výdělků dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Tato diplomová práce pojednává o *N*-glykosylacích substituovaných 4-hydroxychinolin-2(1*H*)-onů přes jejich silylované meziprodukty. V teoretické části jsou stručně popsány obecné vlastnosti chinolonů a metody jejich glykosylace. Dále je zde rozebrána chemie chránicích skupin a především Hilbert-Johnsonova a Helferichova metoda, podle nichž byly experimenty prováděny. V praktické části jsou uvedeny výsledky jednotlivých pokusů a charakteristika získaných produktů.

Klíčová slova: 4-hydroxychinolin-2(1*H*)-ony, silylace, Hilbert-Johnsonova metoda, glykosylace, Helferichova metoda

ABSTRACT

In this diploma thesis is discussed about *N*-glykosylation of substituted 4-hydroxyquinolin-2(1*H*)-ones through their silylated intermediates. The theoretical part briefly describes common feature of quinolones and their glykosylation methods. Next is written about chemistry of protected groups, especially Hilbert-Johnson and Helferich method which was used for this reactions. In practical part you can see the results of reactions and properties of gained products.

Keywords: 4-hydroxyquinolin-2(1*H*)-one, silylation, Hilbert-Johnson method, glykosylation, Helferich method

„Ničeho v životě není nutné se bát, je jen třeba to pochopit.“

Marie Curie-Sklodovská

Na tomto místě bych chtěla vyjádřit své nesmírné díky vedoucímu mé práce Ing. Romanovi Kimmelovi, Ph.D., který mě i přes všechny nezdary a peripetie přece jenom nehodil přes palubu a vydržel statečně až do úplného konce. Bez jeho pomoci by tahle práce nikdy nevznikla.

Další můj velký dík patří také doc. Ing. Stanislavovi Kafkovi, CSc., který byl mým konzultantem po dobu nepřítomnosti mého vedoucího a přestože měl spoustu své vlastní práce a své vlastní diplomanty, vždy si našel čas, aby mi poradil a pomohl.

Také bych chtěla poděkovat Ing. Michalovi Rouchalovi, Ph.D. za naměření ESI-MS spekter a pomoc při jejich interpretaci.

Stejně tak můj dík patří i Ing. Ondřeji Rudolfovi, Ing. Karlovi Proislovi a paní Haně Geržové, kteří si vždycky našli chvíli mi poradit a zvednout náladu a také mým spolubojovnicím ve zbrani Aleně Němcové a Janě Hermanové, se kterými ta práce v laboratoři byla zase o něco růžovější.

V neposlední řadě chci také poděkovat mým rodičům za jejich podporu během celého studia a mému příteli Filipovi Bartkovi, který projevil nervy z ocele a vydržel se mnou i přes všechny mé cholerické scény během psaní této práce.

Moje poslední děkuji patří Tomášovi Valentovi, tomu nejvíc nejlepšímu kamarádovi ze všech, který při mně celou tu dobu stál a i když mi neustále vyhrožoval strašnou smrtí, pokud tu práci nedokončím, nikdy své hrozby nesplnil.

„Jsou to brutální reakce.“

Mgr. Robert Vicha, Ph.D.

Prohlašuji, že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

OBSAH

ÚVOD.....	9
I TEORETICKÁ ČÁST	10
1 CHINOLONY	11
1.1 STRUČNÁ CHARAKTERISTIKA 4-HYDROXYCHINOLIN-2(1 <i>H</i>)-ONŮ	11
2 GLYKOSYLACE.....	12
2.1 SYNTÉZA GLYKOSIDŮ	12
2.2 PŘÍPRAVA <i>N</i> -GLUKOSIDŮ	13
2.3 PŘÍPRAVA <i>N</i> -RIBOSIDŮ PŘES CHRÁNĚNÉ INTERMEDIÁTY	15
2.3.1 Helferichova metoda	17
2.3.2 Hilbert-Johnsonova metoda	18
2.3.3 Tvorba cukerného kationtu	20
2.3.4 <i>N</i> -ribosidy pyridinů	21
2.3.5 <i>N</i> -ribosidy chinolonů.....	23
II PRAKTICKÁ ČÁST	24
3 VÝSLEDKY A DISKUZE	25
3.1 STANOVENÍ CÍLŮ DIPLOMOVÉ PRÁCE	25
3.2 PŘÍPRAVA VHODNÝCH SUBSTRÁTŮ PRO <i>N</i> -GLYKOSYLACI	25
3.3 GLYKOSYLACE CHRÁNĚNÝCH SUBSTRÁTŮ	28
3.4 KOMENTÁŘ KE STANOVENÍ STRUKTUR PŘIPRAVENÝCH SLOUČENIN 9–12	33
4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	40
4.1 SUBSTITUOVANÉ 4-HYDROXYCHINOLIN-2(1 <i>H</i>)-ONY (1A-C)	40
4.2 SILYLACE 4-HYDROXYCHINOLIN-2(1 <i>H</i>)-ONŮ 1A-C NA MEZIPRODUKTY 7A-C	42
4.3 REAKCE SLOUČENIN 7A-C S 1- <i>O</i> -ACETYL-2,3,5-TRI- <i>O</i> -BENZOYL-β-D-RIBOFURANOSOU 8.....	42
4.3.1 Za katalytického působení TMSOTf.....	42
4.3.2 Za katalytického působení SnCl ₄	42
ZÁVĚR.....	48
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	50
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	53
SEZNAM OBRÁZKŮ	54

ÚVOD

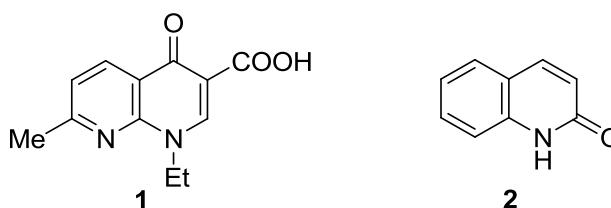
Spousta derivátů 4-hydroxychinolin-2(1*H*)-onů a 2-hydroxychinolin-2(1*H*)-onů vykazuje biologickou aktivitu, díky níž jsou atraktivními sloučeninami pro mnoho syntéz. Deriváty chinolinu patří mezi zajímavé sloučeniny a mnohé z nich mají významné postavení ve farmaceutické chemii, kde jsou nejrůzněji modifikovány a zastávají tak značný díl rozmanité skupiny chemoterapeutik, které jsou mnohdy nesprávně označovány jako antibiotika. Mezi první taková synteticky připravená a ve své době velmi často používaná chemoterapeutika můžeme zařadit kyselinu nalidixovou.

Substituované 4-hydroxychinolin-2(1*H*)-ony jsou často využívány jako výchozí substráty pro glykosylační reakce. V literatuře můžeme nalézt spoustu metod pro přípravu těchto cukerných derivátů. Mezi nejznámější metody patří Koenigsova-Knorrova, Fischer-Helferichova a Hilbert-Johnsonova metoda. Mnoho kroků v syntéze glykosidů požaduje i zahrnutí selektivního chránění a následné odstranění protekčních skupin hydroxylů popř. aminoskupin. Proto manipulace s chránicími skupinami často zaujímá velký podíl syntetické cesty vedoucí k přípravě glykosidů. V cukerné chemii používání chránících skupin dalece přesahuje jednoduché blokování hydroxylových skupin. Chránicí skupiny často hrají důležitou roli v úpravě reaktivity glykosylových donorů a akceptorů a v řízení stereochemie glykosylačních reakcí.¹

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 CHINOLONY

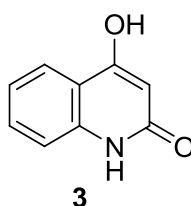
Syntetické chinolony jsou v centru nemalého vědeckého a klinického zájmu už od jejich objevení počátkem 60. let minulého století. To proto, že potenciálně nabízí mnoho vlastností ideálního antibiotika, kombinující vysokou účinnost, široké spektrum aktivity, dobrou biologickou dostupnost, jak perorálním, tak intravenózním podáním, vysoké hladiny v séru, dobrou distribuci do tkání a relativně nízký výskyt vedlejších účinků. Mnoho výzkumů se pokusilo učinit z těchto potenciálních vlastností skutečné. Prvním chinolonem, který byl vyvinut, byla nalidixová kyselina (**1**).² Přestože je řazena mezi deriváty chinolonu, jedná se o derivát naftyridin-4-onu.³ Její objev je považován za počátek éry syntetických chinolonových chemoterapeutik.⁴ Důležitost chinolin-2(1*H*)-onu (**2**) a jeho derivátů v přírodních produktech a biologicky aktivních molekulách podporuje značné úsilí k syntéze jeho analogů.⁵



Obrázek 1. Kyselina nalidixová a chinolin-2(1*H*)-on.

1.1 Stručná charakteristika 4-hydroxychinolin-2(1*H*)-onů

V nedávné době byl pozorován zvyšující se zájem o syntézy substituovaných 4-hydroxychinolin-2(1*H*)-onů (**3**), které slibují biologickou aktivitu. Mnoho důležitých farmakologických aktivit bylo spojeno právě se 3-substituovanými 4-hydroxychinolin-2(1*H*)-ony. Množství derivátů z této skupiny heterocyklických sloučenin jsou biologicky aktivní přírodní produkty organismů, které se uplatňují jako užitečné intermediáty pro mnoho medicínských produktů.^{5,6}



Obrázek 2. Struktura 4-hydroxychinolin-2(1*H*)-onu.

2 GLYKOSYLACE

Termínem glykosylace se má na mysli syntetická metoda, při které dochází k navázání anomerního atomu uhlíku sacharidu na jinou cukernou jednotku nebo jinou nesacharidovou molekulu, tzv. aglykon.⁷ Jako glykosidy se nazývají deriváty cukrů, u nichž je hydroxylová skupina v poloze 1 pyranosového či furanosového kruhu nahrazena zbytkem necukerné molekuly tedy aglykonem. Je-li aglykon vázán přes atom kyslíku, glykosidy se označují jako *O*-glykosidy, podobně existují *N*-glykosidy, *S*-glykosidy či *C*-glykosidy. Glykosidy jsou po chemické stránce cyklické acetaly a podle konfigurace na C-1 mohou existovat jako α - nebo β -anomery. Jsou stálé ve vodě i v alkalických roztocích a díky hydrolýze vodnými kyselinami mohou být převedeny zpět na volné monosacharidy.^{8,9} Většina sacharidů, které se nacházejí v přírodě, existují jako polysacharidy, glykokonjugáty nebo glykosidy, ve kterých jsou cukerné jednotky připojeny navzájem nebo k aglykonu nejčastěji prostřednictvím *O*-glykosidické vazby. Tudíž stereoselektivní formace *O*-glykosidických vazeb je klíčovým procesem ve většině syntéz glykosidů.¹

Od doby první syntézy glykosidů Michaelem a Fischerem, následování klíčovými studii Koenigse a Knorra, bylo vyvinuto velmi rozsáhlé množství glykosylačních metod.¹

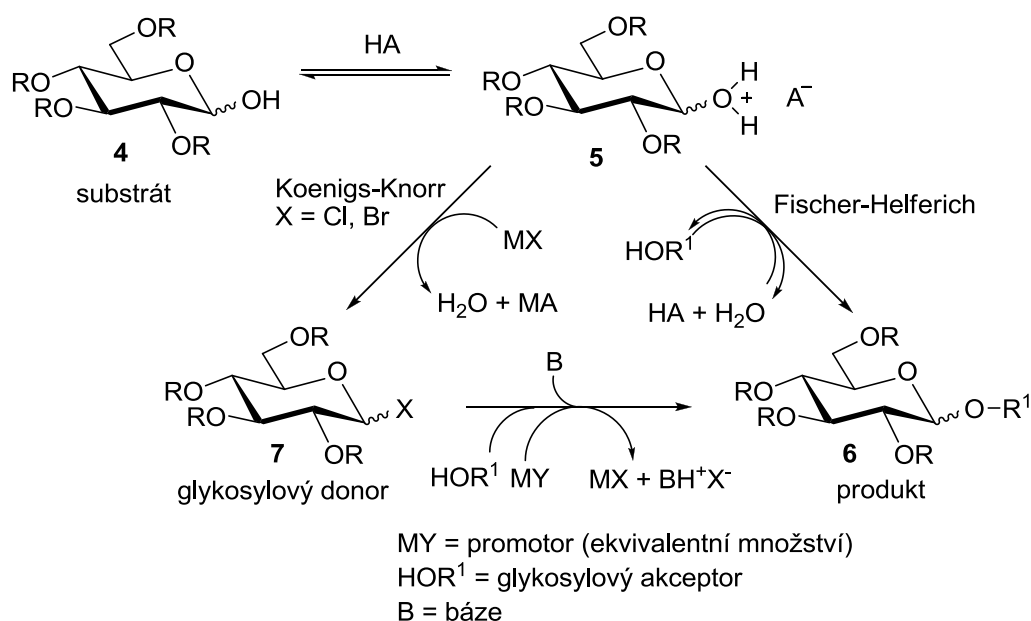
2.1 Syntéza glykosidů

Chemická syntéza glykosidů obvykle zahrnuje přeměnu cukru na plně chráněný glykosylový donor s odstupující skupinou na svém anomerním centru. Poté následuje glykosylace vhodně chráněného glykosylového akceptoru, který zpravidla obsahuje pouze jednu volnou hydroxylovou skupinu. Z toho důvodu, odstupující skupiny z glykosylového donoru a chránicí skupiny jsou nejpodstatnějšími parametry s ohledem na výtěžek a anomerní selektivitu glykosylačních reakcí.^{1,10}

Často používané metody pro tvorbu glykosylových donorů jsou reakce, kdy se mění kyslík na anomerním místě hemiacetalové části pyranóz a furanóz (viz **Schéma 1**). Fischer-Helferichova metoda, kysele katalyzovaná reakce pro přímou substituci anomerního atomu kyslíku, byla úspěšně aplikována pro syntézu mnoha glykosylových sloučenin. Nicméně je nevýhodou reversibilita reakce, která snižuje množství získaných

produktů. Pro nevratnou výměnu anomerního kyslíkového atomu je nutná preaktivace anomerního centra zavedením dobře odstupující skupiny. Nejznámější z nevratných metod je Koenigsova-Knorrova, kde jako glykosylový donor vystupuje na C-1 halogenovaný sacharid, který je dále aktivován halofilním promotorem během glykosylačního kroku. Všeobecně platí, že se v reakci používá od jednoho do čtyř ekvivalentů promotoru a často i další činidla (například stericky bráněná báze), které vedou k nevratné přeměně glykosylové části na akceptor. Zjevná omezení této metody podněcují k hledání dalších alternativních metod.¹

Schéma 1



Obecně pro účinnou glykosylační metodu platí tři hlavní požadavky:

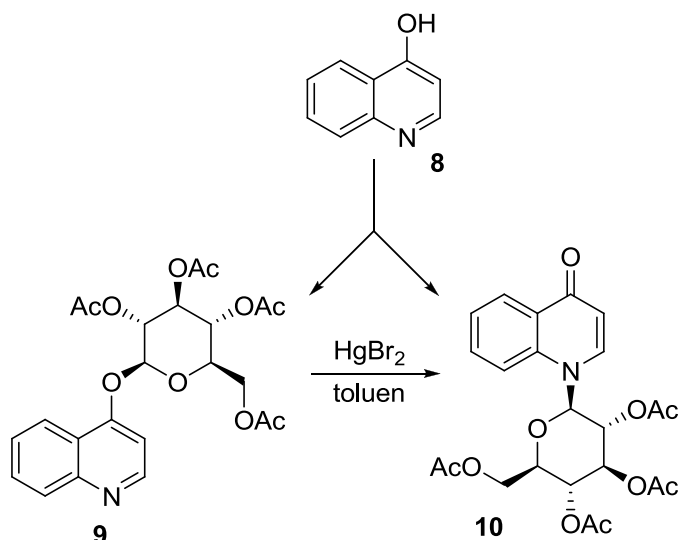
- glykosylový donor musí být snadno dostupný a aktivován katalytickým množstvím reagentu;
- glykosylační krok musí být stereoselektivní a s vysokým výtěžkem;
- metoda musí být aplikovatelná ve velkém měřítku.¹

2.2 Příprava N-glukosidů

Pro přípravu N-glukosidů bylo v literatuře popsáno několik možností. Autoři Schmidt, *et al.* publikovali¹¹ reakci alkalického roztoku chinolin-4-olu (**8**) s acetobrom- α -D-glukosou v acetonu (Schéma 2). Z této syntézy byly získány dva produkty a to 4-(2,3,4,6-

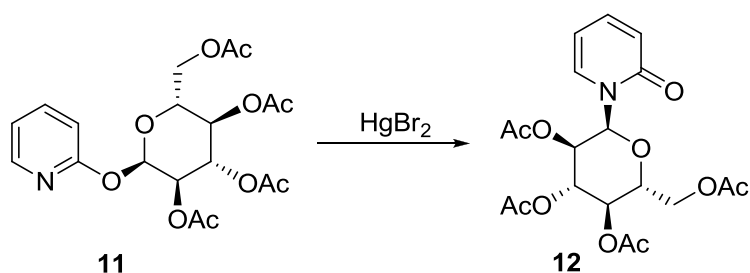
tetra-*O*-acetyl- β -D-glukopyranosyloxy)chinolin (**9**) a *N*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- β -D-glukopyranosyl)chinolin (**10**). Získaný *O*-glukosid **9** je možné převést na izomerní *N*-glukosid **10** působením bromidu rtuťnatého ve vroucím toluenu.

Schéma 2



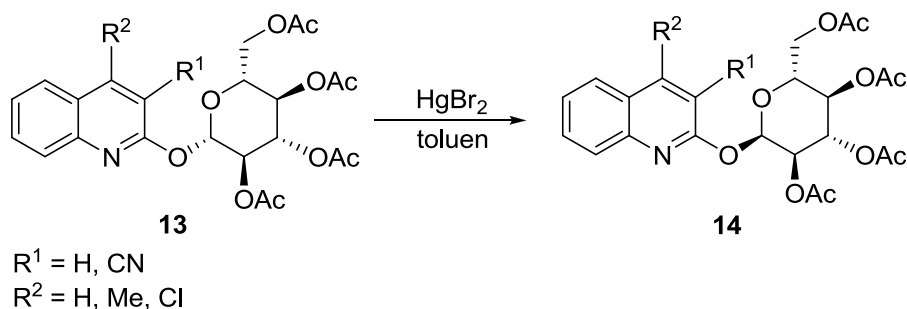
Tuto konverzi již dříve u 2-*O*-glukopyranosylpyridinu **11** popsal ve své práci Wagner¹² (Schéma 3), kdy uvedl, že účinkem bromidu rtuťnatého dojde k přesunu glykosylové skupiny za vzniku *N*-glykosidu **12** se zachovanou β -anomerní konfigurací na glukopyranosidu.

Schéma 3



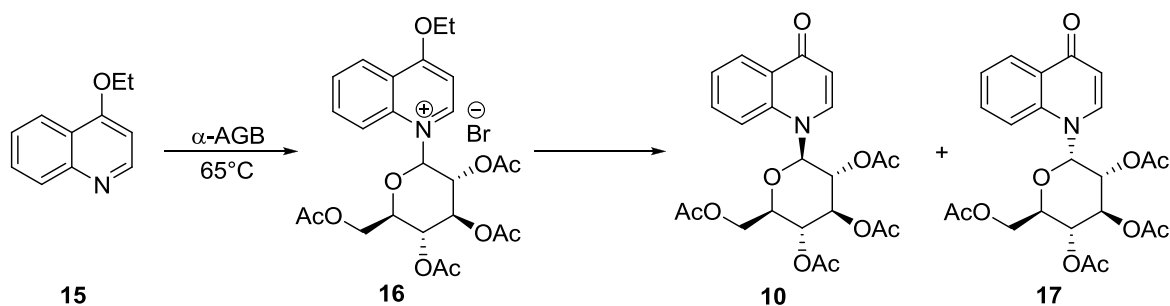
Stejně podmínky byly použity i pro různě 3-, 4-substituované 2-*O*-glukosylchinoliny **13**. Ovšem v tomto případě nedošlo k předpokládané migraci glukosylového zbytku na atom dusíku heterocyklu, nýbrž ke změně konfigurace z β -anomeru **13** na anomer α **14**.^{13,14}

Schéma 4



Další možností jak připravit *N*-glukosylové deriváty je tavení 4-ethoxychinolinu (**15**) s acetobrom- α -D-glukosou (Schéma 5), kdy dojde ke vzniku reakčního intermediátu chinoliniové soli **16**. Posléze se tato sůl za zvolených reakčních podmínek přemění na směs dvou anomerů **10** a **17**.¹¹

Schéma 5



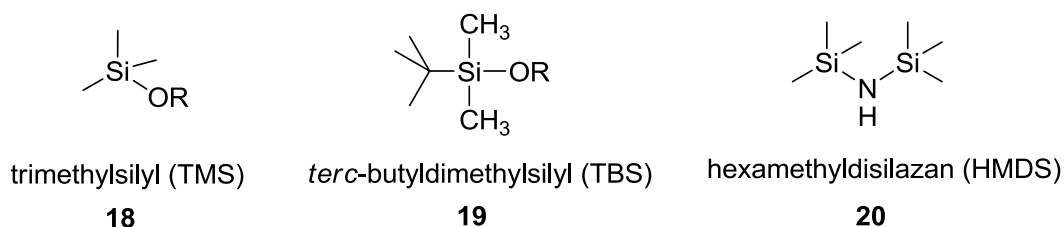
2.3 Příprava *N*-ribosidů přes chráněné intermediáty

Při plánování syntézy složitých polyfunkčních molekul je třeba vzít v úvahu kompatibilitu funkčních skupin přítomných v molekule s reakčními podmínkami, které následně stupně syntézy vyžadují. Jednotlivé funkční skupiny nemusí být za daných podmínek stále a mohou podléhat nežádoucím transformacím. V tomto případě je nutno jednotlivé skupiny chránit, tj. derivatizovat tak, aby byly za daných podmínek stabilní a nereaktivní. Jeden ze způsobů jak chránit funkční skupiny spočívá v aplikaci chránicích skupin. Každá operace s chránicími skupinami – zavádění a odstraňování – však přináší do syntetické sekvence další stupně; reakční podmínky všech transformací by tedy měly být voleny tak, aby chránicích skupin bylo používáno co nejméně.¹⁵

Každá chránicí skupina by měla splňovat tři základní podmínky:

1. musí reagovat selektivně s funkční skupinou a poskytnout chráněný substrát s vysokým výtěžkem;
2. během syntetické transformace musí být stálá;
3. musí být z molekuly substrátu odstranitelná selektivně a kvantitativně jednoduchými činidly, které neatakují další části molekuly.^{15,16}

Nutnost chránit hydroxylové skupiny pramení z jejich "acidity", která znevýhodňuje např. reakce s organokovovými sloučeninami. Je také nutno chránit hydroxylovou skupinu v primárních a sekundárních alkoholech před jejich snadnou oxidací do vyšších stupňů. V chemii sacharidů se často hydroxylové skupiny chrání ve formě allyletherů, které jsou v průběhu glykosylačních reakcí stálé. Přípravují se alkylací alkoholů allylbromidem za podmínek Williamsonovy syntézy. Začátkem 70. let byla pro chránění hydroxylové skupiny zavedena silylační činidla. Jejich aplikace dosáhla díky snadnému experimentálnímu provedení značného rozšíření v organické syntéze. Mezi nejčastější skupiny patří silylethery **18**, **19**, které jsou dostatečně stálé při syntetických transformacích a dají se jednoduše odstranit.^{15,17} Populární volbou pro silylaci kyselin, alkoholů, aminů a fenolů je hexamethyldisilazan (**20**). Je to slabý trimethylsilylový donor, který bývá často používán v silylačních směsích. Dokáže reagovat více selektivně v některých případech než jiné reagenty. Má relativně nízký bod varu (124–127 °C) a je extrémně citlivý na vlhkost. Může být používán i bez rozpouštědla, ale jeho silylační schopnost může vzrůst díky různým, většinou kyselým katalyzátorům, například v kombinaci s trimethylsilylchloridem.¹⁸

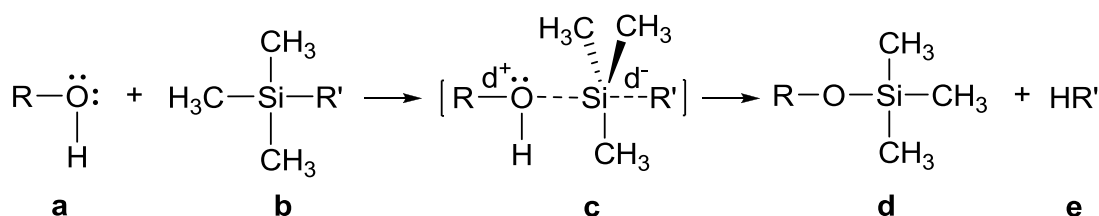


Obrázek 3. Silylové chránicí skupiny

Mechanismus navázání silylačního činidla na aktivní proton hydroxylové skupiny popisuje **Schéma 6**. Tato reakce probíhá jako nukleofilní atak na atom křemíku silylového donoru **b**, kdy dojde k vytvoření bimolekulárního tranzitního stavu **c**. Odstupující skupina

R' ze silylové sloučeniny musí vykazovat nízkou bazicitu, mít schopnost stabilizovat negativní náboj v transitním stavu a malou nebo žádnou tendenci pro tvorbu zpětné vazby π (p-d) mezi sebou a křemíkovým atomem. Ideální odstupující skupina R' ze silylové sloučeniny musí být taková, aby se snadno odštěpila z transitního stavu během reakce, ale současně musí mít má dostatečnou chemickou stabilitu v kombinaci s alkylsilylovou skupinou, aby dovolila dlouhodobé využití derivatizačního činidla podle potřeby. Vznik transitního stavu je vratná reakce, kdežto derivatizace pouze doběhne do konce pokud bazicita odstupující skupiny R' převyšuje bazicitu skupiny, kterou nahrazuje.¹⁸

Schéma 6



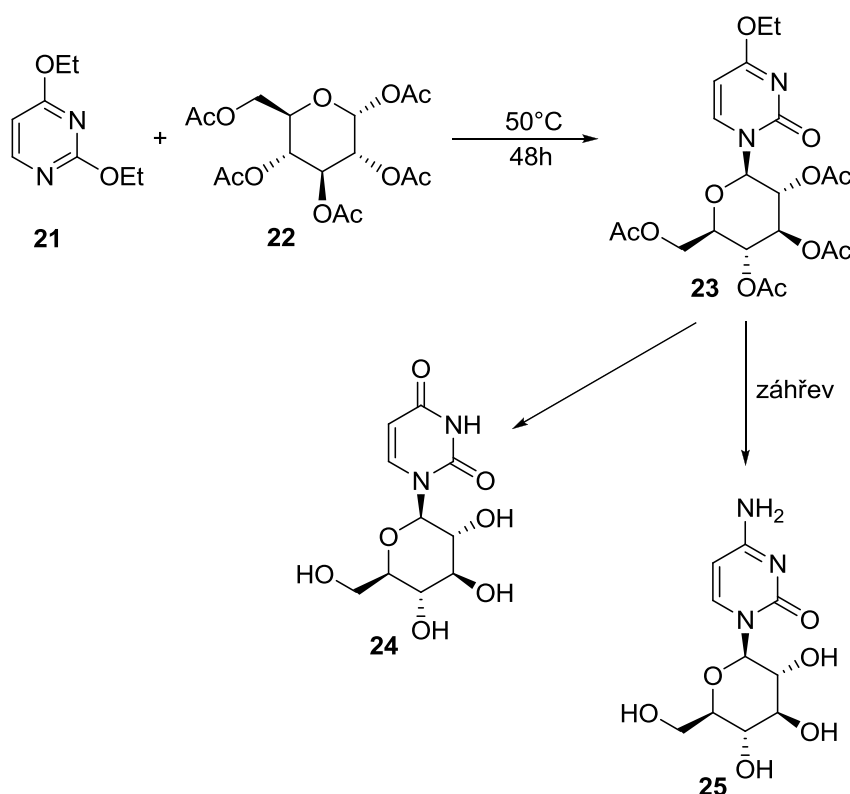
2.3.1 Helferichova metoda

Velmi důležitou metodou v syntéze aromatických glykosidů je postup, který popsali Helferich a Schmitz-Hillebrecht.¹⁹ Tato reakce zahrnuje výměnu 1-acetoxylové skupiny peracetylované pyranosy za aryloxylovou skupinu v přítomnosti kyselého katalyzátoru. Výhodou této metody je možnost využití plně acetylovaných derivátů monosacharidů, jejichž příprava je obvykle snazší v porovnání s přípravou acetylovaných glykosylhalogenidů. Nevýhodou reakce je, že mohou vznikat oba anomery současně; poměr vznikajících anomerů lze však ovlivnit volbou reakčních podmínek a katalyzátorů. Bollenback a spolupracovníci²⁰ připravili sérii methyl(aryl-2,3,4-tri-*O*-acetyl- β -D-glukopyranosid)uronátů tavením s příslušnými fenoly. Zjistili, že *p*-toluensulfonová kyselina je účinnějším katalyzátorem než chlorid zinečnatý, protože při kratší reakční době a nižší teplotě podporuje vznik acetylovaných glykosidů s nezměněnou anomerní konfigurací. Naproti tomu chlorid zinečnatý, stejně jako vyšší teplota a delší reakční doba, podporuje anomerizaci.^{19,20}

2.3.2 Hilbert-Johnsonova metoda

V roce 1930 Hilbert a Johnson nechali reagovat 2,4-diethoxypyrimidin (**21**) s acetobrom- α -D-glukosou (**22**), čímž získali chráněný intermediát **23**, který byl účinkem alkalických hydroxidů převeden na glykosylovaný uracil **24** nebo aminován amoniakem na cytidinový analog **25** jak ukazuje **Schéma 7**.²¹

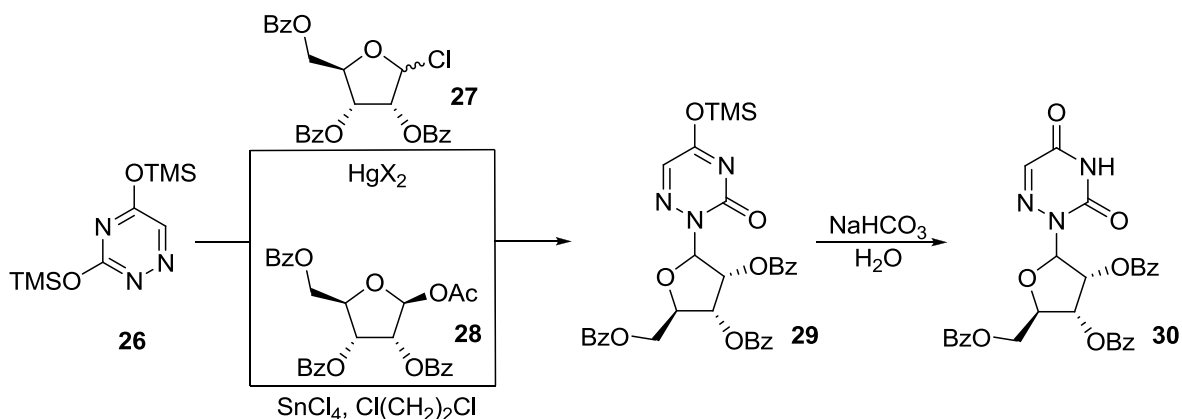
Schéma 7



Moderní verze Hilbert-Johnsonovy reakce s využitím silylových činidel podle Birkofera, Nishimury a Wittenburgera byla významným pokrokem na poli syntézy nukleosidů. Silylací se převádí polární, často spíše nerozpustné pyrimidinové báze na lipofilní silylované sloučeniny, které mohou být destilovány a které se ochotně rozpouští v organických rozpouštědlech, čímž je umožněna homogenní reakce.^{21,22} Silylované heterocykly jsou lepšími nukleofily než odpovídající alkoxyderiváty. Vzhledem k vysoké mobilitě trimethylsilylových skupin, získáme vždy termodynamicky nejstabilnější silylovaný heterocyklus.^{21,23} Hilbert-Johnsonova reakce (**Schéma 8**) silylovaného 6-azauracilu **26** s 1-chlor-2,3,5-tri-*O*-benzoylribofuranosou (**27**) za přítomnosti rtuťnatých solí poskytuje 6-azauridin-2,3,5-tri-*O*-benzoát (**30**) s výtěžkem 60 %. Na proti tomu reakce silylovaného 6-azauracilu **26** s 1-*O*-acetyl-2,3,5-tri-*O*-benzoylribofuranosou (**28**) za

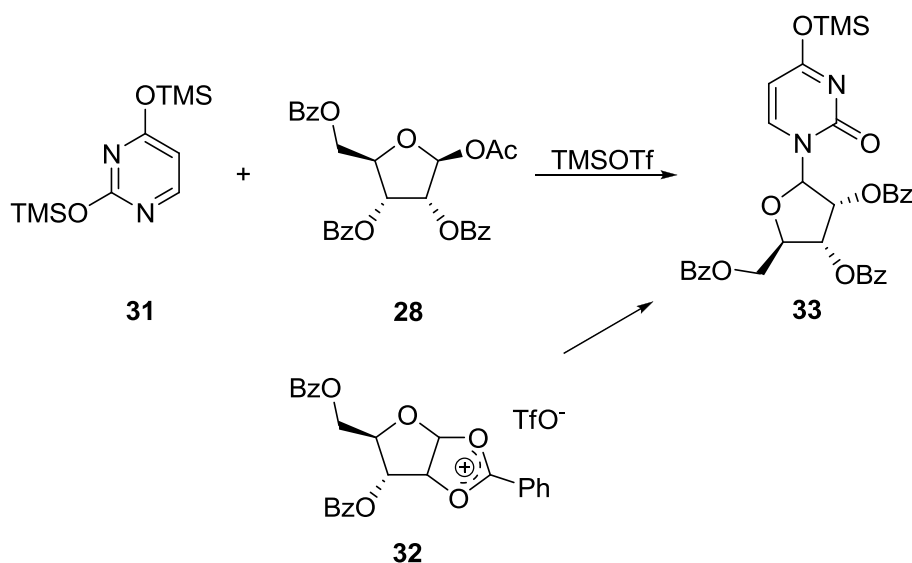
přítomnosti Friedel-Craftsova katalyzátoru jako je SnCl_4 nebo TiCl_4 v 1,2-dichlorethanu při 20 °C poskytne krystalický 6-azauridine-2,3,5-tri-*O*-benzoát (**30**) ve výtěžku 93 %.²¹

Schéma 8



Friedel-Craftsovy katalyzátory byly dříve používány pro syntézy purinových nukleosidů. Například 1-*O*-acyl- nebo 1-*O*-alkyl- chráněné cukry byly převedeny *in situ* na jejich odpovídající reaktivní cukerné kationty, které poté reagovaly s volnými purinovými bázemi. Nicméně, tyto katalyzátory nebyly dříve používány v kombinaci se silylovanými heterocykly nebo s jinými silylovanými sloučeninami jako jsou silylenolethery. Byla také vyzkoušena reakce silylovaného uracilu **31** s novými silylovanými Lewisovými kyselinami trimethylsilyl-perchlorátem (TMSClO_4) a trimethylsilyl-trifluormethansulfonátem (TMSOTf). Bylo zjištěno, že katalytické množství TMSClO_4 a TMSOTf v 1,2-dichlorethanu nebo acetonitrilu bylo adekvátní pro vytvoření reaktivního kladně nabitého intermediátu **32**, ačkoliv použití 1,1 ekvivalentního množství bylo více efektivní. Reakce kladně nabitého intermediátu s nasilylovaným uracilem vedla k vytvoření silylovaného produktu **33** a regeneraci TMSClO_4 a TMSOTf (Schéma 9).²¹

Schéma 9



2.3.3 Tvorba cukerného kationtu

Během silyl-Hilbert-Johnsonovy syntézy nukleosidů za přítomnosti Friedel-Craftsových katalyzátorů současně nastanou 3 procesy:

- formování elektrofilního cukerného kationtu
- formování σ -komplexu mezi silylovanou bází a Friedel-Craftsovým katalyzátorem
- reakce elektrofilního cukerného kationtu se silylovanou bází na nukleosid^{24,25}

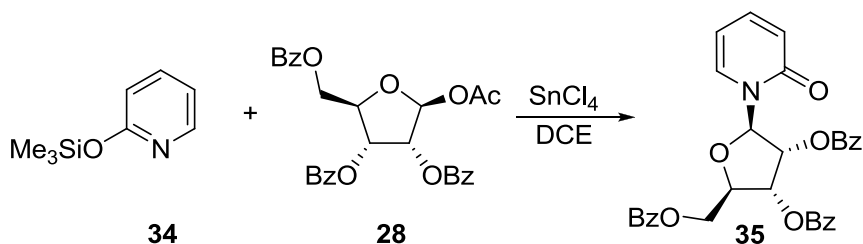
V prvním procesu (A) Friedel-Craftsov katalyzátor SnCl_4 nebo Me_3SiOTf , $\text{Me}_3\text{SiSO}_3\text{C}_4\text{F}_9$, $\text{Me}_3\text{SiClO}_4$ přemění peracylovaný cukr za přítomnosti 2- α -acyloxylové skupiny na stabilnější 1,2-acyloxoniovou sůl s doprovodnou tvorbou aniontů $[\text{SnCl}_4\text{OAc}]^-$, $[\text{CF}_3\text{SO}_3]^-$, $[\text{C}_4\text{F}_9\text{SO}_3]^-$ nebo $[\text{ClO}_4]^-$ a, v případě silylových katalyzátorů, silylované kyseliny octové Me_3SiOAc .^{24,25}

Druhým procesem (B) je vytvoření σ -komplexu mezi silylovanou bází a Friedel-Craftsovým katalyzátorem nebo Lewisovou kyselinou. σ -Komplex se stává více stabilním se vzrůstající bazicitou heterocyklických bází. Pod těmito reversibilními a takto termodynamicky kontrolovanými podmínkami, nukleofilní silylovaná báze může atakovat stabilní cukerný kation pouze shora (β -strana), aby poskytla výlučně β -nukleosid (proces C). Současně aktivovaná α -trimethylsilylová skupina na heterocyklu reaguje s $[\text{SnCl}_4\text{OAc}]^-$ aniontem, čímž se regeneruje SnCl_4 a současně vzniká Me_3SiOAc .²⁴

2.3.4 *N*-ribosidy pyridinů

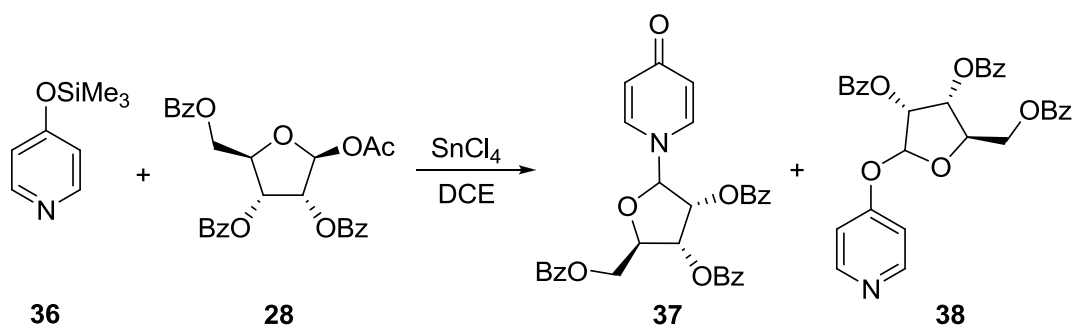
Reakce (Schéma 10) silylovaných pyridin-2-onů **34** s 1-*O*-acetyl-2,3,5-tri-*O*-benzoyl-β-D-ribofuranosy (**28**) v přítomnosti SnCl₄ vedla ke vzniku krystalického benzoylovaného nukleosidu **35**.²⁶

Schéma 10



Autoři této studie²⁶ syntézu opakovali znovu, tentokrát ovšem použili jako výchozí látku silylovaný pyridin-4-on **36** s větším nadbytkem SnCl₄ a delším reakčním časem (Schéma 11). Z reakce byl izolován očekávaný produkt **37** a krystalický 4-*O*-glykosid **38** (oba produkty ve výtěžku 10 %). Následně experiment zopakovali se stejným poměrem výchozích látek a za identických reakčních podmínek, pouze s tím rozdílem, že byla prodloužena reakční doba, čímž bylo dosaženo mnohonásobně vyššího podílu *N*-ribosidu **37** (63 %) a nežádoucího 4-*O*-glykosidu **38** izolovali pouze 2 %.

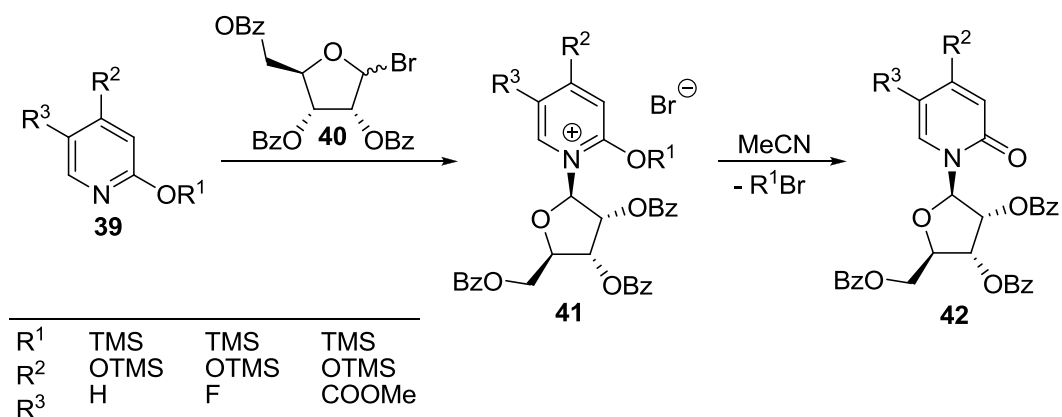
Schéma 11



Posléze se snažili o převedení produktu **38** na *N*-ribosid za přítomnosti SnCl₄ ve vroucím DCE avšak z reakce získali hlavně rozložené produkty a jen velmi malé množství látky **37**. Tyto výsledky tedy podporují hypotézu, že *N*-glykosidy jsou obvykle získávány přímo přes *N*-kvartérní soli ze silylovaných heterocyklů a cukerných složek v přítomnosti SnCl₄ a že vedlejší reakce vedou k formování *O*- nebo *S*-glykosidů, které jsou pak částečně přeskupeny na *N*-glykosidy nebo rozloženy katalyzátory.²⁶

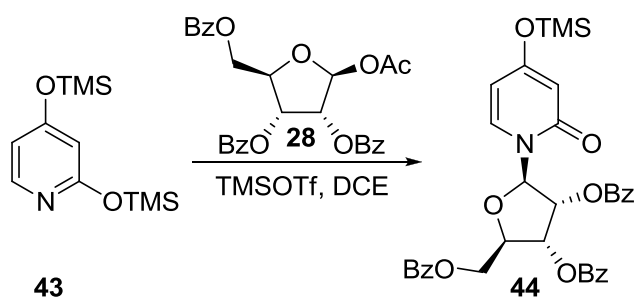
Pro navázání různě chráněného ribosidu na atom dusíku pyridinu bylo použito několik metod, které se od sebe liší reakčními podmínkami či různě substituovanými výchozími látkami. V literatuře jsou popsány reakce substituovaného pyridinu **39** s 2,3,5-tri-*O*-benzoyl-D-ribofuranosylbromidem (**40**) v acetonitrilu (**Schéma 12**).^{27,28}

Schéma 12



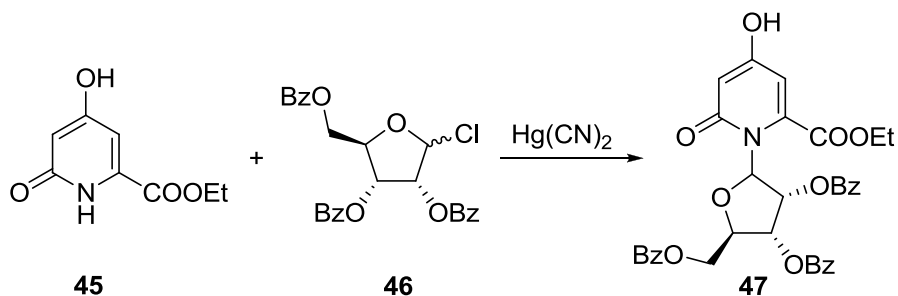
Jako katalyzátory při těchto glykosylacích vystupují SnCl₄ a TMSOTf. Tato silná Lewisova kyselina se uplatňuje nejen jako reakční katalyzátor, ale patří i mezi efektní silylační činidla.²⁹ Ve **Schématu 13** je uveden příklad *N*-ribosylace za použití TMSOTf. Jako ribosylový akceptor zde byl použit chráněný pyridin-2,4-diol (**43**) s trimethylsilylovými skupinami. Za ribosylový donor byla použita sloučenina **28**.³⁰

Schéma 13



N-Ribosylové deriváty byly také připraveny reakcí bez nutnosti chránění výchozího substituovaného pyridin-2-onu (**Schéma 14**). Kondenzací ethyl-4-hydroxy-6-oxo-1,6-dihydropyridin-2-karboxylátu (**45**) a 2,3,5-tri-*O*-benzoyl-D-ribofuranosylchloridu (**46**) v přítomnosti kyanidu rtuťnatého byl získán produkt **47**.³¹ Stejná reakce byla popsána i jinými autory³², ovšem jako katalyzátor byl použit octan rtuťnatý.

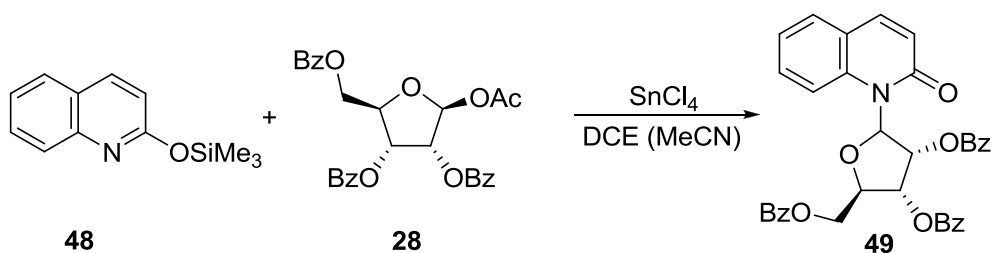
Schéma 14



2.3.5 N-ribosidy chinolonů

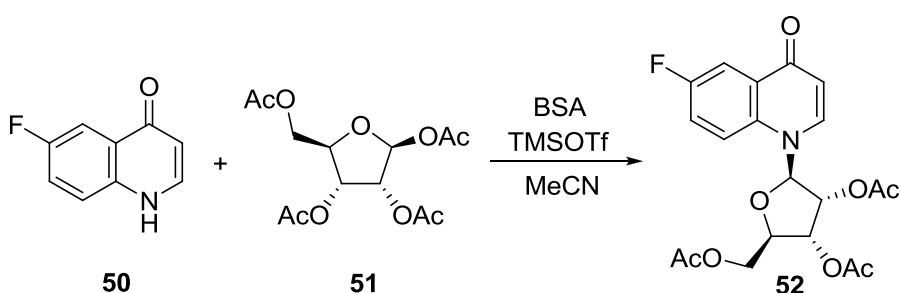
Silylovaný chinolin-2-ol **48** byl převeden na nukleosid **49** reakcí se sacharidem **28** v DCE nebo acetonitrilu za přítomnosti SnCl_4 (Schéma 15).²⁶

Schéma 15



Další N-ribosidy byly připraveny ze substituovaného chinolonu s atomem fluoru v poloze 6 **50** a tetra-O-acetyl- β -D-ribosy (**51**) v prostředí acetonitrilu a N,O-bis(trimethylsilyl)acetamidu (BSA) jak popisuje Schéma 16. Po určité době byl do reakční směsi přidán TMSOTf. Z reakce byl izolován produkt **52**.³³

Schéma 16



II. PRAKTICKÁ ČÁST

3 VÝSLEDKY A DISKUZE

3.1 Stanovení cílů diplomové práce

Cílem mé diplomové práce bylo připravit 4-hydroxychinolin-2(1*H*)-ony substituované v poloze 3 ethylovým nebo fenylovým zbytkem a v poloze 6 nesubstituované nebo substituované atomem fluoru. Dalším bodem mé práce bylo podrobení těchto látek reakci s hexamethyldisilazanem, aby byly ochráněny hydroxylové skupiny v poloze 2 a 4. Takto ochráněné sloučeniny měly být poté ponechány reagovat se substituovanou ribofuranosou v přítomnosti Lewisových kyselin, konkrétně chloridu cíničitého a trimethylsilyl-trifluormethansulfonátu. Výsledné izolované produkty reakcí měly být charakterizovány dostupnými analytickými metodami.

Pro lepší orientaci v textu jsou sloučeniny v praktické části číslovány odlišně od části teoretické a to arabskými číslicemi s podtržením.

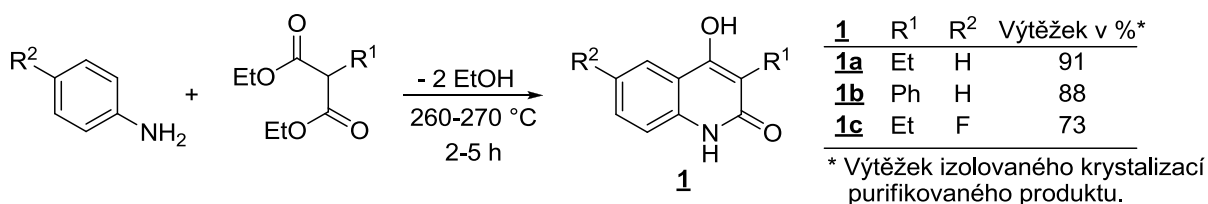
3.2 Příprava vhodných substrátů pro *N*-glykosylaci

Hlavním úkolem a cílem mé diplomové práce bylo pokusit se u vybraných derivátů 4-hydroxychinolin-2(1*H*)-onů **1a-c** o substituci vodíkového atomu vázaného na dusíkovém heteroatomu chinolonového skeletu a připravit tak jejich *N*-ribosidy.

Glykosylové akceptory, v poloze 3 substituované 4-hydroxychinolin-2(1*H*)-ony **1a-c**, byly připraveny známou metodou, kterou již v roce 1927 publikovali³⁴ Baumgarten a Kärger, a to kondenzací anilinu a 4-fluoranilinu se dvěma substituovanými diethyl-malonáty při teplotách kolem 270 °C, jak je ukázáno ve **Schématu 17**. Touto syntézou, přestože patří mezi staré metody, se velmi jednoduše získají požadované produkty ve vysokém výtěžku. Za substituent R¹ byly vybrány svým charakterem odlišné skupiny – fenylová (aromatická) a ethylová (alifatická). U sloučeniny **1c** byl benzenový kruh v poloze 6 substituován atomem fluoru, protože se z analogií uvedených v literatuře^{3,4} dá oproti sloučeninám **1a,b** očekávat zvýšená biologická aktivita požadovaného ribosidu.

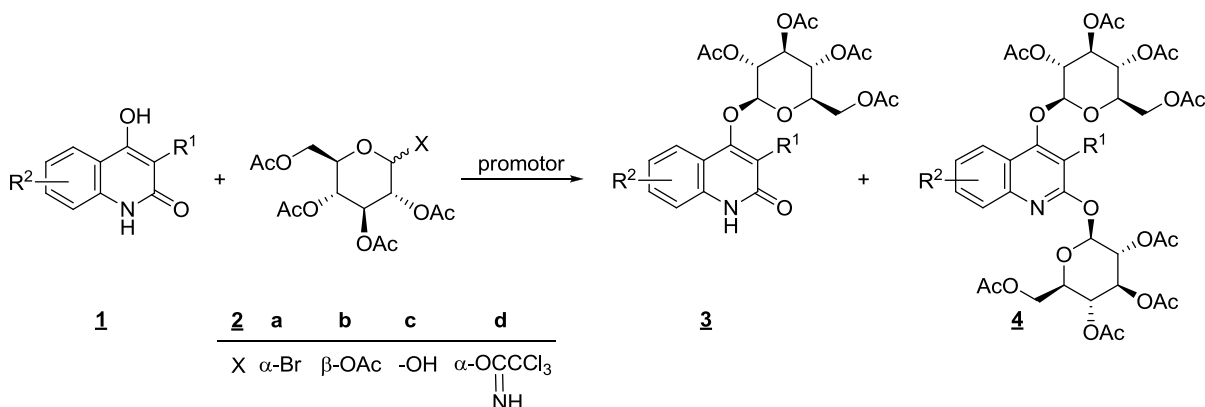
Výchozí látky, 4-hydroxychinolin-2(1*H*)-ony **1a-c**, byly získány ve vysokých výtěžcích. Čistota produktů byla ověřena pomocí IČ spektroskopie, TLC a bodů tání. Tyto sloučeniny jsou na Ústavu chemie úspěšně syntetizovány už několik let, proto nebylo nutné ověřovat strukturu pomocí NMR či jiných analýz.

Schéma 17



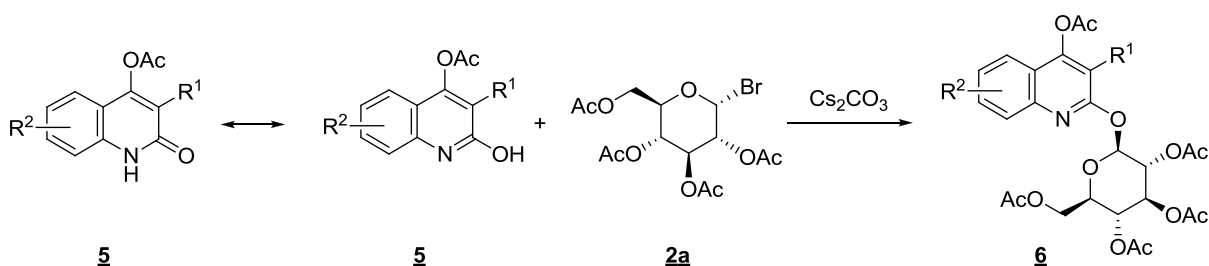
Při dřívějších studiích³⁵ se prokázalo, že působením nejrůznějších glykosylových donorů **2** (2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- α -D-glukopyranosylbromidu, pentaacetátu β -D-glukopyranosy, tetraacetátu D-glukopyranosy, 2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- α -D-glukopyranosyltrichloracetimidátu) v přítomnosti rozmanitých, charakterem kyselých i bazických promotorů (Ag₂O, Na₂CO₃, Cs₂CO₃, Sc(OTf)₃, TMSOTf), na různé deriváty 4-hydroxychinolin-2(1*H*)-onů lze získat pouze 4-*O*-glukosidy **3**, popřípadě 2,4-bis-*O*-glukosidy **4**, jak je naznačeno ve **Schématu 18**.

Schéma 18



Dále se také ukázalo, že pro přípravu *N*-ribosidů uváděných substrátů **1** nepostačuje ochránit hydroxylovou skupinu v poloze 4 chinolonového kruhu, protože za zvolených podmínek glykosylace převažuje enolforma s hydroxylovou skupinou na uhlíkovém atomu C-2 chinolinového skeletu a tudíž nastává pouze substituce vodíkového atomu této hydroxylové skupiny cukerným zbytkem za vzniku 4-acetoxy-2-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-D-glukopyranosyloxy)chinolinu **6** (**Schéma 19**).

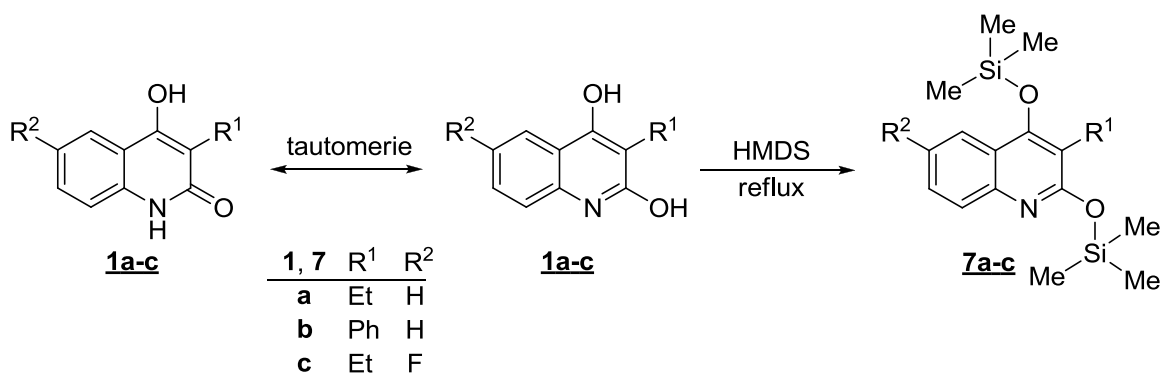
Schéma 19



Z těchto skutečností jasně vyplývá, že aby bylo možné substituovat atom vodíku vázaného na atomu dusíku heterocyklu, je nutné selektivně ochránit vhodnými činidly obě potenciální reaktivní hydroxylové skupiny chinolinového skeletu a tím znemožnit navázání cukerného zbytku do poloh 2 a 4. V cukerné chemii jsou pro protekci hydroxylových skupin velmi oblíbená silylační činidla (mezi ty nejpoužívanější můžeme zařadit hexamethyldisilazan – HMDS a trimethylsilylchlorid – TMSCl) a to především z důvodu jejich snadné aplikovatelnosti a posléze i odbouratelnosti. Nevýhodou těchto chránících skupin je jejich poměrně velká labilita vůči vodě, a proto je nutné jak při silylacích, tak i při práci se získanými produkty s ochráněnými skupinami, pracovat v absolutně bezvodém prostředí, což zahrnuje práci pod inertní atmosférou s absolutně suchými rozpouštědly.

Protekcce sloučenin **1a-c** byla provedena refluxováním (teplota olejové lázně cca 145 °C) jejich suspenze v hexamethyldisilazanu (HMDS), který sloužil současně jako silylační činidlo i jako rozpouštědlo. Zmiňovaná reakce je uvedena ve **Schématu 20**.

Schéma 20



Problémem při těchto reakcích, z důvodu lability produktu, je prakticky nemožnost monitorovat průběh reakce a tedy experimentálně ověřit konverzi protekce hydroxylových skupin pomocí TLC. Jelikož 4-hydroxychinolin-2(1*H*)-ony **1** nejsou v HMDS za laboratorní teploty a ani za varu rozpustné, byla silylace považována za ukončenou v momentu vzniku bezbarvého čirého roztoku z původní suspenze. Chinolon jako takový je slabě rozpustný, ovšem jeho silylové deriváty **7** se velmi ochotně rozpouštějí prakticky ve všech organických rozpouštědlech. Abychom si byli jistí, že jsou ochráněny všechny hydroxylové skupiny, byla reakční směs ponechána refluxovat ještě přibližně 2 h po vytvoření čirého roztoku.

3.3 Glykosylace chráněných substrátů

Z mnoha typů glykosylačních reakcí byla vybrána nemodifikovaná Helferichova metoda spočívající v reakci chráněného sacharidu s acetyloxylovou skupinou na anomerním centru s glykosylovým akceptorem obvykle katalyzovaná Lewisovými kyselinami. Nicméně tato metoda je společně s Koenigsovou-Knorrovou reakcí velmi oblíbená pro přípravu nejrůznějších *N*-glykosidů.

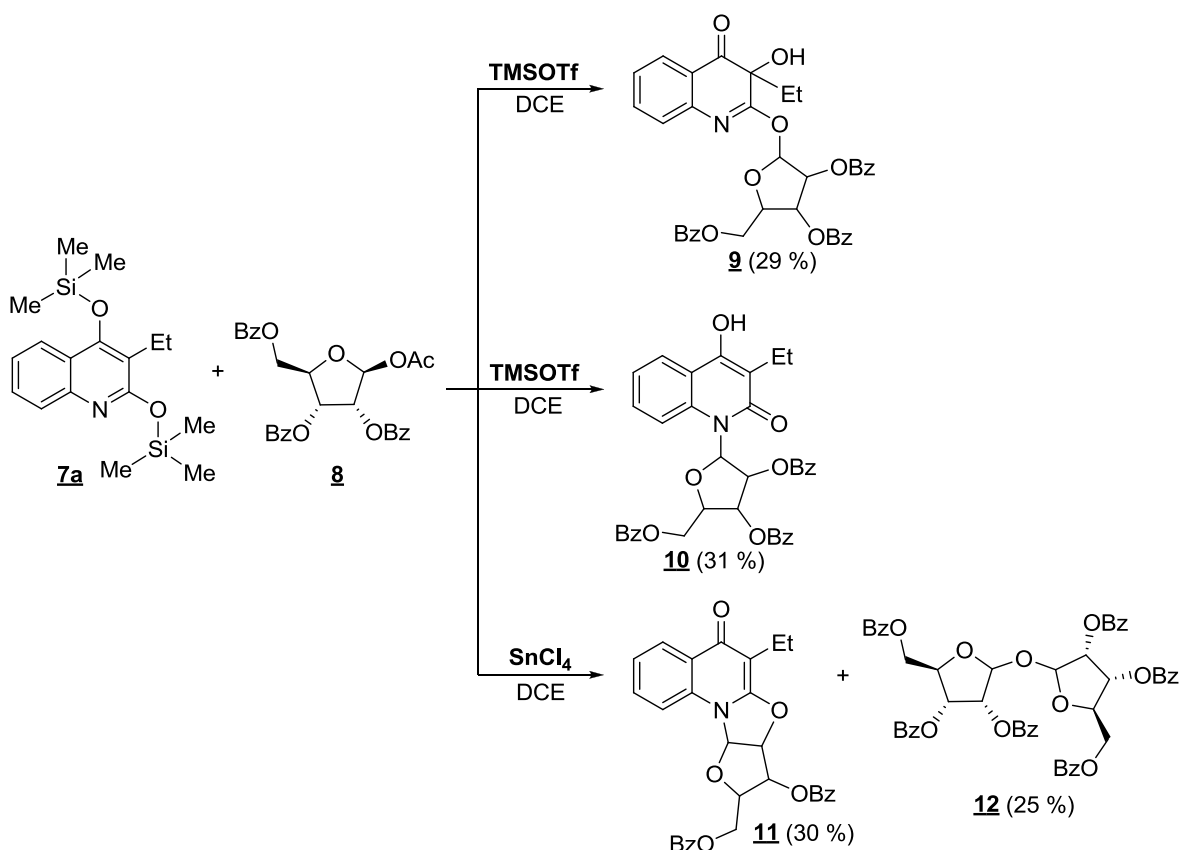
Pro *N*-ribosylaci vhodně chráněných (silylovaných) 4-hydroxychinolin-2(1*H*)-onů **1a-c** jsme se jako glykosylový donor rozhodli použít 1-*O*-acetyl-2,3,5-tri-*O*-benzoyl-β-*D*-ribofuranosu získanou z komerčních zdrojů, které jsme dali přednost před jejím 1,2,3,5-tetra-*O*-acetylanalogem z toho důvodu, že benzoylové chránící skupiny umožňují její snadnou detekci při TLC pod UV-lampou.

Dichlorethanové (DCE) roztoky dvou hlavních představitelů glykosylových akceptorů **1a,b** byly při laboratorní teplotě pod inertní atmosférou podrobeny ribosylacím za přítomnosti dvou různých, při tomto typu reakcí nejčastěji používaných Lewisových kyselin, kterými byly chlorid cínčitý a trimethylsilyl-trifluormethansulfonát (TMSOTf).

Prvním experimentem při syntéze *N*-glykosidů chinolin-2(1*H*)-onů **1** byla reakce dichlorethanového roztoku silylované sloučeniny **7a** s 1-*O*-acetyl-2,3,5-tri-*O*-benzoyl-β-*D*-ribofuranosou (**8**) za přítomnosti TMSOTf (**Schéma 21**), která byla provedena při laboratorní teplotě pod inertní atmosférou. Po izolaci hlavního produktu z reakční směsi několikanásobnou sloupcovou chromatografií a po jeho charakterizaci spektrálními metodami (NMR, ESI-MS, HRMS) bylo zjištěno, že byla získána neočekávaná sloučenina

9, jež má ribosylový zbytek vázaný přes atom kyslíku do polohy 2 chinolinového skeletu, což může být přičteno nedostatečnému ochránění laktimového atomu kyslíku. Nicméně doposud nedokážeme objasnit, jakým mechanismem nastala oxidace na atomech C-3 a C-4.

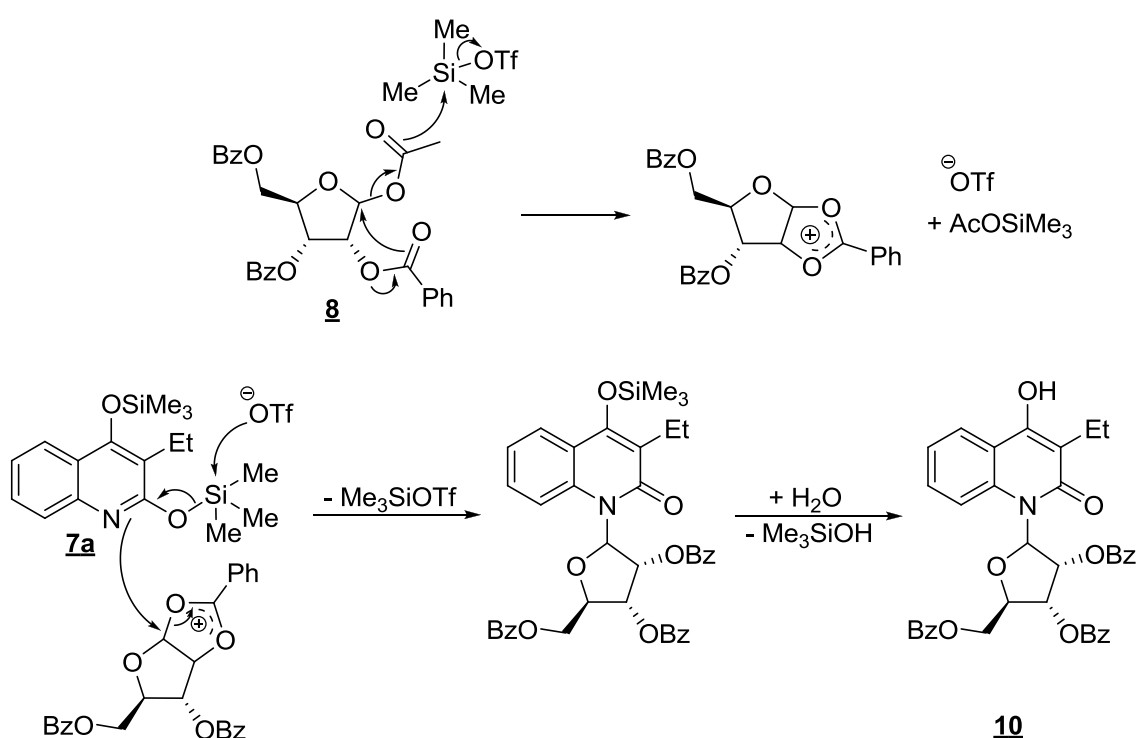
Schéma 21



Výše komentovaný experiment byl za analogických podmínek opakován (**Schéma 21**). Poměry do reakce vstupujících výchozích látek, katalyzátoru a rozpouštědla, byly identické, celková reakční doba byla také téměř stejná, nicméně se výrazně lišila doba silylace 3-ethyl-4-hydroxychinolin-2(1*H*)-onu **1a**, která byla třikrát povýšena, tj. z původních 2 h na 6 h. Po vyčištění získaného surového produktu kolonovou chromatografií a po krystalizaci majoritního produktu z diethyletheru bylo pomocí IČ spektroskopie indikováno, že se jedná o odlišný produkt než u předchozí reakce. Po získání dalších informací o struktuře z NMR, ESI-MS, HRMS bylo prakticky okamžitě jasné, že se jedná o očekávaný produkt **10**.

Ve **Schématu 22**, které vychází z analogií uvedených v literatuře,²⁴ je naznačen mechanismus vzniku sloučeniny **10**, kde v prvním stupni atakem Lewisovy kyseliny (TMSOTf) na acetyloxylovou skupinu vázanou na anomerním atomu uhlíku ribofuranosidu dochází k jejímu odtržení a následuje formování stabilizovaného kladně nabitého intermediátu, který po odtržení trimethylsilylové skupiny z atomu kyslíku vázaného k chinolinovému kruhu v poloze 2 vytvoří vazbu s atomem dusíku heterocyklu, čím dojde k otevření kruhu za obnovení volné benzoyloxylové skupiny.

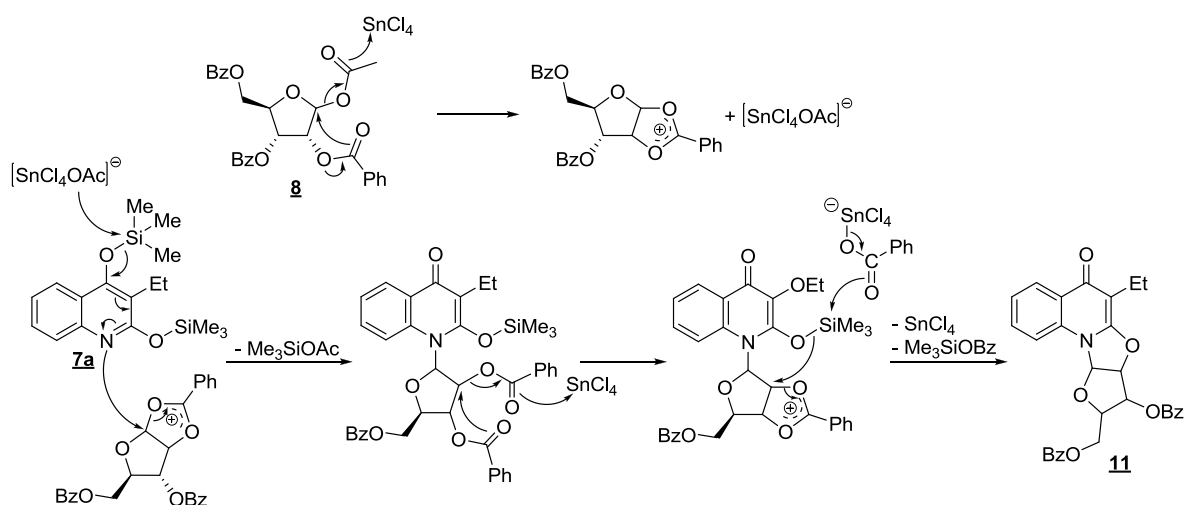
Schéma 22



Pro získání žádaného produktu byla reakce provedena také za přítomnosti druhé ze jmenovaných Lewisových kyselin, SnCl₄. Poměr látkových množství všech reaktantů i Lewisovy kyseliny, stejně jako reakční podmínky (laboratorní teplota, bezvodý DCE, inertní atmosféra), byly ponechány stejné. Ze surové směsi byly separovány tři produkty, ze kterých byl prakticky okamžitě jeden z nich podle bodu tání a pomocí IČ spektroskopie identifikován jako nezreagovaná výchozí látka **1a**. U zbylých dvou bylo nutné naměřit jejich NMR a hmotnostní spektra a z jejich kombinací byly sloučeninám **11** a **12** určeny jejich struktury, jež jsou uvedeny ve **Schématu 21**.

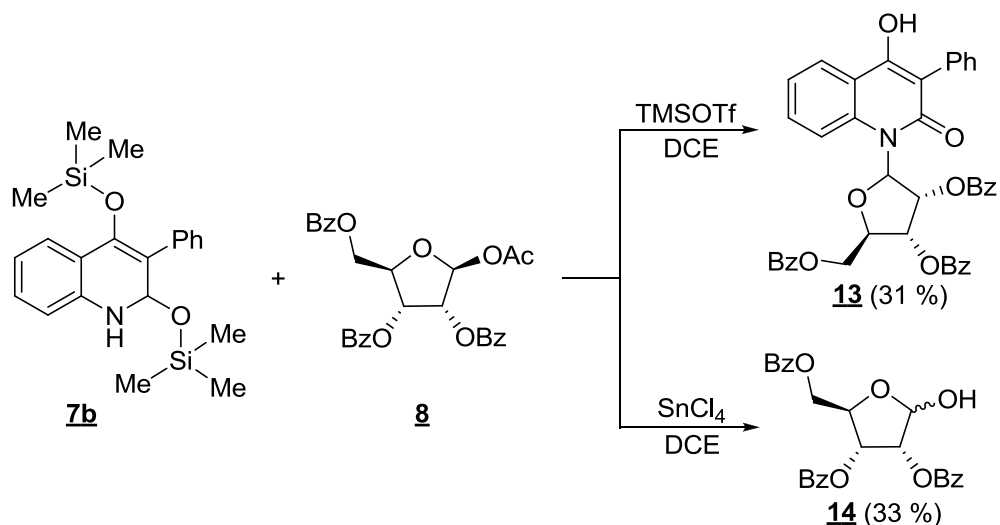
Vznik sloučeniny **11** lze vysvětlit námi navrženým mechanismem ve **Schématu 23**, ve kterém předpokládáme, že dojde nejprve k nukleofilnímu ataku komplexu $[\text{SnCl}_4\text{OAc}]^-$ vytvořeného při formování stabilizovaného kationtu z ribofuranosy na trimethylsilylovou skupinu vázanou přes atom kyslíku v poloze 4 chinolinového skeletu, čímž dojde k jejímu utržení a nastane posun elektronů ve směru šipek a na atom dusíku heterocyklu se přesune elektronový pár. Tento volný elektronový pár je následně využit pro vznik nové vazby s anomerním atomem uhlíku kationtu vytvořeného z ribofuranosy, čímž dojde k otevření kruhu za obnovení "normální" benzyloxylové skupiny v poloze 2 furanosylové skupiny. Poté účinkem SnCl_4 nastane odtržení benzyloxylového aniontu z polohy 2 furanosylové skupiny, přičemž u vzniklého karbokationtu předpokládáme jeho stabilizaci cyklizací, která umožňuje delokalizaci elektrického náboje. Potom vytvořený komplex $[\text{SnCl}_4\text{OBz}]^-$ nukleofilně napadá trimethylsilylovou skupinu vázanou přes atom kyslíku v poloze 2 chinolinového skeletu, čímž dojde k jejímu odtržení za současné reorganizace vazeb, jejímž výsledkem je konečný produkt **11**.

Schéma 23

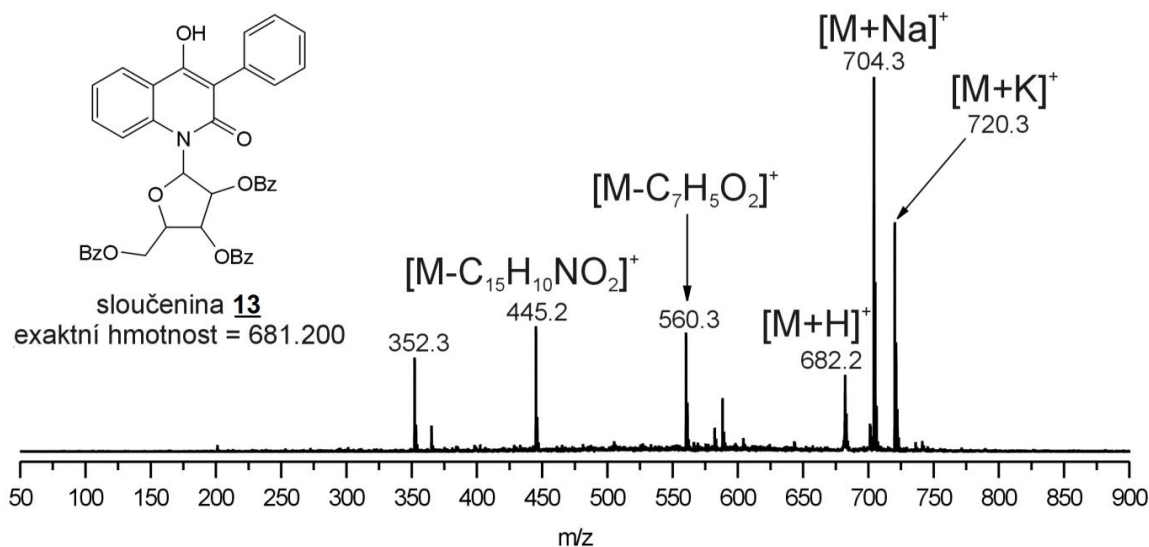


Pro ribosylaci sloučeniny **1b**, potažmo sloučeniny **7b**, byly provedeny experimenty (**Schéma 24**), ve kterých byly použity jako aktivátory reakce opět obě, již mnohokrát zmiňované, Lewisovy kyseliny. Reakce sloučeniny **7b** s ribofuranosou **8** byla provedena při laboratorní teplotě pod inertní atmosférou v bezvodém DCE za přítomnosti TMSOTf. Z reakce byl po 16 h, sloupcovou chromatografií a následnou krystalizací získán, pomocí NMR a HRMS identifikován, produkt **13**.

Schéma 24



Na **Obrázku 4** je prezentováno ESI-MS spektrum sloučeniny **13** v pozitivním skenovacím módu.



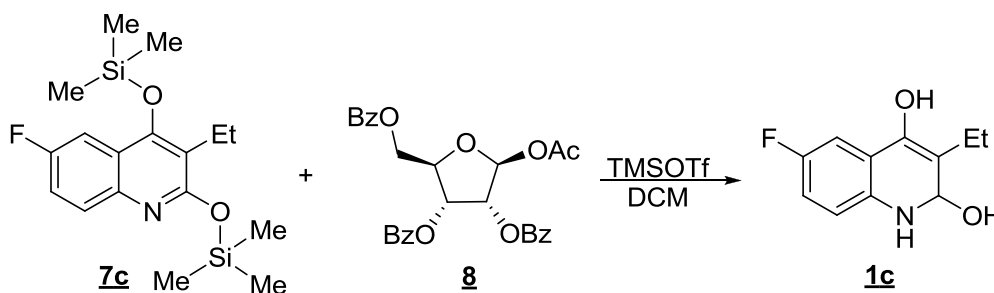
Obrázek 4. ESI-MS spektrum prvního řádu sloučeniny **13**

Dominantním signálem je sodný adukt molekulového iontu $[M+Na]^+$, který je doprovázen dalšími dvěma signály, a to draselným aduktem molekulového iontu $[M+K]^+$ a protonovaným molekulovým iontem $[M+H]^+$. Dále byly ve spektru pozorovány dva slabší signály vznikající v důsledku ionizačního procesu. Jedná se o signály s hodnotami m/z 560 a 445, které byly následně identifikovány jako ionty $[M-C_7H_5O_2]^+$ a $[M-C_{15}H_{10}NO_2]^+$.

Analogickou reakcí, uvedenou ve **Schématu 24**, shodných výchozích sloučenin byl po 28 h za přítomnosti SnCl_4 jako promotoru reakce izolován pouze 2,3,5-tribenzoát ribofuranosy **14**.

Posledním provedeným experimentem ze série byla reakce silylovaného meziprojektu **7c** za přítomnosti TMSOTf (**Schéma 25**). Monitorováním reakční směsi tenkovrstvou chromatografií byly zpočátku v reakční směsi přítomny pouze výchozí látka **1c** a jeden produkt, načež po 36 h výchozí látka ze směsi prakticky vymizela. Proto byla reakční směs klasickým způsobem (přidána voda a extrakce do ethyl-acetátu) zpracována. Po ověření čistoty surového produktu pomocí TLC byly detekovány čtyři sloučeniny, z nichž jedna byla výchozí látka **1c**. Při pokusu separovat jednotlivé produkty reakce pomocí sloupcové chromatografie nastala prakticky absolutní degradace produktů na sloučeninu **1c**.

Schéma 25

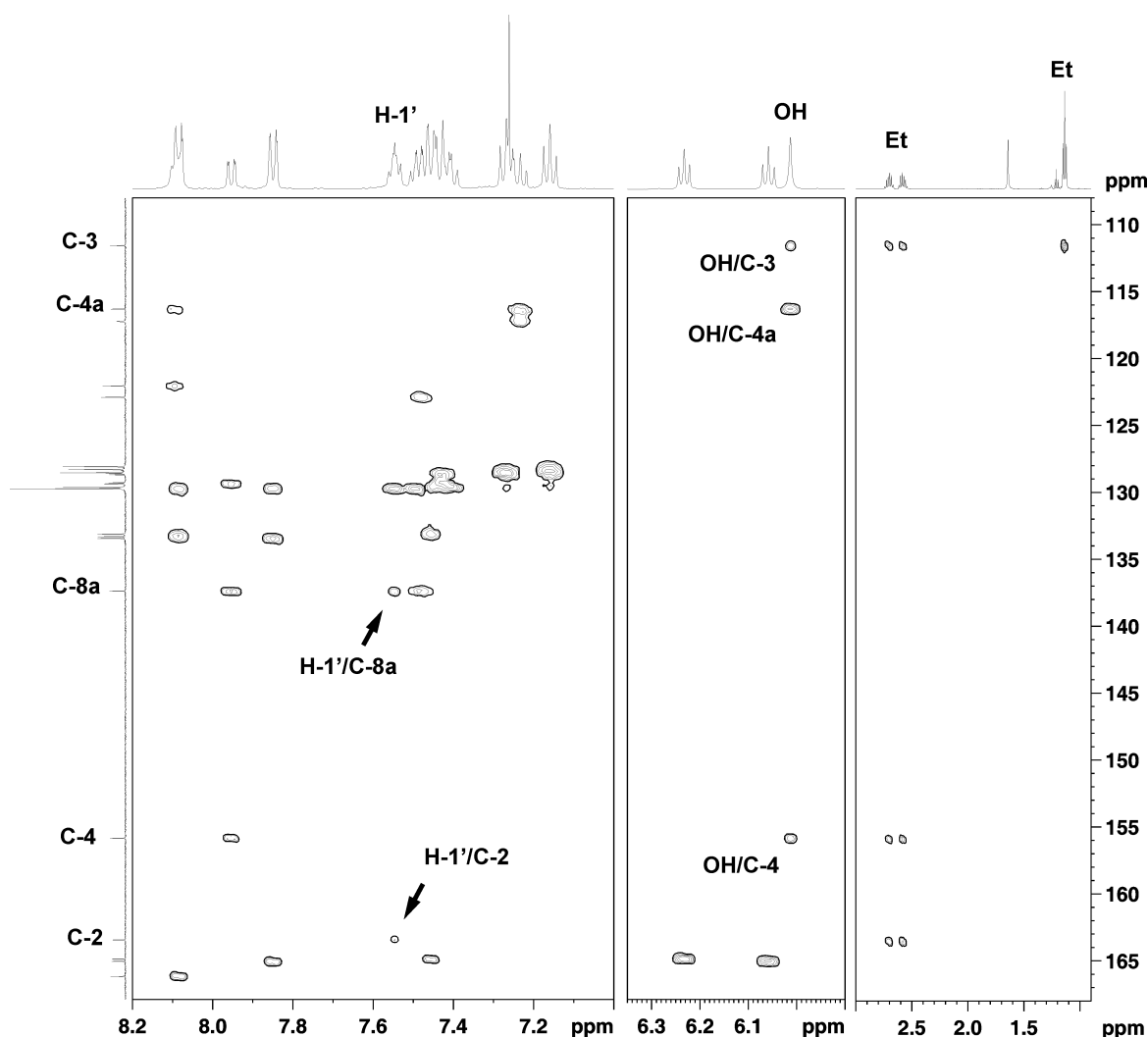


3.4 Komentář ke stanovení struktur připravených sloučenin **9–12**

V této kapitole bych ráda stručně okomentovala skutečnosti, které vedly k určení struktury produktů získaných z reakcí silylovaného 3-ethyl-4-hydroxychinolin-2(1*H*)-onu **1a** s 1-*O*-acetyl-2,3,5-tri-*O*-benzoyl-β-D-ribofuranosou **8**. K objasnění struktur a k přiřazení protonových a uhlíkových rezonancí všech připravených sloučenin **9–14** byly použity standardní dvoudimenzionální NMR experimenty (^1H - ^1H COSY, ^1H - ^{13}C HSQC, ^1H - ^{13}C HMBC a ^1H - ^{15}N HMBC).

Strukturní analýza D-ribofuranosylové skupiny byla zahájena přiřazením dobře rozlišeného signálu protonu H-5', který rezonuje v oblasti 4,3–4,9 ppm popřípadě anomerního protonu H-1' rezonujícího v oblasti 5,7–7,6 ppm. Pro jejich acetalové atomy byly nalezeny chemické posuny v rozmezí 62–65 ppm pro C-5' a v rozmezí 86–101 ppm pro C-1'.

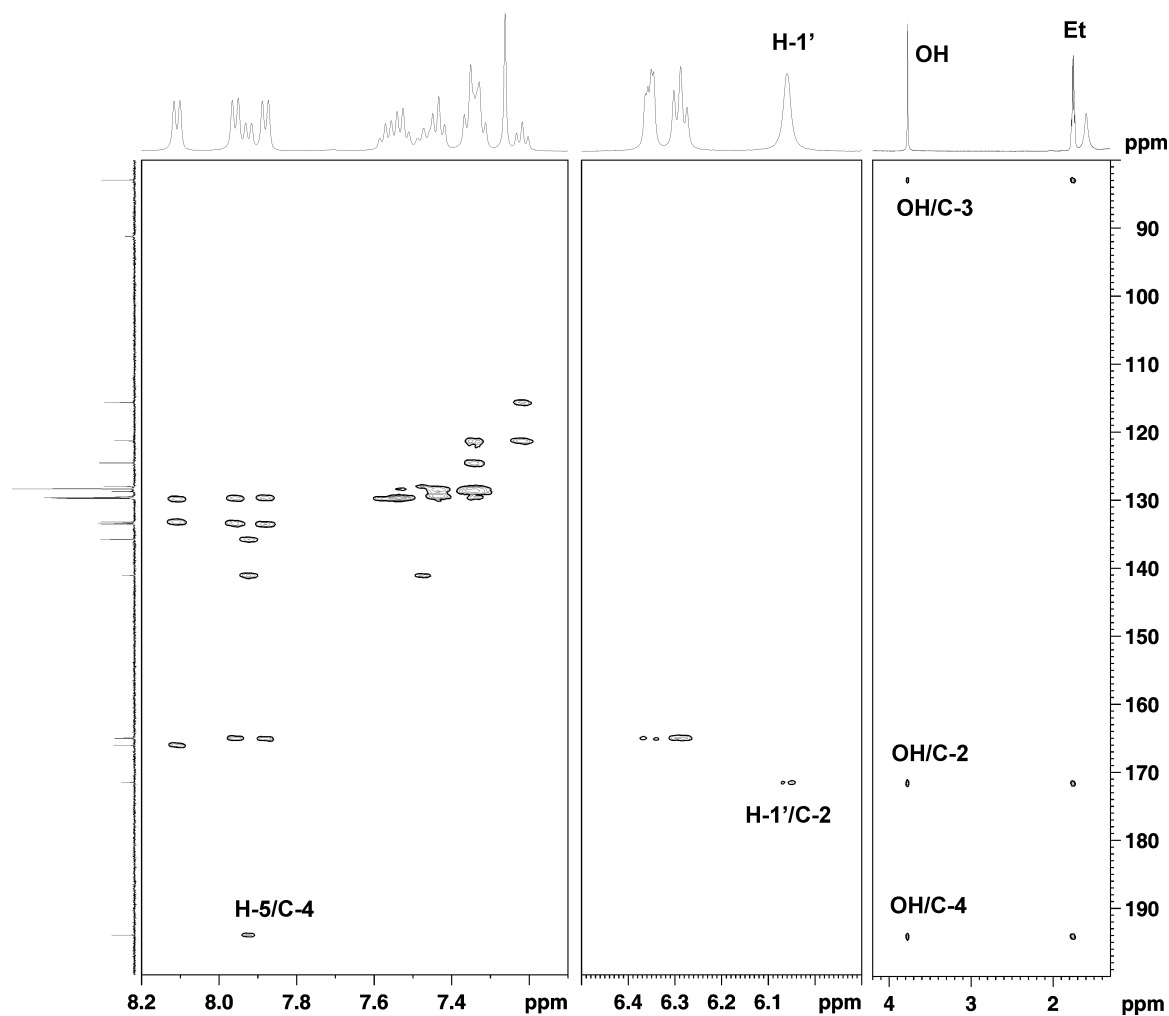
Na základě charakteristických ^{13}C chemických posunů uhlíků C-2, C-3 a C-4 v jednodimenziálním ulíkovém spektru bylo předpokládáno, že sloučenina **10** obsahuje ve své struktuře 4-hydroxychinolin-2(1*H*)-onový skelet. Tuto skutečnost potvrzuje i HMBC korelace hydroxylové skupiny v poloze 4 chinolinonového skeletu s uhlíkovými rezonancemi C-3, C-4 a C-4a (**Obrázek 5**). Dle ^1H NMR spektra bylo zřejmé, že je v molekule přítomen i ribofuranosylový zbytek, který, jak vyplývá ze základních charakteristických korelací H-1'/C-8a a H-1'/C-2 v HMBC spektru (**Obrázek 5**), je vázán na dusíkovém atomu heterocyklu.



Obrázek 5. ^1H - ^{13}C HMBC spektrum sloučeniny **10**.

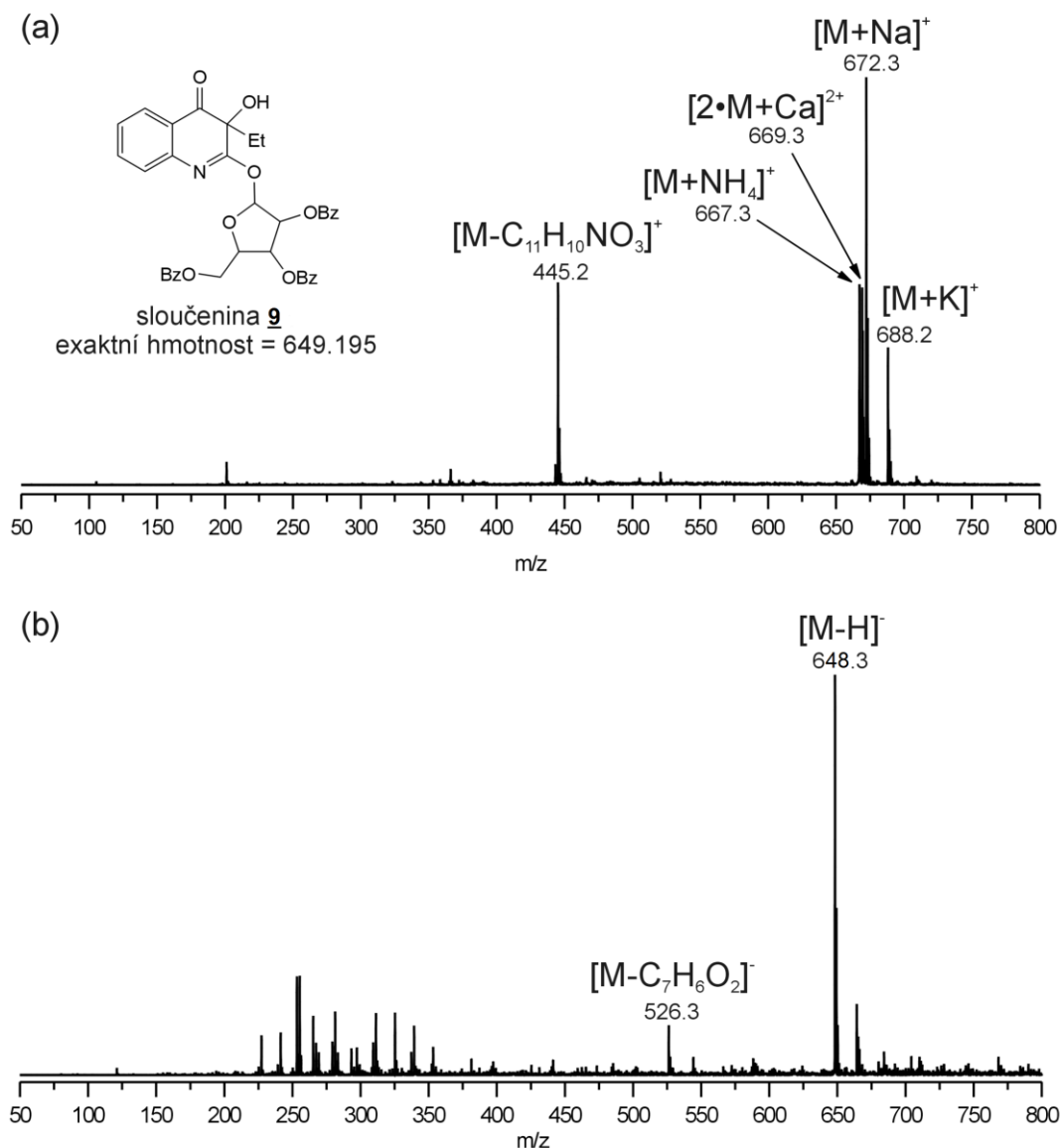
Naproti tomu u sloučeniny **9** nastala výrazná změna v chemickém posunu uhlíků C-3 (82,9 ppm) a C-4 (194,1 ppm) z čehož nepochybně vyplynulo, že molekula obsahuje v poloze 4 chinolonového skeletu karbonylovou skupinu (C=O) a hydroxylová skupina je přítomna na C-3. Tuto předběžně navrženou strukturu 3-hydroxychinolin-4-onu potvrdily

také korelace protonu z hydroxylové skupiny s C-3, C-2 a C-4 (**Obrázek 6**). To, že je vazebné místo rybofuranosylu v poloze 2 potvrzuje korelace protonu H-1'/C-2 a naopak chybí korelace H-1'/C-8a, kterou lze pozorovat (**Obrázek 6**) v případě *N*-ribosidu **10**. Proton H-1' má rovněž jiný chemický posun (6,0 ppm) než případě sloučeniny **10** (H-1' δ = 7,5 ppm).



Obrázek 6. ^1H - ^{13}C HMBC spektrum sloučeniny **9**.

Na **Obrázku 7** je uvedeno spektrum z ESI-MS analýzy sloučeniny **9** získané jak v pozitivním, tak v negativním skenovacím módu. Jelikož hodnota iontů $[\text{M}+\text{Na}]^+$, $[\text{M}+\text{K}]^+$ je o 16 m/z vyšší než je tomu v ESI-MS spektru sloučeniny **10**, je dalším důkazem toho, že se v její molekule vyskytuje o jeden atom kyslíku více.

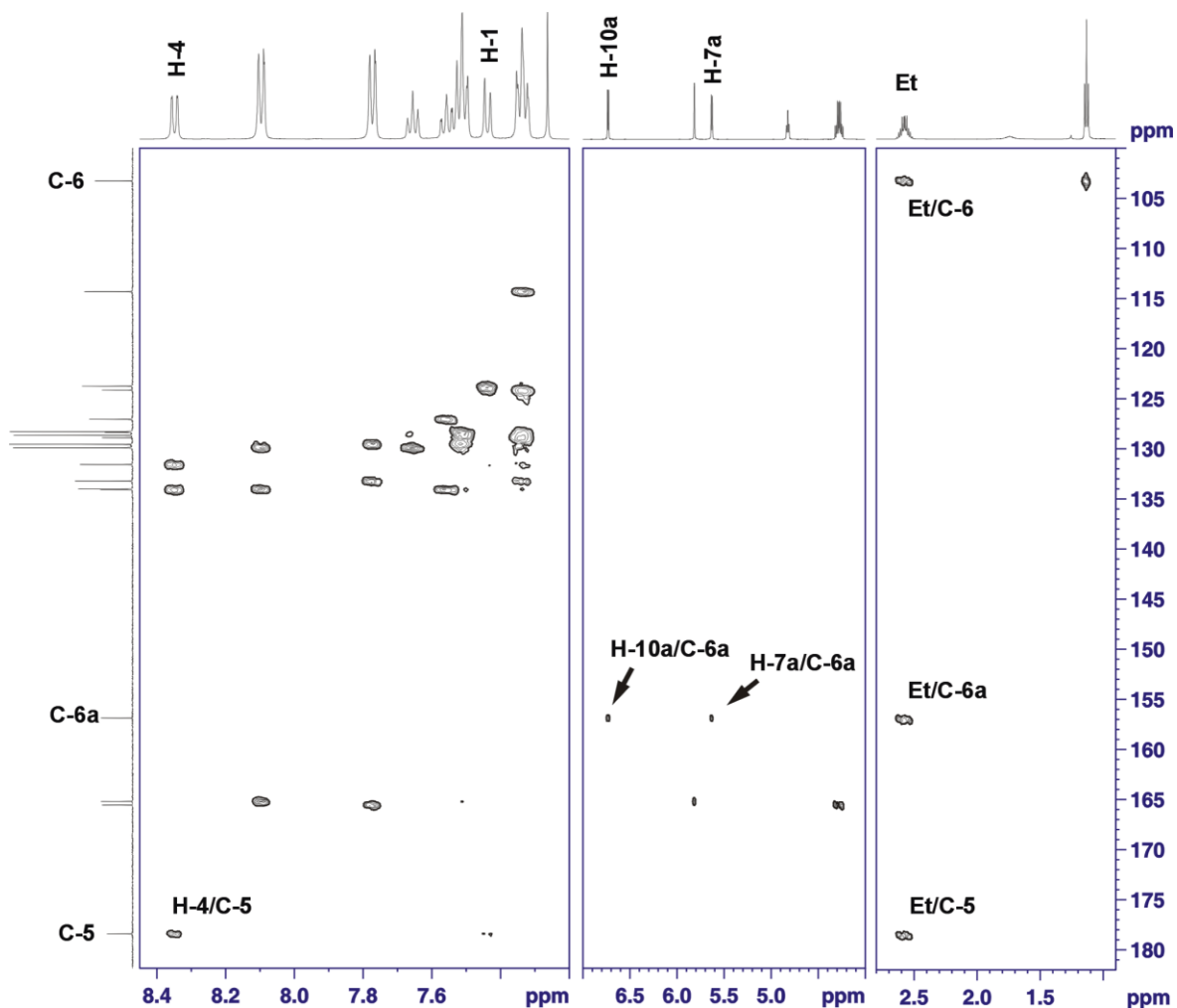


Obrázek 7. ESI-MS spektra sloučeniny **9**; (a) +MS, (b) -MS.

V pozitivu je dominantním signálem sodný adukt $[M+Na]^+$, který je doprovázen dalšími čtyřmi signály, z nichž tři jsou jedenkrát kladně nabitě a jeden dvakrát kladně nabitý. Hodnota m/z dvojnásobně nabitého iontu (669) odpovídá vápenatému aduktu dvou molekul sloučeniny **9** $[2\cdot M+Ca]^{2+}$. Dále se ve spektru prvního řádu nacházejí amonný $[M+NH_4]^+$ a draselný $[M+K]^+$ adukt molekulového iontu s hodnotami m/z 667 a 688. K tvorbě posledního signálu pozorovaného v pozitivním ESI-MS spektru sloučeniny **9** dochází vlivem neutrální ztráty fragmentu $C_{11}H_{10}NO_3$ z původní molekuly za vzniku iontu o m/z 445, který náleží cukernému zbytku. V negativním spektru prvního řádu byl jako dominantní signál pozorován deprotonovaný molekulový iont $[M-H]^-$ a také minoritní

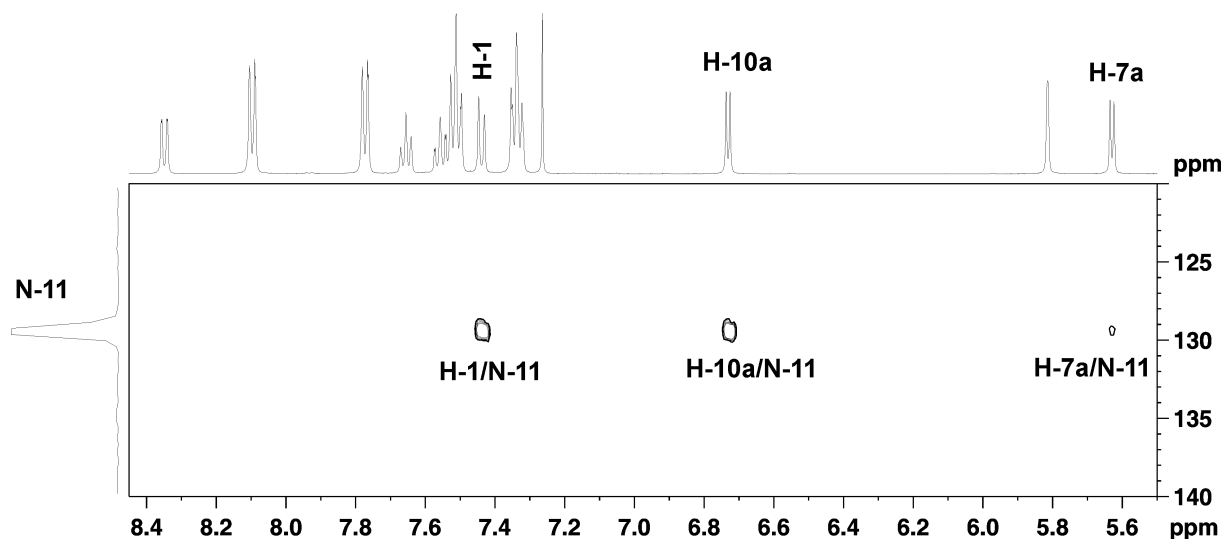
signál odpovídající iontu $[M-C_7H_6O_2]^+$, k jehož vzniku dochází vlivem ionizačního procesu.

Z reakce mezi silylovanou sloučeninou **7a** a chráněnou ribofuranosou **8** za přítomnosti $SnCl_4$ byly izolovány dva produkty **11** a **12** s velmi podobným výtěžkem. U jednoho z nich, a to sloučeniny **11**, bylo po podrobném rozboru 1D a 2D NMR spekter zjištěno, že se jedná o tetracyklickou sloučeninu se třemi heteroatomy. Tato molekula obsahuje v poloze 5 karbonylovou skupinu (C=O) jejíž atom uhlíku má chemický posun 178,6 ppm a v poloze 6 obsahuje ethylovou skupinu jejíž CH_2 skupina v HMBC koreluje s C-6, C-6a a C-5 (**Obrázek 8**). Důkazem pro přikondenzovanou strukturu (vazba O-7 na C-6a) je v HMBC korelace H-7a/C-6a. Je také nutné podotknout, že v 1D NMR spektrech (1H , ^{13}C) chybí jedna z benzoylových skupin.



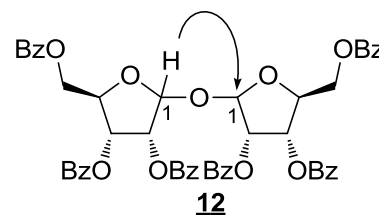
Obrázek 8. 1H - ^{13}C HMBC spektrum sloučeniny **11**.

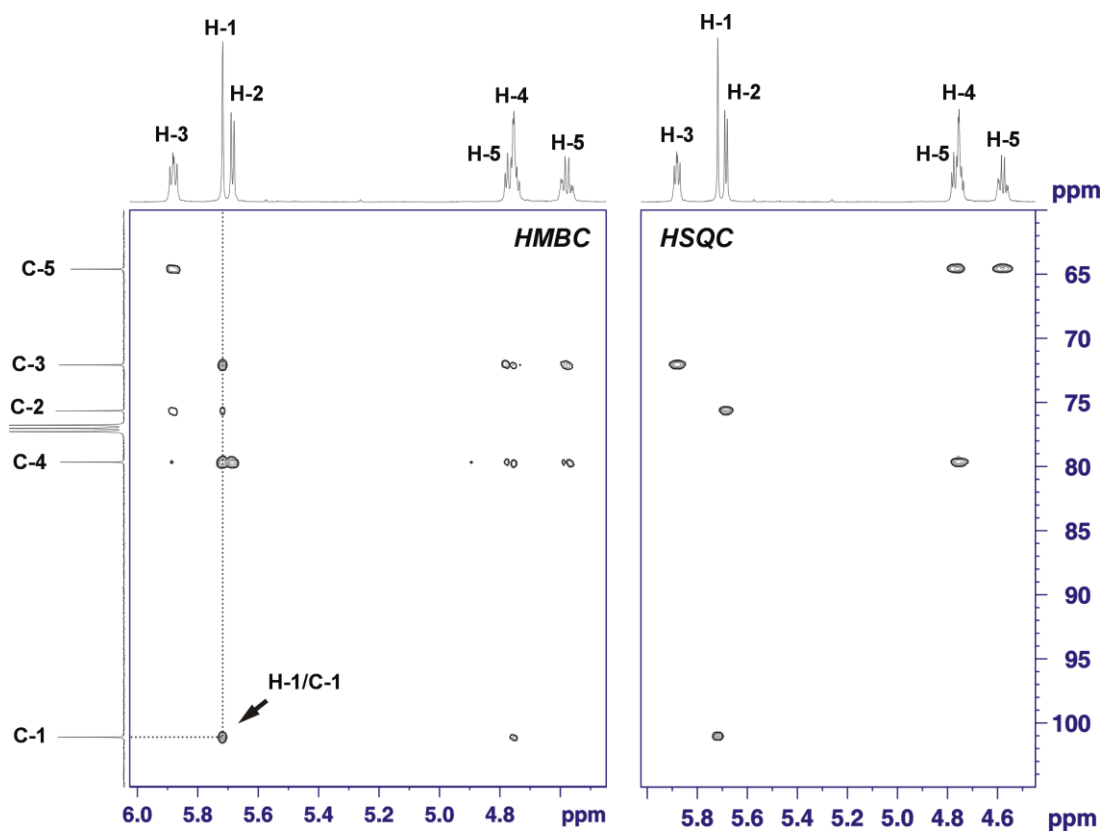
Dále také v ^1H - ^{15}N HMBC spektru (**Obrázek 9**) jsou pěkně vidět korelace H-10a/N-11 a H-7a/N-11.



Obrázek 9. ^1H - ^{15}N HMBC spektrum sloučeniny **10**.

U sloučeniny **12** hmotnostní spektrometrie (ESI-MS) neposkytla prakticky žádnou informaci, což bylo způsobeno nejspíše její neochotou ionizovat. Z NMR spekter jednoznačně vyplývá, že se jedná o cukerný zbytek obsahující v polohách 2, 3, 5 benzyloxylové skupiny, je také prokazatelná přítomnost protonu na anomerním atomu uhlíku, nicméně NMR spektra (^1H , ^{13}C , ^1H - ^1H COSY, ^1H - ^{13}C HSQC) neposkytovala žádnou informaci o druhém substituentu na C-1 ribofuranosylového kruhu, proto jsme se začali domnívat, že by se mohlo jednat o symetrickou molekulu obsahující dvě 2,3,5-tri-*O*-benzyloxyribofuranosylové skupiny spojené přes atom kyslíku. Navrženou strukturu sloučeniny **12** podporují také informace uvedené v literatuře^{36,37}. Identická sloučenina byla autory zmiňované publikace jednak několikrát izolována (s výtěžky okolo 30 %) z reakční směsi při přípravě *N*-ribosidů s využitím stejného glykosylového donoru za přítomnosti SnCl_4 a jednak ji také záměrně syntetizovali^{37,38,39} účinkem BBr_3 (výtěžek 48 %), FeCl_3 (výtěžek 48 %) popř. SnCl_4 (výtěžek 24 %) na methylenchloridové nebo dichlorethanové roztoky 1-*O*-acetyl-2,3,5-tri-*O*-benzoyl- β -D-ribofuranosy (**8**). Po podrobnějším studiu (**Obrázek 10**) ^1H - ^{13}C HMBC spektra byla nalezena korelace H-1/C-1, což je klíčový přímý důkaz pro navrženou strukturu sloučeniny **12**.





Obrázek 10. ^1H - ^{13}C HMBC spektrum sloučeniny **12**.

4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Ke chromatografii na tenké vrstvě byly použity folie ALUGRAM® SIL G/UV254 (0,2 mm silná vrstva silikagelu Kieselgel 60 s fluorescenčním indikátorem pro UV 254 nm na hliníkové folii, výrobce MACHEREY-NAGEL & Co. KG Düren, Německo). Body tání byly stanoveny na Koflerově bloku a nejsou korigovány. Elementární analýzy (C, H, N) byly provedeny na přístroji Flash EA 1112 Automatic Elementar Analyzer (Thermo Fisher Scientific Inc.). Hmotnostní spektra byla měřena na přístroji DI-EI-MS QP2010 Shimadzu s DI sondou pro termodesorpci látek do 350 °C a s GC kolonou Supelco SLB-ms (30 m, 0,25 mm), s heliem jako nosným médiem s konstantním průtokem 38 cm.s⁻¹. Iontové druhy jsou uvedeny v jednotkách *m/z* (% relativní intenzity). Hmotnostní spektra s vysokým rozlišením byla měřena na přístroji Agilent 6224 Accurate Mass TOF LC/MS. NMR spektra byla měřena při 296 K na spektrometru Bruker Avance III při 500,13 MHz (¹H) resp. 125,77 MHz (¹³C). Chemické posuny jsou uvedeny ve stupnici δ (ppm). Interakční konstanty (*J*) jsou uvedeny v Hz. Multiplicity jsou označeny takto: s (singlet), d (dublet), dd (dublet dubletů), ddd (dublet dubletů dubletů), dq (dublet kvartetů), t (triplet), q (kvartet), m (multiplet). Infračervená spektra byla měřena na přístrojích Mattson 3000 nebo Nicolet Avatar-380 technikou KBr tablet. Použité symboly pro značení intenzity daného absorpčního pásu jsou: w (slabá), m (střední), s (silná) a jsou uvedeny v cm⁻¹.

4.1 Substituované 4-hydroxychinolin-2(1*H*)-ony (**1a-c**)

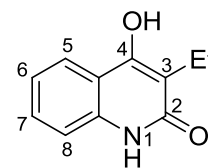
Do reakce bylo dáno 100 mmol příslušného anilinu a 110 mmol substituovaného diethyl-malonátu. Směs byla vařena na kovové lázni, jejíž teplota byla postupně zvyšována od 150 °C do 270 °C v závislosti na rychlosti destilace EtOH. Reakce byla ukončena ve chvíli, kdy ustala destilace EtOH. Horká reakční směs byla nalita do 100 ml toluenu a vzniklé krystaly byly odfiltrovány a následně opakovaně macerovány ve vroucím toluenu. Poté pevná fáze byla rozpuštěna v 0,5M-NaOH, přidáno aktivní uhlí a vše po cca 10 minutovém míchání směsi přefiltrováno přes Büchnerovu nálevku. Filtrát byl srážen 10% HCl (do okyselení) a vzniklá suspenze byla odsáta přes fritu a promyta vodou do neutrálního pH. Vysušený pevný amorfni prášek byl za horka krystalizován z EtOH, čímž byly získány bezbarvé krystalické látky **1a-c**.

Název 3-Ethyl-4-hydroxychinolin-2(1*H*)-on (**1a**)

Výtěžek 91 %

Teplota tání 263–268 °C

Vzhled Bezbarvá krystalická látka



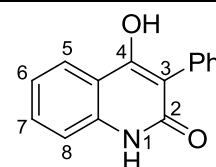
IČ (KBr): 1639 (s), 1605(m), 1589 (m), 1552 (w), 1500 (w), 1478 (w), 1463 (w), 1449 (w), 1429 (w), 1400 (m), 1370 (w), 1327 (w), 1269 (m), 1206 (m), 1158 (m), 1150 (w), 1115 (w), 1040 (w), 878 (w), 754 (m), 674 (w), 664 (w) cm⁻¹.

Název 3-Fenyl-4-hydroxychinolin-2(1*H*)-on (**1b**)

Výtěžek 88 %

Teplota tání 339–341 °C

Vzhled Bezbarvá krystalická látka



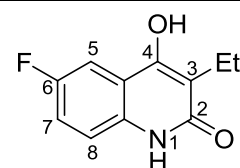
IČ (KBr): 1646 (s), 1609 (s), 1588 (s), 1574 (m), 1499 (m), 1470 (w), 1446 (w), 1431 (w), 1408 (m), 1366 (m), 1289 (s), 1244 (m), 1226 (m), 1158 (w), 1145 (w), 1113 (w), 877 (w), 856 (w), 756 (m), 696 (m), 676 (w) cm⁻¹.

Název 3-Ethyl-6-fluor-4-hydroxychinolin-2(1*H*)-on (**1c**)

Výtěžek 73 %

Teplota tání 293–297 °C

Vzhled Bezbarvá krystalická látka



IČ (KBr): 1634 (s), 1614 (s), 1561 (s), 1501 (s), 1460 (m), 1441 (m), 1417 (m), 1372 (m), 1326 (s), 1261 (s), 1197 (s), 1177 (m), 1133 (m), 1100 (w), 820 (m), 803 (w), 655 cm⁻¹.

4.2 Silylace 4-hydroxychinolin-2(1H)-onů **1a-c** na meziprodukty **7a-c**

K 1 mmol výchozí látky **1a-c** byly přidány 3 ml HMDS a vzniklá suspenze byla 2–6 h v inertní dusíkové atmosféře vařena pod zpětným chladičem na olejové lázni (teplota lázně cca 150 °C). Po ukončení varu byl roztok odpařen na RVO, čímž byl získán bezbarvý olejovitý produkt.

4.3 Reakce sloučenin **7a-c** s 1-O-acetyl-2,3,5-tri-O-benzoyl-β-D-ribofuranosou **8**

4.3.1 Za katalytického působení TMSOTf

K roztokům ze získaných meziproduktů **7a-c** (1 mmol) a 1,1 mmol 1-O-acetyl-2,3,5-tri-O-benzoyl-β-D-ribofuranosy (**8**) ve 3 ml bezvodého 1,2-dichlorethanu bylo pod inertní dusíkovou atmosférou po kapkách přes pryžové septum přidáno do reakční směsi 1,1 mmol TMSOTf. Takto získaná reakční směs byla míchán při laboratorní teplotě po dobu uvedenou ve **Schématu 21, 24 a 25**. Po ukončení reakce bylo k reakční směsi přidáno 3 ml dest. vody a vše extrahováno 3 × 20 ml EtOAc. Organické vrstvy byly spojeny, vysušeny Na₂SO₄, přefiltrovány a odpařeny do sucha. Sloučeniny **9** a **13** byly opakovaně čištěny sloupcovou chromatografií – nejprve v samotném CHCl₃ a poté směsí CHCl₃/MeCN (5/1; v/v). Sloučenina **10** byla chromatografována mobilní fází CHCl₃/EtOAc (9/1; v/v).

4.3.2 Za katalytického působení SnCl₄

K roztokům ze získaných meziproduktů **7a,b** (1 mmol) a 1,1 mmol 1-O-acetyl-2,3,5-tri-O-benzoyl-β-D-ribofuranosy (**8**) ve 3 ml bezvodého 1,2-dichlorethanu bylo pod inertní dusíkovou atmosférou po kapkách přes pryžové septum přidáno do reakční směsi 1,43 mmol SnCl₄. Takto získaná reakční směs byla míchán při laboratorní teplotě po dobu uvedenou ve **Schématu 21 a 24**. Po ukončení reakce bylo k reakční směsi přidáno 3 ml dest. vody a vše extrahováno 3 × 20 ml EtOAc. Organické vrstvy byly spojeny, vysušeny Na₂SO₄, přefiltrovány a odpařeny do sucha. Sloučeniny **11** a **12** byly purifikovány sloupcovou chromatografií mobilní fází CHCl₃/EtOAc (7/3; v/v). Sloučenina **14** byla chromatografována mobilní fází CHCl₃/MeOH (50/1; v/v).

Název	3-Ethyl-3-hydroxy-2-(2,3,5-tri- <i>O</i> -benzoyl-D-ribofuranosyloxy)chinolin-4(1 <i>H</i>)-on (9)	
Výtěžek	29 %	
Bod tání	69–80 °C	
Vzhled	Bezbarvý prášek	
R_f	34 (CHCl ₃ /EtOAc; 5/3; v/v)	

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): 0,79 (t, 3H, *J* = 7,3 Hz, CH₃), 1,75 (q, 2H, *J* = 7,3 Hz, CH₂ v Et), 3,78 (s, 1H, OH), 4,62 (dd, 1H, *J* = 12,2, 4,4 Hz, H-5' α), 4,67-4,76 (m, 1H, H-4'), 4,91 (dd, 1H, *J* = 12,1, 2,7 Hz, H-5' β), 6,06 (s, 1H, H-1'), 6,29 (dd, 1H, *J* = 7,0, 7,0 Hz, H-3'), 6,35 (dd, 1H, *J* = 6,2, 2,5 Hz, H-2'), 7,22 (dd, 1H, *J* = 7,4, 7,4 Hz, H-6), 7,30-7,38 (m, 5H, H-8, 2 \times *m*-H v 2'-*O*-Bz a 2 \times *m*-H v 3'-*O*-Bz), 7,43 (dd, 2H, *J* = 7,7 Hz, 7,7 Hz, 2 \times *m*-H v 5'-*O*-Bz), 7,47 (dd, 1H, *J* = 7,6, 7,6 Hz, H-7), 7,50-7,59 (m, 3H, *p*-H v 2'-*O*-Bz, *p*-H v 3'-*O*-Bz a *p*-H v 5'-*O*-Bz), 7,88 (d, 2H, *J* = 7,7 Hz, *o*-H v Bz), 7,92 (d, 1H, *J* = 3,8 Hz, H-5), 7,96 (d, 2H, *J* = 3,8 Hz, *o*-H v Bz), 8,11 (d, 2H, *J* = 3,8 Hz, *o*-H v 5'-*O*-Bz) ppm.

¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz): 7,2 (CH₃ z Et), 34,1 (CH₂ z Et), 63,2 (C-5'), 70,4 (C-3'), 73,6 (C-2'), 79,2 (C-4'), 82,9 (C-3), 91,3 (C-1'), 115,7 (C-8), 121,4 (C-4a), 124,6 (C-6), 128,1 (C-5), 128,6 (*o*-C v 2'-*O*-Bz, *o*-C v 3'-*O*-Bz a *o*-C v 5'-*O*-Bz), 129,5 (*m*-C v Bz), 129,7 (*m*-C v Bz), 129,9 (*m*-C v 5'-*O*-Bz), 133,3 (*p*-C v 5'-*O*-Bz), 133,5 (*p*-C v Bz), 133,6 (*p*-C v Bz), 135,9 (C-7), 141,2 (C-8a), 165,1 (C=O v Bz), 165,2 (C=O v Bz), 166,2 (C=O v 3'-*O*-Bz), 171,6 (C-2), 194,1 (C-4) ppm.

HRMS (ESI⁺): pro C₃₇H₃₁NO₁₀ ([M+H]⁺) kalk: 650,2021; nalezená: 650,2015.

MS (ESI⁺) m/z (%): 688,2 ([M+K]⁺, 17), 672,3 ([M+Na]⁺, 49), 667,3 ([M+NH₄]⁺, 26), 648,3 ([M-H]⁻, 100), 526,3 ([M-C₇H₆O₂]⁻, 13).

IČ (KBr): 1719 (s), 1684 (m), 1601 (m), 1584 (w), 1488 (w), 1470 (m), 1452 (w), 1380 (w), 1342 (w), 1316 (m), 1271 (s), 1185 (w), 1130 (m), 1113 (m), 1096 (m), 1069 (m), 1026 (w), 769 (w), 749 (w), 708 (s), 686 (w) cm⁻¹.

Název	3-Ethyl-4-hydroxy-1-(2,3,5-tri- <i>O</i> -benzoyl-D-ribofuranosyl)chinolin-2(1 <i>H</i>)-on (10)	
Výtěžek	31 %	
Bod tání	182–186 °C	
Vzhled	Bezbarvý prášek	
R_f	68 (CHCl ₃ /EtOAc; 7/3; v/v)	

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): 1,14 (t, 3H, $J = 7,5$ Hz), 2,58 (dq, 1H, $J = 14,8, 7,4$ Hz, H- α v CH₂ v Et), 2,70 (dq, 1H, $J = 14,8, 7,3$ Hz, H- β v CH₂ v Et), 4,70 (dd, 1H, $J = 12,1, 4,1$ Hz, H-5' α), 4,75 (dd, 1H, $J = 12,1, 3,6$ Hz, H-5' β), 5,12 (ddd, 1H, $J = 6,5, 3,3, 3,2$ Hz, H-4'), 6,01 (s, 1H, OH), 6,06 (dd, 1H, $J = 6,0, 6,0$ Hz, H-3'), 6,23 (dd, 1H, $J = 5,6, 5,5$ Hz, H-2'), 7,16 (dd, 2H, $J = 7,9, 7,8$ Hz, 2 \times *m*-H v Bz), 7,21-7,29 (m, 4H, H-6 a 3 H-Ar), 7,39-7,51 (m, 7H, 2 \times *o*-H v 2-*O*-Bz a 4 \times H-Ar), 7,53-7,57 (m, 2H), 7,85 (dd, 2H, $J = 8,2, 1,1$ Hz, 2 \times *o*-H v 3-*O*-Bz), 7,95 (dd, 1H, $J = 8,1, 1,4$ Hz, H-5), 8,07-8,11 (m, 3H, 2 \times *o*-H v 5-*O*-Bz, a H-8) ppm.

¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz): 12,7 (CH₃), 17,3 (CH₂ v Et), 64,3 (C-5'), 72,0 (C-2'), 72,0 (C-3'), 78,6 (C-4'), 86,2 (C-1'), 111,6 (C-3), 116,3 (C-4a), 117,2 (C-8), 122,1 (C-6), 122,9 (C-5), 128,1, 128,3, 128,6, 128,6, 128,7, 129,3, 129,4 (C-7), 129,7 (*o*-C v 3-*O*-Bz), 129,8 (*o*-C v 5-*O*-Bz), 129,8, 133,2 (*i*-C), 133,4 (*i*-C), 133,5 (*i*-C), 137,4 (C-8a), 155,9 (C-4), 163,5 (C-2), 165,0 (CO v 2-*O*-Bz), 165,1 (CO v 3-*O*-Bz), 166,3 (CO v 5-*O*-Bz) ppm.

HRMS (ESI⁺): pro C₃₇H₃₂NO₉ ([M + H]⁺) kalk.: 634.2072, nalezená: 634.2071.

MS (ESI⁺) m/z (%): 672.2 ([M+K]⁺, 52), 656.2 ([M+Na]⁺, 143), 634.3 ([M+H]⁺, 100).

IČ (KBr): 1729 (s), 1632 (m), 1613 (m), 1601 (m), 1588 (m), 1568 (m), 1502 (w), 1451 (w), 1371 (w), 1357 (w), 1336 (w), 1314 (w), 1285 (m), 1264 (s), 1192 (w), 1171 (w), 1159 (w), 1127 (w), 1102 (m), 1068 (w), 1025 (w), 909 (w), 760 (w), 707 (s), 687 (w) cm⁻¹.

Název	8-Benzyoxy-9-benzyloxymethyl-6-ethyl-7a,8,9,10a-tetrahydro-5H-furo[2',3':4,5]oxazolo[3,2-a]chinolin-5-on (11)	
Výtěžek	30 %	
Bod tání	200–203 °C	
Vzhled	Bezbarvý prášek	
R_f	15 (CHCl ₃ /EtOAc; 5/3; v/v)	

¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz): 1,13 (t, 3H, *J* = 7,4 Hz, CH₃), 2,53-2,62 (m, 2H, CH₂ v Et), 4,24-4,32 (m, 2H, OCH₂), 4,82 (ddd, 1H, *J* = 6,6, 6,6, 1,4 Hz, H-9), 5,63 (d, 1H, *J* = 5,6 Hz, H-7a), 5,81 (s, 1H, H-8), 6,73 (d, 1H, *J* = 5,6 Hz, H-10a), 7,32-7,36 (m, 3H, H-3, H-3" a H-5"), 7,44 (d, 1H, *J* = 8,2 Hz, H-1), 7,49-7,53 (m, 3H, H-3', H-5' a H-4"), 7,56 (ddd, 1H, *J* = 7,7, 7,7, 1,4 Hz, H-2), 7,66 (ddd, 1H, *J* = 7,5, 7,5, 2,2 Hz, H-4'), 7,77 (dd, 2H, *J* = 7,2, 1,2 Hz, H-2" a H-6"), 8,10 (dd, 2H, *J* = 7,2, 1,2 Hz, H-2' a H-6'), 8,35 (dd, 1H, *J* = 8,0, 1,1 Hz, H-4) ppm.

¹⁵N NMR (CDCl₃, 51 MHz): 129.45 (s) ppm.

¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz): 13,5 (CH₃), 15,9 (CH₂ z Et), 62,5 (OCH₂), 78,3 (C-8), 83,6 (C-9), 87,7 (C-7a), 90,2 (C-10a), 103,3 (C-6), 114,4 (C-1), 123,8 (C-3), 124,2 (C-4a), 127,1 (C-4), 128,35 (C-3" a C-5"), 128,4 (C-1'), 128,7 (C-3', 5'), 129,0 (C-1"), 129,6 (C-2", 6"), 130,0 (C-2', 6'), 131,6 (C-2), 133,3 (C-4"), 134,1 (C-4'), 134,2 (C-11a), 157,0 (C-6a), 165,3 (8-OCO), 165,7 (9-CH₂OCO), 178,6 (C-5) ppm.

HRMS (ESI+): pro C₃₀H₂₅NO₇⁻ ([M+H]⁺) kalk.: 512.1704; nalezená: 512,1719.

IČ (KBr): 1720 (s), 1638 (m), 1618 (m), 1588 (m), 1547 (m), 1507 (m), 1451 (w), 1438 (w), 1316 (w), 1272 (s), 1174 (m), 1153 (w), 1111 (m), 1097 (m), 1067 (m), 1027 (w), 981 (w), 761 (w), 709 (m) cm⁻¹.

Název	2,3,5-Tri- <i>O</i> -benzoyl-D-ribofuranosyl-2,3,5-tri- <i>O</i> -benzoyl-D-ribofuranosid (12)	
Výtěžek	25 %	
Bod tání	128–132 °C	
Vzhled	Bezbarvý prášek	
R_f	64 (CHCl ₃ /EtOAc; 5/3; v/v)	

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): 4,56-4,70 (m, 2H, H-5α a H-5α'), 4,74-4,78 (m, 4H, H-4, H-5β, H-4' a H-5β'), 5,68 (d, 2H, H-2 a H-2'), 5,72 (s, 1H, H-1 a H-1'), 5,88 (dd, 2H, *J* = 6,8, 4,9 Hz, H-3 a H-3'), 7,28 (dd, 4H, *J* = 7,8, 7,8 Hz, *m*-H v 5-*O*-Bz a *m*-H v 5'-*O*-Bz), 7,31 (dd, 4H, *J* = 7,8, 7,8 Hz, *m*-H v 3-*O*-Bz a *m*-H v 3'-*O*-Bz), 7,40 (dd, 4H, *m*-H v 2-*O*-Bz a *m*-H v 2'-*O*-Bz), 7,43 (ddd, 2H, *J* = 7,5, 7,5, 2,1 Hz, *p*-H v 5-*O*-Bz a *p*-H v 5'-*O*-Bz), 7,50 (ddd, 2H, *J* = 7,5, 7,5, 2,3 Hz, *p*-H v 3-*O*-Bz a *p*-H v 3'-*O*-Bz), 7,56 (ddd, 2H, *J* = 7,4, 7,4, 2,3 Hz, *p*-H v 2-*O*-Bz a *p*-H v 2'-*O*-Bz), 7,87 (dd, 4H, *J* = 7,2, 2,0 Hz, *o*-H v 3-*O*-Bz a *o*-H v 3'-*O*-Bz), 7,94 (dd, 4H, *J* = 8,4, 1,2 Hz, *o*-H v 2-*O*-Bz a *o*-H v 2'-*O*-Bz), 7,98 (dd, 4H, *J* = 8,4, 1,2 Hz, *o*-H v 5-*O*-Bz a *o*-H v 5'-*O*-Bz) ppm.

¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz): 64,60 (C-5 a C-5'), 72,07 (C-3 a C-3'), 75,65 (C-2 a C-2'), 79,65 (C-4 a C-4'), 101,11 (C-1 a C-1'), 128,33 (*m*-C v 3-*O*-Bz a *m*-C v 3'-*O*-Bz), 128,38 (*m*-C v 5-*O*-Bz a *m*-C v 5'-*O*-Bz), 128,41 (*m*-C v 2-*O*-Bz a *m*-C v 2'-*O*-Bz), 128,86 (*i*-C v 3-*O*-Bz a *i*-C v 3'-*O*-Bz), 129,09 (*i*-C v 2-*O*-Bz a *i*-C v 2'-*O*-Bz), 129,52 (*i*-C v 5-*O*-Bz a *i*-C v 5'-*O*-Bz), 129,54 (*o*-C v 5-*O*-Bz a *o*-C v 5'-*O*-Bz), 129,77 (*o*-C v 3-*O*-Bz a *o*-C v 3'-*O*-Bz), 133,13 (*p*-C v 5-*O*-Bz a *p*-C v 5'-*O*-Bz), 133,37 (*p*-C v 3-*O*-Bz a *p*-C v 3'-*O*-Bz), 133,41 (*p*-C v 2-*O*-Bz a *p*-C v 2'-*O*-Bz), 164,91 (2-*O*-CO a 2'-*O*-CO), 165,25 (3-*O*-CO a 3'-*O*-CO), 166,07 (5-*O*-CO a 5'-*O*-CO) ppm.

IČ (KBr): 1726 (s), 1685 (w), 1676 (w), 1663 (w), 1654 (w), 1637 (w), 1629 (w), 1618 (w), 1601 (w), 1584 (w), 1560 (w), 1451 (w), 1389 (w), 1376 (w), 1364 (w), 1339 (w), 1316 (m), 1272 (s), 1177 (w), 1123 (m), 1110 (m), 1070 (w), 1050 (w), 1025 (w), 954 (w), 939 (w), 710 (m) cm⁻¹.

Název	3-Fenyl-4-hydroxy-1-(2,3,5-tri- <i>O</i> -benzoyl-D-ribofuranosyl)chinolin-2(1 <i>H</i>)-on (13)	
Výtěžek	31 %	
Bod tání	99–103 °C	
Vzhled	Bezbarvý prášek	
R_f	73 (CHCl ₃ /EtOH; 9/1; v/v)	

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): 4,71 (t, 1H, H-4'), 4,72-4,88 (m, 1H, 2 × H-5'), 6,34 (dd, 1H, H-3'), 6,44 (dd, 1H, H-2'), 6,73 (s, 1H, H-1'), 7,25 (d, 1H, H-6), 7,4 (t, 1H, H-7), 7,43-7,58 (m, 6H, *o*-C v Ph, *p*-C v Ph, *m*-C v Ph a 3 × *p*-C v Bz), 7,61 (d, 1H, H-8), 7,92 (t, 2H, *o*-C v 2'-*O*-Bz a *o*-C v 3'-*O*-Bz), 8,03 (dd, 1H, H-5), 8,10 (dd, 1H, *o*-C v 5'-*O*-Bz) ppm.

¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz): 63,9 (C-5'), 71,1 (C-3'), 73,6 (C-2'), 79,5 (C-4'), 89,6 (C-1'), 111,6 (C-3), 114,1 (C-8), 116,0 (C-4a), 122,6 (C-6), 124,5 (C-5), 128,3, 128,3, 128,4 (3 × *m*-C v Bz), 128,9 (*p*-C v Ph), 129,0, 129,1 (2 × *i*-C v Bz), 129,7, 129,7, 129,8 (3 × *o*-C v Bz), 129,9 (*m*-C v Ph), 130,7 (*o*-C v Ph), 130,8 (*i*-C v Ph), 131,3 (C-7), 133,0, 133,3, 133,4 (3 × *p*-C v Bz), 138,4 (C-8a), 156,6 (C-4), 162,2 (C-2), 165,1 (C=O z 3'-*O*-Bz), 165,4 (C=O z 2'-*O*-Bz), 166,3 (C=O z 5'-*O*-Bz) ppm.

HRMS (ESI+): pro C₄₁H₃₁NO₉ ([M+H]⁺) kalk.: 682,2072; nalezená: 682,2061.

MS (ESI+) m/z (%): 720,3 ([M+K]⁺, 292), 704,3 ([M+Na]⁺, 400), 682,2 ([M+H]⁺, 100).

Název	2,3,5-tri- <i>O</i> -benzoyl-D-ribofuranosa (14)	
Výtěžek	33 %	
Bod tání	99-103 °C	
Vzhled	Bezbarvý prášek	
R_f	73 (CHCl ₃ /EtOH; 9/1; v/v)	

IČ (KBr): 1727 (s), 1602 (w), 1451 (w), 1376 (w), 1339 (w), 1317 (m), 1273 (s), 1177 (w), 1137 (m), 1124 (m), 1110 (s), 1071 (w), 1050 (w), 1025 (w), 954 (w), 939 (w), 710 (s), 687 (w) cm⁻¹.

EA: pro C₂₆H₂₂O₈ vypočteno: 67,53 % C; 4,80 % H; nalezeno: 67,87 % C; 4,72 % H

ZÁVĚR

Cílem této práce bylo provést *N*-ribosylace 4-hydroxychinolin-2(1*H*)-onů **1** substituovaných v poloze 3 a u sloučeniny **1c** i v poloze 6 přes jejich chráněné intermediáty. Výchozí látky **1a-c** byly připraveny známou kondenzací anilinů se substituovanými diethyl-malonáty. Pro přípravu *N*-ribosidů těchto sloučenin je nutné nejen ochránit hydroxylovou skupinu v poloze 4 chinolonového skeletu, ale také enolizovanou hydroxylovou skupinu na C-2. Protekce sloučenin **1a-c** byla provedena varem jejich suspenze v hexamethyldisilazanu.

Ribosylace byly prováděny v přítomnosti dvou různých Lewisových kyselin a to buď SnCl₄ nebo TMSOTf. Nejprve byla podrobena glykosylaci silylovaná sloučenina **7a**, která byla ponechána reagovat s chráněnou ribofuranosou **8** v přítomnosti TMSOTf. Z této reakce byla izolována neočekávaná sloučenina **9**, která měla cukerný zbytek vázaný přes atom kyslíku v poloze 2 na chinolinovém kruhu. Tento experiment byl za stejných podmínek opakován, pouze se zvýšila doba silylace. Z této reakce byl získán požadovaný produkt **10**. Domníváme se, že vznik rozličných produktů byl způsoben různou dobou silylace. Analogickým způsobem byla provedena i reakce v přítomnosti SnCl₄, kdy byly ze směsi separovány tři různé produkty. Jeden byl identifikován jako nezreagovaná výchozí látka **1a**, zbylé dva byly charakterizovány pomocí dostupných analýz jako sloučeniny **11** a **12**. Struktura **12** byla identifikována pomocí NMR a informací dostupných v literatuře, kde byl popsán vznik identické sloučeniny právě při přípravě *N*-ribosidů v přítomnosti SnCl₄. Vznik neočekávaného produktu **11** si vysvětlujeme mechanismem navrženým ve **Schématu 23**.

Další reakce byly obdobně prováděny i se sloučeninou **7b**. Z reakce v přítomnosti TMSOTf byl izolován očekávaný produkt **13**. Analogickým postupem tentokrát s SnCl₄ byla získána pouze sloučenina **14**.

Posledními prováděnými reakcemi byly ribosylace sloučeniny **7c** v přítomnosti TMSOTf. Přestože během monitorování reakční směsi pomocí TLC byly detekovány 4 různé sloučeniny, z nichž jedna byla výchozí látka **1c**, při pokusu o separaci těchto produktů na sloupcové chromatografii, došlo k absolutní degradaci produktů na výchozí 4-hydroxychinolin-2(1*H*)-on **1c**.

Z předložených výsledků lze tedy usuzovat, že během provádění těchto reakcí je velmi důležité dbát na dostatečnou dobu silylace a práci v absolutně suchém prostředí. Také získaná reakční směs by měla být rychle a efektivně zpracována, aby nemohlo dojít k nežádoucímu rozpadu produktů, popřípadě k jejich oxidaci.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- ¹ ZHU, X., SCHMIDT, R. R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, 48, 1900–1934.
- ² ANDERSSON, M., MACGOWAN, A. P. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* **2003**, 51, 1–11.
- ³ HAMPL, F., RÁDL, S., PALEČEK, J. *Farmakochemie.* 2. vyd. Praha: Vydavatelství VŠCHT Praha, **2011**, 450 s. ISBN 978-80-7080-639-5.
- ⁴ PŘÍBORSKÝ, J. *Chinolony.* Praha: Maxdorf, **2000**, 112 s. ISBN 80-85912-16-3.
- ⁵ AZAD, M., MUNAWAR, A. M., ATHAR, M. *Journal of Applied Sciences.* **2007**, 7 (12), 1620–1625.
- ⁶ ABASS, M., MOHAMED, E. A., ISMAIL, M. M., MAYAS, A. S. *J. Mex. Chem. Soc.* **2011**, 55 (4), 224–232.
- ⁷ NORTON, D. *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry, vol. 63.* Academic Press, **2010**, 456 s. ISBN 978-0-12-380856-1.
- ⁸ MORAVCOVÁ, J. *Biologicky aktivní přírodní látky.* Praha: VŠCHT, **2006**, 107 s.
- ⁹ MCMURRY, J. *Organická chemie.* 1. vyd. Brno: Nakladatelství Vutium, **2007**, 1260 s. ISBN 978-80-7080-637-1.
- ¹⁰ DEMCHENKO, A. V. *Handbook of Chemical Glycosylation: Advances in Stereoselectivity and Therapeutic Relevance.* WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, **2008**. ISBN 978-3-527-31780-6.
- ¹¹ WAGNER, G., SCHMIDT, R. *Arch. Pharm. Ber. Dtsch. Pharm. Ges.* **1965**, 298, 481–491.
- ¹² WAGNER, G., PISCHEL, H. *Naturwissenschaften.* **1963**, 48, 454; *Chem. Abstr.* **1962**, 56, 38710.
- ¹³ WAGNER, G., SCHMIDT, R. *Z. Chem.* **1964**, 4, 145–146.
- ¹⁴ WAGNER, G., SCHMIDT, R. *Arch. Pharm. Ber. Dtsch. Pharm. Ges.* **1965**, 298, 466–475.
- ¹⁵ SVOBODA, J. *Organická syntéza.* 1. vyd. Praha: Vydavatelství VŠCHT Praha, **2000**, 302 s. ISBN 978-80-7080-385-1.

- ¹⁶ KAMERLING, J.P., *et al.* *Comprehensive Glycoscience*. 1. vyd. The Netherlands: Utrecht University, **2007**. ISBN 978-0-444-52746-2.
- ¹⁷ KOCIENSKI, J. P. *Protecting Groups*. 3. vyd. Stuttgart: Georg Thieme Verlag, **2005**, 679 s. ISBN 3-13-135603-0.
- ¹⁸ KNAPP, D. R. *Handbook of Analytical Derivatization Reactions*. New York: John Wiley & Sons, **1979**, 741 s. ISBN 978-0-471-03469-8.
- ¹⁹ STANĚK, J., ČERNÝ, M. *Monosacharidy*. 1. vyd. Praha: ČSAV, **1960**, 519 s.
- ²⁰ TIPSON, R. S. *Advances in Carbohydrate Chemistry*. New York: Academic Press, Inc., **1979**. ISBN 0-12-007236-X.
- ²¹ PAQUETTE, L. A. *Organic Reactions, Volume 55*. New York: John Wiley & Sons, **1999**, 672 s. ISBN 978-0-471-37614-9.
- ²² ROMPAEY, P. *Synthesis and Biological Evaluation of Modified Adenosine and Thymidine Nucleoside Analogues*. Belgium, **2004**. Disertační práce. Universiteit Gent, Faculty of Pharmaceutical Sciences.
- ²³ CARELL, T. *Synthesis of Nucleotides and Oligonucleotides* [online]. [cit. 2012-04-05]. Dostupné z: <http://www.cup.uni-muenchen.de/oc/carell>.
- ²⁴ VORBRÜGGEN, H., HÖFLE, G. *Chem. Ber.* **1981**, 114, 1256–1268.
- ²⁵ SALIM, S. „*Molecular Chameleons*“: *design and synthesis of a second series of flexible nucleosides*. Georgia, **2004**. Disertační práce. Georgia Institute of Technology, College of Sciences.
- ²⁶ VORBRÜGGEN, H., NIEDBALLA, U. *J. Org. Chem. Vol. 39.* **1974**, 39, 3668–3671.
- ²⁷ CURRIE, B. L., ROBINS, R. K., ROBINS, M. J. *J. Heterocycl. Chem.* **1970**, 7, 323-329.
- ²⁸ ROBINS, M. J., CURRIE, B. L. *Chem. Commun.* **1968**, 1547–1548.
- ²⁹ JOSEPH, A. A., *et al.* *Eur. J. Org. Chem.* **2012**, 744–753.
- ³⁰ MCNAMARA, D.J., *et al.* *J. Med. Chem.* **1990**, 33, 2006–2011.
- ³¹ CURRIE, B. L., ROBINS, M. J., ROBINS, R. K. *J. Heterocycl. Chem.* **1971**, 8, 221-224.
- ³² JAIN, P. C., ANAND, N. *Indian J. Chem.* **1968**, 6, 767–768.

- ³³ ADAMS, M. M., *et al.* *Collect. Czech. Chem. Commun.* **2006**, 71, 978–990.
- ³⁴ BAUMGARTEN, P., KÄRGEL, W. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1927**, 60, 832–842.
- ³⁵ KIMMEL, R., KAFKA, S., KOŠMRLJ, J. *Carbohydrate Research.* **2010**, 345, 768–779.
- ³⁶ HANNA, N. B., ZAJÍČEK, J., PÍSKALA, A. *Nucleosides and Nucleotides.* **1997**, 16, 129–144.
- ³⁷ AITKEN, D. J., *et al.* *J. of Chem. Soc.* **1993**, 5, 597–608.
- ³⁸ LERNER, L. M. *Carbohydrate Research.* **1990**, 207, 138–141.
- ³⁹ LERNER, L. M. *Carbohydrate Research.* **1990**, 199, 116–120.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

α -AGB	acetobrom- α -D-glukosa
Ac	acetyl
Bz	benzoyl
COSY	2D-NMR Correlation Spectroscopy
DCE	1,2-dichlorethan
EA	elementární analýza
Et	ethyl
ESI-MS	hmotnostní spektrometrie s elektrosprejovou ionizací
HMBC	heteronuclear multiple bond correlation
HRMS	hmotnostní spektrometrie s vysokým rozlišením
HSQC	heteronuclear single-quantum correlation
IČ	infračervená spektroskopie
Me	methyl
MeCN	acetonitril
NMR	nukleární magnetická rezonance
Ph	fenyl
TMSOTf	trimethylsilyl-trifluormethansulfonát

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1. Kyselina nalidixová a chinolin-2(1 <i>H</i>)-on.....	11
Obrázek 2. Struktura 4-hydroxychinolin-2(1 <i>H</i>)-onu.	11
Obrázek 3. Silylové chránicí skupiny	16
Obrázek 4. ESI-MS spektrum prvního řádu sloučeniny 13	32
Obrázek 5. ^1H - ^{13}C HMBC spektrum sloučeniny 10	34
Obrázek 6. ^1H - ^{13}C HMBC spektrum sloučeniny 9	35
Obrázek 7. ESI-MS spektra sloučeniny 9 ; (a) +MS, (b) -MS.....	36
Obrázek 8. ^1H - ^{13}C HMBC spektrum sloučeniny 11	37
Obrázek 9. ^1H - ^{15}N HMBC spektrum sloučeniny 10	38
Obrázek 10. ^1H - ^{13}C HMBC spektrum sloučeniny 12	39