

Fakulta chemicko-technologická  
*Ústav organické chemie a technologie*

2019

## DIPLOMOVÁ PRÁCE

Syntéza klíčového meziprojektu entecaviru vycházejícího z chráněného Corey  
alkoholu-A (-), identifikace nečistot a jejich vliv na průběh procesu.

Autor práce: Bc. Vojtěch Šimon

Vedoucí práce: doc. Ing. Aleš Imramovský, Ph.D.

## ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Vojtěch Šimon**  
Osobní číslo: **C17532**  
Studijní program: **N2808 Chemie a technologie materiálů**  
Studijní obor: **Technologie organických specialit**  
Název tématu: **Syntéza klíčového meziprojektu entecaviru vycházejícího z chráněného Corey alkoholu-A (-), identifikace nečistot a jejich vliv na průběh procesu**  
Zadávací katedra: **Ústav organické chemie a technologie**

### Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

Na základě studia současné odborné literatury a Vaší experimentální činnosti vypracujte diplomovou práci s respektováním níže uvedených bodů:

1. Corey alkohol-A (-) jako chirální meziprojekt biologicky aktivních sloučenin, jeho syntéza a využití.
2. Entecavir - využití a syntetické přístupy k cílové molekule a klíčovému meziprojektu.
3. Syntetické přístupy k opticky čistému chráněnému (1*R*,3*S*,4*R*)-4-(hydroxymethyl)-5-methylencyklopentan-1,3-diolu jako klíčovému meziprojektu entecaviru popsané v současné odborné a patentové literatuře.
4. Experimentální ověření syntézy (1*R*,3*S*,4*R*)-4-(hydroxymethyl)-5-methylencyklopentan-1,3-diolu z opticky čistého chráněného Corey alkoholu-A (-). Úprava reakčních podmínek s cílem zvýšení výtěžku, případně snížení obsahu nečistot.
5. Izolace a identifikace nečistot syntézy a ověření jejich vlivu na další reakční stupně přípravy intermediátu.
6. Sepište závěrečnou zprávu.

Rozsah grafických prací:

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

**Všechna dostupná chemická literatura.**

Vedoucí diplomové práce:

**doc. Ing. Aleš Imramovský, Ph.D.**

Ústav organické chemie a technologie

Datum zadání diplomové práce: **28. února 2019**

Termín odevzdání diplomové práce: **10. května 2019**



prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.  
děkan

L.S.



prof. Ing. Miloš Sedlák, DrSc.  
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2019

## Čestné prohlášení

Tuto práci jsem vypracoval samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využil, jsou uvedeny v seznamu použité literatury. Byl jsem seznámen s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 9/2012, bude práce zveřejněna v Univerzitní knihovně a prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne: 10.5.2019

Vojtěch Šimon

## Poděkování

Na tomto místě bych chtěl především poděkovat vedoucímu mé bakalářské práce doc. Ing. Alešovi Imramovskému, Ph.D. a Ing. Karlu Paukovi, Ph.D. za trpělivost, užitečné rady a velmi vstřícný přístup během celého mého působení v laboratoři a při vypracovávání diplomové práce.

Dále bych chtěl poděkovat svým blízkým za podporu všemi možnými prostředky během mého studia.

## ANOTACE

Byla navržena syntéza klíčového meziproduktu (1*R*,3*S*,4*R*)-4-(hydroxymethyl)-5-methylencyklopentan-1,3-diolu. V laboratorním měřítku byl ověřen syntetické postup vycházející z opticky čistého Corey alkoholu-A (-). Byly zvoleny základní parametry ovlivňující reakci a ty byly měněny s cílem zvýšení výtěžku požadovaného meziproduktu. Byly izolovány a identifikovány nečistoty syntézy a byl ověřován jejich vliv na průběh reakce připravovaného intermediátu.

## KLÍČOVÁ SLOVA

Corey alkohol-A (-), (1*R*,3*S*,4*R*)-4-(hydroxymethyl)-5-methylencyklopentan-1,3-diol, optimalizace, organická syntéza

## TITLE

The synthesis of the key intermediate (1*R*, 3*S*, 4*R*) -4- (hydroxymethyl) -5-methylenocyclopentane-1,3-diol was suggested. On a laboratory scale, a synthetic procedure based on optically pure Corey Alcohol-A (-) was verified. The basic parameters influencing the reaction were chosen and changed to increase the yield of the desired intermediate. Synthetic impurities were isolated and identified and their influence on the progress of the prepared intermediate was verified

## KEY WORDS

Corey alcohol-A (-), (1*R*,3*S*,4*R*)-4-(hydroxymethyl)-5-methylencyklopentane-1,3-diol, optimization, organic synthesis

# Obsah

1	Teoretická část.....	12
1.1	Corey alkohol-A (-) jako chirální meziprodukt biologicky aktivních sloučenin, jeho syntéza a využití .....	12
1.1.1	Technologicky využitelné deriváty Corey alkoholu .....	12
1.1.2	Další technologicky využitelné deriváty Corey alkoholu .....	14
1.1.3	Nejstarší syntéza Corey alkoholu z cyklopentadienu.....	15
1.1.4	Modifikovaná syntéza Corey alkoholu z cyklopentadienu .....	15
1.1.5	Stereoselektivní syntéza Corey alkoholu .....	16
1.1.6	Syntéza $\gamma$ -laktonu ze substituovaného norbordienu.....	17
1.1.7	Syntéza Corey alkohol diacetátu za pomoci grubbových katalyzátorů.....	17
1.2	Využití corey alkoholu při syntéze humánních a veterinárních léčiv .....	18
1.2.1	Prostaglandiny .....	18
1.2.2	Obecná syntéza prostaglandinů vycházející z technologických derivátů Corey alkoholu	18
1.2.3	Didemnenony a jejich syntéza vycházející z Corey alkoholu .....	19
1.2.4	Corey alkohol jako výchozí látka při přípravě antivirotik.....	20
1.2.5	Ribavirin .....	20
1.2.6	Entecavir.....	20
1.2.7	První syntéza entecaviru.....	21
1.2.8	Obecná syntéza entecaviru pomocí klíčového meziproduktu ( <i>1R,3S,4R</i> )-4-(hydroxymethyl)-5-methylenecyclopentan-1,3-diolu.....	22
1.3	( <i>1R,3S,4R</i> )-4-(hydroxymethyl)-5-methylenecyclopentan-1,3-diolu jako klíčový meziprodukt pro syntézu entecaviru.....	23
1.3.1	Syntézy dle F. E. Zieglera a M. A. Sarpongové. ....	23
1.3.2	Syntéza meziproduktu pomocí grubbova katalyzátoru.....	24
1.3.3	Syntéza klíčového meziproduktu pomocí epoxidace a následné cyklizace .....	25
1.3.4	Syntéza meziproduktu z carvonu pomocí favorského přesmyku .....	26

1.3.5	Syntéza meziprojektu využívající Petersonovu reakci.....	28
1.3.6	Syntézy ( <i>1R,3S,4R</i> )-4-(hydroxymethyl)-5-methylenecyklopentan-1,3-diolu vycházející z opticky čistého Corey alkoholu případně jeho derivátů .....	30
1.4	Návrh syntetické cesty.....	32
1.4.1	Návrh mechanismu reakce.....	33
2	Cíle práce .....	35
3	Diskuze výsledků.....	36
3.1	Ochrana primární alkoholové skupiny corey alkoholu-A (-) pomocí <i>tert</i> -butyldimethylsilil chloridu.....	36
3.2	Redukce laktonu na laktol .....	36
3.3	Optimalizace reakční sekvence.....	37
3.3.1	Stanovení základních parametrů a ovlivnění průběhu reakce syntézy meziprojektu 6.....	37
3.3.2	Izolace meziprojektu a vznikajících nečistot.....	38
3.3.3	Experimenty řešící oxidativní otevření kruhu .....	39
4	Experimentální část .....	41
4.1	Syntéza a charakterizace připravených sloučenin.....	42
4.1.1	Příprava TBSCl-PBP-Corey alkoholu (2) - experiment č.1 .....	42
4.1.2	Příprava TBSCl-PBP-Corey laktolu (3) – experiment č.2 .....	43
4.2	Oxidativní otevření kruhu – izolace nečistot .....	44
4.2.1	Příprava TBSCl-PBP-(Iodomethyl)cyklopentyl formátu (4) a izolace nečistot (2) a (5) – experiment č.3 .....	44
4.3	Příprava ( <i>1R,3S,4R</i> )-4-(hydroxymethyl)-5-methylenecyklopentan-1,3-diolu (6) – experiment č.4.....	46
4.4	Zjištění základních parametrů - experiment č.5 – 11 .....	46
4.5	Stanovení kalibračních řad .....	47
4.6	Sledování oxidativního otevírání kruhu pomocí HPLC .....	49
4.6.1	Experiment č.12 .....	49



4.6.2	Experiment č.13 .....	50
4.6.3	Experiment č.14 .....	51
4.6.4	Experiment č.15 .....	52
4.6.5	Experiment č.16 .....	53
4.6.6	Experiment č.17 .....	55
4.6.7	Experiment č.18 .....	55
5	Závěr .....	57
6	Seznam použité literatury .....	58

## SEZNAM ZKRATEK

LDA	diisopropylamid
LiAlH <sub>4</sub>	tetrahydridohlinitan lithný
DMAP	4-dimethylaminopyridin
PG	prostaglandin
DMP	Dess-Martinova oxidace
DA-TMP	diethyl-hlinitan 2,2,6,6-tetramethyl piperidin
TBSCl	<i>tert</i> -butyldimethylsilyl chlorid
PBP	<i>p</i> -fenyl benzoyl chlorid
DIPCl	chlordisopinocampheylboran
Cp <sub>2</sub> TiCl	dichlor titanocen
<i>m</i> -CPBA	<i>meta</i> -chlorperoxybenzoová kyselina
PSA	dimethoxypropan
NaBH <sub>4</sub>	tetrahydridoboritan sodný
DIBAL	diisobutylaluminium hydrid
DIAB	diacetoxyjod benzen
I <sub>2</sub>	jod
DBN	1,5-Diazabicyclo[4.3.0]non-5-en
THF	tetrahydrofuran
TLC	tenkovrstvá chromatografie
HPLC	kapalinová chromatografie

## Úvod

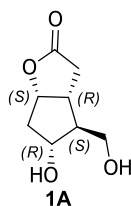
Farmaceutická výroba prochází neustálým vývojem a požadavky na zefektivnění výroby se neustále stupňují, jak ze strany ekonomiky, tak ze strany státu formou legislativy. Moderním trendem je zvyšování účinnosti procesu formou zvyšování výtěžku, aplikací moderních technologických postupů, snižování odpadních produktů a používání nebezpečných rozpouštědel. Zároveň může být v některých případech výhodné využití technologicky dostupných organických meziproductů i pro jiné účely, než pro které byly tyto meziproducty vyvinuty.

Opticky čistý Corey alkohol se stal klíčovým technologickým meziproductem v přípravě prostaglandinů, jejich syntetických analogů. I na výrobu Corey alkoholu, případně sloučenin z něj vycházejících jsou kladeny tytéž nároky uvedené výše, ale i nároky vyplývající z jeho podstaty, a to zejména na optickou čistotu. Vzhledem k ověřené syntetické cestě a globální dostupnosti opticky čistého Corey alkoholu, nabízí se i v tomto případě jeho využití pro syntézu/výrobu jiných biologicky aktivních sloučenin. V České republice se na přípravu opticky čistého i racemického Corey alkoholu a látek vycházejících z této sloučeniny specializuje například Cayman Pharma s.r.o. Neratovice. Společnost vyrábí prostaglandiny syntetickou cestou právě z opticky čistého případně racemického Corey alkoholu.

# 1 Teoretická část

## 1.1 Corey alkohol-A (-) jako chirální meziprodukt biologicky aktivních sloučenin, jeho syntéza a využití

Corey alkohol-A (-) je důležitý intermediát, který i v současné době zaujímá strategické postavení při výrobě přírodních prostaglandinů a jejich syntetických analogů. Poprvé byl syntetizován týmem pracovníků Harvardovy university v čele s E.J. Coreym, po němž je pojmenován. Corey alkohol je tvořen dvěma kondenzovanými pětičlennými cykly, z nichž jeden je tvořen jednoduchým cyklopentánovým cyklem a druhý cyklus tvoří tzv. laktonové uspořádání. Cyklopentánový cyklus je dále substituován jednou hydroxymethylovou funkční skupinou a jednou sekundární alkoholovou skupinou (**Obrázek 1**). Vhodnou ochranou jednotlivých funkčních skupin je pak umožněno bezproblémové provedení dalších reakcí na tomto skeletu.

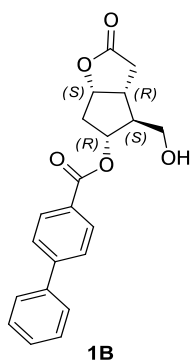


*Obrázek 1: Opticky čistý Corey alkohol-A (-)*

CAS číslo 32233-40-2. Molekulová hmotnost 172,18 g/mol. Bod tání 117-119 °C. Bod varu 262,5 °C, bílá krystalická látka (**Obrázek 1**).<sup>1</sup>

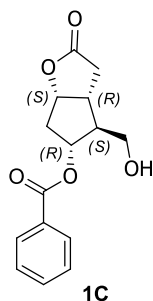
### 1.1.1 Technologicky využitelné deriváty Corey alkoholu

Následující deriváty (**Obrázek 2-5**), které mají ochráněnou sekundární alkoholovou skupinu a neochráněnou primární jsou technologické meziprodukty nejčastěji využitelné k přípravě prostaglandinů (**1.2.2**).



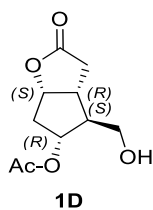
***Obrázek 2:** PBP - Corey alkohol*

CAS číslo 31752-99-5. Molekulová hmotnost 352,38 g/mol. Bod tání 131-132 °C. Bod varu 446 °C. Bílá krystalická látka (**Obrázek 2**).<sup>2</sup>



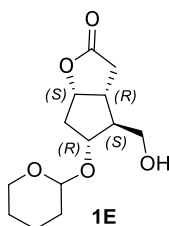
***Obrázek 3:** Corey alkohol benzoát*

CAS číslo 39746-00-4. Molekulová hmotnost 276,28 g/mol. Bod tání 116-120 °C. Bod varu 379,2 °C. Bílá krystalická látka (**Obrázek 3**).<sup>3</sup>



***Obrázek 4:** Corey alkohol acetát*

CAS číslo 26054-65-9. Molekulová hmotnost 214,22 g/mol (**Obrázek 4**).<sup>4</sup>

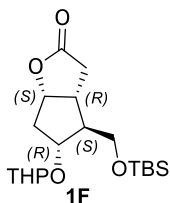


***Obrázek 5:** THP - Corey alkohol*

CAS číslo 69222-61-3. Molekulová hmotnost 256,29 g/mol. Bod vzplanutí 174,4 °C. Bod varu 454,2 °C. Hustota 1,26 g/cm<sup>3</sup>. Bezbarvý až nažloutlý olej (**Obrázek 5**).<sup>5</sup>

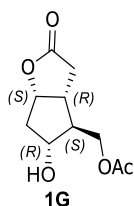
### 1.1.2 Další technologicky využitelné deriváty Corey alkoholu

Následující tři deriváty (**Obrázek 6-8**) nachází uplatnění při syntéze klíčového meziprojektu (1*R*,3*S*,4*R*)-4-(hydroxymethyl)-5-methylenecyclopentan-1,3-diolu, který se dále uplatňuje při syntéze entecaviru. Všechno jsou to látky dostupné z literatury popsané níže.



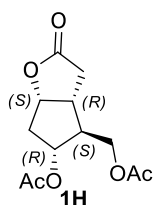
**Obrázek 6:** THP, TBS - corey alkohol

CAS číslo 65025-95-8. Molekulová hmotnost 370,6 g/mol. Bod tání 40-53 °C. Bod vzplanutí 113 °C (**Obrázek 6**).



**Obrázek 7:**  $\gamma$ -lakton

CAS číslo 57930-46-8. Molekulová hmotnost 214,22 g/mol. Bod vzplanutí 153 °C. Bod varu 383 °C. Bílá krystalická látka (**Obrázek 7**).<sup>6</sup>

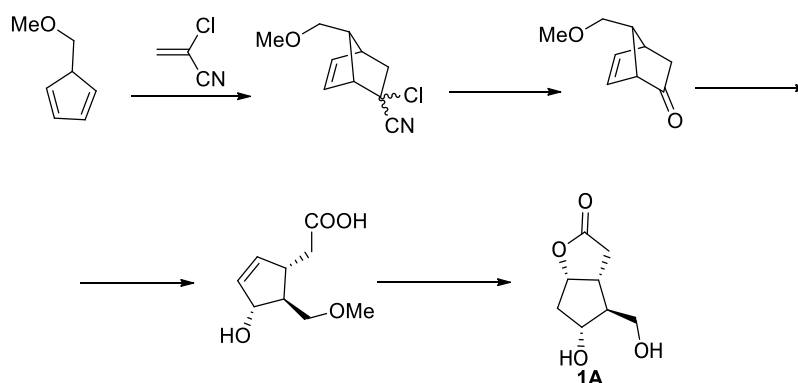


**Obrázek 8:** Corey alkohol diacetát

CAS číslo 62939-82-6. Molekulová hmotnost 256,3 g/mol (**Obrázek 8**).<sup>7</sup>

### 1.1.3 Nejstarší syntéza Corey alkoholu z cyklopentadienu

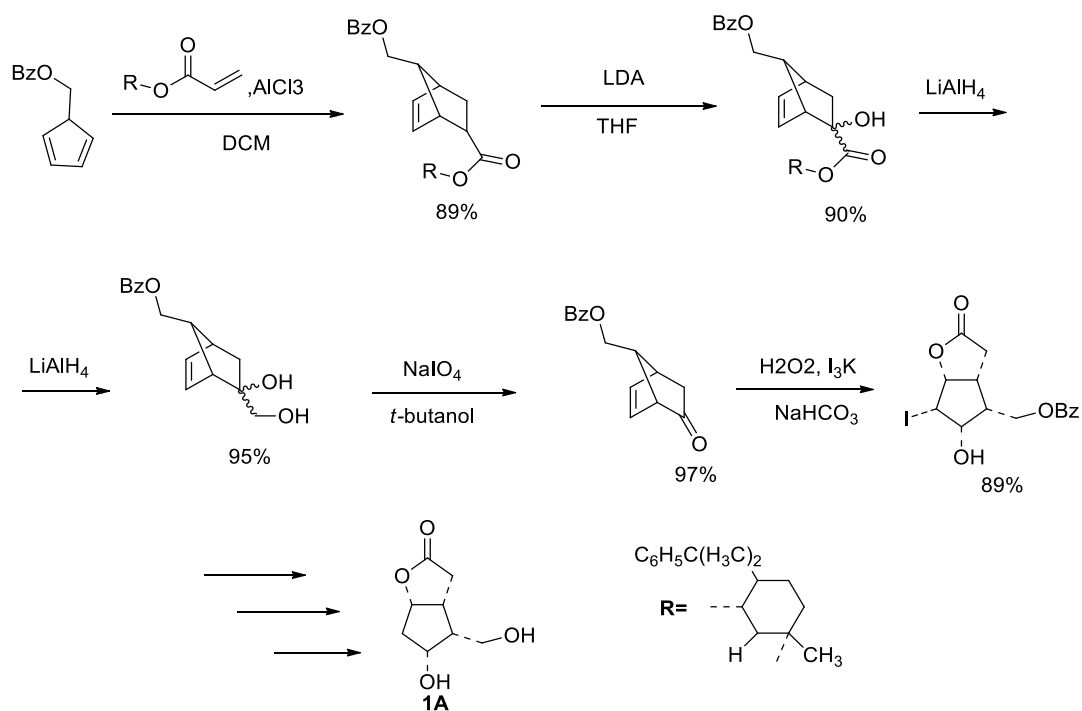
Jako nejstarší uvedená syntéza (*Schéma 1*) v literatuře je z roku 1969 od E.J. Coreye. Jako výchozí látka byl použit substituovaný cyklopentadien, který Diels-Alderovou reakcí zreagoval na bicyckickou sloučeninu. Následovala alkalická hydrolyza na bicykloheptanon, který zreagoval na hydroxy kyselinu, a poté následovala laktonizace a změna funkčních skupin na výsledný Corey alkohol diol (**1A**). V literatuře bohužel nejsou uvedeny výtěžky reakce.<sup>8</sup>



*Schéma 1: Syntéza corey diolu*

### 1.1.4 Modifikovaná syntéza Corey alkoholu z cyklopentadienu

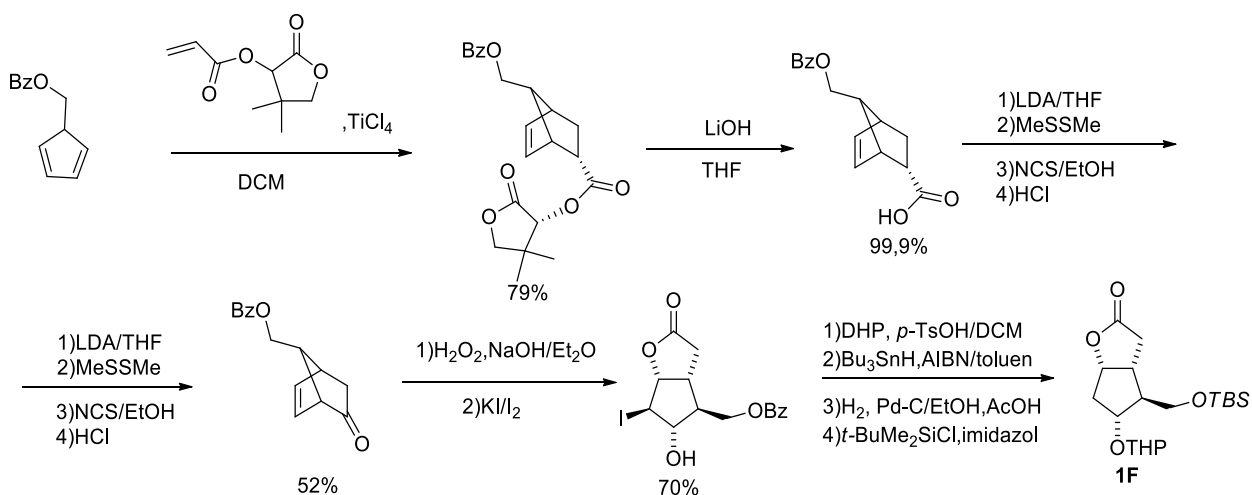
Druhou syntézu (*Schéma 2*) publikoval opět stejný kolektiv E. J. Coreye a jde o obdobnou syntézu, ovšem za použití jiných činidel. Vychází se z obdobně substituovaného pentadienu, který podléhá Diels-Alderovou reakci na příslušný ester. Následovala reakce s diisopropylamid lithným (LDA) za vzniku  $\alpha$ -esteru. Poté proběhla redukce za pomoci tetrahydridohlinitanu lithného ( $\text{LiAlH}_4$ ) a vznikl diol, který podléhal reakci s jodistanem sodným za vzniku laktonu, který byl další reakcí přeměněn na iodolakton a následoval několik reakcí, které zahrnovali odstranění jódu a ochránění benzylu, na výsledný racemický Corey alkohol (**1A**).<sup>9</sup>



*Schéma 2: Syntéza corey iodolaktonu*

### 1.1.5 Stereoselektivní syntéza Corey alkoholu

Pro porovnání je zde uvedena syntéza, kterou publikovali v roce 1991 výzkumný tým Katsuald Miyaji. Jsou zde podobné reakce jako ve *Schématu 2*, ovšem v této studii se snažili s využitím novějších reagujících sloučenin zvýšit enantioselektivitu a výtěžek, zatímco předchozí syntéza tento problém neřeší.<sup>10</sup>

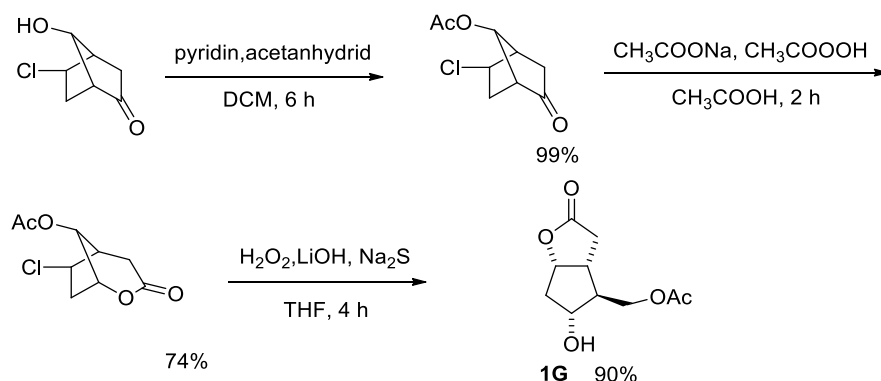


*Schéma 3: Vylepšená syntéza corey iodolactonu*



### 1.1.6 Syntéza $\gamma$ -laktonu ze substituovaného norbordienu

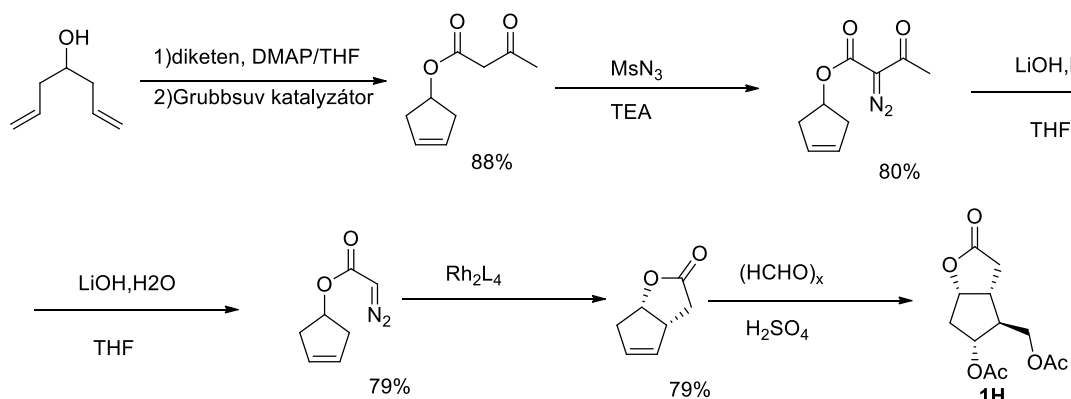
Další syntéza (*Schéma 4*) vychází z českého článku firmy Spolana, kde se využívá Baeyerova-Villigerova oxidace. První krok byla ochrana hydroxylové skupiny výchozí látky acetylací s téměř kvantitativním výtěžkem. Následovala již zmíněná Baeyer-Villigerova oxidace za vzniku příslušného laktonu. Nakonec byla provedena reakce s hydroxidem lithným s cílem získat příslušný  $\gamma$ -lakton.<sup>11,12,13</sup>



*Schéma 4: syntéza  $\gamma$ -laktonu*

### 1.1.7 Syntéza Corey alkohol diacetátu za pomoci grubbových katalyzátorů

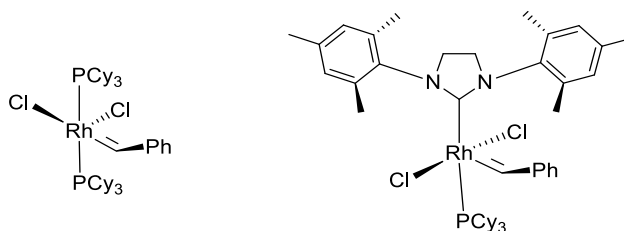
Následující syntéza (*Schéma 5*) publikovaná z roku 2003 vychází z odlišné výchozí látky než předchozí syntézy. Symetrický sekundární alkohol byl podroben reakci na diketen, a následně proběhla intramolekulární reakce za katalýzy grubbsova katalyzátoru. Dále následovala reakce s methansulfonyl azidem za vytvoření diazo sloučeniny, která byla deacylována pomocí hydroxidu lithného. Výsledná sloučenina byla podrobena reakci s komplexem rhodia a byl získán corey lakton. Nakonec Corey lakton podléhal reakci za vzniku Corey alkoholu diacetátu.<sup>14</sup>



*Schéma 5: Syntéza corey alkohol diacetátu*

### 1.1.7.1 Grubbsova katalýza

Katalyzátory typu Grubbs jsou série komplexů karbenu přechodného kovu, které se používají jako katalyzátory pro metatézu olefinů. Jsou jmenováni po Robertovi H. Grubbs, chemikovi, který dohlížel na jejich syntézu. Bylo vyvinuto několik generací katalyzátoru (**Obrázek 9**). Grubbsovy katalyzátory tolerují mnoho funkčních skupin v alkenových substrátech, jsou tolerantní vůči vzduchu a jsou kompatibilní s celou řadou rozpouštědel. Z těchto důvodů se Grubbsovy katalyzátory staly populárními v syntetické organické chemii.<sup>15,16</sup>



**Obrázek 9:** Grubbsovi katalyzátor I a II generace

## 1.2 Využití corey alkoholu při syntéze humánních a veterinárních léčiv

Corey alkohol-A (-) je chirální meziprodukt, který je komerčně dostupný a jako takový ho lze využít pro syntézu opticky čistých sloučenin pro výrobu léčiv jako jsou: Prostaglandiny (PG), didemnenony a antivirotika jako například ribavirin a entecavir.

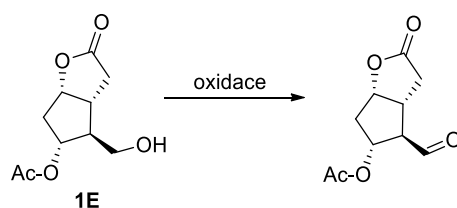
### 1.2.1 Prostaglandiny

PG jsou fyziologicky aktivní lipidové sloučeniny mající hormonální účinky. Byly nalezeny téměř v každé lidské i zvířecí tkáni. Jsou odvozeny od mastných kyselin. Každý prostaglandin obvykle obsahuje 20 atomů uhlíku a cyklopentanový cyklus.

V dnešní době existuje deset známých prostaglandinových receptorů na různých typech buněk. Rozmanitost receptorů znamená, že prostaglandiny působí na řadu buněk a mají širokou škálu účinků, jako je: regulují hormony, zánět, snižují nitrooční tlak, způsobují nahromadění nebo rozdělování destiček, vazodilatace hladkého svalstva.<sup>17</sup>

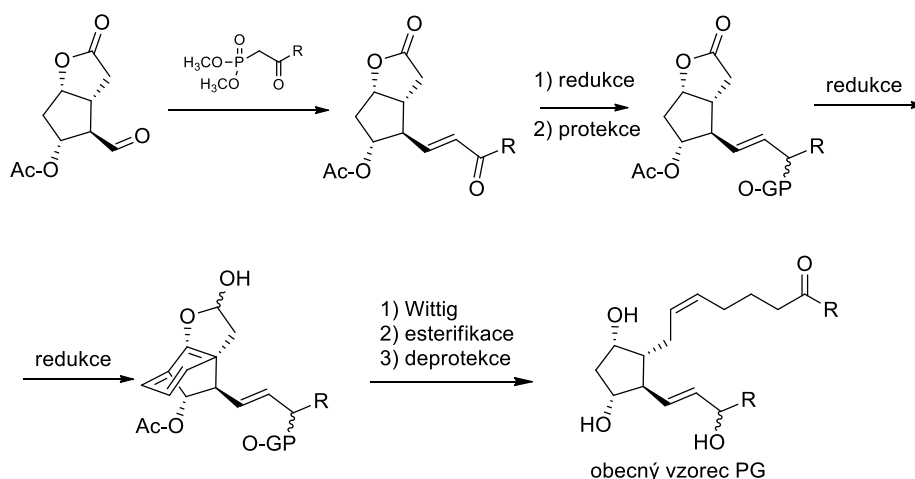
### 1.2.2 Obecná syntéza prostaglandinů vycházející z technologických derivátů Corey alkoholu

Při syntéze prostaglandinů se obecně vychází z Corey alkohol acetátu, který se oxiduje na Corey aldehyd. Možností, jak provést oxidaci (**Schéma 6**) je více, jako například pomocí Collinsova činidla (komplex oxidu chromového a pyridinu) nebo Dess-Martinovou oxidací (DMP). Důležité je si uvědomit, že Corey aldehyd v porovnání s Corey alkoholem je méně stabilní a nevhodný pro skladování, proto je Corey alkohol důležitější.<sup>18</sup>



*Schéma 6: oxidace corey alkohol acetátu na corey aldehyd*

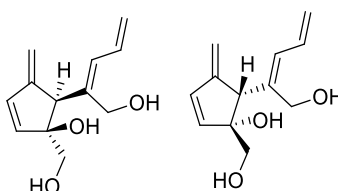
Obecná syntéza je popsána na následujícím *Schématu 7*. Ochráněný corey aldehyd podléhá Horner-Wadsworth-Emmonsovu couplingu za vzniku příslušné sloučeniny. Následuje redukce keto skupiny na alkohol a protekce alkoholové skupiny. Následovala redukce laktonu na laktol. Dále proběhla Wittigova reakce, esterifikace a finální deprotekcce za vzniku příslušného prostaglandinu.<sup>19</sup>



*Schéma 7: Obecná syntéza PG*

### 1.2.3 Didemnenony a jejich syntéza vycházející z Corey alkoholu

Didemnenony (*Obrázek 10*) jsou deriváty odvozené od Corey alkoholu, které jsou svojí strukturou odlišné od prostaglandinů a entecaviru. V literatuře je popsáno, že vykazovali cytotoxicitu vůči leukemickým buňkám u myši. Jejich podrobná syntéza je popsána v následující literatuře.<sup>20</sup>



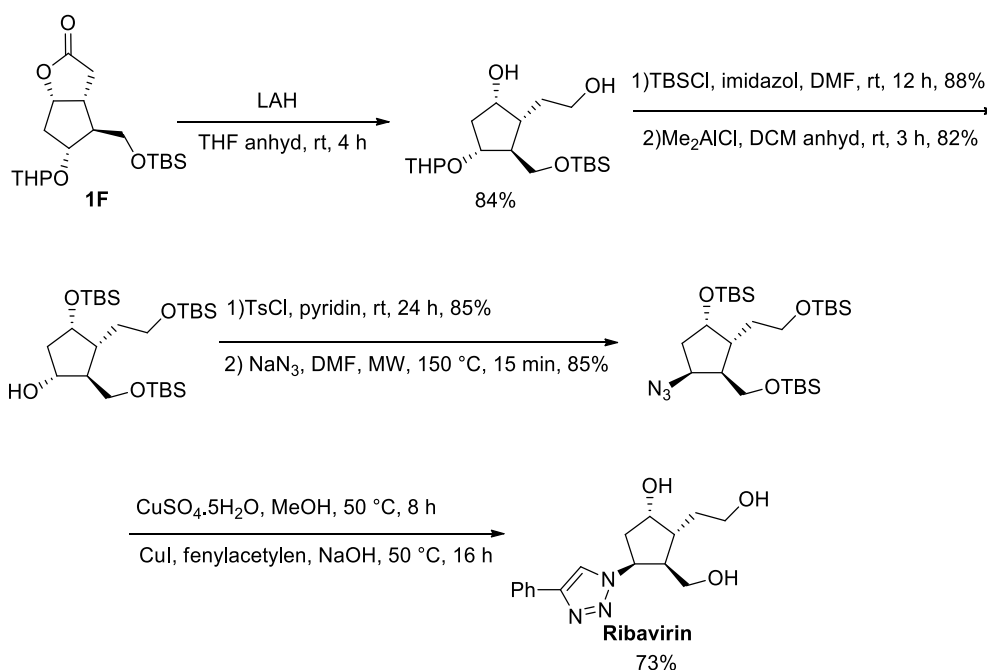
*Obrázek 10: Didemnenony*

### 1.2.4 Corey alkohol jako výchozí látka při přípravě antivirotik

Antivirotika jsou léčivé přípravky účinkující proti virům. Mechanismus účinku antivirotik spočívá buď v blokování receptorů pro viry na cílových buňkách (virus nemůže proniknout do buňky) nebo inhibicí syntézy DNA či RNA viru. Pro nás důležité jsou hlavně ribavirin a entecavir, kteří se syntetizují pomocí corey alkoholu, ale patří sem mnoho dalších jako například amantadin, rimantadin, trifluridin a další.

### 1.2.5 Ribavirin

Ribavirin je antivirotikum (obchodní název Copegus, Rebetol, Virazole a jiné), které se používá při léčbě RSA (respirační syncytiální virus), hepatitidy B a virové hemoragické horečky (horečka Lassa, krymsko-konžská horečka a infekce hantavirus). Syntéza ribavirinu je naznačená na následujícím *Schématu 8*.<sup>21</sup>



*Schéma 8: Syntéza ribavirinu*

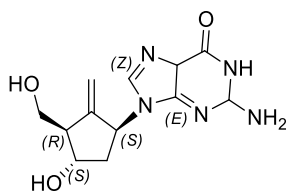
CAS číslo 36791-04-5. Molekulová hmotnost 244,21 g/mol. Bod tání 175 °C. Poločas rozpadu 2 dny při jednom užití, při opakovaném až 12 dní.

### 1.2.6 Entecavir

Entecavir (*Obrázek 11*) je antivirový lék (obchodní název Baracluda) používaný především při léčbě infekce virem hepatitidy B (HBV) u dospělých a dětí od dvou let, kteří mají problémy s jaterními enzymy. Také se využívá jako prevence reinfekce HBV u pacientů s čerstvě transplantovanými játry a dále u pacientů, kteří mají HBV a infikují se HIV.<sup>22</sup>

Entecavir se podává orálně a pacienti obecně dobře snášejí léčbu tímto lékem. Vedlejší účinky se většinou nevyskytují a pokud ano, tak jde obvykle o ty nejběžnější jako je: bolest hlavy, únava, závratě a nevolnost. V malém procentu případů se pak objevily vážnější vedlejší účinky jako: spánkové problémy, žaludeční problémy, zvracení a průjem.<sup>22</sup>

Entecavir je nukleosidový analog (konkrétně deoxyguanositový analog), který patří do třídy karbocyklických nukleosidů a inhibuje reverzní transkripci, replikaci DNA a transkripci v procesu replikace viru. Snižuje také množství HBV v krvi snížením jeho schopnosti množit se a napadat nové buňky.<sup>33</sup>

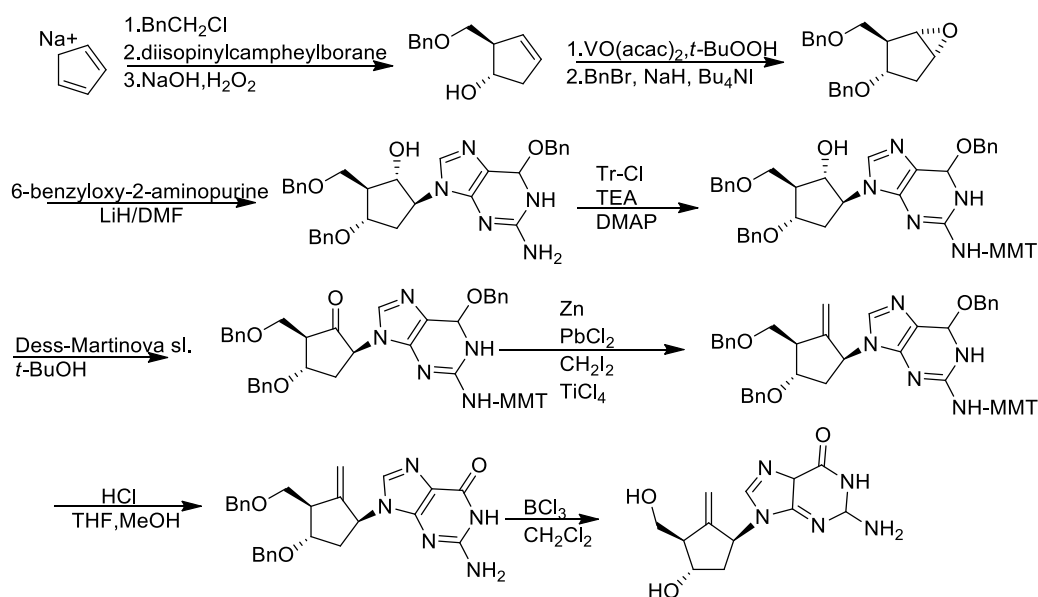


**Obrázek 11:** Entecavir

CAS číslo 209216-23-9. Molekulová hmotnost 277,28 g/mol. Bod tání 220 °C. Poločas rozpadu 5-6 dní.<sup>23</sup>

### 1.2.7 První syntéza entecaviru

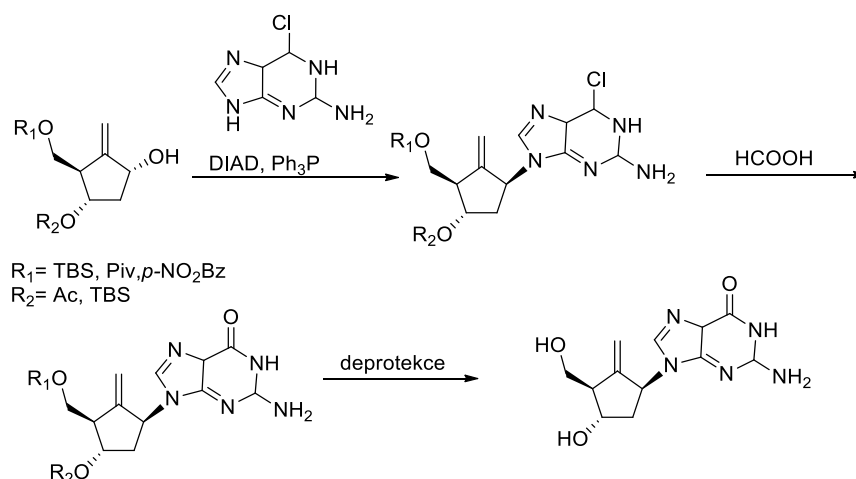
První syntéza entecaviru (*Schéma 9*) byl patentovaný v roce 1992. Vychází se z cyklopentadienové sodné soli, ze které se sekvencí reakcí získá substituovaný cyklopenten. Ten podléhá epoxidaci dvojně vazby a ochraně primární alkoholové skupiny. Následně byla provedena reakce s příslušným aminopurinem. Poté se ochránila aminová skupina pomocí Tr-Cl (trifenylmethylchlorid). Dále byla provedena oxidace alkoholové skupiny na keto pomocí Dess-Martinovy sloučeniny. Následovala tvorba dvojně vazby z ketonu. Ve finálních dvou reakčních stupních byly odstraněny chránící skupiny až za vzniku entecaviru.<sup>24,25,26</sup>



*Schéma 9: První syntéza entecaviru*

### 1.2.8 Obecná syntéza entecaviru pomocí klíčového meziprojektu (*1R,3S,4R*)-4-(hydroxymethyl)-5-methylenecyclopentan-1,3-diolu

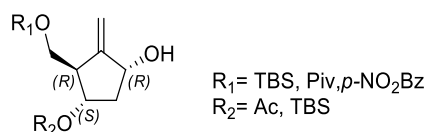
Finální kroky syntézy entecaviru (*Schéma 10*) z klíčového meziprojektu (*1R,3S,4R*)-4-(hydroxymethyl)-5-methylenecyclopentan-1,3-diolu popsaných níže jsou téměř vždy stejné. Zde je uvedena následující syntéza z meziprojektu, který podléhá reakci s odpovídajícím purinem za vzniku. Následovala reakce s kyselinou mravenčí za vzniku. Finální krok je odstranění chránících skupin pomocí bazické hydrolyzy za vzniku entecaviru.<sup>24,27,28,29,30,31,32,33,34</sup>



*Schéma 10: Syntéza entecaviru z klíčového meziprojektu*

### 1.3 (1R,3S,4R)-4-(hydroxymethyl)-5-methylenecyclopentan-1,3-diolu jako klíčový meziprodukt pro syntézu entecaviru

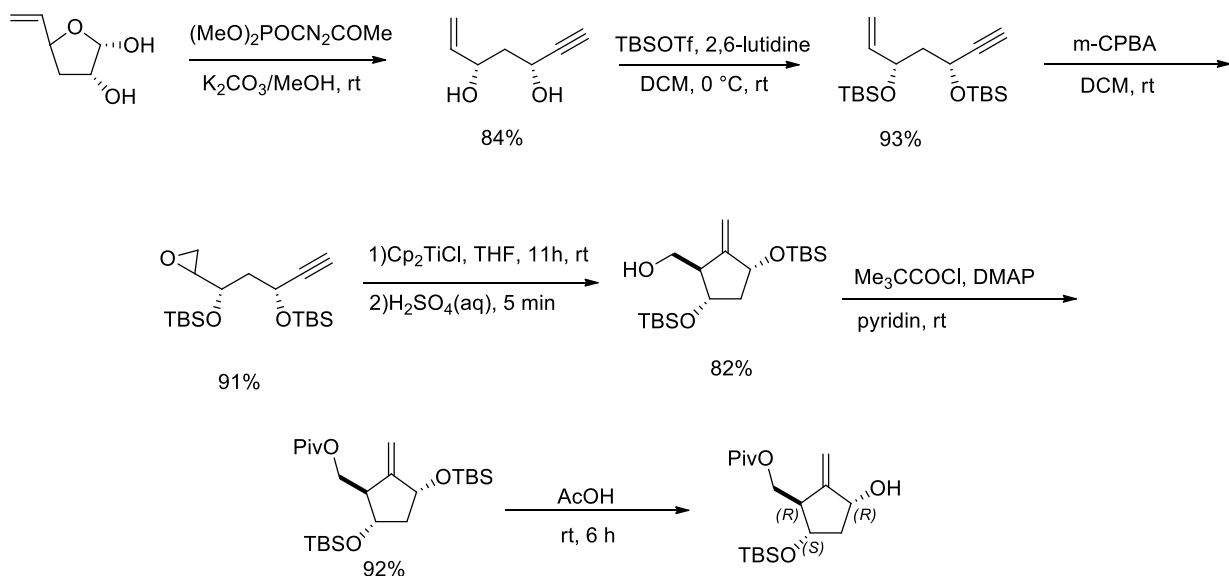
(1R,3S,4R)-4-(hydroxymethyl)-5-methylenecyclopentan-1,3-diol (**Obrázek 8**) je důležitý meziprodukt při přípravě entecaviru. Je tvořen pentánovým cyklem. V polohách 1 a 4 má navázaný sekundární alkoholy, v poloze 3 má navázaný hydroxymethyl a v poloze 5 dvojnou vazbu. Vhodnou ochranou jednotlivých alkoholových skupin se dá použít k dalším reakcím, zejména k syntéze entecaviru. Ovšem přístupy k tomuto meziproduktu jsou různé a jednotlivé syntézy budou popsány níže.



**Obrázek 12:** (1R,3S,4R)-4-(hydroxymethyl)-5-methylenecyklopentan-1,3-diol

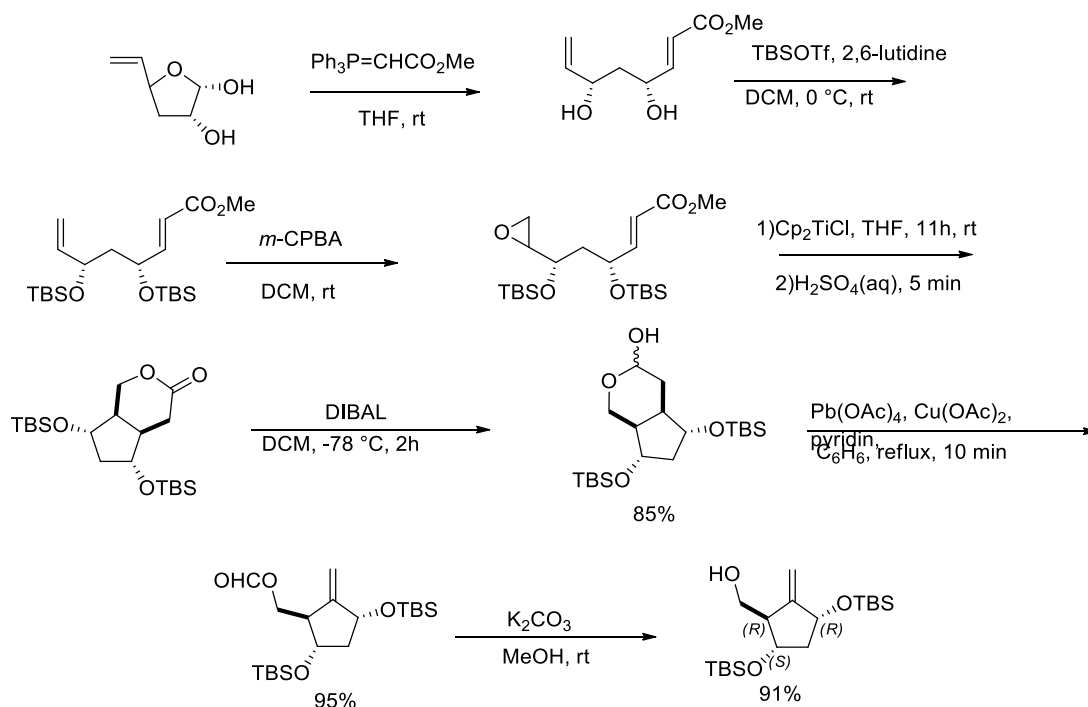
#### 1.3.1 Syntézy dle F. E. Zieglera a M. A. Sarpongové.

První syntéza (**Schéma 11**) vycházející z hydroxy laktolu, která byla popsána F. E. Zieglerem a M. A. Sarpong v roce 2003. Výchozí laktol reagoval s  $(\text{MeO})_2\text{POCH}_2\text{COMe}$  za vzniku diolu. Následovala ochrana obou alkoholových skupin, dále epoxidace dvojně vazby a následná cyklizace pomocí dichlor titanocenu ( $\text{Cp}_2\text{TiCl}$ ) podobně jako u **Obrázku 13**. Nakonec následovala ochrana primárního alkoholu a odchránění sekundárního alkoholu z důvodů dalších reakcí za vzniku meziproduktu.<sup>27</sup>



**Schéma 11:** první syntéza dle F. E. Zieglera a M. A. Sarpongové

Druhá syntéza (*Schéma 12*), která byla publikována ve stejném článku je neméně zajímavá. Vychází ze stejného laktolu a reaguje ve smyslu wittigovi reakce. Následuje totožné tři reakční stupně jako u *Schéma 11* za vzniku laktonu, který je podobný corey alkoholu (*Obrázek 1*) ale má o jeden uhlík navíc. Následovala redukce laktonu na laktol. Ten se nechal reagovat s  $\text{Pb}(\text{OAc})_4/\text{Cu}(\text{OAc})_2$  za rychlého vzniku příslušné sloučeniny, která se zmýdelnila se získáním meziprojektu.<sup>27</sup>



*Schéma 12: druhá syntéza dle F. E. Zieglera a M. A. Sarpongové*

### 1.3.2 Syntéza meziprojektu pomocí grubbsova katalyzátoru

Další možnost jak syntetizovat meziprojekt je pomocí grubbsova katalyzátoru (*Schéma 13*). Syntéza začíná reakcí propargyl alkoholu s allyl bromidem a následnou Sharplessovou epoxidací za vzniku odpovídajícího epoxy alkoholu. Poté byla provedena reakce pomocí grignarova činidla za vzniku diolu. Dále se ochránil primární alkohol pomocí *tert*-butyldimethylsilyl chloridu (TBSCl). Následovala reakce katalyzovaná pomocí grubbsova katalyzátoru (*Obrázek 9*) za vzniku substituovaného cyklopentenu. Dále byla provedena syn epoxidace, ochrana sekundární alkoholové skupiny a nakonec byl získán výsledný meziprojekt (**3**) pomocí diethyl-hlinitanem 2,2,6,6-tetramethyl piperidinem (DA-TMP).<sup>28</sup>



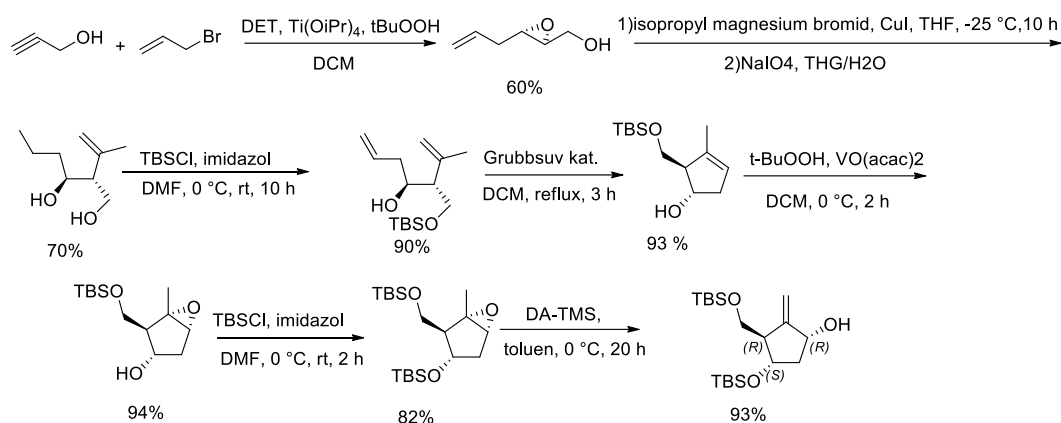


Schéma 13: syntéza klíčového meziproduktu pomocí Grubbsova katalyzátoru

### 1.3.3 Syntéza klíčového meziproduktu pomocí epoxidace a následné cyklizace

První uvedená syntéza (*Schéma 14*) uvedená v této práci vychází z propargyl ketonu, který reagoval aldolovou reakcí s akroleinem pomocí chlordisopinocampheylboranem (DIPCL), který sloužil jako zdroj chiraloty. Následovala redukce pomocí tetrahydridoboranu lithného ( $\text{LiBH}_4$ ) a poté oxidací za vzniku směsi diolů, která se musela ještě rekrystalizovat se získáním výsledného požadovaného diolu. Následovala ochrana alkoholové skupiny pomocí TBSCl za vzniku odpovídající chráněné sloučeniny. Poté proběhlo odchránění trojné vazby a následná epoxidace dvojné vazby pomocí kyseliny *meta*-chlorperoxybenzoové (*m*-CPBA). Následovala ochrana druhé alkoholové skupiny acylací. Poté byla provedena cyklizace pomocí  $\text{Cp}_2\text{TiCl}$ . Nakonec se ochránila primární alkoholová skupina vzniklá po cyklizaci, a ochránila se sekundární alkoholová skupina za vzniku požadovaného meziproduktu.<sup>29</sup>

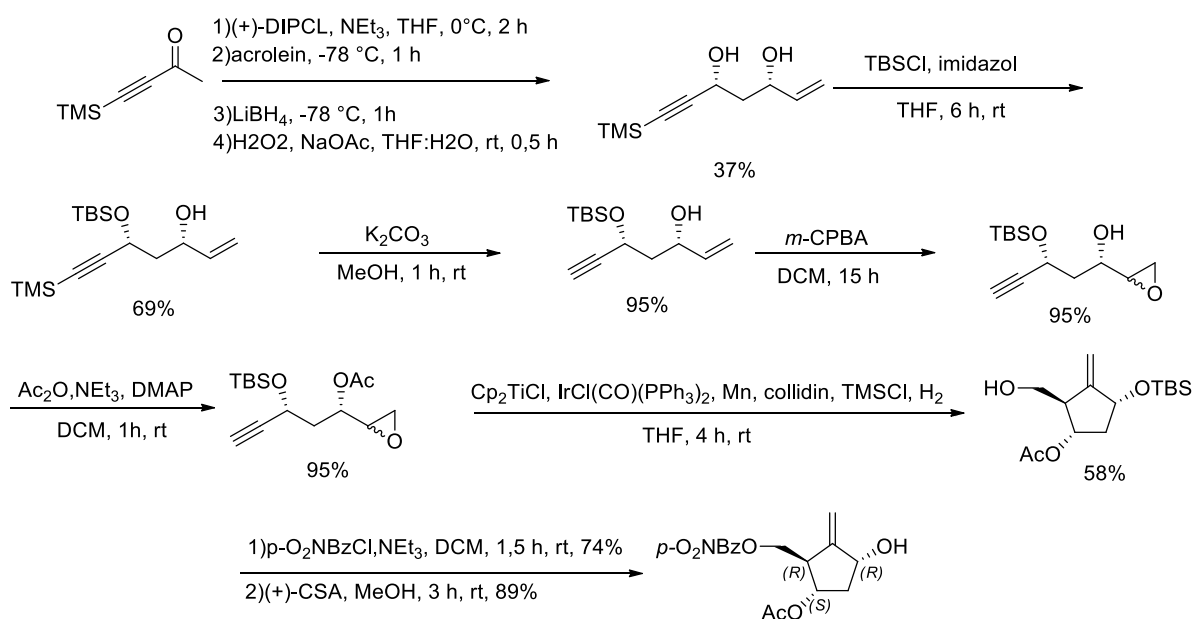
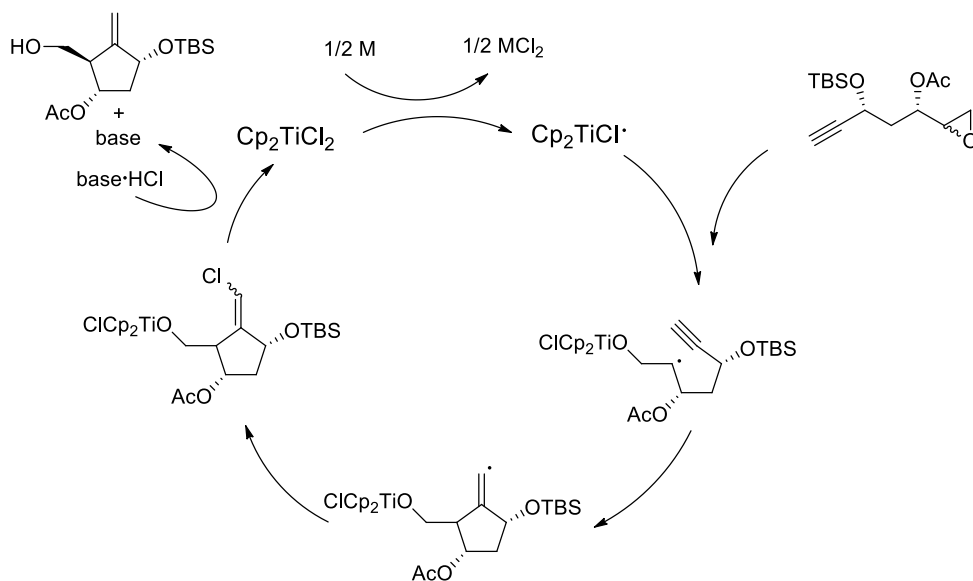


Schéma 14: syntéza klíčového meziproduktu pomocí epoxidace a následné cyklizace

Samotná cyklizace pomocí  $(\text{Cp}_2\text{TiCl})$  je poměrně složitá a lze si ji představit na následujícím **Obrázku 13**.<sup>29</sup>



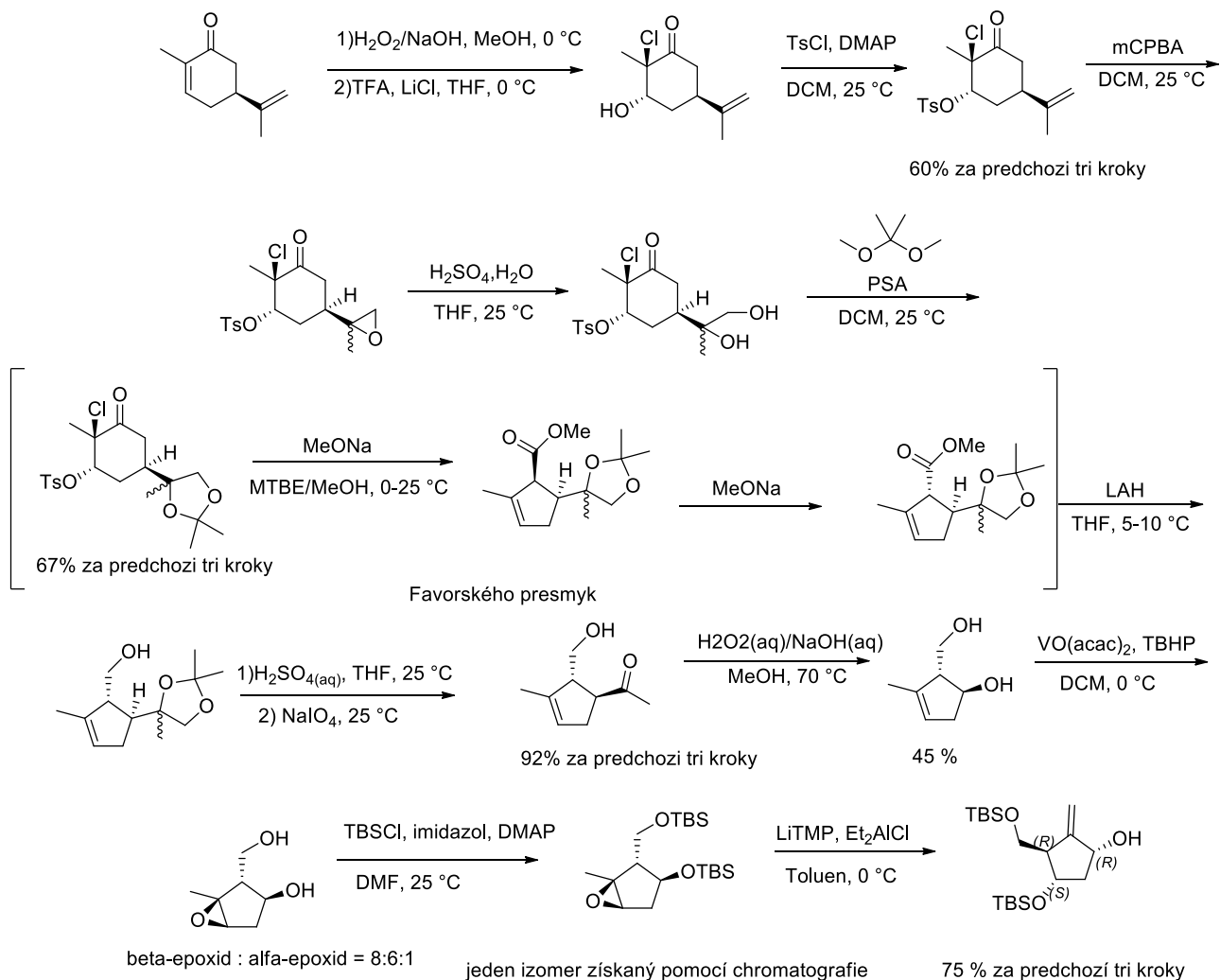
**Obrázek 13** cyklizace

#### 1.3.4 Syntéza meziprojektu z carvonu pomocí favorského přesmyku

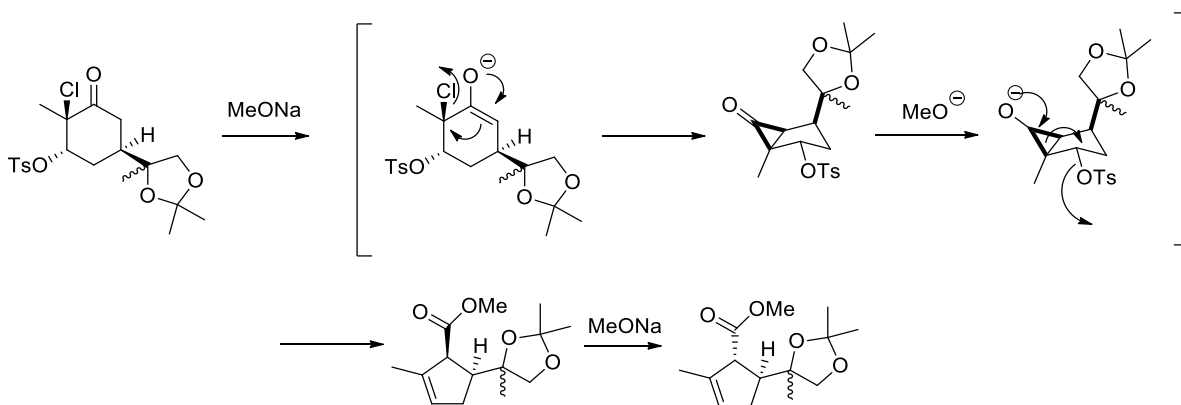
Syntéza (**Schéma 15**) vychází z (*S*)-(+)-Carvonu, což je přírodní látka nacházející se v mnoha éterických olejích, ale nejvíce se vyskytuje v semenech kmínu (*Carum carvi*). Nejprve byla provedena stereoselektivní epoxidace a následná tvorba chlorhydrinu z vzniklého epoxidu. Následovala tosilace sekundárního alkoholu, poté byla provedena epoxidace pomocí *m*-CPBA, kyselá hydrolyza za vzniku diolu a ochrana diolu pomocí dimethoxypropanu (PSA). Poté byl proveden Favorského přesmyk, redukce  $\text{LiAlH}_4$ , kyselá hydrolyza a oxidativní reakce vzniklého diolu. Následovala Bayer-Villigerova oxidace pomocí peroxidu. Poté byla provedena opět epoxidace se získáním požadovaného *beta*-epoxidu, který byl dále ochráněn, a nakonec byl epoxid otevřen za vzniku výsledného meziprojektu.

Favorského přesmyk (**Obrázek 14**) je pojmenován po ruském lékárníkovi Alexei Yevgrafovich Favorskiim. Většinou z šestičlenného alfa-halo ketonu se pomocí přesmyku získá

cyklopentánový cyklus s navázanou karboxylovou kyselinou. Provádí se to v přítomnosti báze, popřípadě i hydroxidu.<sup>30</sup>



**Schéma 15:** syntéza meziprojektu z Carvonu pomocí Favorského přesmyku



**Obrázek 14:** Mechanismus Favorského přesmyku aplikován na meziprojekt z Carvonu

### 1.3.5 Syntéza meziprojektu využívající Petersonovu reakci

Novější syntéza (*Schéma 16*) využívající Petersonovu reakci byla publikována v roce 2017 řeckým týmem vedeným E. G. Gioti. Z příslušného derivátu furanu byla methanolýzou získán substituovaný furan, dále následovala ochrana alkoholové skupiny. Poté bylo provedeno odchránění methylované alkoholové skupiny. Následovala reakce za vzniku odpovídajícího oximu, který podléhal oxidaci za vzniku izoxazolinu a také odpovídajícího diastereomeru v poměru 7:1. Dělení bylo prováděno pomocí sloupcové chromatografie, ovšem v publikaci byla popsána jako velice obtížná, a tudíž se pro další kroky používala vzniklá směs diastereoizomerů. Další reakce byla ochrana sekundární alkoholové skupiny pomocí TBSCl opět za vzniku směsi, který se rozdělila. Následovala hydrogenace vodíkem na palladiu za vzniku směsi, která se musela vyčistit sloupcovou chromatografií se získáním požadovaného produktu. Následovala ochrana primární alkoholové skupiny, ovšem v malém výtěžku vznikal i produkt eliminace, takže musela být provedena opět sloupcová chromatografie s cílem získat čistý produkt. Poté byl proveden první krok Petersonovy reakce se získáním meziprojektu reakce  $\beta$ -hydroxysilanu, který byl podroben redukci vodíkem na palladiu s cílem odchránění benzylové skupiny, a nakonec byl proveden druhý krok Petersonovy reakce se získáním odpovídajícího meziprojektu.<sup>31</sup>

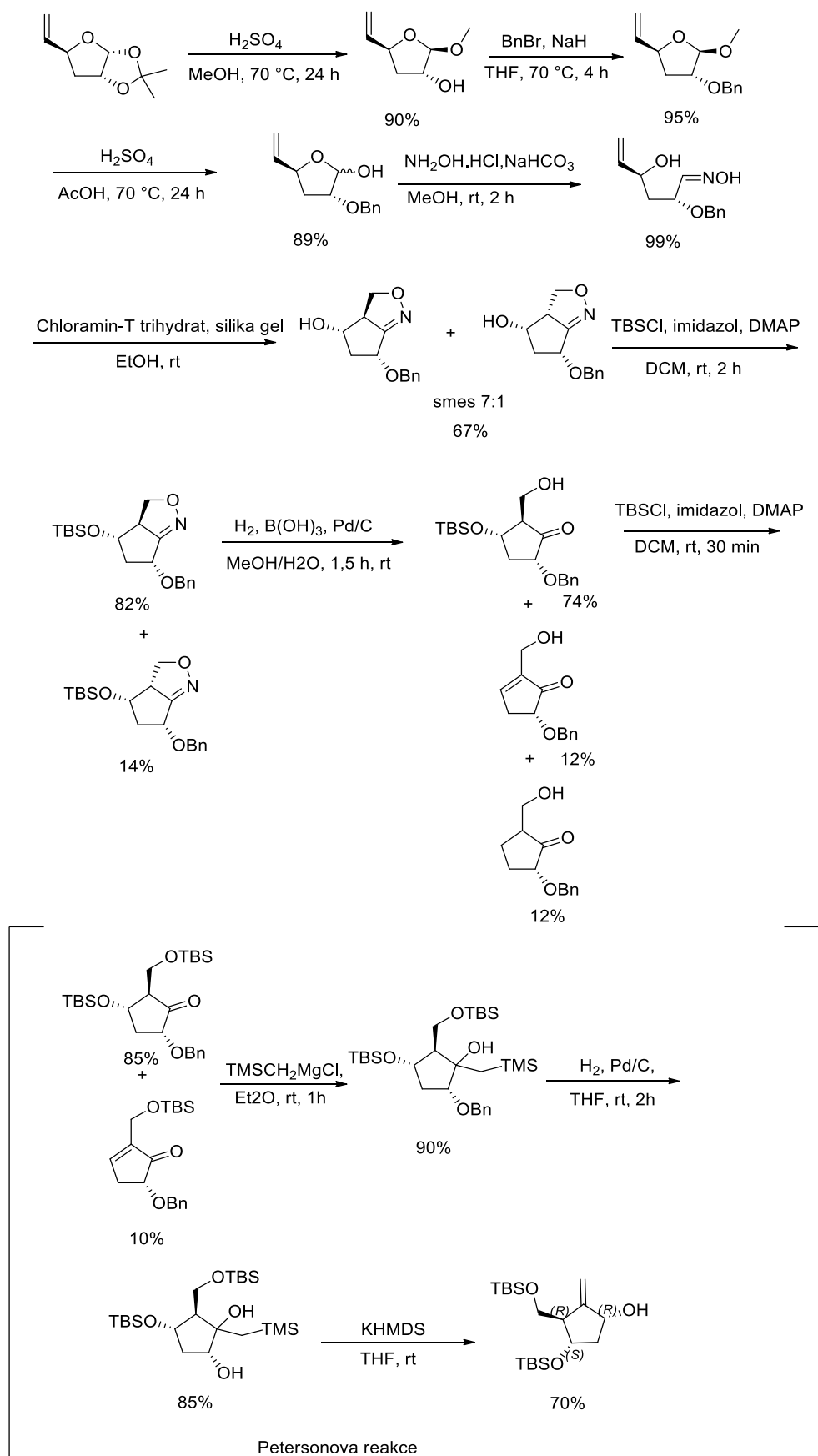
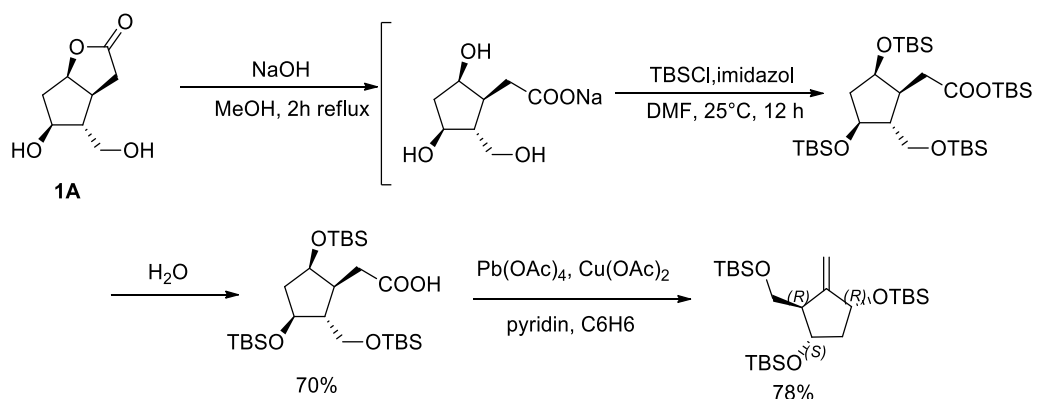


Schéma 16: Syntéza využívající Petersonovu reakci

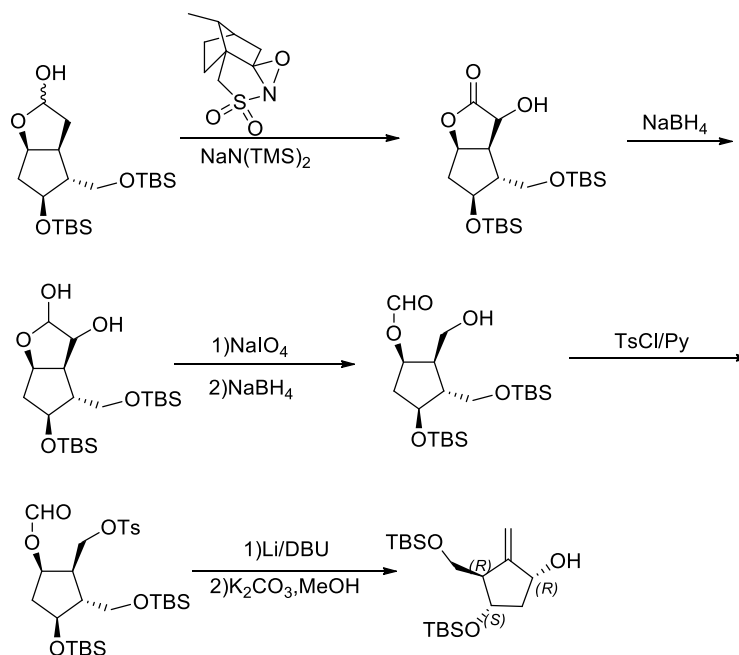
### 1.3.6 Syntézy (1*R*,3*S*,4*R*)-4-(hydroxymethyl)-5-methylcyclopentan-1,3-diolu vycházející z opticky čistého Corey alkoholu případně jeho derivátů

Krátká syntéza (*Schéma 17*) z Corey diolu (**1A**) byla publikována ruským týmem vedený Z. R. Valiullina. Nejprve byla provedena alkalická hydrolyza corey alkohol diolu poskytující sodnou sůl kyseliny a dále byl provedena ochrana alkoholových skupin pomocí TBSCl. TBSCl ochranná skupina byla dále odstraněná pomocí reakce s vodou, kdy celkový výtěžek těchto tří reakcí byl 70 %. Nakonec byla provedena oxidativní dekarboxylace příslušné karboxylové skupiny za vzniku požadovaného meziprojektu.<sup>32</sup>



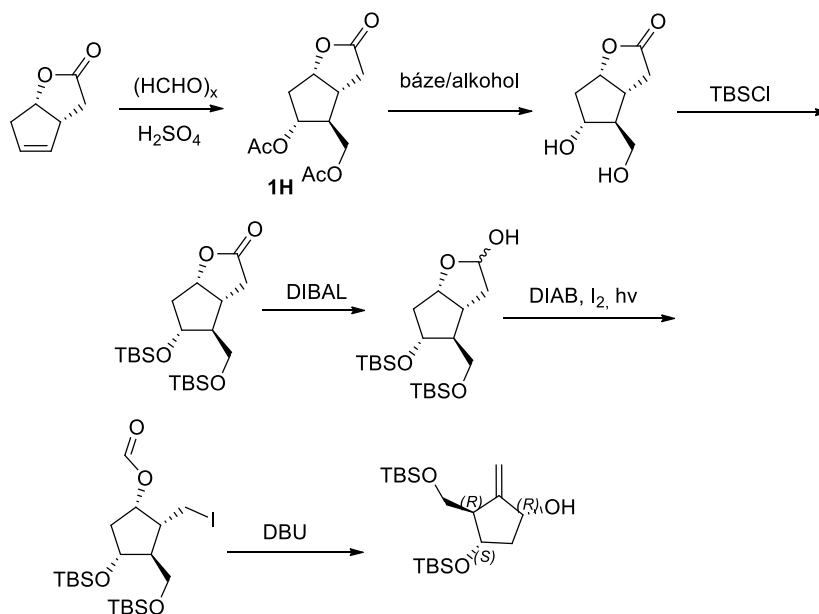
*Schéma 17: Krátká syntéza z corey diolu*

Druhá syntéza zabývající se přípravou meziprojektu byla patentována roku 2013. Tato syntéza (*Schéma 18*) vychází z roku 2013, kdy byla patentována v evropském patentu. Vychází z Corey laktolu (získává se redukcí příslušného Corey alkoholu), který podléhal reakci za vzniku odpovídajícího hydroxylaktonu. Následovala redukce pomocí tetrahydridoboritanu sodného (NaBH<sub>4</sub>) za vzniku odpovídajícího hydroxylaktolu. Poté proběhly dvě reakce s cílem rozštěpení kruhu. Poté byla provedena tosilace primární alkoholové skupiny. Nakonec byla provedena tvorba dvojné vazby a bazická hydrolyza za tvorby našeho meziprojektu.<sup>33</sup>



*Schéma 18: Syntéza meziprojektu z corey laktolu*

Třetí syntéza (*Schéma 19*) vychází z celosvětového patentu je z roku 2011. Corey laktón podléhá reakci za vzniku odpovídajícího corey alkoholu diacetátu (**1H**), který je následně bazicky hydrolyzován s cílem odstranit acetylové skupiny a získat diol. Poté byla provedena ochrana alkoholových skupin a následovala redukce diisobutylaluminium hydridem (DIBAL). Dále bylo provedeno oxidativní rozštěpení laktolového kruhu pomocí diacetoxyjod benzenu (DIAB), jodu ( $I_2$ ) a UV lampou a reakce s 1,8-diazabicyklo[5.4.0]undec-7-en (DBU) za vzniku odpovídajícího meziprojektu.<sup>34</sup>



*Schéma 19: Syntéza meziprojektu z corey laktónu*

## 1.4 Návrh syntetické cesty

Na základě literární rešerše a již dříve provedených experimentů v rámci skupiny byla navržena níže popsaná syntetická cesta (*Schéma 20*). Vychází se z technologicky dostupného Corey alkoholu-A (-) s ochráněnou sekundární alkoholovou skupinou pomocí *p*-fenyl benzoylu (PBP). Nejprve byla provedena ochrana primární alkoholové skupiny pomocí TBSCl za vzniku **2**. Druhý krok představovala redukce laktonu (**2**) na tzv. laktol (**3**) roztokem DIBALu. Další část je oxidativní otevření kruhu pomocí DIABu a jodu za vzniku **4**. Poslední část reakce je dehydrohalogenace a dekarboxylace pomocí 1,5-Diazabicyclo[4.3.0]non-5-enu (DBN). První a druhý krok syntézy jsou známé a často opakované, a tudíž nejsou předmětem optimalizace. Oxidativní otevření kruhu není příliš využíváno a v literatuře popsané, a proto bude podrobena detailnějšímu zkoumání. S posledním krokem dehydrohalogenace a dekarboxylace pomocí DBN se také nepochybovalo, protože tento krok je také v literatuře popsaný a bezproblémový.<sup>23,25,26,36,37</sup>



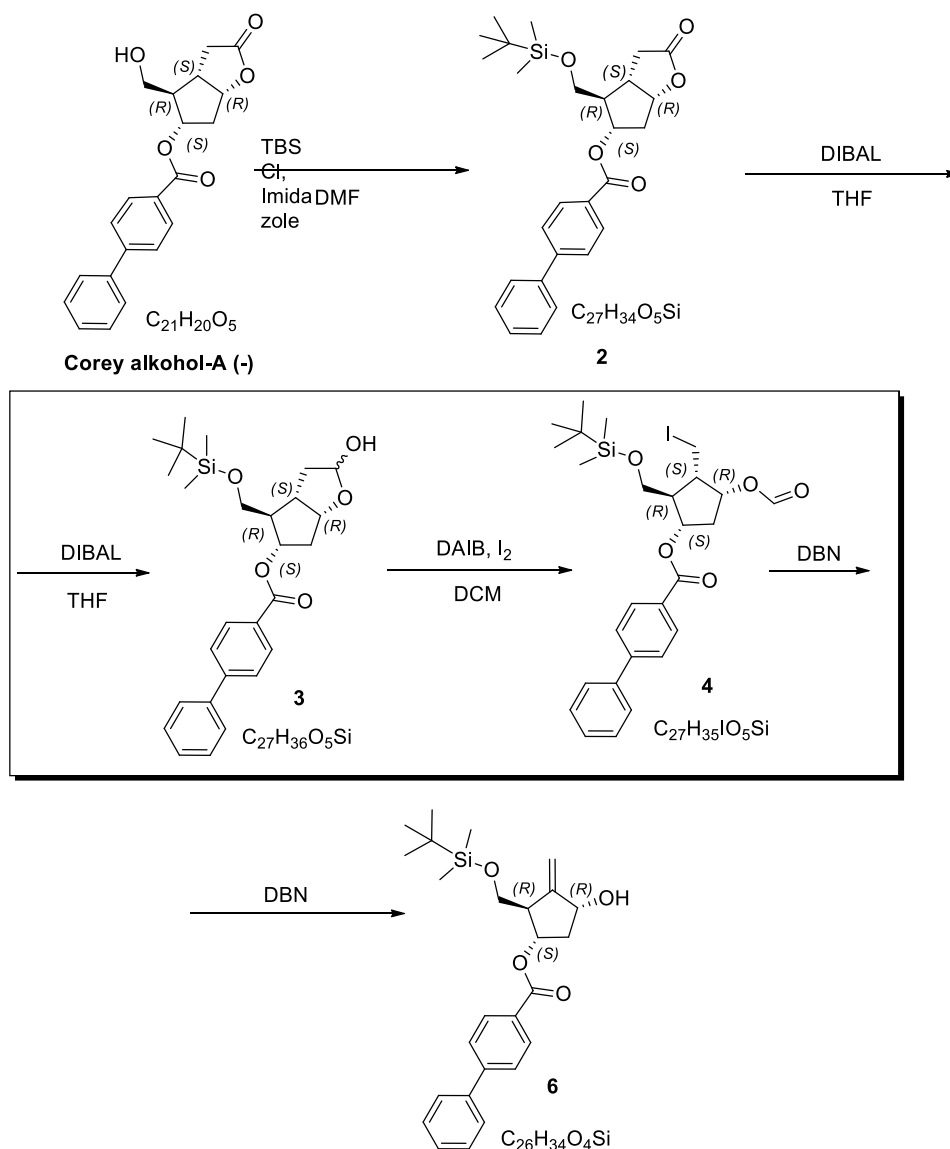
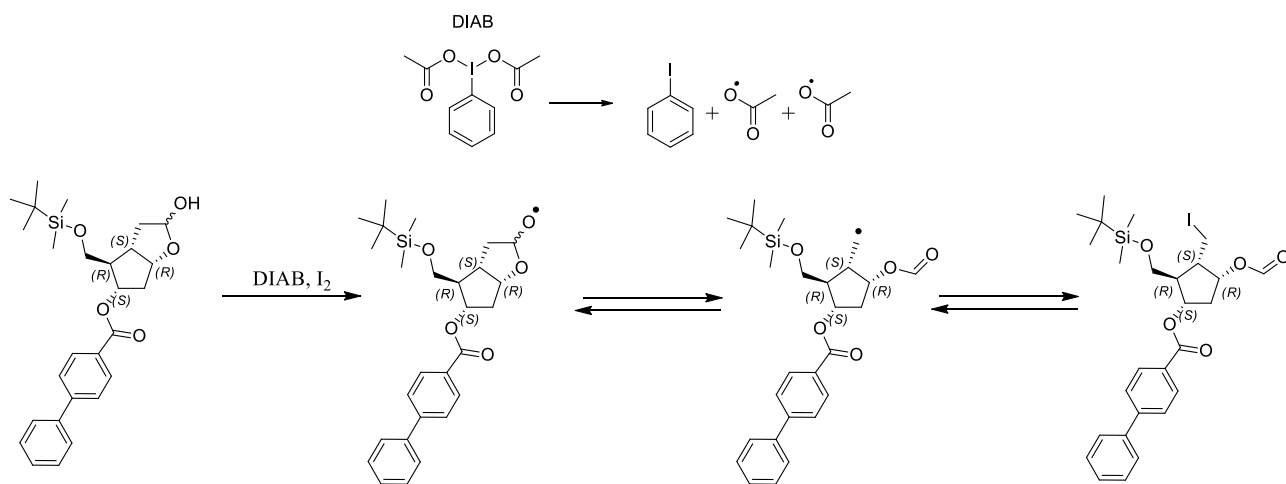


Schéma 20: Navržená syntetická cesta

#### 1.4.1 Návrh mechanismu reakce

Na základě dostupné literatury, ve které byly obdobné reakce podrobně studovány, byl navržen mechanismus studované reakce (*Schéma 21*). Jedná se pouze o popis možného mechanismu bez žádných dalších experimentů, pouze znalosti z literatury, které byly uplatněny na naší reakci.<sup>35</sup>

Vychází se z toho, že DIAB se rozpadá na jodbenzen a dva acetoxy radikály. Acetoxy radikály napadají laktol za vzniku laktolového radikálu. Následuje rozštěpení kruhu a navázání jodu.



**Schéma 21:** Návrh mechanismu reakce

## 2 Cíle práce

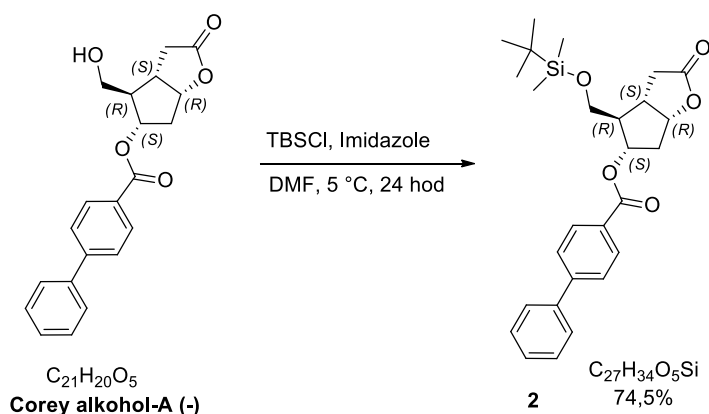
Teoretická část práce si klade za cíl stručně popsat Corey alkohol-A (-) jako významný technologický meziprodukt organických výrob, jeho význam a syntézy popsané v současné literatuře. Teoretická část by se dále měla zaměřit na popis entecaviru, coby antivirotikum připravované mimo jiné právě z Corey alkoholu, jeho syntézy a využití. Nakonec by se v teoretické části mělo zaměřit na popsání syntetických přístupů vedoucí k opticky čistému chráněnému (1*R*,3*S*,4*R*)-4-(hydroxymethyl)-5-methylencyklopentan-1,3-diolu jako klíčovému meziproduktu entecaviru.

Praktická část by se měla zabývat experimentálním ověřením syntézy (1*R*,3*S*,4*R*)-4-(hydroxymethyl)-5-methylencyklopentan-1,3-diolu z opticky čistého chráněného Corey alkoholu-A (-). Dále pak izolací a identifikací nečistot syntézy a úpravou reakčních podmínek s cílem zvýšení výtěžku, případně snížení obsahu nečistot. Nakonec by měla být provedeno vyhodnocení výsledků formou diskuze a závěru.

### 3 Diskuze výsledků

#### 3.1 Ochrana primární alkoholové skupiny corey alkoholu-A (-) pomocí *tert*-butyldimethylsilil chloridu

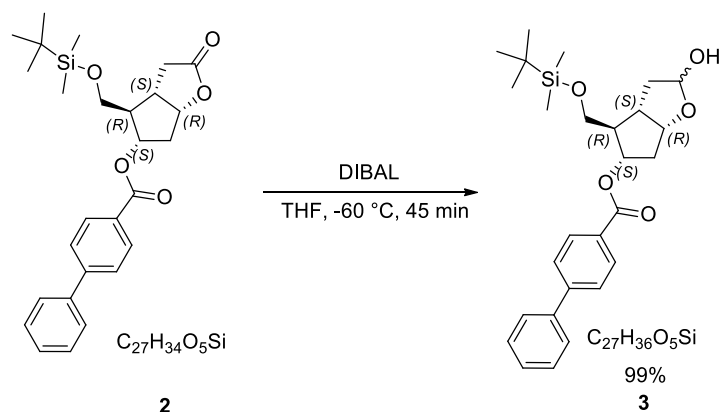
Nejprve byla provedena obvyklá ochrana primární alkoholové skupiny pomocí TBSCl za vzniku (**1**). Reakce je bezproblémová a finální úprava byla zvolena krystalizace s cílem získat čistý produkt. Tato syntéza (*Schéma 22*) vykazovala výtěžek 74,5 %, což je srovnatelné s dostupnou literaturou s průměrným výtěžkem 82 %<sup>28,31</sup>.



*Schéma 22: Ochrana Corey alkoholu-A (-) pomocí *tert*-butyldimethylsilil chloridu*

#### 3.2 Redukce laktonu na laktol

Druhá reakce (*Schéma 23*) spočívala v redukcí laktonu (**2**) na laktol (**3**) 1 molárním roztokem DIBALu v tetrahydrofuranu (THF). Tato redukce je běžně využívána při syntéze prostaglandinů, a proto je popsána v mnoha publikacích. Syntéza vykazovala výtěžek 99 %. Průměrný výtěžek z různých literatur je 85,7 %<sup>27,36,37</sup>. Kvalita redukčního činidla DIBAL se s časem mění, protože redukční činidlo DIBAL se po porušení uzávěru po určitém čase skladování rozkládá, což zapříčiňuje horší průběh reakce, kdy nepomáhá ani přidavek nadbytku redukčního činidla. Proto jsem využíval vždy nový DIBAL, díky kterému jsem měl velice dobrý výtěžek reakce.



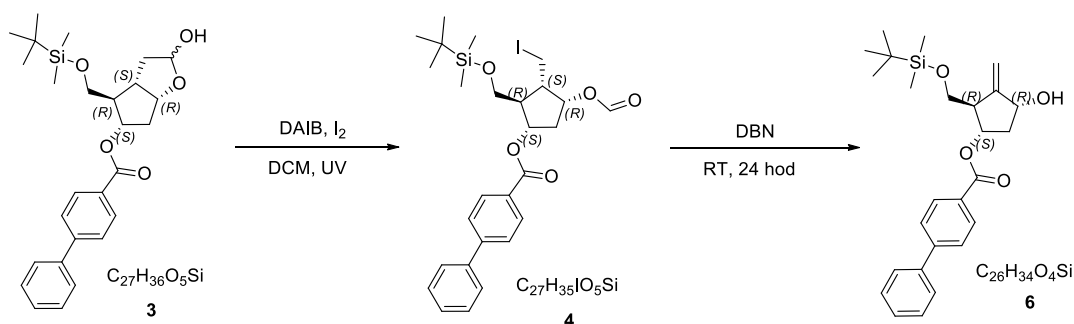
*Schéma 23: Redukce laktonu (2) na laktol (3)*

### 3.3 Optimalizace reakční sekvence

#### 3.3.1 Stanovení základních parametrů a ovlivnění průběhu reakce syntézy meziprojektu 6

Při literární rešerši následující reakce jsem zjistil, že všechny reakce probíhají za ozařování UV lampou, ale že se mění délka reakce, kdy se časy pohybují od 40 min do 4 hodin a celkové výtěžky jsou průměrně okolo 40 %.<sup>34,36,37</sup> Jako základní parametry ovlivňující výtěžek reakce jsem tedy zvolil reakční čas a světelné podmínky. Na základě znalosti z literatury jsem provedl několik reakcí bez izolace meziprojektu (4) s cílem definovat parametry, které ovlivňují výtěžek níže uvedených reakcí.

Reakční čas byl měřen od 45 minut, 90 minut, 180 minut až po 24 hodin. Světelné podmínky jednotlivých experimentů zahrnovali ozařování reakční směsi UV lampou s vlnovou délkou 365 nm, dále pak byla reakční banka ozařována nespécifikovaným okolním světlem a nakonec reakční banka byla bez přístupu světla.



*Schéma 24: Reakce 3-->6*

Výsledky předběžných experimentů jsou uvedeny v *Tabulce 1*.

*Tabulka 1: experimenty posledních dvou stupňů reakcí*

Experiment	navážka látky B [g]	podmínky [X]	hmotnost látky D [g]	výtěžek [%]
č. 5	0,89	UV=45 min	0,23	27,3
č. 6	4,10	UV=45 min	1,32	34,7
č. 7	7,17	UV=90 min	2,63	39,2
č. 8	4,17	UV=180 min	1,90	48,7
č. 9	1	UV=24 hod	0,26	27,78
č. 10	1	nespecifikované okolní světlo	0,302	28,2
č. 11	1	bez přístupu světla	0,01	0

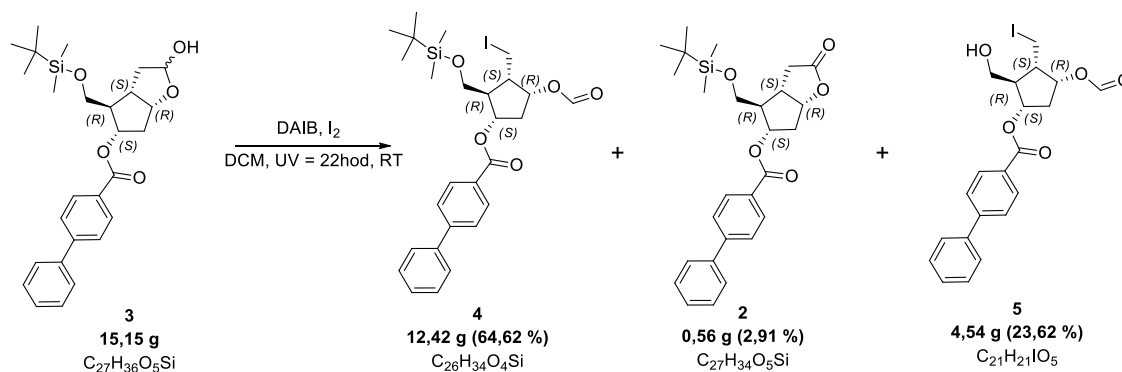
Z *Tabulky 1* je patrné, že výtěžek dvoustupňové reakce vychází nejlépe po 180 min pod UV lampou (365 nm). Dalo by se tedy usoudit, že delší doba svitu UV lampou na reakční směs zvyšuje výtěžek, ale tento argument byl ihned vyvrácen experimentem č.9, kdy po 24 hod byl výtěžek menší. Asi nejdůležitější fakta, která vyplývají z těchto orientačních experimentů jsou taková, že reakce probíhá i za okolního světla, na rozdíl od toho, jak je napsáno v dostupných publikacích popisující tento typ reakce, kdy bylo používáno vždy ozáření UV lampou.<sup>34,36,37</sup> Zároveň je ale důležité, že tento typ reakce neprobíhá v případě, kdy reakční baňka je bez přístupu světla, jak ukazuje experiment č.11.

Z těchto výsledků plyne, že v dalším postupu se zaměřím na podrobné sledování reakce oxidativní otevření kruhu, kdy nejdříve izoluji veškeré nečistoty a následně budu měnit uvedené parametry a podrobně sledovat reakční průběh.

### **3.3.2 Izolace meziproductu a vznikajících nečistot**

Na základě HPLC analýzy byla provedena izolace meziproductu **4** a dalších detekovaných nečistot, které byly dále identifikovány pomocí charakteristických metod MALDI, CHN, NMR a HPLC-MS analýzou. Požadovaný meziproduct (**4**) byl izolován s výtěžkem 64,62 %. Dále byly izolovány dvě nečistoty. Nečistota, která v reakční směsi vzniká jako minoritní s obsahem 2,91 % byla identifikována jako původní sloučenina s laktonovým

uspořádáním (2). Tato sloučenina vzniká v reakční směsi pravděpodobně jako produkt oxidace jodem, který je v reakční směsi přítomen jako činidlo. Tato nečistota podle pozdějších experimentů neovlivňuje další průběh reakce a je z reakční směsi snadno odstranitelná sloupcovou chromatografií. Proto jsem se jejím obsahem dále nezabýval. Další nečistota však vykazovala obsah 23,62 %. Její struktura odpovídá desililovanému produktu 5.

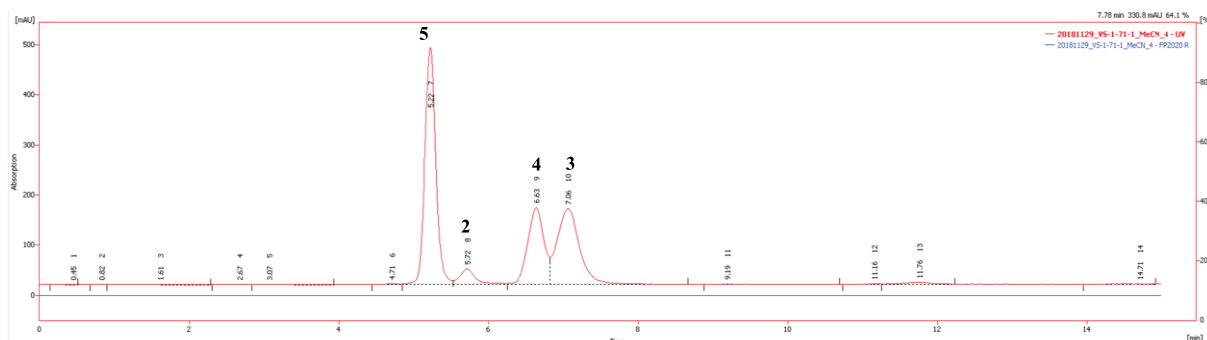


*Schéma 25: Meziprodukt + nečistoty*

Z literární rešerše jsem zjistil, že jod, coby činidlo v této reakci, by neměl výchozí látku desililovat, protože ochranná skupina TBSCl by neměla s jodem reagovat.<sup>38</sup> Ovšem byla nalezena i taková literatura, kde u některých druhů sloučenin jod vystupuje jako desililační činidlo a odstraňuje chránící skupinu TBSCl. Tudíž se dá říct, že obecná pravidla pro tyto látky neplatí, protože u některých sloučenin, včetně této, je desililace možná.<sup>39</sup>

### 3.3.3 Experimenty řešící oxidativní otevření kruhu

V další fázi jsem měnil zvolené parametry reakce s cílem určit konec reakce a snížit obsah nečistoty 5. Vzhledem ke komplikovanosti sledování reakční směsi pomocí tenkovrstvé chromatografie byla reakce monitorována pomocí HPLC metodou kalibrační křivky.



*Chromatogram 1: HPLC chromatogram naznačující polohy jednotlivých látek reakce*

Na základě prvotního experimentu monitorující oxidativní otevření kruhu bylo zjištěno, že veškerá výchozí látka **3** je spotřebována přibližně po 60 minutách reakce při laboratorní teplotě a ozařování UV lampou 365 nm. Analýzou chromatogramů bylo zjištěno, že nečistota číslo **5** má stejný retenční čas jako rozkladný produkt činidla DIABu jod benzen. Ani při úpravě chromatografických podmínek nebylo docíleno rozdělení těchto dvou sloučenin. Vzhledem k tomu byl sledován pouze čas, při kterém je spotřebována veškerá výchozí látka **3**.

V další fázi jsem se zaměřil na monitoring reakce pomocí HPLC, kdy jsem sledoval vliv okolních podmínek (UV 242 nm, 365 nm, nespecifikované okolní světlo) na průběh reakce. Byl též sledován vliv stáří výchozí látky **3** na průběh reakce, a to z důvodu nestability laktolu uváděné na základě zkušenosti v rámci pracovní skupiny.

Následující experimenty jsem prováděl vždy za stejných podmínek, kdy reakční čas byl 80 minut, navážka vždy 1 g výchozí látky **3** a stejný odběr vzorků vždy po 10 minutách na HPLC měření. Výsledky experimentů jsou uvedeny v **Tabulce 2**.

*Tabulka 2: experimenty č.13-18*

číslo experimentu	podmínky	stáří výchozí látky <b>3</b> [den]	konec reakce [min]	koncentrace látky <b>4</b> [g/ml]
13	UV=365	1	60	0,125
			60	0,113
14	UV=365	7	80	0,114
			60	0,115
15	nespecifikované světlo	1	60	0,125
			60	0,13
16	nespecifikované světlo	7	50	0,112
			50	0,113
17	UV=242	1	50	0,111
18	UV=242	7	50	0,114

Výsledky vycházející s **Tabulky 2**:

Při opakování experimentů jsem zjistil, že konec reakce neovlivňuje parametr ozařování, protože z **Tabulky 2** je patrné, že konec reakce se nemění ani pokud ozařuji UV lampou (242 nm, 365 nm), ani pokud nechám na reakční směs působit pouze okolní nespecifikované světlo. Ale stále je pro tuto reakci důležité, aby na reakční směs působilo světelné záření, protože bez ozařování neprobíhá.



Dále je patrné, že průběh reakce neovlivňuje ani stáří výchozí látky, protože výsledky experimentů s výchozí látkou **3** starou 1 den a 7 dní se opět neliší. Skladování výchozí látky **3** po dobu jednoho týdne neovlivní průběh reakce.

Výsledná koncentrace sledovaného meziproductu **4** je u všech experimentů podobná, což potvrzuje fakt předchozí diskuze, že reakci oxidativního otevření kruhu neovlivňuje parametr působení záření, ani stáří výchozí látky **3**.

Koncentrace nečistoty **5** jsem neměl možnost sledovat z důvodu, že nečistota má stejný retenční čas jako rozkladný produkt činidla DIABu jod benzen. Koncentrace nečistoty **2** sledovat šla, ovšem je v tak malém zastoupení, že pro studování reakce nemá opodstatnění.

## 4 Experimentální část

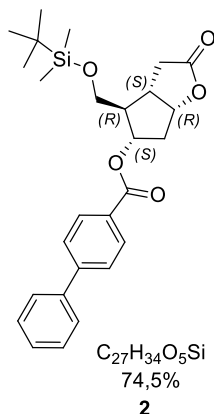
Všechny komerčně dostupné chemikálie byly zakoupeny od firmy Sigma Aldrich, Acros Organics, TCI, Merck, Fluorochem. PG meziproducty byly dodány společností Cayman Pharma s.r.o. Neratovice. Sloupcová chromatografie byla prováděna na silikagelu ( $\text{SiO}_2$  60 Å, velikost částic 0,060 - 0,200 mm, Acros Organics) za použití komerčně dostupných rozpouštědel. Flash chromatografie byla prováděna na automatizovaném flash chromatografu Reveleris X2 Flash (Büchi). Tenkovrstvá chromatografie byla prováděna na hliníkových destičkách potažených silikagelem ( $\text{SiO}_2$  60 F254 (Merck) s vizualizací pomocí UV lampy (254 nebo 360 nm), látky s nízkou absorpcí UV záření byly vizualizovány pomocí 5% roztoku kyseliny fosfomolybdenové v ethanolu.  $^1\text{H}$  a  $^{13}\text{C}$  spektra nukleární magnetické rezonance (NMR) byla měřena v rámci servisní činnosti školitelem práce a to při laboratorní teplotě na přístroji Bruker AVANCE III 400 při frekvencích 400.13 resp. 100.62 MHz (pro  $^{13}\text{C}$ ) nebo na přístroji Bruker Ascend<sup>TM</sup> 500 při frekvencích 500.13 ( $^1\text{H}$ ) resp. 125.76 MHz (pro  $^{13}\text{C}$ ). Chemické posuny jsou uvedeny v jednotkách ppm vůči zbytkovému signálu rozpouštědla  $\text{CDCl}_3$  nebo  $\text{DMSO}-d_6$ . Interakční konstanty ( $J$ ) jsou uvedeny v Hz. Pozorované signály jsou popsány jako s (singlet), br (široký singlet), d (dublet), t (triplet) a m (multiplet). Body tání byly měřeny na kapilárním bodotávku Buchi B-545. K další charakterizaci bylo využito servisního pracoviště elementární analýzy pracující s přístrojem Thermo Scientific Flash 2000 Organic elemental analyser. Hmotnostní spektra byla měřena pomocí MALDI hmotnostního spektrometru s vysokým rozlišením LTQ Orbitrap XL (Thermo Fisher Scientific, Bremen, Germany) vybaveného dusíkovým UV laserem (337 nm, 60 Hz) metodou „dried droplet“.

Spektra byla měřena v režimu pozitivních nebo negativních iontů v normálním hmotnostním rozsahu ( $m/z$  50–2000) s rozlišením 100 000 při  $m/z = 400$ . Pro volbu pozice laseru byla využita předdefinovaná spirálová schémata pohybu. Jako matrice byly použity 0,2M roztoky 2,5-dihydroxybenzoové kyseliny (DHB) ve směsi MeCN:H<sub>2</sub>O (95:5) nebo 2-[(2*E*)-3-(4-terc-butylfenyl)-2-methylprop-2-enyliden]malononitrilu (DCTB) v MeCN, přičemž molární poměr matrice: vzorek byl vždy přibližně 40:1. Výsledné spektrum tvoří průměr z celého měření. Průběh reakcí byl sledován pomocí HPLC (Watrex, s.r.o. s UV/VIS DA detekcí) s použitím stacionární fáze Nukleosil C18 (kolona 250×4 mm, 5 μm) a mobilní fáze čistý acetonitril, průtok 0,5 ml/min.

## 4.1 Syntéza a charakterizace připravených sloučenin

### 4.1.1 Příprava TBSCl-PBP-Corey alkoholu (2) - experiment č.1

Do 1 l trojhrdlé baňky opatřené míchadlem, septem, a přívodem dusíku byl předložen Coreyalkohol-A (30 g; 85,14 mmol; 1 ekv). Baňka byla 3x vysekurována a za chlazení (voda/led) byl přidán sušený DMF (450 ml) do rozpuštění Coreyalkoholu-A. Dále byl najednou přidán Imidazol (6,24 g; 91,66 mmol; 1,07 ekv), a poté po částech TBS-Cl (13,56 g; 89,97 mmol; 1,06 ekv). Směs se nechala za chlazení (voda/led) míchat 1 hodinu. Po uplynutí této doby se odstranila chladicí lázeň a reakce probíhala dalších 23 hodin. Reakce byla ukončena a směs se nechala míchat 1 hodinu. Následovala extrakce mezi vodou a ethyl-acetátem, která musela být provedená vícekrát (9x 100 ml), aby se odstranil přebytečný DMF. Jednotlivé organické podíly se spojily a odpařili na RVO. Finální úprava byla provedena pomocí krystalizace s použitím ethyl-acetátu a n-hexanu.

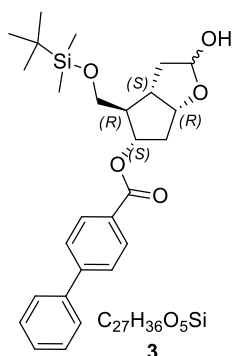


**Charakterizace produktu 2:** Bílá krystalická látka. Výtěžek: 29,67 g (74,5 %). Bod tání 81,2–82,1 °C; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.07 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.71 – 7.60 (m, 4H), 7.44 (dt,

$J = 29.3, 7.3$  Hz, 3H), 5.38 (dt,  $J = 5.6, 2.6$  Hz, 1H), 5.12 (t,  $J = 5.7$  Hz, 1H), 3.73 (ddd,  $J = 26.1, 10.2, 4.7$  Hz, 2H), 3.00 – 2.89 (m, 2H), 2.64 – 2.45 (m, 2H), 2.41 – 2.29 (m, 2H), 0.91 (s, 9H), 0.08 (s, 6H).  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 177.15, 166.13, 146.09, 140.16, 130.37, 129.12, 128.69, 128.35, 127.48, 127.37, 85.71, 79.03, 63.64, 55.37, 40.74, 39.30, 36.48, 26.05, 18.38, -5.32, -5.36. **Elementární analýza:** pro  $\text{C}_{27}\text{H}_{34}\text{O}_5\text{Si}$  vypočteno: C 70,68 H; 7,47 nalezeno: C 70,75±0,15; H 7,62±0,03. **MALDI- TOF, m/z:**  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  vypočteno pro  $\text{C}_{27}\text{H}_{34}\text{O}_5\text{Si}$  489,20677 Da nalezeno 489,20727 Da

#### 4.1.2 Příprava TBSCI-PBP-Corey laktolu (**3**) – experiment č.2

Do 500 ml trojhrdlé baňky opatřené míchadlem, septem, a přívodem dusíku byl předložen (**2**) (7,31 g; 15,67 mmol, 1 ekv). Baňka byla 3x vysekurována a za chlazení ( $-60\text{ }^\circ\text{C}$ ) byl přidán sušený THF (200 ml) do rozpuštění (**2**). Dále byl přikapáván DIBAL (25 ml; 140,28 mmol; 8,97 ekv) po dobu 20 min. Směs se nechala za chlazení ( $-60\text{ }^\circ\text{C}$ ) míchat dalších 45 min. Reakce byla ukončena a byl přidán  $\text{Al}_2\text{O}_3$  (20 g). Směs se nechala míchat dalších 30 min a následovala 3x extrakce mezi vodou a ethyl-acetátem (3x 50 ml). Jednotlivé organické podíly byly spojeny a odpařeny na RVO.

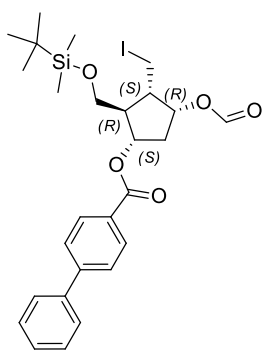


**Charakterizace produktu 3:** Nažloutlá olejovitá látka. Výtěžek: 7,1 g (99 %);  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.07 (dd,  $J = 8.4, 2.3$  Hz, 1H), 7.73 – 7.56 (m, 2H), 7.47 (dt,  $J = 13.0, 6.5$  Hz, 1H), 7.40 (dt,  $J = 9.7, 6.2$  Hz, 1H), 5.68 (dd,  $J = 37.2, 4.4$  Hz, 1H), 5.29 (dq,  $J = 8.8, 4.3$  Hz, 1H), 4.85 – 4.63 (m, 1H), 3.78 – 3.60 (m, 1H), 2.82 – 2.41 (m, 1H), 2.26 – 2.03 (m, 2H), 1.66 (s, 1H), 0.90 (s, 5H), 0.06 (s, 3H).  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 166.24, 145.79, 140.22, 130.27, 129.38, 129.12, 128.34, 128.30, 127.47, 127.26, 101.46, 100.23, 83.25, 83.08, 79.53, 63.76, 54.38, 54.31, 43.65, 43.62, 41.11, 40.25, 38.65, 26.09, 18.43, -5.29, -5.32. **Elementární analýza:** pro  $\text{C}_{27}\text{H}_{36}\text{O}_5\text{Si}$  vypočteno C 69,81; H 7,82 nalezeno C 69,99±0,19; H 7,99 ±0,07. **MALDI- TOF, m/z:**  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  vypočteno pro  $\text{C}_{27}\text{H}_{36}\text{O}_5\text{Si}$  491,64701 Da nalezeno 491,22397 Da.

## 4.2 Oxidativní otevření kruhu – izolace nečistot

### 4.2.1 Příprava TBSCI-PBP-(Iodomethyl)cyklopentyl formátu (4) a izolace nečistot (2) a (5) – experiment č.3

Do 1 l trojhrdlé baňky opatřené míchadlem, septem, a přívodem dusíku byl předložen (3) (15,15 g; 32,33 mmol; 1 ekv). Baňka byla 3x vysekurována a byl přidán sušený DCM (350 ml) do rozpuštění (3). Dále byl najednou přidán DAIB (11,51 g; 35,73 mmol; 1,11 ekv) a I<sub>2</sub> (9,39 g; 73,99 mmol; 2,30 ekv). Směs se nechala ozařovat UV lampou bez filtru za laboratorních podmínek. Po 2 hodinách byla reakce ukončena přidavkem 10% NaCl (100 ml) a 10% Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (140 ml). Po přidání těchto složek a po intenzivním míchání zmizelo tmavé zabarvení směsi. Směs byla extrahována mezi vodou a DCM (3x 50 ml). Jednotlivé organické podíly byly spojeny a odpařeny na RVO. Finální úprava byla provedena pomocí sloupcové chromatografie ethyl-acetát:hexan (1:2), kdy byl izolován produkt 4 a nečistoty 2 a 5.

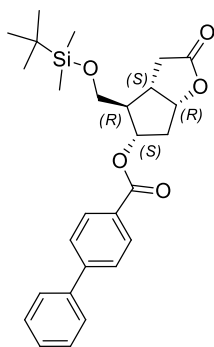


4

12,42 g (64,62 %)

C<sub>26</sub>H<sub>34</sub>O<sub>4</sub>Si

**Charakterizace produktu 4:** Žlutá krystalická látka. Výtěžek 12,42 g (64,62 %). Bod tání 62,9-65,4 °C. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.17 (s, 1H), 8.09 – 7.64 (m, 4H), 7.64 – 7.60 (m, 2H), 7.51 – 7.43 (m, 2H), 7.41 (ddd, *J* = 7.3, 3.7, 1.2 Hz, 1H), 5.47 (t, *J* = 4.3 Hz, 1H), 5.43 – 5.34 (m, 1H), 3.86 (ddd, *J* = 13.7, 10.3, 3.9 Hz, 2H), 3.40 (dd, *J* = 9.7, 4.9 Hz, 1H), 3.33 – 3.23 (m, 1H), 2.57 – 2.46 (m, 1H), 2.39 (ddd, *J* = 15.9, 7.7, 4.8 Hz, 1H), 2.24 (td, *J* = 8.0, 4.0 Hz, 1H), 2.15 (d, *J* = 15.9 Hz, 1H), 0.91 (s, 9H), 0.10 (d, *J* = 3.9 Hz, 6H). <sup>13</sup>C NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 166.23, 160.54, 146.04, 140.12, 130.25, 129.16, 129.04, 128.41, 127.47, 127.30, 78.08, 77.48, 62.14, 53.03, 47.86, 38.72, 26.09, 18.42, 2.44, -5.27, -5.31. **Elementární analýza:** pro C<sub>26</sub>H<sub>34</sub>O<sub>4</sub>Si vypočteno C 71,19; H 7,81 nalezeno C 71,41±0,07; H 7,99±0,03. **MALDI-TOF, m/z:** [M+Na]<sup>+</sup> vypočteno pro C<sub>26</sub>H<sub>34</sub>O<sub>4</sub>Si 617,11961 Da nalezeno 617,12051 Da

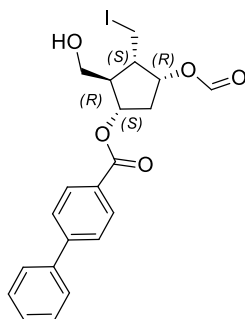


2

0,56 g (2,91 %)

C<sub>27</sub>H<sub>34</sub>O<sub>5</sub>Si

**Charakterizace nečistoty 2:** Bílá krystalická látka. Výtěžek 0,56 g (2,91 %). Bod tání 81-82,2 °C. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.09 – 7.63 (m, 1H), 7.62 – 7.58 (m, 1H), 7.44 (dd, *J* = 10.1, 4.7 Hz, 1H), 7.40 – 7.33 (m, 1H), 5.37 (dt, *J* = 5.6, 2.7 Hz, 1H), 5.09 (t, *J* = 5.7 Hz, 1H), 4.10 (q, *J* = 7.1 Hz, 1H), 3.71 (ddd, *J* = 26.7, 10.2, 4.7 Hz, 1H), 2.96 – 2.87 (m, 1H), 2.60 – 2.42 (m, 1H), 2.37 – 2.28 (m, 1H), 1.24 (t, *J* = 7.1 Hz, 1H), 0.89 (s, 2H), 0.06 (d, *J* = 0.9 Hz, 1H). **Elementární analýza:** pro C<sub>27</sub>H<sub>34</sub>O<sub>5</sub>Si vypočteno C 70,68 H; 7,47 nalezeno C 70,88±0,23; H 7,55±0,13. **MALDI- TOF, m/z:** [M+Na]<sup>+</sup> vypočteno pro C<sub>27</sub>H<sub>34</sub>O<sub>5</sub>Si 489,20677 Da nalezeno 489,20804 Da



5

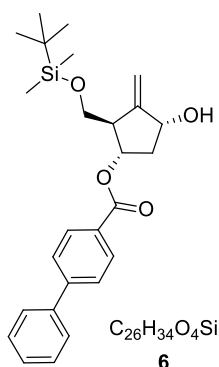
4,54 g (23,62 %)

C<sub>21</sub>H<sub>21</sub>IO<sub>5</sub>

**Charakterizace nečistoty 5:** Bílá krystalická látka. Výtěžek 4,54 g (23,62 %). <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.19 (s, 1H), 7.86 (dd, *J* = 154.4, 8.5 Hz, 4H), 7.62 (dd, *J* = 8.3, 1.2 Hz, 2H), 7.52 – 7.44 (m, 2H), 7.41 (ddd, *J* = 7.3, 3.7, 1.3 Hz, 1H), 5.49 – 5.36 (m, 2H), 3.83 (ddd, *J* = 16.8, 11.2, 4.8 Hz, 2H), 3.39 (dd, *J* = 9.8, 4.7 Hz, 1H), 3.33 – 3.21 (m, 1H), 2.53 – 2.44 (m, 2H), 2.39 (ddd, *J* = 15.2, 9.4, 4.1 Hz, 1H). **Elementární analýza:** pro C<sub>21</sub>H<sub>21</sub>IO<sub>5</sub> vypočteno C 52.51; H 4.41 nalezeno C 52,64±0,27; H 4,49±0,15. **MALDI- TOF, m/z:** [M+Na]<sup>+</sup> vypočteno pro C<sub>21</sub>H<sub>21</sub>IO<sub>5</sub> 503,03314 Da naměřeno 503,03422 Da

### 4.3 Příprava (1*R*,3*S*,4*R*)-4-(hydroxymethyl)-5-methylenecyclopentan-1,3-diolu (6) – experiment č.4

Do 100 ml baňky byl předložen (4) (1 g; 1,68 mmol, 1 ekv) byl rozpuštěn v DBN (16,9 ml; 136,09 mmol; 81 ekv) za laboratorních podmínek. Po hodině reakce bylo zjištěno pomocí TLC, že reakce probíhá velice pomalu. Reakční směs byla zahřáta na 50 °C po dobu 15 min a poté se nechala míchat přes noc (16 hod). Nasledovalo ukončení reakce a směs se extrahovala mezi vodou a ethyl-acetátem (3x 25 ml). Finální úprava byla provedena sloupcovou chromatografií a krystalizací (ethyl-acetát : hexan).



**Charakterizace produktu 6:** Bílá krystalická látka. Výtěžek 0,51 g (69,1 %). Bod tání 108,6-109,7 °C.  $^1H$  NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  8.08 (d,  $J = 8.3$  Hz, 1H), 7.68 – 7.58 (m, 2H), 7.42 (dt,  $J = 29.2, 7.3$  Hz, 2H), 5.42 – 5.31 (m, 1H), 5.18 (s, 1H), 4.55 (td,  $J = 6.5, 1.6$  Hz, 1H), 3.77 (ddd,  $J = 67.2, 9.9, 5.0$  Hz, 1H), 3.43 – 3.16 (m, 2H), 2.99 (s, 1H), 2.62 (ddd,  $J = 20.2, 14.6, 7.2$  Hz, 1H), 0.87 (s, 5H), 0.04 (d,  $J = 8.3$  Hz, 3H).  $^{13}C$  NMR (101 MHz,  $CDCl_3$ ) 166.24, 154.00, 145.88, 140.18, 130.29, 129.23, 129.12, 128.34, 127.47, 127.23, 110.19, 76.36, 73.83, 64.93, 52.19, 51.60, 43.09, 41.98, 41.04, 31.05, 26.05, 20.32, 19.62, 18.44, -5.28, -5.34. **Elementární analýza:** pro  $C_{26}H_{34}O_4Si$  vypočteno C 71,19; H 7,81 nalezeno C 71,51 $\pm$ 0,05; H 7,71 $\pm$ 0,11. **MALDI- TOF, m/z:**  $[M+Na]^+$  vypočteno pro  $C_{26}H_{34}O_4Si$  461,21241 Da naměřeno 461,21267 Da.

### 4.4 Zjištění základních parametrů - experiment č.5 – 11

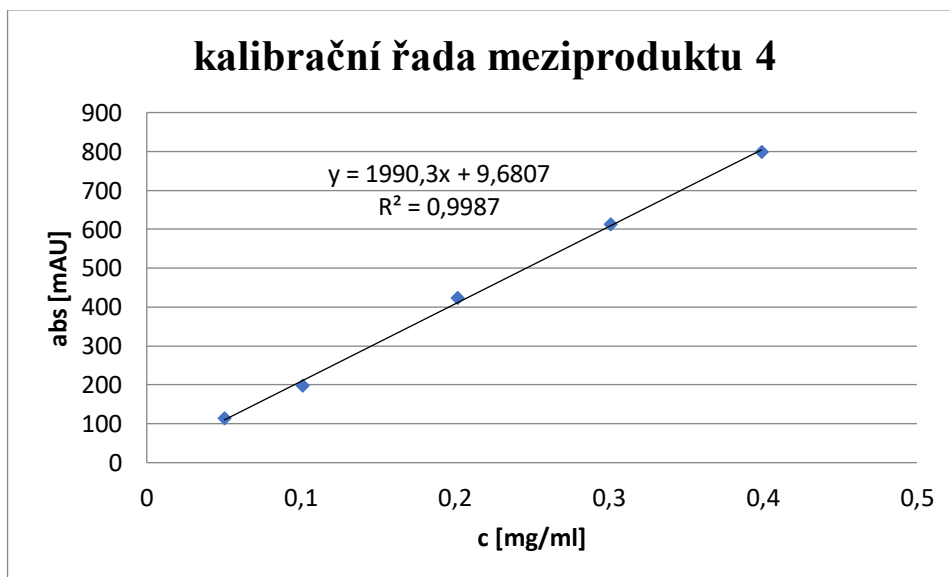
První část: Do 250 ml trojhrdlé baňky opatřené míchadlem, septem, a přívodem dusíku byl předložen (3). Baňka byla 3x vysekurována a byl přidán sušený DCM do rozpuštění (3). Dále byl najednou přidán DAIB (1,11 ekv) a  $I_2$  (2,30 ekv). Směs se nechala ozařovat UV lampou bez filtru za laboratorních podmínek. Po **X hod** (podmínky byly stanoveny v *Tabulce I*) byla reakce ukončena přidavkem 10% NaCl a 10%  $Na_2S_2O_3$ . Po přidání těchto složek a po

intenzivním míchání zmizelo tmavé zbarvení směsi. Směs byla extrahována mezi vodou a DCM. Jednotlivé organické podíly byly spojeny a odpařeny na RVO. Finální úprava byla provedena pomocí sloupcové chromatografie ethyl-acetát:hexan (1:2).

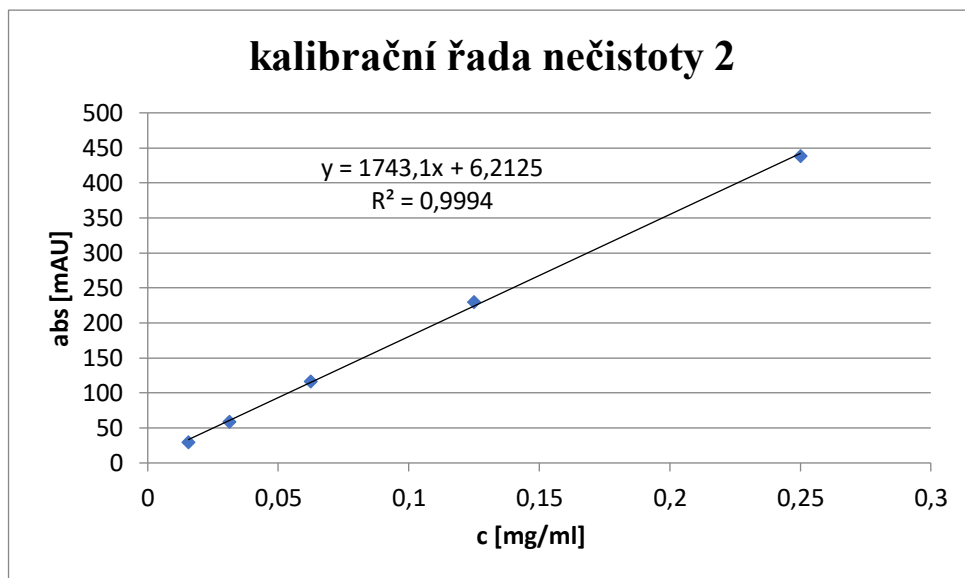
Druhá část: Do 100 ml baňky byl předložen (**4**) byl rozpuštěn v DBN (81 ekv) za laboratorních podmínek. Po hodině reakce bylo zjištěno pomocí TLC, že reakce probíhá velice pomalu. Reakční směs byla zahřáta na 50 °C po dobu 15 min a poté se nechala míchat přes noc (16 hod). Nasledovalo ukončení reakce a směs se extrahovala mezi vodou a ethyl-acetátem). Finální úprava byla provedena sloupcovou chromatografií ethyl-acetát : hexan 1:2 a krystalizací (ethyl-acetát : hexan).

#### 4.5 Stanovení kalibračních řad

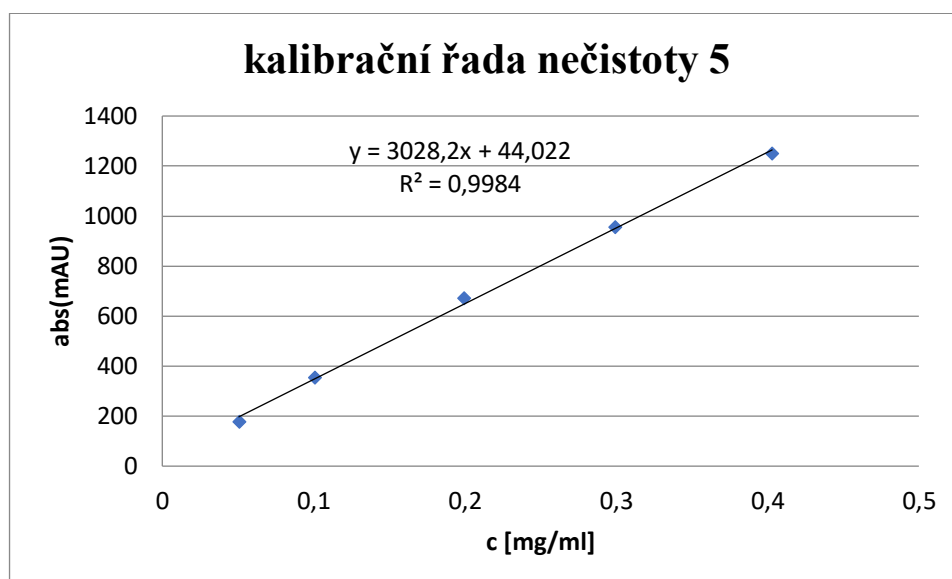
Postup stanovení kalibračních řad byl u všech stejný. Na mikrováhách bylo přesně naváženo určité množství příslušné látky (**3** = 0,5 g, **4** = 0,4 g; **2** = 0,25 g; **5** = 0,4 g), které se předložilo do 100 ml odměrné baňky a následně rozpustilo ve 100 ml MeCN. Nasledovaly postupné zředění pro měření na HPLC, kdy úroveň zředění byla u **4** a **5** 1x, 2x, 3x, 4x, 5x a u **3** a **2** byla 1x, 2x, 4x, 8x, 16x. Nasledovalo proměření jednotlivých zředěných roztoků a vynesení kalibrační křivky.



Graf 1: Kalibrační řada meziprojektu 4

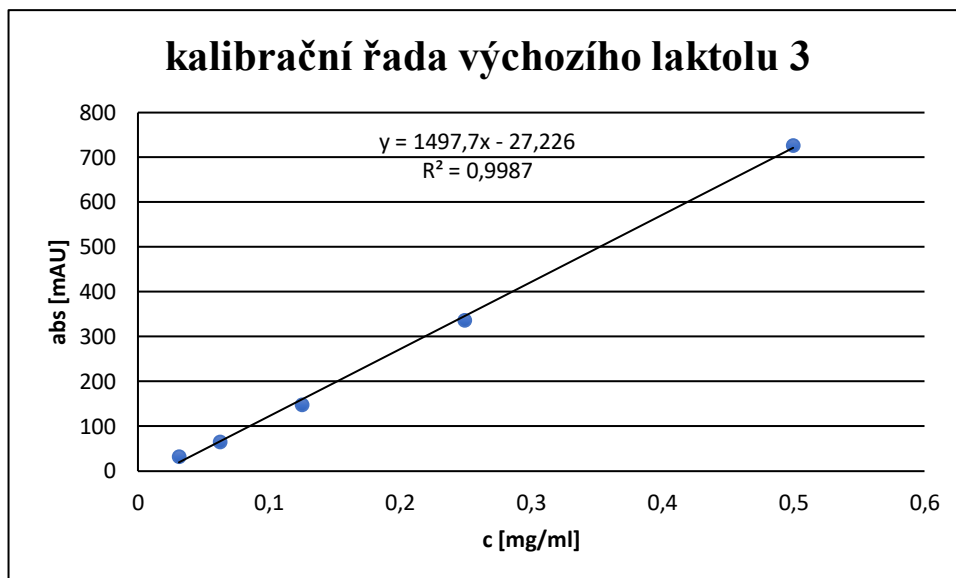


*Graf 2: Kalibrační řada nečistoty 2*



*Graf 3: Kalibrační řada nečistoty 5*



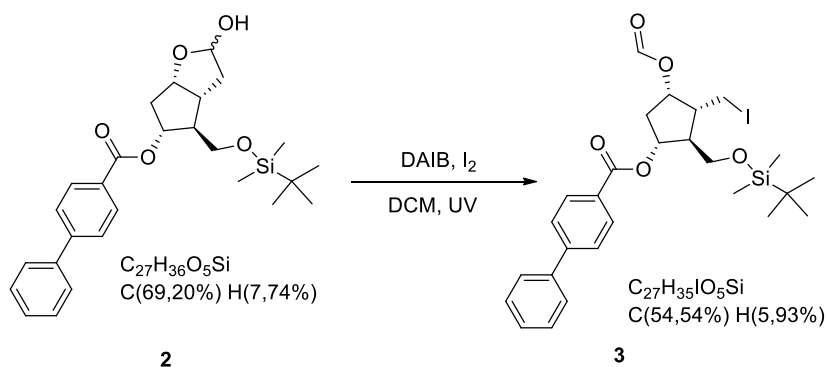


Graf 4: Kalibrační řada výchozího laktolu 3

## 4.6 Sledování oxidativního otevírání kruhu pomocí HPLC

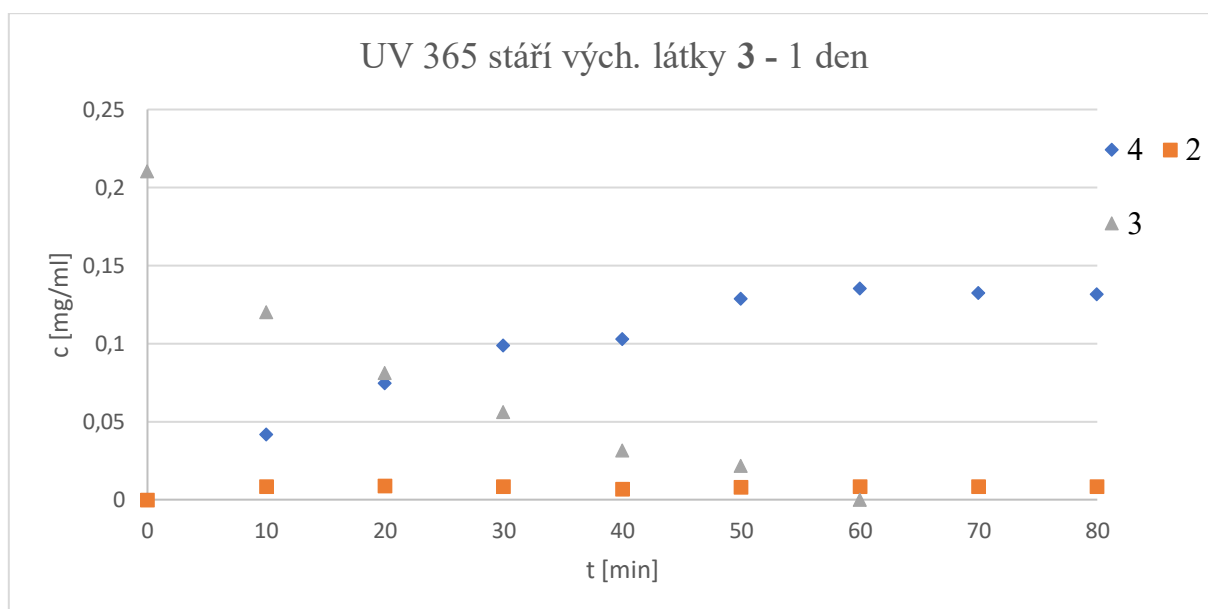
### 4.6.1 Experiment č.12

Postup reakce: Látka **2** (1 g; 2,13 mmol; 1 ekv) se předložila do 250 ml baňky. Baňka byla 3x vysekurována a byl přidán sušený DCM (50 ml) do rozpuštění (**2**). Dále byl najednou přidán DAIB (0,76 g; 2,37 mmol; 1,11 ekv) a  $I_2$  (0,62 g; 4,89 mmol; 2,30 ekv). Směs reagovala za působení okolního světla. Vždy po uběhnutí hodiny reakce se odebral injekční jehlou malý podíl (3 ml), ke kterému se přidal přídatek 10 % NaCl (10 ml) a 10 %  $Na_2S_2O_3$  (15 ml). Následovala extrakce mezi vodou a DCM (3x 2 ml), odpaření na RVO a navážení odpařené směsi do 100 ml odměrné baňky (29,5 mg), která se doplnila na plný objem acetonitrilem (MeCN). Z tohoto objemu byla následně napipetováno 1 ml do lékovky určené pro měření HPLC.

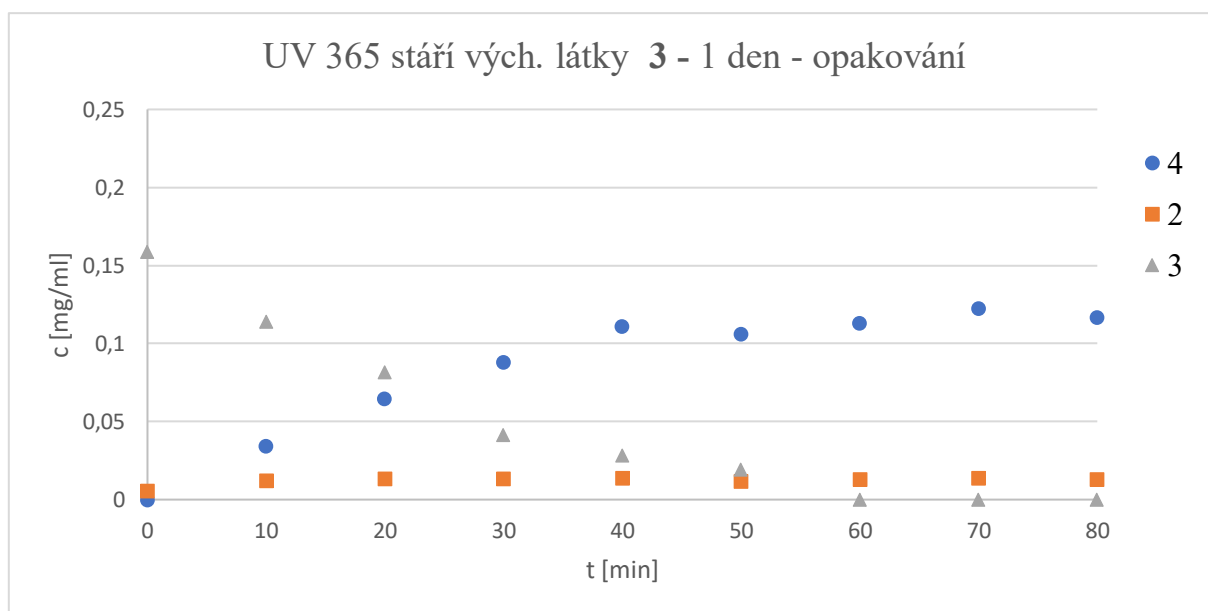


#### 4.6.2 Experiment č.13

Postup při stanovení průběhu reakce byl následující: Látka **3** – **staří 1 den** (1 g; 2,13 mmol; 1 ekv) se předložila do 250 ml baňky. Baňka byla 3x vysekurována a byl přidán sušený DCM (50 ml) do rozpuštění (**3**). Dále byl najednou přidán DAIB (0,76 g; 2,37 mmol; 1,11 ekv) a I<sub>2</sub> (0,62 g; 4,89 mmol; 2,30 ekv). Směs se nechala ozařovat UV lampou bez filtru 365 nm za laboratorních podmínek. Podíly se odebíraly vždy po deseti minutách se začátkem v čase 0. Každý podíl (3 ml) se odebral injekční jehlou, ke kterému se přidal přídavek 10 % NaCl (10 ml) a 10 % Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (15 ml). Následovala extrakce mezi vodou a DCM (3x 2 ml), odpaření na RVO a navážení odpařené směsi do 100 ml odměrné baňky (29,5 mg), která se doplnila na plný objem acetonitrilem (MeCN). Z tohoto objemu byla následně napipetováno 1 ml do lékovky určené pro měření HPLC.



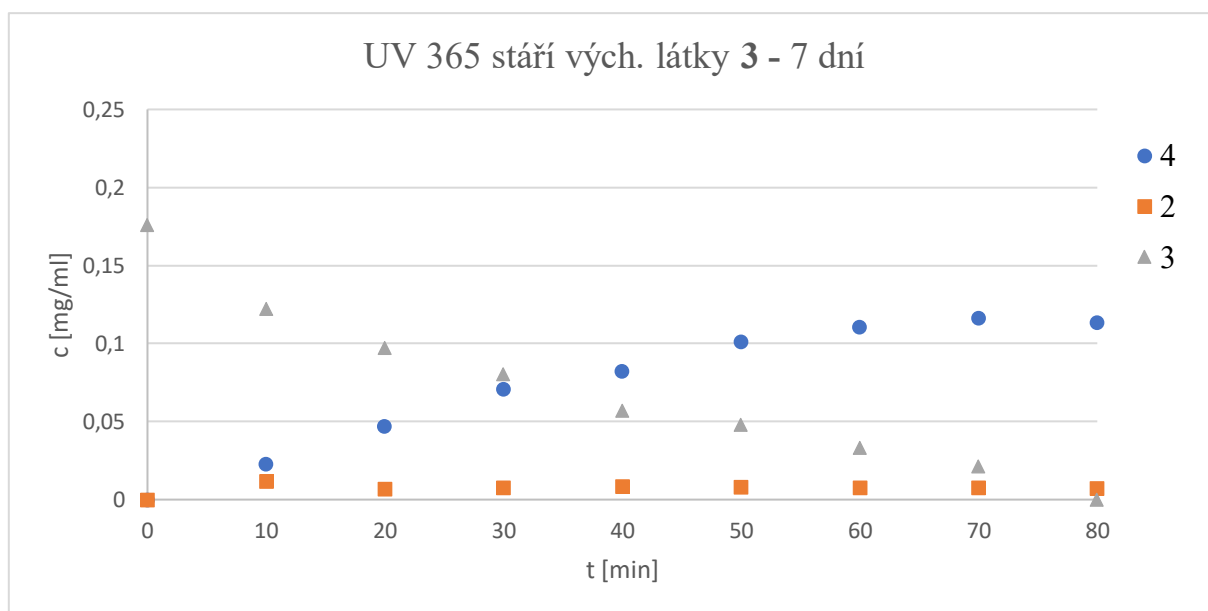
Graf 5: UV 365 stáří vých. látky 3 - 1 den



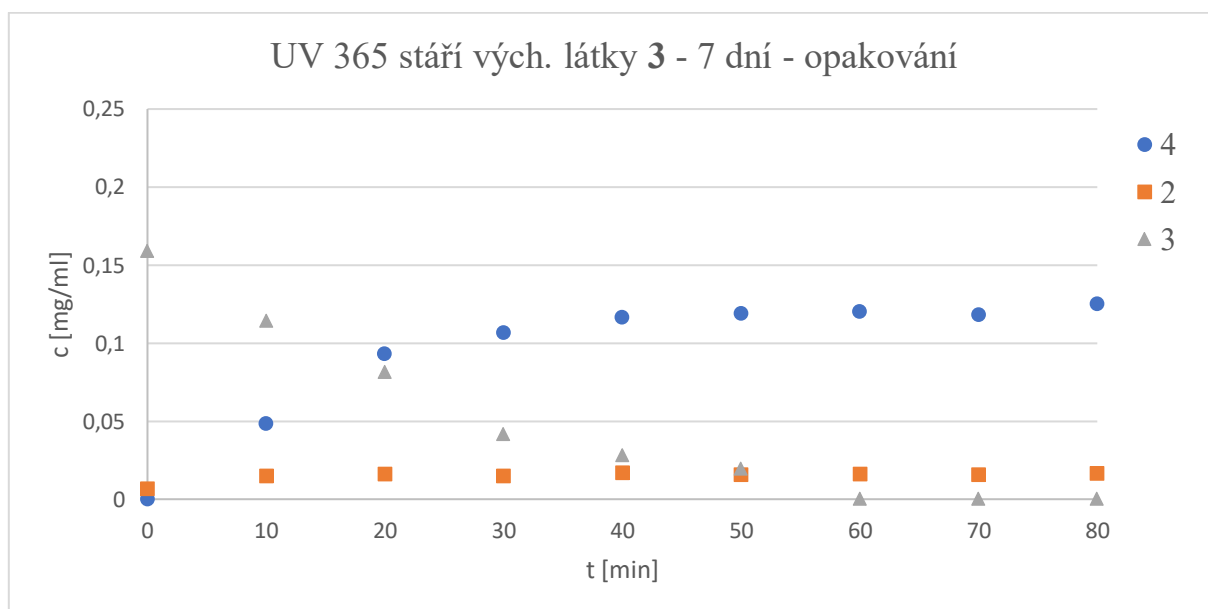
*Graf 6: UV 365 stáří vých. látky 3 - 1 den – opakování*

#### 4.6.3 Experiment č.14

Látka **3** – **staří 7 dní** (1 g; 2,13 mmol; 1 ekv) se předložila do 250 ml baňky. Baňka byla 3x vysekurována a byl přidán sušený DCM (50 ml) do rozpuštění (**3**). Dále byl najednou přidán DAIB (0,76 g; 2,37 mmol; 1,11 ekv) a I<sub>2</sub> (0,62 g; 4,89 mmol; 2,30 ekv). Směs se nechala ozařovat UV lampou bez filtru 365 nm za laboratorních podmínek. Podíly se odebíraly vždy po deseti minutách se začátkem v čase 0. Každý podíl (3 ml) se odebral injekční jehlou, ke kterému se přidal přídatek 10 % NaCl (10 ml) a 10 % Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (15 ml). Následovala extrakce mezi vodou a DCM (3x 2 ml), odpaření na RVO a navážení odpařené směsi do 100 ml odměrné baňky (29,5 mg), která se doplnila na plný objem acetonitrilem (MeCN). Z tohoto objemu byla následně napipetováno 1 ml do lékovky určené pro měření HPLC.



Graf 7: UV 365 stáří vých. látky 3 - 7 dní

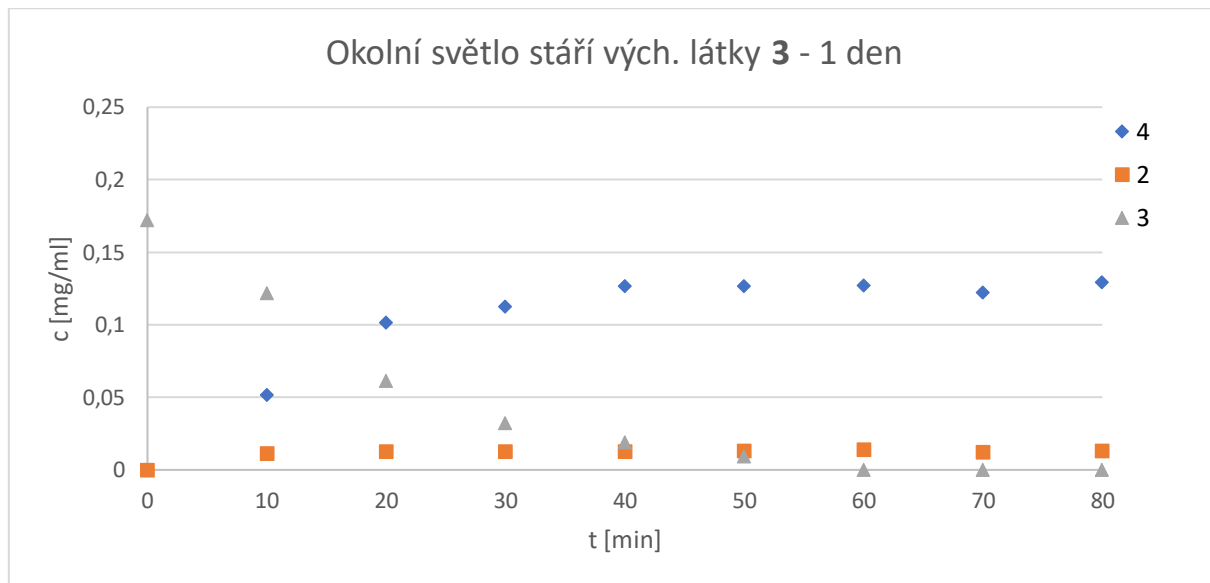


Graf 8: UV 365 stáří vých. látky 3 - 7 dní – opakování

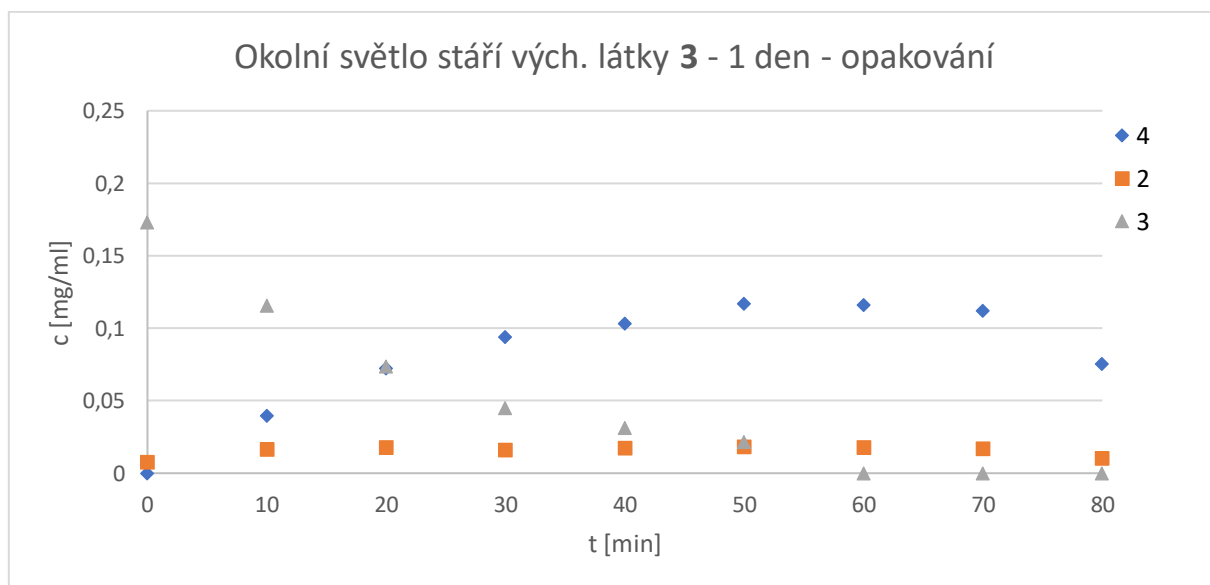
#### 4.6.4 Experiment č.15

Látka 3 – staří 1 den (1 g; 2,13 mmol; 1 ekv) se předložila do 250 ml baňky. Baňka byla 3x vysekurována a byl přidán sušený DCM (50 ml) do rozpuštění (3). Dále byl najednou přidán DAIB (0,76 g; 2,37 mmol; 1,11 ekv) a I<sub>2</sub> (0,62 g; 4,89 mmol; 2,30 ekv). Směs se nechala reagovat za působení okolního světla při laboratorních podmínkách. Podíly se odebíraly vždy po deseti minutách se začátkem v čase 0. Každý podíl (3 ml) se odebral injekční jehlou, ke kterému se přidal přídatek 10 % NaCl (10 ml) a 10 % Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (15 ml). Následovala extrakce mezi vodou a DCM (3x 2 ml), odpaření na RVO a navážení odpařené směsi do 100 ml odměrné

baňky (29,5 mg), která se doplnila na plný objem acetonitrilem (MeCN). Z tohoto objemu byla následně napipetováno 1 ml do lékovky určené pro měření HPLC.



Graf 9: Okolní světlo stáří vých. látky 3 - 1 den

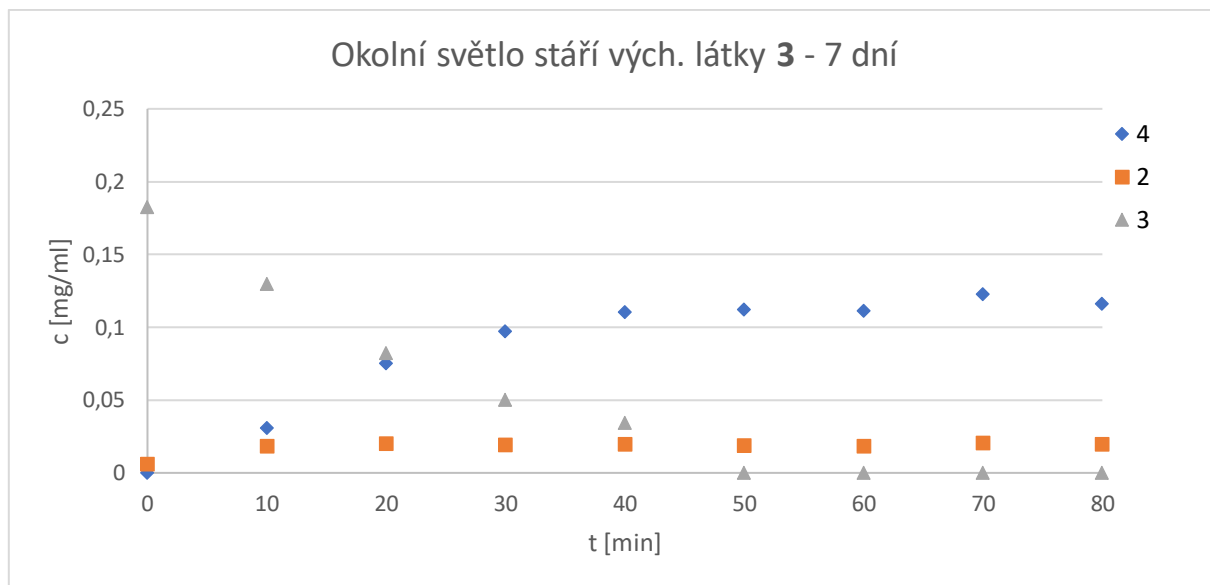


Graf 10: Okolní světlo stáří vých. látky 3 - 1 den - opakování

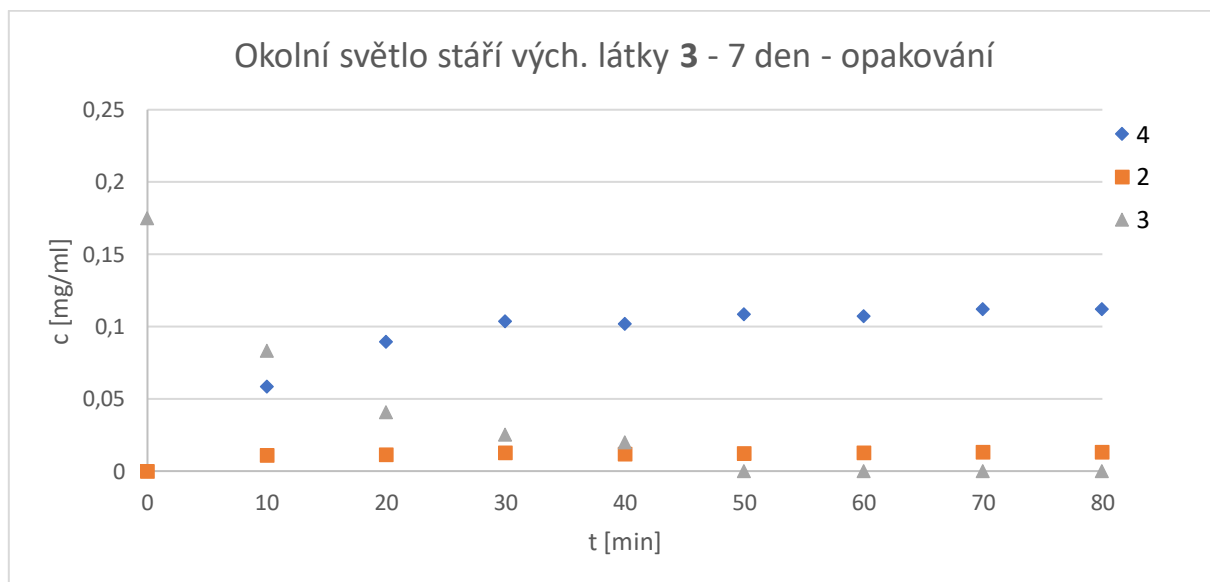
#### 4.6.5 Experiment č.16

Látka 3 – staří 7 den (1 g; 2,13 mmol; 1 ekv) se předložila do 250 ml baňky. Baňka byla 3x vysekurována a byl přidán sušený DCM (50 ml) do rozpuštění (3). Dále byl najednou přidán DAIB (0,76 g; 2,37 mmol; 1,11 ekv) a I<sub>2</sub> (0,62 g; 4,89 mmol; 2,30 ekv). Směs se nechala reagovat za působení okolního světla při laboratorních podmínkách. Podíly se odebíraly vždy

po deseti minutách se začátkem v čase 0. Každý podíl (3 ml) se odebral injekční jehlou, ke kterému se přidal přídavek 10 % NaCl (10 ml) a 10 % Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (15 ml). Následovala extrakce mezi vodou a DCM (3x 2 ml), odpaření na RVO a navážení odpařené směsi do 100 ml odměrné baňky (29,5 mg), která se doplnila na plný objem acetonitrilem (MeCN). Z tohoto objemu byla následně napipetováno 1 ml do lékovky určené pro měření HPLC.



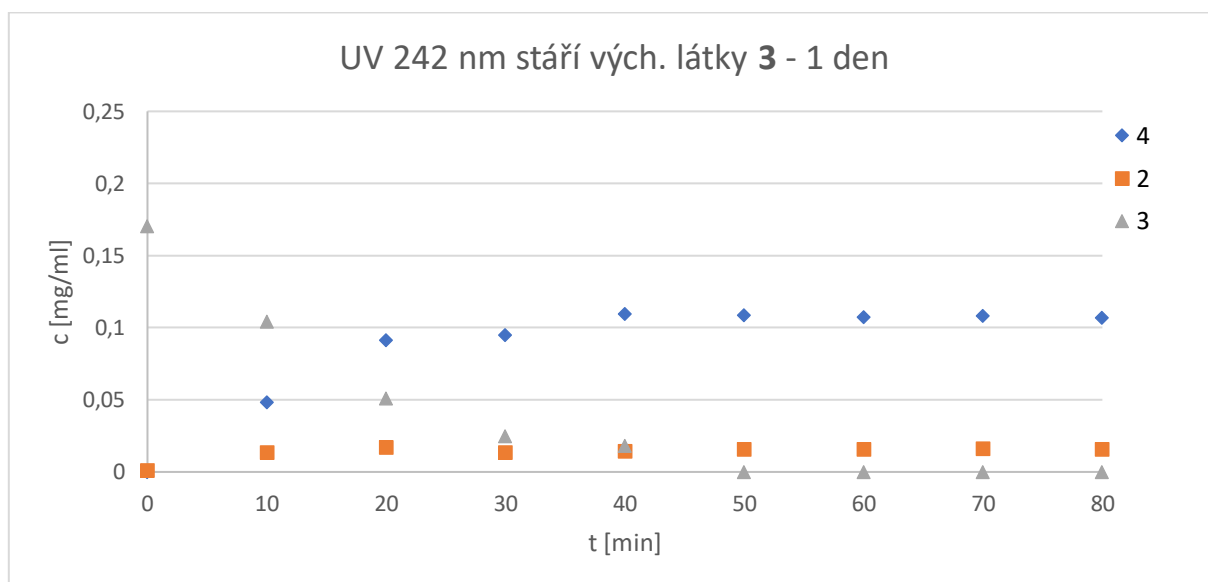
Graf 11: Okolní světlo stáří vých. látky 3- -7 dní



Graf 12: Okolní světlo stáří vých. látky 3 - 7 dní - opakování

#### 4.6.6 Experiment č.17

Postup při stanovení průběhu reakce byl následující: Látka **3** – **staří 1 den** (1 g; 2,13 mmol; 1 ekv) se předložila do 100 ml kádinky. Kádinka byla profukována dusíkem a byl přidán sušený DCM (50 ml) do rozpuštění (**3**). Dále byl najednou přidán DAIB (0,76 g; 2,37 mmol; 1,11 ekv) a I<sub>2</sub> (0,62 g; 4,89 mmol; 2,30 ekv). Směs se nechala ozařovat UV lampou bez filtru 242 nm za laboratorních podmínek, která byla nastavena seshora, aby 242 nm záření nešlo přes stěny kádinky. Podíly se odebíraly vždy po deseti minutách se začátkem v čase 0. Každý podíl (3 ml) se odebral injekční jehlou, ke kterému se přidal přídavek 10 % NaCl (10 ml) a 10 % Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (15 ml). Následovala extrakce mezi vodou a DCM (3x 2 ml), odpaření na RVO a navážení odpařené směsi do 100 ml odměrné baňky (29,5 mg), která se doplnila na plný objem acetonitrilem (MeCN). Z tohoto objemu byla následně napipetováno 1 ml do lékovky určené pro měření HPLC.

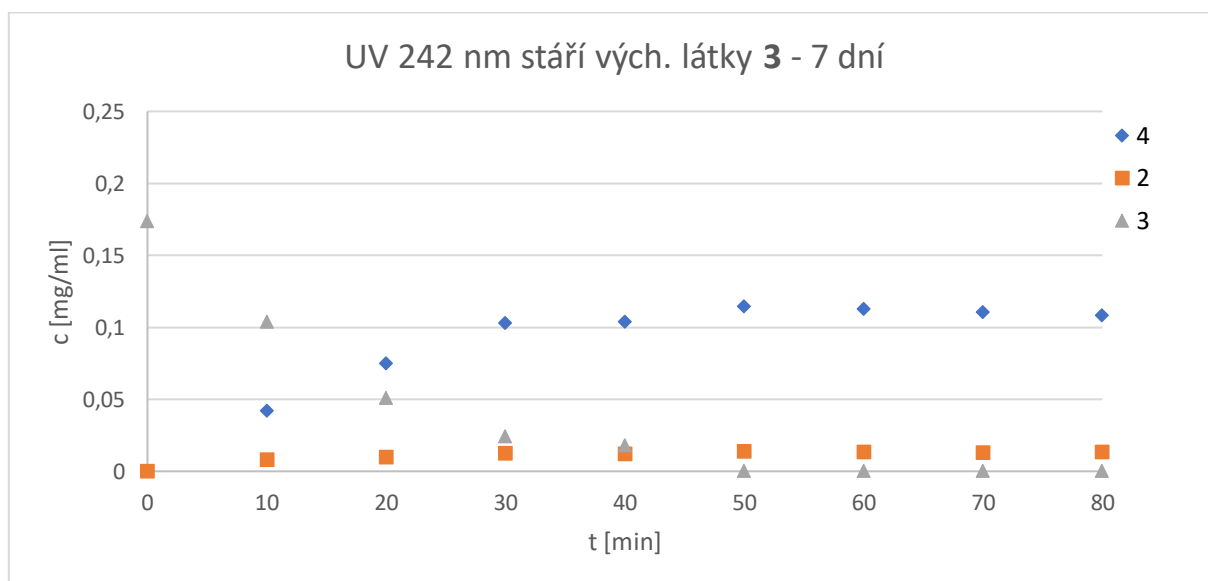


Graf 13: UV 242 nm stáří vých. látky 3 - 1 den

#### 4.6.7 Experiment č.18

Postup při stanovení průběhu reakce byl následující: Látka **3** – **staří 7 den** (1 g; 2,13 mmol; 1 ekv) se předložila do 100 ml kádinky. Kádinka byla profukována dusíkem a byl přidán sušený DCM (50 ml) do rozpuštění (**3**). Dále byl najednou přidán DAIB (0,76 g; 2,37 mmol; 1,11 ekv) a I<sub>2</sub> (0,62 g; 4,89 mmol; 2,30 ekv). Směs se nechala ozařovat UV lampou bez filtru 242 nm za laboratorních podmínek, která byla nastavena seshora, aby 242 nm záření nešlo přes stěny kádinky. Podíly se odebíraly vždy po deseti minutách se začátkem v čase 0. Každý podíl (3 ml) se odebral injekční jehlou, ke kterému se přidal přídavek 10 % NaCl (10 ml) a 10 % Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (15 ml). Následovala extrakce mezi vodou a DCM (3x 2 ml), odpaření na RVO a

navážení odpařené směsi do 100 ml odměrné baňky (29,5 mg), která se doplnila na plný objem acetonitrilem (MeCN). Z tohoto objemu byla následně napipetováno 1 ml do lékovky určené pro měření HPLC.



Graf 14: UV 242 nm stáří vých. látky 3 - 7 dní



## 5 Závěr

Literární řešerše se zabývá syntézami (1*R*,3*S*,4*R*)-4-(hydroxymethyl)-5-methylencyklopentan-1,3-diolu jako klíčovému meziprojektu entecaviru. V první části byla ověřena navržená syntetická cesta. Byly provedeny série experimentů s cílem pochopit a stanovit parametry reakce. Nejdůležitější poznatky v této části byly, že reakce neprobíhá, pokud je reakční baňka zatemněná a zároveň že probíhá i za nespecifikovaného okolního světla a ne pouze za působení UV záření pomocí UV lampy, jak se píše v publikacích.

Dále jsem se zaměřil už přímo na oxidativní otevření kruhu, které bylo podrobněji popsáno. Byla izolována a identifikována nečistota **2**, která ovšem vznikala pouze v málem množství a nebyla pro další průběh pozorování reakce důležitá, zatímco nečistota **5**, což je desilovaný meziprojekt **4**, která vznikala v poměrně velkém výtěžku a představovala možnost, jak zvýšit výtěžek, byla důležitá.

Pomocí HPLC byla reakce studována do hloubky. Z mnoha měření za různých podmínek bylo zjištěno, že průběh reakce neovlivňuje ozařování reakční směsi UV lampou 365 nm, UV lampou 242 nm, anebo ozařováním okolního nespecifikovaného světla, stejně tak průběh reakce neovlivňuje stáří výchozí látky **3**. Tento fakt potvrzuje podobné finální koncentrace látky **4** vypočítané pomocí metody kalibrační křivky. Rychlost reakce se pohybovala vždy okolo 50-60 min.

Celkem bylo připraveno a izolováno 5 originálních sloučenin. Připravené sloučeniny byly charakterizovány pomocí elementární analýzy, NMR, MALDI-TOF a v případě krystalických látek pomocí bodu tání.

Budoucí experimenty by se měly zaměřit na další možnosti experimentálního provedení jako například přidávat činidla DIAB a I<sub>2</sub> v roztoku v určitém časovém úseku. Dále by bylo vhodné zaměnit ochranou skupinu TBSCl za jinou, která by nepodléhala deprotekcii. Anebo provést oxidativní otevírání kruhu například v UV reaktoru, nebo v průtočném skleněném reaktoru.

## 6 Seznam použité literatury

---

<sup>1</sup> (-)-Corey lactone diol, 2017. chemicalbook.

[https://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty\\_EN\\_CB2339937.htm](https://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_EN_CB2339937.htm) (accessed May 01, 2019).

<sup>2</sup> (-)-Corey lactone 4-phenylbenzoate alcohol, 2017. chemicalbook.

[https://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty\\_EN\\_CB0352945.htm](https://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_EN_CB0352945.htm) (accessed April 25, 2019).

<sup>3</sup> (-)-Corey Lactone Benzoate, 2017. chemicalbook.

[https://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty\\_EN\\_CB2282525.htm](https://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_EN_CB2282525.htm) (accessed April 29, 2019).

<sup>4</sup> ((3Ar,4S,5R,6aS)-5-Acetoxy-2-oxohexahydro-2H-cyclopenta[b]furan-4-yl)methyl acetate, 2002. pubchem.

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/363762> (accessed May 02, 2019).

<sup>5</sup> Corey lactone, 2008. lookchem. <https://www.lookchem.com/Corey-lactone/> (accessed May 03, 2019).

<sup>6</sup> (3aR,4S,5R,6aS)-4-[(Acetyloxy)methyl]hexahydro-5-hydroxy-2H-cyclopenta[b]furan-2-one, 2017.

chemicalbook. [https://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty\\_EN\\_CB32516223.htm](https://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_EN_CB32516223.htm) (accessed April 31, 2019).

<sup>7</sup> ((3Ar,4S,5R,6aS)-5-Acetoxy-2-oxohexahydro-2H-cyclopenta[b]furan-4-yl)methyl acetate, 2005. pubchem.

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/363762> (accessed May 02, 2019).

<sup>8</sup> Corey, E. J., The logic of chemical synthesis: Multistep synthesis complex carbogenic molecules. **1990**

<sup>9</sup> Corey, E. J.; Ensley, H. E. Preparation of an Optically Active Prostaglandin Intermediate via Asymmetric Induction. *J. Am. Chem. Soc.* 1975, 6908–6909.

<sup>10</sup> Miyaji, K.; Ohara, Y.; et al. SYNTHESIS OF COREY LACTONE "IA HIGHLY STERESELECTIVE ASYMMETRIC DIELS-ALDER REACTION". *Tetrahedron Lett.* **1991**, 32, 4557–4560.

<sup>11</sup> Veselý, I.; Kozmík, V.; Dědek, V.; et al. Large-scale synthesis of racemic "corey lactone". *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1989**, 54, 1683–1686.

<sup>12</sup> Mitra A: The synthesis of prostaglandins. Wiley, New York 1977

<sup>13</sup> Veselý I., Paleček J., Kubelka V. et al. Czech 226 905; Chem. Abstr. 106,66 993 (1987).

<sup>14</sup> Doyle, M. P.; Catino, A. J. short stereoselective synthesis of (+)- and (-)-2-oxabicyclo[3.3.0]oct-6-en-3-one by intramolecular carbon–hydrogen insertion catalyzed by chiral dirhodium(II) carboxamidates. *Tetrahedron: Asymmetry* **2003**, 14, 925–928.

<sup>15</sup> Grubbs, Robert H. (2003). Handbook of Metathesis (1st ed.). Weinheim: Wiley-VCH. ISBN 978-3-527-30616-9.

- 
- <sup>16</sup> Grubbs, R. H.; Trnka, T. M. (2004). "Ruthenium-Catalyzed Olefin Metathesis". In Murahashi, S. Ruthenium in Organic Synthesis. Weinheim: Wiley-VCH. pp. 153–177.
- <sup>17</sup> Walpole, A. L., Characteristics of prostaglandins. *Annales de biologie animale, biochimie, biophysique* **1975**, *15* (2), 389-406.
- <sup>18</sup> Doc. Ing. Jiří Svoboda, C., Organická syntéza 1. Praha, **2000**, 80-7080-385-1.
- <sup>19</sup> Chen, J. X. Process for the production intermediates for making prostaglandin derivatives such as Latanoprost, Travoprost and Bimatoprost. US 2009/0287003 A1, **2009**.
- <sup>20</sup> Total Syntheses of Didemnonones C and D. *Chem. Pharm. Bull.* 1995, *43* (1), 147
- <sup>21</sup> González-González, C. A.; Fuentes-Benítez, A.; et al. Corey lactone as key precursor for a facile synthesis of novel 1,2,3-triazole carbocyclic nucleosides via Click Chemistry. *Tetrahedron Lett.* **2013**, *54*, 2726–2728.
- <sup>22</sup> 686US1603774-01-01
- <sup>23</sup> Entecavir, 2005. drugbank. <https://www.drugbank.ca/drugs/DB00442> (accessed April 22, 2019).
- <sup>24</sup> Lee, J. H. Novel method for preparing entecavir and intermediate used therein US 0202998, Aug 09, 2012.
- <sup>25</sup> Zahler, R.; Slusarchyk, W. A. EP patentetový spis 0481754A2, April 22, 1992.
- <sup>26</sup> Bisacchi, G.; Sundeen, J. WO patentetový spis 9809964A1, April 12, 1998.
- <sup>27</sup> Ziegler, F. E.; Sarpong, M. A. Radical cyclization studies directed toward the synthesis of BMS-200475 'entecavir': the carbocyclic core. *Tetrahedron* **2003**, *59*, 9013–9018.
- <sup>28</sup> Xiaoyu, L.; Xiaozhen, J.; et al. A novel and efficient synthesis of Entecavir. *Tetrahedron Lett.* **2012**, *53*, 3805–3807.
- <sup>29</sup> Velasco, J.; Ariza, X.; et al. Total Synthesis of Entecavir. *J. Org. Chem.* **2013**, *78*, 5482–5491.
- <sup>30</sup> Hua, X.; Fang, W.; et al. Total Synthesis of Entecavir: A Robust Route for Pilot Production. *Org. process Res. Dev.* **2018**, *22*, 377–384.
- <sup>31</sup> Gioti, E. G.; Koftis, T. V.; et al. A new scalable synthesis of entecavir. *Tetrahedron* **2018**, *74*, 519–527.
- <sup>32</sup> Valiullina, Z. R.; Akhmet'yanova, V. A.; et al. A short synthesis of the carbocyclic core of Entecavir from Corey lactone. *Mendeleev Commun.* **2016**, *26*, 9–10.
- <sup>33</sup> ZHENG, Z. T. ENTECAVIR SYNTHESIS METHOD AND INTERMEDIATE COMPOUND THEREOF EP 2 594 569 A1, May 22, 2013.
- <sup>34</sup> HU, T. C.; HUANG, H. T. Process for preparing entecavir and its intermediates WO 102806, Jan 16, 2011.

- 
- <sup>35</sup> GEORGIEV, G.; KAMENSKA, E.; CHRISTOV, L. (DIACETOXYIODO)BENZENE AND [BIS(TRIFLUOROACETOXY) IODO]BENZENE AS PHOTOINITIATORS FOR RADICAL AND CATIONIC POLYMERIZATION. *Eur. Polym. J.* **1992**, *28*, 207–211.
- <sup>36</sup> Bøjstrup, M.; Lundt, I. Synthesis of aminocyclopentanols: a-D-galacto configured sugar mimics. *org. biomol. chem.* **2005**, *3*, 1738–1745.
- <sup>37</sup> Mehta, G.; Mohal, N. A Norbornyl Route to Cyclopentitols via Novel Regiospecific Fragmentation of a 2,7-Disubstituted Norbornane. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 5791–5794.
- <sup>38</sup> T. W. Green, P. G. M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, Wiley-Interscience, New York, **1999**, 127-141, 708-711.
- <sup>39</sup> Vaino, A. R.; Szarek, W. A. A mild and efficient method for the deprotection of tert-butyldimethylsilyl ethers using iodine in methanol. *Chem. Commun.* **1996**, 2351–2352.