



**UNIVERSITA' DEGLI STUDI
DI FIRENZE**

FACOLTA' DI SCIENZE MATEMATICHE, FISICHE E NATURALI

CORSO DI LAUREA IN CHIMICA

Curriculum: SCIENZE CHIMICHE

TESI DI LAUREA TRIENNALE

**Sintesi stereoselettive di 7-alogeno-1,2-
diidrossiindolizidine.**

**Stereoselective syntheses of 7-halo-1,2-
dihydroxyindolizidines.**

Laureando

CHITI EMANUELE

Relatore

Prof. CORDERO FRANCA M.

Correlatore

Prof. BRANDI ALBERTO

ANNO ACCADEMICO 2011-2012

Ai miei Genitori.

Sommario

Introduzione	pag.7
Scopo della tesi	pag.15
Discussione	pag.17
Sintesi della (7S)-7-OH-lentiginosina	pag. 17
Tentativi di fluorurazione	pag. 23
Tentativi di fluorurazione	pag. 34
Conclusione	pag. 39
Materiali e metodi	pag.40
Parte sperimentale	pag. 41
Allegati	pag. 45

Introduzione

Gli alcaloidi poli-idrossilati sono composti naturali presenti in piante e batteri, analoghi da un punto di vista strutturale agli zuccheri possono avere un'attività biologica simile. Per questo motivo e per il fatto che contengono un atomo di azoto in un ciclo carbonioso vengono chiamati imminozuccheri.

Gli imminozuccheri presentano tra di loro varie differenze sia per lo scheletro di base (anello a 5 termini, 6 termini, monociclici o policiclici) sia per il numero di gruppi ossidrilici presenti che per la configurazione degli stereocentri.

Tra gli imminozuccheri troviamo pirroline (**a**), pirrolidina (**b**), piperidine (**c**), pirrolizidine (**d**), indolizidine (**e**) e nor-tropani (**f**) (Figura 1 e 2).¹

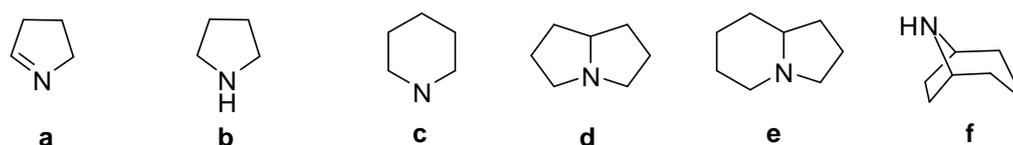


Figura 1 Scheletri ciclici degli imminozuccheri.

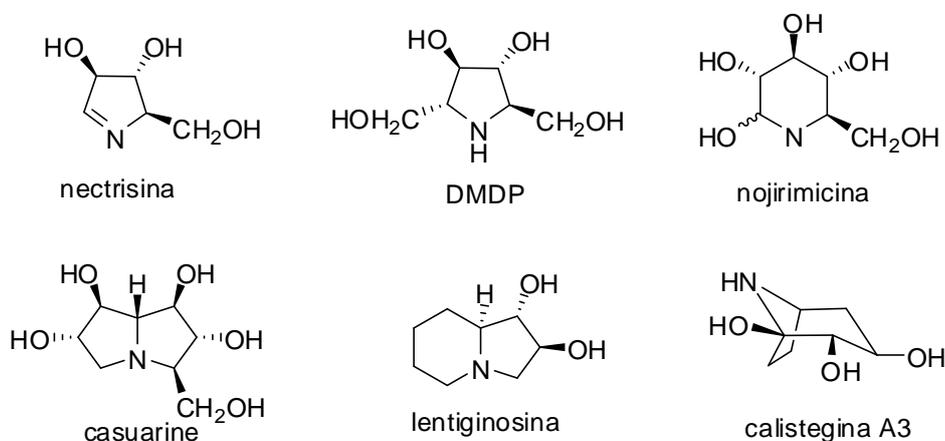


Figura 2 Esempi di alcaloidi presenti in natura per ogni categoria sopracitata.

Gli imminozuccheri sono molto interessanti dal punto di vista farmacologico, come carba-zuccheri e C-glicosidi sono in grado di mimare i carboidrati. Risultano essere degli inibitori competitivi e reversibili per gli enzimi che utilizzano come substrato zuccheri esosi o pentosi, disaccaridi, oligosaccaridi e glicoconiugati, come le glicosidasi e le glicosiltransferasi.² Oltre a questa attività biologica, sono metabolicamente inerti, cioè non subiscono biotrasformazioni all'interno dell'organismo, inoltre il loro grado di idrossilazione li rende solubili in solventi acquosi.

¹ Asano, N.; Nash, R.J.; Molyneux, R.J.; Fleet, G.W.J; *Tetrahedron: Asymmetry* **2000**, *11*, 1645.

² Compain, P.; Martin, O.R. *Bioorg. Med. Chem.* **2001**, *9*, 3077.

Per la loro attività gli imminozuccheri sono stati a lungo studiati come inibitori delle glicosidasi.³

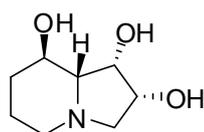
Le glicosidasi, conosciute anche come glicoside idrolasi, costituiscono una famiglia di enzimi deputati a idrolizzare, modificare e formare legami glicosidici. Tra le altre funzioni questi enzimi hanno un ruolo fondamentale nella glicosilazione delle proteine di membrana.

Le glicoproteine di membrana sono molto importanti per la trasmissione di informazioni extracellulari e per il processo di riconoscimento self non-self.

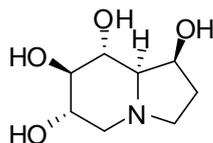
Un errore in questo processo causa alterazioni sul riconoscimento cellula-cellula e cellula-virus/batterio che può portare a una trasformazione maligna e alla crescita di cellule tumorali.^{4,5}

Per esempio è stata dimostrata per la swainsonina (**1**), un inibitore naturale della Golgi- α -mannosidasi II, la capacità di inibire la crescita di cellule tumorali e la metastasi.⁶

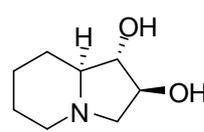
Anche per la castanospermina (**2**) e suoi derivati è stata dimostrata la stessa attività antitumorale, inoltre queste indolizidine sono risultate attive contro infezioni virali e diabete.^{7,8} Il Celgosivir, un derivato della castanospermina, è un farmaco già in commercio contro il morbo di Gaucher.⁹



swainsonina **1**



castanospermina **2**



(+)-lentiginosina **3**

Un'altra indolizidina particolarmente interessante è la (+)-lentiginosina [(1S,2S,8aS)-ottaidro-indolizin-1,2-diolo] (**3**) estratta dalle foglie dell'*Astragalus lentiginosus* e caratterizzata per la prima volta nel 1990 da Pastuszak.¹⁰ La lentiginosina è un inibitore potente e selettivo dell'amiloglicosidasi, con un'attività più elevata rispetto alla castanospermina nei confronti di questo enzima.^{11,12} Questa attività risulta particolarmente sorprendente considerando

³ Watson, A.A.; Fleet, G.W.; Asano, N.; Molyneux R.J.; Nash, R.J. *Phytochemistry* **2001**, 56, 265.

⁴ Asano, N. *Glycobiology* **2003**, 13, 93.

⁵ Hakomori, S. *Cancer Res.* **1985**, 45, 2405.

⁶ Mohla, S.; White, S.; Grzegorzewski, K.; Nielsen, D.; Dunston, G.; Dickson, L.; Cha, J.K.; Asseffa, A.; Olden, K. *Anticancer Res.* **1990**, 10, 1515.

⁷ Pili, R.; Chang, J.; Partis, R.A.; Mueller, R.A.; Chrest, F.J.; Passaniti, A. *Cancer Res.* **1995**, 55, 2920.

⁸ Yee, C.S.; Schwab, E.D.; Lehr, J.E.; Quigley, M.; Pienta, K.J. *Anticancer Res.* **1997**, 17, 3659.

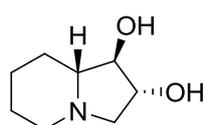
⁹ Sorbera, L.A.; Castaner, J.; Garcia-Capdevila, L. *Drugs Future* **2005**, 30, 545.

¹⁰ Pastuszak, I.; Molyneux, R.J.; James, L.F.; Elbein, A.D. *Biochemistry* **1990**, 29, 1886.

¹¹ Brandi, A.; Cicchi, S.; Cordero, F.M.; Frignoli, R.; Goti, A.; Picasso, S.; Vogel, P. *J. Org. Chem.* **1995**, 60, 6806.

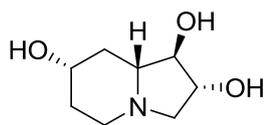
che nella lentiginosina sono presenti due soli gruppi ossidrilici mentre i substrati naturali delle glicosidasi sono zuccheri con almeno cinque funzioni ossidriliche e altri inibitori conosciuti ne hanno almeno tre.

Studi recenti condotti presso il Dipartimento di Chimica in collaborazione con la Prof.ssa De Tommasi dell'Università di Salerno hanno evidenziato, per la (+)-lentiginosina, una nuova attività biologica quale inibitore di Heat shock protein 90 (Hsp90).¹³ L'Hsp90 è una famiglia di 'chaperones' che rappresenta 1-2% delle proteine cellulari e aumenta al 4-6% sotto stress. È un importante target tumorale in quanto coinvolta nel mantenimento delle trasformazioni maligne e nella crescita e sopravvivenza delle cellule tumorali.



(-)-Lentiginosina

4



(-)-(7S)-OH-Lentiginosina

(-)-(1R,2R,7S,8aR)-1,2,7-triidrossi indolizidina

5

L'enantiomero della lentiginosina naturale, la (-)-lentiginosina (**4**) ottenibile per via sintetica, mostra una minore tendenza all'inibizione delle aminoglicosidasi e non è inibitore Hsp90.¹⁴ È stato recentemente trovato da studi condotti in collaborazione con la dott.ssa Macchi dell'università di Tor Vergata che **4**, presenta un'attività pro-apoptotica, attività assente nell'enantiomero naturale.¹⁴ L'apoptosi (dal greco ptosi che significa "cadere", come foglie da un albero) è la forma di morte programmata delle cellule, ed è un processo ben distinto rispetto alla necrosi cellulare.

In caso di necrosi, le cellule muoiono come risultato di un danno acuto, si rigonfiano e scoppiano, versando il loro contenuto sulle cellule vicine, ed eventualmente danneggiandole. Nell'apoptosi la cellula si raggrinzisce, il citoscheletro collassa, l'involucro nucleare si disassembla e il DNA nucleare si rompe in piccoli frammenti; inoltre la superficie cellulare si altera mostrando proprietà che causano la rapida fagocitosi della cellula morente, per esempio da parte di un macrofago. In questo caso la cellula muore "silenziosamente" senza danneggiare le cellule vicine.

¹² Cardona, F.; Goti, A.; Brandi, A. *Eur. J. Org. Chem.*, **2007**, 1551.

¹³ Del Piazz, F.; Vassallo, A.; Chini, M.G.; Cordero, F.M.; Cardona, F.; Pisano, C.; Bifulco, G.; De Tommasi, N.; Brandi, A. *Plos One* **2012**, *7*, 43316.

¹⁴ Macchi, B.; Minutolo, A.; Grelli, S.; Cardona, F.; Cordero, F. M.; Mastino, A.; Brandi, A. *Glycobiology* **2010**, *20*, 500.

In condizioni normali l'apoptosi contribuisce al mantenimento del numero di cellule di un sistema. La quantità di volte che si verifica normalmente nei tessuti di un animale adulto in via di sviluppo è stupefacente, in un essere umano sano miliardi di cellule muoiono per apoptosi nell'intestino e nel midollo osseo ogni ora. Il meccanismo di apoptosi si attiva normalmente anche se la cellula subisce un grave danno, portando rapidamente alla sua autodistruzione.¹⁵

L'apoptosi può essere innescata da una varietà di stimoli fisiologici e patologici, può avvenire secondo due vie principali: via estrinseca o via intrinseca.¹⁶

La via estrinseca è recettore-dipendente, mentre quella intrinseca viene attivata da eventi intracellulari e dipende dal rilascio di fattori pro-apoptotici da parte dei mitocondri.

Nella via meglio compresa i mitocondri sono indotti a rilasciare la proteina trasportatrice di elettroni, il Citocromo c, nel citosol, dove si attacca alla proteina adattatrice Apaf-1 attivandola, questa trasformerà la procaspasi 9 in caspasi 9, che a sua volta attiverà altre caspasi. Si genera una cascata proteolitica che porta una distruzione mirata verso specifici target.

Lo studio dell'attività proapoptotica della lentiginosina è iniziato con un test di (+)-**3** e (-)-**4** su linfociti umani per verificarne l'attività biologica. A basse concentrazioni (5 µM) entrambi gli enantiomeri aumentavano il numero delle cellule in proliferazione, ma a concentrazioni più alte (0.5-1 mM), l'effetto dei due enantiomeri era notevolmente diverso. Si è trovato che entrambi gli enantiomeri inibivano la proliferazione cellulare, ma l'effetto era molto più potente per la (-)-**4**, mostrando una chiara attività citotossica.

In seguito è stato investigato il meccanismo che induce l'apoptosi in linee di cellule tumorali come MOLT-3, HT-29 e SH-SY5Y e in cellule normali PBMC (cellule sane mononucleate di sangue periferico).

I risultati sono stati confrontati con test trattati con un agente chemioterapico la 7-etil-10-idrossicamptotecina (SN38).

Sebbene (-)-lentiginosina ha un'attività proapoptotica verso cellule tumorali inferiore rispetto all'SN38, risulta però meno pro-apoptotica verso le cellule normali e meno citotossica. La (+)-lentiginosina non mostra attività inibitoria per nessuna linea cellulare (tabella 1).¹⁷

¹⁵ Alberts, B.; Johnson, A.; Lewis, J.; Raff, M.; Roberts, K.; Walter, P. *Biologia molecolare della cellula* Zanichelli, Bologna, **2009**.

¹⁶ Strasser, A.; Cory, S; Adams, J.M.; *EMBO J* **2011**; *30*, 3667.

¹⁷ Minutolo, A.; Grelli, S.; Marino-Merlo, F.; Cordero, F.M.; Brandi, A.; Macchi, B.; Mastino, A. *Cell Death Dis.* **2012**, *3*, 358.

I risultati hanno anche mostrato che la (-)-lentiginosina aumenta l'espressione di caspasi 9 a 18 ore in tutte le linee cellulari.

E' stato rilevato inoltre un aumento di Citocromo c nel citoplasma di cellule trattate rispetto a cellule di riferimento. Si è verificato quindi che il fenomeno di apoptosi è caspasi-dipendente, come mostrato dall'espressione aumentata dell'attività delle caspasi-3 e -8 in cellule trattate a parità di beta actina (Figura 4).

Tabella 1

Cell lines	Compounds	MAIC ₅₀ ± SD (µM) ^a
MOLT-3	D(-)-Lentiginosine	213.33 ± 96.62
	L(+)-Lentiginosine	>1000
	SN38	14.3 ± 2
SH-SY5Y	D(-)-Lentiginosine	95.5 ± 19.09
	L(+)-Lentiginosine	>1000
	SN38	<0.1
HT-29	D(-)-Lentiginosine	577 ± 101.3
	L(+)-Lentiginosine	>1000
	SN38	<1
PBMC	D(-)-Lentiginosine	384.52 ± 49.02
	L(+)-Lentiginosine	>1000
	SN38	<1

Comparazione della tossicità di (+)- e (-)-lentiginosina rispetto a SN38, su 4 linee cellulari diverse, espressa come la concentrazione necessaria per l'inibizione del 50% dell'attività mitocondriale (MAIC₅₀). Maggiore è il valore di MAIC₅₀ minore è il grado di tossicità.

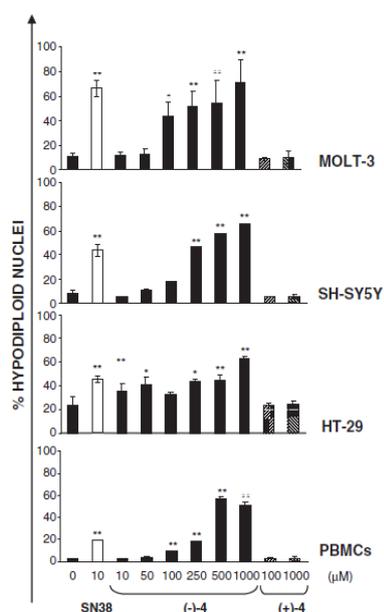


Figura 3 Confronto tra l'attività apoptotica di SN38, (+)- e (-)-lentiginosina (indicate con (-)-4 e (+)-4), espressa come % di nuclei ipodiploidi

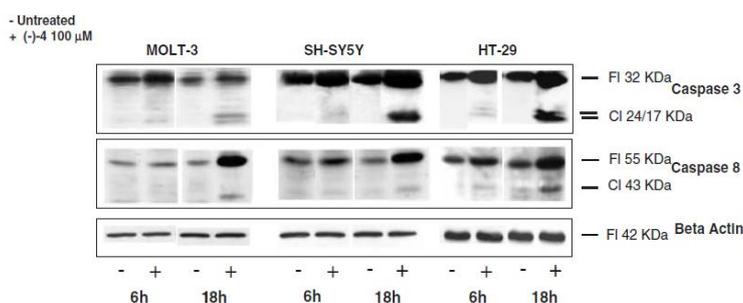


Figura 4 Espressione della Caspasi-3 e caspasi-8 in MOLT-3, SH-SY5Y e HT-29 dopo 6 e 18 ore di incubazione con D(-)-lentiginosina 100 µM.

Questi studi stabiliscono che l'enantiomero non naturale della lentiginosina (-)-4 è dotato di un possibile effetto anti-oncogeno, che potrebbe essere attribuito non solo alla sua capacità di inibire glicosidasi, ma anche ad altri meccanismi sconosciuti. Anche la (-)-7S-OH-lentiginosina (5) si è rilevato un agente apoptotico con efficacia analoga alla (-)-lentiginosina, seppure con qualche differenza. Questi dati incoraggiano ulteriori indagini su questa classe di indolizidine che hanno la

potenzialità di diventare un'interessante piattaforma per la generazione di nuovi farmaci antitumorali.

In particolare è importante sintetizzare derivati al fine di sviluppare nuovi composti con una maggiore capacità di indurre apoptosi, più selettività verso le cellule tumorali e di conseguenza meno citotossicità verso le cellule sane e coniugati con sonde fluorescenti o derivati marcati con isotopi radioattivi per indagini sul meccanismo di apoptosi. Occorre inoltre sottolineare che le stesse procedure sono applicabili alla sintesi dei corrispondenti derivati dell'altro enantiomero, ossia della lentiginosina naturale.

La 7-idrossi-lentiginosina **5** è, grazie al gruppo ossidrilico sul C-7, suscettibile a diverse trasformazioni ed è quindi un buon substrato di partenza per sintetizzare derivati C-7 sostituiti della lentiginosina.¹⁸

Alcuni esempi di derivati della (+)- e (-)-lentiginosina sintetizzati a partire dalle corrispondenti 7-idrossi-indolizidine sono riportati in figura 5.

In alcuni casi l'attività o parte di essa è stata mantenuta, in altri no.

In particolare i derivati biotinilati sono stati progettati per determinare se le idrossindolizidine attraversano la membrana cellulare e eventualmente la loro distribuzione intracellulare. Sfortunatamente la coniugazione della lentiginosina con biotina attraverso un ponte triazolico come in **d** ha causato la totale perdita dell'attività proapoptotica. Il derivato **f** è servito a determinare che la presenza del gruppo carbammico sul C-7 legato a una catena alchilica non interferisce con la bioattività. In seguito a questo risultato è stata studiata la sintesi di un analogo che potesse essere facilmente accoppiato con sonde molecolari di vario genere, inclusa la biotina. I test del derivato **f** sono in corso.

Un metodo alternativo per studiare il meccanismo di azione di molecole bioattive è la marcatura con isotopi radioattivi, ad esempio ¹⁸F e ¹²⁴I. Se questi composti mantengono l'attività biologica sarà possibile utilizzarli come traccianti per andare a studiare il meccanismo di induzione dell'apoptosi in vivo.

¹⁸ Cordero, F.M.; Bonanno, P.; Khairnar, B. B.; Brandi, A.; Macchi, B.; Minutolo, A.; Grelli, S.; Mastino, A. *ChemPlusChem* **2012**, *77*, 224

Derivati dalla (+)-lentiginosina

Derivati dalla (-)-lentiginosina

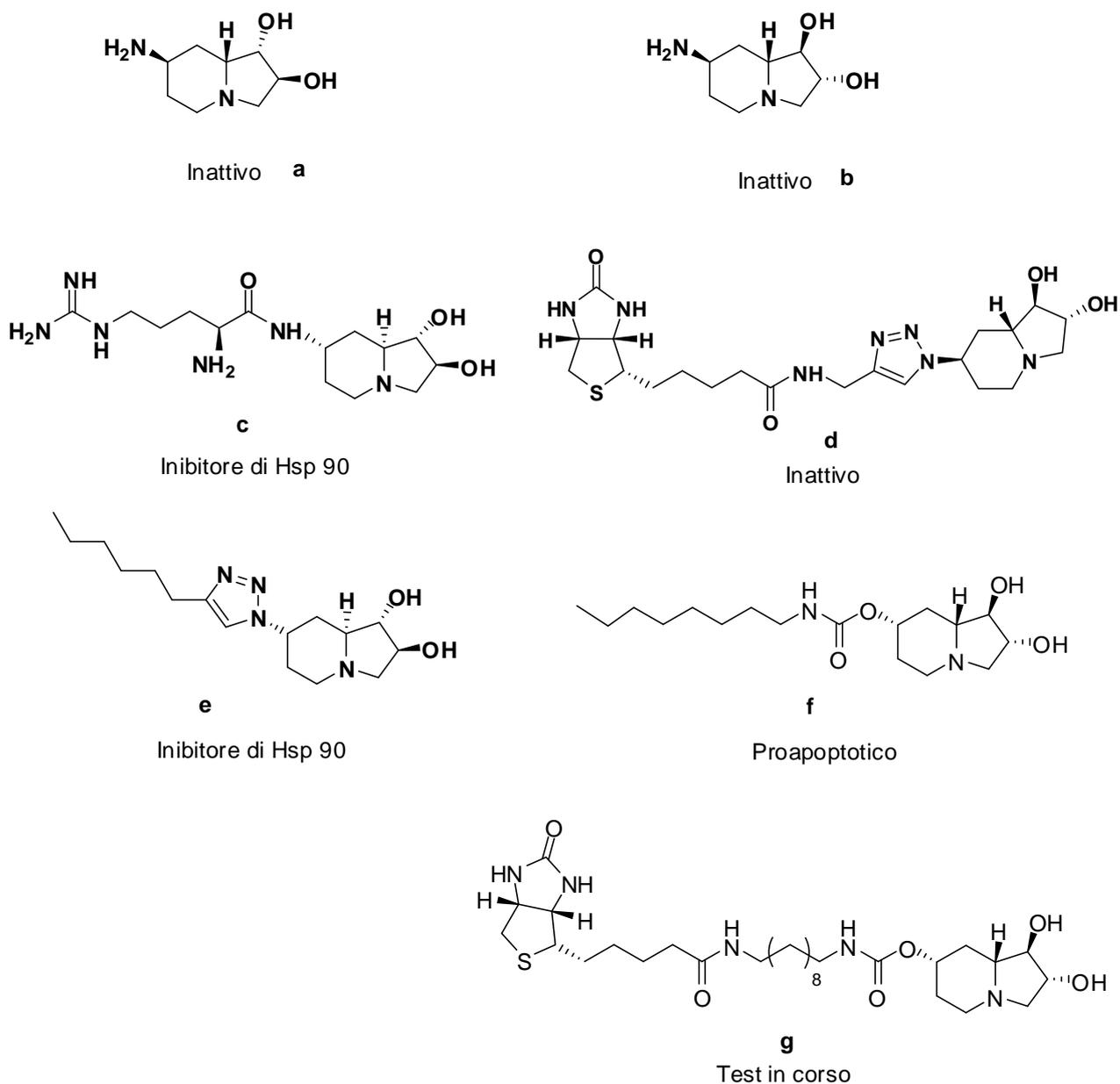


Figura 5

Esempi di derivati già sintetizzati.

Una delle principali tecniche utilizzata in medicina nucleare e diagnostica medica per la produzione di bioimmagini è la tomografia a emissione di positroni (o PET, dall'inglese Positron Emission Tomography).

La PET è una tecnica non invasiva, con una buona risoluzione spaziale e sensibilità eccellente che consente di quantificare la biologia specifica e processi farmacologici in uomini e animali.¹⁹

¹⁹ Paans, A.M.J.; Waarde, A.; Elsinga, P.H.; Willemsen, A.T.M., Vaalburg, W. *Methods* **2002**, *27*, 195.

Negli ultimi 30 anni si è sviluppata molto beneficiando dei molti progressi tecnologici nei vari campi (elettronica, cristalli, computer), per esempio l'accoppiamento di telecamere a uno scanner CT (Tomografia Computerizzata), ha il vantaggio di rilevare due serie di dati complementari, sull'anatomia e il metabolismo, che possono essere fuse in unica immagine per formare il risultato finale.

Nella PET vengono utilizzati isotopi con un breve tempo di dimezzamento come ^{11}C , ^{13}N , ^{15}O , ^{18}F , ^{64}Cu , ^{124}I (Tabella 2).

Element	$t_{1/2}$ (minutes)	Positron Range (mm)	Commonly Labeled Compound
^{11}C	20.4	0.4	Acetate, oxidative metabolism of the heart Carfentanil, μ -receptor opioid receptors in brain Deprenyl, a monoamine oxidase (MAO) type B inhibitor Raclopride, an antagonist for dopamine D2 receptors
^{13}N	9.9	0.4	Ammonia, myocardial perfusion
^{15}O	2	1.1	Water, oxygen for myocardial oxygen consumption and oxygen extraction fraction
^{18}F	110	0.3	Haloperidol, a dopamine antagonist Fluorine ion ($^{18}\text{F}^-$) for bone scanning Fluorodeoxyglucose for glucose metabolism Fluorodopa for Parkinson's disease
^{64}Cu	762	0.7	Conjugate with proteins, especially for applications that require a longer half-life
^{124}I	6002	2.3	Used to label proteins <i>via</i> iodination reaction

Tabella 2²⁰

Dalla scoperta della radioattività spontanea (A. Becquerel, P. e M. Curie 1903), della radioattività artificiale (I. e F. Joliot- Curie 1935), del ciclotrone (E. Lawrence 1939) e dei metodi radioattivi per traccianti, (G. De Hevesy 1943) il fluoro, elemento isolato da H. Moissan, prende un'importante e sempre crescente parte. Durante gli ultimi anni, un numero significativo di articoli hanno riportato l'uso di fluoro-18, prodotto per la prima volta da Snell,²¹ per la sintesi di nuovi marcatori e loro studi in vivo, in particolare nell'uomo. Ad esempio il largo impiego clinico di 2 - [^{18}F] fluoro-2-deossi-D-glucosio ([^{18}F] FDG) in oncologia. Ragioni di tale interesse per il fluoro-18 sono collegate alle proprietà fisiche e nucleari di questo radioisotopo: la sua emivita (109 min), il suo decadimento di positroni (97%) di energia debole (635 keV massimo), sono particolarmente vantaggiosi in termini di risoluzione e dosimetria.^{22 23}

²⁰ Wang, J.; Maurer, L. *Curr. Top. Med. Chem.* **2005**, *5*, 1053.

²¹ Snell, A.H. *Phys. Rev.* **1937**, *51*, 142.

²² Lasne, M.C.; Perrio, C.; Rouden, J.; Barre', L.; Roeda, D.; Dollè, F.; Crouzel, C. *Top. Curr. Chem.* **2002**, *222*, 201.

Durante il suo decadimento radioattivo, il fluoro-18 emette un positrone con energia massima di 635 keV, dopo alcuni millimetri che viaggia nella materia, il positrone incontra un elettrone producendo un annientamento in cui le due particelle coinvolte, elettrone e positrone, scompaiono per dar luogo a due fotoni di uguale energia (511 keV), emessa a 180°. La PET si basa sulla rilevazione di queste due emissioni coincidenti e con verso opposto (Figura 6).

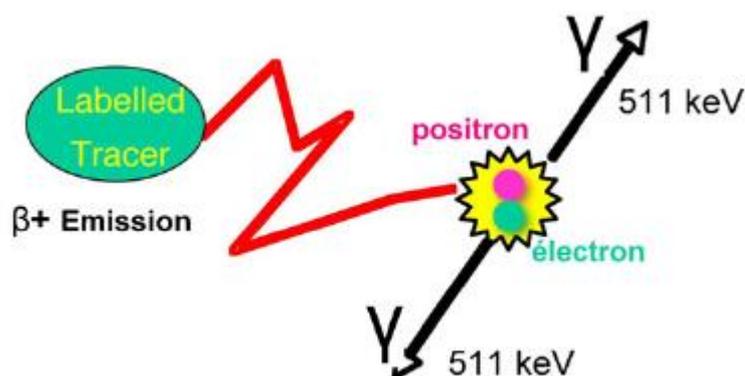


Figura 6

La retroproiezione di tutte le linee coincidenti rilevate, risultanti dagli eventi radioattivi, permette di costruire un volume 3D da in cui vengono estratti i piani tomografici, per tutto il corpo o organo studiato attraverso complessi modelli matematici.²⁴

Anche lo ¹²⁴I è un emettitore di positroni, presenta però uno schema di decadimento complesso con numerose emissioni γ ad alta energia.

L'elevata energia di queste emissioni degrada la qualità dell'immagini raccolte con conseguente perdita della risoluzione spaziale. Lo ¹²⁴I decade al ¹²⁴Te da cui può essere prodotto.²⁵ Grazie al lungo tempo di dimezzamento dello ¹²⁴I circa dello 100 ore, la procedura sintetica può prevedere più step e tempi più lunghi rispetto all'uso del ¹⁸F.

Scopo della tesi.

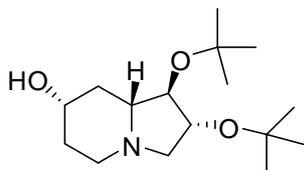
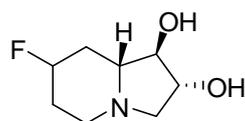
Lo scopo di questa tesi è stato quello di sintetizzare la (-)-7S-OH-Lentiginosina [(-)-(1R,2R,7S,8aR)-1,2,7-triidrossindolizidina] **6** protetta in posizione 2 e 3 come etere *ter*-butilico, a partire dall'acido D-tartarico. Successivamente si è cercato di

²³ Welch, M.J.; Redvanly, C.S. in: .), Handbook of Radiopharmaceuticals Radiochemistry and Applications. Editori: M.J. Welch, C.S. Redvanly, Wiley Interscience Publishers, New York, **2003**.

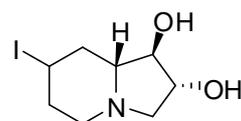
²⁴ Le Bars, D. J. *Fluorine Chem.* **2006**, *127*, 1488.

²⁵ Nayak, T. K.; Brechbiel M. W. *Bioconjugate Chem.* **2009**, *20*, 825.

sostituire l'ossidrilico in posizione 7, con un atomo di fluoro, per formare 7-F-lentiginosina **7**. Sempre nella stessa posizione si è cercato di introdurre un atomo di iodio per formare la 7-I-lentiginosina **8**.

**6**

7-F-lentiginosina

7

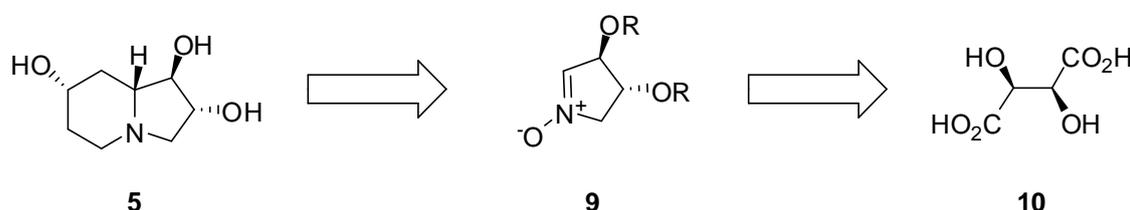
7-I-lentiginosina

8

Risultati e discussione

Sintesi della (7S)-7-OH-lentiginosina

Come già detto, nella prima parte di questo lavoro mi sono occupato di sintetizzare la (-)-(7S)-7-OH-lentiginosina partendo dall'acido D-tartarico. La procedura utilizzata può essere applicata per ottenere anche l'altro enantiomero (+)-(7S)-7-OH-lentiginosina, basterà partire dall'acido L-tartarico.



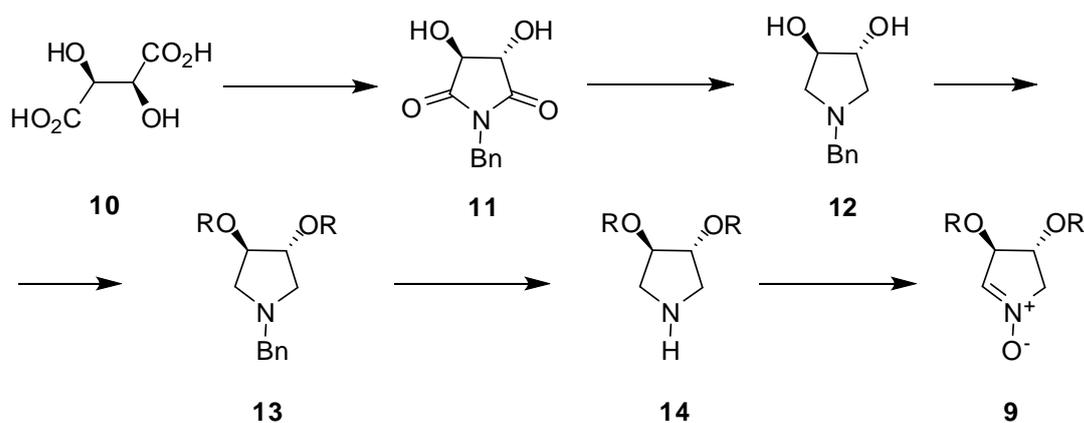
Schema 1 Strategia retrosintetica seguita.

L'intermedio chiave in questa sintesi è un 3,4-diidrossi-pirrolin-N-ossido diprotetto enantiopuro **9**,²⁶ che può essere ottenuto attraverso due strategie complementari a partire dall'acido tartarico. Entrambe le vie constano di 5 step con ossidazione finale. In entrambi i casi la simmetria C-2 dei precursori del nitrone fa sì che dall'ossidazione si ottenga un solo prodotto e la scelta di una o dell'altra procedura avvenga in base al tipo di gruppo protettore R che si desidera inserire. La procedura utilizzata in questo lavoro è quella proposta inizialmente da Petrini et al.²⁷ e in seguito applicata a diversi gruppi protettori R presso il Dipartimento di Chimica Ugo Schiff, dell'Università degli studi di Firenze (Schema 2).^{28,29}

²⁶ (a) Goti, A.; Cardona, F.; Brandi, A.; Picasso, S.; Vogel, P. *Tetrahedron: Asymmetry* **1996**, *7*, 1659; (b) Forcato, M.; Mba, M.; Nugent, W. A.; Licini, G. *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, 740; (c) Soldaini, G.; Cardona, F.; Goti, A. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 473.

²⁷ Ballini, R.; Marcantoni, E.; Petrini, M. *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 1316.

²⁸ Cicchi, S.; Höld, I.; Brandi, A. *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 5274



Schema 2 Schema generale di sintesi del nitrone **9**

Come descritto nello Schema 2 la procedura generale prevede la riduzione dell'*N*-benzilimide dell'acido tartarico **11** a pirrolidina **12**. Dopo protezione dei gruppi ossidrilici e debenzilazione dell'atomo di azoto si ottiene la pirrolidina **14** che viene ossidata a nitrone **9**.

Il metodo sopra riportato è utilizzabile per introdurre i gruppi protettori delle funzioni ossidriliche stabili nelle condizioni di reazione, ma non è compatibile con qualsiasi gruppo protettore come nel caso dei gruppi benzilici.

Di recente questa strategia è stata estesa anche alla sintesi del *ter*-butossi pirrolidin *N*-ossido **9** (R = *t*-Bu). I gruppi *ter*-butilici presentano elevate stabilità nelle condizioni di reazione previste nella costruzione dell'anello indolizidinico, inoltre possono essere facilmente idrolizzati al termine della sintesi. La scelta dei gruppi *ter*-butilici risulta mirata anche per indurre un alto controllo diastereofacciale nella cicloadizione 1,3-dipolare del nitrone (vedi poi).

La benzilimide **11** è stata ottenuta con una resa del 92% facendo reagire il sale della benzilammina con l'acido **10** in xilene a refluxo con rimozione azeotropica dell'H₂O, come recentemente riportato da Rosenberg et al. (Schema 3).³⁰

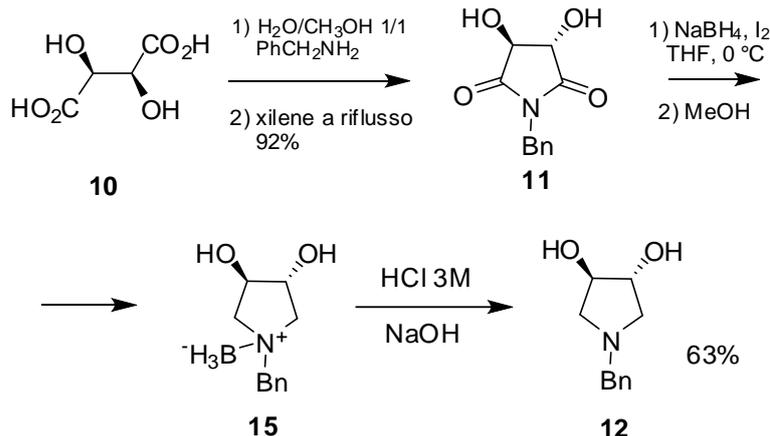
In seguito **11** è stata ridotta all'intermedio borazinico **15** con borano generato in situ da NaBH₄ e I₂ in THF a 0 °C. Al completamento della reazione occorre aggiungere metanolo per eliminare l'eccesso di reagente riducente, ottenendo così la borazina che può essere isolata e caratterizzata.

Infine **15** è stato trattato con acido cloridrico acquoso per ottenere la pirrolidina benzilata **12**. Dopo neutralizzazione, l'estrazione dalla fase acquosa di **12** deve essere fatta con attenzione a causa dell'elevata idrosolubilità della diidrossipirrolidina che altrimenti può in parte rimanere nella fase acquosa con

²⁹ Cordero, F. M.; Bonanno, P.; Neudeck, S.; Vurchio, C.; Brandi, A. *Adv. Synth. Catal.* **2009**, *351*, 1155.

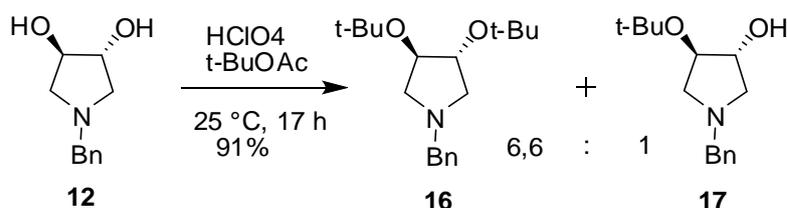
³⁰ Rejman, D.; Kočalka, P.; Buděšínský, M.; Pohl, R.; Rosenberg, I. *Tetrahedron* **2007**, *63*, 1243.

abbassamento della resa. In questo lavoro **12** è stata ottenuta con una resa del 63% rispetto all'imide **11**. (Schema 3)



Schema 3

Il passo successivo prevedeva la protezione dei gruppi ossidrilici *trans* presenti sulla pirrolidina-*N*-benzilata come *ter*-butileteri. La protezione è necessaria affinché i gruppi ossidrilici non interferiscano nei successivi passaggi e per rendere più solubili i prodotti in solventi organici. La *ter*-butilazione è stata effettuata a temperatura ambiente con *ter*-butilacetato in presenza di acido perclorico in eccesso (1.5 equiv.) in 17 ore. E' stata ottenuta una miscela 6.6 : 1 delle pirrolidine di- e monoprotette **16** e **17** con resa resa complessiva del 91% (Schema 4).

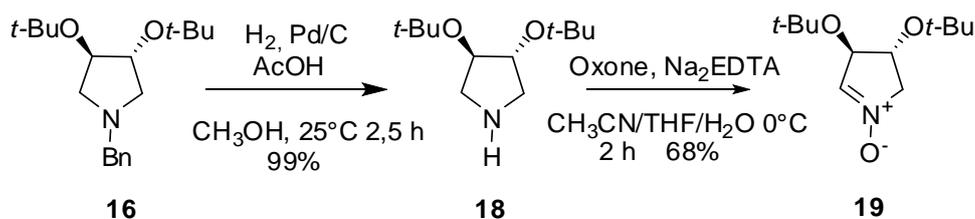


Schema 4

La miscela dei due prodotti è stata separata tramite colonna cromatografica, recuperando anche la pirrolidina monoprotetta **17**, che può essere riutilizzata nella sintesi di **16**.

La deprotezione dell'atomo di azoto per idrogenolisi è stata fatta attraverso idrogenazione su Pd/C. Questo è un passaggio delicato poiché tempi di reazione troppo lunghi possono portare a una parziale deprotezione di **16**. Per evitare questo inconveniente bisogna monitorare frequentemente la reazione via TLC per determinare quando tutto il prodotto di partenza ha reagito.

La reazione avviene in 2.5 ore a temperatura ambiente in metanolo in presenza di acido acetico (10 equiv.), con resa del 99% (Schema 5).



Schema 5

Infine per ottenere il nitrone si è ossidata la pirrolidina **18** al pirroline-*N*-ossido **19** con la procedura messa a punto da Font et al.³¹ Come agente ossidante si è utilizzato l'Oxone, una miscela di perossimonsolfato di potassio (KHSO₅), idrogenosolfato di potassio (KHSO₄) e solfato di potassio (K₂SO₄) in rapporto 2:1:1. La reazione viene fatta in un sistema bifasico (Na₂EDTA aq.) - CH₃CN - THF in presenza di NaHCO₃ a 0 °C (Schema 5). Dopo purificazione su colonna cromatografica si è ottenuto il nitrone **19** una resa del 68%.

Il nitrone **19** è stato poi utilizzato come substrato per la sintesi del (1*R*,2*R*,7*S*,8*aR*)-1,2-di-*ter*-butossiottaidroindolizin-7-olo [(-)-(7*S*)-7-OH-lentiginosina diprotetta] tramite una cicloadizione 1,3 dipolare con il 3-butenolo **20** (Schema 6). Questo tipo di reazione tra nitroni e alcheni sostituiti sono già utilizzate da molto tempo, sono infatti un buon metodo per creare derivati isossazolidinici con buon controllo regio e stereochimico.

Nel nostro caso questa reazione permette di creare due nuovi centri stereogenici con un controllo della configurazione relativa ed assoluta necessaria per ottenere la (7*S*)-OH-lentiginosina.

L'attacco tra i due reagenti può essere spiegato attraverso l'interazione degli orbitali di frontiera HOMO-LUMO.

In questo caso essendo il dipolarofilo un alchene elettron ricco, la sovrapposizione favorita è tra il LUMO del nitrone con l'HOMO dell'alchene sostituito (Figura 7).

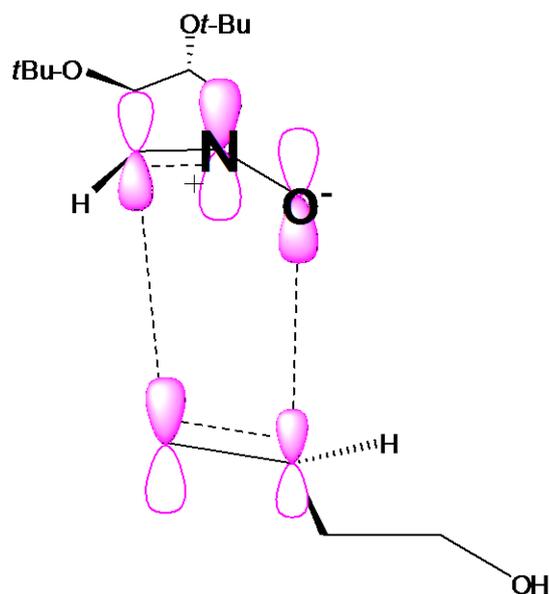


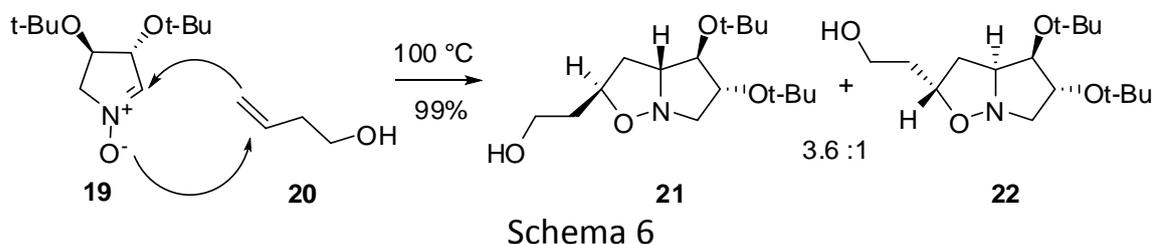
Fig. 7 Interazione HOMO LUMO

³¹ (a) Sánchez-Izquierdo, F.; Blanco, P.; Busqué, F.; Alibés, R.; de March, P.; Figueredo, M.; Font, J.; Parella, T. *Org. Lett.* **2007**, 9, 1769; (b) Gella, C.; Ferrer, È.; Alibés, R.; Busqué, F.; de March, P.; Figueredo, M.; Font, J. *J. Org. Chem.* **2009**, 74, 6365

Questo meccanismo di reazione necessita di una corretta geometria spaziale degli orbitali molecolari coinvolti, la cicloaddizione è completamente regioselettiva e altamente diastereoselettiva.³²

L'attacco del dipolarofilo (doppio legame del 3-butenolo) può avvenire da sopra o sotto il piano contenente il nitrone. A seconda se l'attacco al nitrone avviene dalla stessa parte del sostituito sul C-3 o dalla parte opposta, vengono originati due diastereoisomeri, rispettivamente chiamati *sin* e *anti*. I due diastereoisomeri risultanti differiranno per la configurazione dell'idrogeno posizionato a ponte tra i due anelli fusi.

Inoltre nella cicloaddizione si forma un altro centro stereogenico. La configurazione di tale centro è dovuta dalla disposizione del sostituito al doppio legame. Si parla di stato di transizione *endo* se il sostituito è orientato verso il dipolo, altrimenti *exo*.



Come si vede in figura 7 l'approccio *exo-anti* è favorito grazie a una minore destabilizzazione dello stato di transizione per motivi sterici. L'alto ingombro sterico esercitato dai gruppi *ter*-butili, permette di ottenere una elevata diastereoselettività nella cicloaddizione tra **19** e **20**. In particolare conducendo la reazione a 100 °C in toluene è stata ottenuta una miscela dei 2 diastereoisomeri *exo-anti* **21** e *exo-sin* **22** in rapporto 3.6 : 1. Dopo separazione il diastereoisomero maggiore *exo-anti* **21** è stato ottenuto con una resa del 69%.

³² Houk, K. N.; Sims, J.; Watts, C. R.; Luskus, L. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, *95*, 7301.

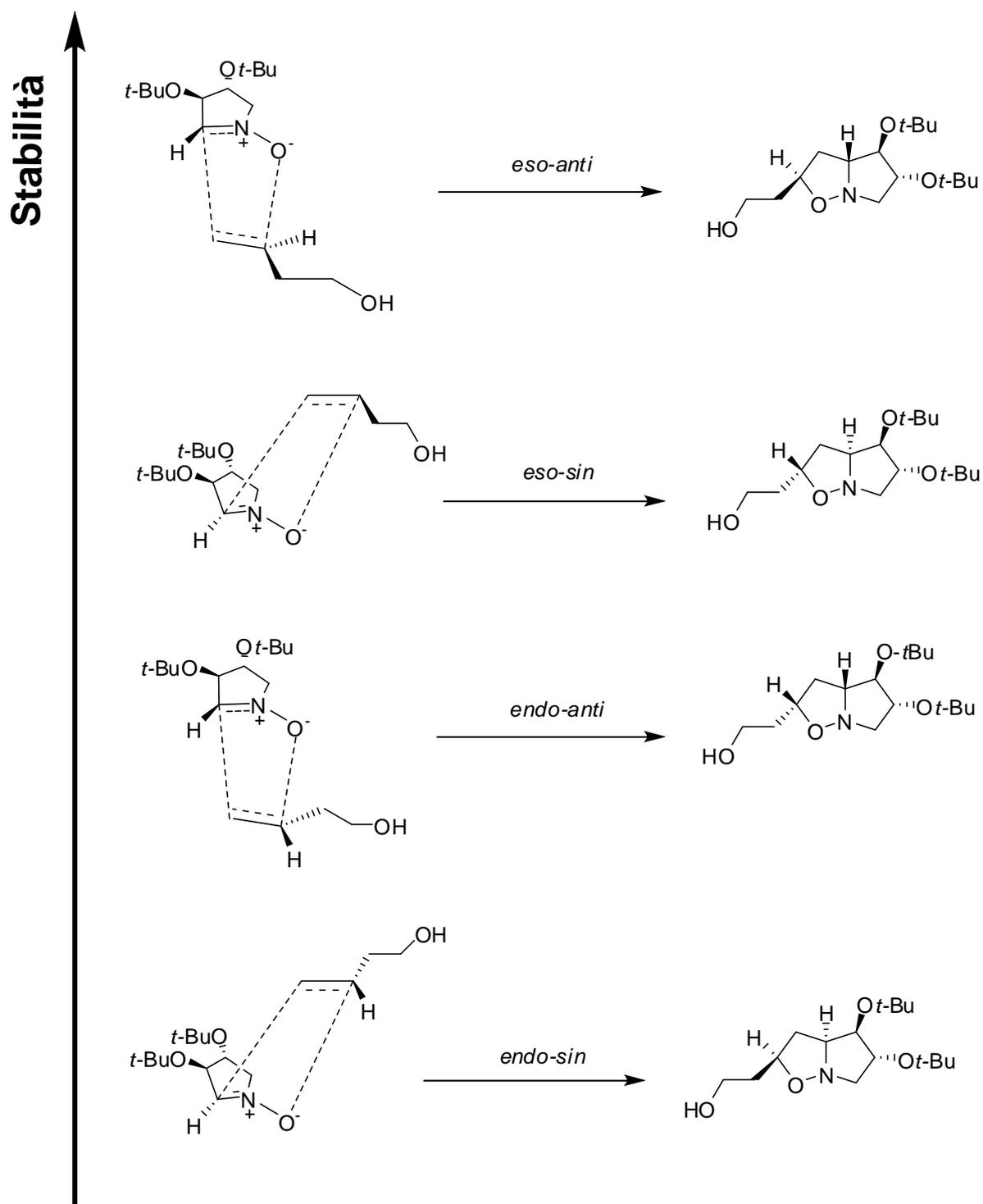
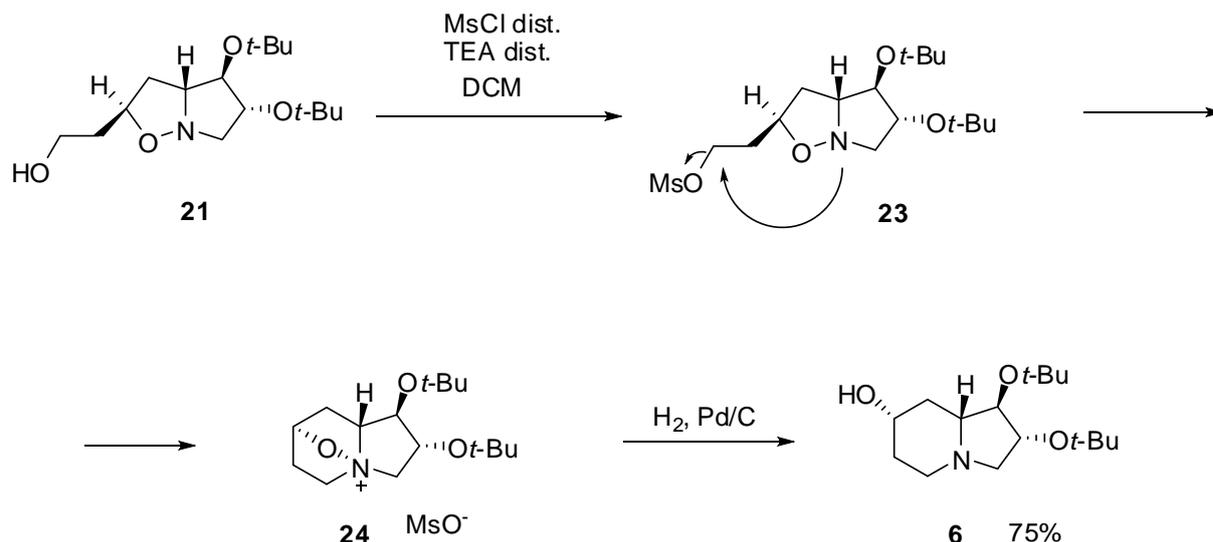


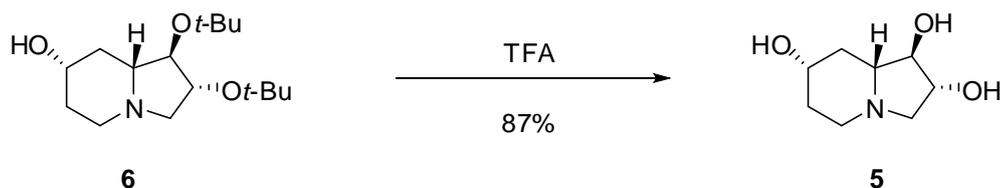
Figura 8 Possibili stati di transizione in ordine di stabilità con relativi cicloaddotti diastereoisomerici.

Il cicloaddotto maggiore **21** è stato poi convertito nell'indolizidina **6** attraverso l'attivazione del gruppo ossidrilico primario tramite mesilazione che induce ciclizzazione spontanea al sale **24**, che è stato a sua volta direttamente ridotto con H₂ su eterocatalisi di Pd/C (Schema 7).



Schema 7

Il triolo **6** che risulta già opportunamente protetto, è stato utilizzato in questo lavoro di tesi come substrato di partenza per i successivi tentativi di fluorurazione e iodurazione, mentre la deprotezione dei gruppi *terbutili* con acido trifluoroacetico è stata applicata in precedenza per ottenere la 7-OH-lentiginosina (Schema 8).



Schema 8

Tentativi di fluorurazione.

Come riportato nell'introduzione, in questo lavoro di tesi è stata studiata la possibilità di sostituire il gruppo ossidrilico in posizione 7 della indolizidina **6** con un atomo di fluoro.

Il fluoro è un atomo piccolo, con un raggio atomico intermedio tra quello dell'idrogeno e dell'ossigeno. La piccola dimensione del fluoro fa sì che esso possa essere incorporato in una molecola organica in sostituzione all'idrogeno, senza influenzare notevolmente la dimensione complessiva della molecola. Il fluoro è l'elemento più elettronegativo della tavola periodica e di conseguenza, il legame C-F è molto polarizzato. In questo legame l'atomo di fluoro porta una parziale carica negativa e l'atomo di carbonio ha una parziale carica positiva, provocando

anche un' interazione elettrostatica. Il legame C-F ha un significativo carattere ionico, è un legame molto corto e forte. L'atomo di fluoro ha tre coppie di elettroni solitarie, ma a causa della elevata elettronegatività queste coppie sono saldamente tenute dal nucleo e sono quindi poco reattive, ad esempio il fluoro è un debole accettore di legame a idrogeno.³³

In letteratura sono presenti molti metodi che trattano l'inserzione di un atomo di fluoro in una molecola organica.

La fluorurazione elettrofila è un metodo diretto per l'introduzione selettiva del fluoro nei composti organici, il fluoro elementare stesso, F₂ risulta uno dei più potenti reagenti. Già negli anni 50 si utilizzavano reagenti come il perclorilfluoruro FClO₃, il difluoruro di xeno XeF₂,³⁴ il trifluorometil ipofluorito CF₃OF e il fluorossisolfato di cesio CsSO₄F.³⁵ Molte di queste sorgenti di F⁺ risultano instabili, pericolose e difficili da utilizzare, ad esempio il F₂ a temperatura ambiente è un gas tossico e corrosivo.

Oggi sono disponibili composti commerciali facilmente manipolabili e stabili che generano fluorossi derivati direttamente *in situ*. Abbiamo però scartato la sostituzione elettrofila perché non adatta a introdurre l'atomo di fluoro su **6**.

Si è cercato, visto l'ossidrilico presente in posizione 7 dell'indolizidina, di provare una sostituzione nucleofila diretta dell'ossigeno col fluoro, questo processo è comunemente denominato deossofluorurazione.

La deossofluorurazione è un metodo efficace applicabile a una grande varietà di gruppi funzionali.³⁶ Per questo scopo sono stati preparati e studiati una vasta gamma di composti N-F, C-F, S-F, oggi disponibili commercialmente (Figura 9).

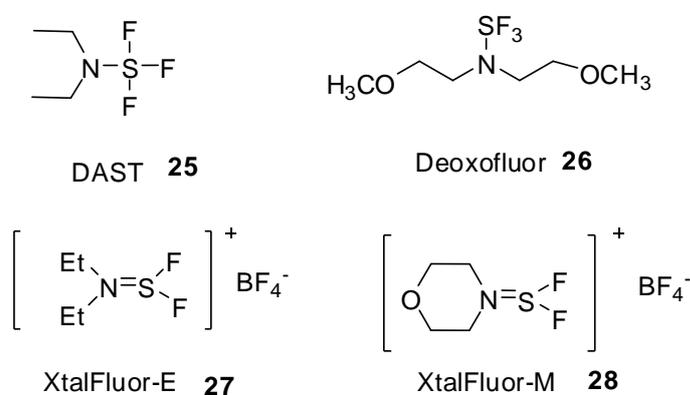


Figura 9 Esempi di reagenti fluoruranti.

³³ Hunter L.; *Beilstein J. Org. Chem.* **2010**, *6*, 38.

³⁴ Tius, M. A. *Tetrahedron* **1995**, *51*, 6605.

³⁵ G.A. Olah; R.D. Chambers; Prakash, G. K. S.; *Synthetic Fluorine Chemistry*; Wiley: New York, **1992**.

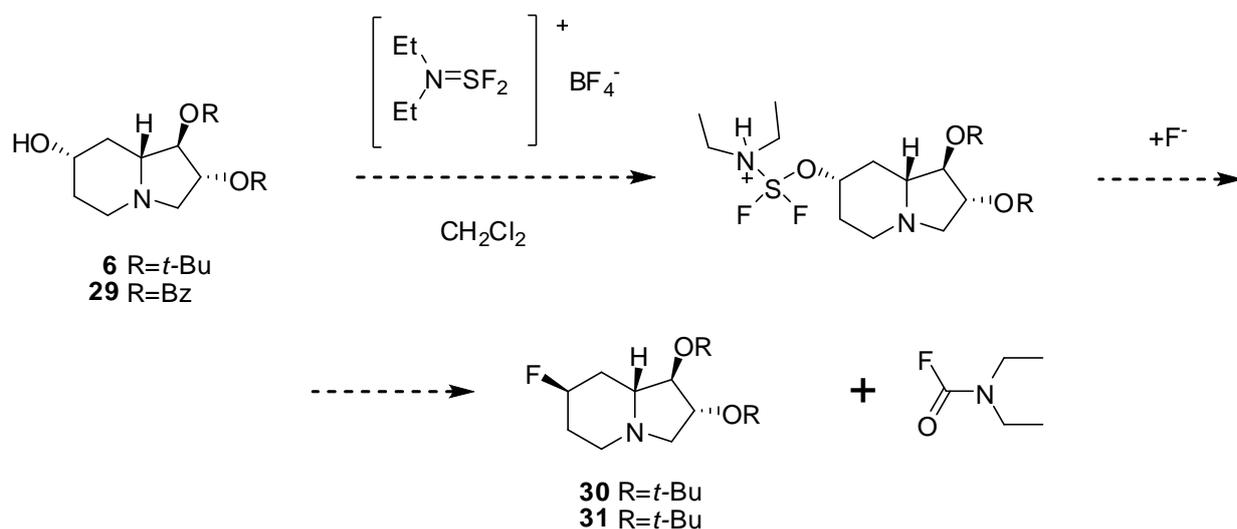
³⁶ Kirk, K. L. *Org. Process Res. Dev.* **2008**, *12*, 305.

Il DAST **25** e il DeoxoFluor **26** sono tra i reagenti più utilizzati e senza dubbio sono i migliori in questa classe in termini di ampio spettro di applicabilità.

Il tetrafluoroborato di dietilamminodifluorosolfonio di (XtalFluor-E) **27** e il tetrafluoroborato di morfolinodifluorosolfonio di (XtalFluor-M) **28** sono agenti cristallini più facilmente gestibili e stabili di **25**, **26** e loro analoghi. Questi reagenti possono essere preparati in modo un più sicuro e conveniente anche da un punto di vista economico, evitando pericolose distillazioni di trifluoro-dialchil-aminosolfuri. Inoltre non generano HF libero che è altamente corrosivo, dando la possibilità di condurre reazioni in comune vetreria da laboratorio.

I composti **27** e **28** sono utilizzati in combinazione con promotori come $\text{Et}_3\text{N} \cdot 3\text{HF}$, $\text{Et}_3\text{N} \cdot 2\text{HF}$ o DBU, per convertire alcoli e gruppi carbonilici in fluoruri alchilici. Risultano più selettivi rispetto a **25** e **26**, sfavorendo l'eliminazione rispetto alla sostituzione $\text{S}_{\text{N}}2$.³⁷

Per questi motivi abbiamo preferito utilizzare Xtalfluor-E **27** nelle prime prove di fluorurazione. In letteratura non sono noti esempi di fluorurazione con Xtalfluor-E su indolizidine o su alcaloidi in genere (Schema 9).



Schema 9

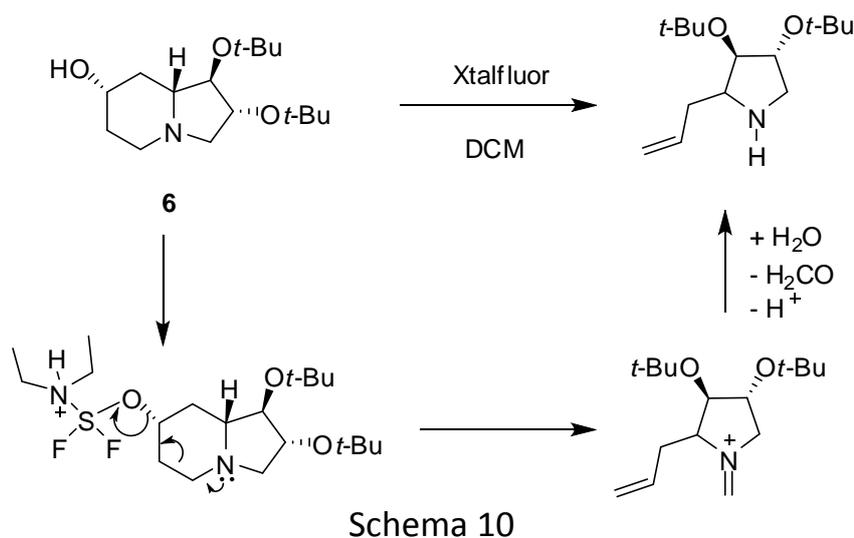
In un primo tentativo abbiamo fatto reagire l'indolizidina **29** protetta con dei benzoili a temperatura ambiente con Xtalfluor-E (1,5 equiv.) e $\text{TEA} \cdot 3\text{HF}$ (4 equiv.) in DCM.

Dai controlli su TLC della reazione il substrato **29** scompare dopo 17 ore, ma l'analisi del grezzo di reazione mostra la formazione di una miscela di composti di decomposizione non fluorurati.

³⁷Heureux A.; Beaulieu F.; Bennett C.; R. Bill D.; Clayton S.; Laflamme F.; Mirmehrabi M.; Tadayon, S.; Tovell, D.; Couturier, M.; *J. Org. Chem.* **2010**, 75, 3401.

Nei due tentativi successivi è stata utilizzata l'indolizidina **6** per evitare un'eventuale reazione dei gruppi esterei. Inoltre le reazioni sono state condotte inizialmente a bassa T (-80°/-70°C) e poi lasciate completare a temperatura ambiente. In un caso è stata usata TEA·3HF come attivatore e nell'altro DBU. È stato osservato che le miscele di reazione una volta arrivate a temperatura ambiente subiscono una forte variazione di colore che va dal viola scuro al nero.

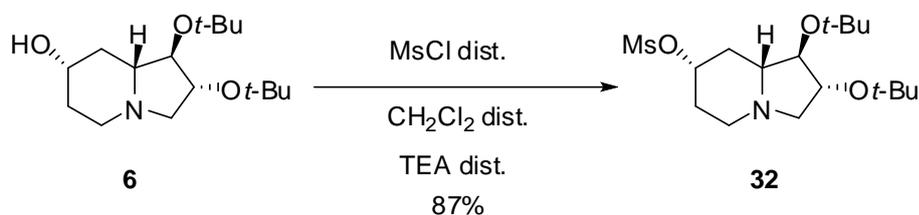
Anche la reazione di **6** condotta in DCM utilizzando soltanto Xtalfluor in assenza di promotori non ha portato alla formazione del fluoro derivato ma, in questo caso, è stato possibile isolare e identificare prodotti derivanti da una frammentazione di Grob (Schema 10).



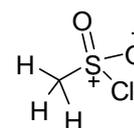
Evidentemente il sistema indolizidinico non è stabile nelle condizioni di reazione utilizzate e subisce l'apertura dell'anello a sei termini.

Ulteriori studi saranno necessari per determinare se è possibile fluorurare la 7-OH-lentiginosina con derivati aminofluorosolfonio.

Non ottenendo risultati positivi con la fluorurazione diretta, abbiamo provato ad utilizzare un agente nucleofilo fluorurante meno reattivo come l'anione F⁻ proveniente dalla dissociazione di un sale come KF o CsF. Per rendere possibile questa reazione però occorre trasformare l'ossidrile in un buon gruppo uscente. Si è quindi per prima cosa sintetizzato il mesilato **32**.



Schema 11



Metansolfonilcloruro o MsCl

La reazione è stata condotta in condizioni anidre utilizzando reagenti e solventi distillati prima dell'utilizzo. Il mesilato **32** è stato ottenuto con una resa dell'87% (Schema 11).

Le prove di sostituzione del gruppo mesilato sul C-7 con l'anione fluoruro sono state condotte sui tre derivati **32**, **33** e **34**.

Il derivato di-*ter*-butilato **32** non reagisce a temperatura ambiente in DMF con un eccesso di KF (4 equiv.). Scaldando già a 40°C si inizia a formare il pirrolo **35** derivante da una frammentazione di Grob,³⁸ seguita da monodeprotezione ed aromatizzazione dell'anello a pirrolo (Schema 12).

Questo tipo di frammentazione del mesilato **32** e del corrispondente tosilato era già stato osservato dal gruppo di ricerca nel caso di trattamento con NaN₃ a 80 °C e con LiAlH₄ a 70 °C.^{29,39}

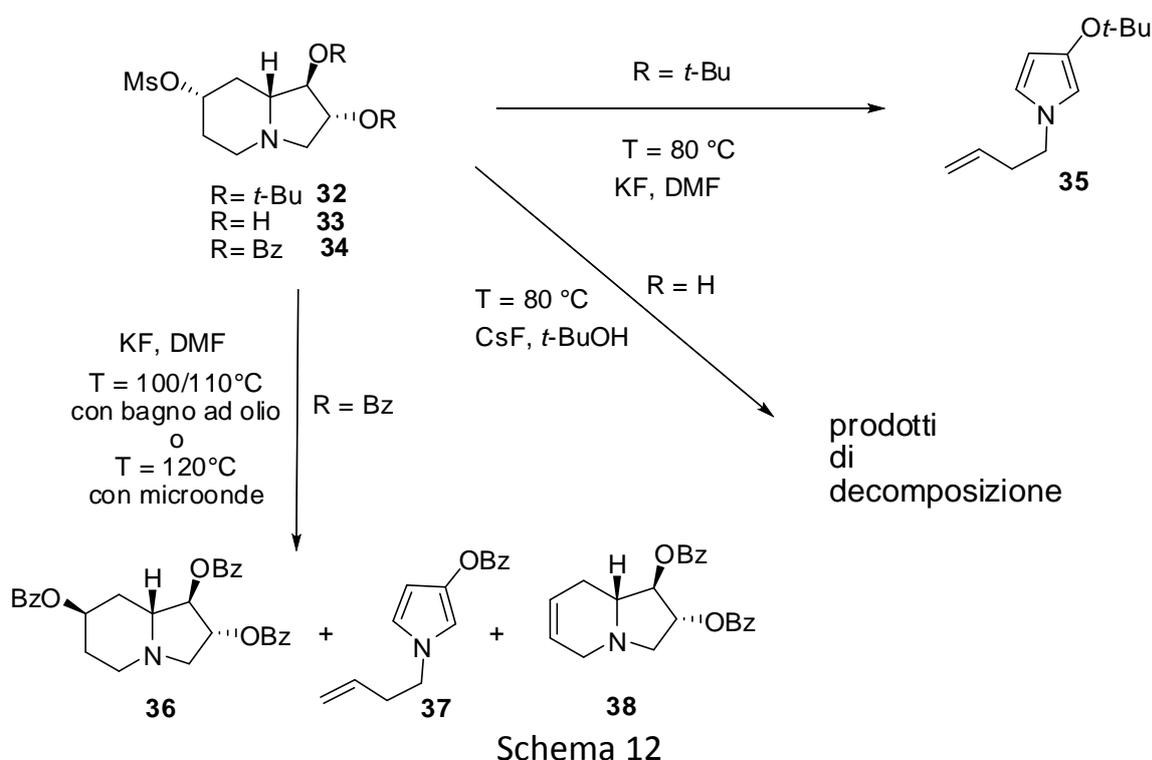
L'alta instabilità termica di **32** può essere in parte dovuta alla presenza dei due gruppi ingombranti *ter*-butilici. Per questo è stato fatto un tentativo di sostituzione nucleofila sul mesilato deproteetto **33**, ottenuto da **32** per trattamento con TFA. Come solvente è stato utilizzato *ter*-butanolo e come sorgente di fluoro è stato utilizzato il CsF (3 equiv.) (Schema 12).

Anche questo tentativo non ha portato al prodotto desiderato e si è osservata la decomposizione del substrato. Da studi precedenti si era visto che se si utilizzavano come gruppi protettori dei benzoili si potevano raggiungere temperature più alte senza incorrere nella decomposizione.²⁹

E' stato quindi sintetizzato il mesilato **34** e poi trattato in DMF con un eccesso di CsF (3 equiv.). In effetti per osservare la scomparsa di **34** occorrono temperature più alte (110 °C in bagno a olio o 120°C in forno a microonde), ma in tutti i casi non si ottiene il prodotto desiderato ma solo prodotti di decomposizione ed eliminazione **37** e **38**. Inoltre si osserva una parziale sostituzione del mesilato da parte del benzoato formato nella decomposizione con formazione del composto, **36** che è stato completamente caratterizzato.

³⁸Grob, C. A.; Ostermayer, F.; Raudenbusch, W. *Helv. Chim. Acta* **1962**, *45*, 1672 .

³⁹A. Goti; F. Cardona; A. Brandi. *Synlett* **1996**, *7*, 761.



La sostituzione del mesilato con il benzoato suggerisce la scarsa reattività dello ione fluoruro nelle condizioni di reazione utilizzate che può essere in parte accentuata dalla scarsa solubilità del KF o dalla presenza di H_2O in tracce che ne diminuisce la nucleoficità. Infatti, lo ione F^- è uno anione molto piccolo e il suo potere nucleofilo ha un forte carattere *hard*, ma questo è notevolmente ridotto dalla solvatazione di solventi polari protici. Per cui è stata provata la sostituzione di **34** in un solvente apolare ossia una miscela di esano/toluene con KF (4 equiv.) in presenza di una quantità catalitica di 18-crown-6. Questo tentativo è stato fatto per garantire l'anidricità dell'ambiente di reazione ed aumentare così il potere nucleofilo di F^- . Per solubilizzare il KF nel solvente apolare è stato utilizzato un etere corona, il 18-crown-6, che, complessando lo ione K^+ lo porta in soluzione trascinando il controione F^- grazie alla forza elettrostatica. In tali condizioni lo ione fluoruro non è più solvatato ed è quindi più disponibile per l'attacco all'elettrofilo (Figura 10).

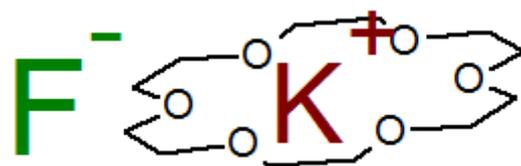
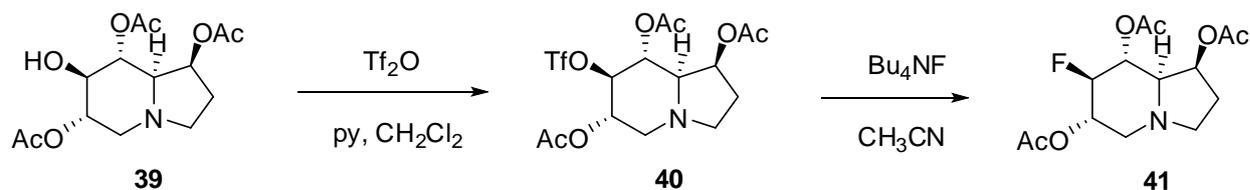


Figura 10

La temperatura è stata tenuta a $75\text{ }^\circ\text{C}$ per evitare problemi di decomposizione, ma dopo 22 ore da controlli TLC e analisi NMR si osserva la presenza del solo composto **34** che non ha reagito.

Abbiamo quindi provato ad utilizzare un gruppo uscente migliore del mesilato. In letteratura è riportata la fluorurazione di un alcaloide indolizidinico analogo alla

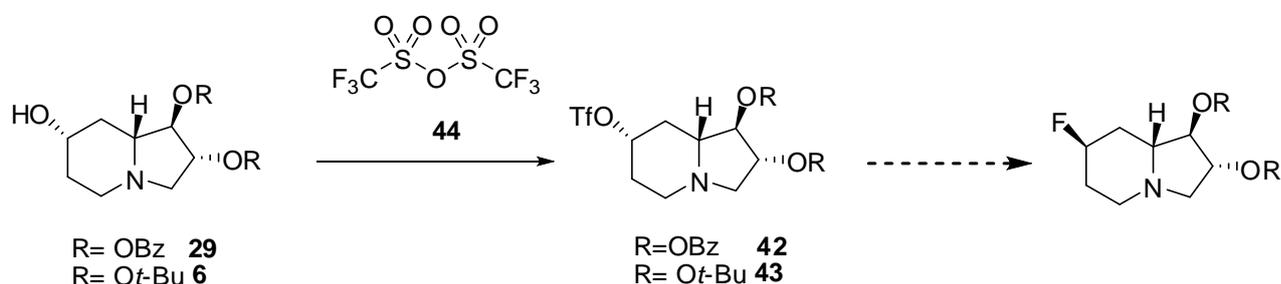
lentiginosina, la già citata castanospermina **2**. La fluorurazione sul C-7 della 1,6,8-triacetossi castanospermina **39** è stata fatta per sostituzione di un gruppo triflato con tetrabutylamminofluoruro (TBAF) (Schema 13).



Schema 13

Con questa procedura a 7-deossi-7-fluorocastanospermina **42** è stata ottenuta con il 64% di resa.⁴⁰

Si è cercato quindi di sintetizzare il triflato **42** utilizzando una soluzione 1 molare di anidride triflica (**44**) in diclorometano, in presenza di trietilammina (Schema 14).



Schema 14

La temperatura è stata mantenuta tra -70 e -80 °C durante l'aggiunta goccia a goccia dell'anidride triflica (15 min.), poi si è lasciata salire la temperatura molto lentamente fino a 0 °C (in 2 ore e 15 min.). La reazione dura circa 20 ore, mantenendo la temperatura tra -4 e 25 °C.

Dall'¹H-NMR si vedono segnali di idrogeni olefinici tra 6 e 7 ppm, indicando la formazione di prodotti di decomposizione analoghi a quelli già identificati.

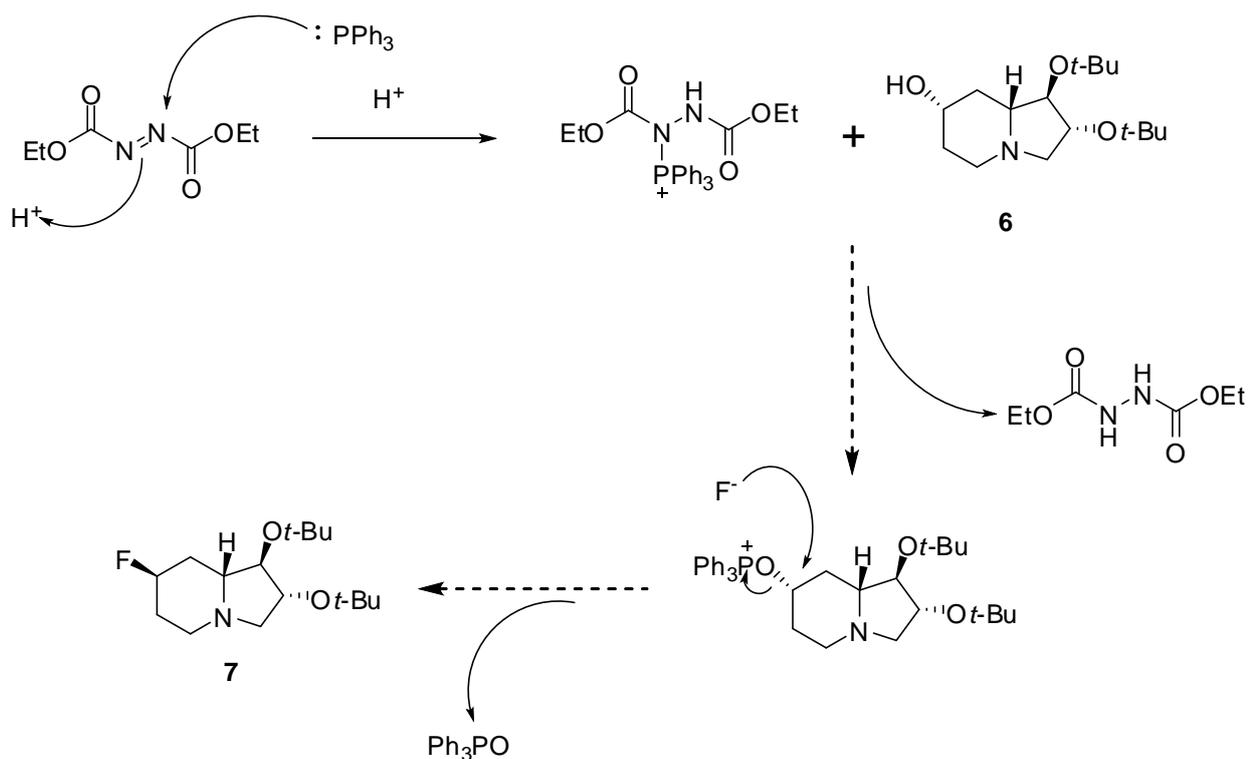
La presenza di questi composti di decomposizione è stata attribuita al raggiungimento di temperature troppo elevate.

I successivi tentativi sono stati fatti su **6** inserendo in soluzione il TBAF, in modo tale da avere il F⁻ già in soluzione una volta generato **43**, ma in tutti i casi è stata ottenuta una miscela complessa di prodotti di decomposizione.

⁴⁰ Furneaux, R. H.; Mason J. M.; Tyler P. C. *Tetrahedron Lett.* **1994**, *19*, 3143.

E' stata provata anche la reazione di Mitsunobu su **6**, in letteratura infatti sono presenti alcuni esempi di sostituzione di ossidrili con un fluoro mediati dalla coppia $\text{Ph}_3\text{P}/\text{DEAD}$.⁴¹ La reazione avviene probabilmente attraverso un meccanismo analogo a quello comunemente riportato per la reazione con nucleofili all'ossigeno, azoto, carbonio e zolfo (Schema 15).

Come sorgente del nucleofilo protonato è stato utilizzato il complesso $\text{TEA} \cdot 3\text{HF}$ in eccesso (7 equiv.), ma sia aggiungendo come ultimo reagente l'alcol **6** che il DEAD non si è osservata nessuna reazione e il prodotto di partenza è stato recuperato invariato.



Schema 15

Infine sulla 7-idrossilentiginosina **6** è stato provato un metodo di fluorurazione che consiste in una variante della reazione di clorurazione di Appel recentemente riportata in letteratura.⁴²

Nella reazione di Appel un alcol viene convertito nel corrispondente cloruro alchilico con Ph_3P e CCl_4 .⁴³ L'uso di Br_2 o I_2 come sorgenti di alogenuro portano alla formazione di alchilbromuri e alchilioduri, rispettivamente.

⁴¹ Manna, S.; Falck J.R. *Synth. Commun.* **1985**, *15*, 663.

⁴² Bandgar, B.P.; Kamble, V.T.; Biradar A.V. *Monatsh. Chem.* **2005**, *136*, 1579.

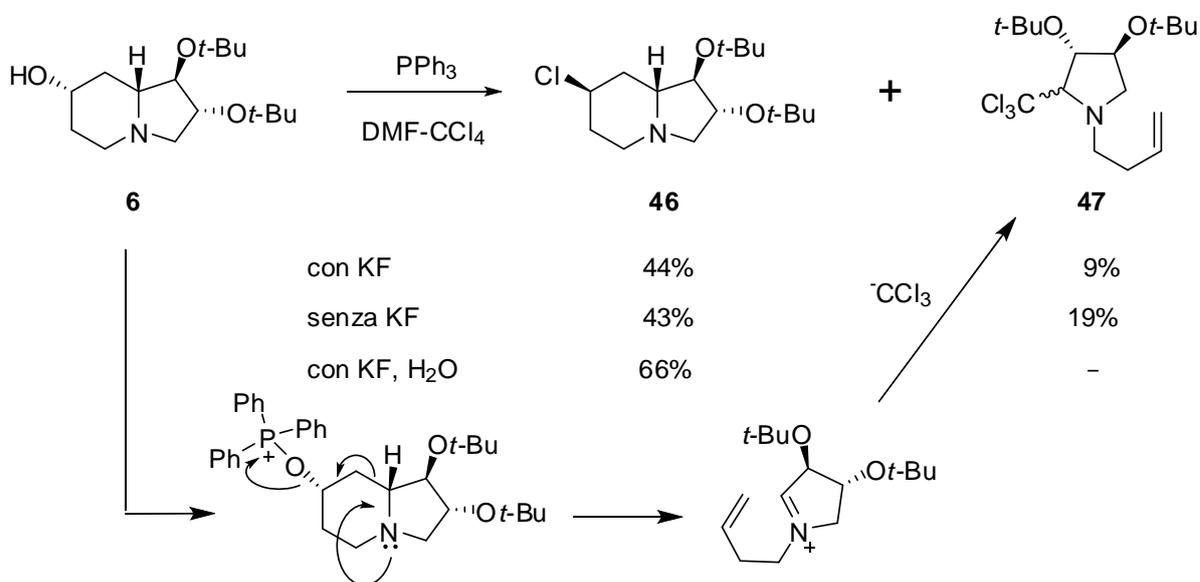
⁴³ Appel R. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1975**, *14*, 801.

Recentemente vari alcol primari e secondari sono stati trasformati direttamente in alchilfluoruri per trattamento con Ph_3P e KF in CCl_4/DMF (Schema 16).⁴²



Schema 16

Secondo questa procedura, l'idrossilentiginosina **6** è stata trattata a temperatura ambiente con KF (2 equiv.) e trifenilfosfina in una miscela di DMF e CCl_4 , in rapporto 4:1. Dopo 2 ore e 30 min. da controlli TLC la reazione era finita (Schema 17). Dalla prima analisi $^1\text{H-NMR}$ risultava la presenza di un derivato indolizidinico oltre a segnali olefinici ad indicare la formazione di prodotti di frammentazione. Tramite cromatografia è stato isolato e caratterizzato il prodotto presente in maggiore quantità che dall'analisi NMR e massa è risultato essere il 7-cloroderivato della lentiginosina **46**, che è stato ottenuto con una resa del 18%. La reazione è stata riprovata aumentando la quantità di KF (4 equiv.) e aumentando il tempo di reazione fino a 23 ore. Abbiamo avuto una conversione dell' 88% con una resa per il cloroderivato del 44% (49% sul convertito). Sono stati isolati anche 2 sottoprodotti epimerici **47** dovuti alla frammentazione di Grob, seguita da addizione dell'anione CCl_3^- (9% di resa).



Schema 17

Al fine di indagare sulla formazione del clorurato si è ripetuto la procedura, in assenza di KF. A parità di tempo (23 ore) si è trovato una conversione del 100% con una resa del 43% per il cloroderivato e del 19% per i prodotti di frammentazione di Grob.

I dati ottenuti suggeriscono che in presenza di KF la velocità di formazione è minore e che la formazione di **47** è sfavorita. La presenza del sale favorisce l'estrazione del prodotto **46** e del reagente **6** eventualmente non reagito dalla fase acquosa.

Infine la reazione condotta in DMF acquosa (1% di H₂O) ha portato, dopo 4 h a 30 °C a una conversione di **6** del 66% ed a una resa quantitativa sul convertito del cloro derivato **46** (Schema 17). In tali condizioni non si è osservata nessuna formazione delle pirrolidine **47**.

La formazione del cloroderivato **46** è stereoselettiva ed avviene con completa inversione di configurazione (Figura 11). Per determinare la configurazione del C-7 di **46** si è utilizzato l'analisi NOESY 1D. Irraggiando l'idrogeno H-1 a δ 3,2 ppm si

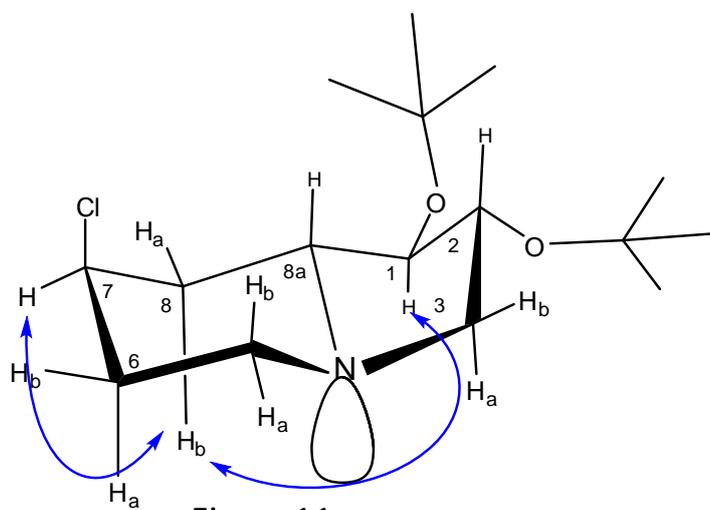


Figura 11

evidenzia un aumento del segnale a δ 1.7 ppm dell'idrogeno H-8b. Irraggiando H-8b si ha un incremento maggiore del segnale a δ 4.5 ppm di H-7 rispetto al segnale dell' 8aH, a conferma della relazione *cis* tra 8-Hb e 7-H. Quindi 7-H è in *cis* con 1-H e lo stereocentro C-7 ha configurazione assoluta *R*. L'assegnazione stereochimica è

stata confermata dalla analisi ai raggi X di un singolo cristallo. La risoluzione della struttura di **46** ha messo in evidenza che in fase solida l'atomo di cloro è in posizione assiale (Figura 12).

La conformazione con il Cl assiale sembra prevalere anche in soluzione di CDCl₃ infatti il debole accoppiamento spin-spin del 7-H con gli idrogeni adiacenti è in accordo con un protone che si trova in posizione equatoriale in un ciclo a sei termini in conformazione a sedia [7-H δ : 4.52 (pseudo quintetto, $J = 2.8$ Hz) ppm].⁴⁴

⁴⁴ a) Rader, C.P.; Yung, R. L.; Aaron, H. S. *J. Org. Chem.* **1965**, *30*, 1536. b) Huitric, A. C.; Carr, J. B. *J. Org. Chem.* **1961**, *26*, 2648. c) Lemieux, R. U.; Kullnig, R. K.; Bernstein, H. J.; Schneider, W. G. *J. Am. Chem. Soc.* **1958**, *80*, 6098.

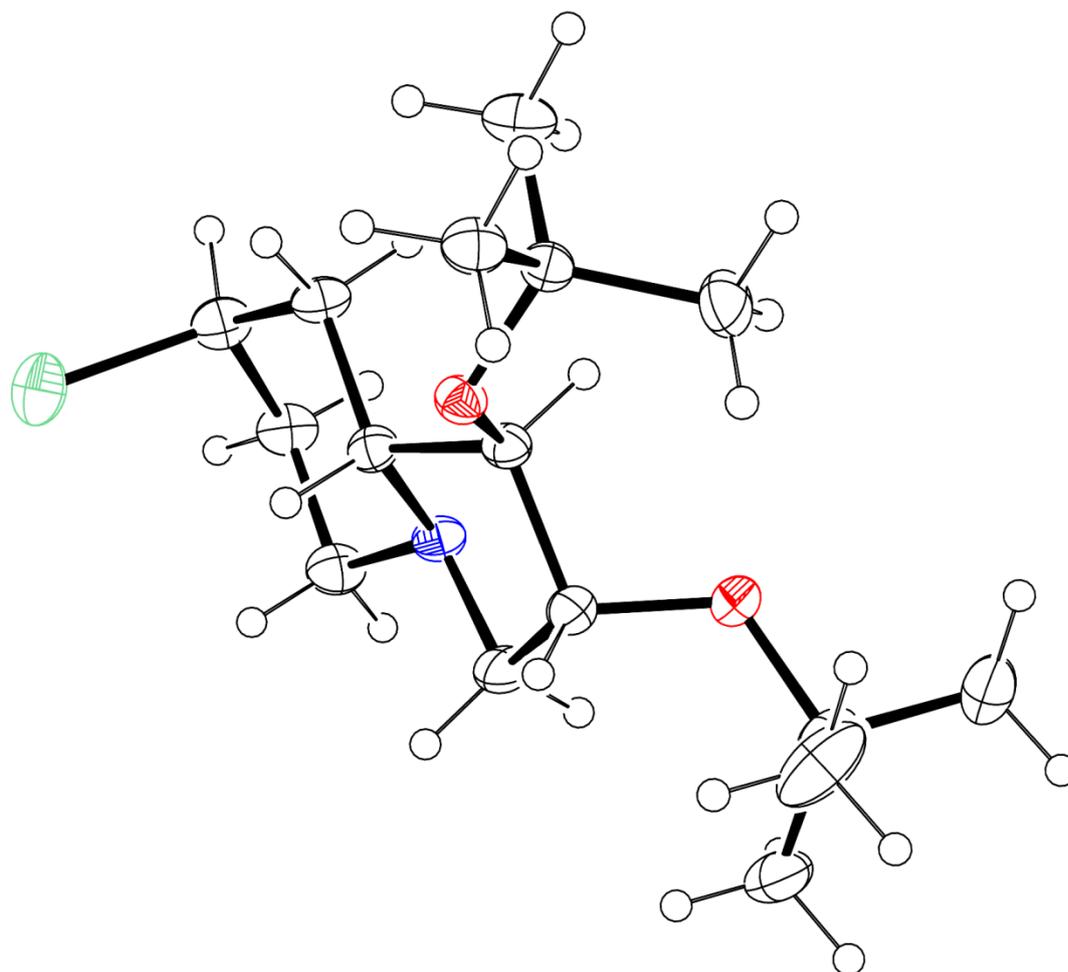
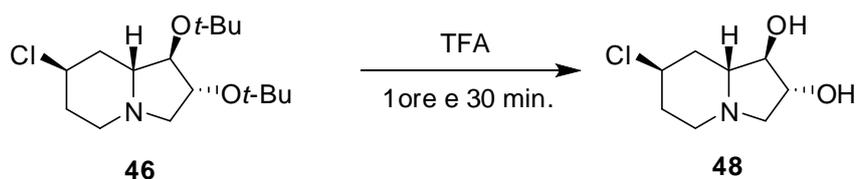


Figura 12 Immagine ai raggi X di **46**. In bianco sono indicati carboni e idrogeni, in rosso l'ossigeno, in blu l'azoto e in verde il cloro.

Il fatto che dalla reazione di Appel modificata si formi solo il cloroderivato e non si osservi neanche la formazione in tracce del fluoroderivato può essere imputato alla struttura più complessa dell'alcol **6** rispetto ai composti utilizzati nel lavoro di riferimento.⁴² Bisogna però segnalare che altri ricercatori non sono riusciti a riprodurre le stesse reazioni di fluorurazione descritte nell'articolo ottenendo esclusivamente dei cloroderivati.⁴⁵

L'idrossiindolizidina clorurata **48** ottenuta per deprotezione dei gruppi *ter*-butilici di **46** in TFA, potrà essere testata. Inoltre si potrà studiare la possibilità di introdurre il fluoro sul C-7 della lentiginosina per sostituzione nucleofila del cloroderivato **46** con AgF.

⁴⁵ Rupprich, M.; Decristoforo, C.; Matuszerek B. *Monatsh. Chem.* **2009**, *140*, 405.

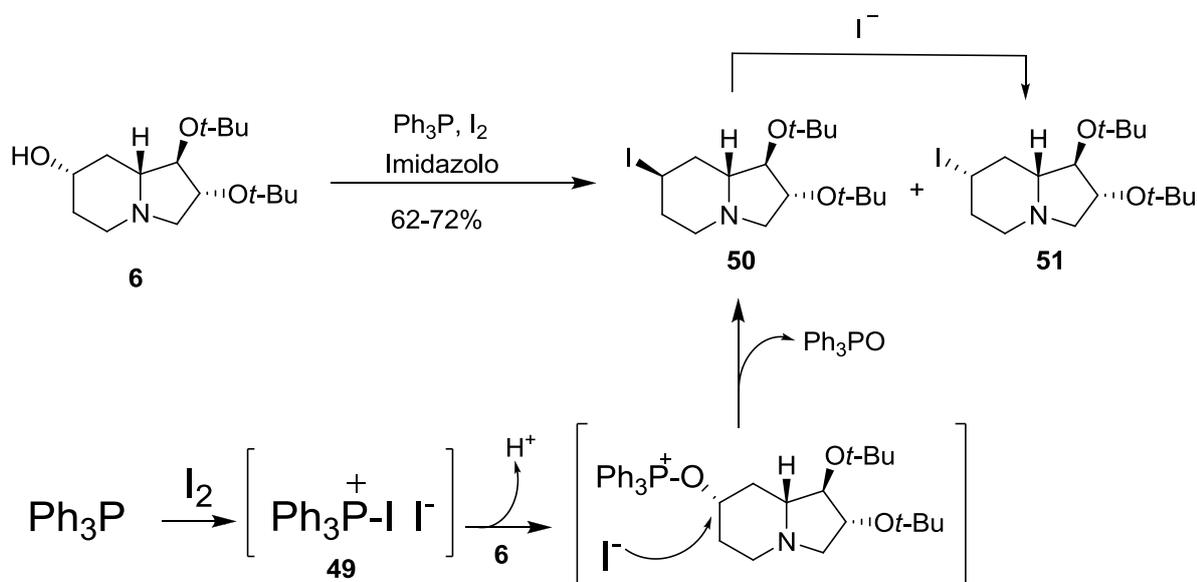


Schema 18

Sintesi di iododerivati.

Per ottenere la 7-I-lentiginosina si è fatto ricorso alla reazione di Appel utilizzando I_2 come sorgente di ioni alogenuro.

In questa reazione I_2 e la trifenilfosfina formano il sale di fosfonio **49** che reagisce con l'alcol per dare un composto di alcossitrifenilfosfonio che subisce a sua volta una reazione di S_N2 da parte dello ione I^- con uscita di fosfinossido (Schema 19).



Schema 19

In un primo tentativo abbiamo provato a generare **50** e *in situ* effettuare la sostituzione iodio-fluoro usando, come agente fluorurante, il TBAF. In queste condizioni di reazione è stata però recuperata soltanto la 7-OH-lentiginosina monoprotetta. Probabilmente il TBAF interferisce con la Ph_3P impedendo la reazione con lo I_2 . Operando in presenza di imidazolo, per neutralizzare l'acido HI che si forma durante la reazione, e aggiungendo il TBAF dopo 30 min., dando così la possibilità a **50** di formarsi, si è ottenuto una conversione del prodotto di partenza del 100% e la formazione di quattro indolizidine iodurate oltre a tracce della 2-allilpirrolidina (confronta Schema 10).

Sono stati fatti altri tentativi al fine di ottimizzare la resa dei derivati iodurati utilizzando trifenilfosfina, I_2 e imidazolo come base e DMF o THF come solventi.

Anche in questi casi abbiamo ottenuto una miscela dei precedenti quattro prodotti che si formano in rapporti diversi a seconda della temperatura e del tempo di reazione utilizzati con una resa complessiva del 62-72%. Tre delle indolizidine iodurate sono state ottenute pure per cromatografia su gel di silice.

L'analisi di massa ESI ha messo in evidenza che i quattro composti presentano tutti lo stesso peso molecolare. Lo studio degli spettri ^1H NMR, COSY e HSQC ha permesso di determinare che i tre derivati purificati hanno tutti l'atomo di iodio sul C-7, uno in posizione assiale e due in posizione equatoriale come mostrato dalla differenza di larghezza misurata a metà altezza ($W_{1/2}$) dei multipletti generati dalla risonanza dei corrispondenti 7-H [**50**: 7- $\text{H}_{\text{assiale}}$: 4.84 (pseudo quintetto, $J=3.0$ Hz, $W_{1/2}$ 8.2 Hz) ppm; **51** e terza 7-I-indolizidina: 7- $\text{H}_{\text{equatoriale}}$: 4.00 (pseudo tt, $J=12.0, 4.6$ Hz, 1H; $W_{1/2} = 24.6$ Hz) ppm e 4.13-4.01 (m, 1H; 7-H; $W_{1/2} = 23.0$ Hz) ppm].⁴⁴ Probabilmente l'indolizidina iodurata **50** che si forma inizialmente attraverso una $\text{S}_{\text{N}}2$ dal sale di alcossifosfonio e che ha una conformazione analoga a quella del cloderivato **46**, può subire una seconda $\text{S}_{\text{N}}2$ da parte dello ioduro presente in soluzione con formazione dell'epimero **51** che presenta lo iodio in posizione equatoriale (Schema 19). Gli altri due composti potrebbero essere dei conformeri di **50** e/o **51** con i due anelli a cinque e sei termini *cis*-fusi. Infatti a secondo del tipo di sostituenti, dalla loro posizione e dalla temperatura il sistema biciclo indolizidinico può assumere tre diverse conformazioni, una con gli anelli *trans*-fusi e due con gli anelli *cis*-fusi (Figura 13).⁴⁶

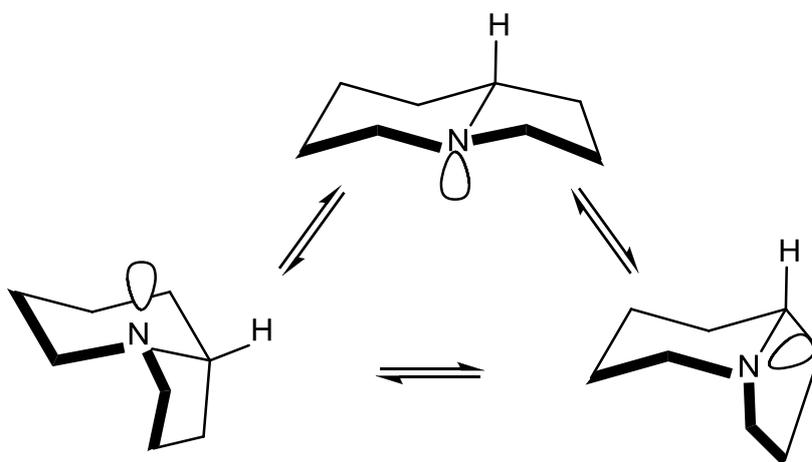


Figura 13

Un modo per distinguere derivati indolizidini *cis*- e *trans*-fusi consiste nell'analizzare gli assorbimenti IR nella regione tra 2800 e 2700 cm^{-1} . La presenza di tali bande dette bande di Bohlmann sono infatti caratteristiche per sistemi con

⁴⁶ Skvortsov, I.M. *Russ. Chem. Rev.* **1979**, *48*, 262.

due o più atomi di H in posizione α ad un azoto e orientati in relazione *trans*-diassiale con il doppietto di non legame dell'azoto stesso.^{47, 48}

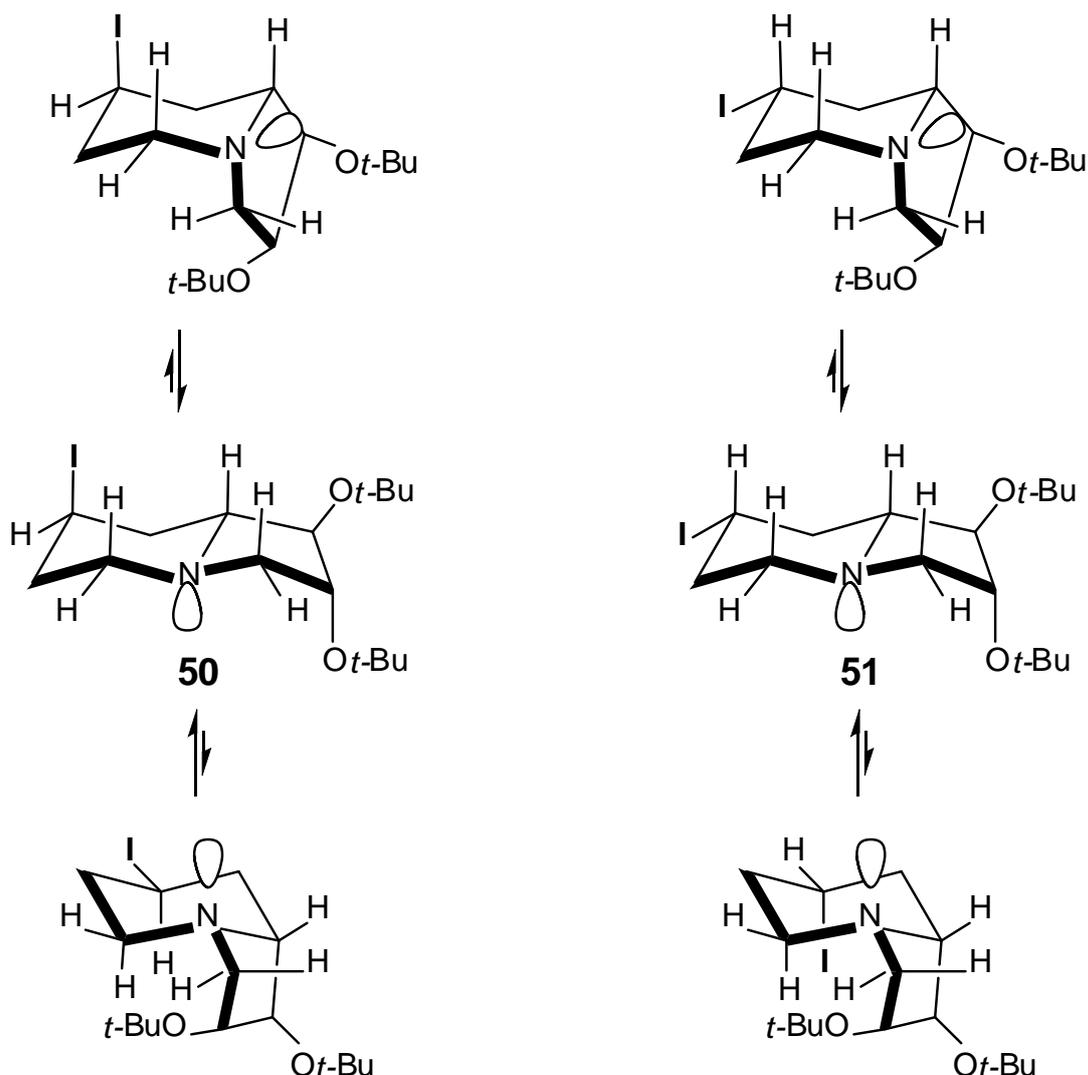


Figura 14. Conformeri *cis*- e *trans*-fusi delle indolizidine iodurate **50** e **51**. Per motivi di chiarezza sono stati indicati solo gli idrogeni 3-H, 5-H, 7-H e 8a-H.

Secondo questo dato, tra i possibili conformeri di **50** e **51** contenenti l'anello piperidinico nella conformazione a sedia solo quelli con gli anelli *trans*-fusi dovrebbero mostrare un'assorbimento nella zona delle bande di Bohlmann poichè nei *cis*-fusi al massimo è presente un solo H α in posizione *trans* diassiale con il doppietto dell'azoto (Figura 14).

In realtà nel caso in esame l'analisi degli spettri IR non è stata diagnostica poichè tutti e tre gli iododerivati isolati mostrano un'assorbimento intorno a 2800 cm⁻¹ simile a quello osservato nello spettro del cloroderivato **46** (Figura 15). Al momento anche lo studio degli spettri NOESY 1D non ha permesso di determinare in maniera univoca la struttura delle 7-I-lentiginosine minori.

⁴⁷ Crabb, T. A.; Newton, R. F.; Jackson, D. *Chem. Rev.* **1971**, *71*, 109.

⁴⁸ Luning, B.; Lundin, C. *Acta Chem. Scand.* **1967**, *21*, 2136.

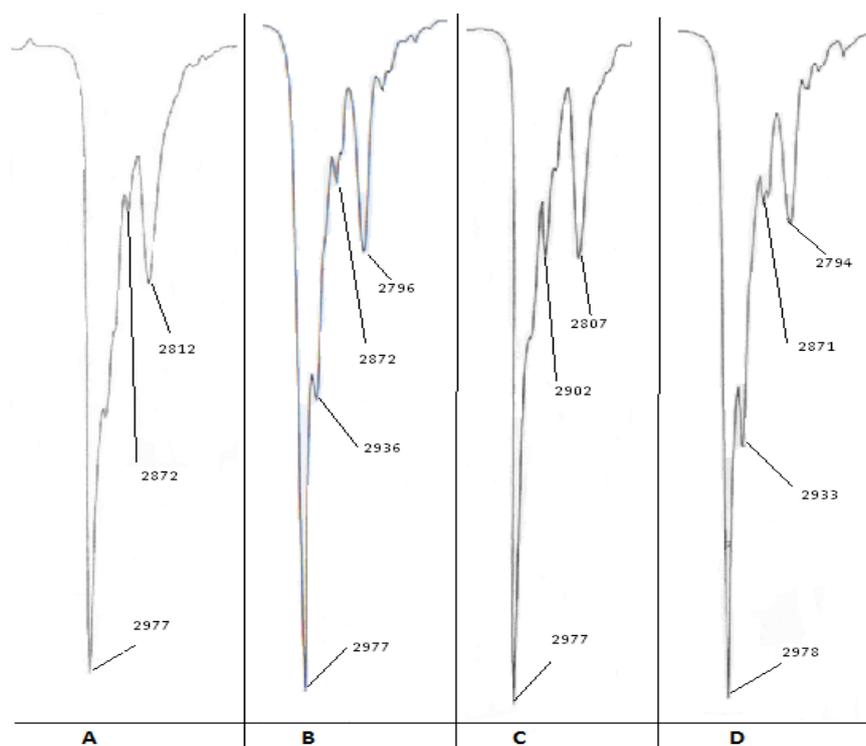


Figura 15 Regione tra 2700 e 3000 cm^{-1} degli spettri IR registrati in CDCl_3 di **A**: 7-cloro-lentiginosina **46**; **B**: 7-iodio-derivato maggiore con I equatoriale **52**; **C** 7-iodio-derivato maggiore con I assiale **53**; **D**: Terzo 7-iodio-derivato.

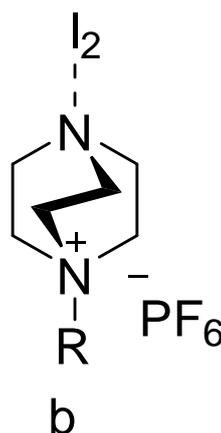
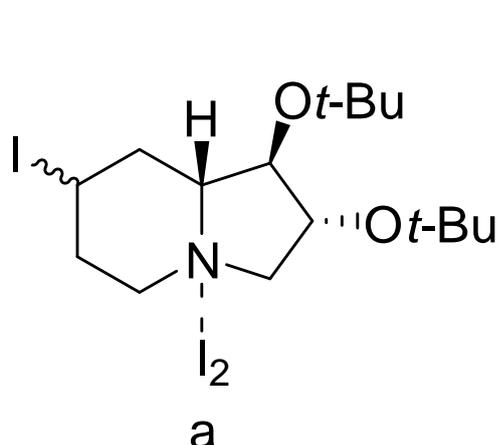


Figura 16

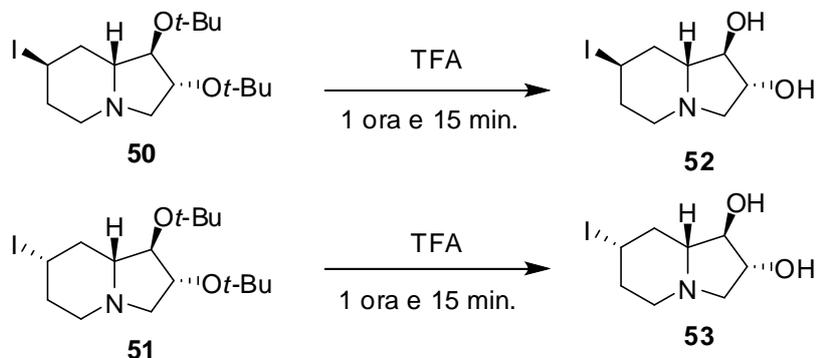
In alternativa per spiegare la presenza del terzo e quarto iodio derivato, si può ipotizzare la presenza di un complesso tra una molecola di I_2 e l'azoto dell'indolizidina (Figura 16a).

Tale complesso potrebbe perdere la molecola di I_2 durante la ionizzazione generando uno spettro di massa ESI equivalente alle indolizidine non complessate. La presenza di complessi stabili tra ammine terziarie e iodio molecolare è ben nota in letteratura. Ad esempio recentemente sono stati studiati i complessi tra dei derivati dell'1,4-diazabicyclo ottano (DABCO) e lo I_2 (Figura 16b).⁴⁹

⁴⁹Peuronen, A.; Valkonen, A.; Kortelainen M.; Rissanen, K.; Lahtinen, M.; *Cryst. Growth Des.* **2012**, *12*, 4157.

Ulteriori studi sono in corso per stabilire con certezza la corretta struttura delle due 7-I-indolizidine minori.

Nel frattempo i due derivati maggiori sono stati deprotetti, **52** e **53** saranno testati come proapoptotici (Schema 20). Inoltre, come nel caso del cloroderivato **46**, i composti **49** e **50** potranno essere studiati come substrati in reazioni di sostituzione con lo ione fluoruro. La diversa configurazione del gruppo uscente sul C-7 potrebbe anche determinare una diversa stabilità termica del sistema indolizidinico verso la frammentazione di Grob che sarà interessante studiare.



Schema 20

Conclusioni

Scopo di questo lavoro di tesi era verificare la possibilità di sintetizzare dei derivati 7-alogenati della lentiginosina per stabilirne la potenzialità come traccianti nello studio del meccanismo di induzione dell'apoptosi.

Inizialmente è stata sintetizzata la (7S)-7-idrossi-2,3-diter-butil-lentiginosina (7-OH-lentiginosina diprotetta) in forma enantiopura a partire da un diidrossi-pirrolin-*N*-ossido derivato a sua volta dall'acido *D*-tartarico. La 7-OH-lentiginosina diprotetta è stata poi utilizzata come substrato per reazioni di sostituzione del gruppo ossidrilico come alogeni quali fluoro, cloro e iodio.

Sono state analizzate varie metodologie normalmente utilizzate nelle trasformazioni di alcol in fluoruri alchilici che però si sono mostrate inefficienti nel caso della 7-OH-lentiginosina a causa della bassa reattività degli ioni fluoruro associata alla facilità con cui i derivati indolizidini portanti un buon gruppo uscente sul C-7 subiscono frammentazione di Grob. Al contrario la clorurazione avviene facilmente utilizzando la reazione di Appel che consente di sintetizzare la (7R)-Cl-2,3-diter-butil-lentiginosina con completa stereoselettività e con buona resa. La reazione di Appel è stata applicata anche alla sintesi del corrispondente iododerivato. La iodurazione avviene con buone rese ma con minore selettività portando alla formazione di entrambi gli epimeri (7R)- e (7S)-I-2,3-diter-butil-lentiginosina. In questo studio preliminare la bassa selettività, probabilmente imputata a successive S_N2 dello I^- sul 7-I-derivato, ha l'indubbio vantaggio di fornire direttamente entrambi gli iododerivati che potranno essere utilizzati in ulteriori studi.

I tre nuovi prodotti sintetizzati in questo lavoro di tesi, ossia la (7R)-Cl-2,3-diter-butil-lentiginosina, (7R)-I-2,3-diter-butil-lentiginosina e la (7S)-I-2,3-diter-butil-lentiginosina, potranno essere utilizzati per ulteriori prove di fluorurazione. Inoltre dopo deprotezione dei gruppi ossidrilici in posizione 2 e 3 verranno testati su cellule tumorali. Se uno o entrambi gli iododerivati risulteranno avere attività proapoptotica potrà essere messo a punto un metodo per inserire selettivamente lo ^{124}I nella configurazione desiderata ed utilizzare la molecola marcata con il radionuclide per studiarne il sito di legame e la distribuzione nelle cellule tumorali.

Materiali e metodi.

Tutte le reazioni che richiedevano condizioni anidre sono state effettuate in atmosfera di azoto con solventi anidri. I solventi anidri sono stati distillati sugli opportuni agenti essiccanti. I valori di R_f si riferiscono a TLC costituite da un supporto di alluminio rivestito da uno strato di gel di silice dello spessore di 0.25mm (Merck F254). La cromatografia è stata eseguita in camera di eluizione satura dei vapori della miscela di solventi utilizzata per l'eluizione. I rilevatori utilizzati per le TLC sono: radiazione UV ($\lambda = 254$ nm), vapori di iodio, soluzione 1.0 M di permanganato di potassio, soluzione di ninidrina, soluzione acida di paranisalaldeide.

Con le reazioni che richiedevano il riscaldamento con microonde si è utilizzato come sorgente di microonde il CEM DiscoverTM, con sensore di temperatura IR.

Gli spettri NMR sono stati registrati con gli spettrometri Varian Gemini, (^1H 200 MHz, ^{13}C 50 MHz), Varian VXR-300S (^1H 300 MHz) e Varian INOVA (^1H 400 MHz). Il solvente usato per la registrazione degli spettri è stato CDCl_3 , se non diversamente specificato. I dati NMR vengono riportati in ppm rispetto al segnale del TMS a 25 °C.

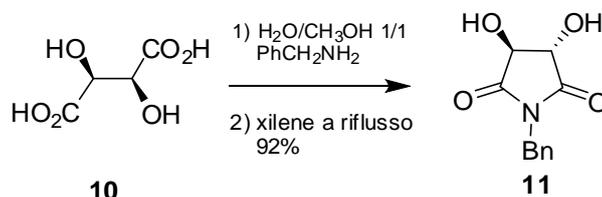
Gli spettri IR sono stati registrati con uno spettrometro Perkin-Elmer BX FT-IR, in soluzione di CDCl_3 , se non diversamente specificato. I punti di fusione (p.f.) sono stati misurati con un apparecchio ELECTROTHERMAL. Le misure polarimetriche sono state eseguite con polarimetro JASCO DIP-370. Le analisi elementari sono state misurate con un analizzatore Perkin-Elmer 2400.

Gli spettri di massa sono stati registrati con uno spettrometro LTQ-Orbitrap ad alta risoluzione (Thermo, San Jose, CA, USA), equipaggiato con sorgente ESI (Electro Spray Ionization) convenzionale.

Parte sperimentale.

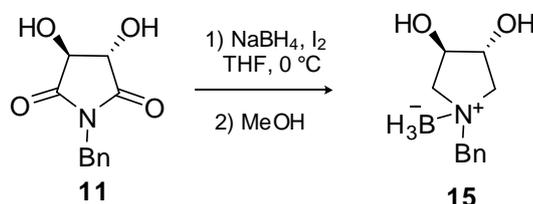
Sintesi della (3*S*,4*S*)-1-benzil-3,4-diidrossipirrolidina-2,5-dione.

(11)



Si aggiunge lentamente la benzilammina (18.25 mL, 0.167 mol) ad una sospensione di (3*S*,4*S*)-(-)-acido tartarico (**6**) (25 g, 0.167 mol) in MeOH/H₂O (1:1) (34 mL), osservando la precipitazione di un solido bianco. Si concentra la miscela viscosa a pressione ridotta. Si aggiunge xilene (450 mL), non osservando alcuna dissoluzione, e si fa rifluire in un apparato di Dean-Strark per 11 ore scaldando a 150 °C. Durante il periodo di riflusso si aggiunge un'addizionale aliquota di xilene (4x50 mL) per compensare quello evaporato e si raccoglie l'acqua formata durante la reazione (18 mL). Infine si raffredda la miscela, si filtra sotto vuoto e si lava il solido risultante con etere di petrolio. Si ottiene l'immina grezza **11** con una resa del 92% (34.08 g, 0.154 mol) come un solido giallo pallido e lo si usa per la successiva reazione senza ulteriori purificazioni.

Sintesi della [(3*R*,4*R*)-1-benzil-3,4-diidrossipirrolidinio-1-il]triidroborato. (**15**)

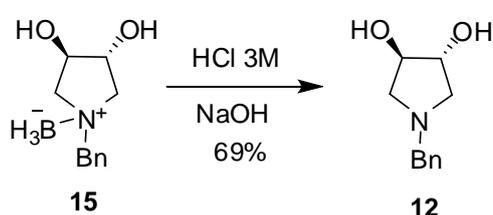


Si aggiunge una soluzione di I₂ (20.3 g, 0.08 mol) in THF (96 mL) goccia a goccia ad una sospensione di NaBH₄ (6.05 g, 0.16 mol) e **11** (7 g, 0.032 mol) in THF (150 mL), vigorosamente agitata e raffreddata a 0 °C, nell'arco di 2 ore sotto atmosfera di N₂. Si fa rifluire la miscela di reazione per 6 ore e poi, si distrugge a 0 °C l'eccesso di borano con MeOH (40 mL) fino a quando non si osserva più effervescenza. Si concentra a pressione ridotta la soluzione limpida ottenuta e si dissolve la miscela bianca che ne deriva in MeOH per poi concentrare a pressione ridotta ripetendo l'operazione tre volte (3x50 mL). Infine, per eliminare definitivamente le ultime

tracce di MeOH, si tratta e si concentra a pressione ridotta il prodotto in sequenza con EtOAc (17 mL) e con *i*Pr₂O (17 mL). Si aggiunge H₂O al residuo bianco ottenuto e prima si lava la miscela con etere di petrolio (5x20 mL) poi si estrae con EtOAc (5x30 mL). Le fasi di EtOAc riunite e poi anidificate con Na₂SO₄, sono lavate con brine (50 mL), infine si filtra e si concentra a pressione ridotta per ottenere **15** come un solido bianco colloidale, non del tutto secco a causa delle probabili impurezze presenti, e lo si usa per la successiva reazione senza ulteriori purificazioni. Una piccola porzione viene purificata per cromatografia su gel di silice (eluente: etere di petrolio/EtOAc 2:3) per ottenere **15** analiticamente puro.

15: R_f = 0.36; m.p. 98–99 °C; [α]_D²⁵ = + 21.2 (c = 0.525, CHCl₃); ¹H NMR (400 MHz): δ = 7.43-7.35 (m, 5H, Ph), 4.67 (dt, J = 1.7; 6.5 Hz, 1H, 3-H), 4.09 (parte A di un sistema AB, J = 13.2 Hz, 1H, CHHPh), 4.05 (parte B di un sistema AB, J = 13.2 Hz, 1H, CHHPh), 4.02 (br d, J = 7.1 Hz, 1H, 4-H), 3.54 (ddd, J = 11.5; 6.6; 1.2 Hz, 1H, 2-Ha), 3.33 (dd, J = 12.0, 7.1 Hz, 1H, 5-Ha), 3.14 (br d, J = 12.0 Hz, 1H, 5-Hb), 2.85 (dd, J = 11.5, 6.3 Hz, 1H, 2-Hb) ppm; ¹³C-NMR (50 MHz): δ = 132.6 (d; 2C, Ph), 130.7 (s; Ph), 129.3 (d; Ph), 128.4 (d; 2C, Ph), 78.8 (d; C-4), 78.5 (d; C-3), 67.2 (t; CH₂Ph), 64.5 (t; C-5), 63.8 (t; C-2) ppm; ¹¹B NMR (64 MHz) δ = -8.71 ppm; IR (CDCl₃): ν = 3610, 3390 (br), 2955, 2381 (B-H st), 1455 (B-N st), 1169, 1107, 1052 cm⁻¹; analisi elementare (%) calcolata per C₁₁H₁₈BNO₂ (207.1): C 63.80, H 8.76, N 6.76; trovata: C 63.70, H 9.08, N 6.73.

Sintesi della (3*R*,4*R*)-1-benzilpirrolidina-3,4-diolo.(**12**)

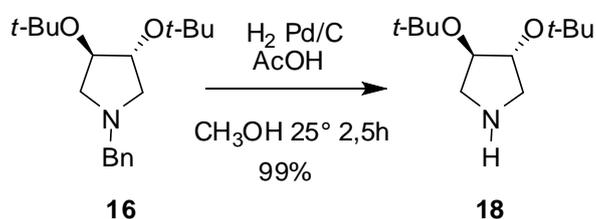


Si aggiunge una soluzione acquosa di HCl 3M (91 mL) alla sospensione dell'addotto grezzo pirrolidina-borano **15** in Et₂O (120 mL) raffreddato a 0 °C sotto agitazione. Si mantiene la sospensione a temperatura ambiente sotto agitazione finché non sia terminata la produzione di H₂ e sia avvenuta la completa dissoluzione del solido presente in partenza. Si separa la fase acquosa, il cui pH ≈ 1, si lava con EtOAc (6x20 mL) e si basifica con una soluzione NaOH 3M (260 mL) mantenendo la soluzione a 0 °C sotto agitazione, fino a pH ≈ 10, poi si estrae nuovamente con EtOAc (6x20 mL). Infine le fasi organiche riunite sono lavate con brine (100 mL) e anidificate con Na₂SO₄ per poi filtrarle e concentrarle a pressione ridotta. Si ottiene la pirrolidina **12** grezza come un solido bianco (4.25

elementare (%) calcolata per $C_{19}H_{31}NO_2$ (305.2) = C 74.71, H 10.23, N 4.59; trovata C 74.37, H 10.24, N 4.95.

17: R_f = 0.23 ($CH_2Cl_2/MeOH$ 95:5); $[\alpha]_D^{23}$ = -10 (c = 0.5, $CHCl_3$); 1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ = 7.35-7.24 (m, 5H, HPh) 4.03-3.98 (m, 2H, 3-H + 4-H), 3.70 (parte A di un sistema AB, J =12.9 Hz, 1H, CHHPh), 3.66 (parte B di un sistema AB, J =12.9 Hz, 1H, CHHPh), 3.26 (dd, J =10.1, 6.7 Hz, 1H) e 2.82 (br d, J =10.4 Hz, 1H) (2-Ha e 5-Ha), 2.68 (dd, J =10.4, 5.1 Hz, 1H) e 2.34 (dd, J =10.1, 5.4 Hz, 1H) (2-Hb e 5-Hb), 1.19 (s, 9H, $CH_3 \times 3$) ppm; ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 50 MHz): δ = 137.3 (s; CPh) 128.9 (d; 2C, CHPh), 128.3 (d; 2C, CHPh), 127.4 (d; CHPh), 78.6 (d), 78.2 (d; 2C, C-3 e C-4), 74.1 (s; CMe_3), 60.6 (t), 60.4 (t; 2C, C-2 e C-5), 60.1 (t; CH_2Ph), 28.4 (q; 3C, CH_3) ppm; IR ($CDCl_3$): ν = 2978, 2801, 1392, 1366, 1192, 1090 cm^{-1} ; MS (EI): m/z (%) = 249 ([M+], 6), 192 (27), 91 (100), 57 (19); analisi elementare (%) calcolata per $C_{15}H_{23}NO_2$ (249.3) = C 72.25, H 9.30, N 5.26; trovata C 71.99, H 9.18, N 5.54.

Sintesi della (3*R*,4*R*)-3,4-di-*ter*-butossipirrolidina (**18**).

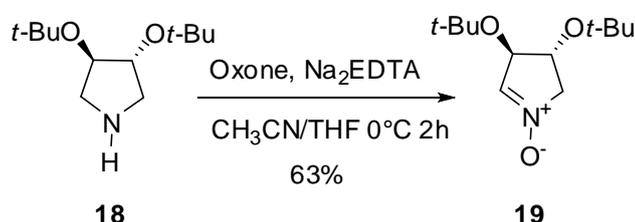


Ad una soluzione di **16** (5.175 g, 16.94 mmol) in MeOH (120 mL) si aggiunge goccia a goccia a 0 °C AcOH (9.68 mL, 169.4 mmol). Si porta a temperatura ambiente si aggiunge il catalizzatore Pd/C_{10%} (13.11 g, 1.047 mmol) poi lascia la miscela in agitazione per 2 ore sotto atmosfera di H₂ (1 atm). Si filtra con MeOH su Celite e si concentra a pressione ridotta. Si discioglie l'olio ottenuto in CH₂Cl₂ (50 mL) e si tratta con una soluzione satura di NaHCO₃ (70 mL) a 0 °C fino ad ottenere un pH=9. Si separano le due fasi e si estrae con CH₂Cl₂ (5x30 mL) la fase acquosa. Le fasi organiche riunite si lavano con brine (80 mL) per poi anidificarle su Na₂SO₄ anidro, filtrarle e concentrarle a pressione ridotta. Si ottiene la pirrolidina **18** come un olio marrone (3.59 g, 16.68 mol) con una resa del 99% e lo si utilizza per la reazione successiva senza ulteriori purificazioni.

1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ = 3.86-3.81 (m, 2H, 3-H e 4-H), 3.09 (dd, J =12.0, 5.3

Hz, 2H, 2-Ha e 5-Ha), 2.66 (dd, $J=12.0, 3.5$ Hz, 2H, 2-Hb e 5-Hb), 2.41 (br s, NH), 1.17 (s, 18H, CH₃ x 6) ppm; ¹³C NMR (CDCl₃, 50 MHz): $\delta = 79.1$ (d; 2C, C-3 e C-4), 73.5 (s; 2C, CMe₃), 53.9 (t; 2C, C-2 e C-5), 28.6 (q; 6C, CH₃) ppm.

Sintesi della (3*R*,4*R*)-3,4-di-*ter*-butossi-3,4-diidro-2H-pirrolo 1-ossido (**19**).



Si aggiunge alla pirrolidina **18** (1g, 4.65 mmoli), in una miscela di acetonitrile (7.15mL) e THF (1.78mL) (4/1), la soluzione di Na₂EDTA (0.01M, 6.5 mL), NaHCO₃ (1.95 g, 23.25mmoli) e l'oxone (3.7g, 6mmoli) a 0°C in porzioni frazionate, in un tempo totale di 2 ore e 30 min.

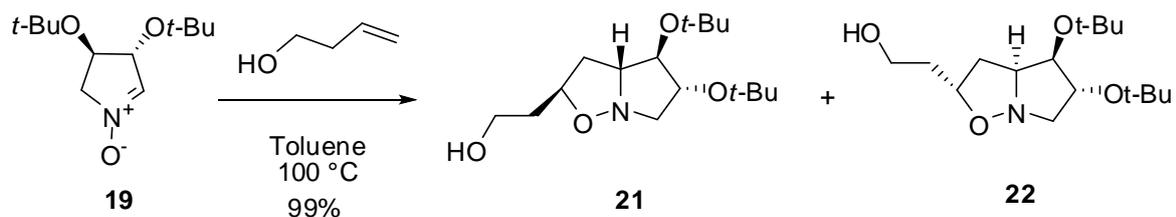
Dopo 30 min. si aggiunge AcOEt (15mL) e H₂O deionizzata (25 mL). Si separano le fasi e la fase acquosa è estratta con AcOEt (2X15mL) e DCM (3X10mL). Le fase organiche riunite si lavano con 40 mL di Brine si anidrificano con Na₂SO₄, poi si filtra su cotone e concentra poi a pressione ridotta.

Il grezzo ottenuto (934 mg) si purifica su gel di silice mediante cromatografia Flash (eluente DCM / MeOH (1% NH₄OH) = 98 : 2).

Si ottiene il nitrono **19** (0.670 g) pulito come un solido bianco con resa del 63%

19: R_f = 0.32; m.p. 75.4–77.2 °C; $[\alpha]_D^{27} = -166$ (c = 0.7, CHCl₃); ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): $\delta = 6.78\text{--}6.76$ (m, 1H, 2-H), 4.59–4.56 (m, 1H, 3-H), 4.20–4.12 (m, 2H, 5-Ha e 4-H), 3.71–3.64 (m, 1H, 5-Hb), 1.21 (s, 9H, CH₃ x 3), 1.19 (s, 9H, CH₃ x 3) ppm; ¹³C NMR (CDCl₃, 50 MHz): $\delta = 134.9$ (d; C-2), 79.0 (d; C-3), 74.8 (s; CMe₃), 74.7 (s; CMe₃), 74.2 (d; C-4), 68.3 (t; C-5), 28.2 (q; 6C, CH₃) ppm; IR (CDCl₃): $\nu = 298, 1588, 1392, 1367, 1260, 1187, 1086$ cm⁻¹; MS (EI): m/z (%) = 229 ([M⁺], 1), 173 (16), 117(39), 100 (18), 88 (31), 70 (43), 57 (100), 41 (42); analisi elementare (%) calcolata per C₁₂H₂₃NO₃ (229.3) = C 62.85, H 10.11, N 6.11; trovata C 63.14, H 10.06, N 6.31.

Sintesi del 2-[(2R,3aR,4R,5R)-4,5-di-tert-butossiesaidropirrolo[1,2-b]isossazolo]etano (21)



Si aggiunge toluene (2.92mL) a una soluzione di nitrone **19** (0.67g, 2.92mmoli) e butenolo (0.89mL).

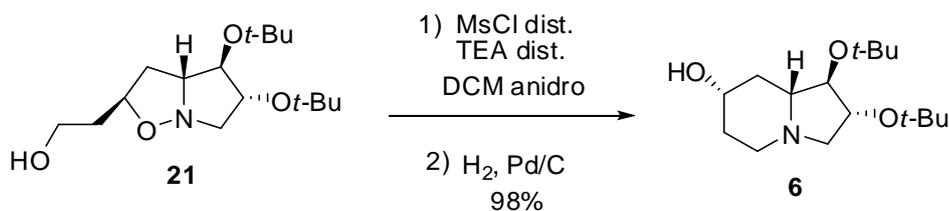
Nel pallone chiuso con una pinza di sicurezza e posto in una stufa preriscaldata alla temperatura di 100°C. Dopo 2 ore si separa direttamente il grezzo (980 mg) così ottenuto su colonna (eluente in gradiente, inizio AcOEt, AcOEt / CH₃OH (1%NH₄OH) = 5/1).

Il diastereoisomero maggiore **21** (0.61 g) si ottiene con resa del 70% e **22** con resa del 20%, i diastereoisomeri sono ottenuti in rapporto 3.5/1.

18: $R_f = 0.44$ (Et₂O/CH₃OH (1%NH₄OH) = 25/1); $[\alpha]_D^{21} -65.9$ ($c = 0.59$, CHCl₃). ¹H NMR (500 MHz): δ 4.41 (dq, $J_{1,3}=4.3, 7.8$ Hz, 1H, H-2), 3.9 (dt, $J_{1,3}=8.1, 5.8$ Hz, 1 H, H-5), 3.78-3.74 (m, 1H, H-4), 3.75 (t, $J_{1,3}=5.9$ Hz, 2H, 2-2'), 3.49 (dt, $J_{1,3}=9.3, 4.4$ Hz, 1 H, H-3°), 3.46 (dd, $J_{1,2}=10.3$ Hz, $J_{1,3}=5.9$ Hz, 1H, Ha-6), 2.85 (dd, $J_{1,2}=10.3$ Hz, $J_{1,3}=8.0$ Hz, 1 H, Hb-6), 2.37-1.78 (m, 4H), 1.19 (s, 9H, tBu), 1.18 (s, 9H, tBu); ¹³C NMR (50.3 MHz): δ 81.9 (d), 75.9 (d), 74.6 (d), 73.9 (s, 2 C, tBu), 69.6 (d), 60.6 (t), 59.4 (t), 40.2 (t), 35.9 (t), 28.8 (q, 3 C, tBu), 28.5 (q, 3C, tBu); IR (CDCl₃): 3895, 3752, 3687, 3609, 2979, 2938, 1364, 1187 cm⁻¹; MS: m/z (intensità relativa) 301 (M⁺, 11), 245 (9), 244 (69), 188 (50), 116 (57), 84 (60).

Anal. Calcolata per C₁₆H₃₁NO₄: C, 63.76; H, 10.37; N, 4.65. Trovata C, 63.36; H, 10.43; N, 4.87.

Sintesi della (1*R*,2*R*,7*S*,8*aR*)-1,2-di-ter-butossiottaidroindolizina-7-olo (**6**).

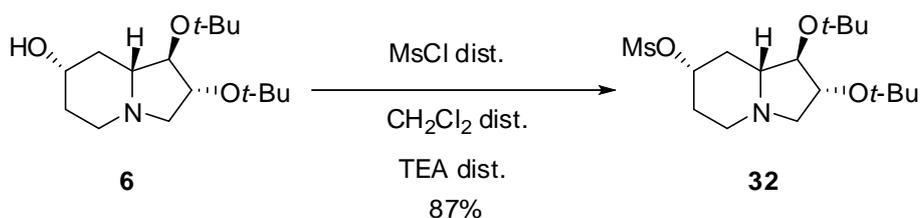


A una soluzione di cicloaddotto **21** (749 mg, 2.69 mmoli) in CH₂Cl₂ (12 μL) si aggiunge a 0°C la TEA (485 μL, 3.48 mmoli) distillata su KOH e goccia a goccia il mesilcloruro (211 μL, 3.48 mmoli) distillato a pressione ridotta. Dopo un ora si evapora il solvente di reazione a pressione ridotta e il residuo ottenuto è trattato con THF 3 volte. Successivamente il Pd_{10%}/C (131mg, 0.124 mmoli di Pd) viene aggiunto alla miscela del solido ottenuto in MeOH e si lascia la miscela in agitazione in atmosfera di H₂.

La miscela di reazione viene filtrata su celite e concentrata a pressione ridotta. Il solido ottenuto viene dissolto in CH₂Cl₂ e lavato con una soluzione satura di NaHCO₃ (3.5 mL). La fase acquosa viene estratta con CH₂Cl₂ (3x5 mL) e le fasi organiche vengono riunite e lavate con H₂O (10 mL), si anidrifica con Na₂SO₄, si filtra e si concentra a pressione ridotta. Si raccoglie **6** (700 mg) come un solido giallo con resa del 98%.

6: R_f = 0.26 (AcOEt/MeOH 25:1); m.p. 117.5-119.5; [α]_D²⁶ = -45 (c=0.6, CHCl₃); ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 3.83 (ddd, J=7.1, 4.0, 1.7 Hz, 1H; 2-H), 3.67 (dd, J=8.5, 4.0 Hz, 1-H; 1-H), 3.58 (pseudo tt, J=10.9, 4.6 Hz, 1H; 7-H), 2.93 (ddd, J=11.2, 4.5, 2.5 Hz, 1H; 5-Ha), 2.89 (dd, J=10.1, 1.7 Hz, 1H; 3-Ha), 2.42 (dd, J=10.1, 7.1 Hz, 1H; 3-Hb), 2.21-2.15 (m, 1H; 8-Ha), 1.96 (pseudo dt, J=2.6, 11.8 Hz, 1H; 5-Hb) 1.90-1.77 (m, 2H; 6-Hb e 8a-H), 1.61 (pseudo ddt, J=11.2, 4.5, 12.3 Hz, 1H; 6-Hb) 1.27 (pseudo q, J= 11.2 Hz, 1H; 8-Hb), 1.20 (s, 9H, CH₃ x 3), 1.16 (s, 9H, CH₃ x 3) ppm; ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 82.2 (d; C-1), 779 (d; C-2) 73.8 (s; CMe₃), 73.7 (s; CMe₃), 69.7 (d; C-7), 65.4 (d; C-8a), 61.1 (t; C-3), 50.5 (t; C-5), 37.9 (t; C-8), 34.2 (t; C-6), 29.2 (q; 3C, CH₃), 28.7 (q; 3C, CH₃) ppm; IR (CDCl₃): ν = 3689, 3608, 2978, 2257, 1602, 1391, 1367, 1216, 1190, 1067 cm⁻¹; MS (EI): m/z (%) = 285 ([M⁺], 2), 228 (51), 172 (18), 128 (9), 113 (46), 100 (16), 57 (100), 41 (54); analisi elementare (%) calcolata per C₁₆H₃₁NO₃ (285.42) = C 67.33, H 10.95, N 4.91; trovata C 67.29, H 11.21, N 4.77.

Sintesi della (1*R*,2*R*,7*S*,8*aR*)-1,2-di-*tert*-butossiottaidroindolizidina-7- metanosolfonata (**32**)

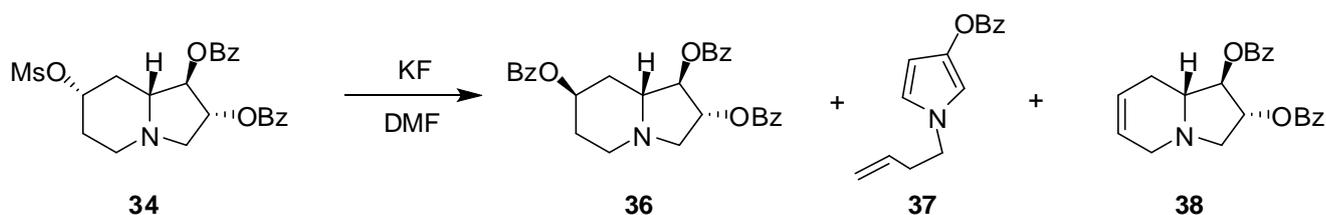


Si aggiunge a 0°C mesilcloruro (0.52 mL, 6.73 mmoli) distillato e TEA (2.34 mg, 16.8 mmoli) distillata su KOH, a una miscela di indolizidina **6** (960 mg, 3.36 mmoli) e diclorometano (0.94 mL) distillato su P₂O₅.

Dopo 2 ore la sospensione risultante viene diluita con CH₂Cl₂ (2x15 mL). Si separano le fasi, poi le fasi organiche riunite vengono lavate con brine (3x10 mL), anidificate con Na₂SO₄ e concentrate a pressione ridotta. Il mesilato **32** (1.2 g) è ottenuto come un olio arancione con resa 98% è utilizzato per le successive reazioni senza ulteriori purificazioni.

32: R_f = 0.47 (eluente PE : AcOEt = 1 : 1); ¹H NMR (400 MHz): δ = 4.59 (tt, J = 11.1, 4.8 Hz, 1H; 7-H), 3.84 (ddd, J = 7.0, 3.9, 1.7 Hz, 1H; 2-H), 3.68 (dd, J = 8.4, 3.9 Hz, 1H; 1-H), 3.01 (s, 3H; SCH₃), 3.00-2.94 (m, 1H; 5-H_a), 2.89 (dd, J = 10.1, 1.6 Hz, 1H; 3-H_a), 2.44 (dd, J = 10.1, 7.0 Hz, 1H; 3-H_b), 2.32 (dm, J = 11.4 Hz, 1H; 8-H_a), 2.10-1.98 (m, 2H; 5-H_b, 6-H_a), 1.95-1.83 (m, 2H; 6-H_b, 8a-H), 1.57 (q, J = 11.4 Hz, 1H; 8-H_b), 1.19 (s, 9H; t-Bu), 1.17 (s, 9H; t-Bu) ppm; HRMS: calcolato per C₁₇H₃₄NO₅S [M+H]⁺ 364.21522, trovato 364.21493

Sintesi della (1*R*,2*R*,7*R*,8*aR*)-ottaidroindolizidina-1,2,7-tribenzoato (**36**).



Si aggiunge CsF (51 mg, 0.34mmoli) a una miscela del composto **34** (52 mg, 0.11 mmoli) in DMF anidra (0.28 mL). La reazione viene lasciata in agitazione per 25 ore a 80°C, 5 ore a 100 °C e 18 ore a 120°C, fino a scomparsa del prodotto di partenza.

Si allontana la DMF soffiando aria sulla soluzione. Il grezzo (55.8 mg) ottenuto viene purificato mediante cromatografia su gel di silice (eluente EP : AcOEt = 15 : 1).

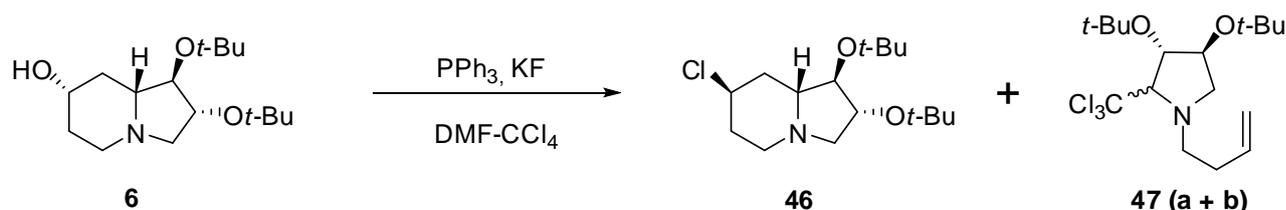
Si ottiene **37** (1 mg), **38** (2 mg), **36** (13 mg, con resa 24%).

La reazione è stata ripetuta utilizzando le microonde alla temperatura di 120°C. Dopo 3 ore e 30 min. si allontana la DMF come sopra riportato ottenendo 51.5 mg di grezzo. Dopo separazione mediante cromatografia Flash si ottiene **36** (9.3 mg) resa 23%, **37** (2.3 mg), **38** (0.7 mg).

36: Rf= 0,77 (AcOEt : EP = 1 : 1); $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): δ = 8.11-8.01 (m, 6H; OBz), 7.60-7.52 (m, 3H; OBz), 7.48-7.39 (m, 6H; OBz), 5.46 (m, 3H; 1-H, 2-H, 7-H), 3.24 (d, J=11.6 Hz, 1-H; 3-H), 3.03-2.94 (m, 2H; 3-H, 5H), 2.74-2.66 (m, 1H; 8a-H), 2.54 (pseudodt, J=10.9, 7.8 Hz, 2H; 5-H), 2.30 (pseudodt, J=14.0, 2.7 Hz, 1H; 8-H), 2.04-1.99 (m, 2H; 6-H x 2), 1.94 (ddd, J=14.0, 11.6, 2.8 Hz, 1H; 8-H) ppm.

37: $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): δ = 8.22-8.13 (m, 2H), 7.65-7.44 (m, 4H), 6.91 (pseudot, J= 2.12 Hz, 1H), 6.53 (pseudot, J= 2.7, 1H), 6.11 (pseudodd, J=2.9, 1.8 Hz, 1-H), 5.89-5.67 (m, 2H), 5.17-5.04 (m, 2H), 3.91 (t, J= 7.2 Hz, 2H), 2.61-2.47 (m, 2H), ppm.

Sintesi della(1*R*,2*R*,7*R*,8*aR*)-1,2-di-*tert*-butossi-7clorooctaidroindolizina (**46**).



Si aggiunge KF (20 mg, 0.35 mmoli) a una sospensione di indolizidina **6** (50 mg), in DMF anidra (0.141 mL), in presenza di CCl_4 (0.035mL), Ph_3P (115 mg, 0.44 mmoli) a temperatura ambiente.

Dopo 1 ora si aggiungono altri 20 mg di KF e si lascia la miscela in agitazione per 23 ore, poi si diluisce con 1 mL di H₂O deionizzata, e si separano le due fasi acquosa e organica. La fase acquosa viene estratta con Et₂O (5 x 2 mL), AcOEt (3 x 2 mL), DCM (3 x 2 mL). Riunite le fasi organiche si anidrificano e si evapora a pressione ridotta.

Il grezzo (186 mg) viene purificato mediante cromatografia su gel di silice (eluente in gradiente, da Esano : Et₂O = 1 : 1, a Et₂O : MeOH = 10 : 1).

Si ottiene **46** (23 mg, con resa 44%) e una miscela di **47** (6 mg, **a** e **b** in rapporto 1.15/1 con resa del 9%).

Si ripete la reazione senza aggiungere il KF. La preparazione, le quantità, la durata della reazione, il work up e colonna cromatografica sono effettuate come sopra riportato.

Si ottiene **46** (16 mg con resa del 43%) e **47** (13 mg, **a** e **b** in rapporto 1.15/1 con resa del 19%).

In un altro tentativo, si aggiunge KF (9.2 mg, 0.158 mmoli) a una miscela di indolizidina **6** (22 mg), CCl₄ (0.016 mL) e DMF (0.063 mL) con 1% di H₂O demineralizzata. Dopo 4 ore e 30 min. il grezzo (114 mg) ottenuto eliminando il solvente soffiando con un flusso energetico di aria, viene purificato mediante cromatografia su gel di silice (eluente Esano : Et₂O = 1 : 1).

Si ottiene **46** (15.8 mg) con resa del 66% e si recupera il prodotto **6** al 34%.

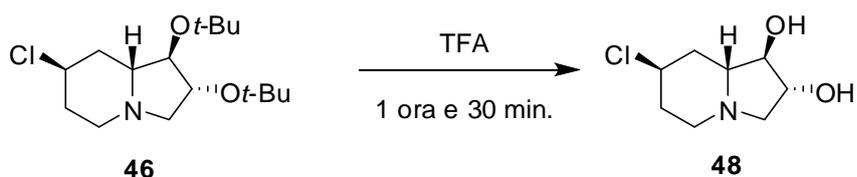
46: $[\alpha]_D^{25} = -43$. (c = 0.85, CHCl₃); ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): $\delta = 4.52$ (pseudo quintetto, J = 2.8 Hz, 1H; 7-H), 3.84 (ddd, J = 6.9, 4.0, 1.6 Hz, 1H; 2-H), 3.63 (dd, J = 8.6, 4.0 Hz, 1H; 1-H), 2.91 (dd, J = 10.2, 0.8 Hz, 1H; 3-H), 2.77 (dd, J = 10.81, 3.87, 1.57 Hz, 1H; 5-H), 2.56 (dd, J = 10.01, 7.15 Hz, 1H; 3-H), 2.47 (dt, J = 11.59, 2.18 Hz, 1H; 5-H), 2.38-2.31 (m, 1H; 8-Ha), 2.22-2.15 (m, 1H; 8-H), 2.15-2.05 (m, 1H; 6-H), 1.91-1.84 (m, 1H; 6-H), 1.79-1.70 (m, 1H; 8-H), 1.18 (s, 9H, CH₃ x 3), 1.17 (s, 9H, CH₃ x 3) ppm; ¹³C NMR (CDCl₃, 50 MHz): $\delta = 83.2$ (s; C-1), 77.0 (t; C-2), 61.5 (s; C-3), 60.1 (s; C8a), 57.1 (s; C-7), 47.0 (s; C-5), 36.7 (s; C-8), 32.8 (s; C-6), 29.2 (s; 3C, CH₃), 28.7 (s; 3C, CH₃) ppm; IR (CDCl₃): $\nu = 2977, 2812$ (bande di Bohlmann o b.B), 2236, 1723, 1466, 1390, 1365, 1269, 1191, 1073 cm⁻¹; analisi elementare (%) calcolata per C₁₆H₃₀ClNO₂ (303.8) = C 63.24, H 9.95, N 1.61; trovata C 63.18, H 9.95, N 4.59.

47a: ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): $\delta = 5.88$ -5.76 (m, 1H; 6-H), 5.11-5.97 (m, 2H; 9-H), 4.51 (dd, J = 15.6, 7.4 Hz, 1H; 3-H), 4.02 (t, J = 8.3, 1H; 4-H), 3.47-3.39 (m, 2H; 2-H +

5-H), 3.17-3.09 (m, 1H; 6-H), 2.98-2.90 (m, 1H; 6-H), 2.37-2.19 (m, 3H; 5-H + 2x7H), 1.25 (s, 9H, CH₃ x 3), 1.18 (s, 9H, CH₃ x 3) ppm.

47b: ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 5.89-5.76 (m, 2H; 8-H x 2), 5.14-4.97 (m, 2H; 9-H x 2), 4.3 (pseudot, J=3.5 Hz, 1H; 4-H), 4.0-3.9 (m, 1H; 3-H), 3.58 (d, J=3.2 Hz, 1H; 5-H), 3.29-2.90 (m, 4H; 2-Hx2 + 6-Hx2), 2.40-2.20 (m, 2H; 7-Hx2) ppm.

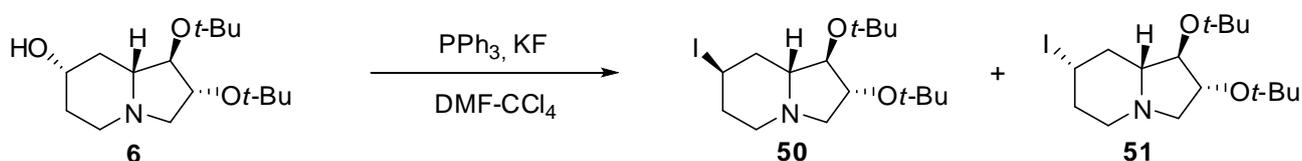
Sintesi della (1*R*,2*R*,7*R*,8*aR*)-7-clorooottaidroindolizidina-1,2-diolo (**48**).



A una soluzione di **46** (67 mg, 0.22 mmoli) e DCM (0.35 mL) aggiunge TFA (1.23 mL) a 0°C. La reazione viene lasciata in agitazione a temperatura ambiente per 1 ora e mezzo. Il residuo viene lavato per 3 volte con acetone. Il grezzo viene purificato mediante cromatografia su gel di silice (eluente inizio Et₂O, poi Et₂O : MeOH (1% NH₄OH) = 20 : 1 e infine Et₂O : MeOH (5% NH₄OH) = 15 : 1). Dopo colonna si trattano le frazioni ottenute con una resina basica debole *Amberlyst-A21* e si ottiene **48** (34.4 mg) con resa del 82%.

48: ¹H NMR (CD₃OD, 400 MHz): δ = 4.58 (quintetto, J= 2.98 Hz, 1H; 7-H), 3.99 (ddd, J= 7.0, 3.3, 1.6 Hz, 1H; 2-H), 3.63 (dd, J=8.3, 3.3 Hz, 1H; 1-H), 2.91 (dd, J=2.9, 1.4 Hz, 1H; 3-H), 2.85 (ddd, J=11.4, 4.5, 2.3 Hz, 1H; 5-H), 2.71 (dt, J=10.6, 7.1 Hz, 1H; 3-H), 2.57 (dt, 12.1, 2.7 Hz, 1H; 5-H), 2.51-2.43 (m, 1H; 8-Ha), 2.26-2.20 (m, 1H; 8-H), 2.15-2.04 (m, 1H; 6-H), 1.94-1.79 (m, 1H; 6-H + 8-H) ppm.

Sintesi della (1*R*,2*R*,7*R*,8*aR*)-1,2-di-*tert*-butossi-7-iodioottaidroindolizidina (**50**) e (1*R*,2*R*,7*S*,8*aR*)-1,2-di-*tert*-butossi-7-iodioottaidroindolizidina (**51**).



Ad una miscela in THF (0.18 mL) contenente **6** (49 mg, 0.17 mol), trifenilfosfina (113 mg, 0.43 mol), e imidazolo (27 mg, 0.389 mol), si aggiunge I₂ a 0 °C. La soluzione diventa marrone. Dopo 30 min. a temperatura ambiente si aggiunge TBAF in soluzione 1 M in THF (0.35 mol). La reazione diventa limpida e viene lasciata in agitazione a 40 °C. Dopo 2 ore si evapora il solvente a pressione ridotta. Il residuo ottenuto (554 mg) viene purificato mediante cromatografia su gel di silice (eluente in gradiente di concentrazione, da Esano : Et₂O = 4 : 1, poi Et₂O e a Et₂O : MeOH = 15 : 1).

Si ottengono quattro 7-I-1,2-(*tert*-Bu)₂-indolizidine: I_{ass. mag} (**50**, 25.3 mg, 0.064 mmoli con resa del 37%), I_{ass. min} (4.55 mg, 0.011 mmoli con resa del 6.6%), I_{eq. magg} (**51**, 15.0, 0.038 mmoli con resa del 22%), I_{eq. min} (2.39, 0.006 mmoli con resa del 3.5%).

La reazione è stata ripetuta raddoppiando le quantità dei reagenti senza mettere il TBAF e sostituendo al THF la DMF anidra (0,35 mL). La reazione viene condotta come sopra.

Il grezzo (774 mg) viene purificato mediante cromatografia su gel di silice ottenendo quattro 7-I-1,2-(*tert*-Bu)₂-indolizidine I_{ass. mag} (**50**, 56.0 mg, 0.142 mmoli, con resa del 40.6%), I_{ass. min} (0.5 mg, 0.001 mmoli, con resa del 0.4%), I_{eq. magg} (**51**, 41.4 mg, 0.104 mmoli, con resa del 30%) e I_{eq. min} (0.5 mg, 0.004 mmoli, con resa del 1.2%).

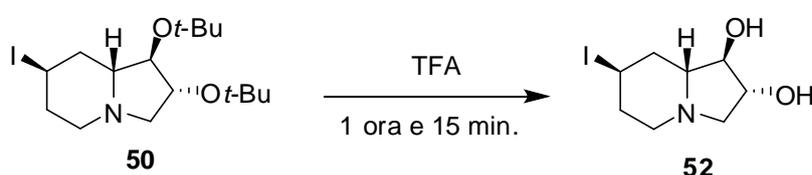
50: ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 4.84 (pseudo quintetto, J= 3.0 Hz, 1H; 7-H; W_{1/2} = 8.2 Hz), 3.84 (ddd, J= 7.1, 4.1, 1.8 Hz, 1H; 2-H), 3.66 (dd, J=8.5, 4.1 Hz, 1H; 1-H), 2.89 (dd, J=10.0, 1.6 Hz, 1H; 3-H), 2.78 (dt, J=11.3, 3.3 Hz, 1H; 5-H), 2.6 (dd, J= 10.0, 7.1 Hz, 1H; 3-H), 2.45-2.34 (m, 2H; 8-H + 5H), 2.23 (ddd, J= 14.0, 4.5, 2.5 Hz, 1H; 8a-H), 1.98-1.84 (m, 2H; 6-H x 2), 1.53 (pseudo ddd, J= 14.0, 10.5, 3.5 Hz,

1H; 8-H), 1.17 (s, 18H, $CH_3 \times 6$) ppm. ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 50 MHz): δ = 82.8 (s; C-1), 77.9 (s; C-2), 73.7 (d, C_q *t*-Bu), 61.3 (d; C-3), 48.7 (s; C-5), 38.1 (s; C-8), 34.5 (s; C-6), 32.2 (s; C-7), 29.2 (s; CH_3), 28.7 (s; CH_3) ppm; IR ($CDCl_3$): ν = 2977, 2902 (b.B.), 2807 (b.B.), 2237, 1771, 1474, 1465, 1431, 1419, 1391, 1365, 1351, 1329, 1308, 1281, 1259, 1236, 1184, 1149, 1117 cm^{-1}

51: 1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ = 4.00 (pseudo tt, J = 12.0, 4.6 Hz, 1H; 7-H; $W_{1/2}$ = 24.6 Hz), 3.79 (ddd, J = 6.8, 3.9, 1.6 Hz, 1H; 2-H), 3.6 (dd, J = 8.2, 3.8 Hz, 1H; 1-H), 2.9 (pseudod, J = 10.2, 1H; 3-H), 2.99-2.77 (m, 1H; 5-H), 2.53 (dq, J = 12.1, 2.0 Hz, 1H; 8a-H), 2.42 (pseudot, J = 7.8 Hz, 1H; 3-H), 2.34-2.19 (m, 2H; 6-H), 2.1-1.9 (m, 2H; 8-H + 5-H), 1.87-1.77 (m, 1H; 8a-H), 1.9 (s, 9-H, $CH_3 \times 6$), 1.2 (s, 9-H, $CH_3 \times 6$) ppm. ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 50 MHz): δ = 83.4 (s; C-1), 77. (s; C-2), 73.5 (d, C_q *t*-Bu), 68.9 (s; C-8a), 61.5 (s; C-3), 54.5 (s; C-5), 42.4 (s; C-5), 42.5 (s; C-8), 38.5 (s; C-6), 29.2 (s; CH_3), 28.7 (s; CH_3), 24.6 (s; C-7) ppm ; IR ($CDCl_3$): ν = 2977, 2936 (b.B.), 2872 (b.B.), 2796 (b.B.), 2236, 1717, 1464, 1444, 1391, 1367, 1326, 1277, 1256, 1237, 1188, 1165, 1140, 1077, 1061 cm^{-1}

Terza indolizidina: 1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ = 4.13-4.01 (m, 1H; 7-H; $W_{1/2}$ = 23.0 Hz), 3.91 (dt, J = 6.8, 0.8 Hz, 1H; 2-H), 3.72 (dd, J = 4.1, 0.8 Hz, 1H; 1-H), 3.38 (dd, J = 9.4, 6.9 Hz, 1H; 3-H), 2.89 (dt, J = 11.23, 3.19 Hz, 1H; 5-H), 2.32-2.18 (m, 2H; 8-H + 6-H), 2.12-1.96 (m, 2H; 8a-H + 5-H), 1.90 (dd, J = 9.40, 5.84 Hz, 1H; 3-H), 1.18 (s, 9H, $CH_3 \times 3$), 1.15 (s, 9H, $CH_3 \times 3$) ppm. ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 50 MHz): δ = 79.9 (s; C-1), 78.9 (s; C-2), 74.0 (d, C_q *t*-Bu), 67.7 (s; C-8a), 63.3 (s; C-3), 54.9 (s; C-5), 39.8 (s; C-6), 38.7 (s; C-8), 28.8 (s; CH_3), 28.7 (s; CH_3), 25.6 (s, C-7) ppm. IR ($CDCl_3$): ν = 2978, 2933 (b.B.) 2871 (b.B.) , 2794 (b.B.), 2234, 1710, 1466, 1447, 1391, 1366, 1330, 1310, 1262, 1235 1192 cm^{-1}

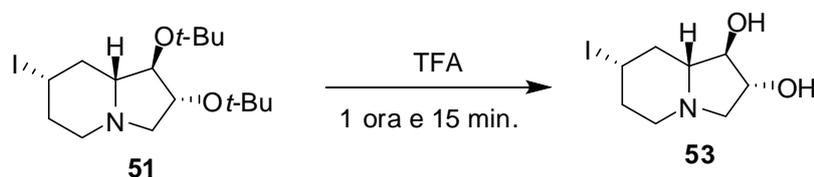
Sintesi della (1*R*,2*R*,7*R*,8a*R*)-7-iodoottaidroindolizidina-1,2-diolo (52).



A una soluzione di **50** (57.1 mg, 0.14 mmoli) e DCM (0.2 mL) aggiunge TFA (0.78 mL) a 0°C. La reazione viene lasciata in agitazione a temperatura ambiente per 1 ora e 15 min.. Il residuo viene lavato per 3 volte con acetone e 3 volte con MeOH con 5% di NH₄OH. Il grezzo viene purificato mediante cromatografia su gel di silice (eluente Et₂O : MeOH (5% NH₄OH) = 10 : 1 poi Et₂O : MeOH (5% NH₄OH) = 5 : 1). Si ottiene **52** (35.8 mg) con resa del 90%.

52: ¹H NMR (CD₃OD, 400 MHz): δ = 4.58 (q, J= 2.9 Hz, 1H; 7-H), 3.98 (ddd, J= 7.0, 3.3, 1.5 Hz, 1H; 2-H), 3.62 (dd, J=8.3, 3.3 Hz, 1H; 1-H), 2.89 (dd, J=10.5, 1.0 Hz, 1H; 3-H), 2.83 (ddd, J=11.3,4.5, 2.3 Hz, 1H; 5-H), 2.67 (dd, J=10.6, 7.1 Hz, 1H; 3-H), 2.45-2.34 (dt, J=11.8, 2.7, 1H; 5H), 2.47-2.39 (m,1H; 8-H), 2.23 (ddd J=14.0,5.1, 2.6 Hz, 1H; 8a-H), 2.13-2.03 (m, 1H; 6-H), 1.93-1.86 (m, 1H; 6-H), 1.86-1.77 (m, 1H, 8-H) ppm.

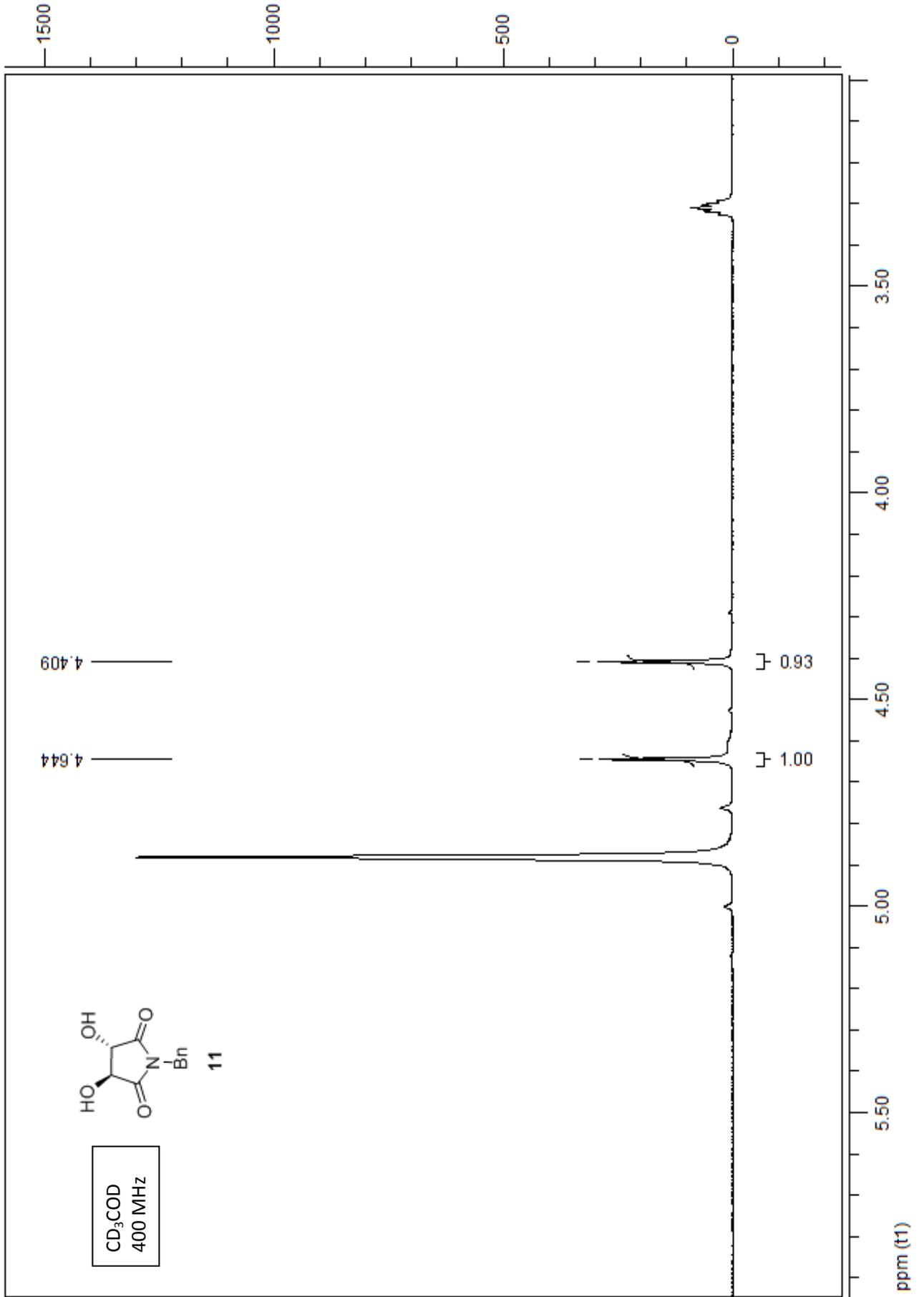
Sintesi della (1*R*,2*R*,7*S*,8*aR*)-7-iodoottaidroindolizidina-1,2-diolo (**53**).

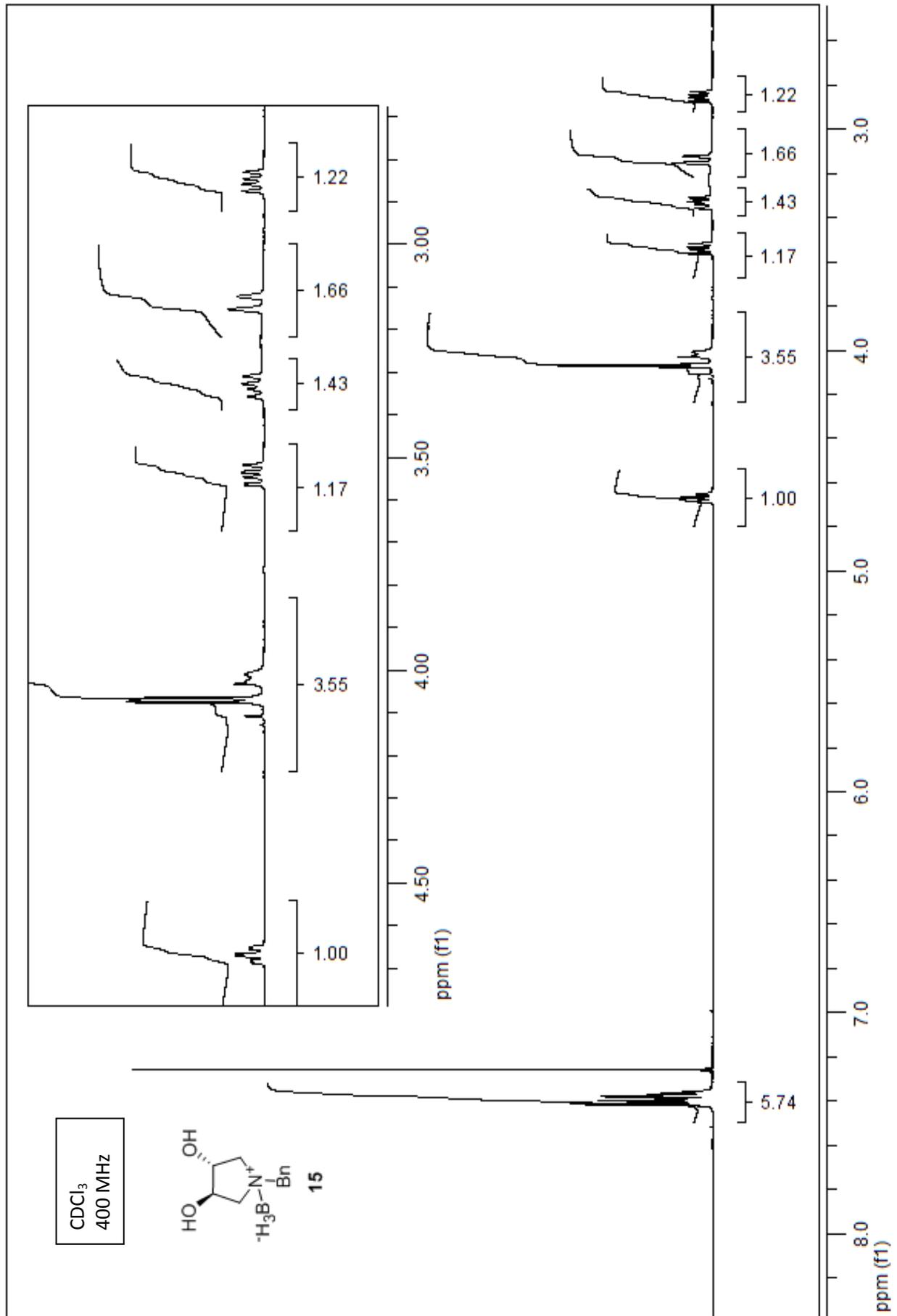


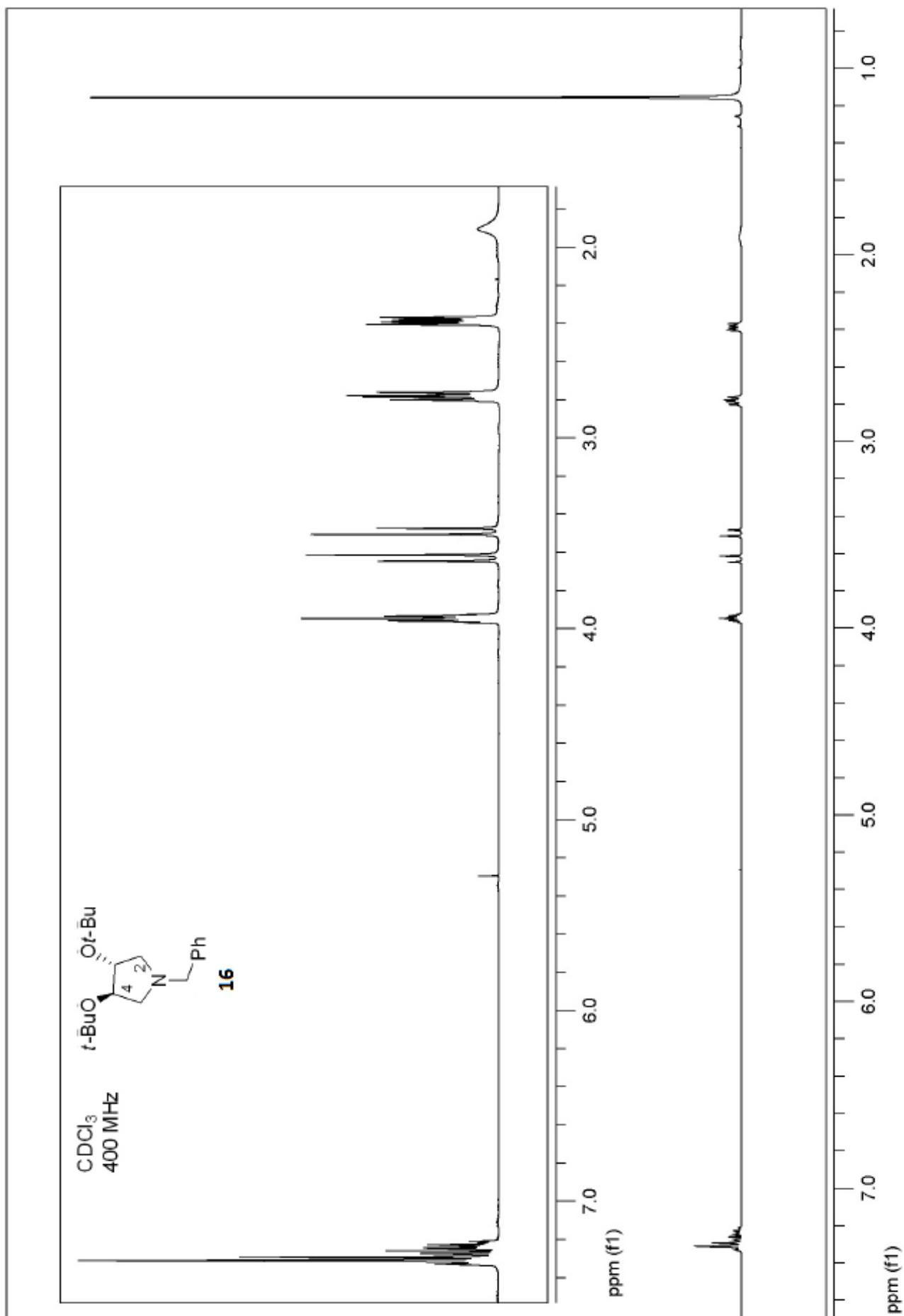
A una soluzione di **51** (55.6 mg, 0.14 mmoli) e DCM (0.2 mL) aggiunge TFA (0.78 mL) a 0°C. La reazione viene lasciata in agitazione a temperatura ambiente per 1 ora e 15 min.. Il residuo viene lavato per 3 volte con acetone e 3 volte con MeOH con 5% di NH₄OH. Il grezzo (48.8 mg) viene purificato mediante cromatografia su gel di silice (eluente Et₂O : MeOH (5% NH₄OH) = 10 : 1 poi Et₂O : MeOH (5% NH₄OH) = 5 : 1).

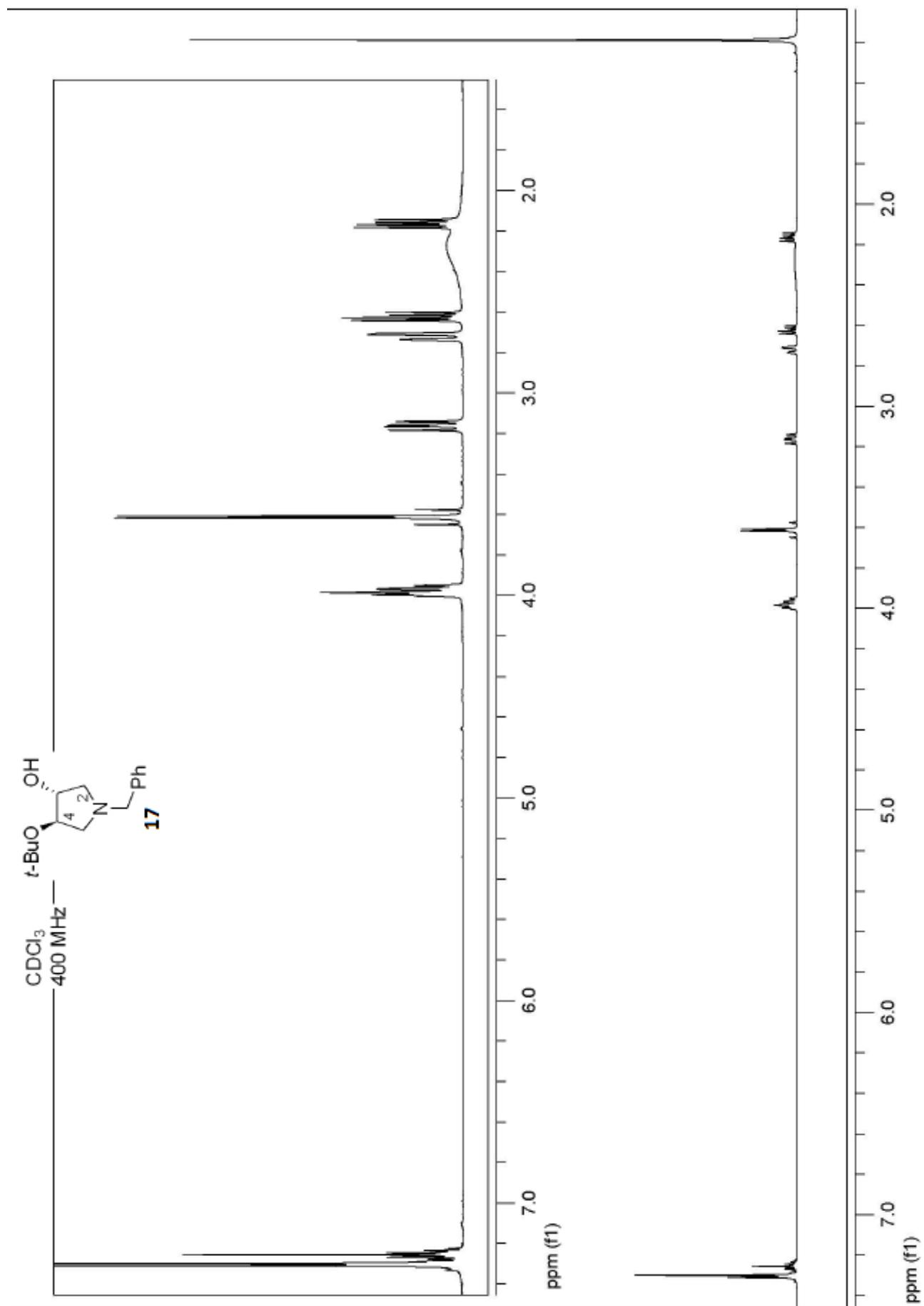
Si ottiene **53** (28 mg) con resa del 74%.

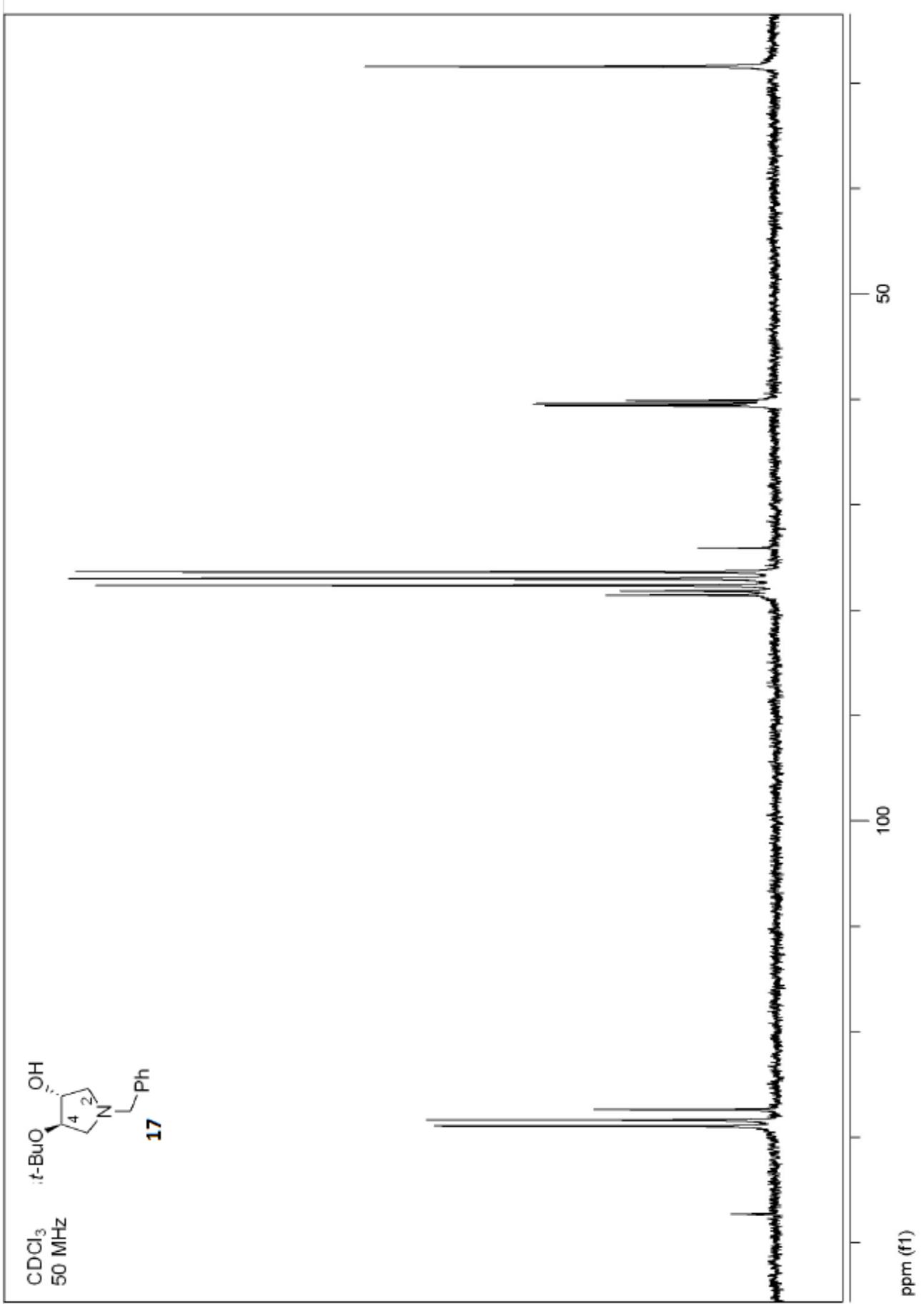
53: ¹H NMR (CD₃CD₂CD, 400 MHz): δ = 4.11 (pseudott, J= 11.8, 4.4, 1H; 7-H;), 3.39 (ddd, J= 7.0, 3.3, 1.4 Hz, 1H; 2-H), 3.60 (dd, J=7.8, 3.3 Hz, 1H; 1-H), 2.84-2.75 (m, 2H; 3-H+5-H), 2.62-2.56 (m, 1H; 8a-H), 2.50 (dd, J= 10.4, 7.1 Hz, 1H; 3-H), 2.31-2.23 (m, 1H; 6-H), 2.34-2.19 (dq, J=12.0, 4.1 Hz, 1H; 5-H), 1.94 (dt, J=11.1, 2.7, Hz, 1H; 8-H), 1.89-1.82 (m, 1H; 8a-H)) ppm.

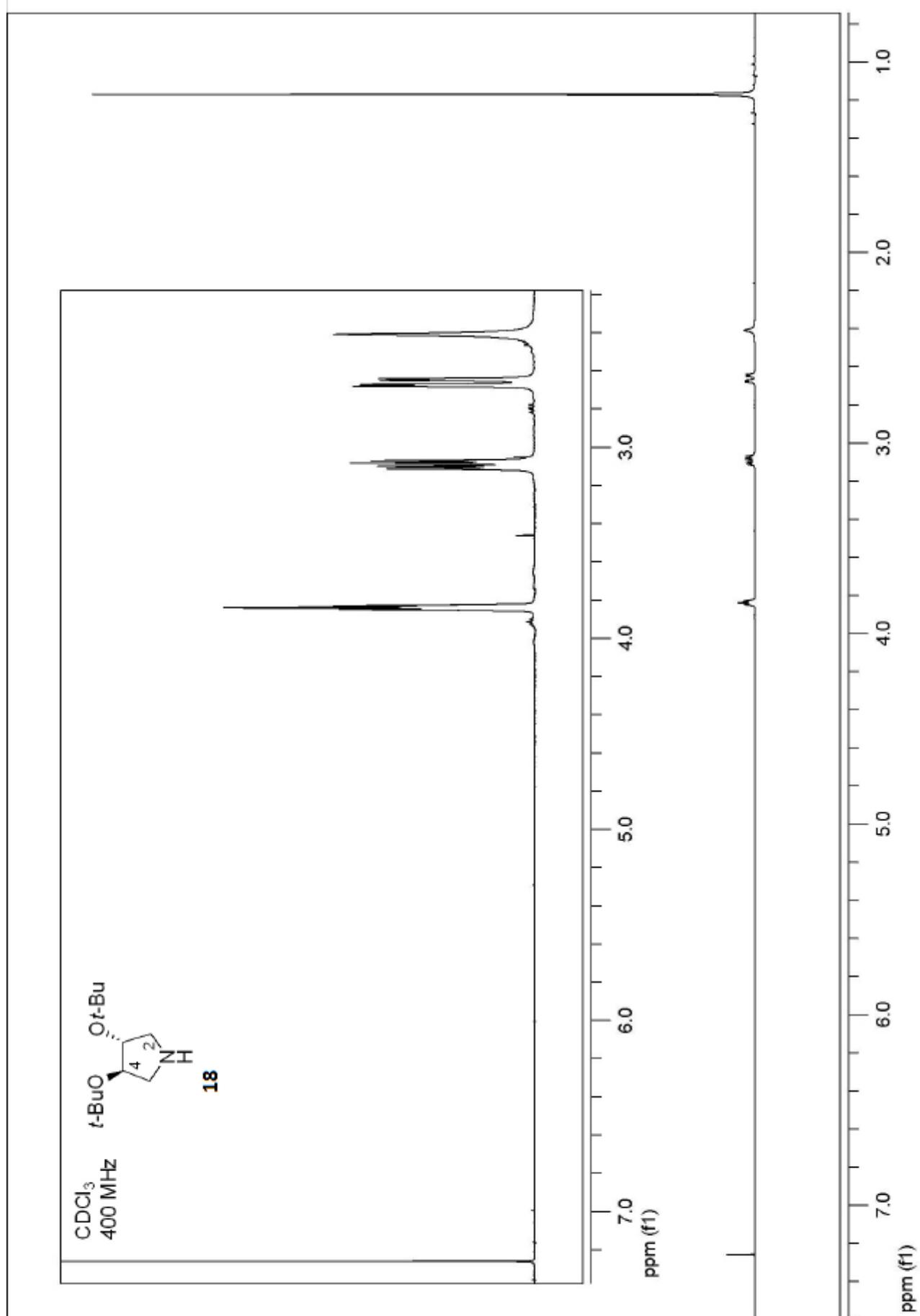


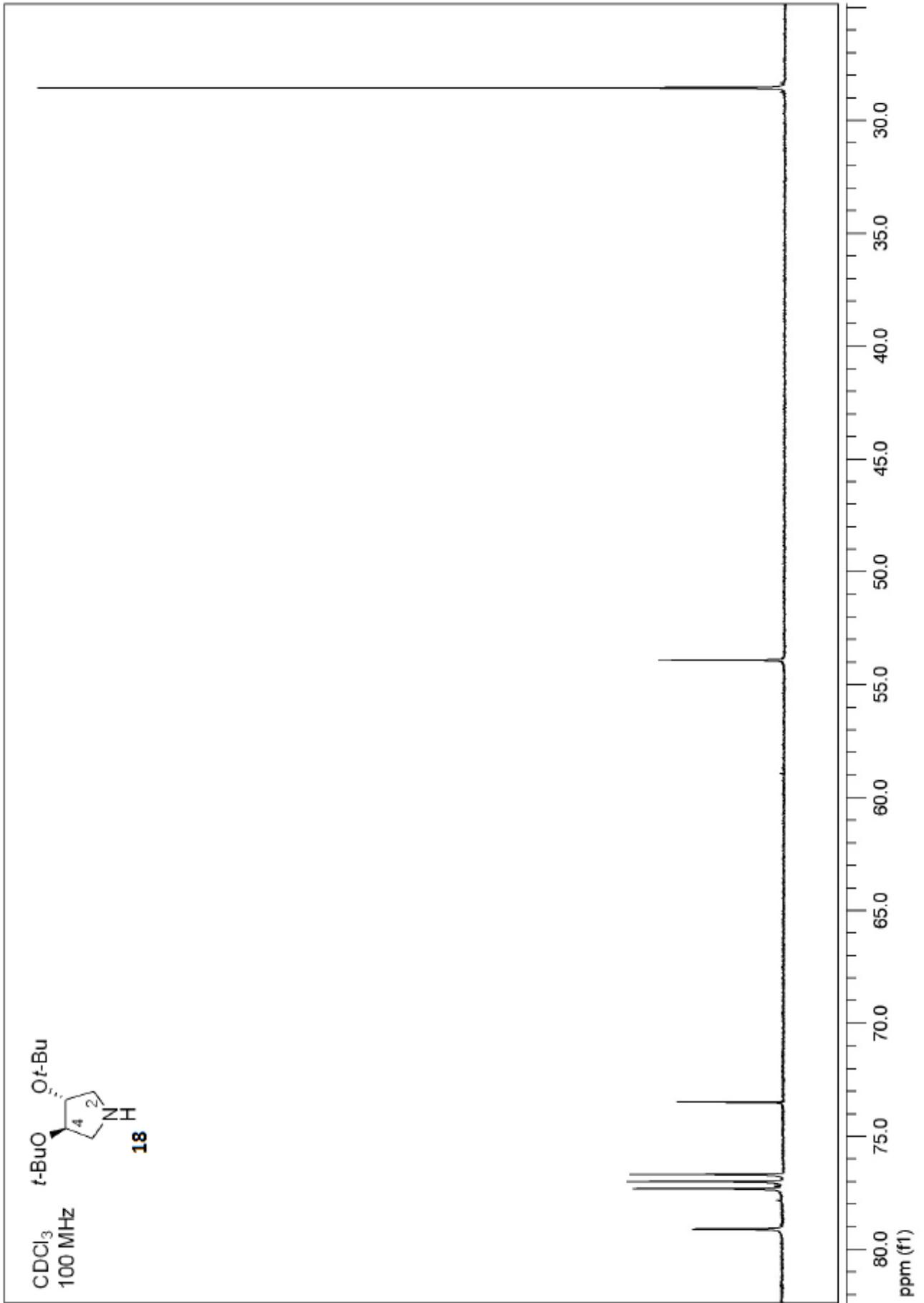


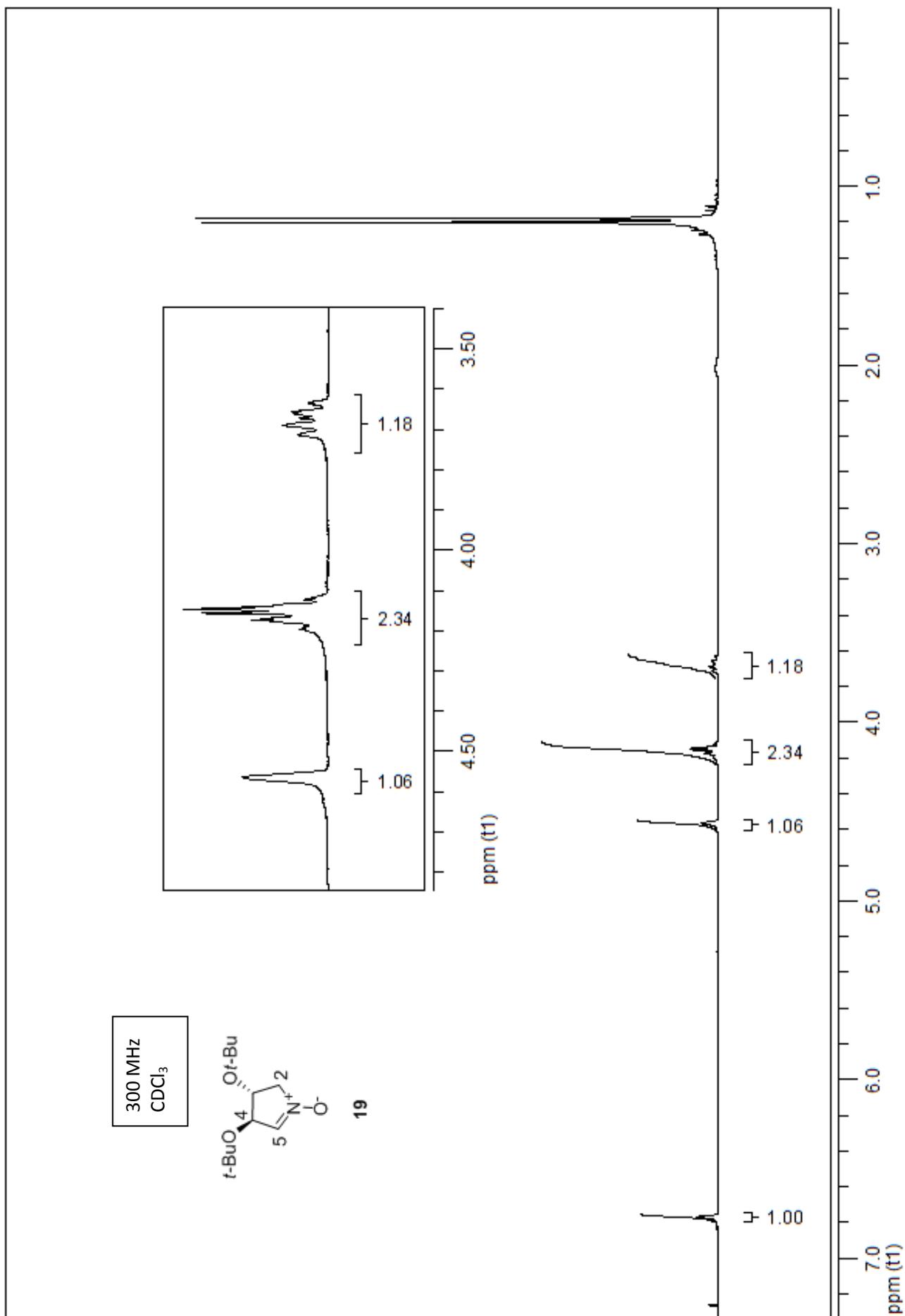


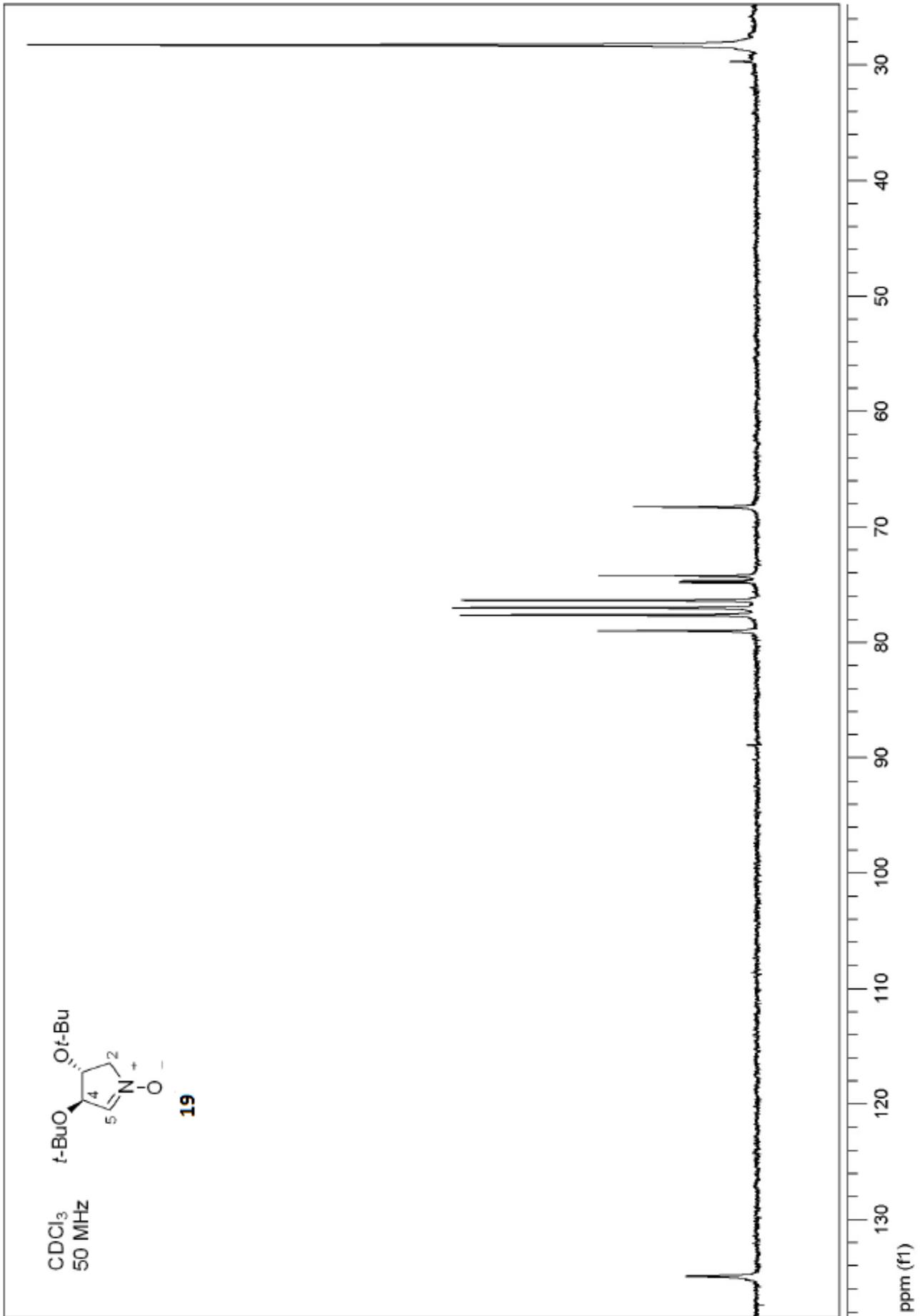


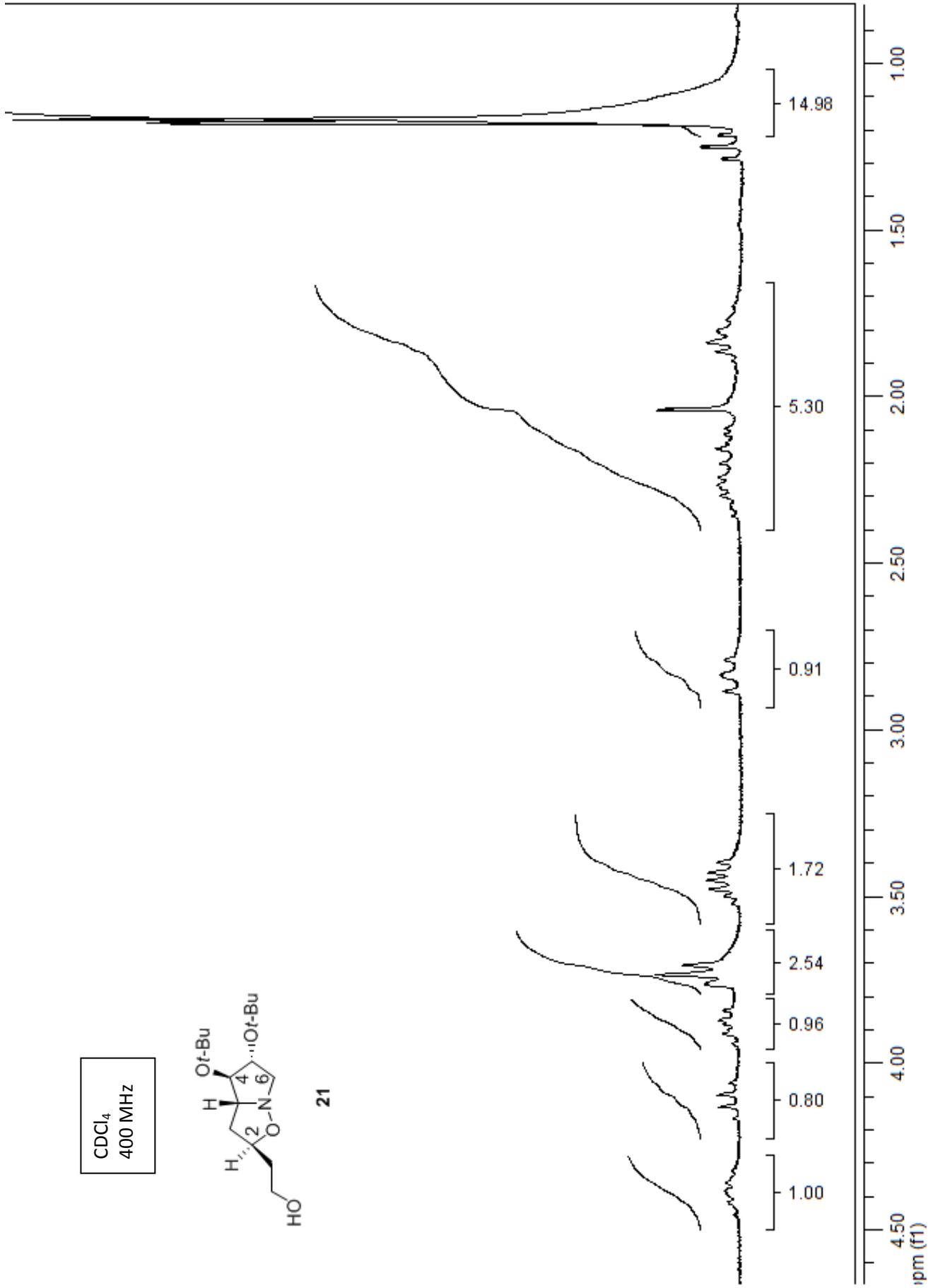


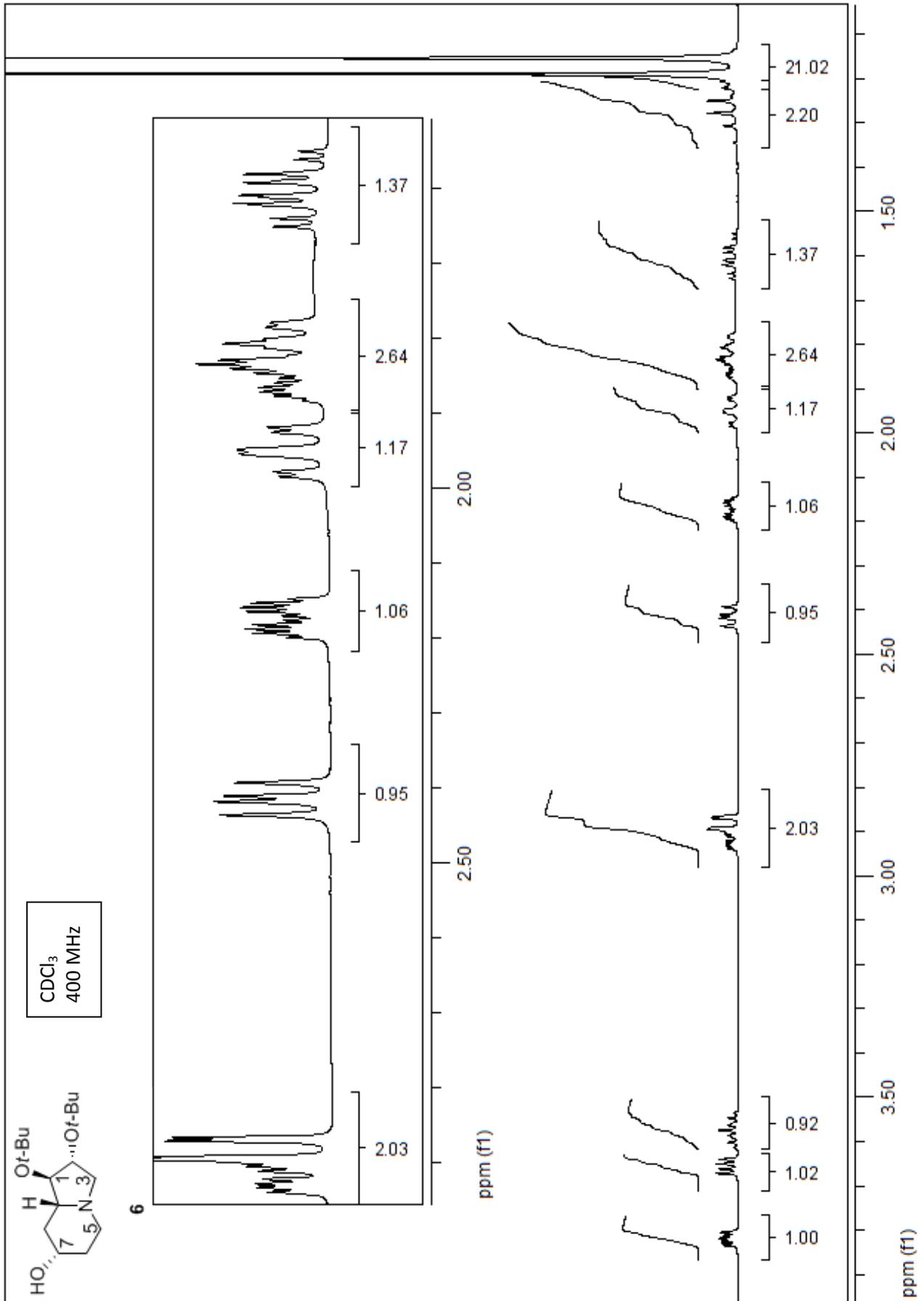


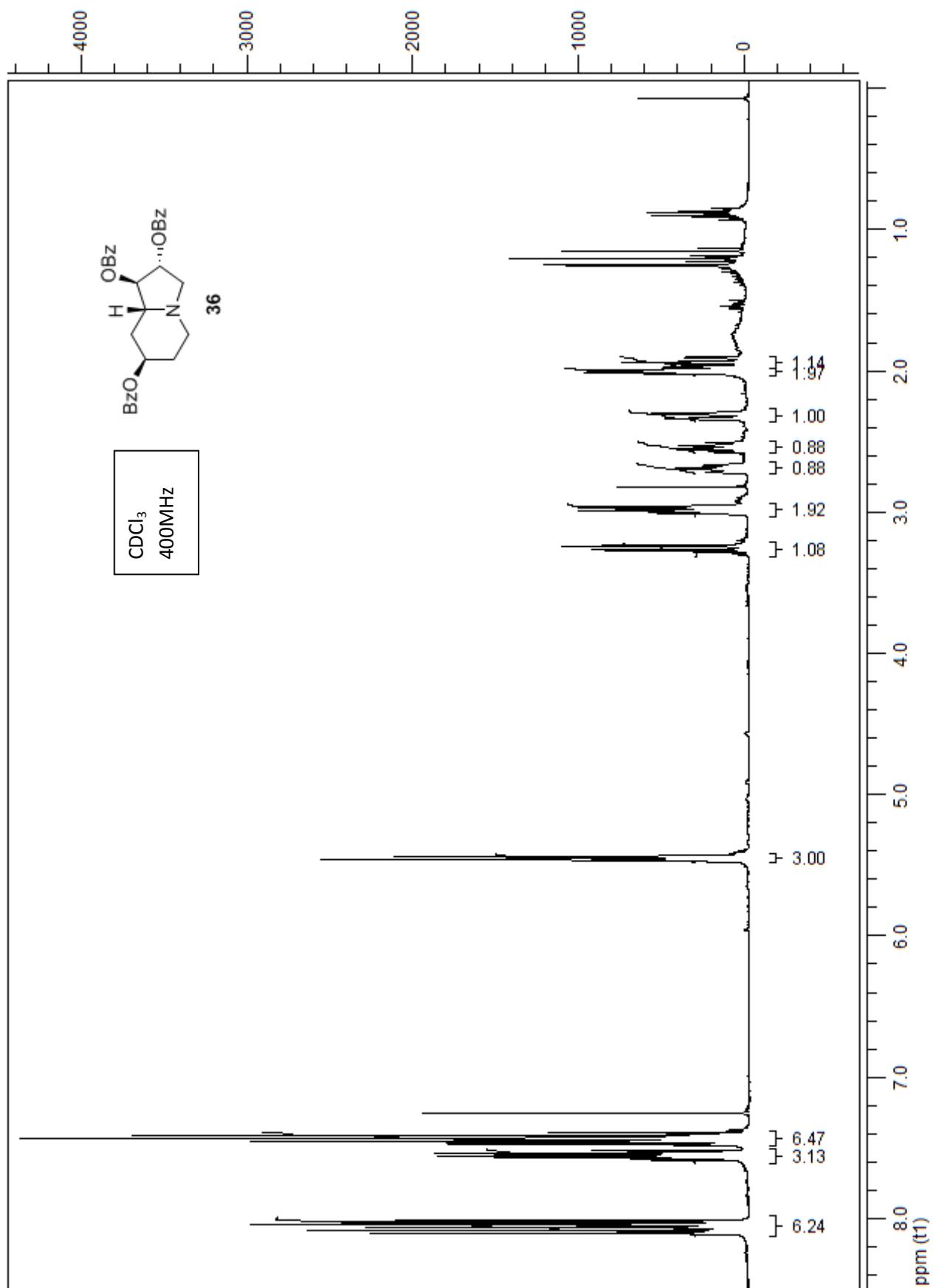


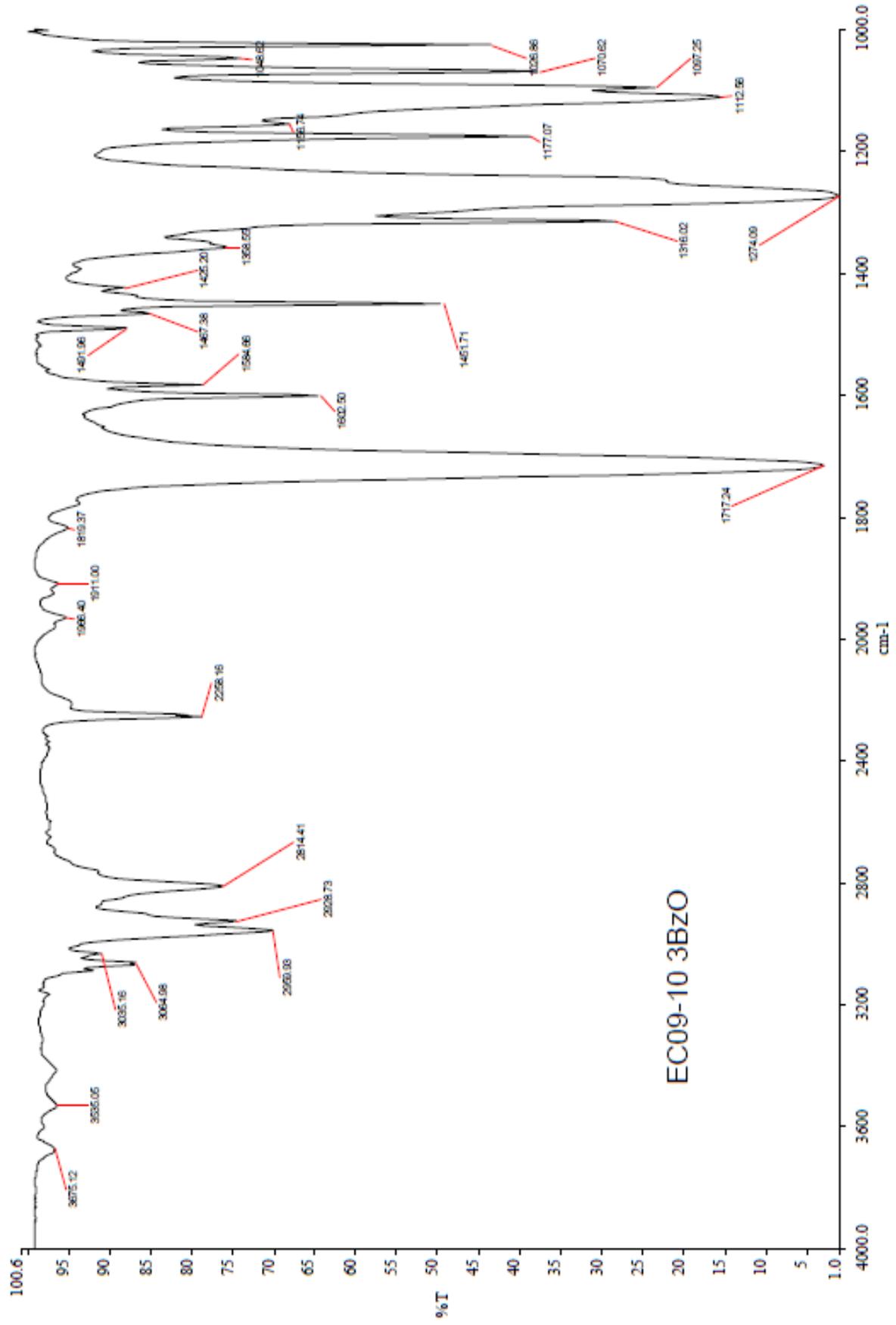




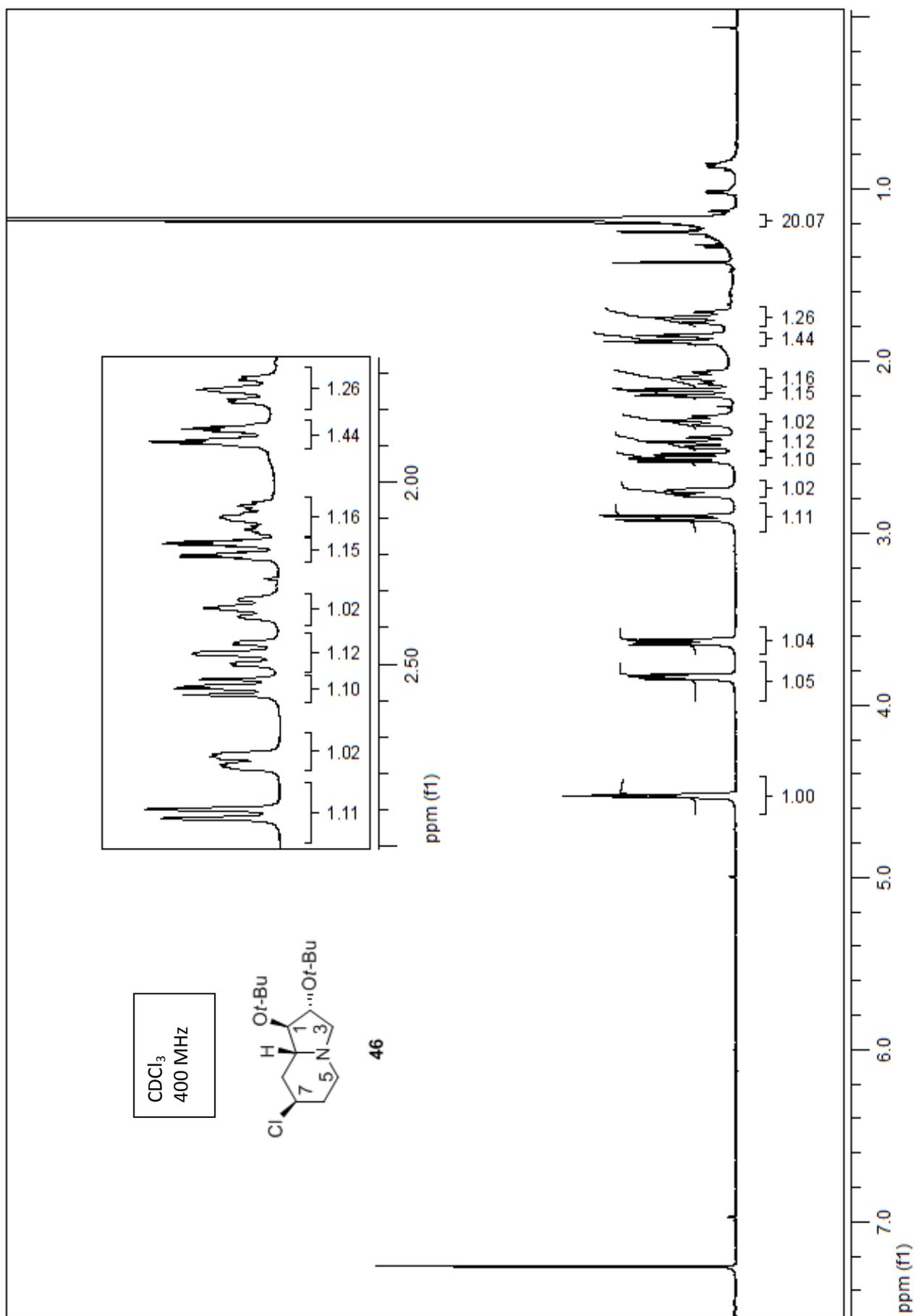


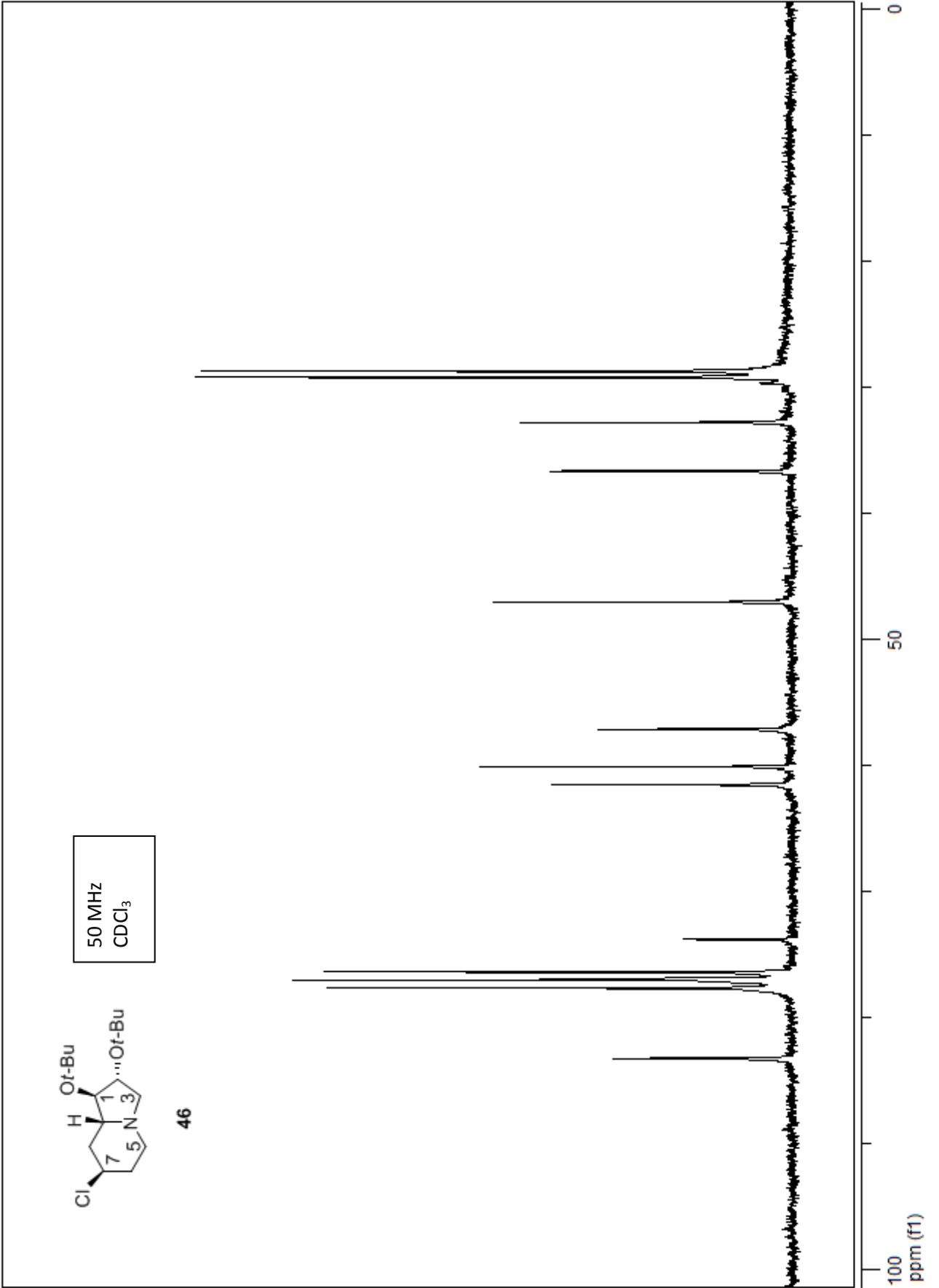


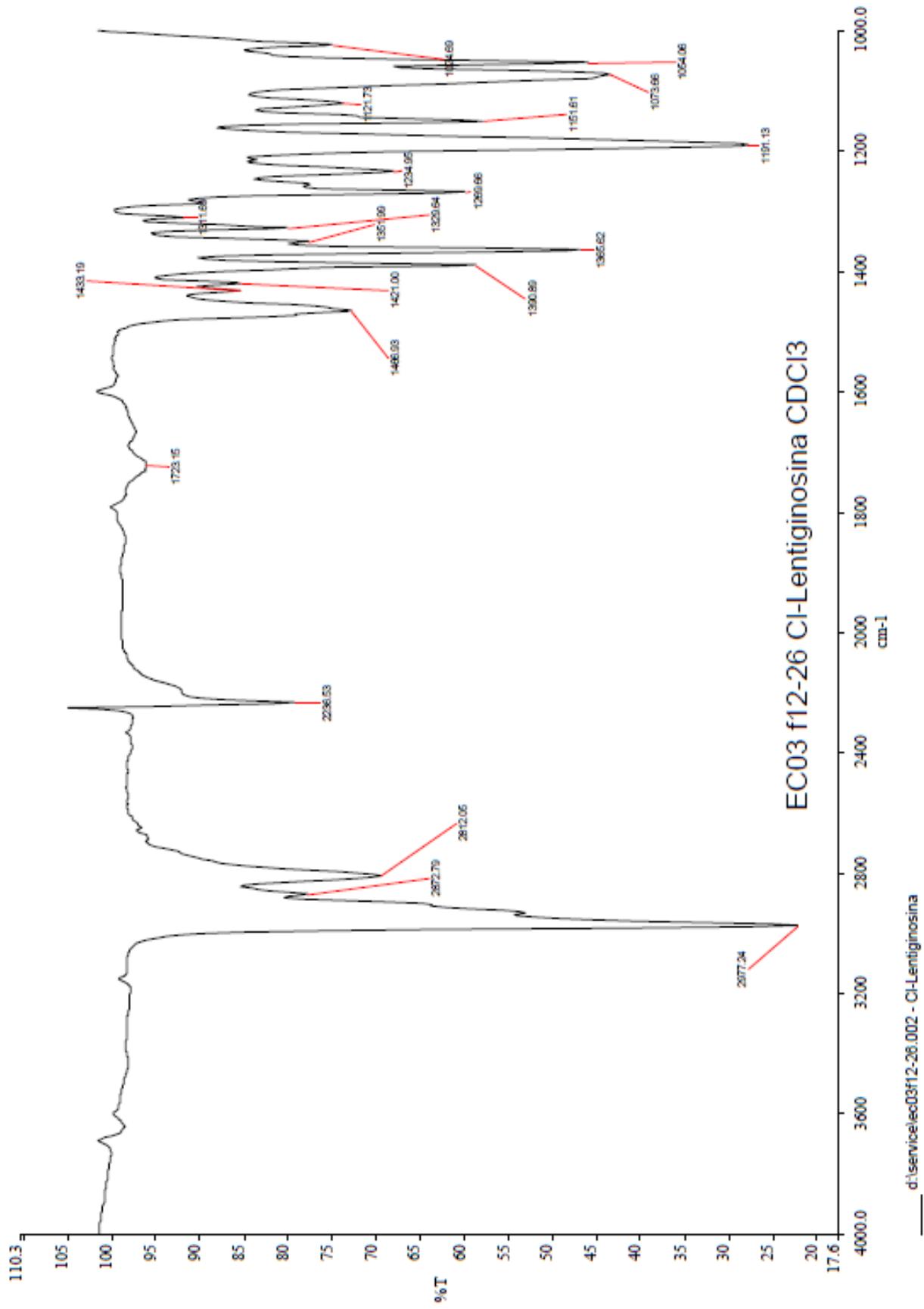


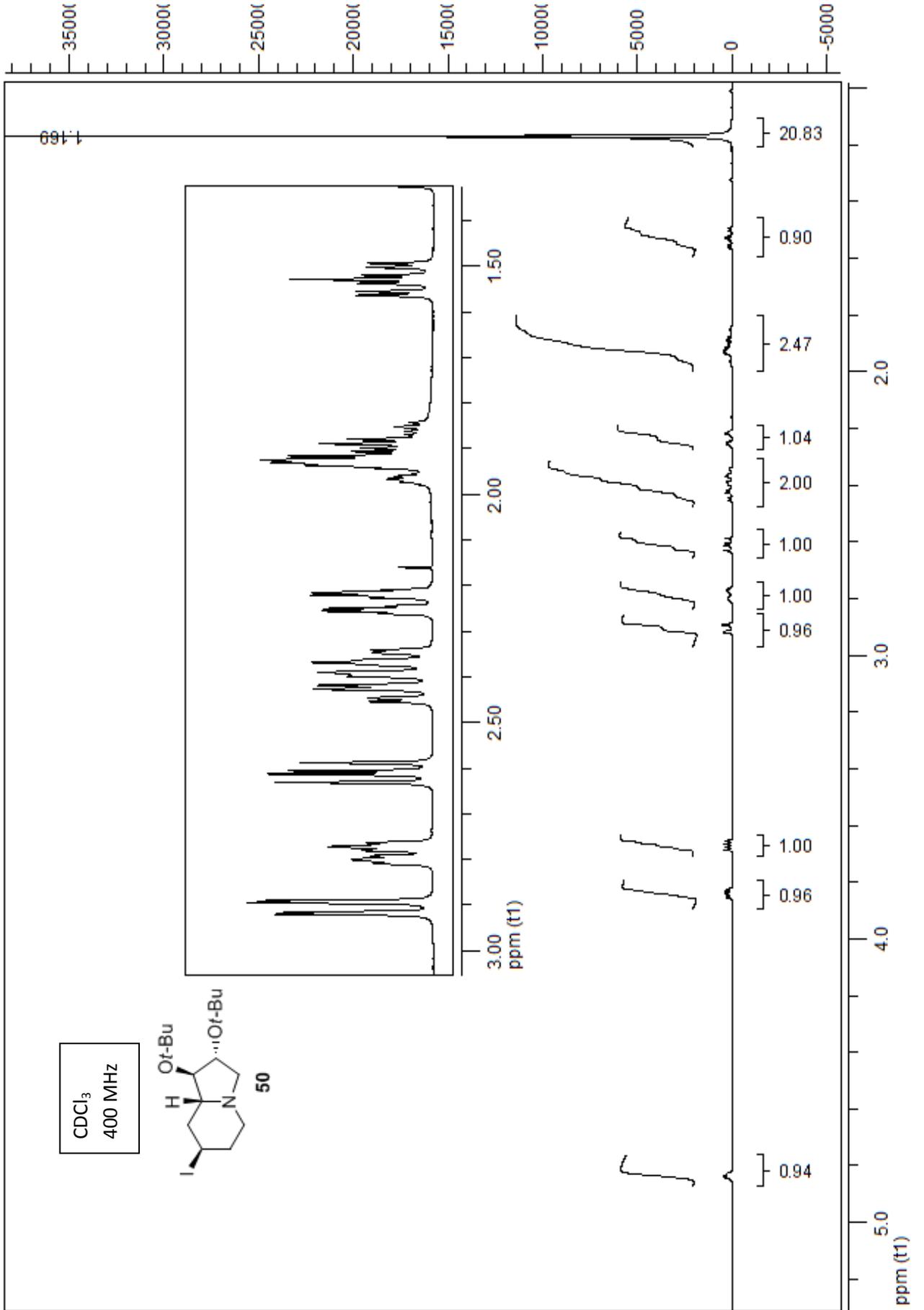


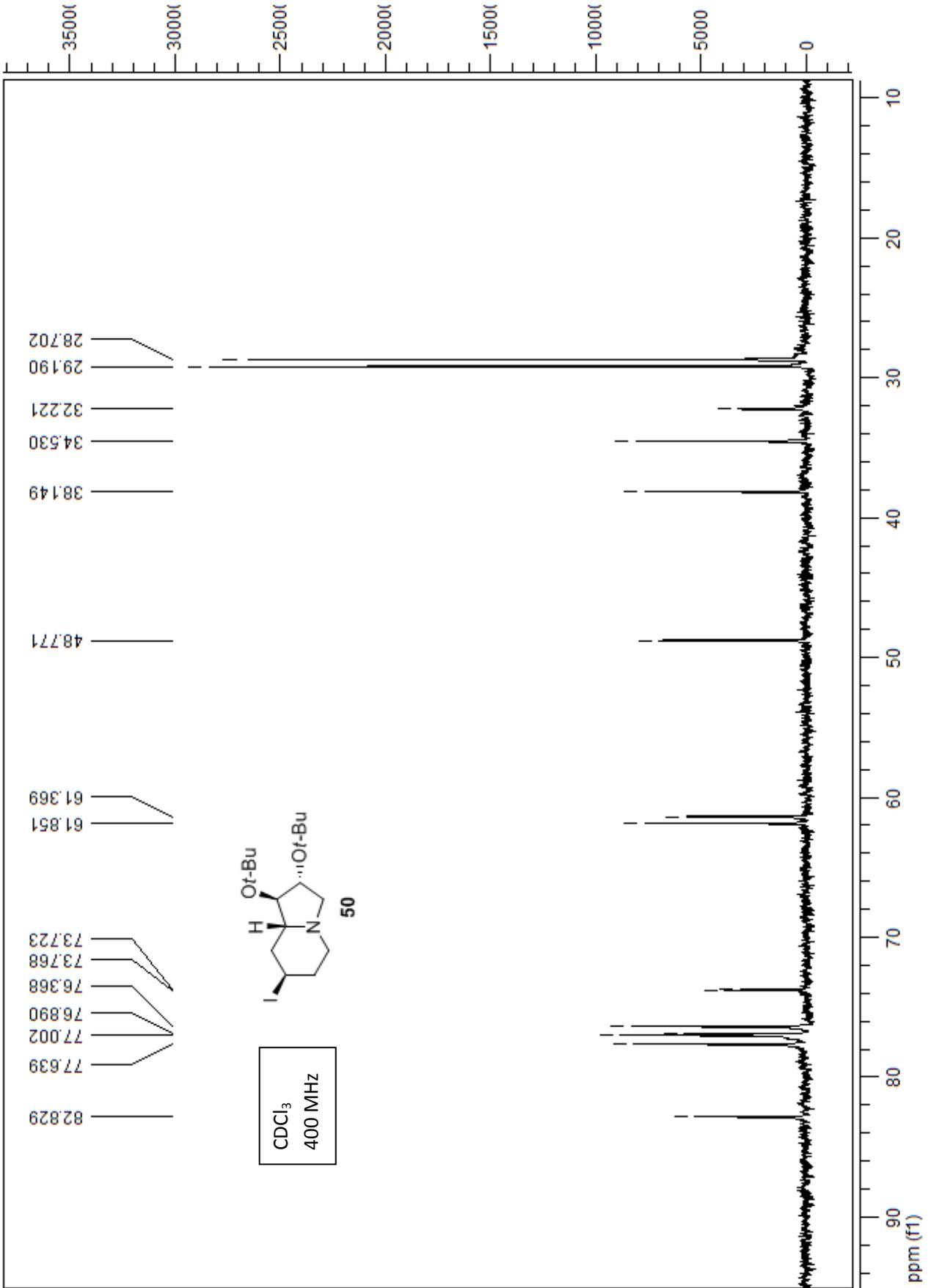
d:\servicio\ec10-06\28-40.002 - Lentiginosina 7benzoilata in CDCI3

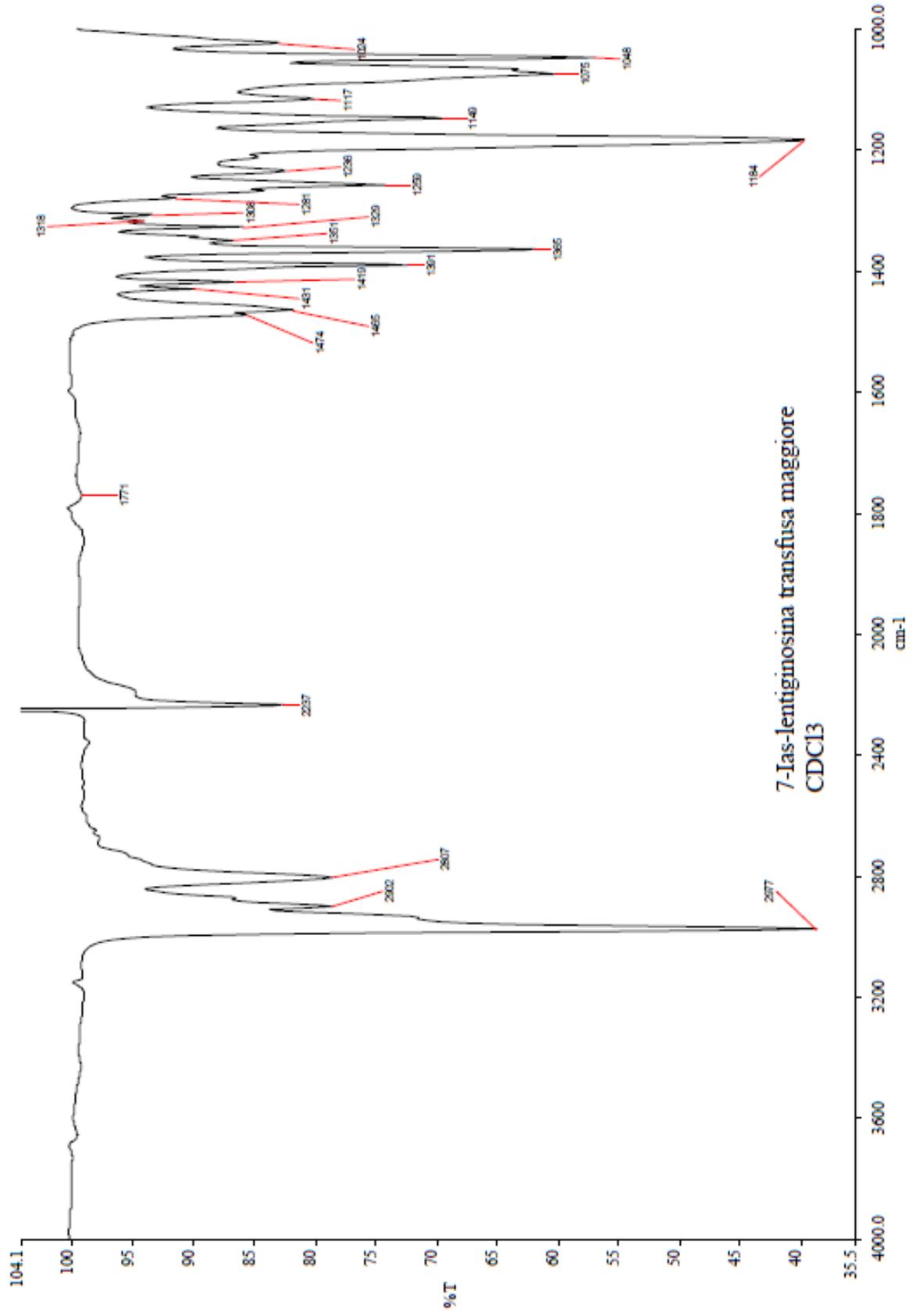


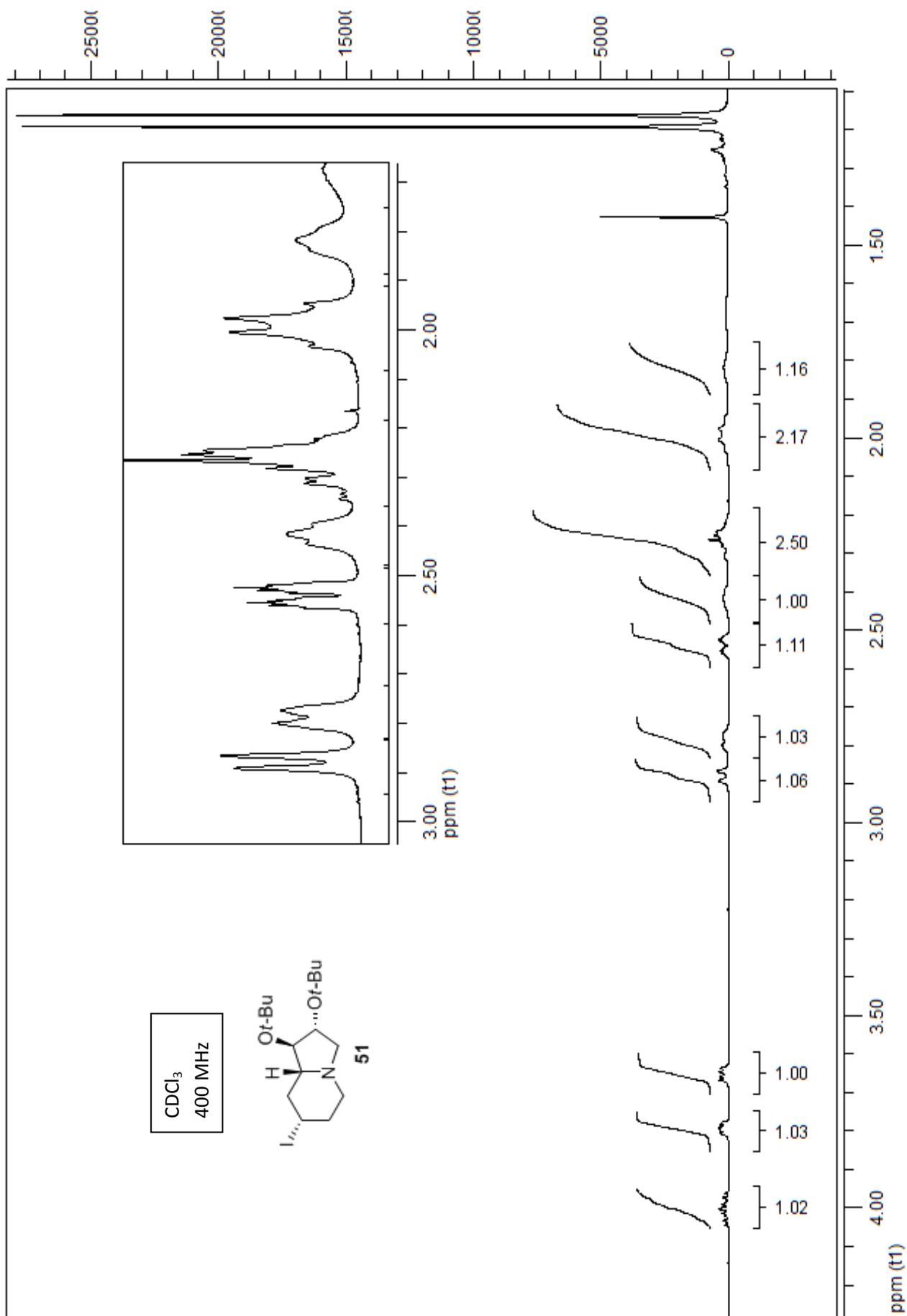


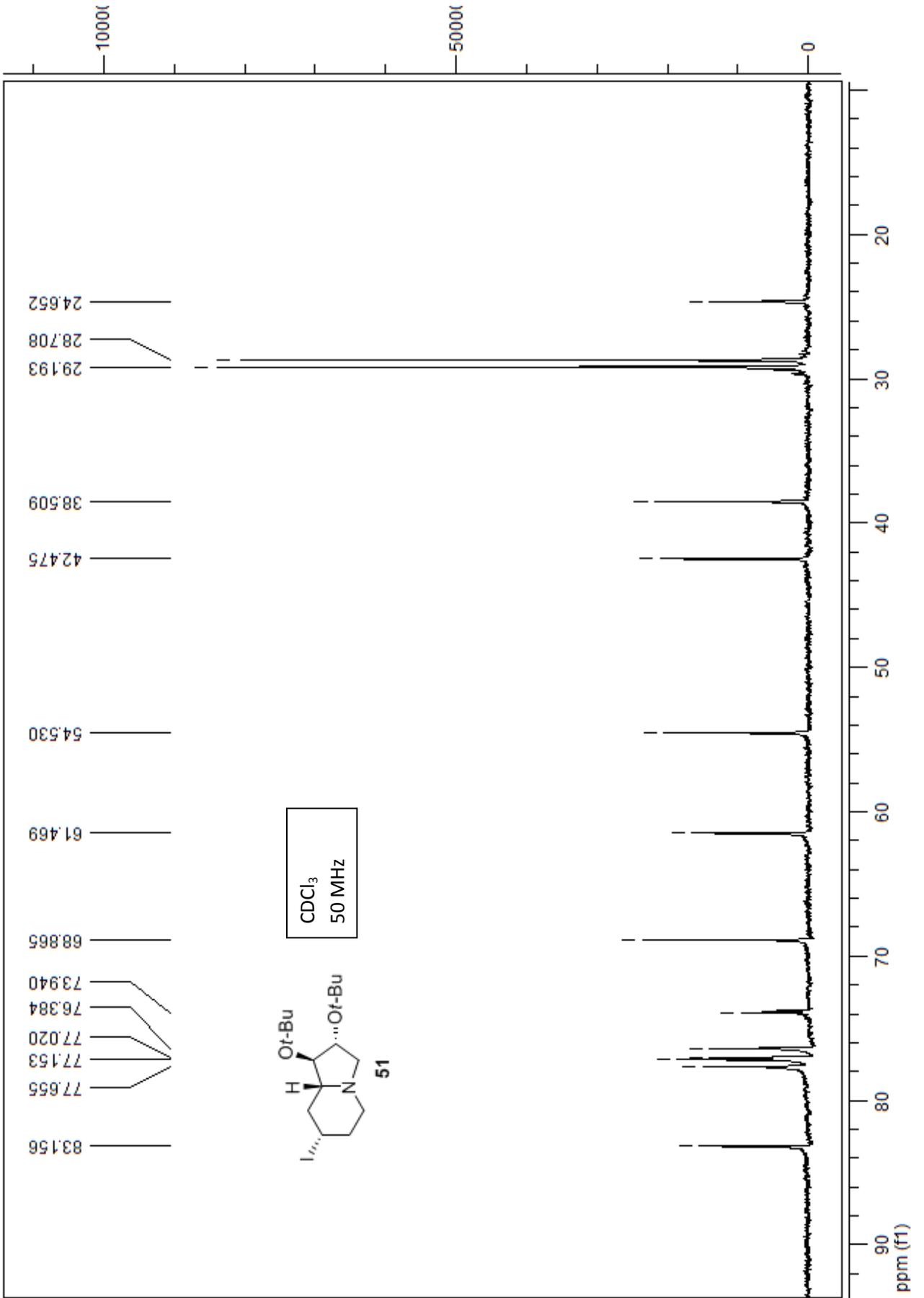


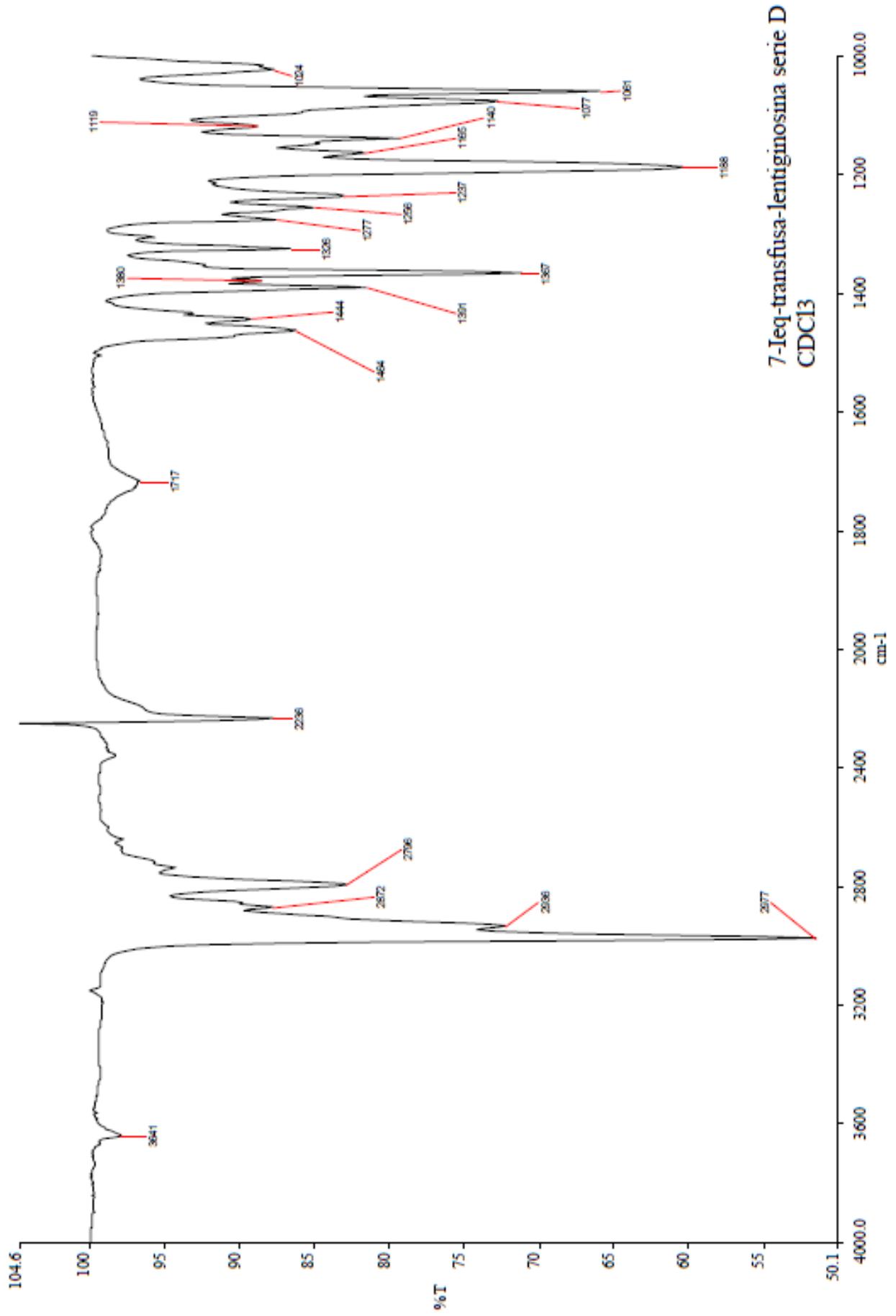


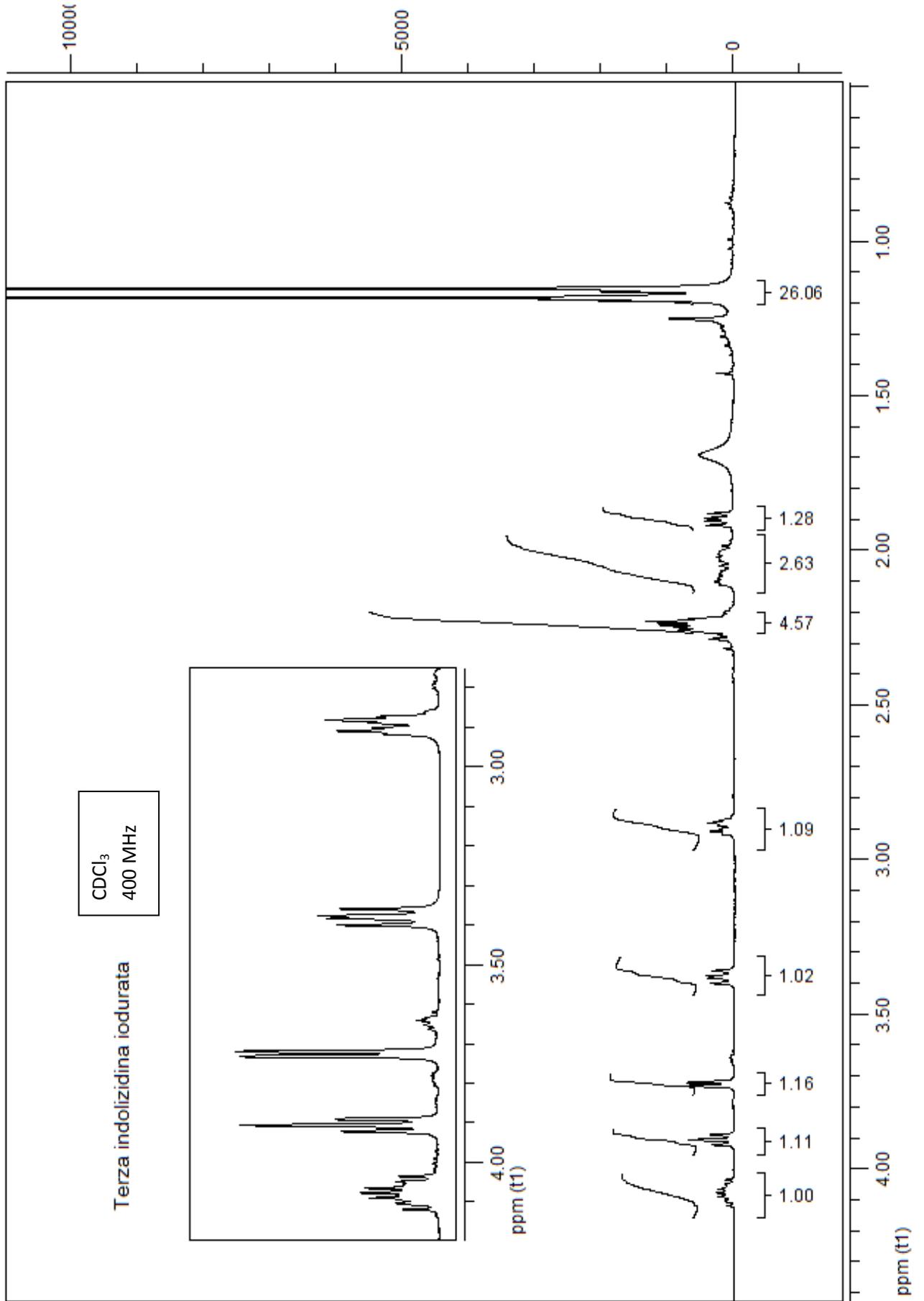


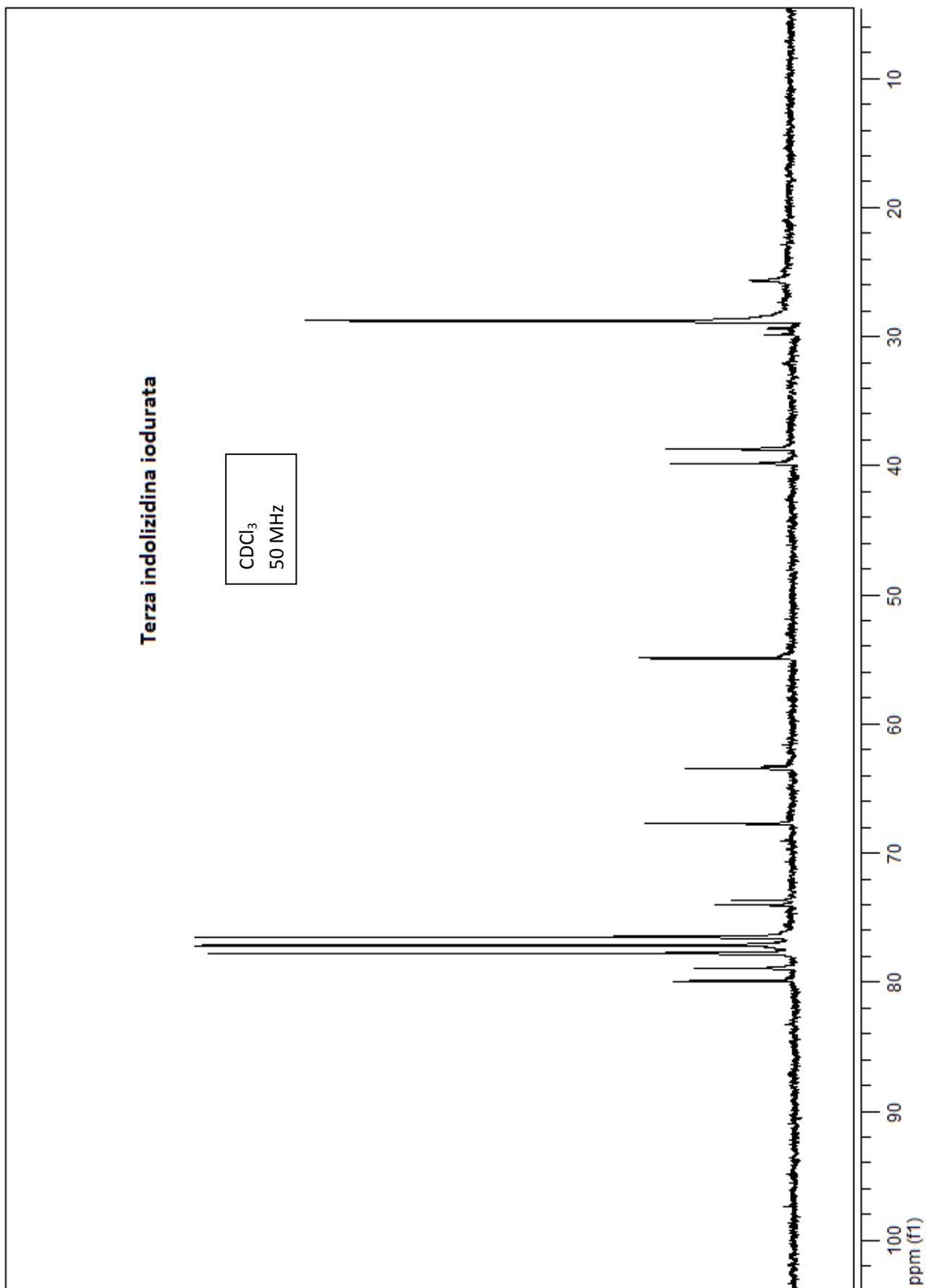


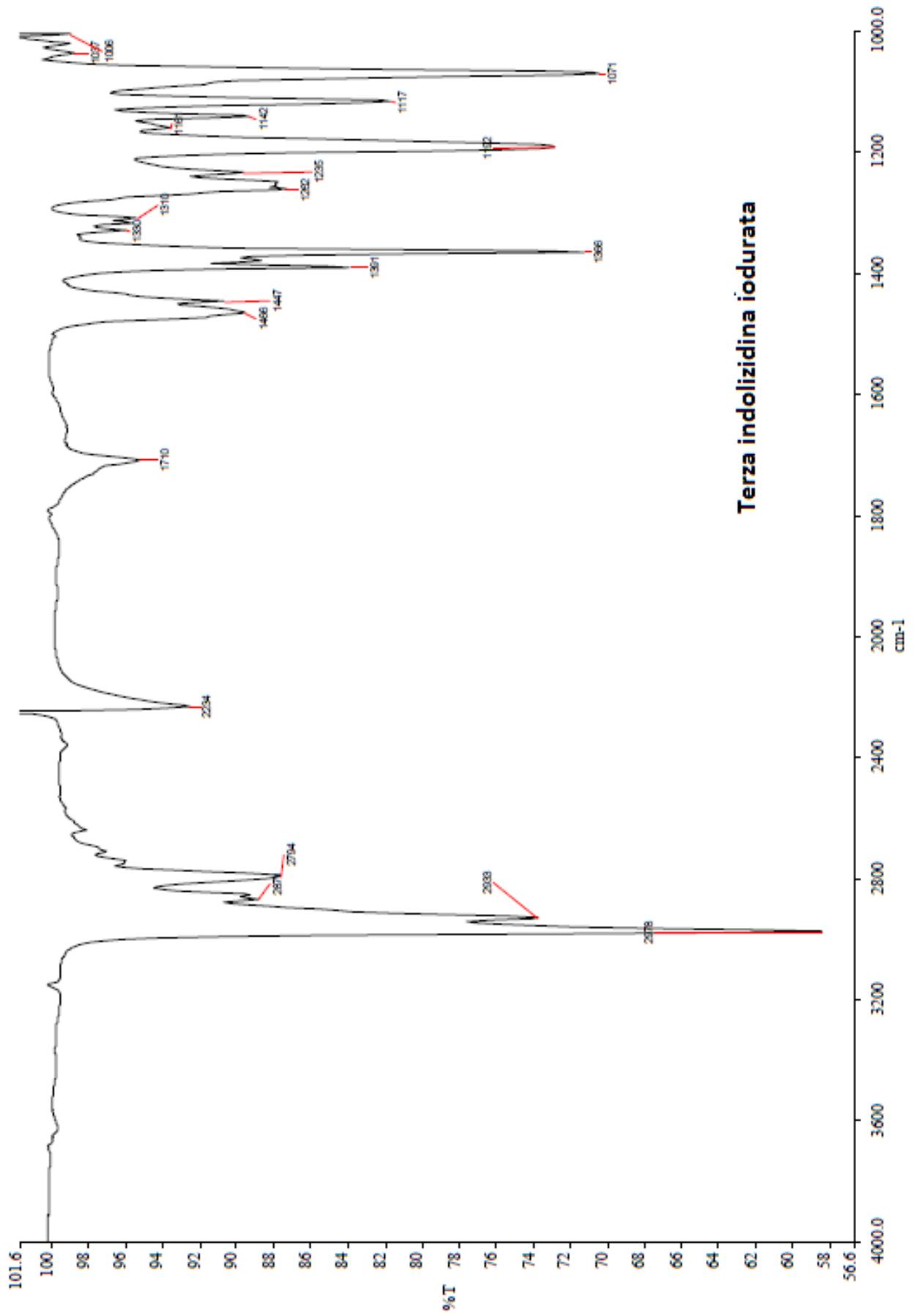












Terza indolizidina iodurata

