

Indice:

Capitolo 1: Introduzione	3
1.1 La terapia antibatterica: problematiche, sviluppi e ricerca	4
1.2 Gli antibiotici amminoglisidici	7
1.3 Gli imminozuccheri: nuovi potenziali antibatterici	12
1.4 Scopo del progetto	17
Capitolo 2: Discussione di risultati	20
2.1 Sintesi di amminopiperidine	21
2.2 Determinazione della stereochimica dei prodotti ottenuti	36
Capitolo 3: Conclusioni e prospettive future	41
Capitolo 4: Parte sperimentale	46

Capitolo 1:
Introduzione

1.1 La terapia antibatterica: problematiche, sviluppi e ricerca

Le malattie infettive sono tornate ad essere un serio problema per la società. A causa del grande numero e della grande velocità di scambi di passeggeri e merci, pericolose specie batteriche si possono distribuire rapidamente su grandi distanze. Secondo le statistiche della WHO, world health organization, all'incirca 50.000 persone al giorno sono uccise a causa di malattie infettive.

Oltre alla comparsa di nuove specie batteriche finora sconosciute, il problema è aggravato dal fatto che le specie già note hanno acquisito un alto livello di resistenza ai farmaci usati più comunemente come antibatterici.¹

A causa quindi dell'abbondanza di microorganismi patogeni e della loro crescente resistenza agli antibiotici e più in generale agli agenti chemioterapeutici, si osserva attualmente sia nella ricerca che nell'industria farmaceutica un forte interesse nello sviluppo di nuovi agenti, basati su meccanismi di funzionamento diversi che li rendano efficaci in quelle situazioni in cui gli agenti patogeni non si riescono a debellare con gli strumenti finora noti.

La ricerca di nuove soluzioni non risulta però facile, considerato la grande varietà degli organismi che si intendono trattare e i vari problemi che si riscontrano nel trattamento di queste patologie.

¹ V. Hook, *Chem. in Brit.*, **1997**, 34. S; Stinson, *Chem. Eng. News*, **1996**, 75-100; S.Stinson, *Chem. Eng. News*, **1997**, 38-70.

Il concetto di chemioterapia antibatterica fu introdotto per la prima volta da Paul Ehrlich, che, all'inizio del secolo scorso scoprì una sostanza con azione selettiva verso un determinato batterio, alla quale dette l'appellativo di "magic bullet". Infatti il Salvarsan (un arsenobenzolo), da lui testato sul batterio portatore della sifilide, risultò il primo antibiotico, poiché bloccava lo sviluppo della malattia stessa.

Da quel momento in poi l'approccio alle infezioni si è basato su una terapia in cui particolari sostanze chimiche, molto spesso di origine naturale vengono somministrate per inibire specificatamente il progredire dell'infezione.

In generale oggi vengono impiegati per il trattamento di queste malattie antibiotici di origine naturale, che sono metaboliti di microorganismi, o agenti antibatterici di origine sintetica.

Queste molecole agiscono con vari meccanismi: tra gli esempi più diffusi abbiamo sostanze che impediscono la sintesi delle pareti cellulari batteriche, come gli antibiotici β -lattamici, molecole che interferiscono con la sintesi della membrana cellulare, col metabolismo nucleotidico, con la biosintesi delle proteine o della polimerizzazione della tubulina.

Talvolta però questi meccanismi non funzionano, e ciò può essere dovuto al verificarsi di due condizioni: è possibile che il batterio sviluppi resistenza all'agente chemioterapico, fenomeno basato sui principi dell'adattamento, mutazione e selezione naturale o, in alternativa, è possibile che sia l'organismo umano ad "opporre resistenza" al farmaco. In quest'ultimo caso ciò avviene tramite l'azione di specifici enzimi che, una volta somministrato il farmaco, possono apportare modificazioni alla sua struttura molecolare, rendendo inattivo il composto.

Questo problema risulta molto comune: si verifica spesso infatti che il farmaco venga mal assorbito a livello cellulare, poiché la sua struttura molecolare viene completamente distrutta (come nel caso degli antibiotici β -lattamici, i quali se non opportunamente stabilizzati tramite delle modificazioni a livello strutturale, sono suscettibili all'azione delle β -

lattamasi che distruggono l'anello β -lattamico, fondamentale per il corretto funzionamento del farmaco) oppure minimamente modificata, ad esempio tramite acilazioni o esterificazioni di gruppi OH che rendono nuovamente inattiva la molecola.

Un ulteriore problema è dovuto al fatto che alcune volte queste sostanze possiedono una tossicità intrinseca elevata, che ovviamente deve essere limitata.

Tenuto conto di tutte queste problematiche, per la sintesi di nuovi agenti antibatterici è possibile basarsi su molecole già note e migliorarne le caratteristiche, individuare potenziali agenti terapeutici fra i prodotti naturali oppure progettare strutture completamente nuove sulla base di calcoli di design molecolare.²

² P.Greimel, J. Spreitz, A.E. Stütz, T.M. Wrodnigg, *Current topics in medicinal chemistry*, **2003**, 3, 513-523.

1.2 Gli antibiotici amminoglicosidici

Gli antibiotici amminoglicosidici sono una classe di composti naturali con attività antibatterica aventi struttura di poliamminosaccaridi, caratterizzati dalla presenza di almeno tre cicli (amminozuccheri o amminociclitoli).³

Questa famiglia di composti include farmaci come la streptomicina, il primo amminoglicoside ad essere stato isolato per la prima volta nel 1944 per opera di Selman Waksman,⁴ la tobramicina, la kannamicina A e la gentamicina. Sono inoltre inclusi un ampio gruppo di amminoglicosidi atipici (come la 3-trealosammina e la validamicina) composti di diversa origine microbica, struttura ed attività biologica (**Figura 1**).

³ a) D.P. Arya. Aminoglycoside antibiotics. From chemical biology to drug discovery. Wiley-interscience. Eds.2007

b) J. Silva, I. Carvalho, *Curr. Med. Chem.*, **2007**, 14, 1101-1119.

⁴ A. Schatz, E. Bugie, S.A. Waksman, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **1944**, 55, 66-69.

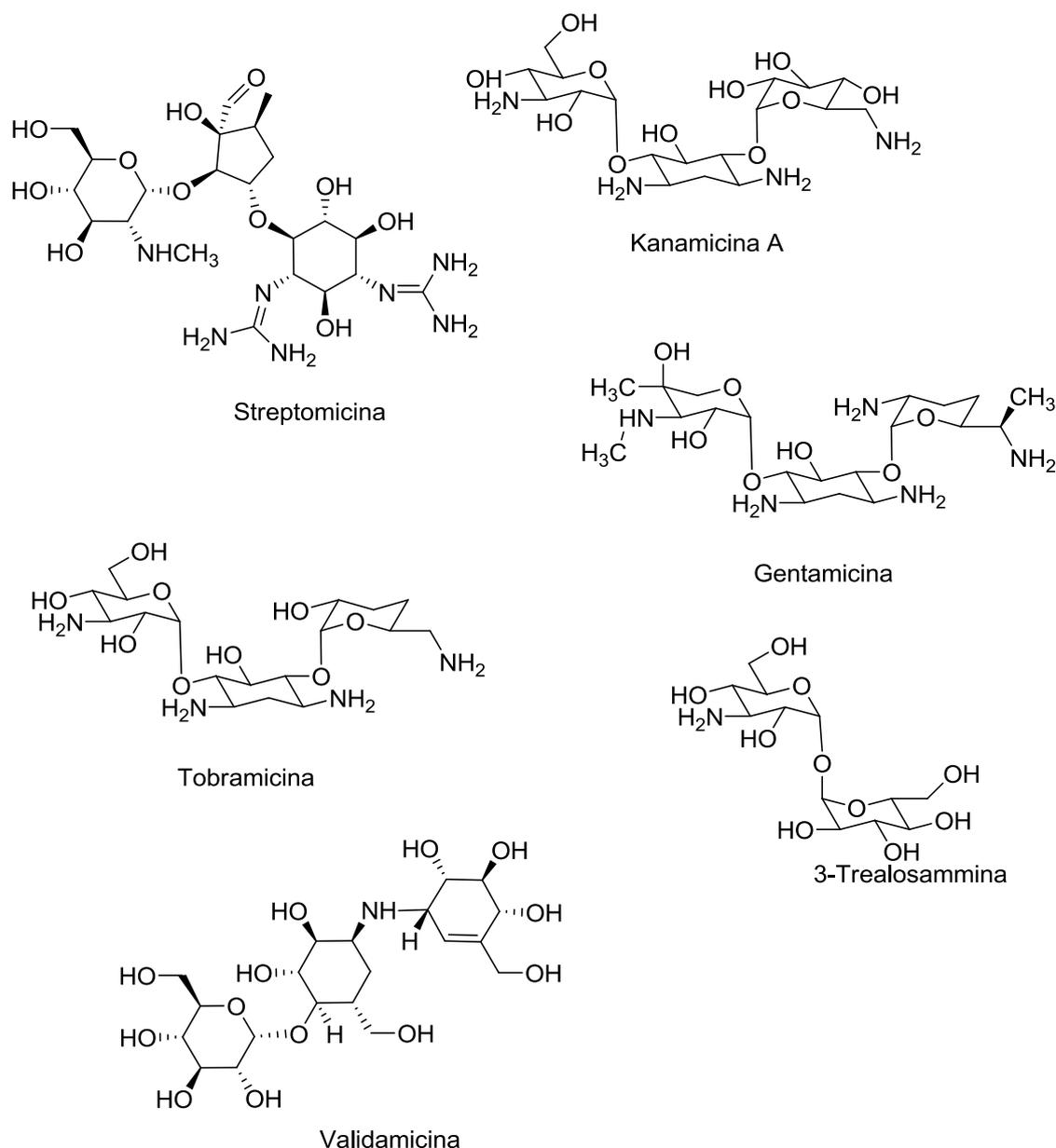


Figura 1: strutture di antibiotici aminoglicosidici

Questa classe di antibiotici risulta una fra le più interessanti per due motivi principali: hanno un ampio spettro di attività, e per questo motivo sono fra gli antibiotici più utilizzati a livello ospedaliero per prevenzione e/o trattamento delle infezioni; in più ci sono evidenze che questi antibiotici mantengano attività nei confronti della maggior parte dei batteri Gram-negativi isolati nel mondo. La crescente emergenza dovuta allo sviluppo di

meccanismi di resistenza da parte di questi batteri, ha consolidato l'uso degli aminoglicosidi come agenti antibatterici.⁵

Nonostante la potenzialità e l'ampio spettro di attività antimicrobica di questi farmaci, il loro uso è limitato a casi di infezioni serie, come la setticemia, le complicanze da infezioni intraaddominali, del tratto urinario e del tratto respiratorio a causa della loro tossicità. Infatti, solitamente, una volta individuata la coltura di microorganismi, questi composti sono sostituiti a favore di farmaci meno tossici.⁶

In particolare questi antibiotici hanno un alto livello di tossicità renale, in quanto si sviluppa un'interazione fra gli aminoglicosidi policationici con i fosfolipidi anionici di membrana cellulare dei tubuli renali.

Di questi antibiotici inoltre conosciamo il meccanismo di funzionamento: questi operano tramite disgregazione della parete cellulare batterica, per mezzo dell'interazione degli aminoglicosidi policationici con i fosfolipidi anionici, o tramite inibizione della sintesi proteica dovuta all'interazione con la subunità ribosomiale 30S della cellula batterica.⁷

E' molto interessante quindi analizzare la struttura di questi composti, individuare la minima unità farmacoforica e realizzare sulla base di questi studi dei loro mimetici che mantengano lo stesso spettro di attività, ma diminuiscano la tossicità di queste sostanze.

Con questo scopo sono stati condotti sugli antibiotici aminoglicosidici, in particolare sulla neomicina e sulla gentamicina, studi a raggi X, che hanno portato alla conclusione che la minima unità farmacoforica essenziale per l'attività antibatterica è costituita da un nucleo 2-DOS (2- deossi streptamina). Si tratta di un ciclo a 6 contenente due gruppi amminici, in posizione 1,3 e in configurazione cis (**figura 2**).

I gruppi amminici sono necessari per il riconoscimento delle basi dell'rRNA, si legano a queste tramite legami ad idrogeno e così facendo inducono

⁵ M. E. Falagas, A. P. Grammatikos, A. Michalopoulos, Potential of old generation antibiotics to address current need for new antibiotics. *Expert review of Anti – Infective Therapy*, **2008**, 6, 593-600.

⁶ F. C. D. Rougier, M. Maurin, A. Sedoglavic, M. Ducher, S. Corvaisier, R. Jeliffe, P. Maire, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2003**, 47, 1010-1016.

⁷ a) B. D. Davis, *Microbiol. Rev.*, **1987**, 51, 341-350. b) S. Shakil, R. Khan, R. Zarrilli, A. U. Khan, *J. Biomed. Sci.*, **2008**, 15, 5-14.

modificazioni tali da impedire la traduzione del messaggio portato dall'mRNA, causando quindi l'interruzione della sintesi proteica e di conseguenza la morte cellulare.

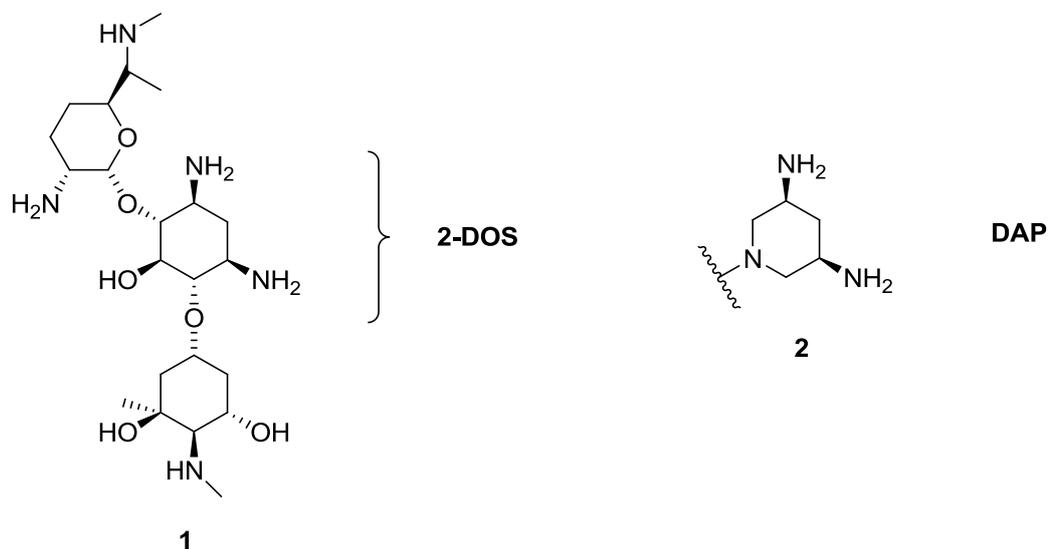


Figura 2: Struttura di gentamicina (**1**) e dell'analogo DAP (**2**), mimetico del nucleo 2-DOS della gentamicina

Avendo individuato la minima unità farmacoforica, successivamente Zhou e collaboratori hanno sintetizzato una serie di molecole contenenti una funzionalità diammino piperidinica con adeguata stereochimica –cis dei gruppi amminici in 3 e 5. E' stato dimostrato che queste molecole contenenti un nucleo DAP funzionano come mimetici del nucleo 2-DOS e possiedono una rilevante attività antibatterica, nonostante la natura diversa dell'eterociclo.⁸

Alcuni esempi di strutture da loro sintetizzate sono i composti **3** e **4** riportati in **figura 3**.

⁸Y. Zhou, Vlad E. Gregor, B. K. Ayda, G. C. Winters, Z. Sun, D. Murphy, G. Haley, D. Baiey, J. M. Froelich, S. Fish, E. Webber, T. Hermann and D. Wall, *Bioorg. & Med. Chem. Lett.*, **2007**, 17, 1206-1210

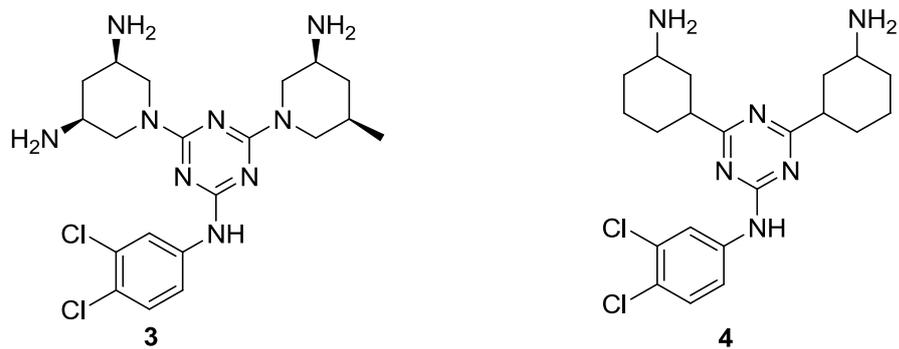


Figura 3: strutture sintetizzate da Zhou e collaboratori, mimetici del nucleo 2- DOS

1.3 Gli imminozuccheri: nuovi potenziali antibatterici

Gli imminozuccheri, o imminoglicosidi, sono una classe importante di composti naturali che si differenziano dai glicosidi veri e propri per l'introduzione di un atomo di azoto che sostituisce l'atomo di ossigeno endociclico nella struttura piranosidica e furanosidica.

Otteniamo così una grande varietà di sistemi, aventi struttura di piperidine, pirrolidine, indolizidine, pirrolizidine e nortropani,⁹ appartenenti più genericamente alla classe degli alcaloidi polioidrossilati.

Gli imminozuccheri sono da molto studiati per la loro vasta gamma di applicazioni biologiche.

In particolare, proprio per merito della loro struttura simile ai monosaccaridi, questi composti sono molto interessanti per la loro capacità di interferire nei processi enzimatici coinvolgenti i carboidrati,¹⁰ in particolare inibiscono le glicosidasi, una classe di enzimi che idrolizzano il legame glicosidico, e le glicosiltransferasi, responsabili invece del trasferimento di unità zuccherine su gruppi proteici o lipidici.

Questo li rende potenziali farmaci per il trattamento di numerose patologie, fra cui possiamo citare l'applicazione nelle infezioni virali, come HIV, HVB,

⁹S. Inoue, T. Tsuruoka, T. Niida, *J. Antibiot.* **1966**, 19, 288-292.

¹⁰N. L. Segraves, P. Crews, *J. Nat. Product*, **2005**, 68, 118-121.

JEV ma anche il loro impiego nella cura di tumori, diabete, tubercolosi, malaria e malattie da accumulo lisosomiale.¹¹

A causa del forte interesse e delle molteplici applicazioni che possono avere, negli ultimi anni sono stati caratterizzati più di 100 imminozuccheri, naturali e di sintesi.

L'interesse per lo studio di questa classe di composti, è recentemente cresciuto a causa di una loro nuova possibile applicazione, grazie alla possibilità di impiegarli come potenziali farmaci per la cura di malattie infettive di natura batterica.

Già in natura sono presenti alcuni esempi di imminoglicosidi con attività antibatterica come ad esempio la nojirimicina (5-ammino, 5-deossi glucosio), imminoglicoside isolato e caratterizzato per la prima volta nel 1960 (**Figura 2**).¹² Questa venne estratta da molti esemplari delle specie *streptomyces*, ha struttura piperidinica polioidrossilata e mostra grandi qualità come antibatterico, ad esempio contro le specie *Xanthomonas Oryzae* e *Shigella flexneri*, sebbene non trovi grande impiego perché ha una bassa stabilità biologica e chimica.¹³

Dalla specie *streptomyces* viene estratto anche un altro composto antibatterico naturale, la siastatina B, avente sempre struttura piperidinica. Data la capacità di questo composto di inibire l'enzima *N*-acetilneuraminidasi,¹⁴ la sua struttura è stata molto studiata e in base ad essa sono stati sviluppati e sintetizzati suoi analoghi strutturali, alcuni dei quali con rilevante attività antibatterica.¹⁵

¹¹ L. Cipolla, M.R. Fernandes, M. Gregori, C. Airoidi, F. Nicotra, *Carbohydrate Research*, **2007**, 1813-1830.

¹² S. Inoue, T. Tsuruoka, T. Niida, *T. J. Antibiot.* **1966**, 19, 288-292.

¹³ S. Inouye, T. Tsuruoka, T. Ito, T. Niida, Structure and synthesis of nojirimycin. *Tetraedron*, **1968**, 24, 2125-2144

¹⁴ T. Kudo, Y. Nishimura, T. Takeuchi, *J. Antibiotics* **1992**, 45, 1662-1668

¹⁵ a) T. Kudo, Y. Nishimura, T. Takeuchi, *J. Antibiotics* **1993**, 46, 300-309. b) E. Shitara, Y. Nishimura, K. Herome, Y. Hiramoto, T. Takeuchi, *Org. Letter.* **2000**, 2, 3837-3840.

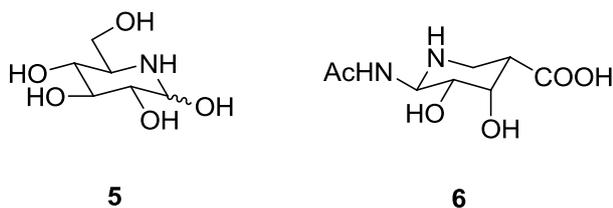


Figura 4: strutture di nojirimicina (**5**) e siastatina B (**6**). Questi imminozuccheri di origine naturale, estratti entrambi dalle specie *Streptomyces*, sono dotati di attività antibatterica

In letteratura sono presenti anche alcuni esempi di sostanze di sintesi con struttura imminoglicosidica, che hanno mostrato attività antibatterica in vitro o in vivo.^{8,16,19}

Il meccanismo con cui queste sostanze inibiscono il progredire dell'infezione può essere di vario tipo, spesso può variare da molecola a molecola e quindi in molti casi non è stato del tutto chiarito.

Molto spesso però questi agenti antibatterici inibiscono l'azione di alcuni enzimi fondamentali per la sintesi della parete cellulare o più in generale per la vita del batterio oppure impediscono la sintesi proteica, anche questa fondamentale per la sopravvivenza della cellula batterica.

Possiamo citare a titolo di esempio sostanze come **7** e **8**, che sono inibitori della galattofuranosiomutasi, enzima che catalizza il passaggio da una conformazione all'altra del galattosio (**Figura 5**). La conformazione furanosidica andrà poi a costituire il monomero per la sintesi di oligomeri di galattofuranosio, presenti nella parete cellulare batterica.

Considerato che questo è un enzima essenziale per il batterio, ma non per l'uomo, questo genere di composto si è rivelato un buon agente chemioterapeutico.^{16,17,18}

¹⁶ D. A. Sanders, A. Staines, S.A. McMahon, M. McNeil, C. Whitfield, J. H. Naismith, *Nat. Struct. Biol.* **2001**, 8, 858-863

¹⁷ R. E. Lee, M. D. Smith, R. J. Nash, R. C. Griffiths, M. McNeil, R. K. Grewal, W. Yan, G. S. Besra, P. J. Brennan, G. W. J. Fleet, *Tetraedron Lett.*, **1997**, 38, 6733-6736.

¹⁸ R. E. Smith, M. D. Pickering, G. W. J. Fleet, *Tetraedron Lett.*, **1999**, 40, 8689-8692

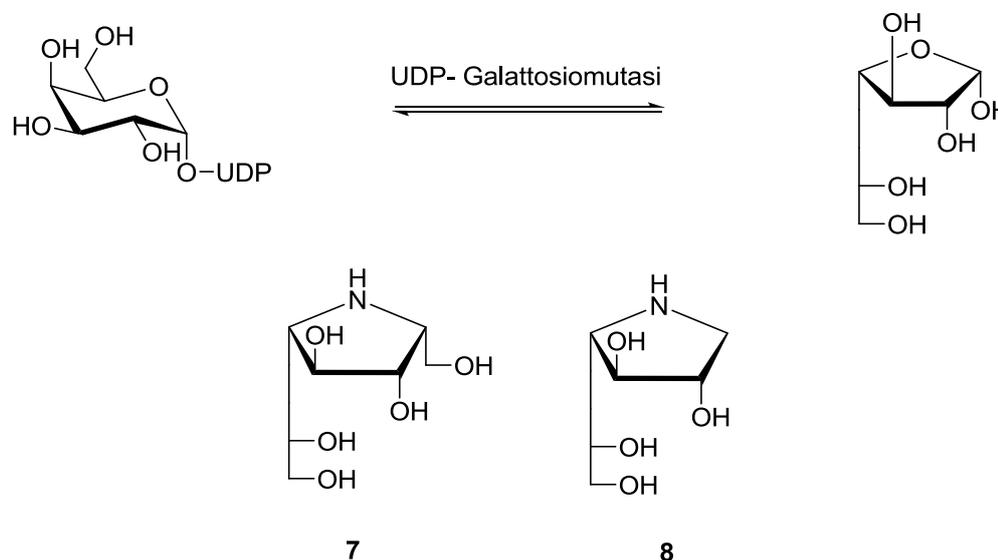


Figura 5: reazione catalizzata dall' enzima galattofuranosiomutasi, e suoi inibitori sintetici (**7, 8**)

Tra tutte le varie strutture che sono state sintetizzate e che sono state elencate in precedenza, quelle a scheletro piperidinico che portano come sostituenti gruppi -OH e/o -NH₂ sono risultate molto interessanti e hanno mostrato una buona attività antibatterica.

Zhang e collaboratori hanno ad esempio dimostrato che piperidine polioidrossilate, come la **9** e **10**, stimolano la produzione dell' IFN- γ (interferone γ), una sostanza prodotta dalle cellule immunitarie che svolge un ruolo importante proprio nella risposta immunitaria alle infezioni (**Figura 6**). Le due piperidine **9** e **10** infatti, dopo essere state somministrate a delle cavie in cui era stata indotta un' infezione da *Salmonella tyhimurium* C5, hanno innalzato il tasso di sopravvivenza di circa il 50%. Ciò è dovuto proprio al fatto che queste molecole stimolano la produzione dell'interferone, promuovendo quindi una migliore reazione da parte dell'organismo durante le infezioni.¹⁹

¹⁹ L. Zhang, F. Sun, Q. Wang, J. Zhou, L. H. Zhang, X. L. Zhang, X. S. Ye, *ChemMedChem*, **2009**, 4, 756-760

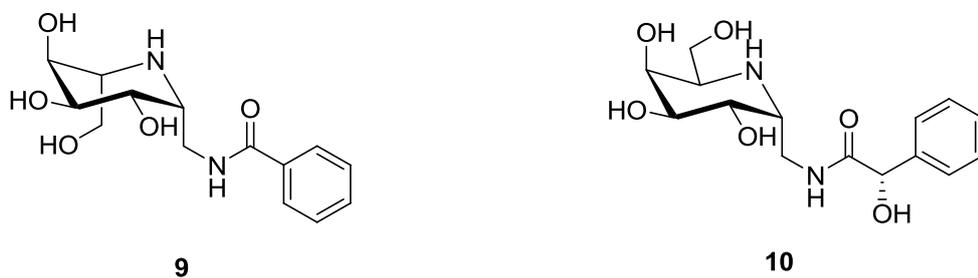


Figura 6: esempi di strutture di sostanze che hanno mostrato buona attività antibatterica in vivo

Considerati questi risultati, e considerato quanto detto nel capitolo precedente, possiamo immaginare che analogamente molecole più semplici, come piperidine contenenti un solo gruppo amminico, possono in qualche presentare attività antibatterica.

1.4 Scopo del progetto

Lo scopo di questo progetto di tesi è la sintesi di 3-4,diidrossi 5-amminopiperidine di tipo **11**, che presentino vari gruppi sostituenti sull'atomo di azoto esociclico.

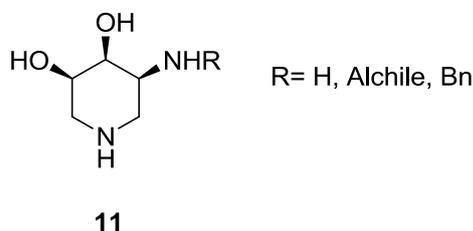


Figura 7: struttura generale delle piperidine sintetizzate in questo progetto di tesi

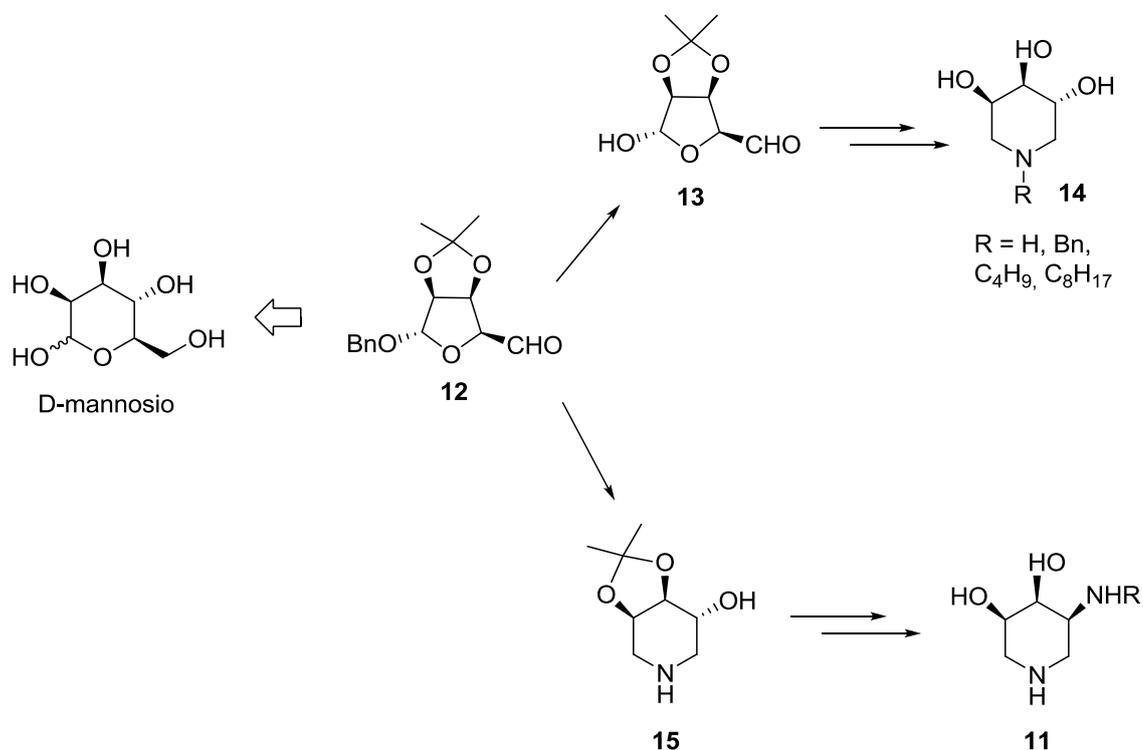
Lo scheletro piperidinico è ottenuto a partire dal D-mannosio, uno zucchero a basso costo del pool chirale, passando attraverso un intermedio dialdeidico, con una metodica recentemente messa a punto nel nostro gruppo di ricerca.²⁰

La versatilità di questo metodo sta nel fatto che a partire da uno stesso intermedio **12** possiamo ottenere sia triidrossi piperidine alchilate sull'atomo di azoto endociclico di tipo **14**, ottenute tramite doppia

²⁰C. Matassini, S. Mirabella, F. Cardona, A. Goti, *Eur. J. Org. Chem.*, **2012**, 3920-3924

amminazione riduttiva con ammine primarie, sia la piperidina **15**, che offre la possibilità di lavorare sull'OH al C5 libero inserendo vari sostituenti.

Le triidrossi piperidine *N*-alchilate di tipo **14** sono in corso di valutazione come inibitori di glicosidasi commerciali, per potere essere successivamente testate come potenziali chaperoni farmacologici per il trattamento delle malattie da accumulo lisosomiale (LSDs).



Schema 1: strategia sintetica per l'ottenimento di piperidine variamente sostituite

In questo progetto di tesi invece abbiamo sintetizzato piperidine di tipo **11** in cui è stato inserito un gruppo amminico a sostituire il gruppo ossidrilico in posizione 5 del composto **15**. Su questo azoto esociclico inoltre sono stati introdotti vari gruppi R, in generale di natura lipofila, che teoricamente dovrebbero facilitare l'ingresso delle molecole nella cellula, grazie ad interazioni idrofobe con la membrana cellulare.

La novità di questo progetto di tesi è che questi imminozuccheri saranno successivamente testati per valutare la loro attività antibatterica, campo per il momento inesplorato nel nostro gruppo di ricerca.

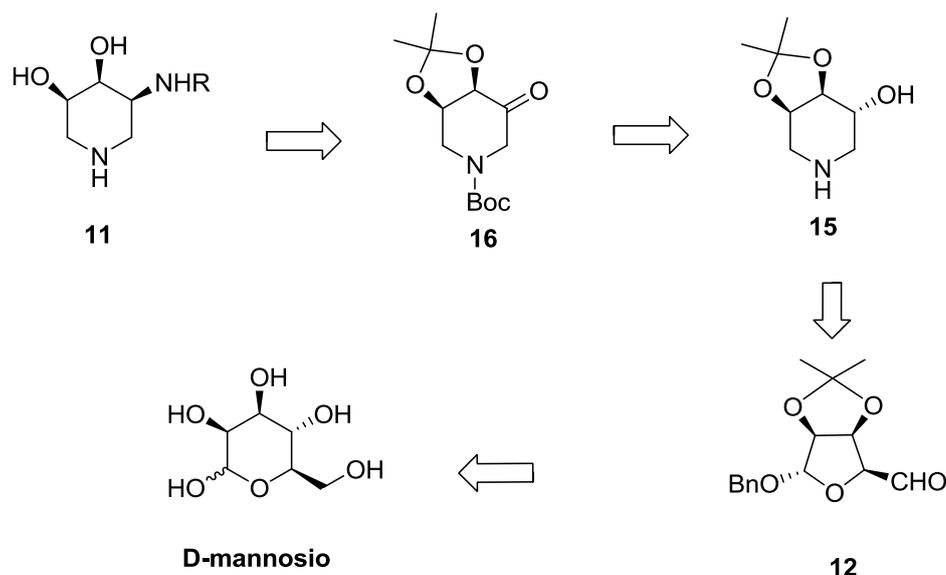
Questi studi saranno condotti in collaborazione con l'Università di Pavia e il CNR di Genova e permetteranno di valutare in un secondo momento l'eventuale influenza del gruppo R sull'attività di questi composti.

Capitolo 2:
Discussione dei
risultati

2.1 Sintesi di amminopiperidine

In questo progetto di tesi abbiamo cercato di mettere a punto una strategia sintetica efficace per l'ottenimento di amminopiperidine variamente sostituite sull'atomo di azoto esociclico.

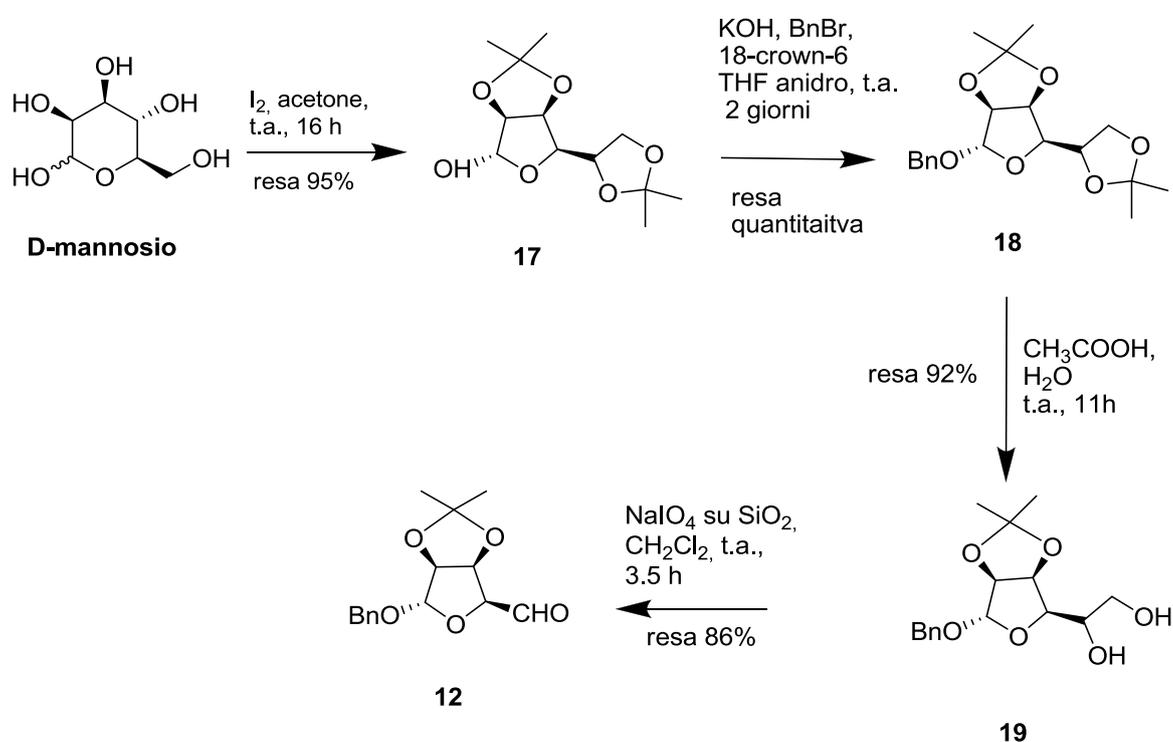
L'inserimento di un gruppo amminico esociclico è stato ottenuto tramite reazione di amminazione riduttiva sul chetone **16**, ottenuto in più passaggi a partire dal D-mannosio, come riportato nello **schema 2**.



Schema 2: strategia retrosintetica per l'ottenimento di amminopiperidine variamente sostituite.

In particolare per l'ottenimento del nucleo piperidinico abbiamo utilizzato una strategia sintetica recentemente messa a punto nel nostro gruppo di ricerca, che prevede una doppia amminazione riduttiva sulla dialdeide "mascherata" **12**.²⁰

La sintesi parte dal D-mannosio, uno zucchero appartenente al pool chirale e reperibile commercialmente a basso costo. Attraverso 5 semplici passaggi si ottiene con una resa complessiva del 75% l'intermedio **12**, come riportato nello **schema 3**.



Schema 3: strategia sintetica per l'ottenimento dell'intermedio **12**.

Nella prima reazione il D-mannosio è stato trattato con una quantità catalitica di iodio in acetone a temperatura ambiente, per ottenere lo zucchero stesso nella forma furanosidica, protetto come bis-acetonide (composto **17**).²¹

²¹ F. E. Chen, J. F. Zhao, F. J. Xiong, B. Xie, P. Zhang, *Carbohydrate Reserch*, **2007**, 342, 2461.

Successivamente l'ossidrile anomero è stato protetto con il gruppo benzile, trattando il composto **17** con benzilbromuro, KOH e l'etere corona 18-crown-6 usando THF anidro come solvente. La reazione è avvenuta a temperatura ambiente e dopo 2 giorni è stato ottenuto il prodotto **18** con resa quantitativa.²²

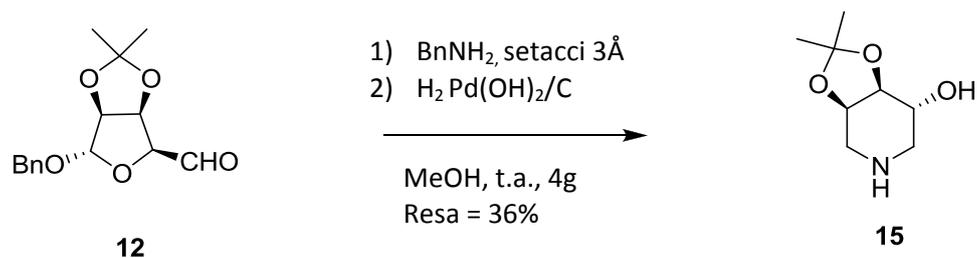
Nel terzo passaggio sono stati selettivamente deprotetti gli ossidrilili in posizione 5 e 6, dissolvendo il composto **18** in una miscela di CH₃COOH e H₂O in rapporto 2:1. Questa miscela di reazione è stata lasciata in agitazione magnetica per circa 16 h, e alla fine è stato ottenuto il prodotto **19** con resa del 92%.²¹

Il diolo così ottenuto è stato sottoposto a rottura ossidativa, utilizzando come ossidante NaIO₄ supportato su gel di silice, secondo una procedura riportata in letteratura.²³ Per ottenere l'ossidante supportato su silice, abbiamo disciolto il periodato in acqua a caldo, e dopo completa dissoluzione è stata aggiunta la silice, agitando con ancorina magnetica. Il composto così ottenuto è stato aggiunto alla soluzione del composto **19** in CH₂Cl₂ e dopo 3.5 ore abbiamo ottenuto la dialdeide "mascherata" **12** con ottima resa (86%) e con un sufficiente grado di purezza semplicemente rimuovendo l'ossidante tramite filtrazione su celite.

La dialdeide **12** è stata quindi utilizzata senza ulteriore purificazione per ottenere, tramite doppia amminazione riduttiva con benzilammina, il composto **15** (schema 4).

²² M. Bessodes, J. Shamasazar, K. Antonakis, *Synthesis*, **1988**, 560.

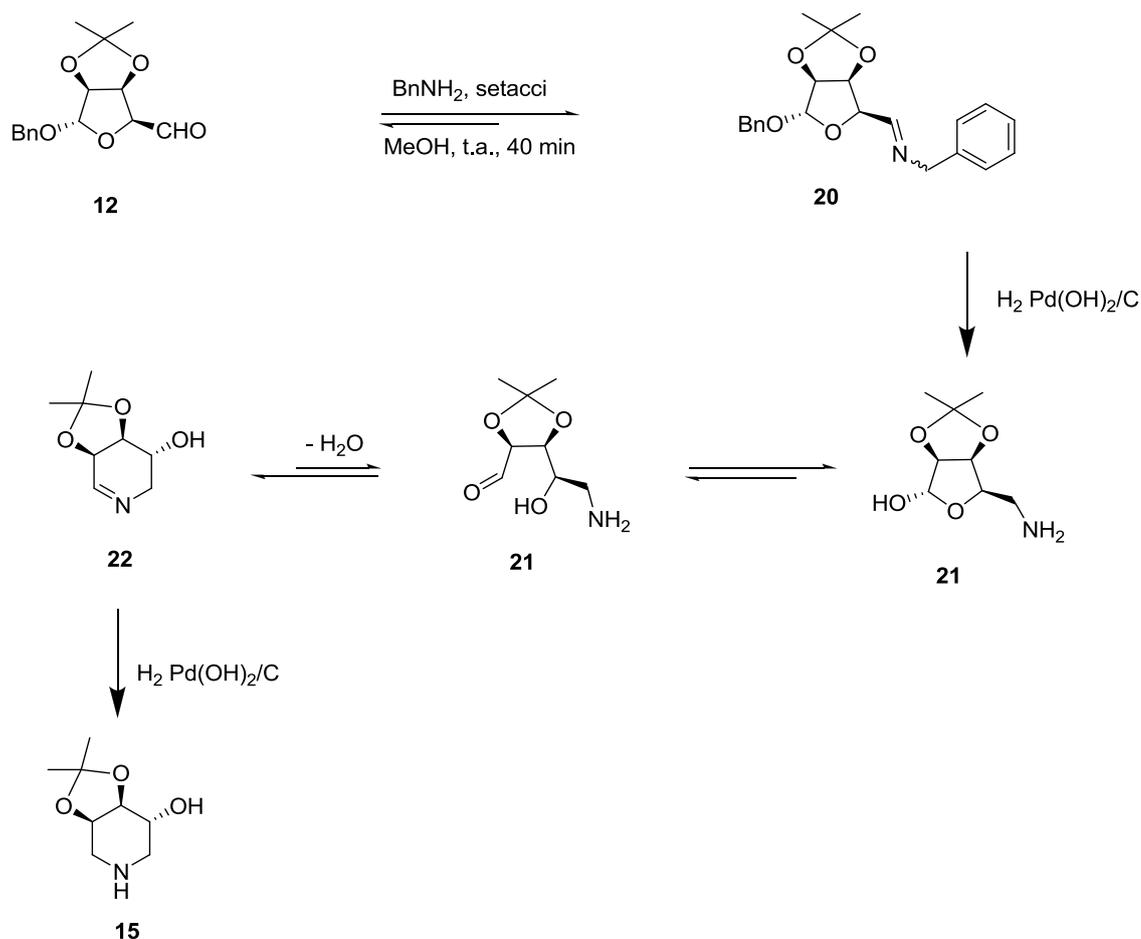
²³ Y. L. Zhong, T. K. M. Shing, *Journal of Organic Chemistry*, **1997**, 62, 2622



Schema 4: condizioni di reazione della doppia amminazione riduttiva

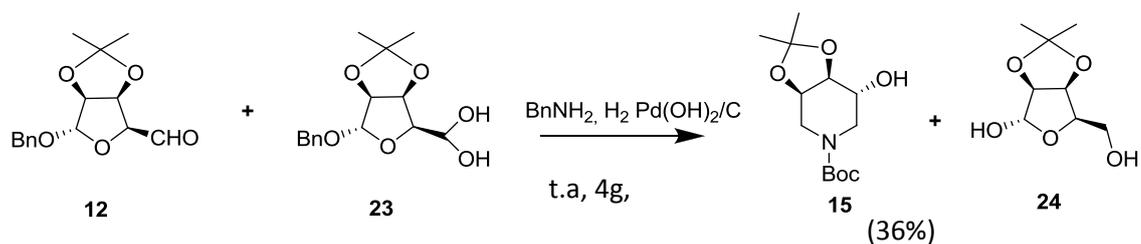
In questa reazione il composto **12** è stato sciolto in MeOH, in presenza di setacci e a questa soluzione è stata aggiunto 1 equivalente di benzilammina; abbiamo atteso 40 minuti, tempo necessario per la formazione dell'immina, dopodiché la miscela di reazione è stata sottoposta a idrogenazione catalitica per ottenere il composto desiderato.

Un plausibile meccanismo della reazione di chiusura del ciclo a 6 è riportato nello **schema 5**. Si ha inizialmente un attacco nucleofilo da parte dell'azoto della benzilammina sul carbonio aldeidico, con conseguente eliminazione di acqua che porta alla formazione dell'immina **20**. Questo primo step viene condotto in presenza di setacci molecolari per rimuovere l'acqua dall'ambiente di reazione, che altrimenti potrebbe fare tornare l'equilibrio verso i reagenti. Dopo la formazione dell'intermedio **20**, è stato gorgogliato H₂ in soluzione e la miscela è rimasta in atmosfera di H₂ e in presenza di Pd(OH)₂ come catalizzatore per 4 giorni, tempo necessario per avere la rimozione dei due gruppi benzili. Questo porta alla liberazione della seconda funzione aldeidica, la quale subisce un attacco nucleofilo intramolecolare da parte del gruppo amminico, con conseguente formazione dell'intermedio **22**, che viene ridotto per dare il ciclo a 6 della piperidina **15**. La reazione viene monitorata tramite controlli ¹H-NMR, per determinare la scomparsa dei segnali dei protoni benzilici. Si considera infatti questo il passaggio critico della reazione, mentre il successivo step di condensazione e riduzione del doppio legame sembrano più veloci. Questo sulla base del fatto che se si interrompe la reazione prima che sia finita, si vedono i segnali dei protoni benzilici.



Schema 5: meccanismo di reazione della doppia amminazione riduttiva.

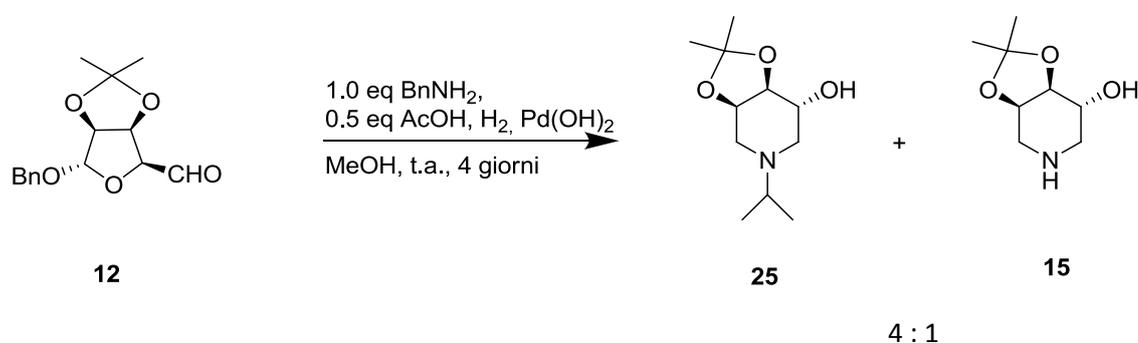
Questa reazione è stata riportata in letteratura²⁰ con una resa del 69%. Purtroppo non siamo riusciti a riprodurre questa resa, e la causa di ciò è che probabilmente la reazione è stata montata sull'aldeide **12**, presente in parte nella forma idrata **23**. L'effettiva reazione avvenuta è stata quella riportata nello **schema 6**, e ciò probabilmente ha portato al calo della resa di reazione.



Schema 6: possibile reazione avvenuta con aldeide idrata

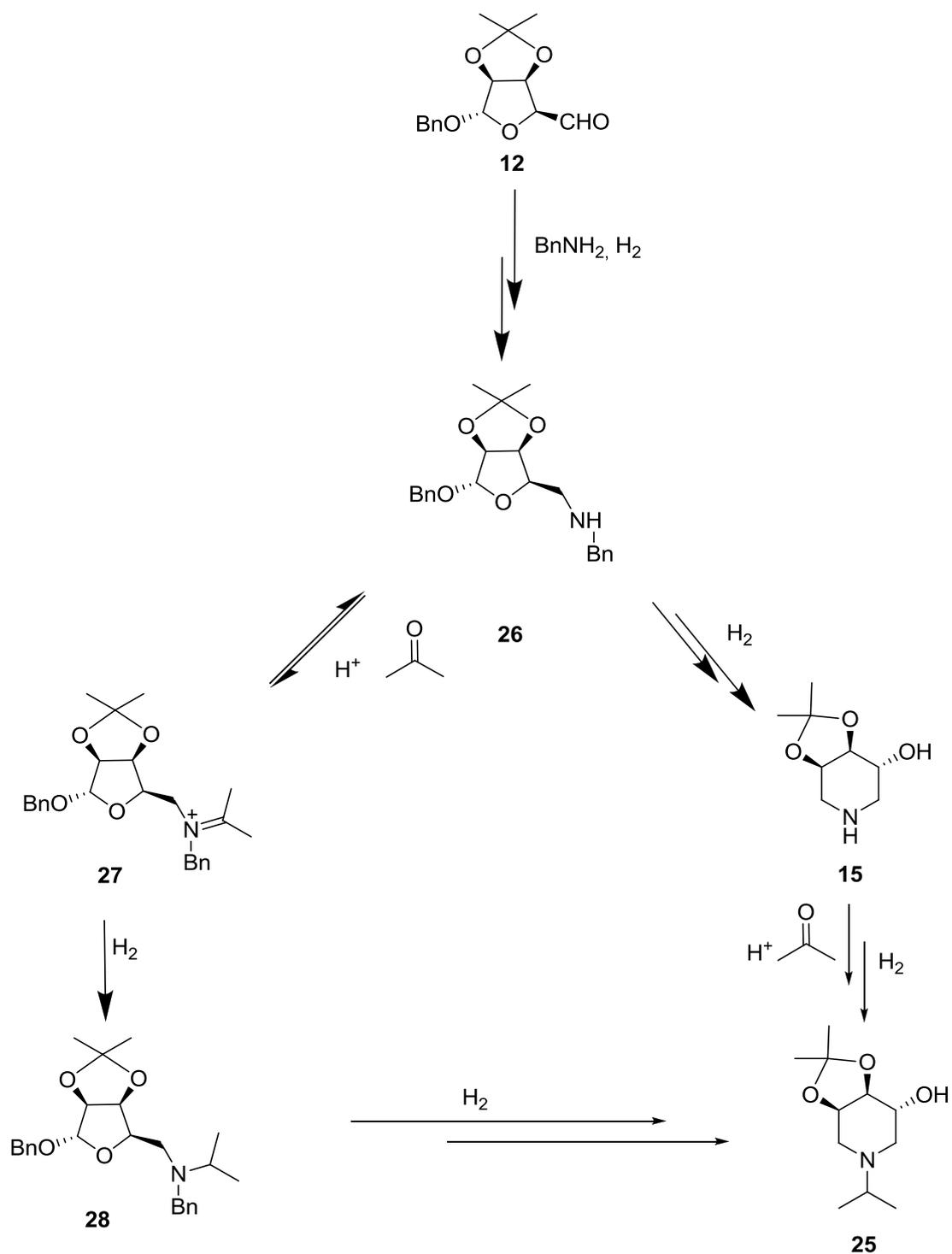
Purificando infatti il grezzo ottenuto dalla reazione, abbiamo isolato una frazione (corrispondente al 30% del grezzo), nel cui spettro $^1\text{H-NMR}$ erano presenti i segnali dell'alcol **24** derivante dalla riduzione dell'aldeide **12**.

Abbiamo provato a condurre la stessa reazione in ambiente debolmente acido, per provare a ridurre i tempi di reazione. I risultati che abbiamo però ottenuto non sono stati quelli sperati, in quanto non abbiamo ottenuto la piperidina **15** come prodotto principale, ma bensì il composto **25**.



Schema 7: reazione avvenuta in presenza dell'acido acetico

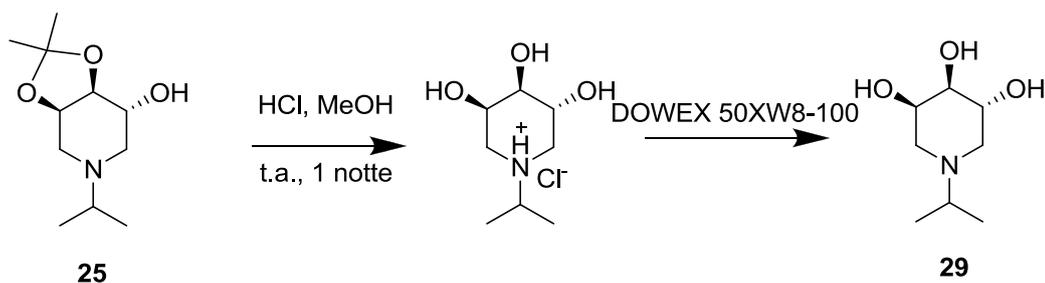
In questo caso, 0.5 equivalenti di acido acetico sono stati sufficienti per avere una parziale deprotezione degli acetonidi, con un conseguente liberazione di acetone nell'ambiente di reazione. Non sappiamo con precisione ciò che può essere avvenuto in soluzione, ma il possibile meccanismo è riportato nello **schema 8**. Si può avere la condensazione di benzilammina con l'aldeide, seguita dalla riduzione del doppio legame, e a quel punto l'ammina **26** appena formata si potrebbe ripetere un attacco nucleofilo sull'acetone, con la formazione dello ione imminio **27** che viene ridotto per dare il composto **28**. Da questo punto in poi la reazione procede come nello **schema 5**, riportato in precedenza, per avere la formazione del ciclo a 6. Una seconda ipotesi è che l'amminazione riduttiva sull'acetone avvenga una volta formata la piperidina **15**.



Schema 8: possibili reazioni collaterali avvenute in soluzione in presenza di acido acetico.

A causa di questa reazione collaterale abbiamo quindi ottenuto, invece che la sola piperidina **15**, i due prodotti **25** e **15** in rapporto 4:1.

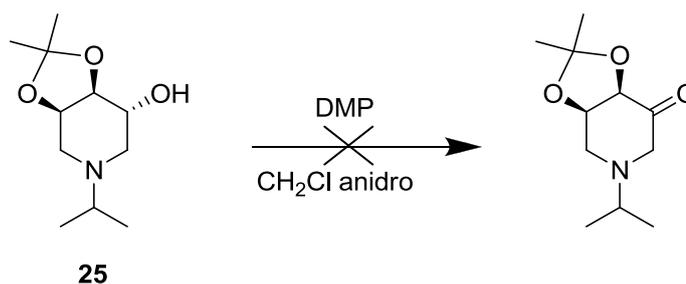
Il composto **25** è comunque un prodotto interessante, in quanto tramite la rimozione degli acetoni in ambiente acido e passaggio su resina a scambio ionico (DOWEX 50XW8-100) si ottiene una piperidina triidrossilata **29** alchilata sull'atomo di azoto, come mostrato nello **schema 9**, con resa del 100%.



Schema 9

Anche sulla piperidina **29** verranno effettuati test biologici per determinarne l'eventuale attività come antibatterico e come inibitore di glicosidasi.

Su questo substrato inoltre abbiamo provato a ossidare il gruppo OH in 5 (**schema 10**), in modo da poter fare delle prove di amminazione riduttiva sul chetone corrispondente.

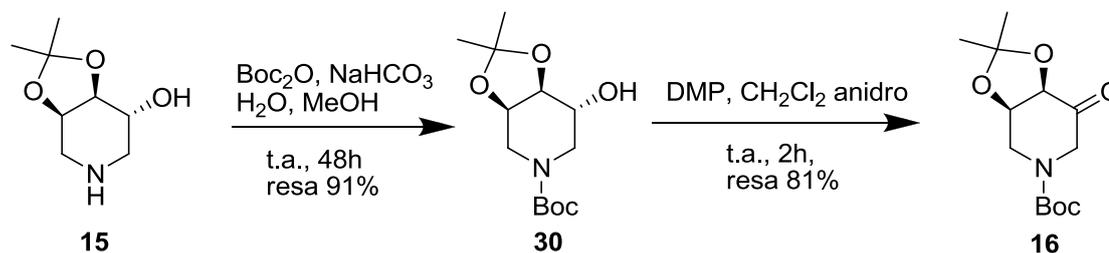


Schema 10

La piperidina **25** è stata quindi solubilizzata in diclorometano anidro e alla soluzione è stato aggiunto l'ossidante, ovvero il periodinano di Dess-Martin (DMP) mantenendo la miscela sotto atmosfera di azoto e sotto agitazione magnetica per 4 ore. Dopo purificazione tramite colonna cromatografica abbiamo recuperato solamente prodotto di partenza. La reazione riportata

nello **schema 10** quindi non avviene in quelle condizioni. Considerato inoltre che questo tipo di reazione è stata provata anche altre volte all'interno del gruppo di ricerca su substrati contenenti un gruppo amminico terziario e i risultati sono stati analoghi, possiamo concludere che probabilmente questa reazione non avviene su substrati del genere. Una possibile soluzione a questo problema sarebbe quella di trovare un sistema ossidante selettivo per la funzione ossidrilica, che non interagisca con la funzione amminica.

Per ovviare a questo problema abbiamo protetto l'atomo di azoto della piperidina **15** con il gruppo protettore Boc, e successivamente abbiamo ossidato il gruppo OH in **5** con DMP, per ottenere il chetone **16** (**schema 11**).



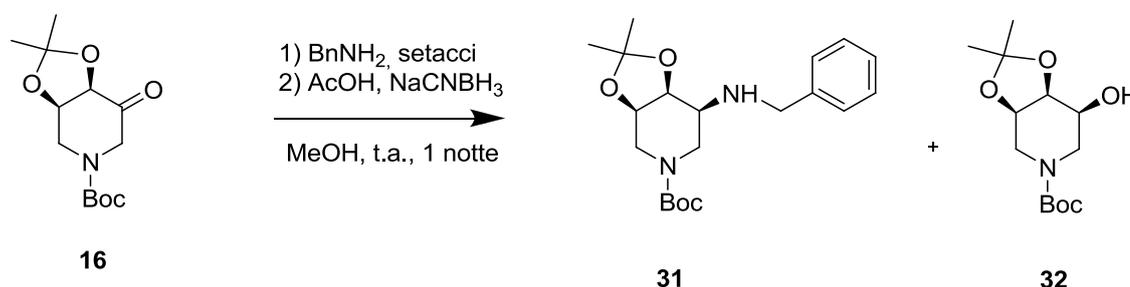
Schema 11

La piperidina **15** è stata quindi sciolta in una miscela 1:1 di H₂O e MeOH, a cui sono stati aggiunti NaHCO₃ e Boc₂O. Dopo 48h, abbiamo ottenuto la piperidina **30**, la quale è stata trattata con il reagente di Dess-Martin, usando come solvente CH₂Cl₂ anidro, per ottenere dopo 2 ore la formazione del chetone **16** con resa dell' 81%.²⁴

Il chetone **16** rappresenta un buon substrato sul quale si può introdurre il gruppo amminico tramite delle reazioni di amminazione riduttiva con ammine primarie commerciali.

²⁴ D.B. Dess, J.C. Martin, *J. Org.Chem.*, **1983**, *48*, 4155-4156.

La prima reazione che abbiamo provato è riportata nello **schema 12**.



Schema 12

Il composto **16** è stato quindi sciolto in MeOH anidro, in presenza di setacci molecolari 3Å, e a questa soluzione è stata aggiunta la benzilammina in lieve eccesso (10%). Dopo circa 40 minuti abbiamo aggiunto il NaCNBH₃ (1.5 equivalenti) e l'acido acetico (2 equivalenti). Come si vede nello schema purtroppo la reazione ha portato alla formazione sia dell'ammina desiderata che dell'alcol **32** in rapporto 1:2 in favore del composto **32**, con una resa globale di reazione del 62.5%. Il composto **32** deriva dalla riduzione del chetone di partenza da parte del NaCNBH₃.

Per aumentare la resa del prodotto **31** abbiamo provato ad applicare le condizioni di reazioni descritte da Martin e collaboratori²⁵, che prevedono l'utilizzo di un eccesso di chetone (10%), 2.0 equivalenti di AcOH e 3.0 equivalenti di NaCNBH₃. Inoltre, nelle condizioni da loro descritte, i reagenti vengono aggiunti contemporaneamente in soluzione, in quanto ciò porterebbe ad un'immediata riduzione dell'immina appena questa si forma, con conseguente spostamento dell'equilibrio di reazione verso la formazione dei prodotti. L'acido acetico inoltre viene aggiunto, oltre che per catalizzare la reazione di condensazione che porta alla formazione dell'immina, anche per evitare l'attacco del gruppo cianuro sul doppio legame dell'immina stessa.²⁰

²⁵ S. Front-Deschamps, E. Gallienne, E. Lesellier, K. Ikeda, N. Asano, P. Compain, O. R. Martin, *Chem-MedChem*, **2011**, 6, 353-361.

Purtroppo anche in questo caso non siamo riusciti ad ottenere selettività nella riduzione ed abbiamo ottenuto l'alcol **32**, oltre che l'ammina voluta, in rapporto uguale a quello ottenuto nel precedente tentativo, ma con una resa globale di reazione del 54%. Questo probabilmente è accaduto perché prima di purificare il grezzo tramite FCC, sono stati fatti dei lavaggi con NaHCO₃ e delle estrazioni con AcOEt, e questo probabilmente ha comportato la perdita di una parte di prodotto.

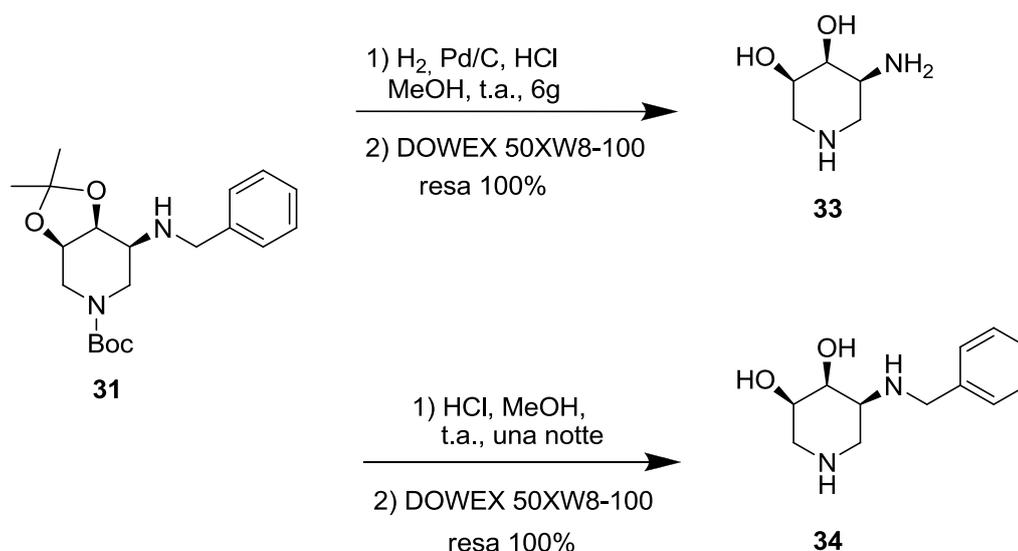
Abbiamo infine fatto un ultimo tentativo per evitare la formazione dell'alcol **32**. In questa terza prova è stato aumentato l'eccesso di benzilammina (50%), mantenendo invece uguali gli equivalenti di acido e riducente; benzilammina e chetone sono stati aggiunti per primi in soluzione, insieme all'acido acetico e questa miscela è stata lasciata sotto agitazione magnetica per 3 ore in atmosfera di azoto prima di aggiungere l'agente riducente. Questa volta non è stato isolato l'alcol, ma solamente l'ammina, sebbene la resa non sia stata ottima (47%). Nella **tabella 1** sono stati riassunti i risultati dei vari tentativi effettuati.

equivalenti BnNH ₂	equivalenti NaCNBH ₃	equivalenti AcOH	rapporto 31:32	tempo di reazione	resa dell' ammina
1.1	1.5	2.0	1:2	20 h	19%
0.9	3.0	2.0	1:2	6 g	17%
1.5	3.0	2.0	1:0	25 h	47%

TABELLA 1

Siamo riusciti quindi nell'ultimo tentativo ad ottenere una certa selettività nella riduzione, ma non siamo ancora riusciti ad ottenere per questa reazione una resa migliore.

A partire dall'ammina **31** sono stati ottenuti due importanti prodotti, come riportato nello **schema 13**.



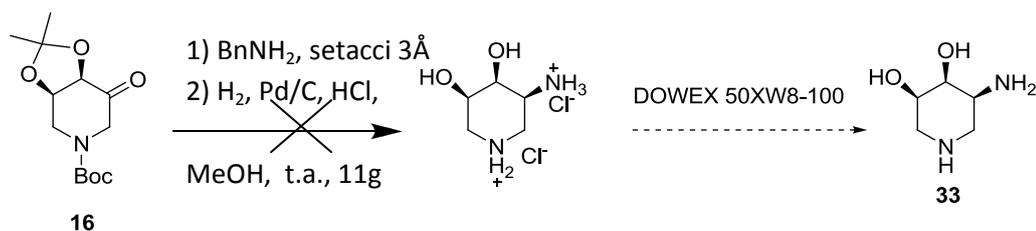
Schema 13

Una parte della piperidina **31** è stata trattata con HCl, in atmosfera di H₂, usando come catalizzatore Pd/C, per ottenere la contemporanea rimozione dei benzili oltre che la deprotezione. Dopo passaggio su resina a scambio ionico è stata ottenuta l'amminopiperidina **33** con resa del 100%.

Un'altra parte invece è semplicemente stata trattata con acido forte in MeOH per avere solamente la rimozione dei gruppi protettori. Analogamente è stato ottenuto il prodotto desiderato sotto forma di cloridrato, che dopo passaggio su resina eluendo con NH₃ al 6% ha portato ad ottenere la piperidina **34** con resa del 100%.

Abbiamo fatto un ulteriore tentativo per ottenere la piperidina **33** in un unico passaggio, senza passare dall'intermedio benzilato **31**.

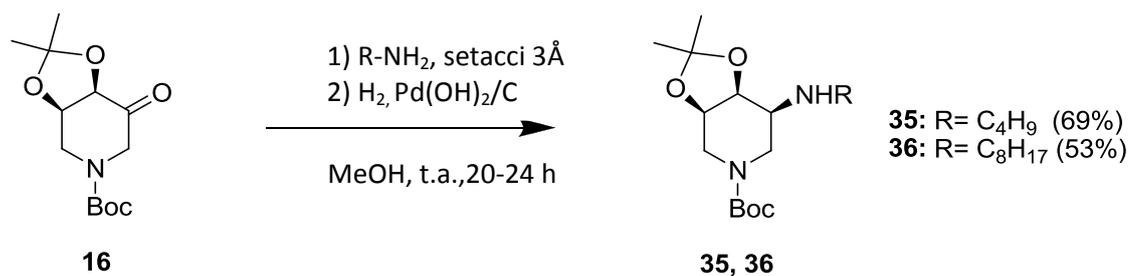
L'idea era quella di far reagire il chetone **16**, con benzilammina e una volta verificata la formazione dell'immina, idrogenare in presenza di Pd/C e HCl, in modo da ottenere il prodotto deproteetto tramite semplice passaggio su resina (**schema 14**).



Schema 14

Il chetone **16** è stato quindi disciolto in MeOH distillato, in presenza di setacci in polvere e sotto flusso di azoto. Successivamente è stato aggiunto un equivalente di benzilammina e la miscela è stata lasciata sotto agitazione magnetica per 5 ore, quando tramite una filtrazione su celite è stato rimosso il catalizzatore. E' stato quindi fatto un controllo ¹H-NMR della miscela di reazione per vedere se l'immina si fosse formata. In tutti questi passaggi è stata sempre prestata la massima attenzione al fatto che la miscela non fosse mai esposta all'aria e che tutta la vetreria usata fosse anidra, in modo da ridurre al minimo il rischi di idrolisi dell'immina. Lo spettro ¹H-NMR non è comunque risultato molto chiaro, ma non essendoci più i segnali del chetone **16**, sono stati aggiunti alla miscela di reazione il Pd/C, HCl, ed è stato gorgogliato H₂ in soluzione. La miscela è rimasta in atmosfera di idrogeno per 11 giorni, ma tramite controllo ¹H-NMR risultavano sempre presenti i segnali dei protoni benzilici. E' stato deciso in ogni caso di interrompere la reazione e provare a passare la miscela su DOWEX, ma non è stato ottenuto il prodotto desiderato.

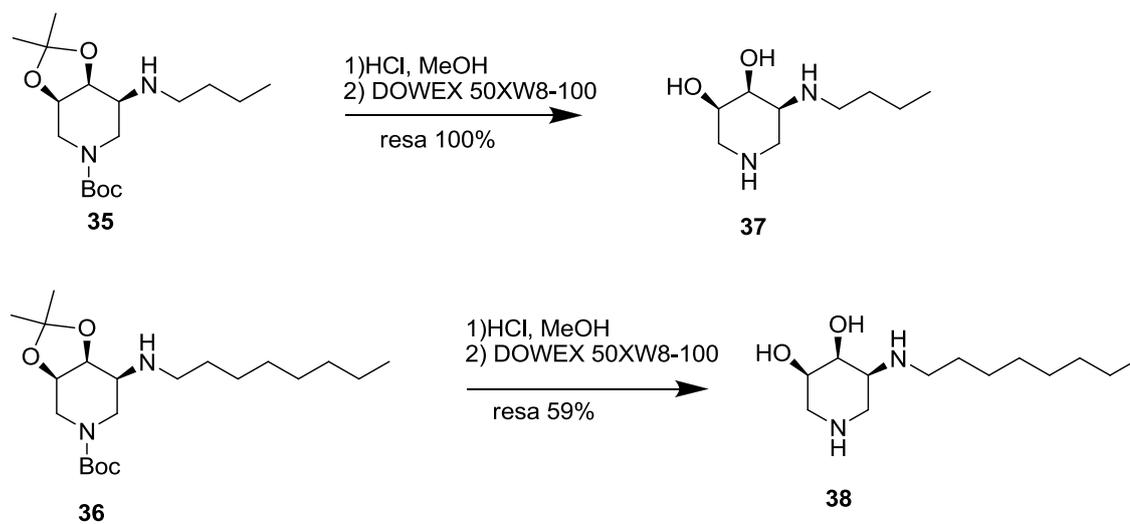
Abbiamo successivamente tentato di sintetizzare piperidine che presentassero sull'atomo di azoto esociclico una catena alifatica più o meno lunga. Queste sono state ottenute con un metodo sintetico diverso; avendo infatti riscontrato nei casi precedenti che il sodiocianoboroidruro non agisce selettivamente nella riduzione, abbiamo provato ad usare in questi due casi idrogeno molecolare come riducente (**schema 15**), usando per la sintesi delle due ammine una procedura analoga.



Schema 15

In entrambi i casi il chetone **16** è stato disciolto in MeOH in presenza di setacci molecolari per rendere quanto più anidro possibile l'ambiente di reazione; successivamente è stata aggiunta l'ammina e dopo 40 minuti anche il catalizzatore. Successivamente è stato fatto gorgogliare in soluzione l'idrogeno e la miscela di reazione è stata lasciata in atmosfera di idrogeno per un tempo che va dalle 20 ore per la reazione con ottilammina alle 24 ore per quella con butilammina. Abbiamo ottenuto dopo purificazione su colonna cromatografica i composti **35** e **36**, con una resa del 69% per il composto **35** e del 53% per il composto **36**.

Questi composti sono stati infine trattati con HCl in MeOH per una notte per ottenere i corrispondenti prodotti deprotetti (**schema 16**).



Schema 16

Sarà in seguito interessante capire come la sostituzione sull'atomo di azoto esociclico possa influire o meno sull'attività biologica dell'imminozucchero.

2.2 Determinazione della stereochimica dei prodotti ottenuti

Al fine di valutare e comprendere l'attività biologica dei composti ottenuti, ha molta importanza la determinazione della struttura tridimensionale dei composti stessi.

In particolare, è molto rilevante determinare la stereochimica dei centri stereogenici che portano i gruppi sostituenti: per il C₃ e il C₄, questo risulta semplice, in quanto su questi carboni non sono state condotte reazioni che potessero portare a un'inversione di configurazione. Questa sarà quindi uguale a quella del prodotto iniziale, ossia D-mannosio.

Per quanto riguarda il centro stereogenico sul C₅ occorre invece soffermarsi di più.

Bisogna specificare innanzitutto che tutte le piperidine 'nuove' (**25**, **29**, **31**, **33**, **34**, **35**, **36**, **37**, **38**) ossia la cui sintesi non è mai stata riportata in letteratura, sono state caratterizzate completamente, eccetto la **35** e la **36**.

Per quanto riguarda questi due composti infatti la caratterizzazione è stata fatta solamente tramite spettri ¹H-NMR monodimensionali 200 MHz, ¹³C-NMR e MS-ESI, in quanto l'assegnazione e l'attribuzione dei segnali risultava difficile a causa della presenza del gruppo protettore Boc. Il

parziale carattere di doppio legame del legame ammidico fra il carbonio del Boc e l'azoto endociclico della piperidina, comporta numerosi equilibri che rendono i segnali nello spettro poco risolti e a forma "slargata".

Abbiamo quindi preferito caratterizzare completamente solo il relativo prodotto deprotetto.

Per quanto riguarda invece l'assegnazione della configurazione del nuovo stereocentro sul C₅ questo è stato ottenuto semplicemente tramite spettro 1D NOESY per la piperidina **31**, e i due composti da lei ottenuti, ossia il **33** e il **34**.

Ad esempio, con spettro 1D NOESY sulla piperidina **33**, abbiamo potuto osservare un picco di correlazione NOE fra H₃ ed H₅, e ciò è spiegabile solamente se ipotizziamo una situazione spaziale come quella riprodotta in **figura 8**.

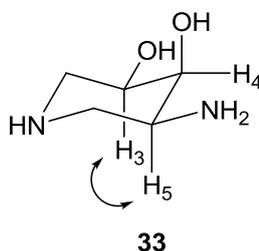


Figura 8

La stereochimica del composto **33** permette indirettamente di assegnare anche la stereochimica della piperidina **31**, da cui questa deriva, e della piperidina **34**.

Per quanto riguarda invece le piperidine **37** e **38**, tramite spettro 1D NOESY non è stato possibile avere chiarimenti sulla stereochimica dei prodotti sintetizzati, in quanto non è stata possibile una chiara attribuzione di tutti i protoni in α all'azoto endociclico e esociclico, poichè questi presentano tutti valori di chemical shift simili, e ciò porta ad una non facile distinzione e individuazione dei segnali dei singoli protoni.

Abbiamo comunque dato una spiegazione della stereochimica in base alla struttura del segnale del protone H_4 , la quale è indicativa della situazione spaziale dei gruppi sostituenti all'interno della molecola.

Ipotizzando che l'attacco dell'agente riducente (idrogeno nel caso delle piperidine **37** e **38**) avvenga con uguale probabilità da entrambe le facce del doppio legame, potremmo ottenere in linea teorica entrambe le configurazioni **A** e **B**, riportate in **figura 9**.

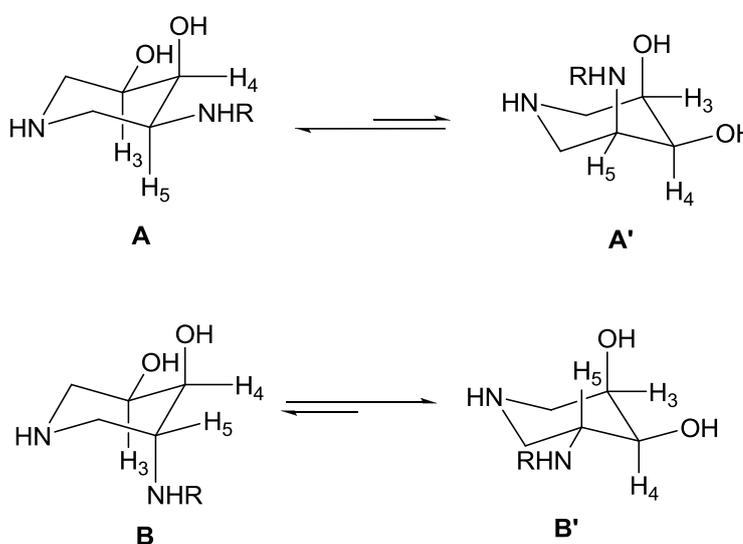


Figura 9

Nel nostro caso dagli spettri $^1\text{H-NMR}$ vediamo che il protone H_4 presenta una struttura di singoletto largo; possiamo quindi pensare che questo accoppi con due protoni con J sufficientemente piccole da non essere state risolte dallo strumento, ossia con interazione equatoriale-assiale o equatoriale-equatoriale. Considerando solo le conformazioni a sedia per l'anello piperidinico, notiamo che la struttura **A** si trova in equilibrio con la forma **A'**. quest'ultima però è sfavorita poiché ha un maggior numero di sostituenti in posizione assiale. In entrambi i casi H_4 presenta solamente interazioni di tipo equatoriale-assiale con H_5 e H_3 , che giustificano la J piccola. Osservando invece la configurazione **B**, notiamo che anche questa si presenta come un equilibrio fra i due conformeri **B** e **B'** spostato verso il conformero **B'** poiché questo presenta il maggior numero di sostituenti in

posizione equatoriale. Considerando quindi proprio **B'**, notiamo che H₄ presenta un'interazione di tipo assiale-assiale con H₅. Il segnale di H₄, se le piperidine da noi sintetizzate avessero avuto configurazione **B'**, sarebbe stato quindi completamente diverso, perché questo tipo di interazione prevede una J con valori intorno ai 10 Hz. Il segnale di H₄ avrebbe quindi dovuto presentarsi almeno come un dd, con una J grande e una piccola (dovuta all'interazione assiale-equatoriale con H₃).

A conferma di quanto detto, in figura sono riportati i segnali del protone H₄ sia della piperidina **33** (**Figura 10**), di cui conosciamo la stereochimica tramite spettro 1D NOESY, che della piperidina **37** (**Figura 11**). I due segnali risultano analoghi e confermano quanto detto prima.

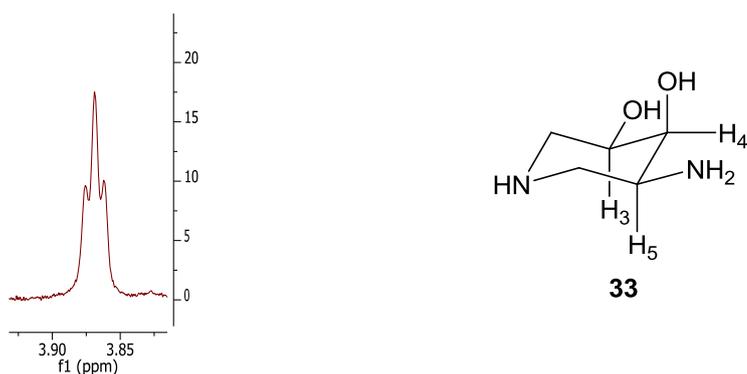


Figura 10: segnale del protone H₄ della piperidina **33**

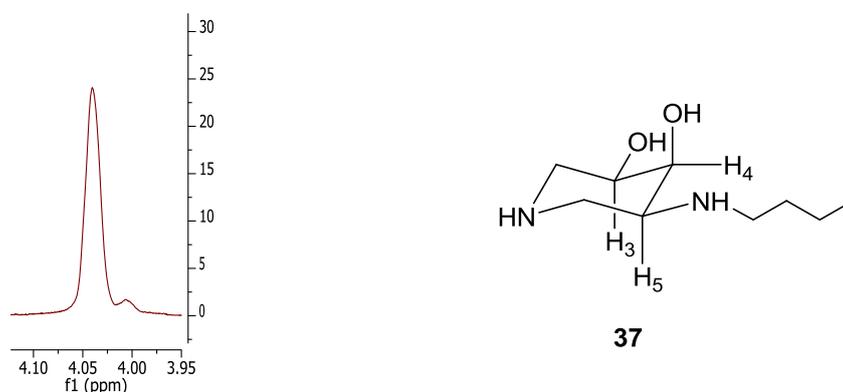


Figura 11: segnale del protone H₄ della piperidina **37**

Possiamo inoltre confrontare H₄ col protone corrispondente della piperidina **29**, in cui il C₅ ha opposta configurazione. Nella piperidina **29**, come si vede

in **figura 12**, il segnale dell' H_4 ha struttura completamente diversa, ovvero appare come un dd con una J di 8.3 Hz e l'altra di 2.9 Hz in quanto presenta un'interazione assiale-assiale con H_5 , e una assiale-equatoriale con H_3 .

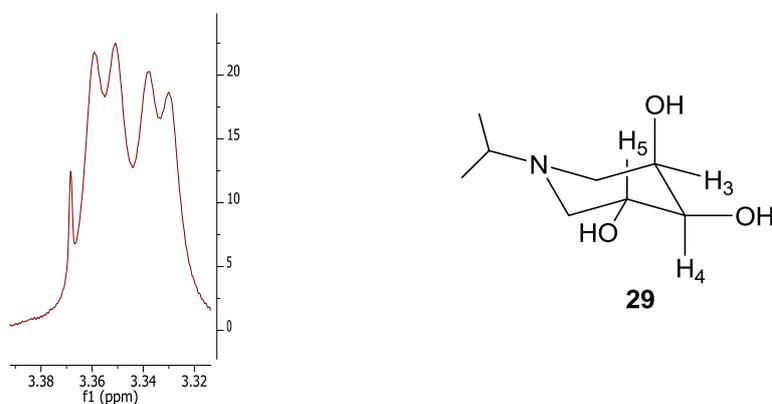


Figura 12: segnale del protone H_4 della piperidina **29**

Questa sarebbe dovuta essere la forma del segnale H_4 nelle piperidine **37** e **38**, se queste avessero la configurazione della piperidina **B'**, riportata in **figura 9**.

Quindi nelle reazioni di amminazione riduttiva effettuate la riduzione è stata stereoselettiva ed ha portato alla formazione esclusiva del prodotto 'all-cis.

Capitolo 3:
Conclusioni e
prospettive future

In questo progetto di tesi sono state sintetizzate e caratterizzate 4 nuove amminopiperidine (**figura 13**).

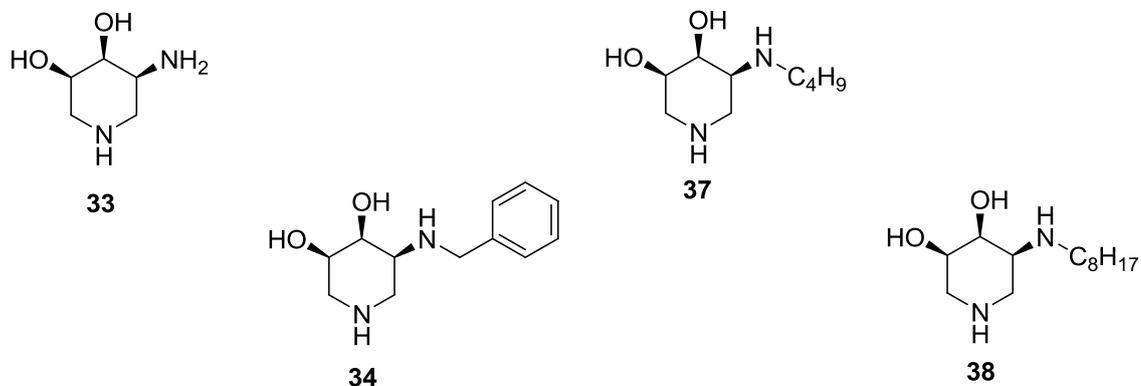


Figura 13

Su queste piperidine verranno effettuati dei test biologici per valutare la loro attività antibatterica, che saranno necessari anche per capire come una sostituzione diversa sull'atomo di azoto esociclico influenzi l'attività biologica del composto. In base a questi potremmo poi scegliere nuovi gruppi da poter inserire sull'azoto in posizione 5, usando lo stesso metodo sintetico.

In più è stata caratterizzata e sintetizzata anche la piperidina **29** (**figura 14**), un imminozucchero sul quale verranno effettuati test biologici per individuarne l'eventuale attività inibitoria verso glicosidasi, data l'attività di composti analoghi in particolare verso gli enzimi fucosidasi.

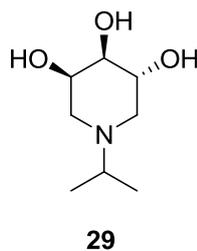
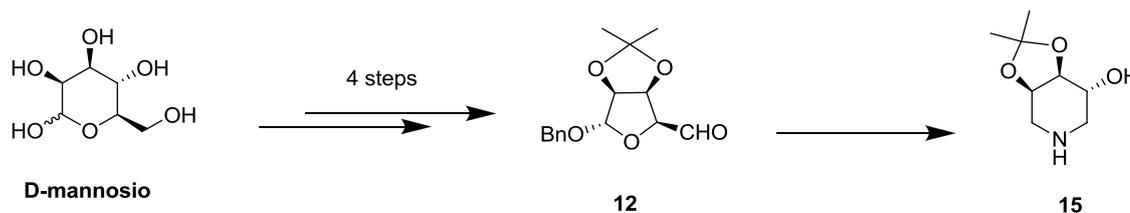


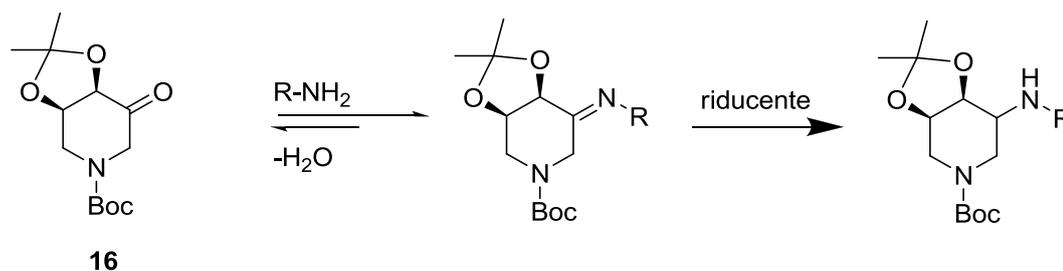
Figura 14

Le amminopiperidine sono state ottenute con una strategia sintetica che parte dal D-mannosio, passando attraverso un intermedio dialdeidico “mascherato”, avente la configurazione dell’aldeide D-lixarica, dal quale è stato ottenuto lo scheletro piperidinico (**schema 17**).



Schema 17

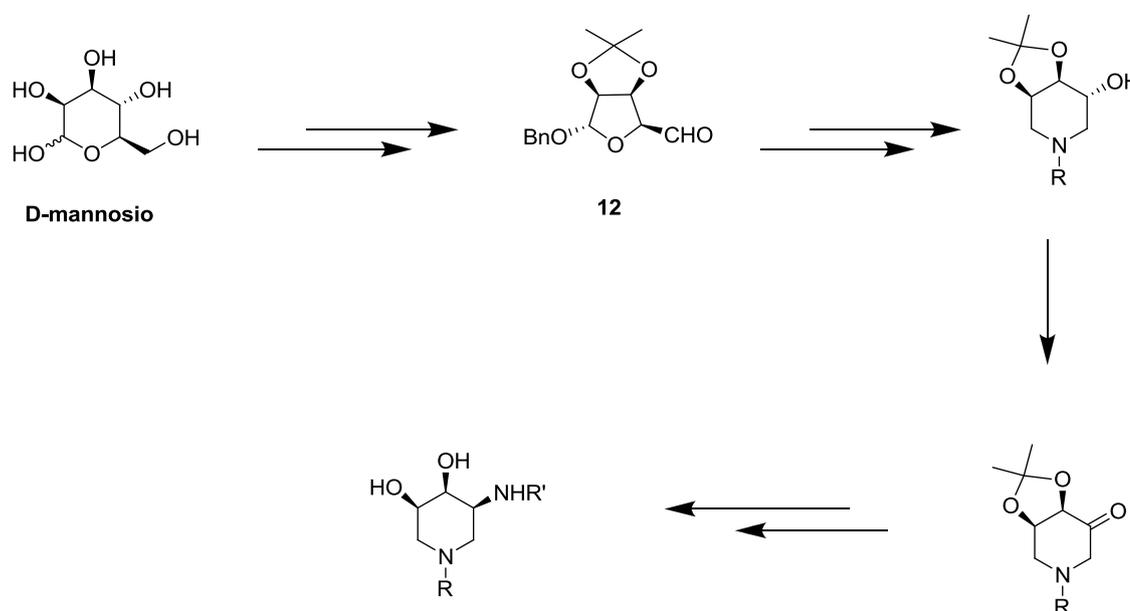
Ossidando successivamente l’ossidrile libero e proteggendo l’azoto endociclico col gruppo Boc, abbiamo inserito il gruppo amminico in posizione 5 tramite un’amminazione riduttiva condotta sul chetone **16** (**schema 18**).



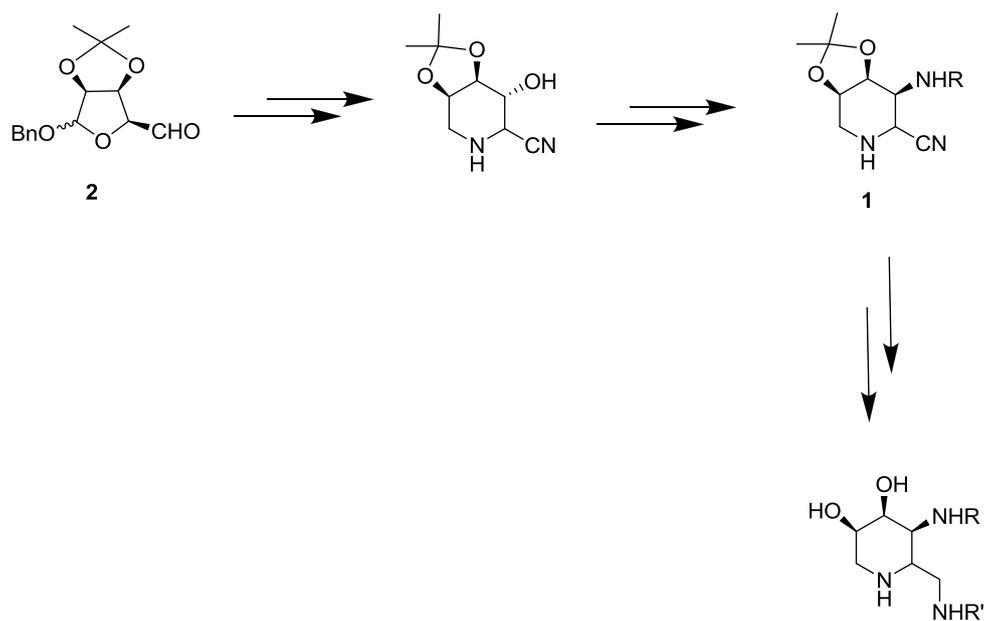
Schema 18

Utilizzando questa strategia sintetica è possibile sintetizzare una vasta gamma di amminopiperidine, semplicemente variando la natura dell’ammina; la reazione di amminazione riduttiva si è inoltre dimostrata stereoselettiva, portando sempre alla formazione dell’imminozucchero ‘all cis’.

La strategia sintetica che abbiamo utilizzato si rivela inoltre molto versatile poiché permette di sintetizzare una vasta gamma di amminopiperidine alchilate sia sull'atomo di azoto endociclico che esociclico (**schema 19**); infatti, semplicemente sostituendo la benzilammina nella reazione di doppia amminazione riduttiva con l'aldeide **12**, con qualsiasi altra ammina primaria possiamo ottenere un'alchilazione sull'atomo di azoto endociclico. Procedendo poi con l'ossidazione dell'OH in posizione 5, possiamo inserire un secondo gruppo amminico nuovamente tramite amminazione riduttiva sul chetone ottenuto.



Inoltre, nel nostro gruppo di ricerca è stata recentemente messa a punto una strategia sintetica che permette di ottenere, a partire dall'aldeide **12**, tramite una reazione di Strecker enantioselectiva, piperidine cianosostituite. Queste potranno poi essere trasformate, tramite opportuna conversione di gruppi funzionali, in nuove piperidine sostituite capaci di mimare, in linea di principio, l'attività del nucleo 2-DOS, ossia l'unità farmacoforica degli antibiotici aminoglicosidici (**schema 20**).



Schema 20

Capitolo 4:
Parte Sperimentale

Note generali

Gli spettri IR sono stati registrati con uno spettrometro Perkin Elmer 881.

Gli spettri NMR sono stati registrati con strumenti Varian Gemini 200 MHz o 300 MHz o con Advance 400 MHz Bruker, i valori di chemical shift sono riportati in ppm e sono relativi al segnale del TMS ($\delta = 0.00$ ppm).

Gli spettri di massa sono stati registrati con uno strumento LCQ-Fleet Thermoscientific.

I punti di fusione sono stati determinati con uno strumento RCH Kofler.

Le misure di potere ottico rotatorio sono state effettuate con un polarimetro Perkin El-mer 240 C/ Perkin Elmer JASCO DIP 370.

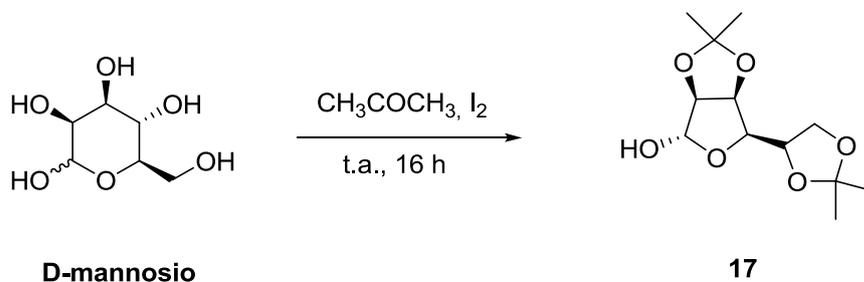
Le TLC sono state effettuate impiegando fogli di gel di silice dello spessore di 0.25 mm (Merck F254); la rivelazione delle macchie è stata fatta con lampada UV (254 nm), *p*-anisaldeide, KMnO₄, ninidrina o acido fosfomolibdico.

Le purificazioni dei prodotti sono state effettuate per via cromatografica mediante FCC (flash column chromatography) su gel di silice 32-63 Mesh.

Acronimi utilizzati:

AcOEt= acetato di etile, AcOH= acido acetico, Bn= benzile, Bu= butile, EtP= etere di petrolio, MeOH= metanolo, THF= tetraidrofurano; TLC= thin layer chromatography, FCC= flash column chromatography; Boc=terz-butossicarbammato, DMP= Dess Martin periodinane.

Sintesi del 2,3-5,6 diisopropilidene - α -D-mannofuranosio



Ad una sospensione di D-mannosio (7.02 g, 38,9 mmol) in acetone (350 ml) è stato aggiunto I₂ (2.07 g, 8,17 mmol) sotto agitazione magnetica. La soluzione inizialmente si presenta gialla fino a diventare bruna alla fine dell'aggiunta di iodio. La soluzione viene lasciata sotto agitazione magnetica a temperatura ambiente per 16 h. Una TLC di controllo (eluente AcOEt) ha mostrato la scomparsa del materiale di partenza.

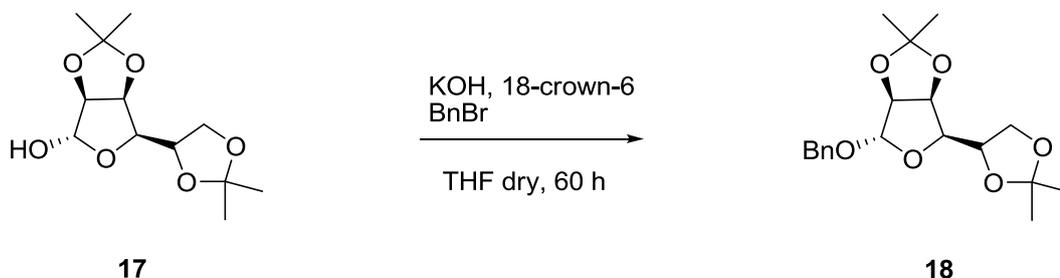
La miscela è stata quindi lavata con una soluzione satura di NaHCO₃ (100 ml) aggiunta in bagno di ghiaccio, e successivamente con soluzione satura di Na₂SO₃ (100 ml). E' stato evaporato successivamente l'acetone a pressione ridotta, e il prodotto è stato estratto dalla fase acquosa con CH₂Cl₂. La fase organica è stata poi lavata con una soluzione satura di NaHCO₃ (3x50 ml), anidrificata su Na₂SO₄ anidro ed infine è stato evaporato il solvente a pressione ridotta e il prodotto è stato seccato sotto vuoto.

Sono stati ottenuti 9.66 g (37.1 mmol) del composto **17** come solido bianco, con una resa del 95 %.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ ppm: 5.37 (d, J=2.5 Hz, 1H), 4.80 (dd, J=5.8, 3.6 Hz, 1H), 4.62 (d, J=5.8 Hz, 1H), 4.44-4.37 (m, 1H), 4.20 (dd, J=7.1, 3.6 Hz, 1H), 4.11-4.02 (m, 2H), 2.81 (m, 1H, *OH*), 1.45 (s, 6H, *Me*), 1.37 (s, 3H, *Me*), 1.32 (s, 3H, *Me*).

p.f.: 121-123°

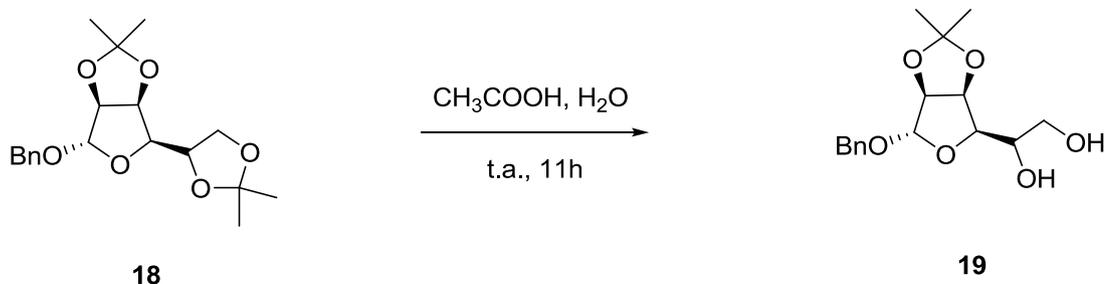
Sintesi del benzil 2,3-5,6-*O*-diisopropilidene- α -D-mannofuranoside



Ad una soluzione del composto **17** (7.82 g, 30.0 mmol) in THF anidro (75 ml), è stato aggiunto sotto agitazione e flusso di azoto KOH (3.06 g, 33.0 mmol), 18-crown-6 (0.33 g, 1.24 mmol) e BnBr (3.95 ml, 33.0 mmol). La soluzione diventa colore marroncino chiaro, con del solido bianco sospeso. Dopo 3 giorni, un controllo TLC (eluente EtP: AcOEt 2:1) ha mostrato la scomparsa del materiale di partenza. La soluzione è stata quindi trasferita in un imbuto separatore, rilavando con CH₂Cl₂ e la fase organica è stata rilavata con H₂O per tre volte, fino a quando la fase organica, inizialmente di colore arancione è diventata trasparente. La fase acquosa è stata poi rilavata con CH₂Cl₂ e le fasi organiche riunite sono state anidificate su Na₂SO₄ anidro. Dopo filtrazione del solfato il solvente è stato eliminato a pressione ridotta. Infine il grezzo è stato seccato alla pompa ad alto vuoto, ed è stato ottenuto il prodotto **18** (10.8 g, 30.0 mmol) come olio giallo con resa quantitativa.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ ppm = 7.39-7.26 (m, 5H, *Ar*), 5.08 (s, 1H), 4.80 (dd, *J*= 5.8, 3.6 Hz, 1H), 4.76-4.63 (m, 2H), 4.49 (d, *J*= 11.8 Hz, 1H), 4.44-4.38 (m, 1H), 4.11 (dd, *J*= 8.8, 6.3 Hz, 1H), 4.00-3.96 (m, 2H), 1.46 (s, 6H, *Me*), 1.39 (s, 3H, *Me*), 1.32 (s, 3H, *Me*).

Sintesi del benzil 2,3-O-isopropilidene-5,6-idrossi- α -D-mannofuranoside



Il composto **18** (10.5 g, 30.0 mmol) è stato solubilizzato in CH_3COOH glaciale (93 ml) e H_2O (40 ml) sotto agitazione magnetica. Dopo 11 h, una TLC di controllo (eluente EtP:AcOEt 3:1), ha mostrato la scomparsa del materiale di partenza. La soluzione di acido acetico e acqua è stata quindi evaporata a pressione ridotta, e la miscela è stata sciolta in AcOEt (150 ml). Successivamente sono stati fatti lavaggi con NaHCO_3 (3x60 ml), H_2O (2x30 ml) e brine (2x36 ml). La fase organica, anidrificata su solfato, è stata poi concentrata a pressione ridotta e infine seccata alla pompa. E' stato ottenuto il prodotto **19** come olio giallino con resa del 92% (8.54 g, 27.5 mmol). Il prodotto è stato utilizzato senza ulteriore purificazione per il passaggio successivo.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ ppm = 7.39-7.25 (m, 5H, *Ar*), 5.11 (s, 1H), 4.85 (dd, $J = 5.9, 3.3$ Hz, 1H), 4.67-4.56 (m, 2H), 4.59 (d, $J = 11.7$ Hz, 1H), 3.98-3.92 (m, 2H), 3.82 (dd, $J = 11.6, 2.8$ Hz, 1H), 3.65 (dd, $J = 11.6, 5.3$ Hz, 1H), 3.00 (brs, 1H, *OH*), 2.33 (brs, 1H, *OH*), 2.04 (s, 3H, *Me*), 1.47 (s, 3H, *Me*).

Sintesi del benzil 2,3-O-isopropilidene- α -D-lixo-pentodialdo-1,4-furanoside



Preparazione del NaIO₄ supportato su silice:²³

In 20 ml di acqua, scaldati a riflusso, sono stati disciolti 10.3 g di NaIO₄. Una volta disciolto il sale, sono stati aggiunti sotto agitazione magnetica 40 g di silice. È importante che la silice venga aggiunta a caldo, altrimenti il NaIO₄ precipita a freddo.

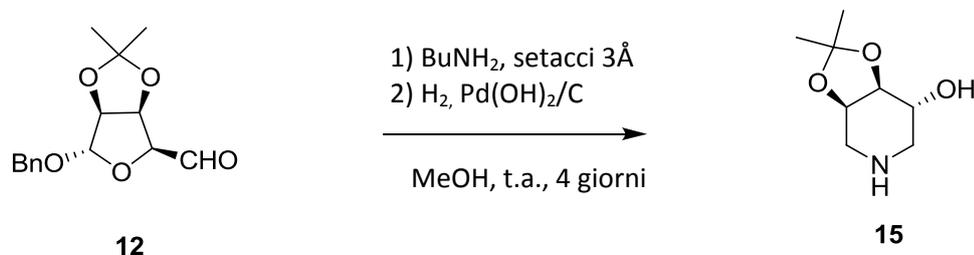
Ad una sospensione di NaIO₄ supportato su SiO₂ (60 g) in diclorometano (140 ml), è stato aggiunto sotto agitazione magnetica il diolo **19** (8.55 g, 27.6 mmol). La miscela è stata lasciata sotto agitazione magnetica per 3.5 ore a temperatura ambiente, dopodichè una TLC di controllo (eluente EtP:AcOEt 2:1) ha mostrato la scomparsa del materiale di partenza (R_f= 0.4).

La miscela di reazione è stata poi filtrata su celite, lavando con CHCl₃. Il solvente è stato successivamente evaporato a pressione ridotta e infine seccato alla pompa ad alto vuoto per ottenere l'aldeide **12** come liquido oleoso giallo (6.59 g, 23.7 mmol) con resa dell'86%.

L'aldeide **12** così ottenuta è possibile conservarla in freezer, in atmosfera di azoto e in presenza di setacci, affinché non si idrati. Se questo succede, è possibile ottenere nuovamente l'aldeide tramite disidratazione per passaggio su silice eluendo con AcOEt:EtP 1.5:1 (R_f= 0.6).

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ ppm: 9.68 (s, 1H, CHO), 7.38-7.26 (m, 5H, *Ar*), 5.29 (s, 1H), 5.19 (dd, J=6.0, 4.0 Hz, 1H), 4.71 (m, 2H), 4.50 (m, 2H), 1.43 (s, 3H, *Me*), 1.29 (s, 3H, *Me*).

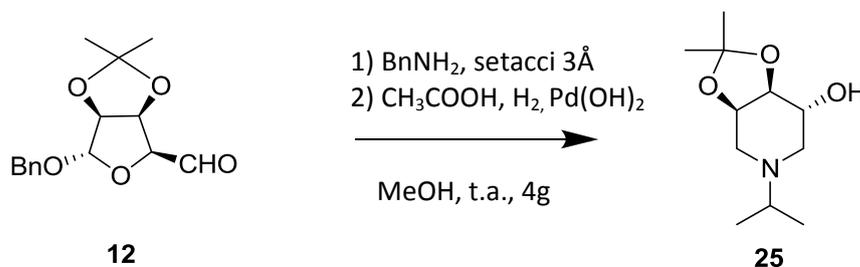
Sintesi della (3*R*,4*S*,5*R*)-5-idrossi-3,4-*O*-(1- metiletilidene)-piperidina



L'aldeide **12** (946 mg, 3.40 mmol) è stata sciolta sotto agitazione magnetica e sotto flusso di azoto in MeOH (38 ml) e a questa soluzione sono stati aggiunti i setacci molecolari 3Å e benzilammina (0.37 ml, 3.40 mmol). E' stata attesa la formazione dell'immina, e dopo circa 40 minuti, dopo controllo ¹H-NMR alla miscela è stato aggiunto il Pd(OH)₂/C (473 mg). Dopodiché è stato gorgogliato in soluzione per circa 40 minuti H₂, e infine la miscela di reazione è stata lasciata in atmosfera di idrogeno per 24 ore. Dopo 24 ore, avendo visto che la reazione non era terminata, è stato rinnovato il catalizzatore. Dopo altri 3 giorni, è stata riscontrata tramite controllo ¹H-NMR la scomparsa dei segnali dei protoni benzilici, quindi il termine della reazione. E' stato quindi rimosso il catalizzatore tramite filtrazione su celite e il grezzo di reazione è stato purificato tramite FCC (eluente CH₂Cl₂: MeOH:NH₃ 6% 10:1:0.1, rf= 0.44). Sono stati ottenuti 212 mg del prodotto **15** (1.22 mmol, resa 36%).

¹H-NMR (300 MHz, CD₃OD) δ ppm = 4.18 (dt, J= 5.5, 3.1 Hz, 1H, H-3), 3.88 (pt, J= 5.9 Hz, 1H, H-4), 3.67 (ddd, J= 9.4, 6.5, 4.5 Hz, 1H, H-5), 3.10 (dd, J= 14.7, 2.2 Hz, 1H, Ha-2), 2.94-2.89 (m, 1H, Ha-6), 2.90 (dd, J= 14.6, 3.7 Hz, 1H, Hb-2), 2.34 (dd, J= 13.3, 9.4 Hz, 1H, Hb-6), 1.49 (s, 3H, Me), 1.34 (s, 3H, Me).

Sintesi della (3*R*,4*S*,5*R*)-1-isopropil-3,4-*O*-(1-metiletilidene)-5-idrossi piperidina



L'aldeide **12** (570 mg, 2.05 mmol), è stata sciolta in MeOH (90 ml) in presenza di setacci molecolari 3 Å. La miscela è stata posta sotto flusso di azoto e successivamente è stata aggiunta la benzilammina (220 µl, 2.05 mmol). Dopo 40 minuti è stato aggiunto il Pd(OH)₂ (285 mg), ed è stato gorgogliato l'H₂ in soluzione per circa 20 minuti. Dopodiché è stato aggiunto l'acido acetico (58 µl, 1.02 mmol) e la miscela di reazione è stata lasciata sotto atmosfera di idrogeno per 4 giorni, quando un controllo ¹H-NMR ha mostrato la scomparsa dei segnali dei protoni benzilici. E' stato quindi rimosso il catalizzatore tramite filtrazione su celite, evaporato il solvente a pressione ridotta e il grezzo ottenuto è stato purificato tramite FCC eluendo con CH₂Cl₂:MeOH:NH₃ 6% 10:1:0.1 (rf= 0.7) per ottenere 121 mg della piperidina **25** (0.56 mmol, resa 54%). Il prodotto è stato completamente caratterizzato.

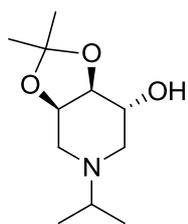
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm= 4.30-4.25 (m, 1H, H-3), 4.08 (dd, J= 5.0, 3.4 Hz, 1H, H-4), 3.92 (dd, J= 6.4, 3.6 Hz, 1H, H-5), 2.84-2.76 (m, 2H, Ha-2, *N*-*iPr*), 2.61-2.59 (m, 2H, H-6), 2.38 (dd, J₁= 11.6, 8.0 Hz, 1H, Hb-2), 1.49 (s, 3H, *Me*), 1.34 (s, 3H, *Me*), 1.00 (d, J= 6.6 Hz, 3H, *N*-*iPr*), 1.00 (d, J= 6.6 Hz, 3H, *N*-*iPr*).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz, CDCl_3) δ ppm= 108.9 (s, 1C, acetale), 77.3 (d, 1C, C-4), 71.9 (d, 1C, C-3), 66.5 (d, 1C, C-5), 54.0 (d, 1C, *N-iPr*), 51.7 (t, 1C, C-2), 50.3 (t, 1C, C-6), 28.0 (q, 1C, *Me*), 26.1 (q, 1C, *Me*), 18.0 (q, 1C, *N-iPr*) 17.5 (q, 1C, *N-iPr*).

MS-ESI (m/z, %): 216, 11 (MH^+ ,100).

IR (CDCl_3): 3469, 2938, 2970, 2837, 2249, 1660, 1459, 1405, 1383, 1325, 1291, 1253, 1219, 1163, 1058 cm^{-1} .

$[\alpha]_{\text{D}}^{24}$: +23.0 (CHCl_3 , $c = 1.04$).



25

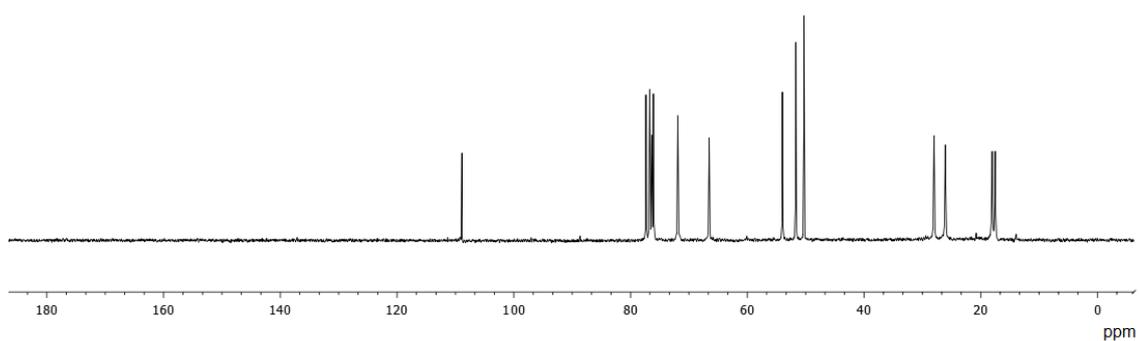
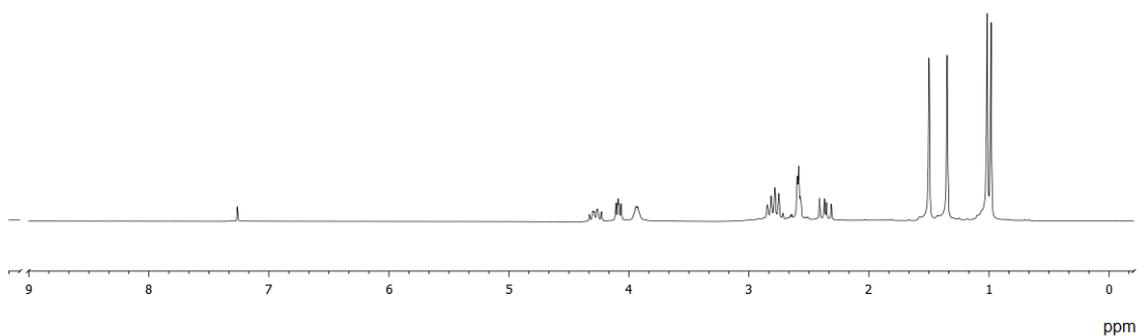
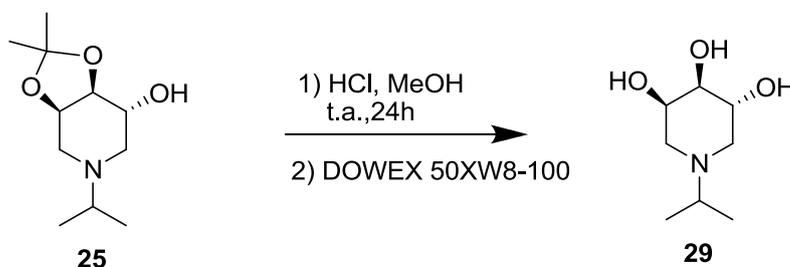


Figura 15: spettri ¹H-NMR (400 MHz) e ¹³C-NMR (50 MHz) del composto **25** in CDCl₃.

Sintesi della (3*R*,4*S*,5*R*)-1-isopropil-3,4,5-idrossi piperidina



La piperidina **25** (40 mg, 0.19 mmol), è stata sciolta in MeOH (10 ml) e a questa soluzione sono state aggiunte 7-8 gocce di HCl al 37%. Dopo 24 h il solvente è stato evaporato a pressione ridotta e il grezzo ottenuto è stato passato su resina DOWEX 50XW8-100, eluendo le prime frazioni con MeOH e H₂O per eliminare le impurezze, e infine con NH₃ al 6% per ottenere la piperidina **29** con resa del 100% (33 mg, 0.19 mmol).

¹H-NMR (400 MHz, D₂O) δ ppm= 3.86 (m, 1H, H-3), 3.72 (td, J=8.8, 4.4 Hz, 1H, H-5), 3.34 (dd, J=8.3, 2.9 Hz, 1H, H-4), 2.77-2.64 (m, 3H, Ha-2, Ha-6, *N-iPr*), 2.31 (dd, J=12.4, 1.7 Hz 1H, Hb-2), 2.12 (t, J= 10.0 Hz, 1H, Hb-6), 0.91 (d, J=9.3 Hz, 3H, *N-iPr*), 0.89 (d, J=9.2 Hz, 3H, *N-iPr*).

¹³C-NMR (50 MHz, D₂O) δ ppm= 73.6 (d, 1C, C-4), 67.7 (d, 1C, C-5), 67.5 (d, 1C, C-3), 54.0 (d, 1C, *N-iPr*), 52.2 (t, 1C, C-6), 50.6 (t, 1C, C-2), 17.6 (q, 1C, *N-iPr*), 16.2 (q, 1C, *N-iPr*).

MS-ESI (m/z, %): 198,17 (MNa⁺,100).

IR (CDCl₃): 3469, 2938, 2970, 2837, 2249, 1660, 1459, 1405, 1383, 1325, 1291, 1253, 1219, 1163, 1058 cm⁻¹.

[α]_D²⁴: -41.9 (H₂O, c= 0.65).

Parte Sperimentale

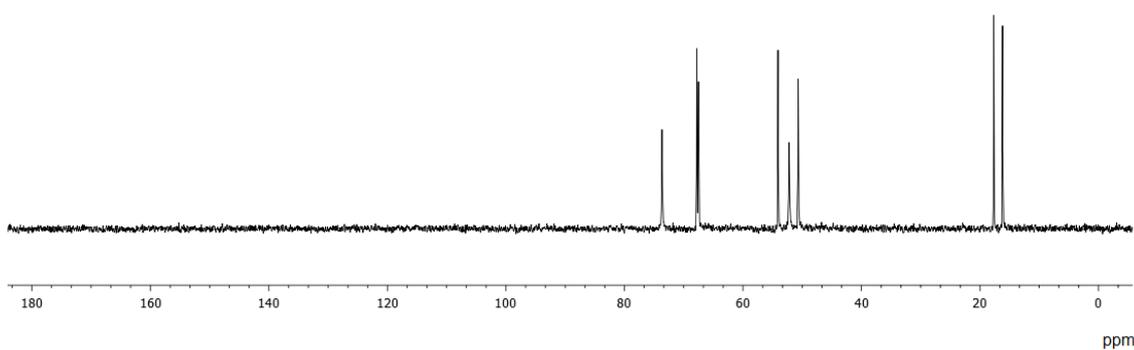
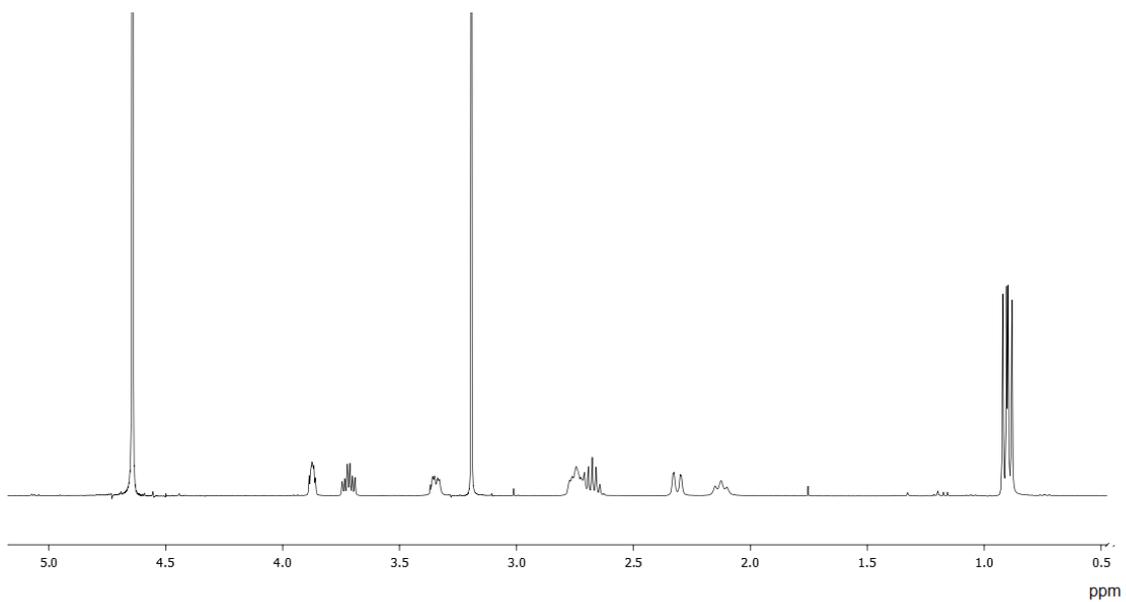
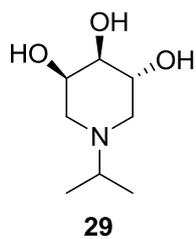
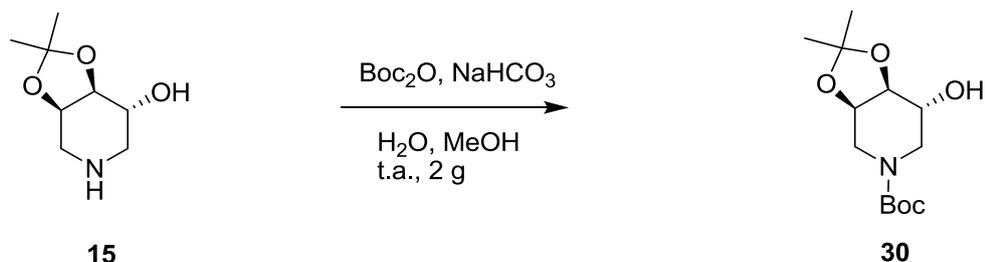


Figura 16: spettri $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz) e $^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz) del composto **29** in D_2O .

Sintesi del (3*R*,4*S*,5*R*) -1-(*N*-*terz*-butossi carbonil)-3,4-*O*-(1-metiletilidene)-5-idrossi piperidina



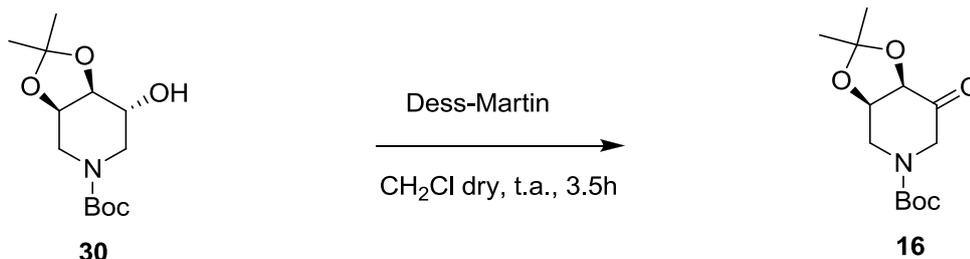
La piperidina **15** (212 mg, 1.22 mmol) è stata sciolta in H_2O (3.5 ml) ed a questa soluzione è stato aggiunto NaHCO_3 (159 mg, 1.89 mmol). E' stata attesa la completa solubilizzazione del NaHCO_3 dopodiché sono stati aggiunti MeOH (3.5 ml) e Boc_2O (399 mg, 1.89 mmol).

La miscela di reazione è stata lasciata sotto agitazione magnetica per due giorni, e tramite controllo TLC (eluente $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$ 7:1) è stato riscontrato il termine della reazione. Prima di procedere al work up è stato fatto un controllo del pH, che è risultato essere basico. Dopodiché il MeOH è stato evaporato a pressione ridotta. Il prodotto è stato successivamente estratto in fase organica tramite estrazioni con AcOEt e le fasi organiche riunite sono state lavate con una soluzione satura di NaCl (3x9 ml). E' stato poi rimisurato il pH della fase acquosa per avere conferma che fosse basico.

La fase organica è stata infine anidrificata su Na_2SO_4 anidro, il solvente è stato evaporato a pressione ridotta per ottenere un olio trasparente che è stato infine seccato alla pompa. E' stato ottenuto il prodotto **30** (303 mg, 1.11 mmol) con una resa del 91%. Il prodotto è stato usato senza ulteriore purificazione per la reazione successiva.

¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ ppm = 4.27 (br s, 1H, H-3), 4.05 (pt, J= 5.4 Hz, 1H, H-4), 3.90-3.82 (m, 2H, H-5, Ha-2), 3.57 (dd, J= 13.7, 3.3 Hz, 1H, Ha-6), 3.42 (dd, J= 14.3, 3.4 Hz, 1H, Hb-2), 3.31-3.21 (m, 1H, Hb-6), 1.42 (s, 12H, *t-Bu*, *Me*), 1.31 (s, 3H, *Me*).

Sintesi del (3*R*,4*S*) -1-(*N*-terz-butossi carbonil)-3,4-*O*-(1-metiletilidene) piperid-5-one



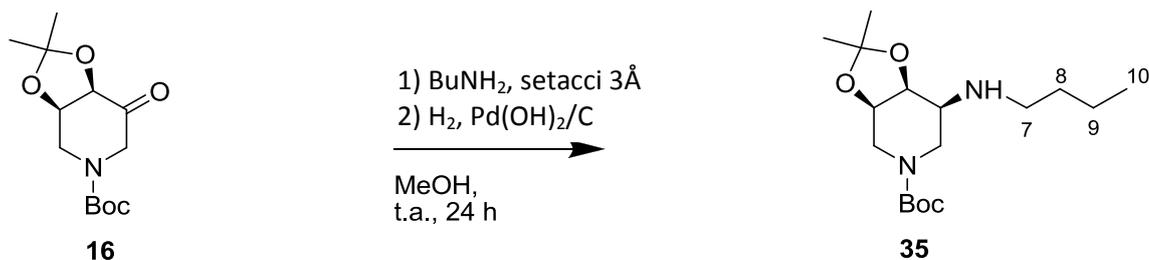
Il composto **30** (303 mg, 1.11 mmol), posto sotto flusso di azoto, è stato sciolto in CH₂Cl₂ anidro (11.6 ml). Alla soluzione, sempre sotto flusso di azoto è stato aggiunto il reagente di Dess-Martin (704 mg, 1.66 mmol).

Dopo 2 ore un controllo TLC (eluente EtP:AcOEt 1:1) ha mostrato la scomparsa del materiale di partenza.

La soluzione è quindi stata lavata con soluzione satura di NaHCO₃ (3x50 ml). La fase acquosa inoltre è stata lavata con CHCl₃. Il grezzo è stato poi purificato tramite cromatografia su colonna, con eluente EtP: AcOEt 1:1 (R_f= 0.44) per dare 244 mg del composto **16** puro (0.90 mmol, resa 81%).

¹H-NMR (CDCl₃, 200 MHz) δ ppm= 4.65 (brs, 1H), 4.40 (d, J= 7.3 Hz, 1H, H-4), 4.38-4.25 (m, 1H, Ha-6), 3.94 (d, J= 18.4 Hz, 1H, Hb-6), 3.85-3.68 (m, 1H, Ha-2), 3.60 (dd, J= 14.7, 3.9 Hz, 1H, Hb-2), 1.47 (s, 12H, *t*-Bu, Me), 1.38 (s, 3H, Me).

Sintesi della (3*R*,4*S*,5*S*) -1-(*N*-*terz*-butossi carbonil)-3,4-*O*-(1-metiletilidene)-5-(*N*-butil) amminopiperidina



Il chetone **16** (68 mg, 0.25 mmol) è stato sciolto in MeOH (5 ml) e sono stati aggiunti a questa soluzione i setacci molecolari attivati. La soluzione è stata lasciata sotto flusso di azoto e sotto agitazione magnetica per circa 15 minuti, dopodichè è stato aggiunta BuNH₂ (37 µL, 0.38 mmol). La miscela è stata lasciata sotto agitazione magnetica per 50 minuti.

Successivamente è stato aggiunto il Pd(OH)₂/C (34 mg), è stato gorgogliato H₂ per circa 20 minuti e infine la reazione è stata lasciata sotto atmosfera di idrogeno per 24 h, fino a che una TLC di controllo (eluente EtP:AcOEt 1:2) ha mostrato la scomparsa del materiale di partenza.

La miscela di reazione è stata quindi filtrata su celite per rimuovere il catalizzatore ed il grezzo ottenuto è stato purificato tramite cromatografia su colonna (eluente EtP:AcOEt 2:1, R_f= 0.16). Infine sono stati ottenuti 57 mg (0.17 mmol) del prodotto **35** come olio trasparente con resa del 69%. Il prodotto è stato caratterizzato tramite ¹H-NMR 200 MHz, ¹³C-NMR e MS-ESI.

¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ ppm= 4.46 (m, 1H, H-4), 4.29 (br s, 1H, H-3), 3.59-3.50 (m, 2H), 3.31, (dd, J= 14.3, 3.7 Hz, 1H), 2.98-2.65 (m, 4H), 1.56-1.16 (m, 19H, *t*-Bu, Me, H-8, H-9), 0.86 (t, J= 7.1 Hz, 3H, H-10).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz, CDCl_3) δ ppm= 155.2 (s, 1C, $\text{N}\underline{\text{C}}\text{OO}(\text{CH}_3)_3$), 108.8 (s, 1C, acetale), 79.7 (s, 1C, $\text{O}\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_3$), 72.4 (2C, C-3, C-4), 53.5, 46.6, 42.8 (4C, C-2, C-5, C-6, C-7), 32.4-20.3 (7C, *t-Bu*, *Me*, C-8, C-9), 13.9 (q, 1C, C-10).

MS-ESI (m/z, %): 329, 25 (MH^+ , 100).

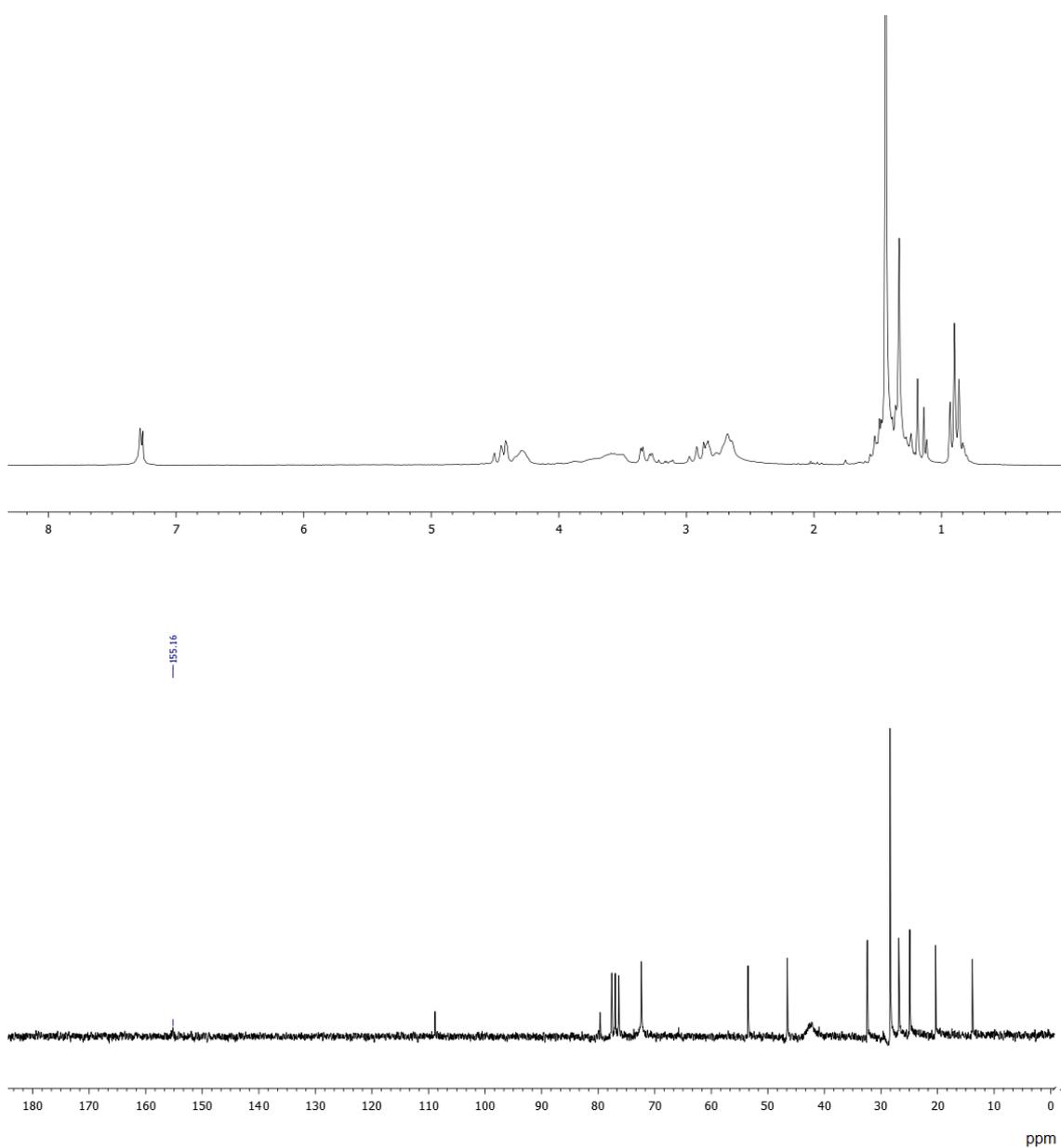
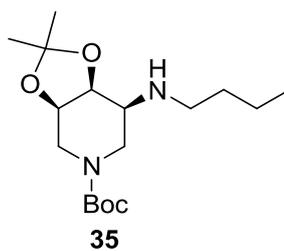
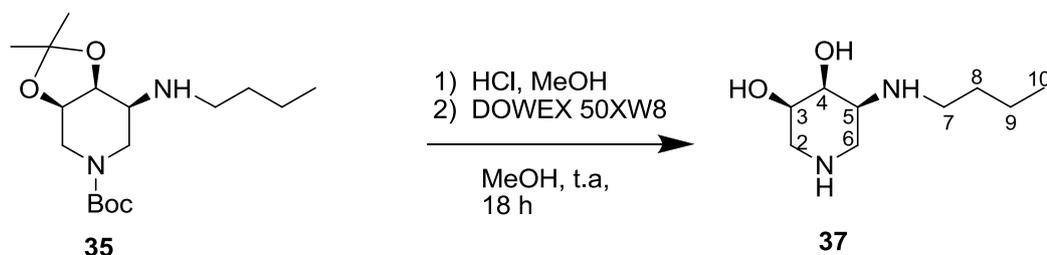


Figura 17: spettri $^1\text{H-NMR}$ (200 MHz) e $^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz) del composto **35** in CDCl_3 .

Sintesi della (3*R*,4*S*,5*S*) -3,4-idrossi-5-(*N*-butil) amminopiperidina



L'ammina **35** (20 mg, 0.06 mmol) completamente protetta è stata sciolta in MeOH (4 ml), e a questa soluzione è stato aggiunto HCl 37 % (4-5 gocce).

La soluzione è stata mantenuta sotto agitazione magnetica per una notte.

Il giorno dopo la soluzione è stata concentrata fino a far evaporare il solvente per ottenere il prodotto **37** sotto forma di cloridrato con resa quantitativa.

Il composto è stato poi purificato tramite passaggio su resina (DOWEX 50XW8-100) eluendo inizialmente con MeOH e H₂O, per eliminare le impurezze, infine con NH₃ al 6% per ottenere il composto desiderato. Sono stati ottenuti 12 mg (0.06 mmol) del composto **37** come olio trasparente con resa 100% rispetto a **35**. Il prodotto è stato completamente caratterizzato.

¹H-NMR (400 MHz, D₂O) δ ppm= 4.04 (brs, 1H, H-4), 3.56 (m, 1H, H-3), 2.77-3.89 (m, 7H, H-2, H5, H-6, H-7), 1.38 (quint, J= 7.4 Hz, 2H, H-8), 1.22 (sest, J= 7.3 Hz, 2H, H-9) 0.78 (t, J= 7.3 Hz, 3H, H-10).

¹³C-NMR (50 MHz, D₂O) δ ppm= 68.6 (d, C-3), 67.9 (d, C-4), 56.2 (d, C-5), 44.9 (t, C-7) 44.3, (t, C-2), 42.3 (t, C-6), 30.1 (t, C-8), 19.7 (t, C-9) 13.1 (q, C-10).

MS- ESI (m/z, %): 189.17 (MH⁺, 100).

[α]_D²⁶ = -8.1 (c= 0.44, H₂O).

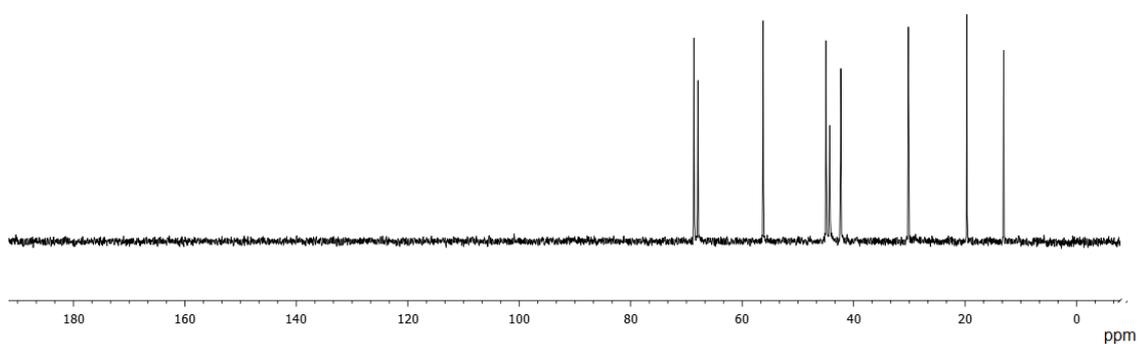
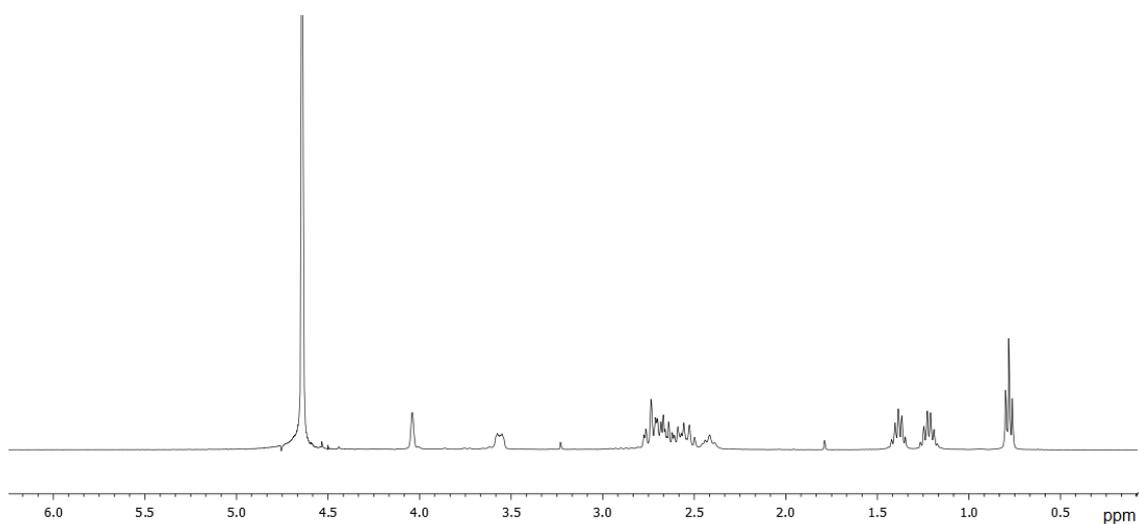
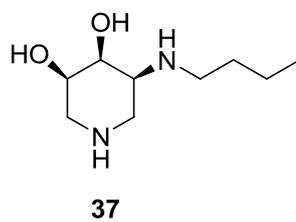
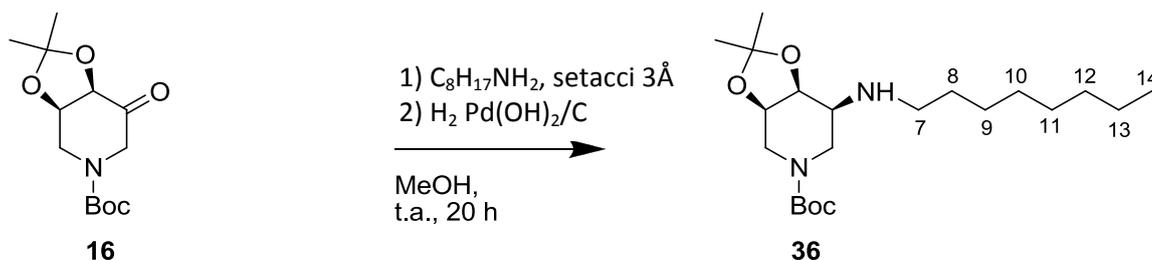


Figura 18: spettri $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz) e $^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz) del composto **37** in D_2O .

Sintesi della (3*R*,4*S*,5*S*)-1-(*N*-terz-butossi carbonil) -3,4-*O*-(1-metiletilidene)-5-(*N*-ottil) amminopiperidina



Il chetone **16** (52 mg, 0.19 mmol) è stato solubilizzato in MeOH (4 ml). A questa soluzione sono stati aggiunti i setacci molecolari e il tutto è stato mantenuto sotto flusso di azoto per circa 15 minuti. A questa soluzione è stata poi aggiunta ottilammina (47 µl, 0.28 mmol). Circa 50 minuti dopo è stato aggiunto il catalizzatore e gorgogliato l'H₂. Dopo aver gorgogliato H₂ per circa 20 minuti, la miscela di reazione è stata mantenuta in atmosfera di idrogeno per 20 h, quando una TLC di controllo (eluente EtP:AcOEt 1:1) ha mostrato la scomparsa del chetone.

Una filtrazione su celite ha consentito la rimozione del catalizzatore e il grezzo è stato purificato tramite cromatografia su colonna (con eluizione in gradiente da EtP:AcOEt 5:1, R_f= 0.2 a EtP:AcOEt 2:1, R_f= 0.39).

Sono stati ottenuti 39 mg del prodotto **36** come olio trasparente (0.10 mmol, resa del 53 %).

¹H-NMR (200 MHz, D₂O) δ ppm= 4.44 (m, 1H, H-4), 4.30 (br s, 1H, H-3), 3.79-3.55 (m, 2H), 3.32 (dd, J= 14.1, 3.5 Hz, 1H), 2.98-2.68 (m, 4H), 1.99 (m, 2H, H-8), 1.53-1.13 (m, 27H, C-9, C-10, C-11, C-12, C-13, Me, *t*-Bu), 0.87 (t, J=6.3 Hz, 3H, C-14).

¹³C-NMR (50 MHz, D₂O): 155.2 (s, 1C, NCOO*t*Bu), 108.8 (s, 1C, acetonide), 79.6 (s, 1C, OC(CH₃)₃), 72.4 (d, 2C, C-3, C-4), 53.5, 46.9 (2C, C-5, C-7), 42.4 (t, 2C, C-2, C-6), 31.8-22.6 (11 C, C-8, C-9, C-10, C-11, C-12, C-13, *Me*, *t*-*Bu*), 14.0 (q, 1C, C-14).

MS-ESI (m/z, %): 385.33 (MH⁺, 100).

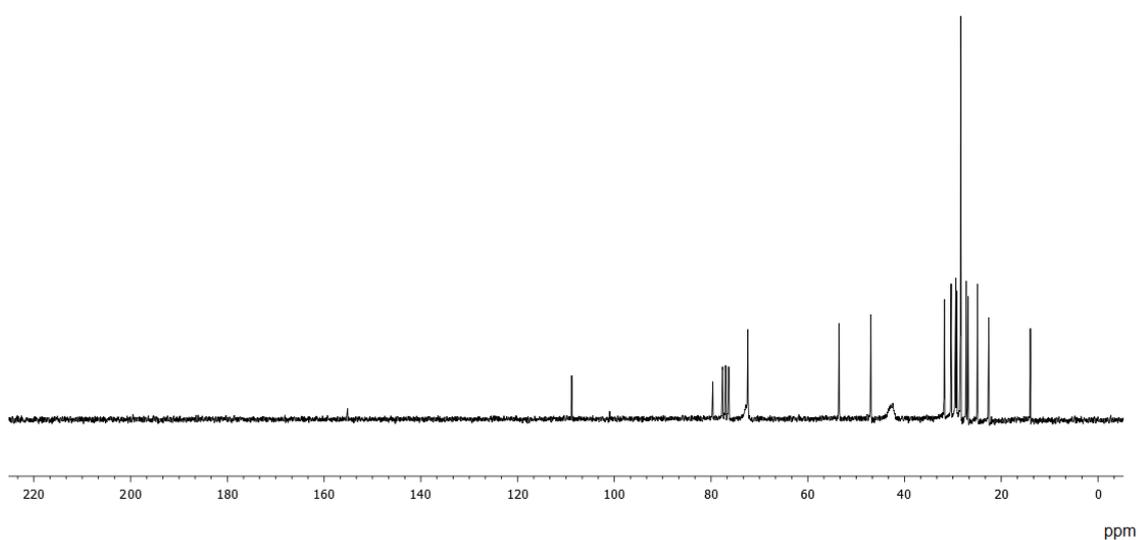
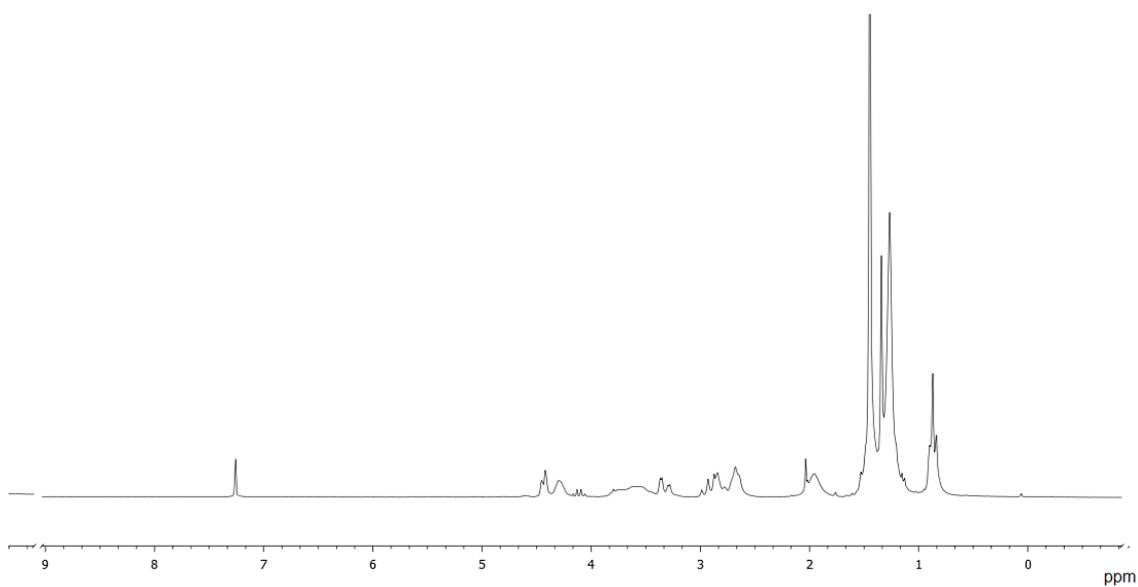
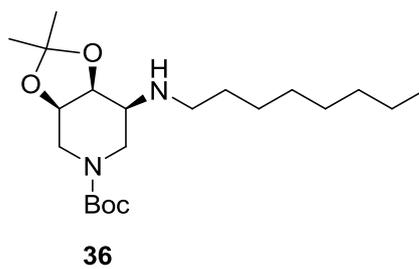
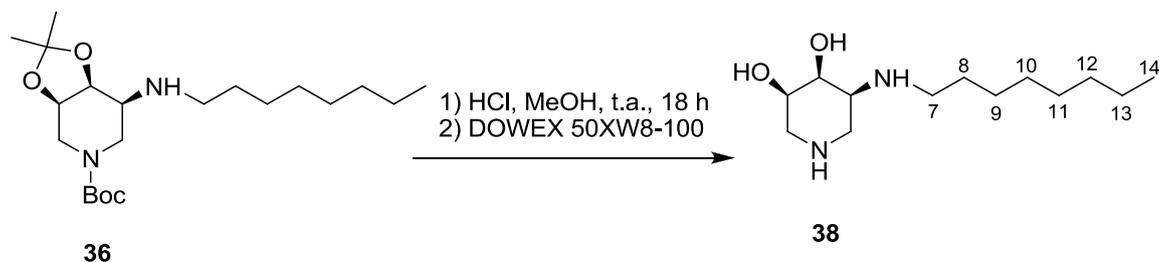


Figura 19: spettri $^1\text{H-NMR}$ (200 MHz) e $^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz) del composto **36** in CDCl_3 .

Sintesi della (3*R*,4*S*,5*S*)-3,4-idrossi-5-(*N*-ottil) amminopiperidina



La piperidina **36** (38 mg, 0.10 mmol), è stato disciolto in MeOH (5 ml) e a questa soluzione sono state aggiunte 5 gocce di HCl al 37 %. La miscela di reazione è stata mantenuta sotto agitazione magnetica tutta la notte.

Dopodichè il solvente è stato evaporato a pressione ridotta per dare 42 mg del prodotto **38** sotto forma di cloridrato, con resa quantitativa.

Il grezzo è stato poi passato sulla resina DOWEX 50XW8-100, eluendo inizialmente con MeOH e H₂O, per eliminare le impurezze, infine con NH₃ al 6% per ottenere la piperidina **38** come olio trasparente (14 mg, 0.057 mmol), con resa del 57 %.

Il prodotto è stato completamente caratterizzato.

¹H-NMR (400 MHz, D₂O) δ ppm= 4.03 (brs, 1H, H-4), 3.57 (d, J= 7.2 Hz, 1H, H-3), 2.78-2.47 (m, 7H, H-2, H-5, H-6, H-7), 1.42 (br s, 2H, H-8), 1.17 (m, J=11.2 Hz, 10H, H-9, H-10, H-11, H-12, H-13), 0.74 (t, J=6.8, 3H, H-14).

¹³C-NMR (50 MHz, D₂O) δ ppm= 67.7 (d, 1C, C-3), 66.8 (d, 1C, C-4), 55.6 (d, 1C, C-5), 44.8 (t, 1C, C-7), 43.7 (t, 1C, C-2), 41.4 (t, 1C, C-6), 30.6-21.4 (6 C, C-8, C-9, C-10, C-11, C-12, C-13), 12.8 (q, 1C, C-14).

MS-ESI (m/z, %): 245.25 (MH⁺, 100).

[α]_D²⁴ = -2.5 (c= 0.36, MeOH).

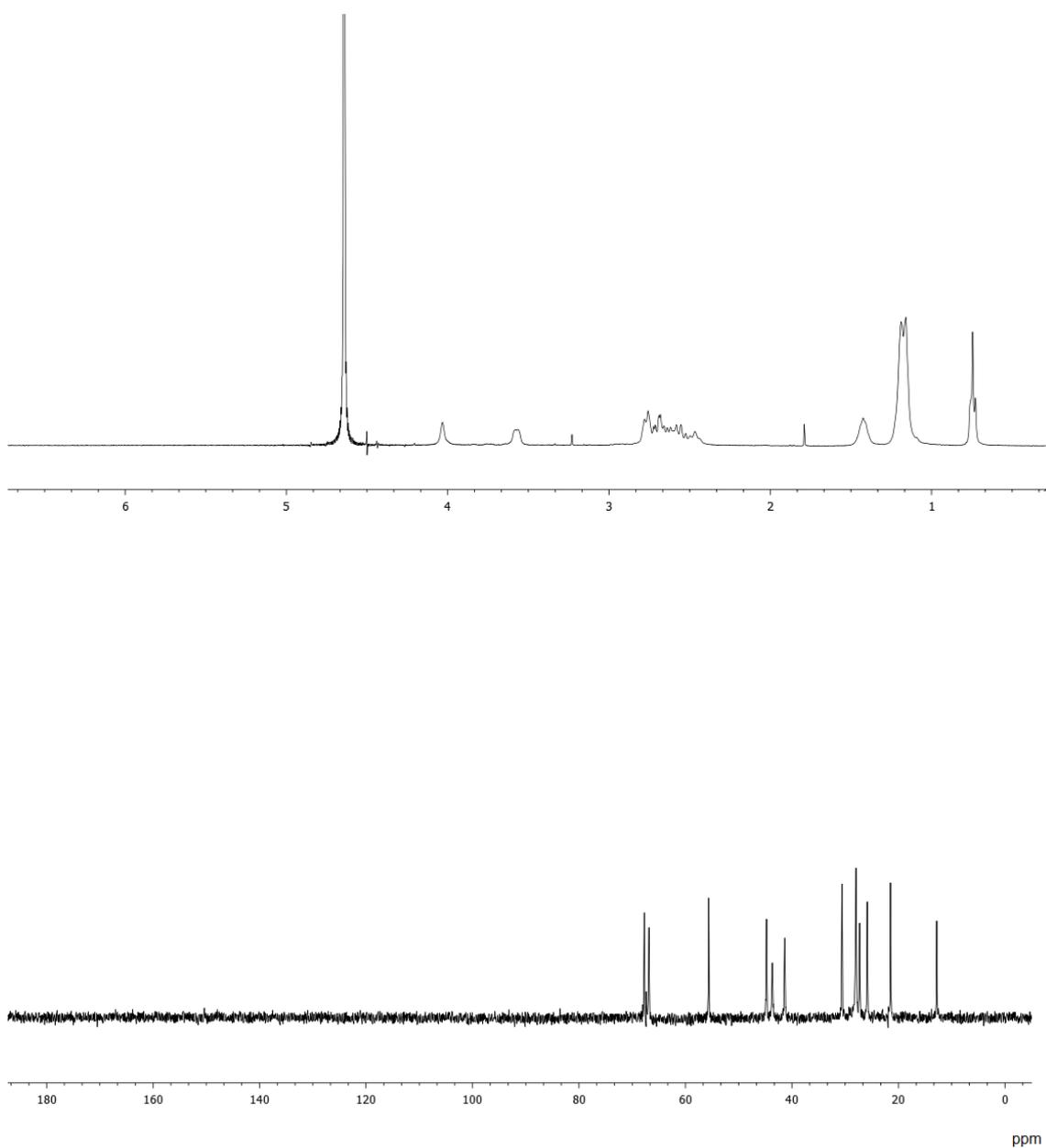
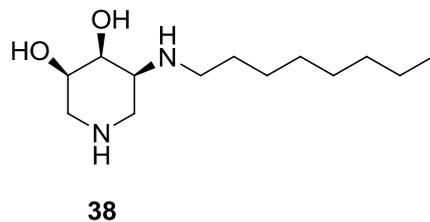
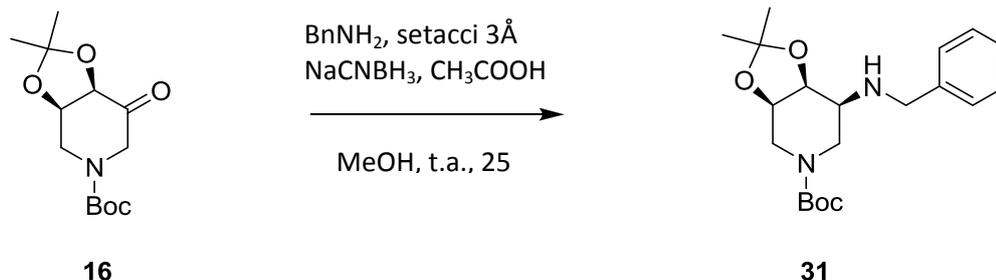


Figura 20: spettri 1H -NMR (400 MHz) e ^{13}C -NMR (50 MHz) del composto **38** in D_2O .

Sintesi del (3*R*,4*S*,5*S*) -1-(-*N*-terz-butossi carbonil)-3,4-*O*-(1-metiletilidene)-5-(*N*-benzil) amminopiperidina



Il chetone **16** (69 mg, 0.25 mmol) è stato disciolto in MeOH (4.5 ml) distillato e anidrificato su setacci 3Å. La soluzione è stata messa sotto flusso di azoto per circa 15 minuti, dopodichè è stata aggiunta la benzilammina (42.6 µl, 0.39 mmol) e l'acido acetico (22.3 µl, 0.39 mmol). Dopo circa 3 h, è stato aggiunto ancora CH₃COOH (8µl, 0.13 mmol) e NaCNBH₃ (48.98 mg, 0.78 mmol).

La soluzione è stata mantenuta in atmosfera di azoto per circa 25 h, quando un controllo ¹H-NMR ha mostrato la formazione del prodotto desiderato.

La miscela di reazione è stata filtrata su celite per ottenere 208 mg di prodotto grezzo con resa quantitativa.

Il grezzo è stato successivamente purificato tramite FCC (eluente EtP:AcOEt:Et₃N 2:1:0.1, R_f= 0.43) per ottenere 43 mg (0.12 mmol) del prodotto **31** con resa del 47%.

Il prodotto è stato completamente caratterizzato.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm= 7.39-7.23 (m, 5H, *Ar*), 4.41 (dd, J= 6.8, 2.5 Hz, 1H, H-4), 4.27 (br s, 1H, H-3), 3.90 (m, 2H, -CH₂Ph), 3.66-3.55 (m, 2H, Ha-2, Ha-6), 3.28 (dd, J=14.0, 3.9 Hz, 1H, Hb-2), 2.98 (*pt*, J= 11.7, 1H, Hb-6), 2.84 (m, 1H, H-5), 1.45 (s, 12H, *t*-Bu, Me), 1.34 (s, 3H, Me).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz, CDCl_3) δ ppm = 155.2 (s, 1C, $\text{N}\underline{\text{C}}\text{OO}t\text{Bu}$), 139.9 (s, 1C, *Ar*), 128.4-127.1 (d, 5C, *Ar*), 108.8 (s, 1C, acetonide), 79.7 (s, 1C, $\text{O}\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_3$), 72.4 (d, 2C, C-3, C-4), 52.4 (d, 1C, C-5), 50.5 (t, 1C, $-\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{Ph}$), 42.5 (t, 2C, C-2, C-6), 28.4 (3C, *t-Bu*), 26.9 (q, 1C, *Me*), 24.9 (q, 1C, *Me*).

MS-ESI (m/z, %)=: 385, 25 (MNa^+ , 100).

$[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ = +16.25 (c= 0.8, CHCl_3).

IR (CDCl_3)= 3333, 2981, 2933, 2248, 1685, 1454, 1413, 1163 cm^{-1} .

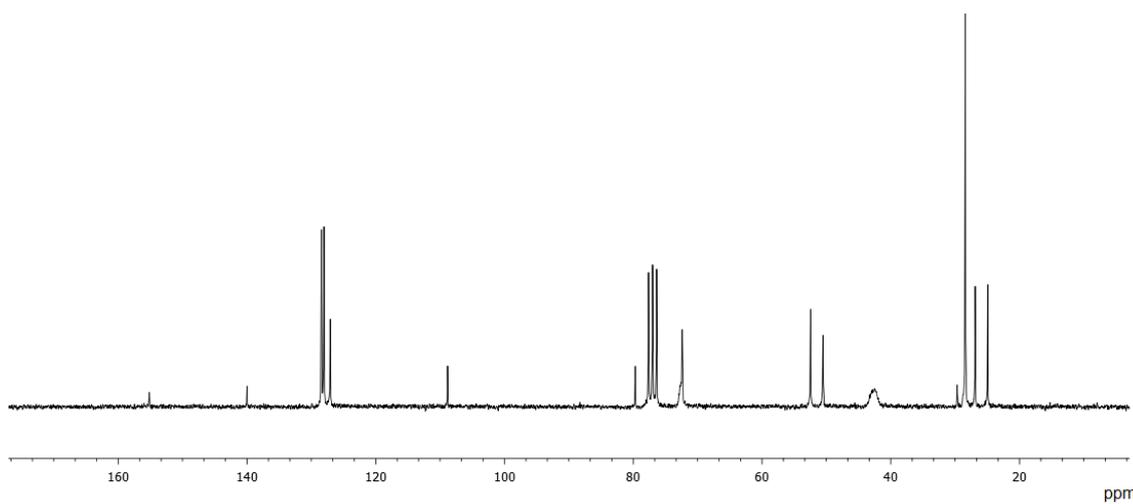
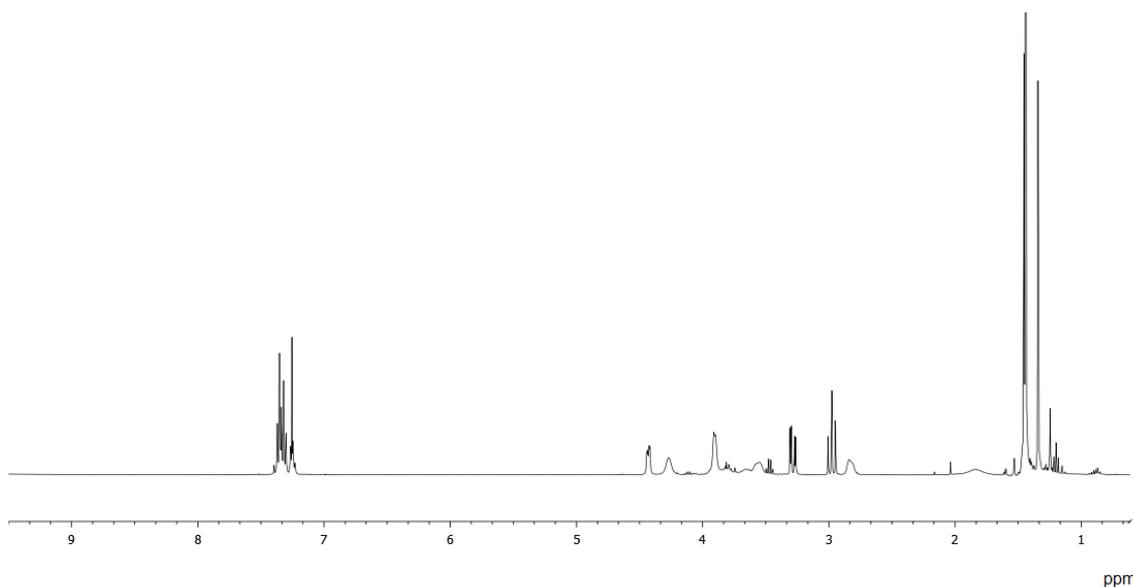
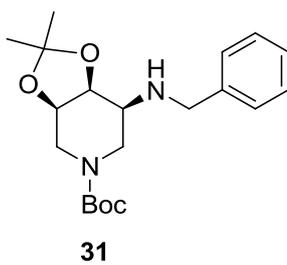
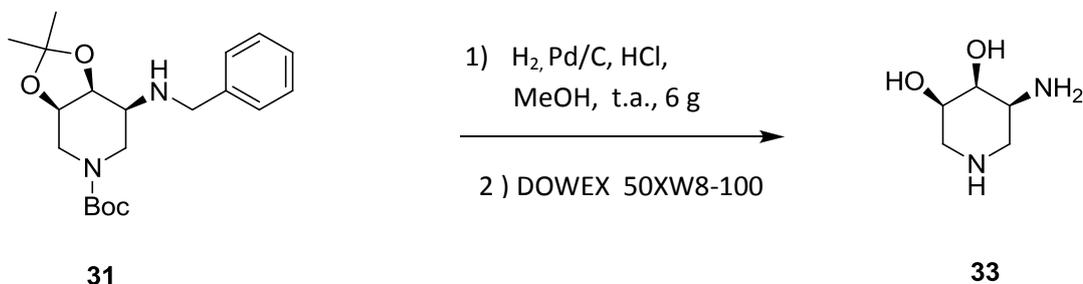


Figura 21: spettri $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz) e $^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz) del composto **31** in CDCl_3

Sintesi della (3*R*,4*S*,5*S*)-3,4-idrossi-5-ammino piperidina



Il composto **31** (35 mg, 0.096 mmol) è stato disciolto in MeOH (5 ml). La soluzione è stata messa sotto flusso di azoto, successivamente sono state aggiunte 3 gocce di HCl 37 % e infine Pd/C. Dopodiché è stato gorgogliato nella soluzione H₂ e la miscela di reazione è stata mantenuta sotto agitazione magnetica in atmosfera di idrogeno per 6 giorni, fino a quando un controllo ¹H-NMR ha mostrato la scomparsa dei segnali dei protoni benzilici. La miscela è quindi stata filtrata su celite per rimuovere il catalizzatore e il filtrato è stato portato a secco tramite evaporazione a pressione ridotta. Il prodotto **33** come cloridrato, ottenuto con resa quantitativa, è stato passato sulla resina a scambio ionico (DOWEX 50XW8-100) eluendo inizialmente con MeOH e H₂O, per eliminare le impurezze, infine con NH₃ al 6% per ottenere il composto desiderato (0.096 mmol, 12.7 mg, resa 100%) .

¹H-NMR (400 MHz D₂O) δ ppm= 3.84 (pt, J= 2.5 Hz, 1H, H-4), 3.61 (m, 1H, H-3), 2.81 (m, 1H, H-5), 2.68 (dt, J= 11.7, 4.6 Hz, 2H, Ha-2, Ha-6), 2.55 (t, J= 11.1 Hz, 1H, Hb-2), 2.45 (t, J= 11.4, 1H, Hb-6).

¹³C-NMR (50 MHz, D₂O) δ ppm= 70.3 (d, 1C, C-4), 68.4 (d, 1C, C-3), 50.0 (d, 1C, C-5), 44.7 (t, 1C, C-6), 44.2 (t, 1C, C-2).

MS-ESI (m/z, %): 155,11 (MNa⁺, 100), 133.09 (MH⁺, 32).

[α]_D²⁵ = +3.84 (c= 0.25, MeOH).

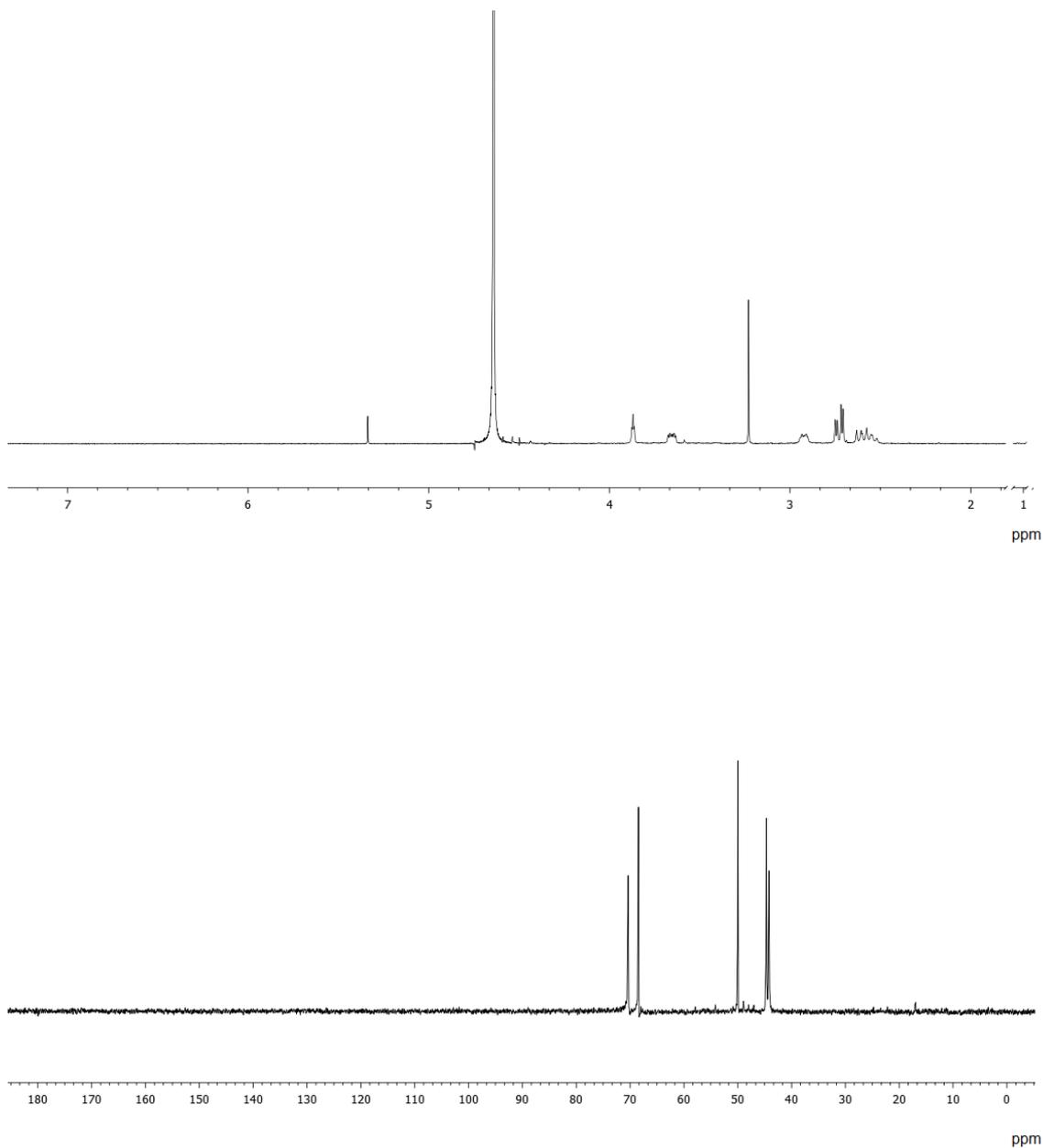
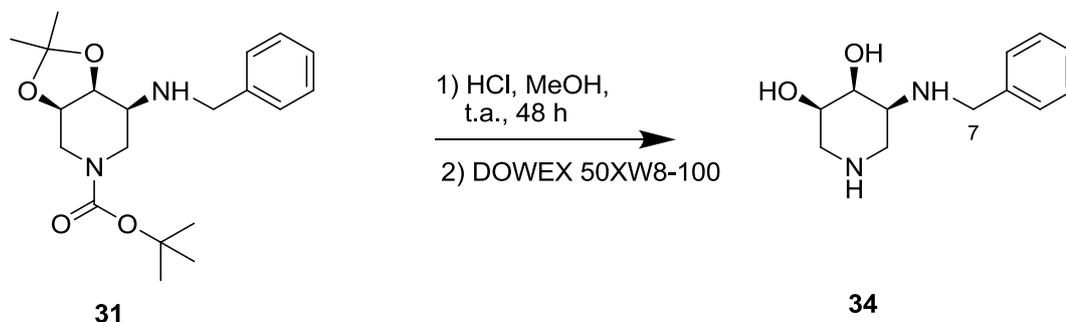


Figura 22: spettri $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz) e $^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz) del composto **33** in D_2O .

Sintesi della (3*R*,4*S*,5*S*) -3,4-idrossi, 5(-*N*-benzil) amminopiperidina



La piperidina **31** (28 mg, 0.77 mmol) è stata disciolta in MeOH (4 ml), e a questa soluzione sono stati aggiunti 4-5 gocce di HCl. Dopo 48 ore, un controllo $^1\text{H-NMR}$ ha mostrato la scomparsa dei gruppi protettori (chemical shift intorno 1 ppm). Il solvente è stato quindi evaporato a pressione ridotta, per ottenere il prodotto **28** sotto forma di cloridrato con resa quantitativa. Il grezzo è stato poi purificato tramite resina a scambio ionico eluendo inizialmente con MeOH e H_2O , per eliminare le impurezze, infine con NH_3 al 6% per ottenere il composto **34** (17 mg, 0.77 mmol, resa 100%).

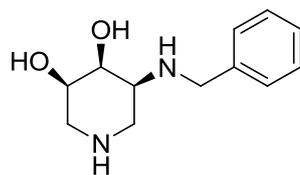
La piperidina **34** è stata completamente caratterizzata.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O) δ ppm= 7.32-7.22 (m, 5H, *Ar*), 4.04 (brs, 1H, H-4), 3.76 (d, $J=13.1$ Hz, Ha-7), 3.69 (d, $J=13.1$ Hz, Hb-7), 3.53 (ddd, $J=10.5, 4.7, 1.9$ Hz, 1H, H-3), 2.77-2.64 (m, 3H, Ha-6, Ha-2, H-5), 2.55 (t, $J=11.5$ Hz, 1H, Hb-2), 2.43 (t, $J=11.5$ Hz, Hb-6).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz, D_2O) δ ppm= 137.4 (s, 1C, *Ar*), 127.8-126.6 (d, 5C, *Ar*), 67.6 (d, 1C, C-3), 67.2 (d, 1C, C-4), 54.4 (d, 1C, C-5), 48.2 (t, 1C, $\underline{\text{CH}_2\text{Ph}}$), 43.15 (t, 1C, C-2), 41.6 (t, 1C, C-6).

MS-ESI (m/z , %): 223.17 (MH^+ , 100).

$[\alpha]_{\text{D}^{25}} = -3.6$ ($c=0.74$, MeOH).



34

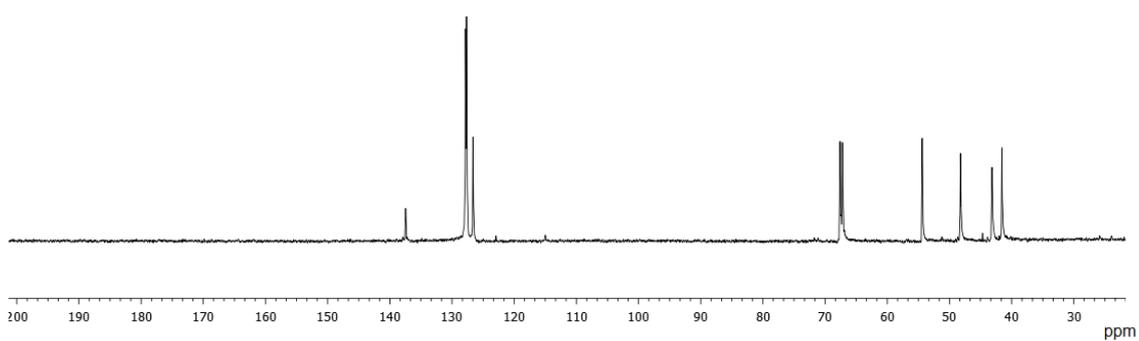
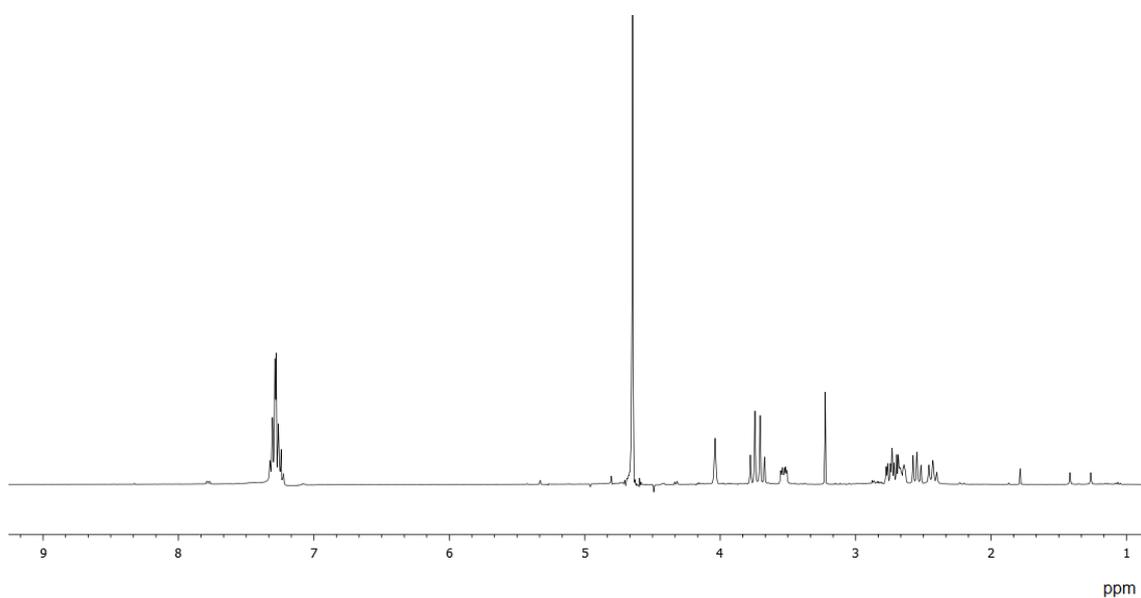


Figura 23: spettri ¹H-NMR (400 MHz) e ¹³C-NMR (50 MHz) del composto **34** in D₂O.