



—
Faculteit Wetenschappen
Vakgroep Organische Chemie
Laboratorium voor Organische Synthese

***Stapsgewijze ontwikkeling van niet-enzymatische
hydrolasen uitgaande van suikerderivaten***

Vanessa Daelman

Verhandeling voorgelegd voor het behalen van de graad van Doctor in de
Wetenschappen: Scheikunde

Promotor: Prof. Dr. P. J. De Clercq

november 2002

Dankwoord

Ik zou graag de mensen die op één of andere manier bijgedragen hebben tot het tot stand komen van dit doctoraatswerk in de bloemetjes willen zetten. Eerst en vooral zou ik mijn promotor Prof. Dr. P. De Clercq willen bedanken om mij de kans te geven om te doctoreren. Ook voor de goede samenwerking, de talrijke hulpvolle discussies en om in mij voldoende vertrouwen te hebben om mij verschillende verantwoordelijkheden toe te vertrouwen. Prof. Dr. F. Borremans en zeker ook Prof. Dr. J. Martins wil ik hartelijk danken om steeds een gaatje in hun schema te vinden om mijn talrijke spectra te laten opnemen. Ook stonden ze steeds klaar om vragen in verband met NMR-spectroscopie op te lossen. In dit kader zou ik nog Dr. Franky Fant willen bedanken die ook altijd bereid was om te helpen. Prof. Dr. J. Van der Eycken had steeds interesse in mijn werk en wil ik graag bedanken voor de nuttige tips. Prof. Dr. Sandra ben ik erkentelijk voor het lenen van het cyclodextrinederivaat en zijn studenten, zeker Gerd, stonden steeds klaar om een elektronspray op te nemen. Een speciaal woord van dank gaat uit naar Prof. Dr. Annemieke Madder voor haar niet aflatende interesse in mijn project, steun en nuttige tips wanneer weer eens een reactie was mislukt.

Zonder de goede bereidwilligheid van de mensen van de technische dienst zou mijn doctoraat zeker nooit geweest zijn wat het nu geworden is. Zonder Jan waren de producten er nooit op tijd geweest, zeker niet wanneer ik op het laatste nippertje iets kwam bestellen. Veerle, dank je wel om zelfs buiten de openingsuren voor mij het magazijn te openen. Tom, de administratie verliep zonder problemen dankzij jou en dank je wel voor de leuke babbels. Alle financiële zaken werden vlot geregeld door Freddy. Dirk en Hector zorgden voor de vrolijke noot (en de lekkere koffie) in en naast de practica. Elie, de andere mensen van de glasblazerij en van de centrale werkplaats, bedankt om steeds zo snel mogelijk ons glaswerk te maken en andere werkjes op te knappen. Alle elektrische problemen werden opgelost door Herman en later door Marc, die ook instond voor de opname van de massaspectra. Last but zeker not least gaat een speciaal woord van dank uit naar George en Roland om voor mij de talrijke NMR-spectra op te nemen. Ik weet dat ik soms de oren van jullie hoofd heb gezaagd. George, ik zal onze reis- en coureurbabbeltjes missen.

Mama en papa zou ik uit de grond van mijn hart willen bedanken om mij de kans te geven om te studeren, hoewel de examenperiodes door mijn humeur soms meer

stresserend waren voor jullie dan voor mij. Jullie onovertroffen liefde, interesse, steun en begrip betekenen meer voor mij dan woorden kunnen beschrijven. Maraintjes en Parain, jullie zijn er nu niet meer (of beseffen het niet), maar toch bedankt voor alles. Anneke en Etienne, Loes en Mario en de rest van de familie: jullie zijn schatten, ik heb mijn tweede thuis al lang gevonden.

De goede sfeer die heerst(e) in ons labo kwam niet alleen de prestaties en goede maar heeft er ook voor gezorgd dat de meeste collega's goede vrienden geworden zijn. In eerste plaats wil ik Annemieke bedanken voor alle leuke gesprekken, al dan niet over scheikunde en om er altijd te zijn als ik je nodig had. Christel en mijn labomaatje Gunther waren steeds het eerste slachtoffer wanneer er een reactie mislukt was, jullie luisterend oor en goede raad waren onmisbaar. Hilde DM, je was een toffe reispartner. Sanneke en Jeanke, zonder jullie was de 'Mister Proper' golf nooit gepasseerd in onze labo's. De 'eeuwige vete' tussen Mario en Gaby zorgde af en toe voor ambiance. Pol, Vincent en zeker Sven, zonder jullie bleven de computerproblemen onopgelost. Wimpie, ons organisatie- en fietstalent, voor jou fiets ik met plezier in de gutsende regen, de turfputtenroute blijft zeker onze favoriet. Nadia, niet alleen mijn lerares Frans, ook mijn koerierdienst, maar bovenal mijn lach- en smosmaatje, dank je wel voor alle hulp zeker op het laatste moment. De nieuwe generatie(s), Johan, Samuel, Jo, An, Mieke, Vincent en Katrien, veel succes en hou de sfeer erin. All the Chinese post-docs, thank you for introducing me to the fascinating Chinese habits and food. Met Sofie, Christophe en Simon, Luc en Bieke zijn er al vele leuke momenten geweest en hopelijk komen er nog meer. Michiel en Maite als ik aan jullie en Spanje denk is het leven één groot feest. De 'ontstress'-, uitgangs- en relativeringstherapieën van Hilde en Sven zijn gewoon onmisbaar geworden. Jullie beseffen toch dat jullie nooit meer van mij af geraken. De 'niet-moleculen', Anja, Anthony en Laurens, Suzy en David, Eve en Wim, Olivier en Anneke, Nathalie, JP en de kindjes, Els en Sven, Lieven en Kelly, Tina en Sanne waakten er zorgvuldig over dat mijn leven niet alleen uit chemie bestond. In Anneke, Sam en Jan vond ik nieuwe voetbal-, aperitief- en theatermaatjes, het liedje van de Buffalo's pak ik er wel bij.

De laatste, mijn liefste Kris, is zeker de belangrijkste: zonder jouw liefde, geduld, en raad had ik mijzelf nooit kunnen ontplooien en was ik nooit geweest wie ik nu ben. Jij brengt rust en kalmte in de stressvolle momenten, waardoor ik weer moed vind om door te gaan. Je bent gewoon onmisbaar.

Inhoudstabel

Hoofdstuk I : Situering en doelstelling	1
I.1 Situering	1
I.2 Doelstelling	4
 Hoofdstuk II : α-Chymotrypsine en artificiële hydrolasen	 6
II.1 α-Chymotrypsine	8
II.2 Artificiële hydrolasen	15
II.2.1 In vitro evolutie tot artificiële enzymen	16
II.2.2 'Transition state selection'-strategie : antilichamen	16
II.2.3 Pepzymen of microenzymen	18
II.2.4 Synzymen	24
II.2.5 'Catalytic activity selection'-strategie	29
II.2.6 Designstrategie	29
II.3 Voorstelling doelmolecule	34
II.3.1 Algemeen	34
II.3.2 Voorafgaand onderzoek in ons laboratorium	37
II.3.3 Voorstelling van de nieuwe doelmolecule	41
 Hoofdstuk III: Synthese van het algemeen basekatalyserend gedeelte, amine (-)-II.18	 47
III.1 Algemeen	47
III.2 Resolutie door diastereomere zoutvorming	47
III.2.1. Resolutie met α -methylbenzylamine	48
III.2.2 Resolutie met een mix aan resolverende reagentia	50

III.3 Enantioselectieve synthesesewegen tot het enantiomeer zuivere amine (-)-II.18	52
<i>III.3.1 Methode van Evans</i>	52
<i>III.3.2. Methode van Harada</i>	57
III.4 Resolutie met enzymen	60
<i>III.4.1 Selectieve verestering van meso-diol III.18 met lipasen</i>	61
<i>III.4.2 Resolutie van de diëster III.17 met een esterase</i>	64
III.5 Besluit	66

Hoofdstuk IV : Verdere opbouw tot de modelverbindingen met de axiale alcoholfunctie op C₇

68

IV.1 Synthese van het centrale aldehyde II.21	69
IV.2 Reductieve koppeling, verdere opbouw tot aminotriolen II.25 en II.28 zonder alkylzijketen	71
<i>IV.2.1 Aminotriol II.28</i>	71
<i>IV.2.2 Aminotriol II.25</i>	73
IV.3 Introductie van de alkylketen	75
<i>IV.3.1 Zoektocht naar een geschikte alkylketen</i>	75
<i>IV.3.2 Aanhechting van de diynylzijketen</i>	79
IV.4 Kinetische evaluatie van de modelverbindingen	80
<i>IV.4.1 Reactieve amiden</i>	81
<i>A. Sterisch geactiveerde amiden</i>	81
<i>B. Elektronisch geactiveerde amiden</i>	82
<i>IV.4.2 Kinetische evaluatie via ¹H-NMR-spectroscopie van de modelverbindingen II.28 en II.25 zonder alkylzijketen</i>	84
<i>IV.4.3 Reactiviteitsbepaling van aminotriolen II.29 en II.26</i>	94
IV.5 Besluit	100

Hoofdstuk V : Ontwikkeling van de modelverbindingen met de equatoriale alcoholgroep op C₇	102
V.1 Inversie van de axiale alcoholgroep uitgaande van de reeds bereide modelverbindingen	103
V.2 Inversie van de secundaire axiale alcoholgroep uitgaande van alcohol IV.6	104
<i>V.2.1 Inversie van de alcoholfunctie via de oxidatie-reductie-methode</i>	108
<i>A. tert-Butyldimethylsilyl als beschermende groep</i>	108
<i>B. Methoxymethylether als beschermende groep</i>	110
<i>V.2.2 Introductie van de diynylzijketen op keton V.8</i>	114
<i>V.2.3 Alternatieve synthesesroute tot alcohol V.14 uitgaande van 1,2-isopropylideen-D-xylose</i>	115
V.3 Verdere opbouw tot enzymmodel II.23	122
<i>V.3.1 Synthese van aminotriol II.23</i>	122
<i>V.3.2 Kinetische evaluatie van II.23</i>	125
V.4 Ontwikkeling van de modelverbindingen II.24 en I.3	129
<i>V.4.1 Model zonder alkylzijketen II.24</i>	129
<i>A. Synthese van intermediair V.39</i>	129
<i>B. Introductie van de oxyanionstabiliserende groep</i>	131
<i>V.4.2 Ontwikkeling van aminotriol I.3</i>	131
V.5 Evaluatie van de katalytische activiteit van II.24 en I.3	134
Hoofdstuk VI : Besluit	139
Hoofdstuk VII : Experimenteel gedeelte	147
VII.1 Product- en toestelspecificaties	147

VII.2 Experimenteel gedeelte bij Hoofdstuk III	149
VII.2.1 <i>Resolutie door diastereomere zoutvorming</i>	149
A. <i>Resolutie met α-methylbenzylamine</i>	149
B. <i>Resolutie door een familie aan aminen</i>	156
VII.2.2 <i>Resolutie via de methode van Evans</i>	161
VII.2.3 <i>Resolutie via de methode van Harada</i>	172
VII.2.4 <i>Enzymatische resolutie</i>	178
VII.3 Experimenteel gedeelte bij hoofdstuk IV	184
VII.3.1 <i>Stapsgewijze ontwikkeling van aminotriol II.28</i>	184
VII.3.2 <i>Ontwikkeling van aminotriol II.25</i>	201
VII.3.3 <i>Stapsgewijze ontwikkeling van de aminotriolen II.29 en II.26</i>	207
VII.4 Experimenteel gedeelte bij Hoofdstuk V	219
VII.4.1 <i>Inversie via de oxidatie-reductie methode</i>	219
VII.4.2 <i>Alternatieve syntheseroute tot alcohol V.14 uit 1,2-isopropylideen-D-xylose</i>	226
VII.4.3 <i>Verdere opbouw tot II.23</i>	244
VII.4.4 <i>Ontwikkeling van model II.24</i>	250
VII.4.5 <i>Ontwikkeling van modelverbinding I.3</i>	259
VII.5 ¹H-NMR-kinetiek: bepaling van de halfwaardetijden	269
VII.5.1 <i>Procedure</i>	269
VII.5.2 <i>Grafieken</i>	270
VII.6 UV-Kinetiek	279
VII.6.1 <i>Procedure</i>	279
VII.6.2 <i>Grafieken</i>	280

Lijst met afkortingen

AcIm: *N*-acetylimidazool

A: angstrom

Asn: asparagine

Asp: aspartaat

Arg: arginine

CD: cyclodextrine

DCC: dicyclohexylcarbodiimide

DMAP: *N,N*-dimethylaminopyridine

DMF: *N,N*-dimethylformamide

DNA: deoxyribonucleïnezuur

ee: enantiomeric excess

Glu: glutamaat

His: histidine

J: koppelingsconstante

kJ: kilojoule

LDA: lithium diisopropylamide

Lys: lysine

MeOPhPh₂-: methoxytrityl

MOM: methoxymethyl

NOE: nuclear Overhauser effect

PNA: *p*-nitrofenylacetanilide

PNPA: *p*-nitrofenylacetaat

PNPT: *p*-nitrofenyltridecanoat

PNTFA: *p*-nitro-2,2,2-trifluoracetanilide

PLE: porcine liver esterase

PPL: porcine pancreatic lipase

PTSA: *p*-tolueensulfonzuur

Ser: serine

TBAF: tetrabutylammoniumfluoride

TDI: *N*-tridecanoylimidazool

TBS-, TBDMS-: *tert*-butyldimethylsilyl-

TBDMSOTf: *tert*-butyldimethylsilyltriflaaat

TBDPS-: *tert*-butyldifenylsilyl

TFA: trifluorazijnzuur

THF: tetrahydrofuran

TLC: tin layer chromatography

TMS: trimethylsilyl

Hoofdstuk I : Situering en doelstelling

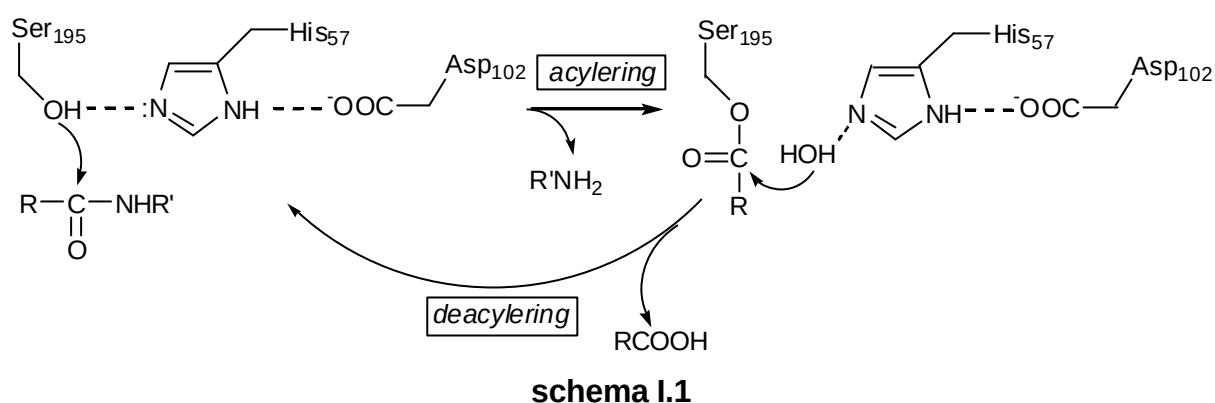
I.1 Situering

Enzymen zijn proteïnen die een belangrijke rol spelen in talrijke chemische processen in ons lichaam. Ze zijn in staat om verschillende chemische reacties gevoelig te versnellen. Al jaren zijn scheikundigen gefascineerd door de efficiëntie en het gemak waarmee deze moleculen verschillende reacties katalyseren. Er wordt dan ook al een lange tijd gezocht om organische moleculen te ontwikkelen die deze efficiëntie kunnen evenaren.

Enzymen worden ingedeeld in verschillende klassen naargelang de reactie die ze katalyseren. Een belangrijke klasse zijn de serineproteasen en de best gekende, α -chymotrypsine, speelt een belangrijke rol in de spijsvertering. De vertering van eiwitrijk voedsel in de dunne darm wordt in aanwezigheid van dit enzym versneld. Via X-straaldiffractiestudies kon een goed inzicht verkregen worden in de tertiaire structuur van het enzym en in het werkingsmechanisme.¹ Hieruit bleek dat verschillende subsites belangrijk waren voor de efficiëntie van het enzym. In de hydrofobe bindingssite wordt het eiwit gebonden via een volumineuze aminozuurzijketen, zodat de hydrolysereactie intramoleculair kan verlopen. In de zogenaamde katalytische holte werken drie functionele groepen, de alcoholfunctie van Ser₁₉₅, de imidazoolgroep van His₅₇ en de carboxylaatgroep van Asp₁₀₂, op een unieke manier samen om de hydrolyse van de niet-geactiveerde amidebinding gevoelig te versnellen. Het mechanisme bestaat uit twee stappen, de acylering en de deacylering en in elke stap spelen algemene base- en algemene zuurkatalyse een belangrijke rol (**schema I.1**). Op die manier is α -chymotrypsine in staat om de hydrolyse van een amidebinding met een factor 10^8 te versnellen.²

¹ a) Matthews, B.W.; Sigler, P.B.; Henderson, R.; Blow, D.M. *Nature* **1967**, 214, 652; b) Blow, D.M.; Birktoft, J.J.; Hartley, B.S. *Nature* **1969**, 221, 337; c) Steitz, T.A.; Henderson, R.; Blow, D.M. *J. Mol. Biol.* **1969**, 46, 337; d) Blow, D.M. *Acc. Chem. Res.* **1976**, 9, 145

² Menger, F.M. *Acc. Chem. Res.* **1985**, 18, 128



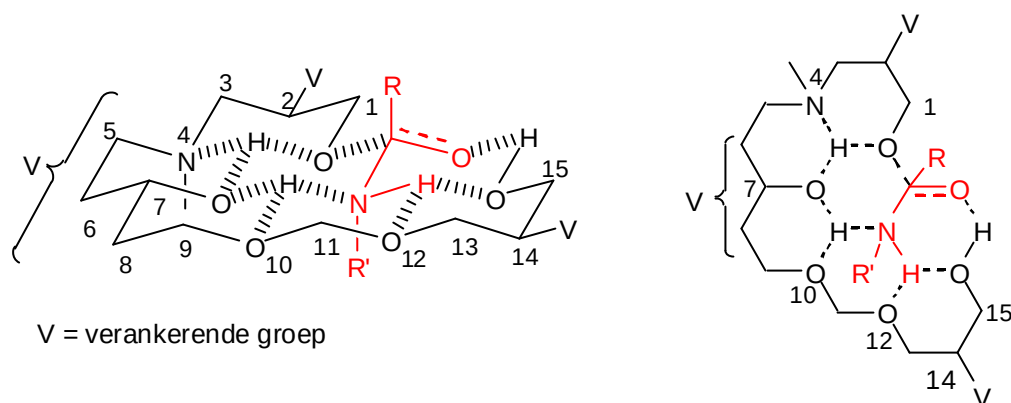
Deze uitzonderlijke molecule is echter slechts werkzaam bij specifieke pH-omstandigheden, temperaturen en in een beperkt aantal solventen. Daarnaast zijn de meeste enzymen ook heel selectief inzake hun substraat. De uitdaging bestaat er nu in om hydrolasen te synthetiseren met een analoge efficiëntie die meer algemeen werkzaam zijn. Er zijn al verschillende artificiële hydrolasen gesynthetiseerd, de één al succesvoller dan de andere, maar tot nog toe is men er nog niet in geslaagd de efficiëntie van α -chymotrypsine te evenaren.³

Voor het ontwerp van niet-enzymatische hydrolasen zijn verschillende benaderingen mogelijk: ondermeer synzymes, pepzymes en gemodificeerde cyclodextrinen werden reeds ontwikkeld. Deze zullen in detail beschreven worden in **hoofdstuk II**. Hierbij wordt meestal uitgegaan van een systeem dat een geschikte bindingsholte bevat, waarop de functionele groepen, noodzakelijk om de hydrolyse te kunnen bewerkstelligen, ingebouwd worden. Ons laboratorium opteert voor een alternatieve aanpak: eerst zal de nadruk gelegd worden op de ontwikkeling van een modelverbinding die een analoog werkingsmechanisme bezit als α -chymotrypsine, pas in een later stadium zal aandacht besteed worden aan herkenning en binding van het substraat. Het ontwerp van het systeem wordt gekenmerkt door de mogelijkheid om elk zwaar atoom te kunnen situeren op een hoekpunt van een diamantrooster. Hierdoor wordt het mogelijk om conformationeel voorspelbare systemen op te bouwen.

³ Motherwell, W.B.; Bingham, M.J.; Six, Y. *Tetrahedron* **2001**, 57, 4663

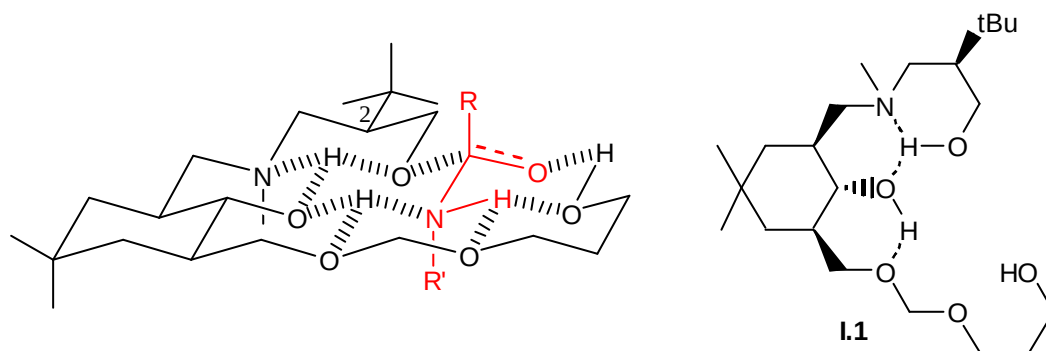
De katalytische triade bestaat in ons geval uit een tertiair amine en twee hydroxylgroepen, één op C₁, de andere op C₇ (**figuur I.1**).

De noodzakelijke proximité van de functionele groepen in dit model wordt in de hand gewerkt door de incorporatie van gepaste verankerende groepen. De specifieke taken van de verschillende functionele groepen zullen in het volgend hoofdstuk aan bod komen.



figuur I.1

In ons laboratorium werd reeds door A. Madder het enzymmodel **I.1**, dat deze katalytische triade bevat, bereid (**figuur I.2**).⁴



figuur I.2

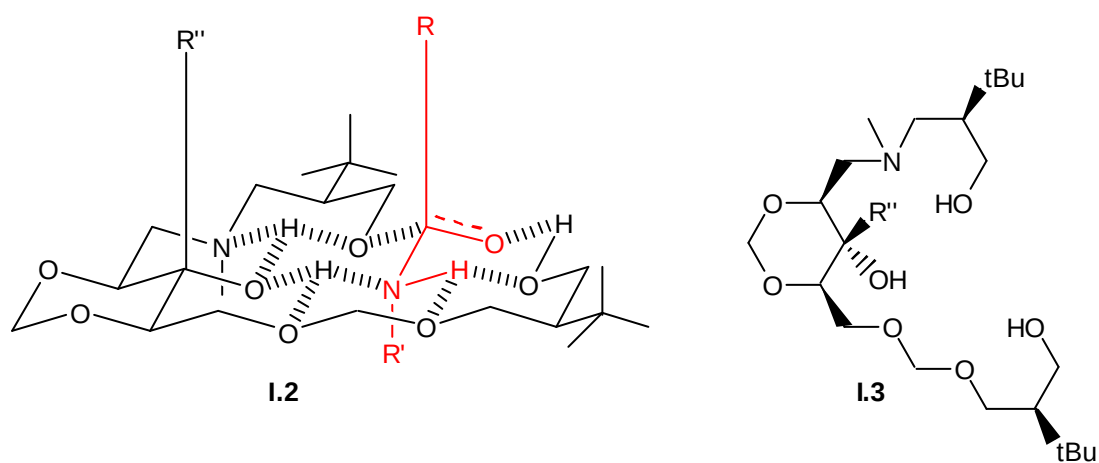
De *tert*-butylgroep op C₂ bleek de beste verankerende groep voor het 1,3-amino-alcohol en er werd gekozen voor een 3,3-dimethylcyclohexaanring als centraal verankerend element. Het enzymmodel werd stapsgewijs opgebouwd en de verschillende intermediären werden ook getest op hun katalytische activiteit.

⁴ Madder, A.; De Clercq, P.J.; Declercq, J.-P. *J. Org. Chem.* **1998**, 63, 2548

De bekomen resultaten wezen op een graduele toename van de hydrolysecapaciteit naarmate het model meer geoptimaliseerd werd, maar de hydrolyse van een geactiveerde amidebinding verliep nog steeds traag in vergelijking met het natuurlijke enzym. Dat was niet zo verwonderlijk gezien de reactie nog steeds intermoleculair verloopt in plaats van intramoleculair in het geval van het enzym. Het leek dan ook interessant, steunend op de bekomen resultaten, het systeem verder uit te bouwen en te streven naar de inbouw van een geschikte bindingsite.

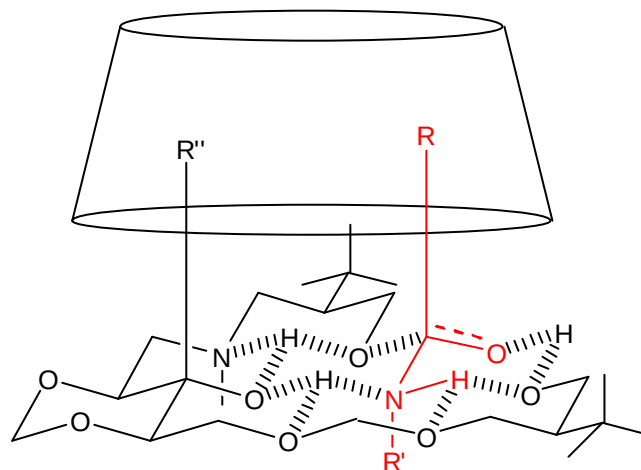
I.2 Doelstelling

In de beoogde niet-enzymatische hydrolase is de structuur van de katalytische site analoog aan die van de modelverbinding gesynthetiseerd door A. Madder. In dit geval zorgen twee *tert*-butylgroepen en een 1,3-dioxaanring voor de noodzakelijke verstarring en voor de ruimtelijke oriëntatie van de triade (**figuur I.3**). De keuze van deze verankerende elementen wordt ondermeer bepaald door het gemak van de synthese. Ondanks de positieve resultaten behaald met het katalytisch gedeelte van het model, zijn we er ons van bewust dat de nog steeds lage katalytische activiteit voornamelijk te wijten is aan de afwezigheid van een substraatsbindingsite. De entropiewinst door de vorming van een zogenaamd Michaëlis-Mentencomplex, wat de reactie intramoleculair zou doen verlopen, zou een intrinsieke verhoging in de reactiviteit van ons model moeten teweegbrengen.



figuur I.3

In dit project zal aandacht besteed worden aan het belang van de invloed van de entropie op de reactiviteit van onze modelverbinding. In een eerste fase zal hiervoor een alkylgroep R'' op C_7 in het model geïntroduceerd worden. Er kan immers op basis van het hydrofoob effect verwacht worden dat in polaire solventen herkenning zal optreden tussen model **I.3** en een geschikt substraat, ook voorzien van een lange zijketen. Deze herkenning zou kunnen leiden tot een verhoogde proximateit tussen de hydrolase en het substraat, wat de reactie zou moeten versnellen. Daarnaast zal ook de invloed van de aanwezigheid van een cyclodextrinederivaat op de reactiesnelheid nagegaan worden. Complexatie van de alkylketens van het model en het substraat in de hydrofobe holte van het cyclodextrine zou een verhoogde proximateit tussen beide moeten veroorzaken en op deze manier een positieve invloed op de reactiesnelheid moeten hebben (**figuur I.4**). Dit zou ons inzicht moeten verschaffen over de eventuele bijdrage van het intramoleculaire reactieverloop in de katalytische activiteit van ons model. De alkylketen R'' zou tenslotte ook kunnen functioneren als aanhechtingspunt voor een geschikte bindingsholte. Hierbij wordt in eerste instantie aan een cyclodextrinederivaat gedacht.

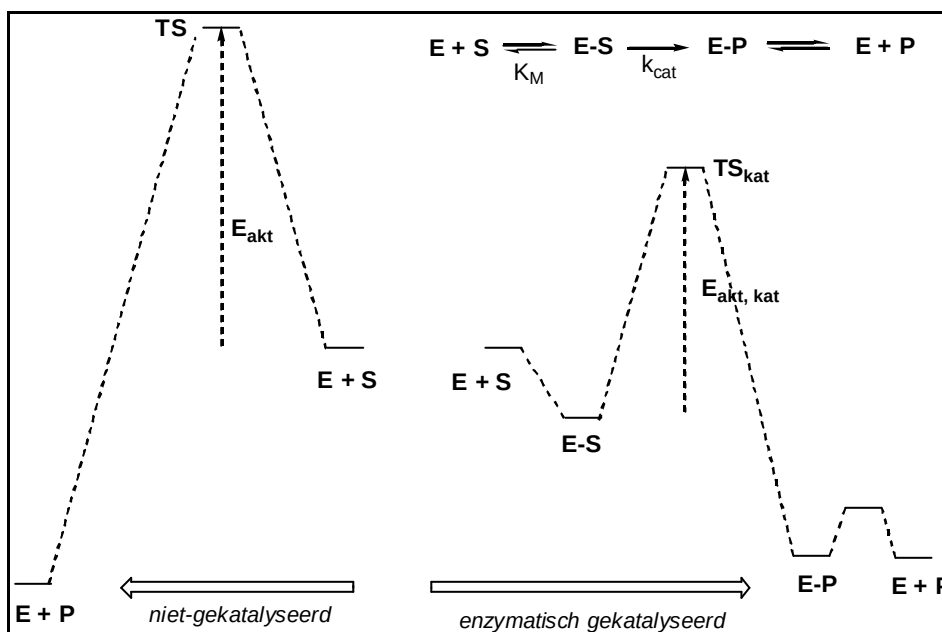


figuur I.4

De syntheseroute tot de vooropgestelde modelverbinding is zodanig opgebouwd dat op verschillende stadia in de sequentie de reactiviteit van bepaalde intermediären geëvalueerd kan worden. De stapsgewijze synthese zal ons ook toelaten op een correcte manier de eventuele invloed van een alkylketen op de reactiviteit van de modelverbindingen te beoordelen.

Hoofdstuk II : α -Chymotrypsine en artificiële hydrolasen

De efficiëntie van enzymen kan hoofdzakelijk worden toegewezen aan twee factoren: binding en katalyse. Binding van het specifieke substraat **S** door het enzym **E** in de bindingsholte met vorming van een Michaëlis-Menten-complex, **ES**, is kenmerkend voor een enzymatisch gekatalyseerde reactie (**figuur II.1**). De binding tussen het enzym en het substraat komt voornamelijk tot stand via niet-covalente interacties, zoals waterstofbrugbindingen, metaalchelatie, ionaire, dipool-dipool- en hydrofobe interacties en van der Waals dispersiekrachten.⁵ De binding is reversibel en de sterkte wordt weergegeven door de dissociatieconstante K_M . Vervolgens wordt het substraat omgezet in het product **P**. Tenslotte wordt het product **P** vrijgesteld en het enzym in zijn oorspronkelijke vorm hersteld, waardoor het mogelijk wordt een nieuwe cyclus te starten.



figuur II.1

De specificiteit van een enzym werd door *Fisher* voorgesteld als een sleutel-slot systeem, waarbij de nadruk gelegd werd op het in elkaar passen van starre

⁵ a) Kirby, A.J. *Ang. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, 35, 707; b) D' Souza, V.T.; Bender M.L. *Acc. Chem. Res.* **1987**, 20, 146

complementaire vormen.⁶ Meer dan vijftig jaar later, in 1958, werd door Koshland de 'induced fit' theorie geïntroduceerd. Hier veroorzaakt de binding van het substraat een conformatieverandering in de actieve site van het enzym waardoor reactie mogelijk wordt.⁷ Recent is een derde visie voorgesteld om de binding van een specifiek ligand door een enzym te rationaliseren. Dit model veronderstelt dat macromoleculen, zoals eiwitten, voorkomen als een evenwichtmengsel van verschillende conformaties. Het ligand wordt gebonden in de meest geschikte aanwezige conformatie, waardoor het evenwicht in de richting van het enzym-substraatscomplex verschuift.⁸

De binding van het substraat is belangrijk voor de efficiëntie van het enzym, gezien daardoor de reactie intramoleculair kan verlopen. Belangrijker is echter de stabilisatie van de transitietoestand: hoe beter de transitietoestand gestabiliseerd wordt, hoe groter het effect op de snelheid van de reactie (**figuur II.1**). Het versnellend effect in enzymatisch gekatalyseerde reacties is dan ook te wijten aan een betere stabilisatie van de transitietoestand ten opzichte van het gebonden substraat.

Naast binding speelt ook katalyse een belangrijke rol. Een transformatie in de aanwezigheid van een enzym verloopt meestal via een andere route dan de niet-gekatalyseerde reactie. Het enzym maakt dikwijls gebruik van algemene base-, algemene zuur-, nucleofiele of elektrofile katalyse om de transformatie te versnellen.

De kinetiek van eenvoudige enzymatische processen werd bestudeerd door Michaëlis en Menten, waardoor het mogelijk werd om zowel de dissociatieconstante K_M als de snelheidsconstante k_{cat} te bepalen.⁹ De verhouding k_{cat}/K_M wordt als maat genomen om de efficiëntie van enzymen te vergelijken.

Dankzij X-straaldiffractie-analyse en NMR-spectroscopie wordt het mogelijk om een totaalbeeld van de tertiaire eiwitstructuur te verkrijgen.

⁶ Fisher, E. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1894**, 27, 2985

⁷ Koshland, D.E. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1958**, 44, 98

⁸ Bursavich, M.G.; Rich, D.H. *J. Med. Chem.* **2002**, 45, 541

⁹ Michaëlis, L.; Menten, M.L. *Biochem. Z.* **1913**, 49, 333

Hierdoor kan achterhaald worden welke aminozuurzijketens verantwoordelijk zijn voor de binding en welke een belangrijke rol spelen in het katalytisch mechanisme. Eén van de best bestudeerde enzymen is de hydrolase α -chymotrypsine.

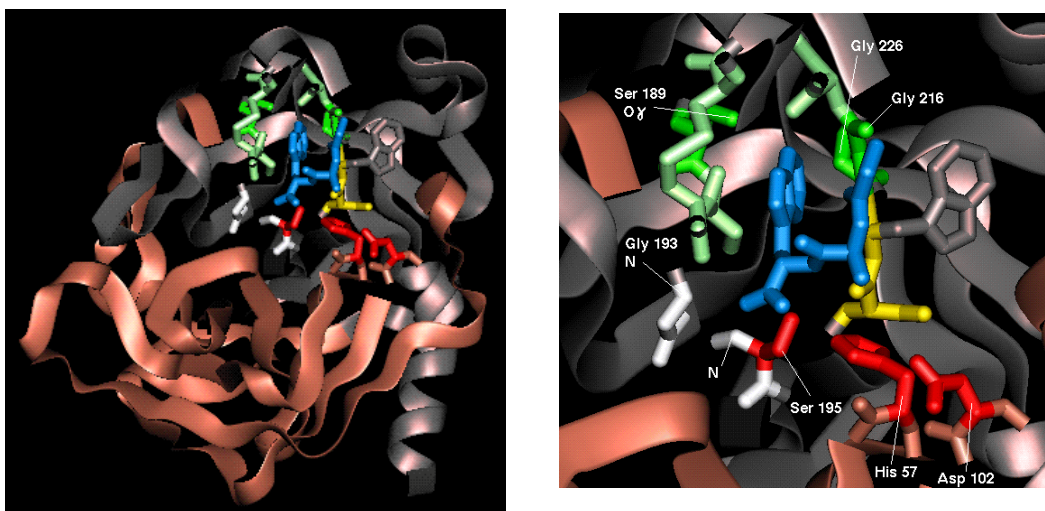
II.1 α -Chymotrypsine

De alvleesklier produceert elke dag ongeveer 1.4 l sap, bestaande uit water, enzymen (proteasen, lipasen, en amylasen) en elektrolyten. De enzymen worden afgescheiden in de inactieve vorm om digestie van de pancreas tegen te gaan. Eens de dunne darm bereikt, worden de proteasen enzymatisch geactiveerd en versnellen ze de afbraak van eiwitrijk voedsel door de hydrolyse van peptidebindingen. Eén van die proteasen is α -chymotrypsine.

α -Chymotrypsine wordt geklasseerd onder de serineproteasen, omdat in de hydrolyse-actie het aminozuur serine een cruciale rol speelt. Het is een relatief grote molecule (MM = 24800), bestaande uit drie peptideketens samengehouden door drie disulfidebruggen. Het wordt afgescheiden door de pancreas als chymotrypsinogeen, een keten van 245 aminozuren en in de dunne darm wordt het geactiveerd door een ander serineprotease, trypsine, dat één peptidebinding hydrolyseert.^{1d)}

Via X-straaldiffractie-analyse werd duidelijk dat er twee belangrijke subsites aanwezig waren in het enzym: de hydrofobe bindingsholte, die de ideale afmetingen bezit om een aromatische ring te binden en de katalytische holte waar de hydrolyse van de amidebinding plaatsgrijpt.¹ De proteïne wordt dus gebonden via een volumineuze aromatische aminozuurzijketen en ter hoogte van die zijketen wordt de amidebinding aan de C-terminus gesplitst. In **figuur II.2** wordt de binding van het tripeptide glycine-alanine-tryptofaan (in het blauw) door α -chymotrypsine voorgesteld. De meest volumineuze zijketen, de indoolgroep van tryptofaan, wordt gebonden in de hydrofobe holte en deze oriënteert de te hydrolyseren amidebinding in de katalytische site.

Hier wordt dan de hydrolyse bewerkstelligd door de unieke samenwerking van de zogenaamde katalytische triade, de alcoholgroep van serine₁₉₅, de imidazoolgroep van histidine₅₇ en de carboxylaatgroep van aspartaat₁₀₂.



figuur II.2

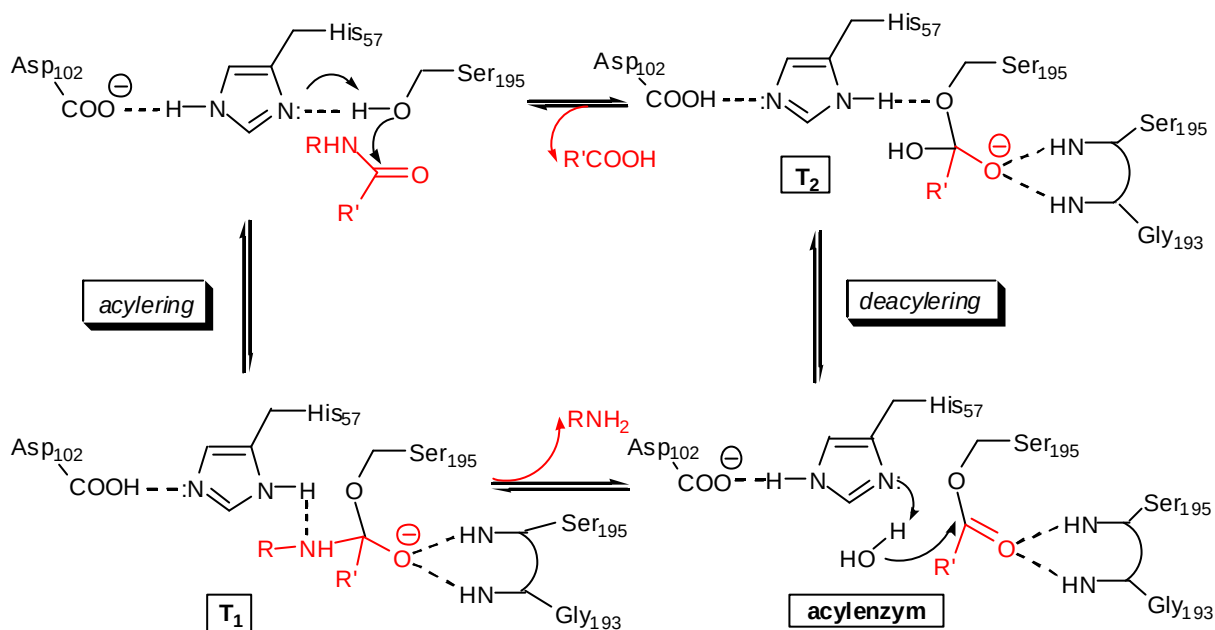
Daarnaast zijn de waterstofatomen van de amidebindingen van glycine₁₉₃ en serine₁₉₅ belangrijk voor de stabilisatie van de transitietoestand. De reactie wordt met een factor 10^8 versneld in vergelijking met de niet-gekatalyseerde reactie.¹⁰

Deze drie aminozuren zijn niet enkel aanwezig in de katalytische holte van α -chymotrypsine, maar ook in verschillende andere enzymen zoals trypsine, elastase en thrombine. Het is opmerkelijk dat deze enzymen allemaal beschikken over dezelfde katalytische triade, maar anderzijds weinig analogie vertonen noch in aminozuursequentie, noch in tertiaire structuur. Dit is een mooi voorbeeld van onafhankelijke convergente evolutie.

In 1969 werd door *D.M. Blow* een werkingsmechanisme geformuleerd, het *charge-relay*-mechanisme.¹ Na vorming van het enzymsubstraatcomplex wordt door algemene basekatalyse door de imidazoolgroep van His₅₇, in samenwerking met de carboxylaatgroep van Asp₁₉₅, de nucleofiliciteit van de hydroxylfunctie van Ser₁₉₅ verhoogd (**schema II.1**).

¹⁰ Blow, D.M. *Structure* **2000**, 8, R77

Nucleofiele aanval op het substraat wordt hierdoor mogelijk en leidt tot vorming van tetraëdraal intermediair T_1 . De ontbinding van dit intermediair wordt versneld door algemene zuurkatalyse wederom door het histidine-aspartaatkoppel. Het acylenzym wordt gevormd en het C-terminale deel van het peptide wordt vrijgesteld.



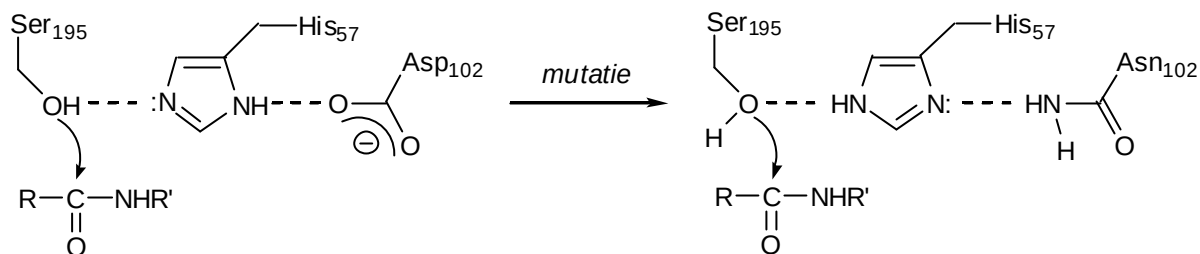
schema II.1

In de tweede stap, de deacylering, treedt water binnen in de katalytische holte en wordt het acylenzym gehydrolyseerd. Algemene base- en algemene zuurkatalyse spelen weer een belangrijke rol. Via tetraëdraal intermediair T_2 wordt uiteindelijk het *N*-terminale gedeelte van het peptide teruggevonden en het enzym wordt in zijn oorspronkelijke toestand hersteld. In de tetraëdrale intermediären wordt het oxyanion gestabiliseerd in de zogenaamde oxyanionholte door waterstofbrugbindingen met de amidewaterstofatomen van de aminozuren Gly₁₉₃ en Ser₁₉₅.

Het *belang* van de aanwezigheid van aspartaat in de triade werd al snel duidelijk. Immers, het mutant enzym waarin Asp₁₀₂ vervangen is door Asn₁₀₂, is een factor 10^4 minder actief dan het natuurlijke enzym.¹¹ Doordat asparagine nu optreedt als donor

¹¹ Sprang, S.; Standing, T.; Fletterick, R.J.; Stroud, R.M. Finer-Moore, J.; Xuong, N-H.; Hamlin, R.; Rutter, W.J.; Craik, C.S. *Science* **1987**, 237, 905

in de waterstofbrugbinding kan de imidazoolgroep van histidine niet meer optreden als base tegenover serine (**schema II.2**).



schema II.2

Over de *rol* van aspartaat in het mechanisme daarentegen is nog enige discussie. In het *charge-relay*-mechanisme treden twee protontransfers op, één van de hydroxylfunctie naar de imidazoolgroep en vervolgens van imidazool naar de carboxylaatfunctie. Het bewijs voor deze twee transfers werd geleverd aan de hand van isotoopeffecten.¹²

Een andere visie, het *charge-stabilisation*-mechanisme, beperkt de rol van aspartaat tot de stabilisatie van de geprotoneerde imidazoolkern. Er treedt maar één protontransfer op.¹³ De aanwezigheid van aspartaat zorgt voor de fixatie van de imidazoolkern in de juiste tautomere vorm, zodanig dat algemene basekatalyse mogelijk is. Bewijs voor het ontbreken van de tweede protontransfer naar aspartaat werd geleverd via NMR- en neutroondiffractiestudies. Ze hebben uitgewezen dat niet de carboxylaatgroep geprotoneerd wordt, maar wel histidine.¹⁴

Wat kan dan een verklaring zijn voor de isotoopeffecten die duidelijk een tweede transfer aantonen? In methyl- α -chymotrypsine (*N*-gemethyleerd His₅₇) is de protontransfer tussen histidine en aspartaat onmogelijk en toch wordt vastgesteld dat meer dan één proton tussenkomt in het katalytisch mechanisme.^{13,15}

¹² Venkatasubban, K.S.; Schowen, R.L. *CRC Crit. Rev. Biochem.* **1984**, 17, 1

¹³ a) Zimmerman, S.C.; Cramer, K.D. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, 110, 5906; b) Zimmerman, S.C.; Korthals, J.S.; Cramer, K.D. *Tetrahedron* **1991**, 47, 2649

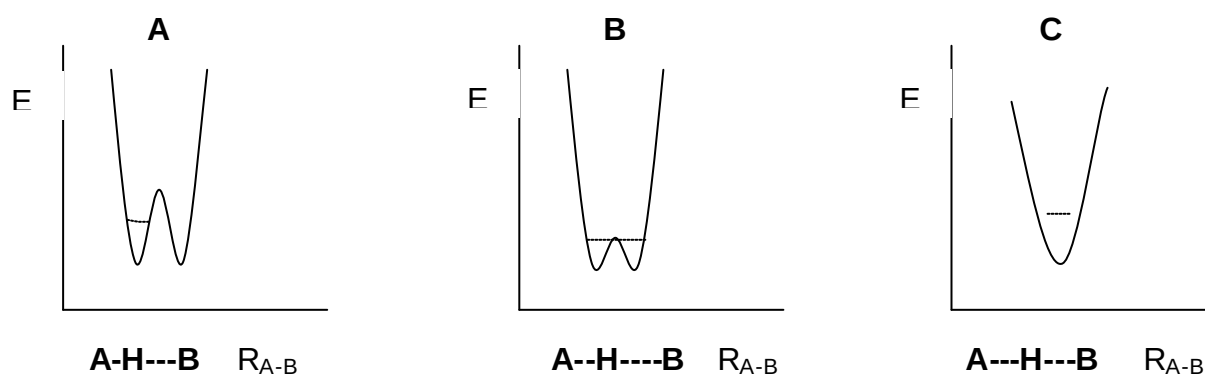
¹⁴ a) Bachovchin, W.W.; Roberts, D.J. *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, 100, 8041; b) Markley, J.L.; Ibanez, I.B. *Biochemistry* **1978**, 17, 4627

¹⁵ Chiang, Y.; Kresge, A.J.; Chang, T.K.; Powell, M.F.; Wells, J.A. *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* **1995**, 1587

Hieruit wordt besloten dat de andere protontransfer(s) misschien afkomstig is (zijn) van de waterstofbrugvorming tussen het oxyanion van het substraat en waterstofatomen van het enzym in de oxyanionholte. Verder onderzoek heeft echter aangetoond dat voor de reactie met een mutant enzym, dat niet beschikt over een oxyanionholte, de protoninventaris vergelijkbaar is met die van de reactie in aanwezigheid van α -chymotrypsine. Hieruit volgt duidelijk dat het heel moeilijk is om te achterhalen waar een tweede protontransfer optreedt, omdat in het enzym meerdere uitwisselbare waterstofatomen aanwezig zijn.

Een derde, meer controversiële visie postuleert dat er een 'low barrier hydrogen bond' aanwezig is tussen imidazool en de carboxylaatgroep.¹⁶ Deze waterstofbrug zou de reactiviteit van histidine als algemene basekatalysator moeten verhogen.

In theorie zijn drie typen waterstofbruginteracties mogelijk: de zwakke of conventionele waterstofbrug (2.4 tot 12 kcal/mol), de sterke of 'low barrier' waterstofbrug (12 tot 24 kcal/mol) en de 'single well' types, zeer sterke bindingen (meer dan 24 kcal/mol). De sterkte van de interactie is afhankelijk van het verschil in pK_a van de heteroatomen, van de afstand en van het solvent. Tot nog toe is het bestaan van 'low barrier hydrogen bonds' alleen in afwezigheid van water aangetoond.

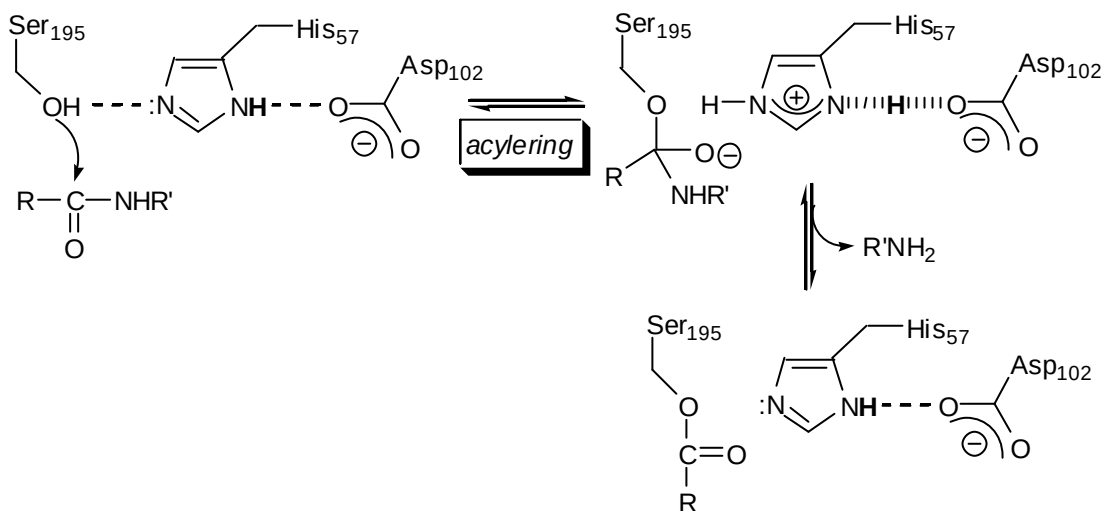


figuur II.3

¹⁶ a) Frey, P.A.; Whitt, S.A.; Tobin, J.B *Science* **1994**, 264, 1927; b) Tian, J.; Tan, J. Schowen, K.B.; Schowen, R.L. *Can. J. Chem.* **1999**, 77, 781

In een zwakke waterstofbrug is het waterstofatoom covalent gehecht aan één heteroatoom, de interactie met het andere atoom is hoofdzakelijk elektrostatisch (**figuur II.3, A**). Wanneer de pK_a 's van de twee heteroatomen vergelijkbaar worden, kan het waterstofatoom pendelen tussen beide atomen, met kleine energiebarrière om de transfer te bewerkstelligen (**B**). Wordt de afstand nog kleiner dan neemt de energiebarrière verder af en uiteindelijk is het waterstofatoom evenveel gebonden aan elk van de heteroatomen, de 'single well' binding (**C**).

In het mechanisme wordt gepostuleerd dat deze sterke waterstofbrug gevormd wordt in de transitietoestand en dat de energie die hierbij wordt vrijgesteld, gebruikt kan worden voor de stabilisatie van de transitietoestand (**schema II.3**). In het tetraëdraal intermediair wordt het oxyanion nog steeds gestabiliseerd door waterstofbrugbinding zoals verondersteld in de andere mechanismen. In de volgende stap, de afbraak van het tetraëdraal intermediair, wordt de sterke waterstofbrug weer verbroken.



schema II.3

De aanwezigheid van een 'low barrier hydrogen bond' kan aangetoond worden door het meten van de afstand tussen de twee heteroatomen via X-straaldiffractie-, via neutroondiffractie-analyse, of via de verschuiving in shiftwaarden van het waterstofatoom in het ^1H -NMR-spectrum. Het feit dat imidazool en aspartaat in het enzym een vergelijkbare pK_a -waarde moeten bezitten, wil er effectief sprake zijn van de sterke waterstofbrug en het feit dat een 'low barrier' waterstofbrug enkel kan

voorkomen als er geen water aanwezig zou zijn in de actieve site, zijn de voornaamste punten van kritiek op deze visie.¹⁷

Dat de kracht van enzymen een uniek samenspel is van binding en katalyse wordt duidelijk aangetoond door chymotrypsinogeen, de voorloper van α -chymotrypsine. Hoewel hier de katalytische triade aanwezig is, vertoont dit eiwit geen hydrolytische activiteit. Dit is te wijten aan het ontbreken van een bindingsholte en de afwezigheid van een oxyanionholte, die instaat voor de stabilisatie van het tetraëdrale intermediair en dus ook van de transitietoestand.¹⁸

Via biotechnologische technieken is het mogelijk om specifieke aminozuren in een eiwit te vervangen door andere. Vervangen van aspartaat en/of histidine in de katalytische triade door andere zowel zure, basische als neutrale aminozuren leidt tot mutant enzymen waarvan de activiteit veel lager is dan van α -chymotrypsine.¹⁹ Wordt echter serine vervangen door threonine dan verlaagt de katalytische activiteit drastisch. Hieruit wordt besloten dat de aanwezigheid van serine noodzakelijk is voor de activiteit van α -chymotrypsine. De katalytische efficiëntie wordt verhoogd door de aanwezigheid van een base, niet noodzakelijk histidine. Het is wel duidelijk dat het meest efficiënte enzym nog steeds de originele katalytische triade bezit. In dit kader kan wel nog opgemerkt worden dat recentelijk enzymen geïdentificeerd zijn, waarin een serine-lysine diade instaat voor de hydrolyse van amidebindingen, ook via een algemeen basegekatalyseerd mechanisme.²⁰

Sinds de ontrafeling van de structuur en het mechanisme van deze unieke biokatalysator in 1969, zijn chemici gefascineerd door het gemak waarmee de sterke amidebinding wordt gehydrolyseerd. Het enzym is slechts optimaal werkzaam onder fysiologische omstandigheden: te grote afwijkingen van temperatuur en solvent veroorzaakt denaturatie en inactivatie.

¹⁷ a) Warshel, A.; Papazyan, A.; Kollman, P.A. *Science* **1995**, 269, 102; b) Overgaard, J.; Schiott, B.; Larsen, F.K.; Schultz, A.J.; MacDonald, J.C.; Iversen, B.B. *Ang. Chem. Int. Ed. Engl.* **1999**, 38, 1239

¹⁸ Freer, S.T.; Kraut, J.; Robertus, J.D.; Wright, H.T.; Xuong, N.H. *Biochemistry* **1970**, 9, 1997

¹⁹ Corey, D.R.; Craik, C.S. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114, 1784

²⁰ Paetzel, M.; Dalbey, R.E. *Trends in Biol. Science* **1997**, 22, 28; b) Paetzel, M.; Strynadka, N.C.J. *Protein Science* **1999**, 8, 2533

Reeds jaren wordt gezocht naar het ontwerp van artificiële hydrolasen die onder meer algemene omstandigheden werkzaam zijn. Daarnaast kunnen de modelverbindingen een verdere bijdrage leveren in het onderzoek naar de specifieke taken van de aminozuren in de katalytische triade. Hierbij gaat de aandacht nu nog vooral uit naar het bepalen van de rol van aspartaat, naar de aanwezigheid van een 'low barrier' waterstofbrug en het verder ontrafelen van het mechanisme voor de hydrolyse van andere niet natuurlijke substraten, zoals esters.²¹

II.2 Artificiële hydrolasen

Voor de ontwikkeling van meer complexe niet-enzymatische hydrolasen bestaan verschillende strategieën, waaronder de '*design*'-, de '*transition state selection*'- en de '*catalytic activity selection*'-strategie de voornaamste zijn. De '*design*'-strategie focust op de ontwikkeling van één modelverbinding meestal uitgerust met een bindingsholte en functionele groepen die instaan voor de reactie. In de '*transition state selection*'-strategie wordt in aanwezigheid van een transitietoestandsanaloog van de te katalyseren reactie een bibliotheek aan modelverbindingen ontwikkeld. Via een screeningsprocedure, die steunt op de herkenning en binding van het transitietoestandsanaloog wordt het beste model geselecteerd. Deze aanpak, waarbij de nadruk ligt op binding van het substraat, wordt gebruikt in de ontwikkeling van antilichamen. Deze strategie heeft ook meer recent tot het proces 'moleculaire imprinting' geïnspireerd. In de '*catalytic activity selection*' strategie wordt ook een bibliotheek aan modelverbindingen gesynthetiseerd. Nu wordt niet alleen aandacht besteed aan binding van het substraat, maar via een geschikte screeningsprocedure wordt de beste katalysator voor het totale proces, binding en katalyse geselecteerd. Een volledig overzicht geven van alle reeds bereide modelverbindingen is bijna onmogelijk, daarom wordt het overzicht beperkt tot de meest relevante en de meest recente voorbeelden.

²¹ a) Neuvonen, H.; Neuvonen, K. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1998**, 1665; b) Bowden, K.; Brownhill, A. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1997**, 219; c) Kahn, M.N. *J. Org. Chem.* **1985**, 50, 4851

II.2.1 In vitro evolutie tot artificiële enzymen

De natuur heeft miljoenen jaren de tijd gehad om via mutatie van DNA enzymstructuren te optimaliseren om één welbepaald proces onder welgedefinieerde condities te katalyseren. Deze werkwijze kan nu toegepast worden om bestaande enzymen te modificeren zodanig dat ze andere reacties kunnen katalyseren. Via biotechnologische technieken is het nu mogelijk geworden om het DNA, dat codeert voor een bepaald enzym, te wijzigen.²² In de rationele aanpak worden doelgericht welbepaalde aminozuren in het enzym vervangen om zo de activiteit van het enzym te wijzigen. Deze strategie kan pas succesvol zijn indien de tertiaire structuur van het enzym en het werkingsmechanisme gekend zijn.

Voor enzymen waarvan de structuur onbekend is kan een andere benadering, 'directed molecular evolution', worden toegepast. In deze strategie worden aminozuren willekeurig gekozen en vervangen door andere. Dit leidt dan tot een bibliotheek van nieuwe enzymen met verschillende eigenschappen. Na een geschikte screening worden de beste katalysatoren geïsoleerd en hun DNA wordt gebruikt in een volgende cyclus om de eigenschappen verder te optimaliseren. Na een aantal cycli kan het 'verbeterde' enzym geïsoleerd worden.

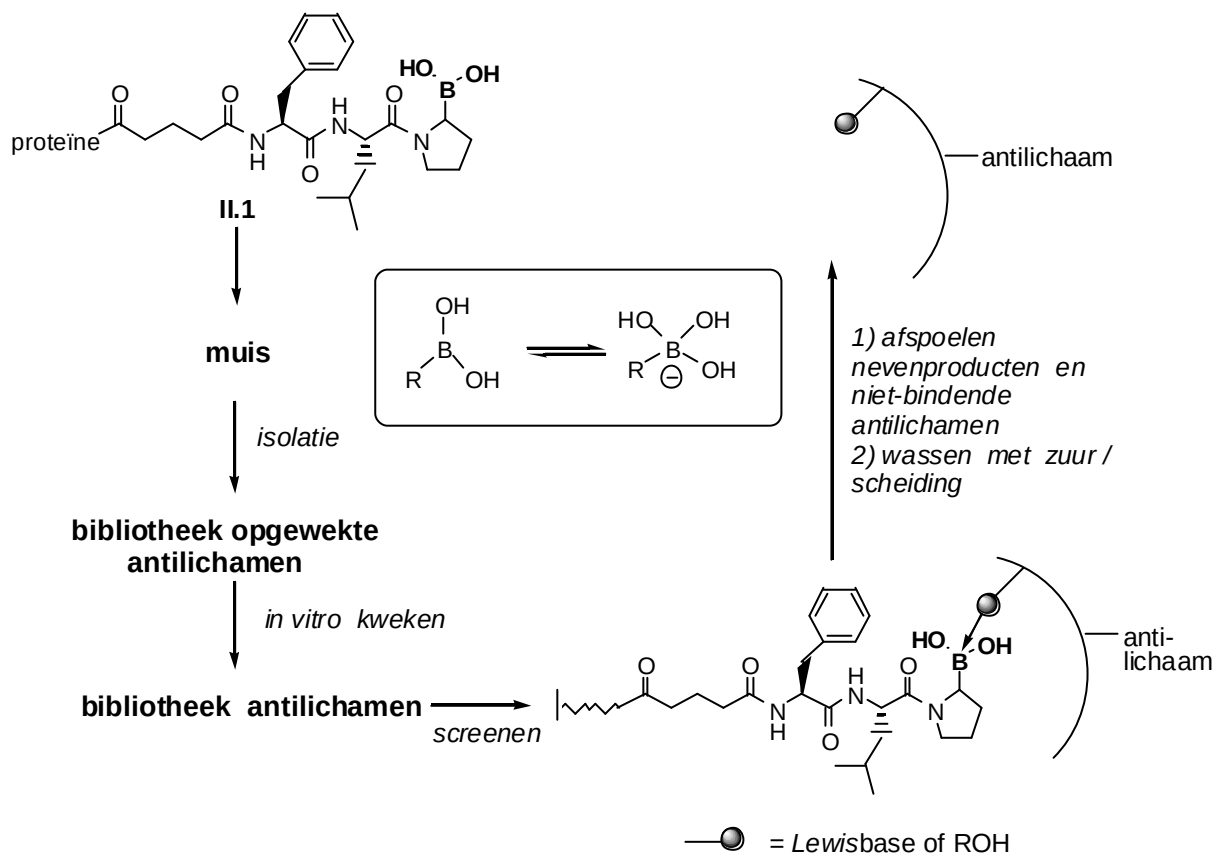
II.2.2 'Transition state selection'-strategie: antilichamen

Het immuunsysteem genereert een natuurlijke bibliotheek aan antilichamen als respons op de introductie van een lichaamsvreemde molecule in de bloedstroom. Het is mogelijk om één antilichaam, opgewekt ten opzichte van een bepaalde molecule, te isoleren. Traditioneel wordt een antilichaam, dat als enzymmodel zou kunnen fungeren, opgewekt ten opzichte van een hapteen. Een hapteen is een transitietoestandsanaloog van de reactie die gekatalyseerd moet worden. Het is een kleine molecule die vastgehecht wordt aan een transportproteïne om de immuunrespons te induceren. Hiertoe wordt het 'vreemde' eiwit ingespoten in een muis en de opgewekte antilichamen worden na isolatie in vitro verder gekweekt.

²² Powell, K.A.; Ramer, S.W.; del Cardayré, S.B.; Stemmer, W.P.C.; Tobin, M.B.; Longchamp, P.F.; Huisman, G.W. *Ang. Chem. Int. Ed. Engl.* **2001**, 40, 3949

Via affiniteitschromatografie wordt het antilichaam met de grootste bindingsaffiniteit voor het haptien geïsoleerd en kan de katalytische activiteit onderzocht worden.

Een mooi voorbeeld van deze techniek is de isolatie van het antilichaam BL-25 dat de hydrolyse van een primaire amidebinding katalyseert.²³ Het gekozen haptien **II.1** bevat een boorzuur dat in evenwicht staat met het tetraëdrale hydraat, dat het transitietoestandsanaloog voorstelt voor de additie van water aan een carbonylcentrum (**schema II.4**). Bij pH = 7.4 komt het boorzuur voornamelijk voor in de hydraatvorm.



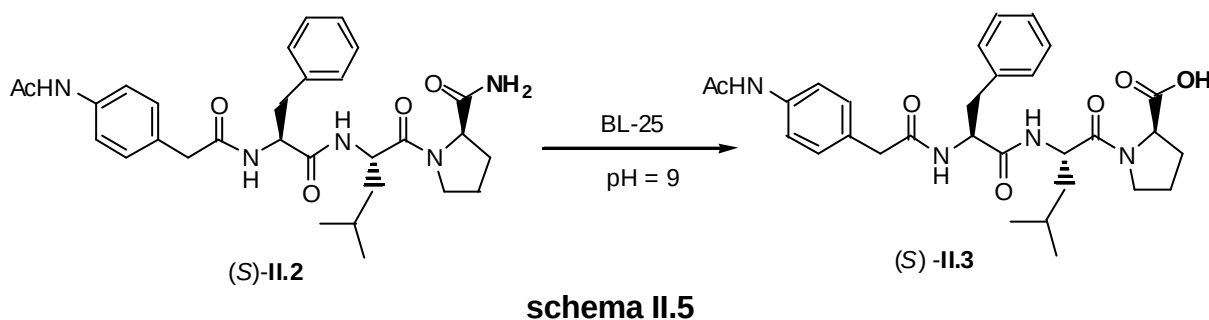
schema II.4

Anderzijds kan het haptien ook 'herkend' worden in de zure vorm door de antilichamen door interactie met een Lewisbase of door coördinatie met een hydroxylgroep in de katalytische holte van het antilichaam.

²³ Gao, C.; Lavey, B.J.; Lo, C.-H.; Datta, A.; Wentworth Jr., P.; Janda, K.D. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 2211

Op deze manier werden antilichamen geselecteerd die niet alleen kunnen instaan voor de stabilisatie van de transitietoestand maar ook nucleofiele katalyse toelaten. Na isolatie van de antilichamen uit de muis werden ze in vitro verder gekweekt. Vervolgens werd de bibliotheek gescreend, verschillende leden werden geïsoleerd en hun katalytische activiteit voor de hydrolyse van het primaire amide **II.2** werd onderzocht.

De beste resultaten werden bekomen met BL-25, dat de halfwaardetijd van de reactie doet terugvallen van 17.5 jaar tot 4 uur. Het mechanisme van de gekatalyseerde reactie wordt nog steeds onderzocht (**schema II.5**).



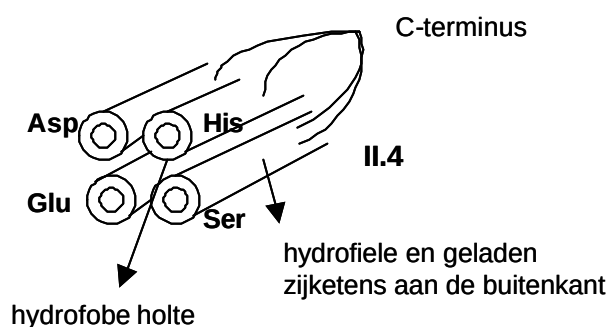
De selectie van de enzymmodellen is hoofdzakelijk gebaseerd op binding en niet op katalytische activiteit: het geselecteerde antilichaam zal het hapteen het beste binden, maar daarom niet de reactie het best katalyseren.³ Andere nadelen zijn de noodzaak om muizen te gebruiken om de antilichamen te genereren en de isolatie van de antilichamen die zeer gespecialiseerde technieken vereist en zeer tijdrovend kan zijn.

II.2.3 Pepzymen of micro-enzymen

Natuurlijke biokatalysatoren zijn meestal grote, omvangrijke moleculen (> 10 kDa). Chemici durven zich wel eens de vraag stellen of er een verband bestaat tussen grootte en activiteit. Er komen immers ook kleinere enzymen (moleculaire massa <

10 kDa), de zogenaamde micro-enzymen, in de natuur voor.²⁴ De katalytische activiteit van deze verbindingen is tot nog toe nog niet achterhaald.

Geïnspireerd door de microenzymen zijn de zogenaamde pepzymen ontwikkeld, kleine synthetische peptiden, die één of meerdere aminozuren van de katalytische triade bevatten. Eén van de eerste voorbeelden is het 'chymohelizyme' **II.4** van Stewart (**figuur II.4**).²⁵ Het enzymmodel bestaat uit 73 aminozuren die een bundel van vier α -helices vormen. Aan de amine-uiteinden van elke helix bevindt zich een aminozuur van de katalytische triade. Het uiteinde van de vierde helix bestaat uit een glutamaat, dat via waterstofbrugbindingen niet alleen kan instaan voor de stabilisatie van het oxyanion maar ook een belangrijke rol speelt in stabilisatie van de hele structuur.



figuur II.4

De carboxyluiteinden van de helices worden covalent met elkaar verbonden, waardoor de driedimensionele structuur van de bundel ervoor zorgt dat de aminozuren van de triade ruimtelijk goed georiënteerd worden. Er is verder een hydrofobe pocket voorzien waarin hydrofobe zijketens van het substraat kunnen binden. Na synthese van het peptide via vaste fasechemie werd de activiteit van het model **II.4** geëvalueerd ten opzichte van tyrosine-*p*-nitrofenyl- en ethylesters. In het geval van de geactiveerde fenylester bezit het helizyme 2.5% van de activiteit van α -chymotrypsine. De reactie met de ethylester werd in vergelijking met de niet-gekatalyseerde reactie met een factor 10^5 versneld. De activiteit bedraagt 0.03% van de activiteit van het natuurlijk enzym.

²⁴ Monti, D.; Riva, S. *Biocatalysis and Biotransformation* **2001**, 19, 251

²⁵ Hahn, K.W.; Klis, W.A.; Stewart, J.M. *Science* **1990**, 248, 1544

Later werden de experimenten herhaald: er werd geen reactie meer waargenomen met de ethylester, wel met de geactiveerde fenylester, maar de hydrolyse verliep veel trager.²⁶ Er werd een analoog helizyme ontwikkeld zonder histidine aan het amine-uiteinde. De *p*-nitrofenylester wordt met dezelfde snelheid gehydrolyseerd in vergelijking met het originele model. Ook wanneer de bundel slechts bestaat uit twee helices, met serine en aspartaat, is de versnelling nog significant. De activiteit is waarschijnlijk te wijten aan verschillende aanwezige lysinen, die de taak van histidine kunnen overnemen. Het helizyme bezit dus wel degelijk katalytische activiteit ten opzichte van geactiveerde esters, maar het mechanisme blijft alsnog onduidelijk.

Een andere mogelijkheid is de reconstructie van de actieve site van het natuurlijke enzym door de belangrijkste aminozuren covalent te linken tot een cyclisch peptide II.5.²⁷

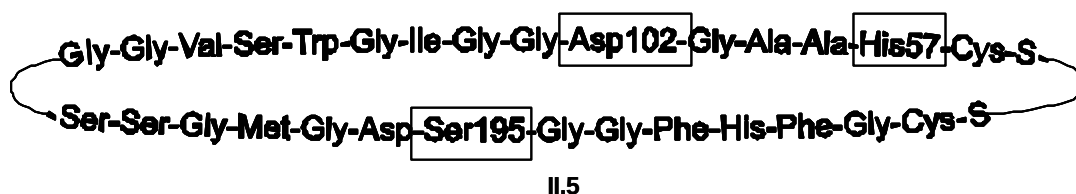


fig. II.5

De noodzakelijke proximitéit tussen de verschillende aminozuren wordt bewerkstelligd door glycinespacers (**figuur II.5**). De cyclische structuur wordt bekomen door sluiting via disulfidebruggen. De acyclische versie bleek inactief ten opzichte van een tyrosine-ethylester. Het cyclisch peptide daarentegen hydrolyseert de ethylester met een snelheid vergelijkbaar met α -chymotrypsine. De iets lagere snelheid is waarschijnlijk te wijten aan de flexibiliteit van de modelverbinding. Vooraleer er activiteit kan optreden, moet gezocht worden naar een geschikte actieve conformatie.

Twee onafhankelijke onderzoeksgroepen hebben bij herhaling van de experimenten geen versnellingseffect op de hydrolyse van de ethylesters kunnen waarnemen.²⁸

²⁶ Corey, M.J.; Hallakova, E.; Pugh, K. Stewart, J.M. *Applied Biochemistry and Biotechnology* **1994**, 47, 199

²⁷ Atassi, M.Z.; Manshour, T. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1993**, 90, 8282

Omwillen van een grotere flexibiliteit en kleinere hydrofobe interacties tussen de aminozuurzijketens hebben kleine peptiden geen welgedefinieerde structuur in oplossing.²⁹ Het is dan ook moeilijk om aan te nemen dat het bovenstaand cyclisch peptide, zeker met de talrijke flexibele glycinelinkers, een stabiele driedimensionele structuur zal kunnen aannemen die zal lijken op katalytische site van α -chymotrypsine. Uit het NMR-spectrum van het cyclisch peptide zijn er geen aanwijzingen dat het peptide voorkomt in een stabiele tertiaire structuur. Hieruit wordt weer duidelijk dat de efficiëntie van een enzym niet alleen te wijten is aan de aanwezigheid van de katalytische triade.

Een ander model (KO42 (**II.6**)), ontworpen door *Baltzer*, is een polypeptide van 42 aminozuren dat opvouwt in een hairpin-helix-loop-helix motief en dat na dimerisatie voorkomt als een 4-helixbundel (**figuur II.6**).³⁰ Aan het oppervlak van het peptide kan de hydrolyse van een geactiveerd ester gekatalyseerd worden. In de reactieve site komen zes histidines voor.

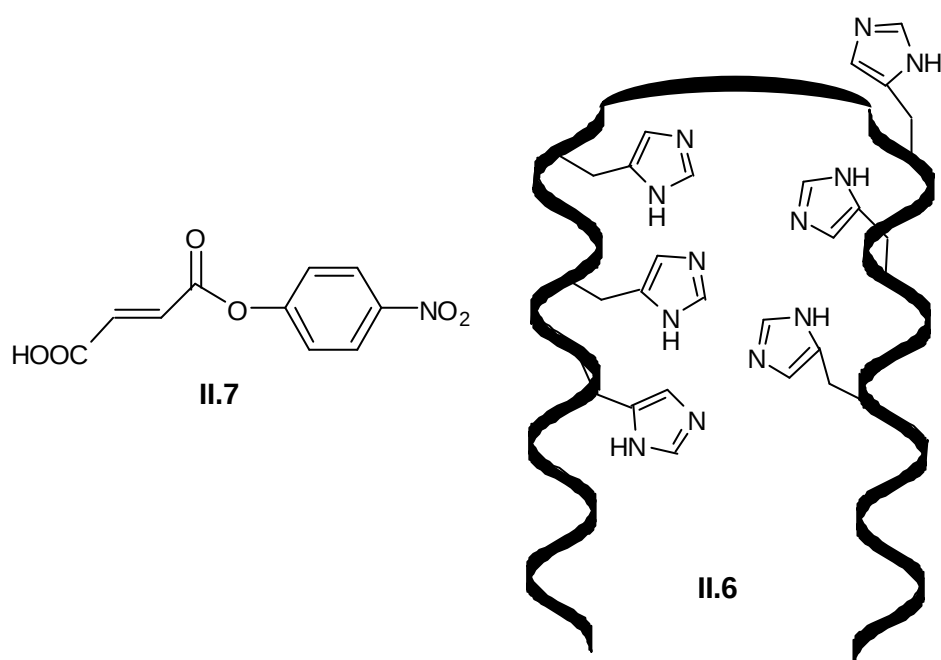


fig. II.6

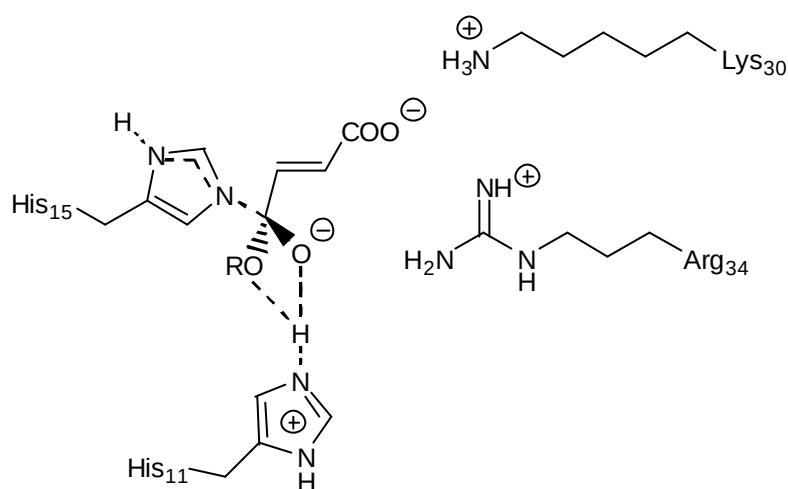
²⁸ a) Wells, J.A.; Fairbrother, W.J.; Otlewski, J.; Laskowski, M., Jr.; Burnier, J. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1994**, 91, 4110; b) Corey, D.R.; Phillips, M.A. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1994**, 91, 4106

²⁹ Matthews, B.W.; Craik, C.S.; Neurath, H. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1994**, 91, 4103

³⁰ Broo, K.S.; Brive, L.; Ahlberg, P.; Baltzer, L. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 11362

Uit het meten van solventisotoopeffecten kan afgeleid worden dat het mechanisme afhankelijk is van de pH. Bij lage pH (pH = 4.1) wordt de hydrolyse van het substraat **II.7** 1140 keer versneld in vergelijking met methylimidazool. Bij hogere pH neemt de activiteit van de modelverbinding af: de snelheidsconstante wordt vergelijkbaar met die voor de reactie van de afzonderlijke histidines met de ester.

De hoge reactiviteit van het model bij lage pH is te wijten aan de coöperativiteit van twee histidines. In één helix gedraagt één histidine, op positie i-4, zich als nucleofiel. Een andere, op positie i, is geprotoneerd en kan door algemene zuurkatalyse de uitstoot van de leavinggroep beïnvloeden.

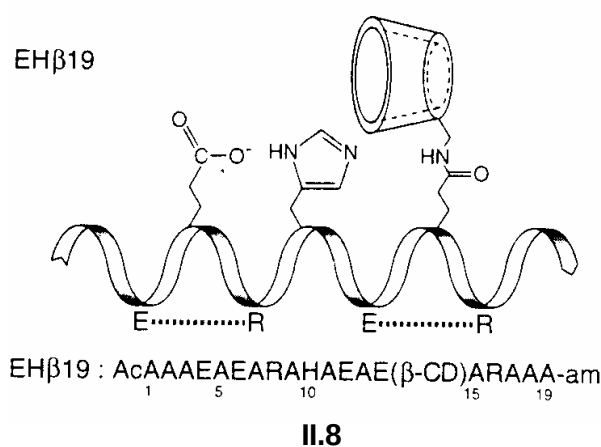


schema II.6

Wanneer in de tweede helix van KO42 een lysine en een arginine worden ingebouwd die de actieve histidines flankeren, stijgt de reactiviteit ten opzichte van substraat **II.7**. Waarschijnlijk staan de zijketens van deze aminozuren in voor de stabilisatie van de transitietoestand (**schema II.6**). Door een bibliotheek aan dimeren te ontwikkelen, waarbij op verschillende posities van de helix verschillende aminozuren ingebouwd worden, wordt momenteel getracht om voor diverse substraten typische modelverbindingen te synthetiseren.³¹

³¹ a) Broo, K.S.; Nilsson, H.; Nilsson, J.; Flodberg, A.; Baltzer, L. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 4063; b) Broo, K.S.; Nilsson, H.; Nilsson, J.; Baltzer, L. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 10287; c) Baltzer, L.; Broo, K.S.; Nilsson, H.; Nilsson, J. *Bioorg. & Med. Chem.* **1999**, *7*, 83; d) Nilsson, J.; Baltzer, L. *Chem. Eur. J.* **2000**, *6*, 2214

Het is niet gemakkelijk om een bindingsite te introduceren in kleine peptiden, daarom is recent door Ueno een modelverbinding ontwikkeld waar een cyclodextrine wordt aangehecht op een peptide- α -helix **II.8** (figuur II.7).³² β -Cyclodextrine fungeert in de eerste plaats als bindingsholte. Het peptide zelf bestaat hoofdzakelijk uit alanine om de secundaire helixstructuur te garanderen. De helix wordt verder gestabiliseerd door de aanwezigheid van intramoleculaire zoutbruggen tussen glutamaat en arginine. De katalytische triade bestaat uit een alcohol van cyclodextrine, imidazool van histidine en de carboxylaatgroep van glutamaat.



figuur II.7

Wanneer de secundaire structuur gevormd wordt, zijn de katalytische aminozuren zo geplaatst dat ze georiënteerd worden aan dezelfde kant van de helix. De hydrolyse van *p*-nitrofenylacetaat wordt in aanwezigheid van het model met een factor 10^3 versneld. In het voorgestelde mechanisme treedt imidazool op als nucleofiel. De carboxylaatgroep speelt niet alleen een belangrijke rol speelt in de stabilisatie van de transitietoestand, maar gedraagt zich ook als algemene basekatalysator.

Het dipeptide serine-histidine is waarschijnlijk één van de kleinste actieve modelverbindingen.³³

³² a) Tsutsumi, H.; Hamasaki, K.; Mihara, H.; Ueno, A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, 10, 741;

b) Tsutsumi, H.; Hamasaki, K.; Mihara, H.; Ueno, A. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **2000**, 1813

³³ Li, Y.; Zhao, Y.; Hatfield, S.; Wan, R.; Zhu, Q.; Li, X.; McMills, M.; Ma, Y.; Li, J.; Brown, K.L.; He, C.; Liu, F.; Chen, X. *Bioorg. Med. Chem.* **2000**, 8, 2675

De hoge activiteit van dit model is waarschijnlijk te wijten aan het feit dat één van de minimale energieconformaties vergelijkbaar is met de oriëntatie van serine en histidine in de katalytische site van α -chymotrypsine. Het dipeptide is in staat om zowel DNA, geactiveerde esters als proteïnen te splitsen. Opmerkelijk is wel dat alleen Ser-His actief is, de omgekeerde sequentie His-Ser is niet actief. De α -aminogroep van serine gedraagt zich als algemene basekatalysator, algemene zuurkatalyse wordt geleverd door histidine.

Eén van de grootste problemen bij deze modelverbindingen is de flexibiliteit van de structuur, waardoor het moeilijk wordt om conformationeel voorspelbare systemen te ontwikkelen.²⁴

II.2.4 Synzymen

Synzymen zijn synthetische polymeren die enzymatische activiteit bezitten. Er kunnen verschillende redenen aangehaald worden waarom polymeren geschikt zijn als artificiële enzymen: polymeren zijn net als enzymen opgebouwd uit lineaire ketens van monomeren en vouwen spontaan op tot een stabiele driedimensionele structuur. Dit soort studies zou meer inzicht kunnen verschaffen in het opvouwingsmechanisme van proteïnen.³⁴ Polymeren zijn nieuwe materialen die in het algemeen meer compatibel zijn met verschillende solventen, chemicaliën, pH- en temperatuursomstandigheden en ze zijn gemakkelijk toegankelijk voor industriële toepassingen.

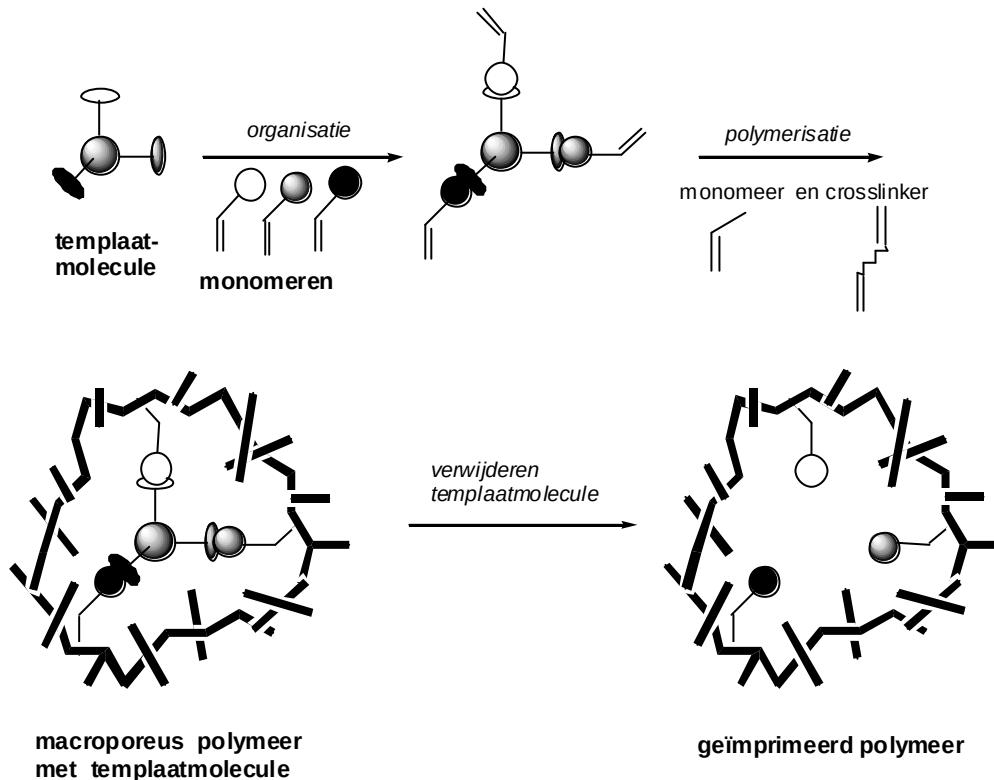
De zoektocht naar synzymen is begonnen kort na de ontrafeling van het mechanisme van de serineproteasen rond 1970.³⁵ In het begin werden polymeren ontwikkeld die de functionele groepen van de katalytische triade bevatten, verspreid over het polymeer. Ze werden bereid door copolymerisatie van monomeren die de zijketens van de katalytische triade bevatten of door de incorporatie van de functionele groepen door reactie met de zijketens van het polymeer.

³⁴ Fife, W.K. *Trends in Polymer Science* **1995**, 3, 214

³⁵ Wulff, G. *Chem. Rev.* **2002**, 102, 1

De reactiviteit van deze modelverbindingen was meestal beperkt, gezien het niet mogelijk was een driedimensionele structuur te verkrijgen waarin de katalytische functionele groepen goed georiënteerd worden. Uitzondering was een poly(chloormethylstryreen-co-divinylbenzeen) waarop via nucleofiele substitutie willekeurig imidazoolgroepen worden geïntroduceerd.³⁶ De halfwaardetijd voor de hydrolyse van het eiwit albumine bij kamertemperatuur werd met een factor 10^7 gereduceerd. Er is nog onduidelijkheid over hoe twee imidazoolfuncties in de actieve site samenwerken om die versnelling te bewerkstelligen.

Via moleculaire imprinting wordt het mogelijk om de gewenste oriëntatie en proximitéit van de functionele groepen te induceren in de driedimensionele structuur.³ Het is een polymerisatietechniek die leidt tot macroporeuze polymeren met bindingsites die specifieke moleculen kunnen binden, analoog aan de templaاتمolecule die gebuikt wordt tijdens de imprinting. Als de templaاتمolecule een transitietoestandsanaloog is, kunnen de polymeren zich gedragen als een artificiëel enzym. Het principe van deze techniek wordt uitgelegd in **schema II.7**.

**schema II.7**

³⁶ Suh, J.; Oh, S. *J. Org. Chem.* **2000**, 65, 7534

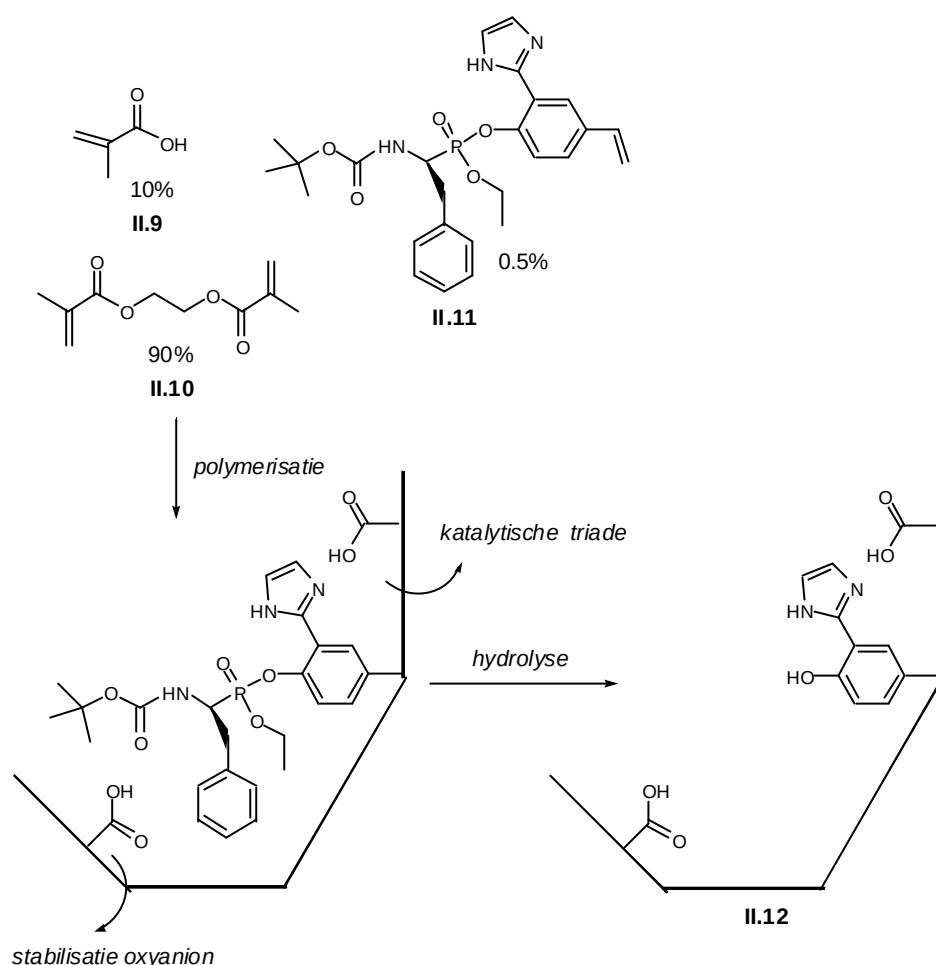
In een eerste stap interageren de functionele groepen van de monomeren via covalente of niet-covalente interacties met de templaاتمolecule. Een crosslinker wordt vervolgens aan het mengsel toegevoegd en na copolymerisatie wordt de templaاتمolecule verwijderd. Dit geeft aanleiding tot welgedefinieerde caviteiten in de polymeerstructuur. Via deze techniek is het dus mogelijk om de relatieve locatie van bepaalde functionele groepen in de polymeerstructuur te controleren.

Het is duidelijk dat de interactie tussen de monomeren en de templaاتمolecule tijdens de polymerisatie stabiel moet zijn en dat de templaاتمolecule onder milde omstandigheden volledig verwijderd moet kunnen worden. Er zijn reeds verschillende enzymmodellen op basis van deze aanpak gekend.

Een voorbeeld is polymeer **II.12** dat in staat is om de hydrolyse van een *p*-nitrofenylester 10 keer te versnellen in vergelijking met de hydrolyse door imidazool.³⁷ Het polymeer is opgebouwd uit drie componenten: het monomere zuur **II.9**, de crosslinker ester **II.10** en het transitietoestandsanaloog fosfonaat **II.11**, dat hier tevens ook een monomeer bevat (**schema II.8**). Copolymerisatie en hydrolyse van het fosfonaat levert enzymmodel **II.12** dat beschikt over een fenol-, een imidazool- en een carboxylaatfunctie in de actieve site. Daarnaast is ook een bindingsholte voorzien, waarin een carbonzuur aanwezig is dat kan instaan voor de stabilisatie van het oxyanion. Hier wordt de templaاتمolecule **II.11** via covalente interacties aan de monomeren gebonden, andere voorbeelden maken gebruik van een metaalion, zoals cobalt, om via coördinatie-interacties de monomeren en de templaاتمolecule samen te brengen.³⁸

³⁷ a) Sellergren, B.; Shea, K.J. *Tetrahedron Asymmetry* **1994**, 5, 1403; b) Sellergren, B.; Karmalkar, R.N.; Shea, K.J. *J. Org. Chem.* **2000**, 65, 4009

³⁸ Lele, B.S.; Kulkarni, M.G.; Mashelkar, R.A. *Reactive and Functional Polymers* **1999**, 39, 37

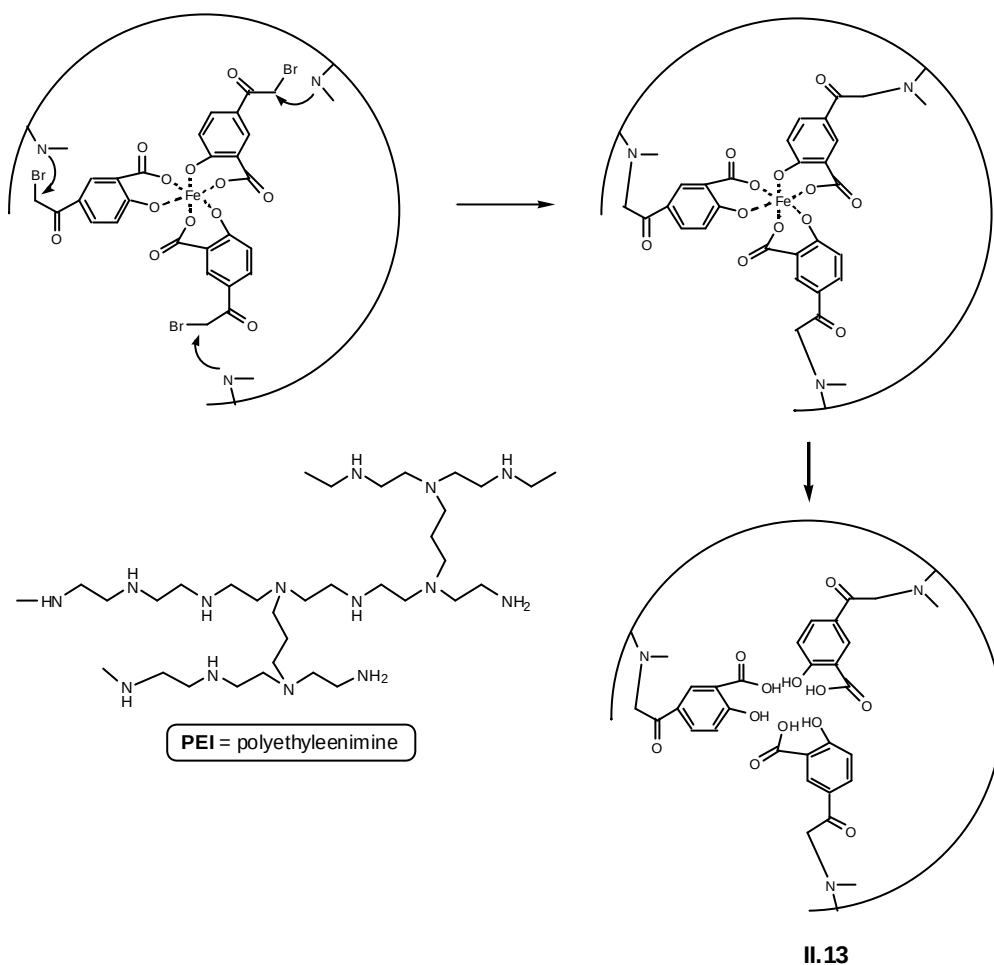


schema II.8

Een andere methodologie bestaat erin om verschillende functionele groepen in de goede oriëntatie te plaatsen op een macromoleculaire ruggengraat.

Een voorbeeld is de introductie van drie salicylaatmoleculen, onderling gecoördineerd door een ijzerion, op een poly(ethyleenimine) ruggengraatstructuur (**schema II.9**).³⁹ Elk salicylaat bestaat uit een carbonzuur en een fenolgroep, die coördineren met het ijzerion, waardoor de noodzakelijke proximateit van de drie salicylaatmoleculen verzekerd wordt. Via een nucleofiele substitutiereactie worden de salicylaatmoleculen vervolgens vastgehecht aan het polymeer. In de bekomen modelverbinding **II.13** zijn uiteindelijk de drie functionele groepen aanwezig, een alcoholfunctie, een carbonzuur en een amine van het poly(ethyleenimine), die kunnen samenwerken om de hydrolyse van een amidebinding te versnellen.

³⁹ Suh, J.; Hah, S.S. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120, 10088



schema II.9

De hydrolyse van het proteïne γ -globuline wordt in aanwezigheid van **II.13** gevoelig versneld (factor 10^6 in vergelijking met de niet-gekatalyseerde reactie).

Er wordt verondersteld dat het effect van de polymeren op de hydrolysesnelheid alleen maar te wijten is aan het imprinting effect, meer specifiek aan de welgedefinieerde structuur van de caviteit en aan de correcte positie van de geïntroduceerde functionele groepen in die holte.³⁵ Daarentegen kunnen ook andere effecten een rol spelen in de geobserveerde versnelling, zoals niet-selectieve katalyse door adsorptie aan het oppervlak of door andere functionele groepen in het polymeer of door nabuurgroep participatie. De temperatuur kan ook een belangrijke rol spelen in het geobserveerde effect: bij verhoogde temperatuur zwellen de polymeren waardoor meer caviteiten beschikbaar worden. Het aantal actieve sites varieert dus met de temperatuur.

Een goede interpretatie van de bekomen resultaten is slechts mogelijk wanneer voldoende controle-experimenten uitgevoerd zijn om alle neveneffecten uit te sluiten.

II.2.5 'Catalytic activity selection'-strategie

In ons laboratorium is recent een bibliotheek aan modelverbindingen voor α -chymotrypsine ontwikkeld via vaste fase-chemie. De verschillende leden bestaan uit een dipodale steroïdscaffold waaraan twee peptideketens gehecht zijn. De ketens bestaan uit drie aminozuren, waaronder één serine- of histidineresidu. Er kan verwacht worden dat in de beste katalysator serine en histidine zullen samenwerken om de hydrolyse van geactiveerde esters te versnellen. De screening van de bibliotheek werd dan ook gebaseerd op de reactie van de verschillende modelverbindingen met een gekleurde, reactieve ester.⁴⁰

II.2.6 Designstrategie

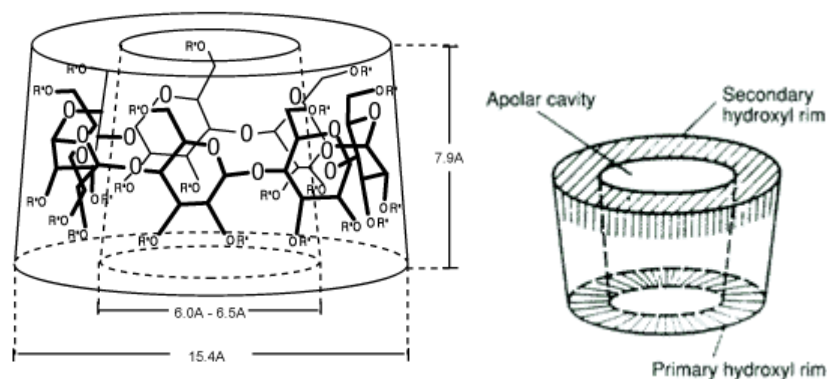
In deze benadering wordt één wegebepaalde modelverbinding ontwikkeld. Hierin staat een caviteit, waarin het substraat gebonden kan worden en waarop goed geplaatste functionele groepen, die instaan voor de hydrolysereactie, ingebouwd kunnen worden, centraal. Naast de populaire cyclodextrines kunnen ook kroonethers, calixarenen en cryptanden fungeren als bindingsholte.⁴¹

Cyclodextrines zijn cyclische suikerderivaten, karakteristiek zijn hun afgeknotte kegelvormige structuur en hun hydrofobe holte (**figuur II.8**). De beide zijden van de kegel worden gekenmerkt door de aanwezigheid van talrijke alcoholfuncties. De primaire alcoholen, afkomstig van de C₆-alcoholgroepen van de α -D-glucose-eenheden, bevinden zich aan de bovenkant van de kegelstructuur. De secundaire C₂- en C₃-alcoholfuncties van de suikereenheden bevinden zich aan de breedste kant van de kegel.

⁴⁰ De Muynck, H.; Madder, A.; Farcy, N.; De Clercq, P.J.; Pérez-Payan, M.N.; Öhberg, L.M.; Davis, A.P. *Ang. Chem. Int. Ed. Engl.* **2000**, 39, 145

⁴¹ a) Lehn, J.M.; Sirlin, C. *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* **1978**, 949; b) Pirincioglu, N.; Zaman, F.; Williams, A. *J. Chem. Soc. Perkin Trans.1* **1996**, 2561; c) Cram, D.J.; Katz, H.E. *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, 105, 135

Naargelang het aantal α -D-glucose-eenheden waaruit de cyclische structuur bestaat, onderscheidt men α -, β - en γ -cyclodextrine: α -cyclodextrine bestaat uit 6 glucose-eenheden, β uit 7 en γ uit 8. De suikereenheden zijn aan elkaar gebonden via een 1,4-glycosidische binding.



figuur II.8

De grote stabiliteit van de structuur en de moeilijke oplosbaarheid in talrijke solventen, waaronder ook in water, is voornamelijk te wijten aan de talrijke waterstofbrugbindingen die aanwezig zijn tussen de verschillende hydroxylgroepen.

Eén van de unieke kenmerken van cyclodextrines is de mogelijkheid om in polaire media apolaire moleculen in de hydrofobe caviteit te binden.

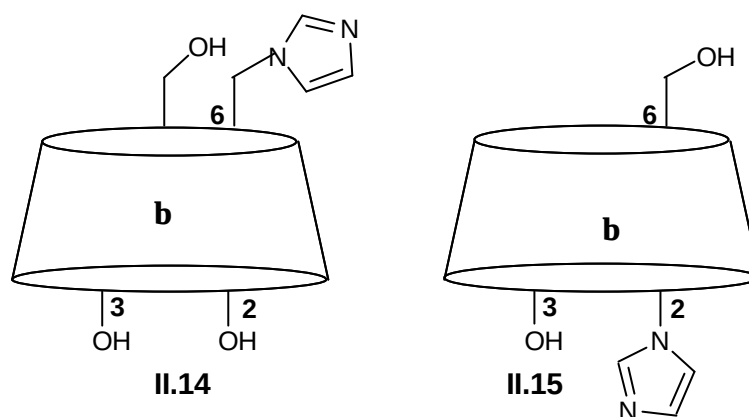
Talrijke toepassingen van cyclodextrinen zijn gekend, ze worden bijvoorbeeld als transportmolecule voor geneesmiddelen gebruikt. In ons interessegebied zijn ze vooral populair omwille van hun rigide structuur, de alcoholgroepen die toelaten verschillende functionaliteiten in te bouwen en hun hydrofobe holte die het substraat kan complexeren.

Niet-gemodificeerde cyclodextrines zijn zelf in staat om de hydrolyse van geactiveerde substraten te katalyseren onder basische omstandigheden. Het effect van cyclodextrines op de hydrolysesnelheid van esters, *N*-acetylimidazool en *p*-nitrofenyl-2,2,2-trifluoracetanilides is reeds onderzocht.⁴²

⁴² a) Breslow, R.; Dong, S.D. *Chem. Rev.* **1998**, 98, 1997; b) Grandos, A.; de Rossi, R.H. *J. Org. Chem.* **1993**, 58, 1771; c) Palmer, D.R.J.; Buncel, E.; Thatcher, G.R.J. *J. Org. Chem.* **1994**, 59, 5286

Het katalytisch effect is echter klein, daarom werd gedacht om de verschillende alcoholfuncties te modificeren en zo de functionele groepen van de katalytische triade in te bouwen.

Eerst werd één hydroxylfunctie aan de primaire kant in β -cyclodextrine vervangen door een imidazoolgroep (**figuur II.9**, **II.14**). Het effect op de hydrolysesnelheid van *p*-nitrofenylacetaat is relatief klein (12 keer sneller dan β -cyclodextrine zelf).



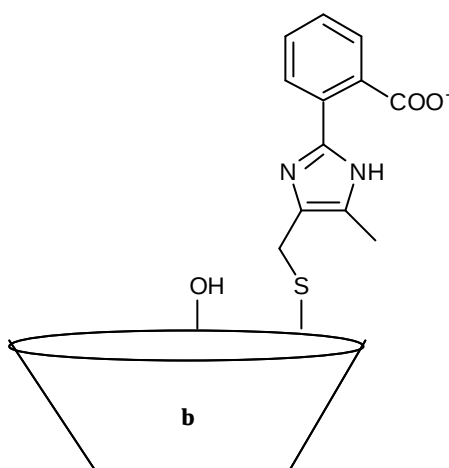
figuur. II.9

De modelverbinding met de imidazoolgroep aan de secundaire kant (**II.15**) is efficiënter (860 keer sneller dan β -cyclodextrine). Het effect zou te wijten zijn aan algemene basekatalyse door de imidazoolgroep.⁴³

Bender ontwikkelde enzymmodel **II.16** voorzien van de drie functionele groepen aanwezig in de katalytische triade van α -chymotrypsine (**figuur II.10**).⁴⁴ De katalytische activiteit werd geëvalueerd ten opzichte van *m*-*tert*-butylfenylacetaat bij pH = 10.7 en werd vergeleken met de activiteit van het natuurlijke enzym ten opzichte van *p*-nitrofenylacetaat bij pH = 8. Het model bezit een hogere activiteit dan het enzym zelf. Dit zou te wijten zijn aan binding van het substraat en aan algemene basekatalyse van imidazool in samenwerking met de carboxylaatgroep.

⁴³ Rao, K.R.; Srinivasan, T.N.; Bhanumathi, N.; Sattur, P.B. *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* **1990**, 10

⁴⁴ D'Souza, V.T.; Hanabusa, K.; O'Leary, T.; Gadwood, R.C.; Bender, M.L. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **1985**, 129, 727

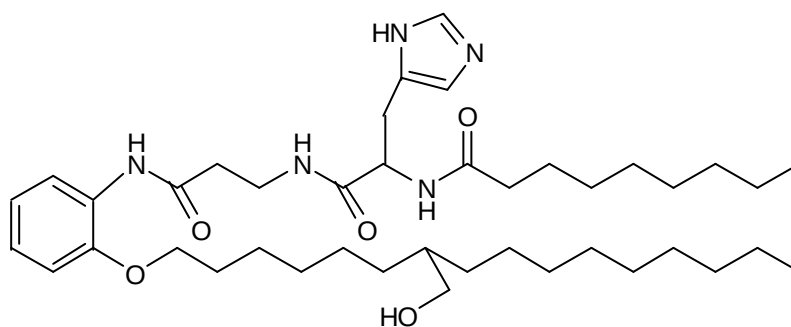


II.16

figuur II.10

Later werd de activiteit van dit model opnieuw geëvalueerd ten opzichte van hetzelfde substraat en de resultaten werden vergeleken met de hydrolyse in aanwezigheid van β -cyclodextrine. Hieruit bleek dat het niet-gemodificeerde cyclodextrine een betere katalysator was en dat er geen coöperatief effect optreedt tussen de drie functionele groepen. Waarschijnlijk blokkeert de thiolgroep zelfs de caviteit zodanig dat de binding van het substraat door **II.16** moeilijker wordt.⁴⁵

Een enzymmodel bezit niet altijd een hydrofobe bindingsholte, een voorbeeld hiervan is modelverbinding **II.17**.⁴⁶ De alcohol- en de imidazoolgroep werken samen om de reactie te katalyseren en lange alkylketens zouden een hydrofobe omgeving moeten creëren om apolaire substraten te kunnen herkennen (**figuur II.11**).



II.17

figuur II.11

⁴⁵ Breslow, R.; Chung, S. *Tetrahedron Lett.* **1989**, 30, 4353

⁴⁶ Jones, R.C.F.; Tankard, M.; Higton, A.M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1991**, 1, 353

De hydrolyse van *p*-nitrofenyldecanoaat in aanwezigheid van **II.17** verloopt vijf keer sneller dan met imidazool.

In de ontwikkeling van artificiële proteasen ligt de nadruk meestal op het bindingsaspect, zeker in de designstrategie. Daarnaast vertonen de meeste enzymmodellen slechts activiteit bij de hydrolyse van reactieve estersubstraten. Proteasen zijn echter geen natuurlijke esterasen. Er blijft ook discussie of de hydrolyse van geactiveerde esters in aanwezigheid van α -chymotrypsine verloopt via het algemene base- en algemene zuurgekatalyseerde mechanisme.^{47, 48}

Ons laboratorium opteert voor een alternatieve aanpak: eerst zal de nodige aandacht besteed worden aan het ontwerp van een modelverbinding die optimaal functioneert via een mechanisme geïnspireerd door dat van α -chymotrypsine. Daarna zullen elementen geïncorporeerd worden die moeten instaan voor de herkenning van het substraat. Deze stapsgewijze opbouw van de modelverbinding zal ons toelaten om elke bijdrage aan de katalytische activiteit afzonderlijk te evalueren.

In eerste instantie zullen de reacties verlopen in acetonitril; niet in water zoals in de meest bestudeerde hydrolysereacties. Acetonitril wordt als solvent gekozen omwille van zijn polair karakter, wat belangrijk kan zijn bij de stabilisatie van de gevormde, geladen intermediären. Daarnaast is acetonitril mengbaar met water. In afwezigheid van water zal de reactie stoppen wanneer de modelverbinding geacyleerd is, wordt vervolgens water toegevoegd dan kan de deacylering nader bestudeerd worden.

⁴⁷ Quinn, D.M.; Elrod, J.P.; Ardis, R.; Friesen, P.; Schowen, R.L. *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, 102, 5358

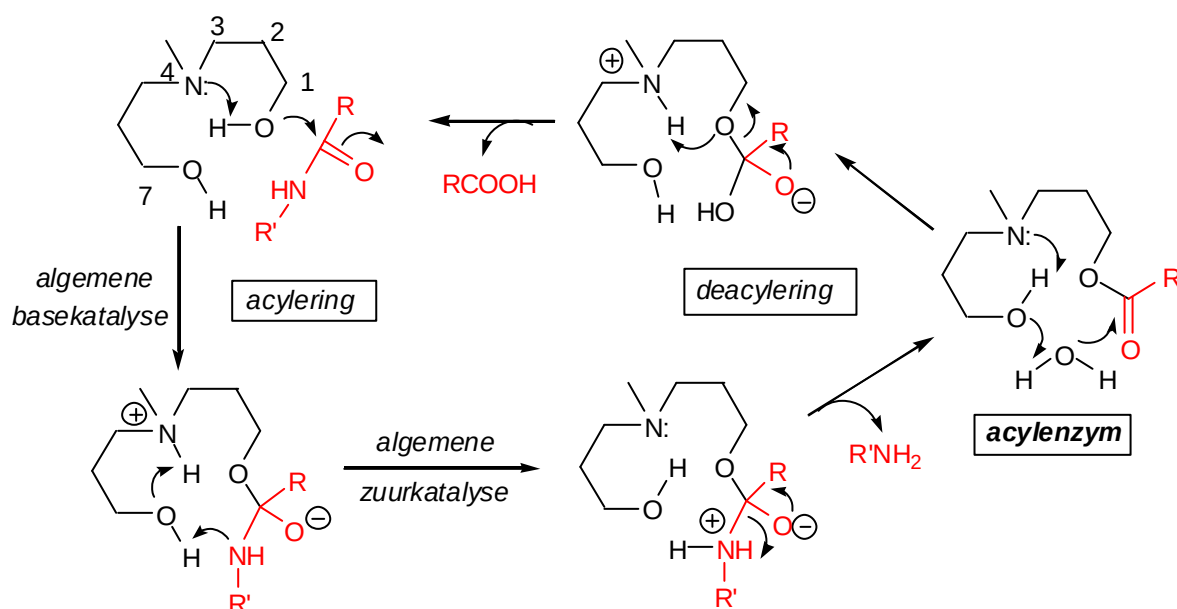
⁴⁸ Hess, R.A.; Hengge, A.C.; Cleland, W.W. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120, 2703

II.3 Voorstelling doelmolecule

II.3.1 Algemeen

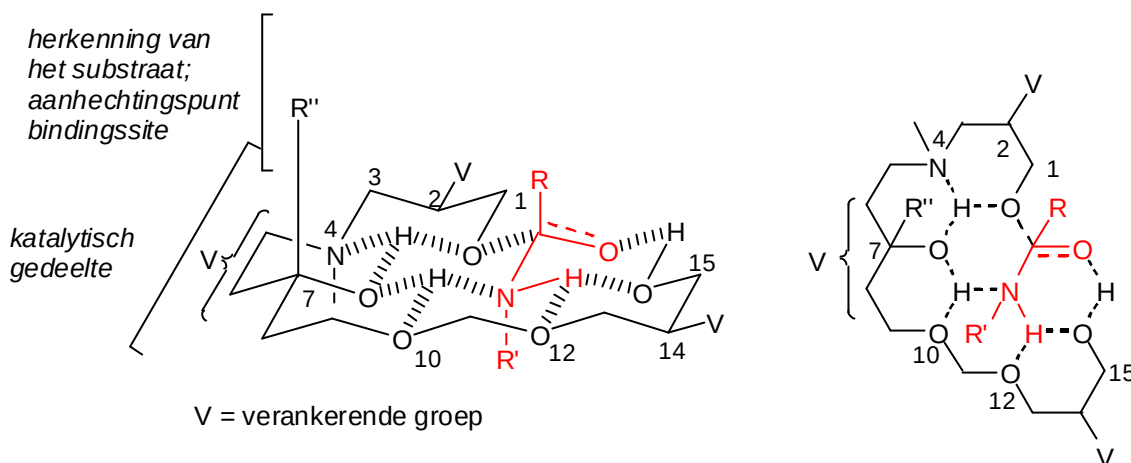
Bij de hydrolyse van amidebindingen ontstaat na nucleofiele aanval op het carbonylkoolstofatoom een tetraëdraal intermediair. Vervolgens wordt het intermediair ontbonden door uitstoot van de aminevluchtgroep. Een ideale katalysator verleent door algemene basekatalyse assistentie bij de aanval, helpt bij de stabilisatie van de transitietoestand en van het tetraëdrale intermediair en versnelt tot slot de uitstoot van het amine door algemene zuurkatalyse. Daarnaast beschikt de ideale katalysator over de nodige functies die kunnen instaan voor herkenning en binding van het substraat.

Het beoogde werkingsmechanisme van het voorgestelde model zou analoog verlopen aan dat van α -chymotrypsine: in twee afzonderlijke stappen: acylering en deacylering, alleen nemen andere functionele groepen de verschillende taken voor hun rekening. De katalytische triade bestaat hier uit twee alcoholgroepen (C_1 en C_7) en een tertiair amine N_4 (**schema II.10**).



schema II.10

In de vooropgestelde synthetische hydrolase kunnen twee belangrijke delen onderscheiden worden: het katalytisch gedeelte en de zijketen die in eerste instantie als herkenning voor het substraat zal dienen en later kan functioneren als aanhechtingspunt voor de bindingssite.



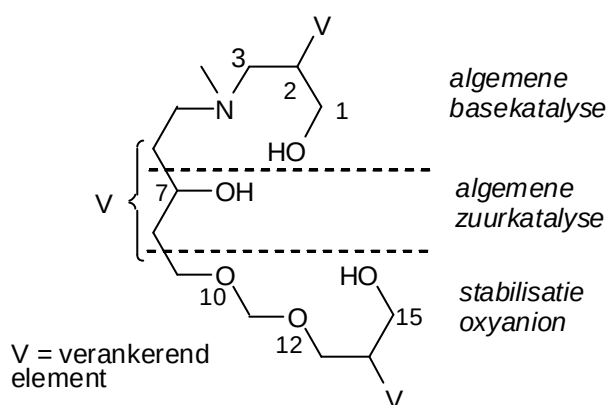
figuur II.12

De structuur van de ruggengraat van het katalytisch gedeelte wordt gekenmerkt door de mogelijkheid om elk zwaar atoom te lokaliseren op een hoekpunt van een diamantrooster (**figuur II.12**). Hierdoor wordt het mogelijk om conformationeel voorspelbare moleculen op te bouwen. Net als de biokatalysator vertoont ons model ook meer affiniteit voor de transitietoestand dan voor het substraat door de preferentiële stabilisatie van het oxyanion.

In de acyleringsstap treedt de alcoholgroep op C_1 op als nucleofiel, algemene base assistentie wordt verleend door het tertiair amine (zie ook **schema II.10**). In het tetraëdrale intermediair (dus ook in de transitietoestand) wordt het oxyanion gestabiliseerd door waterstofbrugbinding met het alcoholproton op C_{15} , ook zuurstofatoom O_{12} speelt hierin een belangrijke rol. Protonoverdracht van de hydroxylgroep op C_7 in samenwerking met het geprotoneerde amine N_4 versnelt de uitstoot van de aminevluchtgroep met vorming van het zogenaamde acylenzym. Deze protonoverdracht wordt ook vergemakkelijkt door de aanwezigheid van O_{10} . In de deacyleringstap wordt het acylenzym gehydrolyseerd en ook hier spelen algemene base- en algemene zuurkatalyse een belangrijke rol. Uiteindelijk wordt het model weer in zijn oorspronkelijke toestand hersteld.

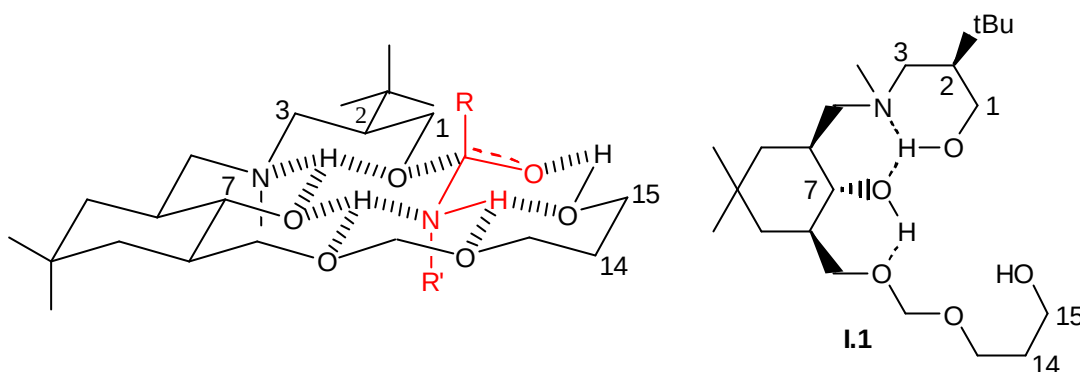
De noodzakelijke proximateit van de functionele groepen wordt in de hand gewerkt door de aanwezigheid van gepaste verankerende groepen. In een eerste stadium van het onderzoek zal alleen de acyleringstap bestudeerd worden.

In het katalytisch gedeelte kunnen drie belangrijke delen onderscheiden worden: het verankerde 1,3-amino-alcohol, verantwoordelijk voor de algemene basegekatalyseerde nucleofiele aanval op het substraat. Het centrale gedeelte dat de alcoholfunctie bevat die zou moeten optreden als algemene zuurkatalysator. Tot slot de polyetherzijketen die zou moeten instaan voor onder andere de stabilisatie van het oxyanion via waterstofbrugbindingen (**figuur II.13**).



figuur II.13

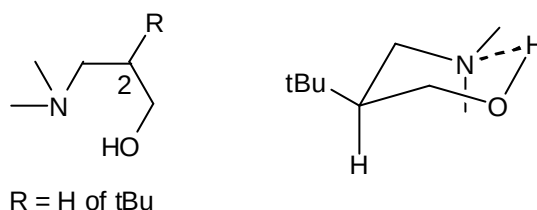
Om het katalytische gedeelte optimaal te laten functioneren is het van groot belang te zoeken naar de beste verankerende groepen om de juiste oriëntatie van de functionele groepen in de hand te werken. In ons laboratorium werden verschillende aminoalcoholen, diolen en triolen met diverse verankerende elementen gesynthetiseerd. Hun katalytische activiteit werd onderzocht en vergeleken. De combinatie van de bekomen gegevens heeft ten slotte geleid tot de ontwikkeling van enzymmodel **I.1**, dat vermoedelijk functioneert volgens het vooropgesteld mechanisme in de acyleringstap (**figuur II.14**).⁴



figuur II.14

II.3.2 Voorafgaand onderzoek in ons laboratorium

In de zoektocht naar de beste verankerende groep in het algemeen basekatalyserend gedeelte werden door *I. Steels* en later door *A. Maddar* een groot aantal 1,3-amino-alcoholen, verankerd op C₂, gesynthetiseerd.^{49,4}



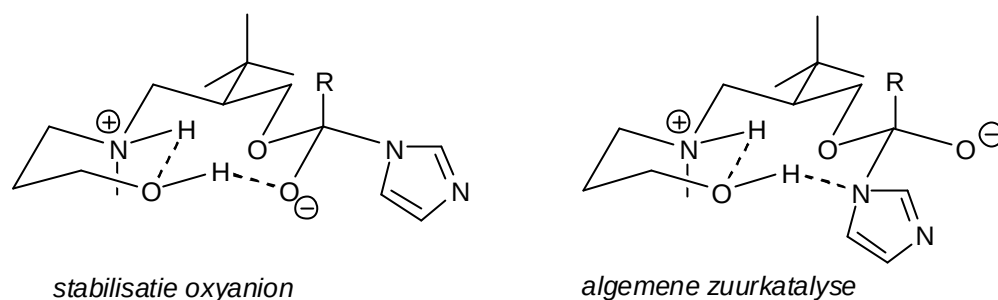
figuur II.15

Uit de katalytische evaluatie van de diverse amino-alcoholen ten opzichte van *N*-acetylimidazool is gebleken dat bij 1,3-amino-alcoholen de aanwezigheid van een *tert*-butylgroep de proximateit tussen het amine en de alcoholfunctie verhoogt. Hierdoor wordt algemene basekatalyse bevorderd, wat op zijn beurt een positieve invloed heeft op de reactiesnelheid (**figuur II.15**).

Uit het reeds bereide 2-*tert*-butyl-1,3-aminoalcohol werden vervolgens aminodiolen gesynthetiseerd. De bekomen resultaten waren gunstig en gelijkaardig voor de verschillende aminodiolen: de hydrolyse van acetylimidazool verliep sneller (één voorbeeld in **tabel II.1**).

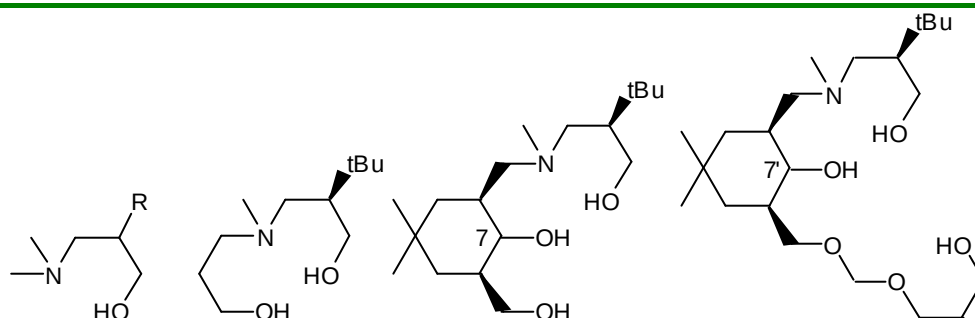
⁴⁹ Steels, I.; De Clercq P.J.; Maskill, H. *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* **1993**, 294

De reden voor de versnelling kan gezocht worden in de stabilisatie van het oxyanion via waterstofbrugbinding. De mogelijkheid dat de versnelling te wijten is aan algemene zuurkatalyse is minimaal vermits protonatie van het stikstofatoom zou leiden tot verlies van aromaticiteit van de imidazoolgroep (**figuur II.16**).



figuur II.16

tabel II.1: halfwaardetijden voor reactie met *N*-acetylimidazool (AcIm) en *p*-nitro-2,2,2-trifluoracetanilide (PNTFA) in acetonitril onder pseudo-eerste ordecondities bepaald via $^1\text{H-NMR}$



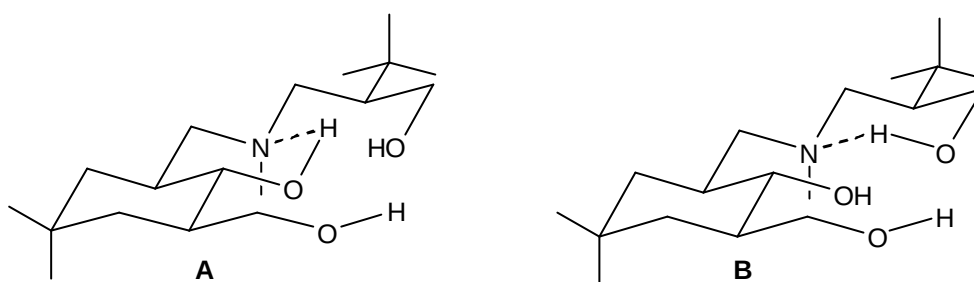
	R = H	R = tBu		7t	7c	7't	7'c
AcIm	721'	198'	151'	480'	26'	446'	169'
PNTFA	112u	107u	206u	271u	353u	181u	873u

7t, **7't** = *all-trans* (*S*-configuratie op C₇); **7c**, **7'c** = *all-cis* (*R*-configuratie op C₇)

Op weg naar het volledige systeem **I.1** werden twee epimere aminotriolen, **7c** en **7t** gesynthetiseerd waarin de dimethylcyclohexylgroep fungeert als verankerend element voor het centrale gedeelte. Voor het *all-cis* derivaat (**7c**) wordt een gevoelige versnelling vastgesteld voor de reactie met *N*-acetylimidazool.

Waarschijnlijk speelt de extra hydroxylgroep een belangrijke rol in de stabilisatie van het tetraëdrale intermediair. Door de axiale oriëntatie van de secundaire alcoholgroep is algemene zuurkatalyse hier onmogelijk.

De reactie van **7t** met *N*-acetylimidazool verloopt beduidend trager. Dit kan te wijten zijn aan de preferentiële waterstofbrugvorming van het tertiaire amine met de secundaire alcoholfunctie op C₇ (**A**, **figuur II.17**) in plaats van met de primaire hydroxylgroep van het algemene basekatalyserend gedeelte (**B**).



figuur II.17

Tenslotte werd de polyetherzijketen, die moet instaan voor de stabilisatie van het oxyanion, geïntroduceerd. De stabilisatie van het ammoniumintermediair zou moeten bewerkstelligd worden door een netwerk aan waterstofbrugbindingen (**figuur II.14**). De zijketen is een polyetherderivaat en is gekozen op basis van het onderzoek door *Gandour* en medewerkers waarin de invloed van polyetherketens op de butylaminolyse van arylacetaten bestudeerd werd.⁵⁰ Uit deze experimenten bleek dat de katalyse optimaal verloopt wanneer vier zuurstofatomen in de polyetherketen het ammoniumgedeelte in de transitietoestand kunnen stabiliseren. Voor de modelverbindingen, **7'c** en **7't**, voorzien van de zijketen werd echter geen duidelijke reactiviteitsverhoging waargenomen voor de reactie met *N*-acetylimidazool in vergelijking met de modellen **7c** en **7t**.

⁵⁰ Hogan, J.C.; Gandour, R.D. *J. Org. Chem.* **1991**, 56, 2821

Vermits *N*-acetylimidazool geen algemeen zuurgekatalyseerde afbraak van het tetraëdraal intermediair toelaat, wordt geopteerd om een verder reactiviteitsonderzoek uit te voeren met het minder reactieve *p*-nitrofenyl-2,2,2-trifluoracetanilide. Dit toonde aan dat de *all*-trans verbindingen **7t** en **7't**, zoals verwacht, een hogere activiteit vertonen in vergelijking met de *all*-cis derivaten **7c** en **7'c**.

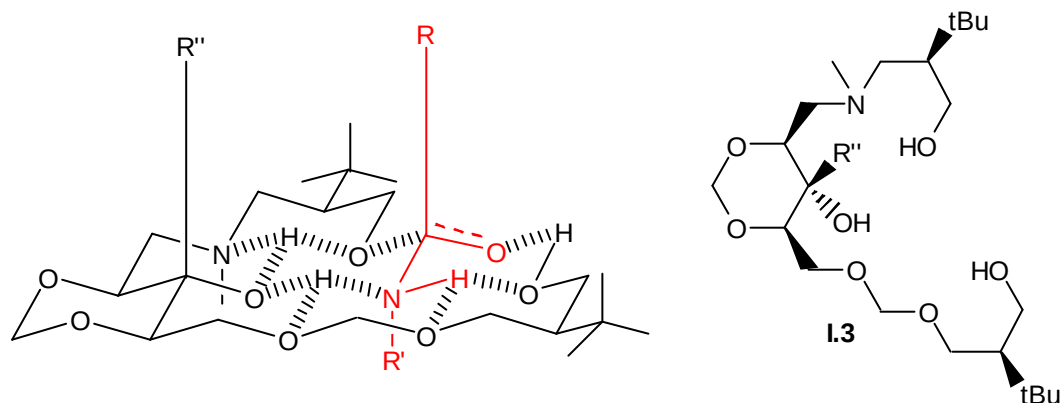
Op basis van de reactiviteitsverschillen voor de reactie met het anilide tussen de diverse modelverbindingen zou kunnen gesteld worden dat de reactie verloopt via het vooropgestelde werkingsmechanisme. Er kon echter geen 'acylenzym' geïsoleerd worden, daarom is er nog steeds onduidelijkheid over het mechanisme.

Het feit dat de reactie van het verankerde 1,3-amino-alcohol met het acetanilide sneller verloopt dan met **7't** kan waarschijnlijk verklaard worden door de ongunstige activeringsentropie voor de reactie met **7't**. De nog zeer flexibele polyetherzijketen moet eerst goed georiënteerd worden om het tetraëdraal intermediair te kunnen stabiliseren. Er kan verwacht worden dat deze negatieve entropie-invloed gereduceerd kan worden door vooraf de gewenste geometrie van de zijketen op te leggen door de introductie van een gepaste verankerende groep.

Uit de reeds behaalde resultaten kan besloten worden dat de bereide enzymmodellen in staat zijn reactieve amidesubstraten te splitsen via het vooropgestelde algemene base- en algemene zuurgekatalyseerd mechanisme. De reacties, vooral met het minder reactieve acetanilide, verlopen nog steeds traag in vergelijking met het natuurlijke enzym. Dit kan verklaard worden door het feit dat de reeds bestudeerde reacties nog steeds intermoleculair verlopen in plaats van intramoleculair in het geval van de biokatalysator. Verdere optimalisatie van het systeem zal hoofdzakelijk de reductie van het entropieverlies moeten inhouden. Er kan pas verwacht worden dat de echte performantie van het model naar voor zal komen eens de bindingssite geïncorporeerd zal zijn.

II.3.3 Voorstelling van de nieuwe doelmolecule

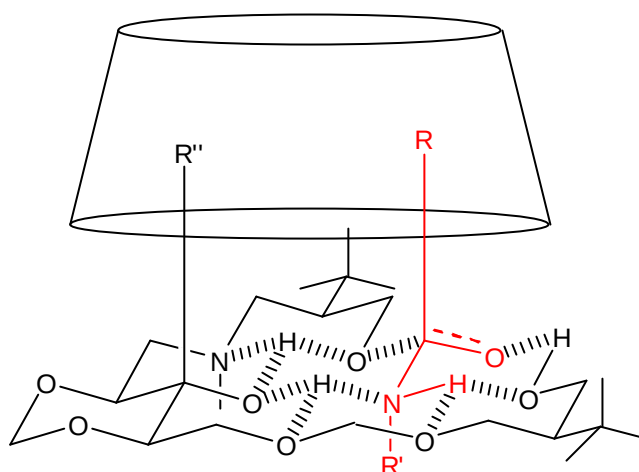
De niet-enzymatische hydrolase **I.3** bezit een analoog katalytisch gedeelte als de enzymmodellen reeds bereid door A. Madder (**figuur II.18**). Het centrale gedeelte zou relatief gemakkelijk toegankelijk moeten zijn uit commercieel verkrijgbare suikerderivaten. In dit geval zorgen een *tert*-butylgroep en een 1,3-dioxaanring voor de nodige verstarring en de gunstige geometrie van het katalytisch gedeelte. De aanwezigheid van de twee zuurstofatomen in het centrale gedeelte zou een invloed moeten hebben op pK_a van de secundaire alcoholgroep zodanig dat algemene zuurkatalyse bevorderd kan worden. Een tweede *tert*-butylgroep wordt geïncorporeerd in de polyetherzijketen om de gewenste conformatie te induceren.



figuur II.18

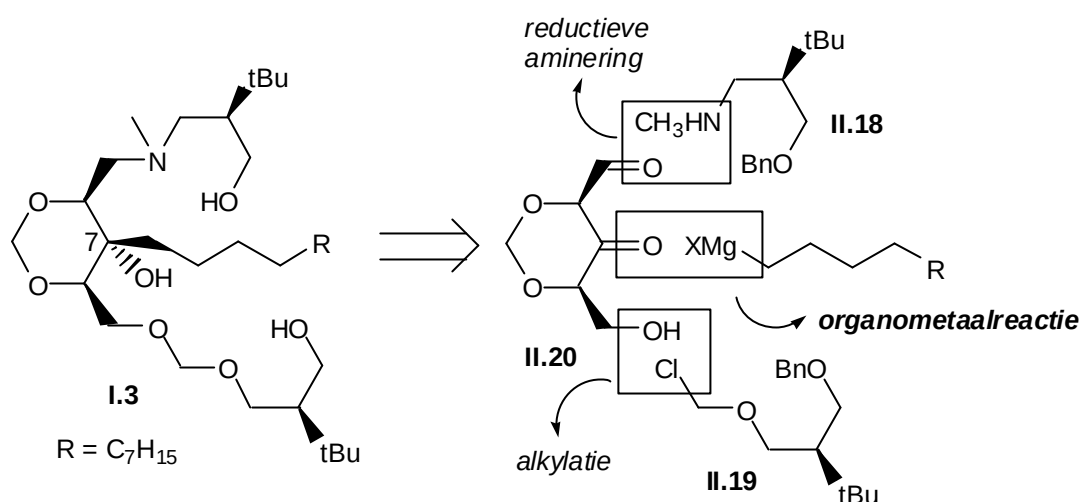
In dit project zal getracht worden te onderzoeken hoe groot de rol van de entropie zou kunnen zijn op de reactiviteit van ons model. Hiervoor zal de modelverbinding **I.3** niet alleen over het katalytisch gedeelte beschikken maar ook over een lange hydrofobe alkylketen. Verwacht wordt dat de introductie van de alkylketen gemakkelijker zal zijn in een derivaat van het type **I.3** dan in **I.1**. Immers door de aanwezigheid van de twee dioxaanzuurstofatomen worden ongunstige sterische interacties met axiale waterstofatomen vermeden (**figuur II.14**).

Op basis van het hydrofoob effect kan in polaire media een positieve invloed verwacht worden op de hydrolysesnelheid van een substraat, ook voorzien van een alkylketen. Daarnaast zal de bijkomende invloed van cyclodextrinederivaten op de hydrolysesnelheid nagegaan worden. Complexatie van de alkylketens van model en substraat in de hydrofobe caviteit zou een verhoogde proximité moeten induceren, wat een positief effect zou moeten hebben op de reactiesnelheid (**figuur II.19**).



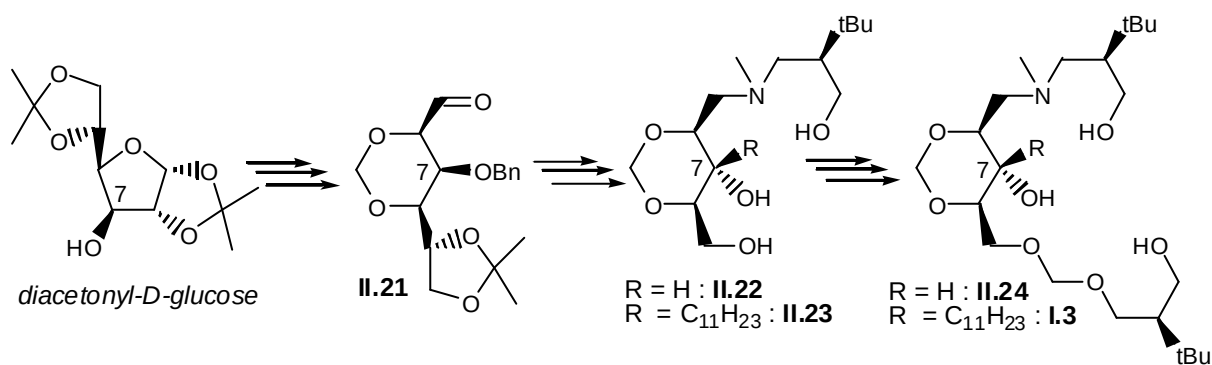
figuur II.19

Het centrale gedeelte, aldehyde **II.20** is toegankelijk uit het commercieel beschikbare diacetyl-D-glucose. Via een reductieve amineringsreactie kan het algemeen basekatalyserend gedeelte geïntroduceerd worden. Het enantiomeer zuiver beschermd amino-alcohol **II.18** kan bereid worden uit het eveneens commercieel beschikbare *tert*-butylazijnzuur. Vervolgens wordt de oxyanionstabiliserende zijketen **II.19**, die ook beschikbaar is uit *tert*-butylazijnzuur, ingevoerd door middel van een alkylatiereactie. Tenslotte wordt de tertiaire alcohol bekomen door een organometaalreactie met de ketofunctie (**schema II.11**).



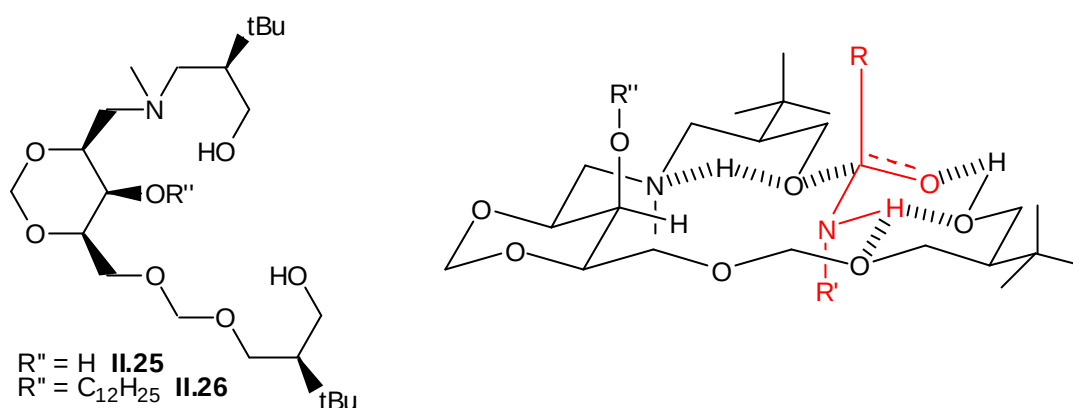
schema II.11

De belangrijkste intermediären in deze route worden voorgesteld in onderstaand schema. Uitgaande van het D-glucosederivaat zijn de modelverbindingen met de gewenste equatoriale alcoholfunctie aan C₇ niet rechtstreeks toegankelijk. Enkel door de natuurlijke axiaal georiënteerde alcoholfunctie op C₇ te inverteren kunnen deze modellen bereid worden.



schema II.12

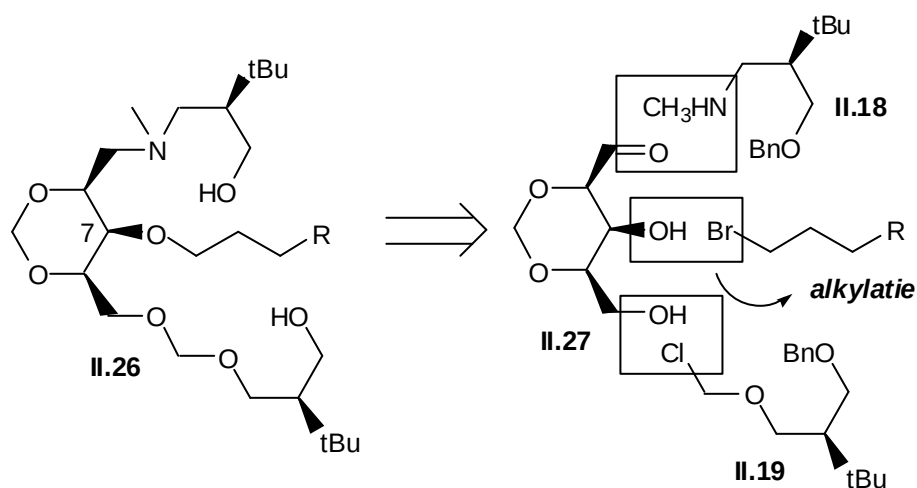
De natuurlijke axiale oriëntatie van de alcoholfunctie op C₇ biedt wel de mogelijkheid om een tweede reeks aan artificiële proteasen te synthetiseren, die weliswaar niet in staat zijn tot algemene zuurgekatalyseerde afbraak van het tetrahedraal intermediair. De axiale alcoholfunctie op C₇ is immers niet in staat een proton te transfereren naar de aminevluchtgroep in het tetraëdrale intermediair (**figuur II.20**).



figuur II.20

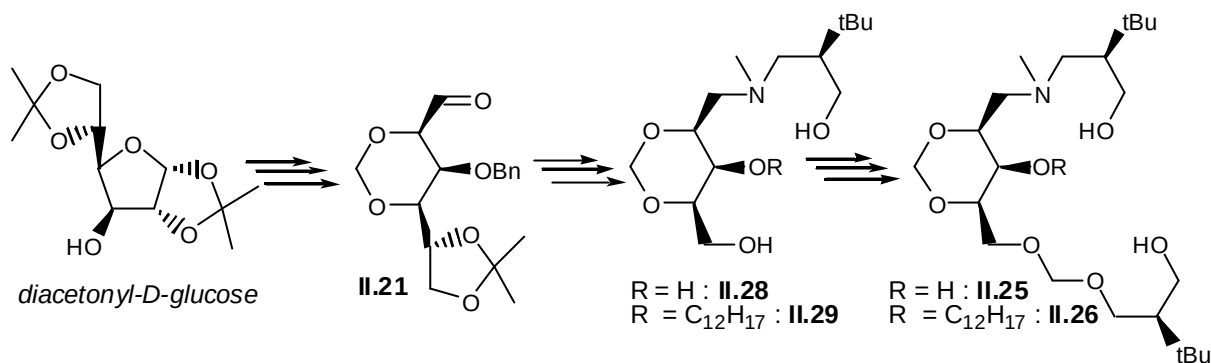
Deze modelverbindingen zijn eveneens interessant omdat intermediair aminotriol **II.28** een rechtstreekse vergelijking toelaat met het zeer reactieve aminotriol **7c** bereid door A. Madder (halfwaardetijd van 26 minuten voor reactie met *N*-acetylimidazool).

Verder zou de axiale oriëntatie van de secundaire alcohol ons tevens toelaten de alkylketen relatief gemakkelijk vast te hechten via een alkylatiereactie (**schema II.13**). Het algemeen basekatalyserend gedeelte **II.18** en de polyetherzijketen **II.19** kunnen ook hier via een reductieve koppeling en alkylatiereactie geïntroduceerd worden.



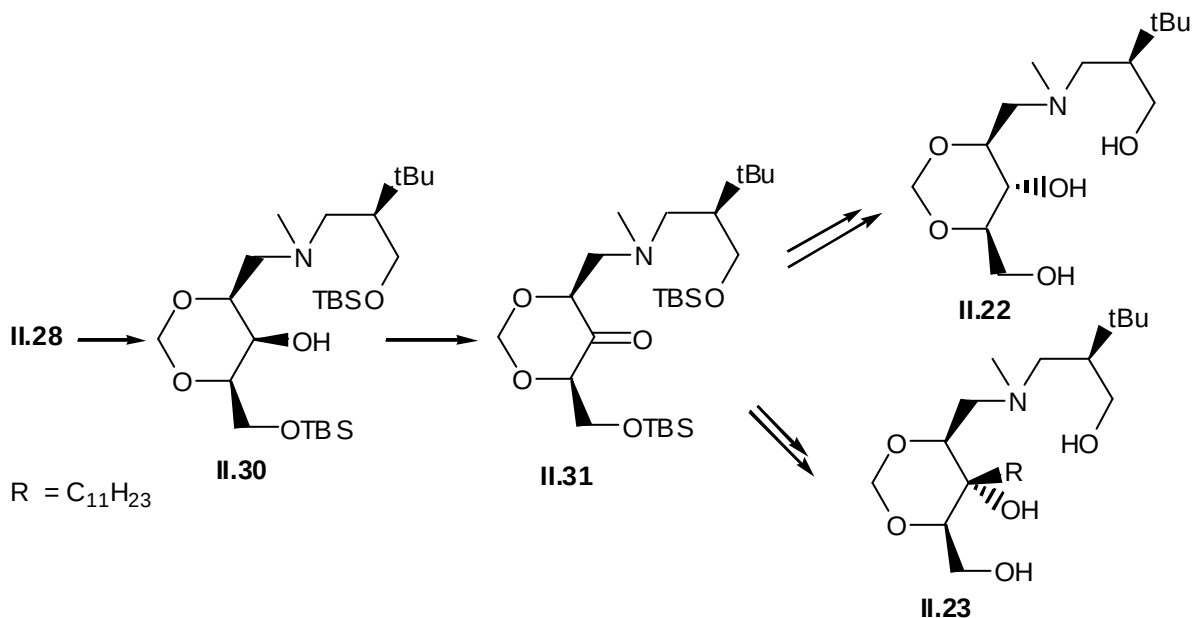
schema II.13

De synthese verloopt weer stapsgewijs, zodanig dat door het vergelijken van de reactiviteit van de verschillende intermediairen zowel de invloed van de alkylketen als van de polyetherzijketen kan geëvalueerd worden. De belangrijkste intermediairen worden in **schema II.14** voorgesteld.



schema II.14

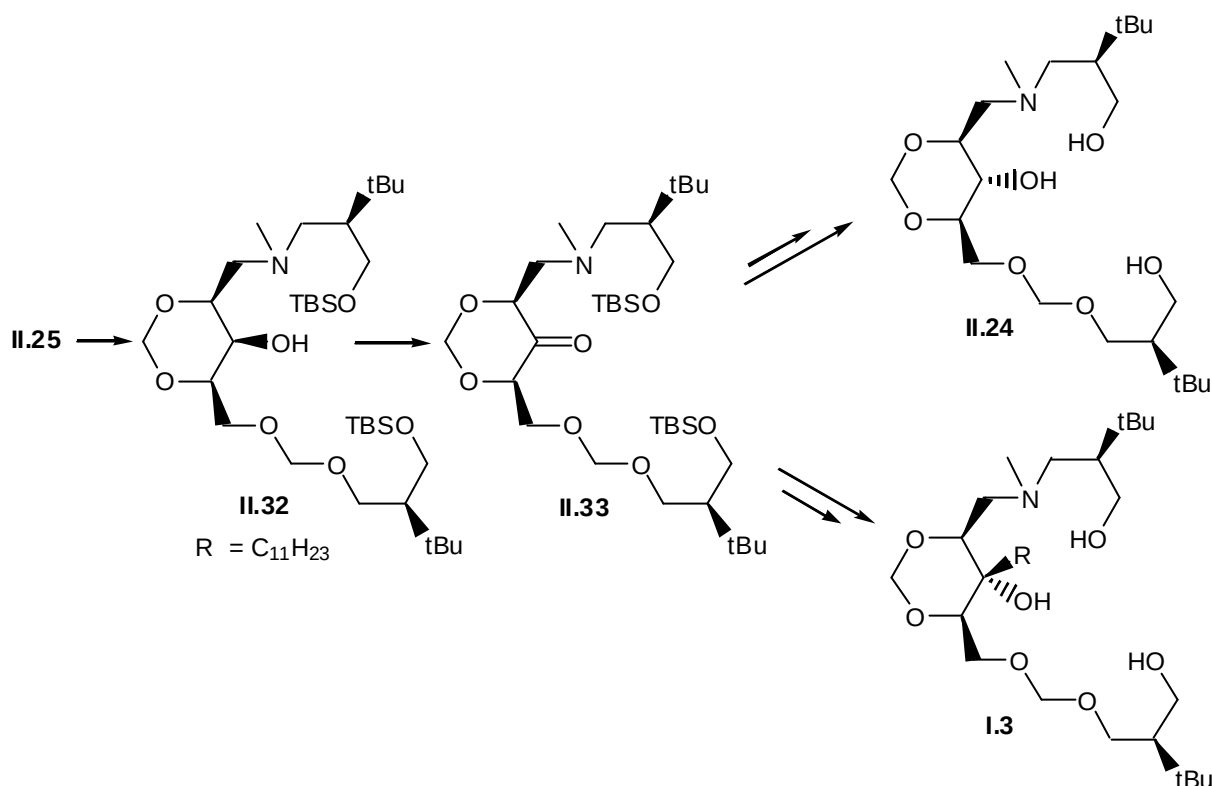
Daarnaast zouden de modellen met de equatoriale alcoholfunctie op C₇, **II.22** en **II.24**, gemakkelijk toegankelijk moeten zijn uit de axiale modelverbindingen **II.28** en **II.25** (**schema II.15** en **II.16**) .



schema II.15

Na bescherming van de primaire hydroxylgroepen zouden de modellen **II.22** en **II.24** bekomen kunnen worden door een oxidatie-reductieproces. De alkylketen zou

geïntroduceerd kunnen worden door een organometaalreactie met een lineaire alkylketen op ketonen **II.31** en **II.33**.



schema II.16

In een eerste stadium van het onderzoek zullen de modelverbindingen met de axiale alcoholgroep op C₇ stapsgewijs opgebouwd worden. Voor de verschillende intermediären zal de hydrolytische capaciteit geëvalueerd worden ten opzichte van geschikte substraten die geen algemene zuurkatalyse vereisen. In een tweede fase zullen de modelverbindingen met de equatoriale alcoholfunctie op C₇ ontwikkeld worden vertrekkende van reeds bereide intermediären. Deze modelverbindingen zijn zowel in staat tot algemene basekatalyse als algemene zuurkatalyse en hun reactiviteit zal dan ook geëvalueerd worden ten opzichte van geschikte substraten.

In wat volgt zal de ontwikkeling van de modelverbindingen met de axiaal georiënteerde alcoholgroep op C₇ stapsgewijs besproken worden. Hiervoor wordt eerst aandacht besteed aan de synthese van de verankerde 1,3-aminoalcohol **II.18**, het algemeen basekatalyserend gedeelte.

Hoofdstuk III : Synthese van het algemeen basekatalyserend gedeelte, amine (-)-II.18

III.1 Algemeen

De synthese van een enantiomeer zuivere bouwsteen kan op verschillende manieren benaderd worden. Een racemisch mengsel kan geresolveerd worden door vorming van diastereomeren met een gemakkelijk afsplitsbaar enantiomeer zuiver reagens. De ontstane diastereomeren kunnen dan gescheiden worden op basis van hun verschillende fysische eigenschappen. Anderzijds kan ook toevlucht genomen worden tot enantioselectieve synthese. Door gebruik te maken van een chirale hulpstof kan het gewenste stereogeen centrum in de doelmolecule op een bepaald stadium van de synthese geïntroduceerd worden. Voor de synthese van het amine (-)-II.18 werden beide benaderingen toegepast.

III.2 Resolutie door diastereomere zoutvorming

De zoektocht naar een geschikt resolverend reagens voor de resolutie van een racemaat met een chiraal reagens en de daaropvolgende scheiding van de gevormde diastereomeren blijft nog steeds een kwestie van 'trial and error'. Veel pogingen werden reeds ondernomen om een hypothese of een theorie te ontwikkelen om voorspellingen mogelijk te maken, zoals een studie van de energiever verschillen van de gevormde diastereomeren of computermodellering.⁵¹ Toch blijkt dat voorspellen op basis van de bestaande hypothesen nog altijd moeilijk blijft. Een standaardprocedure voor de resolutie van een racemisch carbonzuur is het toevoegen van één enantiomeer zuiver amine in een gekozen solvent met kristallisatie van het diastereomere zout als gevolg. De simultane additie van meerdere resolverende reagentia zou de tijd om een geschikt reagens te vinden moeten verkorten en zou het aantal omkristallisaties moeten verminderen.⁵¹

⁵¹ Vries, T.; et al *Ang. Chem. Int. Ed. Engl.* **1998**, 37, 2349

Hierbij kan verwacht worden dat het minst oplosbare diastereomere zout het snelst zou precipiteren. Beide methoden werden onderzocht bij de resolutie van het racemisch carbonzuur **III.2**. De optimale condities voor de resolutie met één enantiomeer zuiver reagens, α -methylbenzylamine, werden reeds bepaald door I. Steels.⁵²

III.2.1. Resolutie met α -methylbenzylamine

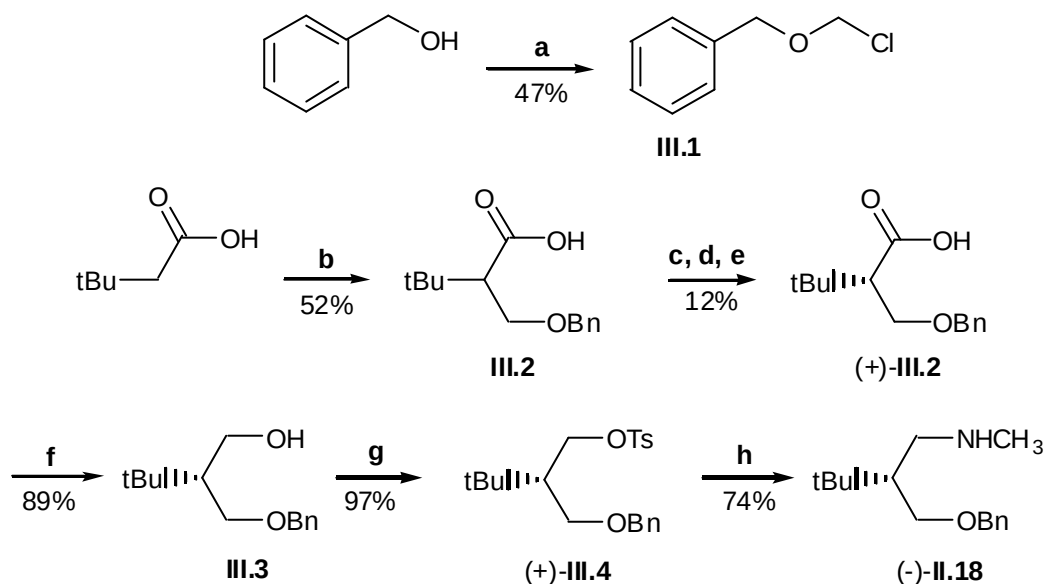
Het enantiomeer zuivere amine (-)-**II.18** kan bereid worden uitgaande van het commercieel beschikbare *tert*-butylazijnzuur. In deze route kan het carbonzuur **III.2** enantiomeer zuiver verkregen worden via resolutie door diastereomere zoutvorming. Hiertoe wordt het racemische carbonzuur ($\pm$)-**III.2** behandeld met een enantiomeer zuiver amine en slechts één van beide diastereomere zouten kristalliseert uit in het gekozen solvent. Na verschillende omkristallisaties van het zout om de enantiomere overmaat verder te verhogen, wordt het carbonzuur **III.2** weer uit het zout vrijgesteld door behandeling met een zoutzuuroplossing gevolgd door extractie. Voordeel van deze methode is dat beide enantiomeren van het carbonzuur toegankelijk zijn. De moederlogen zijn immers reeds aangerijkt aan het ander enantiomeer.

Het racemische carbonzuur ($\pm$)-**III.2** wordt met een behoorlijk rendement verkregen door alkylation van het commercieel beschikbare *tert*-butylazijnzuur met benzylchloormethylether **III.1** volgens de methode van Creger (**schema III.1**).⁵³ De ether zelf wordt bekomen door behandeling van een oplossing van benzylalcohol en formaldehyde met waterstofchloridegas. Het carbonzuur ($\pm$)-**III.2** wordt geresolveerd met het commerciële (*R*)-(+)-methylbenzylamine in kokende ethylacetaat. Het hierbij gevormde ammoniumzout wordt nog vijf maal omgekristalliseerd in ethylacetaat. Zowel na de derde als na de vijfde omkristallisatie wordt een klein gedeelte van het carbonzuur vrijgesteld door behandeling van een fractie van het zout met een 5% zoutzuuroplossing. De progressie in enantiomere overmaat wordt bepaald via ¹H-NMR-spectroscopie na omzetten van het zuur (+)-**III.2** in de corresponderende methylester door reactie met diazomethaan. Er wordt hierbij gebruik gemaakt van het

⁵² Steels I. *Doctoraatsverhandeling* **1993**

⁵³ Creger, P. J. *Am. Chem. Soc.* **1970**, 92, 1397

chiraal shiftreagens *tris*(3-heptafluorpropylhydroxymethyleen-(+)-kamfer)-Europium(III). Er kon vastgesteld worden dat na drie omkristallisaties de enantiomere overmaat 76% bedroeg en na vijf omkristallisaties meer dan 95%. Na de vijfde omkristallisatie wordt het carbonzuur volledig vrijgesteld. Het rendement aan enantiomeer zuiver product bedraagt 12% op basis van het racemaat. Voordeel hierbij is dus dat de overgebleven moederlogen rijker zijn aan het andere enantiomeer en na vrijstelling van het reeds aangerijkte zuur (-)-**III.2** kan dit verder geresolveerd worden door behandeling met (S)-(-)-methylbenzylamine. De absolute configuratie van het stereogene centrum werd bepaald door te vergelijken met resultaten behaald door *I. Steels*.⁵⁴ Er kon aan het centrum de *S*-configuratie toegekend worden.



a: HCHO (37% in water), HCl; **b:** NaH, LDA, BOMCl, THF; **c:** *R*-(+)-methylbenzylamine, EtOAc, reflux; **d:** omkristallisatie in EtOAc; **e:** 5% HCl, extractie; **f:** LiAlH₄, THF; **g:** TosCl, pyridine, DMAP, CH₂Cl₂; **h:** CH₃NH₂ (40% in water), THF, 80°C

schema III.1

Reductie van het zuur (+)-**III.2** met lithiualuminiumhydride levert de corresponderende alcohol **III.3**, die door reactie met tosylchloride in een mengsel van pyridine en dichloormethaan wordt omgezet tot het tosylaat (+)-**III.4**. Reactie van het tosylaat met een overmaat methylamine in een drukbuis bij 80°C levert uiteindelijk de enantiomere bouwsteen (-)-**II.18**.

⁵⁴ Steels, I.; De Clercq, P.J.; Declercq, J.-P. *Tetrahedron Asymmetry* **1992**, 3, 599

De talrijke omkristallisaties die nodig zijn om het zuur met een aanvaardbare enantiomere overmaat te bereiden en het daaruit volgend laag rendement (12%) kunnen als voornaamste nadelen aangehaald worden in deze syntheseroute. Bij het gebruik van een mix aan resolverende reagentia zou het aantal omkristallisaties beperkt kunnen worden.

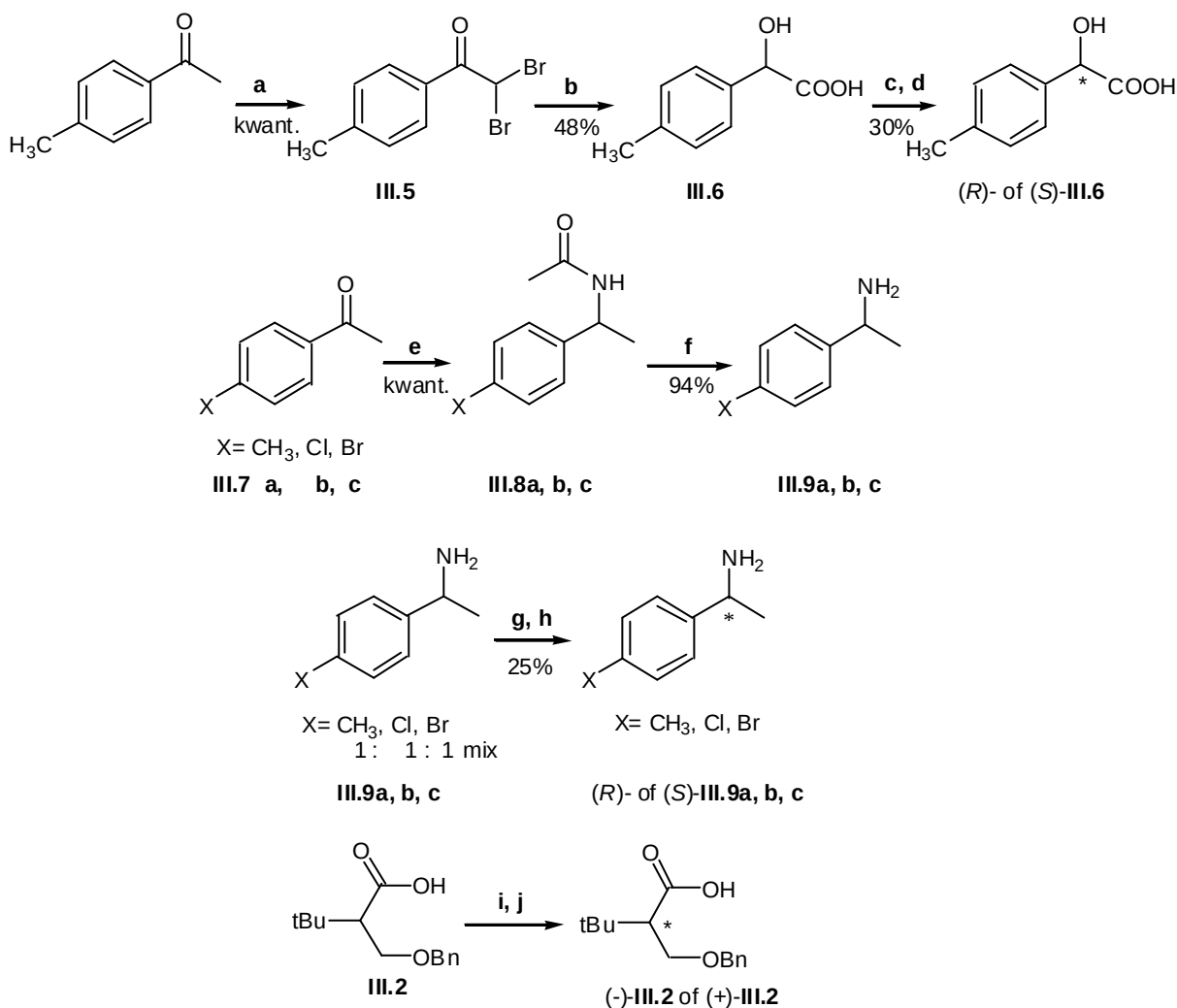
III.2.2 Resolutie met een mix aan resolverende reagentia

Het grote voordeel in de resolutie met een zogenaamde familie aan aminen is dat de diastereomere zouten bekomen worden in relatief korte tijd. Bovendien zijn er minder omkristallisaties vereist, waardoor de opbrengst aan enantiomeer zuiver product hoger is en, meest belangrijk, ook de enantiomere overmaat hoog is.⁵¹

In overleg met de auteurs van het artikel werd besloten dat het mengsel van enantiomeer zuiver *p*-chloor-, *p*-broom- en *p*-methylbenzylamine (+)-of (-)-**III.9a, b, c** in een 1:1:1-verhouding het meest geschikt zou zijn voor de resolutie van het racemisch carbonzuur ($\pm$)-**III.2** (**schema III.2**). De racemische aminen **III.9a, b, c** zijn gemakkelijk toegankelijk uit de corresponderende *para*-gesubstitueerde acetofenonen **III.7a, b, c** via de *Leuckart* synthese (**schema III.2**).⁵⁵ Een 1:1:1-mix van de aminen **III.9a, b, c** wordt geresolveerd met enantiomeer zuiver *p*-methylmandelzuur **III.6**, dat ook gesynthetiseerd wordt uit *p*-methylacetofenon. Het geminaal dibromide **III.5** wordt bekomen door behandeling van acetofenon met dibroom in azijnzuur en het wordt verder omgezet tot het racemische mandelzuur **III.6** onder basische omstandigheden. Resolutie van het zuur met (*R*)-(+)-methylbenzylamine levert het enantiomeer zuivere (*R*)-carbonzuur **III.6** in een goede opbrengst (36%) en met een goede enantiomere overmaat (ee>95%). Anderzijds kon de moederloog, al aangerijkt aan het (*S*)-mandelzuur **III.6**, verder geresolveerd worden door behandeling met (*S*)-(-)-methylbenzylamine met een goed rendement (30%) en met goede enantiomere zuiverheid (ee>95%). De overmaat werd bepaald via ¹H-NMR-spectroscopie van de corresponderende diastereomere mandelzure esters. De aminen **III.9a, b, c** worden zowel behandeld met het (*R*)- als met het (*S*)-mandelzuur **III.6**.

⁵⁵ Lukasiewicz, A. *Tetrahedron* **1963**, 19, 1789

Voor het gemak zal de mix geresolveerd met het (*R*)-zuur aangeduid worden als de (*R*)-mix, hetzelfde geldt voor de (*S*)-familie. De aminen **III.9** kunnen in hun 1:1:1-mix na resolutie met het mandelzuur als dusdanig worden gebruikt voor de resolutie van carbonzuur **III.2**.



a: Br₂, CH₃COOH; **b:** NaOH, H₂O; **c:** α-methylbenzylamine, EtOH-H₂O, omkristallisatie; **d:** 5% HCl, extractie; **e:** HCOOH, HCONH₂, reflux; **f:** HCl, H₂O; **g:** (*R*)- of (*S*)-**III.6**, PhCH₂COOH, EtOH, omkristallisatie; **h:** NaOH, extractie; **i:** (*R*)- of (*S*)-1:1:1-mix **III.9**, EtOAc, omkristallisatie; **j:** 5% HCl, CH₂Cl₂

schema III.2

De behandeling van het zuur met de (*R*)-mix in ethylacetaat leverde het ammoniumzout met een zeer lage enantiomere overmaat. Na vier omkristallisaties bedraagt de overmaat aan (+)-**III.2** slechts 10%.

De resolutie met de (S)-mix is iets beter qua enantiomere overmaat, na één omkristallisatie bedraagt de overmaat aan (-)-**III.2** 55%, maar hier is het rendement lager. Om het product voldoende enantiomeer zuiver te verkrijgen, zijn nog een aantal omkristallisaties vereist, wat weer zal resulteren in een lage opbrengst. Er kan dus geen voordeel worden gehaald om te resolveren met een familie aan aminen in plaats van met α -methylbenzylamine.

Vermits het rendement van de resolutie zo laag is, werd uitgekeken naar alternatieve synthesesewegen tot het amine (-)-**II.18**. Hierbij wordt in eerste instantie gedacht aan enantioselectieve synthesesmethoden gebruik makend van een chirale hulpstof. Eén van de bekendste methoden hieromtrent is die van *Evans*, deze werd dan ook als eerste uitgetest.

III.3 Enantioselectieve synthesesewegen tot het enantiomeer zuivere amine (-)-II.18

III.3.1 Methode van Evans

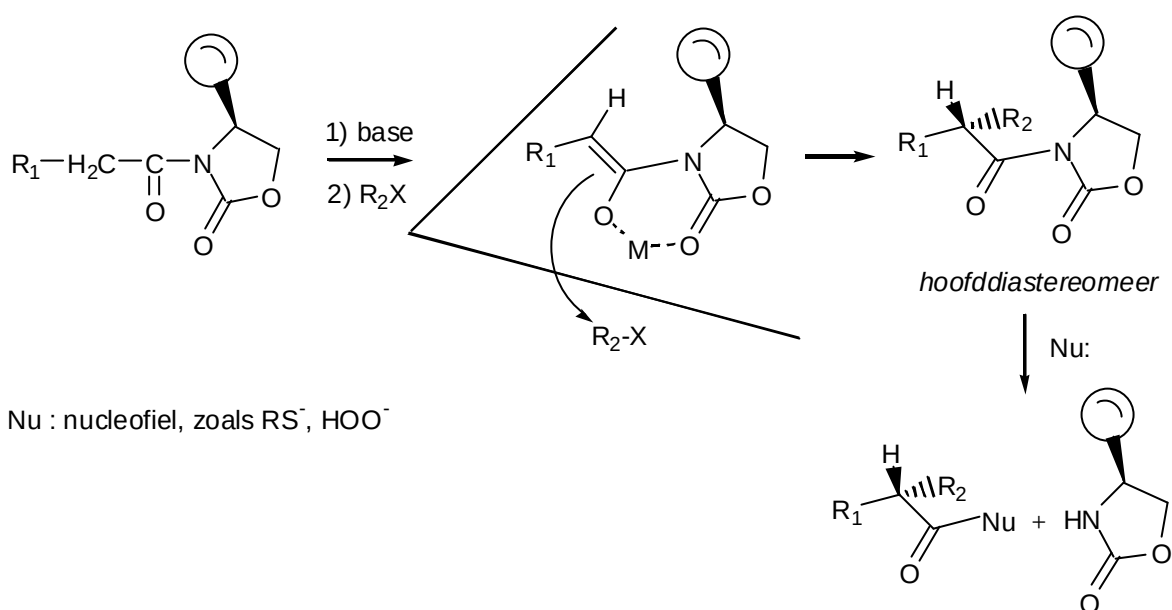
Sinds de beginjaren '80 is het gebruik van chirale hulpstoffen, zoals oxazolidinon (+)-**III.10**, zeer populair. De hulpstoffen worden niet alleen gebruikt voor de stereoselectieve introductie van een alkylgroep op α -plaats van een carbonylverbinding, ook diastereoselectieve aldol-, α -hydroxylatiereacties en zelfs Diels-Alder reacties behoren tot de toepassingen.⁵⁶

Oxazolidinonen zijn zo populair als chirale hulpstof om verschillende redenen: ze zijn gemakkelijk te bereiden, daarenboven zijn er ook al een aantal commercieel verkrijgbaar.⁵⁷ Daarnaast zijn beide enantiomeren van het gewenste product gemakkelijk toegankelijk door de beschikbaarheid van de beide enantiomeren van de hulpstof of door de volgorde van introductie te veranderen (**schema III.3**: eerst R_2 dan R_1). Tot slot verloopt de alkylatiereactie zeer diastereoselectief (gemiddeld 80 à 90% de) en wordt de hulpstof vlot gerecupereerd onder milde reactiecondities.

⁵⁶ Ager, D.J.; Prakash, I.; Schaad, D.R. *Chem. Rev.* **1996**, 96, 835

⁵⁷ Herrmann, R. *Methods of Organic Chemistry (Houben-Weyl)* **1996**, Georg Thieme Verlag, vol E21, 883

Acylatie van de hulpstof leidt tot een chiraal imide dat bij behandeling met een base preferentieel het Z-enolaat vormt (**schema III.3**). Chelatatie van de carbonylzuurstofatomen in het imide met een in het reactiemengsel aanwezig kation zorgt ervoor dat slechts één rotameer voorkomt. De aanwezigheid van een fenylgroep bijvoorbeeld zorgt voor de afscherming van één diastereofaciale ruimte zodanig dat de alkylatie diastereoselectief verloopt.



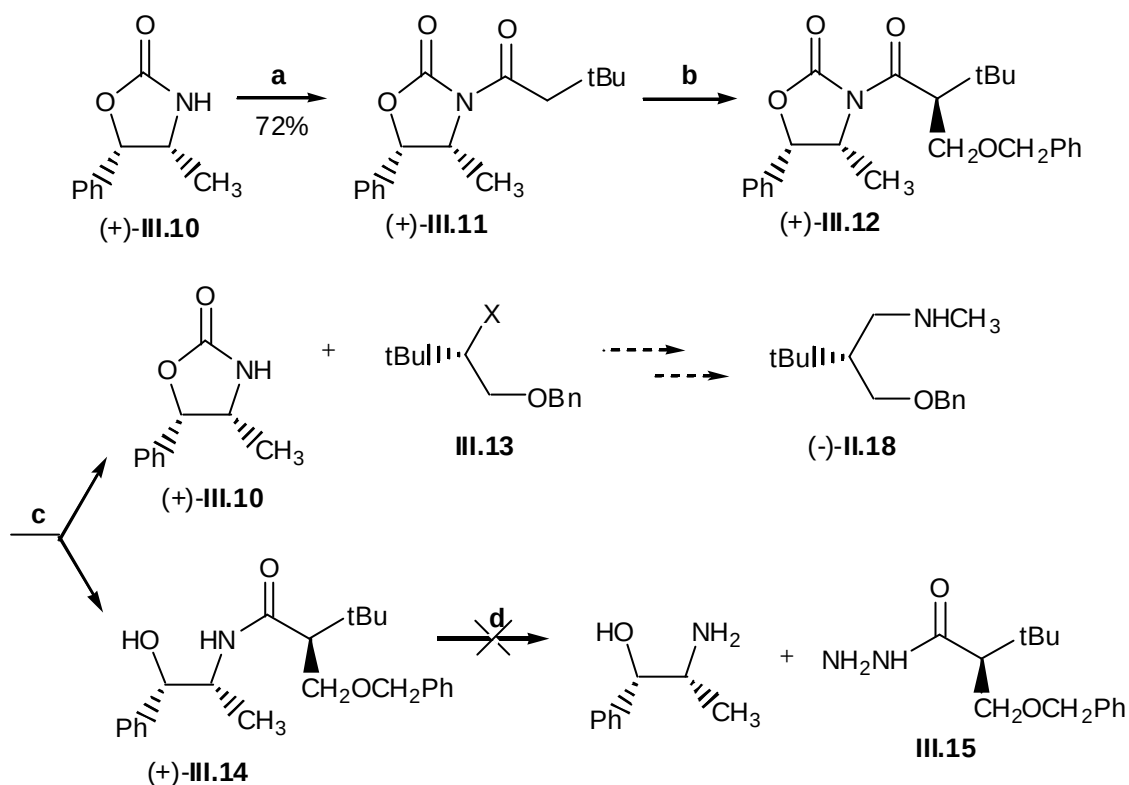
schema III.3

Door nucleofiele aanval op het exocyclisch carbonylkoolstofatoom wordt het oxazolidinon afgesplitst. Een nadeel bij deze methode is dat reactieve elektrofielen noodzakelijk zijn om hoge rendementen te halen. In ons geval is R_1 een *tert*-butylgroep en het alkylarend reagens is de reeds zelfbereide reactieve benzylchloormethylether **III.1**.

Het imide (+)-**III.11** wordt in een behoorlijke opbrengst verkregen door acylatie van het commercieel verkrijgbare enantiomeer zuiver oxazolidinon (+)-**III.10** met het eveneens commerciële *tert*-butylacetylchloride (**schema III.4**).⁵⁸ Er werden verschillende omstandigheden voor de diastereoselectieve alkylatie getest, zoals voorgesteld in **tabel III.1**.

⁵⁸ Davies, S.G.; Doisneau, G.J.M. *Tetrahedron Asymmetry* **1993**, 4, 2513

In de standaardcondities voor een *Evans*alkylatie wordt lithiumdiisopropylamide als base gebruikt en in ons geval benzylchloormethylether **III.1** als elektrofiel.⁵⁹ Er werd een complex mengsel aan producten bekomen dat slechts een kleine hoeveelheid (22%) van het gewenste product (+)-**III.12** bevatte.



a: *n*-BuLi, *tert*-butylacetylchloride, -78°C; **b:** tabel III.1; **c:** tabel III.2; **d:** NH₂NH₂·xH₂O, EtOH

schema III.4

Bij gebruik van diisopropylethylamine als base wordt titaniumtetrachloride aan het reactiemengsel toegevoegd om de conformatie van het enolaatanion vast te leggen.⁶⁰ Wanneer benzylchloormethylether **III.1** als elektrofiel gebruikt wordt, dan is het rendement aan het gewenste product (+)-**III.12** nog niet bevredigend. Er wordt daarom besloten om gebruik te maken van benzylbroommethylether als alkylierend reagens. De broommethylether kan eenvoudig bereid worden uit de chloormethylether **III.1**. Hiertoe wordt waterstofbromidegas (ontstaan door reactie van dibroom met tetralin) geleid door een gekoelde oplossing van de chloormethylether in diëthylether.⁶¹

⁵⁹ Evans, D.A.; Ennis, M.D.; Mathre, D.J. *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, 104, 1737

⁶⁰ Evans, D.A.; Dow, R.L.; Shih, T.L.; Takacs, J.M.; Zahler, R. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, 112, 5290

⁶¹ Hollywood, J.; Jansen, A.B.A.; Southgate, P.J. *J. Med. Chem.* **1967**, 863

tabel III.1: condities voor de diastereoselectieve alkylatie

base	elektrofiel	temperatuur	reactietijd	rendement
LDA	BOMCl	-35°C → 0°C	24u	22%
DIPEA/TiCl ₄	BOMCl	0°C	20u	46%
DIPEA/TiCl ₄	BOMBr	0°C	20u	23%
NaN(Si ₂ Me ₃) ₂	BOMBr	-5°C	48u	66%

Wanneer dezelfde reactiecondities herhaald worden met de broommethylether als elektrofiel zijn de rendementen vreemd genoeg lager. Het beste resultaat wordt bekomen met natriumhexamethyldisilazide als base en de broommethylether als alkyliserend reagens.⁶² In alle gevallen wordt maar één diastereomeer geïsoleerd, namelijk imide (+)-**III.12**.

Afsplitsing van de hulpstof is niet zo eenvoudig als in de literatuur beschreven wordt, waarschijnlijk is de aanwezigheid van de volumineuze *tert*-butylgroep hier verantwoordelijk voor.⁵⁷ Geen enkele afsplitsingsmethode blijkt echt effectief. De bekomen rendementen aan **III.13** de voorloper van amine (-)-**II.18** zijn laag en meestal wordt ook het amidederivaat (+)-**III.14** als nevenproduct gevormd door reactie op het endocyclisch carbonylkoolstofatoom.

Bij het gebruik van lithiaaluminiumhydride wordt het amide (+)-**III.14** zelfs als hoofdpduct geïsoleerd.⁶⁰ Daarnaast werden de nucleofielen lithiumhydroperoxide en twee thiolaatanionen getest. De bekomen rendementen waren laag en in geen enkel geval was het bekomen product echt zuiver.^{63,64,65} Alle resultaten worden samengevat in **tabel III.2**.

⁶² a) Fadel, A.; Saläun, J. *Tetrahedron Lett.* **1988**, 29, 6257

b) Evans, D.A.; Bartoli, J.; Shih, T.L. *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, 103, 2127

⁶³ a) Evans, D.A.; Britton, T.C.; Ellman, J.A. *Tetrahedron Lett.* **1987**, 28, 6141 b) Fadel, A.; Saläun, J. *Tetrahedron Lett.* **1988**, 29, 6257

⁶⁴ Damon, R.E.; Coppola, G.M. *J. Tetrahedron Lett.* **1990**, 31, 2849

⁶⁵ Evans, D.A.; Black, W.C. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 4497

tabel III.2: afsplitsing van oxazolidinon (+)-III.10

ontkoppelingsreagens	X in III.13	rendement III.13	rendement (+)- III.14	recuperatie (+)- III.12
LiAlH ₄ /THF	CH ₂ OH	13%	77%	/
LiOH/H ₂ O ₂ kt, 6 dagen	COOH	38%	33%	19%
LiOH/H ₂ O ₂ 70°C, 24u	COOH	21%	21%	38%
BnS ⁻ Li ⁺	COSBn	16%	25%	47%
EtS ⁻ Li ⁺	COSEt	41%	/	33%

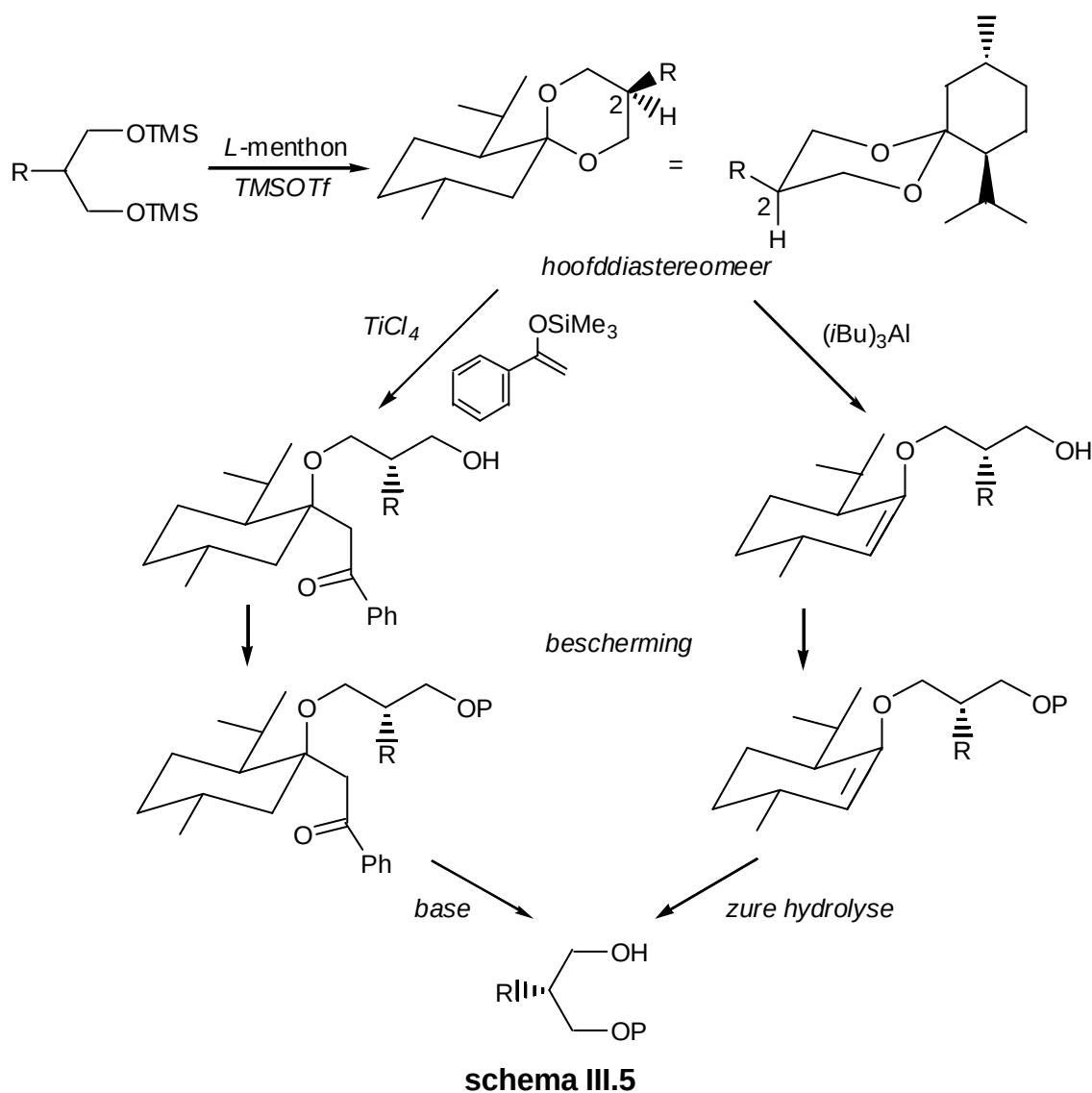
Gezien het amidederivaat (+)-**III.14** het hoofdproduct is bij behandeling van (+)-**III.12** met lithiualuminiumhydride, wordt de hydrolyse van de amidebinding onderzocht om alsnog de hulpstof af te splitsen. Hierbij moet opgemerkt worden dat het enantiomeer zuiver amide gevoelig is voor epimerisatie aan het centrum naast het carbonylkoolstofatoom. Hierdoor kunnen de traditionele condities voor de hydrolyse van een amidebinding, zoals refluxen onder sterk basische of zure condities, niet worden toegepast. Behandeling van het amide met het mildere hydrazine leverde niet het verwachte product **III.15**, enkel beginproduct (+)-**III.14** werd gerecupereerd.⁶⁶

Door de moeilijke afsplitsing van het hulpreagens is het bekomen rendement aan de gewenste producten **III.13**, die gemakkelijk in het amine (-)-**II.18** kunnen worden omgezet, wederom laag. Er wordt dan ook geopteerd het amine te bereiden via een andere enantioselectieve route, namelijk die van *Harada*, waarbij L-menthon gebruikt wordt als chirale hulpstof.

⁶⁶ Boger, D.L.; McKie, J.A.; Nishi, T.; Ogiku, T. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 311

III.3.2. Methode van Harada

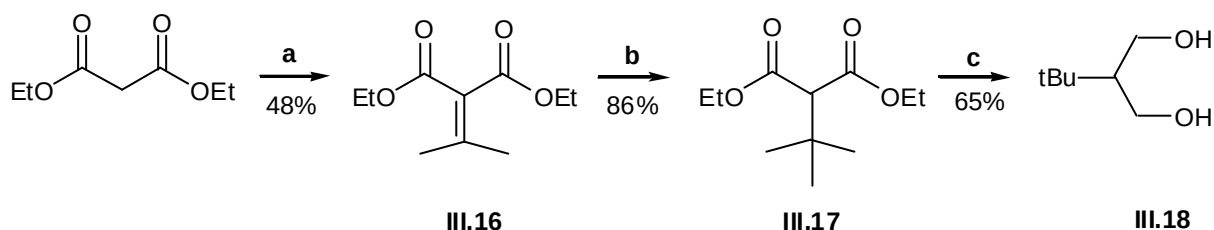
De methode van Harada wordt ondermeer gebruikt om de enantiotope hydroxylgroepen in prochirale 1,3-diolen van mekaar te differentiëren.⁶⁷ Reactie van een chiraal keton, L- of D-menthon, met het prochirale diol leidt tot een spiroacetaal waarin de zuurstofatomen diastereotoop zijn (**schema III.5**). Het spiroacetaal neemt een rigide dubbele stoelconformatie aan. De meest thermodynamisch stabiele conformatie is deze waarbij de substituent op C₂ van het diol een equatoriale positie inneemt op één van de stoelconformaties. De absolute configuratie van dit centrum kan meestal bepaald worden via ¹H-NMR-spectroscopie.



⁶⁷ Harada, T.; Oku, A. *Synlett* **1994**, 95

Selectieve opening van het acetaal is mogelijk door behandeling met de trimethylsilylenolether van acetofenon in aanwezigheid van titaniumchloride. Het Lewiszuur complexeert preferentieel met het minst sterisch gehinderde zuurstofatoom in het spiroacetaal met vorming van een carbokation waarop het nucleofiel langs de minst sterisch gehinderde zijde aanvalt (**schema III.5**).⁶⁸ De aanval gebeurt met retentie van configuratie, wat wijst op een S_N1-type mechanisme. Het spiroacetaal kan ook geopend worden door een eliminatie. Hiertoe complexeert het equatoriale zuurstofatoom met triisobutylaluminium en wordt het proton in α -positie in het acetaal geëlimineerd.⁶⁹ De vrijgestelde hydroxylgroep kan nu selectief beschermd of gefunctionaliseerd worden. Tenslotte wordt de hulpstof verwijderd onder basische condities of door zure hydrolyse.

Ons uitgangspunt, 2-*tert*-1,3-propaandiol **III.18**, is gemakkelijk toegankelijk uit het commercieel beschikbare diëthylmalonaat (**schema III.6**).



a: aceton, azijnzuuranhydride, ZnCl₂, reflux; **b:** MeMgI, CuCl, Et₂O; **c:** LiAlH₄, Et₂O, reflux

schema III.6

Behandeling van diëthylmalonaat met aceton, azijnzuuranhydride en anhydrysch zinkchloride onder refluxcondities leidt tot de diëthylisopropylideenmalonaat **III.16** in relatief lage opbrengst in overeenstemming met de literatuur.⁷⁰ 1,4-Additie met een methylcupraat levert de diëthyl-*tert*-butylmalonaat **III.17**, die na reductie van de esterfuncties met lithiumaluminiumhydride aanleiding geeft tot het gewenste, kristallijne 2-*tert*-butyl-1,3-propaandiol **III.18** met een goed rendement.⁷¹

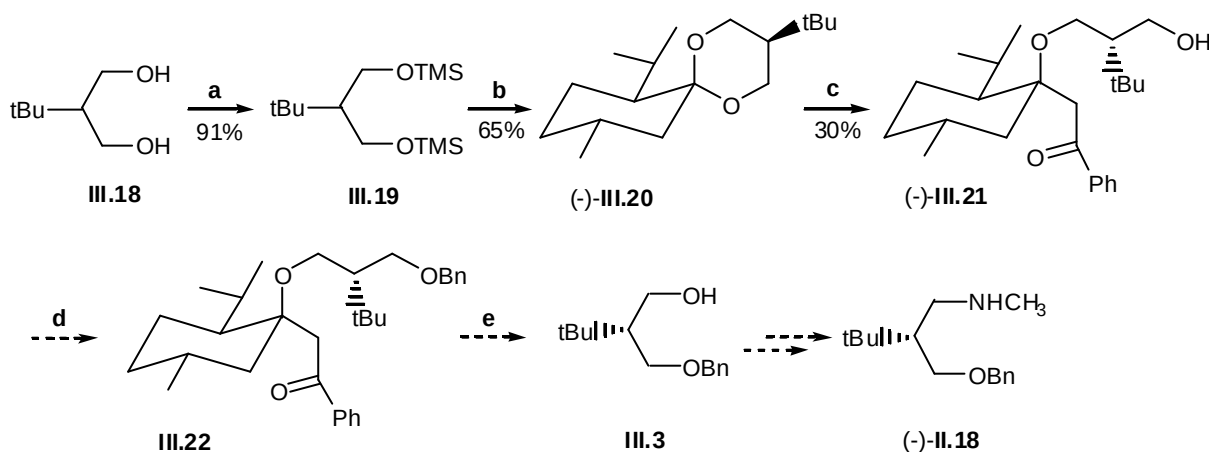
⁶⁸ Harada, T.; Hayashiya, T.; Wada, I.; Iwa-ake N.; Oku, A. *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, 109, 527

⁶⁹ Harada, T.; Wada, I.; Oku, A. *Tetrahedron Lett.* **1987**, 28, 4181

⁷⁰ Cope, A.C.; Hancock, E.M. *J. Am. Chem. Soc.* **1938**, 60, 2644

⁷¹ Elliel, E.L.; Sir Knoeber, C. *J. Am. Chem. Soc.* **1968**, 90, 3444

Vermits volgens de literatuur het spiroacetaal niet kan bereid worden uitgaande van het diol **III.18** onder de klassieke dehydratatiecondities, wordt het diol eerst omgezet tot de bistrimethylsilylether **III.19** (**schema III.7**).⁶⁷ Hiervoor wordt het diol behandeld met hexamethyldisilazaan.⁷² Acetalisatie van de bissilylether **III.19** met L-menthon in aanwezigheid van een katalytische hoeveelheid trimethylsilyltriflaat leidt tot spiroacetaal (-)-**III.20** in een relatief goede opbrengst. Via ¹H-NMR-spectroscopie wordt vastgesteld dat slechts één diastereomeer gevormd wordt. Na vergelijking met de literatuur is dit hoogst waarschijnlijk het diastereomeer waarin de *tert*-butylgroep de equatoriale positie inneemt op één van beide stoelconformaties (zie **schema III.5**).



a: (Me₃Si)₂NH, TMSOTf, THF; **b:** L-menthon, TMSOTf, CH₂Cl₂, -40°C; **c:** trimethylsilylenolether van acetofenon, TiCl₄, CH₂Cl₂, -78°C; **d:** NaH, BnBr, Bu₄NI, THF; **e:** KOH, H₂O, CH₃OH, THF, 55°C

schema III.7

Selectieve opening van het acetaal met de trimethylsilylenolether van acetofenon in de aanwezigheid van titaniumtetrachloride is een moeilijk proces. Er wordt een complex mengsel aan producten teruggevonden, waaronder het gewenste derivaat (-)-**III.21** naast 25% aan gerecupereerd beginproduct. Waarschijnlijk is de sterische hinder zowel voor de complexatie met het Lewiszuur als voor de nucleofiele aanval te groot. In dit verband kan opgemerkt worden dat in de literatuur enkel voorbeelden werden gevonden met een fenyl- of een *isopropyl*groep als substituent op de C₂-plaats van 1,3-propaandiol.^{67, 68, 69}

⁷² Harada, T.; Kurokawa, H.; Kagamihara, Y.; Tanaka, S.; Oku, A. *J. Org. Chem.* **1992**, 57, 1412

Ook de andere openingsmethode, via de eliminatiereactie, is onderzocht, maar ook hier werden geen gunstige resultaten bekomen. Na de opening zou verdere benzylering van de vrije hydroxylfunctie en afsplitsen van het hulpreagens leiden tot de intermediaire alcohol **III.3**, die gemakkelijk geconverteerd kan worden naar de gewenste bouwsteen, amine (-)-**II.18** (schema **III.7**).

Het grootste probleem in de sequentie is ook hier de sterische hinder veroorzaakt door de *tert*-butylgroep. Er werd besloten de chiraliteit te introduceren via asymmetrische katalyse, waarbij de vorming van een covalente binding met een chirale hulpstof wordt vermeden. Hierbij wordt in eerste instantie gedacht aan de natuurlijke biokatalysatoren, de enzymen.

III.4 Resolutie met enzymen

Enzymen zijn biokatalysatoren en hun uniek katalytisch vermogen, hun chemoselectiviteit, regioselectiviteit en stereoselectiviteit werden al uitvoerig besproken in **hoofdstuk II**. Een nadeel van de enzymatische resolutie van racematen is dat slechts een maximaal rendement van 50% aan enantiomeer zuiver product bekomen kan worden. Echter, in een prochirale molecule kunnen de biokatalysatoren de enantiotope functionele groepen onderscheiden en dit kan leiden tot de vorming van één enantiomeer zuiver product met een theoretisch rendement van 100%.⁷³ Lipasen onderscheiden zich van de meeste andere enzymen door hun grote substraattolerantie en door hun goede stabiliteit in organische solventen.^{73a), d)} In ons geval kan geopteerd worden voor de selectieve verestering van het reeds bereide *meso*-diol **III.18** of voor de selectieve hydrolyse van één esterfunctie in het corresponderende diacetaat door een lipase. Voordeel hierbij is dat op deze manier beide enantiomeren toegankelijk zijn.

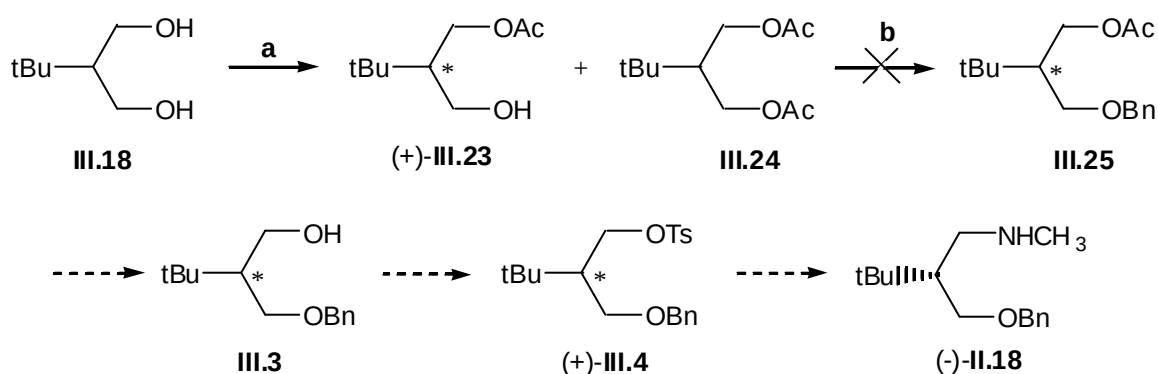
Anderzijds kan ook gebruik gemaakt worden van een esterase voor de selectieve hydrolyse van één esterfunctie in de reeds bereide prochirale diëthyl-2-*tert*-butylmalonaat **III.17**.^{73b), c)}

⁷³ a) Chen, C.-S.; Sih, C.J. *Ang. Chem. Int. Ed. Engl.* **1989**, 28, 695 b) Azerad, R. *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1995**, 132, 17 c) Schoffers, E.; Golebiowski, A.; Johnson, C.R. *Tetrahedron* **1996**, 52, 3769 d) Schmid, R.D.; Verger, R. *Ang. Chem. Int. Ed. Engl.* **1998**, 37, 1608

III.4.1 Selectieve verestering van meso-diol **III.18** met lipasen

In tegenstelling tot voor de monoverestering van verschillende 2-alkyl-propaan-1,3-diolen wordt voor de resolutie van 2-*tert*-butylpropaan-1,3-diol in de literatuur slechts één voorbeeld gevonden.

De reactie wordt uitgevoerd in een mengsel van ethylacetaat en water in aanwezigheid van een biokatalysator bekomen uit de bacterie *Corynebacterium Oxydans*.⁷⁴ De reactie duurt 17 dagen om 63% monoacetaat **III.23** te bekomen met een enantiomere overmaat van 60%. Bovendien moest de bacterie ook nog zelf gekweekt worden. Gezien ons laboratorium niet uitgerust is voor het kweken van bacteriën, werd besloten om de selectieve verestering te testen met verschillende commercieel beschikbare lipasen (**tabel III.3**).



a: lipase, vinylacetaat, moleculaire zeven (geactiveerd poeder), **tabel III.3**; b: zie tekst

schema III.8

De reactie van diol **III.18** met de verschillende lipasen in vinylacetaat onder identieke reactieomstandigheden leidt in de meeste gevallen tot het enantiomeer aangerijkte monoacetaat (+)-**III.23** (**schema III.8**). Slechts in bepaalde gevallen werd ook het diacetaat **III.24** geïsoleerd.⁷⁵ Opmerkelijk is dat in alle gevallen hetzelfde enantiomeer bekomen wordt, namelijk (+)-**III.23**. De enantiomere overmaat van de bekomen acetaten **III.23** wordt bepaald via ¹H-NMR-spectroscopie van de corresponderende mandelzure esters.

⁷⁴ Green, F. R. III, Olyslager, R. J. Eastman (Eastman Kodak Co.) *Eur. Pat. Appl. EP 280,232* (Cl. C12P7/62), **1988**

⁷⁵ Guanti, G.; Banfi, L.; Narisano, E. *Tetrahedron Asymmetry* **1990**, 1, 721

Het beste resultaat wordt bekomen met Porcine Pancreatic Lipase (PPL), vooraf gedroogd op fosforpentoxide. Voor het opschalingsproces wordt dan ook van dit enzym gebruik gemaakt.

tabel III.3 resolutie van diol ($\pm$)-III.18 in vinylacetaat met verschillende commercieel beschikbare lipasen

lipase	reactietijd	rendement monoacetaat (+)-III.23	rendement diacetaat III.24	enantiomere overmaat ^a
PPL	24u	86%	/	75%
PPL	24u	72%	/	78%
(gedroogd op P ₂ O ₅)				
PPL	24u	82%	/	84%
(gedroogd op P ₂ O ₅) ^b				
PPL	24u	69%	7%	69%
(geïmmobiliseerd op celiet)				
SAMII (FLUKA)	26u	79%	/	61%
<i>Aspergillus Niger</i>	5 dagen	63%	8%	53%
<i>Candida Cylindracea</i>	20u	/	95%	
lipase PS (<i>Pseudomonas</i> <i>Cepacia</i> , FLUKA)	48u	70%	/	60%
lipase PS (<i>Pseudomonas</i> <i>Cepacia</i> , AMANO)	48u	65%	/	67%
lipase P (<i>Pseudomonas</i> <i>Cepacia</i> , AMANO)	24u	47%	/	79%
lipoproteïne lipase (<i>Pseudomonas sp.</i>)	5 dagen	39%	/	16%
<i>Candida Antarctica</i>	28u	67%	/	60%

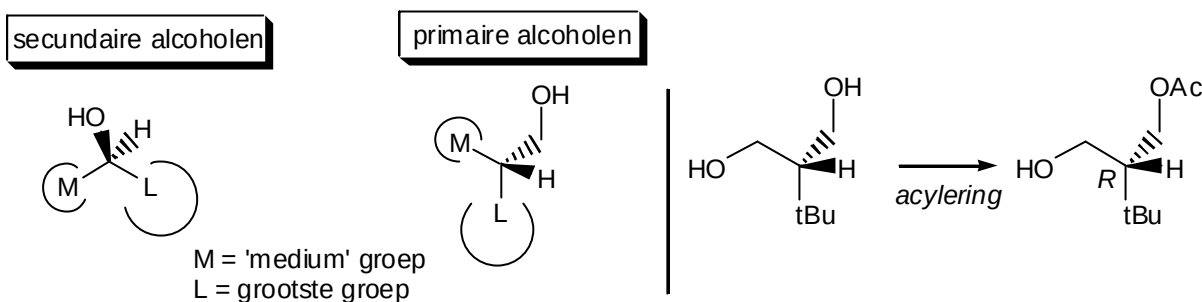
^a bepaald via ¹H-NMR spectroscopie van de corresponderende mandelzure esters

^b in het opschalingsproces

Aan de hand van modelstudies en X-straaldiffractie-analyses van verschillende lipasen is door *Kazlauskas* een model opgesteld dat toelaat om voor secundaire alcoholen te voorspellen welk enantiomeer het snelst zal interageren met het enzym. Hierdoor wordt het mogelijk de absolute configuratie van het bekomen mono-acetaat te voorspellen.⁷⁶

⁷⁶ a) Kazlauskas, R.J.; Weissfloch, A. N.E.; Rappaport, A.T.; Cuccia, L.A. *J. Org. Chem.* **1991**, 56, 2656; b) Lemke, K.; Lemke, M.; Theil, F. *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 6268

De lipasen herkennen de enantiomeren op basis van de grootte van de substituenten op het stereocenter. X-straaldiffractiestudies hebben immers aangetoond dat de lipasen naast de alcoholbindingssite ook nog beschikken over twee hydrofobe pockets. De ene is groot, zuiver hydrofoob en open naar het solvent. De andere is iets kleiner en bezit zowel hydrofobe als hydrofiele kenmerken.



figuur III.1

Voor primaire alcoholen wordt de voorspelling moeilijker wegens hun grotere flexibiliteit, wat zich ook uit in een lagere enantiomere overmaat.⁷⁷ Uit computermodellering volgt dat de grootste substituent bindt in een andere regio dan bij secundaire alcoholen. Dit verklaart de tegengestelde enantiomere voorkeur van hetzelfde enzym ten opzichte van primaire en secundaire alcoholen (**figuur III.1**). Als dit model wordt toegepast op monoacetaat (+)-**III.23** dan zou deze de *R*-configuratie moeten bezitten. Het gewenste *S*-enantiomeer zou toegankelijk zijn door de selectieve hydrolyse van het diacetaat of door extra bescherming- en ontschermingstappen op het *R*-derivaat. Zekerheid omtrent de absolute configuratie van het monoacetaat zou hier kunnen bekomen worden door vergelijking van specifieke rotaties op het stadium van het tosylaat (+)-**III.4** (zie **schema III.8**). De alcoholfunctie in het bekomen acetaat (+)-**III.23** moet daarvoor beschermd worden als benzylether. Daarna wordt het acetaat gehydrolyseerd en de bekomen alcohol kan dan verder worden omgezet tot tosylaat (+)-**III.4**. De benzylering van de vrije alcoholfunctie in het acetaat (+)-**III.23** is een probleem (**schema III.8**). Verschillende methoden werden getest, maar het bleek onmogelijk de beoogde benzylether **III.25** te isoleren.

⁷⁷ a) Tuomi, W.V.; Kazlauskas, R.J. *J. Org. Chem.* **1999**, 64, 2638; b) Weissfloch, A.N.E.; Kazlauskas, R. *J. Org. Chem.* **1995**, 60, 6959

De klassieke benzyleringsmethode, behandeling van het acetaat met natriumhydride en benzylbromide in de aanwezigheid van een katalytische hoeveelheid tetrabutylammoniumjodide kan hier niet worden toegepast. De aanwezigheid van het oxyanion zou kunnen leiden tot een intramoleculaire migratie van het acetaat met racemisatie tot gevolg. Reactie met benzylbromide in aanwezigheid van zilveroxide faalt, enkel het beginproduct kan gerecupereerd worden.⁷⁸ Voor de benzylering van fenolen worden soms de *Mitsunobu*condities (benzylalcohol, trifenylfosfine en diisopropylazodicarboxylaat) toegepast; in ons geval treedt er echter geen reactie op.⁷⁹ Tenslotte wordt ook de zuurgekatalyseerde methode met zelfbereid benzy-2,2,2-trichlooracetimidaat in aanwezigheid van trifluormethaansulfonzuur getest.⁸⁰ Ondanks de goede resultaten beschreven in de literatuur voor 2-methyl-1,3-propaandiol (76%, geen racemisatie), wordt in ons geval slechts een complex mengsel aan producten bekomen.⁸¹

Dit probleem zou gemakkelijk opgelost kunnen worden door eerst het diol om te zetten in de monobenzylether en vervolgens dit racemaat te resolveren met een geschikt lipase.⁸² Theoretisch gezien kan dit maar maximaal 50% aan enantiomeer zuiver product opleveren en daarom wordt eerst geopteerd voor de enzymatisch gekatalyseerde hydrolyse van het reeds bereide prochirale diëthyl-2-*tert*-butylmalonaat **III.17**, waardoor wel weer 100% aan enantiomeer zuiver product kan verkregen worden.

III.4.2 Resolutie van de diëster **III.17** met een esterase

De Pig Liver Esterase (PLE)-gekatalyseerde conversie van het prochiraal diëthylmalonaat **III.17** in de enantiomeer zuivere monoëster (-)-**III.26** verloopt met

⁷⁸ a) Mori, S.; Ohno, T.; Harada, H.; Aoyama, T.; Shiori, T. *Tetrahedron* **1991**, 47, 5051;

b) Bouzide, A.; Sauvé, G. *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 5945

⁷⁹ Dushin, R.G.; Danishefski, S.J. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114, 655

⁸⁰ a) Wessel, H.P.; Iversen, T.; Bundle, D.R. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1985**, 2247;

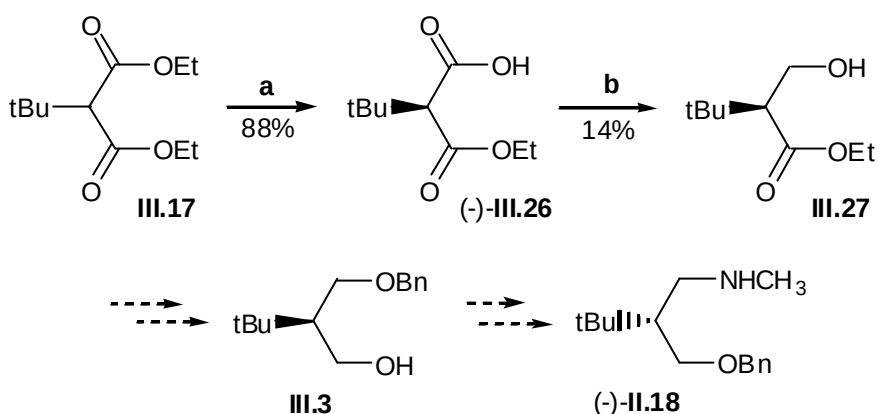
b) Eckenberg, P.; Groth, U.; Huhn, T.; Richter, N.; Schmeck, C. *Tetrahedron* **1993**, 49, 1619

⁸¹ Widmer, U. *Synthesis* **1987**, 568

⁸² Grisenti, P.; Ferraboschi, P.; Manzocchi, A.; Santaniello, E. *Tetrahedron* **1992**, 48, 3827

een goed rendement (**schema III.9**). Steunend op de literatuur kan aan het stereocentrum de S-configuratie toegekend worden (92% ee).⁸³

Chemoselectieve reductie van het carbonzuur zou leiden tot de corresponderende alcohol **III.27**. Na bezylering en reductie van de ester zou intermediair **III.3** geïsoleerd kunnen worden, dat dan gemakkelijk omgezet kan worden in het gewenste aminederivaat (-)-**II.18**.



a: PLE, fosfaatbuffer pH=7; b: $\text{BH}_3 \cdot \text{S}(\text{CH}_3)_2$, THF

schema III.9

Het best gekende reagens voor de chemoselectieve reductie van een carbonzuur naast een ester is het boraandimethylsulfidecomplex in tetrahydrofuran.⁸⁴ Deze methode gaf echter een lage opbrengst aan het gewenste alcoholderivaat **III.27**. Waarschijnlijk veroorzaakt de *tert*-butylgroep teveel sterische hinder. Ook het feit dat de ester niet epimeriseert onder sterk zure omstandigheden, noch onder sterk basische is waarschijnlijk te wijten aan de aanwezigheid van de *tert*-butylgroep.⁸³ Recentelijk is in de literatuur beschreven dat het zuur eerst moet geactiveerd worden als anhydride om vervolgens de alcohol **III.27** met een hoog rendement te bekomen.⁸⁵ Wegens tijdsgebrek kon hier niet verder aandacht aan besteed worden.

⁸³ Klotz-Berendes, B.; Kleemiß, W.; Jegelka, U.; Schäfer, H.J.; Kotila, S. *Tetrahedron: Asymmetry* **1997**, 8, 1821

⁸⁴ a) Barrett, A.G.M. *Comprehensive Organic Synthesis*, Pergamon Press, Oxford **1991**, vol 8, 235
b) Kraus, J.L.; Attardo, G. *Synthesis* **1991**, 1046

⁸⁵ Kleemiß, W.; Jegelka, U.; Klotz-Berendes, B. *Ger. Offen.* **1998**, 4pp. GWXXBX DE 19716832 A1 19981029

III.5 Besluit

In theorie kan de bouwsteen amine (-)-**II.18** enantiomeer zuiver verkregen worden via verschillende sequenties. Eén route steunde op de resolutie van het racemisch carbonzuur **III.2** met een enantiomeer zuiver commercieel amine via diastereomere zoutvorming. Het rendement blijft laag (12%) door de talrijke omkristallisaties die noodzakelijk zijn om het carbonzuur enantiomeer zuiver te verkrijgen (ee>95%). Om het aantal omkristallisaties te beperken werd de resolutie met een mix aan chirale aminen **III.9a, b, c** uitgevoerd. Het rendement en de enantiomere overmaat bleef echter laag.

Een alternatieve sequentie tot het amine (-)-**II.18** is een enantioselectieve syntheseroute. Welgekende methoden zijn die van *Evans* en die van *Harada*, waarin gebruik gemaakt wordt van een chirale hulpstof die achteraf kan gerecupereerd worden. Afsplitsing van de hulpstof was het grote probleem bij het gebruik van de methode van *Evans*. Waarschijnlijk veroorzaakt de volumineuze *tert*-butylgroep teveel sterische hinder. In de methode van *Harada* is de opening van het spiroacetaal de moeilijke stap, waarschijnlijk is ook hier de *tert*-butylsubstituent de limiterende factor.

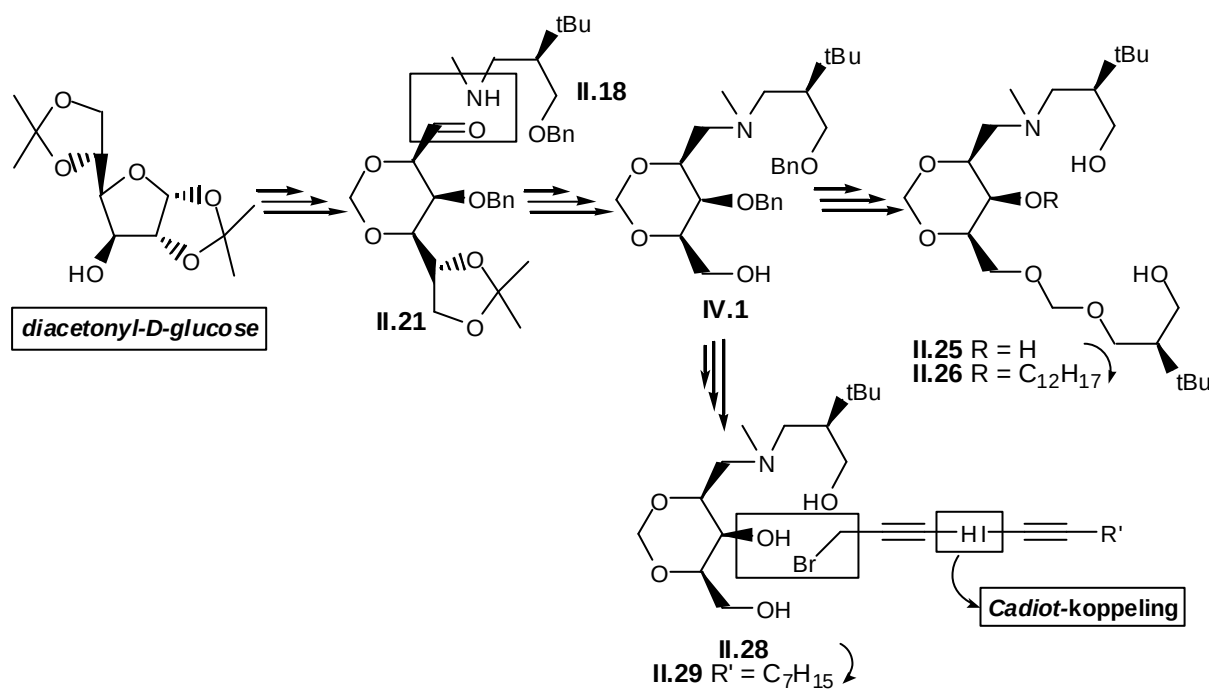
Tenslotte werd gepoogd om de chiraliteit te induceren via een selectieve monoverestering van mesodiol **III.18** of via de hydrolyse van één esterfunctie in de diëster **III.17** in aanwezigheid van enzymen. De selectieve verestering en de hydrolysereactie verliepen zonder enig probleem. Het gewenste monoacetaat (+)-**III.23** en het monocarbonzuur (-)-**III.26** werden bekomen in een goed rendement en met goede enantiomere overmaat. In monoacetaat (+)-**III.23** kan echter de nog vrije alcohol niet beschermd worden als een benzylether: ofwel treedt racemisatie op ofwel gaat de reactie niet door. Het lijkt ook moeilijk te zijn om het carbonzuur in (-)-**III.26** selectief te reduceren naast de ester. De traditionele selectieve reagentia, zoals de boraancomplexen, leverden geen goede resultaten op. Ook hier kan de oorzaak waarschijnlijk gezocht worden in de aanwezigheid van de *tert*-butylgroep. Ondertussen is gebleken dat de selectieve reductie van het zuur wel mogelijk is als het zuur eerst omgezet wordt in het reactievere anhydride.

Uit de verschillende onderzochte sequenties is duidelijk gebleken dat de volumineuze *tert*-butylgroep te veel sterische hinder veroorzaakt waardoor bepaalde reacties bemoeilijkt worden ofwel niet meer doorgaan.

Uiteindelijk wordt voor de opschaling toch geopteerd voor de eerste methode: de resolutie van het zuur via diastereomere zoutvorming met één optisch zuiver amine, vermits deze methode de enige is die het amine (-)-**II.18** effectief heeft opgeleverd. Beide enantiomeren van het zuur **III.2** zijn beschikbaar. Dit is belangrijk want de polyetherzijketen **II.19**, die moet instaan voor de stabilisatie van het oxyanion, wordt bereid uit het enantiomeer van alcohol **III.3**.

Hoofdstuk IV : Verdere opbouw tot de modelverbindingen met de axiale alcoholfunctie op C₇

De volgende stap in de ontwikkeling van de beoogde modelverbindingen vereist de koppeling van het reeds bereide amine **II.18** en het centrale gedeelte van de modelverbindingen, aldehyde **II.21**, dat toegankelijk is uit diacetyl-D-glucose (**schema IV.1**).⁸⁶ Vervolgens wordt de oxyanionstabiliserende zijketen ingebouwd via alkylatie van de nog vrije primaire alcoholfunctie in **IV.1**. De modelverbindingen **II.26** en **II.29** met de alkylzijketen kunnen bekomen worden uit de aminotriolen **II.25** en **II.28**. Na bescherming van de primaire alcoholfuncties kan de alkylketen selectief geïntroduceerd worden op de secundaire hydroxylgroep.



schema IV.1

Er wordt uiteindelijk geopteerd voor de introductie van een diynylzijketen, via een alkylatie en een *Cadiot*koppeling, omdat de alkylatiereactie met een verzadigde zijketen niet de verwachte resultaten gaf (zie verder).⁸⁷

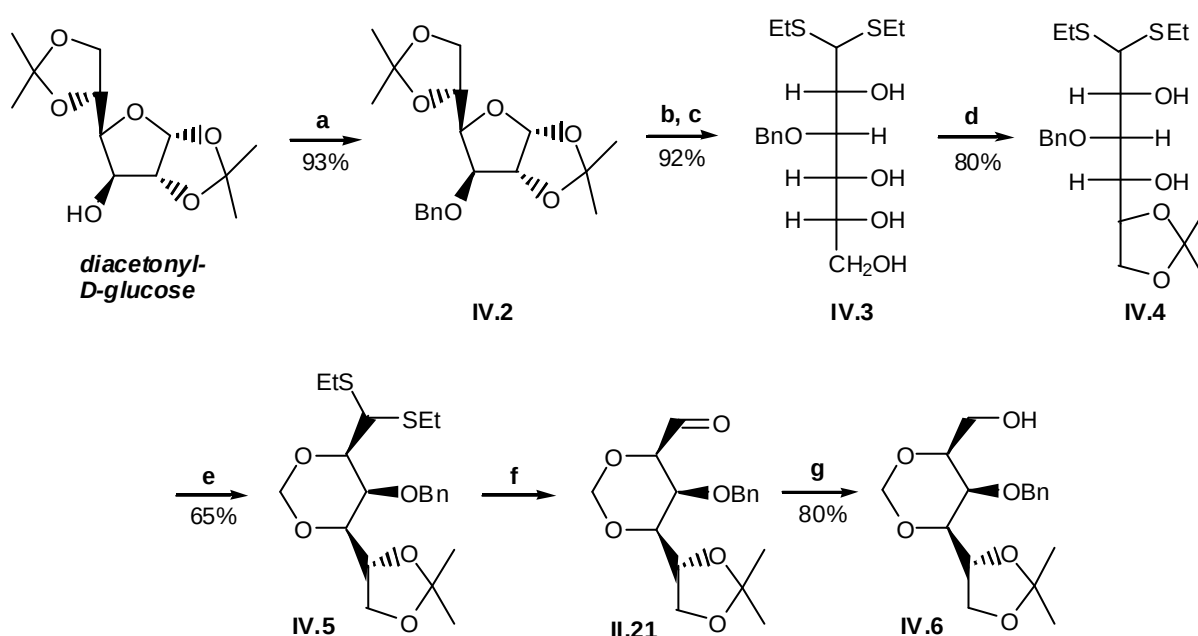
⁸⁶ Fleet, G.W.J.; Shing, T.K.M. *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* **1984**, 835

⁸⁷ Alami, M; Ferry, F. *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37, 2763

Daarenboven zou de aanwezigheid van twee opeenvolgende driedubbele bindingen vermoedelijk de gewenste verticale oriëntatie bevorderen.

IV.1 Synthese van het centrale aldehyde II.21

Het centrale aldehyde **II.21** kan in 6 stappen bereid worden uitgaande van het commercieel beschikbare diacetyl-D-glucose, zoals beschreven in de literatuur.⁸⁶ Een alternatieve syntheseroute tot het gewenste aldehyde vertrekt van het eveneens commercieel beschikbare, maar duurdere 1,2-isopropylideen-D-xylofuranose.⁸⁸ Vermits de laatstgenoemde synthese slechts één stap korter is, wordt geopteerd voor de eerste route uitgaande van diacetyl-D-glucose.



a: NaH, BnBr, Bu₄NI, THF; b: DOWEX-H⁺ 50W8X, H₂O; c: HCl, EtSH; d: aceton, CuSO₄; e: KOH, CH₂Br₂, Bu₄NI, dioxaan-H₂O; f: HgCl₂, HgO, H₂O, aceton; g: LiAlH₄, Et₂O

schema IV.2

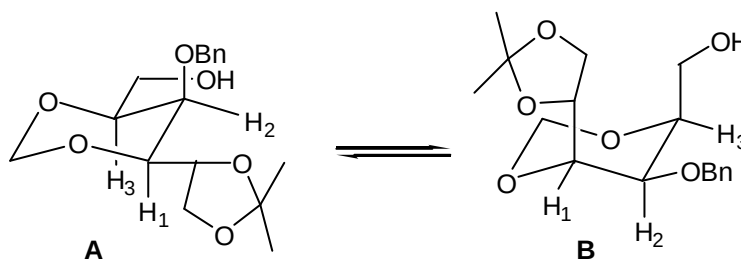
Benzylering van de vrije secundaire alcoholgroep in de commerciële glucofuranose met benzylbromide en tetrabutylammoniumjodide als katalysator geeft aanleiding tot benzylether **IV.2** in hoge opbrengst (schema IV.2).⁸⁹

⁸⁸ Matsuda, F.; Kawasaki, M.; Terashima, S. *Tetrahedron Lett.* **1985**, 26, 4639

⁸⁹ Czernecki, S.; Georgoulis, C.; Provelenghiou, C. *Tetrahedron Lett.* **1976**, 17, 3535

Door zure hydrolyse van het diacetonide gevolgd door behandeling met ethaanthiol wordt het gewenste thioacetaal **IV.3** gevormd.⁹⁰ Twee van de hydroxylgroepen kunnen weer beschermd worden als acetonide door reactie van het thioacetaal met aceton in aanwezigheid van anhydrisch kopersulfaat. Het is noodzakelijk om anhydrisch kopersulfaat te gebruiken om de nevenreactie tot het diacetonide te beperken; in dit geval wordt 11% diacetonide geïsoleerd. De nog vrije hydroxylgroepen in derivaat **IV.4** worden vervolgens beschermd in een 1,3-dioxaanring door reactie met dibroommethaan in alkalisch milieu.⁹¹ Door selectieve ontscherming van het thioacetaal in **IV.5** met kwikchloride in aanwezigheid van kwikoxide, om het gevormde waterstofchloride te binden, wordt het gewenste aldehyde **II.21** bekomen. Dit aldehyde is echter niet zo stabiel en wordt verder gereduceerd tot de corresponderende alcohol **IV.6** om het zo te kunnen bewaren.

De structuur van alcohol **IV.6** wordt bevestigd door ¹H-NMR-spectroscopie. Er is geen ³J-koppeling aanwezig tussen H₂ en H₁ noch tussen H₃ en H₂, zodat uit de Karplus-regel volgt dat de hoek zowel tussen H₁ en H₂ als tussen H₂ en H₃ ongeveer 90° moet bedragen. Daarnaast is er nog een ⁴J-koppeling aanwezig tussen H₁ en H₃. Hieruit volgt dat de alcohol hoogst waarschijnlijk voorkomt zoals voorgesteld in **figuur IV.1 A**. In de omgeklapte stoelvorm (**B**) zouden twee substituenten zich axiaal op de ring bevinden, wat thermodynamisch gezien minder gunstig is.



figuur IV.1

Reductieve koppeling van de twee enantiomeer zuivere bouwstenen amine **II.18** en aldehyde **II.21** is nu de eerst volgende stap in verdere opbouw tot de enzymmodellen met de axiale hydroxylgroep op C₇.

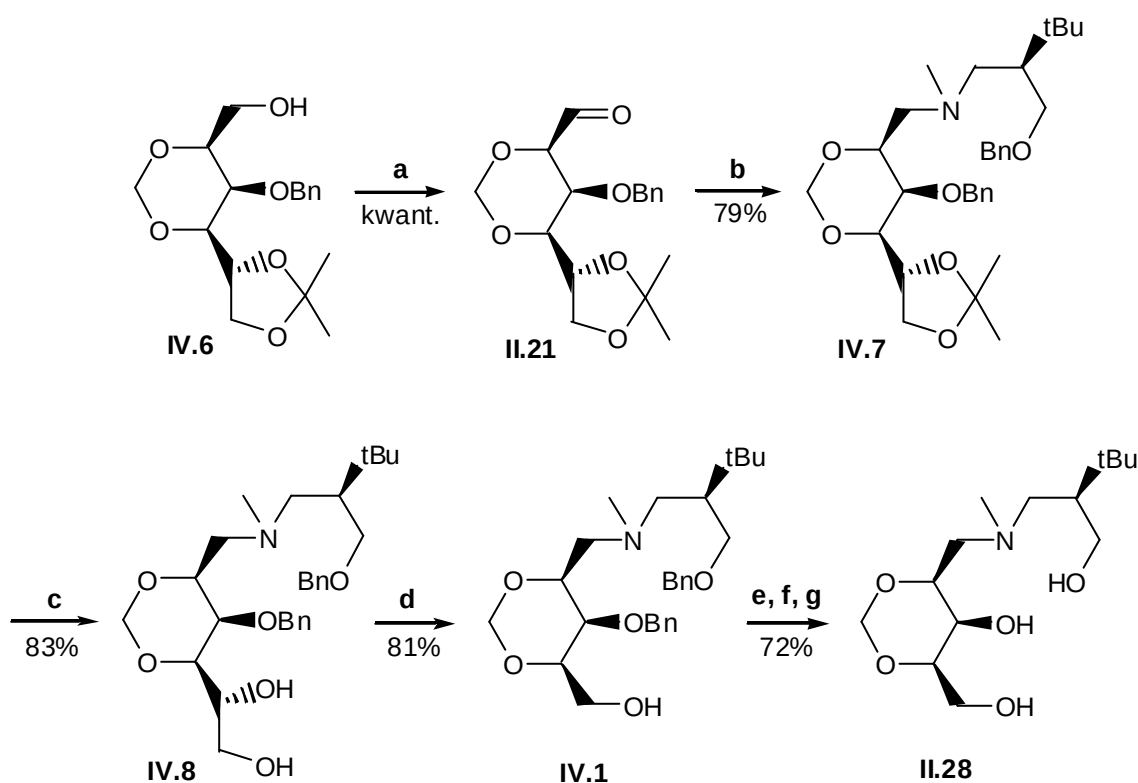
⁹⁰ Rollin, P.; Pougny, J.-R. *Tetrahedron* **1986**, 42, 3479

⁹¹ Kim, K.S.; Szarek, W.A. *Synthesis* **1978**, 48

IV.2 Reductieve koppeling, verdere opbouw tot aminotriolen II.25 en II.28 zonder alkylzijketen

IV.2.1 Aminotriol II.28

DMSO-oxidatie van alcohol **IV.6** in aanwezigheid van het zwaveltrioxide-pyridine complex leidt tot het corresponderende aldehyde in een kwantitatieve opbrengst (schema IV.3). Reductieve aminering van het aldehyde **II.21** met het amine **II.18** in aanwezigheid van natriumtriaceoxyboorhydride levert het glucaminederivaat **IV.7** met een goed rendement.⁹²

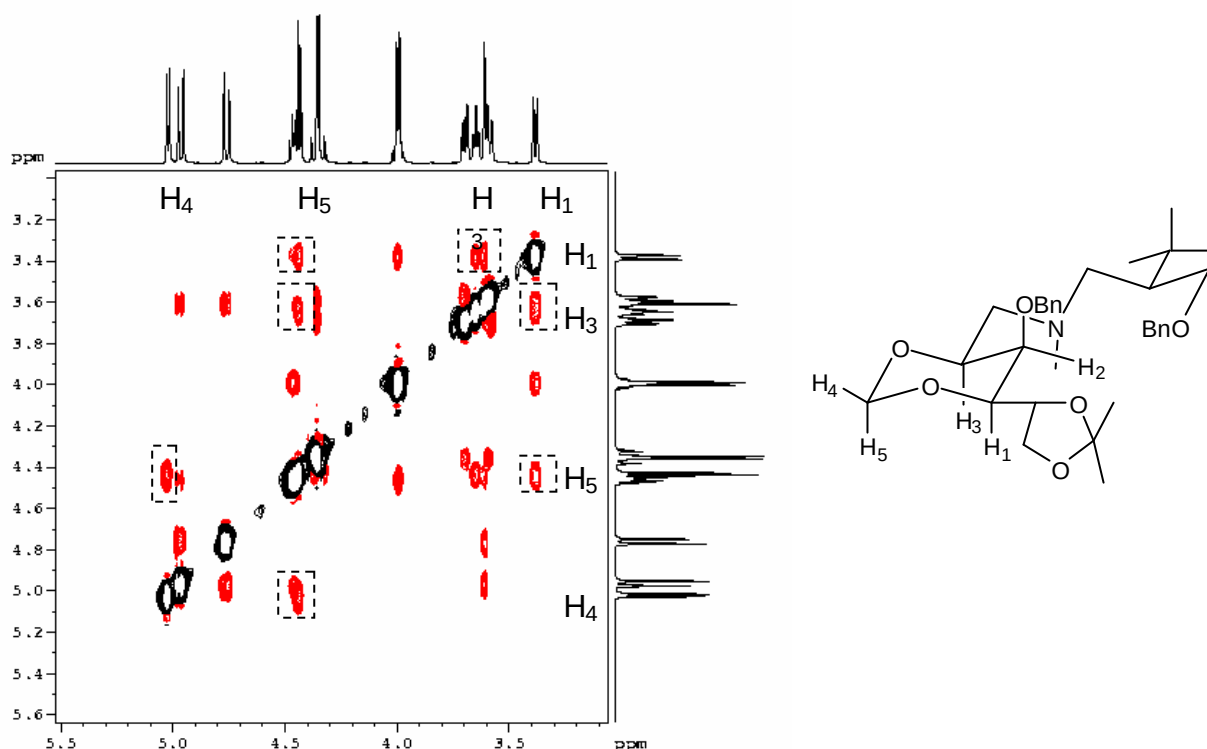


a: DMSO, SO₃.pyridine, Et₃N, CH₂Cl₂; **b:** Na(OAc)₃BH, amine (-)-**II.18**, THF; **c:** 5% HCl in CH₃OH; **d:** amberlyst-A27-IO₄⁻, amberlyst-A27-BH₄⁻, CH₃OH; **e:** Li, vloeibaar ammoniak, reflux; **f:** TBDMSCl, imidazool, DMAP, DMF; **g:** TBAF, THF

schema IV.3

⁹² Abdel-Magid, A.F.; Maryanoff, C.A. *Tetrahedron Lett.* **1990**, 31, 5595

Er wordt slechts één diastereomeer amine gevormd, waarvan de structuur bepaald kan worden via 2D-¹H-NMR-spectroscopie (ROESY, **figuur IV.2**). Er wordt immers een duidelijk positief NOE-effect waargenomen tussen de protonen H₁, H₂ en H₃, wat aantoont dat deze protonen axiaal staan op de zesring. Ook de ⁴J-koppeling tussen H₁ en H₂ in het ¹H-NMR-spectrum is nog steeds aanwezig, wat een indirect bewijs is dat er geen epimerisatie van het aldehyde optreedt voor de koppeling met het amine plaatsgrijpt.



figuur IV.2

Selectieve ontscherming van het acetonide in verdund zuur milieu en de daaropvolgende oxidatie van het ontstane vicinale diol **IV.8** met geïmmobiliseerd perjodaat geeft aanleiding tot een aldehyde dat *in situ* gereduceerd wordt tot de corresponderende alcohol **IV.1** met geïmmobiliseerd boorhydride (**schema IV.3**).⁹³

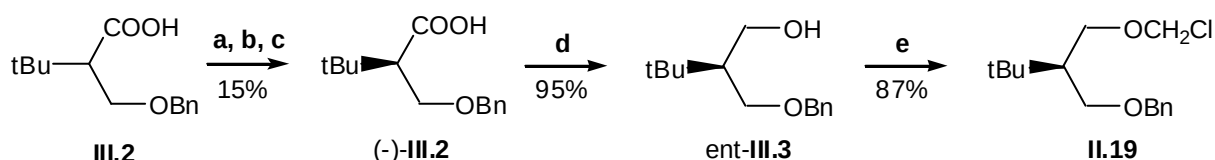
⁹³ a) Bessodes, M.; Antonakis, K. *Tetrahedron Lett.* **1985**, 26, 1305; b) Gibson, H.W.; Bailey, F.C. *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* **1977**, 815; c) Harrison, C.R.; Hodge, P. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1982**, 509

De geïmmobiliseerde reagentia zijn eenvoudig te bereiden door een geconcentreerde oplossing van het perjodaat (0.9 M) of van het boorhydride (0.5 M) in water over een kolom van amberlyst-A27-korrels te gieten. Hierbij wordt het chloridetegeion uitgewisseld voor het perjodaatanion of voor het boorhydride-anion en na lyofilisatie kunnen de korrels als dusdanig gebruikt worden. Na ontscherming van de benzylethers door een oplossende metaalreductie wordt aminotriol **II.28** bekomen. Om het nevenproduct te verwijderen dat zich opdezelfde R_f-waarde bevindt als **II.28** is het noodzakelijk het triol om te zetten in de corresponderende bissilylether **II.30** en terug te ontschermen.

De introductie van de zijketen die moet instaan voor de stabilisatie van het oxyanion is mogelijk door alkylatiereactie met de nog vrije hydroxylfunctie in **IV.1**. Eerst zal de synthese van de zijketen, chloormethylether **II.19**, meer in detail bekeken worden.

IV.2.2 Aminotriol **II.25**

In de synthese van de oxyanionstabiliserende zijketen staat alcohol ent-**III.3** centraal, het enantiomeer van de reeds bereide alcohol **III.3**.



a: (S)-(-)-methylbenzylamine, EtOAc; **b:** 5 omkristallisaties in EtOAc; **c:** 5% HCl, extractie; **d:** LiAlH₄, THF; **e:** (HCHO)_n, TMSCl, reflux

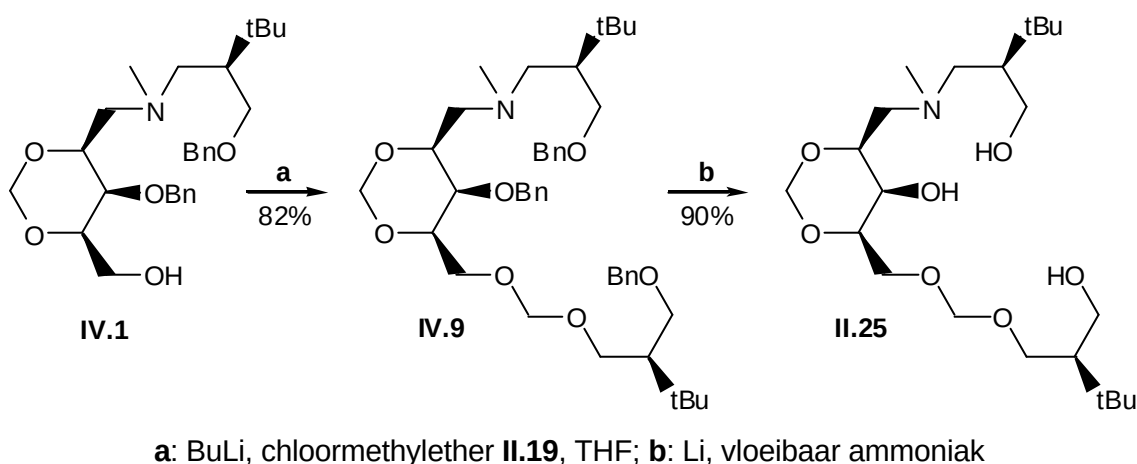
schema IV.4

Dit derivaat wordt dan ook op een analoge manier bekomen, namelijk door reductie van het enantiomeer zuivere carbonzuur (-)-**III.2** (schema IV.4). Voor de resolutie van het zuur wordt hier geopteerd voor de methode via diastereomere zoutvorming, vermits deze methode toch de meest efficiënte bleek.

De moederloog bekomen door behandeling van het racemisch carbonzuur met (R)-(+)-methylbenzylamine is reeds aangerijkt aan carbonzuur (-)-**III.2**.

Na vrijstelling van het zuur uit de moederloog kan de enantiomere overmaat na zoutvorming met (S)-(-)-methylbenzylamine verder aangerijkt worden door omkristallisatie in ethylacetaat. De overmaat wordt bepaald via ¹H-NMR-spectroscopie van de corresponderende methylester in aanwezigheid van het Europiumshiftreagens *tris*(3-heptafluorpropylhydroxymethyleen-(+)-kamfer)-Europium(III). Na vijf omkristallisaties bedraagt de enantiomere overmaat meer dan 95%.

Reactie van de alcohol ent-III.3 met paraformaldehyde in chloortrimethylsilaan levert de chloormethylether II.19 met een goed rendement.⁹⁴ Hierbij moet nog opgemerkt worden dat de reactie nagenoeg niet doorgaat wanneer zeer zuiver paraformaldehyde wordt gebruikt. De opbrengst aan chloormethylether II.19 is het hoogst wanneer gebruik gemaakt wordt van 95% zuiver paraformaldehyde.



schema IV.5

In het reeds bereide derivaat IV.1 is de nog vrije primaire hydroxylfunctie de geschikte aanhechtingsplaats voor de chloormethylether II.19. Er wordt geopteerd voor een alkylatiereactie onder basische omstandigheden.⁹⁴ Het enzymmodel II.25 wordt bekomen na ontscherming van de benzylethers.

⁹⁴ Smith, M.B.; Dimbofsky, B.T.; Chan Son, Y. *J. Org. Chem.* **1994**, 59, 1719

Aanhechting van een verzadigde alkylketen aan de axiaal georiënteerde secundaire alcoholgroep in modelverbindingen **II.26** en **II.29** zal aanleiding geven tot een nieuwe reeks modelverbindingen. Vergelijken van de reactiviteit van deze modellen met die van de derivaten zonder alkylketen, **II.25** en **II.28** zou ons inzicht moeten geven in de entropische contributie in de katalytische activiteit.

IV.3 Introductie van de alkylketen

IV.3.1 Zoektocht naar een geschikte alkylketen

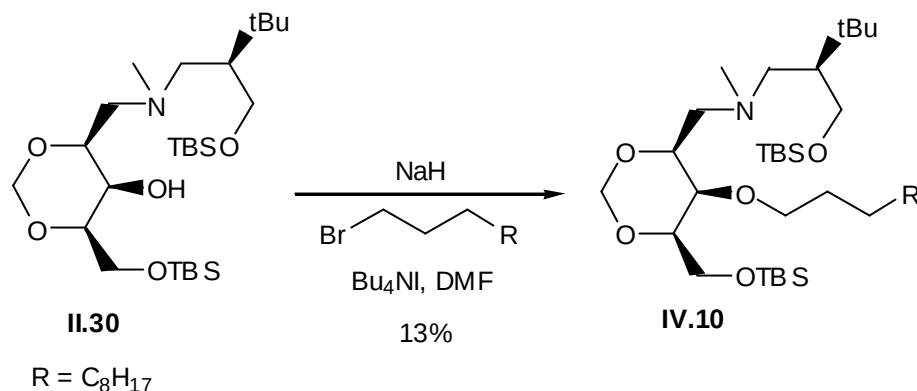
Om de alkylketen selectief te kunnen vasthechten aan de secundaire alcoholfunctie worden de primaire alcoholgroepen in **II.28** eerst beschermd als *tert*-butyldimethylsilylethers.

Reactieve nitrofenylesters met een lange verzadigde alkylketen kunnen in de hydrofobe caviteit van β -cyclodextrine binden zowel via de fenylkern als via de hydrofobe keten. Onderzoek van Tee heeft uitgewezen dat esters, waarvan de keten meer dan zeven koolstofatomen bevat, preferentieel binden in de caviteit via de keten en dat de bindingssterkte evenredig stijgt met de ketenlengte.⁹⁵ Er wordt dan ook geopteerd om een alkylketen te introduceren met minimaal tien koolstofatomen. Daarnaast wordt de keuze van de lengte van de alkylketen ook bepaald door de commerciële beschikbaarheid van de alkylerende reagentia. Overigens is de sequentie tot de modelverbindingen ook zo opgevat dat de keten pas in een laat stadium wordt ingevoerd, zodanig dat eventuele aanpassing van de ketenlengte mogelijk blijft.

In eerste instantie wordt gedacht een verzadigde alkylketen te introduceren onder klassieke omstandigheden met 1-broomundecaan (**schema IV.6**).

⁹⁵ a) Tee, O.S., Mazza, C.; Du, Xx *J. Org. Chem.* **1990**, 55, 3603; b) Tee, O.S.; Bozzi, M.; Clement, N.; Gadosy, T.A. *J. Org. Chem.* **1995**, 60, 3509

Na deprotonatie van alcohol **II.30** met natriumhydride wordt naast 1-broomundecaan ook tetrabutylammoniumjodide als katalysator toegevoegd.⁹⁶ Dit levert het gealkyleerde product **IV.10** slechts in lage opbrengst. Vermoedelijk is het broomalkaan niet reactief genoeg.



schema IV.6

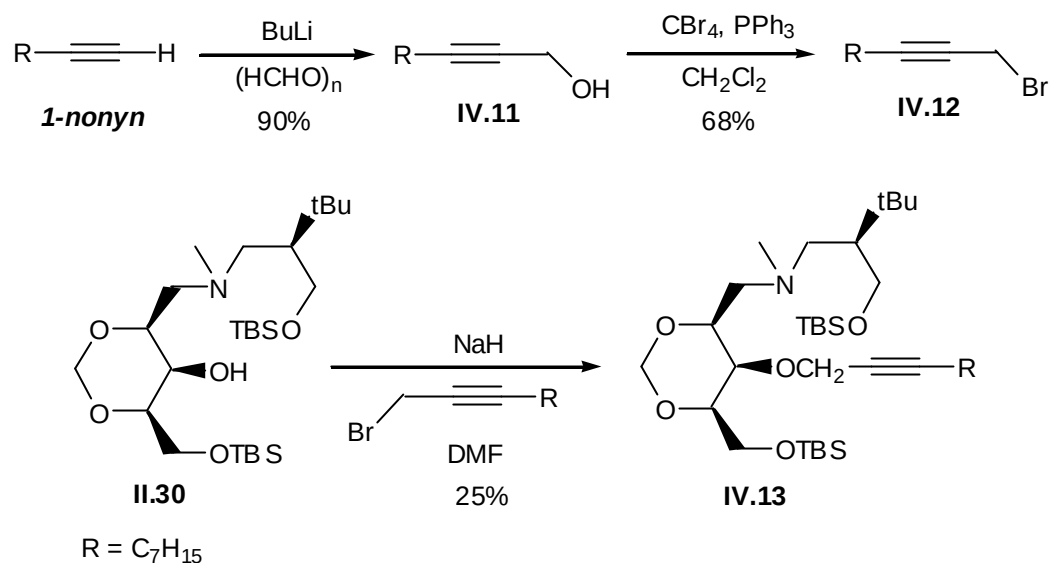
Vervolgens wordt de reactie getest met het commerciële, reactievere propargylbromide om na te gaan of het probleem van de reactie wel bij de reactiviteit van het broomalkaan zou kunnen liggen. Deze reactie verliep zonder problemen, het corresponderende alkyne wordt bekomen in een goede opbrengst (79%, **schema IV.8**).

Er wordt geopteerd om de alkylation met de zelf bereide propargylbromide **IV.12** voorzien van een lange alkylketen te bekijken. De aanwezigheid van het alkyne in de keten zou bovendien de gewenste verticale oriëntatie van de keten moeten bevorderen.

Vertrekkend van het commerciële 1-nonyn is het propargylbromide **IV.12** gemakkelijk toegankelijk via twee opeenvolgende stappen: alkylation met formaldehyde, gevolgd door een omzetting van alcohol **IV.11** in het bromide met tetrabroommethaan (**schema IV.7**). De bereiding van het bromide in één stap, namelijk reactie met dibroommethaan na deprotonatie van 1-nonyn, leverde niet het gewenste bromide **IV.12**. Desondanks is de introductie van een zelfbereide propargylbromide **IV.12** met een lange alkylketen niet effectief. Het beschermde aminodiol **IV.13** wordt weer met een laag rendement bekomen. Waarschijnlijk speelt sterische hinder opnieuw een rol.⁹⁷

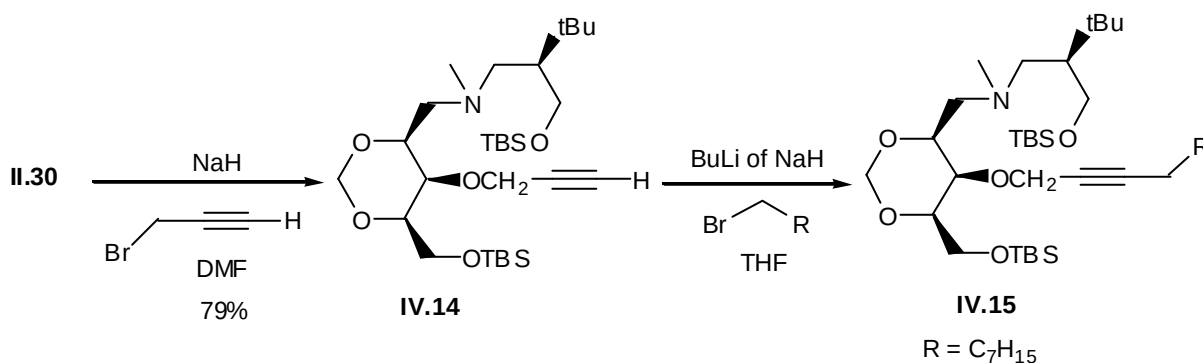
⁹⁶ Lee, H.W.; Kishi, Y. *J. Org. Chem.* **1985**, 50, 4402

⁹⁷ a) Bhanu, S.; Scheinmann, F. *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* **1975**, 817; b) Wagner, A.; Heitz, M.-P.; Miokowski, C. *Tetrahedron Lett.* **1989**, 30, 557



schema IV.7

Gezien de alkylation van II.30 met het kleine propargylbromide geen probleem is, wordt getracht de alkylketen vast te hechten via een tweede alkylationreactie op het bekomen alkyn IV.14 (schema IV.8).⁹⁸ De afstand tussen het nucleofiel en de rest van de molecule wordt groter, zodat de sterische hinder zou moeten afnemen. Er wordt echter weer hoofdzakelijk beginproduct IV.14 teruggevonden (88%) naast een spoor van het gealkyleerde product IV.15.



schema IV.8

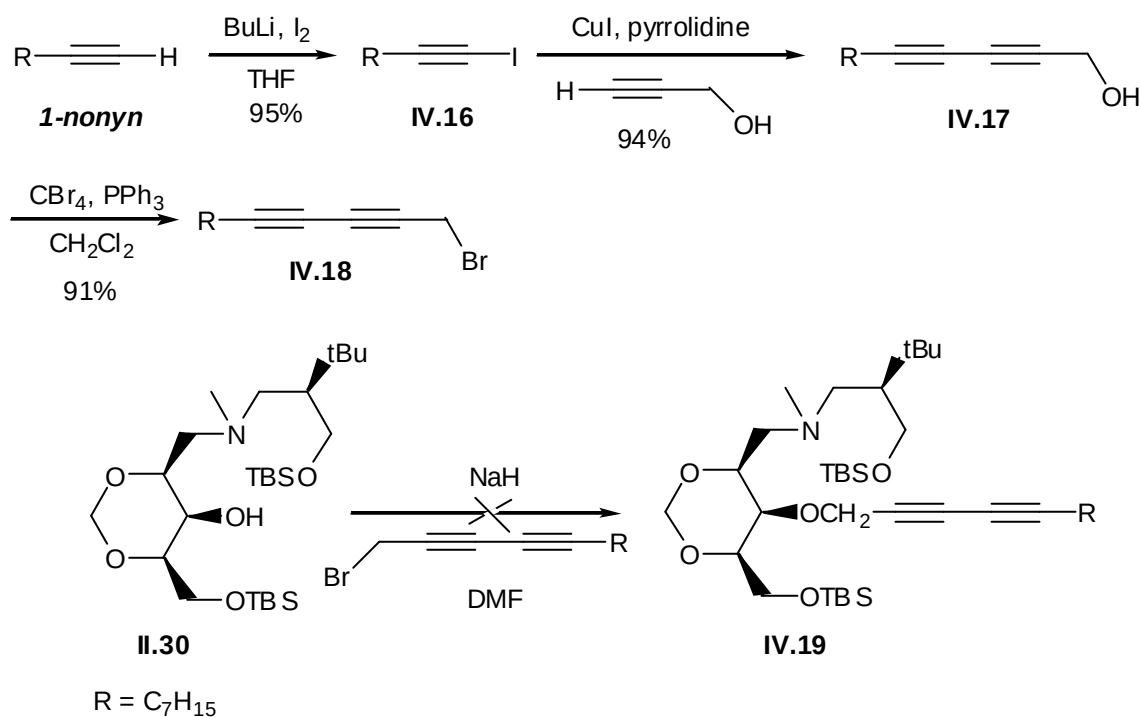
De volgende poging was de koppeling met de zelfbereide diynylketen. Door de grotere lineariteit van deze molecule zou verwacht kunnen worden dat de sterische hinder bij het koppelen zou moeten verminderen.^{97b), 99}

⁹⁸ a) Just, G.; Luthe, C.; Tan Phan Viet, M. *Can. J. Chem.* **1983**, 61, 712; b) Partridge, J.J.; Faber, S.; Uskokovic, M.R. *Helv. Chim. Acta* **1974**, 57, 764

⁹⁹ Cowell, A.; Stille, J.K. *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, 102, 4193

Hier kan ook opgemerkt worden dat de aanwezigheid van een extra alkyngroep vermoedelijk een positieve invloed zal hebben op de verticale oriëntatie van de alkylketen.

Het alkylerend reagens, diynylbromide **IV.18**, kan ook bereid worden uitgaande van 1-nonyn (**schema IV.9**). In de eerste stap wordt het nonynjodide **IV.16** bekomen door behandeling van het alkyne met *n*-buthyllithium en dijood. Vervolgens wordt propargylalcohol gekoppeld in een *Cadiot-Chodkiewicz*koppeling in aanwezigheid van koper(I)jodide.⁸⁷ Tenslotte wordt alcohol **IV.17** omgezet in het gewenste bromide **IV.18** door reactie met tetrabroommethaan. Opnieuw bleek de daaropvolgende alkylatiereactie moeilijk te verlopen en wordt slechts een spoor van het diynylproduct **IV.19** teruggevonden.

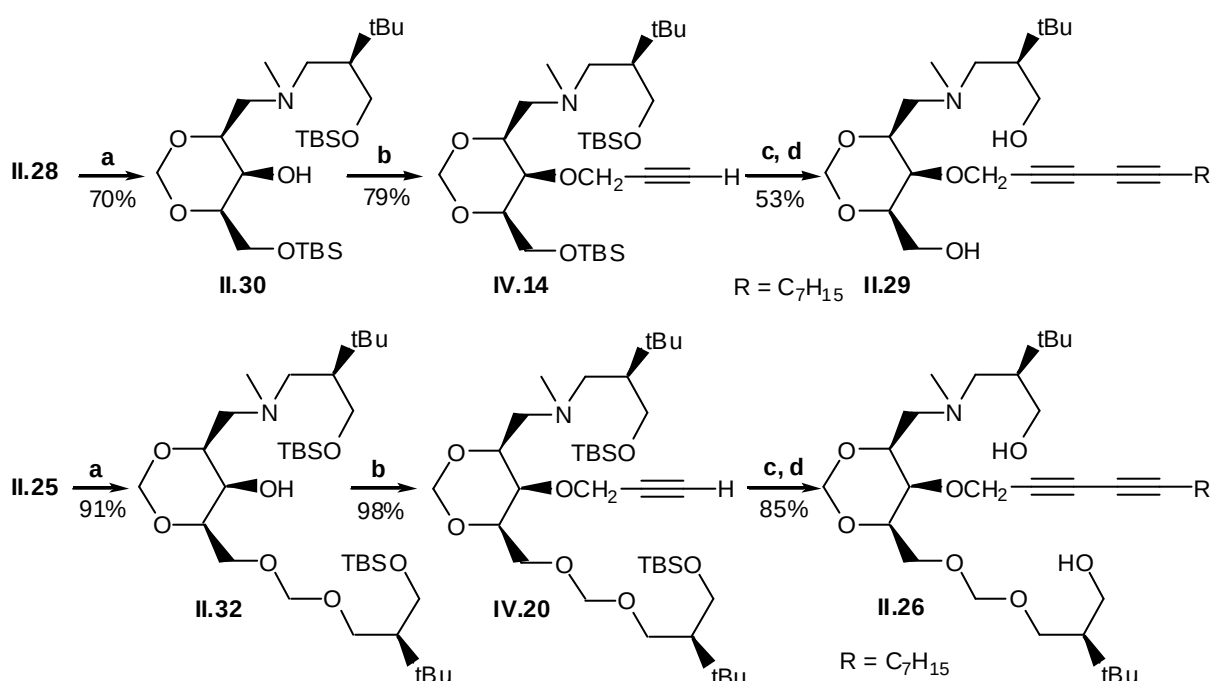


schema IV.9

Uiteindelijk wordt geopteerd voor een tweestapssequentie waarin de alkylatiereactie met een lange alkylketen vermeden wordt. Er wordt gekozen voor een route die naast een alkylation met het reactieve propargylbromide een *Cadiot-Chodkiewicz*reactie met 1-joodnonyn inhoudt.⁸⁷

IV.3.2 Aanhechting van de diynylzijketen

Na bescherming van de primaire hydroxylgroepen in **II.28** en **II.25** wordt de diynylketen geïntroduceerd in twee opeenvolgende stappen: na alkylation met propargylbromide wordt het terminale alkyn in **IV.14** en **IV.20** gekoppeld met 1-joodnonyn in aanwezigheid van koperjodide (**schema IV.10**). Na ontscherming van de silylethers met tetrabutylammoniumfluoride in tetrahydrofuran worden de beoogde enzymmodellen **II.26** en **II.29** bekomen.



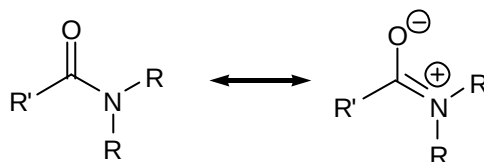
a: TBDMSCl, imidazool, DMAP, DMF; **b:** NaH, propargylbromide, DMF; **c:** 1-joodnonyn, CuI, pyrrolidine; **d:** TBAF, THF

schema IV.10

De reactiviteit van deze modelverbindingen **II.26** en **II.29** zal ondermeer onderzocht worden ten opzichte van een *N*-alkanoylimidazool in aan- en afwezigheid van een cyclodextrinederivaat. Door vergelijken met de katalytische activiteit van **II.25** en **II.28** ten opzichte van hetzelfde substraat zou meer inzicht verkregen kunnen worden in de invloed van de hydrofobe alkylzijketen op de reactiviteit van deze 'axiale' modellen.

IV.4 Kinetische evaluatie van de modelverbindingen

De hydrolyse van een amidebinding is een intensief bestudeerde reactie. Het blijft intrigerend hoe snel proteasen in de cel de stabiele peptidebinding kunnen splitsen onder fysiologische omstandigheden (37°C, pH = 7).



schema VI.11

De grote bindingssterkte van een amide is voornamelijk te wijten aan stabiliteit door resonantie. Dit uit zich in een hoge rotatiebarrière rond de N-CO-binding, een korte N-CO bindingslengte en een planaire structuur.¹⁰⁰

Bij pH = 7 en 25°C heeft een niet-geactiveerde amidebinding een gemiddelde halfwaardetijd van 7 jaar. De niet-enzymatische hydrolyse van de binding moet dus plaatsgrijpen onder drastisch zure of basische condities.¹⁰¹ Een serineprotease is in staat om de hydrolyse van een peptidebinding bij pH = 8 met een factor $5 \cdot 10^9$ te versnellen.¹⁰²

Gezien de natuur miljoenen jaren de kans gekregen heeft om de performantie van de natuurlijke enzymen te optimaliseren, is het onrealistisch te denken dat artificiële hydrolasen dadelijk in staat zullen zijn om de hydrolyse van een niet-geactiveerdeamidebinding gevoelig te versnellen. Hun activiteit wordt dan ook meestal bepaald ten opzichte van geactiveerde substraten.

In de literatuur worden meestal geactiveerde estersubstraten gekozen om de reactiviteit van niet-enzymatische hydrolasen te bepalen; *p*-nitrofenylesters zijn heel populair. De redenen hiervoor zijn duidelijk: ze zijn zeer reactief en het verloop van de reactie kan, via de vrijstelling van het *p*-nitrofenolaation, gemakkelijk gevolgd worden door UV-VIS-spectroscopie.

¹⁰⁰ Bennet, A.J.; Wang, Q.-P.; Slebocka-Tilk, H.; Somayaji, V.; Brown, R.S. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 6383

¹⁰¹ Kahne, D.; Still, W.C. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 7529

¹⁰² Corey, D.R.; Craik, C.S. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 1784

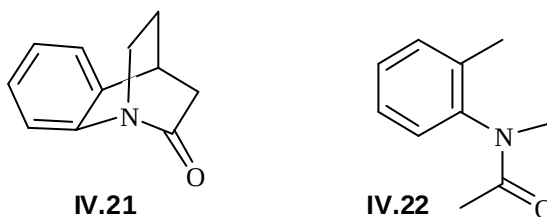
α -Chymotrypsine is echter van nature geen esterase en er zijn aanwijzingen dat de hydrolyse van *p*-nitrofenylacetaat enzymatisch niet via het algemeen base- en algemeen zuurgekatalyseerde mechanisme zou verlopen. De reactie zou een nucleofiele aanval van de imidazoolgroep van His₅₇ (nucleofiele katalyse) inhouden, gevolgd door een snelle acyltransfer naar de hydroxylgroep van Ser₉₅.¹⁰³ Ook een geconcentreerd proces wordt niet uitgesloten.¹⁰⁴ Verschillende artificiële hydrolasen reageren met *p*-nitrofenylesters ook via nucleofiele katalyse.^{32, 33, 34}

Indien de reactiviteit van de modellen het toelaat, zal de activiteit van onze verschillende modelverbindingen bepaald worden ten opzichte van geschikte geactiveerde amidesubstraten. Er kunnen twee types van reactieve amiden onderscheiden worden: de sterisch geactiveerde en de elektronisch geactiveerde amiden.

IV.4.1 Reactieve amiden

A. Sterisch geactiveerde amiden

De grotere reactiviteit van deze amiden is te wijten aan distortie van de amidebinding, waardoor de conjugatie tussen het vrije elektronenpaar op het stikstofatoom en de carbonyl- π -binding verzwakt wordt. Deze amiden worden veel sneller gehydrolyseerd onder basische omstandigheden vergeleken met de niet gespannen amiden (**IV.21** wordt 10⁸ keer sneller gehydrolyseerd dan **IV.22** onder dezelfde omstandigheden).¹⁰⁰



figuur IV.3

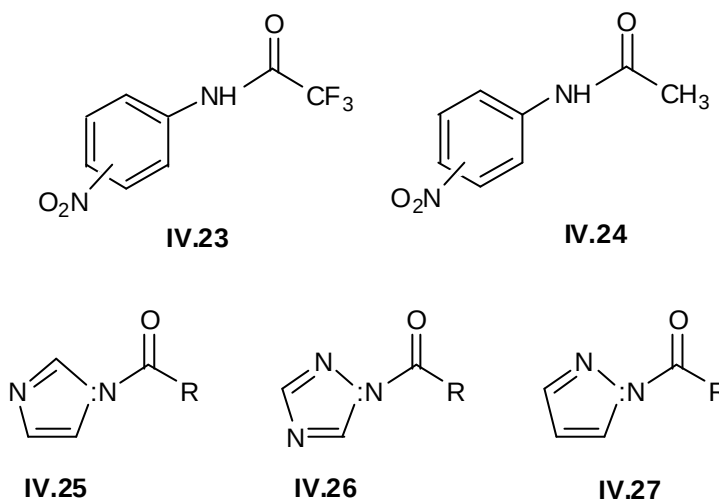
¹⁰³ Quinn, D.M.; Elrod, J.P.; Ardis, R.; Friesen, P., Schowen, R.L. *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, 102, 5358

¹⁰⁴ Hess, R.A.; Hengge, A.C.; Cleland, W.W. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120, 2703

B. Elektronisch geactiveerde amiden

Door elektronische effecten wordt de nucleofiele aanval op het carbonylkoolstofatoom versneld en de vluchtgroepcapaciteit verhoogd. Dit is mogelijk door de aanwezigheid van elektronzuigende groepen, zoals bij trifluoracetaniliden **IV.23** of bij nitrogesubstitueerde acetaniliden **IV.24**.

Anderzijds is de grote reactiviteit van *N*-acylimidazolen **IV.25**, *N*-acyltriazolen **IV.26** en *N*-acylpyrazolen **IV.27** te wijten aan de verminderde resonantie in de amidebinding doordat het vrij elektronenpaar op stikstof deel uitmaakt van de aromatische kern.



figuur IV.4

Er zal enkel gebruik gemaakt worden van elektronisch geactiveerde substraten, vermits bij de sterisch gehinderde amiden het moeilijk is de alkylketen te introduceren.

Onderzoek heeft, ondermeer via isotoopeffecten, uitgewezen dat *N*-acylimidazolen door α -chymotrypsine gehydrolyseerd worden via een algemeen basegekatalyseerd mechanisme.¹⁰⁵ Daarenboven is vastgesteld dat de lengte van de alkylketen een invloed heeft op de hydrolysesnelheid: *N*-acylimidazolen met een langere alkylketen worden sneller gesplitst door het enzym. De aanwezigheid van de alkylketen zorgt waarschijnlijk voor een efficiëntere stabilisatie van de transitietoestand.

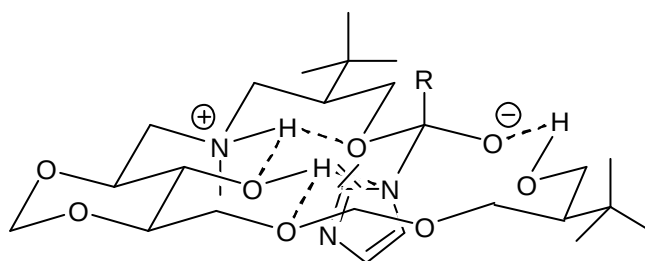
¹⁰⁵ Kogan, R.L.; Fee, J.A.; Fife, T.H. *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 3569

Hieruit is nogmaals duidelijk dat binding een belangrijke rol speelt in de efficiëntie van enzymen.

Daarnaast is ook gekend dat 1,3-amino-alcoholen *N*-acylimidazolen hydrolyseren via een algemeen basegekatalyseerd mechanisme. Een studie uitgevoerd in ons laboratorium heeft aangetoond dat verankering van 1,3-aminopropanol met een *tert*-butylgroep een positief effect heeft op de hydrolysesnelheid van *N*-acetylimidazool en een negatief effect op de hydrolyse van *p*-nitrofenylacetaat. Competitie-experimenten van 2-*tert*-butyl-1,3-aminopropanol en de niet verankerde 1,3-amino-alcohol hebben aangetoond dat de reactie met *N*-acetylimidazool beduidend sneller verloopt met het verankerde derivaat. De reactie met *p*-nitrofenylacetaat verloopt het snelst met het niet-verankerde derivaat.⁴⁹ Verder kon aangetoond worden dat de aanval van de alcoholgroep op *N*-acetylimidazool door algemene basekatalyse bevordert wordt en dat de aanval op *p*-nitrofenylacetaat verloopt via nucleofiele katalyse (aanval van het amine op het substraat, gevolgd door een snelle acyltransfer naar de alcoholgroep).

Bij *N*-acylimidazolen is algemene zuurkatalyse niet mogelijk op het stikstofatoom naast het carbonylkoolstofatoom, gezien protonoverdracht zou leiden tot verlies van aromaticiteit. Anderzijds kan de afbraak van het tetrahedraal intermediair wel versneld worden door een protonoverdracht naar het tweede stikstofatoom. Met onze modelverbindingen is een efficiënte protonoverdracht naar dat atoom weliswaar niet mogelijk (**figuur IV.5**). De reactiviteit van deze type substraten is echter groot genoeg, zodanig dat algemene zuurkatalyse niet echt noodzakelijk is.

Voor de evaluatie van de modellen met de axiale alcoholgroep op C₇ zijn deze type substraten zeer geschikt, gezien deze modellen niet kunnen optreden als algemene zuurkatalysator.



figuur IV.5

In de hydrolyse van *p*-nitroacetaniliden is de snelheidsbepalende stap in de acylering de ontbinding van het tetraëdraal intermediair door de zwakkere leavinggroepcapaciteit van het aniline ($pK_a = \pm 19$).¹⁰⁶ De uitstoot van de amineleavinggroep kan versneld worden door algemene zuurkatalyse. Het mechanisme van de reactie van imidazool met *p*-nitro-2,2,2-trifluoracetanilide in water blijft onduidelijk. Verschillende groepen beweren dat in de acylering de nucleofiele aanval bevorderd wordt door algemene basekatalyse. Het gevormde tetraëdraal intermediair wordt door algemene zuurkatalyse versneld ontbonden.¹⁰⁷ *Stauffer* daarentegen stelt een nucleofiel gekatalyseerd mechanisme voor.¹⁰⁸

Dit verantwoordt de keuze van acetaniliden als substraat om de algemene zuurkatalysecapaciteiten van onze modelverbindingen te onderzoeken, vermits de hydrolyse van dit type substraten kan verlopen via het vooropgestelde mechanisme.

Zoals reeds vermeld zal in eerste instantie enkel aandacht besteed worden aan de acyleringsstap. Acetonitril wordt in eerste instantie gekozen als solvent omwille van zijn polair karakter. Daarnaast is acetonitril goed mengbaar met water, wat belangrijk is in het kader van de latere studie van de deacylering.

IV.4.2 Kinetische evaluatie via ¹H-NMR-spectroscopie van de modelverbindingen **II.25** en **II.28** zonder alkylzijketen

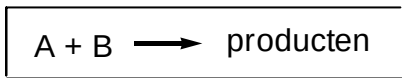
In de acyleringsstap zal de halfwaardetijd, de tijd die nodig is om de helft van het substraat te laten wegreageren, als maat genomen worden om de reactiviteit van de gesynthetiseerde modelverbindingen te bepalen en te vergelijken. De reacties in acetonitril gaan door onder *pseudo*-eerste ordecondities, die gegarandeerd kunnen worden door één van de reactanten in overmaat te nemen. De halfwaardetijd en ook de *pseudo*-eerste orde snelheidsconstante kunnen dan als volgt berekend worden:

¹⁰⁶ Kawai, Y.; Matsuo, T.; Ohno, A. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **2000**, 887

¹⁰⁷ a) Drake, D.; Schowen, R.L.; Jayaraman, H. *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, 95, 454; b) Pollack, R.M.; Dumsha, T.C. *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, 97, 377

¹⁰⁸ *Stauffer*, C.E. *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, 94, 7887; b) *Stauffer*, C.E. *J. Am. Chem. Soc.* **1974**, 96, 2489

Voor een bimoleculair proces geldt :



de snelheidsvergelijking wordt dan:

$$-d(A)/dt = -d(B)/dt = k_2 \cdot (A) \cdot (B) \quad \text{of} \quad -d(A)/(A) = k_2 \cdot (B) \cdot dt \quad (1)$$

waarbij k_2 de tweede orde snelheidsconstante is.

Wanneer nu één van de reactanten in overmaat aanwezig is, bijvoorbeeld reactant B, dan blijft de concentratie van B tijdens de reactie constant, zodanig dat $k_2 \cdot (B)$ gelijk kan worden gesteld aan de geobserveerde *pseudo*-eerste orde snelheidsconstante k_{obs} :

$$-d(A)/(A) = k_{\text{obs}} \cdot dt \quad \text{met } k_{\text{obs}} = k_2 \cdot (B) \quad (2)$$

na integratie wordt dit:

$$\ln [(A)_t / (A)_0] = - k_{\text{obs}} \cdot t \quad (3)$$

de halfwaardetijd $t_{1/2}$ wordt dan:

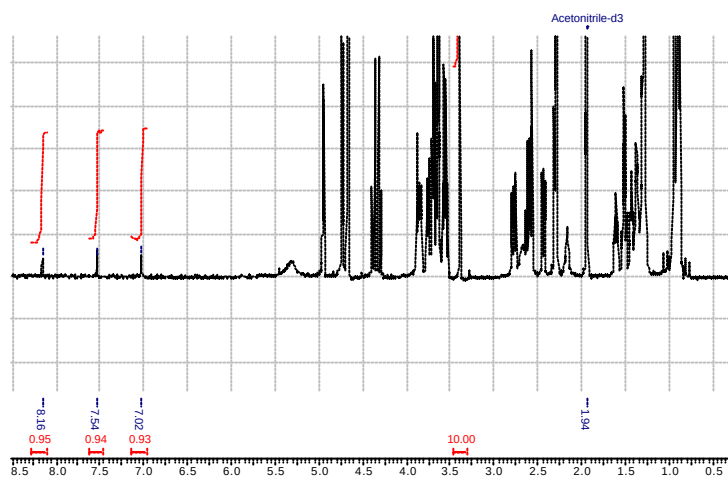
$$\ln [(0.5 (A)_0) / (A)_0] = \ln (0.5) = - k_{\text{obs}} \cdot t_{1/2} \quad (4)$$

of:

$$\boxed{t_{1/2} = \ln 2 / k_{\text{obs}}}$$

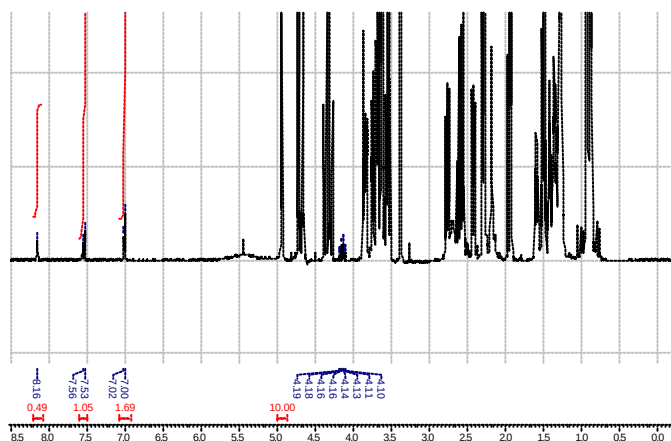
Om de *pseudo*-eerste ordecondities te verzekeren worden de modelverbindingen in tenminste zevenvoudige overmaat toegevoegd ten opzichte van het substraat. De halfwaardetijden worden bepaald via ¹H-NMR-spectroscopie.

Hiervoor wordt het wegreageren van het substraat (in ondermaat aanwezig) in functie van de tijd bestudeerd. Als voorbeeld hoe praktisch de halfwaardetijden aan de hand van ¹H-NMR berekend worden, wordt de reactie tussen *N*-acetylimidazool (A) en aminotriol **II.25** (B) voorgesteld.



figuur IV.6

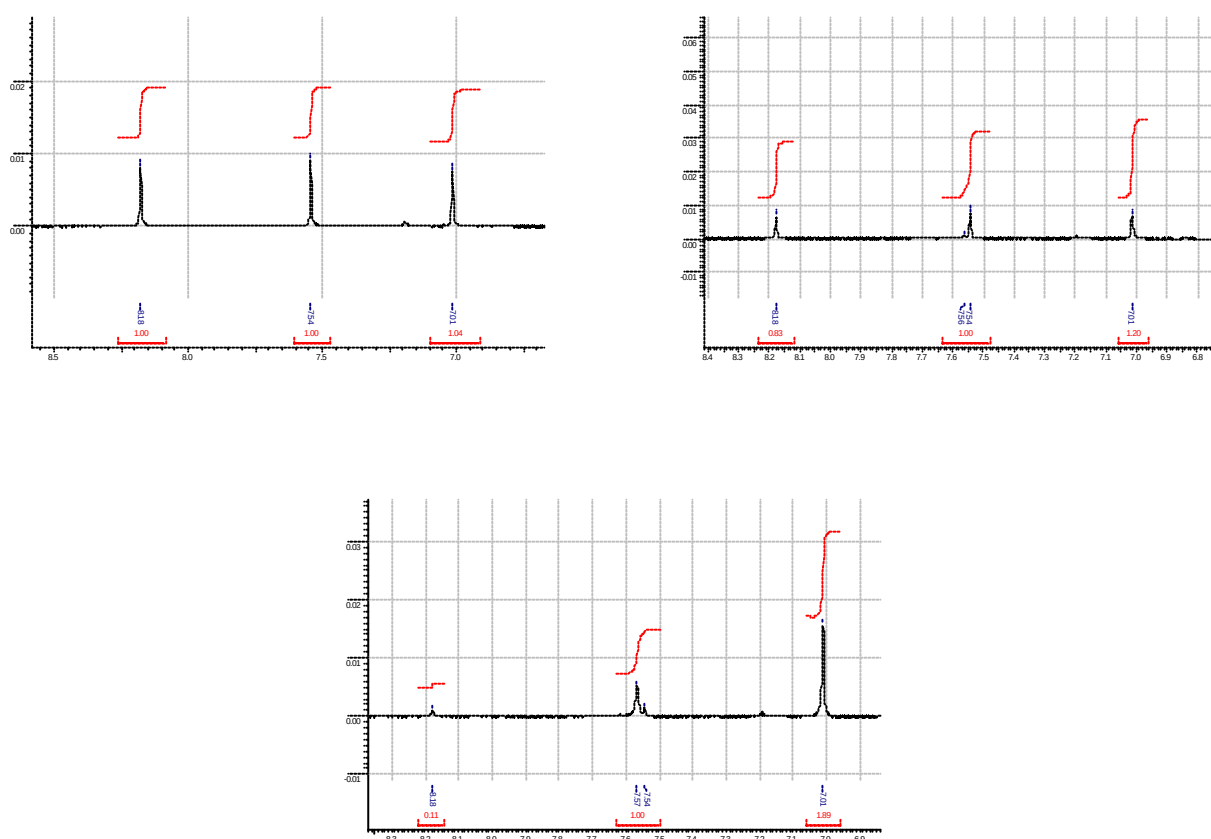
Het spectrum, weergegeven in **figuur IV.6**, stelt het begin van de reactie voor. Naast de signalen van het aminotriol, zijn de signalen, typisch voor de 3 aromatische protonen van *N*-acetylimidazool zichtbaar bij 7.02, 7.54 en 8.16 ppm.



figuur IV.7

In **figuur IV.7** wordt het spectrum voorgesteld na verloop van tijd. Naast het acetaat, waarvan maximum 0.1 equivalent kan ontstaan, is ook de omzetting van het *N*-acylimidazool naar imidazool duidelijk zichtbaar. De details van de spectra op de verschillende tijdstippen worden in **figuur IV.8** afgebeeld.

Het signaal bij 8.18 ppm stelt een aromatisch proton voor van *N*-acetylimidazool en de integratie hiervan is op elk tijdstip evenredig met de concentratie aan *N*-acetylimidazool (A_t) in het mengsel. Het tweede signaal bij 7.54 ppm zet zich langzaam om in een signaal bij 7.57 ppm, typisch voor imidazool. Op elk ogenblik van de reactie is de gezamenlijke integratie van deze 2 signalen representatief voor de beginconcentratie van *N*-acetylimidazool (A_0).



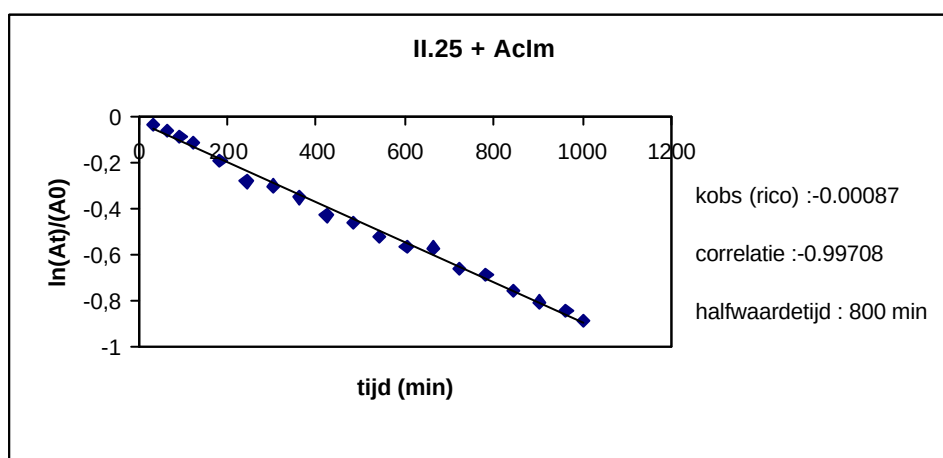
figuur IV.8

Als deze gegevens uitgezet worden volgens vergelijking (3) wordt een rechte bekomen met als richtingscoëfficiënt k_{obs} . Vervolgens kan hieruit de halfwaardetijd berekend worden met vergelijking (4). In **figuur IV.9** wordt deze procedure voorgesteld voor de reactie van aminotriol **II.25** met *N*-acetylimidazool.

Voor de reacties van de andere modelverbindingen met de andere substraten zijn analoge grafieken opgenomen in het experimenteel gedeelte.

tijd in minuten	$\ln [(A)_t/(A)_0]$	tijd in minuten	$\ln [(A)_t/(A)_0]$
33	-0.0345	543	-0.5219
63	-0.0606	603	-0.5653
93	-0.0865	663	-0.5721
123	-0.1121	723	-0.6628
183	-0.1900	783	-0.6860
243	-0.2822	843	-0.7598
303	-0.3023	903	-0.8065
363	-0.3514	963	-0.8473
423	-0.4315	1003	-0.8910
483	-0.4636		

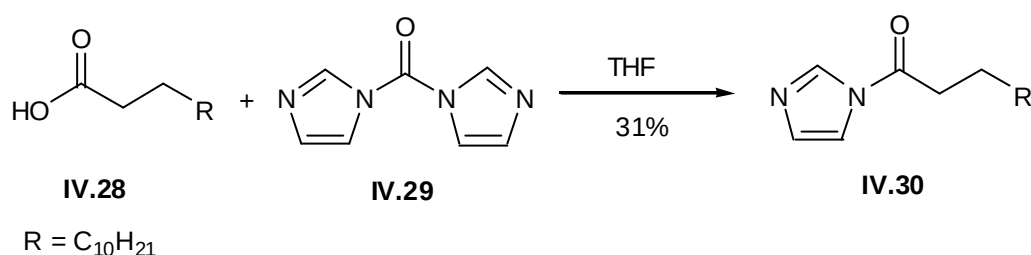
$t_{1/2} = 800$ min



figuur IV.9

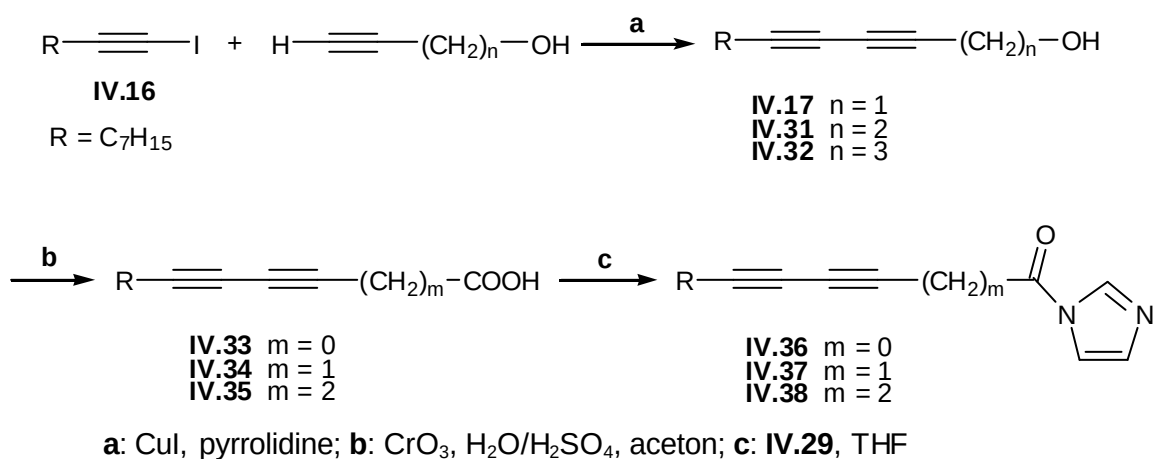
De activiteit van aminotriolen **II.28** en **II.25**, zonder alkylzijketen op C₇, wordt geëvalueerd ten opzichte van *N*-acetylimidazool en het zelfbereide *N*-tridecanoylimidazool **IV.30**. De keuze van dit substraat werd volledig bepaald door het gemak van de synthese.

Dit *N*-acylimidazool is eenvoudig te bereiden uitgaande van het zuur en carbonyldiimidazool (**schema IV.12**).¹⁰⁹ Door de moeilijke verwijdering van het tijdens de reactie eveneens gevormde imidazool is het rendement aan **IV.30** relatief laag. Het substraat wordt zuiver bekomen na verschillende omkristallisaties in pentaan. Om na te gaan of er naast hydrofobe interacties ook π - π -interacties tussen het substraat en het model kunnen optreden, zou het interessant zijn de activiteit te bekijken van de modellen ten opzichte van een *N*-diynylacylimidazool, zoals bijvoorbeeld **IV.36**.



schema IV.12

De synthese van de analoge *N*-acylimidazolen uitgaande van diynylcarbonsuren verliep zeer moeizaam (**schema IV.13**). De diynylalcohol **IV.17** is gemakkelijk toegankelijk met een goed rendement (80%) via de *Cadiot*koppeling met het reeds bereide 1-joodnonyn **IV.16**. De chroomoxidatie van alcohol **IV.17** naar het corresponderende carbonzuur **IV.33** faalde echter.



schema IV.13

¹⁰⁹ Paul, R.; Anderson, G.W. *J. Am. Chem. Soc.* **1960**, 82, 4596

Ook de rechtstreekse *Cadiot*-koppeling van 1-joodnonyn met 1-propynzuur gaf aanleiding tot complexe mengsels. Waarschijnlijk bevindt de diynylgroep zich te dicht bij het reactiecentrum waardoor deze onstabiel wordt. Daarom wordt de reactie onderzocht met andere diynylalcoholen **IV.31** en **IV.32** waar de afstand van de diynylgroep tot het reactiecentrum groter is.

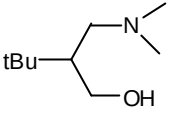
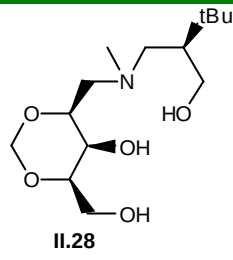
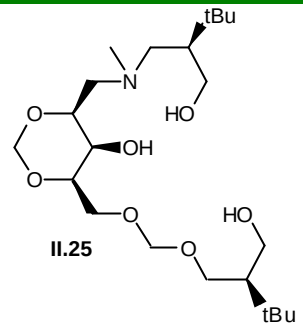
Oxidatie van de alcoholen **IV.31** en **IV.32** onder dezelfde omstandigheden gaf aanleiding tot de gewenste carbonzuren **IV.34** en **IV.35** in behoorlijke opbrengst (65 à 70%). De reactie van zuur **IV.34** met carbonyldiimidazool **IV.29** geeft aanleiding tot complexe mengsels met slechts een zeer kleine hoeveelheid aan het gewenste *N*-acylimidazool **IV.37**. In het geval van zuur **IV.35** wordt het gewenste *N*-acylimidazool **IV.38** bekomen in een mengsel met imidazool. Het blijkt echter onmogelijk om het imidazool uit het mengsel te verwijderen. Er wordt dan ook besloten om de reactiviteit van de modelverbindingen enkel te onderzoeken ten opzichte van *N*-tridecanoylimidazool **IV.30**.

Hoewel algemene zuurkatalyse door deze bereide modelverbindingen kan uitgesloten worden, wordt de reactie met *p*-nitro-2,2,2-trifluoracetanilide en *p*-nitroacetanilide toch onderzocht. Dit zal ons toelaten om de algemene zuurkatalysecapaciteit van de modelverbindingen met de equatoriale alcoholgroep op C₇ correct te evalueren.

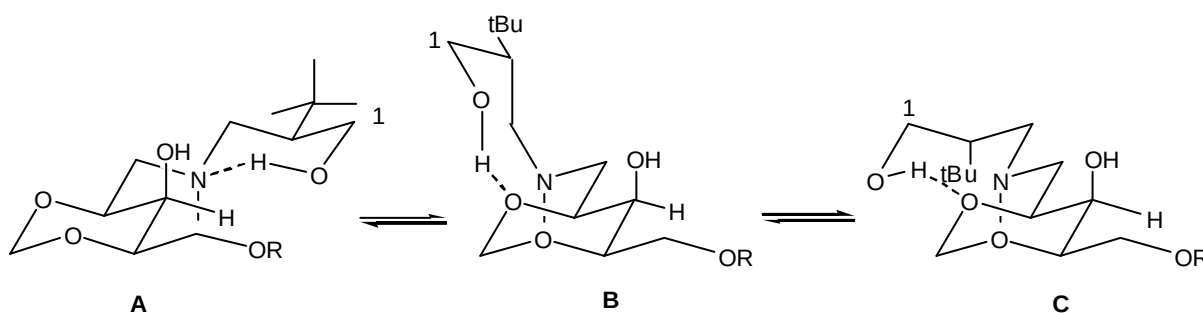
De halfwaardetijden voor de reactie van de verschillende substraten met **II.28** en **II.25** worden in **tabel IV.1** weergegeven. Alle reacties worden uitgevoerd in acetonitril (concentratie van het aminotriol: 0.05 M) onder *pseudo*-eerste ordecondities.

Als de reactie is afgelopen, kan het acetaat (het acylenzym) door middel van kolomchromatografie gescheiden worden van het enzymmodel. Door ¹H-NMR-spectroscopie (COSY) kan aangetoond worden dat de primaire alcoholfunctie in het algemeen basekatalyserend gedeelte geacyleerd wordt en niet de andere nog aanwezige primaire alcohol.

tabel VI.1 : halfwaardetijden bepaald via ¹H-NMR voor de acylering onder pseudo-
eerste orde condities in acetonitril (0.05 M)

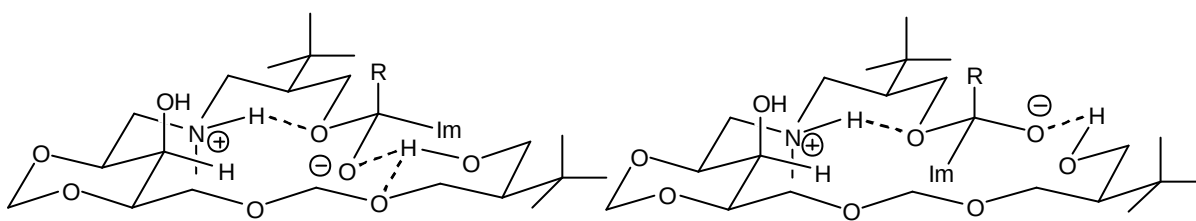
	1,6- hexaandiol + Et ₃ N			
AcIm	~2240u	~3u20	~10u	~13u30
TDI			~17u	~22u
PNTFA	412u	107u	820u	971u
PNA			geen reactie	geen reactie

De lagere reactiviteit van de aminotriolen in vergelijking met het verankerde 1,3-amino-alcohol en met de aminotriolen bereid door *A. Madder* is waarschijnlijk te wijten aan een waterstofbrug die aanwezig is tussen de primaire alcohol op C₁ en een zuurstofatoom van de 1,3-dioxaanring. Hierdoor wordt algemene basekatalyse vertraagd. Bovendien kunnen twee stabiele conformaties opgetekend worden met een waterstofbrug tussen twee zuurstofatomen (**figuur IV.10 B en C**) in vergelijking met één conformatie met de gewenste, maar zwakkere waterstofbinding tussen de primaire alcoholfunctie en het amine (**A**).



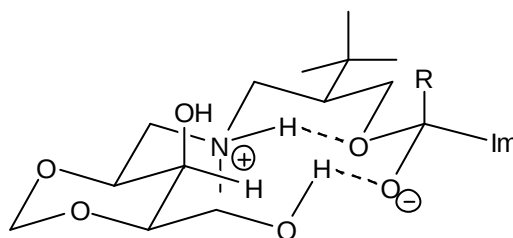
figuur IV.10

Door de introductie van chloormethylether **II.19** werd stabilisatie van het oxyanion in het gevormde tetraëdraal intermediair en dus ook van de transitietoestand verwacht, hetgeen een positief effect op de hydrolysesnelheid zou moeten hebben (**figuur IV.11**). In de modelverbindingen van *A. Maddar* werd met de introductie van de niet-verankerde polyetherzijketen de verwachte reactiviteitsverhoging door betere stabilisatie van het oxyanion niet waargenomen. Waarschijnlijk is dit te wijten aan een te grote flexibiliteit van de zijketen, daarom werd nu geopteerd om een *tert*-butylverankerde zijketen te introduceren om de negatieve entropiefactor te reduceren. Uit de bekomen resultaten blijkt echter dat **II.28** iets sneller reageert met de *N*-acylimidazolen. Waarschijnlijk neemt de polyetherzijketen nog niet snel genoeg de verwachte conformatie aan.



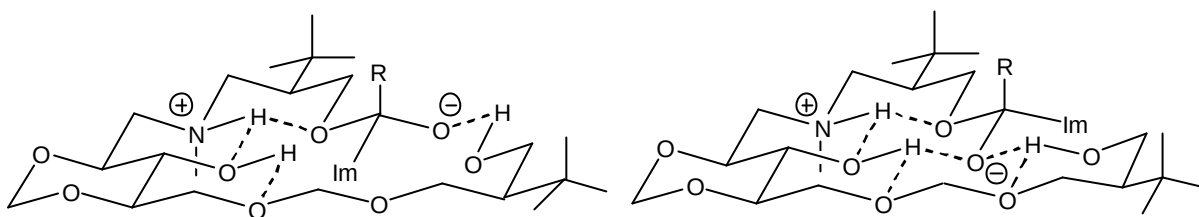
figuur IV.11

In aminotriol **II.28** kan het anion gestabiliseerd worden door een waterstofbrugbinding met de primaire alcoholfunctie (**figuur IV.12**). Dit vergt entropisch gezien minder energie waardoor het anion sneller gestabiliseerd kan worden.



figuur IV.12

Er kan echter verwacht worden dat in de modelverbindingen met de equatoriale alcoholgroep de gewenste conformatie van de polyetherzijketen wel kan opgedrongen worden door de aanwezigheid van extra waterstofbrugbindingen (**figuur IV.13**).



figuur IV.13

Ook in de vroeger gesynthetiseerde amino-alcoholen van *A. Madder* kon reeds vastgesteld worden dat in de modelverbindingen met de equatoriale alcohol **7t** en **7't** de polyetherzijketen de verwachte conformatie aanneemt en instaat voor de stabilisatie van het oxyanion.⁴

Vermits deze aminotriolen niet in staat zijn tot algemeen zuurgekatalyseerde afbraak van het tetrahedrale intermediair, is het niet verwonderlijk dat de reactie met de acetaniliden zo traag verloopt.

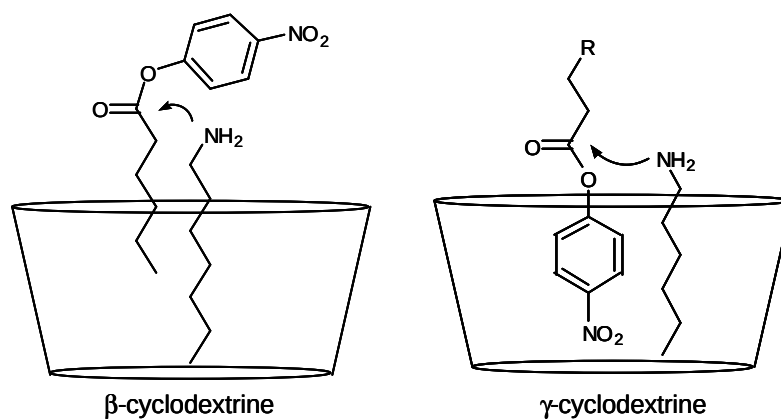
De andere gesynthetiseerde modelverbindingen **II.29** en **II.26** verschillen met de voorgaande enkel in de aanwezigheid van een hydrofobe alkylketen. De katalytische activiteit van deze aminodiolen wordt ook zowel ten opzichte van *N*-acetylimidazool als *N*-tridecanoylimidazool bepaald. Hier hopen we een verhoogde reactiviteit te zien ten opzichte van *N*-tridecanoylimidazool in vergelijking met *N*-acetylimidazool. Daarnaast zal ook de invloed van cyclodextrinederivaten op het katalytisch vermogen nagegaan worden. Vooraleer de bekomen resultaten voorgesteld zullen worden, zal eerst wat dieper ingegaan worden op de invloed die cyclodextrine kan hebben op de reactiviteit.

IV.4.3 Reactiviteitsbepaling van aminotriolen **II.29** en **II.26**

Zoals reeds vermeld zijn cyclodextrines cyclische suikerderivaten, gekenmerkt door hun afgeknotte kegelvormige structuur, hun hydrofobe holte en de aanwezigheid van talrijke alcoholfuncties. In ons interessegebied zijn ze vooral populair omwille van hun rigide structuur, de alcoholgroepen die toelaten verschillende functionaliteiten in te bouwen en hun hydrofobe holte die met verschillende moleculen kan complexeren. Er zijn dan ook veel enzymmodellen gekend gesteund op cyclodextrinen (zie **II.2.**).

In ons geval willen we alleen gebruik maken van de hydrofobe holte. Er kan verwacht worden dat door complexatie van de alkylketens in de holte van het cyclodextrine de proximateit tussen model en substraat verhoogd zou worden. Dit zou een positief effect moeten hebben op de reactiviteit.

O.S. Tee heeft de binding van nitrofenylesters, die naast een aromatische kern ook een alkylketen bezitten, in de hydrofobe holte van β -cyclodextrine bestudeerd.

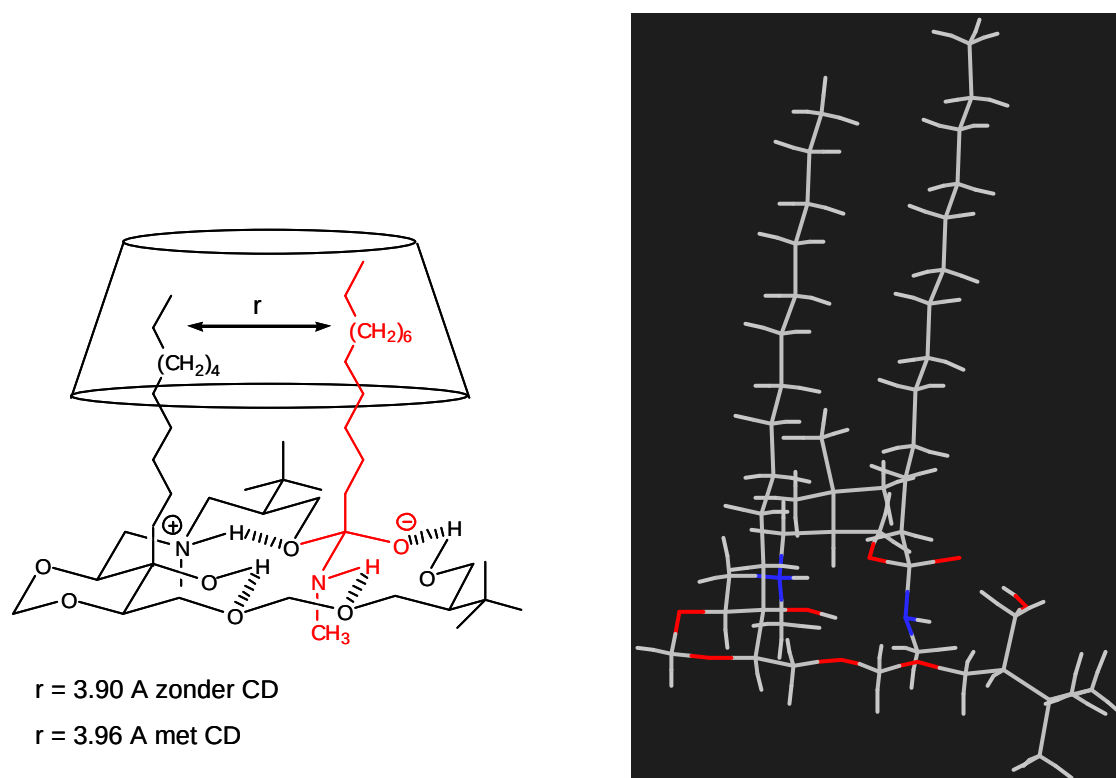


figuur IV.14

Hieruit volgt dat de substraten met lineaire alkylketens, die tot 7 koolstofatomen bevatten, preferentieel binden in de holte van β -cyclodextrine via de aromatische kern. Substraten met langere ketens binden preferentieel via de alkylketen.

Andere studies hebben aangetoond dat de reactie van heptylamine met *p*-nitrofenylhexanoaat effectief gekatalyseerd wordt door de aanwezigheid van β - en γ -cyclodextrine (**figuur IV.14**).¹¹⁰ In het geval van β -cyclodextrine wordt een mechanisme voorgesteld waarbij zowel het substraat als het nucleofiel gebonden zijn in de caviteit via de alkylketens. Hierdoor verhoogt de proximiteit tussen beiden en dit heeft een positief effect op de reactiesnelheid. Het versnellend effect van γ -cyclodextrine op de reactie is bijna onafhankelijk van de ketenlengte van het substraat in de reactie met heptylamine. Hieruit volgt dat de holte van γ -cyclodextrine voldoende groot is om de fenylkern van het substraat te binden samen met de alkylketen van het amine. We kunnen verwachten dat in ons geval de aanwezigheid van een β -cyclodextrine het verwachte positief effect kan hebben op de reactiesnelheid.

Berekeningen met macromodel V6.0-krachtveld MM2* hebben aangetoond dat de complexatie van de twee alkylketens van modelverbinding **I.3** en een secundair amide gunstig is in het geval van β - en van γ -cyclodextrine (**figuur IV.15**).¹¹¹



figuur IV.15

¹¹⁰ Gadosy, T.A.; Boyd, M.J.; Tee, O.S. *J. Org. Chem.* **2000**, 65, 6879

¹¹¹ Mohamadi, F.; Richards, N.G.; Guida, W.C.; Liskamp R.; Lipton, M.; Caufield, C.; Chang G.; Hendrickson, T.; Still, W.C. *J. Comput. Chem.* **1990**, 11, 440

Hiervoor werd de energie geminimaliseerd voor de conformatie van het tetraëdraal intermediair voor de reactie van **1.3** met een amide, ook voorzien van een C₁₃-keten. In de meest stabiele conformatie zijn vier waterstofbruggen aanwezig zoals aangeduid in **figuur IV.15**. Uit de berekeningen volgt dat de complexatie van de twee ketens in de caviteit van α -cyclodextrine duidelijk energetisch ongunstig is: er wordt een destabilisatie van 151 kJ/mol gevonden. Daarentegen is de complexatie in β -cyclodextrine gunstig (stabilisatie van 80 kJ/mol), maar het beste resultaat wordt bekomen in het geval van γ -cyclodextrine. Hier bedraagt de stabilisatie 160 kJ/mol. Bovendien wordt in de caviteit van γ -cyclodextrine de afstand tussen de ketens vergelijkbaar met de afstand tussen de ketens in het berekende minimum in afwezigheid van het cyclodextrinederivaat (3.96 Å versus 3.90 Å). We zullen dus nagaan wat de invloed is op de reactiviteit van de modellen wanneer cyclodextrine aanwezig is in het reactiemengsel. Op basis van het voorgaande kan besloten worden dat zowel β - als γ -cyclodextrine in aanmerking komen, vermits reeds is aangetoond dat in hun caviteiten twee alkylketens gebonden kunnen worden.

De studies van Tee steunen op kinetische experimenten. Uit het positief effect op de reactiesnelheid door aanwezigheid van β - of γ -cyclodextrine in het reactiemengsel, wordt besloten dat dit effect te wijten is aan complexatie van de twee moleculen in de hydrofobe holte. Er is echter geen echt bewijs dat beide moleculen effectief binden in de caviteit van de cyclodextrinen. Een methode die veel gebruikt wordt om de binding van moleculen in de holte van cyclodextrinen aan te tonen is NMR-spectroscopie.¹¹² Binding in de caviteit van de cyclodextrines resulteert in een soms kleine verschuiving in de shiftwaarde van de protonen die zich bevinden in de holte. Daarnaast kan het type verschuiving, shielding of deshielding, ook meer informatie leveren omtrent de plaats waar de molecule zich bevindt in de caviteit. Een deshielding effect wordt meestal waargenomen wanneer de molecule complexeert aan de rand van de kegelstructuur waar de hydroxylgroepen zich bevinden. Een shielding effect wordt geobserveerd als de molecule zich in de hydrofobe holte bevindt.

¹¹² Schneider, H.-J.; Hacket, F.; Rüdiger, V.; Ikeda, H. *Chem. Rev.* **1998**, 98, 1755

Als de verschuiving in shiftwaarde echter zeer klein is of moeilijk waargenomen wordt, omdat in het bewuste gebied het spectrum ingewikkeld is, wordt het moeilijk te achterhalen of er nu complexatie optreedt of niet. Soms kan interactie ook aangetoond worden door NOE-effecten, maar in vele gevallen zijn de spectra zeer complex en wordt het moeilijk om de NOE-effecten duidelijk te onderscheiden en toe te kennen. Een alternatief wordt geboden door het meten van diffusiesnelheden via NMR-technieken. Er kan immers verwacht worden dat de diffusiesnelheid van een molecule doorheen een medium beïnvloed zal worden door het cyclodextrine als er complexatie in de holte plaatsvindt. Hoe sterker de interactie, hoe trager de diffusiesnelheid. Praktisch worden spectra van de molecule in aanwezigheid van een stijgende hoeveelheid cyclodextrine opgenomen waarna deze vergeleken worden met de zogenaamde blanco, de spectra zonder cyclodextrine. Hieruit kan dan besloten kunnen worden of er binding optreedt of niet.

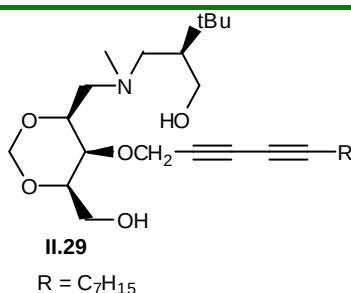
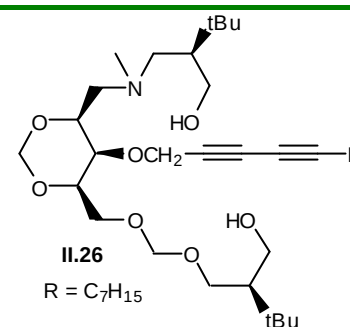
Een ander probleem dat moest opgelost worden, was de onoplosbaarheid van β - en γ -cyclodextrine in acetonitril. Hierdoor moeten we opteren voor derivaten van cyclodextrines en het liefst voor diegene die commercieel beschikbaar zijn, vermits functionalisatie van cyclodextrinen niet zo eenvoudig is door het groot aantal, moeilijk te onderscheiden alcoholgroepen. Er wordt gekozen voor het commercieel beschikbare 2,6-*O*-dimethyl- β -cyclodextrine. De waterstofbruggen, nog aanwezig tussen de vrije C₃-alcoholgroepen en de gemethyleerde C₂-alcoholfuncties, zorgen voor het behoud van de kegelstructuur.¹¹² De C₆-*O*-methylgroepen zijn georiënteerd boven de hydrofobe holte waardoor de holte als het ware wordt afgesloten.

Derivaten van γ -cyclodextrine zijn moeilijker beschikbaar. In het analyselaboratorium van *Prof. Dr. Sandra* was nog *per-O*-methyl- γ -cyclodextrine voorhanden. In dit derivaat zijn alle alcoholgroepen gemethyleerd. De structuur wordt hierdoor veranderd: de smalle bovenkant van de afgeknotte kegelstructuur klapt een beetje in zodanig dat de brede onderkant nog breder wordt.¹¹³ Er is aangetoond dat gemethyleerde cyclodextrines hydrofobe alkylketens in het algemeen beter binden.^{112,113} Daarenboven wordt met het gebruik van gederivatiseerde cyclodextrinen vermeden dat cyclodextrine zelf als hydrolase gaat optreden.

¹¹³ Aree, T.; Uson, I.; Schulz, B.; Reck, G.; Hoier, H.; Sheldrick, G.M.; Saenger, W. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 3321

De reacties worden uitgevoerd in acetonitril onder *pseudo*-eerste ordecondities en de halfwaardetijden worden bepaald via ¹H-NMR-spectroscopie op een analoge manier als hierboven voorgesteld (IV.4.2). De bekomen resultaten worden voorgesteld in tabel IV.3.

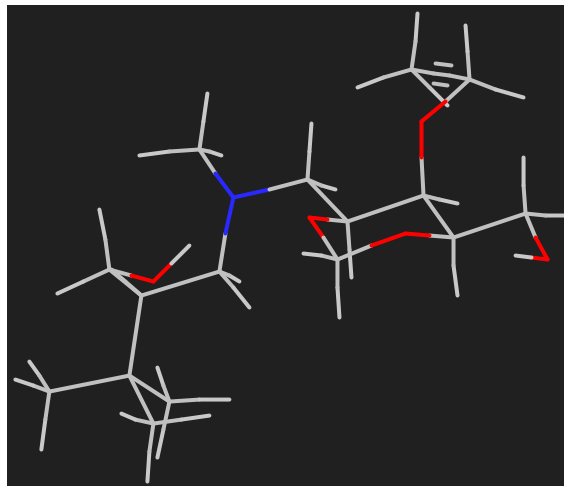
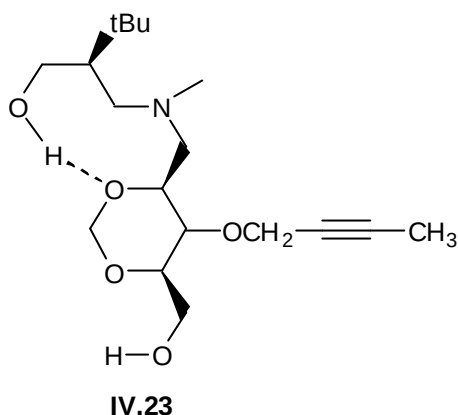
tabel IV.3 : halfwaardetijden bepaald via ¹H-NMR voor de hydrolyse onder *pseudo*-eerste ordecondities in acetonitril (0.05 M tenzij anders vermeld) in aanwezigheid van 1 equivalent cyclodextrinederivaat (tenzij anders vermeld)

 II.29 R = C₇H₁₅  II.26 R = C₇H₁₅		
AcIm	~14u	~20u
TDI	~33u	~28u
TDI +	~67u	~42u
2,6-O-methyl-β-CD		
TDI +	~20u30'	~9u*
<i>per</i> -O-methyl-γ-CD		
TDI +	~22u	~26u
<i>per</i> -O-methyl-γ-CD (0.2 eq.)		
TDI +	~39u	~29u
<i>per</i> -O-methyl-γ-CD (0.025 M)		

* 1,3 equivalenten cyclodextrine toegevoegd

Energieminimalisering van de conformaties van een modelverbinding **IV.23** heeft bevestigd dat in de stabielste conformatie de hydroxylgroep op C₁ niet waterstofbrug gebonden wordt met het tertiaire amine, maar met een zuurstofatoom van de 1,3-dioxaanring. De conformatie met de gewenste waterstofbrugbinding om algemene basekatalyse mogelijk te maken ligt 11 kJ/mol hoger in energie.

De berekeningen werden niet uitgevoerd op modelverbinding **II.29** omdat in het gebruikte krachtveld de parameters voor de diynylketen niet ingevoerd konden worden .



figuur IV.16

Op basis van het hydrofoob effect werd verwacht dat de reactie met *N*-tridecanoylimidazool sneller zou verlopen dan met *N*-acetylimidazool. Het hydrofoob effect komt pas optimaal tot uiting in water. Dit kan misschien een verklaring zijn voor het feit dat in ons geval in acetonitril geen herkenning optreedt tussen de alkylketens van de modelverbinding en het substraat.

Wanneer 2,6-dimethyl-*O*- β -cyclodextrine wordt toegevoegd aan het reactiemengsel vertraagt in beide gevallen de reactiesnelheid. Waarschijnlijk is door de modificatie de cyclodextrinecaviteit te klein geworden om de twee alkylketens te binden, ofwel bindt *N*-tridecanoylimidazool in de caviteit via het aromatisch gedeelte.

Bij toevoegen van *per-O*-methyl- γ -cyclodextrine kan wel het gewenste, weliswaar klein, positief effect op de reactiesnelheid waargenomen worden. Waarschijnlijk is de caviteit nu wel voldoende groot om de twee alkylketens te binden. Er moet nog opgemerkt worden dat versnelling voor de reactie van **II.26** met *N*-tridecanoylimidazool in aanwezigheid van het γ -cyclodextrinederivaat ($t_{1/2}$ = 9u) hoogst waarschijnlijk te wijten is aan een concentratie-effect.

Dit werd bevestigd door de reactie te volgen in een verdunde oplossing (0.025 M). Er wordt nog steeds een versnelling waargenomen, zij het veel kleiner.

Bewijzen dat er effectief complexatie optreedt van de alkylketens van *N*-tridecanoylimidazool en **II.26** in de caviteit van het γ -cyclodextrinederivaat is moeilijk. In de ¹H-NMR-spectra kon geen verschuiving van de pieken van *N*-tridecanoylimidazool noch van deze van het model waargenomen worden in aanwezigheid van cyclodextrine. Vergelijken van de diffusiesnelheden van **II.26** in af- en aanwezigheid van *per-O*-methyl- γ -cyclodextrine heeft aangetoond dat de diffusiesnelheid niet wordt beïnvloed door de aanwezigheid van cyclodextrine. Hieruit kan besloten worden dat minder dan 10% van de modelverbinding gecomplexeerd wordt in de caviteit. Dit kan in theorie genoeg zijn om de versnelling te bewerkstelligen, aangezien er een overmaat aan aminodiol in het reactiemengsel aanwezig is.

IV.5 Besluit

De modelverbindingen met de axiale hydroxylgroep werden in de eerste plaats gesynthetiseerd om de activiteit te kunnen vergelijken met de activiteit van de modellen bereid door A. Madder. Het was van belang na te gaan of de grote reactiviteit van **7c** ($t_{1/2}$ voor *N*-acetylimidazool = 26 min) geëvenaard kon worden door **II.28** en hieruit meer informatie te verkrijgen omtrent het mechanisme van de reactie. Daarnaast was het mogelijk om de alkylketen vast te hechten aan de axiaal georiënteerde alcoholgroep, waardoor al een idee kon verkregen worden over de herkenning tussen model en substraat en over de invloed van cyclodextrinederivaten op de reactiesnelheid.

Het grote effect van **7c** op de hydrolyse van *N*-acetylimidazool werd niet benaderd. Waarschijnlijk wordt algemene basekatalyse vertraagd doordat de nucleofiele alcoholgroep op C₁ een waterstofbrug vormt met een zuurstofatoom van de 1,3-dioxaanring in plaats van met het tertiair amine.

De verwachte versnelling voor de reactie van **II.29** en **II.26** met *N*-tridecanoylimidazool door herkenning tussen de alkylketens van model en substraat werd niet waargenomen. Dit kan te wijten zijn aan de keuze van het solvent, acetonitril; in water zou het hydrofoob effect beter tot uiting moeten komen.

Het feit dat we hier met de nog niet optimaal werkende modelverbindingen het verwachte positief, weliswaar klein, effect van cyclodextrine op de reactiesnelheid kunnen waarnemen, betekent dat we dichterbij het gestelde streefdoel komen.

Er zijn genoeg aanwijzingen om te veronderstellen dat eens we beschikken over de meest volledige modelverbinding, **I.3**, de reactie in een geschikt solvent met substraten die algemene zuurkatalyse toelaten, zou moeten versneld worden. Ook kan een positief effect verwacht worden wanneer cyclodextrine geïntroduceerd wordt in het milieu.

Hoofdstuk V : Ontwikkeling van de modelverbindingen met de equatoriale alcoholgroep op C₇

Voor de bereiding van de modelverbindingen **II.22** en **II.24** uit **II.28** en **II.25** zijn er verschillende mogelijkheden om de configuratie van de secundaire, axiale alcohol te inverteren. Eerst en vooral wordt gedacht aan een *Mitsunobureactie*. Hierbij wordt de configuratie van het centrum geïnverteerd en tegelijkertijd wordt de alcohol ook beschermd als een ester.¹¹⁴ Vermits aangenomen wordt dat de *Mitsunobureactie* verloopt via een S_N2-reactie, bepaalt sterische hinder meestal het succes van de reactie. Een alternatief is de S_N2-reactie op het corresponderende mesylaat met een cesiumcarboxylaat. Ook hier speelt sterische hinder een belangrijke rol.¹¹⁵ Een andere mogelijkheid is de oxidatie van de alcohol tot het keton, gevolgd door een selectieve reductie die aanleiding geeft tot de equatoriale alcohol. Deze methode wordt voornamelijk toegepast om een axiale alcoholfunctie op een zesring om te zetten in de overeenkomstige stabielere equatoriale alcohol. Naast de klassieke reductantia, zoals hydriden en oplopende metaalcondities, kan ook de *Meerwein-Ponndorf-Verleyreductie* onderzocht worden.¹¹⁶ Deze reversibele reactie maakt gebruik van een alcohol en een *Lewis*zuur, meestal aluminiumcomplexen.

Op het eerste zicht lijkt de oxidatie-reductiemethode het meest geschikt. Niet alleen de modelverbindingen **II.22** en **II.24** met de equatoriale alcoholgroep zouden beschikbaar worden door reductie van het gevormde keton, maar ook de hydrofobe alkylketen zou ingevoerd kunnen worden via een organometaalreactie op het keton (zie ook **schema's II.15, II.16**)

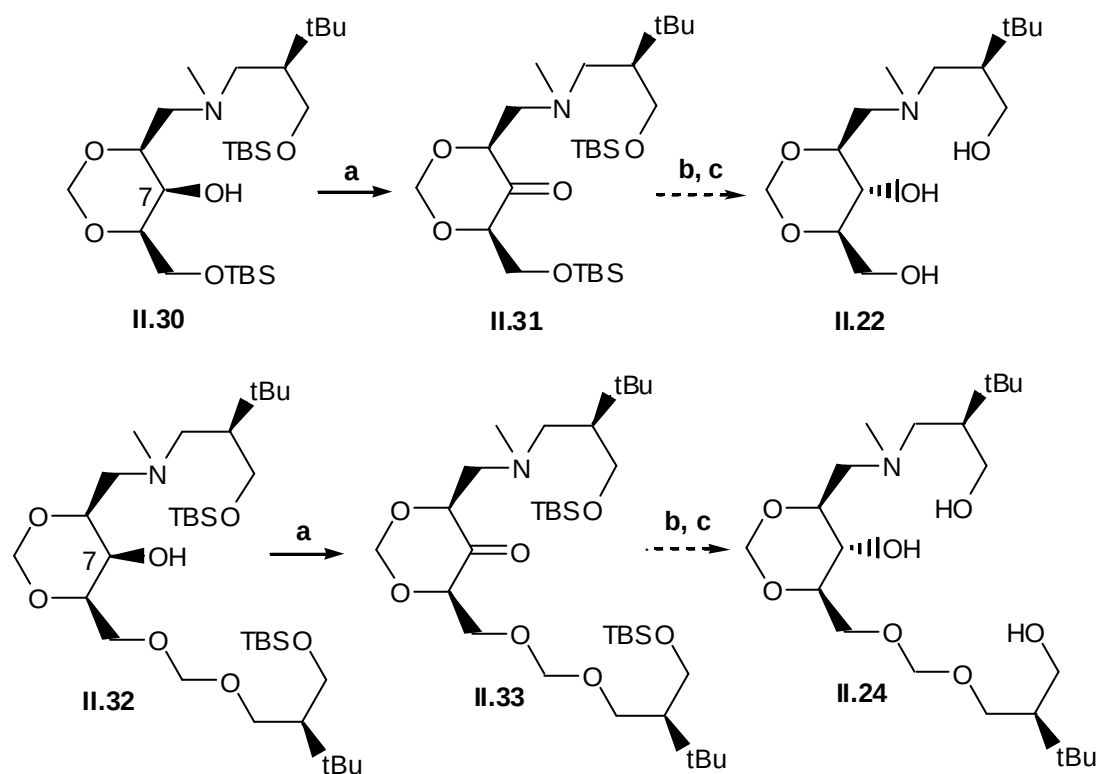
¹¹⁴ a) Mitsunobu, O. *Synthesis* **1981**, 1; b) Martin, S.F.; Dodge, J.A. *Tetrahedron Lett.* **1991**, 32, 3017; c) Saïah, M.; Bessodes, M.; Antonakis, K. *Tetrahedron Lett.* **1992**, 33, 4317; d) Sammakia, T.; Jacobs, J.S. *Tetrahedron Lett.* **1999**, 40, 2685

¹¹⁵ Huffman, J.W.; Desai, R.C. *Synthetic Comm.* **1983**, 13, 553

¹¹⁶ de Graauw, C.F.; Peters, J.A.; van Bakkum, H.; Huskens, J. *Synthesis* **1994**, 1007

V.1 Inversie van de axiale alcoholgroep uitgaande van de reeds bereide modelverbindingen

De bedoeling was om op een efficiënte manier de modelverbindingen met de equatoriale alcoholgroep, zonder alkylzijketen **II.22** en **II.24**, te bereiden uit de reeds gesynthetiseerde derivaten **II.30** en **II.32** (schema V.1). De alcohol zou geoxideerd worden tot het keton. Vervolgens kon verwacht worden dat door gebruik te maken van een geschikt hydridereductans of van een oplossende metaalreductie de equatoriale alcohol zou gevormd kunnen worden.



a: Dess-Martin perjodinaan, CH₂Cl₂; **b:** Li, vloeibaar ammoniak of NaBH₄, MeOH, **c:** TBAF, THF

schema V.1

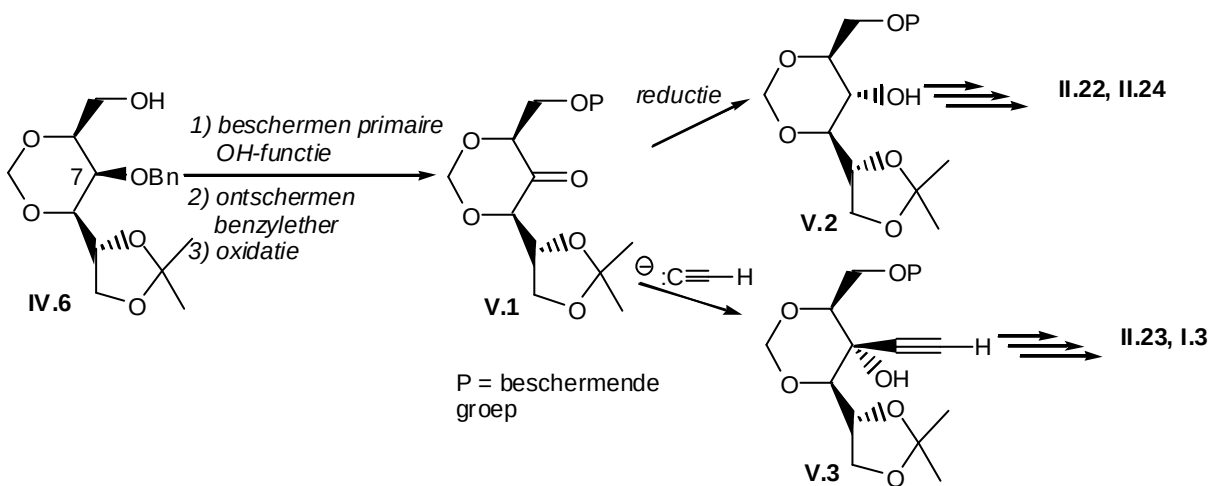
Oxidatie met *Dess-Martin* perjodinaan bleek niet effectief, enkel beginproduct werd gerecupereerd. Waarschijnlijk is de alcoholfunctie te veel afgeschermd om te reageren.¹¹⁷

¹¹⁷ a) Dess, B.D.; Martin, J.C. *J. Org. Chem.* **1983**, 48, 4156, b) Ireland, R. E.; Liu, L. *J. Org. Chem.* **1993**, 58, 2899

Daarnaast werd ook de *Ley*-oxidatie getest, maar ook deze methode bleek niet succesvol.¹¹⁸ Vermits andere oxidatiemethoden ook onderhevig zijn aan sterische factoren en om zo weinig mogelijk van de modelverbindingen te verspillen werd beslist om de configuratie van de secundaire alcohol op een vroeger stadium van de synthese te inverteren.

V.2 Inversie van de secundaire axiale alcoholgroep uitgaande van alcohol IV.6

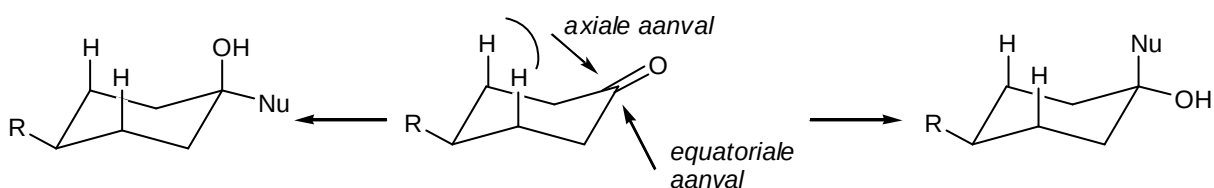
Als nieuw intermediair om de alcohol op C₇ te inverteren wordt alcohol IV.6 gekozen (schema V.2). De meest voor de hand liggende methode om de hydrofobe diynylketen te introduceren is de reactie van het lithiumzout van ethyn op het corresponderend keton V.1, gevolgd door een *Cadiot*koppeling met 1-joodnonyn. Gezien de bereiding van het keton hiervoor toch noodzakelijk is, wordt geopteerd om de inversie van de alcohol te bewerkstelligen via de oxidatie-reductiemethode.



schema V.2

Nucleofiele additie op cyclohexanonderivaten is mogelijk via axiale of equatoriale aanval op het keton (schema V.3).

¹¹⁸ Griffiths, W.P.; Ley, S.V. *Aldrichimica Acta* **1990**, 23, 1



schema V.3

In het algemeen kan gesteld worden dat axiale aanval van nucleofielen bevoordeeld is wanneer de sterische hinder bij de aanval minimaal is.¹¹⁹ Weinig volumineuze nucleofielen, zoals lithiaaluminiumhydride en natriumboorhydride zullen bij sterisch niet gehinderde ketonen preferentieel aanleiding geven tot de equatoriale alcohol. Reactie met volumineuze, sterisch gehinderde nucleofielen daarentegen leidt tot de axiale alcohol. Daarenboven wordt zelfs door kleine nucleofielen de equatoriale aanval geprefereerd als de sterische hinder op het cyclohexanonderivaat te groot wordt door de aanwezigheid van axiale substituenten in β -positie van de carbonyl. Er wordt in het algemeen aangenomen dat de equatoriale aanval belangrijker wordt naarmate de sterische interacties tussen nucleofiel en substraat toenemen.

Diverse modellen zijn al voorgesteld om uit te leggen waarom kleine nucleofielen de axiale aanval op ongehinderde ketonen prefereren. Het *Felkin-Ahn*-model wordt het meest gebruikt om de stereoselectiviteit van nucleofiele addities aan carbonylderivaten te begrijpen.¹²⁰ Axiale aanval wordt geprefereerd omdat in de transitietoestand de torsiespanning lager is dan bij de equatoriale aanval.

Het *Cieplak*-model steunt op het anomeereffect en de nucleofiele additie gebeurt op een carbonylverbinding preferentieel antiperiplanair ten opzichte van de vicinale binding die het meest elektronengevend is (**figuur V.1**).¹¹⁹ De donorcapaciteit van een σ -binding wordt als volgt gerangschikt: C-S > C-H > C-C > C-O.¹²¹

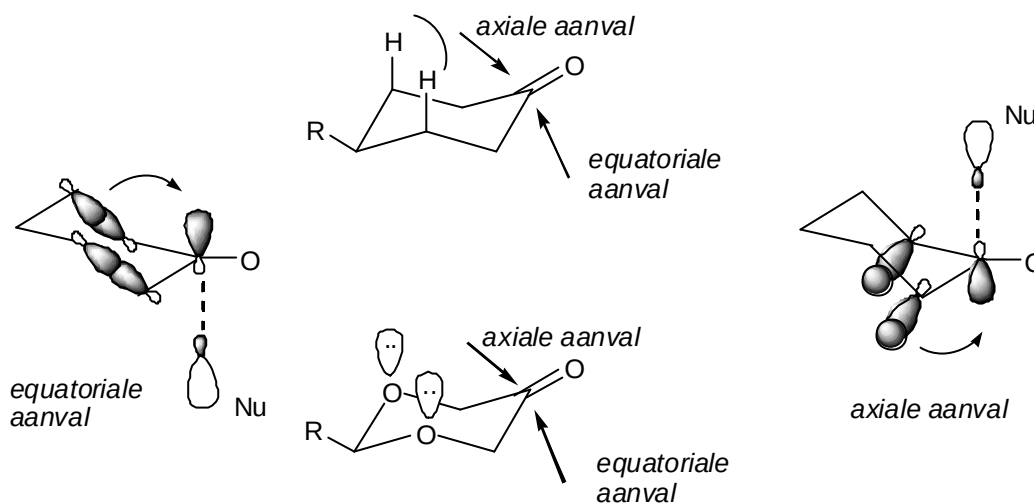
De transitietoestand wordt gestabiliseerd door een elektrondonatie door de antiperiplanaire vicinale σ -binding in het antibindende C-Nu-orbitaal (σ^*). De veronderstelling dat de C-H binding een betere elektrondonor is dan de C-C binding

¹¹⁹ a) Gung, B.W. *Tetrahedron* **1996**, 52, 5263; b) Ashby, E.C.; Laemmle, J.T. *Chem. Rev.* **1975**, 75, 521

¹²⁰ Artau, A.; Ho, Y.; Kenttämä, H.; Squires, R. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 7130

¹²¹ Cieplak, A.S. *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, 103, 4540

en het feit dat de theorie steunt op elektrondonatie in een antibindend σ -orbitaal, wat tot een verzwakte binding leidt, zijn de voornaamste punten van kritiek op dit model.¹²²



figuur V.1

In het geval van 2-gesubstitueerde-1,3-dioxan-5-onderivaten zijn de axiale β -waterstofatomen vervangen door zuurstofatomen. Hierdoor neemt de sterische hinder bij de axiale aanval af en de equatoriale alcohol wordt bij voorkeur gevormd.¹²³

Lithiumaluminiumhydridereductie van 2-*tert*-butyl-1,3-dioxan-5-on bijvoorbeeld leidt tot de equatoriale alcohol met een selectiviteit van 93%.¹²⁴ Wanneer daarentegen in α -positie van de carbonyl een equatoriale substituent aanwezig is, wordt het moeilijker de selectiviteit te voorspellen.¹²³ Additie van *Grignard*reagentia op de carbonyl van 1,3-dioxan-5-onen met een substituent op C₄ wordt hoofdzakelijk bepaald door torsiespanning in de transitietoestand; axiale aanval blijft wel overheersend.

In het geval van keton **V.1** zijn er twee equatoriale substituenten in α -positie van de carbonyl aanwezig. Er zijn in de literatuur weinig voorbeelden van reducties van 4,6-

¹²² Rozeboom, M.D.; Houk, K.N. *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 1189; Wu, Y.-D.; Tucker, J.A.; Houk, K.N.; *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 5018

¹²³ Carda, M.; Casabo, P.; Gonzales, F.; Rodriguez, S.; Doming, R.; Marco, J.A. *Tetrahedron: Asymmetry* **1997**, *8*, 559

¹²⁴ Senda, Y.; Terasawa, T.; Ishiyama, J. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1989**, *62*, 2948

gesubstitueerde-1,3-dioxan-5-onderivaten gekend, daarom wordt het moeilijk voorspellingen te doen inzake selectiviteit. Studies hebben wel uitgewezen dat in het geval van 2,6-dimethylcyclohexanonen de reductie met lithiualuminiumhydride aanleiding geeft tot een 50 : 50 mengsel van axiaal en equatoriaal alcohol. De axiale aanval wordt minder belangrijk doordat de introductie van equatoriale substituenten leidt tot extra 1,3-diaxiale-type interacties tussen het axiaal inkomend nucleofiel en een C-H-binding van de methylgroep (**figuur V.2**).

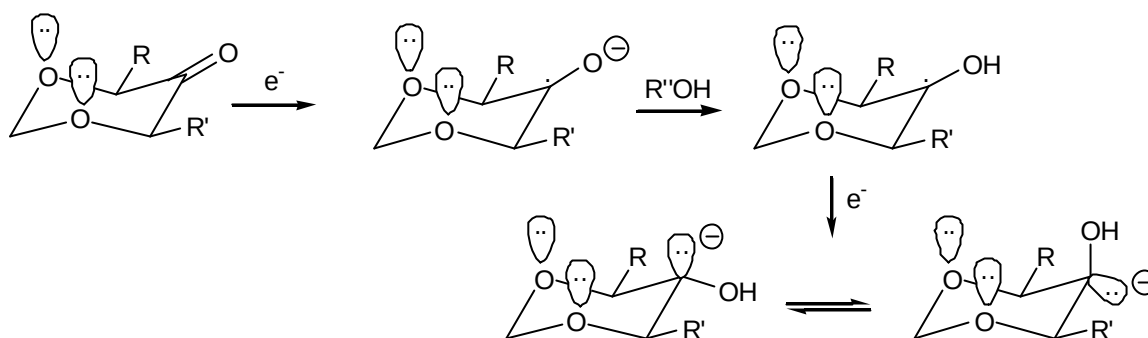


figuur V.2

In het geval van 1,3-dioxan-5-onen zijn de twee axiale H-atomen op de ring niet aanwezig, dus de sterische hinder bij axiale aanval zou minder moeten zijn dan bij 2,6-dimethylcyclohexanon. Er kan dan ook verwacht worden dat de axiale aanval opnieuw de voorkeur krijgt.¹²⁵ De reductie van het keton van het type **V.1** zou dus aanleiding geven tot een mengsel van de diastereomere alcoholen, waarin de equatoriale alcohol in overmaat aanwezig zou moeten zijn.

Reductie van het keton onder oplossende metaalcondities zou moeten leiden tot de meest stabiele alcohol. In het geval van keton **V.1** kan verwacht worden dat door de reeds aanwezige equatoriaal georiënteerde groepen een stoelconformatie zal opgelegd worden zodat de alcoholfunctie equatoriaal zal komen te staan (**schema V.4**).

¹²⁵ Goodwin, T.E.; Meacham, J.M.; Smith, M.E. *Can. J. Chem.* **1998**, 76, 1308

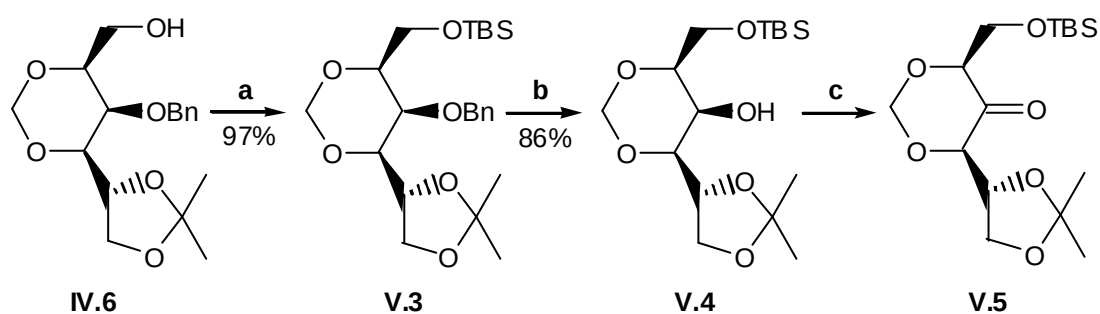


schema V.4

V.2.1 Inversie van de alcoholfunctie via de oxidatie-reductiemethode

A. tert-Butyldimethylsilyl als beschermende groep

De eerste stap in de synthese van het keton **V.5** is de bescherming van de primaire hydroxylfunctie in de reeds bereide alcohol **IV.6** als een *tert*-butyldimethylsilylether (**schema V.5**).



a: TBDMSCl, imidazool, DMAP, DMF; **b:** H₂, Pd/C, EtOAc; **c:** zie **tabel V.1**

schema V.5

De ontscherming van de benzylether blijkt kritischer te zijn dan verwacht. Debenzyleren via een oplossende metaalreductie leidt tot een mengsel van het gewenste product (56%), het product met de silylgroep op de secundaire alcohol (5%) en het diol (35%).

Bij het ontschermen via hydrogenatie is de reactietijd heel belangrijk. Als de reactie overnacht doorgaat, wordt een mengsel van de gewenste secundair alcohol (36%) en van het diol (44%) bekomen. Als de reactietijd verkort wordt tot 45 minuten kan het zuivere product geïsoleerd worden in een goede opbrengst (86%) naast een kleine hoeveelheid aan nevenproducten. In een recent verschenen publicatie wordt aangetoond dat de *tert*-butyldimethylsilylgroep onstabiel is onder de gebruikelijke condities voor hydrogenaties, gebruik makend van een palladium op koolstof katalysator.¹²⁶ De ontscherming van de silylgroep zou vermeden kunnen worden door een 0.5 equivalent amine toe te voegen aan het reactiemengsel of door het gebruik van een palladium-ethyleendiamine complex op koolstof als katalysator in plaats van de gebruikelijke palladium op koolstof.

De oxidatie tot het keton was geen gemakkelijke reactie, verschillende oxidantia werden getest. De bekomen resultaten worden voorgesteld in onderstaande tabel.

tabel V.1: condities voor oxidatie van alcohol **V.4**

<i>oxidans</i>	<i>rendement aan mengsel van V.4 en V.5</i>	V.4 : V.5
DMSO, oxalylchloride, Et ₃ N	complexmengsel; 26%	33 : 67
DMSO, SO ₃ .pyridine	beginproduct	
<i>Dess-Martin</i> perjodinaan	86%	27 : 73
TPAP, <i>N</i> -methyilmorfoline- <i>N</i> -oxide, moleculaire zeven	93%	65 : 35

Swernoxidatie van de alcohol **V.4** levert een complex mengsel aan producten waaruit 26% aan een mengsel van beginproduct en keton **V.5** bekomen wordt (33-67). Waarschijnlijk treedt hier epimerisatie op onder de basische condities.¹²³ Enkel beginproduct kan gerecupereerd worden met de andere DMSO-type oxidatie in aanwezigheid van het zwaveltrioxide-pyridine complex.

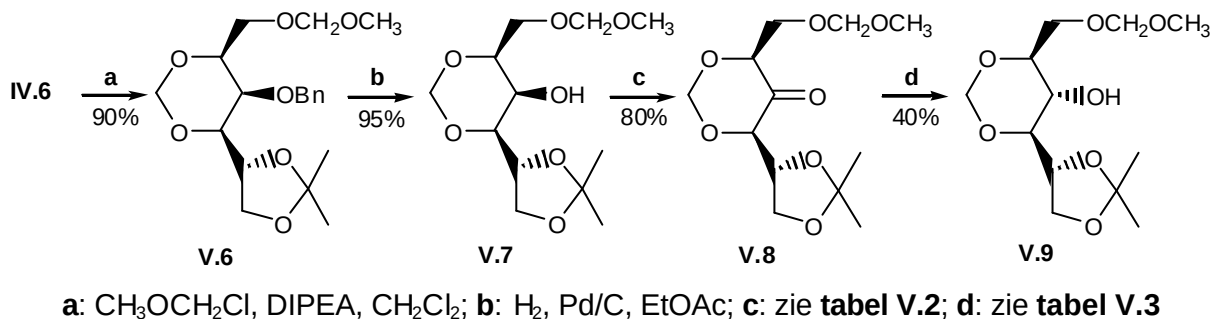
¹²⁶ Hattori, K.; Sajiki, H.; Hirota, K. *Tetrahedron* **2001**, 57, 2109

TPAP-oxidatie levert ook slechts een kleine hoeveelheid aan het gewenste keton. Enkel met het *Dess-Martin* perjodinaan wordt het keton **V.5** bekomen met een behoorlijk rendement (73%) in een mengsel met het beginproduct dat niet te scheiden is. Waarschijnlijk is de *tert*-butyldimethylsilylgroep te volumineus om de reactie volledig te laten doorgaan.

Er wordt besloten de primaire alcohol in **IV.6** te beschermen als de stabielere en kleinere methoxymethylether.

B. Methoxymethylether als beschermende groep

De primaire hydroxylfunctie in derivaat **IV.6** wordt beschermd als een methoxymethylether door reactie van de alcohol met chloormethylmethylether in aanwezigheid van diisopropylethylamine (**schema V.6**).¹²⁷ Vervolgens wordt de benzylether in **V.6** probleemloos ontschermd via een hydrogenatie in aanwezigheid van de palladium op koolstofkatalysator in ethylacetaat als solvent.



schema V.6

De oxidatie van de secundaire alcohol **V.7** met *Dess-Martin* perjodinaan levert het keton **V.8** in een goede opbrengst (tabel V.2). Toch wordt nog steeds een mengsel van keton en beginproduct **V.7** geïsoleerd, dat niet gescheiden kan worden. *Swern*oxidatie geeft geen complex mengsel in dit geval, enkel een mengsel van keton en de alcohol **V.7** wordt geïsoleerd. De DMSO-type oxidatie in aanwezigheid van het zwaveltrioxide-pyridine complex daarentegen leidt wel tot een complex

¹²⁷ Ireland, R.E.; Thompson, W.J.; Srouji, G.H.; Etter, R. *J. Org. Chem.* **1981**, 46, 4863

mengsel. Er wordt enkel beginproduct gerecupereerd wanneer de oxidatie wordt uitgevoerd onder de *Ley*condities. Voor het opschalingsproces zal, omwille van praktische redenen, geopteerd worden voor de *Dess-Martin* perjodinaanoxidatie.

tabel V.2: *condities voor de oxidatie van alcohol V.7*

<i>oxidans</i>	<i>rendement keton V.8</i>	V.8 : V.7
<i>Dess-Martin</i> perjodinaan	80%	90 : 10
DMSO, oxalylchloride	88%	90 : 10
DMSO, SO ₃ .pyridine	complex mengsel	
TPAP, <i>N</i> -methyilmorfoline- <i>N</i> -oxide	recuperatie beginproduct	

De reductie wordt uitgevoerd op het mengsel van alcohol **V.7** en keton **V.8**. Verschillende reductantia worden onderzocht op hun selectiviteit (**tabel V.3**).

tabel V.3: *condities voor de reductie van keton V.8*

<i>reductans</i>	<i>rendement mengsel t.o.v. alcohol V.7</i>	V.9 : V.7
LiAlH ₄ , Et ₂ O, 0°C	81%	41 : 59
LiAlH ₄ , THF, 0°C	63%	26 : 74
NaBH ₄ , CH ₃ OH	43%	33 : 67
NaBH ₄ , CeCl ₃ , CH ₃ OH	82%	35 : 65
LiHB(Et) ₃ , THF	60%	0 : 100
Li/vloeibaar NH ₃ , CH ₃ OH, -33°C	38%, waarvan nog een gedeelte keton	niet reproduceerbaar

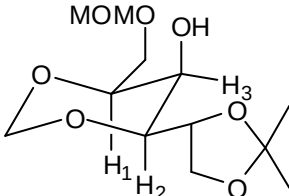
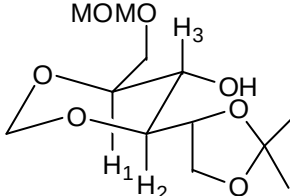
De beste selectiviteit voor de equatoriale alcohol bij de hydridereductantia wordt bekomen met lithiumaluminiumhydride in diëthylether als solvent.

De boorhydridereagentia prefereren equatoriale aanval. In het geval van natriumboorhydride verandert toevoegen van ceriumtrichloride niets aan de voorkeur van aanval. Reductie met lithiumtriëthylboorhydride levert slechts één product, axiaal alcohol **V.7**.

De oplossende metaalreductie van het keton is geen reproduceerbare reactie. Wanneer de reactie uitgevoerd wordt in aanwezigheid van 27 equivalenten methanol en een lage concentratie van het keton (20 mg, 0.01 M) wordt na een halfuur een mengsel bekomen van keton en equatoriaal alcohol (1 : 1) waarin de axiale alcohol nauwelijks voorkomt. De afwerking en isolatie van het mengsel vormt wel een probleem, er wordt slechts 6 mg van het mengsel geïsoleerd (26%). De reactie wordt opnieuw uitgevoerd onder andere condities: 4 equivalenten methanol en een iets hogere concentratie (0.05 M). Na 2 uren wordt minder dan 50% aan product teruggevonden. Het betreft nu een mengsel van hoofdzakelijk beginproduct en zowel axiaal als equatoriaal alcohol.

De verhouding aan axiaal en equatoriaal alcohol in het bekomen mengsel wordt bepaald aan de hand van ¹H-NMR-spectroscopie. In axiaal alcohol **V.7** is er geen ³J-koppeling aanwezig tussen de protonen H₁ en H₃, noch tussen H₂ en H₃. Volgens de Karplusregel zou dit betekenen dat deze protonen een hoek van ongeveer 90° maken (zie ook **IV.1**). Daarnaast is er nog een ⁴J-koppeling aanwezig tussen H₁ en H₂ van 0.9 Hz. De ³J-koppeling tussen H₁ en H₃ in de equatoriale alcohol **V.9** bedraagt 9.2 Hz, tussen H₂ en H₃ 8.6 Hz.

tabel V.4: vergelijken van de ³J-koppelingsconstanten in de axiale en equatoriale alcohol **V.7** en **V.9** in gedeutereerd benzeen

	 V.7	 V.9
J _{H1-H3}	≈ 0 Hz	9.2 Hz
J _{H2-H3}	≈ 0 Hz	8.6 Hz
J _{H1-H2}	0.9 Hz	geen koppeling zichtbaar

Uit deze koppelingsconstanten kan afgeleid worden dat zowel H₁, H₂ en H₆ een axiale positie innemen op de stoelconformatie. Dit is in overeenstemming met wat verwacht wordt voor de equatoriale alcohol.

De diastereomere alcoholen kunnen van elkaar gescheiden worden door middel van kolomchromatografie (eluens: dichloormethaan : aceton 95 : 5).

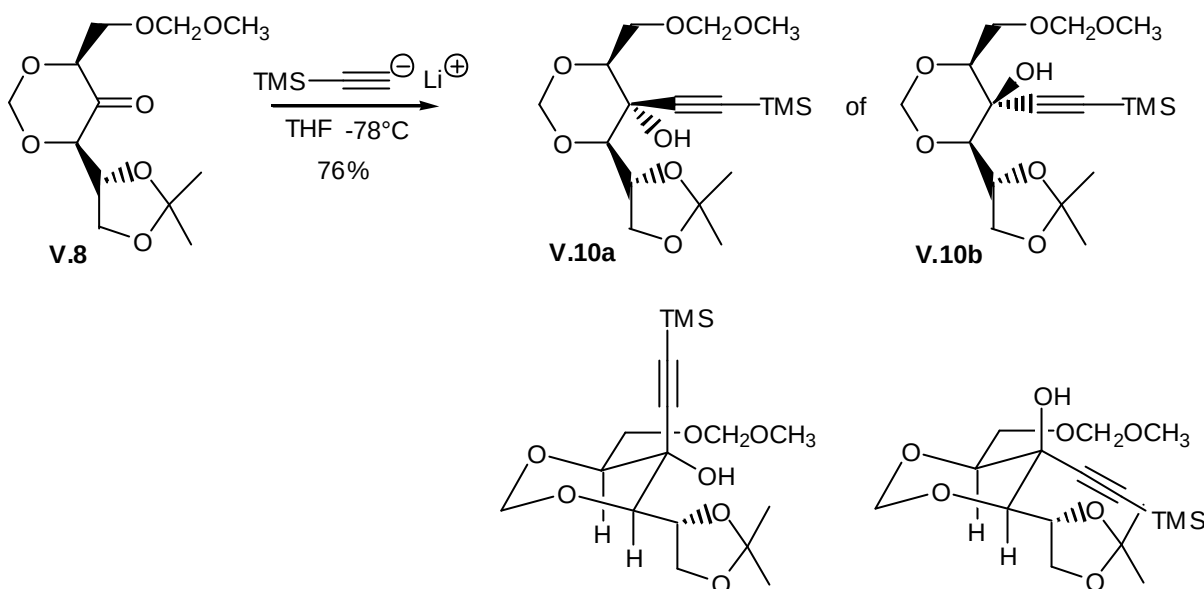
Voor de opschalingsprocessen wordt de axiale alcohol **V.7** geoxideerd met het *Dess-Martin* perjodinaan en de equatoriale alcohol **V.9** wordt bekomen door de reductie van het keton **V.8** met lithiumaluminiumhydride na scheiding van de diastereomeren door middel van kolomchromatografie.

Eens de geïnverteerde alcohol bekomen, vereist verdere opbouw tot de enzymmodellen nog introductie van het amine **II.18** via een reductieve amineringsreactie, analoog aan de modelverbindingen met de axiale hydroxylfunctie op C₇. De polyetherzijketen **II.19** die moet instaan voor de stabilisatie van het oxyanion in het tetrahedraal intermediair wordt zoals voorheen ingevoerd door een alkylatiereactie.

V.2.2 Introductie van de diynylzijketen op keton **V.8**

Om de modelverbindingen met de diynylketen **II.24** en **I.3** te bekomen kan de keten het gemakkelijkst geïntroduceerd worden in twee stappen: de eerste stap vereist reactie van het anion van trimethylsilylethyn met het reeds bereide keton **V.8**, gevolgd door een *Cadiot-Chodkiewicz*koppeling met 1-joodnonyn na afsplitsing van de trimethylsilylgroep. Reactie met het ethynylanion kan in principe leiden tot twee diastereomere alcoholen **V.10a** en **V.10b** afhankelijk van de voorkeur van het nucleofiel voor axiale of equatoriale aanval (zie vroeger). Vermits de reductie van keton **V.8** met minder volumineuze reductantia leidt tot een mengsel van diastereomere alcoholen in een verhouding 50 : 50, kan bij een nucleofiele aanval ook een mengsel verwacht worden. Het nucleofiel is natuurlijk groter dan een hydride, op basis hiervan zou meer equatoriale aanval verwacht kunnen worden.

Echter door de lineariteit van het nucleofiel is de afstand tussen de trimethylsilylgroep en het reactiecentrum groter zodat de sterische hinder gereduceerd wordt. Het wordt hierdoor moeilijk een voorspelling te maken inzake selectiviteit.



schema V.7

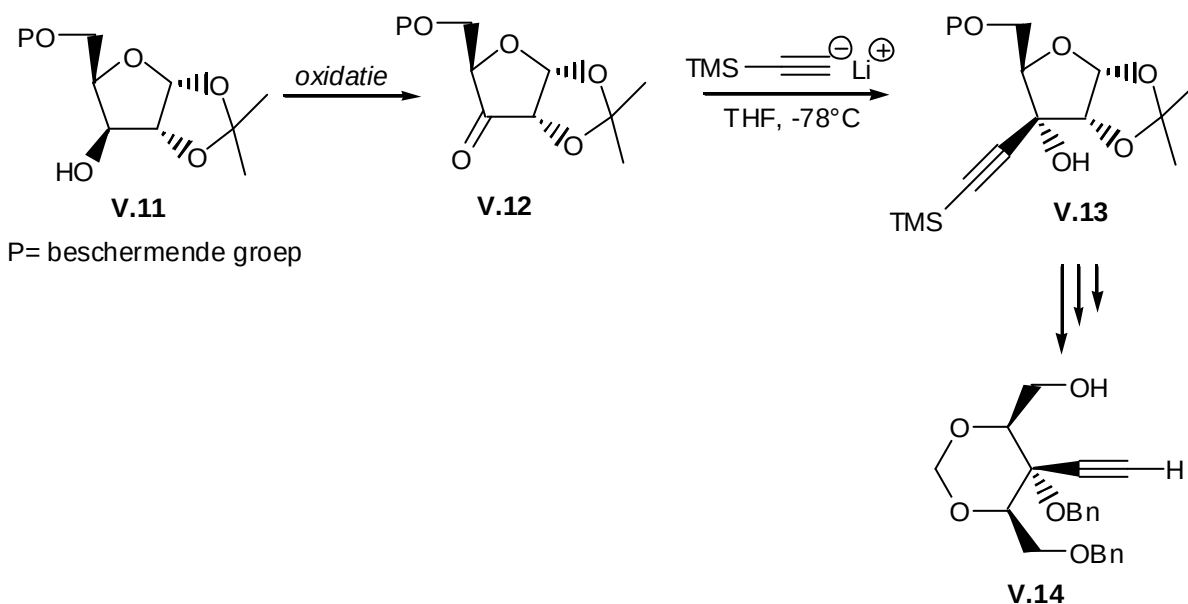
Bij de additiereactie van het trimethylsilylethynylanion op keton **V.8** wordt slechts één product bekomen (**schema V.7**). Nagaan welk diastereomeer exclusief gevormd wordt, is niet gemakkelijk. Met NMR-spectroscopie is het moeilijk om de structuur van het gevormde diastereomeer toe te kennen, gezien het enige verschil in beide isomeren zich situeert aan het quaternaire centrum. Er kan wel verwacht worden, op basis van de bekomen resultaten van de reductie, dat indien geen mengsel bekomen wordt, hoogst waarschijnlijk de axiale alcohol in overmaat wordt bekomen.

Er wordt gekozen om de alcohol te bereiden via een syntheseroute waarin meer zekerheid bestaat in verband met de aanvalsrichting van het ethynylanion op het keton.

V.2.3 Alternatieve syntheseroute tot alcohol V.14 uitgaande van 1,2-isopropylideen-D-xylose

Literatuurstudie leert dat aanval van het ethynylanion en andere nucleofielen, zelfs hydriden, op de C₃-carbonyl van beschermde furanosen zoals bijvoorbeeld diacetonyl-D-glucose en 5-O-beschermd-1,2-isopropylideen-D-xylose **V.11** selectief langs de bovenkant plaatsgrijpt (schema V.8).^{128,129} Het diastereomeer **V.13** wordt steeds in overmaat en in bepaalde gevallen zelfs exclusief gevormd. Dit intermediair kan dan verder omgezet worden tot alcohol **V.14**, reeds voorzien van de equatoriale alcoholgroep en van de driedubbele binding die de verdere opbouw tot de gewenste modellen **II.23** en **I.3** mogelijk zou moeten maken.

De sequentie tot het gewenste intermediair **V.14** is uitgaande van diacetonyl-D-glucose twee stappen langer dan uitgaande van het duurdere 1,2-isopropylideen-D-xylose. Omwille van de tijdsdruk wordt nu wel geopteerd voor het D-xylofuranose als startproduct in plaats van het D-glucosederivaat.

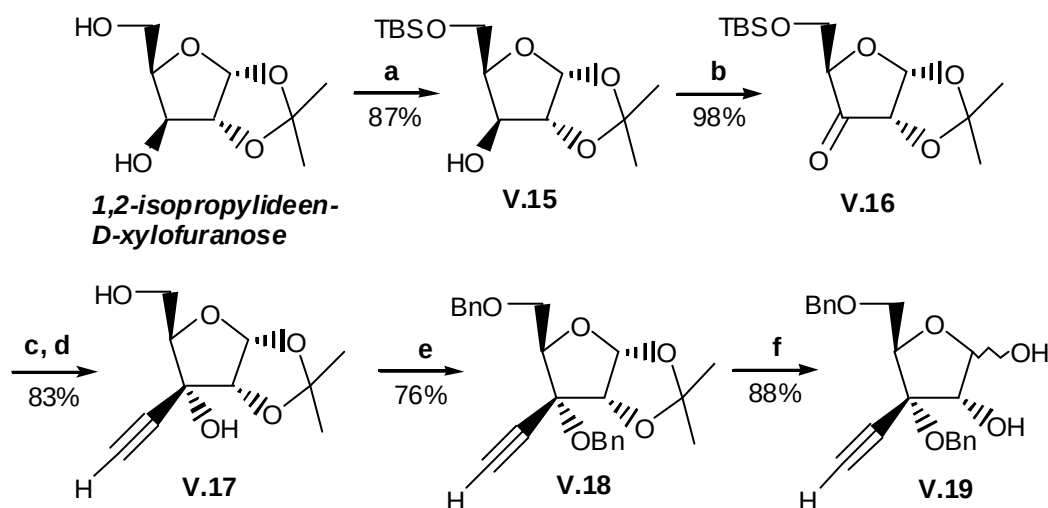


schema V. 8

¹²⁸ a) Kakinuma, K.; Imamura, N.; Saba, Y. *Tetrahedron Lett.* **1982**, 23, 1697; b) Kakinuma, K.; Ozawa, K.; Fujimoto, Y.; Akutsu, N.; Oshima, T. *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* **1989**, 1190

¹²⁹ a) (5-O-pivaloyl-): Nakatani, K.; Arai, K.; Terashima, S. *Tetrahedron* **1993**, 49, 1901;
b) (5-O-benzyl-): Nielsen, P.; Pfundheller, H.M.; Wengel, J. *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* **1997**, 825;
c) (5-O-methyl-): Djuardi, E.; Mc Nelis, E. *Tetrahedron Lett.* **1999**, 40, 7193;
d) (5-O-tert-butylidimethylsilyl-): Bévierre, M.-O.; De Mesmaeker, A.; Wolf, R.M.; Freier, S.M. *Bioorg. & Med. Chem. Lett.* **1994**, 4, 237

In 1,2-isopropylideen-D-xylose wordt de primaire alcoholfunctie selectief beschermd als een *tert*-butyldimethylsilylether door reactie met één equivalent *tert*-butyldimethylsilylchloride in aanwezigheid van imidazool en een katalytische hoeveelheid dimethylaminopyridine (**schema V.9**).¹³⁰ Er wordt geopteerd om eerst de silylgroep in te voeren en dan te vervangen door een benzylether omdat het rendement voor de introductie van de benzylether redelijk laag is (65%).¹³¹ Belangrijker is dat de selectiviteit voor de 'axiale' nucleofiele aanval op de C₃-carbonyl lager is dan bij de furanose met een *tert*-butyldimethylsilylether als beschermende groep.¹³² Daarenboven impliceert de keuze voor de silylether geen extra stappen in de sequentie. Er zijn ook een aantal voorbeelden in de literatuur gekend waar de primaire alcohol ook eerst als silylether wordt beschermd om een goede selectiviteit voor de nucleofiele aanval op het keton te induceren.^{129 b), 133}



a: TBDMSCl, imidazool, DMAP, DMF; **b:** COCl₂, DMSO, Et₃N, CH₂Cl₂, -50°C → kT;
c: n-BuLi, trimethylsilylacetyleen, THF, -78°C; **d:** TBAF, THF, 0°C; **e:** NaH, BnBr, Bu₄NI, THF; **f:** 90% TFA, H₂O, 0°C

schema V.9

Swernoxidatie leidt nagenoeg kwantitatief tot het keton **V.16**, dat zonder zuivering gebruikt wordt in de volgende reactie. Nucleofiele additie van het beschermd

¹³⁰ Parr, I.B.; Horenstein, B.A. *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 7489

¹³¹ Alper, P.B.; Hendrix, M.; Sears, P.; Wong, C-H. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120, 1965

¹³² Kakinuma, K.; Iihama, Y.; Takagi, I.; Ozawa, K.; Yamauchi, N.; Imamura, N.; Esumi, Y.; Uramoto, M. *Tetrahedron* **1992**, 48, 3763

¹³³ a) Matsuda, A.; Hattori, H.; Tanaka, M.; Sasaki, T. *Bioorg. & Med. Chem. Lett.* **1996**, 6, 1887;

b) Schmit, C.; Bévierre, M.-O.; De Mesmaeker, A.; Altmann, K.-H. *Bioorg. & Med. Chem. Lett.* **1994**, 4, 1969

ethynylanion leidt selectief tot één product. De tertiaire alcohol zou nu al beschermd kunnen worden als benzylether. Dit vereist echter deprotonatie met natriumhydride en vermits trimethylsilylethers ontschermd worden onder basische condities kan deze reactie aanleiding geven tot complexe reactiemengsels. Vooraleer de beide alcoholgroepen in **V.17** kunnen beschermd worden als benzylether, moet de silylether eerst verwijderd worden met tetrabutylammoniumfluoride. Ontscherming van het acetonide in **V.18** vereist sterk zure omstandigheden en leidt tot een mengsel van anomere diolen **V.19** (47 : 53).¹³⁰ Dit mengsel wordt als dusdanig in de volgende reactie gebracht.

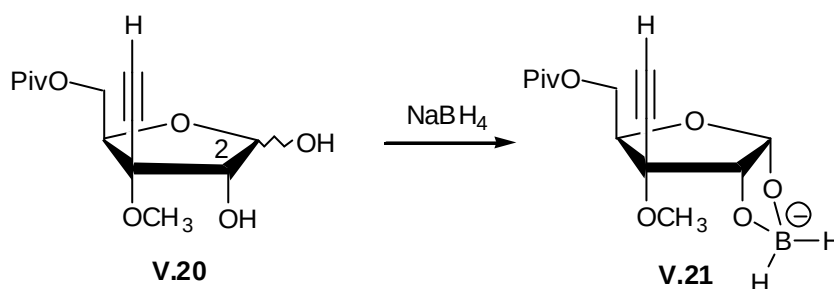
Zoals bij de modelverbindingen met de axiale alcoholgroep wordt geprobeerd om de furanosering te openen en het gevormde aldehyde te beschermen als een thioacetaal (zie **schema IV.2**). De reactie van diol **V.19** met ethaanthiol in geconcentreerd zoutzuur gaf steeds aanleiding tot complexe mengsels, waaruit ten hoogste 50% aan thioacetaal kon geïsoleerd worden. Waarschijnlijk is het alkyn onstabiel onder de extreem zure reactieomstandigheden. Daarnaast moet ook opgemerkt worden dat in de literatuur weinig voorbeelden voorkomen waar een thioacetaal ontschermd kan worden in aanwezigheid van een alkyn.¹³⁴ Milde reagentia, zoals (CF₃COO)₂IPh zijn vereist. Ook in ons laboratorium heeft S. Vrielynck veel problemen gekend bij de ontscherming van een thioacetaal naast een alkyn.¹³⁵ In haar geval was geen enkele ontschermingsmethode effectief. Om problemen te vermijden wordt getracht om de furanosering op een andere manier te openen.

Reductie van het hemiacetaal van furanosederivaten met natriumboorhydride tot het corresponderende diol is een gekende reactie. In de meeste voorbeelden zijn alle andere alcoholfuncties beschermd.¹³⁶ Uit de literatuur volgt dat de directe reductie van de epimere diolen **V.19** niet mogelijk is. Bij de reductie van een analoog diolderivaat **V.20** werd enkel beginproduct gerecupereerd (**schema V.10**).^{129a)} Waarschijnlijk wordt tijdens de reactie een stabiel cyclisch boorester **V.21** gevormd.

¹³⁴ a) Ohi, K.; Nishiyama, S. *Synlett* **1999**, 573; b) Stork, G.; Zhao, K. *Tetrahedron Lett.* **1989**, 30, 287

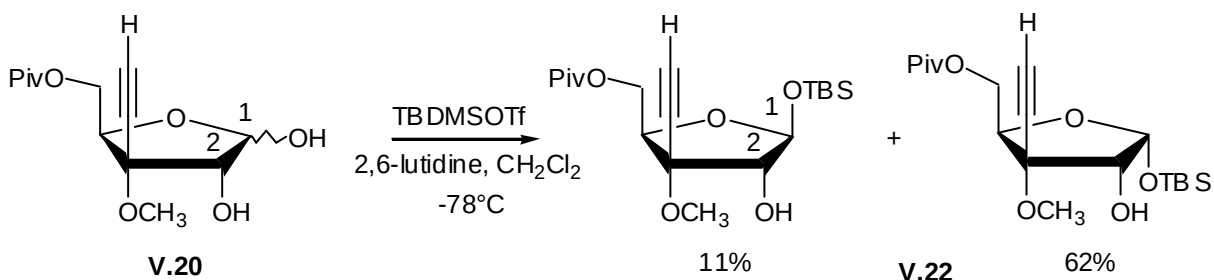
¹³⁵ Vrielynck, S. *Doctoraatsthesis* **1995**

¹³⁶ a) Pankiewicz, K.W.; Sochacka, E.; Kabat, M.M.; Ciszewski, L.A.; Wanatabe, K.A. *J. Org. Chem.* **1988**, 53, 3473; b) Vogel, P.; Fattori, D.; Gasparini, F.; Le Drian, C. *Synlett* **1990**, 173



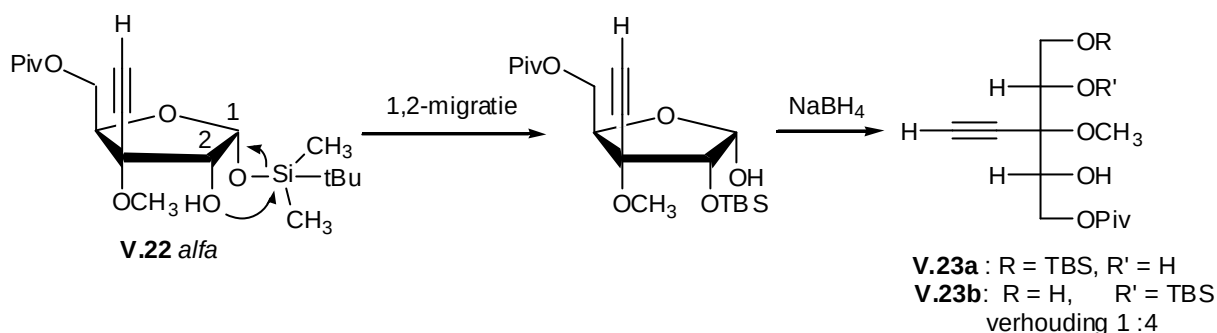
schema V.10

Ook andere condities werden door de auteurs getest maar de directe reductie van **V.20** bleef onsuccesvol. Om de vorming van de stabiele boorester te vermijden, werd aandacht besteed aan de selectieve bescherming van de C₂-alcoholgroep als silylether door reactie van **V.20** met *tert*-butyldimethylsilyltriflaat in aanwezigheid van 2,6-lutidine (**schema V.11**). Niet de gewenste C₂-silylether, maar een mengsel van de epimere C₁-silylethers **V.22** werd bekomen als hoofdproduct.



schema V.11

Wanneer echter de epimere C₁-silylethers **V.22** behandeld werden met natriumboorhydride in een mengsel van tetrahydrofuran en water wordt vastgesteld dat enkel het α-epimeer reageert en aanleiding geeft tot een mengsel van de alcoholen **V.23a** en **V.23b** (**schema V.12**). Het β-epimeer blijft onveranderd. De silylether moet een 1,2-migratie ondergaan onder de basische condities vooraleer het hemiacetaal kan gereduceerd worden. Dit verklaart dan ook waarom enkel het α-epimeer kan reageren.

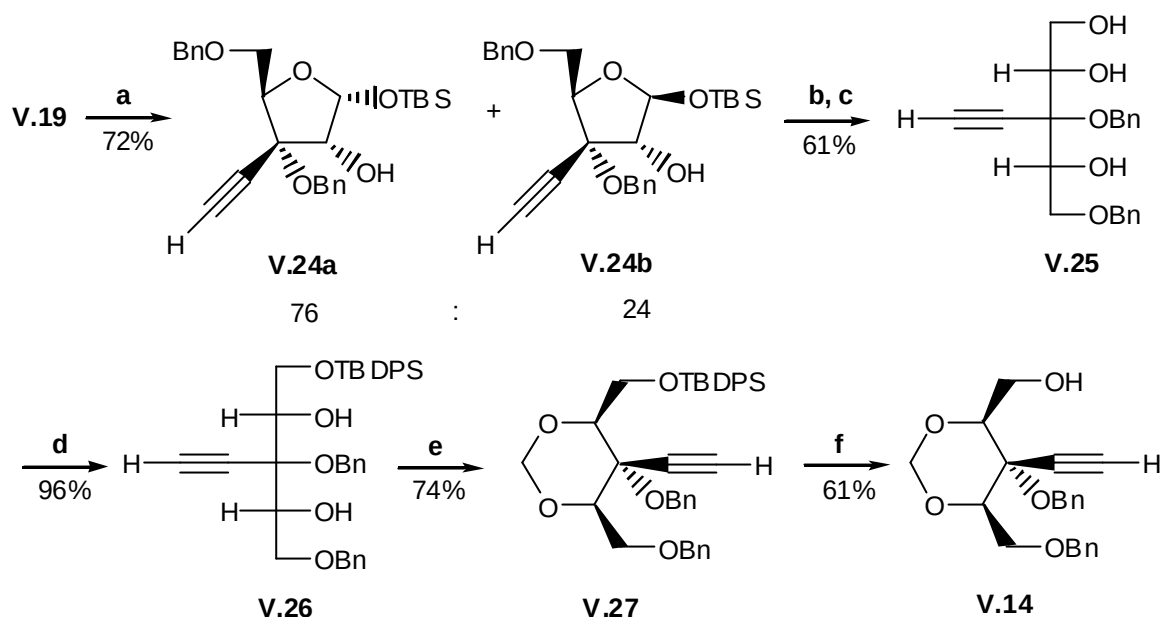


schema V.12

Naar analogie met de literatuur wordt het mengsel aan diolen **V.19** ook behandeld met het silyltriflaats en 2,6-lutidine (schema V.13). Wanneer één equivalent aan triflaats en base wordt gebruikt, dan wordt een mengsel van epimere silylethers **V.24a** en **V.24b** geïsoleerd in een verhouding 70 : 30 met 56% rendement. Als na twee uren roeren bij –78°C een extra equivalent van triflaats en base wordt toegevoegd, dan kan het epimere mengsel aan silylethers in dezelfde verhouding, maar met een hoger rendement (72%) bekomen worden. Daarnaast wordt ook nog de bissilylether geïsoleerd (22%), die na ontscherming met tetrabutylammoniumfluoride weer omgezet kan worden in het oorspronkelijke diol **V.19**. Hierbij moet ook nog opgemerkt worden dat de reactie slechts reproduceerbaar is met één bepaald merk van triflaats.

Reductie van de diastereomere silylethers **V.24** met natriumboorhydride levert een mengsel van de isomere silylethers, analoog aan **V.23**, in een verhouding 91 : 9, naast het ongereageerde β-epimeer **V.24b**. Na zuivering door kolomchromatografie kan het isomere mengsel ontschermd worden met tetrabutylammoniumfluoride en dit levert het triol **V.25**. Vervolgens wordt de primaire alcohol selectief beschermd als *tert*-butyldiphenylsilylether **V.26**.

Op een analoge manier als bij de axiale modelverbindingen wordt de 1,3-dioxaanring gevormd door reactie van het diol **V.26** met dibroommethaan in basisch milieu via fasetransferkatalyse. Er wordt een mengsel aan producten bekomen, waaruit maximaal 74% aan het gewenste **V.27** kan geïsoleerd worden.



a : TBDMSOTf, 2,6-lutidine, CH₂Cl₂, -78°C; **b**: NaBH₄, H₂O/THF; **c**: TBAF, THF, 0°C;
d: TBDPSCl, imidazol, DMAP, DMF; **e**: CH₂Br₂, NaOH (50%), Bu₄NI, H₂O, 1,4-dioxaan;
f: TBAF, THF

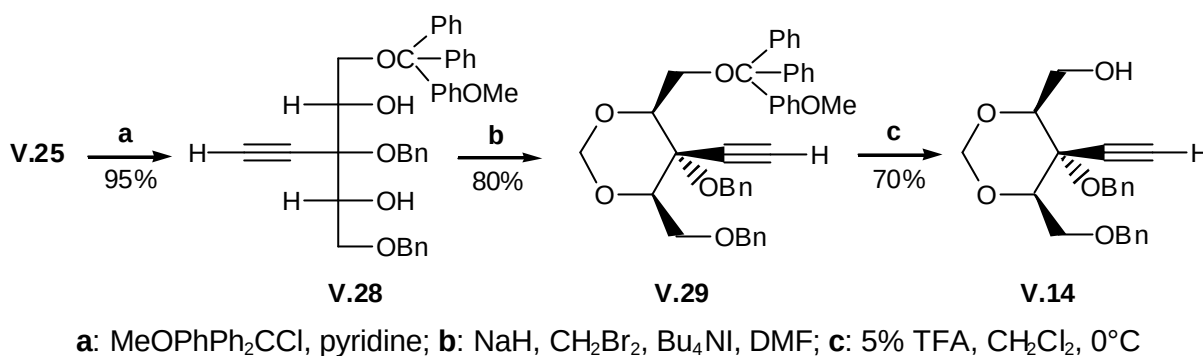
schema V.13

De dioxaanring kan ook gevormd worden door deprotonatie van het diol **V.26** met natriumhydride gevolgd door reactie met dibroommethaan.¹³⁷ Hier wordt slechts 20% aan derivaat **V.27** bekomen. Ontscherming op de gebruikelijke manier levert de gewenste alcohol **V.14** in relatief lage opbrengst, ondanks het feit dat er op TLC op geen enkel moment nevenproducten zichtbaar waren. Waarschijnlijk is tijdens de ringsluitingsreactie de silylgroep niet stabiel onder de gebruikte basische condities. Er treedt gedeeltelijke ontscherming op en dit geeft aanleiding tot nevenproducten.¹³⁸ Er wordt dan ook uitgekeken naar een nieuwe beschermende groep, die stabiel is onder de toegepaste basische condities.

De voorkeur gaat uit naar een methoxytritylgroep, die wel stabiel is onder basische omstandigheden en gemakkelijk ontschermd kan worden onder licht zure condities.

¹³⁷ Cirillo, P.F.; Panek, J.S. *J. Org. Chem.* **1994**, 59, 3055

¹³⁸ a) Shekhani, M.S.; Khan, K.M.; Mahmood, K.; Shah, S.; Malik, S. *Tetrahedron Lett.* **1990**, 31, 1669;
 b) Hatakeyama, S.; Irie, H.; Shintani, T.; Noguchi, Y.; Yamada, H.; Nishizawa, M. *Tetrahedron* **1994**, 50, 13369



schema V.14

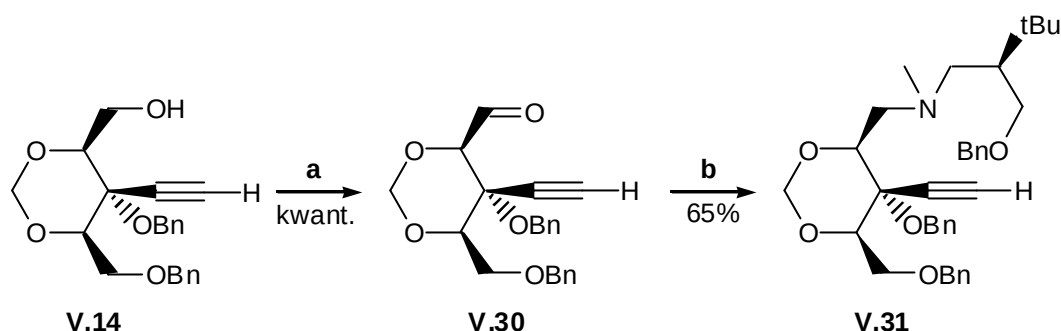
Door behandeling van triol **V.25** met methoxytritylchloride in pyridine wordt de primaire alcoholfunctie selectief beschermd (**schema V.14**). Na deprotonatie van diol **V.28** met natriumhydride wordt door reactie met dibroommethaan de 1,3-dioxaanring gevormd met een goed rendement. De methoxytritylgroep wordt selectief ontschermd door behandeling van **V.29** met een 5% oplossing van trifluorazijnzuur in dichloormethaan bij 0°C. Dit geeft aanleiding tot het gewenste intermediair **V.14** in een behoorlijke opbrengst (12% over 12 stappen).

In de sequentie tot modellen **II.23** en **I.3** is na oxidatie van alcohol **V.14** de introductie van het reeds bereide amine **II.18** via een reductieve koppelingsreactie de eerstvolgende stap. De diynylketen kan geïntroduceerd worden via een *Cadiot*koppeling met 1-joodnonyn.

V.3 Verdere opbouw tot enzymmodel **II.23**

V.3.1 Synthese van aminotriol **II.23**

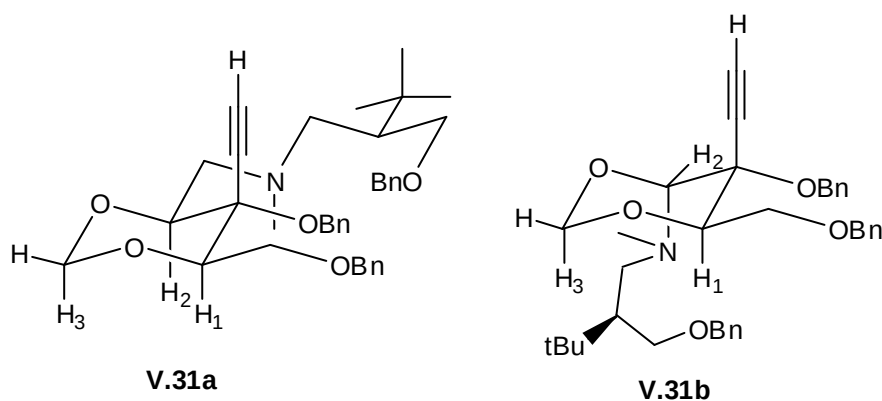
Na oxidatie van de alcohol **V.14** tot het corresponderende aldehyde **V.30**, kan het amine (-)-**II.18** gekoppeld worden via een reductieve aminering (**schema V.15**). Het rendement aan het amine **V.31** is relatief laag, zeker in vergelijking met de rendementen bekomen bij het koppelen van aldehyde **II.21** en hetzelfde amine (-)-**II.18** (zie **schema IV.3**).

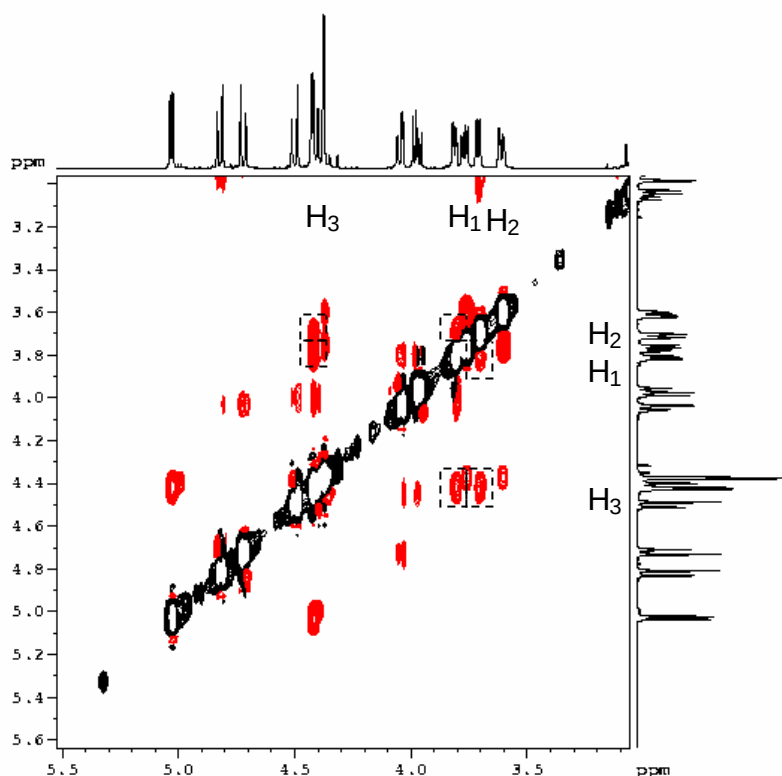


a: Dess-Martin perijodinaan, CH₂Cl₂; **b:** amine (-)-II.18, Na(OAc)₃BH, THF

schema V.15

Er worden na reactie twee diastereomere aminen geïsoleerd, naast het gerecupereerde startproduct, alcohol **V.14**. Waarschijnlijk zorgt het axiaal georiënteerde alkyn voor sterische hinder zodanig dat de vorming van het imine vertraagd wordt. Hierdoor wordt de reductie van aldehyde **V.30** tot **V.14** competitief en wordt de epimerisatie van het aldehyde **V.30** ook belangrijker doordat het amine ook optreedt als base. Zelfs bij 0°C blijkt de epimerisatiereactie een belangrijk nevenproces te zijn. Wanneer aldehyde **V.30** en amine (-)-II.18 tien minuten bij 0°C geroerd worden vooraleer het reductans wordt toegevoegd, stijgt de hoeveelheid aan epimeer amine. De epimerisatie kan vermeden worden door heel snel na mekaar het amine en het hydride toe te voegen aan een gekoelde oplossing van het aldehyde in tetrahydrofuran. De structuur van amine **V.31**, kan bewezen worden aan de hand van 2D-¹H-NMR-spectroscopie (ROESY). Er is duidelijk een positief NOE-effect aanwezig tussen protonen H₁, H₂ en H₃ (**figuur V.3**).





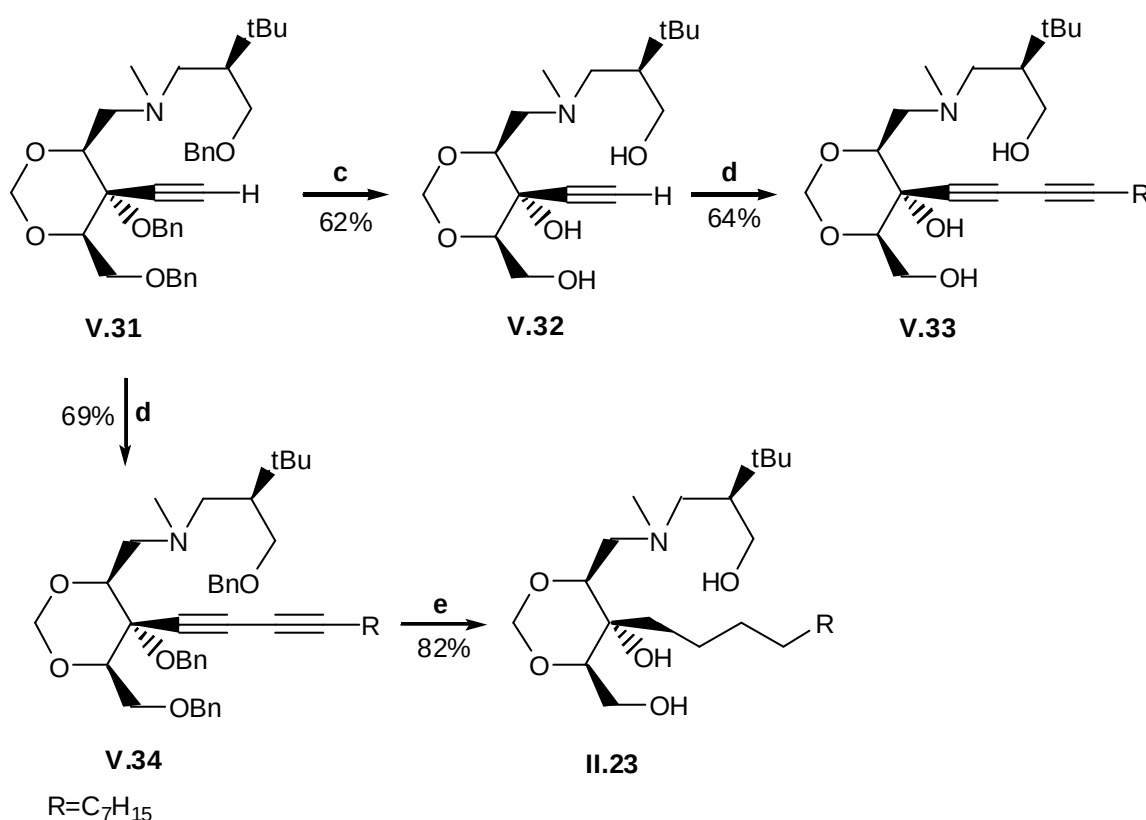
figuur V.3

Voor de introductie van de alkylketen via een *Cadiot*koppeling zijn twee mogelijkheden: ofwel wordt het 1-joodnonyn gekoppeld aan het beschermd triol **V.31** en worden vervolgens de benzylethers ontschermd ofwel wordt de alkylketen gekoppeld aan triol **V.32** (schema V.16).

Benzylethers kunnen ontschermd worden in aanwezigheid van een driedubbele binding door calcium in vloeibaar ammoniak.¹³⁹ Doordat calcium een zwakkere elektrondonor is dan lithium en natrium, dus een milder reductans, kan een grotere selectiviteit ten opzichte van functionele groepen verwacht worden. Onderzoek heeft aangetoond dat de selectiviteit van calcium om een benzylether naast een driedubbele binding te ontschermen 47 keer groter is dan van lithium. Daarnaast blijken de concentratie en het aantal equivalenten calcium cruciaal voor het bekomen van een goede selectiviteit.

¹³⁹ a) Hwu, J.R.; Wein, Y.S.; Leu, Y-J. *J. Org. Chem.* **1996**, 61, 1493; b) Hwu, J.R.; Chua, V., Schroeder, J.E., Barrans Jr., R.E., Khoudary, K.P.; Wang, N.; Wetzal, J.M. *J. Org. Chem.* **1986**, 51, 4733

Er wordt geopteerd om de benzylethers te ontschermen voor de koppeling van het alkyne met 1-joodnonyn. Via ¹H-NMR-spectroscopie is het immers makkelijker om te bepalen in welke mate het alkyne gereduceerd wordt tot het alkeen dan om de reductie van het diyn na te gaan. Het beste rendement aan het gewenste triol **V.32** wordt bekomen door gebruik te maken van 1.3 equivalenten calcium per benzylether in een 0.025 M oplossing aan ammoniak (**schema V.16**).



c: Ca, vloeibaar ammoniak; **d:** 1-joodnonyn, CuI, pyrrolidine; **e:** H₂, Pd/C, pTSA, EtOH

schema V.16

Bij de oplossende metaalreactie wordt een mengsel bekomen van het gewenste alkyne **V.32** en het corresponderende alkeen (80 : 20), die onderling niet te scheiden zijn, daarnaast wordt nog 21% beginproduct **V.31** gerecupereerd. Tenslotte levert koppeling van het terminaal alkyne met 1-joodnonyn het enzymmodel **V.33**, dat echter moeilijk te zuiveren is. Zelfs na twee zuiveringen blijven er onzuiverheden aanwezig die zichtbaar zijn in het ¹H-NMR-spectrum, maar niet op TLC.

De alternatieve route tot **V.33** door eerst 1-joodnonyn te koppelen en dan pas de benzylethers te ontschermen biedt geen oplossing. Aangezien het optreden van mogelijke nevenreacties tijdens de ontscherming van de benzylethers moeilijk te controleren valt.

Bijgevolg wordt gekozen om het model **II.23** met de verzadigde zijketen te synthetiseren, dat gemakkelijk toegankelijk is uit **V.31** in twee stappen (**schema V.16**). Hiervoor wordt het terminaal alkyn in derivaat **V.31** gekoppeld met 1-joodnonyn. Vervolgens worden de benzylethers in **V.34** ontschermd en tegelijkertijd wordt het dijn gereduceerd in een hydrogenatieproces. Dit leidt tot het gewenste derivaat **II.23**. In de hydrogenatie is de aanwezigheid van een zuur, zoals *p*-tolueensulfonzuur, noodzakelijk om de blijvende activiteit van de katalysator te garanderen.

V.3.2 Kinetische evaluatie van **II.23**

Door de aanwezigheid van de equatoriale alcoholgroep op C₇ in **II.23** wordt het mogelijk om de afbraak van het tetrahedraal intermediair via algemene zuurkatalyse te bevorderen. Om deze bijdrage in de katalytische activiteit te kunnen evalueren zijn substraten vereist, waarvoor de uitstoot van de aminevluchtgroep in de hydrolyse de snelheidsbepalende stap is. De best gekende voorbeelden zijn elektronisch geactiveerde acetanilides, zoals *p*-nitro-2,2,2-trifluoracetanilides. Om de invloed van de alkylketen op de reactiviteit van de bereide modelverbinding te kunnen bestuderen, moeten de corresponderende acetanilides met een alkylketen ook beschikbaar zijn. In het geval van het trifluorderivaat is het niet zo evident om een voldoende lange perfluorketen te introduceren. Het is bovendien moeilijk in te schatten welke invloed de fluorgroepen zouden kunnen hebben.

p-Nitroacetanilides zijn beter geschikt omdat uitgaande van *p*-nitroaniline ook de variant met de lange alkylketen gemakkelijk beschikbaar is. Anderzijds zijn we er ons van bewust dat *p*-nitroacetanilides minder reactief zijn en aangezien **II.23** nog niet beschikt over het optimale katalytisch systeem wordt gedacht aan de reactievere

trinitroacetanilides en dinitroacetanilides om de katalytische activiteit te beoordelen.¹⁴⁰

De pK_a's van trinitroaniline en dinitroaniline zijn beduidend lager dan die van *p*-nitroaniline (2,4,6-nitroaniline: 13.6, 2,4-nitroaniline, 14.7, 4-nitroaniline, 19.5 in water), al is er maar een klein verschil tussen het dinitro- en het trinitroderivaat¹⁴¹ Trinitroaromaten kunnen explosief zijn. Bovendien blijkt nucleofiele aromatische substitutie een belangrijke nevenreactie te zijn in de hydrolysereactie van dit amide.¹⁴² De dinitroacetanilides worden daarom verkozen als substraat. Voordeel is ook dat zowel het dinitroacetanilide als het derivaat met lange alkylketen gemakkelijk toegankelijk zijn. Het acetanilide wordt bereid uit dinitroaniline en azijnzuuranhydride. Het andere substraat wordt bekomen door reactie van dinitroaniline met tridecaanzuur in trifluorazijnzuuranhydride.¹⁴³

In de reactie met **II.23** in acetonitril wordt echter geen alcoholyse van het acetanilide, noch van het tridecylderivaat waargenomen, zelfs niet na drie weken. Waarschijnlijk wordt het amideproton gedeprotoneerd door de modelverbinding en wordt de reactie hierdoor gestopt (dinitroacetanilide pK_a = 10.9 in water). Deprotonatie zou vermeden kunnen worden door het amideproton te vervangen door een methylgroep, zoals in methyldinitroacetanilide. Dit alternatief biedt echter geen oplossing daar het tertiair amide veel minder reactief is dan het dinitroacetanilide.¹⁴⁰

Andere geschikte, reactievere substraten die algemene zuurkatalyse toelaten, zijn niet direct voorhanden. Eens het katalytisch systeem vervolledigd is met de polyetherzijketen zal het systeem pas in staat zijn om optimaal functioneren. Het is mogelijk dat het verwachte versnellingseffect op de hydrolyse van minder reactieve substraten, zoals *p*-nitroacetanilides, pas tot uiting kan komen eens de reactie intramoleculair kan verlopen. Het is daarom van belang om verder experimenten uit te voeren met substraten, waarvan de hydrolyse waarschijnlijk niet verloopt via het vooropgestelde mechanisme om meer inzicht te verkrijgen in het aandeel van de entropie op de katalytische activiteit. Uit de experimenten met de modelverbindingen

¹⁴⁰ Kijima, A.; Sekiguchi, S. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1987**, 1203

¹⁴¹ Farrell, P.G., Terrier, F.; Schaal, R. *Tetrahedron Lett.* **1985**, 26, 2435

¹⁴² Sekiguchi, S.; Miyazaki, C.; Motegi, M. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1988**, 1333

¹⁴³ Przystas, T.J.; Fife T.H. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1990**, 393

bereid door A. Madder is immers al gebleken dat het katalytisch gedeelte in staat is te functioneren volgens het voorgestelde werkingsmechanisme.

De eerder gebruikte *N*-acylimidazolen worden gekozen als substraat, omdat die een vergelijking toelaten met de eerder bekomen resultaten. Daarnaast wordt ook voor geactiveerde esters geopteerd omdat die commercieel beschikbaar zijn (*p*-nitrofenylacetaat, PNPA) of gemakkelijk toegankelijk zijn. *p*-Nitrofenyltridecanoat (PNPT) wordt bereid uit tridecaanzuur en *p*-nitrofenol via de DCC-koppelingsprocedure.¹⁴⁴

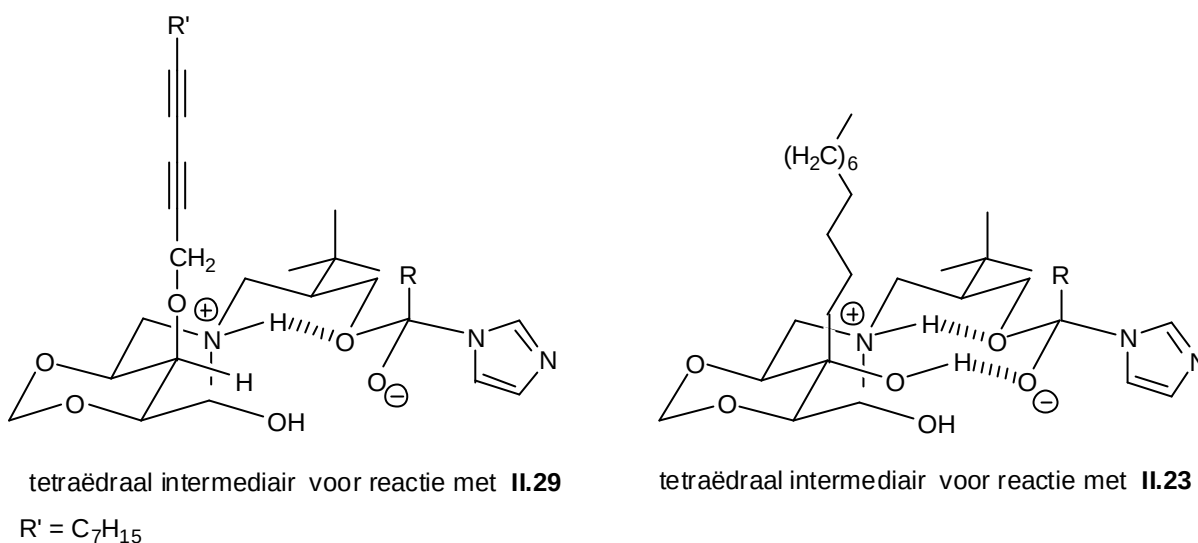
De alcoholyse van geactiveerde esters en *N*-acylimidazolen met **II.23** werd bestudeerd in acetonitril onder *pseudo*-eerste ordecondities via ¹H-NMR-spectroscopie (zie **IV.4.2**).

tabel V.5 : halfwaardetijden voor reactie met **II.23** bepaald via ¹H-NMR-spectroscopie onder *pseudo*-eerste ordecondities in acetonitril (0.05M)

	halfwaardetijd
AcIm	4u 20'
TDI	5u 30'
TDI + per-O-methyl- γ -CD	5u 50'
PNPA	61 u
PNPT	192 u
PNPT + per-O-methyl- γ -CD	157 u

De hydrolyse van de *N*-acylimidazolen verloopt snel in vergelijking met reactie in aanwezigheid van het overeenkomstig axiale model **II.29** (14 u voor AcIm en 33 u voor TDI). Waarschijnlijk kan het oxyanion in het tetraëdrale intermediair nu wel gestabiliseerd worden door de aanwezigheid van de equatoriale hydroxylfunctie, naar analogie met de aminodiolen gesynthetiseerd door A. Madder (**figuur V.4**, zie ook **II.3.2**, **figuur II.16**) .

¹⁴⁴ Gadosy, T.A.; Tee, O.S. *J. Chem. Comm. Perkin Trans. 2* **1994**, 715



figuur V.4

Anderzijds moet opgemerkt worden dat er weer geen herkenning tussen de alkylketens van het substraat en van het model optreedt. Er wordt ook geen invloed van cyclodextrine op de reactiesnelheid waargenomen. Waarschijnlijk is de reactiviteit van de *N*-acylimidazolen nu te groot om nog een effect van cyclodextrine te ondervinden.

De reacties met de *p*-nitrofenylesters zijn beduidend trager dan met de *N*-acylimidazolen. Dit is niet verwonderlijk, vermits reeds aangetoond is dat verankerde 1,3-amino-alcoholen trager reageren met esters dan met *N*-acylimidazolen (zie **IV.4.1**). Ook hier wordt wederom geen invloed van het hydrofoob effect op de reactiesnelheid waargenomen. Wel treedt een kleine versnelling op wanneer *per-O*-methyl- γ -cyclodextrine aanwezig is in het mengsel.

Het solvent waarin de reactie doorgaat speelt een belangrijke rol. De reactie van de esters in acetonitril verloopt zeer traag, in methanol daarentegen is de reactiesnelheid beduidend hoger. Er wordt echter geen acylderivaat gevormd, daarom is er een vermoeden dat de reactie hier verloopt via nucleofiele aanval van methanol op de ester geassisteerd door het amine van model **II.23**.

Om het hydrofoob effect maximaal tot uiting te laten komen zouden de hydrolysereacties moeten verlopen in water. Methanol is niet geschikt, vermits het zelf als nucleofiel optreedt. Modelverbinding **II.23** is niet oplosbaar in water, waardoor het moeilijk wordt de reactie te volgen via ¹H-NMR-spectroscopie. Triol **II.23** beschikt niet over het optimaal functionerend katalytisch systeem en bovendien wordt het volgen van het reactieverloop moeilijker omdat deacylering nu ook kan optreden. Er wordt daarom beslist om aandacht te besteden aan model **I.3** om het effect van de entropie op de activiteit verder te bestuderen.

Voor de evaluatie van de meer volledige katalysatoren **II.24** en **I.3**, die ook beschikken over de polyetherzijketen, zal de reactie met de fenylesters in water bestudeerd worden. *N*-acylimidazolen zijn waarschijnlijk te reactief in water om nog bruikbaar te zijn. Er zal ook nagegaan worden of het katalytisch systeem al in staat is reactieve amiden te splitsen. Vergelijken van de reactiviteit van **II.24**, zonder alkylzijketen en **I.3** zal ons toelaten om de invloed van het hydrofoob effect op de reactiesnelheid te beoordelen.

In wat volgt zal eerst dieper ingegaan worden op de synthese van beide aminotriolen.

V.4 Ontwikkeling van de modelverbindingen II.24 en I.3

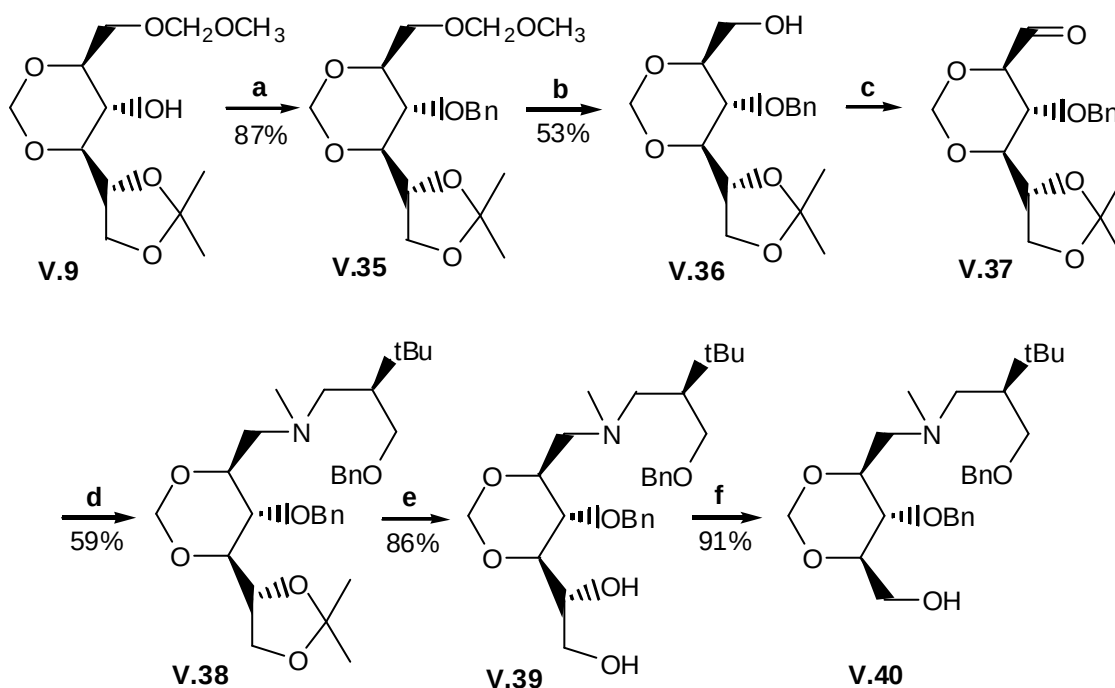
V.4.1 Model zonder alkylzijketen II.24

A. Synthese van intermediair V.39

De secundaire, equatoriale alcoholfunctie in **V.9** wordt beschermd als benzylether door reactie met benzylbromide in aanwezigheid van tetrabutylammoniumjodide als katalysator na deprotonatie met natriumhydride (**schema V.17**). Volgens de literatuur kan de methoxymethylether in **V.35** selectief ontschermd worden naast het acetonide met trimethylsilylbromide.¹⁴⁵ Ook dimethylboorbromide zou een goede selectiviteit

¹⁴⁵ Hanessian, S.; Delorme, D.; Dufresne, Y. *Tetrahedron Lett.* **1984**, 25, 2515

ten opzichte van de methoxymethylether vertonen.¹⁴⁶ Het dimethylboorbromide is echter niet commercieel beschikbaar, daarom wordt geopteerd om de methoxymethylether te ontschermen met trimethylsilylbromide. In ons geval wordt het acetonide ook ontschermd, maar het onstane diol wordt weer selectief beschermd als acetonide door reactie met dimethoxypropanen en een katalytische hoeveelheid *p*-tolueensulfonzuur. Na DMSO-oxidatie van de primaire alcohol **V.36** in aanwezigheid van het zwaveltrioxide-pyridinecomplex, wordt het gevormde aldehyde **V.37** gekoppeld met het enantiomeer zuivere amine **II.18** via een reductieve amineringsreactie.



a: NaH, BnBr, Bu₄NI, THF; **b:** i) TMSBr, CH₂Cl₂, -30°C → kT; ii) dimethoxypropanen, pTSA, CH₂Cl₂; **c:** Dess-Martin perjodinaan, CH₂Cl₂; **d:** amine **II.18**, Na(OAc)₃BH, THF; **e:** 5% HCl, CH₃OH; **f:** amberlyst-A27-IO₄⁻, amberlyst-A27-BH₄⁻, CH₃OH

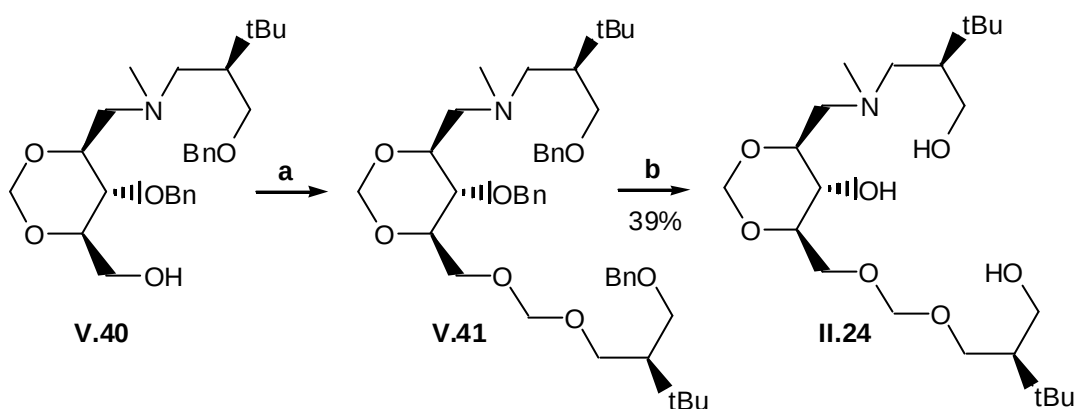
schema V.17

Na ontscherming van het acetonide in zuur milieu wordt een vicinaal diol **V.39** bekomen dat oxidatief gesplitst wordt door geïmmobiliseerd perjodaat. Dit leidt tot een aldehyde dat in situ gereduceerd wordt door geïmmobiliseerd boorhydride tot de corresponderende alcohol **V.40**.

¹⁴⁶ Guindon, Y.; Yoakim, C.; Morton, H.E. *J. Org. Chem.* **1984**, 49, 3912

B. Introductie van de oxyanionstabiliserende groep

In het intermediair **V.40** is de nog vrije primaire alcohol geschikt om via een alkylatiereactie gekoppeld te worden met de reeds bereide chloormethylether **II.19**. Na ontscherming van de benzylethers wordt model **II.24** bekomen dat ook beschikt over de oxyanionstabiliserende zijketen.

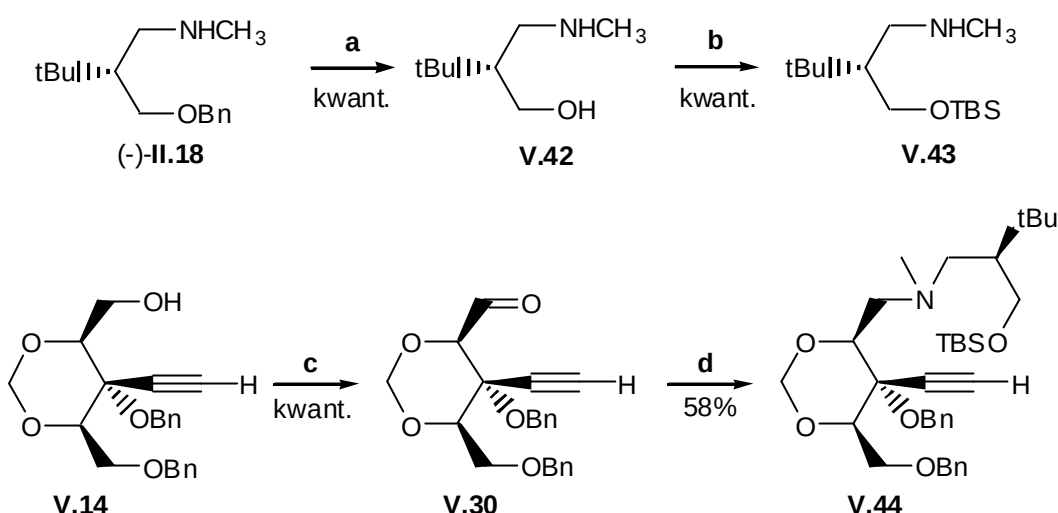


a: NaH, chloormethylether **II.19**, DMF; **b:** Li, vloeibaar ammoniak

schema V.18

V.4.2 Ontwikkeling van aminotriol **I.3**

Om de polyetherzijketen op een selectieve manier vast te kunnen hechten aan de primaire alcohol van het centrale gedeelte is het noodzakelijk de alcoholfunctie in het algemene basekatalyserend gedeelte te beschermen als een silylether (**schema V.19**). Hiertoe wordt in het reeds bereide, amine (-)-**II.18** de benzylether ontschermd en de alcohol wordt beschermd als een *tert*-butyldimethylsilylether. Om een goede opbrengst aan silylether **V.43** te bekomen is het noodzakelijk om dichloormethaan als solvent te gebruiken en niet dimethylformamide. Wanneer de reactie doorgaat in dimethylformamide ontstaat er een nevenproduct, waarschijnlijk door reactie met het solvent, dat zeer moeilijk te scheiden is van het gewenste product. Na oxidatie van de primaire alcohol tot het aldehyde **V.30** kan het amine **V.43** geïntroduceerd worden via een reductieve koppeling.

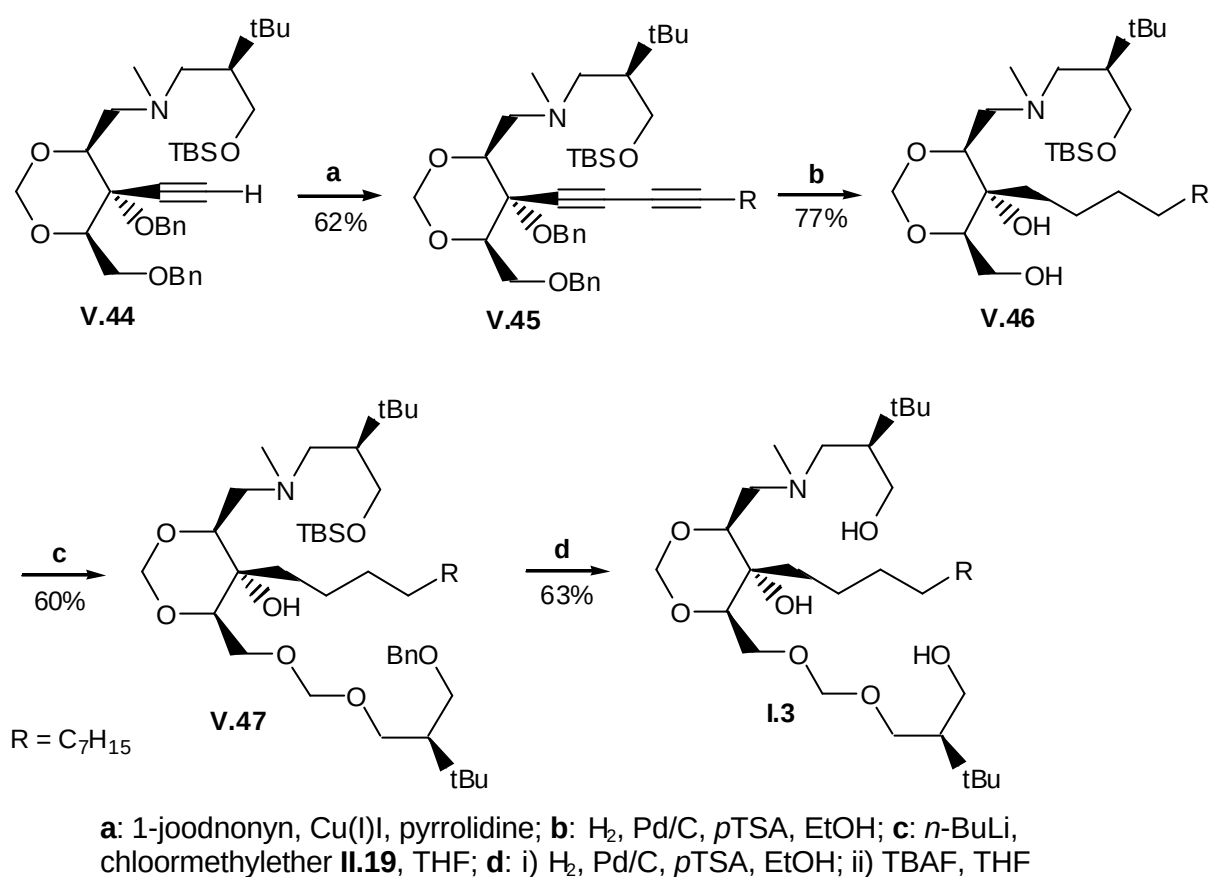


a: Li, vloeibaar NH₃; **b:** TBDMSCl, imidazool, DMAP, CH₂Cl₂; **c:** Dess-Martin perjodinaan, CH₂Cl₂; **d:** amine **V.43**, Na(OAc)₃BH, THF

schema V.19

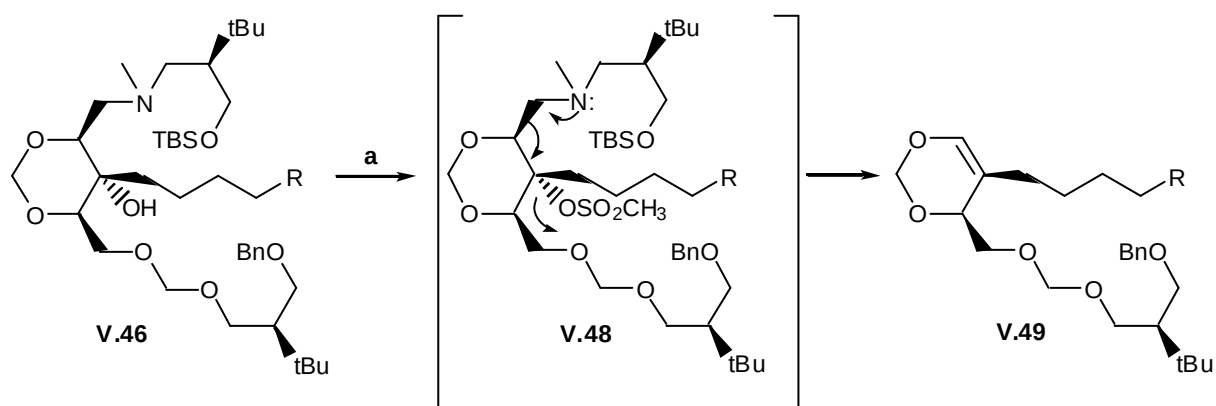
Het rendement aan amine **V.44** is laag, waarschijnlijk wordt de sterische hinder verhoogd door de aanwezigheid van de silylgroep. Er wordt slechts één diastereomeer gevormd en naast het amine **V.44** wordt alcohol **V.14** ook gerecupereerd.

De diynylketen wordt gevormd via een *Cadiot*koppeling van **V.44** met 1-joodnonyn (**schema V.20**). Vervolgens worden de benzylethers ontschermd en tegelijkertijd de diynylketen gereduceerd tot de verzadigde lineaire alkylketen via een hydrogenatiereactie, met vorüing van aminodiol **V.46**. De reactieomstandigheden worden zodanig gekozen dat de ontscherming van de silylgroep geminimaliseerd wordt (zie **V.2.1.A**). De primaire alcohol in **V.46** is nu geschikt als aanhechtingspunt voor de polyetherzijketen. Het gewenste model **I.3** wordt tenslotte bekomen door ontscherming van de benzylether en de silylgroep **V.47** door opeenvolgend te hydrogeneren en te behandelen met tetrabutylammoniumfluoride.



schema V.20

Om te bewijzen dat de primaire alcoholfunctie van **V.46** gealkyleerd wordt in de reactie met de chloormethylether wordt van derivaat **V.47** het corresponderende mesylaat bereid.



schema V.21

Als de primaire alcohol gealkyleerd is, worden in het ¹H-NMR-spectrum van het corresponderende mesylaat geen verschuivingen in shiftwaarde van de alcoholprotonen verwacht. Het mesylaat **V.48** wordt echter niet geïsoleerd, wel derivaat **V.49** dat ontstaat na fragmentatie van de molecule (**schema V.21**). Omdat een dergelijke fragmentatie niet kan plaatsvinden als de primaire alcoholgroep gemesylerd zou zijn, kan besloten worden dat de tertiaire alcoholfunctie gemesylerd is.

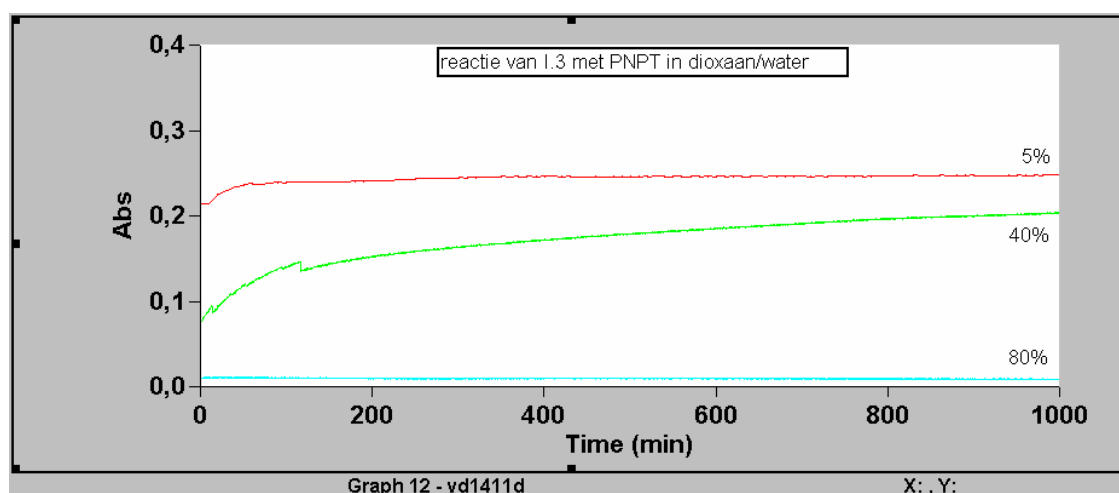
V.5 Evaluatie van de katalytische activiteit van II.24 en I.3

Zoals reeds vermeld zal voornamelijk aandacht besteed worden aan de invloed van het hydrofoob effect op de reactiviteit van model **I.3**. Hiervoor worden de reacties met de reactieve fenylesters bestudeerd in water. De modelverbinding is echter niet oplosbaar in water. Daarom wordt een organisch cosolvent, 1,4-dioxaan, toegevoegd. Hierbij moet opgemerkt worden dat de keuze van verhouding aan water en cosolvent van groot belang is.¹⁴⁷ De snelheid voor basische hydrolyse van *p*-nitrofenylesters bij pH = 10.5 is immers afhankelijk van het medium waarin de reactie plaatsgrijpt. De reactiviteit van *p*-nitrofenylesters met de lange alkylketens (meer dan 4 koolstofatomen in de keten) is het laagst in water. Dit kan te wijten zijn aan sterke onderlinge aggregatie van de hydrofobe alkylketens. Naarmate er gradueel meer organisch cosolvent wordt toegevoegd (dimethylsulfoxide, diglyme of dioxaan) wordt de ester sneller gehydrolyseerd. Door de aanwezigheid van het organisch solvent verdwijnt de aggregatie en stijgt de reactiviteit van de ester.

De hydrolyse van *p*-nitrofenylesters wordt meestal gevolgd via UV-VIS-spectroscopie via de vorming van het *p*-nitrofenolaatanion bij 400 nm. Voordelen zijn dat het een heel gevoelige techniek is en dat er slechts een heel kleine hoeveelheid product nodig is om een experiment uit te voeren (0.05 μmol).

¹⁴⁷ Tee, O.S., Enos, J.A. *Can. J. Chem.* **1988**, 66, 3027

De hydrolyse van zowel *p*-nitrofenylacetaat als *p*-nitrofenyltridecanoaat in aanwezigheid van **I.3** wordt onderzocht in verschillende verhoudingen cosolvent-water. Hierbij worden de bevindingen uit de literatuur bevestigd: in 5% dioxaan/water verloopt de reactie met *p*-nitrofenyltridecanoaat overnacht het traagst, in 40% sneller en in 80% treedt geen reactie meer op (**figuur V.5**). De lage reactiviteit van **I.3** in 80% dioxaan/water is in overeenstemming met de resultaten behaald voor **II.23**. De reactie met dezelfde ester verliep in acetonitril ook zeer traag (**tabel V.5**). Waarschijnlijk is onder deze omstandigheden het hydrofoob effect volledig verdwenen.



figuur V.5

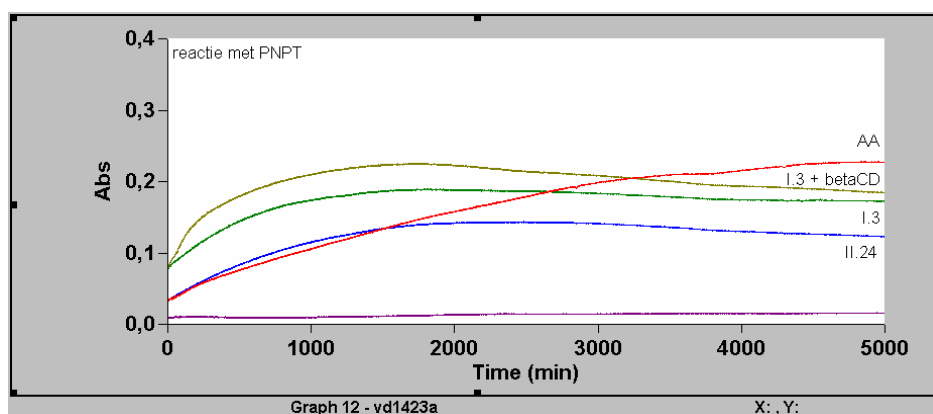
Uiteindelijk blijkt 40% dioxaan/water de optimale verhouding voor de experimenten met **I.3**, omdat onder die omstandigheden de modelverbinding volledig is opgelost. In zowel 20% en zeker in 5% dioxaan/water is het reactiemengsel troebel door het uitvlokken van de modelverbinding, waardoor de metingen soms verstoord kunnen worden. Er moet om dezelfde reden ook overgeschakeld worden naar tweede orde reacties, één equivalent aminotriol ten opzichte van de ester, in plaats van *pseudo*-eerste orde reacties (10 equivalenten modelverbinding).

De katalytische activiteit van **I.3** wordt niet alleen vergeleken met **II.24**, maar ook met *N,N*-dimethyl-*tert*-butyl-1,3-aminopropanol (AA). De reacties worden gevolgd bij 400 nm en kunnen dankzij de multicelblok samen gemeten worden, zodat de temperatuur en de tijdsduur voor elke reactie gelijk is.

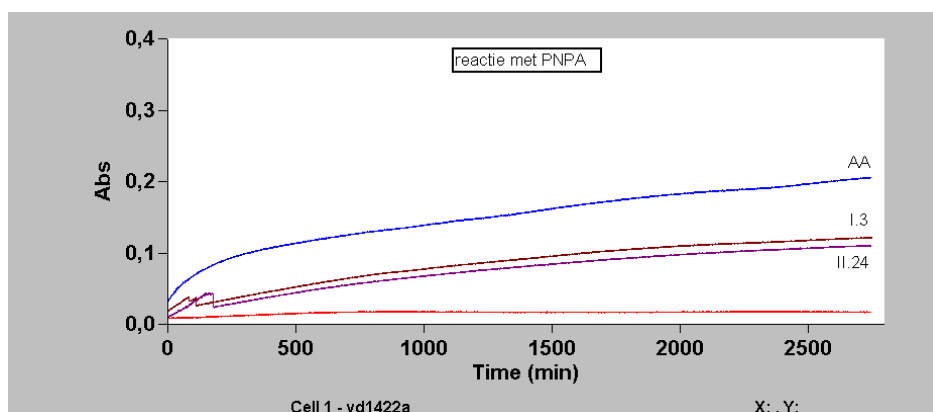
De bekomen resultaten zijn bemoedigend. De reactie van *p*-nitrofenyltridecanoaat met **I.3** verloopt sneller dan met **II.24** en met *N,N*-dimethyl-*tert*-butyl-1,3-aminopropanol (AA) (**figuur V.6a**).

Het versnellingseffect is hoogst waarschijnlijk te wijten aan een herkenning tussen de alkylketens van de modelverbinding en het substraat, want de reactiviteitsvolgorde is omgekeerd voor de hydrolyse van *p*-nitrofenylacetaat (**figuur V.6b**). Hier is *N,N*-dimethyl-*tert*-butyl-1,3-aminopropanol (AA) de beste katalysator.

Ook wanneer niet-gederiviseerd β -cyclodextrine wordt toegevoegd, wordt een positief effect op de reactiesnelheid waargenomen.



figuur V.6a

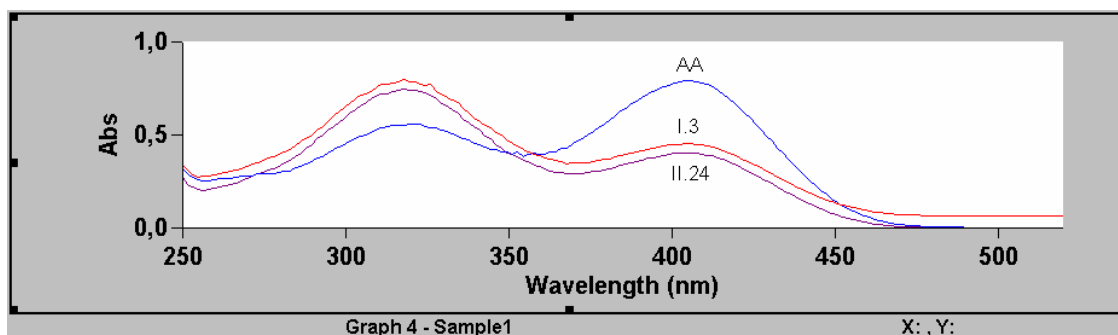


figuur V.6b

Opvallend in de curven is de lage absorbantie (± 0.2) van het gevormde *p*-nitrofenolaatanion, hoewel voor de reactie met **II.24** en **I.3** een plateau bereikt wordt.

Dit zou betekenen dat de ester volledig gehydrolyseerd is. Aan de hand van de zelf bepaalde extinctiecoëfficiënt van *p*-nitrofenolaat onder de gebruikte omstandigheden zou een absorbantie van 1.5 verwacht worden wanneer alle *p*-nitrofenolaat is vrijgesteld.

Echter bij pH = 7 is niet alle tijdens de reactie gevormde *p*-nitrofenol aanwezig als *p*-nitrofenolaat. Er werd immers verwacht dat de basiciteit van de modelverbindingen hoog genoeg zou zijn om alle fenol om te zetten naar het fenolaatanion. In de full wavelength scan, opgenomen van *p*-nitrofenol en één equivalent aan aminoalcohol, is er een duidelijk evenwicht tussen fenol en fenolaat aanwezig (**figuur V.7**).



figuur V.7

Dat het absorptiemaximum van *p*-nitrofenolaat hoger ligt bij *N,N*-dimethyl-2-tert-butyl-1,3-aminopropanol (AA) is waarschijnlijk te wijten aan een verschil in pK_a van de verschillende amines. Studies hebben uitgewezen dat de pK_a van amines sterk wordt beïnvloed door de aanwezigheid van alcoholgroepen.¹⁴⁸ De aanwezigheid van één alcoholgroep verlaagt de pK_a van het amine. Hoe meer alcoholgroepen in een gelijkaardige molecule aanwezig zijn, hoe groter het effect op de pK_a .

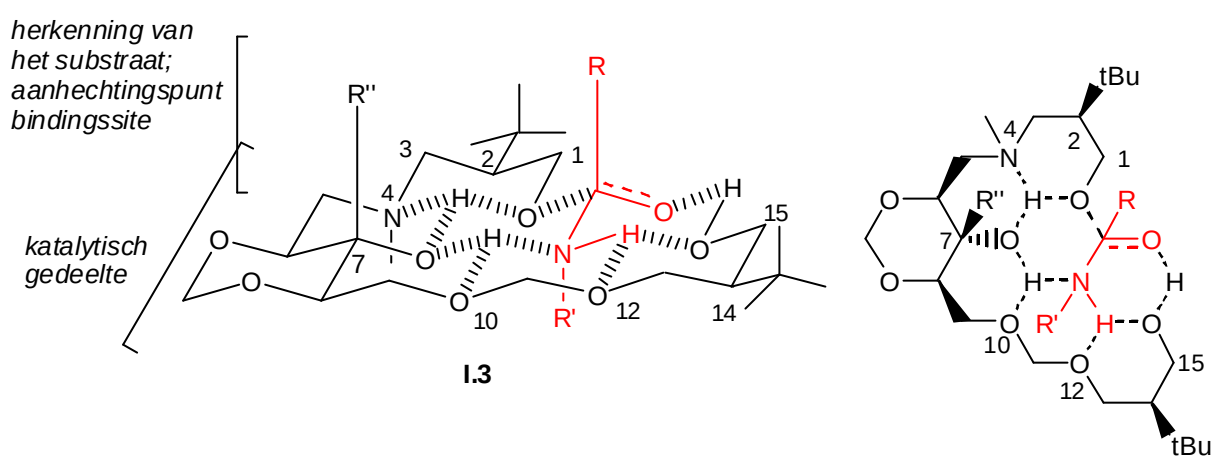
Tenslotte kan nog opgemerkt worden dat er geen hydrolyse van *p*-nitroacetanilide, noch van het analoge acetanilide met een verzadigde alkylketen met **I.3** wordt waargenomen, zelfs niet bij verwarmen van het reactiemengsel tot 45°C. Het solvent waarin de reactie plaatsgrijpt blijkt dus zeer belangrijk te zijn.

¹⁴⁸ Stevens, G.; Chen, S.; Huyskens, P.; De Jaegere, S. *Bull. Soc. Chim. Belg.* **1991**, 100, 493

Er is een positief effect op de hydrolysesnelheid van *p*-nitrofenylesters met een verzadigde alkylketen in een mengsel van 40% dioxaan in water in aanwezigheid van model **1.3** aangetoond. Vermoedelijk wordt de proximateit tussen model en substraat verhoogd door het hydrofoob effect. Er wordt geen effect waargenomen wanneer de reactie verloopt in 80% dioxaan/water. Daarnaast werd ook een versnelling voor dezelfde reactie waargenomen wanneer beide alkylketens gebonden worden in de hydrofobe caviteit van β -cyclodextrine. Dit zijn gunstige resultaten voor de toekomst, omdat de alkylketen kan fungeren als aanhechtingspunt voor een bindingsite, zodanig dat de reactie intramoleculair kan verlopen.

Hoofdstuk VI : Besluit

Het doel van dit doctoraatswerk was de stapsgewijze ontwikkeling van een synthetisch hydrolase **I.3** uitgaande van een suikerderivaat. In de modelverbinding kunnen twee belangrijke delen onderscheiden worden: het katalytisch gedeelte, dat de hydrolyse van het substraat moet bewerkstelligen en de hydrofobe alkylketen die moet instaan voor de herkenning van het substraat (**figuur VI.1**).



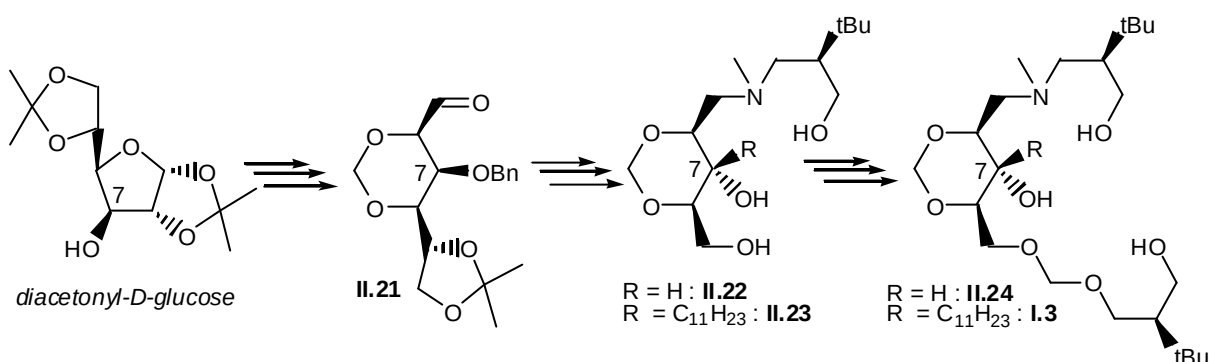
figuur VI.1

Het werkingsmechanisme van het katalytisch gedeelte wordt geïnspireerd door α -chymotrypsine en verloopt ook in twee stappen: de acylering en de deacylering. In de acylering wordt de nucleofiele aanval van de hydroxylfunctie op C₁ bevorderd door algemene basekatalyse van het tertiair amine N₄. De afbraak van het tetraëdraal intermediair wordt geholpen door algemene zuurkatalyse door de alcoholgroep op C₇ in samenwerking met het inmiddels geprotoneerde amine N₄ en zuurstofatoom O₁₀. Het intermediair gevormde oxyanion kan gestabiliseerd worden door waterstofbrugvorming met de polyetherzijketen. De aanwezigheid van geschikte verankerende groepen dwingen de functionele groepen in de juiste oriëntatie.

In polaire media wordt door het hydrofoob effect een verhoogde proximateit verwacht tussen het model en het substraat, ook voorzien van een alkylketen. Dit zou een positief effect op de hydrolysesnelheid moeten hebben. Daarnaast kan de complexatie van beide ketens in de hydrofobe holte van een cyclodextrinederivaat ook de proximateit tussen het model en het substraat verhogen.

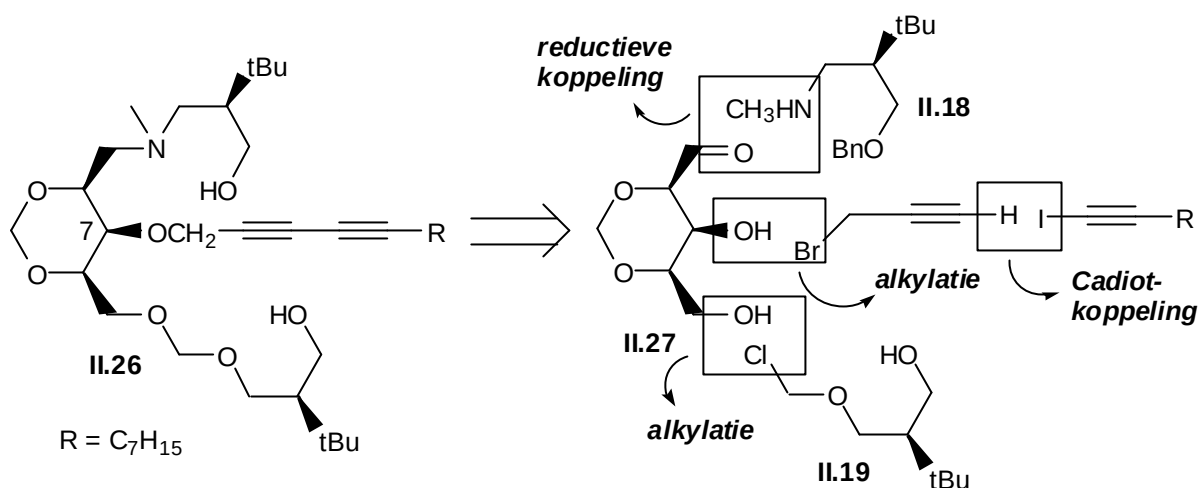
De synthese van de modelverbinding was zo opgevat dat op verschillende stadia van de sequentie de katalytische activiteit van de verschillende intermediären kan geëvalueerd worden. Dit liet ons toe de invloed van zowel de polyetherzijketen als de alkylketen op de reactiviteit van de modellen te beoordelen.

Uitgaande van het commercieel beschikbare diacetyl-D-glucose kan het gewenste enzymmodel **I.3** met de equatoriale alcoholgroep op C₇ slechts bekomen worden door de natuurlijk axiaal georiënteerde alcoholfunctie in intermediair **II.21** te inverteren.



schema VI.1

De axiale oriëntatie van de alcohol zou wel toelaten om een tweede reeks aan modelverbindingen te genereren die niet in staat zijn tot algemene zuurkatalyse. De alkylketen kan gemakkelijk via een alkylatiereactie op de axiale alcoholgroep geïntroduceerd worden (**schema VI.2**). Bovendien zouden de modellen met equatoriale alcoholfunctie toegankelijk zijn uit deze modelverbindingen via inversie van de secundaire alcoholgroep of door introductie van de alkylketen via een organometaalreactie op het corresponderende keton. De opbouw van deze derivaten verliep stapsgewijs, zodat de invloed van de alkylketen en de polyetherketen op de reactiviteit geëvalueerd kon worden.



schema VI.2

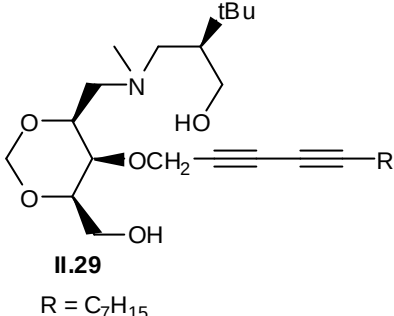
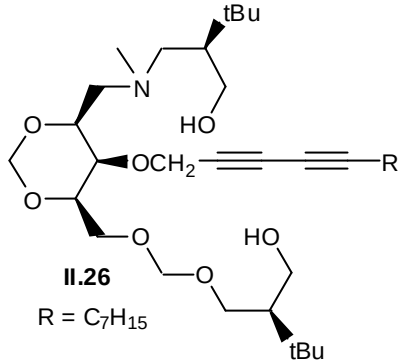
Het centrale gedeelte was toegankelijk uit het commercieel beschikbare diacetyl-D-glucose. Het enantiomeer zuiver amine **II.18** werd ingevoerd via een reductieve koppelingsreactie. Er werden verschillende reactiewegen onderzocht om het amine **II.18** te bereiden. Het kon niet bekomen worden via enantioselectieve routes. Na resolutie van carbonzuur **III.2** via diastereomere zoutvorming met (*R*)-methylbenzylamine, kon na reductie van het zuur, de corresponderende alcohol gemakkelijk omgezet worden in het gewenste amine. De chloormethylether **II.19** was ook toegankelijk uit carbonzuur **III.2**, nu geresolveerd met (*S*)-methylbenzylamine en werd ingevoerd via een alkylatiereactie. De verzadigde alkylketen kon niet geïntroduceerd worden via een alkylatiereactie. Er werd tenslotte geopteerd voor een diynylketen. De introductie vergde twee opeenvolgende stappen: alkylatie met het reactieve propargylbromide, gevolgd door een *Cadiot-Chodkiewicz*reactie met 1-joodnonyl (schema VI.2).

De reactiviteit van deze modellen werd geëvalueerd ten opzichte van *N*-acylimidazolen, omdat deze substraten geen algemeen zuurgekatalyseerde afbraak van het tetraëdrale intermediair vereisen. De reacties in acetonitril werden gevolgd onder *pseudo*-eerste ordecondities via 1H -NMR-spectroscopie.

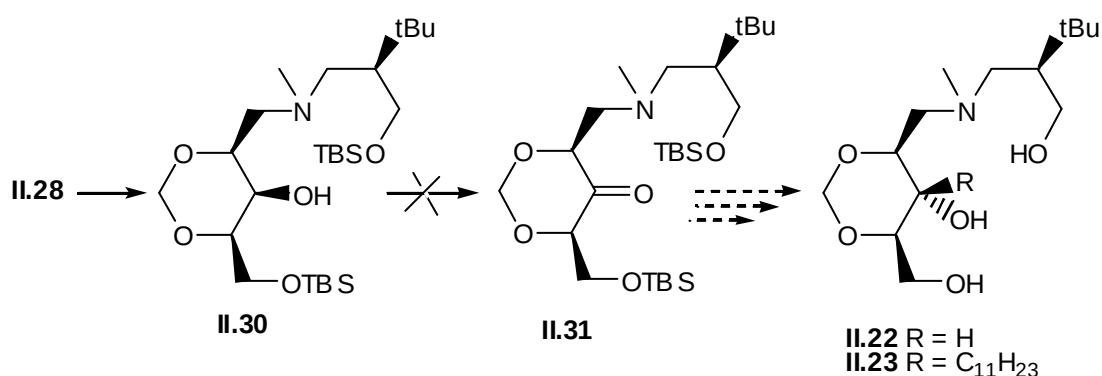
Er werd voor de modelverbindingen **II.26** en **II.29**, voorzien van de diynylzijketen geen versnelling waargenomen voor de reactie met *N*-tridecanoylimidazool in vergelijking met *N*-acetylimidazool. Waarschijnlijk is acetonitril geen goed solvent om het gewenste hydrofoob effect te induceren (tabel VI.1).

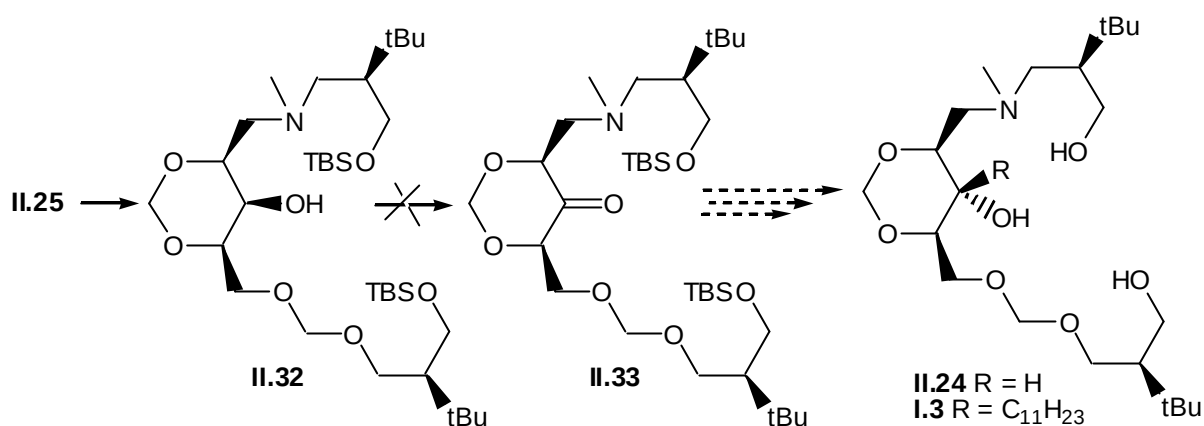
Daarentegen werd wel een positief effect op de snelheid van de reactie met *N*-tridecanoylimidazool waargenomen door de aanwezigheid van de polyetherzijketen in **II.26** in vergelijking met **II.29**. Wanneer *per*-methyl- γ -cyclodextrine zich in het reactiemengsel bevindt, werd ook een kleine versnelling geconstateerd.

tabel VI.1: halfwaardetijd voor de reactie met *N*-acylimidazolen onder pseudo-eerste ordecondities in acetonitril bepaald via ^1H -NMR-spectroscopie

 II.29 R = C₇H₁₅  II.26 R = C₇H₁₅		
Aclm	~14u	~20u
TDI	~33u	~28u
TDI + <i>per</i> -O-methyl- γ -CD	~20u30'	~9u

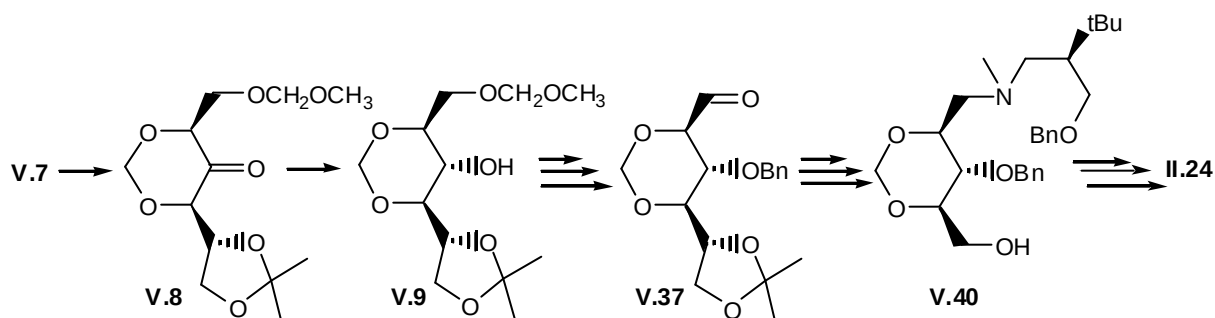
De modelverbindingen met de equatoriale alcoholfunctie op C₇ waren niet toegankelijk uit de reeds bereide enzymmodellen na oxidatie en reductie van de secundaire alcohol of via een organometaalreactie. De oxidatie van de alcohol in **II.30** en **II.32** bleek problematisch: de ketonen **II.31** en **II.33** konden niet geïsoleerd worden (**schema VI.3**).





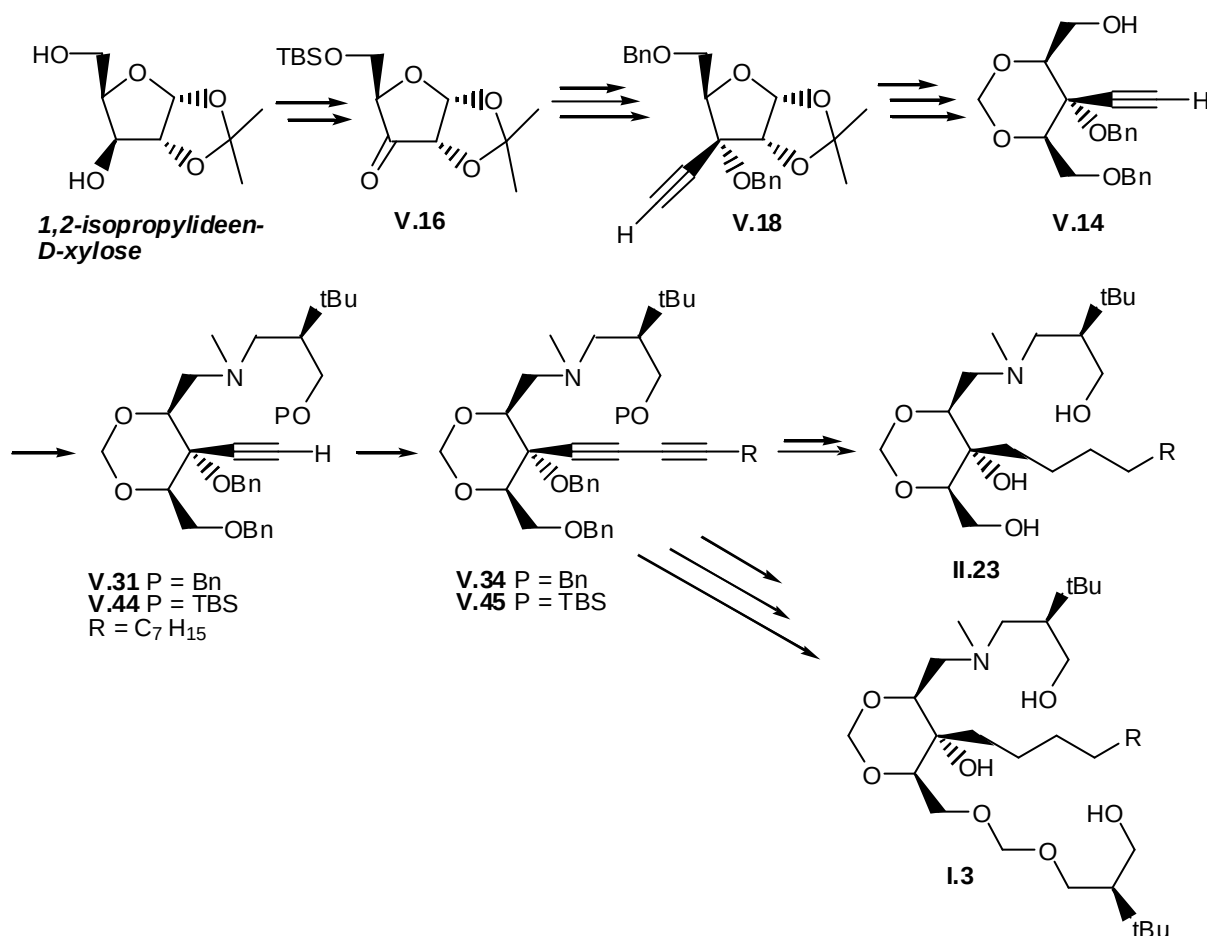
schema VI.3

Model **II.24** werd bekomen door inversie van de axiale alcohol via de oxidatie-reductiemethode vertrekkend uit derivaat **V.7** met de axiale alcohol op C₇.



schema VI.4

Voor de synthese van **II.23** en **I.3**, met incorporatie van de alkylzijketen werd uitgegaan van 1,2-isopropylideen-D-xylose. De introductie van de alkylketen vereiste weer twee stappen: via een organometaalreactie met het keton **V.16** werd trimethylsilylacetyleen geïntroduceerd en op het einde van de sequentie werd 1-joodnonyl eraan vastgehecht via een *Cadiot*koppeling. Door problemen met de selectieve ontscherming van de benzylethers naast het alkyn, werd de diynylketen gereduceerd tot de verzadigde alkylketen (**schema VI.5**).



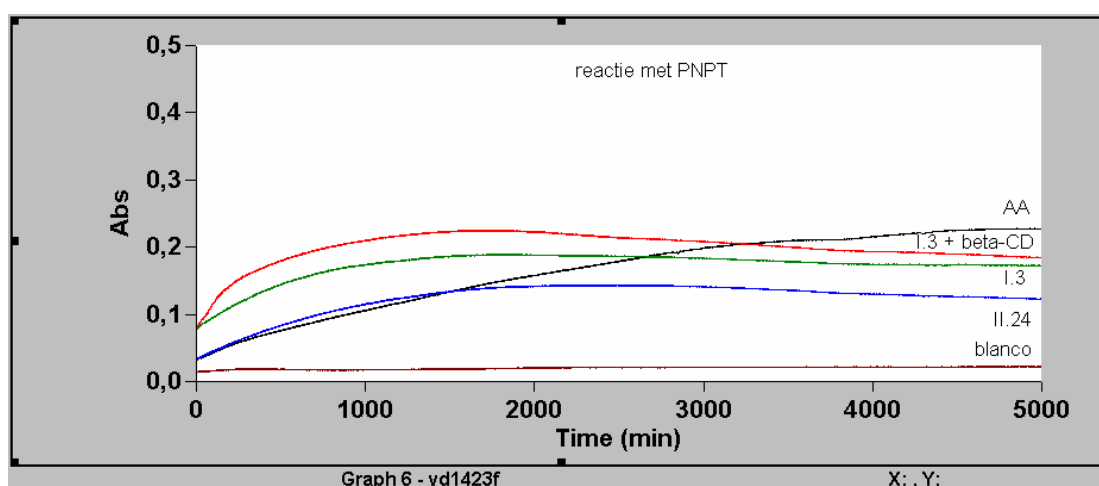
schema VI.5

De aanwezigheid van de equatoriale alcoholfunctie op C₇ zou de enzymmodellen in staat moeten stellen tot algemene zuurkatalyse. De reactiviteit van **II.23** werd geëvalueerd ten opzichte van 2,6-dinitroacetanilide in acetonitril onder *pseudo*-eerste ordecondities. Er gebeurde niets, waarschijnlijk wordt het acetanilide gedeprotonoord door het model en valt daardoor de reactie stil. Er waren niet direct andere, reactieve amidesubstraten voorhanden die algemene zuurgekatalyseerde afbraak van het tetraëdrale intermediair toelaten. Bovendien was in dit project het onderzoek naar invloed van de entropie op de reactiviteit van de potentiële hydrolasen het meest belangrijk. Uit de behaalde resultaten door *A. Madder* was al voldoende gebleken dat het katalytisch gedeelte kan werken volgens het vooropgestelde mechanisme.

Er werd daarom geopteerd om de reactiviteit van **II.23** te beoordelen ten opzichte van reactieve substraten, zoals *N*-acylimidazolen en *p*-nitrofenylesters, die waarschijnlijk niet reageren via het vooropgestelde mechanisme. In het geval van de *N*-acylimidazolen verliep de hydrolyse veel sneller dan met **II.29**. Dit is waarschijnlijk te wijten aan de stabilisatie van het oxyanion door de alcoholgroep op C₇. Er werd geen effect op de snelheid waargenomen door het hydrofoob effect, noch wanneer *per-O*-methyl- γ -cyclodextrine in het mengsel aanwezig is. Ondanks het feit dat de alcoholysesnelheid voor de esters ook niet beïnvloed werd door het hydrofoob effect, werd wel een positief effect vastgesteld door de aanwezigheid van *per-O*-methyl- γ -cyclodextrine. Het werd steeds meer duidelijk dat, om het hydrofoob effect te kunnen waarnemen, de reactie moest verlopen in water.

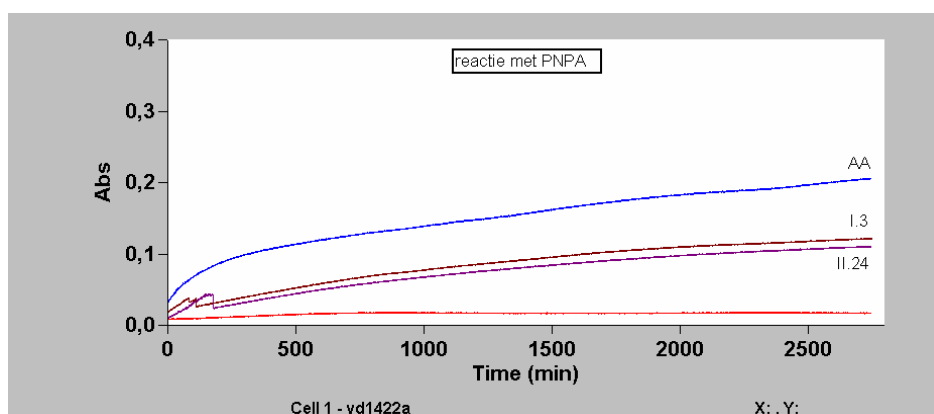
De katalytische activiteit van **I.3** en **II.24** werd daarom beoordeeld ten opzichte van de *p*-nitrofenylesters in een 40% dioxaan/water mengsel via UV-VIS-spectroscopie. Immers de reactie met *p*-nitrofenylesters is gemakkelijk te volgen via de vorming van het *p*-nitrofenolaatanion en er zijn slechts kleine hoeveelheden vereist.

Voor de ester voorzien van de verzadigde alkylketen, PNPT, is de reactie in 40% dioxaan/water met **I.3** sneller dan met **II.24** en met *N,N*-dimethyl-2-*tert*-butyl-1,3-aminopropanol (AA) (**figuur VI.2**).



figuur VI.2

Het versnellend effect kan waarschijnlijk toegeschreven worden aan het hydrofoob effect, gezien voor de reactie met *p*-nitrofenylacetaat, PNPA, de omgekeerde reactiviteitsvolgorde geldt (**figuur VI.3**). Daarnaast werd ook een versnellingseffect voor de reactie van PNPT met **I.3** waargenomen wanneer er β -cyclodextrine in het reactiemengsel aanwezig is.



figuur VI.3

Er kan dus gesteld worden dat indien de reactie tussen modelverbinding **I.3** en reactieve esters in water verloopt, de reactie effectief versneld wordt door het hydrofoob effect. De complexatie van de ketens in de caviteit van een cyclodextrinederivaat leiden effectief tot een verhoogde proximateit tussen model en substraat, waardoor een positieve invloed op de reactiesnelheid kan worden vastgesteld. Wanneer de alkylketen zal fungeren als aanhechtingspunt voor een geschikte bindingssite zal de reactie intramoleculair kunnen verlopen, waardoor de hydrolyse van geactiveerde amidebindingen, zoals *p*-nitroacetanilides mogelijk versneld zouden kunnen worden.

Hoofdstuk VII : Experimenteel gedeelte

VII.1 Product- en toestelspecificaties

Alle reacties werden uitgevoerd onder inerte atmosfeer (argon of stikstof) in vooraf gedroogd glaswerk en in gedroogde en gedestilleerde solventen, tenzij anders vermeld. De reacties werden gevolgd via dunnelaagchromatografie op silicagelplaten (Merck silicagel, 60F254, 0.25 mm dikte). Tetrahydrofuran en diëthylether werden voor gebruik gedestilleerd van natrium/benzofenon. Toluëen werd gedestilleerd van natrium. Dichloormethaan, triëthylamine, pyridine, diisopropylamine en diisopropylethylamine werden gedestilleerd van calciumhydride. Ethanol en methanol werden gedroogd op magnesium/dijood. 'Extra dry' acetonitril, dimethylsulfoxide en dimethylformamide werden gebruikt van Biosolve.

Voor de zuiveringen door middel van kolomchromatografie op silicagel werd gebruik gemaakt van het type Vetikon 0.06-0.2 mm voor de scheidingen op grote schaal, scheidingen op kleine schaal werden uitgevoerd door High Performance Liquid Chromatography (HPLC) op een Rsil-fase (10 µm) met RI-detectie. Alle amines werden gezuiverd door kolomchromatografie op Merck silica type 9385 (200-400 mesh). Zeer zuurgevoelige producten werden gezuiverd op florisil (Aldrich, 100-200 mesh).

De R_f-waarden zijn aangegeven voor Merck silicagel 60F254.

De infraroodspectra (IR) werden opgenomen met een Perkin-Elmer 1600 series FTIR-spectrometer voor de olie-achtige producten van een film tussen kaliumbromideplaatjes, voor de vaste producten werden kaliumbromideplaatjes geperst. De gebruikte afkortingen voor de IR-data zijn: s (strong), m (medium), w (weak), br (breed).

De massaspectra (MS, elektronimpact) werden opgenomen met een AEI MS-50, een Hewlett-Packard 5988 A of een Finnigan 4000 massaspectrometer.

De elektronspray massaspectra (ES- MS-positive mode) werden opgenomen met een Hewlett-Packard 5989 B massaspectrometer of met een Finnigan MAT LCQ massaspectrometer.

De ^1H -NMR-spectra werden opgenomen in gedeutereerd chloroform, acetonitril, benzeen, dimethylsulfoxide of methanol bij 200 MHz (Varian Gemini 200) of bij 500 MHz (Bruker AN-500). De chemische verschuivingen worden uitgedrukt in ppm ten opzichte van residueel CHCl_3 (7.26 ppm), CH_3CN (1.94 ppm), C_6H_6 (7.15 ppm), CH_3SOCH_3 (2.5 ppm) of H_2O in CH_3OH (4.84 ppm) als inwendige standaard. De gebruikte afkortingen voor NMR-data zijn: s (singlet), d (doublet), t (triplet), q (quadruplet), br (breed), fs (fijn structuur). De ^{13}C -NMR/DEPT/APT-spectra werden opgenomen in gedeutereerd chloroform, benzeen of methanol bij 50 MHz (Varian Gemini 200) of bij 125 MHz (Bruker AN-500). De chemische verschuivingen worden uitgedrukt in ppm ten opzichte van residueel CHCl_3 (77.00 ppm), methanol (49.02 ppm) of benzeen (128.06 ppm) als inwendige standaard.

De smeltpunten werden gemeten met een smeltmicroscop en zijn niet gecorrigeerd. De optische draaiing $[\alpha]_{\text{D}}$ van de enantiomeer zuivere producten werd gemeten met een Perkin-Elmer 241 polarimeter bij 385 nm (Na-D-lijn).

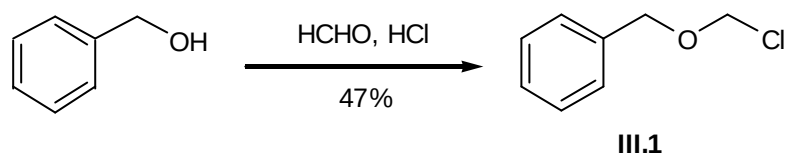
De elementaire analyses (C, H, N) werden uitgevoerd door het 'Centre Regional de Microanalyse' van de 'Université Pierre et Marie Curie' in Parijs.

VII.2 Experimenteel gedeelte bij Hoofdstuk III

VII.2.1 Resolutie door diastereomere zoutvorming

A. Resolutie met α -methylbenzylamine

Synthese van benzylchloromethylether **III.1**:

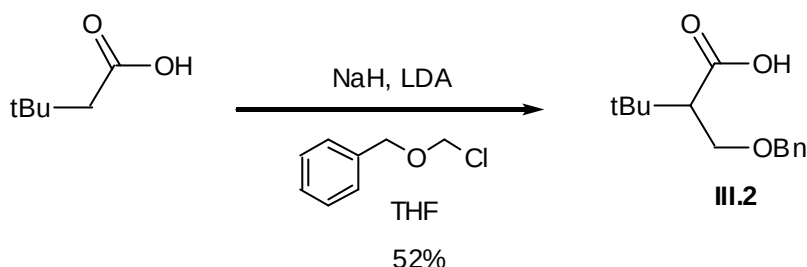


Door een mengsel van benzylalcohol (129.6 g, 1.200 mol) en formaldehyde (110.5 ml van een 35% waterige oplossing), wordt bij 0°C waterstofchloridegas geleid tot de oplossing verzadigd is. De temperatuur van het reactiemengsel wordt hierbij constant beneden 10°C gehouden. Het waterstofchloridegas wordt gevormd door aan geconcentreerd zwavelzuur een geconcentreerde waterstofchloride-oplossing (37% in water) toe te druppelen. Na 9 uren wordt de gastoevoer gestopt en het reactiemengsel wordt geëxtraheerd met pentaan. De verzamelde organische fasen worden gewassen met water, met een verzadigde natriumbicarbonaatoplossing en met een verzadigde natriumchloride-oplossing. De gewassen organische fase wordt overnacht gedroogd op calciumchloride. Na indampen wordt het ruwe reactieproduct gezuiverd door destillatie bij verminderde druk (kookpunt: 70°C bij 0.8 mmHg). Er wordt 87.82 g aan benzylchloromethylether **III.1** bekomen (47%).

Brutoformule: $\text{C}_8\text{H}_9\text{OCl}$

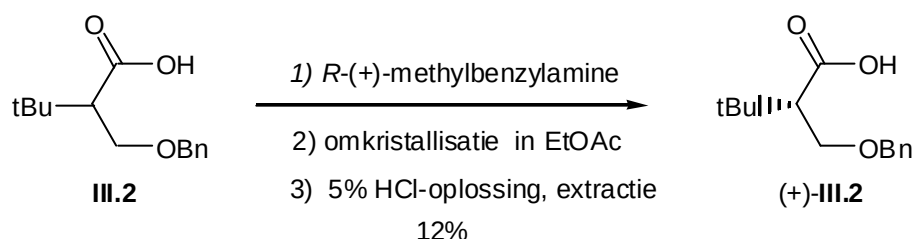
Moleculair gewicht: 157.2 g/mol

^1H -NMR (200MHz, CDCl_3): 4.78 (2H, s), 5.55 (2H, s), 7.40 (5H, m) ppm

Synthese van racemisch carbonzuur **III.2**:

Aan een suspensie van natriumhydride (1.05 eq., 0.137 mol, 5.52 g van een 60% suspensie in minerale olie) en diisopropylamine (1.05 eq., 0.137 mol, 19.2 ml) in tetrahydrofuran (0.65 M, 200 ml) wordt bij 0°C en onder roeren met een mechanische roerstaaf *tert*-butylazijnzuur (15 g, 0.130 mol) toegedruppeld. Als alle zuur is toegevoegd wordt een moeilijk roerbare suspensie bekomen, die wordt opgewarmd tot koken onder terugvloeiakoeling gedurende 15 minuten. Vervolgens wordt het mengsel opnieuw afgekoeld tot 0°C en bij die temperatuur wordt *n*-butyllithium (1.05 eq., 0.137 mol, 86 ml van een 1.6 M oplossing in hexaan) aan het mengsel toegevoegd. Er wordt erop gelet dat de temperatuur van het reactiemengsel niet stijgt boven 10°C. Na volledige toevoeging wordt het mengsel opgewarmd tot 30°C en bij die temperatuur nog 10 minuten geroerd. Een oplossing van benzylochloormethylether **III.1** (1.2 eq., 0.163 mol, 25.30 g) in tetrahydrofuran (8.15 M, 20 ml) wordt aan het reactiemengsel toegevoegd bij 0°C. Tijdens het toevoegen stijgt de temperatuur van het reactiemengsel niet boven 20°C. De reactie wordt overnacht verder geroerd bij kamertemperatuur.

Na toevoegen van ijs-water wordt het mengsel geëxtraheerd met diëthylether, nadien wordt de waterfase aangezuurd tot pH = 1 en opnieuw geëxtraheerd met diëthylether. De verzamelde fasen worden gewassen met een verzadigde natriumchloride-oplossing en gedroogd op anhydrisch magnesiumsulfaat. Het bekomen product, na indampen van het solvent onder verminderde druk, bevat naast het gewenste zuur ook nog een beetje *tert*-butylazijnzuur, dat kan verwijderd worden door Kugelrohrdestillatie (kookpunt: 60°C bij 0.35 mm Hg). Er wordt 15.95 g zuiver eindproduct **III.2** bekomen (52%).

Brutoformule: C₁₄ H₂₀ O₃**Moleculair gewicht:** 236.3 g/mol**R_f** (isooctaan : ethylacetaat : azijnzuur 5 : 4.5 : 0.5) : 0.58**IR (KBr, film):** 3730-2400, 3460, 3020, 2920, 1725, 1520, 1505, 1475, 1455, 1425, 1395, 1380, 1335, 1285, 1240 cm⁻¹**MS (m/z):** 236 (M⁺, 2), 190 (2), 179 (2), 107 (50), 92 (100), 79 (10), 65 (12), 57 (24), 41 (19)**¹H-NMR (500MHz, CDCl₃):** 1.07 (9H, s), 2.62 (1H, dd, *J* = 3.8, 10.4 Hz), 3.67 (1H, dd, *J* = 3.8, 9.0 Hz), 3.79 (1H, dd, *J* = 9.2, 10.3 Hz), 4.55 (2H, s), 7.25-7.35 (5H, m) ppm**[α]_D** = +16.0 (*c* = 0.75 in CH₃OH na resolutie)**Resolutie:**

Aan een oplossing van het racemisch carbonzuur ($\pm$)-**III.2** (92.13 g, 0.390 mol) in kokende ethylacetaat (780 ml) wordt een oplossing van *R*-(+)-methylbenzylamine (1 eq., 0.390 mol, 50.3 ml) in ethylacetaat (113 ml) toegedruppeld. Het mengsel wordt vervolgens nog een halfuur verder gekookt onder terugvloeiakoeling. Het zout kristalliseert uit na langzame afkoeling overnacht; waarna het afgefiltreerd wordt en gewassen wordt met koude diëthylether. Na 5 omkristallisaties van het ammoniumzout in ethylacetaat (11 ml solvent voor 1.5 g zout) wordt het carbonzuur terug vrijgesteld door behandelen van het zout met een 5% waterstofchloride-oplossing en extractie met dichloormethaan. De verzamelde fasen worden gewassen met een verzadigde natriumchloride-oplossing, gedroogd op anhydrisch magnesiumsulfaat en ingedampt. Er wordt 10.7 g aan enantiomeer zuiver carbonzuur (+)-**III.2** bekomen (12%).

De enantiomere zuiverheid van het carbonzuur wordt bepaald door $^1\text{H-NMR}$, na transformatie van een kleine hoeveelheid van het carbonzuur in de corresponderende ester. Dit wordt bereid door aan een oplossing van het carbonzuur (+)-**III.2** (20 mg, 0.085 mmol) in diëthylether (0.1 M, 850 μl) een oplossing van diazomethaan in diëthylether toe te voegen tot het mengsel niet meer bruist. Het mengsel wordt dan nog een kwartier bij kamertemperatuur geroerd en de overmaat aan diazomethaan wordt vernietigd door het toevoegen van silicagel. Na affiltreren van de silicagel wordt het filtraat ingedampt onder verminderde druk. De conversie is kwantitatief, er wordt 21 mg aan methylester bekomen.

De enantiomere zuiverheid wordt bepaald door opname van een $^1\text{H-NMR}$ -spectrum van de methylester in aanwezigheid van het chirale shift reagens *tris*-((3-heptafluorpropylhydroxymethyleen)-(+)-kamfer)-europium(III).

Brutoformule: $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}_3$

Moleculair gewicht: 250.3 g/mol

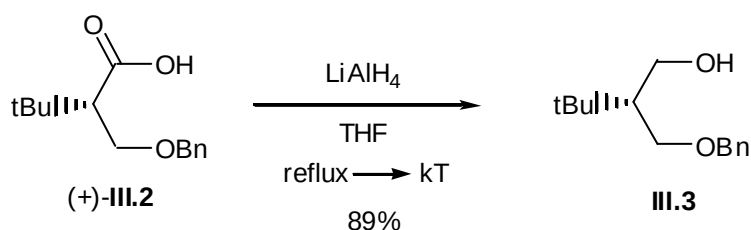
R_f (isooctaan : ethylacetaat 6 : 4): 0.59

IR (KBr, film): 3080, 3050, 3020, 2950, 1730, 1600, 1580, 1470, 1450, 1365, 1355, 1200, 1110, 730, 690 cm^{-1}

MS (m/z): 250 (M^+ , 1), 219 (1), 196 (6), 170 (25), 164 (1), 144 (5), 100 (25), 91 (100), 87 (54), 41 (33)

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3): 0.92 (9H, s), 2.60 (1H, dd, $J = 3.8, 10.5$ Hz), 3.60 (1H, dd, $J = 3.8, 8.9$ Hz), 3.70 (3H, s), 3.80 (1H, dd, $J = 8.9, 10.5$ Hz), 4.55 (2H, s), 7.30 (5H, m) ppm

*Reductie van zuur (+)-**III.2** tot alcohol **III.3**:*



Een suspensie van lithiumaluminiumhydride (2 eq., 0.089 mol, 3.37 g) in tetrahydrofuran (0.75 M, 118 ml) wordt opgewarmd onder terugvloei-coeling.

Hieraan wordt een oplossing van het carbonzuur (+)-**III.2** (10.52 g, 0.044 mol) in tetrahydrofuran (28 ml) voorzichtig toegedruppeld. Hevige schuimvorming en gasontwikkeling worden hierbij waargenomen. Nadat alles is toegevoegd wordt het mengsel nog één uur gerefluxed; daarna langzaam afgekoeld tot kamertemperatuur en geroerd overnacht. Vervolgens wordt voorzichtig een 10% waterstofchloride-oplossing aan het mengsel toegevoegd bij 0°C tot dat de tijdens de reactie gevormde neerslag opnieuw oplost. De waterfase wordt dan geëxtraheerd met dichloormethaan, de organische fasen worden gewassen met een verzadigde natriumchloride-oplossing en gedroogd op anhydrisch magnesiumsulfaat. De bekomen alcohol **III.3** is zuiver genoeg voor verdere reactie, er wordt 8.78 g geïsoleerd (89%).

Brutoformule: C₁₄ H₂₂ O₂

Moleculair gewicht: 222.3 g/mol

R_f (isooctaan : ethylacetaat 6 : 4): 0.35

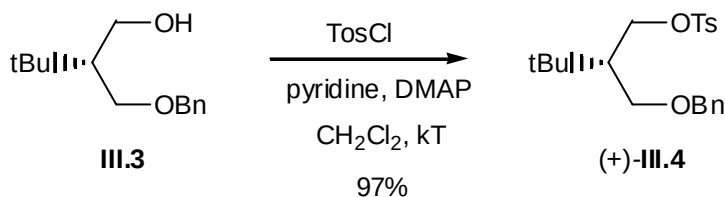
IR (KBr, film): 3440, 3080, 3056, 2960, 2856, 1496, 1452, 1370, 1116, 1076, 1040, 1026, 1008, 706, 700 cm⁻¹

MS (m/z): 222 (M⁺, 2), 221 (10), 204 (2), 159 (8), 145 (4), 144 (7), 144 (5), 91 (94), 79 (40), 70 (82), 69 (80), 57 (100), 56 (44), 38 (70)

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃): 0.92 (9H, s), 1.74 (1H, m), 3.05 (1H, s (br)), 3.62 (1H, t, *J* = 9.2 Hz), 3.72 (1H, dd, *J* = 9.8, 7.6 Hz), 3.83 (1H, dd, *J* = 9.8, 3.0 Hz), 3.85 (1H, d, *J* = 9.0 Hz), 4.52 (1H, AB, *J* = 11.9 Hz), 4.57 (1H, AB, *J* = 11.9 Hz), 7.30-7.45 (5H, m) ppm

¹³C-NMR (50MHz, CDCl₃): 28.17 (-CH₃), 31.44 (-C-), 49.71 (-CH), 64.47 (-CH₂), 72.73 (-CH₂), 73.59 (-CH₂), 127.55 (-CH), 127.75 (-CH), 128.47 (-CH), 137.80 (-C-) ppm

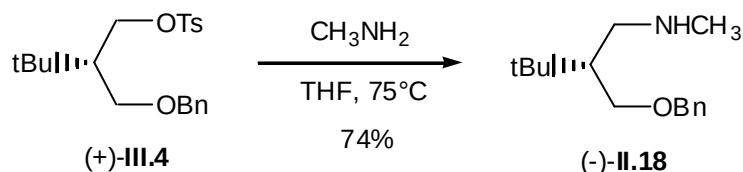
Synthese van tosylaat (+)-III.4:



De alcohol **III.3** (8.70 g, 0.039 mol), *p*-tolueensulfonylchloride (1.3 eq., 0.051 mol, 9.72 g) en dimethylaminopyridine (0.01 eq, 0.392 mmol, 50 mg) worden opgelost in een mengsel van pyridine (9 ml) en dichloormethaan (36 ml). De reactie wordt drie dagen bij kamertemperatuur geroerd, na ongeveer 45 minuten wordt een wit neerslag gevormd. Om de reactie af te werken en om de overmaat *p*-tolueensulfonylchloride te vernietigen wordt ijs-water aan het reactiemengsel toegevoegd en dit wordt één uur geroerd. Vervolgens wordt de organische fase afgelaten en de waterfase wordt geëxtraheerd met dichloormethaan. De organische fasen worden gewassen met een 10% waterstofchloride-oplossing tot de afgelaten waterfase zuur is. Daarna worden de organische fase gewassen met een verzadigde natriumchloride-oplossing en gedroogd op anhydrisch magnesiumsulfaat. Na indampen wordt 14.34 g aan zuiver, kristallijn tosylaat (+)-**III.4** bekomen (97%).

Brutoformule: C₂₁ H₂₈ O₄ S**Moleculair gewicht:** 376.5 g/mol**R_f** (pentaan : ethylacetaat 9 : 1): 0.32**IR (KBr, plaatje):** 2960, 2870, 1490, 1470, 1450, 1355, 1235, 1165, 960, 835, 735, 695 cm⁻¹**MS (m/z):** 204 (1), 203 (1), 159 (1), 147 (4), 107 (1), 95 (100), 92 (51), 84 (24), 64 (59), 70 (40), 57 (60), 41 (50)**¹H-NMR (500MHz, CDCl₃):** 0.92 (9H, s), 1.65 (1H, m), 2.39 (3H, s), 3.48 (1H, ABd, *J* = 9.5, 3.9 Hz), 3.55 (1H, ABd, *J* = 9.5, 6.9 Hz), 4.21 (1H, ABd, *J* = 9.6, 5.8 Hz), 4.26 (1H, ABd, *J* = 9.6, 5.0 Hz), 4.32 (1H, AB, *J* = 12.8 Hz), 4.34 (1H, AB, *J* = 12.8 Hz), 7.20 (2H, d, *J* = 6.8 Hz), 7.25-7.38 (5H, m), 7.78 (2H, d, *J* = 8.3 Hz) ppm**[α]_D** = +2.5 (c = 0.94 in CH₃OH)

Substitutiereactie van het tosylaat (+)-**III.4** tot amine (-)-**II.18**:



In een drukbuis wordt een oplossing van het tosylaat (+)-**III.4** (3 g, 7.979 mmol) en methylamine (13 eq., 0.104 mol, 7.3 ml van een 40% oplossing in water) in tetrahydrofuran (7.3 ml) overnacht in de oven tot 80°C verwarmd. Na afkoelen tot kamertemperatuur wordt een 10% kaliumhydroxide-oplossing aan het reactiemengsel toegevoegd, wordt het geëxtraheerd met diëthylether en gewassen met een verzadigde natriumchloride-oplossing. Vervolgens worden de verzamelde organische fasen gedroogd op anhydrisch magnesiumsulfaat en ingedampt onder verminderde druk. Na Kugelrohrdestillatie (kookpunt: 165°C bij 0.5 mmHg) van het ruw amine wordt 1.39 g van het zuivere amine (-)-**II.18** bekomen. Het rendement bedraagt 74%.

Brutoformule: C₁₅ H₂₅ N O

Moleculair gewicht: 235.4 g/mol

R_f (isooctaan : aceton/ammoniak (98 : 2) 7 : 3): 0.05

IR (KBr, film): 3349, 3063, 3029, 2959, 2868, 2790, 1606, 1495, 1453, 1364, 1113, 1028, 734, 697 cm⁻¹

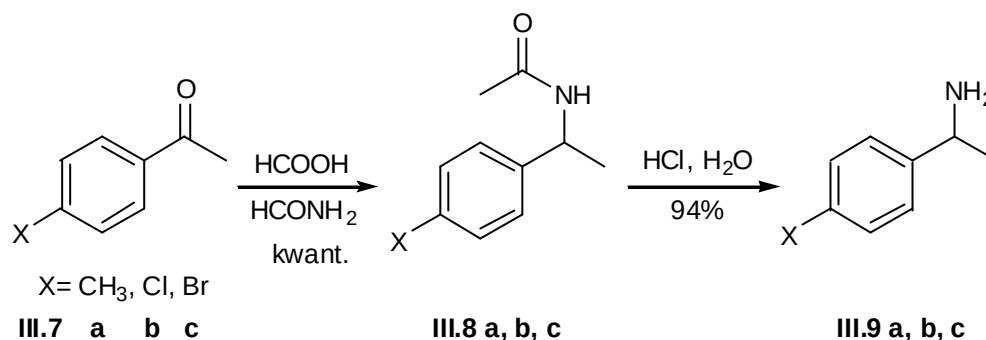
MS (m/z): 235 (M⁺), 176 (1), 144 (15), 108 (7), 92 (6), 91 (41), 79 (15), 77 (10), 44 (100)

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃): 0.92 (9H, s), 1.55 (1H, dddd, *J* = 2.9, 4.0, 7.0, 8.9 Hz), 1.65 (1H, s(br)), 2.39 (3H, s), 2.55 (1H, ABd, *J* = 11.6, 8.9 Hz), 2.68 (1H, ABd, *J* = 11.6, 2.8 Hz), 3.48 (1H, ABd, *J* = 9.3, 4.0 Hz), 3.68 (1H, ABd, *J* = 9.3, 7.1 Hz), 4.46 (1H, AB, *J* = 12.0 Hz), 4.51 (1H, AB, *J* = 12.0 Hz), 7.28-7.38 (5H, m) ppm

[α]_D = -12.1 (c = 1.78 in CH₃OH)

B. Resolutie door een familie aan aminen

Synthese van de 1:1:1-mix aan racemische aminen **III.9a, b en c**:



p-Methylacetofenon (100 g, 0.745 mol) wordt gemengd met methaanzuur (6.72 eq., 5.007 mol, 192 ml) en met formamide (13.44 eq., 10.02 mol, 400 ml) en dit mengsel wordt overnacht gekookt onder terugvloeikoeling. Nadat het mengsel is afgekoeld tot kamertemperatuur wordt 120 ml water toegevoegd. Het geheel wordt geëxtraheerd met ethylacetaat en de verzamelde organische fasen worden ingedampt onder verminderde druk. Het ruwe product bevat nog een beetje formamide, maar wordt als dusdanig in de volgende reactie gebruikt.

Het amide wordt opgelost in een 15% zoutzuuroplossing (600 ml) en het geheel wordt twee nachten gekookt onder terugvloeikoeling. Nadat de oplossing is afgekoeld tot kamertemperatuur wordt diëthylether toegevoegd en de etherfase wordt geëxtraheerd met water. De gecombineerde waterlagen worden basisch gemaakt door het toevoegen van een 30% natriumhydroxide-oplossing (tot pH = 11). De waterfase wordt vervolgens geëxtraheerd met diëthylether en na drogen van de etherfasen op anhydrisch magnesiumsulfaat en indampen van het solvent onder verminderde druk wordt 94.4 g amine geïsoleerd (94%).

Op een analoge manier worden *p*-chlooracetofenon en *p*-broomacetofenon omgezet tot de corresponderende aminen met respectievelijk 95% en 93% rendement.

p-methyl- α -methylbenzylamine:

$^1\text{H-NMR}$ (200MHz, CDCl_3): 1.39 (3H, d, $J = 6.7$ Hz), 1.59 (2H, s (br)), 2.35 (3H, s), 4.09 (1H, q, $J = 6.6$ Hz), 7.20 (4H, m)

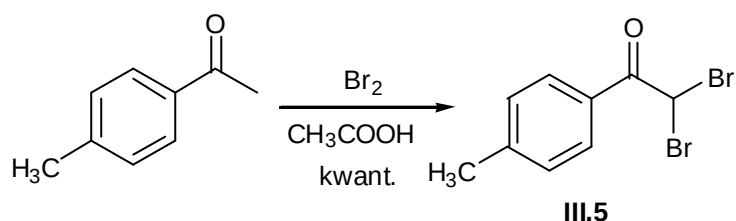
p-chloor- α -methylbenzylamine:

$^1\text{H-NMR}$ (200MHz, CDCl_3): 1.43 (3H, d, $J = 6.6$ Hz), 1.59 (2H, s (br)), 4.18 (1H, q, $J = 6.5$ Hz), 7.32 (4H, m)

p-broom- α -methylbenzylamine:

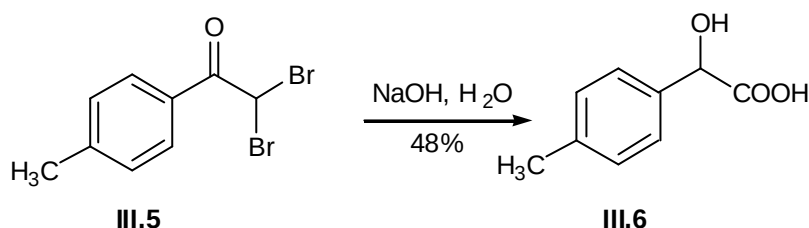
$^1\text{H-NMR}$ (200MHz, CDCl_3): 1.34 (3H, d, $J = 6.5$ Hz), 1.59 (2H, s (br)), 4.08 (1H, q, $J = 6.6$ Hz), 7.22 (2H, m), 7.42 (2H, m)

Synthese van enantiomeer zuiver mandelzuur III.6:



Nadat *p*-methylacetofenon (150 g, 1.118 mol) is opgelost in azijnzuur (394 ml) wordt de oplossing gekoeld tot 0°C . Vervolgens wordt dibroom (2.2 eq., 2.459 mol, 126 ml) in azijnzuur (220 ml) over een periode van 3 uren toegevoegd. Er ontstaat een oranje-gele neerslag en de suspensie wordt nog een halfuur geroerd bij dezelfde temperatuur. Vervolgens wordt het neerslag afgefiltreerd en wordt het gewassen met azijnzuur en water. Nadat de kristallen 24 uren hebben gedroogd aan de lucht worden ze zonder verdere zuivering gebruikt in de volgende stap. Er wordt 352 g aan kristallijn **III.5** geïsoleerd.

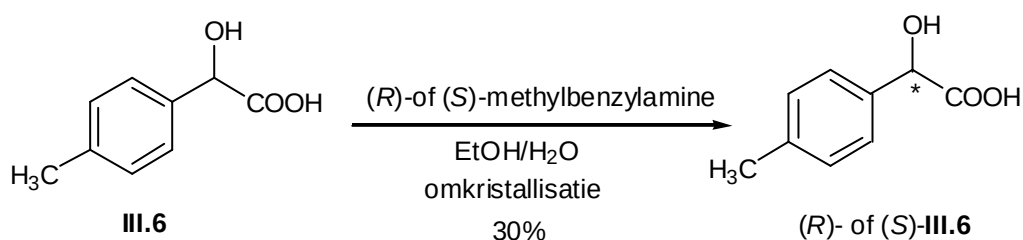
$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3): 2.52 (3H, s), 6.82 (1H, s), 7.39 (2H, m), 8.08 (2H, m)



De kristallen **III.5** (352 g, 1.206 mol) worden opgelost in water (1 l) en de oplossing wordt afgekoeld met behulp van een ijsbad. Vervolgens wordt een 33% natriumhydroxide-oplossing (4.3 eq., 5.214 mol, 632 g) zodanig dat de temperatuur in het reactiemengsel niet boven de 16°C stijgt. Wanneer alles is toegevoegd wordt het mengsel opgewarmd tot kamertemperatuur en wordt verder 66 uren geroerd bij die temperatuur. Vooraleer een geconcentreerde zoutzuuroplossing wordt toegevoegd om het mengsel aan te zuren tot pH = 2 wordt het mengsel weer afgekoeld tot 0°C. Het gevormde neerslag wordt afgefiltreerd en wordt gewassen met water en met tolueen. De kristallen worden verder gedroogd eerst overnacht aan de lucht en vervolgens aan de lyofilisator. Er wordt uiteindelijk 95.36 g aan mandelzuur **III.6** bekomen (48% over de 2 stappen).

¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃): 2.35 (3H, s), 5.21 (1H, s), 7.26 (4H, m)

Het mandelzuur wordt geresolveerd met *S*-(-)-methylbenzylamine en de bekomen moederlogen worden verder aangerijkt met *R*-(+)-methylbenzylamine.



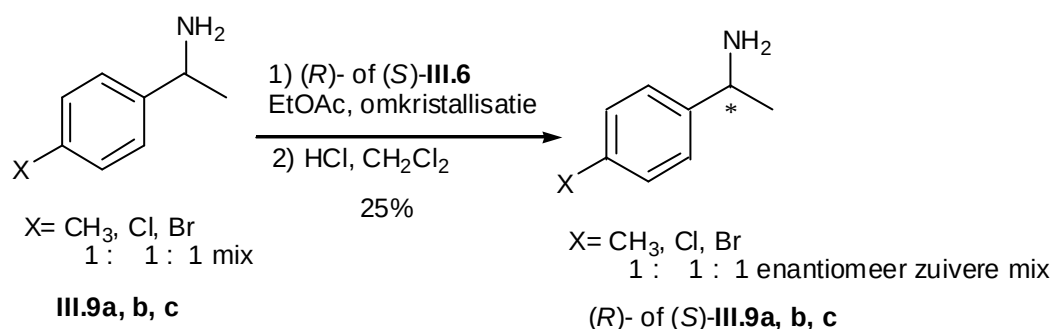
Hiervoor wordt het zuur **III.6** (93.02 g, 0.559 mol) opgelost in een mengsel ethanol-water (6 : 1, 538 ml : 91 ml) en het mengsel wordt opgewarmd tot 45°C. Vervolgens wordt voorzichtig het commerciële amine (1 eq., 0.559 mol, 72 ml) toegedruppeld. Wanneer alles is toegevoegd wordt het reactiemengsel 15 minuten gerefluxed en daarna langzaam overnacht afgekoeld tot kamertemperatuur.

Vooraleer de gevormde kristallen af te filtreren wordt het mengsel eerst nog afgekoeld met behulp van een ijsbad.

Na filtratie wordt de neerslag gewassen met koude ethanol en gedroogd aan de oliepomp. De kristallen worden nogmaals omgekristalliseerd uit ethanol. Het zuur wordt weer vrijgesteld door het zout op te lossen in een natriumhydroxide-oplossing en de waterfase wordt geëxtraheerd met diëthylether. De waterfase wordt vervolgens aangezuurd met een zoutzuuroplossing en na extractie met ethylacetaat worden de organische fasen gedroogd op magnesiumsulfaat en ingedampt onder verminderde druk. Er wordt 33.28 g aan enantiomeer zuiver zuur **III.6** bekomen (36%).

De enantiomere overmaat wordt bepaald na verestering van het zuur met diazomethaan en koppeling van de alcohol met het enantiomeer zuivere (S)-methoxyfenylazijnzuur. Na de zoutvorming bedraagt de enantiomere overmaat 77% en na de omkristallisatie 92%. In wat volgt zal dit mandelzuur aangeduid worden als het (S)-zuur **III.6**.

Het aangerijkte enantiomeer (*R*)-zuur wordt uit de moederloog op een analoge manier vrijgesteld. De enantiomere overmaat van het vrijgestelde zuur bedraagt nu al 66%. Daarna wordt het zuur (44.34 g, 0.267 mol) op een analoge manier omgezet in het ammoniumzout, maar nu wordt het zuur behandeld met *R*-(+)-methylbenzylamine (1 eq., 0.267 mol, 34.4 ml). Na één omkristallisatie uit ethanol wordt 27.64 g mandelzuur geïsoleerd (30%). De enantiomere overmaat van het bekomen mandelzuur bedraagt meer dan 95%. Dit zuur zal in wat volgt aangegeven worden als het (*R*)-zuur.

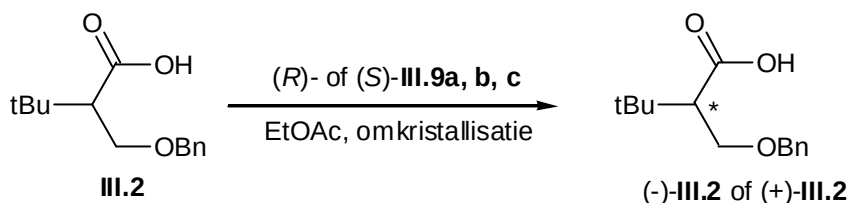
Resolutie van de mix aan aminen:

Resolutie van een 1:1:1-mengsel van *p*-methyl-, *p*-chloor- en *p*-broomfenylethylamine met het (S)-mandelzuur **III.6**:

een 1: 1: 1-mengsel van de *paragesubstitueerde* fenylethylaminen **III.9a, b, c** (0.010 mol van elk) wordt opgelost in ethanol (20 ml). Hieraan wordt het (S)-mandelzuur (1.5 eq., 0.015 mol, 2.5 g) en fenylazijnzuur (1.5 eq., 0.015 mol, 2.048 g) toegevoegd. De gevormde zouten lossen niet op en er wordt nog 20 ml ethanol toegevoegd tot de zouten bij refluxtemperatuur oplossen. Vervolgens wordt de heldere oplossing langzaam afgekoeld en het bekomen zout (4.04 g) wordt afgefiltreerd en omgekristalliseerd uit ethanol : water 6 : 1 (20 ml). Na behandeling van het zout met een natriumhydroxide-oplossing, extractie met diëthylether en drogen op anhydrisch magnesiumsulfaat wordt 1.172 g aan (S)-**III.9a, b, c** vrijgesteld (24%).

Op analoge wijze wordt een mix aan aminen geresolveerd met het (R)-carbonzuur, er wordt 1.219 g aan (R)-**III.9a,b,c** bekomen (25%).

Resolutie van het carbonzuur **III.2** met de 1:1:1-mix aan aminen **III.9a, b, c**:

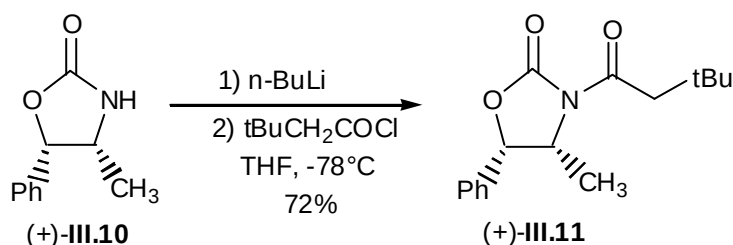


Het carbonzuur **III.2** (0.927 g, 3.912 mmol) wordt opgelost in ethylacetaat (7.8 ml) en de oplossing wordt opgewarmd tot koken onder terugvloei-cooling. De mix aan aminen wordt vervolgens toegevoegd en het mengsel wordt nog een halfuur gerefluxed. Na afkoelen wordt het zout afgefilterd en nogmaals omgekristalliseerd uit ethylacetaat. Het zout wordt behandeld met een 5% zoutzuuroplossing, geëxtraheerd met dichloormethaan en gedroogd op anhydrisch magnesiumsulfaat. De enantiomere overmaat wordt door $^1\text{H-NMR}$ -spectroscopie van de corresponderende methylester in aanwezigheid van een Europiumshiftreagens bepaald. De enantiomere overmaat aan (-)-**III.2** bedraagt 55%.

Resolutie met de (*R*)-mix vergt 4 omkristallisaties; de enantiomere overmaat van het zuur (+)-**III.2** dat tenslotte wordt vrijgesteld bedraagt 10%.

VII.2.2 Resolutie via de methode van Evans

Acylatie van oxazolidinon (+)-**III.10** tot imide (+)-**III.11** :



Een oplossing van commercieel beschikbaar oxazolidinon (1 g, 5.64 mmol) in tetrahydrofuran (0.45 M, 12.5 ml) wordt gekoeld tot -78°C . Vervolgens wordt *n*-butyllithium (1 eq., 3.53 ml, 1.6 M oplossing in hexaan) traag toegedruppeld.

Nadat het mengsel een kwartier bij deze temperatuur geroerd werd, wordt het zuurchloride (1.3 eq., 7.332 mmol, 1.02 ml) toegevoegd bij dezelfde temperatuur. Na 20 minuten wordt de reactie afgewerkt door toevoegen van water. De waterfase wordt geëxtraheerd met diëthylether en de bekomen organische fase wordt gewassen met een verzadigde natriumbicarbonaatoplossing, een verzadigde natriumchloride-oplossing en wordt gedroogd op anhydrisch magnesiumsulfaat. Het bekomen imide (+)-**III.11** is een wit kristallijn product, dat gezuiverd wordt door omkristallisatie in pentaan (1.120 g, 72%).

Brutoformule: $C_{16}H_{21}NO_3$

Moleculair gewicht: 275.4 g/mol

R_f (pentaan : ethylacetaat 8 : 2): 0.57

IR (KBr, plaatje): 2957 (m), 2870 (w), 1778 (s), 1692 (s), 1458 (m), 1339 (s), 1260 (m), 1202 (m), 1169 (m), 1119 (m), 1029 (w), 1004 (w), 979 (w), 792 (w), 767 (w), 740 (w) cm^{-1}

MS (m/z): 275 (M^+ , 2), 260 (13), 219 (52), 174 (4), 160 (6), 134 (12), 107 (34), 99 (39), 83 (62), 57 (100)

1H -NMR (500MHz, $CDCl_3$): 0.9 (3H, d, $J = 6.6$ Hz), 1.08 (9H, s), 2.83 (1H, $\underline{A}B$, $J = 14.5$ Hz), 3.03 (1H, $\underline{A}B$, $J = 14.5$ Hz), 4.79 (1H, dq, $J = 6.7$ Hz, 6.8 Hz), 5.64 (1H, d, $J = 7.1$ Hz), 7.31 (2H, d, $J = 7.2$ Hz), 7.36-7.43 (3H, m) ppm

^{13}C -NMR + DEPT (50MHz, $CDCl_3$) : 14.48 (- CH_3), 29.49 (- CH_3), 31.43 (-C-), 46.03 (- CH_2), 54.71 (-CH), 78.50 (-CH), 125.55 (-CH), 128.58 (-CH), 133.32 (-C-), 152.98 (C=O), 171.56 (C=O) ppm

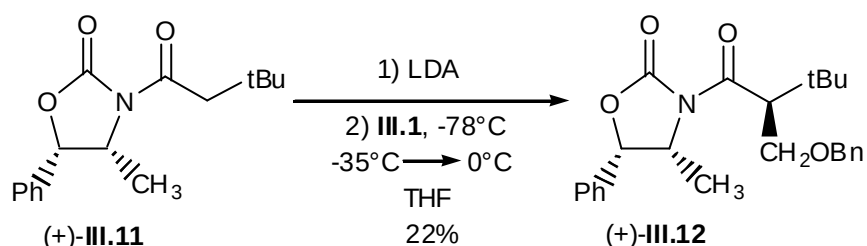
$[a]_D = +43.6$ ($c = 0.53$ in $CHCl_3$)

smelpunt: 79°C

C-H-N-analyse:	berekend:	C: 69.79%	H: 7.69%	N: 5.09%
	gevonden:	C: 69.89%	H: 7.62%	N: 5.05%

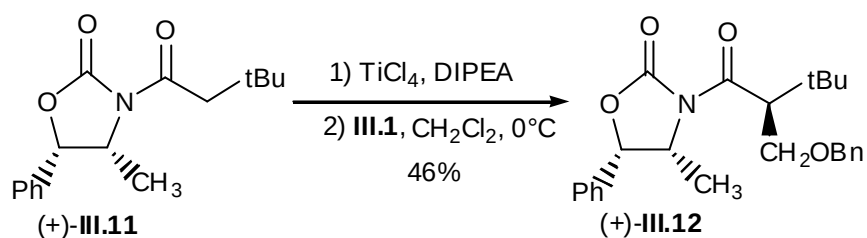
Alkylatie van imide (+)-III.11:

A. met lithiumpdiisopropylamine en benzylchloormethylether III.1:

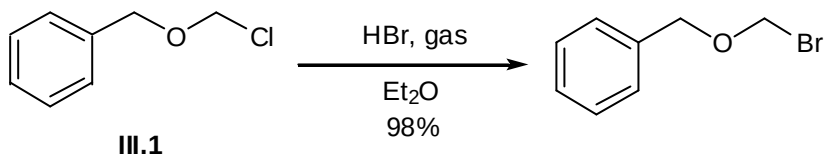


In een tweenekkolf wordt diisopropylamine (1.1 eq., 1.000 mmol, 140 µl) opgelost in tetrahydrofuran (2 M, 0.5 ml) en dit mengsel wordt afgekoeld tot 0°C. Hieraan wordt langzaam *n*-butyllithium (1.1 eq., 1 mmol, 400 µl van een 2.5 M oplossing in toluen) toegevoegd. Na een halfuur roeren bij 0°C kleurt het reactiemengsel oranje en wordt het verder afgekoeld tot -78°C. Het imide (+)-III.11 (250 mg, 0.910 mmol) wordt ondertussen opgelost in tetrahydrofuran (0.73 M, 1.25 ml) en wordt vervolgens toegedruppeld aan het mengsel bij -78°C. Na een uur deprotoneren wordt de benzylchloormethylether III.1 (1.5 eq., 1.36 mmol, 214 mg) bij -78°C toegedruppeld. Het mengsel wordt opgewarmd tot -35°C en bij die temperatuur twee uur en een half geroerd, daarna wordt het verder opgewarmd tot 0°C en geroerd overnacht. De reactie wordt gequenched door toevoegen van een half verzadigde ammoniumchloride-oplossing. Na extractie van de waterfase met diëthylether wordt de organische fase gedroogd op magnesiumsulfaat en ingedampt. Het bekomen product wordt gezuiverd door kolomchromatografie (gradiëntelutie: pentaan : ethylacetaat 96 : 4 tot 8 : 2). Er wordt 131 mg mengsel (43%) bekomen dat bestaat uit 48% beginproduct (+)-III.11 en 52% van het gealkyleerde product III.12. Het rendement bedraagt dus 22% voor het gewenste product.

B. met titaniumtetrachloride, diisopropylethylamine en **III.1**:



Het imide (250 mg, 0.910 mmol) wordt opgelost in dichloormethaan (0.25 M, 3.63 ml) en het mengsel wordt afgekoeld tot 0°C. titaniumtetrachloride (1.05 eq., 0.950 mmol, 105 µl) wordt dan voorzichtig toegevoegd aan het mengsel en dit wordt vervolgens 5 minuten geroerd bij die temperatuur. Nadat diisopropylethylamine (2 eq., 1.81 mmol, 311 µl) is toegevoegd, kleurt het reactiemengsel dieprood en wordt vervolgens een uur geroerd bij 0°C. Het wordt verder overnacht geroerd bij dezelfde temperatuur nadat benzylchloormethylether **III.1** (5 eq., 4.55 mmol, 713 mg) toegedruppeld is. De reactie wordt afgewerkt door 2 ml water aan het mengsel toe te voegen. Na extractie van de waterfase met dichloormethaan wordt de bekomen organische fase gewassen met een verzadigde natriumchloride-oplossing en gedroogd op magnesiumsulfaat. Het ruwe mengsel wordt gezuiverd door kolomchromatografie (gradiëntelutie: pentaan : ethylacetaat 96 : 4 tot 8 : 2). Er wordt weer een mengsel bekomen (270 mg, 88%) van beginproduct **III.11** (48%) en gewenst eindproduct **III.12** (52%). Na een tweede scheiding van het mengsel (eluens: isooctaan : aceton 92 : 8) konden de twee derivaten van elkaar gescheiden worden. Er wordt 106 mg beginproduct (+)-**III.11** gerecupereerd (43%) naast 165 mg van het gewenste kristallijne alkylatieproduct (+)-**III.12** (46%).

Synthese van benzylbroommethylether (BOMBr):

Door een gekoelde oplossing (0°C) van benzylochloormethylether **III.1** (1 g, 6.370 mmol) in droge diëthylether (3.5 M, 1.80 ml) wordt twee uur droge waterstofbromidegas geborreld. Het droge waterstofbromide wordt bekomen door dibroom toe te druppelen aan tetralin. Nadat de waterstofbromide-toevoer is gestopt, wordt de diëthylether ingedampt onder verminderde druk. Er wordt 1.25 g zuiver benzylbroommethylether bekomen (97%).

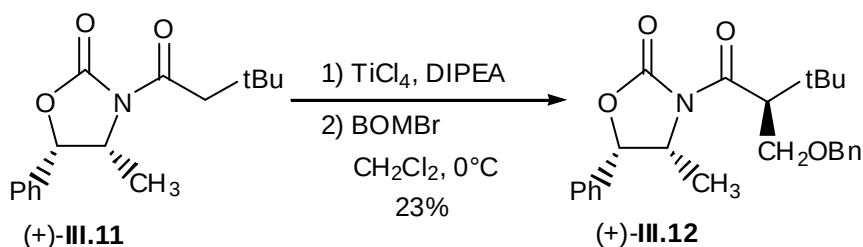
Brutoformule: C₈ H₉ O Br**Moleculair gewicht:** 201.1 g/mol

IR (KBr, film): 3088 (w), 3031 (m), 2954 (m), 2879 (m), 1497 (m), 1454 (m), 1385 (m), 1273 (m), 1227 (m), 1124 (s), 1041 (w), 1028 (w), 977 (w), 900 (m), 745 (s), 697 (s) cm⁻¹

MS (m/z): 121 (M⁺-Br, 14), 91 (100), 65 (15), 51 (6)

¹H-NMR (200MHz, CDCl₃): 4.72 (2H, s), 5.71 (2H, s), 7.35 (5H, s) ppm

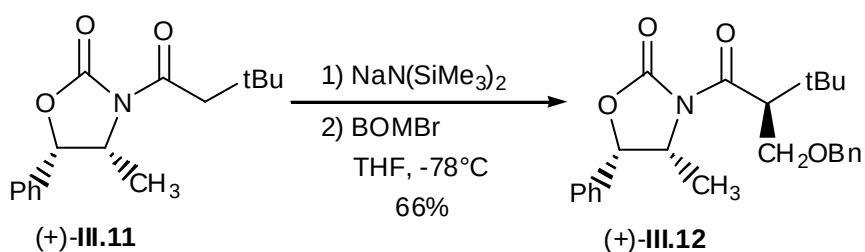
C. met titaniumtetrachloride, diisopropylethylamine en benzylbroommethylether:



Het imide (+)-**III.11** (250 mg, 0.91 mmol) wordt opgelost in dichloormethaan (0.25 M, 3.63 ml) en het mengsel wordt afgekoeld tot 0°C. Titaniumtetrachloride (1.05 eq., 0.95 mmol, 105 µl) wordt dan voorzichtig toegevoegd aan het mengsel en dit wordt vervolgens 5 minuten geroerd bij die temperatuur.

Nadat diisopropylethylamine (1.05 eq., 0.95 mmol, 163 μ l) is toegevoegd, kleurt het reactiemengsel dieprood en het wordt vervolgens één uur geroerd bij 0°C. Het wordt verder overnacht geroerd bij dezelfde temperatuur nadat benzylbroommethylether (2 eq., 1.82 mmol, 365 mg) toegedruppeld is. De reactie wordt afgewerkt door 3 ml water aan het mengsel toe te voegen. Na extractie van de waterfase met dichloormethaan wordt de bekomen organische fase gewassen met een verzadigde natriumchloride-oplossing en gedroogd op anhydrisch magnesiumsulfaat. Het ruwe mengsel wordt gezuiverd door kolomchromatografie (gradiëntelutie: pentaan : ethylacetaat 96 : 4 tot 8 : 2). Er wordt weer een mengsel bekomen (198 mg, 67%) van beginproduct **III.11** (57%) en gewenst eindproduct **III.12** (43%). Na een tweede scheiding van het mengsel (eluens: isooctaan : aceton 92 : 8) konden de twee derivaten van elkaar gescheiden worden. Er wordt 95 mg beginproduct gerecupereerd (38%) naast 82 mg van het wit kristallijne enantiomeer zuiver alkylatieproduct **III.12** (23%).

D. met natriumhexamethyldisilazaan en BOMBr:



Een oplossing van het imide (200 mg, 0.730 mmol) in tetrahydrofuran (0.3 M, 2.4 ml) wordt afgekoeld tot -78°C . De base natriumhexamethylsilazide (2 eq., 1.46 mmol, 1.45 ml van een 1 M oplossing in tetrahydrofuran) wordt hieraan toegevoegd. Na één uur is de deprotonatie volledig en vervolgens wordt benzylbroommethylether (5 eq., 3.64 mmol, 731 mg) aan het mengsel toegedruppeld. Het mengsel kleurt wit. Gedurende één uur wordt de temperatuur gradueel verhoogd van -78°C tot -10°C via -30°C ; vervolgens wordt het mengsel nog twee dagen geroerd bij die temperatuur. De reactie wordt dan weer gekoeld tot -45°C en 2.5 equivalenten azijnzuur (104 μ l) in diëthylether (1 ml) worden toegevoegd aan het reactiemengsel.

De gevormde zouten worden afgefiltreerd over celiet en het bekomen ruwe mengsel wordt gezuiverd door middel van kolomchromatografie (eluens: isooctaan : aceton 92 : 8) en HPLC (zelfde eluens). Er wordt 189 mg aan zuiver, wit kristallijn product **III.12** bekomen (66%) naast 44 mg aan beginproduct (22%).

Brutoformule: C₂₄ H₂₉ N O₄

Moleculair gewicht: 395.5 g/mol

R_f (isooctaan : aceton 92 : 8): 0.22

IR (KBr, plaatje): 2975 (m), 2870 (m), 1777 (s), 1696 (s), 1498 (m), 1453 (m), 1382 (m), 1362 (m), 1340 (s), 1233 (m), 1195 (m), 1119 (s), 1068 (m), 1029 (m), 983 (w), 960 (w), 888 (w), 769 (m), 732 (s), 696 (m) cm⁻¹

MS (m/z): 395 (M⁺, 1), 365 (1), 351 (1), 338 (1), 308 (1), 289 (2), 272 (3), 260 (1), 245 (2), 232 (33), 180 (8), 159 (12), 118 (27), 91 (100), 55 (17)

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃): 0.84 (3H, d, *J* = 6.6 Hz), 1.03 (9H, s), 3.71 (1H, dd, *J* = 4.1, 8.7 Hz), 3.92 (1H, dd, *J* = 8.9, 10.5 Hz), 4.45 (1H, AB, *J* = 12.08 Hz), 4.46 (1H, dd, *J* = 4.2, 10.4 Hz), 4.52 (1H, AB, *J* = 12.08 Hz), 4.83 (1H, dq, *J* = 6.6, 6.9 Hz), 5.61 (1H, d, *J* = 7.2 Hz), 7.23-7.42 (10H, m) ppm

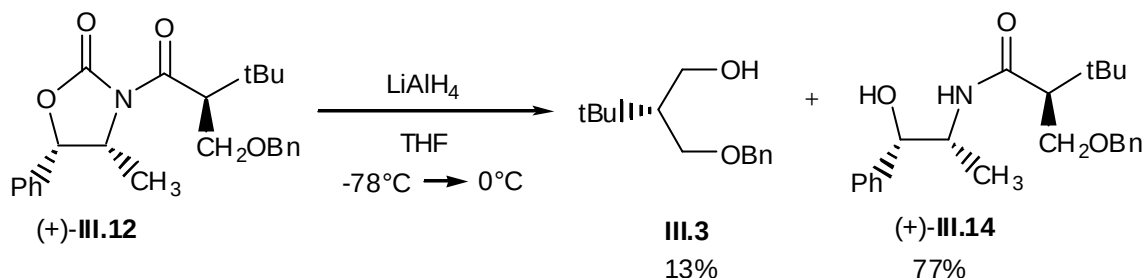
¹³C-NMR + DEPT (50MHz, CDCl₃): 14.26 (-CH₃), 28.01 (-CH₃), 32.84 (-C-), 50.62 (-CH), 55.09 (-CH), 69.87 (-CH₂), 72.87 (-CH₂), 78.40 (-CH), 125.66 (-CH), 127.34 (-CH), 128.19 (-CH), 128.64 (-CH), 133.41 (-C-), 138.33 (-C-), 153.04 (C=O), 174.88 (C=O) ppm

[α]_D = +41.5 (c = 0.76 in CHCl₃)

smeltpunt: 113°C

Asplitsing van de hulpstof, oxazolidinon (+)-III.10:

A. met lithiumaluminiumhydride:



Het imide (70 mg, 0.180 mmol) wordt opgelost in tetrahydrofuran (0.1 M, 1.77 ml) en wordt afgekoeld tot -78°C gedurende 15 minuten. Na toedruppelen van lithiumaluminiumhydride (2 eq., 0.36 mmol, 354 μl van een 1 M oplossing in tetrahydrofuran) wordt het mengsel eerst 10 minuten geroerd bij -78°C en vervolgens één uur bij 0°C . Er wordt 72 μl water en 35 μl van een 1 M natriumhydroxide-oplossing aan het mengsel toegevoegd en na een half uur roeren worden de zouten afgefiltreerd en goed nagespoeld met diëthylether. Het ruwe product wordt gezuiverd door middel van kolomchromatografie (gradiëntelutie: pentaan : ethylacetaat 9 : 1 tot 8 : 2). Er wordt 5 mg van de alcohol III.3 bekomen (13%) naast 51 mg van het amide (+)-III.14 (77%).

amide (+)-III.14:

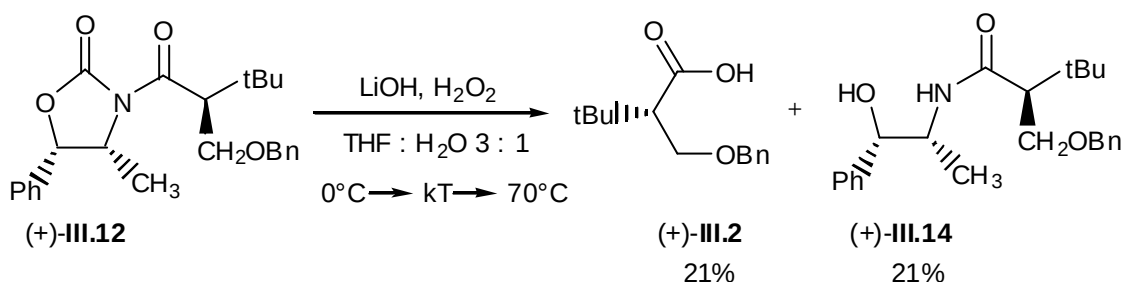
Brutoformule: $\text{C}_{23}\text{H}_{31}\text{N}\text{O}_3$ **Moleculair gewicht:** 369.5 g/mol**R_f** (isooctaan : ethylacetaat 6 : 4): 0.42

IR (KBr, film): 3338 (s, br), 3088 (w), 3064 (w), 3031 (m), 2960 (s), 2871 (s), 1651 (s), 1634 (s), 1538 (s), 1454 (s), 1396 (w), 1367 (s), 1266 (m), 1211 (m), 1178 (w), 1113 (s), 1029 (m), 999 (s), 903 (w), 821 (w), 737 (s), 700 (s) cm^{-1}

MS (m/z): 369 (M^+), 336 (1), 262 (11), 219 (2), 188 (2), 134 (8), 91 (100), 44 (44)

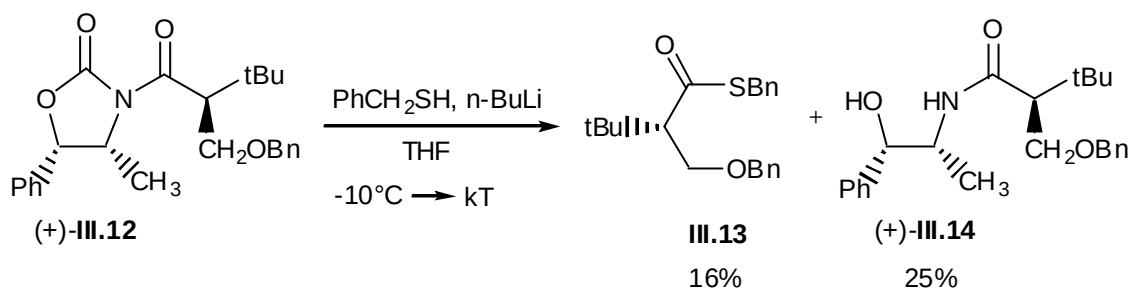
$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3): 0.99 (3H, d, $J = 6.9$ Hz), 1.01 (9H, s), 2.12 (1H, dd, $J = 3.3, 8.8$ Hz), 3.66 (1H, dd, $J = 3.3, 9.0$ Hz), 3.72 (1H, s (br)), 3.81 (1H, dd (app. t), $J = 8.9, 8.9$ Hz), 4.33 (1H, ddq, $J = 3.1, 6.9, 7.2$ Hz), 4.38 (1H, AB, $J = 11.6$ Hz), 4.46 (1H, AB, $J = 11.6$ Hz), 4.83 (1H, s), 5.97 (1H, d, $J = 7.6$ Hz), 7.21-7.36 (10H, m) ppm
 $[\alpha]_{\text{D}} = +42.0$ ($c = 1.425$ in CHCl_3)

B. met lithiumhydroperoxide:



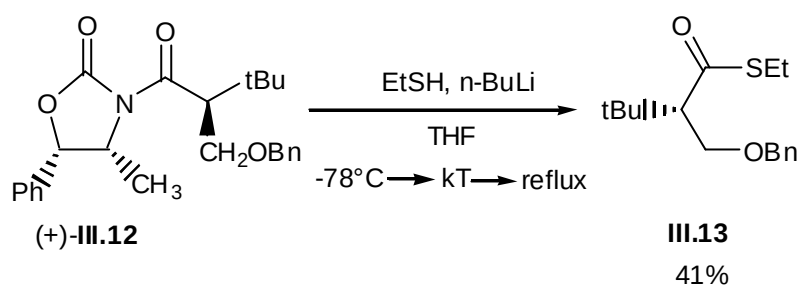
Een oplossing van het imide (+)-III.12 (50 mg, 0.130 mmol) in tetrahydrofuran : water (3 : 1, 0.05 M, 2.4 ml) wordt gekoeld tot 0°C met behulp van een ijsbad. Waterstofperoxide (5 eq., 0.63 mmol, 62 μl van een 35% oplossing in water) en lithiumhydroxide (2 eq., 0.40 mmol, 6 mg) worden aan de oplossing toegevoegd. Het mengsel wordt vervolgens opgewarmd tot kamertemperatuur en bij die temperatuur één uur geroerd en dan verder opgewamd tot 60°C . Na 3 uren roeren bij die temperatuur, wordt het reactiemengsel bij 70°C 20 uren geroerd. Vervolgens wordt 465 μl van een 1.5 M natriumsulfietoplossing toegevoegd en de oplossing wordt alkalisch gemaakt ($\text{pH} = 9$) door een verzadigde natriumbicarbonaatoplossing toe te druppelen. Het mengsel wordt ingedampt onder verminderde druk en de bekomen waterfase wordt geëxtraheerd met dichloormethaan, de organische fase wordt gedroogd op anhydrisch natriumsulfaat. Na indampen wordt het ruwe product gezuiverd door kolomchromatografie (eluens: isooctaan : ethylacetaat 92 : 8), Hierbij wordt 19 mg beginproduct (+)-III.12 gerecupereerd (38%) en 10 mg van het ongewenste amide (+)-III.14 (21%) bekomen. De alkalische waterfase wordt aangezuurd met een 10% zoutzuuroplossing en geëxtraheerd met ethylacetaat. Deze fase wordt ook gedroogd op anhydrisch natriumsulfaat en na indampen wordt 6 mg aan onzuiver carbonzuur III.2 (21%) bekomen.

C. met benzythiolaat:



Benzylmercaptan (2 eq., 0.25 mmol, 30 μ l) wordt opgelost in tetrahydrofuran (0.5 M, ml) en de oplossing wordt gekoeld tot -10°C . *n*-Buthyllithium (2 eq., 120 μ l van een 1.6 M oplossing in hexaan) wordt langzaam aan het mengsel toegedruppeld. Na een half uur roeren bij die temperatuur wordt het imide (+)-III.12 (0.13 mmol) opgelost in tetrahydrofuran (288 μ l) toegevoegd en het reactiemengsel wordt verder overnacht geroerd bij 0°C . Vervolgens wordt het mengsel opgewarmd tot kamertemperatuur en 3 dagen verder geroerd. Na het toevoegen van 360 μ l van een verzadigde ammoniumchloride-oplossing, wordt het solvent ingedampt onder verminderde druk. De bekomen waterfase wordt geëxtraheerd met dichloormethaan, de verzamelde organische fasen worden gewassen met water en met een verzadigde natriumchloride-oplossing en gedroogd op anhydrisch magnesiumsulfaat. Na zuiveren van het bekomen mengsel door kolomchromatografie (eluens: isooctaan : ethylacetaat 99 : 1) wordt 7 mg (16%) van de thioester III.13 bekomen naast onzuiver amide (+)-III.14 (11 mg, 25%) en wordt 24 mg van het imide (+)-III.12 gerecupereerd (47%).

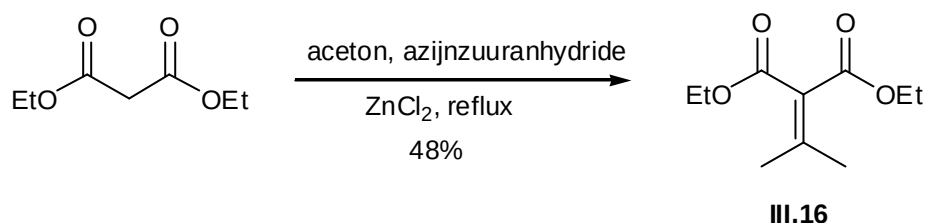
D. met ethylthiolaat :



Aan een gekoelde oplossing van ethaanthiol (3.4 eq., 0.47 mmol, 35 μ l) in tetrahydrofuran (0.27 M, 1.74 ml) bij -78°C wordt *n*-buthyllithium (2.5 eq., 0.35 mmol, 220 μ l van een 1.6 M oplossing in hexaan) toegedruppeld. Na 10 minuten roeren bij -78°C , wordt het mengsel opgewarmd tot 0°C in 20 minuten; bij deze temperatuur wordt het imide (+)-III.12 (55 mg, 0.14 mmol) in tetrahydrofuran (0.8 M, 1.72 ml) toegedruppeld. Na 10 minuten wordt het reactiemengsel opgewarmd tot kamertemperatuur en verder geroerd overnacht. Geleidelijk wordt het mengsel verder opgewarmd eerst tot 40°C (5 uren) en vervolgens tot reflux (6 uren). De reactie wordt afgewerkt door toevoegen van een 1 M natriumhydroxide-oplossing en extractie met diëthylether; de verzamelde organische fasen worden gewassen met een verzadigde natriumchloride-oplossing en gedroogd op anhydrisch natriumsulfaat. Na zuivering door kolomchromatografie (eluens: isooctaan : ethylacetaat 96 : 4) wordt 16 mg thioester III.13 (41%) bekomen naast 18 mg beginproduct III.12 (33%).

VII.2.3 Resolutie via de methode van Harada

Synthese van diëthylisopropylideenmalonaat **III.16** :



Commercieel beschikbaar diëthylmalonaat (100 g, 0.630 mol) wordt opgelost in aceton (1.49 eq., 0.930 mol, 68.30 ml). Azijnzuuranhydride (1.25 eq., 0.780 mol, 73.60 ml) en zinkchloride (*vooraf gedroogd over P₂O₅*, 0.14 eq., 0.087 mol, 11.90 g) wordt toegevoegd en vervolgens wordt het mengsel overnacht gekookt onder terugvloei-coeling. Na 3 uren reflux heeft mengsel een dieprode kleur. Na afkoelen van het mengsel tot kamertemperatuur wordt 80 ml tolueen toegevoegd en de organische fase wordt 4 keer gewassen met water en gedroogd op anhydrisch magnesiumsulfaat. Het bekomen ruwe mengsel wordt gezuiverd door gefractioneerde destillatie; er wordt een zuivere fractie aan **III.16** geïsoleerd (64°C-74°C bij 0.06 mmHg, 34.34 g) naast een mengfractie van eind- en beginproduct (54-64°C bij 0.06 mmHg). Deze mengfractie wordt opnieuw gedestilleerd, er wordt 25.22 g van een mengsel geïsoleerd die 10% diëthylmalonaat bevat en 90% van het gewenste product **III.16**. In totaal wordt 59.56 g van het isopropylideenmalonaat **III.16** geïsoleerd (48% rendement).

Brutoformule: C₁₀ H₁₆ O₄

Moleculair gewicht: 200.2 g/mol

R_f (isooctaan : ethylacetaat 8 : 2): 0.44

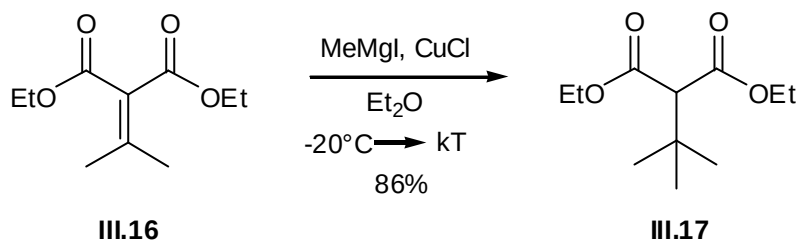
IR (KBr, film): 2984 (w), 2360 (m), 1723 (s), 1637 (w), 1447 (w), 1371 (w), 1286 (w), 1244 (s), 1211 (m), 1107 (s), 1058 (s) cm⁻¹

MS (m/z): 200 (M⁺), 155 (41), 133 (5), 127 (26), 112 (26), 99 (85), 91 (100), 69 (97), 55 (18), 43 (56)

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃): 1.28 (6H, t, J = 7.2 Hz), 2.08 (6H, s), 4.22 (4H, q, J = 7.1 Hz) ppm

^{13}C -NMR + DEPT (50MHz, CDCl_3): 13.98 ($-\text{CH}_3$), 22.96 ($-\text{CH}_3$), 60.72 ($-\text{CH}_2$), 124.65 ($-\text{C}-$), 154.85 ($-\text{C}-$), 165.57 ($\text{C}=\text{O}$) ppm
kookpunt: 64°C - 74°C (0.06 mmHg)

Additie van methylmagnesiumjodide, synthese van diëthyl-tert-butylmalonaat III.17:



Een oplossing van methylmagnesiumjodide in diëthylether (1.4 eq., 0.034 mol, 11.23 ml van een 3 M oplossing in diëthylether) wordt gekoeld tot -20°C (alles wordt vast). Vervolgens wordt koper(I)chloride (0.05eq., 1.120 mmol, 119 mg) in één portie toegevoegd. Na toedruppelen van het isopropylideenmalonaat III.16 (4.82 g, 0.024 mol) opgelost in diëthylether (5 M, 4.80 ml) (alles lost weer op) wordt het mengsel langzaam opgewarmd tot kamertemperatuur en verder geroerd bij die temperatuur voor twee en een half uur. De reactie wordt gequenched door toevoegen van 10 g geplet ijs. Het mengsel wordt aangezuurd tot $\text{pH} = 1$ met een 5% zwavelzuuroplossing en vervolgens wordt de waterfase geëxtraheerd met diëthylether. De verzamelde organische fasen worden gewassen met water en een 0.05 M natriumthiosulfaatoplossing, gedroogd op anhydrisch magnesiumsulfaat en geconcentreerd onder verminderde druk. Het ruwe product wordt gezuiverd door Kugelrohrdestillatie (40 - 50°C bij 0.01 mmHg), er wordt 4.51 g aan diëthyl-tert-butyl malonaat III.17 bekomen (86%).

Brutoformule: $\text{C}_{11}\text{H}_{20}\text{O}_4$

Moleculair gewicht: 216.3 g/mol

R_f (isooctaan : ethylacetaat 8 : 2): 0.53

IR (KBr, film): 2980 (m), 1755 (s), 1733 (s), 1466 (w), 1368 (m), 1321 (m), 1236 (m), 1144 (s), 1096 (w), 1048 (m) cm^{-1}

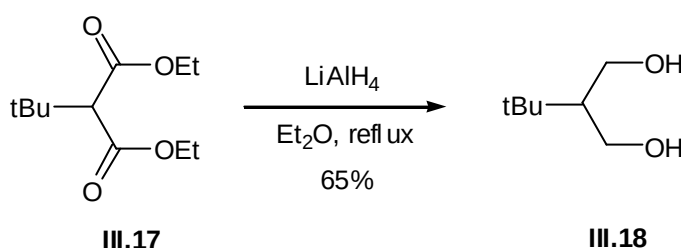
MS (m/z): 202 (2), 186 (1), 179 (1), 160 (10), 155 (1), 133 (3), 115 (19), 99 (25), 86 (10), 83 (23), 57 (80), 41 (100)

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3): 1.12 (9H, s), 1.26 (6H, t, $J = 7.1$ Hz), 3.23 (1H, s), 4.17 (4H, q, $J = 7.1$) ppm

$^{13}\text{C-NMR}$ + DEPT (50MHz, CDCl_3): 14.06 ($-\text{CH}_3$), 27.98 ($-\text{CH}_3$), 33.55 ($-\text{C}-$), 60.75 ($-\text{CH}_2$), 61.28 ($-\text{CH}$), 168.37 ($\text{C}=\text{O}$) ppm

kookpunt: 90-100°C bij 0.15 mmHg

*Reductie van diëster **III.17** met lithiumaluminiumhydride tot 2-tert-butyl-1,3-propaandiol **III.18**:*



Lithiumaluminiumhydride (1.24 eq., 0.026 mol, 987 mg) wordt opgelost in diëthylether (0.78 M, 33.60 ml), hieraan wordt de diëster **III.17** (4.51 g, 0.021 mol), opgelost in diëthylether (0.65 M, 33.60 ml), langzaam toegedruppeld en vervolgens wordt het reactiemengsel 3 uren gekookt onder terugvloei-cooling. Na afkoelen wordt achtereenvolgens water (0.7 ml), een 15% natriumhydroxide-oplossing (0.7 ml) en nog eens 2 ml water aan het mengsel toegevoegd en het wordt een uur geroerd bij kamertemperatuur. De zouten worden afgefiltreerd en worden goed nagespoeld met diëthylether. De organische fase wordt gedroogd op magnesiumsulfaat en ingedampt onder verminderde druk. Na zuivering door omkristallisatie in petroleumether wordt er 1.85 g zuiver diol **III.18** bekomen (65%).

Brutoformule: $\text{C}_7\text{H}_{16}\text{O}_2$

Moleculair gewicht: 132.2 g/mol

R_f (isooctaan : ethylacetaat 8 : 2): 0.09

IR (KBr, plaatje): 3303 (s), 2952 (s), 2888 (m), 1473 (m), 1398 (m), 1365 (m), 1331 (w), 1300 (w), 1271 (w), 1233 (w), 1180 (w), 1097 (m), 1047 (m), 1024 (s), 978 (s), 948 (m) cm^{-1}

MS (m/z): 132 (M^+), 117 (2), 99 (6), 84 (21), 81 (7), 69 (61), 57 (100), 56 (41), 41 (36)

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3): 0,91 (9H, s), 1.64 (1H, m), 2.71 (2H, s (br)), 3.78 (2H, dd, $J = 9.7, 9.9$ Hz), 3.99 (2H, d, $J = 10.2$ Hz) ppm

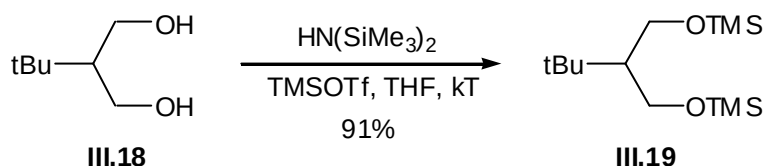
$^{13}\text{C-NMR} + \text{DEPT}$ (50MHz, CDCl_3): 28.14 (- CH_3), 31.40 (-C-), 51.12 (-CH), 64.87 (- CH_2) ppm

smeltpunt: 52°C

C-H-analyse: **berekend:** **C:** 63.60% **H:** 12.20%

gevonden: **C:** 63.62% **H:** 12.22%

Synthese van bistrimethylsilylether III.19:



Aan een oplossing van het diol **III.18** (0.5 g, 3.782 mmol) in tetrahydrofuran (1 M, 3.8 ml) wordt hexamethyldisilazaan (2 eq., 7.564 mmol, 1.6 ml) langzaam toegevoegd. Na voorzichtig toedruppelen van trimethylsilyltriflaot (0.15 eq., 0.04 mmol, 0.1 ml) wordt het reactiemengsel driekwartier bij kamertemperatuur geroerd. Vervolgens wordt petroleumether toegevoegd, de organische fractie wordt 2 maal gewassen met water en de waterfase wordt geëxtraheerd met petroleumether. De verzamelde organische fasen worden gedroogd op anhydrisch magnesiumsulfaat en geconcentreerd onder verminderde druk. Het ruwe product is zuiver genoeg om zo verder te gebruiken, er wordt 952 mg **III.19** geïsoleerd (91%).

Brutoformule: $\text{C}_{13}\text{H}_{32}\text{O}_2\text{Si}_2$

Moleculair gewicht: 276.6 g/mol

R_f (isooctaan : ethylacetaat 8 : 2): 0.98

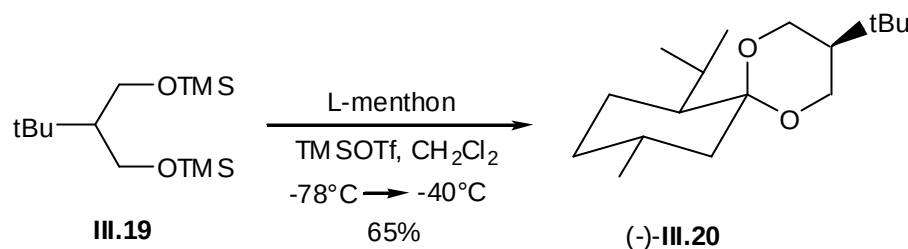
IR (KBr, film): 2958 (s), 2884 (m), 1476 (m), 1400 (m), 1364 (m), 1251 (s), 1121 (s), 1075 (s), 1052 (w), 1033 (m), 1008 (m), 880 (s), 839 (s), 747 (m) cm^{-1}

MS (m/z): 241 (3), 211 (1), 199 (3), 163 (2), 129 (73), 98 (26), 73 (62), 57 (100)

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3): 0.13 (18H, s), 0.95 (9H, s), 1.27 (1H, tt, $J = 4.1, 6.1$ Hz), 3.65 (2H, $\underline{\text{A}}\text{Bd}$, $J = 10.0, 6.2$ Hz), 3.69 (2H, $\text{A}\underline{\text{B}}\text{d}$, $J = 10.0, 4.0$ Hz) ppm

^{13}C -NMR + DEPT (50MHz, CDCl_3): -0.52 ($-\text{CH}_3$), 28.76 ($-\text{CH}_3$), 31.91 ($-\text{C}-$), 52.08 ($-\text{CH}$), 59.71 ($-\text{CH}_2$) ppm

Bereiding van spiroacetaal (-)-III.20:



Een mengsel van trimethylsilylether **III.19** (200 mg, 0.723 mmol) en *L*-menthon (1.05 eq., 0.759 mmol, 130 μl) in dichloormethaan (1.25 M, 0.58 ml) wordt afgekoeld tot -78°C . Trimethylsilyltriflaat (0.04 eq., 0.029 mmol, 5 μl) wordt toegevoegd, het reactiemengsel wordt eerst 6 uren geroerd bij -78°C en vervolgens 16 uren bij -40°C . De reactie wordt gestopt door toevoegen van 30 μl pyridine en 410 μl van een 0.5% natriumhydroxide-oplossing in methanol en het mengsel wordt nog één uur geroerd bij kamertemperatuur. Er wordt water toegevoegd en geëxtraheerd met petroleumether, de verzamelde etherfasen worden gedroogd op anhydrisch natriumsulfaat. Het ruwe mengsel wordt gezuiverd door kolomchromatografie en door HPLC (eluens: petroleumether : diëthylether 99 : 1) en er wordt 126 mg van het spiroacetaal (-)-**III.20** geïsoleerd (65%).

Brutoformule: $\text{C}_{17}\text{H}_{32}\text{O}_2$

Moleculair gewicht: 268.4 g/mol

R_f (petroleumether : diëthylether 96 : 4): 0.65

IR (KBr, film): 2954 (m), 2872 (s), 1456 (m), 1397 (w), 1368 (m), 1302 (m), 1263 (m), 1218 (w), 1159 (s), 1141 (m), 1112 (s), 1085 (s), 1058 (w), 1035 (w), 1013 (m), 972 (w), 935 (w), 899 (w), 849 (m) cm^{-1}

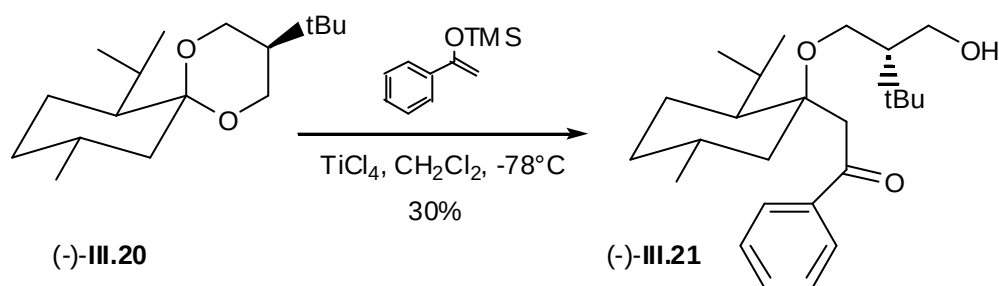
MS (m/z): 268 (M^+), 253 (27), 211 (61), 183 (80), 169 (18), 143 (31), 97 (35), 69 (90), 57 (100)

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3): 0.67 (1H, dd, $J = 12.9, 13.1$ Hz), 0.89 (9H, s), 0.89 (3H, s), 0.90 (3H, d, $J = 6.7$ Hz), 0.91 (3H, d, $J = 6.8$ Hz), 1.19 (1H, ddd, $J = 2.2, 3.8, 6.1$ Hz), 1.35 (1H, ABd , $J = 13.0, 3.6$ Hz), 1.43 (1H, ABd , $J = 13.0, 3.7$ Hz), 1.51 (2H, m), 1.71 (2H, m), 2.38 (1H, dddd, $J = 2.3, 6.6, 7.0, 9.2$ Hz), 2.65 (1H, dd, $J = 2.1, 3.3, 5.3$ Hz), 3.69 (1H, ABd , $J = 11.6, 11.5$ Hz), 3.79 (1H, ABdd , $J = 11.6, 4.9, 2.0$ Hz), 3.82 (1H, ABdd , $J = 11.6, 4.8, 2.0$ Hz), 3.93 (1H, ABd , $J = 11.6, 11.5$ Hz) ppm

$^{13}\text{C-NMR}$ + DEPT (50MHz, CDCl_3): 18.88 ($-\text{CH}_3$), 21.12 ($-\text{CH}_2$), 22.34 ($-\text{CH}_3$), 23.84 ($-\text{CH}_3$), 24.37 ($-\text{CH}$), 27.43 ($-\text{CH}_3$), 28.94 ($-\text{CH}$), 30.43 ($-\text{C}-$), 34.95 ($-\text{CH}_2$), 36.90 ($-\text{CH}_2$), 43.52 ($-\text{CH}$), 51.00 ($-\text{CH}$), 60.40 ($-\text{CH}_2$), 60.73 ($-\text{CH}_2$), 99.47 ($-\text{C}-$) ppm

$[\alpha]_{\text{D}} = -34.9$ ($c = 1.83$ in CHCl_3)

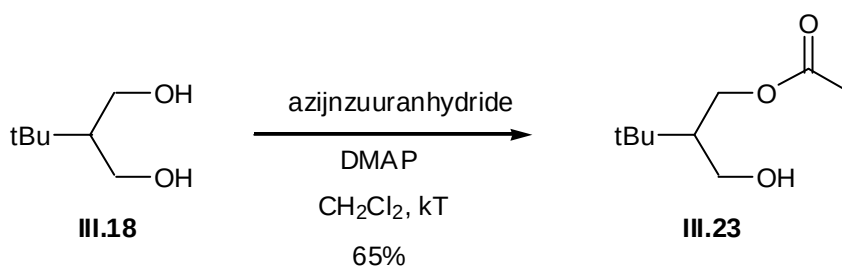
Opening van spiroacetaal (-)-III.20 met de trimethylsilylether van acetofenon:



Een mengsel van spiroacetaal (-)-III.20 (50 mg, 0.186 mmol) en de zelfbereide trimethylsilylenolether van acetofenon (1.05 eq., 0.196 mmol, 38 mg) in dichloormethaan (0.03 M, 5.6 ml) wordt afgekoeld tot -78°C . Hieraan wordt TiCl_4 (1.05 eq., 0.196 mmol, 20 μl) voorzichtig toegedruppeld en het reactiemengsel wordt bij die temperatuur 6 uren geroerd. Om de reactie af te werken wordt 40 μl pyridine toegevoegd en het mengsel wordt uitgegoten in een verzadigde natriumchloride-oplossing. Na extractie met een mengsel van petroleumether : ethylacetaat 5 : 5 wordt de organische fase gewassen met een verzadigde natriumbicarbonaat-oplossing en gedroogd op anhydrisch natriumsulfaat. Het ruwe mengsel wordt gezuiverd door kolomchromatografie (gradiëntelutie: petroleumether : diëthylether 99 : 1 tot 7 : 3) en door HPLC (eluens: petroleumether : diëthylether 7 : 3). Er wordt 12 mg beginproduct (-)-III.20 gerecupereerd (25%) en 22 mg aan eindproduct (-)-III.21 bekomen (30%).

Brutoformule: C₂₅H₄₀O₃**Moleculair gewicht:** 388.6 g/mol**R_f** (petroleumether : diëthylether 7 : 3): 0.33**IR (KBr, film):** 3456 (s (br)), 2954 (s), 2869 (s), 1682 (m), 1597 (w), 1580 (w), 1449 (m), 1366 (m), 1305 (w), 1214 (m), 1182 (w), 1146 (w), 1055 (s), 1002 (m), 752 (m), 690 (m) cm⁻¹**MS (m/z):** 388 (M⁺), 373 (1), 355 (3), 345 (1), 327 (1), 313 (1), 303 (33), 282 (1), 273 (10), 261 (7), 213 (1), 183 (28), 153 (21), 137 (19), 105 (100), 69 (34), 57 (42)**¹H-NMR (500MHz, CDCl₃):** 0.72 (3H, d, *J* = 6.9 Hz), 0.87 (6H, d, *J* = 6.6 Hz), 0.95 (9H, s), 1.30 (1H, m), 1.41-1.53 (2H, m), 1.55-1.65 (3H, m), 1.68 (1H, dd, *J* = 1.7, 4.6 Hz), 1.75 (1H, m), 1.94 (2H, m), 2.94 (1H, s (br)), 3.19 (1H, AB, *J* = 15.8 Hz), 3.48 (1H, d, *J* = 15.8 Hz), 3.49 (1H, dd, *J* = 8.8, 8.9 Hz), 3.72 (2H, m), 3.89 (1H, d (br), *J* = 10.7 Hz), 7.47 (2H, dd, *J* = 7.2, 7.8 Hz), 7.57 (1H, m), 7.94 (2H, m) ppm**¹³C-NMR + DEPT (50MHz, CDCl₃):** 18.48 (-CH₃), 21.06 (-CH₂), 22.19 (-CH₃), 23.66 (-CH₃), 26.63 (-CH), 28.13 (-CH₃), 28.31 (-CH), 31.68 (-C-), 34.93 (-CH₂), 41.46 (-CH₂), 43.19 (-CH₂), 47.48 (-CH), 50.27 (-CH), 62.08 (-CH₂), 64.17 (-CH₂), 81.17 (-C-), 127.93 (-CH), 128.64 (-CH), 132.99 (-CH), 138.27 (-C-), 198.64 (-C-) ppm**[α]_D** = -15.2 (c = 1 in CHCl₃)

VII.2.4 Enzymatische resolutie

Synthese van het racemisch monoacetaat (±)-III.23:

Azijnzuuranhydride (1 eq., 1.89 mmol, 180 μl) wordt toegedruppeld aan een oplossing van het diol **III.18** (250 mg, 1.89 mmol) in dichloormethaan (0.1 M, 18.9 ml). Een spatelpunt dimethylaminopyridine wordt toegevoegd en vervolgens wordt het reactiemengsel 24 uren geroerd bij kamertemperatuur.

Een 10% natriumcarbonaatoplossing (20 ml) wordt aan het mengsel toegevoegd om het gevormde azijnzuur te neutraliseren en de waterfase wordt geëxtraheerd met dichloormethaan. De verzamelde organische fasen worden gedroogd op anhydrisch magnesiumsulfaat. Het bekomen ruwe mengsel wordt gezuiverd door kolomchromatografie en door HPLC (eluens: isooctaan : ethylacetaat 9 : 1). Er wordt 213 mg van het racemische mono-acetaat **III.23** bekomen (65%).

Brutoformule: C₉H₁₈O₃

Moleculair gewicht: 174.2 g/mol

R_f (isooctaan : ethylacetaat 6 : 4): 0.37

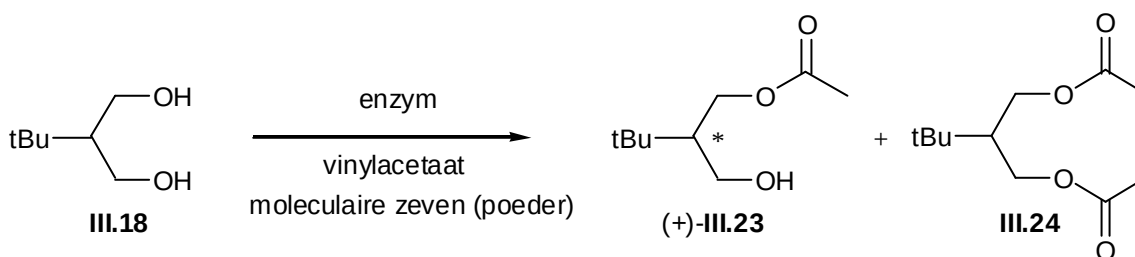
IR (KBr, film): 3468 (m (br)), 2961 (s), 1739 (s), 1474 (m), 1367 (m), 1247 (s), 1093 (w), 1031 (s), 607 (w) cm⁻¹

MS (m/z): 157 (M⁺-17, 6), 149 (8), 137 (13), 120 (11), 105 (35), 97 (20), 81 (26), 69 (50), 57 (78), 43 (100)

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃): 0.97 (9H, s), 1.55 (1H, tt, *J* = 7.3, 3.7 Hz), 2.02 (1H, t, *J* = 5.9 Hz), 2.07 (3H, s), 3.62 (1H, m), 3.78 (1H, m), 4.20 (1H, ABd, *J* = 11.4, 6.7 Hz), 4.40 (1H, ABd, *J* = 11.4, 4.1 Hz) ppm

¹³C-NMR + DEPT (50MHz, CDCl₃): 21.07 (-CH₃), 28.37 (-CH₃), 31.84 (-C-), 49.81 (-CH), 60.82 (-CH₂), 63.41 (-CH₂), 171.65 (C=O) ppm

*Enzymatische resolutie van **III.18** in vinylacetaat:*



Aan een oplossing van het diol **III.18** (52.9 mg, 0.400 mmol) en moleculaire zeven (poeder 4A) in vinylacetaat (0.08 M, 5 ml) wordt het enzym toegevoegd. De reactie wordt vervolgens geroerd bij kamertemperatuur. Als de reactie afgelopen is (TLC-controle) of na een bepaalde tijd worden het enzym en de moleculaire zeven afgefilterd en het filtraat wordt ingedampt onder verminderde druk.

Na zuiveren van het ruwe product door kolomchromatografie op florisil (eluens: isooctaan : ethylacetaat 72 : 28) wordt het zuivere monoacetaat (+)-**II.23** bekomen, naast eventueel het diacetaat **III.24**. De enantiomere overmaat van **III.23** wordt bepaald door de opname van een ^1H -NMR-spectrum van de corresponderende mandelzure ester.

diacetaat **III.24**:

Brutoformule: $\text{C}_{11}\text{H}_{20}\text{O}_4$

Moleculair gewicht: 216.3 g/mol

R_f (isooctaan : ethylacetaat 6 : 4): 0.55

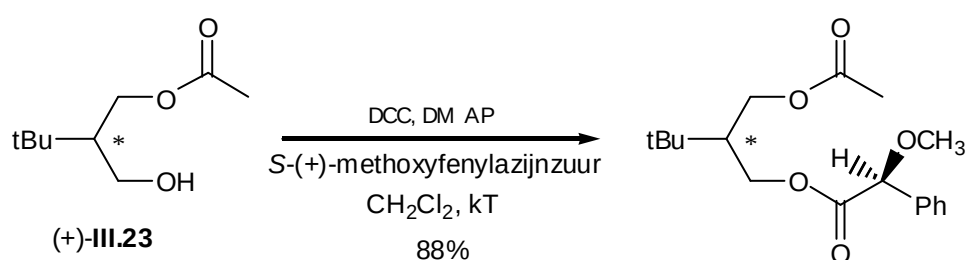
IR (KBr, film): 2966 (m), 2892 (w), 1743 (s), 1476 (m), 1368 (m), 1233 (s), 1035 (m) cm^{-1}

MS (m/z): 217 ($\text{M}^+ + 1$), 201 (1), 179 (1), 173 (1), 159 (2), 141 (3), 123 (1), 114 (6), 100 (41), 81 (13), 57 (42), 43 (100)

^1H -NMR (500MHz, CDCl_3): 0.98 (9H, s), 1.73 (1H, tt, $J = 4.3, 6.8$ Hz), 2.05 (6H, s), 4.09 (2H, ABd , $J = 11.3, 6.8$ Hz), 4.40 (2H, ABd , $J = 11.3, 4.3$ Hz) ppm

^{13}C -NMR + DEPT (50MHz, CDCl_3): 20.99 (- CH_3), 28.25 (- CH_3), 31.96 (-C-), 46.12 (-CH), 62.45 (- CH_2), 171.07 (C=O) ppm

Bepaling van de enantiomere overmaat via de corresponderende mandelzure ester van (+)-**III.23**:



Aan een oplossing van het monoacetaat (+)-**III.23** (16 mg, 0.094 mmol) in dichloormethaan (0.05 M, 2 ml) wordt achtereenvolgens dimethylaminopyridine (0.1 eq., 0.009 mmol, 1.1 mg), dicyclohexylcarbodiimide (1 eq., 0.094 mmol, 19 mg) en S-(+)-methoxyfenylazijnzuur (1 eq., 0.094 mmol, 16 mg) toegevoegd.

Het mengsel wordt overnacht geroerd bij kamertemperatuur. Het dicyclohexylureum wordt afgefiltreerd over celiet en de neerslag wordt goed gespoeld met pentaan. Het filtraat wordt achtereenvolgens gewassen met een 1 M zoutzuuroplossing, met een verzadigde natriumbicarbonaatoplossing en met een verzadigde natriumchloride-oplossing. Tenslotte wordt de organische fase gedroogd op anhydrisch magnesiumsulfaat. Het geconcentreerde mengsel wordt gezuiverd door kolomchromatografie (eluens: isooctaan : ethylacetaat 85 : 15) en er wordt 27 mg aan een mengsel van beide diastereomeren bekomen (88%).

Brutoformule: $C_{18}H_{26}O_5$

Moleculair gewicht: 322.4 g/mol

R_f (isooctaan : ethylacetaat 6 : 4): 0.58

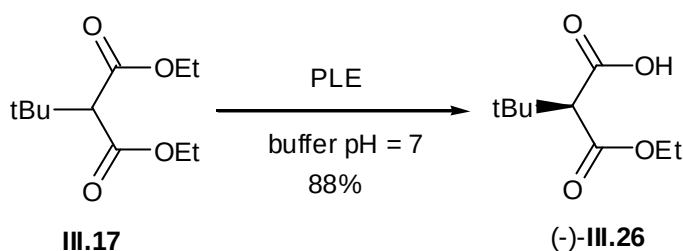
IR (KBr, film): 2962 (s), 2828 (w), 1739 (s), 1602 (w), 1473 (m), 1456 (m), 1391 (w), 1368 (m), 1232 (s), 1175 (s), 1115 (s), 1076 (w), 1031 (s), 1004 (m), 733 (m), 699 (m) cm^{-1}

MS (m/z): 322 (M^+), 275 (1), 265 (1), 247 (2), 215 (2), 197 (2), 185 (2), 169 (3), 148 (10), 121 (100), 77 (15), 43 (21)

1H -NMR (500MHz, $CDCl_3$): 0.86 (9H, s), 0.90 (9H, s), 1.66 (1H, m), 1.70 (1H, m), 1.96 (6H, s), 3.39 (3H, s), 3.40 (3H, s), 3.87 (1H, $\underline{A}Bd$, $J = 11.3, 7.2$ Hz), 4.01 (1H, $\underline{A}Bd$, $J = 11.3, 6.9$ Hz), 4.11 (1H, $\underline{A}Bd$, $J = 11.4, 4.4$ Hz), 4.12 (1H, $\underline{A}Bd$, $J = 11.2, 6.6$ Hz), 4.13 (1H, $\underline{A}Bd$, $J = 11.4, 4.2$ Hz), 4.16 (1H, $\underline{A}Bd$, $J = 11.4, 6.1$ Hz), 4.30 (1H, $\underline{A}Bd$, $J = 11.4, 4.5$ Hz), 4.31 (1H, $\underline{A}Bd$, $J = 11.4, 4.3$ Hz), 4.77 (2H, s), 7.31-7.43 (10H, m) ppm

^{13}C -NMR + DEPT (50MHz, $CDCl_3$): 20.26 ($-CH_3$), 27.54 ($-CH_3$), 27.58 ($-CH_3$), 31.23 ($-C-$), 31.28 ($-C-$), 45.43 ($-CH$), 45.46 ($-CH$), 56.66 ($-CH_3$), 61.42 ($-CH_2$), 62.31 ($-CH_2$), 62.43 ($-CH_2$), 81.91 ($-CH$), 126.50 ($-CH$), 126.57 ($-CH$), 127.99 ($-CH$), 128.12 ($-CH$), 135.42 ($-C-$), 135.47 ($-C-$), 170.01 ($C=O$), 170.32 ($C=O$) ppm

Resolutie van diëster **III.17** met het enzym PLE tot (-)-**III.26**:



De diëster **III.17** (433 mg, 2.000 mmol) wordt opgelost in de bufferoplossing (12.5 ml, $\text{KH}_2\text{PO}_4\text{-Na}_2\text{HPO}_4$, pH = 7, FLUKA), het enzym PLE (0.5 ml, Boehringer-Mannheim (pH = 6)) wordt hieraan toegevoegd en de reactie wordt gedurende 54 uren bij kamertemperatuur geroerd. Met behulp van de pH-stat wordt een 1 M natriumhydroxide-oplossing toegedruppeld om de zuurtegraad van het reactiemengsel bij pH = 7 te houden. De reactie wordt afgewerkt door extractie van de basische waterfase met diëthylether. Vervolgens wordt de waterfase aangezuurd met een 1 M zoutzuuroplossing en geëxtraheerd met diëthylether; de organische fase wordt gedroogd op anhydriisch natriumsulfaat. De mono-ester wordt gezuiverd door Kugelrohrdestillatie (130-135°C bij p = 0.15 mmHg), er wordt 331 mg zuiver eindproduct (-)-**III.26** bekomen (88%).

Brutoformule: $\text{C}_9\text{H}_{16}\text{O}_4$

Moleculair gewicht: 188.2 g/mol

R_f (isooctaan : ethylacetaat 6 : 4): 0.44

IR (KBr, film): 2964 (s), 1732 (s), 1712 (s), 1467 (w), 1370 (m), 1318 (m), 1224 (m), 1147 (s), 1048 (m), 1026 (m) cm^{-1}

MS (m/z): 143 (M^+ -46, 8), 132 (53), 114 (19), 104 (19), 86 (32), 69 (13), 57 (100), 41 (47)

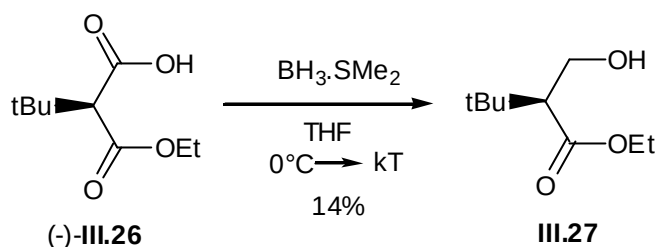
$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3): 1.14 (9H, s), 1.31 (3H, t, $J = 7.1$), 3.27 (1H, s), 4.23 (1H, ABq, $J = 10.8, 7.1$), 4.26 (1H, ABq, $J = 10.9, 7.2$), ppm

$^{13}\text{C-NMR}$ + DEPT (50MHz, CDCl_3): 14.05 (- CH_3), 28.13 (- CH_3), 34.73 (-C-), 60.84 (-CH), 61.86 (- CH_2), 170.59 (C=O), 171.20 (C=O) ppm

[α]_D = -18.6 ($c = 1.07$ in CHCl_3)

kookpunt: 130-135°C bij 0.15 mmHg

Chemoselectieve reductie van het carbonzuur in (-)-III.26:



Boraandimethylsulfidecomplex (5 eq., 1.33 mmol, 130 μl) wordt toegedruppeld aan een oplossing van de mono-ester (-)-II.26 (50 mg, 0.27 mmol) in tetrahydrofuran (0.5 M, 540 μl) vooraf in een ijsbad gekoeld. Na een kwartier roeren bij 0°C wordt het reactiemengsel langzaam opgewarmd tot kamertemperatuur. Na overnacht roeren bij kamertemperatuur wordt de reactie gequenched door toevoegen van water. Na extractie met ethylacetaat wordt de organische fase gedroogd op anhydrisch natriumsulfaat. De ruwe complexe fractie wordt gezuiverd door kolomchromatografie (eluens: isooctaan: ethylacetaat : azijnzuur 9 : 0.9 : 0.1) en er wordt 4 mg aan alcohol III.27 bekomen (14%).

Brutoformule: $\text{C}_9\text{H}_{18}\text{O}_3$

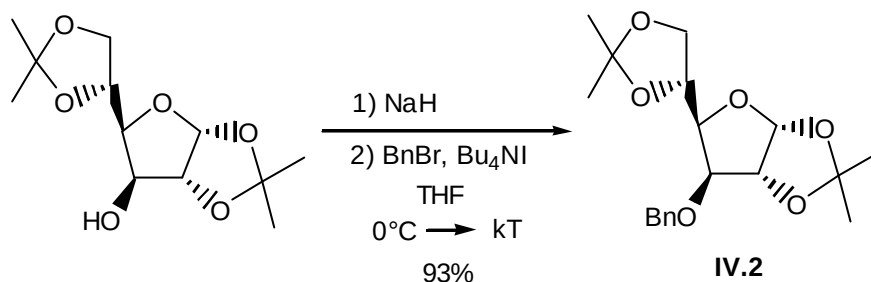
Moleculair gewicht: 174.2 g/mol

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3): 1.00 (9H, s), 1.25 (1H, s (br)), 1.29 (3H, dd, $J = 7.1, 7.2$ Hz), 2.48 (1H, dd, $J = 4.0, 10.0$ Hz), 3.79 (1H, dd, $J = 3.8, 10.7$ Hz), 3.96 (1H, dd, $J = 10.3, 10.4$ Hz), 4.14 (1H, $\underline{\text{A}}\text{Bq}$, $J = 10.8, 7.1$ Hz), 4.22 (1H, $\text{AB}\underline{\text{q}}$, $J = 10.9, 7.1$ Hz) ppm

VII.3 Experimenteel gedeelte bij hoofdstuk IV

VII.3.1 Stapsgewijze ontwikkeling van aminotriol II.28

Benzylering van de vrije hydroxylgroep in diacetyl-D-glucose:



Het commercieel beschikbare diacetyl-D-glucose (30 g, 0.115 mol) wordt opgelost in tetrahydrofuran (0.6 M, 192 ml) en het mengsel wordt afgekoeld tot 0°C met behulp van een ijsbad. Nadat natriumhydride (1.01 eq., 0.116 mol, 4.66 g van 60% suspensie in minerale olie) voorzichtig is toegevoegd aan het mengsel, wordt het een uur geroerd bij 0°C. Hierbij wordt een kleuromslag van een gele naar een bruine oplossing waargenomen. Vervolgens wordt tetrabutylammoniumjodide (0.1 eq., 0.012 mol, 4.26 g) en benzylbromide (1 eq., 0.115 mol, 13.7 ml) aan het mengsel toegevoegd. De kolf wordt na 10 minuten uit het ijsbad gehaald en de reactie wordt voor 2 uur en een half verder geroerd bij kamertemperatuur. Tijdens de reactie verandert de kleur van het mengsel opnieuw, het kleurt nu wit. De reactie wordt afgewerkt door toevoegen van florisil aan het mengsel en vervolgens wordt het solvent ingedampt onder verminderde druk. De florisil wordt afgefiltreerd en goed nagespoeld met pentaan, waarna het bekomen filtraat wordt ingedampt onder verminderde druk. Het ruwe product wordt gezuiverd door kolomchromatografie (eluens: pentaan : diëthylether 85 : 15) en er wordt 37.76 g aan zuivere benzylether **IV.2** bekomen (93%).

Brutoformule: C₁₉ H₂₆ O₆

Moleculair gewicht: 350.4 g/mol

R_f (pentaan : diëthylether 8 : 2): 0.41

IR (KBr, film): 3064 (w), 3032 (w), 2988 (s), 2936 (s), 1498 (m), 1456 (s), 1373 (s), 1217 (s, br), 1166 (s), 1024 (s), 886 (m), 850 (s), 737 (s), 699 (s) cm^{-1}

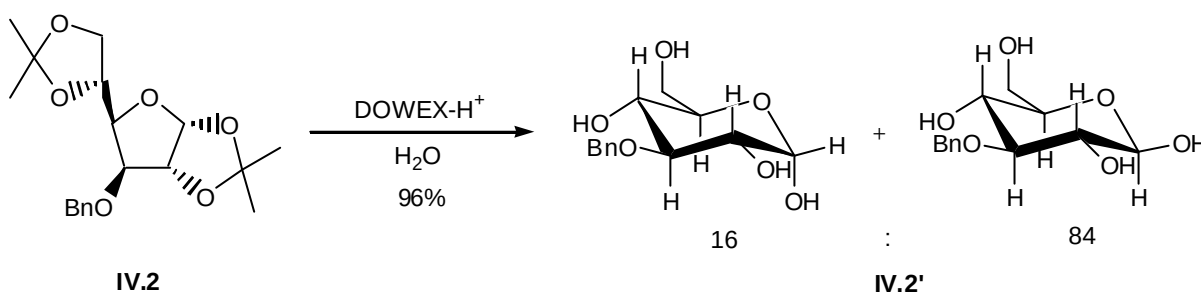
MS (m/z): 335 ($\text{M}^+ - 15$, 4), 292 (4), 277 (2), 234 (1), 216 (1), 149 (1), 113 (5), 91 (100), 43 (30)

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3): 1.31 (3H, s), 1.38 (3H, s), 1.43 (3H, s), 1.49 (3H, s), 4.01 (1H, dd, $J = 5.9, 8.5$ Hz), 4.03 (1H, d, $J = 3.0$ Hz), 4.15 (1H, dd, $J = 3.1, 7.8$ Hz), 4.18 (1H, dd, $J = 6.2, 8.6$ Hz), 4.37 (1H, ddd, $J = 6.3, 6.1, 7.5$ Hz), 4.59 (1H, d, $J = 3.7$ Hz), 4.64 (1H, $\underline{\text{AB}}$, $J = 11.8$ Hz), 4.68 (1H, $\underline{\text{AB}}$, $J = 11.8$ Hz), 5.90 (1H, d, $J = 3.70$ Hz), 7.33-7.37 (5H, m) ppm

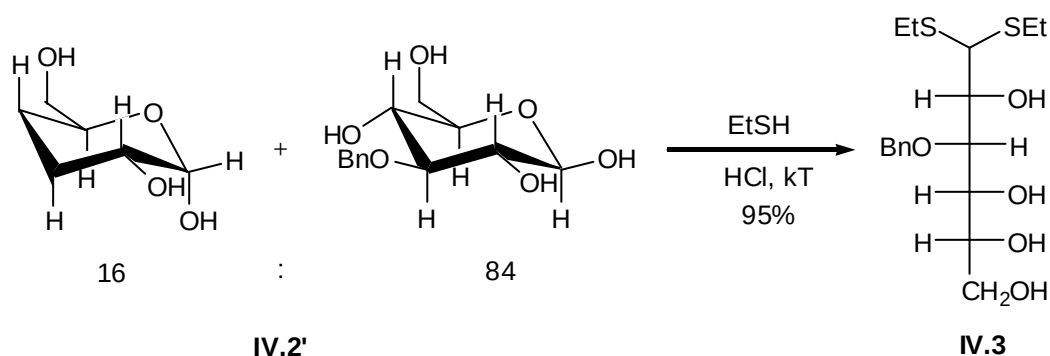
$^{13}\text{C-NMR}$ + DEPT (50MHz, CDCl_3): 25.41 ($-\text{CH}_3$), 26.21 ($-\text{CH}_3$), 26.76 ($-\text{CH}_3$), 26.80 ($-\text{CH}_3$), 67.37 ($-\text{CH}_2$), 72.33 ($-\text{CH}_2$), 72.48 ($-\text{CH}$), 81.27 ($-\text{CH}$), 81.60 (CH), 82.60 (CH), 105.26 ($-\text{CH}$), 108.95 ($-\text{C}-$), 111.76 ($-\text{C}-$), 127.62 ($-\text{CH}$), 127.82 ($-\text{CH}$), 128.38 ($-\text{CH}$), 137.60 ($-\text{C}-$) ppm

$[\alpha]_{\text{D}}$ = -27.0 ($c = 0.98$ in CHCl_3)

Ontscherming van de acetonides, synthese van 3-O-benzyl-D-glucose:



Nadat het diacetonide **IV.2** (37.76 g, 0.108 mol) is gemengd met water (190 ml) wordt de zure ionenuitwisselaar DOWEX-50W-8X toegevoegd. De reactie wordt 6 dagen geroerd bij kamertemperatuur en als alle beginproduct is omgezet (TLC-controle) wordt de ionenuitwisselaar afgefiltreerd en het filtraat wordt gelyofiliseerd. Er wordt 28.12 g zuiver 3-O-benzyl-D-glucose bekomen (96%). Er wordt een mengsel van α - en β -D-glucose (16:84) bekomen.

Brutoformule: C₁₃H₁₈O₆**Moleculair gewicht:** 270.9 g/mol**R_f** (diëthylether : dichloormethaan 8 : 2): basislijn**IR (KBr, plaatje):** 3496 (s, (br)), 3134 (s), 3030 (s), 2931 (s), 2876 (m), 1637 (w), 1618 (w), 1496 (m), 1453 (s), 1397 (m), 1366 (s), 1256 (m), 1221 (m), 1206 (w), 1123 (m), 1083 (s), 1039 (s), 949 (m), 914 (m), 753 (m), 736 (m), 698 (m) cm⁻¹**MS (m/z):** 271 (M⁺+1), 253 (3), 225 (2), 199 (6), 163 (3), 146 (1), 133 (2), 107 (9), 91 (100), 65 (19), 43 (15)**ES (m/z):** 293 (M + Na)⁺**¹H-NMR (500MHz, CD₃OD) (b):** 3.3 (1H, m), 3.26 (1H, dd, *J* = 7.8, 7.9 Hz), 3.34 (1H, dd, *J* = 8.9, 9.0 Hz), 3.41 (1H, dd, *J* = 9.1, 9.5 Hz), 3.64 (1H, ABd, *J* = 11.9, 5.9 Hz), 3.85 (1H, ABd, *J* = 11.9, 2.3 Hz), 4.49 (1H, d, *J* = 7.8 Hz), 4.85 (1H, AB, *J* = 11.2 Hz), 4.91 (1H, AB, *J* = 11.2 Hz), 7.24 (2H, t, *J* = 7.3 Hz), 7.30 (2H, t, *J* = 7.6 Hz), 7.43 (1H, d, *J* = 7.0 Hz) ppm**¹³C-NMR + DEPT (50MHz, CD₃OD) (a : b 16 : 84):** 62.61 (α, -CH₂), 62.80 (β, -CH₂), 71.54 (β, -CH), 71.63 (α, -CH), 73.09 (α, -CH), 73.98 (α, -CH), 76.00 (β, -CH₂), 76.23 (α, -CH₂), 76.45 (β, -CH), 78.01 (β, -CH), 83.59 (α, -CH), 86.37 (β, -CH), 94.14 (α, -CH), 98.28 (β, -CH), 128.47 (-CH), 129.08 (-CH), 129.15 (-CH), 140.43 (β, -C-), 140.58 (α, -C-) ppm**Smeltpunt:** 114°C (α : β 13% : 87%)*Bescherming van het aldehyde, synthese van thioacetaal IV.3:*

Aan een mengsel van 3-O-benzyl-D-glucose (34.25 g, 0.126 mol) en ethaanthiol (10 eq., 1.264 mol, 94 ml) wordt geconcentreerd zoutzuur (3 eq., 0.379 mol, 31.5 ml)

voorzichtig toegevoegd. Het reactiemengsel wordt 2 uur en een half geroerd bij kamertemperatuur vooraleer het zure mengsel geneutraliseerd wordt met een 6 M natriumhydroxide-oplossing. Na extractie van de neutrale waterfase met diëthylether wordt deze gedroogd op anhydrisch natriumsulfaat en ingedampt onder verminderde druk. Het ruwe thioacetaal wordt gezuiverd door kolomchromatografie (eluens: dichloormethaan : diëthylether 8 : 2) en er wordt 45.37 g zuiver eindproduct **IV.3** bekomen (95%).

Brutoformule: C₁₇ H₂₈ O₅ S₂

Moleculair gewicht: 376.5 g/mol

R_f (diëthylether : dichloormethaan 8 : 2): 0.18

IR (KBr, film): 3418 (s, (br)), 2964 (m), 2954 (m), 2927 (m), 2872 (m), 1454 (m), 1405 (w), 1374 (w), 1265 (m), 1210 (w), 1087 (s), 1054 (s), 897 (w), 734 (m), 699 (m) cm⁻¹

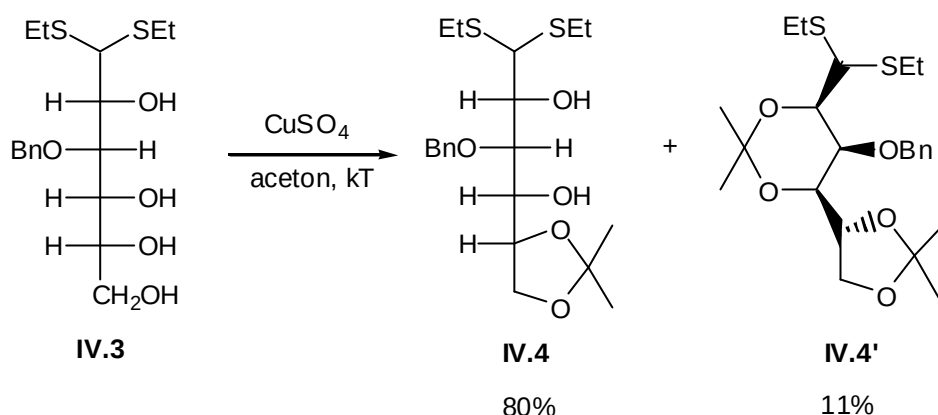
MS (m/z): 376 (M⁺), 358 (1), 315 (1), 267 (3), 253 (1), 223 (2), 175 (2), 138 (3), 135 (40), 91 (100), 61 (8)

¹H-NMR (500MHz, CD₃OD): 1.23 (3H, t, *J* = 7.4 Hz), 1.25 (3H, t, *J* = 7.5 Hz), 2.65 (1H, q, *J* = 7.4 Hz), 2.69 (1H, q, *J* = 7.4 Hz), 2.74 (1H, q, *J* = 7.5 Hz), 2.76 (1H, q, *J* = 7.4 Hz), 3.64 (1H, m), 3.72 (1H, dd, *J* = 2.5, 8.3 Hz), 3.78 (2H, m), 4.02 (1H, d, *J* = 5.3 Hz), 4.05 (1H, dd, *J* = 5.2, 5.3 Hz), 4.18 (1H, dd, *J* = 2.3, 5.2 Hz), 4.82 (1H, AB, *J* = 11.0 Hz), 4.87 (1H, AB, *J* = 11.0 Hz), 7.25 (1H, m), 7.31 (2H, dd, *J* = 7.1, 7.7 Hz), 7.42 (2H, d, *J* = 7.1 Hz) ppm

¹³C-NMR + DEPT (50MHz, CDCl₃): 13.96 (-CH₃), 14.14 (-CH₃), 23.81 (-CH₂), 24.82 (-CH₂), 54.94 (-CH), 63.42 (-CH₂), 71.42 (-CH), 72.68 (-CH), 73.47 (-CH), 74.61 (-CH₂), 76.08 (-CH), 127.56 (-CH), 127.80 (-CH), 128.11 (-CH), 137.77 (-C-) ppm

[α]_D = +22.5 (c = 1.43 in CHCl₃)

Bescherming van het diol in **IV.3** als acetonide:



Het thioacetaal **IV.3** (20.39 g, 0.054 mol) wordt opgelost in aceton (79 eq., 315 ml), anhydrisch koper(II)sulfaat (0.79 eq., 6.83 g) wordt hieraan toegevoegd en het reactiemengsel wordt vervolgens 6 dagen geroerd bij kamertemperatuur. Het ruwe acetonide wordt bekomen door indampen van het filtraat, nadat het kopersulfaat afgefiltreerd is. Het eindproduct wordt gezuiverd door kolomchromatografie (eluens: isooctaan : ethylacetaat 8 : 2) en er wordt 18.05 g aan zuiver acetonide **IV.4** verkregen (80%), naast 2.71 g van het diacetonide **IV.4'** (11%).

acetonide **IV.4**:

Brutoformule: $\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{O}_5\text{S}_2$

Moleculair gewicht: 416.6 g/mol

R_f (diëthylether : dichloormethaan 8 : 2): 0.68

IR (KBr, film): 3457 (s, br), 3064 (w), 3032 (w), 2982 (s), 2928 (s), 2873 (s), 1497 (m), 1455 (m), 1372 (m), 1257 (m), 1217 (m), 1150 (w), 1074 (m), 978 (w), 928 (w), 890 (w), 847 (m), 784 (w), 736 (m), 699 (m) cm^{-1}

MS (m/z): 416 (M^+), 339 (2), 297 (1), 281 (1), 263 (4), 223 (45), 205 (41), 187 (13), 175 (38), 165 (12), 149 (48), 135 (34), 117 (9), 101 (11), 91 (100), 75 (4), 59 (6)

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, C_6D_6): 1.01 (3H, t, $J = 7.4$ Hz), 1.02 (3H, t, $J = 7.4$ Hz), 1.27 (3H, s), 1.44 (3H, s), 2.41 (1H, q, $J = 7.4$ Hz), 2.42 (1H, q, $J = 7.6$ Hz), 2.47 (1H, q, $J = 7.5$ Hz), 2.49 (1H, q, $J = 7.4$ Hz), 3.09 (1H, d, $J = 6.3$ Hz), 3.29 (1H, d, $J = 4.1$ Hz), 3.83 (1H, ddd, $J = 1.8, 6.3, 8.1$ Hz), 4.01 (1H, m), 4.06 (1H, dt, $J = 2.1, 7.6$ Hz), 4.08 (1H, d, $J = 6.2$ Hz), 4.18 (2H, m), 4.40 (1H, dd, $J = 2.0, 4.3$ Hz), 4.91 (1H, $\underline{\text{AB}}$, $J = 11.4$ Hz), 4.97 (1H, $\underline{\text{AB}}$, $J = 11.4$ Hz), 7.08 (1H, t, $J = 7.4$ Hz), 7.17 (2H, m), 7.40 (2H, d, 7.5 Hz) ppm

$^{13}\text{C-NMR} + \text{DEPT}$ (50MHz, CDCl_3): 14.38 ($-\text{CH}_3$), 14.51 ($-\text{CH}_3$), 24.18 ($-\text{CH}_2$), 25.32 ($-\text{CH}_2/-\text{CH}_3$), 26.92 ($-\text{CH}_3$), 55.17 ($-\text{CH}$), 67.36 ($-\text{CH}_2$), 74.43 ($-\text{CH}$), 74.49 ($-\text{CH}$), 75.21 ($-\text{CH}_2$), 75.49 ($-\text{CH}$), 77.22 ($-\text{CH}$), 109.21 ($-\text{C}-$), 127.85 ($-\text{CH}$), 128.012 ($-\text{CH}$), 128.34 ($-\text{CH}$), 138.22 ($-\text{C}-$) ppm

$[\alpha]_{\text{D}}$ = +10.2 ($c = 0.58$ in CHCl_3)

diacetonide IV.4':

Brutoformule: $\text{C}_{23}\text{H}_{36}\text{O}_5\text{S}_2$

Moleculair gewicht: 456.6 g/mol

R_f (isooctaan : ethylacetaat 7 : 3): 0.51

IR (KBr, film): 2986 (m), 2927 (s), 2870 (m), 1497 (w), 1454 (m), 1380 (s), 1351 (m), 1261 (s), 1203 (s), 1153 (s), 1102 (m), 1078 (s), 1049 (m), 972 (w), 955 (w), 903 (w), 853 (m), 824 (w), 734 (m), 697 (m) cm^{-1}

ES (m/z): 479 ($\text{M} + \text{Na}$)⁺

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3): 1.20 (3H, t, $J = 7.2$ Hz), 1.23 (3H, t, $J = 7.2$ Hz), 1.33 (3H, s), 1.44 (6H, s), 1.45 (3H, s), 2.67 (4H, m), 3.64 (1H, d, $J = 8.7$ Hz), 3.78 (1H, d, $J = 10.1$ Hz), 3.84 (1H, dd, $J = 5.2, 8.5$ Hz), 3.95 (1H, s), 4.09 (1H, dd, $J = 6.4, 8.9$ Hz), 4.16 (1H, d, $J = 10.1$ Hz), 4.26 (1H, ddd, $J = 5.5, 6.2, 8.6$ Hz), 4.87 (1H, $\underline{\text{AB}}$, $J = 11.8$ Hz), 4.92 (1H, $\underline{\text{AB}}$, $J = 11.7$ Hz), 7.24-7.40 (5H, m) ppm

$[\alpha]_{\text{D}}$ = -18.4 ($c = 2.18$ in CHCl_3)

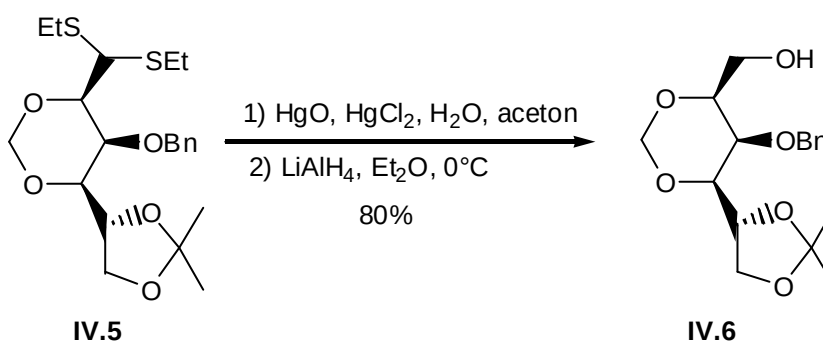
$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3): 1.24 (6H, t, $J = 7.4$ Hz), 1.37 (3H, s), 1.46 (3H, s), 2.68 (2H, q, $J = 7.4$ Hz), 2.69 (2H, q, $J = 7.3$ Hz), 3.47 (1H, dd, $J = 8.9, 1.1$ Hz), 3.56 (1H, dd, $J = 10.3, 1.3$ Hz), 3.95 (1H, dd, $J = 5.0, 8.7$ Hz), 4.09 (1H, s (br)), 4.11 (1H, dd, $J = 6.1, 8.6$ Hz), 4.20 (1H, d, $J = 10.3$ Hz), 4.31 (1H, ddd, $J = 5.3, 5.9, 8.9$ Hz), 4.73 (1H, d, $J = 6.2$ Hz), 4.87 (1H, AB , $J = 11.3$ Hz), 4.92 (1H, AB , $J = 11.3$ Hz), 5.19 (1H, d, $J = 6.2$ Hz), 7.28 (1H, d, $J = 7.2$ Hz), 7.33 (2H, t, $J = 7.3$ Hz), 7.39 (2H, d, 7.1 Hz) ppm

$^{13}\text{C-NMR} + \text{DEPT}$ (50MHz, CDCl_3): 14.31 ($-\text{CH}_3$), 23.82 ($-\text{CH}_2$), 25.25 ($-\text{CH}_3$), 25.50 ($-\text{CH}_2$), 26.92 ($-\text{CH}_3$), 50.98 ($-\text{CH}$), 67.43 ($-\text{CH}_2$), 71.76 ($-\text{CH}$), 72.88 ($-\text{CH}$), 75.21 ($-\text{CH}_2$), 80.82 ($-\text{CH}$), 81.75 ($-\text{CH}$), 93.56 ($-\text{CH}_2$), 109.37 ($-\text{C}-$), 127.58 ($-\text{CH}$), 127.91 ($-\text{CH}$), 128.28 ($-\text{CH}$), 138.33 ($-\text{C}-$) ppm

$[\alpha]_{\text{D}} = -25.6$ ($c = 0.86$ in CHCl_3)

C-H-analyse:	berekend:	C: 58.80%	H: 7.50%
	gevonden:	C: 58.73%	H: 7.56%

Ontscherming van het thioacetaal in **IV.5**:



Er wordt gedestilleerd water (1.5 eq., 7 mmol, 126 μl) toegevoegd aan een oplossing van het thioacetaal **IV.5** (2 g, 4.666 mmol) in aceton (HPLC kwaliteit, 0.1 M, 46 ml). Vervolgens wordt kwik(II)oxide (2.2 eq., 0.010 mol, 2.22 g) en kwik(II)chloride (2.2 eq., 0.010 mol, 2.78 g) toegevoegd. Het mengsel wordt dan 20 uren bij kamertemperatuur geroerd, vooraleer het onopgeloste kwik(II)oxide wordt afgefiltreerd over celiet.

Het filtraat wordt ingedampt onder verminderde druk en aan het bekomen residu worden 150 ml van een 10% kaliumjodide oplossing en 150 ml diëthylether toegevoegd. Vervolgens wordt dit mengsel gedurende een halfuur goed geroerd. De twee fasen worden gescheiden; de waterfase wordt nog tweemaal geëxtraheerd met diëthylether en de verzamelde organische fasen worden gedroogd op anhydrisch natriumsulfaat. Na indampen van het solvent onder verminderde druk wordt 1.56 g bekomen van het ruwe aldehyde **II.21**, dat om epimerisatie te vermijden niet wordt gezuiverd door kolomchromatografie, maar verder gereduceerd wordt tot de corresponderende alcohol **IV.6** om het zo langer te kunnen bewaren.

Hiervoor wordt aan een gekoelde suspensie (0°C) van lithiumaluminiumhydride (1.5 eq., 7.246 mmol, 275 mg) in diëthylether (0.17 M, 46 ml) een oplossing van het ruwe aldehyde **II.21** (1.56 g, 4.839 mmol) in diëthylether (0.34 M; 14 ml) toegedruppeld. Het reactiemengsel wordt gedurende één uur geroerd bij 0°C, vervolgens wordt natriumsulfaatdecahydraat toegevoegd tot het mengsel niet meer bruist en het wordt nog verder geroerd tot een duidelijk wit-grijs neerslag gevormd wordt. Het neerslag wordt afgefiltreerd, wordt goed nagespoeld met diëthylether en tenslotte wordt het filtraat ingedampt onder verminderde druk. Het ruwe product wordt gezuiverd door kolomchromatografie (gradiëntelutie: isooctaan : ethylacetaat 6 : 4 tot 5 : 5). Er wordt 1.21 g zuiver alcohol **IV.6** bekomen (80% rendement).

Brutoformule: C₁₇ H₂₄ O₆

Moleculair gewicht: 324.4 g/mol

R_f (isooctaan : ethylacetaat 6 : 4): 0.14

IR (KBr, film): 3529 (s), 3034 (w), 2996 (m), 2975 (m), 2952 (s), 2923 (s), 2895 (s), 2873 (s), 2790 (w), 1644 (w), 1498 (w), 1456 (s), 1404 (m), 1377 (s), 1358 (m), 1271 (s), 1207 (s), 1172 (s), 1112 (s), 1028 (s), 993 (s), 939 (w), 918 (w), 879 (w), 847 (s), 810 (m), 741 (s), 698 (s), 675 (m) cm⁻¹

ES (m/z): 347.3 (M + Na)⁺

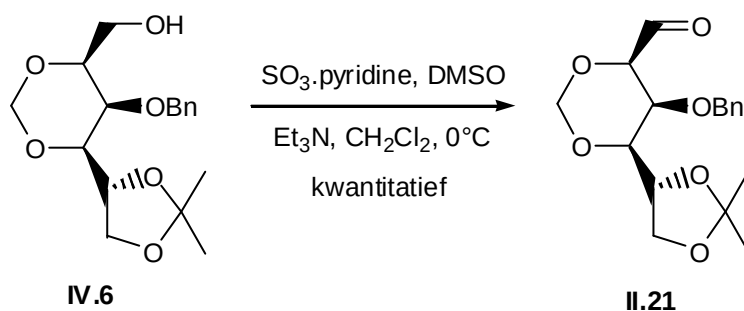
^1H -NMR (500MHz, C_6D_6): 1.22 (3H, s), 1.41 (3H, s), 3.27 (1H, dd, $J = 1.3, 8.7$ Hz), 3.35 (1H, ddd, $J = 1.3, 5.6, 6.9$ Hz), 3.45 (1H, s (br)), 3.56 (1H, m), 3.75 (1H, dd, $J = 7.0, 10.6$ Hz), 3.96 (2H, d, $J = 5.6$ Hz), 4.30 (1H, d, $J = 6.0$ Hz), 4.39 (1H, dt, $J = 5.5, 8.7$ Hz), 4.56 (1H, d, $J = 11.3$ Hz), 4.78 (1H, d, $J = 11.3$ Hz), 4.92 (1H, d, $J = 5.9$ Hz), 7.09 (1H, dd, $J = 7.3, 7.4$ Hz), 7.16 (2H, t, $J = 7.3$ Hz), 7.39 (2H, d, 7.4 Hz) ppm

^{13}C -NMR + DEPT (50MHz, CDCl_3): 25.26 (- CH_3), 27.03 (- CH_3), 62.33 (- CH_2), 67.38 (- CH_2), 70.12 (-CH), 72.76 (-CH), 74.31 (- CH_2), 79.60 (-CH), 80.60 (-CH), 93.34 (- CH_2), 109.38 (-C-), 128.28 (-CH), 128.55 (-CH), 129.08 (-CH), 137.61 (-C-) ppm

$[\alpha]_{\text{D}} = +21.6$ ($c = 1.15$ in CHCl_3)

C-H-analyse:	berekend:	C: 62.90%	H : 7.50%
	gevonden:	C: 62.88%	H : 7.51%

*Reductieve koppeling van **II.21** en (-)-**II.18**:*



De alcohol **IV.6** (900 mg, 2.773 mmol) wordt opgelost in een mengsel van dichloormethaan (6.15 ml) en dimethylsulfoxide (6.15 ml). Na afkoelen van het reactiemengsel tot 0°C wordt eerst triëthylamine (3 eq., 8.318 mmol, 1.15 ml) toegevoegd en vervolgens het zwaveltrioxidepyridine-complex (2.5 eq., 6.932 mmol, 1.10 g). Het mengsel wordt bij 0°C 4 uren geroerd. Na toevoegen van water, wordt het mengsel geëxtraheerd met dichloormethaan en de verzamelde dichloormethaanfasen worden gedroogd op anhydrisch natriumsulfaat. Het ruwe aldehyde, bekomen na indampen van het solvent onder verminderde druk, bevat nog een beetje dimethylsulfoxide en triëthylamine, dat kan verwijderd worden door een Kugelrohrdestillatie (verwarmen tot 60°C). Er wordt 894 mg aan aldehyde **II.21** bekomen (100%).

Om epimerisatie te vermijden wordt dit aldehyde niet verder gezuiverd, het wordt onmiddellijk verder omgezet tot het amine door middel van een reductieve amineringsreactie.

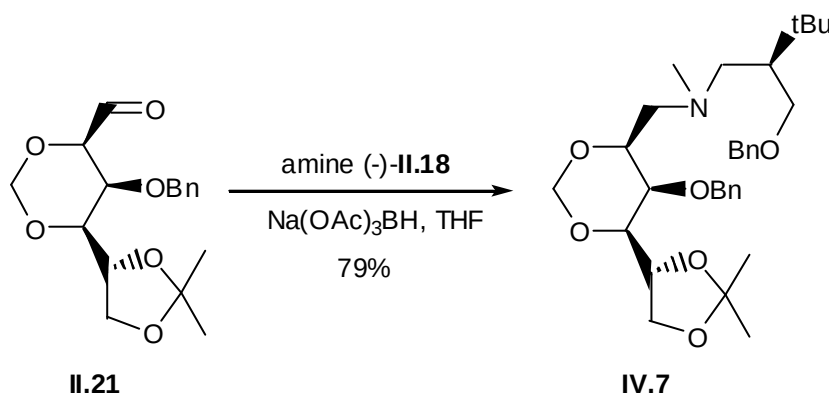
Brutoformule: C₁₇ H₂₂ O₆

Moleculair gewicht: 322.4 g/mol

R_f (isooctaan : ethylacetaat 5 : 5): 0.25

IR (KBr, film): 3032 (w), 2988 (m), 2935 (m), 2869 (m), 1741(s), 1605 (w), 1498 (w), 1455 (m), 1372 (m), 1350 (m), 1257 (w), 1196 (s), 1160 (m), 1103 (s), 1047 (s), 936 (w), 848 (m), 738 (m), 699 (m) cm⁻¹

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃): 1.38 (3H, s), 1.45 (3H, s), 3.52 (1H, dd, *J* = 1.0, 8.9 Hz), 3.98 (1H, dd, *J* = 4.4, 8.8 Hz), 4.07 (1H, s (br)), 4.09 (1H, d, *J* = 1.8 Hz), 4.13 (1H, dd, *J* = 6.2, 8.8 Hz), 4.31 (1H, ddd, *J* = 4.4, 6.0, 8.9 Hz), 4.54 (1H, d, *J* = 10.9 Hz), 4.74 (1H, d, *J* = 10.9 Hz), 4.81 (1H, d, *J* = 6.2 Hz), 5.25 (1H, d, *J* = 6.2 Hz), 7.28-7.33 (5H, m), 9.56 (1H, s) ppm



Het enantiomeer zuiver amine **II.18** (1.1 eq., 3.050 mmol, 717 mg) en het ruwe aldehyde **II.21** (894 mg, 2.773 mmol) worden opgelost in tetrahydrofuran (0.29 M, 9.60 ml) en hieraan wordt bij kamertemperatuur natriumtriacetoxyboorhydride (1.5 eq., 4.159 mmol, 881 mg) voorzichtig portiegewijs toegevoegd. De witte suspensie wordt bij kamertemperatuur overnacht geroerd. Om de reactie af te werken wordt het mengsel uitgegoten in een verzadigde natriumbicarbonaatoplossing en geëxtraheerd met diëthylether. Nadat de organische fase gedroogd is op anhydrisch magnesiumsulfaat en onder verminderde druk is ingedampt, wordt het verder gezuiverd door kolomchromatografie (eluens: isooctaan : aceton/ammoniak (98/2) 92 : 8).

Uiteindelijk wordt er 1.19 g van het diastereomeer zuivere amine **IV.7** bekomen (79%).

Brutoformule: C₃₂H₄₇N O₆

Moleculair gewicht: 541.7 g/mol

R_f (isooctaan : aceton/ammoniak (98/2) 8 : 2): 0.25

IR (KBr, film): 3065 (w), 2958 (s), 2862 (s), 2769 (m), 1605 (w), 1585 (w), 1497 (m), 1456 (s), 1364 (s), 1221 (s), 1159 (s), 1113 (s), 1062 (s), 954 (m), 918 (w), 846 (s), 815 (m), 749 (s), 692 (s), 667 (w) cm⁻¹

MS (m/z): 541 (M⁺), 526 (1), 484 (1), 450 (3), 420 (1), 350 (13), 334 (1), 232 (2), 248 (21), 173 (2), 142 (3), 91 (54), 58 (100)

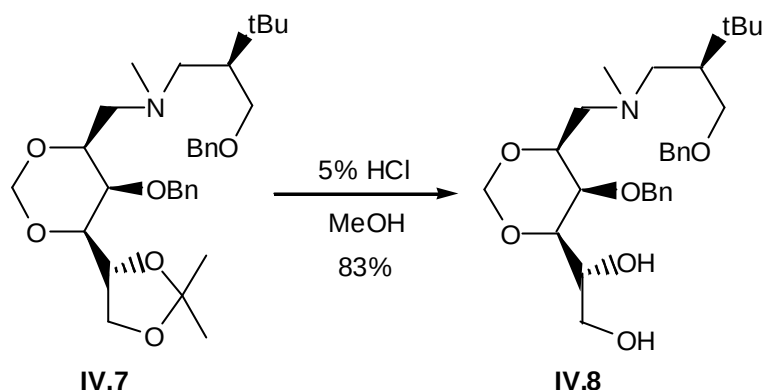
ES (m/z): 542.3 (M + H)⁺

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃): 0.94 (9H, s), 1.37 (3H, s), 1.40 (1H, m), 1.45 (3H, s), 2.19 (1H, dd, *J* = 2.4, 11.8 Hz), 2.21 (3H, s), 2.25 (1H, dd, *J* = 4.2, 13.3 Hz), 2.44 (1H, dd, *J* = 10.8, 11.8 Hz), 2.69 (1H, dd, *J* = 7.5, 13.3 Hz), 3.39 (1H, d, *J* = 8.8 Hz), 3.50 (1H, s, br), 3.56 (1H, ABd, *J* = 9.3, 2.8 Hz), 3.60 (1H, ABd, *J* = 9.4, 4.3 Hz), 3.68 (1H, dd, *J* = 4.3, 6.4 Hz), 3.90 (1H, dd, *J* = 5.1, 8.6 Hz), 4.09 (1H, dd, *J* = 6.2, 8.6 Hz), 4.29 (1H, dt, *J* = 5.6, 8.8 Hz), 4.42 (1H, AB, *J* = 11.9 Hz), 4.44 (1H, AB, *J* = 11.8 Hz), 4.63 (1H, d, *J* = 6.1 Hz), 4.69 (1H, AB, *J* = 11.3 Hz), 4.70 (1H, AB, *J* = 11.2 Hz), 5.08 (1H, d, *J* = 6.0 Hz), 7.23-7.36 (10H, m) ppm

¹³C-NMR + DEPT (50MHz, CDCl₃): 25.26 (-CH₃), 26.96 (-CH₃), 28.45 (-CH₃), 32.25 (-C-), 43.72 (-CH₃), 46.25 (-CH), 56.65 (-CH₂), 60.20 (-CH₂), 67.42 (-CH₂), 69.89 (-CH₂), 72.25 (-CH), 72.90 (-CH en -CH₂), 74.79 (-CH₂), 77.63 (-CH), 80.78 (-CH), 93.31 (-CH₂), 109.19 (-C-), 127.19 (-CH), 127.24 (-CH), 127.76 (-CH), 128.17 (-CH), 128.24 (-CH), 128.64 (-CH), 138.03 (-C-), 139.02 (-C-) ppm

[α]_D = -29.1 (c = 0.78 in CHCl₃)

C-H-N-analyse:	berekend:	C: 70.90%	H: 8.70%	N: 2.60%
	gevonden:	C: 70.80%	H: 8.91%	N: 2.67%

Ontscherming van het acetonide in **IV.7**:

Het amine **IV.7** (4 g, 7.396 mmol) wordt opgelost in een mengsel van 5% zoutzuur in methanol (2.8 eq., 0.021 mol, 12.8 ml). De reactie wordt afgewerkt door voorzichtig aan het mengsel een verzadigde natriumbicarbonaatoplossing toe te voegen na 2 uren roeren bij kamertemperatuur. Na extractie met dichloormethaan wordt de organische fase gedroogd op anhydrisch magnesiumsulfaat en het bekomen diol wordt verder gezuiverd door kolomchromatografie (gradiëntelutie: isooctaan : aceton/ammoniak (98/2) 9 : 1 tot 5 : 5). Er wordt 244 mg aan acetonide gerecupereerd (-)-**IV.7** (6%) naast 3.08 g van het gewenste diol **IV.8** (83%).

Brutoformule: C₂₉H₄₃N O₆

Moleculair gewicht: 501.7 g/mol

R_f (isooctaan : aceton/ammoniak (98/2) 5 : 5): 0.45

IR (KBr, film): 3335 (s), 3064 (w), 2961 (s), 2869 (s), 1710 (m), 1570 (s), 1497 (w), 1454 (s), 1404 (s), 1364 (s), 1267 (s), 1197 (w), 1122 (m), 1090 (s), 1074 (s), 1029 (s), 882 (w), 814 (w), 796 (s), 700 (s), 617 (w) cm⁻¹

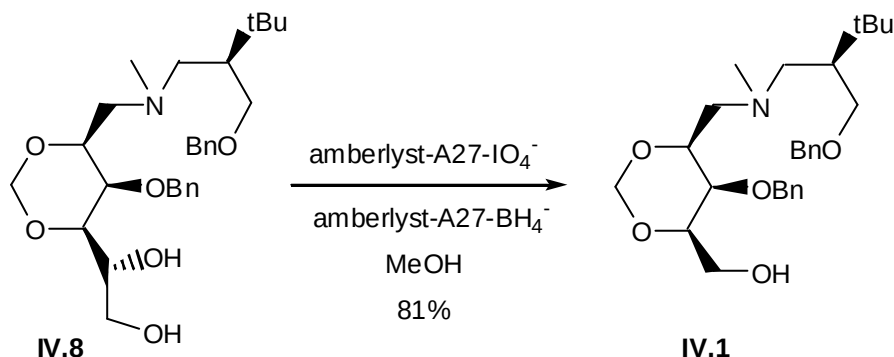
MS (m/z): 500 (M⁺-2), 486 (1), 470 (1), 444 (1), 410 (3), 380 (1), 310 (10), 248 (13), 204 (2), 174 (1), 142 (4), 91 (59), 58 (100)

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, C_6D_6): 0.98 (9H, s), 1.46 (1H, m), 2.15 (3H, s), 2.25 (1H, dd, $J = 3.0, 12.3$ Hz), 2.52 (1H, dd, $J = 10.51, 12.1$ Hz), 2.62 (1H, ABd , $J = 13.0, 5.5$ Hz), 2.80 (1H, ABd , $J = 13.0, 6.5$ Hz), 3.39 (1H, d, $J = 9.0$ Hz), 3.56-3.36 (6H, m), 3.99 (1H, ddd, $J = 3.3, 5.1, 8.7$ Hz), 4.32 (1H, AB , $J = 12.1$ Hz), 4.35 (1H, AB , $J = 12.1$ Hz), 4.43 (1H, d, $J = 6.0$ Hz), 4.75 (1H, d, $J = 11.7$ Hz), 4.95 (1H, d, $J = 11.6$ Hz), 5.02 (1H, d, $J = 5.9$ Hz), 7.06-7.19 (6H, m), 7.30 (2H, d, $J = 7.1$ Hz), 7.46 (2H, d, $J = 7.2$) ppm

$^{13}\text{C-NMR} + \text{DEPT}$ (50MHz, CDCl_3): 28.45 ($-\text{CH}_3$), 32.29 ($-\text{C}-$), 43.53 ($-\text{CH}_3$), 46.21 ($-\text{CH}$), 56.86 ($-\text{CH}_2$), 60.18 ($-\text{CH}_2$), 63.56 ($-\text{CH}_2$), 68.92 ($-\text{CH}$), 69.91 ($-\text{CH}_2$), 71.39 ($-\text{CH}$), 72.90 ($-\text{CH}_2$), 74.54 ($-\text{CH}_2$), 77.94 ($-\text{CH}$), 79.51 ($-\text{CH}$), 93.41 ($-\text{CH}_2$), 127.21 ($-\text{CH}$), 127.26 ($-\text{CH}$), 128.10 ($-\text{CH}$), 128.20 ($-\text{CH}$), 128.51 ($-\text{CH}$), 128.74 ($-\text{CH}$), 138.08 ($-\text{C}-$), 138.96 ($-\text{C}-$) ppm

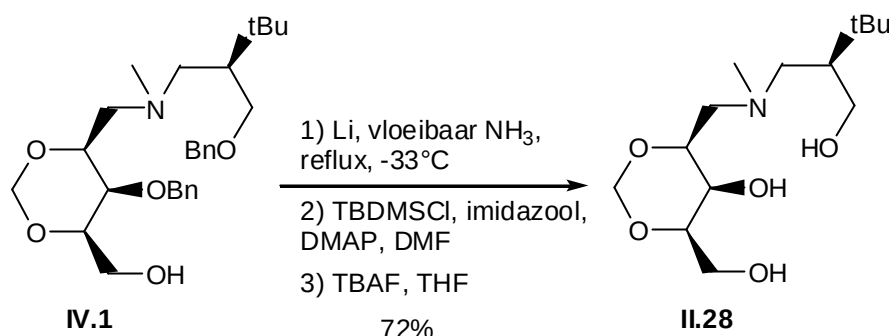
$[\alpha]_{\text{D}}$ = -13.7 ($c = 2.99$ in CHCl_3)

*Splitsing van het diol in **IV.8**:*



Het diol **IV.8** (2.06 g, 4.106 mmol) wordt opgelost in methanol (0.06 M, 70 ml) en hieraan wordt het geïmmobiliseerde boraan (2.6 eq., 1.3 mmol/g resin, 8.22 g) en het perjodaat (1.3 eq., 1.3 mmol/g resin, 4.11 g) toegevoegd. Het heterogene reactiemengsel wordt intensief geroerd overnacht bij kamertemperatuur. De resin wordt dan afgefiltreerd en het filtraat wordt ingedampt onder verminderde druk. Na zuivering van de alcohol door kolomchromatografie (eluens: isooctaan : aceton/ammoniak (98/2) 8 : 2) wordt er 1.52 g van de gewenste alcohol **IV.1** geïsoleerd (81%).

Brutoformule: $C_{28}H_{41}NO_5$ **Moleculair gewicht:** 471.6 g/mol**R_f** (isooctaan : aceton/ammoniak (98/2) 6 : 4): 0.32**IR (KBr, film):** 3457 (m), 3063 (w), 3029 (w), 2957 (s), 2865 (s), 2772 (m), 1607 (w), 1496 (w), 1454 (m), 1401 (w), 1362 (s), 1184 (m), 1158 (w), 1117 (s), 1029 (s), 854 (w), 818 (w), 735 (s), 698 (s) cm^{-1} **MS (m/z):** 471 ($M^{+} - 1$), 456 (1), 440 (1), 414 (2), 380 (3), 334 (1), 280 (13), 248 (20), 235 (1), 174 (2), 142 (5), 91 (54), 58 (100) **1H -NMR (500MHz, C_6D_6):** 0.98 (9H, s), 1.46 (1H, dddd, $J = 3.0, 4.1, 6.0, 7.1$ Hz), 2.13 (3H, s), 2.25 (1H, dd, $J = 3.2, 12.3$ Hz), 2.48 (1H, dd, $J = 10.4, 12.2$ Hz), 2.65 (1H, Δ Bd, $J = 13.0, 6.0$ Hz), 2.73 (1H, Δ Bd, $J = 13.0, 6.4$ Hz), 3.12 (1H, s (br)), 3.38 (1H, dt, $J = 1.25, 6.33$ Hz), 3.55 (1H, m), 3.56 (1H, Δ Bd, $J = 9.5, 3.0$ Hz), 3.59 (1H, Δ Bd, $J = 10.8, 5.8$ Hz), 3.64 (1H, Δ Bd, $J = 9.3, 4.5$ Hz), 3.74 (1H, Δ Bd, $J = 10.8, 6.9$ Hz), 4.29 (1H, Δ B, $J = 12.1$ Hz), 4.34 (1H, Δ B, $J = 12.1$ Hz), 4.47 (1H, d, $J = 6.0$ Hz), 4.51 (1H, d, $J = 11.9$ Hz), 4.53 (1H, d, $J = 11.9$ Hz), 5.06 (1H, d, $J = 6.0$ Hz), 7.04-7.17 (6H, m), 7.28 (2H, d, $J = 7.4$ Hz), 7.35 (2H, d, $J = 7.2$ Hz) ppm **^{13}C -NMR + DEPT (50MHz, $CDCl_3$):** 28.44 (-CH₃), 32.30 (-C-), 43.47 (-CH₃), 46.29 (-CH), 56.99 (-CH₂), 59.91 (-CH₂), 62.40 (-CH₂), 69.87 (-CH), 72.44 (-CH), 72.91 (-CH₂), 74.75 (-CH₂), 77.84 (-CH), 80.05 (-CH), 93.59 (-CH₂), 127.28 (-CH), 128.14 (-CH), 128.21 (-CH), 128.48 (-CH), 128.69 (-CH), 137.59 (-C-), 138.94 (-C-) ppm**[α]_D** = -28.2 (c = 0.78 in $CHCl_3$)**C-H-N-analyse:** **berekend:** **C:** 71.30%**H:** 8.80%**N:** 3.00%**gevonden:** **C:** 71.17%**H:** 8.96%**N:** 3.00%

Ontscherming van de benzylethers in **IV.1**:

Een oplossing van de benzylether **IV.1** (368 mg, 0.781 mmol) in tetrahydrofuran (2 ml) wordt toegevoegd aan 20 ml, vooraf gedestilleerd, vloeibaar ammoniak. Vervolgens worden stukjes lithium toegevoegd totdat er een blijvende blauwe kleur ontstaat. Na 5 uur en een half refluxen bij -33°C wordt de overmaat lithium vernietigd door toevoegen van ammoniumchloride. Na indampen van de ammoniak aan de lucht wordt het residu opgelost in dichloormethaan en worden de zouten afgefiltreerd. Na indampen van het solvent wordt het ruwe product gezuiverd door middel van kolomchromatografie (gradiëntelutie: isooctaan : aceton/ammoniak (98/2) 6 : 4 tot 4 : 6). Hierbij wordt 244 mg aan een mengsel van **II.28** en een onbekend product bekomen, dat op dezelfde Rf-waarde ligt als het gewenste triol **II.28**.

Dit mengsel (244 mg, 0.837 mmol (verondersteld dat alles **II.28** is)) wordt opgelost in dimethylformamide (4.3 ml) en wordt bij 0°C toegevoegd aan een mengsel van *tert*-butyldimethylsilylchloride (3 eq., 2.516 mmol, 377 mg), imidazool (6 eq., 5.032 mmol, 343 mg) en dimethylaminopyridine (spatelpunt) in dimethylformamide (5ml). Na 6 uren roeren bij kamertemperatuur wordt de reactie afgewerkt door toevoegen van water. Na extractie met diëthylether, drogen op anhydrisch magnesiumsulfaat en indampen van het solvent onder verminderde druk wordt de ruwe bissilylether gezuiverd door kolomchromatografie (eluens: isooctaan : aceton/ammoniak (98/2) 95 : 5). Er wordt 311 mg aan de zuivere silylether geïsoleerd (71%), die nu terug kan omgezet worden in het gewenste triol **II.28** door behandeling met tetrabutylammoniumfluoride.

Hiervoor wordt de silylether (311 mg, 0.598 mmol) opgelost in tetrahydrofuran (0.15 M, 4 ml) en hieraan wordt tetrabutylammoniumfluoride (4eq., 2.393 mmol, 2.4 ml van een 1 M oplossing in tetrahydrofuran) toegedruppeld en het reactiemengsel wordt overnacht bij kamertemperatuur geroerd. Na indampen van het solvent wordt het bekomen residu gezuiverd door kolomchromatografie (eluens: isooctaan : aceton/ammoniak (98/2) 5 : 5). Er wordt uiteindelijk 165 mg **II.28** bekomen (95%; 72% over de 3 reacties).

Brutoformule: C₁₄ H₂₉ N O₅

Moleculair gewicht: 291.4 g/mol

R_f (isooctaan : aceton/ammoniak (98/2) 6 : 4): 0.22

IR (KBr, film): 3375 (s), 2981 (s), 2868 (s), 1460 (m), 1397 (w), 1367 (m), 1290 (w), 1183 (m), 1129 (m), 1073 (s), 1029 (s), 969 (w), 862 (w), 807 (m), 734 (m), 699 (w), 651 (w) cm⁻¹

MS (m/z): 391 (M⁺), 260 (1), 246 (1), 234 (3), 216 (1), 191 (6), 190 (59), 158 (39), 144 (2), 112 (2), 88 (7), 69 (7), 58 (100)

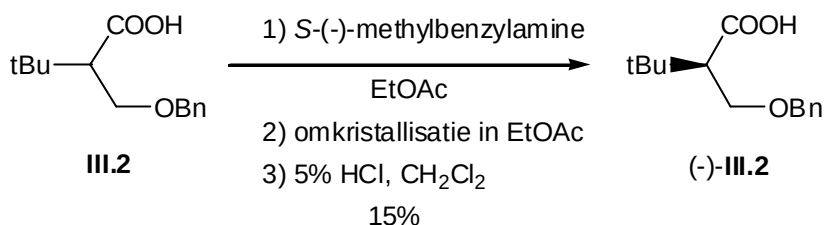
¹H-NMR (500MHz, CD₃CN): 0.88 (9H, s), 1.55 (1H, m), 2.16 (2H, s (br)), 2.27 (3H, s), 2.39 (1H, dd, *J* = 4.1, 13.3 Hz), 2.53 (1H, ABdd, *J* = 12.4, 2.8, 2.5 Hz), 2.59 (1H, ABd, *J* = 12.3, 11.2 Hz), 2.72 (1H, dd, *J* = 7.9, 13.3 Hz), 2.86 (1H, s (br)), 3.46 (1H, s, (br)), 3.54 (1H, ABd, *J* = 10.4, 8.8 Hz), 3.62 (3H, m), 3.75 (2H, m), 4.73 (1H, d, *J* = 6.2 Hz), 4.98 (1H, d, *J* = 6.2 Hz) ppm

¹³C-NMR + DEPT (50MHz, CDCl₃): 27.93 (-CH₃), 31.32 (-C-), 43.35 (-CH₃), 45.50 (-CH), 58.54 (-CH₂), 61.61 (-CH₂), 62.45 (-CH₂), 66.07 (-CH/-CH₂), 77.34 (-CH), 79.80 (-CH), 93.72 (-CH₂) ppm

[α]_D = -42.3 (c = 1.035 in CHCl₃)

VII.3.2 Ontwikkeling van aminotriol **III.2**

Resolutie van carbonzuur **III.2** met (S)-(-)-methylbenzylamine:



Aan een oplossing van het racemisch carbonzuur **III.2** (38 g, 0.160 mol) in kokende ethylacetaat (322 ml) wordt een oplossing van (S)-(-)-methylbenzylamine (1 eq., 0.160 mol, 21 ml) in ethylacetaat (47 ml) toegedruppeld. Het mengsel wordt vervolgens nog een halfuur verder gekookt onder terugvloeiakoeling. Het zout kristalliseert uit na langzame afkoeling overnacht; waarna het afgefiltreerd wordt en gewassen wordt met koude diëthylether. Na 5 omkristallisaties van het ammoniumzout in ethylacetaat (11 ml solvent voor 1.5 g zout) wordt het carbonzuur terug vrijgesteld door behandelen van zout met een 5% waterstofchloride-oplossing en extractie met dichloormethaan. De verzamelde dichloorfases worden gewassen met een verzadigde natriumchloride-oplossing, gedroogd op anhydrisch magnesiumsulfaat en ingedampt. Er wordt 5.76 g aan enantiomeer zuiver carbonzuur (-)-**III.2** bekomen (15%).

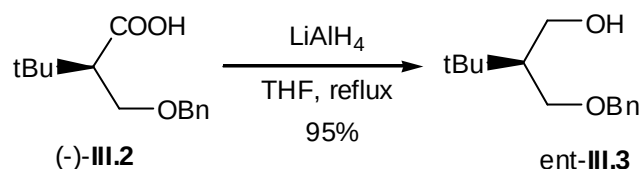
$[\alpha]_{\text{D}} = -16.2$ ($c = 1.51$ in CH_3OH na resolutie)

De enantiomere zuiverheid van het carbonzuur wordt bepaald door $^1\text{H-NMR}$, na transformatie van een kleine hoeveelheid van het carbonzuur in de corresponderende ester. Deze wordt bereid door aan een oplossing van het carbonzuur (-)-**III.2** (20 mg, 0.085 mmol) in diëthylether (0.1 M, 850 μl) een oplossing van diazomethaan in diëthylether toe te voegen tot het mengsel niet meer bruist. Het mengsel wordt dan nog een kwartier bij kamertemperatuur geroerd en de overmaat aan diazomethaan wordt vernietigd door toevoegen van silicagel.

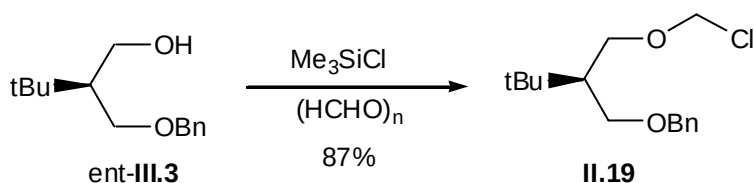
Na affiltreren van de silicagel wordt het filtraat ingedampt onder verminderde druk. De conversie is kwantitatief en er wordt 21 mg aan methylester bekomen.

De enantiomere zuiverheid wordt bepaald door opname van een ^1H -NMR-spectrum van de methylester in aanwezigheid van het chirale shift reagens *tris*((3-heptafluorpropylhydroxymethyleen)-(+)-kamfer)-Europium(III).

Reductie van het zuur (-)-III.2 tot alcohol ent-III.3:



Een suspensie van lithiumaluminiumhydride (2 eq., 0.048 mol, 1.81 g) in tetrahydrofuran (0.75 M, 64 ml) wordt opgewarmd onder terugvloeikoeling. Hieraan wordt een oplossing van het carbonzuur (-)-III.2 (5.66 g, 0.024 mol) in tetrahydrofuran (9.5 ml) voorzichtig toegedruppeld. Hevige schuimvorming en gasontwikkeling worden hierbij waargenomen. Nadat alles is toegevoegd wordt het mengsel nog 10 minuten gekookt onder terugvloeikoeling. Vervolgens wordt het langzaam afgekoeld tot kamertemperatuur en geroerd overnacht. Dan wordt voorzichtig een 10% waterstofchloride-oplossing aan het mengsel toegevoegd bij 0°C totdat de tijdens de reactie gevormde neerslag opnieuw oplost. De waterfase wordt dan geëxtraheerd met dichloormethaan, de organische fasen worden gewassen met een verzadigde natriumchloride-oplossing en gedroogd op anhydrisch magnesiumsulfaat. De alcohol die wordt bekomen is zuiver genoeg voor verdere reactie, er wordt 5.06 g ent-III.3 geïsoleerd (95%).

Synthese van chloormethylether **II.19**:

Alcohol **ent-III.3** (700 mg, 3.153 mmol) wordt opgelost in trimethylsilylchloride (0.48 M, 6.6 ml) en het mengsel wordt gekookt onder terugvloeiokoeling nadat paraformaldehyde (1.1 eq., 3.469 mmol, 104 mg 95% zuiver) aan het mengsel is toegevoegd. Na 2 uren refluxen wordt het mengsel afgekoeld, trimethylsilylchloride wordt ingedampt en het bekomen ruwe mengsel wordt gezuiverd door Kugelrohrdestillatie (kookpunt 165°C bij 0.1 mmHg). Er wordt 742 mg aan de chloormethylether **II.19** geïsoleerd (87%).

Brutoformule: C₁₅ H₂₃ Cl O₂

Moleculair gewicht : 270.8 g/mol

IR (KBr, film): 2960 (s), 2886 (m), 1475 (m), 1455 (m), 1397 (w), 1366 (m), 1315 (w), 1263 (m), 1137 (s), 1028 (w), 1007 (w), 936 (w), 736 (s), 698 (s), 641 (s) cm⁻¹

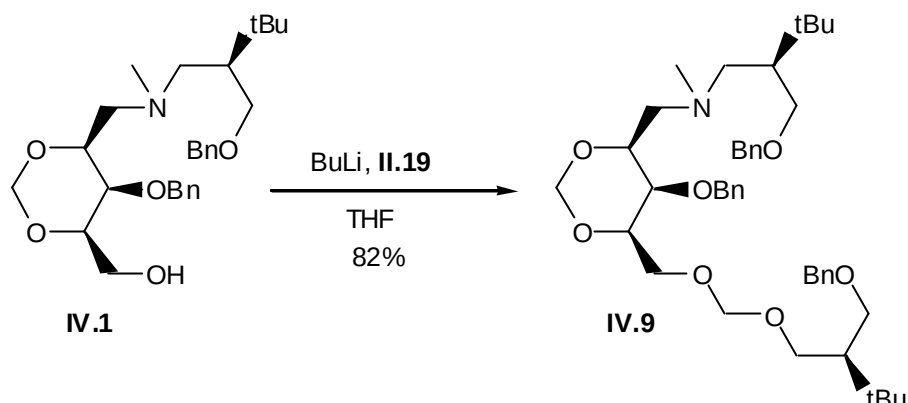
MS (m/z): 221 (M⁺-49, 5), 203 (1), 177 (2), 143 (5), 127 (6), 107 (23), 91 (100), 69 (15), 57 (24)

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃): 0.96 (9H, s), 1.61 (1H, m), 3.53 (1H, ABd, J = 9.4, 6.8 Hz), 3.59 (1H, ABd, J = 9.4, 4.0 Hz), 3.82 (1H, ABd, J = 9.5, 5.7 Hz), 3.87 (1H, ABd, J = 9.5, 4.2 Hz), 4.48 (1H, AB, J = 15.7 Hz), 4.51 (1H, AB, J = 15.7 Hz), 5.48 (1H, AB, J = 6.7 Hz), 5.49 (1H, AB, J = 6.7 Hz), 7.32 (5H, m) ppm

¹³C-NMR + DEPT (50MHz, CDCl₃) : 28.58 (-CH₃), 31.91 (-C-), 48.04 (-CH), 68.13 (-CH₂), 69.17 (-CH₂), 73.11 (-CH₂), 83.78 (-CH₂), 127.46 (-CH), 127.53 (-CH), 128.31 (-CH), 138.62 (-C-) ppm

[α]_D = -15.4 (c = 0.78 in CHCl₃)

Alkylatiereactie van alcohol **IV.1** met chloormethylether **II.19**:



Aan een tot -78°C gekoelde oplossing van de alcohol **IV.1** (200 mg, 0.424 mmol) in tetrahydrofuran (0.125 M, 3.4 ml) wordt *n*-butyllithium (1.2 eq., 0.509 mmol, 320 μl van een 1.6 M oplossing in hexaan) langzaam toegevoegd en het mengsel wordt 10 minuten geroerd bij die temperatuur. Vervolgens wordt het mengsel eerst opgewarmd tot -50°C en nog één uur geroerd bij die temperatuur. Nadat het mengsel weer afgekoeld is tot -78°C , wordt chloormethylether **II.19** voorzichtig toegedruppeld (1.5 eq., 0.640 mmol, 172 mg) en de reactie wordt langzaam opgewarmd tot kamertemperatuur overnacht. Het solvent wordt ingedampt, een verzadigde ammoniumchloride-oplossing wordt toegevoegd en het mengsel wordt geëxtraheerd met dichloormethaan. De organische fase wordt gedroogd op anhydrisch magnesiumsulfaat en na indampen wordt het ruwe product gezuiverd door kolomchromatografie (eluens: isooctaan : aceton/ammoniak (98/2) 9 : 1). Dit levert 247 mg aan zuiver als benzylether beschermd aminotriol **IV.9** (82%).

Brutoformule: $\text{C}_{43}\text{H}_{63}\text{NO}_7$

Moleculair gewicht: 705.9 g/mol

R_f (isooctaan : aceton/ammoniak (98/2) 6 : 4): 0.52

IR (KBr, film): 3065 (w), 3030 (m), 2953 (s), 2871 (s), 1608 (w), 1496 (m), 1471 (m), 1455 (m), 1394 (w), 1366 (w), 1307 (m), 1241 (m), 1120 (s), 1037 (s), 950 (m), 854 (w), 814 (w), 748 (m), 696 (s), 596 (w) cm^{-1}

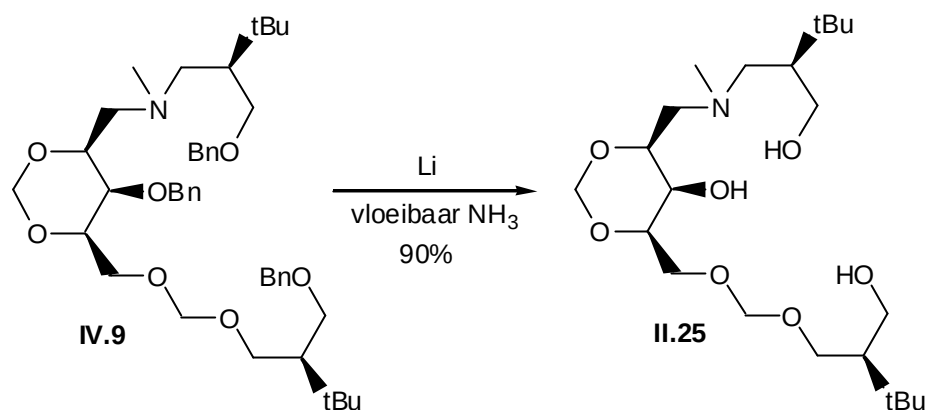
MS (m/z) : 690 ($\text{M}^+ - 15$, 1), 614 (2), 542 (2), 514 (3), 470 (1), 394 (4), 308 (1), 248 (24), 202 (4), 142 (6), 91 (81), 58 (100)

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, C_6D_6): 0.96 (9H, s), 0.98 (9H, s), 1.47 (1H, m), 1.64 (1H, m), 2.14 (3H, s), 2.25 (1H, dd, $J = 3.1, 12.3$ Hz), 2.50 (1H, dd, $J = 10.5, 12.1$ Hz), 2.68 (1H, ABd , $J = 12.9, 5.9$ Hz), 2.78 (1H, ABd , $J = 13.0, 6.4$ Hz), 3.36 (1H, s (br)), 3.57 (1H, ABd , $J = 9.3, 5.8$ Hz), 3.59 (2H, m), 3.62 (1H, ABd , $J = 9.4, 4.1$ Hz), 3.66 (1H, ABd , $J = 9.3, 4.4$ Hz), 3.75 (1H, dd (fs), $J = 6.0, 7.2$ Hz), 3.76 (1H, ABd , $J = 9.6, 4.2$ Hz), 3.84 (1H, ABd , $J = 9.5, 6.6$ Hz), 3.88 (1H, ABd , $J = 9.7, 7.1$ Hz), 3.94 (1H, ABd , $J = 9.7, 6.1$ Hz), 4.30 (1H, AB , $J = 12.1$ Hz), 4.31 (1H, AB , $J = 12.1$ Hz), 4.36 (2H, AB , $J = 12.0$ Hz), 4.51 (1H, d, $J = 6.1$ Hz), 4.58 (1H, AB , $J = 6.4$ Hz), 4.61 (1H, AB , $J = 6.4$ Hz), 4.68 (1H, AB , $J = 11.6$ Hz), 4.72 (1H, AB , $J = 11.6$ Hz), 5.09 (1H, d, $J = 6.0$ Hz), 7.06-7.19 (9H, m), 7.30 (4H, m), 7.42 (2H, d (br), $J = 7.2$ Hz) ppm

$^{13}\text{C-NMR} + \text{DEPT}$ (50MHz, CDCl_3) : 28.44 (- CH_3), 28.68 (- CH_3), 31.90 (-C-), 32.28 (-C-), 43.50 (- CH_3), 46.22 (-CH), 48.47 (-CH), 56.87 (- CH_2), 59.99 (- CH_2), 66.50 (- CH_2), 66.99 (- CH_2), 68.56 (- CH_2), 69.90 (- CH_2), 72.69 (-CH), 72.92 (- CH_2), 74.83 (- CH_2), 77.21 (-CH), 78.60 (-CH), 93.54 (- CH_2), 95.97 (- CH_2), 127.24 (-CH), 127.30 (-CH), 127.88 (-CH), 128.20 (-CH), 128.27 (-CH), 128.33 (-CH), 128.49 (-CH), 137.83 (-C-), 138.81 (-C-), 138.99 (-C-) ppm

$[\alpha]_{\text{D}}$ = -25.2 ($c = 1.11$ in CHCl_3)

C-H-N-analyse:	berekend:	C: 73.20%	H: 9.00%	N: 2.00%
	gevonden:	C: 73.06%	H: 9.05%	N: 2.09%

Ontscherming van de benzylethers in **IV.9**:

Een oplossing van de benzylether **IV.9** (236 mg, 0.334 mmol) in tetrahydrofuran (1.25 ml) wordt toegevoegd aan 10 ml, vooraf gedestilleerd, vloeibaar ammoniak. Vervolgens worden stukjes lithium toegevoegd totdat er een blijvende blauwe kleur bekomen wordt. Na 6 uren refluxen bij -33°C wordt de overmaat lithium vernietigd door toevoegen van ammoniumchloride. Na indampen van de ammoniak aan de lucht wordt het residu opgelost in dichloormethaan en worden de zouten afgefiltreerd. Na indampen van het solvent wordt het ruwe product gezuiverd door middel van kolomchromatografie (gradiëntelutie: isooctaan : aceton/ammoniak (98/2) 75 : 25 tot 6 : 4) en er wordt 133 mg aan zuiver aminotriol **II.25** bekomen (90%).

Brutoformule: $\text{C}_{22}\text{H}_{45}\text{NO}_7$

Moleculair gewicht : 435.6 g/mol

R_f (isooctaan : aceton/ammoniak (98/2) 6 : 4): 0.25

IR (KBr, film): 3418 (s, br), 2956 (s), 2871 (s), 2781 (w), 1473 (m), 1396 (w), 1366 (m), 1237 (w), 1185 (w), 1170 (w), 1121 (m), 1032 (s), 951 (m), 808 (m), 735 (m), 700 (w), 649 (w) cm^{-1}

MS (m/z): 434 ($\text{M}^+ - 1, 1$), 420 (1), 378 (4), 320 (18), 304 (9), 274 (2), 218 (6), 190 (43), 158 (85), 84 (8), 58 (100)

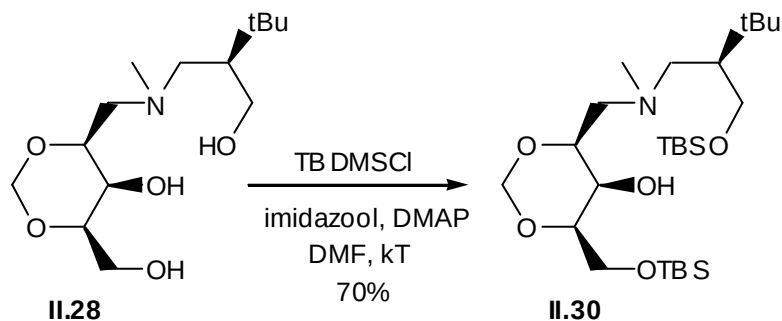
$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CD_3CN): 0.89 (9H,s), 0.94 (9H,s), 1.41 (1H, m), 1.55 (1H, m), 2.15 (2H, s (br)), 2.27 (3H, s), 2.42 (1H, dd, $J = 4.4, 13.3$ Hz), 2.54 (1H, $\underline{\text{ABdd}}$, $J = 12.6, 2.8, 2.2$ Hz), 2.60 (1H, $\underline{\text{ABd}}$, $J = 12.4, 11.1$ Hz), 2.70 (1H, dd, $J = 7.6, 13.3$ Hz), 2.84 (1H, s (br)), 3.45 (1H, s (br)), 3.53-3.61 (4H, m), 3.68 (2H, m), 3.74 (2H, m), 3.80 (2H, m), 4.64 (1H, $\underline{\text{AB}}$, $J = 6.7$ Hz), 4.65 (1H, $\underline{\text{AB}}$, $J = 6.7$ Hz), 4.74 (1H, d, $J = 6.2$ Hz), 4.96 (1H, d, $J = 6.1$ Hz) ppm

$^{13}\text{C-NMR} + \text{DEPT}$ (50MHz, CDCl_3) : 27.99 ($-\text{CH}_3$), 28.45 ($-\text{CH}_3$), 31.39 ($-\text{C}-$), 31.65 ($-\text{C}-$), 43.99 ($-\text{CH}_3$), 45.56 ($-\text{CH}$), 50.04 ($-\text{CH}$), 59.11 ($-\text{CH}_2$), 61.80 ($-\text{CH}_2$), 62.43 ($-\text{CH}_2$), 65.56 ($-\text{CH}$), 66.03 ($-\text{CH}_2$), 66.96 ($-\text{CH}_2$), 68.25 ($-\text{CH}_2$), 77.33 ($-\text{CH}$), 78.59 ($-\text{CH}$), 93.72 ($-\text{CH}_2$), 95.49 ($-\text{CH}_2$) ppm

$[\alpha]_{\text{D}} = -42.0$ ($c = 1.31$ in CHCl_3)

VII.3.3 Stapsgewijze ontwikkeling van de aminotriolen II.29 en II.26

Bescherming van de primaire alcoholgroepen in II.28:



Een mengsel van *tert*-butyldimethylsilylchloride (3 eq., 1.248 mmol, 187 mg), imidazool (6 eq., 2.496 mmol, 170 mg) en dimethylaminopyridine (spatelpunt) in 2.5 ml dimethylformamide wordt gekoeld tot 0°C met behulp van een ijsbad. Vervolgens wordt het triol **II.28** (121 mg, 0.416 mmol) in 2.1 ml dimethylformamide toegedruppeld. De kolf wordt dan uit het ijsbad verwijderd en de reactie wordt 6 uren bij kamertemperatuur geroerd. Water wordt toegevoegd, het mengsel wordt vervolgens geëxtraheerd met diëthylether en gedroogd op anhydrisch magnesiumsulfaat.

Het ruwe product wordt gezuiverd door kolomchromatografie (eluens: isooctaan : aceton/ammoniak (98/2) 95 : 5) en er wordt 154 mg van de bissilylether **II.30** geïsoleerd (70%).

Brutoformule: C₂₆ H₅₇ N O₅ Si₂

Moleculair gewicht: 519.9 g/mol

R_f (isooctaan : aceton/ammoniak (98/2) 9 : 1): 0.51

IR (KBr, film): 3468 (m), 2955 (s), 2929 (s), 2856 (s), 2772 (w), 1472 (m), 1389 (w), 1362 (w), 1255 (m), 1184 (w), 1111 (s), 1072 (m), 1031 (s), 1004 (m), 938 (w), 837 (s), 814 (w), 777 (s), 669 (w) cm⁻¹

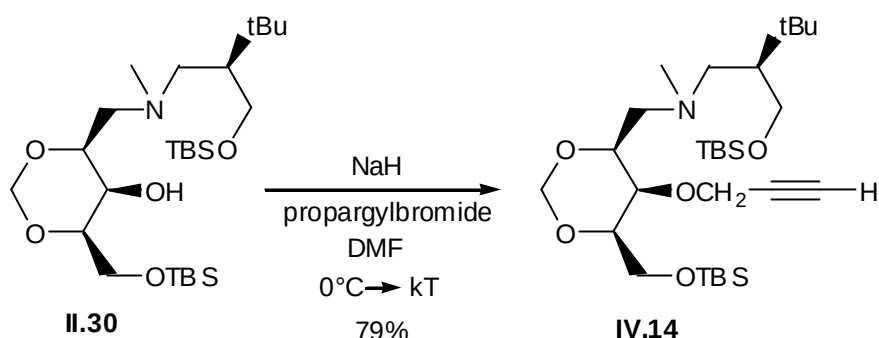
ES (m/z): 520.3 (M + H)⁺

¹H-NMR (500MHz, C₆D₆): 0.10 (3H, s), 0.11 (3H, s), 0.12 (6H, s), 0.98 (18H, s), 0.99 (9H, s), 1.26 (1H, m), 2.16 (1H, dd, *J* = 2.7, 12.5 Hz), 2.25 (3H, s), 2.52 (1H, dd, *J* = 9.5, 12.5 Hz), 2.56 (1H, ABd, *J* = 13.7, 4.8 Hz), 2.61 (1H, ABd, *J* = 13.6, 4.6 Hz), 3.24 (1H, dt, *J* = 1.1, 4.7 Hz), 3.48 (1H, dt, *J* = 1.1, 6.1 Hz), 3.59 (1H, s), 3.79 (1H, ABd, *J* = 10.2, 3.2 Hz), 3.88 (1H, ABd, *J* = 10.3, 4.0 Hz), 3.91 (1H, ABd, *J* = 10.2, 5.9 Hz), 4.01 (1H, ABd, *J* = 10.2, 6.4 Hz), 4.30 (1H, s (br)), 4.38 (1H, d, *J* = 6.0 Hz), 4.98 (1H, d, *J* = 6.0 Hz) ppm

¹³C-NMR + DEPT (50MHz, CDCl₃): -5.00 (-CH₃), -5.44 (-CH₃), -5.82 (-CH₃), 18.12 (-C-), 25.91 (-CH₃), 28.50 (-CH₃), 32.30 (-C-), 45.40 (-CH₃), 48.23 (-CH), 57.24 (-CH₂), 60.03 (-CH₂), 61.62 (-CH₂), 62.31 (-CH₂), 66.75 (-CH), 77.79 (-CH), 80.47 (-CH), 93.77 (-CH₂) ppm

[α]_D = -32.0 (c = 0.74 in CHCl₃)

Alkylatie van **II.30** met propargylbromide:



Natriumhydride (2.56 eq., 0.289 mmol, 12 mg van een 60% suspensie in minerale olie) wordt afgewogen en als dusdanig gekoeld tot 0°C met behulp van een ijsbad. De bissilylether **II.30** (58 mg, 0.113 mmol) wordt opgelost in dimethylformamide (0.23 M, 490 µl) en de oplossing wordt voorzichtig toegedruppeld aan natriumhydride. Na één uur deprotoneren bij 0°C wordt propargylbromide (2.56 eq., 0.289 mmol, 35 µl van een 80% oplossing in toluen) toegevoegd; de reactie wordt langzaam opgewarmd tot kamertemperatuur en wordt verder geroerd overnacht. Als afwerking wordt het reactiemengsel direct op kolom gebracht (eluens: isooctaan : aceton/ammoniak (98/ 2) 95 : 5); er wordt 50 mg van het zuiver alkyn **IV.14** bekomen (79%).

Brutoformule: C₂₉ H₅₉ N O₅ Si₂

Moleculair gewicht: 557.9 g/mol

R_f (isooctaan : aceton/ammoniak (98/2) 9 : 1): 0.49

IR (KBr, film): 3313 (w), 3262 (w), 2955 (s), 2929 (s), 2857 (s), 2771 (w), 1472 (m), 1389 (w), 1361 (w), 1255 (m), 1186 (w), 1110 (s), 1050 (s), 1026 (m), 1004 (m), 939 (w), 837 (s), 776 (s), 668 (m) cm⁻¹

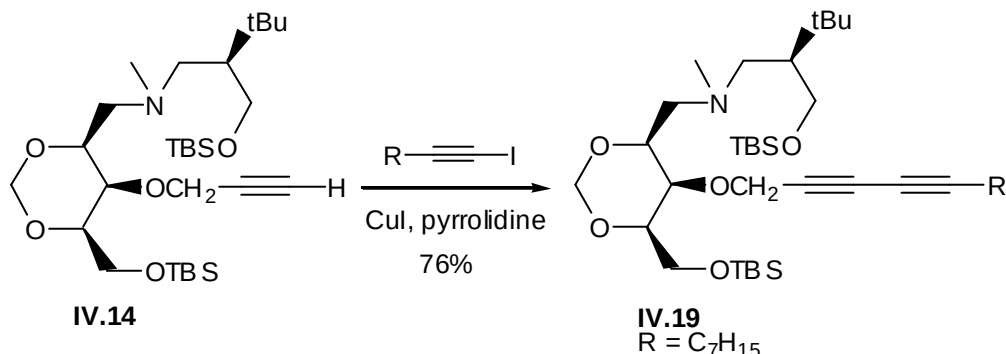
MS (m/z): 542 (M⁺-15, 1), 500 (4), 462 (1), 404 (1), 368 (1), 342 (11), 304 (2), 272 (9), 202 (1), 171 (3), 129 (1), 89 (11), 58 (100)

ES (m/z): 558 (M + H)⁺

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, C_6D_6): 0.04 (6H, s), 0.12 (3H, s), 0.13 (3H, s), 0.94 (9H, s), 1.01 (9H, s), 1.04 (9H, s), 1.39 (1H, m), 2.06 (1H, t, $J = 2.3$ Hz), 2.24 (3H, s), 2.36 (1H, ABd , $J = 12.5, 3.3$ Hz), 2.52 (1H, ABd , $J = 12.5, 9.8$ Hz), 2.78 (1H, ABd , $J = 13.4, 4.9$ Hz), 2.90 (1H, ABd , $J = 13.3, 6.9$ Hz), 3.48 (1H, s), 3.59 (1H, t(fs), $J = 6.3$ Hz), 3.65 (1H, t(fs), $J = 5.4$ Hz), 3.80 (1H, ABd , $J = 10.1, 3.1$ Hz), 3.83 (1H, ABd , $J = 10.1, 5.8$ Hz), 3.91 (1H, ABd , $J = 10.1, 4.3$ Hz), 4.01 (1H, ABd , $J = 10.0, 8.1$ Hz), 4.37 (1H, AB , $J = 13.9$ Hz), 4.38 (1H, AB , $J = 13.9$ Hz), 4.51 (1H, d, $J = 6.0$ Hz), 5.06 (1H, d, $J = 5.9$ Hz) ppm

$^{13}\text{C-NMR} + \text{DEPT}$ (50MHz, C_6D_6): -5.40 ($-\text{CH}_3$), -5.21 ($-\text{CH}_3$), -5.28 ($-\text{CH}_3$), 18.40 ($-\text{C}-$), 18.45 ($-\text{C}-$), 26.09 ($-\text{CH}_3$), 26.24 ($-\text{CH}_3$), 28.90 ($-\text{CH}_3$), 32.51 ($-\text{C}-$), 43.60 ($-\text{CH}_3$), 48.32 ($-\text{CH}$), 57.13 ($-\text{CH}_2$), 59.73 ($-\text{CH}_2$), 60.44 ($-\text{CH}_2$), 62.19 ($-\text{CH}_2$), 62.40 ($-\text{CH}_2$), 72.57 ($-\text{CH}$), 74.66 ($-\text{CH}$), 78.34 ($-\text{CH}$), 80.09 ($-\text{CH}$), 80.91 ($-\text{C}-$), 93.40 ($-\text{CH}_2$) ppm
 $[\alpha]_{\text{D}}$ = -28.8 ($c = 1.4$ in CHCl_3)

Cadiotkoppeling van IV.14 met 1-joodnonyn:



Aan een oplossing van het alkyne **IV.14** (44 mg, 0.079 mmol) in pyrrolidine (0.32 M, 250 μl) wordt achtereenvolgens 1-joodnonyn (1.1 eq., 0.087 mmol, 22 mg) en koper(I)jodide (0.1 eq., 0.008 mmol, 1.5 mg) toegevoegd. Het reactiemengsel wordt één uur en een kwartier geroerd bij kamertemperatuur en wordt dan afgewerkt door kolomchromatografie (eluens: isooctaan : aceton/ammoniak (98/2) 95 : 5). Na een tweede zuivering op kolom wordt 41 mg aan diynyl **IV.19** bekomen (76%).

Brutoformule: $\text{C}_{38}\text{H}_{73}\text{NO}_5\text{Si}_2$

Moleculair gewicht: 680.2 g/mol

R_f (isooctaan : aceton/ammoniak (98/2) 9 : 1): 0.70

IR (KBr, film): 2955 (s), 2929 (s), 2856 (s), 2771 (w), 2361 (w), 2356 (w), 1472 (m), 1396 (w), 1361 (m), 1253 (m), 1187 (w), 1109 (s), 1051 (s), 1004 (m), 837 (s), 776 (s), 669 (w) cm^{-1}

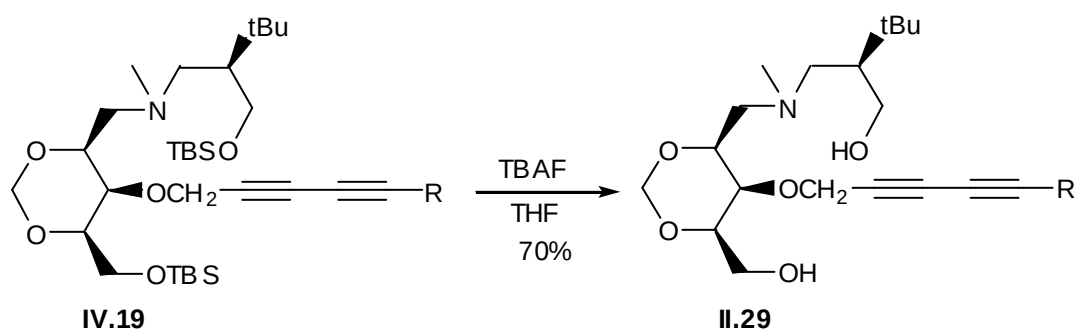
MS (m/z): 680 ($\text{M}^+ + 1$, 1), 622 (1), 610 (1), 516 (1), 464 (3), 451 (1), 404 (1), 304 (1), 272 (3), 246 (2), 171 (2), 117 (3), 58 (100)

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, C_6D_6): 0.06 (3H, s), 0.07 (3H, s), 0.14 (3H, s), 0.15 (3H, s), 0.88 (3H, t, $J = 7.2$ Hz), 0.97 (9H, s), 1.03 (9H, s), 1.06 (9H, s), 1.01-1.30 (10H, m), 1.42 (1H, m), 1.94 (2H, t, $J = 7.0$ Hz), 2.25 (3H, s), 2.39 (1H, ABd , $J = 12.5, 3.3$ Hz), 2.55 (1H, ABd , $J = 12.4, 9.9$ Hz), 2.81 (1H, ABd , $J = 13.3, 4.9$ Hz), 2.92 (1H, ABd , $J = 13.4, 6.9$ Hz), 3.50 (1H, s(br)), 3.59 (1H, dd(fs), $J = 6.3, 7.3$ Hz), 3.65 (1H, dd(fs), $J = 5.5, 5.6$ Hz), 3.82 (1H, ABd , $J = 10.1, 2.9$ Hz), 3.87 (1H, ABd , $J = 10.1, 5.8$ Hz), 3.94 (1H, ABd , $J = 10.1, 4.3$ Hz), 3.97 (1H, ABd , $J = 10.1, 7.9$ Hz), 4.43 (2H, s), 4.51 (1H, d, $J = 6.0$ Hz), 5.07 (1H, d, $J = 6.0$ Hz) ppm

$^{13}\text{C-NMR}$ + DEPT (50MHz, C_6D_6): -5.37 (-CH₃), -5.20 (-CH₃), -5.27 (-CH₃), 14.31 (-CH₃), 18.44 (-C-), 19.38 (-CH₂), 22.99 (-CH₂), 26.12 (-CH₃), 26.26 (-CH₃), 28.43 (-CH₂), 28.93 (-CH₃/CH₂), 32.00 (-C-), 32.53 (-CH₂), 43.65 (-CH₃), 48.37 (-CH), 57.13 (-CH₂), 60.32 (-CH₂), 60.44 (-CH₂), 62.35 (-CH₂), 62.41 (-CH₂), 72.37 (-C-), 72.72 (-CH), 73.23 (-C-), 78.33 (-CH), 80.13 (-CH), 81.56 (-C-), 93.42 (-CH₂) ppm

$[\alpha]_{\text{D}}$ = -17.7 ($c = 1.17$ in CHCl_3)

Ontscherming van de silylethers in IV.19 met tetrabutylammoniumfluoride:



Aan een oplossing van de bissilylether **IV.19** (84 mg, 0.124 mmol) in tetrahydrofuran (0.2 M, 620 μl) wordt tetrabutylammoniumfluoride (4 eq., 0.495 mmol, 495 μl van een 1M oplossing in tetrahydrofuran) toegedruppeld.

Het reactiemengsel wordt 21 uren geroerd bij kamertemperatuur. Vervolgens worden nog 2 extra equivalenten tetrabutylammoniumfluoride (0.247 mmol, 250 μ l van een 1 M oplossing in tetrahydrofuran) aan het reactiemengsel toegevoegd en het wordt verder geroerd overnacht. Na indampen van het mengsel onder verminderde druk, wordt het ruwe product gezuiverd door kolomchromatografie (gradiëntelutie: isooctaan : aceton/ammoniak (98/2) 7 : 3 tot 5 : 5). Er wordt 39 mg aan zuiver triol **II.29** bekomen (70%).

Brutoformule: C₂₆ H₄₅ N O₅

Moleculair gewicht: 451.7 g/mol

R_f (isooctaan : aceton/ammoniak (98/2) 5 : 5): 0.41

IR (KBr, plaatje): 3358 (s), 2947 (s), 2930 (s), 2856 (s), 2255 (w), 1462 (m), 1366 (m), 1234 (w), 1184 (w), 1098 (m), 1074 (s), 1043 (s), 861 (w), 827 (w), 730 (w), 689 (w), 648 (w) cm⁻¹

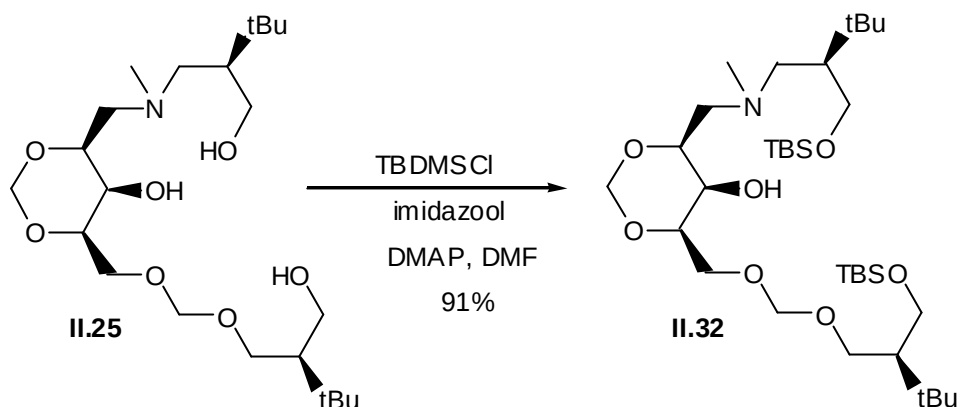
MS (m/z): 451 (M⁺, 1), 394 (1), 350 (7), 292 (1), 274 (1), 214 (1), 190 (1), 158 (71), 91 (14), 58 (100)

¹H-NMR (500MHz, C₆D₆): 0.82 (9H, s), 0.87 (3H, t, *J* = 7.2 Hz), 1.05-1.29 (10H, m), 1.71 (1H, m), 1.93 (2H, t, *J* = 7.0 Hz), 2.14 (3H, s), 2.50 (2H, m), 2.58 (1H, dd, *J* = 11.6, 11.9 Hz), 2.93 (1H, dd, *J* = 8.2, 13.3 Hz), 3.03 (1H, s (br)), 3.31 (1H, dd(fs), *J* = 6.5, 6.6 Hz), 3.44 (1H, dd(fs), *J* = 2.2, 8.2 Hz), 3.59 (1H, ABd, *J* = 10.9, 6.4 Hz), 3.68 (1H, ABd, *J* = 10.9, 6.8 Hz), 3.80 (1H, dd, *J* = 9.8, 10.0 Hz), 4.11 (1H, ddd, *J* = 2.7, 2.9, 10.1 Hz), 4.12 (1H, AB, *J* = 16.8 Hz), 4.18 (1H, AB, *J* = 16.7 Hz), 4.41 (1H, d, *J* = 6.1 Hz), 5.00 (1H, d, *J* = 6.1 Hz) ppm

¹³C-NMR + DEPT (50MHz, CDCl₃) : 14.04 (-CH₃), 19.24 (-CH₂), 22.59 (-CH₂), 27.94 (-CH₃), 28.09 (-CH₂), 28.70 (-CH₂), 28.79 (-CH₂), 31.30 (-CH₂), 31.65 (-C-), 43.29 (-CH₃), 45.33 (-CH), 60.12 (-CH₂), 60.31 (-CH₂), 61.65 (-CH₂), 62.05 (-CH₂), 64.15 (-C-), 66.43 (-CH₂), 71.31 (-C-), 72.43 (-C-), 72.58 (-CH), 77.45 (-CH), 79.80 (-CH), 82.21 (-C-), 93.54 (-CH₂) ppm

[α]_D = -43.7 (c = 1.24 in CHCl₃)

Bescherming van de primaire hydroxylgroepen in II.25:



tert-Butyldimethylsilylchloride (3 eq., 1.095 mmol, 165 mg) wordt opgelost in dimethylformamide (0.5 M, 2.2 ml), hieraan wordt achtereenvolgens imidazool (6 eq., 2.190 mmol, 149 mg) en dimethylaminopyridine (katalytisch, spatelpunt) toegevoegd en het mengsel wordt gekoeld tot 0°C. Een oplossing van het triol **II.25** (159 mg, 0.365 mmol) in dimethylformamide (0.2 M, 1.8 ml) wordt toegedruppeld en het reactiemengsel wordt opgewarmd tot kamertemperatuur. Na 6 uren roeren wordt de reactie afgewerkt door toevoegen van water en de waterfase wordt geëxtraheerd met diëthylether. De ruwe bissilylether **II.32**, bekomen na drogen en indampen van de diëthylether, wordt gezuiverd via kolomchromatografie (eluens: isooctaan : aceton/ammoniak (98/2) 95 : 5). Dit levert 220 mg aan zuiver product **II.32** (91%).

Brutoformule: C₃₄ H₇₃ N O₇ Si₂

Moleculair gewicht: 664.2 g/mol

R_f (isooctaan : aceton/ammoniak (98/2) 7 : 3): 0.58

IR (KBr, film): 3466 (m), 2956 (s), 2933 (s), 2883 (s), 2856 (s), 2771 (w), 1650 (w), 1472 (m), 1397 (w), 1363 (m), 1255 (m), 1188 (w), 1117 (s), 1073 (s), 1031 (s), 1005 (w), 957 (w), 836 (s), 812 (w), 775 (s), 669 (w) cm⁻¹

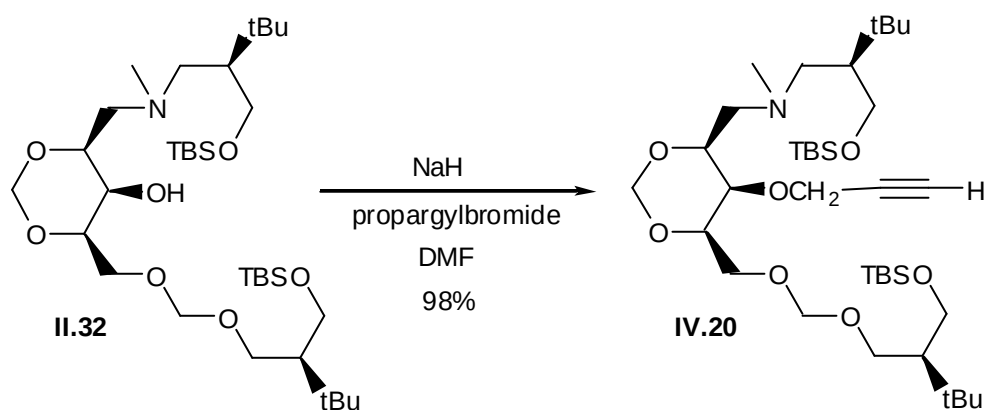
MS (m/z): 663 (M⁺, 1), 606 (3), 550 (1), 478 (1), 418 (23), 388 (1), 304 (1), 253 (7), 171 (18), 115 (7), 58 (100)

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, C_6D_6): 0.09 (3H, s), 0.10 (3H, s), 0.12 (3H, s), 0.13 (3H, s), 0.99 (18H, s), 1.00 (9H, s), 1.01 (9H, s), 1.28 (1H, m), 1.50 (1H, m), 2.18 (1H, dd, $J = 12.5, 2.5$ Hz), 2.14 (3H, s), 2.50 (1H, dd, $J = 12.5, 9.7$ Hz), 2.58 (1H, ABd , $J = 13.5, 4.9$ Hz), 2.61 (1H, ABd , $J = 13.5, 4.8$ Hz), 3.28 (1H, dd, $J = 4.5, 4.4$ Hz), 3.57 (1H, s (br)), 3.65 (1H, dd(fs), $J = 6.0, 6.2$ Hz), 3.77-3.85 (5H, m), 3.88 (1H, ABd , $J = 10.1, 4.0$ Hz), 3.95 (1H, ABd , $J = 10.3, 5.9$ Hz), 3.97 (1H, ABd , $J = 10.3, 6.4$ Hz), 4.13 (1H, s (br)), 4.42 (1H, d, $J = 6.1$ Hz), 4.71 (1H, AB , $J = 6.4$ Hz), 4.73 (1H, AB , $J = 6.4$ Hz), 4.99 (1H, d, $J = 6.0$ Hz) ppm

$^{13}\text{C-NMR}$ + DEPT (50MHz, CDCl_3): -5.62 ($-\text{CH}_3$), -5.56 ($-\text{CH}_3$), 18.11 ($-\text{C}-$), 18.16 ($-\text{C}-$), 25.90 ($-\text{CH}_3$), 28.47 ($-\text{CH}_3$), 28.79 ($-\text{CH}_3$), 31.85 ($-\text{C}-$), 32.29 ($-\text{C}-$), 45.43 ($-\text{CH}_3$), 48.25 ($-\text{CH}$), 50.23 ($-\text{CH}$), 57.42 ($-\text{CH}_2$), 59.95 ($-\text{CH}_2$), 60.48 ($-\text{CH}_2$), 61.69 ($-\text{CH}_2$), 65.97 ($-\text{CH}_2$), 67.47 ($-\text{CH}$), 67.65 ($-\text{CH}_2$), 77.64 ($-\text{CH}$), 79.13 ($-\text{CH}$), 93.79 ($-\text{CH}_2$), 96.27 ($-\text{CH}_2$) ppm

$[\alpha]_{\text{D}} = -34.3$ ($c = 1.03$ in CHCl_3)

Alkylering van II.32 met propargylbromide:



Natriumhydride (2.56 eq., 0.219 mmol, 9 mg van een 60% suspensie in minerale olie) wordt afgewogen en als dusdanig gekoeld tot 0°C met behulp van een ijsbad. De bissilylether **II.32** wordt opgelost in dimethylformamide (0.23 M, 370 μl) en de oplossing wordt voorzichtig toegedruppeld aan natriumhydride. Na één uur deprotoneren bij 0°C wordt propargylbromide (2.56 eq., 0.219 mmol, 25 μl van een 80% oplossing in toluen) toegevoegd; de reactie wordt langzaam opgewarmd tot kamertemperatuur en wordt verder geroerd overnacht.

Als afwerking wordt het reactiemengsel direct op kolom gebracht (eluens: isooctaan : aceton/ammoniak (98/2) 95 : 5); er wordt 59 mg van het zuiver alkyn **IV.20** bekomen (98%).

Brutoformule: C₃₇ H₇₅ N O₇ Si₂

Moleculair gewicht: 702.2 g/mol

R_f (isooctaan : aceton/ammoniak (98/2) 8 : 2): 0.59

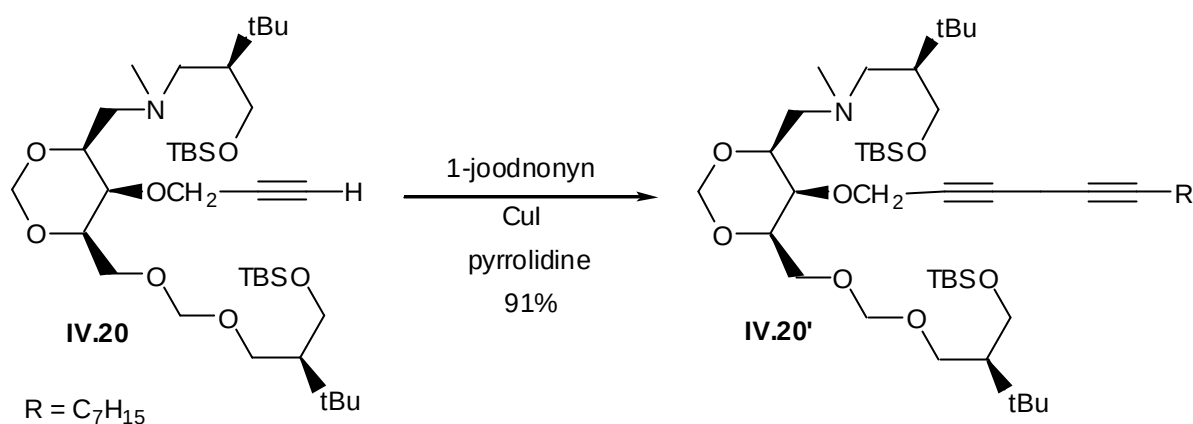
IR (KBr, film): 3312 (w), 3255 (w), 2955 (s), 2857 (s), 2768 (w), 1472 (m), 1394 (w), 1362 (m), 1254 (m), 1191 (w), 1165 (w), 1116 (s), 1074 (s), 1034 (s), 1003 (m), 947 (w), 835 (s), 775 (m), 729 (w), 669 (w) cm⁻¹

MS (m/z): 701 (M⁺, 1), 686 (1), 606 (0.5), 516 (1), 486 (3), 456 (9), 372 (1), 342 (1), 272 (9), 228 (1), 171 (6), 115 (5), 58 (100)

¹H-NMR (500MHz, C₆D₆): 0.10 (3H, s), 0.11 (3H, s), 0.12 (3H, s), 0.13 (3H, s), 1.00 (9H, s), 1.02 (18H, s), 1.04 (9H, s), 1.40 (1H, m), 1.50 (1H, m), 2.07 (1H, t, *J* = 2.4 Hz), 2.23 (3H, s), 2.35 (1H, ABd, *J* = 12.4, 3.1 Hz), 2.52 (1H, ABd, *J* = 12.4, 9.9 Hz), 2.72 (1H, ABd, *J* = 13.3, 5.0 Hz), 2.89 (1H, ABd, *J* = 13.3, 7.0 Hz), 3.40 (1H, s (br)), 3.64 (1H, dd(fs), *J* = 5.4, 5.5 Hz), 3.76 (1H, dd(fs), *J* = 7.4, 7.1 Hz), 3.74-3.83 (4H, m), 3.86-3.91 (3H, m), 3.93 (1H, dd, *J* = 9.9, 6.3 Hz), 4.30 (1H, ABd, *J* = 15.7, 2.4), 4.34 (1H, ABd, *J* = 15.7, 2.4), 4.54 (1H, d, *J* = 6.0 Hz), 4.64 (1H, AB, *J* = 6.4 Hz), 4.65 (1H, AB, *J* = 6.4 Hz), 5.07 (1H, d, *J* = 6.0 Hz) ppm

¹³C-NMR + DEPT (50MHz, CDCl₃): -5.34 (-CH₃), -5.16 (-CH₃), 18.10 (-C-), 18.16 (-C-), 25.89 (-CH₃), 25.95 (-CH₃), 28.53 (-CH₃), 28.78 (-CH₃), 31.85 (-C-), 32.33 (-C-), 43.61 (-CH₃), 47.78 (-CH), 50.29 (-CH), 56.81 (-CH₂), 59.60 (-CH₂), 60.02 (-CH₂), 60.46 (-CH₂), 61.95 (-CH₂), 66.24 (-CH₂), 67.17 (-CH₂), 72.47 (-CH), 75.06 (-CH), 77.86 (-CH), 78.44 (-CH), 78.88 (-C-), 93.56 (-CH₂), 96.26 (-CH₂) ppm

[α]_D = -26.3 (c = 0.75 in CHCl₃)

Cadiotkoppeling van **IV.20** met 1-joodnonyn:

Aan een oplossing van het alkyn **IV.20** (52 mg, 0.074 mmol) in pyrrolidine (0.33 M, 220 μ l) wordt achtereenvolgens 1-joodnonyn (1.1 eq., 0.081 mmol, 20 mg) en koper(I)jodide (0.1 eq., 0.007 mmol, 1.4 mg) toegevoegd. Het reactiemengsel wordt één uur geroerd bij kamertemperatuur en wordt dan afgewerkt door het mengsel op kolom te brengen (eluens: isooctaan : aceton/ammoniak (98/2) 95 : 5). Na een tweede zuivering op kolom wordt 55 mg aan **IV.20'** bekomen (91%).

Brutoformule: C₄₆ H₈₉ N O₇ Si₂

Moleculair gewicht: 824.4 g/mol

R_f (isooctaan : aceton/ammoniak (98/2) 8 : 2): 0.68

IR (KBr, film): 2929 (s), 2857 (s), 2770 (w), 2257 (w), 1472 (m), 1398 (w), 1362 (m), 1255 (m), 1190 (w), 1170 (w), 1116 (s), 1035 (s), 1005 (m), 950 (w), 835 (s), 775 (m), 724 (w), 668 (w) cm⁻¹

MS (m/z): 822 (M⁺-1, 1), 767 (1), 608 (1), 578 (2), 491 (1), 418 (1), 364 (1), 272 (5), 202 (3), 171 (5), 58 (100)

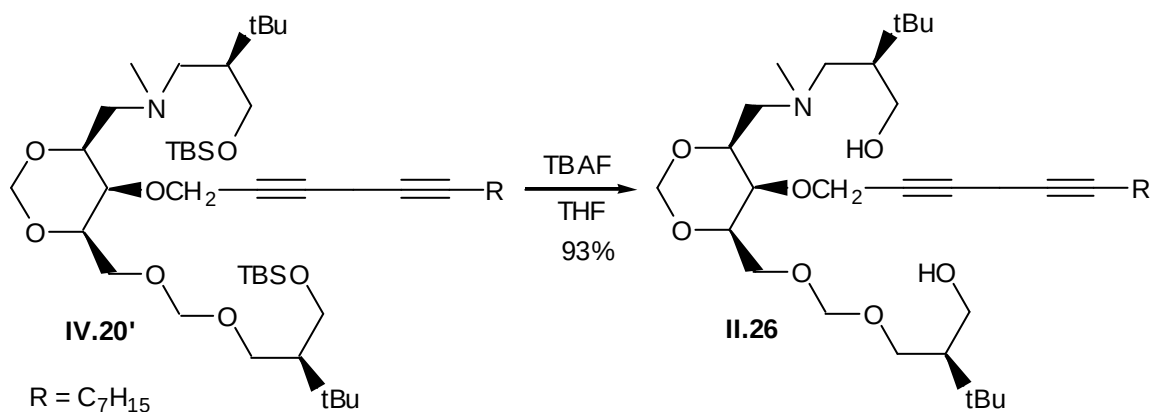
ES (m/z): 824 (M + H)⁺

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, C_6D_6): 0.09 (3H, s), 0.10 (3H, s), 0.12 (3H, s), 0.13 (3H, s), 0.86 (3H, t, $J = 7.3$ Hz), 0.99 (9H, s), 1.01 (9H, s), 1.02 (9H, s), 1.05 (9H, s), 1.07-1.27 (10 H, m), 1.41 (1H, m), 1.49 (1H, m), 1.92 (2H, t, $J = 6.9$ Hz), 2.23 (3H, s), 2.35 (1H, ABd , $J = 12.5, 3.0$ Hz), 2.54 (1H, ABd , $J = 12.3, 10.0$ Hz), 2.74 (1H, ABd , $J = 13.3, 4.9$ Hz), 2.90 (1H, ABd , $J = 13.3, 7.1$ Hz), 3.40 (1H, s (br)), 3.62 (1H, dd(fs), $J = 5.6, 5.6$ Hz), 3.73 (1H, dd(fs), $J = 7.1, 7.2$ Hz), 3.76 (1H, dd, $J = 4.0, 13.6$ Hz), 3.79-3.94 (7H, m), 4.33 (1H, AB , $J = 16.5$ Hz), 4.39 (1H, AB , $J = 16.4$ Hz), 4.51 (1H, d, $J = 6.0$ Hz), 4.64 (1H, AB , $J = 6.7$ Hz), 4.65 (1H, AB , $J = 6.6$ Hz), 5.05 (1H, d, $J = 6.0$ Hz) ppm

$^{13}\text{C-NMR}$ + DEPT (50MHz, CDCl_3) : -5.55 (-CH₃), -5.47 (-CH₃), 14.06 (-CH₃), 18.12 (-C-), 18.17 (-C-), 19.25 (-CH₂), 22.60 (-CH₂), 25.90 (-CH₃), 25.96 (-CH₃), 28.15 (-CH₂), 28.55 (-CH₃), 28.79 (-CH₃/CH₂), 29.69 (-CH₂), 31.66 (-CH₂), 31.85 (-C-), 32.33 (-C-), 43.68 (-CH₃), 47.74 (-CH), 50.26 (-CH), 56.58 (-CH₂), 60.10 (-CH₂), 60.22 (-CH₂), 60.46 (-CH₂), 61.96 (-CH₂), 66.20 (-CH₂), 66.90 (-CH₂), 71.62 (-C-), 72.45 (-CH/-C-), 77.90 (-CH), 78.04 (-C-), 78.42 (-CH), 81.57 (-C-), 93.55 (-CH₂), 96.27 (-CH₂) ppm

$[\alpha]_{\text{D}}$ = -18.1 ($c = 0.78$ in CHCl_3)

*Ontscherming van de silylethers in **IV.20'** met tetrabutylammoniumfluoride:*



Aan een oplossing van bissilylether **IV.20'** (29 mg, 0.004 mmol) in tetrahydrofuran (0.1 M, 360 μl) wordt tetrabutylammoniumfluoride (4 eq., 0.014 mmol, 145 μl van een 1 M oplossing in tetrahydrofuran) toegevoegd.

Na 17 uren roeren bij kamertemperatuur wordt het mengsel ingedampt en onmiddellijk gezuiverd door kolomchromatografie (eluens: isooctaan : aceton/ammoniak (98/2) 7 : 3). Na een tweede kolom (eluens: isooctaan : aceton/ammoniak (98/2) 8 : 2) wordt 20 mg aan zuiver aminodiol **II.26** bekomen (93%).

Brutoformule: C₃₄H₆₁NO₇

Moleculair gewicht: 595.9 g/mol

R_f (isooctaan : aceton/ammoniak (98/2) 6 : 4): 0.39

IR (KBr, film): 3398 (m), 2958 (s), 2865 (s), 2255 (w), 1467 (m), 1396 (w), 1366 (m), 1265 (w), 1233 (w), 1113 (m), 1040 (s), 950 (w), 861 (w), 830 (w), 736 (m) cm⁻¹

ES (m/z): 596 (M + H)⁺

¹H-NMR (500MHz, C₆D₆): 0.78 (9H, s), 0.85 (3H, t, *J* = 7.3 Hz), 0.91 (9H, s), 1.03-1.28 (10 H, m), 1.56 (1H, m), 1.66 (1H, m), 1.92 (2H, t, *J* = 7.0 Hz), 2.11 (3H, s), 2.48 (1H, ABdd, *J* = 12.3, 2.4, 2.3 Hz), 2.59 (1H, ABd, *J* = 12.0, 11.7 Hz), 2.72 (1H, ABd, *J* = 13.4, 4.1 Hz), 2.85 (1H, ABd, *J* = 13.4, 7.3 Hz), 3.34 (1H, s (br)), 3.54 (1H, m(fs)), 3.63 (1H, ABd, *J* = 9.3, 4.5 Hz), 3.68 (1H, ABd, *J* = 9.0, 5.9 Hz), 3.70 (2H, m), 3.76-3.82 (3H, m), 3.86 (1H, ABd, *J* = 10.7, 3.4 Hz), 4.09 (1H, ddd, *J* = 2.8, 2.9, 10.1 Hz), 4.31 (1H, AB, *J* = 16.7 Hz), 4.34 (1H, AB, *J* = 16.6 Hz), 4.43 (1H, d, *J* = 6.1 Hz), 4.44 (1H, AB, *J* = 6.7 Hz), 4.45 (1H, AB, *J* = 6.7 Hz), 5.00 (1H, d, *J* = 6.1 Hz) ppm

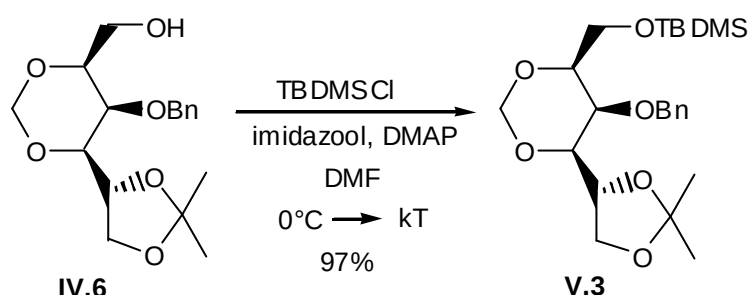
¹³C-NMR + DEPT (50MHz, CDCl₃) : 14.03 (-CH₃), 19.21 (-CH₂), 22.57 (-CH₂), 27.90 (-CH₃), 28.09 (-CH₃), 28.25 (-CH₂), 28.69 (-CH₂), 28.76 (-CH₂), 31.26 (-CH₂), 31.56 (-C-), 31.63 (-C-), 43.16 (-CH₃), 45.21 (-CH), 49.84 (-CH), 60.33 (-CH₂), 61.78 (-CH₂), 63.33 (-CH₂), 64.27 (-C-), 66.44 (-CH₂), 67.10 (-CH₂), 69.60 (-CH₂), 71.40 (-C-), 72.40 (-C-), 72.56 (-CH), 77.63 (-CH), 78.15 (-CH), 81.95 (-C-), 93.47 (-CH₂), 96.18 (-CH₂) ppm

[α]_D = -17.2 (c = 1.2 in CHCl₃)

VII.4 Experimenteel gedeelte bij Hoofdstuk V

VII.4.1 Inversie via de oxidatie-reductiemethode

Bescherming van de primaire alcoholgroep in **IV.6** als silylether:



Alcohol **IV.6** (300 mg, 0.924 mmol) wordt opgelost in dimethylformamide (1.2 M, 750 μ l) en deze oplossing wordt toegevoegd bij 0°C aan een mengsel van *tert*-butyldimethylsilylchloride (2 eq., 1.848 mmol, 279 mg), imidazool (4 eq., 3.697 mmol, 252 mg) en dimethylaminopyridine (katalytisch, spatelpunt) in dimethylformamide (2.25 ml). Het reactiemengsel wordt opgewarmd tot kamertemperatuur en nog anderhalf uur geroerd. Vervolgens wordt water toegevoegd en na extractie met diëthylether wordt de organische fase gedroogd op anhydrisch magnesiumsulfaat. Het ruwe product wordt gezuiverd door middel van kolomchromatografie (gradiëntelutie: isooctaan : ethylacetaat 95 : 5 tot 8 : 2). Er wordt 399 mg aan zuivere silylether **V.3** bekomen (97%).

Brutoformule: C₂₃H₃₈O₆Si

Moleculair gewicht: 438.6 g/mol

R_f (isooctaan : ethylacetaat 8 : 2): 0.57

IR (KBr, film): 3030 (w), 2987 (m), 2953 (m), 2930 (m), 2856 (m), 2769 (w), 1497 (w), 1471 (m), 1405 (w), 1380 (m), 1370 (m), 1360 (m), 1256 (m), 1217 (m), 1197 (m), 1106 (s), 1070 (s), 1018 (s), 1006 (w), 840 (s), 778 (m) cm⁻¹

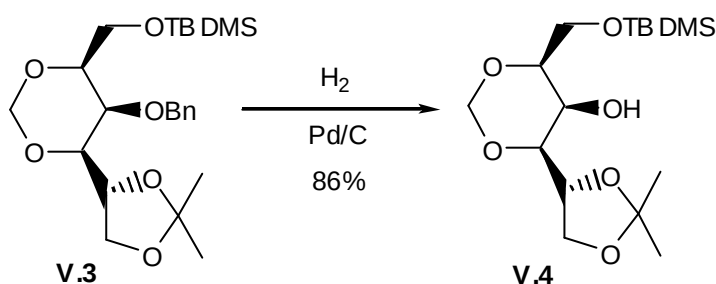
MS (m/z): 423 (M⁺-15), 381 (1), 350 (1), 323 (1), 291 (1), 275 (1), 231 (2), 201 (1), 185 (2), 117 (9), 91 (100), 43 (18)

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, C_6D_6): -0.01 (3H, s), 0.01 (3H, s), 0.93 (9H, s), 1.23 (3H, s), 1.40 (3H, s), 3.39 (1H, dd, $J = 8.6, 1.3$ Hz), 3.60 (1H, dt, $J = 7.3, 1.3$ Hz), 3.74 (1H, s (br)), 3.86 (1H, ABd , $J = 9.9, 5.8$ Hz), 3.96 (1H, ABd , $J = 9.9, 7.7$ Hz), 3.98 (2H, m), 4.37 (1H, d, $J = 5.9$ Hz), 4.47 (1H, ddd, $J = 8.6, 5.7, 5.4$ Hz), 4.84 (1H, AB , $J = 11.4$ Hz), 4.97 (1H, d, $J = 6.0$ Hz), 4.99 (1H, AB , $J = 11.5$ Hz), 7.09 (1H, dd, $J = 7.5, 7.3$ Hz), 7.19 (2H, dd, $J = 7.9, 7.4$ Hz), 7.49 (2H, d, $J = 7.5$ Hz) ppm

$^{13}\text{C-NMR} + \text{DEPT}$ (50MHz, C_6D_6): -5.34 ($-\text{CH}_3$), -5.28 ($-\text{CH}_3$), 18.44 ($-\text{C}-$), 25.39 ($-\text{CH}_3$), 26.11 ($-\text{CH}_3$), 27.23 ($-\text{CH}_3$), 62.45 ($-\text{CH}_2$), 67.61 ($-\text{CH}_2$), 71.43 ($-\text{CH}$), 73.74 ($-\text{CH}$), 74.95 ($-\text{CH}_2$), 80.00 ($-\text{CH}$), 80.82 ($-\text{CH}$), 93.11 ($-\text{CH}_2$), 109.33 ($-\text{C}-$), 127.7 ($-\text{CH}$), 127.8 ($-\text{CH}$), 128.36 ($-\text{CH}$), 139.46 ($-\text{C}-$) ppm

$[\alpha]_{\text{D}} = +7.7$ ($c = 2.61$ in CHCl_3)

Ontscherming van de benzylether in **V.3**:



Na oplossen van benzylether **V.3** (371 mg, 0.846 mmol) in ethylacetaat (0.1 M, 8.4 ml), wordt palladium op koolstof (0.1 eq., 0.0846 mmol, 89 mg van 10% palladium op koolstof) toegevoegd. Het reactiemengsel wordt verzadigd met waterstofgas en na 45 minuten roeren onder 1 atmosfeer waterstofgas wordt de katalysator afgefiltreerd over celiet. Het filtraat wordt ingedampt onder verminderde druk, het product **V.4** wordt gezuiverd door kolomchromatografie (eluens: isooctaan : ethylacetaat 6 : 4). Er wordt 254 mg aan kristallijn alcohol **V.4** bekomen (86%).

Brutoformule: $\text{C}_{16}\text{H}_{32}\text{O}_6\text{Si}$

Moleculair gewicht: 348.5 g/mol

R_f (isooctaan : ethylacetaat 7 : 3): 0.47

IR (KBr, plaatje): 3470 (m, br), 2987 (w), 2954 (s), 2931 (s), 2857 (s), 2772 (w), 1472 (m), 1381 (m), 1371 (m), 1257 (s), 1219 (m), 1193 (s), 1107 (s), 1085 (s), 1068 (s), 1035 (s), 939 (w), 839 (s), 778 (s), 668 (w) cm^{-1}

MS (m/z): 333 ($\text{M}^+ - 15$, 7), 303 (1), 275 (1), 245 (1), 233 (19), 203 (5), 185 (7), 143 (13), 117 (61), 101 (26), 75 (100), 43 (97)

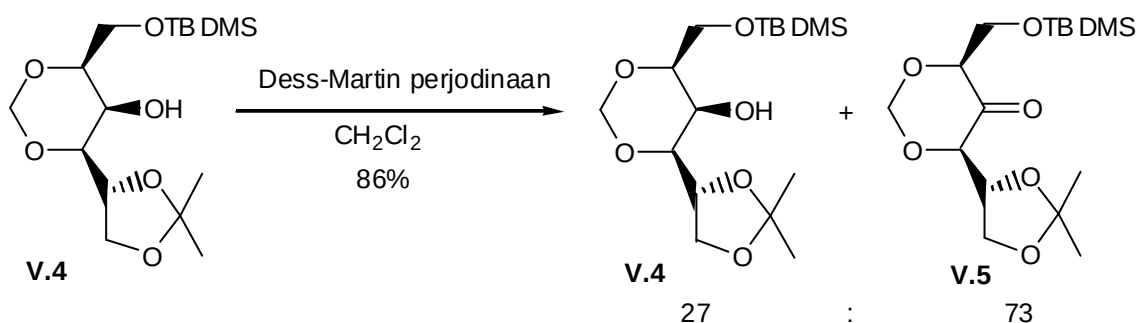
$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, C_6D_6): 0.06 (3H, s), 0.07 (3H, s), 0.95 (9H, s), 1.27 (3H, s), 1.41 (3H, s), 2.28 (1H, d, $J = 10.6$ Hz), 3.26 (1H, d, $J = 7.7$ Hz), 3.37 (1H, dd, $J = 5.8, 6.0$ Hz), 3.76 (2H, m), 3.81 (1H, ABd, $J = 10.4, 6.1$ Hz), 3.94 (1H, ABd, $J = 8.4, 5.5$ Hz), 3.98 (1H, ABd, $J = 8.4, 6.3$ Hz), 4.22 (1H, d, $J = 6.0$ Hz), 4.32 (1H, dd, $J = 13.4, 5.9$ Hz), 4.77 (1H, d, $J = 6.1$ Hz) ppm

$^{13}\text{C-NMR} + \text{DEPT}$ (50MHz, C_6D_6): -5.29 ($-\text{CH}_3$), -5.22 ($-\text{CH}_3$), 18.57 ($-\text{C}-$), 25.42 ($-\text{CH}_3$), 26.11 ($-\text{CH}_3$), 27.14 ($-\text{CH}_3$), 63.19 ($-\text{CH}_2$), 64.38 ($-\text{CH}$), 66.96 ($-\text{CH}_2$), 73.76 ($-\text{CH}$), 80.46 ($-\text{CH}$), 81.16 ($-\text{CH}$), 93.58 ($-\text{CH}_2$), 109.20 ($-\text{C}-$) ppm

$[\alpha]_{\text{D}}$ = -3.5 ($c = 0.6$ in CHCl_3)

smeltpunt : 39°C

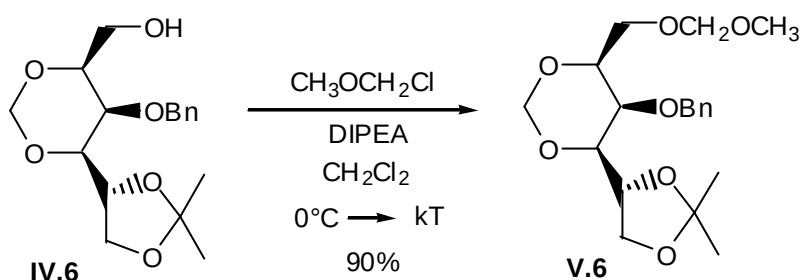
Oxidatie van V.4 met Dess Martin perjodinaan:



Alcohol **V.4** (50 mg, 0.143 mmol) wordt opgelost in dichloormethaan (0.15 M, 950 μl), hieraan wordt het *Dess Martin* perjodinaan (4 eq., 0.574 mmol, 243 mg) in één portie toegevoegd en het mengsel wordt overnacht geroerd bij kamertemperatuur. Vervolgens wordt een verzadigde natriumbicarbonaatoplossing en een 0.05 M natriumthiosulfaatoplossing toegevoegd.

Na extractie met dëthylether, drogen op anhydrisch natriumsulfaat en indampen onder verminderde druk wordt het ruwe mengsel bekomen. Uit het ^1H -NMR-spectrum kon bepaald worden dat het ruwe mengsel nog 27% beginproduct en 73% keton **V.5** bevat.

Bescherming van de primaire alcoholgroep in IV.6 als methoxymethylether:



Een oplossing van alcohol **IV.6** (688 mg, 2.120 mmol) in dichloormethaan (0.37 M, 5.7 ml) wordt gekoeld tot 0°C. Achtereenvolgens worden methoxymethylchloride (2 eq., 4.240 mmol, 320 µl) en diisopropylethylamine (2.2 eq., 4.664 mmol, 810 µl) toegedruppeld, waarbij een beetje rookontwikkeling ontstaat. Na 10 minuten bij 0°C wordt het mengsel verder geroerd bij kamertemperatuur voor 4 uren. De reactie wordt afgewerkt door toevoegen van 6 ml van een verzadigde natriumbicarbonaatoplossing. Na 20 minuten roeren wordt dichloormethaan toegevoegd, de organische fase wordt afgelaten en de waterfase wordt verder geëxtraheerd met dichloormethaan. De verzamelde organische fasen worden gedroogd op anhydrisch magnesiumsulfaat en na indampen van het solvent onder verminderde druk wordt het ruwe bekomen product gezuiverd door kolomchromatografie (eluens: isooctaan : ethylacetaat 8 : 2). Er wordt uiteindelijk 710 mg aan methoxymethylether **V.6** geïsoleerd (90%).

Brutoformule: $\text{C}_{19}\text{H}_{28}\text{O}_7$

Moleculair gewicht: 368.4 g/mol

R_f (isooctaan : ethylacetaat 7 : 3): 0.23

IR (KBr, film): 2986 (m), 2935 (m), 2882 (m), 2772 (w), 1495 (w), 1454 (m), 1371 (m), 1254 (m), 1213 (m), 1197 (m), 1153 (m), 1115 (m), 1091 (m), 1065 (s), 1042 (s), 954 (m), 918 (m), 848 (m), 735 (m), 699 (m) cm^{-1}

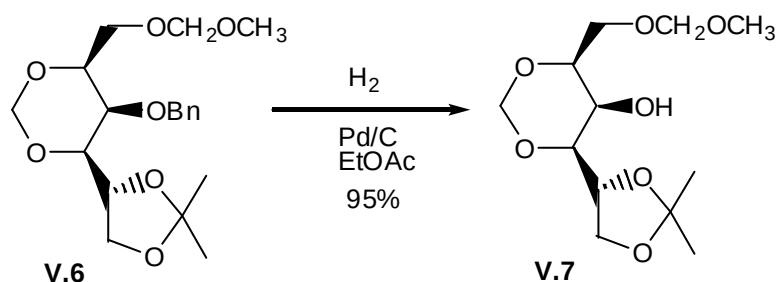
MS (m/z): 369 ($\text{M}^+ + 1$), 323 (4), 265 (3), 231 (3), 201 (1), 187 (1), 159 (1), 105 (7), 91 (100), 45 (85)

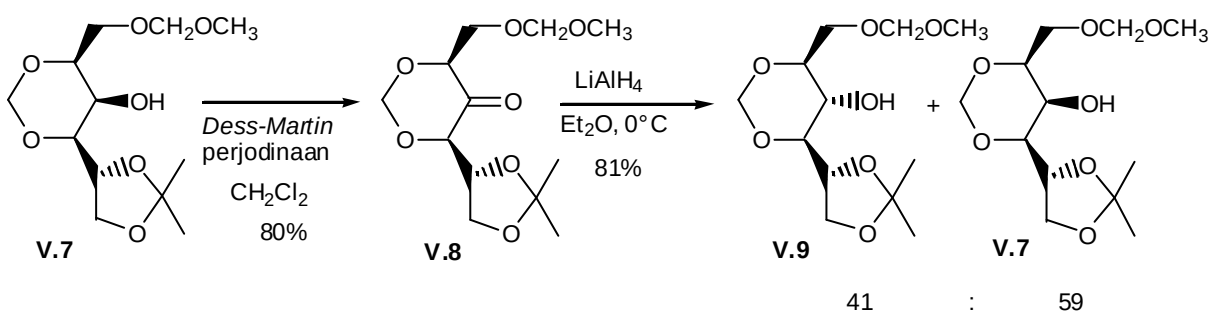
$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, C_6D_6): 1.37 (3H, s), 1.45 (3H, s), 3.34 (3H, s), 3.48 (1H, dd, $J = 5.2, 10.3$ Hz), 3.52 (1H, dd, $J = 1.3, 8.8$ Hz), 3.63 (1H, s), 3.72 (1H, dd, $J = 7.2, 10.3$ Hz), 3.83 (1H, ddd, $J = 1.4, 5.3, 6.9$ Hz), 3.97 (1H, dd, $J = 4.8, 8.7$ Hz), 4.12 (1H, dd, $J = 6.2, 8.7$ Hz), 4.32 (1H, ddd, $J = 4.8, 6.1, 8.8$ Hz), 4.56 (1H, AB, $J = 6.5$ Hz), 4.59 (1H, AB, $J = 6.5$ Hz), 4.63 (1H, d, $J = 11.1$ Hz), 4.77 (1H, d, $J = 6.2$ Hz), 4.80 (1H, d, $J = 11.2$ Hz), 5.14 (1H, d, $J = 6.1$ Hz), 7.26-7.40 (5H, m) ppm

$^{13}\text{C-NMR} + \text{DEPT}$ (50MHz, CDCl_3): 25.23 ($-\text{CH}_3$), 27.00 ($-\text{CH}_3$), 55.38 ($-\text{CH}_3$), 67.30 ($-\text{CH}_2$), 70.86 ($-\text{CH}$), 72.86 ($-\text{CH}$), 74.72 ($-\text{CH}_2$), 78.40 ($-\text{CH}$), 80.55 ($-\text{CH}$), 93.30 ($-\text{CH}_2$), 96.81 ($-\text{CH}_2$), 109.29 ($-\text{C}-$), 127.91 ($-\text{CH}$), 128.33 ($-\text{CH}$), 128.78 ($-\text{CH}$), 137.81 ($-\text{C}-$) ppm

$[\alpha]_{\text{D}}$ = +7.8 ($c = 0.85$ in CHCl_3)

Ontscherming van de benzylether in **V.6** :



Brutoformule: C₁₂H₂₂O₇**Moleculair gewicht:** 278.3 g/mol**R_f** (dichloormethaan : aceton 9 : 1): 0.30**IR (KBr, film):** 3466 (s, br), 2987 (m), 2936 (m), 2883 (m), 2775 (w), 1457 (w), 1382 (m), 1372 (m), 1256 (m), 1215 (m), 1194 (m), 1152 (s), 1115 (s), 1086 (s), 1069 (s), 1032 (s), 953 (w), 918 (w), 846 (m), 806 (w) cm⁻¹**MS (m/z):** 277 (M⁺-1), 263 (1), 247 (1), 231 (32), 201 (5), 189 (2), 159 (2), 141 (6), 111 (6), 101 (26), 69 (14), 45 (100)**¹H-NMR (500MHz, C₆D₆):** 1.28 (3H, s), 1.40 (3H, s), 2.36 (1H, d, *J* = 11.1 Hz), 3.16 (3H, s), 3.23 (1H, dd, *J* = 0.9, 7.9 Hz), 3.48 (1H, ddd, *J* = 0.9, 5.9, 6.4 Hz), 3.70 (3H, m), 3.93 (1H, ABd, *J* = 8.5, 5.3 Hz), 3.98 (1H, ABd, *J* = 8.5, 6.3 Hz), 4.21 (1H, d, *J* = 6.0 Hz), 4.32 (1H, ddd, *J* = 5.5, 6.1, 7.9 Hz), 4.46 (1H, AB, *J* = 6.5 Hz), 4.47 (1H, AB, *J* = 6.5 Hz), 4.78 (1H, d, *J* = 6.0 Hz) ppm**¹³C-NMR + DEPT (50MHz, CDCl₃) :** 25.04 (-CH₃), 26.86 (-CH₃), 55.34 (-CH₃), 64.33 (-CH), 66.61 (-CH₂), 67.34 (-CH₂), 73.03 (-CH), 78.59 (-CH), 80.41 (-CH), 93.59 (-CH₂), 96.76 (-CH₂), 109.20 (-C-) ppm**[α]_D** = -8.9 (c = 1.46 in CHCl₃)*Inversie van de configuratie van de secundaire alcohol V.7 via oxidatie-reductie:*

Na oplossen van de axiale alcohol **V.7** (1.076 g, 3.865 mmol) in dichloormethaan (0.2 M, 19 ml) wordt *Dess-Martin* perjodinaan (2 eq., 7.730 mmol, 3.28 g) toegevoegd en het mengsel wordt 17 uren geroerd bij kamertemperatuur. Vervolgens wordt een mengsel van een verzadigde natriumbicarbonaatoplossing en een 0.05 M natriumthiosulfaatoplossing toegevoegd en na extractie met diëthylether (2 maal) en met dichloormethaan (1 maal) wordt de organische fase kort gedroogd op anhydrisch magnesiumsulfaat en ingedampt onder verminderde druk.

Het keton wordt als dusdanig gebruikt in de reductiestap; via het ^1H -NMR-spectrum wordt vastgesteld dat het ruwe product een mengsel is van keton **V.8** en axiaal alcohol **V.7** in een verhouding 80 : 20.

Lithiumaluminiumhydride (2 eq., 8.032 mmol, 305 mg) wordt opgelost in diëthylether (0.54 M, 15 ml) en afgekoeld tot 0°C. Na toedruppelen van het mengsel aan keton **V.8** en alcohol **V.7** (1.10 g, 4.016 mmol) in diëthylether wordt het reactiemengsel anderhalf uur verder geroerd bij dezelfde temperatuur. Natriumsulfaatdecahydraat wordt vervolgens toegevoegd en het mengsel wordt geroerd bij kamertemperatuur tot het gevormde neerslag wit ziet. Het wordt afgefiltreerd en na indampen van het filtraat onder verminderde druk wordt het ruwe product gezuiverd door kolomchromatografie (eluens: dichloormethaan : aceton 95 : 5). Er wordt 350 mg aan equatoriaal alcohol **V.9** (41% ten opzichte van het keton) bekomen naast 514 mg gerecupereerd axiaal alcohol **V.7** (81% totaal rendement ten opzichte van het startproduct).

Brutoformule: $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_7$

Moleculair gewicht: 278.3 g/mol

R_f (dichloormethaan : aceton 9 : 1): 0.49

IR (KBr, film): 3512 (m, (br)), 2988 (m), 2935 (m), 2886 (m), 2772 (w), 1456 (w), 1373 (m), 1259 (m), 1216 (m), 1192 (m), 1149 (s), 1037 (s, br), 986 (w), 947 (w), 919 (w), 845 (m) cm^{-1}

ES (m/z): 301.1 (M + Na)⁺

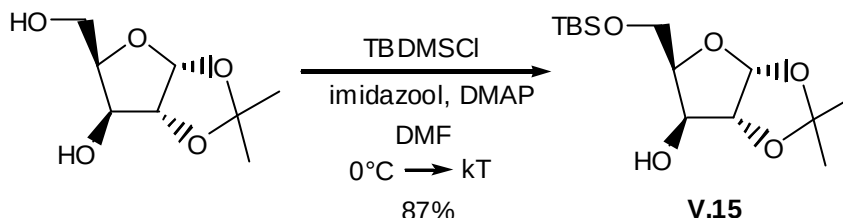
^1H -NMR (500MHz, C_6D_6): 1.09 (3H, s), 1.26 (3H, s), 3.12 (1H, dd, $J = 8.5; 8.6$ Hz), 3.24 (3H, s), 3.38 (1H, s (fs)), 3.53 (1H, ddd, $J = 2.2, 5.6, 9.1$ Hz), 3.72 (1H, dd, $J = 8.9, 9.2$ Hz), 3.82 (1H, ABd , $J = 8.8, 6.3$ Hz), 3.87 (1H, ABd , $J = 8.8, 4.7$ Hz), 3.93 (1H, ABd , $J = 11.0, 5.6$ Hz), 3.99 (1H, ddd, $J = 4.8, 6.3, 8.2$ Hz), 4.03 (1H, ABd , $J = 11.1, 2.2$ Hz), 4.23 (1H, d, $J = 6.1$ Hz), 4.61 (2H, s); 4.81 (1H, d, $J = 6.1$ Hz) ppm

APT (125MHz, C_6D_6): 24.96 (-CH₃), 26.49 (-CH₃), 54.86 (-CH₃), 66.87 (-CH₂), 67.44 (-CH), 67.48 (-CH₂), 78.47 (-CH), 79.78 (-CH), 80.20 (-CH), 92.70 (-CH₂), 96.84 (-CH₂), 110.11 (-C-) ppm

[α]_D = -30.4 (c = 1.465 in CHCl_3)

VII.4.2 Alternatieve syntheseroute tot alcohol V.14 uit 1,2-isopropylideen-D-xylose

Bescherming van de secundaire alcohol in 1,2-isopropylideen-D-xylose:



Aan een mengsel van *tert*-butyldimethylsilylchloride (1.05 eq., 0.033 mol, 5.01 g), imidazool (2.1 eq., 0.066 mmol, 4.5 g) en dimethylaminopyridine (spatelpunt) in dimethylformamide (25.4 ml) wordt bij 0°C een oplossing van 1,2-isopropylideen-D-xylose (6 g, 0.032 mol) in dimethylformamide (3.5 M, 9 ml) toegevoegd. Het reactiemengsel wordt 4 dagen geroerd bij kamertemperatuur. De reactie wordt dan afgewerkt door water toe te voegen en na extractie met diëthylether wordt de organische fase gedroogd op anhydrisch magnesiumsulfaat. Na zuivering via kolomchromatografie (gradiëntelutie: isooctaan : ethylacetaat 9 : 1 tot 8 : 2) wordt 8.315 g aan zuiver monosilylether **V.15** bekomen (87%).

Brutoformule: C₁₄ H₂₈ O₅ Si

Moleculair gewicht: 304.5 g/mol

R_f (isooctaan : ethylacetaat 8 : 2): 0.30

IR (KBr, film): 3458 (m), 2956 (s), 2932 (s), 2886 (m), 2858 (m), 1472 (m), 1374 (m), 1256 (s), 1217 (m), 1166 (m), 1076 (s), 1050 (m), 1015 (m), 838 (s), 780 (m), 666 (w) cm⁻¹

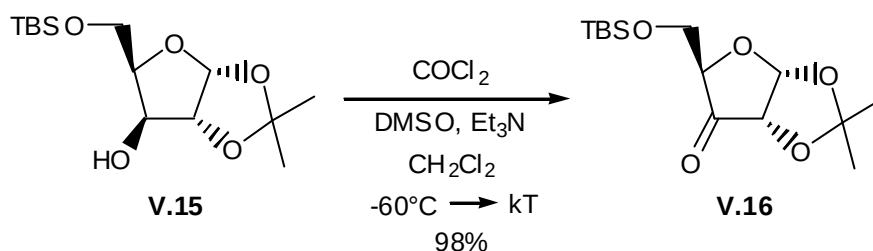
MS (m/z): 289 (M⁺-15), 247 (5), 229 (4), 213 (1), 189 (10), 171 (15), 131 (15), 117 (64), 89 (28), 75 (100), 43 (91)

¹H-NMR (500MHz, C₆D₆): -0.01 (3H, s), 0.02 (3H, s), 0.88 (9H, s), 1.10 (3H, s), 1.43 (3H, s), 3.76 (1H, ABd, *J* = 11.5, 3.0 Hz), 3.76 (1H, s), 3.86 (1H, ABd, *J* = 11.5, 4.3 Hz), 4.08 (1H, m), 4.32 (1H, dd, *J* = 2.8, 2.9 Hz), 4.44 (1H, d, *J* = 3.65 Hz), 5.94 (1H, d, *J* = 3.67 Hz) ppm

^{13}C -NMR + DEPT (50MHz, CDCl_3): -5.67 (-CH₃), -5.54 (-CH₃), 18.11 (-C-), 25.67 (-CH₃), 26.14 (-CH₃), 26.80 (-CH₃), 62.40 (-CH₂), 77.15 (-CH), 78.05 (-CH), 85.57 (-CH), 104.96 (-CH), 111.46 (-C-) ppm

$[\alpha]_{\text{D}}$ = -8.0 ($c = 1.22$ in CHCl_3), literatuur: -9.3 ($c = 10$ in CHCl_3)

Oxydatie van de vrije alcoholfunctie in **V.15**:



Aan een tot -60°C gekoelde oplossing van oxalylchloride (1.2 eq., 0.022 mol, 1.9 ml) in dichloormethaan (0.37 M, 59 ml), wordt dimethylsulfoxide (2.4 eq., 0.044 mol, 3.1 ml) toegevoegd. Na 10 minuten roeren wordt vervolgens de alcohol **V.15** (5.518 g, 0.018 mol) in dichloormethaan (1 M, 18 ml) bij -60°C toegedruppeld. Triëthylamine (3.3 eq., 0.060 mol, 7.7 ml) wordt toegevoegd aan het reactiemengsel na 1 uur en 10 minuten. Het reactiemengsel wordt vast, wordt onmiddellijk uit het ijsbad genomen en wordt nog 2 uren geroerd bij kamertemperatuur. Nadat water is toegevoegd, wordt het mengsel geëxtraheerd met dichloormethaan. De organische fase wordt ingedampt onder verminderde druk, nadat het gedroogd is op anhydrisch magnesiumsulfaat. Vervolgens wordt *n*-hexaan toegevoegd aan het ruwe product, er ontstaat hierbij een neerslag, dat wordt afgefiltreerd en na indampen van het filtraat wordt het zuivere keton **V.16** bekomen (5.468 g, 98%).

Brutoformule: $\text{C}_{14}\text{H}_{26}\text{O}_5\text{Si}$

Moleculair gewicht: 302.4 g/mol

R_f (isooctaan : ethylacetaat 8 : 2): 0.38

IR (KBr, film): 2955 (s), 2931 (s), 2858 (s), 1776 (s), 1472 (m), 1375 (m), 1259 (s), 1220 (m), 1155 (m), 1127 (s), 1095 (s), 1009 (s), 980 (w), 920 (w), 862 (w), 837 (s), 780 (s), 720 (w) cm^{-1}

Het bekomen vaste product wordt nog omgekristalliseerd uit hexaan; er wordt 3.06 g aan zuivere witte kristallen **V.17** bekomen (86%).

Brutoformule: C₁₀H₁₄O₅

Moleculair gewicht: 214.2 g/mol

R_f (dichloormethaan : aceton 8 : 2): 0.39

IR (KBr, plaatje): 3444 (s), 3295 (s), 2978 (m), 2933 (m), 2115 (w), 1455 (w), 1377 (s), 1267 (s), 1250 (s), 1218 (s), 1165 (s), 1109 (s), 1064 (s), 1022 (s), 991 (s), 903 (w), 876 (s), 737 (s), 701 (w), 683 (m) cm⁻¹

MS (m/z): 214 (M⁺), 199 (2), 183 (2), 163 (0.5), 151 (5), 139 (2), 119 (2), 109 (19), 97 (26), 71 (11), 59 (100), 43 (94)

¹H-NMR (500MHz, C₆D₆): 0.98 (3H, s), 1.26 (3H, s), 1.52 (1H, s (br)), 1.95 (1H, s), 2.74 (1H, d, J = 6.5 Hz), 3.97 (3H, m), 4.18 (1H, d, J = 3.8 Hz), 5.60 (1H, d, J = 3.7 Hz) ppm

¹³C-NMR + DEPT (50MHz, C₆D₆): 26.40 (-CH₃), 26.60 (-CH₃), 62.51 (-CH₂), 75.18 (-C-), 76.26 (-CH), 80.69 (-C-), 82.62 (-CH), 84.19 (-CH), 104.43 (-CH), 113.14 (-C-) ppm

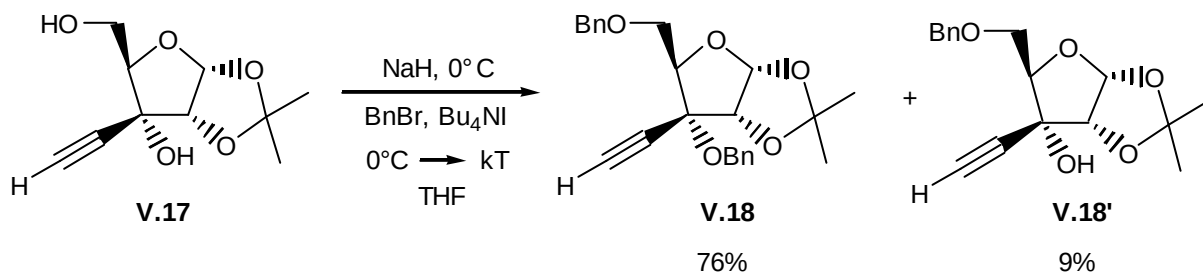
[α]_D = +51.6 (c = 0.89 in CHCl₃)

C-H-analyse: **berekend:** C: 56.07% **H:** 6.59%

gevonden: C: 55.81% **H:** 6.79%

smeltpunt: 86°C

Benzylering van de twee alcoholfuncties in V.17:



Een oplossing van diol **V.17** (4.377 g, 0.020 mol) in tetrahydrofuran (0.2 M, 102 ml) wordt gekoeld tot 0°C en hieraan wordt natriumhydride (2.1 eq., 0.043 mol, 1.72 g van een 60% suspensie in minerale olie) toegevoegd. Na één uur deprotonatie bij

die temperatuur wordt tetrabutylammoniumjodide (spatelpunt) toegevoegd en benzylbromide (2.05 eq., 0.042 mol, 5 ml) toegedruppeld. Het mengsel wordt opgewarmd tot kamertemperatuur en bij die temperatuur verder geroerd voor 93h. Florisil wordt vervolgens toegevoegd, het solvent wordt ingedampt onder verminderde druk. Dan wordt pentaan toegevoegd en de vaste stoffen worden afgefiltreerd. Na indampen van het solvent onder verminderde druk wordt het ruwe product gezuiverd door kolomchromatografie (gradiëntelutie: isooctaan : ethylacetaat van 9 : 1 tot 5 : 5). Er worden twee producten geïsoleerd: 6.1 g dibenzylether **V.18** (76%) en 580 mg monobenzylether **V.18'**(9%).

dibenzylether **V.18**:

Brutoformule: C₂₄ H₂₆ O₅

Moleculair gewicht: 394.5 g/mol

R_f (isooctaan : ethylacetaat 7 : 3): 0.54

IR (KBr, plaatje): 3266 (m), 3063 (w), 3031 (w), 2987 (m), 2933 (m), 2869 (m), 2108 (w), 1606 (w), 1498 (m), 1454 (m), 1374 (m), 1312 (w), 1249 (m), 1216 (m), 1166 (m), 1135 (m), 1094 (s), 1053 (s), 981 (m), 912 (m), 877 (m), 736 (m) cm⁻¹

MS (m/z): 394 (M⁺), 379 (1), 336 (1), 303 (1), 277 (1), 245 (2), 187 (3), 128 (1), 91 (100), 65 (16)

¹H-NMR (500MHz, C₆D₆): 1.11 (3H, s), 1.43 (3H, s), 1.86 (1H, s), 4.06 (1H, ABd, J = 10.9, 7.5 Hz), 4.10 (1H, ABd, J = 10.9, 2.9 Hz), 4.39 (1H, d, J = 3.74 Hz), 4.42 (1H, AB, J = 12.2 Hz), 4.46 (1H, AB, J = 12.2 Hz), 4.69 (1H, d, J = 10.5 Hz), 4.79 (1H, dd, J = 2.7, 7.5 Hz), 4.86 (1H, d, J = 10.5 Hz), 5.85 (1H, d, J = 3.7 Hz), 7.05-7.18 (6H, m), 7.28 (2H, d, J = 7.3 Hz), 7.41 (2H, d, J = 12.2 Hz) ppm

¹³C-NMR + DEPT (50MHz, CDCl₃): 26.77 (-CH₃), 26.93 (-CH₃), 68.43 (-CH₂), 69.99 (-CH₂), 73.37(-CH₂), 78.38 (-CH), 78.94 (-C-), 80.03 (-CH), 80.51 (-C-), 82.37 (-CH), 104.43 (-CH), 113.55 (-C-), 127.45 (-CH), 127.71 (-CH), 127.91 (-CH), 128.20 (-CH), 128.25 (-CH), 137.66 (-C-), 138.13 (-C-) ppm

[α]_D = +48.2 (c = 0.98 in CHCl₃)

C-H-analyse:	berekend:	C: 73.08%	H: 6.64%
	gevonden:	C: 73.04%	H: 6.79%

smeltpunt: 76°C

ruwe mengsel aan diastereomere diolen **V.19** (47/53) verder gezuiverd door kolomchromatografie (eluens: dichloormethaan : aceton 95 : 5). De diastereomeren kunnen niet gescheiden worden. Er wordt uiteindelijk 2.37 g aan diolen **V.19** (53/47) bekomen (88%).

Brutoformule: $C_{21}H_{22}O_5$

Moleculair gewicht: 354.4 g/mol

R_f (isooctaan : ethylacetaat 5 : 5): 0.45

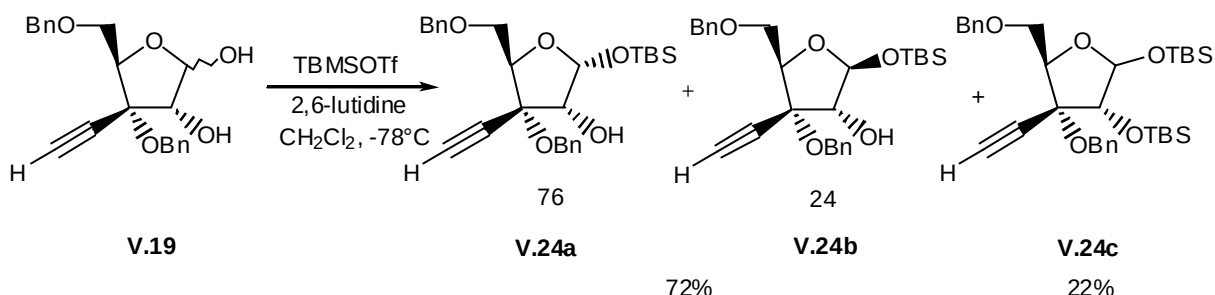
IR (KBr, film): 3414 (s), 3283 (s), 3062 (w), 3031 (w), 2921 (m), 2854 (m), 2108 (w), 1606 (w), 1496 (m), 1453 (s), 1369 (w), 1263 (w), 1209 (w), 1092 (s), 1027 (s), 912 (w), 808 (w), 737 (s), 697 (s) cm^{-1}

MS (m/z) : 331 (0.5), 293 (0.5), 263 (1), 245 (1), 187 (5), 181 (4), 117 (2), 91 (100), 65 (10)

¹H-NMR (500MHz, CD₃OD, mengsel 47-53): 3.22 (1H, s), 3.26 (1H,s), 3.72 (1H, ABd, $J = 10.8, 6.5$ Hz), 3.77 (1H, ABd, $J = 10.7, 3.4$ Hz), 3.78 (1H, ABd, $J = 10.6, 4.6$ Hz), 3.81 (1H, ABd, $J = 10.6, 3.8$ Hz), 4.07 (1H, d, $J = 4.0$ Hz), 4.21 (1H, dd, $J = 3.8, 6.1$ Hz), 4.22 (1H, d, $J = 4.1$ Hz), 4.37 (1H, dd, $J = 3.4, 6.4$ Hz), 4.54 (1H, AB, $J = 11.8$ Hz), 4.56 (1H, AB, $J = 11.8$ Hz), 4.58 (2H, s), 4.74 (1H, AB, $J = 11.0$ Hz), 4.76 (2H, s), 4.79 (1H, AB, $J = 11.0$ Hz), 5.18 (1H, d, $J = 4.0$ Hz), 5.41 (1H, d, $J = 4.1$ Hz), 7.25-7.38 (20H, m) ppm

¹³C-NMR + DEPT (50MHz, CD₃OD): 69.06 (-CH₂), 69.19 (-CH₂), 72.03 (-CH₂), 72.63 (-CH₂), 74.37 (-CH₂), 74.49 (-CH₂), 77.30 (-CH), 79.76 (-C-), 80.01 (-C-), 80.82 (-C-), 81.33 (-C-), 81.87 (-CH), 82.91 (-CH), 83.22 (-CH), 98.15 (-CH), 103.47 (-CH), 128.58 (-CH), 128.67 (-CH), 128.95 (-CH), 129.01 (-CH), 129.19 (-CH), 129.27 (-CH), 129.34 (-CH), 139.50 (-C-), 139.76 (-C-) ppm

Bescherming van de anomere alcoholfunctie in **V.19**:



Aan een bij -78°C gekoelde oplossing van diolen **V.19** (1.53 g, 4.324 mmol) in dichloormethaan (0.5 M, 8.6 ml) wordt achtereenvolgens 2,6-lutidine (1.2 eq., 5.189 mmol, 600 μl) en *tert*-butyldimethylsilyltrifluormethaansulfonaat (1 eq., 4.324 mmol, 825 μl) toegedruppeld en het mengsel wordt dan bij die temperatuur 2 uren geroerd. Vervolgens wordt bij -78°C nogmaals 2,6-lutidine en *tert*-butyldimethylsilyltrifluormethaansulfonaat in dezelfde hoeveelheden toegevoegd. De reactie wordt afgebroken na één uur en driekwartier door water toe te voegen. Na extractie met diëthylether en drogen van de organische fase op anhydrisch magnesiumsulfaat wordt het bekomen ruwe mengsel gezuiverd door middel van kolomchromatografie (eluens: isooctaan : ethylacetaat 95 : 5). Het bekomen product is een mengsel van 2 diastereomeren **V.24a** en **V.24b** in een verhouding van 76 : 24, die kunnen gescheiden worden door kolomchromatografie, maar vermits slechts één van de twee kan reageren in de volgende reactie, een reductie, wordt deze laatste uitgevoerd op het mengsel. Naast 1.45 g van de diastereomere silylethers **V.24a** en **b** (72%) wordt ook 556 mg van de bissilylether **V.24c** (22%) als nevenproduct gevonden.

silylether **V.24a**:

Brutoformule: $\text{C}_{27}\text{H}_{36}\text{O}_5\text{Si}$

Moleculair gewicht: 468.7 g/mol

R_f (isooctaan : ethylacetaat 8 : 2): 0.50

IR (KBr, film): 3553 (m), 3285 (m), 3089 (w), 3064 (w), 3031 (m), 2952 (s), 2928 (s), 2857 (s), 2109 (w), 1608 (w), 1498 (m), 1472 (m), 1454 (m), 1412 (w), 1363 (w), 1342 (w), 1311 (w), 1255 (s), 1213 (w), 1136 (s), 1111 (s), 1090 (s), 1048 (s), 1005 (m), 954 (m), 880 (m), 839 (s), 807 (m), 783 (s), 735 (s) cm^{-1}

ES (m/z): 486 ($\text{M} + \text{NH}_4$)⁺

¹H-NMR (500MHz, C₆D₆): 0.05 (3H, s), 0.13 (3H, s), 0.87 (9H, s), 2.06 (1H, s), 3.37 (1H, d, $J = 10.1$ Hz), 3.76 (1H, ABd, $J = 10.4, 5.5$ Hz), 3.81 (1H, ABd, $J = 10.4, 4.2$ Hz), 4.38 (2H, s), 4.43 (1H, dd, $J = 4.6, 10.1$ Hz), 4.57 (1H, dd, $J = 4.3, 5.4$ Hz), 4.78 (1H, d, $J = 11.2$ Hz), 4.99 (1H, d, $J = 11.1$ Hz), 5.41 (1H, d, $J = 4.6$ Hz), 7.09 (2H, m), 7.17 (4H, m), 7.30 (2H, d (fs), $J = 7.0$ Hz), 7.41 (2H, d, $J = 7.0$ Hz) ppm

¹³C-NMR + DEPT (50MHz, CDCl₃): -5.25 (-CH₃), -4.35 (-CH₃), 17.90 (-C-), 25.61 (-CH₃), 68.02 (-CH₂), 70.52 (-CH₂), 73.28 (-CH₂), 76.98 (-CH), 78.49 (-CH/-C-), 80.25 (-C-), 81.70 (-CH), 96.10 (-CH), 127.44 (-CH), 127.57 (-CH), 128.18 (-CH), 128.25 (-CH), 138.07 (-C-), 138.15 (-C-) ppm

[α]_D = +95.8 ($c = 0.625$ in CHCl_3)

silylether V.24b:

Brutoformule: C₂₇H₃₆O₅Si

Moleculair gewicht: 468.7 g/mol

R_f (isooctaan : ethylacetaat 8 : 2): 0.44

IR (KBr, film): 3544 (m), 3455 (m), 3304 (m), 3089 (w), 3064 (m), 3032 (m), 2953 (s), 2928 (s), 2857 (s), 2111 (w), 1607 (w), 1497 (m), 1472 (m), 1454 (m), 1388 (m), 1362 (m), 1252 (s), 1216 (w), 1117 (s), 1058 (s), 1028 (s), 1004 (s), 951 (w), 861 (s), 839 (s), 782 (s), 736 (s), 697 (s), 673 (m) cm^{-1}

ES: 486 ($\text{M} + \text{NH}_4$)⁺

¹H-NMR (500MHz, C₆D₆): 0.10 (3H, s), 0.18 (3H, s), 0.99 (9H, s), 2.13 (1H, s), 2.72 (1H, d, $J = 5.7$ Hz), 3.86 (1H, ABd, $J = 10.2, 5.9$ Hz), 3.93 (1H, ABd, $J = 10.2, 5.2$ Hz), 4.31 (1H, dd, $J = 2.1, 5.7$ Hz), 4.45 (2H, s), 4.47 (1H, dd, $J = 5.4, 5.5$ Hz), 4.62 (1H, AB, $J = 11.1$ Hz), 4.66 (1H, AB, $J = 11.1$ Hz), 5.49 (1H, d, $J = 2.1$ Hz), 7.07-7.13 (4H, m), 7.16-7.21 (4H, m), 7.34 (2H, d(fs), $J = 7.1$ Hz) ppm

^{13}C -NMR + DEPT (50MHz, CDCl_3): -5.31 (-CH₃), -4.31 (-CH₃), 17.78 (-C-), 25.57 (-CH₃), 68.23 (-CH₂), 71.62 (-CH₂), 73.41 (-CH₂), 78.57 (-C-), 78.63 (-CH), 79.83 (-C-), 82.09 (-CH), 82.49 (-CH), 102.67 (-CH), 127.52 (-CH), 127.73 (-CH), 128.07 (-CH), 128.29 (-CH), 128.51 (-CH), 137.20 (-C-), 138.15 (-C-) ppm
[α]_D = -20.7 (c = 0.75 in CHCl_3)

bissilylether V.24c (2 diastereomeren, 50 : 50):

Brutoformule: $\text{C}_{33}\text{H}_{50}\text{O}_5\text{Si}_2$

Moleculair gewicht: 582.9 g/mol

R_f (isooctaan : ethylacetaat 9 : 1): 0.57

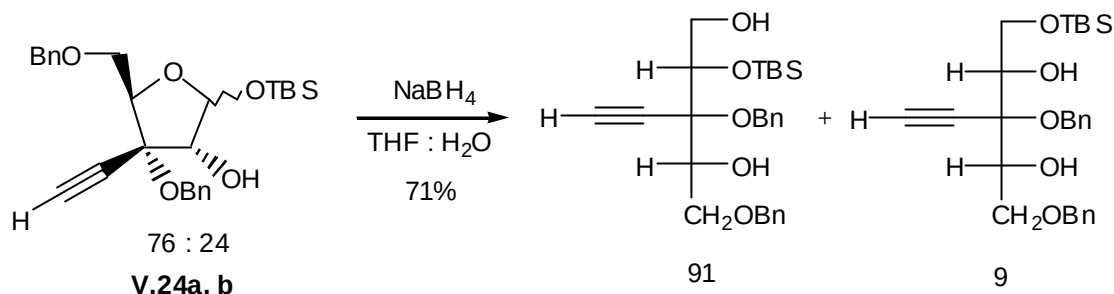
IR (KBr, film): 3306 (w), 3032 (w), 2953 (s), 2929 (s), 2895 (m), 2858 (s), 1498 (w), 1472 (m), 1362 (m), 1253 (s), 1160 (m), 1120 (s), 1047 (m), 1028 (m), 958 (w), 838 (s), 780 (s), 733 (m), 696 (m) cm^{-1}

MS (m/z): 567 (M^+ -15, 1), 525 (1), 507 (1), 417 (1), 375 (3), 325 (1), 301 (9), 231 (2), 181 (5), 91 (100), 73 (19)

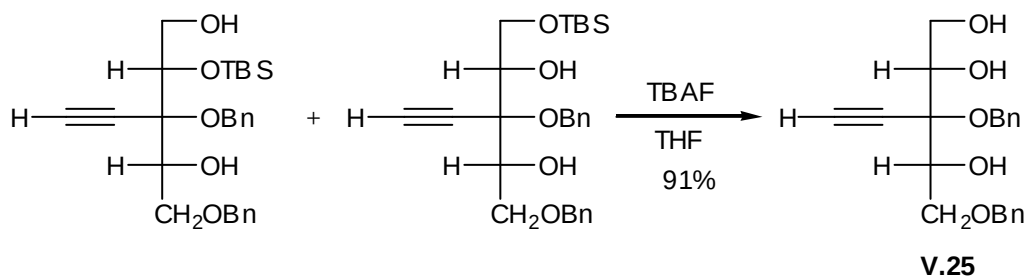
^1H -NMR (500MHz, C_6D_6): 0.10 (3H, s), 0.16 (3H, s), 0.18 (3H, s), 0.20 (3H, s), 0.21 (3H, s), 0.22 (3H, s), 0.25 (6H, s), 1.01 (18H, s), 1.05 (18H, s), 2.06 (1H, s), 2.08 (1H, s), 3.74 (2H, m), 3.79 (2H, d, $J = 4.2$ Hz), 4.37 (2H, s), 4.42 (3H, m), 4.50 (2H, m), 4.62 (1H, dd, $J = 4.0, 4.2$ Hz), 4.91 (1H, AB, $J = 11.4$ Hz), 4.99 (1H, AB, $J = 11.4$ Hz), 5.04 (1H, AB, $J = 11.6$ Hz), 5.20 (1H, AB, $J = 11.6$ Hz), 5.44 (1H, d, $J = 4.2$ Hz), 5.59 (1H, d, $J = 3.9$ Hz), 7.08-7.25 (12H, m), 7.33 (2H, d, $J = 7.5$ Hz), 7.37 (2H, d, $J = 7.5$ Hz), 7.44 (2H, d, $J = 7.4$ Hz), 7.54 (2H, d, $J = 7.5$ Hz) ppm

^{13}C -NMR + DEPT (50MHz, CDCl_3): -4.69 (-CH₃), -4.50 (-CH₃), -4.25 (-CH₃), -4.11 (-CH₃), -3.96 (-CH₃), 18.18 (-C-), 18.29 (-C-), 18.40 (-C-), 26.02 (-CH₃), 26.09 (-CH₃), 68.71 (-CH₂), 69.22 (-CH₂), 71.16 (-CH₂), 71.74 (-CH₂), 73.50 (-CH₂), 76.15 (-CH₂), 77.58 (-CH₂), 79.26 (-C-), 80.22 (-C-), 81.44 (-CH), 84.12 (-CH), 84.46 (-CH), 84.83 (-CH), 97.12 (-CH), 102.95 (-CH), 127.34 (-CH), 127.55 (-CH), 127.63 (-CH), 127.68 (-CH), 128.42 (-CH), 128.46 (-CH), 139.05 (-C-), 139.33 (-C-), 140.00 (-C-) ppm

Reductie van **V.24a** en **V.24b** met natriumboorhydride en ontscherming van de silylether tot **V.25**:



De silylethers **V.24a en b** (1.449 g, 3.092 mmol, van een 76 : 24 mengsel) wordt opgelost in een mengsel van water en tetrahydrofuran (0.32 M, 1:1 verhouding, elk 4.8 ml) en dit wordt afgekoeld tot 0°C. Vervolgens wordt voorzichtig in porties natriumboorhydride (1.7 eq., 5.266 mmol, 200 mg) toegevoegd, hevig bruisen wordt hierbij waargenomen. Na 10 minuten roeren bij 0°C, wordt het mengsel uit het ijsbad gehaald en 69 uren geroerd bij kamertemperatuur. Dan wordt een verzadigde ammoniumoplossing toegevoegd en na 20 minuten roeren wordt het mengsel geëxtraheerd met ethylacetaat. Na drogen van de organische fase op anhydrisch magnesiumsulfaat en na indampen onder verminderde druk wordt het bekomen product gezuiverd door kolomchromatografie (gradiëntelutie: isooctaan : ethylacetaat 9 : 1 tot 6 : 4). Hierbij wordt een mengsel van twee silylethers bekomen (1.040 g, 71% verhouding 91 : 9, 94% ten opzichte van α-derivaat in het mengsel), vermits de volgende stap de ontscherming van de silylether is, kan dit mengsel als zodanig in reactie gebracht worden.



Het mengsel aan silylethers (0.975 g, 2.071 mmol) wordt, na oplossen in tetrahydrofuran (0.15 M, 13.8 ml), gekoeld tot 0°C. Vervolgens wordt

tetrabutylammoniumfluoride (1.5 eq., 3.107 mmol, 3.30 ml van een 1 M oplossing in tetrahydrofuran) toegedruppeld en de reactie wordt 2 uren geroerd bij die temperatuur. Nadat het solvent is ingedampt, wordt het ruwe product gezuiverd door kolomchromatografie (eluens: dichloormethaan : aceton 8 : 2). Dit levert 670 mg aan triol **V.25** (91%).

Brutoformule: $C_{21}H_{24}O_5$

Moleculair gewicht: 356.4 g/mol

R_f (dichloormethaan : aceton 7 : 3): 0.47

IR (KBr, plaatje): 3342 (s), 3263 (s), 2917 (m), 2866 (m), 2102 (w), 1602 (w), 1490 (w), 1452 (s), 1418 (w), 1318 (w), 1287 (w), 1216 (w), 1110 (s), 1096 (s), 1064 (s), 1040 (s), 959 (m), 878 (m), 791 (w), 755 (m), 728 (s), 693 (s), 636 (w), 602 (w) cm^{-1}

ES (m/z): 357.1 (M + H, 10)⁺, 379.3 (M + Na, 32)⁺, 734.7 (2M + Na)⁺

¹H-NMR (500MHz, CD₃OD): 3.16 (1H, s), 3.72 (1H, dd, *J* = 7.6, 11.5 Hz), 3.75 (1H, dd, *J* = 8.1, 10.4 Hz), 3.92 (1H, dd, *J* = 2.2, 10.6 Hz), 3.93 (1H, dd, *J* = 3.1, 11.4 Hz), 3.98 (1H, dd, *J* = 3.0, 7.7 Hz), 4.16 (1H, dd, *J* = 2.4, 8.1 Hz), 4.54 (1H, AB, *J* = 11.9 Hz), 4.58 (1H, AB, *J* = 11.9 Hz), 4.76 (2H, s), 7.24-7.36 (10H, m) ppm

¹³C-NMR + DEPT (50MHz, CDCl₃): 62.28 (-CH₂), 67.54 (-CH₂), 70.31 (-CH₂), 71.14 (-CH), 72.37 (-CH), 73.60 (-CH₂), 78.82 (-C-), 79.74 (-CH), 80.28 (-C-), 127.71 (-CH), 127.81 (-CH), 127.86 (-CH), 128.48 (-CH), 137.51 (-C-), 137.74 (-C-) ppm

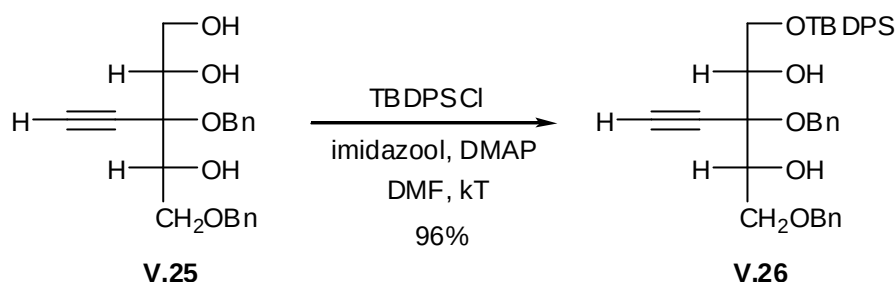
[α]_D = +10.1 (c = 1.4 in CHCl₃)

C-H-analyse: **berekend:** C: 70.77% **H:** 6.79%

gevonden: C: 70.63% **H:** 6.80%

smeltpunt: 106°C

Bescherming van de primaire alcoholgroep in **V.25** als *tert*-butyldiphenylsilylether:



Het triol **V.25** (143 mg, 0.399 mmol), imidazool (2.1 eq., 0.839 mmol) en dimethylaminopyridine (spatelpunt) worden opgelost in dimethylformamide (0.3 M, 1.3 ml). Hieraan wordt *tert*-butyldiphenylsilylchloride (1.05 eq., 0.419 mmol, 110 μ l) toegevoegd en het reactiemengsel wordt anderhalf uur geroerd bij kamertemperatuur. Vervolgens wordt water aan het mengsel toegevoegd en na extractie met diëthylether, drogen op anhydrisch magnesiumsulfaat en indampen onder verminderde druk wordt de ruwe silylether gezuiverd door kolomchromatografie (gradiëntelutie: isooctaan : ethylacetaat 9 : 1 tot 6 : 4). Er wordt 232 mg aan zuiver product **V.26** bekomen (96%).

Brutoformule: C₃₇ H₄₂ O₅ Si

Moleculair gewicht: 594.8 g/mol

R_f (isooctaan : ethylacetaat 7 : 3): 0.41

IR (KBr, film): 3558 (m), 3466 (m), 3296 (m), 3069 (m), 3031 (m), 2931 (m), 2857 (m), 2290 (m), 1589 (w), 1472 (m), 1454 (m), 1428 (m), 1390 (w), 1326 (w), 1266 (w), 1113 (s), 1108 (s), 998 (w), 909 (w), 823 (m), 738 (s), 701 (s), 614 (m), 505 (s) cm⁻¹

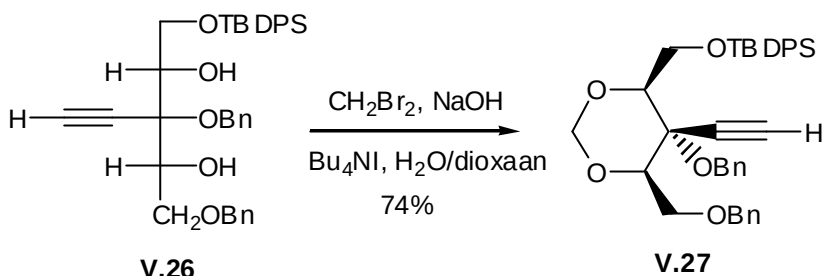
ES (m/z): 617.5 (M + Na)⁺

¹H-NMR (500MHz, C₆D₆): 1.16 (9H, s), 2.02 (1H, s), 2.58 (1H, d, *J* = 3.3 Hz), 2.88 (1H, d, *J* = 4.2 Hz), 3.87 (1H, ABd, *J* = 10.0, 7.7 Hz), 3.96 (1H, ABd, *J* = 10.0, 3.1 Hz), 4.27 (2H, m), 4.31 (2H, s), 4.35 (2H, m), 4.74 (2H, s), 7.08-7.23 (16H, m), 7.78-7.84 (4H, m) ppm

APT (125MHz, C₆D₆) : 19.47 (-C-), 27.06 (-CH₃), 65.31 (-CH₂), 68.07 (-CH₂), 71.59 (-CH₂), 73.05 (-CH), 73.32 (-CH₂), 74.04 (-CH), 78.89 (-CH), 79.65 (-C-), 79.76 (-C-), 127.58 (-CH), 127.68 (-CH), 127.86 (-CH), 127.89 (-CH), 128.12 (-CH), 128.52 (-CH), 130.00 (-CH), 133.70 (-C-), 136.05 (-CH), 136.07 (-CH), 138.80 (-C-), 138.98 (-C-) ppm

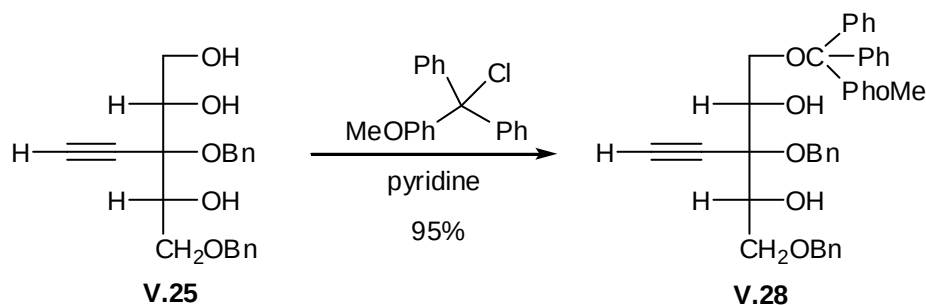
$[\alpha]_D = +6.3$ ($c = 0.95$ in CHCl_3)

Bescherming van het diol in V.26 als 1,3-dioxaanring:

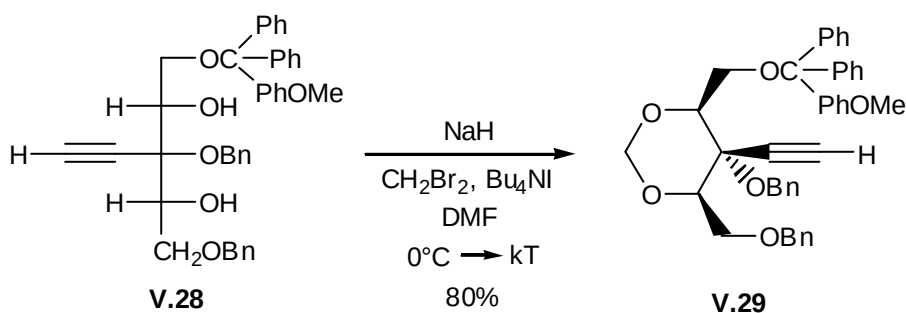


Achtereenvolgens worden dibroommethaan (58 eq., 0.020 mol, 2.2 ml), tetrabutylammoniumjodide (0.5 eq., 0.168 mmol, 62 mg) en natriumhydroxide (200 eq., 0.067 mol, 5.4 g van een 50% oplossing in water) aan een oplossing van het diol **V.26** (200 mg, 0.336 mmol) in 1 ml 1,4-dioxaan toegevoegd. De twee fasen worden hevig geroerd gedurende één uur. Daarna wordt een kleine hoeveelheid water aan het mengsel toegevoegd en na extractie met dichloormethaan wordt de organische fase gedroogd op anhydrisch magnesiumsulfaat. Na zuivering door kolomchromatografie (eluens: isooctaan : ethylacetaat 9 : 1) wordt 150 mg product bekomen (74%). Het bekomen product **V.27** is echter niet volledig zuiver en wordt zo gebruikt in de volgende stap.

Natriumhydride (2.05 eq., 0.344 mmol, 14 mg van een 60% suspensie in minerale olie) wordt toegevoegd aan een tot 0°C gekoelde oplossing van het diol **V.33** (100 mg, 0.168 mmol) in dimethylformamide (0.15 M, 1.1 ml). Tetrabutylammoniumjodide (spatelpunt) en dibroommethaan (1.5 eq., 2.522 mmol, 28 μl) worden aan de suspensie toegevoegd na een kwartier deprotoneren. De reactie wordt eerst 3 uren bij 0°C gehouden, vervolgens opgewarmd tot kamertemperatuur en bij die temperatuur nog één uur geroerd. Water wordt aan het mengsel toegevoegd en na extractie met diëthylether, drogen en indampen onder verminderde druk wordt het ruwe mengsel gezuiverd door kolomchromatografie (eluens: isooctaan : ethylacetaat 9 : 1). Er wordt slechts 20 mg aan zuiver **V.27** geïsoleerd (19%).

Brutoformule: C₂₂ H₂₄ O₅**Moleculair gewicht:** 368.4 g/mol**R_f** (isooctaan : ethylacetaat 5 : 5): 0.39**IR (KBr, plaatje):** 3444 (m), 3279 (m), 3030 (w), 2924 (m), 2872 (m), 2108 (w), 1605 (w), 1496 (w), 1453 (m), 1375 (w), 1344 (w), 1256 (w), 1189 (m), 1150 (m), 1092 (s), 1077 (s), 1036 (s), 850 (w), 738 (m), 699 (m) cm⁻¹**ES (m/z):** 391.4 (M + Na)⁺**¹H-NMR (500MHz, C₆D₆):** 1.80 (1H, d (br), *J* = 4.8 Hz), 2.01 (1H, s), 3.45 (1H, dd, *J* = 3.4, 7.9 Hz), 3.74 (1H, dd, *J* = 2.5, 7.1 Hz), 3.92 (1H, ABd, *J* = 7.2, 10.7 Hz), 3.94-4.03 (3H, m), 4.25 (1H, d, *J* = 6.2 Hz), 4.36 (1H, AB, *J* = 12.2 Hz), 4.45 (1H, AB, *J* = 12.2 Hz), 4.52 (1H, AB, *J* = 11.0 Hz), 4.60 (1H, AB, *J* = 11.0 Hz), 4.92 (1H, d, *J* = 6.1 Hz), 7.06-7.16 (8H, m), 7.28 (2H, d, *J* = 6.2 Hz) ppm**APT (125MHz, CDCl₃):** 62.17 (-CH₂), 69.94 (-CH₂), 70.07 (-CH₂), 72.10 (-C-), 73.43 (-CH₂), 77.37 (-C-), 79.63 (-CH), 83.14 (-CH), 83.87 (-CH), 93.35 (-CH₂), 127.68 (-CH), 128.53 (-CH), 128.60 (-CH), 138.24 (-C-), 138.81 (-C-) ppm**[α]_D** = -12.5 (c = 1 in CHCl₃)**C-H-analyse:** **berekend:** C: 71.72% H: 6.57% **gevonden:** C: 71.04% H: 6.57%**smeltpunt:** 91°C*Methoxytrityl als beschermende groep voor de primaire alcoholfunctie in V.25:*

Een mengsel van het triol **V.25** (4.23 g, 0.012 mol) en methoxytritylchloride (1.2 eq., 0.014 mol, 4.40 g) in pyridine (0.25 M, 47 ml) wordt 70 uren geroerd bij kamertemperatuur. Methanol wordt dan toegevoegd en het mengsel wordt voor een halfuur geroerd. Na indampen wordt het ruwe product gezuiverd door kolomchromatografie (eluens: isooctaan : ethylacetaat 8 : 2). Er wordt 7.32 g van de tritylether **V.28** bekomen (95%).

Brutoformule: C₄₁ H₄₀ O₆**Moleculair gewicht:** 628.76 g/mol**R_f** (isooctaan : ethylacetaat 7 : 3): 0.25**IR (KBr, plaatje):** 3460 (m), 3277 (m), 2934 (m), 2873 (m), 1607 (m), 1510 (s), 1448 (m), 1300 (m), 1251 (s), 1180 (m), 1074 (s), 1028 (s), 988 (w), 909 (w), 833 (m), 746 (m), 699 (s) cm⁻¹**ES (m/z):** 273 (100), 646 (M + NH₄)⁺ (4), 651 (M + Na)⁺ (8), 1274 (2M + NH₄)⁺ (19)**¹H-NMR (500MHz, C₆D₆):** 2.01 (1H, s), 2.54 (1H, d, *J* = 3.4 Hz), 2.90 (1H, d, *J* = 4.3 Hz), 3.26 (3H, s), 3.80 (1H, ABd, *J* = 10.0, 7.5 Hz), 3.85 (2H, m), 3.90 (1H, ABd, *J* = 10.0, 3.3 Hz), 4.27 (2H, s), 4.31 (1H, m), 4.43 (1H, m), 4.69 (1H, AB, *J* = 12.0 Hz), 4.72 (1H, AB, *J* = 12.3 Hz), 6.70 (2H, d, *J* = 8.8 Hz), 7.04 (2H, dd, *J* = 7.3, 7.4 Hz), 7.07-7.15 (12H, m), 7.20 (2H, d, *J* = 7.3 Hz), 7.49 (2H, d, *J* = 8.8 Hz), 7.68 (4H, dd, *J* = 7.5, 8.3 Hz) ppm**APT (125MHz, C₆D₆):** 54.67 (-CH₃), 65.31 (-CH₂), 68.20 (-CH₂), 71.40 (-CH₂), 73.18 (-CH), 73.31 (-CH₂), 73.50 (-CH), 78.88 (-CH), 79.60 (-C-), 79.88 (-C-), 87.29 (-C-), 113.53 (-CH₃), 127.07 (-CH), 127.57 (-CH), 127.70 (-CH), 127.91 (-CH), 128.11 (-CH), 128.48 (-CH), 128.53 (-CH), 129.04 (-CH), 131.00 (-CH), 136.04 (-C-), 138.71 (-C-), 138.91 (-C-), 145.29 (-C-), 145.35 (-C-), 159.13 (-C-) ppm**[α]_D** = +1.4 (c = 0.72 in CHCl₃)*Bescherming van de alcoholfuncties in V.28 als 1,3-dioxaanring:*

Het diol **V.28** (3.13 g, 4.978 mmol) wordt opgelost in dimethylformamide (0.15 M, 33ml) en de oplossing wordt gekoeld tot 0°C.

Natriumhydride (2.05 eq., 0.0102 mol, 408 mg van een 60% suspensie in minerale olie) wordt toegevoegd en na één uur deprotoneren wordt tetrabutylammoniumjodide (spatelpunt) en dibroommethaan (2.1 eq., 0.0105 mol, 1.2 ml) toegevoegd. Het reactiemengsel wordt langzaam opgewarmd tot kamertemperatuur en 28 uren geroerd, vervolgens wordt water toegevoegd. Na extractie met diëthylether, drogen op anhydrisch magnesiumsulfaat en indampen wordt het ruwe product gezuiverd door kolomchromatografie (gradiëntelutie: isooctaan : ethylacetaat 8 : 2 tot 6 : 4). Er wordt 2.54 g zuiver **V.29** geïsoleerd (80%).

Brutoformule: C₄₂ H₄₀ O₆

Moleculair gewicht: 640.8 g/mol

R_f (isooctaan : ethylacetaat 7 : 3): 0.48

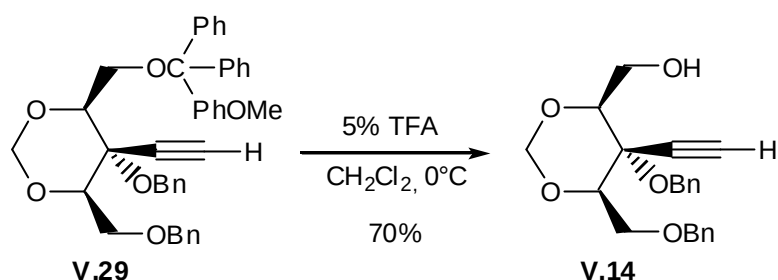
IR (KBr, plaatje): 3271 (w), 2920 (w), 2870 (w), 1607 (m), 1509 (s), 1448 (m), 1295 (w), 1251 (m), 1179 (m), 1152 (m), 1077 (s), 1042 (s), 830 (w), 745 (w), 699 (m) cm⁻¹

ES (m/z): 273 (100), 663 (M + Na)⁺ (8), 1298 (2M + NH₄)⁺ (35)

¹H-NMR (500MHz, C₆D₆): 1.84 (1H, s), 3.26 (3H, s), 3.67 (1H, dd, *J* = 1.6, 9.9 Hz), 3.83 (1H, dd, *J* = 2.6, 7.1 Hz), 3.87 (1H, dd, *J* = 1.6, 7.6 Hz), 3.92 (1H, dd, *J* = 7.1, 10.7 Hz), 3.98 (2H, m), 4.37 (1H, AB, *J* = 11.9 Hz), 4.44 (2H, m), 4.48 (1H, d, *J* = 6.1 Hz), 4.52 (1H, AB, *J* = 10.6 Hz), 5.10 (1H, d, *J* = 6.2 Hz), 6.72 (2H, d, *J* = 8.9 Hz), 7.18 (14H, m), 7.28 (2H, d, *J* = 7.4 Hz), 7.55 (2H, d(fs), *J* = 8.9 Hz), 7.77 (4H, m) ppm
APT (125MHz, C₆D₆): 54.66 (-CH₃), 63.98 (-CH₂), 70.05 (-CH₂), 70.23 (-CH₂), 71.76 (-C-), 73.43 (-CH₂), 77.41 (-C-), 79.23 (-CH), 83.37 (-CH), 83.88 (-CH), 87.10 (-C-), 93.56 (-CH₂), 113.54 (-CH₃), 127.10 (-CH), 127.62 (-CH), 128.10 (-CH), 128.13 (-CH), 128.48 (-CH), 128.50 (-CH), 129.00 (-CH), 130.99 (-CH), 135.92 (-C-), 138.20 (-C-), 145.10 (-C-), 145.41 (-C-), 159.15 (-C-), ppm

[α]_D = -11.6 (c = 0.78 in CHCl₃)

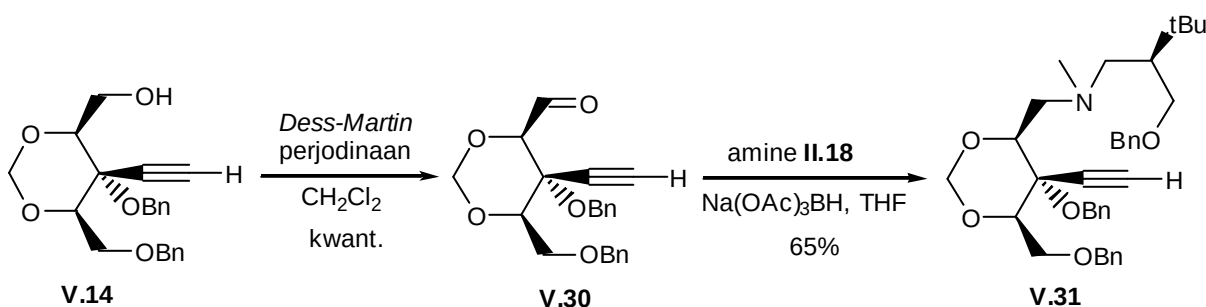
Ontscherming van de methoxytritylether in **V.29** met trifluorazijnzuur:



Aan een tot 0°C gekoelde oplossing van de methoxytritylether **V.29** (2.54 g, 3.964 mmol) in dichloormethaan (0.15 M, 25 ml) wordt heel voorzichtig trifluorazijnzuur (1.3 ml) toegedruppeld. De reactie wordt nog 6 uren bij die temperatuur geroerd. Een verzadigde natriumbicarbonaatoplossing wordt dan voorzichtig toegevoegd en het mengsel wordt geëxtraheerd met dichloormethaan. Na drogen op anhydrisch magnesiumsulfaat en indampen onder verminderde druk wordt het bekomen mengsel gezuiverd door middel van kolomchromatografie (eluens: isooctaan : ethylacetaat 6 : 4). Er wordt 1.025 g aan alcohol **V.14** bekomen (70%).

VII.4.3 Verdere opbouw tot **II.23**

Oxidatie van **V.14** en koppeling met amine **II.18**:



Dess-Martin perjodinaan (2eq., 2.714 mmol) wordt toegevoegd aan een oplossing van alcohol **V.14** (500 mg, 1.357 mmol) in dichloormethaan (0.17 M, 8 ml). Het reactiemengsel wordt nog 3 uren bij kamertemperatuur geroerd vooraleer een verzadigde natriumbicarbonaatoplossing en een 0.05 M natriumthiosulfaatoplossing wordt toegevoegd.

Na extractie met diëthylether, drogen op anhydrisch natriumsulfaat en indampen is het bekomen aldehyde **V.30** zuiver genoeg om te koppelen met amine **II.18**.

Hiervoor wordt het aldehyde **V.30** (520 mg, 1.419 mmol) opgelost in tetrahydrofuran (0.2 M, 7 ml) en dit wordt afgekoeld tot 0°C. Vervolgens wordt het amine **II.18** (1.1 eq., 1.560 mmol, 367 mg) toegedruppeld, direct daarna wordt natriumtriacetoxyboorhydride (1.5 eq., 2.128 mmol, 451 mg) toegevoegd en het reactiemengsel wordt overnacht verder geroerd bij kamertemperatuur. Een verzadigde natriumbicarbonaatoplossing wordt toegevoegd om de reactie te quenchen. Het mengsel wordt geëxtraheerd met diëthylether en na drogen op anhydrisch magnesiumsulfaat en indampen wordt het ruwe amine gezuiverd door kolomchromatografie (gradiëntelutie: isooctaan : aceton/ammoniak (98/2) 9 : 1 tot 7 : 3). Er wordt 514 mg aan amine **V.31** bekomen (65%).

aldehyde **V.30** :

Brutoformule: C₂₂ H₂₂ O₅

Moleculair gewicht: 366.4 g/mol

¹H-NMR (500MHz, C₆D₆): 1.97 (1H, s), 3.44 (1H, d, *J* = 1.4 Hz), 3.66 (1H, dd, *J* = 2.5, 7.2 Hz), 3.87 (1H, ABd, *J* = 10.8, 7.3 Hz), 3.96 (1H, ABd, *J* = 10.8, 2.5 Hz), 4.09 (1H, d, *J* = 6.2 Hz), 4.34 (1H, AB, *J* = 12.2 Hz), 4.41 (1H, ABd, *J* = 12.2 Hz), 4.62 (1H, d, *J* = 10.6 Hz), 4.78 (1H, d, *J* = 10.6 Hz), 4.87 (1H, d, *J* = 6.2 Hz), 7.06-7.17 (7H, m), 7.26 (3H, m), 9.66 (1H, d, *J* = 1.4 Hz) ppm

amine **V.31**:

Brutoformule: C₃₇ H₄₇ N O₅

Moleculair gewicht: 585.8 g/mol

R_f (isooctaan : aceton/ammoniak (98/2) 7 : 3): 0.37

IR (KBr, film): 3284 (m), 3088 (w), 3063 (m), 3030 (m), 2956 (s), 2869 (s), 2770 (m), 2109 (w), 1606 (w), 1496 (m), 1472 (m), 1454 (s), 1364 (m), 1307 (w), 1213 (w), 1185 (w), 1148 (m), 1100 (s), 1078 (s), 1048 (s), 870 (w), 736 (s), 697 (s) cm⁻¹

ES (m/z): 586. 4 (M + H)⁺

MS (m/z): 584 (M⁺ -1), 528 (1), 494 (8), 432 (1), 394 (6), 380 (2), 302 (2), 256 (1), 248 (15), 185 (2), 142 (1), 91 (100), 58 (62)

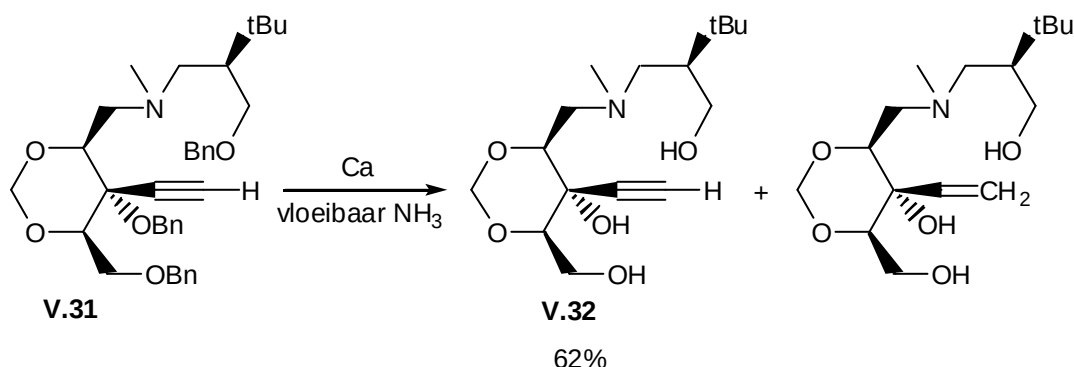
$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, C_6D_6): 1.01 (9H, s), 1.51 (1H, m), 2.07 (1H, s), 2.31 (3H, s), 2.33 (1H, dd, $J = 3.3, 12.7$ Hz), 2.69 (1H, dd, $J = 10.1, 12.4$ Hz), 2.95 (1H, $\underline{\text{ABd}}$, $J = 13.7, 1.1$ Hz), 3.03 (1H, $\underline{\text{ABd}}$, $J = 13.8, 7.7$ Hz), 3.58 (1H, dd, $J = 3.1, 9.3$ Hz), 3.69 (1H, dd, $J = 1.2, 7.6$ Hz), 3.75 (1H, dd, $J = 4.3, 9.3$ Hz), 3.79 (1H, dd, $J = 2.8, 6.9$ Hz), 3.95 (1H, $\underline{\text{ABd}}$, $J = 10.8, 7.0$ Hz), 4.02 (1H, $\underline{\text{ABd}}$, $J = 10.8, 2.8$ Hz), 4.34 (1H, $\underline{\text{AB}}$, $J = 12.3$ Hz), 4.36 (1H, $\underline{\text{AB}}$, $J = 12.3$ Hz), 4.38 (1H, $\underline{\text{AB}}$, $J = 12.2$ Hz), 4.39 (1H, d, $J = 6.1$ Hz), 4.47 (1H, $\underline{\text{AB}}$, $J = 12.2$ Hz), 4.69 (1H, $\underline{\text{AB}}$, $J = 11.1$ Hz), 4.79 (1H, $\underline{\text{AB}}$, $J = 11.1$ Hz), 5.01 (1H, d, $J = 6.1$ Hz), 7.08 (4H, m), 7.14-7.18 (4H, m), 7.29 (7H, m) ppm

$^{13}\text{C-NMR} + \text{DEPT}$ (50MHz, C_6D_6) : 28.82 ($-\text{CH}_3$), 32.41 ($-\text{C}-$), 43.99 ($-\text{CH}_3$), 47.09 ($-\text{CH}$), 56.68 ($-\text{CH}_2$), 59.22 ($-\text{CH}_2$), 70.11 ($-\text{CH}_2$), 70.42 ($-\text{CH}_2$), 72.61 ($-\text{C}-$), 73.28 ($-\text{CH}_2$), 73.42 ($-\text{CH}_2$), 77.92 ($-\text{C}-$), 79.19 ($-\text{CH}$), 83.64 ($-\text{CH}$), 83.45 ($-\text{CH}$), 93.32 ($-\text{CH}_2$), 127.45 ($-\text{CH}$), 127.58 ($-\text{CH}$), 127.69 ($-\text{CH}$), 127.85 ($-\text{CH}$), 128.05 ($-\text{CH}$), 128.33 ($-\text{CH}$), 128.35 ($-\text{CH}$), 128.52 ($-\text{CH}$), 128.57 ($-\text{CH}$), 128.62 ($-\text{CH}$), 138.64 ($-\text{C}-$), 138.99 ($-\text{C}-$), 139.72 ($-\text{C}-$) ppm

$[\alpha]_{\text{D}}$ = -25.0 ($c = 0.92$ in CHCl_3)

C-H-N-analyse:	berekend:	C: 75.86%	H: 8.09%	N: 2.39%
	gevonden:	C: 75.78%	H: 8.20%	N: 2.43%

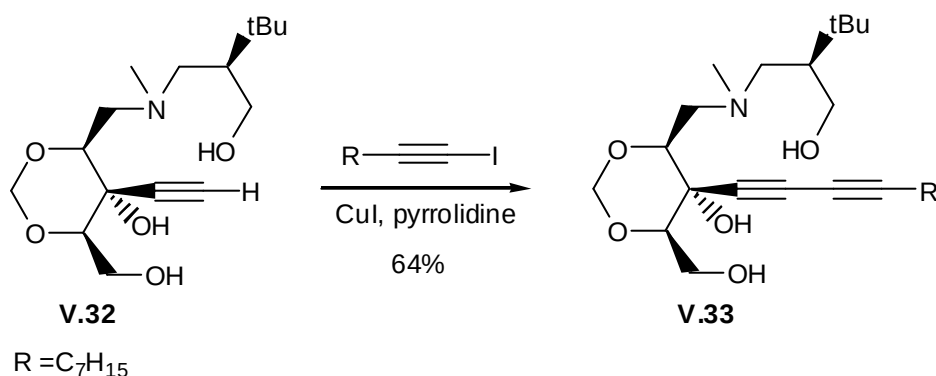
Ontscherming van de benzylethers in **V.31**:



Calcium (4 eq., 1.461 mmol, 59 mg) wordt toegevoegd aan 15 ml, vooraf gedestilleerde en op natrium gedroogde, vloeibaar ammoniak, hierbij ontstaat een blijvende blauwe kleur. Aan deze suspensie wordt een oplossing van de benzylether **V.31** (214 mg, 0.365 mmol) in tetrahydrofuran (1.4 ml) toegevoegd.

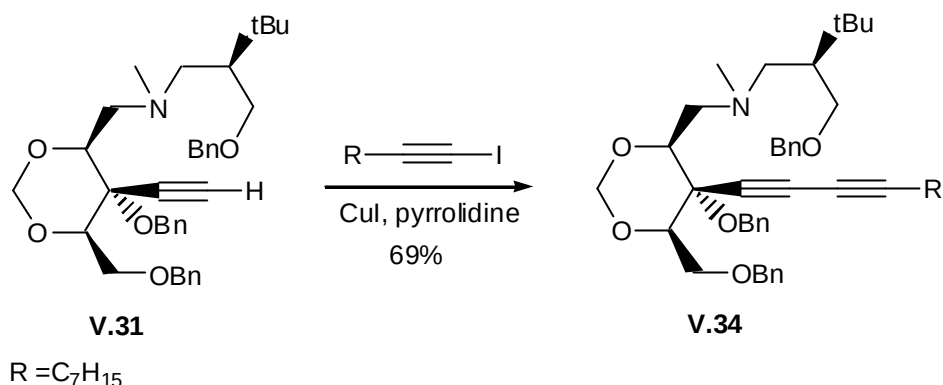
Na 5 uren refluxen bij -33°C wordt de overmaat calcium vernietigd door toevoegen van ammoniumchloride. Na indampen van de ammoniak aan de lucht wordt het residu opgelost in dichloormethaan en worden de zouten afgefiltreerd en gewassen met een 2%- ammoniakoplossing in aceton. Na indampen van het solvent wordt het ruwe product gezuiverd door middel van kolomchromatografie (gradiëntelutie: isooctaan : aceton/ammoniak (98/2) 7 : 3 tot 5 : 5). Hierbij wordt 44 mg aan een mengsel van mono-, di- en hoofdzakelijk tribenzylethers gerecupereerd (21% op basis alles beginproduct **V.31**) en wordt 90 mg bekomen van een mengsel van het alkyn **V.32** en het corresponderende alkeen (80 : 20 resp.) (62% rendement van het alkyn), die moeilijk van elkaar kunnen gescheiden worden. Vermits in de *Cadiot*-koppeling alleen het alkyn kan reageren wordt de reactie uitgevoerd op het mengsel.

Cadiot-Chodkiewicz-koppeling van alkyn **V.32** met 1-joodnonyn:



Aan een oplossing van de triolen **V.32** (90 mg waarvan 81% alkyn = 73 mg, 0.231 mmol) in pyrrolidine (0.33 M, 700 μl) wordt achtereenvolgens 1-joodnonyne (1.1 eq., 0.255 mmol, 64 mg) en koper(I)jodide (0.1 eq., 0.023 mmol, 4 mg) toegevoegd. Het groen gekleurde mengsel wordt anderhalf uur geroerd bij kamertemperatuur. Het reactiemengsel wordt op kolom gebracht en gezuiverd (eluens: isooctaan : aceton/ammoniak (98/2) 6 : 4). Zelfs na de tweede zuivering door kolomchromatografie is het bekomen triol **V.33** (65 mg) nog niet volledig zuiver (64%).

Cadiotkoppeling van het beschermde alkyn **V.31** met 1-joodnonyn:



Aan een oplossing van amine **V.31** (128 mg, 0.218 mmol) in pyrrolidine (0.33 M, 660 µl) wordt achtereenvolgens 1-joodnonyn (1eq., 0.218 mmol, 55 mg) en koper(I)jodide (0.1 eq., 0.022 mmol, 4 mg) toegevoegd. De reactie wordt na één uur en 40 minuten afgewerkt door het reactiemengsel direct te scheiden door kolomchromatografie (eluens: hexaan : aceton/ammoniak (98/2) 9 : 1). Een tweede zuivering is vereist met hetzelfde eluens om 106 mg aan zuiver diyn **V.34** te bekomen (69%).

Brutoformule: C₄₆ H₆₁ N O₅

Moleculair gewicht: 708.1 g/mol

R_f (isooctaan : aceton/ammoniak (98/2) 7 : 3): 0.48

IR (KBr, film): 3064 (w), 3030 (w), 2930 (s), 2858 (s), 2769 (w), 2251 (w), 1497 (w), 1454 (m), 1364 (m), 1210 (w), 1183 (w), 1115 (s), 1074 (s), 1048 (s), 872 (w), 734 (s), 697 (s) cm⁻¹

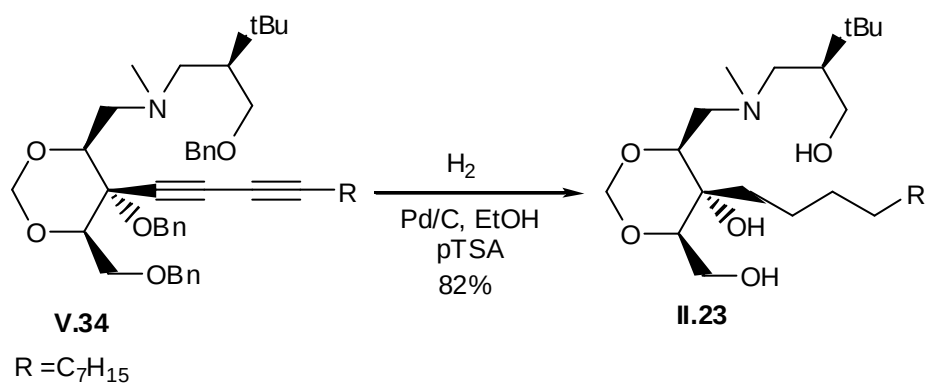
ES (m/z): 708.6 (M + H)⁺

¹H-NMR (500MHz, C₆D₆): 0.85 (3H, t, J = 7.3 Hz), 1.00 (9H, s), 0.99-1.13 (6H, m), 1.16-1.24 (4H, m), 1.50 (1H, m), 1.91 (2H, t, J = 7.3 Hz), 2.27 (3H, s), 2.29 (1H, dd, J = 3.2, 13.7 Hz), 2.65 (1H, dd, J = 10.2, 12.4 Hz), 2.98 (1H, d(fs), J = 12.9 Hz), 3.08 (1H, dd, J = 7.7, 13.7 Hz), 3.58 (1H, dd, J = 3.0, 9.2 Hz), 3.71 (1H, d(fs), J = 6.6 Hz), 3.74 (1H, dd, J = 4.3, 9.3 Hz), 3.79 (1H, dd, J = 2.9, 6.9 Hz), 3.98 (1H, ABd, J = 10.7, 6.9 Hz), 4.04 (1H, ABd, J = 10.7, 2.9 Hz), 4.29 (1H, AB, J = 12.1 Hz), 4.35 (2H, s), 4.37 (1H, d, J = 13.7, 6.2 Hz), 4.41 (1H, AB, J = 12.1 Hz), 4.74 (1H, AB, J = 11.0 Hz), 4.86 (1H, AB, J = 11.0 Hz), 5.00 (1H, d, J = 6.1 Hz), 7.08 (3H, m), 7.13-7.19 (6H, m), 7.23 (2H, d, J = 7.2 Hz), 7.27 (2H, d, J = 7.1 Hz), 7.32 (2H, d, J = 7.5 Hz) ppm

APT (125MHz, C₆D₆) : 13.84 (-CH₃), 18.89 (-CH₂), 22.51 (-CH₂), 27.84 (-CH₂), 28.36 (-CH₃), 28.59 (-CH₂), 31.45 (-CH₂), 31.94 (-C-), 43.45 (-CH₃), 46.62 (-CH), 56.24 (-CH₂), 58.94 (-CH₂), 65.03 (-C-), 69.68 (-CH₂), 69.90 (-CH₂), 70.11 (-CH₂), 70.50 (-C-), 72.82 (-CH₂), 72.99 (-CH₂), 73.08 (-C-), 75.73 (-C-), 81.86 (-C-), 82.81 (-CH), 83.50 (-CH), 92.92 (-CH₂), 126.96 (-CH), 127.13 (-CH), 127.40 (-CH), 127.59 (-CH), 127.79 (-CH), 127.88 (-CH), 128.05 (-CH), 128.09 (-CH), 138.14 (-C-), 138.19 (-C-), 138.29 (-C-) ppm

[a]_D = -41.2 (c = 0.82 in CHCl₃)

Hydrogenatie van de diynylketen en ontscherming van de benzylethers in **V.34**:



Aan een mengsel van beschermd aminotriol **V.34** (212 mg, 0.299 mmol) en *p*-tolueensulfonzuur (1 eq., 0.299 mmol, 57 mg) in ethanol (0.1 M, 3 ml) wordt de katalysator palladium op koolstof (0.5 eq., 0.149 mmol, 158 mg van 10% palladium op koolstof) toegevoegd. Vervolgens wordt het mengsel 3 uren geroerd onder 1 atmosfeer waterstofgas. De katalysator wordt afgefiltreerd en nadat het filtraat is ingedampt wordt het residu opgelost in dichloormethaan, gewassen met een verzadigde natriumbicarbonaatoplossing, gedroogd op anhydrisch magnesiumsulfaat en ingedampt onder verminderde druk. Het ruwe product wordt gezuiverd door kolomchromatografie (eluens: isooctaan : aceton/ammoniak (98/2) 6 : 4). Er wordt 109 mg aan zuiver wit kristallijn **II.23** bekomen (82%).

Brutoformule: C₂₅H₅₁N O₅

Moleculair gewicht: 445.7 g/mol

R_f (isooctaan : aceton/ammoniak (98/2) 5 : 5): 0.35

IR (KBr, plaatje): 3354 (s), 2957 (s), 2924 (s), 2853 (s), 1466 (m), 1398 (w), 1367 (m), 1295 (w), 1239 (w), 1180 (w), 1136 (m), 1078 (m), 1039 (s), 858 (w), 738 (m) cm^{-1}

ES (m/z): 446.5 (M + H)⁺

¹H-NMR (500MHz, C₆D₆): 0.77 (9H, s), 0.91 (3H, dd, *J* = 6.1, 7.0 Hz), 1.29-1.39 (20H, m), 1.62 (1H, m), 1.86 (3H, m), 2.22 (3H, s), 2.44 (1H, d(br), *J* = 12.1 Hz), 2.59 (1H, dd, *J* = 11.6, 11.9 Hz), 2.66 (1H, dd, *J* = 7.7, 12.8 Hz), 3.00 (1H, d(fs), *J* = 11.5 Hz), 3.68 (2H, m), 3.73 (1H, dd, *J* = 9.6, 9.7 Hz), 3.89 (1H, dd, *J* = 6.9, 10.9 Hz), 4.01 (1H, d(br), *J* = 9.9 Hz), 4.08 (1H, dd, *J* = 5.9, 11.0 Hz), 4.65 (1H, d, *J* = 5.8 Hz), 5.06 (1H, d, *J* = 5.8 Hz) ppm

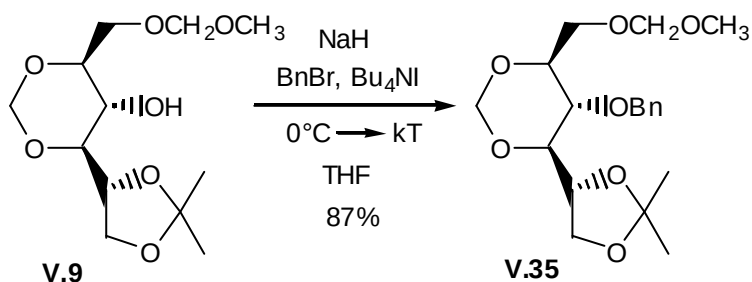
APT (125MHz, C₆D₆) : 14.36 (-CH₃), 23.10 (-CH₂), 24.97 (-CH₂), 27.95 (-CH₃), 29.83 (-CH₂), 30.10 (-CH₂), 30.19 (-CH₂), 30.29 (-CH₂), 31.38 (-CH₂), 31.62 (-C-), 32.29 (-CH₂), 32.31 (-CH₂), 42.83 (-CH₃), 45.66 (-CH), 58.07 (-C-), 61.43 (-CH₂), 61.72 (-CH₂), 65.64 (-CH₂), 69.35 (-CH₂), 84.22 (-CH), 85.95 (-CH), 94.02 (-CH₂), ppm

[α]_D = -30.4 (c = 1.15 in CHCl₃)

C-H-N-analyse:	berekend:	C: 67.37%	H: 11.53%	N: 3.14%
	gevonden:	C: 67.24%	H: 11.62%	N: 3.01%

VII.4.4 Ontwikkeling van model II.24

Bescherming van de equatoriale alcoholfunctie in V.9 als benzylether:



Aan een gekoelde oplossing (0°C) van alcohol **V.9** (917 mg, 3.292 mmol) in tetrahydrofuran (0.2 M, 16.5 ml) wordt natriumhydride (1.1 eq., 3.622 mmol, 145 mg van een 60% suspensie in minerale olie) voorzichtig toegevoegd. Na één uur deprotonatie bij dezelfde temperatuur wordt achtereenvolgens tetrabutylammonium-

jodide (spatelpunt) en benzylbromide (1.1 eq., 3.622 mmol, 430 μ l) toegevoegd. Het reactiemengsel wordt na 10 minuten uit het ijsbad gehaald en nog 4 uren verder geroerd bij kamertemperatuur. Nadat florisil is toegevoegd, wordt het solvent ingedampt onder verminderde druk. Het residu wordt vervolgens opgelost in pentaan, het neerslag wordt afgefiltreerd en het filtraat wordt ingedampt onder verminderde druk. Het ruwe product wordt gezuiverd door kolomchromatografie (eluens: isooctaan : ethylacetaat 7 : 3), er wordt 1.05 g aan zuivere benzylether **V.35** bekomen (87%).

Brutoformule: C₁₉H₂₈O₇

Moleculair gewicht: 368.4 g/mol

R_f (isooctaan : ethylacetaat 7 : 3): 0.32

IR (KBr, film): 2987 (m), 2934 (m), 2884 (m), 2770 (w), 1497 (w), 1455 (m), 1370 (m), 1258 (m), 1211 (m), 1191 (m), 1150 (m), 1072 (s), 1037 (s), 920 (m), 854 (m), 739 (w), 700 (m) cm⁻¹

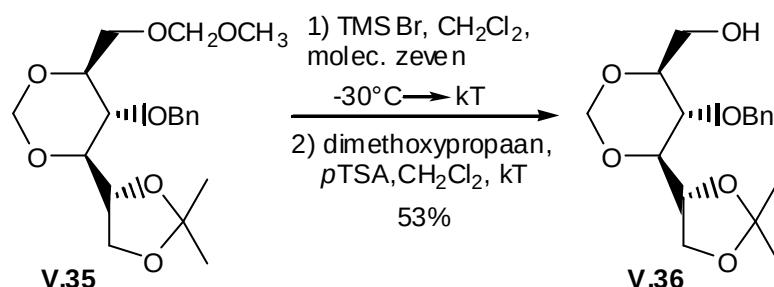
ES (m/z): 391.3 (M + Na)⁺

¹H-NMR (500MHz, C₆D₆): 1.32 (3H, s), 1.48 (3H, s), 3.20 (3H, s), 3.32 (1H, ddd, *J* = 2.5, 3.6, 9.3 Hz), 3.42 (1H, dd, *J* = 9.3, 9.4 Hz), 3.60 (1H, dd, *J* = 4.2, 9.4 Hz), 3.75 (3H, m), 4.08 (1H, dd, *J* = 7.1, 8.0 Hz), 4.24 (1H, d, *J* = 6.1 Hz), 4.31 (1H, ddd, *J* = 4.2, 6.8, 6.8 Hz), 4.46 (1H, AB, *J* = 11.0 Hz), 4.54 (1H, AB, *J* = 6.3 Hz), 4.56 (1H, AB, *J* = 10.6 Hz), 4.60 (1H, AB, *J* = 6.4 Hz), 4.85 (1H, d, *J* = 6.0 Hz), 7.09 (1H, m), 7.16 (2H, m), 7.28 (2H, m) ppm

APT (125MHz, C₆D₆): 25.70 (-CH₃), 26.60 (-CH₃), 55.05 (-CH₃), 65.62 (-CH₂), 65.51 (-CH₂), 72.30 (-CH), 74.15 (-CH₂), 76.44 (-CH), 79.86 (-CH), 80.40 (-CH), 92.77 (-CH₂), 96.97 (-CH₂), 109.46 (-C-), 127.79 (-CH), 127.98 (-CH), 128.18 (-CH), 128.28 (-CH), 128.53 (-CH), 138.48 (-C-) ppm

[α]_D = +9.3 (*c* = 1.32 in CHCl₃)

Ontscherming van de methoxymethylether in **V.35** met trimethylsilylbromide:



Aan een gekoelde oplossing (-60°C) van methoxymethylether **V.35** (493 mg, 1.339 mmol) in dichloormethaan (0.1 M, 13.4 ml) worden moleculaire zeven (geactiveerd poeder, spatelpunt) en trimethylsilylbromide (5 eq., 6.695 mmol, 885 μl) toegevoegd. Nadat het reactiemengsel in 3 uren is opgewarmd tot kamertemperatuur, wordt het ingedampt onder verminderde druk en het ruwe mengsel van alcohol **V.36** en triol (acetonide ook ontschermd) wordt als dusdanig verder gebruikt. Hiertoe wordt dit ruwe product opnieuw opgelost in dichloormethaan (14 ml), dimethoxypropane (1 ml) en *p*-tolueensulfonzuur (spatelpunt) worden toegevoegd. Het reactiemengsel wordt overnacht geroerd. Vervolgens wordt een natriumbicarbonaatoplossing toegevoegd, na extractie met dichloormethaan en drogen van de organische fase op anhydrisch magnesiumsulfaat wordt een complex mengsel aan producten bekomen. Zuiveren van het ruwe product via kolomchromatografie (eluens: isooctaan : ethylacetaat 7 : 3) levert 240 mg aan nagenoeg zuiver alcohol **V.36** (nog één onzuiverheid) (53%).

In de testreactie voor de oxidatiereactie bleek duidelijk dat er maar één aldehyde in het mengsel voorkwam, dus werd het mengsel als dusdanig in de reductieve koppelingsreactie gebruikt.

Brutoformule: $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{O}_6$

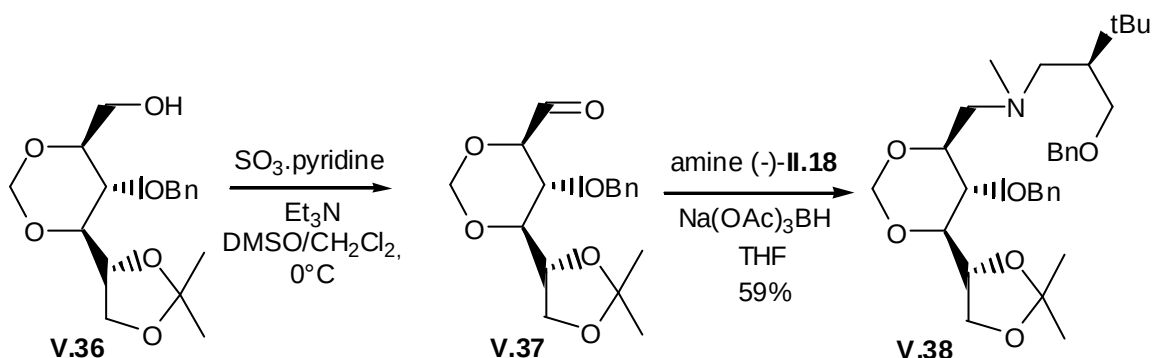
Moleculair gewicht: 324.4 g/mol

R_f (isooctaan : ethylacetaat 6 : 4): 0.36

ES (m/z): 347.2 (M + Na)⁺

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3): 1.35 (3H, s), 1.45 (3H, s), 3.42 (1H, dd, $J = 9.3, 9.4$ Hz), 3.49 (1H, ddd, $J = 2.4, 3.5, 9.2$ Hz), 3.67 (1H, dd, $J = 3.6, 9.4$ Hz), 3.74 (1H, dd, $J = 7.1, 7.9$ Hz), 3.81 (1H, m), 3.92 (1H, d (br), $J = 11.3$ Hz), 3.98 (1H, dd, $J = 7.2, 7.9$ Hz), 4.30 (1H, ddd, $J = 3.6, 6.9, 7.4$ Hz), 4.62 (1H, AB, $J = 10.9$ Hz), 4.66 (1H, AB, $J = 10.9$ Hz), 4.69 (1H, d, $J = 6.1$ Hz), 5.05 (1H, d, $J = 6.1$ Hz), 7.31-7.39 (5H, m) ppm

*Oxidatie van alcohol **V.36** tot aldehyde **V.37** en reductieve koppeling met amine **II.18**:*



Het mengsel (124 mg mengsel, 0.383 mmol, waarvan 0.314 mmol alcohol **V.36**) wordt opgelost in een 1:1-mengsel van dimethylsulfoxide en dichloormethaan (870 μl elk). Na afkoelen tot 0°C wordt achtereenvolgens triëthylamine (3 eq., 0.942 mmol, 160 μl) en zwaveltrioxide-pyridinecomplex (2.5 eq., 0.785 mmol, 151 mg) toegevoegd. Na 4 uur en een half roeren bij diezelfde temperatuur wordt de reactie afgewerkt door water toe te voegen. Na extractie met dichloormethaan, drogen op anhydrisch natriumsulfaat en indampen onder verminderde druk wordt het mengsel zo in de volgende stap gebruikt.

Aan een tot 0°C gekoelde oplossing van het aldehyde **V.37** (0.383 mmol) in tetrahydrofuran (0.2 M, 1.9 ml) wordt zeer snel achtereenvolgens amine **II.18** (1.1 eq., 0.4212 mmol, 99 mg) en natriumtriacetoxyborhydride (1.5 eq., 0.574 mmol, 122 mg) toegevoegd. Het mengsel wordt na 10 minuten uit het ijsbad gehaald en overnacht verder geroerd bij kamertemperatuur. Na toevoegen van een verzadigde natriumbicarbonaatoplossing, extractie met diëthylether en dichloormethaan wordt de

bekomen organische fase gedroogd op anhydrisch magnesiumsulfaat. Het ruwe mengsel, bekomen na indampen onder verminderde druk, wordt gezuiverd door

kolomchromatografie (eluens: isooctaan : aceton/ammoniak (98/2) 9 : 1), er wordt 100 mg aan amine **V.38** bekomen (59%).

Brutoformule: $C_{32}H_{47}NO_6$

Moleculair gewicht: 541.7 g/mol

R_f (isooctaan : aceton/ammoniak (98/2) 8 : 2): 0.35

IR (KBr, film): 3030 (w), 2955 (m), 2868 (m), 2773 (w), 1496 (w), 1454 (m), 1368 (m), 1211 (m), 1111 (s), 1070 (s), 1043 (s), 853 (w), 735 (m), 698 (m) cm^{-1}

ES (m/z): 542.4 (M + H)⁺

¹H-NMR (500MHz, C₆D₆): 1.02 (9H, s), 1.33 (3H, s), 1.48 (3H, s), 1.53 (1H, m), 2.29 (1H, dd, *J* = 3.2, 12.5 Hz), 2.31 (3H, s), 2.69 (2H, m), 2.76 (1H, dd, *J* = 10.2, 12.5 Hz), 3.16 (1H, dd, *J* = 9.3, 9.4 Hz), 3.54 (1H, ddd, *J* = 3.1, 5.4, 9.2 Hz), 3.60 (1H, dd, *J* = 4.6, 9.3 Hz), 3.66 (1H, ABd, *J* = 9.3, 3.1 Hz), 3.74 (1H, ABd, *J* = 9.3, 3.1 Hz), 3.89 (1H, dd, *J* = 6.7, 8.0 Hz), 4.12 (1H, dd, *J* = 7.1, 7.9 Hz), 4.25 (1H, d, *J* = 6.1 Hz), 4.39 (1H, ddd, *J* = 4.7, 6.8, 6.8 Hz), 4.39 (1H, AB, *J* = 12.0 Hz), 4.41 (1H, d, *J* = 11.0 Hz), 4.41 (1H, AB, *J* = 12.1 Hz), 4.59 (1H, d, *J* = 11.0 Hz), 4.84 (1H, d, *J* = 6.0 Hz), 7.09 (2H, m), 7.18 (4H, m), 7.30 (2H, d, *J* = 7.1 Hz), 7.34 (2H, d, *J* = 7.1 Hz) ppm

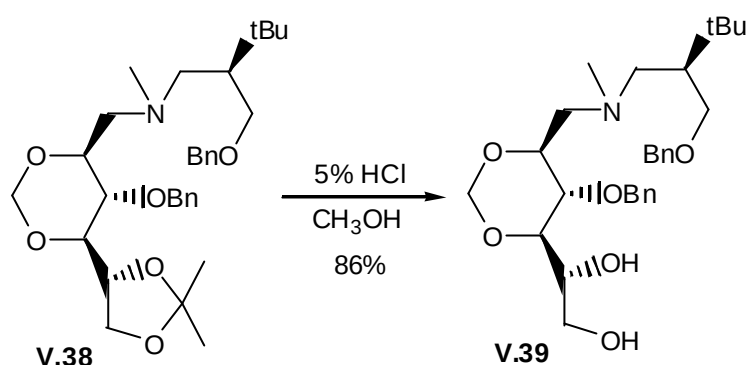
APT (125MHz, C₆D₆): 25.78 (-CH₃), 26.65 (-CH₃), 28.74 (-CH₃), 32.42 (-C-), 44.25 (-CH₃), 47.13 (-CH), 57.06 (-CH₂), 59.28 (-CH₂), 66.02 (-CH₂), 70.40 (-CH₂), 73.29 (-CH₂), 74.22 (-CH₂), 72.53 (-CH), 76.71 (-CH), 80.07 (-CH), 80.54 (-CH), 92.66 (-CH₂), 109.59 (-C-), 127.42 (-CH), 128.53 (-CH), 138.71 (-C-), 139.71 (-C-) ppm

[α]_D = -26.1 (c = 1.31 in CHCl₃)

C-H-N-analyse:

berekend: C: 70.95% H: 8.74% N: 2.59%

gevonden: C: 70.91% H: 8.77% N: 2.56%

Ontscherming van het acetonide in **V.38** :

De acetonide **V.38** (96 mg, 0.177 mmol) wordt opgelost in methanol (1 ml, HPLC-kwaliteit) en de oplossing wordt afgekoeld tot 0°C. Hieraan wordt vervolgens voorzichtig een geconcentreerde waterstofchloride-oplossing (58 µl) toegevoegd. Het reactiemengsel wordt uit het ijsbad gehaald en verder 3 uren geroerd bij kamertemperatuur. Om de reactie af te werken wordt een verzadigde natriumbicarbonaatoplossing toegevoegd en na extractie met dichloormethaan, drogen op anhydrisch magnesiumsulfaat en indampen onder verminderde druk wordt het ruwe product gezuiverd door kolomchromatografie (eluens: isooctaan : (aceton/ammoniak 98/2) 7 : 3). Er wordt 8 mg aan beginproduct **V.38** gerecupereerd (8%) en 76 mg aan diol **V.39** bekomen (86%).

Brutoformule: C₂₉ H₄₃ N O₆

Moleculair gewicht: 501.7 g/mol

R_f (isooctaan : aceton/ammoniak (98/2) 6 : 4): 0.27

IR (KBr, film): 3419 (m, br), 3031 (w), 2958 (m), 2868 (m), 1654 (w), 1497 (w), 1454 (m), 1398 (w), 1365 (m), 1265 (m), 1180 (w), 1116 (s), 1087 (s), 1029 (s), 911 (w), 797 (s), 699 (m) cm⁻¹

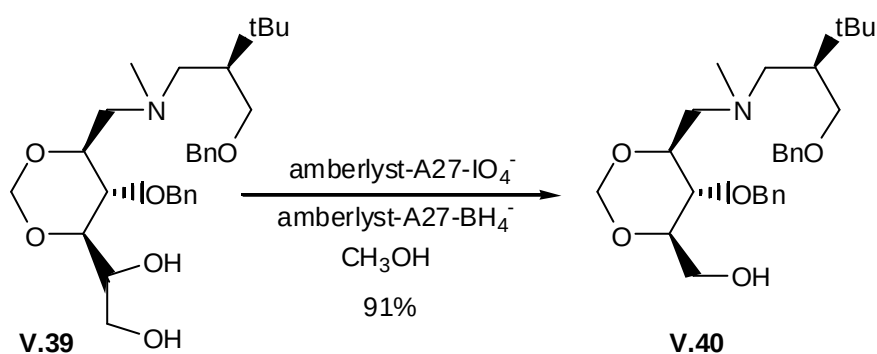
ES (m/z): 502 (M + H)⁺

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, C_6D_6): 1.02 (9H, s), 1.50 (1H, m), 2.26 (1H, dd, $J = 2.8, 12.2$ Hz), 2.28 (3H, s), 2.67 (2H, d, $J = 4.16$ Hz), 2.76 (1H, dd, $J = 10.5, 12.2$ Hz), 3.39 (1H, dd (app. t), $J = 9.3, 9.3$ Hz), 3.50 (2H, m), 3.64 (1H, ABd , $J = 9.3, 2.9$ Hz), 3.69 (1H, ABd , $J = 11.4, 4.2$ Hz), 3.73 (1H, ABd , $J = 9.3, 4.5$ Hz), 3.77 (1H, ABd , $J = 11.5, 6.0$ Hz), 3.92 (1H, m), 4.17 (1H, d, $J = 6.1$ Hz), 4.38 (1H, AB , $J = 12.2$ Hz), 4.41 (1H, AB , $J = 12.7$ Hz), 4.44 (1H, AB , $J = 11.7$ Hz), 4.47 (1H, AB , $J = 11.3$ Hz), 4.76 (1H, d, $J = 6.0$ Hz), 7.09 (2H, m), 7.16 (4H, m), 7.24 (2H, d, $J = 7.2$ Hz), 7.35 (2H, d, $J = 7.4$ Hz) ppm

APT (125MHz, C_6D_6) : 28.74 ($-\text{CH}_3$), 32.42 ($-\text{C}-$), 44.20 ($-\text{CH}_3$), 47.06 ($-\text{CH}$), 57.00 ($-\text{CH}_2$), 59.33 ($-\text{CH}_2$), 63.31 ($-\text{CH}_2$), 70.33 ($-\text{CH}_2$), 72.49 ($-\text{CH}$), 73.28 ($-\text{CH}_2$), 73.48 ($-\text{CH}$), 74.11 ($-\text{CH}_2$), 80.75 ($-\text{CH}$), 82.12 ($-\text{CH}$), 92.88 ($-\text{CH}_2$), 127.48 ($-\text{CH}$), 127.56 ($-\text{CH}$), 127.88 ($-\text{CH}$), 128.35 ($-\text{CH}$), 128.51 ($-\text{CH}$), 128.67 ($-\text{CH}$), 138.25 ($-\text{C}-$), 139.65 ($-\text{C}-$) ppm

$[\alpha]_{\text{D}}$ = -29.1 ($c = 1.1$ in CHCl_3)

Splitsing van het diol in V.39 :

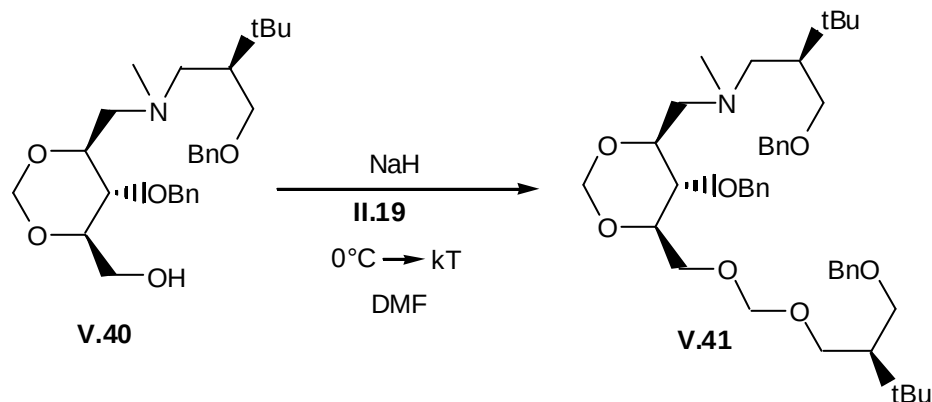


Aan een oplossing van diol **V.39** (76 mg, 0.151 mmol) in methanol (0.06 M, 2.6 ml, HPLC-kwaliteit) wordt achtereenvolgens $\text{amberlyst-A27-BH}_4^-$ (2.6 eq., 1.3 mmol/g resin, 88 mg) en $\text{amberlyst-A27-IO}_4^-$ korrels (1.3 eq., 1.3 mmol/g resin, 44 mg) toegevoegd en het heterogene mengsel wordt overnacht geroerd bij kamertemperatuur. Na verdunnen met methanol wordt de resin afgefiltreerd en het filtraat wordt ingedampt onder verminderde druk. De geïsoleerde ruwe alcohol **V.40** wordt gezuiverd door kolomchromatografie (eluens: isoocetaan : aceton/ammoniak (98/2) 7 : 3) en er wordt 65 mg aan zuiver **V.40** bekomen.

Brutoformule: C₂₈ H₄₁ N O₅**Moleculair gewicht:** 471.6 g/mol**R_f** (isooctaan : aceton/ammoniak (98/2) 6 : 4): 0.38**IR (KBr, film):** 3442 (s), 3064 (w), 3030 (w), 2956 (s), 2870 (s), 1638 (w), 1549 (w), 1496 (w), 1474 (w), 1454 (m), 1396 (w), 1365 (m), 1116 (s), 1038 (s), 734 (s), 697 (s)**ES (m/z):** 472.4 (M + H)⁺

¹H-NMR (500MHz, C₆D₆): 1.03 (9H, s), 1.51 (1H, m), 1.72 (1H, dd, *J* = 5.1, 7.2 Hz), 2.29 (1H, dd, *J* = 3.1, 12.5 Hz), 2.32 (3H, s), 2.69 (2H, app. d, *J* = 4.4 Hz), 2.74 (1H, dd, *J* = 10.4, 12.5 Hz), 3.22 (1H, ddd, *J* = 2.4, 3.7, 9.2 Hz), 3.47 (1H, dd (app. t), *J* = 9;3, 9.4 Hz), 3.57 (1H, m), 3.64 (2H, m), 3.72 (1H, ABdd, *J* = 12.1, 5.0, 2.3 Hz), 3.77 (1H, dd, *J* = 9.3, 4.4 Hz), 4.28 (1H, d, *J* = 6.1 Hz), 4.40 (1H, AB, *J* = 12.2 Hz), 4.42 (1H, AB, *J* = 12.1 Hz), 4.47 (1H, AB, *J* = 11.6 Hz), 4.50 (1H, AB, *J* = 11.4 Hz), 4.86 (1H, d, *J* = 6.0 Hz), 7.08 (2H, m), 7.17 (4H, m), 7.24 (2H, d, *J* = 7.1 Hz), 7.35 (2H, d, *J* = 7.1 Hz) ppm

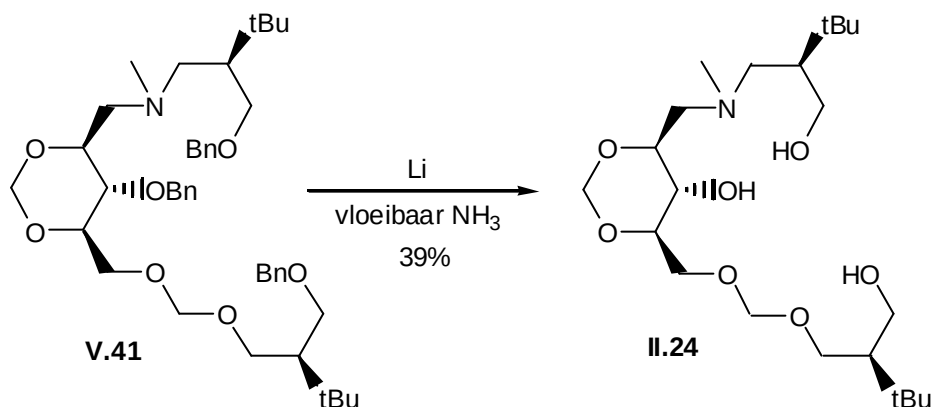
APT (125MHz, C₆D₆) : 28.76 (-CH₃), 32.40 (-C-), 44.24 (-CH₃), 47.06 (-CH), 56.96 (-CH₂), 59.51 (-CH₂), 62.14 (-CH₂), 70.31 (-CH₂), 71.77 (-CH), 73.28 (-CH₂), 73.58 (-CH₂), 80.42 (-CH), 81.23 (-CH), 92.72 (-CH₂), 127.48 (-CH), 127.56 (-CH), 127.88 (-CH), 128.35 (-CH), 128.51 (-CH), 128.67 (-CH), 138.25 (-C-), 139.65 (-C-) ppm

[α]_D = -36.5 (c = 1.26 in CHCl₃)*Koppeling van de polyetherzijketen II.19:*

Een oplossing van alcohol **V.40** (67 mg, 0.143 mmol) in dimethylformamide (0.14 M, 1 ml) wordt toegevoegd aan natriumhydride (1.2 eq., 0.171 mmol, 8 mg van een 60% suspensie in minerale olie) bij 0°C. Na één uur deprotoneren bij 0°C wordt chloormethylether **II.19** (1.5 eq., 0.214 mmol, 61 mg) aan het mengsel

toegedruppeld en het wordt overnacht langzaam opgewarmd tot kamertemperatuur. De reactie wordt afgewerkt door toevoegen van een verzadigde ammoniumchloride-oplossing. Na extractie met dichloormethaan, drogen op anhydrisch magnesiumsulfaat en indampen van het solvent onder verminderde druk wordt het complexe reactiemengsel gezuiverd door kolomchromatografie (gradiëntelutie : isooctaan : aceton/ammoniak (98/2) 9 : 1 tot 6 : 4). Er wordt 16 mg beginproduct gerecupereerd (24%) en 71 mg aan beschermd aminotriol **V.41** dat niet volledig zuiver is en zo gebruikt wordt in de volgende reactie.

*Ontscherming van de benzylethers, synthese van aminotriol **II.24***



Een oplossing van benzylether **V.41** (71 mg, 0.101 mmol) in tetrahydrofuran (0.5 ml) wordt toegevoegd aan 4 ml, vooraf gedestilleerd, vloeibaar ammoniak. Vervolgens worden stukjes lithium toegevoegd totdat er een blijvende blauwe kleur bekomen wordt. Na 5 uur en een half refluxen bij -33°C wordt de overmaat lithium vernietigd door toevoegen van ammoniumchloride. Na indampen van de ammoniak aan de lucht wordt het residu opgelost in dichloormethaan en worden de zouten afgefiltreerd. Na indampen van het solvent wordt het ruwe product gezuiverd door middel van kolomchromatografie (eluens: isooctaan : aceton/ammoniak (98/2) 6 : 4) en na drie zuiveringen wordt 25 mg aan zuiver aminotriol **II.24** bekomen (39% ten opzichte van **V.40**).

Brutoformule: $\text{C}_{22}\text{H}_{45}\text{NO}_7$

Moleculair gewicht: 435.6 g/mol

R_f (isooctaan : aceton/ammoniak (98/2) 6 : 4): 0.18

IR (KBr, film): 3389 (s, br), 2957 (s), 2872 (s), 1470 (m), 1366 (m), 1283 (w), 1233 (w), 1178 (m), 1036 (s), 855 (w) cm^{-1}

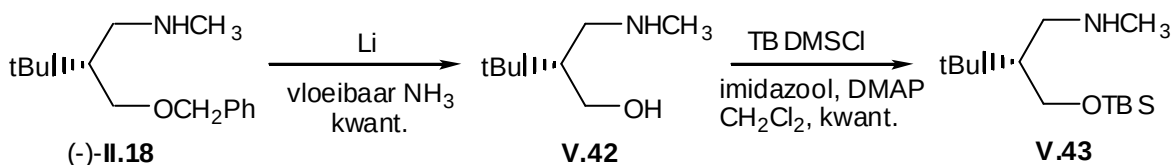
ES (m/z): 436 ($\text{M} + \text{H}^+$)

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, C_6D_6): 0.73 (9H,s), 0.90 (9H,s), 1.55 (2H, m), 2.18 (3H, s), 2.31 (1H, ABdd , $J = 12.3, 2.0, 2.2$ Hz), 2.37 (1H, ABd , $J = 12.2, 11.4$ Hz), 2.43 (1H, dd, $J = 4.0, 13.4$ Hz), 2.97 (1H, dd, $J = 4.9, 13.3$ Hz), 3.43 (1H, ddd, $J = 4.2, 4.4, 9.1$ Hz), 3.49 (1H, dt, $J = 3.2, 9.1$ Hz), 3.64 (1H, dd, $J = 4.6, 9.4$ Hz), 3.68 (1H, dd, $J = 10.2, 10.4$ Hz), 3.71 (1H, dd, $J = 8.9, 9.7$), 3.75 (1H, dd, $J = 2.9, 10.4$ Hz), 3.85 (1H, dd, $J = 6.4, 9.3$ Hz), 3.90 (1H, dd, $J = 3.4, 10.8$ Hz), 3.94 (2H, m), 4.07 (1H, dd, $J = 3.5, 10.5$ Hz), 4.64 (1H, AB , $J = 6.7$ Hz), 4.65 (1H, AB , $J = 6.7$ Hz), 4.74 (1H, d, $J = 6.2$ Hz), 4.96 (1H, d, $J = 6.1$ Hz) ppm

APT (125MHz, C_6D_6) : 27.92 ($-\text{CH}_3$), 28.65 ($-\text{CH}_3$), 31.28 ($-\text{C}-$), 31.75 ($-\text{C}-$), 44.12 ($-\text{CH}_3$), 45.61 ($-\text{CH}$), 50.79 ($-\text{CH}$), 59.01 ($-\text{CH}_2$), 60.98 ($-\text{CH}_2$), 61.84 ($-\text{CH}_2$), 65.21 ($-\text{CH}$), 65.45 ($-\text{CH}_2$), 66.29 ($-\text{CH}_2$), 66.83 ($-\text{CH}_2$), 79.83 ($-\text{CH}$), 80.95 ($-\text{CH}$), 93.35 ($-\text{CH}_2$), 95.10 ($-\text{CH}_2$) ppm

VII.4.5 Ontwikkeling van modelverbinding **I.3**

Synthese van silylbeschermd amino-alcohol **V.43**:



Een oplossing van de benzylether **(-)-II.18** (1 g, 4.255 mmol) in tetrahydrofuran (1.5 ml) wordt toegevoegd aan 20 ml, vooraf gedestilleerd en gedroogd op natrium, vloeibaar ammoniak. Vervolgens worden stukjes lithium toegevoegd totdat er een blijvende blauwe kleur bekomen wordt. Na 4 uren refluxen bij -33°C wordt de overmaat lithium vernietigd door toevoegen van ammoniumchloride. Na indampen van de ammoniak aan de lucht wordt het residu opgelost in dichloormethaan en worden de zouten afgefiltreerd. Er wordt 681 mg aan alcohol **V.42** bekomen, die zuiver genoeg is om in de volgende stap als dusdanig te gebruiken.

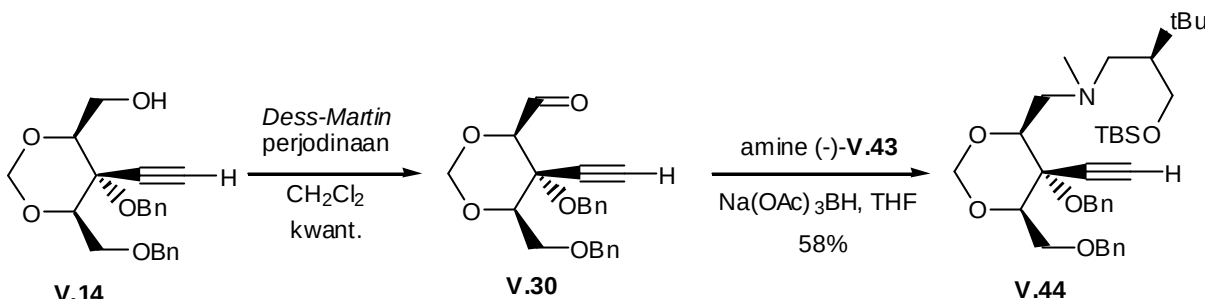
Brutoformule: C₈H₁₉N O**Moleculair gewicht:** 145.3 g/mol**R_f** (isooctaan : aceton/ammoniak (98/2) 5 : 5): basislijn**IR (KBr, film):** 3335 (s), 2959 (s), 2871 (s), 1398 (w), 1366 (m), 1332 (w), 1299 (w), 1075 (w), 1044 (w), 828 (w) cm⁻¹**ES (m/z):** 146.2 (M + H)⁺**¹H-NMR (500MHz, CDCl₃):** 0.89 (9H, s), 1.54 (1H, m), 2.42 (3H, s), 2.62 (1H, dd, J = 11.3, 11.4 Hz), 3.04 (1H, ddd, J = 2.4, 2.5, 11.6 Hz), 3.32 (1H, dd, J = 10.2, 10.3 Hz), 3.92 (1H, ddd, J = 2.8, 3.1, 10.3 Hz), 4.14 (2H, s (br)) ppm**APT (125MHz, CDCl₃):** 27.85 (-CH₃), 31.32 (-C-), 35.86 (-CH), 47.67 (-CH₃), 54.03 (-CH₂), 65.82 (-CH₂)

Aan een oplossing van de amino-alcohol **V.42** (400 mg, 2.753 mmol) in dichloormethaan (0.3 M, 9 ml) wordt achtereenvolgens imidazool (2.4 eq., 6.607 mmol, 450 mg), *tert*-butyldimethylsilylchloride (1.2 eq., 3.304 mmol, 498 mg) en dimethylaminopyridine (spatelpunt) toegevoegd en het mengsel wordt 18 uren geroerd bij kamertemperatuur. Vervolgens wordt water en een verzadigde ammoniumchloride-oplossing aan het mengsel toegevoegd. Na extractie met dichloormethaan, drogen op anhydrisch magnesiumsulfaat en indampen onder verminderde druk wordt de ruwe silylether bekomen. De overmaat aan *tert*-butyldimethylsilylderivaten wordt verwijderd door middel van Kugelrohr-distillatie (1u, 30°C). Er wordt 758 mg aan silylether **V.43** bekomen (kwant.).

Brutoformule: C₁₄H₃₃N O Si**Moleculair gewicht:** 259.6 g/mol**R_f** (isooctaan : aceton/ammoniak (98/2) 5 : 5): 0.5**IR (KBr, film):** 2955 (s), 2857 (s), 2795 (m), 1472 (s), 1398 (w), 1389 (w), 1363 (m), 1329 (w), 1255 (s), 1098 (s), 1066 (s), 1028 (m), 1005 (m), 938 (w), 837 (s), 775 (s), 755 (s), 665 (m) cm⁻¹**ES (m/z):** 260.3 (M + H)⁺**¹H-NMR (500MHz, CDCl₃):** 0.05 (6H, s), 0.89 (9H, s), 0.91 (9H, s), 1.40 (1H, m), 2.39 (3H, s), 2.54 (1H, ABd, J = 11.5, 8.6 Hz), 2.65 (1H, ABd, J = 11.6, 2.4 Hz), 3.6 (1H, dd, J = 7.5, 9.9 Hz), 3.83 (1H, dd, J = 4.1, 9.9 Hz) ppm**APT (125MHz, CDCl₃):** -5.30 (-CH₃), 17.95 (-C-), 25.75 (-CH₃), 27.85 (-CH₃), 30.81 (-C-), 34.83 (-CH), 47.50 (-CH₃), 51.21 (-CH₂), 63.92 (-CH₂) ppm

$[\alpha]_D = -3.6$ ($c = 2.2$ in CHCl_3)

Oxydatie van alcohol **V.14** en reductieve aminering met amine **V.43**:



Dess-Martin perjodinaan (2eq., 1.086 mmol) wordt toegevoegd aan een oplossing van de alcohol **V.14** (200 mg, 0.543 mmol) in dichloormethaan (0.17 M; 3.4 ml). Het reactiemengsel wordt nog 3 uren bij kamertemperatuur geroerd vooraleer een verzadigde natriumbicarbonaatoplossing en een 0.05 M natriumthiosulfaatoplossing wordt toegevoegd. Na extractie met diëthylether en drogen op anhydrisch natriumsulfaat en indampen is het bekomen aldehyde **V.30** zuiver genoeg om te koppelen met amine **V.43**.

Hiervoor wordt het aldehyde **V.30** (200 mg, 0.543 mmol) opgelost in tetrahydrofuran (0.2 M, 2.7 ml) en dit wordt afgekoeld tot 0°C. Vervolgens wordt het amine **V.43** (1.1 eq., 0.597 mmol, 155 mg) toegedruppeld, direct daarna wordt natriumtriacetoxyboorhydride (1.5 eq., 0.814 mmol, 173 mg) toegevoegd en het reactiemengsel wordt overnacht verder geroerd bij kamertemperatuur. Een verzadigde natriumbicarbonaatoplossing wordt toegevoegd om de reactie af te werken. Het mengsel wordt geëxtraheerd met diëthylether en na drogen op anhydrisch magnesiumsulfaat en indampen wordt het ruwe amine gezuiverd door kolomchromatografie (eluens: isooctaan : aceton/ammoniak (98/2) 9 : 1). Er wordt 191 mg aan zuiver amine **V.44** bekomen (58%).

Brutoformule: $\text{C}_{36}\text{H}_{55}\text{N O}_5\text{ Si}$

Moleculair gewicht: 609.9 g/mol

R_f (isooctaan : aceton/ammoniak (98/2) 9 : 3): 0.52

IR (KBr, film): 3306 (w), 3064 (w), 3031 (w), 2955 (s), 2856 (s), 2768 (w), 2110 (w), 1497 (w), 1472 (m), 1451 (m), 1363 (m), 1253 (m), 1213 (w), 1149 (m), 1110 (s), 1077 (s), 1048 (s), 1030 (s), 1003 (m), 960 (w), 836 (s), 775 (s), 735 (m), 698 (m), 670 (w) cm^{-1}

ES (m/z): 610.5 ($\text{M} + \text{H}^+$)

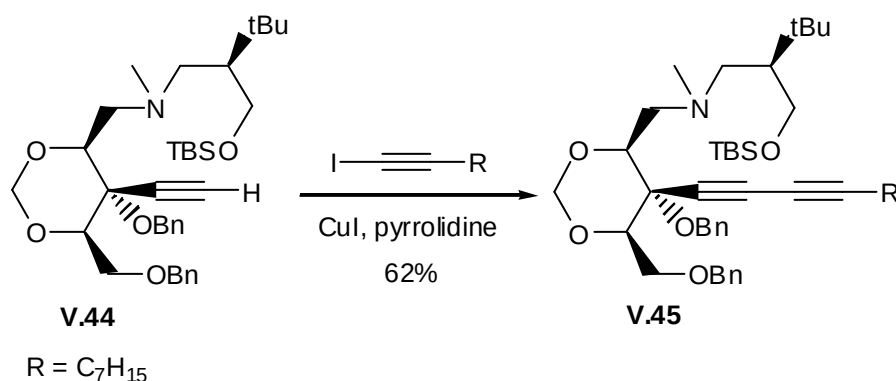
$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, C_6D_6): 0.09 (6H, s), 0.98 (9H, s), 1.03 (9H, s), 1.39 (1H, m), 2.09 (1H, s), 2.33 (3H, s), 2.36 (1H, dd, $J = 2.9, 12.4$ Hz), 2.61 (1H, dd, $J = 9.9, 12.4$ Hz), 2.88 (1H, $\underline{\text{AB}}$, $J = 13.6$ Hz), 3.05 (1H, $\underline{\text{ABd}}$, $J = 13.8, 8.0$ Hz), 3.66 (1H, d, $J = 7.4$ Hz), 3.79 (1H, dd, $J = 3.1, 10.0$ Hz), 3.85 (1H, dd, $J = 2.8, 6.9$ Hz), 3.94 (1H, dd, $J = 3.7, 10.0$ Hz), 3.95 (1H, $\underline{\text{ABd}}$, $J = 10.7, 7.0$ Hz), 4.02 (1H, $\underline{\text{ABd}}$, $J = 10.7, 2.8$ Hz), 4.39 (1H, $\underline{\text{AB}}$, $J = 12.2$ Hz), 4.46 (1H, d, $J = 6.3$ Hz), 4.48 (1H, $\underline{\text{AB}}$, $J = 12.4$ Hz), 4.71 (1H, $\underline{\text{AB}}$, $J = 11.1$ Hz), 4.78 (1H, $\underline{\text{AB}}$, $J = 11.1$ Hz), 5.02 (1H, d, $J = 6.2$ Hz), 7.06-7.19 (6H, m), 7.27 (4H, m) ppm

APT (125MHz, C_6D_6) : -5.22 ($-\text{CH}_3$), 18.41 ($-\text{C}-$), 26.20 ($-\text{CH}_3$), 28.86 ($-\text{CH}_3$), 32.37 ($-\text{C}-$), 44.10 ($-\text{CH}_3$), 48.18 ($-\text{CH}$), 56.25 ($-\text{CH}_2$), 58.60 ($-\text{CH}_2$), 62.18 ($-\text{CH}_2$), 70.14 ($-\text{CH}_2$), 70.27 ($-\text{C}-$), 70.40 ($-\text{CH}_2$), 72.58 ($-\text{C}-$), 73.45 ($-\text{CH}_2$), 77.83 ($-\text{C}-$), 79.23 ($-\text{CH}$), 82.48 ($-\text{CH}$), 83.57 ($-\text{CH}$), 93.28 ($-\text{CH}_2$), 126.16 ($-\text{CH}$), 127.65 ($-\text{CH}$), 128.34 ($-\text{CH}$), 128.52 ($-\text{CH}$), 128.56 ($-\text{CH}$), 128.75 ($-\text{CH}$), 138.54 ($-\text{C}-$), 138.90 ($-\text{C}-$) ppm

$[\alpha]_{\text{D}}$ = -28.1 ($c = 0.7$ in CHCl_3)

C-H-N-analyse:	berekend:	C: 70.89%	H: 9.09%	N: 2.30%
	gevonden:	C: 70.75%	H: 9.20%	N: 2.36%

Cadiot-koppeling van alkyn V.44 met 1-joodnonyn:



Aan een oplossing van beschermd triol **V.44** (400 mg, 0.656 mmol) in pyrrolidine (0.33 M, 2 ml) wordt achtereenvolgens 1-joodnonyn (1eq., 0.656 mmol, 172 mg) en koper(I)jodide (0.1 eq., 0.066 mmol, 12 mg) toegevoegd. De reactie wordt na 3 uren afgewerkt door het reactiemengsel direct te scheiden door kolomchromatografie (eluens: isooctaan : aceton/ammoniak (98/2) 95 : 5). Een tweede zuivering is vereist met hetzelfde eluens om 300 mg aan zuiver diyn **V.45** te bekomen (62%).

Brutoformule: C₄₅ H₆₉ N O₅ Si

Moleculair gewicht: 732.2 g/mol

R_f (isooctaan : aceton/ammoniak (98/2) 7 : 3): 0.74

IR (KBr, film): 3031 (w), 2955 (s), 2928 (s), 2856 (s), 2767 (w), 2252 (w), 1497 (w), 1470 (m), 1363 (w), 1253 (m), 1183 (w), 1111 (s), 1075 (s), 1049 (s), 1003 (m), 836 (m), 775 (m), 732 (m), 696 (m) cm⁻¹

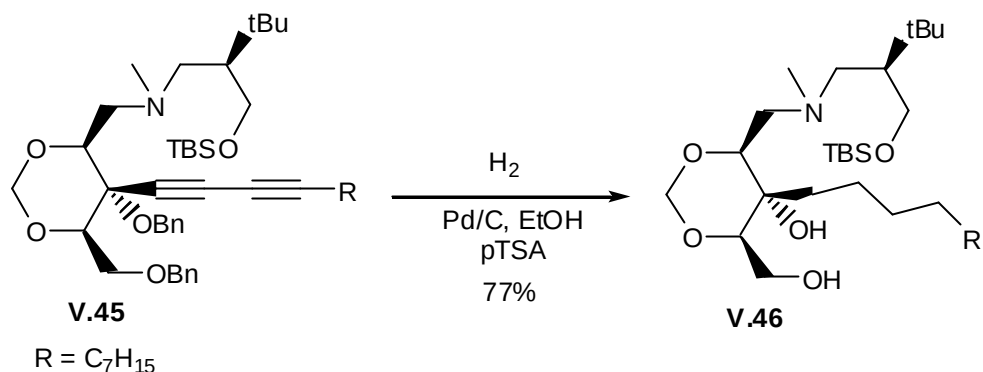
ES (m/z): 732.6 (M + H)⁺

¹H-NMR (500MHz, C₆D₆): 0.11 (6H, s), 0.86 (3H, t, *J* = 7.3 Hz), 1.00 (9H, s), 1.04 (9H, s), 1.06-1.14 (6H, m), 1.18-1.26 (4H, m), 1.39 (1H, m), 1.92 (2H, t, *J* = 7.0 Hz), 2.31 (3H, s), 2.34 (1H, dd, *J* = 3.0, 12.5 Hz), 2.61 (1H, dd, *J* = 9.8, 12.3 Hz), 2.94 (1H, AB, *J* = 13.6 Hz), 3.12 (1H, ABd, *J* = 13.8, 7.9 Hz), 3.70 (1H, d, *J* = 7.1 Hz), 3.78 (1H, dd, *J* = 3.0, 10.0 Hz), 3.87 (1H, dd, *J* = 2.9, 6.8 Hz), 3.95 (1H, dd, *J* = 4.0, 10.0 Hz), 3.99 (1H, ABd, *J* = 10.7, 6.9 Hz), 4.05 (1H, ABd, *J* = 10.7, 2.9 Hz), 4.31 (1H, AB, *J* = 12.1 Hz), 4.43 (1H, AB, *J* = 12.3 Hz), 4.45 (1H, d, *J* = 6.2 Hz), 4.76 (1H, AB, *J* = 11.0Hz), 4.85 (1H, AB, *J* = 11.0 Hz), 5.04 (1H, d, *J* = 6.2 Hz) 7.09 (2H, m), 7.13-7.18 (4H, m), 7.24 (2H, d, *J* = 7.1 Hz), 7.28 (2H, d, *J* = 7.0 Hz) ppm

APT (125MHz, C₆D₆): -5.33 (-CH₃), 14.25 (-CH₃), 18.41 (-CH₂), 19.30 (-CH₂), 22.92 (-CH₂), 26.22 (-CH₃), 28.25 (-CH₂), 28.85 (-CH₃), 29.01 (-CH₂), 31.87 (-CH₂), 32.38 (-C-), 44.02 (-CH₃), 48.18 (-CH), 56.30 (-CH₂), 58.74 (-CH₂), 62.21 (-CH₂), 65.41 (-C-), 70.40 (-CH₂), 72.55 (-CH₂), 70.79 (-C-), 73.47 (-CH₂), 76.26 (-C-), 82.28 (-C-), 83.11 (-CH), 84.07 (-CH), 93.34 (-CH₂), 124.90 (-CH), 126.89 (-CH), 127.57 (-CH), 128.34 (-CH), 128.47(-CH), 128.51 (-CH), 128.75 (-CH), 138.50 (-C-), 138.93 (-C-) ppm

[α]_D = -42.9 (c = 1.29 in CHCl₃)

Reductie van de diynylketen en ontscherming van de beschermende groepen in **V.45**:



Aan een oplossing van de benzylether **V.45** (133 mg, 0.181 mmol) in ethanol (0.1 M, 1.8 ml) wordt achtereenvolgens *p*-tolueensulfonzuur (1 eq., 0.181 mmol, 35 mg) en palladium op koolstof (0.3 eq., 0.054 mmol, 57 mg van 10% palladium op koolstof) toegevoegd. De reactie wordt vervolgens 4 uur en driekwartier geroerd onder een 1 atmosfeer waterstofgasdruk. De katalysator wordt dan afgefiltreerd over celiet en het solvent wordt onder verminderde druk ingedampt. Het residu wordt opgelost in dichloormethaan, de organische fase wordt gewassen met een verzadigde natriumbicarbonaatoplossing. Na drogen op anhydrisch magnesiumsulfaat en indampen van het solvent onder verminderde druk wordt het ruwe product gezuiverd door kolomchromatografie (eluens: isooctaan : aceton/ammoniak (98/2) 8 : 2). Er wordt 78 mg aan zuiver diol **V.46** bekomen (77%).

Brutoformule: $\text{C}_{31}\text{H}_{65}\text{N O}_5\text{Si}$

Moleculair gewicht: 559.9 g/mol

R_f (isooctaan : aceton/ammoniak (98/2) 6 : 4): 0.52

IR (KBr, film): 3350 (m), 2956 (s), 2926 (s), 2855 (s), 2767 (m), 1471 (m), 1398 (w), 1363 (w), 1253 (m), 1180 (w), 1108 (m), 1079 (m), 1032 (s), 1004 (w), 836 (m), 775 (m) cm^{-1}

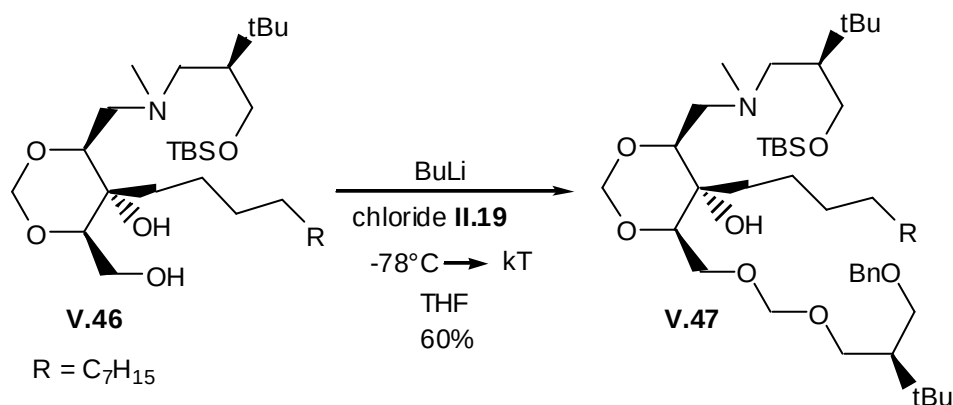
ES (m/z): 560.5 (M + H)⁺

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, C_6D_6): 0.11 (3H, s), 0.12 (3H, s), 0.51 (1H, s(br)), 0.90 (9H, s), 0.91 (3H, t, $J = 6.8$ Hz), 1.00 (9H, s), 1.35 (16H, m), 1.90 (5H, m), 2.07 (3H, s), 2.20 (1H, ABd , $J = 12.6, 3.6$ Hz), 2.36 (1H, ABd , $J = 12.3, 8.5$ Hz), 2.41 (1H, dd, $J = 4.4, 12.6$ Hz), 3.08 (1H, dd, $J = 10.8, 12.5$ Hz), 3.56 (2H, dd, $J = 5.1, 10.1$ Hz), 3.68 (1H, dd, $J = 5.4, 6.9$ Hz), 3.72 (1H, dd, $J = 3.9, 10.2$ Hz), 3.93 (1H, dd, $J = 7.3, 11.0$ Hz), 4.19 (1H, dd, $J = 5.1, 11.0$ Hz), 4.47 (1H, d, $J = 5.7$ Hz), 4.95 (1H, d, $J = 5.8$ Hz), 5.08 (1H, s(br)) ppm

APT (125MHz, C_6D_6): -5.34 (- CH_3), 14.35 (- CH_3), 23.09 (-C-), 25.06 (- CH_2), 26.20 (- CH_3), 28.30 (- CH_3), 29.80 (- CH_2), 30.12 (- CH_2), 30.17 (- CH_2), 30.29 (- CH_2), 31.71 (- CH_2), 32.29 (- CH_2), 32.50 (-C-), 33.35 (- CH_2), 42.59 (- CH_3), 48.48 (-CH), 59.31 (- CH_2), 59.55 (- CH_2), 61.75 (- CH_2), 62.95 (- CH_2), 70.66 (-C-), 80.28 (-CH), 85.52 (-CH), 94.22 (- CH_2), ppm

$[\alpha]_{\text{D}} = +3.4$ ($c = 1.06$ in CHCl_3)

Aanhechting van de polyetherzijketen:



Het diol **V.46** (74 mg, 0.132 mmol) wordt opgelost in tetrahydrofuran (0.12 M, 1.1 ml); het mengsel wordt afgekoeld tot -78°C vooraleer *n*-butyllithium (1.2 eq., 0.159 mmol, 63 μl van een 2.5 M oplossing in hexaan) wordt toegedruppeld. Tijdens de deprotonatie wordt het mengsel langzaam opgewarmd tot -50°C , na één uur deprotoneren wordt het mengsel weer afgekoeld tot -78°C en wordt de chloormethylether **II.19** (1.5 eq., 0.198 mmol, 54 mg) toegedruppeld. De reactie wordt overnacht geroerd en langzaam opgewarmd tot kamertemperatuur. Het mengsel wordt verdund met diëthylether en wordt ingedampt onder verminderde druk. Vervolgens worden dichloormethaan en een verzadigde ammoniumchloride-

oplossing toegevoegd. Na extractie met dichloormethaan, drogen op anhydrisch magnesiumsulfaat en indampen van het solvent onder verminderde druk wordt het ruwe mengsel gezuiverd door kolomchromatografie (eluens: isooctaan : (aceton/ammoniak 98/2) 9 : 1). Er wordt 63 mg aan beschermd triol **V.47** bekomen (60%).

Brutoformule: $C_{46}H_{87}NO_7Si$

Moleculair gewicht: 794.3 g/mol

R_f (isooctaan : aceton/ammoniak (98/2) 8 : 2): 0.68

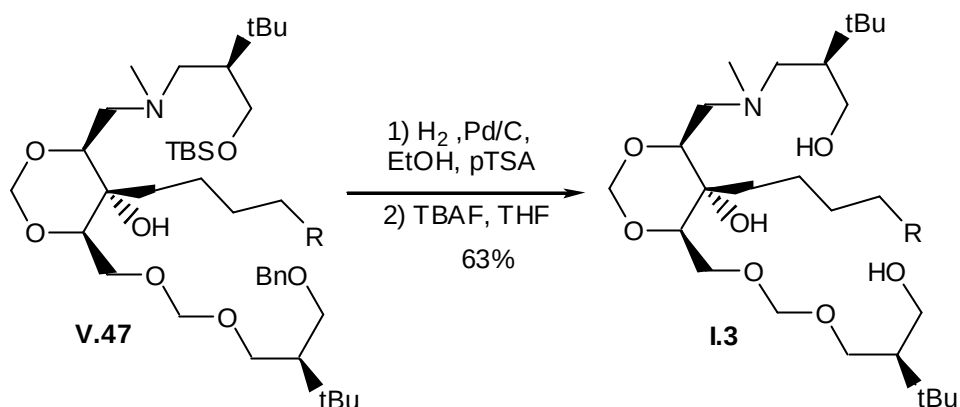
IR (KBr, film): 2957 (s), 2929 (s), 2856 (s), 1471 (m), 1365 (m), 1253 (m), 1216 (m), 1110 (m), 1081 (m), 1035 (s), 836 (m), 757 (s) cm^{-1}

ES (m/z): 794.7 (M + H)⁺

¹H-NMR (500MHz, C₆D₆): 0.13 (3H, s), 0.15 (3H, s), 0.46 (1H, s(br)), 0.92 (9H, s), 0.93 (3H, t, $J = 7.1$ Hz), 1.01 (18H, s), 1.36 (16H, m), 1.70 (1H, m), 1.88 (1H, m), 1.89 (2H, m), 2.02 (2H, m), 2.09 (3H, s), 2.21 (1H, dd, $J = 3.1, 12.3$ Hz), 2.39 (1H, dd, $J = 8.6, 12.6$ Hz), 2.44 (1H, dd, $J = 4.6, 12.6$ Hz), 3.10 (1H, dd, $J = 10.0, 12.4$ Hz), 3.61 (4H, m), 3.75 (1H, dd, $J = 4.1, 10.2$ Hz), 3.84 (1H, ABd, $J = 9.5, 6.1$ Hz), 3.88 (1H, ABd, $J = 9.5, 4.1$ Hz), 3.95 (1H, dd, $J = 1.8, 8.1$ Hz), 4.03 (1H, dd, $J = 8.1, 10.1$ Hz), 4.19 (1H, AB, $J = 12.1$ Hz), 4.20 (1H, AB, $J = 12.1$ Hz), 4.30 (1H, dd, $J = 2.2, 10.3$ Hz), 4.60 (1H, d, $J = 5.7$ Hz), 4.71 (1H, AB, $J = 6.6$ Hz), 4.72 (1H, AB, $J = 6.6$ Hz), 5.05 (1H, d, $J = 5.8$ Hz), 7.11 (1H, m), 7.2 (2H, dd, $J = 7.4, 7.7$ Hz), 7.36 (2H, d, $J = 7.1$ Hz) ppm

APT (125MHz, C₆D₆): -5.31 (-CH₃), 14.37 (-CH₃), 23.10 (-CH₂), 25.23 (-CH₂), 26.23 (-CH₃), 28.39 (-CH₃), 28.98 (-CH₃), 29.82 (-CH₂), 30.11 (-CH₂), 30.20 (-CH₂), 30.34 (-CH₂), 31.86 (-CH₂), 32.10 (-C-), 32.30 (-CH₂), 32.52 (-CH₂), 33.79 (-CH₂), 42.69 (-CH₃), 49.00 (-CH), 58.97 (-CH₂), 59.40 (-CH₂), 62.79 (-CH₂), 66.47 (-CH₂), 66.52 (-CH₂), 69.81 (-C-), 73.26 (-CH₂), 80.87 (-CH), 85.65 (-CH), 94.31 (-CH₂), 96.09 (-CH₂), 127.48 (-CH), 127.69 (-CH), 128.30 (-CH), 128.48 (-CH), 139.61(-C-) ppm

[α]_D = -5.5 (c = 1.74 in CHCl₃)

Ontscherming van de benzylether en de silylgroep tot **I.3** :

Aan een oplossing van de benzylether **V.47** (52 mg, 0.065 mmol) in ethanol (0.1 M, 650 μl) wordt achtereenvolgens *p*-tolueensulfonzuur (1 eq., 0.065 mmol, 13 mg) en palladium op koolstof (0.5 eq., 0.033 mmol, 35 mg van 10% palladium op koolstof) toegevoegd. De reactie wordt vervolgens 6 uur en een half geroerd onder een 1 atmosfeer waterstofgasdruk. De katalysator wordt dan afgefilterd over celiet en het solvent wordt onder verminderde druk ingedampt. Het residu wordt opgelost in dichloormethaan, de organische fase wordt gewassen met een verzadigde natriumbicarbonaatoplossing. Na drogen op anhydrisch magnesiumsulfaat en indampen van het solvent onder verminderde druk wordt het ruwe product (39 mg) opgelost in tetrahydrofuran (550 μl). Aan deze oplossing wordt tetrabutylammoniumfluoride (2eq., 0.110 mmol, 110 μl van een 1 M oplossing in tetrahydrofuran) toegevoegd en het mengsel wordt overnacht bij kamertemperatuur geroerd. De reactie wordt afgewerkt door te zuiveren door kolomchromatografie (eluens: isooctaan : aceton/ammoniak (98/2) : 7 : 3). Er wordt 24 mg aan zuiver aminotriol **I.3** bekomen (63%).

Brutoformule: $\text{C}_{33}\text{H}_{67}\text{N O}_7$

Moleculair gewicht: 589.9 g/mol

R_f (isooctaan : aceton/ammoniak (98/2) 6 : 4): 0.31

IR (KBr, film): 3368 (s, br), 2943 (s), 2924 (s), 2856 (s), 1646 w), 1465 (m), 1398 (w), 1289 (w), 1120 (w), 1077 (w), 1037 (s), 1033 (s) cm^{-1}

ES (m/z): 590 (M + H)⁺

^1H -NMR (500MHz, C_6D_6): 0.77 (9H, s), 0.90 (3H, t, $J = 7.4$ Hz), 0.93 (9H, s), 1.29-1.42 (16H, m), 1.53 (1H, m), 1.59 (1H, m), 1.85 (2H, m), 1.94 (2H, m), 2.20 (3H, s), 2.44 (1H, $\underline{\text{AB}}$ (fs), $J = 12.2$ Hz), 2.58 (1H, $\underline{\text{ABd}}$, $J = 12.3, 11.7$ Hz), 2.63 (1H, dd, $J = 7.2, 13.0$ Hz), 3.10 (1H, dd, $J = 3.0, 13.0$ Hz), 3.74 (3H, m), 3.74 (1H, dd, $J = 9.5, 9.5$ Hz), 3.89 (4H, m), 3.95 (1H, d(fs), $J = 9.9$ Hz), 4.22 (1H, dd, $J = 2.8, 10.2$ Hz), 4.54 (1H, $\underline{\text{AB}}$, $J = 6.8$ Hz), 4.56 (1H, $\underline{\text{AB}}$, $J = 6.6$ Hz), 4.60 (1H, d, $J = 5.9$ Hz), 5.05 (1H, d, $J = 5.9$ Hz) ppm

^{13}C -NMR + DEPT (125MHz, C_6D_6): 14.37 (-CH₃), 23.10 (-CH₂), 24.98 (-CH₂), 27.93 (-CH₃), 28.78 (-CH₃), 29.82 (-CH₂), 30.09 (-CH₂), 30.17 (-CH₂), 30.25 (-CH₂), 31.44 (-C-), 31.64 (-CH₂), 31.77 (-C-), 32.31 (-CH₂), 32.36 (-CH₂), 42.38 (-CH₃), 50.63 (-CH), 58.60 (-CH₂), 60.88 (-CH₂), 61.37 (-CH₂), 66.60 (-CH₂), 66.92 (-CH₂), 69.17 (-C-), 84.63 (-CH), 85.86 (-CH), 94.03 (-CH₂), 95.75 (-CH₂) ppm

$[\alpha]_{\text{D}}$ = -26.9 ($c = 0.74$ in CHCl_3)

VII.5 ^1H -NMR-kinetiek: bepaling van de halfwaardetijden

VII.5.1 Procedure

De halfwaardetijd werd bepaald voor de reactie van de verschillende aminodiolen en -triolen ten opzichte van geactiveerde amides en esters. In een typisch experiment werd aan een oplossing van de amino-alcohol in gedeutereerd acetonitril 0.1 equivalent van het substraat toegevoegd. In de experimenten met cyclodextrines werd steeds één equivalent aan cyclodextrine toegevoegd, tenzij anders vermeld. De concentratie aan amino-alcohol bedroeg steeds 0.05M tenzij anders vermeld. De reactie werd dan gevolgd bij 25°C via ^1H -NMR-spectroscopie door op vaste tijdstippen een spectrum op te nemen. De halfwaardetijd voor de alcoholyse van de geactiveerde substraten werd afgeleid uit de integratie van de signalen van het substraat.

N-acetylimidazool is commercieel verkrijgbaar en werd gebruikt na omkristallisatie in dichloormethaan/diëthylether. *N*-tridecanoylimidazool werd gesynthetiseerd uit tridecaanzuur en carbonyldiimidazool volgens de methode van *Staab*, daarna omgekristalliseerd uit pentaan.

p-Nitro-2,2,2-trifluoracetanilide werd bereid uitgaande van *p*-nitroaniline en trifluorazijnzuuranhydride, omgekristalliseerd uit water en gedroogd over P_2O_5 .

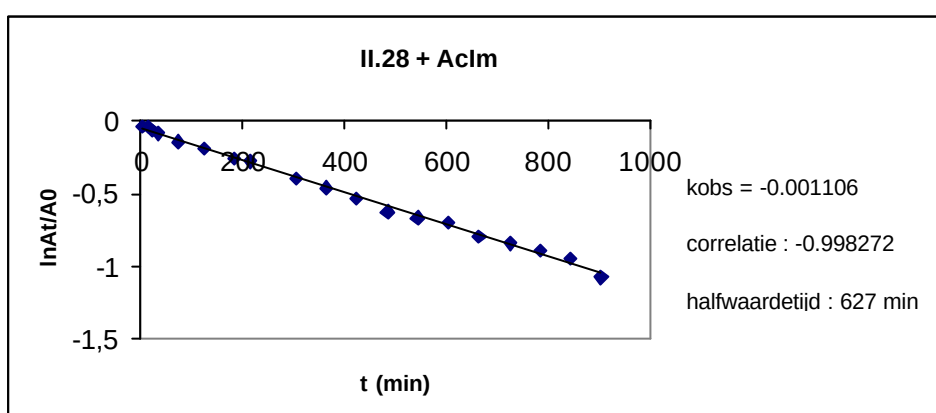
p-nitrofenylacetaat is commercieel beschikbaar en werd omgekristalliseerd uit diëthylether. *p*-Nitrofenyltridecanaaat werd bereid uit tridecaanzuur en *p*-nitrofenol via de DCC-koppelingsmethode. Voor gebruik werd de *p*-nitrofenylester omgekristalliseerd uit methanol.

p-Nitroacetanilide is commercieel beschikbaar. Dinitroacetanilide werd bereid uit dinitroaniline en azijnzuuranhydride en werd voor gebruik omgekristalliseerd uit acetonitril. Dinitroacetanilide met de lange zijketen werd bereid uit dinitroaniline, tridecaanzuur en trifluorazijnzuuranhydride en werd omgekristalliseerd uit petroleumether.

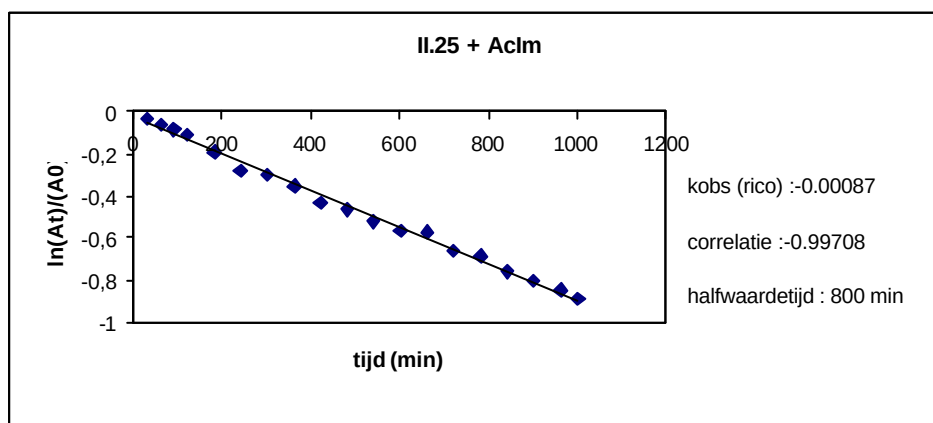
VII.5.2 Grafieken

De grafieken voor de berekening van de halfwaardetijden worden hieronder weergegeven met de respectievelijke waarden voor elke verbinding. Verschillen tussen de weergegeven en getabelleerde waarden zijn te verklaren door correctie voor de concentratie of door het feit dat een gemiddelde van twee metingen werd genomen.

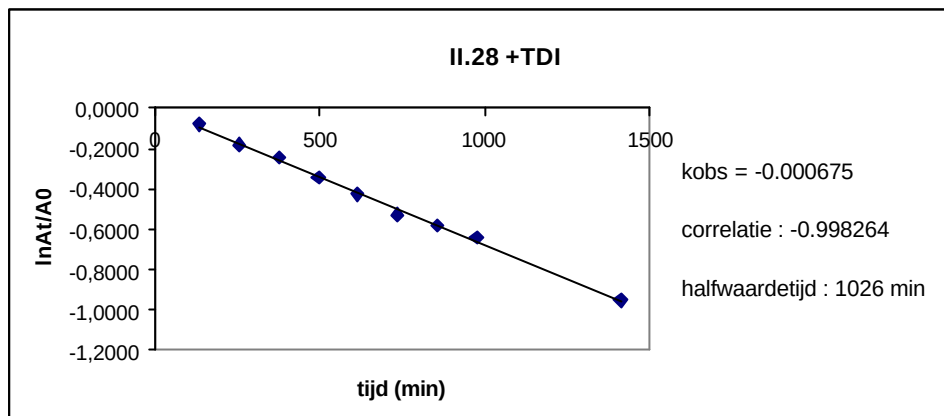
Halfwaardetijd voor de reactie van II.28 met N-acetylimidazool:



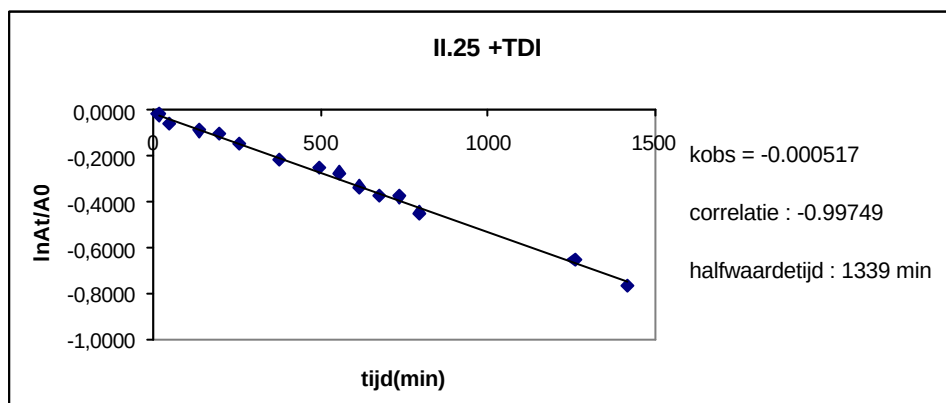
Halfwaardetijd voor de reactie van II.25 met N-acetylimidazool:



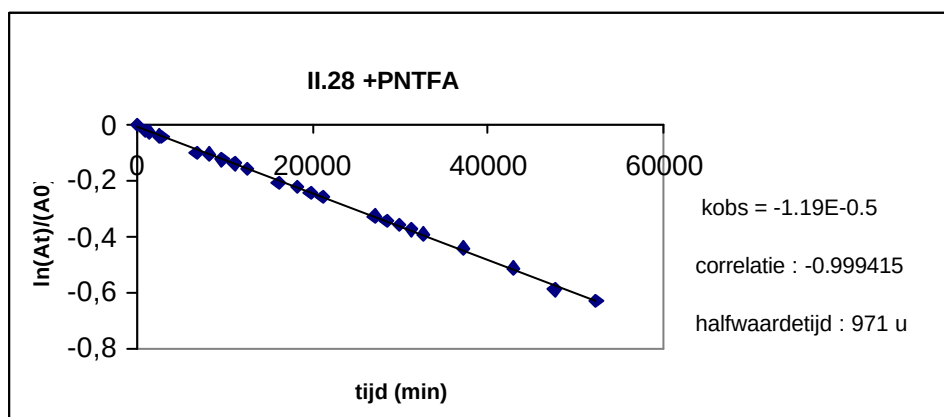
Halfwaardetijd voor de reactie van **II.28** met *N*-tridecanoylimidazool:



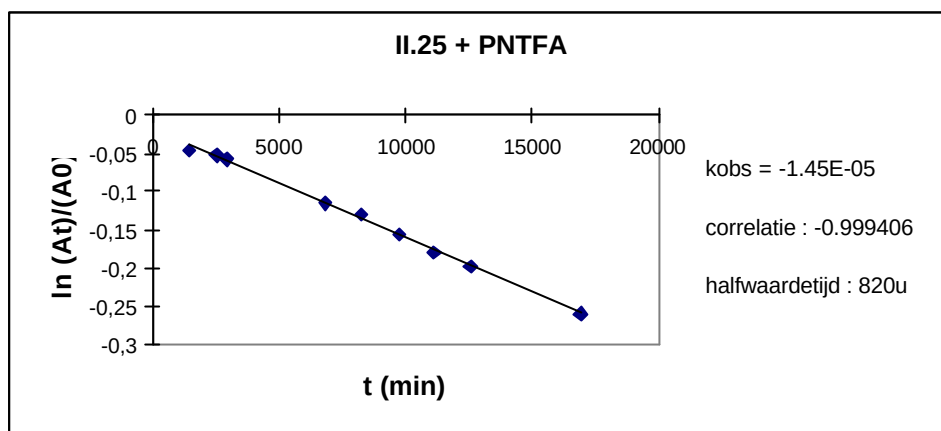
Halfwaardetijd voor de reactie van **II.25** met *N*-tridecanoylimidazool:



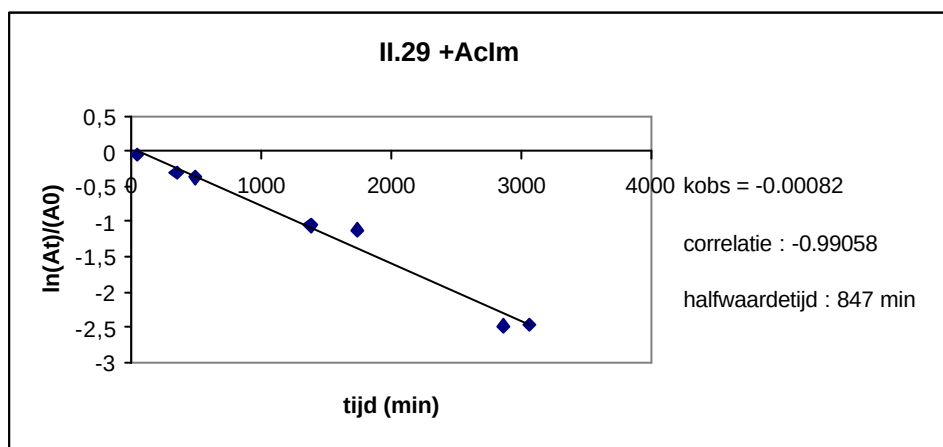
Halfwaardetijd voor de reactie van **II.28** met *p*-nitro-2,2,2-trifluoracetanilide:



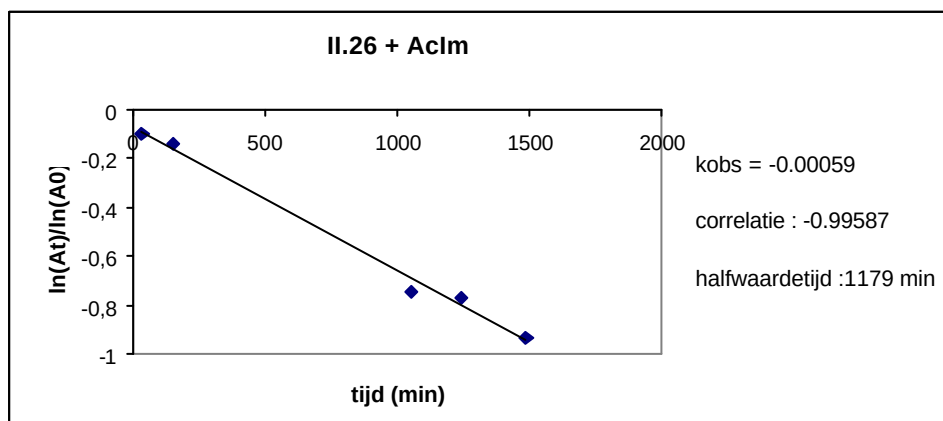
Halfwaardetijd voor de reactie van **II.25** met *p*-nitro-2,2,2-trifluoracetanilide:



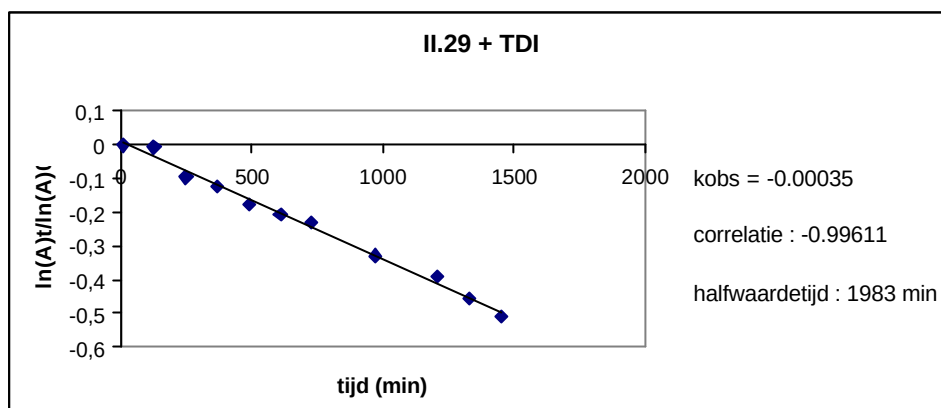
Halfwaardetijd voor de reactie van **II.29** met *N*-acetylimidazool:



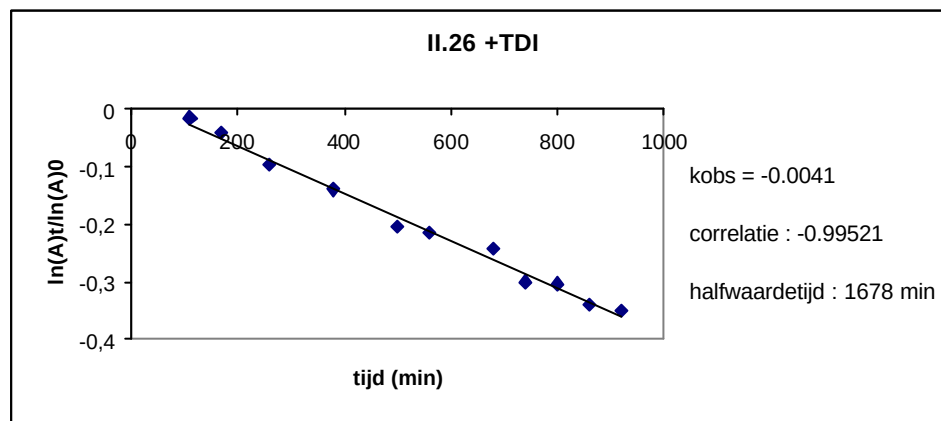
Halfwaardetijd voor de reactie van **II.26** met *N*-acetylimidazool:



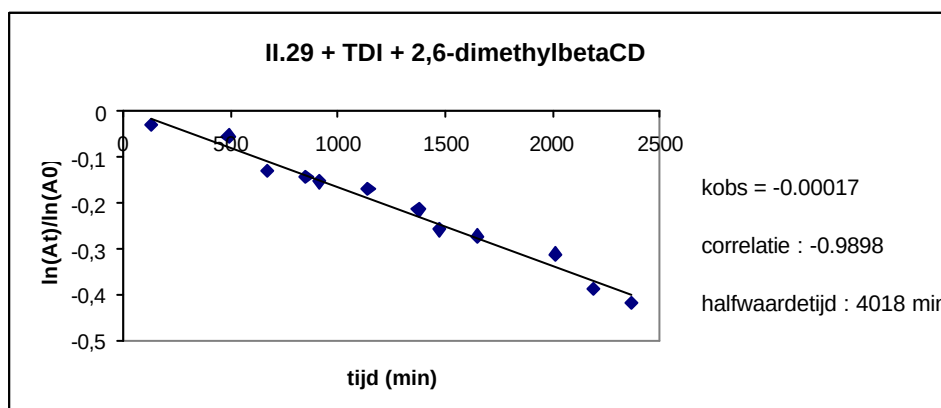
Halfwaardetijd voor de reactie van **II.29** met *N*-tridecanoylimidazool:



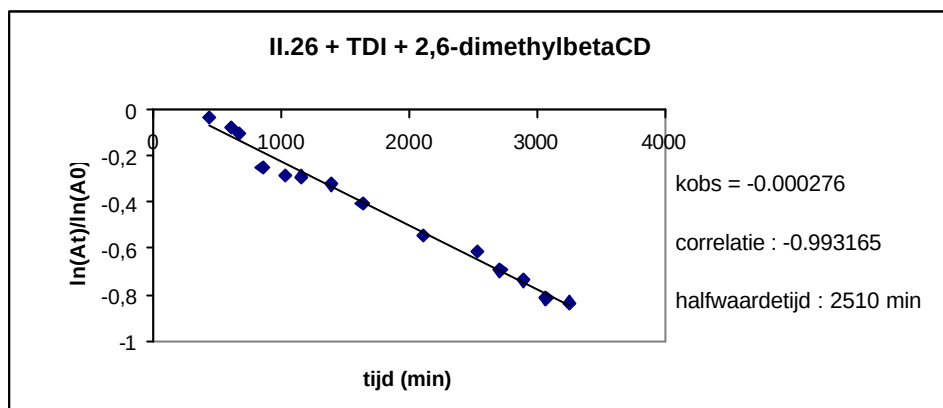
Halfwaardetijd voor de reactie van **II.26** met *N*-tridecanoylimidazool:



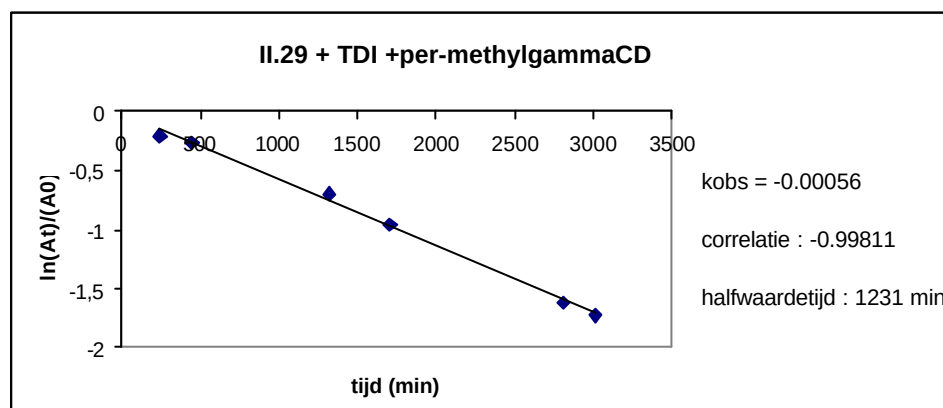
Halfwaardetijd voor de reactie van **II.29** met *N*-tridecanoylimidazool en 2,6-dimethyl- β -cyclodextrine:



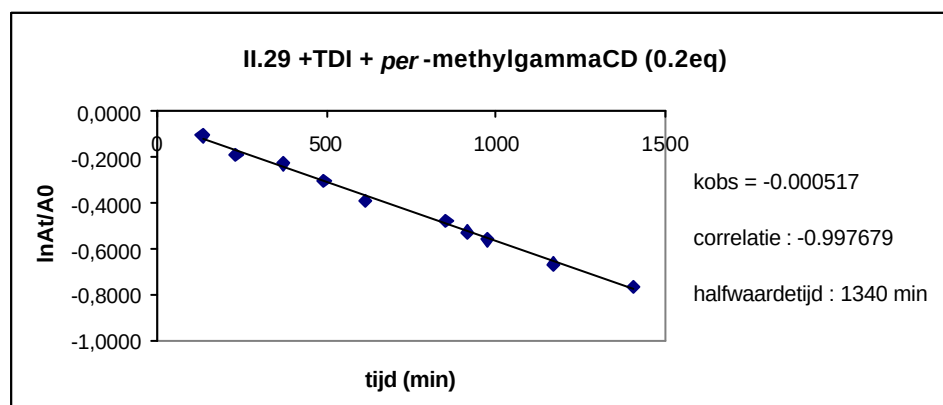
Halfwaardetijd voor de reactie van **II.26** met *N*-tridecanoylimidazool en 2,6-dimethyl- β -cyclodextrine:



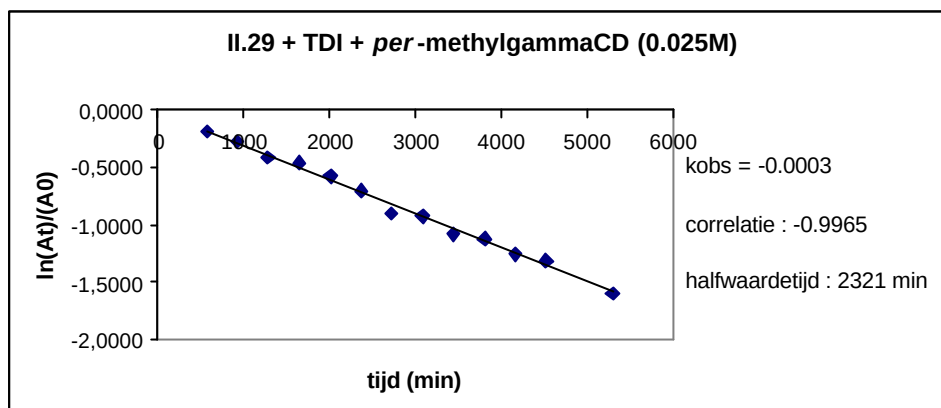
Halfwaardetijd voor de reactie van **II.29** met *N*-tridecanoylimidazool en per-*O*-methyl- γ -cyclodextrine:



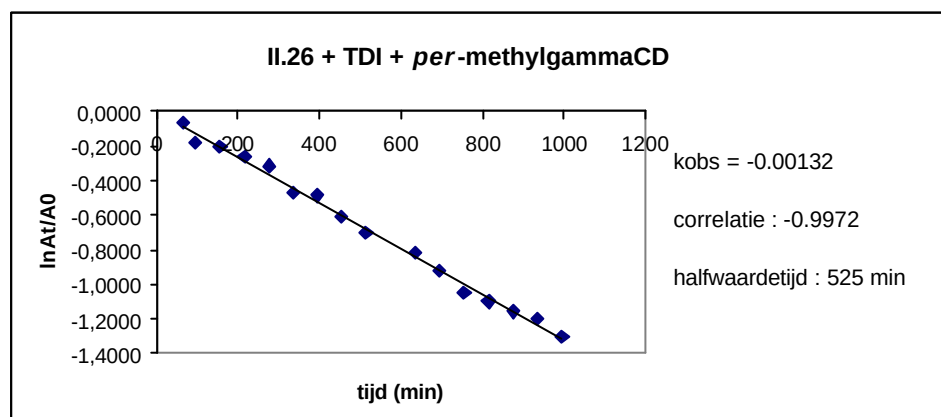
Halfwaardetijd voor de reactie van **II.29** met *N*-tridecanoylimidazool en 0.2 equivalenten per-*O*-methyl- γ -cyclodextrine:



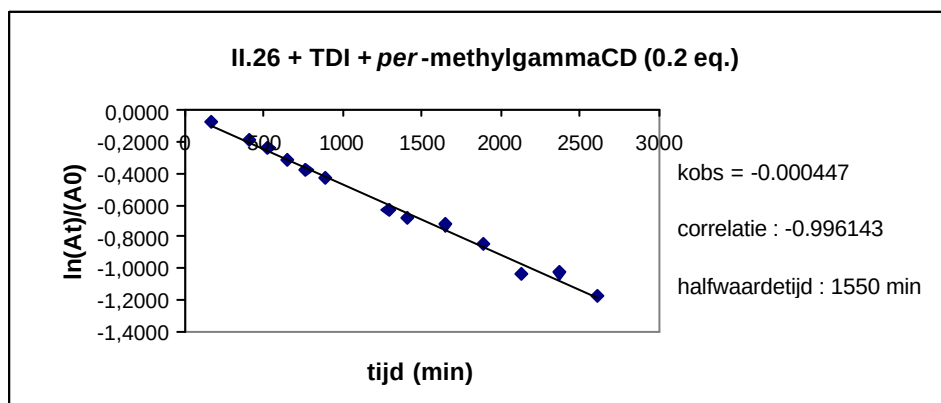
Halfwaardetijd voor de reactie van **II.29** met *N*-tridecanoylimidazool en per-*O*-methyl- γ -cyclodextrine (0.025 M):



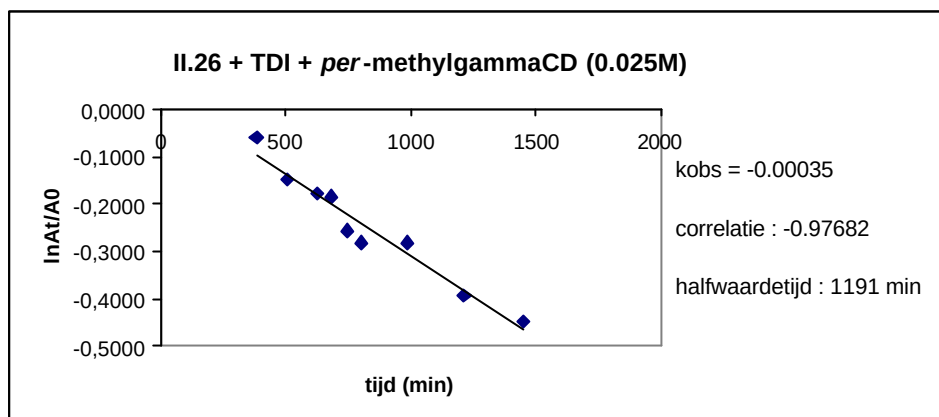
Halfwaardetijd voor de reactie van **II.26** met *N*-tridecanoylimidazool en per-*O*-methyl- γ -cyclodextrine:



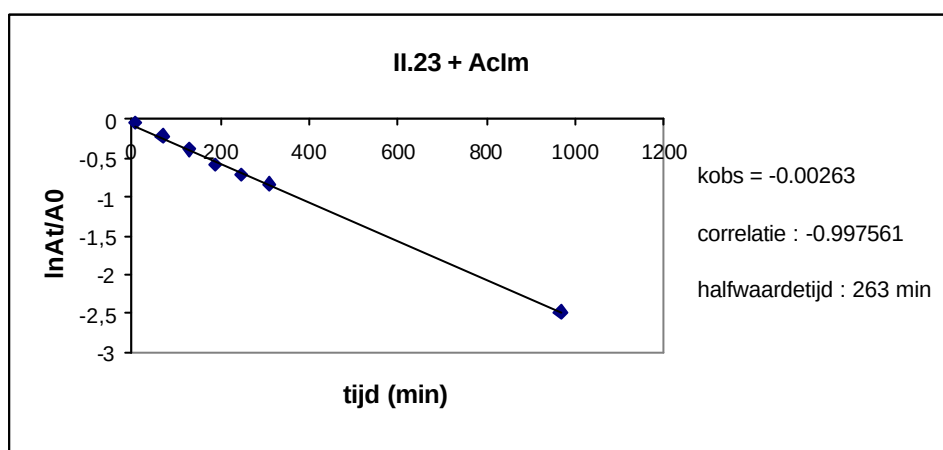
Halfwaardetijd voor de reactie van **II.26** met *N*-tridecanoylimidazool en 0.2 equivalenten per-*O*-methyl- γ -cyclodextrine:



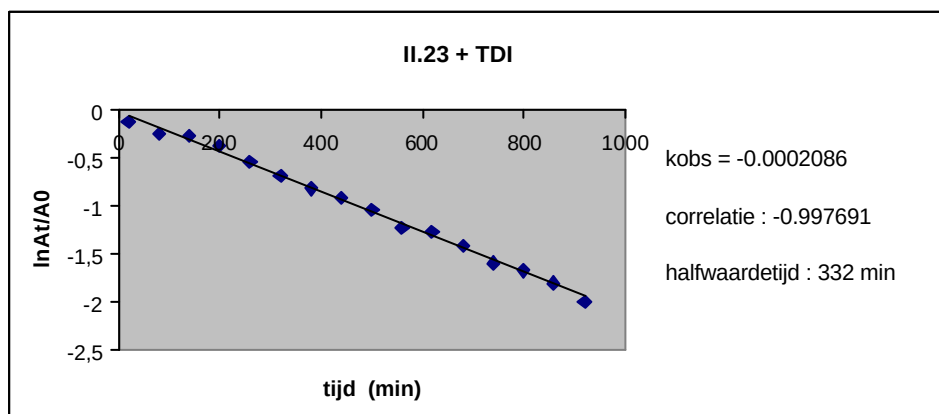
Halfwaardetijd voor de reactie van **II.26** met *N*-tridecanoylimidazool en per-*O*-methyl- γ -cyclodextrine (0.025 M):



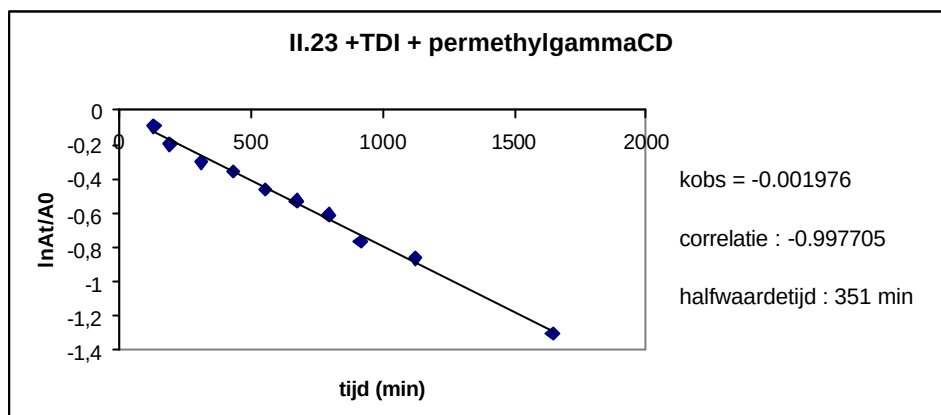
Halfwaardetijd voor de reactie van **II.23** met *N*-acetylimidazool:



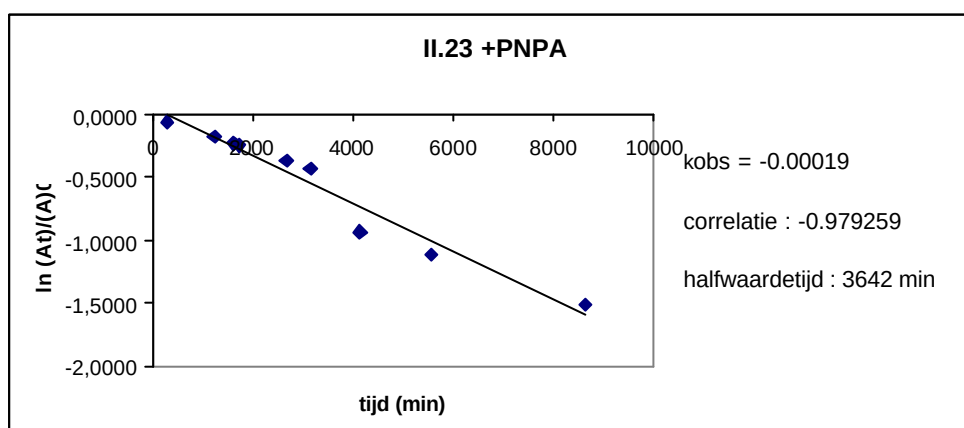
Halfwaardetijd voor de reactie van **II.23** met *N*-tridecanoylimidazool:



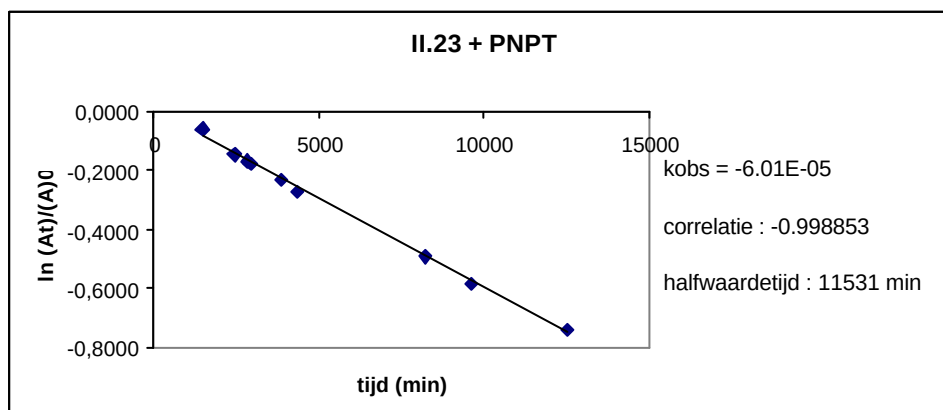
Halfwaardetijd voor de reactie van **II.23** met *N*-tridecanoylimidazool en per-*O*-methyl- γ -cyclodextrine:



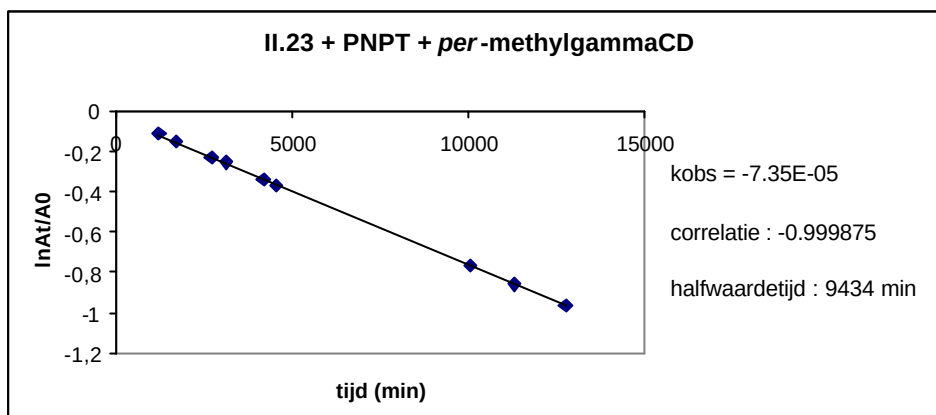
Halfwaardetijd voor de reactie van **II.23** met *p*-nitrofenylacetaat:



Halfwaardetijd voor de reactie van **II.23** met *p*-nitrofenyltridecanoaat:



Halfwaardetijd voor de reactie van **II.23** met *p*-nitrofenyltridecanoat en *per*-*O*-methyl- γ -cyclodextrine:

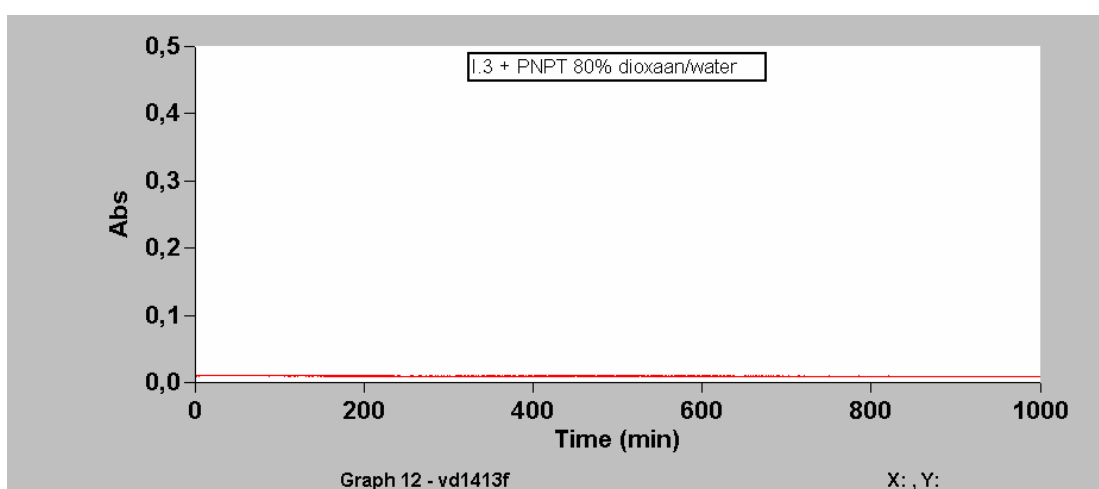
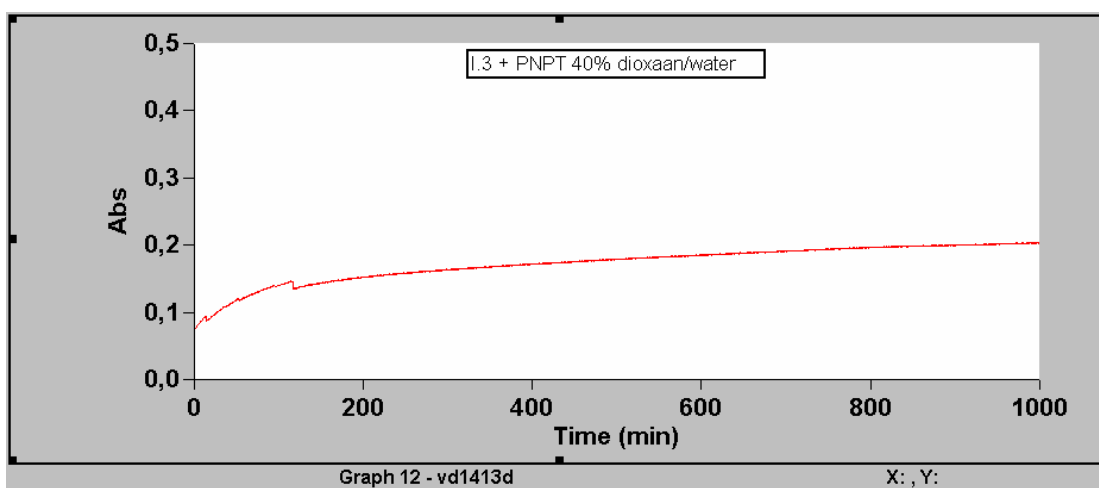
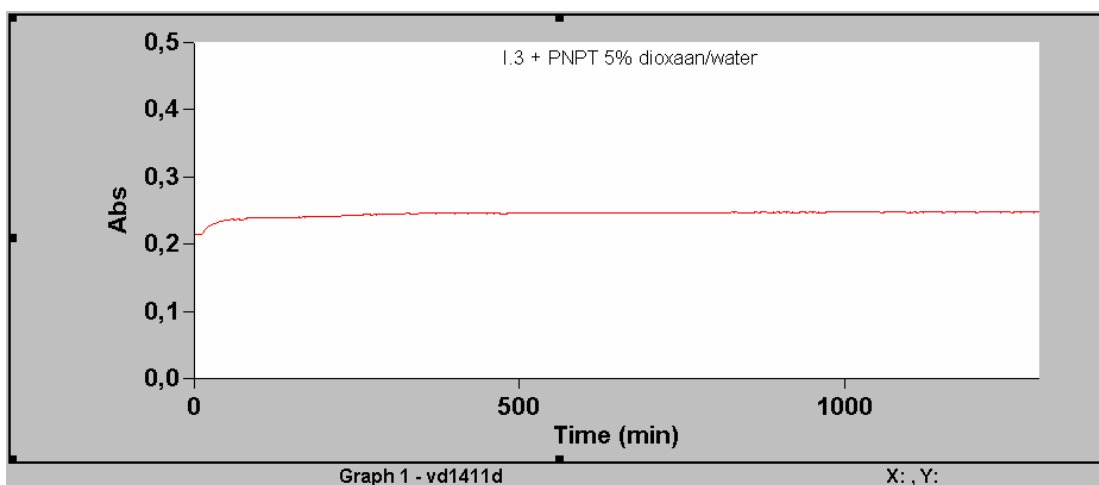


VII.6 UV-Kinetiek

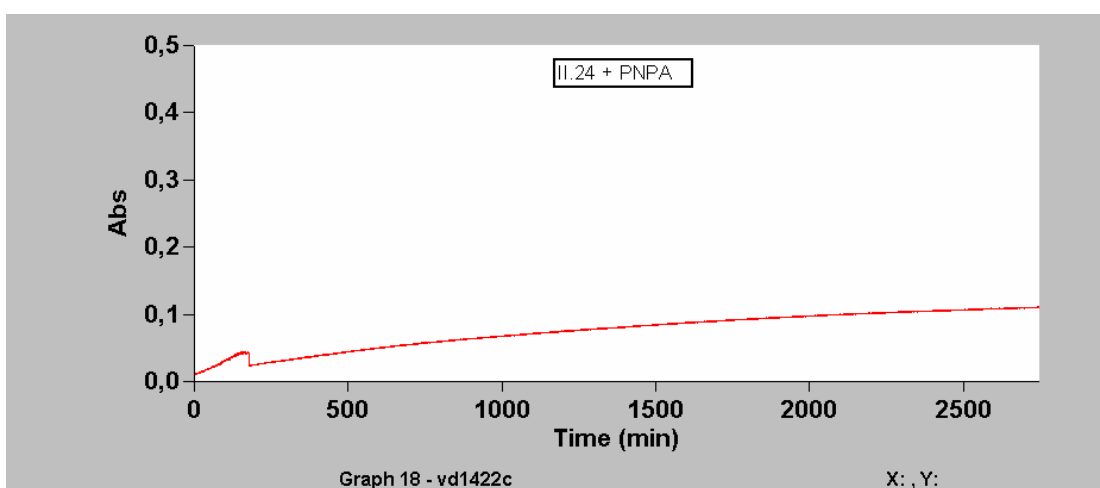
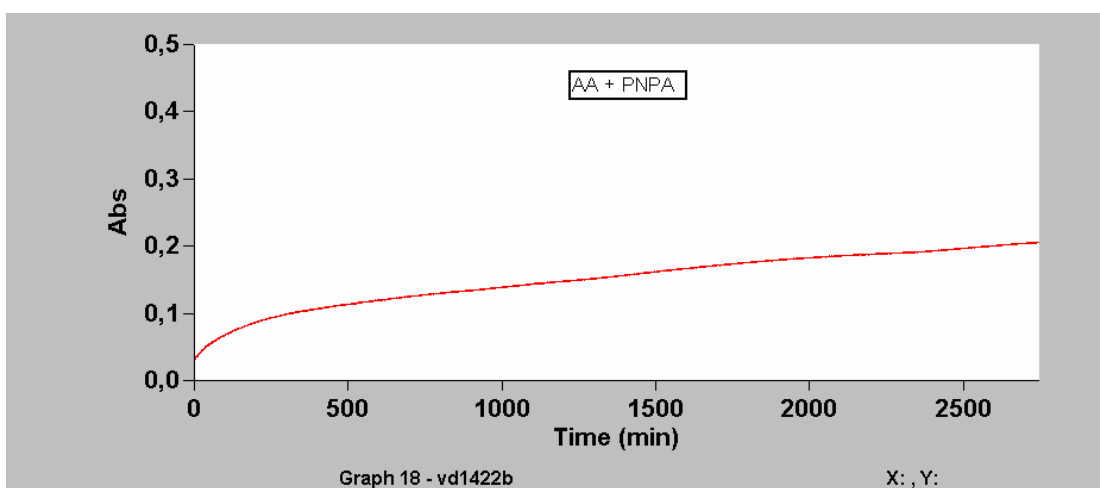
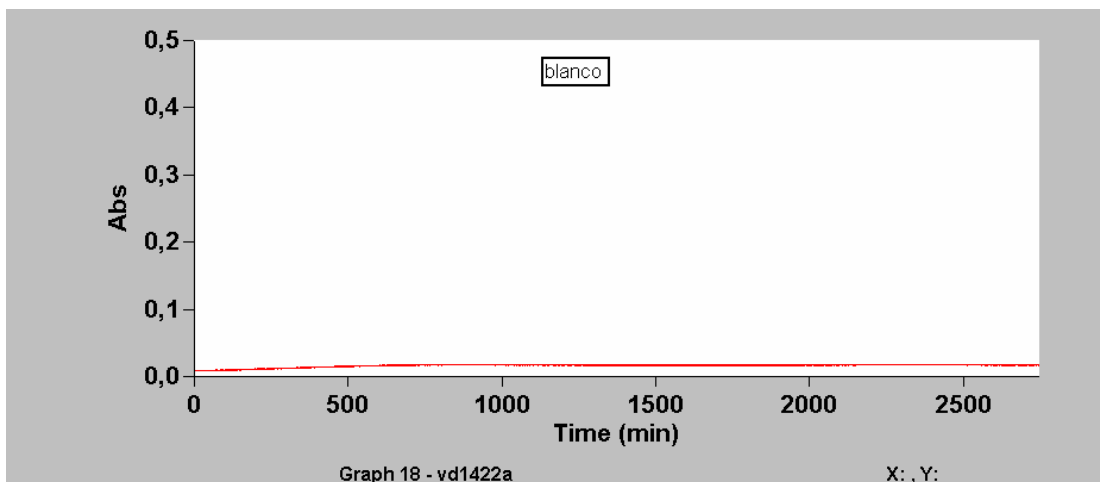
VII.6.1 Procedure

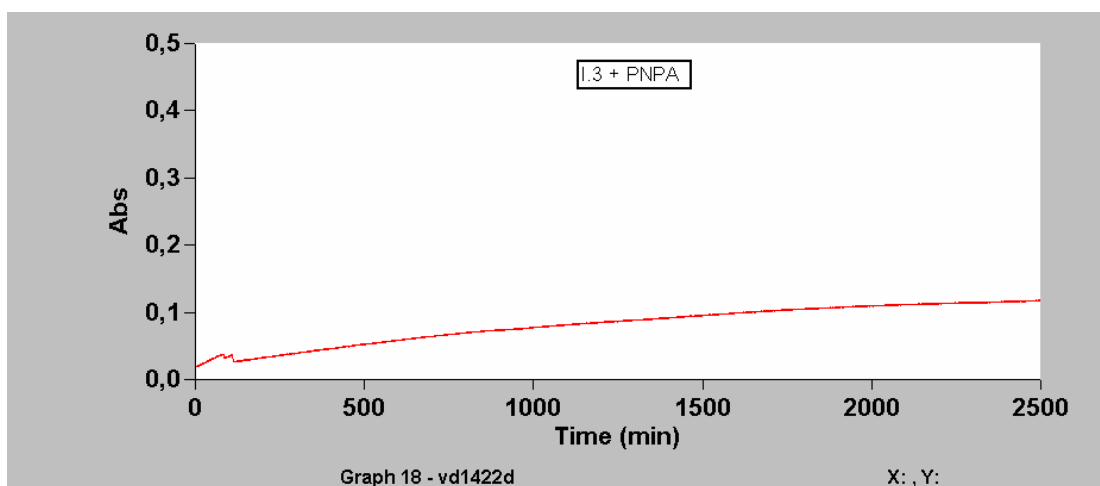
De reactie van **II.24** en **I.3** met de *p*-nitrofenylesters wordt spectrofotometrisch gevolgd. De ester en het amino-alcohol zijn in een 1:1-verhouding aanwezig in het reactiemengsel.

Stockoplossingen van de aminotriolen **II.24** en **I.3** en van *N,N*-dimethyl-2-*tert*-butylaminopropanol (AA) in 1,4-dioxaan (0.01695 M en 0.001695 M) worden bereid en bewaard in het donker. De concentratie van de stockoplossingen van de substraten, *p*-nitrofenylacetaat en *p*-nitrofenyltridecanoaat in 1,4-dioxaan bedraagt 0.006801 M en 0.006856 M respectievelijk. β -cyclodextrine wordt opgelost in water (concentratie: 0.001700 M), de concentratie van de stockoplossing van *per*-O-methyl- γ -cyclodextrine in 1,4-dioxaan bedraagt 0.001708 M. In een typisch experiment wordt 10 μl van de ester en 40 μl van het model gemengd in een 40% dioxaanoplossing in water. Er worden cuvetten met een totaal volume van 900 μl gebruikt. De temperatuur van 25°C in de cuvetten wordt gegarandeerd door een thermostaat. De reactiesnelheid wordt spectrofotometrisch gevolgd door het vormen van *p*-nitrofenolaat bij 400nm met een Cary 3E UV-Vis spectrofotometer uitgerust met een gethermostatiseerd multicelblok.

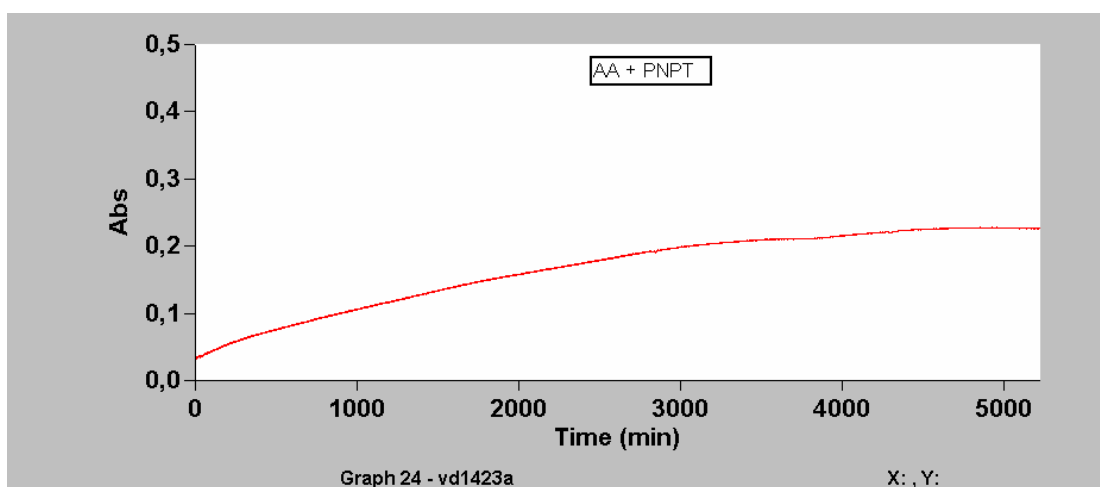
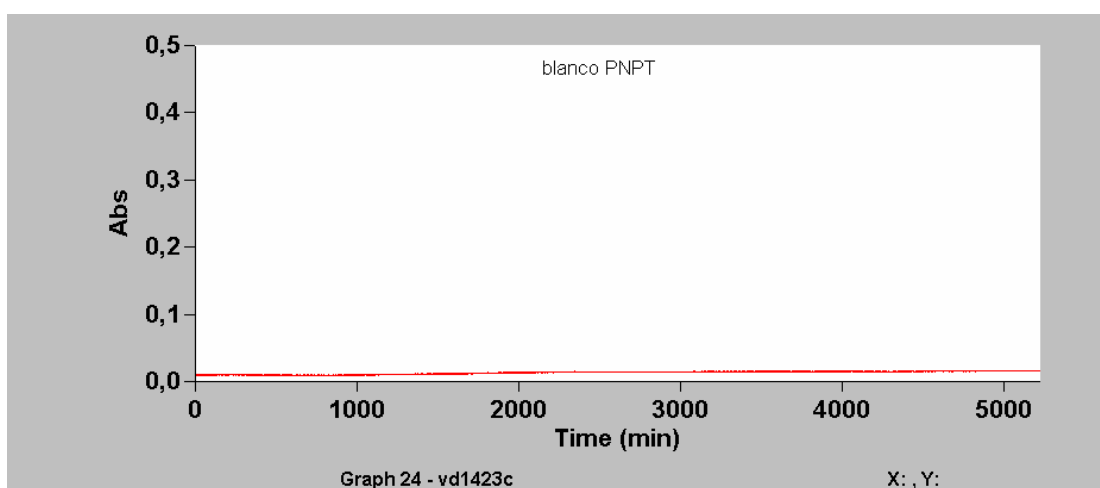
VII.6.2 Grafieken

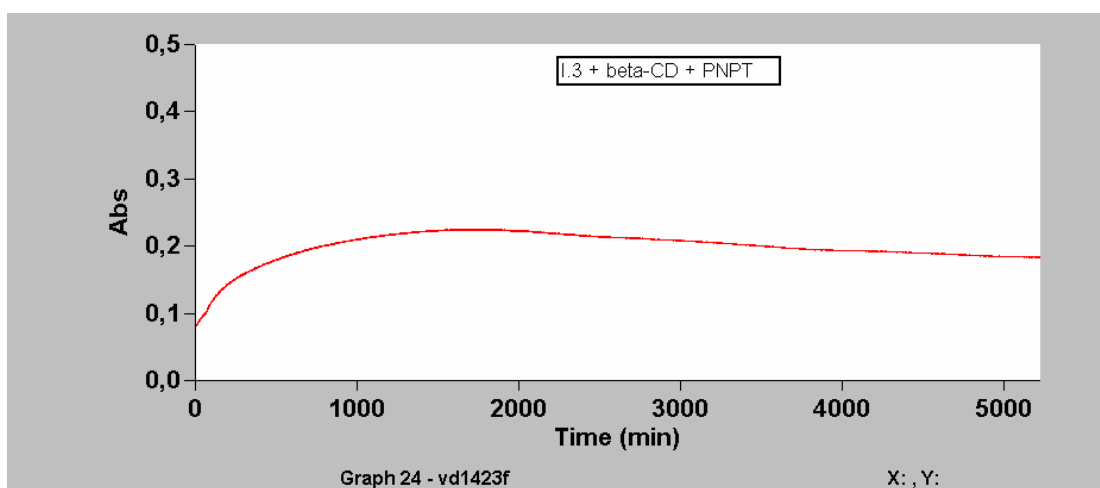
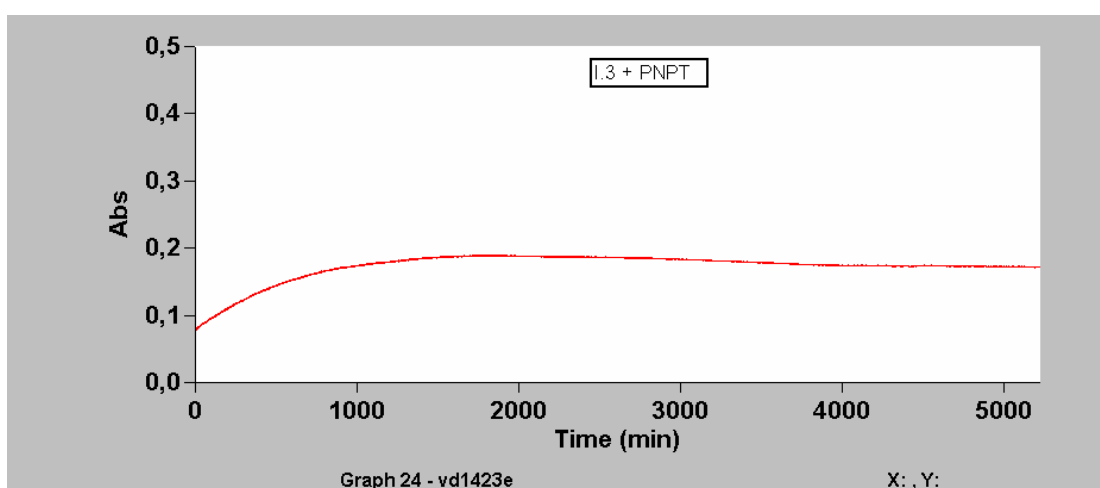
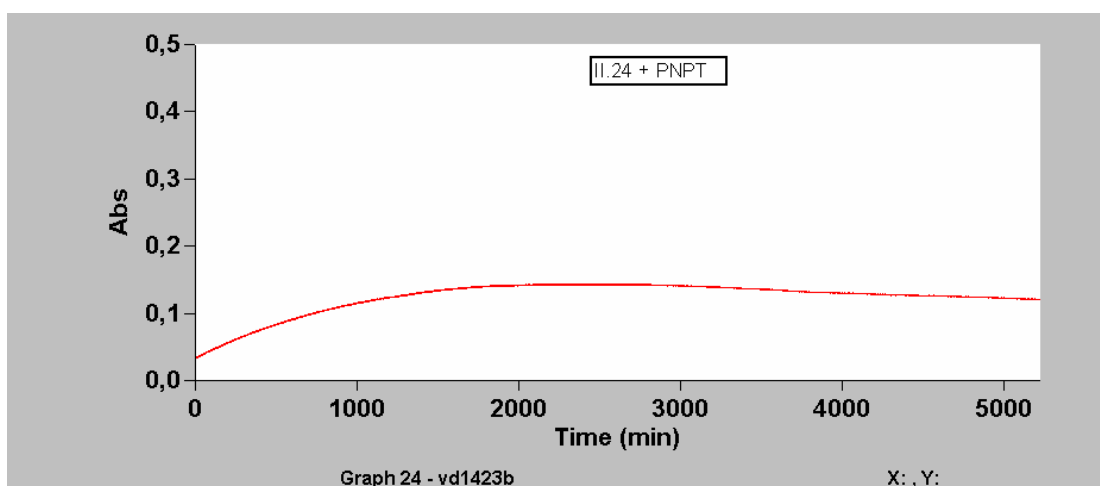
Reactie met *p*-nitrofenylacetaat:





Reactie met *p*-nitrofenyltridecanoat:





Full wavelenght scan voor de amino-alcoholen met 1 equivalent *p*-nitrofenol:

