

INSTYTUT CHEMII ORGANICZNEJ

Polska Akademia Nauk

ROZPRAWA DOKTORSKA

Nowa metoda syntezy Ezetymibu - selektywnego inhibitora
wchłaniania cholesterolu

mgr inż. Marcin Śniezek

A-21-6
K-c-127
K-d-134
K-c-129
K-c-125

*Praca przedstawiona Radzie Naukowej Instytutu Chemii Organicznej Polskiej
Akademii Nauk w celu uzyskania stopnia doktora nauk chemicznych*

Promotor: prof. dr hab. Marek Chmielewski

Warszawa 2012

41 107
Biblioteka Instytutu Chemii Organicznej PAN

O-B.339/13



90000000185403

<http://rcin.org.pl>



B. Org. 339/13

*Serdeczne podziękowania składam mojemu promotorowi Panu Profesorowi Markowi
Chmielewskiemu oraz Profesorowi Bartłomiejowi Furmanowi i Doktorowi Sebastianowi
Stecko za nieocenioną pomoc, oraz opiekę nad moją pracą.*

Badania były finansowane przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju -
Projekt INITECH -ZPB/51/64927/IT2/10

Oraz Część badań była finansowana
ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego i Budżetu Państwa w ramach
Zintegrowanego Programu Operacyjnego Rozwoju Regionalnego, Działania 2.6
„Regionalne Strategie Innowacyjne i transfer wiedzy” projektu własnego
Województwa Mazowieckiego „Mazowieckie Stypendium Doktoranckie”
oraz
ze środków Unii Europejskiej w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego i
krajowych środków publicznych - Poddziałanie 8.2.2 Programu Operacyjnego Kapitał
Ludzki 2007-2013 Projekt systemowy pn.
„Potencjał naukowy wsparciem dla gospodarki Mazowsza - stypendia dla doktorantów”



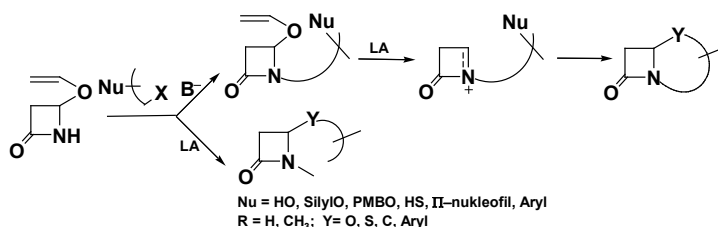
Spis treści	
1 Wstęp	9
2 Część literaturowa	14
2.1 β -Laktamy jako związki biologicznie aktywne - antybiotyki	14
2.2 Nowe właściwości biologiczne związków β -laktamowych	15
2.2.1 Właściwości przeciwgruźlicze związków β -laktamowych	15
2.2.2 Inhibitory aktywności trombiny	16
2.2.3 Inhibicja ludzkiej elastazy leukocytowej (HLE)	17
2.2.4 Działanie przeciw Cytomegalowirusowi (CMV, HCMV)	18
2.2.5 Przeciwnowotworowe właściwości	19
2.2.6 Aktywność przeciw osteoporozie	20
2.2.7 Właściwości przeciwgrzybiczne	20
3 Ezetymib - właściwości biologiczne, odkrycie i synteza	21
3.1 Cholesterol - podstawowe informacje	21
3.2 Wysokie stężenie cholesterolu we krwi	22
3.3 Ezetymib	24
3.4 Odkrycie struktury Ezetymibu	25
3.5.1 Kondensacja iminy z amidem lub estrem	28
3.5.2. Formowanie pierścienia β -laktamowego przy pomocy reakcji Kinugasy	36
3.5.3 Wprowadzenie podstawnika arylowego do atomu C4 azetydynonu drogą elektrofilowego alkilowania arenu	38
3.6 Ustalanie konfiguracji absolutnej N,4-diarylo-azetydynonów	40
4 Badania własne	43
4.1. Synteza (6R)-6-(4-fluorofenylo)-5,6-dihydro-2H-pirano-2-onu 57	45
4.2 Synteza nitronu	54
4.3 1,3-Dipolarna cykloaddycja	55
4.4 Synteza ezetymibu z izoksazolidyny 58	63
4.4.1 Synteza ezetymibu - metoda 1	63
4.4.1.1 Rozcięcie wiązania N-O w izoksazolinie 58	64
4.4.1.2 Usunięcie grupy hydroksylowej w aminoalkoholu 78	66
4.4.1.2 Epimeryzacja pozycji C6 w aminolaktonie 60. Synteza związku 61	71
4.4.1.4 Przegrupowanie aminolaktonu 61 do 2-azetydynonu 27	73
4.4.1.5 Odbezpieczenie grupy fenolowej grupy OH w związku 27	74
4.4.1.6 Podsumowanie syntezy ezetymibu metodą 1	75
4.4.2 Synteza ezetymibu - metoda 2	76
4.4.2.1 Przegrupowanie aminolaktolu 60 do 2-azetydynonu 62	77
4.4.2.2 Epimeryzacja pozycji benzylowej w łańcuchu bocznym związku 62	77
4.4.3 Synteza ezetymibu - metoda 3	78
4.4.3.1 Epimeryzacja izoksazolidyny 58	80
4.4.3.2 Rozcięcie wiązania N-O w izoksazolidynie 59	82
4.4.3.3 Usunięcie grupy hydroksylowej w związku 88	82
4.5 Weryfikacja doniesień literaturowych. Reakcja enolanu litowego z iminą	86
4.5.1 Modyfikacja szlaku syntetycznego nr 2	89
4.6 Synteza ezetymibu - podsumowanie, wybór metody, podwyższenie skali syntezy	91
4.7 Badania polimorfizmu ezetymibu uzysknego nowo opracowaną metodą	94
5 Podsumowanie	98
6 Część eksperymentalna	99

Wykaz stosowanych skrótów

Ac	Acetyl
Bn	Benzyl
BSA	N,O-bistrimetyloacetamid
CBS	Redukcja Corey-Bakshi-Shibata
CD	Dichroizm kołowy
DBU	1,8-Diazabicyklo[5.4.0]undec-7-en
DCM	Chlorek metylenu
d.e.	Nadmiar diastereomeryczny
DIBAL-H	Wodorek diisobutyloglinowy
DIAD	Azodikarboksylan diizopropylu
(-) DIP	Chloro[bis(2,6,6-trimetylobicyklo[3.1.1]hept-3-yl)]boran
DIPEA	Diizopropylodimetyloamina
DMAP	N,N'-Dimetyloaminopirydyna
DMF	Dimetyloformamid
DMPU	1,3-Dimetylotetrahydro-2-pirymidynon
e.e.	Nadmiar enancjomeryczny
EI	Jonizacja elektronowa
ESI	Jonizacja techniką elektrosprej
Et	Etyl
HR MS	Wysokorozdzielcza spektrometria mas
IR	Spektroskopia w podczerwieni
Im	Imidazol
LDA	Diizopropylodimetyloamdek litowy
L-Selectride	tri-(sec-butylo)-borowodorek litu
Me	Metyl
MS	Spektrometria mas
MTBE	Eter <i>t</i> -butylometylowy
NaHMDS	Heksametylodisilazan sodu
NMR	Spektroskopia magnetycznego rezonansu jądrowego
NOE	Jądrowy efekt Overhausera
PCC	Chlorochromian pirydyny
PDC	Dichromian pirydyniowy
Ph	Fenyl
<i>i</i> -Pr	<i>i</i> -Propyl
Py	Pirydyna
(<i>R</i>)-BINOLU	(<i>R</i>)-1,1'-Binaftaleno-2,2'-diol
<i>rac</i>	Racemiczny
RaNi	Nikiel Raney'a
TBAF	Fluorek tetrabutylamoniowy
Tf	Tryflan (trifluorometylosulfonyl)
THF	Tetrahydrofuran
TLC	Chromatografia cienkowarstwowa
TMS	Trimetylosili
(<i>R</i>)-TolBINAP	(<i>R</i>)-1,1'-Binaftyleno-2,2'-diolo[bis(4-metylofenylo)fosfan]
t.p.	Temperatura pokojowa
t.t.	Temperatura topnienia
t.w.	Temperatura wrzenia
Wyd.	Wydajność chemiczna

Kierunki badawcze wykorzystujące nienasycone δ -laktony cukrowe, pomimo interesujących wyników, nie otwierały wówczas ciekawych perspektyw w syntezie β -laktamów i po kilku latach zdecydowano o ich wygaszeniu. Trzeci kierunek badań rozwinął się wkrótce w główną tematykę zespołu umożliwiając stereokontrolowaną syntezę podstawowego szkieletu klawamu i 5-oksacefamu drogą [2+2]-cykloaddycji izocyjanianów do eterów winylowych, a następnie wewnątrzcząsteczkowego alkirowania atomu azotu.³

W połowie lat dziewięćdziesiątych dr Zbigniew Kałuża⁴ zaproponował 4-winyloksy-azetydynon, otrzymywany na drodze [2+2]-cykloaddycji, jako nowy substrat w syntezie 5-oksacefamów. Związek ten oferuje alternatywny sposób tworzenia, skondensowanego z β -laktamem, sześcioczłonowego pierścienia oksazyny. Polega on na wewnątrzcząsteczkowej wymianie nukleofilowej przy atomie C-4 azetydynonu, która przebiega przez kation acyloiminiowy. Katalizowana kwasem Lewisa wymiana nukleofilowa umożliwia reakcję kationu acyloiminiowego nie tylko z alkoholami i fenolami,⁵ ale również z π -nukleofilami otwierając drogę do karbacefamów, lub 4-arylo-azetydynonów (Rys. 2).⁶



Rysunek 2

⁴ a) Z. Kałuża, H.-S Park, *Synlett.*, **1996**, 895; Z. Kałuża, *Tetrahedron Lett.*, **1998**, *39*, 8349; b) Z. Kałuża, R. Łysek, *Tetrahedron: Asymmetry*, **1997**, *8*, 2553; c) Z. Kałuża, *Tetrahedron Lett.*, **1999**, *40*, 1025.

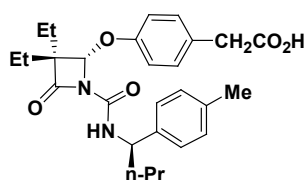
⁵ a) B. Furman, R. Thürmer, Z. Kałuża, R. Łysek, W. Voelter, M. Chmielewski, *Angew. Chem., Int. Ed.*, **1999**, *38*, 1121; b) B. Furman, Z. Kałuża, P. Krajewski, M. Chmielewski, *Tetrahedron*, **2000**, *56*, 5553; c) K. Borsuk, A. Kazimierski, J. Solecka, Z. Urbańczyk-Lipkowska, M. Chmielewski, *Carbohydr. Res.*, **2002**, *337*, 2005; d) Z. Kałuża, A. Kazimierski, K. Lewandowski, K. Suwińska, B. Szczęśna, M. Chmielewski, *Tetrahedron*, **2003**, *59*, 5893; e) A. Jałmużna, J. Frelek, M. Woźnica, B. Furman, M. Chmielewski, *Eur. J. Org. Chem.*, **2009**, 38.

⁶ a) B. Zambroń, M. Masnyk, B. Furman, M. Chmielewski, *Tetrahedron*, **2009**, *65*, 4440. b) B. Zambroń, M. Masnyk, B. Furman, M. Chmielewski *Tetrahedron*, **2010**, *66*, 8974; c) B. Grzeszczyk, B. Szechner, B. Furman, M. Chmielewski, *Tetrahedron*, **2010**, *66*, 3904.

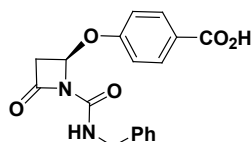
Ostatnie dwadzieścia lat to odkrycie, dotychczas nieznanych, właściwości terapeutycznych związków zawierających pierścień β -laktamu (Rys. 3).⁷ Wśród tych nowych związków, szczególnie licznie reprezentowane są *N*,4-diarylo podstawione azetydynony. Uwagę naszego zespołu zwrócił 1,4-diaryloazetydynon o nazwie handlowej ezetymib, będący silnym inhibitorem absorpcji cholesterolu.⁸ To zainteresowanie przełożyło się na poszukiwanie strategii, która wykorzystywałaby opracowaną w zespole metodologię do syntezy ezetymibu i związków pokrewnych. Szczególnie możliwość elektrofilowego alkilowania nukleofilowych arenów działaniem jonów acyloiminiowych generowanych z pochodnych 4-winyloksy-azetydynonu wydawała się atrakcyjna, ponieważ pozwoliłaby wprowadzić podstawnik aryłowy w miejsce winyloksylu tworząc istotny fragment leku. Udało się opracować warunki alkilowania odpowiednich nukleofilowych arenów, jednocześnie sama metodologia okazała się zbyt skomplikowana, aby zaoferować rozwiązanie atrakcyjne z punktu widzenia technologicznego (patrz część literaturowa pracy).

⁷ G. Veinberg, M. Vorona, I. Shestakova, I. Kanepa, E. Lukevics, *Current Medicinal Chemistry*, **2003**, *10*, 1741.

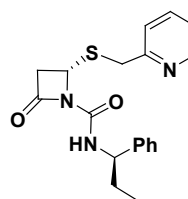
⁸ S. B. Rosenblum, T. Huynh, A. Afonso, H. R. Davis Jr., N. Yumibe, J. W. Clader, D. A. Burnett, *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 973.



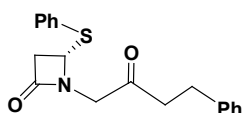
inhibitor
human leukocyte elastase



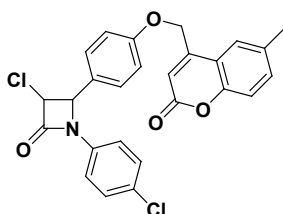
przeciwvirusowy



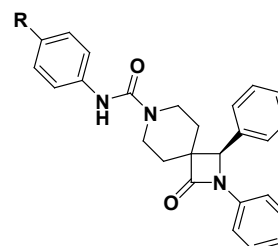
przeciwvirusowy



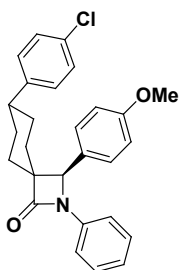
inhibitor LpPLA₂



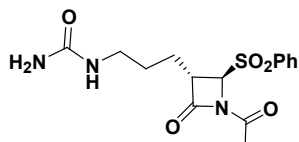
przeciwgrzybiczy



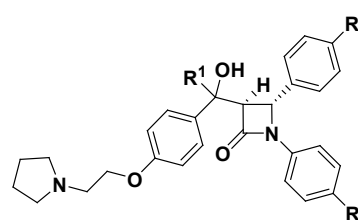
przeciwbólowy



inhibitor wchłaniania
cholesterolu

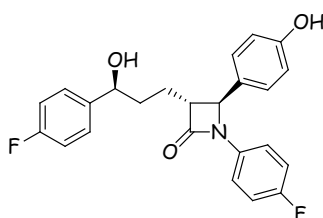


inhibitor aktywności
trombiny



przecinowotworowy

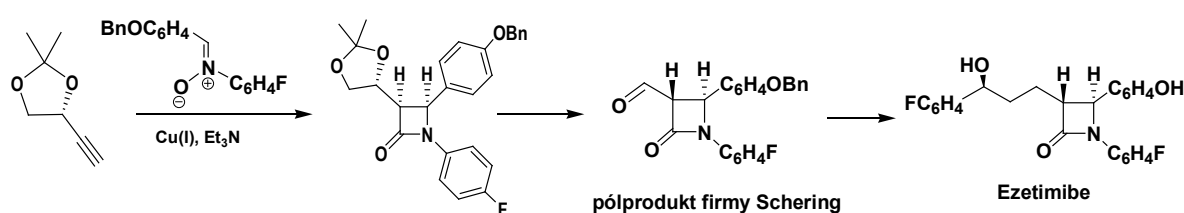
Rysunek 3



Ezetymib

Po uzyskaniu wspólnie z firmą ADAMED Sp. z o.o. grantu INITECH na opracowanie nowej metody syntezy ezetymibu prace nad oryginalną strategią otrzymywania tego leku nabrały rozpędu. Atrakcyjny sposób syntezy ezetymibu oraz innych *N*,4-diarylo-azetydynonów umożliwiła badana już w zespole tzw. reakcja Kinugasy, która polega na katalizowanej jonami Cu(I) kaskadzie transformacji

cykloaddycja/przegrupowanie terminalnych acetylenów z nitronami.⁹ Spodziewano się, że acetylen generowany z izopropenylowej pochodnej aldehydu glicerynowego i diarylowy nitron otrzymany z aldehydu *p*-benzyloksy-benzoowego i *p*-fluorofenylhydroksyloaminy umożliwią uzyskanie kluczowego półproduktu w syntezie ezetymibu, którego przemiana w gotowy lek została już opisana przez firmę Schering-Plough (Rys. 4).¹⁰ Pomimo sukcesu w syntezie aldehydu opracowanego przez Schering-Plough (patrz część literaturowa pracy), dalsze jego przemiany opisane w patencie i publikacji okazały się nie do powtórzenia.



Rysunek 4

W tej sytuacji po dwudziestu pięciu latach postanowiono powrócić do syntezy *N*,4-diarylowych β-laktamów drogą cykloaddycji nitronów do nienasyconych δ-laktonów (Schemat 1b). Materiałem wyjściowym w syntezie był (*R*) 6-*p*-fluorofenyl-5,6-dihydro-2*H*-piron i *C*-*p*-benzyloksyfenyl-*N*-*p*-fluorofenyl nitron. Tak zaplanowana stereokontrolowana synteza ezetymibu stała się przedmiotem mojej rozprawy doktorskiej. W wyniku przeprowadzonych eksperymentów wybrałem optymalną drogę syntezy, która naszym zdaniem jest najefektywniejszą znaną metodą syntezy tego leku.

⁹ a) S. Stecko, A. Mames, B. Furman, M. Chmielewski, *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 7402; b) S. Stecko, A. Mames, B. Furman, M. Chmielewski, *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 3094; c) A. Mames, S. Stecko, P. Mikołajczyk, M. Soluch, B. Furman, M. Chmielewski, *J. Org. Chem.*, **2010**, *75*, 7580; d) S. Stecko, M. Michalak, M. Stodulski, A. Mames, I. Panfil, M. Soluch, B. Furman, M. Chmielewski, *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 6931; e) M. Michalak, M. Stodulski, S. Stecko, M. Woźnica, O. Staszewska-Krajewska, P. Kalicki, B. Furman, J. Frelek, M. Chmielewski, *Tetrahedron*, **67**, (2012), DOI: 10.1016/j.tet.2011.11.007

¹⁰ G. Wu, Y. S. Wong, X. Chen, Z. Ding, *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 3714.

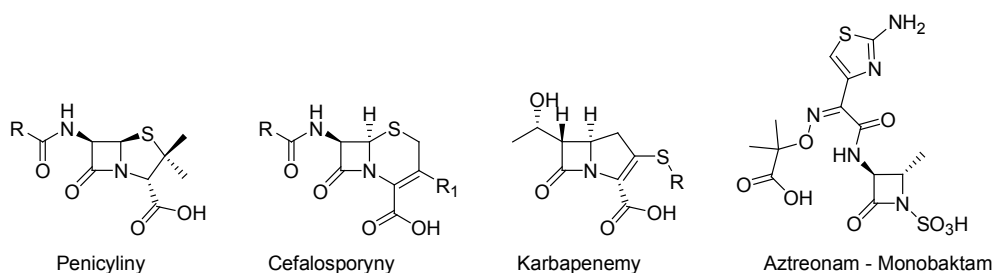


2 Część literaturowa

2.1 β -Laktamy jako związki biologicznie aktywne - antybiotyki

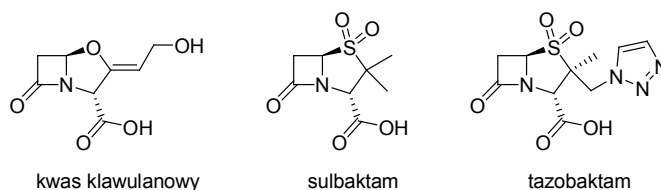
Oczywiście prawie każdy kojarzy β -laktamy z antybiotykami, a w szczególności z penicyliną odkrytą w 1928 r. przez A. Fleminga, wyizolowaną po raz pierwszy w 1939 r. przez H. W. Florey i E. B. Chain. Wszyscy trzej panowie dostali za swoje odkrycie nagrodę Nobla w 1945 r.¹¹ Mechanizm dziania antybiotyków β -laktamowych polega na otwarciu pierścienia 2-azetydynonu przez grupę hydroksylową seryny znajdującej się w miejscu aktywnym enzymu. W ten sposób szlak biosyntezy ściany komórkowej bakterii zostaje zaburzony.

Istnieje obecnie wiele rodzajów antybiotyków β -laktamowych. Najszerszej rozpowszechnionymi są penicyliny i cefalosporyny. W latach siedemdziesiątych ubiegłego wieku odkryto kilka nowych antybiotyków z grupy β -laktamów takich jak: karbapenemy i monobaktamy, których ogólne wzory są przedstawione na rysunku 2.1.



Rysunek 2.1

Z antybiotykami β -laktamowymi powiązane są inhibitory beta-laktamaz przedstawione na rysunku 2.2. Związki te nie posiadają własności antybiotycznych lecz łączą się nieodwracalnie z enzymem odpowiedzialnym za degradację aktywnego antybiotyku β -laktamowego.



Rysunek 2.2

¹¹ http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1945/index.html

Najpopularniejszym ze znanych inhibitorów jest kwas klawulanowy, który jako jedyny występuje w przyrodzie, do mniej znanych należy zaliczyć syntetycznie otrzymane sulbaktam oraz tazobaktam.¹² Wszystkie inhibitory mają budowę zbliżoną do antybiotyków β -laktamowych.

2.2 Nowe właściwości biologiczne związków β -laktamowych

Głównym mechanizmem działania związków zawierających w swojej budowie pierścień β -laktamowy jest acylowanie grupy hydroksylowej seryny w miejscu aktywnym enzymu. Ponieważ istnieje bardzo dużo enzymów, w których grupa hydroksylowa z seryny odgrywa kluczową rolę w miejscu aktywnym enzymu, związki zawierające w swojej budowie 2-azetydenony wydają się idealnym kandydatem do blokady takich enzymów, a tym samym powinny wykazywać aktywność biologiczną hamując procesy katalizowane przez ten enzym. Oczywiście duża ilość enzymów niesie za sobą konieczność opracowania bardzo selektywnych blokerów. Od wczesnych lat 90 dwudziestego wieku obserwuje się wykorzystanie związków zawierających pierścień β -laktamu w badaniach nad różnymi schorzeniami trapiącymi ludzkość. Ezetymib, selektywny inhibitor absorpcji cholesterolu jest najbardziej znanym związkiem, który reprezentują ten trend.

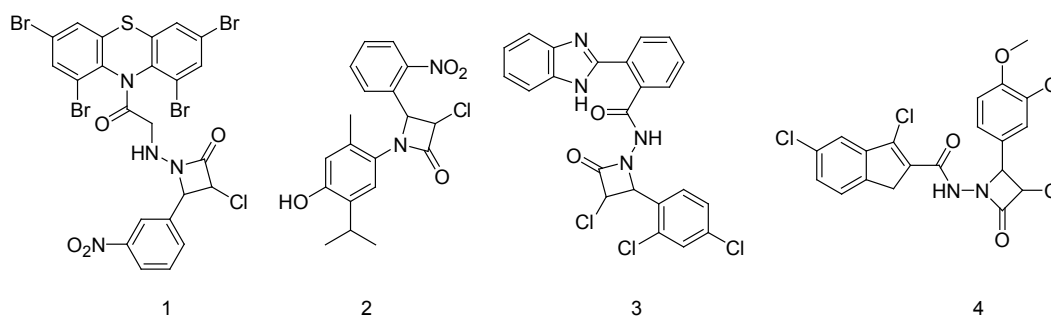
2.2.1 Właściwości przeciwgruźlicze związków β -laktamowych

Jednym z większych zagrożeń z jakim mogą spotkać się przyszłe pokolenia jest epidemia lekoopornej gruźlicy. Ponieważ do leczenia chorych na gruźlicę wykorzystujemy od razu cztery z ośmiu dostępnych obecnie leków aktywnych przeciw prątkowi gruźlicy, obserwuje się bardzo szybko narastającą lekooporność. Prątki gruźlicy należą do grupy bakterii słabo gram-dodatnich, więc żaden z klasycznych antybiotyków β -laktamowych nie wykazuje pożądanej aktywności.

W 1993 roku przedstawiono pierwszą pracę, w której związek posiadający w swojej budowie 2-azetydynon i podstawniki arylowe przy atomach azotu i węgla C-4

¹² W. Kostowski i Z. S. Herman: Farmakologia. Wyd. III. T. 2. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, 2010

wykazywał działanie przeciwgruźlicze.¹³ W następnych latach ukazały się kolejne prace w których wykazywano podobną, lub większą aktywność związków β -laktamowych (rysunek 2.3).¹⁴ Są to dopiero wstępne prace i żaden z tych związków nie jest jeszcze na etapie badań klinicznych, co może być powodem braku pełnej informacji o konfiguracji absolutnej badanych związków, pomimo istnienia dwóch centrów stereogenicznych w pierścieniu azetydynonu.



Rysunek 2.3

2.2.2 Inhibitory aktywności trombiny

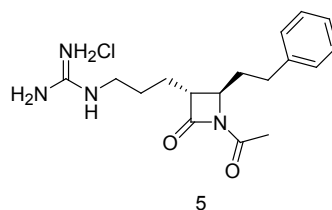
Trombina jest białkiem odpowiedzialnym za proces krzepnięcia krwi. Mechanizm jej działania polega na przekształceniu rozpuszczalnego fibrynogenu w nierozpuszczalne fibryny. Wysoka aktywność białka ma zasadnicze znaczenie przy powstawaniu skrzepów krwi w naczyniach krwionośnych.

W 1995 roku ukazała się praca, w której zaprezentowano w testach *in vitro* inhibujące właściwości związków β -laktamowych z resztą guanidynową.¹⁵ Najwyższą aktywność w funkcji czasu wykazał związek z *N*-acetylowany przedstawiony na rysunku 2.4. Konfiguracja *trans* w pierścieniu 2-azetydenonu okazała się istotna dla aktywności związku.

¹³ P. B. Trivedi, N. K. Undaviya, A. M. Dave, K. N. Bhatt, N. C. Desai, *Ind. J. Chem.* **1993**, 32B, 760.

¹⁴ a) B. S. Vashi, D. S. Mehta, V. H. Shah, *Ind. J. Chem.* **1995**, 34B, 802; b) P. Kagathara, T. Upadhyay, R. Doshi, H. H. Parekh, *Indian J. Heterocyclic Chem.* **2000**, 10, 9; c) K. M. Thakre, V. V. Kachhadia, H. S. Joshi, *Ind. J. Chem.* **2003**, 42B, 1544.

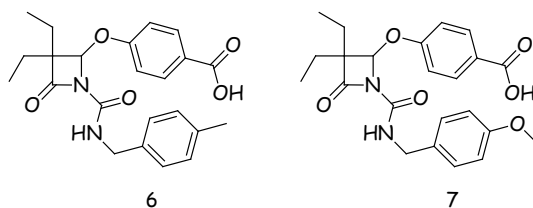
¹⁵ W. T. Han, A. K. Trehan, J. J. K. Wright, M. E. Federici, S. M. Seiler, N. A. Meanwell, *Bioorg. Med. Chem.* **1995**, 3, 1123.



Rysunek 2.4

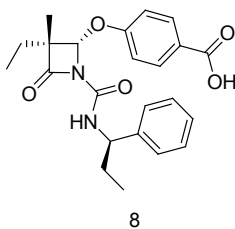
2.2.3 Inhibicja ludzkiej elastazy leukocytowej (HLE)

Zaburzenia aktywności ludzkiej elastazy leukocytowej są związane z takimi chorobami jak: rozedma płuc, miażdżyca i reumatoidalne zapalenie stawów. Na początku lat 90 ukazała się publikacja w której zaprezentowano dwa związki wykazujące znaczącą aktywność w testach *in vitro* i *in vivo* przeprowadzonych na chomikach z krwotokiem płucnym (rysunek 2.5).¹⁶ Są to pierwsze znane związki inhibujące elastazę leukocytową podawane doustnie.



Rysunek 2.5

Dalsze prace nad zależnością pomiędzy strukturą i aktywnością doprowadziły do odkrycia nowego związku (Rysunek 2.6), oraz do ustalenia modelu inhibitora HLE.¹⁷

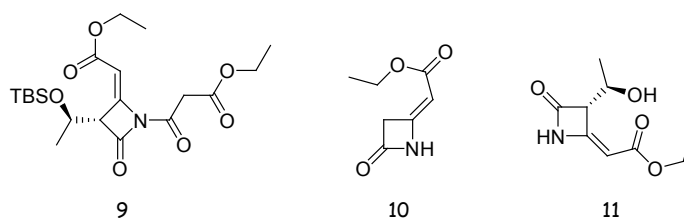


Rysunek 2.6

¹⁶S. K. Shah, C. P. Dorn Jr., P. E. Finke, J. J. Hale, W. K. Hagmann, K. A. Brause, G. O. Chandler, A. L. Kissinger, B. M. Ashe, H. Weston, W. B. Knight, A. Maycock, P. S. Dellea, D. S. Fletcher, K. M. Hand, R. A. Mumford, D. J. Underwood, J. B. Doherty, *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 3145.

¹⁷P. E. Finke, S. K. Shah, D. S. Fletcher, B. M. Ashe, K. A. Brause, G. O. Chandler, P. S. Dellea, K. M. Hand, A. L. Maycock, D. G. Osinga, D. J. Underwood, H. Weston, P. Davies, J. B. Doherty, *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 2449.

W 2003 roku ukazała się praca w której zaprezentowano ciekawe związki posiadające w swojej budowie podstawniki alkalidenowe w pozycji C4 pierścienia β -laktamowego (rysunek 2.7).¹⁸ Wszystkie związki wykazywały wysoką selektywność do elastazy, co było tłumaczone obecnością podstawnika alkalidenowego. Dodatkowo związki te nie wykazywały cytotoksyczności w testach przeprowadzonych na mysich fibroblastach. Jest to pierwszy przykład związków β -laktamowych inhibujących metalo-proteinazę w inwazji nowotworowej i angiogenezie. Związki te są dobrymi kandydatami do prototypowych leków wykazujących właściwości antybiotyczne, przeciwzapalne i anty-inwazyjne.



Rysunek 2.7

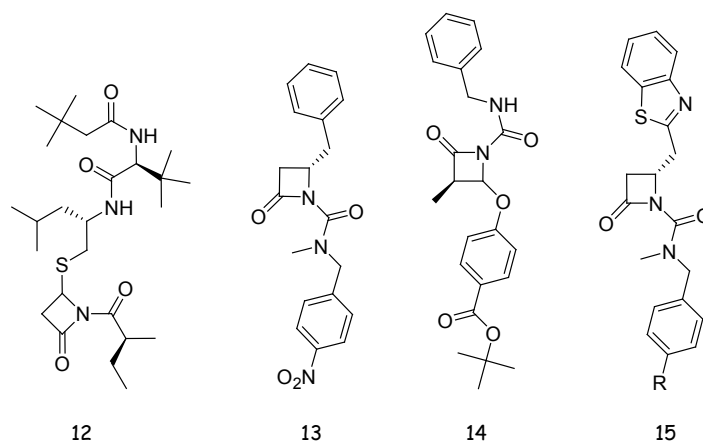
2.2.4 Działanie przeciw Cytomegalowirusowi (CMV, HCMV)

Cytomegalowirus nie jest wyjątkowo groźnym patogenem, z tego powodu zakażenie u większości ludzi nie przedstawia problemu. Jednak dla osób po transplantacji narządów, płodów i noworodków, lub też zarażonych wirusem HIV może stanowić duże zagrożenie. Atakuje on głównie gruczoły ślinowe, prowadząc do przewlekłego bólu gardła. Do tej pory nie ma dobrego leku zwalczającego ten rodzaj wirusa.

W latach 1998 i 1999 ukazały się 4 prace w których wykazano aktywność związków zawierających pierścień 2-azetydenonu względem cytomegalowirusa (rysunek 2.8).¹⁹

¹⁸ G. Cainelli, P. Galletti, S. Garbisa, D. Giacomini, L. Sartorb, A. Quintavallaa, *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, *11*, 5391.

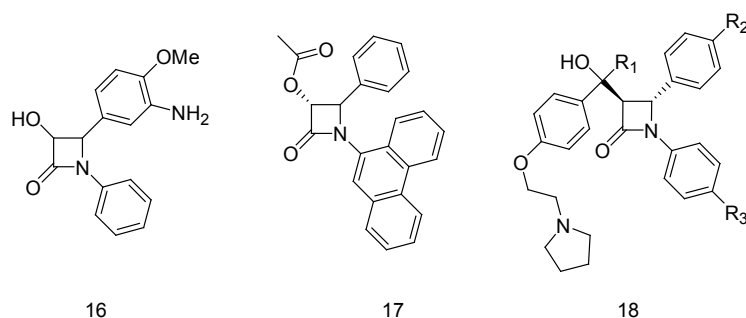
¹⁹ a) R. Deziel, E. Malenfant, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, *8*, 1437; b) C. Yoakim, W. W. Ogilvie, D. R. Cameron, C. Chabot, I. Guse, B. Hache, J. Naud, J. A. O'Meara, R. Plante, R. Deziel, *J. Med. Chem.* **41**, **1998**, 2882; c) A. D. Borthwick, G. Weingarten, T. M. Haley, M. Tomaszewski, W. Wang, Z. Hu, J. Bedard, H. Jin, L. Yuen, T. S. Mansour, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, *8*, 365; d) W. W. Ogilvie, C. Yoakim, F. Do, B. Hache, L. Lagace, J. Naud, J. A. O'Meara, R. Deziel, *Bioorg. Med. Chem.* **1999**, *7*, 1521



Rysunek 2.8

2.2.5 Przeciwnowotworowe właściwości

Nie trzeba chyba nikomu mówić jak wiele osób cierpi na skutek chorób nowotworowych. Głównym problemem w leczeniu nowotworów jest ich bardzo duża różnorodność, co sprawia, iż bardzo trudno o jeden uniwersalny lek. Oczywiście istniejące liczne i skuteczne metody walki z nowotworami takie jak radioterapia, ingerencje chirurgiczne czy chemioterapia, są one jednak ogromnym obciążeniem dla organizmu osoby chorej. Na całym świecie angażowane są potężne środki finansowe w poszukiwaniu selektywnych leków przeciwnowotworowych, które hamują wzrost określonego typu komórek nowotworach, a równocześnie nie mają istotnego wpływu na zdrowe komórki. Jednym z przykładów takich związków są *N*,4-diarylo β -laktamy przedstawione na rysunku 2.9.²⁰



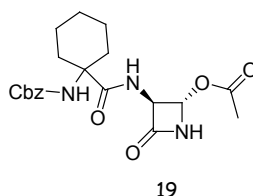
Rysunek 2.9

²⁰ a) L. Shun, N. I. Vasilevich, J. A. Fuselier, S. J. Hocart, D. H. Coy, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *12*, 2041; b) I. Banik, F. F. Becker, B. K. Banik, *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 12; c) M. J. Meegan, M. Carr, A. J. Knox, D. M. Zisterer, D. G. Liloyd, *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2008**, *23*, 668.

2.2.6 Aktywność przeciw osteoporozie

Osteoporoza jest chorobą, która atakuje kości osób starszych. Zwykle objawia się ona zmniejszeniem gęstości masy kostnej i tym samym osłabieniem kości, a co z tym związane większą podatnością na złamania. Do tej pory nie jest znana przyczyna tej choroby. Głównym podejrzanym jest „cathepsin K”, który odpowiada za kwasowe środowisko powodujące demineralizację kości. W roku 2003 opublikowano pracę, w której związek posiadający w swojej strukturze 2-azetydynon z niezabezpieczonym β -laktamowym atomem azotu wykazywał wysoką selektywność i aktywność (rysunek 2.10).

²¹ Podane dane wskazują, iż związek wiąże się odwracalnie z receptorem.



Rysunek 2.10

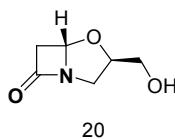
2.2.7 Właściwości przeciwgrzybiczne

Interesującym przykładem aktywności 2-azetydynonów jest aktywność przeciwgrzybicza. Wydaje się to dziwne, ponieważ pierwsze antybiotyki były uzyskiwane z grzybów, które są nieszkodliwe dla człowieka. W naturze występują jednak także grzyby, które prowadzą do różnych schorzeń. Znaną od połowy lat osiemdziesiątych grupą przeciwgrzybiczych antybiotyków β -laktamowych są klawamy, które mają konfigurację (*S*) mostkowego atomu węgla.²² Metodologia syntezy takich związków była przedmiotem badań naszego zespołu. Klawam **20** (Rys 2.11) został

²¹ a) E. L. Setti, D. Davis, T. Chung, J. McCartery, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 2051; b) E. L. Setti, D. Davis, D. A. Jeffery, H. Cheung, W. Yu, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 1529.

²² a) D. B. Brown, J. R. Evans, R. A. Fletton, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1979**, 282; b) M. Wanning, H. Zahner, B. Krone, A. Zeeck, *Tetrahedron Lett.* **1981**, *22*, 2539; c) D. L. Pruess, M. Kellett, *J. Antibiot.* **1983**, *36*, 208; d) R. H. Evans Jr., H. Ax, A. Jacoby, T. H. Williams, E. Jenkins, J. P. Scanneli, *J. Antibiot.* **1983**, *36*, 213; e) H. D. King, J. Langhärig, J. J. Sanglier, *J. Antibiot.* **1986**, *39*, 510; f) H.V. Naegeri, H.R. Loosli, A. Nussbaumer, *J. Antibiot.* **1986**, *39*, 516.

otrzymany i poddany ocenie właściwości przeciwgrzybiczych, wykazując umiarkowaną aktywność.²³



Rysunek 2.11

3 Ezetymib – właściwości biologiczne, odkrycie i synteza

Do lat 90-tych dwudziestego wieku większość wysiłków w poszukiwaniu i syntezie nowych związków β -laktamowych była skierowana na otrzymywanie preparatów o aktywności antybakteryjnej. Dopiero w latach 90 dwudziestego wieku większą uwagę poświęcono innym właściwościom biologicznym 2-azetydynonów. Sztandarowym przykładem takich badań jest ezetymib, silny i selektywny inhibitor wchłaniania cholesterolu, który nie posiada właściwości bakteriobójczych. Sukces osiągnięty przez firmę Schering z ezetymibem spowodował duże zainteresowanie różnych grup badawczych innymi właściwościami β -laktamów.

3.1 Cholesterol – podstawowe informacje

Cholesterol jest lipidem z grupy steroli, powszechnie znany jako główny składnik kamieni żółciowych i jako substancja odkładająca się na ściankach tętnic. Większość ludzi ma negatywne skojarzenia z cholesterollem, który obwiniany jest za choroby układu krążenia, w szczególności zmiany miażdżycowe oraz kamieć żółciową i otyłość. Wynika to z nagłaśniania tylko złego wpływu cholesterolu na organizm, a dokładnie podwyższonego stężenia tego sterolu w osoczu krwi. Mało mówi się natomiast o ważnych funkcjach biologicznych tego lipidu w organizmie takich jak: zachowanie odpowiedniej kondycji zakończeń nerwowych, ochrona mięśnia sercowego, czy usuwanie nadmiaru złogów tłuszczowych z naczyń krwionośnych. Dodatkowo stanowi on substrat do syntezy w organizmie wielu ważnych biologicznie czynnych

²³ a) M. Cierpucha, I. Panfil, Tong Thanh Danh, M. Chmielewski, W. Kurzątkowski, A. Rajnisz, J. Solecka, *J. Antibiot.* 2007, **60**, 622; b) Z. Kałuża, B. Furman, M. Chmielewski, *Tetrahedron: Asymmetry*, **1995**, *6*, 1719.

cząsteczek takich jak: hormony płciowe, kortykosteroidy, witamina D3 i jej metabolity, glikozydy nasercowe, sitosterole, niektóre alkaloidy, kwasy żółciowe.

We krwi wyróżniamy dwa rodzaje związków zawierających cholesterol, niskiej gęstości lipoproteiny (LDL) zwane złym cholesterolem oraz wysokiej gęstości lipoproteiny (HDL). Lipoproteiny są skomplikowanymi polipeptydami, które zawierają cholesterol wolny i w formie zestryfikowanej w wyniku działania acylotransferazy cholesterolowej.²⁴ Wedle ogólnie przyjętych norm, stężenie całkowitego cholesterolu we krwi powinno wynosić poniżej 200 mg/dl. Stężenie „dobrego cholesterolu” (HDL) powinno mieścić się w przedziale 35-80 mg/dl, natomiast „złego cholesterolu” (LDL) poniżej 135 mg/dl. Ogólnie uważa się, że dopiero przekroczenie prawidłowego poziomu całkowitego cholesterolu lub LDL jest szkodliwe dla zdrowia. Większość ludzi nie zdaje sobie sprawy z faktu, że przy normalnym odżywianiu tylko 40% cholesterolu w organizmie ma pochodzenie egzogenne, czyli pochodzi z pokarmu, a 60% jest pochodzenia endogenne, czyli zostało wytworzone w przez organizm, głównie przez wątrobę. Za wytwarzanie cholesterolu w wątrobie opowiada złożony szlak metaboliczny w którym kluczową rolę odgrywa reduktaza 3-hydrokso-3-metylo-glutarylo-koenzymu A (HMG-CoA).

3.2 Wysokie stężenie cholesterolu we krwi

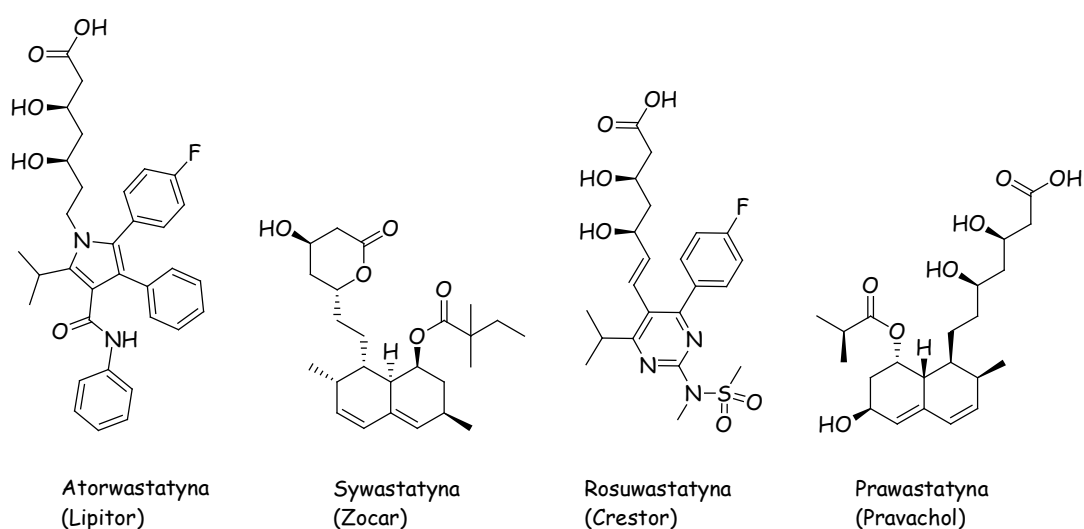
Za wzrost stężenia cholesterolu we krwi winny jest przeważnie zły sposób odżywiania (spożywanie dużej ilości tłuszczów zwierzęcych), dodatkowo siedzący tryb życia i mała aktywność fizyczna. Wzrost stężenia tego sterolu we krwi jest zatem związany z rozwojem naszej cywilizacji. Uważa się, że w przyszłości na tzw. choroby cywilizacyjne będzie chorować coraz więcej osób.

Obecnie różne farmaceutyki pozwalające obniżyć stężenie cholesterolu we krwi zapewniają łącznie sprzedaż na sumę około 30 miliardów dolarów amerykańskich (2006 r.) z silną tendencją do wzrostu.²⁵ Obrazuje to jak wiele ludzi ma problemy z wysokim stężeniem cholesterolu we krwi.

²⁴ E. Bańkowski, Biochemia. Wrocław: Wydawnictwo Medyczne Urban&Partner, 2005.

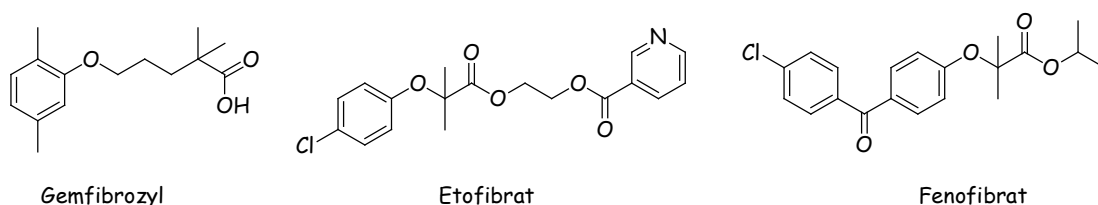
²⁵ http://en.wikipedia.org/wiki/List_of_bestselling_drugs

Istnieją dwie główne metody w terapii hipolipemicznej. Pierwsza, polega na blokowaniu syntezy endogennego cholesterolu w wątrobie przez stosowanie statyn jako wybiórczych, kompetycyjnych i odwracalnych inhibitorów reduktazy 3-hydroksy-3-metylo-glutarylo-koenzymu A (HMG-CoA). Od prawie 20 lat statyny z powodzeniem są używane do obniżenia stężenia poziomu cholesterolu. Statyny będące substancjami aktywnymi najbardziej popularnych leków są przedstawione poniżej (Rys. 3.1). Należy wspomnieć, że Lipitor® produkowany przez firmę Pfizer jest najlepiej sprzedającym się lekiem na świecie, ze sprzedażą wynoszącą 14,3 miliarda dolarów rocznie.



Rysunek 3.1

W terapii hipolipemicznej, samodzielnie, lub wraz z statynami, używane są często fibraty (Rysunek 3.2). Wykazują one niższą aktywność w obniżaniu LDL, ale podwyższają poziom HDL z jednoczesnym obniżeniem poziomu trójglicerydów.



Rysunek 3.2

Drugie podejście do walki z hipolipemią polega na ograniczeniu wchłaniania cholesterolu z przewodu pokarmowego. Warto wiedzieć, że blisko połowa cholesterolu w przewodzie pokarmowym jest pochodzenia endogenicznego i jest związana z krążeniem jelitowo-wątrobowym. Z tych też względów, choćby częściowe zahamowanie tego sposobu wchłaniania jest bardzo istotne. W tym celu podaje się żywice jonowymiennie lub sitoserole (sterole roślinne). Mechanizm działania pierwszych polega na tworzeniu kompleksów z kwasami żółciowymi, które ulegają wydaleni. Tworzenie kompleksów przerywa krążenie jelitowo-wątrobowe cholesterolu prowadząc tym samym do obniżenia jego stężenia we krwi. Przykładami takich żywic są kolestyramina, kopolimer diwinylobenzenu i *N,N*-dimetylo-1-(4-winylofenylo)metyloaminy. Natomiast sitosterole są pochodnymi cholesterolu. Absorbują one cholesterol w żołądku tworząc trudno rozpuszczalne mieszane kryształy, które są następnie wydalone.

Od przeszło 10 lat dostępny jest jeszcze jeden środek hamujący wchłanianie cholesterolu z przewodu pokarmowego. Jest to związek biologicznie czynny o nazwie Ezetimibe (ezetymib), który posiada odmienny mechanizm działania od wyżej wymienionych środków.

3.3 Ezetymib

Pierwszym związkiem dostępnym handlowo z nowej klasy inhibitorów absorpcji cholesterolu egzogenego jest ezetymib. Charakteryzuje się on długim czasem działania, niską ekspozycją ogólnoustrojową, oraz wysokim profilem bezpieczeństwa. Działanie ezetymibu polega na wybiórczym hamowaniu wchłaniania cholesterolu w jelicie. Osiągane jest to przez łączenie się ezetymibu z białkiem „Niemann-Pick C1 like 1” (NPC1L1) w nabłonku błony śluzowej jelita.

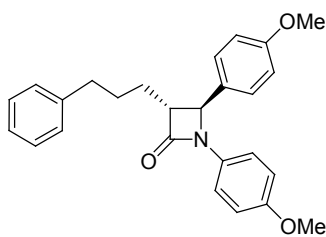
Lek został odkryty w trakcie badań nad inhibitorami acylotransferazy cholesterolowej w latach dziewięćdziesiątych dwudziestego wieku prowadzonych przez firmę Schering-Plough. W październiku 2002 Amerykańska Agencja ds. Żywności i Leków zaakceptowała lek o nazwie Zetia[®], w której substancją czynną był ezetymib w ilości 10 mg na tabletkę. Lek jest wydawany na receptę pacjentom cierpiącym na wysoki poziom cholesterolu we krwi. Dzięki odmiennemu mechanizmowi

działania możliwe jest zastosowanie ezetymibu w terapii skojarzonej z innymi lekami hipolipemicznymi w celu zwiększenia efektywności działania terapii. Istnieje kilka leków w których substancją czynną jest ezetymib wraz z wcześniej przedstawionymi statynami (*Vytorin*[®], *Inegy*[®]).

Obecnie ezetymib jest produkowany przez firmę Merck & Co na licencji Schering-Plough. Dla przykładu łączna sprzedaż dwóch podstawowych preparatów (*Zetia*[®] i *Vytorin*[®]) zawierających ezetymib w 2008 roku wyniosła 4,5 miliarda dolarów amerykańskich. Dostępność leków opartych na ezetymibie jest ograniczona ze względu na wysoką cenę tych preparatów. Przykładowo, cena dostępnego na polskim rynku Ezetrolu[®] (28 tabletek po 10mg ezetymibu) waha się w granicach 160-200 złotych. Na tak wysoką cenę wpływają wysokie koszty produkcji substancji czynnej (ezetymibu). Kluczem do obniżenia ceny leków i zwiększenie ich dostępności dla szerszej grupy pacjentów jest opracowanie alternatywnych metod syntezy substancji aktywnych farmaceutyków. Tak otrzymane leki noszą nazwę leków generycznych.

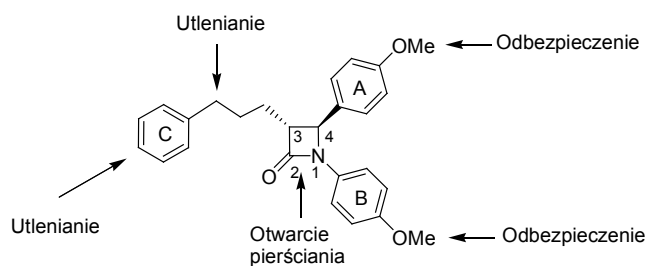
3.4 Odkrycie struktury Ezetymibu

Badania, które doprowadziły do opracowania struktury ezetymibu, zostały zapoczątkowane w 1993 przez firmę Schering-Plough podczas poszukiwań inhibitora acetylotransferazy cholesterolowej (ACAT). Wśród wielu przebadanych wówczas związków, był jeden o numerze SCH-48461, który wykazywał umiarkowaną aktywność inhibicji acetylotransferazy cholesterolowej w testach *in vitro*, ale przy jednoczesnej znaczącej aktywności w obniżeniu stężenia cholesterolu w przeprowadzonych równolegle na chomikach testach *in vivo*.



SCH-48461

W trakcie badań klinicznych *in vivo* przeprowadzonych w Stanach Zjednoczonych dowiedziono skuteczności związku SCH-48461 w obniżeniu stężenia LDL-C we krwi o 15% przy zastosowaniu dawki 25 mg na dzień. Zaskakującym faktem okazało się, że zwiększenie podawanej dawki dziesięciokrotnie nie skutkowało znaczącym zmniejszeniem stężenia LDL-C we krwi. Taki wynik sugerował powstawanie metabolitów wykazujących większą aktywność niż podawana substancja czynna.²⁶ W badaniach na szczurach, stosując związek SCH-48461 znaczony [³H], odnotowano szybkie powstawanie w jelitach skomplikowanej mieszanki metabolitów. Dalsze badania potwierdziły większą skuteczność hamowania absorpcji cholesterolu przez te metabolity oraz większą ich przyswajalność. Po przeanalizowaniu struktur pierwotnych metabolitów zaproponowano pięć szlaków metabolicznych, które są przedstawione na rysunku 14. Są to: uwolnienie fenolu z grupy 4-metoksyfenylowej w pierścieniach aromatycznych A i B (rys. 3.3), otwarcie pierścienia 2-azetydynonu, utlenianie pozycji benzyłowej w łańcuchu bocznym, i wprowadzenie grupy hydroksylowej do pierścienia C (Rys. 3.3).

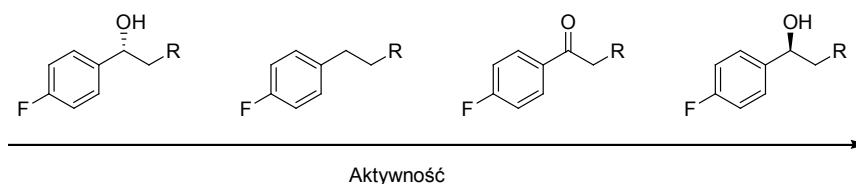


Rysunek 3.3

Elementem struktury, kluczowym dla zachowania aktywności biologicznej badanych związków, okazał się nienaruszony pierścień β -laktamowy. Przebadanie wybranych metabolitów doprowadziło do konkluzji, iż wolne grupy hydroksylowe w pierścieniu fenyłowym przy atomie azotu i w pierścieniu C znacząco obniżają ich aktywność. Natomiast wolna grupa hydroksylowa w pierścieniu fenyłowym przy C4 powoduje wzrost aktywności. Synteza związków zawierających różne podstawniki w

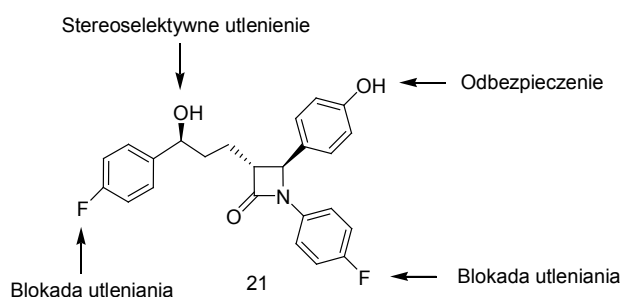
²⁶ S. B. Rosenblum, T. Huynh, A. Afonso, H.R. Davis Jr., N. Yumibe, J. W. Clader, D. A. Burnet. *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 973.

pozycji benzylovej doprowadziła do odnotowania wzrostu aktywności w szeregu: alkohol o konfiguracji (*R*), dwa atomy wodoru, keton, alkohol o konfiguracji (*S*) (Schemat 3.1).



Schemat 3.1

W celu zablokowania możliwości utleniania pierścienia fenylovego i wyeliminowania niepożądanego szlaku metabolicznego, zastosowano ogólnie znaną strategię zastępując w pozycjach *para* pierścieni fenylovech B i C atomy wodoru atomami fluoru z uwagi na ich podobieństwo (Rysunek 3.4). Tak „zaprojektowany” związek o początkowej nazwie SCH-58235 (obecnie Ezetymib) w badaniach *in vivo* wykazywał 55-krotnie wyższą aktywność od wyjściowego związku SCH-48461. Tak wysoki wzrost aktywności tłumaczony jest lepszym oddziaływaniem alkoholu (*S*) benzylovego z receptorem, zablokowaniem nieaktywnych dróg przemiany oraz lepszym profilem związku czyli: absorpcją, dystrybucją, metabolizmem i wolniejszym wydalaniem.

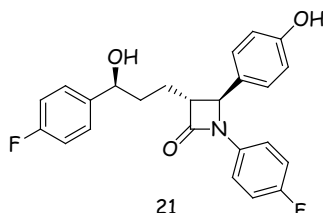


Rysunek 3.4

3.5 Metody syntezy ezetymibu i związków pokrewnych

3.5.1 Kondensacja iminy z amidem lub estrem

Nazwa systematyczna ezetymibu to (3*R*,4*S*,3'*S*)-1-(*p*-fluorofenylo)-3-[3'-(*p*-fluorofenylo)-3'-hydroksy-propylo]-4-(*p*-hydroksyfenylo)-azetydyn-2-on.



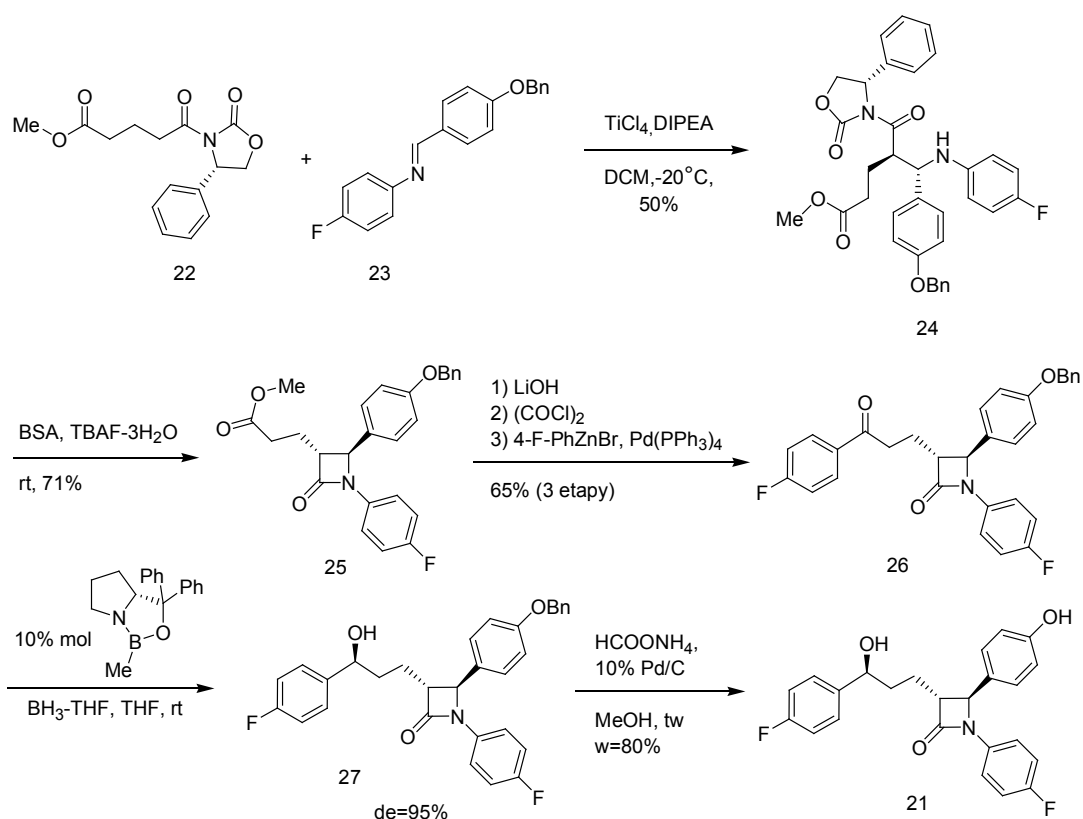
Ezetymib

Ezetymib posiada w swojej budowie trzy centra stereogeniczne oraz trzy *para*-postawione pierścienie fenylowe. Obecność trzech centrów stereogenicznych stwarza możliwość tworzenia ośmiu stereoizomerycznych związków różniących się znacznie aktywnością biologiczną.²⁷ Warto też przypomnieć, iż każdy związek będący substancją aktywną leku musi charakteryzować się wysoką czystością optyczną większą, bądź równą 99,9%. Z tego powodu istotne jest opracowanie metody syntezy, która gwarantuje osiągnięcie zarówno wysokiej czystości optycznej, jak i chemicznej.

Początkowo ezetymib syntetyzowano w formie racemicznej, którą następnie rozdzielano na dwa enancjomery metodami chromatograficznymi. Pierwszą stereokontrolowaną metodę syntezy ezetymibu, w enancjomerycznie czystej formie, opracował zespół badawczy z firmy Schering-Plough w 1995 roku.²⁸ Strategię syntezy kluczowego pierścienia 2-azetydynonu oparto na stereokontrolowanej reakcji addycji enolanu do iminy **23** z następczą cyklizacją prowadzącą do *trans*- β -laktamu (schemat 3.2). Czynnikiem odpowiadającym za indukcję asymetryczną był izoksazolinowy pomocnik chiralny w enolanie tytanowym z **22**.

²⁷ S. B. Rosenblum, T. Huynh, A. Afonso, H. Davies, N. Yumibe, J. Clander, D. Barnett *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 973.

²⁸ S. B. Rosenblum World (PTC) Patent WO9508532-A1, **1995**, S. B. Rosenblum U.S. Patent 5,631,365, **1997**.



Schemat 3.2

Zastosowana metodologia wymagała specjalnych warunków prowadzenia reakcji, trudnych z technologicznego punktu widzenia. Generowanie enolanu tytanowego wymagało ściśle bezwodnych warunków. Natomiast diastereoselektywność zależała od utrzymania temperatury mieszaniny reakcyjnej poniżej -20°C w trakcie dodawania iminy **23** (2 równoważniki) oraz ostrożnego zakończenia reakcji poprzez dodanie kwasu octowego. Cyklizacja prowadziła do utworzenia pierścienia *trans*-podstawionego β -laktamu **25**. Na tym etapie syntezy następowało również usunięcie pomocnika chiralnego. Krystalizacja produktu pozwalała otrzymać czystość optyczną powyżej 99%. Tak powstały ester **25** poddawano hydrolizie do kwasu, który następnie przekształcano w chlorek kwasowy, po czym poddano sprzęganiu z bromkiem 4-fluorofenylocynkowym w obecności katalizatora palladowego. Uzyskany keton **26** poddawano enancjoselektywnej redukcji chiralną oksazaborolidyną (asymetryczna redukcja metodą CBS). W ostatnim etapie zabezpieczenie benzytowe usunięto działaniem mrówczanu amonu wobec palladu.

Przedstawiona metoda posiadała istotne wady. Po pierwsze wymagała stosowania pomocnika chiralnego na pierwszym etapie syntezy, co podnosi koszty syntezy i obniża jej ekonomię atomową. Ponadto narzuca konieczność usunięcia pomocnika chiralnego z produktu i jego regeneracji. Cztery etapy reakcyjne wymagały ściśle bezwodnych warunków. Dodatkowo, przedstawiony szlak syntetyczny wymagał operowania dużymi ilościami czterochlorku tytanu oraz chlorkiem oksalilu, a związki te przez swoją wrażliwość na wilgoć są trudne w użyciu na dużą skalę.

Pomimo wszystkich tych trudności metoda posłużyła do otrzymania pierwszej szarży produkcyjnej w systemie GMP (Good Manufacturing Practice) w ilości 5 kg.

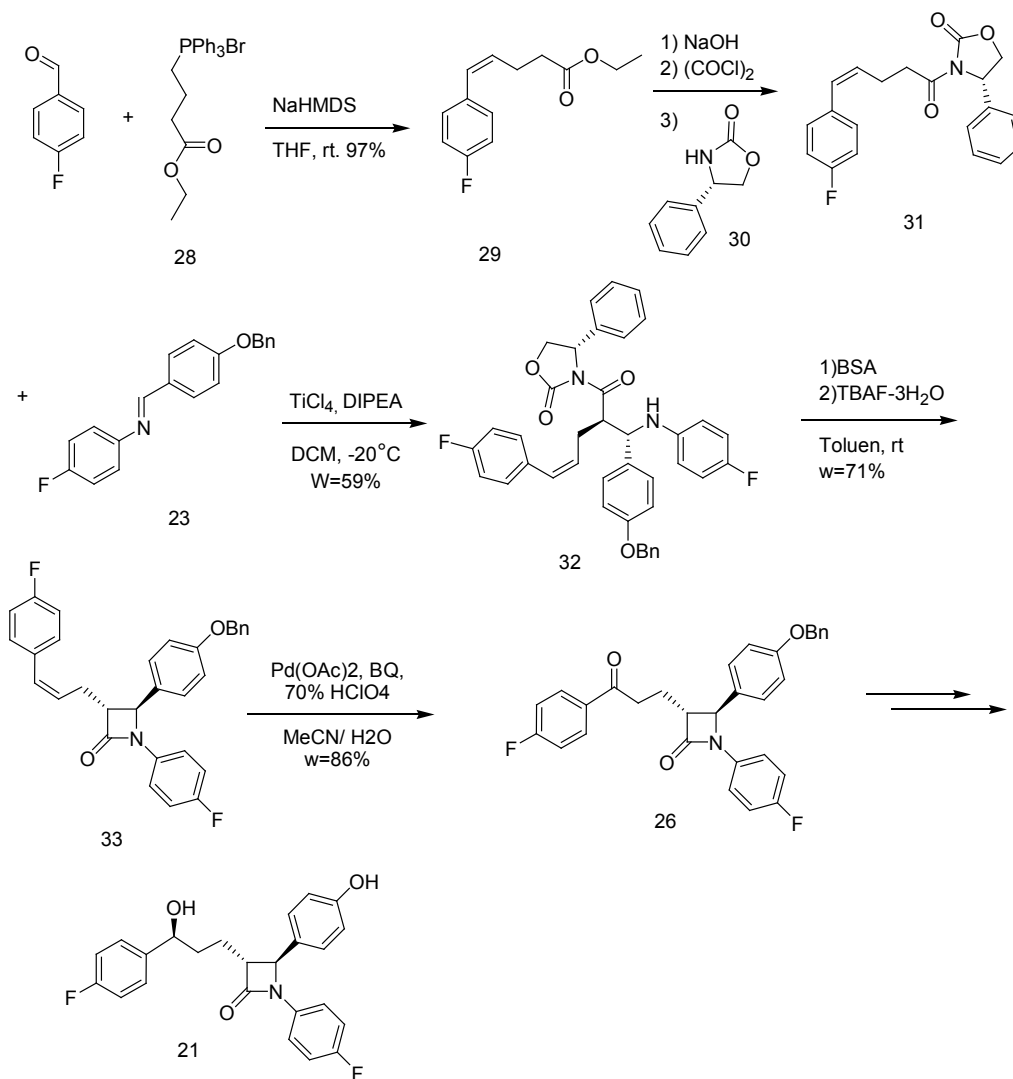
Przedstawiona metoda została udoskonalona przez indyjskie zespoły z Dr. Reddy's Laboratories Ltd oraz Uniwersytetu Technicznego Jawaharlat Nehru 2009.²⁹ Główne modyfikacje polegały na hydrolizie z użyciem wodorotlenku sodu zamiast litu. Chlorek kwasowy użyto bez żadnego wydzielenia do reakcji Negishiego, w której zamiast tetrakstrifenylopalladu użyto chlorku cynku i octanu palladu, natomiast związkiem metaloorganicznym był bromek 4-fluorofenylomagnezowy, a nie związek cynkoorganiczny. Enancjoselektywną redukcję ketonu przeprowadzono z użyciem kompleksu borowodoru z siarczkiem dimetylu wobec oksazaborolidyny (CBS).

W 2010 roku zespół słoweńskich naukowców razem z badaczami z firmy Lek Pharmaceuticals przedstawił zmodyfikowaną drogę syntezy ezetymibu (schemat 3.2).

30

²⁹ C. H. V. A Sasikala, P. R. Padi, V. Sunkura, P. Ramayya, P. K. Dubey V. B. R. Uppala. C. Praveen. *Org. Process Res. Dev.* **2009**, *13*, 907

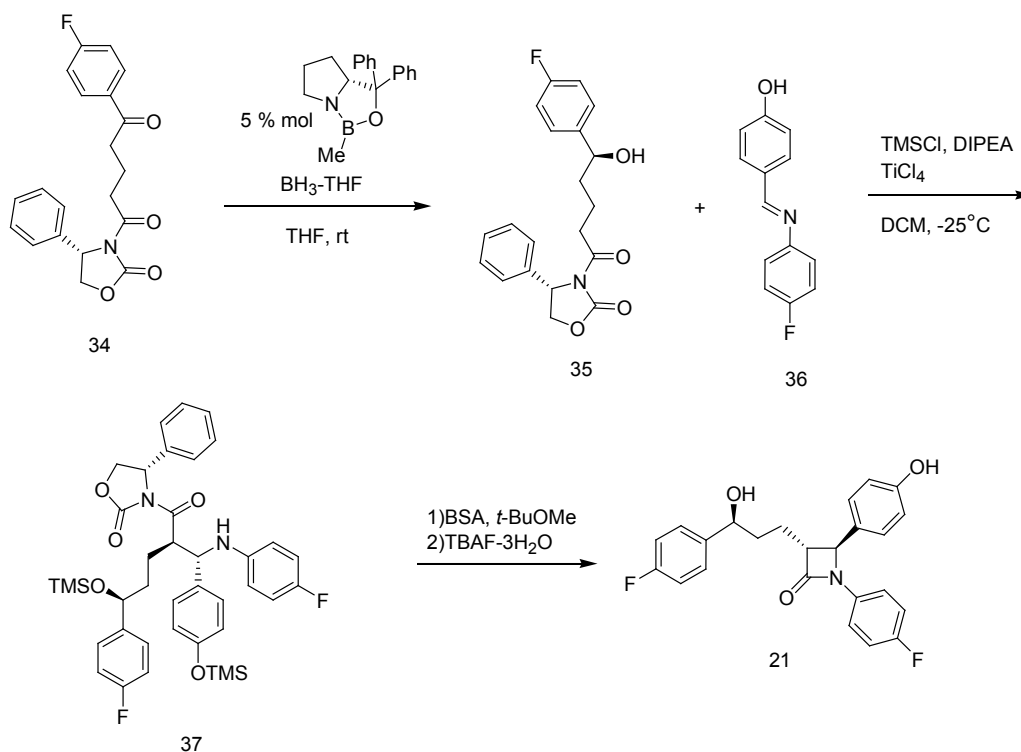
³⁰ M. Sova, J. Mravaljak, A. Kovac, S. Pecar, Z. Casar, S. Gobec, *Synthesis*, **2010**, 3433.



Schemat 3.3

W pierwszym etapie 4-fluorobenzaldehyd poddano reakcji Wittiga uzyskując ester 29. Ester 29 został przekształcony w chlorek kwasowy, który poddano reakcji z chiralną oxazolidyną 30, wykorzystując już wcześniej stosowany pomocnik chiralny. Analogiczne przyłączenie enolanu związku 31 do iminy 23 i następcza cyklizacja, w identycznych warunkach do wcześniej opisanych, pozwoliła na uzyskanie docelowego *trans*- β -laktamu 33. Następnie w wyniku utleniania Wackera olefinę 33 przekształcono w znany keton 26. Powtórzenie kolejnych kroków syntetycznych doprowadziło do otrzymania ezetymibu.

Zespół Schering-Plough świadomy niedoskonałości opracowanego wcześniej szlaku syntetycznego zaproponował zmodyfikowaną metodę syntezy (schemat 3.4).³¹



Schemat 3.4

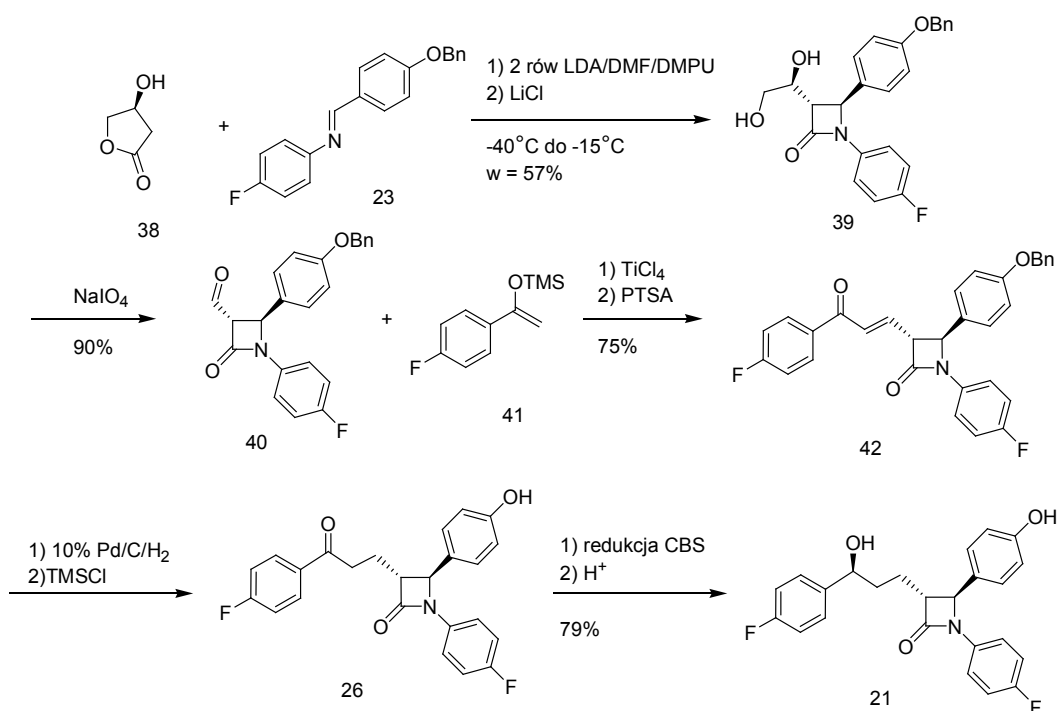
W tym przypadku, do etapu kondensacji z iminą, postanowiono użyć substrat posiadający już gotowy łańcuch boczny, taki jak w docelowym Ezetymie. W pierwszym etapie syntezy keton **34** poddano enancjoselektywnej redukcji do alkoholu **35**. W porównaniu do wcześniejszej metody zdołano obniżyć ilość oksazaborolidyny do 5% molowych. Po zabezpieczeniu wolnej grupy hydroksylowej w **35** resztą eteru silylowego i przeprowadzeniu w enolan produkt poddano przyłączeniu do iminy według poprzednio opracowanej metody, z tą tylko różnicą, że do reakcji użyto iminy z wolną grupą hydroksylową. Następnie w obecności BSA i TBAF związek **37** przekształcono bezpośrednio w ezetymie.

Tak opracowana ścieżka syntetyczna pozwoliła na wyeliminowanie niektórych niedogodności pierwszej metody takich jak: konieczność prowadzenia 4 etapów w ściśle bezwodnych warunkach i stosowanie chlorku kwasowego. Dodatkowo skrócono

³¹ T. Thiruvengadam, X. Fu, C. Tann, T. McAllister, J. Chiu, C. Colon, Pat. Europ. EP 1 137 634 B1

liczbę etapów i wyeliminowano konieczność stosowania metali ciężkich takich jak pallad. Jest to bardzo ważne w przypadku produkcji substancji aktywnej leku, ponieważ maksymalne dopuszczalne stężenie wszystkich metali ciężkich musi wynosić poniżej 10 ppm. Przedstawiona droga syntezy została wykorzystana do produkcji ezetymibu w skali przemysłowej.

W 1999 roku badacze z Shering-Plough zaproponowali jeszcze inną ścieżkę syntezy ezetymibu przedstawioną na schemacie 3.5.³² Istotą tego podejścia jest brak stosowania chiralnego pomocnika chiralnego w cyklokondensacji. Pomocnik chiralny zastąpiono pięcioczłonowym laktonem **38** (chiralny blok budulcowy) o zdefiniowanej konfiguracji.



Schemat 3.5

Lakton **38** otrzymano z naturalnego kwasu L-jabłkowego na drodze 2 etapowych przemian.³³ Podobnie jak we wcześniejszych metodach ogłoszonych przez zespół Schering-Plough, tworzenie pierścienia czteroczłonowego następuje w reakcji kondensacji chiralnego enolanu laktonu pięcioczłonowego z iminą. Z uwagi na wolną

³² G. Wu, Y. Wong, X. Chen, Z. Ding, *J. Org. Chem.* **1999**, 64, 3714.

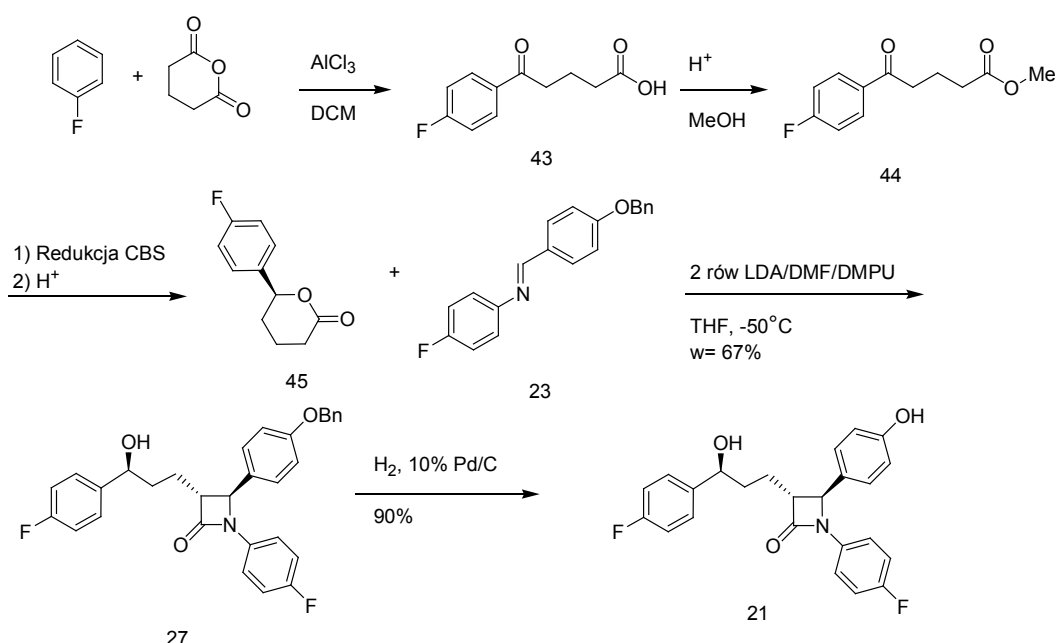
³³ S. Salto, T. I-Iasegawa, M. Inaba, R. Nishida, *Chem. Lett.* **1984**, 1389.

grupę hydroksylową w laktonie przy tworzeniu enolanu konieczny jest dwukrotny nadmiar LDA. Reakcja prowadzona jest w -40°C w mieszaninie rozpuszczalników silnie solwujących kationy - DMF/DMPU, co jest kluczowe dla przeprowadzenia reakcji mało aktywnego enolanu litowego laktonu, ze słabo elektrofilową iminą. W rezultacie uzyskano mieszaninę dioli **39** w proporcji diastereomerów *trans:cis* równym 97:3 z 51% wydajnością wydzielonego produktu. Następnie diol **39** poddano rozcięciu za pomocą nadjodanu sodowego uzyskując aldehyd **40** z wydajnością 90%. Aldehyd ten poddano następnie reakcji aldolowej Mukaiyamy działając eterem silylowym enolanu 4-fluorofenyloacetofenonu **41**. Powstały β -hydroksyketon poddano bezpośrednio eliminacji cząsteczki wody działaniem kwasu *p*-toluenosulfonowego uzyskując α,β -nienasycony keton **42**. Wydajność tych dwóch etapów wyniosła 75%. Na uwagę zasługują istotne nieścisłości w opisie przeprowadzonych reakcji. Na schematach w publikacji jest wymieniony czterochlorek tytanu jako katalizator reakcji Mukaiyamy, podczas gdy w opisie eksperymentu stosowany jest eterat trifluorku boru. Następnie wiązanie podwójne uwodorniono wobec 10% palladu osadzonego na węglu aktywnym z wydajnością 90%, w tych warunkach ulega również rozczepieniu eter fenylo-benzylowy. W pracy autorzy wskazują na możliwość redukcji wiązania podwójnego wobec katalizatora Wilkinsona, jednak w tym przypadku wydajność wynosi 71%. Ponadto koszt katalizatora jest dużo wyższy. Po zabezpieczeniu wolnej grupy hydroksylowej ketonu **26** resztą trimetylosilylową, uzyskany związek poddano asymetrycznej redukcji z użyciem poprzednio stosowanej metody uzyskując alkohol o czystości optycznej 97% *de* i wydajnością 79%. W przypadku gdy redukcji poddano substrat z wolną grupą hydroksylową, wówczas uzyskano produkt z czystością optyczną wynoszącą 84% *de*.

Przedstawiona metoda syntezy ezetymibu wymaga użycia laktonu pięcioczłonowego, który otrzymywany jest w kilku krokach syntetycznych z naturalnego kwasu L-jabłkowego. Istotną wadą tego podejścia do syntezy ezetymibu jest fakt, iż lakton **38** jest stosunkowo kosztowny.

W 2004 został zgłoszony patent indyjskiej firmy Ranbaxy Laboratories, w którym ogłoszono drogę syntezy ezetymibu z kluczowym etapem polegającym na

kondensacji enancjomerycznie czystego sześcioczłonowego laktonu z iminą.³⁴ Materiał wyjściowy w syntezie, (S) 6-*p*-fluorofenylo-waletolakton, otrzymano w reakcji acylowania Friedla-Craftsa fluorobenzenu bezwodnikiem glutarowym w chlorku metylenu w obecności chlorku glinu (Schemat 3.6). Tak powstały kwas **43** przeprowadzono następnie w ester metylowy **44** i poddano asymetrycznej redukcji Corey'a-Bakshiego-Shibaty. Uzyskany chiralny alkohol benzylový w obecności kwasu uległ cyklizacji tworząc lakton sześcioczłonowy **45** o zdefiniowanej konfiguracji absolutnej. Z laktonu **45** pod wpływem LDA (2 równoważniki) generowano enolan litowy, do którego następnie przyłączano iminę **23** w obecności DMPU i dimetyloformamidu. W wyniku następczego przegrupowania w warunkach reakcji otrzymywano z wydajnością 67% ezetymib z zabezpieczoną grupą fenolową w postaci eteru benzylový **27**. Po odbezpieczeniu fenolu w standardowych warunkach i jednokrotnej krystalizacji otrzymano ezetymib z czystością optyczną wynoszącą powyżej 99,9% jednak z niską wydajnością wynoszącą około 40%.



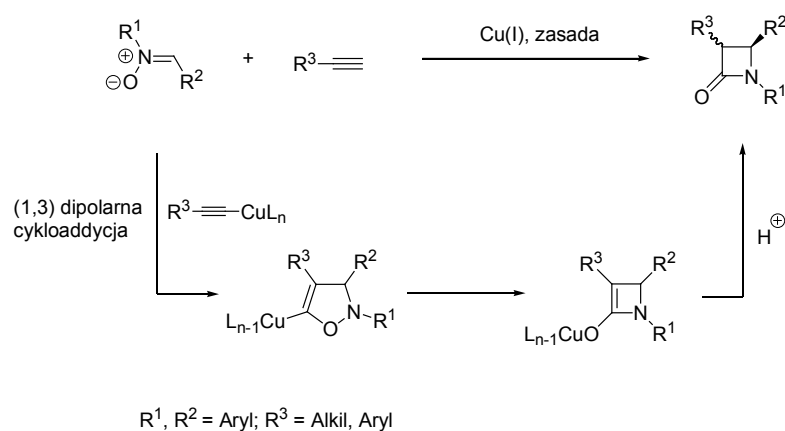
Schemat 3.6

³⁴ S. G. K. K. Karooti, D. P. Rathod, C. R. Aryan, Y. Kumar. World Patent WO099132-A2, 2004.

Niestety opisany proces budzi wiele wątpliwości. Aby osiągnąć konfigurację ezetymibu na trzech centrach stereogenicznych cząsteczka iminy powinna podejść do enolanu laktonu sześciocząłkowego *syn* do terminalnego podstawnika aryłowego. Wydaje się nieprawdopodobnym aby tak wyglądał stereochemiczny przebieg reakcji. Szczegółowa dyskusja tej przemiany wraz z przeprowadzonymi przez mnie eksperymentami jest przedstawiona w Części Badań Własnych.

3.5.2. Formowanie pierścienia β -laktamowego przy pomocy reakcji Kinugasy

Katalizowana jonami Cu(I) reakcja pomiędzy terminalnymi acetylenami i nitronami zwana reakcją Kinugasy umożliwia w prosty sposób tworzenie pierścienia β -laktamu (Schemat 3.7).³⁵ Ponieważ w zdecydowanej większości doniesień literaturowych stosowane są proste diarylowe nitrony, reakcja Kinugasy jest atrakcyjną metodą otrzymywania *N*,4-diarylowych β -laktamów. Nic więc dziwnego, że została zastosowana do syntezy ezetymibu.



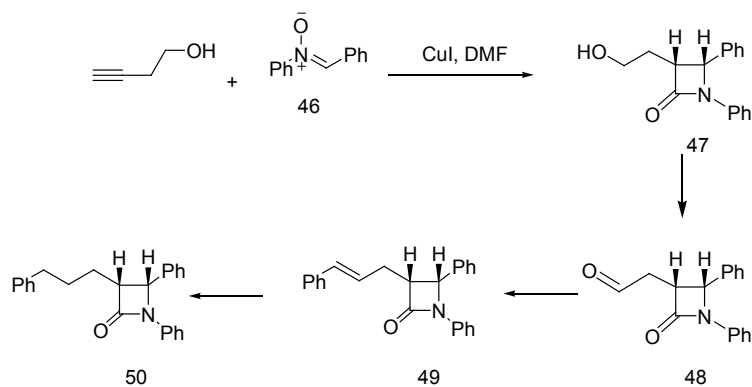
Schemat 3.7

Pierwsza praca, w której wspomniana jest synteza ezetymibu z wykorzystaniem reakcji Kinugasy ukazały się w 2003 roku.³⁶ Autorzy zajmując się na syntezą związku **50**, w której do reakcji Kinugasy zastosowano difenyłowy nitron **46**, jedynie zasugerowali, iż możliwa jest synteza ezetymibu tą drogą. Ponadto nie przeprowadzili

³⁵ M. Kinugasa, S. Hashimoto, *J. Chem. Soc., Chem. Comm.* **1972**, 466.

³⁶ A. Basak, K. R. Rudra, H. M. M. Bdour, *Indian J. Chem.* **2003**, *42B*, 1508.

epimeryzacji *cis* β -laktamu do *trans*-izomeru, a jedynie wspomnieli o takiej możliwości. Zapropozowana sekwencja reakcji przedstawiona jest na schemacie 3.8. Ponieważ nie stosowano żadnych metod syntezy asymetrycznej, docelowy związek β -laktamowy uzyskano w formie racemicznej.



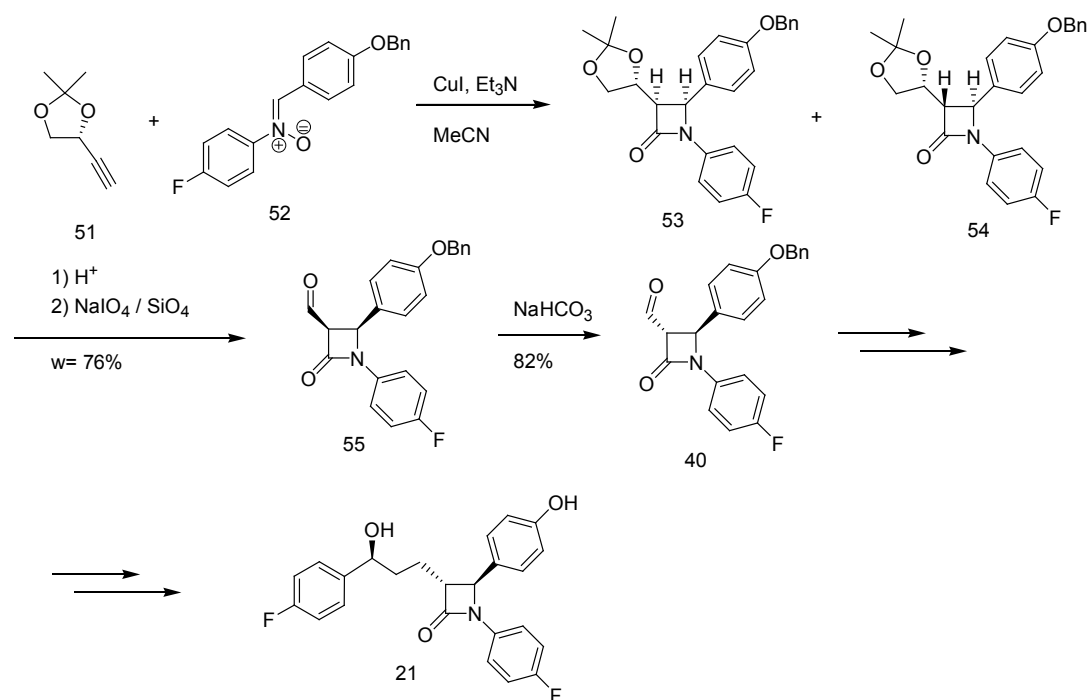
Schemat 3.8

W 2011 grupa prof. Chmielewskiego z Instytutu Chemii Organicznej PAN opracowała metodę otrzymywania aldehydu, produktu pośredniego w syntezie ezetymibu metodą firmy Schering-Plough, stosując reakcję Kinugasy do tworzenia *cis*-*N*,4-diarylo-azetydynonu, według schematu przedstawionego na Schemacie 3.8.³⁷ Jako chiralny substrat posłużył acetylen **51** otrzymany z aldehydu L-glicerynowego, który jest łatwodostępny z kwasu askorbinowego lub L-seryny.³⁸

Pierwszym kluczowym etapem syntezy ezetymibu jest reakcja Kinugasy acetylenu **51** z liniowym nitronem **52** (Schemat 3.8). Produktem reakcji Kinugasy są 4 diastereomeryczne 2-azetydynony. Dwa główne, **53** i **54**, przedstawione na schemacie 3.8, otrzymane w proporcji 3:1 z wydajnością 50% (wydajność całkowita 60%) przekształcono w aldehyd **40** poprzez usunięcie zabezpieczenia izopropylidynowego oraz rozcięcie glikolowe diolu i epimeryzację powstałego *cis* aldehydu do pożądanego *trans* związku.

³⁷ M. Michalak, M. Stodulski, S. Stecko, A. Mames, M. Soluch, I. Panfil, B. Furman, M. Chmielewski. *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 6931.

³⁸ M. Michalak, M. Stodulski, S. Stecko, B. Furman, M. Chmielewski Sposób wytwarzania O,O-ketali aldehydu L-glicerynowego Polish Patent Appl. No. P-397120. *Synthesis*, **2012**, 2698.



Schemat 3.8

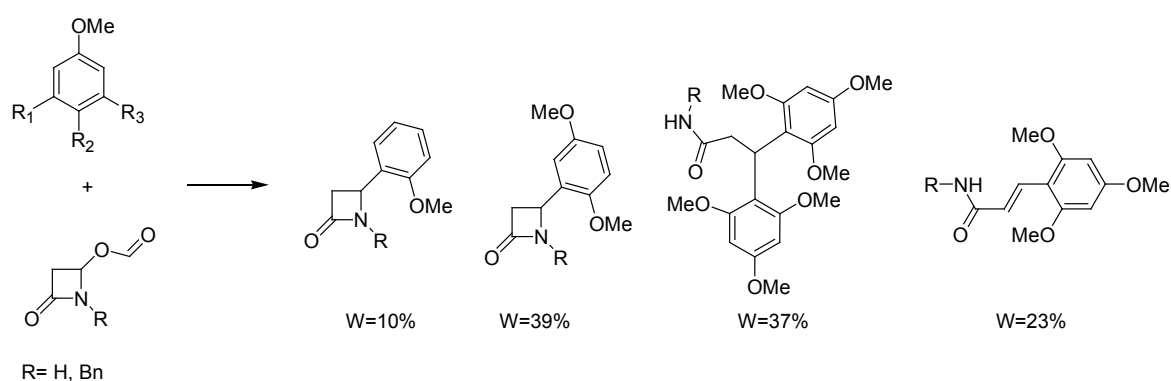
Należy nadmienić, iż rozcięcie nadjodanem w warunkach opisanych przez grupę z Schering-Plough skutkowało rozkładem aldehydu. Dopiero modyfikacja warunków rozcięcia diolu przez zastosowanie nadjodanu sodu osadzonego na żelu krzemionkowym w bezwodnych warunkach pozwoliło otrzymać aldehyd **55** z dobrą wydajnością.^{9d} Otrzymany aldehyd poddano następnie epimeryzacji w warunkach zasadowych. Izomeryzacja za pomocą kwaśnego węgla sodu pozwoliła na uzyskanie mieszaniny aldehydu **40/55** w proporcji 8,5 do 1. Niestety, pomimo licznych prób i powtarzania dokładnie opisanych warunków, które przedstawiono w kilku wcześniej cytowanych źródłach literaturowych, kolejnego etapu syntezy nie udało się powtórzyć.

3.5.3 Wprowadzenie podstawnika arylowego do atomu C4 azetydynonu drogą elektrofilowego alkirowania arenu

W 2009 dr Zambroń z zespołu II IChO PAN zajął się w swojej pracy doktorskiej wprowadzaniem podstawnika arylowego do atomu C4 2-azetydynonów na

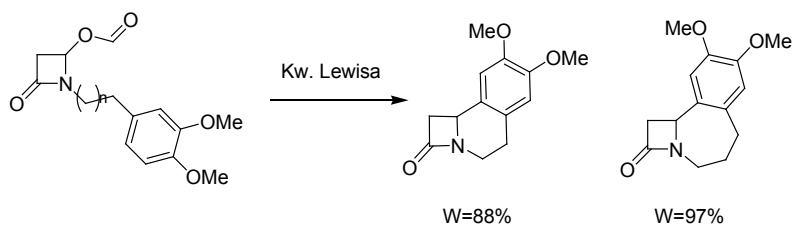
^{9d} S. Stecko, M. Michalak, M. Stodulski, A. Mames, I. Panfil, M. Soluch, B. Furman, M. Chmielewski, J. *Org. Chem.* **2011**, *76*, 6931.

drodze elektrofilowego alkirowania nukleofilowych arenów.^{6a} Celem pracy było opracowanie nowej metody syntezy związków z grupy 4-arylo-azetydynonów, do której należy również ezetymib. W pracy opisano elektrofilowe wprowadzenie podstawnika arylowego do 4-formyloksyazetydynonu oraz do *N*-benzylopochothanej tego β -laktamu w obecności katalitycznej ilości kwasu Lewisa. Niestety akceptowalne wydajności uzyskano jedynie dla *p*-dimetoksybenzenu, w przypadku wykorzystania innych arenów wydajność reakcji spadała, a produktem niepożądanym było otwarcie pierścienia azetydynonu przez drugą cząsteczkę arenu (schemat 3.9)



Schemat 3.9

Pracę nad wariantem wewnątrzcząsteczkowym procesu doprowadziły do otrzymania produktów z bardzo dobrą wydajnością reakcji, jeżeli w pierścieniu aromatycznym znajdowały się grupy metoksyłowe aktywujące pierścień fenyłowy na podstawienie elektrofilowe (schemat 3.10).^{6b}

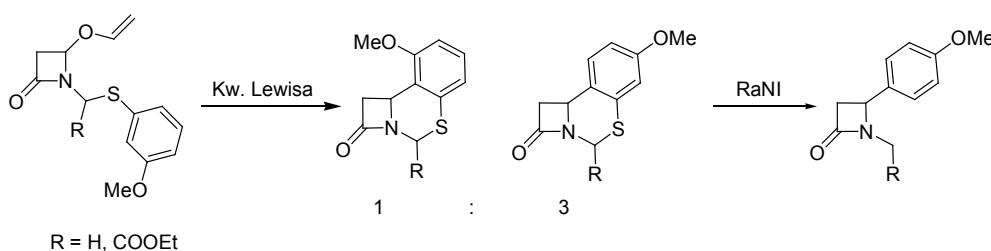


Schemat 3.10

^{6a} B. Zambroń, M. Masnyk, B. Furman, M. Chmielewski, *Tetrahedron*, **2009**, *65*, 4440.

^{6b} B. Zambroń, M. Masnyk, B. Furman, M. Chmielewski *Tetrahedron*, **2010**, *66*, 8974;

Wprowadzenie atomu siarki do łącznika umożliwiło otrzymanie z dobrą wydajnością tricyklicznego związku, który następnie otwarto, usuwając siarkę za pomocą niklu Raneya (Schemat 3.11). W ten sposób otrzymano *N*-metylo- i *N*-etoksykarbonylometylo-4-*p*-metoksyfenylo-azetydynony. Ewentualne zastosowanie chiralnych prekursorów formowania pierścienia azetydynonu drogą [2+2]cykloaddycji mogłoby umożliwić otrzymanie azetydynonu o zdefiniowanej konfiguracji absolutnej, który posłużyłby do otrzymywania ezetymibu, lub związków pokrewnych.



schemat 3.11

3.6 Ustalanie konfiguracji absolutnej *N*,4-diarylo-azetydynonów

Metody chiralne, a w szczególności spektroskopia elektronowego dichroizmu kołowego (ECD), stanowią bardzo dogodne, czułe i szybkie narzędzia do określania konfiguracji absolutnej związków. Badania chiralne przeprowadzone na szeregu mono- i bicyklicznych pochodnych β -laktamowych pozwoliły na opracowanie reguł wiążących konfigurację węgla C4 (monocykliczne β -laktamy) lub zwornikowego atomu węgla (bicykliczne β -laktamy) ze znakiem efektu Cottona (CE) amidowego przejścia $n \rightarrow \pi^*$.³⁹ Czynnikiem decydującym zarówno o znaku, jak i intensywności omawianego efektu Cottona jest struktura przestrzenna ugrupowania amidowego. I tak, w monocyklicznych związkach β -laktamowych chromofor amidowy jest płaski, a ujemny (dodatni) efekt Cottona amidowego przejścia $n \rightarrow \pi^*$ odpowiada konfiguracji 4*S* (4*R*). Natomiast do określania konfiguracji zwornikowego atomu węgla w bicyklicznych układach β -laktamach o skręconym chromoforze amidowym używana jest prosta reguła

³⁹ a) H. Ogura, H. Takayanagi, K. Kubo, K. Furuhashi, *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, *95*, 8056; b) H. Wolf, *Tetrahedron Lett.* **1966**, *7*, 5151; c) T. Polonski, M.J. Milewska, *Croat. Chem. Acta*, **1989**, *62*, 129.

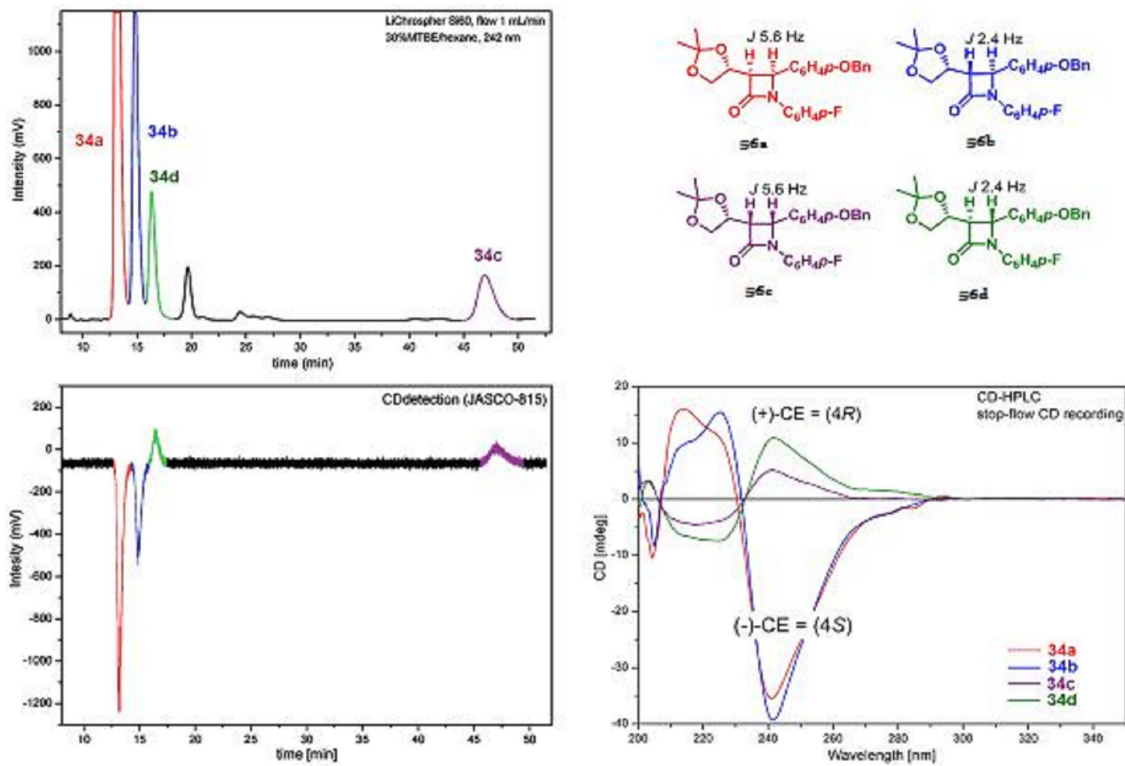
helikalności. Reguła ta dla konfiguracji *R* mostkowego atomu węgla przewiduje dodatni znak pasma amidowego, natomiast dla konfiguracji *S* pasmo to jest ujemne.

Niezwykle użyteczną techniką stereochemicznej analizy mieszanin reakcyjnych jest metoda HPLC połączona z detekcją CD. Zastosowanie dodatkowo techniki „stop flow” umożliwia rejestrację kompletnych widm CD każdego związku kolejno wymywanego z kolumny HPLC. Takie podejście analityczne nie tylko znacznie skraca czas analizy poprzez pominięcie często żmudnej chromatografii kolumnowej, ale również pozwala na zmniejszenie skali analizowanej próbki z mg do μg . Metodyka ta z powodzeniem została wykorzystana do stereochemicznej analizy mieszaniny reakcyjnej azetydynonów **56** (Rys.16). Zgodnie z regułami opracowanymi dla monocyklicznych związków β -laktamowych związkom posiadającym ujemne znaki CE przy około 240 nm przypisana została konfiguracja absolutna *4S*, natomiast dodatni znak omawianego efektu Cottona wskazywał na konfigurację *4R*. Oba izomery *cis*, **56a** i **56c** zostały wyodrębnione i scharakteryzowane, natomiast obecność obu *trans* **56b** i **56d** odnotowano tylko w surowej mieszaninie.

Z punktu widzenia ekonomii syntezy istotnym było określenie, czy z dwóch *trans* izomerów, występujący w większej ilości ma identyczną z ezetymibe konfigurację centrów stereogenicznych przy atomach węgla C3 i C4 azetydynonu. Jeśli tak jest, to nie jest koniecznym oddzielenie izomerów **56c** i **56d** przed rozcięciem glikolowym i epimeryzacją. Oczywiście ustalenie konfiguracji względnej na atomach węgla C3 i C4 można jednoznacznie ustalić przy pomocy magnetycznego rezonansu jądrowego.

Analiza widm CD pokazała, że o znaku efektu Cottona decyduje centrum stereogeniczne przy atomie C4 azetydynonu. Konfiguracja przy C3 i w łańcuchu bocznym nie ma zasadniczego wpływu. Świadczy o tym porównanie widm **56a** i **56b** oraz widm **56c** i **56d**.

Zastosowanie spektroskopii CD połączonej z chromatografią HPLC pokazało, że oba główne składniki mieszaniny izomerów po reakcji Kinugasy mogą być użyte w następnych etapach syntezy.



Rysunek 3.5 Chromatograf HPLC z detekcją CD związku 56

4 Badania własne

Celem moich badań było opracowanie nowej metody syntezy ezetylibu. Jak wspomniałem we wstępie do niniejszej rozprawy doktorskiej, temat ten realizowany był w ramach projektu INITECH koordynowanego przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju przy współpracy z firmą ADAMED.

Zaproponowana strategia syntezy nawiązywała do wcześniejszych prac zespołu, jeszcze z lat osiemdziesiątych ubiegłego wieku, kiedy badano termiczną cykloaddycję nitronów do α,β -nienasyconych δ -laktonów.[1L] W mojej strategii syntezy docelowej molekuly, jako substrat miała posłużyć bicykliczna izoksazolidyna **58** (Schemat 4.1). Związek ten planowano uzyskać na drodze 1,3-dipolarnej cykloaddycji pomiędzy diarylowym nitronem **52** i enancjomerycznie czystym, nienasyconym 6-członowym laktonem **57**. Wybór laktonu o konfiguracji (*S*) podyktowany był wynikami wstępnej analizy stereochemicznego przebiegu reakcji cykloaddycji. Szczegółową dyskusję tego zagadnienia Czytelnik znajdzie w dalszej części niniejszej rozprawy. Ponadto lakton **57** posiada wszystkie elementy strukturalne niezbędne do konstrukcji łańcucha bocznego ezetylibu.

Schemat 4.1 przedstawia analizę retrosyntetyczną planowanej syntezy ezetylibu. Przyjęta strategia syntezy zakładała przekształcenie izoksazolidyny **58** w lakton **60**, który w wyniku promowanego zasadą przegrupowania planowano przekształcić w 2-azetydynon **62** (Schemat 4.1, ścieżka niebieska). (*S*)-Konfiguracja absolutna laktonu jest niezbędna aby w toku kolejnych przemian uzyskać pierścień β -laktamowy o konfiguracji absolutnej identycznej jak w docelowym ezetylibie. Niestety, uzyskany produkt będzie posiadał niewłaściwą konfigurację w pozycji benzylovej łańcucha bocznego. Z tego względu planowana droga syntezy zakłada epimeryzację w łańcuchu bocznym, która będzie prowadziła do uzyskania związku o konfiguracji absolutnej wszystkich trzech centrów stereogenicznych identycznych jak w docelowej molekułe.

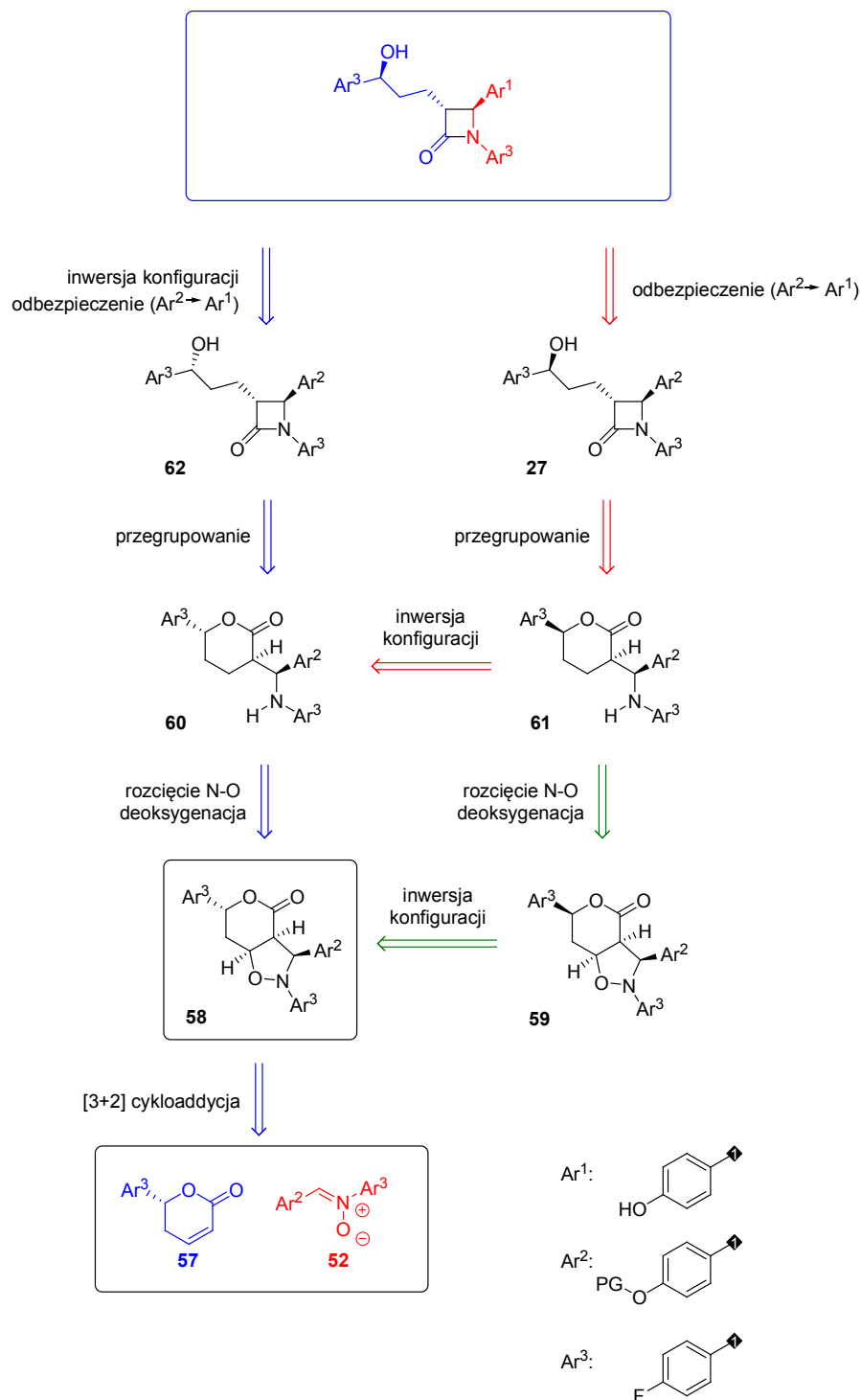
Oprócz głównej strategii zaproponowano dwa dodatkowe podejścia do syntezy ezetylibu (Schemat 4.1, ścieżka czerwona i zielona). W porównaniu z pierwotną

strategią syntezy, dwie dodatkowe ścieżki różnią się kolejnością przeprowadzenia planowanych transformacji.

Pierwsza z nich (czerwona) zakłada przeprowadzenie reakcji epimeryzacji, mającej na celu utworzenie właściwej konfiguracji absolutnej centrum odpowiadającego pozycji benzylovej w łańcuchu bocznym ezetymibu, na etapie laktonu **60**. W wyniku tej operacji powinno się uzyskać lakton **61**, który poddany przegrupowaniu dostarczy azetydynon **27** o konfiguracji absolutnej wszystkich trzech centrów, identycznej jak w ezetymibie.

Trzecia ścieżka, oznaczona na Schemacie 4.1 kolorem zielonym, zakłada przeprowadzenie epimeryzacji bezpośrednio na izoksazolidynie **58**. Uzyskana w ten sposób izoksazolidyna **59**, w toku kolejnych przemian powinna także dostarczyć docelowy związek o właściwej geometrii.

Cechą charakterystyczną dla wszystkich wykonanych przeze mnie dróg syntezy ezetymibu z laktonu **57** jest tylko jeden etap, w którym w reakcji enancjoróżnicującej cyklokondensacji pomiędzy dienem Danishefskyego i p-fluoro-benzaldehydem generowane jest centrum stereogeniczne. W kolejnych etapach syntezy to pierwotnie utworzone centrum stereogeniczne ulokowane w laktonie **57** decyduje o pożądanej konfiguracji końcowego produktu. Ta niezwykle ważna cecha strategii otrzymywania ezetymibu odróżnia prezentowaną przeze mnie syntezę od wszystkich, dotychczas opisanych w literaturze fachowej, w których są zawsze dwa etapy stereoróżnicujące, tworzenia pożądanej konfiguracji β -laktamu i benzylovej grupy hydroksylowej w łańcuchu bocznym.

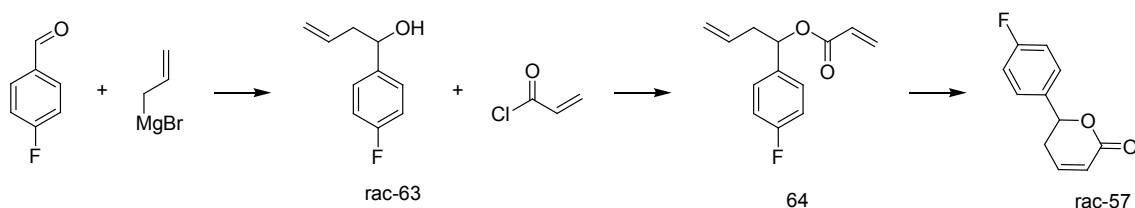


schemat 4.1

4.1. Synteza (6R)-6-(4-fluorofenilo)-5,6-dihydro-2H-pirano-2-onu **57**.

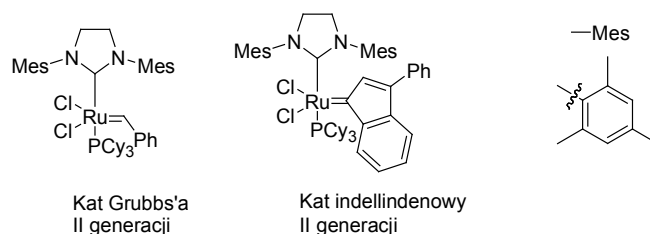
Realizację projektu syntezy ezetymibu rozpocząłem od opracowania syntezy wyjściowych materiałów: laktonu **57** i nitronu **52**.

Na wstępie przystąpiłem do syntezy laktonu **57** w wersji racemicznej. Synteza ta przedstawiona na Schemacie 4.2 nie nastęrczała większych trudności. Handlowo dostępny 4-fluorobenzaldehyd poddałem reakcji z bromkiem allilomagnezowym, uzyskując alkohol *rac*-**63**, który następnie poddałem acylowaniu przy użyciu chlorku akryloilu. Uzyskany dien **64** poddałem następnie reakcji metatezy prowadzącej do uzyskania *rac*-**57**.



Schemat 4.2

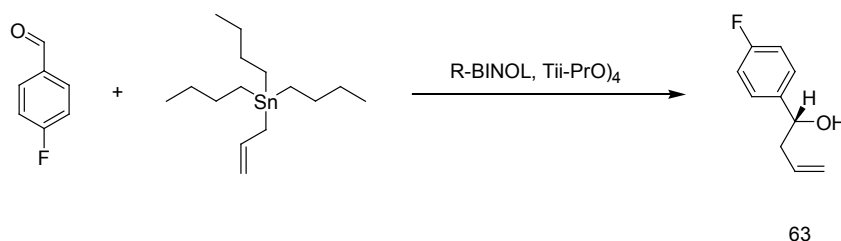
Z uwagi na cenę katalizatorów reakcji metatezy, w reakcji wykorzystałem handlowo dostępny katalizator indenlidenowy II-generacji, zamiast katalizatora Grubbs'a II-generacji rysunek 4.1.



Rysunek 4.1

Reakcja metatezy wymagała użycia co najmniej 5 mol% katalizatora. Taka ilość katalizatora, choć nie wielka molowo, stanowi jednak sporą ilość, jeśli wziąć pod uwagę masę katalizatora indenlidenowego II-generacji (MW ~ 949 g/mol co daje 48 mg katalizatora/192 mg laktonu). Jest to istotne ograniczenie z punktu widzenia późniejszego oczyszczania produktu od zanieczyszczeń z rozłożonego katalizatora. W tym przypadku nawet dwukrotne oczyszczanie produktu za pomocą chromatografii kolumnowej w różnych eluentach prowadziło do uzyskania produktu *rac*-**57** w postaci czarno-brązowego oleju lub kryształów, dla których analiza elementarna znacznie

odbiegała od oczekiwanych wyników. Mając na uwadze ten problem, postanowiłem przeprowadzić reakcję metatezy w perfluorowanym rozpuszczalniku aromatycznym (n.p. heksafluorobenzenie) zgodnie z metodą opracowaną w zespole prof. K. Grela z Instytutu Chemii Organicznej PAN.⁴⁰ Takie podejście pozwoliło mi na obniżenie ilości stosowanego katalizatora z 5 do 0.8 mol% uzyskując jednocześnie lakton *rac*-**57** o wysokiej czystości według wyników uzyskanych z analizy elementarnej. Po opracowaniu warunków syntezy laktonu **57** w wersji racemicznej, przystąpiłem do syntezy laktonu **57** o wysokiej czystości enancjomerycznej. W tym celu postanowiłem przeprowadzić allilowanie 4-fluorobenzaldehydu w wariacie enancjoselektywnym, stosując przy tym reakcję allilowania Kecka.⁴¹ W tym celu wyjściowy aldehyd poddałem reakcji z allilotributylocyną w obecności chiralnego kompleksu tytanu (Schemat 4.3) zgodnie z procedurą opisaną przez Douceta i Santelliiego.⁴² Niestety, pomimo kilkakrotnych prób, nie udało się uzyskać, w opisanych przez autorów warunkach, docelowego alkoholu **63** (procedura dotyczyła bezpośrednio syntezowanego alkoholu). Także modyfikacje warunków reakcji nie pozwoliły na uzyskanie docelowego produktu. Głównym produktem reakcji był kwas karboksylowy i alkohol benzylový oraz wyjściowy substrat.



Schemat 4.3

Wiadomo, że reakcja Kecka jest wrażliwa na obecność kwasów, które hamują jej przebieg. Niestety 4-fluorobenzaldehyd jest związkiem podatnym na samorzutną reakcję Canizzaro, która prowadzi do wytworzenia *para*-podstawionych, alkoholu i

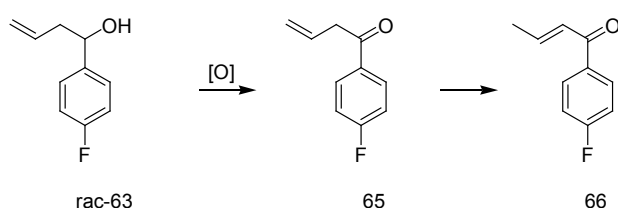
⁴⁰ C. Samojowicz, M. Bieniek, A. Zarecki, R. Kadyrov, K. Grela, *Chem. Commun.* **2008**, 6282.

⁴¹ S. E., Denmark, J. Fu, *Chem. Rev.*, **2003**, 103, 2763.

⁴² H. Doucet, M. Santelli, *Tetrahedron Asymmetry*, **2000**, 11, 4163.

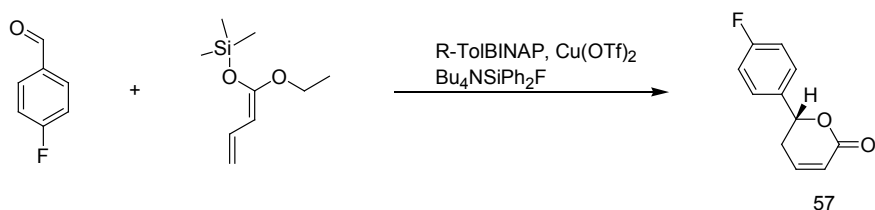
kwasy benzoesowe. Oba związki obserwuje się nawet bezpośrednio po destylacji aldehydu w atmosferze gazu obojętnej.

Wobec napotkanych problemów, postanowiłem uzyskać nieracemiczny alkohol **63** poprzez asymetryczną redukcję ketonu **66** uzyskanego w wyniku utlenienia alkoholu *rac*-**63** odczynnikami Jonesa. Redukcję zamierzałem przeprowadzić z użyciem chiralnej oksazaborolidyny metodą CBS, lub przy użyciu chlorku (-)-DIP. Niestety uzyskany keton **65** uległ bardzo szybkiej migracji wiązania podwójnego, która prowadziła do α,β -nienasyconego ketonu **66** (Schemat 4.4).



Schemat 4.4

Niepowodzenia w metodach, które miały wykorzystać metatezę olefin skłoniły mnie do poszukiwań innego sposobu syntezy potrzebnego chiralnego laktonu. W trakcie studiów literaturowych natrafiłem na interesującą pracę, w której uzyskuje się 6-arylopodstawione laktony w wyniku katalizowanej chiralnym kompleksem miedzi(II) reakcji podstawionych aldehydów benzoesowych z sililowym eterem enolu krotonianu etylu.⁴³ Postanowiłem wykorzystać zaprezentowaną metodę do syntezy laktonu **57** - Schemat 4.5. W przypadku powodzenia, byłaby to najprostsza, bo jednoetapowa synteza laktonu **57**

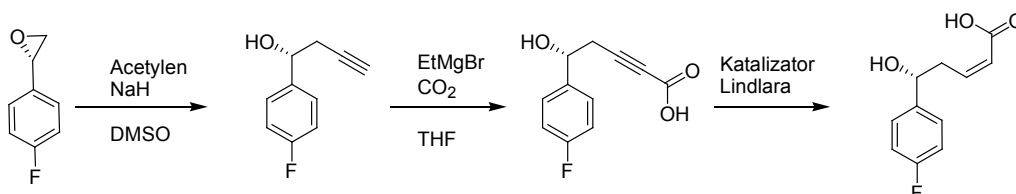


Schemat 4.5

⁴³ B. Bazen-Tejeda, G. Bluet, G. Broustal, J.M. Campagne, *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 8358.

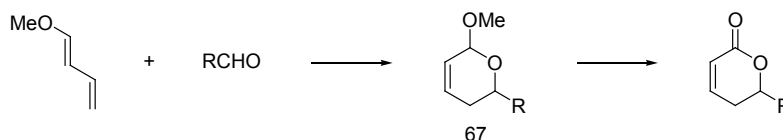
Opisaną w literaturze procedurę powtórzyłem dwukrotnie uzyskując docelowy lakton **57** z wysokim, 84% nadmiarem enancjomerycznym, jednak z katastrofalnie niską wydajnością 8-10%. Z uwagi na niską wydajność oraz wysoki koszt reagentów (w szczególności chiralny ligand (*R*)-TolBINAP), dalsze prace nad tą metodą zarzuciłem.

Niepowodzeniem zakończyła się również próba syntezy laktonu **57** w sekwencji reakcji zaprezentowanych na Schemacie 4.6. Handlowo dostępny epoksyd poddałem reakcji z anionem acetylenowym, a następnie przekształciłem w kwas karboksylowy. Niestety liczne próby selektywnej redukcji do (*Z*) wiązania podwójnego prowadziły do nasyconego laktonu, lub odzyskania substratu.



Schemat 4.6

W tej sytuacji postanowiłem skorzystać z doświadczeń zespołu prof. Janusza Jurczaka, w którym prowadzono [4+2]cykloaddycje pomiędzy metoksy-butadienem a alifatycznymi aldehydami, lub mało aktywnymi dienofilami. Cykloaddycje wymagały wysokiego ciśnienia⁴⁴, lub obecności kwasu Lewisa, lub też jednego i drugiego.⁴⁵ Powstające 6-podstawione 2-metoksy-5,6-dihydro-2H-pirany **67** były utleniane do nienasyconych laktonów (schemat 4.7).⁴⁶



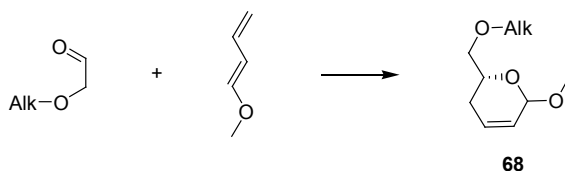
Schemat 4.7

⁴⁴ J. Jurczak, M. Chmielewski, S. Filipek, *Synthesis*, **1979**, 41.

⁴⁵ M. Kosior, P. Kwiatkowski, M. Asztemborska, J. Jurczak, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2005**, *16*, 2897.

⁴⁶ a) J. Mieczkowski, J. Jurczak, M. Chmielewski, A. Zamojski: *Carbohydr. Res.*, **1977**, *56*, 180; b) M. Chmielewski, J. Jurczak, *J. Org. Chem.*, **1981**, *46*, 2230.

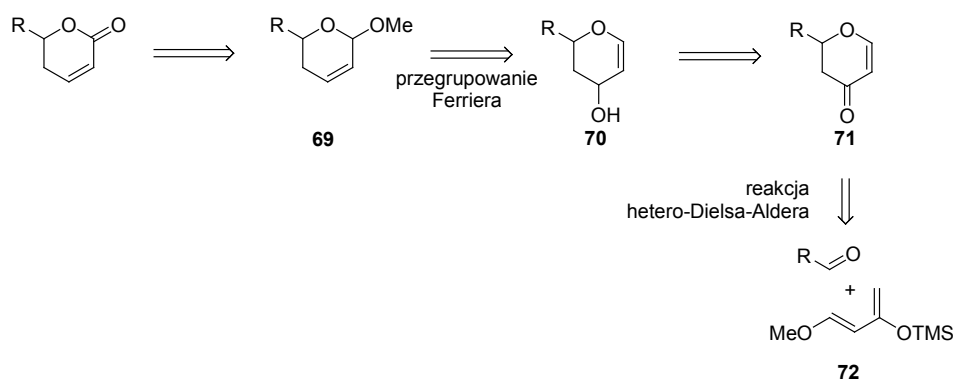
Podobne [4+2]cykloaddycje prowadził też zespół Jacobsena,⁴⁷ w których, w obecności chiralnego kompleksu, podstawiony aldehyd glikolowy i metoksy-butadien ulegały reakcji hetero-Dielsa-Aldera prowadzącej do acetalu **68** (schemat 4.8). Związki takie można łatwo utlenić do odpowiedniego nienasyconego laktonu, co zostało zaprezentowane wcześniej (schemat 4.7). Postanowiłem wykorzystać metodę [4+2]cykloaddycji w syntezie laktonu **57**. Przed przystąpieniem do eksperymentów skonsultowałem się z kolegami z zespołu prof. J. Jurczaka z Instytutu Chemii Organicznej PAN, którzy specjalizują się w asymetrycznej reakcji hetero-Dielsa-Aldera. Niestety, uzyskałem informację, że w ich zespole opisanych przez Jacobsena⁴⁹ wyników nie udało się nigdy powtórzyć dla aldehydów aromatycznych.



Schemat 4.8

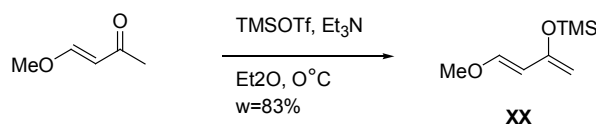
Na podstawie prostej analizy retrosyntetycznej doszedłem do wniosku, że addukt **71** powstający w enancjoselektywnej reakcji cyklokondensacji pomiędzy p-fluoro-benzaldehydem i dienem Danishefsky'ego może być w prosty sposób przeprowadzony w 2-metoksy-dihydro-piran **69** i dalej w pożądaną lakton **57** (Schemat 4.9). Standardowa sekwencja reakcji wymaga redukcji grupy karbonylowej w addukcie **71** z utworzeniem dihydropiranu **70**, i następnie przegrupowania Ferriera, które doprowadzi do acetalu **69**. Lakton **57** zostanie uzyskany w wyniku utlenienia acetalu **69** jedną ze znanych metod.

⁴⁷ A. G. Dossetter, T. F. Jamison, E. N. Jacobsen, *Angew. Chem., Int. Ed.* **1999**, *38*, 2398.



schemat 4.9

Dien Danishefskiego, substrat w cyklokondensacji, jest produktem handlowym. Ze względu na cenę zdecydowałem się otrzymać go znaną metodą z (*E*)-4-metoksybut-3-en-2-onu działaniem TMSCl w obecności LiCl lub ZnCl₂. Wadą tej metody był dość trudny przerób mieszaniny poreakcyjnej. Ponadto, reakcja dawała niepowtarzalne rezultaty podczas prób powiększania skali. Dobre rezultaty uzyskałem, gdy TMSCl zastąpiłem TMSOTf, a reakcję prowadziłem wobec 2,5-krotnego nadmiaru Et₃N (Schemat 4.10).⁴⁸



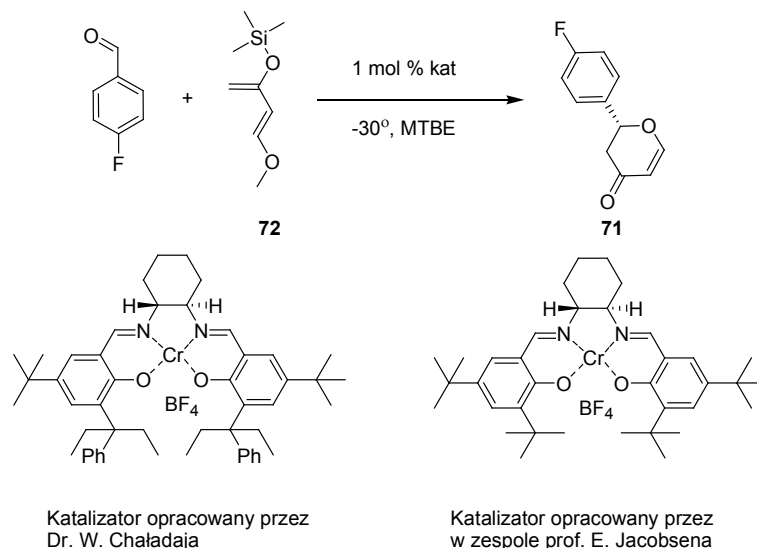
schemat 4.10

W wyniku reakcji cyklokondensacji 4-fluorobenzaldehydu z dienem Danishefskiego **72** w obecności 1 mol% handlowego kompleksu Jacobsena otrzymywałem piranon **71** z wydajnością 97% i nadmiarem enancjomerycznym 85% (Schemat 4.11). W badaniach wykorzystałem także salenowy katalizator opracowany przez dr W. Chaładaj z zespołu prof. J. Jurczaka z IChO PAN,⁴⁹ który wedle danych literaturowych pozwala na uzyskanie wyższej indukcji asymetrycznej. Rzeczywiście, w obecności katalizatora opracowanego przez dr Chaładaj uzyskałem piranon **71** z 91% e.e., jednak tylko z 68% wydajnością. Mając do wyboru proces z wyższą wydajnością,

⁴⁸ Y. Yamashita, S. Saito, H. Ishitani, S. Kobayashi, *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, *125*, 3793.

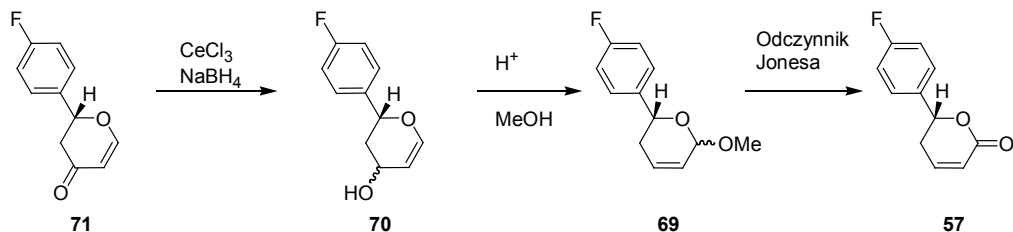
⁴⁹ W. Chaładaj, P. Kwiatkowski, J. Jurczak, *Synlett*, **2006**, 3263.

lub z wyższą indukcją, biorąc pod uwagę konieczność powiększania skali, do kolejnych eksperymentów wybrałem reakcję z udziałem handlowego katalizatora, która prowadzi do produktu o 85% e.e. Dalsze wzbogacenie enancjomeryczne zamierzałem uzyskać na kolejnych etapach syntezy drogą krystalizacji (*vide infra*).



Schemat 4.11

W kolejnym etapie grupę karbonylową w piranone **71** poddałem redukcji do alkoholu **70**. W tym celu związek **71** poddałem redukcji Luche,⁵⁰ działając NaBH_4 w MeOH w obecności stechiometrycznej ilości $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (schemat 4.12). Produkt **71**, uzyskany z wydajnością 94%, wykazywał wystarczającą czystość by bez oczyszczania wykorzystać go w kolejnym etapie syntezy.



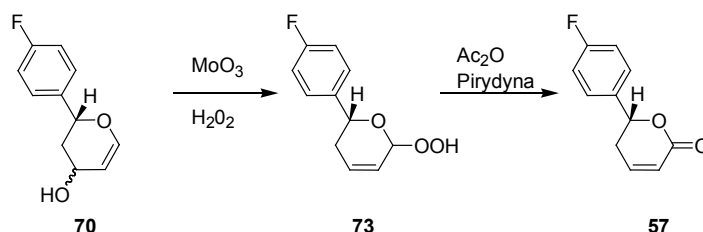
Schemat 4.12

⁵⁰ J. L. Luche, *J. Am. Chem. Soc.*, **1978**, *100*, 2226.

Surowy alkohol **70** poddałem następnie przegrupowaniu Ferriera⁵¹ w obecności kwasowego katalizatora. Reakcję prowadziłem w metanolu stosując kwaśną żywicę DOWEX X4. Produkt przegrupowania **69** uzyskałem z wydajnością 51%. W ostatnim etapie acetal **69** poddałem utlenianiu odczynnikami Jonesa uzyskując lakton **57** z wydajnością 50%. Sumaryczna wydajność syntezy laktonu **57** wynosiła około 25% (4 etapy). Warto podkreślić, iż poszczególne etapy syntezy nie wymagały chromatograficznego oczyszczania produktów pośrednich.

Biorąc pod uwagę stosunkowo niską sumaryczną wydajność całej sekwencji reakcji, podjąłem próby optymalizacji etapu przegrupowania Ferriera badając między innymi wpływ dodatku kwasu Brönsteda lub Lewisa. Próby te nie zaowocowały zwiększeniem wydajności procesu. W przypadku próby optymalizacji procesu utleniania, gdy odczynnik Jonesa zastąpiono innymi utleniaczami na bazie związków chromu, takich jak PCC lub PDC, obserwowałem powstanie laktonu **57** zanieczyszczonego dihydropiraniem **71**.

W trakcie badań optymalizacyjnych nad syntezą laktonu **57** postanowiłem również wykorzystać opracowane w naszym zespole metody syntezy i przekształcenia wodoronadtlenków glikozylowych do odpowiednich laktonów.⁵² Postanowiłem bezpośrednio z glikalu **70** otrzymać wodoronadtlenek **73**. Zgodnie z oczekiwaniem, od wpływem H_2O_2 w obecności MoO_3 związek **70** ulegał przekształceniu w wodoronadtlenek **73**, który, bez wyodrębniania, poddany działaniu Ac_2O/Py tworzył lakton **57**. Ten sposób postępowania, który praktycznie w jednym etapie przekształca glikal **70** w wodoronadtlenek glikozyłowy **73** ułatwia w istotny sposób syntezę laktonu **57** z adduktu **71**.



Schemat 4.13

⁵¹ a) R. J., Ferrier, S. Middleton, *Chem. Rev.* **1993**, *93*, 2779; b) R. J. Ferrier, *J. Chem. Soc., Abstracts* **1964**, 5443.

⁵² D. Mostowicz, M. Jurczak, H.-J. Hamann, E. Höft, M. Chmielewski: *Eur. J. Org. Chem.*, **1998**, 2617.

Pierwszy etap prowadziłem przy użyciu 30% wodnego roztworu H_2O_2 w acetonitrylu. Ze względów bezpieczeństwa utworzonego wodoronadtlenku nie wydzielałem. W wyniku ekstrakcyjnego przerobu uzyskiwałem roztwór **73** w rozpuszczalniku organicznym, który po wysuszeniu środkiem suszącym bezpośrednio traktowałem mieszaniną bezwodnika octowego i pirydyny.

Przedstawiona metoda zapewniała powtarzalną drogę syntezy pożądanego laktonu **57** z wydajnością całkowitą, liczoną na aldehyd 4-fluorobenzoesowy, wynoszącą ~48%. Zaproponowana metoda syntezy laktonu **57** nie wymaga chromatograficznego oczyszczania na żadnym jej etapie, a jedynie oczyszczanie metodami ekstrakcyjnymi. W przypadku syntezy dienu Danishefskiego konieczna jest jego destylacja pod zmniejszonym ciśnieniem.

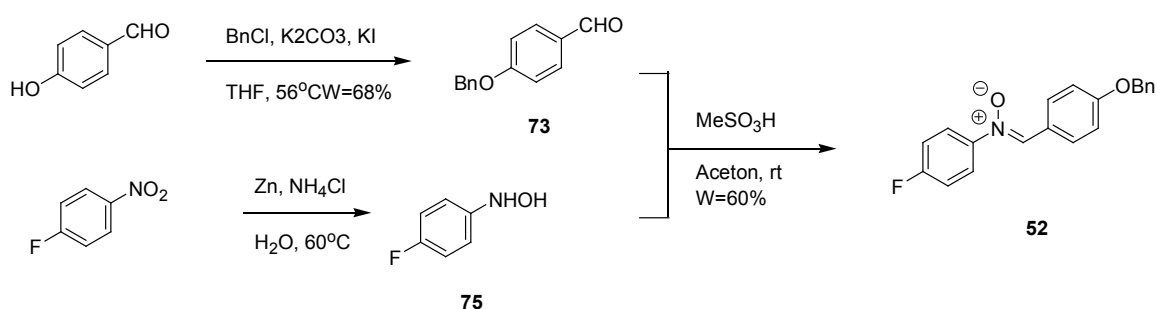
Z uwagi na stosunkowo niską czystość enancjomeryczną produktu cyklokondensacji konieczne było przeprowadzenie wzbogacenia enancjomerycznego uzyskanego laktonu **57**. W tym celu lakton poddałem krystalizacji z mieszaniny AcOEt/heptan uzyskując produkt z 98% e.e.

4.2 Synteza nitronu

Wolna grupa fenolowa w nitronie stwarzałyby liczne komplikacje w czasie planowanych etapów syntezy ezetymibu, dlatego postanowiłem ją zabezpieczyć. Najlepszym momentem było zabezpieczenie fenolu jeszcze przed syntezą nitronu. Zdecydowałem się na zabezpieczenie grupą benzylową ze względu na jej trwałość oraz możliwość selektywnego usunięcia w opisanych w literaturze warunkach.

Syntezę nitronu przeprowadziłem według znanej procedury⁵³ z modyfikacją polegającą na dodaniu kwasu metanosulfonowego. Prowadzenie reakcji w acetonie pozwoliło otrzymać nitron w postaci lekko żółtego osadu wypadającego z mieszaniny reakcyjnej. Wydajność reakcji wynosiła 60% (schemat 4.14).

⁵³ P. Jiao, D. Nakashima, H. Yamamoto, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2008**, *47*, 2411.

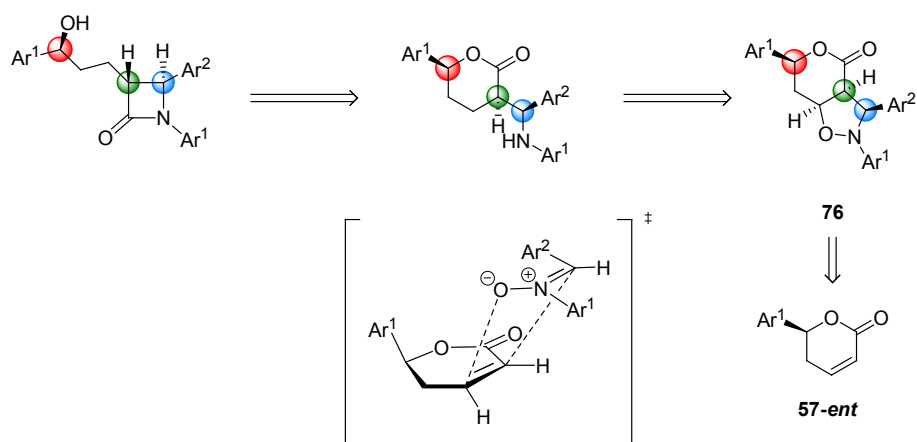


schemat 4.14

4.3 1,3-Dipolarna cykloaddycja

Przedstawiona we wstępie do niniejszego rozdziału strategia syntezy ezetymibu została poprzedzona szczegółowymi studiami nad stereochemicznym przebiegiem reakcji 1,3-dipolarnej cykloaddycji, która dostarcza kluczowego dla całej syntezy substratu. Właśnie na tym etapie następuje utworzenie istotnych centrów stereogenicznych, które później utworzą pierścień 2-azetydynonu o pożądanej konfiguracji absolutnej. W studiach tych wykorzystałem wieloletnie doświadczenie zespołu w obszarze kontroli stereochemicznej w reakcjach 1,3-dipolarnej cykloaddycji.¹

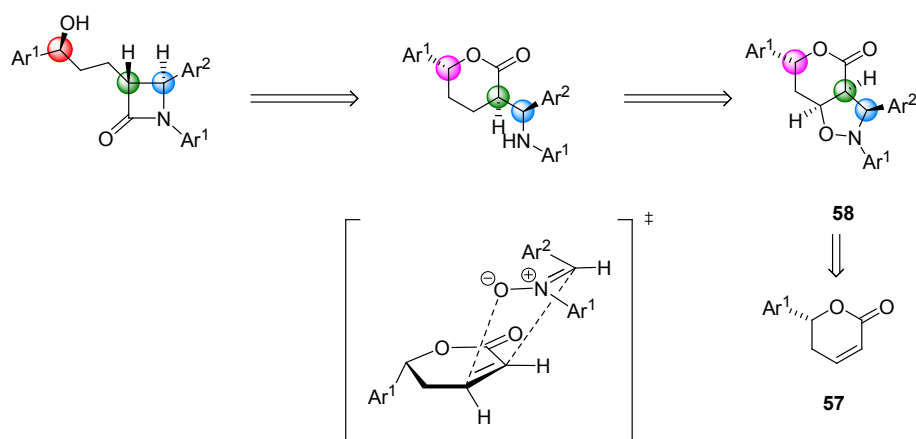
Wstępna analiza wykazała, iż idealnym substratem pozwalającym na syntezę ezetymibu jest przedstawiona na Schemacie 4.15 izoksazolidyna **75**. Zaznaczone na schemacie centra stereogeniczne mają tę samą konfigurację absolutną co docelowa cząsteczka ezetymibu. Niestety addukt ten musiałby powstać w wyniku podejścia reagentów *exo-syn* (Schemat 4.15). Wcześniejsze doświadczenia zespołu z udziałem cukrowych 6-członowych laktonów wykazały,¹ iż podejście 1,3-dipola *syn* względem podstawnika w poz. 6 laktonu jest szczególnie niekorzystne ze względów sterycznych i nigdy nie było obserwowane. Wysoką stereoselektywność *anti* podejścia tłumaczono większym zaawansowaniem tworzenia się w stanie przejściowym wiązania C-O niż C-C. Taki stereochemiczny przebieg reakcji został poparty obliczeniami orbitali molekularnych na poziomie teorii B3LYP/6-31+G(d). Zatem nie ma możliwości w reakcji cykloaddycji uzyskać pożądanych konfiguracji na wszystkich centrach stereogenicznych, które będą odpowiadać finalnemu produktowi.



Schemat 4.15

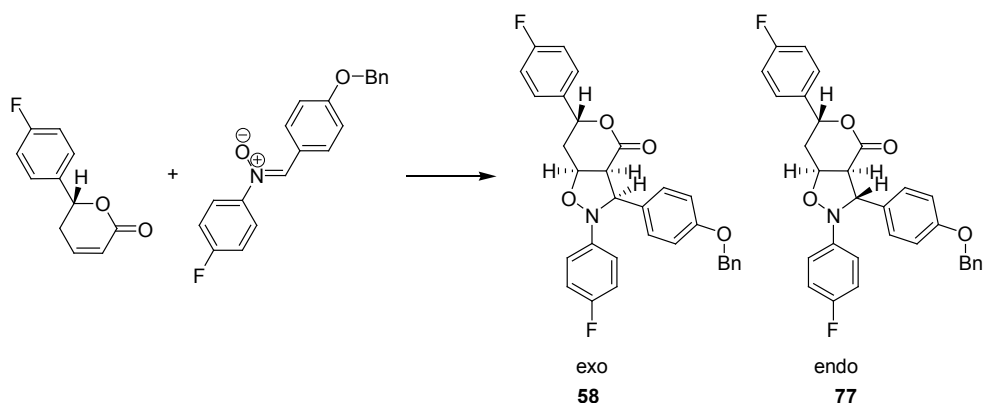
Należy zaznaczyć, że z stereochemicznego punktu widzenia istotnym jest, aby na etapie reakcji cykloaddycji uzyskać właściwą konfigurację centrum stereogenicznego w pozycji α do atomu azotu (centrum oznaczone kolorem niebieskim). W przeciwnieństwie do dwóch pozostałych centrów, konfiguracji przy tym atomie węgla nie będzie można zamienić w kolejnych etapach syntezy.

Mając to na uwadze, zdecydowałem się wykorzystać lakton **57** jako dipolarofil w reakcji cykloaddycji z udziałem diarylowego nitronu (Schemat 4.16). W tym przypadku *exo-anti* addycja do laktonu **57** winna prowadzić do izoskasolidyny **58**, która posiada właściwą konfigurację na centrach odpowiadających pozycjom C3 i C4 w docelowym 2-azetydynonie. Jediną niedogodnością wynikającą z takiego wyboru substratu jest konieczność przeprowadzenia na późniejszych etapach syntezy inwersji konfiguracji we fragmencie benzylowym laktonu (Schemat 4.16, centrum oznaczone kolorem różowym) tak, aby uzyskać właściwą konfigurację absolutną łańcucha bocznego ezetymibu. Bazując na powyższych założeniach, przystąpiłem do weryfikacji przyjętej koncepcji.



Schemat 4.16

Wstępne reakcje cykloaddycji nitronu **52** do laktonu **57**, prowadzone w temperaturze wrzenia toluenu, doprowadziły do uzyskania oczekiwanego *exo*-adduktu **58**, jednak w mieszaninie z odpowiednim *endo* adduktem **77** w stosunku 59:41. Niestety po 5 h sumaryczna wydajność wyniosła zaledwie 29% (Schemat 4.17). Powstające diastereomeryczne produkty rozdzieliłem chromatograficznie. Przypisania konfiguracji nowoutworzonych centrów stereogenicznych dokonałem na podstawie widm ^1H NMR wykorzystując korelacje NOE.



Schemat 4.17

Wydłużenie czasu reakcji do 16 godzin pozwoliło na zwiększenie wydajności do 41%, jednak towarzyszyła temu zmiana proporcji diastereoizomerów do 53:47 na korzyść produktu *endo*. Wydłużenie czasu reakcji do 3 dni doprowadziło do uzyskania mieszaniny produktów w stosunku 69:31 (*endo/exo*) przy jednoczesnym obniżeniu

wydajności do 37%. Należy zaznaczyć, iż badana reakcja wymagała podwyższonej temperatury; w eksperymentach prowadzonych w temperaturze pokojowej nie obserwowano tworzenia produktu(ów).

Powyższe rezultaty świadczą, iż produkt *endo* **77** jest produktem termodynamicznym reakcji, natomiast izomer *exo* produktem kinetycznym, a sama reakcja cykloaddycji jest procesem odwracalnym. Potwierdził to eksperyment, w którym toluenowy roztwór *exo* adduktu **58** utrzymywałem w temperaturze wrzenia przez 4 dni. Analiza mieszaniny reakcyjnej wykazała obecność w niej zarówno *exo* produktu **58** jak i *endo* izomeru **77** w stosunku 67:33. Ponadto w mieszaninie poreakcyjnej wykryto obecność laktonu **57** oraz produktów rozpadu nitronu **52**. Wydłużenie czasu ogrzewania nie miało wpływu na zmianę składu mieszaniny produktów, co sugerowało osiągnięcie stanu równowagi. Powyższe obserwacje zostały także potwierdzone przy pomocy obliczeń kwantowo-mechanicznych.⁵⁴

Jest oczywistym, że właściwym związkem do dalszej syntezy ezetymibu jest produkt *exo* addycji ponieważ ułożenie atomów wodoru 5a i 5b w położeniu *cis* w izoksazolinie **58** prowadzi do ułożenia obu tych atomów *trans* w pierścieniu β -laktamowym. Niestety addukt *exo* jest produktem kinetycznym, a więc powstaje w reakcji szybciej, z tego powodu jest mniej trwały niż produkt termodynamiczny *endo* który w wyższej temperaturze i podczas dłuższego ogrzewania zawsze będzie przeważał. Jednym sposobem otrzymania produktu kinetycznego w przewodzie jest obniżenie temperatury prowadzenia reakcji, lub użycie katalizatora. Próba przeprowadzenia reakcji w temperaturze pokojowej zakończyła się całkowitym niepowodzeniem, nie obserwowałem śladów utworzenia produktów 1,3-dipolarnej cykloaddycji. Można zaplanować syntezę ezetymibu startując z adduktu *endo*, jednakże wówczas należałoby do reakcji cykloaddycji użyć laktonu **57-ent** i zaplanować na dalszych etapach inwersję konfiguracji na atomie węgla a do grupy karbonylowej. Najstańszą stroną koncepcji syntezy, która bazuje na addycji *endo* jest

⁵⁴ a) S. Stecko, K. Pańniczek, A. Milet, C. Michel, S. Perez, M. Chmielewski, *Tetrahedron Asymmetry*, **2008**, *19*, 214. b) Wyniki nie publikowane.

niska wydajność związana z długim czasem reakcji cykloaddycji i niska stereoselektywność, która zmusza do chromatograficznego oddzielenia adduktu *exo*.

Otrzymane wstępne wyniki dyskwalifikowały koncepcję wykorzystującą *endo* addycję i skłoniły mnie do poszukiwania takich warunków prowadzenia 1,3-dipolarnej cykloaddycji, aby głównym produktem był addukt *exo*. W tej sytuacji postanowiłem sprawdzić czy można prowadzić reakcję 1,3-dipolarnej cykloaddycji w wariacie katalitycznym uzyskując wyłącznie, lub ze znaczną przewagą produkt *exo*.

W dostępnej literaturze można znaleźć szereg przykładów katalizowanej chiralnymi kompleksami metali enancjoselektywnych reakcji 1,3-dipolarnej cykloaddycji przebiegających zarówno z normalnym jak i odwróconym wymogiem elektronowym.⁵⁵ Uznałem jednakże, iż poszukiwania chiralnego kompleksu metalu, który mógłby efektywnie katalizować badaną przeze mnie reakcję cykloaddycji będzie nieuzasadniona, ponieważ dipolarofilem jest nieracemiczny lakton **57**. Prowadzenie reakcji w obecności dwóch induktorów asymetrii, chiralnego substratu i chiralnego katalizatora, stwarza możliwość ich synergicznego (dopasowane reagenty) lub antagonistycznego działania (niedopasowane reagenty). W konsekwencji konieczna byłaby synteza obu enancjomerycznych form ligandów. Zatem koszt takiej operacji byłby znaczny, co więcej nic nie wnosiłby do rozwiązywanego przeze mnie problemu.

Uznałem, iż należy zbadać wpływ prostych achiralnych kwasów Lewisa na badaną reakcję cykloaddycji. Większość znanych przykładów katalizy reakcji 1,3-dipolarnej cykloaddycji achiralnymi kwasami Lewisa dotyczy dipolarofili zdolnych do chelatowania jonu metalu, na przykład pochodnych akrylanowych posiadających pomocnik Evansa.⁵⁴ Liczba przykładów katalizowanych kwasem Lewisa reakcji α,β -nienasyconych estrów/laktonów z nitronami jest ograniczona.⁵⁶

Do wstępnych prób wybrałem typowe kwasy Lewisa stosowane w katalizie reakcji cykloaddycji. Uzyskane wyniki zebrałem w Tabeli.1. Spośród przebadanych kwasów, dwa z nich $\text{Yb}(\text{OTf})_3$ i $\text{Sc}(\text{OTf})_3$, dostarczyły interesujących wyników. Choć wydajności obu reakcji były niskie, to jednak charakteryzowały się zdumiewająco wysoką diasteroselektywnością prowadząca głównie do *exo*-adduktu **58** - kluczowego

⁵⁵ a) L. M. Stanley, M. P. Sibi, *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 2887. b) S. Kanemasa, *Synlett*, **2002**, 1371.

⁵⁶ H. Pellissier, *Tetrahedron*, **2007**, *63*, 3235.

dla realizacji celu mojej rozprawy doktorskiej. Zachęcony powyższymi wynikami przystąpiłem do optymalizacji warunków reakcji w celu zwiększenia jej wydajności.

Tabela 1. Wstępne prace nad katalitycznym wariantem cykloaddycji nitronu **52** do laktonu **57**.^a

Lp.	Katalizator	Wyd. [%]	58 : 77
1	Cu(OTf) ₂	0 ^b	-
2	Yb(OTf) ₃	36	97:3
3	MgBr ₂ ·Et ₂ O	0	-
4	InCl ₃	0	-
5	MgI ₂	<5	-
6	Zn(OTf) ₂	0	-
7	FeCl ₃	0	-
8	In(OTf) ₃	0	-
9	Sc(OTf) ₃	8	97:3

^a Warunki: nitron **52** (1,5 mmol), lakton **57** (1 mmol), katalizator (10 mol%), DCM, rt; 48 godzin ; ^b szybki rozpad nitronu do iminy; ^c szybki rozpad substratów.

W 1997 r. ukazała się praca z zespołu Kobayashi, w której autorzy wykazali, że wydajność reakcji 1,3-dipolarnej cykloaddycji katalizowanych Yb(OTf)₃ silnie zależy od rozpuszczalnika w którym prowadzona jest reakcja.⁵⁷ Szczególnie wysokie wydajności uzyskiwano prowadząc reakcje w niepolarnych rozpuszczalnikach, na przykład toluenie, benzenie, lub heksanie. Rok później inna japońska grupa ogłosiła, że w przypadku katalizy tryflanami lantanowców zmiana medium reakcyjnego z toluenu na MeCN pociąga za sobą zmianę diastereo selektywności reakcji.⁵⁸

⁵⁷ S. Kobayashi, R. Akiyama, M. Kawamura, H. Ishitani, *Chem. Lett.*, **1997**, 1039.

⁵⁸ S. Minakata, t. Ezo, K. Nakamura, I. Ryu, M. Komatsu, *Tetrahedron Lett.*, **1998**, 39, 5205.

W trakcie badań optymalizacyjnych nad reakcją nitronu **52** z laktonem **57** katalizowanych $\text{Yb}(\text{OTf})_3$ lub $\text{Sc}(\text{OTf})_3$ zbadalem wpływ różnych rozpuszczalników na jej wydajność. Wybrane przykłady zebrałem w Tabeli 2. W przypadku polarnych rozpuszczalników, np. MeOH , Et_2O , nie obserwowałem tworzenia oczekiwanych produktów, a jedynie wydzieliłem substraty. Prawdopodobnie rozpuszczalniki te zbyt mocno solwują nitron i/lub kwas Lewisa zmniejszając tym samym ich reaktywność. Oczekiwanych produktów nie obserwowałem także w przypadku rozpuszczalników, które okazały się skuteczne w doniesieniach literaturowych^{56,57} - heksanie i acetonitrylu. Umiarkowane wydajności ~40% uzyskałem w przypadku prowadzenia reakcji w toluenie lub chlorku metylenu w obecności $\text{Yb}(\text{OTf})_3$. Analogiczne reakcje z udziałem $\text{Sc}(\text{OTf})_3$ prowadziły do produktów z wydajnością ~10% (Tabela 2). W każdym przypadku zmiana rozpuszczalnika z toluenu na chlorek metylenu nie wpływała na zmianę diastereo selektywności reakcji.

Tabela 2. Wpływ rozpuszczalnika i dodatku sit molekularnych na wydajność reakcji 1,3-dipolarnej cykloaddycji nitronu **52** do laktonu **57**.^a

Lp.	Katalizator	Rozpuszczalnik	MS 4Å	Wyd. [%]
1	Yb(OTf) ₃	DCM	-	36
2		DCM	+	36
3		PhMe	-	32
4		PhMe	+	32
5		MeCN	-	0
6		MeCN	+	0
7	Sc(OTf) ₃	DCM	-	8
8		DCM	+	50
9		PhMe	-	8
10		PhMe	+	85
11		MeCN	-	0
12		MeCN	+	0
13	brak	PhMe	+	0

^a Warunki: nitron **52** (1,5 mmol), lakton **57** (1 mmol), katalizator (10 mol%), DCM, rt; 72 godziny.

Niejednokrotnie istotny wpływ na katalityczne działanie tryflanów lantanowców ma obecność lub brak sit molekularnych w mieszaninie reakcyjnej.⁵⁹ Postanowiłem sprawdzić, czy w przypadku badanej reakcji zaobserwuję taką zależność. W przypadku reakcji wobec Yb(OTf)₃ dodatek sit molekularnych 4Å nie miał żadnego wpływu na wydajność docelowych produktów. Natomiast w przypadku reakcji katalizowanej Sc(OTf)₃ dodatek sit spowodował ponad 10-krotny wzrost wydajności (85%). W niezależnym eksperymencie wykluczyłem, iż wzrost wydajności jest

⁵⁹ A. I. Sanchez-Blanco, K. V. Gothelf, K. A. Jergensen, *Tetrahedron Lett.*, **1997**, *38*, 7923.

wynikiem działania samych sił molekularnych; ponieważ w obecności sił, ale bez kwasu Lewisa, nie obserwałem tworzenia produktów cykloaddycji (Tabela 2, poz. 13).

W zoptymalizowanych warunkach reakcja cykloaddycji nitronu **52** do nitronu **57** w obecności $\text{Sc}(\text{OTf})_3$ i sił 4\AA w toluenie w temperaturze 30°C prowadziła do uzyskania mieszaniny adduktów **58** i **77** w stosunku 97:3 z wydajnością 85%. Zoptymalizowane warunki zastosowałem powtórnie dla wcześniej testowanych kwasów Lewisa; niestety ponownie nie obserwałem tworzenia oczekiwanych produktów.

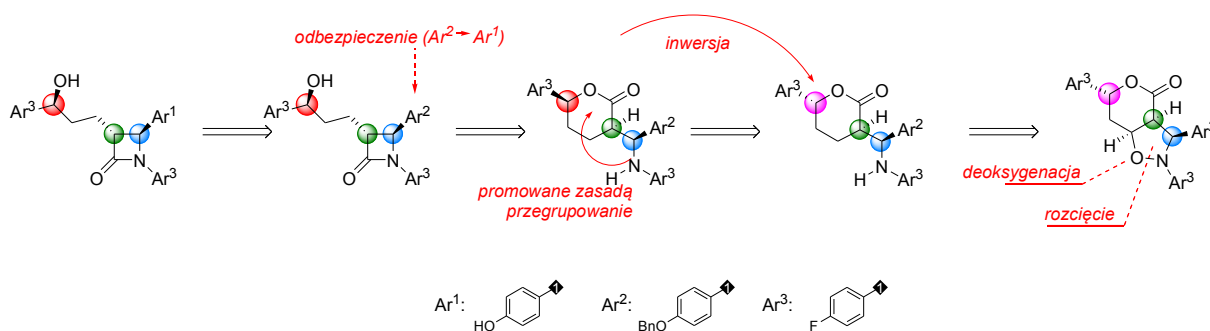
Mając w ręku wydajną, powtarzalną, o zoptymalizowanych warunkach prowadzenia reakcji, metodę pozyskiwania izoksazolidyny **58** mogłem przystąpić do kolejnych etapów realizacji założonego projektu.

4.4 Synteza ezetymibu z izoksazolidyny **58**

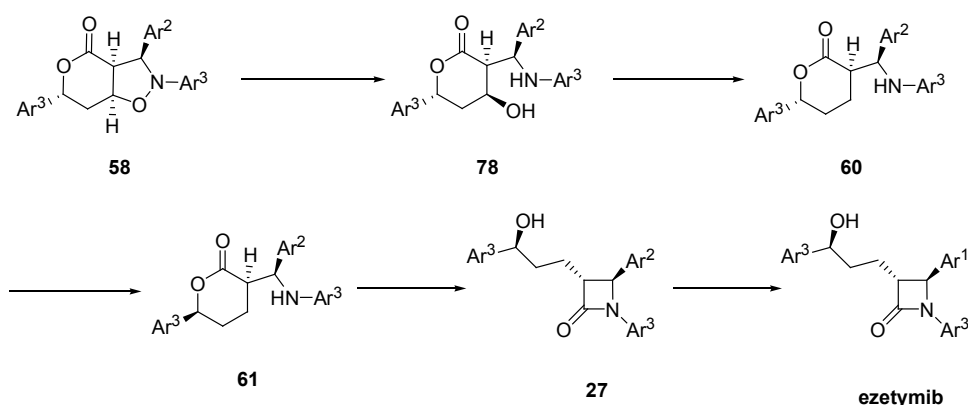
We wstępie do niniejszego rozdziału przedstawiłem skrótowo przyjętą strategię syntezy ezetymibu, która zakłada poddanie izoksazolidyny **58** przemianom prowadzącym do utworzenia odpowiedniego pierścienia 2-azetyynowego oraz inwersji konfiguracji na centrum stereogenicznym, które odpowiada pozycji benzyłowej łańcucha bocznego związku docelowego. Opisałem również trzy sposoby realizacji syntezy różniące się kolejnością przeprowadzenia kluczowych etapów (Schemat 4.1).

4.4.1 Synteza ezetymibu – metoda 1

Schemat 4.18 przedstawia plan retrosyntetyczny pierwszej z rozważanych dróg syntezy ezetymibu. Metoda ta zakłada przeprowadzenie inwersji konfiguracji przed utworzeniem pierścienia β -laktamowego.



Schemat 4.18



Schemat 4.19

Schemat 4.19 podaje szczegółową sekwencję transformacji izoksazolidyny **58** do ezetymibu. W kolejnych podrozdziałach szczegółowo zostanie omówiony każdy z etapów. W celu uproszczenia kolejnych schematów podstawniki arylowe zostały zapisane w formie skróconej. Zgodnie z zapisem na schemacie 4.1 i 4.18 podstawnik Ar^1 odpowiada grupie 4-hydroksyfenylowej, Ar^2 odpowiada grupie 4-benzyluksyfenylowej, natomiast Ar^3 podstawnikowi 4-fluorofenylowemu. Tak przyjętej konwencji będę się trzymał na wszystkich kolejnych schematach reakcji.

4.4.1.1 Rozcięcie wiązania N-O w izoksazolinie **58**

Pierwszym etapem syntezy ezetymibu metodą 1 było rozcięcie wiązania N-O w izoksazolidynie **58** prowadzące do utworzenia aminoalkoholu **78**.

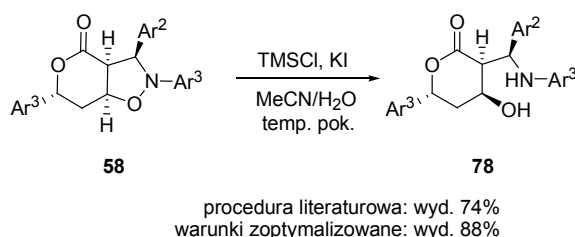
Typowe syntetyczne sposoby realizacji tego typu etapu bazują na procesie wodorolizy. Najczęściej w tym przypadku stosuje się uwodornienie w obecności katalizatora metalicznego, głównie Pd/C.⁶⁰

Niestety w przypadku związku **58** metody redukcji wiązania O-N nie mogą zostać zastosowane z uwagi na obecność w strukturze trzech układów benzytowych, których uwodornienie prowadziłoby do całkowitej degradacji substratu. Wobec takiego ograniczenia sięgnąłem po inne, rzadziej stosowane metody rozcięcia wiązania N-O w izoksazolidynach. Zarówno pod wpływem cynku w kwasie octowym, Zn/bufor

⁶⁰ H. Feuer, Nitrile Oxides, Nitrones and Nitronates in Organic Synthesis: Novel Strategies in Synthesis, 2nd Edition, **2008**, Wiley.

fosforanowy, magnezu w metanolu czy $\text{Mo}(\text{CO})_6$ obserwowałem degradację mojego substratu.⁵⁹

W trakcie poszukiwań literaturowych natrafiłem na dwie prace, w których autorzy prowadzą rozcięcie wiązania N-O w izoksazolidynie przy użyciu TMSCl w obecności KI w acetonitrylu z dodatkiem wody.⁶¹ Zastosowanie opisanej przez autorów procedury^{60b} do związku **58** pozwoliło mi na uzyskanie aminoalkoholu **78** z wydajnością 74% (Schemat 4.20). Produktowi towarzyszyła niewielka domieszka substratu.



Schemat 4.20

Według literaturowej procedury,^{60b} w atmosferze gazu obojętnego do mieszaniny TMSCl i KI w suchym MeCN dodaje się 1 równoważnik H_2O , w stosunku do związku **58**, a po 30 min roztwór substratu w acetonitrylu. Po 18 godzinach mieszaninę zatężano pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie do pozostałości dodawano mieszaninę $\text{THF}/\text{H}_2\text{O}$. Po kolejnych 10 minutach rozpuszczalnik organiczny usunięto pod zmniejszonym ciśnieniem, a uzyskaną pozostałość ekstrahowano za pomocą AcOEt . Zgodnie z opisem po dodaniu do mieszaniny reakcyjnej substratu, przybierała ona brązowo-bordową barwę, wskazującą na powstawanie wolnego jodu. Kolor ten zanikał po dodaniu roztworu Na_2SO_3 .

Wobec sukcesu zastosowanego reagenta, w kolejnym kroku przystąpiłem do optymalizacji procedury rozcięcia wiązania N-O. Postanowiłem zmienić kolejność dodawania reagentów do reakcji. Do roztworu KI (3 równoważniki w stosunku do związku **58**) w suchym MeCN dodałem substrat **58**, a następnie TMSCl (3 równoważniki w stosunku do związku **58**). Po 15 min nie zaobserwowałem powstawania produktu **78**.

⁶¹ a) M. Borauh, D. Konwar, *J. Chem. Res. Synop.*, **2000**, 5, 232; b) A. Badoiu, G. Bernardineli, J. Mareda, E. P. Kundig, F. Viton, *Chem. Asian J.*, **2008**, 3, 1298.

Następnie dodałem 1 równoważnik wody, obserwując przy tym charakterystyczną zmianą barwy mieszaniny. Analiza składu mieszaniny reakcyjnej wykazała konwersję większości substratu po 15 min. Pełną konwersję uzyskałem po dodaniu kolejnej porcji wody (1 równoważnik). Jednocześnie zaobserwowałem, że wydłużenie czasu reakcji powyżej 2 godzin, jak również stosowanie nadmiaru wody (powyżej 5 ekwiwalentów) skutkuje rozpadem powstającego produktu **78**.

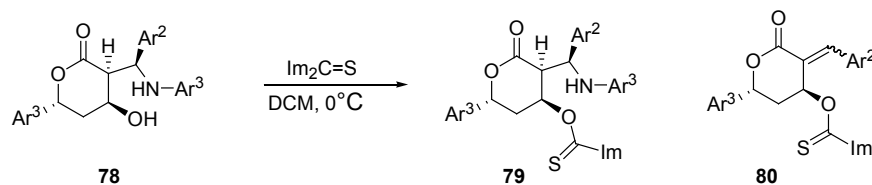
W syntezie na dużą skalę (20 mmoli) stosowałem MeCN o czystości cz.d.a. do którego bezpośrednio dodawałem 2 równoważniki wody, a następnie KI. Po jego rozpuszczeniu dodawałem kolejno substrat i TMSCl. Po 30 min wydzielony jod niszczyłem nasyconym roztworem Na₂SO₃, a następnie produkt wydzielałem technikami ekstrakcyjnymi. W przypadku tak zmodyfikowanej procedury uzyskiwałem produkt **78** ze średnią wydajnością 88%. Uzyskany w ten sposób alkohol **78** wykazywał czystość wystarczającą do wykorzystania go bezpośrednio w kolejnym etapie. Wyższą czystość, potwierdzoną analizami, można było uzyskać poprzez przesączenie roztworu związku **78** przez żel krzemionkowy.

4.4.1.2 Usunięcie grupy hydroksylowej w aminoalkoholu **78**.

Zgodnie z sekwencją reakcji przedstawioną na schemacie 4.19 kolejnym etapem syntezy miało być usunięcie grupy hydroksylowej w aminoalkoholu **78** prowadzące do uzyskania aminolaktonu **60**.

Pierwszą rozważaną metodą przeprowadzenia transformacji aminoalkoholu **78** do związku **60** była próba usunięcia grupy OH w warunkach reakcji deoksygenacji Bartona-McCombie.⁶² Niestety z uwagi na usytuowanie zarówno grupy OH, jak i fragmentu aminowego, w pozycji β do laktonowej grupy karbonylowej istniało niebezpieczeństwo równoległego przebiegu reakcji β-eliminacji. Ponadto zasadniczą trudnością było chemoselektywne przekształcenie grupy OH w tioester **79**, z pominięciem utworzenia odpowiedniego tioamidu na atomie azotu, który ulegałby spontanicznie eliminacji w warunkach reakcji, prowadząc do uzyskania bezwartościowego produktu **80** (Schemat 4.21).

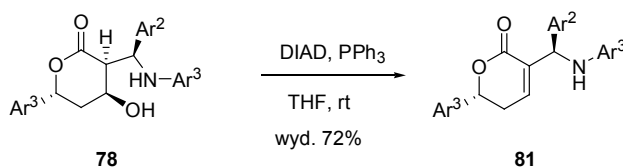
⁶² D. L. J. Clive, J. Wang, *J. Org. Chem.*, **2002**, *67*, 1192.



Schemat 4.21

Ponieważ nie mogłem przeprowadzić bezpośredniego usunięcia grupy OH w związku **78**, skupiłem swoją uwagę na metodach pośrednich. Po wnikliwej analizie, doszedłem do wniosku, iż grupę hydroksylową powstałą po rozcięciu wiązania O-N mogę spróbować usunąć właśnie w oparciu o reakcję β -eliminacji uzyskując nienasycony lakton **81**. Oczywiście konsekwencją takiego działania będzie „zniszczenie” centrum stereogenicznego w pozycji α do laktonowej grupy karbonylowej, która odpowiada pozycji C3 docelowego związku β -laktamowego. Pomimo tego, zdecydowałem się poświęcić to centrum mając na uwadze istotne przesłanki, iż w kolejnym etapie, uwodornienia wiązania podwójnego, możliwe będzie jego całkowite, stereokontrolowane odtworzenie.

Pierwsze eksperymenty eliminacji prowadziłem w warunkach reakcji Mitsunobu bez udziału reagenta nukleofilowego. Taką reakcją eliminacji w układzie tetrahydropiranu obserwowano przed laty prowadząc przemiany zmierzające do syntezy racemicznego laktonu antybiotyku negamycyny.⁶³ W wyniku reakcji przedstawionej na schemacie 4.22 uzyskałem produkt **81** z wydajnością 72%.



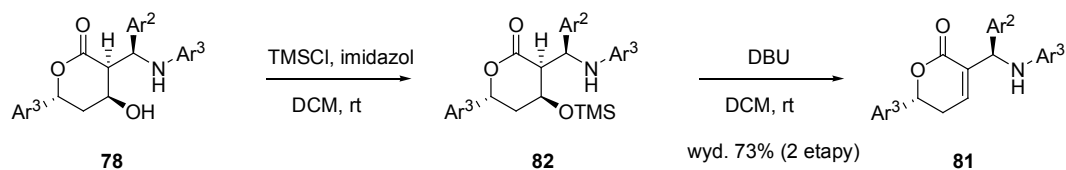
Schemat 4.22

Niestety tak otrzymany produkt **81** wymagał oczyszczania chromatograficznego z uwagi na konieczność usunięcia powstającego równolegle w reakcji diizopropylodiazohydroksykarbonylu oraz tlenku fosforyny. W kolejnych próbach

⁶³ J. Jurczak, M. Chmielewski, A. Zamojski: *Polish J. Chem.*, **1978**, 56, 743.

udało mi się opracować warunki, w których zanieczyszczenia można było usunąć poprzez ich wytrącenie. W tym celu mieszaninę poreakcyjną w THF ogrzewałem do 55°C, następnie dodawałem MeOH, poczym powoli usuwałem THF pod zmniejszonym ciśnieniem. Jednak wówczas całkowita wydajność spadała do 53%. Z uwagi na konieczność pracy w warunkach ściśle bezwodnych oraz niską ekonomię atomową powyższej reakcji (duża ilość produktów ubocznych) zdecydowałem się na poszukiwanie innej metody przeprowadzenia eliminacji prowadzącej do produktu **81**.

W kolejnym podejściu związek **78** poddałem reakcji z TMSCl wobec imidazolu, a po usunięciu wydzielonego chlorowodoru imidazolu, utworzony eter silylowy poddałem działaniu DBU uzyskując produkt eliminacji **81** (Schemat 4.23). Podobną strategię β -eliminacji alkoholu, tyle że z jonu ditianylowego wykorzystali Młynarski i Banaszek w pracach nad syntezą cukrowych 2-deoksy-1,5-laktonów.⁶⁴



Schemat 4.23

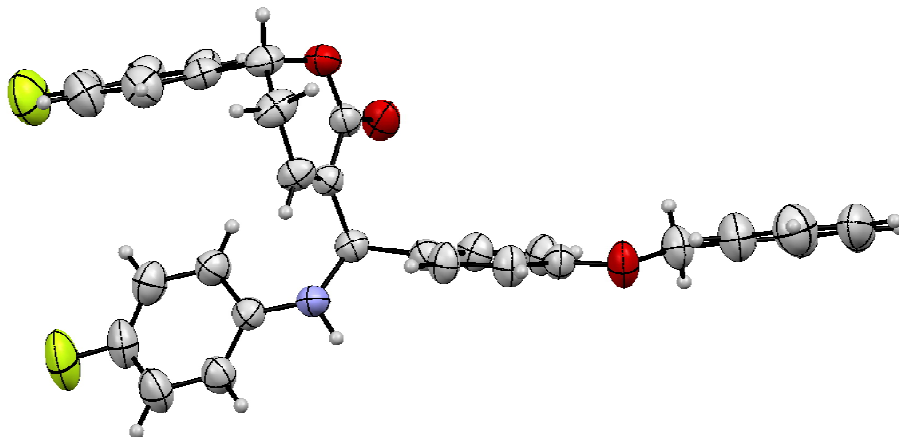
Produkt **81** wydzielałem z mieszaniny reakcyjnej identycznie jak wcześniej opisałem, z tą różnicą, że zamiast THF użyłem chlorek metylenu. Sumaryczna wydajność wyizolowanego produktu, po dwóch etapach, wynosiła 73%.

Należy podkreślić, że w opisaney dotąd sekwencji reakcji jest to pierwszy etap, w którym oczyszczanie produktu następuje przez krystalizację. Jest to istotne zwłaszcza dla eksperymentów prowadzonych w większej skali (20 mmol). Staranne oczyszczanie produktów na wcześniejszych etapach nie jest wymagane. Ten sposób postępowania eliminuje całkowicie oczyszczanie metodami chromatograficznymi.

Strukturę uzyskanej olefiny **81** udało się potwierdzić metodami rentgenowskiej analizy strukturalnej (Rys. 4.2). Warto zwrócić uwagę, iż terminalny podstawnik aryłowy zajmuje położenie aksjalne, a to może mieć istotne znaczenie dla odtworzenia

⁶⁴ J. Młynarski, A. Banaszek, *Tetrahedron* **1999**, *55*, 2785.

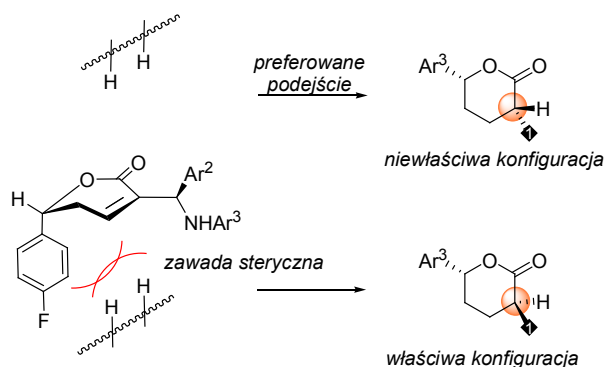
centrum stereogenicznego w sąsiedztwie grupy karbonylowej laktonu. Wprawdzie konformacja w kryształach nie ma bezpośredniego przełożenia na konformację w roztworze, może jednak stanowić pierwsze przybliżenie konformacji w roztworze.



Rysunek 4.2

Wybór strategii transformacji aminoalkoholu **78** do aminolaktonu **60** poprzez związek **81** prowadzi do utraty jednego centrum stereogenicznego na etapie β -eliminacji. Z uwagi na to kolejnym moim zadaniem było przekształcenie olefiny **81** w taki sposób, by uzyskać z pełną stereoselektywnością produkt **60**. By tego dokonać konieczne jest przeprowadzenie stereokontrolowanej redukcji wiązania podwójnego.

Z uwagi na zawady steryczne - aksjalne usytuowanie terminalnego podstawnika aryłowego - uwodornienie wiązania podwójnego w **81** wodorem wobec katalizatorów metalicznych typu Pd, Pt, lub Rh powinno prowadzić do produktu o niepożądanym konfiguracji nowotworzonego centrum stereogenicznego, ponieważ podejście cząsteczki wodoru powinno nastąpić *anti* do terminalnej reszty aryłowej (Rysunek 4.3). Ponadto w strukturze związku **81** cały czas znajdują się ugrupowania typu benzyłowego co stwarza zagrożenie degradacji cząsteczki w warunkach reakcji.



Rysunek 4.3

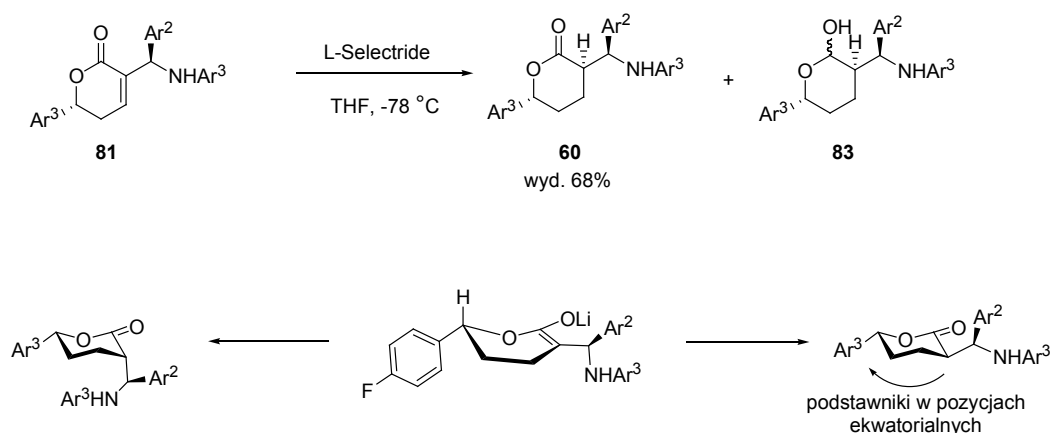
Z tego też względu skupiłem się na innych metodach stereoselektywnej redukcji wiązania podwójnego. Procedura wykorzystująca na przykład magnez w metanolu okazała się w tym przypadku nieskuteczna.

Z uwagi na fakt, że wiązanie podwójne w związku **81** jest ubogie w elektrony swoją uwagę skupiłem na reduktorach wodorkowych. Zakładałem, iż wówczas w pierwszym etapie, po addycji jonu wodorkowego powinien tworzyć się karboanion α - do grupy karbonylowej laktonu, który w kolejnym etapie powinien tworzyć produkt termodynamiczny z dwoma podstawnikami ułożonymi *trans* diekwatorialnie. Zatem w rezultacie redukcji powinno zostać odtworzone centrum stereogeniczne usunięte w etapie eliminacji. Niestety eksperymenty z udziałem DIBAL-H, NaBH_4 wraz z dodatkami soli metali jak również wodorków metalicznych, na przykład odczynnik Strykera ($[\text{PPh}_3\text{CuH}]_6$) zwany też kompleksem Osborna⁶⁵ nie dawały pozytywnych wyników. Oczekiwany rezultat uzyskałem dopiero w przypadku zastosowania jako reduktor L-Selectride[®].

Redukcja olefiny **81** pod wpływem L-Selektride[®] (1,1 równoważnika) prowadzona w THF w -78°C pozwoliła mi na uzyskanie produktu **60** z przewidywaną, pełną kontrolą stereochemiczną i z wydajnością 68%. Istotnym dla prowadzenia reakcji jest jej przerwanie w -78°C poprzez dodanie nasyconego roztworu NH_4Cl . Tak jak przewidywałem, wysoką diastereoselektywność można wytłumaczyć ułożeniem obu podstawników w pierścieniu laktonowym w pozycji ekwatorialnej - termodynamicznie

⁶⁵ W. S. Mahoney, D. M. Brestensky, J. M. Stryker, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 291.; M. R. Churchill, S. A. Bezman, J. A. Osborn, J. Wormald, *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, *93*, 2063.

korzystnej. Niestety obok produktu **60** obserwowalem także uboczne powstawanie produktów częściowej redukcji laktonu do laktolu **83** (schemat 4.24).



Schemat 4.24

Pomimo licznych prób, w toku dalszych prac optymalizacyjnych nie udało się opracować warunków reakcji pozwalających na wyeliminowanie procesu tworzenia laktolu **83**. Należy podkreślić, iż kluczowe znaczenie dla przebiegu reakcji ma temperatura prowadzenia procesu. Podwyższenie temperatury do -65°C prowadziło prawie wyłącznie do tworzenia laktolu **83** i odzysku nieprzereagowanego substratu. Podobny efekt miała zmiana rozpuszczalnika z THF na mniej polarny Et₂O lub na nie polarny toluen.

W tej sytuacji podjąłem próby dotleniania laktolu **83** do laktonu **60** pod działaniem utleniaczy, które nie spowodują utlenienia aminy. Próby te zakończyły się niepowodzeniem, otrzymywałem mieszaniny produktów, których nie identyfikowałem. W konsekwencji zmuszony byłem do separacji produktu **60** od laktolu **83** metodami chromatograficznymi, co z punktu widzenia przyszłej adaptacji metody do procesu technologicznego jest dyskwalifikujące.

4.4.1.2 Epimeryzacja pozycji C6 w aminolaktonie **60**. Synteza związku **61**.

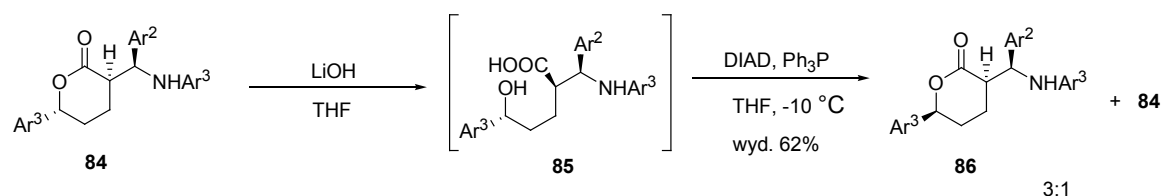
Zgodnie z przyjętą strategią zaprezentowaną na schemacie 3.11, kolejnym etapem planowanej syntezy miało być otrzymanie związku **61** posiadającego

konfigurację absolutną w pozycji C6 zgodną z tą, która jest w pozycji benzyłowej łańcucha bocznego ezetymibu.

Inwersję konfiguracji zamierzałem przeprowadzić w warunkach wewnątrzcząsteczkowej reakcji Mitsunobu.⁶⁶ Taki proces w układzie nienasyconego laktonu kwasu aldonowego został opisany przez Valverde i współpracowników.⁶⁷

Reakcję epimeryzacji w warunkach reakcji Mitsunobu planowałem przeprowadzić wykorzystując obecność wewnętrznego nukleofila, którym byłaby grupa karboksylowa powstała po otwarciu laktonu. Takie podejście pozwoliłoby mi zmniejszyć ilość zanieczyszczeń powstających w reakcji, a jednocześnie ograniczyć liczbę dodatkowych etapów koniecznych w przypadku stosowania zewnętrznego związku nukleofilowego (wariant międzycząsteczkowy).

W pierwszym kroku lakton **60** poddałem hydrolizie w warunkach zasadowych (LiOH w THF). W tych warunkach nie następuje enolizacja estrów, co w konsekwencji prowadziłoby do częściowej lub całkowitej racemizacji na atomie węgla a do grupy karbonylowej (Schemat 4.25). Powstały wolny kwas **84** wydzielałem ekstrakcyjnie z lekko zasadowej warstwy wodnej (pH ~8). Bardzo istotne jest utrzymanie pH fazy wodnej na podanym poziomie, gdyż jego obniżenie poniżej 7 powoduje natychmiastową laktonizację prowadząca do wyjściowego związku **60**. Dodatkowo nie jest wskazane dłuższe przechowywanie wydzielonego kwasu, ponieważ związek przechowywany w temperaturze -25°C przez 12 h ulega w znacznym stopniu samorzutnej laktonizacji. Z uwagi na to, utworzony kwas **84** poddawałem natychmiast kolejnej transformacji (Schemat 4.25)



Schemat 4.25

⁶⁶ O. Mitsunobu, M. Yamada, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1967**, *40*, 2380. C. D. J. Boden, J. Chambers, I. D. R. Stevens, *Synthesis*, **1993**, 411.

⁶⁷ S. Valverde, S. Garcia-Ochoa, M. Martin-Lomas, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1987**, 1714.

Niestety powyższa reakcja nie przebiegała ze 100% inwersją konfiguracji. Otrzymałem z wydajnością 62% mieszaninę produktów **61** i **60** w stosunku 3:1, którą dzięki różnicy polarności, chromatograficznie rozdzieliłem na czyste składniki (10 mmoli, 2 kolumny chromatograficzne). Niestety pożądany produkt **61** jest bardziej polarny od wyjściowego laktonu **60**. Dodatkowo w przypadku związku **61** jego oczyszczenie od powstającej w trakcie reakcji dikarboksylano hydrazyny okazało się kłopotliwe.

W literaturze spotkałem się z przypadkiem niepowodzenia osiągnięcia inwersji konfiguracji w trakcie prowadzenia wewnątrzcząsteczkowej reakcji Mitsunobu.⁶⁸ Jako przyczynę autorzy podawali względy steryczne.

Natomiast w moim przypadku, przyczynę częściowego odtworzenia wyjściowego laktonu upatruję w specyfice stosowanego substratu. Centrum stereogeniczne, na którym prowadzę transformację jest pozycją benzylową. Substytucje na takiej pozycji nie zawsze biegają w pełni według mechanizmu S_N2 . Obecność pierścienia fenyłowego sprzyja stabilizacji kationu (benzyłowego) sprawiając, iż proces częściowo może przebiegać poprzez mechanizm S_N1 , co w konsekwencji prowadzi do częściowej epimeryzacji centrum stereogenicznego.

W tym miejscu należy zaznaczyć, iż tworzenie laktonu **61** nie powinno być preferowane ze względów termodynamicznych. W porównaniu z wyjściowym laktonem **60**, w którym oba podstawniki zajmują położenia ekwatorialne, w laktonie **61** mamy do czynienia z mniej korzystnym aksjalno-ekwatorialnym ułożeniem podstawników (porównaj Schemat 3.23). To niekorzystne ułożenie podstawników w stanie przejściowym wymiany nukleofilowej może być również odpowiedzialne za częściowe odtwarzanie wyjściowego laktonu.

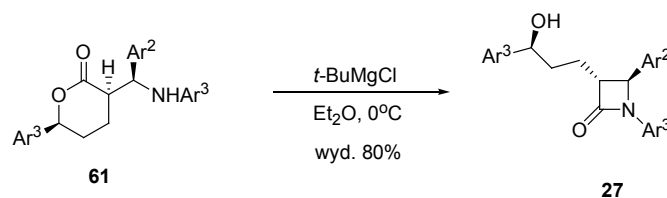
4.4.1.4 Przegrupowanie aminolaktonu **61** do 2-azetydynonu **27**

Następnym etapem moich badań było przeprowadzenie przegrupowania aminolaktonu **61** do 2-azetydynonu **27** zgodnie ze schematami 4.1 i 4.19.

⁶⁸ C. Ahn, P. DeShong, *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 1754.

W literaturze znaleźć można szereg przykładów cyklizacji aminoestrów i aminolaktonów z utworzeniem pierścienia β -laktamowego.⁶⁹ Najczęściej stosowane rozwiązania polegają na tworzeniu amidku z wyjściowej aminy w wyniku działania na tę ostatnią LDA lub *t*-BuMgCl. Utworzony amidek atakuje grupę karbonylową estru, lub laktonu, tworząc pierścień azetydynonu.

Z uwagi na podatność do epimerizacji pozycji α do grupy karbonylowej pod wpływem LDA zrezygnowałem z prowadzenia reakcji przegrupowania wobec tej zasady. Mój wybór padł na odczynnik Grignarda. Dodatkowym argumentem była możliwość prowadzenia reakcji przegrupowania w wyższej temperaturze, niż to ma miejsce w przypadku stosowania LDA (schemat 4.26).



Schemat 4.26

Reakcję przegrupowania prowadziłem w 0°C w eterze dietylowym. Docelowy związek β -laktamowy **27** uzyskiwałem z wydajnością w przedziale 80-92%. Reakcja przebiega bardzo czysto, stąd też do wydzielenia i oczyszczenia produktu wystarczą proste techniki ekstrakcyjne. Jedynie próbki analityczne uzyskano poprzez sączenie przez niewielkie złożo żelu krzemionkowego. Istotnym jest, aby na etapie ekstrakcji odczyn warstwy wodnej był lekko zasadowy, w przeciwnym razie obecność kwaśnych zanieczyszczeń (podchodzących głównie z dodatku nasyconego roztworu NH_4Cl w celu przerwania reakcji) powoduje hydrolizę pierścienia β -laktamowego.

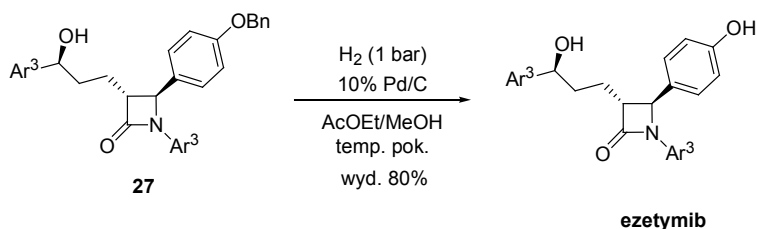
4.4.1.5 Odbezpieczenie grupy fenolowej grupy OH w związku **27**

Jak zaprezentowano na Schemacie 4.19 końcowym etapem syntezy ezetymibu jest usunięcie grupy zabezpieczającej grupę fenolową w podstawniku arylowym w pozycji C4 β -laktamu **27**. W tym celu związek **27** poddałem standardowej procedurze

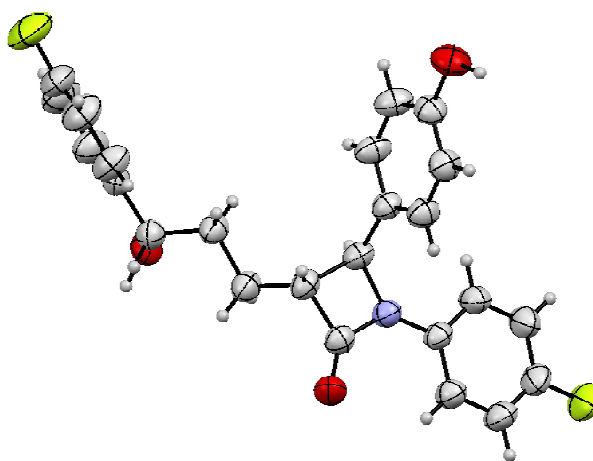
⁶⁹ A. Brandi, S. Cicchi, F. M. Cordero, *Chem. Rev.* **2008**, 108, 3988.

usuwania zabezpieczenia benzyłowego. Ten sposób usunięcia zabezpieczenia benzyłowego był stosowany w znanych rozwiązaniach patentowych.⁷⁰ Roztwór związku **27** w mieszaninie AcOEt/MeOH (1 do 1) nasycam wodorem (1 bar) w obecności Pd/C jako katalizatora (schemat 3.25). W ten sposób uzyskałem docelowy ezetymib z wydajnością 80%. Wynik reakcji jest powtarzalny i nie zależy od skali reakcji. We wszystkich przypadkach wodorowanie prowadziłem praktycznie pod ciśnieniem atmosferycznym stosując balon napełniony wodorem.

Dla uzyskanego ezetymibu, w wyniku krystalizacji z mieszaniny MeOH/woda, udało mi się uzyskać monokryształy pozwalające na przeprowadzenie analizy rentgenostrukturalnej potwierdzającej osiągnięcie zamierzonego celu (Rysunek 4.4).



schemat 4.27



Rysunek 4.4

4.4.1.6 Podsumowanie syntezy ezetymibu metodą 1

Chociaż zgodnie z przyjętym założeniem zaproponowana strategia pozwoliła na otrzymanie docelowej molekuly, ezetymibu, to jednak posiada szereg istotnych wad,

⁷⁰ D. Johnson, J. Li, *The Art of Drug Synthesis*, rozdział 13, Wiley, 2007.

które znacząco mogą ograniczyć możliwość jej praktycznego zastosowania w procesie przemysłowym. Pierwszym „wąskim gardłem” opracowanej ścieżki syntetycznej jest etap redukcji wiązania C=C w związku **81**, który prowadzi do laktonu **60**. Choć reakcja biegnie z pełną diastereoselektywnością, to jednak towarzyszy jej następczy proces redukcji laktonu **60** do laktolu **83**, w sposób istotny zmniejszający wydajność. Nerozwiązany sposób dotlenienia związku **83** zmusza do stosowania technik chromatograficznych w celu oczyszczenia pożądanego związku **60**. Ponadto, warunki prowadzenia procesu (-78°C) są nie do przyjęcia z przemysłowego punktu widzenia.

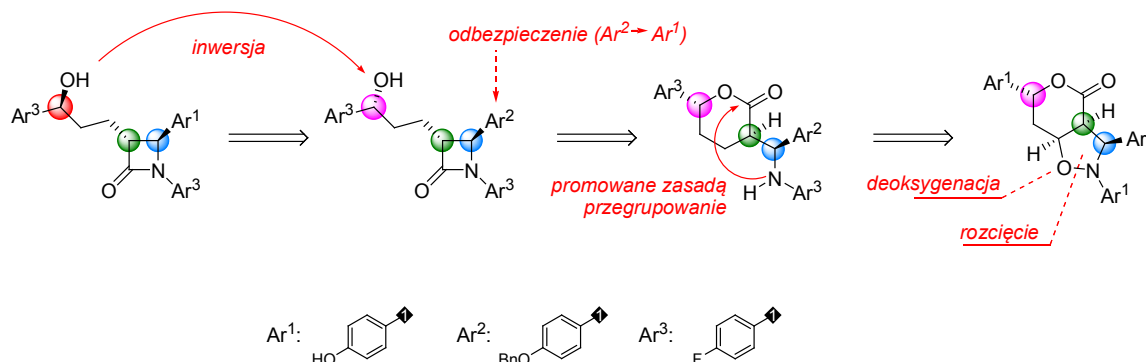
Drugim newralgicznym punktem jest niepełna inwersja konfiguracji laktonowego centrum w związku **60**. Diastereoselektywność procesu na poziomie **61:60** około 3:1 jest nie do zaakceptowania.

Wobec powyższych wad w dalszych pracach podjąłem próbę rozwiązania zaistniałych trudności.

4.4.2 Synteza ezetymibu – metoda 2

Jak zaznaczyłem na końcu wcześniejszego podrozdziału, aby ścieżka syntetyczna 1 mogła stać się potencjalną metodą syntezy ezetymibu koniecznym jest dopracowanie etapu epimeryzacji w łańcuchu bocznymi i selektywnej redukcji wiązania C=C w związku **81**.

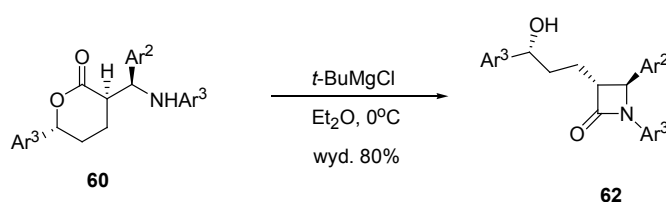
Na początek postanowiłem sprawdzić czy byłoby możliwe i korzystniejsze przeprowadzenie procesu epimeryzacji na ostatnich etapach syntezy, już po utworzeniu pierścienia β -laktamowego, jak to obrazuje analiza retrosyntetyczna zaprezentowana na Schemacie 4.28.



Schemat 4.28

4.4.2.1 Przegrupowanie aminolaktolu 60 do 2-azetydynonu 62

Realizację syntezy ezetymibu metodą 2 opartą częściowo na rozwiązaniach opracowanych w metodzie 1. W oparciu o procedury otrzymałem aminolakton **84**. Według nowej strategii, w kolejnym kroku związek **84** poddałem przegrupowaniu, które prowadziło do utworzenia 2-azetydynonu **62**. W tym celu zastosowałem warunki opracowane wcześniej dla transformacji związku **61** do produktu **27**. Produkt **62** uzyskałem, podobnie jak poprzednio, z wydajnością 80%, jednak w krótszym czasie (30 min) (schemat 4.29).

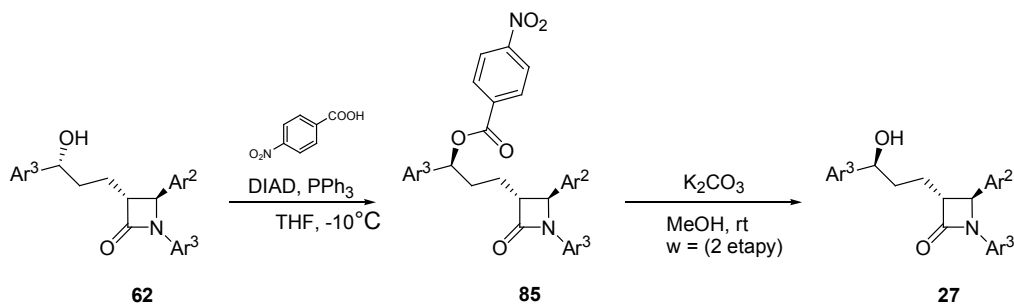


schemat 4.29

Warto w tym miejscu zaznaczyć, iż widma NMR związku **62** oraz wcześniej uzyskanego epimeru **27** są niemal identyczne. Jedynie ich nałożenie pozwala zauważyć minimalne różnice w przesunięciach poszczególnych sygnałów.

4.4.2.2 Epimeryzacja pozycji benzylovej w łańcuchu bocznym związku 62

W celu zamiany konfiguracji (*R*)-alkoholu w położeniu benzylowym na konfigurację (*S*), związek **62** poddałem klasycznej reakcji Mitsunobu. Pod wpływem kwasu 4-nitrobenzoesowego alkohol **62** przekształciłem w ester **85**, który następnie poddałem hydrolizie zasadowej. Hydroliza z udziałem K₂CO₃ w MeOH pozwoliła na selektywne usunięcie reszty estrowej w związku **85** bez uszkodzenia pierścienia β-laktamowego. Produkt **27** uzyskałem z wydajnością 62% (2 etapy) (schemat 4.30). Nie napotkałem żadnych problemów w trakcie oczyszczania związku **85** oraz produktu hydrolizy **27**.



Schemat 4.30

Analiza HPLC surowych mieszanin poreakcyjnych wykazała, iż epimeryzacja przebiega z wysoką efektywnością (**27:62** *dr* 96:4). W kolejnych eksperymentach wykazałem, że jednokrotna krystalizacja pozwala na usunięcie 4% domieszki epimeru **62** dając produkt **27** o czystości >99%.

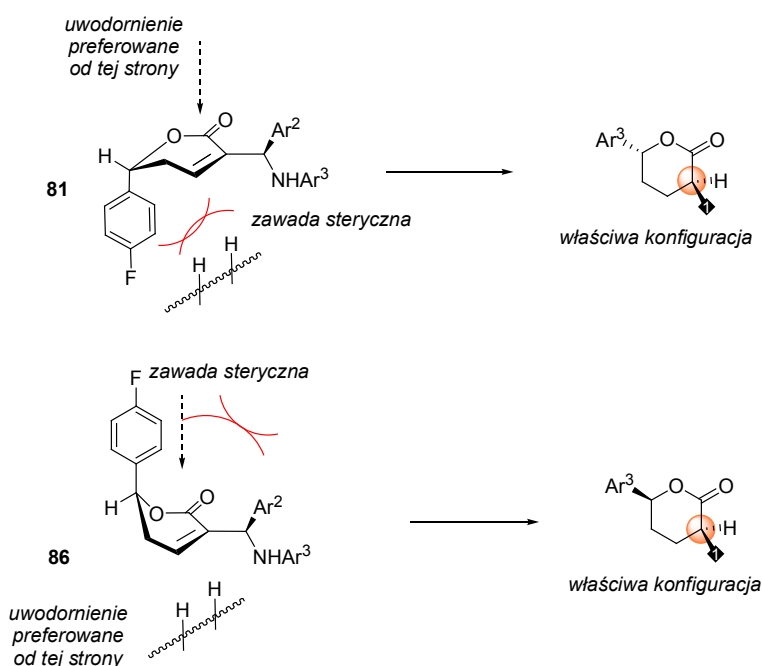
Jak widać z przedstawionych powyżej przykładów druga droga syntezy ezetymibu, która dokonuje epimeryzacji w końcowym etapie syntezy okazała się lepszym rozwiązaniem. Udało mi się podnieść efektywność inwersji konfiguracji w położeniu benzylovym z proporcji produktów **61:60** równej 75:25 (metoda 1), do **27:62** równej 96:4 (metoda 2), przy jednoczesnym uproszczeniu sposobu oczyszczania i izolacji produktów.

Po rozwiązaniu problemu inwersji konfiguracji w łańcuchu bocznym epimeru ezetymibu, przystąpiłem do prób usprawnienia drugiego newralgicznego etapu w metodzie 1 (i metodzie 2), tj. selektywnej redukcji wiązania podwójnego w związku **81**.

4.4.3 Synteza ezetymibu - metoda 3

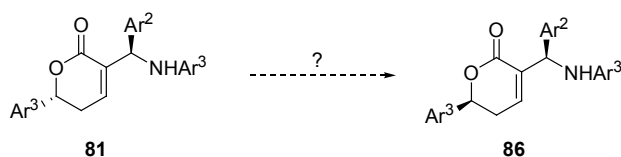
Problemy związane z redukcją związku **81**, wynikają głównie ze struktury samego substratu oraz specyfiki stosowanego reduktora, który wykazuje powinowactwo zarówno do grupy C=O jaki i do ubogiego w elektrony wiązania podwójnego. Jak to przedstawiłem na Rys. 4.5, usytuowanie podstawnika 4-fluorofenyloвого we fragmencie laktonowym przesłania niewłaściwą, z punktu widzenia konfiguracji produktu, stronę laktonu, uniemożliwiając tym samym otrzymanie związku **60** poprzez uwodornienia olefiny **81**. Aczkolwiek wydaje się słusznym założenie, że taki proces byłby możliwy gdyby w reakcji uwodornienia zastąpić związek **81** jego

epimerem **86** (Rys. 4.5). Można przyjąć jako pewne, że preferowana konformacja laktonu **86**, tak jak **81**, będzie miała terminalny podstawnik arylowy w położeniu aksjalnym. Nie ma powodu sądzić, iż konfiguracja centrum stereogenicznego w łańcuchu bocznym aminy będzie decydować o konformacji nienasyconego estru. Zatem wodorownie powinno odtworzyć pierwotną konfigurację na atomie węgla w sąsiedztwie grupy karbonylowej laktonu.



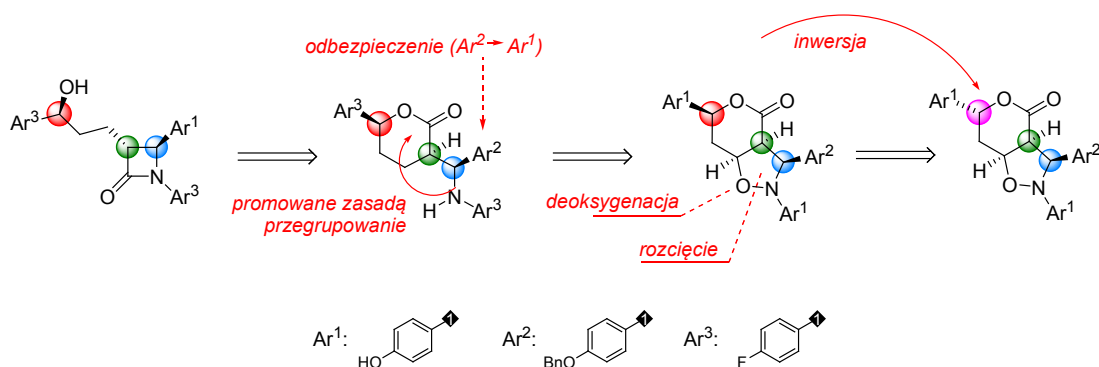
Rysunek 4.5

Mając na uwadze tak zarysowaną koncepcję działania, przystąpiłem do opracowania sposobu uzyskania związku **86**. Uznałem, że transformacja **81** do **86** w warunkach reakcji Mitsunobu, analogicznie jak w przypadku związków **60/61**, jest mało realnym pomysłem z uwagi elektrofilowe właściwości nienasyconego estru (Schemat 4.31)



Schemat 4.31

Dużo realniejszym sposobem wydała mi się próba przeprowadzenia epimeryzacji na etapie izoksazolidyny **58**. Ta koncepcja stanowiła punkt wyjścia dla zaproponowanej trzeciej strategii syntezy ezetymibu, której plan retrosyntetyczny przedstawia schemat 4.32.

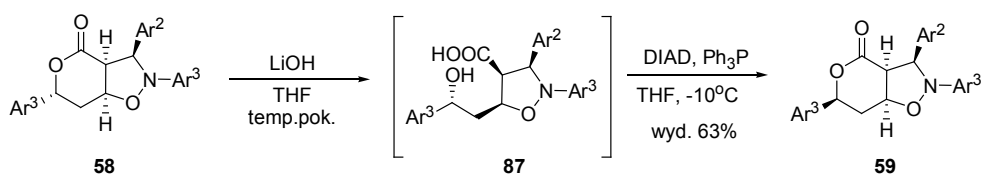


Schemat 4.32

4.4.3.1 Epimeryzacja izoksazolidyny **58**

Pierwszym etapem trzeciego szlaku syntezy ezetymibu była epimeryzacja izoksazolidyny **58**. Postanowiłem ją przeprowadzić stosując procedurę opracowaną dla epimeryzacji aminolaktonu **60** do związku **61**.

W pierwszym kroku lakton **58** poddałem hydrolizie wobec LiOH, a następnie uzyskany kwas **90** poddałem laktonizacji w obecności DIAD i Ph₃P (Schemat 4.33).



Schemat 4.33

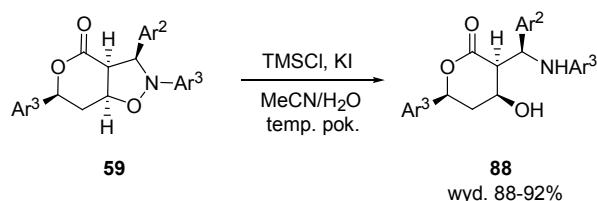
W oryginalnej procedurze dotyczącej syntezy laktonu **61**, reakcję Mitsunobu prowadziłem w temperaturze 0°C w roztworze THF. W tych warunkach efektywność inwersji wynosiła 90%. Natomiast gdy obniżyłem temperaturę reakcji do -10°C, efektywność epimeryzacji wzrosła do proporcji diastereomerów 97:3. Dalsze obniżenie temperatury (-20°C) powodowało drastyczne obniżenie szybkości reakcji.

pierścienia sześciocząłowego prowadzi do związku **61**, w którym dwa duże podstawniki są usytuowane *cis*. W porównaniu do wyjściowego laktonu **60**, w którym oba podstawniki są *trans*, jest to przyjęcie geometrii mniej korzystnej termodynamicznie. W konsekwencji, obok związku **61**, w produktach reakcji znajduje się znaczna ilość wyjściowego laktonu **60**. W przypadku reakcji Mitsunobu przebiegającej na izoksazolidynie **58**, grupa karboksylowa i łańcuch boczny są usytuowane *cis* przy pierścieniu pięciocząłowym ułatwiając tym samym zbliżenie reagujących ugrupowań, a konformacja bicyklicznego szkieletu związku **59** pokazana na Rys 3.6 nie wykazuje niekorzystnych oddziaływań w porównaniu do prawdopodobnej geometrii laktonu **60** z aksjalnym podstawnikiem arylowym.

4.4.3.2 Rozcięcie wiązania N-O w izoksazolidynie **59**

Rozcięcie wiązania N-O w izoksazolidynie **59** dokonałem stosując procedurę opracowaną dla związku **58** (Rozdział 4.4.1.2).

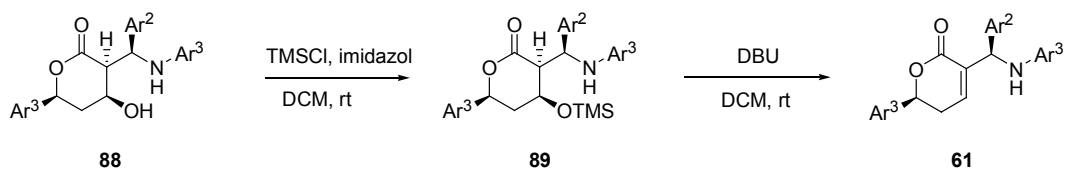
Pod wpływem TMSCl w obecności KI w wilgotnym acetonitrylu otrzymałem aminoalkohol **91** z wydajnością 88-92% (schemat 4.34).



schemat 4.34

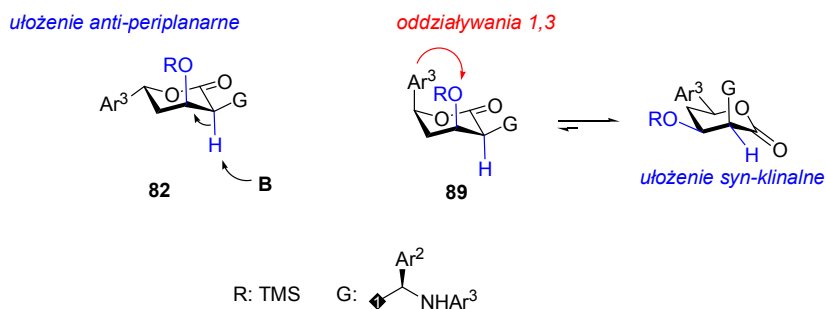
4.4.3.3 Usunięcie grupy hydroksylowej w związku **88**

Zgodnie z przyjętą koncepcją realizacji szlaku syntetycznego nr 3, kolejnym planowanym etapem syntezy było przekształcenie związku **88** w lakton **61**. Podobnie jak wcześniej, zamierzałem tego dokonać w dwuetapowej sekwencji reakcji, która przewiduje β -eliminację cząsteczki wody prowadzącą do olefiny **86**, a następnie uwodornienie wiązania podwójnego.



schemat 4.35

W tym celu związek **88** poddałem reakcji z TMSCl/imidazol, a następnie eliminacji pod wpływem DBU, jak to miało miejsce w przypadku syntezy olefiny **81**. Niestety w powyższych warunkach uzyskany eter sililowy **89** nie uległ reakcji eliminacji. W przeprowadzeniu eliminacji nie pomogła, ani zmiana stosowanej zasady, ani podwyższenie temperatury reakcji.



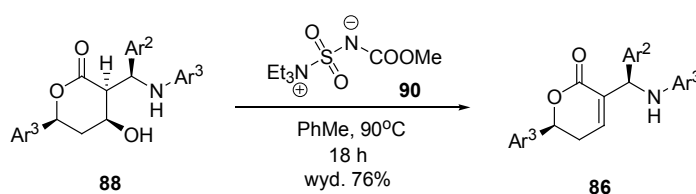
Rysunek 4.7

Nie trudno wyjaśnić przyczynę takiego przebiegu reakcji, jeśli porównać konformacje eterów sililowych **82** i **89** (Rysunek 4.7). W związku **82** występuje „naturalne” *anti-periplanarne* (*aksjalno-aksjalne*) ułożenie atomu wodoru i grupy OTMS wymuszone przez dwuekwatorialne położenie pozostałych dwóch objętościowych podstawników. Stąd też proces eliminacji przebiega bez większych zakłóceń. Natomiast w przypadku związku **89** *aksjalno-aksjalne* ustawienie atomu H i grupy OTMS powoduje wystąpienie destabilizującego oddziaływania 1,3. Aby zminimalizować zawady steryczne związek przyjmuje konformację zaprezentowaną na Rys. 4.7. Niestety *syn-klinalne* ułożenie atomu H i grupy OTMS nie sprzyja eliminacji według mechanizmu E2. Na podstawie studiów literaturowych⁷¹ doszedłem do wniosku, iż

⁷¹ M. B. Smith, J. March, *March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure*, Wiley-Interscience; 6 edition, 2007.

właściwym rozwiązaniem powinno być przeprowadzenie reakcji eliminacji jako procesu wewnątrzcząsteczkowego, któremu sprzyja *synklinalne* ułożenie atomu wodoru i grupy opuszczającej.

W tej sytuacji zwróciłem uwagę na reakcję eliminacji Burgessa⁷². Ogrzewanie alkoholu **87** w obecności tzw. odczynnika Burgessa **90**⁷³ w toluenie (90°C, 18 h) pozwoliło mi na uzyskanie produktu eliminacji **86** z wydajnością 76% (schemat 4.36). Odczynnik Burgessa otrzymuje się w prosty sposób z izocyjanianu chlorosulfonylowego, metanolu i trietyloaminy.



Schemat 4.36

Proste przemycie wodą roztworu toluenowego mieszaniny reakcyjnej pozwoliło uzyskać produkt **86** z dobrą czystością potwierdzoną analizą widma NMR. Natomiast analiza TLC wskazywała na obecność niewielkiej ilości polarnych zanieczyszczeń. Nie udało się ich usunąć stosując ekstrakcję wodną na kwaśno lub zasadowo. Niepowodzeniem zakończyły się także próby znalezienia rozpuszczalnika, lub rozpuszczalników, które pozwoliłyby na krystalizację otrzymanej olefiny **89**. Jedynym skutecznym rozwiązaniem okazała się filtracja przez złożę żelu krzemionkowego.

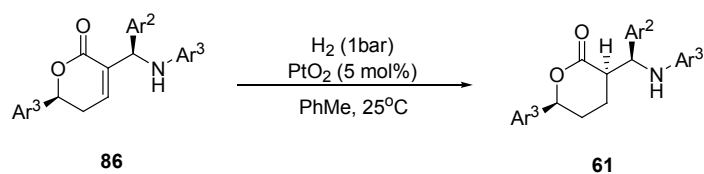
Mając produkt eliminacji **86**, przystąpiłem do prac nad redukcją wiązania podwójnego prowadzącą do uzyskania laktonu **61**. Należy w tym miejscu przypomnieć, iż redukcja ta musi przebiegać w taki sposób, aby uzyskać wyłącznie produkt o konfiguracji (*S*) na atomie węgla α do grupy karbonylowej. Jak zaznaczyłem we wcześniejszej dyskusji, w przypadku reakcji z udziałem olefiny **86** zamierzałem tego dokonać poprzez uwodornienie wiązania podwójnego.

⁷² G. M. Atkins, E. M. Burgess, *J. Am. Chem. Soc.* **1968**, *90*, 4744. ;E. M. Burgess, H. R. Penton Jr., E. A. Taylor *J. Org. Chem.* **1974**, *38*, 26.

⁷³ *Organic Syntheses*, **1988** Coll. Vol. 6, p. 788, **1977** Vol. 56, p.40.

Z uwagi na fakt, iż uwodornienie w obecności palladu może spowodować odbezpieczenie funkcji fenolowej w podstawniku Ar^2 , jak również może spowodować degradację cząsteczki z uwagi na obecność innych ugrupowań benzytowych, postanowiłem zastąpić ten katalizator tlenkiem platyny.

Reakcję prowadziłem w obecności 5 mol% katalizatora Adamsa, w toluenie w atmosferze wodoru (1 bar) (schemat 4.37).



Schemat 4.37

W trakcie kolejnych eksperymentów zaobserwowałem, że użycie do reakcji związku **86** zawierającego polarne zanieczyszczenia (oczyszczanie przez ekstrakcję z pominięciem filtracji przez SiO_2) miało negatywny wpływ na aktywność katalizatora platynowego, czego rezultatem było wydłużenie czasu reakcji z 18 godzin do 3 dni oraz konieczność dodawania kolejnych porcji katalizatora w celu uzyskania pełnej konwersji substratu. Redukcja przebiegała z oczekiwaną stereoselektywnością dając otrzymany już wcześniej produkt **61** o czystości enancjomerycznej 98%. Wydajność wydzielonego produktu po przesączeniu przez Celit® oraz żel krzemionkowy wynosiła w przedziale 83-91%.

Chociaż cena katalizatora Adamsa jest wysoka, to jednak należy pamiętać, że katalizatory oparte na platynie są stosowane w przemyśle. W skali laboratoryjnej eksperymentu, z uwagi na stosowanie w małych ilości reagentów odzyskanie i regeneracja katalizatora nie ma praktycznego uzasadnienia. Inaczej ma się sytuacja w przypadku syntezy w dużo większej skali. W takim przypadku ponosimy tylko jednorazowy koszt kupna katalizatora, a później niewielkie koszty jego regeneracji.

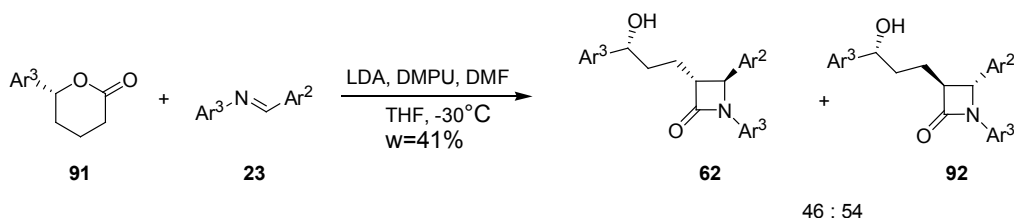
Uzyskany w przedstawionej powyżej sekwencji reakcji związek **61** jest identyczny z otrzymanym w metodzie 1. Jego transformacje do docelowej molekuly zostały opisane w poprzednich rozdziałach.

4.5 Weryfikacja doniesień literaturowych. Reakcja enolanu litowego z iminą

Opracowana przeze mnie strategia przemian izoksazolidyny **58** stanowi bardzo atrakcyjną metodę syntezy ezetymibu. Niestety przedstawiona przez hinduskich badaczy metoda bazująca na addycji enolanu 6-członowego nitronu do diarylowej iminy wydaje się być jeszcze lepsza (Schemat 3.6).³⁴ Jednakże szczegółowa lektura zgłoszenia patentowego nasuwa szereg wątpliwości związanych przede wszystkim z kierunkiem indukcji asymetrycznej w zaproponowanej kluczowej reakcji. Wątpliwości te skłoniły mnie do sprawdzenia wyników zamieszczonych w tym patencie.

Szczególnie intrygująca była wysoka stereoselektywność reakcji przyłączenia enolanu do iminy. Z uwagi na spore oddalenie podstawnika arylowego w laktonie oraz jego ekwatorialnego ułożenia należałoby się spodziewać nikłego stereoróżnicowania stron wytworzonego enolanu. Co więcej, pożądana geometria powinna być efektem podejścia enolanu do iminy od strony zajmowanej przez podstawnik arylowy, a to byłoby niekorzystne termodynamicznie.

Niezbędny do prób nasycony lakton **91** uzyskałem poprzez uwodornienie nienasyconego laktonu **57** wodorem w obecności katalizatora Adamsa (PtO₂).

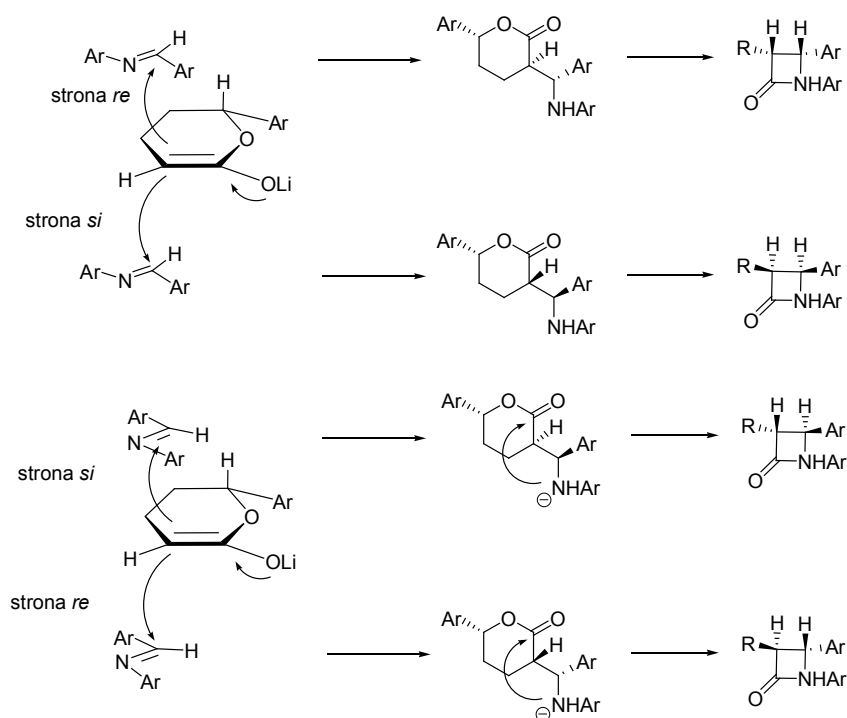


Schemat 4.38

Stosując warunki reakcji opisane w zgłoszeniu patentowym, lakton **91** poddałem działaniu iminy **23** w obecności LDA. Z mieszaniny reakcyjnej wydzieliłem z 41% wydajnością produkt, który okazał być się mieszaniną diastereoizomerycznych *trans* podstawionych 2-azetydynonów **62** : **92** w stosunku 46:54 (HPLC i NMR). Ich konfiguracja absolutna została potwierdzona widmami ¹H NMR i spektroskopią

³⁴ S. G. K. K. Karooti, D. P. Rathod, C. R. Aryan, Y. Kumar. World Patent WO099132-A2, 2004

dichroizmu kołowego, które wskazują na przewagę w mieszaninie poreakcyjnej niepożądanego produktu.



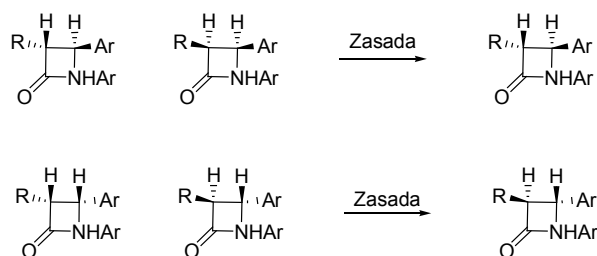
Schemat 4.39

Analiza stereochemicznego przebiegu reakcji sugeruje, iż reakcja powinna prowadzić do utworzenia dwóch *cis*-2-azetydynonów oraz dwóch *trans*-2-azetydenonów (Schemat 4.39). Powstawanie tylko produktów *trans* wskazuje na epimeryzację *cis*-izomerów do *trans* (Schemat 4.40). W literaturze znane są przykłady zmiany konfiguracji 2-azetydenów z izomerów *cis* na izomery *trans* pod wpływem temperatury⁷⁴ oraz pod wpływem zasady.⁷⁵ Tak jak można było oczekiwać, nie obserwuje się wyraźnego stereoróżnicowania. Przyjmując, że preferowane podejście reagentów do strony *re* iminy przedstawiają zaznaczone na Schemacie 4.39 kierunki reakcji a. i c. można oczekiwać, że podejście, w którym aryl benzylidenny znajduje się w pobliżu grupy karbonylowej, a aryl iminowy jest usytuowany na zewnątrz pierścienia enolu, jest korzystniejsze energetycznie. Biorąc to pod uwagę, a także, iż aryl laktonowy preferować będzie *anti* addycję, należało oczekiwać otrzymania z

⁷⁴ B. Alcaide, P. Almandros, N.R. Salgado, A. Rodriguez-Vincente, *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 4435.

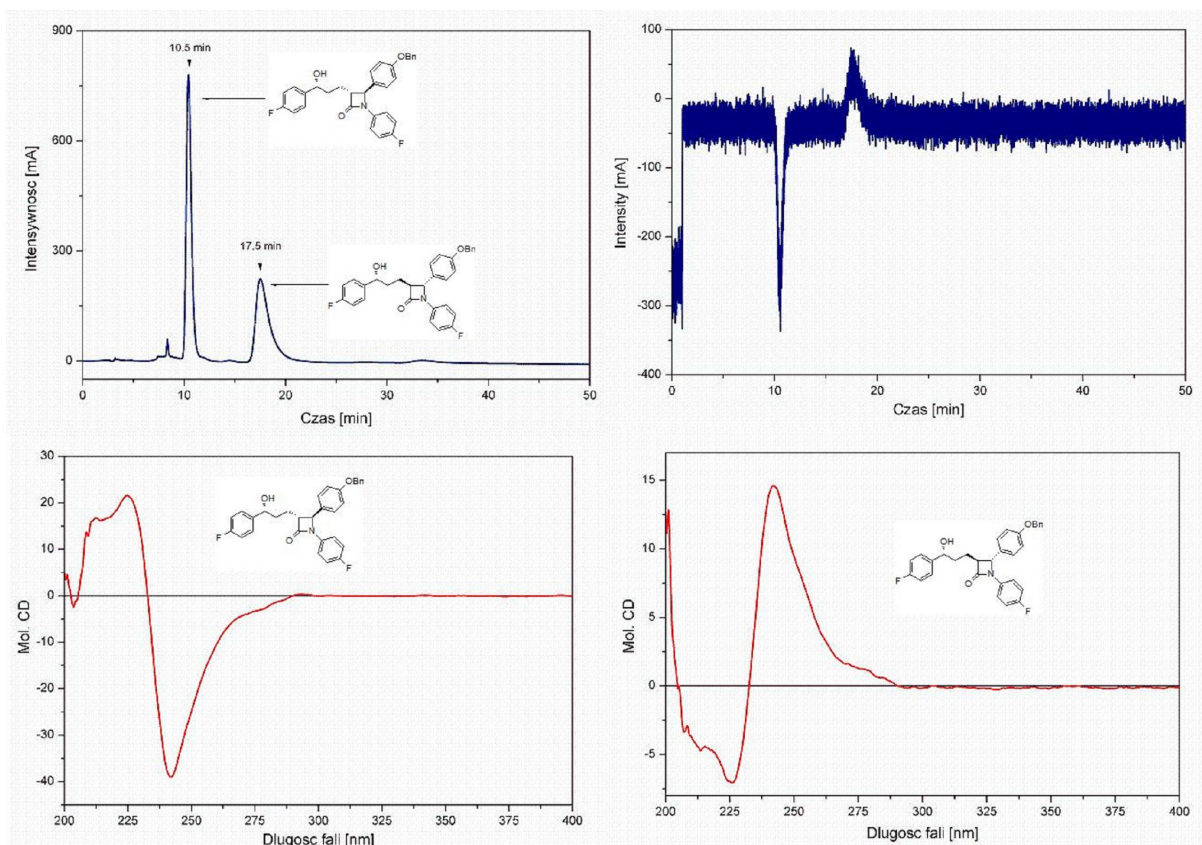
⁷⁵ M. Shimizu, K. Kume, T. Fujisawa, *Chem. Lett.* **1996**, 545.

niewielką przewagą produktu, który jeśli startować, tak jak autorzy patentu, z laktonu o konfiguracji (*R*) będzie mieć złą względną konfigurację β-laktamu i łańcucha bocznego, co jest zgodne z oczekiwaniem.



Schemat 4.40

Uzyskane rezultaty podważają wiarygodność opisanych w zgłoszeniu patentowym transformacji, a brak wysokiej diastereoselektywności kluczowego etapu dyskwalifikuje opisaną metodę jako atrakcyjną strategię syntezy ezetymibu. Analiza widma ^1H NMR mieszaniny wykonane na aparacie 600 MHz wskazuje na obecność dwóch bardzo podobnych związków w proporcji 45:55 o konfiguracji *trans* w pierścieniach β-laktamowych. Analiza HPLC z detekcją CD potwierdziła obecność dwóch związków posiadających przeciwną konfigurację w pozycji C4 pierścienia β-laktamowego (Rys. 4.8).

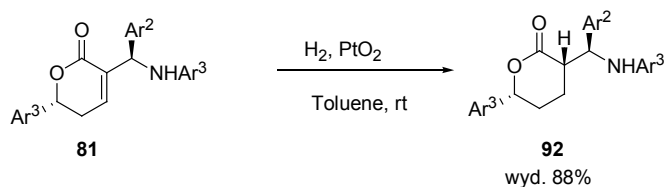


Rys. 4.8 HPLC produktu reakcji przedstawiowej na schemacie 4.38

4.5.1 Modyfikacja szlaku syntetycznego nr 2

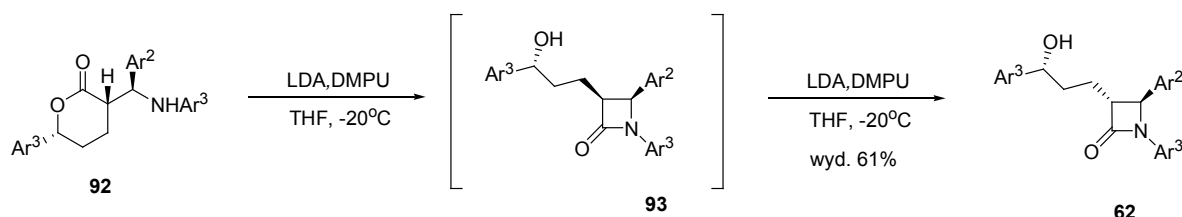
Po analizie otrzymanych wyników z przyłączenia anionu enolanowego laktonu **93** do iminy **23** w obecności LDA postanowiłem sprawdzić czy nastąpi epimeryzacja na centrum *C3* w pierścieniu β -laktamowym, jeżeli w wyjściowym laktonie na odpowiadającym mu centrum stereogenicznym będzie niewłaściwa konfiguracja. Otrzymane wyniki sugerowały, iż używając LDA jako zasady promującej cyklizację powinno się otrzymać tylko *trans* β -laktamy. Inaczej mówiąc nie ma znaczenia sposób redukcji wiązania podwójnego, ponieważ konfiguracja wokół pierścienia β -laktamu jest kontrolowana przez centrum stereogeniczne przy atomie *C4* azetydynonu (atom węgla związany z atomem azotu).

W tym celu związek **81** poddałem redukcji w obecności katalizatora Adamsa, z wykorzystaniem wcześniej użytych warunków (schemat 4.41). Identycznie jak we wcześniejszym przypadku diastereoselektywność redukcji była 100%, otrzymałem tylko jeden diastereoizomer **95** z bardzo dobrą wydajnością.



Schemat 4.41

Zastosowanie LDA do promowania przegrupowania laktonu do β -laktamu skutkowało otrzymaniem jednego produktu z dobrą wydajnością wynoszącą 61%. Koniecznym dodatkiem do przeprowadzenia przegrupowania okazał się rozpuszczalnik solwujący kationy taki jak DMF czy DMPU (Schemat 4.42). Użycie DMF skutkowało otrzymaniem produktu zanieczyszczonego diizopropylformamidem, który powstaje w reakcji DMF z LDA.



schemat 4.42

Z analizy widm magnetycznego rezonansu jądrowego wynikało, iż powstał tylko jeden produkt **62** o konfiguracji *trans*. W widmie nie było śladu drugiego epimeru o konfiguracji *cis*, który powinien powstać z cyklizacji laktonu **92**. Taki wynik jest dowodem, iż centrum stereogeniczne na węglu C4 w β -laktamie decyduje o konfiguracji produktu otrzymanego w tych warunkach. Epimeryzacja musi zachodzić już po utworzeniu pierścienia czteroczłonowego, ponieważ w warunkach reakcji najpierw tworzy się anion amidkowy, który następnie ulega cyklizacji. Z utworzonego pierścienia 2-azetydynonu ulega oderwaniu proton w pozycji z węgla C3 i następuje równowagowanie do trwalszego termodynamicznie produktu *trans*. Epimeryzacja na etapie laktonu, z wytworzeniem dianionu ze związku **92** działaniem LDA, jest nieprawdopodobne.

Taki wynik w/w epimeryzacji powoduje, iż metoda syntezy nr 2 jest możliwa do przeprowadzenia w większej skali z poselekcjonowaniem redukcji wiązania podwójnego *L*-Selectride® i co za tym idzie bez kłopotliwych rozdzielaczy chromatograficznych do oczyszczenia produktów. Należy tylko dokonać wodorownienia wiązania podwójnego z użyciem katalizatora Adamsa, zamknąć pierścień β -laktamu działaniem LDA, a następnie przeprowadzić międzycząsteczkową reakcję Mitsunobu oraz hydrolizę benzoesu w celu otrzymania ezetymibu z właściwą konfiguracją na wszystkich centrach stereogenicznych.

4.6 Synteza ezetymibu – podsumowanie, wybór metody, podwyższenie skali syntezy

W oparciu o przeprowadzone eksperymenty dokonałem wyboru najkorzystniejszej moim zadaniem ścieżki syntezy ezetymibu. Schemat 4.43 przedstawia w całości nowo opracowaną, innowacyjną metodę syntezy tego farmaceutyku.

Zaproponowana całkowita, stereokontrolowana synteza ezetymibu składa się z 17 etapów obejmujących: syntezę laktonu **57** (6 etapów), syntezę nitronu **52** (3 etapy), reakcję 1,3-dipolarnej cykloaddycji prowadzącą do izoksazolidyny **58** (1 etap) oraz 7 etapową sekwencję reakcji, które prowadzą od związku **58** do docelowej molekuly.

Zaprezentowana przeze mnie metoda syntezy posiada tylko jeden etap stereoróżnicujący – jest to enancjoselektywna [4+2] cykloaddycja aldehydu 4-fluorobenzoesowego i dienu Danishefsky'ego **72** prowadzona w obecności katalitycznej ilości chiralnego kompleksu salenowego, prowadząca do utworzenia dihydro-piranonu **71**. Związek ten następnie przekształciłem w enancjomerycznie czysty lakton **57**. Wszystkie następujące po tym transformacje asymetryczne, takie jak 1,3-dipolarna cykloaddycja czy synteza laktonu **61**, nie wymagają dodatkowych induktorów asymetrii (np. pomocników chiralnych czy katalizatorów o strukturze chiralnych kompleksów metali). W pełni stereokontrolowany przebieg tych procesów jest tylko i wyłącznie kontrolowany konfiguracją wyjściowego laktonu.

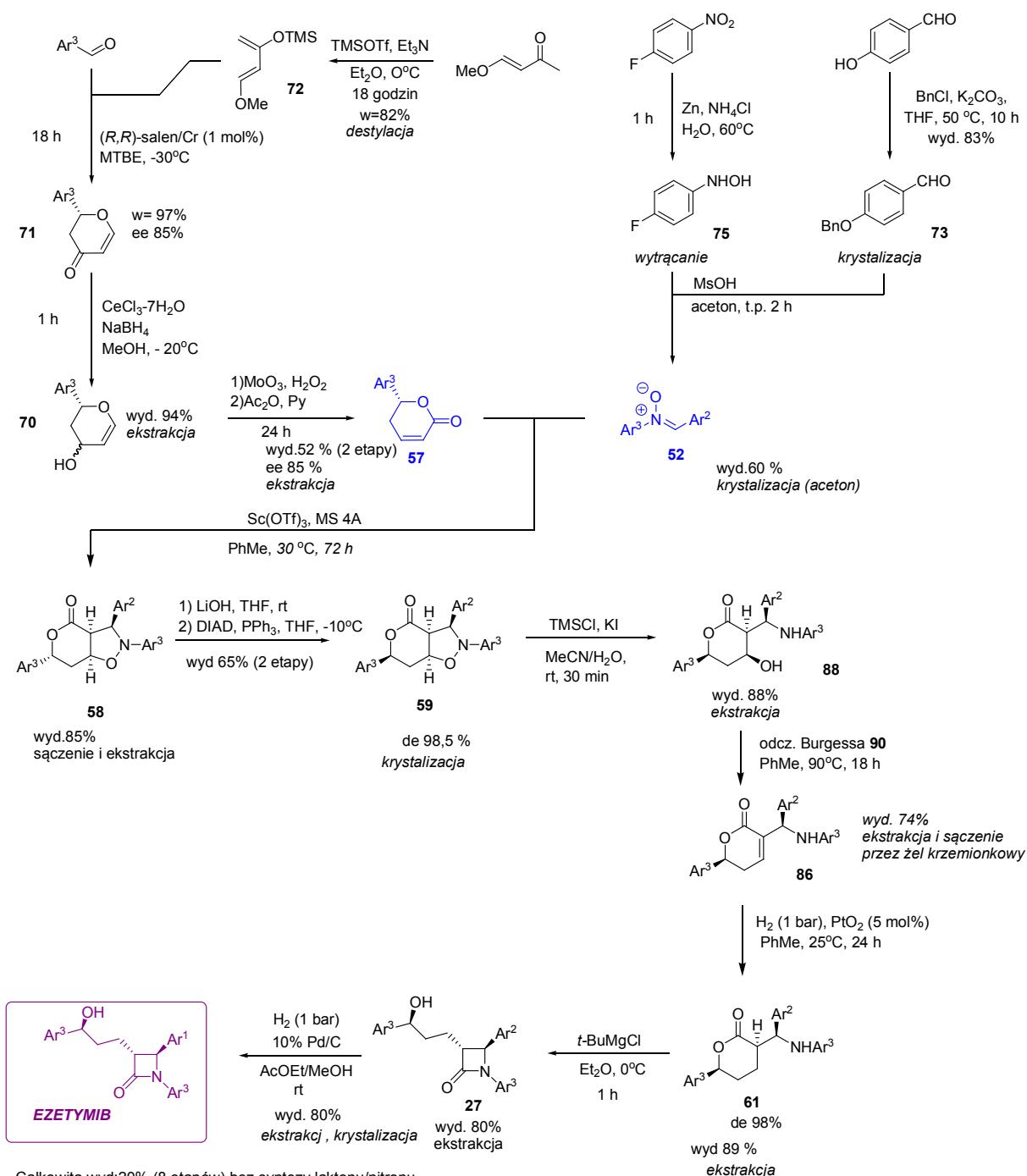
W miarę możliwości starałem się unikać prowadzenia reakcji w „skrajnych” temperaturach. Dwa etapy wymagają prowadzenia reakcji w obniżonej temperaturze: reakcja hetero-Dielsa-Aldera (-30°C) oraz reakcja Mitsunobu (**58** \rightarrow **59**, -10°C). Ponadto przegrupowanie prowadzące do 2-azetydynonu **27** wymagało temperatury 0°C . Podwyższenie temperatury było konieczne w przypadku syntezy hydroksyloaminy **75** (60°C) oraz w przypadku reakcji z udziałem odczynnika Burgessa (90°C). Wszystkie pozostałe etapy prowadzono w temperaturze pokojowej.

Żaden z etapów syntezy nie wymaga stosowania oczyszczania metodami chromatograficznymi. Jedynie w dwóch przypadkach konieczne jest sączenie przez żel krzemionkowy (synteza związku **86** oraz **61**). W przypadku syntezy dienu Danishefskiego **72** wymagana jest jego destylacja pod zmniejszonym ciśnieniem. W ogromnej większości prowadzonych reakcji związki oczyszcza się stosując techniki ekstrakcyjne i/lub ewentualnie krystalizację (synteza związków: **59**, **52**, **59**, Ezetymib (**21**)).

W celu syntezy ezetymibu w większej skali niż laboratoryjna, polecałbym metodę nr 3. ponieważ na całej drodze syntezy nie jest wymagane prowadzenie reakcji poniżej temperatury -30°C . W metodzie nie użyłem ani jednej chromatografii kolumnowej do oczyszczania produktów. Reakcje przebiegają z dobrą, lub bardzo dobrą wydajnością i są wysoce selektywne. Jako metody oczyszczania użyłem głównie ekstrakcję, sączenie, destylację, oraz krystalizację. W całej metodzie użyłem tylko dwa razy krystalizację jako metody oczyszczania produktów. Przy pomocy krystalizacji na etapie izoksazoliny **59** po reakcji Mitsunobu dokonałem znacznego poprawienia czystości enancjomerycznej do 98% ee, pomimo użycia do reakcji cykloaddycji laktonu bez krystalizacji z czystością enancjomeryczną wynoszącą 85% ee. Ostatecznego oczyszczenia finalnego związku dokonałem również przez krystalizację. Tak otrzymany ezetymib charakteryzował się czystością enancjomeryczną wynoszącą 99,5% i otrzymałem go w skali jednego grama z wydajnością całkowitą wynoszącą 10%.

Alternatywnie wybrałbym metodę nr 2 z modyfikacją polegającą na redukcji wiązania podwójnego węgiel-węgiel wodorem w obecności katalizatora Adamsa, oraz na

przegrupowaniu z użyciem LDA, które równocześnie dostarczy wyłącznie trans podstawionego β -laktamu. W tak opracowanej metodzie stosowałem identyczne metody oczyszczania jak w metodzie nr 3. Pierwszą krystalizację wykonałem na etapie laktonu **81**, pomijając krystalizację na etapie wyjściowego nienasyconego laktonu **57**. Produkt charakteryzował się identyczną czystością co w metodzie nr 3, a wydajność całkowita wynosiła 6%. Tą metodą otrzymałem tylko 100 mg ezetymibu.



Całkowita wyd:20% (8 etapów) bez syntezy laktonu/nitronu
 Całkowita wyd:10% (16 etapów) z syntezą laktonu

Schemat 4.43 Metoda nr 3 syntezy ezetymibu

Czystość dia- i enacjomeryczna ezetymibu, uzyskanego według Schamatu 3.41, została potwierdzona analizami. Ponadto strukturę ezetymibu uzyskanego nowo opracowaną metodą potwierdziłem za pomocą rentgenowskiej analizy strukturalnej (Rys. 3.4).

Tabela 3. Analiza ICP-MS na zawartość metali ciężkich w próbkach zsyntezowanego i handlowego ezetymibu. Wartości podane w [ppm].^a

Metal	Pt	Pd	Sc	Cr	Ce
Ezetymib handlowy	-1	-1	1	10	1
Ezetymib otrzymany	-1	7	1	10	1

^a ujemny wynik oznacza ilość poniżej granicy oznaczalności

Uzyskany przeze mnie ezetymib poddałem analizie ICP-MS na zawartość metali ciężkich, stosowanych w opracowanej metodzie syntezy. Analogiczne pomiary przeprowadziłem dla próbki handlowego ezetymibu uzyskanej z firmy ADAMED. Wyniki pomiarów prezentuje tabela 3.

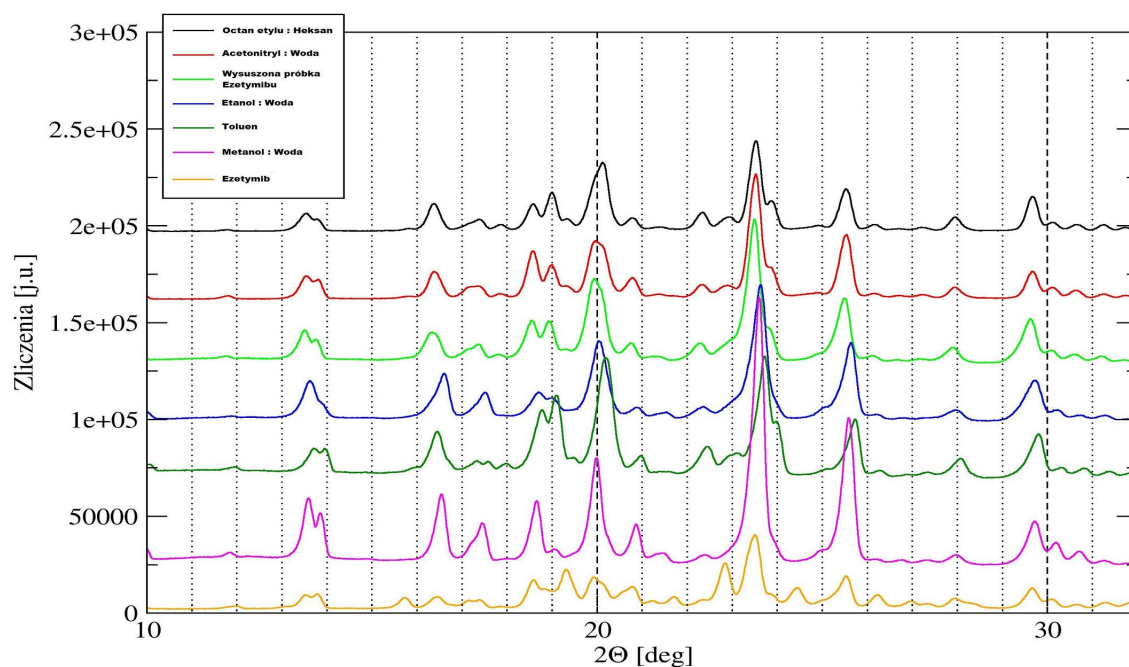
Suma metali ciężkich w próbce wynosi poniżej 10 ppm i spełnia wymóg określony przez prawo farmaceutyczne dla substancji aktywnych leków.⁷⁶ Jedynie zawartość palladu jest na poziomie powyżej poziomu 1 ppm, który określa czułość aparatu. Obecność palladu wiąże się z ostatnim etapem syntezy tj. usunięciem zabezpieczenia benzyłowego. Etap ten występuje w większości patentowanych dróg syntezy ezetymibu.

4.7 Badania polimorfizmu ezetymibu uzyskanego nowo opracowaną metodą

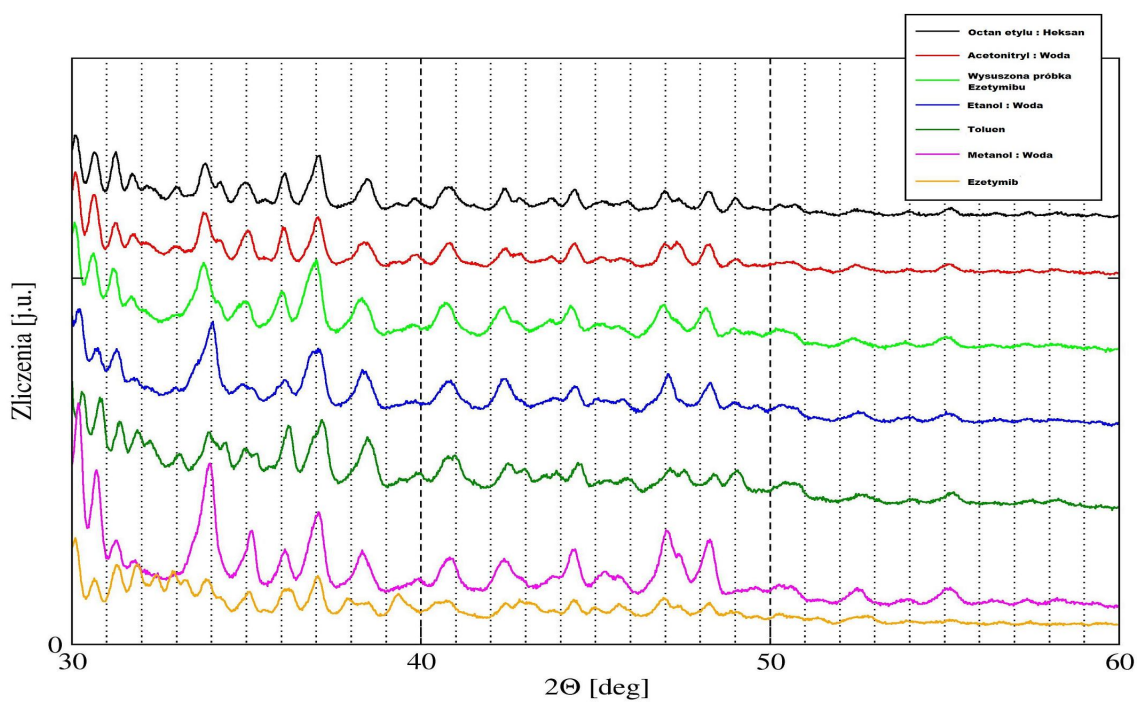
Polimorfizm określa zdolność związków chemicznych do występowania w różnych postaciach krystalograficznych i odnosi się wyłącznie do substancji w stanie stałym. Różne formy polimorficzne różnią się właściwościami fizycznymi i fizykochemicznymi. Jedną z nich jest rozpuszczalność. W przypadku związków biologicznie czynnych rozpuszczalność wpływa w decydującym stopniu na dostępność biologiczną substancji leczniczej.

⁷⁶ EMEA/CHMP/SWP/4446/2000

Do badania polimorfizmu stosuje się powszechnie różnicową kalorymetrię skaningową (DSC) i rentgenografię proszkową. Porównanie otrzymanych struktur polimorficznych do struktury handlowo dostępnego ezetymibu otrzymanego od firmy Adamed pokazuje przybliżoną zgodność (wykres 1 i 2).



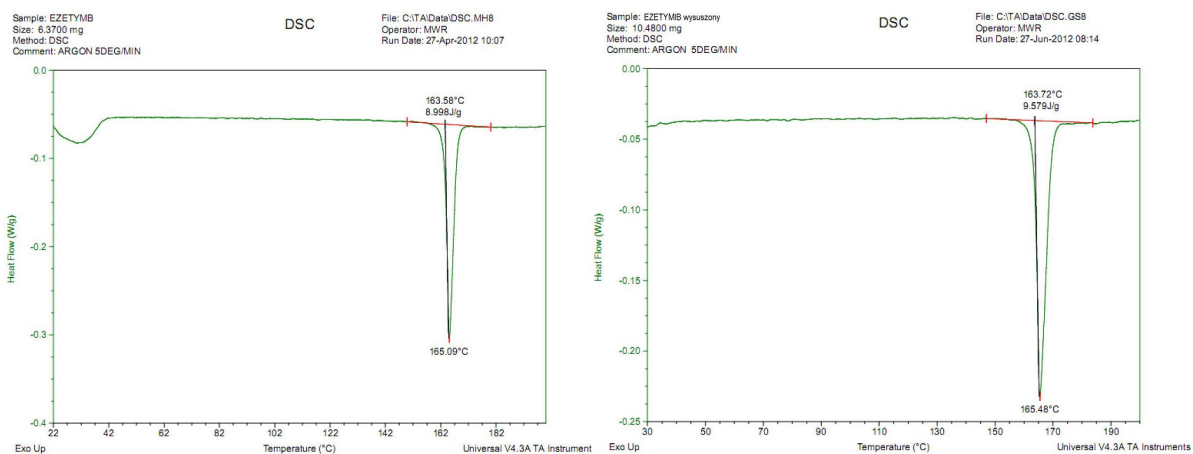
Wykres 1



Wykres 2

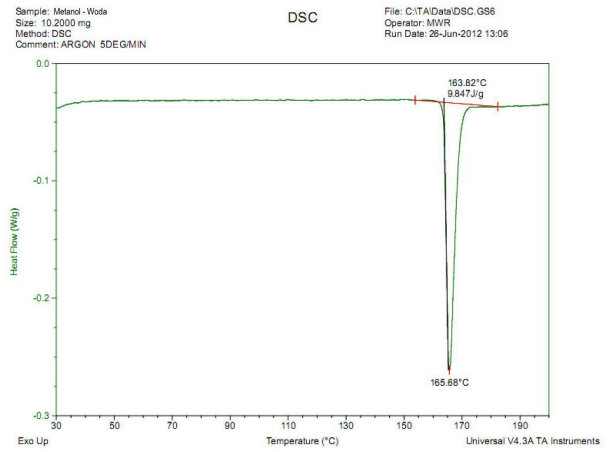
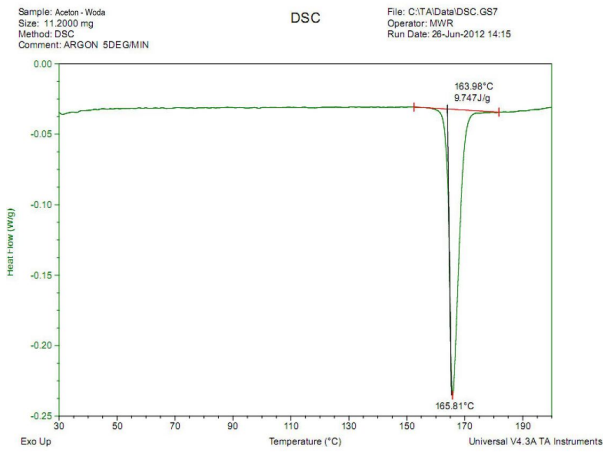
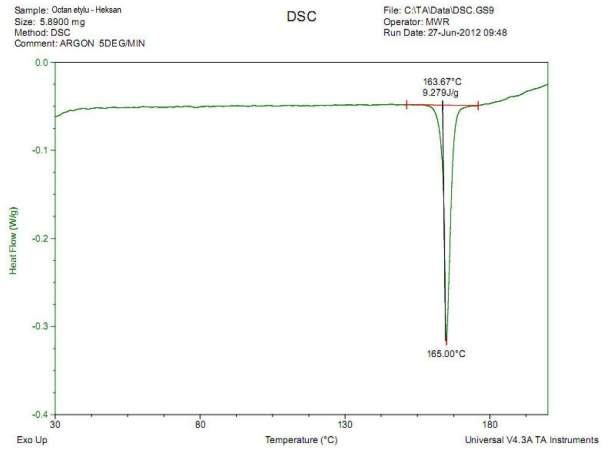
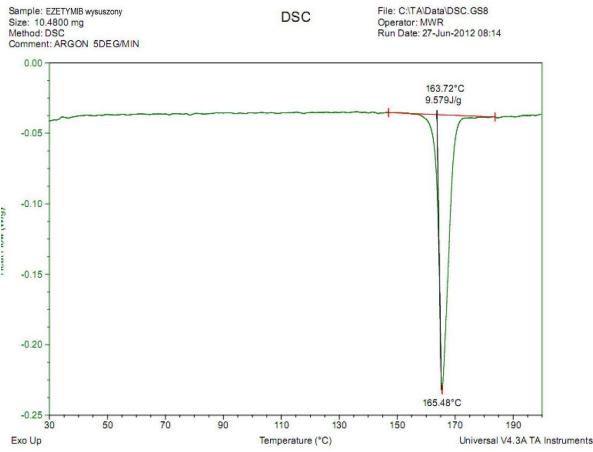
Jednak próbka handlowego ezetymibu nie jest podobna do żadnej z otrzymanych przeze mnie próbek. Charakterystyczne podwojenie sugeruje strukturę niejednorodną, która składa się z dwóch zasadniczych frakcji różniących się parametrami c komórki elementarnej. Takie modyfikacje struktury polimorficznej są zapewne związane z wchodzeniem rozpuszczalnika (wody) w skład komórki elementarnej. Zawilgocenie próbki związane jest z długim przechowywaniem (około 2 lat) próbki handlowej w nie hermetycznym pojemniku bez warstwy gazu ochronnego. Wsuszenie tej próbki tak jak pozostałych próbek skutkowało zbliżonym wyglądem dyfraktogramów. Bardzo duże podobieństwo można zaobserwować w przypadku próbek otrzymanych przez krystalizację z układów: octan etylu - heksan, acetonitryl - woda, metanol - woda.

Potwierdzeniem istnienia hydratów jest analiza DSC, w której, w próbce handlowego ezetymibu, można zaobserwować pik endotermiczny do temperatury około 50°C (wykres 3).



Wykres 3 i 4 Analiza DSC mokrej próbki handlowej i wysuszonej

Porównanie krzywych DSC próbek otrzymanych przez krystalizację z układów: octan etylu - heksan, acetonitryl - woda, metanol - woda wykazuje bardzo duże podobieństwo (Wykres 4,5,6,7) a co za tym idzie jest potwierdzeniem struktury polimorficznej.



Wykres 4,5,6,7 Analiza DSC suchej próbki handlowej oraz próbek otrzymanych przez krystalizację z układów: octan etylu - heksan, acetonitryl - woda, metanol - woda

5 Podsumowanie

Opracowałem nową, atrakcyjną strategię syntezy ezetymibu, której cechą charakterystyczną jest tylko jeden etap reakcji stereoróżnicującej, w którym w cyklokondensacji pomiędzy dienem Danishefskyego i p-fluoro-benzaldehydem generowane jest centrum stereogeniczne. W kolejnych etapach syntezy to pierwotnie utworzone centrum stereogeniczne ulokowane w laktonie decyduje o pożądanej konfiguracji końcowego produktu, a przede wszystkim o konfiguracji centrum przy atomie azotu (C4 azetydynonu), które kontroluje sąsiednie α - do grupy karbonylowej. Ta niezwykle ważna cecha strategii otrzymywania ezetymibu odróżnia prezentowaną przeze mnie syntezę od wszystkich, dotychczas opisanych w literaturze fachowej, w których są zawsze dwa etapy stereoróżnicujące. Otrzymywany końcowy produkt odpowiada wszystkim wymaganiom czystości diastereomerycznej i enancjomerycznej.

Kluczowym dla całej strategii syntezy jest wysoce stereoselektywna reakcja 1,3-dipolarnej cykloaddycji diarylowego nitronu do nienasyconego δ -laktonu, która przebiega w obecności tryflanu skandu jako katalizatora. O tej wysokiej stereoselektywności decyduje sztywny, zdefiniowany stan przejściowy cykloaddycji i oddziaływanie pomiędzy nukleofilowym pierścieniem arylowym i skompleksowaną katalizatorem grupą karbonylową laktonu. Te oddziaływania umożliwiają otrzymanie wyłącznie produktu kinetycznego oraz indukcję właściwej konfiguracji izoksazolidyny przez centrum stereogeniczne laktonu.

Wszystkie etapy syntezy są nieskomplikowane i prowadzone w warunkach akceptowalnych dla powiększenia skali i zastosowania w produkcji przemysłowej. Żaden z produktów syntezy nie wymaga chromatograficznego oczyszczania, a jedynie filtracji. W przypadku kilku etapów, stosuje się, bez oczyszczania, surowy produkt z poprzedniego etapu. Ostatecznego oczyszczenia dokonuje się na kluczowych etapach drogą krystalizacji.

Jednoznacznie wykazałem, że opisana w patencie bardzo prosta metoda syntezy ezetymibu z nasyconego laktonu i diarylowej iminy nie przebiega zgodnie z przedstawioną propozycją autorów, ale prowadzi do mieszaniny dwóch diastereomerów z niewielką przewagą produktu o niewłaściwej konfiguracji.

6 Część eksperymentalna

Widma magnetycznego rezonansu jądrowego ^1H i ^{13}C NMR zarejestrowano na aparacie Bruker DRX 500 MHz, Varian VNMR5 500 MHz, Varian VNMR5 600 MHz. Przesunięcia chemiczne sygnałów podano w ppm w skali δ w stosunku do tetrametylosilanu (TMS) jako wzorca wewnętrznego, natomiast stałe sprzężenia podano w Hz. Przy opisie multipletów stosowano następujące skróty: s - singlet, d - dublet, t - tryplet, m - multiplet oraz br - poszerzenie sygnału. Pomiaru skręcalności właściwej otrzymanych związków dokonano na polarymetrach JASCO P-1020 oraz JASCO P-2000 w temperaturze pokojowej w chlorku metylenu, chloroformie lub metanolu. Temperatury topnienia mierzono na aparacie Kriometr Boëtiusa Franz Küstner (Dresden) z mikroskopem i nie były korygowane. Widma w podczerwieni zarejestrowano na spektrometrze Perkin Elmer FT-IR Spectrum 2000. Przy ich opisie uwzględniono jedynie częstości charakterystyczne dla kluczowych grup funkcyjnych. Pomiar absorpcji w zakresie UV wykonano na spektrofotometrze Varian CARY 100 stosując acetonitryl jako rozpuszczalnik. Analizę rentgenostrukturalną monokryształów wykonano na czterokołowym dyfraktometrze MACH3. Widma masowe wysokiej rozdzielczości (HRMS) wykonano na aparacie AMD604 Intectra GmbH techniką jonizacji elektronowej (EI) oraz na aparacie Mariner metodą elektroosprężania (ESI). Widma dichroizmu kołowego zarejestrowano na spektropolarymetrze JASCO J 715 sprzężonym z HPLC analytical Jasco system.

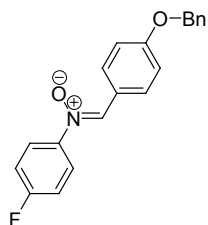
Do chromatografii cienkowarstwowej (TLC) stosowano płytki chromatograficzne Kieselgel 60F₂₅₄ firmy Merck (Merck No. 60738) na podłożu aluminiowym. Wizualizację na płytkach TLC prowadzono w świetle UV (254 nm) lub poprzez derywatyzację przy użyciu następujących roztworów wywołujących:

- 1) wywoływacz molibdenowo-cerowy (60 ml H_2SO_4 , 25 g $\text{H}_7[\text{P}(\text{Mo}_2\text{O}_7)_6 \cdot n\text{H}_2\text{O}]$, 10 g $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 940 ml H_2O)
- 2) roztwór ninhydryny w metanolu (250-300 mg/100 ml MeOH)
- 3) roztwór nadmanganianu potasu w nasyconym węglanie sodu (5g KMnO_4 w 100 ml nasyconego węglanu sodu)

4) kwaśny roztwór aldehydu anyżowego w etanolu (1 ml aldehydu *p*-anyżowego, 1 ml 96% H₂SO₄, 30 ml etanolu)

Preparatywną chromatografię wykonano na kolumnach otwartych metodą grawitacyjną lub metodą „flash” według Stilla⁷⁷ na kolumnach wypełnionych żelem krzemionkowym Kieselgel 60, 230-400 mesh (Merck No. 60738) lub Florisilem 100-200 mesh.

Wysokosprawną chromatografię cieczową (HPLC) wykonano przy użyciu chromatografu firmy Merck-Hitachi zaopatrzonego w pompę L-2130 i detektor diodowy L-2450.

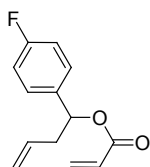


Tlenek *N*-(4-benzyloksybenzylideno)-*N*-(4-fluorofenyl)-iminy

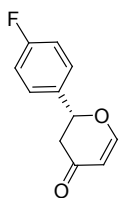
(52). Do zawiesiny *p*-fluoronitrobenzenu (300 mmoli, 31,8 ml) w roztworze NH₄Cl (390 mmoli, 20,9 g) w wodzie (600 ml), ogrzanego do temperatury 60 °C, dodano porcjami 39 g (600 mmoli) pyłu cynkowego, utrzymując temperaturę mieszaniny reakcyjnej w zakresie 60-65 °C. Po dodaniu ostatniej porcji pyłu cynkowego, kontynuowano mieszanie przez 15 minut. Po odsączeniu tlenku cynku, mieszaninę reakcyjną nasycono chlorkiem sodu i ochłodzono do 0 °C. Po 30 minutach odsączono powstały żółty osad, przemyto ochłodzoną wodą i suszono pod silnie zmniejszonym ciśnieniem. Uzyskaną surową hydroksyloaminę wykorzystano bezpośrednio w następnym etapie. Do roztworu surowej hydroksyloaminy (38,0 g, 300 mmoli) w acetonie (300 ml), dodano *p*-benzyloksybenzaldehyd (63,7 g, 300 mmoli) oraz CH₃SO₃H (12 kropli) w temperaturze pokojowej. Po 2 godzinach odsączono powstały osad, przemyto acetonem (3 × 100 ml) i osuszono pod zmniejszonym ciśnieniem. Otrzymano 57,6 g (60%) nitronu 27 w postaci ciała stałego. T.top. 193-195 °C (aceton); ¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ: 8,49-8,47 (m, 2H), 8,42 (s, 1H), 7,99-7,95 (m, 2H), 7,50-7,45 (m, 2H), 7,44-7,32 (m, 5H), 7,13 (d, *J* 5,0 Hz, 2H), 5,20 (s, 2H); ¹³C

⁷⁷ W.C. Still, M. Kahn, A. Mitra, *J. Org. Chem.*, 43, 1978, 2923.

NMR (125 MHz, DMSO-d₆) δ: 162,2 (d, J_{CF} 245,6 Hz), 159,9, 144,8 (d, J_{CF} 2,4 Hz), 136,6, 133,0, 130,9, 128,4, 127,9, 127,8, 124,1, 123,6 (d, J_{CF} 9,3 Hz), 115,7 (d, J_{CF} 22,9 Hz), 114,7, 69,4; HR MS (ESI): m/z obl. dla C₂₀H₁₆NO₂FNa [M+Na]⁺ 344,1057; znaleziono: 344,1055; Anal. El.% obl. dla C₂₀H₁₆FNO₂: C, 74,75; H, 5,02; F, 5,91; N, 4,36. znaleziono: C, 74,76; H, 5,08; F, 6,03; N, 4,40.

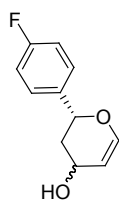


1-(4-fluorofenylo)but-3-en-1-yl akrylan (64). Do ochłodzonego do 0°C roztowu 2g (12 mmol) alkoholu **63-rac** w 10 ml DCM oraz 3,3 ml (24 mmol) trietyloaminy powoli wkraplano 1,45 ml (18 mmol) chlorku akryloilu. Po dodaniu całości chlerek mieszaninę reakcyjną na ogrzano do temperatury pokojowej. Po 2,5 godzinach dodano dodano 10 ml wody oraz 10 ml DCM i ekstrahowano. Wartwę organiczną wysuszono MgSO₄ i odparowano rozpuszczalnik. Pozostałość poddano chromatografii na żelu krzemionkowym (heksan/octan etylu 9:1). Otrzymano 2,01 mg (9.14 mmol, wyd. 76%) bezbarwnego olej. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 7,34-7,30 (2H, m), 7,05-7,00 (2H, m), 6,43 (1H, dd, J 17,33, 1,4 Hz), 6,15 (1H, dd, J 17,3, 10,4 Hz), 5,86-5,81 (2H, m), 5,73-5,64 (2H, m), 5,09-5,03 (2H, m), 2,72-2,65 (1H, m) 2,60-2,54 (1H, m); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ: 165,2, 163,3, 161,4, 135,8, 135,7, 132,9, 130,9, 128,5, 128,3, 128,3, 118,3, 115,4, 115,2, 74,7, 40,6; MS (EI) :55,1 (100), 179 (42); IR (film) ν: 2982, 1726, 1607, 1513, 1405, 118.

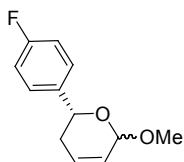


(2R)-2-(4-fluorofenylo)-2,3-dihydro-4H-piran-4-on (71) Do roztworu 272 mg [(R,R)-salenu-Cr]BF₄ w 4 ml suchego MTBE dodano 6 g sit 4Å i schłodzono do -30°C Następnie dodano 4-fluorobenzaldehyd (2,48 g, 20 mmol) i powoli wkraplono dien Danishefskyego (**72**, 3,44 g, 20 mmol). Po 24 h dodano roztwór kwasu trifluorooctowego (1 ml) w 40 ml chlorku metylenu. Mieszaninę ogrzano do temperatury pokojowej i odsączono sita. Po dodaniu 1 ml wody mieszano przez 2

godziny, a następnie ekstrahowano NaHCO₃aq (20 ml). Warstwę organiczną wysuszono (MgSO₄) i usunięto rozpuszczalnik. Pozostałość poddano chromatografii na żelu krzemionkowym (heksan/octan etylu 4:1) uzyskując (2*R*)-2-(4-fluorofenilo)-2*H*-piran-4(3*H*)-on w postaci lekko żółtego oleju (3,72 g 19,4 mmol, 97%). *ee* 91%; [α]_D -83,0 (c 1,1, DCM); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 7,47 (1 H, dd, *J* 6,0, 0,8 Hz), 7,42-7,37 (2H, m), 7,14-7,08 (2H, m), 5,53 (1H, dd, *J* 6,0, 1,3 Hz), 5,41 (1H, dd, *J* 14,4, 3,5 Hz), 2,89 (1H, dd, *J* 16,8, 14,4 Hz), 2,65 (1H, ddd, *J* 16,8, 3,5, 1,3 Hz). ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ: 191,8, 163,9, 163,0, 161,9, 133,7, 133,7, 128,05, 127,9, 115,9, 115,7, 107,5, 80,4, 43,3 HRMS (EI) *m/z* obl. dla C₁₁H₉FO₂ [M⁺] 192,0586; znaleziono 192,0583; IR (film) ν: 3073, 1677, 1606, 1594, 1514. GC: InertCap® CHIRAMIX 160 °C, racemat: *t*=32,1 min. (50%), *t*=33,2 min. (50%). Reakcja: *t*=31,8 min. (7,1%), *t*=32,4 min. (92,9%).

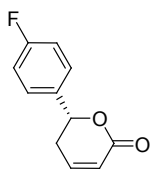


(2*R*)-2-(4-fluorofenilo)-3,4-dihydro-2*H*-piran-4-ol (70). Do roztworu 4,439 g (11,9 mmol) CeCl₃·7H₂O w 27 ml metanolu dodano 2,090 g (2*R*)-2-(4-fluorofenilo)-2*H*-piran-4(3*H*)-on w 27 ml DCM i schłodzono do -20°C, a następnie dodano NaBH₄ (456 mg, 11,9 mmol). Po 30 min dodano 5 ml nasyconego roztworu NH₄Cl, ogrzano do temperatury pokojowej i ekstrahowano DCM (30 ml). Uzyskany surowy (2*R*)-2-(4-fluorofenilo)-3,4-dihydro-2*H*-piran-4-ol po wysuszeniu (MgSO₄) i usunięciu rozpuszczalnika, bez dalszego oczyszczania użyto w kolejnym etapie. *ee* 91%, [α]_D +60,2 (c 1,0, AcOEt); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 7,38-7,32 (2 H, m), 7,09-7,03 (2H, m), 6,52-6,50 (2H, m), 4,97 (1H, dd, *J* 11,9, 2,1 Hz), 4,87 (1H, dt, *J* 6,2, 2,1 Hz), 4,65-4,58 (1H, m), 2,39-2,33 (1H, m), 2,0-1,92 (1H, m); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ: 163,4, 145,2, 136,1, 136,1, 127,8, 127,7, 115,5, 115,3, 105,8, 76,2, 63,42, 40,0; HRMS (EI) *m/z* obl. dla C₁₁H₁₁FO₂ [M] 194,0742; znaleziono 194,0748. IR (film): 3369, 1642, 1607, 1514. Analiza Elementarna: obl.(%): C 68,03, H 5,71, F 9,78 znaleziono (%): C 68,15, H 5,52, F 9,87.



(2R)-2-(4-fluorofenyl)-6-metoksy-3,6-dihydro-2H-piran (69). Do

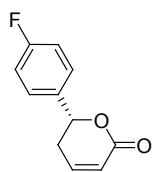
roztworu 1,90 g (9,7 mmol) (2R)-2-(4-fluorofenyl)-3,4-dihydro-2H-piran-4-olu (**70**) w 50 ml metanolu dodano 100 mg jonitu DOWEX 50W X4. Po 18 godzinach żywicę odsączono i usunięto rozpuszczalnik. Pozostałość poddano chromatografii na żelu krzemionkowym (heksan/AcOEt 9:1) uzyskując (2R)-2-(4-fluorofenyl)-6-metoksy-3,6-dihydro-2H-piran w postaci żółtawego oleju (1,068 g, 52%). ee 91%; $[\alpha]_D^{20} +40,2$ (c 1,0, aceton); $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 7,40-7,36 (2 H, m), 7,09-7,03 (2H, m), 6,14-6,07 (1H, m), 5,84 (1H, ddt, J 10,1, 2,8, 1,4 Hz), 5,03-4,98 (1H, m), 4,89 (1H, dd, J 10,7, 3,8 Hz), 2,35-2,19 (2H, m); $^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ : 163,1, 161,2, 137,8, 137,7, 128,9, 128,8, 127,8, 125,5, 115,3, 115,1, 96,4, 67,8, 55,3, 32,2. HRMS(EI) m/z obl. Dla $\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{FO}_2$ [M] 208,0899; znaleziono 208,0891; IR (film): 2894, 1609, 1513, 1399. Analiza Elementarna: obl.(%): C 69,22, H 6,29, F 9,12 znaleziono (%): C 69,15, H 6,38, F 9,08.



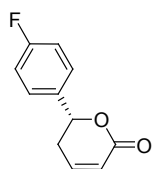
(6R)-6-(4-fluorofenyl)-5,6-dihydro-2H-piran-2-on (57). Roztwór 1,0

g (4,8 mmol) (2R)-2-(4-fluorofenyl)-6-metoksy-3,6-dihydro-2H-piranu (**70**) w 50 ml acetonu ochłodzono do 0°C , a następnie powoli wkroplono 10 ml roztworu 1,75 M (9,6 mmol) odczynnika Jonsa. Po ok. 15 min dodano 5 ml i-propanolu. Po ogrzaniu do temperatury pokojowej mieszaninę przesączono przez Celit® i usunięto rozpuszczalnik. Do pozostałości dodano AcOEt (40 ml) i przemyto nasyc. NaHCO_3 (30 ml). Otrzymany roztwór organiczny wysuszono (MgSO_4) i usunięto rozpuszczalnik. Pozostałość poddano chromatografii na żelu krzemionkowym (heksan/AcOEt 6:4). Uzyskany produkt rozpuszczono w MTBE (na gorąco) i dodano heptan do zmętnienia. Powstały osad odsączono i przemyto heptanem. Otrzymano 0,68 g (73%) (6R)-6-(4-fluorofenyl)-5,6-dihydro-2H-piran-2-onu w postaci białego osadu. ee 98,5%; $[\alpha]_D^{20} 220,0$ (c 1,0, CHCl_3); $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 7,42-7,36 (2 H, m), 7,11-7,05 (2H,

m), 7,00-6,94 (1H, m), 6,15 (1H, ddd, J 9,7, 2,4, 1,2 Hz), 5,43 (1H, dd, J 11,4, 4,9), 2,70-2,56 (2H, m); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 163,8, 163,7, 161,8, 144,7, 134,3, 134,2, 128,0, 127,9, 121,7, 115,7, 115,5, 78,6, 31,7. HRMS (EI) m/z obl. Dla $\text{C}_{11}\text{H}_9\text{FO}_2$ [M] 192,0586; znaleziono 192,0779. IR (film): 3071, 1731, 1605, 1511. HPLC: Chiralpak® OB-H heksan:i-PrOH 96:4 1,0 ml/min UV=207 nm: racemat :41,2 min (51%), 43,8 min (49%). Reakcja: 41,0 min (90,8%), 42,9 min (9,2%).

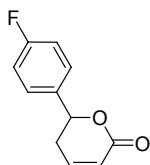


Do zawiesiny (2R)-2-(4-fluorofenylo)-3,4-dihydro-2H-piran-4-olu (**70**) (195 mg, 1 mmol) w 2 ml 30% H_2O_2 , dodano 15 mg (0,1 mmola) MoO_3 i około 3 ml acetonitylu. Po 5 godzinach mieszaninę reakcyjną rozcieńczono wodą (30 ml), a następnie ekstrahowano dichlorometanem (3 x 30 ml). Połączone ekstrakty przemywano wodą (5 x 20 ml) a warstwa wodna nie wykazywała obecności H_2O_2 (próba z KI). Suszono nad bezwodnym Na_2SO_4 . Po usunięciu środka suszącego do roztworu wodoronadtlenku w dichlorometanie wkroplono pirydynę (0,4 ml) i bezwodnik octowy (0,4 ml). Po 2 godzinach w temperaturze pokojowej mieszaninę reakcyjną wylano na wodę z lodem i ekstrahowano chlorkiem metylenu (3 x 20 ml). Połączone fazy organiczne przemyto roztworem Na_2SO_3 , następnie 5% roztworem kwasu solnego ora 5% roztworem NaHCO_3 oraz wodą do odczynu obojętnego, a następnie suszono nad Na_2SO_4 . Po usunięciu rozpuszczalnika otrzymany surowy produkt poddano chromatografii i otrzymano 132 mg (69%) (6R)-6-(4-fluorofenylo)-5,6-dihydro-2H-piran-2-onu w postaci ciała stałego.



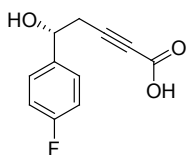
Do roztworu 0,57 g (4,5 mmol) aldehydu 4-fluorobezoesowego w 500 ml suchego i odtlenionego THF dodano 1,30 g (9 mmol) eter trimetylosililowy enolanu krotonianu etylu oraz 0,75 g (1,10 mmol) R-TolBinap. Następnie dodano 0,36 g (1,0 mmol) triflany midzi II oraz 1,08 g (2,0 mmol). Reakcje pozostawiono przez 18 godzin

w temperaturze pokojowej. Następnie odparowano rozpuszczalnik i ekstrahowano z 40 ml wody i 50 ml octanu etylu. Warstwę organiczną wysuszono $MgSO_4$ i odparowano rozpuszczalnik. Pozostałość poddano chromatografii na żelu krzemionkowym (heksan/octan etylu 6:4). Otrzymano 0,60 g bezbarwnego oleju. Analiza HPLC wykazała ee=84%.



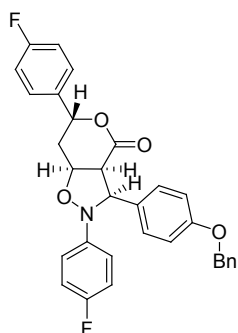
6-(4-fluorofenyl)-5,6-dihydro-2H-piran-2-on (57). Roztwór

odtlenionego 4,40 g (20 mmol) dienu (64) w 200 ml heksafluorobenzenu, dodano 37 mg (0,08 mmol) katalizatora indelindenowego II generacji. Mieszaninę reakcyjną ogrzewano przez 4 godziny w $80^\circ C$. Po 4 godzinach dodano następną 37 mg (0,08 mmol) katalizatora. Po 4 godzinach mieszaninę ochłodzono do temperatury pokojowej. Rozpuszczalnik oddestylowano w temperaturze $40^\circ C$ pod ciśnieniem 240 mmBar, pozostawiając około 10 ml rozpuszczalnika. Pozostałość poddano chromatografii na żelu krzemionkowym (heksan/AcoEt 6:4). Otrzymano 2,08 g (72%) produktu w postaci brązowego osadu.



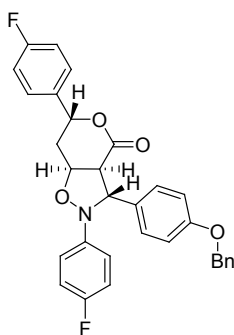
(5R)-5-hydroksy-5-(4-metylofenyl)pent-2-ynowy kwas. Roztwór

LDA (10 mmol) w THF ochłodzono do $-30^\circ C$ i nasycono go acetylenem. Następnie wkroplono 1,38 g (10 mmol) (S)-(4-fluorofenyl)oksiran. W kolejnym kroku powoli dodano 11 ml 1M roztworu LDA po czym przez mieszaninę reakcyjną przepuszczono suchy dwutlenek węgla, a następnie ogrzano powoli do $0^\circ C$. Po dodaniu 3 ml NH_4Cl mieszaninę ekstrahowano octanem etylu. Warstwę organiczną wysuszono $MgSO_4$, a po usunięciu rozpuszczalnika otrzymano 1,49 g (72%) kwasu w postaci białego osadu. 1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ : 7,40-7,35 (2H, m), 7,20-7,17 (2H, m), 4,83 (1H, s), 4,51 (1H, t, J 6,6 Hz), 2,23-2,15 (2H, m).



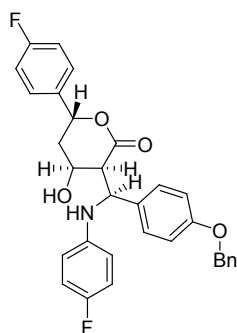
(3*S*,3*aS*,6*R*,7*aS*)-3-(4-benzylloksyfenylo)-2,6-bis-(4-

fluorofenylo)-heksahydro-4*H*-pirano[3,4-*d*][1,2]oksazol-4-on (58). Tryflan skandu 180 mg (0,37 mmola) i 1,46 g sit molekularnych 4Å mieszano przez 30 minut w temperaturze pokojowej w 28 ml suchego toluenu, następnie dodano 0,70 g (3,66 mmola) (6*R*)-6-(4-fluorofenylo)-5,6-dihydro-2*H*-piran-2-onu (57) oraz 1,86 g (5,48 mmol) *N*-(4-fluorofenylo)- α -(4-benzylloksyfenylo)nitronu. Mieszaninę reakcyjną podgrzano do 30 °C. Po 72 h odsączono sita i odparowano rozpuszczalnik. Pozostałość poddano chromatografii na żelu krzemionkowym stosując heksan, a następnie mieszaninę 30% octanu etylu w heksanie jako eluent. Otrzymano 1,70 g (3,31 mmol, wyd. 90%) izoksazolidyny 58. *T.* top 64-66 °C; *ee* 98,5%; $[\alpha]_D^{25}$ -96 (c 1, MeOH); ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 7,52-7,49 (2H, m), 7,41-7,30 (5H, m), 7,14-6,97 (10H, m), 5,42 (1H, d, *J* 9,1 Hz), 5,06 (2H, dd, *J* 11,9, 1,4 Hz), 5,04 (2H, s), 4,81 (1H, ddd, *J* 9,1, 3,8, 1,4 Hz), 3,95 (1H, t, *J* 9,1 Hz), 2,30-2,27 (1H, m), 2,10-2,05 (1H, m); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 168,0, 163,5, 161,9, 159,8, 158,7, 158,2, 145,1, 145,0, 136,7, 133,9, 133,8, 128,7, 128,6, 128,6, 128,0, 127,9, 127,5, 116,6, 116,5, 116,0, 115,9, 115,7, 115,5, 114,9, 75,7, 73,5, 71,5, 70,0, 53,2, 34,4; HRMS (ESI) *m/z* obl. dla $\text{C}_{31}\text{H}_{25}\text{F}_2\text{NO}_4\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 536,1644; znaleziono 536,1656; Analiza Elementarna: obl.(%): C 72,50, H 4,91, F 7,40, N 2,73 znaleziono (%): C 72,74, H 4,93, F 7,61, N 2,51; IR (film) ν : 3033, 1729, 1609, 1513, 1501. HPLC: Chiralpak® AD-H heksan:*i*-PrOH 50:50 0,4 ml/min UV=231 nm: racemat: 48,3 min (50,2%), 71,8 min (49,8%). związek: 47,0 min (0,8%), 70,9 min (99,2%).



(3*S*,3*aS*,6*R*,7*aS*)-3-(4-benzylloksyfenylo)-2,6-bis(4-

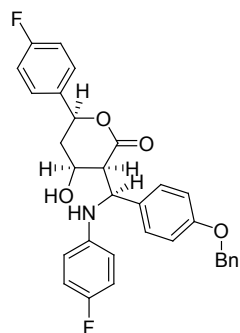
fluorofenylo)-heksahydro-4*H*-pirano[3,4-*d*][1,2]oksazol-4-on (77) Roztwór 321 mg (1 mmol) nitronu **52** oraz 192 mg laktonu **57** ogrzewano w toluenie we wrzeniu przez 24 godziny. Następnie ochłodzono do temperatury pokojowej i poddano chromatografii na żelu krzemionkowym stosując heksan, a następnie mieszaninę 30% octanu etylu w heksanie jako eluent. Otrzymano 99 mg (0,19 mmol, wyd. 19%) izoksazolidyny **77**. ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ: 7,43-7,32 (10H, m), 7,24-6,88 (7H, m), 5,76 (1H, dd, *J* 11,4, 1,8 Hz), 5,06 (2H, dd, *J* 11,9, 1,4 Hz), 5,04 (2H, s), 4,89-4,87 (1H, m), 4,34 (1H, d, *J* 7,6 Hz), 3,61 (1H, t, *J* 7,6 Hz), 2,42 (1H, dt, *J* 15,2, 2,4 Hz), 2,21-2,15 (1H, m); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ: 169,3, 163,6, 161,9, 160,6, 159,1, 159,1, 143,8, 136,7, 134,1, 134,0, 129,8, 128,8, 128,6, 128,0, 127,9, 127,8, 127,5, 120,7, 120,6, 115,8, 115,7, 115,5, 115,4, 115,3, 75,9, 74,5, 71,9, 70,6, 56,3, 33,9; HPLC: Chiralpak® AD-H heksan:i-PrOH 50:50 0,4 ml/min UV=231 nm: racemat :56,1 min (51,0%), 82,5 min (49,0%).



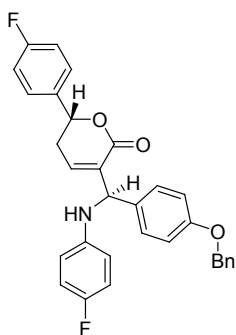
(3*S*,4*S*,6*R*)-3-(*S*)-(4-benzylloksyfenylo)-(4-fluorofenyloamino)-

metylo-6-(4-fluorofenylo)-4-hydroksytetrahydro-2*H*-piran-2-on (78). Do mieszaniny izoksazolidyny **58** 1,00 g (1,94 mmol) i jodku potasu 0,97 g (58,5 mmol) w 20 ml wilgotnego acetonitrylu w temperaturze pokojowej dodano chlorek trimetylosililowy 0,83 ml (58,5 mmol). Po 35 minutach do mieszaniny reakcyjnej dodano 10 ml nasyconego wodnego roztworu Na₂SO₄, a następnie produkt ekstrahowano

octanem etylu. Po wysuszeniu uzyskanych ekstraktów organicznych ($MgSO_4$) rozpuszczalnik usunięto pod zmniejszonym ciśnieniem. Pozostałość oczyszczano chromatograficznie na żelu krzemionkowym (heksan/octan etylu 9:1 \rightarrow 1:1) uzyskując 0,89 g (1,72 mmol, wyd. 88%) aminolaktonu w postaci jasno żółtego osadu. T. top. 63-65 °C; ee 98,5%; $[\alpha]_D +8,8$ (c 1,0, MeOH); 1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ : 7,40-7,27 (9H, m), 7,08-6,69 (8H, m), 5,81 (1H, dd, J 11,1, 3,6 Hz), 5,42-5,13 (1H, bs), 5,00 (2H, s), 4,72 (1H, d, J 2,4 Hz), 4,63-4,62 (1H, m), 2,37 (1H, dt, J 14,3, 4,0 Hz), 2,07-2,00 (1H, m); ^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ : 170,8, 163,4, 161,8, 158,2, 156,6, 141,7, 136,8, 135,1, 131,9, 128,6, 128,3, 128,0, 127,7, 127,6, 127,5, 117,7, 117,6, 115,9, 115,8, 115,7, 115,5, 114,8, 78,3, 70,1, 70,0, 60,5, 53,1, 39,1; HRMS (ESI) m/z obl. dla $C_{31}H_{27}F_2NO_4Na$ $[M+Na]^+$ 538,1800; znaleziono 538,1810; Analiza Elementarna: obl.(%): C 72,22, H 5,28, F 7,37, N 2,72 znaleziono (%): C 72,01, H 5,00, F 7,36, N 2,63 IR (film) v: 3374, 1727, 1609, 1511.

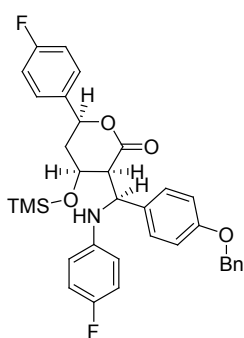


(3*S*,4*S*,6*S*)-3-(*S*)-(4-benzylloksyfenylo)-(4-fluorofenylo)-amino-metylo-6-(4-fluorofenylo)-4-hydroksytetrahydro-2*H*-piran-2-on (88). Procedura identyczna jak dla związku **59**. T. top. 69 °C; $[\alpha]_D -23,6$ (c 1,47, $CHCl_3$); 1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ : 7,42-7,29 (9H, m), 7,09-7,03 (2H, m), 6,95-6,72 (6H, m), 5,18 (1H, dd, J 11,9, 4,7 Hz), 5,00 (2H, s), 4,86 (1H, d J 3,0 Hz), 4,80-4,73 (1H, m), 3,17 (1H, bs.), 2,68-2,59 (1H, m) 2,11-2,02 (1H, m); ^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ : 171,2, 163,8, 161,8, 158,4, 136,8, 133,7, 133,6, 128,7, 128,6, 128,3, 128,2, 128,0, 127,5, 118,1, 115,9, 115,8, 115,7, 115,6, 115,1, 115,0, 70,0, 68,9, 60,1, 50,9, 40,6, ; HRMS (ESI) m/z obl. dla $C_{31}H_{27}F_2NO_4Na$ $[M+Na]^+$ 538,1800; znaleziono 538,1810; IR (film) v: 3374, 1727, 1609, 1511, 1454, 1230.



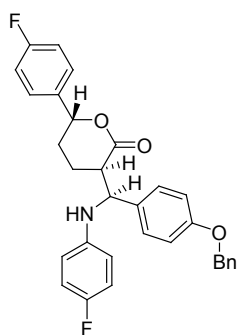
(6*R*)-3-(*R*)-(4-benzyloksyfenylo)-(4-fluorofenylo)-aminometylo-

6-(4-fluorofenylo)-5,6-dihydro-2*H*-piran-2-on (**81**). Do roztworu aminolaktonu **78** (420 mg, 0,82 mmol) w 20 ml DCM, dodano 114,8 mg (1,64 mmol) imidazolu oraz 295 μ l (2,05 mmol) chlorku trimetylosililowego. Po 30 minutach odsączono osad a do roztworu dodano 245 μ l (1,64 mmol) DBU. Po 15 minutach dodano wodę (10 ml) i chlorek metylenu (50 ml). Warstwę wodną ekstrahowano chlorkiem metylenu (30 ml). Po wysuszeniu warstwy organicznej siarczanem magnezu i odsączeniu, dodano 100 ml metanolu. Odparowywano rozpuszczalniki pod zmniejszonym ciśnieniem (350 mmBar) w temperaturze 55 °C pozostawiając jedynie metanol. Następnie chłodzono powoli do temperatury pokojowej. Po 5 godzinach odsączano produkt w postaci lekko beżowego osadu. Po wysuszeniu otrzymano 298 mg (0,60 mmol, wyd. 73%) produktu w postaci bezbarwnego ciała stałego. T. top. 170-172 °C; $[\alpha]_D$ -60,3 (c 1,0, CHCl₃); ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 7,43-7,31 (9H, m), 7,08-6,79 (8H, m), 6,51-6,47 (2H, m), 5,29 (1H, dd, *J* 12,1, 3,9 Hz), 5,05 (2H, s), 2,73-2,66 (1H, m), 2,67-2,58 (1H, m); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 164,0, 163,7, 161,7, 158,7, 138,5, 136,8, 134,1, 134,0, 132,7, 128,8, 128,6, 128,1, 128,0, 127,5, 115,8, 115,7, 115,6, 115,5, 115,2, 78,2, 70,1, 57,9, 31,9; HRMS (ESI) *m/z* obl. Dla C₃₁H₂₅F₂NO₃Na [M+Na]⁺ 520,1695; znaleziono 520,1710; IR (film) ν : 3395, 1714, 1609, 1509.



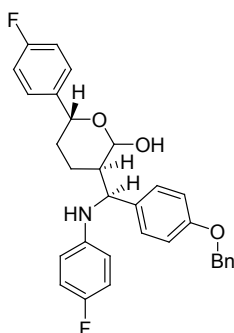
Związek **89** otrzymano według procedury identycznej jak opisana wyżej, z tą różnicą, że nie dodawano DBU. T. top. °C; $[\alpha]_D$ 6,5 (c 1,04, CHCl₃) ¹H

NMR (600 MHz, CDCl₃) δ: 7,42-7,27 (9H, m), 7,11-6,56 (9H, m), 5,21(1H, dd, *J* 11,7, 4,5 Hz), 5,04 (2H, s), 4,75 (1H, d *J* 7,1 Hz), 4,16 (1H, dt, *J* 7,1, 4,6 Hz), 3,13 (1H, dd, *J* 7,1, 4,1 Hz), 2,37-2,30 (1H, m) 1,95-1,86 (1H, m); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ: 171,6, 158,5, 136,8, 128,6, 128,1, 128,0, 127,9, 127,5, 117,2, 115,7, 115,6, 115,5, 115,4, 115,0 70,0, 66,7, 52,4, 40,7, 0,3; HRMS (ESI) *m/z* obl. dla: C₃₄H₃₅F₂NO₄SiNa [M+Na]⁺ 610.2201 znaleziono; 610.2231.



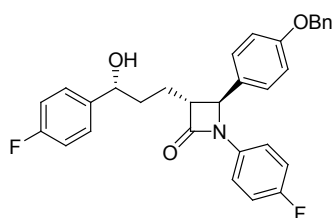
(3*R*,6*R*)-3-(*S*)-(4-benzyloksyfenylo)-(4-fluorofenylo)-

aminometylo-6-(4-fluorofenylo)-tetrahydro-2*H*-piran-2-on (60). Roztwór 480 mg (0,96 mmol) laktonu **81** w suchym THF (100 ml) ochłodzono do -78°C a następnie powoli dodano 0,96 ml (0,96 mmol) *L*-Selectride®. Po 2 godzinach reakcję przerwano dodając nasycony roztwór NH₄Cl (10 ml). Po ogrzaniu do temperatury pokojowej mieszaninę poreakcyjną zalkalizowano (pH ok. 8) za pomocą wodnego roztworu NaHCO₃. Po ekstrakcji octanem etylu (2x 30 ml) warstwę organiczną suszono bezw. MgSO₄. Po usunięciu rozpuszczalnika pozostałość poddano chromatografii na żelu krzemionkowym (heksan/octan etylu 8:2) uzyskując 328 mg (0,66 mmol, wyd. 68%) produktu w postaci bezbarwnego ciała stałego. *T.* top. 51-53 °C; [α]_D +30,0 (c 1,0, MeOH); ¹H NMR (600 MHz, C₆D₆) δ: 7,25-7,18 (4H, m), 7,19-6,68 (13H, m), 6,46-6,43 (2H, m), 4,88 (1H, d, *J* 5,3 Hz) 4,63 (2H, s), 4,40-4,37 (1H, m), 1,32-1,17 (4H, m) 1,09-1,03 (1H, m); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ: 170,2, 163,3, 161,7, 158,6, 137,0, 135,7, 128,8, 128,3, 115,7, 115,5, 115,5, 115,1, 114,9, 96,1, 80,8, 69,7, 59,5, 46,1, 30,6, 22,1; HRMS (EI) *m/z* obl. dla C₃₁H₂₇F₂NO₃ [M⁺] 499,1959 znaleziono 499,1978; IR (film) ν: 3349, 1610, 1512. HPLC: Chiralpak® AD-H heksan:*i*-PrOH 50:50 0,4 ml/min UV=233 nm: racemat 51,7 min (50,3%), 82,43 min (49,7%). Związek 51,1 min.



(3*R*,6*R*)-3-(*S*)-(4-benzyloksyfenylo)-(4-fluorofenylo)-

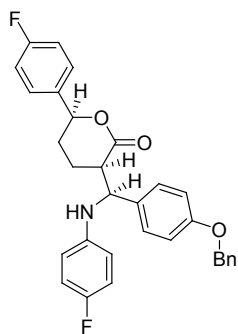
aminometylo-6-(4-fluorofenylo)-tetrahydro-2*H*-piran-2-ol (83). ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3), δ : 7,43-7,26 (10H, m), 7,21-7,16 (3H, m), 7,01-6,98 (3H, m), 6,94-6,90 (3H, m), 6,80-6,75 (3H, m), 6,55-6,52 (1H, m), 6,46-6,42 (2H, m), 5,03-4,98 (4,5H, m), 4,81 (0,6H, d, J 8,1 Hz), 4,42-4,36 (1,5H, m), 4,22 (0,4H, d, J 8,1 Hz), 2,15-2,04 (2H, m), 1,89-1,84 (1,4H, M), 1,77-1,72 (0,4H, m), 1,62-1,44 (4H, m); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3), δ : 162,9, 161,3, 158,2, 157,9, 138,2, 136,9, 136,8, 128,6, 128,6, 128,5, 128,0, 127,9, 127,7, 127,6, 127,6, 127,5, 127,4, 116,6, 115,6, 115,5, 115,2, 115,0, 114,9, 114,8, 110,3, 92,8, 77,4, 70,3, 70,1, 70,0, 46,5, 45,6, 34,1, 33,2, 25,7, 22,6; MS (ESI) m/z : 524,2 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 540,1 $[\text{M}+\text{K}]^+$.



(3*R*,4*S*)-4-(4-benzyloksyfenylo)-1-(4-fluorofenylo)-3-

[(3*S*)-3-(4-fluorofenylo)-3-hydroksypropylo]-azetydyn-2-on (62). Do schłodzonego do 0°C roztworu laktonu 84 (100 mg, 0,2 mmol) w 8 ml suchego eteru dietylowego dodano $100\ \mu\text{L}$ (0,4 mmol) 2M roztworu chlorku tert-butylomagnezowego w eterze dietylowym. Po 15 minutach dodano 3 ml nasyc. NH_4Cl . Warstwę wodną ekstrahowano eterem (10 ml), a następnie warstwę organiczną osuszono (MgSO_4) a rozpuszczalnik usunięto pod zmniejszonym ciśnieniem. Pozostałość poddano chromatografii na żelu krzemionkowym (heksan/octan etylu 7:3). Otrzymano 81 mg (0,16 mmol, wyd. 80%) produktu w postaci bezbarwnego osadu. $[\alpha]_D^{+10,8}$ (c 1,1, CHCl_3); ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 7,42-7,20 (11H, m), 7,02-6,90 (6H, m), 5,04 (2H, s), 4,72-4,68 (1H, m) 4,55 (1H, d J 2,2 Hz), 4,55 (1H, dt J 7,1, 2,2 Hz) 2,05-1,93 (3H, m) 1,89-1,82 (2H, m); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 167,6, 163,0, 161,4, 159,8, 159,0,

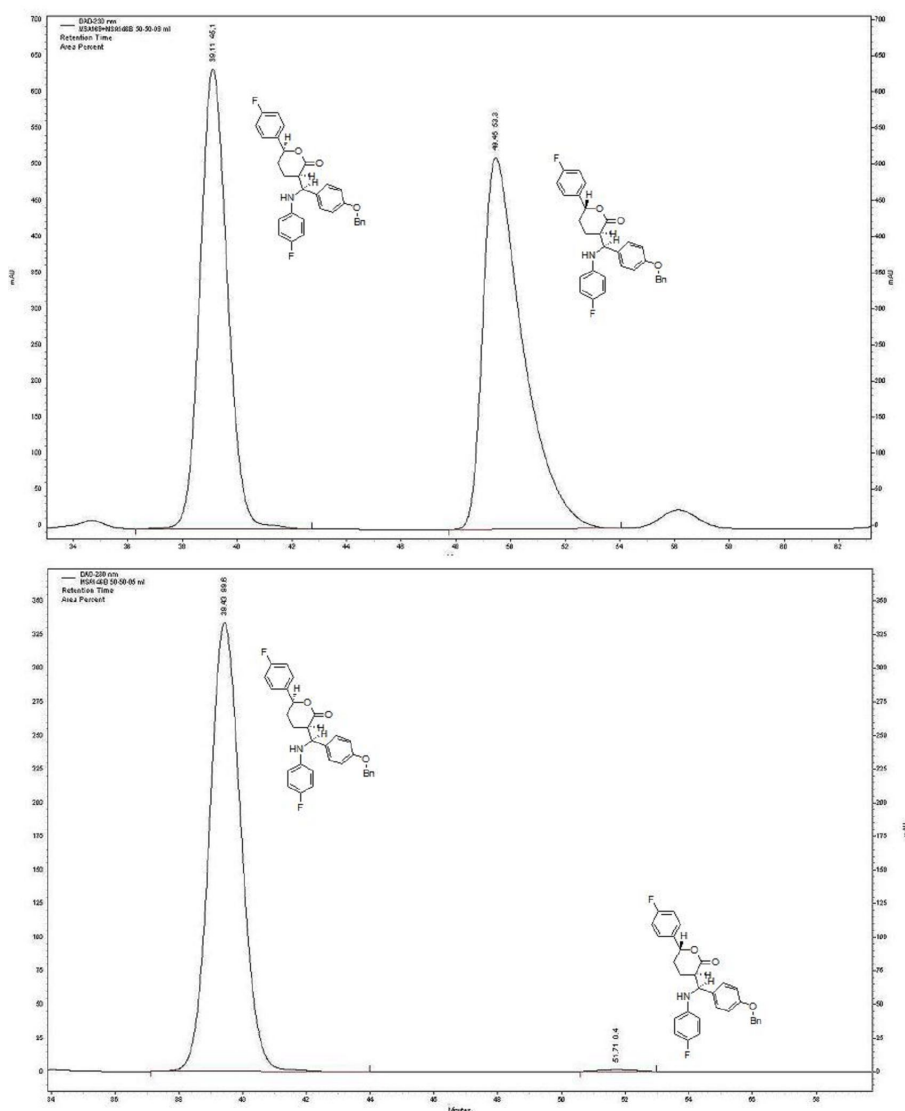
158,1, 140,0, 139,9, 136,6, 133,9, 129,6, 128,6, 128,1, 127,5, 127,4, 127,4, 127,2, 118,4, 118,3, 115,8, 115,7, 115,5, 115,4, 115,3, 73,3, 70,1, 61,1, 60,3, 36,5, 25,0; HRMS (ESI) m/z obl. dla $C_{31}H_{27}F_2NO_3Na$ $[M+Na]^+$; 522,1851 znaleziono 522,1870; IR (KBr) ν : 3441, 1743, 1609, 1510. HPLC: Chiralpak® AD-H heksan:i-PrOH 70:30 0,8 ml/min UV=233 nm: racemat alkoholu :30,6 min, 39,4 min, Alkohol (*R*): 29,8 min.



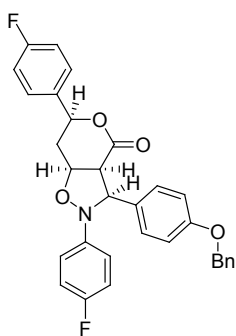
(3*R*,6*S*)-3-(*S*)-(4-benzyloksyfenylo)-(4-fluorofenylo)-

aminometylo-6-(4-fluorofenylo)-tetrahydro-2*H*-piran-2-on (61). Do roztworu laktonu **60** (100 mg, 0,2 mmol) w 5 ml THF dodano wodorotlenek litu (6 mg, 0,22 mmol) oraz 0,5 ml wody. Po 18 godzinach odparowano rozpuszczalnik i dodano 3 ml 5% roztwór kwasu solnego. Następnie mieszaninę zobojętniono roztworem wodorowęglanu sodu i ekstrahowano chlorkiem metylenu (3x 10 ml). Po wysuszeniu warstwy organicznej bezw. siarczanem sodu i usunięciu rozpuszczalnika pozostałość (80 mg żółtawego ciała stałego) rozpuszczono w 10 ml tetrahydrofuranu. Następnie dodano 50 mg (0,19 mmol) trifenylofosfiny. Po ochłodzeniu do 0°C dodano 40 μ L (0,19 mmol) di-*i*-propyloazodikarbosylanu. Po 3h usunięto rozpuszczalnik a do pozostałości dodano wodę i ekstrahowano chlorkiem metylenu (3x 15 ml). Po osuszeniu warstwy organicznej ($MgSO_4$) i usunięciu rozpuszczalnika pozostałość poddano chromatografii (heksan/octan etylu 7:3) Otrzymano 94 mg (0,18 mmol, wyd. 90%) produktu w postaci bezbarwnego ciała stałego. T. top. 52-54 °C; $[\alpha]_D -8,6$ (c 1,3, $CHCl_3$); 1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ : 7,41-7,28 (8H, m), 7,19-6,68 (6H, m), 6,55-6,52 (2H, m), 5,31 (1H, dd, J 10,0, 3,6 Hz), 5,02 (2H, s), 4,66 (1H, d, J 6,5 Hz), 3,10-3,06 (1H, m), 2,10-2,03 (1H, m), 1,99-1,90 (1H, m), 1,89-1,78 (2H, m); ^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ : 172,8, 163,3, 161,7, 158,3, 157,0, 156,3, 155,5, 143,2, 136,8, 134,7, 134,6, 132,6, 128,6, 128,5, 128,0, 127,6, 127,5, 127,5, 115,7, 115,6, 115,5, 115,4, 115,4, 114,9, 79,5, 70,1, 58,8,

45,1, 29,3, 20,8; HRMS (EI) m/z obl. dla $C_{31}H_{25}F_2NO_3$ [M+] 499,1959 znaleziono 499,1934; IR (film) v: 3384, 1609, 1510. HPLC: Chiralpak® AD-H heksan:i-PrOH 50:50 0,4 ml/min UV=233 nm: epimery 51,7 min 49,4 min, Związek 39,4 min (99,5%).

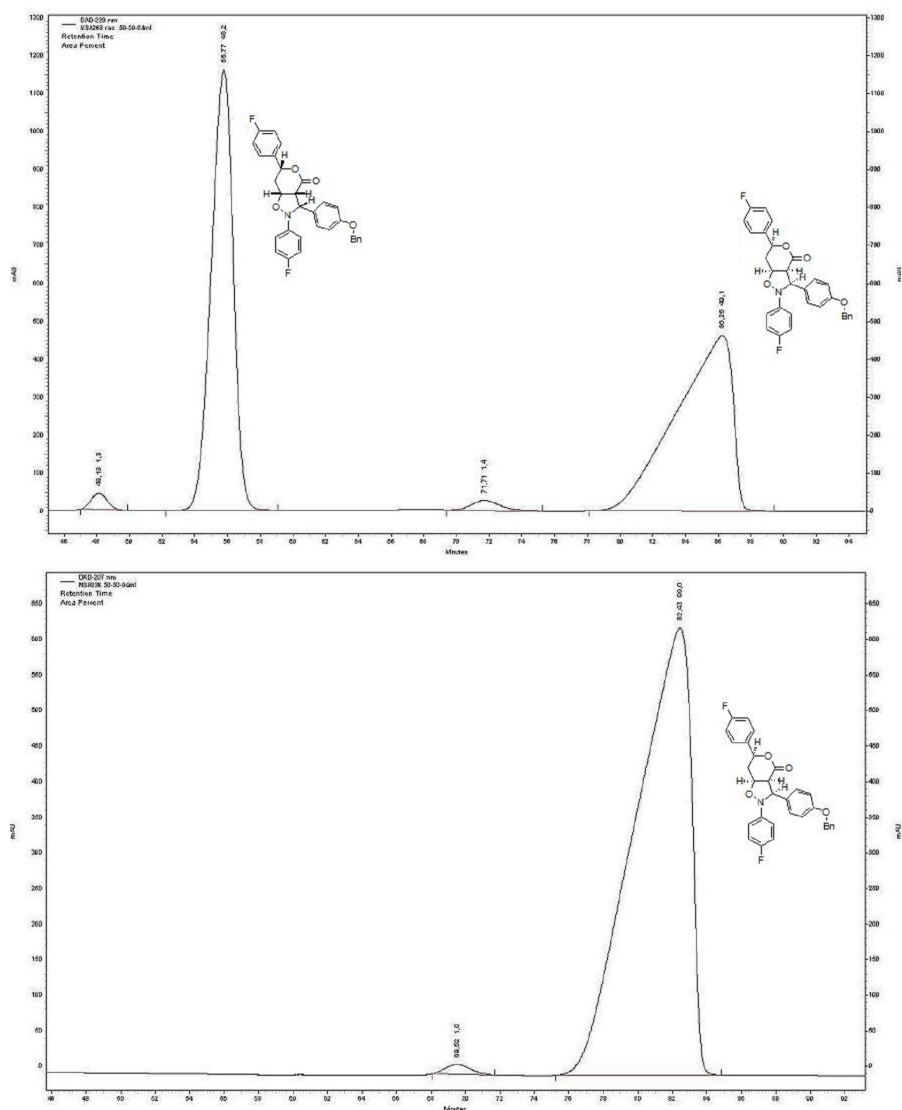


Chromatogram HPLC mieszaniny epimerów 60 i 61 oraz związku 61

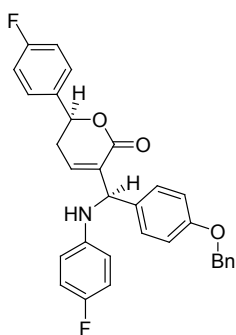


(3*S*,3*aS*,6*S*,7*aS*)-3-(4-benzoyloxyfenylo)-2,6-bis(4-fluorofenylo)-heksahydro-4*H*-pirano[3,4-*d*][1,2]oksazol-4-on (59). Do roztworu izoksazolidyny 58 (150 mg, 0,29 mmol) w 5 ml THF dodano wodorotlenek litu (7 mg,

0,30 mmol) oraz 0,5 ml wody. Po 18 godzinach odparowano rozpuszczalnik i dodano 3 ml 5% roztworu kwasu solnego a następnie zobojętniono roztworem NaHCO_3 i ekstrahowano chlorkiem metylenu (3x 10 ml). Połączone roztwory organiczne wysuszono (Na_2SO_4). Po usunięciu rozpuszczalnika otrzymano 114 mg lekko żółtego osadu, który rozpuszczono w 10 ml tetrahydrofuranu, dodano 56 mg (0,21 mmol) trifenylofosfiny i ochłodzono do 0 °C. Następnie dodano 45 μL (0,21 mmol) diizopropylaozadikarboksylanu di-i-propylu. Po 3h rozpuszczalnik usunięto, a do pozostałości dodano wodę i trzykrotnie ekstrahowano DCM. Po wysuszeniu (MgSO_4) warstwę organiczną zatężono, a pozostałość poddano chromatografii na żelu krzemionkowym (heksan/ AcOEt 7:3). Otrzymano 94 mg (0,18 mmol, 62%) izoksazolidyny numer w postaci bezbarwnego osadu. $[\alpha]_D -111,1$ (c 1,84, CHCl_3) ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3), δ : 7,54-7,31 (7H, m), 7,08-6,95 (10H, m), 5,23 (1H, d, J 8,2 Hz), 5,09 (2H, dd, J 12,6, 2,1 Hz), 5,06 (2H, s), 4,99-4,90 (1H, m), 3,80 (1H, dt, J 9,6, 8,4 Hz), 2,37 (1H, ddd, J 13,9 6,2, 2,1 Hz,) 1,97-1,90 (1H, m) ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3), δ : 168,4, 163,6, 161,9, 159,9, 158,5, 158,3, 146,3, 146,3, 136,8, 133,9, 133,8, 129,5, 128,9, 128,6, 128,0, 127,9, 127, 5, 116,9, 116,8, 115,9, 115,7, 115,6, 115,6, 114,7, 77,5, 73,2, 71,5, 70,0, 50,5, 35,7. HRMS (ESI) m/z obl. dla $\text{C}_{31}\text{H}_{25}\text{F}_2\text{NO}_4\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 536,1644; znaleziono 536,1631 Analiza Elementarna: obl.(%): C 71,93, H 5,28, F 7,37, N 2,72 znaleziono (%): C 72,01, H 5,00, F 7,36, N 2,63. IR (KBr) ν : 3319, 1727, 1504, 1231. HPLC: Chiralpak® AD-H heksan:i-PrOH 50:50 0,4 ml/min UV=207 nm: racemat 71,8 min, 82,4 min związek 82,4 min (99,0%). HPLC :Chiralpak® AD-H eluent 50% heksan 50% i-PrOH 0,4 ml/min: racemat : 55,7 min (48,2%), 86,2 min (49,1%). Związek 82,4 min.

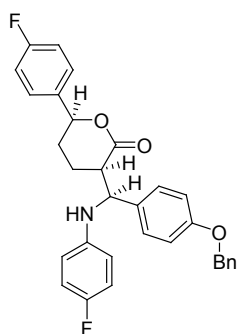


Chromatogram HPLC mieszaniny epimerów **58** i **59** oraz związku **59**



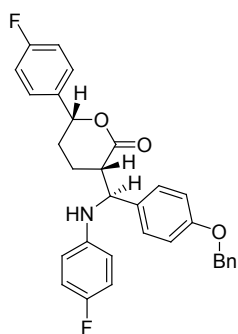
(6S)-3-(R)-(4-benzyloksyfenylo)-(4-fluorofenylo)-aminometylo-6-(4-fluorofenylo)-5,6-dihydro-2H-piran-2-on (86). Do roztworu 420 mg (0,82 mmol) laktonu **88** w suchym toluenie (10 ml) dodano 214 mg (0,90 mmol) odczynnika Burgessa i podgrzewano do 90°C przez 18 godzin. Następnie ochłodzono do temperatury pokojowej i dodano 10 ml wody. Ekstrahowano octanem etylu (2x20 ml), a następnie wysuszono warstwę organiczną nad bezw. MgSO₄. Po usunięciu większości

rozpuszczalnika przesączono przez żel krzemionkowy stosując jako mieszaninę wmywającą eter dietylowy. Otrzymano 309 mg (0,62 mmol) bezbarwnego osadu. T. top. 61 °C; $[\alpha]_D^{20}$ 40,8 (c 0,49, CHCl₃); ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ: 7,44-7,27 (11H, m), 7,05-6,84 (7H, m), 6,55-6,50 (2H, m), 5,44-5,38 (1H, m), 5,30 (1H, s), 5,04 (2H, s), 2,70-2,67 (2H, m); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ: 163,9, 163,5, 161,8, 158,4, 156,9, 155,4, 142,8, 139,6, 136,9, 134,2, 134,1, 133,4, 132,4, 132,4, 128,8, 128,6, 128,4, 128,0, 127,9, 129,8, 127,5, 115,8, 115,7, 115,6, 115,5, 115,2, 115,0, 114,7, 114,6, 78,1, 70,1, 58,4, 31,5, 26,9; HRMS (EI) m/z obl. dla C₃₁H₂₅F₂NO₃ [M⁺] 497,1803 znaleziono 497,1824; IR (film) ν: 3383, 1714, 1608, 1509.



(3*R*,6*S*)-3-(*S*)-(4-benzyloksyfenylo)-(4-fluorofenylo)-

aminometylo-6-(4-fluorofenylo)-tetrahydro-2*H*-piran-2-on (61). Związek **86** (4,800 g, 9,65 mmol) rozpuszczono w toluenie (100 ml) i dodano 109 mg PtO₂. Mieszaninę nasycano wodorem przez 24 h. Po przesączeniu przez Celit® i usunięciu rozpuszczalnika otrzymano 4,289 g (8,60 mmol, wyd. 89%) bezbarwnego osadu, którego analizy były identyczne z wcześniej opisanymi.

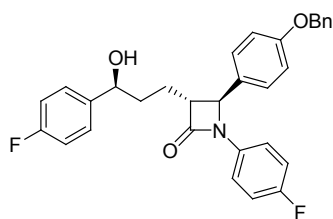


(3*S*,6*R*)-3-(*S*)-(4-benzyloksyfenylo)-(4-fluoro-

fenylo)aminometylo-6-(4-fluorofenylo)-tetrahydro-2*H*-piran-2-on (92).

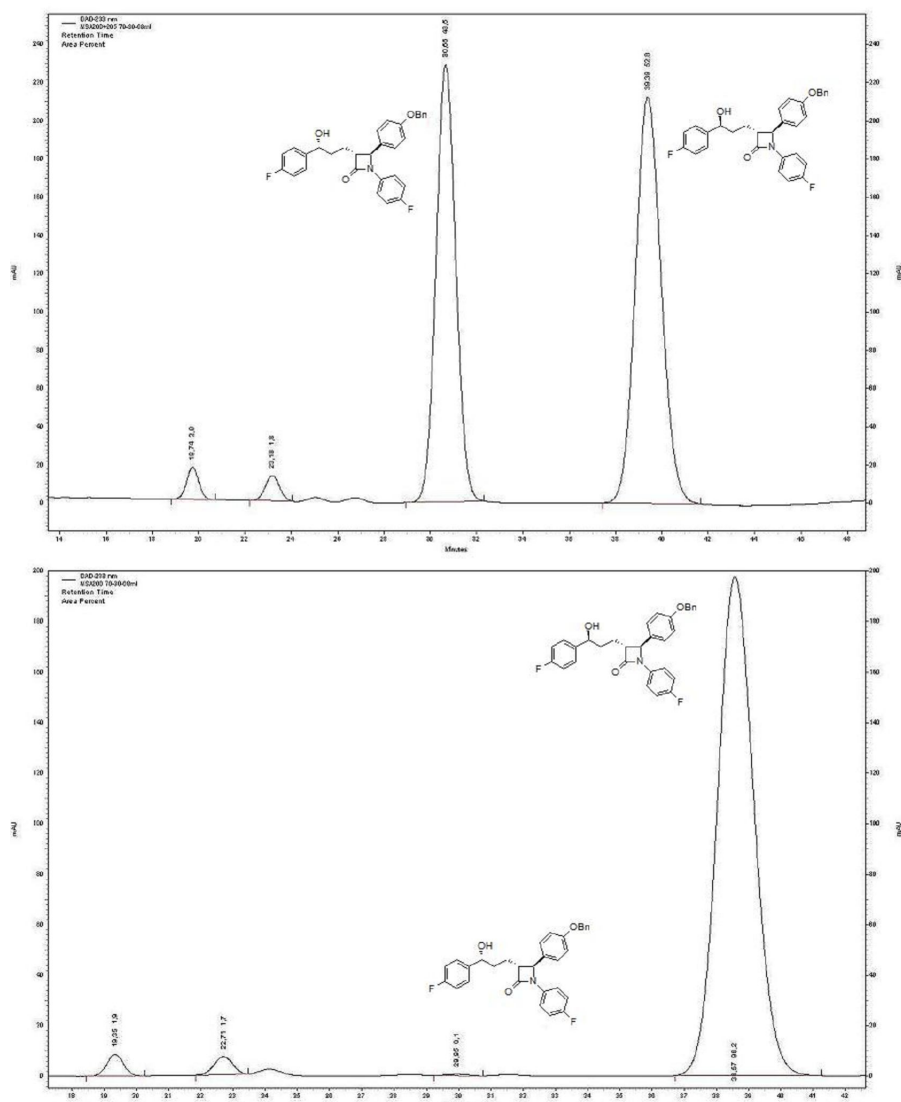
Procedura identyczna jak wyżej opisana. Do reakcji użyłem 100 mg związku **(81)**, a otrzymano 79 mg związku **92**. T. top. 65 °C; $[\alpha]_D^{20}$ -15,7 (c 0,75, CHCl₃); ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) 7,41-7,28 (8H, m), 7,19-6,65 (6H, m), 6,65 (2H, bs), 5,39 (1H, dd, *J* 7,3,

4,4 Hz), 5,02 (2H, s), 4,61 (1H, d, J 3,7 Hz), 3,40 (1H, bs), 2,13-2,08 (1H, m), 1,99-1,90 (1H, m), 1,81-1,70 (3H, m); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 172,8, 158,7, 136,7, 134,7, 129,4, 128,6, 128,1, 127,5, 127,3, 127,2, 115,8, 115,6, 115,5, 115,3, 115,0, 79,7, 70,1, 44,5, 30,9, 29,6, 19,8; HRMS (EI) m/z obl. dla $\text{C}_{31}\text{H}_{25}\text{F}_2\text{NO}_3$ $[\text{M}^+]$ 499,1959 znaleziono 499,1938; IR (film) ν : 3384, 1609, 1510.

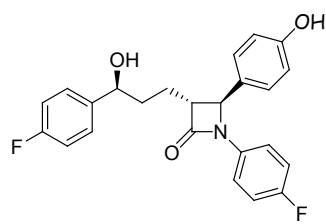


(3*R*,4*S*)-4-(4-benzyloksyfenylo)-1-(4-fluorofenylo)-3-[(3*S*)-3-(4-fluorofenylo)-3-hydroksypropylo]-azetydyn-2-on (27). Do

ochłodzonego do 0°C laktonu **61** (68 mg, 0,13 mmol) w 8 ml suchego eteru dietylowego dodano 100 μL (0,3 mmol) 2M roztworu chlorku tert-butylomagnezowego w eterze dietylowym. Po 2 godzinach dodano 3 ml nasycanego wodnego roztworu chlorku amonu. Mieszaninę reakcyjną ekstrahowano eterem dietylowym (10 ml). Warstwę organiczną osuszono bezw. MgSO_4 a następnie usunięto rozpuszczalnik. Pozostałość poddano chromatografii na żelu krzemionkowym (heksan/octan etylu 7:3). Otrzymano 60 mg (0,12 mmol, wyd. 92%) 2-azetydynonu w postaci bezbarwnego ciała stałego. T. top. 130-133 °C; $[\alpha]_D$ -42,2 (c 1,2, CHCl_3); ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 7,42-7,20 (11H, m), 7,02-6,90 (6H, m), 5,04 (2H, s), 4,72-4,68 (1H, m) 4,55 (1H, d J 2,2 Hz), 4,55 (1H, dt J 7,1, 2,2 Hz) 2,05-1,93 (3H, m) 1,89-1,823 (2H, m); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 167,6, 163,0, 161,4, 159,8, 159,0, 158,1, 140,0, 139,9, 136,6, 133,9, 129,6, 128,6, 128,1, 127,5, 127,4, 127,4, 127,2, 118,4, 118,3, 115,8, 115,7, 115,5, 115,4, 115,3, 73,3, 70,1, 61,1, 60,3, 36,5, 25,0; HRMS (EI) m/z obl. dla $\text{C}_{31}\text{H}_{27}\text{F}_2\text{NO}_3$ $[\text{M}^+]$; 499,1959; znaleziono 499,1935; IR (KBr) ν : 3441, 1744, 1608, 1510. HPLC: Chiralpak® AD-H heksan:i-PrOH 70:30 0,8 ml/min UV=233 nm: racemat alkoholu :30,6 min, 39,4 min, Alkohol (*R*): 29,8 min. racemat :30,6 min, 39,4 min. Związek 38,6 min

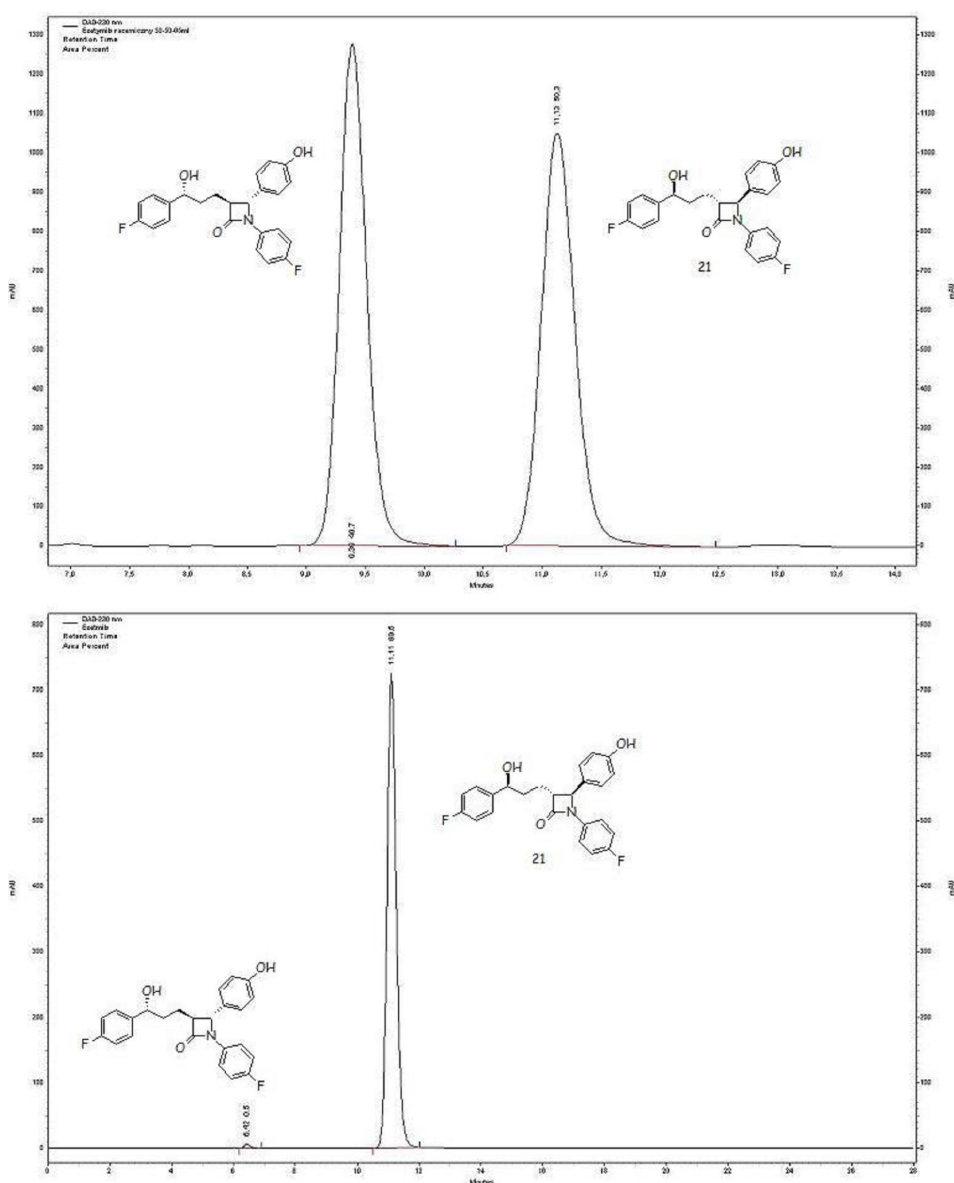


Chromatogram HPLC mieszaniny epimerów 62 i 27 oraz związku 27

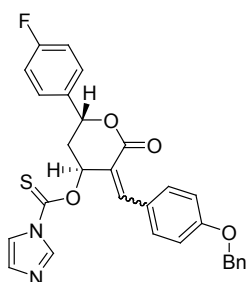


(3R,4S,3'S)-1-(p-fluorofenilo)-3-[3'-(p-fluorofenilo)-3'-hydroksy-propylo]-4-(p-hydroksyfenilo)-azetydyn-2-on (21) Benzyłowaną pochodną ezetymibu (27) (758 mg, 1,52 mmol) rozpuszczono w mieszaninie AcOEt/MeOH (1:1, 100 ml) i dodano 10 mg 10% Pd/C. Mieszaninę nasycano wodorem przez 18 h. Po przesączeniu przez Celit® i usunięciu rozpuszczalnika pozostałość przekryształowano z mieszaniny AcOEt/heksan uzyskując ezetymib (2) (450 mg, 72%) w postaci białego osadu. T. top 164-166 °C; [α]_D -28,1 (c 0,15, MeOH); ¹H NMR

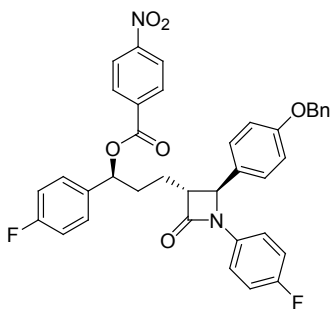
(600 MHz, DMSO-d₆) δ: 9,49 (1H, s), 7,28-7,24 (2H, m), 7,19-7,16 (4H, m), 7,11-7,07 (4H, m), 6,75-6,71 (2H, m), 5,25 (1H, d, *J* 4,3 Hz), 4,77 (1H, d, *J* 2,2 Hz), 4,49-4,59 (1H, m), 3,07-3,04 (1H, m), 1,84-1,66 (4H, m); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ: 167,8, 162,3, 160,7, 159,3, 157,9, 157,7, 142,5, 134,4, 128,7, 128,3, 128,0, 127,9, 118,7, 118,6, 116,3, 116,2, 115,2, 115,0, 71,5, 60,0, 59,9, 36,8, 24,9; HRMS (EI) *m/z* obl. dla C₂₄H₂₁F₂NO₃ [M+Na]⁺ 409,1489 znalezione 409,1478; Analiza Elementarna: obl.(%): C 70,41, H 5,17, F 9,28, N 3,42 znalezione (%): C 70,46, H 5,23, F 9,24, N 3,34; HPLC: Chiralpak® AD-H heksan:i-PrOH 50:50 0,4 ml/min UV=230 nm: racemat :9,4 min, 11,1 min. Ezetymib 11,1 min.



Chromatogram HPLC racematu zwiuku 21 oraz związku 21



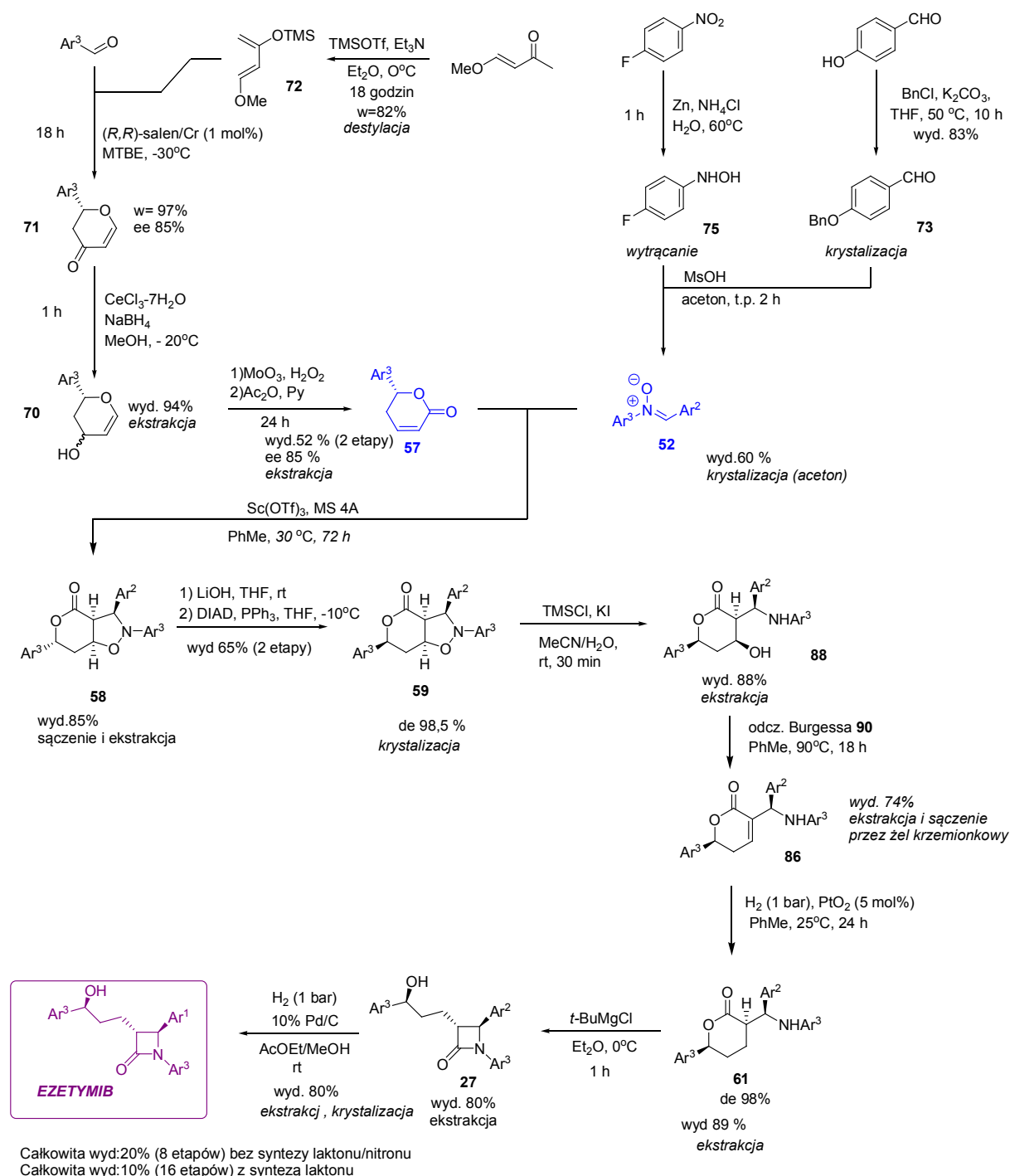
***O*-[(3*Z*,4*S*,6*R*)-3-(4-benzyloksybenzylideno)-6-(4-fluorofenyl)- tetrahydro-2*H*-piran-2-on-4-yl] 1*H*-imidazol-1-karbotiol (80):** Do ochłodzonego do 0°C roztworu 0,51 g (1 mmol) związku **78** w 10 ml DCM dodano tiokarbonyldiimidazolu, następnie mieszaninę reakcyjną ogrzano do temperatury pokojowej. Po 24 godzinach odparowano rozpuszczalnik i ekstrahowano 10 ml wody oraz 10 ml octanu etylu. Warstwę organiczną wysuszono $MgSO_4$ i odparowano rozpuszczalnik. Pozostałość poddano chromatografii na żelu krzemionkowym (heksan/octan etylu 8:2). Otrzymano 0,23 g żółtego osadu. 1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ : 8,09 (0,4H, s) 8,08(0,6H, s), 7,70-7,65 (2H, m), 7,45-7,30 (8H, m), 7,08-7,00 (6H,m), 5,83 (1H, d *J*), 5,11 (2H, s), 5,04 (1H, m), 2,15-2,13 (1H, m); 2,07-2,11 (1H, m); ^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ : 166,1, 164,6, 161,7, 160,8, 147,5, 147,4, 136,2, 135,1, 132,9, 128,7, 128,3, 128,0, 127,9, 127,8, 127,7, 127,5, 126,4, 123,2, 116,6, 116,5, 115,6, 115,5, 115,4, 75,1, 75,0, 70,1, 62,9, 39,1; ^{19}F NMR (470 MHz, $CDCl_3$) δ : -113,5; IR (KBr) ν : 3456, 1693, 1598, 1509, 1172.



(1*S*)-3-[(2*S*,3*R*)-2-[4-(benzyloksy)fenylo]-1-(4-fluorofenyl)-4-oksoazetydyn-3-yl]-1-(4-fluorofenyl)propylo 4-nitrobenzoesan (85). Do ochłodzonego do 0°C roztworu związku **62** (100 mg, 0,2 mmol) w 10 ml THF oraz 37 mg (0,22 mmol) kwasu p-nitrobenzoesowego dodano 58 mg (0,22 mmol) trifenylofosfiny. Następnie dodano 40 μL (0,22 mmol) diizopropylaozadikarboksylanu

di-i-propylu. Po 3h rozpuszczalnik usunięto, a do pozostałości rozpuszczono w toluenie i poddano chromatografii na żelu krzemionkowym (heksan/AcOEt 8:2). Otrzymano 101 mg (0,15 mmol, 78%) produktu w postaci bezbarwnego osadu $[\alpha]_D^{25} 8,6$ (c 0,49, CHCl_3) ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 8,29-8,17 (4H, m) 7,43-7,31 (7H, m), 7,23-7,19 (4H, m), 7,05-7,01 (2H, m), 6,98-6,88 (4H, m), 5,96 (1H, t J 6,9 Hz), 5,04 (2H, s), 4,54 (1H, d J 2,3 Hz), 3,10 (1H, dt, J 7,7, 2,3 Hz), 2,25-2,19 (2H, m); 1,98-1,86 (2H, m); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 166,8, 163,6, 159,1, 150,6, 136,6, 135,3, 133, 7, 130,7, 129,4, 128,6, 128,4, 128,3, 128,1, 127,4, 127,1, 123,6, 126, 118,4, 118,3, 115,9, 115,8, 115,7, 115,7, 115,6 76,6, 70,1, 60,9, 59,9, 33,5, 24,9; ^{19}F NMR (470 MHz, CDCl_3) δ : -112,9, -117,9; IR (KBr) ν : 3456, 1693, 1598, 1509, 1172. HRMS (ESI) m/z obl. dla $\text{C}_{38}\text{H}_{30}\text{F}_2\text{N}_2\text{O}_6\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 671,1964 znaleziono 671,1976; IR (film) ν : 1747, 1725, 1608, 1528, 1509, 1270;

Synteza 1 g Ezetymibu według metody nr 3



Metoda nr 3 syntezy ezetymibu

Do roztworu 1,36 g [(R,R)-salenu-Cr]BF₄ w 50 ml suchego MTBE dodano 60 g sit 4Å i schłodzono do -30 °C. Następnie dodano 4-fluorobenzaldehyd (18,58 g, 200 mmol) i powoli wkroplono dien (37,84 g, 220 mmol). Po 24 h dodano roztwór kwasu trifluorooctowego (10 ml) w 250 ml chlorku metylenu. Mieszaninę ogrzano do

temperatury pokojowej i odsączono sita. Po dodaniu 10 ml wody z 10 ml kwasu trifluorooctowego mieszano przez 5 godzin, a następnie dodano 50 ml wody i rozdzielono fazy. Następnie ekstrahowano 5% wodnym roztworem NaHCO_3 (100 ml). Warstwę organiczną wysuszono (MgSO_4) i usunięto rozpuszczalnik. Uzyskując (2R)-2-(4-fluorofenylo)-2H-piran-4(3H)-on **71** w postaci lekko żółtego oleju (39,91 g 19,4 mmol, 97%).

Do roztworu 80,74 g związku **71** (216,7 mmol) $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ w 700 ml metanolu dodano 38 g (2R)-2-(4-fluorofenylo)-2H-piran-4(3H)-on (197,9 mmol) w 700 ml DCM i schłodzono do -20°C i dodano porcjami NaBH_4 (8,29 mg, 216,7 mmol). Po 30 min. Dodano 150 ml nasyconego roztworu NH_4Cl , ogrzano do temperatury pokojowej i ekstrahowano DCM (300 ml). Uzyskany surowy (2R)-2-(4-fluorofenylo)-3,4-dihydro-2H-piran-4-ol **70** po wysuszeniu (MgSO_4) i usunięciu rozpuszczalnika, bez dalszego oczyszczania użyto w kolejnym etapie.

Do zawiesiny 37,8 (2R)-2-(4-fluorofenylo)-3,4-dihydro-2H-piran-4-olu **70** (195 mmol) w 400 ml 30% H_2O_2 , dodano 5,57 g (39 mmola) MoO_3 i 400 ml acetonitylu. Po 12 godzinach mieszaninę reakcyjną rozcieńczono wodą (600 ml), a następnie ekstrahowano dichlorometanem (3 x 500 ml). Połączone ekstrakty przemywano wodą (5 x 200 ml), a warstwa wodna nie wykazywała obecności H_2O_2 (próba z KI). Suszono nad bezwodnym Na_2SO_4 . Po usunięciu środka suszącego, do roztworu wodoronadtlenku w dichlorometanie wkroplono pirydynę (70 ml) i bezwodnik octowy (73 ml). Po 2 godzinach w temperaturze pokojowej mieszaninę reakcyjną wylano na wodę z lodem i rozdzielono fazy. Fazy organiczne przemyto roztworem Na_2SO_3 (około 15 g), następnie 5% roztworem kwasu solnego (200 ml) oraz 5% roztworem NaHCO_3 (200 ml) oraz wodą (2 x 150 ml) do odczynu obojętnego, a następnie nasyconym roztworem NaCl (250 ml) po czym wysuszono nad Na_2SO_4 . Po usunięciu rozpuszczalnika otrzymano 19,46 g (52%) (6R)-6-(4-fluorofenylo)-5,6-dihydro-2H-piran-2-onu **57** w postaci lekko brązowego ciała stałego.

Tryflan skandiu 3,48 mg (7 mmoli) i 28 g sit molekularnych 4Å mieszano przez 30 minut w temperaturze pokojowej w 300 ml toluenu, następnie dodano 13,6 g (70,8 mmola) (6R)-6-(4-fluorofenilo)-5,6-dihydro-2H-piran-2-onu (**57**) oraz 34,2 g (106,25 mmol) N-(4-fluorofenilo)- α -(4-benzylloksyfenilo)nitronu **52**. Mieszaninę reakcyjną podgrzano do 30 °C. Po 72 h odsączono sita i ekstrahowano z 250 ml wody. Odparowano toluen otrzymując surowy produkt (izoksazolina **58**), który użyto do następnej reakcji bez dalszego oczyszczania.

Surowy izoksazolinę **58** z wcześniejszej reakcji rozpuszczono w 200 ml THF oraz dodano wodorotlenek litu (2,94g, 0,7 mmol) oraz 10 ml wody. Po 18 godzinach odparowano rozpuszczalnik i dodano 30 ml 5% roztwór kwasu solnego a następnie zobojętniono roztworem NaHCO₃. Ekstrahowano octanem etylu (3 x 150 ml). Połączone roztwory organiczne wysuszono (Na₂SO₄). Po usunięciu octanu etylu rozpuszczono w 300 ml tetrahydrofuranu, dodano 18,34 (70 mmol) trifenylofosfiny i ochłodzono do -10 °C. Następnie dodano powoli 14,15 g (70 mmol) diizopropylaozadikarboksylationu di-i-propylu. Po 3h dodano 500 ml wilgotnego i-PrOH i odparowano THF w temperaturze 55 °C na wyparce (ciśnienie do 550 mmBar). Pozostawiono roztwór na 16 godzin w temperaturze pokojowej. Następnie osad odsączono przemywając chłodnym (10°C) i-PrOH (około 100 ml). Następnie produkt wysuszono otrzymując 19,39 g (37,8 mmol, 62%) izoksazolidyny **59** w postaci beżowego osadu.

Do mieszaniny 13,0 g (25,3 mmol) izoksazolidyny **59** i 12,6 g jodku potasu (75,9 mmol) w 200 ml acetonitrylu w temperaturze pokojowej dodano chlorek trimetylosililowy 10,9 ml (759 mmol) oraz 1 ml wody. Po 35 minutach do mieszaniny reakcyjnej dodano 50 ml nasyconego wodnego roztworu Na₂SO₃, a następnie produkt ekstrahowano octanem etylu. Po wysuszeniu uzyskanych ekstraktów organicznych (MgSO₄) rozpuszczalnik usunięto pod zmniejszonym ciśnieniem. Otrzymano 11,46 g (22,2 mmol, wyd. 88%) aminolaktanu **91** w postaci jasno żółtego osadu.

Do roztworu 11,46 g (22,2 mmol) alkoholu **91** w suchym toluenie (100 ml) dodano 5,81 g (24,4 mmol) odczynnika Burgessa **92** i podgrzewano do 90°C przez 18 godzin. Następnie ochłodzono do temperatury pokojowej i dodano 100 ml wody. Ekstrahowano octanem etylu (2x200 ml) a następnie wysuszono warstwę organiczną nad bezw. MgSO₄. Po usunięciu większości rozpuszczalnika przesączono przez żel krzemionkowy stosując jako mieszaninę wymywającą eter dietylowy. Otrzymano 8,16 g (16,4 mmol, wyd.) **89** w postaci beżowego osadu.

Związek **89** (4,80 g, 9,65 mmol) rozpuszczono w toluenie (100 ml) i dodano 109 mg PtO₂. Mieszaninę nasycano wodorem przez 24 h. Po przesączeniu przez Celit® i usunięciu rozpuszczalnika otrzymano 4,29 g. (8,60 mmol, wyd. 89%) **61** w postaci bezbarwnego ciała stałego.

Do ochłodzonego do 0°C 2 g (4 mmol) laktonu **61** w 160 ml suchego eteru dietylowego dodano powoli 12 ml (12 mmol) 1M roztworu chlorku tert-butylo-magnezowego w eterze dietylowym. Po 2 godzinach dodano 30 ml nasyconego wodnego roztworu chlorku amonu. Mieszaninę reakcyjną ekstrahowano eterem dietylowym (160 ml). Warstwę organiczną przemyto 50 ml nasyconego roztworu NaHCO₃ i osuszono bezw. MgSO₄ a następnie usunięto rozpuszczalnik. Uzyskano związek **27** (1,64 g) w postaci lekko żółtego ciała stałego o konsystencji przypominającej pianę. Produkt użyto do następnej reakcji bez dalszego oczyszczania.

Związek **27** (1,64 g, 3,3 mmol) rozpuszczono w mieszaninie AcOEt/MeOH (1:1, 100 ml) i dodano 20 mg 10% Pd/C. Mieszaninę nasycano wodorem przez 18 h. Po przesączeniu przez Celit® i żel krzemionkowy usunięto rozpuszczalnik. Surowy ezetymib krystalizowano z mieszaniny MTBE/heksan a następnie z mieszaniny metanol/woda uzyskując po wysuszeniu 1,079 g (80%) ezetymib (**2**) w postaci białego osadu.

B. Org. 339/13



Biblioteka Instytutu Chemii Organicznej PAN

O-B.339/13



90000000185403