

**Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta
Katedra organické chemie**

**Charles University in Prague, Faculty of Science
Department of Organic Chemistry**

Doktorský studijní program: Organická chemie
Ph.D. study program: Organic Chemistry

Autoreferát disertační práce
Summary of the Ph.D. Thesis



Nová metodologie termální a oxidativní radikálové cyklizace a její aplikace v totální syntéze
přemostěných diketopiperazinových alkaloidů
New Thermal and Oxidative Radical Cyclization Methodology and Application to the Total
Synthesis of Bridged Diketopiperazine Alkaloids

Tynchtyk Amatov

Školitel/Supervisor: Dr. habil. Ullrich Jahn

Praha, 2016

Abstract

This thesis describes the development of new thermal and oxidative radical cyclization methodologies and their application to the total syntheses of alkaloids, particularly to bridged diketopiperazine (DKP) alkaloids.

A practical solvent free approach to diverse DKPs and quinazolines is described. The methodology proceeds by thermal silica gel mediated deprotection of the Boc protecting group and intramolecular condensation of the resulting free dipeptides and tripeptides. It was applied to the total syntheses of alkaloids gyantrypine and ardeemin.

A major part of the thesis concerns with the discovery and applications of novel diketopiperazine derived alkoxyamines. Their propensity to undergo facile thermal C–O bond homolysis to generate captodative DKP radicals and persistent TEMPO radical allowed using them as radical surrogates. The methodology takes advantage of the persistent radical effect (PRE).

The methodology based on PRE was applied in an asymmetric approach to the alkaloid asperparaline C. An asymmetric synthesis of a very advanced precursor to asperparaline C, 8-oxoasperparaline C, was accomplished in 11 steps and 15% overall yield. The key steps of the synthesis include a direct oxidative cyclization of DKPs, regioselective furan dearomatization with singlet oxygen and a reductive radical spirocyclization. The PRE-based methodology was also applied as a conceptually new approach to diverse bridged DKPs. DKPs with widely variable ring sizes were efficiently synthesized. A formal synthesis of antibiotic bicyclomycin was achieved using this methodology. The DKP derived alkoxyamines display some unusual features. An unusual *trans/cis* isomerization at the anomeric center was discovered and its kinetics were determined by ¹H NMR spectroscopy. The kinetics of the PRE mediated radical cyclizations were also investigated by ¹H NMR spectroscopy. These studies provided deep insight into the mechanisms operating in these PRE mediated transformations.

Souhrn

Tématem disertační práce je vývoj nové metodologie termální a oxidativní radikálové cyklizace a její aplikace v totální syntéze alkaloidů, konkrétně přemostěných diketopiperazinových (DKP) alkaloidů.

Popisuje praktickou a rozpouštědel nevyužívající syntézu různých DKP a quinazolinů. Syntéza je založena na termální deprotekcí Boc-skupiny za pomoci silikagelu a následné intramolekulární kondenzaci vzniklých volných dipeptidů a tripeptidů. Metodologie byla uplatněna v syntéze alkaloidů gyantrypinu a adreeminu.

Hlavní část disertace je věnována objevu a aplikaci nových, od DKP odvozených alkoxyaminů. Jejich sklon snadno podléhat homolýze C-O vazby, kterou vznikají kaptodativní DKP radikály a perzistentní TEMPO radikál, umožňuje jejich použití jakožto radikálových prekurzorů. V metodologii se uplatňuje výhoda tzv. perzistentního radikálového efektu (PRE).

Metodologie založená na PRE efektu byla použita v asymetrické syntéze alkaloidu asperparalinu C. Asymetrická syntéza pokročilého prekurzoru asperparalinu C, 8-oxoasperparalinu C, byla dokončena v 11 krocích s celkovým výtěžkem 15 %. Klíčové kroky syntézy zahrnují přímou oxidativní cyklizaci DKP, regioselektivní dearomatizaci furanu singletovým kyslíkem a reduktivní radikálovou spirocyklizaci. Metodologie založená na PRE efektu byla taktéž použita jako konceptuálně nová cesta, která vede k rozličným přemostěným DKP. DKP se širokým rozmezím velikosti kruhu byly efektivně připraveny. Použitím této metodologie byla dosažena formální syntéza antibiotika bicyclomycin.

Alkoxyaminy odvozené od DKP vykazují některé neobvyklé vlastnosti. Byla objevena netypická *trans/cis* izomerizace na anomerickém centru, jejíž kinetika byla stanovena ¹H NMR spektroskopii. Taktéž za pomoci ¹H NMR spektroskopie byla studována kinetika PRE efektem zprostředkované radikálové cyklizace. Tyto poznatky umožnily hluboký vhled do mechanismu PRE zprostředkovaných transformací.

1. Introduction

Bridged alkaloids, containing a central diazabicyclo[$n.2.2$]alkane ring system ($n \geq 2$), constitute an ever-growing class of secondary metabolites. They are derived from simple DKP scaffolds by enzymatic oxidative transformations by connecting positions 3 and 6 (Figure 1). Exceptional diversity is observed among these alkaloids because of different bridge *types* and *sizes* (Figure 1.1.). Members of the superfamily of prenylated indole alkaloids ($n = 2$) such as brevianamide A (**1.1**) are the most common bridged DKP alkaloids in Nature.¹ Metacyclophane type azonazine² (**1.2**) ($n = 6$) and mycocyclosin (**1.3**) ($n = 8$)³ are metabolites formed by oxidative coupling of aromatic side chains of the involved amino acids tyrosine and tryptophan and have longer bridges. The unusual antibiotic bicyclomycin⁴ (**1.4**) and cottoquinazoline D (**1.5**) are examples of rarely encountered bridged DKP alkaloids with heteroatom bridges. The latter has the DKP unit condensed with an anthranilic acid to form a quinazoline ring system.⁵ Epipolythiodioxopiperazines (ETP),⁶ such as gliotoxin (**1.6**), bear bridges consisting of only sulfur atoms.

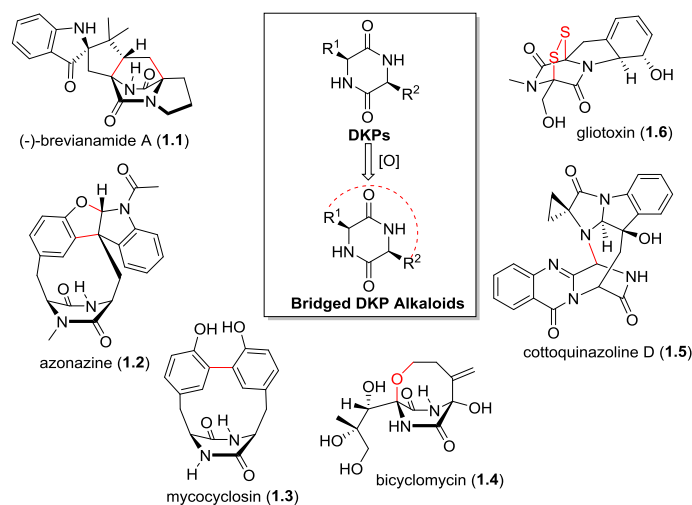


Figure 1.1. Diversity of bridged DKP alkaloids.

Brevianamide A is a prototypical representative of a prenylated indole alkaloids family, containing the diazabicyclo[2.2.2]octane core structure, consisting of more than 70 members having diverse structures (Figure 1.2). The structural diversity within the family results in a broad spectrum of bioactivities exhibited by these alkaloids such as insecticidal, cytotoxic, anthelmintic, and antibacterial properties. The dimeric stephacidin B shows strong antitumor activity. Its antiproliferative activity is believed to be associated with its monomeric form avrainvillamide whose unusual vinyl nitronium moiety can be attacked by thiol groups of biomolecules.⁷ The asperparalines show strong paralytic activities against insects and recent studies aimed at elucidating their mechanism of action showed that asperparaline A strongly and selectively blocks insect nicotinic acetylcholine receptor (nAChR).⁸

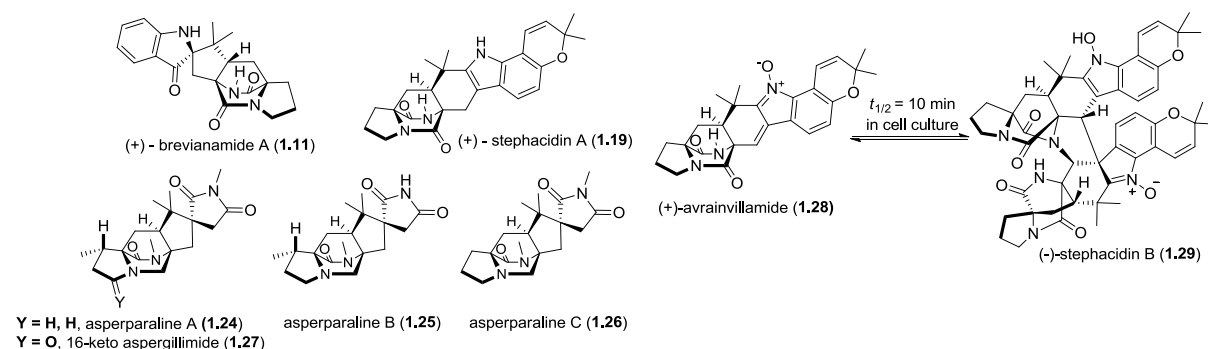


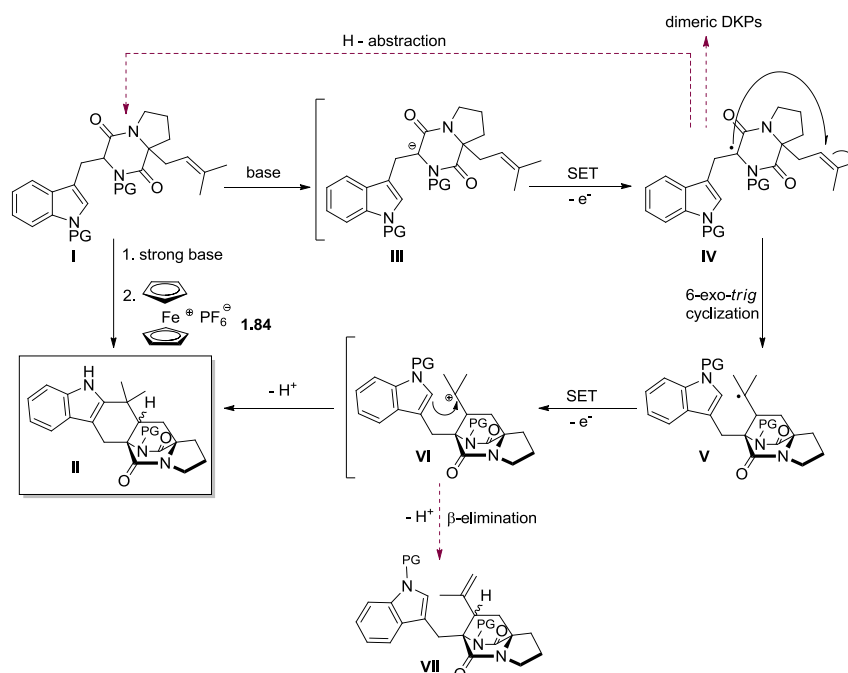
Figure 1.2. Representative alkaloids that contain the diazabicyclo[2.2.2]octane ring system.

Because of their useful biological properties associated with challenging structures this family of alkaloids attracted significant interest from synthetic chemists, especially in the last decade. A

plethora of methods and approaches employing various reactive intermediates and strategies is a testament to the importance of these natural products.⁹ Many of them were synthesized but the asperparaline subfamily, comprising asperparalines A, B, C and ketoaspergillimide (**1.24-1.27**), elude total synthesis efforts despite that they were isolated almost twenty years ago and considerable interest and efforts from leading laboratories.

Aims of the work: hypotheses and analysis of potential problems

In line with long-standing interests of the Jahn laboratory in the development of heterointermediate reaction sequences it was decided to test the possibility of a heterointermediate approach to these alkaloids (Scheme 2.1). Single electron transfer (SET) oxidation mediated by ferrocenium hexafluorophosphate (**1.84**) would enable a redox switch from the DKP enolate **III** to a DKP radical **IV**, which was expected to undergo 6-*exo-trig* cyclization to pendant alkene to generate the bridged ring system and tertiary radical **V**, which would further be oxidized to tertiary carbocation **VI** followed by nucleophilic attack of the indole ring in the final stage to give **II**.



Scheme 1.1. Heterointermediate reaction sequences toward prenylated indole alkaloids containing the diazabicyclo[2.2.2]octane core structure and some possible pitfalls (dashed arrows).

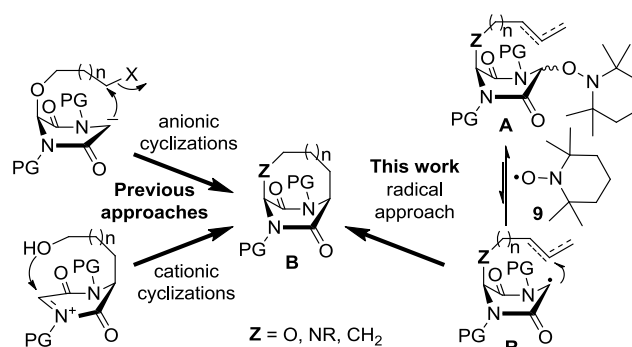
However, analysis of the proposed approach reveals some issues that can hamper the possibility of achieving the goal. Problems or difficulties might arise from the inherent reactivities of the involved intermediates or unfavorable energetics of some key transformations. For example, dimerization and H-atom abstraction are the main side reactions of radical species when the radical cyclization is too slow and β-elimination of carbocations can terminate the reaction sequence prematurely. While the energetics of 6-*exo-trig* radical cyclization is difficult to predict, it was hoped that, provided radical generation is possible the cyclization will take place readily. The low temperature conditions under which the radical has to be generated might be problematic if the radical cyclization is too slow.

Being aware of these challenges, the initial aims of this work were:

- 1) To develop efficient synthesis of advanced DKP intermediates and model compounds to study the projected oxidative cyclization of DKP enolates;
- 2) To study oxidative enolate chemistry of DKPs using the methodologies developed in the Jahn group;
- 3) If successful, to develop new approaches to bridged DKP alkaloids containing the bicyclo[2.2.2]diazaoctane core structure;
- 4) To apply the developed methodology in the synthesis of selected alkaloids;

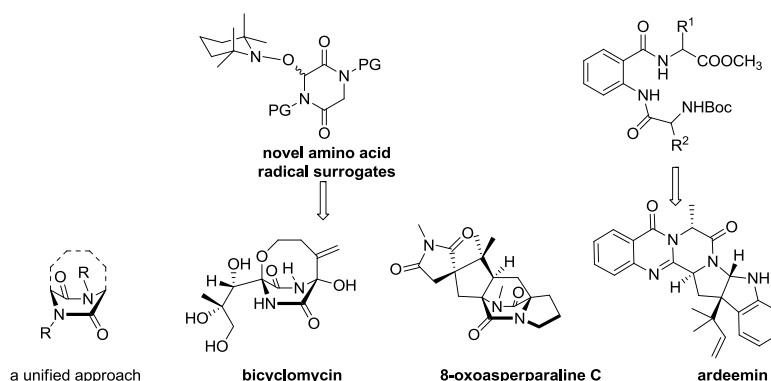
- 5) To study the possibility of extending the developed methodologies for the synthesis of non-natural highly three dimensional conformationally constrained bridged DKPs and bicyclomycin type architectures (bicyclo[*n*.2.2]piperazinediones, *n*>2).

In addition, the main aim of this study was to develop a unified, practical, general and conceptually new radical approach to diverse bridged DKPs. We hypothesized that application of the persistent radical effect (PRE) would be an attractive atom-economic solution to these shortcomings.^[13] This powerful principle governs the selective cross-coupling of different radical species one being transient and the other persistent, if they are generated at equal rates. A new class of DKP derived alkoxyamines were developed for this purpose. Central to the developed method is the facile and reversible thermal bond homolysis of hitherto unknown alkoxyamines **A** to generate captodatively stabilized transient DKP radicals **R** and the persistent radical TEMPO (Scheme 1).^[18] This degenerative process confers a sufficiently long lifetime for radical **R** to undergo irreversible endo or exo cyclizations to pendant alkene units depending on the tether length and substitution pattern, steering the equilibrium to the bridged DKP products.



Scheme 1.2. Known polar approaches to the bridged DKP core of **B** and a new radical approach based on the persistent radical effect (PRE)

An approach to asperparaline C was developed which allowed accessing advanced intermediates to asperparaline C and unnatural analogs. Diverse bridged DKPs with variable ring sizes were synthesized using this approach and a formal synthesis of bicyclomycin was also achieved. Additionally, during these studies, a short and practical approach to quinazoline alkaloids was developed which led to a four step total synthesis of a potent multidrug resistance inhibitor ardeemin:

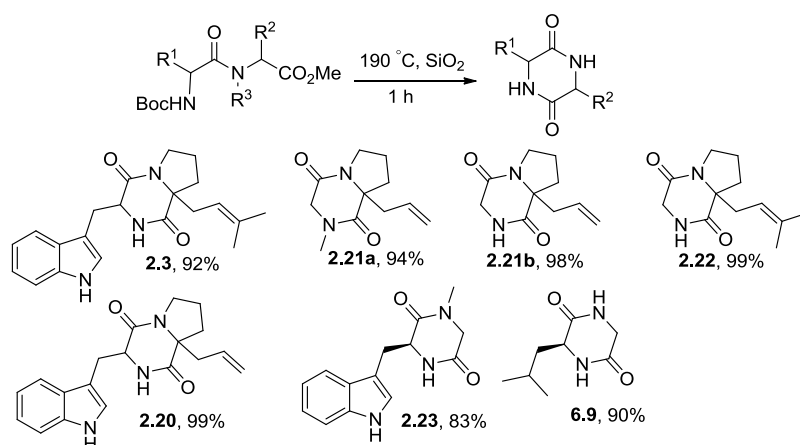


Results and Discussion

2. A practical approach to DKPs and quinazolinones and initial studies to achieve oxidative radical cyclizations

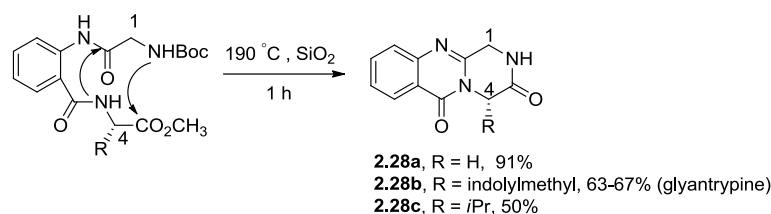
To initiate studies which were proposed in the aims of the work a practical and scalable approach to simple DKPs had to be developed. Unable to reproduce the reported approach by Baran a new solvent free silica gel mediated synthesis of DKPs were developed which consisted of heating the silica gel preadsorbed Boc-protected dipeptides at high temperature. Simple transfer of the solid

reaction mixture to short packed column and eluting the products gave various DKPs in high yields (Scheme 2.1).



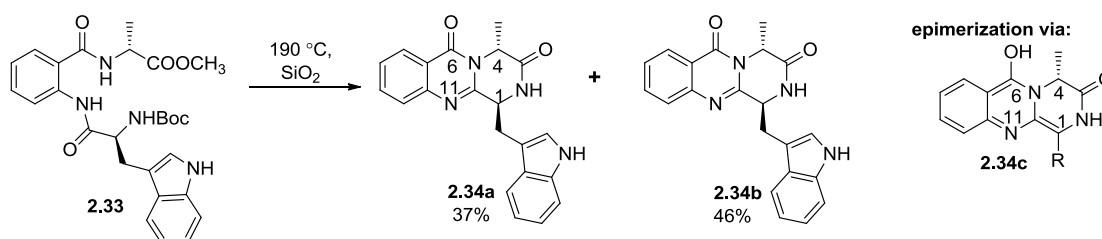
Scheme 2.1. Silica gel mediated synthesis of diverse DKPs from dipeptides.

Double cyclization reaction to access quinazolines **2.28** was attempted. The desired transformation took place when the tripeptides **2.27a-c**, adsorbed on silica gel, were heated to 190 °C and quinazolinones **2.28a-c** were obtained in good yields (Scheme 2.2). The natural product (+)-glyantrypine (**2.28b**) was formed in highest yield of 67% and a near-gram amount was obtained in a single batch. Importantly, no racemization took place and **2.28b** was obtained with a specific rotation $[\alpha]_D^{20} = +547$ (c 0.12, CHCl_3) after recrystallization from methanol in accordance with the literature data, for which absolute values in the range of 522-541 were reported for both enantiomers.¹⁰



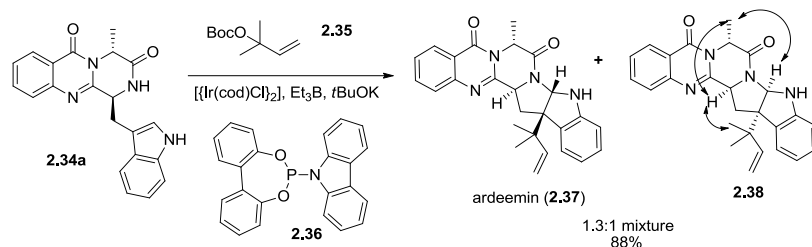
Scheme 2.2. Silica gel mediated double cyclization of tripeptides **2.28a-c**.

Next, the tripeptide **2.33** was prepared from *D*-alanine methyl ester (**2.31**), isatoic anhydride and Boc-protected *L*-tryptophan **2.9** with the aim of its cyclization. The double cyclization worked as expected but significant epimerization at the tryptophan stereocenter was observed and the chromatographically separable *trans*- and epimeric *cis*-diastereomers **2.34a-b** were obtained in 37% and 46%, respectively (Scheme 2.3). This result reveals the lability of the C1-stereocenter towards epimerization under the reaction conditions which could be due to strongly conjugated C6-benzene-N11-C1 system leading to enolization via intermediate such as **2.34c**.¹¹



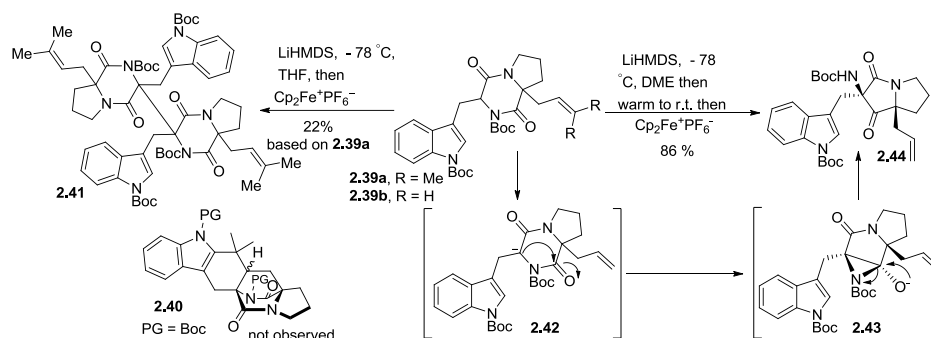
Scheme 2.3. Epimerization at C-1 via intermediate **2.34c**.

The *trans*-isomer **2.34a** was converted to anti multidrug resistance agent ardeemin (**2.37**) and its diastereomer **2.38** in a single step using the recently reported iridium-catalyzed reverse prenylation method.¹² Thus, this approach represents a biomimetic approach to ardeemin because it was recently shown that in *Aspergillus fischeri* **2.37** is biosynthesized by the reverse prenylation of **2.34a** by a prenyl transferase enzyme ArdB.¹³ The stereochemistry of 5a,16a-*epi*-ardeemin side product **2.38** was assigned based on the observed NOEs as shown in Scheme 3.4.



Scheme 2.4. Biomimetic synthesis of ardeemin.

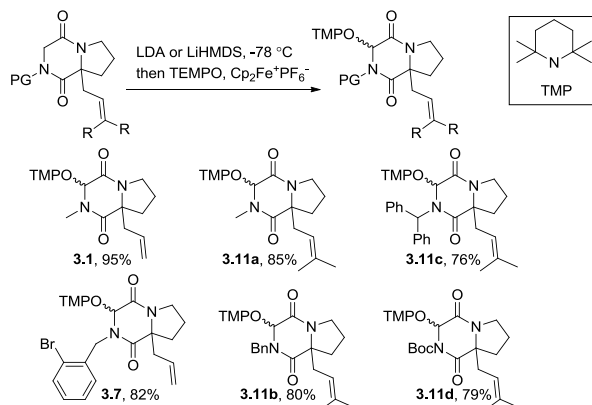
Initial studies to achieve direct oxidative cyclization using the tryptophan derived DKPs **2.39a** and **2.39b** did not lead to the cyclization products. A dimeric DKP **2.41** was formed when the enolate was oxidized at $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. An interesting Chan-rearrangement took place that led to a ring contracted product **2.44** when the enolate of **2.39b** was warmed to enhance the desired cyclization.



Scheme 2.5. Initial results to achieve direct oxidative radical cyclizations.

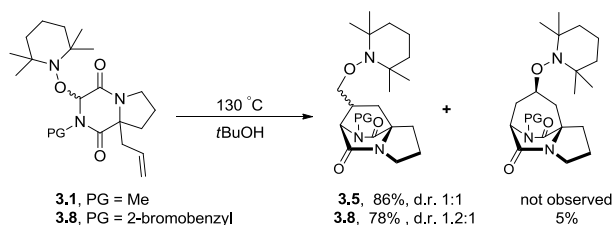
3. A PRE mediated approach to diazabicyclo[2.2.2]octanes

In parallel with the above indole side-chain containing model compounds, studies with less complex model DKPs lacking the indole unit were also carried out. Although again no cyclization was achieved, SET oxidation in the presence of TEMPO gave hemiaminal ether type alkoxyamine **3.1**, **3.7** and **3.11a-d** in high yield as a stable colorless solid after chromatography.



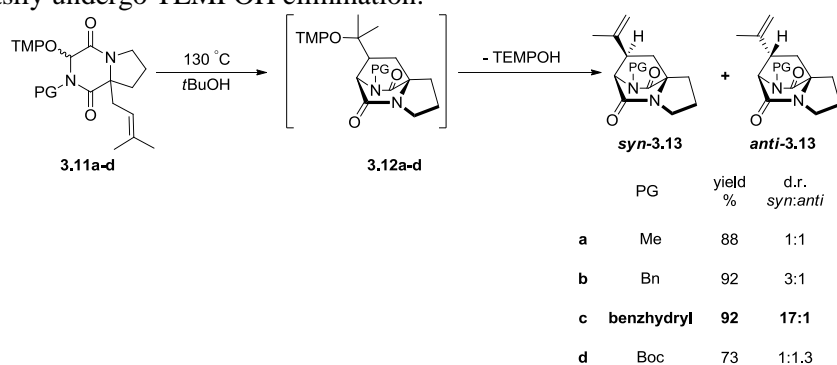
Scheme 3.1. Synthesis of DKP derived alkoxyamines.

Heating solutions of alkoxyamines **3.1** and **3.7** in degassed *t*BuOH at 130 °C in a sealed tube for 1.5-2 h afforded diazabicyclo[2.2.2]octan-3,6-diones **3.5** and **3.8** resulting from 6-exo-trig cyclizations in high yields indeed obtained in high yield, albeit with no diastereoselectivity. In case of the 2-bromobenzyl protected alkoxyamine **3.7** a small amount of 7-endo-trig cyclization product **3.9** was also isolated.



Scheme 3.2. The PRE mediated thermal cyclioisomerization of alkoxyamines **3.1** and **3.8**.

Thermal cyclizations of alkoxyamines **3.11a-d**, having the pendant prenyl groups, were investigated next. Instead of products **3.12a-d**, containing TEMPO unit, proprenyl group containing products **3.13a-d** were obtained as a result of elimination of TEMPOH. It is a known fact from the literature, that alkoxyamines, in which TEMPO-fragment is attached to *t*-butyl-type fragments, are unstable and easily undergo TEMPOH elimination.¹⁴



Scheme 3.3. Thermal cyclizations of alkoxyamines **3.11a-d**.

Clear influence of the bulkyness of the protecting groups on the diastereoselectivity is observed. In the case of *N*-Me containing alkoxyamine **3.11a** the reaction is not diastereoselective, while *N*-benzyl group induced 3:1 diastereoselectivity and the diastereomers *syn*-**3.13b** and *anti*-**3.13b** could be separated. Interestingly, little diastereoselectivity in favor of the *anti*-diastereomer was observed in the case of *N*-Boc protected substrate **3.11d**. Remarkably, the bulkiest benzhydryl group in **3.11c** induced 17:1 diastereoselectivity in favor of the desired *syn*-diastereomer *syn*-**3.13c**. The structures of both *syn*-**3.13c** and *anti*-**3.13d** were confirmed by X-ray crystallography.

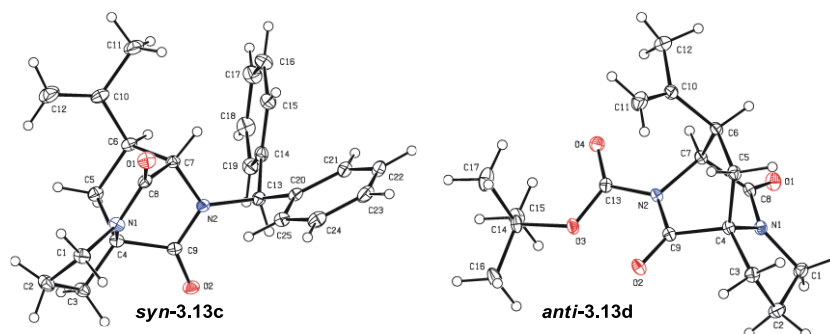
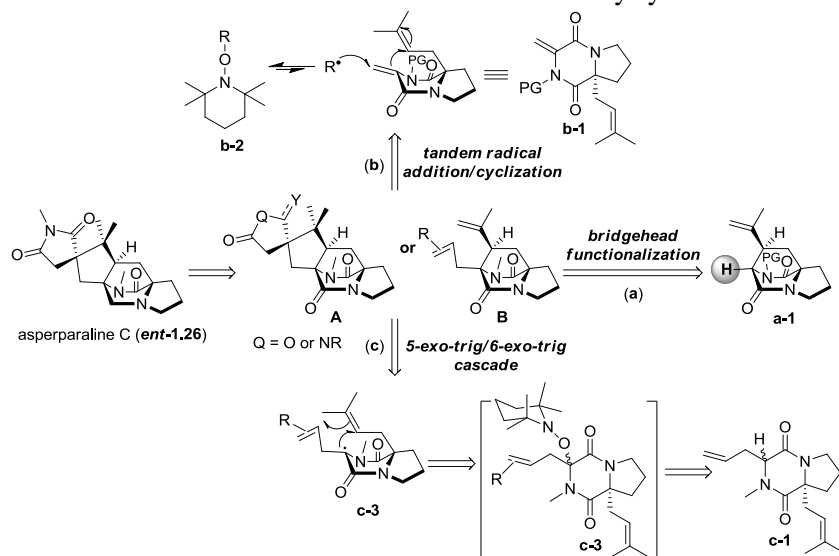


Figure 3.1. X-ray structures of bicyclic compound *syn*-**3.13c** and *anti*-**3.13d**.

4. Evolution of a synthetic strategy for asperparaline C

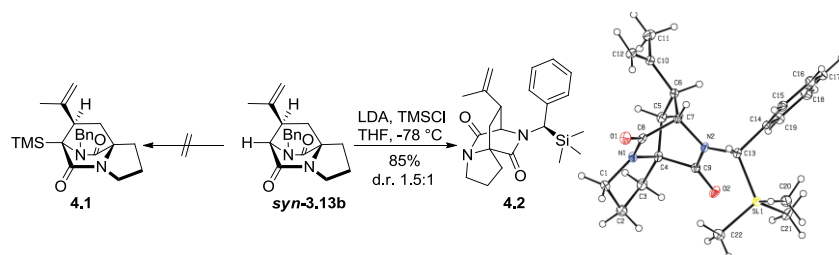
With a new PRE mediated alternative approach to the core structures of alkaloids having the core diazabicyclo[2.2.2]diazaoctane structure developed, three main strategies to asperparaline C were investigated as a means to rapidly access advanced intermediates such as **A** and **B** (Scheme 4.1). In a most straightforward approach (a), functionalization of the bridgehead C-H group of bicyclic intermediates such as **a-1** was envisioned. If successful, this strategy would allow developing a modular synthesis of advanced intermediates such as **B** from already synthesized **3.13a-d**.



Scheme 4.1. Three approaches to asperparaline C.

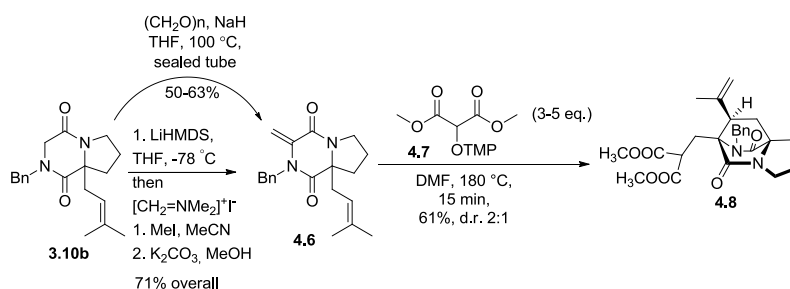
Alternatively, intermediates such as **B** can also be approached convergently, where the PRE-mediated methodology is extended to an inter- and intramolecular tandem process (approach (b)). Radical $R\cdot$, thermally generated by the homolysis of a suitable alkoxyamine such as **b-2** in the presence of an unsaturated DKP **b-1**, can attack the terminal double bond of **b-1**. Subsequent 6-exo-trig cyclization/TEMPO-trapping/TEMPOH elimination processes would also provide a modular approach to bridgehead functionalized advanced intermediates. Finally, despite that no alkoxyamines such as **c-2** were neither observed nor isolated during the initial studies with tryptophan derived DKPs, their *in situ* generation and thermal homolysis had to be tried (approach (c)). The direct construction of all rings of asperparalines by a 6-exo-trig/5-exo-trig cascade process makes this approach very tempting to try.

To test the feasibility of approach (a), an effort to functionalize the bridgehead position of bicyclic compound **syn-3.13b** was undertaken. Upon reacting **syn-3.13b** with LDA in the presence of TMSCl, product **4.1** which would form by silylation of bridgehead enolate, was not observed but an efficient silylation of the benzylic position took place to give **4.2** as a 1.5:1 mixture of diastereomers. The structure of the major diastereomer of **4.2** was proven by X-ray crystallography. Apparently, benzylic position is significantly more acidic compared to the bridgehead position, deprotonation of which would generate anti-Bredt enolate. The deprotonation seems to be governed by the well-known complex-induced proximity effect (CIPE) pioneered by Beak and others.¹⁵



Scheme 4.2. An attempted bridgehead silylation of **syn-3.12b** and X-ray structure of actual product **4.2**.

Next, proposal (b) was evaluated. Unsaturated DKP **4.6** was synthesized by two approaches. When **4.6** and excess alkoxyamine **4.7** were heated in a microwave reactor at 180 °C for 15 min the desired transformation took place with 61% isolated yield of the expected product **4.8**, albeit with a rather low 2:1 diastereoselectivity. It is important to note that, under conventional heating conditions in a sealed tube at 130 °C or at higher temperatures little conversion was observed even after several hours.

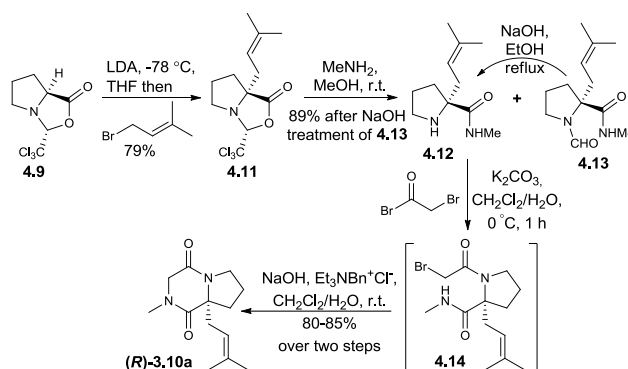


Scheme 4.3. A tandem radical addition/cyclization approach to the diazabicyclo[2.2.2]octane core.

Despite its attractiveness, there are some practical limitations of this approach. First and most important is the low diastereoselectivity of the product, which is a consequence of high reaction temperature. When the diastereomers are inseparable as is the case for **4.8**, low diastereoselectivity hampers further advancement.

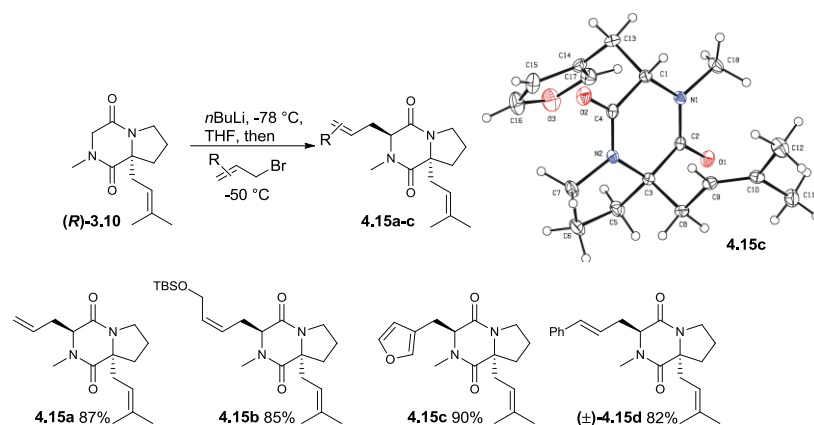
4.4. Direct cyclization of DKPs by oxidative *in situ* generation of alkoxyamines

An asymmetric synthesis of DKP (**R**)-**3.10a** was then developed to initiate synthetic studies towards *ent*-**1.26**. Seebach's principle of self-regeneration of stereocenters (SRS)¹⁶ was used to introduce the asymmetric quaternary carbon center using **4.9**. Thus, **4.9** was synthesized on gram scale using the reported method.¹⁷ Prenylation of the enolate derived from **4.9** gave oxazolidinone **4.11** in high yield as the single diastereomer. When **4.11** was reacted with 2 M methylamine solution in methanol poorly separable mixture of desired pyrrolidine **4.12** and the *N*-formyl pyrrolidine side product **4.13** was obtained. The fractions contaminated with formyl pyrrolidine **4.13** were deformylated by refluxing with NaOH in ethanol. Pyrrolidine **4.12** was converted to DKP (**R**)-**3.10** by a two-step/one-pot protocol via bromoacetamide **4.14** which was cyclized to (**R**)-**3.10** without isolation under phase-transfer catalysis conditions.



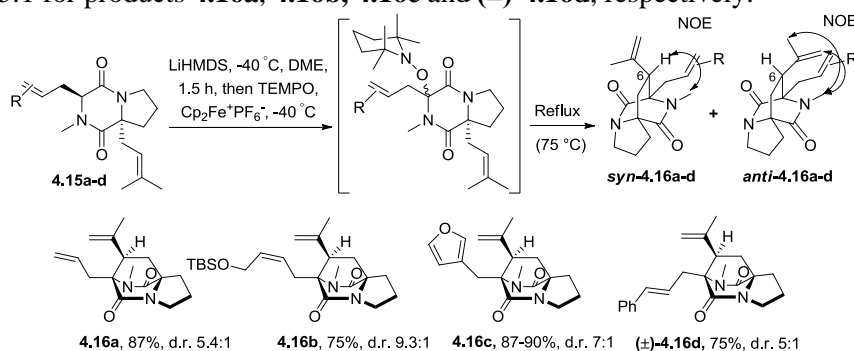
Scheme 4.4. Prenylation of chiral oxazolidinone **4.10** and conversion to (**R**)-**3.10**.

With chiral DKP (**R**)-**3.10** in hand, DKPs **4.15a-c** were obtained by enolate alkylation using commercial or known bromides. Alkylation was highly diastereoselective giving only *trans*-diastereomers when the temperature was carefully controlled. If the temperature was raised to room temperature or even to -20 °C, small amounts of the more polar *cis*-diastereomers and even dialkylated products could be isolated. The structure and configuration of **4.15c** was confirmed unambiguously by X-ray crystallography and configurations of **4.15a** and **4.15b** were assigned by analogy. Racemic **4.15d** was also obtained by analogous alkylation of (\pm)-**3.10** with cinnamyl bromide.

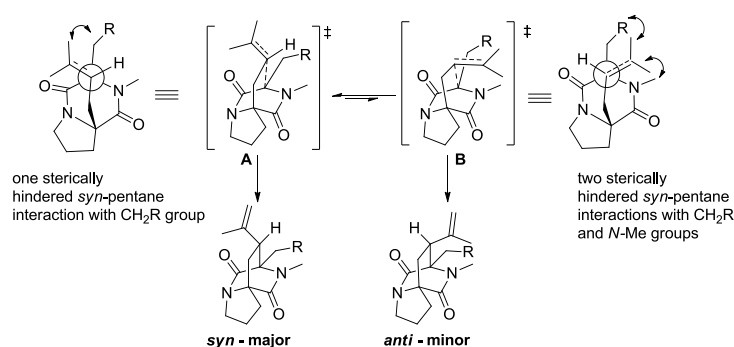


Scheme 4.5. Diastereoselective alkylations of (*R*)-**3.10** and (\pm)-**3.10**, X-ray structure of **4.15c**.

Next, DKPs **4.15a-d** were deprotonated with LiHMDS, TEMPO was added and the enolate was oxidized by portionwise addition of $\text{Cp}_2\text{Fe}^+\text{PF}_6^-$ at $-40\text{ }^\circ\text{C}$ in DME. After stirring for about 10 min the cooling bath was removed and the reaction mixture was equipped with a reflux condenser and immersed to a heating bath preheated to $100\text{ }^\circ\text{C}$ and refluxed for 1.5 h. Evaporation to dryness after cooling the reaction mixture to r.t and purification by column chromatography revealed that monocyclization products **4.16a-d** were formed in good yields and most importantly in $>5:1$ diastereomeric ratios: 5.4:1, 9.3:1, 8:1 and 5:1 for products **4.16a**, **4.16b**, **4.16c** and (\pm)-**4.16d**, respectively.



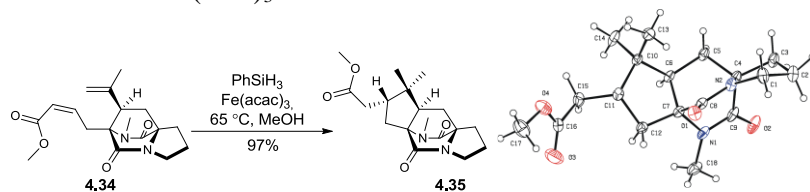
Scheme 4.6. Diastereoselective oxidative cyclizations of **4.15a-d** to bridged DKPs **4.16a-d**.



Scheme 4.7. Origin of stereoselectivity in the radical cyclizations of substituted DKPs.

Analysis of the transition states for cyclizations of **4.15a-d** reveals that in the transition state **A**, leading to the major *syn*-diastereomer, the developing isopropyl radical is in a *gauche* or *syn*-pentane interaction with the CH_2R and $\text{C}=\text{O}$ groups. In transition state **B**, leading to the undesired and minor *anti*-diastereomer, the incipient isopropyl radical is in a double *syn*-pentane interaction with the CH_2R and the *N*-Me groups. The difference in the relative steric bulk of the $\text{C}=\text{O}$ and *N*-Me groups makes transition state **A** earlier and determines the outcome of the cyclization in favor of the desired *syn*-diastereomer.¹⁸

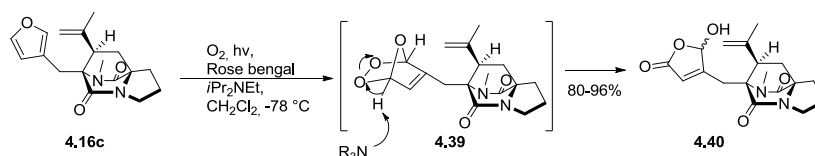
Recently Baran and coworkers reported $\text{Fe}(\text{acac})_3/\text{PhSiH}_3$ mediated reductive radical cyclizations of compounds,¹⁹ having both electron-rich and electron-deficient alkenes, inspired by seminal studies by Mukaiyama (Scheme 4.15).²⁰ The reaction could also be performed using substoichiometric amounts of $\text{Fe}(\text{acac})_3$.



Scheme 4.8. A reductive cyclization of **4.34** and X-ray structure of **4.35**.

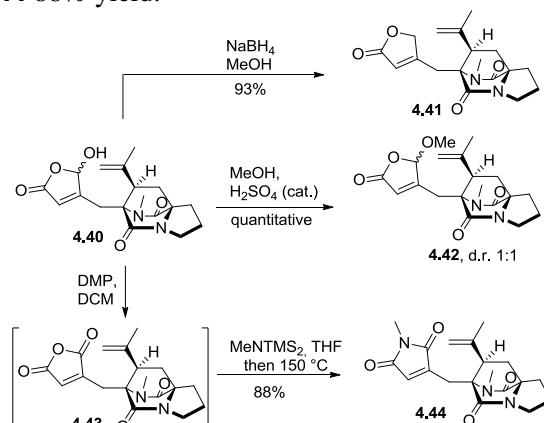
Inspired by these reports, bicyclic compound **4.16b** was deprotected and in two steps converted to unsaturated methyl ester **4.34** by deprotection and sequential oxidation using MnO_2 . The cyclization was performed under stoichiometric conditions and proceeded in high yield giving product **4.35** as a single diastereomer. This compound was crystallized from $\text{AcOEt}/\text{hexane}$ and the configuration of the newly formed stereocenter was unambiguously assigned by X-ray crystallographic analysis (Scheme 4.8).

With this promising result, the furan ring in **4.16c** was subjected to oxidative dearomatization via a hetero-Diels-Alder reaction with singlet oxygen as. Performing the singlet oxygen mediated dearomatization in the presence of Hünig's base leads to highly regioselective opening of the endoperoxide intermediate **4.39** as a result of deprotonation at the less hindered position. The γ -hydroxybutenolide **4.40** was obtained typically in >80% yields as ca 2:1 epimeric mixture at the hemiacetal center.



Scheme 4.9. Furan dearomatization with singlet oxygen.

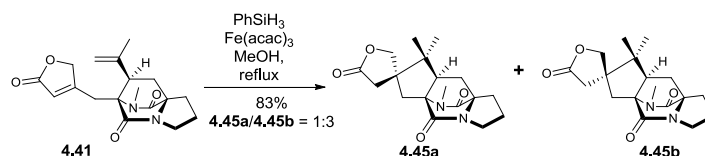
The γ -hydroxybutenolide **4.40** was converted to model cyclization substrates. Treating **4.40** with NaBH_4 in MeOH gave butenolide **4.41** in high yield, while in the presence of catalytic concentrated H_2SO_4 , the γ -methoxybutenolide **4.42** was obtained quantitatively as an inseparable 1:1 mixture of epimers. Oxidation of **4.40** with Dess-Martin periodinane (DMP) gave unstable maleic anhydride intermediate **4.43**, which when treated immediately with heptamethyldisilazane in THF , and then heated at $150\text{ }^\circ\text{C}$ for 5 min gave **4.44** 88% yield.



Scheme 4.10. Conversion of γ -hydroxybutenolide **4.40** to model cyclization precursors.

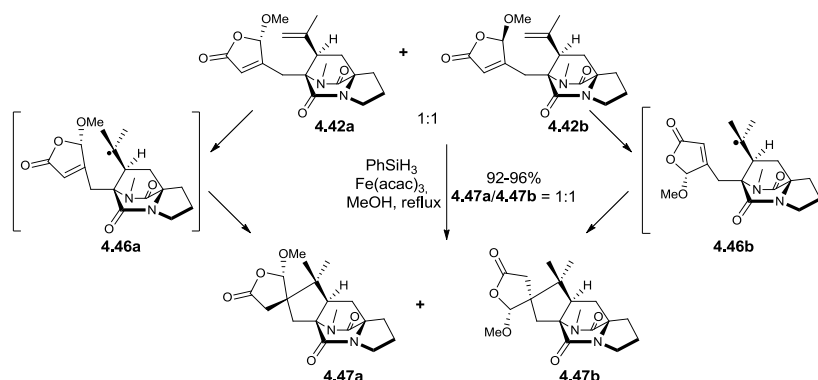
The butenolide substrate **4.41** underwent very efficient cyclization giving an inseparable 3:1 mixture of diastereomers **4.45a** and **4.45b** at the newly generated spiro center in high yield. NOE analysis of this mixture revealed that the desired diastereomer **4.45a** with the correct configuration at

the spiro center was the minor product. Nevertheless, this result demonstrated the feasibility of the challenging spirocyclization that generates a contiguous quaternary C-C bond.



Scheme 4.11. Successful reductive spirocyclization of butenolide **4.41**.

Cyclization of γ -methoxybutenolide **4.42**, which was used as an inseparable 1:1 mixture of epimers **4.42a** and **4.42b**, gave products **4.47a** and **4.47b** as an inseparable 1:1 mixture in 92-96% yield when carried out on 70-100 mg scales. It seems that, each of the epimers **4.42a** and **4.42b** stereoselectively cyclize to **4.47a** and **4.47b** via transition states **4.46a** and **4.46b**, respectively. Hence, the methoxy group at the acetal stereocenter effectively controls the approach of the tertiary radical from the opposite face. Although **4.47a** and **4.47b** were inseparable by column chromatography, the undesired diastereomer **4.47b** was poorly soluble in ethylacetate. Crystallization of **4.47b** allowed unambiguously proving its structure and configuration by X-ray crystallography.



Scheme 4.12. Efficient spirocyclization of γ -methoxybutenolide **4.42**.

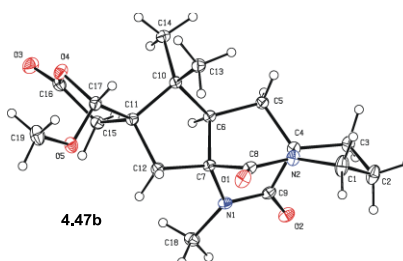
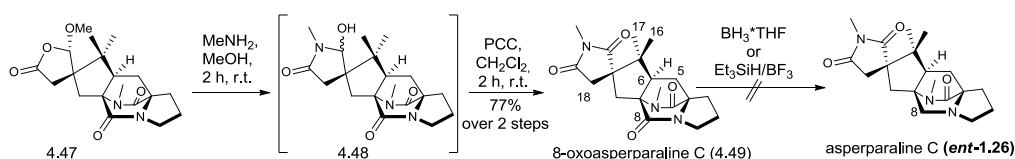


Figure 4.1. X-ray crystal structure of **4.47b**.

By repeated fractional crystallization of a 1:1 mixture of **4.47a** and **4.47b**, pure undesired **4.47b** was obtained and the mother liquor was enriched in **4.47a** (**4.47a/4.47b**, 5-5.5:1). This mixture was subjected to a two-step reaction sequence, by treating with a 2 M methanolic methylamine solution for 2 h and subsequent oxidation of the hydroxy lactam intermediate **4.48** by PCC, which gave spirosuccinimide **4.49** in 77% yield.



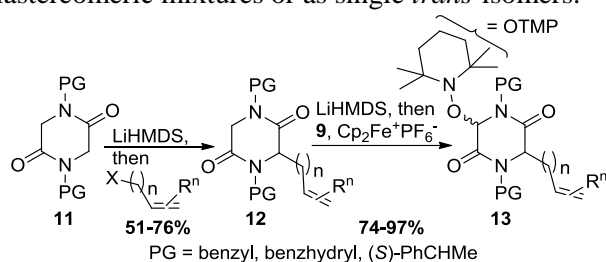
Scheme 4.13. Synthesis of 8-oxoasperparaline C (**4.49**) and initial attempts to chemoselectively reduce C-8 amide in **4.49**.

Compound **4.49** differs from asperparaline C only in the oxidation state of the C-8 atom, which is fully reduced in asperparaline C and can be named as 8-oxoasperparaline C. Initial attempts to chemoselectively reduce the C-8 amide group were not successful when treated with BH_3^*THF or $\text{Et}_3\text{SiH}/\text{BF}_3$.

5. Synthesis of diverse bridged DKPs by using the persistent radical effect

5.1. Synthesis of carbon-bridged DKPs

With the discovery of stable alkoxyamines during initial studies and demonstration of their use as radical surrogates, a methodology for the synthesis of diverse non-natural bridged DKPs based on the PRE was developed. Several alkoxyamines **5.3a-f**, **5.7** and **5.11** were synthesized by alkylation of DKPs **5.1** ($\text{R} = \text{Bn}$), **5.5** ($\text{R} = \text{benzhydryl}$) and **5.8** ($\text{R} = (S)\text{-PhCHMe}$) followed by oxidative enolate oxyamination in good to high overall yields (Scheme 5.1).^[19] Products **5.3a-f**, **5.7** and **5.11** were isolated as 1:1 to 1:10 *cis/trans*-diastereomeric mixtures or as single *trans*-isomers.



Scheme 5.1. Synthesis of DKP alkoxyamines **5.3a-f**, **5.7** and **5.11**.

Table 5.1. Synthesis of diverse diazabicyclo[n.2.2]alkanedione ring systems from alkoxyamines **5.3a-f**, **5.7** and **5.11**.^[a]

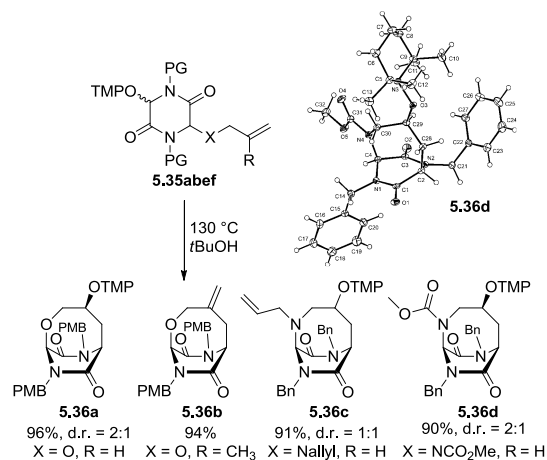
Entry	Alkoxyamine	Bridged DKP ^[b]	Yield [%] ^[c] (d.r.) ^[d]	Entry	Alkoxyamine	Bridged DKP ^[b]	Yield [%] ^[c] (d.r.) ^[d]
1			79 (1:1) ^[e]	5			92 ^[g]
2			88 (2:1)	6			94 (3.3:1)
3			97 ^[f]	7			97 (5.6:1)
4			96	8			89 (4.6:1) ^[h]

[a] General conditions: 0.02 M alkoxyamine in *t*BuOH, 130 °C, 1.5-2 h. [b] Only major diastereomer shown. [c] Isolated. [d] Determined by ¹H NMR of the crude mixture. [e] Additionally, 10% of 7-endo-trig cyclization product isolated (see Experimental part). [f] Overall ratio at exocyclic stereocenter: 3.4:2:2:1. [g] Ratio at exocyclic stereocenter could not be determined. [h] (1*S*,5*S*):(1*R*,5*R*), (see Experimental part for details).

Heating solutions of alkoxyamines bearing terminal, 1,2-di- or trisubstituted olefinic acceptors in degassed *t*BuOH at 130 °C in a sealed tube for 1.5-2 h afforded diazabicyclo[2.2.2]octan-3,6-diones resulting from 6-exo-trig cyclizations in high yields (Table 5.1, entries 1, 2, 3, 5, 7). The diastereoselectivity was low with *N*-benzyl groups, but was significantly improved by using the more bulky *N*-benzhydryl group (entry 7). Substrates **5.3d** and **5.10** with 1,1-disubstituted alkene units provided selectively 7-endo cyclization products **5.16** and the α -glucosidase inhibitor **5.19** (entries 4 and 8). Replacement of the allyl by a homoallyl unit in **5.3f** surprisingly resulted in an efficient and exclusive 8-endo-trig cyclization providing four carbon atom-bridged DKP **5.21** in high yield with 3.3:1 diastereoselectivity (entry 6).

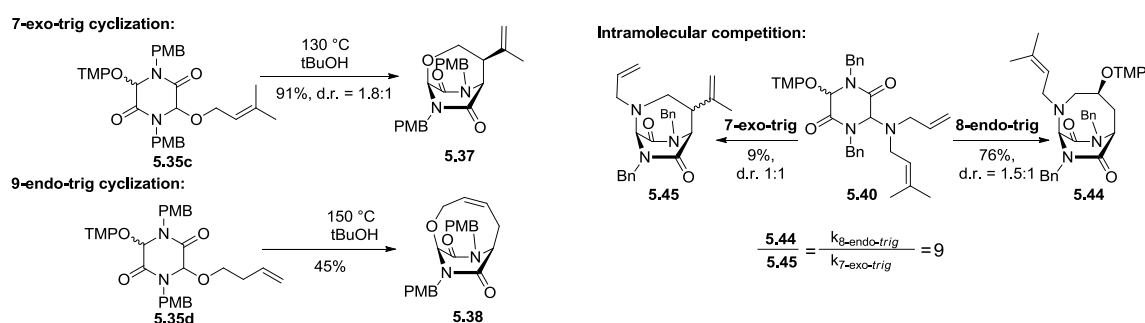
5.2. Synthesis of heteroatom-bridged DKPs.

The facility of the 8-endo-trig cyclization^[21] of **5.3f** immediately called for testing heteroatom-bearing cyclization substrates **5.35abef**, which were easily accessible and the methodology was also applied to heteroatom bridged DKPs having the diazabicyclo[4.2.2]octane core structure (Scheme 5.2). Cyclization were are efficient and both oxygen and nitrogen bridged DKPs can be obtained.



Scheme 5.2. Synthesis of *O*- and *N*-bridged diazabicyclo[4.2.2]decane ring systems.

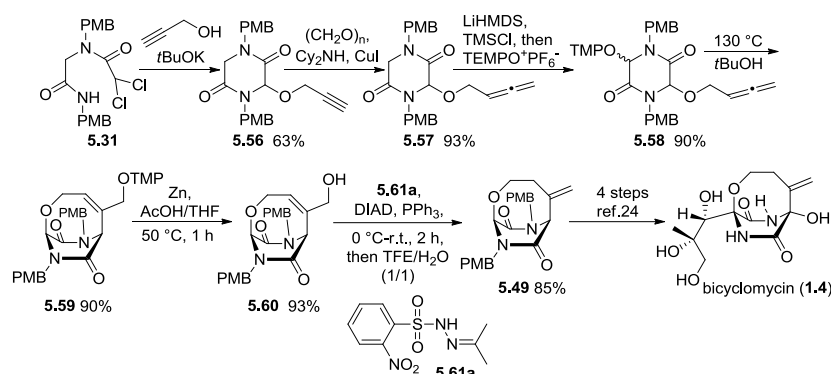
Other cyclization modes such as 7-exo and 9-endo-trig cyclizations also worked well. Alkoxyamine **5.40**, was designed to study an intramolecular competition between the allyl (8-endo-trig cyclization) and prenyl groups (7-exo-trig cyclization). The 8-endo-trig cyclization was found to be almost 9 times faster than the 7-exo-trig cyclization.



Scheme 5.3. Diversity of cyclization modes of alkoxyamines **5.35c**, **5.35d** and **5.40**.

Finally, the methodology was applied to a formal synthesis of antibiotic bicyclomycin for which a precursor with a so far unused allene group as the radical acceptor was designed. The required alkoxyamine **5.58** was obtained in three steps from **5.31** via oxygenative cyclization to **5.56** under basic conditions, Crabbe homologation²¹ to **5.57** and enolate oxygenation under internal quench conditions²² because an unexpected fast rearrangement of the enolate takes place under standard oxidative alkoxyamination conditions. The key radical cycloisomerization of **5.58** took place very efficiently providing bridged DKP **5.59** with an internal double bond. Reductive removal of the tetramethylpiperidiny unit with zinc in acetic acid afforded allylic alcohol **5.60**. It is important to mention that the sensitive hemiaminal functionality at the bridgehead position survived the acidic and

reductive conditions. A reductive transposition of the internal double bond to the *exo*-position under the conditions developed by Movassaghi²³ furnished Williams' central intermediate **5.49**²⁴ in 6 steps and 38% overall yield.



Scheme 5.4. Formal synthesis of bicyclomycin (**1.4**).

6. Features of DKP derived alkoxyamines

6.1. An unusual *trans-cis* isomerization of alkoxyamines and kinetic studies.

An attempted cyclization of an inseparable 11:1 mixture of *trans/cis*-**5.25** at 150 °C did not lead to radical cyclization onto aromatic ring. Upon checking the ¹H NMR-spectrum of the evaporated reaction mixture only peaks corresponding to *one* diastereomer were found, and they belonged to the minor diastereomer in the original mixture, i.e. complete and clean isomerization of the *trans*-diastereomer to the *cis*-diastereomer took place. This was proven by crystallization of the resulting product and X-ray crystallographic characterization unambiguously established the product to have the *cis* relative stereochemistry and proved it as the thermodynamic product (*vide infra*). The isomerization of *trans*-**5.25** was monitored by ¹H NMR spectroscopy at three different temperatures in DMSO-*d*₆ (Figures 6.1-6.3).

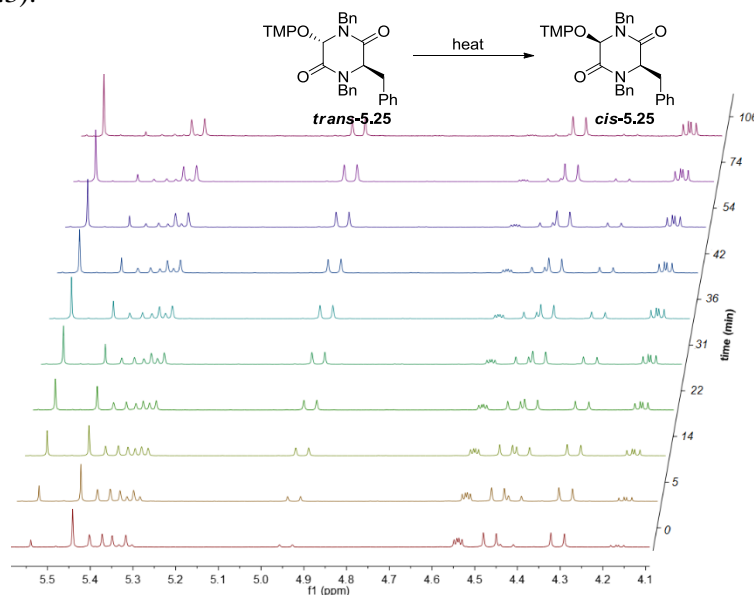


Figure 6.1. ¹H NMR monitoring of *trans*-**5.25** to *cis*-**5.25** and ¹H NMR monitoring at 80 °C.

The experimental data for the conversion of *trans*-**5.25** fit to first-order kinetics (Figure 6.3). The half-life of *trans*-**5.25** is significantly decreased upon increasing the temperature and at 85 °C it equals to only 17 min. The activation parameters $\Delta H^\ddagger = 130.73$ kJ/mol (31.3 kcal/mol) and $\Delta S^\ddagger = 58.4$ J/(K*mol) (14.0 cal/(K*mol)) for the overall transformation were obtained using Eyring equation (Figure 6.4). This translates to activation energy of $E_a = 133.67$ kJ/mol (32 kcal/mol) for the overall transformation, taking 80 °C as the average temperature over the range of measurements. The Arrhenius

plot ($\ln(k)$ vs $1/T$) gives the same value of E_a . The Gibbs activation energy ΔG^\ddagger at three temperatures were also determined (Table 6.1). The observed rate constants for the overall isomerization process k_{obs} , which should be approximately equal to the C-O bond homolysis rate constants ($k_d(trans)$) of **trans-5.25** were calculated and are in the range of $1\text{-}7 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ in the 70-85 °C temperature range, because the homolysis of **trans-5.25** is the rate determining step.

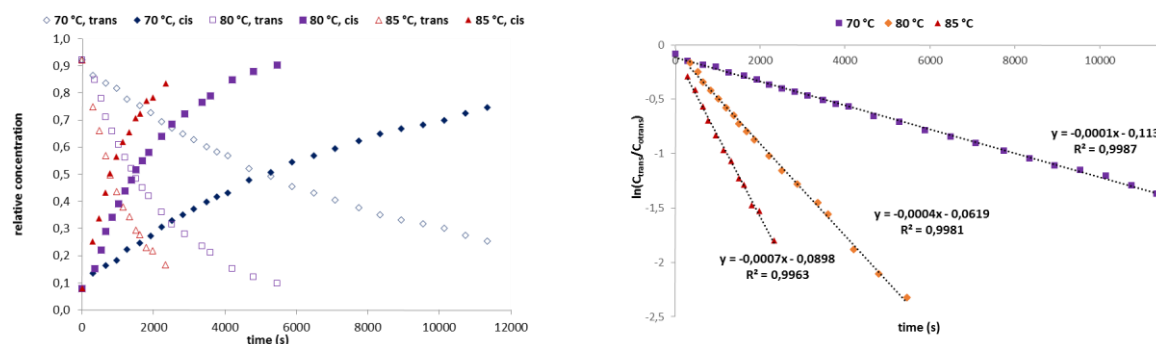


Figure 6.2. Kinetic traces and first order plots for the isomerization of **trans-5.25** to **cis-5.25**.

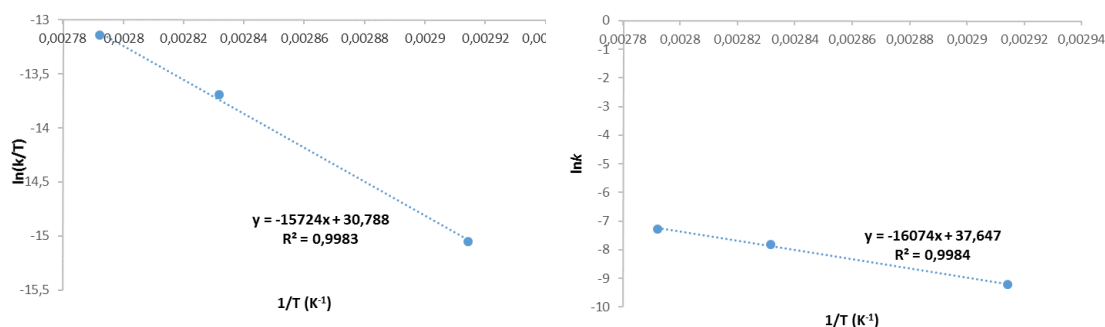
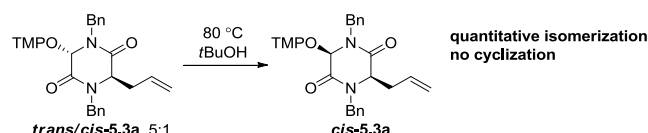


Figure 6.3. Eyring and Arrhenius plots for isomerization of **trans-5.25** to **cis-5.25**.

Table 6.1. Kinetic data obtained for isomerization of **trans-5.25** to **cis-5.25**.

T (K)	k_{obs} (s^{-1})	ΔG^\ddagger (kcal/mol)	$t_{1/2}$ (min)
343.15	1.00×10^{-4}	26.50	116
353.15	4.00×10^{-4}	26.34	29
358.15	7.00×10^{-4}	26.27	17

A similar isomerization was discovered during a temperature screening to find optimum conditions for the cyclization reaction of **5.3a**. Upon heating **trans-5.3a**, contaminated with small amounts of **cis-5.3a** (ca 5:1), in *t*BuOH for 2 h at 80 °C, no cyclization was observed. However, again complete and clean isomerization of the *trans*-diastereomer to the *cis*-diastereomer was found upon checking the ^1H NMR-spectrum of the evaporated reaction mixture. The structure of the thermodynamic product **cis-5.3a** was also proven with the help of X-ray crystallography.



Scheme 6.1. Thermal isomerization of **trans-5.3a** to **cis-5.3a**.

No observable cyclization of **trans-5.3a** took place when it was heated in the 75-85 °C temperature range which allowed carrying out kinetic experiments for isomerization process. The half-life of **trans-5.3a** is 6 min at 85 °C compared to 17 min for **trans-5.25** at the same temperature. The isomerization rate constants k_{obs} are 2.5-3 times faster for **trans-5.3a** compared to **trans-5.25** (Table 6.2).

The activation parameters also differ and are lower: $\Delta H^\ddagger = 122.10$ kJ/mol (29.21 kcal/mol) and $\Delta S^\ddagger = 41.80$ J/(K*mol) (10.00 cal/(K*mol)), $E_a = 125.04$ kJ/mol (30 kcal/mol).

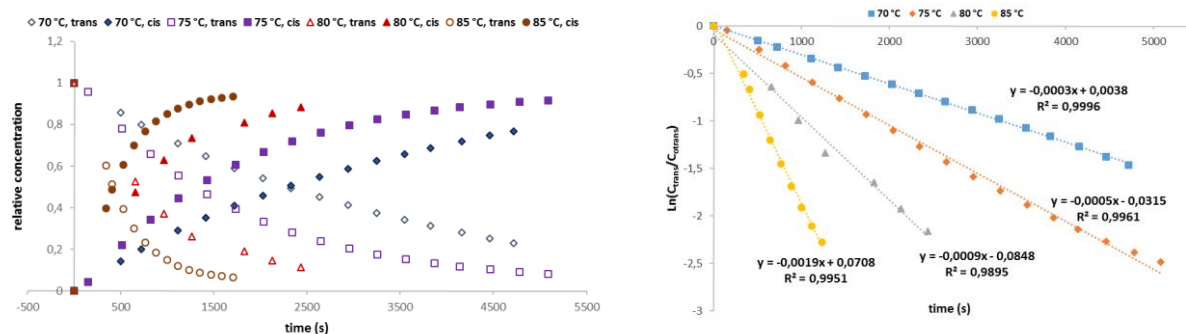


Figure 6.4. Kinetic trace and first order plot for the isomerization of *trans*-5.3a to *cis*-5.3a.

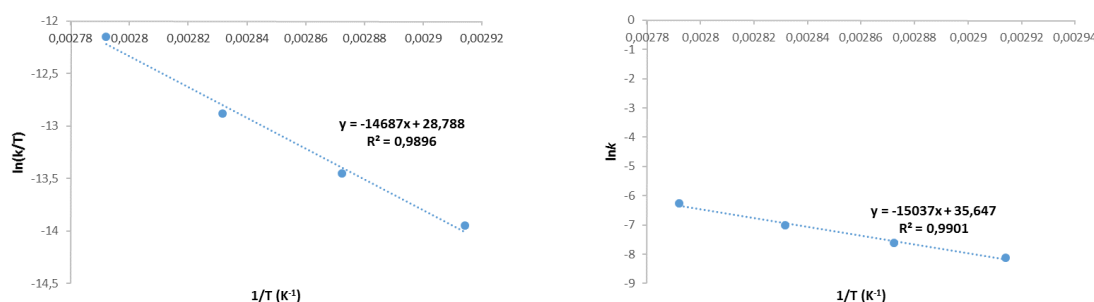


Figure 6.5. Eyring and Arrhenius plots for isomerization of *trans*-5.3a to *cis*-5.3a.

Table 6.2. Kinetic data obtained for isomerization of *trans*-5.3a to *cis*-5.3a.

T (K)	$k_{obs}(s^{-1})$	ΔG^\ddagger (kcal/mol)	$t_{1/2}$ (min)
343.15	3.00×10^{-4}	25.78	39
348.15	5.00×10^{-4}	25.73	23
353.15	9.00×10^{-4}	25.68	13
358.15	1.90×10^{-3}	25.63	6

6.2. Solid state and solution phase structural studies.

Many of the DKP derived alkoxyamines are crystalline solids, which allowed to unambiguously proving their structures by X-ray crystallography in cases when it was possible to separate the diastereoisomers (Figure 6.7). The X-ray structures for both *cis*-5.3a and *trans*-5.3a were determined by crystallization of pure samples. For the alkoxyamine 5.25 only the *cis*-diastereomer was possible to characterize by X-ray crystallography. Additionally, X-ray structures for *trans*-5.3c and even the proline derived alkoxyamine *trans*-3.11d were obtained. An interesting feature common to all structures is that the TEMPO fragment always occupies a pseudoaxial position despite being a sterically demanding substituent (Figure 6.7).

This observation prompts to propose anomeric effect as an explanation of the observed tendency. In *trans*-5.3a and *trans*-5.3c, the allyl and cinnamyl groups occupy a pseudoequatorial position while the TEMPO fragment occupies pseudoaxial position. In the X-ray structures of the *cis*-5.3a and *cis*-5.25 both the TEMPO fragment and the allyl/benzyl groups at the α -position are in a pseudoaxial position and do not reveal special stabilizing interactions.

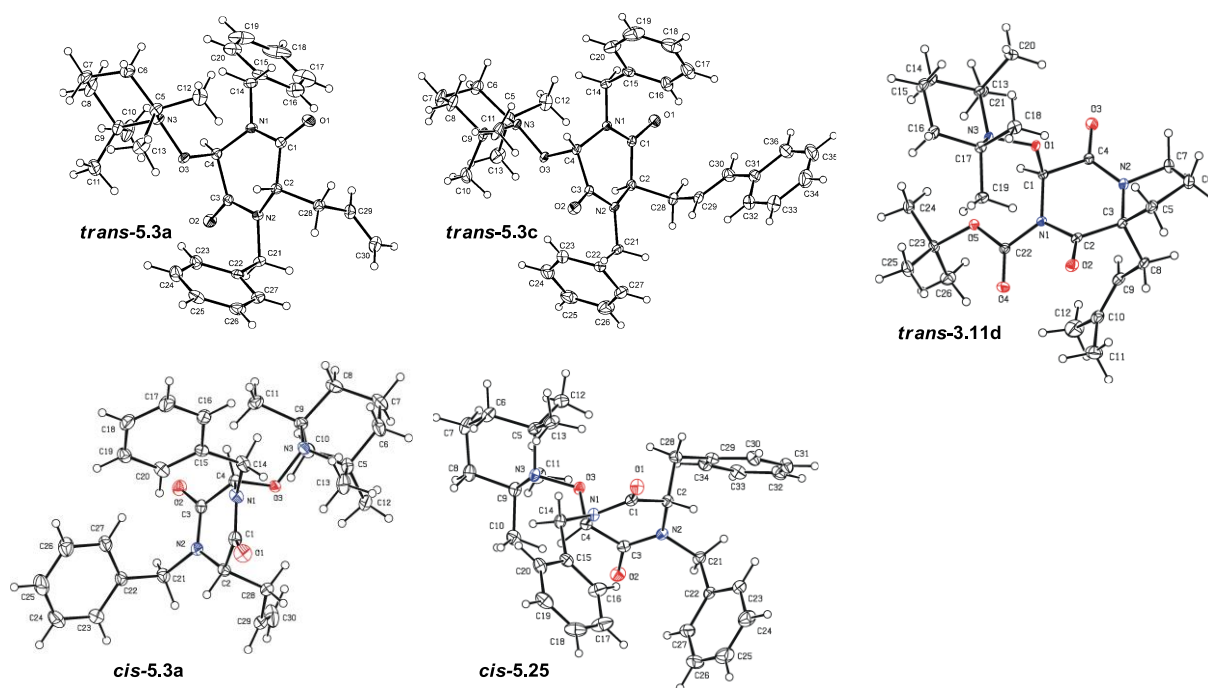


Figure 6.7. X-ray crystal structures of some DKP-derived alkoxyamines *trans*-5.3a, *cis*-5.3a, *cis*-5.25, *trans*-5.3c and *trans*-3.11d.

To see whether the pseudoaxial preference of the TEMPO fragment is present also in the solution, NOE experiments were carried out on both *cis*-5.3a/*trans*-5.3a and *cis*-5.25/*trans*-5.25 pairs. Indeed, strong NOE contacts can be seen between the TEMPO methyl groups and the CH₂-groups of allyl (*cis*-5.3a) and benzyl groups (*trans*-5.25). These observations suggest that even in the solution, the diaxial conformation seems to be strongly preferred for the *cis*-diastereomers (Figure 6.8).

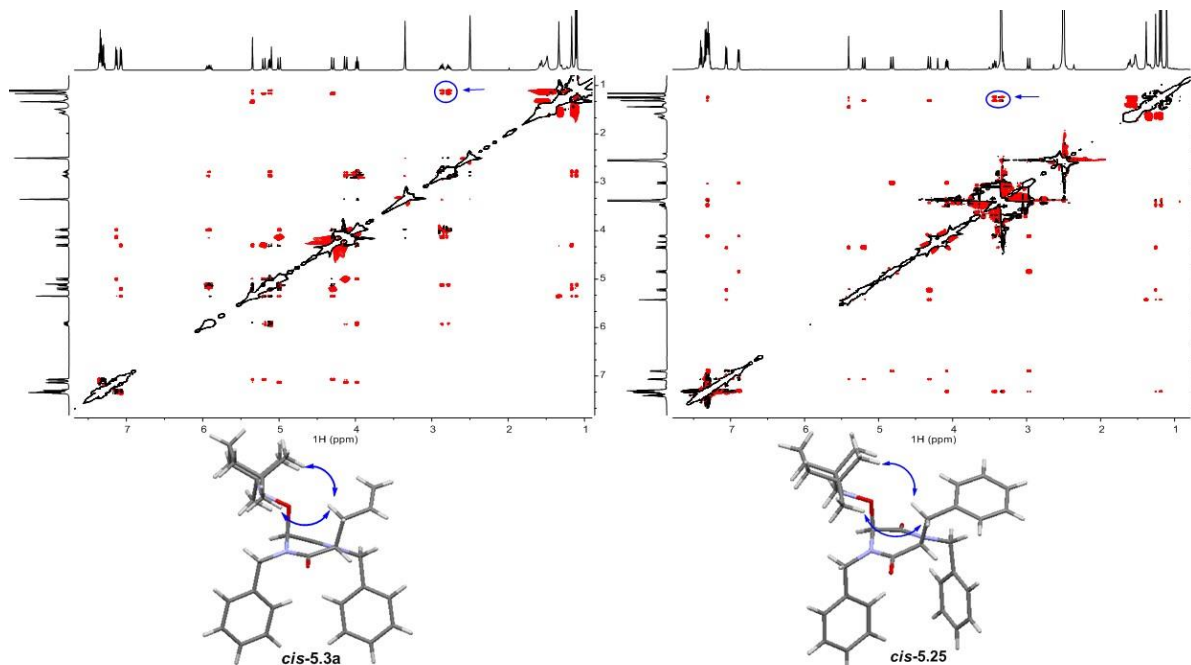


Figure 6.8. NOE contacts between CH₃_{TEMPO} and CH₂R groups in *cis*-5.3a and *cis*-5.25.

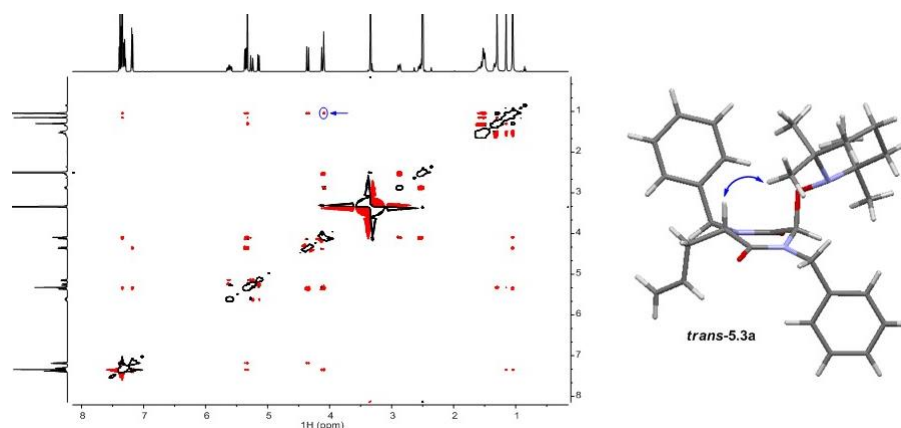
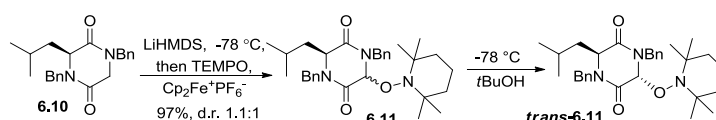


Figure 6.9. An NOE contact between the nonanomeric α CH proton and CH_3TEMPO in *trans*-5.3a.

In a solution of *trans*-5.3a in DMSO-d_6 , a weak NOE contact between the TEMPO methyl groups and the nonanomeric α CH proton is observed. This observation goes along with the solid state structure in which the allyl group occupies a pseudoequatorial position and the TEMPO fragment is in a pseudoaxial arrangement. However, no such NOE was observed in a solution of *trans*-5.25.

An alkoxyamine **6.11** with an isobutyl side chain was also synthesized from DKP **6.10**. Under the standard oxidative alkoxyamination conditions, i.e. under the kinetic conditions, an essentially 1:1 mixture of *cis*- and *trans*-diastereomers were formed.



Scheme 6.2. Synthesis of *trans*-6.11.

Upon heating a *t*BuOH solution of this diastereomeric mixture at 130 °C, a clean and quantitative conversion to a single diastereomer took place. The ^1H NMR signals of the thermodynamic product corresponded to the signals of the major component in the original 1.1:1 mixture (Figure 6.10).

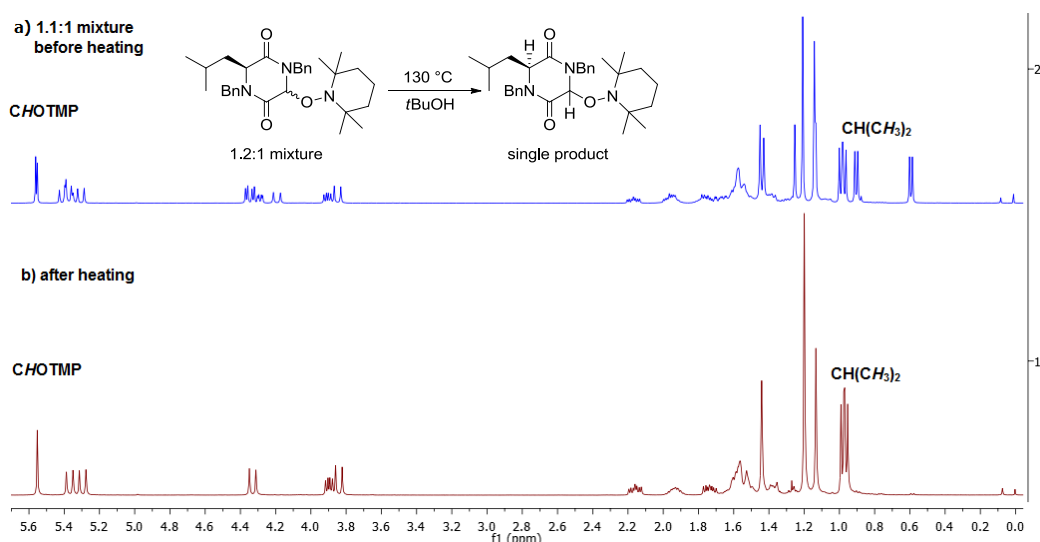


Figure 6.10. Comparison of the ^1H NMR spectrum of **6.10** before and after heating.

The product could not be crystallized and NOE-experiments were carried out to assign the configuration at the anomeric position of the thermodynamic product. Instead of NOE between the nonanomeric and anomeric α CH protons in the thermodynamic product, the presence of which would speak for *cis*-configuration, weak but clearly visible NOE interaction between the anomeric α CH and

the CH₂ protons of the isobutyl side-chain is observed. This indicated that the thermodynamic product has the *trans*-configuration. When the NOE-experiments were done on the original 1:1:1 mixture, the labile component which underwent thermal isomerization showed an NOE between the two αCH hydrogen atoms. Thus, based on these evidences, a reversal of the thermodynamic stability from *cis*- to *trans*-diastereomer was found when the aliphatic isobutyl side chain was present in the DKP.

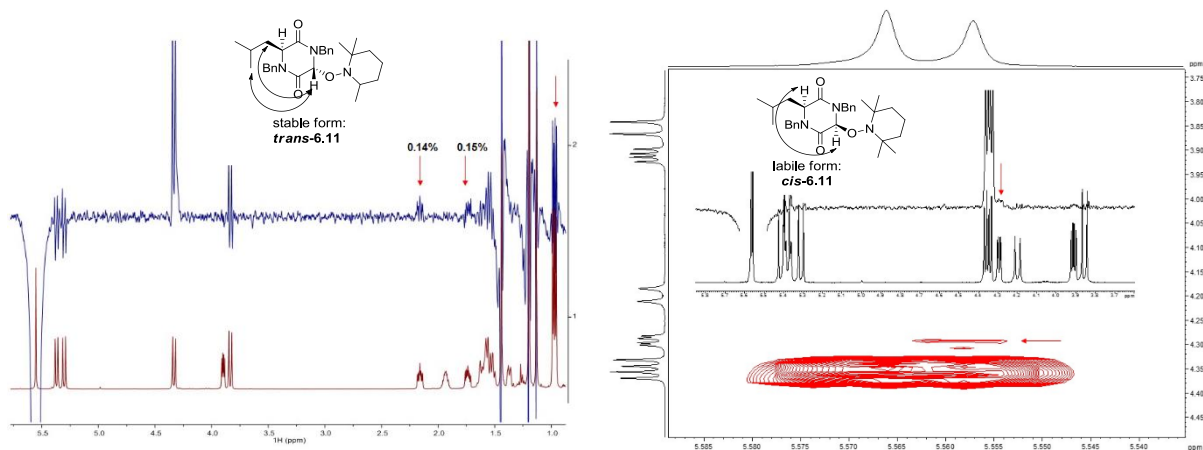


Figure 6.11. The NOE contacts observed in the stable and labile isomers of **6.11**.

6.3. ¹H NMR monitoring of the PRE mediated cyclization

Having proven that the isomerization from *trans*- to *cis*-form occurs before the radical cyclization, the cycloisomerization process was also monitored by heating a solution of pure *cis*-**5.3a** at 90 °C, 100 °C, 110 °C and 115 °C in DMSO-d₆.

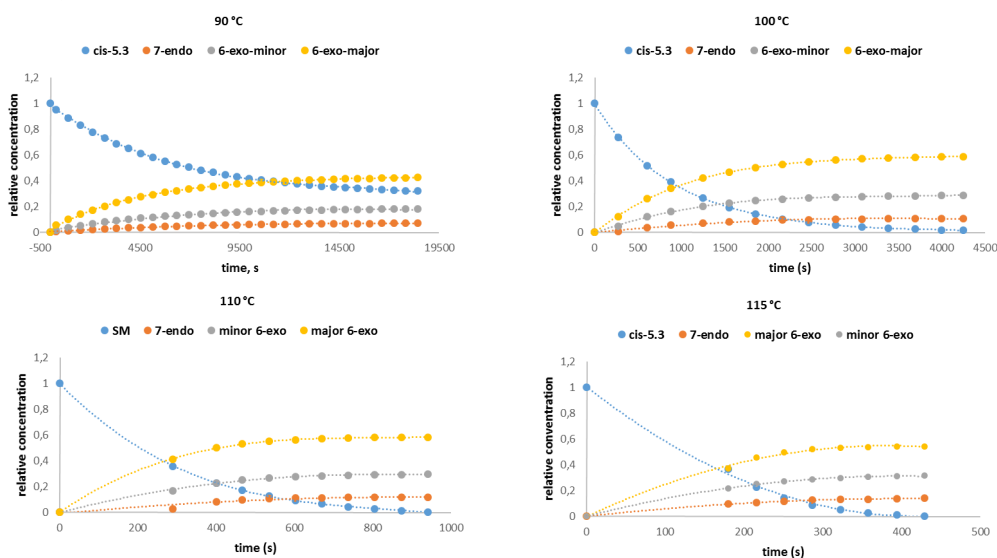


Figure 6.12. Kinetic traces for cycloisomerization of *cis*-**5.3** to bridged DKPs.

A clean decay of the signals corresponding to *cis*-**5.3a** and appearance of signals corresponding to the cyclization products *syn/anti*-**5.11** and **5.12** was observed over time. The 6-exo-trig cyclization products **5.11** were not formed at equal rates and almost 2.3:1 mixture of *syn/anti*-products **5.11** was formed at 90 °C but the reaction was too slow and did not reach completion even after 5 h. Upon increasing the temperature, a small but measurable erosion of the diastereoselectivity was observed. At 100 °C, the ratio of the 6-exo-trig cyclization products **5.11** at the endpoint was *ca* 2:1, at 110 °C, 1.9:1; and at 115 °C 1.7:1. It appears that increasing temperature leads to $k_{6\text{-exo}^1} \sim k_{6\text{-exo}^2}$. The ratio of *syn/anti*-**5.11** products to 7-endo-trig product **5.12** was 8:1 which virtually matches the isolated ratios.

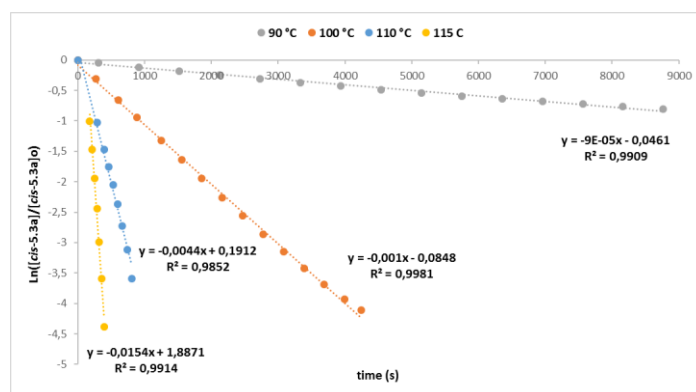


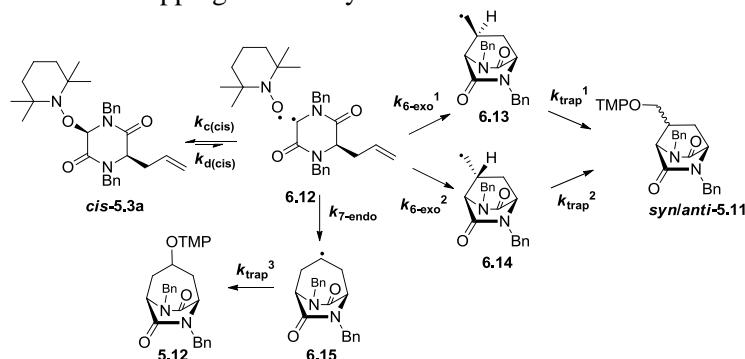
Figure 6.12. Kinetics of consumption of *cis*-**5.3a** at 90 °C, 100 °C, 110 °C and 115 °C.

The rate constants for the consumption of *cis*-**5.3a** were $9.00 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$, $1.00 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$, $4.40 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ and $1.54 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$ at 90 °C, 100 °C, 110 °C and 115 °C, respectively. A dramatic 11 times increase in conversion rate upon raising the temperature from 90 °C to 100 °C is indicative of a very slow homolytic cleavage of *cis*-**5.3a** at 90 °C, which is obviously the rate determining step of the cycloisomerization process. Hence, the rate constants obtained for the conversion of *cis*-**5.3a** can be used as an estimate of the k_d values for *cis*-**5.3a**. The activation parameters for the overall transformation were determined as: $\Delta H^\ddagger = 229.34 \text{ kJ/mol}$ (54.87 kcal/mol) and $\Delta S^\ddagger = 308.36 \text{ J/(K}\cdot\text{mol)}$ (73.77 cal/(K \cdot mol)), $E_a = 232.46 \text{ kJ/mol}$ (55.61 kcal/mol). The half life of *cis*-**5.3a** is also significantly reduced upon increasing the temperature and at 115 °C it is even less than a minute.

Table 6.3. Kinetic data for the cycloisomerization of *cis*-**5.3a** to bridged DKPs **5.11-5.12**.

T (K)	k_{obs} (s^{-1})	ΔG^\ddagger (kcal/mol)	$t_{1/2}$ (min)
363.15	9.00×10^{-5}	28.10	128
373.15	1.00×10^{-3}	27.34	12
383.15	4.40×10^{-3}	26.60	2.6
388.15	1.54×10^{-2}	26.24	0.75

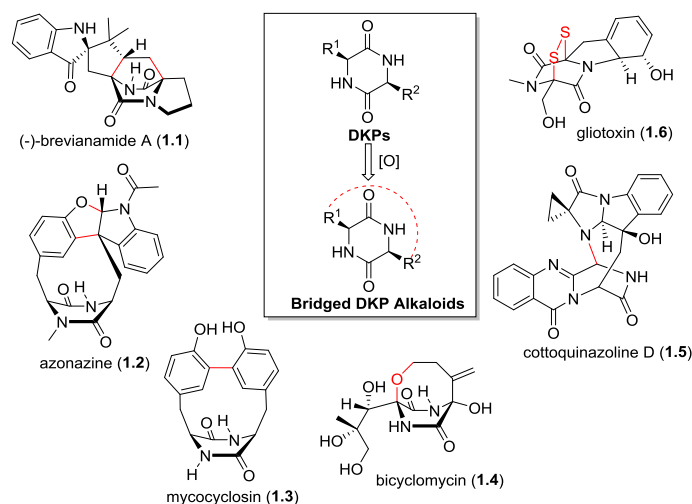
A significant difference in the activation entropies ΔS^\ddagger of the *trans/cis* isomerization from *trans*-**5.3a** to *cis*-**5.3a** (10 cal/(K \cdot mol)) compared to the cycloisomerization process of *cis*-**5.3a** to bridged DKPs **5.11-5.12** (73.77 cal/(K \cdot mol)) is striking. Such large difference can be rationalized by generation of a freely diffusing persistent and transient radicals so that a radical cyclization can occur, while in the isomerization process a rapid rebound mechanism in the solvent cage might be largely operating. These data are consistent with the mechanism, that a slow homolysis followed by a rapid radical cyclization and a followed by fast radical trapping of the bicyclic radical intermediates.



Scheme 6.4. A detailed mechanism of cycloisomerization of *cis*-**5.3a** to bridged DKPs *syn/anti*-**5.11** and **5.12**.

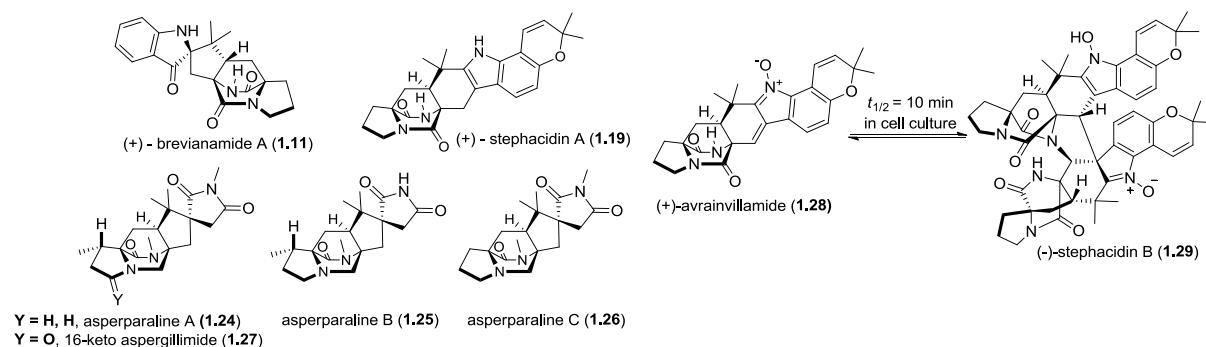
1. Úvod

Přemostěné alkaloidy, které obsahují centrální diazabicyclo[$n.2.2$]alkanový systém ($n \geq 2$), představují neustále rostoucí třídu sekundárních metabolitů. Jsou odvozeny z jednoduchého DKP skeletu skrze enzymatickou oxidativní transformaci, která spojuje pozice 3 a 6 (Obrázek 1.1). Tato třída alkaloidů vykazuje vyjimečnou rozmanitost, která plyne z rozličných typů a velikostí můstků. K nejběžnějším přírodním přemostěným DKP alkaloidům patří zástupci skupiny prenylovaných indolových alkaloidů ($n = 2$), například brevianamid A (**1.1**),¹ Azonazin² (**1.2**) ($n = 6$) a mycocyclozin (**1.3**) jsou metabolity metacyclophanového typu vznikající oxidativním spojením aromatických postraných retězců aminokyselin tyrosinu a tryptofanu ($n = 8$)³ obsahující delší můstky. Netypická antibiotika bicyklomycin⁴ (**1.4**) a cottoquinazolin D (**1.5**) jsou příklady zřídka se vyskytujících přemostěných DKP alkaloidů s heteroatomem obsaženým v můstku.⁵ Cottoquinazolin D obsahuje DKP jednotku kondenzovanou s anthranilovou kyselinou, čím vzniká quinazolinový cyklický systém.⁵ Epipolythiodioxopiperaziny (ETP)⁶, například gliotoxin (**1.6**), obsahují můstky složené jenom z atomů síry.



Obrázek 1.1. Příklady z pestré třídy přemostěných DKP alkaloidů

Brevianamid A je typickým zástupcem skupiny prenylovaných indolových alkaloidů, které obsahují diazabicyclo[2.2.2]oktanové jádro. Tato skupina obsahuje více než 70 zástupců s rozličnou strukturou (Obrázek 2). Strukturální rozmanitost v rámci této skupiny dává alkaloidům různé bioaktivní vlastnosti, například insekticidní, cytotoxické, anthelmintické a antibakteriální vlastnosti. Dimerický stephacidin B vykazuje vysokou protinádorovou aktivitu. Předpokládá se, že antiproliferační aktivita stephacidinu B se pojí s jeho monomerní formou avrainvillamid, jejíž neobvyklá vinyl nitronová skupina může být atakována thiolovými skupinami biomolekul.⁷ Asperparaliny vykazují silnou paralytickou aktivitu vůči hmyzu. Nedávné studie zabývající se mechanismem jejich účinku ukázaly, že asperparalin A silně a selektivně blokuje nikotinový acetylcholinový receptor (nAChR) hmyzu.⁸



Obrázek 1.2. Reprezentativní alkaloidy obsahující diazabicyklo[2.2.2]oktanový systém.

Užitečné biologické vlastnosti této skupiny alkaloidů spojené s jejich komplexní strukturou přitahují zejména v posledním desetiletí zájem syntetických chemiků. Množství syntetických přístupů a metod používajících rozličné reakční intermediaáty a strategie dokládá význam těchto přírodních látek.⁹ Mnoho z těchto alkaloidů již bylo připraveno, ale asperparalinová podskupina obsahující asperparalin A, B a C a ketoapergillimid (**1.24-1.27**) odolává snaze o totální syntézu i přes značné úsilí předních laboratoří, a i navzdory tomu, že tyto alkaloidy byly izolovány před téměř dvaceti lety.

Cíle práce: hypotéza a analýza potenciálních problémů

V souladu s dlouhodobým zájmem laboratoře U. Jahna o rozvoj reakčních sekvencí využívajících meziproducty v různém oxidačním stupni (heterointermediate), byla navržena možnost aplikace syntézy, která by vedla k výše zmíněným alkaloidům (Schéma A.1). Jednoelektronová oxidace (SET = single electron transfer) za pomoci hexafluorofosforečnanu ferrocenia (**1.84**) by mohla umožnit redox přeměnu DKP enolátu **III** na DKP radikál **IV**, u kterého lze očekávat, že podlehe 6-*exo-trig* cyklizaci na připojený alken za vzniku přemostěného cyklického systému a terciárního radikálu **V**, který by mohl být dále oxidován na terciární karbokationt **VI**, který následně v roli nukleofilu atakuje indolový kruh za vzniku **II**.

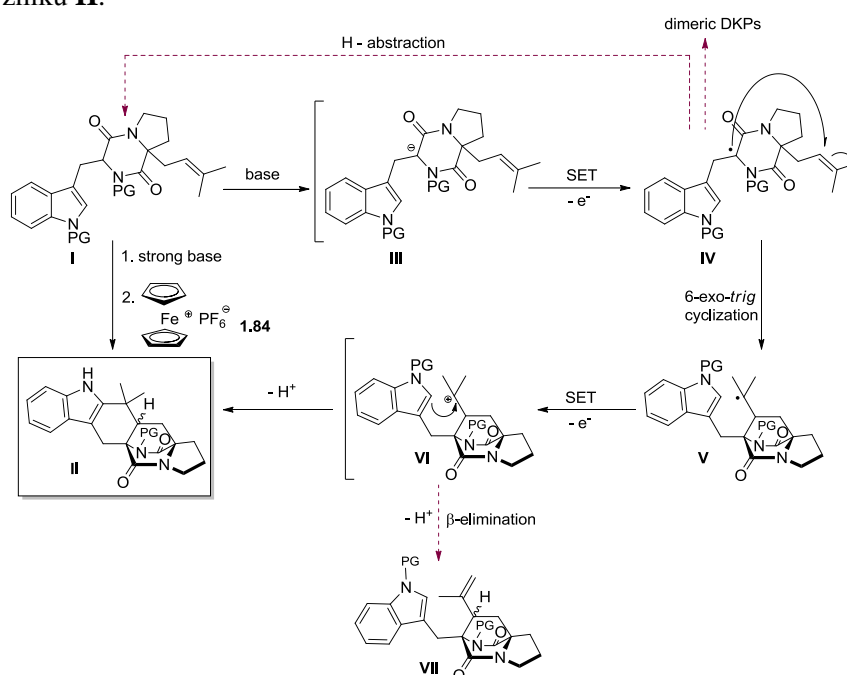


Schéma A.1. „Heterointermediate“ reakční sekvence vedoucí k prenylovaným indolovým alkaloidům, které obsahují diazabicyclo[2.2.2]oktanové jádro a některé možné komplikace (přerušované šipky).

Analýza navrženého přístupu však odhalila některé problémy, které mohou ztěžovat dosažení vytyčených cílů. Problémy mohou pramenit z inherentní reaktivity meziproductů nebo nevýhodného energetického průběhu některých klíčových transformací. Například hlavními vedlejšími reakcemi volných radikálů, ke kterým dochází, je-li radikálová cyklizace příliš pomalá, jsou dimerizace a abstrakce vodíkového atomu. Další možná vedlejší reakce, β -eliminace karbokationtů, může zase reakční sekvenci předčasně ukončit. I když je těžké předpovědět energetický průběh radikálové 6-*exo-trig* cyklizace, doufá se, že pokud volný radikál vznikne, rychle dojde k jeho cyklizaci. Nízká teplota, při které musí být radikál generován, může v případě příliš nízké reakční rychlosti cyklizace působit problémy.

S vědomím těchto možných problémů, byly počáteční cíle práce stanoveny následovně:

- 1) Vyvinutí efektivní syntézy pokročilých DKP intermediaátů a modelových sloučenin, na kterých bude možné studovat navrženou oxidativní cyklizaci DKP enolátů
- 2) Studium oxidativní chemie DKP enolátů s použitím metodologie vyvinuté ve skupině U. Jahna
- 3) V případě úspěšného provedení bodu 1) a 2) vyvinutí nové cesty k přemostěným DKP alkaloidům, které obsahují bicyclo[2.2.2]dizaoktanové jádro

- 4) Aplikace vyvinuté metodologie v syntéze vybraných alkaloidů
- 5) Studium možnosti rozšíření vyvinuté metodologie na syntézu nepřírodních trojrozměrných přemostěných DKP bicyclomycinových struktur s omezenou konformační volností (bicyclo[*n*.2.2]piperazindiony, *n*>2).

Vedle těchto dílčích cílů, je hlavním cílem této práce je vývoj ucelené, praktické, obecné a konceptuálně nové radikálové syntézy různých přemostěným DKP. Předpokládáme, že aplikace PRE efektu by mohla být atraktivním atomově hospodárným řešením výše zmíněných problémů. Tento princip zajišťuje selektivní zkríženou reakci dvou volných radikálů, je-li jeden z nich persistentní a druhý reaktivní, a za podmínky, že vynikají stejnou rychlostí. Za tímto účelem byla vyvinuta nová třída alkoxyaminů odvozených od DKP. Jádrem vyvinuté metody je snadná a reversibilní termální homolýza doposud neznámých alkoxyaminů **A**, kterou vznikají kaptodativně stabilizované krátce žijící radikály **R** a perzistentní TEMPO radikál (Schéma A.2).^[18] Tento degenerativní proces poskytuje radikálu **R** dostatečně dlouhou dobu života na to, aby nevratně reagoval s připojenou alkenovou jednotkou ve smyslu endo nebo exo cyklizace v závislosti na její délce a substituci. Tím se posouvá rovnováha směrem k přemostěným DKP produktům.

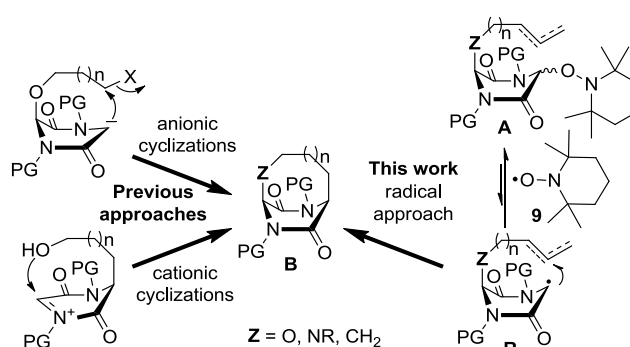
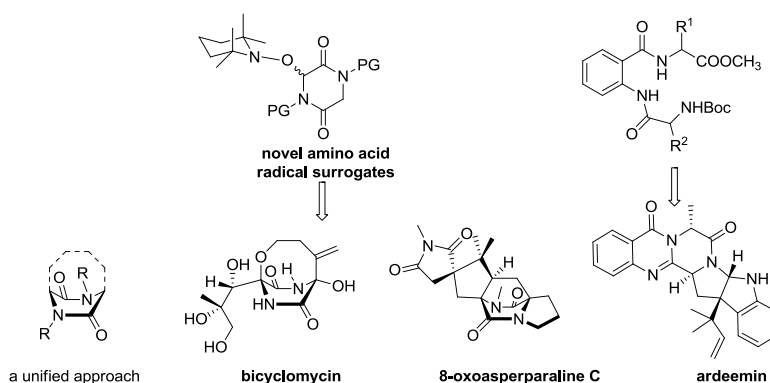


Schéma A.1. Známé polární syntetické cesty k přemostěným DKP jádrům sloučenin **B** a nová radikálová cesta založená na PRE efektu.

Byla vyvinuta nová syntetická cesta k asperparalinu **C**, která umožnila připravit pokročilé meziproducty asperparalinu **C** a jeho nepřírodní analogy. Pomocí tohoto přístupu byly připraveny různé přemostěné DKP s variabilní velikostí kruhu a taktéž bylo dosaženo formální syntézy bicyclomycinu. V rámci této studie byla navíc vyvinuta krátká a praktická cesta ke quinazolinovým alkaloidům, která byla použita ve čtyřkrokové totální syntéze ardeeminu, účinného při potlačování vícenásobně resistantní rakoviny.



Výsledky a diskuze

2. Praktická syntéza diketopiperazinů, quinazolinů a počáteční studie oxidativních radikálových cyklizací

Pro provedení studií navržených v cílech práce bylo nutné vyvinout praktickou syntézu jednoduchých DKP, vhodnou i pro práci ve velkém měřítku. Syntézu popsanou Baranem se nepodařilo zreprodukovat a proto byla vyvinuta nová, bezrozpouštědlová syntéza DKP. Metoda je založena na

zahřívání Boc-chráněných dipeptidů preadsorbovaných na silikagel na vysoké teploty. Jednoduchým přenosem tuhé reakční směsi na krátkou kolonu a následnou elucí produktů byly získány různé DKP ve vysokém výtěžku (Schéma 2.1).

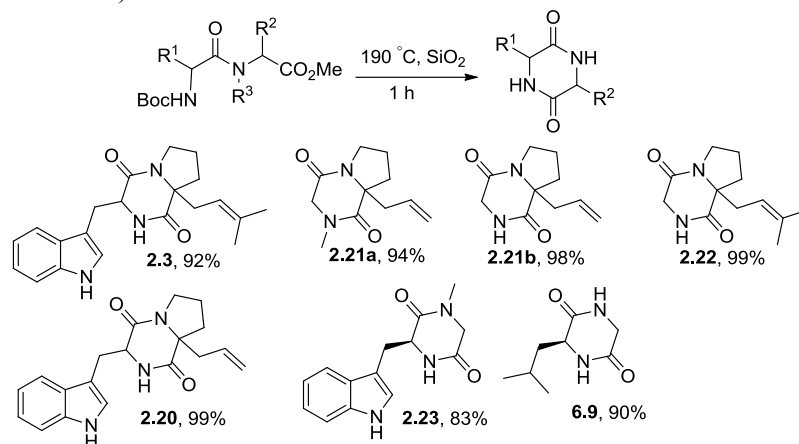


Schéma 2.1 Syntéza různých DKP z dipeptidů za pomoci silikagelu.

Byla provedena dvojitá cyklizace tripeptidů s cílem připravit quinazoliny **2.28**. Quinazolinony **2.28a-c** byly získány v dobrém výtěžku zahříváním tripeptidů **2.27a-c** adsorbovaných na silikagelu na 190 °C (Schéma 2.2). Přírodní látka glyantrypin **2.28b** byla připravena s výtěžkem 67% a to v gramovém množství. Důležité je, že látka **2.28b** nepodléhala racemizaci a po rekrystalizaci z methanolu byla získána se specifickou rotací $[\alpha]_D^{20} = +547$ (c 0.12, CHCl_3), což je v souladu s hodnotou uváděnou v literatuře, kde se absolutní hodnota pohybuje v rozmezí 522-541 pro oba enantiomery.

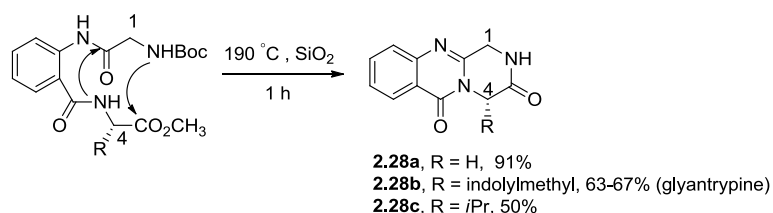


Schéma 2.2. Dvojitá cyklizace tripeptidů **2.28a-c** za pomoci silikagelu.

Následně byl pro cyklizaci připraven tripeptid **2.33** syntézou vycházející z methyl esteru *D*-alaninu **2.31**, 3,1-benzoxazin-2,4(1*H*)-dionu a Boc-chráněného *L*-tryptofanu. Dvojitá cyklizace proběhla dle očekávání, avšak v tomto případě byla pozorována nezanedbatelná epimerizace tryptofanového stereocentra. Sloupcovou chromatografií oddělitelné epimerní *trans* a *cis*-diastereomery **2.34a-b** byly získány v 37% a 46% výtěžku. Tento výsledek odhaluje sklon C1-stereocentra epimerizovat za reakčních podmínek, což může pramenit ze silné konjugace systému C6-benzen-N11-C1, která vede k enolizaci skrze meziprodukt typu **2.34c**.

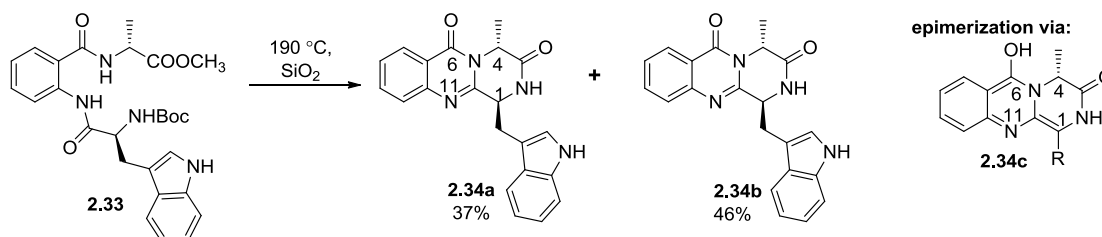


Schéma 2.3. Epimerizace uhlíku C-1 přes meziprodukt **2.34c**.

Trans-izomer látky **2.34a** byl následně přeměněn v jednom kroku na cytostatický ardeemin **2.37** a jeho diastereomer **2.38**. skrze nedávno publikovanou iridiem katalyzovanou reverzní prenylací. Tento přístup představuje biomimetickou syntézu ardeemínu, neboť bylo nedávno ukázáno, že ardeemin **2.37** je v *Aspergillus fischeri* biosyntetizován reverzní prenylací látky **2.34a** a to za pomoci prenyl transferázy ArdB. Stereochemie vedlejšího produktu 5*a*,16*a*-*epi*-ardeemínu **2.38** byla určena na základě měření NOE interakcí (Schéma 3.4).

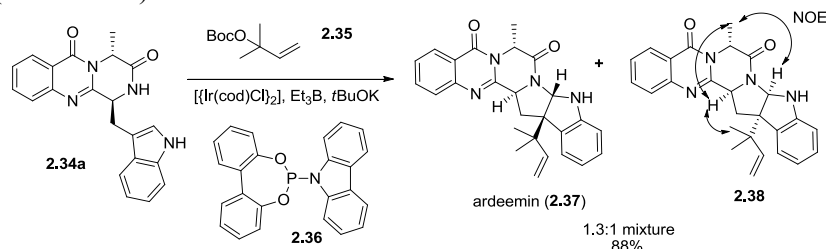


Schéma 2.4. Biomimetická syntéza ardeemínu.

První pokusy o přímou oxidativní cyklizaci DKP odvozených od tryprofanu **2.39a** a **2.39** nevedly k požadovaným cyklizačním produktům. V případě oxidace enolátu při $-78\text{ }^\circ\text{C}$ vznikal dimerický DKP **2.41**. V případě zahřátí enolátu **2.39b** s cílem urychlit žádanou cyklizaci byl pozorován zajímavý Chanův přesmyk, kterým vznikal produkt se zmenšeným kruhem **2.44**.

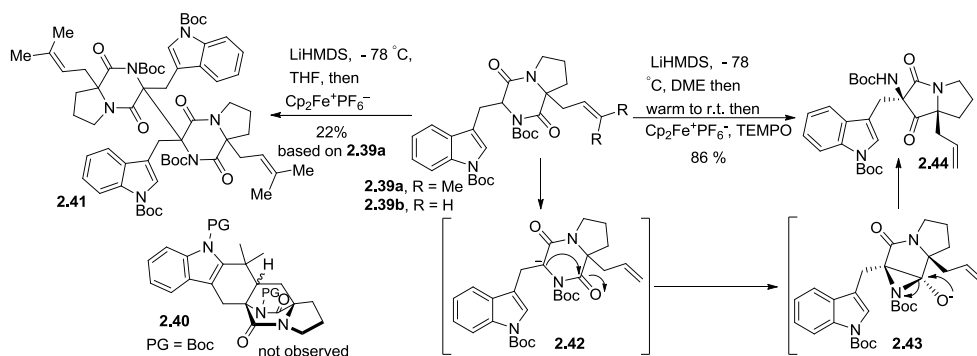


Schéma 2.5. Počáteční výsledky přímé oxidativní radikálové cyklizace.

3. Syntéza diazabicyclo[2.2.2]oktanů za pomoci PRE efektu

Souběžně se studiem výše zmíněných modelových látek, které obsahují indolový postranní řetězec, byly studovány i méně komplexní modelové DKP, které neobsahují indolovou jednotku. I v tomto případě nedocházelo k oxidativní radikálové cyklizaci. SET oxidací v přítomnosti TEMPO radikálu byly získány hemiaminalové ethery alkoxyaminového typu **3.1**, **3.7** a **3.11a-d** ve vysokém výtěžku po sloupcové chromatografii, ve formě stabilní bezbarvé pevné látky.

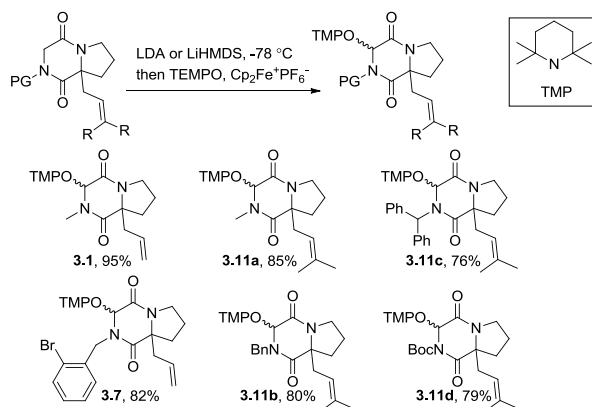


Schéma 3.1. Syntéza alkoxyamiinů odvozených od DKP.

Zahříváním degasovaných roztoků alkoxyaminů **3.1** a **3.7** v *t*BuOH na 130 °C v uzavřené nádobě po dobu 1,5-2 h byly získány diazabicyklo[2.2.2]oktan-3,6-diony **3.5** a **3.8**, které vznikají 6-exo-trig cyklizací ve vysokém výtěžku, avšak s nulovou diastereoselektivitou. V případě 2-bromobenzylovou skupinou chráněného alkoxyaminu **3.7** bylo izolováno i malé množství produktu 7-endo-trig cyklizace **3.9**.

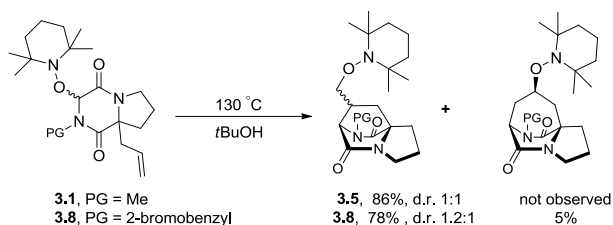


Schéma 3.2. PRE efektem zprostředkovaná termální cykloizomerizace alkoxyaminů **3.1** a **3.8**.

Následně byly zkoumány termální oxidace alkoxyaminů **3.11a-d**, které obsahují připojenou prenylovou skupinu. Namísto produktů **3.12a-d**, které obsahují TEMPO skupinu, byly získány produkty obsahující prenylovou skupinu **3.13a-d** vznikající eliminací TEMPOH. Z literatury je známo, že alkoxyaminy s TEMPO skupinou připojenou ke zbytku *t*-butylového typu jsou nestabilní a lehce podléhají eliminaci TEMPOH.

Byl pozorován jasný vliv velikosti chránící skupiny na diastereoselektivitu reakce. V případě alkoxyaminů, které obsahují *N*-Me skupinu **3.11**, nebyla reakce diastereoselektivní zatímco použití *N*-benzylové skupiny vedlo k poměru 3:1. Vznikající diastereomery *syn*-**3.13b** a *anti*-**3.13b** bylo možné oddělit. V případě *N*-Boc chráněného substrátu **3.11d** byla překvapivě pozorována pouze malá diastereoselektivita ve prospěch *anti*-diastereomeru. Nejvýraznější diastereoselektivita 17:1 ve prospěch požadovaného *syn*-diastereomeru **3.13c** byla dosažena při použití nejobemnější benzhydrylové chránící skupiny u alkoxyaminů **3.11c**. Struktury obou diastereomerů **3.13c** a **3.13d** byly potvrzeny pomocí rentgenové krystalografie.

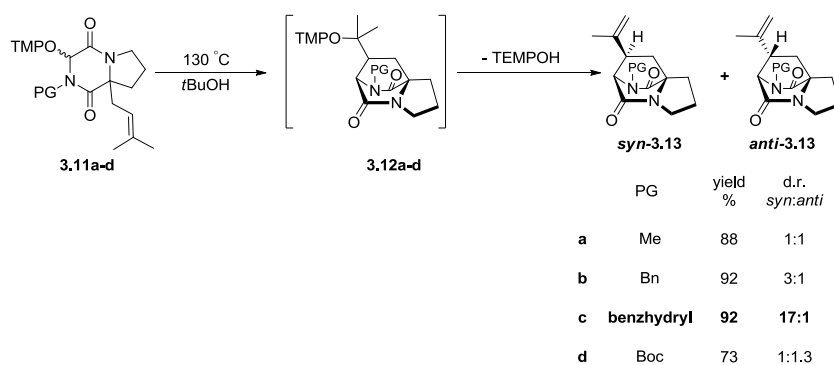
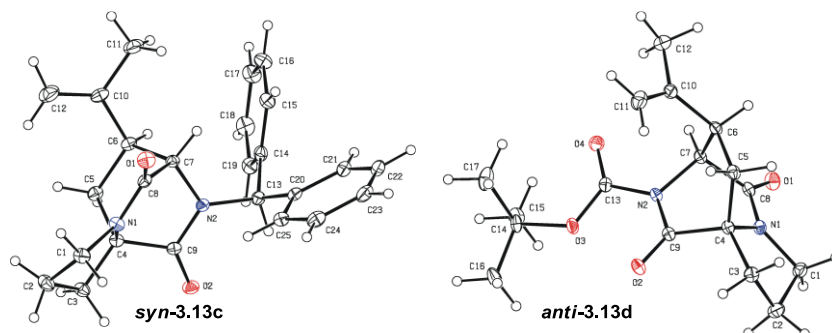


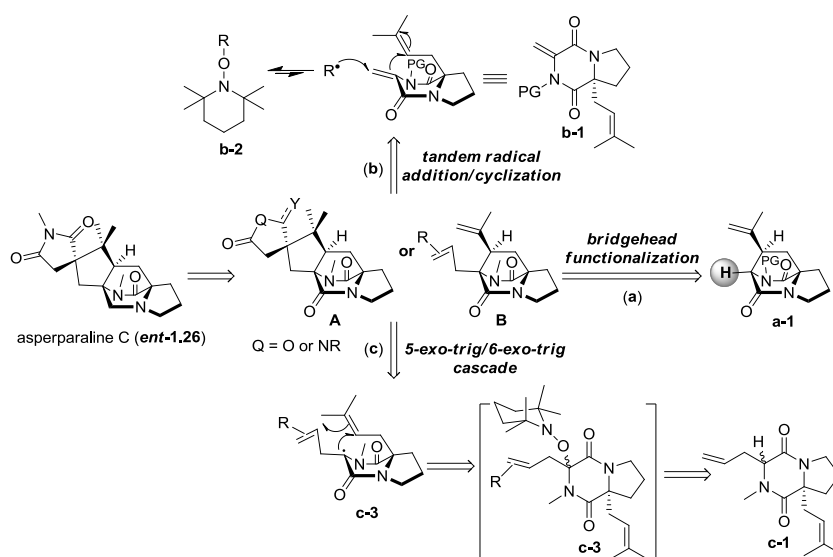
Schéma 3.3. Termální cyklizace alkoxyaminů **3.11a-d**.



Obrázek 3.1. Rentgenové struktury bicyklických sloučenin *syn*-**3.13c** and *anti*-**3.13d**.

4. Vývoj syntetické strategie vedoucí k asperparalinu C

S nově vyvinutou, PRE efektem zprostředkovanou syntézou vedoucí k alkaloidům obsahujícím diazabicyclo[2.2.2]diazaoctanové jádro, byly zkoumány tři hlavní strategie vedoucí k asperparalinu C a umožňují rychlý přístup k pokročilým meziproduktům, jako jsou **A** a **B** (Schéma 4.1). U nejpřímější cesty (**a**) se předpokládá funkcionalizace C-H skupiny na uzlu (bridgehead) bicyklického intermediátu **a-1**. Pokud bude tato cesta úspěšná, umožní vyvinutí modulární syntézy pokročilých intermediátů jako **B** z již připravených **3.13a-d**. Intermediáty jako **B** mohou být alternativně připraveny konvergentní cestou, ve které je PRE efektem zprostředkovaná metodologie rozšířena na inter- a intramolekulární tandemový proces (cesta (**b**)). Radikál **R**, který vzniká při termální homolýze vhodného alkoxyaminu jako je **b-2** v přítomnosti nenasyčeného DKP **b-1**, může atakovat terminální dvojnou vazbu u **b-1**. Následný proces 6-exo-trig cyklizace/TEMPO záchyt/TEMPOH eliminace by taktéž mohl poskytnout modulární cestu k pokročilým intermediátům funkcionalizovaným na uzlovém atomu. Konečně, i když nebyly alkoxyaminy jako **c-2** pozorovány ani izolovány v průběhu počátečních studií s DKP odvozených od tryptofanu, bylo potřeba vyzkoušet jejich tvorbu a následnou termální homolýzu *in situ* (cesta (**c**)). Tato cesta je velice lákavá díky přímému vzniku všech kruhů asperparalinu skrze kaskádu 6-exo-trig/5-exo-trig cyklizace.



Scheme 4.1. Tři cesty k asperparalinu C.

Pro otestování schůdnosti cesty (**a**) byl uskutečněn pokus o funkcionalizaci uzlového atomu bicyklické sloučeniny **syn-3.13b**. V průběhu reakce **syn-3.13b** s LDA v přítomnosti TMSCl nebyl pozorován produkt **4.1**, který by vznikal silylací enolátu v pozici uzlu kruhů. Došlo však k efektivní silylaci benzylické pozice za vzniku **4.2** jakožto 1,5:1 směsi diastereomerů. Struktura hlavního diastereomeru sloučeniny **4.2** byla prokázána pomocí rentgenové krystalografie. Benzylická pozice je očividně výrazněji kyselejší ve srovnání s pozicí ležící na uzlu kruhů, deprotonací které by vznikal enolát odporující Bredtovu pravidlu. Deprotonace je zřejmě řízena známým tzv. CIPE efektem (complex-induced proximity effect), který byl zkoumán Beakem a dalšími.

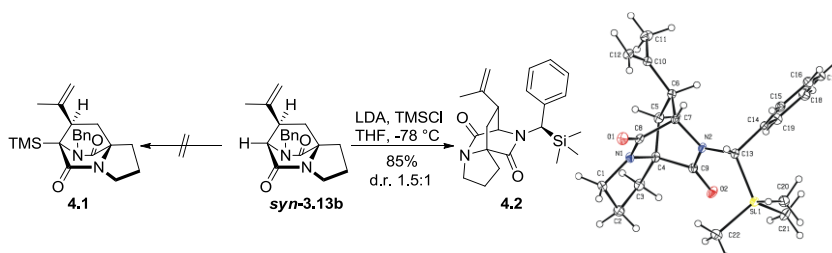


Schéma 4.2. Pokus o silylaci uzlové pozice v **syn-3.12b** a rentgenová struktura skutečného produktu **4.2**.

Jako druhý byl otestován přístup (b). Nenasycený DKP **4.6** byl připraven dvěma různými postupy. Když byl **4.6** zahříván v mikrovlném reaktoru při 180 °C po dobu 15 min s přebytkem alkoxyaminu **4.7**, vzniknul očekávaný produkt v 61% výtěžku avšak s nízkou diastereoselektivitou 2:1. Nutno podknout, že v případě klasického zahřívání v uzavřené nádobě na teplotu 130 °C a více, bylo i po několika hodinách dosaženo jen malé konverze.

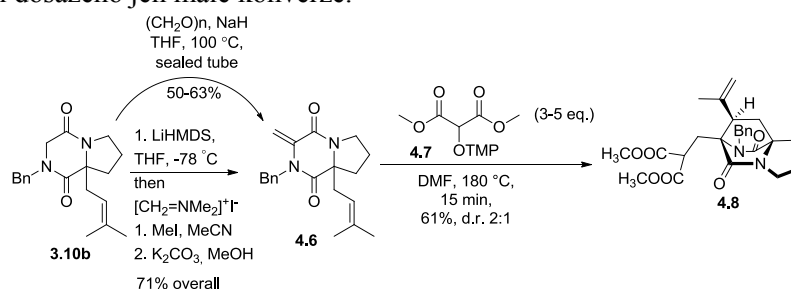


Schéma 4.3. Tandemová radikálová adice/cyklizace vedoucí k diazabicyclo[2.2.2]oktanovému jádru.

I když je tato cesta atraktivní, má několik praktických omezení. Prvním a nejdůležitějším je nízká diastereoselektivita, která je důsledkem vysoké reakční teploty. Pakliže není možné diastereomery oddělit, jako je tomu v případě látky **4.8**, je další postup v syntéze výrazně ztěženo.

4.4. Přímá cyklizace DKP skrze oxidativní *in situ* tvorbu alkoxyaminů

Následně byla vyvinuta asymetrická syntéza DKP (**R**)-**3-10a**, potřebného k zahájení syntézy *ent*-**1.62**. Pro zavedení asymetrického kvartérního uhlíkového centra na **4.9b** byl použit Seebachův princip regenerace stereocentra SRS (self-regeneration of stereocenters). Takto byl připraven **4.9** v gramovém množství pomocí popsané metody. Prenylace enolátu odvozeného od **4.9** poskytla jediný diastereomer ozaxolidinonu **4.11** ve vysokém výtěžku. Při reakci **4.11** s 2 M roztokem methylaminu v methanolu vznikla špatně rozdělitelná směs žádaného pyrrolidinu **4.12** a vedlejšího produktu *N*-formylpyrrolidinu **4.13**. Frakce kontaminované formylpyrrolidinem **4.13** byly podrobeny deformylaci zahříváním s NaOH v ethanolu. Pyrrolidin **4.12** byl převeden na DKP (**R**)-**3.10** ve dvou krocích skrze bromoacetamide **4.14**, který byl ve stejné nádobě bez izolace cyklizován na (**R**)-**3.10** za podmínek phase-transfer katalýzy.

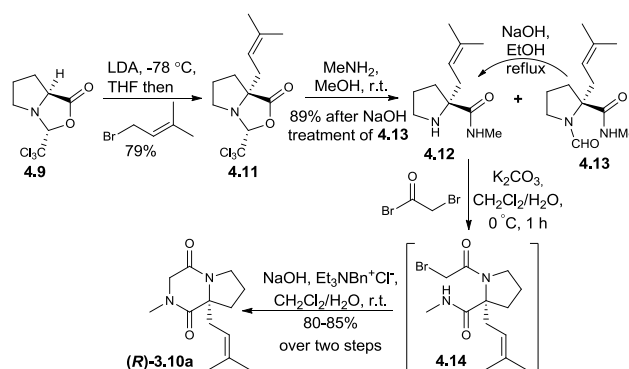


Schéma 4.4. Prenylace chirálního oxazolidinonu **4.10** a jeho přeměna na (**R**)-**3.10**.

Z takto připraveného DKP (**R**)-**3.10** byly získány DKP **4.15a-c** pomocí alkylation enolátů komerčními nebo známými bromidy. Byla-li reakční teplota pečlivě kontrolována, probíhala alkylation vysoce diastereoselektivně za vzniku pouze *trans*-diastereomerů. Když byla teplota zvýšena na laboratorní teplotu nebo dokonce jen na -20 °C, vznikaly v malém množství i více polární *cis*-diastereomery a dokonce i dialkylované produkty. Struktura a konfigurace **4.15c** byla jednoznačně potvrzena rentgenovou krystalografií a konfigurace látek **4.15a** a **4.15b** byly určeny na základě analogie. Analogickou alkylation látky (\pm)-**3.10** cinnamyl bromidem byl získán racemický **4.15db**.

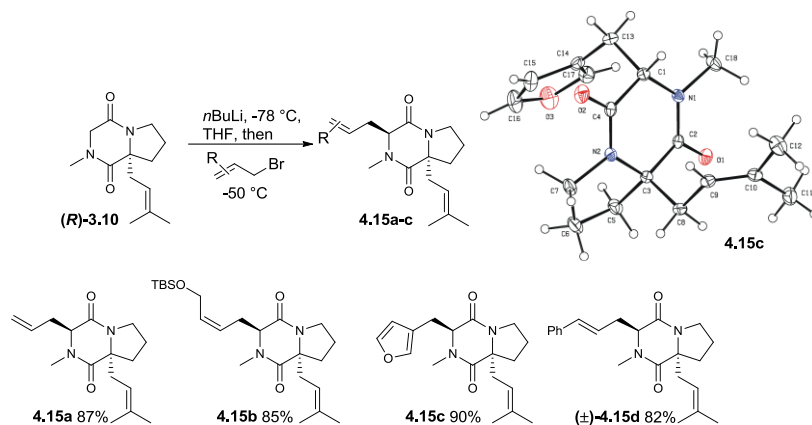


Schéma 4.5. Diastereoselektivní alkylace látek (*R*)-**3.10** a (\pm)-**3.10**, rentgenová struktura látky **4.15c**.

DKP **4.15a-d** byly následně deprotonovány pomocí LiHMDS, byl přidán TEMPO radikál a vznikající enolát byl oxidován po dávkách přidáváním $\text{Cp}_2\text{Fe}^+\text{PF}_6^-$ při $-40\text{ }^\circ\text{C}$ v DME. Po 10 min míchání byla odstraněna chladicí lázeň, na reakční baňku byl nasazen zpětný chladič a baňka byla ponořena do lázně vyhřáté na $100\text{ }^\circ\text{C}$. Reakční směs byla zahřívána k refluxu po dobu 1,5 h. Po vychladnutí byla reakční směs odpařena do sucha a následně přečištěna pomocí sloupcové chromatografie. Monocyklické produkty **4.16a-d** vznikly v dobrém výtěžku s diastereoselektivitou 5,4:1, 9,3:1, 8:1 a 5:1 pro **4.16a**, **4.16b**, **4.16c** a (\pm)-**4.16d**.

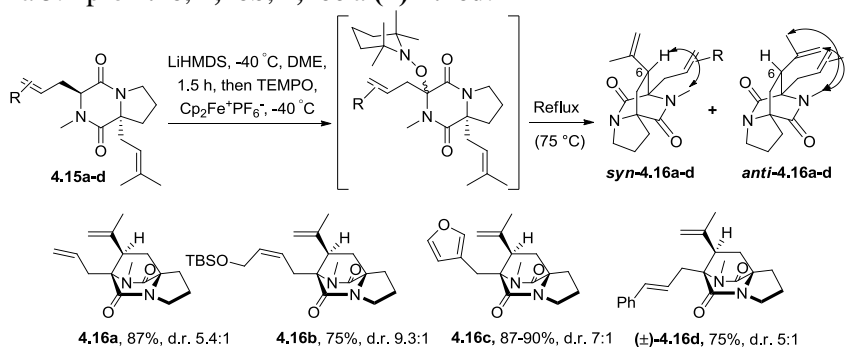


Schéma 4.6. Diastereoselektivní oxidativní cyclizace **4.15a-d** vedoucí k přemostěným DKP **4.16a-d**.

Analýza tranzitních stavů cyclizací látek **4.15a-d** odhalila, že v tranzitním stavu **A**, který vede k hlavnímu *syn*-diastereomeru, je vznikající isopropylový radikál v *gauche* nebo *syn*-pentanové interakci s CH_2R a $\text{C}=\text{O}$ skupinami. V tranzitním stavu **B**, který vede k nežádoucímu minoritnímu *anti*-diastereomeru, je vznikající isopropylový radikál v dvojité *syn*-pentanové interakci s CH_2R a *N*-Me skupinami. Rozdíl sterické náročnosti $\text{C}=\text{O}$ a *N*-Me skupin způsobuje relativně brzký (early TS) tranzitní stav **A** a tím určuje výsledek cyclizace ve prospěch *syn*-diastereomeru.

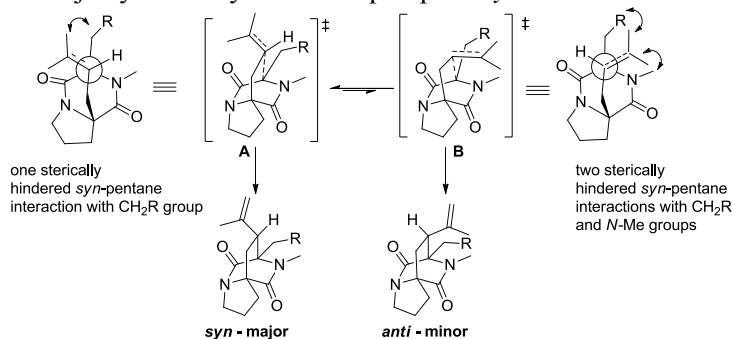


Schéma 4.7. Původ stereoselektivity radikálových cyclizací substituovaných DKP.

Baran *et al.* nedávno publikoval reduktivní radikálové cyclizace s využitím $\text{Fe}(\text{acac})_3/\text{PhSiH}_3$ u látek, které obsahují zároveň elektronově bohaté i elektronově chudé alkeny, inspirované původními pracemi Mukaiyamiho (Schéma 4.15). Reakce může probíhat i při použití podstechiometrického množství $\text{Fe}(\text{acac})_3$. Pod vlivem těchto prací byla bicyklická sloučenina **4.16b** transformována ve dvou

krocích na nenasyčený methyl ester **4.34** skrze odstranění chránicí skupiny a následnou oxidaci pomocí MnO_2 . Na této modelové sloučenině byla vyzkoušena radikálová cyklizace za použití stechiometrických podmínek popsaných Baranem. Cyklizací byl ve vysokém výtěžku získán jediný diastereomer produktu **4.35**. Tato látka byla vykrystalizována z roztoku AcOEt/hexan a konfigurace nově vzniklého stereocentra byla jednoznačně určena pomocí rentgenové krystalografie (Schéma 4.8).

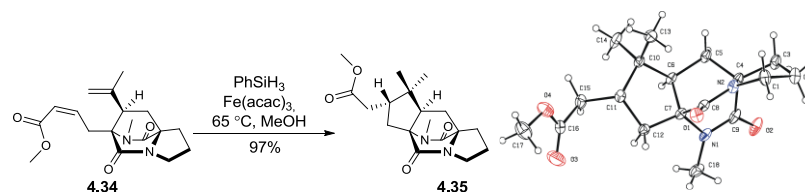


Schéma 4.8. Reduktivní cyklizace látky **4.34** a krystalová struktura látky **4.35**.

Vzhledem k těmto slibným výsledkům byla látka **4.16c** obsahující furanový kruh podrobena oxidativní dearomatizaci Diels-Alderovu reakci se singletovým kyslíkem, čímž byly získány užitečnější meziproducty pro syntézu asperparalinu C. Dearomatizace singletovým kyslíkem v přítomnosti Hünigovy báze vedla k vysoce regioselektivnímu otevření endoperoxidového intermediátu **4.39** deprotonací méně bráněné pozice. γ -hydroxybutenolid **4.40** byl získán typicky ve více než 80% výtěžcích jako 2:1 směs epimerů na hemiacetalovém centru.

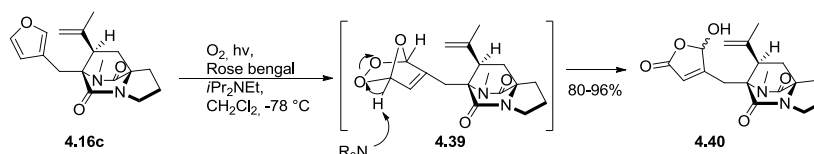


Schéma 4.9. Dearomatizace furanu pomocí singletového kyslíku

γ -Hydroxybutenolid **4.40** byl následně převeden na modelové sloučeniny pro cyklizaci. Sloučenina **4.40** byla působením NaBH_4 v methanolu převedena na butenolid **4.41**, za přítomnosti kataliticky koncentrovaného H_2SO_4 byl získán γ -methoxybutenolide **4.42** jako nerozdělitelná směs epimerů v stoprocentním poměru 1:1. Oxidací látky **4.40** pomocí DMP (Dess-Martinovo činidlo) byl jako meziproduct získán nestabilní anhydrid kyseliny maleinové **4.43**, ze kterého byla působením heptamethyldisilazanu v THF při $150\text{ }^\circ\text{C}$ po dobu 5 min získána látka **4.44** v 88% výtěžku.

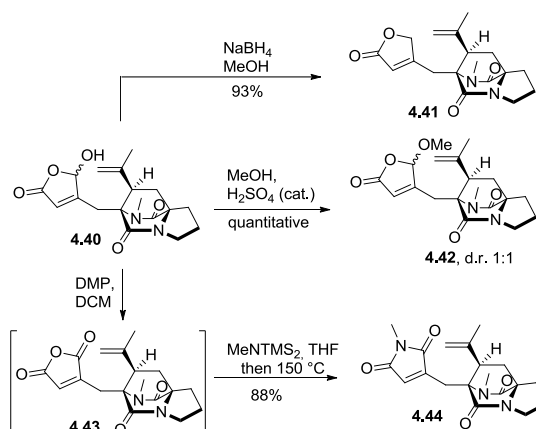


Schéma 4.10. Přeměna γ -hydroxybutenolidu **4.40** na modelový prekurzor cyklizace.

Cyklizace butenolidového substrátu **4.41** proběhla efektivně a poskytla ve vysokém výtěžku směs diastereomerů na nově vzniklém spiro centru **4.45a** a **4.45b** v poměru 3:1. NOE analýza této směsi odhalila, že žádaný diastereomer **4.45a** je minoritním produktem. Nicméně tento výsledek demonstroval proveditelnost náročné spirocyklizace, skrze kterou vznikají dvě plně substituovaná stereocentra kolem nově vzniklé C-C vazby.

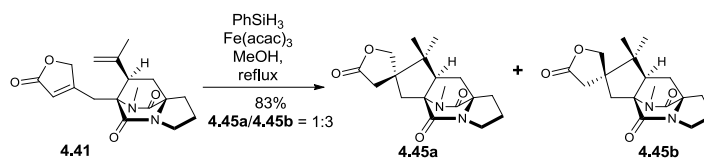


Schéma 4.11. Úspěšná reductivní spirocyclizace butenolidu **4.41**.

Cyklizace γ -methoxybutenolidu **4.42**, který byl použit jako nerozdělitelná 1:1 směs epimerů **4.42a** a **4.42b**, poskytla produkty **4.47a** a **4.47b** jako nerozdělitelnou 1:1 směs ve výtěžku 92-96% při násadě 70-100 mg. Zdá se, že každý z epimerů **4.42a** a **4.42b** cyklizuje stereoselektivně na látky **4.47a** a **4.47b** skrze tranzitní stavy **4.46a** a **4.46b**. Methoxy skupina na acetalovém stereocentru tedy efektivně kontroluje přístup terciárního radikálu z opačné strany kruhu. Ačkoliv látky **4.47a** a **4.47b** nebylo možné rozdělit sloupcovou chromatografií, nechtěný diastereomer **4.47b** byl špatně rozpustný v ethylacetátu a bylo tedy možné po krystalizaci jednoznačně prokázat jeho strukturu pomocí rentgenové krystalografie.

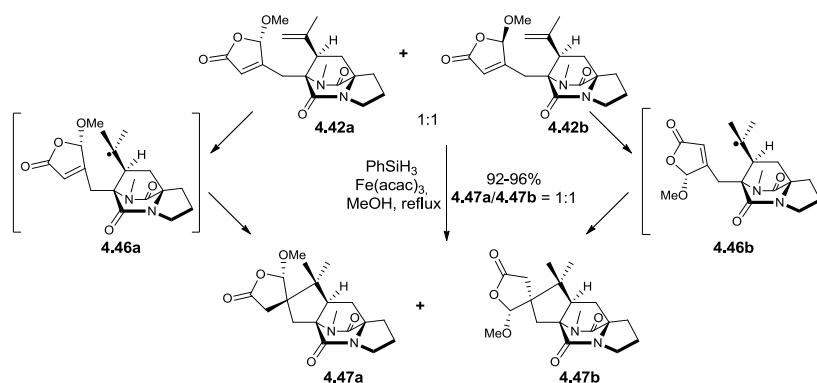
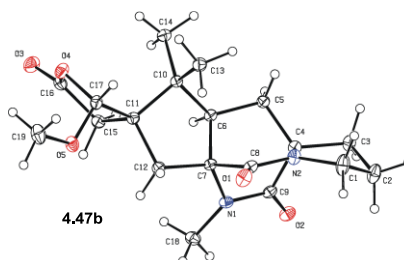


Schéma 4.12. Efektivní spirocyclizace γ -methoxybutenolidu **4.42**.



Obrázek 4.1. Rentgenová krystalová struktura látky **4.47b**.

Opakováním frakční krystalizace 1:1 směsi látek **4.47a** a **4.47b** byla získána nežádoucí látka **4.47b** v čisté formě a matečný roztok byl obohacen o **4.47a** (**4.47a**/**4.47b** 5-5,5:1). Směs byla následně použita ve dvoukrokové reakční sekvenci, kde v prvním kroku byl použit 2 M roztok methylaminu v methanolu a v druhém kroku byl hydroxylaktamový meziprodukt **4.48** oxidován pomocí PCC na spirosukcinimid **4.49** v 77% výtěžku. Sloučenina **4.49** se liší od asperparalinu C jen oxidačním stavem uhlíku C-8, který je v případě asperparalinu plně zredukován a může tedy být pojmenována jako 8-oxoasperparalin C. Počáteční pokusy o chemoselektivní redukcí C-8 amidové skupiny za použití $\text{BH}_3 \cdot \text{THF}$ nebo $\text{Et}_3\text{SiH}/\text{BF}_3$ byly neúspěšné.

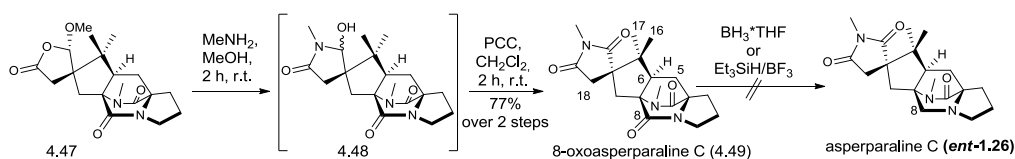


Schéma 4.13. Syntéza 8-oxoasperparalinu C (**4.49**) a počáteční pokusy o chemoselektivní redukcí C-8 amidu u látky **4.49**.

5. Syntéza různých přemostěných DKP s použitím PRE efektu

5.1. Syntéza DKP s uhlíkovým můstkem

Na základě předchozího objevu stabilních alkoxyaminů a demonstrování jejich aplikace jako zdroje radikálů byla vyvinuta metodologie syntézy rozličných nepřirodních přemostěných DKP založená na PRE efektu. Alkylací DKP **5.1** (R = Bn), **5.5** (R = benzhydryl) a **5.8** (R = (*S*)-PhCHMe) následovanou oxidativní oxyaminací enolátu byly v dobrých celkových výtěžcích připraveny alkoxyaminy **5.3a-f** a **5.11** (Schéma 5.1). Produkty **5.3a-f**, **5.7** a **5.11** byly izolovány jako směsi *cis/trans* diastereomerů v poměru 1:1 až 1:10, nebo jako jediný *trans*-izomer.

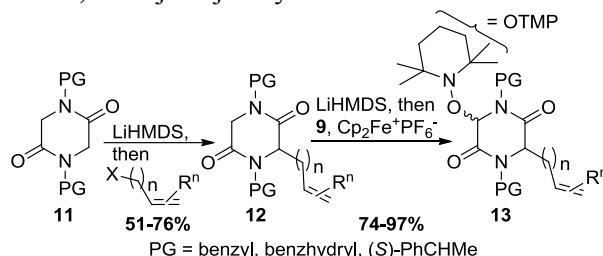


Schéma 5.1. Syntéza DKP alkoxyaminů **5.3a-f**, **5.7** a **5.11**.

Tabulka 5.1. Syntéza různých diazabicyclo[*n*.2.2]alkandionových cyklických systémů z alkoxyaminů **5.3a-f**, **5.7** a **5.11**.^[a]

Položka	Alkoxyamin	Přemostěný DKP ^[b]	Výtěžek [%] ^[c] (d.r.) ^[d]	Položka	Alkoxyamin	Přemostěný DKP ^[b]	Výtěžek [%] ^[c] (d.r.) ^[d]
1			79 (1:1) ^[e]	5			92 ^[g]
2			88 (2:1)	6			94 (3.3:1)
3			97 ^[f]	7			97 (5.6:1)
4			96	8			89 (4.6:1) ^[h]

[a] Obecné reakční podmínky: 0.02 M alkoxyamin v *t*BuOH, 130 °C, 1.5-2 h. [b] Zobrazen jenom hlavní diastereomer. [c] Izolován. [d] Stanoveno pomocí ¹H NMR surového reakčního produktu. [e] Bylo izolováno i 10% produktu 7-endo-trig cyklizace (viz experimentální část). [f] Celkový poměr na exocyklickém stereocentru: 3.4:2:2:1. [g] Poměr na exocyklickém stereocentru nebylo možné stanovit. [h] (1*S*,5*S*):(1*R*,5*R*)

Zahříváním roztoků alkoxyaminů, které obsahují terminální, 1,2-di- nebo trisubstituované olefinické akceptory v *t*BuOH na 130 °C v uzavřené nádobě po dobu 1,5-2 h, byly získány diazabicyclo[2.2.2]oktan-3,6-diony, které ve vysokém výtěžku vznikají 6-exo-trig cyklizací (Tabulka 1, položka 1, 2, 3, 5, 7). V případě *N*-benzylové skupiny byla diastereoselektivita nízká, její zvýšení

bylo dosaženo použitím objemnější *N*-benzhydroylové skupiny (položka 7). Substráty **5.3d** a **5.10**, které obsahují 1,1-disubstituovaný alken, selektivně poskytly produkty 7-endo cyklizace **5.16** a inhibitor α -glucosidázy **5.19** (položky 4 a 8). Záměna allylové skupiny za homoallylovou u látky **5.3f** překvapivě vedla k efektivní a výhradní 8-eno-trig cyklizaci, kterou vznikl ve vysokém výtěžku DKP se čtyřuhlíkovým můstkem **5.21** s diastereoselektivitou 3,3:1 (položka 6).

5.2. Syntéza *O*- a *N*-přemostěných DKP.

Snadná 8-endo-trig cyklizace látky **5.3f** byla motivací pro otestování možnosti cyklizovat lehce dostupné substráty obsahující heterotam **5.35** (Schéma 5.2). Metodologie byla taktéž použita na *O*- a *N*-přemostěné DKP obsahující diazabicyclo[4.2.2]oktanové jádro. Cyklizace těchto substrátů jsou efektivní a podařilo se získat *O*- i *N*-přemostěné DKP.

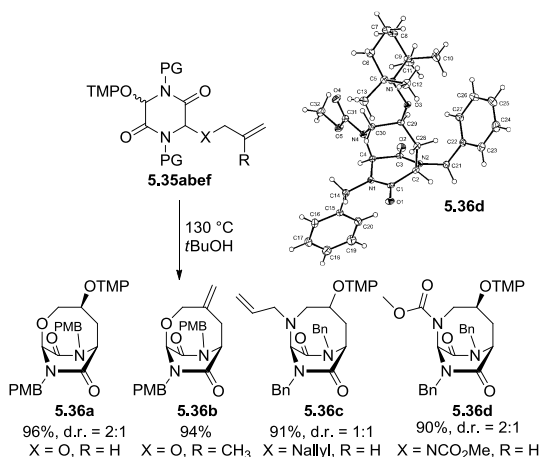


Schéma 5.2. Syntéza *O*- a *N*-přemostěných diazabicyclo[4.2.2]dekanových systémů.

Dobře fungovaly i další cyklizační módy jako 7-exo a 9-endo-trig cyklizace. Pro přímé porovnání rychlostí cyklizace v 7-exo-trig módu (prenyl) a v 8-endo-trig módu (allyl) byl připraven substrát **5.40**. Bylo zjištěno, že cyklizace v 8-endo-trig módu je skoro 9 krát rychlejší než cyklizace v 7-exo-trig módu.

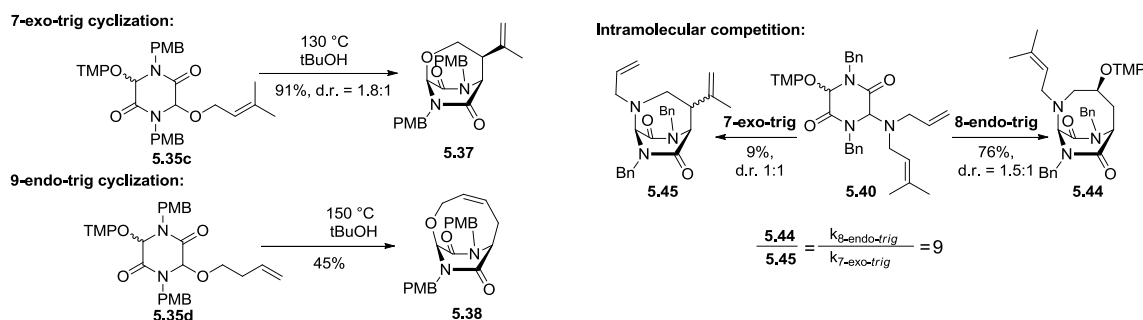


Schéma 5.3. Různé módy cyklizací alkoxyaminů **5.35c**, **5.35d** a **5.40**.

Na závěr byla vyvinutá metodologie použita ve formální syntéze antibiotika bicyklomycinu. Pro tyto účely byl navržen prekurzor obsahující dosud nepoužitou allenovou skupinu, která vystupuje jako radikálový akceptor. Potřebný alkoxyamin **5.58** byl připraven ve třech krocích ze sloučeniny **5.51** skrze oxygenativní cyklizaci v bazických podmínkách na **5.56**, Crabbeho homologaci na **5.57** a oxygenaci enolátu za podmínek vnitřního zhášení (internal quench), protože při použití standartních podmínek oxidativní alkoxyaminace docházelo k neočekávanému a rychlému přesmyku enolátu. Klíčová radikálová cykloizomerizace látky **5.58** proběhla velmi efektivně za vzniku přemostěného DKP **5.59**, který obsahuje interní dvojnou vazbu. Následujícím reduktivním odstraněním tetramethylpiperidinylvé skupiny za pomoci zinku v kyselině octové vznikl allylický alkohol **5.60**. Je důležité zdůraznit, že za kyselých a reduktivních podmínek nedošlo k poškození citlivé hemiaminalové skupiny na pozici uzlového atomu.

Reduktivním přesunutím vnitřní dvojné vazby do exo-pozice za podmínek vyvinutých Movassaghim byl získán Williamsův klíčový meziprodukt v 6 krocích a v 38% celkovém výtěžku.

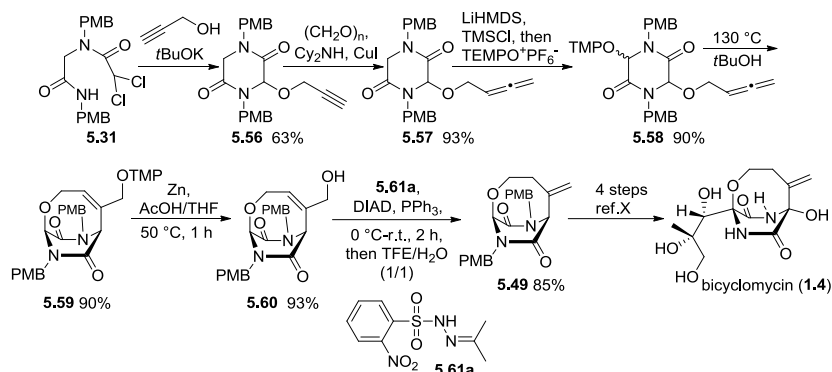
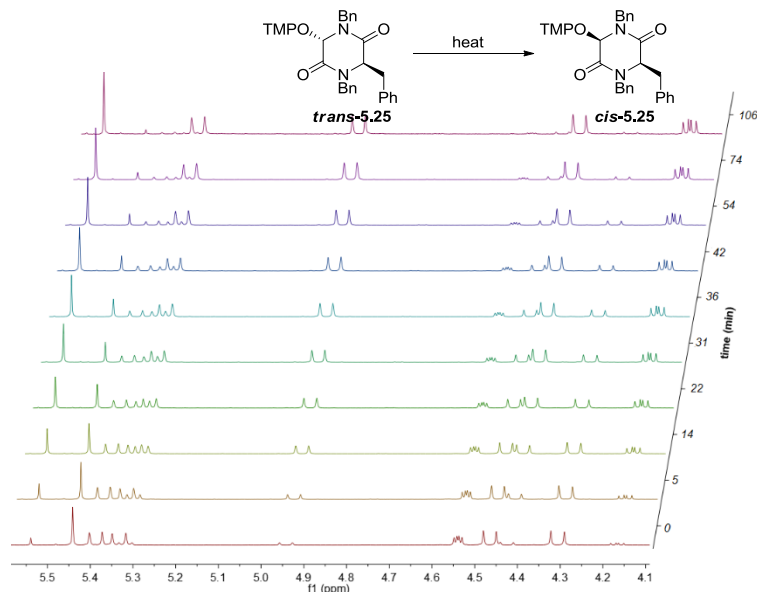


Schéma 5.4. Formální syntéza bicyklomycinu (1.4).

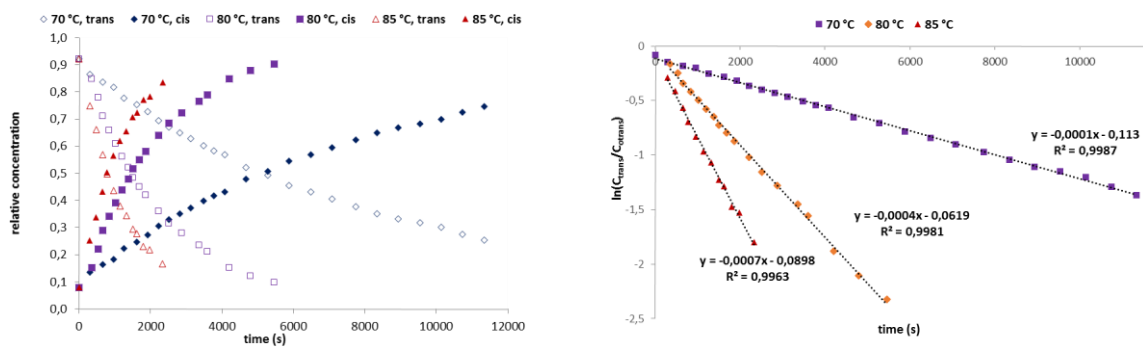
6. Vlastnosti alkoxyaminů odvozených od DKP

6.1. Neobvyklá *trans-cis* izomerizace alkoxyaminů a kinetické studie.

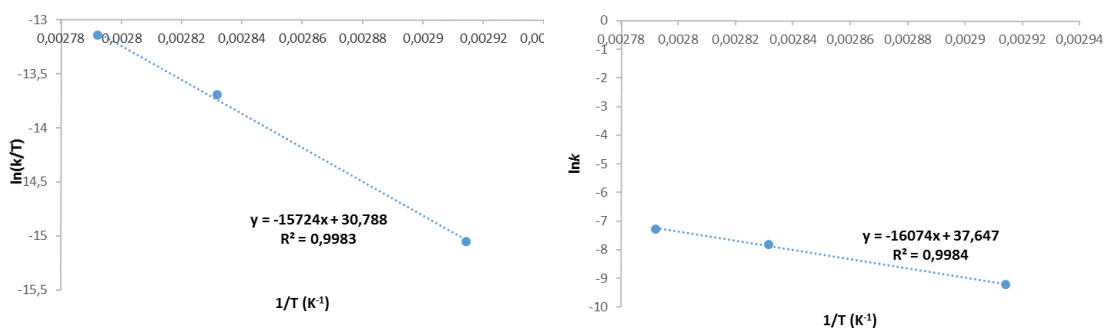
Zkusná cyklizace neoddělitelné směsi 11:1 *trans/cis*-**5.25** při 150 °C nevedla k radikálové cyklizaci na aromatický kruh. V ¹H NMR spektru odpařené reakční směsi byly nalezeny píky *jediného* diastereomeru, který byl v původní směsi minoritní, tj. proběhla úplná a čistá izomerizace *trans*-diastereomer na *cis*. Toto bylo prokázáno krystalizací výsledného produktu a rentgenostrukturní analýzou, která potvrdila relativní stereochemii jakožto *cis* a prokázala, že jde o termodynamický produkt (viz níže). Izomerace *trans*-**5.25** byla sledována ¹H NMR spektroskopii při třech různých teplotách v DMSO-d₆ (Obrázky 6.1-6.3). Experimentální data pro konverzi *trans*-**5.25** odpovídají kinetice prvního řádu (Obrázek 6.3). Poločas života *trans*-**5.25** se významně snižuje při zvýšení teploty – při 85 °C je roven pouhým 17 min. Aktivační parametry $\Delta H^\ddagger = 130.73$ kJ/mol (31.3 kcal/mol) a $\Delta S^\ddagger = 58.4$ J/(K*mol) (14,0 cal/(K*mol)) byly získány z Eyringovy rovnice (Obrázek 6.4). Tyto vedou k aktivační energii $E_a = 133,67$ kJ/mol (32 kcal/mol) pro celkovou přeměnu, beroucí 80 °C jakožto průměrnou teplotu napříč měřeními. Arrheniovo zobrazení ($\ln(k)$ vs $1/T$) dává stejnou hodnotu E_a . Dále byla určena Gibbsova aktivační energie ΔG^\ddagger při třech teplotách (Tabulka 6.1). Pozorované rychlostní konstanty pro celkový izomerační proces k_{obs} , která by měla být přibližně rovna rychlostní konstantě homolýzy vazby C-O ($k_d(trans)$) v *trans*-**5.25**, byly spočteny a nacházejí se v rozmezí $1-7 \cdot 10^{-4} s^{-1}$ v intervalu 70-85 °C, neboť homolýza *trans*-**5.25** je zde rychlost určujícím krokem.



Obrázek 6.1. Sledování přeměny *trans*-**5.25** na *cis*-**5.25** v ¹H NMR spektru při 80 °C.



Obrázek 6.2. Závislost koncentrace na čase pro izomeraci *trans*-5.25 na *cis*-5.25 a její linearizovaná forma pro reakci prvního řádu.



Obrázek 6.3. Graf linearizované formy Eyringovy a Arrheniovy rovnice pro izomeraci *trans*-5.25 na *cis*-5.25.

Tabulka 6.1. Kinetická data získaná pro izomeraci *trans*-5.25 na *cis*-5.25.

T (K)	k_{obs} (s ⁻¹)	ΔG^\ddagger (kcal/mol)	$t_{1/2}$ (min)
343,15	$1,00 \cdot 10^{-4}$	26,50	116
353,15	$4,00 \cdot 10^{-4}$	26,34	29
358,15	$7,00 \cdot 10^{-4}$	26,27	17

Podobná izomerace byla objevena i během hledání optimální teploty pro cyklizaci **5.3a**. Při zahřívání *trans*-**5.3a**, kontaminované malým množstvím *cis*-**5.3a** (cca 5:1), v *t*BuOH po dobu 2 h při 80 °C nebyla cyklizace pozorována. Nicméně, znovu byla pozorována úplná a čistá izomerace *trans*-diastereomeru na *cis*. Struktura termodynamického produktu *cis*-**5.3a** byla též prokázána pomocí rentgenostrukturní analýzy.

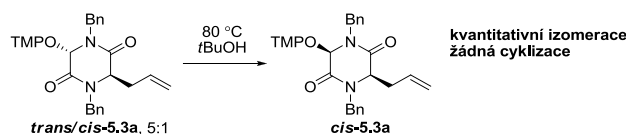
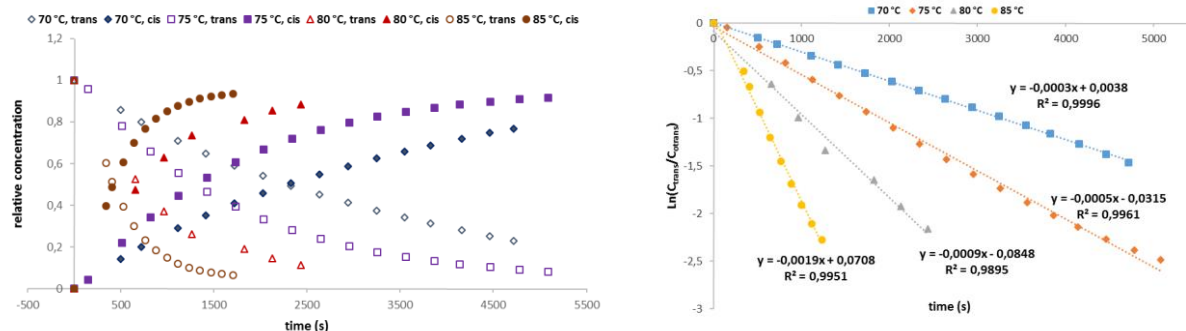
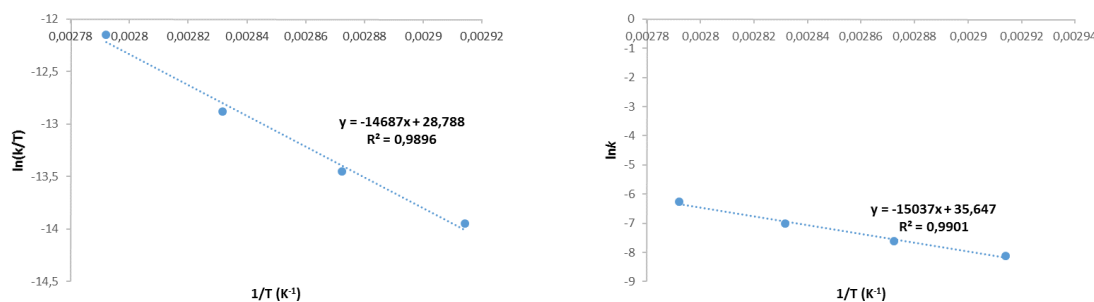


Schéma 6.1. Trans/cis isomerizace 5.3a.

Poločas života *trans*-**5.3a** je 6 min při 85 °C v porovnání k 17 min pro *trans*-**5.25** při stejné teplotě. Rychlostní konstanty izomerace k_{obs} jsou 2.5-3krát větší pro *trans*-**5.3a** v porovnání k *trans*-**5.25** (Tabulka 6.2). Aktivační parametry jsou taktéž odlišné a jsou nižší: $\Delta H^\ddagger = 122.10$ kJ/mol (29.21 kcal/mol) and $\Delta S^\ddagger = 41,80$ J/(K* mol) (10.00 cal/(K* mol), $E_a = 125.04$ kJ/mol (30 kcal/mol).



Obrázek 6.4. Závislost koncentrace na čase pro izomeraci *trans*-5.3a na *cis*-5.3a a její linearizovaná forma pro reakci prvního řádu.



Obrázek 6.5. Graf linearizované formy Eyringovy a Arrheniovy rovnice pro izomeraci *trans*-5.3a na *cis*-5.3a.

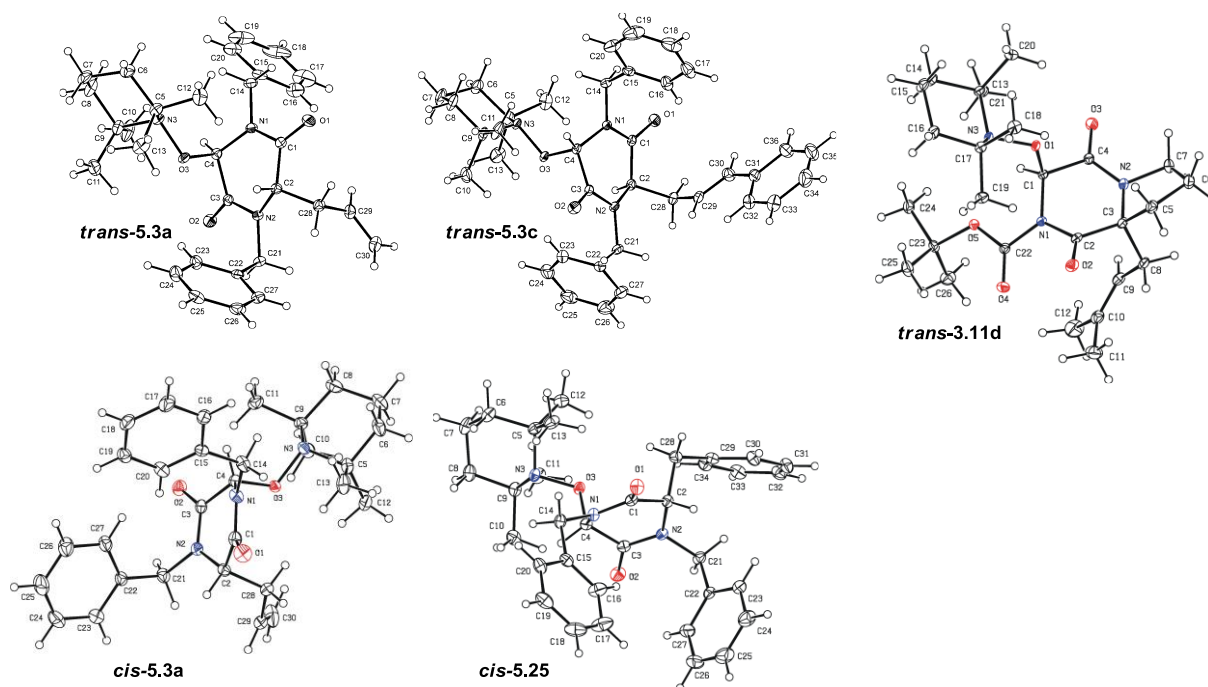
Tabulka 6.2. Kinetická data získaná pro izomeraci *trans*-5.3a na *cis*-5.3a.

T (K)	$k_{\text{obs}}(\text{s}^{-1})$	ΔG^\ddagger (kcal/mol)	$t_{1/2}$ (min)
343,15	$3,00 \cdot 10^{-4}$	25,78	39
348,15	$5,00 \cdot 10^{-4}$	25,73	23
353,15	$9,00 \cdot 10^{-4}$	25,68	13
358,15	$1,90 \cdot 10^{-3}$	25,63	6

6.2. Strukturální studie v pevném stavu a v roztoku

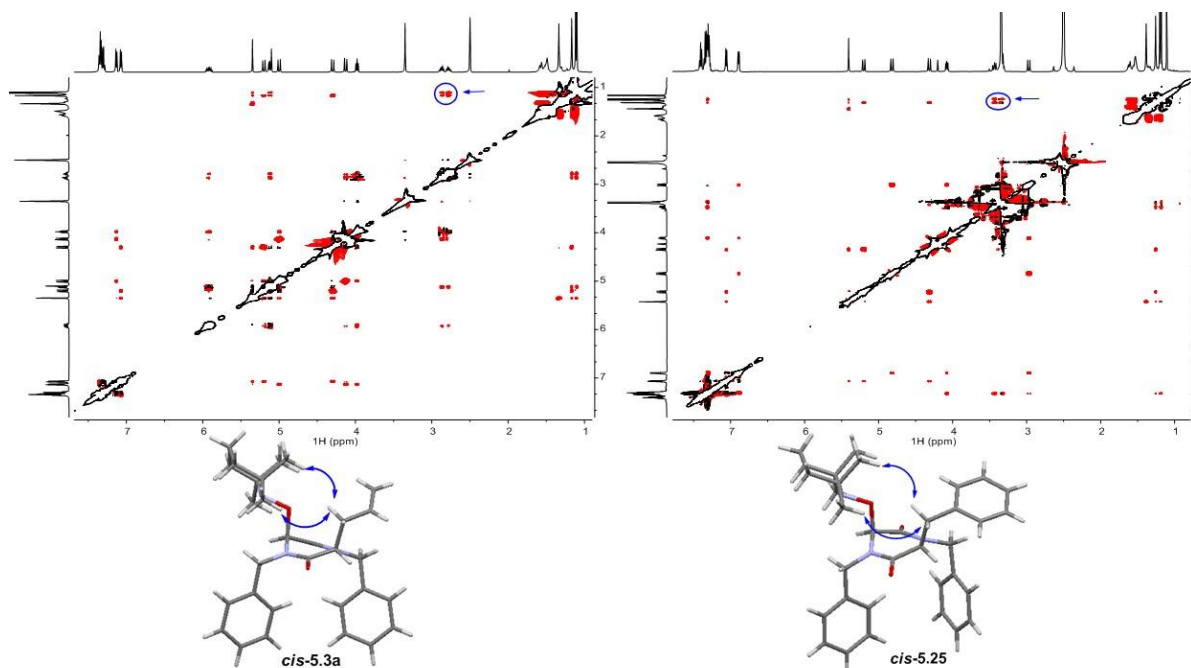
Mnoho z alkoxyaminů odvozených z DKP jsou krystalické látky, které umožnily jednoznačné určení struktury v případech kdy byly diastereomery oddělitelné (Obrázek 6.6). Rentgenové struktury pro *cis*-5.3a i *trans*-5.3a byly získány krystalizací čistých vzorků. U alkoxyaminu 5.25 bylo možné charakterizovat pomocí rentgenostrukturální analýzy jen *cis*-diastereomer. Navíc byly získány struktury od *trans*-5.3c a dokonce pro alkoxyamin *trans*-3.11d odvozený od prolinu. Zajímavá vlastnost společná pro všechny struktury je, že TEMPO vždy obsazuje pseudoaxiální polohu, navzdory tomu že je stericky velmi objemné (Obrázek 6.6). Toto pozorování vede k návrhnutí vysvětlení této tendence pomocí anomerického efektu. V *trans*-5.3a a *trans*-5.3c allylová a cinnamylová skupina obsazuje pseudoekvatoriální polohu, zatímco TEMPO obsazuje pseudoaxiální polohu. V rentgenových strukturách *cis*-5.3a a *cis*-5.25 jak TEMPO, tak i allylová/benzylová skupina v α -poloze jsou v pseudoaxiální poloze a nevykazují zvláštní stabilizující interakce. Toto nevyklučuje přítomnost stabilizujících stereoelektronických efektů v *cis*-konfiguraci. Například, relativně blízký C-H \cdots O kontakt mezi O-atomem v TEMPO a CH₂-skupinou substituentů je přítomen jak v *cis*-5.3a, tak v *cis*-5.25 se vzdálenostmi 2.45, respektive 2.67 Å. Je ovšem obtížné připsat tato pozorování nekonvenční C-H \cdots O vodíkové vazbě. Navíc, konformační sterické pnutí může být důvodem, proč jsou *trans*-diastereomery méně stabilní. Toto je podpořeno faktem, že dokonce i jednoduchá optimalizace geometrie v modelu MM2 naznačuje, že *cis*-5.25 a *cis*-5.3a jsou stabilnější než *trans*-5.25 a *trans*-5.3a

o 5.2 kcal/mol respektive 9.1 kcal/mol. K hlubšímu porozumění preference *cis*-konfigurace by bylo nicméně třeba detailnějších kvantově-chemických výpočtů.

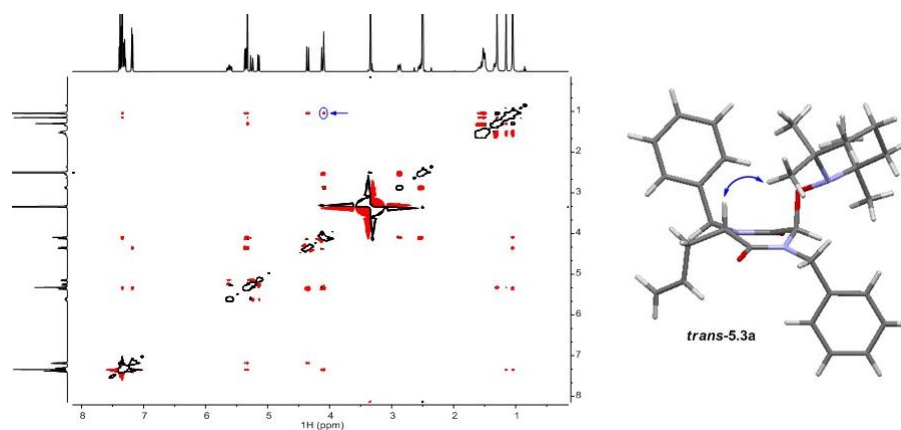


Obrázek 6.6. Rentgenové struktury vybraných alkoxyaminů odvozených od DKP *trans*-5.3a, *cis*-5.3a, *cis*-5.25, *trans*-5.3c a *trans*-3.11d.

K zjištění zda-li je preference pseudoaxiální polohy TEMPO fragmentu přítomná i v roztoku, byly provedeny NOE experimenty s dvojicemi *cis*-5.3a/*trans*-5.3a a *cis*-5.25/*trans*-5.25. Silné NOE kontakty mezi methylovými skupinami v TEMPO a CH₂-skupinami v allylové (*cis*-5.3a) resp. benzylové skupině (*trans*-5.25) vskutku pozorovány byly. Tato pozorování naznačují, že dokonce i v roztoku je diaxiální konformace *cis*-diastereomerů výrazně preferována (Obrázek 6.7).



Obrázek 6.7. NOE kontakty mezi CH₃TEMPO a CH₂R skupinami v *cis*-5.3a a *cis*-5.25.



Obrázek 6.8. NOE kontakt mezi neanomerním α CH protonem a CH_3 TEMPO v *trans*-5.3a.

V roztoku *trans*-5.3a v DMSO- d_6 byl pozorován slabý NOE kontakt mezi methylovými skupinami TEMPO a neanomerním α CH protonem. Toto pozorování odpovídá se strukturou v pevném stavu, kde allylová skupina zaujímá pseudoekvatoriální polohu a TEMPO fragment je v pseudoaxiálním uspořádání. Nicméně žádný obdobný NOE nebyl pozorován v roztoku *trans*-5.25.

Alkoxyamin s isobutylovým postranním řetězcem byl syntetizován z DKP 6.10. Za standardních oxidativních podmínek pro alkoxyaminaci, tj. za kinetických podmínek, vznikla směs *cis*- a *trans*-diastereomeru téměř v poměru 1:1.

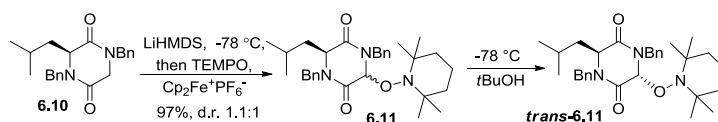
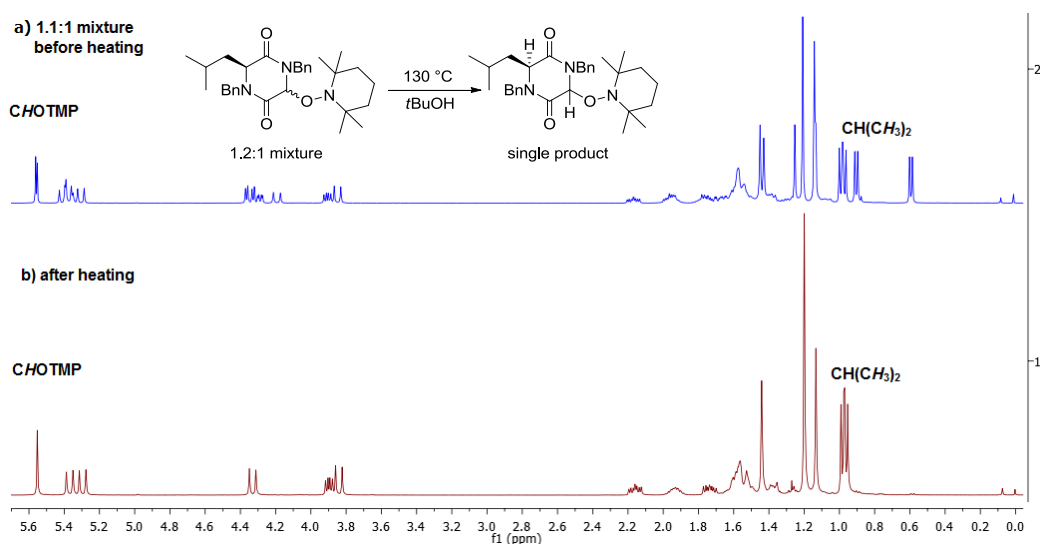


Schéma 6.2. Syntéza *trans*-6.11.

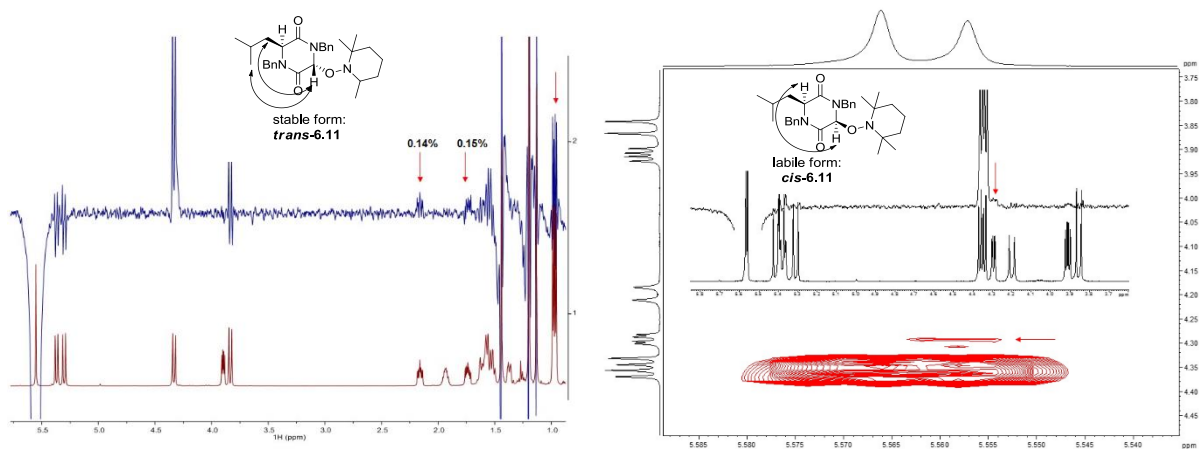
Po zahřátí tBuOH roztoku této směsi diastereomerů na 130 °C došlo k čisté a kvantitativní přeměně na jediný diastereomer. Protonové NMR signály termodynamického produktu odpovídaly signálům majoritní složky původní směsi 1:1 (Obrázek 6.9).



Obrázek 6.9. Porovnání ^1H NMR spektra 6.10 před a po zahřátí.

Tento produkt nekystalizoval a tak byla konfigurace anomerních α CH protonů termodynamického produktu určena z NOE experimentů. Namísto NOE mezi neanomerními a anomerními α CH protony v termodynamickém produktu, kterážto by hovořila pro *cis*-konfiguraci, byla pozorována slabá, ale zřetelně viditelná NOE interakce mezi anomerním α CH a CH_2 protony

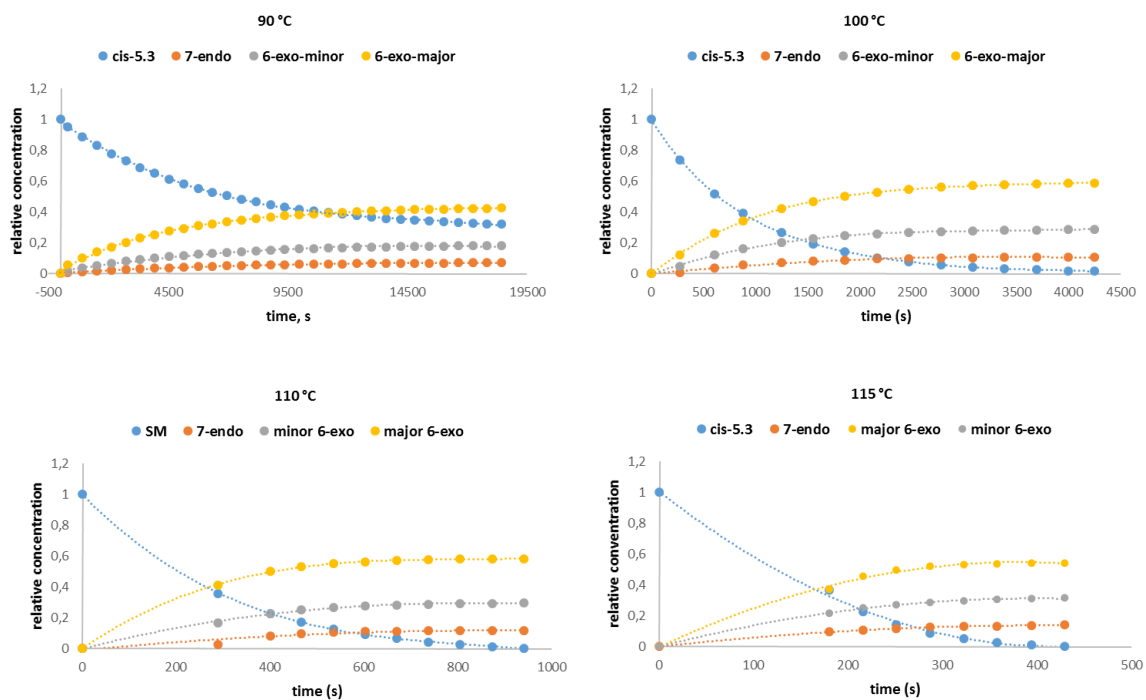
isobutylového postranního řetězce. Toto naznačovalo *trans*-konfiguraci termodynamického produktu. Když byly NOE experimenty provedeny na původní směsi 1:1:1, labilní složka, která podléhala termální izomeraci, vykazovala NOE mezi dvěma α CH vodíkovými atomy. Na základě těchto důkazů lze říci, že termodynamická stabilita *cis*- a *trans*-diastereomerů je u DKP s alifatickým isobutylovým postranním řetězcem obrácena.



Obrázek 6.10. NOE kontakty pozorované u stabilního a labilního izomeru **6.11**.

6.3. ^1H NMR sledování cyklizace řízené pomocí PRE

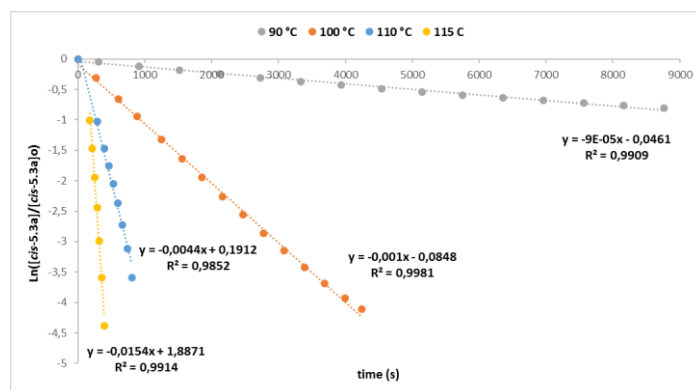
Po prokázání izomerace z *trans*- na *cis*-formu před radikálovou cyklizací byl sledován také cykloizomerační proces pomocí zahřevu roztoku čistého *cis*-**5.3a** v DMSO- d_6 při 90 °C, 100 °C, 110 °C and 115 °C.



Obrázek 6.11. Závislost koncentrace na čase pro cykloizomerizaci *cis*-**5.3** na přemostěné DKP.

Čistý úbytek signálů odpovídající *cis*-**5.3a** a nárůst signálů odpovídající cyklizačním produktům *syn/anti*-**5.11** a **5.12** byl pozorován v závislosti na čase. 6-Exo-trig cyklizační produkty **5.11** nevznikaly se stejnou rychlostí. Směs produktů *syn/anti*- **5.11** vznikala při 90 °C v poměru téměř 2.3:1, ovšem reakce byla příliš pomalá a nedosáhla úplné konverze ani po 5 h. Po zvýšení teploty byl pozorován malý ale měřitelný úbytek diastereoselektivity. Při 100 °C bylo složení směsi 6-exo-trig cyklizačních

produktů **5.11** na konci reakce cca. 2:1, při 110 °C 1.9:1 a při 115 °C 1.7:1. Ukazuje se, že zvyšující teplota vede k $k_{6\text{-exo}}^1 \sim k_{6\text{-exo}}^2$. Poměr *syn/anti*-**5.11** produktů k 7-endo-trig produktu **5.12** byl 8:1, což vcelku odpovídá poměrům izolovaných produktů.



Obrázek 6.12. Kinetika úbytku *cis*-**5.3a** při 90 °C, 100 °C, 110 °C a 115 °C.

Rychlostní konstanty pro úbytek *cis*-**5.3a** byly $9,00 \cdot 10^{-5} \text{ s}^{-1}$, respektive $1,00 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$, $4,40 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ a $1,54 \cdot 10^{-2} \text{ s}^{-1}$ při 90 °C, respektive 100 °C, 110 °C a 115 °C. Dramatické 11-násobné zvýšení rychlosti konverze při zvýšení teploty z 90 °C na 100 °C naznačuje velmi pomalé homolytické štěpení *cis*-**5.3a** při 90 °C, což je očividně rychlost určující krok celého cykloizomerizačního procesu. Tudiž, rychlostní konstanty získané pro konverzi *cis*-**5.3a** mohou být použity pro odhad k_d hodnot pro *cis*-**5.3a**. Aktivační parametry pro celkovou přeměnu byly určeny jako: $\Delta H^\ddagger = 229,34 \text{ kJ/mol}$ (54.87 kcal/mol) a $\Delta S^\ddagger = 308,36 \text{ J/(K}\cdot\text{mol)}$ (73.77 cal/(K·mol)), $E_a = 232,46 \text{ kJ/mol}$ (55.61 kcal/mol). Poločas života *cis*-**5.3a** je taktéž významně snížen při zvyšující se teplotě a při 115 °C je dokonce menší než jedna minuta.

Tabulka 6.3. Kinetická data pro cykloizomeraci *cis*-**5.3a** na přemostěné DKP **5.11-5.12**.

T (K)	k_{obs} (s ⁻¹)	ΔG^\ddagger (kcal/mol)	$t_{1/2}$ (min)
363.15	$9,00 \cdot 10^{-5}$	28.10	128
373.15	$1,00 \cdot 10^{-3}$	27.34	12
383.15	$4,40 \cdot 10^{-3}$	26.60	2.6
388.15	$1,54 \cdot 10^{-2}$	26.24	0.75

Významný rozdíl mezi aktivační entropií ΔS^\ddagger *trans/cis* izomerace z *trans*-**5.3a** na *cis*-**5.3a** (10 cal/(K·mol)) v porovnání k cykloizomerizačnímu procesu z *cis*-**5.3a** na přemostěné DKP **5.11-5.12** (73.77 cal/(K·mol)) je ohromující. Takto velký rozdíl může být zdůvodněn tvorbou volně difundujícího persistentního a přechodného radikálu, umožňující radikálovou cyklizaci, zatímco v izomeračním procesu se může účastnit mechanismus řízený rychlým zpětným odrazem zmíněných radikálů v solvatační kleci. Tato data odpovídají mechanismu, kdy je pomalá homolýza následována rychlou radikálovou cyklizací a poté rychlým záchytem bicyklického radikálového intermediátu persistentním radikálem.

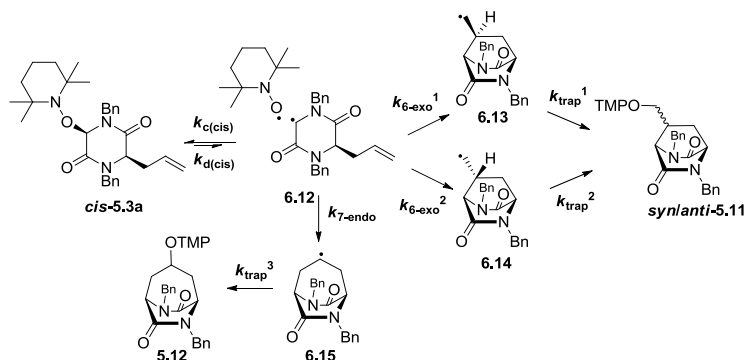


Schéma 6.3. Detailní mechanismus cykloizomerace *cis*-**5.3a** na přemostěné DKP *syn/anti*-**5.11** a **5.12**

7. References/Použitá literatura

- ¹ J. M. Finefield, J. C. Frisvad, D. H. Sherman, R. M. Williams, *J. Nat. Prod.* **2012**, *75*, 812–833.
- ² Q.-X. Wu, M. S. Crews, M. Draskovic, J. Sohn, T. A. Johnson, K. Tenney, F. A. Valeriote, X.-J. Yao, L.F. Bjeldanes, P. Crews, *Org. Lett.* **2010**, *12*, 4458–4461.
- ³ P. Belin, M. H. Le Du, A. Fielding, O. Lequin, M. Jacquet, J.-B. Charbonnier, A. Lecoq, R. Thai, M. Courcon, C. Masson, C. Dugave, R. Genet, J.-L. Pernodet, M. Gondry, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2009**, *106*, 7426–7431.
- ⁴ R. M. Williams, C. A. Durham, *Chem. Rev.* **1988**, *88*, 511–540.
- ⁵ Y. Zhuang, X. Teng, Y. Wang, P. Liu, G. Li, W. Zhu, *Org. Lett.* **2011**, *13*, 1130–1133.
- ⁶ T. R. Welch, R. M. Williams, *Nat. Prod. Rep.* **2014**, *31*, 1376–1404.
- ⁷ A. G. Myers, S. B. Herzon, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 12080–12081.
- ⁸ K. Hirata, S. Kataoka, S. Furutani, H. Hayashi, K. Matsuda, *PLoS One*, **2011**, *6*, e18354.
- ⁹ a) R. M. Williams, *Chem. Pharm. Bull.* **2002**, *50*, 711–740; b) K. A. Miller, R. M. Williams, *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *38*, 3160–3174; c) R. M. Williams, *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 4221–4259; d) C. F. Nising, *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 591–599.
- ¹⁰ S. J. Walker, D. J. Hart, *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 6214–6216.
- ¹¹ H. Wang, M.M. Sim, *J. Nat. Prod.* **2001**, *64*, 16756–1501.
- ¹² J. Ruchti, E. M. Carreira, *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 16756–16759.
- ¹³ S. W. Haynes, X. Gao, Y. Tang, C. T. Walsh, *ACS Chem. Biol.* **2013**, *8*, 741–748.
- ¹⁴ E. G. Bagryanskaya, S. R. A. Marque, *Chem. Rev.* **2014**, *114*, 5011–5056.
- ¹⁵ P. Beak, D. B. Reitz, *Chem. Rev.* **1978**, *78*, 275–316.
- ¹⁶ a) D. Seebach, M. Boes, R. Naef, W. B. Schweizer, *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 5390–5398; b) D. Seebach, A. R. Sting, M. Hoffmann, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1996**, *35*, 2708–2748.
- ¹⁷ B. Su, C. Cai, Q. Wang, *J. Org. Chem.* **2012**, *77*, 7981–7987.
- ¹⁸ R. W. Hoffmann, *Chem. Rev.* **1989**, *89*, 1841–1860.
- ¹⁹ J. C. Lo, Y. Yabe, P. S. Baran, *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 1304–1307;
- ²⁰ S. Isayama, T. Mukaiyama, *Chem. Lett.* **1989**, *18*, 1071–1074.
- ²¹ J. Kuang, S. Ma, *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 1763–1765.
- ²² M. Hayashi, M. Shibuya, Y. Iwabuchi, *Org. Lett.* **2012**, *14*, 154–157.
- ²³ M. Movassaghi, O. K. Ahmad, *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 1838–1841.
- ²⁴ a) R. M. Williams, R. W. Armstrong, L. K. Maruyama, J.-S. Dung, O. P. Anderson, *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 5748–5750; b) R. M. Williams, R. W. Armstrong, L. K. Maruyama, J.-S. Dung, O. P. Anderson, *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 3246–3253.