
UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI NAPOLI

"FEDERICO II"

FACOLTA' DI SCIENZE MATEMATICHE, FISICHE E NATURALI

DOTTORATO DI RICERCA IN SCIENZE CHIMICHE
XXI CICLO

SINTESI ED ELABORAZIONE DI MONO- ED
OLIGOSACCARIDI

Dott.ssa

SILVIA VALERIO

TUTORE:

Dott. **ALFONSO IADONISI**
PARRILLI

RELATORE:

Ch.mo Prof. **MICHELANGELO**

COORDINATORE:

Ch.mo Prof. Aldo Vitagliano

Capitolo I

Introduzione

Introduzione generale

Non capisco quel che non posso creare

Richard Feynmann

Il concetto di carboidrati quali macromolecole bio-informative come gli acidi nucleici e le proteine, è emerso solo molto recentemente nonostante essi abbiano rappresentato comunque per moltissimo tempo una delle più importanti classi di bio-molecole data la loro funzione metabolica e strutturale nei sistemi biologici (cellulosa, chitina e glicogeno).¹

Quello che è emerso dagli svariati studi di correlazione struttura-funzione su catene oligosaccaridiche e glico-coniugati è che le frazioni saccaridiche sono molto spesso coinvolte nella comunicazione cellulare.² Hanno inoltre un ruolo chiave nella risposta immunitaria, nella duplicazione virale, nell'adesione cellula-cellula,

¹ Taylor M. E., Drickamer K. in *Introduction to Glicobiology*, Oxford University Press: New York **2006**.

² Rudd, P. M.; Elliot, T.; Cresswell, P.; Wilson, I. A.; Dwek, R. A. *Science* **2001**, *291*, 2370.

nonché nello sviluppo del cancro, essendo fondamentali nella trasmissione dei segnali che rendono incontrollata la crescita cellulare.³

Va da sé che il coinvolgimento dei carboidrati in così tanti processi biologici ha suggerito il loro uso in medicina con il conseguente sviluppo ed implementazione di molti medicinali a base di carboidrati.⁴

Tuttavia, la nostra comprensione della relazione fra la struttura dei carboidrati e la loro funzione biologica è ancora molto lontana da quella raggiunta con le proteine e gli acidi nucleici. Proprio questa esigenza di decifrare il “dolce codice” ha portato la comunità scientifica a investigare sul *glicoma*, la totalità delle glicomolecole sintetizzate da un organismo, nella stessa maniera sistematica utilizzata per il DNA e per le proteine. E' stato quindi aperto un nuovo campo di ricerca, la glicomica, con lo scopo di creare un catalogo, cellula per cellula, di strutture glicaniche e di glicosiltransferasi coinvolte nella loro biosintesi.

Ovviamente la glicomica è ben lontana dalla proteomica e dalla genomica, e non solo per il fatto di essere di più recente introduzione: mentre il DNA e le proteine hanno essenzialmente sequenze lineari, rispettivamente, di quattro e venti possibili building block, gli zuccheri esibiscono spesso sequenze ramificate di 30 possibili building block tant'è che il numero di isomeri lineari e ramificati di un esasaccaride è di 10^{12} .

Così, per una sempre più esaustiva comprensione della relazione struttura-funzione biologica dei carboidrati, sono necessarie abbondanti quantità di sequenze oligosaccaridiche in forma pura e ben definite strutturalmente. Queste molecole si trovano in natura in basse concentrazioni e in forma micro-eterogenea in quanto la maggior parte delle glicoproteine non sono uniformi ma costituite da varie “glicoforme” che differiscono nel tipo, nella lunghezza, nella ramificazione, nella “decoration” terminale, nel numero e nel sito di glicosidazione. L'isolamento degli oligosaccaridi desiderati, quando possibile, è molto difficoltoso.

L'accesso a tali strutture dipende quindi dalla sintesi chimica o enzimatica. Quest'ultima è senz'altro molto promettente in quanto garantisce la regio- e stereo-selettività desiderata senza alcuna modifica chimica del substrato. Tuttavia

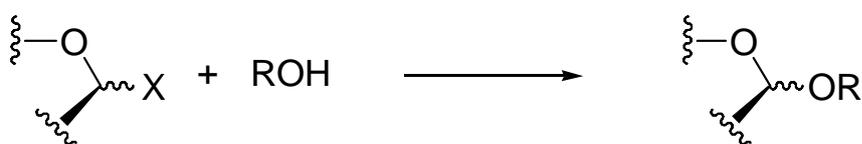
³ Treves, A. J.; Carnaud, C.; Trainin, N.; Feldman, M.; Cohen, I. R. *Eur. J. Immunol.* **1974**, *4*, 722.

⁴ *Carbohydrate-based Drug Discovery*, Wong C. H., Ed. Wiley-VCH: Weinheim, **2003**.

non sono ancora accessibili moltissime glicosiltrasferasi, enzimi alla base di tale processo, in quanto solo una parte di esse è stata sovra-espressa e una parte ancor minore è commercialmente disponibile.⁵ Poiché ogni tipo di legame richiede il suo specifico enzima, la sintesi di un oligosaccaride richiederebbe un discreto numero di enzimi e, ammesso che questi siano commercialmente disponibili, tale assemblaggio risulterebbe talmente costoso da rendere la sintesi sconveniente. Per tali ragioni la sintesi chimica di carboidrati è attualmente un tema centrale della chimica organica.

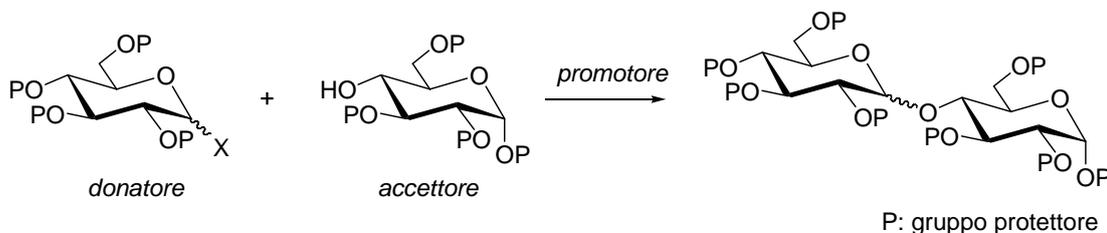
La Reazione di Glicosidazione

Lo stadio chiave della sintesi oligosaccaridica è la reazione di glicosidazione che avviene, nella maggior parte dei casi, secondo un meccanismo di sostituzione nucleofila al carbonio anomero (SCHEMA 1). Altri approcci prevedono la sostituzione al carbonio agliconico o reazioni di addizione a zuccheri 1,2-insaturi.



SCHEMA 1: Sintesi di un glicoside attraverso un meccanismo di sostituzione nucleofila

L'agente glicosilante è comunemente chiamato *glicosil donatore* ed esibisce, sulla posizione anomeric, un gruppo uscente che può essere attivato con un adeguato promotore, mentre la specie nucleofila prende il nome di *glicosil accettore* (SCHEMA 2).



SCHEMA 2: Reazione di Glicosidazione

⁵ *Carbohydrates in Chemistry and Biology*, Part II Vol.2, Ernst B., Hart G. W., Sinay P., Eds, Wiley-VCH: Weinheim, 2000.

In base al tipo di gruppo uscente esistono svariati metodi di glicosidazione che vengono scelti in base al tipo di strategia sintetica necessaria per ottenere il target desiderato. Questo tipo di approccio è dovuto sostanzialmente al fatto che ad oggi, nonostante i notevoli progressi e i numerosi studi effettuati sulle reazioni di glicosidazione, non esiste un metodo di glicosidazione che possa essere definito universalmente applicabile.

Una reazione di glicosidazione ideale dovrebbe esibire le stesse caratteristiche di una glicosidazione chemoenzimatica: veloce, pressoché quantitativa, facile sperimentalmente e soprattutto regio- e stereo-selettiva.

Stereoselettività delle reazioni di glicosidazione

La stereoselettività è senz'alcun dubbio di importanza cruciale e i problemi di stereocontrollo derivano essenzialmente dall'impossibilità di perseguire reazioni S_N2 pulite sul carbonio anomero. Ciò è dovuto all'assistenza vicinale dell'ossigeno endociclico che stabilizza il carbocatione derivante dalla perdita del gruppo uscente sulla posizione anomero, conferendo a tali reazioni un considerevole carattere S_N1 . In base all'orientazione spaziale del sostituente sul centro anomero, il nuovo legame glicosidico può essere sia α che β , ma può essere classificato anche come *1,2-trans* o *1,2-cis*, a sottolineare la relazione con il sostituente del carbonio vicinale (FIGURA 1).

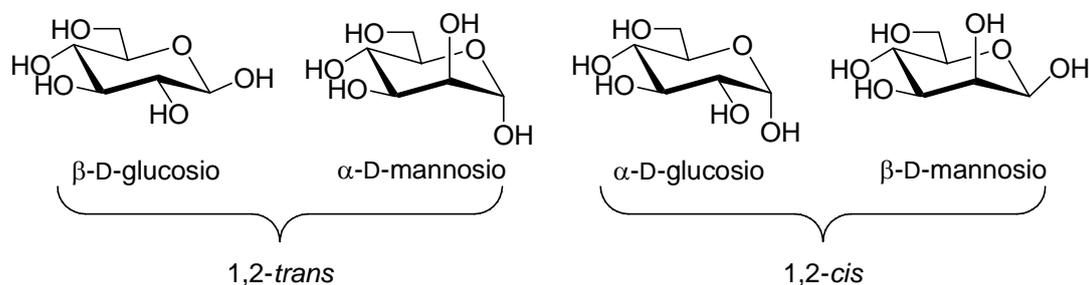
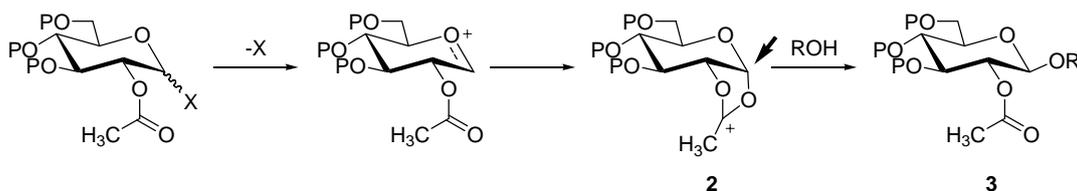


FIGURA 1: Configurazioni anomeriche del D-glucosio e del D-mannosio.

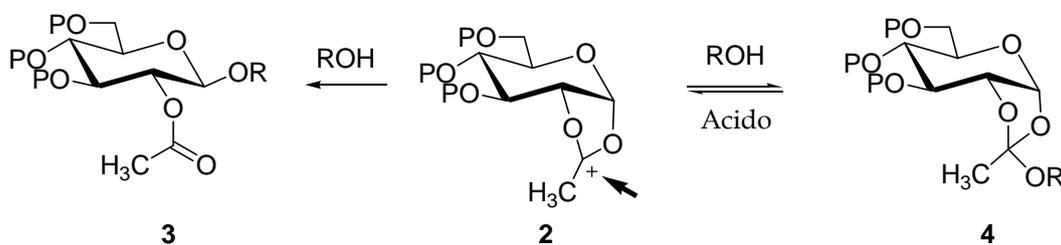
Questo tipo di classificazione permette di comprendere molto velocemente la difficoltà relativa alla costruzione di un determinato legame glicosidico. Gli 1,2-

trans glicosidi possono essere sintetizzati utilizzando la **partecipazione del gruppo vicinale**: quando un glicosil donatore reca sull'O-2 un gruppo acilico, la perdita del gruppo uscente sulla posizione anomerica è assistita anchimericamente dal frammento carbonilico e lo ione acilossonio **2** si forma molto velocemente (SCHEMA 3).



SCHEMA 3: Partecipazione del gruppo vicinale.

La reazione del nucleofilo con lo ione acilossonio **2** avviene dalla parte meno ingombra del carbonio anomerico per portare all'1,2-*trans*-glicoside **3** e alla rigenerazione del gruppo acilico. Il nucleofilo può reagire anche con l'altro carbonio elettrofilo ed in questo caso si forma l'ortoestere **4** (SCHEMA 4).



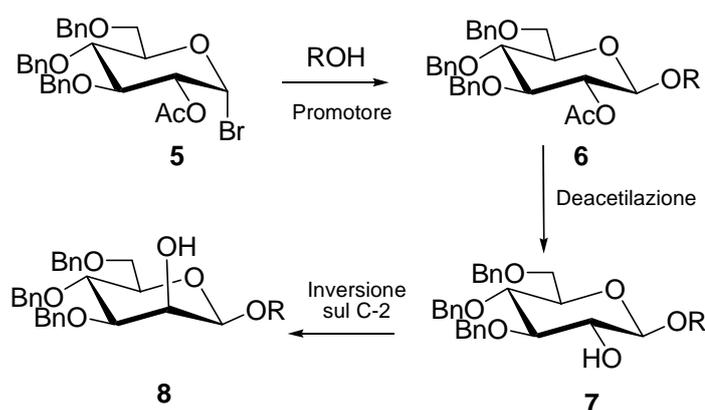
SCHEMA 4: Formazione dell'ortoestere.

La formazione dell'ortoestere non costituisce un problema perché i promotori canonici sono forti acidi di Lewis e rendono tale reazione totalmente reversibile. Quando invece vengono utilizzati promotori più blandi come i sali lantanidici nel metodo dei trialcoacetimidati⁶ i glicosil ortoesteri diventano prodotti secondari non reattivi che portano ovviamente all'abbassamento della resa di reazione. In questi casi si può ovviare al problema utilizzando, ad esempio, un ingombrante pivaloile (le cui condizioni di rimozione sono tuttavia molto più forti) oppure un

⁶ Adinolfi, M.; Barone, G.; Iadonisi, A.; Mangoni, L.; Schiattarella, M. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 5967.

gruppo metossicarbonile,⁷ recentemente introdotto, che garantisce una completa stereoselettività 1,2-*trans* senza la formazione irreversibile di prodotti secondari di tipo ortocarbonato anche con promotori blandi. Oltre a ciò un metossicarbonile si rimuove nelle stesse condizioni di un acetile e di un benzoile.

L'uso del gruppo partecipante sulla posizione 2 è il miglior espediente, e quindi il più utilizzato, per sintetizzare 1,2-*trans*-glicosidi; talvolta serve a produrre indirettamente 1,2-*cis*-mannosidi (SCHEMA 5). In questo approccio si sfrutta la veloce formazione dell' 1,2-*trans*-glucoside **6** grazie alla partecipazione vicinale del gruppo protettore sul glicosil donatore **5**, che possiede un acetile, ortogonalmente rimovibile. Una volta deprotetto sul C-2 la configurazione di **7** è invertita per sostituzione nucleofila o reazioni di ossidazione-riduzione che portano all'1,2-*cis*-mannoside **8**.



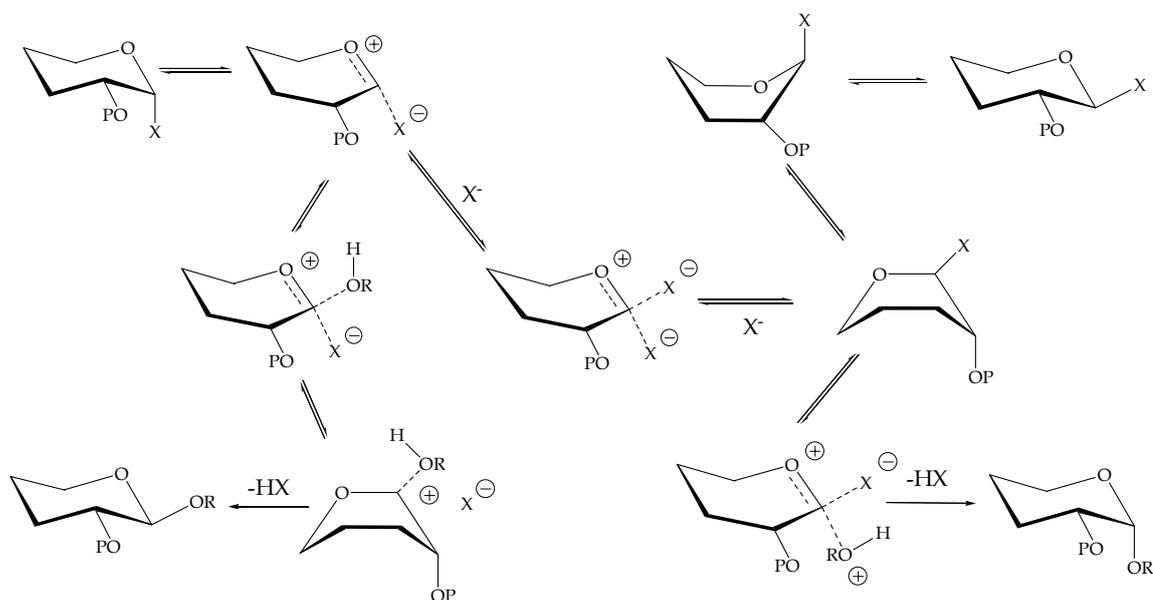
SCHEMA 5: Sintesi di β -mannopiranosidi attraverso l'inversione di configurazione al C-2.

Per quanto riguarda invece la formazione di legami 1,2-*cis* glicosidici, non si è ancora arrivati alla messa a punto di un metodo efficiente quanto quello del gruppo partecipante al C-2. Su questo metodo, fra l'altro, vi è da specificare che la presenza di un acile sull'O-2 non influenza solamente la stereoselettività ma anche, ad esempio, la stabilità del carbocatione ossonio, la velocità di reazione e le condizioni necessarie per attivare il donatore così protetto. I glicosil donatori aventi gruppi protettori elettron-attrattori sono infatti chiamati *disarmati* proprio per la loro minore reattività.⁸ Questo è il motivo principale per cui a volte si rende

⁷ a) Adinolfi, M.; Barone, G.; Guariniello, L.; Iadonisi, A. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 9005;

⁸ Mootoo, D. R.; Konradsson, P.; Udodung, U.; Fraser-Reid, B. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 5583.

necessario l'uso di metodi diversi da quello del gruppo partecipante per ottenere una 1,2-*trans*-selettività. Tra questi il più estesamente sfruttato è l'effetto solvente. I gruppi protettori più compatibili con questo metodo sono quelli di tipo etero (non partecipanti) e più specificamente: i gruppi benzilici per gli ossidrili liberi e la funzione azido per gli ammino zuccheri. In solventi non coordinanti come toluene e diclorometano, le glicosidazioni procedono con una coppia stretta, favorendo un meccanismo S_N2 di inversione di configurazione (SCHEMA 6).⁹



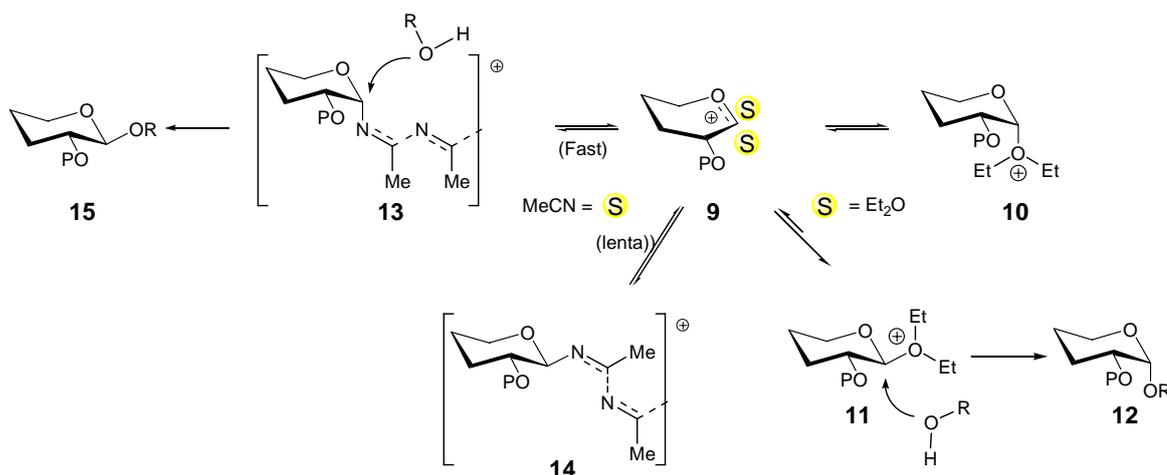
SCHEMA 6: Glicosidazioni in solventi non partecipanti.

Come già detto, la partecipazione dell'ossigeno esociclico porta sempre ad una componente S_N1. Utilizzando invece solventi coordinanti la stereo-selettività è alterata dal diretto coinvolgimento del solvente nel meccanismo di reazione ed evidenze sperimentali hanno dimostrato che solventi di tipo etero favoriscono α -glicosidi mentre solventi nitrilici danno preferenzialmente β -anomeri.

Questo andamento è stato giustificato invocando un meccanismo di reazione S_N1 nel quale l'intermedio è costituito da un addotto zucchero-solvente **9**.¹⁰ Una volta perso il gruppo uscente il catione ossonio derivante dal glicosil donatore è coordinato dal solvente (SCHEMA 7).

⁹ Lemieux, R. U.; Hendriks, K. B.; Stick, R. V.; James, K. J. *Am. Chem. Soc.* **1975**, 97, 4056.

¹⁰ a) Wulff, G.; Röhle, G. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1974**, 3, 157; b) Schmidt, R. R.; Rüker, E. *Tetrahedron Lett.* **1980**, 21, 1421; c) Schmidt, R. R.; Behrendt, M.; Toepfer, A. *Synlett* **1990**, 694; d) Demchenko, A.; Stauch, T.; Boons, G. -J. *Synlett* **1997**, 818.



SCHEMA 7: Solvatazione del catione ossonio.

Il β -addotto **11** è più stabile del catione ossonio assiale **10** dato l'effetto anomero inverso: considerando gli effetti dipolari è comprensibile il motivo per cui la presenza di una carica positiva sull'eteroatomo esociclico favorisce la disposizione equatoriale dell'aglicone piuttosto che quella assiale. (FIGURA 2).

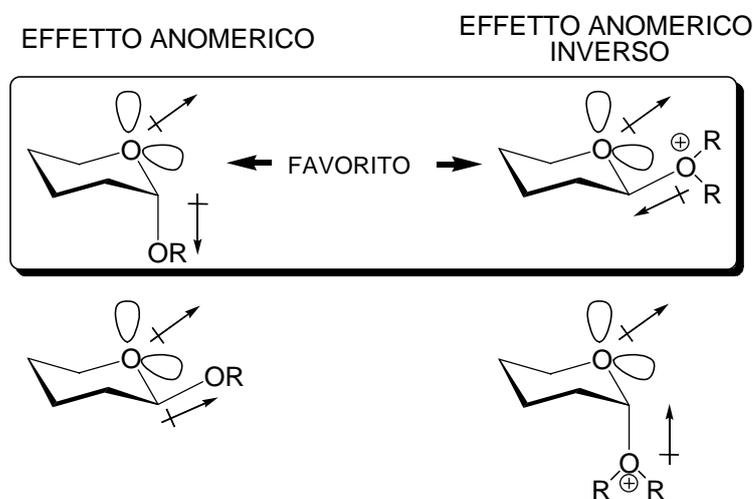
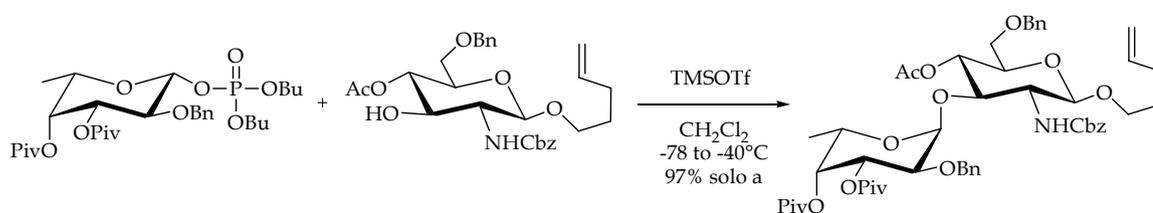


FIGURA 2: Interazione dipolo-dipolo nell'effetto anomero diretto e in quello inverso.

L'intermedio **11** reagisce con il nucleofilo e si forma così il glicoside assiale **12** che è il glicoside α desiderato. Quando sono utilizzati solventi nitrilici si applica lo stesso modello: in questo caso la conversione dell' α -addotto **13** nello ione nitrilio **14** è più lenta che nei solventi eterei a causa della formazione di coniugati nitrile-nitrilio che, stabilizzati dalla polidispersione, evolvono molto lentamente nel β -

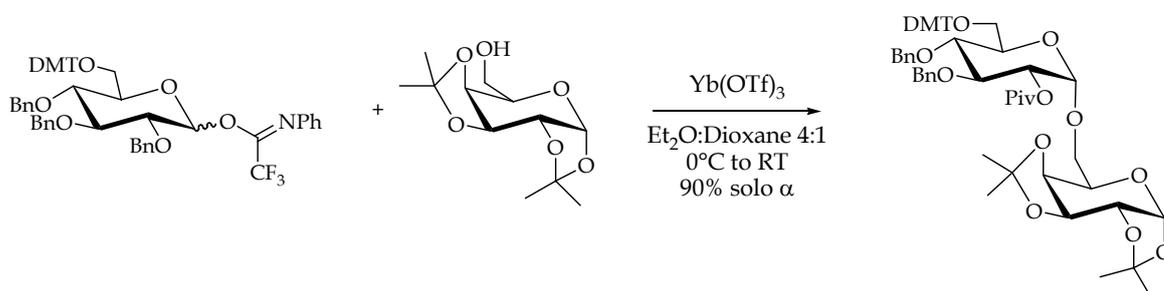
addotto. In questo caso il nucleofilo attacca l' α -addotto portando alla formazione del β -glicoside **15**. Tale teoria è stata dimostrata in vari esperimenti e lo ione nitrilio è stato anche isolato.¹¹

Oltre all'effetto solvente e a quello del gruppo partecipante, che rappresentano senza alcun dubbio i metodi principali per controllare la stereoselettività di una reazione, sono stati sviluppati altri espedienti. Uno di questi sfrutta l'effetto torsionale, sterico o *long range* di gruppi partecipanti su posizioni diverse dall'O-2. E' stato dimostrato, ad esempio, che grazie all'effetto long-range dell'acile sull'O-4 di donatori galattosidici o fucosidici si migliora l' α selettività della glicosidazione (SCHEMA 8).¹²



SCHEMA 8: Effetto di partecipazione long-range.

L'effetto α -dirigente di un gruppo protettore ingombrante è altrettanto importante: come mostrato nello SCHEMA 9 (e come riportato nel Cap II per altri substrati), il gruppo dimetossitritile sul carbinolo primario del donatore ha fornito esclusivamente il disaccaride α -legato desiderato in alta resa.¹³



SCHEMA 9: Effetto sulla stereo selettività di una glicosidazione di un gruppo ingombrante sulla posizione 6 del donatore.

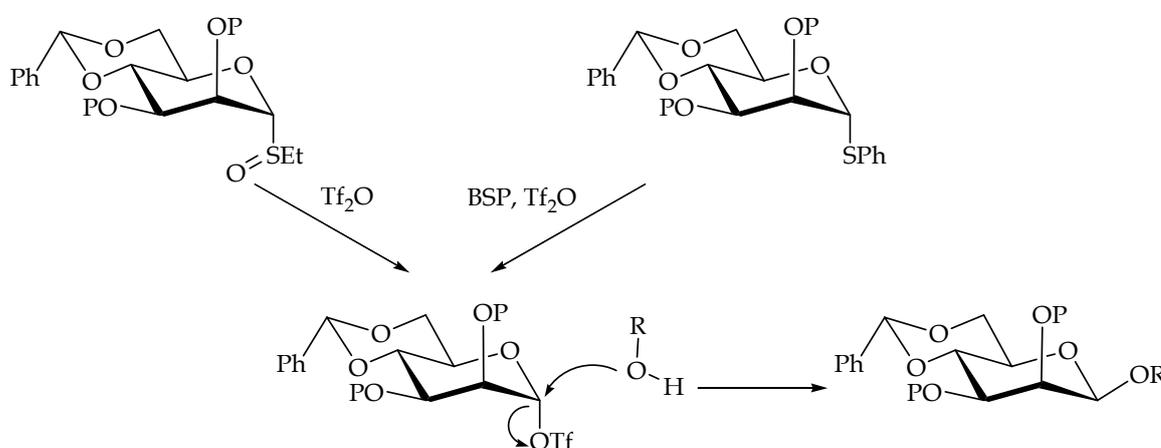
¹¹ a) Pougny, J. -R.; Sinaÿ, P. *Tetrahedron Lett.* **1976**, *45*, 4073; b) Ratcliffe, A. J.; Fraser-Reid, B. J. *Chem. Soc. Perkin Trans. I* **1990**, 747.

¹² Plante, O. J.; Palmecchi, E. R.; Andrade, R. B.; seeberger, P. H. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 9545.

¹³ Adinolfi, M.; Iadonisi, A.; Schiattarella, M. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 6479.

Scendendo ancor più nello specifico è senz'alcun dubbio importante citare la **protezione 4,6-O-benzilidene** su mannosil donatori sfruttata da Crich ed i suoi collaboratori in vari lavori per ottenere una selettività 1,2-*cis*.

I mannosil solfossidi così protetti sono prima attivati con anidride triflica che porta alla formazione di un triflato covalente; questo è rimpiazzato dall'accettore portando a β -mannosidi con una buona resa e stereo selettività. Più recentemente l' α -mannosil triflato è stato generato a partire da un tioglicoside in combinazione con anidride triflica e 1-benzensolfonil piperidina (BSP) prima di aggiungere l'accettore (SCHEMA 10).¹⁴



SCHEMA 10: Sintesi di β -mannosidi attraverso la formazione di α -triflati.

Gli esperimenti effettuati e la teoria connessa alle proprietà α -mannosilanti di un 4,6-O-benzilidene sono riportate in letteratura.¹⁵

Anche alcune caratteristiche dell'accettore possono influenzare il corso stereochimico della reazione, ed in particolare: l'intrinseca reattività dei gruppi ossidrilici che fungono da nucleofili (gli ossidrili equatoriali sono generalmente più reattivi di quelli assiali)¹⁶ e i fattori sterici, che comportano la formazione di una coppia stretta o meno fra glicosil donatore e glicosil accettore.¹⁷ Basandosi su quest'ultimo

¹⁴ Crich, D.; Sun, S. J. *Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 11217. Crich, D.; b) Smith, M. J. *Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 9015

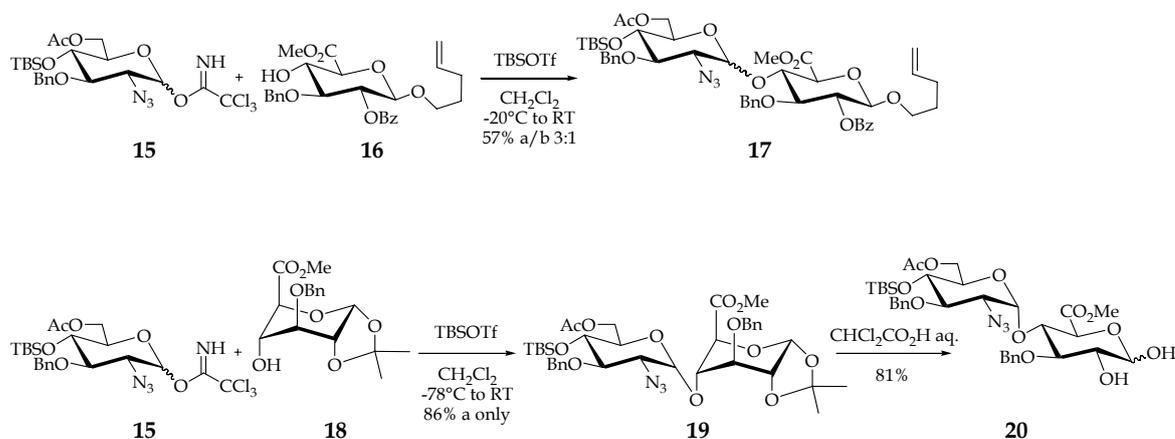
¹⁵ Crich, D.; Chandrasekera, N. S. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, 43, 5386.

¹⁶ Haines, A. H. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1976**, 33, 11.

¹⁷ Spijker, N. M.; van Boeckel, C. A. A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1991**, 30, 180.

concetto è stato sperimentato l'effetto stereodirigente che si ha bloccando la conformazione dell'accettore (monosaccaridico).¹⁸

A titolo di esempio, nello SCHEMA 11 è riportata la strategia sintetica perseguita per ottenere i building block disaccaridici inclusi nell'eparina: la reazione del 2-azido glicosiltricloroacetimmidato **15** con l'acido glucuronico accettore **16** porta ad una miscela anomica del disaccaride **17**. L'acido glucuronico **16** adotta una conformazione ⁴C₁ con l'ossidril equatoriale in 4. Bloccando la conformazione di questo accettore come ¹C₄ si ottiene l'accettore **18** che dà esclusivamente il disaccaride α -legato **20** con un'ottima resa.

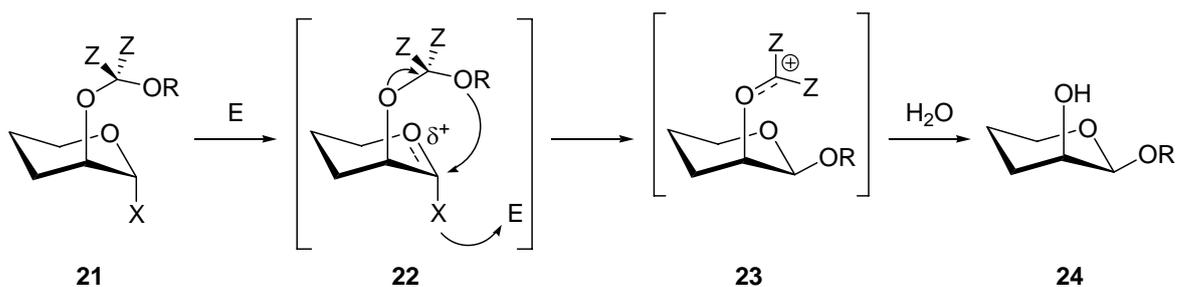


SCHEMA 11: Miglioramento dell' α -selettività bloccando la conformazione dell'accettore.

Di notevole interesse è la nuova ed efficiente strategia, introdotta da Hindsgaul e collaboratori, denominata "Intramolecular Ion Delivery" (IAD) il cui fine è ottenere β -D-mannopiranosidi.¹⁹ Tale procedura prevede l'iniziale formazione di un legame covalente fra il glicosil accettore e un gruppo sito sull'O-2 del glicosil donatore (SCHEMA 12). L'attivazione del derivato legato **21** da parte di un elettrofilo procede intramolecolarmente con un meccanismo concertato e si ottiene **23** attraverso **22**. Bloccando la reazione con l'acqua si libera l'O-2 e si ottiene il glicoside **24**.

¹⁸ Orgueira, H. A.; Bartolozzi, A.; Schell, P. Seeberger, P. H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2128.

¹⁹ Barresi, F.; Hindsgaul, O. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 9376.



SCHEMA 12: Consegna di Aglicone intamolecolare

Tale metodo ha dato risultati molto buoni su molecole semplici ma di rilievo di gran lunga inferiore su strutture oligosaccaridiche e in generale su strutture più complesse.²⁰ Sono state inoltre studiate molte varianti sulla glicosidazione intramolecolare tra cui cambi relativi alla posizione e alla lunghezza dei linker nonché il tipo e la rigidità di questi.²¹

Regioselettività delle reazioni di glicosidazione

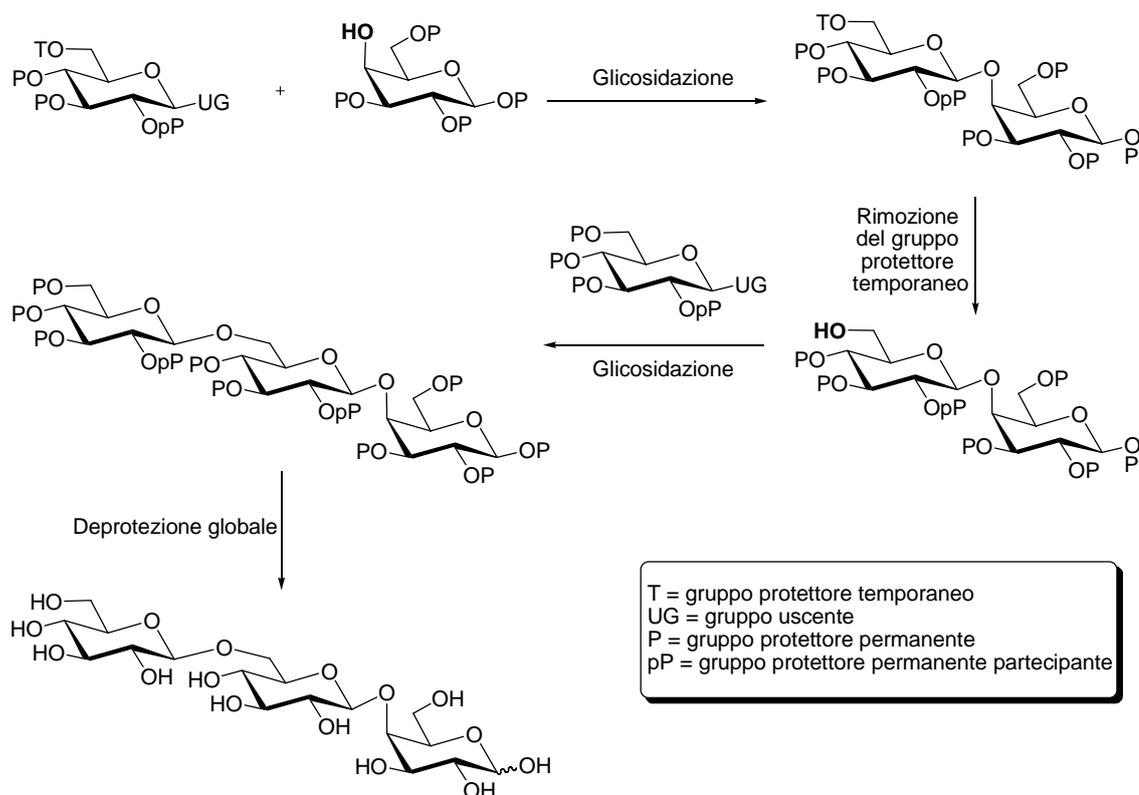
L'andamento regioselettivo di una glicosidazione è generalmente perseguito con strategie di protezione e in tutte le sintesi di molecole organiche le manipolazioni relative agli stadi di protezione e deprotezione sono centrali. Tale aspetto è ancor più rilevante nella sintesi oligosaccaridica in quanto è necessario discriminare le varie funzionalità che caratterizzando i carboidrati e che esibiscono una reattività molto simile. Oltre a ciò gli ossidrili devono essere protetti perché possono competere con il nucleofilo nella reazione di glicosidazione. Anche nel semplice assemblaggio di un disaccaride è necessario differenziare la posizione anomeric del donatore e l'ossidrile dell'accettore che deve fungere da nucleofilo. Tutti i gruppi protettori utilizzati nella sintesi oligosaccaridica devono essere stabili nelle condizioni di glicosidazione e rimovibili in condizioni che non intaccano né l'anello saccaridico né il legame glicosidico. In TABELLA 1 sono riportati i gruppi

²⁰ Barresi, F.; Hindsgaul, O. *Can. J. Chem.* **1994**, *72*, 1447.

²¹ a) Ito, Y.; Ogawa, T. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1994**, *33*, 1765; b) Steward, C. M. P.; Cumpstey, I.; Aloui, M.; Ennis, S. C.; Redgrave, A. J.; Fairbanks, A. J. *Chem. Commun.* **2000**, 1409; c) Jung, K. -H.; Müller, M.; Schmidt, R. R. *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 4423

protettori più utilizzati nella chimica dei carboidrati. Esistono svariate procedure per l'installazione e rimozione, anche selettiva di questi.²²

C'è da fare un'importante premessa relativa al fatto che i gruppi protettori utilizzati nella sintesi oligosaccaridica possono essere **permanenti e temporanei**: i primi restano installati fino al raggiungimento dell'oligosaccaride desiderato, i secondi vengono utilizzati per avere un ossidrile libero, generalmente associato ad una funzionalità di glicosil accettore, nel corso della sequenza sintetica (SCHEMA 13).



SCHEMA 13: Schema relativo alla sintesi di un trisaccaride.

I gruppi protettori permanenti devono poter essere introdotti e rimossi con alto regio-controllo e alta efficienza, devono inoltre essere stabili nelle condizioni di rimozione e installazione dei gruppi temporanei. In letteratura sono riportate delle sintesi in cui si è resa necessaria la differenziazione di tutte le funzionalità ossidriliche di uno zucchero con set ortogonali di gruppi protettori temporanei. Il

²² a) Green, T.; Wuts, P. G. M., *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3rd ed., Wiley, New York, 1999;
b) Kocienski, P. *Protecting Groups*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2000.

concetto di protezione ortogonale fu definito da Baranay e Merrifield come “un set di classi di gruppi protettori completamente indipendenti tali che ogni classe può essere rimossa in presenza di tutte le altre classi”.²³ Come schematizzato in FIGURA 3, quando gli ossidrili sono protetti rispettivamente con i gruppi A,B,C e D ed è possibile deproteggere ciascuno di essi selettivamente, si può dire che tra di essi intercorre una relazione ortogonale. Un tipico set di gruppi protettori ortogonali usato nella chimica dei carboidrati è: A: cloroacetile (a: NaHCO₃/MeOH/H₂O), B: metossibenzile (b: TFA/CH₂Cl₂), C: levulinoile (c: NH₂NH₂/AcOH/THF/MeOH), and D: TBDPS (d: HF/Py/AcOH/THF).²⁴

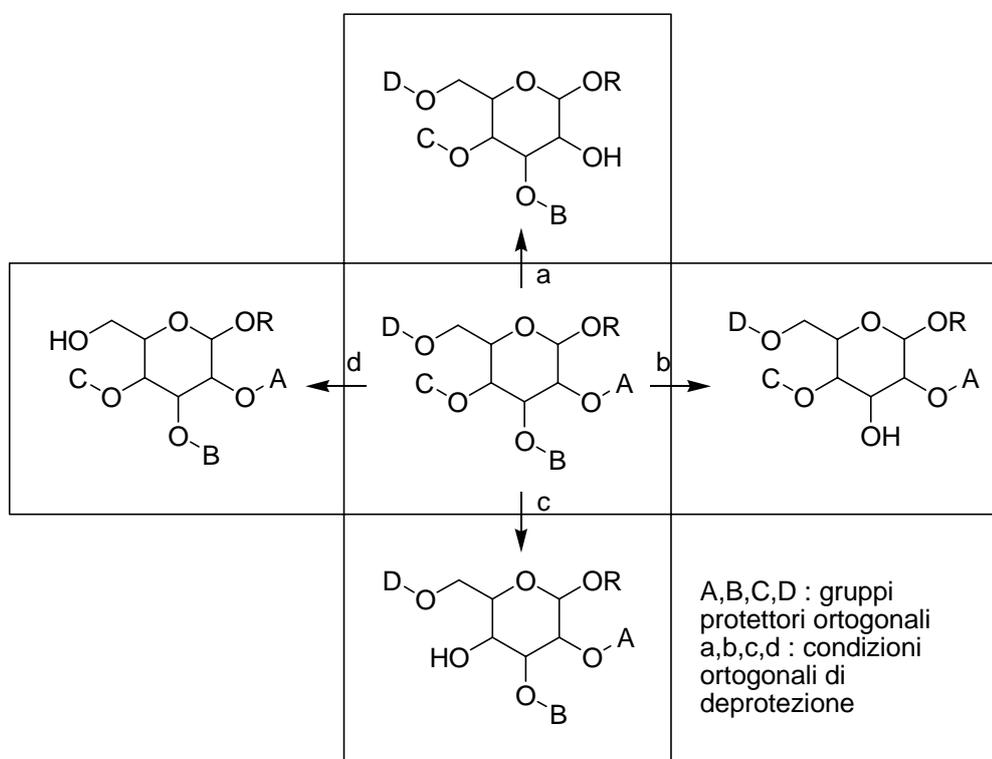


FIGURA 3 : Manipolazioni di gruppi protettori ortogonali.

I gruppi protettori permanenti più utilizzati sono acetati, benzoati, benzili, e acetali benzilidenici e isopropilidenici in quanto hanno sia la stabilità che un' agevole installazione e deprotezione.

²³ Baranay, G.; Merrifield, R. B.; *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, *116*, 7363.

²⁴ Wong, C. -H.; Ye, X. -S.; Zhang, Z. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 7137.

GRUPPI PROTETTORI OSSIDRILI

Esteri

ACETIL		Ac
BENZOIL		Bz
CLORO-ACETIL		ClAc
LEVULINOIL		Lev
PIVALOIL		Piv

Carbonati

METOSI-CARBONIL		
ALLILOSSI-CARBONIL		Allo c

Eteri

BENZIL		Bn
<i>p</i> -METOSI-BENZIL		<i>p</i> MB n
ALLIL		All
TRITIL		Tr

Silil eteri

TERZBUTIL DIMETILSILIL		TBDM S
TERZBUTIL DIFENILSILIL		TBDPS
TRIMETILSILIL		TMS
TRIISOPROPIL SILIL		TIPS

Acetali

BENZILIDENE		Bzd
<i>p</i> -METOSI-BENZILIDENE		
ISOPROPILIDENE		

GRUPPI PROTETTORI O MASCHERANTI AMMINE

Gruppi mascheranti

AZIDO		
-------	--	--

Gruppi Protettori

ACETAMMIDO		Ac
TRICLORO-ACETAMMIDO		TCA
FTALIMIDO		NPhth
TRICLORO-ETIL-CARBAMMATO		Troc

Nella programmazione di una strategia di protezione devono essere considerati molto fattori dato che, prima di tutto, i gruppi protettori modificano la reattività delle molecole sulle quali sono installati. Come già visto nel precedente paragrafo alcuni gruppi protettori possono stereodirigere la reazione con effetti di partecipazione vicinale o *long range* o grazie a costrizioni torsionali o steriche. Anche l'intrinseca reattività del glicosil donatore dipende dal tipo di gruppi protettori di cui è munito e a ciò è dovuta la nascita dei concetti *armato e disarmato*. Un *n*-pentenil glicoside disarmato (acilato) recante un ossidrilico libero può essere glicosilato da un *n*-pentenil glicoside armato (benzilato), quindi più reattivo, senza alcuna produzione del prodotto di auto condensazione dello zucchero peracetilato.²⁵ Tale concetto è stato esteso anche alle altre classi di glicosil donatori.²⁶ È possibile razionalizzare questo effetto considerando l'influenza che hanno i gruppi protettori acilici ed eterici sugli intermedi carbocationici **25** e **26**, che si formano nel mezzo di glicosidazione dopo la perdita del gruppo uscente da parte del donatore (FIGURA 4).

I gruppi acilici, elettrone-attrattori, destabilizzano l'intermedio **26** per cui il glicosil donatore da cui deriva è meno propenso a convertirsi in questo; da qui minore reattività del glicosilante in questione. I gruppi eterici hanno un effetto destabilizzante molto meno forte per cui il corrispondente donatore è più reattivo (armato)



(FIGURA 4): Intermedi carbocationici.

È abbastanza intuitivo che, per un'efficiente sintesi oligosaccaridica, devono essere sfruttate al meglio le differenti proprietà dei gruppi protettori ed è essenziale disporre di metodologie sintetiche che permettano la discriminazione

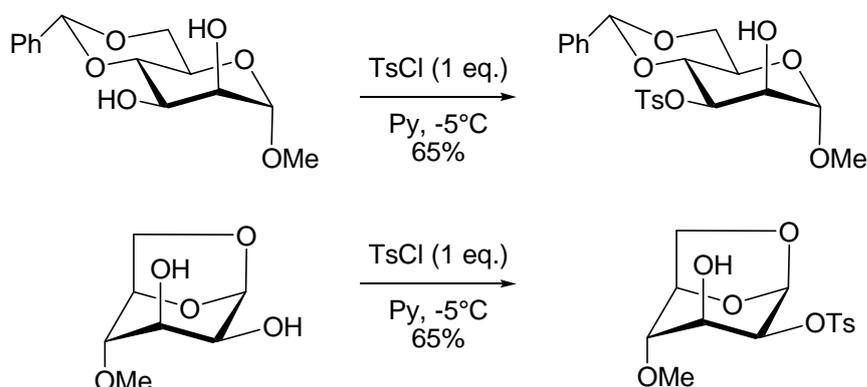
²⁵ Fraser-Reid, B.; Wu, Z.; Udodong, U. E.; Ottoson, H. J. *Org. Chem.* **1990**, *55*, 6068

²⁶ Fraser-Reid, B. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 5583

dei vari ossidrili presenti sul substrato saccaridico al fine di installare regio-selettivamente una data protezione su una determinata posizione.²⁷

Per quanto riguarda gli aldo-eso-piranosidi, vi sono tre tipi di ossidrili: quello emiacetalico sul C-1, quello primario sul C-6 e tre carbinoli secondari sul C-2, C-3 e C-4. Chiaramente, la reattività dell'emiacetale è molto differente, e quindi più facilmente differenziabile dalle altre in quanto, in condizioni acide, è soggetta ad attacco nucleofilo e spesso si installano gruppi temporanei in condizioni di Fisher proprio all'inizio di una sequenza sintetica.

Per quanto riguarda la protezione degli altri carbinoli, viene sfruttata preferenzialmente la loro nucleofilicità: il carbinolo primario è più reattivo degli altri e può essere regioselettivamente funzionalizzato con un gruppo protettore molto ingombrante (DMT, TBDMS, TIPS, etc.) in presenza dei carbinoli secondari. La distinzione dei tre carbinoli secondari dipende dalla loro configurazione: gruppi ossidrilici equatoriali di composti piranosidici tendono a reagire più velocemente di quelli assiali così come illustrato nello SCHEMA 14 in cui sono coinvolti due composti D-mannopiranosidici nelle conformazioni 4C_1 e 1C_4 , i cui ossidrili al C-2 e al C-3 sono rispettivamente assiale-equatoriale ed equatoriale-assiale.²⁸ Non è semplice fare altre generalizzazioni anche se, ad esempio, è stato osservato che l'ossidrile in 2 di un glucosio è il più reattivo così come quello sul C-4 il meno reattivo.

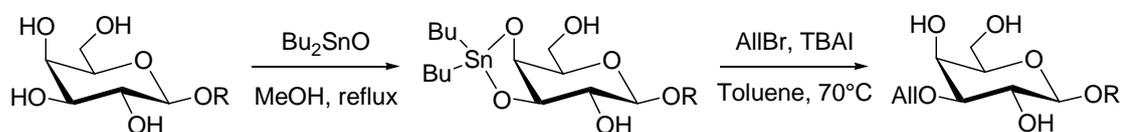


SCHEMA 14: Protezione regioselettiva di gruppi ossidrilici equatoriali

²⁷ Per un estesa trattazione delle manipolazioni selettive sugli zuccheri: Collins, P., Ferrier, R. In *Monosaccharides - Their Chemistry and Their Role in Natural Products*, John Wiley & Sons: Chichester, 1995.

²⁸ Aspinall, G. O.; Zweifel, G. J. *Chem. Soc.* 1957, 2271.

Un' altra evidenza sperimentale emersa nel corso degli anni è che la formazione di trialchilstannileteri o di stannilideni ciclici aumenta la nucleofilicità degli atomi di ossigeno coinvolti, attivando così gli ossidrili verso reagenti elettrofilici.²⁹ In particolare, gli acetali stannilidenici si formano per reazione del dibutilstannossido con un diolo *cis* vicinale; generalmente si aggiunge poi un elettrofilo che reagisce preferenzialmente con uno solo degli ossidrili legati. La chimica dello stagno è utilizzata molto per la differenziazione degli ossidrili sul C-3 che sono in relazione *cis* con il C-4 e il C-2 assiali rispettivamente di galatto- e manno-piranosidi (SCHEMA 15).



SCHEMA 15: 3-*O*-Allilazione regio selettiva attraverso la formazione di un acetale stannilidenico.

Un altro approccio molto utile per differenziare le varie funzionalità alcoliche di un monosaccaride è l'uso di gruppi protettori ciclici come acetali di tipo benzilidenico e isopropilidenico, ortoesteri e ortocarbonati. Il benzilidene è generalmente installato regioselettivamente sulle posizioni C-4 e C-6, formando un anello piranosidico a sei termini; gli acetali isopropilidenici, così come i carbonati richiedono una relazione 1,2-*cis* tra i due ossidrili; gli ortoesteri si formano spesso sulle posizioni 1 e 2. Osservando la FIGURA 5 risulta evidente quanto bloccare due dei cinque ossidrili liberi semplifichi la strategia sintetica. Fra le altre cose gli acetali benzilidenici e gli ortoesteri permettono un'ulteriore differenziazione dei due ossigeni coinvolti.

²⁹ David, S.; Hanessian, S. *Tetrahedron* **1985**, *41*, 643

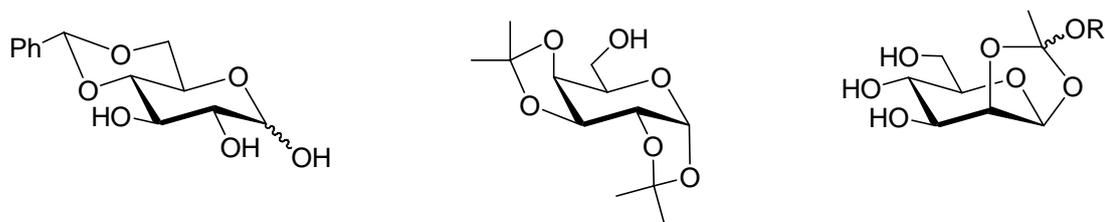
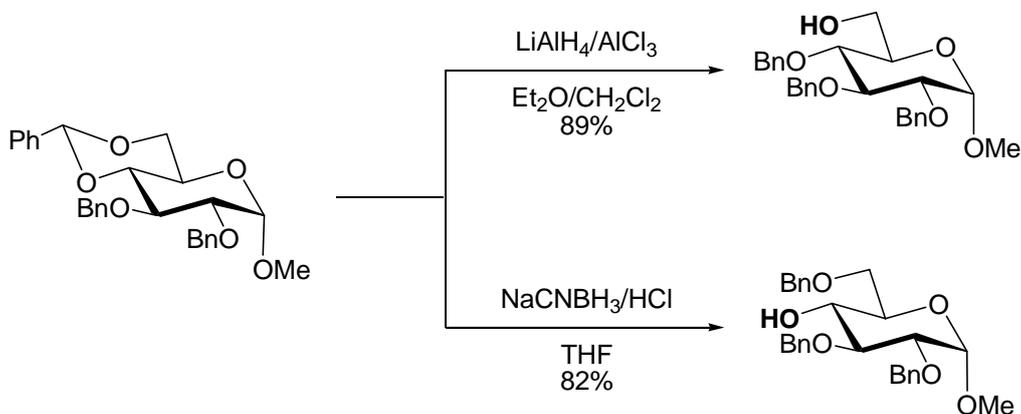


FIGURA 5: 4,6-*O*-benzilidene-D-glucopiranosio, 1,2:3,4-Di-*O*-isopropilidene-D-galactopiranoside e D-mannopiranosio 1,2-ortoacetato.

Nel caso degli acetali 4,6-*O*-benzilidenici, sono stati sviluppati efficienti metodi per l'apertura riduttiva dell'acetale per fornire un etere benzilico e un ossidrile libero. Il controllo della regioselettività della reazione viene modulato dal tipo di sistema riducente (SCHEMA 16).³⁰

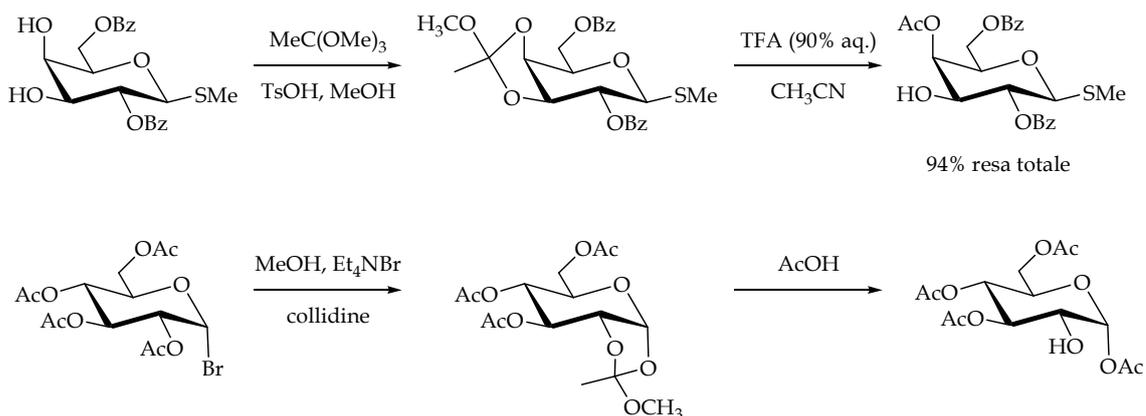


SCHEMA 16: Apertura riduttiva dell'acetale benzilidenico.

Gli orto esteri, d'altro canto, danno apertura d'anello in condizioni di blanda idrolisi acida per dare il corrispondente derivato estereo e un ossidrile libero successivamente differenziabile.³¹ E' da sottolineare che la selettività è opposta rispetto a molti altri metodi, in quanto l'apertura di un ortoestere con un diolo *cis* dà un estere sul gruppo ossidrilico assiale (SCHEMA 17). Per evitare la migrazione di acetili su ossidrili deprotetti è possibile utilizzare orto-benzoati in luogo degli ortoacetati data la minore tendenza dei benzoili a migrare.

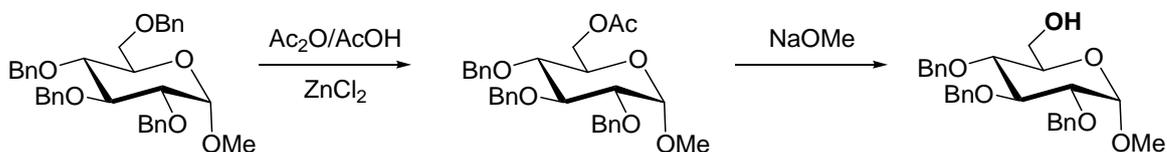
³⁰ a) Gelas, J. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1981**, 39, 71; b) Garegg, P. J. in *Preparative Carbohydrate Chemistry*, Hanessian, S., Ed., Marcel Dekker, New York, 1997, pp.53-68.

³¹ Lemieux, R. U.; Driguez, H. *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, 15, 4069.



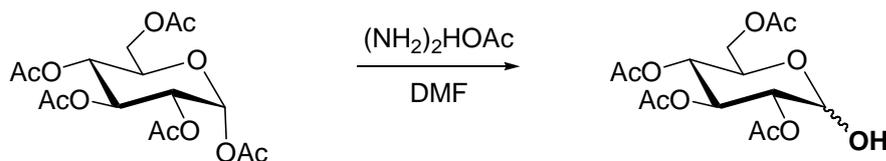
SCHEMA 17: Formazione e apertura dell'ortoestere.

I metodi per ottenere derivati regioselettivamente protetti attraverso de protezione selettiva sono meno comuni, ma alcune procedure standard si avvalgono di questo approccio.³² La differenza di velocità nell'acetolisi di benzil eteri primari (rispetto ai secondari) è abbastanza alta da permettere una rimozione selettiva che permette di ottenere facilmente l'ossidrile in 6 libero (SCHEMA 18).³³



SCHEMA 18: Rimozione regioselettiva del gruppo benzilico primario.

Gli esteri anomeric, inoltre, sono più labili degli altri esteri per cui possono essere scissi con un blando trattamento basico senza intaccare le altre posizioni (SCHEMA 19).



SCHEMA 19: Rimozione regioselettiva di un acetato anomeric.

³² Haines, A. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1981**, 39, 13.

³³ Yang, G.; Ding, X.; Kong, F. *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 6725.

Tutte queste strategie di protezione sono applicate nelle sintesi di vari building block funzionalizzati che sono poi utilizzati nell'assemblaggio oligosaccaridico. Per ottenere i target monosaccaridici desiderati spesso si rendono necessari diversi stadi sintetici consecutivi di protezione e deprotezione, ragion per cui la preparazione delle unità monomeriche è quasi sempre l'operazione che richiede più tempo in tutta la sintesi dell'oligosaccaride; minore è il numero di manipolazioni relative ai gruppi protettori, migliore sarà la valutazione della sintesi.

Sono state sviluppate molte strategie che utilizzano processi di glicosidazione regioselettiva nei passaggi cruciali di una sintesi oligosaccaridica.³⁴ Tale approccio, molto elegante, sfrutta le intrinseche differenze in termini di nucleofilicità dei vari ossidrili per regidirigere le reazioni di glicosidazione.

Metodi di Glicosidazione

Come già anticipato nei paragrafi precedenti, le reazioni di glicosidazione avvengono principalmente con un meccanismo di sostituzione nucleofila a carico del carbonio anomero; altri approcci prevedono la sostituzione del carbonio agliconico o reazioni di addizione a zuccheri 1,2-insaturi. I metodi che prevedono un meccanismo di sostituzione sul carbonio anomero sono classificati in base all'eteroatomo legato al centro anomero (FIGURA 6) e più specificamente si dividono in glicosil alogenuri (bromuri, cloruri, ioduri e fluoruri), tioderivati (tioglicosidi, solfossidi e solfoni) e O-derivati (immidati, 1,2-anidroderivati, fosfati e fosfiti).

³⁴ a) Nunomura, S.; Iida, M.; Numata, M.; Sugimoto, M.; Ogawa, T. *Carbohydr. Res.* **1994**, 263, C1-C6; b) Jain, R. K.; Vig, R.; Locke, R. D.; Mohammad, A.; Matta, K. L. *Chem. Commun.* **1996**, 65; c) Xia, J.; Alderfer, J. L.; Piskorz, C. F.; Matta, K. L. *Chem. Eur. J.* **2000**, 18, 3442.



FIGURA 6: Tipi di Glicosil Donatori.

A ciascuna di queste classi sono associati differenti promotori, il che rende intuitivo che nel programmare una strategia sintetica bisogna tenere sempre presente la compatibilità dei vari gruppi protettori con le diverse condizioni di glicosidazione.

I metodi di glicosidazione più adoperati si basano sull'uso dei **glicosil trioloacetimmidati** (i più utilizzati fra gli O-derivati) e dei **tioglicosidi**, che verranno estesamente trattati rispettivamente nei Capitoli II e III.

I **Glicosil Alogenuri** (in particolare i bromuri e i cloruri) sono stati i primi glicosil donatori ad essere utilizzati nella sintesi di oligosaccaridi complessi. La glicosidazione a partire da glicosil bromuri e cloruri, in presenza di quantità stechiometriche di sali di argento (Ag_2O , Ag_2CO_3), conosciuta come la reazione di Koenigs-Knorr,³⁵ è uno dei metodi più antichi. Negli anni sono stati sperimentati molti altri promotori come il salicilato di argento, l'imidoilato di argento,³⁶ $\text{Hg}(\text{CN})_2$ e HgBr_2 ,³⁷ HgO e HgBr_2 ,³⁸ HgI_2 ³⁹ e CdCO_3 ,⁴⁰ AgClO_4 ⁴¹ e AgOTf ⁴².

³⁵ a) Koenigs, W.; Knorr, E. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1901**, 34, 957; b) Wulff, G.; Röhle, G. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1974**, 13, 157; c) Igarashi, K. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1977**, 34, 243.

³⁶ Garegg, P. J.; Johansson, R.; Samuelsson, B. *Acta Chem. Scand. B* **1982**, 36, 249.

³⁷ a) Helferich, B.; Wedemeyer, K. -F. *Liebigs Ann. Chem.* **1949**, 563, 139; b) Helferich, B.; Jung, K. -H. *Liebigs Ann. Chem.* **1954**, 589, 77; c) Helferich, B.; Berger, A. *Chem. Ber.* **1957**, 90, 2492.

³⁸ Schroeder, L. R.; Green, J. W. *J. Chem. Soc. C* **1966**, 530.

³⁹ Bock, K.; Medal, M. *Acta Chem. Scand. B* **1983**, 37, 775.

⁴⁰ Conrow, R. B.; Bernstein, S. *J. Org. Chem.* **1971**, 36, 863.

⁴¹ a) Bredereck, H.; Wagner, A.; Faber, G.; Ott, H. *Chem. Ber.* **1959**, 92, 1135; b) Bredereck, H.; Wagner, A.; Kuhn, H.; Ott, H. *Chem. Ber.* **1960**, 93, 1201; c) Bredereck, H.; Wagner, A.; Geissel, D.; Gross, P.; Hutten, U.; Ott, H. *Chem. Ber.* **1962**, 95, 3056; d) Bredereck, H.; Wagner, A.; Geissel, D.; Ott, H. *Chem. Ber.* **1962**, 95, 3064.

⁴² a) Lemieux, R. U.; Takeda, T.; Chung, B. Y. *ACS. Symp. Ser.* **1976**, 39, 90; b) Hanessian, S.; Banoub, J. *Carbohydr. Res.* **1977**, 53, C13.

Catalizzatori eterogeni come silicato d'argento,⁴³ zeoliti d'argento⁴⁴ e silice-allumina argentate⁴⁵ sono stati sviluppati per sintetizzare legami β -mannosidici e β -ramnosidici. Oltre a questi sono stati sperimentati anche acidi di Lewis come SnCl_4 , $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$,⁴⁶ o ZnCl_2 .⁴⁷ Un significativo contributo in questo ambito è stato dato da Lemieux con l'introduzione di un ulteriore tipo di attivazione, che prevede la conversione degli α -glicosil bromuri nei glicosidi attraverso la formazione dei più reattivi β -anomeri.⁴⁸ I promotori utilizzati per questa reazione sono Bu_4NBr o Et_4NBr in combinazione con la DIPEA (base di Hünig) e si ottengono 1,2-*cis*-glicosidi con un'eccellente stereo-selettività. Attualmente i glicosil alogenuri non sono quasi più utilizzati soprattutto per la natura molto tossica, per l'alta sensibilità all'umidità ed il considerevole costo dei sistemi di promozione ad essi associati. Oltre a ciò, questi donatori non esibiscono un'elevata stabilità, tant'è che tendenzialmente l'alogenuro è l'ultimo gruppo che viene introdotto nella sintesi del glicosil donatore. Questa reazione, incompatibile con eventuali gruppi acido labili, è generalmente effettuata a partire da uno zucchero 1-*O*-acilato per reazione con l'acido alogenidrico oppurtuno in acido acetico.

I **Glicosil Fluoruri** sono più stabili degli analoghi bromurati e clorurati ma ciò si riflette anche sulla loro reattività: questi sono stabili nelle condizioni di Koenigs-Knorr e il loro uso fu introdotto solo nel 1981 da Mukaiyama e collaboratori.⁴⁹ Attualmente i glicosil fluoruri sono fra i donatori più utilizzati. In letteratura sono riportati svariati metodi per preparare i glicosil fluoruri⁵⁰ di cui il più comune prevede la reazione dell'emiacetale di uno zucchero protetto con dietilamminozolfo trifluoruro (DAST) (SCHEMA 20)⁵¹

⁴³ Paulsen, H.; Lockhoff, O. *Chem. Ber.* **1981**, 114, 3102.

⁴⁴ Garegg, P. J.; Ossowski, P. *Acta Chem. Scand. B* **1983**, 37, 249.

⁴⁵ van Boeckel, C. A. A.; Beetz, T. *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas* **1987**, 106, 596.

⁴⁶ Ogawa, T.; Matsui, M. *Carbohydr. Res.* **1976**, 51, C13.

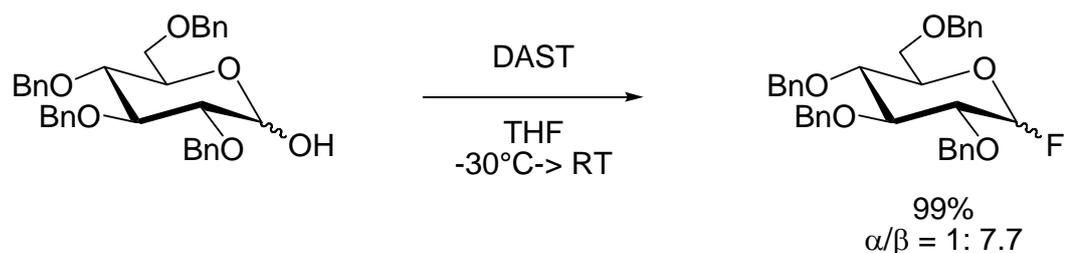
⁴⁷ Higashi, K.; Nakayama, K.; Soga, T.; Shioya, E.; Uoto, K.; Kusama, T. *Chem. Pharm. Bull.* **1990**, 38, 3280.

⁴⁸ Lemieux, R. U.; Hendriks, K. B.; Stick, R. V.; James, K. J. *Am. Chem. Soc.* **1975**, 97, 4056.

⁴⁹ Mukaiyama, T.; Murai, Y.; Shoda, S. -Y. *Chem. Lett.* **1981**, 431.

⁵⁰ a) Shimizu, M.; Togo, H.; Yokoyama, M. *Synthesis* **1998**, 799; b) Toshima, K. In *Glycoscience – Chemistry and Chemical Biology*, Fraser-Reid, B., Tatsuta, K., Thiem, J., Eds., Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, 2001, pp. 584-625.

⁵¹ Posner, G. H.; Haines, S. R. *Tetrahedron Lett.* **1985**, 26, 5.



SCHEMA 20: Sintesi di Glicosil Fluoruri.

Le condizioni di attivazione dei glicosil fluoruri sono sostanzialmente compatibili con la presenza dei principali tipi di gruppi protettori: Mukaiyama ha sperimentato la combinazione di SnCl_2 con AgClO_4 (rimpiazzato successivamente da AgOTf),⁵² Noyori ed i suoi collaboratori hanno proposto il sistema SiF_4 e TMSOTf ,⁵³ mentre Nicolau e Kunz hanno introdotto indipendentemente il $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$.⁵⁴ Infine Wessel ed altri hanno introdotto Tf_2O quale potente promotore di questi donatori.⁵⁵ Di fatto è stato visto che, a parità di quantità di promotore utilizzato (1 equivalente), è possibile registrare un ordine di reattività: $\text{TMSOTf} < \text{SnCl}_2\text{-AgOTf} < \text{Tf}_2\text{O}$. Molto recentemente Mukaiyama e collaboratori⁵⁶ hanno attivato glicosil fluoruri con quantità catalitiche di TfOH . I glicosil fluoruri, rispetto agli altri glicosil alogenuri, possono essere sintetizzati anche parzialmente protetti e quindi possono fungere anche da glicosil accettori sia per donatori di tipo tioglicosidico che per i tricloroacetimmidati.⁵⁷

Anche i **Glicosil Ioduri** sono noti da molto tempo⁵⁸ ma sono stati utilizzati poco data la loro forte instabilità. Nel momento in cui è stato introdotto il metodo di glicosidazione catalizzata da ioni, è stato possibile effettuare glicosidazioni a partire da tali donatori generati *in situ* attivando i glicosil bromuri con ioduro di

⁵² a) Ogawa, T.; Takahashi, Y. *Carbohydr. Res.* **1985**, *138*, C5; b) Takahashi, Y.; Ogawa, T. *Carbohydr. Res.* **1987**, *164*, 277.

⁵³ Hashimoto, S.; Hayashi, M.; Noyori, R. *Tetrahedron Lett.* **1984**, *25*, 1379.

⁵⁴ a) Nicolaou, K. C.; Chucholowski, A.; Dolle, R. E.; Randall, J. L. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1984**, 1155; b) Kunz, H.; Sager, W. *Helv. Chim. Acta* **1985**, *68*, 283; c) Kunz, H.; Waldmann, H. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1985**, 638.

⁵⁵ a) Dobarro-Rodriguez, A.; Trumtel, M.; Wessel, H. P. *J. Carbohydr. Chem.* **1992**, *11*, 255; b) Wessel, H. P. *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 6863; c) Wessel, H. P.; Ruiz, N. *J. Carbohydr. Chem.* **1991**, *10*, 901.

⁵⁶ a) Jona, H.; Mandai, H.; Chavasiri, W.; Takeuchi, K.; Mukaiyama, T. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **2002**, *75*, 291; b) Mukaiyama, T.; Jona, H.; Takeuchi, K. *Chem. Lett.* **2000**, 696; c) Jona, H.; Takeuchi, K.; Mukaiyama, T. *Chem. Lett.* **2000**, 1278.

⁵⁷ Barena, M. I.; Echarri, R.; Castillon, S. *Synlett* **1996**, 675.

⁵⁸ Fischer, E.; Fischer, H. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1910**, *43*, 2521.

tetrabutylammonio. Sono stati inoltre migliorati i metodi di sintesi di tali substati ed è stato possibile anche isolare, in forma cristallina glicosil ioduri peracetilati.

I **Glicosil fosfati (triesteri)** sono di fatto i glicosil donatori utilizzati nei sistemi biologici. I Nucleotidi 5'-difosfo zuccheri (NDPs) (FIGURA 7) sono infatti i substrati delle glicosil transferasi, gli enzimi responsabili della biosintesi degli oligosaccaridi nei sistemi viventi.⁵⁹

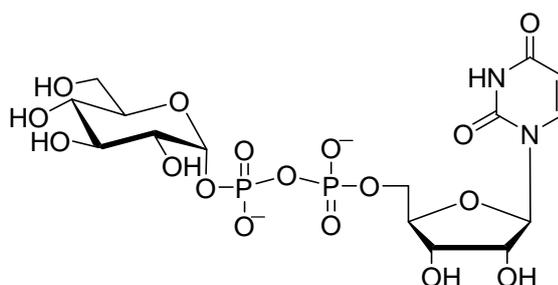
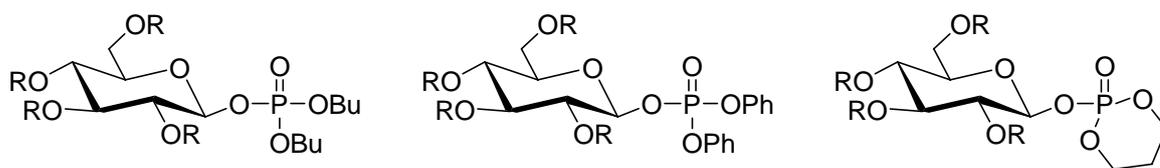


FIGURA 7: Nucleotide 5'-difosfo zucchero.

I Glicosil fosfati sono stati introdotti nel 1989 da Ikegami⁶⁰ e per la loro attivazione è necessaria una quantità stechiometrica di TMSOTf aggiunta a bassa temperatura. Sono stati proposti altri promotori come SnCl_2 , ZnI_2 , $\text{Zn}(\text{OTf})_2$ e $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ che hanno sostanzialmente fornito rese moderate.⁶¹

I fostati più utilizzati sono il difenil fosfato, l'*n*-butil fostato e il ciclopropan-1,3-diolo fosfato, recentemente introdotto da Singh (FIGURA 8).⁶²



(FIGURA 8): Glicosil fosfati più comuni.

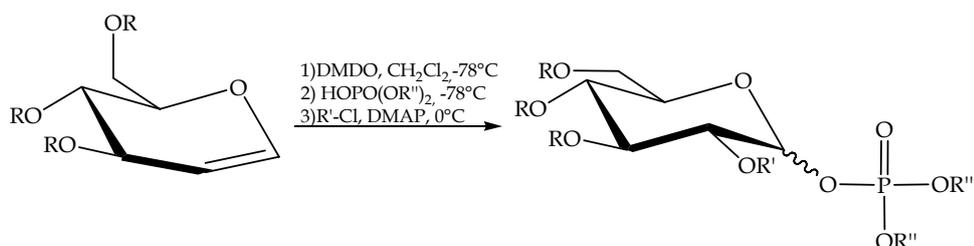
⁵⁹ a) Bayer, T. A.; Sadler, J. E.; Rearick, J. I.; Paulson, J. C.; Hill, R. L. *Adv. Enzymol. Relat. Areas Mol. Biol.* **1981**, 52, 23; b) Heidlas, J. E.; Williams, K. W.; Whitesides, G. M. *Acc. Chem. Res.* **1992**, 25, 307.

⁶⁰ Hashimoto, S.; Honda, T.; Ikegami, S. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1989**, 685.

⁶¹ Plante, O. J.; Palmacci, E. R.; Andrade, R. B.; Seeberger, P. H. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 9545.

⁶² a) Hariprasad, V.; Singh, G.; Tranoy, I. *Chem. Commun.* **1998**, 2129; b) Singh, G.; Vankayalapati, H. *Tetrahedron: Asymmetry* **2000**, 11, 125; c) Vankayalapati, H.; Singh, G. *J. Chem. Soc. Perkin. Trans.1* **2000**, 2187; d) Vankayalapati, H.; Singh, G.; Tranoy, I. *Tetrahedron: Asymmetry* **2001**, 12, 1373.

Nel corso degli anni sono stati proposti molti metodi sintetici per ottenere glicosil fosfati,⁶³ ma una svolta significativa si è avuta senza alcun dubbio con la sintesi “one-pot” messa a punto da Seeberger e dai suoi collaboratori (SCHEMA 21),⁶⁴ che ha reso possibile il rapido accesso a building block mosaccaridici di oligosaccaridi complessi sintetizzati in soluzione o attraverso la sintesi in fase solida automatizzata.⁶⁵



SCHEMA 21: Sintesi di glicosil fosfati *via* conversione one-pot di 1,2-glicali.

Nonostante la loro efficienza e versatilità i glicosil fosfati non sono utilizzati estesamente. La prima ragione di ciò è che i reattivi necessari alla loro sintesi sono sensibili all’umidità, costosi o non disponibili commercialmente (ad esempio il DMDO); oltre a ciò i glicosil fosfati stessi non esibiscono una grande stabilità nel corso di purificazioni su gel di silice, ragion per cui vengono preferiti i metodi sintetici che necessitano solo di un veloce filtrazione della miscela di reazione. Anche i promotori, utilizzati in quantità stechiometriche, sono molto acide e precludono l’uso di gruppi protettori acido labili. A tal proposito è stata messa a punto un efficiente protezione con il Fmoc (9-fluorenilmetil-carbonato), che è base labile ed anche visibile all’UV, come gruppo temporaneo.⁶⁶

Gli **1,2-anidro zuccheri** rappresentano una famiglia di glicosil donatori completamente differenti e qualche anno fa Danishefsky e i suoi collaboratori hanno proposto un metodo di ossidazione di questi con dimetildiossirano

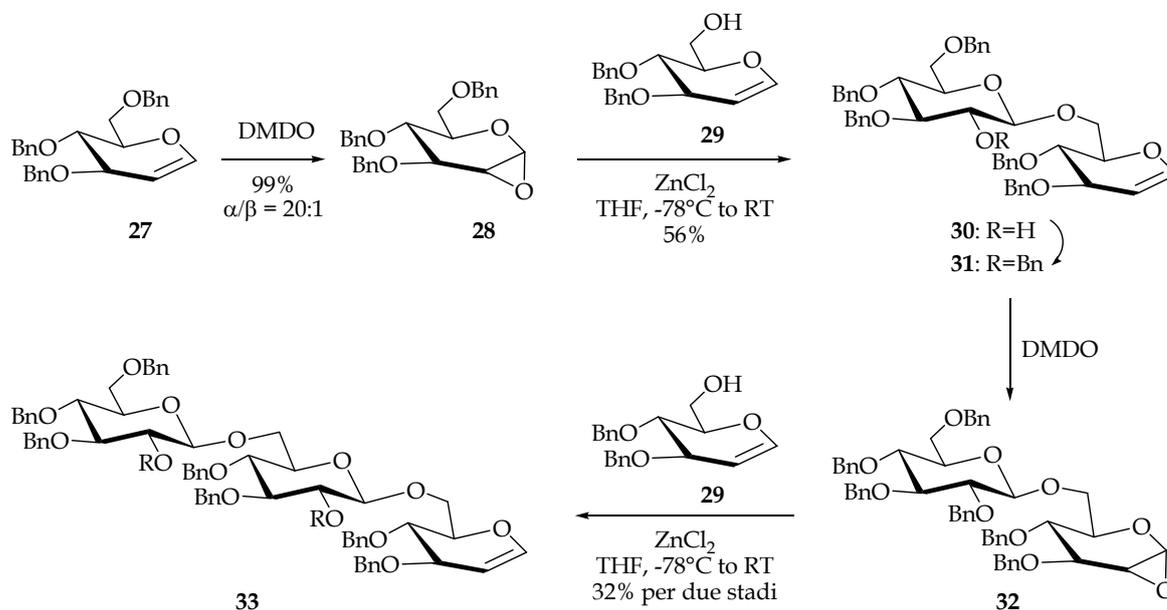
⁶³ a) Sabesan,S.; Neira, S. *Carbohidr. Res.* **1992**, 223, 169; b) Garcia, B. a.; Gin, D. Y. *Org. Lett.* **2000**, 2, 2135; c) Schmidt, R.R. et al. *Liebigs Ann.Chem.* **1984**, 680; d) Adelhorst, K. Et al. *Carbohidr. Res.* **1993**, 242, 69. e) Boons, G.J. et al. *Synlett* **1996**, 310; f) Pale, P. et al. *J. Org. Chem.* **1991**, 56, 4547; g) Timmers, C. M. et al *Carbohidr. Chem*, **1998**, 17, 471.

⁶⁴ a) Plante,O.J; Andreade R.B.; Seeberger, P. H. *Org. Lett.* **1999**, 2, 211;b) Plante,O.J.; Palmacci E.R.; Andreade R.B.; Seeberger, P. H. *J.Am.Chem.Soc.* **2001**, 123, 9545.

⁶⁵ Plante,O.J.; Palmacci E. R.; Seeberger, P. H. *Science* **2001**, 291, 1523.

⁶⁶ Love, K. R.; Seeberger, P. H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, 43, 602.

(DMDO)⁶⁷ molto efficiente. La reazione degli epossidi **28** e **32**, promossa da ZnCl₂ in tetraidrofurano o diclorometano ha fornito glicosidi con una stereo selettività di tipo 1,2-*trans* (SCHEMA **22**). E' stato poi visto che tale metodo di glicosidazione non è sempre stereospecifico.⁶⁸



SCHEMA **22**: Glicosidazione iterativa con i glicali.

Una caratteristica molto importante è che i glicosidi ottenuti a partire dai glicali possiedono un ossidrile libero in 2, pronto per ulteriori modifiche, come quella a 2-deossi-zuccheri,⁶⁹ o quelle per invertire la configurazione (β -mannosidi da β -glucosidi).⁷⁰ I glicali possono essere infine convertiti in altri tipi di donatori quali i tioglicosidi, i glicosil fluoruri e i glicosil fosfati.

Gli *n*-Pentenil glicosidi sono stati introdotti da Fraser-Reid,⁷¹ ed esibiscono una notevole stabilità a varie manipolazioni relative ai gruppi protettori. Sono attivati per alogenazione del doppio legame, che porta alla ciclizzazione e al rilascio dell'aglicone e quindi al catione ossonio (SCHEMA **23**).

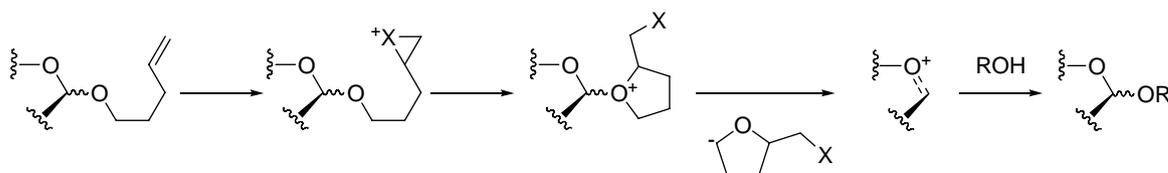
⁶⁷ Halcomb, R. L.; Danishefsky, S. J.; *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 6661.

⁶⁸ Danishefsky, S. J.; Bilodeau, M. T. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 1380.

⁶⁹ Gervay, J.; Danishefsky, S. J. *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 5448.

⁷⁰ Liu, K. K. C.; Danishefsky, S. J. *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 1892.

⁷¹ Fraser-Reid, B.; Konradsson, P.; Mootoo, D. R.; Udodung, U. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1988**, 823.



SCHEMA 23: Glicosidazione con *n*-Pentenil Glicosidi.

I promotori di tali glicosil donatori sono NBS, IDCP (iodonio dicollidina perclorato) o il corrispondente triflato (IDCT) e fra tutti il più attivo è NIS in combinazione con quantità catalitiche di acidi di Lewis con TfOH⁷² o TESOTf.⁷³ La versatilità di questi donatori è stata ampiamente sfruttata nella sintesi di molecole biologicamente molto rilevanti.⁷⁴

I metodi di sintesi e attivazione di altri glicosil donatori utilizzati meno estesamente quali **Glicosil solfossidi**,⁷⁵ **Glicosil Solfoni**,⁷⁶ **Glicosil Fosfiti**,⁷⁷ **Ditiofosfati**,⁷⁸ sono riportati in letteratura.

⁷² Konradsson, P.; Mootoo, D. R.; McDevitt, R. E.; Fraser-Reid, B. J. *Chem. Soc. Chem. Commun.* **1990**, 270.

⁷³ Fraser-Reid, B.; Udodung, U.; Wu, Z.; Ottosson, H.; Merritt, J. R.; Rao, C. S.; Roberts, C.; Madsen, R. *Synlett* **1992**, 927.

⁷⁴ Mootoo, D. R.; Konradsson, P.; Fraser-Reid, B. J. *Am. Chem. Soc.* **1989**, 111, 8540.

⁷⁵ Kahne, D.; Walzer, S.; Cheng, Y.; van Engen, D. J. *Am. Chem. Soc.* **1989**, 111, 6881. b) Crich, D.; Sun, S. *Tetrahedron* **1998**, 54, 8321

⁷⁶ Brown, D. S.; Ley, S. V.; *Tetrahedron Lett.* **1988**, 29, 4873.

⁷⁷ a) Martin, T. J.; Schmidt, R. R. *Tetrahedron Lett.* **1992**, 33, 6123; b) Müller, T.; Schneider, R.; Schmidt, R. R. *Tetrahedron Lett.* **1994**, 35, 4763. c) Kondo, H.; Ichikawa, Y.; Wong, C. -H. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114, 8748; d) Sim, M. M.; Kondo, H.; Wong, C. -H.; *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 2260; e) Kondo, H.; Aoki, S.; Ichikawa, Y.; Halcomb, R. L.; Ritzen, H.; Wong, C. -H. *J. Org. Chem. Soc.* **1994**, 59, 864. f) Watanabe, Y.; Nakamoto, C.; Ozaki, S. *Synlett* **1993**, 115; g) Watanabe, Y.; Nakamoto, C.; Yamamoto, T.; Ozaki, S. *Tetrahedron* **1994**, 50, 6523. h) Corey, E. J.; Wu, Y. -J. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 8871.

⁷⁸ a) Lauplicher, L.; Sajus, H.; Thiem, J. *Synthesis* **1992**, 1133; b) Bielawska, H.; Michalska, M. *Tetrahedron Lett.* **1998**, 39, 9761.

Capitolo II

Efficiente Attivazione di glicosil tricloro- ed (N-fenil) trifluoroacetimmidati con il triflato di Bismuto(III)⁷⁹

Introduzione

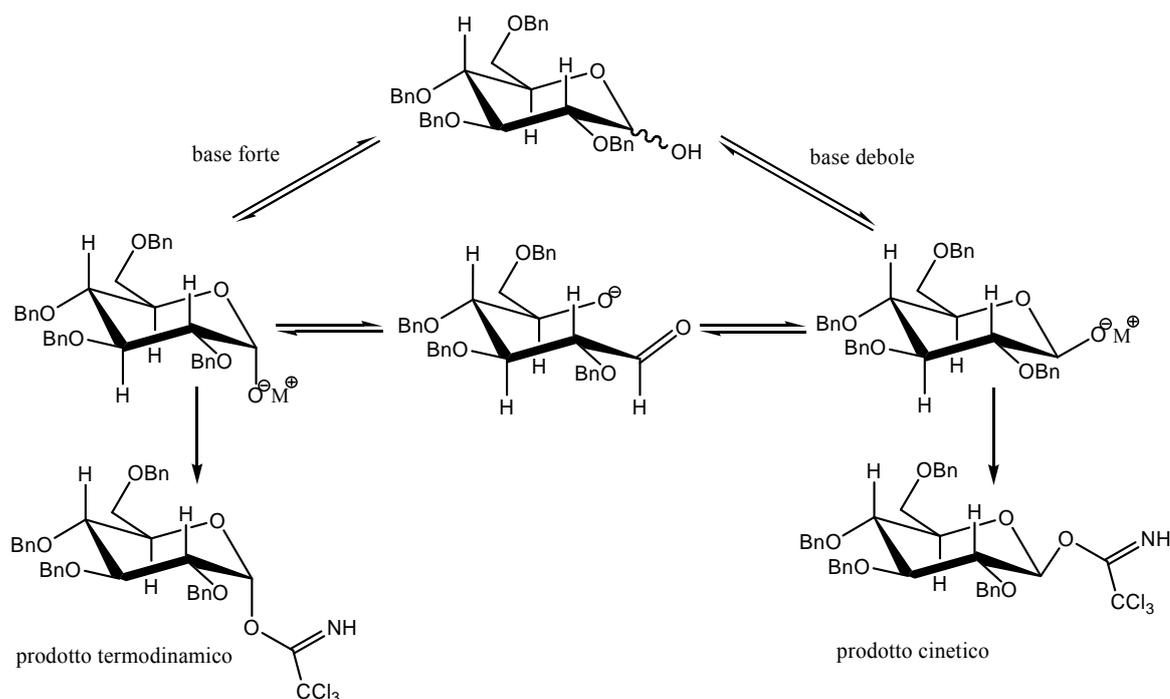
La formazione di un legame glicosidico richiede generalmente l'attivazione del glicosil donatore alla sua posizione anomeric. A tal fine sono stati proposti principalmente due approcci: le reazioni di attivazione attraverso lo scambio dell'ossigeno anomeric (metodo Koenigs-Knorr e sue modifiche e le attivazioni basate sullo zolfo) e quelle attraverso la ritenzione dell'ossigeno anomeric (metodo dei trialacetimmidati, attivazione di fosfiti e fosfati). Il metodo dei tricloroacetimmidati è considerato ormai un approccio classico, sebbene il primo lavoro relativo ad esso sia stato pubblicato solo nel 1980.⁸⁰ Questa rapida affermazione si è avuta essenzialmente perché i trialacetimmidati esibiscono ottime proprietà di glicosil donatori e sono sufficienti quantità catalitiche di promotore contrariamente a quanto accade per gli altri metodi, che richiedono una quantità almeno stechiometrica di promotore (caratteristica a cui sono associati un certo numero e tipo di svantaggi).

I glicosil tricloroacetimmidati sono sintetizzati per addizione dell' -OH emiacetalico al tricloroacetone nitrile. Data la reversibilità della reazione, è possibile avere un ottimo controllo della stereoselettività al carbonio anomeric: in presenza

⁷⁹ Adinolfi M.; Iadonisi A.; Ravida A.; Valerio S.; **Remarkably efficient activation of glycosyl trichloro- and (N-phenyl)trifluoroacetimidates with bismuth(III) triflate.** *Tetrahedron Letters* (2006), 47(15), 2595-2599

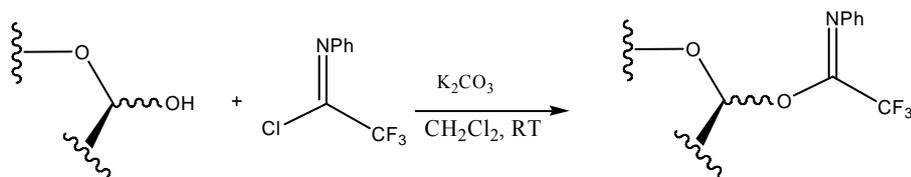
⁸⁰ Schmidt, R.R.; Michel, J.; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 1980, 19, 731

di una base debole, come il carbonato di potassio, è possibile isolare il donatore β quale prodotto cinetico; utilizzando invece una base forte come l'idruro di sodio si ottiene l'anomero α , più stabile, come prodotto termodinamico della reazione. La possibilità di ottenere puro ciascuno dei due epimeri consente, quando la reazione di glicosidazione segue un meccanismo S_N2 , di ottenere stereoselettivamente il legame glicosidico (SCHEMA 1).



SCHEMA 1: Controllo anomerico nella sintesi dei trichloroacetimidati.

Molto recentemente è stata introdotta da Yu la classe degli (*N*-fenil)trifluoroacetimidati,⁸¹ analoghi fluorurati dei donatori di Schmidt e già sintetizzati da quest'ultimo ma utilizzando il tossico CF_3CN (b.p.: $-63^\circ C$).⁸² Gli (*N*-fenil)trifluoroacetimidati si ottengono invece in alte rese a partire dall'emiacetale e dal trifluoroacetimidocloruro in diclorometano o acetone a temperatura ambiente (SCHEMA 2).



SCHEMA 2: Sintesi degli (*N*-fenil)trifluoroacetimidati

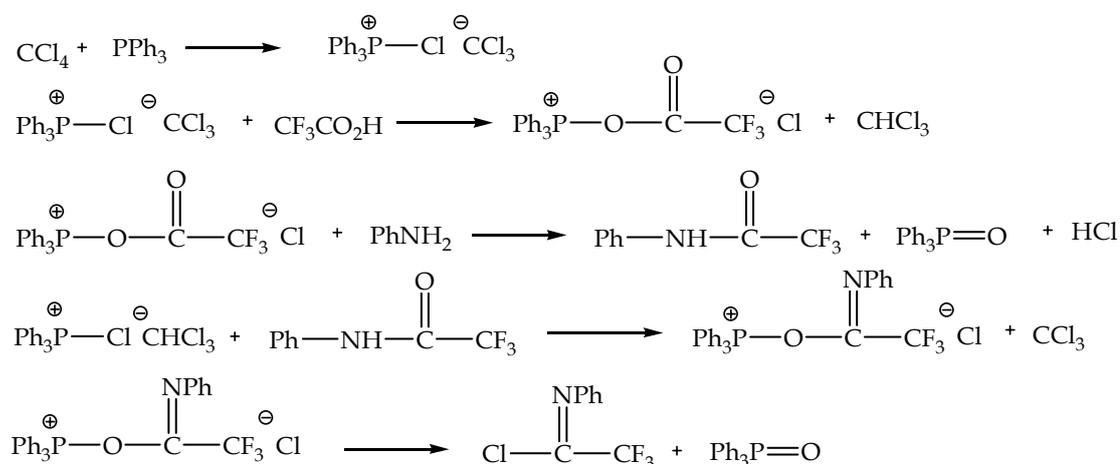
⁸¹ a) Yu et al.; *Tetrahedron Lett.* **2001**, 42, 2405; b) Yu et al. *J. Org. Chem.* **2002**, 67, 9099.

⁸² Schmidt et al; *Liebigs Ann. Chem.* **1984**, 1343

Relativamente a questa procedura è da sottolineare che:

- l'umidità nel solvente comporta una maggiore solubilità del K_2CO_3 e/o una maggiore $[OH^-]$, il che rende la reazione più veloce.⁸³
- generalmente si ottiene una miscela anomerica la cui composizione non è di particolare interesse, essendo paragonabile la reattività dei due anomeri. In presenza di ioni Cesio è possibile rese altrettanto buone ma in tempi molto minori (2 ore a fronte di 24h).⁸⁴
- è possibile ottenere una prevalenza dell'anomero β utilizzando la DIPEA in diclorometano anidro.⁸⁵

Contrariamente al tricloroacetone nitrile, il cloruro di trifluoroacetimmidoile non è commercialmente disponibile e lo si prepara facendo reagire acido trifluoroacetico ed anilina con il sistema $PPh_3-Et_3N-CCl_4$ (SCHEMA 3).⁸⁶



SCHEMA 3: Sintesi dell' (N-fenil)trifluoroacetimmidoilcloruro

Si può sostituire l'anilina con altri nucleofili e preparare così altri tipi di donatori eventualmente con una reattività differente.⁸⁷

La presenza degli atomi di fluoro sul gruppo uscente influenza moltissimo la reattività e la stabilità di questi "nuovi" donatori. Di fatto, rispetto agli analoghi

⁸³ Adinolfi, M.; Barone, G.; Iadonisi, A.; Schiattarella, M. *Synlett* **2002**, 269.

⁸⁴ Valerio, S.; Pastore, A.; Iadonisi, A.; Adinolfi, M. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 4496-4503.

⁸⁵ Adinolfi, M.; Iadonisi, A.; Ravidà, A.; Schiattarella, M. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 5316.

⁸⁶ Tamura et al. *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 32.

⁸⁷ Cai, S.; Yu, B. *Org Lett.* **2003**, *5*, 3827.

clorurati, sono più stabili nella conservazione ed essendo lievemente meno reattivi hanno una minore tendenza a degradarsi nel corso della reazione di glicosidazione.

Entrambi i gruppi uscenti sono ad ogni modo troppo labili per sopravvivere ad eventuali manipolazioni dei gruppi protettori installati sui carbinoli dello zucchero e infatti l'installazione del gruppo uscente trioloacetimmidato rappresenta l'ultimo stadio nella sintesi di un glicosil donatore di questo tipo. Questa significativa labilità costituisce probabilmente il principale motivo per cui sono i tioglicosidi ad essere ancora i donatori più utilizzati nella sintesi oligosaccaridica.

Per quanto riguarda l'attivazione dei trioloacetimmidati, i promotori catalitici originariamente utilizzati erano *p*-TsOH e BF₃·Et₂O,⁸⁸ ai quali si sono poi affiancati il TMSOTf⁸⁹ ed altri forti acidi di Lewis (acido triflico).

Le reazioni di glicosidazione promosse da questi attivanti procedono in buone rese e a basse temperature; tuttavia questi agenti sono molto sensibili all'umidità e/o altamente igroscopici. Queste caratteristiche, insieme al sopra citato forte carattere acido, obbligano a una notevole cautela sia nel loro uso che nella loro conservazione nonché ad escludere gruppi protettori acido labili dal ventaglio di quelli utilizzabili.

E' proprio in quest'ambito che si inserisce la linea di ricerca perseguita presso il gruppo in cui si è sviluppato il mio lavoro di tesi e che consiste essenzialmente nella ricerca e sperimentazione di promotori blandamente acidi e stabili all'umidità per le reazioni di glicosidazione condotte a partire da donatori di tipo trioloacetimmidato. Questa è una tematica di notevole interesse, tant'è che molto recentemente sono stati riportati due lavori indipendenti in cui si proponeva l'utilizzo di acido perclorico supportato su gel di silice come promotore semplice ed alternativo.⁹⁰ Per quanto riguarda i risultati ottenuti presso il nostro laboratorio è stato riscontrato che vari sali lantanidici sono in grado di promuovere reazioni di

⁸⁸ Schmidt, R.R.; Michel, J.; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1980**, 19, 731

⁸⁹ Schmidt, R.R.; Grundler, G. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1982**, 19, 731

⁹⁰ a) Mukhopadhyay, B.; Maurer, S. V.; Rudolph, N.; van Well, R. M.; Russell, D. A.; Field, R. A. *J. Org. Chem.* **2005**, 70, 9059-9062; b) Du, Y.; Wei, G.; Cheng, S.; Hua, Y.; Linhardt, R. J. *Tetrahedron Lett.* **2006**, 47, 307-310

glicosidazione a partire da donatori di tipo trialoacetimmidato. In particolare il $\text{Yb}(\text{OTf})_3$, sale di acidità moderata e stabile all'umidità, si è rivelato molto versatile sia utilizzando donatori "armati" che "disarmati" e di fatto è stato applicato sia nella sintesi di sequenze oligosaccaridiche antigeniche di interesse biologico^{6,91} che in quella di glicoconiugati.⁹² La attuale disponibilità in commercio di svariati triflati di metalli⁹³ ha permesso ulteriori investigazioni nel campo. Da una ricerca in letteratura è emerso che il triflato di bismuto(III) spesso fornisce risultati migliori rispetto ai triflati lantanidici in reazioni di sintesi organica promosse da acidi di Lewis⁹⁴ e l'unica applicazione di tale sale, economico e non tossico, nell'ambito della chimica dei carboidrati era in combinazione con $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$, in quantità stechiometrica, per l'attivazione di donatori sialilacetati (FIGURA 1).⁹⁵

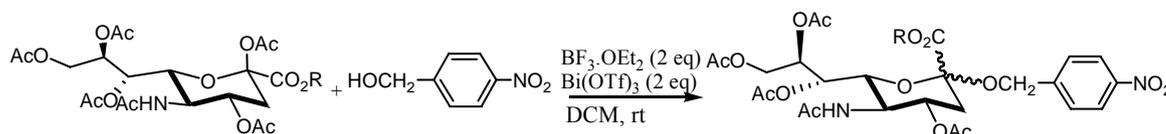


FIGURA 1: Applicazione del $\text{Bi}(\text{OTf})_3$ nell'ambito dei carboidrati.

⁹¹ a) Adinolfi, M.; Barone, G.; Iadonisi, A.; Mangoni, L.; Schiattarella, M. *Tetrahedron Lett.* **2001**, 42, 5967-5969; b) Adinolfi, M.; Barone, G.; Iadonisi, A.; Schiattarella, M. *Tetrahedron Lett.* **2002**, 43, 5573-5577; c) Adinolfi, M.; Iadonisi, A.; Ravidà, A.; Schiattarella, M. *Tetrahedron Lett.* **2004**, 45, 4485-4488; d) Adinolfi, M.; Iadonisi, A.; Ravidà, A.; Schiattarella, M. *Synlett.* **2004**, 275-278;

⁹² Adinolfi, M.; Galletti, P.; Giacomini, D.; Iadonisi, A.; Quintavalla, A.; Ravidà, A. *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, 69-73.

⁹³ Per una rivista sull'uso dei triflati di metalli nella chimica dei carboidrati: Kulkarni, S. S.; Hung, H.-C. *Lett. Org. Chem.* **2005**, 670-677.

⁹⁴ Per una rivista sul $\text{Bi}(\text{OTf})_3$ nella sintesi organica: Gaspard-Houghmane, H.; Le Roux, C. *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, 2517-2532.

⁹⁵ Ikeda, K.; Torisawa, Y.; Nishi, T.; Minamikawa, J.; Tanaka, K.; Sato, M. *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, 11, 3073-3076.

Risultati e discussione

A questo punto è sembrata auspicabile un'indagine preliminare delle potenzialità di questo sale nell'ambito della sintesi oligosaccaridica e da esperimenti preliminari si è subito riscontrata una fortissima influenza del solvente sulla reattività di questo: in solventi nitrilici, contrariamente a quanto riscontrato utilizzando $\text{Yb}(\text{OTf})_3$, le reazioni procedono in una maniera talmente lenta da non essere sinteticamente utili. Questo dato può essere attribuito all'abilità del $\text{Bi}(\text{III})$ di formare complessi con alcune molecole nitriliche. In miscele solventi contenenti toluene, 1,2-dimetossietano, e diossano (che forniscono un'ottima α -selettività utilizzando $\text{Yb}(\text{OTf})_3$) è stato possibile attivare in maniera molto efficiente e veloce donatori di tipo tricloro- (**1**) ed (*N*-fenil)trifluoroacetimmidati (**2**) perbenzilati (TABELLA 1).^{12c}

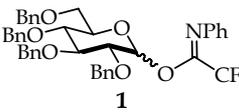
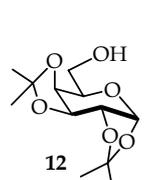
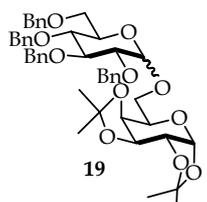
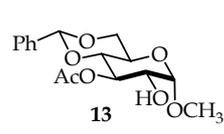
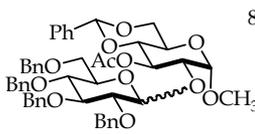
DONATORE	ACCETTORE	SOLVENTE	% $\text{Bi}(\text{OTf})_3$	T (°C)	PRODOTTO	Resa (a:b)
		PhCH_3/DME 2:1	5	-70 to -50		97 (1.8)
2	12	PhCH_3/DME 2:1	1.5	-70 to -50	19	97 (1.2)
1		PhCH_3/DME 2:1	5	-50 to -30		86 (6.0)
2 $\text{Cl}_3\text{C}=\text{NH}$	13	PhCH_3/DME 2:1	1.5	-70	20	77 (4.0)

TABELLA I

Le condizioni generali degli esperimenti sono: il rapporto stechiometrico tra il donatore e l'accettore è (1.2-1.4), il promotore viene aggiunto in soluzione di diossano (20mg/ml), e i tempi di reazione, in tutti i casi, anche quelli riportati nelle altre tabelle, non hanno superato i 45 minuti. Le rese sono risultate essere maggiori di quelle ottenute con $\text{Yb}(\text{OTf})_3$, così come minore è risultata essere la quantità di promotore necessaria. Da sottolineare tuttavia la minore α -selettività ottenuta in tutte le glicosidazioni effettuate a partire da donatori privi di gruppi partecipanti sulla posizione 2. Ad ogni modo tale selettività risulta sempre

influenzata sia dal tipo di donatore utilizzato che dall'accettore (a parità di donatore un accettore primario fornisce una α -selettività minore di quella ottenibile con un accettore secondario), come peraltro riscontrato con gli altri promotori.

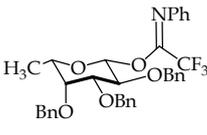
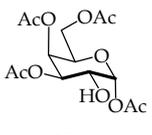
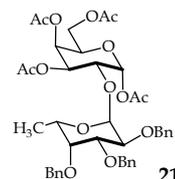
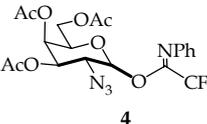
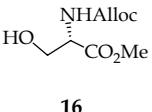
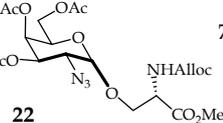
DONATORE	ACCETTORE	SOLVENTE	% Bi(OTf) ₃	T (°C)	PRODOTTO	RESA (a:b)
 3	 15	DCM/Diossano/DME 4:1:1	5	-50	 21	75 (>10)
 4	 16	Diossano/PhCH ₃ /DME 3:1:1	10	-10	 22	72 (5.5)

TABELLA II

La prima reazione riportata in TABELLA II è una α fucosilazione con una resa di isolamento del 75% ed un rapporto $\alpha/\beta > 10$, utilizzando un rapporto stechiometrico donatore/accettore che non supera 1.4-1.2. Vari motivi giustificano quanto sia difficile ottenere questo tipo di risultato: i fucosil donatori sono molto reattivi e decisamente soggetti a dare reazioni di decomposizione per cui si rende necessario un largo eccesso di donatore per ottenere alte rese di glicosidazione, specialmente con accettori non molto reattivi; le reazioni di α -fucosilazione portano a glicosidi 1,2-*cis* la cui costruzione stereoselettiva non può essere garantita da un approccio efficiente quanto l'effetto del gruppo partecipante sul C-2 per ottenere glicosidi 1,2-*trans*. Nel corso degli anni sono state riportate svariate tattiche: Schmidt ha proposto l'uso della procedura inversa (aggiunta lenta del donatore alla miscela contenente accettore e promotore al fine di minimizzare la degradazione del donatore).⁹⁶ È stato anche invocato l'effetto di partecipazione long-range di gruppo acilico al C-4⁹⁷ di un fucosil donatore cosa che ovviamente rende molto più lunga la sintesi del donatore stesso, dovendo differenziare le svariate posizioni con benzili e acetili (che peraltro rendono minore la tendenza

⁹⁶ Schmidt, R.R.; Toepfer, A. *Tetrahedron Lett.* **1991**, 32, 3353.

⁹⁷ Per una discussione relativa alle α -fucosilazioni: a) Seeberger P.H. et al *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 9545 e *J. Org. Chem.* **2001**, 66, 8165; b) Schmidt, R. R. *J. Carbohydr. Chem.* **1998**, 17, 739; Xia, J. Et al. *J. Org. Chem.* **2003**, 68, 2752.

del donatore a degradarsi). Nella reazione da noi effettuata non è stato necessario nessuno di questi accorgimenti ed è stato inoltre superato il risultato, in termini di resa e stereoselettività, ottenuto con $\text{Yb}(\text{OTf})_3$.^{12c} Il secondo esempio invece è relativo ad un derivato azido galattosidico ed è importante sottolineare che il medesimo accoppiamento, promosso da $\text{Yb}(\text{OTf})_3$, necessitava di un tempo di reazione di svariati giorni a temperatura ambiente perché si ottenesse con una resa di isolamento paragonabile.⁹⁸ In TABELLA III sono riportate invece due delle glicosidazioni effettuate a partire da donatori "disarmati". Con questo tipo di donatori si è riscontrata una forte sensibilità al tipo di solvente utilizzato e non è mai stato necessario più del 10% di promotore.

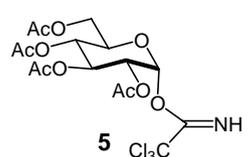
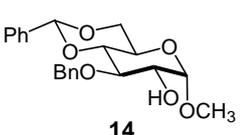
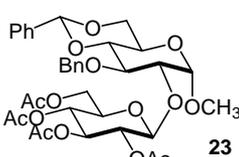
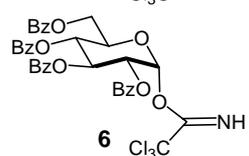
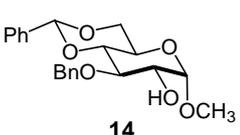
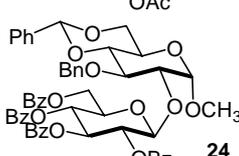
Donatore	Accettore	% $\text{Bi}(\text{OTf})_3$	T (°C)	Prodotto	Resa
 5	 14	5	-30 to rt	 23	87
 6	 14	5	-30 to rt	 24	90

TABELLA III

Ho riportato questi due esempi separatamente in quanto donatori tricloroacetimidati acetilati e benzoilati hanno una notevole tendenza a dare prodotti di accoppiamento di tipo ortoestereo.⁹⁹ Di fatto l'analisi TLC della seconda glicosidazione riportata ha mostrato un veloce consumo, a basse temperature, sia del donatore che dell'accettore, e la prevalente formazione di un prodotto intermedio che viene convertito, portando la miscela a temperatura ambiente, nel β -disaccaride desiderato. Questa evidenza suggerisce fortemente che inizialmente si formi l'intermedio di tipo ortoestere come prodotto principale e che questo successivamente riarrangi all'1,2-*trans* glicoside isolato.

⁹⁸ Risultati non pubblicati

⁹⁹ a) Ernst, B.; Hart, G. W.; Sinaÿ, P. *Carbohydrates in Chemistry and Biology*, Vol. 1, Wiley-Wch, 2000; b) Boons, G.-J. *Tetrahedron* **1996**, 52, 1095-1021.

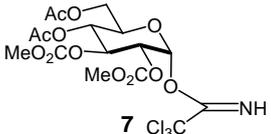
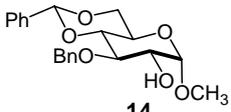
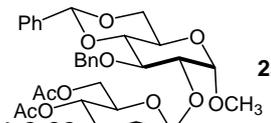
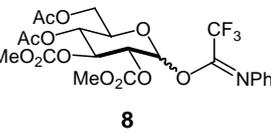
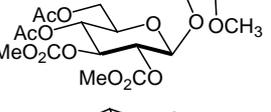
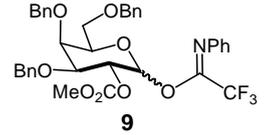
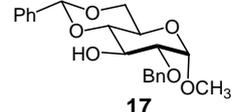
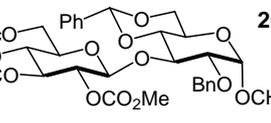
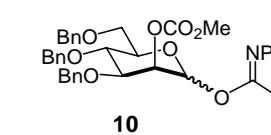
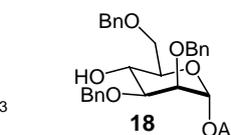
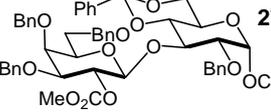
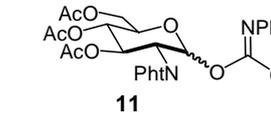
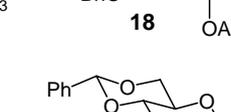
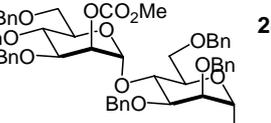
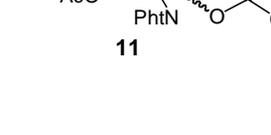
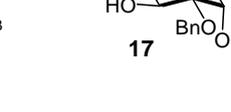
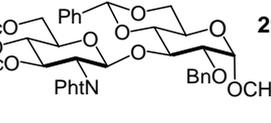
DONATORE	ACCETTORE	% Bi(OTf) ₃	T (°C)	PRODOTTO	RESA
		5	-30 to rt		85
		10	0		88
		10	0		79
		5	-30 to rt		91
		8	-20		92
		10	-10		88

TABELLA IV

In TABELLA IV sono riportate le reazioni di glicosidazione condotte a partire da donatori trioloacetimmidati "disarmati". In tutti i casi sono state ottenute rese molto alte anche con accettori non particolarmente reattivi come il **18** (4-libero), con quantità di promotore che non superano mai il 10% e in tempi che difficilmente superano i trenta minuti. Il solvente utilizzato in queste reazioni, così come nelle due riportate in TABELLA III, è dicloroetano.

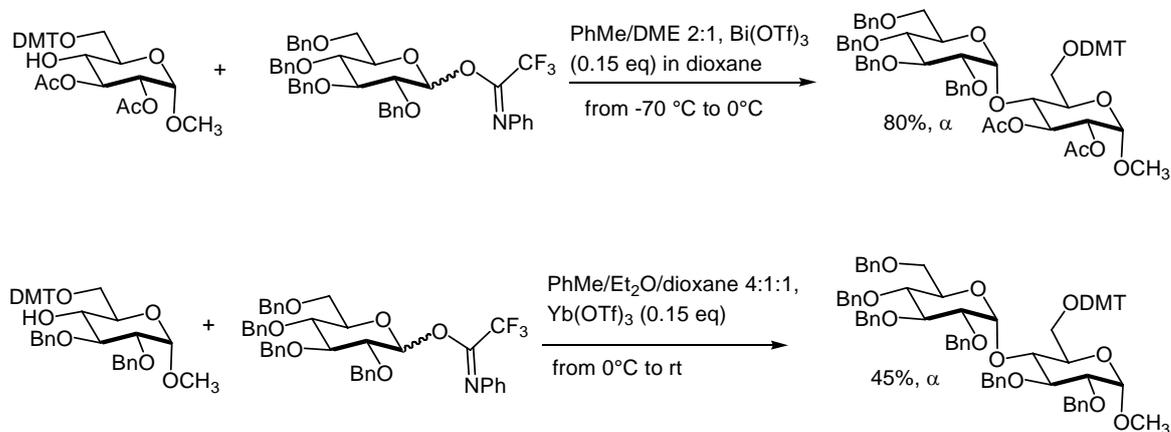


TABELLA V

In TABELLA V sono riportate infine due glicosidazioni molto simili promosse con 0.15 equivalenti di Bi(OTf)₃ o Yb(OTf)₃, le relative condizioni di reazione (miscela solventi, temperatura etc...) le rese di isolamento e la stereo selettività dell'accoppiamento.¹⁰⁰ Tali risultati sono degni di una particolare menzione da diversi punti di vista. La premessa importante è che l'accettore utilizzato reca sul carbinolo primario un gruppo protettore dimetossitritile (DMT: 4,4'-dimetossitriifenilmetile) noto tanto per la sua notevole labilità in ambiente acido, che lo esclude dal ventaglio di gruppi protettori utilizzati nella sintesi oligosaccaridica per la natura fortemente acida dei promotori canonici, quanto per il suo utilizzo come gruppo transiente nella sintesi automatizzata di oligonucleotidi.¹⁰¹ Entrambi i sali utilizzati permettono l'adozione di questo gruppo protettore, aprendo così una nuova via verso un'eventuale applicazione di tale procedura in fase solida, emulando la procedura utilizzata con gli oligonucleotidi. Oltre a ciò, il notevole ingombro sterico del DMT induce un'esclusiva α -selettività nell'accoppiamento partendo da donatori perbenzilati, cosa che, come abbiamo precedentemente discusso, è difficile da ottenere.

Così come nella α -fucosilazione, il Bi(OTf)₃, anche in questo caso, ha dato risultati migliori. Quest'ultimo, contrariamente ai sali lantanidici¹⁰² non può essere completamente privato dell'acqua¹⁰³ (perché è acqua di cristallizzazione) per cui viene semplicemente coevaporato con toluene anidro prima dell'uso. I risultati ottenuti dimostrano però che l'acqua contenuta in questo sale non influisce assolutamente sull'esito delle reazioni di glicosidazione.

¹⁰⁰ Risultati non pubblicati

¹⁰¹ Septak, Michael. *Nucleic Acids Research* **1996**, 24(15), 3053-3058; b) Guo, Zhiqiang; Pfundheller, Henrik M.; Sanghvi, Yogesh S. *Organic Process Research & Development* **1998**; c) Guzaev, Andrei; Boyode, Brunel; Balow, Guity; Manoharan, Muthiah. *Nucleosides & Nucleotides* **1999**, 18(6 e 7), 1389-1390. d) Rotz, Achim H.; McElroy, Bethany; Scozzari, Anthony N. *PCT Int. Appl.* **2000**, 25 pp. e) Abbas, Sahar; Bertram, Richard D.; Hayes, Christopher J. *Organic Letters* **2001**, 3(21), 3365-3367. f) Ngo, Nam Q.; Jaquinod, Laurent. *U.S. Pat. Appl. Publ.* **2008**, 18pp.

¹⁰¹ Forsberg, J. H.; Spaziano, V. T.; Balasubramanian, T. M.; Liu, G. K.; Kinsley, S. A.; Duckworth, C. A.; Poteruca, J. J.; Bown, P. S.; Miller, J. L. *J. Org. Chem.*, **1987**, 52, 1017-1021.

¹⁰² Forsberg, J. H.; Spaziano, V. T.; Balasubramanian, T. M.; Liu, G. K.; Kinsley, S. A.; Duckworth, C. A.; Poteruca, J. J.; Bown, P. S.; Miller, J. L. *J. Org. Chem.*, **1987**, 52, 1017-1021.

¹⁰³ Per una rivista su Bi(OTf)₃ in sintesi organica: Gaspard-Houghmane, H.; Le Roux, C. *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, 2517-2532.

Conclusioni

Il $\text{Bi}(\text{OTf})_3$ si è rivelato essere un potente attivante di glicosil tricloro- ed (*N*-fenil)trifluoroacetimidati. Le glicosidazioni sono condotte ottenendo alte rese, a basse temperature e in tempi molto brevi (vedi sezione sperimentale) e sono pertanto comparabili ai protocolli standard basati su promotori che sono forti acidi di Lewis e molto difficili sia da utilizzare che da conservare (forte igroscopicità, corrosività, etc...) contrariamente al triflato di bismuto(III). Il promotore da noi sperimentato è molto versatile ed è stato pertanto possibile utilizzare una grande varietà di donatori sia "armati" che "disarmati" (anche peracetilati e perbenzoilati) con substrati di tipo gluco-, manno-, galatto, glucosammina e fuco- (di notevole rilievo il risultato con quest'ultimo, TAB. II). La natura blanda di $\text{Bi}(\text{OTf})_3$ ha reso possibile per la prima volta l'utilizzo del dimetossitritile (fortemente α -dirigente) come gruppo protettore, rendendo così accessibili procedure fino ad oggi non utilizzabili per la forte acidità dei promotori canonici.

Parte sperimentale

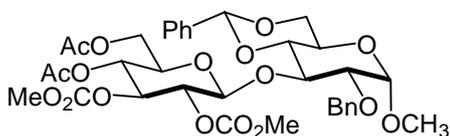
Metodi generali

Gli spettri ^1H NMR sono stati registrati su spettrometri Varian Gemini (200 MHz e 300 MHz) e Bruker (400 MHz). I chemical shifts degli spettri ^1H NMR in CDCl_3 sono stati misurati utilizzando TMS come standard interno. L'attribuzione dei segnali ^1H NMR è stata effettuata mediante esperimenti di disaccoppiamento.

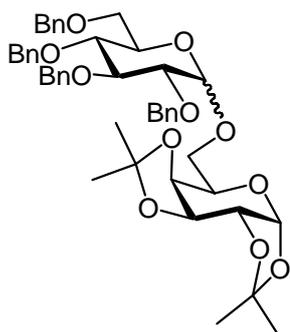
Le cromatografie su strato sottile (TLC) sono state realizzate utilizzando lastre di gel di silice F254 (Merck); la presenza di prodotti saccaridici è stata rilevata mediante esposizione ad aerosol di una soluzione 95:5 etanolo/ H_2SO_4 conc e successiva carbonizzazione della lastra eluita. Le cromatografie su colonna sono state realizzate usando gel di silice 60 (Merck). Le reazioni di glicosidazione sono state realizzate in atmosfera inerte di argon, utilizzando solventi anidri (Fluka) e setacci molecolari 4 A AW 300 MS (Fluka), attivati a 200 °C sotto vuoto per 1-2 ore prima dell'impiego.

Procedura tipica per una reazione di glicosidazione: Una miscela di donatore **8** (58 mg, 0.105 mmol) e accettore **17** (32 mg, 0.086 mmol) è stata coevaporata tre volte con toluene anidro e tenuta sotto vuoto per 30 minuti. Tale miscela è stata poi disciolta a 0°C in atmosfera di argon con 1,2-dicloroetano (1.2 mL) in presenza di setacci molecolari lavati con acido (AW 300 MS). Anche il triflato di Bismuto (III) è stato coevaporato tre volte con toluene anidro, tenuto sotto vuoto 30 minuti e sciolto in diossano (20 mg/mL) in presenza di setacci molecolari attivati (l'ultrasonificazione favorisce il processo di solubilizzazione). Un aliquota di questa soluzione (280 μL , 8.5 μmol di promotore) è stata aggiunta, a 0°C alla miscela contenente il donatore e l'accettore. L'analisi TLC fatta dopo 10 minuti ha mostrato il consumo completo del donatore. E' stata aggiunta qualche goccia di piridina alla miscela che è stata poi filtrata su un sottile strato di silice e concentrata. Il prodotto ottenuto è stato purificato su una colonna di gel di silice

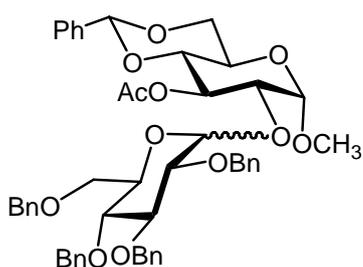
con una miscela eluente esano/acetato di etile e la resa di isolamento di **26** è stata del 79% (48 mg).



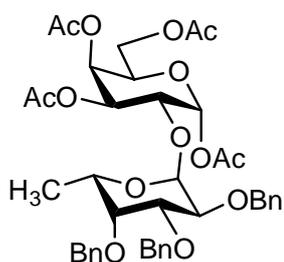
26: ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.30-7.60 (aromatic protons), 5.52 (1H, s), 5.03 (1H, t, $J_{2,3} = J_{3,4} = 10.0$ Hz, H-4'), 5.00-4.90 (2H, segnali sovrapposti, H-2' e H-3'), 4.85 (1H, d, $J_{\text{gem}} = 11.2$ Hz, $-\text{OCH}_a\text{H}_b\text{Ph}$), 4.48 (1H, d, $-\text{OCH}_a\text{H}_b\text{Ph}$), 4.45 (1H, $J_{1,2} = 3.6$ Hz, H-1), 4.22 (1H, d, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, H-1'), 4.20 (1H, dd, $J_{5,6\text{eq}} = 2.8$ Hz, $J_{6\text{ax},6\text{eq}} = 10.0$ Hz, H-6eq), 4.11 (1H, $J_{5,6\text{a}} = 4.4$ Hz, $J_{6\text{a},6\text{b}} = 12.0$ Hz, H-6a'), 3.93 (1H, $J_{5,6\text{b}} = 2.4$ Hz, H-6b'), 3.85-3.75 (2H, segnali sovrapposti, H-3 and H-5), 3.77 and 3.76 (6H, 2xs, 2x $-\text{OCO}_2\text{CH}_3$), 3.72 (1H, t, $J_{5,6\text{ax}} = J_{5,6\text{eq}} = 10.0$ Hz, H-6ax), 3.56 (1H, $J_{3,4} = J_{4,5} = 10.0$ Hz, H-4), 3.52-3.49 (2H, segnali sovrapposti, H-2 e H-5'), 3.34 (3H, s, 1- OCH_3), 2.01 and 1.98 (6H, 2xs, 2x $-\text{COCH}_3$). ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 170.7 and 169.4 ($-\text{COCH}_3$), 155.1 and 154.9 ($-\text{OCO}_2\text{CH}_3$), 138.0 e 137.2 (C aromatici), 129.0-126.0 (CH aromatici), 101.2 (CH del benzilidene), 100.5 (C-1'), 98.7 (C-1), 55.3 ($-\text{OCH}_3$), 20.7 e 20.6 ($-\text{COCH}_3$). Altri segnali a δ 79.7, 79.6, 75.4, 74.2, 71.4, 68.9, 68.3, 62.2, 61.9.



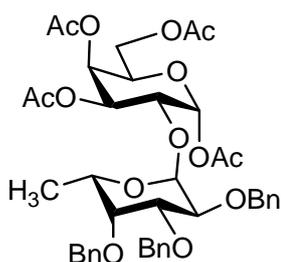
19: ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3). Segnali α -anomero a δ 7.50-7.10 (protoni aromatici), 5.52 (1H, d, $J_{1,2} = 5.2$ Hz, H-1), 5.05-4.10 (8H, 4xAB, 4x $-\text{CH}_2\text{Ph}$), 5.00 (1H, d, $J_{1,2} = 3.8$ Hz, H-1'), 4.58 (1H, m, H-3), 4.34 (1H, dd, $J_{4,3} = 8.4$ Hz, $J_{4,5} = 2.2$ Hz, H-4), 4.30 (1H, dd, $J_{2,3} = 2.8$ Hz, H-2), 4.10 (1H, t, H-5), 3.98 (1H, t, $J_{3,2} = J_{3,4} = 9.0$ Hz, H-3'), 3.88-3.64 (3H, segnali sovrapposti, H-5 e 2xH-6'), 3.58 (1H, dd, H-2'); 1.53, 1.45, 1.32 e 1.31 (12H, 4xs, 4x $-\text{CO CH}_3$). ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ 138.9, 138.3, 138.3 e 138.0 (C aromatici), 128.6 - 127.5 (CH aromatici); 109.2 e 108.5 (2x $-\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 97.0 and 96.3 (C-1 A and B), 26.1, 26.0, 24.9, e 24.6 (2x $-\text{C}(\text{CH}_3)_2$). Altri segnali a 81.9, 79.8, 75.6, 74.9, 73.4, 72.3, 70.8, 70.6, 70.6, 70.2, 68.3, 66.1 e 65.7.



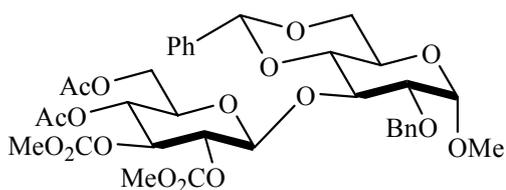
20: ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 7.50-7.05 (protoni aromatici), 5.61 (1H, t, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.6$ Hz, H-3), 5.46 (1H, s, CHPh benzilidene), 4.97-4.43 (8 H, 4xAB, 4x -CH₂Ph), 4.90 (1H, $J_{1,2} = 3.9$ Hz, H-1), 4.80 (1H, $J_{1,2} = 3.6$ Hz, H-1'), 4.29 (1H, dd, $J_{6\text{eq}, 6\text{ax}} = 10.2$ Hz, $J_{6\text{eq}, 5} = 4.8$ Hz, H-6eq), 3.98-3.82 (3H, segnali sovrapposti, H-3', H-5, e H-5'), 3.79 (1H, dd, $J_{2,3} = 9.6$ Hz, H-2), 3.76-3.57 (4H, segnali sovrapposti, H-4', 6-CH₂', e H-6ax), 3.53 (1H, t, $J_{2,3} = 9.6$ Hz, H-4), 3.52 (1H, dd, $J_{2,3} = 9.9$ Hz, H-2'), 3.44 (3H, s, -OCH₃), 2.00 (3H, s, -COCH₃). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 50 MHz) δ 170.2 (CO acetile); 138.8, 138.6, 137.9, 137.8, e 136.9 (C aromatici); 128.4-126.3 (CH aromatici), 102.1 (benzilidene -CHPh); 97.4 e 96.0 (C-1 e C-1'), 55.3 (OCH₃), 20.9 (CH₃ acetile). Altri segnali a: 82.6, 81.4, 78.6, 77.2, 75.6, 74.7, 73.5, 72.2, 71.2, 70.5, 70.3, 69.0, 68.3, 61.9



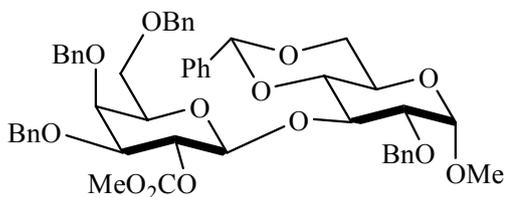
21: ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 7.40-7.20 (aromatici), 6.28 (1H, d, $J_{1,2} = 3.8$ Hz, H-1), 5.48 (1H, bd, $J_{3,4} = 3.2$ Hz, H-4), 5.35 (1H, dd, $J_{2,3} = 10.6$ Hz, H-3), 5.05 (1H, d, $J_{1,2} = 3.4$ Hz, H-1'), 5.00-4.60 (6H, 3x -CH₂Ph), 4.29 (1H, bt, $J_{5,6} = 6.6$ Hz, H-5 B), 4.20-3.95 (4H, m, H-2, H-2' and H₂-6), 3.83 (1H, bq, $J_{5,6} = 6.6$ Hz, H-5'), 3.77 (1H, dd, $J_{2,3} = 10.2$ Hz, $J_{3,4} = 2.8$ Hz, H-3'), 3.63 (1H, bd, H-4'); 2.16, 2.10, 2.03, 1.73 (12H, 4xs, 4x -COCH₃), 1.11 (3H, d, $J_{5,6} = 6.6$ Hz, H₃-6'). ^{13}C NMR (50MHz, CDCl_3) δ 170.4, 170.0, 170.0, 169.6 (4x -COCH₃); 138.6, 138.6, e 138.5 (C aromatici), 128.3-127.2 (CH aromatici), 99.6 (C-1'), 91.3 (C-1), 20.9, 20.6, 20.6, 20.4 (4x -COCH₃), 16.5 (6-CH₃ A). Altri segnali a: 78.5, 77.2, 75.7, 74.7, 72.7, 72.6, 71.4, 69.3, 68.3, 67.6, 67.2, 61.2.



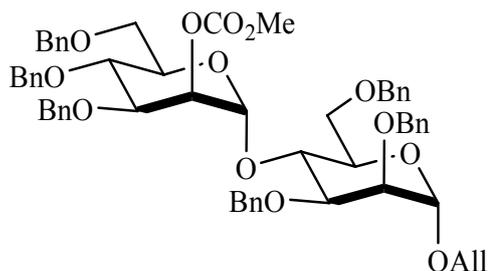
22: ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 6.00-5.80 (1H, m, -CH₂CH=CH₂), 5.78 (1H, d, $J_{\text{NH}_2} = 7.2$ Hz, -NHAlloc), 5.50-5.15 (4H, segnali sovrapposti, -CH₂CH=CH₂, H-3, e H-4), 4.98 (1H, d, $J_{1,2} = 3.6$ Hz, H-1), 4.65-4.50 (3H, m, -CH₂CH=CH₂ e H-2'), 4.25-4.00 (5H, segnali sovrapposti), 3.80 (3H, s, -OCH₃), 3.61 (1H, dd, $J_{2,3} = 10.8$ Hz, H-2).



25:¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.30-7.60 (aromatici), 5.52 (1H, s, -CHPh benzilidene), 5.03 (1H, t, $J_{2,3} = J_{3,4} = 10.0$ Hz, H-4'), 5.00-4.90 (2H, segnali sovrapposti, H-2' and H-3'), 4.85 (1H, d, $J_{\text{gem}} = 11.2$ Hz, -OCH_aH_bPh), 4.48 (1H, d, -OCH_aH_bPh), 4.45 (1H, $J_{1,2} = 3.6$ Hz, H-1), 4.22 (1H, d, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, H-1'), 4.20 (1H, dd, $J_{5,6\text{eq}} = 2.8$ Hz, $J_{6\text{ax},6\text{eq}} = 10.0$ Hz, H-6eq), 4.11 (1H, $J_{5,6\text{a}} = 4.4$ Hz, $J_{6\text{a},6\text{b}} = 12.0$ Hz, H-6a'), 3.93 (1H, $J_{5,6\text{b}} = 2.4$ Hz, H-6b'), 3.85-3.75 (2H, segnali sovrapposti, H-3 and H-5), 3.77 e 3.76 (6H, 2×s, 2× -OCO₂CH₃), 3.72 (1H, t, $J_{5,6\text{ax}} = J_{5,6\text{eq}} = 10.0$ Hz, H-6ax), 3.56 (1H, $J_{3,4} = J_{4,5} = 10.0$ Hz, H-4), 3.52-3.49 (2H, segnali sovrapposti, H-2 and H-5'), 3.34 (3H, s, 1-OCH₃), 2.01 and 1.98 (6H, 2×s, 2× -COCH₃). ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 170.7 and 169.4 (-COCH₃); 155.1 e 154.9 (-OCO₂CH₃), 138.0 e 137.2 (C aromatici); 129.0-126.0 (CH aromatici), 101.2 (-CHPh benzilidene), 100.5 (C-1'), 98.7 (C-1), 55.3 (-OCH₃); 20.7 e 20.6 (-COCH₃). Altri segnali a δ 79.7, 79.6, 75.4, 74.2, 71.4, 68.9, 68.3, 62.2, 61.9.

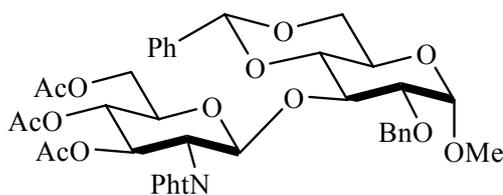


27:¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7.50-7.15 (aromatici), 5.48 (1H, s, -CHPh benzilidene), 5.24 (1H, dd, $J_{1,2} = 8.1$ Hz, $J_{2,3} = 9.6$ Hz, H-2'), 4.76 (1H, d, H-1'), 4.41 (1H, d, $J_{1,2} = 3.3$ Hz, H-1), 4.95-4.20 (6H, 4 × -CH₂Ph), 4.30-4.00 (2H, sovrapposti, H-3 e H-6eq), 3.92 (1H, d, $J_{3,4} = 2.7$ Hz, H-4'), 3.73 (3H, s, -CO₂CH₃), 3.80-3.55 (sovrapposti, H-4, H-5, H-6ax, H₂-6'), 3.55-3.45 (sovrapposti, H-2, H-3'), 3.40-3.35 (1H, m, H-5'), 3.35 (3H, s, -OCH₃). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 155.3 (-OCO₂Me); 138.52, 138.47, 137.89, 137.7, 137.4 (C aromatici), 129.3-126.0 (CH aromatici); 101.05, 100.98, 99.0 (-CHPh benzilidene, C-1 e C-1'), 80.7, 80.2, 78.9, 78.0, 77.1, 76.2, 74.4, 74.3, 73.4, 72.9, 72.5, 72.0, 68.9, 68.0, 67.0, 62.0; 55.2, e 54.8 (2× -OCH₃).



28: ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.40-7.00 (aromatici), 5.95-5.80 (1H, m, - $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.48 (1H, bs, H-1'), 5.26-5.15 (3H, H-2' e - $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 4.89 (1H, bs, H-1), 4.80-4.20 (12 H, 6 x - CH_2Ph), 4.25-4.10 (2H, m), 3.94 (1H, m, -

$\text{CH}_a\text{H}_b\text{CH}=\text{CH}_2$), 3.85-3.80 (3H, m), 3.65 (3H, s, - CO_2CH_3), 3.61 (1H, dd, $J_{5,6a} = 3.3$ Hz, $J_{6a,6b} = 10.8$ Hz, H-6a'), 3.61 (1H, dd, $J_{5,6a} = 3.3$ Hz, $J_{6a,6b} = 10.8$ Hz, H-6a'), 3.47 (1H, bd, H-6b'). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 155.1 (- OCO_2Me), 138.51, 138.47, 138.3, 138.14, 138.10, 138.0 (C aromatici), 133.8 (- $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 128.3-127.4 (CH aromatici), 117.2 (- $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$); 99.2 e 96.8 (C-1 e C-1'), 79.9, 78.2, 77.2, 75.1, 74.2, 73.9, 73.8, 73.5, 73.2, 72.6, 72.5, 71.7, 71.3, 69.9, 68.8, 68.0; 54.7 (- OCH_3).



29: ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.80-7.00 (aromatici), 5.77 (1H, t, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.6$ Hz, H-3'), 5.61 (1H, d, $J_{1,2} = 8.7$ Hz, H-1'), 5.52 (1H, s, - CHPh benzilidene), 5.16 (1H, t, $J_{4,5} = 9.6$ Hz, H-4'), 4.40-4.30 (2H, segnali

sovrapposti), 4.21 (1H, d, $J_{1,2} = 3.9$ Hz, H-1), 4.18-3.95 (4H, segnali sovrapposti), 3.80-3.75 (4H, segnali sovrapposti), 3.95 (1H, dd, $J_{2,3} = 8.7$ Hz, H-2), 3.17 (- OCH_3), 2.01, 1.97, e 1.83 (9H, 3xs, 3x - COCH_3). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 170.6, 170.1, 169.4 (3x - COCH_3), 167.8 (2x CO Pht); 123.0, 137.2, 134.1 138.52, 138.4, 129.2, 128.3, 127.7, 127.6, 126.1, 123.4 (aromatici), 101.5 (- CHPh benzilidene), 98.6 (x2) (C-1 e C-1'), 80.5, 78.8, 78.0, 73.4, 71.5, 70.8, 68.9, 68.6, 61.8, 61.4, 55.4 (OCH_3).

Capitolo III

Nuovi approcci per la sintesi e l'attivazione di tio- e selenoglicosil donatori¹⁰⁴

Introduzione

I tioglicosidi non sono molto comuni in natura e sono stati ritrovati solo alcuni semplici alchil- ed aril tioglicosidi come costituenti di antibiotici da specie *Streptomices*; nonostante ciò essi rappresentano il principale tipo di glicosil donatori utilizzati nella sintesi oligosaccaridica.

Il primo tioglicoside fu sintetizzato nel 1909¹⁰⁵ ma le qualità di questa classe di glicosil donatori furono riconosciute molto più tardi: la prima sintesi di un disaccaride a partire da un tioglicoside¹⁰⁶ risale all'inizio degli anni '70 ma solo verso la metà degli anni ottanta si resero disponibili promotori abbastanza efficienti da rendere le glicosidazioni con i tioglicosidi un metodo generale ed accettato.

Il vantaggio di questi donatori quali agenti glicosilanti consiste nella loro agevole sintesi combinata alla loro stabilità, e allo stesso tempo nell'efficiente attivazione che si ha utilizzando promotori tiofilici chemoselettivi. La stabilità dei tioglicosidi è tale che essi non solo possono essere conservati a lungo ma tollerano anche

¹⁰⁴ Valerio S.; Iadonisi A.; Adinolfi M.; Ravida A. **Novel Approaches for the Synthesis and Activation of Thio- and Selenoglycoside Donors.** *Journal of Organic Chemistry* (2007), 72(16), 6097-6106.

¹⁰⁵ Fisher, E. et al *Ber.* **1909**, 42, 1476.

¹⁰⁶ Ferrier R.J. et al. *Carbohydr. Res.*, **1973**, 27, 55-61.

svariate manipolazioni chimiche senza che ciò intacchi il gruppo solforato anomero. Le più comuni manipolazioni dei gruppi protettori dei carboidrati possono essere realizzate su un tioglicoside, cosa che rende possibile la preparazione di donatori di questo tipo altamente funzionalizzati. Oltre a ciò i tioglicosidi sono inerti rispetto a molte condizioni di glicosidazione, caratteristica che li rende utilizzabili anche come accettori nell'assemblaggio di catene oligosaccaridiche. Infine questi possono essere convertiti in altri tipi di donatori (FIGURA 1), il che li rende molto versatili. Nel corso degli anni sono stati riportati in letteratura¹⁰⁷ numerosi protocolli di attivazione e si può affermare che il loro impiego è predominante in recenti procedure molto per l'assemblaggio di frammenti oligosaccaridici con modalità "one-pot".¹⁰⁸

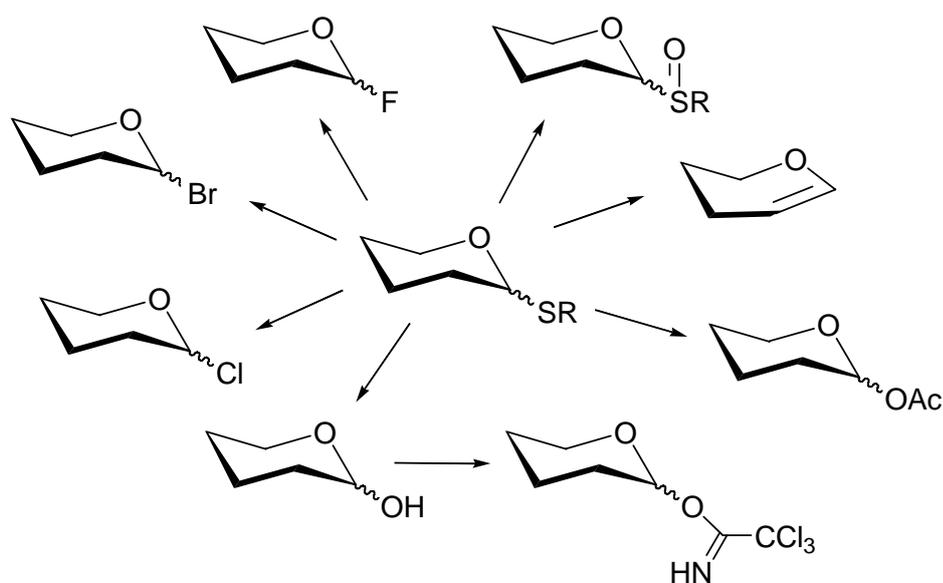


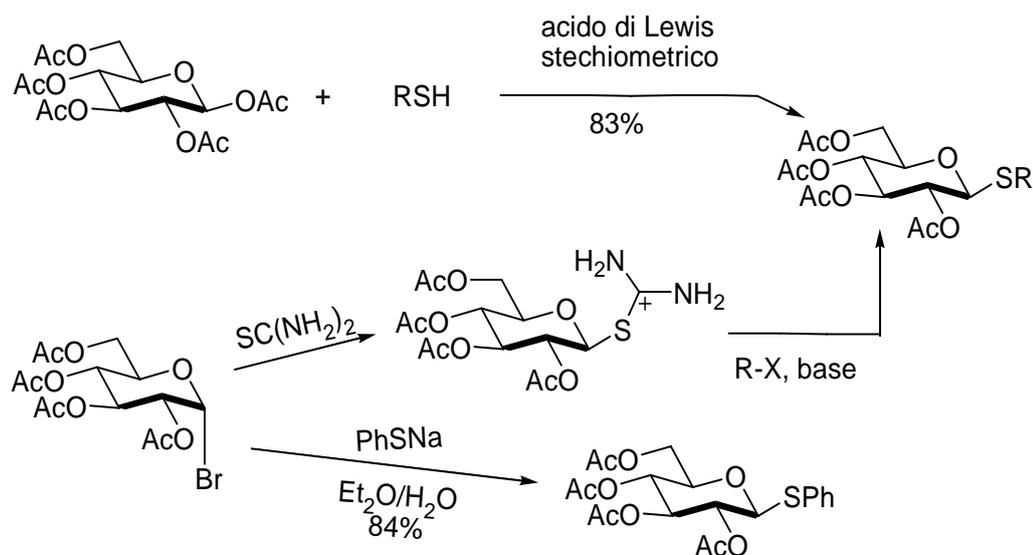
FIGURA 1: Conversione dei tioglicosidi in altri glicosil donatori

¹⁰⁷ Garegg, P. J. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1997**, 52, 179-205. Codée, J. D. C.; Litjens, R. E. J. N.; van den Bos, L. J.; Overkleeft, H. S.; van der Marel, G. A. *Chem. Soc. Rev.* **2005**, 34, 769-782.

¹⁰⁸ Zhang, Z.; Ollman, I. R.; Ye, X.-S.; Wischnat, R.; Baasov, T.; Wong, C.-H. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 734-753.

Sintesi di Tio- e Selenoglicosidi

La sintesi degli alchil ed aril tioglicosidi più utilizzati è molto semplice e può essere effettuata su larga scala a partire da reagenti economici. Spesso il prodotto è cristallino e può essere quindi purificato senza ricorrere alla cromatografia. Sono state messe a punto svariate metodologie sintetiche per i tioglicosidi,¹⁰⁹ ma due restano le più semplici e le più utilizzate: la reazione di glicosidi peracetilati con un tiolo in presenza di un acido di Lewis¹¹⁰ e la reazione di un glicosil alogenuro con un tiolato¹¹¹ (SCHEMA 1). Sempre a partire da glicosil bromuri è possibile sintetizzare indirettamente questi donatori: per reazione con la tiourea si forma il corrispondente sale di tiouronio, che può essere idrolizzato, per dare il tiolo,¹¹² o fatto reagire con un alchil alogenuro in presenza di una base come la TEA.¹¹³



SCHEMA 1: Procedure sintetiche più comuni per ottener alchil- ed aril tioglicosidi.

Queste procedure soffrono dell'uso di agenti maleodoranti e di quantità substechiometriche o di un eccesso di reagenti molto acidi e sensibili all'umidità. Le reazioni richiedono spesso lunghi tempi di reazione e spesso si ottengono

¹⁰⁹ a) Horton, D. et al. *Adv. Carbohydr. Chem.* **1963**, 18, 123; b) Norberg T. in *Modern methods in Carbohydrate Synthesis*, Harwood Academic Publishers, **1995**, pp 82-106; c) Garegg, P.J. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1997**, 52, 179.

¹¹⁰ Dasgupta, F.; Garegg, P. J. *Acta Chem. Scand.* **1989**, 43, 471-475.

¹¹¹ Fisher, E. et al *Ber.* **1909**, 42, 1476.

¹¹² Horton, D. *Methods Carbohydr. Chem.* **1963**, 2, 433

¹¹³ Ibatullin, F. M.; Shabalin, K. A.; Jänis, J. V.; Shavva, A. G. *Tetrahedron Lett.* **2003**, 44, 7961-7964.

indesiderate miscele anomeriche. Molto recentemente il MoO_2Cl_2 si è rivelato essere un efficiente promotore catalitico anche se era ugualmente necessario l'uso di tioli e i tempi di reazione restavano lunghi.¹¹⁴ Sempre di recente i glicosil bromuri sono stati nuovamente utilizzati per accedere ai tioglicosidi generando preliminarmente un tiolato nucleofilo per riduzione del corrispondente disolfuro con zinco attivato.¹¹⁵

I fenilseleno glicosidi rappresentano un'altra classe di utili glicosil donatori attivabili con promotori "soft". Analogamente ai tioglicosidi, essi sono preparati per attivazione acida di zuccheri peracetilati in presenza di fenilselenolo generato "in situ" con una laboriosa procedura.¹¹⁶ Un altro protocollo prevede la formazione di un anione fenilselenolato per riduzione in situ del corrispondente diseleniuro con zinco e successivo attacco nucleofilo su un glicosil bromuro.¹¹ Alternativamente, può essere utilizzato InI per mediare la stessa trasformazione, benché il differente meccanismo della reazione comporti una diversa composizione anomeric dei prodotti.¹¹⁷

Nel corso del mio lavoro di dottorato, è stato possibile dimostrare i vantaggi cinetici associati all'uso dei glicosil ioduri come precursori di tioalchil-, tiofenil- e selenofenilglicosidi. In un lavoro molto recente di Field e collaboratori è stato mostrato che i glicosil ioduri sono utili intermedi nella sintesi di etil o metil tioglicosidi peracetilati ed è stata sviluppata un'efficiente procedura "one-pot" a partire dagli zuccheri deprotetti.¹¹⁸ Si parte da un'iniziale peracetilazione dello zucchero, molto veloce, con iodio e anidride acetica,¹¹⁹ si iodura quindi in posizione anomeric aggiungendo iodio stechiometrico ed esametildisilano¹²⁰ e si installa finalmente il gruppo tioalchilico sul C-1 per addizione del corrispondente tiolo o disolfuro. Tutta la procedura richiede un solo work-up e una sola purificazione cromatografica anche se, contrariamente a quanto accade con la

¹¹⁴ Weng, S.-S., Lin, Y.-D., Chen, C.-T. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 5633-5636.

¹¹⁵ Mukherjee, C.; Tiwari, P.; Misra, A. K. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 441-445.

¹¹⁶ a) Mehta, S.; Pinto, B. M. *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 4435-4438; b) Mehta, S.; Pinto, B. M. *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 3269-3276. c) Zuurmond, H. M.; van der Meer, P. H.; van der Klein, P. A. M.; van der Marel, G. A.; van Boom, G. A. *J. Carbohydr. Chem.* **1993**, *12*, 1091-1103.

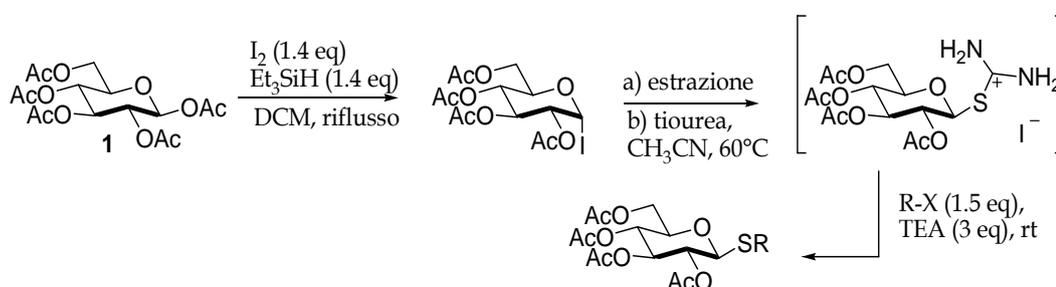
¹¹⁷ Tiwari, P.; Misra, A. K. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 2345-2348.

¹¹⁸ Mukhopadhyay, B.; Kartha, K. P. R.; Russell, D. A.; Field, R. A. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 7758-7760.

¹¹⁹ Kartha, K. P. R.; Field, R. A. *Tetrahedron* **1997**, *53*, 11753-11766.

¹²⁰ Kartha, K. P. R.; Field, R. A. *Carbohydr. Lett.* **1998**, *3*, 179-182.

peracetilazione, la iodurazione e la tioalchilazione richiedono diverse ore. Recentemente il gruppo di ricerca presso cui ho lavorato ha sviluppato una procedura molto efficiente, facile e veloce per ottenere glicosil ioduri a partire da zuccheri peracetilati per reazione con iodio e trietilsilano in lieve eccesso stechiometrico in diclorometano a refluxo. Queste reazioni sono molto veloci: generalmente vi è il completo consumo del prodotto di partenza dopo 5 minuti. A questo punto per estrazione della miscela si ottengono gli ioduri inquinati solo di sottoprodotti del trietilsilano, la presenza dei quali non comporta alcun inconveniente nelle elaborazioni sintetiche successive.¹²¹ Gli evidenti vantaggi di tale procedura hanno pertanto spinto all'indagine verso la sintesi di tio- e selenoglicosil donatori.



SCHEMA 2: Sintesi di alchiltioglicosidi via intermedi di tipo tiouronio derivati da glicosil ioduri.

Come illustrato nella SCHEMA 2 gli ioduri tal quali sono stati trattati con un eccesso (1.5 equivalenti) di tiourea in acetonitrile a $60^\circ C$. Dopo 10-25 minuti l'analisi TLC mostra il totale consumo dello ioduro e la concomitante conversione in un prodotto molto polare. C'è da sottolineare che, per ottenere lo stesso intermedio a partire da glicosilbromuri, sono necessarie condizioni di refluxo.¹²²

Portando la miscela a temperatura ambiente ed aggiungendo l'agente alchilante e trietilammina (EtI , MeI , o $BrCH_2(CH_2)_8CH=CH_2$) si ha la veloce formazione dei corrispondenti tioglicosidi (per EtI ed MeI i tempi di reazione superano difficilmente i 10-15 minuti). In TABELLA 1 sono mostrati i tioalchilglicosidi ottenuti con un'ottima resa di isolamento dopo aver concentrato e purificato cromatograficamente la miscela di reazione. Tutta la sequenza sintetica richiede

¹²¹ Adinolfi, M.; Iadonisi, A.; Schiattarella, M.; Ravidà, A. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 7863-7866; b) Per un' applicazione di questi intermedi: Adinolfi, M.; Iadonisi, A.; Pezzella, A.; Ravidà, A. *Synlett* **2005**, 1848-1852.

¹²² Ibatullin, F. M.; Selivanov, S. I.; Shavva, A. G. *Synthesis* **2001**, 419-422.

una sola estrazione (del glicosil ioduro) ed una purificazione cromatografica (in molti casi è possibile una semplice cristallizzazione). Ogni stadio non ha mai richiesto più di 25 minuti. Come mostrato in TABELLA 1, in tutti i casi predominano *1,2-trans* tioglicosidi (facilmente separati dall'anomero minoritario) ed è ben evidente, data la varietà delle tipologie di precursori saccaridici utilizzata, quanto sia versatile ed efficiente la procedura messa a punto

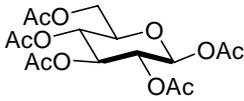
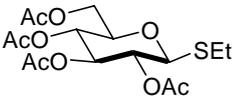
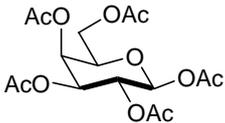
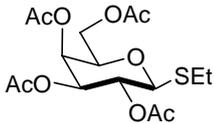
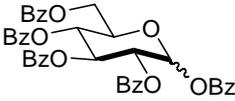
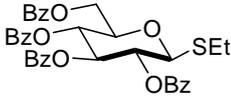
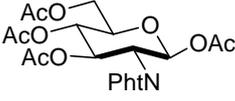
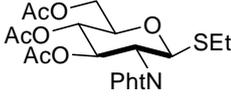
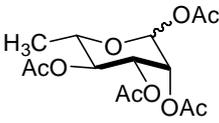
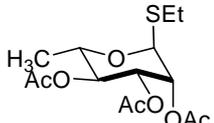
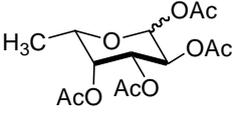
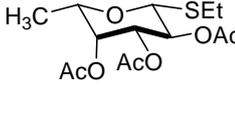
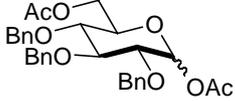
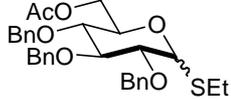
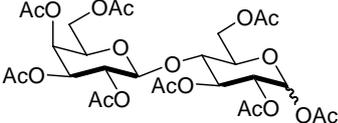
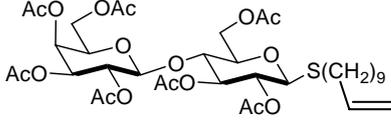
	PRECURSORE SACCARIDICO	PRODOTTO	RESA (β : α)
1 ^a	 <p style="text-align: center;">1</p>	 <p style="text-align: center;">9</p>	84 (>20)
2 ^a	 <p style="text-align: center;">2</p>	 <p style="text-align: center;">10</p>	91 (>30)
3 ^a	 <p style="text-align: center;">3</p>	 <p style="text-align: center;">11</p>	75 (>17)
4 ^a	 <p style="text-align: center;">4</p>	 <p style="text-align: center;">12</p>	69 (β)
5 ^a	 <p style="text-align: center;">5</p>	 <p style="text-align: center;">13</p>	67 (<0.1)
6 ^a	 <p style="text-align: center;">6</p>	 <p style="text-align: center;">14</p>	80 (>15)
7 ^{a,c}	 <p style="text-align: center;">7</p>	 <p style="text-align: center;">15</p>	75 (0.38)
8 ^b	 <p style="text-align: center;">8</p>	 <p style="text-align: center;">16</p>	67 (>10)

TABELLA 1: Sintesi di tioalchil glicosidi da precursori peracetilati. ^aEtI come agente alchilante; ^bBrCH₂(CH₂)₈CH=CH₂ come agente alchilante; ^cstep di iodurazione a -20 °C.

Di maggiore rilievo sono alcuni risultati: la procedura è stata applicata ad un precursore perbenzoilato **3** (reazione 3) che, invece, con procedure promosse da acidi di Lewis standard reagisce molto più lentamente¹²³, ed al derivato **7** (reazione 7), parzialmente benzilato, da cui si può ottenere il corrispondente ioduro ad una temperatura molto bassa (-20 °C) con quantità minori, rispetto alla procedura standard, di I₂ e trietilsilano (0.6 and 0.9 equivalenti, rispettivamente). Temperature maggiori portano alla decomposizione del precursore mentre è stato riportato in letteratura che l'uso alternativo di TMSI come agente iodurante della posizione anomericale su un substrato analogo, ma a temperature superiori a quelle utilizzate nella nostra procedura (0 °C), richiede un tempo di reazione di due ore.¹²⁴ Sempre relativamente alla reazione 7, essa è l'unico caso in cui è stata ottenuta una predominanza dell'anomero 1,2-*cis*. Le reazioni 6 e 7 sono state effettuate con successo su deossizuccheri e la 8 su un disaccaride. Per quest'ultima reazione, in cui è stata legata una lunga catena tioalchilica, sono stati necessari, per l'ultimo stadio, lunghi tempi di reazione.

Lo stesso schema sintetico è stato seguito a partire anche da zuccheri non protetti, acetilandoli nelle condizioni di Field (Iodio catalitico e anidride acetica) come primo passaggio (TABELLA 2).

¹²³ Ferrier, R. J.; Furneaux, R. H. *Methods Carbohydr. Chem.* **1980**, 8, 251-253.

¹²⁴ a) Lam, S. N.; Gervay-Hague, J. *Org. Lett.* **2002**, 4, 2039-2042; b) Lam, S. N.; Gervay-Hague, J. *Carbohydr. Res.* **2002**, 337, 1953-1965.

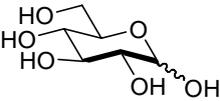
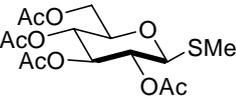
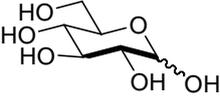
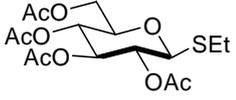
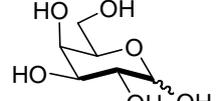
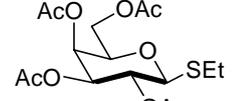
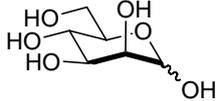
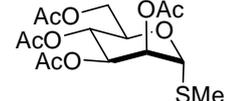
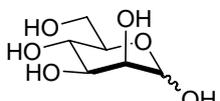
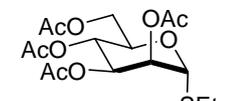
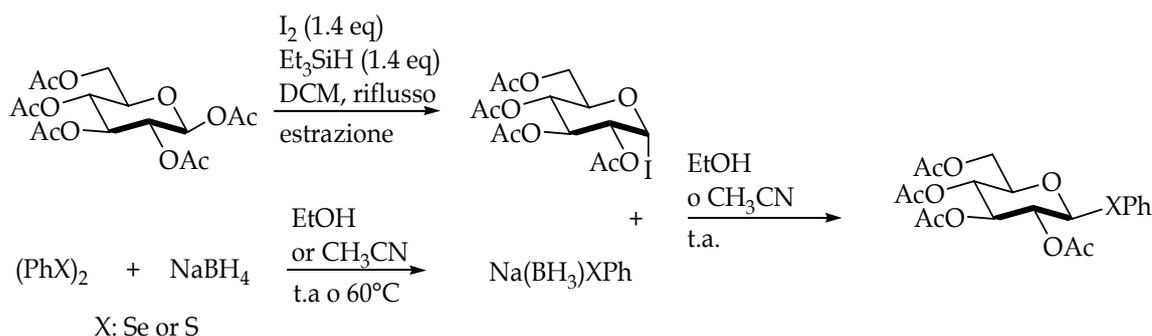
Reazione	Precursore Saccharidico	Prodotto	Resa ($\beta:\alpha$)
1 ^a		 17	73 (>20)
2 ^b		 9	78 (>20)
3 ^b		 10	80 (>30)
4 ^a		 18	77 (<0.05)
5 ^b		 19	72 (<0.05)

TABELLA 2: Sintesi di tioalchilglicosidi a partire da zuccheri deprotetti, (^aMeI come agente alchilante; ^bEtI come agente alchilante).

Una volta completata l'acetilazione, la iodurazione è stata eseguita aggiungendo semplicemente diclorometano, l'aliquota di Iodio necessaria per avere il giusto eccesso stechiometrico (1.4 equivalenti), e trietilsilano (1.4 equivalenti), ovviamente portando a riflusso. In tutti i casi le rese sono state molto buone e l'acido acetico che si genera non rallenta apprezzabilmente la procedura. Una volta effettuato il work-up estrattivo, si procede come descritto nello SCHEMA 2.

La reattività dei glicosil ioduri è stata anche esaminata per la sintesi di fenilseleno- e tiofenilglicosidi, molto utilizzati nella sintesi oligosaccaridica evidentemente non ottenibili via intermedio di tipo tiuronio. In alcuni esperimenti preliminari abbiamo osservato che era possibile generare velocemente (10-15 min.) anioni

fenilselenolato e feniltiolato trattando i corrispondenti precursori di tipo disolfuro e diseleniuro con sodio boroidruro stechiometrico in etanolo¹²⁵ o in acetonitrile senza alcuna necessità di atmosfera inerte. La successiva aggiunta di tali miscele allo ioduro tal quale porta alla formazione dei corrispondenti seleno- e tiofenilglicosidi in rese varie (da moderate ad eccellenti) ma sempre con ottimo stereocontrollo. (SCHEMA e TABELLA 3)



SCHEMA 3: Sintesi di seleno- e tiofenilglicosidi a partire da precursori 1-O-Acetilati via glicosilioduro.

Tutta la procedura non richiede più di un'ora e tutto ciò senza l'ausilio delle temperature elevate nello step finale di sostituzione (come invece riportato per i glicosil bromuri).¹²⁶

E' possibile osservare (TABELLA 3, reazioni 5 e 6), che il precursore di tipo *N*-ftalimido ha dato, in entrambi i casi e seppur in modeste rese, (reazioni 5 e 6), solo α -glicosidi e in questi casi è stato possibile utilizzare come solvente solo l'acetonitrile. Questi due risultati erano quanto meno inaspettati dato che è noto che l'ingombrante gruppo ftalimmido è β -orientante nelle tio- e selenoglicosidazioni anche in approcci che spingono fortemente verso una α -selettività con altri precursori saccaridici.¹²⁷ In tutti gli altri casi, anche con precursori 2-O-benzilati (reazioni 7 e 8) si è osservata una completa β -selettività.

¹²⁵ Sharpless, K. B.; Lauer, R. F. *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, *95*, 121, 2697-2699.

¹²⁶ Mukherjee, C.; Tiwari, P.; Misra, A. K. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 441-445.

¹²⁷ Tiwari, P.; Misra, A. K. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 2345-2348

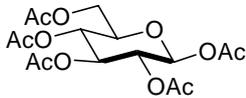
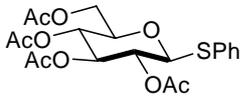
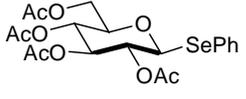
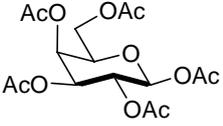
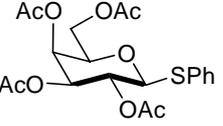
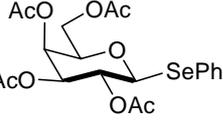
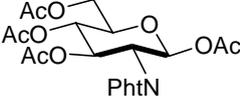
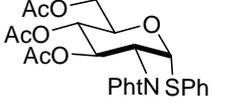
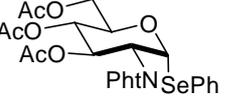
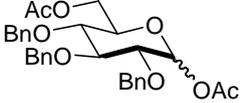
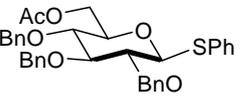
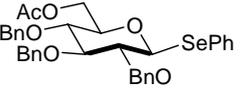
Reazione	Precursore Saccaridico	Solvente	Prodotto	Resa
1	 1	CH ₃ CN	 20	71
2	1	EtOH	 21	87
3	 2	EtOH	 22	96
4	2	EtOH	 23	77
5	 4	CH ₃ CN	 24	35
6	4	CH ₃ CN	 25	50
7	 7	CH ₃ CN	 26	75
8	7	CH ₃ CN	 27	76

TABELLA 3: Sintesi di seleno- e tiofenilglicosidi a partire da zuccheri 1-0-acetilati via glicosil-ioduro.

Purtroppo il protocollo non è risultato essere efficiente se applicato ad un precursore di tipo manno **28** (FIGURA 2) per l'ottenimento dei fenilselenoglicosidi in quanto in acetonitrile la miscela anomERICA di selenoglicosidi è stata ottenuta con una resa media e insieme ad un inseparabile prodotto orto estere misto **29** (FIGURA 2). In etanolo, invece, il prodotto predominante è risultato essere l'etil ortoestere **30**. L'ulteriore variazione di solventi non ha portato ad alcun miglioramento.

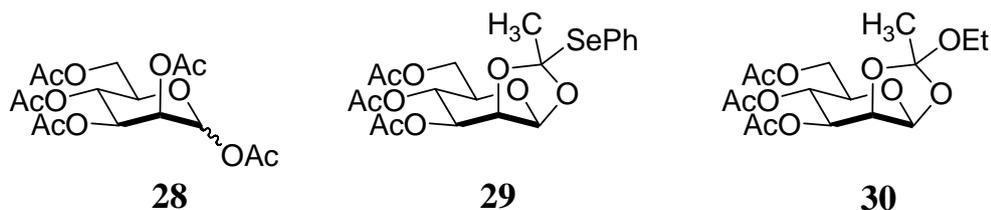


FIGURA 2: Prodotti di sintesi ottenuti a partire dal mannosio peracetilato.

Attivazione di Tio- e Selenoglicosil Donatori

Avendo a disposizione una libreria così vasta di tio- e selenoglicosidi, abbiamo ritenuto interessante la ricerca di un metodo di attivazione di tali donatori più conveniente e possibilmente più efficiente di quelli comunemente utilizzati.

Per quanto riguarda i tioglicosidi, questi possono essere facilmente attivati con reagenti tiofilici soft in condizioni blande (FIGURA 3).

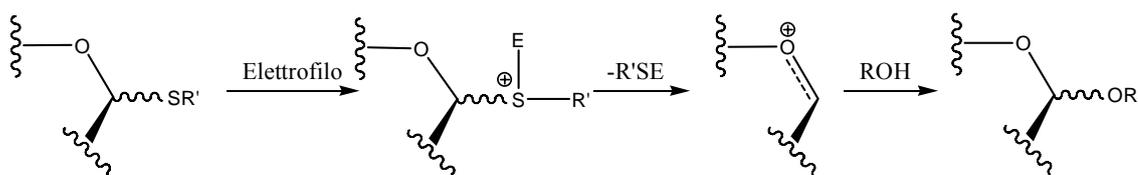
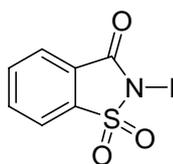


FIGURA 3: Attivazione di tioglicosidi ad opera di elettrofili soft per le glicosidazioni.

Il trattamento di un tioglicoside con tali reagenti porta alla formazione di uno ione solfonio che, con l'assistenza dell'ossigeno d'anello o di un gruppo partecipante, evolve nel comune intermedio delle reazioni di glicosidazione, il catione ossonio. Questo reagisce con il nucleofilo per dare il prodotto di glicosidazione.

I primi promotori utilizzati sono stati sali di mercurio(II) ed il primo successo è stato ottenuto con HgSO_4 ¹⁰⁶; successivamente sono stati provati anche $\text{Hg}(\text{OAc})_2$, HgCl_2 , $\text{Hg}(\text{OBz})_2$, PhHgOTf .¹²⁸ Tali sistemi non sono sufficientemente efficienti da essere generalmente applicabili. A partire dagli anni '80 furono sperimentati promotori migliori: NBS,¹²⁹ MeOTf ¹³⁰ e DMTST ¹³¹ più altre procedure di attivazione radicaliche ed elettrochimiche.¹³²

Sono stati usati anche promotori contenenti iodio: l'IDCP (Iodonio dicollidina perclorato) fu la prima fonte di iodio introdotta ma solo con l'uso del corrispondente triflato (IDCT) questa procedura iniziò ad essere adottata.¹³³ Van Boom¹³⁴ e Fraser-Reid¹³⁵ introdussero indipendentemente il sistema combinato N-Iodosuccinimide (NIS) stechiometrica ed acido triflico catalitico. Tale sistema di promozione permette di effettuare glicosidazioni con numerosi glicosil accettori e donatori mantenendo basse le temperature. L'acido triflico è spesso sostituito con TMSOTf , TESOTf , AgOTf o $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$. Recentemente è stato proposto l'utilizzo della N-Iodosaccarina (FIGURA 4) in luogo della NIS per ridurre gli occasionali sottoprodotti dovuti alla nucleofilicità della succinimide generalmente generata con questo sistema di promozione.



NISac

FIGURA 4: N-Iodosaccarina

¹²⁸ a) Tsai et al. *Can. J. Chem* **1984**, 62, 1403. b) Garegg, P. et al. *Carbohydr. Research*. **1983**, 116, 162.

¹²⁹ Hanessian, S. et al *Carbohydr. Research*. **1980**, 80, C17 ; b) Nicolau et al. *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, 105, 1430.

¹³⁰ a) Lonn, H. , *Carbohydr. Research*. **1985**, 139, 105; b) Lonn, H. , *Carbohydr. Research*. **1985**, 139, 115;

c) Lonn, H. , *Carbohydr. Chem.* **1987**, 6, 301.

¹³¹ Andersonn, F. et al. *Tetrahedron Lett.* **1986**, 27, 3919;

¹³²a) Griffin, G. W.; Bandara, N. C.; Clarke, M. A.; Tsang, W. -S.; Garegg, P. J.; Oscarson, S.; Silwanis, B. A. *Heterocycles* **1990**, 30, 939; b) amatore, C.; Jutand, A.; Mallet, J. -M.; Meyer, G.; Sinay, P. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1990**, 718; c) Balavoine, G. Greg, A.; Fischer, J. -C.; Lubineau, A. *Tetrahedron Lett.* **1990**, 31, 5761; d) Sinay, P. et al. *Synlett* **1990**, 572.

¹³³ Veeneman, G. H.; van Leeuwen, S. H., van Boom J. H. *J. Carbohydr. Chem.*, **1990**, 9, 783.

¹³⁴ Veeneman, G. H.; van Leeuwen, S. H., van Boom J. H. *Tetrahedron Lett.* **1990**, 31, 1331-1334

¹³⁵ Konradsson P.; Mootoo, D.R.; McDevitt, R.E.; Fraser-Reid, B. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1990**, 270; Konradsson P.; Udodong, U.E.; Fraser-Reid, B. *Tetrahedron Lett.* **1990**, 31, 4313;

La differenza di reattività fra i promotori sopracitati, in combinazione con l'intrinseca differenza di reattività fra vari donatori e accettori, permette di realizzare sintesi ortogonali tra tioglicosidi la cui reattività sia modulata anche dal tipo di aglicone: gruppi ingombranti o elettronattrattori legati allo zolfo diminuiscono la sua reattività come donatore.

Per i selenoglicosidi i sistemi attivanti sono simili e anche in questo caso i promotori hanno reattività variabili. C'è da sottolineare che in tutti i casi sono necessarie quantità stechiometriche di reagente.^{136,137}

Come premesso, il sistema più diffuso è NIS/TfOH, ma, dato l'elevato costo della NIS, si è provato ad utilizzare la più economica NBS come attivante stechiometrico. In realtà è stato visto che la sola NBS è sufficiente per attivare tioglicosidi derivati da deossizuccheri¹³⁸ mentre è necessario un co-promotore per gli zuccheri ordinari. Ad esempio, Kusumoto ha riportato la veloce attivazione di tioglicosidi armati e disarmati adottando alcuni sali acidi in quantità sunstechiometriche (0.5 eq) insieme all'NBS a -20 °C.¹³⁹ In un altro protocollo è stato utilizzato TMSOTf, acido e sensibile all'umidità,¹⁴⁰ in quantità catalitiche (0.2 eq.) come co-promotore dell'NBS stechiometrica a temperature molto basse (-50 °C). In questo lavoro è stato osservato, come sottoprocesso, la bromurazione elettrofilica di sistemi aromatici elettron-ricchi.

Nel Capitolo II è stato ampiamente motivato il nostro interesse per la ricerca di nuovi promotori, in reazioni di glicosidazione, blandi, stabili all'umidità e quindi facili da usare e conservare. In particolare abbiamo estesamente descritto le grandi potenzialità del triflato di bismuto(III) come attivante di glicosil tricloro- ed (*N*-fenil) trifluoroacetimmidati.¹⁴¹ I risultati ottenuti con questo promotore sono senza

¹³⁶ a) Mehta, S.; Pinto, B. M. *Tetrahedron Lett.* **1991**, 32, 4435-4438; b) Mehta, S.; Pinto, B. M. *J. Org. Chem.* **1993**, 58, 3269-3276; c) Zuurmond, H. M.; van der Meer, P. H.; van der Klein, P. A. M.; van der Marel, G. A.; van Boom, G. A. *J. Carbohydr. Chem.* **1993**, 12, 1091-1103.

¹³⁷ a) Garegg, P. J. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1997**, 52, 179-205.

b) Codée, J. D. C.; Litjens, R. E. J. N.; van den Bos, L. J.; Overkleeft, H. S.; van der Marel, G. A. *Chem. Soc. Rev.* **2005**, 34, 769-782.

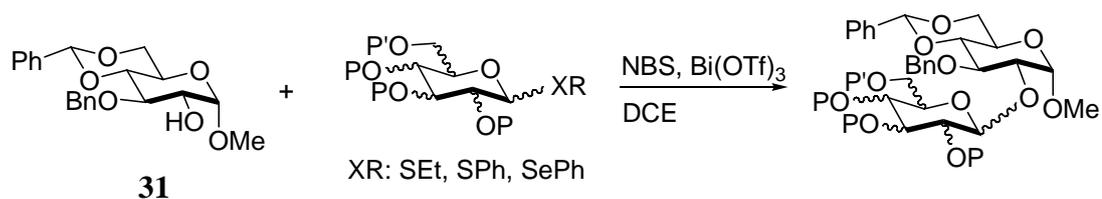
¹³⁸ Nicolaou, K. C.; Seitz, S. P.; Papahatjis, D. P. *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, 105, 2430-2434

¹³⁹ a) Fukase, K.; Hasuoka, A.; Kusumoto, S. *Tetrahedron Lett.* **1993**, 34, 2187-2190; b) Fukase, K.; Hasuoka, A.; Kinoshita, I.; Aoki, Y.; Kusumoto, S. *Tetrahedron* **1995**, 51, 4923-4932.

¹⁴⁰ Qin, Z. H.; Li, H.; Cai, M. S.; Li, Z. J. *Carbohydr. Res.* **2002**, 337, 31-36.

¹⁴¹ Adinolfi, M.; Iadonisi, A.; Ravidà, A.; Valerio, S. *Tetrahedron Lett.* **2006**, 47, 2595-2599.

alcun dubbio paragonabili a quelli che si hanno con i promotori standard¹⁴² per cui il comportamento di questo sale ci ha spinti a sperimentare il sistema NBS/Bi(OTf)₃, molto economico e facile da utilizzare e conservare. Alcuni esperimenti preliminari hanno mostrato che i tioglicosidi disarmati possono essere attivati in dicloroetano, a -30 °C con quantità catalitiche di Bi(OTf)₃ (aggiunto in soluzione di diossano). Una volta messe a punto le condizioni di attivazione sono state effettuate glicosidazioni di tio- e selenoglicosidi con l'acceptore modello **31** (SCHEMA 3)



SCHEMA 3: Glicosidazione dell'acceptore modello **31** con tioalchil-, tiofenil, e selenofenilglicosidi.

¹⁴² Demchenko, A.; Stauch, T.; Boons. G. J. *Synlett* **1997**, 818-820.

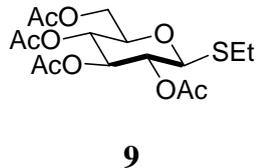
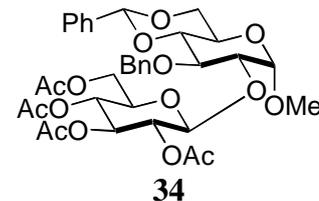
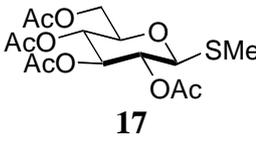
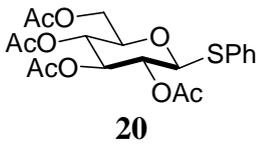
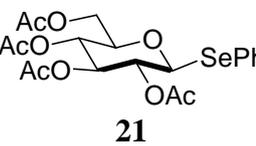
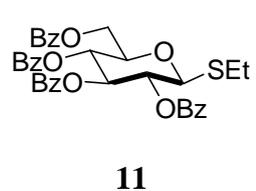
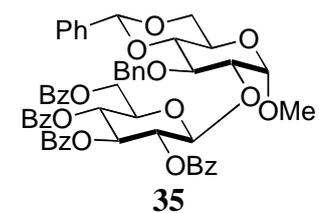
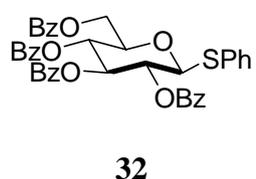
Reazione	Donatore	Prodotto	Resa
1	 <p style="text-align: center;">9</p>	 <p style="text-align: center;">34</p>	69
2	 <p style="text-align: center;">17</p>	34	76
3	 <p style="text-align: center;">20</p>	34	74
4	 <p style="text-align: center;">21</p>	34	86
5	 <p style="text-align: center;">11</p>	 <p style="text-align: center;">35</p>	74
6	 <p style="text-align: center;">32</p>	35	81

TABELLA 4: Rese di isolamento per reazioni condotte a partire da zuccheri di tipo gluco.

E' stato preparato un numero elevato di disaccaridi 2-O legati in rese sempre molto alte utilizzando i donatori sintetizzati a partire dal glucosio (TABELLA 4), dal galattosio (TABELLA 5), dalla *N*-ftalimido-glucosammina, dal mannosio e dal ramnosio (TABELLA 6).

Si è visto che per tali reazioni il rapporto ottimale donatore/accettore è di 1.3, e che è stato sufficiente in tutti i casi il 10% di Bi(OTf)₃ e 1.3 equivalenti di NBS. Il solvente è DCE-diossano mentre per quanto riguarda la temperatura la miscela è stata lasciata fra -30 °C e -25 °C per 30 minuti e poi riscaldata in caso di necessità. Di rilievo è il fatto che i tempi di reazione difficilmente hanno superato l'ora e che in alcuni casi sono stati sufficienti alcuni minuti.

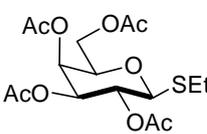
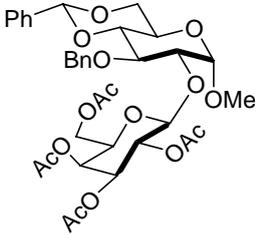
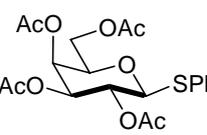
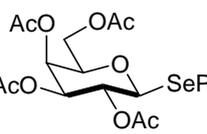
Reazione	Donatore	Prodotto	Resa
7	 <p style="text-align: center;">10</p>	 <p style="text-align: center;">36</p>	65
8	 <p style="text-align: center;">22</p>	<p style="text-align: center;">36</p>	96
9	 <p style="text-align: center;">23</p>	<p style="text-align: center;">36</p>	78

TABELLA 5: Rese di isolamento per reazioni condotte a partire da zuccheri galatto configurati.

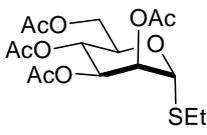
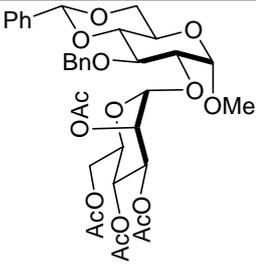
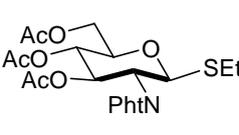
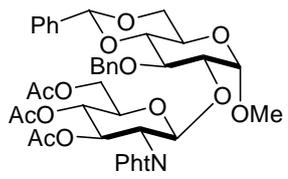
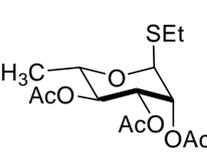
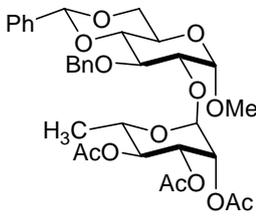
Reazione	Donatore	Prodotto	Resa
10	 <p style="text-align: center;">19</p>	 <p style="text-align: center;">37</p>	83
11	 <p style="text-align: center;">12</p>	 <p style="text-align: center;">38</p>	94
12	 <p style="text-align: center;">13</p>	 <p style="text-align: center;">39</p>	85

TABELLA 6: Rese di isolamento per reazioni condotte a partire da zuccheri di tipo manno-, ramno- e glicosammina.

La quantità di triflato di bismuto(III) è stata ridotta all'1% nelle glicosidazioni effettuate a partire da donatori armati benzilati. Come atteso, è stata riscontrata in questi casi la predominanza dell' α -anomero, probabilmente indotta dalla capacità α -dirigente del diossano co-solvente.¹⁴³ Per le reazioni 13, 14 e 15 è stato utilizzato il 5% di Bi(OTf)₃.

¹⁴³ Demchenko, A.; Stauch, T.; Boons. G. J. *Synlett* **1997**, 818-820.

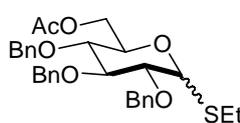
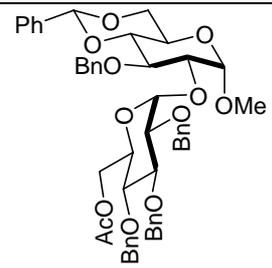
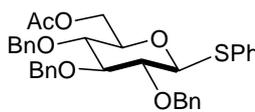
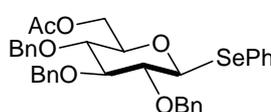
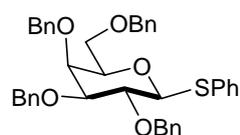
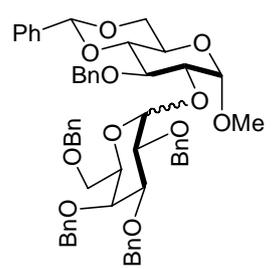
Reazione	Donatore	Prodotto	Resa
13 ^b	 <p style="text-align: center;">15</p>	 <p style="text-align: center;">40</p>	91
14 ^b	 <p style="text-align: center;">26</p>	40	92
15 ^b	 <p style="text-align: center;">27</p>	40	60
16 ^c	 <p style="text-align: center;">33</p>	 <p style="text-align: center;">41</p>	89 (α/β 4:1)

TABELLA 7: Rese di isolamento per reazioni condotte a partire da zuccheri privi dei gruppi partecipanti in posizione 2.

Successivamente abbiamo effettuato altri esperimenti condotti con accettori modello differenti per tipo e reattività (**42** e **43**, Tabella 8). In tutti i casi sono stati ottenuti risultati rimarchevoli.

Per quanto riguarda l'accoppiamento fra l'accettore **43** e il glicosildonatore **21** si è avuta una resa molto bassa del disaccaride atteso, mentre con una resa del 55% è stato ottenuto l'accettore 6-*O*-acetilato derivante dal trasferimento di acile da parte del donatore.¹⁴⁴

¹⁴⁴ Nakada, T.; Berces, A.; Whitfield, D. M. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 9030-9045.

	Donatore	Accettore	Prodotto	resa
1				55
	12	42	44	
2				78
	19	42	45	
3				36
	21	43	46	
4				85
	32	43	47	
5b				90 (α/β 1.6)
	26	43	48	

TABELLA 8: Rese di isolamento per reazioni condotte con altri tipi di accettori. Condizioni generali : accettore (1 eq), donatore (1.3 eq), NBS (1.3 eq), Bi(OTf)₃ (0.1 eq), DCE-diossano, -30 °C – -25 °C per 30 min e poi riscaldamento spontaneo se necessario. ^b0.05 eq of Bi(OTf)₃ utilizzato.

Il processo di trasferimento di un acetile da un donatore all'accettore non è stato osservato nel caso del donatore perbenzoilato **32** che ha infatti fornito una resa di

gran lunga superiore. Per quanto riguarda la reazione 5 della tabella 8 tra il donatore **26**, privo di gruppo partecipante sulla posizione 2, e l'acceptore primario **43** si osserva che a fronte di un'ottima resa si è avuta una α -selettività di gran lunga inferiore a quella ottenuta con l'acceptore secondario (TABELLA 7, reazione **14**). Al fine di migliorare l' α -selettività e, contemporaneamente, per testare la compatibilità del metodo di attivazione messo a punto con gruppi protettori acido labili, sono stati sintetizzati, a partire dal precursore **15** 6-*O*-acetilato, i donatori **49** e **50** 6-*O*-tritolati (il donatore **50**, ha il dimetossitrile della cui eventuale applicabilità nella sintesi oligosaccaridica si è accennato nel capitolo precedente) (TABELLA 9). Per preparare questi donatori il precursore **15** è stato deacetilato con il metodo di Zemplen e poi tritolato in piridina. Di fatto, è noto che l'installazione di gruppi stericamente ingombranti sulla posizione carbinolica primaria di uno zucchero rappresenta uno dei modi per migliorare α -selettività dei glicosildonatori.¹⁴⁵

¹⁴⁵Per alcuni esempi: a) Tanaka, H.; Sakamoto, H.; Sano, A.; Nakamura, S.; Nakajima, M.; Hashimoto, S. *Chem. Commun.* **1999**, 1259-1260; b) Houdier, S.; Vottero, P. J. A. *Carbohydr. Res.* **1992**, 232, 349-352. c) Boons, G.-J.; Bowers, S.; Coe, D. M. *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 3773-3776. d) Fukase, K.; Nakai, Y.; Kanoh, T.; Kusumoto, S. *Synlett* **1998**, 84-87; e) Adinolfi, M.; Iadonisi, A.; Schiattarella, M. *Tetrahedron Lett.* **2003**, 44, 6479-6482.

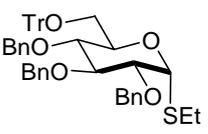
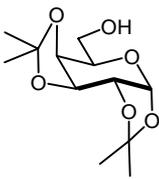
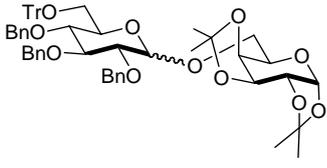
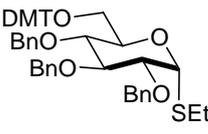
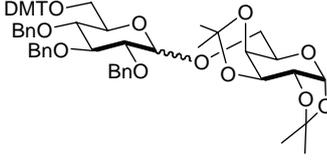
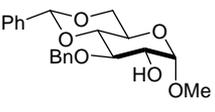
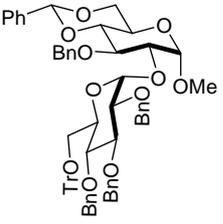
	Donatore	Accettore	Prodotto	resa
1				75 (α/β 3.7:1)
	49	43	51	
2				81 (α/β 4.5:1)
	50	43	52	
3				64
	49	31	53	

TABELLA 9: Glicosidazioni con donatori muniti in posizione 6 di un gruppo acido labile. Condizioni generali: accettore (1 eq), donatore (1.3-1.4 eq), NBS (1.3 eq), Bi(OTf)₃ (0.1 eq), DCE-diossano, -15 °C per 30 minuti, poi riscaldamento spontaneo se necessario.

E' stato così possibile ottenere i disaccaridi **51** e **52** in alta resa ed un sensibile miglioramento della stereoselettività, dall'accoppiamento dei due donatori tritilati con l'accettore primario **43** (reazioni **1** e **2** in TABELLA 9).

Da sottolineare è che non vi è stata nessuna bromurazione elettrofilica aromatica¹⁴⁶ sul gruppo di tipo dimetossitritile e ciò è stato analizzato per analisi di massa degli anomeri disaccaridici **52** derivanti dal donatore **50**. Un ulteriore conferma della compatibilità del metodo messo a punto con la funzione tritilica si è avuta dall'accoppiamento di **49** con l'accettore secondario **31** meno reattivo (TABELLA 9, reazione **3**) che ha fornito esclusivamente il disaccaride α -legato **53** con una buona resa.

¹⁴⁶ Qin, Z. H.; Li, H.; Cai, M. S.; Li, Z. J. *Carbohydr. Res.* **2002**, 337, 31-36.

Conclusioni

Con questo lavoro è stato mostrato come i glicosilioduri, facilmente preparati con I_2/Et_3SiH , possano essere convertiti in tioalchil-, tiofenil- e selenofenilglicosidi attraverso procedure rapide, sperimentalmente semplici, molto efficienti e con reattivi più convenienti di quelli utilizzati nelle procedure standard. È stata dimostrata inoltre la possibilità di attivare questo tipo di donatori con il sistema combinato NBS (stechiometrico)/Bi(OTf)₃ (catalitico) economico, efficiente, veloce e blando. Tale sistema è inoltre compatibile con l'uso di gruppi protettori acido labili (tritele e dimetossitritile).

Parte Sperimentale

Procedura generale per la preparazione di tioalchil glicosidi (da precursors peracetilati). Ad una soluzione di zucchero 1-*O*-acetilato (5 mmol) in DCM anidro (10 mL) è aggiunto I₂ (1.780 g, 7 mmol), e Et₃SiH (1.12 mL, 7 mmol) (attenzione: reazione esotermica). Il sistema è mantenuto a riflusso fino a quando dall'analisi via TLC non si vede il completo consumo del prodotto di partenza (per composti peracetilati sono generalmente sufficienti 5 minuti, per il precursore perbenzoilato **3** sono stati necessari 60 minuti). La miscela è quindi diluita con DCM e la fase organica è stata lavata con acqua basica (bicarbonato di sodio) contenente sodio tiosolfato anidro (quest'ultimo è aggiunto poco alla volta fino al consumo dello iodio residuo nella fase organica). La fase organica è lavata con acqua, trattata con sodio solfato anidro, filtrata e concentrata. Alla miscela ottenuta si aggiunge tiourea (570 mg, 7.5 mmol) e si sospende la miscela in acetonitrile (10 mL), si riscalda fino a 60°C. Dopo 10-25 minuti (ca 60 minuti dal precursore benzoilato **3**) è possibile vedere attraverso analisi TLC il totale consumo dello ioduro e la simultanea formazione di un prodotto molto polare. La miscela è portata a temperatura ambiente e si aggiunge sequenzialmente alchilioduro (10 mmol) e TEA (2.78 mL, 20 mmol). Dopo 10-15 minuti la reazione è completa (via TLC) e si concentra la miscela sotto vuoto. Il residuo è finalmente purificato con una cromatografia flash di silice (miscele etere di petrolio/acetato di etile) in rese illustrate in tabella 1.

I tioglicosidi sintetizzati e i fenilselenoglicosidi **9-14**, **17-23** sono risultati identici a quelli riportati in letteratura per cui sono stati riportati, insieme al valore del potere ottico rotatorio di ciascuno, i dati di letteratura relativi:

9: $[\alpha]_{\text{D}}^{25} -27.1^\circ$ (c 1.0, CHCl₃). M.p. (ethanol) 82-83 °C. Lit.: $[\alpha]_{\text{D}}^{25} -29.2^\circ$, m.p. 83-84 °C.

Vic, G.; Hastings, J. J.; Howarth, O. W.; Crout D. H. G. *Tetrahedron Asymmetry* **1996**, 7, 709-720.

10: $[\alpha]_D^{25} -9.2^\circ$ (c 1.0, CHCl_3). M.p. (ether/hexane) 73-75 °C. Lit.: $[\alpha]_D^{20} -7.9^\circ$, m.p. 75-76 °C.

Ibatullin, F. M.; Selivanov, S. I.; Shavva, A. G. *Synthesis* **2001**, 419-422.

11: $[\alpha]_D^{25} +24.2^\circ$ (c 0.90, CHCl_3). M.p. (ether/hexane) 107-108 °C. Lit. (Dasgupta, F.; Garegg, P. J. *Acta Chem. Scand.* **1989**, 43, 471-475.): $[\alpha]_D^{22} +22^\circ$ (c 2.3, CHCl_3), m.p. 106-107 °C. For NMR data: Verduyn, R.; Douwes, M.; van der Klein, P. A. M.; Möisinger, E. M.; van der Marel G. A.; van Boom, J. H. *Tetrahedron* **1993**, 49, 7301-7316.

12: $[\alpha]_D^{25} +46.5^\circ$ (c 1.0, CHCl_3). M.p. (ethyl acetate/hexane) 118-119 °C. Lit.: $[\alpha]_D +44^\circ$ (c 2.3, CHCl_3), m.p. 118-119 °C.

Lönn, H. *Carbohydr. Res.* **1985**, 139, 105-114.

13: $[\alpha]_D^{25} -125.1^\circ$ (c 1.0, CHCl_3). M.p. (ether/hexane) 68-69 °C. Lit.: $[\alpha]_D^{20} -113.5^\circ$ (c 0.78, CHCl_3), m.p. (ethanol) 69-70 °C.

Borbas, A.; Liptak, A. *Carbohydr. Res.* **1993**, 241, 99-116.

14: $[\alpha]_D^{25} -2.0^\circ$ (c 1.0, CHCl_3). M.p. (ethanol) 78-79 °C. Lit.: $[\alpha]_D -3.0^\circ$ (c 1, CHCl_3), m.p. (ethanol) 78-79 °C.

Veeneman, G. H.; van Leeuwen, S. H.; Zuurmond, H. M.; van Boom, G. A. *J. Carbohydr. Chem.* **1990**, 9, 783-786

17: $[\alpha]_D^{25} -14.1^\circ$ (c 1.0, CHCl_3). M.p. (EtOH) 94-95 °C. Lit. (Pakulski, Z; Pierozynski, D.; Zamojski, A. *Tetrahedron* **1994**, 50, 2975-2992): $[\alpha]_D^{25} -11.9^\circ$ (c 1.0, CHCl_3), m.p. (EtOH) 90-91 °C. For NMR data: Mukhopadhyay, B.; Kartha, K. P. R.; Russell, D. A.; Field, R. A.; *J. Org. Chem.* **2004**, 69, 7758-7760.

18: $[\alpha]_D^{25} +101.8^\circ$ (c 1.0, CHCl_3). M.p. (ethanol) 121-123 °C. Lit. (Ogawa, T.; Matsui M. *Carbohydr. Res.* **1977**, 54, C17-C21): $[\alpha]_D +93.1^\circ$ (c 1.0, CHCl_3), m.p. (ethanol) 121-122 °C. Dati NMR: Mukhopadhyay, B.; Kartha, K. P. R.; Russell, D. A.; Field, R. A. *J. Org. Chem.* **2004**, 69, 7758-7760.

19: $[\alpha]^{25}_D +118.7^\circ$ (c 1.0, CHCl_3). M.p. (EtOH) 106-108 °C. Lit. (Das, S. K.; Roy, N. *Carbohydr. Res.* **1996**, 296, 275-278): $[\alpha]_D +104$ (c 0.63, CHCl_3), m.p. (ethyl ether-hexane) 106-8 °C. For NMR data: Mukhopadhyay, B.; Kartha, K. P. R.; Russell, D. A.; Field, R. A. *J. Org. Chem.* **2004**, 69, 7758-7760.

20: $[\alpha]^{25}_D -16.5^\circ$ (c 1.0, CHCl_3). M.p. (ethanol) 117-119 °C. Lit.: $[\alpha]^{25}_D -22.7^\circ$ (c 1.0, CHCl_3), m.p. (ethanol) 118-120 °C.

Weng, S.-S., Lin, Y.-D., Chen, C.-T. *Org. Lett.* **2006**, 8, 5633-5636

21: $[\alpha]^{25}_D +31.4^\circ$ (c 1.0, CHCl_3). M.p. (ethyl acetate/hexane) 129-130 °C. Lit.: $[\alpha]^{25}_D +35.0^\circ$ (c 1.0, CH_2Cl_2), m.p. 130.5 °C.

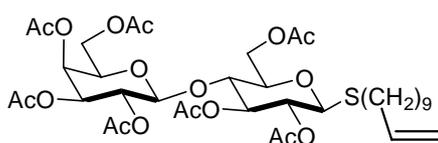
Mehta, S.; Pinto, B. M. *J. Org. Chem.* **1993**, 58, 3269-3276

22: $[\alpha]^{25}_D +2.8^\circ$ (c 1.0, CHCl_3). Lit.: $[\alpha]^{25}_D +4.2^\circ$ (c 1.0, CHCl_3).

Weng, S.-S., Lin, Y.-D., Chen, C.-T. *Org. Lett.* **2006**, 8, 5633-5636

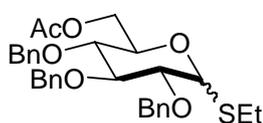
23: $[\alpha]^{25}_D +10.3^\circ$ (c 1.0, CHCl_3). Lit.: $[\alpha]^{25}_D +7.2^\circ$ (c 1.5, CHCl_3).

Mukherjee, C.; Tiwari, P.; Misra, A. K. *Tetrahedron Lett.* **2006**, 47, 441-445



Composto 16. Olio. ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz), δ 5.80-5.70 (1H, m, $-\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.34 (1H, bd, $J_{4,5} = 2.7$ Hz, H-4'), 5.20 (1H, t, $J = 9.0$ Hz, H-3), 5.08 (1H, dd, $J_{1,2} = 8.1$ Hz, H-2'), 5.02-4.90 (4H, m, $-\text{CH}=\text{CH}_2$, H-3', H-2), 4.48 (1H, d, H-1'), 4.46 (1H, d, $J_{1,2} = 10.2$ Hz, H-1), 4.20-4.00 (4H, m, H₂-6 and H₂-6'), 3.88 (1H, bt, $J_{5,6} = 6.6$ Hz, H-5'), 3.78 (1H, t, $J = 9.3$ Hz, H-4), 3.66-3.48 (1H, m, H-5), 2.70-2.56 (2H, m, $-\text{S}-\text{CH}_2-$), 2.15, 2.11, 2.07, 2.05, 2.04 ($\times 2$), 1.97 (21H, 7s, $-\text{COCH}_3$), 2.10-1.20 (16H, m, metilene della catena alchilica). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) δ 170.2 ($\times 2$), 170.1, 170.0, 169.6, 169.5, 169.0, 139.1, 114.1, 101.0, 83.4, 76.2, 73.7, 70.9, 70.6, 70.3, 69.0, 66.5, 62.2, 60.7, 33.7, 30.2, 29.6, 29.3, 29.0, 28.8, 20.7, 20.5. $[\alpha]^{25}_D -24.2^\circ$ (c 1.0, CHCl_3). MS (MALDI-TOF) calcolato per $(\text{C}_{37}\text{H}_{56}\text{O}_{17}\text{SNa}^+)$ 827. 31, trovato 827.2. Anal. Calcolate per $\text{C}_{37}\text{H}_{56}\text{O}_{17}\text{S}$: C, 55.21; H, 7.01. Trovate: C, 55.33; H, 7.21.

Preparazione del tioalchilglicoside 15 dal precursore 7 parzialmente benzilato. I₂ (56 mg, 0.22 mmol) e Et₃SiH (53 μL, 0.33 mmol) sono sequenzialmente aggiunti a -20 °C ad una soluzione di 7 (198 mg, 0.37 mmol) in DCM (1 mL). Una volta consumatosi il prodotto di partenza (ca 30 minuti, analisi TLC) la miscela è lavorata come descritto per gli analoghi peracetilati. Il glicosil ioduro derivante è stato elaborato sostanzialmente seguendo il protocollo utilizzato per li zuccheri peracetilati (la generazione di un intermedio tiouronio è completa dopo 10 minuti, la metà del tempo impiegato dagli analoghi peracetilati).



Etil 2,3,4-Tri-O-benzil-6-O-acetil-1-tio- α/β -D-glucopiranoside (15). ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz)

δ 7.00–7.00 (Ar), \square 5.38 (1H, d, $J_{1,2} = 5.4$ Hz, H-1 \square), 5.00–4.50 (protoni benzilici), 4.48 (1H, d, $J_{1,2} = 9.9$ Hz, H-1 \square), 4.40– 4.15 (3H, m, H-5, H₂-6), 3.90 (1H, t, $J = 9.6$ Hz, H-3 α), 3.80 (1H, dd, H-2 α), 3.60–3.40 (m, H-4, H-5 β and H-3 β), 2.80–2.45 (2H, m, S-CH₂-CH₃ β), 2.64– 2.45 (2H, m, S-CH₂-CH₃ α), 2.04 (3H, -COCH₃ β), 2.02 (3H, -COCH₃ α), 1.33 (3H, t, $J = 7.5$ Hz, S-CH₂-CH₃ β), 1.29 (3H, t, $J = 7.5$ Hz, S-CH₂-CH₃ α). ¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ 170.4, 138.4, 137.7, 137.6, 128.3–127.5, 82.8, 82.3, 79.3, 76.9, 75.6, 74.8, 72.1, 68.8, 62.9, 23.5, 20.6, 14.6. MS (MALDI-TOF) calcolato per (C₃₁H₃₆O₆SNa⁺) 559. 21, trovato 559.3. Anal. Calcolate per C₃₁H₃₆O₆S: C, 69.38; H, 6.76. Trovate: C 69.21; H 6.84.

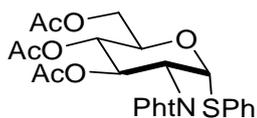
Procedura generale per la preparazione di tioalchil glicosidi (da zuccheri liberi).

Si aggiunge Iodio (98 mg, 0.38 mmol) ad una sospensione dello zucchero deprotetto (1.00 g, 5.5 mmol) in anidride acetica (3.1 mL, 28.3 mmol) (attenzione: reazione esotermica). Una volta completata l'acetilazione (10-30 minuti) si diluisce la miscela con DCM (4 mL), e si aggiunge sequenzialmente un' ulteriore quantità di I₂ (1.82 g, 7.2 mmol) e di trietilsilano (1.23 mL, 7.7 mmol). La miscela è lasciata a riflusso (60 °C) fino al consumo dello zucchero peracetilato (meno di 20 minuti, TLC) e quindi fino alla concomitante comparsa di un prodotto UV/VIS con un R_f maggiore (il glicosil Ioduro). Si porta a temperatura ambiente e si diluisce con DCM. La fase organica è quindi sottoposta ad estrazione con acqua basica

(bicarbonato di sodio) in presenza di sodio tiosolfato anidro. A questo punto si concentra la fase organica sotto vuoto e si ottiene così il grezzo del glicosil ioduro. A questo punto si segue il protocollo già descritto per la sintesi di tiolachil glicosidi a partire da precursori peracetilati.

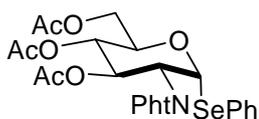
Procedura generale per la preparazione di tiofenil- e selenofenilglicosidi.

Ad una miscela di difenildiseleniuro (o difenildisolfuro) (0.7 mmol) e NaBH₄ (53 mg, 1.4 mmol) è aggiunto etanolo (12 mL) o acetonitrile (5 mL). La miscela è agitata fino a cessazione dello sviluppo di idrogeno ed è velocemente riscaldata fino a 50 °C assicurarsi che riduzione sia completa. A questo punto tale miscela è aggiunta al grezzo del glicosil ioduro (ottenuto da 1.0 mmol del precursore sopraccitato). Dopo aver agitato a temperatura ambiente per 5-60 minuti, si aggiunge acido acetico fino a quando non si raggiunge la neutralità, si diluisce la miscela con DCM e si estrae con acqua. La fase acquosa è riestratta con DCM e le fase organiche riunite sono seccate e concentrate sotto vuoto. Il residuo è purificato con una cromatografia flash su gel di silice (miscele etere di petrolio/acetato di etile).

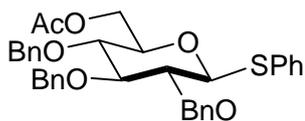


Fenil 3,4,6-Tri-O-acetil-2-deossi-2-ftalimido-1-tio- α -D-gluco-piranoside (24). Schiuma. ¹H NMR (CDCl₃, 300

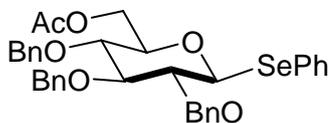
MHz) δ 7.90–7.20 (Ar), 6.53 (1H, dd, $J_{3,4} = 9.3$ Hz, $J_{2,3} = 12.0$ Hz, H-3), 5.76 (1H, d, $J_{1,2} = 5.7$ Hz, H-1), 5.10 (1H, dd, $J_{4,5} = 10.2$ Hz, H-4), 4.89 (1H, dd, H-2), 4.70-4.60 (1H, m, H-5), 4.41 (1H, dd, $J_{5,6a} = 4.8$ Hz, $J_{6a,6b} = 12.6$ Hz, H-6a), 4.11 (1H, dd, $J_{5,6b} = 1.2$ Hz, H-6b), 2.08, 2.07, 1.88 (9H, 3s, 3 COCH₃). ¹³C NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 170.6, 170.1, 169.3, 167.7, 167.1, 134.4, 133.3, 131.2, 129.0, 127.6, 123.8, 86.6, 70.4, 68.6, 67.6, 62.0, 53.7, 20.7. $[\alpha]_{D}^{25} +74.8^{\circ}$ (c 1.0, CHCl₃). MS (MALDI-TOF) calcolata per (C₂₆H₂₅NO₉SNa⁺) 550.11, trovata 550.1. Anal. Calcolata per C₂₆H₂₅NO₉S: C, 59.19; H, 4.78. Trovata: C, 59.10; H, 4.67.



Fenil 3,4,6-Tri-O-acetil-2-deossi-2-ftalimido-1-seleno- α -D-gluco-piranoside (25). Schiuma. ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 7.90–7.20 (Ar), 6.42 (1H, dd, $J_{3,4} = 8.7$ Hz, $J_{3,2} = 11.7$ Hz, H-3), 5.99 (1H, d, $J_{1,2} = 5.4$ Hz, H-1), 5.09 (1H, dd, $J_{4,5} = 10.0$ Hz, H-4), 4.86 (1H, dd, H-2), 4.74–4.64 (1H, m, H-5), 4.40 (1H, dd, $J_{5,6a} = 4.8$ Hz, $J_{6a,6b} = 12.3$ Hz, H-6a), 4.07 (1H, dd, $J_{5,6b} = 2.1$ Hz, H-6b), 2.06, 2.05, 1.86 (9H, 3s, 3 - COCH_3). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) \square 170.4, 169.8, 169.1, 134.4, 133.5, 129.0, 128.6, 127.7, 84.4 (C-1), 69.9, 69.8, 67.9, 61.7, 54.0, 20.5. $[\alpha]^{25}_{\text{D}} +69.6^\circ$ (c 1.0, CHCl_3). MS (MALDI-TOF) calcolato per ($\text{C}_{26}\text{H}_{25}\text{NO}_9\text{SeNa}^+$) 598.06, trovato 598.1. Anal. Calcolato per $\text{C}_{26}\text{H}_{25}\text{NO}_9\text{Se}$: C, 54.36; H, 4.39. Trovato C, 54.62; H, 4.18.



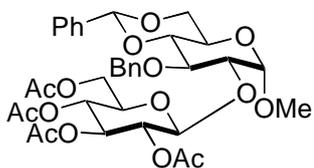
Fenil 2,3,4-Tri-O-benzil-6-O-acetil-1-tio- β -D-gluco-piranoside (26). ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 7.60–7.20 (Ar), 5.00–4.55 (6H, CH_2Ph), 4.68 (1H, d, $J_{1,2} = 9.9$ Hz, H-1), 4.38 (1H, bd, $J_{6a,6b} = 12.3$ Hz, H-6a), 4.20 (1H, dd, $J_{5,6b} = 3.0$ Hz, H-6b), 3.80–3.70 (1H, m, H-5), 3.60–3.45 (3H, m, H-2, H-3, H-4), 2.06 (3H, s, COCH_3). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) δ 170.3, 138.0, 137.7, 137.4, 133.4, 131.8, 128.7, 127.4, 87.2, 86.5, 80.7, 77.3, 76.7, 75.6, 75.3, 74.8, 63.0, 20.6. $[\alpha]^{25}_{\text{D}} +14.1^\circ$ (c 1, CHCl_3). M.p. (MeOH) 69–70 $^\circ\text{C}$. MS (MALDI-TOF) calcolato per ($\text{C}_{35}\text{H}_{36}\text{O}_6\text{SNa}^+$) 607.22, trovato: 607.1. Anal. Calcolato per $\text{C}_{35}\text{H}_{36}\text{O}_6\text{S}$: C, 71.89; H, 6.21. Trovato: C, 72.06; H, 6.19.



Fenil 2,3,4-Tri-O-benzil-6-O-acetil-1-seleno- β -D-gluco-piranoside (27). ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 7.75–7.15 (Ar), 4.90–4.50 (7H, CH_2Ph e protone anomero), 4.26 (1H, bd, $J = 12.0$ Hz, H-6a), 4.28 (1H, dd, $J_{5,6b} = 3.6$ Hz, H-6b), 3.80–3.75 (1H, m, H-5), 3.64–3.55 (3H, m, H-2, H-3, H-4), 1.98 (3H, s, COCH_3). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) δ 170.1, 138.0, 137.7, 137.4, 137.2, 134.2, 128.5–127.4, 86.4, 82.4, 80.9, 76.3, 75.4, 74.8, 74.6, 62.7, 20.4. $[\alpha]^{25}_{\text{D}} +11.1^\circ$ (c 1.0, CHCl_3). M.p. (MeOH) 68–69 $^\circ\text{C}$. MS (MALDI-TOF) calcolato ($\text{C}_{35}\text{H}_{36}\text{O}_6\text{SeNa}^+$) 655.15, trovato 655.0. Anal. Calcolato per $\text{C}_{35}\text{H}_{36}\text{O}_6\text{Se}$: C, 66.56; H, 5.74. Trovato: C, 66.29; H, 5.67.

Procedura generale per la glicosidazione con il sistema NBS/Bi(OTf)₃

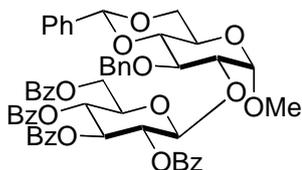
Il glicosil donatore **22** (46 mg, 0.10 mmol) e il glicosil accettore **31** (30 mg, 0.08 mmol) sono stati coevaporati tre volte in toluene anidro (3 x 1 mL). La miscela è tenuta alla pompa da vuoto per 30-60 minut. Quindi si aggiungono i setacci molecolari lavati con acido da 4 Å (AW 300 MS) e l' NBS (19 mg, 0.10 mmol) sotto argon. In un altro pallone si coevapora una quantità accuratamente pesata di Bi(OTf)₃ con toluene e si tiene alla pompa da vuoto sempre per 30-60 minuti. Anche in questo caso si aggiungono setacci molecolari da 4 Å sotto argon. Il donatore, l'accettore e l'NBS sono disciolti in 1,2-dicloroetano (0.9 mL) a bassa temperatura (bagno a ghiaccio), mentre Bi(OTf)₃ è disciolto a temperatura ambiente con diossano (concentrazione finale 20 mg/mL). Dopo aver agitato per 15 minuti, la miscela di composti saccaridici è raffreddata -30 °C ed è aggiunta un'aliquota della soluzione di Bi(OTf)₃ in diossano (0.26 mL, 0.008 mmol). Dieci minuti dopo la reazione è completa (analisi TLC) e sono state aggiunte alcune gocce di piridina. A questo punto la miscela è filtrata su un sottile strato di silice e il residuo è purificato con una cromatografia su colonna (eluente toluene/acetone 4:1) per fornire il disaccaride **36** (56 mg, 96% resa). Per quanto riguarda le reazioni più lente la miscela è stata lasciata a -30 – -25 °C per 30 minuti e poi se necessario (analisi TLC) si è lasciato che la miscela raggiungesse la temperatura ambiente fino alla totale conversione dei due prodotti nel disaccaride.



Metil 2,3,4,6-Tetra-O-acetil- β -D-gluco-piranosil-(1 \rightarrow 2)-3-O-benzil-4,6-O-benzilidene- α -D-gluco-piranoside (34).

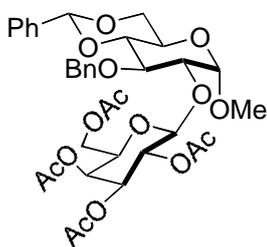
Solid amorfo. ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 7.50–7.20 (Ar)_L 5.55 (1H, s, protoni benzilico del benzilidene), 5.20 (1H, t, $J = 9.3$ Hz, H-3'), 5.12 (1H, t, $J = 9.3$ Hz, H-2'), 5.09 (1H, t, $J = 9.3$ Hz, H-4'), 4.86 (1H, d, $J_{1,2} = 8.1$ Hz, H-1'), 4.85-4.68 (2H, AB, -CH₂Ph), 4.29 (1H, dd, $J_{6eq,6ax} = 9.9$ Hz, $J_{6eq,5} = 4.2$ Hz, H-6eq), 4.28-4.10 (2H, m, H₂-6'), 4.00 (1H, t, $J = 9.6$ Hz, H-3), 3.82 (1H, td, $J_{4,5} = 9.6$ Hz, H-5), 3.76-3.64 (3H, m, H-2, H-6ax, H-5'), 3.61 (1H, t, $J = 9.3$ Hz, H-4), 3.42 (3H, s, -OCH₃), 2.09, 2.03, 2.00, 1.84 (12H, 4s, -COCH₃); ¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) \square 170.5, 170.3, 169.4, 169.3, 138.3, 137.2, 128.9-126.0, 101.8, 101.3,

100.0, 82.2, 80.2, 75.0, 73.0, 71.8, 71.5, 69.0, 68.3, 62.0 (×2), 55.4, 20.6. $[\alpha]^{25}_D +9.5^\circ$ (c 1.0, CHCl_3). MS (MALDI-TOF) calcolato per $(\text{C}_{35}\text{H}_{42}\text{O}_{15}\text{Na}^+)$ 725.24, trovato 725.3. Anal. Calcolato per $\text{C}_{35}\text{H}_{42}\text{O}_{15}$: C, 59.82; H, 6.02. Trovato: C, 59.70; H, 6.11.



Metil 2,3,4,6-Tetra-O-benzoil- β -D-glucopiranosil-(1→2)-3-O-benzil-4,6-O-benzilidene- α -D-glucopiranoside (35).

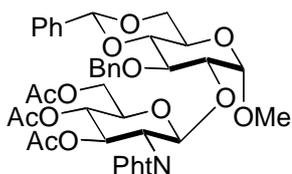
Schiuma. ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 8.10–7.20 (Ar), 5.92 (1H, t, $J = 9.9$ Hz, H-3'), 5.75–5.67 (2H, m, H-4', H-2'), 5.50 (1H, s, protoni benzilico del benzilidene), 5.19 (1H, d, $J_{1,2} = 7.8$ Hz, H-1'), 4.97 (1H, d, $J_{1,2} = 3.3$ Hz, H-1), 4.74 (1H, dd, $J_{5,6a} = 3.0$ Hz, $J_{6a,6b} = 12.0$ Hz, H-6'a), 4.56–4.38 (2H, AB, $-\text{CH}_2\text{Ph}$), 4.45 (1H, dd, $J_{5,6b} = 5.7$ Hz, H-6'b), 4.27 (1H, dd, $J_{5,6\text{eq}} = 4.8$ Hz, $J_{6\text{ax},6\text{eq}} = 10.2$ Hz, H-6eq), 4.20–4.15 (1H, m, H-5'), 3.93 (1H, t, $J = 9.6$ Hz, H-3), 3.81–3.76 (2H, m, H-5, H-2), 3.72 (1H, t, H-6ax), 3.54 (1H, t, H-4), 3.38 (3H, s, $-\text{OCH}_3$). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) δ 166.0, 165.8, 165.2, 165.0, 138.4, 137.3, 133.5, 133.2–127.4, 127.2, 126.0, 102.3, 101.4, 100.3, 82.1, 80.7, 74.7, 73.1, 72.3, 72.0, 69.6, 69.1, 62.7, 62.0, 55.5. $[\alpha]^{25}_D +33.6^\circ$ (c 0.90, CHCl_3). MS (MALDI-TOF) calcolato per $(\text{C}_{55}\text{H}_{50}\text{O}_{15}\text{Na}^+)$ 973.31, trovato 973.2. Anal. Calcolato per $\text{C}_{55}\text{H}_{50}\text{O}_{15}$: C, 69.46; H, 5.30. Trovato: C, 69.51; H, 5.39.



Metil 2,3,4,6-Tetra-O-acetil- β -D-galacto-piranosil-(1→2)-3-O-benzil-4,6-O-benzilidene- α -D-glucopiranoside (36).

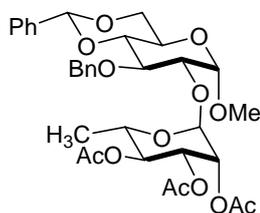
Olio. ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 7.50–7.20 (Ar), 5.55 (1H, s, protoni benzilico del benzilidene), 5.34 (1H, dd, $J_{2,1} = 8.1$ Hz, $J_{2,3} = 10.5$ Hz, H-2'), 5.37 (1H, bd, $J_{3,4} = 3.6$ Hz, H-4'), 5.00 (1H, dd, H-3'), 4.85 (1H, d, $J_{1,2} = 3.6$ Hz, H-1), 4.83–4.68 (2H, AB, $-\text{CH}_2\text{Ph}$), 4.79 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-1'), 4.28 (1H, dd, $J_{5,6\text{eq}} = 4.5$ Hz, $J_{6\text{eq},6\text{ax}} = 9.9$ Hz, H-6eq), 4.14 (2H, d, $J = 6.3$ Hz, H-2-6'), 4.01 (1H, t, $J = 9.3$ Hz, H-3), 3.86–3.68 (4H, m, H-5, H-5', H-2, H-6ax), 3.64 (1H, t, H-4), 3.41 (3H, s, $-\text{OCH}_3$), 2.15, 2.04, 1.97, 1.83 (12H, 4s, 4 \times $-\text{COCH}_3$); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) δ 170.1 (×2), 169.9, 169.0, , 138.1, 137.0, 128.6–

125.7, 102.1, 101.1, 99.7, 82.0, 80.3, 76.4, 74.8, 70.9, 70.6, 68.8, 68.7, 66.8, 62.0, 61.4, 55.1, 20.4. $[\alpha]^{25}_D +10.3^\circ$ (c 0.90, CHCl_3). MS (MALDI-TOF) calcolato per $(\text{C}_{35}\text{H}_{42}\text{O}_{15}\text{Na}^+)$ 725.24, trovato 725.2. Anal. Calcolato per $\text{C}_{35}\text{H}_{42}\text{O}_{15}$: C, 59.82; H, 6.02. Trovato: C, 59.59; H, 6.23.



Metil 3,4,6-Tri-O-acetil-2-deossi-2-ftalimido- β -D-glucopiranosil-(1 \rightarrow 2)-3-O-benzil-4,6-O-benzilidene- α -D-glucopiranoside (38). Schiuma. ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 7.80–6.80 (Ar), 5.77 (1H, t, 9.6 Hz, H-3'),

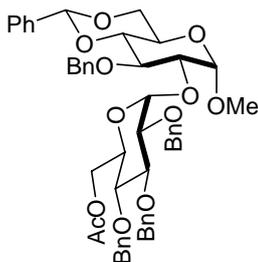
5.65 (1H, d, $J_{1,2} = 8.7$ Hz, H-1'), 5.43 (1H, s, protoni benzilico del benzilidene), 5.17 (1H, t, $J = 9.6$ Hz, H-4'), 4.93 (1H, d, $J_{1,2} = 3.3$ Hz, H-1), 4.51 (1H, dd, H-2'), 4.36-4.15 (5H, m, $-\text{CH}_2\text{Ph}$, H-6eq, e H-2-6'), 3.95-3.60 (5H, m, H-3, H-5, H-6ax, H-5', e H-2), 3.49 (1H, t, $J = 9.3$ Hz, H-4), 3.41 (3H, s, $-\text{OCH}_3$), 2.12, 2.04, 1.86 (9H, 3s, 3 $-\text{COCH}_3$); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) δ 170.4, 170.1, 169.4, 138.2, 137.1, 134.1, 131.1, 128.9-125.9, 123.4, 101.2, 99.9, 99.7, 82.1, 81.8, 76.0, 73.9, 71.9, 70.7, 68.9, 68.8, 62.2, 62.1, 55.3, 54.5, 20.7, 20.5, 20.3. $[\alpha]^{25}_D +25.5^\circ$ (c 1.0, CHCl_3). MS (MALDI-TOF) calcolato per $(\text{C}_{41}\text{H}_{43}\text{NO}_{15}\text{Na}^+)$ 812.25, trovato 812.1. Anal. Calcolato per $\text{C}_{41}\text{H}_{43}\text{NO}_{15}$: C, 62.35; H, 5.49. Trovato: C, 62.46; H, 5.56.



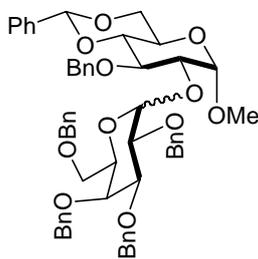
Metil 2,3,4-Tri-O-acetil- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 2)-3-O-benzil-4,6-O-benzilidene- α -D-glucopiranoside (39). Oil.

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 7.50–7.20 (Ar), 5.81 (1H, s, protoni benzilico del benzilidene), 5.40–5.35 (2H, H-3', H-2'), 5.08 (1H, t, $J = 9.6$ Hz, H-4'), 4.98 (1H, bs, \square H-1'), 4.89- 4.78 (3H, $-\text{CH}_2\text{Ph}$ e H-1), 4.29 (1H, dd, $J_{5,6\text{eq}} = 3.6$ Hz, $J_{6\text{ax},6\text{eq}} = 9.3$ Hz, H-6eq), 4.10-3.97 (2H, m, H-5' e H-3), 3.88-3.81 (1H, td, $J = 9.6$ Hz, H-5), 3.75 (1H, t, $J = 10.2$ Hz, H-6ax), 3.68 (1H, dd, $J_{1,2} = 3.6$ Hz, H-2), 3.62 (1H, t, H-4), 3.42 (3H, s, $-\text{OCH}_3$), 2.13, 2.07, 2.01 (9H, 3s, $-\text{COCH}_3$), 1.23 (1H, d, $J = 6.3$ Hz, H-3-6'). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) δ 170.0, 169.8, 169.7, 138.2, 137.2, 128.9, 128.3, 128.2, 127.6, 126.0, 101.3,

100.1, 99.6, 82.0, 80.7, 77.2, 75.3, 71.0, 69.6, 69.0, 66.9, 62.2, 55.1, 20.8, 20.7, 17.5. $[\alpha]^{25}_D$ -8.6° (c 1.0, CHCl_3). MS (MALDI-TOF) calcolato per $(\text{C}_{33}\text{H}_{40}\text{O}_{13}\text{Na}^+)$ 667.24, trovato 667.2. Anal. Calcolato per $\text{C}_{33}\text{H}_{40}\text{O}_{13}$: C, 61.48; H, 6.25. Trovato: C 61.32; H 6.20.

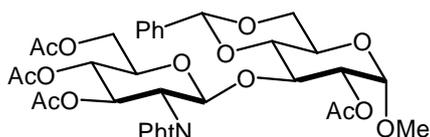


Metil 6-O-Acetil-2,3,4-tri-O-benzil- α -D-glucopiranosil-(1→2)-3-O-benzil-4,6-O-benzilidene- α -D-glucopiranoside (40). Solid amorfo. ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 7.50–7.00 (Ar)_z 5.59 (1H, s, protoni benzilico del benzilidene), 5.06–4.51 (6H, 3 x AB, $-\text{CH}_2\text{Ph}$), 4.90 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H-1), 4.87 (1H, d, $J = 3.9$ Hz, H-1'), 4.32 (1H, dd, $J_{6\text{eq},5} = 4.5$, $J_{6\text{eq},6\text{ax}} = 9.9$ Hz, H-6eq), 4.24–4.18 (1H, m, H-5'), 4.16–4.08 (2H, m, H-3' e H-3), 4.15–3.98 (2H, m, H₂-6'), 3.92–3.80 (2H, m, H-2' e H-5), 3.76 (1H, t, $J = 9.9$ Hz, H-6ax), 3.66 (1H, t, $J = 9.3$ Hz, H-4'), 3.56 (1H, dd, $J_{2,3} = 9.6$ Hz, H-2), 3.52 (1H, t, $J = 9.9$ Hz, H-4), 3.46 (3H, s, $-\text{OCH}_3$), 1.97 (3H, s, $-\text{COCH}_3$). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) δ 170.5 138.6, 138.2 ($\times 2$), 137.9, 137.3, 128.6–125.9, 101.2, 97.1, 94.2, 82.5, 81.9, 79.2, 77.1, 76.7, 75.6 ($\times 2$), 74.9, 74.4, 72.9, 68.9, 68.6, 62.4, 62.2, 54.9, 20.7. $[\alpha]^{25}_D$ $+39.5^\circ$ (c 1.0, CHCl_3). MS (MALDI-TOF) calcolato per $(\text{C}_{50}\text{H}_{54}\text{O}_{12}\text{Na}^+)$ 869.35, trovato 869.2. Anal. Calcolato per $\text{C}_{50}\text{H}_{54}\text{O}_{12}$: C, 70.91; H, 6.43. Trovato: C, 71.11; H, 6.54.



Metil 2,3,4,6-Tetra-O-benzil- α -D-galactopiranosil-(1→2)-3-O-benzil-4,6-O-benzilidene-D-glucopiranoside (41). Solido amorfo. ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) segnali per α -anomeri: δ 7.60–7.00 (Ar)_z 5.53 (1H, s, protoni benzilico del benzilidene), 4.97 (1H, d, $J = 3.3$ Hz, H-1'), 4.93 (1H, d, $J = 3.3$ Hz, H-1), 5.00–4.20 ($-\text{CH}_2\text{Ph}$ e H-6eq), 4.11 (1H, t, $J = 9.6$ Hz, H-3), 4.04 (1H, dd, $J_{2,3} = 10.2$ Hz, H-2'), 3.96 (1H, dd, $J_{3,4} = 2.4$ Hz, H-3'), 3.95–3.80 (2H, m, H-5 e H-5'), 3.78 (1H, bd, H-4'), 3.71 (1H, t, $J = 10.6$ Hz, H-6ax), 3.58–3.30 (4H, m, H-4, H-2, H₂-6'), 3.43 (3H, s, $-\text{OCH}_3$); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) δ 138.8 ($\times 2$), 138.7 ($\times 2$), 138.4, 137.8,

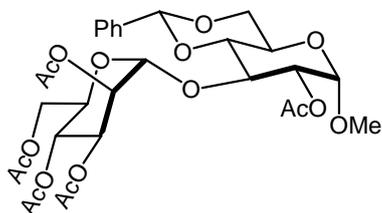
128.8-125.9, 101.2, 97.3, 94.9, 82.3, 78.8, 77.3, 75.9, 75.3, 74.9, 74.7, 73.9, 73.0, 72.8, 72.7, 68.9, 62.3, 55.0. MS (MALDI-TOF) calcolato per $(C_{55}H_{58}O_{11}Na^+)$ 917.39, trovato 917.4. Anal. Calcolato per $C_{55}H_{58}O_{11}$: C, 73.81; H, 6.53. Trovato: C, 73.58; H, 6.38.



Metil 3,4,6-Tri-O-acetil-2-deossi-2-ftalimido- β -D-glucopiranosil(1 \rightarrow 3)--2-O-acetil-4,6-O-benzilidene- α -D-glucopiranoside (44).

Schiuma. 1H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz)

δ 7.80–7.20 (Ar), 5.74 (1H, dd, $J = 10.8$ Hz, $J = 9.09$ Hz, H-3'), 5.56 (1H, d, $J_{1,2} = 8.4$ Hz, H-1'), 5.52 (1H, s, protoni benzilico del benzilidene), 5.14 (1H, dd, H-4'), 4.80 (1H, d, $J_{1,2} = 3.9$ Hz, H-1), 4.65 (1H, dd, $J_{2,3} = 9.6$ Hz, H-2), 4.33-4.18 (2H, m, H-3 e H-2'), 4.12 (1H, dd, $J_{5,6a} = 4.2$ Hz, $J_{6a,6b} = 12.3$ Hz, H-6'a), 3.91 (1H, dd, $J_{5,6b} = 2.4$ Hz, H-6'b), 3.79-3.70 (2H, m, H-5 e H-6ax), 3.65-3.55 (2H, m, H-4 e H-5'), 3.30 (3H, s, -OCH₃), 2.01, 1.98, 1.92, 1.81 (12H, 4s, 4 -COCH₃); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75 MHz) δ 170.7, 170.2 ($\times 2$), 169.4, 137.1, 134.3, 131.2, 129.0, 128.2, 126.0, 125.3, 123.5, 101.3, 97.2, 97.0, 79.3, 74.8, 72.7, 71.6, 70.6, 68.9, 68.7, 62.0, 61.7, 55.2, 54.7, 20.7, 20.6, 20.4. $[\alpha]^{25}_D +43.0^\circ$ (c 1.0, $CHCl_3$). MS (MALDI-TOF) calcolato per $(C_{36}H_{39}NO_{16}Na^+)$ 764.22, trovato 764.4. Anal. Calcolato per $C_{36}H_{39}NO_{16}$: C, 58.30; H, 5.30. trovato: C, 58.53; H, 5.56.

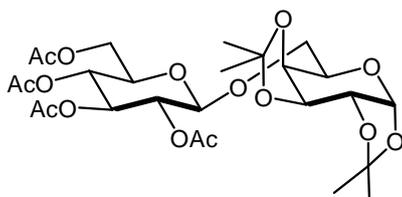


Metil 2,3,4,6-Tetra-O-acetil- α -D-mannopiranosil-(1 \rightarrow 3)-2-O-acetil-4,6-O-benzilidene- α -D-glucopiranoside (45).

Schiuma. 1H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 7.40–7.20 (Ar), 5.55 (1H, s, protoni benzilico del benzilidene), 5.33 (1H, t, $J = 1.8$ Hz,

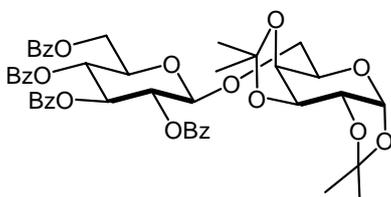
H-2'), 5.29 (1H, d, H-1'), 5.26–5.18 (2H, m, H-4' e H-3'), 4.97 (1H, d, $J_{1,2} = 3.6$ Hz, H-1), 4.81 (1H, dd, $J_{2,3} = 9.9$ Hz, H-2), 4.34-4.24 (2H, m, H-6eq, H-3), 4.22-4.10 (3H, m, H-5' e H₂-6'), 3.86-3.68 (3H, m, H-4, H-5 e H-6ax), 3.37 (3H, s, -OCH₃), 2.12, 2.10, 2.07, 2.02, 1.96 (15H, 5s, 5 \times -COCH₃). ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75 MHz) δ 170.7, 170.0,

169.8, 169.7, 169.6, 136.7, 128.9, 128.1 ($\times 2$), 126.0 ($\times 2$), 101.2, 97.5 ($\times 2$), 81.9, 72.0, 71.6, 69.1, 68.9, 68.7, 66.0, 62.2, 61.9, 55.3, 20.6. $[\alpha]^{25}_{\text{D}} + 81.2^\circ$ (c 1.0, CHCl_3). MS (MALDI-TOF) calcolato per $(\text{C}_{30}\text{H}_{38}\text{O}_{16}\text{Na}^+)$ 677.22, trovato 677.2. Anal. Calcolato per $\text{C}_{30}\text{H}_{38}\text{O}_{16}$: C, 55.04; H, 5.85. trovato: C, 54.93; H, 5.99.



2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)-1,2:3,4-O-diisopropylidene- α -D-galactopyranose (46). Schiuma. ^1H NMR

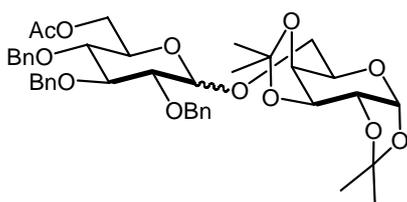
(CDCl_3 , 300 MHz) δ 5.49 (1H, d, $J_{1,2} = 4.8$ Hz, H-1), \square 5.22 (1H, t, $J = 9.3$ Hz, H-3'), 5.09 (1H, t, H-4'), 5.01 (1H, dd, H-2'), 4.62 (1H, d, $J_{1,2} = 8.1$ Hz, H-1'), 4.59 (1H, dd, $J_{2,3} = 2.4$ Hz, $J_{3,4} = 8.1$ Hz, H-3), 4.30-4.23 (2H, m, H-2, H-6'a), 4.18-4.09 (2H, m, H-6'b, H-4), 4.01 (1H, dd, $J_{5,6a} = 3.6$ Hz, $J_{6a,6b} = 11.4$ Hz, H-6a), 3.96-3.88 (1H, m, H-5), 3.74-3.60 (2H, m, H-5', H-6b), 2.07, 2.06, 2.01, 1.99 (4H, 4s, 4 -COCH₃), 1.49, 1.43, 1.31 ($\times 2$) (12H, 3s, metili dell'isopropilidene). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) \square 170.7, 170.3, 169.6, 169.4, 109.4, 108.7, 101.4, 96.2, 72.7, 71.7, 71.2, 71.0, 70.6, 70.4, 69.5, 68.5, 67.8, 61.9, 26.0, 25.9, 25.0, 24.3, 20.6. $[\alpha]^{25}_{\text{D}} - 52.8^\circ$ (c 1.0, CHCl_3). M. p. (EtOH) 139-140 $^\circ\text{C}$. MS (MALDI-TOF) calcolato per $(\text{C}_{26}\text{H}_{38}\text{O}_{15}\text{Na}^+)$ 613.21, trovato 613.3. Anal. Calcolato per $\text{C}_{26}\text{H}_{38}\text{O}_{15}$: C, 52.88; H, 6.49. Trovato: C, 52.80; H, 6.58.



2,3,4,6-Tetra-O-benzoil- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)-1,2:3,4-di-O-isopropylidene- α -D-galactopyranosio (47). Schiuma. ^1H NMR (CDCl_3 ,

300 MHz) δ 8.10-7.20 (Ar), 5.91 (1H, t, $J = 9.6$ Hz, H-3'), \square 5.69 (1H, t, $J = 9.6$ Hz, H-4'), 5.55 (1H, dd, $J_{1,2} = 7.8$ Hz, $J_{2,3} = 9.6$ Hz, H-2'), \square 5.42 (1H, d, $J_{1,2} = 4.8$ Hz, H-1), 5.05 (1H, d, $J_{1,2} = 7.8$ Hz, H-1'), 4.65 (1H, dd, $J_{5,6a} = 3.3$ Hz, $J_{6a,6b} = 12.0$ Hz, H-6'a), 4.49 (1H, dd, $J_{5,6b} = 5.1$ Hz, $J_{6a,6b} = 12.0$ Hz, H-6'b), 4.43 (1H, dd, $J_{3,2} = 2.1$, $J_{3,4} = 8.1$, H-3), \square 4.25-4.15 (3H, m, H-2, H-4 and H-5'), 4.15-4.00 (2H, m, H-6), 3.95-3.85 (1H, m, H-5), \square 1.37, 1.24, 1.21, 1.20 (12H, 4s, metili

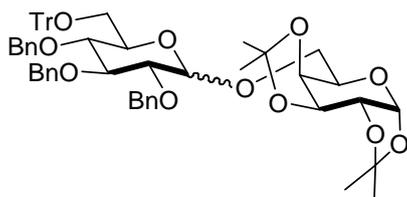
dell'isopropilidene). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) \square 166.1, 165.7, 165.2, 165.1, 133.3, 133.1, 133.0, 130.0-128.1, 109.2, 108.4, 101.2, 96.1, 73.0, 72.1, 71.7, 70.9, 70.5, 70.3, 69.7, 68.2, 67.5, 63.2, 25.8, 25.6, 24.8, 24.2. $[\alpha]^{25}_{\text{D}} -15.7^\circ$ (c 1.0, CHCl_3). MS (MALDI-TOF) calcolato per ($\text{C}_{46}\text{H}_{46}\text{O}_{15}\text{Na}^+$) 861.27, trovato 861.3. Anal. Calcolato per $\text{C}_{46}\text{H}_{46}\text{O}_{15}$: C, 65.86; H, 5.53. Trovato: C, 65.98; H, 5.63.



6-O-Acetil-2,3,4-tri-O-benzil-D-glucopiranosil-(1→6)-1,2:3,4-di-O-isopropilidene-α-D-galactopiranosio (48). Olio. ^1H NMR (CDCl_3 ,

300 MHz), segnali dell'α anomero a δ 7.50–7.10

(Ar)_z 5.53 (1H, d, $J_{1,2} = 5.1$ Hz, H-1), 5.10-4.50 (7H, $-\text{CH}_2\text{Ph}$ e H-3), 4.96 (1H, d, $J_{1,2} = 3.9$ Hz, H-1'), 4.37-4.00 (5H, m, H-2, H-4, H-5, H₂-6', H-3'), 3.98-3.90 (1H, m, H-5'), 3.82-3.44 (4H, m, 6- CH_2 , H-2', H-4'), 2.03 (3H, s, $-\text{COCH}_3$), 1.54, 1.46, 1.33, e 1.32 (12H, 4s, metili dell'isopropilidene); segnali significativi del disaccaride β-legato a δ 5.57 (1H, d, $J_{1,2} = 4.8$ Hz, H-1), 4.47 (1H, d, $J_{1,2} = 8.1$ Hz, H-1'), 2.04 (3H, s, $-\text{COCH}_3$). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) δ 170.8, 138.7, 138.5, 137.9, 137.7, 128.6-127.6, 109.4, 109.2, 108.6, 104.5 (C-1' β), 97.3 (×2) (C-1 □□e□□), 97.0 (C-1' □), 84.5, 81.8, 81.5, 79.8, 75.7, 75.0, 74.8, 74.3, 72.8, 72.4, 71.4, 70.8, 70.7, 70.6, 70.4, 70.0, 68.6, 67.3, 66.6, 65.8, 63.0, 24.9, 24.6, 24.4, 20.9. MS (MALDI-TOF) calcolato per ($\text{C}_{41}\text{H}_{50}\text{O}_{12}\text{Na}^+$) 757.21, trovato 757.1. Anal. Calcolato per $\text{C}_{41}\text{H}_{50}\text{O}_{12}$: C, 67.01; H, 6.86. Trovato: C, 67.29; H, 7.02.

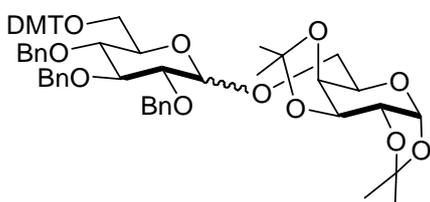


2,3,4-Tri-O-benzil-6-O-tritil-D-gluco-piranosil-(1→6)-1,2:3,4-di-O-isopropilidene-α-D-galactopiranosio (51). Schiuma. ^1H NMR

(CDCl_3 , 300 MHz) segnali dell' α anomero:

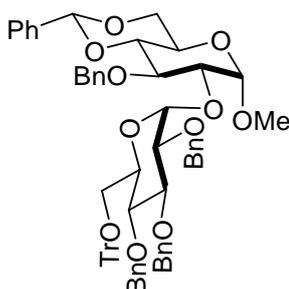
δ 7.60–6.80 (Ar)_z 5.56 (1H, d, $J_{1,2} = 4.8$ Hz, H-1), 5.17 (1H, d, $J_{1,2} = 3.9$ Hz, H-1'), 5.00-4.30 (6H, 3xAB, $-\text{CH}_2\text{Ph}$), 4.64 (1H, dd, $J_{2,3} = 2.4$ Hz, $J_{3,4} = 8.1$ Hz, H-3), 4.41 (1H, dd, $J_{4,5} = 2.4$ Hz, H-4), 4.35 (1H, dd, H-2), 4.10 (1H, dt, $J_{5,6} = 6.3$ Hz, H-5), 4.00 (1H, t, $J =$

9.3 Hz, H-3'), 3.92-3.66 (4H, m, H-4', H-5', H₂-6), 3.57 □□□□□dd, $J_{5,6a} = 2.1$ Hz, $J_{6a,6b} = 9.9$ Hz, H-6a'), 3.23 (1H, dd, $J_{5,6b} = 4.2$, H-6b'), 1.54, 1.50, 1.35, 1.34 (12H, 4s, metili dell'isopropilidene). ¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ 143.9, 138.8, 138.5, 137.9, 128.7-126.9, 109.2, 108.5, 96.3, 86.3, 82.1, 80.1, 77.9, 75.9, 72.9, 72.2, 70.7, 70.6, 70.4, 65.4, 62.4, 26.1 (×2), 24.9, 24.6. MS (MALDI-TOF) calcolato per (C₅₈H₆₂O₁₁Na⁺) 957.41, trovato 957.5. Anal. Calcolato per C₅₈H₆₂O₁₁: C, 74.50; H, 6.68. Trovato: C, 74.63; H, 6.73.



2,3,4-Tri-O-benzil-6-O-dimetossitritil-D-glucopiranosil-(1→6)-1,2:3,4-di-O-isopropilidene-α-D-galactopiranosio (52).

Schiuma. ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) segnali dell' α anomero: δ 7.60-6.70 (Ar), 5.53 (1H, d, $J_{1,2} = 4.8$ Hz, H-1), □5.13 (1H, d, $J_{1,2} = 3.6$ Hz, H-1'), 4.98-4.29 (6H, 3×AB, -CH₂Ph), 4.61 (1H, dd, $J_{2,3} = 2.4$ Hz, $J_{3,4} = 8.1$ Hz, H-3), 4.38 (1H, dd, $J_{4,5} = 1.8$ Hz, H-4), 4.32 (1H, dd, H-2), 4.06 (1H, bt, $J_{5,6} = 7.5$ Hz, H-5), 3.97 (1H, t, $J = 9.3$ Hz, H-3'), 3.88-3.72 (4H, m, H-4', H-5', H₂-6), 3.77 e 3.76 (6H, 2s, 2x -OCH₃), 3.67 (1H, dd, H-2'), 3.52 (1H, bd, $J_{6a,6b} = 9.6$ Hz, H-6'a), 3.22 (1H, bd, $J_{5,6b} = 3.9$ Hz, H-6'b), 1.52, 1.48, 1.33 (×2) (12H, 3s, metili dell'isopropilidene). ¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ 158.3, 145.0, 138.8, 138.5, 136.3, 135.9, 130.01-126.6, 113.0, 109.1, 108.5, 96.3 (×2), 85.6, 82.0, 80.0, 77.9, 77.8, 76.0, 74.9, 72.1, 70.8, 70.7, 70.5, 65.3, 62.0, 55.1, 26.1 (×2), 24.9, 24.6. MS (MALDI-TOF) calcolato per (C₆₀H₆₆O₁₃Na⁺) 1017.44, trovato 1017.5. Anal. Calcolato per C₆₀H₆₆O₁₃: C, 72.41; H, 6.68. trovato: C, 72.49; H, 6.79.



Metil 2,3,4-Tri-O-benzil-6-O-tritol-α-D-glucopiranosil-(1→2)-3-O-benzil-4,6-O-benzilidene-α-D-glucopiranoside (53). Schiuma. ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 7.60–6.80 (Ar)_z 5.55 (1H, s, protoni benzilico del benzilidene), 5.06 (1H, d, $J_{1,2} = 3.6$ Hz, H-1), 5.00 (1H, d,

$J_{1,2} = 3.3$ Hz, H-1'), 5.00-4.30 (8H, 4×AB, -CH₂Ph), 4.31 (1H, dd, $J_{6eq,6ax} = 9.6$ Hz, $J_{6eq,5} = 3.0$ Hz, H-6eq), 4.28-4.20 (1H, m, H-5'), 4.16-4.07 (2H, m, H-3 and H-3'), 3.97 (1H, dd, $J_{2,3} = 9.6$ Hz, H-2'), 3.94-3.85 (1H, m, H-5), 3.77 (2H, sovrapposti t, $J = 9.9$ Hz, H-6ax e H-4'), 3.67 (1H, dd, $J_{2,3} = 9.9$ Hz, H-2), 3.64 (1H, t, $J = 9.3$ Hz, H-4), 3.49 (3H, s, -OCH₃), 3.40 (1H, bd, $J = 10.2$ Hz, H-6'a), 2.96 (1H, dd, $J_{5,6b} = 4.2$ Hz, H-6'b). ¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) □ 143.9, 138.7, 138.6, 138.3, 137.9, 137.3, 128.8-125.9, 101.2, 97.2, 93.9, 86.1, 82.2, 79.5, 79.2, 78.1, 76.0, 75.6, 74.8, 73.9, 72.9, 70.4, 69.0, 62.3, 62.1, 55.0. [α]²⁵_D +19.6° (c 1.0, CHCl₃). MS (MALDI-TOF) calcolato per (C₆₇H₆₆O₁₁Na⁺) 1069.46, trovato 1069.5. Anal. Calcolato per C₆₇H₆₆O₁₁: C, 76.84; H, 6.35. trovato: C, 76.61; H, 6.27.

Capitolo IV

Glicoconiugazione del 5,6-diacetossi Indolo

Introduzione

Le strutture mono- ed oligosaccaridiche, come già detto nei capitoli precedenti, sono spesso legate a composti naturali come le proteine, i lipidi o, come vedremo nel prossimo capitolo, possono essere parte costituente ed attiva di alcuni antibiotici. In effetti servono a moltissimi scopi che vanno dalla comunicazione intercellulare al miglioramento della bioattività della molecola a cui sono legati conferendole maggiore stabilità che può significare una maggiore solubilità o una minore reattività di posizioni che non devono essere coinvolte nel processo e che vengono quindi glicoconiugate.

In questo capitolo verrà discussa la metodologia messa a punto per la glicoconiugazione del 5,6-diacetossiindolo (DAI, **8**), ovvero il 5,6-diidrossiindolo (DHI, **1**) protetto sugli ossidrili aromatici (FIGURA 1).

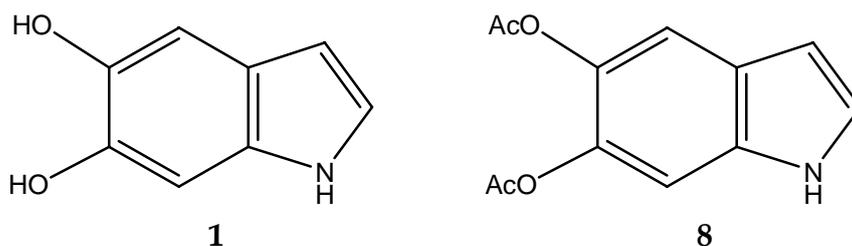
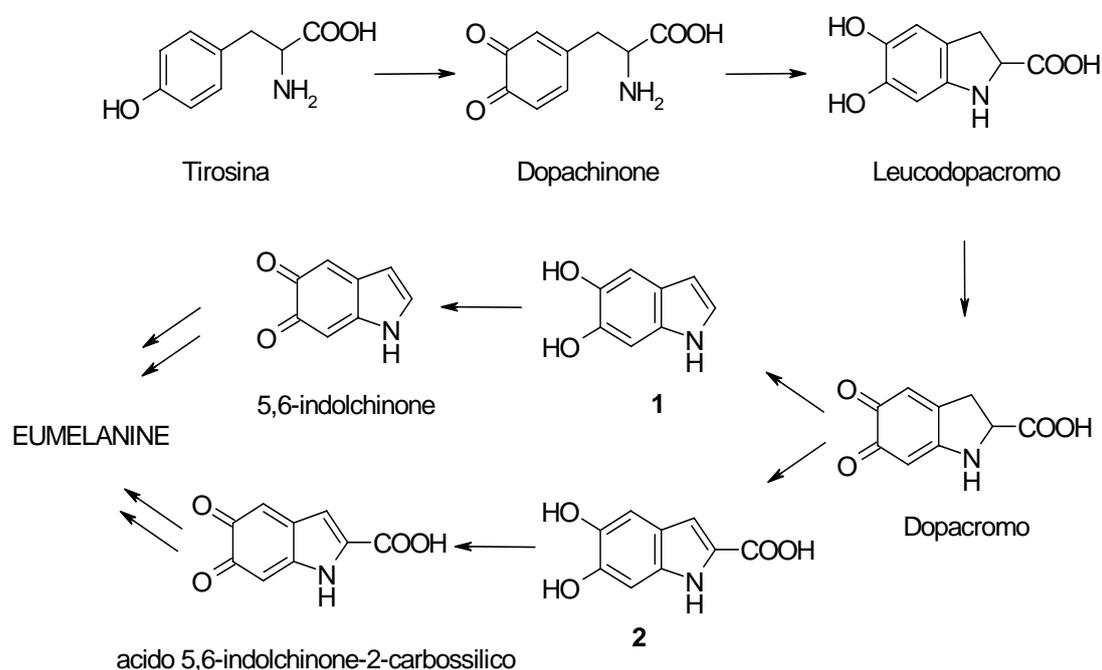


FIGURA 1: Strutture del DHI e dal DAI.

Il DHI, fra i derivati indolici naturali riveste una posizione di primo piano dato il suo ruolo centrale nella biosintesi delle eumelanine, pigmenti scuri di natura polimerica presenti nella pelle, nei peli e nelle iridi degli occhi dei mammiferi.¹⁴⁷ Nello SCHEMA 1 sono riportati i primi stadi delle biosintesi delle eumelanine. Questa avviene, a partire dalla tirosina, nei melanociti, cellule altamente specializzate. La tirosina, attraverso una complessa sequenza di reazioni, in parte spontanee e in parte controllate da enzimi,¹⁴⁸ è convertita nel DHI **1** e nell'acido 2-carbossilico **2** (DHICA). Il DHI e il DHICA danno rigine alle eumelanine attraverso un processo di polimerizzazione.



(SCHEMA 1): Primi stadi della biosintesi delle melanine.

Da diversi anni la polimerizzazione dei 5,6-diidrossiindoli è una tematica di notevole interesse per le potenziali applicazioni dei polimeri da essi derivanti nel campo dei materiali. Oltre alla ovvia rilevanza correlata alla comprensione meccanicistica del processo di polimerizzazione vi è un problema biologico

¹⁴⁷a) Nordlund, J. J.; Boissy, R. E.; Hearing, V. J.; King, R. A.; Ortonne, J., Eds., *The pigmentary system. Physiology and pathophysiology*, **1998**, Oxford University Press, New York. b) Prota, G. *Melanins and Melanogenesis*, **1992**, Academic Press, San Diego CA.

¹⁴⁸ Prota, G. "The chemistry of melanins and melanogenesis", in *Fortschritte der chemie organischer Naturstoffe*, Hertz, W.; Kirby, G. W.; Moore, R. E.; Steglich, W.; Tamm, Ch., Eds., **1995**, vol. 64, Springer-Verlag, Wien, p. 93.

ancora irrisolto e di grande importanza, in ambito biochimico-clinico, relativo allo sviluppo di trattamenti delle ipo- e delle iperpigmentazioni post-infiammatorie e di metodologie diagnostiche per il melanoma.¹⁴⁹ La chimica ossidativa del DHI trova applicazione anche in ambiti come la cosmetica (preparazione di tinture per capelli e filtri solari), lo sviluppo di materiali schermanti le radiazioni elettromagnetiche (vetro o plastica) fino alla progettazione di materiali semiconduttori e celle fotovoltaiche.¹⁵⁰ In quest'ultimo caso le eumelanine presentano il grosso vantaggio di essere "soft" e biocompatibili e quindi preferibili ai composti inorganici comunemente utilizzati.¹⁵¹

Una maggiore comprensione del meccanismo di polimerizzazione potrebbe permettere di controllare e sfruttare, sul piano tecnologico, le peculiari proprietà chimico-fisiche delle eumelanine: l'assorbimento monotono di radiazioni nell'intero intervallo UV-visibile, la conversione non radiativa di stati elettronici fotoeccitati, un segnale EPR persistente e la capacità di ridursi ed ossidarsi reversibilmente.¹⁵²

L'origine di queste proprietà non ha trovato ancora una spiegazione soddisfacente in termini strutturali data la notevole insolubilità delle eumelanine, naturali e sintetiche, la loro eterogeneità chimica nonché per la mancanza di una struttura cristallina (fattori che rendono inefficaci le tecniche spettroscopiche). Va da sé, che per un impiego mirato di tali sostanze nei più svariati ambiti è necessaria una conoscenza più avanzata delle caratteristiche strutturali dei pigmenti eumelanici. Negli anni '90 Cheng e collaboratori¹⁵³ hanno proposto un modello che vede le eumelanine come un insieme di oligomeri costituiti da 5 a 7 unità di 5,6-indolchinone disposti in un piano a formare 3-4 livelli impilati, distanti fra di loro 3.4 Å (FIGURA 2).

¹⁴⁹Prota, G., Veronesi U.; Cascinelli N.; Santimani M., *Cutaneous Melanoma*, Eds. 1987, Academic Press, London

¹⁵⁰ a) Pawlek, J. M. *PTC Int. Appl.* 1995; b) Gallas, J. M. *U. S.* 1991; c) Ahene, A. B.; Chedekel, M. *PTC Int. Appl.* 1991; d) Meredith, P. *PCT Int. Appl.* 2003; e) Subianto, S.; Will, G.; Meredith, P. *Polymer* 2005, 46, 11505-11509; f) Meredith, P.; Powell, B. J.; Riesz, J.; Nighswander-Rempel, S. P.; Pederson, M. R.; Moore, E. G. *Soft Matter* 2006, 2, 37-44.

¹⁵¹ Wallace, G. G.; Dastoor, P. C.; Officer, D. L.; Chee, O. T. *Chem. Innov.* 2000, 30, 14-22.

¹⁵² a) Meredith, P.; Sarna, T. *Pigment Cell Res.* 2006, 19, 572-594; b) Meredith, P.; Riesz, J. *Photochem. Photobiol.* 2004, 79, 211-216; c) Sarna, T.; Swartz, H. "The Physical Properties of Melanins" in: *The Pigmentary System*, Nordlund, J. J., Ed., 1998, p. 333-357.

¹⁵³ Cheng, J.; Moss, S. C.; Eisner, M. *Pigment Cell Res.* 1994, 7, 263-273.

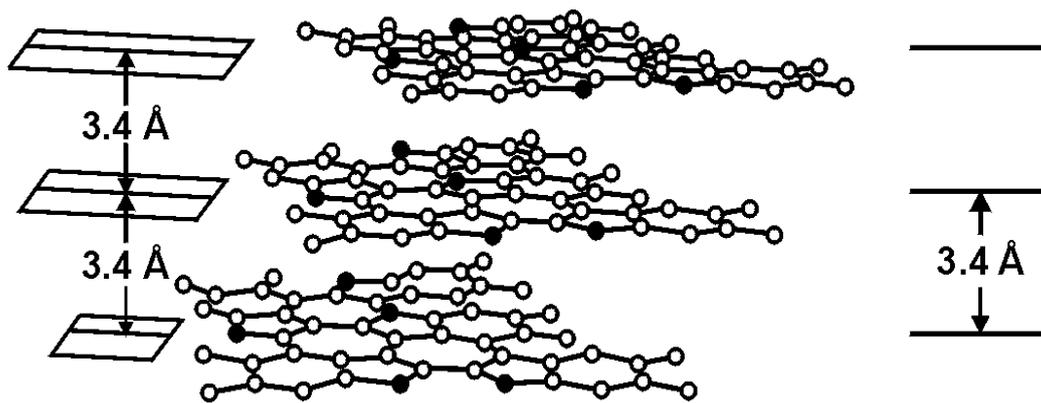


FIGURA 2: Modello strutturale delle eumelanine proposto da Cheng.

Ulteriori studi di diffrazione ai raggi X e di altro genere¹⁵⁴ hanno confermato l'esistenza di un'unità fondamentale, costituita da un piccolo oligomero planare costituito da 5 unità di **1** o **2** in vari stati di ossidazioni. Tali oligomeri si assemblerebbero attraverso interazioni π portando a strutture più complesse o filamentose (FIGURA 3).¹⁵⁵

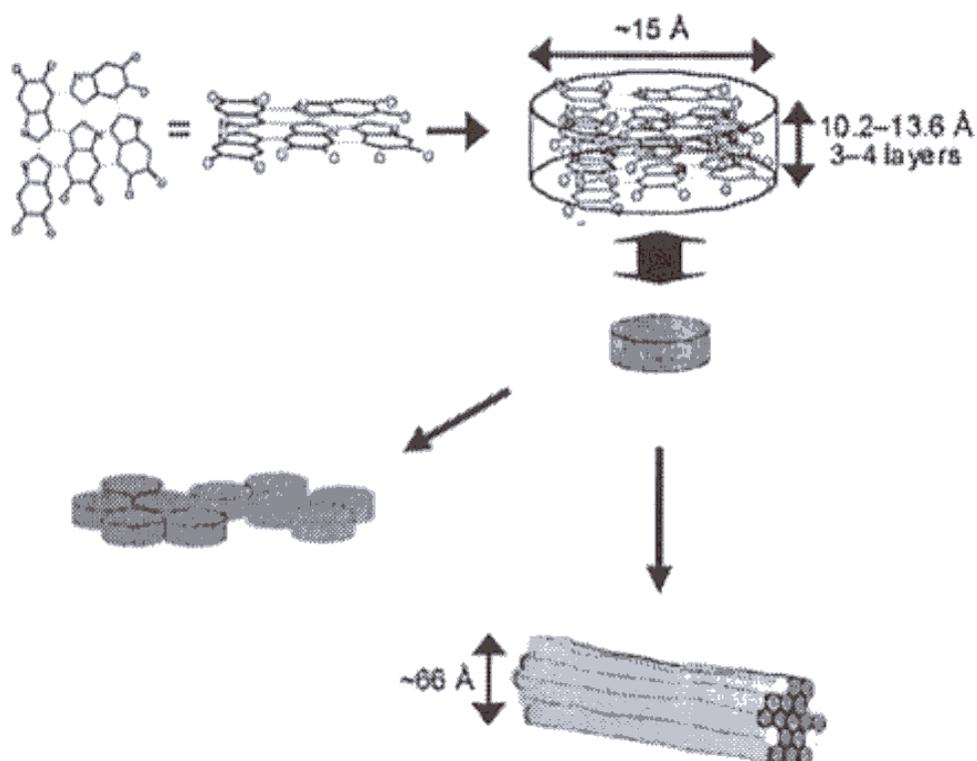


FIGURA 3: Modello strutturale proposto Clancy e Simon.

¹⁵⁴ a) Gallas, J. M.; Littrell, K. C.; Seifert, S.; Zajac, G. W.; Thiyagarajan, P. *Biophys. J.*, **1999**, 77, 1135-1142 ;

¹⁵⁵ b) Clancy, C. M. R.; Simon, J. D. *Biochemistry*, **2001** 40, 13353-13360.

La maniera migliore per verificare tali modelli è riuscire ad isolare intermedi oligomerici a vari stadi della polimerizzazione in modo tale da acquisire informazioni sulle modalità di accoppiamento dei diidrossindoli, sulla struttura delle sub-unità oligomeriche del pigmento melanico e sulla loro tendenza a formare aggregati attraverso interazioni σ o π . Tutto ciò è reso di notevole difficoltà date l'intrinseca instabilità sia dei prodotti di polimerizzazione che dei diidrossindoli stessi che tendono ad auto ossidarsi sia in mezzo acquoso a pH neutro che in solvente organico. Da qui la necessità di aggiungere al processo sintetico stadi di protezione e de protezione.

Studi condotti dal Dott. Pezzella e dai suoi collaboratori hanno portato alla messa a punto delle condizioni ottimali per l'ossidazione di **1** (in tampone fosfato 0.1 M a pH 6.8, ad una concentrazione di substrato pari a 16 mM e utilizzando come ossidante il sistema perossidasi da rafano/ H_2O_2) ed è stato possibile isolare e caratterizzare derivati dimerici e trimerici (in forma acetilata) quali i biindolili **3** e **4** ed i terindolili **5** e **6** (FIGURA 4).¹⁵⁶

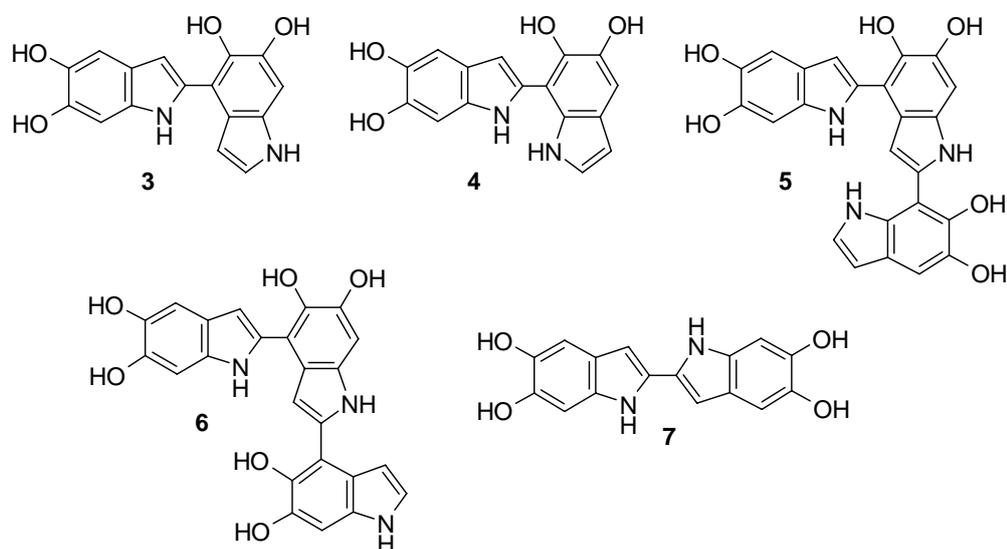


FIGURA 4: Oligomeri ottenuti per ossidazione di **1** in condizioni biomimetiche.

¹⁵⁶Napolitano, A.; Corradini, M. G.; Prota, G. *Tetrahedron Lett.* **1985**, 26, 2805-2808; b)Corradini, M. G.; Napolitano, A.; Prota, G. *Tetrahedron* **1986**, 42, 2083-2088; c)Palumbo, P.; d'Ischia, M.; Crescenzi, O.; Prota G. *Tetrahedron Lett.* **1987**, 28, 467-470;d) d'Ischia, M.; Napolitano, A.; Tsiakas, K.; Prota, G. *Tetrahedron* **1990**, 46, 5789-5796; e) d'Ischia, M.; Napolitano, A.; Prota, G. *Biochim. Biophys. Acta* **1991**, 1073, 423-430; f) Napolitano, A.; Crescenzi, O.; Prota, G. *Tetrahedron* **1993**, 34, 885-888; f) Napolitano, A.; Pezzella, A.; d'Ischia, M.; Prota, G. *Tetrahedron* **1996**, 24, 4241-4242; g) Beer, R. J. S.; Broadhurst, A. *J. Chem. Soc.* **1954**, 1947-1953; h)d'Ischia, M.; Napolitano, A.; Pezzella, A.; Land, E. J.; Ramsedn, C. A.; Riley, P. A. *Adv. Heterocycl. Chem.* **2005**, 89, 1-55.

La successiva ossidazione di unità dimeriche come **3** e **4** ha dimostrato che il meccanismo di ossidazione di **1** si differenzia da quello di **3** e **4** confermando l'importanza di un'attenta analisi anche sul meccanismo di ossidazione di specie diverse da **1** e che si formano velocemente a partire da questo (il monomero si lega preferenzialmente in **2** con le posizioni 4 e 7 di un'altra unità, i dimeri, avendo la posizione 2 legata, danno accoppiamento attraverso le posizioni 3 e 4).¹⁵⁷ L'isolamento e lo studio di oligomeri superiori a quelli suddetti è reso molto difficoltoso dalla loro insolubilità, ragion per cui, in collaborazione con il Dott. Pezzella, abbiamo pensato di sperimentare se la chimica ossidativa di un DAI (DHI una volta de acetilato) coniugato ad uno zucchero risultasse più agevole da studiare in virtù della maggiore solubilità ed, eventualmente, stabilità.

Di fatto in letteratura sono riportati svariati esempi di coniugazione di substrati indolici con frammenti alchilici o arilici. In particolare, in un lavoro di Yadav e collaboratori del 2007, è riportata l'efficiente 3 zolfo alchilazione e 3 zolfo arilazione di indoli variamente sostituiti per attivazione di un alchil o un aril tiolo con Selectfluor (FIGURA 5).¹⁵⁸ Data la recente messa a punto della una metodica sintetica, molto efficiente e veloce, discussa nel capitolo III,¹⁵⁹ per l'ottenimento di tioglicosidi, abbiamo pensato di utilizzare questa per ottenere i tioglicosidi da attivare poi nello stesso modo.

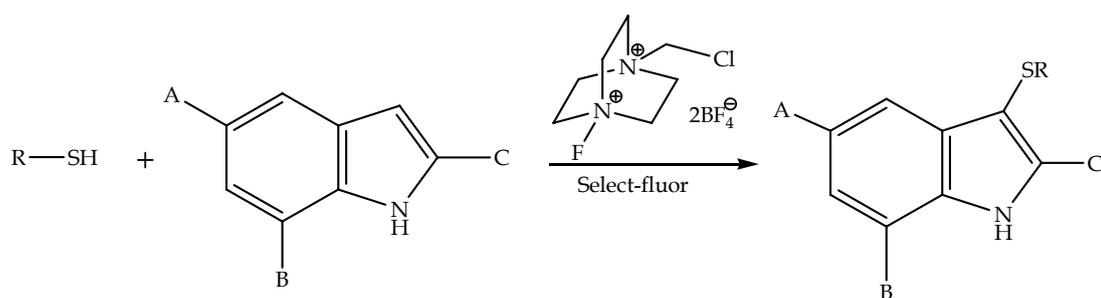


FIGURA 5: Reazione di coniugazione promossa da Selectfluor riportata da Yadav e collaboratori.

¹⁵⁷ a) Pezzella, A.; Vogna, D.; Prota, G. *Tetrahedron Asymmetry* **2003**, *15*, 681-690; b) Alessandro Pezzella, Lucia Panzella, Anna Natangelo, Marianna Arzillo, Alessandra Napolitano, and Marco d'Ischia. *J. Org. Chem.*, **2007**, *72* (24), pp 9225-9230; c) Lucia Panzella, Alessandro Pezzella, Alessandra Napolitano, and Marco d'Ischia. *Org. Lett.*, **2007**, *9* (7), pp 1411-1414

¹⁵⁸ J.S.Yadav et al., *Tetrahedron Lett.*, **48** (2007),7034-7037

¹⁵⁹ Valerio S.; Iadonisi A.; Adinolfi M.; Ravida A. *J. of Org. Chem.* (**2007**), *72*(16), 6097-6106.

Risultati e Discussione

Seguendo il protocollo descritto nel precedente capitolo è stato ottenuto il sale di tiouronio di un galattosio, che, sottoposto a riduzione con bisolfito di sodio, ha dato in resa quantitativa il galattosiltiolo **9**. Questo è stato sottoposto, insieme al DAI e al Selectfluor, alle stesse condizioni di reazione riportate in letteratura per gli alchil- e gli aril tioli (1 equivalente di ciascun reattivo, in acetonitrile, a temperatura ambiente) ma non si è registrata alcuna formazione di prodotti diversi da quelli di partenza (FIGURA 6). Si è anche provato a verificare un eventuale coniugazione fra il tiolato dello zucchero (generato in situ trattando il sale di tiouronio del galattosio con trietilammina) e il DAI, ma anche in questo caso non vi è stata alcuna reazione.

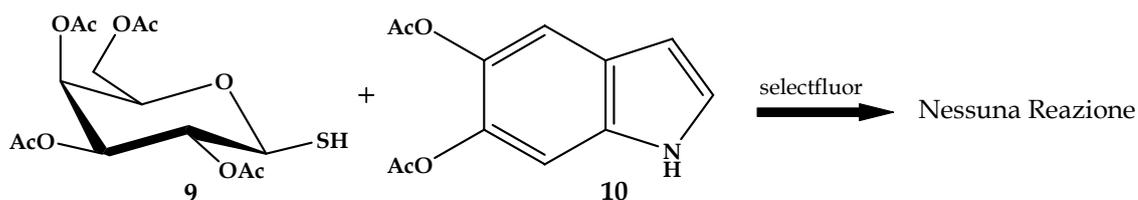


FIGURA 6: Reazione del galattosil tiolo con il DAI e il Selectfluor.

A questo punto si prospettavano due possibili alternative: la prima era quella di utilizzare un derivato del DHI più elaborato, come un tiociano derivato (**10**), che è convertibile *in situ* nel corrispondente tiolato con una riduzione con SmI_2 ,¹⁶⁰ che a sua volta potrebbe combinarsi con un galattosil ioduro (ottenuto a partire da uno zucchero per acetilato per reazione con iodio e trietilsilano, come descritto nel capitolo III) (FIGURA 7).

¹⁶⁰ Pezzella, Alessandro; Palma, Aniello; Iadonisi, Alfonso; Napolitano, Alessandra; d'Ischia, Marco. *Tetrahedron Letters* (2007), 48(22), 3883-3886.

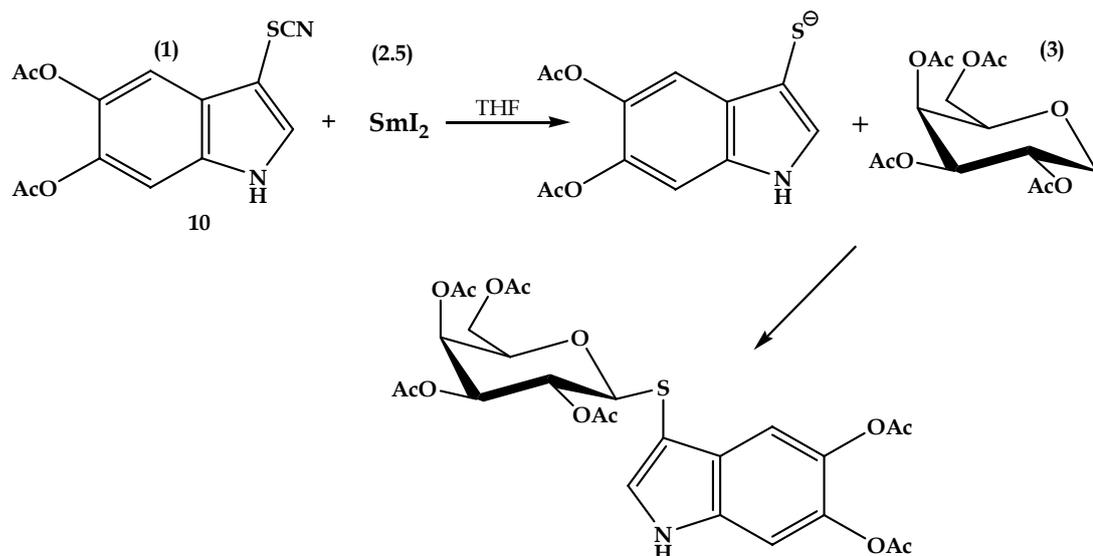


FIGURA 7: Sintesi del glicocongiugato del DAI a partire da un tiocianoderivato ed un glicosil ioduro.

Sempre a partire dal tiociano derivato **10** era possibile anche ipotizzare un eventuale accoppiamento con un glicosil tiolato, generato *in situ* a partire dal corrispondente sale di tiouronio, con conseguente formazione di un legame disolfuro fra le due molecole (FIGURA 8).

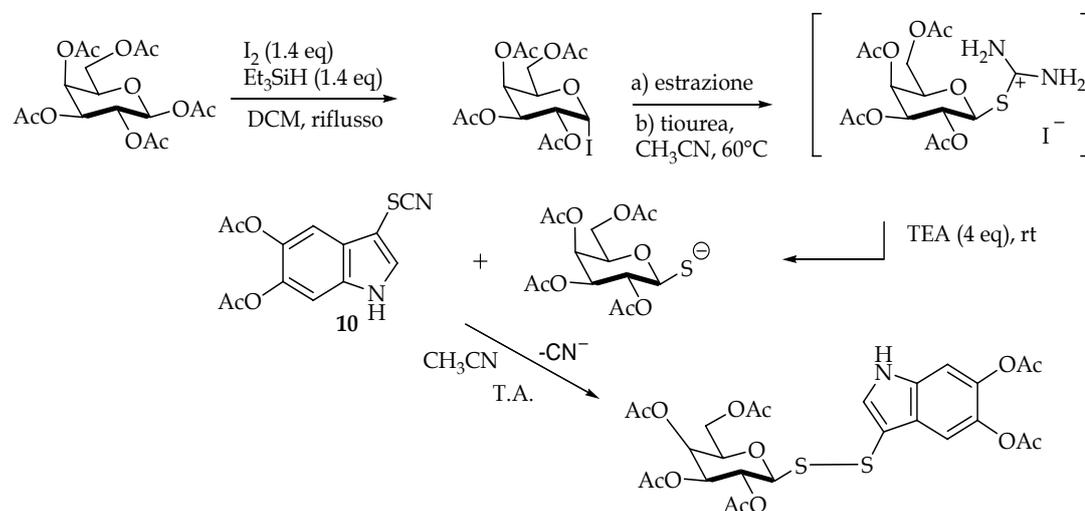


FIGURA 8: Sintesi di un glicocongiugato del tiociano del DAI attraverso un ponte disolfuro.

Quest'ultima via, effettivamente, è stata tentata, ma la resa di isolamento del prodotto di coniugazione è risultata essere talmente bassa (probabilmente a causa della facile rottura del legame disolfuro) che, dopo aver provato inutilmente svariati metodi di purificazione, si è deciso di partire nuovamente dal DAI tal

quale (la preparazione del tiociano derivato e dello ioduro di samario non è particolarmente agevole) e da un altro genere di glicosil donatore.

Nel corso della messa a punto della procedura relativa alla sintesi ed all'attivazione di tio- e selenoglicosidi, descritta nel precedente capitolo, era risultato evidente che i selenoglicosidi erano più attivi nei confronti del nostro sistema promotore ($\text{Bi}(\text{OTf})_3$ (cat.)/NBS) rispetto agli analoghi di tipo tio- ed avevamo attribuito tale comportamento ad una eventuale affinità maggiore dello ione bromonio per il selenio piuttosto che per lo zolfo. Per tale ragione ci è sembrato interessante sperimentare la reattività del tioglicoside **11**, in cui lo zolfo è legato ad un gruppo fenilselenio. Il legame *-S-SePh* non è particolarmente forte ed, in un eventuale attivazione di tale donatore, il Br^+ avrebbe verosimilmente mostrato maggiore affinità per il selenio indebolendo ulteriormente il legame (FIGURA 9).

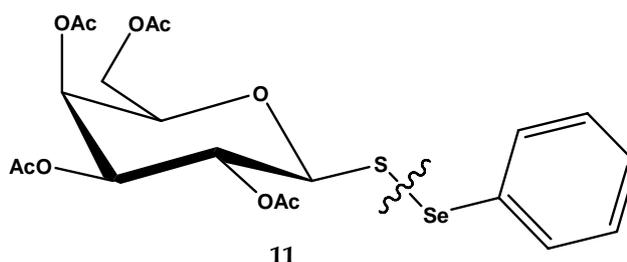
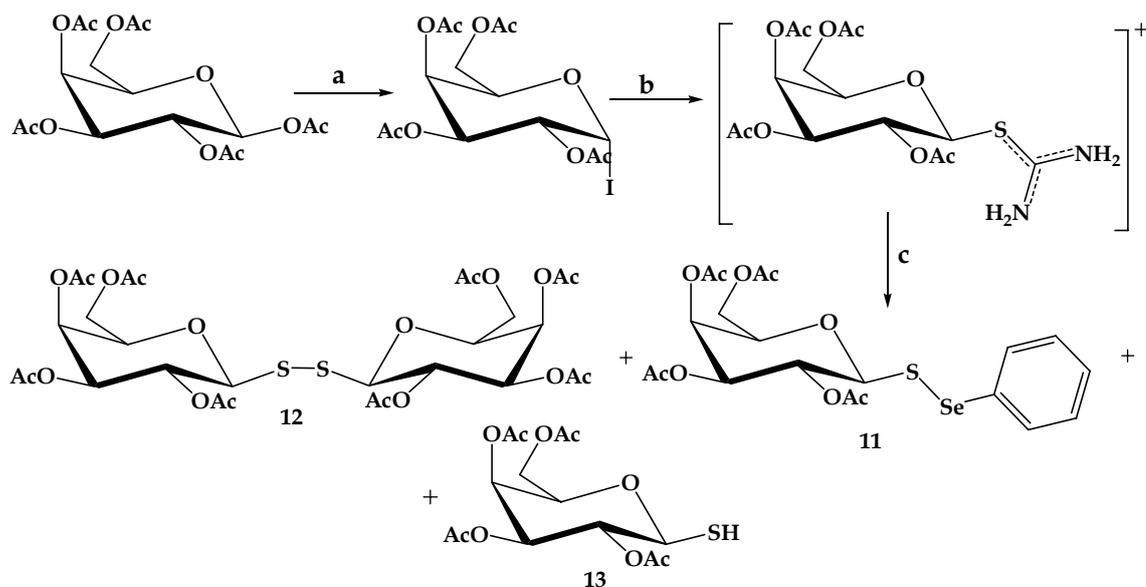


FIGURA 9: Donatore Gal-S-Se-Ph.

Nello SCHEMA 2 è illustrata la rapida procedura sintetica utilizzata per ottenere il glicosil donatore **11**.



SCHEMA 2: Sintesi del glicosil donatore **11**.

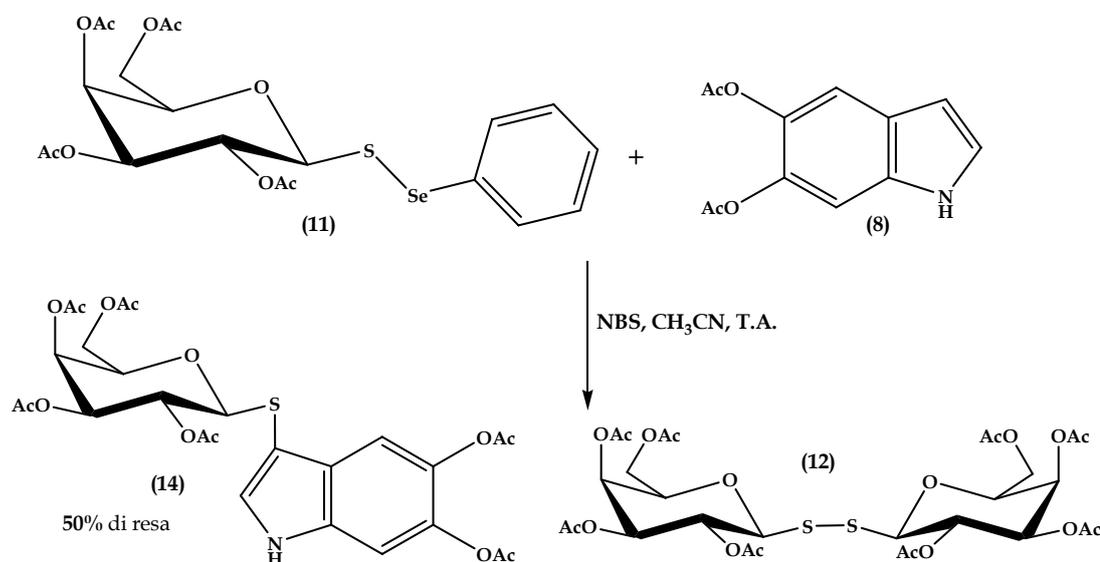
Il galattosio peracetilato è stato convertito nel corrispondente ioduro [a: Iodio (1.4 eq.), Et₃SiH (1.4 eq.) in diclorometano a refluxo] in pochi minuti. La miscela è stata estratta e il residuo organico concentrato e sottoposto allo stadio seguente in cui è stato convertito nel sale di tiuronio (b: tiourea (1.5 eq.) in acetonitrile a 60°C) sempre in pochi minuti. A questo punto la miscela è stata portata a temperatura ambiente e sono stati aggiunti sequenzialmente (PhSe)₂ (1.5 eq.) e trietilammina (4 eq.). Dopo 10 minuti la miscela è stata concentrata e purificata su gel di silice. Il glicosil donatore **11** è stato isolato con una resa variabile del 44-50%. Sono stati isolati e caratterizzati anche i sottoprodotti **12** e **13** in rese rispettivamente del 40-45% e del 6-10%. È stato recuperato anche il difenildiseleniuro, in parte derivante dal reagente che non ha reagito, in parte dalla formazione del disolfuro del galattosio che comporta, di fatto, l'uscita di tale gruppo. È stato cristallizzato in etere di petrolio ed utilizzato nuovamente negli altri esperimenti.

Dal bilancio di massa di tale sintesi è subito parso evidente il grosso rilievo della reazione che porta alla formazione del disolfuro del galattosio che supporta la predetta labilità del legame -S-Se-. Un'altra specifica è relativa alla vicinanza cromatografica del glicosiltiolo **13** al prodotto desiderato **11**, cosa che ha comportato che una parte del composto venisse sempre isolata insieme a **13**.

Sono stati condotti alcuni esperimenti al fine di ottenere un bilancio di massa ancora più favorevole al nostro donatore (atmosfera di argon, temperatura fino a -

15°C, utilizzo di PhSeBr in luogo di (PhSe)₂, tempi di reazione minori, lavorazione diversa della miscela) ma non sono stati registrati sensibili miglioramenti anche in atmosfera di argon, nonostante le indicazioni di letteratura precedenti.¹⁶¹

Ad ogni modo siamo passati alla sperimentazione della coniugazione di **11** con **8** scegliendo come solvente l'acetonitrile. Tale miscela, anche dopo diverse ore e a temperature superiori a quella ambiente, non ha mostrato la formazione di alcun prodotto per cui, nella su citata ipotesi di un'attivazione chemoselettiva del selenio da parte dell'NBS, abbiamo aggiunto alla miscela un equivalente stechiometrico di questo reagente e già dopo mezz'ora era visibile, via TLC, la formazione di un prodotto diverso da quelli di partenza. La miscela è stata estratta e purificata su gel di silice. E' stato così isolato il glicoconiugato **14** con una resa del 50% (SCHEMA 3).



SCHEMA 3: Sintesi del glicoconiugato del DAI **14** a partire dal glicosildonatore **11**.

A questo punto era stato ottenuto il glicoconiugato desiderato secondo una strategia sintetica sia del donatore che del coniugato stesso del tutto originale, molto economica e molto rapida. Le rese di isolamento tuttavia non ci sembravano altrettanto soddisfacenti. Per quanto riguarda il glicosil donatore, esperimenti tesi a migliorare la resa non avevano dato alcun risultato rimarcabile. Si è pensato quindi di sperimentare la reattività, nelle stesse condizioni, di zuccheri diversi quali il glucosio ed il mannosio (TABELLA 1).

¹⁶¹ Davis, B. G. et al. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, 827.

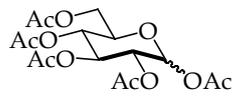
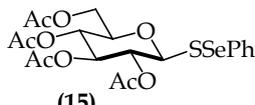
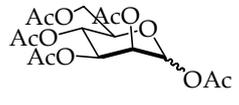
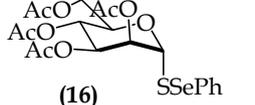
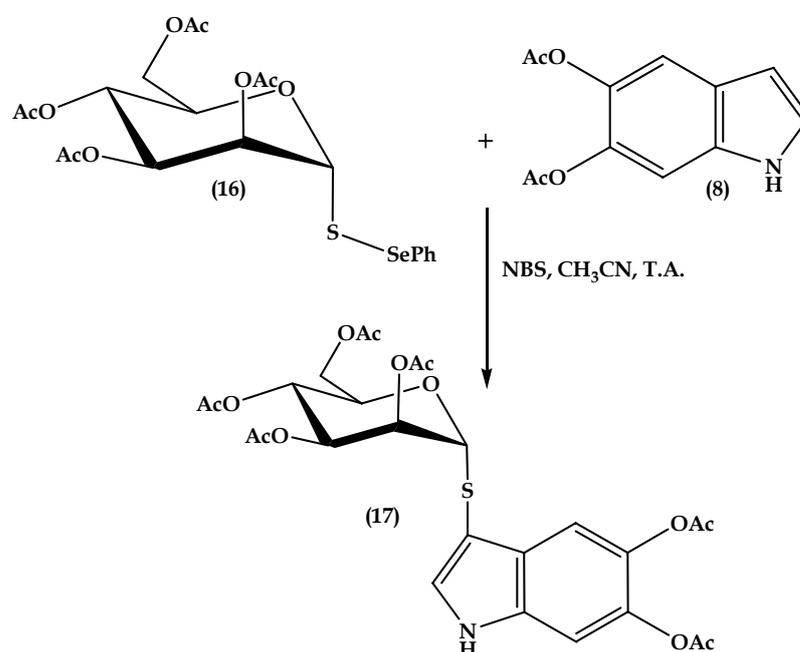
Prodotto di Partenza	T (°C)	Tempo	Prodotto finale	Resa di isolamento
	temperatura ambiente	< 1h	 (15)	35
	temperatura ambiente	< 1h	 (16)	40

TABELLA 1: sintesi di glicosildonatori *-S-Se-Ph* a partire da substrati di tipo gluco e manno.

Come illustrato in tabella i donatori **15** e **16** sono stati isolati con rese inferiori rispetto ad **11**. Tuttavia, avendo a disposizione i substrati, abbiamo comunque sperimentato la reattività di **16** nella reazione di glicoconiugazione con il DAI. E' stato scelto il manno derivato in luogo dell'analogo di tipo gluco dato che era stato isolato con una resa maggiore (SCHEMA 4).

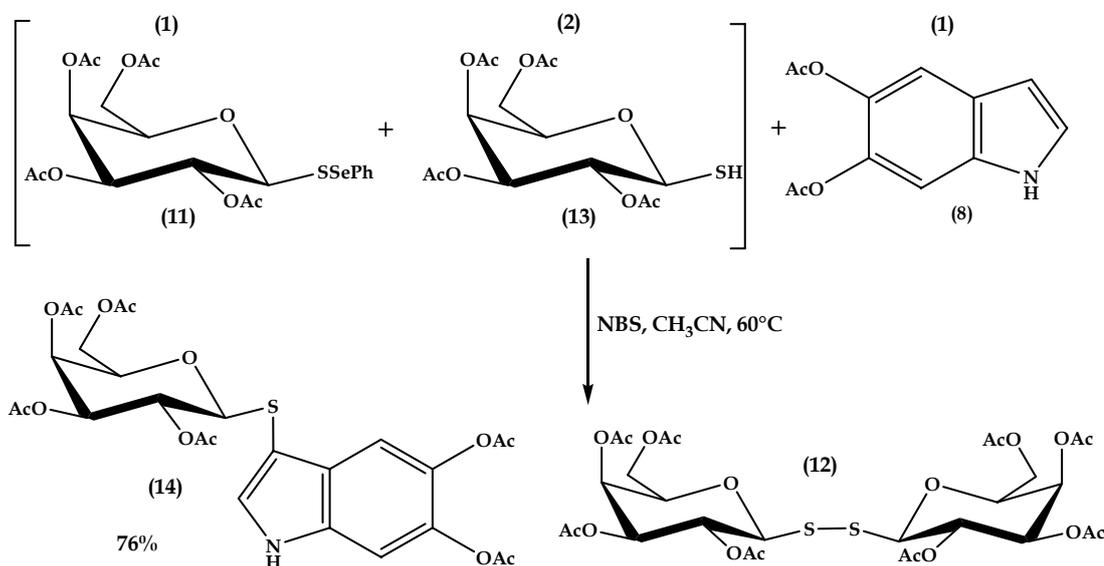


SCHEMA 4: Sintesi del glicoconjugato **17** del DAI a partire da un mannosildonatore.

In questo caso sono state ottenute, in diversi esperimenti, rese di isolamento di **17** variabili fra il 44% e il 55%. A fronte di un evidente miglioramento in termini di

rese del coniugato, vi era comunque una resa di isolamento del mannosil donatore **16**, inferiore all'analogo galatto, e dei tempi di reazione molto più lunghi (1 giorno a fronte di 5 ore per il galatto derivato, a temperatura ambiente).

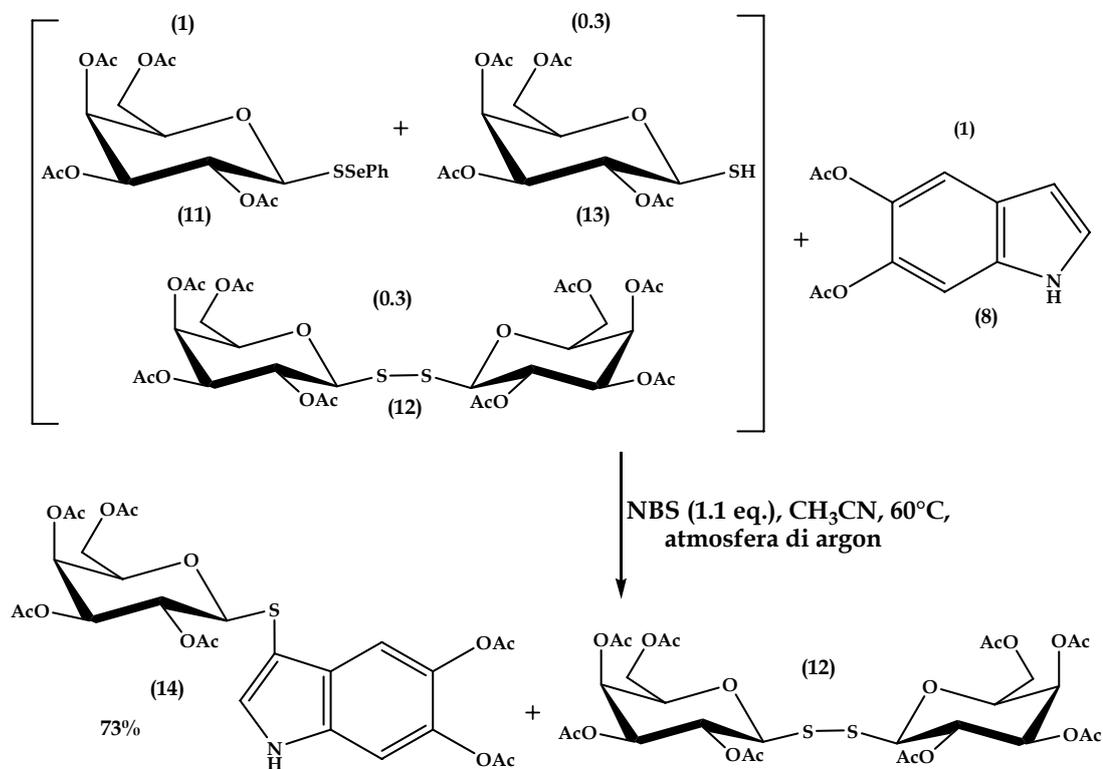
Esclusa l'ipotesi di migliorare la resa totale della reazione cambiando il tipo di zucchero e avendo a disposizione un certa aliquota di glicosil donatore **11** co-eluito con il galattosiltiolo **13**, abbiamo verificato se la competizione del tiolo a formare il disolfuro, che costituisce il prodotto secondario della reazione di coniugazione, potesse portare ad un aumento della porzione di **11** che si accoppia con il DAI piuttosto che con se stesso. Nello SCHEMA 5 è illustrato l'esperimento effettuato:



SCHEMA 5: Sintesi di **14** a partire da una miscela 2:1 di **13** e **11**.

Sono state apportate anche altre due modifiche, la cui utilità era stata dimostrata in esperimenti pilota condotti precedentemente: la reazione non è più condotta a temperatura ambiente ma a 60°C e l'acetonitrile è stato deossigenato sotto flusso di argon prima di essere utilizzato (nel caso in cui la reazione proceda per via radicalica). Il solvente è poi cannulato nel pallone contenente i glicosilderivati, l'NBS e il DAI, anch'essi in atmosfera inerte. Dopo 3 ore e mezzo la reazione è stata lavorata, concentrata e cromatografata. Il glicoconiugato **14** è stato isolato con una gratificante resa del 76%.

Dal momento che la presenza del tiolo nella miscela di reazione ha portato ad un notevole miglioramento, abbiamo eseguito lo stesso esperimento lasciando nella miscela di reazione anche il galattosil disolfuro (SCHEMA 6):



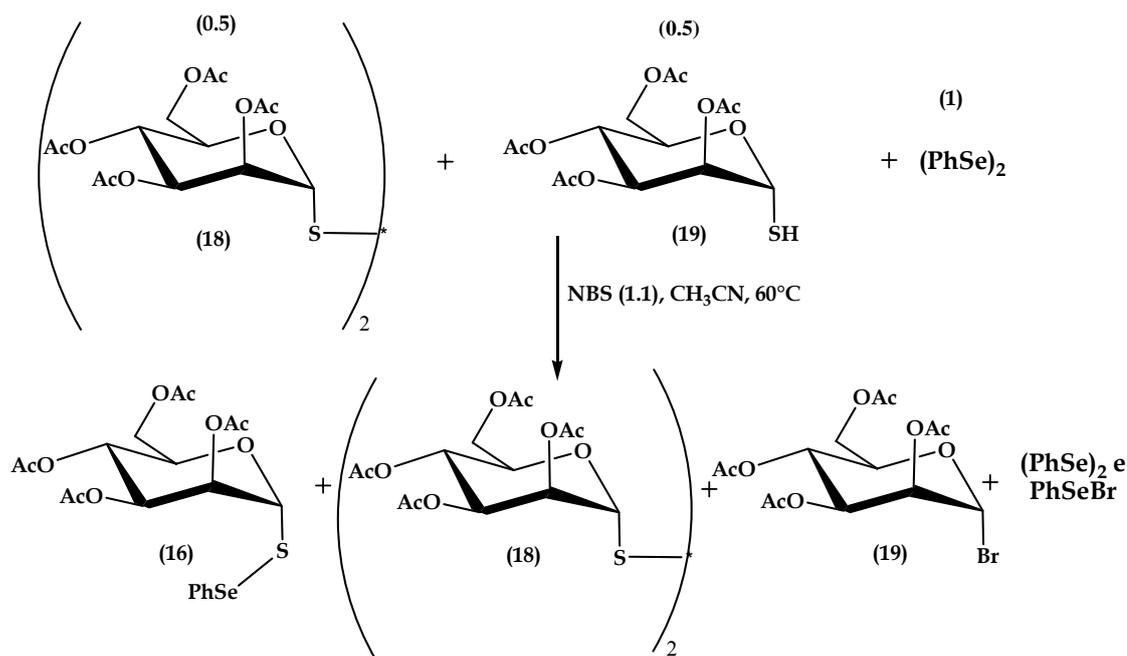
SCHEMA 6: Sintesi del glicocongiugato **14** a partire dalla miscela di reazione relativa dalla sintesi di **11**.

Anche in questo caso la resa di isolamento di **14** è stata molto buona, 73%, per la reazione su una scala di grammi, ed inoltre, l'utilizzo della miscela di reazione, relativa alla sintesi di **11** tal quale, elimina dalla procedura la purificazione cromatografica del glicosil donatore, in quanto basta una veloce filtrazione della miscela per separare il solo difenildiseleniuro.

La resa di isolamento, pressoché uguale a quella ottenuta nell'esperimento illustrato nello SCHEMA 5, ci ha indotto a indagare più approfonditamente sulle ragioni di tale risultato.

Infatti è ben evidente quanto la motivazione invocata per spiegare l'innalzamento della resa della prima reazione (SCHEMA 5), non sia sufficiente a giustificare il risultato ottenuto nell'esperimento illustrato nello SCHEMA 6. Basti vedere che la quantità di glicosil tiolo, componente la miscela di reazione, nel secondo caso è di gran lunga inferiore (0.3 eq. invece che 2 eq.): se l'unica ragione alla base

dell'aumento del prodotto di glicoconiugazione fosse la competizione di **13** con **11** per la formazione di **12**, la resa dell'esperimento illustrato nello SCHEMA 6 sarebbe dovuta essere inferiore a quella ottenuta partendo con una miscela più ricca in tiolo. Abbiamo pertanto ipotizzato una serie di possibili reazioni di metatesi fra il difenildiseleniuro, il glicosildisolfuro, e il tiolo che porterebbero, fra le altre cose, alla rigenerazione del glicosil donatore **11**. Un andamento di questo tipo spiegherebbe perché si forma una maggiore quantità di glicoconiugato **14** partendo da una miscela di **11**, **12**, **13** piuttosto che partendo dal solo **11**. A questo punto abbiamo fatto un esperimento tale da smentire o confermare la nostra ipotesi: 0.5 eq. di mannosil disolfuro **18**, 0.5 eq di mannosil tiolo **19**, 1.1 eq di NBS e 1 eq di PhSeSePh sono stati disciolti in CH₃CN deossigenato e tenuti a 60°C per 3 ore, terminate le quali, la miscela è stata concentrata e purificata su gel di silice (SCHEMA 7).



SCHEMA 7: Reazione di **18** e **19** in presenza di NBS e difenildiseleniuro.

Come raffigurato nello schema, è stata ottenuta una miscela di prodotti, fra cui il mannosil donatore **16**, analogo di **11**. Questo dato conferma la nostra speculazione, relativa alla rigenerazione di un donatore zolfo-fenilselenio a partire da questa miscela, e rappresenta la spiegazione dell'andamento delle reazioni di glicoconiugazione eseguite per ottenere **14**.

Conclusioni

In questo capitolo è stato descritto un originale metodo di glicconiugazione del DAI, derivato acetilato del DHI, importante indolo alla base di processi biochimici di grande rilievo. Per la sintesi del glicosildonatore *-S-Se-Ph* **11** è stato opportunamente modificato il metodo sintetico messo a punto per tio- e selenoglicosidi illustrato nel capitolo III. Anche la promozione di tale glicosildonatore è del tutto originale in quanto sfrutta l'attivazione chemoselettiva dello ione bromonio, derivante dall'NBS, verso il selenio piuttosto che verso lo zolfo. È stata infine studiato il processo di glicosidazione in modo da tale da ottimizzare la quantità di glicconiugato **14** ottenibile minimizzando il processo di purificazione relativo al glicosil donatore. Reattivi quali il difenildiseleniuro e lo stesso DAI **8**, sono recuperabili nel corso della purificazione e riutilizzabili.

Il gliccoconiugato **14** così ottenuto verrà deprotetto e sottoposto alle condizioni di ossidazione messe a punto dal Dott. Pezzella e collaboratori. Verrà verificato se la presenza dello zucchero incide in qualche modo sul meccanismo di accoppiamento del monomero e se di fatto, tale coniugazione rende più semplice l'isolamento dei dimeri e degli oligomeri superiori.

Parte sperimentale

Metodi generali

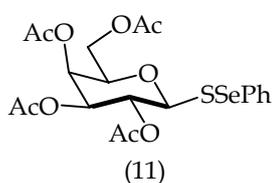
Gli spettri ^1H NMR sono stati registrati su spettrometri Varian Gemini (200 MHz e 300 MHz) e Bruker (400 MHz). I chemical shifts degli spettri ^1H NMR in CDCl_3 sono stati misurati utilizzando TMS come standard interno. L'attribuzione dei segnali ^1H NMR è stata effettuata mediante esperimenti di disaccoppiamento.

Le cromatografie su strato sottile (TLC) sono state realizzate utilizzando lastre di gel di silice F254 (Merck); la presenza di prodotti saccaridici è stata rilevata mediante esposizione ad aerosol di una soluzione 95:5 etanolo/ H_2SO_4 conc e successiva carbonizzazione della lastra eluita. La presenza del glicoconjugato è stata rilevata mediante esposizione a vapori di ammoniaca (33% in soluzione). Le cromatografie su colonna sono state realizzate usando gel di silice 60 (Merck).

Gli spettri MALDI-MS sono stati registrati in modalità positiva: i composti sono stati solubilizzati in acetonitrile per così ottenere una soluzione a concentrazione 0.1 mg/mL ed 1 μL di queste soluzioni è stato sciolto in 1 μL di una soluzione (20 mg/mL) di acido 2,5-didrossibenzoico in $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$.

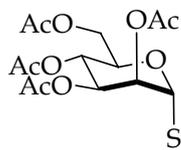
Procedura generale per la preparazione di tioselenofenil glicosidi da precursori peracetilati. Ad una soluzione di zucchero 1-*O*-acetilato (4.480 g, 11.47 mmol) in DCM anidro (25 mL) è aggiunto I_2 (4.08 g, 16 mmol), e Et_3SiH (2.56 mL, 16 mmol) (attenzione: reazione esotermica). Il sistema è mantenuto a riflusso fino a quando dall'analisi via TLC non si vede il completo consumo del prodotto di partenza (sono generalmente sufficienti 5 minuti). La miscela è quindi diluita con DCM e la fase organica è stata lavata con acqua basica (bicarbonato di sodio) contenente sodio tiosolfato anidro (quest'ultimo è aggiunto poco alla volta fino al consumo dello iodio residuo nella fase organica). La fase organica è lavata con acqua, anidrificata con sodio solfato anidro, filtrata e concentrata. Alla miscela ottenuta si aggiunge tiourea (1.31 g, 17.2 mmol) e si sospende la miscela in acetonitrile (30

mL), si riscalda fino a 60°C. Dopo 10-25 minuti è possibile vedere attraverso analisi TLC il totale consumo dello ioduro e la simultanea formazione di un prodotto molto polare. La miscela è portata a temperatura ambiente e si aggiunge sequenzialmente difenildiseleniuro (5.3 g, 17.2 mmol) e TEA (6.4 mL, 45.88 mmol). Dopo 10 minuti la reazione è completa (via TLC) e si concentra la miscela sotto vuoto. Il residuo è finalmente purificato con una cromatografia flash di silice (miscela etere di petrolio/acetato di etile) nelle rese illustrate a pagina 10 e in TABELLA 1.



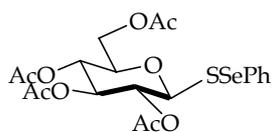
Fenil 2,3,4,6-acetil-1-seleno-β-D-galatto piranoside (11):

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 7.87–7.42 (Ar), 5.61-5.54 (2H, H-2 e H-4), 5.23 (1H, dd, $J_{3,2} = 9.9$ Hz, $J_{3,2} = 3.4$ Hz, H-3), 4.79 (1H, d, $J_{1,2} = 9.9$ Hz, H-1), 4.16 (3H, H-5, H-6), 2.32-2.13 (12H, 4s, COCH₃). ¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ 170.2, 170.1, 169.9, 169.3 (4x -COCH₃), 132.2, 131.7, 128.9, 128.0 (Ar), 87.3 (C-1), 74.6, 71.7, 67.9, 67.0, 61.2, 20.6 (3x COCH₃).



Fenil 2,3,4,6-acetil-1-seleno-α-D-manno piranoside (16):

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 7.80-7.20 (aromatici), 5.43 (1H, dd, $J_{1,2} = 1.8$ Hz, $J_{2,3} = 3.0$ Hz, H-2), 5.40-5.25 (3H, segnali sovrapposti; H-1, H-3 e H-4), 4.11 (1H, dd, $J_{5,6a} = 4.2$ Hz, $J_{6a,6b} = 12.3$ Hz, H-6a), 4.00-3.90 (1H, m, H-5), 3.54 (1H, dd, $J_{5,6b} = 2.1$ Hz, H-6b), 2.14, 2.06, 2.01, e 1.98 (12H, 4xs, 4x -COCH₃). ¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ 170.4 (x2), 169.7, e 169.4 (4x -COCH₃); 132.3, 131.2, 129.2, 128.6 (aromatici), 87.6 (C-1), 70.4, 69.9, 69.0, 65.8, 61.3, 20.5.

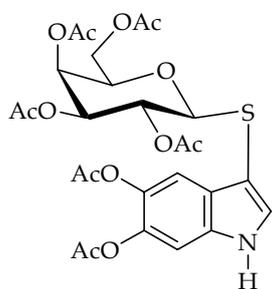


Fenil 2,3,4,6-acetil-1-seleno-β-D-gluco piranoside (15):

¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz) δ 7.80-7.2 (aromatici), 5.30-5.15 (3H, segnali sovrapposti; H-2, H-3, e H-4), 4.61 (1H, d, $J_{1,2} = 9.8$ Hz, H-1), 4.14 (1H, dd, $J_{5,6a} = 4.8$ Hz, $J_{6a,6b} = 12.4$ Hz, H-6a), 4.06 (1H, dd, $J_{5,6b} = 2.4$ Hz, H-6b), 3.80-3.70 (1H, m, H-5), 2.00, 1.99 (x3) (12H, 4xs, 4x -COCH₃).

Procedura generale per la preparazione del glicoconjugato del DAI 14 a partire dal donatore 11. L'acetonitrile (grado di purezza per HPLC, 130 mL) è lasciato a riflusso di argon per 15 minuti. Stesso trattamento per il pallone contenente la miscela glicosil donatore **11**, glicosil disolfuro **12**, glicosil tiolo **13** (1.834 g di **11**, 3.52 mmol; 378 g di **13**, 1.038 mmol; 860 mg di **12**, 1.18 mmol) /DAI (822 mg, 3.52 mmol)/NBS (670 mg, 3.76 mmol). Passati i 15 minuti cannulo l'acetonitrile da un pallone all'altro e sostituisco con un tappo di vetro il tappo di gomma utilizzato fino a questo momento. Immergo la miscela in un bagno ad olio a 60°C e lascio per 3h30'.

La miscela è lasciata raffreddare a temperatura ambiente ed estratta con acqua. Le fasi organiche riunite con anidificate con sodio solfato anidro e concentrate. La miscela è purificata su colonna di gel di silice in modalità flash con una miscela eluente Etere di Petrolio: Acetato di Etile da 3:2 a 1:1. E' stato ottenuto il glicosilconjugato **14** in forma pura con una resa del 75% (1.570 g, 2,64 mmol).

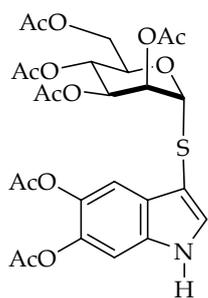


14: $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ 8.49 (1H, bs, NH-1'), 7.55 (1H, s, H-4'), 7.34 (1H, d, $J = 2.7$ Hz, H-2'), 7.19 (1H, s, H-7'), 5.29 (1H, d, $J_{3,4} = 3.3$ Hz, H-4), 5.11 (1H, d, $J_{1,2} = J_{2,3} = 9.9$ Hz, H-2), 4.98 (1H, dd, H-3), 4.47 (1H, d, H-1), 4.13 (1H, dd, $J_{5,6a} = 6.6$ Hz, $J_{6a,6b} = 11.4$ Hz, H-6a), 3.97 (1H, dd, $J_{5,6b} = 6.6$ Hz, H-6b), 3.82 (1H, bt, H-5), 2.32, 2.31, 2.15, 2.02, 1.94, 1.86 (18H, 6xs, 6x $-\text{COCH}_3$).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 75 MHz) δ 170.4 (x2), 170.1 (x2), 169.5, 169.3, e 169.2 (6 x $-\text{COCH}_3$); 138.7, 137.1, 133.2, 133.1, 128.0, 114.2, 105.8, 101.3 (aromatici); 86.1 (C-1), 74.3, 72.2, 67.1 (x2), 61.1; 21.1, 20.73, 20.67, 20.6 (x2), 20.3 (6 x $-\text{COCH}_3$).

Procedura generale per la preparazione del glicoconjugato del DAI 17 a partire dal donatore 16. L'acetonitrile (grado di purezza per HPLC, 130 mL) è lasciato a riflusso di argon per 15 minuti. Stesso trattamento per il pallone contenente la miscela glicosil donatore **16**, (40 mg, 0.077 mmol), DAI **10** (18 mg, 0.077 mmol) ed NBS (15 mg, 0.085 mmol). Passati i 15 minuti si cannula l'acetonitrile da un pallone all'altro, e si sostituisce il tappo di gomma con un tappo di vetro. Si immerge il

pallone in un bagno ad olio a 60°C e dopo 4 ore la miscela è stata estratta in H₂O/CH₂Cl₂, le fasi organiche riunite, anidrificate con sodio solfato anidro e concentrate. La miscela è purificata su colonna di gel di silice in modalità flash con una miscela eluente Etere di Petrolio: Acetato di Etile da 3:2 a 1:1. E' stato ottenuto il glicosilconiugato **17** in forma pura con una resa del 55% (25 mg, 0.042 mmol).



17: ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 8.65 (1H, bs, NH-1'), 7.38 (1H, s, H-4'), 7.21 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-2'), 7.11 (1H, s, H-7'), 5.51 (1H, dd, J_{1,2} = 1.5 Hz, J_{2,3} = 3.3 Hz, H-2), 5.43 (1H, dd, J_{3,4} = 9.9 Hz, H-3), 5.30 (1H, t, J_{4,5} = 9.9 Hz, H-4), 5.09 (1H, d, H-1), 4.60-4.50 (1H, m, H-5), 4.28 (1H, dd, J_{5,6a} = 5.7 Hz, J_{6a,6b} = 12.3 Hz, H-6a), 4.08 (1H, dd, J_{5,6b} = 2.7 Hz, H-6b), 2.32, 2.31, 2.09, 2.08, 2.05, 2.01 (18H, 6xs, 6x -COCH₃). ¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ 170.6, 169.9, 169.8, 169.7, 169.3 (x2) (6 x -COCH₃); 138.7, 137.1, 133.2, 132.2, 126.7, 112.5, 106.5, 102.0 (aromatici); 85.8 (C-1), 70.6, 69.7, 69.3, 66.5, 62.6; 20.8, 20.72, 20.69, 20.64, 20.62, 20.58 (6 x -COCH₃).

Capitolo V

Sintesi di nuovi glicoconiugati con potenziale azione antibiotica: Glicosil 4-alkiliden- β -Lattami¹⁶²

Introduzione

Gli Antibiotici sono composti sintetici o naturali che inibiscono la crescita dei batteri. Le fonti naturali degli antibiotici sono micro-organismi e funghi. Tra questi quelli più noti sono Penicillium e Cephalosporium che producono come metaboliti secondari le penicilline e le cefalosporine, antibatterici contenenti unità β -lattamiche. Dall'introduzione delle penicilline, avvenuta negli anni '40 e gli anni '50 il numero degli agenti antibiotici è aumentato moltissimo e, data la saturazione del mercato, molte compagnie farmaceutiche hanno preferito focalizzarsi maggiormente su malattie croniche.¹⁶³ Sta di fatto che 60 anni di uso ed abuso di antibiotici ha permesso la nascita di ceppi batterici resistenti non solo

¹⁶² M. Adinolfi, D. Giacomini, A. Iadonisi, A. Quintavalla, S. Valerio.

Synthesis of the mannopeptimycin disaccharide and its conjugation with 4-alkylidene-beta-lactams. *European Journal of Organic Chemistry* (2008), 2895-2899.

¹⁶³ Shales, D.M. *Curr. Opinion in Pharmacology* 2003, 3, 470

all'esposizione di un singolo antibiotico ma anche a quella di molti di essi per cui c'è una nuova emergenza da affrontare.¹⁶⁴ I principali fattori che hanno contribuito allo sviluppo e alla diffusione di tali ceppi sono: l'aumento del numero di pazienti immuno-compromessi, l'aumento di procedure mediche invasive e l'uso di inappropriato di antibatterici in medicina ed agricoltura.

I differenti antibiotici hanno come obiettivo alcuni processi vitali l'alterazione dei quali porta alla morte dei micro-organismi. Generalmente possono avvenire cinque tipi di inibizione di processi cellulari:

- ❖ Sintesi proteica
- ❖ Sintesi della parete cellulare dei batteri
- ❖ Sintesi del DNA
- ❖ Sintesi dell' RNA
- ❖ Metabolismo dell'acido folico

L'adattamento dei batteri a questo tipo di azioni è stato talmente efficiente che alcune infezioni non possono essere curate attraverso gli antibiotici. Inutile sottolineare che questa problematica si è trovata nuovamente al centro dell'interesse delle compagnie farmaceutiche tant'è che la World Health Organisation (WHO) incoraggia la comunità dei ricercatori per approdare ad una migliore conoscenza del meccanismo della resistenza batterica nonché allo sviluppo di nuovi farmaci efficienti.¹⁶⁵

La resistenza batterica è mediata da uno o più di questi processi:¹⁶⁶

- ❖ Impedisce al farmaco di raggiungere il suo target anche sequestrandolo con proteine di legame.
- ❖ Disattiva l'antibiotico attraverso una modificazione enzimatica.
- ❖ Modifica il target dell'antibiotico, modificando e/o eliminando il sito di legame con l'antibiotico.
- ❖ Bypass metabolico della reazione inibita
- ❖ Sovraesprime il target dell'antibiotico.

¹⁶⁴ Gold, H.S.; Moellering, R. C. N. *Engl. J. Med.* **1996**, 335, 1445.

¹⁶⁵ World Organization Report of Infection Diseases 2000 Overcoming Antimicrobial Resistance, www.who.it/infectious-disease-report/2000/index/html.

¹⁶⁶ Davies, J. *Science* **1994**, 262, 375.

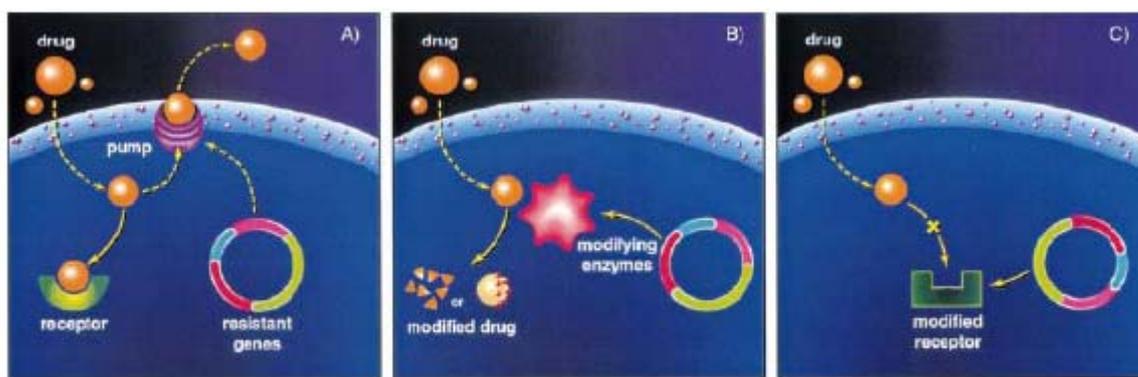


FIGURA 1: Meccanismo di resistenza batterica ai farmaci: A) Riflusso Attivo; B) Modifica enzimatica del farmaco; C) Modifica del target del recettore o dell'enzima

Già da diversi anni il nostro gruppo è parte di un team multidisciplinare la cui esperienza è volta allo sviluppo di nuovi glicoconjugati con attività antibiotica verso ceppi batterici resistenti. Tale progetto consiste nel design, sintesi e verifica dell'attività (con test biologici su campioni isolati sia da batteri Gram-positivi che Gram-negativi tra cui anche i ceppi resistenti) di glicoconjugati di β -lattami.

Il meccanismo di azione di un antibiotico β -lattamico come le penicilline e le cefalosporine ha come target la biosintesi del peptidoglicano. Nella parete cellulare di batteri Gram-positivi ed in quelli gram-negativi il peptidoglicano è responsabile della forza e della rigidità di questa, cosa che permette a tali organismi di vivere in un ambiente ipotonico e di assumere la caratteristica forma. L' Antibiotico rende i batteri incapaci di sopravvivere con la pressione osmotica interna causando la rottura della cellula.

Il peptidoglicano è un polimero composto da catene polisaccaridiche di due zuccheri, N-acetilglucosamina (NAG) ed N-acetil acido muraminico (NAM) B(1→4) legati, che a loro volta sono legati con ponti penta-peptidici di pentaglicina.

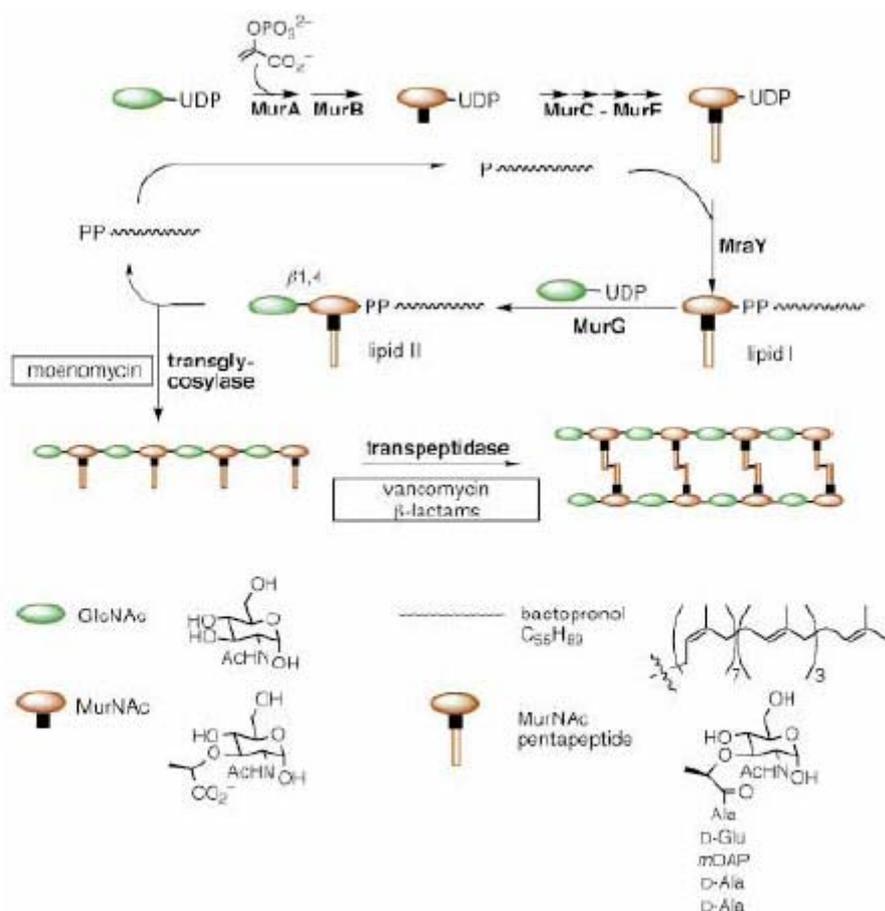


FIGURA 2: Biosintesi del peptidoglicano (UDP= uridina difosfato, Mur= Acido muraminico, P= Sostituente fosfato, MraY= translocasi)

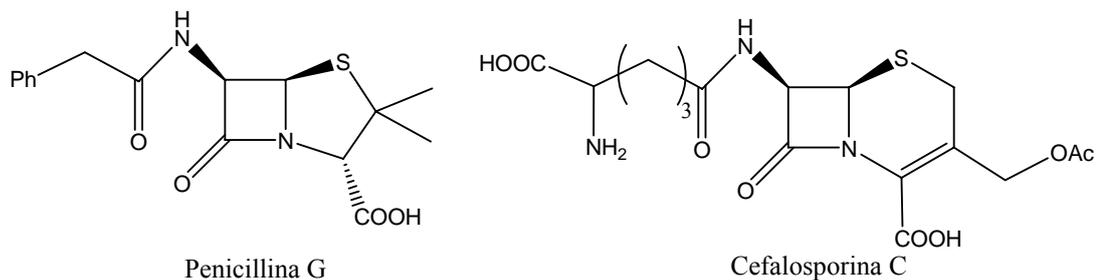
La biosintesi¹⁶⁷ del peptidoglicano inizia con la trasformazione di un'unità di UDP-N-acetilglucosammina (UDP-GlcNAc) in UDP-N-acetil acido muramico (UDP-MurNAc) via trasferimento del fosfoenolpiruvato (PEP) seguito dalla riduzione dell'acido insaturo risultante.

A questo punto sono legati sequenzialmente tre amminoacidi al residuo di acido lattico dell'UDP-MurNAc in reazioni ATP-dipendenti, e poi, all'estremità peptidica, un dipeptide preformato, generalmente D-Ala-D-Ala. La presenza di D-amminoacidi, molto inusuali, conferisce al peptidoglicano una maggiore stabilità nei confronti della proteolisi. Nello step successivo, il penta peptide fosfato MurNAc è trasferito dal suo derivato con l'UDP all'undecaprenil fosfato, una molecola trasportatrice della membrana citoplasmatica. Una volta che una seconda molecola di GlcNAc è accoppiata con la posizione 4 dell'acido muraminico il peptide GlcNAc- MurNAc è trasportato dalla membrana

¹⁶⁷ Van Heijenoort, J. *New. Compr. Biochem.* **1994**, 27, 39.

citoplasmatica alla superficie della cellula attraverso un meccanismo non noto. A questo punto le unità disaccaridiche sono polimerizzate per azione di transglicosiltrasferasi. Infine le transpeptidasi catalizzano l'attacco delle catene laterali terminali di acido meso-diamminopimelico (per i batteri Gram-negativi) o il linker terminale oligo-Gly (per i batteri Gram-positivi) al legame peptidico fra i due residui D-Ala di due catene peptidiche adiacenti, portando ad un legame incrociato con concomitante perdita di un'unità D-Ala. Ciascuno degli enzimi citati rappresenta un target per lo sviluppo di antibiotici.

Per quanto riguarda le penicilline e le cefalosporine, il loro target è l'enzima trans peptidasi che catalizza lo step di cross-linking.¹⁶⁸ L'attività farmacologica di queste molecole è dovuta essenzialmente alla presenza di anelli lattamici a quattro termini (azetidione) che emula l'estremità D-Ala-D-Ala delle catene peptidiche che devono essere incrociate.



Nel corso dello step di cross-linking una serina-carbossipeptidasi, chiamata Penicillin Binding Protein PBP (proteina che lega la penicillina), idrolizza il legame peptidico fra i due residui D-Ala generando un legame estereo temporaneo fra le due catene peptidiche che devono essere legate. Dopo l'uscita del residuo D-Ala dal sito attivo dell'enzima, l'ammino gruppo della catena peptidica vicina (m-DAP o oligo-Gly) interagisce con l'addotto PBP-D-Ala completando la reticolazione. Gli antibiotici β -lattamici agiscono con le proteine PBP data la loro somiglianza con la struttura D-Ala-D-Ala.(Figura) inibendo la capacità di tale proteina attraverso l'acilazione dell'enzima legando irreversibilmente il sito catalitico.¹⁶⁹

¹⁶⁸ Beadle, B.M.; Nicholas, R. A.; Shoichet, B.K. *Science* **2001**, 10, 1254.

¹⁶⁹ Blumberg, P. M.; Strominger, J.L. *Bacteriological Rev.* **1974**, 38, 291.

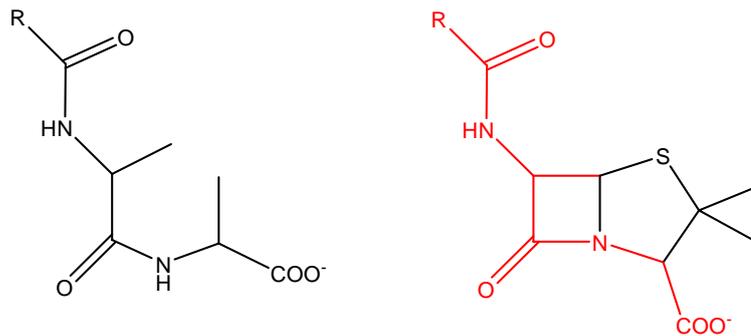


FIGURA 3: Somiglianza strutturale tra D-Alanina-D-Alanina e Penicillina.

A questo punto l'addotto PBP-Penicillina è inaccessibile sia alle catene oligo-Gly per un legame reticolato che all'acqua per la reazione d'idrolisi.

L'effetto risultante di tutto ciò è che la reticolazione è inibita, la parete cellulare è molto indebolita per cui il batterio muore per rottura di tale parete.

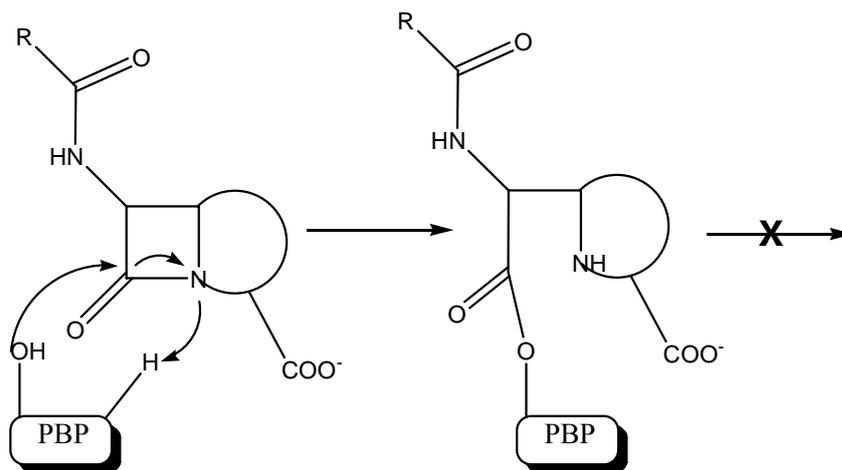


FIGURA 4: Acilazione della PBP

Tale meccanismo molto specifico è alla base della notevole efficienza degli antibiotici β -lattamici e quindi del loro diffusissimo uso. I meccanismi sviluppati dai ceppi batterici resistenti a tali antibiotici sono altrettanto specifici:

- ❖ Produzione di enzimi (Zinco o Serina β -lattamasi) che disattivano il farmaco.
- ❖ Sintesi di proteine PBP modificate che hanno bassa affinità per il farmaco.
- ❖ Alterazione della permeabilità al farmaco o espulsione selettiva di questo con delle pompe di flusso.

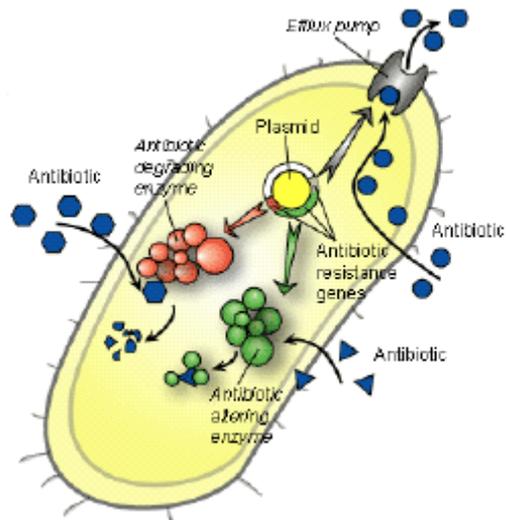


FIGURA 5: Principali meccanismi di resistenza dei batteri ai β -lattami

Il più importante fra questi è la produzione di β -lattamasi che idrolizzano l'anello β -lattamico facendo perdere l'attività al farmaco. Tali enzimi sono stati ritrovati sia nei Gram-positivi che nei Gram-negativi. (FIGURA 6)

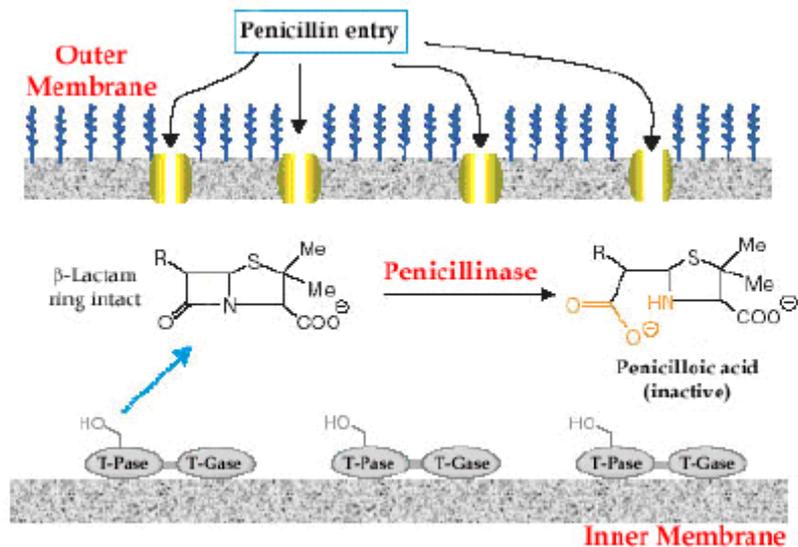


FIGURA 6: Azione della β -lattamasi.

Relativamente a questo tipo di meccanismo di resistenza è di particolare interesse la sintesi di PBP modificate: un recente studio su *Staphylococcus aureus* ha

dimostrato che in presenza di classici antibiotici β -lattamici la sintesi della parete cellulare non è in alcun modo inibita data la codifica, da parte di questi ceppi di una nuova proteina modificata (PBP2A) che ha una bassa affinità per questi farmaci.¹⁷⁰

Tale ricerca, sviluppata a livello molecolare, ha dimostrato che PBP2A si lega con PBP, il cui sito è bloccato dal β -lattame e ristabilisce il dominio trans peptidico, bypassando così l'effetto dell'antibiotico. Più recentemente è stato studiato l'effetto inibitore sul tali ceppi di un antibiotico β -lattamico (nietrocefina) in concomitanza a frammenti di peptidoglicani e si è registrata una maggiore affinità di PBP2A suggerendo così una possibile strada per inibire queste proteine modificate.¹⁷¹ Similmente, le corte strutture saccaridiche, interagendo con il dominio delle transglicosilasi di PBP/PBP2A promuovono similmente cambi conformazionali nella proteina permettendo al β -lattame di accedere al sito di inibizione.(FIGURA 7)

¹⁷⁰ Pinho, M.G.; de Lencastre, H.; Tomasz, A. *Proc. Natl: Acad. Sci. USA* **2001**, *98*, 10886.

¹⁷¹ Fuda, C. et al. *J.Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 2056.

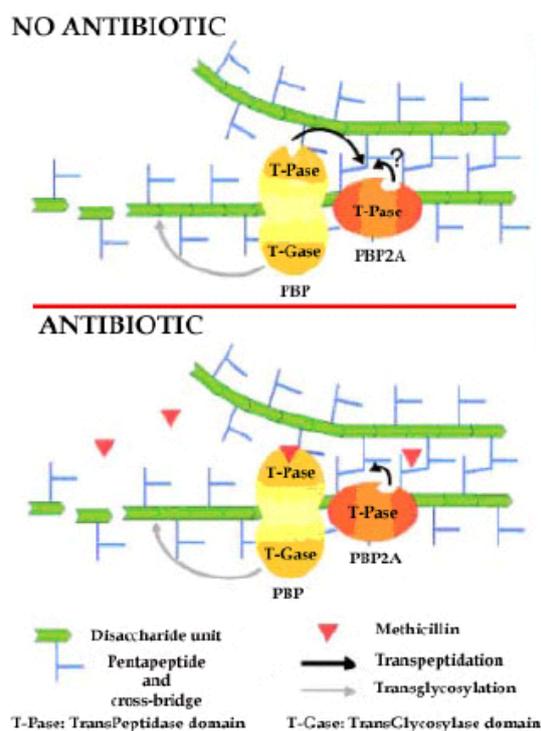


Figura 7: Meccanismo di azione di PBP2A

Questi risultati, in combinazione con il fatto che fra gli antibiotici quelli a base β -lattamica sono quelli a maggiore efficienza e minore tossicità, ci hanno fatto ipotizzare un'effettiva utilità della sintesi di nuovi glicoconjugati con β -lattami. Molti articoli riportano la sintesi di glicoconjugati di β -lattami con gli zuccheri; in molti casi la parte saccaridica gioca un ruolo di legante chirale per la sintesi stereocontrollata di anelli β -lattamici e solo in pochi è stata presa in considerazione l'eventuale ruolo biologico di tali frammenti,¹⁷² anche se in effetti vi sono diversi vantaggi in linea teorica: la maggiore somiglianza del farmaco con il substrato naturale della PBP, il probabile aumento delle proprietà farmacocinetiche (come provato in altri studi¹⁷³), ed infine il possibile coinvolgimento del frammento saccaridico stesso nell'inibizione del processo.

¹⁷² a) *Carbohydrates in Chemistry and Biology*, Part II Vol.2, Ernst B., Hart G. W., Sinaý P., Eds, Wiley-VCH: Weinheim, **2000**; b) *The Organic Chemistry of Sugars*, Levy D. E., Fügedi, P., Eds., Taylor & Francis: Boca Raton, **2006**.

¹⁷³ Toth, I.R.; Hughes, G.; Dekany, R. S.; Hillery, A. M.; Ward. P. *Liebigs Ann. Chem.* **1994**, 685.

Sono stati sviluppati vari antibiotici a base di carboidrati che esibiscono vari meccanismi di azione come la teicoplanina, la ramoplanina, la moemomicina, la mannopeptinomicina e la vancomicina.¹⁷⁴ Per quanto riguarda la vancomicina è stato addirittura dimostrato che il frammento disaccaridico e quello ciclo peptidico esercitano separatamente un effetto antibiotico interferendo in diversi processi relativi alla sintesi del peptidoglicano.¹⁷⁵

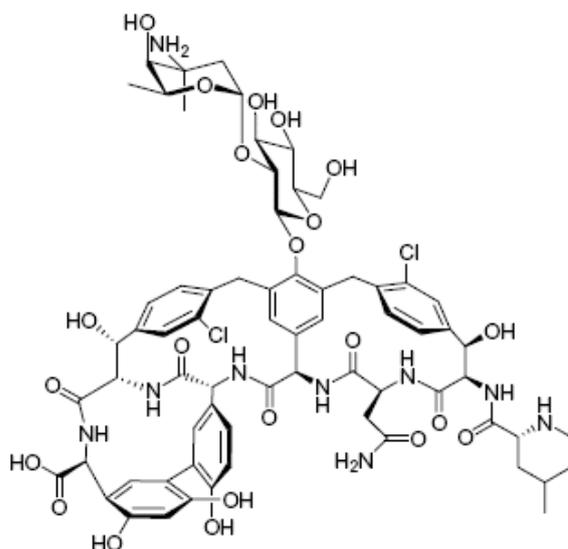


FIGURA 8: Struttura della vancomicina.

La mannopeptimicine costituiscono invece una classe di antibiotici prodotti da *Streptomyces hygroscopicus* risultata attiva per batteri meticillina e vancomicina resistenti.¹⁷⁶

Il membro più attivo di questa famiglia è la mannopeptimicina ϵ (FIGURA 9) la cui struttura contiene un esapeptide ciclico con un residuo mammanico N-legato e un frammento disaccaridico legato all'ossigeno fenolico di una tirosina. Tale disaccaride mannanico 4-0- α -legato, e recante un residuo di isovalerile sulla posizione 4 dell'altra estremità, è risultato fondamentale per la bioattività del

¹⁷⁴ T. K. Ritter, C.-H. Wong, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 3508-3533.

¹⁷⁵ M. Ge, Z. Chen, H. R. Onishi, J. Kohler, L. L. Silver, R. Kerns, S. Fukuzawa, C. Thompson, D. Kahne, *Science* **1999**, *284*, 507-511.

¹⁷⁶ H. He, R. T. Williamson, B. Shen, E. I. Graziani, H. Y. Yang, S. M. Sakya, P. J. Petersen, G. T. Carter, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 9729-9736

farmaco così come l'isovalerile stesso e la sua collocazione (altri regioisomeri sono risultati meno attivi).

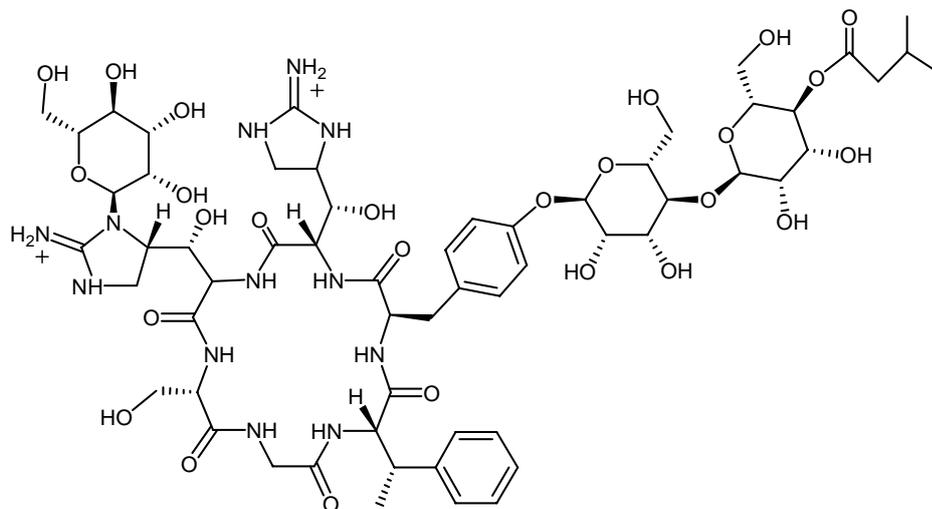


FIGURA 9: Struttura della mannopeptimicina ε.

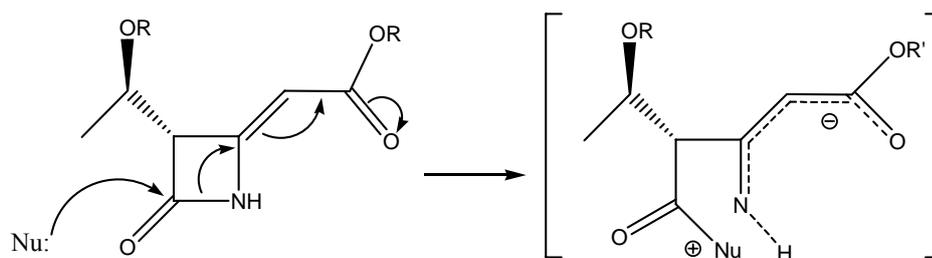
Abbiamo pensato che tale disaccaride potesse essere un ottimo residuo saccaridico da legare ad un residuo di tipo β-lattamico dello stesso tipo, o simile a quello coniugato in lavori precedenti, vale a dire un 4-alciliden-β-lattame.¹⁷⁷

Come anticipato tale progetto coinvolge vari gruppi e la sintesi nonché la scelta delle frazioni β-lattamiche è stata assegnata al gruppo del prof. Cainelli dell'Università di Bologna. I 4-alciliden-β-lattami sono stati scelti come target sintetici dati gli incoraggianti risultati preliminari ottenuti con alcuni di essi nell'inibizione delle serina proteasi come la leucociti elastasi e la gelatinasi.¹⁷⁸

La promettente reattività di tali molecole è strettamente correlata alla coniugazione del doppio legame esociclico con il gruppo carbonilico del lattame il cui carattere elettrofilo risulta aumentato. (SCHEMA 1)

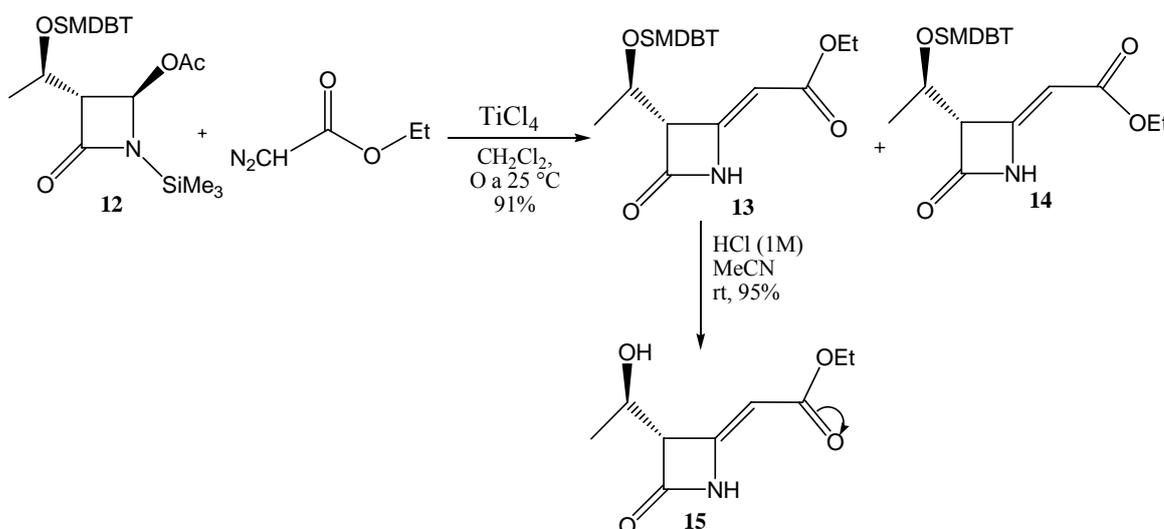
¹⁷⁷ M. Adinolfi, D. Giacomini, A. Iadonisi, P. Galletti, A. Quintavalla, A. Ravidà, *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, 69-73.

¹⁷⁸ G. Cainelli, P. Galletti, S. Garbisa, D. Giacomini, L. Sartor, A. Quintavalla, *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, *11*, 5391.



SCHEMA 1: Effettiva delocalizzazione di carica dopo l'attacco di un nucleofilo sul 4-alchiliden- β -lattame.

Lo stadio chiave della sintesi di tali strutture è la reazione, mediata da acidi di Lewis, di 4-acetossi-azetidioni con α -diazocarbonili.¹⁷⁹ 4-Alchiliden-azetidione **15** è stato ottenuto in rese eccellenti per reazione di un derivato di tipo N-trimetilsilico di un prodotto disponibile in commercio (3R,4R)-4-acetossi-3-[(1R)-1-(terz-butildimetilsilossi)-etil]-azetidione **12** e l'etildiazoacetato in presenza di TiCl_4 . (SCHEMA 2)



SCHEMA 2: Sintesi del 4-Alchiliden- β -lattame

Per quanto riguarda invece la sintesi del disaccaride mannanico in letteratura è stata riportata¹⁸⁰ una sola sintesi di tale target, molto recentemente, in un approccio de novo a partire da un piranone¹⁸¹ specificamente preparato ed una

¹⁷⁹ a) G. Cainelli, P. Galletti, M. Gazzano, D. Giacomini, A. Quintavalla, *Tetrahedron Lett.* **2002**, 43, 233-235; b) G. Cainelli, D. Giacomini, P. Galletti, A. Quintavalla, *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 1765-1774.

¹⁸⁰ R. S. Babu, S. R. Guppi, G. A. O'Doherty, *Org. Lett.* **2006**, 8, 1605-1608.

¹⁸¹ M. Li, J. Scott, G. A. O'Doherty, *Tetrahedron Lett.* **2004**, 45, 1005-1009.

costruzione en route di alcuni centri stereogenici. D'altro canto vari intermedi di questa sintesi sono stati utilizzati per analoghi strutturali.¹⁸

Sintesi del Disaccaride della Mannopeptimicina ϵ

La strategia sintetica da noi perseguita consiste in un pratico approccio basato su un solo precursore mannanico per entrambi i componenti costituenti il target. Entrambi i residui sono funzionalizzati sulla posizione 4 e di fatto il composto **2** (FIGURA 10) può costituire sia il glicosil accettore della nostra sintesi avendo l'ossidrile in 4 deprotetto che un facile precursore del glicosildonatore **3**.

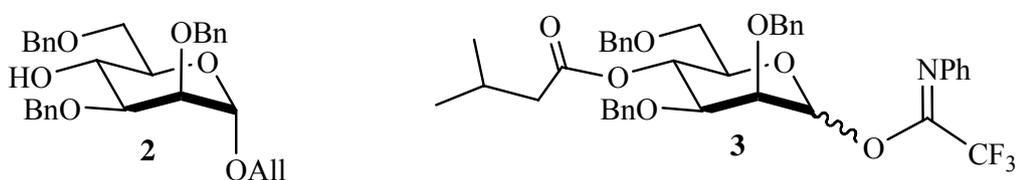
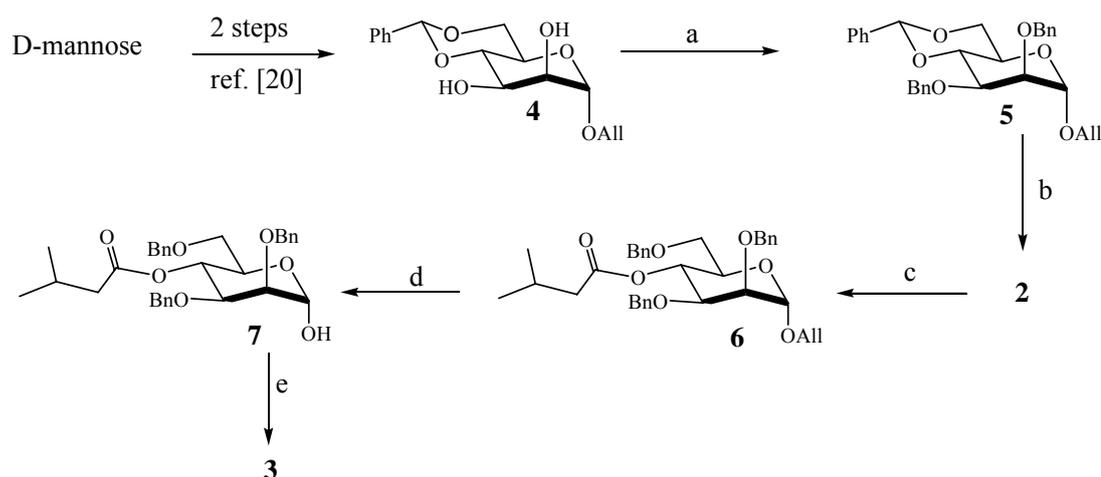


FIGURA 10: Precursori del disaccaride della mannopeptimicina ϵ .

Il gruppo allilico sulla posizione anomerica di **2** è selettivamente rimovibile e permette l'introduzione del gruppo uscente (*N*-fenil)trifluoroacetimidato del composto **3**. L'accettore **2** è stato preparato a partire dal D-mannosio con un'iniziale sequenza molto nota (allilazione anomerica di Fisher e installazione selettiva di un benzilidene a sei termini) (SCHEMA 3).¹⁸²

¹⁸² M. C. Hsu, J. Lee, Y. Kishi, *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 1931-1940.



SCHEMA 3: Sintesi dell'acceptore **2** e del donatore **3**.

Il prodotto **4** è stato perbenzilato (**a**: DMF, NaH, BnBr, da 0°C fino a temperatura ambiente, 88% di resa) e poi sottoposto ad apertura riduttiva dell'anello benzilidenico (**b**: DCE, Et₃SiH, BF₃·OEt₂,¹⁸³ da 0° a temperatura ambiente, 59% di resa). Quest'ultimo step non è stato banale in termini di rapporto resa/regioselettività in quanto molte metodologie note, come Et₃SiH/acido trifluoroacetico,¹⁸⁴ Et₃SiH/triflato di rame(II),¹⁸⁵ BH₃·Et₃N/BF₃·OEt₂,¹⁸⁶ non hanno dato buoni risultati.

Una volta ottenuto **2**, una sua aliquota è stata convertita in **3**. Il gruppo isovalerile è stato legato all'ossidrile in **4** per fornire il composto **6** in alta resa (**c**: piridina, cloruro di isovalerile, 0°C, 91% di resa). A questo punto il prodotto ottenuto è stato sottoposto a deallilazione con cloruro di palladio (**d**: MeOH, PdCl₂ (cat.)) e, dopo una semplice filtrazione, è stato sottoposto a trifluoroacetimidazione per dare il glicosil donatore **3** (**e**: DCM, CF₃(=NPh), NaH, da -10°C a temperatura ambiente, 83% di resa sui due passaggi sintetici **d** ed **e**).

Per il successivo stadio è stato seguito il protocollo già riportato per l'attivazione di trioloacetimmidati con Bi(OTf)₃.¹⁸⁷(SCHEMA 4)

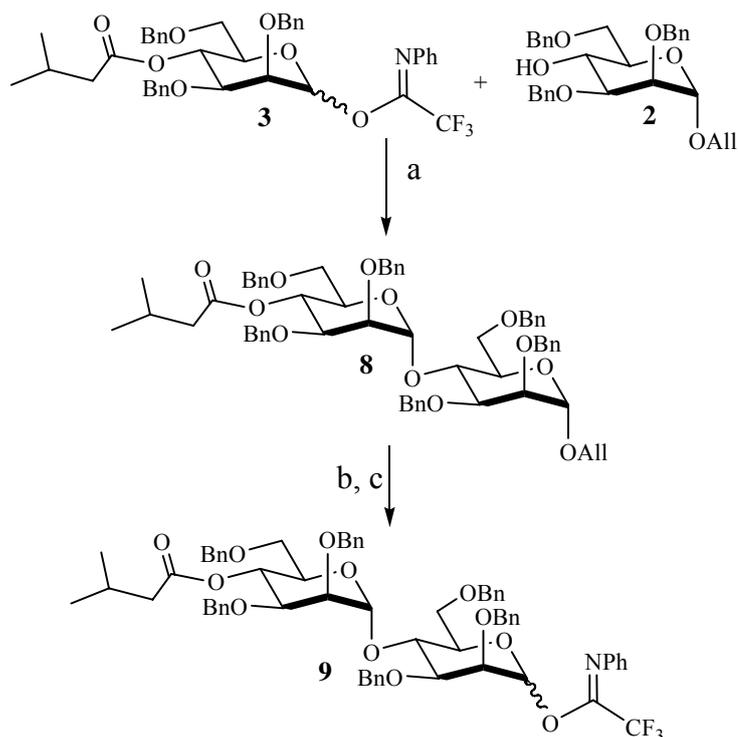
¹⁸³ S. D. Debenham, E. J. Toone *Tetrahedron:Asymmetry* **2000**, 11, 385-387.

¹⁸⁴ M. P. DeNinno, J. B. Etienne, K. C. Duplantier, *Tetrahedron Lett.* **1995**, 36, 669-672.

¹⁸⁵ C.-S. Shie, Z.-H. Tzeng, S. S. Kulkarni, B.-J. Uang, C.-Y. Hsu, S.-C. Hung, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, 44, 1665-1668.

¹⁸⁶ M. Oikawa, W.-C. Liu, Y. Nakai, S. Koshida, K. Fukase, S. Kusumoto, *Synlett* **1996**, 1179-1180.

¹⁸⁷ M. Adinolfi, A. Iadonisi, A. Ravidà, S. Valerio, *Tetrahedron Lett.* **2006**, 47, 2595-2599.



SCHEMA 4: Sintesi del donatore disaccaridico della mannopeptimicina ϵ .

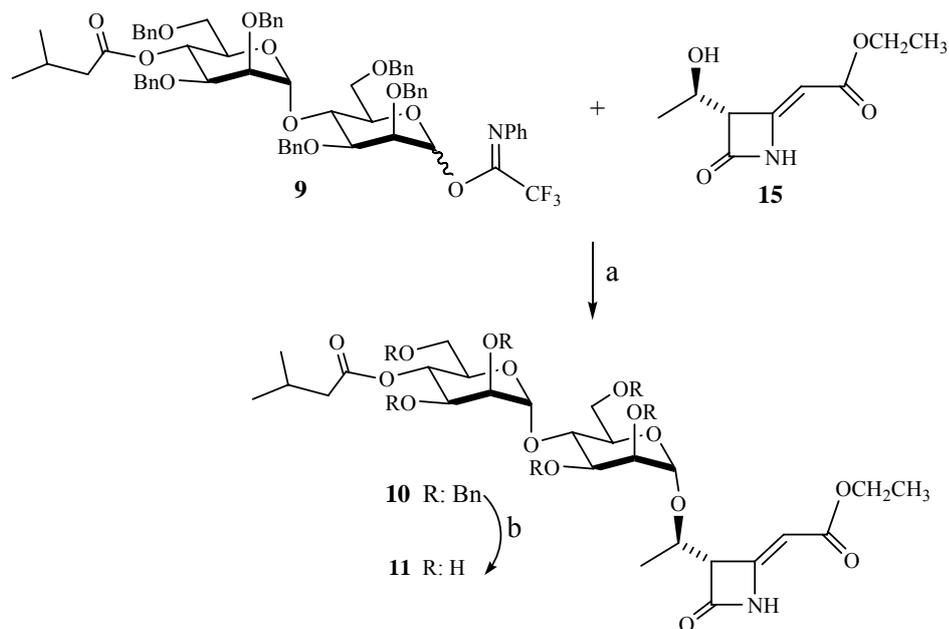
Come previsto la reazione ha fornito il disaccaride **8** in alte rese benché il sito nucleofilo dell'acceptore fosse stericamente molto ingombro (**a**: PhMe/1,2-DME (2:1), Bi(OTf)₃ (cat) in diossano, da -60° a 0°C, 73%). Anche per quanto riguarda la stereoselettività è stato confermato l'effetto α -dirigente del dimetossietano¹⁸⁸ che ha portato alla formazione di un solo anomero, pur in assenza di un gruppo partecipante sulla posizione 2, la cui installazione avrebbe allungato la procedura sintetica e reso difficile la rimozione selettiva in presenza del gruppo isovalerile, sensibile alla rimozione nelle stesse condizioni di reazione.

Per ottenere il glicosil donatore disaccaridico **9** è stato seguito lo stesso protocollo utilizzato per ottenere il monosaccaride **3** dal precursore **6** (**b**: MeOH, PdCl₂ (cat.); **c**: DCM, CF₃(=NPh), NaH, da -10°C a temperatura ambiente, 75% di resa sui due step sintetici **b** ed **c**) e come per questo è stata sufficiente una sola purificazione cromatografica.

¹⁸⁸ M. Adinolfi, A. Iadonisi, A. Ravidà, M. Schiattarella, *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 4485-4488.

Sintesi del Glicocongiugato del disaccaride della Mannopeptimicina ϵ e il 4-alchiliden- β -lattame.

Una volta ottenuto il glicosil donatore **9**, ne è stata testata la reattività nell'accoppiamento con il β -lattame **15**. Si è ottenuto così il prodotto desiderato ad una temperatura molto bassa e in tempi brevi.



SCHEMA 5: Sintesi del glicocongiugato **11**

Ancora una volta l'attivazione con $\text{Bi}(\text{OTf})_3$ ha garantito una glicosidazione veloce ed efficiente con esclusiva α -selettività e mantenendo basse le temperature (**a**: PhMe/1,2-DME (2:1), $\text{Bi}(\text{OTf})_3$ (cat) in diossano, da -70°C a -50°C in meno di un'ora, resa dal 76-79%).

E' d'uopo evidenziare che le glicosidazioni effettuate fra donatori perbenzilati ed un 4-alchiliden- β -lattame promosse da $\text{Yb}(\text{OTf})_3$ necessitavano di tempi di reazione piuttosto prolungati.¹⁸⁹ Entrambi i promotori non degradano l'anello β -lattamico (si recupera inalterata l'aliquota che non reagisce con il glicosil donatore).

¹⁸⁹ M. Adinolfi, D. Giacomini, A. Iadonisi, P. Galletti, A. Quintavalla, A. Ravidà, *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, 69-73.

Il composto **10** è stato infine debenzilato con idrogenolisi in ultrasuoni¹⁹⁰ per dare il composto **11** (**b**: MeOH/HCOOH (9:1), C/Pd, ultrasuoni). Per la riuscita di questa deprotezione è stata determinante la quantità di carbone palladiato utilizzata: con una quantità di catalizzatore maggiore di 5mg per milligrammo di substrato la deprotezione risultava concomitante alla riduzione del doppio legame esociclico del β -lattame e alla migrazione dell'isovalerile sull'ossigeno del carbinolo primario. La debenzilazione sotto idrogeno dava risultati simili.

Conclusioni

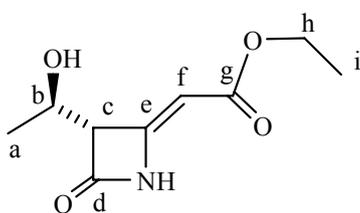
E' stata messa a punto una rapida sintesi del disaccaride contenuto nell'antibiotico mannopeptimicina in forma di glicosildonatore. Tale composto è stato preparato attraverso una procedura sintetica simile per entrambi i residui saccaridici che lo costituiscono e adottando come sistema promotore il Bi(OTf)₃ che ha reso possibile l'ottenimento di ottime rese in tempi brevi.

Il disaccaride sintetizzato è stato quindi coniugato all'alchiliden- β -lattame **15** rendendo possibile il facile accesso a strutture chimeriche a base β -lattamica connesse a frammenti saccaridici con una potenziale attività antibiotica nei confronti di ceppi batterici resistenti. Sono in corso le valutazioni biologiche del prodotto.

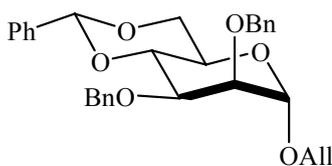
¹⁹⁰ V. S. Rao, A. S. Perlin, *Carbohydr. Res.* **1980**, 83, 175-177.

Parte Sperimentale

Generale - Gli spettri ^1H and ^{13}C NMR sono stati registrati in CDCl_3 (standard interno CHCl_3 a δ 7.26) o D_2O (standard interno HDO a δ 4.80). L'assegnazione dei chemical shifts dei protoni è stata fatta con esperimenti di disaccoppiamento. La cromatografia su lastra sottile (TLC) è stata fatta su fogli di alluminio pretrattati con Silica Gel 60 F₂₅₄ come adsorbente. La cromatografia su colonna è stata fatta utilizzando Kieselgel 60 (63-200 mesh). Gli spettri di massa sono stati registrati in modalità reflector positiva su uno spettrofotometro a MALDI-TOF.



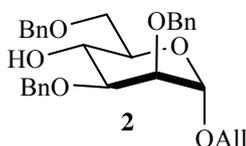
^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ = 8.37 (1H, bs, N-H, H_f), 5.27 (1H, s, H_e), 4.20 (3H, m, H_b e $2 \times H_g$), 3.74 (1H, d, $J_{bd} = 5.7$ Hz, H_d), 2.13 (1H, bs, H_c), 1.39 (3H, d, $J_{ab} = 6.6$ Hz, H_a), 1.29 (3H, t, $J_{gh} = 7.2$ Hz, H_h). ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): segnali significativi a δ 166.9 e 116.2 ($\text{NHC}=\text{O}$, $\text{C}=\text{C}-\text{C}=\text{O}$), 152.2 ($\text{C}=\text{C}-\text{C}=\text{O}$), 90.8 ($\text{C}=\text{C}-\text{C}=\text{O}$), 64.8, 64.0, 60.2 (C_b , C_d , C_g), 21.4 e 14.3 (C_a , C_h).



Allil 2,3-di-O-benzil-4,6-O-benzilidene- α -D-mannopiranoside (5)

Ad una soluzione di **4** (251 mg, 0.81 mmol) e benzil bromuro (385 μL , 3.2 mmol) in DMF (4 mL) è stato aggiunto a 0°C idruro di sodio (60 % in paraffina, 97 mg, 2.4 mmol). Una volta terminato lo sviluppo di idrogeno, la miscela è stata lasciata riscaldare spontaneamente a temperatura ambiente. Dopo 5 ore è stato aggiunto metanolo (0.5 mL) e dopo poco più di 20 minuti la miscela è stata diluita con diclorometano. La fase organica è stata lavata con acqua, anidrificata con sodio solfato e concentrata. Il residuo è stato purificato con una cromatografia flash su gel di silice (eluente: etere di petrolio/acetato di etile da 95:5 a 8:2) per ottenere **5** puro (olio, 350 mg, resa 88%).

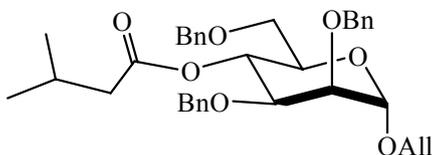
5: $[\alpha]^{25}_D = +39.4$ (c 1.0, CHCl_3). $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.70\text{-}7.20$ (protoni benzilici aromatici), 6.00-5.80 (m, 1 H, $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.75 (1H, s, protone benzilico del benzilidene CH), 5.31 (bd, $^3J = 18.6$ Hz, 1 H, $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_{\text{cis}}\text{H}_{\text{trans}}$), 5.27 (bd, $^3J = 10.2$ Hz, 1 H, $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_{\text{cis}}\text{H}_{\text{trans}}$), 4.96 (d, $J_{1,2} = 1.5$ Hz, 1 H, 1-H), 4.95-4.74 (4 H, CH_2 benzilici), 4.44-4.30 (2H), 4.28-4.20 (bdd, $^3J = 5.1$ Hz, $^2J = 12.0$ Hz, 1 H, $-\text{CH}_a\text{H}_b\text{CH}=\text{CH}_2$), 4.11 (dd, $J_{2,3} = 3.0$ Hz, $J_{3,4} = 9.9$ Hz, 1 H, 3-H), 4.05-3.90 (4 H). $^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3): $\delta = 138.5, 137.9, 137.5, 133.3, 128.6\text{-}125.9, 117.4, 101.2, 98.3$ (1-C), 79.0, 76.3, 76.2, 73.4, 72.9, 68.6, 67.7, 64.1.



Allil 2,3,6-tri-O-benzil- α -D-mannopyranoside (**2**)

Ad una soluzione di **5** (325 mg, 0.67 mmol) in 1,2-dichloroetano anidro (5.5 mL) sono stati aggiunti sequenzialmente a 0 °C trietilsilano (0.85 mL, 5.4 mmol) e $\text{BF}_3\cdot\text{OEt}_2$ (170 μL , 1.3 mmol). Si è lasciato che la temperatura della miscela salisse spontaneamente a temperatura ambiente. Dopo 3 ore la reazione è stata bloccata con piridina ed il solvente è stato rimosso sotto vuoto. Una cromatografia flash su gel di silice del grezzo (eluente: etere di petrolio / acetato di etile 85:15) ha fornito **2** puro (olio, 192 mg, resa 59%).

2: $[\alpha]^{25}_D = +9.0$ (c 1.4, CHCl_3). $^1\text{H NMR}$ (200 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.10\text{-}7.30$ (protoni aromatici benzilici), 6.00-5.80 (m, 1 H, $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.26 (dq, $^3J = 15.6$ Hz, $^2J = ^4J = 1.8$ Hz, 1 H, $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_{\text{cis}}\text{H}_{\text{trans}}$), 5.19 (dq, $^3J = 10.2$ Hz, $^2J = ^4J = 1.8$ Hz, 1 H, $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_{\text{cis}}\text{H}_{\text{trans}}$), 4.96 (d, $J_{1,2} = 1.6$ Hz, 1 H, 1-H), 4.75-4.59 (6 H, CH_2 benzilici), 4.28-3.92 (m, 3 H, $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ e 5-H), 3.88-3.70 (5H). $^{13}\text{C NMR}$ (50 MHz, CDCl_3): $\delta = 138.1$ (x3), 133.7, 128.3-127.5, 117.2, 97.1 (C-1), 79.6, 73.9, 73.4, 72.5, 71.8, 71.5, 70.3, 67.8. Anal. Calcolato. per $\text{C}_{30}\text{H}_{34}\text{O}_6$: C, 73.45, H, 6.99. Trovato: C, 73.20; H, 7.05.

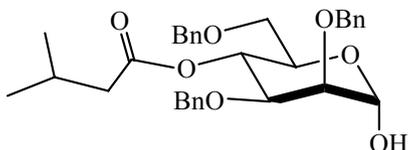


Allil 2,3,6-tri-O-benzil-4-O-iso-valeryl- α -D-mannopyranoside (**6**)

Ad una soluzione di **2** (130 mg, 0.27 mmol) in piridina anidra (3 mL) è stato aggiunto cloruro di *iso*-valerile (45 μ L, 0.35 mmol) a 0°C. la miscela è stata agitata per 2 ore, infine è stato aggiunto metanolo per bloccare la reazione.

La miscela è stata concentrata ed il residuo è stato purificato con una cromatografia flash su gel di silice (eluente: etere di petrolio/acetato di etile 9:1) per ottenere in forma pura **6** come un olio (139 mg, resa 91%).

6 $[\alpha]_{D}^{25} = +23.0$ (c 1.0, CHCl_3). $^1\text{H NMR}$ (200 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.10\text{-}7.30$ (protoni benzilici aromatici), 6.02-5.80 (m, 1 H, $-\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CH}_2$), 5.46 (t, $J_{3,4} = J_{4,5} = 10.0$ Hz, 1 H, 4-H), 5.29 (dq, $^3J = 18.0$ Hz, $^2J = ^4J = 1.6$ Hz, 1 H, $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_{\text{cis}}\text{H}_{\text{trans}}$), 5.19 (dq, $^3J = 9.8$ Hz, $^2J = ^4J = 1.6$ Hz, 1 H, $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_{\text{cis}}\text{H}_{\text{trans}}$), 4.97 (d, $J_{1,2} = 1.6$ Hz, 1 H, H-1), 4.82-4.45 (6H, CH_2 benzilico), 4.30-3.80 (5H), 3.72-3.58 (2H, m, H₂₋₆), 2.18-2.00 (3H), 0.96-0.86 (m, 6 H, CH_3 isovalerilico). $^{13}\text{C NMR}$ (50 MHz, CDCl_3) δ 171.8, 138.1 (x3), 133.6, 128.2-127.4, 117.2, 97.3 (1-C), 77.3, 74.2, 73.3, 72.6, 71.7, 70.6, 69.9, 68.5, 67.9, 43.2, 25.3, 22.3. Anal. Calcolato per $\text{C}_{35}\text{H}_{42}\text{O}_7$: C, 73.15, H, 7.37. Trovato: C, 73.04; H, 7.48.

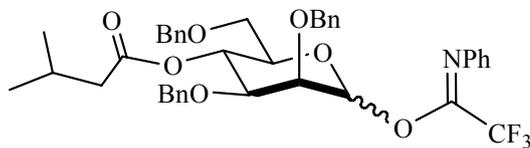


2,3,6-tri-O-benzil-4-O-*iso*-valeril- α -D-mannopiranosio (7)

Ad una soluzione di **6** (125 mg, 0.22 mmol) in metanolo (1 mL) è stato aggiunto PdCl_2 (4 mg, 0.02 mmol) a temperatura ambiente. La miscela è stata agitata per 5 ore e quindi concentrata sotto vuoto. Il residuo è stato ri-sospeso con DCM/methanol 19:1, filtrato su un sottile strato di gel di silice, e concentrato sotto vuoto per fornire **7** in una forma sufficientemente pura (TLC, NMR) da essere sottoposto allo stadio successivo.

7: $^1\text{H NMR}$ (200 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.10\text{-}7.30$ (protono aromatici benzilici), 5.46 (t, $J_{3,4} = J_{4,5} = 9.8$ Hz, 1 H, 4-H), 5.26 (bs, 1 H, 1-H), 4.80-4.44 (6 H, CH_2 benzilico), 4.14 (m, 1 H, 5-H), 3.91 (dd, $J_{2,3} = 2.8$ Hz, 1 H, H-3), 3.80 (dd, $J_{1,2} = 1.8$ Hz, 1 H, 2-H), 3.69-3.44 (m, 2 H, 6-H₂), 2.16-1.96 (m, 3 H, CH_2 e CH isovalerilico), 0.89 e 0.87 (2xd, $^3J = 6.2$ Hz, 6 H, metili isovalerilici). $^{13}\text{C NMR}$ (50 MHz, CDCl_3): $\delta = 172.0, 138.1$

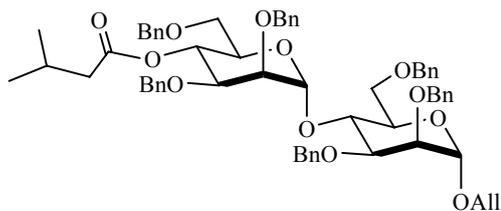
(x2), 137.4, 128.2-127.3, 92.6 (1-C), 76.7, 74.3, 73.2, 72.6, 71.6, 69.9, 68.6, 43.3, 25.3, 22.3.



2,3,6-tri-O-benzil-4-O-iso-valeril-D-mannopiranosil (N-fenil) trifluoroacetimidato (3)

Ad una soluzione di **7** in diclorometano anidro (2 mL) sono stati aggiunti sequenzialmente a -10°C cloruro di (*N*-phenil)trifluoroacetimidoile (45 μL , 0.35 mmol) e idruo di sodio (60 % in paraffina, 12 mg, 0.29 mmol). A questo punto è stato lasciato che la temperatura della miscela salisse a temperatura ambiente e dopo 4 ore è stato rimosso il solvente sotto vuoto. Il residuo è stato purificato con una cromatografia su colonna su allumina neutra (Grado Brockman 2, eluente: etere di petrolio/ acetato di etile 9:1) per fornire **3** (miscela anomera) come olio (129 mg, resa dell' 83% su due step sintentici).

3 (β/α ca 1.5:1) ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ = 7.50-6.70 (protoni aromatici), 6.28 (bs, 1 H, α 1-H), 5.82 (bs, 1 H, β 1-H), 5.51 (t, $J_{3,4} = J_{4,5} = 10.0$ Hz, 1 H, β 4-H), 5.45 (t, $J_{3,4} = J_{4,5} = 10.0$ Hz, 1 H, α 4-H), 4.98-4.44 ($\alpha/\beta\text{CH}_2$ benzilici), 4.16-4.00 (m, α/β 2-H and α 5-H), 3.92-3.56 (m, α/β 3-H e 6-H₂, e β 5-H), 2.20-1.92 (m, isovaleryl CH₂ e CH dell'isovalerile), 1.00 - 0.87 (m, metili isovalerilici). ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ = 171.8, 143.3, 137.6 (x2), 137.5, 129.2-127.3, 126.1, 120.6, 119.3, 95.3 (1-C), 78.6, 76.0, 75.4, 73.6, 73.4, 72.7, 72.2, 71.9, 69.6, 69.4, 68.0, 67.6, 43.2, 25.3, 22.3. Calcolato per $\text{C}_{40}\text{H}_{42}\text{F}_3\text{NO}_7$: C, 68.07, H, 6.00. Trovato: C, 69.96; H, 5.94.

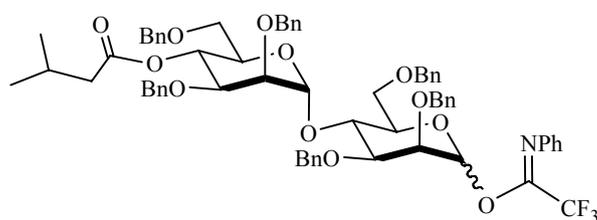


Allil 2,3,6-tri-O-benzil-4-O-iso-valeril- α -D-mannopiranosil-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-tri-O-benzil- α -D-mannopiranoside (8)

Il glicosil donatore **3** (58 mg, 0.082 mmol) ed il glicosil accettore **2** (32 mg, 0.065 mmol) sono stati coevaporati tre volte con toluene anidro e seccati alla pompa sa vuoto per un'ora. La miscela, sotto argon, è

stata sciolta in toluene/DME 2:1 (1 mL) presenza di setacci molecolari lavati con acido attivati e raffreddata a - 60 °C. Dopo aver agitato per 15 minuti, è stata aggiunta l'opportuna aliquota di una soluzione di Bi(OTf)₃ in diossano (18 mg/mL, 115 µL, 0.003 mmol). E' stato lasciato che la temperatura salisse fino a 0°C in 50 minuti dopo i quali la reazione è stata bloccata con piridina. La miscela è stata filtrate su un sottile strato di gel di silice, concentrata e purificata via cromatografia flash su gel di silice (eluente: etere di petrolio/acetone 9:1) per fornire il disaccaride **8** come olio (47 mg, 73% di resa).

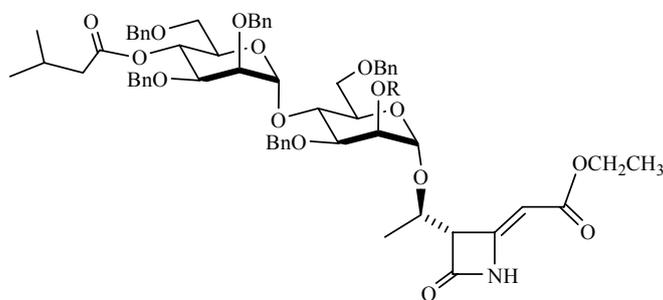
8: $[\alpha]^{25}_D = +10.4$ (c 1.0, CHCl₃). ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): $\delta = 7.20$ -6.95 (protoni aromatici), 5.95-5.85 (m, 1 H, -CH₂CH=CH₂), 5.35 (t, $J_{3,4} = J_{4,5} = 10.0$ Hz, 1 H, 4'-H), 5.31 (d, $J_{1,2} = 2.0$ Hz, 1 H, 1'-H), 5.28 (dq, $^3J = 17.0$ Hz, $^2J = ^4J = 1.5$ Hz, 1 H, -CH₂CH=CH_{cis}H_{trans}), 5.21 (dq, $^3J = 10.5$ Hz, $^2J = ^4J = 1.5$ Hz, 1 H, -CH₂CH=CH_{cis}H_{trans}), 4.94 (d, $J_{1,2} = 2.0$ Hz, 1 H, 1-H), 4.70-4.20 (CH₂ benzilici, 4.24 (m, 1 H), 4.07 (t, $J_{3,4} = J_{4,5} = 10.0$ Hz, 1 H, 4-H), 4.00 (m, 1 H), 3.91-3.84 (m, 2 H), 3.84-3.76 (m, 5 H), 3.69 (dd, $J_{2,3} = 2.5$ Hz, 1 H, 2'-H), 3.49 (dd, $J_{5,6a} = 6.5$ Hz, $^2J = 11.0$ Hz, 1 H, 6_a'-H), 3.43 (dd, $J_{5,6b} = 3.0$ Hz, 1 H, 6_b'-H), 2.20-1.92 (m, 3 H, CH₂ e CH dell'isovalerile), 0.87-0.83 (2xd, 6 H, metili dell'isovalerile). ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 171.8, 138.7, 138.5, 138.4, 138.2, 138.1, 138.0, 133.8, 128.4-127.2, 117.3, 100.1 (1'-C), 96.0 (1-C), 80.0, 75.2, 75.0, 73.6, 73.5, 73.1, 72.4, 72.1, 71.6, 71.5, 71.4, 71.0, 70.4, 70.0, 68.4, 68.0, 43.4, 25.4, 22.4. Calcolato per C₆₂H₇₀O₁₂: C, 73.93, H, 7.01. Trovato: C, 73.82; H, 6.98.



2,3,6-tri-O-benzil-4-O-iso-valeril- α -D-mannopiranosil-(1→4)-2,3,6-tri-O-benzil- α -D-mannopiranosil (N-fenil)trifluoroacetimidato (9**)**

Il glicosil donatore disaccaridico **9** (miscela anomerica β : α ca 8:1, 34 mg, 75% resa totale) è stato preparato a partire da **8** (40 mg) seguendo la medesima sequenza sintetica deallilazione-trifluoroacetimidazione utilizzata per ottenere **3** da **6**.

9 (β -anomero) ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ = 7.50-6.70 (protoni aromatici), 5.74 (bs, 1 H, 1-H), 5.36 (t, $J_{3,4} = J_{4,5} = 10.0$ Hz, 1 H, 4'-H), 5.32 (d, $J_{1,2} = 2.0$ Hz, 1 H, 1'-H), 4.96-4.20 (CH_2 benzilici), 4.14-4.05 (m, 2 H, 2-H e 4-H), 3.98 (dd, $J_{5,6} = 1.6$ Hz, $^2J = 11.0$ Hz, 1 H, 6-H), 3.95-3.60 (m, 6 H), 3.58-3.40 (m, 2 H, 6'-H₂), 2.20-1.92 m, (3 H, CH_2 e CH dell'isovalerile), 1.00-0.87 (2xd, 6 H, metili dell'isovalerile). ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ = 171.8, 143.4, 138.4, 138.3 (x2), 138.2, 137.9, 137.4, 128.7-127.3, 124.3, 120.5, 119.3, 100.0 (1'-C), 95.7 (1-C), 81.7, 75.3, 74.0, 73.7, 73.5, 73.2, 72.2, 71.7, 71.6, 71.4, 70.2, 69.9, 68.4, 43.4, 25.4, 22.4. Calcolato. per $\text{C}_{67}\text{H}_{70}\text{F}_3\text{NO}_{12}$: C, 70.70, H, 6.20. Trovato: C, 70.56; H, 6.24.

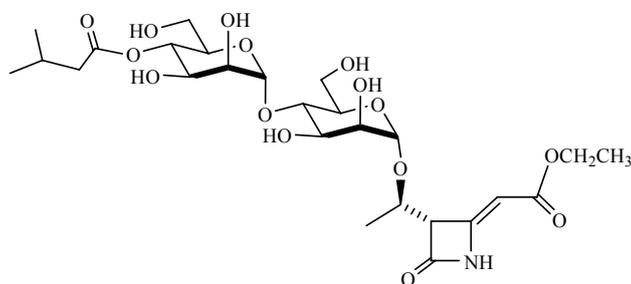


Etil {(2Z,3S)-3-[(1R)-1-(2,3,6-tri-O-benzil-4-O-iso-valeril- α -D-mannopiranosil-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-tri-O-benzil- α -D-mannopiranosilossi)etil]-4-ossoazetidini-2-ilidene}acetato (10)

Il glicosil donatore disaccaridico **9** (20 mg, 17 μmol) e l'acceptore β -lattamico **2** (6 mg, 30 μmol) sono stati coevaporati 3 volte in toluene anidro e seccati sotto vuoto per un'ora. La miscela è stata pertanto sciolta sotto argon con toluene/DME 2:1 (0.7 mL) in presenza di setacci molecolari 4 Å AW e raffreddata a -70 °C. Dopo 15 minuti di agitazione è stata aggiunta l'opportuna aliquota di una soluzione di $\text{Bi}(\text{OTf})_3$ in diossane (17 mg/mL, 27 μL , 0.7 μmol). La temperatura della miscela è stata fatta salire gradualmente a -55 °C per 50 minuti passati quali la reazione è stata quencheda con poche gocce di piridina. La miscela è stata filtrata su un sottile strato di gel di silice, concentrata e purificata con una cromatografia flash su gel di silice (eluente: 4:1 etere di petrolio/acetato di etile) per fornire il glico-coniugato **10** come una schiuma (16 mg, 79% di resa).

10: $[\alpha]^{25}_{\text{D}} = +2.8$ (c 0.75, CHCl_3). ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ = 8.44 (bs, 1 H, -NH), 7.55-6.05 (protoni aromatici), 5.35 (t, $J_{3,4} = J_{4,5} = 10.0$ Hz, 1 H, 4'-H), 5.29 (bs, 1 H, 1'-H), 5.17 (bs, 1 H, CH vinilico del β -lattame), 5.02 (bs, 1 H, 1-H), 4.65-4.30

(benzyl CH₂), 4.25-4.18 (m, 2 H, -OCH₂CH₃), 4.16 (m, 1 H, -CHCH₃ del β-lattam), 4.05-3.95 (2 H), 3.90-3.60 (8 H), 3.55-3.40 (m, 2 H, 6'-CH₂), 2.10-1.95 (m, 3 H, CH₂ e CH dell'isovalerile), 1.45 (d, 3 H, ³J = 6.4 Hz, -CHCH₃ del β-lattame), 1.30 (t, ³J = 6.4 Hz, 3 H, -OCH₂CH₃), 0.87 e 0.85 (2xd, ³J = 6.4 Hz, 6 H, metili dell'isovalerile). ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 171.8, 167.0, 165.4, 152.3, 138.6, 138.5 (x2), 138.4, 138.0 (x2), 128.5-127.3, 100.2 (1'-C), 99.0 (1-C), 90.7, 79.3, 75.2, 75.0, 74.0, 73.5, 73.2, 72.6, 72.4, 72.2, 71.6, 71.1, 70.6, 70.2, 68.6, 62.9, 60.3, 43.4, 25.4, 22.4, 19.9, 14.4. Calcolato. Per C₆₈H₇₇O₁₅: C, 71.12, H, 6.76. Trovato: C, 70.98; H, 6.80



Etil {(2Z,3S)-3-[(1R)-1-(4-O-isovaleril-α-D-mannopiranosil-(1→4)-α-D-mannopiranosilossi)etil]-4-ossazetidin-2-ilidene}acetato (11)

Il composto **10** (7 mg) è stato sciolto in diverse aliquote di una miscela MeOH/ acido formico 9:1 (volume totale ca. 2.5 mL) ed è stato aggiunto, sotto argon ad un contenitore con carbone palladiato (10 mg) previamente bagnato con alcune gocce della stessa soluzione. La miscela è stato sonicata per 15 minuti a temperatura ambiente e filtrato su uno strato di celite per fornire il composto **11** (3 mg) come solido bianco.

11 ¹H NMR (400 MHz, D₂O): δ = 5.39 (bs, 1 H, CH vinilico del β-lattame), 5.30 (bs, 1 H), 5.09 (t, J_{3,4} = J_{4,5} = 10.0 Hz, 1 H, 4'-H), 5.00 (bs, 1 H), 4.23 (dq, ³J = 4.0 Hz, ³J = 6.4 Hz, 1 H), 4.19 (q, 2 H, ³J = 7.2 Hz, -OCH₂CH₃), 4.05-4.00 (2 H), 3.91 (dd, J_{2,3} = 3.6 Hz, J_{3,4} = 10.0 Hz, 1 H, H-3'), 3.90-3.75 (5 H), 3.70-3.55 (4 H), 2.29 (d, ³J = 7.2 Hz, 2 H, CH₂ dell'isovalerile), 2.04 (m, 1 H, CH dell'isovalerile), 1.36 (d, ³J = 6.4 Hz, 3 H, -CHCH₃ del β-lattame), 1.25 (t, 3 H, ³J = 7.2 Hz, -OCH₂CH₃), 0.91 (d, 6 H, J = 6.8 Hz, metili dell'isovalerile).

Capitolo VI

Glicosidazioni sequenziali one-pot promosse cataliticamente: strategia senza precedenti nella sintesi oligosaccaridica per l'efficiente assemblaggio del penta saccaride del farmaco antitumorale PI-88.¹⁹¹

Introduzione

La sintesi oligosaccaridica.

Come già ampiamente discusso, la sintesi oligosaccaridica è attualmente una delle tematiche più importanti nell'ambito della comunità scientifica e, parallelamente agli sforzi nella ricerca di nuovi metodi per la reazione di glicosidazione, si è rivelata di grande importanza anche la "tattica" con cui la sintesi veniva effettuata. Infatti tutte le metodologie sviluppate per promuovere reazioni di glicosidazione

¹⁹¹ S. Valerio, M. Adinolfi, A. Iadonisi, A. Pastore, **Sequential One-Pot Glycosidations Catalytically Promoted: an Unprecedented Strategy in Oligosaccharide Synthesis for the Straightforward Assemblage of the Antitumor PI-88 Pentasaccharide** *Journal of Organic Chemistry* (2008), 73(12), 4496-4503

regio- e stereo selettivamente direzionate devono essere opportunamente combinate per raggiungere i target oligosaccaridici desiderati in alte rese e tempi ragionevoli. Prima di tutto, il metodo utilizzato può essere **convergente** o **sequenziale** (FIGURA 1).

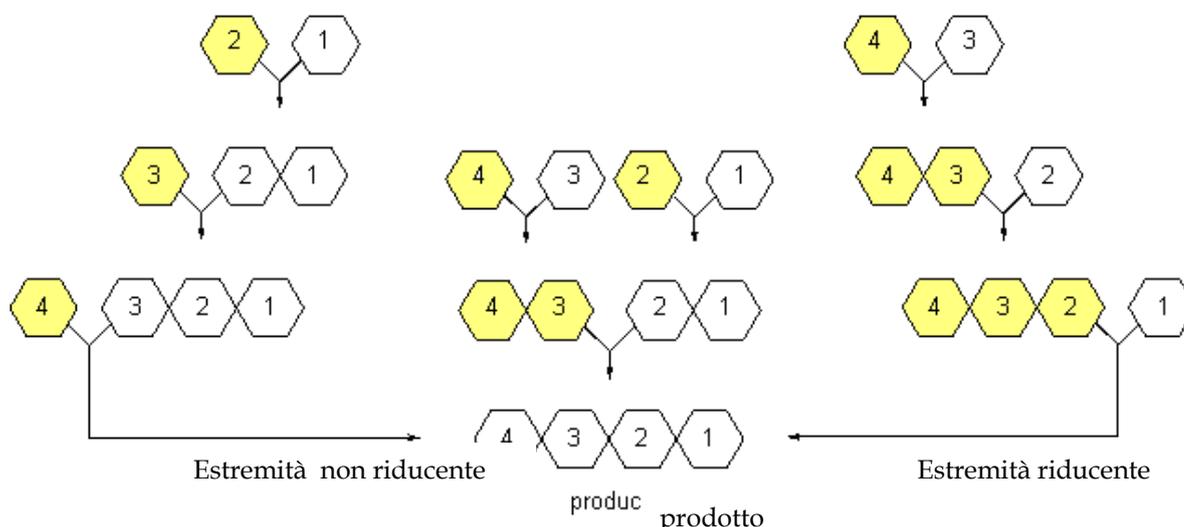


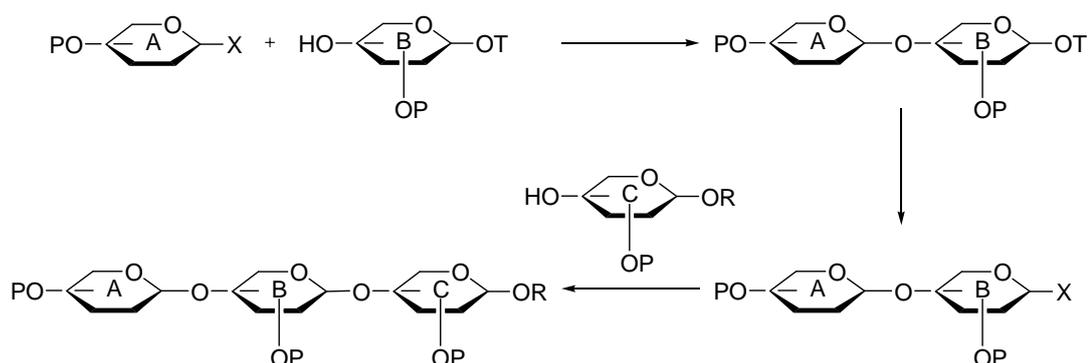
FIGURA 1 : metodi sequenziale e convergente

Nel metodo sequenziale la sintesi può partire sia dall'estremità non riducente che da quella riducente. Generalmente è più conveniente quest'ultimo approccio. C'è da premettere che i glicosil donatori spesso danno reazioni secondarie (idrolisi, riarrangiamento etc...) e vengono utilizzati quindi in lieve eccesso rispetto all'accettore per massimizzare le rese di accoppiamento. La partenza dall'estremità non riducente, implica l'uso di accettori monosaccaridici e preziosi glicosil donatori oligosaccaridici (e quindi la sgradita perdita di questi in caso di decomposizione del donatore). L'utilizzo di glicosil donatori monosaccaridici e glicosil accettori oligosaccaridici, previsto con l'altro approccio invece è senza alcun dubbio preferibile perché permette il recupero dell'accettore che non ha reagito e quindi il suo ri-utilizzo; l'eventuale ri-conversione dei prodotti di idrolisi o la decomposizione di un donatore oligosaccaridico nel donatore stesso comporta molti più stadi sintetici.

Un approccio sequenziale è senza alcun dubbio molto conveniente nel caso di piccoli oligomeri, ma una tattica convergente è preferenzialmente impiegata per oligosaccaridi maggiori, specialmente se posseggono unità ripetitive. La sintesi a blocchi riduce il numero totale di stadio sintetici e permette una maggiore

flessibilità nella messa a punto della strategia da perseguire; ad esempio, alcuni stadi particolarmente problematici possono essere fatti nello stadio iniziale della sintesi su molecole più piccole facilitando anche la separazione cromatografica. Nella sintesi convergente l'unità riducente deve possedere i requisiti opposti a quelli richiesti in una sintesi sequenziale: deve essere abbastanza stabile per fungere da accettore nella sintesi del blocco ma, allo stesso tempo deve poter essere abbastanza reattiva per fungere da donatore nell'assemblaggio dell'oligosaccaride a partire dai blocchi.

Una delle strategie utilizzate per ottenere tali requisiti è il cambio del sostituente sulla posizione anomericamente una volta sintetizzato il blocco: durante la sintesi di questo l'estremità riducente è protetta con un gruppo transiente (T) che viene poi sostituito da un gruppo uscente (X) che conferisce automaticamente al nostro blocco carattere di donatore (SCHEMA 1).



SCHEMA 1: Sintesi del blocco per Riattivazione via scambio del sostituente anomericamente.

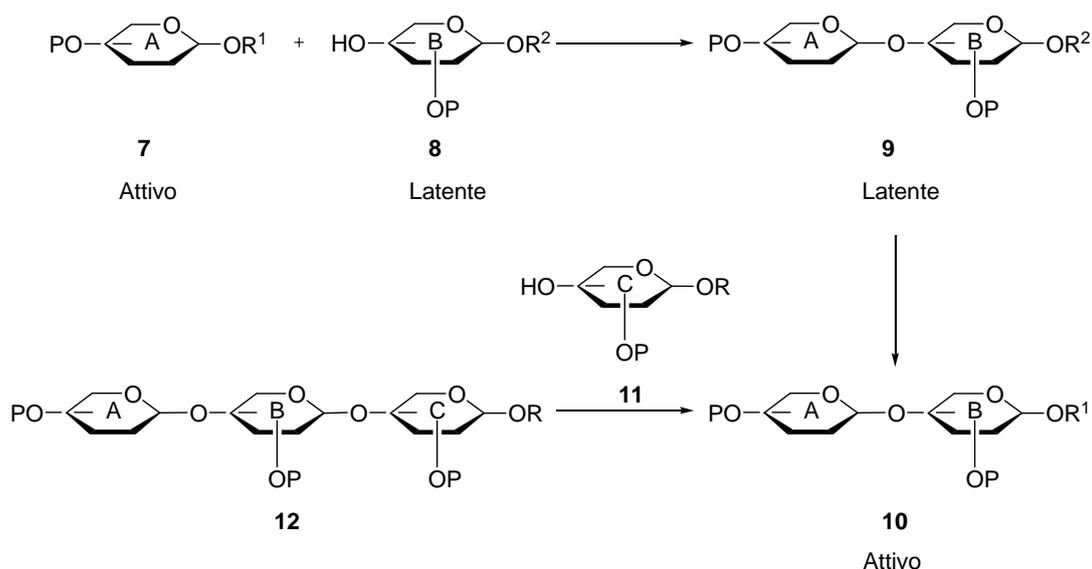
Uno svantaggio di tale metodica sta nel fatto che molto spesso questo tipo di risultato può richiedere molti stadi sintetici rendendola tanto più sconveniente all'aumentare della grandezza del frammento.

Un altro approccio prevede l'utilizzo di glicosil donatori di diverso tipo in stadi di glicosidazione sequenziale; come mostrato nello SCHEMA 2, l'intermedio chiave 2 ha un ossidrile deprotetto ed un sostituente anomericamente stabile nelle condizioni di attivazione del donatore 1. Una volta avvenuta la glicosidazione, il nuovo blocco 3 può essere selettivamente attivato per dare l'oligosaccaride 5.

processo può essere reiterato per molte volte ed il frammento risultante può essere utilizzato come donatore nelle successive glicosidazioni.

Nel lavoro citato sono stati utilizzati i glicosil fluoruri come donatori e tioglicosidi come accettori sfruttando la facile e veloce conversione di questi ultimi negli analoghi fluorurati utilizzando NBS and DAST.

Nella strategia glicosidativa *attiva-latente* la capacità di glicosil donatore di un accettore è attivata con una lieve modifica del suo aglicone. La glicosidazione del composto latente **8** da parte del donatore attivo **7** porta al disaccaride latente **9** (SCHEMA 4). La conversione dell'aglicone del disaccaride (R^2) nella forma attiva (R^1) trasforma **9** nel glicosil donatore attivo **10** che è utilizzato per ulteriori elongazioni.



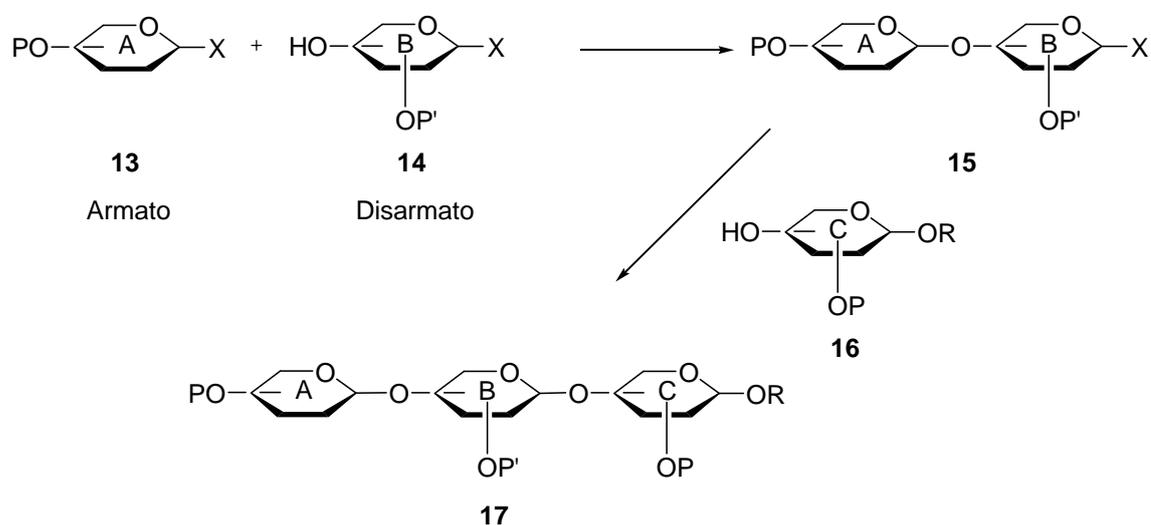
SCHEMA 4: Glicosidazione *attiva-latente*.

Questo approccio è stato utilizzato da Danishefsky¹⁹³ in glicosidazioni iterative utilizzando i glicali come composti latenti e 1,2-anidro zuccheri come glicosil donatori attivi.

Anche il concetto armato-disarmato può essere ritrovato fra le strategie sintetiche relative alla sintesi di blocchi. Come mostrato nello Schema 5, il glicosil donatore armato **13** può essere accoppiato con il glicosil donatore disarmato **14** senza alcuna

¹⁹³ Halcomb, R. L.; Danishefsky, S. J.; *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 6661.

auto condensazione di quest'ultimo. Il risultante prodotto, disarmato **15** può essere utilizzato nel successivo accoppiamento o rendendolo armato cambiando i gruppi protettori, o utilizzando un promotore più potente.



SCHEMA 5: Glicosidazioni armato-disarmato.

Al di là della strategia sintetica utilizzata, esistono nuovi metodi e tecniche senz'altro degni di nota. Negli approcci tradizionali, prima di tutto, era previsto l'isolamento e la purificazione (con successiva rielaborazione) del prodotto di glicosidazione. In alcune delle strategie appena descritte il prodotto di glicosidazione è utilizzato direttamente nello stadio successivo eliminando lo stadio di purificazione. Tale modalità molto performante è chiamata **one-pot** (FIGURA 2).

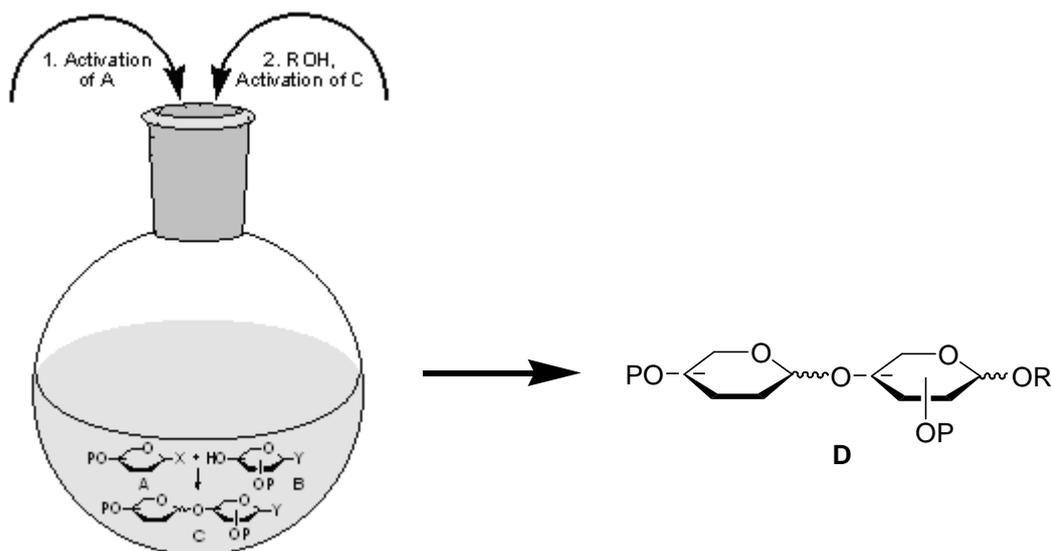
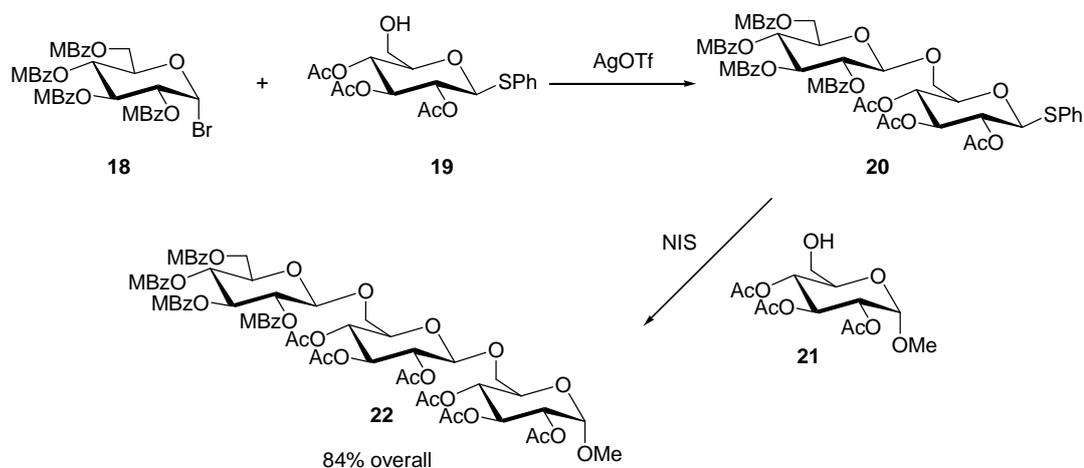


FIGURA 2: Schema della glicosidazione one-pot

Spesso sono utilizzati vari tipi di glicosil donatori, l'ortogonalità dei quali non è necessariamente richiesta. Le glicosidazioni vengono effettuate a partire dall'estremità non riducente attivando sequenzialmente i donatori a crescente stabilità. La prima glicosidazione one-pot è stata effettuata glicosilando nell'ordine: il tioglicosil accettore **19** con il glicosil bromuro **18**, quindi l' *O*-glycoside **21** dal tioglicosil donatore **20** appena formato (SCHEMA 6).¹⁹⁴



SCHEMA 6: Glicosidazione sequenziale one-pot utilizzando donatori differenti.

¹⁹⁴ Yamada, H.; Harada, T.; Miyazaki, H.; Takahashi, T. *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 3979.

Glicosidazioni one-pot simili sono state effettuate utilizzando glicosil tricloroacetimmidato → tioglicoside → O-glycoside; glicosil fluoruro → tioglicoside → O-glycoside o glicosil fosfato → tioglicoside → glicale. Anche il metodo armato-disarmato può essere effettuato in maniera one-pot: in questo caso i glicosil donatori sono sempre gli stessi e la chemoselettività è assicurata dalla diversa reattività dei donatori opportunamente protetti. Tale abilità costituisce la base della *sintesi oligosaccaridica one-pot programmabile*. Wong ed i suoi collaboratori hanno messo a punto una procedura per determinare la reattività dei glicosil donatori con un esperimento di attivazione anomerica competitiva.¹⁹⁵ I donatori e gli accettori con capacità di donatori (tioglicosidi con un ossidrile libero) variamente protetti hanno fornito un set di building blocks con reattività diverse. I valori di reattività relativa (RRVs), osservati via HPLC, sono stati tabulati in un data base da cui è stato creato il programma 'Optimer'. L'utente inserisce la struttura oligosaccaridica desiderata e il programma elenca la migliore combinazione di frammenti saccaridici per la sua preparazione.

Molto recentemente è stato proposto un altro approccio one-pot basato su un iniziale stadio di *pre-attivazione* per ogni accoppiamento, nel quale un tioglicosil donatore è convertito in una specie glicosilante altamente reattiva a bassa temperatura con l'opportuno promotore stechiometrico. La successiva aggiunta di un tioglicosil accettore porta ad un prodotto di glicosidazione che può essere pre-attivato in situ per la successiva elongazione con un altro accettore.¹⁹⁶ Questa strategia è molto vantaggiosa in quanto indipendente dalla reattività relativa dei donatori utilizzati anche se, come in tutte le altre strategie suddette, richiede l'attivazione dei glicosil donatori con quantità stechiometriche (o con un eccesso) di reagenti molto sensibili e/o costosi quali NIS, anidride triflica, triflato di argento e piridine stericamente ingombrate.¹⁹⁷

¹⁹⁵ Zhang, Z.; Ollmann, I. R.; Ye, X. -S.; Wishnat, R.; Baasov, T.; Wong, C. -H. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 734.

¹⁹⁶ a) Huang, X.; Huang, L.; Wang, H.; Ye, X-S. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 5221-5224. b) Huang, X.; Huang, L. *Chem. Eur. J.* **2007**, *13*, 529-540. c) Wang, Z.; Zhou L.; El-Boubbou, K.; Ye, X-S.; Huang, X. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 6409-6420. d) Miermont, A.; Zeng, Y.; Jing, Y.; Ye, X-S.; Huang, X. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 8958-8961. e) Teumelsan, N.; Huang, X. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 8976-8979.

¹⁹⁷ Per articoli recenti: a) Wang, Y.; Ye, X-S.; Zhang, L.-H. *Org. Biomol. Chem.* **2007**, *5*, 2189-2200. b) Codee, J. D. C.; Litjens, R. E. J. N.; Van den Bos, L. J.; Overkleeft, H. S.; Van der Marel, G. A. *Chem. Soc. Rev.* **2005**, *34*, 769-782.

Il PI-88 è attualmente in fase III di test clinici²⁰³ ed è costituito da una miscela di tri- tetra-, e penta-mannani variamente solfatati che recano sul carbinolo primario dell'estremità non riducente un fosfato. E' stato dimostrato che la sostituzione di quest'ultimo con un gruppo solfato non incide in maniera significativa sulle proprietà biologiche della miscela.²⁰⁴ Generalmente il PI-88 viene isolato dal lievito di *Pichia (Hansenula) holstii* NRRL Y-2448 come miscela di mannani fosforilati che vengono successivamente solfatati con un approccio chimico.²⁰⁵ Si pensa che le qualità anti-tumorali del PI-88 siano connesse alla sua abilità di inibire sia gli enzimi eparanasi che i fattori di crescita angiogenici (agendo quindi sia sui tumori primari che su quelli secondari).²⁰⁶ La frazione pentasaccaridica è la più abbondante (60%) e più attiva, e sono stati riportati solo due esempi di sintesi di tale target;²⁰⁷ nel più recente è stato possibile ottenere una buona resa totale, a fronte di un elevato numero di stadi che rendono molto laboriosa la procedura. Nello SCHEMA 1 è rappresentata la strategia retrosintetica per l'assemblaggio del pentamannoside 1 che prevede solo tre stadi sintetici (due multiglicosidazioni one-pot ed una deprotezione) a partire da tre building blocks.

²⁰³ a) Chen, P.-J.; Chang, S.; Lai, C.; Gautam, A.; Wilson, E. *Journal of gastroenterology and epatology* **2006**, A185- A185. b) Basche, M.; Gustafson, D. L.; Holden, S. N.; O'Bryant C. L.; Gore, L.; Witt, S.; Schultz, M. K.; Morrow, M.; Levin, A.; Creese, B. R.; Kangas, M.; Roberts, K.; Nguyen, T.; Davis, K.; Addison, R. S.; Moore, J. C.; Eckhardt, S. G. *Clin. Cancer. Res* **2006**, *12*, 5471-5480.

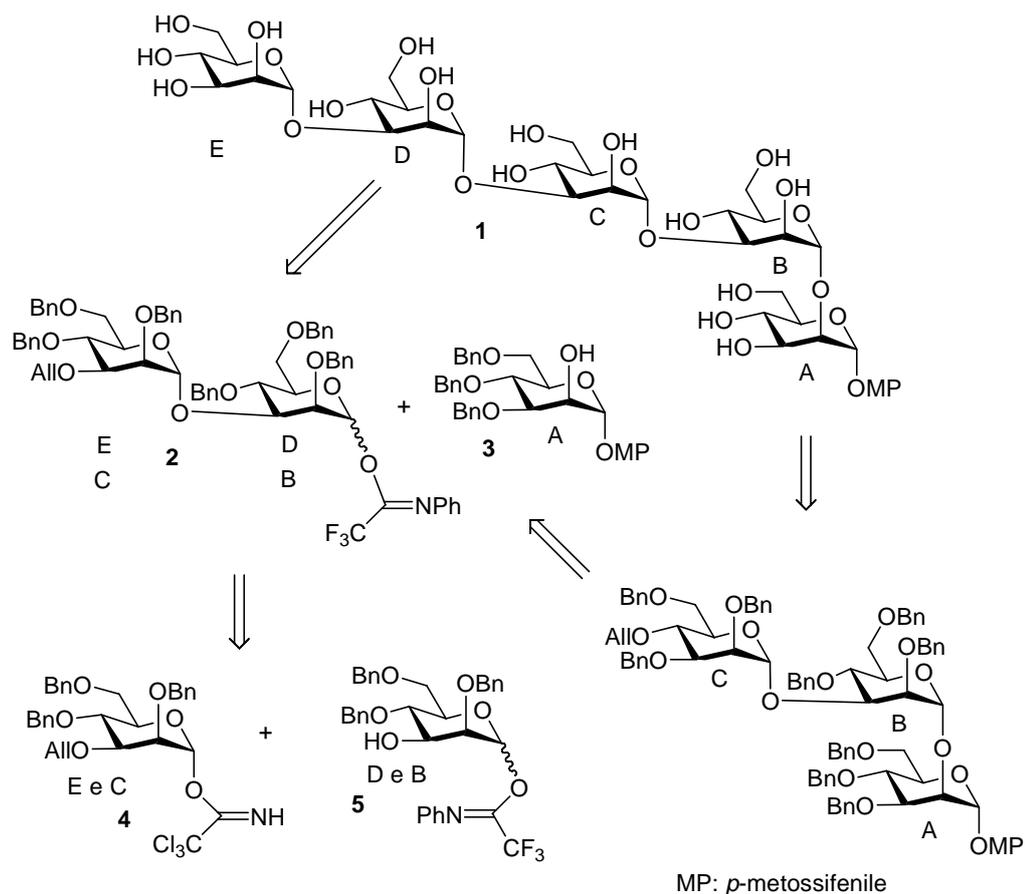
²⁰⁴ Karoli, T.; Liu, L. G.; Fairweather, J. K.; Hammond, E.; Cochran, S.; Bergefall, M.; Trybala, E.; Addison, R. S. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 8229-8236.

b) Fairweather, F J. K.; Hammond, E.; Johnstone, K. D.; Ferro, V. *Biorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 699-709.

²⁰⁵ Ferro, V.; Fewings, K.; Palermo, M. C.; Li, C. P. *Carbohydr. Res.* **2001**, *332*, 183-189.

²⁰⁶ Parish, C. R.; Freeman, C.; Brown, K. J.; Francis, D. J.; Cowden, W. B. *Cancer Research* **1999**, *59*, 3433-3441.

²⁰⁷ Alter Sintesi pi-88

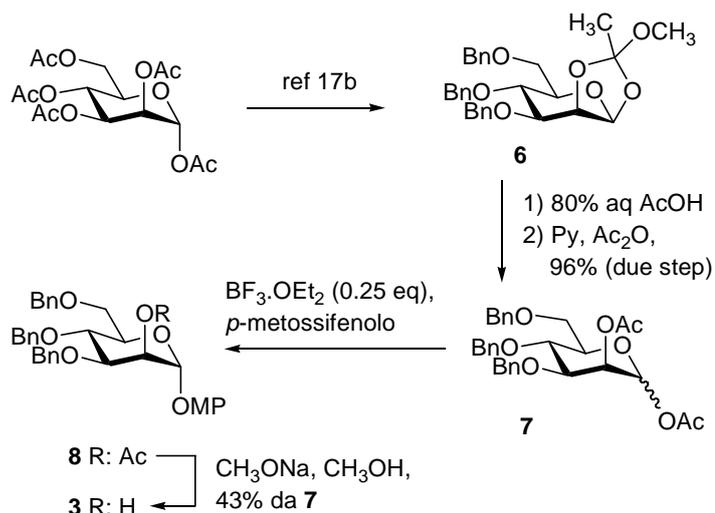


SHEMA 1: Analisi retrosintetica del penta saccaride 1.

Risultati e Discussione

Come illustrato nello SCHEMA 1, la strategia si basa sulla generazione in situ del disaccaride 2 come precursore dei frammenti BC e DE, mentre l'accettore 3, facilmente ottenibile, rappresenta l'estremità riducente A. Il disaccaride 2 è ottenibile accoppiando il glicosildonatore tricloroacetimidato 4 e il donatore (N-fenil)trifluoroacetimidato parzialmente protetto 5 che, in questo stadio, funge da accettore. Come premesso è stato possibile ottenere l'accettore 3 molto facilmente a partire dal mannosio pentacetilato (SCHEMA 2). Questo è stato inizialmente convertito nell'ortoestere 6 attraverso una rapida sequenza di tre reazioni e senza alcuna purificazione cromatografica (50-55% di resa totale).²⁰⁸

²⁰⁸ Adinolfi, M.; Iadonisi, A.; Schiattarella, M.; Ravidà, A. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 7863-7866.



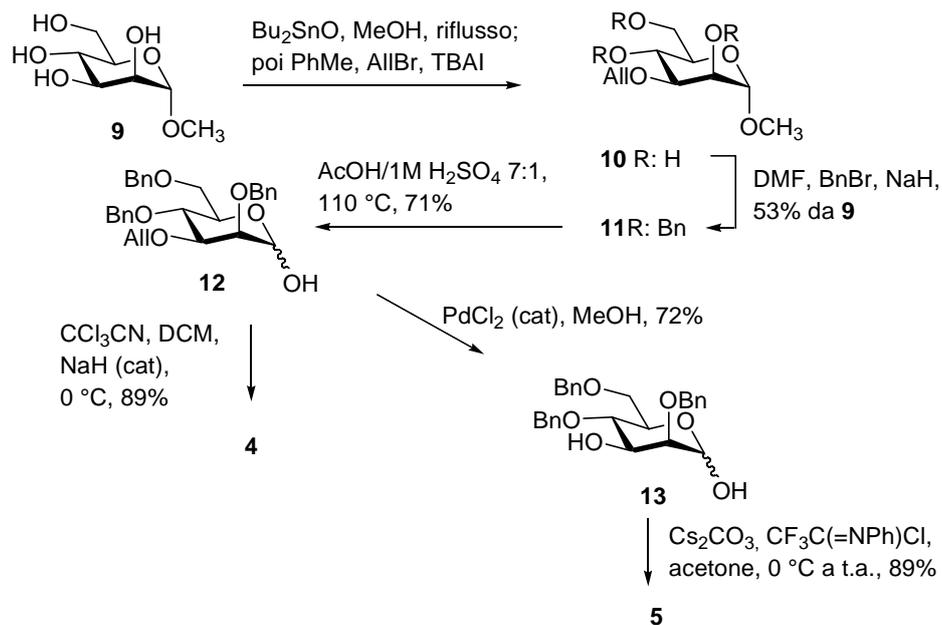
SCHEMA 2: sintesi del glicosil accettore **3**.

Il composto **6** è stato quindi sottoposto all'apertura dell'ortoestere ciclico mediata da acidi e ad un'acetilazione per ottenere, con una resa pressoché quantitativa, l'intermedio **7** di-acetilato. Quest'ultimo è stato direttamente convertito nel corrispondente *p*-metossifenil glicoside **8**, sotto l'azione del BF₃·OEt₂, e quindi deacetilato per dare il building block **3**.

I composti **4** e **5** sono stati preparati attraverso schemi sintetici che hanno in comune molti stadi (SCHEMA 3).

Il metil mannoside **9** è stato regio selettivamente allilato in posizione 3 attraverso un intermedio stannilidenico²⁰⁹ e il triolo **10** risultante è stato perbenzilato in condizioni standard. Il derivato **11** è stato quindi idrolizzato in ambiente acido per dare l'emiacetale **12** che rappresenta l'ultimo intermedio comune per ottenere i due glicosil donatori.

²⁰⁹ Yang, G. B.; Kong, F.-Z.; Zhou S. H. *Carbohydr. Res.* **1991**, *211*, 179-182.

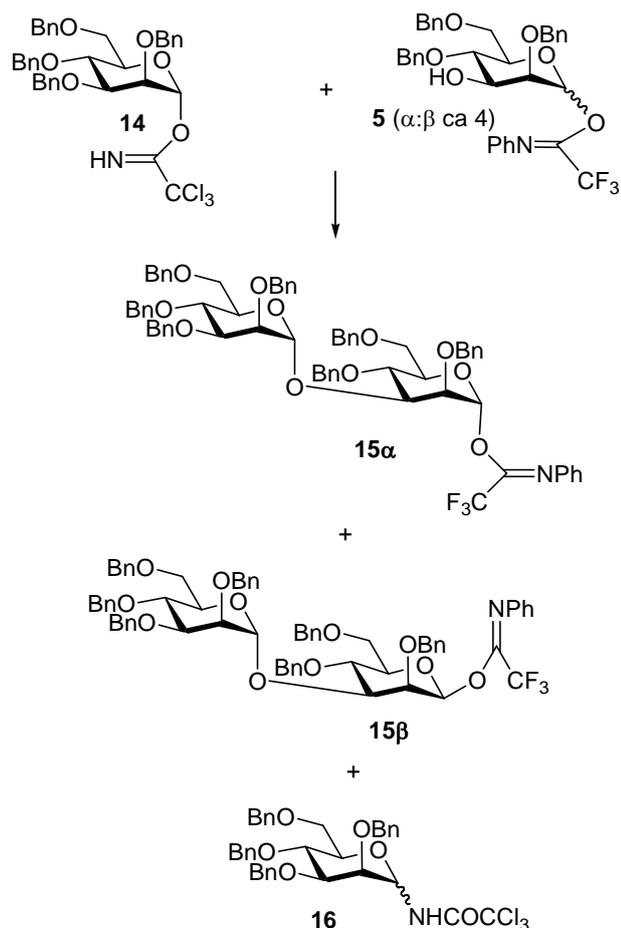


SCHEMA 3: Schema sintetico relativo ad i composti 4 e 5.

Il glicosiltricloroacetimidato è stato ottenuto in alta resa (circa 90%) nel solo stadio sintetico della 1-*O*-tricloroacetimidazione. Per ottenere il donatore 5 invece l'emicetale **12** è stato convertito nel diolo **13** con una de-allilazione (con PdCl₂ in metanolo con una resa del 72%) che a sua volta è stato selettivamente (N-fenil)trifluoroacetimidato ($\alpha:\beta$ ca 4:1) utilizzando Cs₂CO₃²¹⁰ come base. Come premesso, lo stadio chiave di questa sintesi è l'assemblaggio del disaccaride a partire dai donatori 4 e 5 per cui tale reazione deve fornire alte rese ed alto stereo controllo del legame glicosidico lasciando inalterata la funzione (N-fenil)trifluoroacetimidato necessaria nello stadio successivo. Per ottimizzare tale stadio sono stati accoppiati l'accettore 5 e il tricloroacetimidato modello **14** (ottenibile più facilmente rispetto al suo analogo **4**)²¹¹ come illustrato nello SCHEMA 4.

²¹⁰ Hanashima, S.; Castagner, B.; Esposito, D.; Nokami, T.; Seeberger P. H. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 1777-1779.

²¹¹ Schmidt, R. R.; Kinzy, W. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1994**, *50*, 21-123.



SCHEMA 4: Accoppiamento chemoselettivo di **14** e **5**.

Le reazioni sono state bloccate a bassa temperatura con piridina per minimizzare ogni tipo di decomposizione della funzionalità del trifluoroacetimidato. Dopo uno screening preliminare si è visto che la migliore miscela solvente per tale reazione è una miscela toluene/etere etilico. Le reazioni attivate da Bi(OTf)₃ a temperature molto basse hanno fornito il disaccaride trifluoroacetimidato **15α** desiderato in rese soddisfacenti (TABELLA 1, reazioni 1 e 2) ed una minore quantità dell'anomero **15β** ugualmente utile ai nostri scopi per un'applicazione one-pot. L'anomero minoritario tuttavia non è stato isolato in forma pura perché co-eluisce con il sottoprodotto **16** derivante dal riarrangiamento del donatore **14**. Al meglio della nostra conoscenza questo è stato il primo isolamento di un prodotto di glicosidazione in cui un gruppo di tipo (N-fenil)trifluoroacetimidato funge da gruppo protettore temporaneo. Promuovendo la stessa reazione con Yb(OTf)₃ è stato possibile ottenere **15α** con una resa maggiore rispetto a quella ottenuta con

l'analogo sale di bismuto seppur in condizioni meno blande di temperatura (-10 °C piuttosto che -60 °C). I tempi di reazione, in entrambi i casi sono molto rapidi e paragonabili. (TABELLA 1, reazione 3).

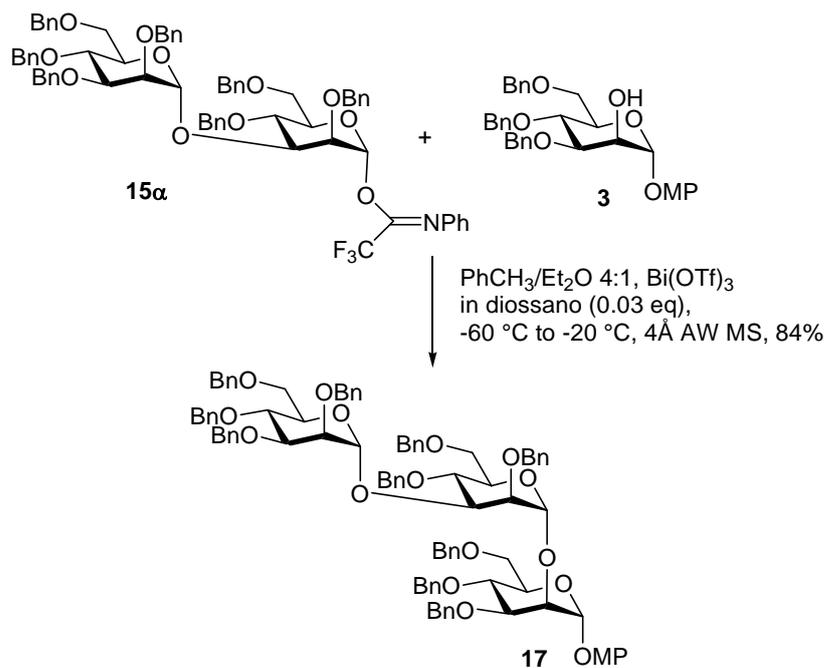
Reazione	Promotore(eq.)	T(°C)	Tempo (min)	Resa di 15α ^b
1	Bi(OTf) ₃ (0.10)	Da -60 a -55	30	42
2	Bi(OTf) ₃ (0.05)	Da -70 a -60	60	47
3	Yb(OTf) ₃ (0.03)	-10	30	58

TABELLA 1: ^aCondizioni generali: **14** (1.4-1.7 eq), **5** (1 eq), toluene:Et₂O 4/1, Yb(OTf)₃ o Bi(OTf)₃ (16-20 mg/mL in diossano), 4Å AW MS. ^bCalcolata rispetto alla quantità totale di **5** (anomeri α e β).

La capacità di **15 α** come donatore è stata esaminata promuovendo l'accoppiamento con l'accettore **3** con Bi(OTf)₃. E' stato ottenuto il trisaccaride **17**, corrispondente al frammento ABC del pentasaccaride target, con una resa eccellente. Tale frammento rappresenta esso stesso una sequenza oligosaccaridica biologicamente rilevante come anti-allergenico (SCHEMA 5).²¹²

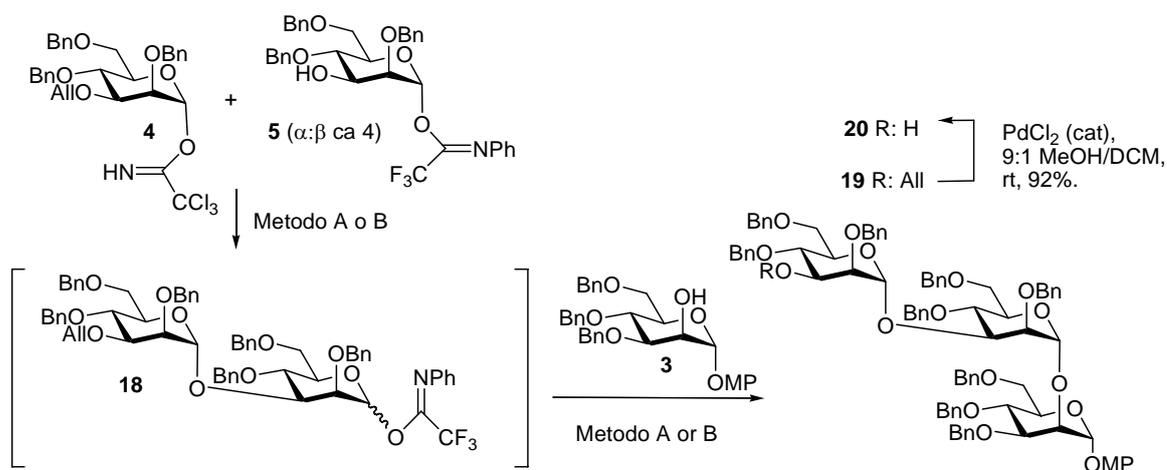
Avendo messo a punto le condizioni ottimali per generare ed attivare il nostro intermedio disaccaridico siamo passati all'applicazione del nostro metodo per l'assemblaggio del pentasaccaride con delle sequenze one-pot di doppia glicosidazione a partire dai componenti **3**, **4** e **5**.

²¹² Carpenter, C.; Nepogodiev, S. A. *Eur. J. Org. Chem.* **2005**, 3286-3296.



SCHEMA 5: Sintesi del trisaccaride **17**.

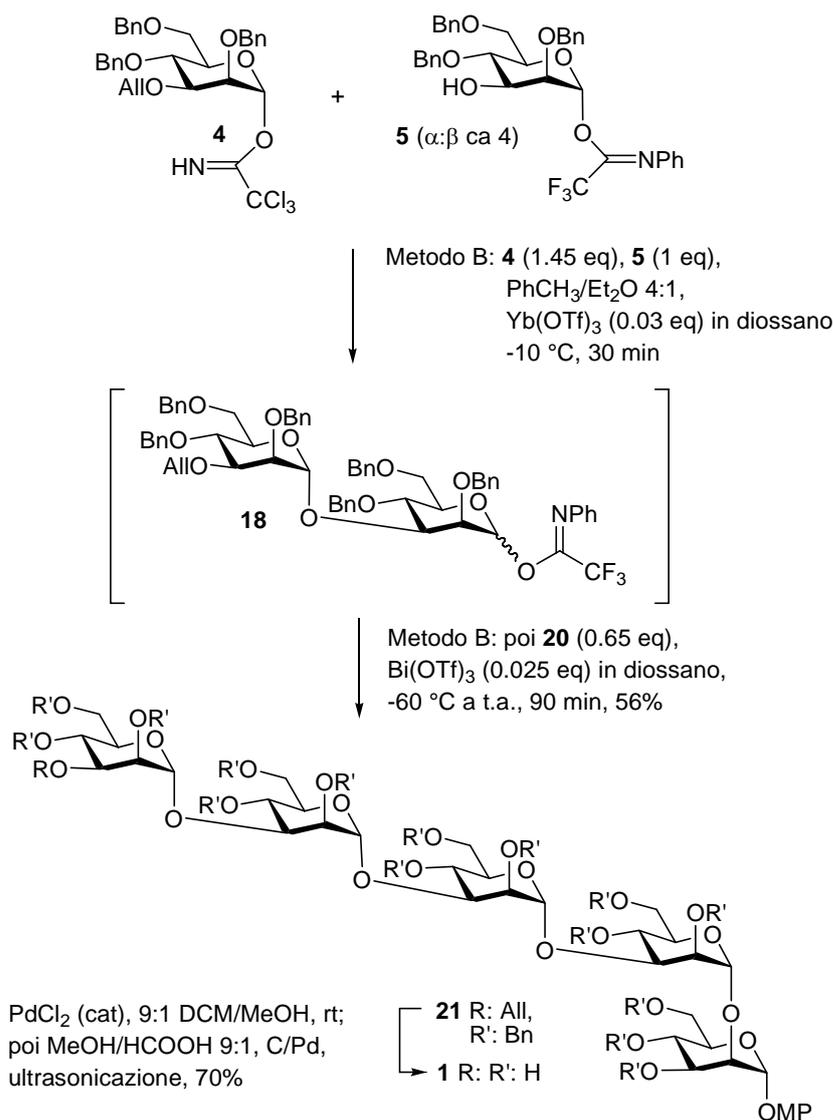
Il frammento trisaccaridico **19** ABC, ulteriormente allungabile, è stato sintetizzato a partire dall'iniziale accoppiamento di **5** e del tricloroacetimidato 3-O-allilato **4**. Al donatore disaccaridico **18** così generato è stato aggiunto nella miscela di reazione l'accettore **3** e sono state opportunamente modificate le condizioni di reazione in modo da attivare il gruppo (N-fenil)trifluoroacetimidato. (SCHEMA 6)



SCHEMA 6: Sintesi del trisaccaride **20**.

La sintesi one-pot è stata esaminata utilizzando sia Bi(OTf)₃ che Yb(OTf)₃ per l'accoppiamento iniziale (**4** con **5**). Il *metodo A* prevede il solo utilizzo del Bi(OTf)₃ (0.05 equivalenti totali in diossano). Più specificamente, ad una miscela di **4** (1.3-1.5 eq) e **5** (1 eq) sciolta in PhCH₃/Et₂O 4:1 è stato aggiunto il 5%, rispetto all'accettore, di promotore a -70 °C. Nei successivi 45 minuti si è lasciato che la temperatura raggiungesse i -60 °C ed è stato aggiunto **3** (1-1.3 eq.) Si è lasciato che la temperatura di reazione raggiungesse 0°C nei successivi 90 minuti, e la resa finale è stata 43-46 %. Nel *metodo B* invece, il primo accoppiamento è stato promosso dal Yb(OTf)₃ (0.03 eq. in diossano), aggiunto ad una miscela di **4** (1.2 eq) e **5** (1 eq) in PhCH₃/Et₂O 4:1 a 10 °C. Dopo 30 minuti si è abbassata la temperatura fino a -60 °C e sono stati aggiunti sequenzialmente l'accettore **3** (0.8 eq), Bi(OTf)₃ (0.025 eq. in diossano). Si è lasciato che la temperatura salisse di nuovo fino a 10 °C nei 90 minuti successivi. Il prodotto finale è stato ottenuto con una resa del 60%. I risultati ottenuti sono in pieno accordo con gli esperimenti preliminari condotti a partire dai glicosil donatori **14** e **5** e confermano l'ipotesi relativa al fatto che la natura più blanda del triflato di itterbio riduce l'entità delle reazioni secondarie a carico del tricloroacetimidato fornendo in resa maggiore, rispetto all'analogo sale di bismuto più attivo, il prodotto disaccaridico. E' da sottolineare che entrambi i metodi forniscono il prodotto con una resa più che soddisfacente, necessitano di bassissime quantità di promotore, sono molto veloci (meno di tre ore per l'intera sequenza) e sensibilmente più veloci rispetto alla procedura, riportata in letteratura, basata sul solo Yb(OTf)₃.²¹³ Il trisaccaride **20**, ottenuto deallilando la posizione 3 dell'estremità non riducente del trisaccaride **19**, costituisce l'accettore finale per la sintesi del pentasaccaride **21**. Seguendo il *metodo B*, che ha fornito rese migliori di **19** (Schema 6), è stato generato "in situ" **18** ed accoppiato quindi con **20** (aggiungendo al mezzo di reazione Bi(OTf)₃) per ottenere **21** in una resa molto soddisfacente (56%) (SCHEMA 7).

²¹³ Adinolfi, M.; Iadonisi, A.; Ravidà, A. *Synlett*, 2006, 583-586.

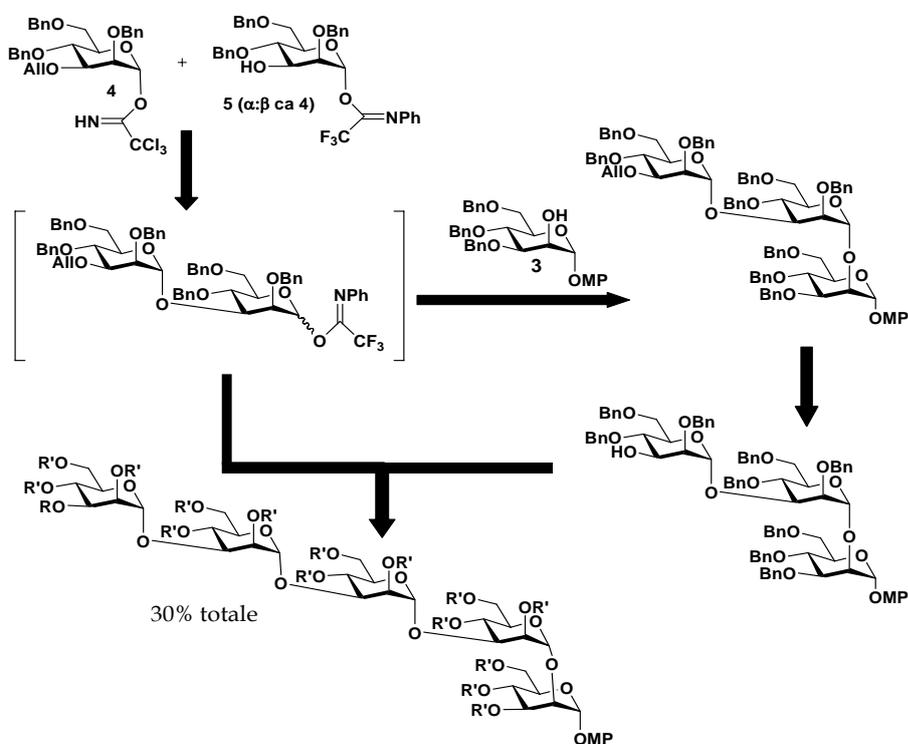


SCHEMA 7: Sintesi del Pentasaccaride **1**.

Nonostante sia stato utilizzato un accettore finale strutturalmente differente (**20** piuttosto che **3**), la resa ottenuta è stata simile a quella del trisaccaride **19**. Il pentasaccaride **21** è stato deallylato e debenzilato in condizioni standard per dare il prodotto **1**, vale a dire il nostro target. Tale prodotto può essere sottoposto a solfatazione random o si può essere ulteriormente elaborare il penta saccaride **21**, essendo questo diversamente protetto su varie posizioni (allili, benzili e 4-metossifenile sulla posizione anomeric).

Conclusioni

In questo capitolo è stato mostrato il notevole potenziale applicativo delle glicosidazioni one-pot di oligosaccaridi con esclusiva attivazione ad opera di promotori catalitici. E' stato possibile infatti sintetizzare la componente pentasaccaridica del farmaco antitumorale PI-88 in soli tre stadi sintetici e a partire da tre building block saccaridici facilmente ottenibili dal D-mannosio con una quantità totale di promotore inferiore al 10% (sono stati costruiti ben quattro legami glicosidici). L'inclusione del $\text{Bi}(\text{OTf})_3$ nel sistema attivante ha permesso che le sequenze glicosidative one-pot andassero a completezza in tempi brevi ed alte rese. In alcuni esperimenti modello è stato mostrato che il gruppo uscente (N-fenil)trifluoroacetimidato può fungere da gruppo protettore transiente in stadi multiglicosidativi sequenziali. L'agevole accesso ad un importante target biologico stabilisce concettualmente una nuova strategia in cui l'attivazione catalitica di tutti gli stadi sintetici permette di superare importanti fattori delle correnti strategie quali l'uso di promotori stechiometrici costosi e sensibili e la produzione di grandi quantità di prodotti secondari (SCHEMA conclusivo).



SCHEMA CONCLUSIVO

Parte sperimentale

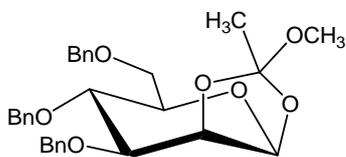
Metodi generali

Gli spettri ^1H NMR sono stati registrati su spettrometri Varian Gemini (200 MHz e 300 MHz) e Bruker (400 MHz). I chemical shifts degli spettri ^1H NMR in CDCl_3 sono stati misurati utilizzando TMS come standard interno. L'attribuzione dei segnali ^1H NMR è stata effettuata mediante esperimenti di disaccoppiamento.

Le cromatografie su strato sottile (TLC) sono state realizzate utilizzando lastre di gel di silice F254 (Merck); la presenza di prodotti saccaridici è stata rilevata mediante esposizione ad aerosol di una soluzione 95:5 etanolo/ H_2SO_4 conc e successiva carbonizzazione della lastra eluita. Le cromatografie su colonna sono state realizzate usando gel di silice 60 (Merck). Le reazioni di glicosidazione sono state realizzate in atmosfera inerte di argon, utilizzando solventi anidri (Fluka) e setacci molecolari 4 A AW 300 MS (Fluka), attivati a 200 °C sotto vuoto per 1-2 ore prima dell'impiego.

Gli spettri MALDI-MS sono stati registrati in modalità positiva: i composti sono stati solubilizzati in acetonitrile per così ottenere una soluzione a concentrazione 0.1 mg/mL ed 1 μL di queste soluzioni è stato sciolto in 1 μL di una soluzione (20 mg/mL) di acido 2,5-didrossibenzoico in $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ 7:3 o nel caso dei derivati (*N*-fenil)trifluoroacetimidato 1 μL di queste soluzioni è stato sciolto in 1 μL di una soluzione (10 mg/mL) di tridrossiacetofenone in $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ 1:1

Procedure Sperimentali



Sintesi di 6

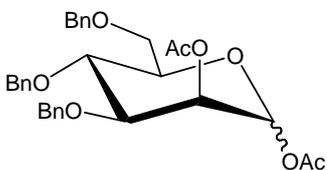
Il D-(+)-mannosio (2.684 g, 14.9 mmol) è stato sospeso in 7.2 mL (76.0 mmol) di anidride acetica sotto agitazione magnetica ed a temperatura ambiente.

Alla sospensione si sono aggiunti 265 mg di iodio (1.04 mmol) ed istantaneamente è avvenuta una variazione cromatica dal bianco al rosso. Dopo 5 minuti (TLC etere di petrolio/acetato d'etile 6:4) si è osservata la scomparsa del reagente di partenza. La soluzione è stata diluita con diclorometano e la fase organica è stata lavata con acqua in presenza di tiosolfato sodico; successivamente la fase organica è stata lavata con una soluzione acquosa satura di bicarbonato sodico, poi è stata anidrificata con solfato sodico e concentrata sotto vuoto per fornire un olio giallo contenente i due anomeri peracetilati. Il grezzo di peracetilazione è stato sciolto in 25 mL di diclorometano anidro ed alla soluzione sono stati aggiunti in sequenza 5.307 g (20.9 mmol) di iodio e 3.33 mL (20.9 mmol) di trietilsilano. La miscela è stata posta e tenuta a riflusso fino alla formazione quantitativa (meno di 5 minuti) del tetra-2,3,4,6-O-acetil- α -mannosil ioduro (monitorabile via TLC, etere di petrolio/acetato d'etile 6:4, per l'intenso assorbimento all' U.V. del prodotto). La miscela è stata portata a temperatura ambiente, successivamente a 0°C e sotto agitazione magnetica sono stati aggiunti cautamente, nell'ordine, 6.92 mL (59.6 mmol) di 2,6-lutidina, 3.8 mL (93.7 mmol) di metanolo anidro e 1.927 g (5.98 mmol) di tetra-butil ammonio bromuro (TBAB). La soluzione è stata allontanata dal bagno a ghiaccio, lasciata a temperatura ambiente e dopo 4 ore (TLC etere di petrolio/acetato d'etile 6:4) si è osservata la completa scomparsa dell' α -mannosil ioduro, quindi la miscela è stata concentrata sotto vuoto. Il grezzo contenente l'1,2-ortestere è stato sospeso in 35 mL di toluene anidro a cui sono stati aggiunti 19.6 g (349 mmol) di idrossido di potassio previamente sminuzzato e la miscela è stata portata a riflusso. Non appena si è osservato riflusso sono stati aggiunti 18 mL (152 mmol) di bromuro di benzile e dopo 2 ore (TLC etere di petrolio/acetato d'etile 7:3) si è osservata la scomparsa del reagente di partenza. Successivamente dopo che la sospensione toluenica è stata lavata una volta con acqua fino a

neutralità, la fase acquosa è stata estratta due volte con diclorometano, le fasi organiche sono state riunite, anidrificate con solfato sodico e concentrate sotto vuoto per fornire un liquido arancione. Il residuo ottenuto è stato cromatografato (flash) su colonna di gel di silice (eluente: miscela di etere di petrolio/acetato di etile con poche gocce di piridina) per fornire 3.895 g di ortoestere **17** (resa complessiva 53%).

6: ^1H NMR (CDCl_3 , 200 MHz) δ 7.50-7.10 (aromatici), 5.33 (1H, d, $J_{1,2} = 2.4$ Hz, H-1), 4.92-4.56 (6H, 3xAB, 3x $-\text{OCH}_2\text{Ph}$), 4.39 (1H, dd, $J_{2,3} = 3.8$ Hz, H-2), 3.93 (1H, t, $J = 9.2$ Hz, H-4), 3.82-3.62 (3H, m, H-3, H-6a, H-6b), 3.45-3.34 (1H, m, H-5), 3.28 (3H, s, $-\text{OCH}_3$), 1.74 (3H, s, $-\text{CH}_3$). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 50 MHz) δ 138.0, 137.7, 136.4 (C aromatici), 128.3, 128.2, 128.1, 127.8, 127.6, 127.3, 127.2, 126.7 (CH aromatici), 120.0 (C quaternario ortoestere), 97.4 (C-1), 78.8, 75.0, 74.0, 73.9, 73.1, 72.1, 68.8, 64.7, 49.5 ($-\text{OCH}_3$), 24.3 ($-\text{CH}_3$).

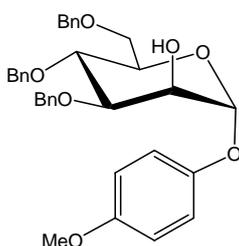
Sintesi di 7



Al derivato **6** (3.895 g, 7.9 mmol) sono stati aggiunti 20 mL di soluzione acido acetico/acqua 8:2 sotto agitazione magnetica ed a temperatura ambiente e dopo 30 minuti (TLC: etere di petrolio/acetato d'etile 6:4) si è osservata la scomparsa del reagente di partenza. La miscela è diluita con diclorometano lavata una volta con acqua e la fase acquosa è estratta una volta con diclorometano. Le fasi organiche sono state riunite, anidrificate con solfato sodico, e concentrate sotto vuoto per fornire un liquido arancione. Tutto il residuo della reazione di acetolisi è stato sciolto a temperatura ambiente in 5 mL di piridina ed alla soluzione sono stati aggiunti 2.5 mL di anidride acetica. Dopo meno di 3 ore (TLC etere di petrolio/acetato d'etile 6:4) si è osservata la completa scomparsa del reagente emiacetalico ed è stato poi aggiunto del metanolo per distruggere l'eccesso di anidride acetica. La miscela è stata diluita con diclorometano e lavata con acqua mentre la fase acquosa è stata estratta con diclorometano. Le fasi organiche sono state riunite, anidrificate con solfato sodico, concentrate sotto vuoto e codistillate più volte con toluene per fornire 3.960 g di **18** (resa 96% a partire da **17**, $\alpha:\beta$ ca 4:1).

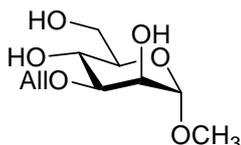
7 α : ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 7.50-7.00 (aromatici), 6.15 (1H, d, $J_{1,2} = 2.1$ Hz, H-1), 5.39 (1H, bd, H-2), 4.90-4.50 (6H, 3xAB, 3x $-\text{OCH}_2\text{Ph}$), 4.00 (1H, bd, H-3), 3.95-3.75 (3H, m, H-5, H-6a, H-6b), 3.72 (1H, t, $J = 9.3$ Hz, H-4), 2.17, 2.08 (6H, 2xs, 2x $-\text{COCH}_3$). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 50 MHz) δ 170.8, 170.0 (2x $-\text{COCH}_3$), 138.2, 137.9, 137.5 (C aromatici), 128.9-127.5 (CH aromatici), 91.1 (C-1), 75.2, 73.6, 73.5, 73.4, 71.8, 68.3, 67.4, 66.1, 20.4 ($-\text{COCH}_3$).

Sintesi di 3:



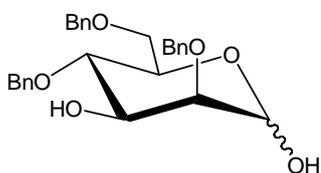
1.234 g (2.31 mmol) di **7** e 436 mg (3.51 mmol) di p-metossifenolo previamente sminuzzato sono stati codistillati con toluene anidro e poi sciolti in 7 mL di diclorometano anidro. Alla soluzione ottenuta, sotto agitazione magnetica ed a 0°C , sono stati aggiunti 75 μl (0.592 mmol) di trifluoruro di boro eterato, successivamente la miscela è stata allontanata dal bagno a ghiaccio e lasciata a temperatura ambiente. Dopo circa 3 ore (TLC etere di petrolio/acetato d'etile 7:3) si è osservata la scomparsa del reagente di partenza, quindi sono state aggiunte 6 gocce di piridina per disattivare il trifluoruro di boro. La miscela è stata concentrata sotto vuoto ed il grezzo cromatografato (flash) su colonna di gel di silice (eluente: etere di petrolio/acetato di etile 75:25) per fornire 1.169 g di un olio giallo contenente **19** a impuro di p-metossifenolo. Tale miscela è stata sciolta in 4 mL di metanolo anidro. Alla soluzione ottenuta, dopo che è stata posta in un bagno a ghiaccio, sono state aggiunte sotto agitazione magnetica alcune gocce di una soluzione 2 M di metossido di sodio in metanolo. La miscela è stata lasciata in agitazione a 0°C fino a quando non si è osservata la completa formazione di un prodotto più polare (TLC etere di petrolio/acetato d'etile 7:3). Al fine di rimuovere il p-metossifenolo la soluzione è stata diluita con diclorometano e lavata una volta con una soluzione 0.1 M di idrossido di potassio, e successivamente la fase acquosa è stata estratta con diclorometano e le fasi organiche riunite, anidificate con solfato sodico e concentrate sotto vuoto. Il residuo proveniente dalla fase estrattiva è stata filtrata (flash) su una corta colonna di gel di silice (eluente: etere di petrolio/acetone 6:4) per fornire 556 mg di **4** (olio giallo, resa del 43 % sui due stadi).

4: ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 7.44-6.70 (aromatici), 5.50 (1H, d, $J_{1,2} = 1.8$ Hz, H-1), 4.84-4.40 (6H, 3xAB, 3x $-\text{OCH}_2\text{Ph}$), 4.19 (1H, bd, H-2), 4.06 (1H, dd, $J_{2,3} = 3.3$ Hz, H-3), 3.94 (1H, t, $J = 9.9$ Hz, H-4), 3.91-3.84 (1H, m, H-5), 3.74 (1H, dd, $J_{5,6a} = 4.2$ Hz, H-6a), 3.73 (3H, s, $-\text{OCH}_3$), 3.63 (1H, dd, $J_{5,6b} = 1.5$ Hz, $J_{6a,6b} = 10.8$ Hz, H-6b), 2.55 (1H, d, $J_{2,\text{OH}} = 2.4$ Hz, 2-OH).



Methyl 3-O-allyl- α -D-mannopyranoside (10). Il Metil α -mannopiranoside (3.118 g, 16.1 mmol) e il Bu_2SnO (4.402 g, 17.7 mmol) sono stati tenuti a riflusso in MeOH (80 mL) for 2 hours. La soluzione ottenuta è stata concentrata sotto argon. Il residuo così ottenuto è stato sospeso in toluene (100 mL), e sono stati aggiunti sequenzialmente allil bromuro (14.0 mL, 165 mmol) e TBAI (5.94 g, 16.1 mmol). La miscela è stata tenuta sotto agitazione a 65-70 °C per 20 ore e poi portata a secco. Il prodotto è stato purificato con una flash cromatografia su colonna di gel di silice (eluente: acetato di etile/etere di petrolio da 7:3 a 8:2) ha fornito **10** lievemente contaminato con Sali di tetrabutylammonio (resa del 65-70 % stimata sulla base di integrazioni NMR). Il prodotto è stato direttamente sottoposto allo stadio successivo. ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): $\delta = 6.05$ -5.85 (1H, m, $-\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.29 (1H, dq, $J = 1.4$ and 18.8 Hz, $-\text{CH}=\text{CH}_{\text{cis}}\text{H}_{\text{trans}}$), 5.17 (1H, bd, $J = 10.4$ Hz, $-\text{CH}=\text{CH}_{\text{cis}}\text{H}_{\text{trans}}$), 4.73 (1H, bs, H-1), 4.25-3.70 (6H), 3.65-3.40 (2H), 3.31 (3H, s, $-\text{OCH}_3$).

Sintesi di 13



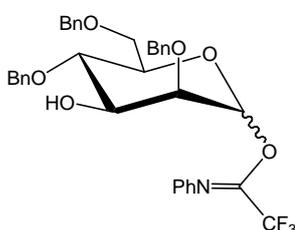
1.108 g (2.09 mmol) di **12** sono stati sciolti in 6 mL di metanolo a temperatura ambiente e sotto agitazione magnetica e successivamente alla soluzione sono stati aggiunti 38 mg (0.214 mmol) di dicloruro di palladio. Dopo una notte, (TLC etere di petrolio/acetone 75:25) si è osservato il completo consumo del reagente di partenza ma al tempo stesso la formazione di due prodotti principali di differente polarità, uno avente $R_f = 0.4$ ed un altro avente $R_f = 0.2$. La miscela di reazione è stata concentrata sotto vuoto poi, al fine di rimuovere le impurezze di palladio, è stata filtrata (flash) su una corta colonna di gel di silice (eluente: diclorometano/metanolo/acetone 85:10:5) per ottenere un

residuo che è stato cromatografato (flash) su colonna di gel di silice (eluente: miscele di etere di petrolio/acetato d'etile) per fornire 387 mg del derivato 3-O-mono-deallilato (resa 38 %, $R_f = 0.4$) e 496 mg di **8** (resa 53 %, $R_f = 0.2$). Il derivato mono-de-O-allilato è stato risottoposto ad analogo trattamento per fornire **8** in resa combinata del 79 %.

Allil 2,4,6-tri-O-benzil-O-mannopiranoside: $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ 7.50-7.10 (15H, aromatici), 6.00-5.80 (1H, m, $-\text{OCH}_2-\underline{\text{CH}}=\text{CH}_2$), 5.27 (1H, dd, $J_{\text{trans}} = 17.1$ Hz, $J_{\text{gem}} = 1.5$ Hz, $-\text{OCH}_2-\text{CH}=\text{CH}_{\text{cis}}\underline{\text{H}}_{\text{trans}}$), 5.18 (1H, dd, $J_{\text{cis}} = 9$ Hz, $J_{\text{gem}} = 1.5$ Hz, $-\text{OCH}_2-\text{CH}=\text{CH}_{\text{cis}}\underline{\text{H}}_{\text{trans}}$), 5.01 (1H, s, H-1), 4.89-4.52 (6H, 3xAB, 3x $-\text{OCH}_2\text{Ph}$), 4.25-4.18 (1H, m, $-\text{OCH}_a\underline{\text{H}}_b-\text{CH}=\text{CH}_2$), 4.08-3.94 (2H, m, H-3, $-\text{OCH}_a\underline{\text{H}}_b-\text{CH}=\text{CH}_2$), 3.85-3.68 (5H, m, H-2, H-4, H-5, H-6a, H-6b).

8: $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ 7.5-7.10 (15H, aromatici), 5.31 (1H, s, H-1), 4.89-4.51 (6H, 3xAB, 3x $-\text{OCH}_2\text{Ph}$), 4.10-4.00 (2H, m, H-3, H-5), 3.84-3.64 (3H, m, H-2, H-6a, H-6b), 3.60 (1H, t, H-4). $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 75 MHz) 138.2, 137.8 (x2) (C aromatici), 128.4-127.6 (CH aromatici), 91.4 (C-1), 78.6, 74.6, 73.3, 72.7, 71.2, 70.5, 69.5 (C-6).

Sintesi di 5

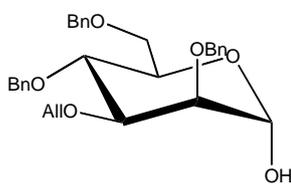


399 mg (0.886 mmol) di **13** sono stati sciolti in 3 mL di acetone sotto agitazione magnetica ed a temperatura ambiente. Dopo che la soluzione è stata raffreddata a 0°C , sono stati aggiunti 324 mg (0.994 mmol) di carbonato di cesio e 221 μL (1.77 mmol) di *N*-fenil-2,2,2-trifluoroacetoimmidoil cloruro. Successivamente la miscela è stata portata a temperatura ambiente e dopo 2 ore (TLC: etere di petrolio/acetato d'etile 8:2) si è osservato il completo consumo dell'emiacetale **13**. La miscela è stata concentrata ed il residuo ottenuto è stato cromatografato (flash) su colonna di allumina neutra

(eluente: miscele di etere di petrolio/acetato di etile contenenti poche gocce di piridina) per fornire **5** (olio giallo, 492 mg, resa 89 %, α/β circa 4:1).

11 α : ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 7.50-6.81 (aromatici), 6.42 (1H, bs, H-1), 4.92-4.56 (6H, 3xAB, 3x $-\text{OCH}_2\text{Ph}$), 4.08 (1H, m, H-3), 4.03-3.77 (5H, m, H-2, H-4, H-5, H-6a e H-6b), 2.75 (1H, d, $J_{3,\text{OH}} = 8.4$ Hz, 3-OH). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) δ 143.3, 142.6, 138.0, 137.0 (C aromatici), 128.7-127.7, 127.4, 124.3, 119.3 (CH aromatici), 94.5 (C-1), 75.9, 75.5, 74.9, 73.8, 73.3, 72.7, 71.1, 68.5 (C-6).

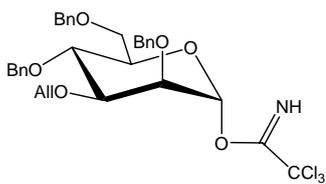
Sintesi di **12**



1.125 g (2.12 mmol) di **11** sono stati solubilizzati a temperatura ambiente in 13.5 mL di una soluzione acido acetico/acido solforico 1 N 7:1. Sotto agitazione magnetica, la miscela è stata posta a riflusso e dopo 30' (TLC etere di petrolio/acetato d'etile 7:3) è stata osservata la formazione di un prodotto più polare rispetto al substrato **11**. La miscela è stata portata a temperatura ambiente e successivamente diluita con diclorometano e lavata con acqua. La fase acquosa è stata ri-estratta con diclorometano e le due fasi organiche sono state riunite e lavate fino a neutralità con carbonato di sodio acquoso. La fase organica è stata anidrificata con solfato sodico e concentrata sotto vuoto per fornire un olio giallo. Il residuo ottenuto è stato cromatografato (flash) su colonna di gel di silice (eluente: miscele di etere di petrolio/acetato di etile) per fornire 430 mg di **11** e 500 mg di **12** (resa 48 %, conversione 78 %).

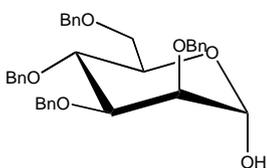
12: ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 7.50-7.10 (aromatici), 6.03-5.90 (1H, m, $-\text{OCH}_2-\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.35 (1H, dd, $J_{\text{trans}} = 17.4$ Hz, $J_{\text{gem}} = 1.5$ Hz, $-\text{OCH}_2-\text{CH}=\text{CH}_{\text{cis}}\text{H}_{\text{trans}}$), 5.25 (1H, bs, H-1), 5.19 (1H, dd, $J_{\text{cis}} = 10.5$ Hz, $J_{\text{gem}} = 1.5$ Hz, $-\text{OCH}_2-\text{CH}=\text{CH}_{\text{cis}}\text{H}_{\text{trans}}$), 4.94-4.43 (6H, 3xAB, 3x $-\text{OCH}_2\text{Ph}$), 4.19-4.03 (3H, m, H-5 e 2x $-\text{OCH}_2-\text{CH}=\text{CH}_2$), 3.89 (1H, dd, $J_{2,3} = 2.7$ Hz, H-3), 3.83 (1H, t, $J = 9.0$ Hz, H-4), 3.77 (1H, dd, $J_{1,2} = 1.8$ Hz, H-2), 3.76-3.64 (2H, m, H-6a e H-6b). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) δ 138.3(3), 138.3(0), 137.7 (C aromatici), 134.8 ($-\text{OCH}_2-\text{CH}=\text{CH}_2$), 128.1-127.4 (CH aromatici), 116.4 ($-\text{OCH}_2-\text{CH}=\text{CH}_2$), 92.4 (C-1), 79.3, 75.0, 74.8 (x2), 73.0, 72.3, 70.9, 70.7, 69.4.

Sintesi di 4



L'emiacetale **12** (488 mg, 0.995 mmol) è stato sciolto in diclorometano anidro (4 mL) a temperatura ambiente e sotto agitazione magnetica, poi alla soluzione sono stati aggiunti 400 μ L (3.98 mmol) di tricloroacetoneitrile e dopo che la miscela è stata portata a 0°C sono stati aggiunti 5 mg (0.34 mmol) di idruro sodico (sospensione al 60% in olio). La soluzione è stata subito portata a temperatura ambiente e dopo circa 35 minuti (TLC etere di petrolio/acetato d'etile 8:2) si è osservato il completo consumo dell'emiacetale **12**. La miscela è stata poi concentrata ed il residuo cromatografato (flash) su colonna di allumina neutra (eluente: miscela di etere di petrolio/acetato di etile, 2 gocce di piridina per 100 mL di eluente) per fornire **4** (olio giallo, 612 mg, resa 86 %).

4: ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 7.50-7.20 (aromatici), 6.51 (1H, s, H-1), 6.04-5.91 (1H, m, OCH₂-CH=CH₂), 5.37 (1H, dd, $J_{\text{trans}} = 17.4$ Hz, $J_{\text{gem}} = 1.2$ Hz, -OCH₂-CH=CH_{cis}H_{trans}), 5.24 (1H, dd, $J_{\text{cis}} = 10.5$ Hz, $J_{\text{gem}} = 1.2$ Hz, -OCH₂-CH=CH_{cis}H_{trans}), 4.99-4.57 (6H, 3xAB, 3x -OCH₂Ph), 4.23 (1H, t, $J = 9.6$ Hz, H-4), 4.19-4.07 (3H, m, H-5 e 2x -OCH₂-CH=CH₂), 4.05 (1H, dd, $J_{1,2} = 1.8$ Hz, H-2), 3.97 (1H, dd, $J_{2,3} = 3.0$ Hz, H-3), 3.91 (1H, dd, $J_{5,6a} = 4.5$ Hz, $J_{6a,6b} = 11.4$ Hz, H-6a), 3.81 (1H, m, H-6b). ¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ 160.0 (-C=NH), 138.0 (x2), 137.6 (C aromatici), 134.4 (-OCH₂-CH=CH₂), 128.1-127.1 (CH aromatici), 116.8 (-OCH₂-CH=CH₂), 95.8 (C-1), 90.7 (-CCl₃), 78.7, 74.9, 74.5, 73.7, 73.0 (x2), 72.3, 70.8, 68.4.



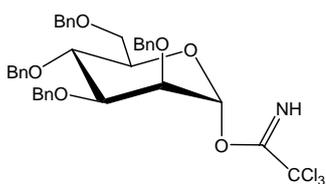
Sintesi del precursore di 14

1.570 g (2.83 mmol) di metil 2,3,4,6-tetra-O-benzil- α -D-mannopiranoside sono stati solubilizzati a temperatura ambiente in 19 mL di una soluzione acido acetico/acido solforico 1 N 7:1. Sotto agitazione magnetica, la miscela è stata posta a riflusso e dopo 2 ore (TLC etere di petrolio/acetato d'etile 7:3) è stata osservata la completa scomparsa del reagente di partenza. La miscela è stata portata a temperatura ambiente e successivamente diluita con diclorometano e lavata con acqua. La fase acquosa è stata ri-estratta con diclorometano e le due fasi organiche sono state

riunite. La fase organica risultante è stata lavata fino a neutralità con carbonato sodico acquoso, e quindi anidrificata con solfato sodico e concentrata sotto vuoto per fornire un olio giallo che è stato cromatografato (flash) su colonna di gel di silice (eluente: miscela di etere di petrolio/acetato di etile) per fornire 882 mg di **emiacetale del mannosio perbenzilato** (resa del 58 %).

E: $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ 7.50-7.10 (aromatici), 5.25 (1H, bs, H-1), 4.90-4.48 (8H, 4xAB, 4x $-\text{OCH}_2\text{Ph}$), 4.08-3.99 (1H, m, H-5), 3.96 (1H, dd, $J_{2,3} = 3.3$ Hz, H-3), 3.86 (1H, t, $J = 9.6$ Hz, H-4), 3.80 (1H, dd, $J_{1,2} = 2.1$ Hz, H-2), 3.78-3.60 (2H, m, H-6a, H-6b), 3.18 (1H, d, $J_{1,\text{OH}} = 3.6$ Hz, 1-OH).

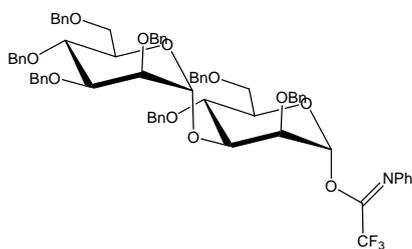
Sintesi di 14



L'emiacetale **E** (882 mg, 1.63 mmol) è stato sciolto in 6 mL di diclorometano anidro, a temperatura ambiente e sotto agitazione magnetica, poi alla soluzione sono stati aggiunti 655 μL (6.5 mmol) di trichloroacetoneitrile e dopo che la miscela è stata portata a 0°C sono stati aggiunti 12 mg (0.50 mmol) di idruro sodico (sospensione al 60% in olio). La soluzione è stata subito portata a temperatura ambiente e dopo 40 minuti (TLC etere di petrolio/acetato d'etile 7:3) si è osservato il completo consumo dell'emiacetale. La miscela è stata poi concentrata ed il residuo cromatografato (flash) su colonna di allumina neutra (eluente: etere di petrolio/acetato di etile 8:2, 2 gocce di piridina per 100 mL di eluente) per fornire **14** (olio giallo, 955 mg, resa 86 %, $\alpha:\beta = 7.7:1$).

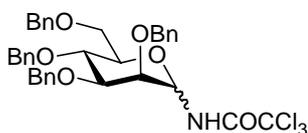
14 α : $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ 8.50 (1H, s, -NH), 7.50-7.10 (aromatici), 6.36 (1H, d, $J_{1,2} = 2.1$ Hz, H-1), 4.91-4.50 (8H, 4xAB, 4x $-\text{OCH}_2\text{Ph}$), 4.15 (1H, t, $J = 9.3$ Hz, H-4), 4.00-3.95 (1H, m, H-5), 3.93 (1H, dd, $J_{2,3} = 3.0$ Hz, H-3), 3.86 (1H, dd, H-2), 3.85-3.69 (2H, m, H-6a, H-6b)

Sintesi di 15



Il glicosil donatore **14** (26 mg, 0.038 mmol) ed il donatore parzialmente protetto **5** (17 mg, 0.027 mmol) sono stati codistillati con toluene anidro per tre volte. Alla miscela secca sono stati aggiunti, sotto argon, setacci molecolari AW 300 MS attivati. I due derivati sono stati poi disciolti in 4:1 toluene/etere etilico (1 mL). La miscela è stata portata a -10 °C ed è stato aggiunto il Yb(OTf)₃ sciolto in diossano (soluzione di 20 mg/mL, 25 µL, 8.1 µmol). La miscela è stata tenuta sotto agitazione fino a quando la TLC (eluente: toluene/acetato d'etile 9:1) non ha mostrato il completo consumo del donatore parzialmente protetto **5** (circa 30 minuti). Dopo l'aggiunta di qualche goccia di piridina la miscela è stata filtrata (flash) su una corta colonna di allumina neutra (eluente: acetato d'etile con poche gocce di piridina) per ottenere un residuo organico che è stato cromatografato (flash) su colonna di allumina neutra (eluente: etere di petrolio/acetato d'etile 85:15, 3 gocce di piridina per 100 mL di eluente). La colonna ha anche permesso di isolare il prodotto di riarrangiamento **16**.

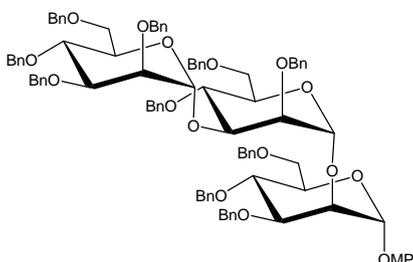
15α: ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 7.60-6.75 (aromatici), 6.25 (1H, bs, H-1), 5.25 (1H, s, H-1'), 4.90-4.46 (14H, 7xAB, 7x -OCH₂Ph), 4.15 (1H, dd, H-3), 3.94 (1H, d, J_{2,3} = 3.3 Hz, H-2), 3.77 (1H, bd, H-2'), 4.20-3.60 (9H, m). ¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ 143.4, 142.5, 138.7, 138.4, 138.2, 138.1, 138.0, 137.5 (C aromatici), 129.3-119.4 (CH aromatici), 100.1 (C-1'), 94.7 (C-1), 79.7, 75.8, 75.5, 74.9, 74.7, 74.5, 74.1, 73.3(9) (x2), 73.3(8) (x2), 72.7, 72.4, 72.2 (x2), 69.3, 68.6. [M + Na]⁺ 1166.7008 trovato, [M + Na]⁺ 1166.4597 calcolato.



16β: ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 7.57 (1H, d, J_{NH,1} = 7.8 Hz, -NHCOCF₃), 7.50-7.00 (aromatici), 5.17 (1H, dd, J_{1,2} = 1.2 Hz, H-1), 5.10-4.40 (8H, 4xAB, 4x -OCH₂Ph), 4.05 (1H, t, J = 9.0 Hz, H-4), 3.93-3.70 (2H, m, H-6a e H-6b), 3.94

(1H, dd, H-2), 3.75 (1H, dd, $J_{2,3} = 3.0$ Hz, H-3) 3.60-3.53 (1H, m, H-5). $[M + Na]^+$ 707.4358 trovato, $[M + Na]^+$ 706.1497 calcolato.

Sintesi di 17



Il glicosil donatore **15 α** (25 mg, 0.022 mmol) e l'acceptore **5** (9 mg, 0.017 mmol) sono stati codistillati con toluene anidro per tre volte. Alla miscela secca sono stati aggiunti, sotto argon, setacci molecolari AW 300 MS attivati. I due derivati sono stati poi disciolti in 4:1 toluene/etere etilico (0.7 mL). La miscela è stata portata a -60 °C ed è stato aggiunto il $\text{Bi}(\text{OTf})_3$ sciolto in diossano (soluzione di 20 mg/mL, 17 μL , 0.5 μmol). La miscela è stata tenuta 20 minuti a -60 °C e quindi la temperatura è stata lasciata salire spontaneamente fino a -20 °C. Dopo 1 ora e mezza complessiva la reazione è stata bloccata con qualche goccia di piridina. La miscela è stata purificata tramite flash cromatografia (eluente etere di petrolio/acetato di etile da 8:2 a 7:3) per fornire il trisaccaride **17** puro (22 mg, resa 84 %).

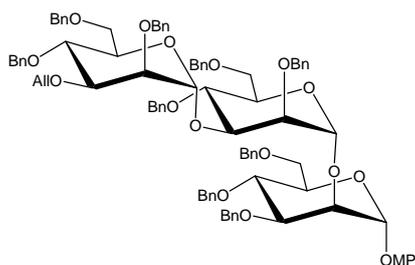
17: ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 7.50-6.60 (aromatici), 5.56 (1H, bs, H-1), 5.25-5.20 (2H, m, H-1' e H-1''), 4.90-4.30 (20H, 10xAB, 10x $-\text{OCH}_2\text{Ph}$), 3.72 (3H, s, $-\text{OCH}_3$).

^{13}C NMR (CDCl_3 , 50 MHz) δ 154.8, 150.1 (C aromatici ossigenati), 138.8-138.1 (C aromatici benzilici), 128.2-127.0 (CH aromatici non ossigenati), 117.9, 114.4 (CH aromatici p-metossifenolo), 99.8 e 99.2 (C-1' e C-1''), 98.0 (C-1), 80.0, 79.6, 75.4, 75.0, 74.7, 74.1, 73.1, 72.4, 72.1, 72.0, 69.2, 68.9, e 55.5 ($-\text{OCH}_3$). $[M + Na]^+$ 1533.5585 trovato, $[M + Na]^+$ 1533.6697 calcolato.

Sintesi one-pot del trisaccaride 19 e del pentasaccaride 21: procedura a doppio promotore

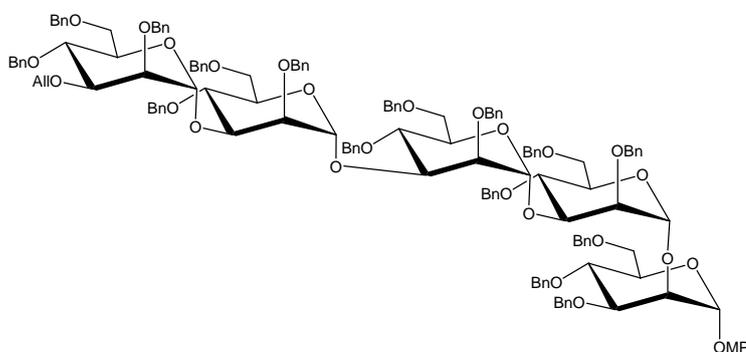
Il glicosil donatore **4** (45 mg, 0.070 mmol) ed il donatore parzialmente protetto **5** (31 mg, 0.050 mmol) sono stati codistillati con toluene anidro per tre volte. Alla miscela secca sono stati aggiunti, sotto argon, setacci molecolari AW 300 MS attivati. I due derivati sono stati poi disciolti in 4:1 toluene/etere etilico (1.2 mL).

La miscela è stata portata a -10°C ed è stato aggiunto il $\text{Yb}(\text{OTf})_3$ sciolto in diossano (20 mg/mL, 46 μL , 1.5 μmol). La miscela è stata tenuta sotto agitazione per 30' avendo monitorato via TLC (eluente toluene/acetato d'etile 9:1) il completo consumo del donatore parzialmente protetto **5**. Successivamente la temperatura è stata abbassata a -60°C ed è stata aggiunta alla miscela una soluzione di glicosil accettore (**3** o **20**) (0.04 mmol) in toluene/etere etilico (0.5 mL). Subito dopo aver aggiunto l'accettore terminale, al sistema di reazione è stato aggiunto il $\text{Bi}(\text{OTf})_3$ sciolto in diossano (20 mg/mL, 50 μL , 1.5 μmol). Dopo 10' a -60°C , l'analisi TLC (eluente: etere di petrolio/acetato d'etile 3:1) mostra la formazione di un prodotto avente polarità intermedia tra il disaccaride generato in situ ed il glicosil accettore terminale. La temperatura è stata quindi lasciata salire spontaneamente per garantire che la reazione vada a completezza. Quando la temperatura arriva a 0°C (dopo 2-2.5 ore complessive) si è aggiunta qualche goccia di piridina, e la miscela è stata filtrata su una corta colonna di gel di silice (eluente: diclorometano/metanolo/acetonitrile 85:10:5) per ottenere un residuo che è stato cromatografato (flash) su colonna di gel di silice (eluente: miscele di etere di petrolio/acetato d'etile).



19: ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ 7.50-7.10 (aromatici benzile), 7.10 e 6.93 (4H, 2xd, $J = 9.2$ Hz, aromatici metossifenile), 5.80-5.95 (1H, m, $\text{OCH}_2\text{-CH}=\text{CH}_2$), 5.58 (1H, d, $J = 1.6$ Hz, H-1), 5.26 (1H, dd, $J_{\text{trans}} = 16.8$ Hz, $J_{\text{gem}} = 1.2$ Hz, $-\text{OCH}_2\text{-CH}=\text{CH}_{\text{cis}}\text{H}_{\text{trans}}$), 5.24 (2H, 2xd sovrapposti, $J = 2.0$ Hz, H-1' e H-1''), 5.26 (1H, dd, $J_{\text{cis}} = 10.4$ Hz, $-\text{OCH}_2\text{-CH}=\text{CH}_{\text{cis}}\text{H}_{\text{trans}}$), 4.90-4.30 (18 H, 9 x AB, 9x $-\text{OCH}_2\text{Ph}$), 4.27 (1H, t, H-2), 4.23 (1H, dd, $J = 3.2$ Hz, 8.4 Hz, H-3' o H-3''), 4.15-4.10 (2H, m), 3.74 (3H, s, $-\text{OCH}_3$), 4.15-3.65 (16 H, m), 3.56 (1H, bd, $J = 9.6$ Hz, H-6). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) δ 154.9, 150.1 (C aromatici ossigenati), 138.9-138.1 (C aromatici benzilici), 135.0 ($-\text{OCH}_2\text{-CH}=\text{CH}_2$), 128.3-127.0 (CH aromatici non ossigenati), 116.4 ($-\text{OCH}_2\text{-CH}=\text{CH}_2$), 118.0 e 114.5 (CH aromatici p-metossifenile), 99.5 (bs, C-1' e C-1''), 98.0 (C-1), 79.7, 79.6, 75.3, 75.2, 75.1, 74.8, 74.6,

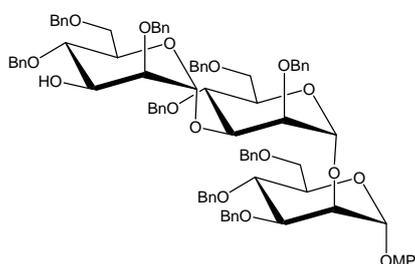
73.2, 73.1, 71.0, 69.2, 68.8, 55.6 (-OCH₃). [M + Na]⁺ 1483.8508 trovato, [M + Na]⁺ 1483.6497 calcolato.



21: ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) segnali significativi a δ 7.50-7.10 (aromatici benzile), 6.98 e 6.72 (4H, 2xd, J = 9.2 Hz, aromatici metossifenile), 5.95-5.75 (1H, m, OCH₂-CH=CH₂),

5.58 (1H, d, J = 1.6 Hz, H-1), 5.29 (1H, bs, anomero), 5.28 (2H, 2xd, J = 1.6 Hz, anomerici), 5.24 (1H, d, J = 1.6 Hz, anomero), 5.22 (1H, dd, J_{trans} = 17.2 Hz, J_{gem} = 1.6 Hz, -OCH₂-CH=CH_{cis}H_{trans}), 5.07 (1H, dd, J_{cis} = 10.2 Hz, -OCH₂-CH=CH_{cis}H_{trans}), 3.72 (3H, s, -OCH₃). ¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) segnali significativi a δ 154.9, 150.2 (C aromatici ossigenati), 135.0 (-OCH₂-CH=CH₂), 116.5 (-OCH₂-CH=CH₂), 118.0 e 114.5 (CH aromatici p-metossifenile), 100.1 (x2), 99.6, 99.4 (C-1', C-1'', C-1''', C-1'''), 98.0 (C-1), 55.6 (-OCH₃). [M + Na]⁺ 2346.9723 trovato, [M + Na]⁺ 2348.0397 calcolato.

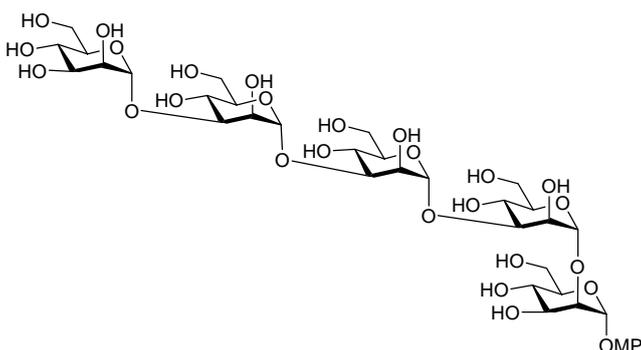
Sintesi di 20



Il trisaccaride deprotetto **20** è stato ottenuto da **19** con la stessa procedura di de-allilazione precedentemente descritta per la sintesi di **12**. La miscela è stata filtrata dopo 4 ore per fornire un residuo cromatografato su gel di silice (flash) eluita con etere di petrolio 8:2 (resa 89%).

20: ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 7.50-7.10 (aromatici benzile), 7.05 e 6.79 (4H, 2xd, J = 9.3 Hz, aromatici metossifenile), 5.66 (1H, d, J = 1.6 Hz, H-1), 5.33 (1H, bs, H-1'), 5.29 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-1''), 4.90-4.35 (18 H, 9 x AB, 9x -OCH₂Ph), 4.32 (1H, t, H-2), 4.23 (1H, dd, J = 3.2 Hz, 8.4 Hz, H-3' o H-3''), 4.20-4.15 (2H, m), 3.80 (3H, s, -

OCH₃), 4.10-3.65 (14 H, m), 3.58 (1H, bd, J = 10.6 Hz, H-6). ¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ 154.9, 150.2 (C aromatici ossigenati), 138.8-137.8 (C aromatici benzilici), 128.5-127.0 (CH aromatici non ossigenati), 118.0 e 114.5 (CH aromatici p-metossifenile), 99.6, 98.5, 98.0 (C-1, C-1' e C-1''), 79.6, 78.8, 75.1, 74.8, 74.5, 73.2, 73.1, 72.4, 72.3, 72.0, 71.7, 69.3, 68.8, 55.6 (-OCH₃).



Sintesi di (1). Ad una soluzione del pentasaccaride **21** (37 mg, 0.014 mmol) in MeOH/DCM 9:1 (3 mL) è stato aggiunto PdCl₂ (2 mg, 0.011 mmol). La miscela è stata agita per un'ora, concentrata sotto vuoto, risospesa in DCM/MeOH 95:5, filtrata attraverso un sottile strato di gel di

silice e concentrata. Il prodotto è stato sciolto in svariate aliquote di metanolo/acido formico 9:1 (volume totale 4 ml) ed aggiunto sotto argon a carbone palladiato (10 %, 50 mg) previamente bagnato con la stessa soluzione. La miscela è stata sonicata per due ore e filtrata su un sottile strato di celite e concentrata sotto vuoto. Il prodotto è stato eluito con acqua e metanolo su un sottile strato di resina a scambio ionico su letto misto ed è stato ottenuto il pentasaccaride **1** come solido bianco amorfo (9 mg, 70% su due stadi). [α]_D²⁵ + 43.3° (c 0.6, H₂O). ¹H NMR (D₂O, 400 MHz) δ = 7.08 e 6.93 (4H, 2 x d, J_{ortho} = 10.2 Hz, protoni del *p*-methoxyphenyl), 5.71 (1H, d, J_{1,2} = 1.6 Hz, H-1), 5.09 (2H, bs, 2 x protoni anomeric), 5.07 (1H, d, J_{1,2} = 1.2 Hz, protone anomeric), 5.01 (1H, d, J_{1,2} = 1.8 Hz, protone anomeric), 4.21 (1H, dd, J = 1.8 e 3.0 Hz), 4.18-4.16 (2H), 4.13 (1H, dd, J = 1.8 e 3.4 Hz, H-2), 4.08 (1H, dd, J = 3.0 e 8.8 Hz), 4.03-4.01 (2H), 3.98 (1H, m), 3.96 (1H, m), 3.76 (3H, s, -OCH₃), 3.92-3.60 (21H). ¹³C NMR (D₂O, 50 MHz) 155.9, 151.0, 120.1, 116.3, 103.6 (x2), 103.5, 103.4, 99.1, 80.3, 80.2, 79.3, 74.8, 74.7, 74.6, 71.6, 71.3, 70.9, 68.1, 68.0, 67.5, 67.4, 62.3, 61.9, 57.0. MALDI-MS: [M + Na]⁺ calcolato 957.31, trovato 957.45. Anal. Calcolato per C₃₇H₅₈O₂₇: C, 47.54, H, 6.25. trovato: C, 47.38; H, 6.30.

Capitolo VII

Deprotezione regioselettiva in posizione 4 di esosi perbenzilati.

Introduzione

La disponibilità di efficienti strategie di introduzione e rimozione di gruppi protettori è un prerequisito per un valido sviluppo della sintesi dei carboidrati e uno degli obiettivi più importanti è l'accesso a rapido a mono-ed oligosaccaridi protetti selettivamente. Il gruppo protettore maggiormente utilizzato per i gruppi ossidrilici è probabilmente l'etere benzilico, data la sua stabilità in molte condizioni di reazione e la sua facile rimozione per idrogenolisi catalitica. Al contrario, i metil eteri sono generalmente utilizzati come gruppi protettori permanenti date le drastiche condizioni richieste per la loro rimozione. Per tale ragione sono state descritte, nel corso degli anni, numerose reazioni di de-O-benzilazione.²¹⁴ Una strada ancora poco sviluppata è relativa all'ottenimento di zuccheri parzialmente de-O-benzilati a partire da precursori perbenzilati. Risultati di questo tipo sono stati ottenuti in processi quali l'idrogenolisi catalitica,²¹⁵ la scissione catalitica per trasferimento di idrogeno,²¹⁶ l'acetolisi,²¹⁷ la

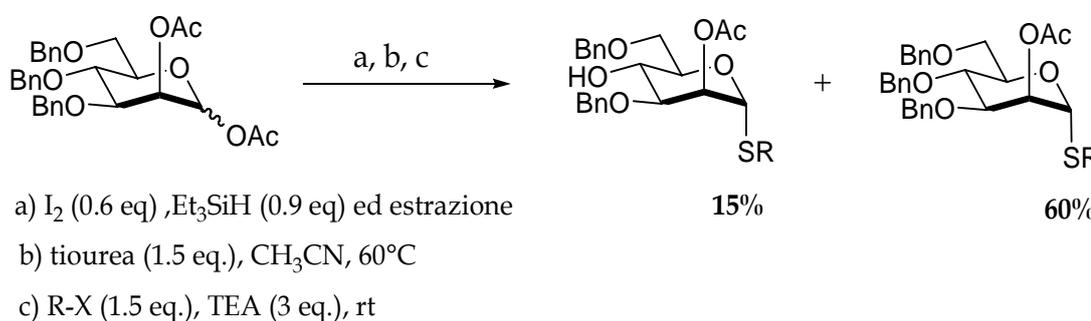
²¹⁴ T.W. Greene, P.G.M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3rd ed. Wiley, New York, 1999, Chapter 2.

²¹⁵ D.Beaupère, I. Boutbaiba, A. Wadouachi, C. Frechou, G. Demailli, R. Uzan, *New J. Chem.* **1992**, *16*, 405-411.

²¹⁶ M.C. Cruzado, M. Martin Lomas, *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 2497-2500.

frammentazione con ipiodito,²¹⁸ le sequenze di addizione-eliminazione mediate da iodio,²¹⁹ o l'uso di acidi di Lewis come tetracloruro di stagno o di titanio,²²⁰ o una combinazione di dicloruro di cromo e ioduro di litio.²²¹

Nel corso della sperimentazione della reattività di monosaccaridi 1,2-*O*-acetilati-3,4,6-*O*-benzilati, nelle condizioni di reazione messe a punto per la sintesi di alchil tioglicosidi a partire da precursori 1,6-*O*-acetilati-2,3,4-*O*-benzilati (vedi capitolo III), è stato isolato, come prodotto secondario, uno zucchero de-*O*-benzilato in posizione 4 (SCHEMA 1).²²²



SCHEMA 1: Sintesi di un tioglicoside 3,4,6-*O*-benzilato, 2-*O*-acetilato.

Verosimilmente questa reazione secondaria è decorsa nelle condizioni di iodurazione e ciò ha suggerito la sperimentazione della reattività di esosi tetrabenzilati in presenza di iodio e trietilsilano. L'ottenimento di uno zucchero 4-*O*-libero in alta resa avrebbe costituito un risultato senza precedenti in quanto nei lavori di de-*O*-benzilazione regioselectiva le posizioni che vengono selettivamente deprotette sono altre. Nel capitolo V, SCHEMA 3, è stata descritta la procedura sintetica perseguita per ottenere un mannosio 2,3,6-*O*-benzilato 4-libero (SCHEMA 2).

²¹⁷ A) R. Allerton, H.G. Fletcher Jr. *J. Am. Chem. Soc.* **1954**, *76*, 1757-1760; b) R. Eby, S.J. Sondheimer, C. Schuerch, *Carbohydr. Res.* **1979**, *73*, 273-276; c) J.I. Sakay, T. Takeda, Y. Ogihara, *Carbohydr. Res.* **1981**, *95*, 125-131; d) P. Angibeaud, J.P. Utile, *Synthesis* **1991**, 737-738; e) G. Yang, X. Ding, F. Kong, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 6725-6728.

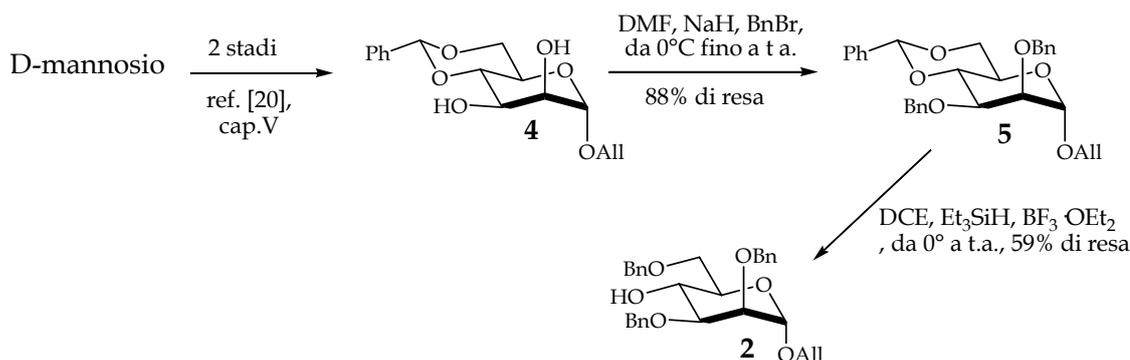
²¹⁸ J. Madsen, C. viuf, M. Bols, *Chem. Eur. J.* **2000**, *6*, 1140-1146.

²¹⁹ a) L. Cipolla, L. Lay, F. Nicotra, *Carbohydr. Lett.* **1996**, *2*, 131-135; b) L. Cipolla, L. Lay, F. Nicotra, *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 6678-6681;

²²⁰ H. Hori, Y. Nishida, H. Ohru, H. Meguro, *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 1346-1353; O.R. Martin, K. G. Kurz, S.P. Rao, *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 2922-2925.

²²¹ J.R. Falck, D.K. Barma, S.K. Venkataraman, R. Baati, C. Mioskowski, *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 963-966.

²²² Risultati non pubblicati.

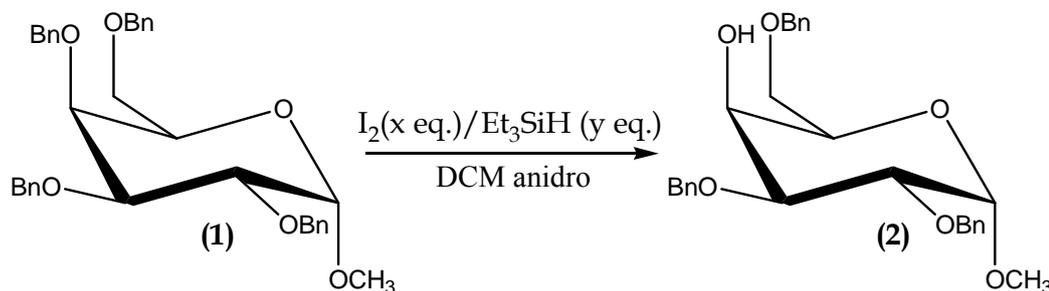


SCHEMA 2: Sintesi di un allilmannoside 2,3,6-*O*-benzilato libero sulla posizione 4.

E' ben evidente quanto sia elaborata e lunga la procedura sintetica per ottenere un building block di questo tipo ,e sono numerosissime le strutture oligosaccaridiche di rilievo biologico contenenti zuccheri 4-legati (un illustre esempio è costituito dal pentasaccaride dell'eparina).

Risultati e Discussione

Ciò premesso siamo passati alla sperimentazione della reattività di esosi perbenzilati con il sistema Iodio e trietilsilano, variando i rapporti stechiometrici, i tempi di reazione e la temperatura di reazione. Il primo zucchero su cui ci siamo concentrati è il metil galattoside perbenzilato **1** (SCHEMA 3).



SCHEMA 3: Reazione di deprotezione di **1**.

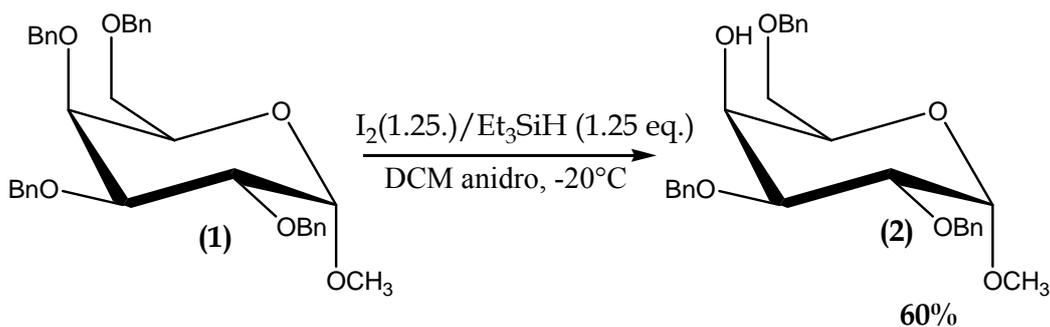
In TABELLA 1 sono riportati solo gli esperimenti condotti a -20°C e bloccati entro un'ora dall'aggiunta dei reattivi. Nel corso dei moltissimi altri esperimenti condotti (più di 40 reazioni totali sul solo galattosio) è stata studiata anche

l'eventuale influenza di un'aggiunta lenta dei reattivi alla miscela di reazione nonché quella della temperatura (dai -25° alla temperatura ambiente), del tempo (dai 20 minuti alle 24 ore di reazione) e di un eventuale aggiunta dello zucchero al sistema Iodio/trietilsilano piuttosto che il contrario.

Reazione	x (eq. di I ₂)	y (eq. di Et ₃ SiH)	Resa di isolamento di 2
1	0.6	0.6	33%
2	0.5	0.5	30%
3	1	1	44%
4	1	0.5	33%
5	0.5	1	38%
6	1.25	1.25	48%

TABELLA 1: Reazioni condotte a -20°C.

Da tutti gli esperimenti si è evinto che, per un substrato galattosidico, il miglior rapporto stechiometrico dei reattivi rispetto al substrato è di 1.25; che la temperatura di reazione ottimale è di -20°C, tenuta costante per tutto il tempo, che è di 20 minuti e che l'ordine di aggiunta dei reattivi (zucchero al sistema Iodio/trietilsilano o viceversa) non incide significativamente. E' emerso inoltre che una buona solubilizzazione dello Iodio è importantissima (ca. 25 mg/mL) (SCHEMA 4).



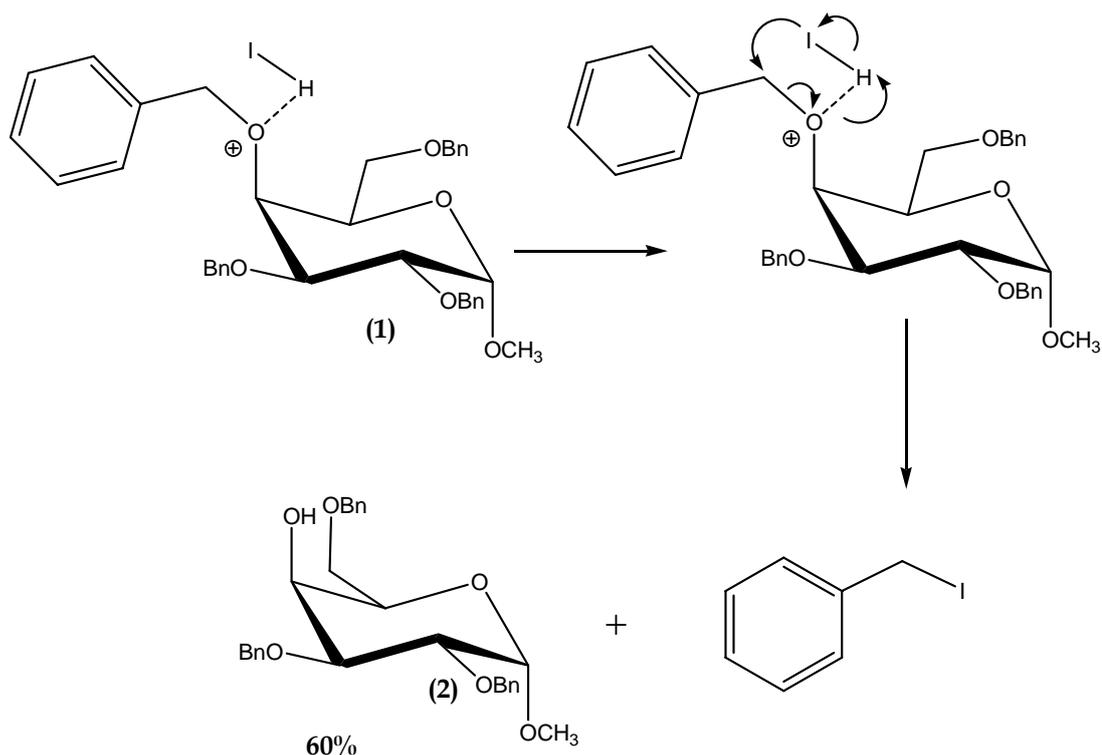
SCHEMA 4: Condizioni ottimali per la sintesi del metilmannoside **2**, 4-*O*-libero.

E' stato inoltre isolato e caratterizzato il principale prodotto secondario di questa reazione, il benzil ioduro, da cui l'ipotesi meccanicistica illustrata nello SCHEMA 5.

E' noto infatti che il sistema I₂/Et₃SiH genera in situ HI.

E' verosimile ipotizzare che tale acido protoni preferenzialmente l'*O* in 4 del galattosio, labilizzando il legame etereo, e che successivamente lo ione ioduro si leghi all'estremità benzilica. E' interessante sottolineare che, in un recente lavoro di Crich,²²³ è stata riportata la maggiore tendenza di un benzile in posizione 4, di uno zucchero manno configurato, a convertirsi nel benzil catione corrispondente. Tale reazione, ad ogni modo, segue un meccanismo differente (di tipo ossidativo) rispetto a quello previsto nell'apprccio da noi perseguito.

²²³ Crich D., Vinogradova O. *J.Org. Chem.* **2007**, 72, 3581-3584.

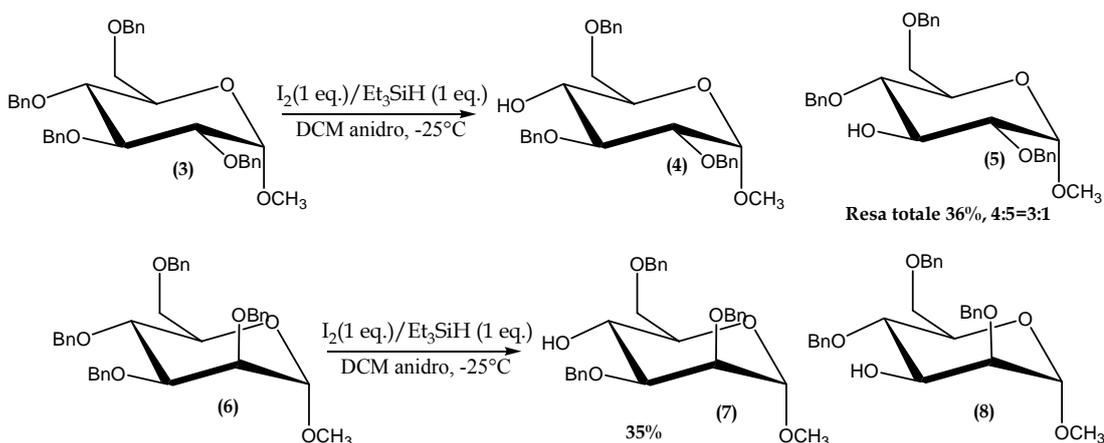


SCHEMA 5: Ipotesi meccanicistica della de-O-benzilazione regioselettiva.

Inutile dire che è anche possibile che sia una sola molecola di HI a labilizzare il legame etereo o che lo ioduro provenga dal trietilsililioduro, composto presente nella miscela di reazione.

Una volta trovate delle condizioni nette e riproducibili per la de-O-benzilazione regioselettiva del metil galattoside perbenzilato, ci siamo occupati di substrati di tipo manno- e gluco-.

Quello che è emerso da esperimenti preliminari è che entrambi i substrati saccaridici esibiscono una maggiore reattività rispetto al galattosio ed è stato isolato, seppur in minor misura anche lo zucchero 3-O-libero (SCHEMA 5).



SCHEMA 5: Risultati preliminari ottenuti da substrati di tipo gluco- e manno-.

Questo può farsi risalire all'orientazione equatoriale dell'ossigeno in 4. Ad ogni modo, già in condizioni ancora non ottimizzate, la resa di isolamento del 4-O-libero per entrambi gli zuccheri è intorno al 30%, valore superiore al 23% riportato per il mannosio da Crich e collaboratori (FIGURA 1).¹⁰

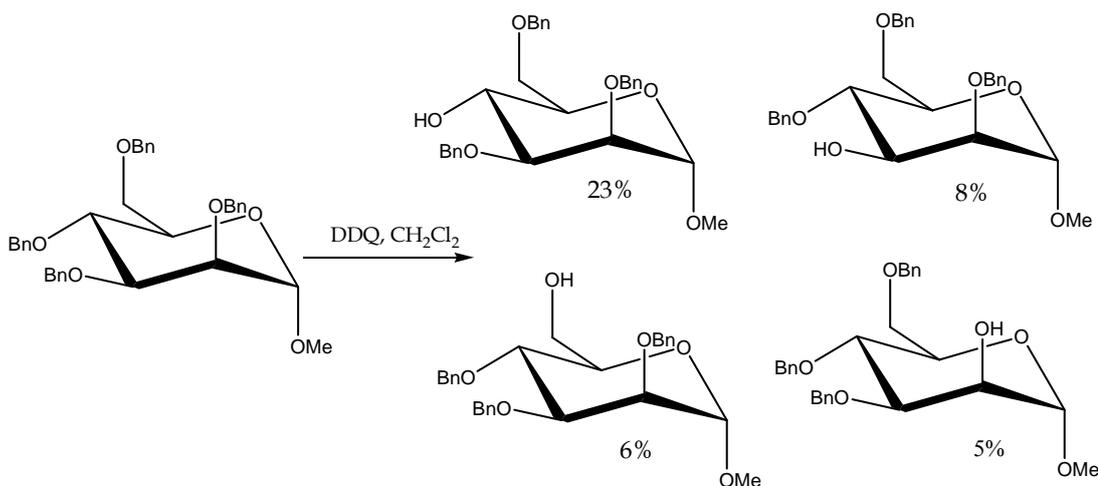


FIGURA 1: Miscela di prodotti di de-O-benzilazione ottenuta da Crich e collaboratori.

In esperimenti futuri verranno ottimizzate le condizioni di de-O-benzilazione selettiva di metil mannosidi e metil glucosidi. La procedura verrà quindi estesa a substrati di tipo glucosammina, e verrà sperimentata un'eventuale applicabilità con i deossizuccheri. Un ulteriore obiettivo consiste nella sperimentazione di questa procedura di deprotezione su tioglicosidi perbenzilati (dato il risultato ottenuto nell'esperimento descritto nello SCHEMA 1) in modo tale da avere accesso a substrati ancora più interessanti dal punto di vista sintetico.

Conclusioni

In questo capitolo è stata discussa la recente scoperta relativa al sistema I_2/ET_3SiH , estesamente utilizzato nella sintesi di glicosil Ioduri. Si è visto infatti che, nelle opportune condizioni di reazione, questo esibisce una notevole capacità di de-*O*-benzilare regioselettivamente in posizione 4 metil glicosidi perbenzilati. Tale proprietà è senza alcun dubbio di enorme rilievo data l'importanza, nella sintesi oligosaccaridica, di disporre di tecniche di deprotezione regioselettiva. Inoltre, delle procedure riportate in letteratura, relative alla de-*O*-benzilazione regioselettiva, solo il lavoro di Crich e collaboratori prevede una deprotezione in 4 di metilmannosidi, tuttavia in concomitanza ad altri prodotti secondari in minore percentuale. Ad oggi sono state ottimizzate le condizioni di reazione per il metil galattoside perbenzilato **1** che fornisce una resa di **2** del 60% con una resa di conversione del . Per quanto riguarda substrati di tipo gluco e manno gli esperimenti sono ancora in corso, ma i primi risultati (circa 30% dello zucchero 4-*O*-libero) sono senza alcun dubbio promettenti. Tale risultato assume un rilievo notevole non solo per le alte rese di isolamento (in un solo veloce step sintetico) dei prodotti mono debenzilati quanto per la diffusa distribuzione zuccheri 4-legati in strutture oligosaccariche di grande rilievo biologico.

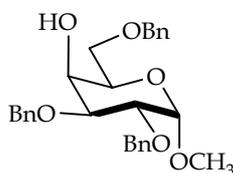
Parte sperimentale

Metodi generali

Gli spettri ^1H NMR sono stati registrati su spettrometri Varian Gemini (200 MHz e 300 MHz) e Bruker (400 MHz). I chemical shifts degli spettri ^1H NMR in CDCl_3 sono stati misurati utilizzando TMS come standard interno. L'attribuzione dei segnali ^1H NMR è stata effettuata mediante esperimenti di disaccoppiamento.

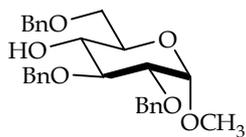
Le cromatografie su strato sottile (TLC) sono state realizzate utilizzando lastre di gel di silice F254 (Merck); la presenza di prodotti saccaridici è stata rilevata mediante esposizione ad aerosol di una soluzione 95:5 etanolo/ H_2SO_4 conc. e successiva carbonizzazione della lastra eluita. Le cromatografie su colonna sono state realizzate usando gel di silice 60 (Merck).

Procedura generale per la de-O-benzilazione regioselettiva in quattro sul metil 2,3,4,6-O-benzil galatto piranoside (1): Una miscela di **1** (108 mg, 0.195 mmol) e Iodio (62 mg, 0.244 mmol) sono stati sciolti in 3.5 mL di CH_2Cl_2 ad una temperatura di -15°C . E' stato quindi aggiunto il trietilsilano (39 μL , 0.244 mmol) e la miscela è stata lasciata sotto agitazione a temperatura costante (-15°C) per 15 minuti. Sono state aggiunte poi alcune gocce di piridina e la miscela è stata estratta con acqua aggiungendo sodiosolfato anidro. Le fasi organiche riunite sono state anidificate con sodio solfato anidro e concentrate. La miscela è stata purificata su gel di silice con una miscela eluente etere di petrolio/acetato di etile. E' stato isolato il prodotto **2** in forma pura con una resa del 55% (50 mg, 0.108 mmol).



2: ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ 7.40-7.15 (aromatici), 4.70 (1H, d, $J_{1,2} = 3.2$ Hz, H-1), 4.85-4.55 (6H, 3 x AB, 3x $-\text{CH}_2\text{Ph}$), 4.07 (1H, bs, H-4), 3.93 (1H, bt, $J_{5,6a} = J_{5,6b} = 6.0$ Hz, H-5), 3.90-3.87 (2H, segnali

sovrapposti, H-2 e H₂-3), 3.75 (1H, dd, $J_{6a,6b} = 10.0$ Hz, H-6a), 3.69 (1H, dd, H-6b), 3.40 (3H, s, 1-OCH₃), 2.62 (1H, bs, 4-OH). ¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ 138.4, 138.2, 138.0 (C aromatici); 128.5-127.6 (CH aromatici), 98.6 (C-1), 77.6, 75.8, 73.6, 73.5, 72.7, 69.6, 68.4, 68.1, 55.2 (-OCH₃).



4: ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 7.40-7.15 (aromatici), 4.64 (1H, d, $J_{1,2} = 3.6$ Hz, H-1), 5.00-4.50 (6H, 3 x AB, 3x -CH₂Ph), 3.79 (1H, t, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.2$ Hz, H-3), 3.75-3.60 (3H, segnali sovrapposti, H-5 e H₂-6), 3.61 (1H, bt, $J_{4,5} = 9.2$ Hz, H-4), 3.54 (1H, dd, H-2), 3.39 (3H, s, 1-OCH₃), 2.22 (1H, bs, 4-OH). ¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ 138.7, 138.9 (x2), (C aromatici); 128.5-127.5 (CH aromatici), 98.0 (C-1), 81.3, 79.5, 75.3, 73.5, 73.1, 70.6, 69.8, 69.3, 55.2 (-OCH₃).