

Izoxazolin gyűrűvel kondenzált ciszpentacin származékok szintézise

NONN Melinda,^a KISS Loránd,^a FORRÓ Enikő,^a SILANPÄÄ REIJO,^b MUCSI Zoltán^c és FÜLÖP Ferenc^{a,*}

^aSzegedi Tudományegyetem, Gyógyszerésztudományi Kar, Gyógyszerkémiai Intézet, Eötvös u. 6, 6720, Szeged

^bJyväskylä Egyetem, Kémiai Intézet, FIN-40014, Finnország

^cSzegedi Tudományegyetem, Kémiai Informatikai Intézet, 6725, Szeged

1. Bevezetés

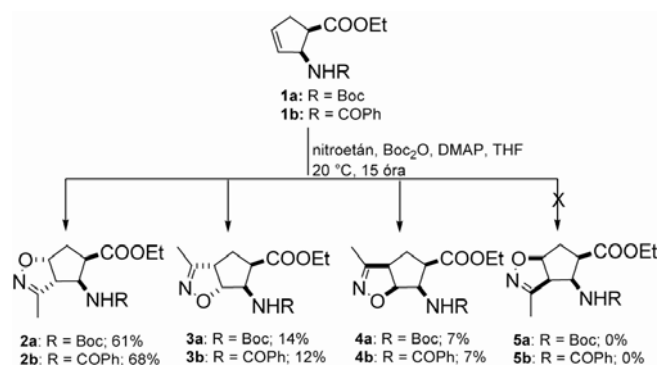
Az izoxazolin gyűrűt tartalmazó vegyületek számos képviselője különböző biológiai (influenzaellenes, antifungális) hatással rendelkezik.¹ Izoxazolinváz kiépítésére alkalmazható egyik módszer a nitril-oxidok alkénekre történő 1,3-dipoláros cikloaddíciója.² Nitril-oxidok *in situ* generálására legismertebb eljárások a Mukaiyama módszer, amely primer nitroalkánok dehidratációján alapszik,³ illetve a Huisgen módszer, a hidroximoi-kloridok bázis indukált dehidrohalogénezése.⁴ A ciklusos α - vagy γ -aminosav származékokra nitril-oxidokkal végrehajtott cikloaddíciók biológiailag aktív vegyületek szintéziséhez vezetnek.⁵ Ciklopenténváz γ -aminosavakra történő sztereoselektív cikloaddícióval különböző multisubsztituált antivirális hatású származékot állítottak elő.⁶ Farmakológiai hatásuknak köszönhetően a ciklusos β -aminosavakra az elmúlt években egyre nagyobb figyelem irányult.⁷ A természetben előforduló ciszpentacin [(1*R*,2*S*)-2-amino-1-ciklopentánkarbonsav], valamint az icofungipen [(1*R*,2*S*)-2-amino-4-metilciklopentánkarbonsav], baktériumellenes és antifungális hatású vegyületek.^{7b} A ciklusos β -aminosavakat széles körben alkalmazzák új típusú peptidok szintézisére. Ezen kívül, a β -aminosavak különböző természetes vegyületek komponensei, valamint potenciális gyógyszervegyületek és heterociklusok építőelemeiként is szolgálnak.⁸ Számos multifunkciós ciklusos aminosavszármazék (Oseltamivir, Zanamivir, Peramivir) különböző biológiai hatással rendelkezik.^{7c} A cikloalkénváz β -aminosavak kettős kötése lehetőséget nyújt újabb funkció csoportok szelektív kialakítására. Kutatócsoportunkban különböző szelektív funkcionálizációs technikákat alkalmazva hidroxil, fluor, dihidroxil, amino vagy azid funkciókat alakítottak ki β -aminosav vázán. Kutatómunkánk célja a nitril-oxidok 1,3-dipoláros cikloaddíciójával izoxazolingyűrűvel kondenzált új típusú β -aminosav származékok regio- és sztereoselektív szintézise volt.

2. Eredmények

2.1. Izoxazolin gyűrűvel kondenzált ciszpentacin származékok előállítása

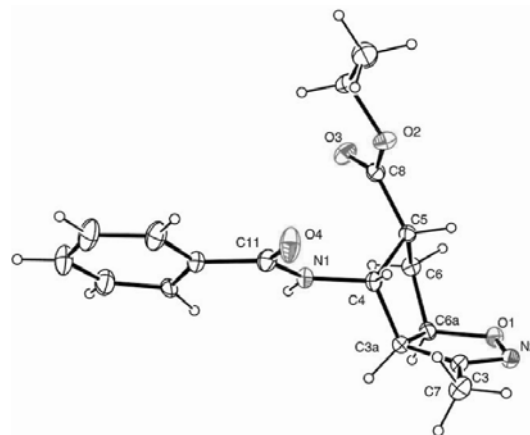
Munkánk első részében a *tert*-butoxikarbonil (Boc), illetve benzoil (COPh) csoporttal védett etil-(*cisz*-2-aminociklopent-3-én)-karboxilátra (**1a**, **1b**) terveztük végrehajtani a cikloaddíciót. Nitril-oxid generálására nitroetánt, vízelvonószerként *di-tert*-butildikarbonátot

(Boc₂O), bázisként pedig 4-dimetilaminopiridint (DMAP), alkalmaztunk. E reakciókat szobahőmérsékleten végeztük, THF oldószerben (1. ábra).



1. Ábra. Nitroetánból generált nitril-oxid 1,3-dipoláros cikloaddíciója etil-(*cisz*-2-aminociklopent-3-én)-karboxilátra.

A reakciókban a lehetséges négy regio- és sztereoizomerből három izoxazolingyűrűvel kondenzált származék keletkezett (**2a**, **2b**; **3a**, **3b**; **4a**, **4b**). Az izomereket kromatográfiai módszerrel választottuk el. A vegyületek szerkezetét ¹H-NMR, ¹³C-NMR, COSY, NOESY, HSQC spektroszkópiai módszerekkel állapítottuk meg. A legnagyobb termeléssel képződő **2b** termék szerkezetét röntgendiffrakciós méréssel is igazoltuk (2. ábra).

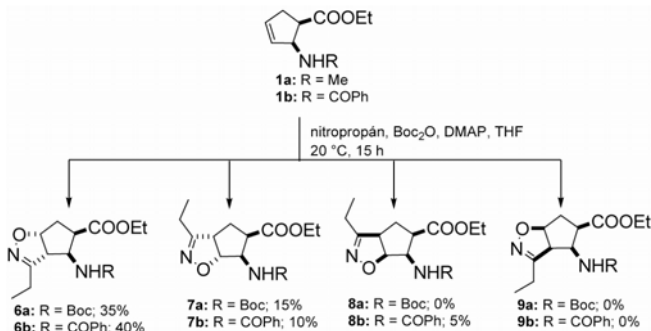


2. Ábra. A **2b** vegyület röntgendiffrakciós képe.

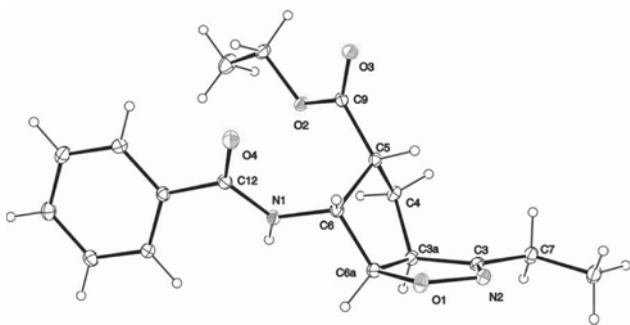
A **2a**, **2b** és **3a**, **3b** vegyületek esetében az izoxazolin gyűrű az észter, illetve amino funkciókhoz viszonyítva *transz*, míg a minor termékben (**4a**, **4b**) *cisz* térállású. A major termékben

* Fülöp Ferenc. Tel.: (36)-62-545-462; fax: (36)-62-545-705; e-mail: fulop@pharm.u-szeged.hu

(**2a**, **2b**) az izoxazolingyűrűben lévő oxigénatom távolabb esik a karbamát, illetve amid funkciótól. Ez a szelektivitás a nitrogén elektronszívó hatásával magyarázható, mely szerint a 4-es szénatomon lecsökken az elektronsűrűség, és a dipol reagens oxigénje erre a szénatomra támad. A nitril-oxid képzését a homológ 1-nitropropánnal is elvégeztük, majd a korábbi reakciókörülményeket alkalmazva végrehajtottuk a cikloaddíciót miközben szintén három izoxazolinvázas izomer képződött (3. és 4. ábra). A termékek aránya megközelítőleg hasonló volt, mint a korábbi reakcióban.

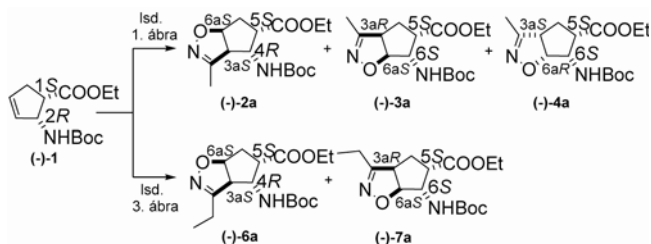


3. Ábra. Nitropropánból képzett nitril-oxid 1,3-dipoláros cikloaddíciója etil-*cis*-2-aminociklopent-3-énkarboxilátra.



4. Ábra. A **6b** vegyület röntgenfrakciós képe.

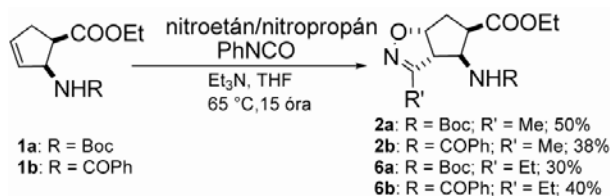
Ebben az esetben is a legjobb termeléssel képződő **6** termékben az izoxazolin gyűrű *transz* térállású az észter, illetve amino funkciókhoz viszonyítva, valamint az izoxazolin gyűrű oxigénatomja távolabb esik a karbamát, illetve amid funkciótól. E cikloaddíciós termékeket enantiomertiszta formában is előállítottuk az optikailag aktív etil-*(cis)*-2-aminociklopent-3-én)-karboxiláttól [(-)-**1**] kiindulva, amit a racém β -laktám *Candida antarctica* B-Lipáz által katalizált enantioszelektív gyűrűnyitásával állítottunk elő. Az 1. és 3. ábrán bemutatott reakciókörülményeket alkalmazva a (-)-**1** enantiomertiszta vegyületre megkaptuk az optikailag aktív izoxazolingyűrűvel kondenzált β -aminokarboxilátokat [(-)-**2a**, (-)-**3a**, (-)-**4a**, (-)-**6a**, (-)-**7a**] (5. ábra).⁹



5. Ábra. Enantiomertiszta izoxazolingyűrűvel kondenzált ciszpentacin származékok szintézise.

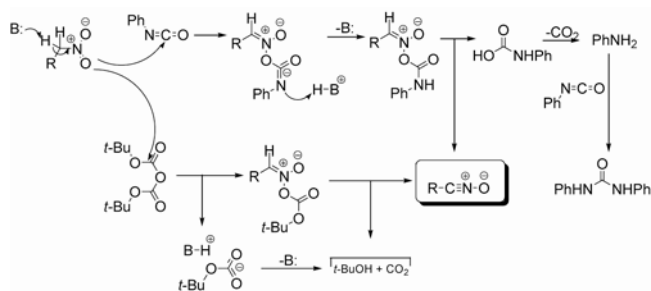
2.2 Izoxazolingyűrűvel kondenzált ciszpentacin származékok szelektív szintézise

Az előbbi reakciók során — annak ellenére, hogy különböző izoxazolingyűrűvel kondenzált ciszpentacin származékok regio- és sztereoiszomerjeit sikerült előállítanunk — nem értünk el 100%-os regio- és sztereoszelektivitást. Ezért a cikloaddíciós reakciókat elvégeztük fenilizocianát (PhNCO) vízelvonószert és trietilamin (TEA) bázis jelenlétében, THF oldószerben, 65 °C-on (6. ábra).



6. Ábra. Izoxazolingyűrűvel kondenzált ciszpentacin származékok regio- és sztereoszelektív szintézise.

Meglepő módon e körülmények között egyetlen termék (**2a**, **2b**, illetve **6a**, **6b**) képződött, jóllehet az irodalomban nem találtunk arra példát, hogy a két módszer közötti különbség befolyásolhatja a reakció szelektivitását. Mindkét eljárásban a nitril-oxid hasonló mechanizmus szerint képződik (7. ábra).



7. Ábra. Nitril-oxid generálása a Mukaiyama módszer alapján, primer nitroalkánból Boc₂O vagy PhNCO vízelvonószert jelenlétében.

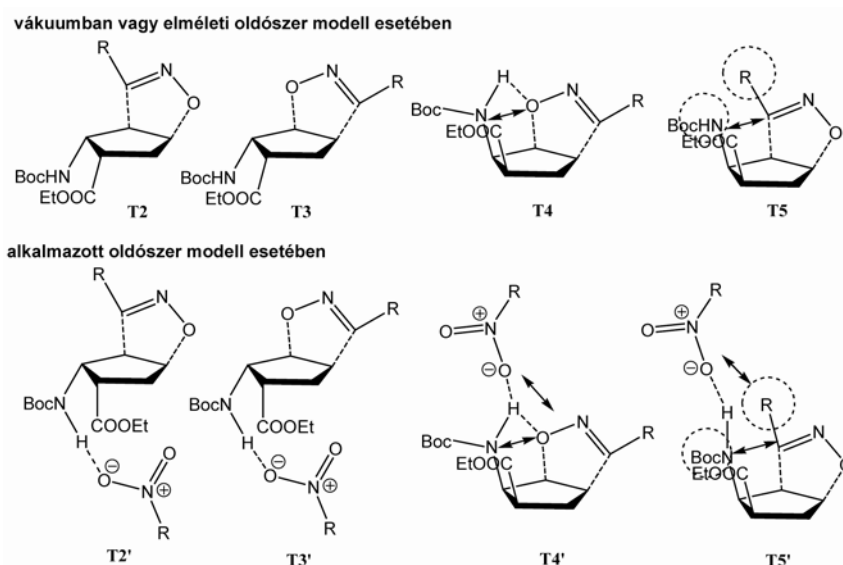
A reakció szelektivitásának alátámasztására DFT számításokat¹⁰ végeztünk az **1a** vegyület és MeNCO reakciója között G03 program felhasználásával. Az átmeneti állapotok (ΔH^\ddagger ; ΔG^\ddagger) és a termékek (ΔH ; ΔG) reakció entalpia változásait valamint a Gibbs féle szabad energia változásait az 1. táblázat tartalmazza. Kinetikus szempontból a cikloaddíciós reakció főtermékének a **4a** vegyület javasolt, mivel ennek a legalacsonyabb a Gibbs féle szabad energiája (ΔG^\ddagger). Ezen szempont alapján a **3a** vegyület kialakulása a legkedvezőtlenebb. Ezen kívül azt is megállapítottuk, hogy a **2a** és **5a** vegyületek gyakorlatilag azonos ΔG^\ddagger értékeket mutattak (1 Táblázat). A **4a** komponens legalacsonyabb ΔG^\ddagger értékének magyarázatául szolgál az, hogy intermolekuláris H-kötés alakulhat ki a MeNCO és az etil-*(cis)*-2-aminociklopent-3-én)-karboxilát (**1a**) amid funkciója között (8. ábra). Hasonló eredményeket kaptunk HF/3-21G; B3LYP/6-31G(d,p) és B3LYP/6-311++G(2d,2p) számítások esetében is, függetlenül az alkalmazott oldószermodellről [IEFPCM(THF)] és az elméleti modelltől, ezért kiterjesztettük komplexebb leírásra. Az irodalomban ismert, hogy néhány kiválasztott oldószer molekula vagy más komponens az oldószerben több információt adhat a mechanizmusról, ezért az általunk kiválasztott oldószer

THF volt. Azonban a nitroalkán feleslege második oldószerként (koszolvens) szolgálhat, erős hidrogénkötést alakítva ki a kiindulási vegyület amid funkciójával. Ebben az esetben az eredmények megváltoztak. A legalacsonyabb ΔG^\ddagger értéket a **2a** vegyület mutatta (8. ábra), valamint a **3a** termék ΔG^\ddagger értéke nem sokban különbözött az előbbtől,

ami alátámasztja a kísérleti eredményeket. A **4a** és **5a** cikloaddíciós termékeknél ΔG^\ddagger értékei minden esetben alacsonyabbak voltak, mint azok számított ΔG^\ddagger értékei vákuumban, mivel a nitro vegyület bizonyos mértékben elfoglalja a reaktív területet és megakadályozza ezáltal a MeNCO támadását (8. ábra).

1. Táblázat. A **2b**, **3b**, **4b** és **5b** cikloaddíciós termékek entalpia változásai (kJ mol^{-1}) és Gibbs féle szabad energia változásai (kJ mol^{-1}) vákuumban, elméleti oldószer modell, illetve alkalmazott oldószermodell használatával.

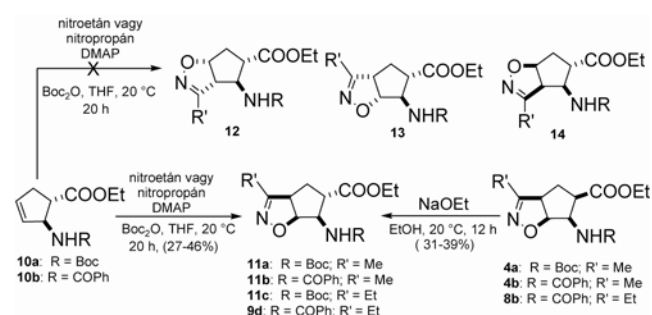
	vákuumban				oldószerben (THF)				koszolvenssel			
	ΔH^\ddagger	ΔG^\ddagger	ΔH	ΔG	ΔH^\ddagger	ΔG^\ddagger	ΔH	ΔG	ΔH^\ddagger	ΔG^\ddagger	ΔH	ΔG
2b	55,8	114,1	-169,5	-104,3	59,1	118,2	-165,7	-100,0	67,3	126,1	-164,1	-100,1
3b	75,1	128,3	-159,1	-97,2	79,3	132,5	-154,1	-92,0	70,1	129,3	-153,4	-92,0
4b	49,8	109,5	-164,1	-101,5	54,2	113,8	-160,3	-98,1	75,8	135,5	-160,2	-97,7
5b	54,9	113,7	-166,7	-100,9	58,2	117,9	-161,9	-96,3	95,4	153,9	-161,3	-96,5



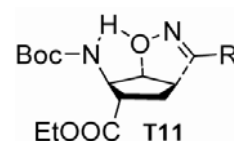
8. Ábra. A **2a**, **3a**, **4a** és **5a** cikloaddíciós termékek **T2**, **T3**, **T4** és **T5** átmeneti állapotai; sztérikus kölcsönhatások kialakulásai a $-\text{COOEt}$ és a nitril-oxid között a **T2** és **T3** átmeneti állapotban, valamint $-\text{NHBoc}$ és a nitril-oxid, valamint $-\text{COOEt}$ és nitril-oxid közötti kölcsönhatás a **T5** átmeneti állapotban és a H-kötéses kölcsönhatás kialakulása az $-\text{NHBoc}$ és a nitril-oxid között a **T4** átmeneti állapotban.

További kísérleteinkben az etil-(*transz*-2-aminociklopent-3-én)-karboxilátot használtuk dipolarofil-ként, melyet a megfelelő *cisz* aminoészter NaOEt-os epimerizációjával állítottunk elő. Nitril-oxid előállítására az 1. ábrán leírt módszert alkalmaztuk. Míg a *cisz* vegyület esetén a reakció nem volt teljesen szelektív, addig a *transz* származékkal végzett kísérlet során reakció teljes szelektivitással egy terméket (**11**) eredményezett, melyben az izoxazolin gyűrű *cisz* térállású a karbamát, illetve amid funkcióhoz képest, és *transz* térállású az észter csoporthoz viszonyítva. A heterociklusban lévő oxigénatom pedig közelebb esik az amino funkcióhoz (9. Ábra). Ezt az izomert korábban már sikerült előállítanunk, mégpedig a minor (**4**) termék NaOEt-tal történő izomerizációjával.

A reakciók szelektivitása feltehetően sztérikus és hidrogénkötéses kölcsönhatással magyarázható. Az átmeneti állapotban sztérikus taszító hatás alakul ki a nitril-oxid és az észter csoport között, valamint hidrogénkötéses kölcsönhatás jön létre a karbamát hidrogénje, illetve a nitril-oxid között^{5d} (10. ábra).

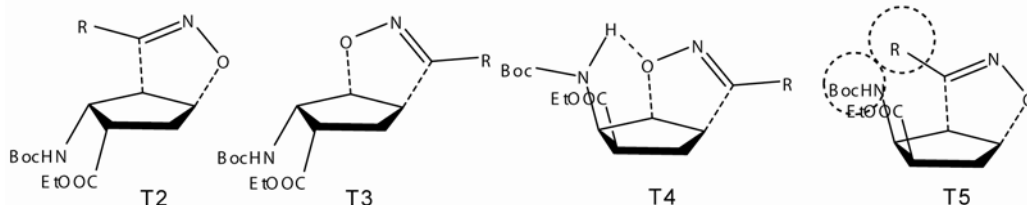


9. Ábra. Az etil-(*transz*-2-aminociklopent-3-én)-karboxilátra végrehajtott 1,3- dipoláros cikloaddíció.



10. Ábra. **T11** átmeneti állapot.

A 2. és 3. ábrán bemutatott cikloaddíciós reakciók szelektivitása hasonlóképpen magyarázható. A két főtermék sztereokémiáját az észter funkció és a nitril-oxid között kialakult szterikus tasztítás határozza meg (10. ábra). A hidrogén-kötéses kölcsönhatás ez esetben elhanyagolható. A minor termékek esetében (**5a**, **5b** és **9b**) az átmeneti

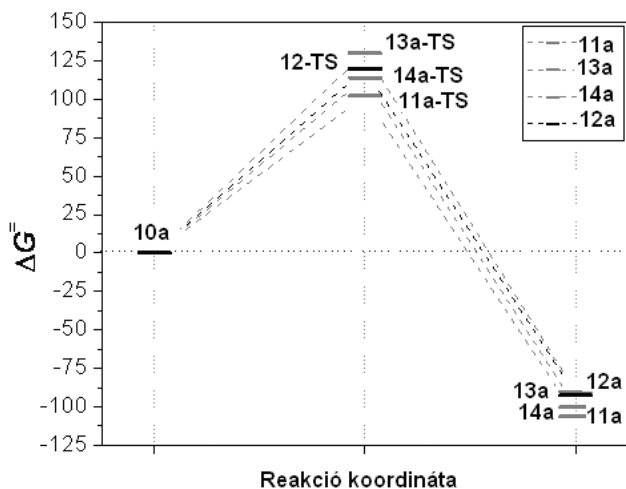


11. Ábra. A 2, 3, 4 és 5 cikloaddíciós termékekhez vezető reakciók átmeneti állapotai (**T2**, **T3**, **T4**, **T5**); szterikus tasztító kölcsönhatás az észter és a nitril-oxid között a **T2** és **T3** állapotban, a karbamát és nitril-oxid között, valamint az észter és a nitril-oxid között a **T5** átmeneti állapotban; és H-kötéses kölcsönhatás a karbamát és nitril-oxid között a **T4** állapotban.

A különböző szinteken elvégzett számításaink [(B3LYP/6-31++G(d,p), B3LYP/6-311++G(d,p) és B3LYP/6-311++G(2d,2p)] az etil-(*transz*-2-aminociklo-pent-3-én)-karboxilát és a nitril-oxid között ugyanazon eredményeket mutatta, mint amiket a kísérletek során tapasztaltunk. A reakciók során a legkedvezőbb terméknek a **11a**, **11b**, **11c** és **11d** transzpentacin származék bizonyult (2. táblázat és 12. ábra).

2. Táblázat. A **10a** vegyületből keletkező transzpentacin származékok (**11a**, **12**, **13** és **14**) entalpia változásai (ΔH^\ddagger) (kJ mol⁻¹), illetve Gibbs féle szabad energia változásai (ΔG^\ddagger) (kJ mol⁻¹)

	10a → TS		10a → termékek	
	ΔH^\ddagger	ΔG^\ddagger	ΔH	ΔG
11a	47,76	102,21	-170,02	-106,24
12	65,32	119,90	-154,35	-92,50
13	76,83	130,31	-152,22	-90,46
14	55,36	113,99	-163,44	-100,12

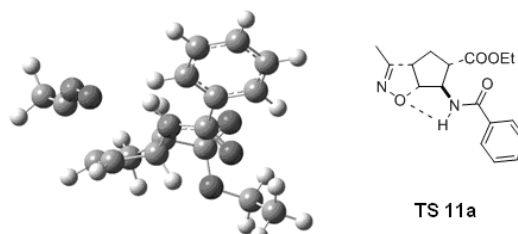


12. Ábra. A **10a** vegyület átalakulásának energiadiagramja.

Ezek alapján megállapítható, hogy nitril-oxid addíciójának szelektivitása az etil-(*transz*-2-aminociklo-pent-3-én)-

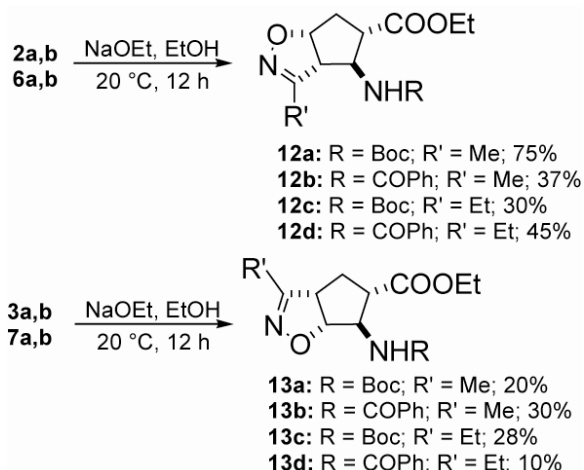
állapotban a H-kötéses kölcsönhatás a nitril-oxid és a karbamát funkció között erőteljesebb lehet, mint az észter és a nitril-oxid szterikus tasztító hatása. A lehetséges negyedik izomer azért nem képződhetett, mivel nem csak az észter és a nitril-oxid között alakulhat ki szterikus tasztítás, hanem a karbamát funkció és a nitril-oxid alkil funkciója között is (11. ábra).

karboxilátra nagymértékben hidrogén-kötéses kölcsönhatással magyarázható (13. ábra).



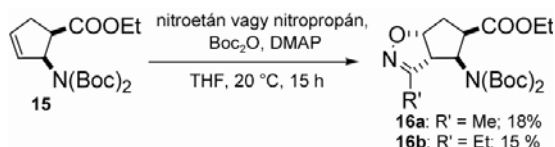
13. Ábra. A **11a** vegyülethez vezető reakció átmeneti állapotának H-kötéssel stabilizált szerkezete.

Az előállított izoxazolinvázas β -aminoésztereket (**2a**, **2b**; **3a**, **3b**; **6a**, **6b**; **7a**, **7b**) NaOEt-tal reagáltatva epimerizáció során a megfelelő transzpentacin származékokhoz jutottunk (**12a**, **12b**, **12c**, **12d**, **13a**, **13b**, **13c**, **13d**) (14. ábra).



14. Ábra. Izoxazolingyűrűvel kondenzált transzpentacin származékok szintézise a **2a**, **2b**; **6a**, **6b**; **3a**, **3b** és **7a**, **7b** vegyületek epimerizációjával.

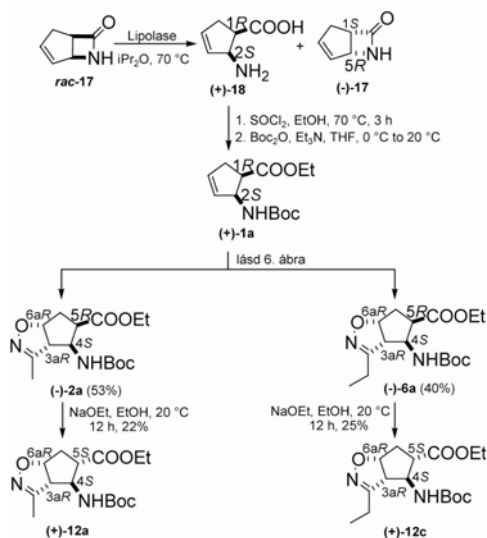
Érdeemesnek tartottuk megvizsgálni a cikloaddíciós reakciót a szubsztrát változtatásával. A Boc-csoporttal kétszeresen védett *cisz* aminoészterrel (**15**) — mely esetében nem alakulhat ki hidrogénkötéses kölcsönhatás — is elvégeztük a reakciót (15. ábra).



15. Ábra. Izoxazolin gyűrűvel kondenzált ciszpentacin származékok szintézise kétszeresen Boc- védett cisz aminoszterből kiindulva.

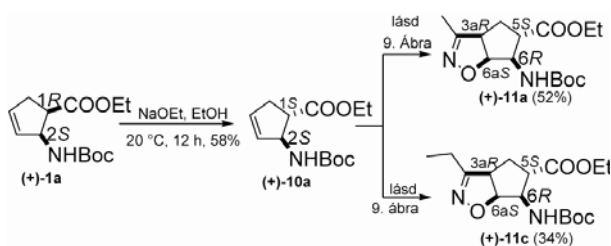
A reakcióban regio- és sztereoselektíven egy termék (**16a**, **16b**) képződött. A keletkezett termékben az izoxazolin gyűrű *transz* térállású a karbamát és az észter csoporthoz viszonyítva (taszító szterikus kölcsönhatás), valamint a gyűrűben levő oxigénatom távolabb esik a karbamát csoporttól.

Ezután az izoxazolin gyűrűvel kondenzált β -aminosavakat enantiomertiszta formában is előállítottuk. Az enantiomertiszta kiindulási anyagot a racém β -laktám (**17**) enzim rezolválásával állítottuk elő, az így keletkezett enantiomertiszta β -aminosavat [(+)-**18**] a (+)-**1** védett aminoszterrel alakítottuk át. Nitril-oxid generálását nitroetánból, illetve 1-nitropropánból végeztük, PhNCO és DMAP jelenlétében (16. ábra). A keletkezett termékeket [(-)-**2a**, (-)-**6a**] NaOEt-tal izomerizáltuk, melynek során megkaptuk az enantiomertiszta transzpentacin származékokat [(+)-**12a**, (+)-**12c**] (16. ábra).



16. Ábra. Enantiomertiszta izoxazolingyűrűvel kondenzált transzpentacin származékok szintézise etil-(*cisz*-2-aminociklopent-3-én)-karboxiláttól.

A cikloaddíciós reakciókat az enantiomertiszta etil-(*transz*-2-aminociklopent-3-én)-karboxilátra [(+)-**10a**] is elvégeztük (17. ábra).¹⁰



17. Ábra. Enantiomertiszta izoxazolingyűrűvel kondenzált transzpentacin származékok szintézise etil-(*transz*-2-aminociklopent-3-én)-karboxiláttól.

3. Összefoglaló

Kísérleti munkánk során új, izoxazolingyűrűvel kondenzált ciszpentacin származékokat állítottunk elő. A nitril-oxid különbözőmódotörténő generálásával, valamint adipolarofil változtatásával teljes regio- és sztereoselektivitást értünk el. A szelektivitást kémiai számításokkal is alátámasztottuk. Enantiomertiszta β -laktámból kiindulva az izoxazolinvázas termékek enantiomerjeit is sikerült előállítanunk.

Köszönetnyilvánítás

A szerzők köszönetet mondanak az OTKA (NK81371 K100530) támogatásáért.

Hivatkozások

- (a) Kai, H.; Matsumoto, H.; Hattori, N.; Takase, A.; Fujiwara, T.; Sugimoto, H. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 1997-2000. (b) Basappa, M.; Sadashiva, P.; Mantelingu, K.; Swamy, N. S.; Ranappa, K. S. *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, *11*, 4539-4544.
- (a) Nair, V.; Suja, T. D. *Tetrahedron* **2007**, *63*, 12247-12275. (b) Gothelf, K. V.; Jorgensen, K. A. *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 863-910. (c) Gallos, J. K.; Koumbis, A. E. *Curr. Org. Chem.* **2003**, *7*, 397-425. (d) Pellissier, H. *Tetrahedron* **2007**, *63*, 3235-3285. (e) Cycloaddition Reactions in Organic Synthesis; Kobayashi, S., Jorgensen, K. A., Wiley-VCH: Weinheim **2002**. (f) Nitrile Oxides, Nitrones and Nitronates in Organic Synthesis; Torsell, K. B. G., New York, VCH, **1988**. (g) Namboothiri, I. N. N.; Rastogi, N.; Ganguly, B.; Mobin, S. M.; Cojocar, M. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 1453-1462.
- Mukaiyama, T.; Hoshino, T. *J. Am. Chem. Soc.* **1960**, *62*, 5339-5342.
- Christl, M.; Huisgen, R. *Chem. Ber.* **1973**, *106*, 3345-3367.
- (a) Pinto, A.; Conti, P.; De Amici, M.; Tamborini, L.; Grazioso, G.; Colleoni, S.; Mennini, T.; Gobbi, M.; De Micheli, C. *Tetrahedron: Asymmetry* **2008**, *19*, 867-875. (b) Conti, P.; Caligiuri, A.; Pinto, A.; Roda, G.; Tamborini, L.; Nielsen, B.; Madsen, U.; Frydenvang, K.; Colombo, A.; De Micheli, C. *Eur. J. Med. Chem.* **2007**, *42*, 1059-1068. (c) Roda, G.; Conti, P.; De Amici, M.; He, J.; Polavaropu, P. L.; De Micheli, C. *Tetrahedron: Asymmetry* **2004**, *15*, 3079-3090. (d) Conti, P.; De Amici, M.; Di Ventimiglia, S. J.; Stensbol, T. B.; Madsen, U.; Osborne, H. B.; Russo, E.; De Sarro, G.; Bruno, G.; De Micheli, C. *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 3102-3108.
- (a) Chand, P.; Bantia, S.; Kotian, P. L.; El-Kattan, Y.; Lin, T-H.; Babu, Y. S. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 4071-4077. (b) Chand, P.; Kotian, P. L.; Dehghani, A.; El-Kattan, Y.; Lin, T-H.; Hutchison, T. L.; Babu, Y. S.; Bantia, S.; Elliot, A. J.; Montgomery, J. A. *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 4379-4392. (c) Mineno, T.; Miller, M. J. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 6591-6596.
- (a) Fülöp, F. *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 2181-2204. (b) Park, K.H.; Kurth, M. J. *Tetrahedron* **2002**, *58*, 8629-8659. (c) Mittendorf, J.; Kunisch, F.; Matzke, M.; Militzer, H.-C.; Schmidt, A.; Schönfeld, W. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 433-436. (d) Hamersak, Z.; Roje, M.; Avdagic, A.; Sunjic, V. *Tetrahedron: Asymmetry* **2007**, *18*, 635-644. (e) Yang, D.; Zhang, D-W.; Hao, Y.; Wu, Y-D.; Luo, S-W.; Zhu, N-Y. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 6719-6722. (f) Rathore, N.; Gellman, S. H.; Pablo, J. J. *Biophys. J.* **2006**, *91*, 3425-3435. (g) Kiss, L.; Fülöp, F. *Synlett* **2010**, 1302.
- (a) Porter, E. A.; Weisblum, B.; Gellman, S. H. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 11516-11529. (b) Roy, O.; Faure, S.; Aitken, D. J. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 5981-5984. (c)

Chandrasekhar, S.; Sudhakar, A.; Kiran, M. U.; Babu, B. N.; Jagadeesh, B. *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 7368-7371. (d) Rua, F.; Boussert, S.; Parella, T.; Diez-Perez, I.; Branchadell, V.; Giralt, E.; Ortuno, R. M. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 3643-3645. (e) D'Elia, V.; Zwicknagl, H.; Reiser, O. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 3262-3265. (f) Hetényi, A.; Szakonyi, Zs.; Mándity, I. M.; Szolnoki, É.; Tóth, G. K.; Martinek, T. A.; Fülöp, F. *Chem. Commun.* **2009**, 177-179. (g) Fülöp, F.; Martinek, T. A.; Tóth, G. K. *Chem. Soc. Rev.* **2006**, *35*, 323-334. (h) Martinek, T. A.; Tóth, G. K.; Vass, E.; Hollósi, M.; Fülöp, F. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 1718-1721. (i) Hetényi, A.; Mándity, I. M.; Martinek, T. A.; Tóth, G. K.; Fülöp, F. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 547-553. (j) Martinek, T. A.;

Fülöp, F. *Eur. J. Biochem.* **2003**, *270*, 3657-3666. (k) Torres, E.; Acosta-Silva, C.; Rua, F.; Alvarez-Larena, A.; Parella, T.; Branchadell, V.; Ortuno, R. M. *Tetrahedron* **2009**, *65*, 5669-5675. (l) Fernandez, D.; Torres, E.; Aviles, F. X.; Ortuno, R. M.; Vendrell, J. *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 3824-3828. (m) Fernandes, C.; Pereira, E.; Faure, S.; Aitken, D. J. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 3217-3220. (n) Kiss, L.; Forró, E.; Fülöp, F. Synthesis of carbocyclic β -amino acids. *Amino Acids, Peptides and Proteins in Organic Chemistry*. Vol. 1, Ed. A. B. Hughes, Wiley, Weinheim, **2009**, 367-409.

9. Kiss, L.; Nonn, M.; Forró, E.; Sillanpää, R.; Fülöp, F. *Tetrahedron Lett.* **2009**, *50*, 2605-2608.

10. Nonn, M.; Kiss, L.; Forró, E.; Mucsi, Z.; Fülöp, F.; *Tetrahedron* **2011**, *67*, 4079-4085.

Synthesis of isoxazoline-fused cispentacin derivatives

The 1,3-dipolar cycloaddition of nitrile oxides to alkenes has become widely used as a highly efficient method for the synthesis of isoxazolines.² A number of nitrile oxide cycloadditions to cyclic α - or γ -amino acid derivatives have been performed in recent years with the aim of the synthesis of different biologically active compounds. Alicyclic β -amino acids have acquired great interest in recent years because of their pharmacological potential.⁷

Our aim was to synthesize novel, isoxazoline-fused β -aminocyclopentanecarboxylates regio- and stereoisomers in racemic and enantiomerically pure form.

When amino ester **1a** (with Boc amino protecting group) was submitted to the cycloaddition reactions in THF at 20 °C for 15 h two regioisomers and a diastereomer **2a**, **2b**, **3a**, **3b**, **4a**, **4b** were detected and isolated in moderate yields (Scheme 1, Scheme 3). The regioselectivity can probably be explained in terms of electronic factors: because of the electron-withdrawing effect of the nitrogen atom of the carbamate, the negatively charged oxygen atom of the dipolar agent attacks at C-4 of amino ester **1a**, **1b**, farthest from the carbamate or amide group.

The synthetic routes have also been applied for the synthesis of enantiomerically pure isoxazoline-fused β -aminocyclopentane carboxylates (Scheme 5).

Since the above procedure was not selective, we continued our experiments to search for other synthetic routes for the preparation of isoxazoline-fused cispentacins with higher selectivity. **1a**, **1b** were subjected to 1,3-dipolar cycloaddition under the conditions, using RNO_2 , PhNCO , Et_3N in THF at 65 °C (Scheme 6). The reactions resulted 100% selectively in **2a**, **2b**, **2c**, **2d**. The explanation of the unexpected selectivity under these reaction conditions is not yet clear. The mechanism of the generation of nitrile oxide with PhNCO and Et_3N is similar to that for Boc_2O and DMAP (see Scheme 7). We are not aware of any similar example in the literature.

Whereas the addition to the corresponding *cis* isomer (**1a**, **1b**) gave three isomers (Scheme 1 and 3), under the same experimental conditions (RNO_2 , Boc_2O and DMAP) the *trans* counterparts (**10a**, **10b**) furnished selectively only one cycloadduct isomer (**11a**, **11b**, **11c**, **11d**) (Scheme 9), which can be synthesized by epimerization of very minor product (**4a**, **4b**, **4c**, **4d**) in the presence of NaOEt in EtOH. The selectivity is probably explained by steric and H-bonding interactions (Scheme 10).

The synthesized isoxazoline-fused cispentacin derivatives (Scheme 1 and 3) offered an opportunity for the preparation of new isoxazoline-fused transpentacin derivatives. Accordingly, **2a**, **2b**, **3a**, **3b**, **6a**, **6b**, **7a**, **7b** were epimerized at C-5 with NaOEt in EtOH to give isoxazoline-fused amino esters (Scheme 14), in which the amino and carboxylate functions were *trans*.

Next, the diprotected *cis* amino ester **17** was reacted with nitrile oxides under the conditions given in Scheme 1 and 3 and the transformation led to only the *trans* isoxazoline-fused derivatives (**18a** and **18b**) (Scheme 15). This selectivity can be explained with electron-withdrawing effect of the nitrogen atom of the carbamate, H-bonding interactions were not possible between the diprotected amino function and the nitrile oxide.

The regio- and stereoselectivity of the nitrile oxide 1,3-dipolar cycloaddition were confirmed by theoretical calculations too (see Table 1, 2 and Scheme 12).

The 100% regio- and stereoselective synthesis of **2a** and **6a** (Scheme 6) and **11a** and **11c** (Scheme 9) was extended to their preparation in enantiomerically pure form starting from the racemic β -lactam (**rac-17**) (Scheme 16).

In conclusion, isoxazoline-fused cispentacin derivatives were synthesized regio- and stereoselectively via the 1,3-dipolar cycloaddition of nitrile oxides to ethyl *cis*- and *trans*-2-amino-3-cyclopentene carboxylates. The cycloadducts were also prepared in enantiomerically pure form.