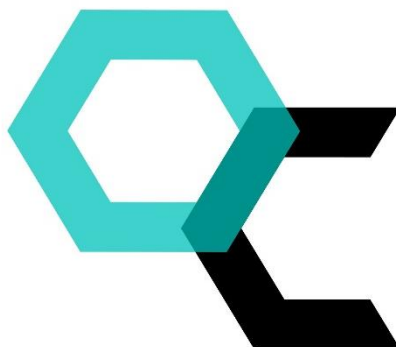


**UNIVERZITA PALACKÉHO V OLMOUCI**

**Přírodovědecká fakulta**

**Katedra organické chemie**



**STUDIUM ENANTIOSELEKTIVNÍ KATALÝZY  
NITROSO-DIELS-ALDEROVY REAKCE NA PEVNÉ FÁZI**

**RIGORÓZNÍ PRÁCE**

Autor:	Mgr. Leona Krátká
Studijní program:	Chemie
Studijní obor:	Organická chemie
Typ studia:	Prezenční
Konzultant práce:	Prof. RNDr. Jan Hlaváč, Ph.D.

**Olomouc 2018**

Já, Leona Krátká, prohlašuji, že jsem tuto rigorózní práci vypracovala samostatně pod odborným dohledem Prof. RNDr. Jana Hlaváče, Ph.D. Veškerou použitou literaturu jsem uvedla na konci práce.

Souhlasím s tím, aby má práce byla zpřístupněna v knihovně Katedry Organické chemie, Přírodovědecké fakulty, Univerzity Palackého v Olomouci.

V Olomouci dne 12. 2. 2018

Leona Krátká

Tímto bych chtěla upřímně poděkovat Prof. RNDr. Janu Hlaváčovi, Ph.D. za jeho odbornou pomoc při řešení dané problematiky. Tato práce vznikla za podpory projektu studentské grantové soutěže na UP reg. č. IGA\_PrF\_2017\_009 a IGA\_LF\_2017\_028 a podpory udržitelnosti Ústavu molekulární a translační medicíny reg. č. LO1304.

## **BIBLIOGRAFICKÁ IDENTIFIKACE:**

<b>Jméno a příjmení autora:</b>	Mgr. Leona Krátká
<b>Název práce:</b>	Studium enantioselektivní katalýzy Nitroso-Diels-Alderovy reakce na pevné fázi
<b>Typ práce:</b>	Rigorózní
<b>Pracoviště:</b>	Katedra organické chemie, Přírodovědecká fakulta Univerzity Palackého v Olomouci
<b>Konzultant:</b>	Prof. RNDr. Jan Hlaváč, Ph.D.
<b>Rok obhajoby práce:</b>	2018
<b>Abstrakt:</b>	Nitroso-Diels-Alderova (NDA) reakce se využívá pro syntézu 3,6-dihydro-1,2-oxazinových derivátů, což jsou důležité meziproducty v syntéze přírodních látek a biologicky aktivních sloučenin. V této práci byl studován enantioselektivní průběh této reakce na pevné fázi. Studovány byly různé katalyzátory, koncentrace, teploty a rozpouštědla, přičemž podmínky byly porovnány s nejlepšími výsledky z roztokové chemie. Nejlepší podmínky byly aplikovány na přípravu dalších 1,2-oxazinových derivátů.
<b>Klíčová slova:</b>	Asymetrická syntéza, chirální katalýza, cykloadice, nitroso-Diels-Alderova reakce, syntéza na pevné fázi.
<b>Počet stran:</b>	44
<b>Počet příloh:</b>	0
<b>Jazyk:</b>	český, anglický

## **BIBLIOGRAPHICAL IDENTIFICATION:**

**Author's first name and surname:** Mgr. Leona Krátká

**Title:** Study of Enantioselective Catalysis of Nitroso-Diels-Alder Reaction on Solid Support

**Type of thesis:** Rigorous

**Department:** Department of Organic Chemistry, Faculty of Science, Palacky University Olomouc

**Consultant:** Prof. RNDr. Jan Hlaváč, Ph.D

**The year of presentation:** 2018

**Abstract:** Nitroso-Diels-Alder (NDA) reaction is used as a tool for the synthesis of 3,6-dihydro-1,2-oxazine derivatives, which are important intermediates in the synthesis of natural products and biologically active compounds. In this work, we investigated the enantioselective version of this reaction on a solid support. We studied various catalysts, concentrations, temperatures and solvents and compared them with the best conditions reported for solution-phase chemistry. The best conditions were also applied to other 1,2-oxazine derivatives.

**Keywords:** Asymmetric synthesis, Chiral catalyst, Cycloadditions, Nitroso Diels-Alder reaction, Solid-phase synthesis

**Number of pages:** 44

**Number of appendixes:** 0

**Language:** Czech, English

## SEZNAM ZKRATEK:

(DHQ) <sub>2</sub> PHAL	hydrochinon 1,4-ftalazindionový ether
DBU	1,8-diazabicyklo[5.4.0]undec-7-en
DCE	dichlorethan
DCM	dichlormethan
DDQ	2,3-dichlor-5,6-dikyano-1,4-benzochinon
DEA	diethylamin
DIC	N,N'-diisopropylkarbodiimid
DMF	dimethylformamid
DMSO	dimethylsulfoxid
Fmoc	fluorenylmethoxykarbonyl
HOBt	hydroxybenzotriazol
HPLC	vysokoúčinná kapalinová chromatografie
HRMS	hmotnostní spectrometrie s vysokým rozlišením (high resolution MS)
Ipc	isopinokamfeyl
LC/MS	kapalinová chromatografie/hmotnostní spektrometrie
MS	molekulové síto
NDA	nitroso-Diels-Alderova reakce
NMR	nukleární magnetická resonance
PDA	detektor fotodiodového pole (photodiode array detector)
Ph	fenyl
PHB	p-hydroxybenzyl alkohol
PMB	p-methoxybenzyl
Py	pyridin
QUINAP	1-(2-difenylfosfino-1-naftyl)isochinolin
Rh <sub>2</sub> -(S-DOSP) <sub>4</sub>	tetrakis[1-[[4-alkyl(C <sub>11</sub> -C <sub>13</sub> )phenyl]sulfonyl]-(2S)-pyrrolidinecarboxylate]dirhodium(II)
RT	pokožová teplota (room temperature)
SFC	superkritická fluidní chromatografie
TBAPI	jodistan tetrabutylamonný (tetrabutylammonium (meta)periodate)
TBS	tert-butyldimethylsilyl
TFA	kyselina trifluoroctová
THF	tetrahydrofuran
TMS	tetramethylsilan

# OBSAH

<b>BIBLIOGRAFICKÁ IDENTIFIKACE:</b> .....	<b>4</b>
<b>BIBLIOGRAPHICAL IDENTIFICATION:</b> .....	<b>5</b>
<b>SEZNAM ZKRATEK:</b> .....	<b>6</b>
<b>OBSAH</b> .....	<b>7</b>
<b>1. ÚVOD</b> .....	<b>8</b>
<b>2. SEZNÁMENÍ S TÉMATIKOU</b> .....	<b>8</b>
2.1. STEREOSELEKTIVNÍ SYNTÉZA NA PEVNÉ FÁZI .....	8
2.2. KOMENTÁŘ K PŘEDLOŽENÉ PUBLIKACI .....	16
2.2.1. <i>Optimalizace podmínek enantioselektivní nitroso-Diels-Alderovy reakce na pevné fázi</i> .....	16
2.2.2. <i>Aplikace enantioselektivních podmínek NDA reakce na další deriváty</i> .....	17
2.3. SHRNUÍ.....	23
2.4. LITERATURA .....	24
<b>3. PUBLIKACE K RIGORÓZNÍ PRÁCI</b> .....	<b>27</b>
<b>4. DOPLŇUJÍCÍ INFORMACE K PUBLIKACI</b> .....	<b>33</b>

# 1. ÚVOD

Tato rigorózní práce je členěna do tří hlavních částí. Kapitola Seznámení s tematikou obsahuje přehled popsaných stereoselektivních reakcí na pevné fázi, komentář k předložené publikaci s doplňujícími informacemi a shrnutí. Následuje článek publikovaný v časopise ChemistrySelect, který se zabývá porovnáním enantioselektivních podmínek nitroso-Diels-Alderovy (NDA) reakce vedoucí k 3,6-dihydro-1,2-oxazinům na pevné fázi a v roztoku. Poslední část obsahuje experimentální data a další doplňující informace k publikaci (Supporting information).

## 2. SEZNÁMENÍ S TÉMATIKOU

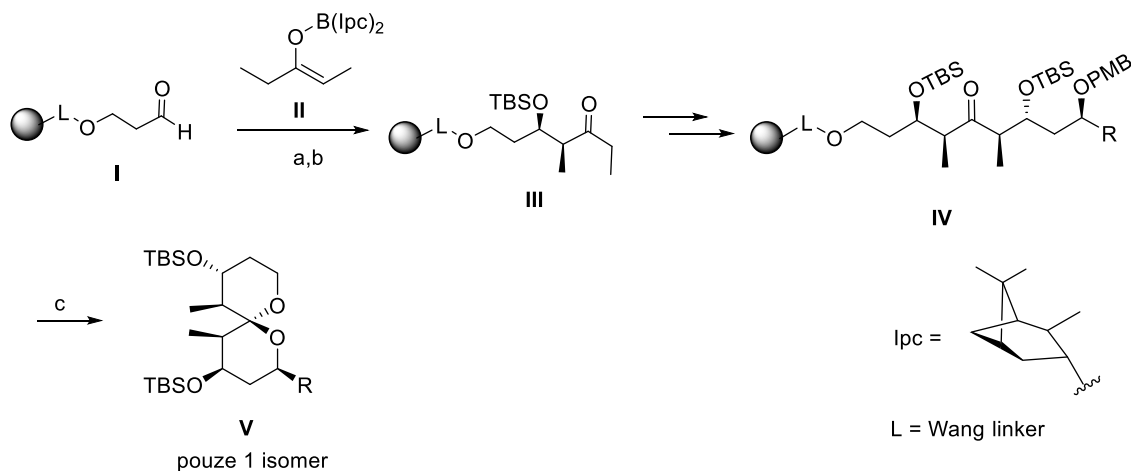
### 2.1. Stereoselektivní syntéza na pevné fázi

Syntéza na pevné fázi je účinný prostředek k syntéze organických sloučenin především ve vyšším počtu, často s využitím principů kombinatoriální chemie. Mnoho technik bylo vyvinuto a značné množství reakcí využívaných v roztokové chemii bylo adaptováno na syntézu na pevné fázi. Přesto jsou právě stereoselektivní syntézy na pevné fázi, které nevyužívají chirální stavební jednotky, stále málo prozkoumány. V roce 2006 Lessmann a Waldmann publikovali review zabývající se enantioselektivními reakcemi na pevné fázi,<sup>1</sup> od té doby bylo dále studováno pouze malé množství reakcí. Dále bude uveden přehled úspěšných stereoselektivních reakcí na pevné fázi.

Jednou z popsaných metodik jsou stereoselektivní aldolové reakce vedoucí ke knihovně spiro[5.5]ketalů.<sup>2-4</sup> Tento strukturní motiv se často nachází v přírodních látkách. Aldehyd **I** imobilizovaný na Wangově linkeru reagoval s připraveným Z-enolátem **II** za tvorby aldolového aduktu **III** (Schéma 1). Finální produkt **V** byl připraven odštěpením z nosiče během oxidativního odchránění *p*-methoxybenzylové skupiny. Výsledné spiroketaly byly připraveny během 12-ti krokové syntéze ve vysokých celkových výtěžcích s vysokou stereoselektivitou.<sup>2,3</sup> Analogicky byly připraveny látky s využitím imobilizace na silylovém linkeru ve výsledném

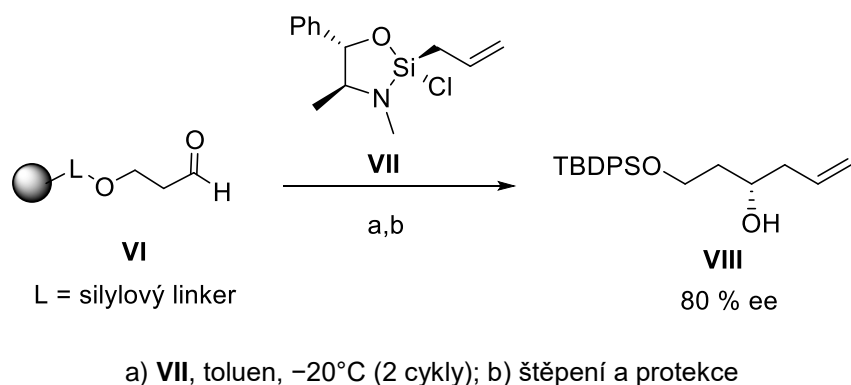


diastereoizomerním poměru  $> 20 : 1$ .<sup>4</sup> Podmínky z roztokové chemie zde mohly být aplikovány, pro úplnou konverzi však bylo potřebné provést reakci ve dvou cyklech.



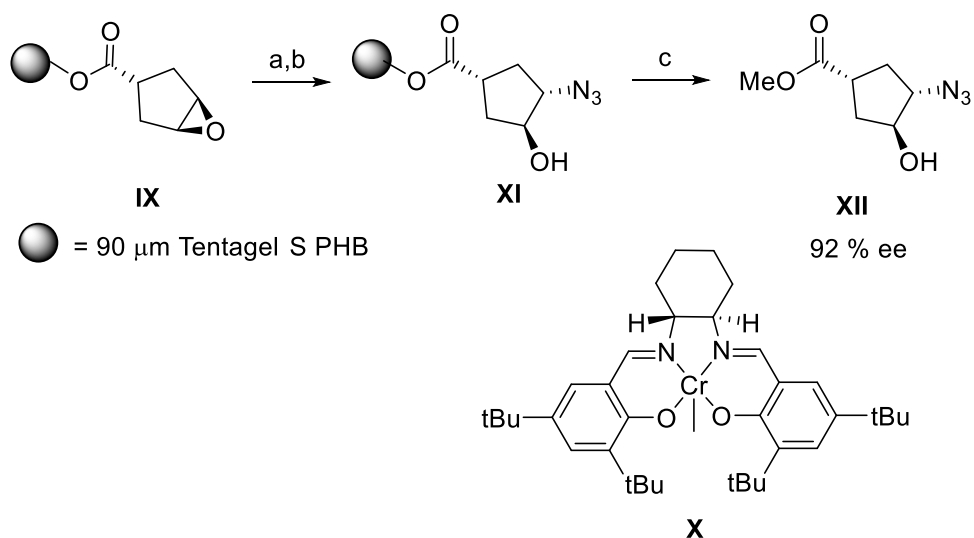
**Schéma 1:** Syntéza spiro[5.5]ketalů pomocí stereoselektivní aldolové reakce.

Mezi další stereoselektivní reakce patří allylace aldehydů. Aldehyd **VI** imobilizovaný na silylovém linkeru reagoval s chirálním allylchlorosilanem **VII** za vzniku sloučeniny **VIII** v enantiomerní čistotě 80 % (Schéma 2). Stejněho výsledku bylo dosaženo při paralelní reakci v roztoku, avšak pro úplnou konverzi na pevné fázi bylo opět nutné reakci opakovat dvakrát.<sup>5</sup>



**Schéma 2:** Asymetrická allylace aldehydů

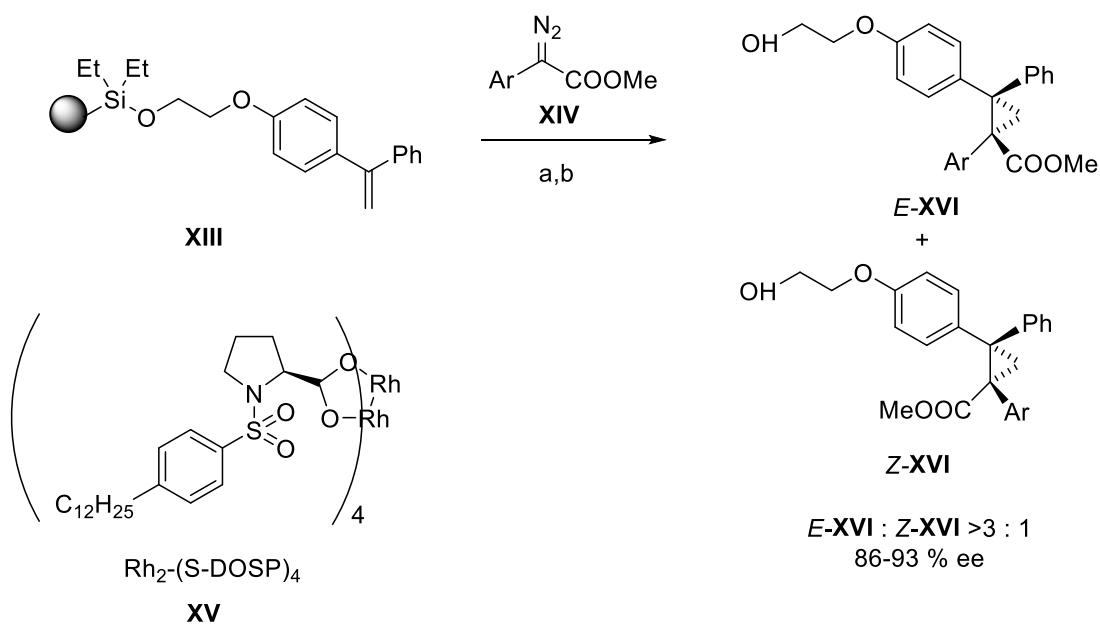
Otevírání epoxidového kruhu bylo další studovanou stereoselektivní reakcí. Na TentaGel S-PHB pryskyřici imobilizovaný epoxi ester bylo působenou nadbytkem  $\text{TMSN}_3$  v přítomnosti  $[(\text{salen})\text{CrN}_3]$  komplexu (R,R)-**X** (Schéma 3). Produkt **XII** byl izolován ve výtěžku 92 % s enantiomerní čistotou 95 %.<sup>6</sup>



a)  $\text{TMSN}_3$  (20 ekv.), (R, R)-**X** (20 mol%),  $\text{Et}_2\text{O}$ , 24 h; b) TFA, MeOH; c) MeOH/DMF/ $\text{Et}_3\text{N}$  (9/1/1),  $60^\circ\text{C}$

### Schéma 3: Otevírání epoxidového kruhu

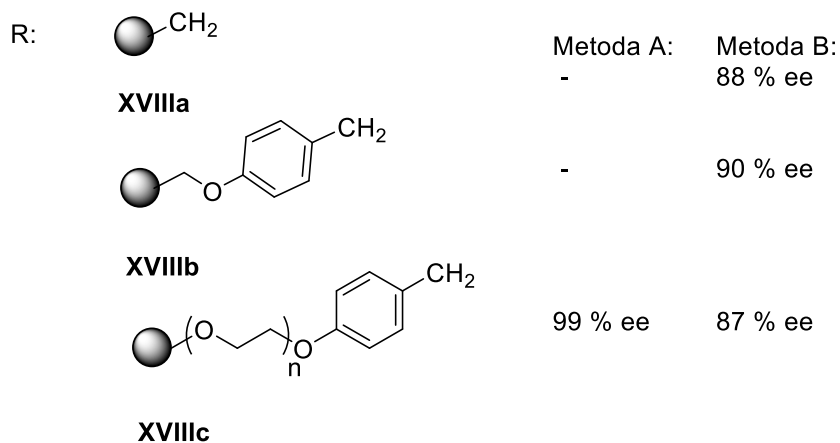
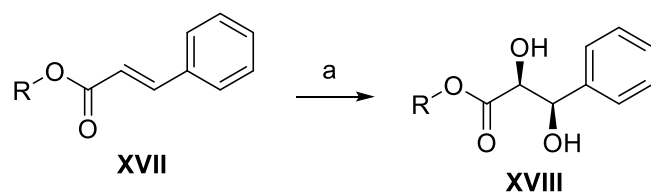
Pro syntézu aryl substituovaných cyklopropanových derivátů lze využít stereoselektivní cyklopropanace. 1,1-Diarylethylen **XIII** imobilizovaný na polystyrenové pryskyřici se silylovým linkerem reagoval se sedmi různými aryldiazoacetáty **XIV** za katalýzy  $\text{Rh}_2\text{-(S-DOSP)}_4$  **XV** (Schéma 4). Cyklopropanové deriváty **XVI** byly připraveny ve vysoké diastereo a enantioselektivitě ( $E : Z > 3 : 1$ ; až 96 % ee). Výsledky byly srovnatelné s reakcemi v roztoku.<sup>7</sup>



a) **XIV** (5 ekv.),  $Rh_2-(S-DOSP)_4$  **XV** (1 mol%), DCM; b) HF-pyridin, MeOTMS

#### Schéma 4: Stereoselektivní cyklopropanace

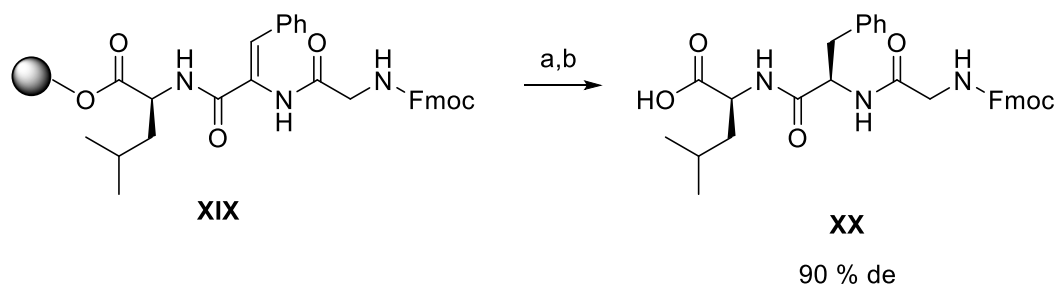
Rozšířenou metodou stereoselektivní reakce na pevné fázi je dihydroxylace dvojných vazby.<sup>8-10</sup> Až 99% enantioselektivity bylo dosaženo na TentaGelové pryskyřici za katalýzy  $(DHQ)_2PHAL$ .<sup>8</sup> Studovány byly podmínky Sharplesovy asymetrické dihydroxylace a jejich účinek v souvislosti s použitou pryskyřicí. Využití reoxidujícího činidla  $K_3Fe(CN)_6$  ve směsi rozpouštědel tert-butanol/voda vedlo ke konverzi pouze na TentaGelové pryskyřice **XVIIIc** s enantioselektivitou 99 % (Schéma 5). Naopak využití *N*-methylmorfolinu v rozpouštědlech aceton/voda vedlo ke konverzi i na Merrifieldově a Wangově pryskyřici (**XVIIIa**, **XVIIIb**) se srovnatelnou enantioselektivitou 87 % - 90 % ee.



a) OsO<sub>4</sub> (1 mol%), (DHQ)<sub>2</sub>PHAL (2,5 mol%), Metoda A: K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>, tBuOH/voda (1/1), RT;  
 Metoda B: NMO, aceton/voda (10/1), 4°C.

#### Schéma 5: Sharplessova asymetrická dihydroxylace

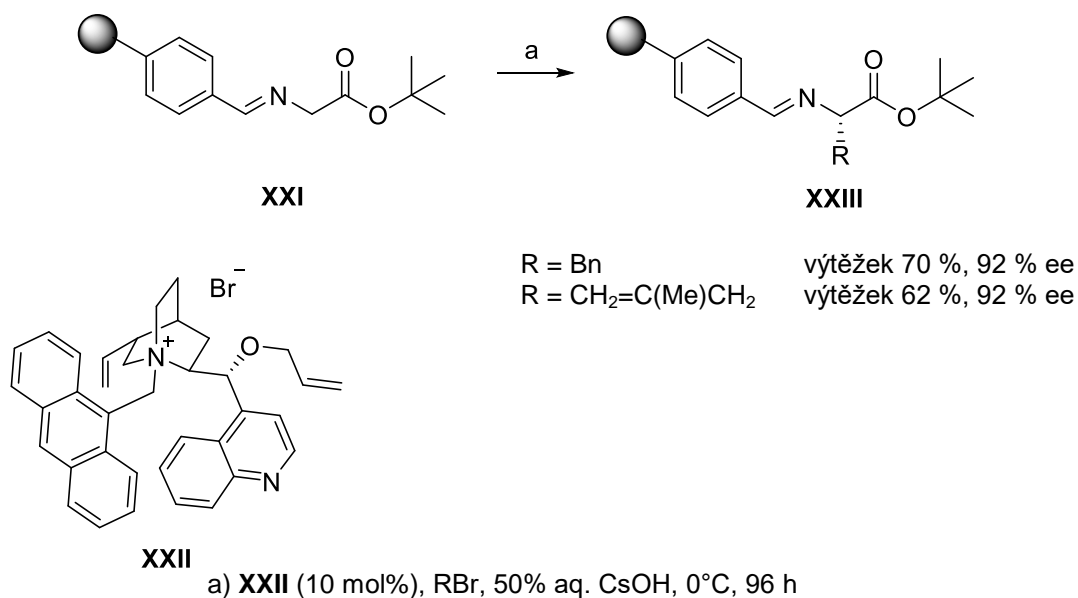
Využití katalytické hydrogenace je u reakcí na pevné fázi značně omezené. Přesto byla popsána asymetrická hydrogenace dehydropeptidu **XIX** (Schéma 6). Redukce byla provedena vodíkem při tlaku 150 psi za katalýzy 10 mol% [Rh(Ph-CAPP)(NBD)]BF<sub>4</sub> na Wangově pryskyřici. Produkt **XX** vznikl v diastereomerním poměru 95:5.<sup>11</sup> Další úspěšná hydrogenace na podobném substrátu byla provedena na Rinkově amidové pryskyřici za katalýzy Rh-Me-DuPHOS s vysokou selektivitou >94 : 4 u 20 z 36 případů.<sup>12</sup>



a) H<sub>2</sub> (150 psi), [Rh(Ph-CAPP)(NBD)]BF<sub>4</sub> (10 mol%), toluen/iPrOH, 40°C; b) TFA, RT

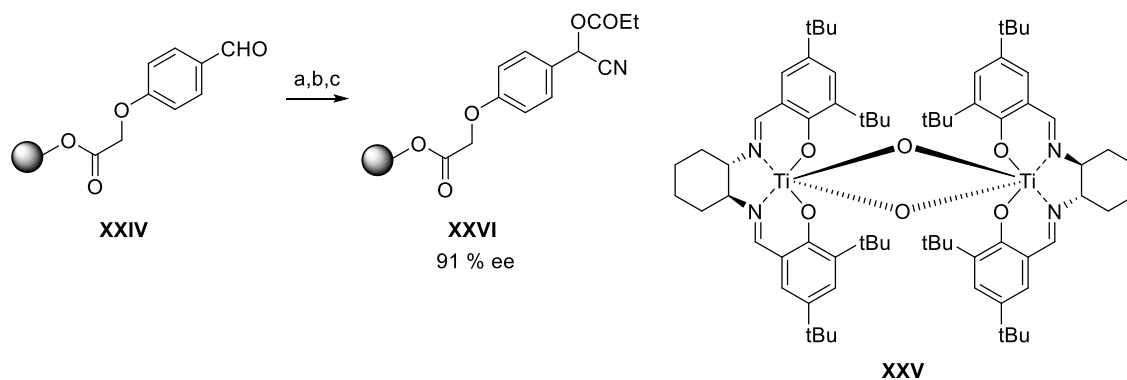
#### Schéma 6: Asymetrická hydrogenace

Studována byla také enantioselektivní alkylace imobilizovaných aminokyselin.<sup>13-15</sup> Nejvyšší enantioselektivita 92 % ee bylo dosaženo při alkylaci sloučeniny **XXI** za katalýzy cinchonidinovým derivátem **XXII** ve vodném roztoku hydroxidu cesného (Schéma 7).<sup>15</sup>



**Schéma 7:** Enantioselektivní alkylace

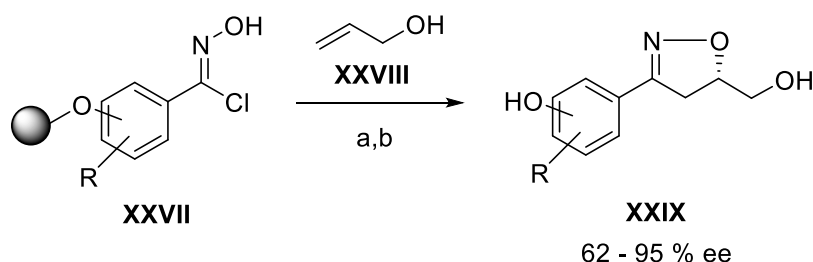
Enantioselektivní syntéza na pevné fázi byla využita pro přípravu kyanhydrinů. Použit byl titanový(salen) komplex **XXV** pro kyanhydrinovou syntézu aromatického aldehydu **XXIV** vázaného na Wangově pryskyřici (Schéma 8).<sup>16</sup> Výsledný produkt vznikl v 91% ee. Na rozdíl od reakce v roztoku bylo nutné zdvojnásobit množství katalyzátoru na 2 mol% a zvýšit teplotu z  $-90^{\circ}\text{C}$  až  $-40^{\circ}\text{C}$  na  $0^{\circ}\text{C}$ .



a) KCN (8 ekv.), (EtCO)<sub>2</sub>O (8 ekv.), **XXIV** (2 mol%), tBuOH (1 ekv.), H<sub>2</sub>O (1 ekv.), DCM 0°C; b) TFA; c) TMSCHN<sub>2</sub>

**Schéma 8:** Enantioselektivní kyanhydrinová syntéza

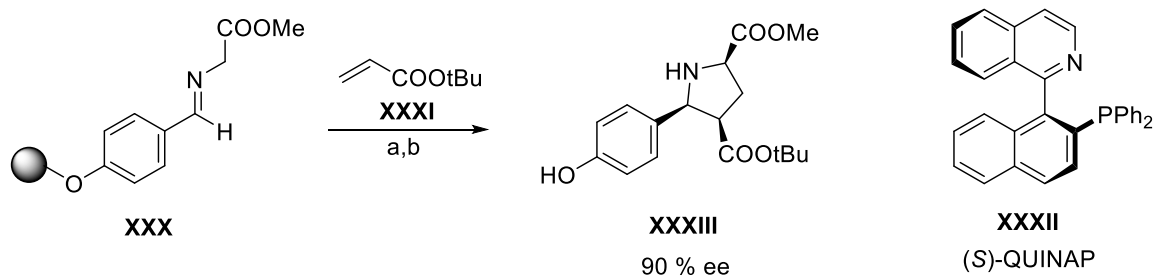
Rozšířenou skupinou stereoselektivních reakcí na pevné fázi jsou cykloadiční reakce. Popsána byla 1,3-dipolární cykloadice nitriloxidů **XXVII** s allyl alkoholem **XXVIII** (Schéma 9).<sup>17</sup> Ve studii byl použit (-)-diiosopropyl tartrát jako chirální činidlo a EtMgBr jako báze. Na Wangově pryskyřici vázané sloučeniny **XXVII** byly převedeny na příslušné isoxazolinové deriváty **XXIX** ve výtěžcích 50 – 70 % s enantioselektivitou až 95 % ee.



a) EtMgBr, (-)-diiosopropyl tartrát, CHCl<sub>3</sub>, -50°C; b) 10% TFA/DCM, RT

#### Schéma 9: Enantioselektivní 1,3-dipolární cykloadice

Další enantioselektivní reakcí vedoucí ke tvorbě pětičlenného cyklu je [3+2] cykloadice. Aromatický azomethin ylid **XXX** imobilizovaný na polystyrenové pryskyřici reagoval s *tert*-butyl akrylátem **XXXI** za katalýzy komplexem acetát stříbrný/(*S*)-QUINAP **XXXII** (Schéma 10).<sup>18</sup> Preferovaný *endo*-izomer **XXXIII** vznikl ve výtěžku 79 % a enantioselektivitě 90 %. Oproti analogické reakce v roztoku bylo nutné zvýšit množství katalyzátoru z 3 mol% na 10 mol%.

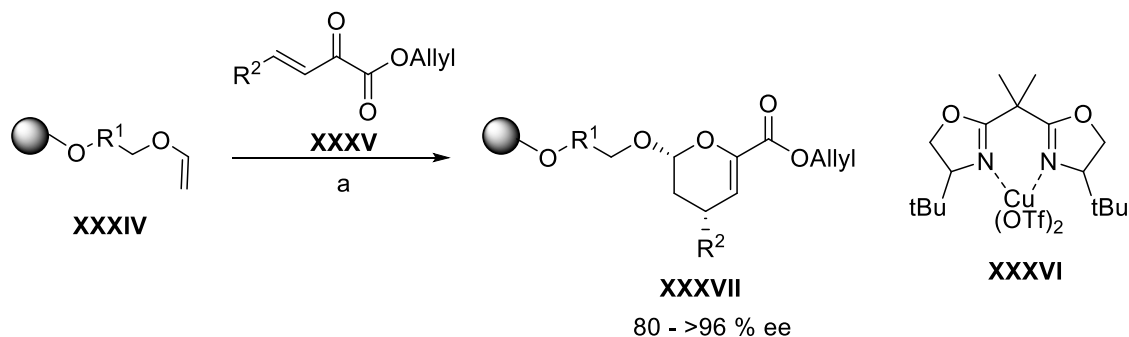


a) **XXXI**, iPr<sub>2</sub>NEt, AgOAc (10 mol%), /(*S*)-QUINAP (10 mol%), THF, -45°C; b) HF.py/py/THF, TMSOEt

#### Schéma 10: [3+2] cykloadice

Mezi [4+2] cykloadicemi byly studovány tzv. „inverse electron-demand“ hetero-Diels-Alderova reakce a oxa-Diels-Alderova reakce.<sup>19-22</sup> Reakce imobilizovaných enol etherů **XXXIV** s heterodieny **XXXV** byla katalyzovaná chirálním katalyzátorem

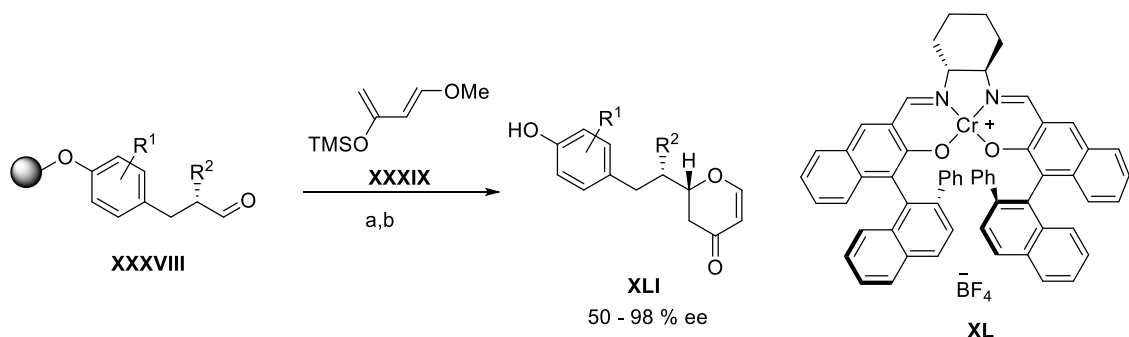
**XXXVI** (Schéma 11).<sup>22</sup> Výsledné sloučeniny **XXXVII** byly připraveny v enantioselektivitě až 96 %. Oproti reakci v roztoku však bylo nutné použít až desetinásobné množství katalyzátoru.



a) **XXXVI** (20 mol%), THF, RT

### Schéma 11: Enantioselektivní hetero-Diels-Alderova reakce

Oxa-Diels-Alderova reakce byla využita k přípravě substituovaných tetrahydropyranů.<sup>20,21</sup> Na Wangově pryskyřici imobilizovaný aldehyd **XXXVIII** reagoval s Danishefskyho dienem **XXXIX** za katalýzy chromovým katalyzátorem **XL** (Schéma 12).<sup>21</sup> Výsledné tetrahydropyranové deriváty vznikly s 50 až 98% ee.



a) **XXXIX** (3 ekv), **XL** (5 mol%), DCM, MS 4Å; b) 10% TFA/DCM, 3 h, RT

### Schéma 12: Oxa-Diels-Alderova reakce

Mezi další studované stereoselektivní reakce na pevné fázi s enantioselektivitou menší než 80 % ee patří adice acetylenů na iminiové ionty s 75% ee<sup>23</sup> a adice alkyl zinkového činidla na aldehydy s maximálně 60% ee.<sup>24</sup>

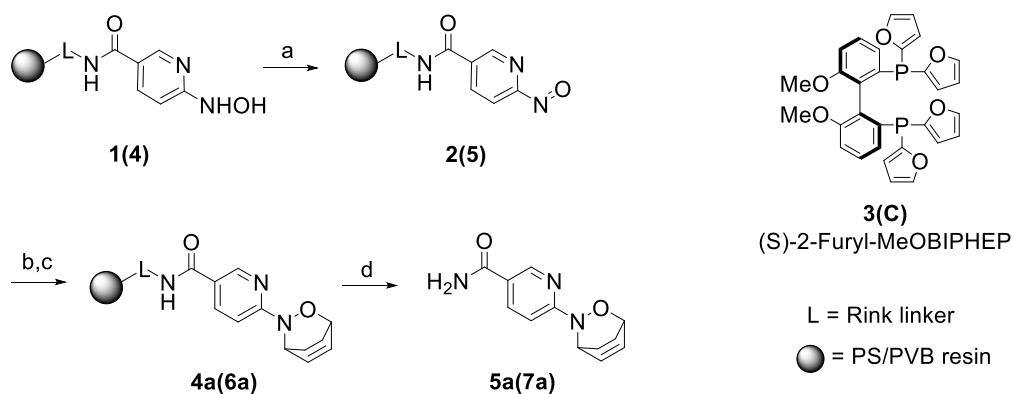
## 2.2. Komentář k předložené publikaci

Číslování struktur v následující kapitole bude chronologicky uvedeno arabskými čísly, číslo v závorce bude odpovídat číslu struktury v publikaci, pokud se v ní nachází.

Cílem předložené publikace bylo připravit imobilizované 3,6-dihydro-1,2-oxazinové deriváty pomocí nitroso-Diels-Alderovy reakce ve snaze rozšířit množství stereoselektivních reakcí na pevné fázi. Tyto deriváty jsou důležité meziproducty v syntéze přírodních látek a biologicky aktivních sloučenin. Jelikož enantioselektivní verze této reakce na pevné fázi dosud nebyla studována, vycházelo se z popsaných podmínek analogické reakce v roztoku, kde bylo dosaženo až 97% ee.<sup>25</sup>

### 2.2.1. Optimalizace podmínek enantioselektivní nitroso-Diels-Alderovy reakce na pevné fázi

První část publikace se zabývá optimalizací podmínek na modelové reakci (Schéma 13). Studovány byly vlivy chirálního ligandu, jeho koncentrace a poměr ke komplexačnímu činidlu  $\text{CuPF}_6(\text{MeCN})_4$ , dále vlivy teploty a rozpouštědla. Na rozdíl od reakce v roztoku<sup>25</sup> nejvhodnějším chirálním ligandem byl (S)-2-furyl-MeOBIPHEP **3(C)** v koncentraci 13  $\mu\text{M}$  a v poměru ku  $\text{CuPF}_6(\text{MeCN})_4$  1:1, optimální teplotou reakce bylo  $-20^\circ\text{C}$  a vhodným rozpouštědlem dichlormethan (Schéma 13).



a) jodistan tetrabutylamonný, DCM, 1 h,  $-20^\circ\text{C}$ ; b) ligand **3(C)**/ $\text{CuPF}_6(\text{MeCN})_4$  komplex, DCM, 1 h,  $-20^\circ\text{C}$  c) 1,3-cyklohexadien, 1 h,  $-20^\circ\text{C}$ ; d) TFA/DCM, 30 min, RT.

Schéma 13 Syntéza modelového 1,2-oxazinového derivátu



Oproti publikaci byla dále studována změna komplexačního činidla, nicméně ani jedna zvolená látka nevedla ke tvorbě komplexu a reakce tudíž proběhla nestereoselektivně.

**Tabulka 1:** Porovnání komplexačních činidel<sup>a</sup>

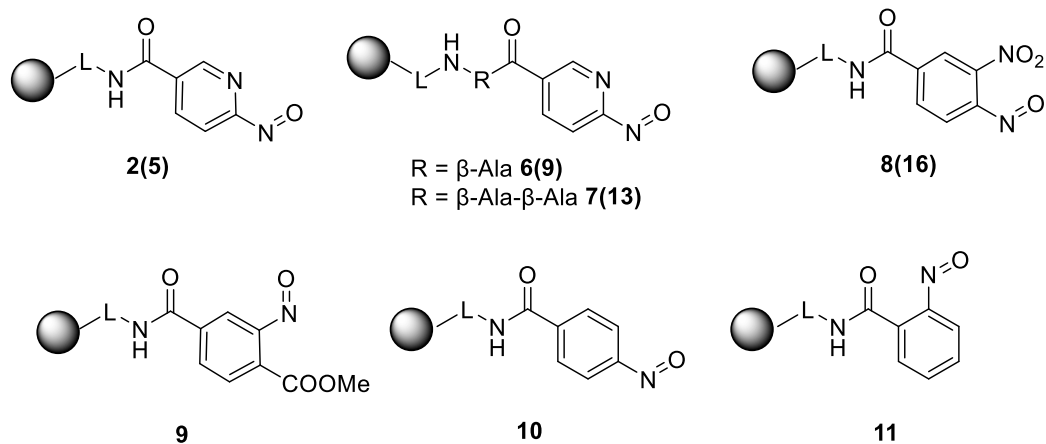
Pokus	Komplexační činidlo	HPLC čistota <sup>b</sup> (%)	ee (%)
1	CuPF <sub>6</sub> (MeCN) <sub>4</sub>	89	76
2	∅	88	0
3	FeCl <sub>3</sub>	71	10
4	Pd(OAc) <sub>2</sub>	67	0
5	Pd(PPh <sub>3</sub> ) <sub>4</sub>	87	0
6	Zn(OAc) <sub>2</sub>	94	0
7	Cu(OAc) <sub>2</sub>	94	0
8	Co(OAc) <sub>2</sub>	95	0

<sup>a</sup>při koncentraci 13 μM chirálního fosfinového ligandu **3(C)** a komplexačního činidla, teplotě -20°C, v DCM <sup>b</sup>Stanoveno pomocí HPLC/PDA

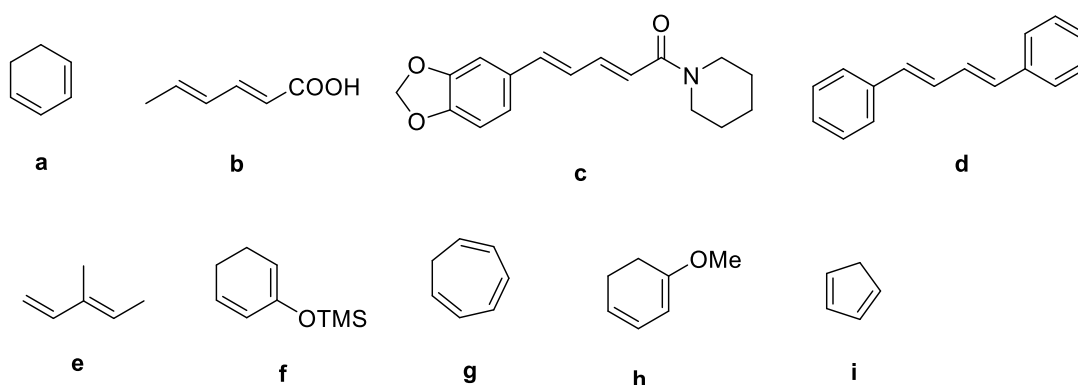
### 2.2.2. Aplikace enantioselektivních podmínek NDA reakce na další deriváty

Druhá část publikace se věnuje aplikaci optimalizovaných podmínek na další deriváty. Nejprve byly zkoumány reakce různých nitrosolátek s cyklohexadienem, následně pak reakce nitroso látky **2(5)** s různými dieny (Obrázek 1). Před samotnou aplikací enantioselektivních podmínek však bylo potřeba vybrat a nasyntetizovat vhodné nitroso deriváty, vybrat různé komerčně dostupné dieny a ověřit tvorbu 3,6-dihydro-1,2-oxazinových derivátů pomocí nekatalyzované NDA reakce.

nitroso sloučeniny:



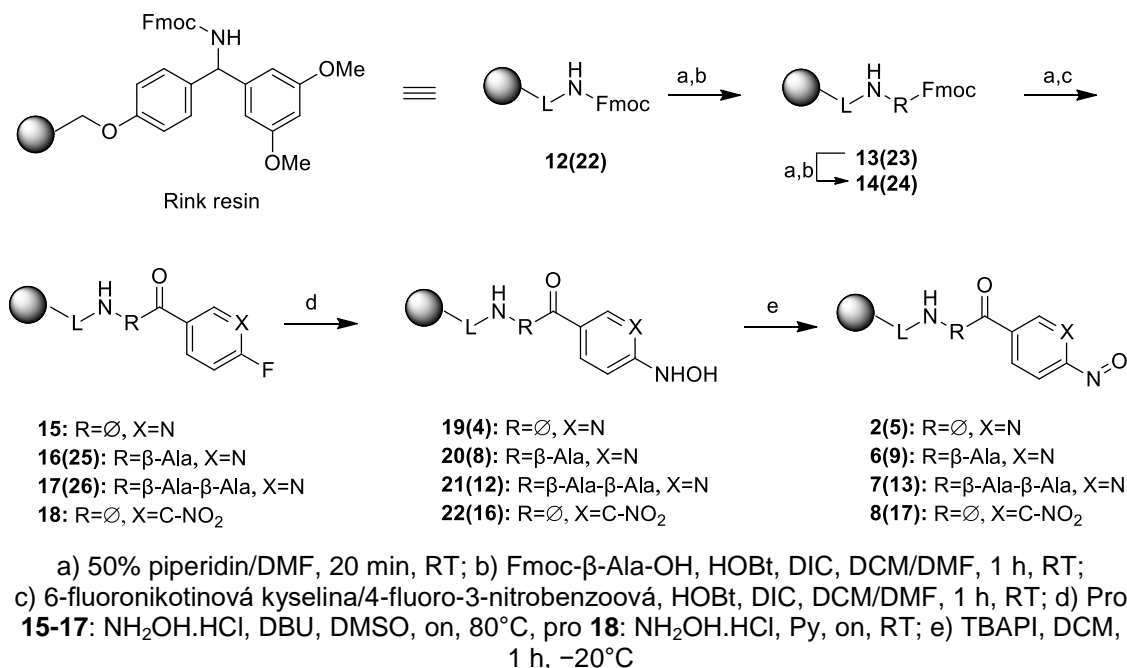
dieny:



**Obrázek 1:** Zvolené nitrosolátky a dieny

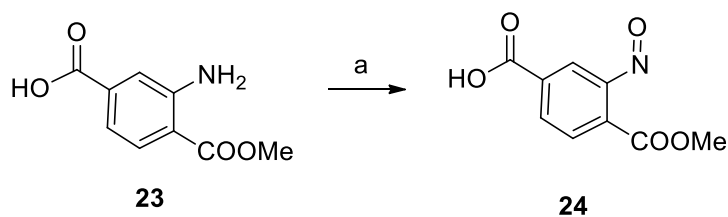
### Syntéza nitrosolátek

Syntéza nitrosolátek **2(5)**, **6(9)**, **7(13)** a **8(17)** spočívala v oxidaci odpovídajících hydroxylaminových derivátů (Schéma 14), jejichž syntézou a optimalizací jsem se zabývala ve své diplomové práci.<sup>26</sup> Na Rinkovu pryskyřici **12(22)** byla nejprve navázána jedna nebo dvě molekuly  $\beta$ -alaninu. Dále byla provedena acylace kyselinou 6-fluornikotinovou nebo 4-fluor-3-nitrobenzoovou. Nakonec byl fluor substituován hydroxylaminem (Schéma 14). Po oxidaci hydroxylaminových derivátů jodistanem tetrabutylamonnným byly nitrosolátky použity ihned do další reakce.



**Schéma 14:** Syntéza hydroxylaminových prekurzorů pro nitrosolátky **2(5)**, **6(9)**, **7(13)** a **8(17)**

Pro syntézu nitrosolátek **9-11** byla zvolena oxidace Oxonem podle analogické reakce v roztoku (Schéma 15).<sup>27</sup> Při této reakci byla po 2 hodinách připravena nitrosolátka **24** ve výtěžku 89 %. Při reprodukci popsaných podmínek byl produkt **24** přítomen ve směsi pouze z 16 %, proto bylo nutné prodloužit reakční dobu. Reakce byla míchána přes noc a po 21 hodinách byla výchozí látka zcela odreagovaná a produkt **24** byl připraven v HPLC čistotě 75 %. Po filtraci a promytí vodou byl produkt izolován v HPLC čistotě 99 % a ve výtěžku 60 %.

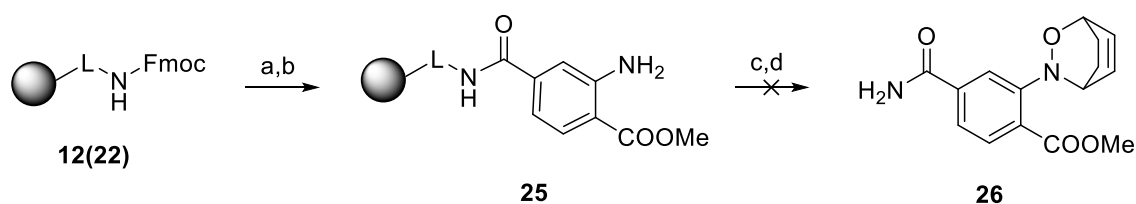


a) Oxone<sup>®</sup> (KHSO<sub>5</sub>, ½KHSO<sub>4</sub>, ½K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), voda, DCM, 2 h, RT

**Schéma 15:** Popsaná oxidace Oxonem v roztoku

Omezení této reakce může spočívat v použití heterogenní směsi voda/dichlormethanu, jelikož je voda nekompatibilní rozpouštědlo s Rinkovou pryskyřicí. Jelikož již byla popsána úspěšná redukce nitro skupiny dithioničitanem

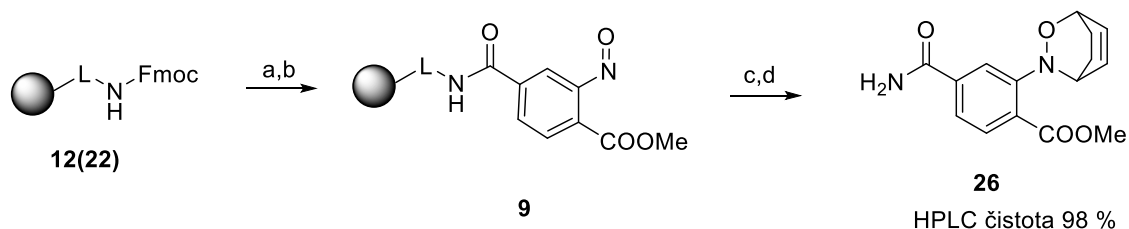
sodným ve stejné směsi rozpouštědel,<sup>28</sup> rozhodli jsme se využít tuto reakci a rozšířit tak portfolio použitelných reakcí na pevné fázi. Na Rinkovu pryskyřici byla standardními acylačními podmínkami navázána látka **23**, látka **25** byla získaná v HPLC čistotě 100 %. Následovala oxidace Oxonem se současným přídavkem 1,3-cyclohexadienu pro okamžité zachycení vzniklé nitrosolátky **9**. Reakce běžela za laboratorní teploty, avšak po 22 h byla na pryskyřici přítomná pouze výchozí látka **25**.



a) 50% piperidin/DMF, 20 min, RT; b) **23**, HOBt, DIC, DCM/DMF, 1 h, RT; c) Oxone<sup>®</sup>, 1,3-cyklohexadien, voda, DCM, on, RT; d) TFA/DCM, 30 min, RT

#### Schéma 16: Oxidace aminoskupiny a následná *in situ* NDA reakce

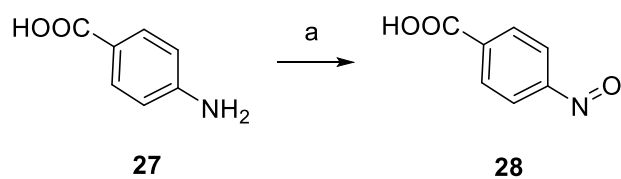
Přistoupeno bylo k variantě, kdy byla v roztoku připravená nitrosolátka **24** navázána na Rinkovu pryskyřici. Následně proběhla NDA reakce s 1,3-cyklohexadienem (Schéma 17), kdy požadovaný oxazinový derivát **26** vznikl v HPLC čistotě 98 %.



a) 50% piperidin/DMF, 20 min, RT; b) **24**, HOBt, DIC, DCM/DMF, 1 h; c) 1,3-cyklohexadien, DCM, 1 h, RT; d) TFA/DCM, 30 min, RT

#### Schéma 17: Syntéza nitrosolátky **9** a ověření následnou NDA reakcí

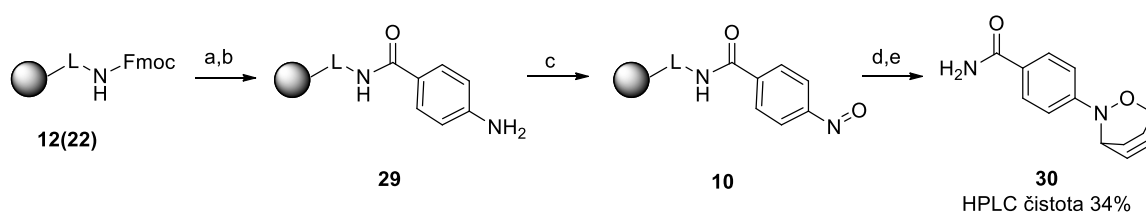
Pro přípravu nitrosolátky **10** byla nejprve analyticky ověřena analogická reakce v roztoku (Schéma 18). Reakční doba zůstala přes noc.



a) Oxone<sup>®</sup>, voda, DCM, on, RT

**Schéma 18:** Oxidace kyselina *p*-aminobenzoové

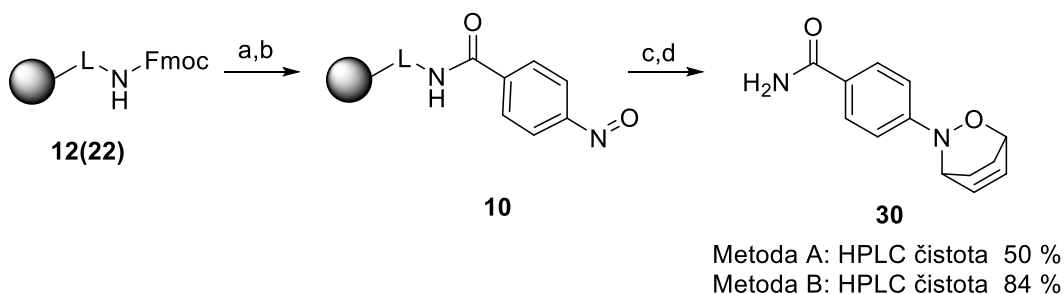
Na rozdíl od předchozího prekursoru, oxidace látky **29** na pevné fázi částečně proběhla, avšak výsledný oxazinový derivát **30** byl připraven v HPLC čistotě pouze 34 % (Schéma 19).



a) 50% piperidin/DMF, 20 min, RT; b) **27**, HOBt, DIC, DCM/DMF, 1 h, RT; c) Oxone<sup>®</sup>, voda, DCM, on, RT d) 1,3 cyklohexadien, DCM, 1 h, RT; e) TFA/DCM, 30 min, RT

**Schéma 19:** Oxidace Oxonem na pevné fázi

Opět bylo přistoupeno k přípravě nitrosolátky **28** v roztoku a jejímu následnému navázání na pryskyřici (Schéma 20). Došlo k nepatrnému zvýšení HPLC čistoty oxazinu **30** na 50 %. Oproti standardním podmínkám acylace byla vyzkoušena reakce bez HOBt, který je nezbytný pouze acylací aminokyselin k zachování konfigurace chirálního centra. Tato reakce vedla ke tvorbě oxazinu **31** v HPLC čistotě 84 % (Obrázek 2). Nitrosolátku **11** se připravit nepodařilo.



a) 50% piperidin/DMF, 20 min, RT; b) Metoda A: **28**, HOBt, DIC, DCM/DMF, 1 h, RT; Metoda B: **28**, DIC, DCM/DMF, 1 h, RT c) 1,3 cyklohexadiene, DCM, 1 h, RT; d) TFA/DCM, 30 min, RT

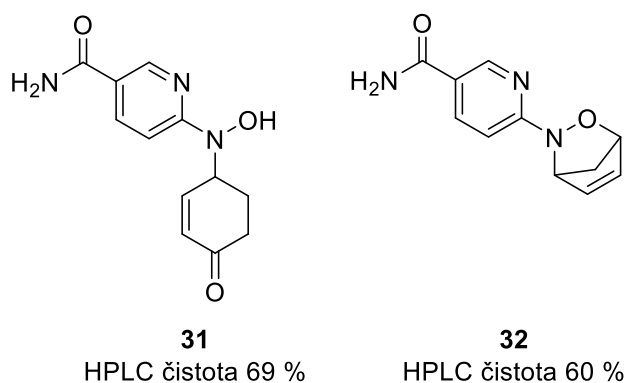
**Schéma 20:** Navázání nitrosolátky **10** a ověření následnou NDA reakcí

Jelikož se nitrosolátky **9-11** nepodařilo připravit přímo na pryskyřici, rozhodli jsme se z důvodu bezpečnosti nemanipulovat s nenávanými nitroso sloučeninami v preparativním měřítku a proto byly látky **9-11** ze studie vyřazeny. Použity byly pouze deriváty kyseliny 6-fluornikotinové **2(5)**, **6(9)**, **7(13)** a derivát kyseliny 4-fluor-3-nitrobenzoové **8(16)**.

### Výběr dienů

Z výsledků studie enantioselektivní katalýzy nitrosolátky **2(5)** s dieny **a-f** a trienem **g** (viz kapitola 3. Publikace k rigorózní práci, Table 8) vyplývá, že acyklické dieny nejsou zcela vhodné pro danou reakci z důvodu dosažení nízké enantioselektivity. Pro větší počet příkladů reakce s cyklickými dieny byly vybrány 1-methoxy-1,3-cyklohexadien **h** a cyklopentadien **i**.

Při NDA reakci s 1-methoxy-1,3-cyklohexadienem **h** a následném štěpení trifluoroctovou kyselinou došlo analogicky jako u 2-TMSO-1,3-cyklohexadienu **f** ke štěpení C-O vazby a stabilizaci produktu za vzniku látky **31** v HPLC čistotě 69 % (Obrázek 2). Cyklopentadien poskytoval příslušný oxazinový derivát **32** v HPLC čistotě 60 %. Hlavním problémem byl ale vznik nečistoty, kterou se nepodařilo chromatograficky oddělit, a tudíž nebylo možné určit přesný poměr enantiomerů během katalyzované reakce. Tyto dieny tak byly pro studii nepoužitelné.



**Obrázek 2:** Produkty NDA reakce s 1-methoxy-1,3-cyklohexadienem **h** a cyklopentadienem **i**

Celkově je možné říci, že stejně jako výběr nitroso sloučenin byl značně omezen i výběr vhodných dienů. Méně reaktivní acyklické dieny poskytovali nízkou enantioselektivitu. Substituované 1,3-cyklohexadieny zase nebyly stabilní během

štěpení s trifluoroctovou kyselinou a docházelo tak k modifikaci oxazinového kruhu štěpením C-O vazby.

### 2.3. Shrnutí

Předložená publikace si kladla za cíl připravit imobilizované 3,6-dihydro-1,2-oxazinové deriváty pomocí nitroso-Diels-Alderovy reakce a rozšířit tak portfolio stereoselektivních reakcí použitelných na pevné fázi. Optimalizace vhodných podmínek byla provedena s porovnáním podmínek analogické reakce v roztoku.<sup>25</sup> Nejlepší podmínky zahrnovali použití chirálního ligandu **3(C)** s komplexačním činidlem  $\text{CuPF}_6(\text{MeCN})_4$  v koncentraci 13  $\mu\text{mol/ml}$  v poměru 1:1, dále použití konstantní reakční teploty  $-20\text{ }^\circ\text{C}$  a rozpouštědla dichlormethan. Přesto bylo dosaženo maximálně 76% enantioselektivity. Pro aplikaci optimalizovaných podmínek na další deriváty bylo nejprve nutné navrhnout a nasyntetizovat vhodné nitrosolátky a vybrat vhodné dieny. Jelikož se nitrosolátky **9-11** nepodařilo připravit přímo na pryskyřici, byly zvoleny pouze dříve studované deriváty kyseliny nikotinové **2(5)**, **6(9)**, **7(13)** a derivát kyseliny 3-nitrobenzoové **8(16)**.<sup>26,29-31</sup> Pro zvolený katalytický systém byly vhodné pouze  $\alpha$ -nitrosopyrimidinové deriváty, u látky **8(16)** nedocházelo ke koordinaci nitroskupiny s chirálním komplexem a NDA reakce probíhala zcela nestereoselektivně. Výběr cyklických a acyklických dienů byl také omezen. Z cyklických dienů poskytovaly vedle modelového 1,3-cyklohexadienu příslušný oxazin pouze cykloheptatrien a cyklopentadien. Produkt s cyklopentadienem **32** se podařilo připravit pouze s neoddělitelnou nečistotou, a tudíž bylo znemožněno stanovení přesného poměru vzniklých enantiomerů. Při NDA reakci se substituovanými 1,3-cyklohexadieny **f** a **h** a následném štěpení v trifluoroctové kyselině docházelo ke štěpení C-O vazby a vzniku derivátů **(20)**, **(21)** (Schéma 4 v publikaci) a **31**. U acyklických dienů bylo z důvodu nižší reaktivity potřeba prodloužit čas a zvýšit teplotu, což mohlo vést k výraznému poklesu enantioselektivity  $< 17\%$ .

## 2.4.Literatura

1. Lessmann, T.; Waldmann, H. Enantioselective synthesis on the solid phase. *Chem. Commun. (Camb. )* **2006**, (32), 3380-3389.
2. Barun, O.; Sommer, S.; Waldmann, H. Asymmetric Solid-Phase Synthesis of 6,6-Spiroketals. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43* (24), 3195-3199.
3. Barun, O.; Kumar, K.; Sommer, S.; Langerak, A.; Mayer, T. U.; Müller, O.; Waldmann, H. Natural Product-Guided Synthesis of a Spiroacetal Collection Reveals Modulators of Tubulin Cytoskeleton Integrity. *Eur. J. Org. Chem.* **2005**, 2005 (22), 4773-4788.
4. Paterson, I.; Gottschling, D.; Menche, D. Towards the combinatorial synthesis of spongistatin fragment libraries by using asymmetric aldol reactions on solid support. *Chem. Commun.* **2005**, (28), 3568-3570.
5. DiBlasi, C. M.; Macks, D. E.; Tan, D. S. An Acid-Stable tert-Butyldiarylsilyl (TBDAS) Linker for Solid-Phase Organic Synthesis. *Org. Lett.* **2005**, *7* (9), 1777-1780.
6. Annis, D. A.; Helluin, O.; Jacobsen, E. N. Stereochemistry as a Diversity Element: Solid-Phase Synthesis of Cyclic RGD Peptide Derivatives by Asymmetric Catalysis. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37* (13-14), 1907-1909.
7. Nagashima, T.; Davies, H. M. L. Catalytic Asymmetric Solid-Phase Cyclopropanation. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123* (11), 2695-2696.
8. Han, H.; Janda, K. D. Multipolymer-Supported Substrate and Ligand Approach to the Sharpless Asymmetric Dihydroxylation. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36* (16), 1731-1733.
9. Riedl, R.; Tappe, R.; Berkessel, A. Probing the Scope of the Asymmetric Dihydroxylation of Polymer-Bound Olefins. Monitoring by HRMAS NMR Allows for Reaction Control and On-Bead Measurement of Enantiomeric Excess. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120* (35), 8994-9000.
10. Xia, Y.; Yang, Z. Y.; Brossi, A.; Lee, K. H. Asymmetric Solid-Phase Synthesis of (3'R,4'R)-Di-O-cis-acyl 3-Carboxyl Khellactones. *Org. Lett.* **1999**, *1* (13), 2113-2115.
11. Ojima, I.; Tsai, C. Y.; Zhang, Z. Catalytic asymmetric synthesis of peptides on polymer support. *Tetrahedron Letters* **1994**, *35* (32), 5785-5788.
12. Doi, T.; Fujimoto, N.; Watanabe, J.; Takahashi, T. Palladium(0)-catalyzed Mizoroki-Heck reaction and Rh(I)-catalyzed asymmetric hydrogenation of polymer-supported dehydroalanine system. *Tetrahedron Letters* **2003**, *44* (10), 2161-2165.
13. O'Donnell, M. J.; Delgado, F.; Pottorf, R. S. Enantioselective solid-phase synthesis of  $\alpha$ -amino acid derivatives. *Tetrahedron* **1999**, *55* (20), 6347-6362.



14. O'Donnell, M. J.; Delgado, F.; Domínguez, E.; de Blas, J. s.; Scott, W. L. Enantioselective solution- and solid-phase synthesis of glutamic acid derivatives via Michael addition reactions. *Tetrahedron: Asymmetry* **2001**, 12 (6), 821-828.
15. Park, H. g.; Kim, M. J.; Park, M. K.; Jung, H. J.; Lee, J.; Choi, S. h.; Lee, Y. J.; Jeong, B. S.; Lee, J. H.; Yoo, M. S.; Ku, J. M.; Jew, S. s. Highly Enantioselective Phase-Transfer Catalytic Alkylation in the Preparation of Non-natural +-Amino Acids via Solid Phase Synthesis Using Aldimine Linker. *J. Org. Chem.* **2005**, 70 (5), 1904-1906.
16. Belokon', Y. N.; Carta, P.; North, M. Asymmetric synthesis of polymer-supported cyanohydrin acetates. *Tetrahedron Letters* **2005**, 46 (26), 4483-4486.
17. Zou, N.; Jiang, B. Solid Phase Asymmetric Synthesis of Isoxazolines. *J. Comb. Chem.* **2000**, 2 (1), 6-7.
18. Chen, C.; Li, X.; Schreiber, S. L. Catalytic Asymmetric [3+2] Cycloaddition of Azomethine Ylides. Development of a Versatile Stepwise, Three-Component Reaction for Diversity-Oriented Synthesis. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125 (34), 10174-10175.
19. Kurosu, M.; Porter, J. R.; Foley, M. A. An efficient synthesis of indane-derived bis(oxazoline) and its application to hetero Diels-Alder reactions on polymer support. *Tetrahedron Letters* **2004**, 45 (1), 145-148.
20. Lessmann, T.; Leuenberger, M. G.; Menninger, S.; Lopez-Canet, M.; Müller, O.; Hümmer, S.; Bormann, J.; Korn, K.; Fava, E.; Zerial, M.; Mayer, T.; Waldmann, H. Natural Product-Derived Modulators of Cell Cycle Progression and Viral Entry by Enantioselective Oxa Diels-Alder Reactions on the Solid Phase. *Chemistry & Biology* **2007**, 14 (4), 443-451.
21. Sanz, M. A.; Voigt, T.; Waldmann, H. Enantioselective Catalysis on the Solid Phase: Synthesis of Natural Product-Derived Tetrahydropyrans Employing the Enantioselective Oxa-Diels-Alder Reaction. *Adv. Synth. Catal.* **2006**, 348 (12-13), 1511-1515.
22. Stavenger, R. A.; Schreiber, S. L. Asymmetric Catalysis in Diversity-Oriented Organic Synthesis: Enantioselective Synthesis of 4320 Encoded and Spatially Segregated Dihydropyranocarboxamides. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, 40 (18), 3417-3421.
23. Taylor, A. M.; Schreiber, S. L. Enantioselective Addition of Terminal Alkynes to Isolated Isoquinoline Iminiums. *Org. Lett.* **2006**, 8 (1), 143-146.
24. Knepper, K.; Ziegert, R. E.; Bräse, S. Solid-phase synthesis of isoindolinones and naturally-occurring benzobutyrolactones (phthalides) using a cyclative-cleavage approach. *Tetrahedron* **2004**, 60 (39), 8591-8603.
25. Yamamoto, Y.; Yamamoto, H. Catalytic, Highly Enantio, and Diastereoselective Nitroso Diels-Alder Reaction. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126 (13), 4128-4129.

26. Kocmanová, L. Syntéza derivátů oxazinu na pevné fázi. Diplomová práce (Mgr.) Univerzita Palackého v Olomouci, Přírodovědecká fakulta, Katedra organické chemie, **2015**.
27. Lo Conte, M.; Carroll, K. S. Chemoselective Ligation of Sulfinic Acids with Aryl-Nitroso Compounds. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, 51 (26), 6502-6505.
28. Kaplánek, R.; Krchňák, V. Fast and effective reduction of nitroarenes by sodium dithionite under PTC conditions: application in solid-phase synthesis. *Tetrahedron Letters* **2013**, 54 (21), 2600-2603.
29. Harrison, A.; Melchionna, M.; Franco, P.; Hlavac, J. Solid-phase synthesis and analysis of 3,6-dihydro-2H-1,2-oxazines in their stereo- and regioisomer mixtures. *New J. Chem.* **2014**, 38 (11), 5491-5499.
30. Krchňák, V.; Moellmann, U.; Dahse, H. M.; Miller, M. J. Solid-Supported Nitroso Hetero Diels-Alder Reactions. 2. Arylnitroso Dienophiles: Scope and Limitations. *J. Comb. Chem.* **2008**, 10 (1), 104-111.
31. Krupkova, S.; Agüete, G. P.; Kocmanova, L.; Volna, T.; Grepl, M.; Novakova, L.; Miller, M. J.; Hlavac, J. Solid-Phase Synthesis of  $\gamma$ -Lactone and 1,2-Oxazine Derivatives and Their Efficient Chiral Analysis. *PLoS ONE* **2016**, 11 (11), 1-23.

### 3. PUBLIKACE K RIGORÓZNÍ PRÁCI

#### Organic & Supramolecular Chemistry

## Study of Enantioselective Catalysis of Nitroso-Diels-Alder Reaction on Solid Support

Leona Krátká<sup>[a]</sup> and Jan Hlaváč<sup>\*[b]</sup>

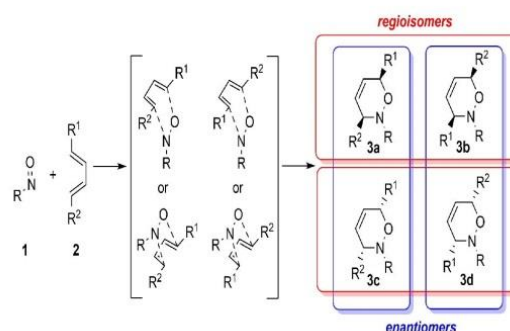
Nitroso-Diels-Alder (NDA) reaction is used as a tool for the synthesis of 3,6-dihydro-1,2-oxazine derivatives, which are important intermediates in the synthesis of natural products and biologically active compounds. In this work, we investigated the enantioselective version of this reaction on a solid support.

We studied various catalysts, concentrations, temperatures and solvents and compared them with the best conditions reported for solution-phase chemistry. The best conditions were also applied to other 1,2-oxazine derivatives.

#### Introduction

Solid-phase synthesis is a useful tool in the efficient preparation of organic compounds, especially in a higher number and/or in a combinatorial manner. Many techniques have been developed, and a great portfolio of reactions applied in solution-phase chemistry has been adapted to solid-phase reactions. However, the application of stereoselective synthesis on solid-supported substrates is still less explored. In 2006, Lessmann and Waldmann presented a review<sup>[1]</sup> on enantioselective synthesis on solid phase describing the aldol<sup>[2–7]</sup> reaction, aldehyde allylation<sup>[8]</sup> and crotylation<sup>[9]</sup>, epoxide opening,<sup>[10]</sup> cyclopropanation,<sup>[11]</sup> dihydroxylation,<sup>[12–14]</sup> hydrogenation,<sup>[15,16]</sup> alkylation,<sup>[17]</sup> cyanohydrin synthesis,<sup>[18]</sup> addition of acetylenes to iminium salts<sup>[19]</sup> or alkyl zinc reagents to aldehydes.<sup>[20]</sup> Stereoselective cycloaddition reactions on solid support involve 1,3-dipolar cycloadditions of nitrile oxides to allyl alcohols,<sup>[21]</sup> [3 + 2] cycloaddition of immobilised azomethine ylides to *tert*-butyl acrylate,<sup>[22]</sup> [4 + 2] cycloaddition including Diels-Alder reaction of immobilised chiral diene and dienophile,<sup>[23,24]</sup> oxa Diels-Alder reaction of resin-bound aldehydes with the Danishefsky's diene<sup>[25]</sup> and enantioselective inverse-electron-demand hetero-Diels-Alder reaction of immobilised enolethers as dienophiles with enones as heterodienes affording library counting 4320 derivatives of dihydropyran.<sup>[26]</sup> Later studies on stereoselective solid phase synthesis using the catalytic ligands were concerned on alkylation reaction,<sup>[27]</sup> aldehyde allylation<sup>[28]</sup> and oxa Diels-Alder reaction.<sup>[29]</sup>

One of the reactions of general interest is nitroso-Diels-Alder (NDA) reaction. This reaction is used as a tool for synthesis of 3,6-dihydro-1,2-oxazine derivatives, which are important intermediates in the synthesis of natural products and biologically relevant structures.<sup>[30–33]</sup> In this reaction, nitroso dienophile **1** attacks diene **2** affording a mixture of stereoisomers and possibly regioisomers **3a–3d** (Scheme 1).<sup>[34]</sup>



Scheme 1. Formation of two stereoisomers during the NDA reaction.

Although the solid-phase NDA reaction has been already studied and the regioselectivity was discussed,<sup>[34–37]</sup> its enantioselective performance has been described only in the solution-phase manner.<sup>[38–42]</sup>

Here, we report the first study on the enantioselective synthesis of polymer-bound 3,6-dihydro-1,2-oxazine derivatives via NDA reaction with the aim to expand the number of solid-phase reaction methodologies.

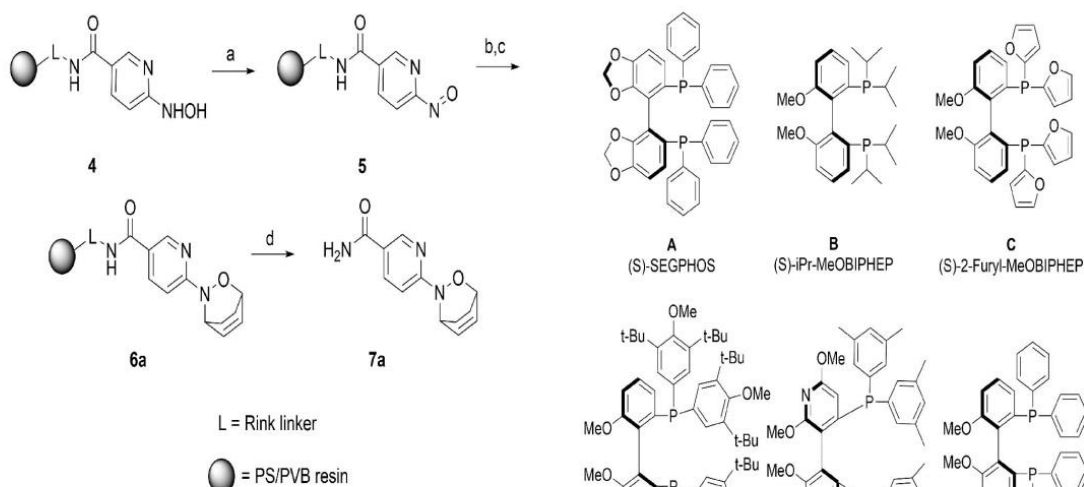
#### Results and Discussion

The model NDA reaction for initial study was performed according to Scheme 2 between immobilised nitroso compound **5** as a dienophile and 1,3-cyclohexadiene as a diene.

[a] L. Krátká  
Department of Organic Chemistry  
Faculty of Science, Palacký University  
17. Listopadu 12, 771 46, Olomouc, Czech Republic

[b] Prof. J. Hlaváč  
Institute of Molecular and Translation Medicine,  
Faculty of Medicine, Palacký University  
Hněvotínská 5, 779 00 Olomouc, Czech Republic  
www.orgchem.upol.cz  
E-mail: jan.hlavac@upol.cz

Supporting information for this article is available on the WWW under <https://doi.org/10.1002/slct.201700621>



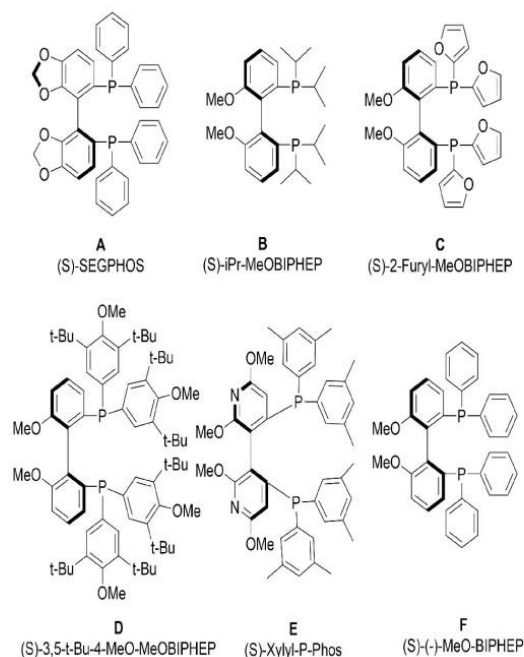
**Scheme 2.** Synthesis of model 1,2-oxazine derivative: a) tetrabutylammonium (meta)periodate, DCM, 1 h, (see Table 4); b) chiral phosphine ligand/ $\text{CuPF}_6(\text{MeCN})_4$  complex (see Table 1,2,3,5), 1 h, various temperature (see Table 4); c) 1,3-cyclohexadiene, 1 h, various temperature (see Table 4); d) TFA/DCM, RT, 30 min.

1,3-Cyclohexadiene was selected for the optimisation of the reaction because of its symmetry avoiding the regioisomers formation. Aryl nitroso derivative **5**, which is not stable for a long time, was prepared from the resin-bound hydroxylamine **4** by oxidation with tetrabutylammonium periodate (Scheme 2). Nitroso derivative **5** was then treated with complex of chiral phosphine ligand and complexation agent  $\text{CuPF}_6(\text{MeCN})_4$ , similar to Yamamoto solution-phase procedure.<sup>[38;40]</sup> Subsequently, 1,3-cyclohexadiene was added to this complex after one hour to produce compound **6a**. After the cleavage from the resin by TFA in DCM, we obtained compound **7a**, which was analysed as a crude mixture, using LC-MS and chiral HPLC or SFC with previously described conditions.<sup>[34]</sup>

First of all, we performed the reaction with (S)-SEGPHOS **A** (Figure 1) as a chiral phosphine ligand in complex with equivalents of  $\text{CuPF}_6(\text{MeCN})_4$  in various concentrations as this complex provided the best results in the solution.<sup>[38]</sup> The reaction temperature was initially set up to  $-20^\circ\text{C}$ . The crude purity of resulting 1,2-oxazine **7a** was found to be dependent on the concentration of this complex. Although the crude purity of the product **7a** increased with the lower concentration of the chiral complex up to acceptable 88 %, the ee was much lower than that reported for solution-phase synthesis<sup>[38]</sup> (Table 1).

To confirm, that the low ee value could be caused by low efficiency of SEGPHOS rather than by other factors, we investigated more chiral phosphine ligands of biphenyl type (Figure 1).

The reaction was performed at two different concentrations: 1.6  $\mu\text{mol/ml}$  for which the SEGPHOS afforded the best ee, and 13  $\mu\text{mol/ml}$  for which the SEGPHOS afforded the lowest



**Figure 1.** Structures of chiral phosphine ligands.

**Table 1.** Optimisation of concentration of (S)-SEGPHOS/ $\text{CuPF}_6(\text{MeCN})_4$  complex used for reaction of **5** to **7a** according to Scheme 2<sup>[a]</sup>

Entry	c ( $\mu\text{mol/ml}$ ) SEGPHOS/ $\text{CuPF}_6(\text{MeCN})_4$	Purity of <b>7a</b> <sup>[b]</sup> (%)	ee of <b>7a</b> <sup>[c]</sup> (%)
1	25	9	n/a
2	13	6	n/a
3	6.3	10	n/a
4	3.1	58	9
5	1.6	80	20
6	<b>0.8</b>	<b>88</b>	<b>10</b>

[a] Reaction temperature was  $-20^\circ\text{C}$ , the solvent was DCM. [b] Determined by HPLC/PDA. [c] Not determined because of low purity of **7a**

purity. The goal was to compare the efficiency of individual chiral phosphine ligands and (dis)prove the generality of significant purity decrease. The ratio of chiral phosphine ligand and  $\text{CuPF}_6(\text{MeCN})_4$  remained equivalent, and the reaction temperature was  $-20^\circ\text{C}$ . The concentration 1.6  $\mu\text{mol/ml}$  afforded the product in high purity but did not provide high values of enantiomeric excess. When the concentration 13  $\mu\text{mol/ml}$  of chiral phosphine ligand/ $\text{CuPF}_6(\text{MeCN})_4$  was applied, the efficiency of chiral phosphine ligands **C** and **E** significantly increased (Table 2).

Since the chiral phosphine ligand **C** in equivalent ratio with  $\text{CuPF}_6(\text{MeCN})_4$  at a concentration of 13  $\mu\text{mol/ml}$  had the best enantiomeric excess, we used it for further experiments to optimise the concentration. When the concentration of the

**Table 2.** Comparison of chiral phosphine ligands at two different concentrations used for reaction of **5** to **7a** according to Scheme 2<sup>[a]</sup>

Entry	Chiral phosphine ligand	c (μmol/ml) ligand-CuPF <sub>6</sub> (MeCN) <sub>4</sub>	Purity of <b>7a</b> <sup>[b]</sup> (%)	ee of <b>7a</b> <sup>[c]</sup> (%)
1	A	1.6	80	20
2	A	13	6	n/a
3	B	1.6	87	6
4	B	13	0	n/a
5	C	1.6	97	0
6	C	13	89	76
7	D	1.6	96	0
8	D	13	42	13
9	E	1.6	87	23
10	E	13	76	60
11	F	1.6	78	4
12	F	13	29	n/a

[a] Reaction temperature was -20 °C, the solvent was DCM. [b] Determined by HPLC/PDA. [c] Not determined because of low purity or absence of **7a**

complex C/CuPF<sub>6</sub>(MeCN)<sub>4</sub> is almost twice bigger, the ee significantly decreased (Table 3, entry 1), whereas the decrease

**Table 3.** Optimisation of concentration of C/CuPF<sub>6</sub>(MeCN)<sub>4</sub> complex used for reaction of **5** to **7a** according to Scheme 2<sup>[a]</sup>

Entry	c (μmol/ml) C/CuPF <sub>6</sub> (MeCN) <sub>4</sub>	Purity of <b>7a</b> <sup>[b]</sup> (%)	ee of <b>7a</b> (%)
1	25	74	48
2	18	83	68
3	13	89	76
4	9.4	90	68
5	7.8	93	72
6	6.3	95	66
7	1.6	97	0

[a] Reaction temperature was -20 °C, the solvent was DCM. [b] Determined by HPLC/PDA.

in ee with concentration lowering was not so dramatic up to half of the basic concentration (Table 3, entry 3–6). In accordance with the results of the above-mentioned study (see Table 1), it was found that the total purity increased with lowering of C/CuPF<sub>6</sub>(MeCN)<sub>4</sub> complex concentration, as well.

The original solution-phase protocol for chiral NDA reaction<sup>[38]</sup> used the temperature gradient from -85 °C to -20 °C for 5 h and additional 1 hour at -20 °C. Unfortunately, with the use of this gradient, we achieved the product of high purity but low ee (Table 4, entry 1). Therefore, the reaction was studied with respect to temperature kept at a constant level. While product purity was satisfactory between -50 to -20 °C, the enantioselectivity increased with increasing temperature. The highest 76 % ee was reached at -20 °C. When a higher temperature was applied, the reaction failed, and ee was not determined. The temperature could negatively affect the formation of a complex with the chiral catalyst at low temperatures as well as its stability at higher temperatures.

**Table 4.** Optimisation of reaction temperature used for reaction of **5** to **7a** according to Scheme 2<sup>[a]</sup>

Entry	T (°C)	t <sup>[b]</sup> (h)	Purity of <b>7a</b> <sup>[c]</sup> (%)	ee of <b>7a</b> <sup>[d]</sup> (%)
1	-85 -> -20	5	93	26
2	-50	1	97	14
3	-40	1	88	62
4	-30	1	96	72
5	-20	1	89	76
6	-10	1	6	n/a
7	0	1	0	n/a

[a] Concentration of chiral phosphine ligand C/CuPF<sub>6</sub>(MeCN)<sub>4</sub> was 13 μmol/ml, the solvent was DCM. [b] Reaction time of NDA reaction. [c] Determined by HPLC/PDA. [d] Not determined because of low purity of **7a**.

As the reactivity on the solid support is dependent on the concentration of reactants rather than their equivalency, we tried to explore if 1:1 ratio of chiral phosphine ligand and complexation agent can affect the ee of the product. Interestingly, when the concentration of complexation agent CuPF<sub>6</sub>(MeCN)<sub>4</sub> is higher than the optimal concentration of chiral phosphine ligand **C**, the enantiomeric excess decreased, although all ligands had to be complexed. On the other hand, when the concentration of CuPF<sub>6</sub>(MeCN)<sub>4</sub> was a half, no stereoselectivity was observed, although there should be a concentration of complexed ligand (6.5 μmol/ml) effective enough for significant ee (see Table 5 and compare to Table 3).

**Table 5.** Optimisation of C/CuPF<sub>6</sub>(MeCN)<sub>4</sub> ratio used for reaction of **5** to **7a** according to Scheme 2<sup>[a]</sup>

Entry	c ratio <sup>[a]</sup> CuPF <sub>6</sub> (MeCN) <sub>4</sub> : C	Purity of <b>7a</b> <sup>[b]</sup> (%)	ee of <b>7a</b> (%)
1	2 : 1	82	59
2	1 : 1	89	76
3	0.5 : 1	96	0
4	0 : 1	88	0

[a] Ratio of concentrations. The concentration of chiral phosphine ligand **C** was always 13 μmol/ml, the reaction temperature was -20 °C, the solvent was DCM. [b] Determined by HPLC/PDA.

The explanation of these phenomena can lie in the formation of structurally different complexes with and without the assistance of solid support when CuPF<sub>6</sub>(MeCN)<sub>4</sub> : C ratio is not equal. The necessity of copper agent for catalysis on the solid support was confirmed by 0 % ee when it was omitted from the reaction. Therefore, the equivalent ratio of complexation agent to the chiral phosphine ligand is necessary to get the best values of ee.

Finally, the influence of solvent was tested (Table 6). The reaction in original solution-phase protocol<sup>[38]</sup> was held in strictly anhydrous conditions. Therefore, we compared reaction in regular dichloromethane under air atmosphere (Entry 1) and reaction in anhydrous dichloromethane under nitrogen (Entry 2). The obtained enantioselectivity (76 % and 75 %, respectively) showed that strictly anhydrous conditions are not

**Table 6.** Comparison of various solvents used for reaction of **5** to **7a** according to Scheme 2<sup>[a]</sup>

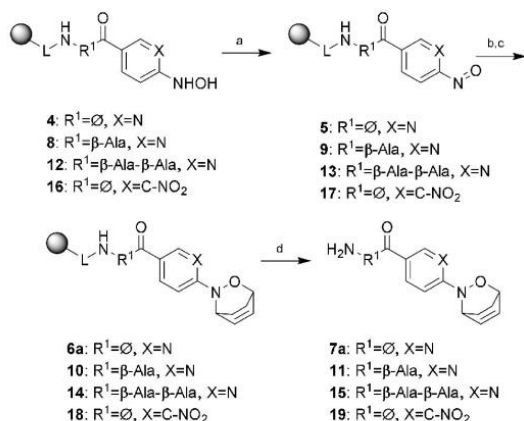
Entry	Solvent	Purity of <b>7a</b> <sup>[b]</sup> (%)	ee of <b>7a</b> (%)
1	DCM	89	76
2	anhydrous DCM	92	75
3	DMF	88	7
4	THF	90	35
5	Py	88	9
6	DCE	89	12

[a] Concentration of the chiral phosphine ligand **C** as well as CuPF<sub>6</sub>(MeCN)<sub>4</sub> was 13 μmol/ml, the reaction temperature was -20 °C. [b] Determined by HPLC/PDA.

necessary for the reaction. Other solvents compatible with solid phase synthesis and suitable for reaction at -20 °C were selected (Table 6). Reaction in tetrahydrofuran provided nearly half enantiomeric excess as dichloromethane. Enantioselectivity in other solvents dropped rapidly, although the reaction was performed with similar purity (see Table 6).

The above-mentioned study for model reaction revealed that the chiral phosphine ligand **C** with the equivalent of CuPF<sub>6</sub>(MeCN)<sub>4</sub> provided the best results among the selected chiral phosphine ligands. The optimum conditions were the concentration 13 μmol/ml of both reagents, the reaction temperature at -20 °C, and dichloromethane as a solvent.

The optimised reaction conditions were applied to other α-nitrosopyridine derivatives **9** and **13** (Scheme 3). The previously



**Scheme 3.** Reaction with various nitroso derivatives. a) tetrabutylammonium (meta)periodate, DCM, 1 h, -20 °C; b) CuPF<sub>6</sub>(MeCN)<sub>4</sub>, DCM, 1 h, -20 °C; c) 1,3-cyclohexadiene, DCM, 1 h, -20 °C; d) TFA/DCM, 30 min, RT.

reported study on the chiral ligand-substrate complex was conducted between α-nitrosopyridine and SEGPHOS and the complex structure involving pyridine nitrogen-Cu coordination was described.<sup>[38]</sup> Therefore, we include also one nitrobenzene derivative **17** to see if the catalytic system could have a broader scope when applied to solid support reaction, where

**Table 7.** Reactivity of various nitroso derivatives with 1,3-cyclohexadiene according to Scheme 3<sup>[a]</sup>

Entry	Product	HPLC purity <sup>[b]</sup> (%)	ee (%)
1	<b>7a</b>	89	76
2	<b>11</b>	42	76
3	<b>15</b>	46	55
4	<b>19</b>	56	0

[a] Concentration of chiral phosphine ligand **C**/CuPF<sub>6</sub>(MeCN)<sub>4</sub> was 13 μmol/ml. [b] Determined by HPLC/PDA.

coordination can be different. Reaction with this nitro derivative **17** proceeded in the non-enantioselective way (Table 7). Therefore, the nitro group is not suitable for the formation of the complex, and nitrogen from the pyridine ring is essential for the enantioselective reaction.

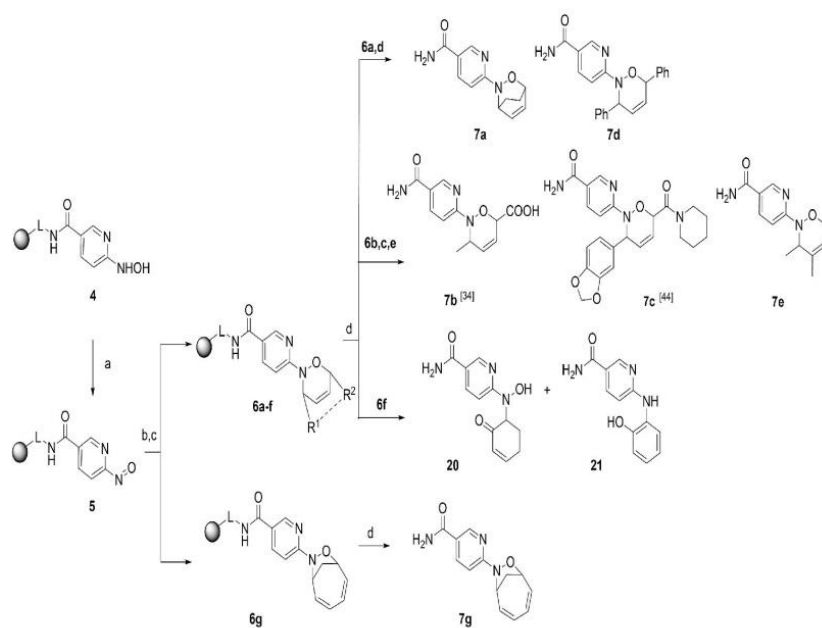
The study was extended to reactions of derivative **5** with various dienes **a-f** and one triene **g** (Scheme 4, Table 8) to

**Table 8.** Reactivity of various dienes with derivative **5** according to Scheme 4<sup>[a]</sup>

Entry	Diene	t(h)/T(°C)	Product	HPLC purity <sup>[b]</sup> (%)	ee (%)
1	<b>a</b> (Cyclohexadiene)	1/-20	<b>7a</b>	89	76
2	<b>b</b> (Acyclic diene with COOH)	5/-20 -> RT on/RT	<b>7b</b>	69	14
3	<b>c</b> (Acyclic diene with heterocycle)	5/-20 -> RT on/RT	<b>7c</b>	31	10
4	<b>d</b> (Acyclic diene with phenyl)	5/0	<b>7d</b>	75	4
5	<b>e</b> (Acyclic diene with methyl)	5/-20 -> RT on/RT	<b>7e</b>	61	17
6	<b>f</b> (Cyclohexadiene with OTMS)	0,25/ -20	<b>20</b> and <b>21</b>	n/a[c]	n/a [c]
7	<b>g</b> (Triene)	5/-20 -> RT on/RT	<b>7g</b>	25	49

[a] Concentration of chiral phosphine ligand **C**/CuPF<sub>6</sub>(MeCN)<sub>4</sub> was 13 μmol/ml. [b] Determined by HPLC/PDA. [c] Determined for 1,2-oxazine derivatives only.

evaluate their efficiency. Due to the different reactivity and properties of each diene, the reaction time and temperature had to be modified (Table 8). Acyclic dienes had to be treated at elevated temperature, and they provided the cycloadducts **7b-e** in very low enantioselectivities (4-17%), which could be caused by lower stability of complex at higher temperature. 2-Trimethylsilyloxycyclohexadiene cycloadduct **6f** formed derivatives **20** and **21** by C-O bond cleavage<sup>[41]</sup> followed by deprotection of silyl group and incomplete oxidation and, therefore, enantioselectivity was not determined. Enantioselectivity of cycloadduct **7g** was 49%.



**Scheme 4.** Reaction with various dienes: a) tetrabutylammonium (meta) periodate, DCM, 1 h,  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ; b)  $\text{C}/\text{CuPF}_6(\text{MeCN})_4$ , DCM, 1 h,  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ; c) diene, DCM, t (h),  $T\text{ (}^{\circ}\text{C)}$ ; d) TFA/DCM, 30 min, RT. Regioisomery of the major product **7 b,c** was already reported in literature.<sup>[34,43]</sup> Regioisomery of the major product **7 e**, **20** and **21** was determined by NMR (see SI).

## Conclusions

This work was the first attempt to investigate enantioselective conditions of NDA reaction on a solid support. The best conditions reported for solution phase chemistry have not been successful here. The chiral phosphine ligand (S)-SEGPHOS **A**, as well as very low starting temperature, showed worse efficiency. The chiral phosphine ligand **C** in a concentration of 13 mM in equivalent ratio with  $\text{CuPF}_6(\text{MeCN})_4$  was found to be the most effective on a solid support. The reaction is temperature dependent with an optimum at  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . The stereoselectivity is also influenced by the type of solvent, but the anhydrous conditions are not crucial. The maximal ee 76 % was found to be the limit of catalysed solid-phase reaction probably because of the bulkiness of ligand and substrate complex unable to be formed in narrower parts of matrix pores. The catalytic system is suitable for  $\alpha$ -nitrosopyrimidines and cyclic dienes forming 1,2-oxazines stable under cleavage conditions. For aliphatic dienes lower values of ee were achieved.

## Supporting Information Summary

The supporting information includes experimental details regarding sample preparation, the general procedure for enantioselective catalysis of NDA reaction and synthetic procedures for new derivatives. The conditions for HPLC and SFC chiral analyses, LC-MS, HRMS and NMR spectra data can be also found in the supporting information.

## Acknowledgements

This research project was supported by the Ministry of Education, Youth and Sport of the Czech Republic (project IGA\_PrF\_2017\_009 and IGA\_LF\_2017\_028) and by the European Social Fund (CZ.1.07/2.3.00/20.0009). The infrastructure of this project (Institute of Molecular and Translation Medicine) was supported by the National Program of Sustainability (project LO1304).

## Conflict of Interest

The authors declare no conflict of interest.

**Keywords:** Asymmetric synthesis • Chiral catalyst • Cycloadditions • Nitroso Diels-Alder reaction • Solid-phase synthesis

- [1] T. Lessmann, H. Waldmann, *Chem. Commun.* **2006**, 3380–3389.
- [2] C. J. Cowden, I. Paterson, in *Organic Reactions*, John Wiley & Sons, Inc., **2004**.
- [3] O. Barun, S. Sommer, H. Waldmann, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 3195–3199.
- [4] O. Barun, K. Kumar, S. Sommer, A. Langerak, T. U. Mayer, O. Müller, H. Waldmann, *Eur. J. Org. Chem.* **2005**, *2005*, 4773–4788.
- [5] I. Paterson, T. Temal-Laib, *Org. Lett.* **2002**, *4*, 2473–2476.
- [6] I. Paterson, G. J. Florence, A. C. Heimann, A. C. Mackay, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 1130–1133.
- [7] I. Paterson, D. Gottschling, D. Menche, *Chem. Commun.* **2005**, 3568–3570.
- [8] C. M. DiBlasi, D. E. Macks, D. S. Tan, *Org. Lett.* **2005**, *7*, 1777–1780.
- [9] J. S. Panek, B. Zhu, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 12022–12023.
- [10] D. A. Annis, O. Helluin, E. N. Jacobsen, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 1907–1909.
- [11] T. Nagashima, H. M. L. Davies, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 2695–2696.
- [12] H. Han, K. D. Janda, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 1731–1733.

- [13] R. Riedl, R. Tappe, A. Berkessel, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 8994–9000.
- [14] Y. Xia, Z. Y. Yang, A. Brossi, K. H. Lee, *Org. Lett.* **1999**, *1*, 2113–2115.
- [15] I. Ojima, C. Y. Tsai, Z. Zhang, *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 5785–5788.
- [16] T. Doi, N. Fujimoto, J. Watanabe, T. Takahashi, *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 2161–2165.
- [17] M. J. O'Donnell, F. Delgado, R. S. Pottorf, *Tetrahedron* **1999**, *55*, 6347–6362.
- [18] Y. N. Belokon, P. Carta, M. North, *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 4483–4486.
- [19] A. M. Taylor, S. L. Schreiber, *Org. Lett.* **2006**, *8*, 143–146.
- [20] K. Knepper, R. E. Ziegert, S. Bräse, *Tetrahedron* **2004**, *60*, 8591–8603.
- [21] N. Zou, B. Jiang, *J. Comb. Chem.* **2000**, *2*, 6–7.
- [22] C. Chen, X. Li, S. L. Schreiber, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 10174–10175.
- [23] D. Brohm, S. Metzger, A. Bhargava, O. Müller, F. Lieb, H. Waldmann, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 307–311.
- [24] D. Brohm, N. Philippe, S. Metzger, A. Bhargava, O. Müller, F. Lieb, H. Waldmann, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 13171–13178.
- [25] M. A. Sanz, T. Voigt, H. Waldmann, *Adv. Synth. Catal.* **2006**, *348*, 1511–1515.
- [26] R. A. Stavenger, S. L. Schreiber, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 3417–3421.
- [27] M. J. Kim, S. s. Jew, H. g. Park, B. S. Jeong, *Eur. J. Org. Chem.* **2007**, *2007*, 2490–2496.
- [28] V. Mamane, A. B. García, J. D. Umarye, T. Lessmann, S. Sommer, H. Waldmann, *Tetrahedron* **2007**, *63*, 5754–5767.
- [29] T. Lessmann, M. G. Leuenberger, S. Menninger, M. Lopez-Canet, O. Müller, S. Hümmer, J. Bormann, K. Korn, E. Fava, M. Zerial, T. Mayer, H. Waldmann, *Chem. Biol.* **2007**, *14*, 443–451.
- [30] B. S. Bodnar, M. J. Miller, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 5630–5647.
- [31] J. Streith, A. Defoin, *Synthesis* **1994**, *1994*, 1107–1117.
- [32] S. M. Weinreb, R. R. Staib, *Tetrahedron* **1982**, *38*, 3087–3128.
- [33] S. Krupkova, G. P. Aguiete, L. Kocmanova, T. Volna, M. Grepl, L. Novakova, M. J. Miller, J. Hlavac, *PLoS ONE* **2016**, *11*, 1–23.
- [34] A. Harrison, M. Melchionna, P. Franco, J. Hlavac, *New J. Chem.* **2014**, *38*, 5491–5499.
- [35] V. Krchňák, U. Moellmann, H. M. Dahse, M. J. Miller, *J. Comb. Chem.* **2008**, *10*, 104–111.
- [36] V. Krchňák, U. Moellmann, H. M. Dahse, M. J. Miller, *J. Comb. Chem.* **2008**, *10*, 94–103.
- [37] P. Quadrelli, R. Scrocchi, A. Piccanello, P. Caramella, *J. Comb. Chem.* **2005**, *7*, 887–892.
- [38] Y. Yamamoto, H. Yamamoto, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 4128–4129.
- [39] Y. Yamamoto, H. Yamamoto, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 7082–7085.
- [40] Y. Yamamoto, H. Yamamoto, *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, *2006*, 2031–2043.
- [41] N. Momiyama, Y. Yamamoto, H. Yamamoto, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 1190–1195.
- [42] C. K. Jana, A. Studer, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 6542–6544.
- [43] V. Krchňák, K. R. Waring, B. C. Noll, U. Moellmann, H. M. Dahse, M. J. Miller, *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 4559–4567.
- [44] V. Krchňák, U. Moellmann, H. M. Dahse, M. J. Miller, *J. Comb. Chem.* **2008**, *10*, 112–117.

Submitted: March 23, 2017

Revised: April 25, 2017

Accepted: April 26, 2017



## 4. DOPLŇUJÍCÍ INFORMACE K PUBLIKACI

### Table of content

1. Materials and methods.....	S1
2. Sample preparation.....	S2
3. Synthetic procedures .....	S2
Enantioselective catalysis of NDA reaction – general procedure: .....	S2
Synthesis of immobilised hydroxylamine derivatives:.....	S3
Synthesis and identification of racemic mixtures of 1,2-oxazine derivatives 7,11,15,19: .....	S4
4. <sup>1</sup> H and <sup>13</sup> C NMR spectra.....	S5

### 1. Materials and methods

LC/MS analyses were performed by UHPLC/MS using an Acquity UHPLC chromatograph equipped with a Photodiode Array (PDA) detector and a single quadrupole mass spectrometer (Waters) with an X-Select C18 column at 30 °C at a flow rate of 600 µL·min<sup>-1</sup>. The mobile phase consisted of (A) 0.01 M ammonium acetate in water and (B) acetonitrile, with linearly programmed gradient over the course of 2.5 min and then maintains this concentration for 1.5 min. Two methods with various solvent gradients were used for the measurements (change of % A): method 1 (from 80 to 20), method 2 (from 100 to 50). The column was re-equilibrated at 10 % B for 1 min. The ESI ionisation operated at a discharge current of 5 µA, a vaporiser temperature of 350 °C and a capillary temperature of 200 °C. Purity of compounds was determined as the ratio of appropriate peak area to sum of areas of all peaks of the mixture. Areas were determined by integration of the peaks from PDA detector response.

HPLC chiral analyses were performed using an HPLC Alliance Waters e2695 system equipped with a Waters PDA detector 2998 and several 250 x 4.6 mm (i.d.) Chiralcel columns, including CHIRALPAK IA and CHIRALPAK ID with sorbents based on amylose immobilised on 5 µm silica particles. The eluting strength of the mobile phases was adjusted in such a way so that each racemic compound could be eluted within a reasonable time window. The proportion of each mobile phase component or mobile phase additive was always measured by volume. The chromatographic runs were performed at a flow rate of 1.0 mL/min and at a column temperature of 25 °C.

Supercritical fluid chromatography (SFC) chiral analyses were performed using an Acquity UPC<sup>2</sup> system (Waters) consisting of a binary solvent manager, sample manager, column manager, column heater, convergence manager, PDA detector 2998, QDa mass detector and 4.6x100mm, 3 µm particle chiral analytical columns CHIRALPAK IA3 and CHIRALPAK IC3 and CHIRALPAK ID3. The eluting strength of the mobile phases was adjusted in such a way so that each racemic compound could be eluted within a reasonable time window. The chromatographic runs were performed at a flow rate of 2.2 mL/min and at a column temperature of 38 °C.

Purification was performed by semipreparative HPLC using a Waters 1500 series HPLC equipped with an Autosampler 2707, a Binary HPLC pump 1525, a Waters Photodiode Array Detector 2998 and a Waters Fraction Collector III with a 20x100 mm, 5 µm particle YMC C18 reverse phase column. The mobile phase consisted of acetonitrile and a 10 mM aqueous ammonium acetate gradient over 6 min.

NMR spectra were measured in DMSO-*d*<sub>6</sub> using a Jeol ECX-500 (500 MHz, <sup>1</sup>H) spectrometer. Chemical shifts (δ) are reported in parts per million (ppm) relative to DMSO resonance signal, and coupling constants (*J*) are reported in Hertz (Hz). In the <sup>1</sup>H spectrum, residual signals of acetic acid at 1.86 ppm from buffer or acetonitrile at 2.05 ppm and water at 3.29 ppm can be found.

HRMS analyses were performed using LC-MS an Orbitrap high-resolution mass spectrometer (Dionex Ultimate 3000, Thermo Exactive plus, MA, USA) operating at positive full scan mode in the range of 100–1000 *m/z*. The settings for electrospray ionisation were as follows: oven temperature of 150 °C, the source voltage of 3.6 kV. The acquired data were internally calibrated with phthalate as a contaminant in methanol (*m/z* 297.15909). Samples were diluted to a final concentration of 0,1 mg/mL in methanol. The samples were injected to mass spectrometer over autosampler after HPLC separation: column kinetex phenomenon 50x2.0 mm, 3 µm C18. Mobile phase isocratic acetonitrile/ammonium acetate 10 mM 80/20, flow 0,3 mL/min.

Solvents and chemicals were purchased from Sigma-Aldrich (Milwaukee, IL, [www.sigmaaldrich.com](http://www.sigmaaldrich.com)) or Aapptec (USA, <http://www.aapptec.com>).

## 2. Sample preparation

For the analysis of the product immobilised on the resin following procedure was used: analytical sample of resin (~5 mg) was treated with 1 mL of CF<sub>3</sub>COOH in DCM (50% vol) for 30 min at room temperature, the cleavage cocktail was evaporated under a stream of nitrogen, and cleaved compound extracted into 1 mL of MeOH/H<sub>2</sub>O (50% vol) and analysed on LC/MS. For HPLC purification of final compounds, resin (~0.4 g) was treated with 4 mL of CF<sub>3</sub>COOH in DCM (50% vol) for 1 hour and then twice for 30 minutes. The combined extracts were evaporated under a stream of nitrogen, the residue was dissolved in MeOH and filtrated. Crude samples for HPLC chiral analysis and SFC chiral analysis were prepared by cleavage of 30 mg of dried resin in 1 mL of CF<sub>3</sub>COOH in DCM (50% vol) for 30 minutes and evaporation the solvent with a stream of nitrogen. The samples were then extracted with 1 mL of HPLC grade EtOH/hexane (50% vol) (for HPLC) or EtOH (for SFC) and filtered before being used for chiral analysis. Pure samples for HPLC chiral analysis and SFC chiral analysis were prepared by dissolving of a solid in HPLC grade EtOH/hexane (50% vol) (for HPLC) or EtOH (for SFC) and diluted to a concentration of 1mg/mL. Pure samples (~10 mg) for NMR analysis were dissolved in deuterated DMSO-d<sub>6</sub> (600 µl).

## 3. Synthetic procedures

### 3.1. Enantioselective catalysis of NDA reaction – general procedure:

**Step 1:** Immobilised hydroxylamine derivative (30 mg) was swelled with DCM and oxidised with tetrabutylammonium (meta)periodate (51 mg, 0,12 mmol) in DCM (2 mL) by stirring 1 hour at -20 °C. The resin with immobilised nitroso derivative was washed 5× with DCM and immediately used for next step.

**Step 2:** Chiral phosphine ligand and CuPF<sub>6</sub>(MeCN)<sub>4</sub> were complexed in an appropriate solvent (1 mL) for 1 hour at room temperature. Immobilised nitroso derivative (see Step 1) was mixed with this solution and reaction mixture was stirred for 1 hour at chosen temperature. To this reaction mixture solution of diene (1 mmol) in DCM (1 mL) was added. After completion of the reaction, the resin was washed with 5× DCM, 5× DMF and 3× DCM. The sample was cleaved and analysed by chiral HPLC or SFC.

Combination of type and concentration of chiral phosphine ligands, concentration of CuPF<sub>6</sub>(MeCN)<sub>4</sub>, reaction temperatures and solvents as well as crude purity and ee values are depicted in Tables 1-6.

**6-(2-oxa-3-azabicyclo[2.2.2]oct-5-en-3-yl)nicotinamide (7a):** Nitroso derivative **5** and 1,3-cyclohexadiene were used to the reaction. MS calcd for C<sub>12</sub>H<sub>14</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>+H<sup>+</sup>: 232.10 [M+H<sup>+</sup>]; found 232. HPLC purity: 0-89 %. Enantiomeric excess: 0-76 %, determined by HPLC (Daicel Chiralpak IA, hexane/2-PrOH/DEA = 85/15/0,1, 300 nm): t<sub>R1</sub> = 14.39 min (major), t<sub>R2</sub> = 15.97 min (minor) or determined by SFC (Daicel Chiralpak ID3, CO<sub>2</sub>/(MeOH/TFA/DEA/H<sub>2</sub>O) = 85/15 (=100/0,1/0,1/1), 300 nm): t<sub>R1</sub> = 8.00 min (minor), t<sub>R2</sub> = 8.39 min (major).

**2-(5-carbamoylpyridin-2-yl)-3-methyl-3,6-dihydro-2H-1,2-oxazine-6-carboxylic acid (7b):** Nitroso derivative **5** and sorbic acid were used to the reaction. MS calcd for C<sub>12</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>+H<sup>+</sup>: 264.09 [M+H<sup>+</sup>]; found 264. HPLC purity: 69 %. Enantiomeric excess: 14 %, determined by SFC (Daicel Chiralpak IC3, CO<sub>2</sub>/(MeOH/TFA/DEA/H<sub>2</sub>O) = 80/20 (=100/0,1/0,1/1), 300 nm): t<sub>R1</sub> = 4.04 min (minor), t<sub>R2</sub> = 4.39 min (major).

**6-[6-Benzo[1,3]dioxol-5-yl-3-(piperidine-1-carbonyl)-3,6-dihydro-[1,2]oxazin-2-yl]-nicotinamide (7c):** Nitroso derivative **5** and piperine were used to the reaction. MS calcd for C<sub>23</sub>H<sub>24</sub>N<sub>4</sub>O<sub>5</sub>+H<sup>+</sup>: 437,17 [M+H<sup>+</sup>]; found 437. HPLC purity: 31 %. Enantiomeric excess: 10 %, determined by HPLC (Daicel Chiralpak IA, hexane/EtOH/DEA = 85/15/0,1, 288 nm): t<sub>R1</sub> = 17.47 min (major), t<sub>R2</sub> = 22.10 min (minor).

**6-(3,6-diphenyl-3,6-dihydro-2H-1,2-oxazin-2-yl)nicotinamide (7d):** Nitroso derivative **5** and trans,trans-1,4-diphenyl-1,3-butadiene were used to the reaction. MS calcd for C<sub>22</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>+H<sup>+</sup>: 358.15 [M+H<sup>+</sup>]; found 358. HPLC purity: 75 %. Enantiomeric excess: 4 %, determined by SFC (Daicel Chiralpak ID3, CO<sub>2</sub>/(MeOH/TFA/DEA/H<sub>2</sub>O) = 80/20 (=100/0,1/0,1/1), 281 nm): t<sub>R1</sub> = 3.90 min (minor), t<sub>R2</sub> = 4.41 min (major).

**6-(3,4-dimethyl-3,6-dihydro-2H-1,2-oxazin-2-yl)nicotinamide (7e):** Nitroso derivative **5** and 3-Methyl-1,3-pentadiene were used to the reaction. MS calcd for C<sub>12</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>+H<sup>+</sup>: 234.12 [M+H<sup>+</sup>]; found 234. HPLC purity: 61 %. Enantiomeric excess: 17 %, determined by SFC (Daicel Chiralpak ID3, CO<sub>2</sub>/(MeOH/TFA/DEA/H<sub>2</sub>O) = 85/15 (=100/0,1/0,1/1), 276 nm): t<sub>R1</sub> = 2.69 min (major), t<sub>R2</sub> = 3.29 min (minor).

**6-(7-oxa-8-azabicyclo[4.2.1]nona-2,4-dien-8-yl)nicotinamide (7g):** Nitroso derivative **5** and cycloheptatriene were used to the reaction. MS calcd for C<sub>13</sub>H<sub>14</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>+H<sup>+</sup>: 244.11 [M+H<sup>+</sup>]; found 244. HPLC purity: 25 %. Enantiomeric excess: 49 %, determined by HPLC (Daicel Chiralpak ID, hexane/EtOH/DEA = 80/20/0,1, 286 nm): t<sub>R1</sub> = 15.61 min (minor), t<sub>R2</sub> = 22.31 min (major).

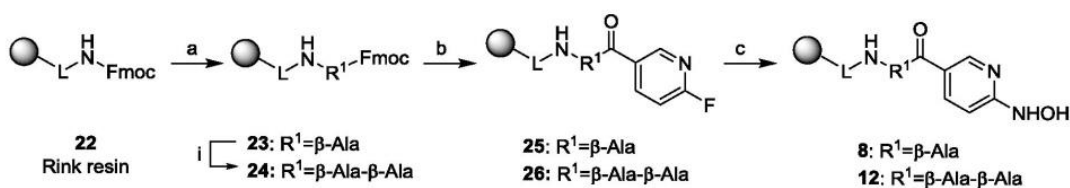
**N-(3-amino-3-oxopropyl)-6-(2-oxa-3-azabicyclo[2.2.2]oct-5-en-3-yl)nicotinamide (11):** Nitroso derivative **9** and 1,3-cyclohexadiene were used to the reaction. MS calcd for  $C_{15}H_{18}N_4O_3+H^+$ : 303.15  $[M+H]^+$ ; found 303. HPLC purity 42 %. Enantiomeric excess: 76 %, determined by SFC (Daicel Chiralpak ID3,  $CO_2/(MeOH/TFA/DEA/H_2O) = 70/30 (=100/0,1/0,1/1)$ , 300 nm):  $t_{R1} = 4.46$  min (minor),  $t_{R2} = 6.79$  min (major).

**N-(3-((3-amino-3-oxopropyl)amino)-3-oxopropyl)-6-(2-oxa-3-azabicyclo[2.2.2]oct-5-en-3-yl)nicotinamide (15):** Nitroso derivative **13** and 1,3-cyclohexadiene were used to the reaction. HPLC purity 46 %. MS calcd for  $C_{18}H_{23}N_5O_4+H^+$ : 374.18  $[M+H]^+$ ; found 374. Enantiomeric excess: 55 %, determined by SFC (Daicel Chiralpak ID3,  $CO_2/(MeOH/TFA/DEA/H_2O) = 70/30 (=100/0,1/0,1/1)$ , 300 nm):  $t_{R1} = 6.37$  min (minor),  $t_{R2} = 6.82$  min (major).

**3-nitro-4-(2-oxa-3-azabicyclo[2.2.2]oct-5-en-3-yl)benzamide (19):** Nitroso derivative **17** and 1,3-cyclohexadiene were used to the reaction. HPLC purity 56 %. MS calcd for  $C_{13}H_{13}N_3O_4+H^+$ : 276.10  $[M+H]^+$ ; found 276. Enantiomeric excess: 0 %, determined by SFC (Daicel Chiralpak IA3,  $CO_2/(MeOH/TFA/DEA/H_2O) = 80/20 (=100/0,1/0,1/1)$ , 270 nm):  $t_{R1} = 4.42$  min,  $t_{R2} = 4.93$  min.

### 3.2. Synthesis of immobilised hydroxylamine derivatives:

Immobilised hydroxylamine derivatives **4** and **16** were prepared according to described procedures.<sup>[1]</sup> Immobilised hydroxylamine derivatives **8** and **12** according to Scheme S1.



**Scheme S1:** Synthesis of resin bound hydroxylamine derivatives **8** and **12**.

(a) Rink resin **22** (1 g) was washed 3x with DCM and 3 x with DMF, treated with 10 ml of piperidine in DMF (50% vol) and the slurry was shaken for 15 min at room temperature. The resin was washed 5 x with DMF and 3 x with DCM and the solution of Fmoc- $\beta$ -Ala-OH (933 mg, 3 mmol), HOBt·H<sub>2</sub>O (459 mg, 3 mmol) and DIC (470  $\mu$ l, 3 mmol) in 10 ml DMF/DCM (50% vol) was added. The slurry was shaken for 1 h at room temperature. The resin was washed 3 x with DCM, 3 x with DMF and 3 x with DCM. For the synthesis of dipeptide **24**, the procedure was repeated to bind the second amino acid. (b) The resin with amino acid **23** or dipeptide **24** linker (1 g) was washed 3 x with DCM and 3 x with DMF and treated with 10 ml of piperidine in DMF (50% vol) for 15 min at room temperature. The resin was washed 5 x with DMF and 3 x with DCM and a solution of 6-fluoronicotinic acid (493 mg, 3,5 mmol), HOBt·H<sub>2</sub>O (536 mg, 3,5 mmol) and DIC (548  $\mu$ l, 3,5 mmol) in 10 ml of DCM/DMF (50% vol) was added. The slurry was shaken 1 h at room temperature. Then the resin was washed 3 x with DCM 3 x with DMF and 3 x with DCM. (c) The resin **25** or **26** (1 g) was washed 3x with DCM and 3 x with DMSO and treated with a solution of NH<sub>2</sub>OH·HCl (1000 mg, 14,4 mmol) and DBU (890  $\mu$ l, 5,95 mmol) in DMSO (10 mL). The slurry was stirred at 75°C for 20 h. The resin was washed 3 x with DMSO, 3 x with DMF and 3 x with DCM.

**23:** LC/MS analysis of cleaved product (method 1): MS (ESI) exact mass calcd. for  $C_{18}H_{18}N_2O_3+H^+$ : 311.14  $[M+H]^+$ ; found: 311.28,  $t_R = 2.35$  min, HPLC purity: 99 %.

**24:** LC/MS analysis of cleaved product (method 1): MS (ESI) exact mass calcd. for  $C_{21}H_{23}N_3O_4+H^+$ : 382.19  $[M+H]^+$ ; found: 382.31,  $t_R = 2.14$  min, HPLC purity: 99 %.

**25:** LC/MS analysis of cleaved product (method 2): MS (ESI) exact mass calcd. for  $C_9H_{10}FN_3O_2+H^+$ : 212.08  $[M+H]^+$ ; found: 212.71,  $t_R = 2.71$  min, HPLC purity: 92 %.

**26:** LC/MS analysis of cleaved product (method 2): MS (ESI) exact mass calcd. for  $C_{12}H_{15}FN_4O_3+H^+$ : 283.12  $[M+H]^+$ ; found: 283.55,  $t_R = 2.72$  min, HPLC purity: 94 %.

**8:** LC/MS analysis of cleaved product (method 2): MS (ESI) exact mass calcd. for  $C_9H_{12}N_4O_3+H^+$ : 225.10  $[M+H]^+$ ; found: 225.02,  $t_R = 2.33$  min, HPLC purity: 76 %.

**12:** LC/MS analysis of cleaved product (method 2): MS (ESI) exact mass calcd. for  $C_{12}H_{17}N_5O_4+H^+$ : 296.14  $[M+H]^+$ ; found: 296.19,  $t_R = 2.37$  min, HPLC purity: 85 %.

### 3.3. Synthesis and identification of racemic mixtures of 1,2-oxazine derivatives 7,11,15,19:

Derivatives 7a<sup>[1]</sup>, 7b<sup>[2]</sup>, 7c<sup>[3]</sup>, 7g<sup>[2]</sup> and 19<sup>[1]</sup> were prepared according to previously described procedures. Immobilised hydroxylamine derivative (400 mg) was swelled with DCM and shaken with mixture of tetrabutylammonium (meta)periodate (204 mg, 0.48 mmol) and diene (2 mmol) in DCM (4 mL) at room temperature overnight. Resin was washed by 3× DCM, 3× DMF and 3× DCM. Resin was cleaved and purified on semipreparative HPLC.

**6-(3,6-diphenyl-3,6-dihydro-2H-1,2-oxazin-2-yl)nicotinamide (7d):** Immobilised hydroxylamine derivative **4** and trans,trans-1,4-diphenyl-1,3-butadiene were used to the reaction. Yield: 30 %; <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-D<sub>6</sub>) δ = 8.69 (dd, J = 0.6, 2.3 Hz, 1H), 8.08 (dd, J = 2.3, 8.6 Hz, 1 H), 7.87 (br. s., 1 H), 7.55 - 7.41 (m, 7 H), 7.33 - 7.21 (m, 4 H), 7.03 (dd, J = 0.7, 8.8 Hz, 1 H), 6.37 - 6.33 (m, 1 H), 6.19 - 6.17 (m, 1 H), 6.16 - 6.13 (m, 1 H), 5.72 - 5.71 (t, J = 3.1 Hz, 1 H); <sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ = 166.30, 159.69, 147.92, 139.29, 137.65, 137.37, 128.96, 128.75, 128.24, 128.10, 128.04, 127.31, 127.28, 127.12, 121.17, 106.74, 77.97, 56.52; HRMS calcd for C<sub>22</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>+H<sup>+</sup>: 358.1550 [M+H]<sup>+</sup>, found: 358.1551.

**6-(3,4-dimethyl-3,6-dihydro-2H-1,2-oxazin-2-yl)nicotinamide (7e):** Immobilised hydroxylamine derivative **4** and isoprene were used to the reaction. Yield: 14 %; <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-D<sub>6</sub>) δ = 8.69 (d, J = 2.6 Hz, 1 H), 8.09 (dd, J = 8.8, 2.4 Hz, 1 H), 7.88 (br. s., 1 H), 7.26 (br. s., 1 H), 7.03 (d, J = 8.3 Hz, 1 H), 5.57 - 5.53 (m, 1 H), 4.73 - 4.68 (m, 1 H), 4.52 - 4.68 (m, 1 H), 4.34 - 4.30 (m, 1 H), 1.78 (d, J = 1.6 Hz, 3 H), 1.18 (d, J = 6.6 Hz, 3 H); <sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-D<sub>6</sub>) δ = 166.9, 160.7, 148.6, 137.9, 135.5, 121.7, 118.8, 107.8, 68.2, 54.2, 20.3, 14.9; HRMS calcd for C<sub>12</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>+H<sup>+</sup>: 234.1237 [M+H]<sup>+</sup>, found: 234.1236.

**N-(3-amino-3-oxopropyl)-6-(2-oxa-3-azabicyclo[2.2.2]oct-5-en-3-yl)nicotinamide (11):** Immobilised hydroxylamine derivative **8** and 1,3-cyclohexadiene were used to the reaction. Yield: 33 %; <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-D<sub>6</sub>) δ = 8.62 (d, J = 3.0 Hz, 1 H), 8.42 (t, J = 5.6 Hz, 1 H), 7.99 (dd, J = 8.7, 2.4 Hz, 1 H), 7.33 (br. s., 1 H), 6.79 (d, J = 8.6 Hz, 2 H), 6.54 - 6.50 (m, 1 H), 6.39 - 6.35 (m, 1 H), 5.31 - 5.28 (m, 1 H), 4.84 - 4.79 (m, 1 H), 3.43 - 3.39 (m, 2 H), 2.33 (t, J = 7.2 Hz, 2 H), 2.13 - 2.01 (m, 2 H), 1.56 - 1.50 (m, 1 H), 1.39 - 1.32 (m, 1 H); <sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-D<sub>6</sub>) δ = 173.1, 165.5, 165.2, 147.6, 137.2, 132.6, 132.0, 123.0, 109.8, 70.2, 51.6, 36.4, 35.6, 24.3, 20.6; HRMS calcd for C<sub>15</sub>H<sub>18</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>+H<sup>+</sup>: 303.1452 [M+H]<sup>+</sup>, found: 303.1451.

**N-(3-((3-amino-3-oxopropyl)amino)-3-oxopropyl)-6-(2-oxa-3-azabicyclo[2.2.2]oct-5-en-3-yl)nicotinamide (15):** Immobilised hydroxylamine derivative **12** and 1,3-cyclohexadiene were used to the reaction. Yield: 34 %; <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-D<sub>6</sub>) δ = 8.61 (dd, J = 0.6, 2.4 Hz, 1 H), 8.40 (t, J = 5.6 Hz, 1 H), 7.98 (dd, J = 2.4, 8.7 Hz, 1 H), 7.90 (t, J = 5.6 Hz, 1 H), 7.30 (br. s., 1 H), 6.79 (dd, J = 0.6, 8.7 Hz, 2 H), 6.53 - 6.50 (m, 1 H), 6.39 - 6.35 (m, 1 H), 5.31 - 5.28 (m, 1 H), 4.83 - 4.80 (m, 1 H), 3.41 (dd, J = 7.1, 13.2 Hz, 2 H), 3.22 (dd, J = 7.1, 12.8 Hz, 2 H), 2.32 (t, J = 7.2 Hz, 2 H), 2.21 (t, J = 7.2 Hz, 2 H), 2.13 - 2.01 (m, 2 H), 1.57 - 1.50 (m, 1 H), 1.38 - 1.33 (m, 1 H); <sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ = 172.5, 170.9, 164.9, 164.6, 147.0, 136.7, 132.1, 131.4, 122.4, 109.2, 69.6, 51.1, 36.0, 35.4, 35.2, 35.1, 23.7, 20.0; HRMS calcd for C<sub>18</sub>H<sub>23</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub>+H<sup>+</sup>: 374.1823 [M+H]<sup>+</sup>, found: 374.1822.

**Synthesis and identification of products 20 and 21:** Immobilised hydroxylamine derivative **4** (500 mg) was swelled with DCM and shaken with mixture of tetrabutylammonium (meta)periodate (204 mg, 0.48 mmol) and 2-trimethylsilyloxycyclohexadiene (468 μl, 2.5 mmol) in DCM (5 mL) at room temperature 15 min. Resin was washed by 3× DCM, 3× DMF and 3× DCM. Resin was cleaved and purified on semipreparative HPLC. Two compounds **20** and **21** were isolated from the crude mixture with LC/MS purity 48 % and 29 % respectively.

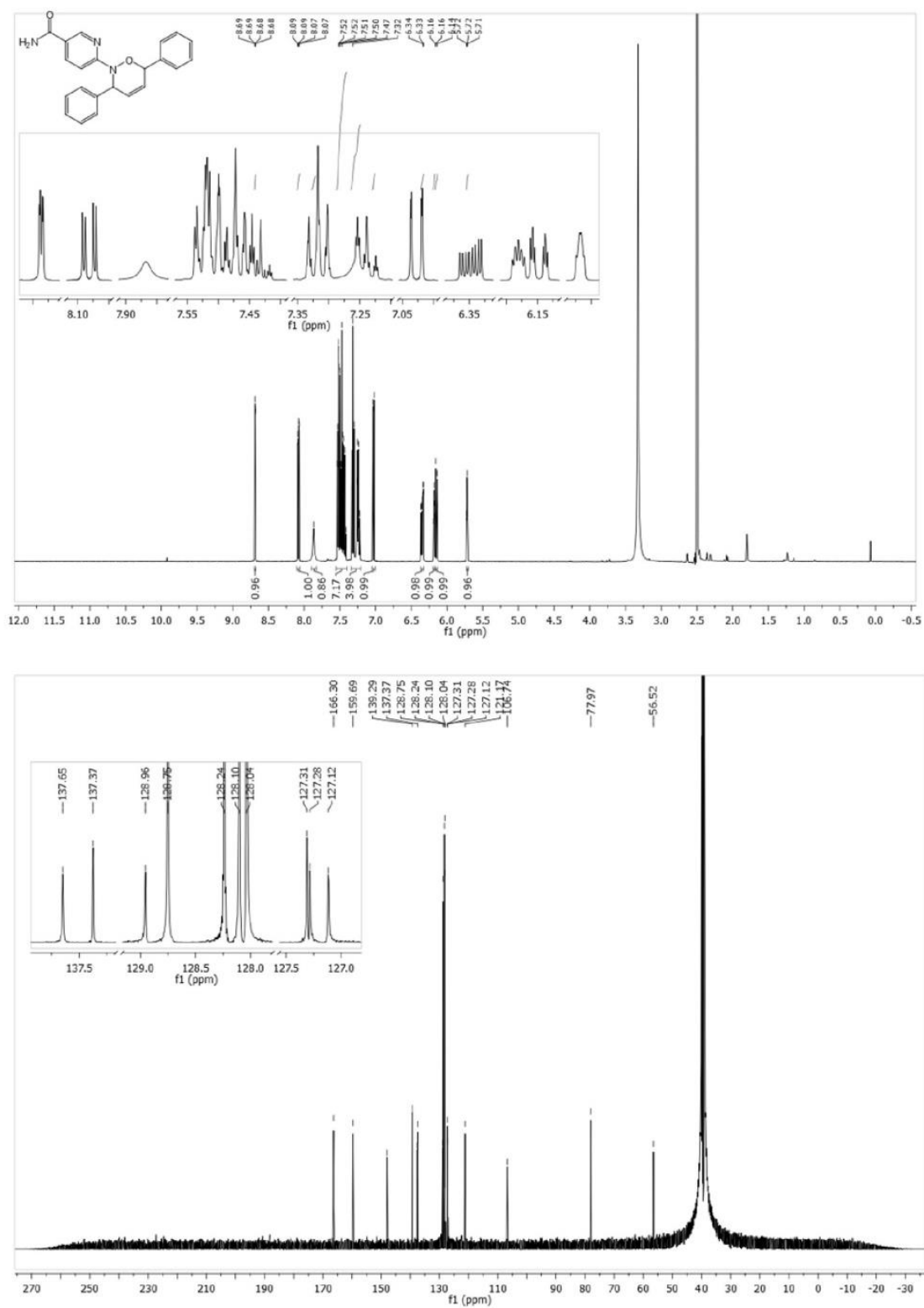
**6-(hydroxy(2-oxocyclohex-3-en-1-yl)amino)nicotinamide (20):** Yield: 24 %; <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ = 9.39 (s, 1 H), 8.51 (d, J = 2.3 Hz, 1 H), 8.01 (dd, J = 2.3, 8.6 Hz, 1 H), 7.78 (br. s., 1 H), 7.15 (br. s., 1 H), 7.10 - 7.05 (m, 1 H), 6.99 (d, J = 8.6 Hz, 1 H), 5.91 (dd, J = 2.6, 10.0 Hz, 1 H), 5.37 (dd, J = 4.6, 13.7 Hz, 1 H), 2.69 - 2.59 (m, 1 H), 2.53 - 2.43 (m, 1 H), 2.35 - 2.24 (m, 1 H), 2.11 - 2.02 (m, 1 H); <sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ = 195.4, 167.2, 164.6, 152.2, 147.9, 137.5, 129.3, 120.6, 106.9, 64.3, 26.6, 26.1; HRMS calcd for C<sub>12</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>+H<sup>+</sup>: 248.1030 [M+H]<sup>+</sup>, found: 248.1031. Signal is overlapped by solvent signal.

**6-((2-hydroxyphenyl)amino)nicotinamide (21):** Yield: 16 %; <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ = 8.58 - 8.55 (m, 2 H), 7.91 (dd, J = 2.3, 6.9 Hz, 1 H), 7.77 (d, J = 7.4 Hz, 1 H), 7.75 (br. s., 1 H), 7.14 (br. s., 1 H), 6.90 - 6.83 (m, 3 H), 6.78 - 6.72 (m, 1 H); <sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ = 167.1, 158.3, 148.8, 148.1, 137.0, 128.8, 123.9, 122.5, 120.1, 119.6, 116.5, 110.0; HRMS calcd for C<sub>12</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>-H<sup>+</sup>: 228.0768 [M-H]<sup>+</sup>, found: 228.0762.

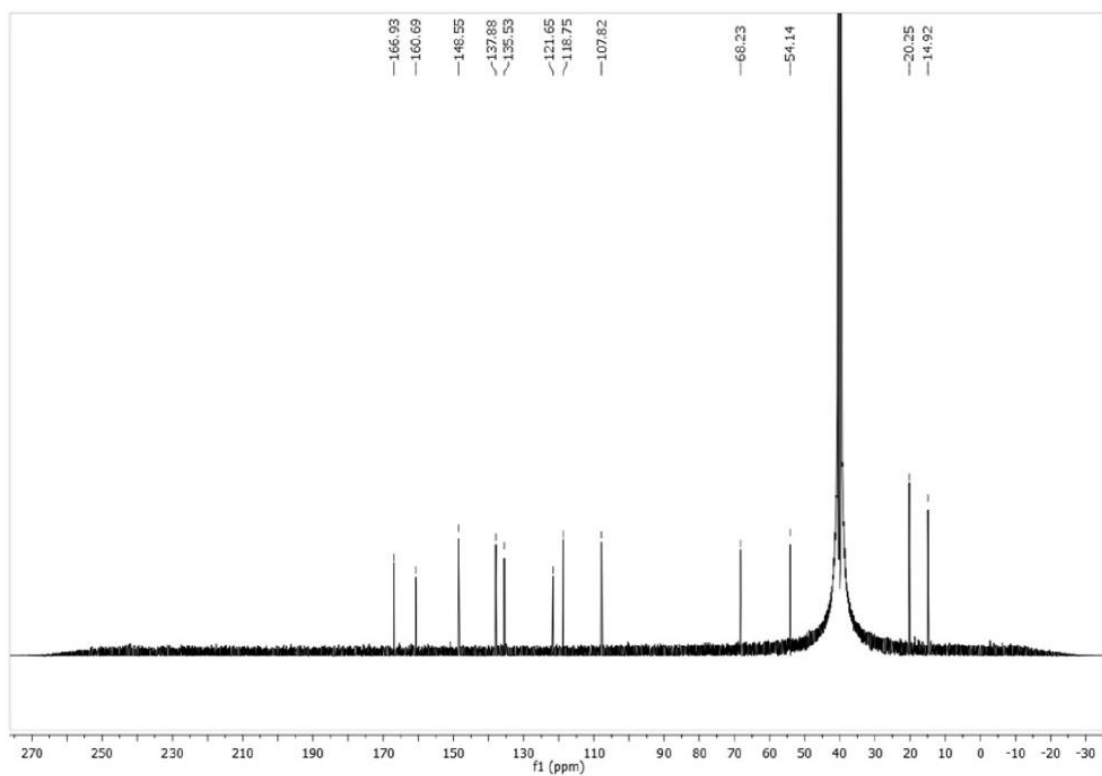
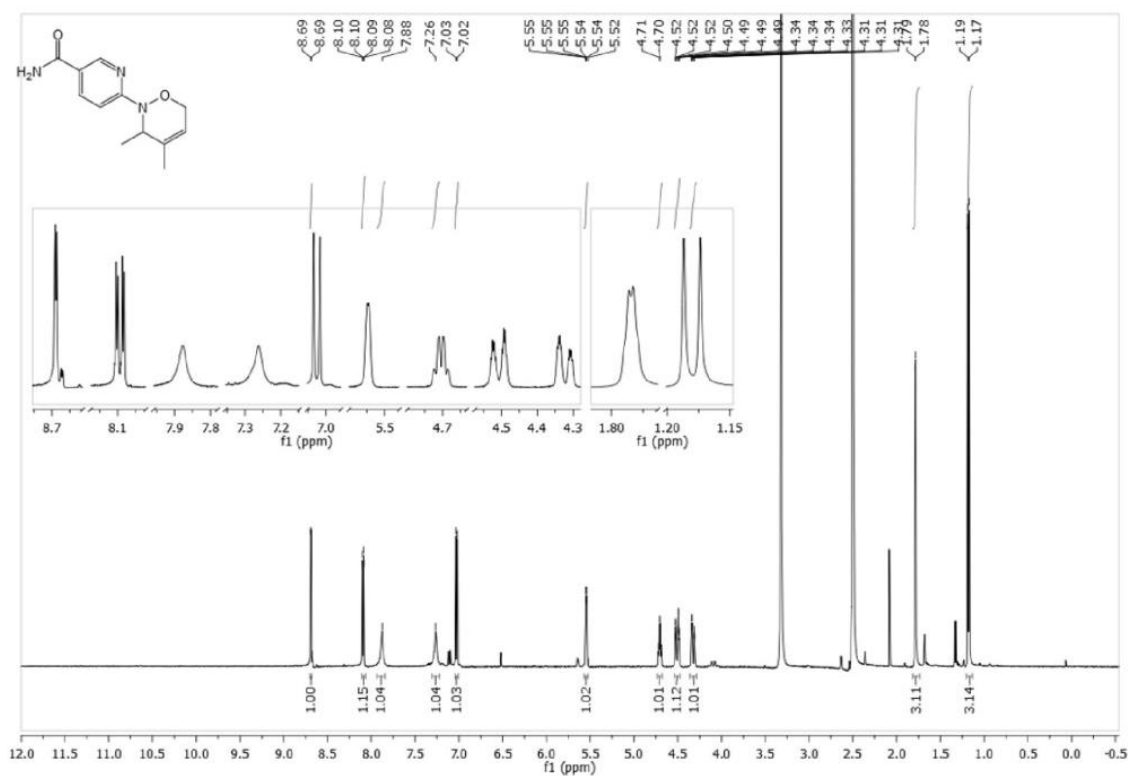
#### 4. $^1\text{H}$ and $^{13}\text{C}$ NMR spectra

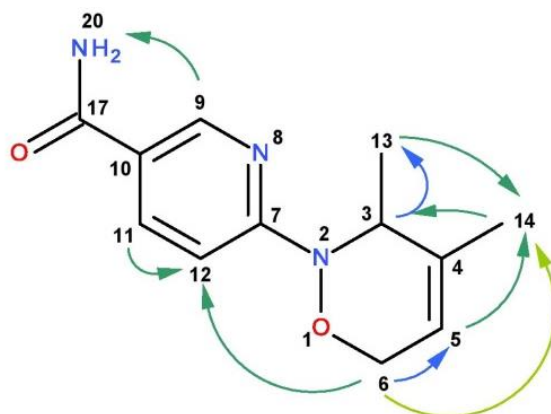
6-(3,6-diphenyl-3,6-dihydro-2H-1,2-oxazin-2-yl)nicotinamide

(7d):



6-(3,4-dimethyl-3,6-dihydro-2H-1,2-oxazin-2-yl)nicotinamide (7e):

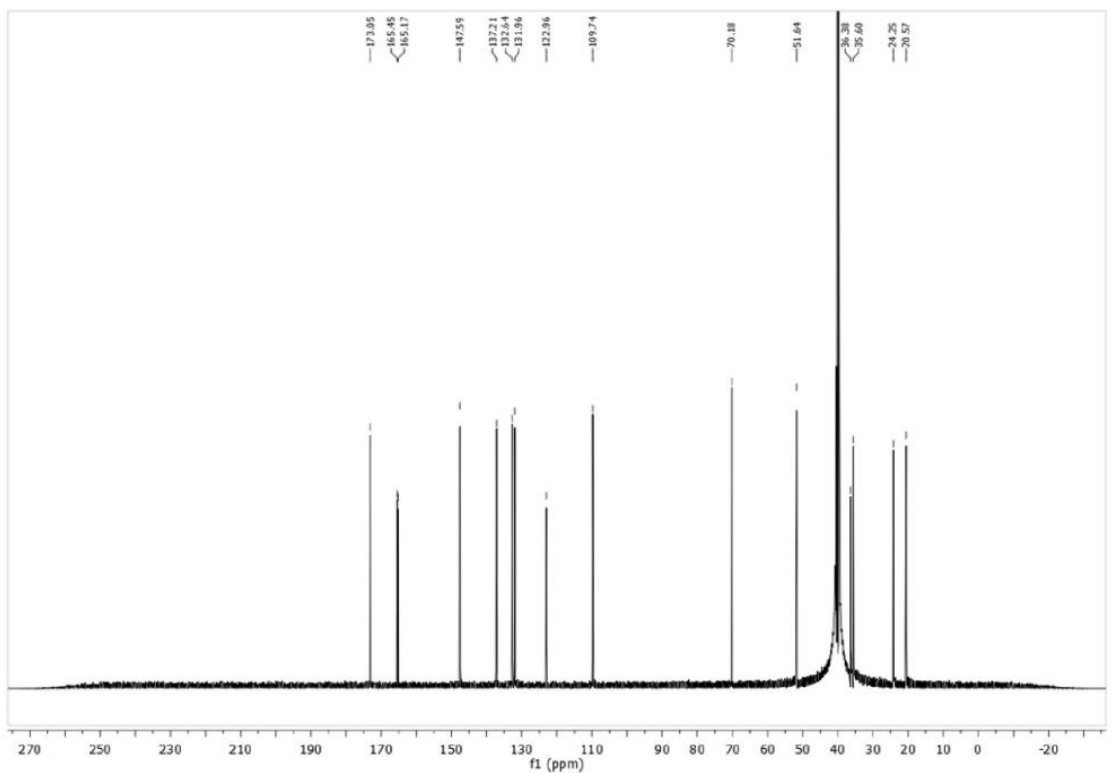
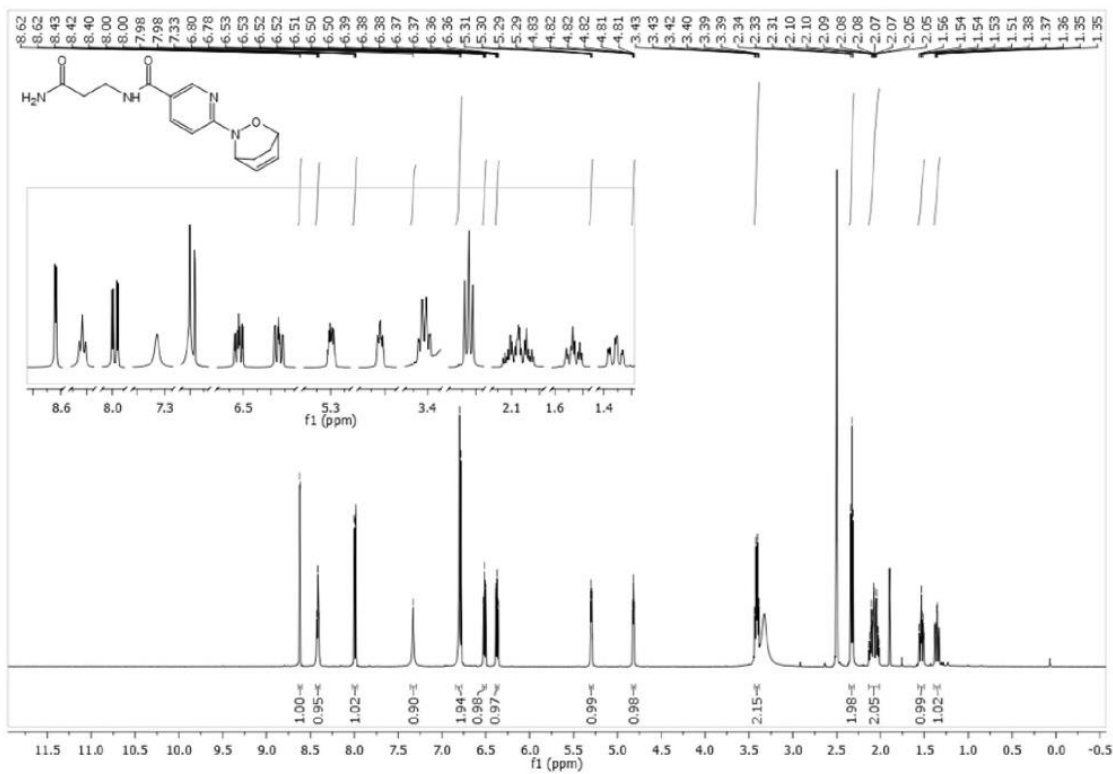




$^1\text{H-NMR}$ ,  $d_6\text{-DMSO}$ ,  $T = 25\text{ }^\circ\text{C}$ , relatively TMS,  $\delta$  (ppm),  $J$  (Hz): 1.15, 3H,  $d$ , 6.6,  $\text{HC}^{13}$ ; 1.75, 3H,  $q$ , 1.7,  $\text{HC}^{14}$ ; 4.29, 1H,  $dq$ , 15.3, 2.0,  $\text{HaC}^6$ ; 4.48, 1H,  $dq$ , 15.3, 2.0,  $\text{HbC}^6$ ; 4.67, 1H,  $q$ , 6.6,  $\text{HC}^3$ ; 5.51, 1H,  $m$ , 1.3,  $\text{HC}^5$ ; 6.99, 1H,  $d$ , 8.8,  $\text{HC}^{12}$ ; 7.23, 2H,  $br$ ,  $\text{H}_\perp\text{N}^{20}$ ; 7.85, 2H,  $br$ ,  $\text{H}_\parallel\text{N}^{20}$ ; 8.06, 1H,  $dd$ , 8.8, 2.2,  $\text{HC}^{11}$ ; 8.66, 1H,  $d$ , 2.2,  $\text{HC}^9$ ;  $\perp$ ,  $\parallel$  - perpendicular and parallel of  $-\text{NH}_2$  (20) to  $=\text{CO}$  (17).  $^{13}\text{C-NMR}$ ,  $d_6\text{-DMSO}$ ,  $t = 25\text{ }^\circ\text{C}$ , relatively TMS,  $\delta$  (ppm): 14.93 (C13); 20.26 (C14); 54.15 (C3); 68.24 (C6); 107.82 (C12); 118.75 (C5); 121.65 (C10); 135.54 (C4); 137.88 (C11); 148.56 (C9); 160.70 (C7); 166.94 (C17).  $^{15}\text{N-NMR}$ ,  $t = 25\text{ }^\circ\text{C}$ ,  $d_6\text{-DMSO}$ , relatively nitromethan (electronic),  $\delta$  (ppm),  $J$  (Hz): 97.22 (N20); 169.91 (N2); 262.90 (N8); h., l. int. – high and low intensity.

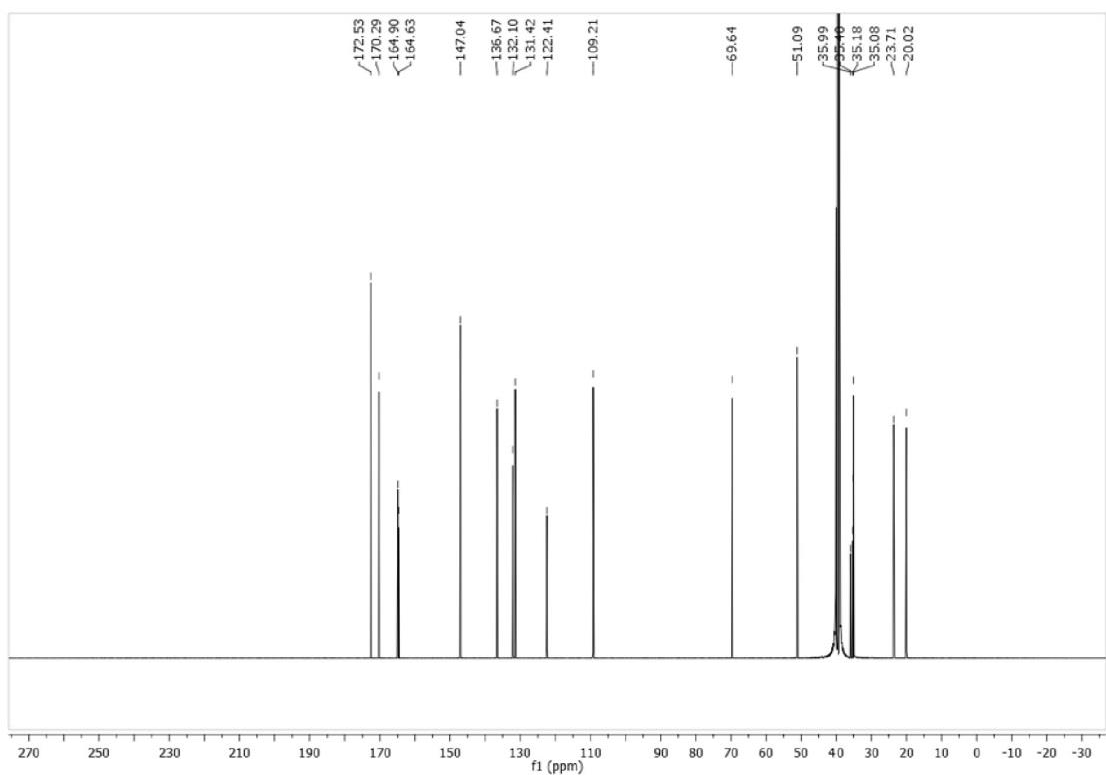
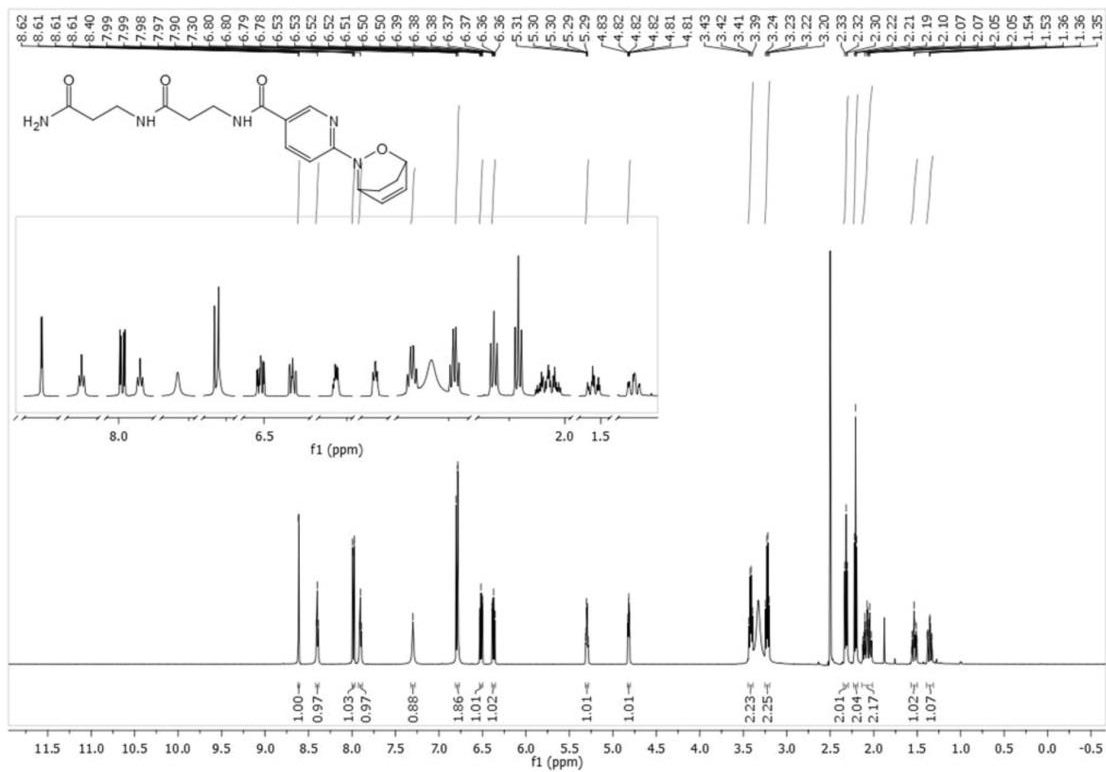
Identified/assignment of  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  and  $^{15}\text{N}$  signals was done by 1D:  $^{13}\text{C}$  APT; 2D:  $^1\text{H-}^1\text{H}$  gCOSY,  $^1\text{H-}^1\text{H}$  gROESY (blue and green darts – high and low intensity),  $^1\text{H-}^{13}\text{C}$  gHMBC,  $^1\text{H-}^{13}\text{C}$  gHMBC,  $^1\text{H-}^{15}\text{N}$  HMQC and  $^1\text{H-}^{15}\text{N}$  gHMBC.

**N-(3-amino-3-oxopropyl)-6-(2-oxa-3-azabicyclo[2.2.2]oct-5-en-3-yl)nicotinamide (11):**

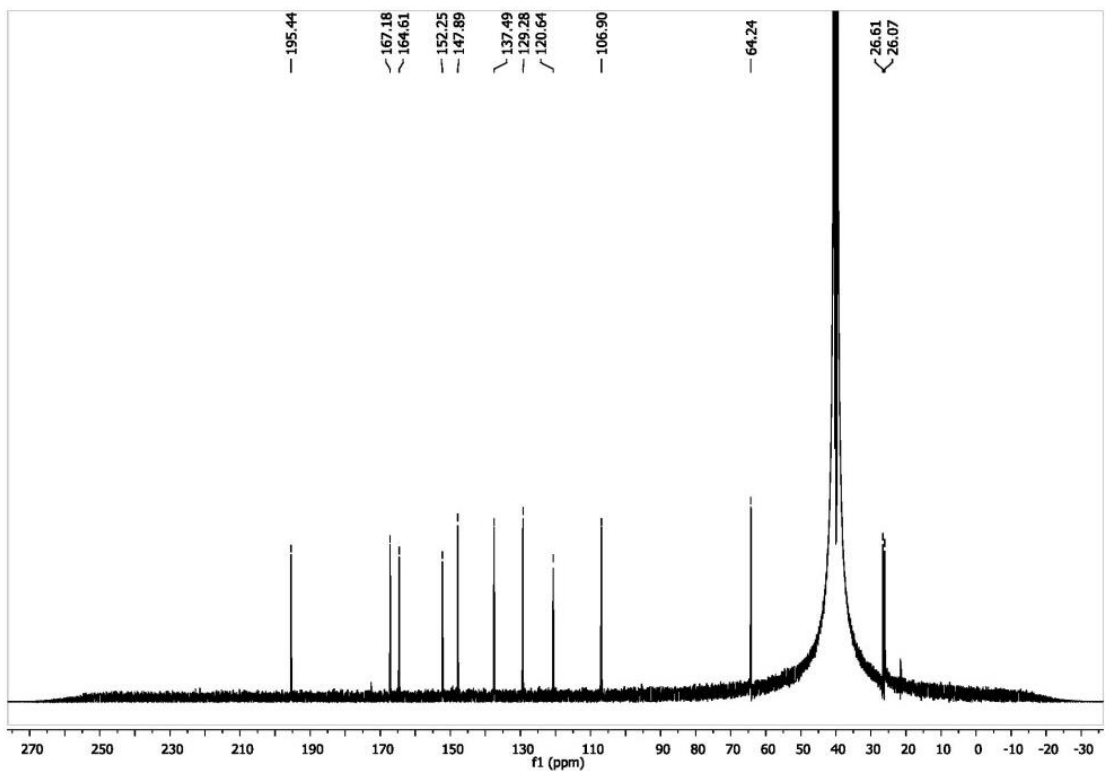
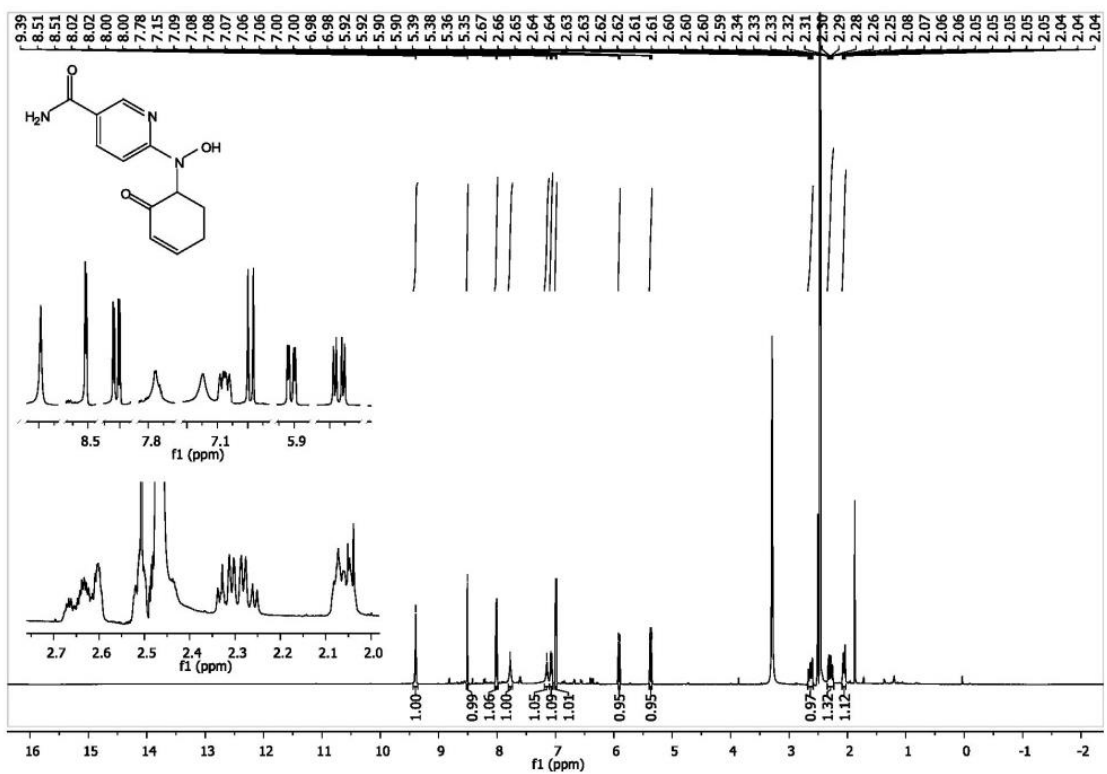




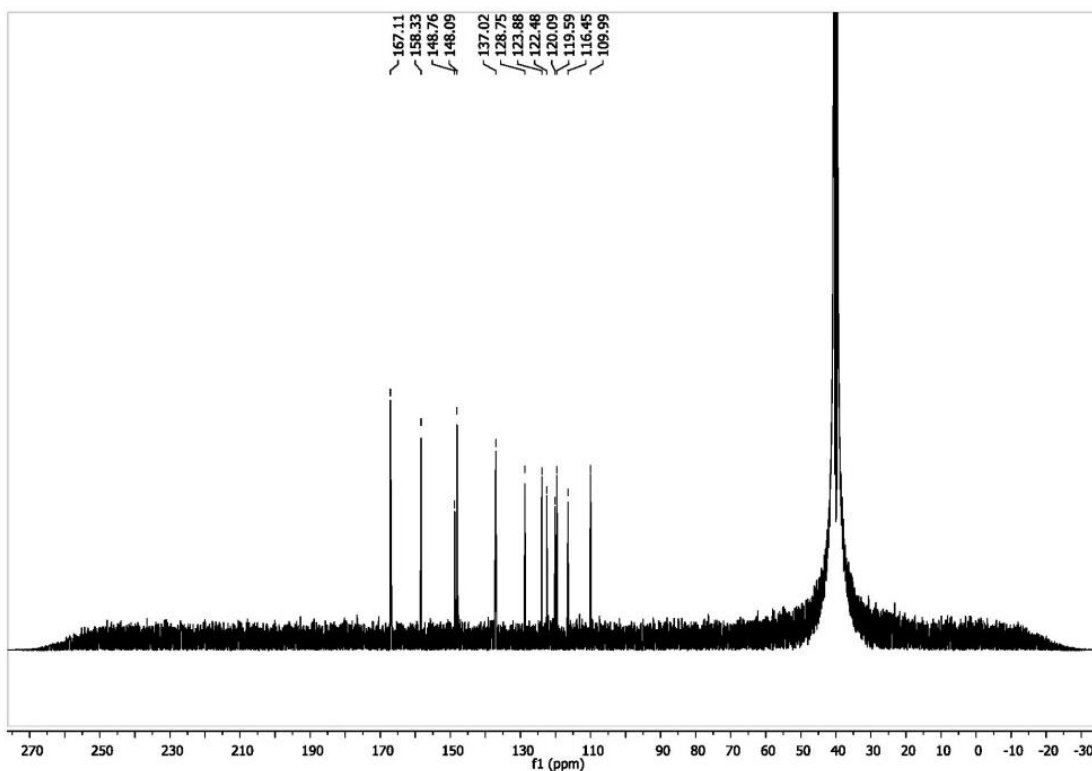
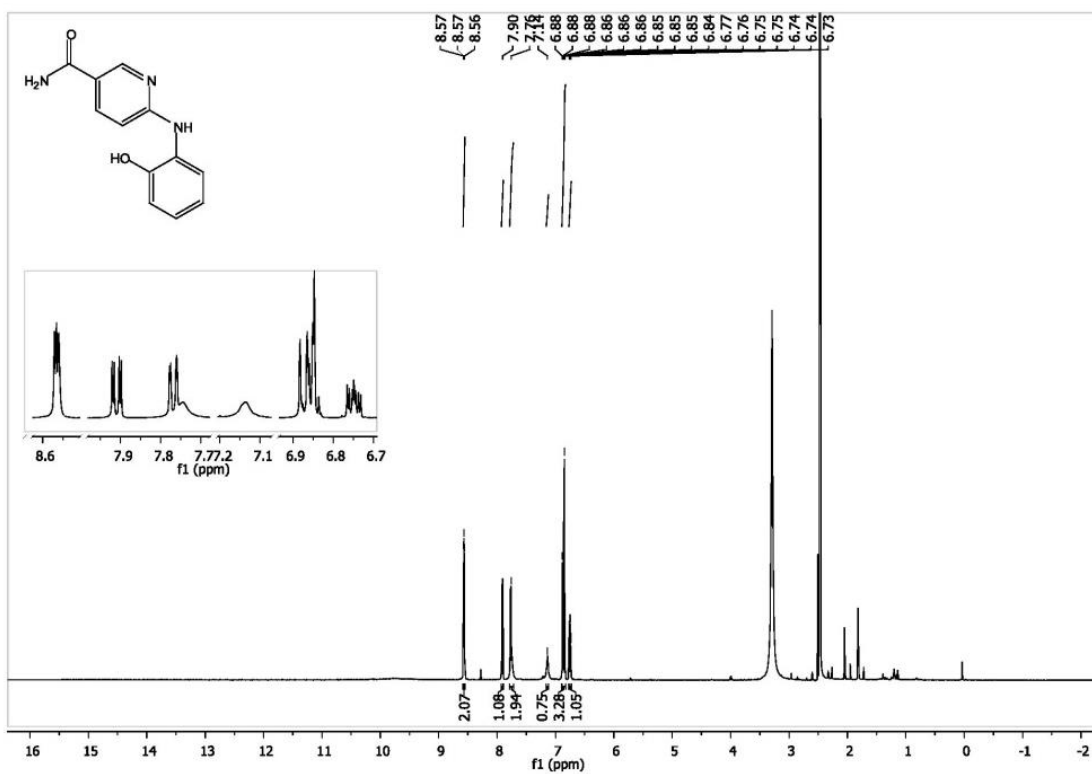
**N-(3-((3-amino-3-oxopropyl)amino)-3-oxopropyl)-6-(2-oxa-3-azabicyclo[2.2.2]oct-5-en-3-yl)nicotinamide**  
**(15):**



6-(hydroxy(2-oxocyclohex-3-en-1-yl)amino)nicotinamide (20):



6-((2-hydroxyphenyl)amino)nicotinamide (21):



## References

- [1] V. Krchňák, U. Moellmann, H. M. Dahse, M. J. Miller, *J.Comb.Chem.* **2008**, *10*,104-111.
- [2] A. Harrison, M. Melchionna, P. Franco, J. Hlavac, *New J.Chem.* **2014**, *38*, 5491-5499.
- [3] V. Krchňák, K. R. Waring, B. C. Noll, U. Moellmann, H. M. Dahse, M. J. Miller, *J.Org.Chem.* **2008**, *73*, 4559-4567.