

1. Inleiding

1.1. Algemeen

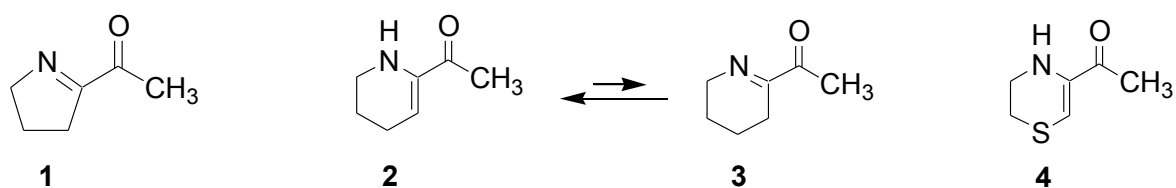
Rijst, maïs, tarwe, gerst en rogge zijn allemaal graangewassen behorende tot de familie van de *Poaceae*. Onder hen is rijst het belangrijkste voedsel voor meer dan 3 miljard mensen op onze planeet. Volgende quote duidt dan ook op het belang:

*In some languages, such as Thai and Lao, the phrase for “eating rice” is synonymous with “eating food”
- showing the importance of rice as staple food to these people.*

In 1300 voor onze tijdrekening werd in Egypte voor het eerst een levensmiddel op basis van granen gemaakt, het brood. Brood is sindsdien wijd verspreid geraakt en wordt momenteel overal ter wereld gegeten. Tot zeer kort geleden was de voornaamste doelstelling van de voedselproductie in Europa voldoende voedselhoeveelheden te produceren tegen redelijke prijzen. Naarmate de landbouwproductiviteit exponentieel verbeterde, vond de Westerse consument kwantiteit en lage prijzen alsmaar vanzelfsprekender en hij begon meer aandacht te schenken aan kwaliteit en veiligheid van het voedsel. Zo zijn het uitzicht, de vorm, smaak en geur, ... belangrijke selectiecriteria geworden die aangeven of een levensmiddel populair is of niet. Tegenwoordig kunnen voedselverbeters niet meer genegeerd worden in de industriële productie van levensmiddelen. Vandaar dat het synthetiseren van voedselverbeters zich ontwikkeld heeft tot een belangrijk onderzoeksdomein. Bij het bereiden van levensmiddelen komen allerhande aroma's vrij. Dit komt meestal door de typische Maillardreactie die onder andere optreedt bij het koken van rijst en tijdens het bakken van brood. Deze reactie tussen de aanwezige suikers en vrije aminogroepen van aanwezige aminozuren en eiwitten gaat enkel door tijdens hittebereidingen. De vrijgestelde eindproducten vormen dan ook een interessante doelgroep binnen de additievenindustrie.



Reeds lang is men op zoek naar efficiënte en rendabele methoden om diezelfde vluchtige componenten te synthetiseren. Dit eindwerk omvat de synthese van drie belangrijke Maillardaromacomponenten, namelijk 2-acetyl-1-pyrroline **1**, 6-acetyl-1,2,3,4-tetrahydropyridine **2**, welke steeds in evenwicht voorkomt met zijn tautomeer 6-acetyl-2,3,4,5-tetrahydropyridine **3** en 5-acetyl-2,3-dihydro-1,4-thiazine **4**. De eerste is de voornaamste aromacomponent van gekookte rijst (Buttery *et al.*, 1983), de tweede is de belangrijkste geurcomponent van vers gebakken brood (De Kimpe & Stevens, 1993) en de laatste is de hoofdaromacomponent van gebakken vlees en gepofte maïs (Hofmann *et al.*, 1995).



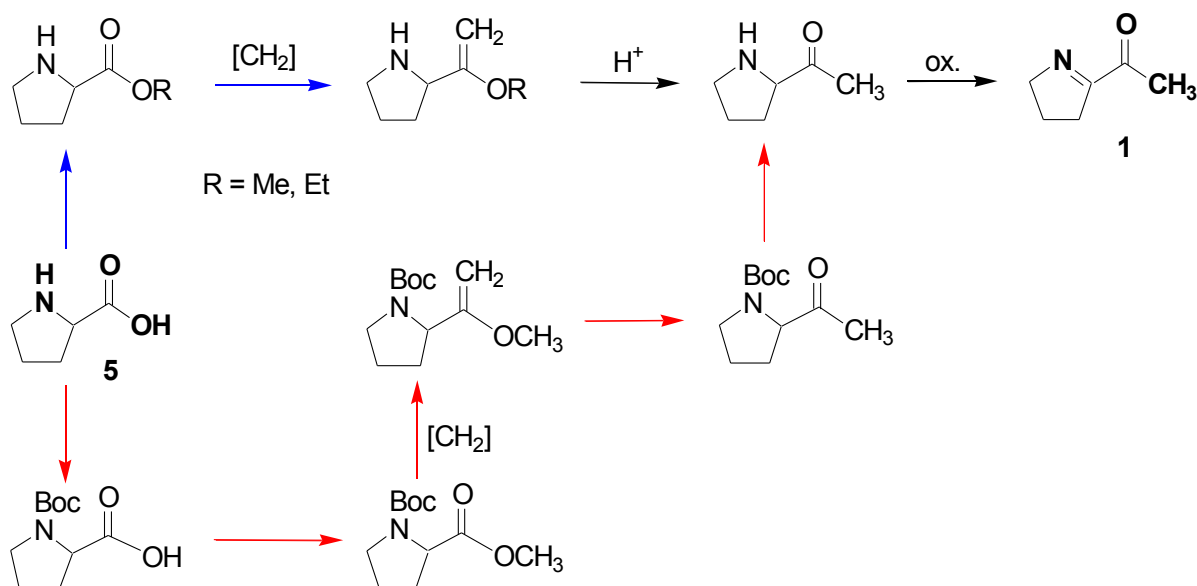
Tot nog toe is van deze laatste verbinding **4** nog niet veel gekend. Er werd slechts één synthese gepubliceerd, waarbij 5-acetyl-2,3-dihydro-1,4-thiazine **4** met een rendement van 46% in twee stappen gesynthetiseerd werd (De Kimpe & Rochetti, 1998). Doch, de synthese van het beginproduct vergt maar liefst vier stappen, waardoor het een uitdaging is om een betere synthese te ontwikkelen. In het verleden zijn al een groot aantal synthesewegen voor **1** en **2** naar voren gebracht. Deze worden uitvoerig beschreven in het literatuuroverzicht (hoofdstuk 2).

De meeste problemen die echter optreden bij de reeds eerder beschreven syntheses in de literatuur, zijn de dure beginproducten, toxische solventen, bescheiden rendementen, moeilijke opschaling (vooral door de vele nevenproducten), de tijdsduur en omstandigheden van de reacties. Een ander belangrijk kenmerk van aroma's is het labiele en/of vluchtige karakter. De component 2-acetyl-1-pyrroline **1** heeft namelijk een "odor threshold" van 0,1 ppb, waardoor het een van de vluchtigste Maillardaromacomponenten is. Hierdoor wordt de bewaring bemoeilijkt.

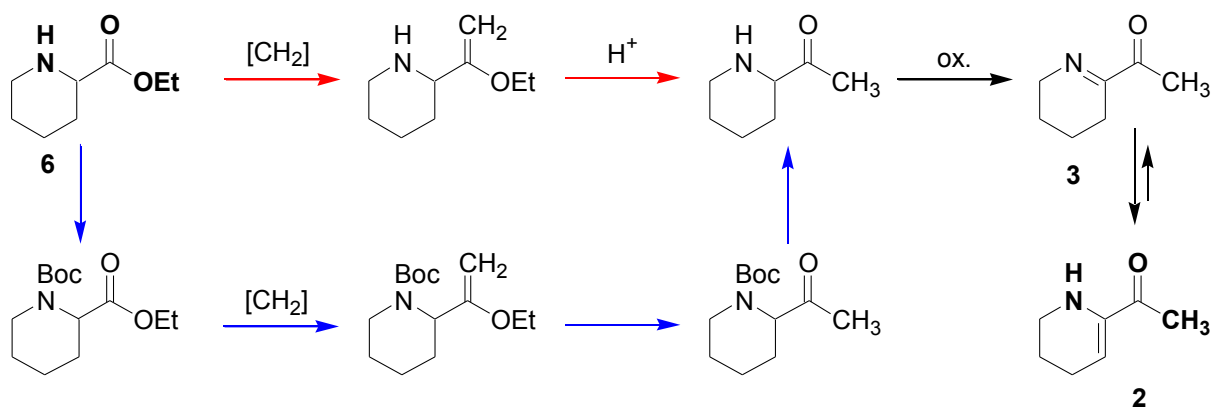
1.2. Doelstelling

In een vorig onderzoek werd reeds de synthese van **2** en de *N*-beschermd synthese van **1** succesvol uitgevoerd (Deblander, 2004) (zie schema 1 en 2). In deze thesis worden alternatieve, korte en eenvoudige procedures voorgesteld om de synthese van **1** en **4** te bewerkstelligen. Natuurlijke basischemicaliën en milieuvriendelijke reagentia zullen aangewend worden. Het design van de synthese wordt zo aangepast opdat de aromacomponenten steeds via een stabiele precursor gevormd kunnen worden. Op die manier kan deze precursor gedurende langere tijd bewaard worden, en wanneer gewenst vrijgesteld worden. Tot slot wordt een vergelijking gemaakt tussen de korte synthesesweg en de langere *N*-beschermd synthesesweg van componenten **1** en **2**.

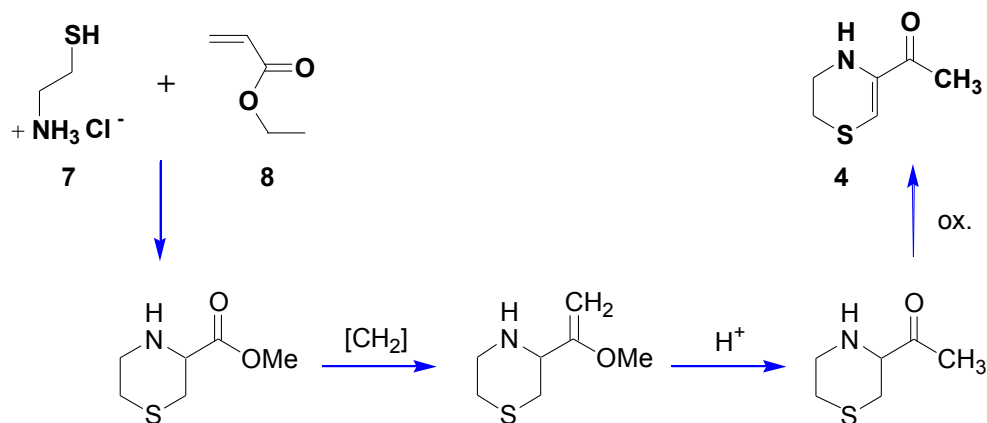
Vermits de drie verbindingen een vrij analoge chemische structuur bezitten, wordt zowel voor de synthese van 2-acetyl-1-pyrroline **1**, 6-acetyl-1,2,3,4-tetrahydropyridine **2** als 5-acetyl-2,3-dihydro-1,4-thiazine **4** een analoge strategie beoogd. De beginproducten voor de drie syntheses zijn proline **5**, ethylpipercolinaat **6**, cysteaminehydrochloride **7** en ethylacrylaat **8**.



Schema 1: Synthese van 2-acetyl-1-pyrroline

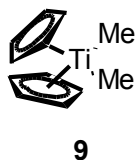


Schema 2: Synthese van 6-acetyl-1,2,3,4-tetrahydropyridine



Schema 3: Synthese van 5-acetyl-2,3-dihydro-1,4-thiazine

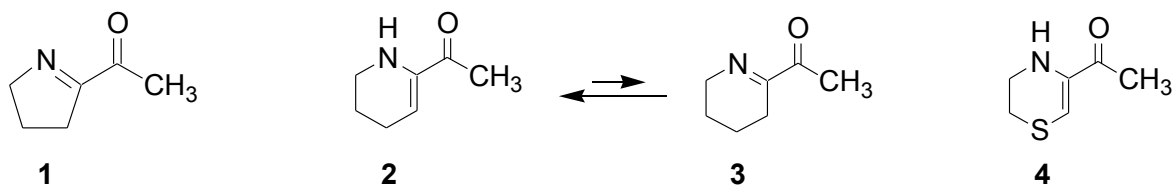
De rode pijlen duiden op eerder uitgevoerde experimenten (Deblander, 2004). De blauwe pijlen stellen de stappen voor die het voorbije jaar uitgewerkt werden. Deze strategieën zijn opgebouwd rond het gebruik van de organotitaniumverbinding dimethyltitanoceen **9** (DMT) als methylenereagens.



2. 2.Literatuurstudie

2.1. Inleiding

Reeds decennia lang onderzoekt men Maillardaroma's van rijst, gebakken brood, gebakken vlees, *etc.* Dit houdt zowel het achterhalen van de vorming van die verbindingen in, als het ontwikkelen van nieuwe chemische syntheses om natuuridentieke componenten te bekomen. In deze literatuurstudie zullen de belangrijkste vormingsmechanismen die door de jaren heen voorgesteld zijn, besproken worden. Tevens zullen een aantal syntheseswegen van drie veel voorkomende Maillardverbindingen bestudeerd worden, namelijk 2-acetyl-1-pyrroline **1**, 6-acetyl-1,2,3,4-tetrahydropyridine **2** (steeds in evenwicht met zijn tautomeer 6-acetyl-2,3,4,5-tetrahydropyridine **3**) en 5-acetyl-2,3-dihydro-1,4-thiazine **4**.



2.2. De Maillardaromacomponenten

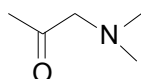
Historiek

Ongeveer een halve eeuw al wordt onderzoek verricht naar aromacomponenten, die door middel van de Maillardreactie gevormd worden. In 1969 stond het onderzoek nog in zijn kinderschoenen. Toen werd uitgegaan van het natuurproduct zelf en werd getracht de componenten verantwoordelijk voor het aroma te isoleren (Hunter *et al.*, 1969). Zo werd 6-acetyl-1,2,3,4-tetrahydropyridine **2** als hoofdaromacomponent geëxtraheerd uit de korst van gebakken brood. Uit gekookte rijst werd in 1983 voor het eerst de hoofdaromacomponent 2-acetyl-1-pyrroline geïdentificeerd (Buttery *et al.*, 1983). De hiervoor gebruikte methode was de Likens-Nickerson methode, een continue extractie tijdens een vacuüm stoomdestillatie van vers gekookte rijst waardoor de rijstaromacomponent afgezonderd kon worden.

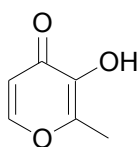
Sommige vluchtige Maillardverbindingen die ontstaan tijdens de bereiding van voedingsmiddelen, bevatten een bijkomend zwavelatoom (Hofmann & Schieberle, 1995; Tonsbeek *et al.*, 1971). Voorbeelden zijn 5-acetyl-2,3-dihydro-1,4-thiazine (roasty), 2-furfurylthiol (geroosterde koffiegur), 3-mercapto-2-pentanon (kattengur), 3-mercapto-2-butanon (rotte eieren) en 2-(1-mercaptoethyl)furaan. Pas in 1995 werd via een model-Maillardreactie 5-acetyl-2,3-dihydro-1,4-thiazine **4** geïsoleerd en geïdentificeerd.

Herkomst van verschillende aromacomponenten

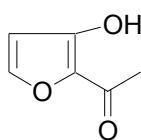
Tijdens een analyse van de vluchtige componenten uit tarwebrood, werden maar liefst 280 componenten geïdentificeerd. Hiervan zijn slechts enkele moleculen verantwoordelijk voor de verschillende gurprofielen van de korst en het kruim. Peter Schieberle en Werner Grosch besloten uit hun onderzoek dat een bepaalde structurele eenheid, met name een β -amino keton,



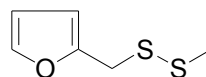
bijna steeds voorkwam in de hoofdaromacomponenten van broodkorsten:



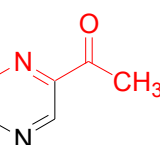
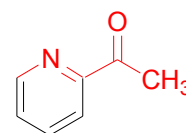
2



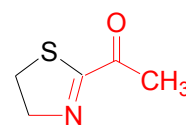
1



10



11



12

Van deze moleculen is 6-acetyl-1,2,3,4-tetrahydropyridine **2** de belangrijkste broodaromacomponent. Merk op dat de Basmati hoofdaromacomponent 2-acetyl-1-pyrroline **1** ook een van de bepalende moleculen is van het broodaroma (Schieberle en Grosch, 1989).

Ook het typische popcornaroma werd aan analyse onderworpen (Schieberle, 1991) en van de 58 vluchtige componenten blijken ook hier 2-acetylpyridine **10** samen met acetylpyrazine **11** de

hoofdaromacomponenten te zijn. Naast 2-acetyl-1-pyrroline **1** zijn 2-propionyl-1-pyrroline **27** en 6-acetyl-1,2,3,4-tetrahydropyridine **2** en zijn tautomeer **3** ook verantwoordelijk voor de “roasty” geur. In de literatuur (Schieberle, 1991) wordt die karakteristieke zoete, geroosterde geur van via hitte bekomen eindproducten uit graan (gebakken brood, crackers, gekookte Basmati rijst) dan ook beschreven als “popcorn-like-odor”. Echter, 2-butanoyl-1-pyrroline en 2-hexanoyl-1-pyrroline blijken niet te binden op onze geurreceptoren. Aangenomen wordt dat naarmate de alkylketen langer is, de verbinding minder vluchtig wordt en dus milder geurend is.

Zoals reeds vermeld werd, is 2-acetyl-1-pyrroline **1** de belangrijkste aromacomponent van gekookte Basmati rijst. Tevens wordt deze verbinding teruggevonden in bladeren van de *Pandanus amaryllifolius*. Deze bladeren worden dan ook vaak aangewend bij traditionele rijstbereidingen in India, om zo gewone rijst te verrijken met het aroma van de duurdere Basmati rijstsoort. Verder wordt 2-acetyl-1-pyrroline **1** teruggevonden in gebakken vlees en zelfs in de urine van tijgers waar het zowel een territoriale afbakeningsfunctie heeft als een seksuele aantrekkingskracht veroorzaakt (Brachmachary *et al.*, 1990). Ook micro-organismen zouden een rol spelen als bron van geroosterde aroma's. Zo zijn Anujaree Nagsuk en collega's van het King Monkut's Institute of Technology in Noord Bangkok erin geslaagd om de belangrijke component 2-acetyl-1-pyrroline **1** te isoleren uit culturen van *Aspergillus Oryzae* en *A. awamori* (site* 1). Daar de analyses werden uitgevoerd bij kamertemperatuur rees het vermoeden dat er een non-thermische vormingsweg bestaat in micro-organismen om deze vluchtige verbinding te produceren.

De belangrijkste kenmerken van dit sterke aroma zijn de lage stabiliteit en de hoge vluchtigheid. Vandaar dat bewaring in het donker, onder inerte atmosfeer bij -20°C noodzakelijk is om verkleuring van helder tot donkerrood en uiteindelijk zwart te vermijden. Deze verkleuring duidt op afbraak van het product en is onvermijdelijk tijdens langdurige stockage. Vandaar dat de zoektocht naar stabiele bewaringsmethoden veel aandacht verdient.

In 1995 werd voor het eerst de chemische structuur van de intens geurende verbinding 5-acetyl-2,3-dihydro-1,4-thiazine **4** bepaald door de onderzoeksgroep van Hofmann en Schieberle. Een thermisch behandelde oplossing (145°C gedurende 20 min in een autoclaaf) van cysteïne/ribose werd geëxtraheerd en geanalyseerd. Dit leidde tot de identificatie van 29 actieve vluchtige

* zie literatuurlijst

geurcomponenten, hoofdzakelijk 2-acetyl-2-methylthiazolidine **33** en 5-acetyl-2,3-dihydro-1,4-thiazine **4** (Hofmann *et al.*, 1995).

Het was de eerste keer dat laatst genoemde verbinding werd teruggevonden. Een intense, geroosterde, popcornachtige geur met lage “odor threshold” (0,06 ng/l lucht) (Hofmann & Schieberle, 1995) werd waargenomen. Analoge waarden werden teruggevonden voor de hoofdcomponent van het rijstaroma 2-acetyl-1-pyrroline **1** (Buttery *et al.*, 1983) en 2-acetyl-2-thiazoline **12**, uit het popcornaroma (Buttery *et al.*, 1994). Na isolatie van **1**, kan deze stabiel bewaard worden in een β -cyclodextrinmatrix via non-covalente bindingen. Dit is naar analogie met bewaring van 2-acetyl-1-pyrroline **1** en 2-propionyl-1-pyrroline **27** (Favino *et al.*, 1996). Toch is deze synthese (analoog aan de natuurlijke vorming) zeker niet optimaal, want het rendement was slechts 1% (Hofmann & Schieberle, 1995).

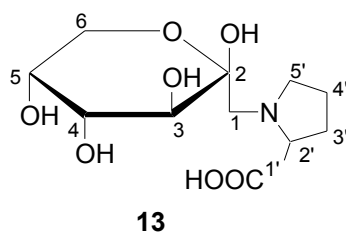
De Maillardreactie

Zowel crackers, brood en rijst hebben hun rijke aroma te danken aan de belangrijke Maillardreactie en in mindere mate ook aan micro-organismen die tijdens het bakproces hun belang hebben (zowel melkzuurbacteriën als bakkersgisten) (Yong *et al.*, 1989).

De Maillardreactie is een niet-enzymatische reactie waarbij vrije aminogroepen van α -aminozuren reageren met een reducerend suiker. De hiermee gepaard gaande bruinkleuring wint aan belang als de temperatuur stijgt en de vochtigheidsgraad laag is. Dit soort reacties treedt zowel op tijdens bak- en kookprocessen als tijdens conservatie van voedingsmiddelen en leidt tot een breed gamma aan heterocyclische aromacomponenten. Bij het bakken van brood spelen gisten een heel belangrijke rol om aromacomponenten te vormen. Gistextracten zijn namelijk rijk aan vrije aminozuren, die als precursors dienen tijdens de productie van allerlei aroma's. Naast de natuurlijk aanwezige aminozuren in het meel, zorgen gisten dus voor een extra bron aan aminozuren. Zo wordt in thermisch behandelde bakkersgistextracten veel van het zeldzame ornithine **15** teruggevonden. Dit is samen met L-proline **5** een zeer belangrijke precursor voor de vorming van 2-acetyl-1-pyrroline **1** (Münch & Schieberle, 1998). De Maillardaromacomponenten afkomstig van L-proline zijn gekend vanwege hun “geroosterde” geur.

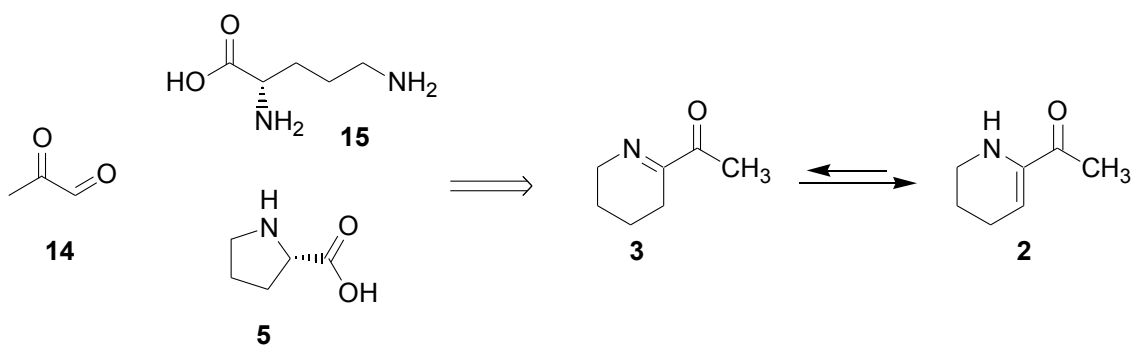
In de literatuur (Buttery *et al.*, 1983) wordt geschreven dat ongekookte rijst, die lange tijd bewaard wordt bij kamertemperatuur, een verhoogde aromahoeveelheid vrijstelt. Na analyse van dit vrijgekomen mengsel kon 2-acetyl-1-pyrroline **1** niet teruggevonden worden. Het is echter pas na het koken van de rijst, dat een sterke aromageur wordt verspreid en 2-acetyl-1-pyrroline **1**, als hoofdaromacomponent gedetecteerd kon worden.

Deze stikstofbevattende vluchtige componenten worden dus gegenereerd in zogenaamde “dry-heated model systems” (bvb. het kookproces), waarbij D-glucose en L-proline reageren en het 1-pyrroline **26** als Streckerdegradatieproduct overblijft. Ook fructose en proline kunnen reageren en vormen de Amadoricomponent **13**, die teruggevonden wordt in abricozen, perziken, tabaksbladeren, witte wijn, mout en verschillende bieren (Blank *et al.*, 2003). Verder wordt echter niet ingegaan op dit soort componenten.



2.3. Vormingsmechanismen van Maillardaromacomponenten gebaseerd op proline en ornithine

Volgens één van de eerst naar voor gebrachte theorieën reageren de vrije aminogroepen van de α -aminozuren proline **5** en ornithine **15** in brood (korst wit brood) met het reducerende suiker 2-oxopropanal **14** (Schieberle, 1990). Na enkele stappen wordt dan het enamine 6-acetyl-1,2,3,4-tetrahydropyridine **2** gevormd, dat in oplossing in evenwicht is met zijn tautomeer, het imine 6-acetyl-2,3,4,5-tetrahydropyridine **3**.



Veel onderzoek naar het mechanisme van deze omzetting leidde reeds tot enkele belangrijke hypothetische reactiewegen. Telkens werd het mechanisme afgeleid uit modelexperimenten. Dit zijn biosynthese-experimenten. (de sterretjes * duiden op ^{13}C -gemerkte koolstofatomen)

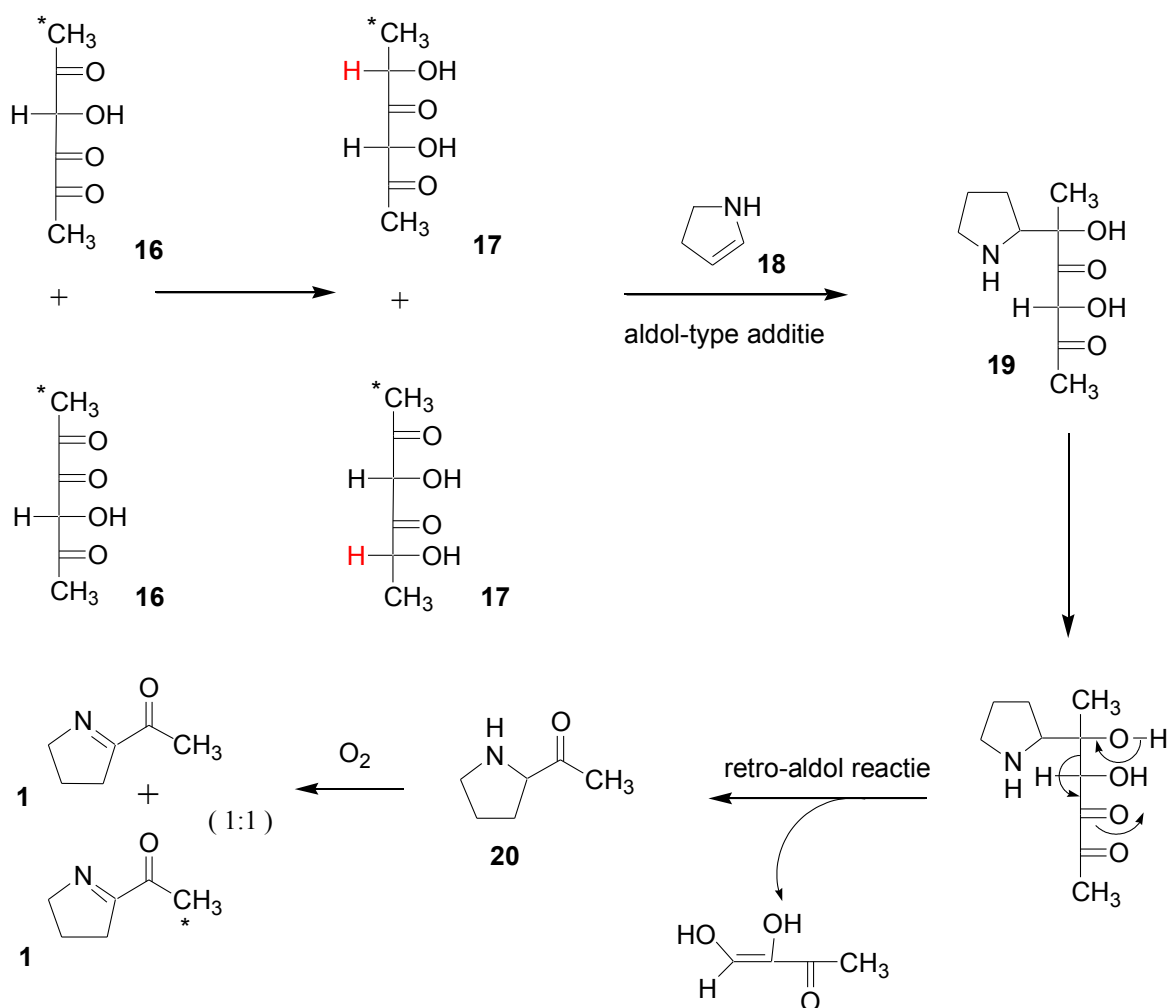
Hypothese door Rewicki *et al.*

In 1993 publiceerde Rewicki en zijn onderzoeksgroep een artikel over de vorming van Maillardaromacomponenten door reactie van proline met glucose. Door isotoop labeling van glucose konden de reactiewegen van verschillende aromaverbindingen voor het eerst ontrafeld worden.

2.3.1.1. Vorming van 2-acetyl-1-pyrroline

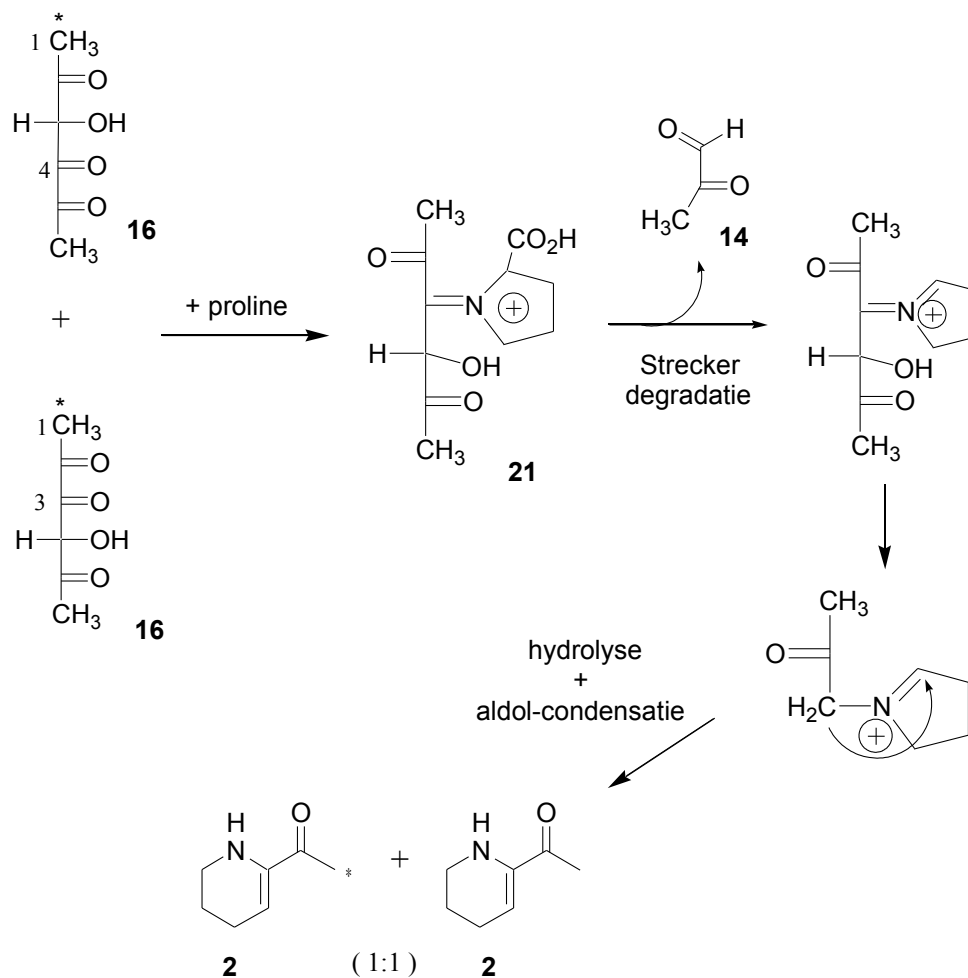
De C2 van 2-pyrroline **18** reageert via een aldolcondensatie met een precursor **17** (deoxysoon) bekomen vanuit diacetylformoïne **16**. Op die manier zal een intermediair **19** ontstaan dat een

retro-aldol splitsing ondergaat en zo aanleiding geeft tot de vorming van 2-acetyl-1-pyrrolidine **20**, een verbinding die vermoedelijk spontaan oxideert aan de lucht tot 2-acetyl-1-pyrroline **1**.



2.3.1.2. Vorming van 6-acetyl-1,2,3,4-tetrahydropyridine

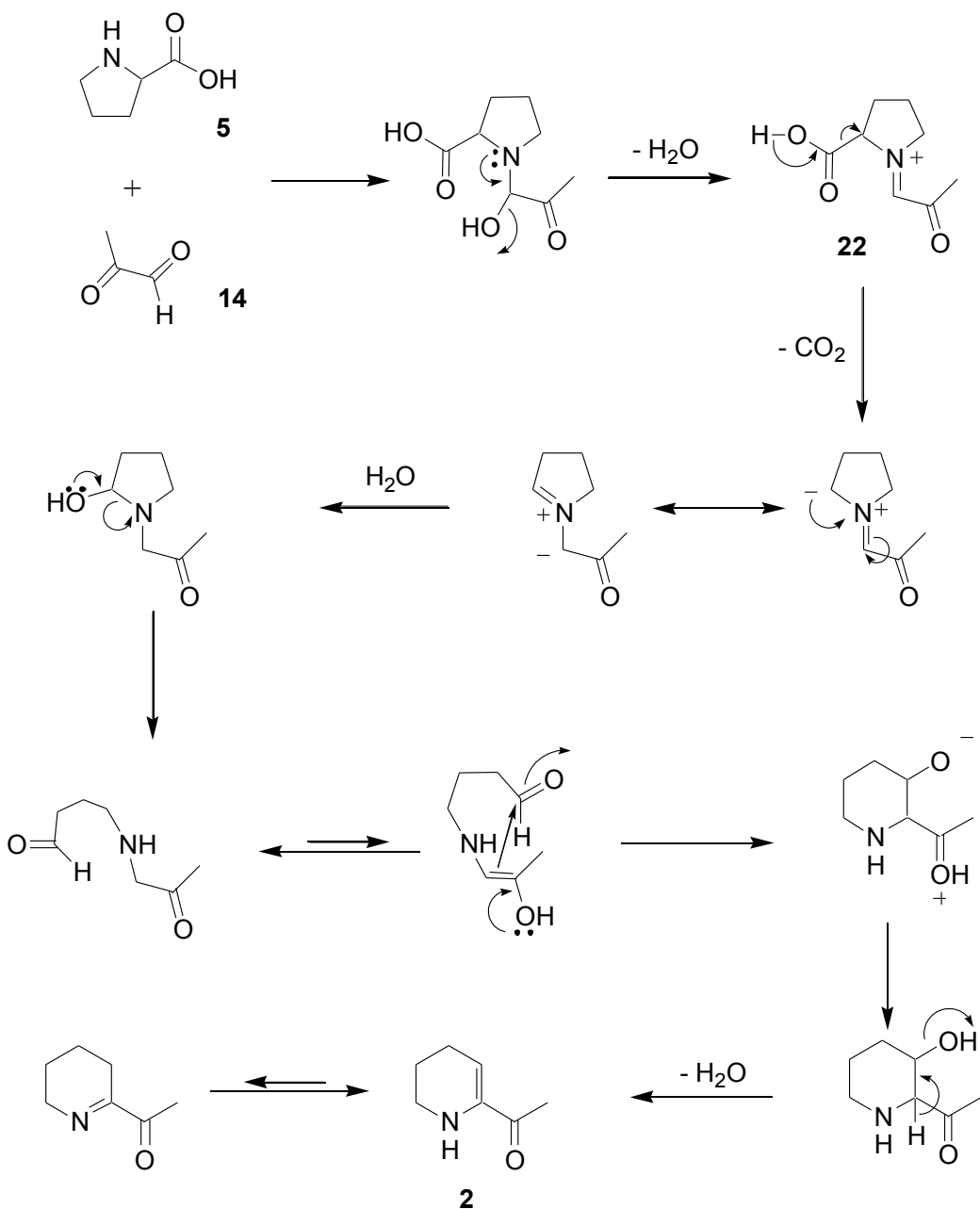
Proline **5** kan ook zelf reageren met diacetylmorfoïne **16**. Het stikstofatoom van proline reageert met de ketofunctie op de 3^{de} of 4^{de} plaats (op tekening aangebracht) van het morfoïne. Het gevormde intermediair **21** is onderhevig aan de Streckerdegradatie gevolgd door een retro-aldol splitsing. Een Streckerdegradatie treedt voornamelijk op wanneer een aminozuur reageert met een α -dicarbonylverbinding. Door hydrolytische ringopening en intramoleculaire aldoltype cyclisatie wordt uiteindelijk de broodaromacomponent **2** gevormd.



Het Hodge mechanisme

Vorming van 6-acetyl-1,2,3,4-tetrahydropyridine

In 1972 werd door Hodge *et al.* een mechanisme voorgesteld dat de vorming van **2** verklaart. Het oorspronkelijke voorstel omvatte een reactie uitgaande van proline **5** en 1,2-propaandion **14**, een degradatieproduct van reducerende suikers. De formylgroep van 1,2-propaandion **14** ondergaat een nucleofiele additie van het stikstofatoom van proline.



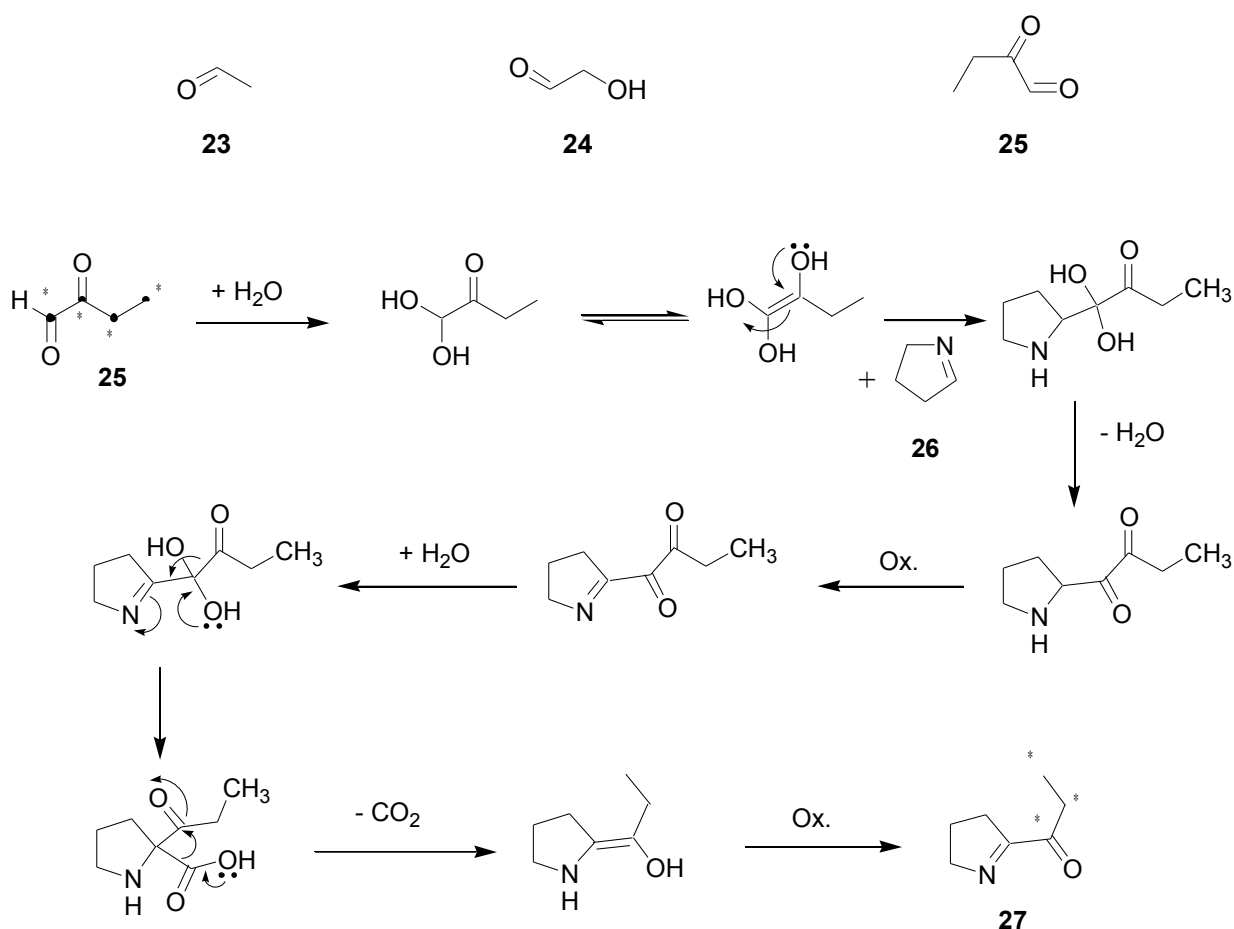
Vervolgens treedt een dehydratatie op tot vorming van de iminiumverbinding **22**. Een aaneenschakeling van reacties (decarboxylatie, hydrolyse, ringopening en -sluiting) leidt tot slot tot de broodaromacomponent **2**. Eén van de laatste stappen in het mechanisme werd in datzelfde jaar echter in twijfel getrokken en kende de jaren erna enkele wijzigingen die hier niet verder worden besproken (De Kimpe *et al.*, 1994; Hofmann & Schieberle, 1995).

Hypothese van Peter Schieberle en Thomas Hofmann

Belangrijke hypothesen komen uit Duitse hoek. Schieberle en Hofmann stelden enkele mogelijke reactiewegen voor uitgaande van pyrroline en bepaalde suikers.

Vorming van 2-propionyl-1-pyrroline

Gelabeld ^{13}C -glucose wordt door verhitting omgezet tot een acetaldehyde **23** en een glycolaldehyde **24** (degradatieproducten van carbohydraten). Dit zijn tevens precursoren van 2-oxo-2-butanal **25**.



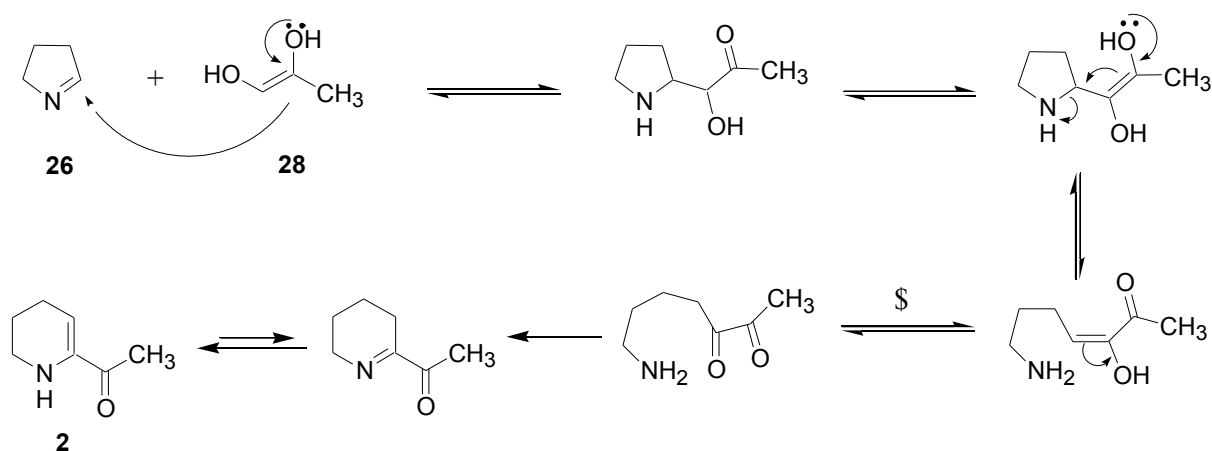
Het tweede belangrijke intermediair is 1-pyrroline **26**, het Streckerdegradatieproduct van proline. Een reactiemengsel met 1-pyrroline **26** en 2-oxo-2-butanal **25** wordt verhit en geanalyseerd. Tijdens de reactie zal het koolstofatoom van de aldehydefunctie van 2-oxo-2-butanal onder de vorm van CO_2 ontsnappen (Hofmann & Schieberle, 1998a). Na spontane

oxidatie vormt zich uiteindelijk 2-propionyl-1-pyrroline **27**. Analoog werd uitgaande van 2-oxopropanal **14**, het 2-acetyl-1-pyrroline **1** bekomen.

Op basis van analoge experimenten waarbij de pH wordt gevarieerd, werd in 2003 dit schema als meest waarschijnlijk proces naar voor geschoven (Blank *et al.*, 2003).

Vorming van 6-acetyl-1,2,3,4-tetrahydropyridine

Met 1-pyrroline **26** en propeen-1,2-diol **28** als intermediaren werd aan de universiteit van Berlijn een mogelijk reactieschema uitgewerkt. Een aanval van het C1-atoom van **28** op de C2 van 1-pyrroline **26** is essentieel. Na ringopening en ringsluiting via het keto-enol evenwicht^s dat ontstaat, zal de heterocyclische zesring **2** ontstaan. Het bewijs dat er weldegelijk een ringexpansie optreedt, werd geleverd door een methylgesubstitueerd pyrroline te gebruiken i.p.v. het 1-pyrroline **26**. Wederom werd deze reactieweg door experimentele bepalingen gestaafd. Bovendien werd waargenomen dat als de reactieomstandigheden basisch waren, de opbrengst aan **2** hoger was (Hofmann & Schieberle, 1998b).



Hypothese van Tzou-Chi Huang *et al.*

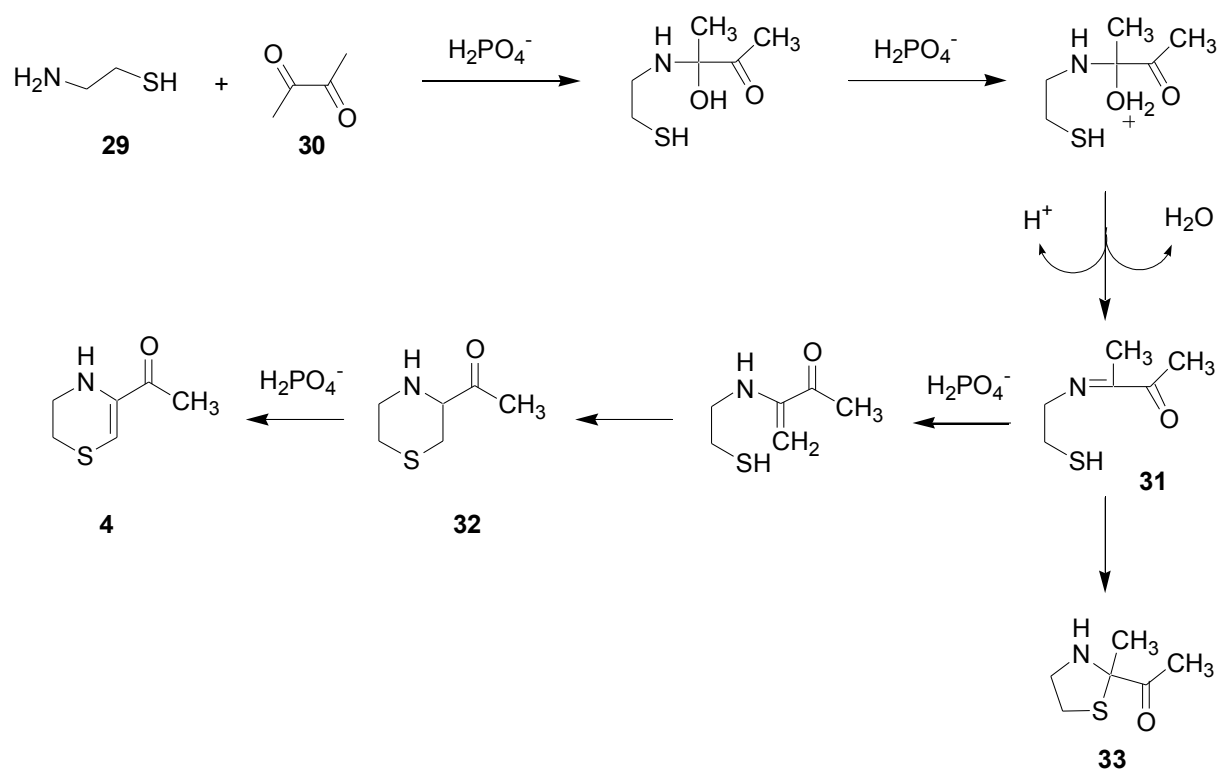
In 1998 werd voor het eerst een mogelijk mechanisme voorgesteld voor de vorming van 5-acetyl-2,3-dihydro-1,4-thiazine **4** aan het departement van voedingswetenschappen en technologie van de universiteit van Pingtung in Taiwan.

Vorming van 5-acetyl-2,3-dihydro-1,4-thiazine

Een modelsysteem met cysteamine **29** en 2,3-butaandion **30** werd gedurende 20 min bij 121°C in een autoclaaf verhit. Deze twee verbindingen werden verdund in een fosfaatbuffer. Na extractie van het reactiemiddel werden verschillende componenten geïdentificeerd en op basis hiervan een hypothetisch vormingsmechanisme voorgesteld.

De nucleofiele aminogroep van cysteamine **29** valt hierbij aan op de carbonylgroep van 2,3-butaandion. Door te werken in een fosfaatbuffer gaat protontransfer makkelijker (door de fosfaationen). Niet alleen worden de hydroxylgroepen hierdoor betere leavinggroepen (onder vorm van water), maar ook zal eliminatie van het waterstofatoom op het stikstofatoom makkelijker doorgaan. Deze dehydratatie en protontransfer leiden tot vorming van de Schiffbase **31**. Vervolgens zal een nucleofiele aanval (Michael-type) van de thiolgroep op de methyleen de vorming van 2-acetyl-2,3,5,6-tetrahydro-1,4-thiazine **32** induceren. Tot slot versnelt een redoxreactie, gekatalyseerd door fosfaationen, de protontransfer van 2-acetyl-2,3,5,6-tetrahydro-1,4-thiazine **32** zodat 5-acetyl-2,3-dihydro-1,4-thiazine **4** zich vormt.

Alternatief leidt een nucleofiele aanval van de thiolfunctie op de iminokoolstof van **31** tot vorming van 2-acetyl-2-methylthiazolidine **33**.

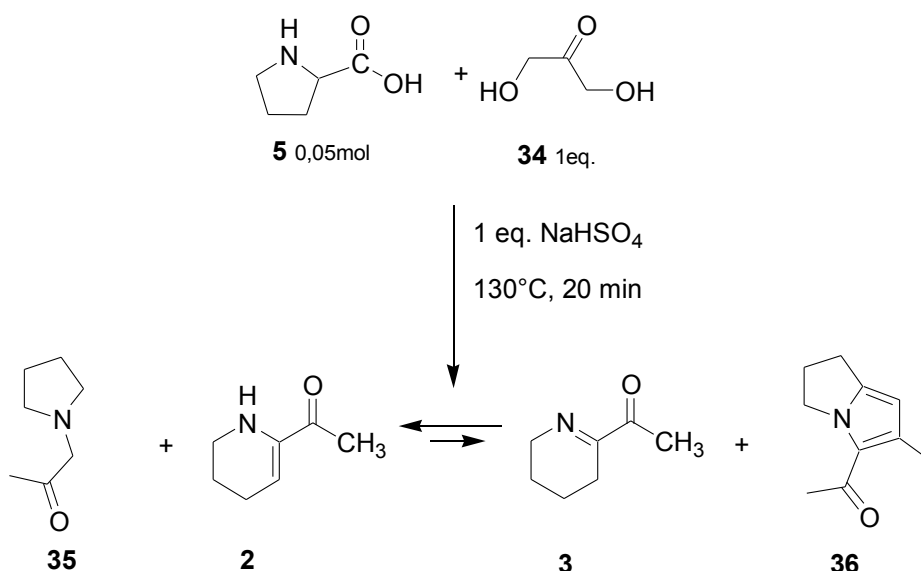


2.4. Synthesen van hoofdaromacomponenten van het brood-, rijst- en popcornaroma

Een volgende stap in het onderzoek was, en is nog steeds, een rendabele methode te vinden om het aroma te synthetiseren. Door de jaren heen zijn verschillende manieren voorgesteld. Maar steeds waren ofwel het aantal reactiestappen te hoog en/of de rendementen te laag en/of het gebruik van toxische solventen of te dure reagentia bezwarende factoren voor industriële opschaling. Een korte evolutie van de syntheses wordt hierna geschetst. Eerst zullen de syntheses van 2-acetyl-1-pyrroline **1** en 6-acetyl-1,2,3,4-tetrahydropyridine **2** samen besproken worden, gezien vaak gelijklopende syntheses uitgedokterd werden. Tot slot wordt de enige tot nog toe bestaande synthese van 5-acetyl-2,3-dihydro-1,4-thiazine **4** beschreven.

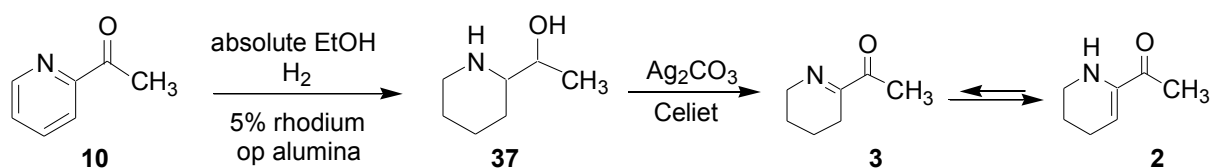
Synthesen van 2-acetyl-1-pyrroline en 6-acetyl-1,2,3,4-tetrahydropyridine

De eerste publicatie van de biosynthese van deze molecule verscheen in 1969. Op een niet gekende wijze levert thermische condensatie van proline **5** met 1,3-dihydroxyaceton **34** de broodaromacomponent **2** op (Hunter *et al.*, 1969). In 2004 werden de condities geoptimaliseerd en de nevenproducten gekarakteriseerd (Adams *et al.*, 2004). Het bleek te gaan om het 1-pyrrolidinylpropanon **35** en het 2,3-dihydro-1*H*-pyrrolizine **36** (schema 4).



Schema 4: Reactieschema volgens Adams *et al.*, 2004 en Hunter *et al.*, 1969

De eerste rationele methode voor de synthese van **2** kwam er in 1971 (Büchi & Wüest, 1971). Een hydrogenatie van 2-acetylpyridine **10** over een rhodium op aluminiumoxide katalysator levert 2-(1-hydroxyethyl)piperidine **37** met 78% rendement. Een grote overmaat aan katalysator is noodzakelijk omdat deze stap zeer moeilijk verloopt met heterocyclische stikstofverbindingen. Het gevormde alcohol **37** wordt vervolgens geoxideerd met zilverbicarbonaat in benzeen. Hierbij wordt het enaminketon **2** gevormd en niet het verwachte keton **3** (schema 5).



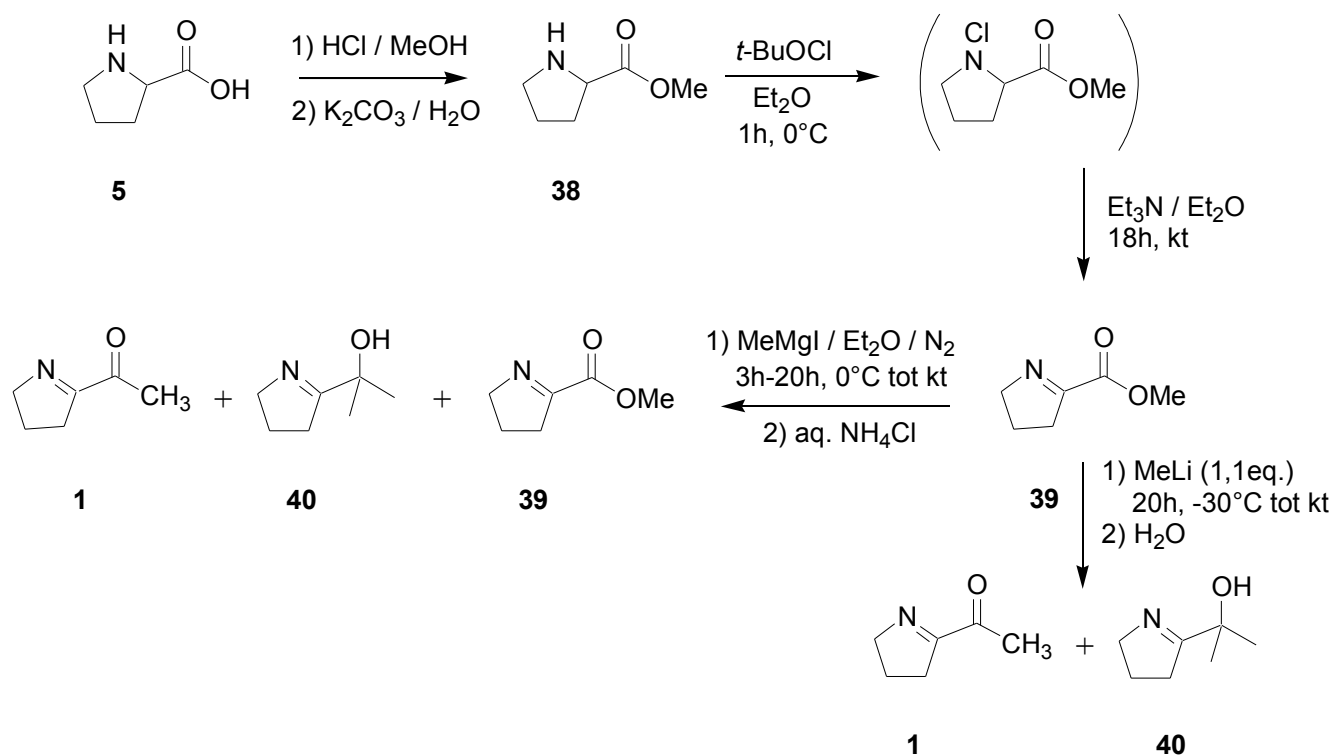
Schema 5: Reactieschema volgens Büchi & Wüest, 1971

Na een korte oxidatietijd van component **37**, wordt voor 66% het imine **3** en 33% het enamine **2** teruggevonden. Na verder te verwarmen wordt opnieuw een staal genomen. Nu blijkt 66% enamine en 33% imine gevormd te zijn. Hieruit wordt besloten dat het imine **3** het initieel gevormde product is (kinetisch sneller), terwijl het enamine **2** de stabielere tautomeer is (thermodynamisch gunstiger).

Een analoog mechanisme voor de synthese van **1** kwam van Buttery in 1983. De opbrengst van het totale mechanisme is nu 10 %. De opwerking verliep met behulp van benzeen.

Deze dure (rhodium en zilverbicarbonaten), tijdrovende en qua rendement zwakke synthese was duidelijk voor verbetering vatbaar, maar bracht wel met zich mee dat een eerste karakterisatie kon gebeuren. Ook het gebruik van het giftige benzeen spreekt niet in het voordeel van deze methode.

De zoektocht naar een meer geschikte synthese werd in 1993 nieuw leven ingeblazen door de onderzoeksgroep van De Kimpe (schema 6). Het uitgangspunt is het aminozuur L-proline **5** dat veresterd wordt. De *N*-chlorering van methylprolinaat **38** wordt bewerkstelligd met behulp van *tert*-butylhypochloriet en de daaropvolgende dehydrogenatie met triethylamine. Zo wordt 2-(methoxycarbonyl)-1-pyrroline **39** gevormd.

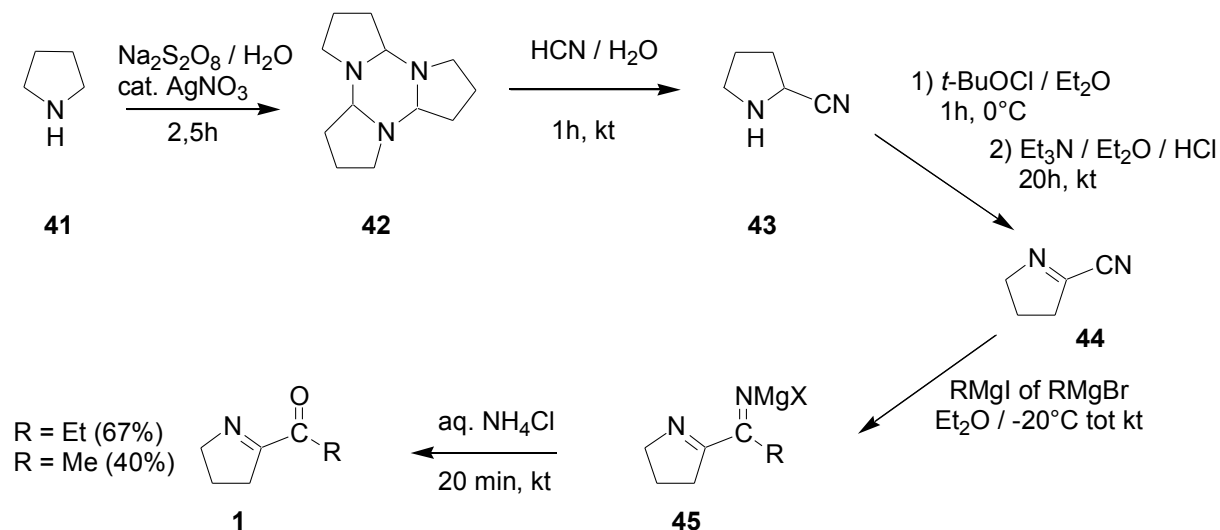


Schema 6: Reactieschema volgens De Kimpe *et al.*, 1993

Vervolgens wordt een kleine overmaat methylmagnesiumjodide gebruikt in diethylether. Naast het beoogde 2-acetyl-1-pyrroline **1** werden echter ook het alcohol **40** en het beginproduct **39** teruggevonden. Het rendement voor 2-acetyl-1-pyrroline **1** bedraagt via deze methode 45% - 83%. Deze laatste stap werd vervangen door reactie met methyllithium in ether. Het α -imino-ester **39** reageert nu wel volledig weg tot vorming van 45% **1**, 32% **40** en wat nevenproducten (De Kimpe *et al.*, 1993). De Gentse onderzoekers opperden dat met gebruik van een meer selectief 2-(alkoxycarbonyl)-1-pyrroline of meer selectieve organometaalreagentia het rendement kan stijgen. Dit werd echter niet meer getest.

Een andere methode uitgaande van pyrrolidine **41** werd door deze onderzoeksgroep namelijk als meer vernieuwend beschouwd. Reactie van natriumperoxodisulfaat met een katalytische hoeveelheid zilvernitraat en pyrrolidine **41** levert het 1,3,5-triazine **42** op. Toevoeging van waterstofcyanide leidt tot 2-cyanopyrrolidine **43**. Dit α -aminonitril wordt geoxideerd via *N*-chlorinatie met *tert*-butylhypochloriet gevolgd door een dehydrochlorinering met triethylamine tot vorming van het imidoylecyanide 2-cyano-1-pyrroline **44**. Reactie met het methylmagnesium-

jodide in ether leidt tot het magnesiumzout **45** van 2-acetimidoyl-1-pyrroline. Door hydrolyse met waterig ammoniumchloride wordt tenslotte louter 2-acetyl-1-pyrroline **1** bekomen (schema 7).

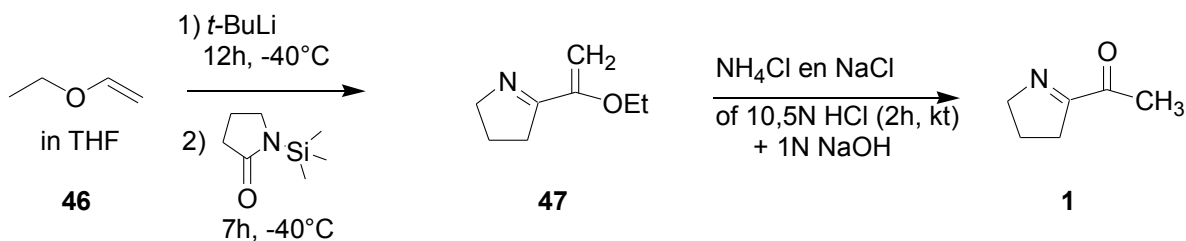


Schema 7: Reactieschema volgens De Kimpe *et al.*, 1993

Deze synthese kent een globaal rendement van 40%. De gebruikte procedure vergt goedkope basischemicaliën en het finale product wordt zuiver bekomen, doch werken met cyaniden en *t*-BuOCl is niet geschikt voor de voedingsindustrie wegens de toxiciteit.

In datzelfde jaar werd door dezelfde onderzoeksgroep een analoge syntheseweg voorgesteld om 6-acetyl-1,2,3,4-tetrahydropyridine **2** te verkrijgen (De Kimpe & Stevens, 1993).

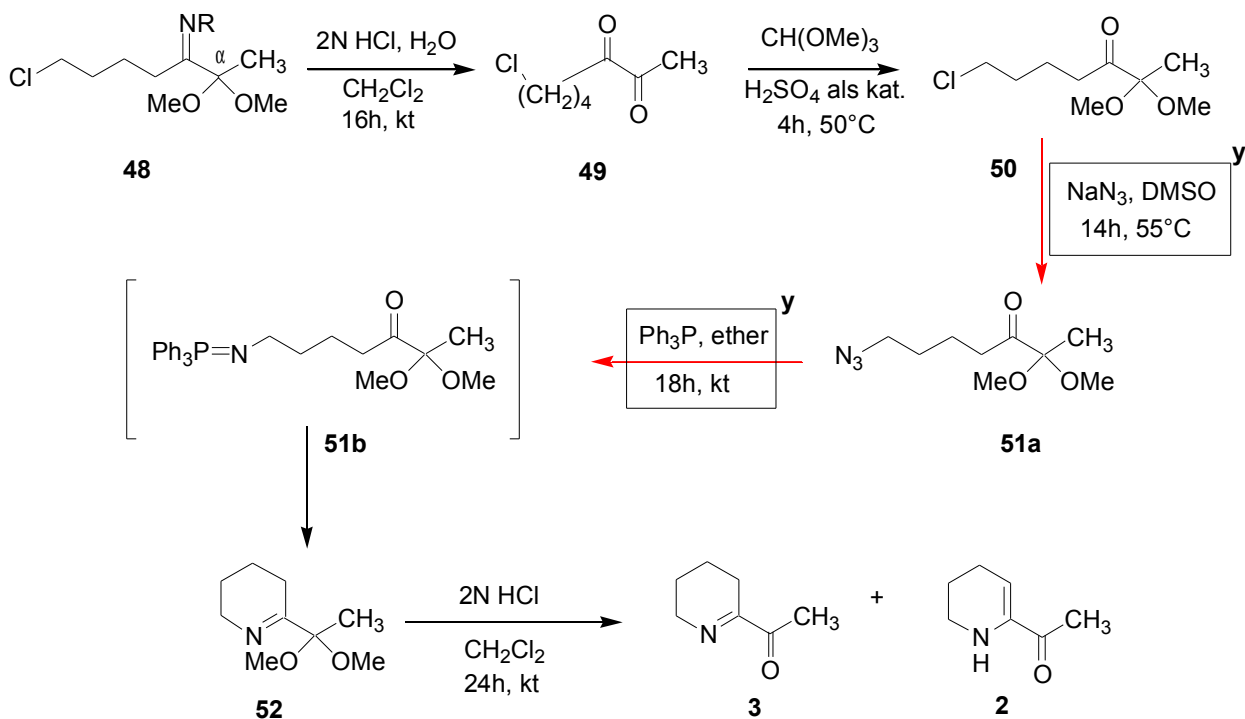
Een andere benadering komt uit Zwitserse hoek (Duby & Huynh-Ba, 1995). Aan een gekoelde oplossing van ethylvinylether **46** wordt *tert*-butyllithium in pentaan toegedruppeld. Aan het bekomen mengsel wordt *N*-trimethylsilyl-2-pyrrolidinon toegevoegd zodat 2-(1-ethoxyvinyl)-1-pyrroline **47** gevormd wordt. In nog steeds hetzelfde reactiemengsel wordt vervolgens een waterige ammoniumchloride-oplossing bijgevoegd om de hydrolyse door te laten gaan. Toediening van keukenzout zorgt voor betere scheiding van de organische en anorganische fase. De organische fase wordt afgescheiden en de waterige fase geëxtraheerd.



Schema 8: Reactieschema volgens Duby & Huynh-Ba, 1995

De verschillende verbindingen die in de gelige organische fractie zitten, worden na opwerking gescheiden via flashchromatografie. Deze reactieweg werd opgeschaald tot 17g zuiver 2-acetyl-1-pyrroline **1** geïsoleerd kon worden (schema 8). Door deze verbinding te sproeidrogen met een maltodextrine- of cyclodextrinedrager wordt tevens de stabiliteit bevorderd.

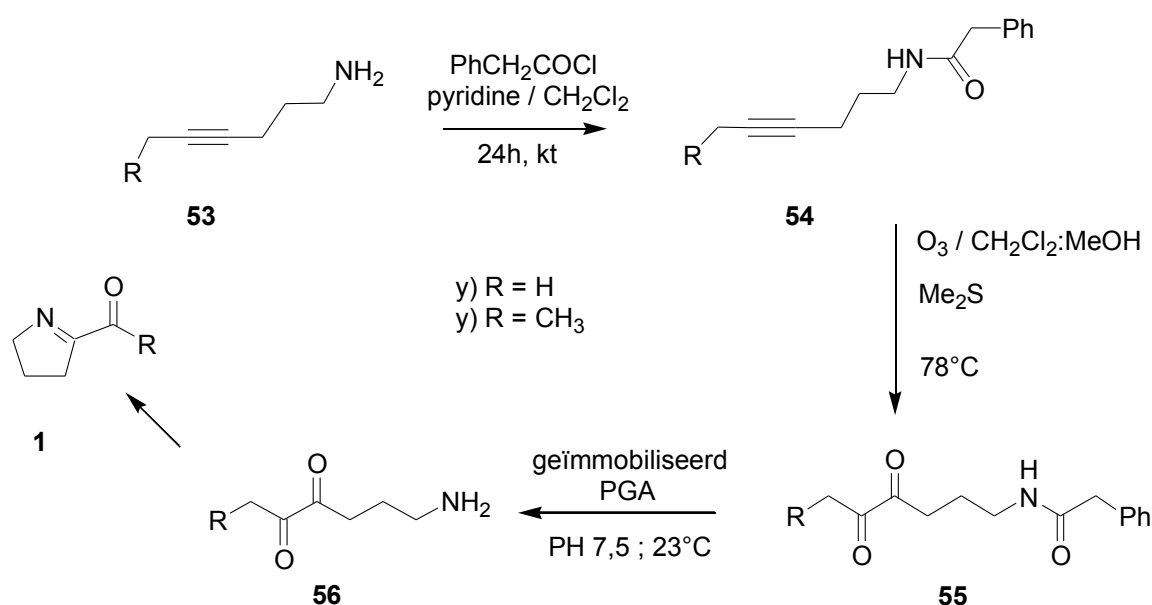
In datzelfde jaar werd een alternatieve synthese naar voor gebracht uitgaande van α -chlorimininen **48** met een beschermde carbonylfunctie op de α -positie (De Kimpe & Stevens, 1995). Door een selectieve zure hydrolyse van de iminofunctie wordt het dion **49** bekomen.



Schema 9: Reactieschema volgens De Kimpe & Stevens, 1995

De aanwezigheid van de acetaalfunctie leidt in de volgende stap tot vorming van het α -ketoacetal 7-chloor-2,2-dimethoxy-3-heptanon **50**. Via natriumazide treedt een azidering op van laatstgenoemde verbinding in DMSO (dimethylsulfoxide). Een intramoleculaire aza-Wittigreactie verzorgt vervolgens, via een iminofosoraanintermediair **51b**, de vorming van het cyclische imine **52**. Door zure hydrolyse wordt 6-acetyl-1,2,3,4-tetrahydropyridine **2** en zijn tautomeer **3** gevormd. Dit was echter een langdurige (schema 9) methode, niet geschikt voor industriële opschaling. Ook de bereiding van het beginproduct vereist veel tijdrovende reactiestappen. Het globale rendement varieerde tussen de 12% en de 25%.

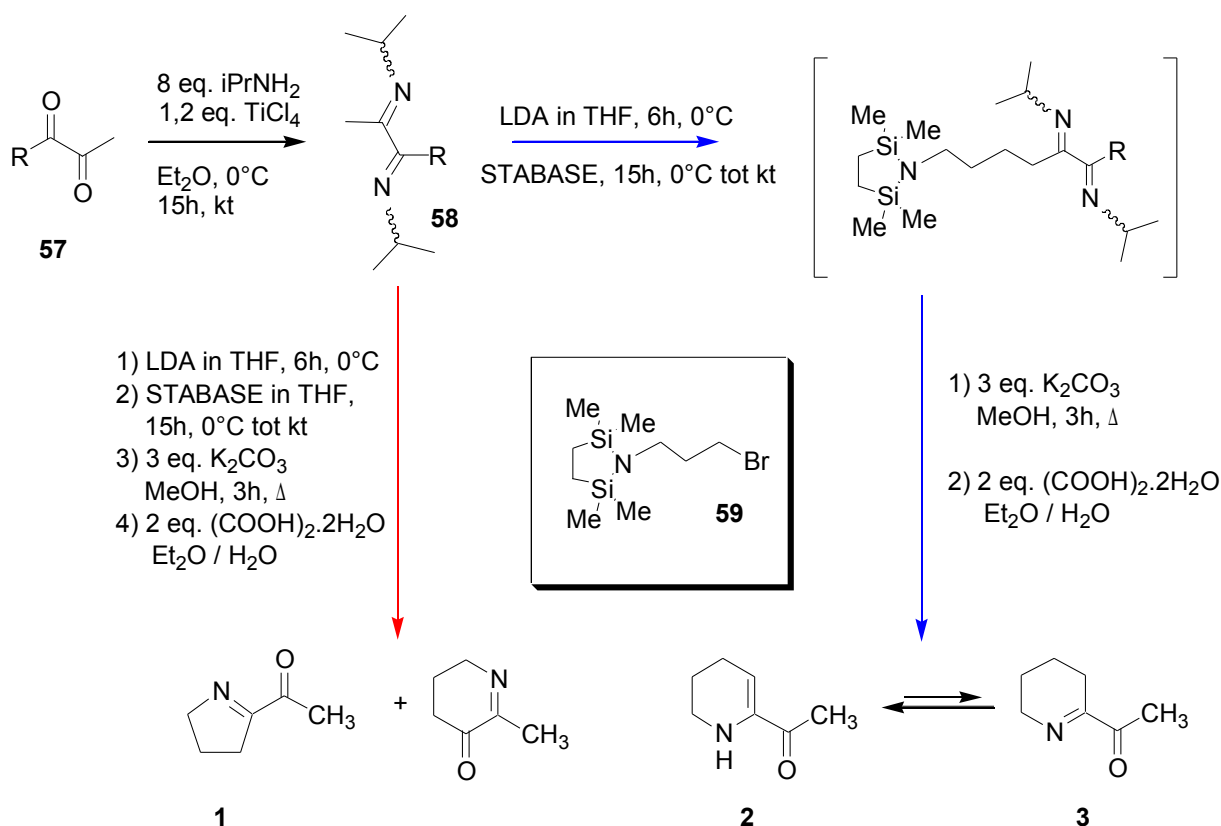
Een vernieuwende synthese van 2-acetyl-1-pyrroline **1** verscheen in 1996. De Italiaanse onderzoeksgroep van Favino maakte gebruik van het penicilline acylase convertend enzym. Zij gaan uit van een amine **54** dat met behulp van ozon oxideert tot het 4,5-diketon **55**. Hiervoor moet het primaire amine **53** wel beschermd worden. Dit gebeurt met een fenylacetylgroep (via fenylacetylchloride) omdat dit onder milde omstandigheden kan afgesplitst worden. Op deze wijze wordt een hydrogenolyse vermeden waardoor de gevoelige α -diketonfunctie in **55** behouden blijft. Vervolgens gebruikt men geïmmobiliseerd penicilline acylase enzym dat zeer selectief met een rendement van 80% het aminodiketon **56** vrijstelt. Dit cycliseert spontaan tot de beoogde rijstaromacomponent **1**. Deze verbinding wordt samen met het fenylacetaat bekomen. Het globale rendement bedraagt 20%.



Schema 10: Reactieschema volgens Favino *et al.*, 1996

Deze procedure (schema 10) heeft als voordeel dat het geïmmobiliseerde enzym kan hergebruikt worden. De boosdoener in deze synthese is echter het beginproduct **53**, dat pas na zes synthestappen bekomen wordt met een rendement van 28%. Bovendien is het efficiënt opzuiveren van het amine **53** niet eenvoudig.

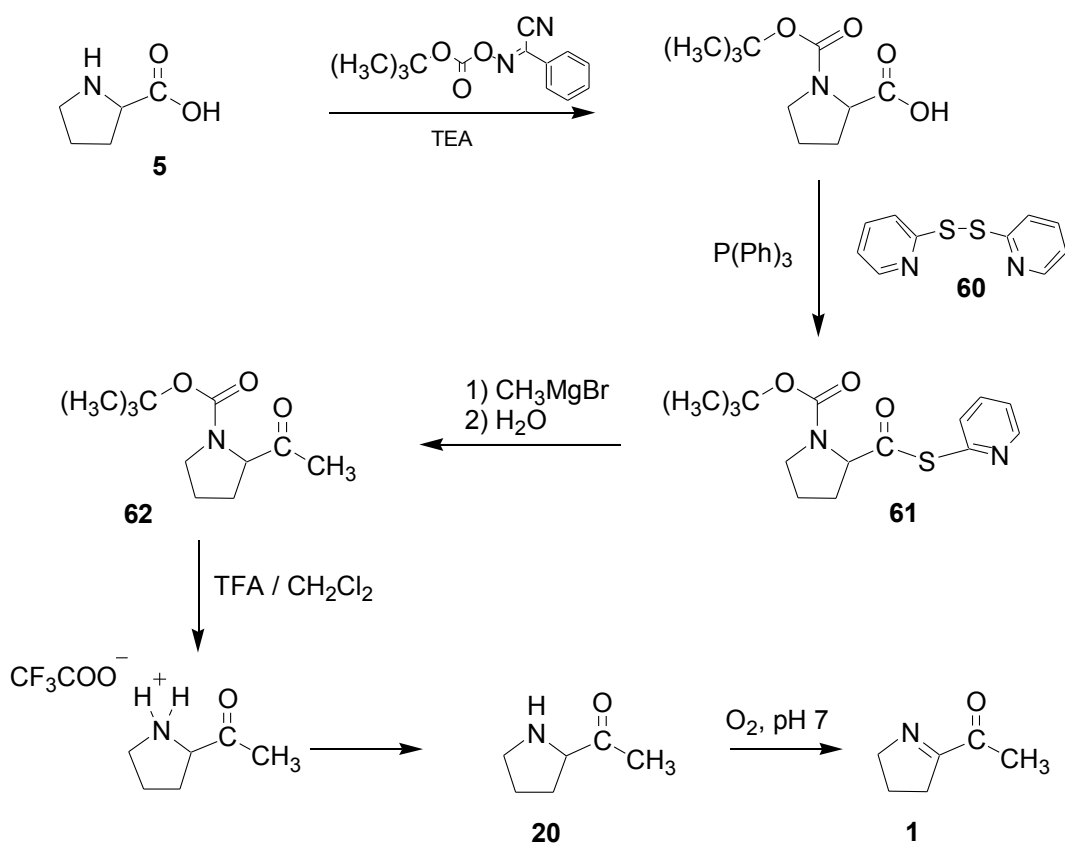
Een andere strategie maakt gebruik van α -dionen **57** en hun corresponderende diïminen **58** (schema 11). Door α -deprotonatie met LDA (*Lithium Diisopropyl Amide*) gevolgd door alkylering met het passende stabasederivaat **59** (alkylerend agens) vormen zich na zuur/base opwerking enerzijds de rijstaromacomponent **1** en anderzijds ook de broodaromacomponent **2**. Daar de deprotonatie van de kleinere homolog **1** moeilijker verloopt, is het rendement (36%) van de synthese lager dan die van de zesring (45%) (De Kimpe & Keppens, 1996).



Schema 11: Reactieschema volgens De Kimpe & Keppens, 1996

De eerste synthese van vier stappen werd naar voor gebracht door Hofmann en Schieberle (schema 12). Nadat L-proline **5** *N*-Boc-beschermd wordt, voegt men 2,2'-dipyridyldisulfide **60** en trifenylfosfine toe. Dit geeft aanleiding tot vorming van het thioëster **61** dat vervolgens

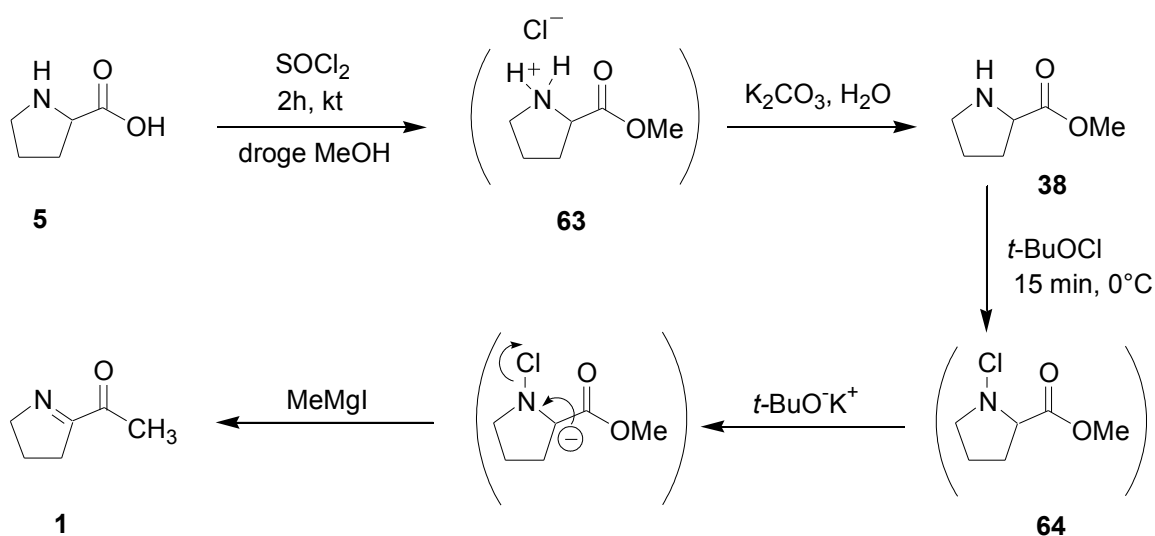
gereageerd wordt met methylmagnesiumbromide. Op die manier vormt zich het 2-acetyl-*N*-Boc-beschermd pyrrolidine **62**. Verder wordt dit product met trifluorazijnzuur (TFA) behandeld waardoor voor het eerst zuiver 2-acetylpyrrolidine **20**, na uitzouten en ontzouten, wordt waargenomen. De oxidatie tot **1** gebeurt bij 50°C gedurende 1 uur. Op analoge manier wordt het 6-acetyl-1,2,3,4-tetrahydropyridine **2** gesynthetiseerd (Hofmann & Schieberle, 1998c). Achteraf bleek echter dat het 2-pyridylthiointermediair **61** sporen nalaat en interfereert met het eindproduct (Srinivas & Gurudutt, 2003).



Schema 12: Reactieschema volgens Hofmann & Schieberle, 1998c

Met het doel om het rijstaroma op een eenvoudige en korte manier in grote hoeveelheid (gramschaal) aan te maken, werd in 2003 een patent ingediend door een Indische onderzoeksgroep. Vertrekkende van L-proline **5**, dat wordt opgelost in droge methanol, wordt het zout **63** van 2-(carbomethoxy)-1-pyrrolidine gevormd na toevoeging van thionylchloride. De opwerking verloopt via K_2CO_3 om het ontstane HCl zout weg te werken. In een volgende stap zorgt *tert*-butylhypochloriet voor de vorming van 1-chloor-2-(carbomethoxy)-1-pyrrolidine **64**. Dit product wordt

behandeld met het Grignardreagens methylmagnesiumjodide waardoor het 2-acetyl-1-pyrroline **1** ontstaat (schema 13) (Srinivas & Gurudutt, 2003).



Schema 13: Reactieschema volgens Srinivas & Gurudutt, 2003

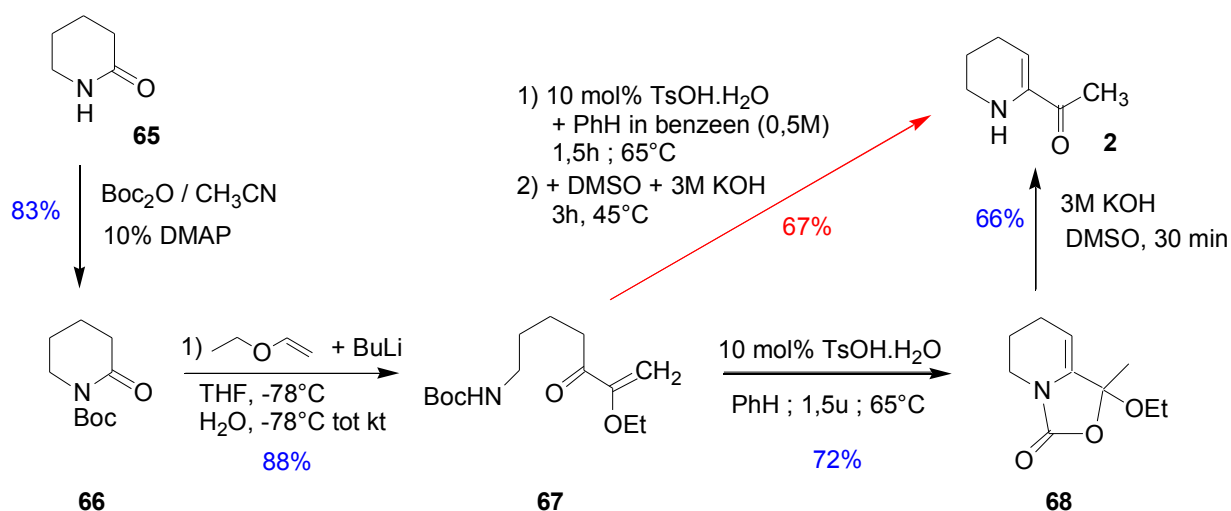
Recent verscheen een artikel waarin werd geopperd dat het mogelijk was om de procedure, voorgesteld door De Kimpe & Stevens (1995) te versnellen. Door de reacties (aangeduid met rode pijlen in schema 9) vertrekkende van component **50** uit te voeren in een microgolfoven in plaats van een klassieke thermisch verwarming te gebruiken, is de reactietijd veel korter en worden veel betere rendementen teruggevonden (zie tabel 1).

Tabel 1: Geïsoleerde rendementen voor de vorming van **51a** en **51b** zoals getoond in schema 9

component	conventionele verwarming ^y		microgolf irradiatie	
	opbrengst (%)	reactietijd (h)	opbrengst (%)	reactietijd (min)
51a	80	12-16	98	12
51b	73	23-24	95	15

Doch door de twee stappen als een éénpotsreactie door te voeren, gebeurde de aza-Wittigreactie *in situ*. Hierbij werd een rendement van 98% bekomen terwijl slechts 18 minuten gereageerd werd. Op deze manier wordt op een veilige, snelle en eenvoudige manier de broodaromacomponent **2** met grote zuiverheid bekomen. Het grote nadeel blijft echter de bereiding van het beginproduct **48** (Gudmundsdóttir *et al.*, 2005).

Een eerste procedure van drie stappen werd in 2005 openbaar gemaakt (Harrisson & Dake, 2005). Uitgaande van het feit dat enaminen zuurgevoelig zijn, werd een procedure ontwikkeld met een minimale blootstelling van de aromacomponent aan zure milieus. In voorgaande syntheses moest de laatste stap immers steeds onder zure omstandigheden verlopen.



Schema 14: Reactieschema volgens Harrisson & Dake, 2005

De reactie van 2-piperidon **65** en di-*tert*-butyldicarbonaat levert het carbamaat **66** op (stap 1). Door 1-ethoxy-1-lithioetheen (verkregen door metalering van ethylvinylether **46** met *tert*-butyllithium bij -78°C in THF) te reageren met **66** ontstaat het onstabiele keton **67** na waterige opwerking (stap 2). Na *N*-ontscherming en ringsluiting in benzeen vormt zich het carbamaat **68** (stap 3). In dit derivaat is de ketonfunctie beschermd en deze kan onder basische omstandigheden gehydrolyseerd worden. Verscheidene basen werden getest en kaliumhydroxide in DMSO gaf het beste rendement om de carbamaatfunctie te verbreken (stap 4). Dit was de initiële procedure, een optimalisatie leidde tot volgende strategie. De eerste twee stappen blijven identiek, maar het onstabiele keton **67** wordt nu onmiddellijk na opwerking en solventverwijdering ingezet met de reagentia van achtereenvolgens stap 3 en 4 (schema 14). Het totale rendement van de geoptimaliseerde synthesesweg is 49%, wat 12% beter is dan de oorspronkelijke. Doch gebruik van toxische solventen en werken

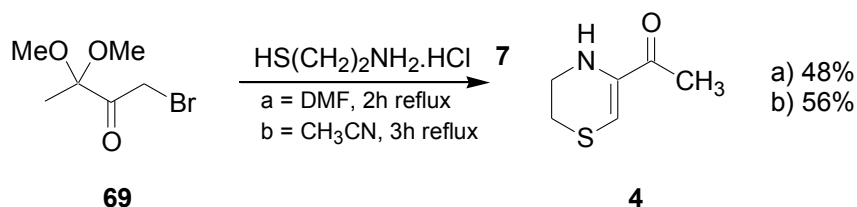
met BuLi onder drastische omstandigheden maken industriële implementatie onmogelijk.

Op geheel analoge wijze werd ook 2-acetyl-1-pyrroline **1** gesynthetiseerd. Startmateriaal hierbij was 2-pyrrolidinon. Het rendement van de totale synthese lag echter slechts rond de 10%. De reden voor dit lage rendement ligt vermoedelijk in de derde stap van de vierstapssynthese. Het aminestikstofatoom reageert met de ketonfunctie, hetgeen gewenst is, maar kan eveneens met het carbeniumion reageren (afkomstig van het enolether) zodat een niet gewenste zering wordt bekomen.

Synthesen van 5-acetyl-2,3-dihydro-1,4-thiazine

In 1998 werd voor het eerst via een biosynthetisch model de component 5-acetyl-2,3-dihydro-1,4-thiazine **4** gesynthetiseerd (Huang *et al.*, 1998). In paragraaf 2.3.4. werd deze methode uitvoerig besproken.

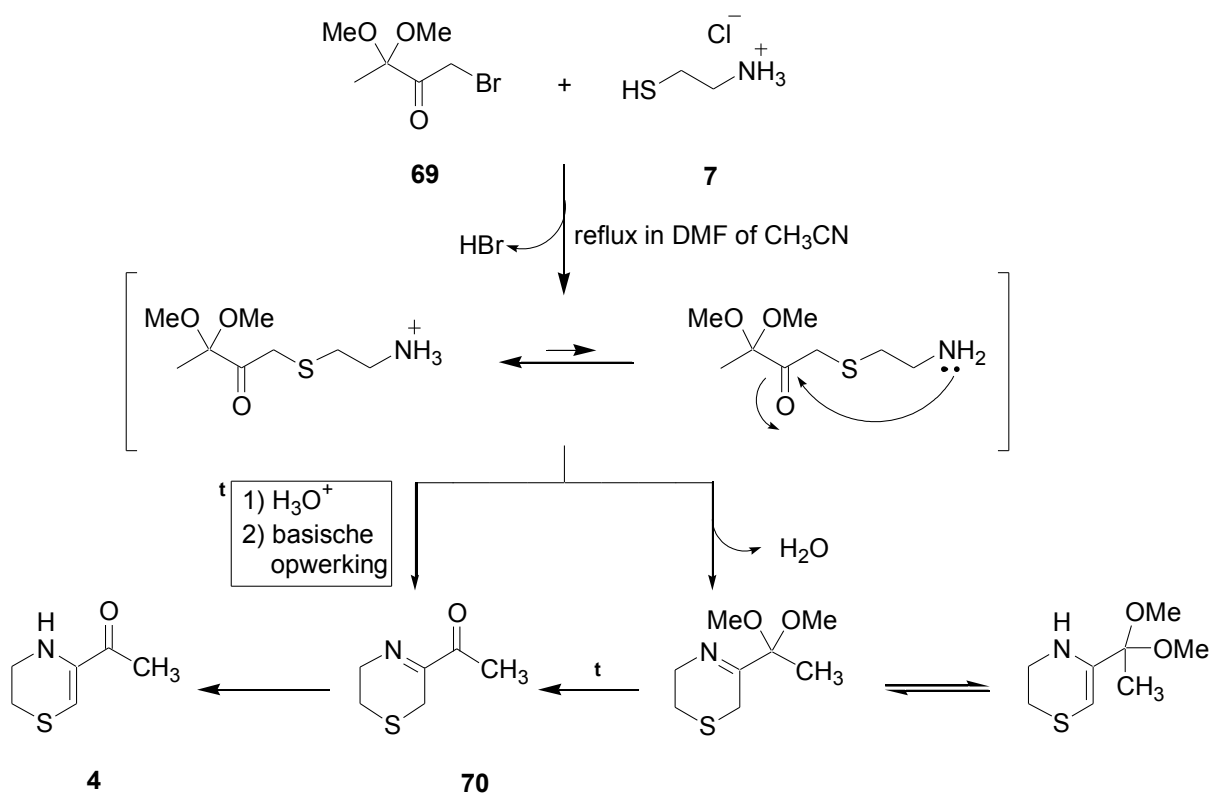
Een eerste echte chemische synthese vertrekkend van goedkope basischemicaliën kwam uit België in 1998. Een mengsel van 1-broom-3,3-dimethoxy-2-butanon **69** met een lichte overmaat 2-mercaptoethylaminehydrochloride **7** reageert in dimethylformamide (DMF) of acetonitril onder reflux. Via een nucleofiele substitutie, gevolgd door een intramoleculaire transaminatie en successieve hydrolyse van de acetalfunctie, wordt na basische opwerking het 5-acetyl-2,3-dihydro-1,4-thiazine **4** zuiver bekomen met een rendement van 48% - 56% (schema 15). Er worden geen andere synthesemethoden gerapporteerd.



Schema 15 : Reactieschema De Kimpe & Rochetti, 1998

De transaminering wordt naar alle waarschijnlijkheid bevorderd door te werken in basisch solvent, zodat het proton dat vrijkomt na de nucleofiele verplaatsing opgevangen kan worden en

op die manier de vrijgestelde primaire aminofunctie toelaat het stikstofatoom te laten aanvallen op de carbonylgroep. Schema 16 toont het reactieverloop.



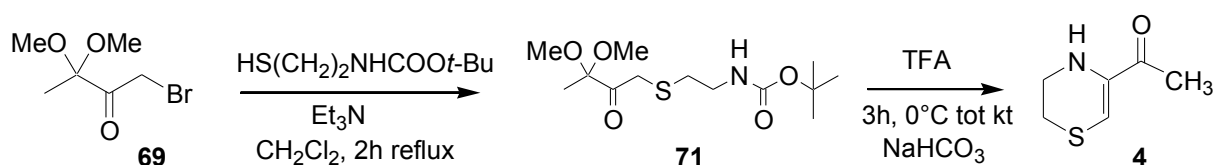
Schema 16: Reactieschema volgens De Kimpe & Rochetti, 1998

Een evenwicht tussen geprotoneerd solvent, de gevormde primaire aminogroep van mercaptoamine en de zuurstof van de carbonylgroep geeft het verondersteld verloop weer. Additie van water zorgt ervoor dat de ringsluiting voor 100% doorgaat en de hydrolyse en vrijmaking van het zout gebeuren. De basische opwerking zorgt voor de vorming van de iminovorm 70 van 4. Deze zal echter onmiddellijk overgaan naar de stabiele en vrije enaminvorm 4. Een soortgelijk tautomeer evenwicht werd waargenomen voor de belangrijkste component van het broodaroma, namelijk 6-acetyl-1,2,3,4-tetrahydropyridine 2 (Büchi & Wüest, 1971), dat via NMR gedetecteerd werd, samen met zijn iminovorm 6-acetyl-2,3,4,5-tetrahydropyridine 3. In contrast met dit feit wordt de iminovorm van het thiazine ditmaal niet waargenomen. Dit verschillend gedrag van de thiazineverbinding wordt toegewezen aan het elektronenzuigende zwavelatoom dat de enamine vorm stabiliseert (Hofmann *et al.*, 1995).

Diezelfde reactie werd herhaald, maar het reactiemengsel opgebouwd uit 1-broom-3,3-dimethoxy-2-butanon **69** met een overmaat 2-mercaptoethylaminehydrochloride **7** in dimethylformamide (DMF) werd nu onmiddellijk basisch opgewerkt. Analyse wees uit dat hoofdzakelijk 5-acetyl-2,3-dihydro-1,4-thiazine **4** gevormd bleek te zijn, naast enkele ongeïdentificeerde nevenproducten.

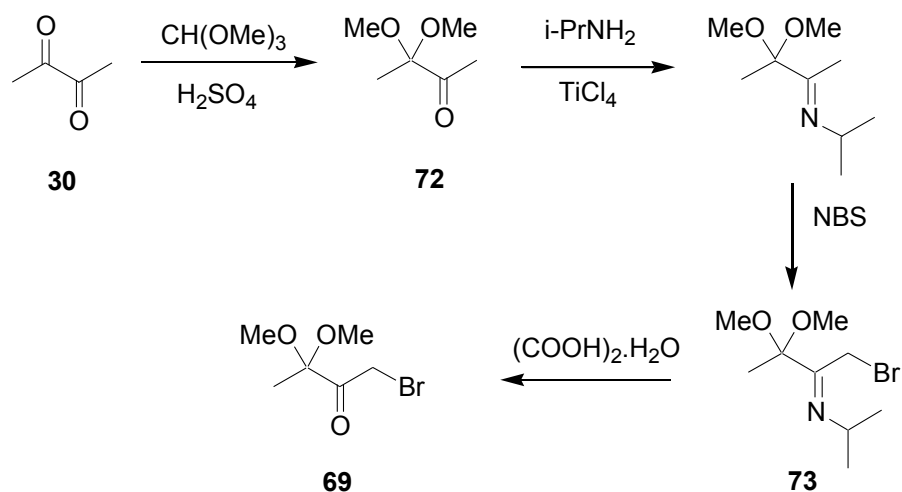
Dit voorgesteld mechanisme werd via ¹H-NMR bevestigd. Ook is de keuze van het solvent uiterst belangrijk. Dit moet namelijk voldoende basisch/polair zijn opdat de vrije aminogroep van 2-mercapto-ethylamine zou ontstaan en een competitieve nucleofiele aanval van de aminofunctie op het bromide gepromoot wordt. Tot slot wordt nog meegedeeld dat via flashchromatografie de component 5-acetyl-2,3-dihydro-1,4-thiazine **4** zuiver wordt gerecupereerd. Om deze verbinding te bewaren wordt het stabiele HCl-zout bereid door reactie van **70** met droge HCl in diethylether. Deze methode laat toe om het gevormde ammoniumzout gedurende enkele maanden bij -20°C te bewaren.

Omdat de hierboven beschreven procedure gepaard gaat met nogal bescheiden rendementen, werd een licht gewijzigd protocol uitgewerkt (schema 17).



Schema 17: De Kimpe & Rochetti, 1998

Hierbij fungeert *tert*-butyl-*N*-(2-mercaptoethyl)carbamaat als nucleofiel om na reactie met 1-broom-3,3-dimethoxy-2-butanon **69** het intermediair *tert*-butyl-*N*-(2-mercapto-ethyl)carbamaat-derivaat **71** te vormen. Dit gefunctionaliseerde carbamaat intermediair kan makkelijk verbroken worden door trifluorazijnzuur (TFA) in dichloormethaan. Basische opwerking zorgt nu voor een rendement van 75%. Deze laatste weg is wel één stap langer dan de voorgaande synthese, maar is makkelijker op te schalen. Ook het rendement is hoger. Toch mag niet over het hoofd worden gezien dat het beginproduct **69** zelf gesynthetiseerd moet worden. Dit kan via een vierstapsmechanisme (schema 18). Het totale rendement van deze reactie bedraagt 46%.



Schema 18: Reactieschema volgens De Kimpe & Rochetti, 1998

Vooreerst gebeurt een bescherming van de carbonylfunctie van butaan-2,3-dion **30** (analoog aan schema 9 (De Kimpe & Stevens, 1995)). De iminering van 3,3 dimethoxy-2-butanon **72** in isopropylamine en TiCl_4 is analoog aan de eerste stap van schema 11 (De Kimpe *et al.*, 1996). De derde stap is de radicalaire bromering via *N*-broomsuccinimidine (in het giftige CCl_4). De laatste en vierde stap houdt een selectieve hydrolyse van de iminofunctie van **73** in. Dit gebeurt via oxaalzuurdihydraat in een tweefasesysteem [ether/water].

2.5. Industriële productie

Momenteel brengt slechts één enkel bedrijf het rijstaroma op de markt. In 1990 werd te India Jagan Industries opgericht (site[•] 2). Dit bedrijf produceert een totaal rijstaroma (mengsel van verschillende moleculen) en houdt zich bezig met de export van zowel “Basmati rice flavouring” poeders als vloeistoffenoliën. Er wordt dus een natuurlijk aroma aan de rijstkorrels toegevoegd, dat geen neveneffecten op de gezondheid heeft. Na vermenging geeft het aroma de rijst een glanzende tint. Volgende industrieën nemen Jagans aroma’s af: de Basmati-rijstproducenten, de biscuit-, zuivel- en likeurindustrie, chipsfabrikanten, enz.

Hoe dat aroma in bulk geproduceerd wordt, werd niet vrijgegeven, maar op laboschaal extraheert men het aroma uit pandanbladeren (*Pandanus amaryllifolius*) via de stoom destillatie encapsulatie techniek (SDE). Na het vermalen van de bladeren en mixen met gedistilleerd water, vrij van vluchtige componenten, wordt het mengsel verhit waardoor de damp condenseert in een vat met zuur water en ether. Het water is aangezuurd (met H₂SO₄) omdat hierin het aroma stabiel is. De ether wordt achteraf uitgedampt en men bekomt een waterige oplossing met pH = 2. Deze oplossing kan dan zo goed als rechtstreeks gebruikt worden voor de encapsulatie van het aroma. Dit gebeurt via een sproeidroogtechniek met een 70:30 acaciagom:maltodextrine polymeer, waardoor het aroma nu in poedervorm vastgezet wordt en hierdoor stabiel en tegen hogere kwaliteit kan geproduceerd worden. Na analyse blijkt het aroma hoofdzakelijk uit 2-acetyl-1-pyrroline **1** te bestaan (Apintanapong M. & Noomhorm A., 2003).

De huidige industriële methode is dus afhankelijk van de kwaliteit van de oogst/gewas, aangezien men uit de rijstplant zelf het aroma extraheert. Door dit feit en dat van de hoge productiekosten is het aroma duur. Het zou dan ook handig zijn, mocht het rijstaroma louter synthetisch aangemaakt kunnen worden.

□ zie literatuurlijst

3. Materiaal en methoden

3.1. Methodologie

3.1.1. **Dunnelaagchromatografie (TLC)**

Het reactiemengsel wordt in een kleine hoeveelheid oplosmiddel (1 ml) opgelost zodat ongeveer 1 à 2 mg product aanwezig is. Onderaan op glasplaatjes (Merck 60, lengte: 10 cm) bedekt met 5 – 20 μm silica (= stationaire fase) wordt met een capillair een spot van het verdunde reactiemengsel aangebracht. Daarna wordt de plaat overgebracht in een bekersglas met het elueersolvent dat vooraf geselecteerd wordt en dus afhankelijk is van het te scheiden/zuiveren product. Door capillaire krachten wordt het eluens naar omhoog gezogen. In de silicagel is een fluorescentie-indicator verwerkt om de geëluëerde producten en de relatieve vlekken ten opzichte van het eluensfront zichtbaar te maken onder UV-licht. Hierdoor kan je de R_f -waarde van de component bepalen. Indien het product geen UV-licht absorbeert, wordt gebruik gemaakt van een kleurreagens (kaliumpermanganaat) of joodschilfers in een afgesloten glazen ruimte.

3.1.2. **Flashchromatografie**

Bij kolomchromatografie wordt de stationaire fase, silicagel (MERCK; $\phi = 0,040 - 0,063$ mm) met een zeefmaas van 230 tot 240 in een glazen verticale kolom gebracht. De zeefmaas of mesh verwijst naar het aantal openingen in de zeef die gebruikt werd om de ruwe silicapartikels te zeven. Hoe groter de zeefmaas, hoe kleiner de partikels. De polariteit van het solvent heeft een invloed op de relatieve snelheid waarmee de verschillende verbindingen in een staal doorheen de kolom lopen. Zoals bij elke chromatografie zal er zich een evenwicht instellen tussen de opgeloste stoffen en het absorbent. Elke opgeloste stof interageert verschillend met de mobiele en de stationaire fase, waardoor hun elutiesnelheid zal verschillen en scheiding optreedt. Een polair solvent zal in competitie gaan met een polaire verbinding op het absorbentoppervlak om een polaire verbinding te binden. Hoe meer polair het solvent is, hoe sneller die polaire verbinding doorheen de kolom gaat, maar hoe minder goed de scheiding verloopt. Vandaar het belang van de solventkeuze.

- Preparatie van de kolom:

Afhankelijk van de hoeveelheid te scheiden product en van de spreiding van de spots bekomen na TLC, wordt een geschikte kolom gekozen (spots zeer dicht bij elkaar werden gescheiden op een langere kolom). De samenstelling van het geschikte eluens werd experimenteel bepaald door middel van TLC: wanneer het gekozen solventmengsel een goede scheiding gaf en indien de gewenste component migreerde op de silicaplaat tot een goede R_f -waarde (ongeveer 0,35), werd deze solventsamenstelling gebruikt als eluens.

Onderaan wordt de kolom voorzien van een propje watten met daarboven een dun (~ 0,5 cm) zandlaagje (zeezand, MERCK, ϕ 0,1 mm – 0,3 mm). Hierop wordt de silicagel, gemengd met het eluens, voorzichtig toegediend. Bovenaan worden achtereenvolgens een dun zandlaagje, het te scheiden mengsel en een laatste zandlaagje geplaatst. Het te zuiveren reactiemengsel werd gefixeerd door het samen met silicagel (evenveel SiO_2 als product) op te lossen en vervolgens het solvent in te dampen. Door een extern opgelegde druk wordt het solvent doorheen de kolom geperst en opgevangen in verschillende fracties.

Elke fractie werd via TLC geanalyseerd en de zuivere fracties werden samengevoegd en ingedampt. Via GC-MS werden de verschillende zuivere fracties gekarakteriseerd.

3.1.3. Gaschromatografie en massaspectrometrie (GC-MS)

GC is een van de meest gebruikte scheidingstechnieken. GC-MS is een zeer krachtige methode voor analyse van complexe organische en biologische mengsels. Deze analyses geven informatie over de zuiverheid als over de samenstelling van de reactiemengsels. Het verdunde staal (uitgedampt reactiemengsel meestal verdund in dichloormethaan) wordt ingespoten in een splitinjector. Dit is een voorverwarmde ruimte op 275°C waarin het staal vergast wordt. Als inert dragergas wordt helium gebruikt. De output van de kolom is rechtstreeks gekoppeld aan de ionisatiekamer van de massaspectrometer. De verschillende moleculen van het staal worden gefragmenteerd in een aantal ionen met verschillende massa door ze met hoogenergetische elektronen te ioniseren: eerst wordt een elektron uit het moleculair orbitaal weggeslagen waardoor het gevormde moleculair ion door de te grote energie fragmenteert. De positief geladen ionen worden na deze elektronimpact versneld en komen in het massa-analyse toestel terecht. De resulterende massaspectra zijn meestal complex en lenen zich uitstekend tot de identificatie van verbindingen.

De scheiding gebeurde met een Interscience 8000 gaschromatograaf, gekoppeld aan een massaspectrometer van het type Fisons Instruments MD 800. De chromatografische scheiding nam plaats over een EC-5 kolom (lengte = 30m; inwendige ϕ = 0,32 mm; filmdikte = 0,25 μ m). De vaste fase is een siliconenkolom (95% methylsilicone en 5% fenylsilicone). De ionisatie gebeurde met een 70eV EI-bron. De solvent delay bedraagt steeds 2 min, behalve voor de zeer vluchtige verbindingen, dan is die gelijkgesteld aan 0 min.

GC:	dragergas	=	He (1 bar aan hoofd van kolom)
	split	=	1 / 40
MS:	bron	=	EI 70eV
	temperatuur	=	200°C aan bron
	opname	=	FS (full scan): 50 – 800 amu
			scantime: 0,9 s
			analyser: quadrupole

In dit eindwerk methode werd volgend temperatuurprogramma gebruikt:

- setpoint = 50°C
- stijging tot 250°C met een snelheid van 8°C/min

3.1.4. High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

Afhankelijk van het toepassingsgebied worden verschillende procedures gebruikt die bovendien complementair zijn. Zo heb je *exclusiechromatografie* om opgeloste stoffen met een MW (moleculair gewicht) groter dan 10.000 Dalton te scheiden. Voor ionische verbindingen met laag MW wordt *ion-uitwisselingschromatografie* gebruikt. *Partitiechromatografie* wordt geprefereerd om kleine, polaire, maar niet ionische stoffen te scheiden. Voor niet-polaire stoffen, zoals alifatische KWS kent *absorptiechromatografie* succes.

In dit eindwerk wordt gebruik gemaakt van een bepaalde vorm van partitiechromatografie: *reversed phase* chromatografie: een apolaire stationaire fase (vb: KWS) en een polaire mobiele fase (vb: water). Bij “reversed phase” chromatografie elueert de meest polaire verbinding het eerst terwijl dit bij “normal phase” juist omgekeerd is.

Een analytische RP-HPLC (type Waters) met een RP C-18 kolom (Vydac 218TP54, inwendige $\phi = 46$ mm, $L = 25$ cm, deeltjesgrootte = $5 \mu\text{m}$) werd gebruikt. De mobiele fase (water/acetonitril) bevatte 0,1% TFA. Producten werden gedetecteerd met UV-detectie bij 215 nm.

Tabel 2: elutiegradient voor RP-HPLC

Tijd (min)	Debiet (ml/min)	gradiënt A (water)	gradiënt B (80% CH ₃ CN + 20% water)
0	1	97%	3%
20	1	0%	100%
26	1	0%	100%

3.1.5. Vloeistofchromatografie en massaspectrometrie (LC-MS)

Vloeistofchromatografie werd toegepast om de zuiverheid van de gesynthetiseerde verbindingen te bepalen. Dit gebeurde met een Waters 600 Controller HPLC-toestel voorzien van een Waters 626-pomp en een UV-detector (Waters 2487), gekoppeld aan een massaspectrometer (VG Quattro II) die gebruik maakt van de elektropray-ionisatietechniek. De gebruikte kolom was een RP Discovery BIO wide pore C₁₈-kolom met een interne diameter van 4,5 mm, een lengte van 25 cm en een deeltjesgrootte van $5 \mu\text{m}$. De massaspectrometer maakt gebruik van positieve elektropray-ionisatie (+ESI).

MS: +ESI
 cone voltage = 35V
 capillair voltage = 3,5kV
 nebulisatiegas = N₂
 droergas = N₂
 opname = FS (full scan): 50 – 800 amu
 scantime: 0,9 s

3.1.6. Infraroodspectrometrie (IR)

De infraroodspectra werden opgenomen met een AVATAR 370 FT-IR toestel van het merk Thermo Nicolet via de attenuated total reflection (ATR) infraroodtechniek. Een kristal of een druppel van het product wordt met behulp van een schroef aangedrukt op een diamant waarin de IR-stralen reflecteren. Enkel voor zuivere producten werd een infraroodspectrum opgenomen.

3.1.7. Nuclear Magnetic Resonance Spectrometrie (NMR)

Via deze zeer betrouwbare techniek kan met grote zekerheid uitsluitend gegeven worden of het gewenste product al dan niet aanwezig is in het staal. De te analyseren verbindingen werden opgelost in gedeuterde solventen (CDCl_3 , CD_3OD) nadat reactiesolventen volledig verwijderd werden. Hieraan werd een kleine hoeveelheid tetramethylsilaan (TMS) toegevoegd als interne referentie. Het TMS-sigitaal ligt uiterst rechts in het spectrum en krijgt de nulwaarde op de ppm-schaal.

Hoge resolutie ^1H -NMR spectra en ^{13}C -NMR spectra werden opgenomen met een Bruker Avance DRX 250-spectrometer (250 MHz). Met dit toestel was het ook mogelijk technieken zoals DEPT (distortionless enhancement by polarisation transfer) en HMQC (heteronuclear multiple quantum coherence) en HMBC (heteronuclear multiple bond coherence) toe te passen. Een DEPT-spectrum maakt onderscheid tussen een CH_3 -, een CH_2 - en een CH -groep, namelijk CH_3 - en CH -pieken zijn positief en CH_2 -pieken zijn negatief (of omgekeerd). HMQC- en HMBC-spectra zijn tweedimensionale NMR spectra waarin kruispieken aangeduid worden. Op één van beide assen bevindt zich het ^1H -NMR spectrum en op de andere as het ^{13}C -NMR spectrum. Bij HMQC worden $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$ correlaties gedetecteerd tussen een proton en een koolstofatoom die direct contact maken met elkaar (^1J). Bij HMBC worden ook lange afstand proton-koolstof koppelingen gedetecteerd. Wanneer namelijk twee (^2J) of drie (^3J) bindingen tussen een koolstof en een proton zijn, dan geven die kruispieken in het tweedimensionale spectrum. Via deze spectra kunnen pieken van ^1H -NMR spectra eenduidig toegewezen worden.

De chemical shift waarden zullen weergegeven worden in ppm, de koppelingsconstanten in Hz. Verder staan de afkortingen s, d, d x d, t, q, m voor resp. singlet, doublet, doublet maal doublet, triplet, quadruplet en multiplet.

3.2. Gebruikte solventen

3.2.1. Methanol en dichloormethaan

Methanol ($T_{\text{kook}} = 65 \text{ }^{\circ}\text{C}$) en dichloormethaan ($T_{\text{kook}} = 40 \text{ }^{\circ}\text{C}$) werden gedroogd door middel van reflux in de aanwezigheid van calciumhydride (CaH_2) gevolgd door destillatie.

3.2.2. Toluene, tetrahydrofuraan en diethylether

Toluene ($T_{\text{kook}} = 110 \text{ }^{\circ}\text{C}$), tetrahydrofuraan ($T_{\text{kook}} = 66 \text{ }^{\circ}\text{C}$) en diethylether ($T_{\text{kook}} = 35 \text{ }^{\circ}\text{C}$) werden gedroogd door destillatie in aanwezigheid van natriumdraad en natriumbenzofenonketyl als vochtindicator.

3.2.3. Solventen voor kolomchromatografie

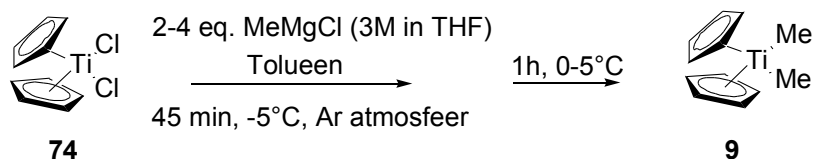
Ethylacetaat, pentaan, chloroform, hexaan werden aangekocht met *pro-analysis* of HPLC-kwaliteit en werden niet onderworpen aan een supplementair droogproces.

3.3. Technieken

De reacties onder inerte atmosfeer werden uitgevoerd in een gesloten opstelling. Vooreerst werd de lege kolom geflushed met argon (aanwezig in de ballon) en onder die atmosfeer werd het reactiemiddel aangebracht en ging de reactie door.

3.4. Experimenten

3.4.1. Synthese van de dimethyltitanoceen oplossing



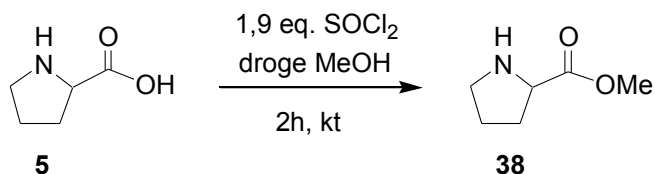
Aan 12,45 g (0,05 mol) dicyclopentadienyltitaniumdichloride **74** in 140 ml droge toluen wordt bij -5°C (temperatuur in kolf) en hevig roeren onder argonatmosfeer 37,5 ml methylmagnesiumchloride in THF (3M; 0,113 mol) toegevoegd in een tijdsperiode van 45 minuten. De temperatuur moet hierbij tussen -5°C en 8°C blijven, anders verloopt de opwerking zeer moeilijk (onmogelijk om fase te scheiden ondanks toevoeging van NH₄Cl). Na toevoeging wordt het mengsel 1 uur geroerd bij 0°C waarna het reactiemengsel in een tijdsperiode van 45 minuten wordt toegedruppeld aan een 6% (g/g) NH₄Cl (40 ml) bij 0-5°C onder argonatmosfeer. Dan wordt de organische laag geïsoleerd en gewassen met ijswater (3 x 30 ml) en pekkel (1 x 30 ml). Na drogen met Na₂SO₄ en affiltreren van het droogmiddel wordt het filtraat ingedampt *in vacuo* tot ongeveer 95 g, ervoor zorgdragend dat de temperatuur van het waterbad de 25°C niet overschrijdt. De bekomen oplossing van **9** in toluen (en weinig THF) wordt gestockeerd onder argonatmosfeer in een koele omgeving. Uit het ¹H-NMR spectrum wordt de concentratie bepaald, welke 739 mmol / l bedraagt.

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃):

δ (ppm): 0,13 (6H, s, (CH₃)₂); 5,98 (10H, s, 2 x cyclopentadienyl).

3.4.2. Synthese van 2-acetyl-1-pyrroline

3.4.2.1. Synthese van methylprolinaat (Srinivas & Gurudutt, 2003)



Aan een oplossing van 2,23 g L-proline **5** (20 mmol) in droge methanol (15 ml) wordt druppelsgewijs 4,52 g thionylchloride toegevoegd bij -5°C en hevig roeren. De temperatuur van het reactiemiddel dient onder de 0°C gehouden te worden. Na toediening wordt de reactie voortgezet gedurende 2h bij kamertemperatuur. Het solvent wordt ingedampt *in vacuo* in een waterbad en het residu gedurende 12h bij -15°C bewaard.

Na additie van de gele vaste massa aan een 50% K_2CO_3 -oplossing (20 ml) bij 0°C , wordt het geheel geëxtraheerd met ether (3x 15 ml). De etherlaag wordt gedroogd over Na_2SO_4 , uitgedampt en in bij -18°C gestockeerd om 2,32 g (17,2 mmol) witgele methylprolinaat-kristallen **38** op te leveren.

<i>GC-MS analyse van verbinding 38:</i>	
Retentietijd :	13,3 min
MS m/z (%)	130 ($\text{M}^+ + 1$, 2); 129 (M^+ , 3); 101 (1); 70 (100); 68 (32); 59 (5); 56 (1); 55 (1); 53 (2).

$^1\text{H-NMR}$ (250MHz, CDCl_3):

δ (ppm) 1,75-1,82 (3H, m, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{HCH}$); 1,91-2,14 (1H, m, NCHCH_2HCH); 2,18 (1H, s, NH); 2,90-3,10 (2H, m, NHCH_2CH_2); 3,74 (3H, s, OCH_3); 3,76 – 3,81 (1H, d x d, $J_1 = 8,7$; $J_2 = 5,6$ NCHCH_2).

$^{13}\text{C-NMR}$ (63MHz, CDCl_3):

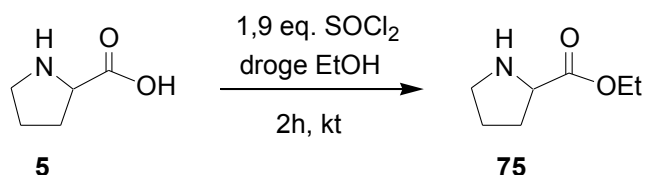
δ (ppm) 27,5 (NCH_2CH_2); 32,2 (NCHCH_2); 48,9 (NCH_2); 54,1 (OCH_3); 61,5 (NCH); 177,7 (COOCH_3).

IR (cm^{-1}): 1440 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$; asym.bending); 1726 ($\text{C}=\text{O}$ stretch); 1170 (COMe stretch); 3330 (NH stretch).

Rendement = 86% (lit. 85%)

3.4.2.2. Synthese van ethylprolinaat

-



Aan een oplossing van 2,23 g L-proline **5** (20 mmol) in droge ethanol (15 ml) wordt druppelsgewijs 4,52 g thionylchloride toegevoegd bij -5°C en hevig roeren. De temperatuur van het reactiemiddel dient onder de 0°C gehouden te worden. Na toediening wordt de reactie gedurende 2h voortgezet bij kamertemperatuur. Het solvent wordt ingedampt *in vacuo* in een waterbad en het residu gedurende 12h bij -15°C bewaard.

Na additie van de gele vaste massa aan een 50% K_2CO_3 -oplossing (20 ml) bij 0°C , wordt het geheel geëxtraheerd met diethylether (3x 15 ml). De etherlaag wordt gedroogd over Na_2SO_4 , uitgedampt en in de diepvriezer gestockeerd om een witgele vloeistof op te leveren. Vervolgens wordt onder hoogvacuüm (0,005 bar) diethylsulfiet **93** onttrokken uit het reactiemiddel waardoor een geel, vloeibaar residu overblijft. Na bewaring bij -18°C kristalliseert de vloeistof uit tot 1,55 g (12,2 mmol) ethylprolinaatkristallen **75**.

<i>GC-MS analyse van verbinding 75:</i>	
Retentietijd :	6,9 min
MS m/z (%)	143 (M^+ , 15); 96 (5); 87 (5); 86 (11); 68 (100); 56 (2); 55 (5); 53 (7).

$^1\text{H-NMR}$ (250MHz, CDCl_3) :

δ (ppm) 1,28 (3H, t, $J = 7,1\text{Hz}$, OCH_2CH_3); 1,72 – 1,82 (3H, m, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{HCH}$); 1,80 (1H, s, NH); 1,83 – 1,95 (1H, m, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{HCH}$); 2,93 – 3,15 (2H, m, NCH_2CH_2); 3,80 – 3,86 (1H, d x d, $J_1 = 8,6$; $J_2 = 5,4$ NCHCH_2); 4,2 (2H, q, $J = 7,1\text{Hz}$, OCH_2CH_3).

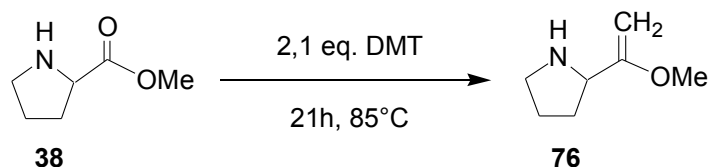
$^{13}\text{C-NMR}$ (63MHz, CDCl_3):

δ (ppm) 14,6 (OCH_2CH_3); 25,7 (NCH_2CH_2); 30,5 (NCHCH_2); 47,2 (NCH_2); 60,0 (NCHCH_2); 61,4 (OCH_2CH_3); 175,2 ($\text{COOCH}_2\text{CH}_3$).

IR (cm^{-1}): 2974 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ asym. stretch); 2865 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ symm. stretch); 1439 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ asym. bending); 1722 (C=O stretch); 1178 (C-O stretch); 3330 (NH stretch).

Rendement: 61%

3.4.2.3. Synthèse van 2-(1-methoxyvinyl)pyrrolidine



In een 25 ml kolf wordt 1 g methylprolinaat **38** (7,75 mmol) aangebracht, waarna de kolf, voorzien van een liebigkoeler, onder inerte argonatmosfeer wordt gebracht. Met behulp van een injectiespuit worden 2,1 equivalenten DMT (1M) toegediend, waarna het reactiemengsel afgeschermd wordt van het licht en verhit wordt tot 85°C gedurende 21 uren.

Na afkoeling van het reactiemengsel wordt 7 ml methanol, 0,5 ml water en 500 mg natriumbicarbonaat (NaHCO₃) toegevoegd aan het reactiemengsel dat vervolgens op 40°C wordt gebracht en gedurende 7 uren wordt geroerd. Daarna wordt het gevormde titanocenoxyde **88** afgefilterd. Het filtraat wordt dan gewassen met chloroform en geëxtraheerd met water. De waterige fractie wordt uitgedampt tot 350 mg 2-(1-methoxyvinyl)pyrrolidine
76.

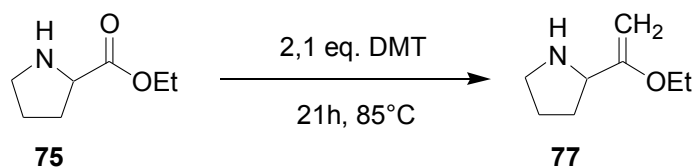
<i>LC-MS analyse van verbinding 76:</i>	
Retentietijd :	10,8 min
MS m/z (%)	129 (M ⁺ +2, 6); 128 (M ⁺ +1, 100); 115 (2).

Ruw rendement = 71%

Conversie via LC-MS = 50%

De ¹H-NMR- en ¹³C-NMR-spectra wezen uit dat de verbinding niet zuiver was en waren moeilijk te interpreteren. Vandaar dat het rendement bepaald via LC-MS (waar wel 1 piek werd bekomen) niet valabel (en niet weergegeven) is.

3.4.2.4. Synthese van 2-(1-ethoxyvinyl)pyrrolidine



In een 25 ml kolf wordt 75 mg ethylprolinaat **75** (0,52 mmol) aangebracht, waarna de kolf, voorzien van een liebigkoeler, onder inerte argonatmosfeer wordt gebracht. Met behulp van een injectiespuit worden 2,1 equivalenten DMT (1M) toegediend, waarna het reactiemengsel afgeschermd wordt van het licht en verhit wordt tot 85°C gedurende 21 uren.

Na afkoeling van het reactiemengsel wordt 5 ml ethanol, 0,3 ml water en 300 mg natriumbicarbonaat (NaHCO₃) toegevoegd aan het reactiemengsel dat vervolgens op 40°C wordt gebracht en gedurende 7 uren wordt geroerd. Daarna wordt het gevormde titanocenoxyde **88** afgefilterd. Het filtraat wordt dan gewassen met chloroform en geëxtraheerd met water. De waterige fractie wordt uitgedampt tot 68 mg 2-(1-ethoxyvinyl)pyrrolidine
77 rest.

<i>LC-MS analyse van verbinding 77:</i>	
Retentietijd :	11,5 min
MS m/z (%)	143 (M ⁺ +2, 6); 142 (M ⁺ +1, 100); 138 (1); 137 (spoor); 115 (spoor)

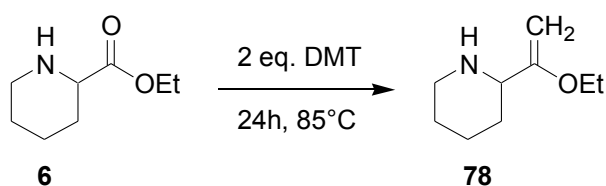
Ruw rendement = 92%

Conversie via LC-MS = 76%

De ¹H-NMR en ¹³C-NMR spectrale analyse wezen uit dat de verbinding niet zuiver was en de spectra waren moeilijk te interpreteren. Vandaar dat het rendement bepaald via LC-MS (waar wel 1 piek werd bekomen) niet valabel (en dus niet weergegeven) is.

3.4.3. Synthese van 6-acetyl-1,2,3,4-tetrahydropyridine

3.4.3.1. Synthese van 2-(1-ethoxyvinyl)piperidine



In een 25 ml kolf wordt 0,5 ml ethylpipercolinaat **6** (500 mg; 3,2 mmol) aangebracht, waarna de kolf, voorzien van een liebigkoeler, onder inerte argonatmosfeer wordt gebracht. Met behulp van een injectiespuit worden 2 equivalenten DMT (1,2 M) toegediend, waarna het reactiemengsel afgeschermd wordt van het licht en verhit wordt tot 85°C gedurende 24 uren.

Na afkoeling van het reactiemengsel wordt toluen verwijderd via evaporatie. Aan het bekomen product wordt 20 ml pentaan toegevoegd waardoor het titanoceneoxide **88** precipiteert en afgefilterd wordt. Een deel van het solvent wordt opnieuw uitgedampt. Deze opwerkingsstappen worden een drietal keer herhaald totdat geen precipitatie van **88** meer optreedt. De bekomen fractie wordt na drogen met MgSO₄ en filtratie verder opgezuiverd door middel van flashchromatografie.

<i>GC-MS analyse van verbinding 78:</i>	
Retentietijd :	8,2 min
MS m/z (%)	155 (M ⁺ , 67); 140 (61); 126 (80); 112 (65); 110 (45); 83 (100); 80 (58); 70 (54); 67 (71); 54 (99).

Flashchromatografie (solvent: 90% chloroform, 10% ethanol): R_f **6** = 0,69
R_f **78** = 0,23

¹H-NMR (250MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) 1,44 (3H, t, J = 7,0Hz, OCH₂CH₃); 1,51 – 1,57 (4H, m, NCH₂CH₂CH₂CH₂); 1,69 – 1,74 (2H, m, NCH₂CH₂CH₂CH₂); 1,98 (1H, s, NH); 2,80 (2H, t, J = 9,4Hz, NCH₂); 3,15 – 3,24 (1H, m, NCH); 3,87 (2H, q, J = 7,0Hz, OCH₂CH₃); 4,0 (1H, d, J = 2,2Hz, C=HCH); 4,2 (1H, d, J = 2,2Hz, =HCH).

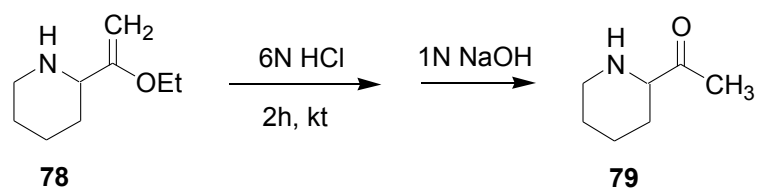
¹³C-NMR (63MHz, CDCl₃):

δ (ppm) 14,8 (OCH₂CH₃); 25,1 (NCH₂CH₂CH₂); 26,6 (NCHCH₂); 31,2 (NCH₂CH₂); 47,5 (NCH₂); 60,3 (NCH); 63,0 (OCH₂CH₃); 80,1 (C=CH₂); 165,3 (C=CH₂).

IR (cm⁻¹): 2913 (CH₂CH₂CH₂ asym. stretch); 1431 (CH₂CH₂CH₂ asym. bending); 857 (C=CH₂ out-of-plane bending); 1422 (C=CH₂ in-plane bending); 1235 (CN stretch); 1629 (C=CH₂ stretch).

Rendement = 74%

3.4.3.2. Synthese van 2-acetylpiperidine (I)



Aan 50 mg 2-(ethoxyvinyl)piperidine **78** (0,32 mmol) wordt bij 0°C 3,3 ml 6N HCl (60 eq., 19,4 mmol) toegevoegd. Het reactiemengsel reageert gedurende 2 uren bij kamertemperatuur waarna het gekoeld wordt tot 5°C. Druppelsgewijs wordt 1N NaOH geaddeerd tot het geheel basisch is gemaakt (pH = 14), gevolgd door een extractie van de organische fase met CH₂Cl₂. Na het drogen wordt het resulterende product **79** in een ijsbad ingedampt en geanalyseerd via HPLC, GC-MS en NMR.

<i>GC-MS analyse van verbinding 79:</i>	
Retentietijd :	6,8 min
MS m/z (%)	128 (M ⁺ +1, 4); 125 (4); 84 (100); 82 (28); 80 (10); 68 (12); 67 (23); 56 (98); 54 (21); 53 (9).

¹H-NMR (250MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) 1,17 – 1,57 (4H, m, NCH₂CH₂CH₂CH₂); 1,85 – 1,96 (2H, m, NCH₂CH₂); 1,97 (1H, s, NH); 2,16 (3H, s, CH₃); 2,63 (2H, t, J = 9,4Hz, NCH₂); 3,09 – 3,35 (1H, m, NCH).

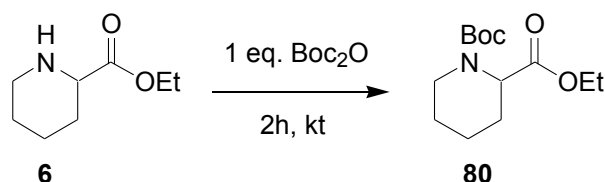
¹³C-NMR (63 MHz, CDCl₃):

δ (ppm) 25,1 (NCH₂CH₂CH₂); 26,4 (NCHCH₂); 26,9 (COCH₃); 29,7 (NCH₂CH₂); 46,0 (NCH₂); 66,2 (NCH); 209,4 (C=O).

IR (cm⁻¹): 2930 (CH₂CH₂CH₂ asym. stretch); 2848 (CH₂CH₂CH₂ symm. stretch); 1430 (CH₂CH₂CH₂ asym. bending); 1708 (C=O stretch); 1348 (OCMe symm. bending); 1182 (CN stretch); 1656 (NH in-plane bending).

Rendement = 93%

3.4.3.3. Synthese van *N*-Boc-beschermd pipecolinaat



Aan een oplossing van 1,40 g di-*tert*-butyldicarbonaat (6,4 mmol) in 8 ml dichloormethaan werd een oplossing van 1,0 g ethylpipecolinaat **6** in 8 ml CH₂Cl₂ druppelsgewijs toegevoegd bij 0°C. Het reactiemengsel werd gedurende 4 uren bij kamertemperatuur geroerd en aansluitend geconcentreerd onder verlaagde druk. Na herkristallisatie in pentaan werd 1,51 g *N*-Boc-beschermd pipecolinaat **80** afgezonderd.

<i>GC-MS analyse van verbinding 80:</i>	
Retentietijd :	15,4 min
MS m/z (%)	257 (M ⁺ 2); 184 (76); 158 (10); 156 (70); 128 (97); 83 (100); 68 (10); 67 (18); 55 (99).

¹H-NMR (250MHz, CDCl₃):

δ (ppm) 1,27 (3H, t, J = 7,1Hz, OCH₂CH₃); 1,45 (9H, s, C(CH₃)₃); 1,58 – 1,69 (4H, m, NCH₂CH₂CH₂); 2,18 – 2,23 (2H, m, NCHCH₂); 2,92 (2H, t, J = 12,6Hz, NCH₂); 4,19 (2H, q, J = 7,1Hz, OCH₂CH₃); 4,70 - 4,86 (1H, m, NCH).

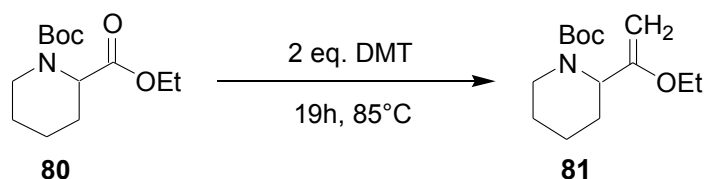
¹³C-NMR (63 MHz, CDCl₃):

δ (ppm) 14,7 (OCH₂CH₃); 21,1(NCH₂CH₂CH₂); 25,2 (NCHCH₂); 27,1 (NCH₂CH₂); 28,8 (C(CH₃)₃); 42,0 (NCH₂); 54,7 (NCH); 61,3 (OCH₂CH₃); 80,2 (C(CH₃)₃); 172,3 (NC=O); 184,1 (NCHC=O).

IR (cm⁻¹): 2937 (CH₂CH₂CH₂ asym. stretch); 2854 (CH₂CH₂CH₂ sym. stretch); (CH₂CH₂CH₂ asym. bending); 1742 (C=O stretch); 1148 (COEt stretch); 1386 (m, CCH₃ sym. bending); 1358 (s, CCH₃ sym. bending); 1693 (NC=O stretch).

Rendement: 77%

3.4.3.4. Synthese van *N*-Boc-beschermd-2-(1-ethoxyvinyl)piperidine



In een 25 ml kolf wordt 310 mg *N*-Boc-beschermd ethylpipercolinaat **80** (1,2 mmol) aangebracht, waarna de kolf, voorzien van een liebigkoeler, onder inerte argonatmosfeer wordt gebracht. Met behulp van een injectiespuit worden 2 equivalenten DMT (1M) toegediend, waarna het reactiemengsel afgeschermd wordt van het licht en verhit wordt tot 85°C gedurende 19 uren. Na afkoeling van het reactiemengsel wordt toluen verwijderd via evaporatie. Aan het bekomen product wordt 20 ml pentaan toegevoegd waardoor het titanoceneoxide **88** precipiteert en afgefilterd wordt. Een deel van het solvent wordt opnieuw uitgedampt. Deze opwerkingsstappen worden een drietal keer herhaald totdat geen precipitatie van **88** meer optreedt. Tot slot wordt het reactiemiddel gedroogd met MgSO₄, afgefilterd en geanalyseerd.

<i>GC-MS analyse van verbinding 81:</i>	
retentietijd:	15,2 min
MS m/z (%)	255 (M ⁺ , 2); 199 (76); 126 (98); 112 (81); 108 (42); 83 (99); 70 (26); 67 (22); 55 (100).

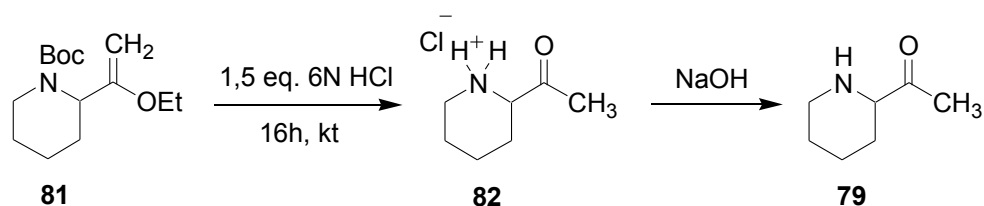
¹H-NMR (250MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) 1,28 (3H, t, J = 7,0Hz, OCH₂CH₃); 1,45 (9H, s, C(CH₃)₃); 1,58 – 1,69 (4H, m, NCH₂CH₂CH₂); 2,18 – 2,23 (2H, m, NCHCH₂); 2,91 (2H, t, J = 12,3Hz, NCH₂); 3,73 (2H, q, J = 7,0Hz, OCH₂CH₃); 3,89 (1H, d, J = 1,5Hz, C=HCH); 3,93 – 3,98 (1H, m, NCH); 4,01 (1H, d, J = 1,2Hz, C=HCH).

IR (cm⁻¹): 2965 (CH₂CH₂CH₂ asym. stretch); 1749 (C=O stretch); 1155 (COEt stretch); 1386 (m, CCH₃ sym. bending); 1364 (s, CCH₃ sym. bending); 1659 (C=CH₂ stretch); 1259 (CN stretch).

Rendement: 78%

3.4.3.5. Synthese van 2-acetylpiperidine (II)



Aan 200 mg Boc-beschermd 2-1(ethoxyvinyl)piperidine **81** (0,78 mmol) in 5 ml CH₂Cl₂ wordt bij kamertemperatuur 0,32 ml 6N HCl (1,5 eq., 0,49 mmol) toegevoegd. Het reactiemengsel reageert gedurende 16 uur bij kamertemperatuur waarna het ingedampt wordt tot vorming van 125 mg zout **82**.

¹H-NMR (250MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) 1,57 – 1,76 (4H, m, NCH₂CH₂CH₂CH₂); 1,82 – 1,93 (2H, m, NCH₂CH₂); 2,16 (1H, s, NH); 2,29 (3H, s, CH₃); 3,38 (2H, t, J = 11,8Hz, NCH₂); 4,11 – 4,15 (1H, m, NCH); 8,5 – 9,0 (2H, breed s, ⁺NH₂).

¹³C-NMR (63 MHz, CDCl₃):

δ (ppm) 23,3 (NCH₂CH₂CH₂); 23,7 (NCHCH₂); 27,0 (CH₃); 27,2 (NCH₂CH₂); 45,5 (NCH₂); 65,3 (NCH); 205,4 (C=O).

IR (cm⁻¹): 2915 (CH₂CH₂CH₂ asym. stretch); 2700 (NHH⁺ asym. en symm. stretch); 1452 (CH₂CH₂CH₂ asym. bending); 1713 (C=O stretch); 1187 (CN stretch); 1656 (NH in-plane bending).

Deze 125 mg **82** wordt vervolgens opgelost in voldoende water dat basisch gemaakt wordt door druppelsgewijs NaOH toe te dienen. Het waterige midden wordt geëxtraheerd met CH₂Cl₂ (2 x 2 ml). Na drogen met MgSO₄, affiltreren en uitdamping wordt 96 mg aan 2-acetyl-1-piperidine **79** bekomen.

¹H-NMR (250MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) 1,17 – 1,57 (4H, m, NCH₂CH₂CH₂CH₂); 1,85 – 1,96 (2H, m, NCH₂CH₂); 1,97 (1H, s, NH); 2,16 (3H, s, CH₃); 2,63 (2H, t, J = 9,4Hz, NCH₂); 3,09 – 3,35 (1H, m, NCH).

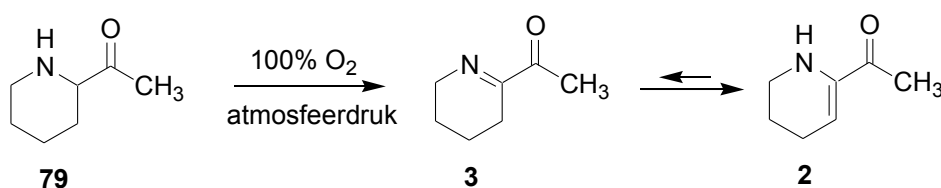
¹³C-NMR (63 MHz, CDCl₃):

δ (ppm) 25,1 (NCH₂CH₂CH₂); 26,4 (NCHCH₂); 26,9 (COCH₃); 29,7 (NCH₂CH₂); 46,0 (NCH₂); 66,2 (NCH); 209,4 (C=O).

IR (cm⁻¹): 2930 (CH₂CH₂CH₂ asym. stretch); 2848 (CH₂CH₂CH₂ symm. stretch); 1430 (CH₂CH₂CH₂ asym. bending); 1708 (C=O stretch); 1348 (OCMe symm. bending); 1182 (CN stretch); 1656 (NH in-plane bending).

Rendement (van beide stappen) = 97%

3.4.3.6. Synthese van 6-acetyl-1,2,3,4-tetrahydropyridine



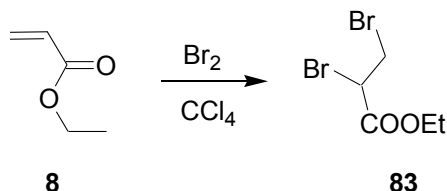
Een oplossing van 96 mg 2-acetyl-1-piperidine **79** (0,76 mmol) in CH₂Cl₂ wordt afgesloten van de buitenlucht via een septum. Vervolgens wordt de kolf onder zuurstofatmosfeer gebracht (100%) door te flushen. Na ongeveer 45 minuten goed roeren bij kamertemperatuur wordt via GC-MS analyse 6-acetyl-1,2,3,4-tetrahydropyridine **2** gedetecteerd.

<i>GC-MS analyse van verbinding 2:</i>	
retentietijd:	7,1 min
MS m/z (%)	126 (M ⁺⁺ , 7); 125 (M ⁺ , 68); 124 (13); 98 (18); 86 (51); 84 (71); 82 (100); 56 (70); 55 (84); 51 (34).

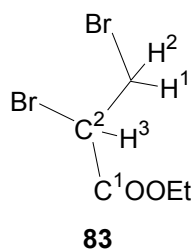
Conversie = 80%

3.4.4. Synthese van 5-acetyl-2,3-dihydro-1,4-thiazine

3.4.4.1. Synthese van ethyl-2,3-dibroompropionaat (Boucher & Stella, 1988)



In een tweehalzige kolf van 500 ml, voorzien van een koeler en toevloescheitrichter met 42 g dibroom (0,26 mol), wordt 28,5 g ethylacrylaat **8** (0,28 mol) opgelost in 200 ml CCl₄. Onder reflux wordt in kleine fracties dibroom toegevoegd. Een volgende fractie wordt toegediend wanneer de oplossing volledig ontkleurt is. Na de laatste additie wordt het reactiemiddel nog een half uur onder de refluxcondities gehouden. Vervolgens wordt het geheel achtereenvolgens gewassen met 50 ml van een 5% NaHSO₃ oplossing en met evenveel water. De organische laag wordt gedroogd met Na₂SO₄ dat achteraf afgefilterd wordt. Na evaporatie wordt 70,5 g ethyl-2,3-dibroompropionaat **83** bekomen.



<i>GC-MS analyse van verbinding 83:</i>	
retentietijd:	8,0 min
MS m/z (%)	262 (M ⁺ +4, 1); 260 (M ⁺ +2, 1); 258 (M ⁺ , 1); 232 (32); 215 (41); 189 (55); 187 (56); 185 (47); 181 (60); 179 (61); 153 (38); 151 (38); 106 (100); 73 (30); 55 (79).

H¹ en H² zijn diastereotop protonen en hierdoor chemisch niet equivalent.

Dit komt omdat C² het asymmetrisch centrum van de molecule is.

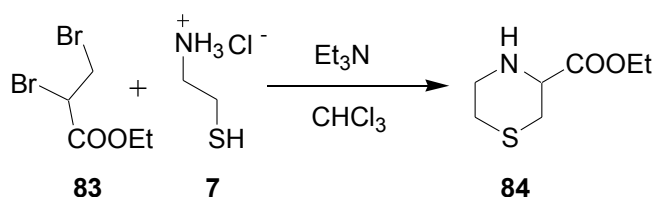
¹H-NMR (250MHz, CDCl₃):

δ (ppm): 1,30-1,36 (3H, t, J = 7,1Hz, OCH₂CH₃); 3,65-3,71 (1H, dxd, J₁ = 9,8Hz; J₂ = 4,3Hz, CH¹H²Br); 3,89-3,97 (1H, dxd, J₁ = 11,3Hz; J₂ = 9,9Hz, CH³Br); 4,26-4,34 (2H, q, J = 7,1Hz, OCH₂CH₃); 4,40-4,46 (1H, dxd, J₁ = 11,3Hz; J₂ = 4,4Hz, CH¹H²Br).

IR (cm⁻¹): 1192 (COC stretch); 1148 (COC stretch); 1742 (C=O stretch); 2972 (CCH₃ stretch); 1365 (CH₂Br asym. bending).

Rendement: +/- 100% (lit.: idem)

3.4.4.2. Synthese van ethylperhydro-1,4-thiazine-3-carboxylaat (Crabb & Hall, 1975)



Een oplossing van 4,52 g 2-mercaptoethylaminehydrochloride **7** (cysteaminehydrochloride) (0,2M) en 17 ml triethylamine (0,6M) in 200 ml chloroform wordt toegediend aan een oplossing van 9,1 g ethyl-2,3-dibroompropionaat **83** (0,2M) in 175 ml chloroform:benzeen (3:5) zó, dat het geheel onder reflux blijft. Als alles toegevoegd is, wordt het mengsel 19 uren bij kamertemperatuur geroerd. De resulterende witte suspensie (triethylaminehydrobromide) wordt van de oplossing gescheiden door filtratie. De oplossing wordt herhaaldelijk geconcentreerd en afgefilterd tot een kleine hoeveelheid solvent overblijft. Door destillatie wordt ten slotte 2,50 g **84** als een lichtgele vloeistof bekomen.

$T_{\text{kook}} = 135^{\circ}\text{C}-140^{\circ}\text{C}$ bij 20mm Hg-druk (lit.: $118-121^{\circ}\text{C}$ bij 8,5mm Hg-druk)

<i>GC-MS analyse van verbinding 84:</i>	
retentietijd:	12,0 min
MS m/z (%)	175 (M^+ , 25); 104 (27); 102 (90); 100 (37); 86 (27); 74 (100); 68 (9); 61 (13); 59 (20); 58 (20); 57 (10); 56 (64); 54 (27).

$^1\text{H-NMR}$ (250MHz, CDCl_3):

δ (ppm): 1,29 (3H, t, $J = 7,2\text{Hz}$, OCH_2CH_3); 2,10 (1H, s, NH); 4,21 (2H, q, $J = 7,1\text{Hz}$, OCH_2CH_3); 3,63 – 3,68 (1H, dxd, $J_1 = 8,7\text{Hz}$; $J_2 = 3,4\text{Hz}$, NCH); 2,81 (2H, t, $J = 1,5\text{Hz}$, NCH_2); 2,63-2,74 (1H, m, NCHHCH); 2,98 – 3,08 (1H, m, NCHHCH); 2,41 – 2,49 (1H, m, NCH_2HCH); 3,35 – 3,43 (1H, m, NCH_2HCH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (63 MHz, CDCl_3):

δ (ppm) 14,5 (OCH_2CH_3); 27,9 (NCH_2); 29,9 (NCH_2); 47,3 (NCH_2); 59,0 (NCH); 61,6 (OCH_2CH_3); 171,9 (NC=O).

IR (cm^{-1}): 2923 (CH_2SCH_2 asym. stretch); 2855 (CH_2SCH_2 symm. stretch); 1453 (CH_2SCH_2 asym. bending); 1729 (C=O stretch); 1175 (CN stretch); 1653 (NH in-plane bending); 3298 (NH stretch).

HPLC: retentietijd: 8,97 min

rendement: 42% (lit. 52%)

3.4.4.3. Synthese van 2-(1-ethoxyvinyl)-2,3,5,6-tetrahydro-1,4-thiazine



In een 25 ml kolf wordt 280 mg ethylperhydro-1,4-thiazine-3-carboxylaat **84** (1,6 mmol) aangebracht, waarna de kolf, voorzien van een liebigkoeler, onder inerte argonatmosfeer wordt gebracht. Met behulp van een injectiespuit worden 2 equivalenten DMT (1M) toegediend, waarna het reactiemengsel afgeschermd wordt van het licht en verhit wordt tot 85°C gedurende 24 uren.

Na afkoeling van het reactiemengsel wordt toluen verwijderd via evaporatie. Aan het bekomen product wordt 20 ml pentaan toegevoegd waardoor het titanocenoxyde **88** precipiteert en afgefilterd wordt. Een deel van het solvent wordt opnieuw uitgedampt. Deze opwerkingsstappen worden een drietal keer herhaald totdat geen precipitatie van **88** meer optreedt. Tot slot wordt het reactiemiddel gedroogd met MgSO₄, afgefilterd en geanalyseerd.

<i>GC-MS analyse van verbinding 85:</i>	
retentietijd:	11,7 min
MS m/z (%)	173 (M ⁺ , 71); 144 (33); 102 (27); 98 (100); 84 (21); 82 (16); 74 (30); 70 (40); 68 (23); 59 (11); 56 (29); 55 (71).

¹H-NMR (250MHz, CDCl₃):

δ (ppm): 1,30 (3H, t, J = 7,0Hz, OCH₂CH₃); 2,25 (1H, s, NH); 2,34 – 2,39 (1H, m, NCHHCH); 2,53 – 2,59 (1H, m, NCH₂HCH); 2,69 – 2,76 (1H, m, NCH₂HCH); 2,77-2,83 (1H, m, NCHHCH); 3,06 (1H, t, J = 12,1Hz, NHCH); 3,37 – 3,44 (2H, m, CHNHCH); 3,73 (2H, q, J = 7,0Hz, OCH₂CH₃); 3,92 (1H, d, J = 2,5Hz, C=HCH); 4,08 (1H, d, J = 2,5Hz, C=HCH).

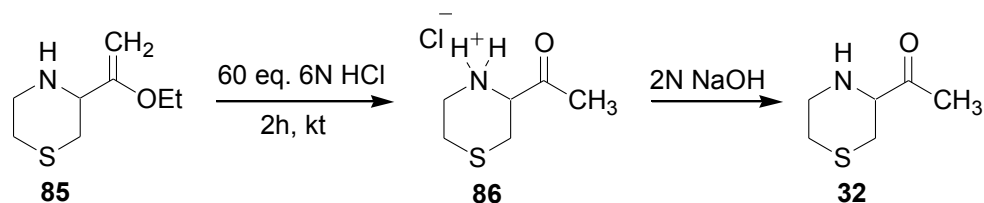
¹³C-NMR (63 MHz, CDCl₃):

δ (ppm) 14,7 (OCH₂CH₃); 27,9 (NCH₂CH₂); 31,9 (NCH₂CH₂); 48,7 (NCH₂); 60,9 (NCH); 63,3 (OCH₂CH₃); 81,2 (C=CH₂); 163,8 (NC=O).

IR (cm⁻¹): 2915 (CH₂SCH₂ asym. stretch); 2849 (CH₂SCH₂ symm. stretch); 1469 (CH₂SCH₂ asym. bending); 1629 (C=CH₂ stretch); 1176 (CN stretch); 1656 (NH in-plane bending); 3296 (NH stretch).

rendement = 69%

3.4.4.4. Synthese van 2-acetyl-2,3,5,6-tetrahydro-1,4-thiazine



Aan 120 mg 2-1(ethoxyvinyl)-2,3,5,6-tetrahydro-thiazine **85** (0,70 mmol) in 5 ml CH_2Cl_2 wordt 7 ml 6N HCl (60 eq., 42 mmol) druppelsgewijs toegevoegd bij 0°C . Het reactiemengsel reageert gedurende 2 uren bij kamertemperatuur waarna het ingedampt wordt tot vorming van 139 mg zout **86**.

$^1\text{H-NMR}$ (250MHz, CDCl_3):

δ (ppm): 2,35 (3H, s, CH_3); 2,81 – 2,87 (1H, m, NCHHCH); 3,03 – 3,10 (2H, m, NCH_2CH_2); 3,18 – 3,19 (1H, m, NCHHCH); 3,33 – 3,39 (1H, m, NHCH); 3,68 – 3,73 (1H, m, NHCH); 4,32 – 4,41 (1H, dxd, $J_1 = 15,3\text{Hz}$, $J_2 = 8,4\text{Hz}$, NCH); 8,6 – 9,0 (2H, breed s, $^+\text{NH}_2$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (63MHz, CDCl_3):

δ (ppm) 25,3 (NCH_2CH_2); 27,1 (CH_3); 27,6 (NCH_2CH_2); 46,7 (NCH_2); 65,0 (NCH); 203,2 (C=O).

IR (cm^{-1}): 2915 (CH_2SCH_2 asym. stretch); 2849 (CH_2SCH_2 symm. stretch); 2703 (NHH^+ asym. en symm. stretch); 1452 (CH_2SCH_2 asym. bending); 1723 (C=O stretch); 1187 (CN stretch); 1655 (NH in-plane bending).

Vervolgens wordt een kolf met 115 mg **86** (55 mmol) afgesloten door middel van een septum en onder argonatmosfeer gebracht door de kolf te flushen. In een korte tijdsperiode wordt voldoende water via een injectiespuit toegediend totdat **86** volledig oplost. Het geheel wordt dan basisch gemaakt met een 2N NaOH oplossing tot $\text{pH} = 14$. In diezelfde kolf wordt de waterige oplossing aansluitend geëxtraheerd met 5 tot 10 ml CH_2Cl_2 , waarna de organische fase via een injectiespuit in een kolf wordt overgebracht (reeds voorzien van MgSO_4 , een septum en onder argonatmosfeer gebracht). Na het drogen wordt een staal voor GC-MS analyse rechtstreeks vanuit de organische fase afgezonderd en geanalyseerd.

$^1\text{H-NMR}$ (250MHz, CDCl_3):

δ (ppm): 2,21 (3H, s, CH_3); 2,33 (1H, s, NH); 2,40 – 2,44 (1H, m, NCHHCH); 2,64 – 2,69 (1H, m, NCHHCH); 2,77 – 2,88 (2H, m, NCH_2CH_2); 2,95 – 3,06 (1H, m, NHCH); 3,36 – 3,43 (1H, m, NHCH); 3,58 – 3,64 (1H, dxd, $J_1 = 12,7\text{Hz}$, $J_2 = 2,7\text{Hz}$, NCH).

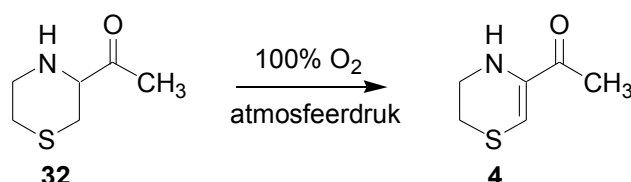
¹³C-NMR (63MHz, CDCl₃):

δ (ppm) 27,1 (CH₃); 28,0 (NCHCH₂); 29,7 (NCH₂CH₂); 47,2 (NCH₂); 65,9 (NCH); 206,8 (C=O).

IR (cm⁻¹): 2934 (CH₂SCH₂ asym. stretch); 2852 (CH₂SCH₂ symm. stretch); 1436 (CH₂SCH₂ asym. bending); 1718 (C=O stretch); 1348 (OCMe symm. bending); 1185 (CN stretch); 1653 (NH in-plane bending).

Rendement (van beide stappen) = 92%

3.4.4.5. Synthese van 5-acetyl-2,3-dihydro-1,4-thiazine



Een oplossing van 2-acetyl-2,3,5,6-tetrahydro-1,4-thiazine **32** in CH₂Cl₂ wordt afgesloten van de buitenlucht via een septum. Vervolgens wordt de kolf onder zuurstofatmosfeer gebracht (100%) door het geheel te flushen. Na ongeveer 45 minuten goed roeren bij kamertemperatuur wordt via GC-MS analyse enkel het 5-acetyl-2,3-dihydro-1,4-thiazine **4** gedetecteerd.

<i>GC-MS analyse van verbinding 4:</i>	
retentietijd:	11,3 min
MS m/z (%)	143 (M ⁺ , 100); 129 (16); 100 (33); 73 (14); 72 (60); 71 (19); 58 (13); 54 (17); 52 (12).

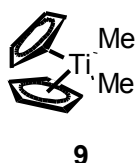
Conversie = 99%

4. Resultaten en bespreking

4.1. Dicyclopentadienyldimethyltitanium

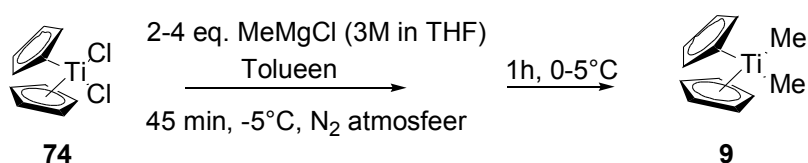
4.1.1. Algemeen

De verbinding dicyclopentadienyldimethyltitanium, ook wel kortweg, maar niet even correct, dimethyltitanocene (DMT) **9** genoemd, wordt vaak gebruikt in de bulksynthese van geneesmiddelen. Naast het Tebbe's reagens is DMT het belangrijkste reagens om hetero-atoom gesubstitueerde carbonylgroepen om te zetten tot heteromethyleenverbindingen. Het aanwenden van dit methyleneringsmiddel is tevens reeds zo geëvolueerd dat het in de farmaceutische industrie gebruikt wordt (Valaya *et al.*, 2001). Titanium is immers niet giftig en relatief goedkoop. Recent zijn dan ook enkele patenten genomen op de synthese van DMT (Cai *et al.*, 1999; Huffman, 2001).



DMT **9** of Cp_2TiMe_2 werd het eerst gesynthetiseerd in 1956 door Claus en Bestian (site 3). Zij lieten titanocendichloride **74** (Cp_2TiCl_2) reageren met het zeer reactieve methyllithium in diethylether tot vorming van DMT. Deze oranje vaste stof is licht- en zuurstofgevoelig en vertoont decompositie boven 97°C . Het duo rapporteerde dat DMT in vaste toestand zeer onstabiel is (volledige decompositie na enkele uren bij kamertemperatuur) en spontaan kan ontvlammen of explosies veroorzaken. Vandaar dat dimethyltitanocene **9** bewaard wordt in organische aprotische solventen zoals THF, toluen, diethylether, dichloormethaan of hexaan. Gedurende korte blootstelling aan lucht en water werd echter geen significante decompositie van DMT ondervonden (Payack *et al.*, 2004; Petassis & Lu, 1995; site 3).

Vandaag de dag echter zijn industriële processen met methyllithium onbestaand, daar methyllithium enkel reactief is in ethers en uiterst pyrofoor is, hetgeen industriële opschaling belemmert. In de loop der jaren is een nieuwe synthesesweg voor DMT **9** ontwikkeld, waarbij een minder reactief Grignardreagens, methylmagnesiumhalide (halide = Cl, Br en I), gebruikt wordt (Cai *et al.*, 1999).

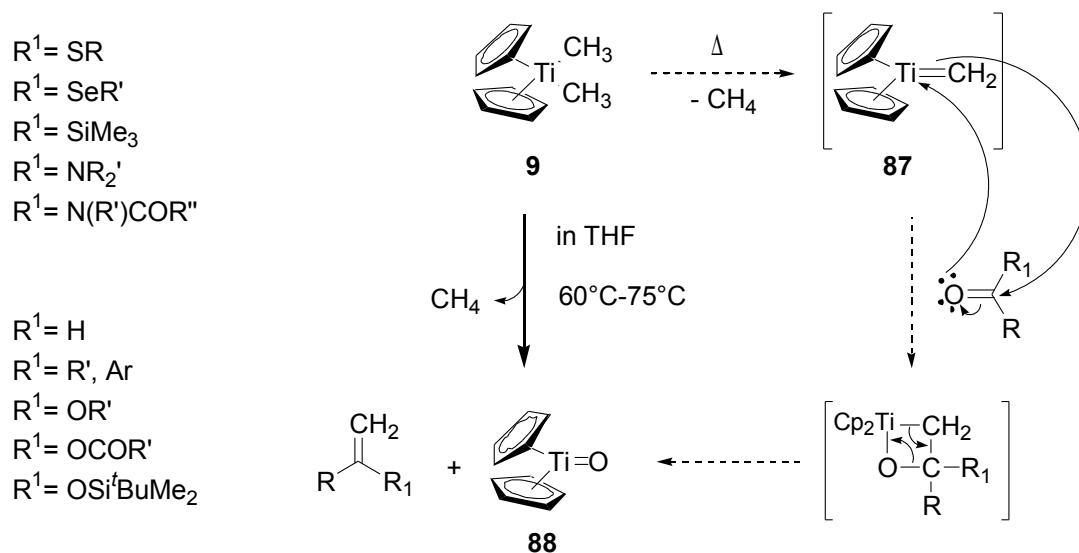


Deze methode is veiliger en economisch meer rendabel. Het rendement van de reactie bedraagt bij opschaling (250g) nog 90%. Het was dan ook met behulp van het methylmagnesiumchloride dat in dit onderzoek dimetyltitanoceen **9** aangemaakt werd.

4.1.2. Reacties met DMT

Een van de belangrijkste toepassingen van Cp_2TiMe_2 **9** is de methylenering van carbonylverbindingen zoals aldehyden, ketonen, esters, amiden, lactonen en andere hetero-atoom gesubstitueerde carbonylverbindingen (Siebeneicher & Doye, 2000). Het is ook een belangrijke katalysator in de ringopening metathese polymerisatiereactie (ROMP) (Petassis & Lu, 1995).

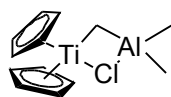
In dit onderzoek werd DMT **9** gebruikt als methyleningsreagens (schema 19). Uitgaande van titanocendichloride **74** zal door thermolyse het Schrock-type titaniumcarbeencomplex **87** gevormd worden (α -eliminatie van methaan). Dit methyleen titanocceen intermediair **87** reageert verder met de carbonylfunctie volgens een Wittig-type reactie. Op die manier ontstaat een gemethyleerd product en het nevenproduct titanocceenoxide **88**, dat verwijderd kan worden via precipitatie in pentaan en filtratie. Petassis en Lu (1995) optimaliseerden deze reactie met DMT **9** en kwamen tot de conclusie dat onder Schlenck condities diende gewerkt te worden.



Schema 19: DMT als methyleningsreagens

De toenemende populariteit van Cp_2TiMe_2 **9** ten opzichte van andere organotitaniumverbindingen zoals het Tebbe's reagens **89** (Tebbe *et al.*, 1978) en het Grubbs'

reagens **90** (Howard *et al.*, 1980) is hoofdzakelijk te wijten aan de relatief eenvoudige synthese en de betere stabiliteit ten opzichte van zuurstof en water.



89

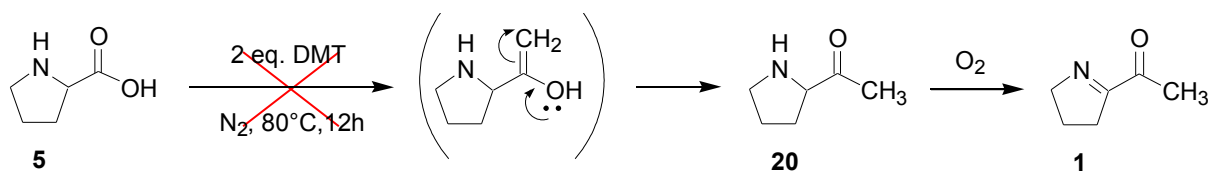


90

4.2. Synthese van de rijstaromacomponent 2-acetyl-1-pyrroline

Reeds in 2004 trachtte Deblander de carboxylfunctie van proline **5** te methyleren. Door rechtstreeks DMT **9** toe te voegen aan proline en vervolgens het mengsel aan de lucht bloot te stellen, werd gehoopt het 2-acetyl-1-pyrroline **1** te bekomen. Doch slechts een spoor **1** werd teruggevonden (schema 20).

In een tweede poging, vertrekkende van het HCl-zout van methylprolinaat (was commercieel beschikbaar), kende de methylering ook geen succes. Daar vermoed werd dat ditmaal het zout de methylering in de weg stond, werd tevergeefs getracht om het zout van methylprolinaat vrij te stellen.

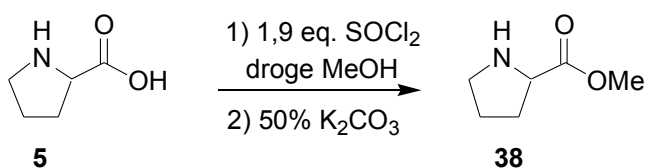


Schema 20: Rechtstreekse strategie (Deblander, 2004)

Uitgaande van het *N*-Boc-beschermd proline **5** werd de rechtstreekse methylering herhaald, doch slechts een spoor 2-acetyl-1-pyrrolidine **1** werd aangetroffen. Uiteindelijk werd het *N*-Boc-beschermd methylprolinaat **114** gesynthetiseerd, dat behandeld werd met DMT **9** tot vorming van hoofdzakelijk *N*-Boc-methoxyvinylpyrrolidine **115**. Hieruit werd afgeleid dat de methylering enkel succesvol verloopt indien uitgegaan wordt van het ester. De verbinding **115** werd na zure opwerking omgezet tot het 2-acetyl-*N*-Boc-beschermd pyrrolidine **116** dat via **20** leidde tot de vorming van het gewenste 2-acetyl-1-pyrroline **1**. Het totaalrendement van deze reactie bedroeg 57%. Dit is een vrij positief resultaat in vergelijking met eerder uitgevoerde syntheses. Voor verdere details van deze procedure wordt verwezen naar de thesis van Deblander (2004).

In het volgende gedeelte wordt een synthese voorgesteld uitgaande van proline, zonder *N*-Boc-bescherming. De bedoeling is het nut (effect) van de Boc-bescherming in de synthese na te gaan (Deblander, 2004) en tegelijkertijd een kortere, efficiënte synthese van **1** te ontwikkelen. Eerst werd wel gezocht worden naar een geschikte manier om het HCl-zout van het proline-ester vrij te stellen.

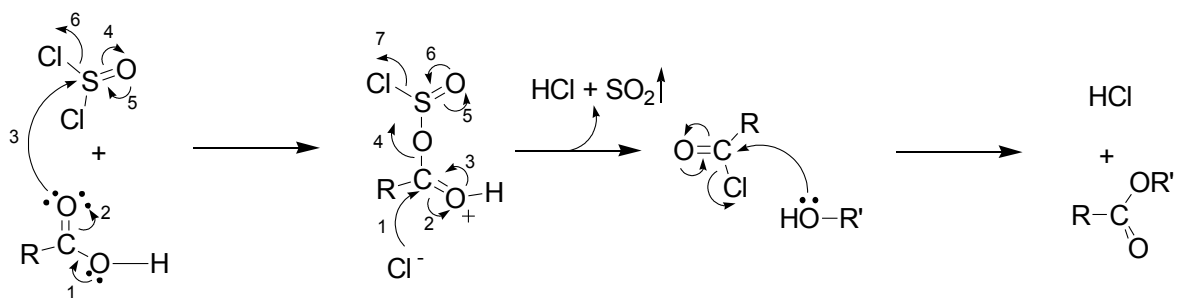
4.2.1. Synthese van methylprolinaat



L-proline **5** werd behandeld met thionylchloride in droge methanol tot vorming van het methylprolinaat **38**. Deze verestering is noodzakelijk voor een succesvolle methylenering met dimethyltitanocceen **9** (Deblander, 2004). Ook wordt een betere leaving groep gevormd dan de hydroxylfunctie (belangrijk in een latere stap).

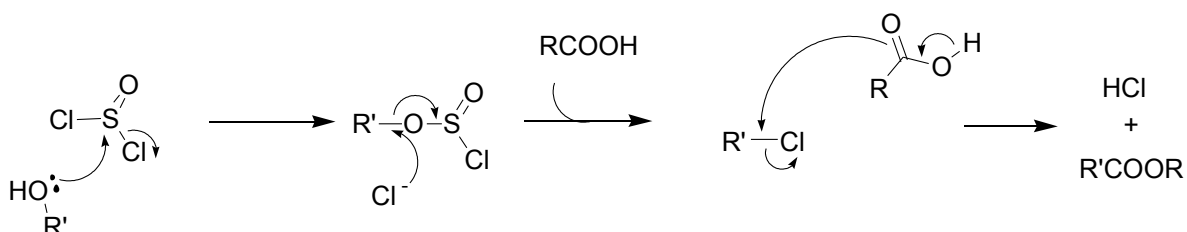
Naar analogie met de methode beschreven door Srinivas & Gurudutt (2003) werd de verestering tot het methylprolinaat **38** uitgevoerd. Analyse via $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, GC-MS en IR bevestigden de vorming van het ester **38**. Dit is een doorbraak voor de procedure, want ondanks dat een HCl-zout gevormd werd, kon het ditmaal wel weggewerkt worden door middel van een 50% kaliumcarbonaatoplossing (K_2CO_3). Een witte neerslag (KCl) was zichtbaar in de waterfase en CO_2 ontsnapte. Het vloeibare methylprolinaat **38** werd door bewaring bij 4°C uitgekristalliseerd tot witgele kristallen.

Verschillende theorieën, in verband met het mechanisme van deze verestering van een carbonzuur met thionylchloride en een primair alcohol, kunnen naar voor worden geschoven. Bij een eerste mechanisme (schema 21) wordt het carbonzuur omgezet tot het meer reactief zuurchloride via een S_N2 -reactie. Deze reactie gaat gepaard met uitstoot van HCl en zwaveldioxide. Vervolgens zal het alcohol aanvallen op de geactiveerde carbonyl tot vorming van het gewenste ester.



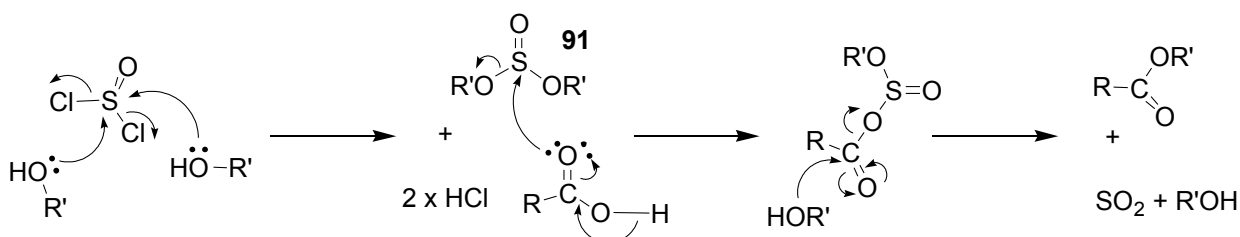
Schema 21: Mechanisme van de reactie van thionylchloride met carbonzuur en alcohol: mogelijkheid 1

Een andere opvatting (schema 22) stelt dat het alcohol eerst aanvalt op het zwavelatoom. Deze nucleofiele substitutie kan op twee manieren plaatsvinden. Ofwel leidt die aanval tot afsplitsing van het chloride dat onmiddellijk reageert met de R'-functie tot het R'Cl. Het gevormde HSO₂Cl valt dan uiteen tot zwaveldioxide en HCl.



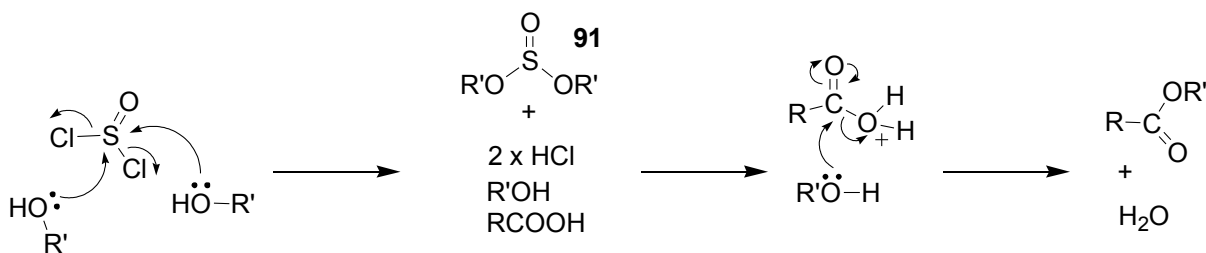
Schema 22: Mechanisme van de reactie van thionylchloride met carbonzuur en alcohol: mogelijkheid 2

Ook kan het alcohol op het thionylchloride aanvallen (S_N2) waarbij HCl gevormd wordt en het dialkylsulfiet **91** ontstaat (schema 23). Het carbonzuur valt analoog aan op **91** waardoor de hydroxylfunctie vervangen wordt door een goede leavinggroep en het alcohol weer vrijkomt. Via een volgende S_N2-reactie zal het ester samen met het alcohol en zwaveldioxide vrijgesteld worden.



Schema 23: Mechanisme van de reactie van thionylchloride met carbonzuur en alcohol: mogelijkheid 3

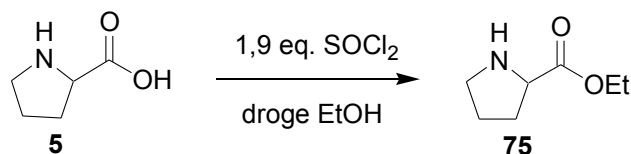
Tot slot (schema 24) kan in een eerste stap het dialkylsulfiet **91** gevormd, samen met HCl. Deze laatste verbinding lost op in het alcohol en bewerkstelligt een klassieke Fischer verestering.



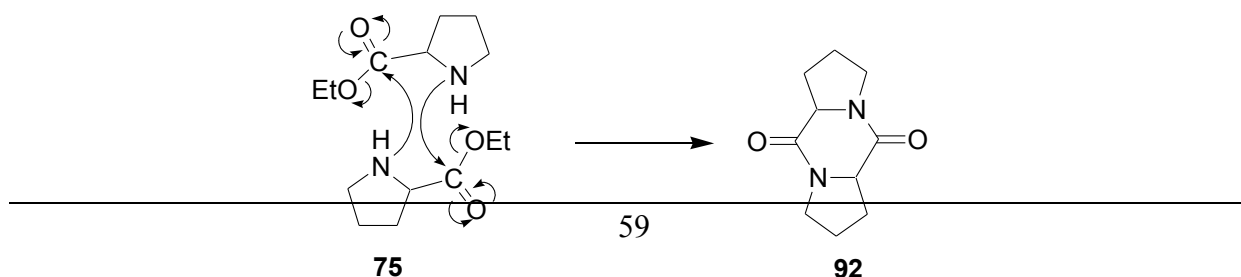
Schema 24: Mechanisme van de reactie van thionylchloride met carbonzuur en alcohol: mogelijkheid 4

4.2.2. Synthese van ethylprolinaat

Aangezien de hoofdcomponent 6-acetyl-1,2,3,4-tetrahydropyridine **2** van het broodaroma gesynthetiseerd wordt vanuit ethylpipercolinaat **6** (Deblander, 2004), werd, om een betere vergelijking te kunnen maken, ook het ethylester **75** van proline gesynthetiseerd voor de vorming van het rijstaroma 2-acetyl-1-pyrroline **1** van het rijstaroma.

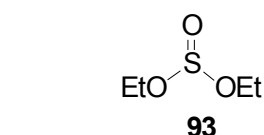


Op analoge wijze als in paragraaf 4.2.1. werd ethylprolinaat **75** gesynthetiseerd. Hierbij werd echter gebruik gemaakt van ethanol als solvent in plaats van methanol. Via analyse met GC werden twee verschillende moleculen gedetecteerd. MS en ¹H-NMR wezen uit dat diethylsulfiet **93** en ethylprolinaat **75** gevormd waren. Het staal werd een week bij 4°C bewaard en opnieuw aan analyse onderworpen. Nu bleek **75** de hoofdcomponent te zijn, terwijl de helft van het diethylsulfiet was verdwenen en een vierde piek in het GC spectrum werd waargenomen. Het massaspectum toonde aan dat een dimeer **92** van ethylprolinaat (8%) was ontstaan tijdens bewaring (7 dagen).



<i>GC-MS analyse voor verbinding 92:</i>	
retentietijd:	20.3 min
MS m/z (%)	195 (M ⁺ +1, 8); 194 (M ⁺ , 81); 166 (27); 138 (38); 124 (21); 111 (18); 110 (35); 97 (18); 96 (52); 70 (100); 68 (55); 55 (15).

Gezien de vluchtigheid van het diethylsulfiet **93** was het mogelijk deze component onder hoogvacuüm af te zonderen. Op die manier werd het ethylprolinaat **75** zuiver verkregen. De afgedestilleerde fractie werd op zijn beurt geanalyseerd en bleek volgens GC-MS, ¹H-NMR en ¹³C-NMR analyses uit diethylsulfiet **93** en een spoor dimeer **92** te bestaan.



¹H-NMR (250MHz, CDCl₃):

δ (ppm) 1,34 (6H, t, J = 7,1Hz, CH₂CH₃); 4,07 (4H, q, J = 7,1Hz, CH₂CH₃).

¹³C-NMR (63MHz, CDCl₃):

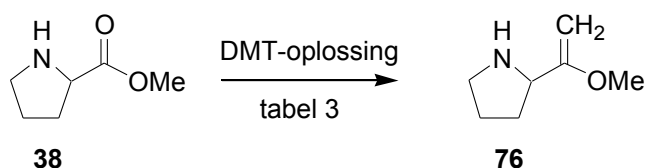
δ (ppm) 15,7 (OCH₂CH₃); 58,7 (OCH₂CH₃).

<i>GC-MS analyse voor verbinding 93:</i>	
retentietijd:	3,6 min
MS m/z (%)	138 (M ⁺ , 87); 123 (53); 110 (95); 108 (30); 93 (100); 83 (68); 78 (47); 65 (96); 59 (87).

Het feit dat diethylsulfiet **93** teruggevonden werd, sluit al zeker de eerste twee voorgestelde mechanismen (schema 21 en 22) uit. Aangezien **93** werd gerecupereerd, kan de verestering via het mechanisme weergegeven in schema 23 weerlegd worden. Schema 24 daarentegen biedt wel een mogelijke verklaring voor de bescherming van de carboxylfunctie. In de bereiding van methylprolinaat werd dimethylsulfiet echter niet als nevenproduct teruggevonden via GC-MS analyse. ¹H-NMR en ¹³C-NMR bevestigden de zuiverheid van het methylprolinaat **38**.

4.2.3. Synthese van 2-(1-alkoxyvinyl)pyrrolidine

4.2.3.1. Synthese van 2-(1-methoxyvinyl)pyrrolidine



Het methylprolinaat **38** reageerde onder verschillende omstandigheden met DMT **9** (tabel 3). Aangezien het Schrock-type carbeen pas door thermolyse gevormd wordt (Petassis & Lu, 1995), dient gewerkt te worden bij verhoogde temperatuur. De methylenering verloopt het meest efficiënt bij 85°C (Deblander, 2004). Vandaar dat DMT bereid werd in toluen, dat tevens het reactiesolvent voor de methylenering is.

Voor de opwerking van deze reactie werd het procédé gevolgd zoals beschreven door Petasis en Lu (1995): eerst wordt het ruwe roodbruine reactiemengsel geconcentreerd via evaporatie *in vacuo*. Door toevoeging van pentaan precipiteert het nevenproduct titanocenoxyde **88** dat nadien via filtratie afgezonderd wordt. Vervolgens wordt pentaan via evaporatie *in vacuo* verwijderd, waardoor het gewenste product wordt bekomen. Deze werkwijze wordt verder in dit eindwerk beschreven als de *standaardopwerking* gebruikt bij reacties met dimethyltitanocenoxyde.

Tabel 3: Reactieomstandigheden bij de methylenering van methylprolinaat

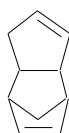
reactie	schaal (mmol)	eq. DMT	[DMT] (M)	duur (h)	T (°C)	opwerking	% 76*
1	2,33	1,5	0,26	20	85	standaard	Spoor
2	1,30	1,2	0,86	21	85	standaard + basisch	-
3	1,30	2,1	1,10	24	85	standaard + zuur-base	Spoor
4	1,30	2,1	1,00	20	85	CH ₃ OH + H ₂ O + NaHCO ₃	Spoor
5	7,75	2,1	1,00	21	85	CH ₃ OH + H ₂ O + NaHCO ₃	50

* Conversie berekend aan de hand van GC-MS

Na reactie 1 (tabel 3) werd een spoor **76** teruggevonden. Waarschijnlijk ligt een te lage DMT **9** concentratie aan de basis van de lage opbrengst. Hierdoor werd tijdens de herhaling van deze proef (reactie 2, tabel 3) gewerkt met een 1M DMT-oplossing. De *standaardopwerking* werd

opnieuw uitgevoerd. Aansluitend werd zelfs een 2N NaOH waterige oplossing toegediend om het nog aanwezige DMT te verwijderen, maar geen spoor **76** werd gedetecteerd. Toch werd een indringende aromageur waargenomen. Het vermoeden ontstond dat het 2-(1-methoxyvinyl)pyrrolidine **76** samen met het titaanoceenoxide **88** neerslaat in pentaan. Om die reden werd in een derde poging (tabel 3) geopteerd voor een zuur-base opwerking. Aan de gelige pentaanoplossing werd een waterige oplossing van 2N HCl toegevoegd met de bedoeling de aminegroep van het mogelijk gevormde 2-(1-methoxyvinyl)pyrrolidine **76** te protoneren waardoor **76** wateroplosbaar wordt. De waterige fase werd geëxtraheerd met diethylether om alle onzuiverheden weg te werken. De gewassen waterfase werd vervolgens basisch gemaakt met 1N NaOH en opnieuw geëxtraheerd met diethylether. Echter, GC-MS analyse van de organische fractie wees uit dat dit niet de geschikte opwerking was.

In een andere poging (tabel 3, reactie 4) werd aan het ruwe reactiemiddel NaHCO_3 in methanol/water (1:6,25) toegevoegd. Methanol zorgt voor de decompositie van het resterende dimethyltitaanoceen **9** waardoor methaangas ontsnapt en het resulterende titaniumresidu neerslaat in de waterige fase (Payack *et al.*, 2004). GC-MS analyse van de organische fase gaf aan dat enkel bicyclopentadien **94** werd gerecupereerd.

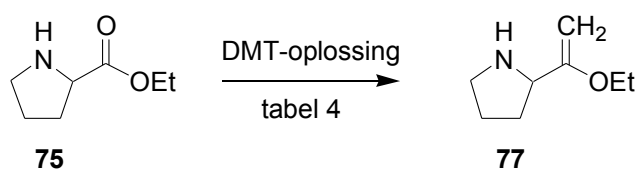


94

<i>GC-MS analyse voor verbinding 94:</i>	
retentietijd:	5,8 min
MS m/z (%)	132 (M^+ , 10); 117 (2); 115 (2); 91 (4); 78 (2); 77 (4); 67 (5); 66 (100); 63 (4); 51 (5).

In een laatste poging het methoxyvinyl derivaat **76** te bereiden (tabel 3, reactie 5), werden vorige reactie en opwerking herhaald, maar naast de organische fase, werd nu ook de waterige fase geanalyseerd. Via LC-MS analyse werd component **76** geïdentificeerd, die tegen alle verwachting in zeer wateroplosbaar bleek te zijn. Het rendement, bepaald via deze analysetechniek, was 36%.

4.2.3.2. Synthese van 2-(1-ethoxyvinyl)pyrrolidine



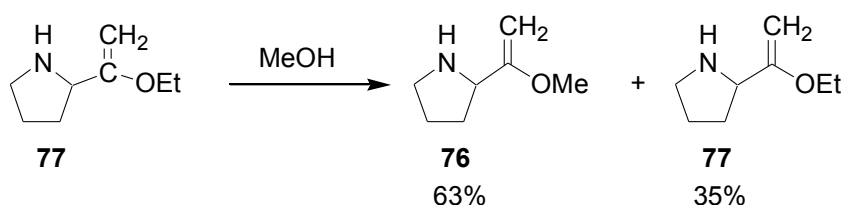
Tabel 4: Reactieomstandigheden bij de methylenering van ethylprolinaat

Reactie	schaal (mmol)	eq. DMT	[DMT] (M)	duur (h)	T (°C)	% 77 *
1	1,36	2	1	24	85	-
2	1,13	1,3	1	17	85	76

* Conversie berekend aan de hand van LC-MS

Evenals methylprolinaat **38** werd ethylprolinaat **75** nu onderworpen aan een reactie met DMT **9**. Twee reacties werden uitgevoerd waarbij de opwerking verschilde. Analyse van de organische fase bekomen na de *standaardopwerking* met behulp van GC-MS en HPLC gaven geen resultaat (reactie 1, tabel 4).

Aangezien de *standaardopwerking* niet toereikend genoeg bleek te zijn (noch aanwezigheid van prolinederivaten als van afbraakproducten werd gedetecteerd) (reactie 1, tabel 4), werd geopteerd voor een opwerking met methanol, NaHCO₃ en water (reactie 2, tabel 4). De organische fractie werd aan analyse onderworpen (GC-MS, HPLC en NMR), echter zonder resultaat. Doch ¹H-NMR wees op de aanwezigheid van het karakteristieke signaal voor de dubbele binding, gevormd door de methylenering. Vervolgens werd de waterige fractie (pH 8-9) ter controle geanalyseerd via HPLC. Twee hoofdcomponenten werden waargenomen, de eerste na 10,2 min, de tweede na 11,5 min, die met behulp van LC-MS geïdentificeerd konden worden als respectievelijk 2-(1-methoxyvinyl)pyrrolidine **76** en 2-(1-ethoxyvinyl)pyrrolidine **77**. De opwerking met methanol zorgde voor de vorming van **76**, door middel van volgende uitwisselingsreactie:



In een poging beide verbindingen te isoleren, werd de waterige fase basisch gemaakt (pH 14) met 2N NaOH en geëxtraheerd met een grote overmaat chloroform. Deze organische fase werd

geanalyseerd via $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ en GC-MS. De eerste twee technieken duiden op een ingewikkeld mengsel. De laatste analysetechniek detecteerde helemaal niets.

Uitgaande van deze resultaten werd de methyleringsreactie herhaald. De opwerking verliep ditmaal met ethanol in plaats van methanol om vorming van het methoxyvinyl **76** te vermijden. De waterige fractie werd geanalyseerd via LC-MS en nu werd uitsluitend **77** met een rendement van 70% teruggevonden.

Er werd dus een geschikte manier gevonden om zowel het ethoxy- als het methoxyvinyl derivaat te synthetiseren. Wel is optimalisatie van de reactie nog noodzakelijk (slechts 36% rendement voor 2-(1-methoxyvinyl)pyrrolidine **76**). Ook herhaling van de reactie van methylprolinaat **38** met DMT **9**, waarbij gekozen werd voor een zuur-base opwerking, is vereist. Analyse van de waterige fractie kan bevestigen dat ook via die opwerking 2-(1-methoxyvinyl)pyrrolidine **76** afgezonderd kan worden.

Verder onderzoek zou kunnen uitwijzen dat de gevolgde strategie een korte en efficiënte manier biedt om de rijstaromacomponent **1** te synthetiseren. Dat de *N*-Boc-bescherming niet essentieel is voor het doorvoeren van de methyleringsreactie, blijkt uit LC-MS analyse (rendement van 36% en 70%). De Boc-groep kan echter later in de synthesesweg voor een hogere stabiliteit zorgen van de precursor **116** die spontaan omzet tot 2-acetyl-1-pyrroline **1**. Hierdoor zou de vrijstelling van **1** geregeld kunnen worden. Maar het totaalrendement van de synthese zou, door de twee extra stappen die de *N*-Boc-beschermingsstrategie met zich meebrengt, lager kunnen zijn dan de vierstapssynthese.

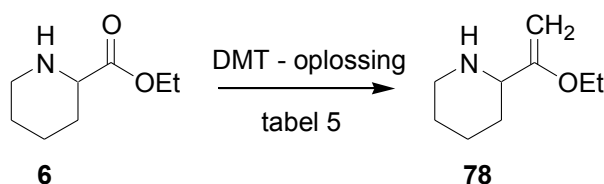
4.3. Synthese van de broodaromacomponent 6-acetyl-1,2,3,4-tetrahydropyridine

De synthese van 6-acetyl-1,2,3,4-tetrahydropyridine **2** uitgaande van ethylpipercolinaat **6**, zoals beschreven door Jurgen Deblander (2004), werd herhaald ter bevestiging van de resultaten. Vervolgens werd ter vergelijking de *N*-Boc-beschermingsstrategie voor component **2** uitgevoerd. Op die manier werd de invloed van de *tert*-butoxycarbonylgroep tijdens de methyleringsreactie geverifieerd. Of de bijdrage van de Boc-groep significant is voor de stabiliteit van 2-acetylpiperidine **79**, werd ook onderzocht.

4.3.1. Synthese uitgaande van ethylpipercolinaat

Daar ethylpipercolinaat **6** commercieel beschikbaar is, werd voor **6** geopteerd als beginproduct. Een voorgaande studie wees trouwens uit dat verestering van het pipercolinezuur nodig is voor het welslagen van de methyleningsstap (Deblander, 2004).

4.3.1.1. Synthese van 2-(1-ethoxyvinyl)piperidine



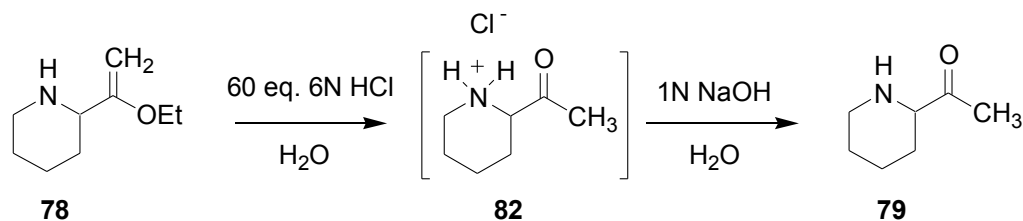
Tabel 5: Reactieomstandigheden bij de methylening van ethylpipercolinaat

reactie	schaal (mmol)	eq. DMT	concentratie DMT (M)	duur (h)	T (°C)	% 78 *
1	1,6	2	0,26	23	85	-
2	1,8	2	0,76	18	85	74
3	2	2	1,6	16	85	89
4	3,2	2	1,2	24	85	96
5	3,9	2	1,2	21	85	87

* Conversie berekend aan de hand van GC-MS

De verschillende condities waaronder de reactie werd uitgevoerd, worden weergegeven in tabel 5. De opwerking verliep telkens volgens de *standaardopwerking* in pentaan. Voor de eerste reactie werd geen resultaat bekomen. Naar alle waarschijnlijkheid was de concentratie van dimethyltitanocoon **9** onvoldoende hoog. De tweede reactie had een conversiegraad van 70 tot 75% zoals vermeld door Deblander Jurgen (2004). Cyclopentadien en het beginproduct **6** werden via flashchromatografie gescheiden van **78** om de aromasynthese verder te zetten. Het rendement na deze zuivering was geslonken tot 37%. Zowel ¹H-NMR als ¹³C-NMR bevestigden de zuiverheid van het staal. Reactie 3, 5, en 4 kenden een conversiegraad van resp. 89%, 87% en 96%. Deze laatste werd dan ook niet meer opgezuiverd via flashchromatografie.

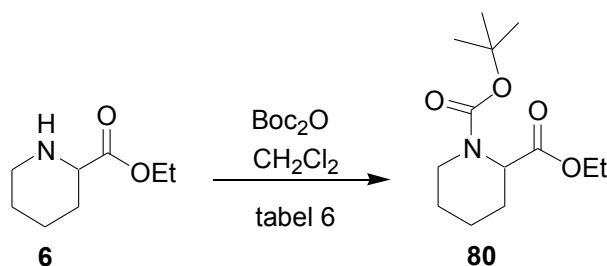
4.3.1.2. Synthese van 2-acetylpiperidine



Tijdens deze ontschermingsreactie werd de ethoxyvinylfunctie in 2 uren omgezet tot een acetylfunctie door middel van zure hydrolyse met 60 equivalenten 6N HCl. Een basische opwerking, gevolgd door een extractie met dichloormethaan leverde het verwachte 2-acetylpiperidine **79** op met een opbrengst van 93%. De reactie werd herhaald om de stabiliteit te testen. Het zure waterige mengsel bleek tot één week na bereiding nog steeds evenveel **79** op te leveren als na onmiddellijke opwerking. Hieruit kan ook besloten worden dat component **79** stabiel is in water bij zure pH. Ook wordt bevestigd dat de oxidatie van verbinding **79** niet spontaan verloopt aangezien geen spoor **2** teruggevonden werd.

Om de reactiviteit van het stikstofatoom van ethylpipercolinaat in te perken tijdens de synthese, werd het ethylpipercolinaat **6** gereageerd met di-*tert*-butyldicarbonaat (Boc₂O). Op deze manier kon ook nagegaan worden of de *N*-beschermende Boc-groep echt nut heeft bij de methyleningsstap. Deze zuurlabiele groep kan achteraf efficiënt verwijderd worden.

4.3.1.3. Synthese van *N*-Boc-beschermd ethylpipercolinaat



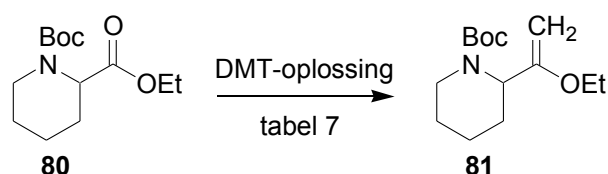
Tabel 6: Reactieomstandigheden bij de *N*-Boc-bescherming van ethylpipercolinaat

reactie	schaal (mmol)	eq. Boc ₂ O	duur (h)	T (°C)	% 80 *
1	1,6	1	2	25	71
2	6,4	1	4	25	92

* Conversie berekend aan de hand van GC-MS

Hoewel sprake kan zijn van enige sterische hindering van de stikstof, geïnduceerd door de esterfunctie, blijkt de bescherming vlot te verlopen. Na analyse via GC-MS van reactie 1 (tabel 6) werd voornamelijk het *N*-*t*-butoxycarbonyl-beschermd ethylpipercolinaat **80** teruggevonden, en een kleinere hoeveelheid **6**. Bij opschaling werd eveneens een positief resultaat bekomen (tabel 6). GC-MS duidde dat enkel **80** gevormd werd, NMR bevestigde dit.

4.3.1.4. Synthese van *N*-Boc-beschermd 2-(1-ethoxyvinyl)piperidine



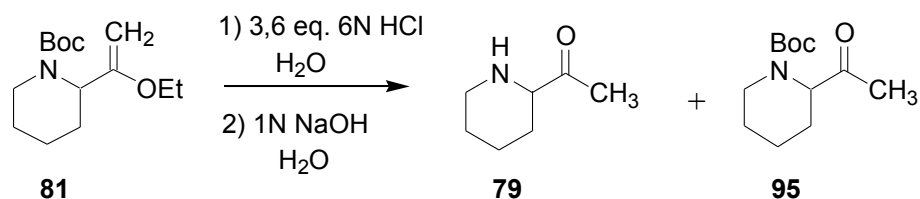
Tabel 7: Reactieomstandigheden bij de methylenering van *N*-Boc-beschermd ethylpipercolinaat

reactie	schaal (mmol)	eq. DMT	concentratie DMT (M)	duur (h)	T (°C)	% 81 *
1	1,2	2	1	19	85	78
2	2,7	2	1	22	85	67

* Rendement berekend aan de hand van GC-MS

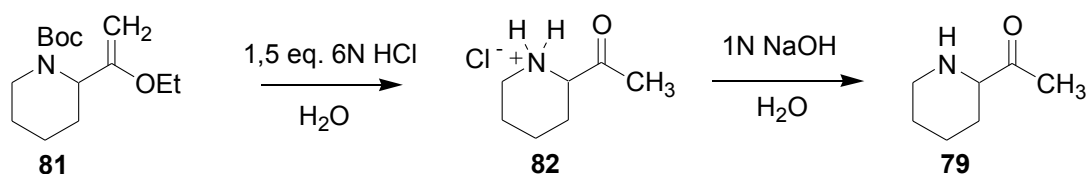
Na de *N*-bescherming wordt de esterfunctie omgezet naar de gewenste ethoxyvinylfunctie via reactie met DMT **9**. Beide reacties (tabel 7) werden opgewerkt via de *standaardprocedure* in pentaan. GC-MS analyse gaf aan dat de eerste reactie doorging met een conversie van 88%.

4.3.1.5. Poging tot synthese van *N*-Boc-beschermd 2-acetylpiperidine



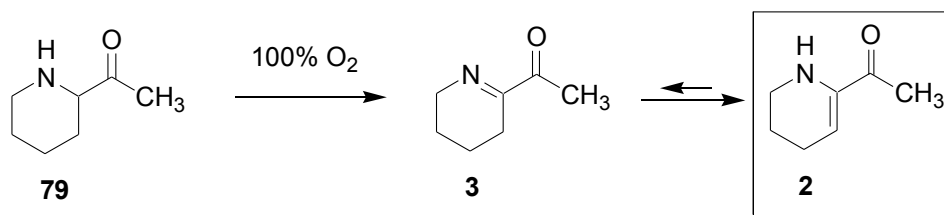
Na zure hydrolyse van **81** gedurende 16 uren in een 6N HCl oplossing, werd de reactie basisch opgewerkt. Het verwachte product **95** werd niet gevormd, wel werd een mengsel van beginproduct **81** en het volledig ontschermd 2-acetylpiperidine **79** opgevangen. Waarschijnlijk werd een te groot aantal equivalenten HCl gebruikt waardoor de zuurlabele Boc-groep tegelijkertijd verwijderd werd. Aangezien deze

methode niet optimaal werkte, werd een kleiner aantal equivalenten zuur ingezet (1,5 eq. 6N HCl). Deze hoeveelheid is identiek aan het aantal equivalenten gebruikt tijdens de analoge ontschermingsreactie tot vorming van het 2-acetyl-1-pyrrolidine **20**. Nu werd echter getracht om enkel de zure hydrolyse van het vinylether door te laten gaan. Hierin werd niet geslaagd, wel werd het HCl-zout van 2-acetylpiperidine **82** rechtstreeks zuiver teruggevonden. Dit is op zich een positief resultaat, daar zowel de ontscherming door zure hydrolyse als de Boc-ontscherming in één enkele stap doorgaan en dit met een conversie van 99%.



De daaropvolgende basische opwerking leidde tot vorming van zuiver **79**. Ook ditmaal oxideerde deze verbinding niet spontaan.

4.3.1.6. Poging tot synthese van 6-acetyl-1,2,3,4-tetrahydropyridine



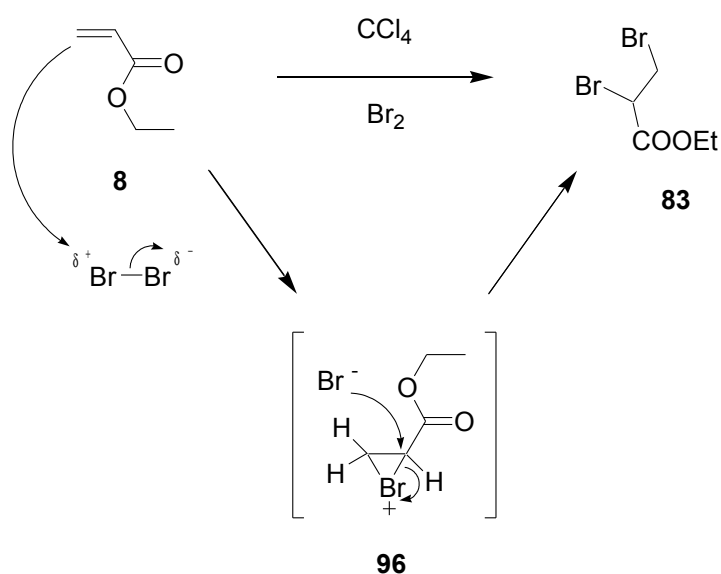
Zoals reeds aangehaald werd door Deblander (2004), blijkt een verhoogde zuurstofconcentratie te leiden tot een betere oxidatie. Voorheen werd de oxidatie onder gewone atmosfeer uitgevoerd. De zuurstofconcentratie in de lucht bleek echter ontoereikend om volledige oxidatie te verkrijgen. Vandaar werd nu gekozen voor een zuurstofatmosfeer om de omzetting tot **2** te bevorderen. Deze verliep zeer efficiënt daar GC-MS analyse één component detecteerde met het massaspectrum van 6-acetyl-1,2,3,4-tetrahydropyridine **2**.

Op deze manier werd dus een korte en efficiënte methode ontwikkeld om de broodaromacomponent **2** te synthetiseren. De Boc-groep heeft weinig nut, want geeft geen

bijdrage in een significante verbetering van de methyleringsreactie. Ook de stabiliteit wordt niet verhoogd door de *N*-bescherming in te voeren, want het is de precursor van het aroma die gestabiliseerd dient te worden. En in deze precursor **82** is reeds geen Boc-groep meer aanwezig. Het zout dat gevormd wordt is echter wel stabiel en kan minstens een week bewaard worden. Bovendien blijkt het 2-acetylpiperidine **79** op zichzelf stabiel, daar de oxidatie niet spontaan verloopt en slechts onder geforceerde omstandigheden doorgaat. Uiteraard bestaat de mogelijkheid dat de oxidatie wel volledig doorgaat onder luchtatmosfeer, maar dan in een sterk verdunde oplossing van **79**. Deze benadering werd nog niet geverifieerd.

4.4. Synthese van de aromacomponent 5-acetyl-2,3-dihydro-1,4-thiazine van gebakken rundsvlees

Het beginproduct ethylperhydro-1,4-thiazine-3-carboxylaat **84** werd bereid volgens een literatuurprocedure (Boucher & Stella, 1988; Crabb & Hall, 1975). Eerst wordt ethyl-2,3-dibroompropionaat **83** gesynthetiseerd uitgaande van dibroom en ethylacrylaat **8**. Vervolgens zal **83** verder reageren met mercaptoethanolaminehydrochloride tot vorming van **84**.



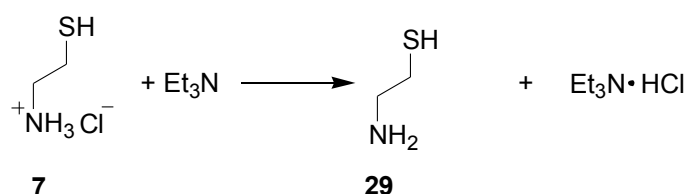
Schema 25: mechanisme van de elektrofile additie van dibroom op een alkeenfunctie

In de eerste stap van deze procedure zal de dubbele binding van ethylacrylaat **8** ervoor zorgen dat het geïnduceerde dipool van Br₂ ontstaat. De π-elektronen van de dubbele binding zullen interageren tot vorming van het bromoniumion **96**. Het nog aanwezige bromide-ion zal vervolgens op het partieel positief geladen koolstofatoom aanvallen. Op die manier gaat deze

elektrofile additie van broom op de alkeenfunctie van ethylacrylaat **8** door en wordt het ethyl-2,3-dibroompropionaat **83** vrijgesteld.

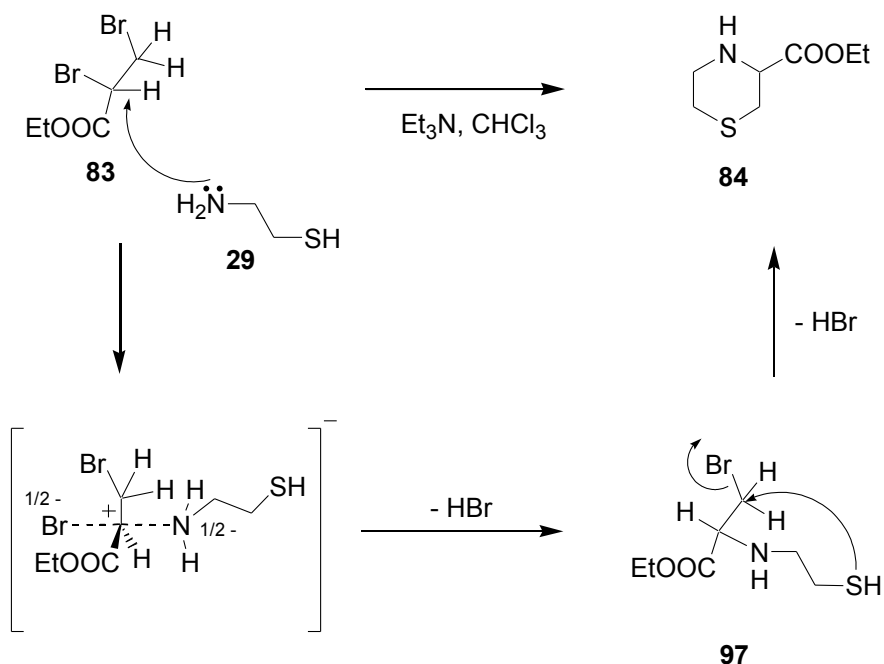
De reactie greep plaats in het apolaire CCl_4 . Dit solvent is uiterst geschikt om het apolaire dibroom op te lossen. Met een rendement van ongeveer 100% (idem literatuur) werd de verbinding **83** gesynthetiseerd.

In de tweede stap zal een reactie plaatsgrijpen tussen **83** en het cysteaminehydrochloride **7** in de aanwezigheid van een overmaat triethylamine. Deze laatste zal het stikstofatoom van **7** activeren door het zout vrij te stellen en triethylaminehydrochloride vormen.



Schema 26: Activering van cysteamine

Nu kan het vrije elektronenpaar van het stikstofatoom van cysteamine **29** aanvallen op het partieel positief geladen koolstofatoom van ethyl-2,3-dibroompropionaat **83**, waardoor het intermediair **97** ontstaat. Aansluitend zal een tweede nucleofiele substitutie ($\text{S}_{\text{N}}2$) optreden, deze keer intramoleculair. Het gevormde waterstofbromide wordt gevangen door triethylamine dat triethylaminehydrobromide vormt. Op die manier ontstaat het gewenste ethylperhydro-1,4-thiazine-3-carboxylaat **84**.

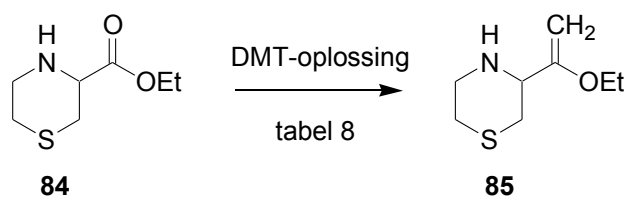


Schema 27: Synthese van ethylperhydro-1,4-thiazine-3-carboxylaat

Deze synthese verliep met een rendement van 42% (literatuur: 52%). Voor verdere details wordt verwezen naar het experimentele deel van het hoofdstuk materiaal en methoden.

Daar uit vorige synthese geconcludeerd werd dat de *N*-Boc-bescherming niet bijdroeg tot een verbetering van de methyleningsreactie, werd geopteerd voor de rechtstreekse aanpak via de driestapssynthese.

4.4.1. Synthese van 2-(1-ethoxyvinyl)thiazine

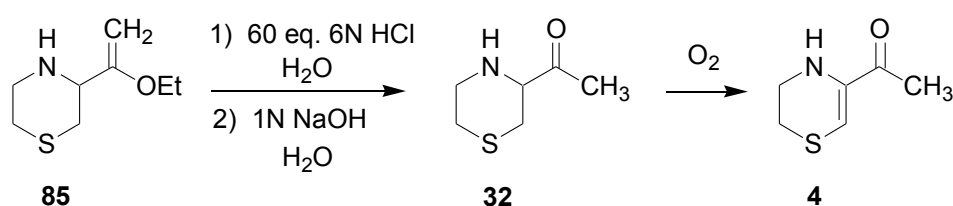


Tabel 8: reactieomstandigheden bij de methylening van 2-(1-ethoxyvinyl)thiazine

reactie	schaal (mmol)	eq. DMT	[DMT] (M)	duur (h)	T (°C)	Conversie 85 via GC-MS	Conversie 85 via LC-MS
1	1,6	2	0,70	23	85	45%	64%
2	1,6	2	1,1	24	85	77%	79%
3	2,9	2	0,9	27	85	40%	53%
4	2,9	2	1,3	25	85	69%	71%

Om de gewenste ethoxyvinylfunctie te verkrijgen, werd ethylperhydro-1,4-thiazine-3-carboxylaat **84** behandeld met 2 equivalenten DMT **9** onder verschillende omstandigheden (tabel 8). Analoog aan de synthese van de zesring **2** werd ook hier de *standaardopwerking* in pentaan uitgevoerd. De meest optimale conditie was deze op schaal 1,6 mmol waarbij 1,1M DMT werd gebruikt. Bij de opschalingsreacties 3 en 4 werden ietwat lagere rendementen bekomen. Wel kan afgeleid worden dat de concentratie van DMT **9** belangrijk is voor het welslagen van de reactie.

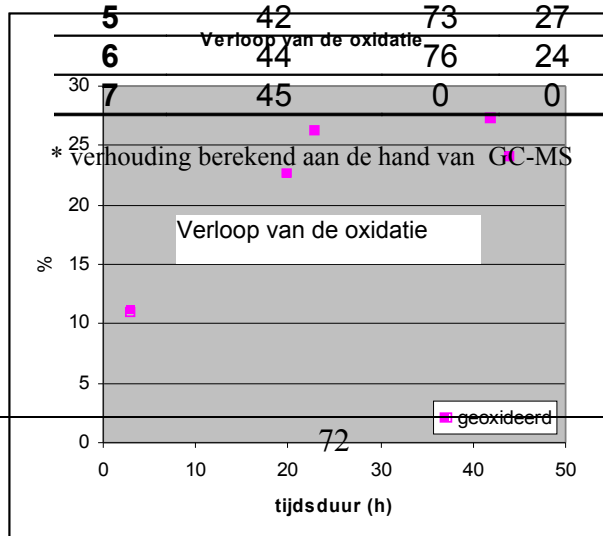
4.4.2. Synthese van 5-acetyl-2,3-dihydro-1,4-thiazine



De zure hydrolyse met 60 equivalenten 6N HCl werd gedurende 2 uren doorgevoerd. Vervolgens werd het reactiemiddel basisch gemaakt met 1N NaOH, waarna de organische componenten werden afgezonderd. Na analyse via GC-MS werden zowel de moleculen 2-acetyl-2,3,5,6-tetrahydro-1,4-thiazine **32** als 5-acetyl-2,3-dihydro-1,4-thiazine **4** geïdentificeerd. Blijkbaar oxideert 2-acetyl-2,3,5,6-tetrahydro-1,4-thiazine **32** in tegenstelling tot 2-acetylpiperidine **79** wel spontaan (onder gewone atmosfeer), doch gedeeltelijk. De verdere oxidatie werd in functie van de tijd gevolgd bij kamertemperatuur terwijl het reactiemiddel geroerd werd in een afgesloten kolf.

Tabel 9: Verloop van de oxidatie gedurende de tijd

Staal	Tijdsduur oxidatie (h)	% 32*	% 4*
1	3	89	11
2	16	82	18
3	20	77	23
4	23	74	26
5	42	73	27
6	44	76	24
7	45	0	0





Grafiek 1: Oxidatie van 32 in functie van de tijd

De oxidatie blijkt een plateau te bereiken (grafiek 1 en tabel 9). Na 24 uur kan gesteld worden dat atmosferische zuurstofconcentratie niet meer volstaat om verdere oxidatie mogelijk te maken. Maximaal werd in het staal 27% 5-acetyl-2,3-dihydro-1,4-thiazine **4** weergevonden. Staal nr. 6 werd genomen nadat het reactiemiddel 1 uur doorgeborreld werd met perslucht. Beide componenten verdampten daar de kolf open stond tijdens het doorborrelen. Na analyse bleek echter meer aroma verdwenen te zijn dan **32**. De geoxideerde component **4** is dus vluchtiger dan de nog niet geoxideerde verbinding **32**. In een poging om de oxidatie naar **4** te vervolledigen, werd waterstofperoxide aan het reactiemiddel toegediend. Een 7^{de} staal werd genomen, doch via GC-MS werden enkel afbraakproducten gedetecteerd. Blijkbaar was dit oxidans te reactief.

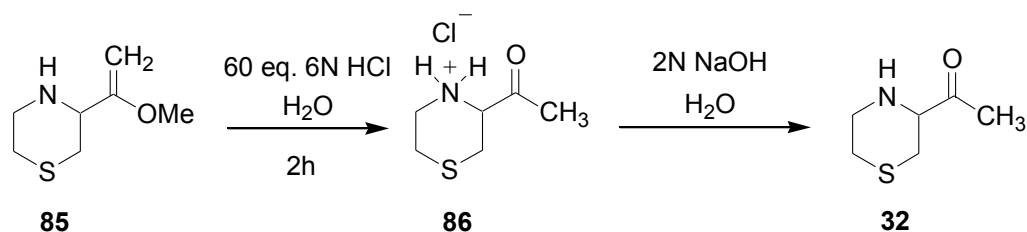
<i>GC-MS analyse van verbinding 32:</i>	
retentietijd:	10,4 min
MS m/z (%)	145 (M ⁺ , 17); 102 (100); 84 (30); 76 (16); 74 (94); 71 (31); 68 (19); 59 (27); 56 (77); 54 (23).

<i>GC-MS analyse van verbinding 4:</i>	
retentietijd:	11,3 min
MS m/z (%)	143 (M ⁺ , 100); 128 (36); 110 (26); 100 (55); 86 (17); 73 (27); 72 (69); 68 (23); 67 (19); 59 (13); 56 (11); 54 (30).

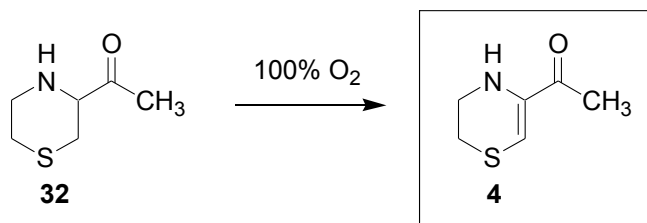
Aangezien op deze wijze duidelijk geen stabiele precursor van **4** kon worden bekomen, werd

overgeschakeld op een andere methode. Die alternatieve strategie was opgebouwd rond het uitzouten van 2-(1-ethoxyvinyl)thiazine **85**. Langs deze weg werd erin geslaagd alle **85** om te zetten tot het overeenkomstige zout **86** door, na behandeling met zuur, het water uit te dampen.

Dit gebeurde zeer vlot. Ook het vrijstellen van het zout onder argonatmosfeer in een afgesloten kolf gebeurde efficiënt (met behulp van 2N NaOH) zodat zuiver 2-acetyl-2,3,5,6-tetrahydro-1,4-thiazine **32** bekomen werd. Nu was het probleem echter dat de component niet spontaan oxideerde.

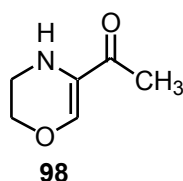


Analoog aan de laatste stap in de synthese van 6-acetyl-1,2,3,4-tetrahydropyridine **2**, werd tot slot de oxidatie onder zuivere zuurstofatmosfeer uitgevoerd. Deze verliep zeer goed daar GC-MS analyse één component detecteerde, 5-acetyl-2,3-dihydro-1,4-thiazine **4**.



4.5. Poging tot synthese van 5-acetyl-2,3-dihydro-1,4-morfoline

Aangezien twee analoge, efficiënte syntheses voor hoofdaromacomponenten **2** en **4** gevonden werden, werd getracht een derde zesring op analoge wijze te synthetiseren. In plaats van een verbinding met piperidinering of thiazinering, werd beslist een analoge verbinding gebaseerd op een morfolinering te maken.

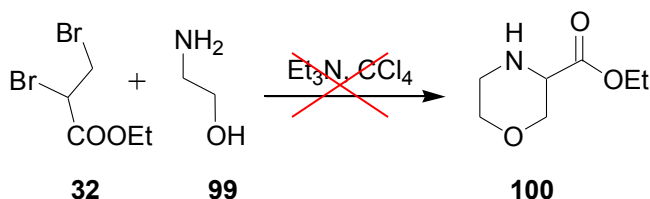


Deze verbinding 5-acetyl-2,3-dihydro-1,4-morfoline **98** werd tot nog toe niet teruggevonden in een aromamengsel en over de geurende eigenschappen van deze component is niets bekend. Het was dan ook de bedoeling dit laatste na te gaan door **98** synthetisch aan te maken. Eenzelfde strategie werd beoogd als die van het thiazine-analoog **4**. Het probleem was echter dat het beginproduct niet beschikbaar was. Twee verschillende syntheseswegen werden uitgestippeld om

het beginproduct ethylperhydro-1,4-morfoline-3-carboxylaat **100** te bekomen. De eerste benadering was analoog aan die voor het thiazinecarboxylaat **32**, de tweede procedure verliep uitgaande van het *N*-trityl-methylester **101** via aziridine-intermediaren.

4.5.1. Poging tot synthese van ethylperhydro-1,4-morfoline-3-carboxylaat

4.5.1.1. Eerste methode



Analoog aan de synthese van **32** beschreven door Crabb en Hall (1975) werd een poging ondernomen om het morfoline-analoog **100** te maken. Hierin werd niet geslaagd. Het gedrag van de hydroxylfunctie van ethanolamine **99** blijkt anders te zijn dan dat van de mercaptofunctie in cysteamine. Dit kan te wijten zijn aan de reactiviteit van het zuurstofatoom dat elektronegatiever is dan het stikstofatoom (3,4 t.o.v. 3,0), terwijl het zwavelatoom minder elektronegatief is als het stikstofatoom (2,6 t.o.v. 3,0). De verwachte triethylaminehydrobromideneerslag werd ook niet waargenomen tijdens de reactie. Vermoedelijk werd een mengsel van verschillende isomeren van ethylperhydro-1,4-morfoline-3-carboxylaat **100** bekomen. Helaas bleek het onmogelijk om dit mengsel te scheiden door middel van flashchromatografie.

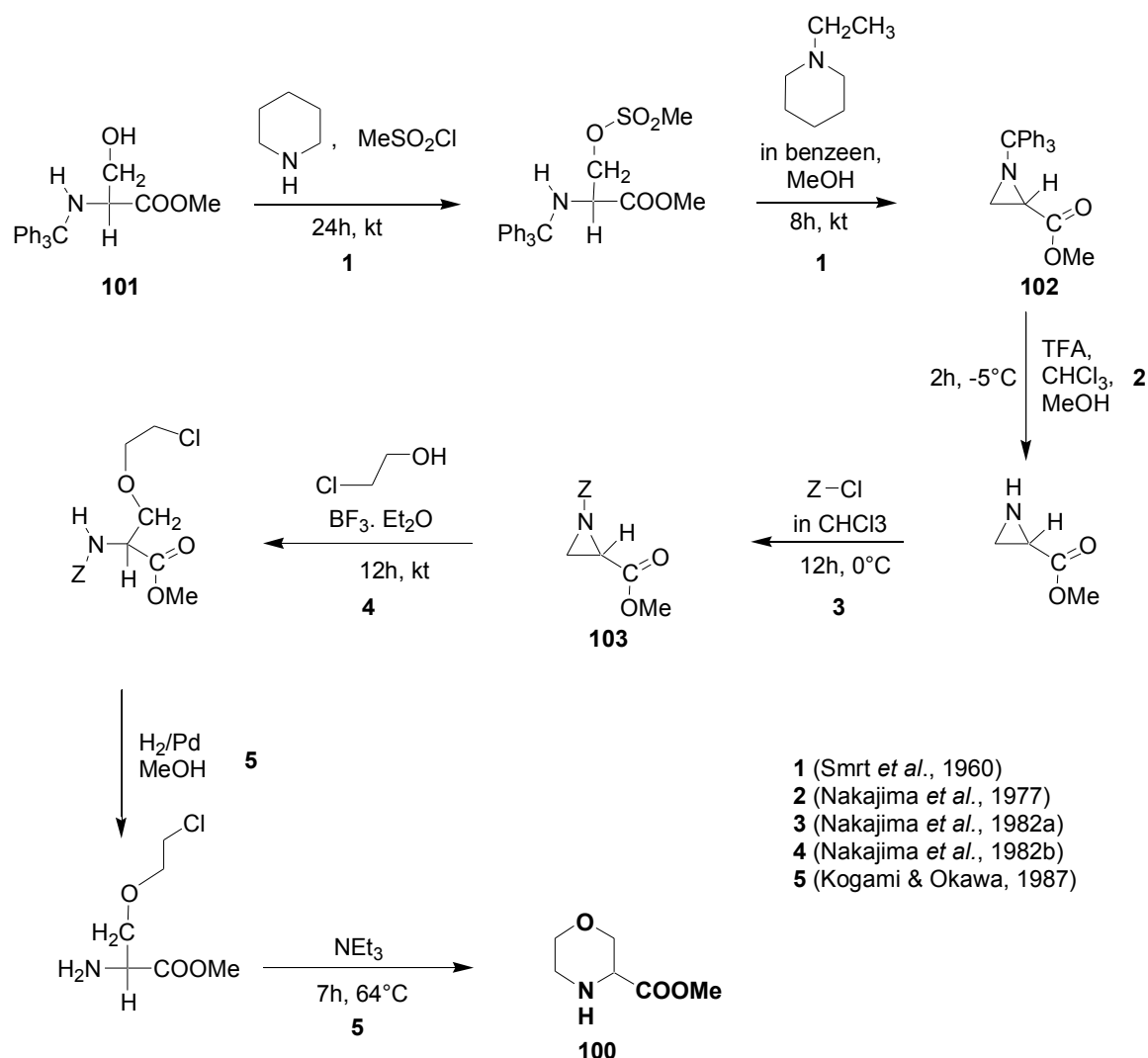
4.5.1.2. Tweede methode

Uitgaande van het commercieel beschikbare *N*-tritylserine-methylester **101** zou piperidine een proton gaan onttrekken van de hydroxylfunctie waarna de zuurstof geactiveerd wordt en aanvalt op het zwavelatoom van methaansulfonylchloride (schema 28). Na afsplitsing van methaansulfonaat zal een aziridine **102** gevormd worden. De volgende stap houdt de detritylatie in: de beschermende triarylfunctie wordt door TFA afgesplitst. Vervolgens wordt een *Z*-bescherming gedaan van de stikstof zodat **103** ontstaat. Deze benzyloxycarbonylfunctie zal later afgesplitst kunnen worden. De aziridineringsopening gaat door via een katalytische hoeveelheid boortrifluoride-etheraat en 2-chloorethanol in chloroform. In een laatste stap wordt de *Z*-groep via katalytische reductie verwijderd, gevolgd door een protononttrekking met behulp van

triethylamine waardoor een spontane ringsluiting optreedt tot vorming van het beginproduct **100**.

Echter, bij aanvang van deze strategie bleek al snel dat de eerste twee gepatenteerde stappen een struikelblok waren. Deze reacties werden vaag beschreven in een abstract (Smrt *et al.*, 1960 & Nakajima *et al.*, 1977) en werden hierdoor onder verschillende omstandigheden uitgetest, echter zonder resultaat. De eerste stap werd via LC-MS geanalyseerd en de enige component die geïdentificeerd kon worden, was de tritylgroep.

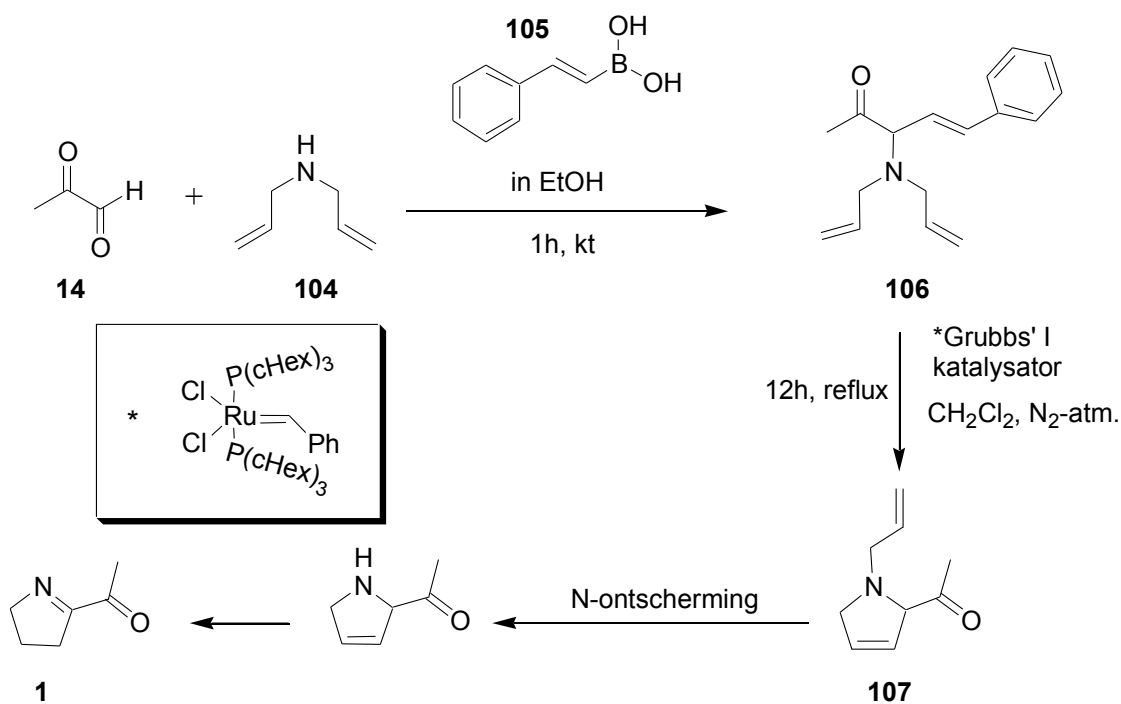
Verder onderzoek is nodig om **100** te synthetiseren (opvraging patent *U.S. 2.958.691*) vooraleer de strategie met DMT **9** uitgetest kan worden.



Schema 28: Synthese van ethylperhydro-1,4-thiazine-3-carboxylaat via aziridines

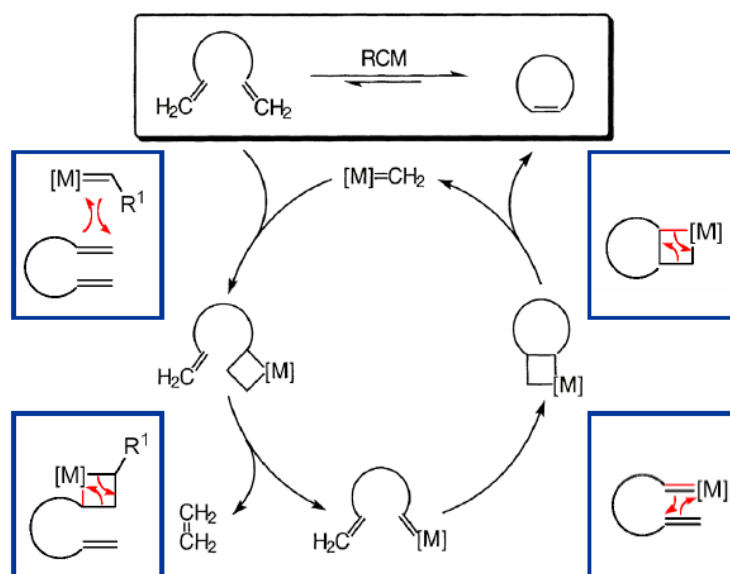
4.6. Synthese van de rijstaromacomponent 2-acetyl-1-pyrroline via organoboorzuur gemedieerde reacties

Een compleet andere invalshoek om het rijstaroma te synthetiseren wordt voorgesteld in schema 29. Deze strategie is opgebouwd rond het gebruik van boorzuren, die milieuvriendelijk en goedkoop zijn. Het voorgestelde plan heeft als beginproducten pyruvaldehyde **14**, diallylamine **104** en trans-2-fenylvinylboorzuur **105**, allen relatief goedkoop. In de eerste stap wordt verwacht dat deze drie componenten reageren volgens een klassieke organoboorzuur Mannichreactie.

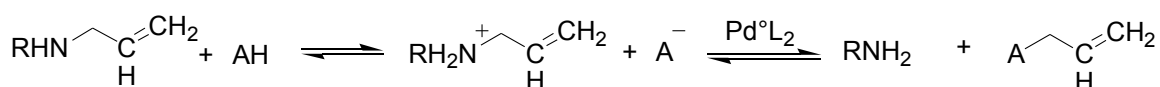


Schema 29: Strategie voor de synthese van 2-acetyl-1-pyrroline via de organoboorzuur Mannichreactie

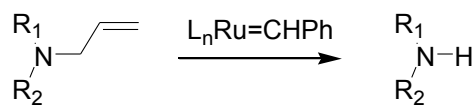
Deze Mannichreactie houdt in dat de stikstof van diallylamine **104** een nucleofiele additie uitvoert op de aldehydefunctie van pyruvaldehyde **14**. Onmiddellijk daaropvolgend zou het zuurstofatoom van de gevormde hydroxyfunctie binden met het oxofiele booratoom. Op deze manier worden boorzuur en **106** bekomen na stap 1. De volgende stap is een *ring-closing-metathesis* reactie (RCM) die via de Grubbs' I katalysator plaatsgrijpt (schema 30). Als laatste stap rest enkel nog de allylische ontscherming van het stikstofatoom van **107**. Deze kan op twee manieren doorgaan. Ofwel via een palladium gekatalyseerde reactie ofwel via de Grubbs' carbeen gemedieerde ontschermingsreactie. Deze laatste is geschikter daar geen nucleofiele allylgroep-scavenger noch Pd-katalysator nodig zijn (zoals weergegeven in schema 31), doch enkel een chemoselectief rutheniumcomplex (zie schema 32). Vooral voor tertiaire allylaminen blijkt [(PCy₃)₂Ru=CHPh] zeer geschikt (R=81%). Het mechanisme van deze ontscherming is tot op heden echter nog niet ontrafeld (Alcaide *et al.*, 2003).



Schema 30: Mechanisme van de RCM-reactie



Schema 31: Allylische ontscherming via de Pd-katalysator. A stelt de scavenger voor



Schema 32: Allylische ontscherming via Ru-carbeen

In een eerste reactie werden pyruvaldehyde **14** (40 m% in H₂O), het diallylamine **104** en het boorzuurderivaat **105** in ethanol gereageerd (zie tabel 10). Het verloop van de reactie werd in de tijd gevolgd via TLC-analyse (ethylacetaat/hexaan : (50/50)). Het diallylamine **104** en het boorzuurderivaat **105** hadden een R_F-waarde van resp. 0,88 en 0,60. Na 37 uren waren alle beginproducten verdwenen en werd de reactie opgewerkt door toevoeging van water zodat een witte neerslag gevormd werd in een donkeroranje vloeistof. Extractie van het reactiemidden werd uitgevoerd met CH₂Cl₂. In het GC-MS spectrum van het bekomen mengsel werden een tiental pieken waargenomen, waarvan een viertal (verspreid over 6 minuten) het verwachte massaspectrum hadden.

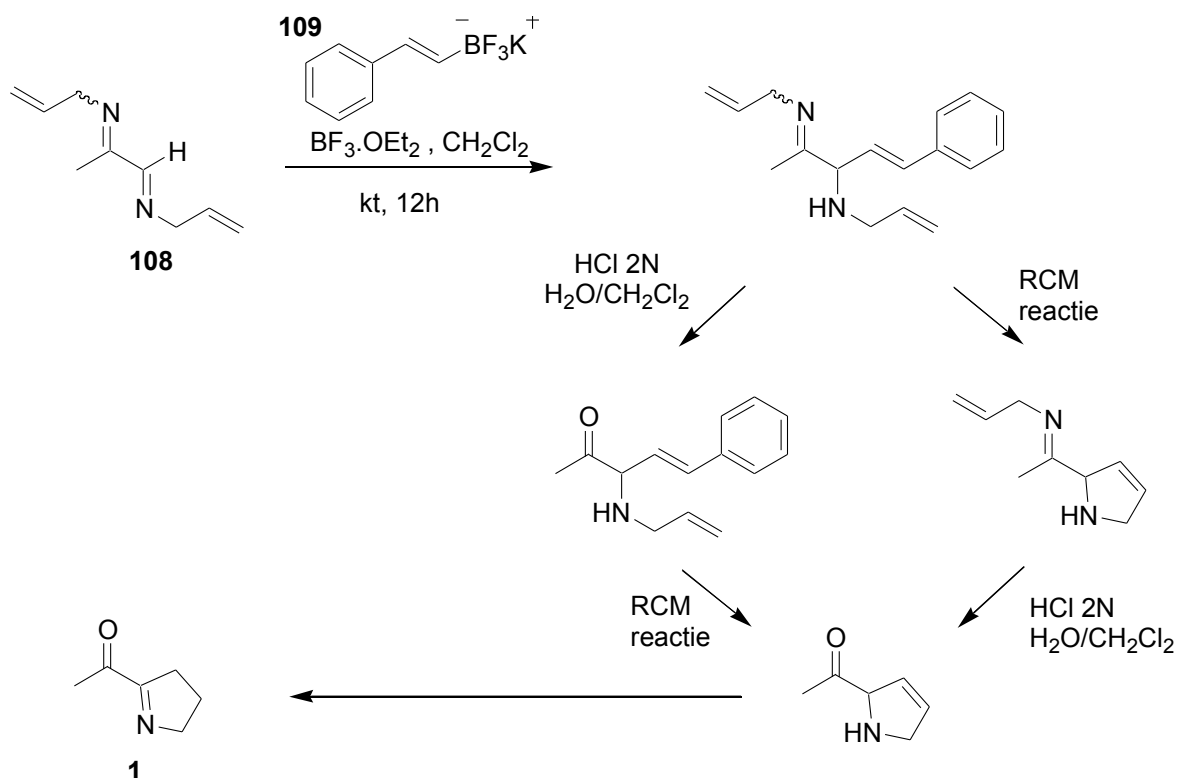
Tabel 10: Reactieomstandigheden voor de organoboorzuur Mannichreactie

reactie	schaal (mmol)	duur (h)	T (°C)	opwerking	rendement 106 via GC-MS
1	5	37	25	Extractie met CH ₂ Cl ₂	-
2	5	29	80	Extractie met CH ₂ Cl ₂	-
3	5	17	80	Zuur-base extractie	-
4	5	31	80	Zuur-base extractie	-

Daar het onbegonnen werk was om de verschillende componenten te scheiden via flashchromatografie werd een analoge poging ondernomen (reactie 2, tabel 10). Nu werd het mengsel echter onder refluxomstandigheden geroerd. Een kleiner aantal pieken werd waargenomen via GC-MS analyse. Flashchromatografie (*n*-hexaan/ethylacetaat (50/50)) werd uitgevoerd, maar geen van de bekomen fracties bleek zuiver, noch bleek de hoofdcomponent ervan de juiste massa te bezitten. In een derde poging werden de reagentia onderworpen aan een kortere reactietijd en aansluitend werd een zuur-base extractie uitgevoerd (reactie 3, tabel 10). NMR wees uit dat weinig tot geen reactie plaatsgevonden had, daar voornamelijk diallylamine

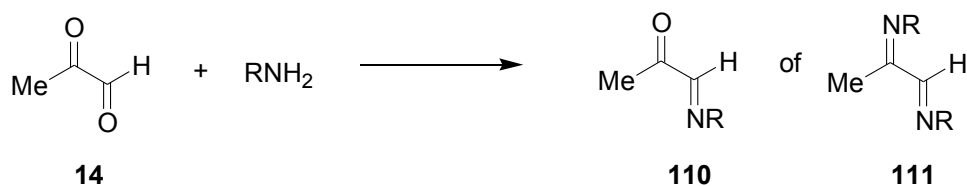
zichtbaar was. Deze reactie langere tijd laten roeren, bleek ook geen voordeel te verstrekken (reactie 4, tabel 10).

Omwille van de moeilijke vooruitgang die geboekt werd bij vorige synthese werd de volgende strategie uitgewerkt (schema 33), waarbij de Lewiszuur bemiddelde organoboryl Mannichreactie (Stas S., 2004) de eerste stap vormt.



Schema 33: Strategie voor de synthese van 2-acetyl-1-pyrroline via de Lewiszuur bemiddelde organoboryl Mannichreactie

De grote uitdaging van deze synthese is de bereiding van het beginproduct, het α -diimine **108**. Indien sterk sterisch gehinderde aminen, zoals *tert*-butylamine, reageren met pyruvaldehyde **14**, dan wordt enkel het imine **110** (R = *t*-Bu) gevormd. Werken met minder sterisch gehinderde aminen, zoals methylamine, leidt tot vorming van α -diiminen **111** (R = Me) (schema 34) (Sisko, 1998). Aangezien in de beoogde synthese een allylamine gebruikt ging worden, was het onvoorspelbaar of het imine of α -diimine gevormd zou worden.



Schema 34: Bereiding van het α -diimine 111

Tabel 11: Reactieomstandigheden voor de synthese van α -diiminen

poging	schaal (mmol)	gebruikt amine	duur (h)	T (°C)	opwerking	Rendement via GC-MS
1	10	allylamine	1	25	Wassen met H ₂ O + pekel	-
2	10	<i>t</i> -butylamine	1	25	Drogen met MgSO ₄	44%
3	10	allylamine	1	25	Drogen met MgSO ₄	-
4	5	allylamine	1	0	Drogen met MgSO ₄	-

In een eerste poging (reactie 1, tabel 11) werd gewerkt met *tert*-butylmethylether (TBME) als solvent, doch zonder resultaat. Bij de tweede poging (reactie 2, tabel 11) werd getracht, analoog als in de literatuur beschreven (Sisko, 1998), het imine **110** (R = *t*-Bu) te vormen, doch in plaats van TBME als solvent (R=71%), werd diethylether gebruikt. Het reactiemiddel bestond uit twee fasen die stevig vermengd werden. Tijdens de reactie werd de etherfase langzaam geel. Na GC-MS analyse en ¹H-NMR bleek enkel het imine **110** (R = *t*-Bu) gevormd te zijn.

<i>GC-MS analyse van verbinding 110:</i>	
retentietijd:	6,6 min
MS m/z (%)	127 (M ⁺ , 63); 112 (84); 100 (55); 95 (5); 94 (11); 83 (99); 69 (99); 66 (16); 55 (100); 53 (33); 52 (19); 51 (16).



¹H-NMR (250MHz, CDCl₃):

δ(ppm) 1,25 (9H, s, C(CH₃)₃); 2,34 (3H, s, CH₃CO); 7,56 (1H, s, CHNC(CH₃)₃).

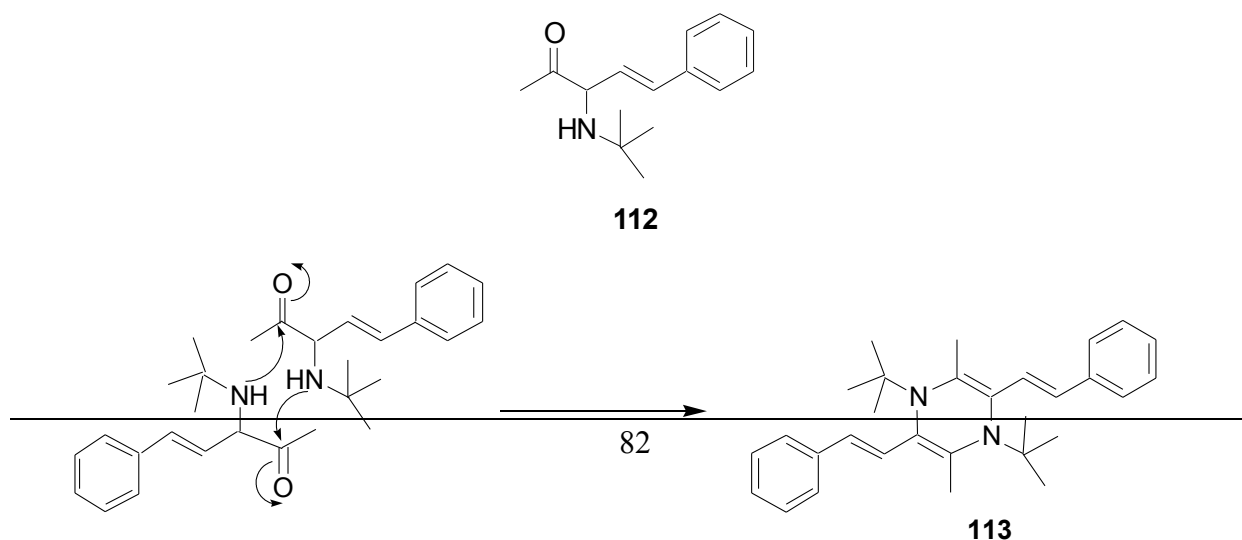
¹³C-NMR (63MHz, CDCl₃):

δ(ppm) 24,8 (CH₃CO); 29,5 (C(CH₃)₃); 68,4 (C(CH₃)₃); 155,2 (C=N); 201,6 (C=O).

Door dit positieve resultaat werden dezelfde reactieomstandigheden behouden, maar nu werd het allylamine ingezet, doch zonder vorming van het gewenste diïmine **108** (reactie 3, tabel 11). Vele pieken werden gedetecteerd via GC-MS analyse. Omdat het allylamine vermoedelijk te reactief was, werd dezelfde reactie herhaald bij 0°C (reactie 4, tabel 11).

Tevens werd een eenpotsreactie opgezet waarbij 1 equivalent pyruvaldehyde **14**, 1 equivalent allylamine en 1 equivalent kaliumsteryltrifluorboraat **109** samengevoegd werden, maar ook hier kende de reactie geen succes. In het ¹H-NMR spectrum werden enkel de beginproducten teruggevonden.

Het reactiemengsel bekomen na reactie 2 werd gereageerd met 1 equivalent kaliumsteryltrifluorboraat **109** en 1 equivalent boortrifluoride-etheraat gedurende 16 uren. Aan het bekomen mengsel werd vervolgens een 0,5N waterige NaOH oplossing toegevoegd en het geheel werd geëxtraheerd met CH₂Cl₂. Analyse via GC-MS gaf de aanwezigheid van het verwachte product **112** weer. Doch uit het ¹H-NMR spectrum werd verondersteld dat waarschijnlijk ook product **113** gevormd kon zijn (rendement onbepaald wegens teveel signalen). Verder onderzoek is nog nodig om uitsluitsel te geven over wat juist gebeurt in deze reactie. Tot slot werd een éénpotsreactie uitgevoerd waarbij 1 equivalent pyruvaldehyde **14**, 1 equivalent *t*-butylamine en 1 equivalent kaliumsteryltrifluorboraat **109** samengevoegd werden. Ook dit leverde geen bruikbaar resultaat op.



5. Conclusie

De syntheses van 2-acetyl-1-pyrroline **1**, 6-acetyl-1,2,3,4-tetrahydropyridine **2** (en zijn tautomeer **3**) en 5-acetyl-2,3-dihydro-1,4-thiazine **4** werden op analoge wijze uitgevoerd. Uitgaande van commerciële basischemicaliën, namelijk proline **5** en ethylpipercolinaat **6** en het eenvoudig te bereiden ethylperhydro-1,4-thiazine-3-carboxylaat **84**, werd de synthese aangevangen. Zowel voor de synthese van de zesringen **2** als **4**, werd erin geslaagd de esterfunctie om te zetten tot de gewenste acetylfunctie door middel van het organotitaniumreagens dimethyltitanocceen (DMT) **9**. De rechtstreekse synthese van de vijfkring **1** dient nog verder geoptimaliseerd en onderzocht te worden.

Steeds werd getracht een stabiele precursor in te bouwen alvorens het aroma vrij te stellen.

De aromacomponent **2** werd gesynthetiseerd op twee manieren. Er werd vastgesteld dat de aanwezigheid van een *N*-beschermende (Boc) groep niet noodzakelijk is om een stabiele precursor te vormen. Bovendien bracht deze langere synthesesweg één¹ extra stap met zich mee (de *N*-Boc-bescherming). De strategie zonder *N*-bescherming werd in ieder geval als meest

¹ De ontschermingsreactie van de veresterde carboxylfunctie en de *N*-Boc-ontscherming verliepen hier namelijk simultaan (dit werd niet verwacht).

geschikt bevonden, daar de bescherming ook geen significante bijdrage leverde tot het rendement van de methyleningsreactie. In drie stappen wordt namelijk via het stabiele HCl-zout **82** van 2-acetylpiperidine de aromacomponent **2** bekomen. Bovendien werd voor het eerst voor de niet spontane oxidatiestap een efficiënte oplossing geboden. Door onder 100% zuurstofatmosfeer te werken kon 6-acetyl-1,2,3,4-tetrahydropyridine **2** vrijgesteld worden. Als besluit kan worden gesteld dat de korte driestapssynthese doeltreffender is dan de langere beschermingsstrategie (totaalrendement = 55,0% t.o.v. 46,6%). Het hoogste totaalrendement voor het bereiden van deze component dat tot nu toe gepubliceerd is, bedraagt 49,6% (Harrisson & Dake, 2005).

Daar het gebruik van de *N*-Boc-bescherming niet cruciaal is voor de methyleningsreactie, werd 5-acetyl-2,3-dihydro-1,4-thiazine **4** enkel op de rechtstreekse manier gesynthetiseerd. De stabiele precursor hier is het HCl-zout **86** van 2-acetyl-2,3,5,6-tetrahydro-1,4-thiazine. Na drie stappen werd **4** bekomen met een totaalrendement van 62,8%, hetgeen beter is dan wat in de literatuur terug te vinden is. Ook werd uitgegaan van een eenvoudig te bereiden beginproduct dat zelfs in een kleiner aantal stappen bekomen wordt (twee in plaats van vier).

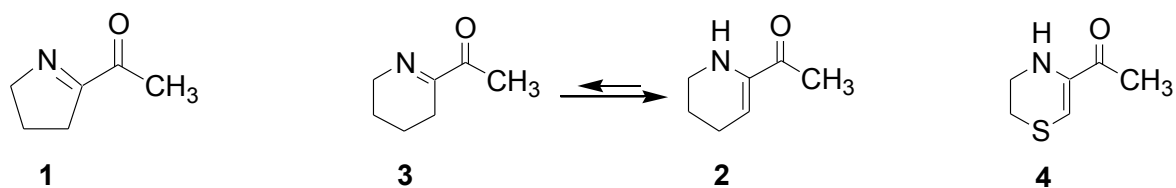
Voor de synthese van de rijstaromacomponent 2-acetyl-1-pyrroline **1** werd in het verleden reeds de *N*-Boc-beschermde synthese uitgevoerd. In dit eindwerk werd de vierstapssynthese uitgetoet. Alles wijst erop dat de synthese succesvol zou kunnen zijn. De verestering van proline had een rendement van 86% en de methylening kende een conversie van 76% (bepaald via LC-MS). Er kan dus besloten worden dat ook hier de *N*-bescherming niet essentieel is voor methylening van het methyl- of ethylprolinaat **38** en **75**. Verder onderzoek en optimalisatie van de methyleningsreactie zijn echter nog nodig, om een vergelijking te kunnen maken tussen beide syntheseswegen.

Een opmerkelijke vaststelling is dat zowel het 2-(1-methoxyvinyl)pyrrolidine **76** als het 2-(1-ethoxyvinyl)pyrrolidine **77** zeer wateroplosbaar zijn in tegenstelling tot het 2-(1-ethoxyvinyl)piperidine **78** en 2-(1-ethoxyvinyl)thiazine **85**. Mede door dit gegeven en het feit dat de methylening van de vijfing via de *N*-Boc-beschermingsynthese efficiënter verliep dan die van de zesring, wordt verondersteld dat dit verschil te wijten is aan structureigenschappen

Als algemene conclusie kan worden gesteld dat het gebruik van het methyleningsreagens dimethyltitanocen **9** zeer geschikt is voor de ontwikkeling van soortgelijke Maillardaromacomponenten en HCl-zouten **82** en **86** zeer stabiele precursoren zijn voor langere bewaring van de aromacomponent, die via basische waterige toediening onder zuurstofatmosfeer kan vrijgesteld worden.

Samenvatting

Het doel van dit onderzoek was om een efficiënte, korte synthese te ontwikkelen voor de Maillardaromacomponenten 2-acetyl-1-pyrroline **1**, 6-acetyl-1,2,3,4-tetrahydropyridine **2** en zijn tautomeer 6-acetyl-2,3,4,5-tetrahydropyridine **3** en 5-acetyl-2,3-dihydro-1,4-thiazine **4**. Een voorwaarde was dat de aroma's in een laatste stap vanuit een stabiele precursor vrijgesteld kunnen worden. Daarom werd de noodzaak van een *N*-beschermde synthese voor de verbindingen **1** en **2** geëvalueerd.



Vanuit eenvoudige basischemicaliën (proline **5**, ethylprolinaat **6**, cysteaminehydrochloride **7** en ethylacrylaat **8**) werden analoge strategieën uiteengezet waarin het gebruik van het methyleningsreagens dimethyltitanocen (DMT) **9** centraal staat. Vervolgens kon na zure hydrolyse met een 6N waterige HCl oplossing vanuit het aldus gevormde vinyl ether de gewenste acetylfunctie gegenereerd worden.



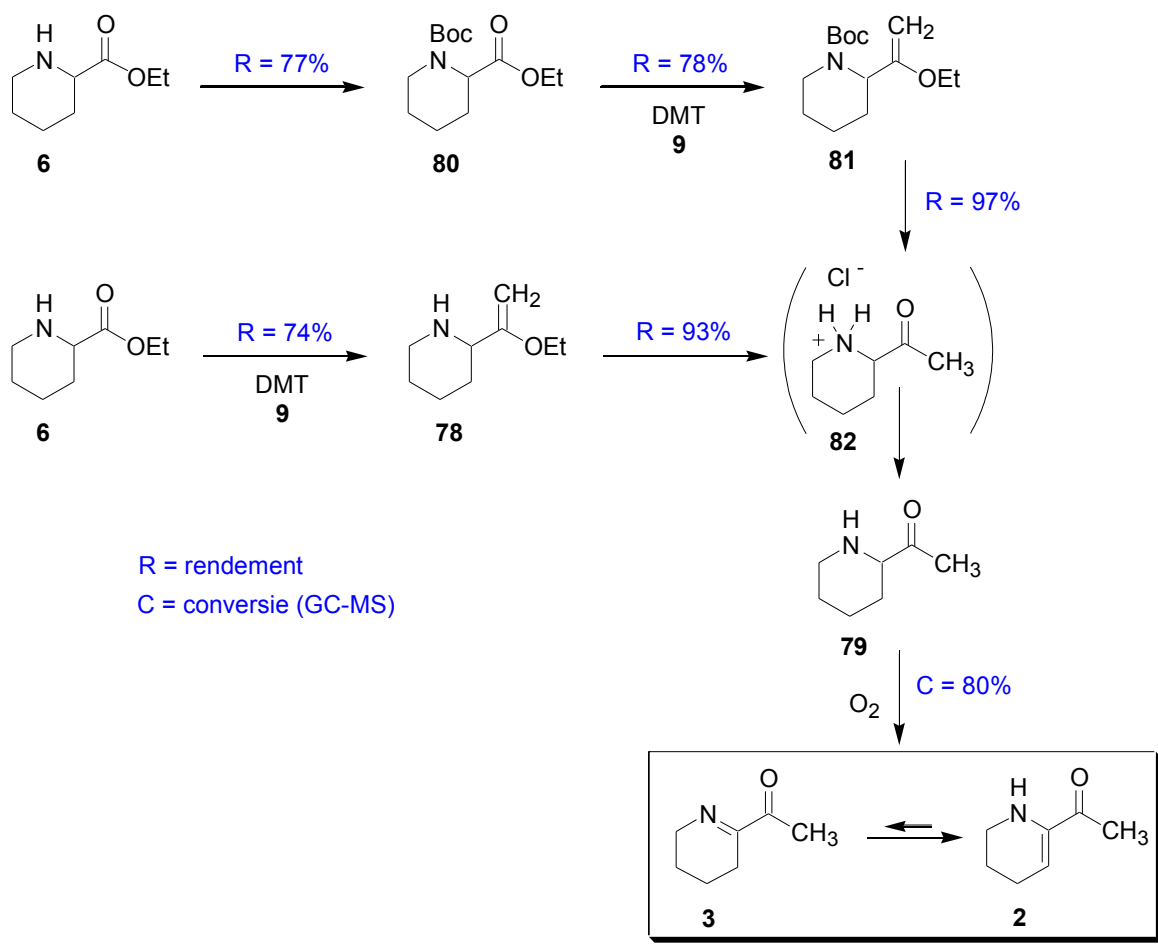
9

De HCl-zouten **82** en **86** van resp. 2-acetylpiperidine **79** en 2-acetyl-2,3,5,6-tetrahydro-1,4-thiazine **32** werden voldoende stabiel bevonden om als geschikte precursors te fungeren. Ook een *N*-Boc-beschermingssynthese werd uitgevoerd ter bevordering van de stabiliteit. Tot slot konden de aroma's vrijgesteld worden door een 1N of 2N waterige NaOH oplossing toe te voegen onder zuurstofatmosfeer aan de precursors. Benadrukt moet worden dat de oxidatiestap in het verleden niet doorging. Door te opteren voor een 100% zuurstofatmosfeer werd een intense aromageur waargenomen.

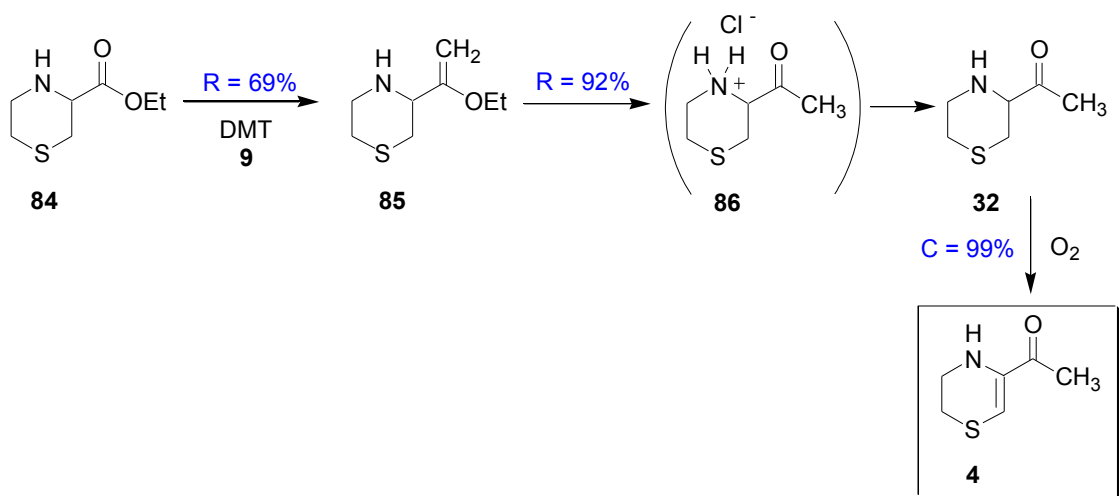
De rechtstreekse synthese van de rijstaromacomponent **1** kende net als in het verleden moeilijkheden (Deblander, 2004). Toch werd er ditmaal in geslaagd om L-proline te veresteren en om de methyleningsreactie door te voeren. Op die manier konden zowel de twee eerste stappen van de beschermde als onbeschermde reactiewegen vergeleken worden, als het nut van de Boc-groep voor de methyleningsreactie.

Onderstaande schema's geven een betere kijk op wat het voorbije jaar verwezenlijkt werd:

Synthese van de broodaromacomponent



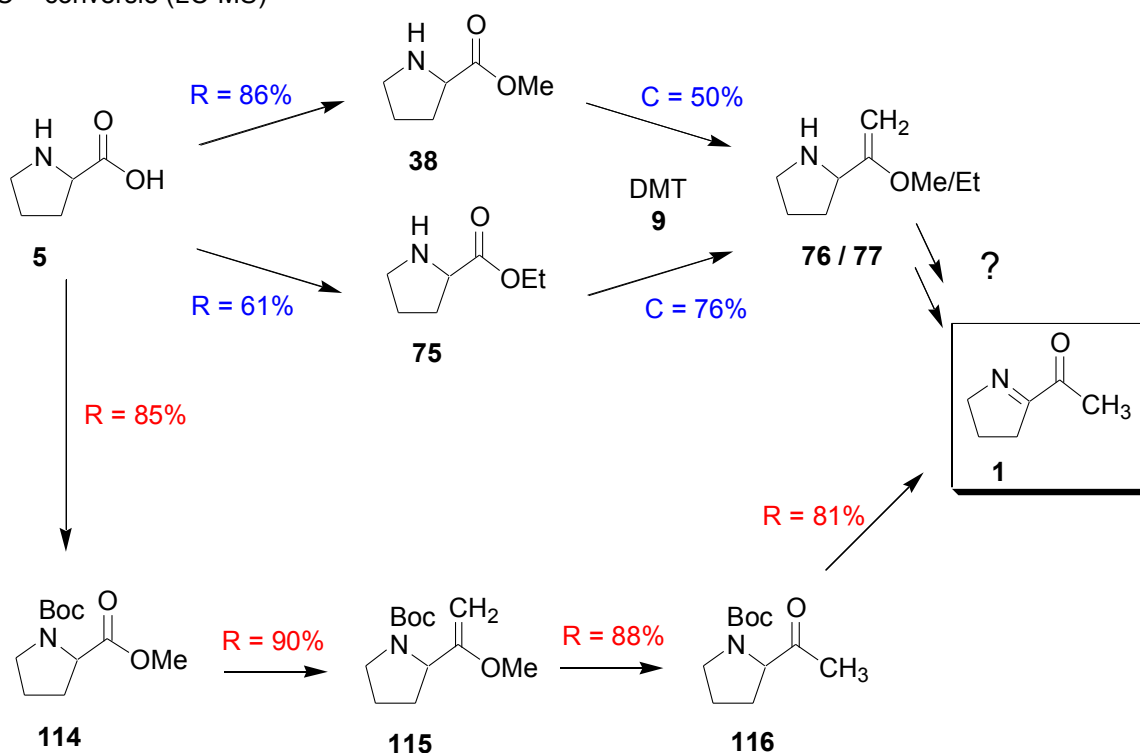
Synthese van aroma van gebakken rundsvlees



Synthese van de rijstaromacomponent

R = rendement

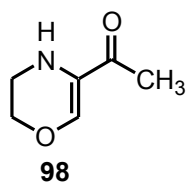
C = conversie (LC-MS)



Verder onderzoek op deze laatste synthese zou moeten gebeuren om een vergelijking te kunnen maken met de *N*-beschermingssynthese (in het rood) (Deblander, 2004).

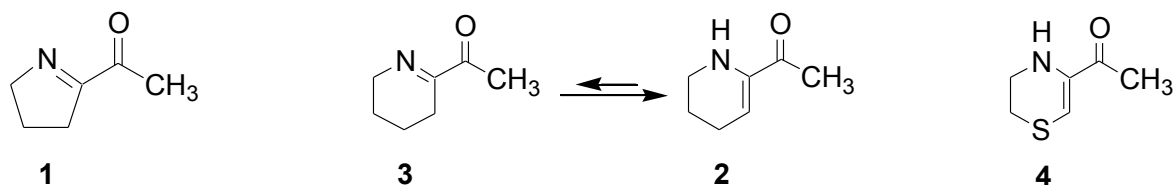
Ook werd getracht om de rijstaromacomponent **1** te synthetiseren via organoboorzuur-gemedieerde reacties, echter zonder succes.

Tot slot werden tevergeefs enkele pogingen ondernomen om de analoge heterocyclische ringstructuur 5-acetyl-2,3-dihydro-1,4-morfoline **98** te synthetiseren. De bedoeling was om ook hier DMT **9** als methyleningsreagens uit te testen en te onderzoeken of deze component **98** geurende eigenschappen heeft. Ook hier is verder onderzoek vereist.

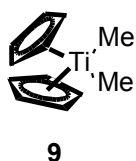


Summary

The aim of this research was to develop an efficient and concise syntheses for several Maillard aroma compounds, particularly 2-acetyl-1-pyrroline **1**, 6-acetyl-1,2,3,4-tetrahydropyridine **2** and its tautomer 6-acetyl-2,3,4,5-tetrahydropyridine **3** and 5-acetyl-2,3-dihydro-1,4-thiazine **4**. The main concern was to create a procedure where the release of the odor compounds from a stable precursor could be controlled. Since molecules **1** en **2** were alternatively synthesized by an *N*-protecting protocol, the necessity of this protection was evaluated.



A general strategy based on the use of dimethyltitanocene (DMT) **9** and simple starting materials was proposed. The organotitanium reagent made it possible to convert the carbonyl of the ester group into the corresponding vinyl ether. Upon acid hydrolysis of the vinyl ether with a 6N aqueous hydrogen chloride solution, the acetyl group was generated.

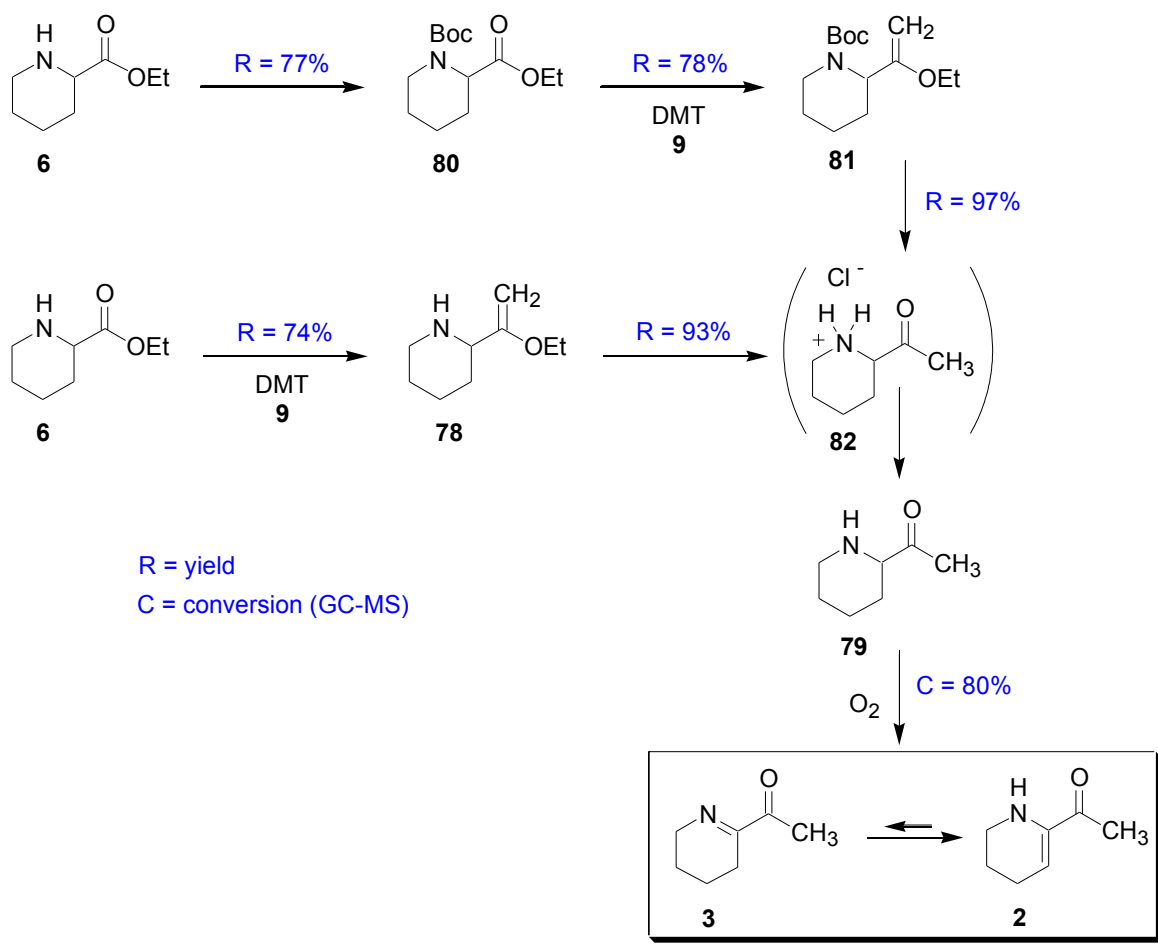


The ammonium salts **82** and **86** of respectively 2-acetylpiperidine **79** and 2-acetyl-2,3,5,6-tetrahydro-1,4-thiazine **32** were found to be stable enough to act as precursors of the corresponding aroma compounds. As a matter of fact, the release of the aromas starts by addition of a 1N or a 2N sodium hydroxide solution in water under an atmosphere of oxygen. Though, it must be emphasized that notification of this oxidation step previously never happened.

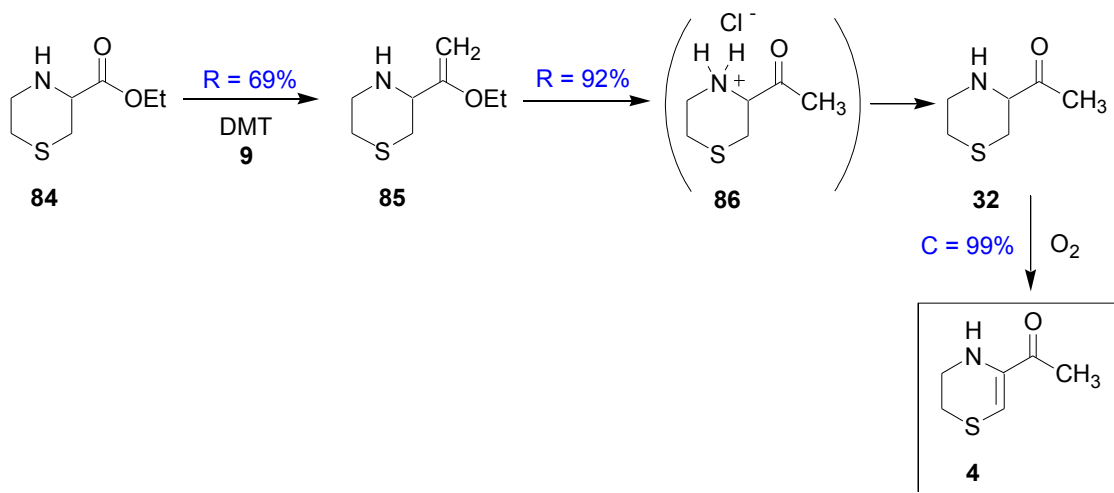
Despite of the problems the direct syntheses of the rice aroma compound **1** from proline esters had to deal with in the past (Deblander, 2004), progress was made with the esterification of L-proline. The successive methylenation occurred and the vinyl ether could be isolated in an aqueous solution.

The schemes below offer a brighter view on the realizations made last year:

Synthesis of the bread aroma component



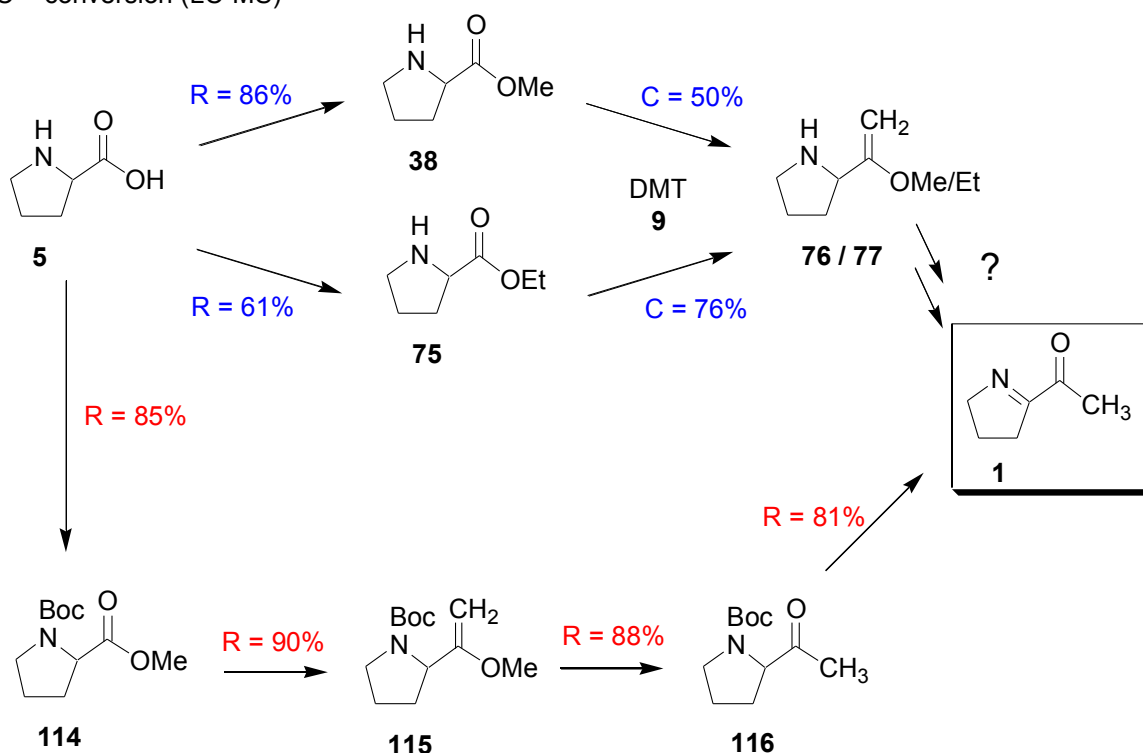
Synthesis of the aroma of baked beef



Synthesis of the rice aroma component

R = yield

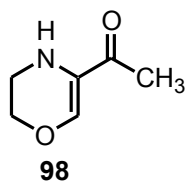
C = conversion (LC-MS)



More research is necessary for last syntheses to compare the four steps procedure with the longer procedure (*N*-protected synthesis (in red)) (Deblander, 2004).

Additionally, another attempt to create the rice aroma compound **1** by means of the boronic acid Mannich reaction was so far not successful.

Finally, some trials were undertaken in vain to synthesize the analogous heterocyclic ring structure 5-acetyl-2,3-dihydro-1,4-morpholine **98**. The aim here was to test DMT **9** as methylenation reagent and to investigate if this component has fragrance like characteristics.



Literatuurlijst

Adams, A., Tehrani, K.A., Kersiene, M. en De Kimpe, N.G. (2004). Detailed investigation of the production of the bread flavor component 6-acetyl-1,2,3,4,-tetrahydropyridine in proline/1,3 - dihydroxyaceton model systems. *J. Agric. Food Chem.* **52**, 5685 – 5693.

Alcaide B., Almendros, P. en Alonso, J.M. (2003). Ruthenium-catalyzed chemoselective *N*-allyl cleavage: novel Grubbs carbene mediated deprotection of allylic amines. *Chem. Eur. J.* **9**, 5793 – 5799.

Apintanapong, M. en Noomhorm A. (2003). The use of spray drying to micro-encapsulate 2-acetyl-1-pyrroline, a major flavour component of aromatic rice. *International Journal of Food Science and Technology* **38**, 95 – 102.

Blank, I., Devaud, S., Matthey-Doret, W. en Robert, F. (2003). Formation of odorants in Maillard model systems based on L-proline as affected by pH. *J. Agric. Food Chem.* **51**, 3643 – 3650.

Boucher, J.-L. en Stella, L. (1988). Dienophilie des olefines captodatives – Syntheses et cycloadditions de diels-alder des α -alkylthio-acrylates d'alkyle avec le cyclopentadiene : influence des facteurs steriques sur la réactivité et sur la stéréosélectivité. *Tetrahedron* **44**, 3595 – 3605.

Brachamchary, R.L., Sarkar, M.P. en Dutta, J. (1990). The aroma of rice ... and tiger. *Nature* **344**, 26 – 27.

Büchi, G. en Wüest, H. (1971). Synthesis of 2-acetyl-1,4,5,6-tetrahydropyridine, a constituent of bread aroma. *J. Org. Chem.* **36**, 609 – 610.

Buttery, R.G., Ling, L.C., Juliano, B.O. en Turnbaugh, J.G. (1983). Cooked rice aroma and 2-acetyl-1-pyrroline. *J. Agric. Food Chem.* **31**, 823 – 826.

Buttery, R.G., Stern, D.J. en Ling, L.C. (1994). Studies on flavor volatiles of some sweet corn products. *J. Agric. Food Chem.* **42**, 791 – 795.

Cai, D., Cottrell, I.F., Hughes, D.L. en Payack, J.F. (1999). A proces for the preparation of dimethyl titanocene. U.S. Patent 5,892,082.

Crabb, T.A. & Hall, M.J. (1975). Proton Magnetic Resonance Studies of Compounds with Bridgehead Nitrogen. Configurational and Conformational Studies With Derivatives of Perhydro-oxazolo[4,3-c][1,4]thiazine, *Journal of the Chemical Society Perkin II*, 203 – 211.

Deblander J. (2004). Nieuwe toetredingen tot de synthese van een aantal belangrijke Maillard aromacomponenten. Scriptie, Vrije Universiteit Brussel, 64 pp.

De Kimpe, N.G., Stevens, C.V. en Keppens, M.A. (1993). Synthesis of 2-acetyl-1-pyrroline, the principal rice flavor component. *J. Agric. Food Chem.* **41**, 1458 – 1461.

De Kimpe, N.G. en Stevens C.V. (1993). A convenient synthesis of 6-acetyl-1,2,3,4-tetrahydropyridine, the principal bread flavour component. *J. Org. Chem.* **58**, 2904 – 2906.

De Kimpe, N.G., Dhooge, W.S., Shi, Y., Keppens, M.A. en Boelens, M.M. (1994). On the Hodge mechanism of the formation of the bread flavor component 6-acetyl-1,2,3,4-tetrahydropyridine from proline and sugars. *J. Agric. Food Chem.* **42**, 1739 – 1742.

De Kimpe, N.G. en Stevens, C. (1995). Synthesis of the principal bread flavor component, 6-acetyl-1,2,3,4-tetrahydropyridine, and acetal protected precursors. *Tetrahedron* **55**, 2387 – 2402.

De Kimpe, N.G. en Keppens, M. (1996). Novel synthesis of the major flavor components of bread and cooked rice. *J. Agric. Food. Chem.* **44**, 1515 – 1519.

De Kimpe, N.G. en Rochetti, M.T. (1998). Novel synthesis of 5-acetyl-2,3-dihydro-1,4-thiazine, a very intense roasty, popcornlike odorant. *J.Agric.Food Chem.* **46**, 2278 – 2281.

Duby, P. en Huynh-Ba, T. (1995). Preparation of 2-acetyl-1-pyrroline compositions. U.S. Patent 5,446,171.

Favino, T.F., Fronza, G., Fuganti, C., Fuganti, D., Grasselli, P. en Mele, A. (1996). Penicillin acylase-mediated synthesis of 2-acetyl-1-pyrroline and of 2-propionyl-1-pyrroline, key roast-smelling odorants in food. Inclusion complexes with β -cyclodextrin and their NMR and MS characterisation. *J. Org. Chem.* **61**, 8975 – 8979.

Gudmundsdóttir, A.D., Klima, R.F.; Muthukrishnan, S., Murthy, R.S., Sankaranarayanan, J., Stahlecker, H.M., Patel, B. en Singh, P.N.D. (2005). An efficient one-pot synthesis of pyrrolines and tetrahydropyridines from their chloro-precursors via in situ aza-Wittig reaction. *Tetrahedron Letters* **46**, 4213 – 4217.

Harrison, T.J. en Dake, G.R. (2005). An expeditious, high-yielding construction of the food aroma compounds 6-acetyl-1,2,3,4-tetrahydropyridine en 2-acetyl-1-pyrroline. *J. Org. Chem.* **70**, 10872 – 10874.

Hofmann, T. en Schieberle, P. (1995). Evaluation of the key odorants in a thermally threatened solution of ribose and cysteine by aroma extract dilution techniques. *J. Agric. Food Chem.* **43**, 2187 – 2194.

Hofmann, T., Hässner, R. en Schieberle, P. (1995). Determination of the chemical structure of the intense roasty, popcorn-like odorant 5-acetyl-2,3-dihydro-1,4-thiazine. *J. Agric. Food Chem.* **43**, 2195 – 2198.

Hofmann, T. en Schieberle, P. (1998a). Flavor contribution and formation of the intense roast-smelling odorants 2-propionyl-1-pyrroline and 2-propionyltetrahydropyridine in Maillard-type reactions, *J. Agric. Food Chem.* **46**, 2721 – 2726.

Hofmann, T. en Schieberle, P. (1998b). 2-Oxopropanal, hydroxy-2-propane and 1-pyrroline. Important intermediates in the generation of the roast-smelling food flavor compounds 2-acetyl-1-pyrroline and 2-acetyl-tetrahydropyridine. *J. Agric. Food Chem.* **46**, 2270 – 2277.

Hofmann, T. en Schieberle, P. (1998c). New and convenient synthesis of the important roasty, popcorn-like smelling food aroma compounds 2-acetyl-1-pyrroline and 2-

acetyltetrahydropyridine from their corresponding cyclic α -amino acids. *J. Agric. Food Chem.* **46**, 616 – 619.

Howard, T. R., Lee, J. B. en Grubbs, R. H. (1980). Titanium metallocarbenometalla-cyclobutane reactions: stepwise metathesis. *J. Am. Chem. Soc.*, **102**, 6876 – 6878.

Huang, T., Su, Y. en Ho, C. (1998). Mechanistic studies on the formation of thiazolidine and structurally related thiazines in a cysteamine/2,3-butanedione model system. *J. Agric. Food Chem.* **46**, 664 – 667.

Huffman, M. (2001). Stabilization of the reagent dimethyltitanocene. U.S. Patent 6,255,550.

Hunter, I.R., Walden, M.K., Scherer, J.R. en Lundin R.E. (1969). Preparation and properties of 1,4,5,6 tetrahydro-2-acetopyridine, a cracker-odor constituent of bread aroma. *Cereal Chem.* **46**, 189 – 195.

Kogami Y. & Okawa, K. (1987). Synthesis of optically active 3-morpholinecarboxylic acid and tetrahydro-2H-1,4-thiazine-3-carboxylic acid. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **60**, 2963 -2965.

Münch, P. en Schieberle, P. (1998). Quantitative studies on the formation of key odorants in thermally treated yeast extracts using stable isotope dilution assays. *J. Agric Food Chem.* **46**, 4695 – 4701.

Nakajima, K., Takai, F., Tanaka, T. en Okawa, K. (1977). Studies on aziridine-2-carboxylic acid. Synthesis of the optically active L-aziridine-2-carboxylic acid and its derivatives. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **51**, 1577 – 1578.

Nakajima, K., Oda, H. en Okawa, K. (1982a). Studies on 2-aziridinecarboxylic acid. Convenient synthesis of optically active S-Alkylcysteine, *threo*-S-alkyl- β -methylcysteine, and lanthionine derivatives via the ring opening reaction by several thiols. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **56**, 520 – 522.

Nakajima, K., Oda, H. en Okawa, K. Studies on 2-aziridinecarboxylic acid (1982b). Synthesis of β -alkoxy- α -amino acids via ring-opening reaction of aziridine. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **55**, 3049 – 3050.

Payack, J.F., Hughes D.L., Cai, D., Cottrel, I.F. en Verhoeven, T.R. (2004). Dimethyl-titanocene. *Organic Syntheses* **10**, 355.

Petasis, N.A. en Lu, S. (1995). Methylenations of heteroatom-substituted carbonyls with dimethyl titanocene. *Tetrahedron Letters* **36**, 2393 – 2396.

Rewicki, D., Tressl, R., Ellerbeck, U., Kersten, E., Burgert, W., Gorzynski, M., Hauck, R.S. en Helak, B. (1993). In: *Progress flavour precursor studies* (Schreier P. & Winterhalter P., Eds)., Allured Publishing, Illinois, VSA, pp. 301

Schieberle, P. en Grosch, W. (1989). Bread Flavor. *American Chemical Society* **23**, 258-267.

Schieberle, P. (1989). Formation of 2-acetyl-1-pyrroline and other important flavor compounds in wheat bread crust. *American Chemical Society* **24**, 268 – 275.

Schieberle, P. (1991). Primary odorants in popcorn. *J. Agric. Food Chem.* **39**, 1141-1144

Schieberle, P. (1995). Quantification of important roast-smelling odorants in popcorn by stable isotope dilution assays and model studies on flavor formation during popping. *J. Agric. Food Chem.* **43**, 2442 – 2448.

Siebeneicher H. en Doye S. (2000). Dimethyltitanocene Cp_2TiMe_2 : a useful reagent for C-C and C-N Bond Formation. *J. Prakt. Chem.* **1**, 342.

Sisko, J. (1998). A one-pot synthesis of 1-(2,2,6,6-tetramethyl-4-piperidinyl)-4-(4-fluorophenyl)-5-(2-amino-4-pyrimidinyl)-imidazole: a potent inhibitor of P38 MAP Kinase. *J. Org. Chem.* **63**, 4529 – 4531.

Smrt, J., Beránek, J. en Sicher, J. (1960). Esters of *N*-substituted ethyleniminecarboxylic acids. U.S. Patent 2,958,691.

Srinivas, P. en Gurudutt, K.N. (2003). Process for the preparation of 2-acetyl-1-pyrroline, the basmati rice flavorant. U.S. Patent 6,723,856 B1.

Stas S. (2004). Evaluatie van een nieuwe organoboorzuur mannichreactie met α,α -dichlooraldehyden als carbonylcomponent. Scriptie, Vrije Universiteit Brussel, 84 pp.

Tebbe, F. N., Parshall, G. W. en Reddy, G. S. (1978). Olefin homologation with titanium methylene compounds. *J. Am. Chem. Soc.*, **100**, 3611 – 3613.

Tonsbeek, C.H.T., Copier, H. en Plancken, A.J. (1971). Isolation of 2-acetyl-2-thiazoline from beef broth. *J. Agric. Food. Chem.* **18**, 926 – 928.

Vailaya, A., Wang, T., Chen, Y. en Huffman, M. (2001). Quantitative analysis of dimethyl titanocene bij iodometric titration, gas chromatography and NMR. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **25**, 577 – 588.

Yong, L.F., Acree, T.E., Lavin, E.H. en Butts, R.M. (1989). Aroma Chemistry of Crackers. *American Chemical Society* **25**, 276 – 284.

Sites:

- 1) http://knowledge.biotech.or.th/doc_upload/2004115162854.doc
- 2) <http://www.indiamart.com/skflorescences>
- 3) <http://www.orgsyn.org/orgsyn/orgsyn/prepContent.asp?prep=v79p0019>
- 4) <http://www-safety.deas.harvard.edu/services/oxygen.html>