



UNIVERSITÀ  
DI PAVIA

## DIPARTIMENTO DI SCIENZE DEL FARMACO

Direttrice Chiar.ma Prof.ssa Simona Collina

**LAUREA MAGISTRALE A CICLO UNICO IN  
CHIMICA E TECNOLOGIA FARMACEUTICHE**

***Strategie biomimetiche e catalitiche per l'accesso  
enantioselettivo a scaffold azapoliciclici complessi***

Relatore: Chiar.ma Prof.ssa Simona Collina

Correlatore: Dr. Emanuele Casali

Tesi di Laurea Magistrale a Ciclo Unico di  
*Alessia D'Ercole*

Anno Accademico 2025/2026



# Indice

<b>1</b>	<b>Abstract</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Introduzione</b>	<b>4</b>
2.1	Le sostanze naturali . . . . .	4
2.1.1	Gli alcaloidi . . . . .	6
2.2	Aspidospermidina . . . . .	10
2.2.1	Approcci sintetici . . . . .	11
2.2.1.1	Approcci recenti . . . . .	12
2.3	Reazioni biomimetiche . . . . .	13
2.3.0.1	Il razionale naturale . . . . .	13
2.3.1	Mimesi in laboratorio . . . . .	17
2.3.2	Catalisi con Rame e Ferro . . . . .	22
2.3.2.1	Rame . . . . .	24
2.3.2.2	Ferro . . . . .	27
2.4	Risoluzione cinetica . . . . .	29
<b>3</b>	<b>Scopo della tesi</b>	<b>32</b>
3.1	Analisi retrosintetica . . . . .	32
<b>4</b>	<b>Discussione e risultati</b>	<b>34</b>
4.1	Protezione dell'azoto indolico . . . . .	35
4.2	Olefinazione . . . . .	36
4.3	Reazione di Diels-Alder . . . . .	38
4.4	Sintesi dell'acido idrossamico . . . . .	40
4.5	Sintesi del diossazolone . . . . .	42
4.6	Protezione a <i>N</i> -pivaloilidrossammato . . . . .	43
4.7	Ciclizzazione biomimetica . . . . .	45
4.7.1	Ciclizzazione biomimetica con catalizzatore al rame: variante racema . . . . .	45

4.7.2	Ciclizzazione biomimetica con catalizzatore al rame e legante chirale: risoluzione cinetica . . . . .	46
4.7.3	Ciclizzazione biomimetica con catalizzatore al ferro . . . . .	50
<b>5</b>	<b>Conclusioni</b>	<b>52</b>
<b>6</b>	<b>Sezione sperimentale</b>	<b>53</b>
6.1	Schemi di sintesi . . . . .	55
6.1.1	Sintesi composto <b>3</b> . . . . .	56
6.1.2	Sintesi composto <b>4</b> . . . . .	57
6.1.3	Sintesi composto <b>5</b> . . . . .	58
6.1.4	Sintesi composto <b>6</b> . . . . .	59
6.1.5	Sintesi composto <b>7</b> . . . . .	60
6.1.6	Sintesi composto <b>1</b> procedura con complesso di rame chirale .	61
6.1.7	Sintesi composto <b>1</b> procedura con rame . . . . .	63
6.1.8	Sintesi composto <b>8</b> . . . . .	64
6.1.9	Sintesi composto <b>1</b> procedura con ferro . . . . .	65
6.2	Abbreviazioni frequenti . . . . .	66
	<b>Bibliografia</b>	<b>70</b>

# Capitolo 1

## Abstract

Gli alcaloidi indolici rappresentano una delle classi di metaboliti secondari più vaste e farmacologicamente rilevanti nel panorama della chimica dei prodotti naturali.

Tra questi, l'aspidospermidina occupa un ruolo di particolare rilievo in quanto capostipite di un'intera famiglia di alcaloidi pentaciclici, il cui scaffold 6/5/6/6/5 costituisce il nucleo strutturale comune a molecole di grande interesse terapeutico quali vincristina, vinblastina, tabersonina e la famiglia delle ierantine. Proprio per via di questa centralità biosintetica, l'aspidospermidina si presta ad essere un intermedio di sintesi privilegiato per l'accesso a molecole più complesse con promettenti attività in campo antimalarico e antitumorale.

Il presente lavoro di tesi si inserisce in questo contesto proponendo lo sviluppo di una strategia sintetica multistep volta all'ottenimento di uno *scaffold* azapoliciclico reminiscente dell'aspidospermidina, con particolare attenzione all'impiego di catalizzatori a base di metalli di transizione abbondanti, economici e sicuri quali il rame e il ferro.

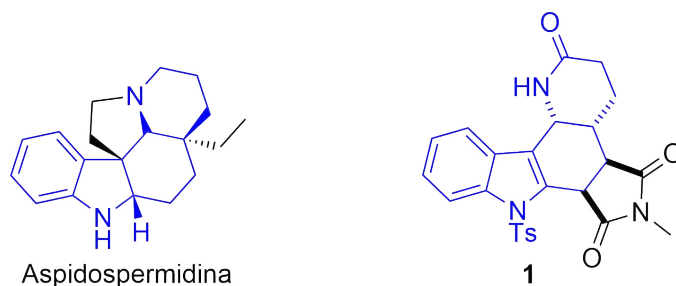


Figura 1.1: Confronto della struttura dell'aspidospermidina e della molecola target (1)

L'approccio adottato si ispira alla natura. La chimica biomimetica è quella branca della chimica organica che mira a riprodurre in laboratorio le trasformazioni enzimatiche che la natura realizza con straordinaria efficienza e selettività. In questo senso,

la ciclizzazione biomimetica chiave della strategia sintetica si ispira al meccanismo delle cascate nitrenoidi mediate da metalli di transizione, sviluppate in letteratura e ottimizzate all'interno del laboratorio ospitante.

La sequenza sintetica sviluppata si articola in sei passaggi a partire dalla 1*H*-indolo-3-carbaldeide (**2**), come riportato in *figura 1.2*. Il primo step prevede la protezione dell'azoto indolico mediante tosilazione (**3**). L'introduzione del gruppo tosile persegue un duplice obiettivo: da un lato riduce la nucleofilicità dell'azoto e disattiva parzialmente il sistema  $\pi$  dell'indolo, dall'altro stabilizza i cicloaddotti di Diels-Alder come riportato in letteratura. Il secondo step consiste in un'olefinazione di Wittig (*Z*)-selettiva (**4**). La geometria del diene condiziona direttamente la diastereoselettività della successiva reazione di Diels-Alder che consente di costruire l'anello C dello scaffold dell'aspidospermidina (**5**). Il quarto step è la sintesi dell'acido idrossamico a partire dall'estere etilico del cicloaddotto che costituisce l'intermedio comune (**6**) a partire dal quale si diramano le due varianti catalitiche oggetto di studio.

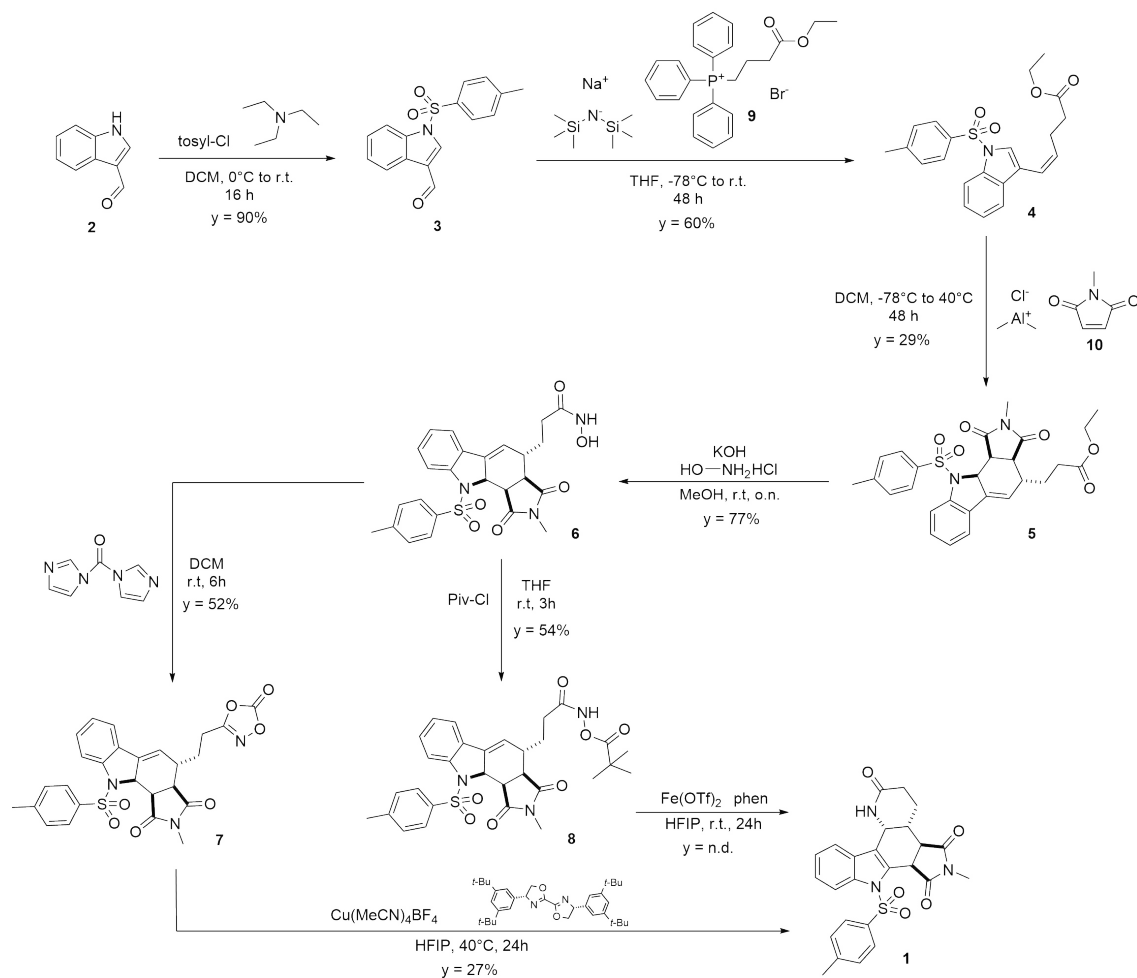


Figura 1.2: Schema di sintesi della molecola target

Per la via catalizzata da rame, l'acido idrossamico (**6**) viene convertito nel corrispondente diossazolone (**7**) per trattamento con carbonildiimidazolo (CDI). Il diossazolone rappresenta il precursore del nitrenoide acilico elettrofilo che, in presenza del catalizzatore al rame e legante chirale, innesca la cascata di ciclizzazione biomimetica in maniera asimmetrica mediante risoluzione cinetica. Nel dettaglio in questa via si osserva una parziale e timida induzione di asimmetria nel prodotto **1** (e.r. 55:45) come da analisi HPLC.

Per la via biomimetica catalizzata da ferro, l'acido idrossamico (**6**) viene invece protetto come *N*-pivaloilidrossammato (**8**). Il gruppo pivaloile funge da gruppo attivante per la generazione dell'intermedio acil-nitrenico mediato dal ferro. Tuttavia questa via non ha consentito di ottenere la molecola target (**1**).

In conclusione, questo lavoro dimostra la validità dell'approccio biomimetico catalizzato da rame per la costruzione di scaffold azapoliciclici reminiscenti dell'aspidospermidina, e ne esplora per la prima volta la variante asimmetrica mediante risoluzione cinetica. I risultati ottenuti aprono le porte ad ulteriori sviluppi. Parallelamente, la strada della catalisi con ferro, sebbene non ancora conclusiva su questo substrato, resta di grande interesse nell'ottica di una chimica più sostenibile e rappresenta una promettente direzione di ricerca futura.

# Capitolo 2

## Introduzione

### 2.1 Le sostanze naturali

Da sempre l'essere umano si ispira alla natura cercando di imitare gli effetti curativi di piante e altri organismi nel tentativo di porre rimedio a varie patologie.

Con il progresso delle tecniche chimiche, i principi attivi sono stati isolati dalle piante e caratterizzati dal punto di vista strutturale portando così al quasi totale disuso delle droghe, dove per droga si intende la parte di un organismo vivente (pianta, fungo, animale o microrganismo) che contiene uno o più principi attivi.

Alcuni esempi (*figura 2.1*) sono la morfina, isolata nel 1804 dai semi del *Papaver somniferum*, seguita poi dalla caffeina, dalla chinina, avente importantissime applicazioni antimalariche, quindi dalla nicotina e dalla cocaina<sup>[1]</sup>.

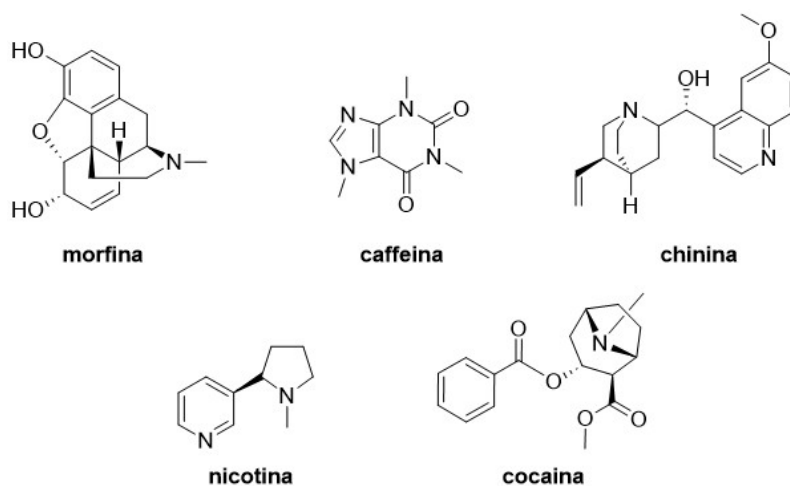


Figura 2.1: Esempi di alcaloidi isolati

Molte sostanze naturali sono state poi sintetizzate in laboratorio e, mediante modifiche chimiche e la sintesi totale di analoghi strutturali, si sono ottenuti principi attivi più efficaci, sebbene alcune sostanze naturali non siano mai state superate.

Le sostanze naturali si dividono in metaboliti primari e secondari. I metaboliti primari sono fondamentali per la sopravvivenza dell'organismo e comprendono carboidrati, acidi grassi, amminoacidi e acidi nucleici, hanno ruolo energetico e strutturale. Alcuni metaboliti primari sono precursori dei metaboliti secondari. I metaboliti secondari non sono direttamente coinvolti nei processi vitali degli organismi, ma sono cruciali per l'interazione con l'ambiente, tant'è che alcuni vengono prodotti solo in risposta a specifici stress. I metaboliti secondari sono sintetizzati a partire da poche e piccole strutture di partenza (figura 2.2)<sup>[1]</sup>:

- Gli amminoacidi che sono la principale fonte di azoto e sono ovviamente alla base di tutti i metaboliti secondari peptidici (ad esempio vancomicina e penicillina);
- L'acido shikimico che è il precursore di composti aromatici;
- L'acetato rappresenta un precursore fondamentale nella biosintesi di antibiotici macrociclici, polifenoli e prostaglandine attraverso una specifica via metabolica, nonché di steroidi e terpenoidi mediante una distinta via biosintetica.

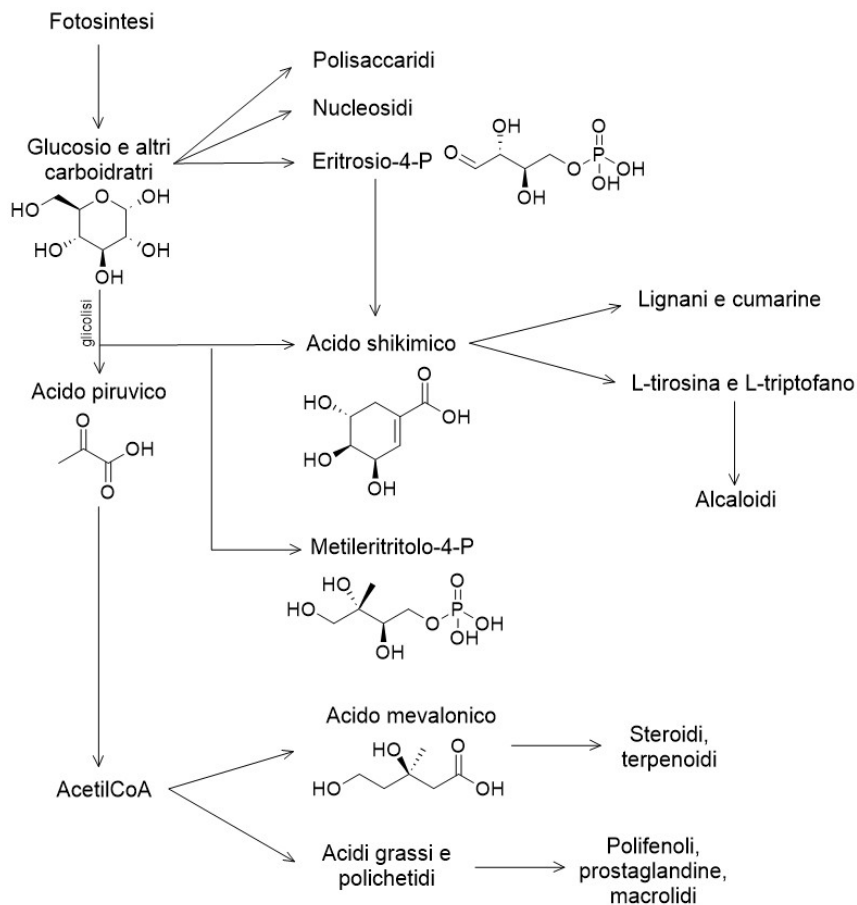


Figura 2.2: Schema semplificato delle vie biosintetiche<sup>[1]</sup>

## 2.1.1 Gli alcaloidi

Gli alcaloidi rappresentano una classe di metaboliti secondari molto vasta e strutturalmente variegata contenente almeno un atomo di azoto. Ad oggi sono circa 32.000 le molecole classificate come alcaloidi. Sebbene siano principalmente identificabili nelle piante, non per questo sono assenti nei microorganismi e negli animali.

Gli alcaloidi vengono spesso classificati in base alla natura della struttura contenente azoto (pirrolidinici, piperidinici, chinolinici, isochinolinici, indolici) o in base alla famiglia (ad esempio morfina ed ergotina) come in figura *figura 2.3*<sup>[1]</sup>.

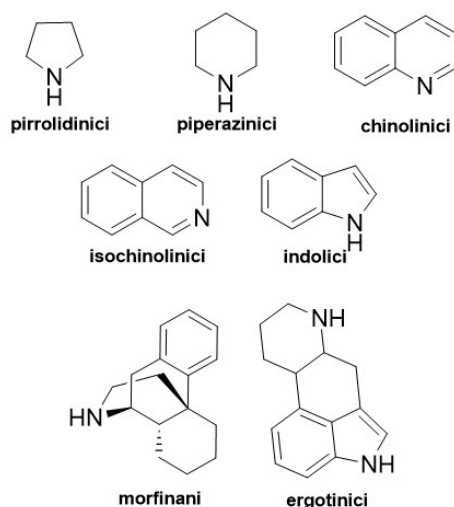


Figura 2.3: Classificazione degli alcaloidi

L'azoto presente è solitamente derivante da un amminoacido, infatti nella molecola spesso è riconoscibile l'intero scheletro dell'amminoacido sebbene mancante del carbonio carbossilico che viene perso in seguito a decarbossilazione. In virtù di ciò è possibile suddividere gli alcaloidi in gruppi basati sui precursori amminoacidici. Occorre inoltre segnalare che un'ampia classe di alcaloidi acquisisce gli atomi di azoto attraverso reazioni di transaminazione. Anche i *building blocks* provenienti dalle vie dell'acetato, dello shikimato o del metileritritolo fosfato sono incorporati nelle strutture degli alcaloidi. Di fatto pochi piccoli "mattoncini" partecipano alla costruzione della più variegata famiglia di molecole naturali<sup>[1]</sup>.

La maggior parte degli alcaloidi mostrano un'ampia gamma di risposte biologiche e possono presentare notevole potenza. L'attività biologica degli alcaloidi è riconducibile spesso alla capacità del gruppo amminico di protonarsi a pH fisiologico, facilitando così l'interazione con residui amminoacidici carichi negativamente delle proteine bersaglio.

Molti alcaloidi sono attualmente utilizzati come farmaci, tra cui la vincristina, o come intermedi utili, tra cui la più abbondante vinblastina (*figura 2.4*).

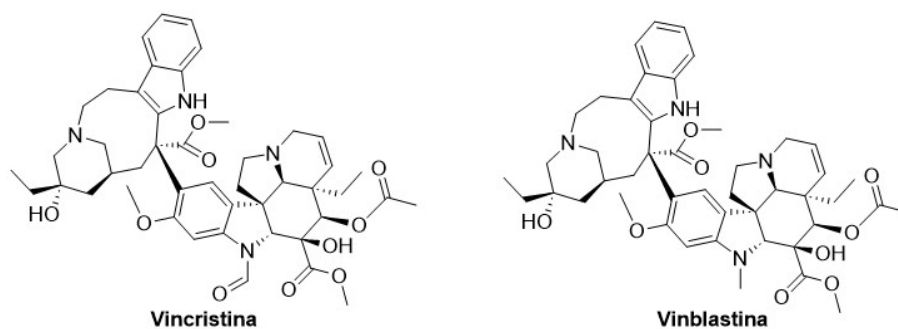


Figura 2.4: Esempi di alcaloidi come principi attivi

Gli alcaloidi indolici in particolare rappresentano un importante *pool* a cui poter attingere o a cui ispirarsi durante le fasi di *drug discovery*.

La somiglianza strutturale degli alcaloidi indolici con le ammine endogene e i neurotrasmettitori ha portato la ricerca a studiare la possibile attività neurologica di queste molecole, in particolare questa famiglia di alcaloidi ha la possibilità di integrare con i *pathways* della serotonina, con potenziali interessanti applicazioni sul sistema nervoso centrale. Già nel 1954 Woolley e Shaw proposero che molecole come l'LSD e la yohimbina (entrambi alcaloidi indolici, *figura 2.5*) causano alterazioni psichiche perché "mimano" o interferiscono con la serotonina<sup>[2]</sup>.

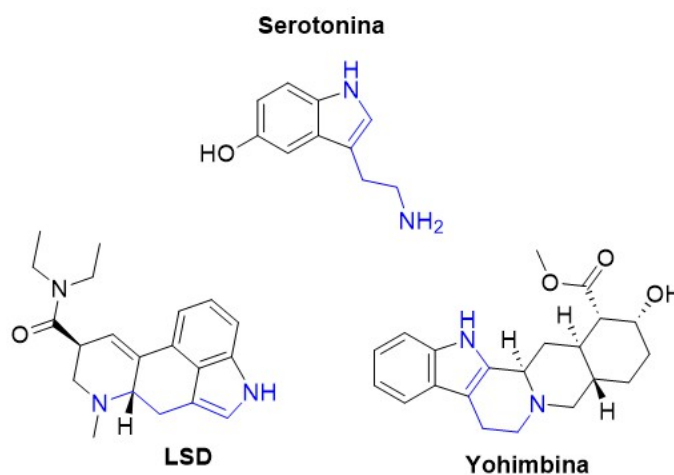


Figura 2.5: Somiglianza strutturale tra alcaloidi indolici e ammine endogene<sup>[2]</sup>

La metilaplisinopsina, isolata da *Aplysinopsis reticulata* da Baijrd-Lambert et al., ha mostrato attività inibitorie nei confronti delle monoamino ossidasi (MAO) e capace di spiazzare la serotonina dai suoi recettori. Altre molecole di questo gruppo, isolate da *Smenospongia aurea*, sono state studiate per la capacità di spiazzare il legame degli antagonisti ad alta affinità per i recettori umani 5-HT<sub>2C</sub> e 5-HT<sub>2A</sub><sup>[3][4]</sup>.

Diversi alcaloidi indolici hanno mostrato un effetto antiproliferativo attraverso dif-

ferenti meccanismi, in particolare mediante l'induzione dell'apoptosi o l'arresto del ciclo cellulare, in diverse linee cellulari tumorali, compresi i fenotipi resistenti a più farmaci (multidrug-resistant).

La vincristina (*vide supra*), un principio attivo importante in terapia antitumorale e inserito nella lista di farmaci essenziali dall'OMS, si lega alla tubulina impedendone la polimerizzazione e bloccando la mitosi.

L'alcaloide 11-metossitabersonina, isolato da *T. bovina*, ha inibito significativamente la vitalità di due linee cellulari umane di tumore al polmone A549 e H157<sup>[5]</sup>.



Figura 2.6: Struttura della 11-metossitabersonina

Gli alcaloidi indolici ierantina A e D sono stati sottoposti a screening per l'inibizione della vitalità cellulare di tre linee cellulari di epatoma SMMC-7721, HepG2 e Hep3B. Entrambi i composti hanno mostrato effetti simili tra loro nelle prime due linee cellulari, IC<sub>50</sub> di 1.66 μM e 1.33 μM per la ierantina A e 1.17 μM e 1.47 μM per la ierantina D, comparabili a quelle del controllo positivo vinorelbina. In Hep3B la ierantina D mostra attività maggiore rispetto alla ierantina A, rispettivamente IC<sub>50</sub> di 1.85 μM e 5.01 μM<sup>[6]</sup>. Inoltre, è noto in letteratura che l'intera famiglia delle ierantine (A-E) mostrano una marcata citotossicità sia nei confronti delle cellule KB umane sensibili alla vincristina sia di quelle resistenti, una caratteristica insolita tra gli alcaloidi semplici dell'Aspidosperma. Studi preliminari sul suo meccanismo d'azione hanno suggerito che la ierantina E alteri la rete dei microtubuli, inibendo così la polimerizzazione dei dimeri α e β-tubulina con meccanismo simile a quello della vincristina<sup>[7][8]</sup>.



Figura 2.7: Alcaloidi della famiglia della ierantina

In virtù dell'interessante attività di questi alcaloidi, gli stessi sono diventati target di approfonditi studi per quanto riguarda le sintesi totali. A scopo rappresentativo si presenta la sintesi totale della ierantinina A riportata dal gruppo di Jiang nel 2018 (figura 2.8)<sup>[9]</sup>.

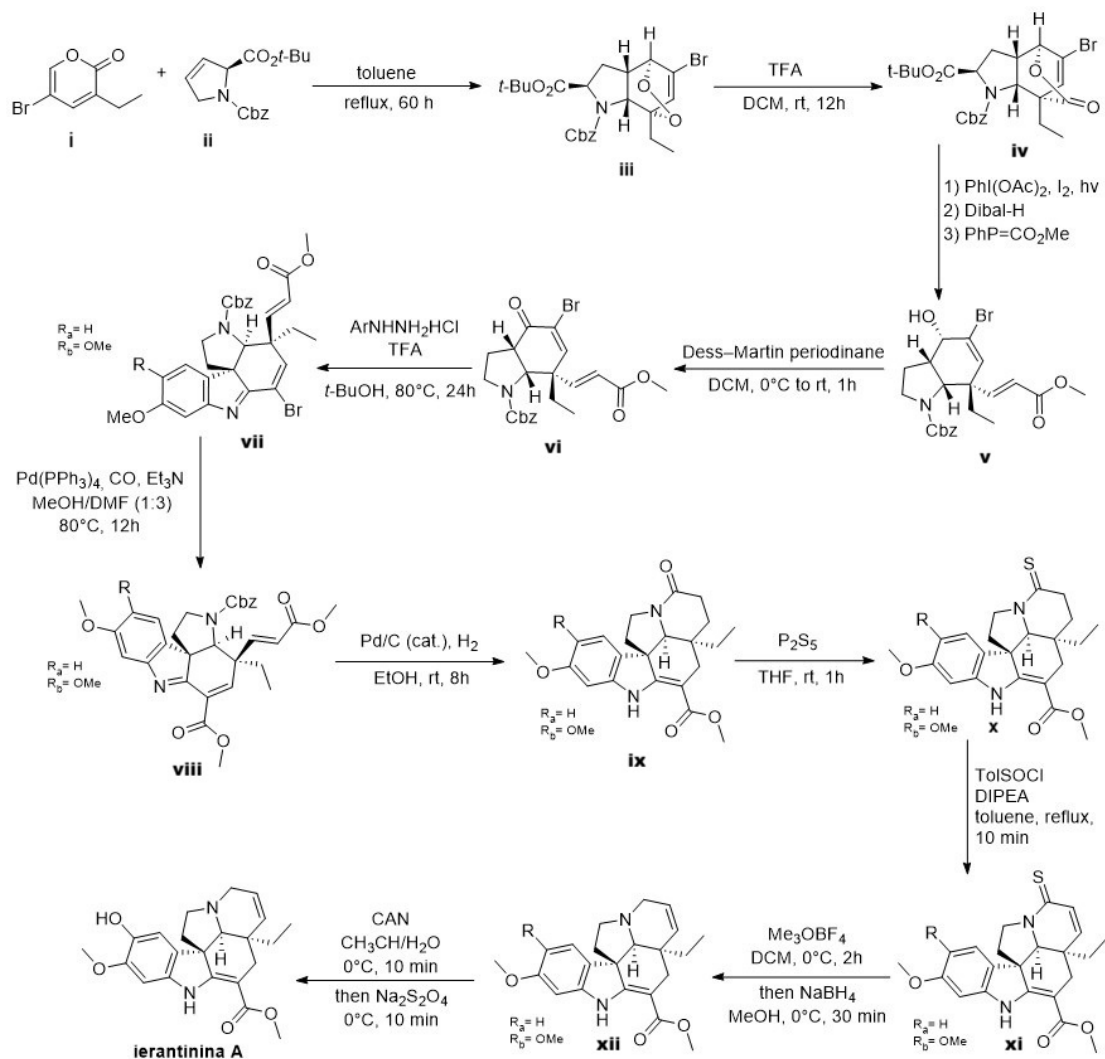


Figura 2.8: Sintesi proposta da Jiang<sup>[9]</sup>

La sintesi totale dell'ierantinina A, come riportata dal gruppo di Jiang, viene realizzata a partire da un diene bromurato (**i**) e un derivato dalla pirrolidina (**ii**) che mediante una reazione di Diels-Alder formano il cicloaddotto intermedio (**iii**). Successivamente, una sequenza di ossidazioni, riduzioni e funzionalizzazioni, tra cui una ossidazione di Dess-Martin per ottenere l'intermedio **vi**. La chiusura del sistema indolico avviene tramite una condensazione con un'aril-idrazina ed è seguito da una ciclizzazione Pd-catalizzata (**ix**). Le fasi finali prevedono una tionazione che consente di rimuovere il carbonile con il sale di Meerwein ( $\text{Me}_3\text{OBF}_4$ ) per costruire

l'intermedio **xii**. Mediante una deprotezione ossidativa si ottiene il fenolo libero del prodotto naturale.

## 2.2 Aspidospermidina

L-triptofano è il precursore amminoacidico degli alcaloidi indolici monoterprenici, la sua decarbossilazione origina la triptamina. Quest'ultima, generalmente, reagisce con l'aldeide terpenoide secologanina tramite una condensazione enzimatica nota come reazione di Pictet-Spengler e catalizzata dall'enzima strictosidina sintasi. Il prodotto è la strictosidina, evidenziata da una porzione terpenica a 9 o 10 atomi di carbonio ( $C_9$  o  $C_{10}$ ) incorporata nelle loro strutture. In base al riarrangiamento della parte terpenica, si formano tre tipi strutturali principali di alcaloidi indolici monoterprenici del tipo corinantina, aspidospermina e ibogaina<sup>[1][10]</sup>.

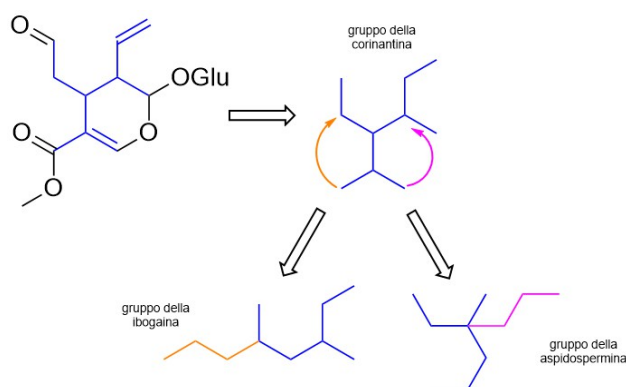


Figura 2.9: Riarrangiamento della corinantina in ibogaina e aspidospermina<sup>[10]</sup>

L'aspidospermina è un alcaloide che da più di un secolo affascina il mondo della ricerca farmaceutica e della sintesi organica. Isolata nel 1878 da Georg Fraude per la prima volta dalla corteccia di *Aspidosperma quebrancho*, da cui il nome, è stata poi oggetto di ampi studi che hanno portato alla scoperta sia dello scheletro, l'intermedio naturale aspidospermidina, sia alle prime sintesi totali.

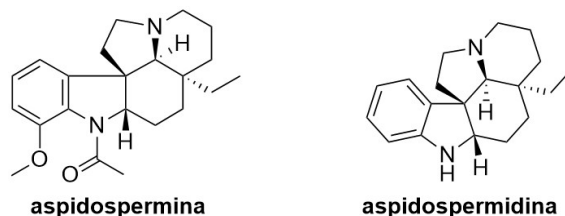


Figura 2.10: Strutture dell'aspidospermina e dell'aspidospermidina

L'aspidospermidina non è molto abbondante in natura e non ha uso tale quale come principio attivo, tuttavia i suoi derivati sia sintetici che naturali mostrano promet-

tenti attività in campo antimalarico e antitumorale. Essendo il capostipite di una intera famiglia di alcaloidi, la sua tipica struttura pentaciclica 6/5/6/6/5 risulta essere lo scaffold di molti altri alcaloidi indolici e bisindolici motivo per cui si presta bene ad essere un intermedio di sintesi per l'ottenimento di molecole più complesse.

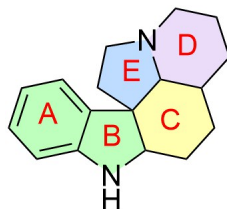


Figura 2.11: Scaffold pentaciclico dell'aspidospermidina

Si possono ricondurre all'aspidospermidina la vincristina e la vinblastina per mezzo della vindolina, che è un intermedio naturale, oltre alle ierantine e la tabersonina di cui si è parlato nel paragrafo precedente<sup>[1]</sup>.

## 2.2.1 Approcci sintetici

La prima sintesi riportata in letteratura è quella di Stork nel 1963 in cui riesce ad ottenere l'aspidospermina deacetilata. Nella sintesi di Stork (*figura 2.12*) si utilizza la chimica delle enammine, che da lui prende il nome, per costruire il carbonio quaternario centrale e l'intermedio tricyclico rigido per ottenere la chiusura dell'anello indolico, mediante la sintesi di Fischer degli indoli, con la geometria voluta<sup>[11]</sup>.

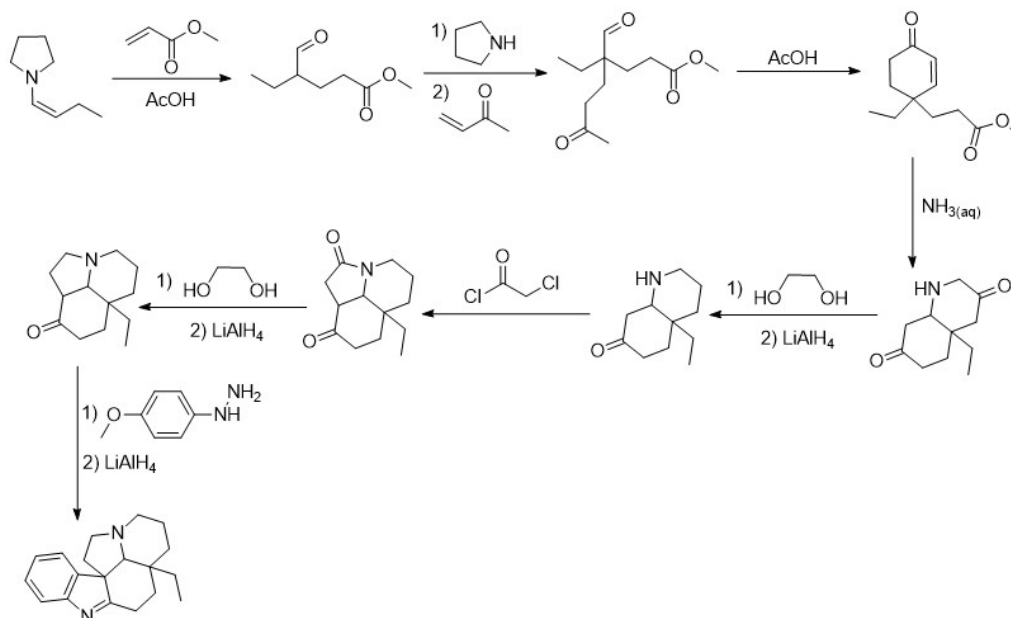


Figura 2.12: Sintesi di Stork<sup>[11]</sup>

L'utilizzo della sintesi di Fischer per gli indoli resterà nel tempo come una strategia molto comune.

### 2.2.1.1 Approcci recenti

La sintesi dell'aspidospermidina continua a rappresentare un target di grande interesse, sia per le sue potenziali applicazioni farmacologiche sia perché gli alcaloidi appartenenti a questa famiglia costituiscono da tempo un banco di prova consolidato per valutare l'efficacia e la robustezza di nuove metodologie sintetiche.

Una strategia è quella riportata dalla sintesi proposta dal gruppo di Chida nel 2021 come in *figura 2.13*<sup>[12]</sup>.

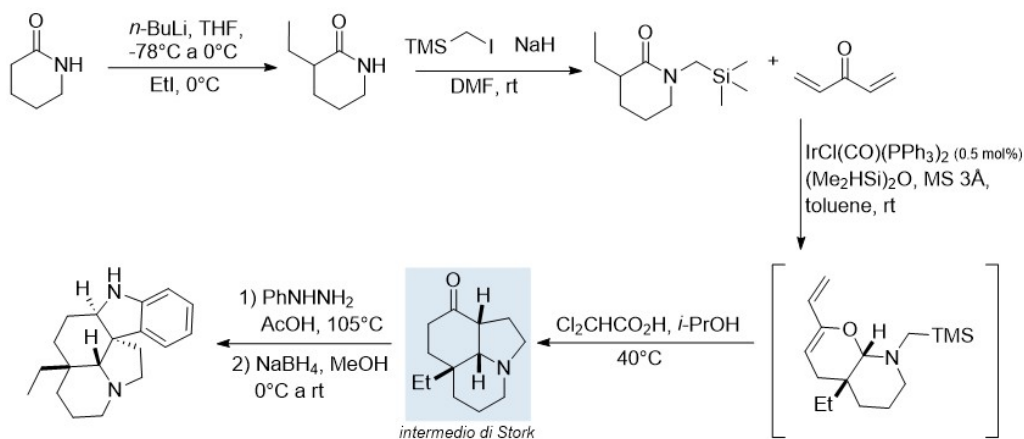


Figura 2.13: Sintesi proposta da Chida<sup>[12]</sup>

La sintesi da loro sviluppata parte dal  $\delta$ -valerolattame di cui si protegge l'azoto amidico e con una prima alchilazione si inserisce il gruppo etilico. Il lattame sostituito reagisce con il catalizzatore di Vaska e un reagente silanico, quindi per addizione di acido dicloroacetico si ottiene il chetone triciclico di Stork. Segue la sintesi dell'indolo di Fischer e la riduzione con  $\text{NaBH}_4$ , passaggi che possono essere ritrovati anche nella sintesi di Stork. La resa totale è del 19%.

Come ultimo esempio si riporta la sintesi proposta da MacMillan nel 2011 (*figura 2.14*)<sup>[13]</sup>.

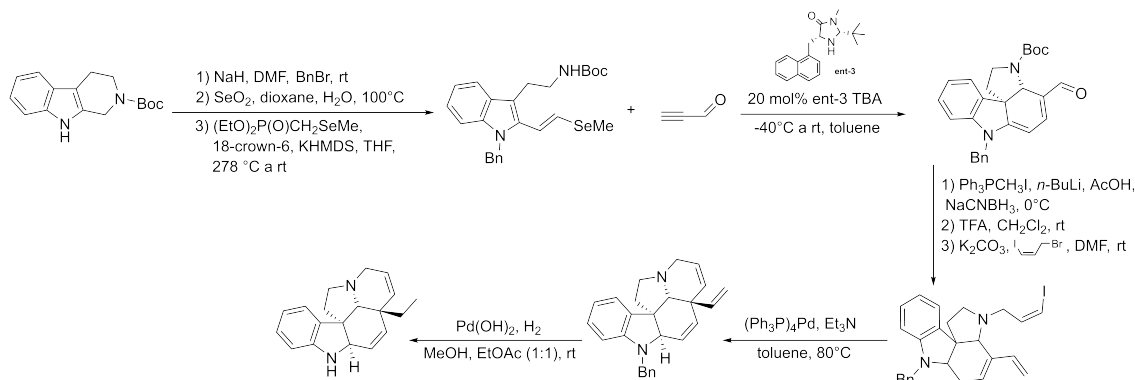


Figura 2.14: Sintesi proposta da MacMillan<sup>[13]</sup>

Con questo approccio il gruppo di MacMillan è riuscito ad ottenere in 9 step la (+)-aspidospermidina, l'enantiomero non naturale, con una resa totale del 24%.

## 2.3 Reazioni biomimetiche

La chimica biomimetica, dal greco *βίος*, vita, e *μιμησις*, imitazione, è quella branca della chimica organica che tenta di imitare le reazioni naturali e i processi enzimatici come mezzo per potenziare le capacità della chimica organica stessa<sup>[14]</sup>.

Sebbene gli enzimi catalizzino alcune trasformazioni piuttosto elaborate è generalmente possibile spiegare le reazioni utilizzando principi e meccanismi chimici consolidati, permettendo all'uomo di mimare in laboratorio i processi naturali<sup>[1]</sup>.

Le prime sintesi biomimetiche risalgono all'inizio del XX secolo, in particolare la prima sintesi riportata è la sintesi del tropinone nel 1917 ad opera di Robinson<sup>[15]</sup>.

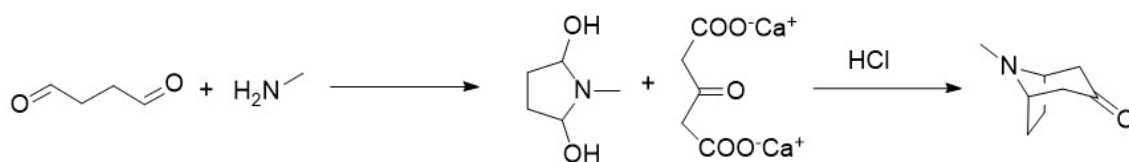


Figura 2.15: Sintesi biomimetica del tropinone di Robinson<sup>[15]</sup>

Da allora la branca della chimica che si occupa di sintesi biomimetiche ha continuato a svilupparsi.

Tra le reazioni biomimetiche di maggiore rilevanza vi sono quelle di ciclizzazione polienica ad innesco cationico, o policiclizzazioni, che comportano la formazione di strutture policicliche.

### 2.3.0.1 Il razionale naturale

In natura le ciclizzazioni sono orchestrate dagli enzimi *ciclasti* che a partire da substrati lineari derivanti da unità di dimetilallil pirofosfato (DMAPP) e isopentenil pirofosfato (IPP) riescono a catalizzare la formazione di complessi scheletri policiclici.



Figura 2.16: Struttura del dimetilallil pirofosfato e isopentenil pirofosfato

Già nella prima metà nel '900, Robinson propose che il colesterolo fosse sintetizzato a partire dallo squalene, una molecola lineare triterpenica simmetrica con numerose

insaturazioni. La sua ipotesi prevedeva che lo squalene si disponesse in una struttura ciclica, *figura 2.17*, questa ipotesi fu confutata nel 1953 da Bloch e Woodward che, mediante il *radiolabelling* del carbonio  $^{14}\text{C}$  dimostrarono che lo squalene assume una conformazione a serpentina<sup>[16]</sup>.

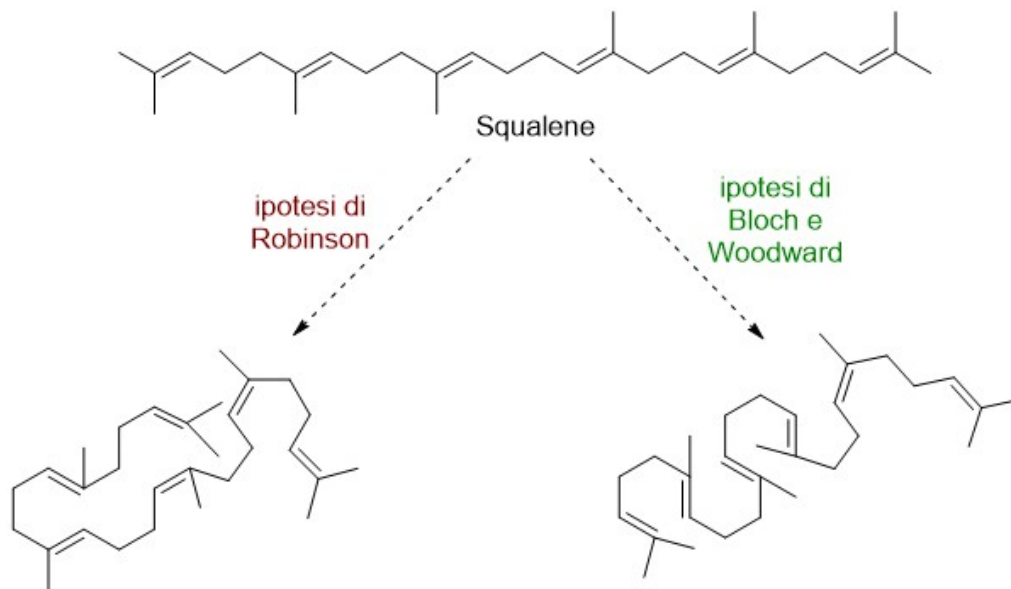


Figura 2.17: Organizzazione spaziale dello squalene<sup>[16]</sup>

Tramite approfonditi studi sia sulla lanosterolo sintasi che sulla squalene opene ciclasi, omologo batterico della lanosterolo sintasi, si è giunti alla conclusione che sono quattro i ruoli fondamentali dell'enzima per la ciclizzazione<sup>[17]</sup>:

1. Iniziazione mediante acido di Brønsted di sufficiente forza;
2. Controllo stereochimico dello stato di transizione;
3. Protezione del carbocatione abbastanza a lungo da permettere che la ciclizzazione e i riarrangiamenti avvengano secondo un unico pathway termodinamicamente favorito;
4. Stabilizzazione del carbocatione in un ambiente elettron-ricco per aumentare al velocità di reazione e quench.

Di fatto, i meccanismi di ciclizzazione, sia che avvengano mediante cascata nucleofila, elettrofila o radicalica, si articolano in tre fasi:

- Iniziazione;
- Propagazione;

- Terminazione.

Le cascate elettrofile sono guidate dagli enzimi terpene-ciclastasi (o terpene-sintasi) di classe I e II per cui varia l'iniziazione, ovvero la formazione del carbocatione, come schematizzato in *figura 2.18*. Nella classe I il clivaggio del pirofosfato è catalizzato da un acido di Lewis, solitamente  $Mg^{2+}$ , nella classe II la protonazione di un anello epossidico o di un doppio legame viene innescata da un residuo di acido aspartico. Per evitare un rapido *quenching*, il sito attivo deve escludere le molecole d'acqua, imitando così un solvente organico inerte. La stabilizzazione del catione è garantita da interazioni di tipo  $\pi$  con i residui aromatici vicini. Indipendentemente dalla classe enzimatica, la cascata viene terminata dalla deprotonazione del carbocatione o dal *quenching* con un nucleofilo<sup>[18]</sup>.

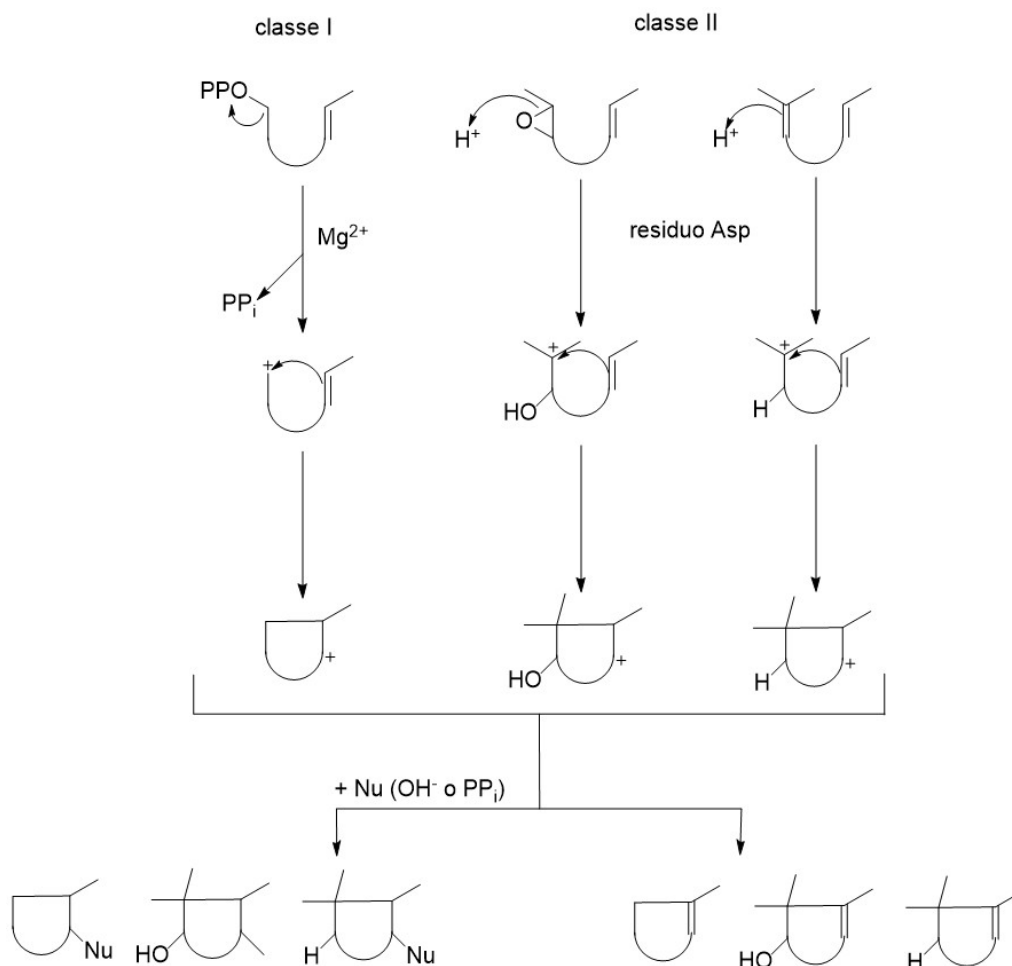


Figura 2.18: Schema della cascata elettrofila delle terpene-ciclastasi<sup>[18]</sup>

I possibili prodotti sono tutti del tipo (poli)carbociclico.

I polieteri ciclici sono i prodotti delle cascate nucleofile (*figura 2.19*). Una caratteristica comune delle cascate nucleofile è il coinvolgimento di un intermedio epossialcolico durante le reazioni di innesco e dell'apertura dell'eossido (e degli eventuali altri

eossidi presenti sullo scheletro carbonioso) per la propagazione. La formazione di questi composti intermedi richiede l'intervento di monossigenasi per la generazione del gruppo epossidico. Pertanto, un precursore polinsaturo viene epossidato enzimaticamente in un composto (poli)epossidico, che viene successivamente idrolizzato nell'eossialcol reattivo, o, in alternativa, l'eossidazione avviene su un alcol insaturo.

La terminazione delle cascate nucleofile avviene mediante protonazione (del solvente) del gruppo alcossi finale per fornire l'alcol corrispondente<sup>[18]</sup>.

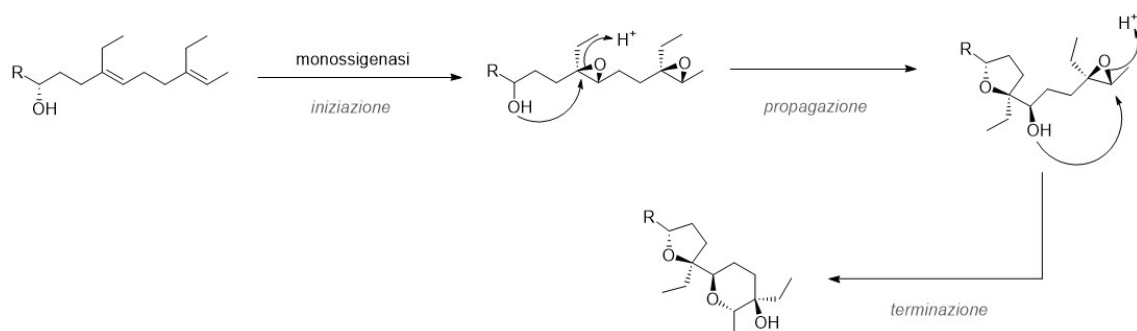


Figura 2.19: Meccanismo di reazione per la cascata nucleofila<sup>[18]</sup>

Esistono due vie enzimatiche generali per convertire i legami C-H non attivati in radicali che possono poi partecipare a cascate radicaliche prima del rilascio dei prodotti. Da una parte ci sono ferro-enzimi che si dividono in due macrogruppi, le eme-proteine della famiglia del citocromo P450 (CytP450) e le proteine non-eme, in entrambe le specie osso-ferro ad alta valenza sono in grado di scindere omoliticamente i legami C-H non attivati producendo il radicale del substrato e la specie Fe(IV/III)-OH<sup>[19]</sup>.

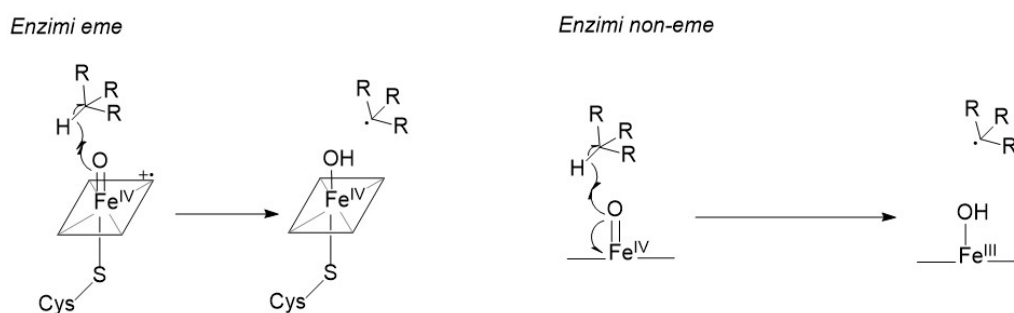


Figura 2.20: Scissione omolitica da parte di ferro-enzimi<sup>[19]</sup>

All'estremo opposto si collocano enzimi che vengono tipicamente inattivati dall'ossigeno. Questa classe di enzimi possiede tipicamente un cluster 4Fe-4S strettamente legato e sensibile all'aria, che funge da riduttore a un singolo elettrone per la molecola di SAM (S-adenosilmetionina) coordinata.

Il cluster 4Fe-4S trasferisce un elettrone alla SAM provocando la rottura del legame

C-S e la generazione di un radicale 5'-deossiadenosile (5'-dA·) che innesca la cascata radicalica<sup>[19]</sup>.

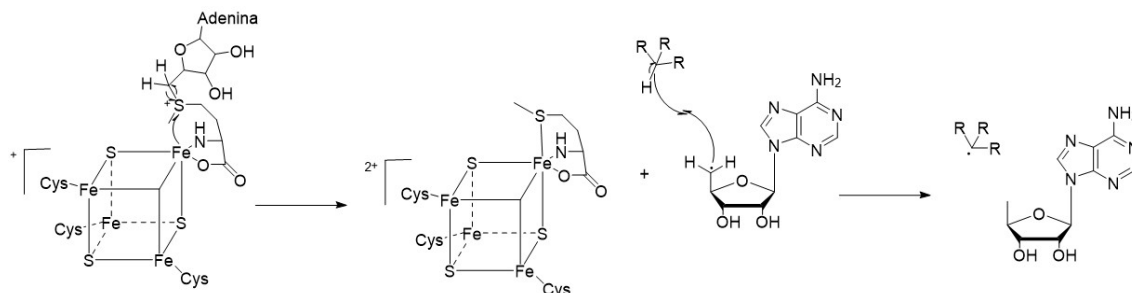


Figura 2.21: Meccanismo d'azione del cluster 4Fe-4S/SAM<sup>[19]</sup>

### 2.3.1 Mimesi in laboratorio

La ricerca scientifica ha quindi tentato di riproporre queste cascate in laboratorio sviluppando approcci biomimetici da inserire nel contesto della sintesi totale di molecole naturali.

Nel 1971 Johnson riporta la prima sintesi totale del progesterone<sup>[20]</sup>.

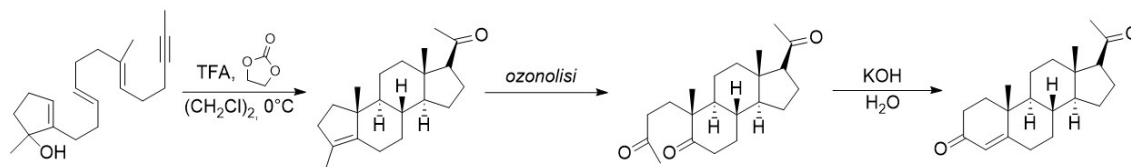


Figura 2.22: Sintesi totale del progesterone di Johnson<sup>[20]</sup>

Il precursore alcolico va incontro ad una pol ciclizzazione innescata dall'acido trifluoroacetico, sul modello della cascata elettrofila. Il composto tetraciclico così ottenuto si presenta in miscela 5:1 dell'epimero naturale 17 $\beta$ . Dopo ozonolisi e condensazione aldolica, si ottiene il progesterone come un solido cristallino contenente l'85% dell'epimero 17 $\beta$ .

All'interno di un discorso più ampio, Van Tamelen già nel 1968 propone come catalizzatore un acido di Lewis, in particolare il cloruro di stagno(IV) SnCl<sub>4</sub><sup>[21]</sup>.

Un altro esempio classico in letteratura di ciclizzazione biomimetica è quello riportato da Corey e Lin nel 1997.

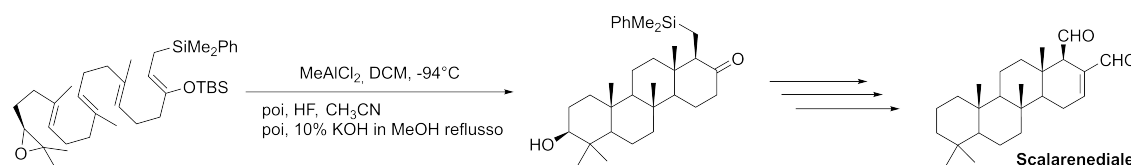


Figura 2.23: Sintesi biomimetica dello scalarendiale di Corey<sup>[22]</sup>

Nel lavoro riportano una ciclizzazione catalizzata da acido di Lewis per ottenere la prima sintesi enantioselettiva del scalaremediale<sup>[22]</sup>.

Notevoli sviluppi sono riportati nel 1999 con l'articolo di Yamamoto. Il gruppo si pone l'obiettivo di sviluppare delle "ciclas artificiali", ovvero dei catalizzatori che combinano un acido di Lewis e un acido di Brønsted chirale (LBA, *Lewis acid assisted chiral Brønsted acid*)<sup>[23, 24]</sup>.

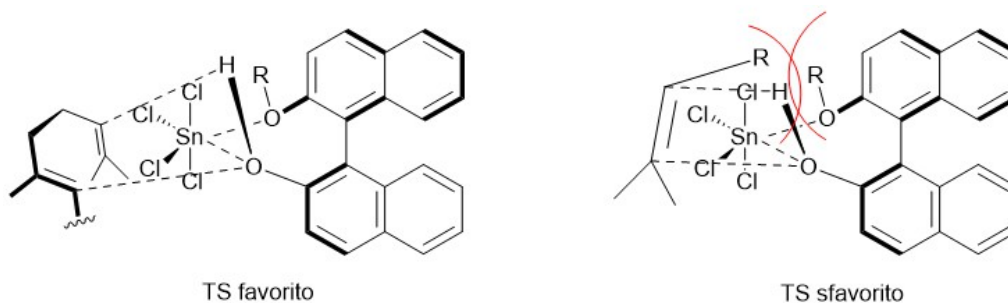


Figura 2.24: Stati di transizione delle ciclas artificiali di Yamamoto

Il catalizzatore sviluppato è un complesso tra  $\text{SnCl}_4$ , acido di Lewis, e il BINOL, acido di Brønsted, che presenta chiralità assiale. Il complesso può interagire con le facce enantiotopiche del substrato olefinico portando a due diversi stati di transizione (TS) come evidenziato in *figura 2.24*. Essendo i due TS diastereomerici, le energie associate saranno diverse e solo uno dei due TS risulterà favorito.

Questo è un ottimo esempio di come i catalizzatori possono mimare gli enzimi, infatti l'idrogeno del gruppo -OH sul BINOL funge da acido di Brønsted generando un carbocatione sul substrato, si ha inoltre controllo sulla conformazione dello stesso e la stabilizzazione dell'intermedio.

Nel 2012 il gruppo di Corey, con l'obiettivo di ottenere ciclizzazioni più enantio-selettive ragiona sull'utilizzo di un acido di Brønsted più ingombrante e un acido di Lewis più forte arrivando a proporre un complesso 1:1 di *o,o'*-dicloro-BINOL e  $\text{SbCl}_5$ <sup>[25]</sup>.

Nel 2010 MacMillan pubblica un articolo sulle policiclizzazioni radicaliche enantio-selettive via organocatalisi SOMO (*Single Occupied Molecular Orbital*). La catalisi SOMO si fonda sull'ipotesi meccanicistica secondo cui l'ossidazione a un singolo elettrone di un intermedio enamminico transitorio generi una specie attiva a 3 elettroni  $\pi$  che può partecipare agevolmente ad una serie di trasformazioni asimmetriche<sup>[26]</sup>. Condensando una aldeide opportunamente funzionalizzata con il catalizzatore imidazolinonico, gli autori riportano che, in seguito ad ossidazione, si ottiene il radical-catione che innesca una serie di ciclizzazioni radicaliche terminate da un arene. A

seguito di una seconda ossidazione si ottiene il catione cicloesadienilico che riaromatizzando fornisce il prodotto ciclizzato desiderato.

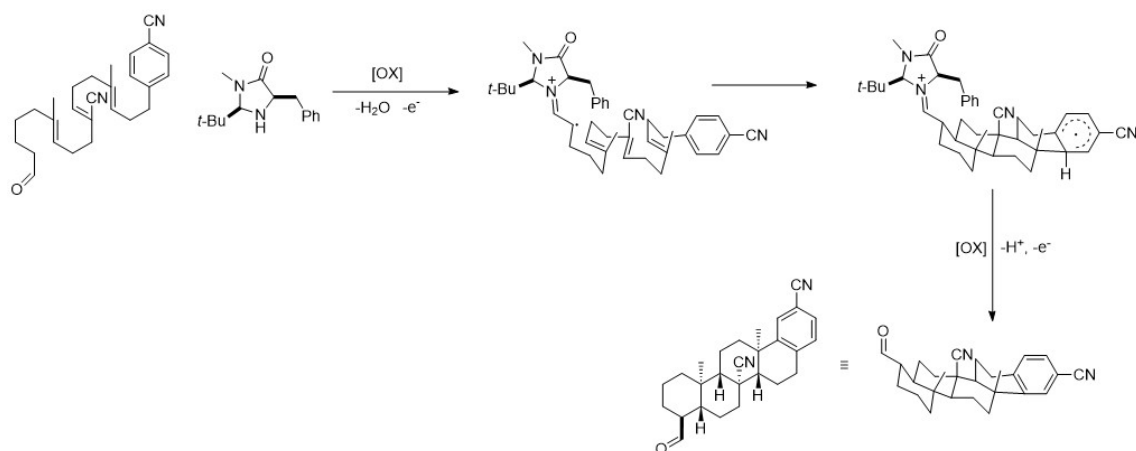


Figura 2.25: Policiclizzazione via organocatalisi SOMO proposta da MacMillan<sup>[26]</sup>

Per innescare la cascata radicalica occorre un ossidante *mild* come il triflato di rame,  $\text{Cu}(\text{OTf})_2$ , ossidanti più forti portano ad una seconda ossidazione in maniera prematura. Questa è la prima strategia di ciclizzazione enantioselettiva mediante organocatalisi per accedere a *scaffold* steroidei e terpenoidi.

Nel 2012 il gruppo di Carreira descrive una ciclizzazione a cascata dei polieni enantioselettiva a partire da alcoli allilici racemici ramificati non attivati, resa possibile dal complesso bis(1,5-cicloottadiene)diiridio (I) dicloruro<sup>[27]</sup>.

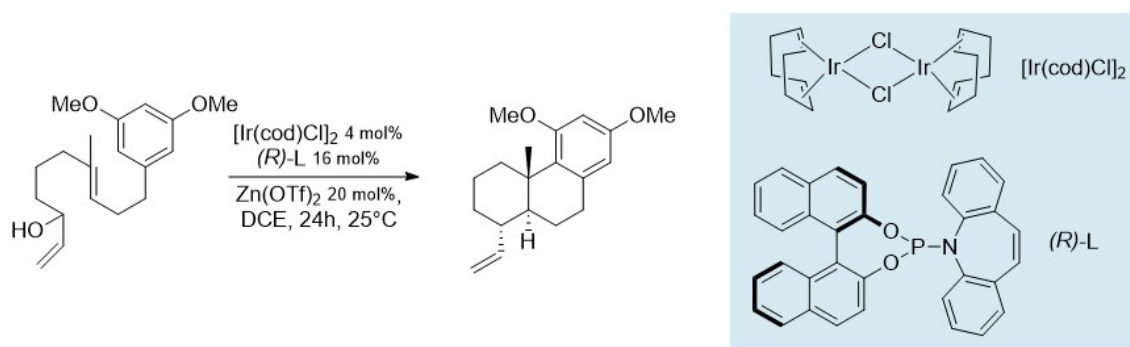


Figura 2.26: Policiclizzazione con catalisi all'iridio<sup>[27]</sup>

La resa della reazione riportata è del 90% con eccesso enantiomerico (ee) maggiore del 99.5%. La reazione procede con successo per vari substrati che presentano areni come nucleofili terminatori. Substrati aromatici alcossi-sostituiti, pirroli, indoli e furani sono stati sottoposti a ciclizzazione con rese da buone ad ottime (tra il 69% al 93%) ed eccellente enantioselettività ( $\text{ee} \geq 99\%$ ). La stereoselettività è diretta dal primo anello come postulato da Stork e Eschenmoser.

Lo stesso gruppo dimostra la robustezza della loro procedura nella sintesi totale del diterpenoide (+)-Asperolide C<sup>[28]</sup>.

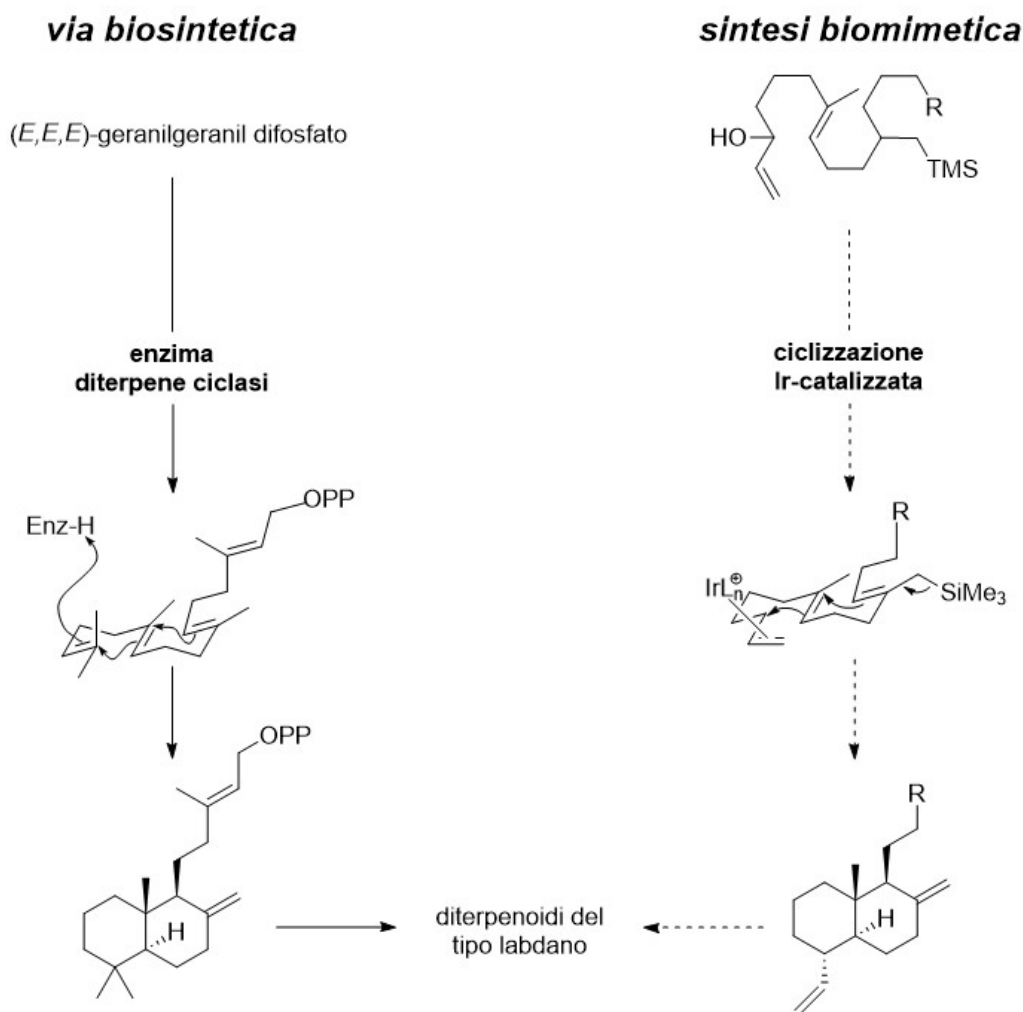


Figura 2.27: Paragone via biosintetica e biomimetica di Carreira<sup>[28]</sup>

Nonostante i notevoli traguardi raggiunti basandosi sulle ciclizzazioni biomimetiche, la maggior parte di esse genera un nuovo legame carbonio-carbonio con la formazione di anelli carbociclici. Riconoscendo questo limite, il gruppo composto dai professori Zanoni e da Chang si è posto l'obiettivo di ingegnerizzare una cascata biomimetica per ottenere strutture policicliche con inserzione di eteroatomi nello scheletro, concentrandosi sugli azacicli<sup>[29]</sup>.

I composti azaciclici rappresentano importanti *building blocks* nella sintesi di prodotti naturali biologicamente rilevanti e principi attivi tra cui figurano gli alcaloidi terpenici e gli aza-steroidi. Esempi rilevanti sono la finasteride, un aza-steroido che viene impiegato per il trattamento dell'iperplasia prostatica benigna e dell'alopecia

androgenetica maschile, e l'ergolina, un alcaloide i cui derivati semi-sintetici sono usati nel trattamento di emicranie, Parkinson e demenza<sup>[29]</sup>.

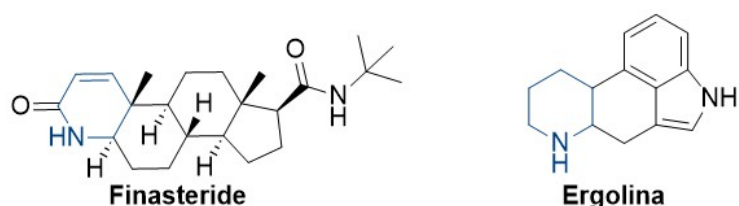


Figura 2.28: Esempi di azapolicicli di interesse farmaceutico

Nella metodologia sviluppata la ciclizzazione biomimetica viene innescata da un trasferimento intramolecolare dell'Ir-acilnitrenoide elettrofilo (generato *in situ* dal diossazolone) al doppio legame olefinico presente nella catena, di conseguenza si forma l'intermedio chiave N-acilaziridina, il quale a sua volta reagisce con (etero)areni o alchini a formare composti azaciclici.

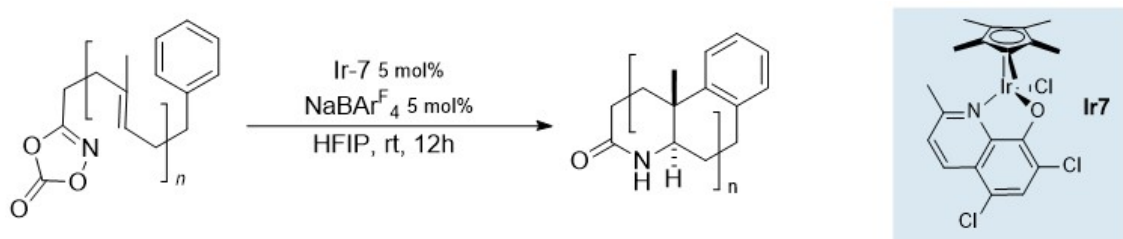


Figura 2.29: Protocollo con catalisi all'iridio proposto da Chang e Zanoni<sup>[29]</sup>

Il meccanismo prevede i seguenti (figura 2.30)<sup>[29]</sup>:

1. Coordinazione del diossazolone al catalizzatore (**i**);
2. Formazione dell'intermedio Ir-acilnitrenoide (**ii**) attraverso la decarbossilazione del diossazolone;
3. L'olefina interna può agire quindi da nucleofilo per formare l'intermedio aziridinico (**iii**);
4. Formazione dell'intermedio di Wheland (**iv**), generato dall'interazione tra il carbonio nucleofilo dell'anello arilico e il carbonio dell'unità aziridinico, in questo step si forma preferenzialmente l'intermedio a sei termini dal momento che la barriera di attivazione risulta più bassa rispetto all'intermedio a cinque termini;
5. Riaromatizzazione dell'intermedio di Wheland e formazione del prodotto  $\delta$ -lattame policiclico (**v**) e concomitante rigenerazione del catalizzatore.

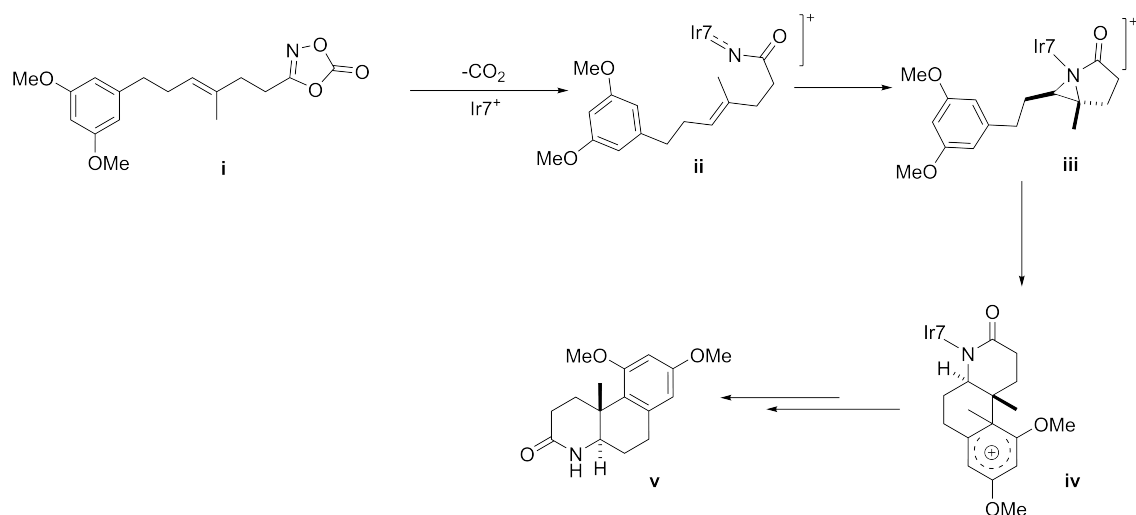


Figura 2.30: Meccanismo proposto per la ciclizzazione mediante Ir-acilnitrenoidi<sup>[29]</sup>

Si riportano alcuni prodotti presentati nell'articolo con le rispettive rese.

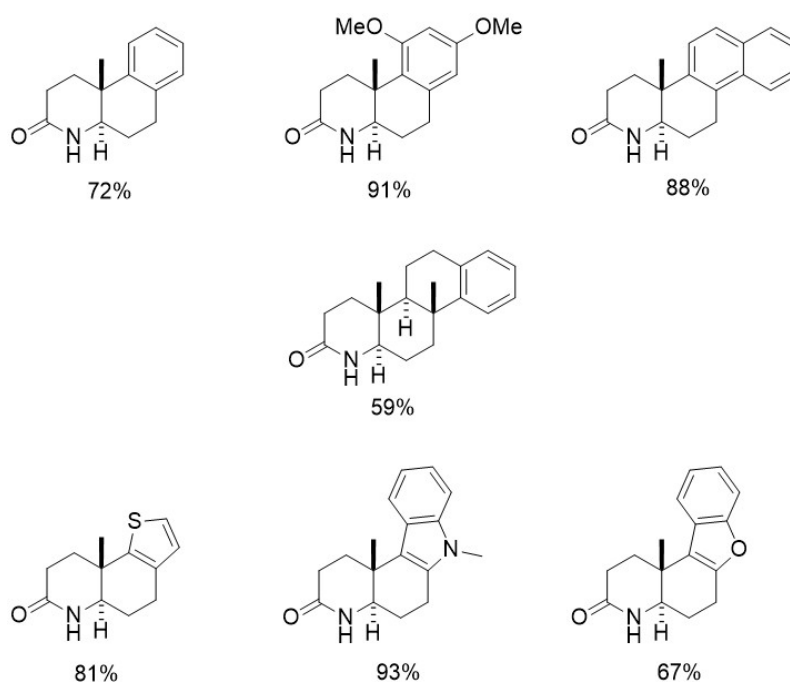


Figura 2.31: Rese estrapolate dal *substrate scope* dell'articolo di Zanoni e Chang<sup>[29]</sup>

### 2.3.2 Catalisi con Rame e Ferro

L'uso di metalli come Ferro (Fe), Rame (Cu) e Zinco (Zn) in catalisi conferisce una prospettiva *green* alle reazioni organiche, per via del loro profilo di sicurezza ed essendo a basso impatto ambientale.

Per le aziende farmaceutiche risulta sempre più conveniente lavorare con gli *earth abundant metals* dal momento che sono meno costosi dei metalli preziosi e risentono

in maniera molto inferiore delle oscillazioni di mercato. Inoltre, è in vigore una normativa globale, la ICH Q3D (*Guideline for Elemental Impurities*), che determina quanto residuo metallico può essere presente nel prodotto farmaceutico finale e soprattutto quali sono i metalli tollerabili<sup>[30]</sup>.

Gli elementi inclusi in questa linea guida sono stati suddivisi in tre classi in base alla loro tossicità (PDE, *permitted daily exposure*) e alla probabilità di presenza nel prodotto farmaceutico. Il PDE viene calcolato analizzando i dati tossicologici: si prende il livello al quale non si osservano effetti avversi (NOAEL) e si applicano diversi fattori di correzione per garantire la massima sicurezza per l'uomo. La probabilità di presenza deriva da diversi fattori, tra cui: la probabilità di impiego nei processi farmaceutici, la probabilità di essere un'impurità co-isolata insieme ad altre impurità elementari nei materiali utilizzati nei processi farmaceutici, l'abbondanza naturale osservata e la distribuzione ambientale dell'elemento stesso<sup>[30]</sup>.

- **Classe 1** → Gli elementi arsenico, cadmio, mercurio e piombo sono sostanze tossiche per l'uomo che hanno un impiego limitato o nullo nella produzione di farmaci, la loro presenza nei prodotti farmaceutici deriva tipicamente da materiali di uso comune. Presentano il PDE più basso, con valori che si attestano tra i 5 e 30  $\mu\text{g}/\text{die}$  per la via di somministrazione orale.
- **Classe 2** → Gli elementi in questa classe sono generalmente considerati sostanze tossiche per l'uomo in modo dipendente dalla via di somministrazione. Gli elementi della Classe 2 sono ulteriormente suddivisi nelle sottoclassi 2A e 2B in base alla loro relativa probabilità di presenza nel prodotto farmaceutico. Il PDE è compreso tra 50 e 550  $\mu\text{g}/\text{die}$  per la via orale. Sono molti i metalli che appartengono a questa classe tra cui anche nichel, oro, iridio, argento, platino, palladio, rodio e rutenio.
- **Classe 3** → Gli elementi in questa classe presentano tossicità relativamente basse per via di somministrazione orale (PDE elevati, generalmente  $> 500 \mu\text{g}/\text{die}$ ), ma possono richiedere una valutazione nell'analisi del rischio per le vie inalatoria e parenterale. Rientra in questa classe il rame.
- **Altri elementi** → In questa categoria rientrano gli elementi per i quali non sono stati stabiliti i valori di PDE a causa della loro bassa tossicità intrinseca, tra questi rientrano ad esempio ferro, zinco e manganese.

### 2.3.2.1 Rame

Il corpo umano contiene circa 1,4–2,1 mg di rame per kg di massa corporea ed è presente in diversi sistemi biologici come parte del gruppo prostetico di diverse proteine<sup>[31]</sup>.

Esempi di enzimi contenenti rame sono principalmente ossidoreduttasi. Inoltre, esso è coinvolto nella nitrito reduttasi e nella superossido dismutasi. In questi enzimi, la chimica redox dei complessi di Cu(I) e Cu(II) è alla base dell'attività catalitica osservata.

Il rame è diventato uno dei metalli bio-rilevanti più versatili e interessanti nella catalisi omogenea. La diversità della chimica del rame è dovuta:

- Ai suoi stati di ossidazione variabili e intercambiabili;
- Alla sua capacità di coordinarsi con eteroatomi;
- Alla sua abilità di attivare alchini terminali.

La letteratura sulle reazioni catalizzate da metalli di transizione comincia nel 1869, in quell'anno Carl Andreas Glaser riportò l'*homocoupling* dell'acetilene in presenza di cloruro rameoso (CuCl), soluzione ammoniacale (NH<sub>4</sub>OH) ed etanolo<sup>[32]</sup>.

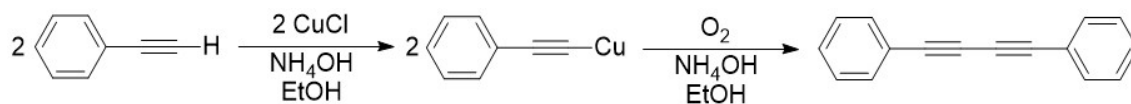


Figura 2.32: Schema del *coupling* di Glaser<sup>[32]</sup>

Il *coupling* di Glaser permette di accoppiare due alchini terminali per formare un diino simmetrico. Sebbene a questo stadio non si possa parlare ancora di catalisi poiché il CuCl è utilizzato in quantità stechiometrica, questo lavoro ha dato un forte impulso allo sviluppo della moderna catalisi<sup>[32]</sup>.

Nel 1991 il gruppo di Evans, basandosi sulla riprovata efficacia dei catalizzatori a base di Cu per la ciclopropanazione e sui lavori esplorativi di Kwart e Kahn<sup>[33]</sup>, presenta un articolo in cui ottengono l'aziridinazione di olefine sia elettron-ricche sia elettron-povere mediante catalizzatori al Cu(I) e Cu(II) in presenza di [N-(p-Toluensulfonil)imino]feniliodinano (PhI=NTs) come precursore del nitrene. Successivamente, nel 1993, gli stessi autori pubblicano un articolo sulla aziridinazione enantioselettiva catalizzata partendo dall'osservazione che leganti chirali come le bis-ossazoline 4,4'-disostituite inducono enantioselettività nelle ciclopropanazioni<sup>[34, 35]</sup>.

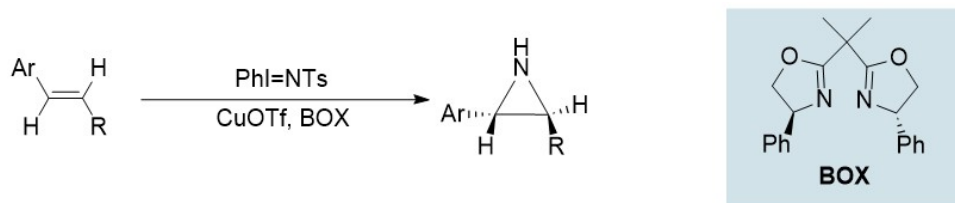


Figura 2.33: Aziridinazione di Evans<sup>[35]</sup>

Le aziridine sono ancora oggi un interessante target sintetico essendo presenti in molti prodotti naturali. In un articolo del 2007 pubblicato dal gruppo di Lebel, gli autori riportano una strategia per promuovere la formazione di aziridine intramolecolari con catalisi a base di Cu(II)<sup>[36]</sup>.

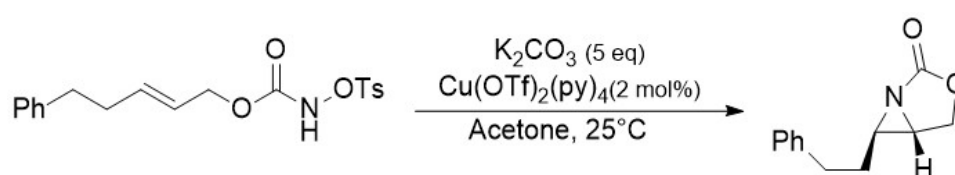


Figura 2.34: Protocollo di Lebel per la sintesi di aziridine intramolecolari<sup>[36]</sup>

Questo tipo di reazione utilizza alcheni non attivati e un catalizzatore al Cu(II) in grado di formare una specie metallo-nitrenoica che può interagire con l'olefina.

L'aziridinazione è anche uno dei passaggi fondamentali della ciclizzazione iridio catalizzata presentata da Zanoni e Chang (*vide supra*), tuttavia la procedura con iridio presenta alcuni svantaggi tra cui le rese poco soddisfacenti per substrati (*Z*)-olefinici e l'elevato costo del metallo. Sulla base di queste osservazioni, lo stesso gruppo ha deciso di spostare la sua attenzione dall'iridio ad altri metalli, in particolare concentrandosi sul rame e più di recente sul ferro.

La metodologia sviluppata prevede l'utilizzo di un catalizzatore al rame, in particolare il triflato di tetrakis(piridina)rame(II) (**Cu1**), usando come solvente 1,1,1,3,3,3-esfluoro-2-propanolo (HFIP) a temperatura ambiente per 18 ore (*figura 2.35*)<sup>[37]</sup>.

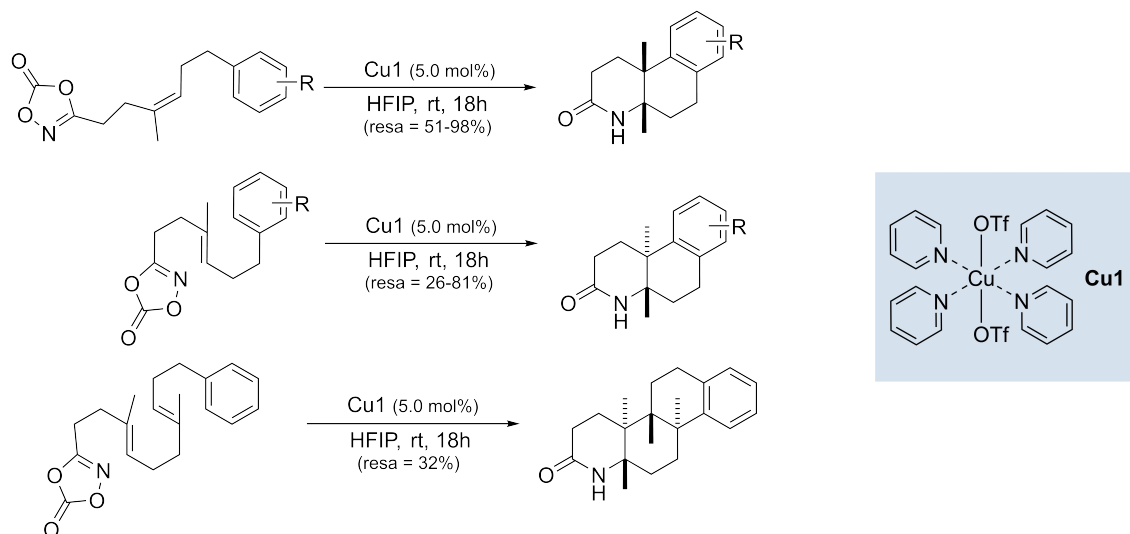


Figura 2.35: Ciclizzazione biomimetica catalizzata da rame di Zanoni e Chang<sup>[37]</sup>

La reazione funziona molto bene con i substrati (*Z*)-olefinici, che portano ad un core decalinico *cis*, la resa è buona per i substrati (*E*)-olefinici (core *trans*) anche quando è presente una doppia insaturazione.

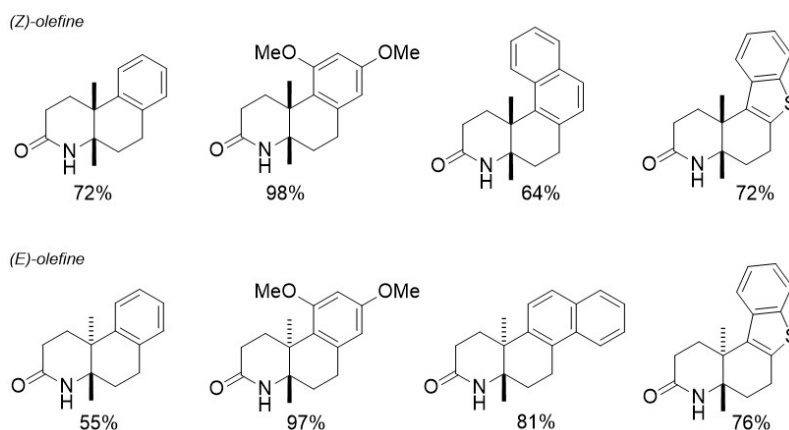


Figura 2.36: Rese riportate per substrati *Z* ed *E*

Per testarne la robustezza, la reazione è stata condotta su un substrato che può ciclizzare a formare uno scheletro [6.5.6.6.5] reminiscente quello dell'aspidospermidina.

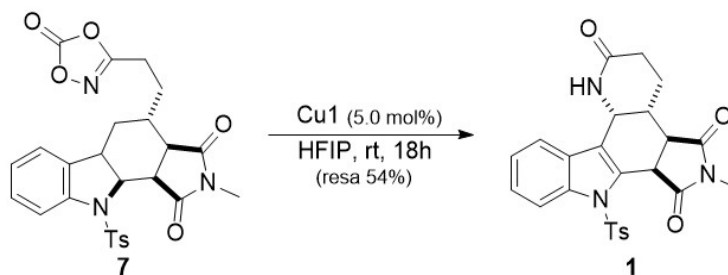


Figura 2.37: Protocollo applicato ad uno scaffold di tipo aspidospermidinico<sup>[37]</sup>

Nel precedente lavoro sull'iridio, questo tipo di substrato risultava non reattivo mentre la reazione condotta con la catalisi con il rame è riuscita a fornire il prodotto ciclizzato (resa 54%) sottolineando la tolleranza a diversi gruppi funzionali.

Il passo successivo è stato modificare la metodologia sviluppata per ottenere poliazacidi in maniera asimmetrica. Gli autori hanno riportato che l'impiego di un catalizzatore di Cu(I) e ligandi del tipo bis-ossazolinico (BiOX) permettono di mantenere una eccellente diastereoselettività e allo stesso tempo di ottenere un'ottima enantioselettività (figura 2.38). In particolare, usando il tetrafluoroborato di tetrakis(acetonitrile)rame(I) ( $[\text{Cu}(\text{MeCN})_4]\text{BF}_4$ ) come catalizzatore in HFIP e in presenza di un legante del tipo BiOX stericamente ingombrato su substrati olefinici si ottengono ottimi risultati sia in termini di rese che di eccesso enantiomerico<sup>[37]</sup>.

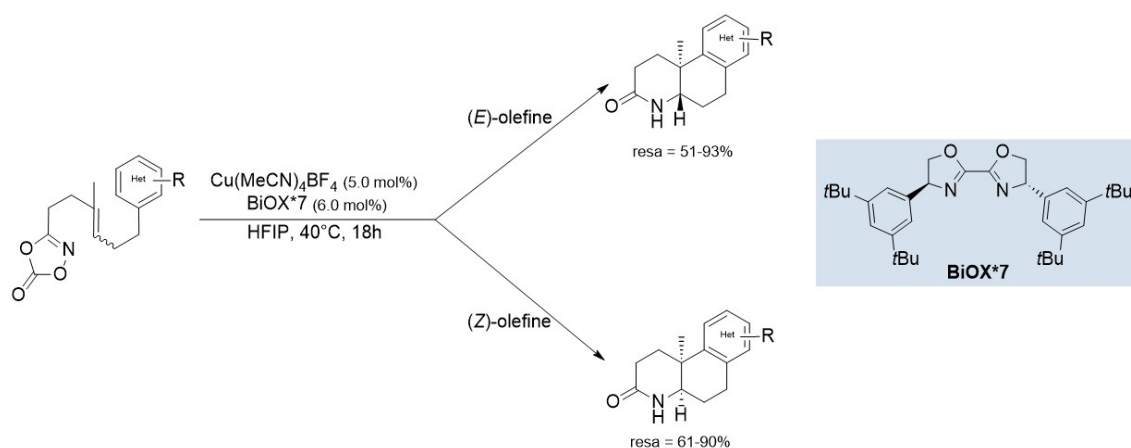


Figura 2.38: Variante asimmetrica del protocollo di Zanoni e Chang<sup>[37]</sup>

In solventi apolari come il diclorometano (DCM), non è stata rilevata alcuna traccia del prodotto  $\delta$ -lattamico e solo l'HFIP ha consentito alla reazione di procedere con buone rese. La sua efficacia deriva da una combinazione di fattori, in particolare la ridotta nucleofilia e la forte capacità di donare legami a idrogeno, che insieme consentono un'elevata stabilizzazione degli intermedi cationici.

### 2.3.2.2 Ferro

Essendo il secondo metallo più abbondante dopo l'alluminio e quindi il metallo di transizione più abbondante nella crosta terrestre, il ferro viene utilizzato in processi biologici da numerosi organismi. Gli stati di ossidazione più comuni del ferro sono il +2 e il +3. Il ferro a bassi stati di ossidazione è particolarmente interessante per la chimica organometallica e in particolare per le reazioni catalizzate dal ferro, poiché può formare complessi più reattivi.

Il ferro è impiegato come alternativa ad altri metalli, platino e iridio in particolare,



Le fenantroline hanno avuto successo anche come ligandi induttori di asimmetria, a titolo d'esempio si cita l'articolo del 2011 di Nishikawa e Yamamoto<sup>[41]</sup>.

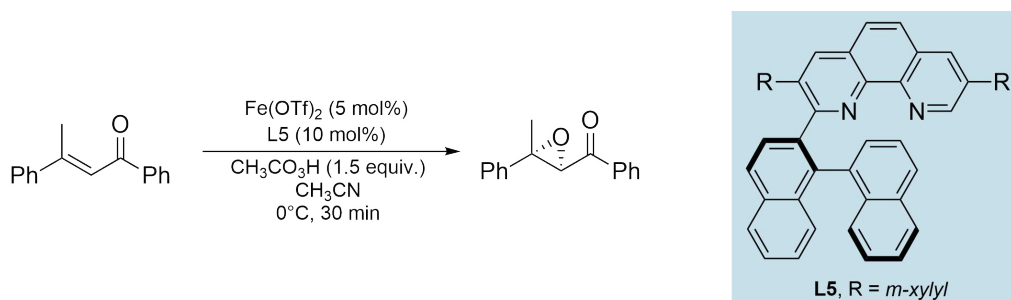


Figura 2.41: Esempio di applicazione della fenantrolina nella catalisi con ferro<sup>[41]</sup>

Nel loro lavoro, la combinazione di ferro (II) triflato ( $\text{Fe}(\text{OTf})_2$ ) e nuovi ligandi fenantrolinici consente l'epossidazione asimmetrica catalitica di enoni aciclici  $\beta, \beta$ -disostituiti, fino a quel momento inaccessibile.

## 2.4 Risoluzione cinetica

La risoluzione cinetica è un processo strettamente connesso alle origini della stereochimica, poiché la prima risoluzione fu eseguita manualmente da Pasteur nel 1848 e può essere definita come un processo in cui uno dei costituenti enantiomerici di una miscela racemica viene trasformato in prodotto più facilmente rispetto all'altro (reazione enantioselectiva). La situazione ideale si ha quando solo uno dei due enantiomeri reagisce e in linea teoria si può ottenere solo il 50% massimo di resa. La differenza nelle costanti di velocità specifiche ha origine dal fatto che la trasformazione è mediata da un catalizzatore chirale o da un reagente chirale, il catalizzatore chirale crea un ambiente asimmetrico in cui i due enantiomeri del substrato si trovano in stati di transizione diastereoisomerici con energie diverse, da cui derivano le diverse costanti di velocità<sup>[42]</sup>.

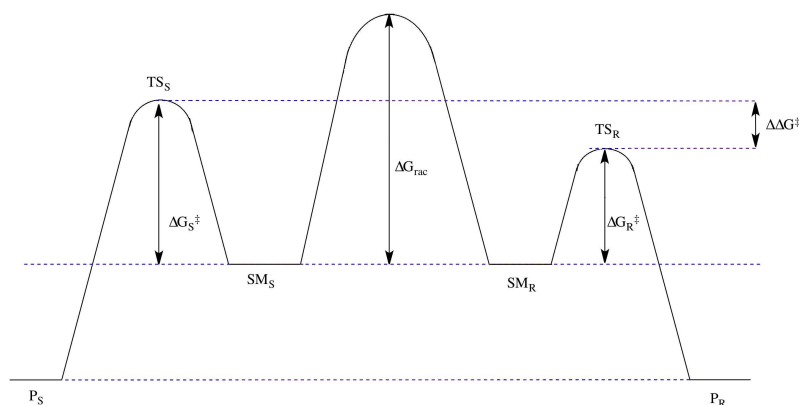


Figura 2.42: Profilo energetico modello della risoluzione cinetica di una miscela racemica

La prima risoluzione cinetica riuscita con mezzi chimici sembra essere il lavoro di Marckwald e McKenzie del 1899, in cui l'acido mandelico racemico venne parzialmente esterificato dal (-)-mentolo in condizioni omogenee (figura 2.43)<sup>[43]</sup>.

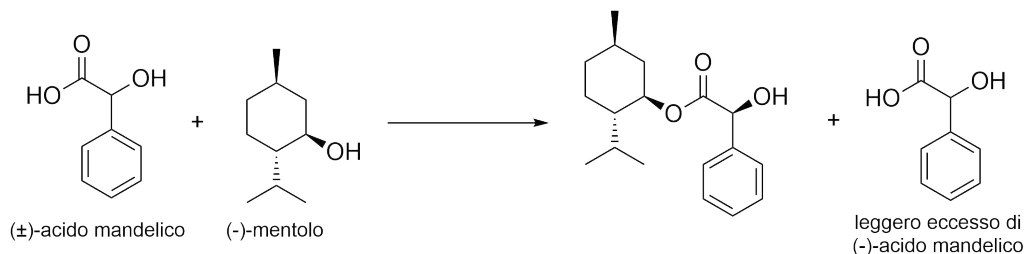


Figura 2.43: Prima risoluzione cinetica dell'acido mandelico<sup>[43]</sup>

Osservarono che la formazione dell'estere derivato dall'acido (+)-mandelico era più rapida rispetto alla formazione dell'estere dall'acido (-)-mandelico. L'acido non reagito presentava un lieve eccesso di acido (-)-mandelico, e l'estere fu successivamente dimostrato fornire acido (+)-mandelico per saponificazione.

In letteratura sono presenti molti esempi di reazioni che si basano sulla risoluzione cinetica. Tra queste si riportano:

- **Epossidazione di Sharpless**

Sviluppata da K. Barry Sharpless nel 1980, è stata impiegata per la risoluzione cinetica di miscele racemiche di alcoli allilici. Nonostante l'elevata efficacia nella risoluzione di svariati substrati di questa classe, il metodo non è esente da limitazioni: i tempi di reazione possono arrivare fino a sei giorni e il catalizzatore non è recuperabile. Nonostante ciò, rappresenta tuttora uno degli approcci più efficienti nel panorama delle risoluzioni cinetiche sintetiche<sup>[44]</sup>.

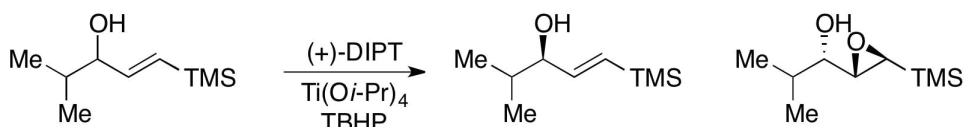


Figura 2.44: Epossidazione di Sharpless, DIPT = diisopropil tartrato<sup>[44]</sup>

Il sistema catalitico può essere modulato attraverso l'impiego di diversi tartrati. Tale metodologia ha trovato ampia applicazione nella risoluzione di alcoli allilici secondari<sup>[44]</sup>.

- **Ring closing metathesis**

Hoveyda e Schrock hanno sviluppato un catalizzatore per la risoluzione cinetica mediante metatesi a chiusura di anello (RCM) di alcoli allilici dienilici.

Il catalizzatore alchilidienico al molibdeno catalizza selettivamente un enantiomero affinché compia la metatesi a chiusura di anello, ottenendo un alcol enantiopuro e un anello chiuso enantiopuro<sup>[45]</sup>.

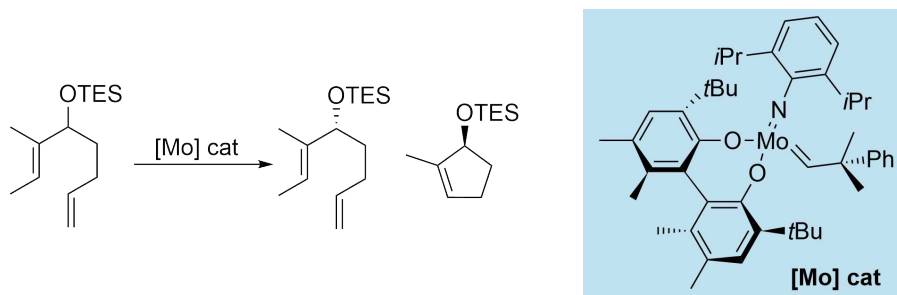


Figura 2.45: RCM mediante risoluzione cinetica di Hoveyda e Schrock<sup>[45]</sup>

Il catalizzatore è efficace nella risoluzione di 1,6-dieni e la selettività diminuisce con l'aumento della distanza tra i due doppi legami.

#### • Idrogenazione di alcol allilici

Noyori nel 1988 pubblicò un lavoro in cui gli alcoli allilici secondari chiral venivano risolti in modo efficiente mediante idrogenazione omogenea catalizzata dal complesso diacetato di (R)- o (S)-BINAP-Ru.

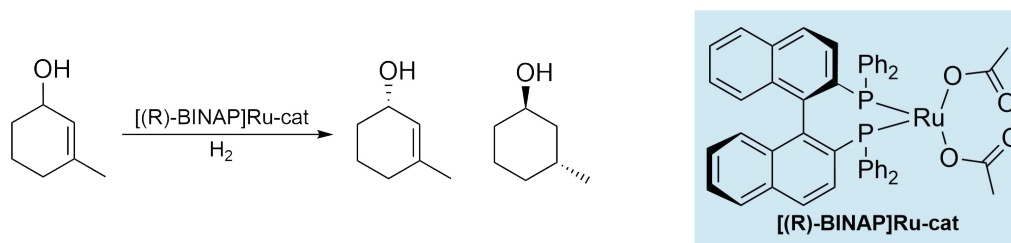


Figura 2.46: Idrogenazione di Noyori per alcoli allilici secondari<sup>[46]</sup>

La facile risoluzione degli alcoli allilici ciclici è sinteticamente complementare alla procedura di epossidazione di Sharpless, che risulta efficace per substrati flessibili e aciclici<sup>[46]</sup>.

# Capitolo 3

## Scopo della tesi

L'obiettivo del presente lavoro di tesi è lo sviluppo di una strategia sintetica catalizzata da metalli di transizione abbondanti, economici e sicuri di uno *scaffold* azapoliciclico reminiscente dell'aspidospermidina. La rilevanza di tale nucleo policiclico quale intermedio privilegiato nella sintesi di derivati farmacologicamente attivi è stata discussa nei paragrafi 2.1.1 e 2.2.

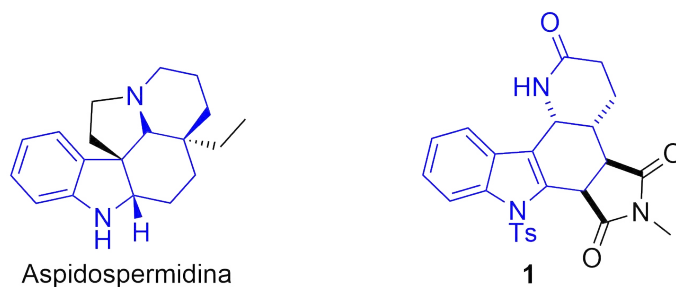


Figura 3.1: Confronto della struttura dell'aspidospermidina con la molecola target

In particolare, il lavoro si concentrerà nel proporre due varianti catalitiche per la medesima ciclizzazione. Da una parte si vuole ottenere la ciclizzazione biomimetica catalizzata da rame in maniera asimmetrica sfruttando il fenomeno della risoluzione cinetica, questo approccio prevederà dunque l'utilizzo di leganti chirali e si inserisce in un filone più ampio all'interno del laboratorio. Dall'altra parte si vuole esplorare un ambito meno studiato ma di crescente interesse riguardante lo studio delle ciclizzazioni biomimetiche catalizzate dal ferro.

### 3.1 Analisi retrosintetica

La strategia presentata è il frutto di un'accurata analisi retrosintetica (*figura 3.2*), mediante trasformazioni consolidate sia in letteratura che nella prassi di laboratorio. Elemento di originalità è rappresentato dagli step conclusivi della sequenza sintetica:

verranno infatti illustrate e confrontate due varianti catalitiche della ciclizzazione biomimetica chiave, l'una mediata da un complesso del rame in maniera asimmetrica e l'altra da un complesso del ferro.

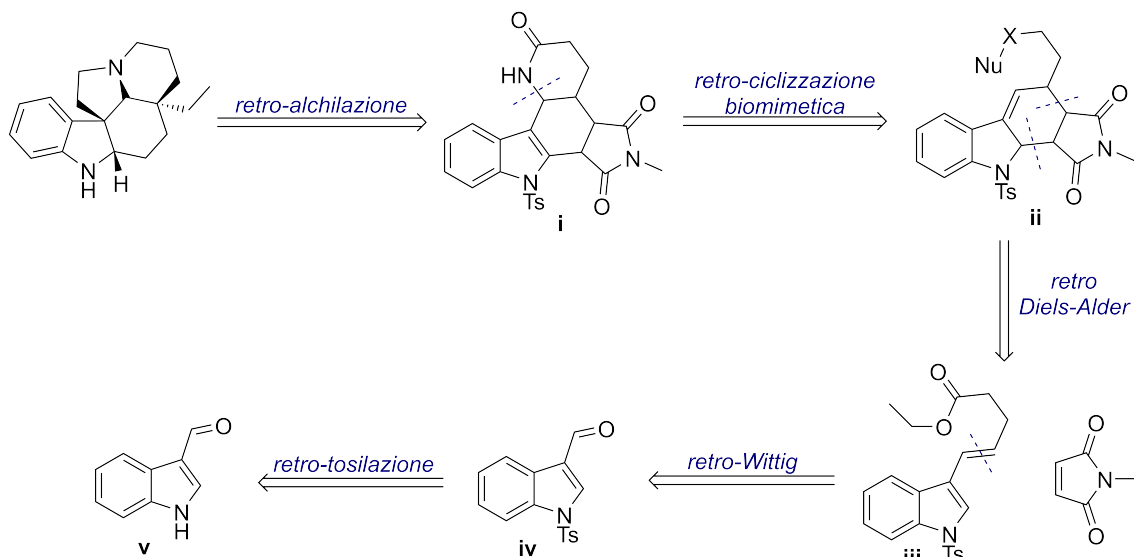


Figura 3.2: Analisi retrosintetica dell'aspidospermidina

Il prodotto **i** viene sintetizzato a partire da un derivato diossazolinidinonico, nel caso di catalisi con rame, e da un derivato *N*-pivaloilidrossammato, nel caso di catalisi con ferro, (in immagine rappresentati da **ii**) entrambi derivanti dal medesimo acido idrossamico il quale si ottiene dall'estere etilico del prodotto di Diels-Alder. Il diene **iii** è invece ottenuto da una reazione di Wittig sul *N*-tosil-indolo-3-carbaldeide (**iv**). La sintesi quindi si articola in 6 passaggi:

- Protezione dell'azoto indolico;
- Reazione di Wittig;
- Reazione di Diels-Alder;
- Sintesi dell'acido idrossamico;
- Sintesi dell'opportuno derivato;
- Ciclizzazione biomimetica.

Non è oggetto della trattazione di questa tesi l'alchilazione per formare l'anello E dell'aspidospermidina.

# Capitolo 4

## Discussione e risultati

Nel presente capitolo verranno analizzati gli step sintetici (*figura 4.1*) e le criticità incontrate al fine di fornire una visione organica e dettagliata di questo progetto di tesi. Per le procedure e le analisi di spettroscopia NMR si rimanda al capitolo 6.

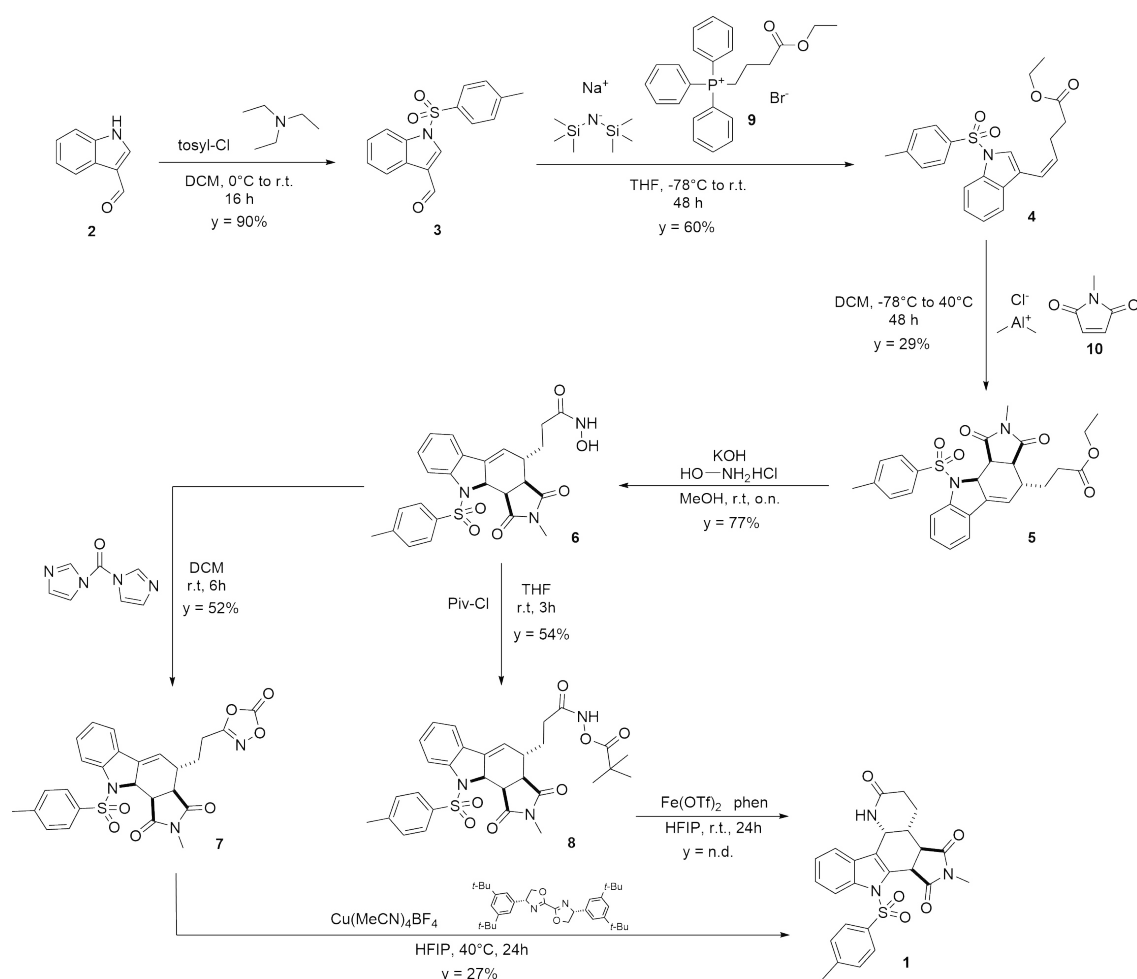


Figura 4.1: Schema di sintesi della molecola target

## 4.1 Protezione dell'azoto indolico

Il primo step della sintesi riguarda la protezione dell'azoto indolico sullo *starting material*, **2**.

In particolare si è scelto di procedere con l'inserimento di un gruppo tosile (Ts = SO<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-CH<sub>3</sub>), una scelta pratica dettata dalle favorevoli proprietà di questo gruppo:

- Il Ts è un gruppo fortemente elettronattrattore per risonanza e induzione del solfonile, questo implica una notevole riduzione della nucleofilicità dell'azoto, disattivazione parziale del sistema π dell'indolo e quindi della reattività della posizione 3;
- Il Ts è stabile in molte condizioni, resiste bene ad ambienti acidi e basici di debole e moderata forza, resiste ad ossidanti e a numerosi nucleofili il che lo rende compatibile con molte trasformazioni sintetiche;
- Risulta di facile introduzione con resa alta;
- La caratterizzazione è agevole dal momento che dà segnali caratteristici all'H-NMR, in particolare in questo caso è di particolare interesse il singoletto che cade a campi alti attorno i δ 2-3 ppm.

Inoltre, secondo quanto riportato in letteratura, l'introduzione di gruppi elettronattrattori sull'azoto indolico risulta fondamentale per la stabilizzazione dei cicloaddotti di cui più avanti.

La reazione di tosilazione viene effettuata in condizioni di atmosfera inerte e anidra per ottenere i migliori risultati. Si osserva infatti che operando in condizioni ambientali la resa decresce notevolmente. Il *set-up* della reazione prevede di solubilizzare **2** in DCM e portare la soluzione a 0 °C, dopodiché si aggiunge la trietilammina (Et<sub>3</sub>N) goccia a goccia attendendo 15 minuti prima di aggiungere il *p*-toluensulfonil cloruro (Ts-Cl). La reazione è tenuta in agitazione per 16 h.

Il meccanismo della reazione è il seguente:

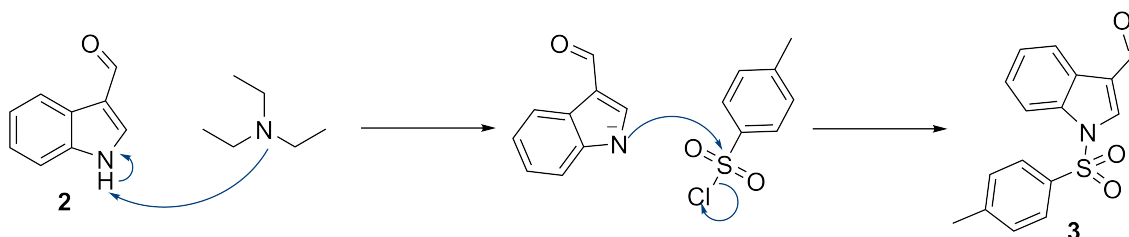


Figura 4.2: Meccanismo di protezione dell'azoto indolico con TsCl

- *Deprotonazione*: la  $\text{Et}_3\text{N}$  deprotona l'azoto indolico generando l'anione indolato più nucleofilo dell'indolo;
- *Attacco nucleofilo*: l'azoto attacca l'atomo di zolfo elettrofilo;
- *Eliminazione*: simultaneamente si ha l'uscita del cloruro in maniera simile a quanto si osserverebbe in una reazione di tipo  $\text{S}_{\text{N}}2$ .

Il *work-up* prevede diluizione e *quenching* con una soluzione di cloruro di ammonio ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ) saturo per neutralizzare tracce di trietilammina ancora presenti. L'estrazione si effettua in presenza di una soluzione satura di bicarbonato, per allontanare  $\text{HCl}$  e acido *p*-toluensolfonico. Successivamente l'utilizzo di *brine* riduce la solubilità dei composti organici nella fase acquosa favorendo la loro partizione nella fase organica (DCM) mediante il processo di *salting out*, sfavorendo la formazione di emulsioni molto frequenti nelle miscele DCM-acqua.

La purificazione è agevole si procede mediante cromatografia flash su gel di silice, per il caricamento del grezzo (solido di colore rosso-viola) prediligendo caricamento a secco mediante adsorbimento su silice. Il prodotto **3** si presenta come un solido bianco-giallo, la resa è del 90%.

L'avvenuta tosilazione dell'indolo è confermata mediante analisi dello spettro H-NMR. In particolare, la presenza di un singoletto a 2.38 ppm che integra per 3H è la conferma definitiva che la protezione è avvenuta con successo.

## 4.2 Olefinazione

Il secondo step seguito è quello dell'olefinazione, eseguito mediante una reazione di Wittig (*Z*)-selettiva. L'ottenimento dell'isomero *Z* è fondamentale dal momento che nel successivo step di sintesi deve essere effettuata una reazione di Diels-Alder ed occorre dunque avere il diene nella conformazione opportuna.

La reazione di Wittig è normalmente stereoselettiva a seconda della tipologia dell'ilide di fosfonio utilizzata: con ilidi non stabilizzate, la reazione è selettiva per il prodotto (*Z*), mentre con ilidi stabilizzate la reazione è selettiva per il prodotto (*E*). La reazione procede attraverso l'intermedio ossafosfetano *cis* (favorito), seguito da una eliminazione *syn* stereospecifica per retro-cicloaddizione, che fornisce il prodotto come (*Z*)-alchene. Solventi aprotici come THF e DMF e l'uso di una base come la bis(trimetilsilil)ammide di sodio ( $\text{NaHMDS}$ ) favoriscono ulteriormente la selettività per la (*Z*)-olefina.

Per il *set-up* della reazione, effettuata in atmosfera inerte e anidra, si procede solubilizzando il bromuro di (4-etossi-4-oxo-butil)trifenilfosfonio (**9**) commercialmente disponibile in THF anidro. La soluzione risultante va raffreddata a  $-78^{\circ}\text{C}$  per mezzo di un bagno di acetone e ghiaccio secco. Conseguentemente si aggiunge la base NaHMDS goccia a goccia in un periodo di 10 minuti, quindi si porta la temperatura a  $0^{\circ}\text{C}$  molto lentamente e si tiene la soluzione in agitazione per 2 h. Durante questo lasso di tempo avviene la deprotonazione del sale di fosfonio e la formazione dell'ilide corrispondente, contestualmente precipita NaBr.

Dopo 2 ore si cannula una soluzione di **3** in THF, dopodiché la reazione viene tenuta in agitazione per 48 ore a temperatura ambiente.

Il meccanismo della reazione è di seguito illustrato:

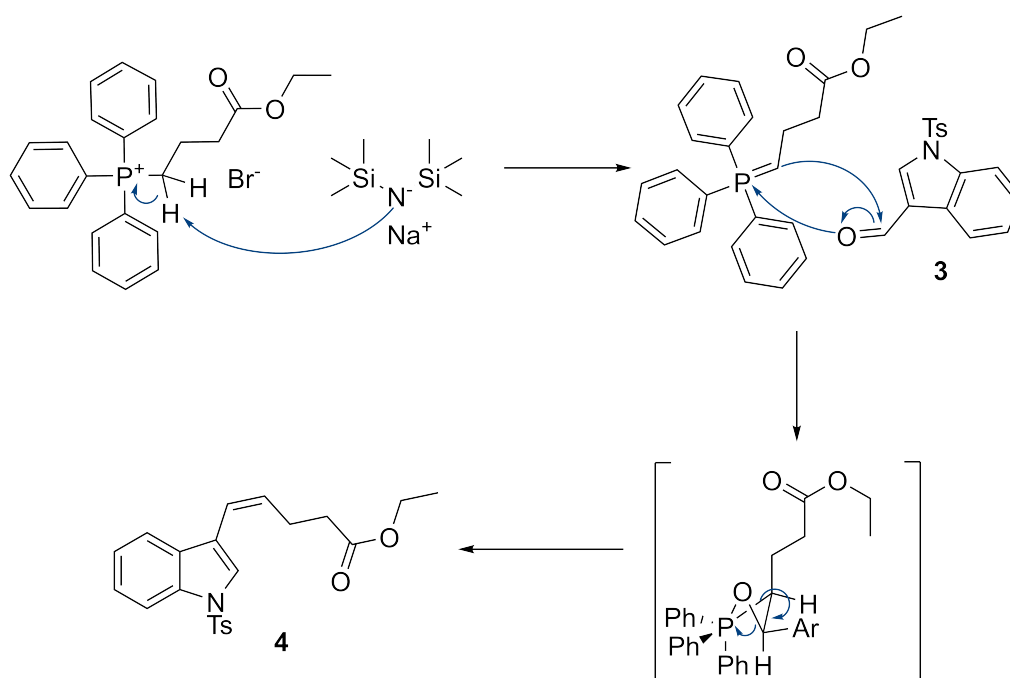


Figura 4.3: Meccanismo di reazione dell'olefinazione (*Z*)-selettiva

Per il *work-up* della reazione si ricorre ad una soluzione saturata di  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , per neutralizzare l'eccesso di base, l'estrazione è effettuata con acetato di etile (EtOAc) in presenza di *brine* per sfruttare il fenomeno del *salting out* e favorire la ripartizione delle molecole organiche in fase organica.

Il grezzo ottenuto, un olio di colorazione arancione, viene purificato mediante cromatografia flash su gel di silice e anche in questo caso si predilige l'adsorbimento su silice come metodo di caricamento.

L'obiettivo di questa purificazione è la separazione dei due isomeri *Z* ed *E* che, seb-

bene sfavorito, si forma comunque in quantità ridotte. Mediante TLC si osserva che utilizzando miscele eluenti principalmente apolari è possibile separare le due olefine. In particolare, utilizzando una miscela 9:1 di *n*-esano ed acetato d'etile si osserva la migliore separazione.

Per una separazione efficace occorre utilizzare una colonna lunga e di adeguato diametro: l'impaccamento deve essere effettuato in esano puro e la miscela eluente più adeguata è 9:1 di *n*-esano ed etile acetato. In questa maniera è possibile ottenere una frazione pulita di (*Z*)-olefina e una frazione in cui sono presenti entrambi gli isomeri.

Il tentativo di una ulteriore purificazione della frazione mista non ha prodotto risultati soddisfacenti, di conseguenza per la resa ottenuta (60%) si è tenuto conto solo del prodotto isolato dalla frazione di (*Z*)-olefina.

La conferma dell'avvenuta reazione e della conformazione dell'olefina sono nello spettro NMR del protone. I protoni vinilici hanno costanti di accoppiamento *J* caratteristiche e nello specifico per la configurazione *Z* le *J* ricadono nell'intervallo 6–12 Hz. In questo caso nello spettro NMR vi sono due segnali a 6.45 ppm e 5.79 ppm la cui costante di accoppiamento reciproca è 11.4 Hz confermando la configurazione *Z* dell'olefina.

### 4.3 Reazione di Diels-Alder

L'obiettivo di questo step è la formazione dell'anello *C* dello *scaffold* dell'aspidospermidina. Per fare ciò si è deciso di eseguire la cicloaddizione [4+2] di Diels-Alder in maniera *endo*-selettiva così come sviluppata e ottimizzata dal gruppo di Hall<sup>[47]</sup>.

In generale, la reazione di Diels-Alder è altamente diastereoselettiva, e il diastereoisomero *endo*, sebbene più ingombrato e termodinamicamente meno stabile del diastereoisomero *exo*, è spesso il prodotto principale sotto normale controllo cinetico della reazione. La preferenza per l'addizione *endo* è stata razionalizzata da Woodward e Hoffmann in termini di interazioni orbitaliche secondarie. È opportuno menzionare che gli acidi di Lewis possono anche aumentare la selettività *endo* attraverso interazioni orbitali secondarie più forti<sup>[48]</sup>.

Tenendo in conto quanto detto, per il *set-up* della reazione occorre un *pressure tube* e atmosfera inerte ed anidra. Nel *pressure tube* si prepara una soluzione di N-metilmaleimmide (**10**), dienofilo, in DCM anidro a -78 °C in un bagno di acetone e ghiaccio secco. Di seguito molto attentamente si addiziona alla soluzione il dimetilalluminio cloruro (Me<sub>2</sub>AlCl) e la reazione viene tenuta in agitazione per 30 minuti.

Si aggiunge quindi il prodotto **4** lentamente, quindi si scalda fino a 40 °C e la reazione prosegue per le seguenti 48 h.

Dal momento che il DCM bolle a 39.6 °C, l'utilizzo del *pressure tube* è fondamentale perché ne trattiene i vapori impedendone l'evaporazione, aumenta la pressione interna mantenendo il DCM allo stato liquido a 40 °C e permette di lavorare in sicurezza.

Il meccanismo della reazione è illustrato di seguito:

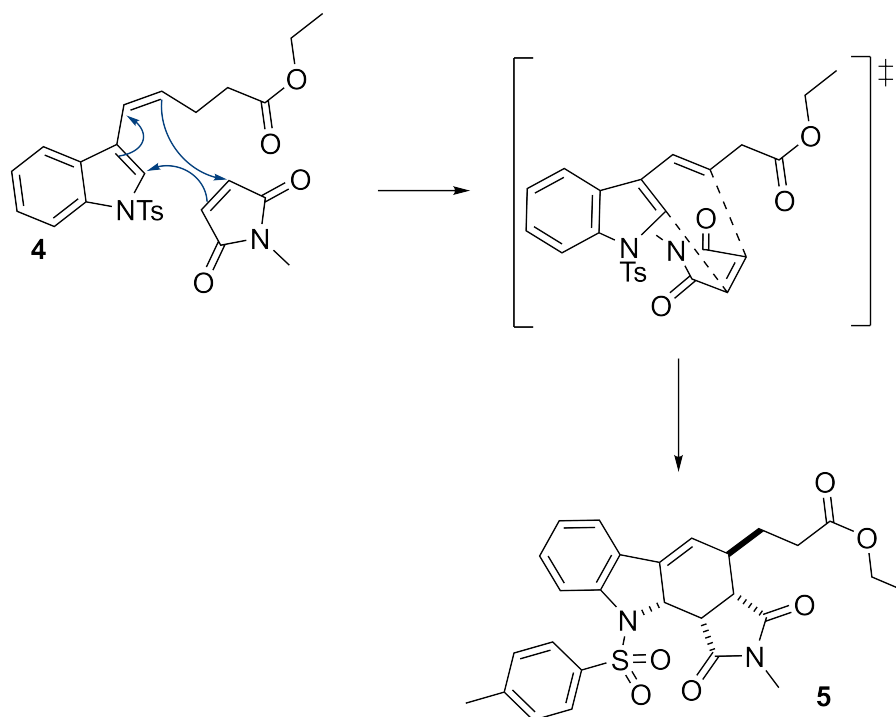


Figura 4.4: Meccanismo di reazione della cicloadizione di Diels-Alder

Il *quenching* della reazione prevede l'aggiunta lenta sotto vigorosa agitazione di una soluzione acquosa satura di bicarbonato, in questa maniera è possibile precipitare gli ioni  $\text{Al}^{+3}$  come  $\text{Al}(\text{OH})_3$  facilitandone l'allontanamento.

L'estrazione si effettua con DCM e *brine*, il quale ha il doppio scopo di evitare la formazione di una emulsione e facilitare la ripartizione delle sostanze organiche nella fase organica. In questa fase, nonostante l'uso di *brine*, è molto comune osservare la formazione di una emulsione molto stabile, operativamente il modo migliore per la risoluzione è l'agitazione con una bacchetta di vetro e l'aggiunta di altro DCM.

Il grezzo ottenuto dopo l'estrazione viene purificato mediante colonna cromatografica su gel di silice consentendo di ottenere il cicloaddotto come solido giallo brillante. Durante la purificazione non si sono riscontrati problemi ed è stato agevole anche il recupero dell'olefina **4**, la resa ottenuta per il prodotto **5** è del 29%.

Mediante l'analisi dello spettro  $^1\text{H-NMR}$  è possibile confermare la formazione del prodotto di cicloaddizione **5**, in particolare:

- Il singoletto a 2.84 ppm che integra per 3 H è riconducibile al metile sull'azoto della maleimmide;
- I segnali a 6.11 ppm e 4.88 ppm con costante di accoppiamento 7.6 Hz sono indice della formazione dell'anello cicloesene;
- I segnali a 4.20-4.13 ppm e 3.20-3.11 ppm, entrambi integranti per un idrogeno, sono attribuibili a protoni su carboni  $\text{sp}^3$  appena formati nella cicloaddizione.

## 4.4 Sintesi dell'acido idrossamico

L'obiettivo di questo step sintetico è l'ottenimento di un intermedio altamente reattivo e pronò ad essere derivatizzato in altri modi.

Seguendo quanto riportato in letteratura, il *set-up* della reazione risulta molto semplice. In un pallone si solubilizza il cicloaddotto **5** in metanolo, dunque si aggiungono idrossido di potassio (KOH) e il cloridrato dell'idrossilammina e la reazione viene tenuta in agitazione per 16 ore. Tuttavia, non si è osservata la formazione di alcun prodotto e non è stato possibile recuperare l'estere di partenza (**5**).

Nonostante i vari tentativi, la reazione così come descritta non sembra funzionare per questo tipo di substrato. È possibile, dal momento che la soluzione assumeva una intensa colorazione indaco, che si formassero addotti a diverso grado di insaturazione, ma il fenomeno di cambio di colorazione non è stato indagato nel dettaglio e non risulta quindi possibile asserire molto in merito. Inoltre al tatto il pallone di reazione risultava tiepido.

Di conseguenza è stato necessario ottimizzare le condizioni di reazione come riportato nella seguente tabella.

entry	condizioni	ordine aggiunte	colore soluzione	resa
1	Temperatura ambiente	KOH poi NH <sub>2</sub> OH·HCl	blu-indaco	n.d.
2	Temperatura ambiente	simultanea	blu-indaco poi bianco	5%
3	0 °C per effettuare aggiunte	KOH poi NH <sub>2</sub> OH·HCl	giallo tenue	15%
4	0 °C per effettuare aggiunte	simultanea	giallo tenue	52%
5	0°C per 2h	simultanea	giallo tenue	77%

Figura 4.5: Tabella di ottimizzazione per la sintesi dell'acido idrossamico

Quello che si osserva è che l'aggiunta simultanea dei reagenti consente di ottenere il prodotto, seppure in quantità insufficienti. Il migliore risultato, come da *entry* 5 in *figura 4.5*, si è ottenuto operando a 0 °C ed effettuando le aggiunte dei reagenti in maniera simultanea e, sebbene non sono state raggiunte in nessun caso le rese quantitative riportate in letteratura, la resa ottenuta è sufficiente per procedere con gli step successivi.

Il meccanismo della reazione è di seguito illustrato:

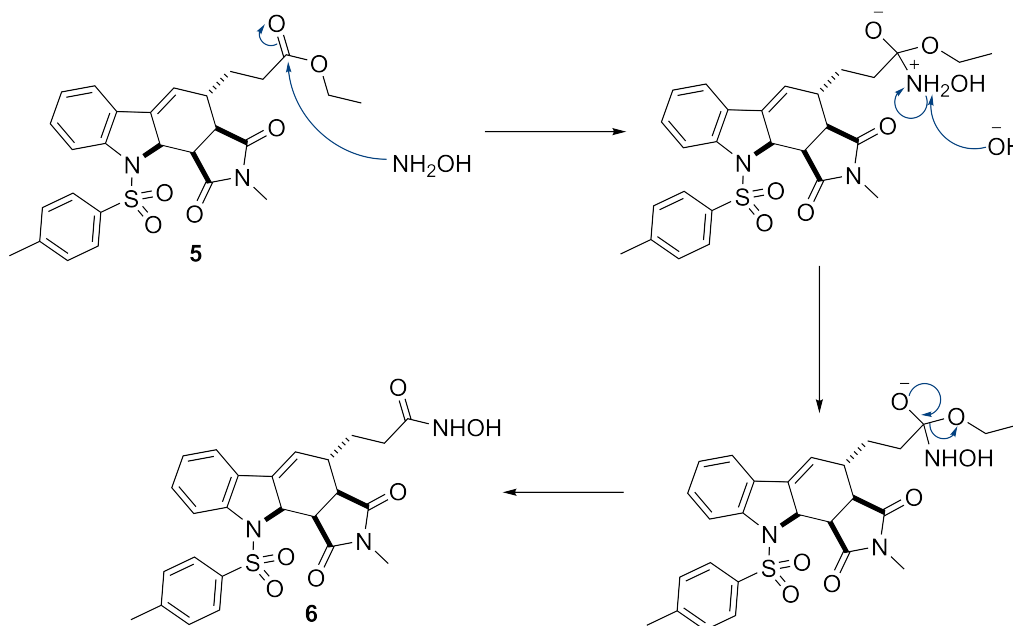


Figura 4.6: Meccanismo di reazione per la sintesi dell'acido idrossamico

Dopo le 16 ore necessarie per la reazione, il *work-up* viene effettuato portando il pH dell'ambiente a neutralità con tampone fosfato, è sconsigliato l'uso di HCl perché in ambiente acido è possibile la riaromatizzazione del sistema indolico.

Il metanolo viene ridotto mediante rotavapor al fine di evitare emulsioni in fase di

estrazione effettuata con acetato di etile almeno per cinque volte assieme a lavaggi con *brine*, fondamentale per favorire il passaggio in fase organica delle molecole organiche mediante *salting out*.

Il grezzo ottenuto viene quindi adsorbito su silice e purificato mediante il sistema di *flash chromatography* automatizzato Isolera, così facendo si favorisce una purificazione più rapida e si limita la degradazione dell'acido idrossammico in colonna. La resa di questo passaggio in seguito a purificazione è del 77%.

La formazione dell'acido idrossammico è confermata mediante analisi NMR, in particolare la presenza dei segnali *broad* a 9.25 ppm e 8.74 ppm sono caratteristici degli acidi idrossammici.

## 4.5 Sintesi del diossazolone

Questo step è fondamentale per poter poi effettuare la ciclizzazione biomimetica catalizzata da rame. L'acido idrossammico **6** viene trasformato, grazie al carbonil-diimidazolo (CDI), nel corrispettivo diossazolone **7**.

Il *set-up* prevede di solubilizzare l'acido idrossammico **6** in DCM quindi aggiungere il CDI e tenere la reazione in agitazione per 6 ore a temperatura ambiente.

Il meccanismo di reazione è illustrato di seguito:

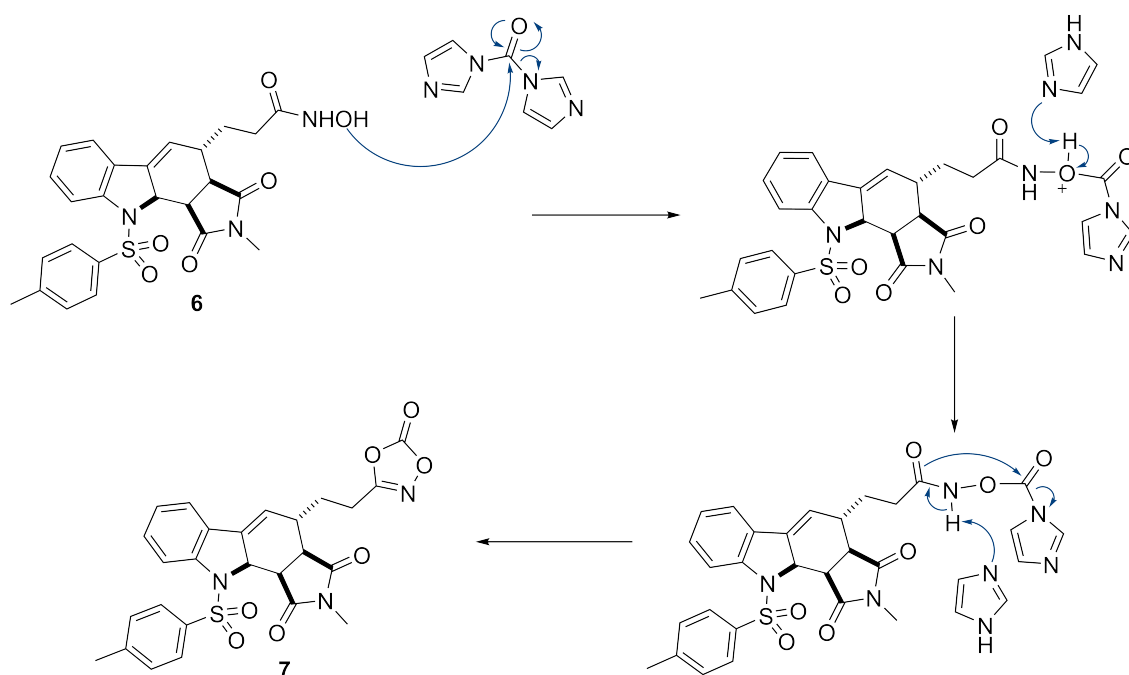


Figura 4.7: Meccanismo di reazione per la sintesi del diossazolone

Il CDI è un agente attivante che reagisce con l'acido idrossamico per formare un intermedio reattivo, con rilascio di imidazolo come sottoprodotto. Il diossazolone che si forma è suscettibile all'attacco dell'imidazolo dunque bisogna monitorare attentamente la reazione mediante TLC.

Particolare attenzione va prestata al *work-up* di questa reazione. Per il *quenching* si consiglia di usare tampone fosfato per portare l'ambiente a neutralità, visto che risulta leggermente basico per via della formazione di imidazolo. Si sconsiglia l'uso di un acido perché il diossazolone oltre ad essere suscettibile alle basi è suscettibile anche agli acidi, inoltre anche in questo caso un acido potrebbe portare alla riaromatizzazione del sistema indolico impedendo poi la ciclizzazione nel prossimo step.

Dopo il *quenching* occorre effettuare velocemente le estrazioni con DCM e *brine*, quindi passare alla fase di purificazione mediante colonna cromatografica su gel di silice. Dal momento che la molecola è suscettibile a degradazione su silice, la colonna deve essere breve e di diametro ristretto e il caricamento del grezzo deve essere effettuato a liquido contrariamente a quanto visto fino ad ora. Le migliori condizioni di eluizione prevedono l'utilizzo di solo DCM invece che di una miscela eluente binaria, infatti l'imidazolo e l'acido idrossamico residuo non corrono in DCM mentre il diossazolone ha  $R_f$  di 0.8 in DCM puro. Si nota inoltre che è fondamentale applicare una discreta pressione durante l'eluizione per ridurre al minimo la permanenza in colonna del diossazolone. La resa per questo step è del 52%.

L'avvenuta conversione dell'acido idrossamico in diossazolone è confermata mediante analisi NMR, nel dettaglio non sono più presenti i segnali *broad* a 9.25 ppm e 8.74 ppm.

## 4.6 Protezione a *N*-pivaloilidrossammato

Questo step sintetico è il punto di raccordo per effettuare la ciclizzazione biomimetica catalizzata dal ferro. La protezione serve a pre-attivare l'ossigeno come gruppo uscente per questa ciclizzazione promossa da ferro, formando il lattame finale.

Il *set-up* della reazione prevede di lavorare in condizioni inerti e anidre in un pallone a due colli. Si solubilizza l'acido idrossamico **6** in THF raffreddando a 0 °C, quindi si aggiunge Et<sub>3</sub>N goccia a goccia seguito da pivaloil cloruro.

La reazione è tenuta in agitazione per 3 ore a temperatura ambiente.

Il meccanismo di reazione è il seguente:

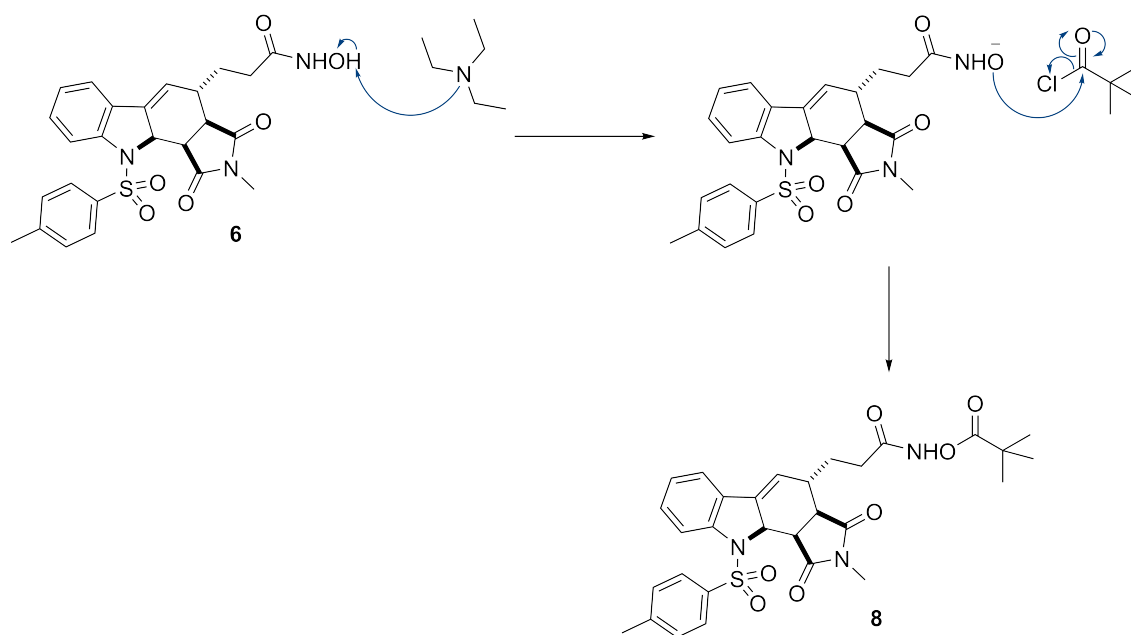


Figura 4.8: Meccanismo di reazione per la sintesi del *N*-pivaloilidrossammato

La base ha, in questo caso, una duplice funzione:

- Consente la deprotonazione del gruppo idrossammico, trasformandolo nella sua forma carbossilato, rendendolo più nucleofilo e più efficace nell'attacco del carbonile elettrofilo del cloruro acilico;
- Neutralizza l'HCl generato durante la reazione.

La trietilammina, pertanto, permette sia di attivare il substrato sia di mantenere condizioni di reazione favorevoli evitando l'accumulo di acido cloridrico, che può compromettere la riuscita della reazione.

La miscela viene estratta con acetato di etile, acqua e brine. Il grezzo ottenuto viene poi purificato mediante colonna cromatografica flash su gel di silice per ottenere il prodotto come solido bianco con resa del 54%.

La formazione del *N*-pivaloilidrossammato **8** è confermata mediante NMR, non sono più presenti i segnali *broad* a 9.25 ppm e 8.74 ppm e compare un singoletto a 1.28 ppm che integra per 9 H che è tipico del gruppo pivaloile.

## 4.7 Ciclizzazione biomimetica

### 4.7.1 Ciclizzazione biomimetica con catalizzatore al rame: variante racema

La prima reazione di ciclizzazione condotta è stata quella per ottenere lo scaffold lattamico **1** in maniera racema.

Questa reazione è già stata affrontata in letteratura<sup>[37]</sup> con risultati soddisfacenti e non sono state riscontrate problematiche di rilievo nel replicarla.

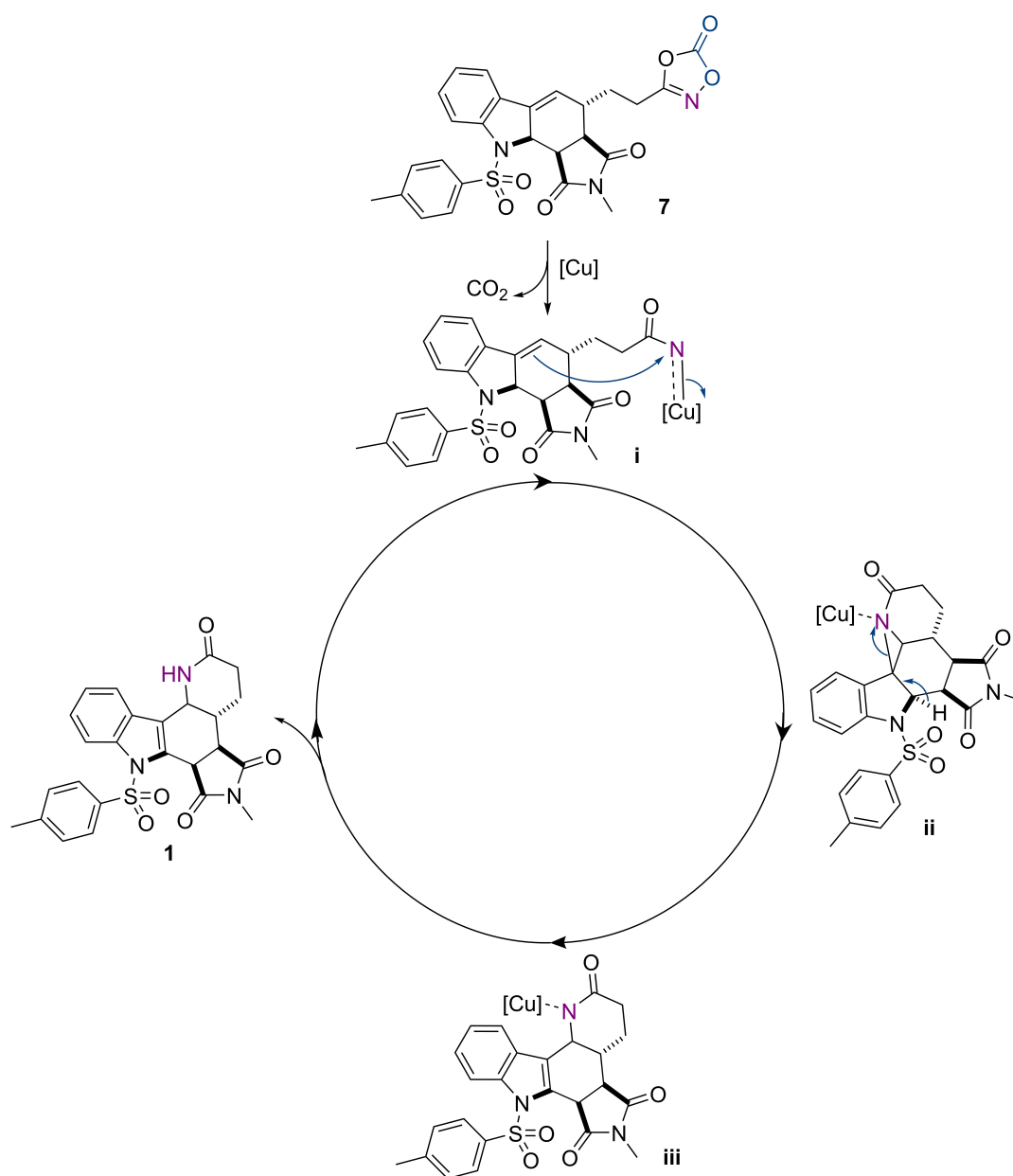


Figura 4.9: Ciclo catalitico con catalizzatore al rame

Il meccanismo della ciclizzazione a cascata ipotizzato (*figura 4.9*) prevede un trasferimento intramolecolare iniziale del nitrenoide acilico elettrofilo (**i**), mediato dal rame, verso il doppio legame vicino, portando alla formazione di un intermedio N-acilaziridinico (**ii**), che successivamente reagisce con il nucleofilo terminatore completando la ciclizzazione e formando il prodotto azaciclico fuso **1**.

Si riporta inoltre che la resa ottenuta è in linea a quanto riportato in letteratura.

#### 4.7.2 Ciclizzazione biomimetica con catalizzatore al rame e legante chirale: risoluzione cinetica

La ciclizzazione prende ispirazione da quanto già riportato in letteratura ma vuole esplorare la possibilità di portare ad una risoluzione della miscela enantiomerica ottenuta dalla reazione di Diels-Alder sfruttando la risoluzione cinetica.

Il *set-up* di questa reazione è effettuato in glovebox per assicurarsi di mantenere condizioni inerti e anidre durante i vari passaggi.

In una *vial* si solubilizzano il catalizzatore tetrakis(acetonitrile)rame(I) tetrafluoroborato ( $\text{Cu}(\text{MeCN})_4\text{BF}_4$ ) e il legante (4R,4'R)-4,4'-bis(3,5-di-*tert*-butilfenil)-4,4',5,5'-tetraidro-2,2'-bissazolo (**L\***) in HFIP deossigenato e vengono tenuti in agitazione per 15 minuti.

Nel frattempo, in un'altra *vial* sempre in condizioni inerte ed anidre viene solubilizzato il diossazolone **7** in HFIP. Passati i 15 minuti vi si trasferisce la soluzione del complesso catalizzatore-legante.

La miscela di reazione viene tenuta in vigorosa agitazione a 40°C per 24 ore fuori dalla glovebox essendo stata accuratamente sigillata con un opportuno tappo a vite.

Il ciclo catalitico e il meccanismo proposto per questa reazione sono uguali a quanto già visto per la reazione racema in *figura 4.9* poco sopra, con l'unica variante della possibile formazione di coppie match e mismatch pair tra substrato e metallo con legante chirale, nel favorire così uno solo dei due enantiomeri durante la reazione di ciclizzazione.

Il *work-up* della reazione prevede diluizione con una soluzione satura di carbonato di sodio ed estrazione con acetato d'etile. Il grezzo ottenuto è stato purificato mediante colonna cromatografica flash gravimetrica ottenendo il prodotto desiderato come solido di colore giallo in quantità corrispondente ad una resa del 27%. Si evidenzia l'impossibilità di recuperare il diossazolone **7** che decompone in colonna.

In prima istanza per confermare l'avvenuta ciclizzazione è stata condotta l'analisi spettroscopica all'NMR. Di particolare interesse è il segnale *broad* a 6.76 ppm tipico del protone lattamico, si riporta inoltre che lo spettro ottenuto è in linea con quanto riportato in letteratura per il racemo.

Dal momento che si sta effettuando una reazione asimmetrica mediante risoluzione cinetica ci si aspetta nella migliore delle ipotesi che reagisca un solo enantiomero portando ad una resa massima del 50%. L'induzione dell'asimmetria è dovuta al complesso catalizzatore-**L\*** che crea un ambiente asimmetrico in cui i due enantiomeri del substrato si trovano in stati di transizione diastereoisomerici con energie diverse.

Per indagare la presenza di asimmetria nella reazione si procede all'analisi mediante HPLC chirale. L'idea è di confrontare il campione ottenuto da questa reazione con il campione racemo ottenuto in precedenza.

Per la separazione in HPLC sono state effettuate le seguenti prove:

Colonna	Specifiche	Derivatizzazione	Flusso	Miscela eluente
CHIRALPAK IA-3	ID = 4.6 mm, L = 250 mm d = 3.0 µm	Amilosio tris(3,5-dimetilfenil carbammato)	1 mL/min	Eptano/iPrOh 95:5
CHIRALPAK IA-3	ID = 4.6 mm, L = 250 mm d = 3.0 µm	Amilosio tris(3,5-dimetilfenil carbammato)	1 mL/min	Eptano/iPrOh 95:5
CHIRALPAK IC-3	ID = 4.6 mm, L = 250 mm d = 3.0 µm	Cellulosa tris(3,5-diclorofenil carbammato)	1 mL/min	Eptano/iPrOh 80:20
CHIRALCEL OD-H	ID = 4.6 mm, L = 250 mm d = 5.0 µm	Cellulosa tris(3,5-dimetilfenil carbammato)	1 mL/min	Eptano/iPrOh 70:30
CHIRALCEL OD-3R	ID = 2.1 mm, L = 150 mm d = 3.0 µm	Cellulosa tris(3,5-dimetilfenil carbammato)	0.5 mL/min	Acqua/MeCN 90:10
CHIRALCEL OD-3R	ID = 2.1 mm, L = 250 mm d = 3.0 µm	Cellulosa tris(3,5-dimetilfenil carbammato)	0.5 mL/min	Acqua/MeCN 60:40

Figura 4.10: Prove di analisi HPLC con rispettive specifiche e condizioni

Dal momento che non si è osservata separazione in colonne in fase diretta quali le CHIRALPAK IA-3 e IC-3 e CHIRALCEL OD-H, l'attenzione si è spostata su un metodo in fase inversa con la colonna CHIRALCEL OD-3R. La migliore separazione è stata ottenuta in condizioni isocratiche con miscela eluente composta da acqua e acetonitrile in rapporto 60:40.

Di seguito sono riportati i tracciati per la reazione racema e asimmetrica.

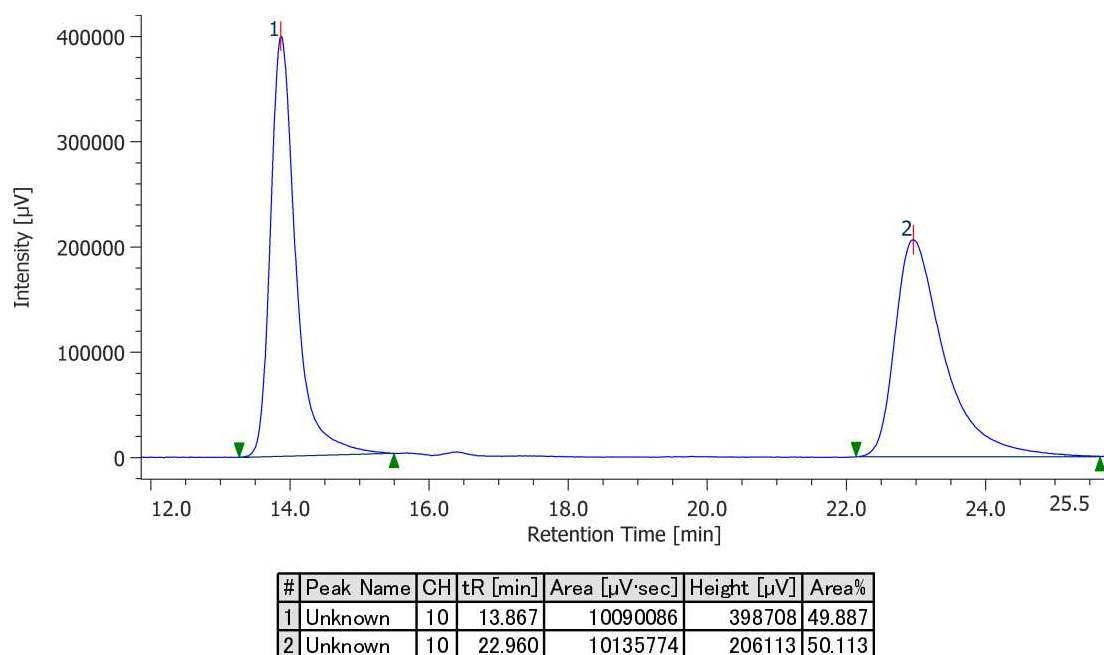


Figura 4.11: Tracciato HPLC del prodotto della reazione racema

Per la reazione racema si osservano due picchi, uno con  $t_R$  di circa 14 minuti e l'altro di circa 23 minuti le cui aree percentuali, come atteso, sono circa 50% ciascuno.

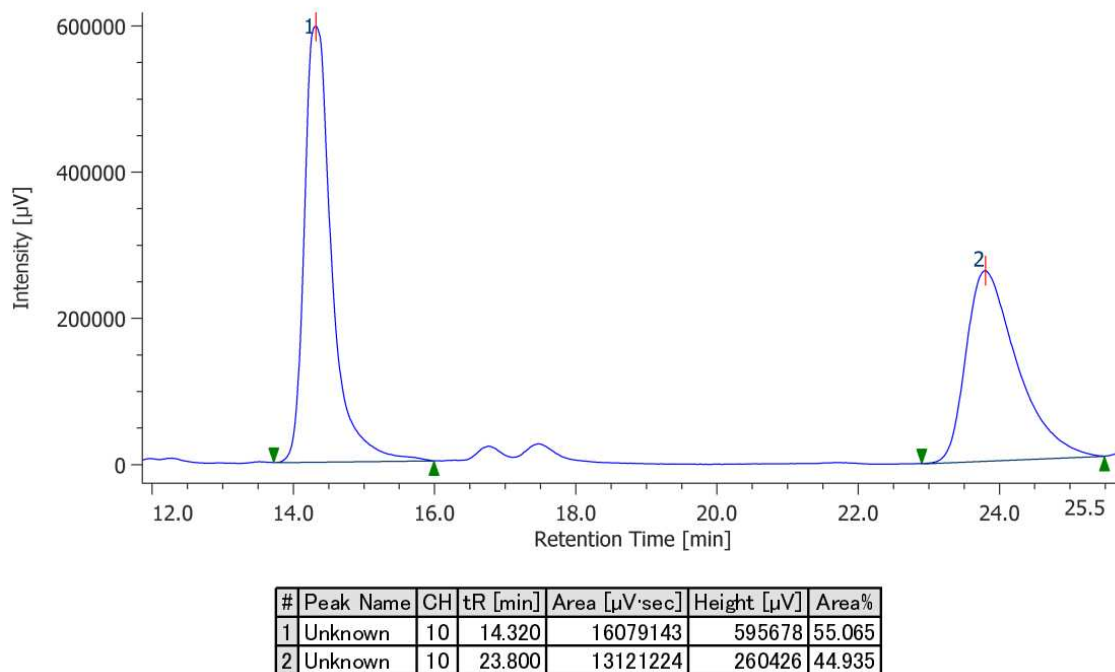


Figura 4.12: Tracciato HPLC del prodotto della reazione asimmetrica

Per la reazione asimmetrica si osservano due picchi con  $t_R$  confrontabili con quelli del racemo. Le aree percentuali sono 55% per il primo picco e 45% per il secondo. Quindi, sebbene siano presenti entrambi gli enantiomeri, si osserva una parziale asimmetria in favore dell'enantiomero che eluisce per primo.

Sulla base di quanto ottenuto non è possibile attribuire la configurazione assoluta associata all'enantiomero maggioritario: occorrerebbe infatti un maggiore livello di induzione o una risoluzione mediante cromatografia HPLC preparativa chirale al fine di isolare e poi cristallizzare l'enantiomero maggioritario ed effettuare l'analisi a raggi-X da cristallo singolo. Le basse quantità di prodotto ottenute hanno tuttavia impedito di procedere come pianificato. La parziale asimmetria della reazione suggerisce che è possibile affrontare questa strada sintetica per ottenere uno solo dei prodotti, ma occorre effettuare delle ottimizzazioni per le condizioni di reazione aprendo le porte a futuri sviluppi.

### 4.7.3 Ciclizzazione biomimetica con catalizzatore al ferro

Le condizioni impiegate per questa reazione di ciclizzazione sono state ottimizzate in lavori precedenti condotti all'interno del laboratorio tramite uno screening sistematico di diversi parametri. Questa reazione si inserisce dunque in un filone di ricerca per studiare la tolleranza di questa procedura su diversi substrati.

In una *vial* si solubilizza il ferro triflato ( $\text{Fe}(\text{OTf})_2$ ) e la fenantrolina in HFIP, dunque si aggiunge **8** e la reazione viene mantenuta in agitazione vigorosa per 24 ore a temperatura ambiente.

Il meccanismo di reazione ipotizzato con il rispettivo ciclo catalitico è il seguente:

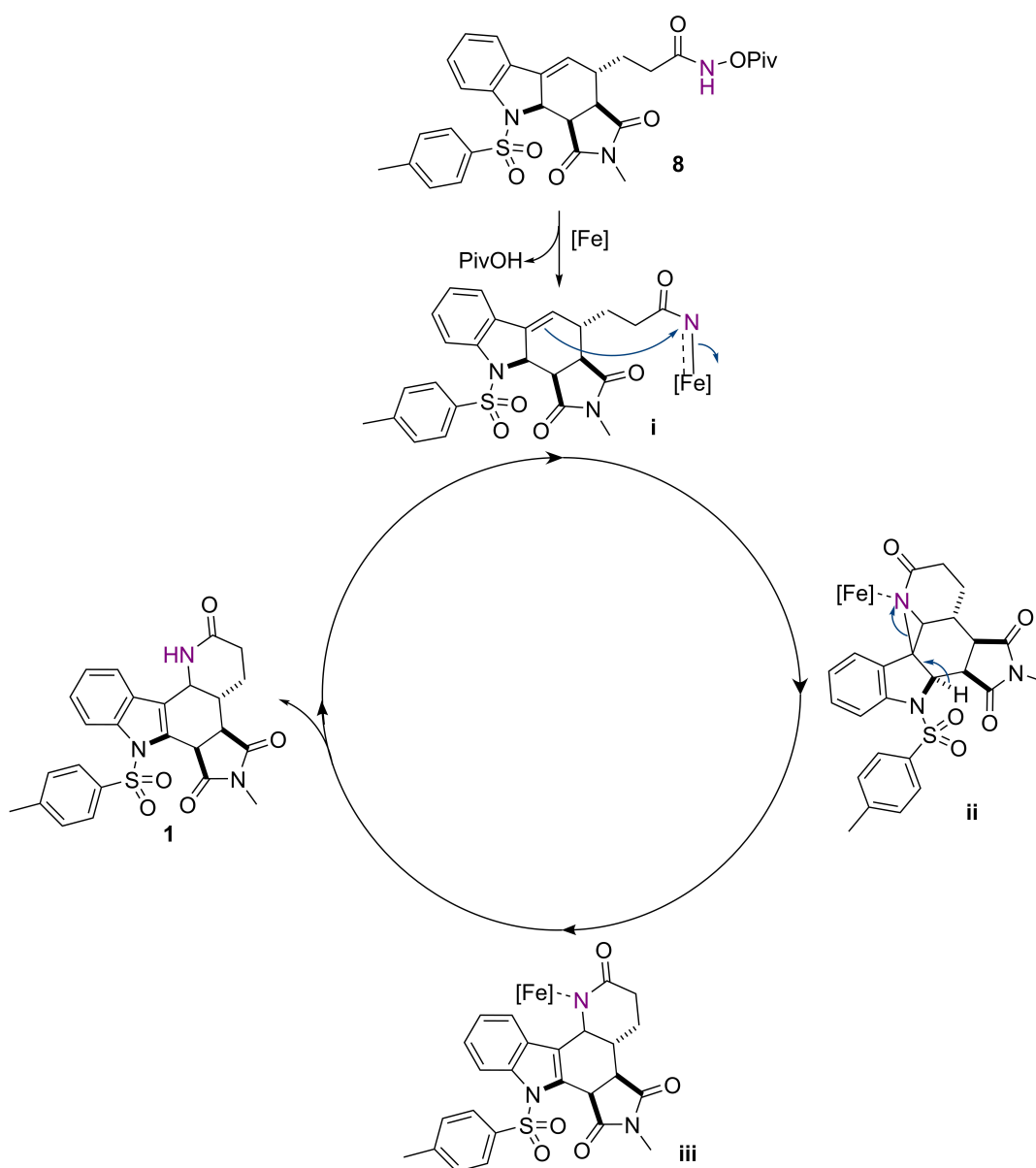


Figura 4.13: Ciclo catalitico con catalizzatore al ferro

Come rappresentato in *figura 4.13*, l'*N*-pivaloilidrossammato **8**, in presenza del catalizzatore a base di ferro, reagisce liberando acido pivalico e formando l'intermedio acil-nitrenico (**i**) che subisce l'attacco intramolecolare da parte dell'olefina. L'anello aziridinico (**ii**) così costituito è pronò a subire l'attacco da parte del terminatore nucleofilo (**iii**). Il ciclo catalitico si conclude con il ripristino del catalizzatore ed il rilascio del composto ciclizzato **1**.

In seguito a *work-up* e purificazione si è isolato un composto avente  $R_f$  compatibile con quello del racemo ottenuto mediante ciclizzazione con rame. Tuttavia dall'analisi NMR non è possibile riscontrare la formazione del prodotto ciclizzato.

# Capitolo 5

## Conclusioni

In questa tesi è stato esplorato il potenziale dei catalizzatori al ferro e al rame nelle reazioni di ciclizzazione biomimetica per ottenere uno *scaffold* reminiscente dell'aspidospermidina nell'ottica di uno schema di sintesi multistep.

Nonostante la via biomimetica catalizzata dal ferro non abbia portato all'ottenimento della molecola target **1**, non va escluso a priori che lo screening di altri catalizzatori e leganti possa portare alla ciclizzazione desiderata.

Questo approccio resta una sfida sperimentale e la sua rilevanza sia nei riguardi di un approccio *green* sia nell'ottica di un processo economico tiene aperte le porte a possibili sviluppi futuri.

Per quanto riguarda la via biomimetica catalizzata da rame in maniera asimmetrica mediante risoluzione cinetica, sebbene non siano stati raggiunti i risultati sperati, la timida induzione di asimmetria osservata lascia spazio ad ulteriori approfondimenti. Si può supporre, sulla base della de-racemizzazione parziale osservata, che l'informazione chirale del legante viene trasferita al substrato ma che il legante utilizzato non sia quello ottimale. Lo studio sperimentale di questa ipotesi può essere effettuato mediante un approfondito screening di diversi leganti e con diversi catalizzatori.

Un importante dato che non è stato possibile carpire nel corso di questa tesi è sulla configurazione assoluta del prodotto maggioritario: le basse quantità ottenute non hanno reso possibile effettuare le analisi necessarie e resta quindi aperta l'indagine meccanicistica su come il legante trasferisca l'informazione chirale.

I risultati ottenuti non rappresentano un fallimento del progetto ma, ribadendo la forza dell'approccio biomimetico, aprono interessanti prospettive per lo sviluppo di vie sintetiche che coinvolgano pochi step e consentano l'ottenimento di scheletri azapoliciclici che mimano quanto la natura realizza ogni giorno.

# Capitolo 6

## Sezione sperimentale

Per lo svolgimento della parte sperimentale si sono impiegati strumenti e materiali di seguito indicati.

Per la caratterizzazione dei composti:

- Spettrometro Bruker NMR AV 200, 300, 400 e 700 MHz;
- HPLC analitica: pompe JASCO PU-2080 Plus, detector diode array MD-2010 Plus, autocampionatore AS-2055 Plus, colonne fase diretta CHIRALPAK IA-3 4.6x250 mm d=3.0  $\mu\text{m}$ , CHIRALPAK IC-3 4.6x250 mm d=3.0  $\mu\text{m}$ , CHIRALCEL OD-H 4.6x250 mm d=5.0  $\mu\text{m}$ , colonne fase indiretta CHIRALCEL OD-3R 2.1x150 mm d=3.0  $\mu\text{m}$ .

Per le tecniche cromatografiche:

- Silica gel Sigma-Aldrich High-purity grade (9385), pore size 60 Å (230-400 mesh);
- Gel di silice GF-254 Merck (0.25 mm) per TLC Sigma-Aldrich
- ESI-MS thermo LTQ - MPLC Isolera One Biotage Flash Chromatography;
- Lampada a fluorescenza 254-366 nm;
- $\text{KMnO}_4$  (soluzione in acqua) e vanillina (soluzione in  $\text{H}_2\text{SO}_4$ -EtOH) usati come stain per la rivelazione in TLC.

Le preparazioni richiedenti condizioni anidre, ambiente inerte, utilizzo di reattivi sensibili all'ossigeno e all'umidità, sono state condotte sotto atmosfera statica di Argon, in reattori essiccati in stufa a 120°C per una notte e fiammati prima dell'utilizzo.

Le sostanze instabili all'ossigeno atmosferico e/o all'umidità sono state pesate in una Glovebox sotto atmosfera di Argon.

I solventi anidri utilizzati sono stati prelevati direttamente dal sistema di purificazione dei solventi: MBRAUN Solvent Purification System SPS-5. I solventi utilizzati per le analisi HPLC sono stati utilizzati al grado di purezza HPLC-*grade*. Gli altri solventi sono stati utilizzati al grado di purezza disponibile in commercio.

Gli spettri NMR sono stati tabulati riportando il chemical shift ( $\delta$ ) in ppm e le costanti di accoppiamento (J) in Hz. Le molteplicità dei segnali sono abbreviate nel seguente modo: s (singoletto), d (doppietto), t (tripletto), q (quartetto), m (multipletto).

## 6.1 Schemi di sintesi

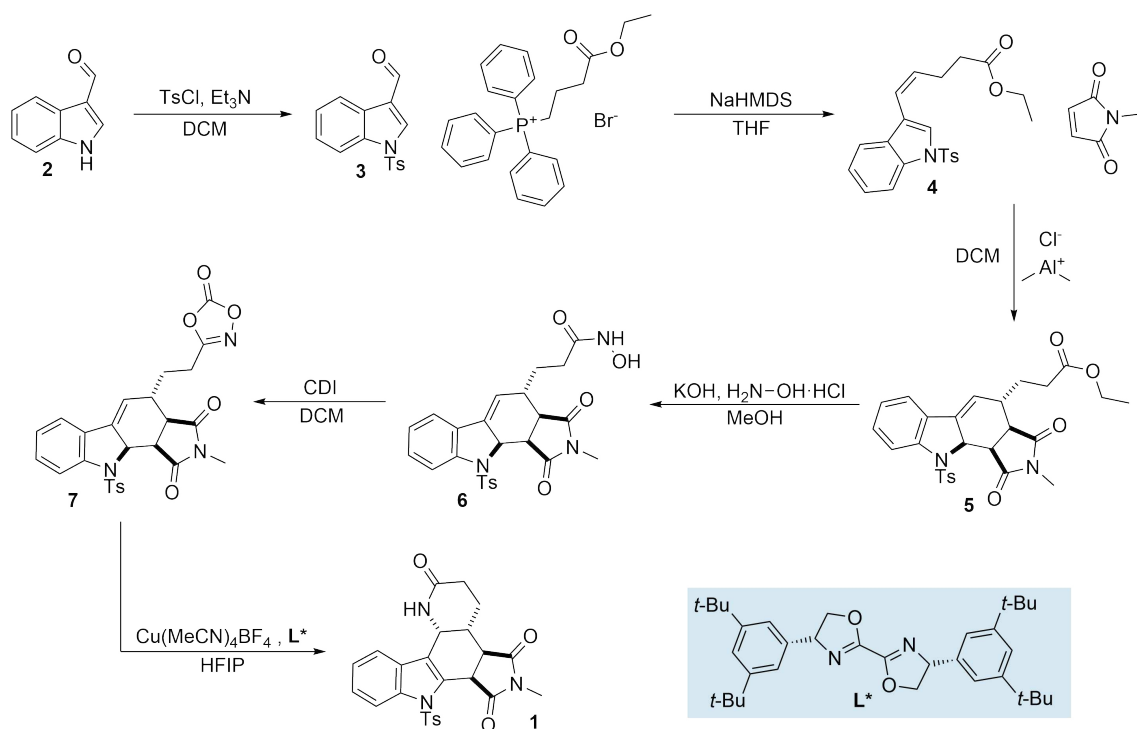


Figura 6.1: sintesi dello *scaffold* mediante catalisi con rame

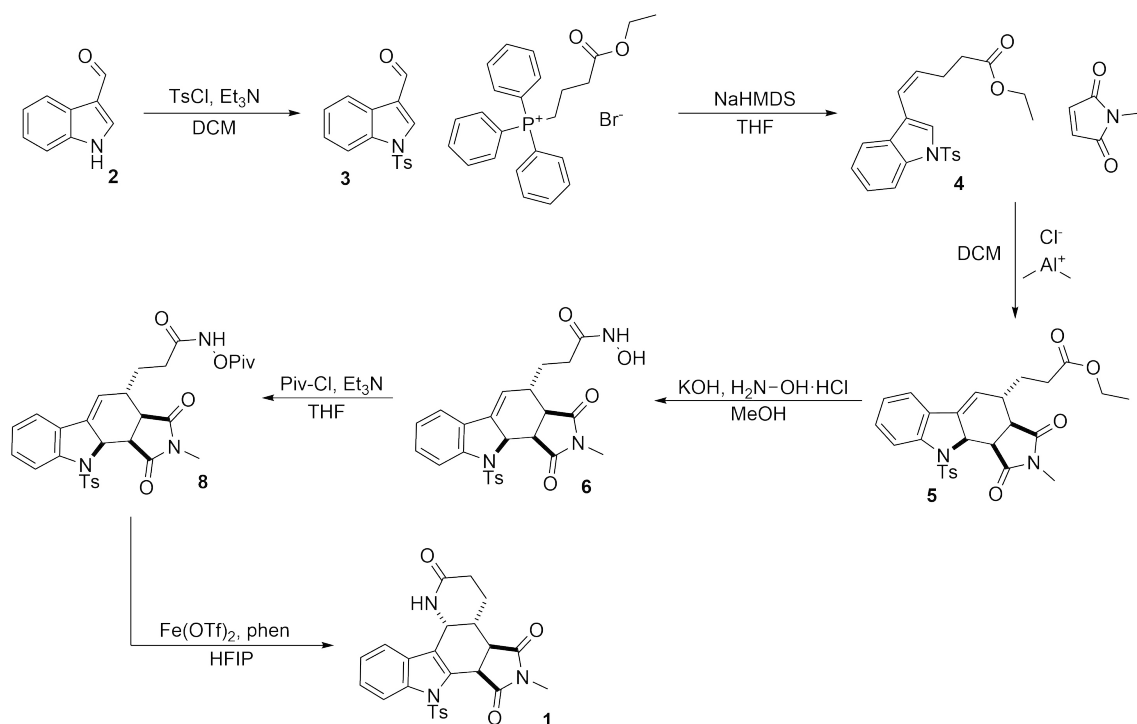
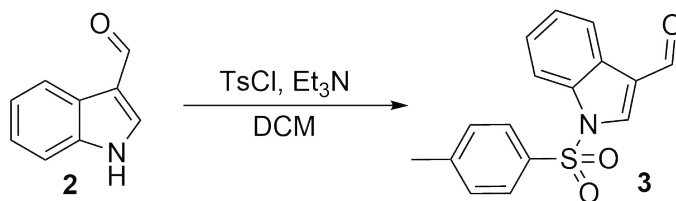


Figura 6.2: sintesi dello *scaffold* mediante catalisi con ferro

### 6.1.1 Sintesi composto 3



In condizioni di atmosfera inerte e anidre, ad una soluzione di 1H-indolo-3-carbaldeide (5.00 g, 1 Eq, 34.4 mmol) in DCM *dry* (68.9 mL, 0.5 M) a 0°C viene aggiunta Et<sub>3</sub>N (6.97 g, 9.60 mL, 2 Eq, 68.9 mmol) lentamente via siringa. La soluzione viene tenuta in agitazione per 15 minuti, dopodiché si aggiunge Ts-Cl (7.22 g, 1.1 Eq, 37.9 mmol). Si procede lasciando la reazione ad agitare per 16 ore a rt.

A completamento, la reazione è stata diluita con DCM (20 mL) e spenta con una soluzione satura di NH<sub>4</sub>Cl. La miscela ottenuta è stata lavata tre volte con una soluzione satura di NaHCO<sub>3</sub> e *brine*. La fase organica è stata essicata su Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> per poterla concentrare a pressione ridotta ottenendo così un solido dal colore viola. Si esegue la purificazione mediante colonna cromatografica su silice (*n*-hex/EtOAc 1:1) ottenendo il prodotto come solido bianco-giallo.

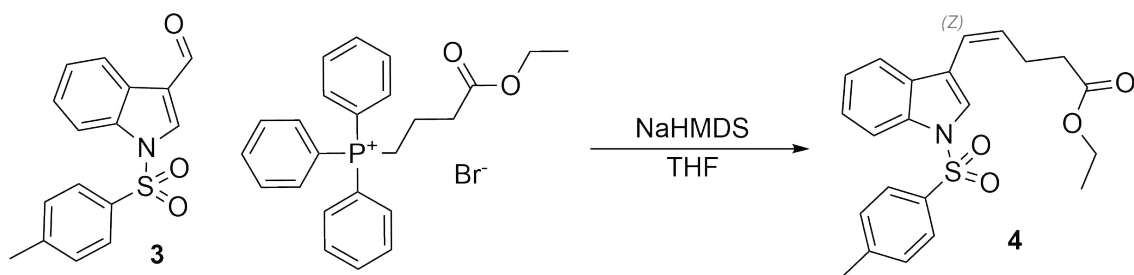
**R<sub>f</sub>**: 0.6 (TLC, *n*-hex:EtOAc 1:1).

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 10.10 (s, 1H), 8.27 – 8.24 (m, 1H), 8.23 (s, 1H), 7.97 – 7.93 (m, 1H), 7.87 – 7.83 (m, 2H), 7.44 – 7.33 (m, 2H), 7.32 – 7.27 (m, 2H), 2.38 (s, 3H).

**<sup>13</sup>C NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 185.4, 146.3, 136.3, 135.4, 134.5, 130.5, 127.4, 126.4, 125.2, 122.7, 122.5, 113.4, 21.8.

**Resa**: 90%

### 6.1.2 Sintesi composto 4



In un pallone di Schlenk precedentemente fiammato, è stato disciolto il bromuro di (4-etossi-4-oxo-butil)trifenilfosfonio (5.88 g, 1.1Eq, 12.9 mmol) in THF anidro (32.2 mL, 0.4 M).

La soluzione è stata raffreddata a  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  dopodiché una soluzione di NaHMDS (2.79 g, 15.2 mL, 1.0 M, 1.3 Eq, 15.2 mmol) è stata aggiunta goccia a goccia nell'arco di 10 min. La miscela è stata quindi lasciata scaldare fino a  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  e tenuta in agitazione per 2 h.

In un pallone separato, essiccato a fiamma, il composto **3** (3.50 g, 1 Eq, 11.7 mmol) è stato disciolto in THF anidro (19.5 mL, 0.6 M) e trasferito nella miscela di reazione tramite cannula.

La miscela risultante è stata tenuta in agitazione a rt per 48 ore.

A completamento, la reazione è stata spenta con soluzione acquosa saturata di  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (30 mL) ed estratta con EtOAc (200 mL per due volte). Gli strati organici combinati sono stati lavati con *brine*, essiccati su  $\text{MgSO}_4$  anidro, filtrati e concentrati a pressione ridotta per ottenere il prodotto grezzo come olio arancione.

La purificazione mediante cromatografia su colonna di gel di silice (*n*-hex/EtOAc 9:1) ha permesso di ottenere l'estere etilico del (*Z*)-5-(1-tosil-1H-indol-3-il)pent-4-enoato (**4**) come olio incolore.

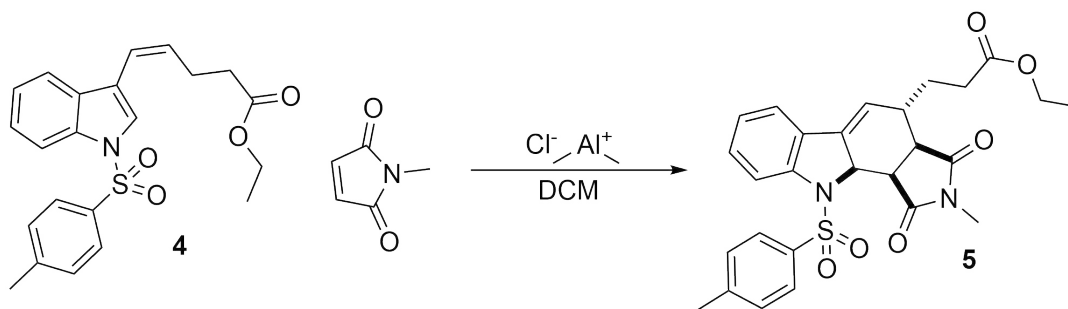
**R<sub>f</sub>**: 0.2 (TLC, *n*-hex:EtOAc 9:1)

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.99 (dt,  $J = 8.2, 0.9$  Hz, 1H), 7.80 – 7.76 (m, 2H), 7.56 (s, 1H), 7.53 – 7.48 (m, 1H), 7.33 (ddd,  $J = 8.3, 7.2, 1.3$  Hz, 1H), 7.28 – 7.19 (m, 3H), 6.45 (dtd,  $J = 11.4, 1.8, 1.0$  Hz, 1H), 5.79 (dt,  $J = 11.4, 7.0$  Hz, 1H), 4.19 – 4.09 (m, 2H), 2.65 (qd,  $J = 7.1, 1.9$  Hz, 2H), 2.52 – 2.45 (m, 2H), 2.33 (s, 3H), 1.28 – 1.23 (m, 3H)

**<sup>13</sup>C NMR** (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  172.8, 145.1, 135.1, 134.6, 132.1, 130.8, 129.9, 126.8, 124.9, 123.6, 123.4, 119.5, 118.96, 113.6, 60.5, 34.1, 25.2, 21.6, 14.3.

**Resa**: 60%

### 6.1.3 Sintesi composto 5



In un *pressure tube*, ad una soluzione di N-metilmaleimmide (559.0 mg, 1.0 eq, 5.032 mmol) in DCM anidro (16.77 mL, 0.3 M) a  $-78\text{ }^\circ\text{C}$  è stato aggiunto cloruro di dimetilalluminio (11.2 mL, 0.9 M in eptano, 2.0 eq, 10.08 mmol) goccia a goccia.

La miscela di reazione è stata lasciata in agitazione a  $-78\text{ }^\circ\text{C}$  per 30 min, dopodiché è stata aggiunta goccia a goccia una soluzione di estere etilico 4 (2000 mg, 1.0 eq, 5.032 mmol) in DCM anidro (16.77 mL, 0.3 M). La miscela è stata gradualmente scaldata fino a  $40\text{ }^\circ\text{C}$  e lasciata in agitazione per 48 h.

A completamento, la reazione è stata spenta con soluzione acquosa saturata di  $\text{NaHCO}_3$  (20 mL) ed estratta con DCM (100 mL due volte). Gli strati organici combinati sono stati lavati con *brine*, essiccati su  $\text{MgSO}_4$  anidro, filtrati e concentrati a pressione ridotta per ottenere il prodotto grezzo come solido giallo.

La purificazione mediante cromatografia su colonna di gel di silice (*n*-hex/EtOAc 7:3) ha fornito il prodotto desiderato (5) come solido giallo brillante.

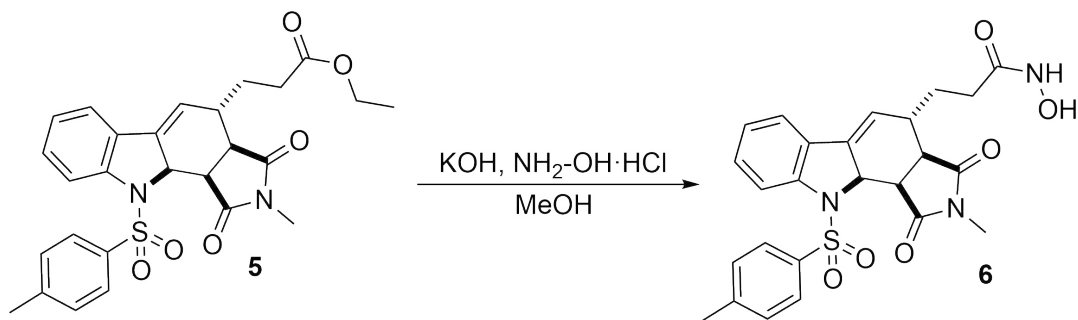
**R<sub>f</sub>**: 0.2 (TLC, *n*-hex:EtOAc 6:4)

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.84 – 7.79 (m, 2H), 7.65 – 7.61 (m, 1H), 7.29 – 7.21 (m, 4H), 6.97 (td,  $J = 7.5, 0.9$  Hz, 1H), 6.11 (dd,  $J = 7.4, 3.3$  Hz, 1H), 4.88 (dd,  $J = 7.6, 3.4$  Hz, 1H), 4.20 – 4.13 (m, 1H), 4.13 – 4.04 (m, 2H), 3.20 – 3.11 (m, 1H), 3.06 – 3.01 (m, 1H), 2.84 (s, 3H), 2.45 – 2.38 (m, 2H), 2.37 (s, 3H), 1.91 – 1.75 (m, 2H), 1.21 (t,  $J = 7.1$  Hz, 3H).

**<sup>13</sup>C NMR** (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  178.55, 173.97, 172.78, 144.67, 144.39, 136.76, 134.25, 130.70, 130.01, 127.70, 126.81, 123.96, 121.06, 116.42, 115.52, 60.82, 60.00, 44.27, 43.06, 37.28, 33.30, 28.38, 25.35, 21.71, 14.34.

**Resa**: 29%

### 6.1.4 Sintesi composto 6



Il composto **5** (670 mg, 1.0 Eq, 1.32 mmol) è stato disciolto in MeOH (0.2 M) a 0 °C.

Sono stati aggiunti simultaneamente alla soluzione KOH (591 mg, 8 Eq, 10.5 mmol) e NH<sub>2</sub>OH·HCl (549 mg, 6 Eq, 7.90 mg).

La reazione è stata tenuta in agitazione a rt per 16 h.

A completamento, il pH è stato portato a 7 mediante aggiunta tampone fosfato.

Il solvente è stato quindi rimosso a pressione ridotta e la miscela acquosa risultante è stata estratta con EtOAc (20 mL per cinque volte). Gli strati organici combinati sono stati lavati con *brine*, essiccati su MgSO<sub>4</sub> anidro, filtrati e concentrati a pressione ridotta.

Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash Isolera One Biotage (gradiente a partire da DCM/MeOH 95:5) per ottenere l'acido idrossamico (**6**) come solido bianco cristallino.

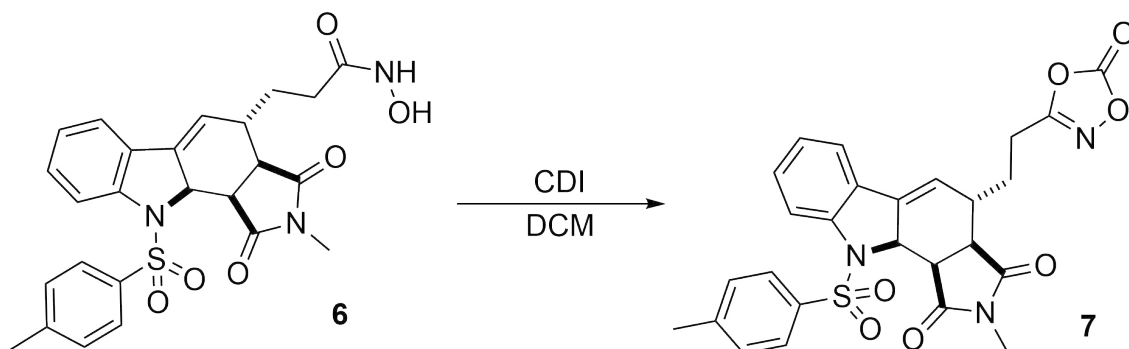
**R<sub>f</sub>**: 0.3 (TLC, DCM/MeOH 95:5)

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)  $\delta$  9.25 (br, 1H), 8.74 (br, 1H), 7.78 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.60 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.24 (t, J = 8.1 Hz, 4H), 6.95 (t, J = 7.5 Hz, 1H), 6.14 (dd, J = 7.4, 3.3 Hz, 1H), 4.89 (dd, J = 7.5, 3.3 Hz, 1H), 4.18 – 4.09 (m, 1H), 3.18 – 3.01 (m, 2H), 2.76 (s, 3H), 2.36 – 2.27 (m, 5H), 1.96 – 1.73 (m, 2H).

**<sup>13</sup>C NMR** (101 MHz, CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)  $\delta$  179.4, 174.7, 171.2, 145.4, 144.4, 136.6, 134.0, 130.8, 130.3, 127.9, 127.4, 124.3, 121.5, 117.6, 115.5, 60.4, 44.9, 42.8, 37.5, 31.4, 28.4, 25.4, 21.7.

**Resa**: 77%

### 6.1.5 Sintesi composto 7



In un pallone, è stato solubilizzato il composto **6** (150 mg, 1 eq, 303  $\mu\text{mol}$ ) in DCM (3.03 mL, 0.1 M) dopodiché è stato aggiunto CDI (63.8 mg, 1.3 eq, 394  $\mu\text{mol}$ ).

La miscela viene tenuta in agitazione per 6 h a temperatura ambiente.

La reazione è stata spenta portando l'ambiente a pH 7 con tampone fosfato ed è stata estratta con DCM (20 mL per tre volte) e lavata con *brine*. Le fasi organiche sono state essiccate con  $\text{MgSO}_4$  e concentrate a pressione ridotta.

Il grezzo è stato purificato mediante colonna cromatografica utilizzando come miscela eluente DCM puro ottenendo il prodotto **7** come solido bianco.

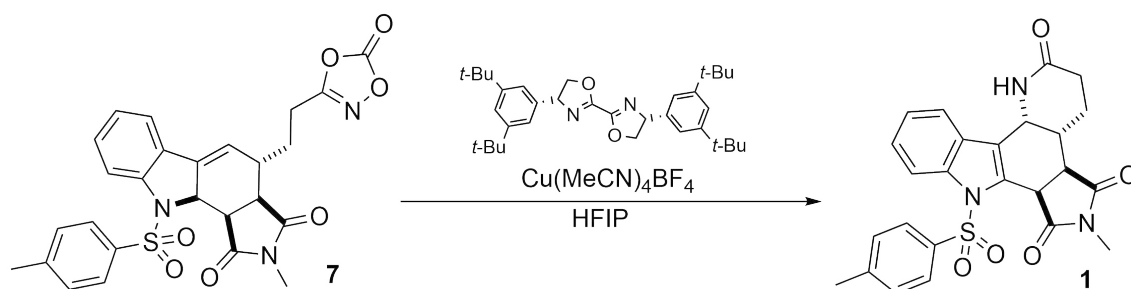
**R<sub>f</sub>**: 0.8 (DCM).

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz,  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ )  $\delta$  7.78 – 7.72 (m, 2H), 7.66 (dd,  $J = 8.6, 0.9$  Hz, 1H), 7.32 – 7.25 (m, 4H), 7.01 (td,  $J = 7.5, 1.0$  Hz, 1H), 6.13 (dd,  $J = 7.4, 3.3$  Hz, 1H), 4.78 (dd,  $J = 7.5, 3.4$  Hz, 1H), 4.19 – 4.11 (m, 1H), 3.20 (dddd,  $J = 10.9, 7.1, 5.5, 1.2$  Hz, 1H), 3.09 (dd,  $J = 8.6, 1.2$  Hz, 1H), 2.81 (s, 3H), 2.79 – 2.64 (m, 2H), 2.36 (s, 3H), 2.05 – 1.94 (m, 1H), 1.94 – 1.81 (m, 1H).

**<sup>13</sup>C NMR** (101 MHz,  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ )  $\delta$  178.3, 174.3, 166.7, 154.5, 145.7, 144.8, 137.9, 134.1, 131.3, 130.5, 127.9, 127.2, 124.6, 121.8, 115.9, 115.8, 60.5, 44.6, 43.4, 37.4, 28.4, 25.6, 24.5, 21.8.

**Resa**: 52%

### 6.1.6 Sintesi composto 1 procedura con complesso di rame chirale



In una *vial* precedentemente fiammata da 4 mL sono stati aggiunti  $\text{Cu}(\text{MeCN})_4\text{BF}_4$  (2.4 mg, 0.05 eq, 7.7  $\mu\text{mol}$ ), **L\*** (79 mg, 1 eq, 0.15 mmol) e HFIP deossigenato (2.0 mL), che sono stati lasciati in agitazione per 15 min con un'ancoretta magnetica in atmosfera di Ar.

In una seconda *vial* precedentemente fiammata da 4 mL contenente HFIP con un'ancoretta magnetica è stato aggiunto **7** (80 mg, 1 Eq, 0.15 mmol).

La soluzione del complesso catalizzatore-legante premiscelata è stata trasferita nella *vial* del substrato, utilizzando ulteriori 0.5 mL di HFIP deossigenato per assicurare il trasferimento completo.

La *vial* è stata sigillata con un tappo a vite e la miscela di reazione è stata tenuta in vigorosa agitazione a 40 °C per 24 h.

La miscela risultante è stata diluita con soluzione acquosa satura di carbonato di sodio (20 mL) ed estratta con EtOAc (20 mL per tre volte). Le fasi organiche combinate sono state essiccate su  $\text{MgSO}_4$  anidro, filtrati e concentrati a pressione ridotta. La miscela grezza è stata purificata mediante cromatografia su colonna di gel di silice (DCM/acetone da 95:5 a 8:2) per ottenere il prodotto (**1**) desiderato come solido di colore giallo.

L'eccesso enantiomerico (*ee*) determinato mediante analisi HPLC chirale.

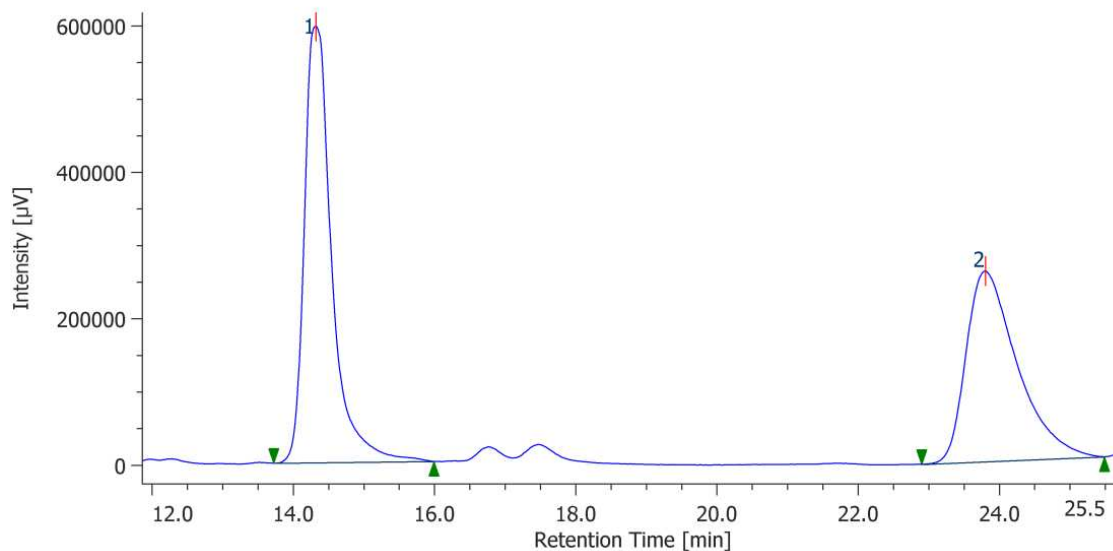
$R_f$ : 0.8 (DCM/acetone 9:1).

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{CN}$ )  $\delta$  8.04 (d,  $J = 8.3$  Hz, 1H), 7.67 – 7.61 (m, 3H), 7.36 – 7.29 (m, 1H), 7.29 – 7.22 (m, 3H), 6.76 (br, 1H), 5.05 (dd,  $J = 8.4, 1.3$  Hz, 1H), 4.54 (t,  $J = 4.2$  Hz, 1H), 3.47 (dd,  $J = 8.3, 5.2$  Hz, 1H), 2.89 (s, 3H), 2.72 (dq,  $J = 9.5, 4.7$  Hz, 1H), 2.37 – 2.27 (m, 4H), 2.08 – 1.97 (m, 1H), 1.92 – 1.83 (m, 1H), 1.75 – 1.63 (m, 1H).

$^{13}\text{C NMR}$  (101 MHz,  $\text{CD}_3\text{CN}$ )  $\delta$  178.2, 174.5, 171.2, 146.8, 138.4, 135.2, 130.8, 129.9, 129.7, 127.7, 126.2, 125.3, 123.1, 121.2, 116.5, 48.4, 43.8, 40.0, 34.1, 29.9, 25.6, 23.7, 21.5.

Resa: 27%

**Analisi HPLC:** colonna CHIRALCEL OD-3R ID = 2.1 mm, L = 250 mm d = 3.0  $\mu\text{m}$ ; flusso 0.5 mL/min; miscela eluente acqua/MeCN 60:40 in condizioni isocratiche; volume di iniezione 10  $\mu\text{L}$ .

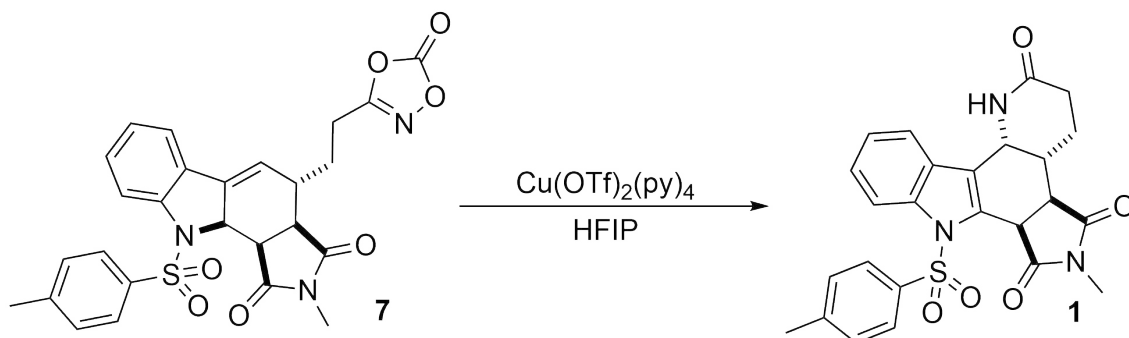


#	Peak Name	CH	tR [min]	Area [ $\mu\text{V}\cdot\text{sec}$ ]	Height [ $\mu\text{V}$ ]	Area%
1	Unknown	10	14.320	16079143	595678	55.065
2	Unknown	10	23.800	13121224	260426	44.935

Figura 6.3: Tracciato HPLC del prodotto della reazione asimmetrica

**Rapporto enantiomerico:** 55:45

### 6.1.7 Sintesi composto 1 procedura con rame



In una *vial* da 4 mL dotata di ancoretta magnetica sono stati aggiunti  $[\text{Cu}(\text{OTf})_2(\text{py})_4]$  (2.4 mg, 0.05 eq, 7.7  $\mu\text{mol}$ ) e HFIP (0.75 mL) in condizioni atmosferiche.

La miscela è stata tenuta in agitazione per 10 min, dopodiché è stato aggiunto il composto **7** (80 mg, 1 eq, 0.15 mmol) e la *vial* è stata sigillata. La reazione è stata tenuta in vigorosa agitazione a temperatura ambiente per 24 h.

A completamento, la reazione è stata spenta con soluzione acquosa saturata di  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  ed estratta con EtOAc (20 mL per tre volte). Le fasi organiche sono state essiccate su  $\text{MgSO}_4$  anidro, filtrati e concentrati a pressione ridotta.

Il residuo grezzo è stato purificato mediante cromatografia su colonna di gel di silice (DCM/acetone da 9:1 a 8:2) per ottenere il prodotto (**1**) desiderato come solido bianco-giallo.

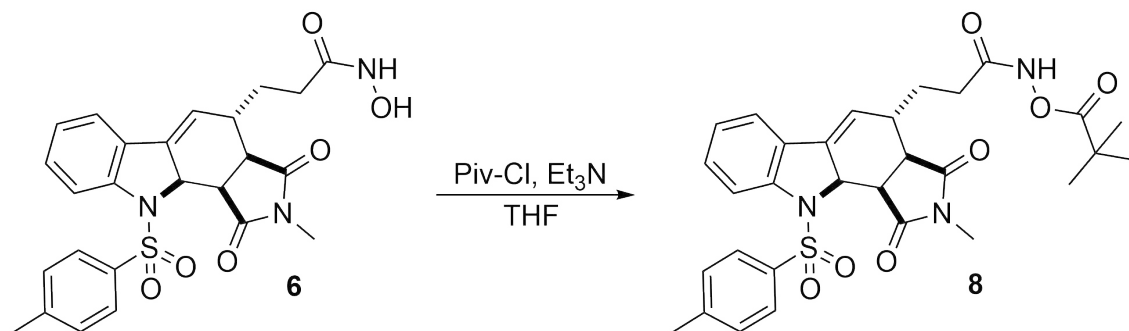
**R<sub>f</sub>**: 0.8 (DCM/acetone 9:1).

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{CN}$ )  $\delta$  8.04 (d,  $J = 8.3$  Hz, 1H), 7.67 – 7.61 (m, 3H), 7.36 – 7.29 (m, 1H), 7.29 – 7.22 (m, 3H), 6.76 (br, 1H), 5.05 (dd,  $J = 8.4, 1.3$  Hz, 1H), 4.54 (t,  $J = 4.2$  Hz, 1H), 3.47 (dd,  $J = 8.3, 5.2$  Hz, 1H), 2.89 (s, 3H), 2.72 (dq,  $J = 9.5, 4.7$  Hz, 1H), 2.37 – 2.27 (m, 4H), 2.08 – 1.97 (m, 1H), 1.92 – 1.83 (m, 1H), 1.75 – 1.63 (m, 1H).

**<sup>13</sup>C NMR** (101 MHz,  $\text{CD}_3\text{CN}$ )  $\delta$  178.2, 174.5, 171.2, 146.8, 138.4, 135.2, 130.8, 129.9, 129.7, 127.7, 126.2, 125.3, 123.1, 121.2, 116.5, 48.4, 43.8, 40.0, 34.1, 29.9, 25.6, 23.7, 21.5.

**Resa**: 55%

### 6.1.8 Sintesi composto 8



In un pallone a due colli precedentemente fiammato, in atmosfera inerte, il composto **6** (150 mg, 1 eq, 303  $\mu\text{mol}$ ) è stato disciolto in THF anidro (2.16 mL, 0.135 mM) a 0 °C in bagno di ghiaccio. Dopodiché si è effettuata l'aggiunta goccia a goccia di Et<sub>3</sub>N (36.8 mg, 50.6  $\mu\text{L}$ , 1.2 eq, 363  $\mu\text{mol}$ ) e Piv-Cl (25.5 mg, 26.1  $\mu\text{L}$ , 0.7 eq, 212  $\mu\text{mol}$ ).

La reazione è stata lasciata scaldare a temperatura ambiente per 3 h.

A completamento, la miscela è stata estratta con EtOAc (20 mL per tre volte) e lavata con acqua e *brine*. Le fasi organiche combinate sono state essiccate su Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro, filtrate e concentrate a pressione ridotta.

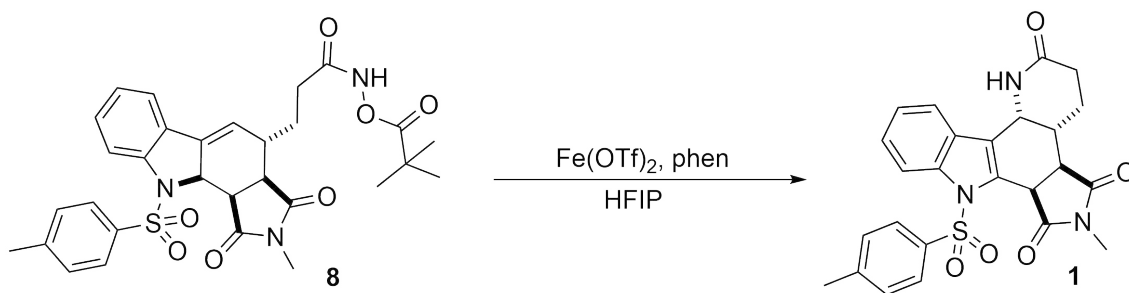
Il grezzo è stato purificato mediante cromatografia su colonna di gel di silice (DCM/acetone 9:1) per ottenere il prodotto (**8**) desiderato come solido bianco.

**R<sub>f</sub>**: 0.8 (DCM/acetone 9:1).

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)  $\delta$  7.81 – 7.63 (m, 3H), 7.32 – 7.23 (m, 4H), 7.00 (td, J = 7.6, 1.0 Hz, 1H), 6.14 (dd, J = 7.4, 3.3 Hz, 1H), 4.84 (dd, J = 7.5, 3.3 Hz, 1H), 4.16 – 4.02 (m, 2H), 3.18 – 3.04 (m, 2H), 2.81 (s, 3H), 2.39 – 2.29 (m, 5H), 2.00 (s, 2H), 1.28 (s, 9H).

**<sup>13</sup>C NMR** (101 MHz, CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)  $\delta$ 178.94, 174.68, 145.46, 144.73, 137.02, 134.21, 130.94, 130.48, 127.99, 127.53, 124.40, 121.70, 117.33, 115.69, 60.81, 60.56, 45.01, 43.20, 38.80, 37.69, 27.30, 25.48, 21.85, 21.34, 14.57. **Resa**: 54%

### 6.1.9 Sintesi composto 1 procedura con ferro



In una *vial*  $\text{Fe}(\text{OTf})_2$  (2.1 mg, 0.05 eq, 6.0  $\mu\text{mol}$ ) viene solubilizzato in HFIP (0.6 mL, 0.20M) assieme alla 1,10-fenantrolina (2.2 mg, 0.1 eq, 12  $\mu\text{mol}$ ) e **8** (70 mg, 1 eq, 0.12 mmol) per 24 h.

La soluzione è stata filtrata su un pad di silice che successivamente è stato lavato con DCM.

Il solvente è stato allontanato a pressione ridotta. Il grezzo ottenuto è stato purificato tramite colonna cromatografica (gradiente di DCM/acetone 95:5 fino a 8:2).

$^1\text{H}$  NMR: n.d.

$^{13}\text{C}$  NMR: n.d.

Resa: n.a.

## 6.2 Abbreviazioni frequenti

Ar	Argon
<i>Brine</i>	Soluzione satura di NaCl
CD <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	Diclorometano deuterato
CD <sub>3</sub> Cl	Cloroformio deuterato
CD <sub>3</sub> CN	Acetonitrile deuterata
CDI	Carbonildiimidazolo
[Cu(OTf) <sub>2</sub> (py) <sub>4</sub> ]	Tetrakis(piridina)rame(II) triflato
Cu(MeCN) <sub>4</sub> BF <sub>4</sub>	Tetrakis(acetonitrile)rame(I) tetrafluoroborato
DCM	Diclorometano
e.r.	<i>Enantiomeric ratio</i>
ESI-MS	<i>Electrospray ionization mass spectrometry</i>
Et <sub>3</sub> N	Trietilammia
EtOAc	Acetato di etile
EtOH	Etanolo
Fe(OTf) <sub>2</sub>	Ferro(II) triflato
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Acido solforico
HFIP	1,1,1,3,3,3-esafluoro-2-propanolo
HPLC	<i>High performance liquid chromatography</i>
KMnO <sub>4</sub>	Permanganato di potassio
KOH	Iossido di potassio
MeOH	Metanolo
MgSO <sub>4</sub>	Solfato di magnesio
MPLC	<i>Medium pressure liquid chromatography</i>
n.a.	<i>Not available</i>
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	Carbonato di sodio
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Solfato di sodio
NaHCO <sub>3</sub>	Bicarbonato di sodio
NaHMDS	Bis(trimetilsilil)ammide di sodio
n.d.	<i>Non detected</i>

NH <sub>2</sub> OH·HCl	Idrossilammina cloridrato
NH <sub>4</sub> Cl	Cloruro di ammonio
<i>n</i> -Hex	<i>n</i> -Esano
NMR	<i>Nuclear magnetic resonance</i>
phen	1,10-Fenantrolina
Piv-Cl	Pivaloile cloruro
R <sub>f</sub>	Fattore di ritenzione
rt	<i>Room temperature</i>
SPS	<i>Solvent purification system</i>
THF	Tetraidrofurano
TLC	<i>Thin layer chromatography</i>
Ts-Cl	Cloruro di tosile

# Bibliografia

- (1) Dewick, P. M., *Medicinal natural products : a biosynthetic approach*, 3rd Edition; Wiley, A John Wiley e Sons, Ltd., Publication: 2009, p. 539.
- (2) SHAW, E.; WOOLLEY, D. W. J. Biol. Chem. **1953**, *203*, 979–989.
- (3) Baird-Lambert, J.; Davis, P. A.; Taylor\$, K. M.; Taylor, K. M. Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. **1982**, *9*, 203–212.
- (4) Hu, J. F.; Schetz, J. A.; Kelly, M.; Peng, J. N.; Ang, K. K.; Flotow, H.; Leong, C. Y.; Ng, S. B.; Buss, A. D.; Wilkins, S. P.; Hamann, M. T. J. Nat. Prod. Journal of Natural Products **2002**, *65*, 476–480.
- (5) Ge, D.; Tao, H.-R.; Fang, L.; Kong, X.-Q.; Han, L.-N.; Li, N.; Xu, Y.-X.; Li, L.-Y.; Yu, M.; Zhang, H. Chem. Pharm. Bull **2020**, *68*, 244–250.
- (6) Yu, Y.; Wu, J.; Bao, M. F.; Schinnerl, J.; Cai, X. H. Fitoterapia **2023**, *169*, 105588.
- (7) Gonçalves, B. M.; Duarte, N.; Ramalhete, C.; Barbosa, F.; Madureira, A. M.; Ferreira, M. J. U. Phytochem. Rev. **2025**, *24*, 2271–2307.
- (8) Lim, K. H.; Hiraku, O.; Komiyama, K.; Kam, T. S. J. Nat. Prod. **2008**, *71*, 1591–1594.
- (9) Wang, N.; Liu, J.; Wang, C.; Bai, L.; Jiang, X. Org. Lett. **2018**, *20*, 292–295.
- (10) Szabó, L. F. Rigorous biogenetic network for a group of indole alkaloids derived from strictosidine, 2008.
- (11) Dolpini New York, J. E.; Bamford, H.; Elliott, H.; Hanby, W. E.; Polypeptides, S.; Schwyzer, R.; Sieber, P. J. Am. Chem. Soc. **1963**, *85*, 373.
- (12) Katahara, S.; Sugiyama, Y.; Yamane, M.; Komiya, Y.; Sato, T.; Chida, N. Org. Lett. **2021**, *23*, 3058–3063.
- (13) Jones, S. B.; Simmons, B.; Mastracchio, A.; MacMillan, D. W. Nature **2011**, *475*, 183–188.
- (14) Breslow, R. Chem. Soc. Rev. **1972**, *1*, 553–580.

- (15) Robert Robinson, B. J. Chem. Soc., Trans. **1917**, 111.
- (16) Bloch, K. Science **1965**, 150.
- (17) K. Ulrich Wendt; Georg E. Schulz; Elias J. Corey; David R. Liu Angew. Chem., Int. Ed. Engl **2000**, 39, 2812–2833.
- (18) Ueberbacher, B. T.; Hall, M.; Faber, K. Nat. Prod. Rep. **2012**, 29, 337–350.
- (19) Walsh, C. T.; Moore, B. S. Angew. Chem., Int. Ed. Engl **2019**, 58, 6918–6952.
- (20) Johnson, W. S.; Gravestock, M. B.; Parry, R. J.; Myers, R. F.; Bryson, T. A.; Miles, D. H. J. Am. Chem. Soc. **1971**, 93.
- (21) Van Tamelen, E. E. Acc. Chem. Res. **1975**, 8.
- (22) Corey, E. J.; Luo, G.; Shouzhong Lin, L. J. Chem. Soc., Chem. Commun **1997**, 119.
- (23) Ishihara, K.; Nakamura, S.; Yamamoto, H. J. Am. Chem. Soc. **1999**, 121, 4906–4907.
- (24) Ishihara, K.; Kaneeda, M.; Yamamoto, H. Angew. Chem., Int. Ed. Engl **1994**, 116, 3758.
- (25) Surendra, K.; Corey, E. J. J. Am. Chem. Soc. **2012**, 134, 11992–11994.
- (26) Kim, H.; MacMillan, D. W. J. Am. Chem. Soc. **2008**, 130, 398–399.
- (27) Schafroth, M. A.; Sarlah, D.; Krautwald, S.; Carreira, E. M. J. Am. Chem. Soc. **2012**, 134, 20276–20278.
- (28) Jeker, O. F.; Kravina, A. G.; Carreira, E. M. Angew. Chem., Int. Ed. Engl **2013**, 52, 12166–12169.
- (29) Tufano, E.; Lee, E.; Barilli, M.; Casali, E.; Oštrek, A.; Jung, H.; Morana, M.; Kang, J.; Kim, D.; Chang, S.; Zanoni, G. J. Am. Chem. Soc. **2023**, 145, 24724–24735.
- (30) *Committee for Medicinal Products for Human Use ICH guideline Q3D (R2) on elemental impurities*; rapp. tecn.; EMA, 2022.
- (31) Aggett, P. J. Clinics in Endocrinology and Metabolism **1977**, 14.
- (32) Glaser, C. Ber. Dtsch. Chem. Ges **1869**, 2, 422–424.
- (33) Harold Kwart; A. A. Kahn J. Am. Chem. Soc. **1967**, 89.
- (34) Evans, D. A.; Faul, M. M.; Bilodeau, M. T. J. Am. Chem. Soc **1994**, 116, 2742–2753.

- (35) Evans, D. A.; Faul, M. M.; Bilodeau, M. T.; Anderson, B. A.; Barnes, D. M. J. Am. Chem. Soc **1993**, *115*.
- (36) Lebel, H.; Lectard, S.; Parmentier, M. Org. Lett. **2007**, *9*, 4797–4800.
- (37) Kim, S.; Tufano, E.; Barilli, M.; Casali, E.; Kim, Y.; Kim, D.; Massimini, T.; Zanoni, G.; Chang, S. J. Am. Chem. Soc. **2025**, *147*, 38772–38784.
- (38) Carolyn A. Scherer; Craig A. Dorschel; James M. Cook; P. W. Le Quesne J. Org. Chem **1972**, *37*, 1083–1085.
- (39) Liang, K.; Yang, J.; Tong, X.; Shang, W.; Pan, Z.; Xia, C. Org. Lett. **2016**, *18*, 1474–1477.
- (40) A. J. Chalk; J. F. Smith Nature **1954**, *174*, 802.
- (41) Nishikawa, Y.; Yamamoto, H. J. Am. Chem. Soc. **2011**, *133*, 8432–8435.
- (42) Wilen, S. H.; Eliel, E. L., *Topics in stereochemistry. Volume 18*; John Wiley & Sons: 1988, p. 346.
- (43) W. Marckwald; Alex. McKenzie Ber. Dtsch. Chem. Ges **1899**, *32*.
- (44) Yun Gao; Robert M. Hanson; Janice M. Klunder; Soo Y. Ko; Hiroko Masamune; K. Barry Sharpless J. Am. Chem. Soc. **1987**, *109*, 5765–5780.
- (45) Hoveyda, A. H.; Schrock, R. R. Chem. Eur. J **2001**, *7*, 945–950.
- (46) Masato Kitamura; Hidemasa Takaya; Isamu Kasahara; Kenji Manabe; Ryoji Noyori J. Org. Chem **1988**, *53*.
- (47) Cowell, J.; Abualnaja, M.; Morton, S.; Linder, R.; Buckingham, F.; Waddell, P. G.; Probert, M. R.; Hall, M. J. RSC Adv. **2015**, *5*, 16125–16152.
- (48) Woodward, R. B.; Hoffmann, R. Angew. Chem., Int. Ed. Engl **1969**, *8*.