

SCUOLA DI SCIENZE

Dipartimento di Chimica Industriale "Toso Montanari"

Corso di Laurea Magistrale in

**Chimica Industriale**

Classe LM-71 - Scienze e Tecnologie della Chimica Industriale

**Sintesi di Pralletrina da (*R*)-Pralletrolone**

Tesi di laurea sperimentale

**CANDIDATO**

Michela Bassi

**RELATORE**

**Chiar.mo Prof. Paolo Righi**

**CORRELATORE**

**Dott.ssa Elisa Capparella**

**Dott.ssa Leni Moroni**

(Endura Ravenna)



# Indice

<b>Acronimi e simboli</b> .....	1
<b>Introduzione</b> .....	3
<b>1. Piretroidi</b> .....	5
1.1 Determinazione della struttura delle piretrine naturali .....	5
1.2 Sviluppo dei piretroidi sintetici .....	6
1.2.1 Alletrina e Pralletrina .....	8
1.2.2 Efficacia e chimica della pralletrina .....	9
1.2.3 Ulteriori modifiche dell'unità alcolica .....	11
1.2.4 Modifica strutturale dell'unità acida .....	12
1.3 Aspetti ambientali ed effetti sui mammiferi dei piretroidi .....	15
<b>2. Scopo della tesi</b> .....	16
<b>3. Risultati e discussioni</b> .....	19
3.1 Sintesi di (R)-pralletrone .....	19
3.2 Descrizione della via sintetica oggetto di studio .....	21
3.2.1 Stadio I: salificazione dell'acido crisantemico .....	21
3.2.2 Stadio II: sintesi di (R)-pralletrone mesilato .....	21
3.2.3 Principali sottoprodotti della reazione: addotti di Diels-Alder .....	22
3.2.4 Stadio III: sintesi della pralletrina .....	25
3.2.5 Stereochimica della sintesi di (S),(1R)-trans-pralletrina .....	25
3.3 Resa dello stadio II: sintesi del pralletrone mesilato .....	27
3.3.1 Ordine di aggiunta dei reagenti .....	27
3.3.2 Base .....	29
3.3.3 Solvente .....	30
3.3.4 Temperatura .....	31
3.3.5 Considerazioni finali .....	32
3.4 Resa stadio I e III: sintesi crisantemato di potassio ed esterificazione a pralletrina .....	32
<b>4. Conclusioni</b> .....	35
<b>5. Parte sperimentale</b> .....	36
5.1 Reagenti .....	36
5.2 Strumentazioni .....	36
5.3 Sintesi .....	44
Sintesi di (R)-pralletrone acetato EN 15-20/4 e 9 .....	44

<i>Sintesi di (R)-pralletrolone EN 15-21/2,3,5</i> .....	48
<i>Sintesi di (R)-pralletrolone mesilato EN 15-24/1</i> .....	50
<i>Sintesi di (R)-pralletrolone mesilato a scopo analitico EN 15-24/2</i> .....	51
<i>Sintesi di (S),(1R)-trans-pralletrina EN 3-51/211</i> .....	53
<i>Sintesi di (S)-pralletrolone mesilato utilizzato come standard EN 15-25/1</i> .....	55
Prove di sintesi su 6 g di (S)-pralletrolone.....	57
<i>Sintesi di (S)-pralletrolone mesilato EN 15-25/3</i> .....	57
<i>Sintesi di (S)-pralletrolone mesilato EN 15-25/4</i> .....	58
<i>Sintesi (R),(1R)-trans-pralletrina EN 3-173/3 e 4</i> .....	60
Prove effettuate in ambiente e con reagenti anidri.....	62
<i>Distillazione tert-Butanolo EN 54-5/1</i> .....	62
<i>Distillazione mesil cloruro EN 48-5/2</i> .....	62
<i>Sintesi di (S)-pralletrolone mesilato EN 15-25/5-18</i> .....	63
<i>Sintesi di (S)-pralletrolone mesilato con gocciolamento TEA EN 15-25/7</i> .....	64
<i>Sintesi (R),(1R)-trans-pralletrina EN 3-173/5-15</i> .....	66
<i>Tabelle per dettagli delle singole prove</i> .....	68
<b>Spettri <sup>1</sup>H-NMR e <sup>13</sup>C-NMR dei prodotti finali sintetizzati</b> .....	72
<b>7. Bibliografia</b> .....	77

## Acronimi e simboli

Per questioni di praticità nei riferimenti, le prove di sintesi sono numerate secondo un codice a tre elementi: EN A-B/C

La coppia di numeri A-B identifica univocamente una molecola, C è un numero progressivo che indica il numero della prova. Di seguito è riportato l'elenco dei codici A-B usati in questo elaborato di tesi.

**EN 15-24:** (*R*)-pralletrolone mesilato

**EN 3-51:** (*S*),(1*R*)-*trans*-pralletrina

**EN 15-25:** (*S*)-pralletrolone mesilato

**EN 3-173:** (*R*),(1*R*)-*trans*-pralletrina

**EN 15-20:** (*R*)-pralletrolone acetato

**EN 15-21:** (*R*)-pralletrolone

**EN 54-5:** *tert*-Butanolo

**EN 48-5:** Mesil cloruro

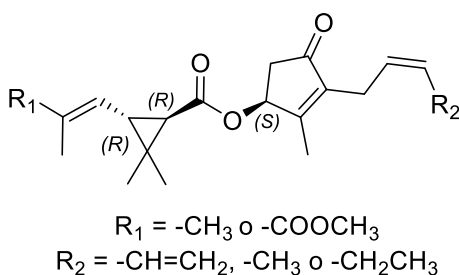
**c:** concentrazione in g/100 mL  
**D.A.:** Diels-Alder  
**DCM:** diclorometano  
**DBF:** dibutilftalato  
**DL<sub>50</sub>:** Dose Letale 50  
**DMAP:** 4-Dimetilamminopiridina  
**eq:** equivalenti  
**FID:** detector a ionizzazione di fiamma  
**g:** grammi  
**GC-LR:** Gas Cromatografo del Laboratorio di Ricerca  
**GC-LA:** Gas Cromatografo del Laboratorio di Analisi  
**GC-MS:** gascromatografia-spettrometria di massa  
**h:** ore  
**HPLC:** High Performance Liquid Chromatography  
**Hz:** Hertz  
**J:** costante di accoppiamento  
**L:** litri  
**LA:** Laboratorio Analitico  
**LOD:** limite di rivelabilità  
**LR:** Laboratorio di Ricerca  
**LS:** Laboratorio di Sviluppo  
**m:** metri  
**min:** minuti  
**mL:** millilitri  
**mmHg:** millimetri di mercurio  
**mol:** moli  
**MsCl:** Mesil cloruro  
**NMR:** risonanza magnetica nucleare  
**ppb:** parti per miliardo  
**PF :** *Pseudomonas Fluorescens*  
**PM:** Peso Molecolare  
**pK<sub>aH</sub>:**  $-\log_{10}K_{aH}$ , con  $K_{aH}$  costante di dissociazione acida dell'acido coniugato  
**ppm:** parti per milione  
**psi:** libbre per pollice quadrato  
**Rf:** fattore di ritenzione  
**SI:** Standard Interno  
**STD:** standard  
**T:** temperatura  
**TEA:** trietilammina  
**TLC:** cromatografia su strato sottile  
**TOA:** triottilammina  
**S<sub>N</sub>2:** sostituzione nucleofila bimolecolare del secondo ordine  
**δ:** chemical shift  
**M<sup>+</sup>:** massa ione molecolare  
**°C:** gradi Celsius  
**m/z:** massa/carica  
**Ph<sub>2</sub>O:** difenil etero  
**%a o %a/a:** percentuale area/area (GC o HPLC)  
**%p o %p/p:** percentuale peso/peso  
**μm:** micrometri  
**[α]<sub>D</sub>:** potere ottico rotatorio specifico  
**λ:** lunghezza d'onda

## Introduzione

La pralletrina è una sostanza insetticida che deriva dalla modificazione strutturale delle piretrine, molecole naturali con proprietà insetticide contenute nella pianta del piretro.

Il piretro è usato come insetticida da circa 150 anni, e non ci sono stati altri insetticidi che hanno contribuito con altrettanto successo al controllo di quegli insetti o parassiti potenzialmente pericolosi per la salute dell'uomo o che sono potenziali veicoli di malattie.<sup>1</sup>

Nel secolo scorso è stata determinata la struttura chimica e la configurazione assoluta delle sei molecole insetticide che costituiscono le piretrine naturali (Figura 1). Da quel momento, per poter ottenere le caratteristiche desiderate - come ad esempio maggiore potenza insetticida e/o fotostabilità - sono stati sviluppati numerosi analoghi sintetici delle piretrine; di conseguenza il loro utilizzo si è esteso a vari campi, con un passaggio da insetticidi per uso domestico per uso interno fino a uso esterno in agricoltura, silvicoltura e allevamento, con una vasta varietà di metodi di applicazione.<sup>2</sup>



**Figura 1:** Struttura chimica e configurazione assoluta delle piretrine naturali.<sup>3</sup>

Il termine generico con cui si indicano le piretrine e i loro analoghi sintetici è “*piretroidi*”.

Sebbene molti farmaci e composti chimici per l'agricoltura siano stati sviluppati a partire da prodotti naturali con attività biologica, i piretroidi sono stati i composti studiati più a lungo e in più paesi; i piretroidi sintetici sono stati sviluppati modificando in modo anche molto sostanziale la struttura chimica delle piretrine e ora sono chiamati piretroidi composti con strutture anche molto diverse dalle piretrine naturali.<sup>1</sup>

Inoltre, i piretroidi sono stati sviluppati senza una vera e propria definizione, ed è molto difficile definire questo gruppo di composti basandosi sulla loro struttura chimica. Pertanto è stata proposta la seguente definizione:

*“Piretroidi” è un nome collettivo per quei composti che sono ottenuti modificando la struttura delle piretrine, gli elementi insetticide naturali contenuti nel piretro; questa modifica*

*avviene per migliorarne l'efficacia e conferire caratteristiche diverse, mantenendo però la sicurezza e l'alta selettività di tossicità delle piretrine.*<sup>1</sup>

In generale i piretroidi hanno un'azione veloce sugli insetti, anche usati in piccole quantità, sono compatibili con l'ambiente e possiedono inoltre una tossicità selettiva nei confronti degli insetti rispetto ai mammiferi; queste loro caratteristiche sono pertanto ideali per l'utilizzo come insetticidi per uso domestico. Infatti le molecole insetticide agiscono generalmente sul sistema nervoso, presente sia negli uomini che negli insetti, e per questo motivo alcuni composti con un alto potere insetticida - come per esempio molti composti organofosforici e i carbammati - sono molto tossici anche per l'uomo.<sup>2</sup>

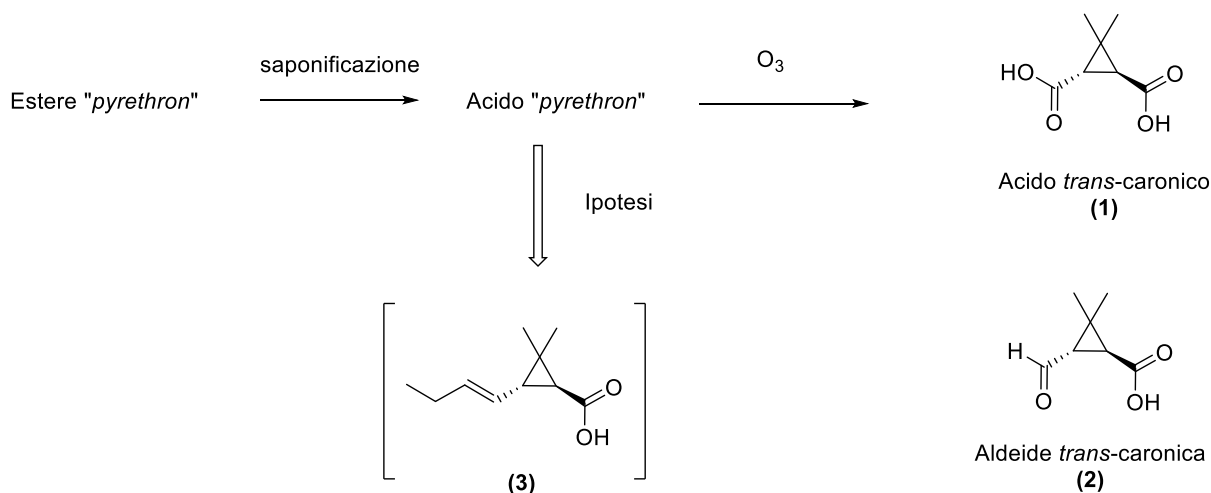
Attraverso una stretta collaborazione tra chimici organici e biologi, tutt'ora vengono sintetizzati nuovi piretroidi con caratteristiche innovative, mantenendo comunque un'alta potenza insetticida e un'alta selettività di tossicità. Inoltre, siccome il piretro necessita di circa due anni dalla semina alla fioritura, si stanno svolgendo indagini sul meccanismo della biosintesi delle piretrine per migliorare l'efficienza di produzione e favorire ulteriori sviluppi in questo campo.<sup>3</sup>



# 1. Piretroidi

## 1.1 Determinazione della struttura delle piretrine naturali

Nel 1909 Fujitani<sup>4</sup> ha separato un estere attivo come insetticida dai fiori di piretro e ha chiamato l'estere "pyrethron". Yamamoto<sup>5</sup> ha sottoposto il prodotto di idrolisi di tale "pyrethron" ad un'ossidazione ad opera dell'ozono e ha isolato l'acido *trans*-caronico (1) e l'aldeide *trans*-caronica (2), come visibile nello Schema 1.



Schema 1: Isolamento dell'acido *trans*-caronico.<sup>3</sup>

Anche se Yamamoto non ha determinato la struttura di questo acido, egli ha ipotizzato che si trattasse dell'acido "pyrethron" (composto (3) nello Schema 1). La presenza di un anello ciclopropanico nella molecola delle piretrine naturali è poi divenuta chiara nel 1923.<sup>3</sup>

Nel 1924 Staudinger e Ruzicka<sup>6</sup> hanno proposto la struttura della piretrina I e II (composti (4) e (5) in Figura 2), costituenti le piretrine naturali. Anche se alla luce delle conoscenze attuali i loro studi contenevano alcuni errori, a quel tempo erano già un notevole traguardo.

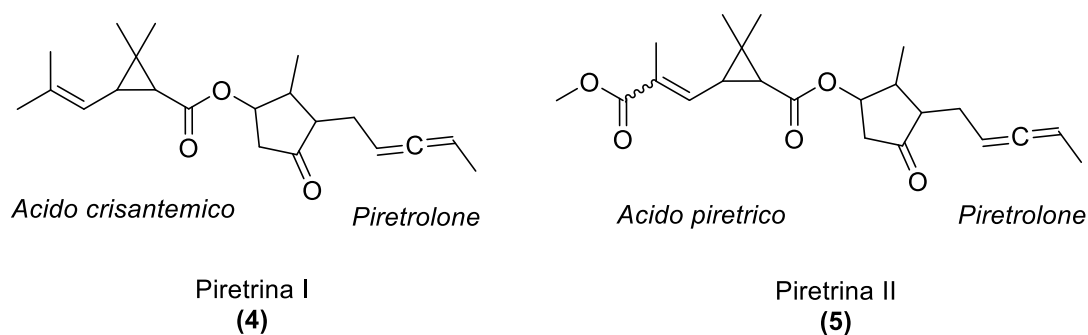
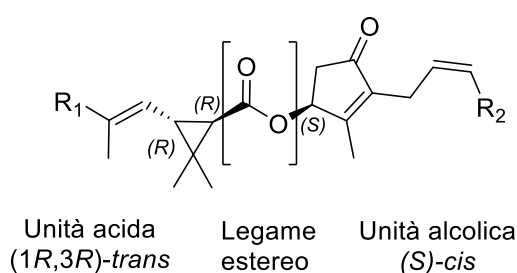


Figura 2: Strutture chimiche proposte per la piretrina I e la piretrina II.<sup>3</sup>

Nel 1945 LaForge e Barthel<sup>7</sup> hanno riportato che nelle piretrine naturali sono contenuti quattro omologhi, la piretrina I e II e la cinerina I e II (**6**, **7**, **8** e **9** in Figura 3). La presenza di Jasmolina I e II (**10** e **11** in Figura 3) è stata confermata da *Gordin et al.*<sup>8</sup> nel 1966, che hanno determinato la struttura chimica planare dei sei componenti esterei.

Per quanto riguarda la configurazione assoluta dell'unità acida, quella dell'acido crisantemico ( $R_1 = -CH_3$ ) è stata determinata da *Crombie et al.*<sup>9</sup> nel 1954 e quella dell'acido piretrico ( $R_1 = -COOCH_3$ ) da *Inoue et al.*<sup>10</sup> nel 1955. Infine, la configurazione assoluta dell'unità alcolica è stata scoperta da *Katsuda et al.*<sup>11</sup> nel 1958.



	Composto	Acido (R <sub>1</sub> )	Alcol (R <sub>2</sub> )	%
<b>6</b>	Piretrina I	-CH <sub>3</sub>	-CH=CH <sub>2</sub>	38
<b>7</b>	Piretrina II	-COOCH <sub>3</sub>	-CH=CH <sub>2</sub>	35
<b>8</b>	Cinerina I	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	7,3
<b>9</b>	Cinerina II	-COOCH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	11,7
<b>10</b>	Jasmolina I	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub>	4,0
<b>11</b>	Jasmolina II	-COOCH <sub>3</sub>	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub>	4,0

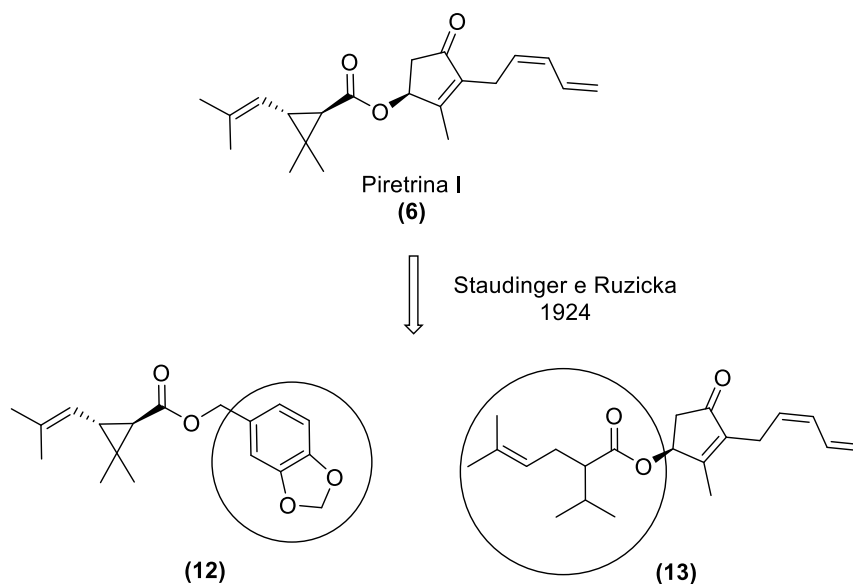
**Figura 3:** Correzione della struttura chimica e configurazione assoluta delle piretrine naturali.<sup>3</sup>

## 1.2 Sviluppo dei piretroidi sintetici

Come già accennato, le piretrine naturali sono state a lungo usate come principali insetticidi per uso domestico. I fiori di piretro sono ancora coltivati in alcune aree, tra cui l'Africa, l'Australia e la Cina.<sup>12</sup>

La conoscenza completa della configurazione assoluta delle piretrine naturali (Figura 3) ha portato, attraverso la modifica della struttura dell'unità acida e di quella alcolica, allo sviluppo di molti piretroidi sintetici con diverse caratteristiche chimiche, di efficacia e tossicologiche e diversi effetti ambientali; la storia degli studi sulle modificazioni strutturali delle piretrine naturali dura da più di mezzo secolo.

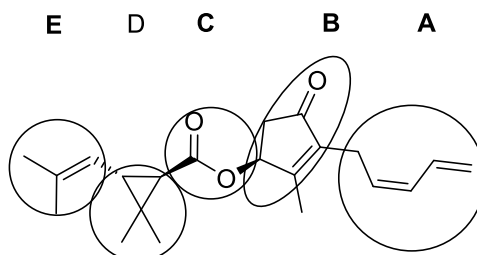
Già nel 1924 Staudinger e Ruzicka<sup>13</sup> riportavano diversi piretroidi sintetici, tra cui il piperonil crisantemato (**12**) e il composto (**13**) mostrati in Figura 4. A quei tempi si poteva facilmente ottenere l'acido *trans*-crisantemico in forma otticamente attiva tramite idrolisi degli estratti di piretro, mentre era molto difficile ottenere i componenti alcolici a causa della loro instabilità.



**Figura 4:** Modificazione strutturale di Staudinger e Ruzicka.<sup>2</sup>

Anche se alcuni dei composti da loro riportati erano solo leggeri insetticidi, essi hanno anticipato il ruolo guida delle piretrine anche senza conoscere la reale struttura dell'unità alcolica.

Come mostrato in Figura 5, le regioni di possibile modifica strutturale possono essere divise in cinque frammenti: A, B, C, D ed E. La catena laterale dell'anello del ciclopentenone A è stato il primo punto di modifica, seguito dalla modifica dell'anello a 5 termini B con altri anelli; il successivo obiettivo di modifica è stata la catena laterale isobutenilica E dell'anello del ciclopropano. Anche se si è a lungo pensato che l'anello del ciclopropano D e la funzione esterea C fossero porzioni indispensabili, modifiche alle parti C e D hanno permesso comunque di trovare nuovi insetticidi efficaci.



**Figura 5:** Punti di modifica strutturale delle piretrine.<sup>2</sup>

### 1.2.1 Alletrina e Pralletrina

La Figura 6 mostra due dei primi piretroidi sintetici commerciali (alletrina **14** e pralletrina **15**), sviluppati mantenendo l'acido crisantemico come unità acida e modificando la catena laterale dell'unità alcolica (parte A di Figura 5).

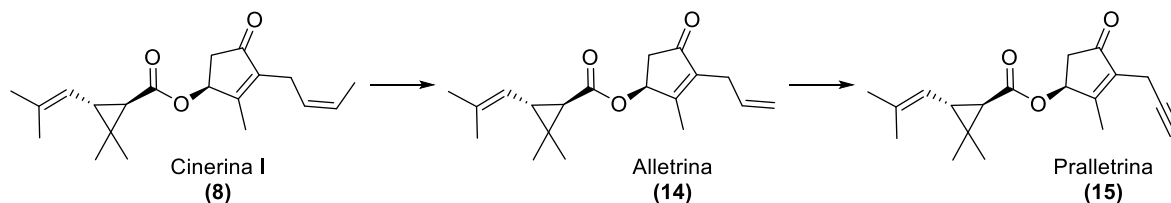


Figura 6: Alletrina e Pralletrina.

Tramite la modificazione della cinerina I, *LaForge, Schechter et al* hanno scoperto l'alletrina<sup>14</sup> (composto **14** in Figura 6), che è il primo piretroide sintetico efficace commercializzato per uso domestico. Ha attività letali e di *knockdown*<sup>a</sup> simili alle piretrine contro le zanzare. *Matsui et al.* hanno condotto molti studi sul processo di produzione dell'alletrina, che sono culminati col lancio del primo piretroide in Giappone nel 1954.<sup>12</sup> L'alletrina possiede otto stereoisomeri; tra essi la (*S*),(1*R*)-*trans*-alletrina, con la stessa configurazione assoluta della cinerina I, mostra la maggiore attività insetticida ed è largamente usata negli zampironi.

La pralletrina (composto **15** in Figura 6) - analogo propargilico dell'alletrina (**14**) - è uno dei piretroidi per uso domestico più importanti; è stato commercializzato da Sumitomo Chemical nel 1988 nella forma più attiva come insetticida,<sup>15</sup> la stessa della cinerina I e della (*S*),(1*R*)-*trans*-alletrina sia per l'acido crisantemico che per l'unità alcolica. Alletrina e pralletrina sono state largamente usate per controllare le zanzare.<sup>3</sup>

I piretroidi (*S*),(1*R*)-*trans*-alletrina (**14**) e pralletrina (ETOC<sup>®</sup>) (**15**) hanno pertanto l'acido (1*R*)-*trans*-crisantemico in comune con la cinerina I e le loro unità alcoliche, aventi tutte la configurazione (*S*), differiscono solo nell'estremità della catena laterale. Le (*S*)-*d-trans*-alletrina e pralletrina sono quindi costituite solo da tre elementi, carbonio, idrogeno e ossigeno, come le piretrine naturali, la loro configurazione assoluta è la stessa e sono i piretroidi con la struttura più simile a quella delle piretrine naturali.

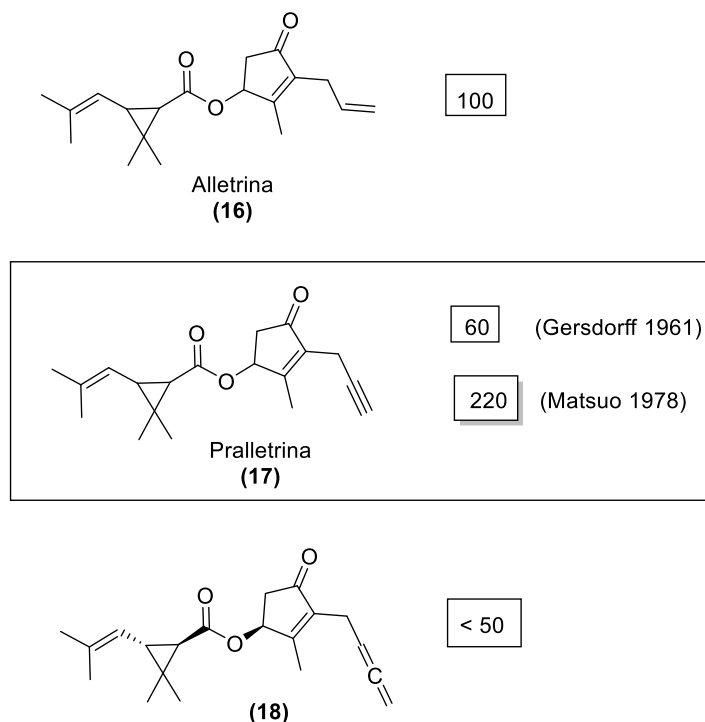
<sup>a</sup> Il *knockdown* può essere definito come lo stato di intossicazione e paralisi parziale che generalmente precede la morte degli insetti a seguito dell'applicazione di un insetticida. (J.C. Wickham, P. R. Chadwick, D. C. Stewart *Factors which influence the knockdown effect of insecticide products*, *Pesticide Science*, **1974**, 5, 657 – 664).

È stato inoltre recentemente riportato<sup>3</sup> che le piretrine naturali, così come l'alletrina e la pralletrina, mostrano uno sviluppo marcatamente lento della resistenza incrociata<sup>b</sup>.

### 1.2.2 Efficacia e chimica della pralletrina

La pralletrina in forma racemica (composto **(17)** di Figura 7) è stata sintetizzata per la prima volta da Gersdorff nel 1961,<sup>16</sup> ma allora non aveva attirato molta attenzione poiché era stato riportato che l'efficacia contro le mosche era solo il 60% di quella dell'alletrina.

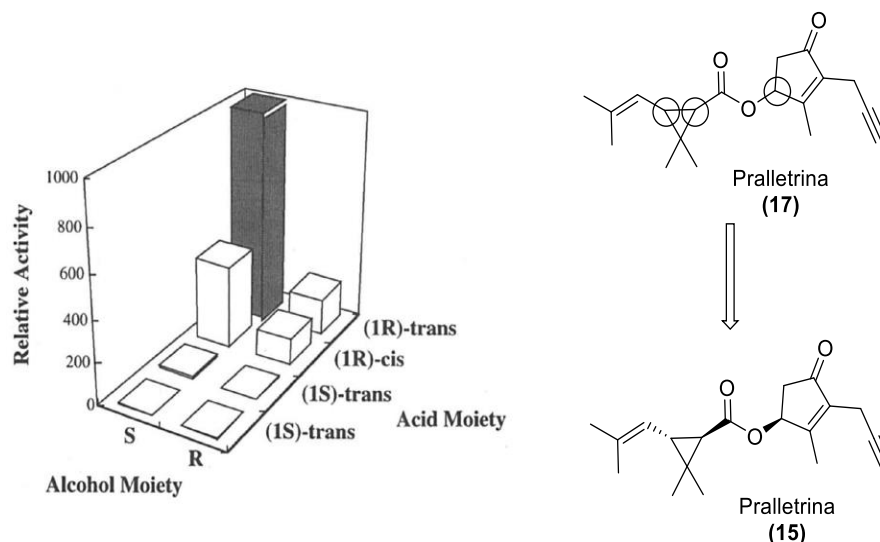
Tuttavia, la relazione esistente tra la struttura delle catene laterali e l'attività insetticida di altri piretroidi ha rivelato che la pralletrina avrebbe dovuto avere un'attività molto maggiore dell'alletrina<sup>17</sup>. È stato infatti scoperto che la pralletrina era facilmente trasformata, in un mezzo basico, nel composto allenico **(18)** di Figura 7, che ha una bassa attività insetticida.<sup>2</sup> Pertanto è stato ipotizzato che la pralletrina di cui Gersdorff aveva misurato l'attività insetticida potesse avere una purezza insufficiente. È stata preparata accuratamente la pralletrina con sufficiente purezza chimica<sup>18</sup> da Matsuo nel 1978 ed è stata riesaminata l'attività insetticida; è stato così scoperto che l'attività insetticida della pralletrina **(17)** è più del doppio di quella dell'alletrina **(16)** (Figura 7).<sup>2</sup>



**Figura 7:** Tossicità relativa degli esteri del ciclopentenone contro *Musca domestica*<sup>2</sup>

<sup>b</sup> La resistenza incrociata è la tolleranza a una sostanza, che di solito è tossica, in seguito all'esposizione a una sostanza che agisce in modo simile. (H. Daly, J.T. Doyen, A.H. Purcell III *Introduction to insect biology and diversity*, 2nd edition. Oxford University Press. New York, New York., **1998**, 14, 279-300).

Spesso l'attività biologica risiede in uno stereoisomero specifico; lo stesso vale per la pralletrina (**17**). Essa contiene tre carboni asimmetrici (chirali) ed esistono pertanto 8 stereoisomeri. La Figura 8 mostra l'attività insetticida degli 8 stereoisomeri della pralletrina (**17**) contro *Musca domestica*.



**Figura 8:** Attività letale relativa degli stereoisomeri della pralletrina contro *Musca domestica*.<sup>2</sup>

L'acido crisantemico possiede due centri asimmetrici e gli isomeri (1*R*)-*trans* e (1*R*)-*cis* danno esteri insetticidi. Per quanto riguarda la parte alcolica, l'isomero (*S*) è molto più importante dal punto di vista insetticida. Pertanto, tra 8 stereoisomeri, l'estere dell'alcol (*S*) con l'acido crisantemico (1*R*)-*trans* è quello più attivo. Questo isomero, la pralletrina (**15**), è quello che - come precedentemente citato - è stato commercializzato con successo da Sumitomo Chemical.<sup>15</sup>

L'attività letale e di *knockdown* relativa della pralletrina (**15**) confrontata con quella della *d-trans*-alletrina è mostrata nella Tabella 1. In termini dei valori DL<sub>50</sub> calcolati dall'applicazione topica, la pralletrina ha un potere insetticida maggiore della *d-trans*-alletrina, essendo più di quattro volte più efficace contro *Musca domestica* e *Blattella germanica* in attività letale; inoltre essa ha un'attività di *knockdown* contro *Culex pipiens pallens* molto migliore della *d-trans*-alletrina.<sup>19</sup>

Insetticida	Attività letale relativa*		Attività di knockdown relativa **
	<i>M. domestica</i>	<i>B. germanica</i>	<i>C. pipiens</i>
Pralletrina	420	610	470
<i>d-trans</i> -alletrina	100	100	100

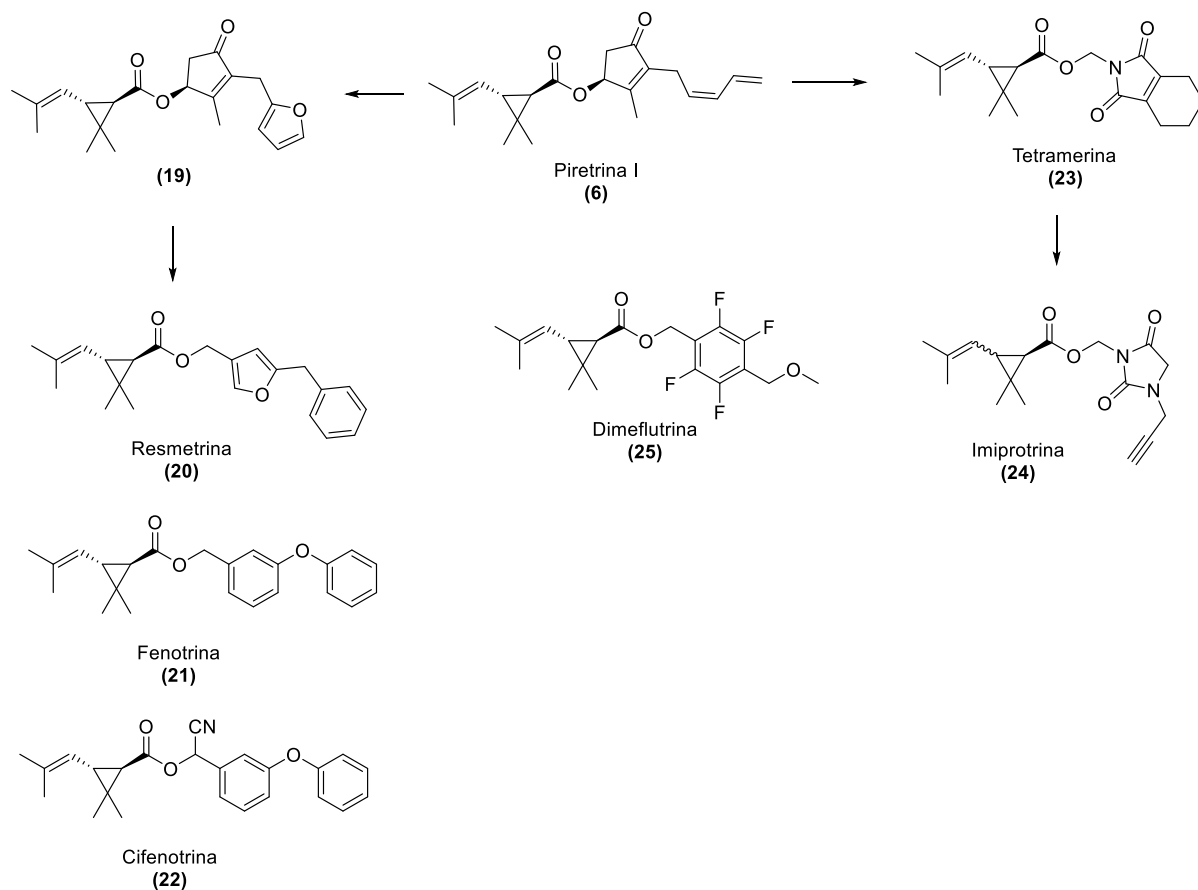
\*Applicazione topica, DL<sub>50</sub> mg/femmina

\*\*Olio spray, camera di vetro di 0,34 m<sup>3</sup>

**Tabella 1:** Attività insetticida della pralletrina contro *Musca domestica*, *Culex pipiens* e *Blattella germanica*.<sup>2</sup>

### 1.2.3 Ulteriori modifiche dell'unità alcolica

La Figura 9 mostra alcune delle numerose modifiche effettuate sull'unità alcolica della piretrina I (composto **6**). A parte il composto (**19**), tutti i piretroidi in figura sono stati commercializzati da Sumitomo Chemical come insetticidi per uso domestico.<sup>3</sup>



**Figura 9:** Modificazione dell'unità alcolica – insetticidi per uso domestico.

Il composto (**19**) scoperto da Matsui era solo un blando insetticida;<sup>20</sup> però, grazie alla sostituzione in quest'ultimo della porzione dienica della piretrina I con un anello aromatico, esso è stato un importante prototipo per una grande varietà di ulteriori sviluppi.

Ad esempio, nel 1965 Elliott<sup>21</sup> ha sintetizzato la resmetrina (**20**); questo è il primo piretroide sintetico ad avere attività letale molto maggiore delle piretrine naturali contro vari insetti parassiti.

Un altro sviluppo è stata l'invenzione del primo componente alcolico che sarà poi usato anche per un piretroide fotostabile, vale a dire l'unità alcolica 3-fenossibenzilica e  $\alpha$ -ciano-3-fenossibenzilica, rispettivamente da parte di Itaya<sup>22</sup> nel 1968 e Matsuo *et al.*<sup>23</sup> nel 1971. I loro

esteri con l'acido crisantemico, la fenotrina (**21**) e la cifenotrina (**22**) sono stati commercializzati entrambi dalla Sumitomo Chemicals.<sup>2</sup>

Resmetrina, fenotrina e cifenotrina (rispettivamente **20**, **21** e **22** in Figura 9) hanno alta attività letale su molti insetti parassiti. La fenotrina e la cifenotrina sono usate come componenti di insetticidi per aerosol; la fenotrina è anche usata come ingrediente attivo negli shampoo contro i pidocchi. L'unità  $\alpha$ -ciano come sostituito sul carbonio benzilico dell'estere 3-fenossibenilico aumenta l'attività insetticida di più del doppio. Il sostituito ciano è un'unità compatta che presumibilmente permette all'unità fenossifenilica di resistere all'attacco metabolico e di creare una conformazione insetticida favorevole.<sup>23</sup>

Un importante sviluppo in termini di maggiore attività di *knockdown* fu la scoperta della tetrametrina (**23**) in Figura 9 da *Kato et al.*<sup>24</sup> nel 1964. Ulteriori studi su analoghi correlati da parte di Itaya hanno portato alla scoperta di un alcol della metil propargil idantoina;<sup>25</sup> il suo estere con l'acido (1*R*)-crisantemico (imiprotrina (**24**) in Figura 9) è uno dei più potenti agenti di *knockdown*.

Un ulteriore lavoro esplorativo da parte di *Mori et al.*<sup>26</sup> sulla modifica della parte alcolica ha recentemente portato alla scoperta della dimeflutrina (**25**), che mostra eccellente potenza contro le zanzare nelle formulazioni per gli zampironi.

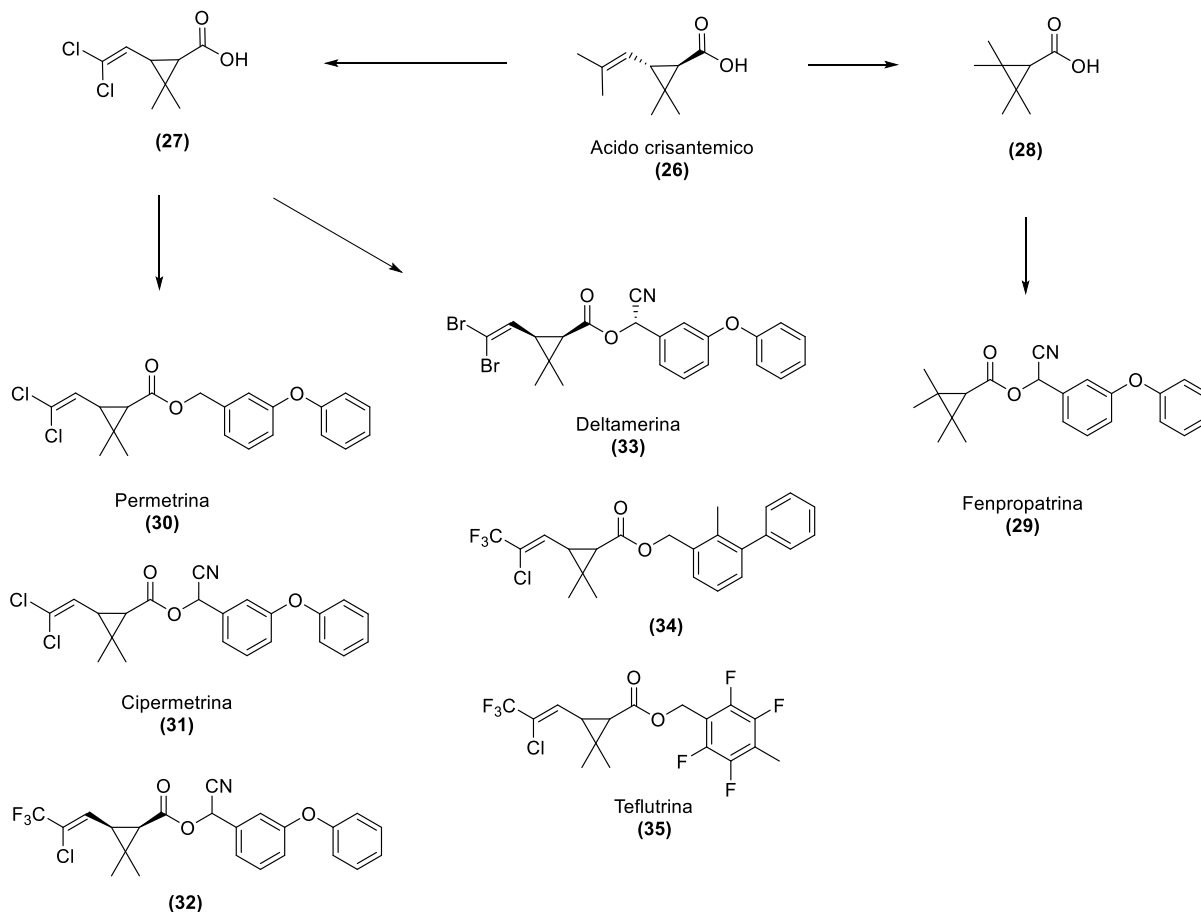
La maggior parte dei piretroidi per uso domestico commercializzati contengono l'acido (1*R*)-*trans*-crisantemico come unità acida: all'inizio la loro unità acida era soprattutto l'acido (1*RS*)-*cis,trans*-crisantemico racemo ma a partire dagli anni '80, per aumentare l'attività insetticida, i piretroidi sono stati gradualmente ottenuti in forma enantiomericamente pura, come esteri dell'acido (1*R*)-*trans*-crisantemico o (1*R*)-*cis,trans*-crisantemico attraverso il così detto "switch racemico".<sup>12</sup> La risoluzione ottica classica dell'acido (1*RS*)-*cis,trans*-crisantemico con ammine otticamente attive è uno dei metodi pratici per l'accesso all'acido crisantemico otticamente attivo (1*R*)-*trans*<sup>27</sup> e (1*R*)-*cis,trans*.<sup>28</sup> Sumitomo Chemical ha riportato numerosi altri processi sintetici efficienti inclusa la risoluzione enzimatica<sup>29</sup> e la sintesi asimmetrica.<sup>30</sup>

#### 1.2.4 Modifica strutturale dell'unità acida

Storicamente, la modifica strutturale dell'unità alcolica ha preceduto quella dell'unità acida presumibilmente per due ragioni. La prima è che, a causa della loro instabilità, era difficile purificare le unità alcoliche delle piretrine. Un'altra ragione è il fallimento della modifica della parte acida nelle prime testimonianze di Staudinger e Ruzicka.<sup>2</sup>



Pertanto prima del 1970 erano note solo due unità acide modificate, ovvero l'analogo diclorovinilico dell'acido crisantemico (**27**) da Farkas<sup>31</sup> e l'acido tetrametilciclopropancarbossilico (**28**) da Matsui<sup>32</sup>, in Figura 10.



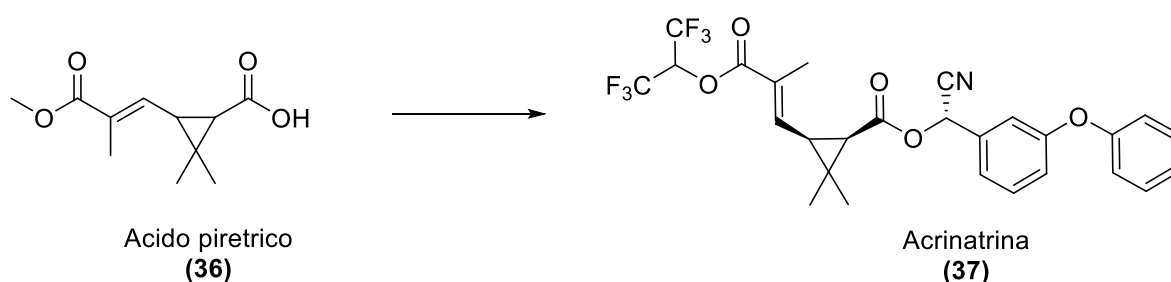
**Figura 10:** Sviluppo dell'unità acida a partire dall'acido crisantemico.

Né l'acido diclorovinilico né l'acido tetrametilico avevano tuttavia attirato molta attenzione prima di essere esterificati con l'alcol 3-fenossibenzilico e  $\alpha$ -ciano-3-fenossibenzilico. Usando l'acido tetrametilico, la Sumitomo Chemical ha commercializzato quindi la fenpropatrina (**29**).<sup>2</sup>

L'analogo diclorovinilico dell'acido crisantemico è invece stato utilizzato da Elliott<sup>33</sup> nei primi anni '70 per sintetizzare la permectrina (**30**) e la cipermetrina (**31**); questi sono i primi piretroidi fotostabili, che possono essere praticamente usati all'aperto. La  $\lambda$ -cialotrina (**32**) da ICI<sup>34</sup> è un analogo della cipermetrina con un gruppo trifluorometilico invece di uno degli atomi di cloro.

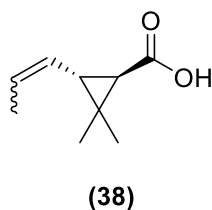
Elliott sintetizzò anche la deltameterina (**33**);<sup>35</sup> esso è uno dei più potenti insetticidi per uso agricolo, ed è l'estere di (*S*)- $\alpha$ -ciano-3-fenossibenzil alcol con l'acido crisantemico (*1R*)-*cis*-dibromovinilico.

Anche il composto bifenilico (**34**) scoperto da Plummer è un piretroide fotostabile.<sup>36</sup> La teflutrina (**35**) è stata commercializzata da Zeneca come insetticida per il terreno,<sup>37</sup> soprattutto per il controllo dei vermi delle radici del mais; in questo caso la parte acida è un analogo cloro-trifluorometile dell'acido crisantemico. È degno di nota che la parte alcolica della teflutrina (**35**) non abbia catene laterali insature, che si è a lungo pensato fossero indispensabili per l'attività insetticida.



**Figura 11:** Sviluppo dell'unità acida a partire dall'acido piretrico.

La modifica dell'unità acida della piretrina II è invece stata portata avanti da Tessier<sup>38</sup> per scoprire l'acrinatrina (**37** in Figura 11) che è l'estere di (*S*)- $\alpha$ -ciano-3-fenossibenzil alcol con il derivato dell'acido (*Z*)-(1*R*)-*cis*-piretrico.



**Figura 12:** Acido norchrisantemico.

Un ulteriore lavoro esplorativo per trovare nuovi piretroidi con una tensione di vapore maggiore e alta efficacia contro le zanzare ha portato alla scoperta dell'acido (*1R*)-*trans*-norchrisantemico (**38** in Figura 12) come un'altra importante unità acida per piretroidi per uso domestico.<sup>12</sup>

### **1.3 Aspetti ambientali ed effetti sui mammiferi dei piretroidi**

I piretroidi di largo uso si basano sulla loro compatibilità con l'ambiente. Nei campi agricoli, anche i così detti piretroidi fotostabili sono rapidamente degradati nelle piante e nel suolo lasciando pochi residui.<sup>39</sup> La loro rapida biodegradazione contribuisce senza dubbio ad una minore contaminazione ambientale.

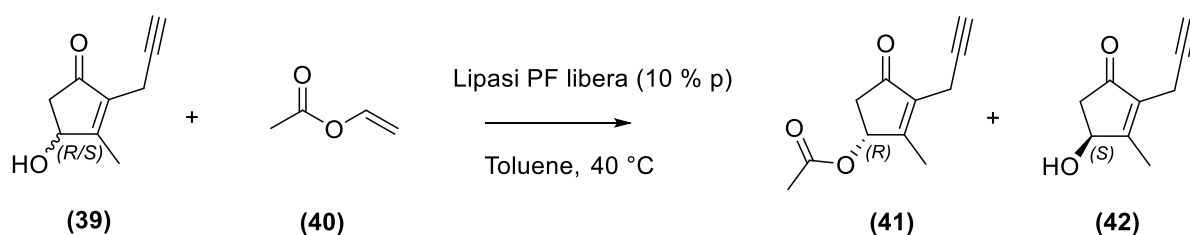
Essi sono biodegradabili anche in organismi acquatici; anche se sono intrinsecamente molto tossici per questi organismi, in realtà non causano gravi effetti avversi grazie anche al forte assorbimento alle particelle del suolo in acqua.<sup>2</sup> I residui nei tessuti dei piretroidi sono generalmente molto bassi,<sup>40</sup> e anche se essi tendono ad essere molto lipofilici, non si osserva bioaccumulo.

Per quanto riguarda gli effetti sui mammiferi, come precedentemente citato i piretroidi agiscono sul sistema nervoso sia nei mammiferi che negli insetti. I test fino ad ora condotti riguardo la teratogenicità, la tossicità riproduttiva, la mutagenicità e la carcinogenicità non hanno collegato i piretroidi a un rischio rilevante per l'uomo.<sup>41</sup>

## 2. Scopo della tesi

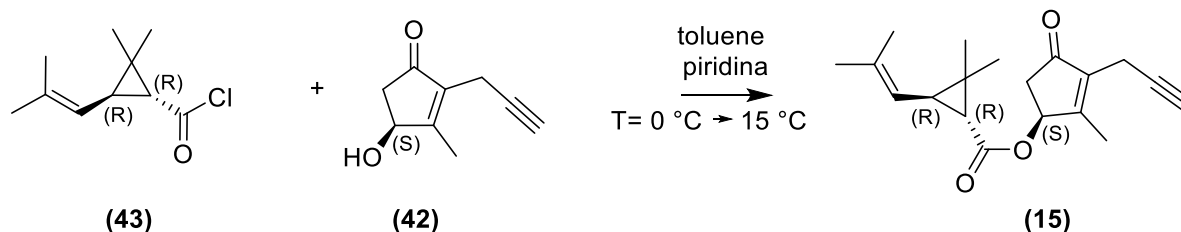
Lo scopo del presente elaborato di tesi è di trasformare (*R*)-pralletrolone da prodotto di scarto ad altissimo valore aggiunto a materia prima per la sintesi di (*S*),(1*R*)-*trans*-pralletrina ((*S*)-*d-trans*-pralletrina, il diastereoisomero della pralletrina con maggiore potere insetticida), tramite reazione con (1*R*)-*trans*-crisantemato di potassio (*d-trans*-crisantemato di potassio).

(*R*)-Pralletrolone acetato (**41**) è attualmente un coprodotto di scarto proveniente dalla risoluzione enzimatica di (*RS*)-pralletrolone (**39**) per l'ottenimento di (*S*)-pralletrolone (**42**) (Schema 2),



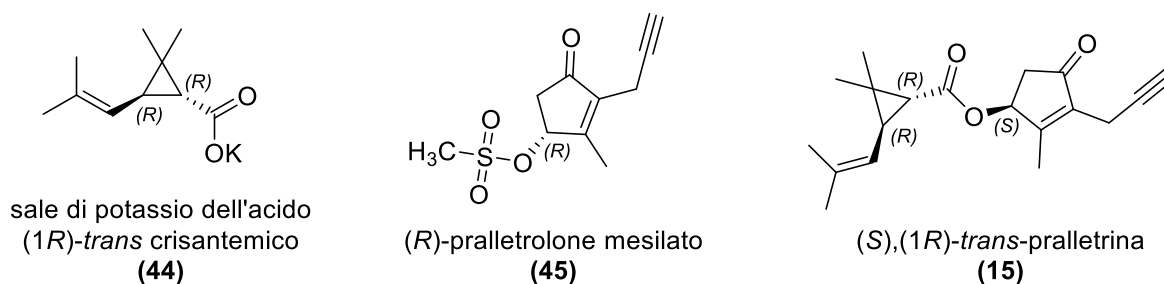
**Schema 2:** Sintesi di (*S*)-pralletrolone e (*R*)-pralletrolonil acetato da (*RS*)-pralletrolone.

attualmente utilizzato per la sintesi di (*S*),(1*R*)-*trans*-pralletrina (**15**) secondo lo Schema 3.



**Schema 3:** Sintesi di (*S*),(1*R*)-*trans*-pralletrina via (*S*)-pralletrolone e cloruro di crisantemoile.

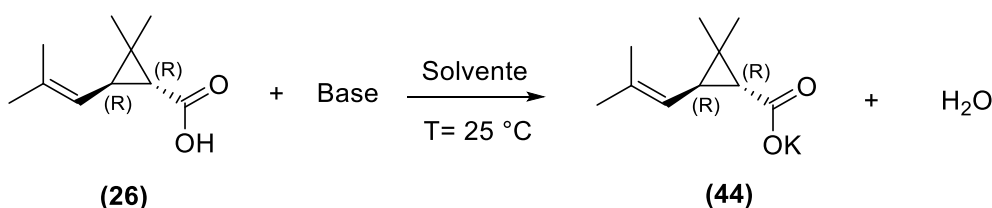
La via di sintesi esplorata in questo elaborato di tesi mira ad utilizzare anche (*R*)-pralletrolone per la sintesi di (*S*),(1*R*)-*trans*-pralletrina.



**Figura 13:** (*S*),(1*R*)-*trans*-pralletrina e sue materie prime derivanti da acido (1*R*)-*trans*-crisantemico e (*R*)-pralletrolone.

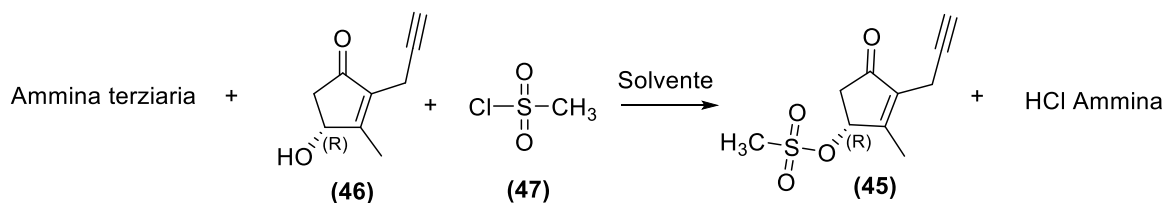
A tal fine si pensa di utilizzare i seguenti tre passaggi sintetici per arrivare al prodotto finito:

- 1) Salificazione dell'acido (1*R*)-*trans*-crisantemico (**26**) ad opera di una base (KOH o  $K_2CO_3$ ), in soluzione di *t*-butanolo/toluene o *t*-butanolo/ $CH_2Cl_2$  (Schema 4.)



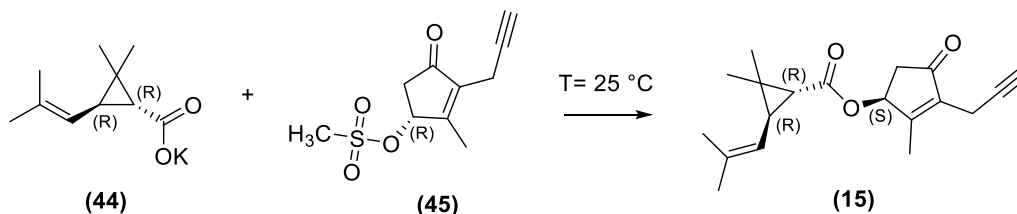
**Schema 4:** Salificazione di (1*R*)-*trans*-acido crisantemico.

- 2) Mesilazione di (*R*)-pralletrolone (**46**) per reazione con una ammina terziaria e mesil cloruro (**47**) (Schema 5), con ritenzione di configurazione del pralletrolone.



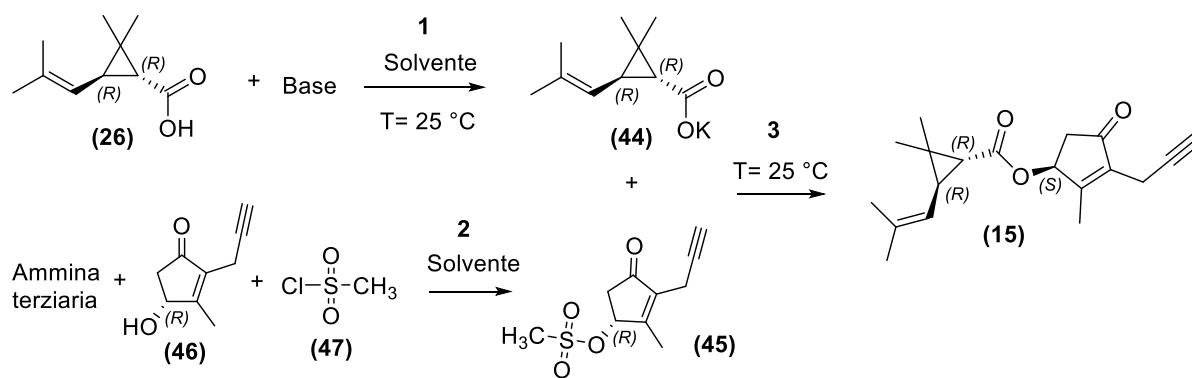
**Schema 5:** Sintesi (*R*)-pralletrolone mesilato.

- 3) Reazione tra *d*-*trans*-crisantemato di potassio (**44**) e (*R*)-pralletrolone mesilato (**45**) (Schema 6).



**Schema 6:** Sintesi di (*S*),(1*R*)-*trans*-pralletrina

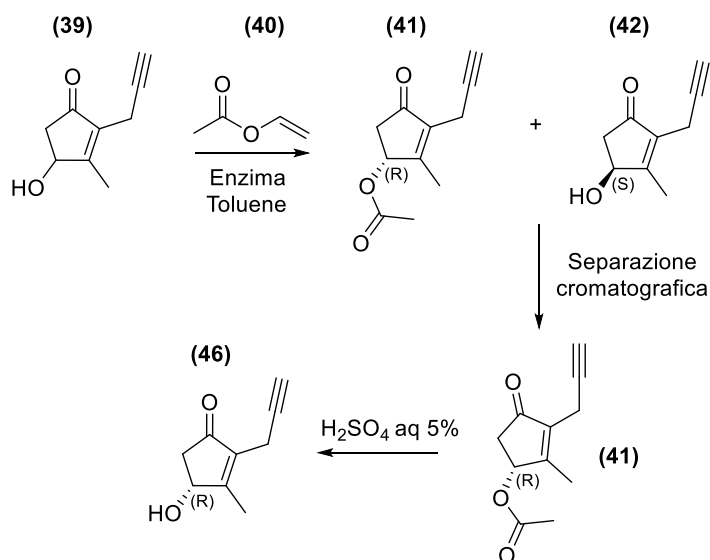
Questo passaggio è una sostituzione nucleofila del secondo ordine ( $S_N2$ ) nella quale il pralletrolone derivatizzato con il gruppo mesilico inverte la propria configurazione da (*R*) a (*S*).



**Schema 7:** Schema della sintesi esplorata per ottenere (S),(1R)-*trans*-pralletrina da (R)-pralretrolone.

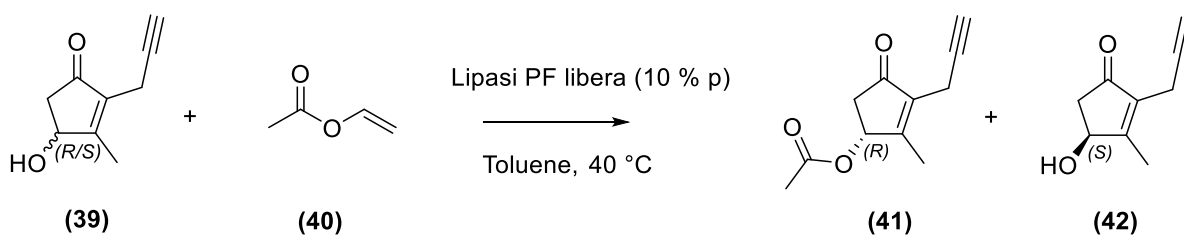
### 3. Risultati e discussioni

#### 3.1 Sintesi di (*R*)-pralletrolone



**Schema 8:** Sintesi di (*R*)-pralletrolone.

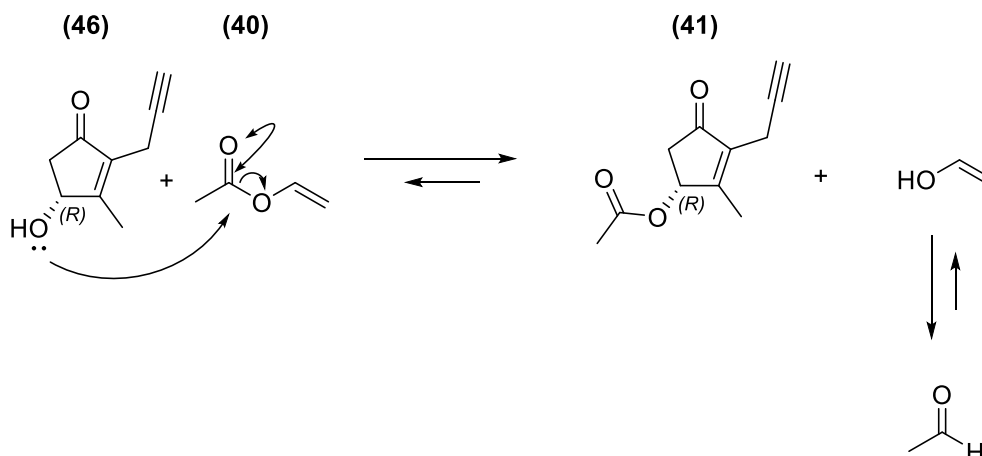
Per preparare (*R*)-pralletrolone (composto **46**) nello Schema 8) viene sfruttata la reazione di transesterificazione del pralletrolone racemo (**39**) in ambiente organico mediante la lipasi Amano da *Pseudomonas Fluorescens* (PF).<sup>42</sup> Tale reazione comporta un notevole vantaggio dal punto di vista ambientale ed economico, in quanto l'enzima non deve lavorare in ambiente a pH controllato tramite l'uso di tamponi fosfato.<sup>[43,44]</sup>



**Schema 9:** Transesterificazione del pralletrolone mediante lipasi.

Come visibile nello Schema 9, la reazione tra pralletrolone (**39**), un equivalente di vinil acetato (**40**) e PF a una temperatura di 40 °C produce l'alcol (*S*)-(**42**) e l'acetato (*R*)-(**41**), da cui si ricaverà l'alcol (*R*) desiderato (composto **46**) nello Schema 8), con buone rese e un buon eccesso enantiomerico (la percentuale relativa in area HPLC di (*R*)-pralletrolone (**46**) dopo la purificazione cromatografica e l'idrolisi dell'acetato varia da 87,5 % a 92,2 %).

Come agente acilante è stato scelto il vinil acetato (**40**), poiché tale estere permette uno spostamento verso destra dell'equilibrio chimico tra reagenti e prodotti. Si ha infatti la formazione di vinilalcol che per tautomeria chetoenolica dà acetaldeide (composto molto volatile con punto di ebollizione pari a 20 °C), facilmente rimuovibile dall'ambiente di reazione.

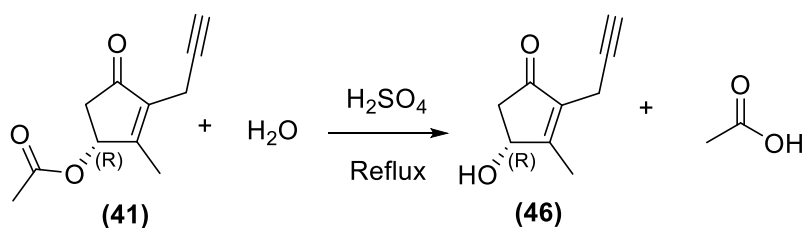


**Schema 10:** Reazione di transesterificazione con formazione di vinilalcol.

Questa reazione consiste in una risoluzione cinetica enzimatica in cui l'enzima acetila selettivamente (*R*)-pralsetrolone (**46**) attraverso un cammino cinetico preferenziale.

I prodotti (pralsetrolone (**42**) e pralsetrolone acetato (**41**) nello Schema 8) sono separati tramite una colonna cromatografica, anche se sono in corso di studio altri metodi di separazione (come per esempio la distillazione).

(*R*)-pralsetrolone acetato (**41**) così ottenuto deve essere idrolizzato ad alcol (Schema 11). L'idrolisi avviene in ambiente acido poiché il pralsetrolone (**46**) degrada in presenza di basi acquose. Non è stato possibile determinare l'eccesso enantiomerico del pralsetrolone acetato (**41**) a causa dell'assenza della strumentazione analitica necessaria per l'analisi con i metodi noti; tuttavia analisi sulla medesima reazione precedentemente effettuate all'interno del gruppo di ricerca hanno dimostrato che l'eccesso enantiomerico iniziale dell'estere non subisce variazioni a seguito dell'idrolisi.



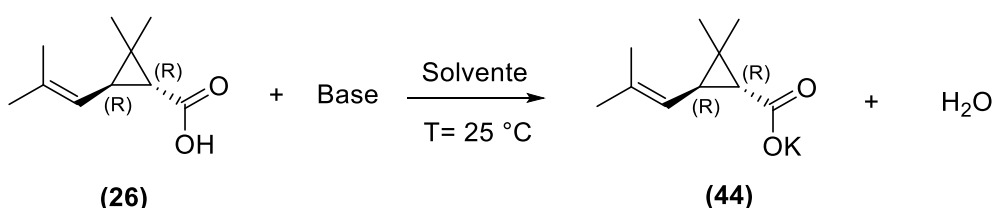
**Schema 11:** Idrolisi di pralsetrolone acetato ad alcol



### 3.2 Descrizione della via sintetica oggetto di studio

L'alcol (*R*)-**(46)** ottenuto come precedentemente descritto è utilizzato per la sintesi di (*S*),(*1R*)-*trans*-pralletrina tramite la via sintetica oggetto di studio nel presente elaborato di tesi. Si tratta di una sintesi convergente che si articola nei tre passaggi descritti nella sezione “Scopo della tesi” e di seguito commentati.

#### 3.2.1 Stadio I: salificazione dell'acido crisantemico

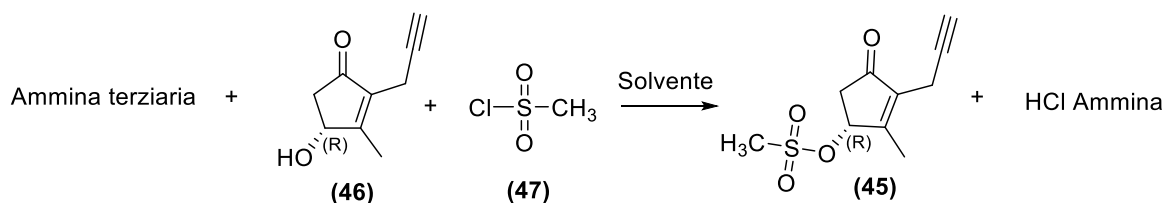


**Schema 12:** Salificazione di (*1R*)-*trans*-acido crisantemico mediante una base.

Questa reazione risulta semplice ma non banale: l'utilizzo di *t*-butanolo come co-solvente aumenta la polarità della soluzione e inoltre esso, non essendo nucleofilo, esclude interazioni S<sub>N</sub>2 con (*R*)-pralletrolone mesilato (**(45)**) nello stadio sintetico successivo (stadio 3).

Come appurato in reazioni analoghe condotte all'interno del gruppo di ricerca, il *d-trans*-crisantemato non è un ottimo gruppo entrante in reazioni S<sub>N</sub>2 e per facilitare la sua reattività nel terzo passaggio è importante usare il suo sale di potassio (il sale di sodio potrebbe formare una coppia ionica troppo stretta e sfavorire la reattività del crisantemato come nucleofilo).

#### 3.2.2 Stadio II: sintesi di (*R*)-pralletrolone mesilato



**Schema 13:** Sintesi di (*R*)-pralletrolone mesilato.

Questa reazione presenta diverse criticità. La reazione è esotermica e nel breve periodo, o in presenza di una base, il prodotto di reazione tende a decomporsi in prodotti pesanti quali addotti di Diels-Alder o peci.

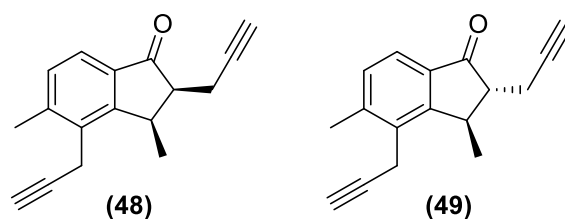
Esso è instabile in soluzione, ma è stato possibile cristallizzarlo e conservarlo come solido stabile, che è stato usato per poter calcolare separatamente la resa di sintesi di questo passaggio (sintesi di pralletrolone mesilato) e del primo e del terzo (salificazione dell'acido crisantemico e sintesi della pralletrina). Per i dettagli si veda la parte sperimentale relativa alle prove *EN 15-25/1* e *2*.

Per cercare di diminuire la formazione dei sottoprodotti (Diels-Alder e peci) sono stati presi i seguenti accorgimenti:

- flusso di azoto per rimuovere rapidamente le prime tracce di HCl formatesi in soluzione durante la reazione, in quanto la reazione di neutralizzazione ad opera dell'ammina potrebbe non essere veloce quanto la mesilazione del pralletrolone;
- conduzione della reazione a una temperatura sempre inferiore ai 10 °C (mediante l'ausilio di un bagno di ghiaccio o di ghiaccio e sale) e gocciolamento di almeno un reagente nell'ambiente di reazione per controllare l'esotermia del processo.

Inoltre alcune delle prove effettuate sono state condotte in condizioni anidre, ovvero con rimozione azeotropica di acqua/toluene e utilizzando mesil cloruro e *t*-butanolo distillati e ammine anidrificate mediante setacci molecolari; questo per evitare che l'acqua reagisse come nucleofilo al posto delle altre specie presenti.

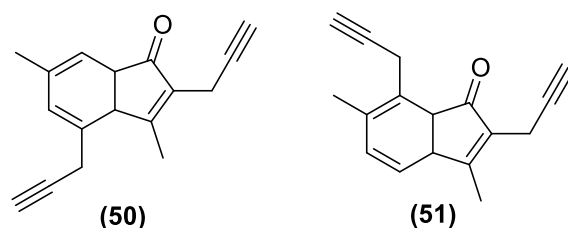
### 3.2.3 Principali sottoprodotti della reazione: addotti di Diels-Alder



**Figura 14:** Struttura degli addotti di Diels-Alder del pralletrolone.<sup>45</sup>

In Figura 14 sono rappresentate le strutture (48) e (49) dei prodotti di ciclizzazione di Diels-Alder del pralletrolone, studiati precedentemente all'interno del gruppo di ricerca<sup>45</sup> (rapporto di ricerca n° 676) in quanto inclusi nel dossier registrativo della pralletrina come impurezze significative (presenti cioè in quantità superiori allo 0,1 % a/a).

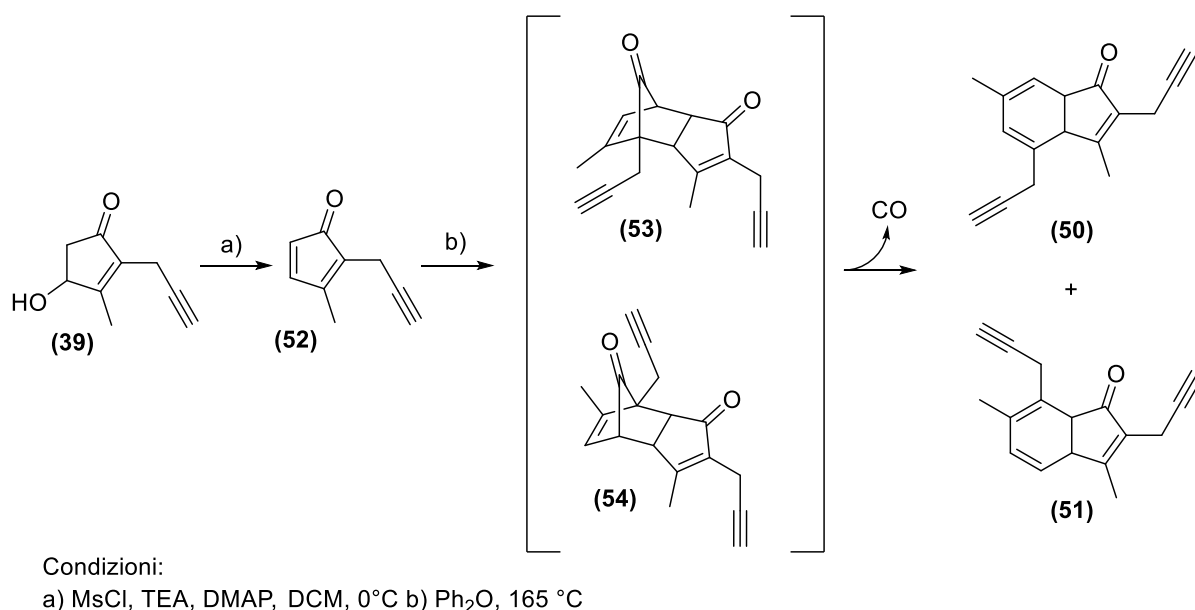
Le strutture di tali composti sono state inizialmente ipotizzate mediante acquisizione dello spettro di massa dei relativi picchi cromatografici, giungendo alle strutture **(50)** e **(51)** in Figura 15.



**Figura 15:** Struttura ipotizzata per gli addotti di Diels-Alder del pralleterone

Al fine di avere una caratterizzazione analitica completa in modo da attribuire univocamente le strutture, i prodotti di Diels–Alder del pralleterone presenti come impurezze significative nella pralletrina sono stati sintetizzati, purificati e caratterizzati via  $^1\text{H-NMR}$  e  $^{13}\text{C-NMR}$ .

Tra i molti possibili isomeri degli addotti di Diels–Alder del pralleterone, solo due sono presenti in quantità significativa nella pralletrina: per la preparazione di questi due prodotti è stato seguito il percorso sintetico riportato nello schema seguente.



**Schema 14:** Sintesi degli addotti di Diels-Alder del pralleterone.<sup>45</sup>

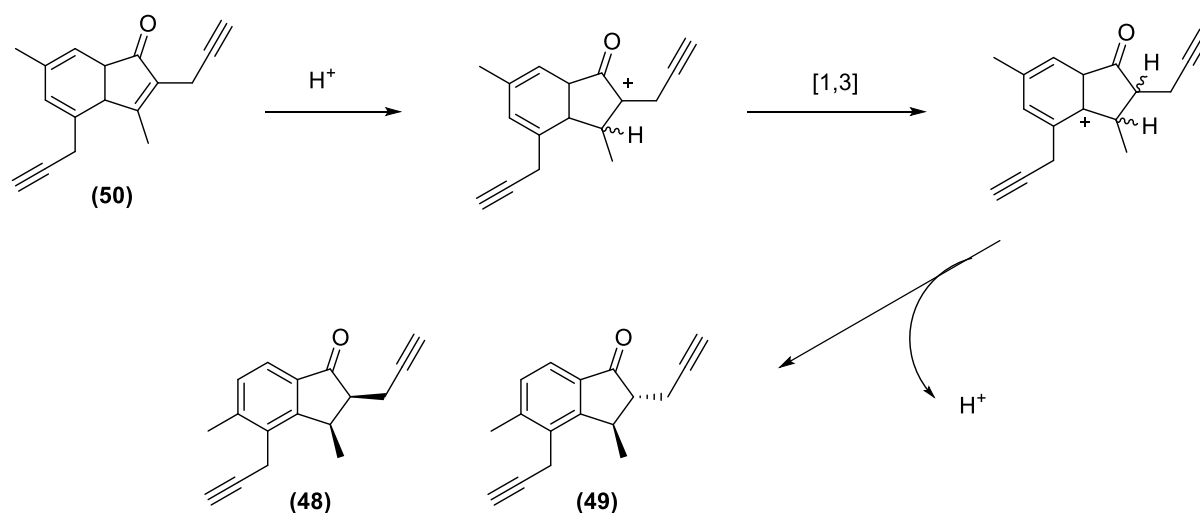
Il pralleterone **(39)** viene fatto reagire con il cloruro di mesile in diclorometano in presenza di due equivalenti di trietilammina e 0,1 equivalenti di DMAP; in queste condizioni il prodotto di *O*-mesilazione inizialmente formatosi subisce eliminazione per dare il ciclopentadienone **(52)**.

Tale molecola, che presenta le funzionalità corrette per reagire sia come diene sia come dienofilo, viene riscaldata a 165 °C in difenilettere e in atmosfera inerte. In queste condizioni avviene la reazione di Diels–Alder: i cicloaddotti inizialmente formati (**53**) e (**54**) vengono decarbonilati nello stesso ambiente di reazione, per formare i prodotti (**50**) e (**51**). Tali prodotti sono stati sottoposti all’analisi  $^1\text{H-NMR}$  e  $^{13}\text{C-NMR}$  per verificare la corretta attribuzione delle strutture riportate in Figura 15.

Data la relativa instabilità di una molecola altamente insatura come il ciclopentadienone (**52**), la reazione di Diels–Alder è accompagnata da una notevole formazione di peci. Il ricorso alla cromatografia su silice accoppiata alla TLC preparativa ha permesso l’isolamento dei prodotti di interesse dal grezzo di reazione.

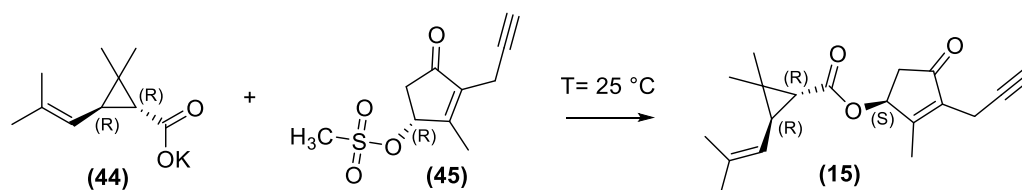
Nonostante le scarse rese riscontrate quella mostrata è l’unica sintesi capace di portare alla preparazione degli addotti di Diels–Alder di interesse; gli iniziali tentativi di disidratazione a caldo del pralletrolone (sia in presenza sia in assenza di acidi), hanno infatti invariabilmente condotto alla formazione di peci contenenti solo tracce dei prodotti di interesse.

L’analisi degli spettri  $^1\text{H-NMR}$  e  $^{13}\text{C-NMR}$  di (**50**) e (**51**) ha rivelato che la struttura inizialmente attribuita via GC-MS non era corretta. In realtà i prodotti effettivamente presenti come impurezze della pralletrina sono la coppia diastereoisomerica (**48**) e (**49**), che si origina a partire da (**50**) per shift [1,3] d’idruro catalizzato da tracce di acidità, come riportato nello schema seguente. Questa trasformazione è probabilmente favorita anche dal fatto che i composti (**48**) e (**49**) che si formano sono aromatici.



**Schema 15:** Formazione degli addotti di Diels–Alder del pralletrolone.<sup>45</sup>

### 3.2.4 Stadio III: sintesi della pralletrina



**Schema 16:** Sintesi di (*S*),(1*R*)-*trans*-pralletrina.

La reazione di esterificazione tra *d-trans*-crisantemato di potassio (**44**) e (*R*)-pralletrolone mesilato (**45**) (Schema 16) avviene a temperatura ambiente per gocciolamento di (*R*)-pralletrolone mesilato su una soluzione di *d-trans*-crisantemato di potassio in eccesso di 1,45 equivalenti; essa è una sostituzione nucleofila del secondo ordine ( $S_N2$ ) nella quale il pralletrolone derivatizzato con il gruppo mesilico inverte la propria configurazione da (*R*) a (*S*).

I lavaggi (neutri e basici) a fine reazione sono molto importanti: grazie ad essi è possibile eliminare o abbassare notevolmente l'acido crisantemico in eccesso e il pralletrolone non reagito. Il lavaggio con  $NH_3$  serve per trasformare l'anidride crisantemica in crisantemammide, più solubile nella fase acquosa; gli aspetti relativi alla formazione di questa impurezza non sono stati approfonditi.

### 3.2.5 Stereochimica della sintesi di (*S*),(1*R*)-*trans*-pralletrina

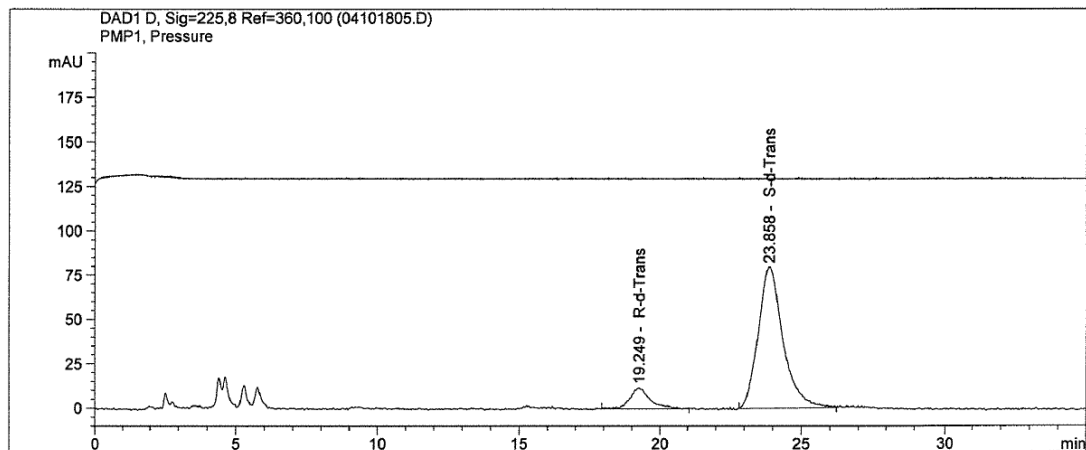
Un punto favorevole della sintesi oggetto di studio è l'estrema selettività dell'inversione di configurazione del pralletrolone nell'ultimo passaggio.

La prova iniziale (*EN 15-24/1* e *EN 3-51/211*) effettuata su (*R*)-pralletrolone sintetizzato in laboratorio come sopra descritto ha mostrato infatti la pressoché completa inversione della configurazione del pralletrolone da (*R*) a (*S*) e viceversa da (*S*) a (*R*) (*EN 3-173/4*), suggerendo che l'acido *d-trans*-crisantemico abbia la stessa reattività nei confronti di entrambi gli enantiomeri; questo potrebbe essere attribuito al fatto che i centri chirali dell'acido sono abbastanza distanti dal sito di reazione.

Come mostrato in Figura 16 è stata infatti ottenuta una pralletrina con profilo HPLC:

(*S*)-*d-trans*-pralletrina 89,0 % a

(*R*)-*d-trans*-pralletrina 11,0 % a

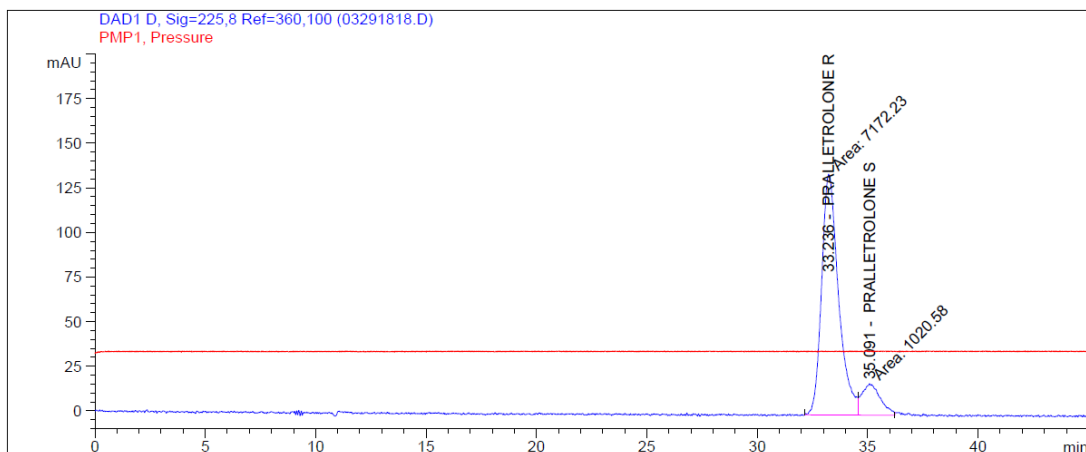


**Figura 16:** Profilo HPLC della pralletrina (prova EN 3-51/211).

a partire da un pralletrolone con profilo HPLC (Figura 17):

(*R*)-pralletrolone 87,5 % a

(*S*)-pralletrolone 12,5 % a



**Figura 17:** Profilo HPLC pralletrolone (prova EN 15-21/3).

Per praticità, le prove successive sono state effettuate partendo da (*S*)-pralletrolone, in quanto quest'ultimo è un prodotto commercialmente disponibile, ed è stata ottenuta la (*R*),(*1R*)-*trans*-pralletrina con una pressoché completa inversione di configurazione, come riportato in Tabella 2.

Prova	Stereoisomeri pralletrina	
	Alcol (R) (% a HPLC)	Alcol (S) (% a HPLC)
EN 3-173/3	99,1	0,9
EN 3-173/4	100	-
EN 3-173/5	100	-
EN 3-173/6	100	-
EN 3-173/7	99,5	0,5
EN 3-173/8	98,5	1,5
EN 3-173/10	99,7	0,3
EN 3-173/11	99,3	0,7
EN 3-173/12	98,8	1,2
EN 3-173/15	96,3	3,7

**Tabella 2:** Stereoisomeri della pralletrina.

Sebbene da un punto di vista rigoroso queste prove conducano a una pralletrina diastereoisomera della precedente, si può tuttavia essere confidenti che l'inversione di configurazione non sia significativamente influenzata dalla chiralità dell'acido crisantemico e che, quindi, anche (*R*)-pralletrolone mesilato dia pressoché completa inversione se fatto reagire con *d-trans*-crisantemato di potassio nelle condizioni testate, per praticità, con (*S*)-pralletrolone.

### 3.3 Resa dello stadio II: sintesi del pralletrolone mesilato

Il punto critico di tutta la sintesi si è rivelato essere la formazione del pralletrolone mesilato. Questa reazione è influenzata da diversi parametri che agiscono contemporaneamente e, data l'estrema reattività del pralletrolone, risente della competizione di numerose reazioni parassite che formano prodotti pesanti come peci e addotti di Diels-Alder. Di seguito verranno discussi i diversi parametri che sono stati modificati nella sintesi.

#### 3.3.1 Ordine di aggiunta dei reagenti

In prima battuta sono stati tentati diversi ordini di aggiunta dei reagenti; almeno uno di essi è stato gocciolato nell'ambiente di reazione (pralletrolone in toluene) per controllare l'esotermia del processo.

Prova	Gocciolamento	Resa pralletrolone mesilato
EN 15-25/7	trietilammina	16 %
EN 15-25/4	Contemporaneo mesil cloruro e trietilammina	17 %

**Tabella 3:** Prove effettuate variando l'ordine di aggiunta dei reagenti.

Nota: le prove riportate in tabella sono state condotte utilizzando come solvente toluene, come base TEA e a una temperatura di 5-10 °C. Per ulteriori dettagli si veda la parte sperimentale.

Il gocciolamento contemporaneo di entrambi i reagenti (mesil cloruro e trietilammina) e il gocciolamento della sola trietilammina hanno portato alla formazione prevalentemente di peci anche su piccola scala.

Si può ipotizzare che la presenza della base, oltre forse ad avere un effetto solvente, sia necessaria in eccesso per far sì che essa promuova la reazione desiderata diminuendo il contributo delle reazioni parassite, favorite forse dallo sviluppo di HCl e/o dall'accumulo di MsCl nell'ambiente di reazione; infatti, se la base è già presente nell'ambiente di reazione, essa può salificare HCl appena si forma facendolo precipitare come sale inerte.

Come riportato in Tabella 4, la reazione condotta gocciolando il mesil cloruro risente molto del tempo in cui viene effettuata l'aggiunta.

Prova	T (°C)	Tempo di aggiunta	Tempo di esaurimento	Resa pralletrolone mesilato	D.A. (% rispetto al totale D.A. + pralletrolone mesilato)
EN 15-25/6	5-10	3 h	30 min	61 %	22
EN 15-25/5	5-10	1 h	1 h	33 %	37
EN 15-25/10	-15/-5	3 h	30 min	58 %	18
EN 15-25/11	-15/-5	4,5 h	30 min	25 %	39

**Tabella 4:** Prove effettuate gocciolando il mesil cloruro.

Nota: le prove riportate in tabella sono state effettuate su 20 g di pralletrolone, in ambiente e con reagenti anidri, utilizzando come solvente toluene e come base TEA. Per ulteriori dettagli si veda la parte sperimentale.

D.A. = addotti Diels-Alder

Gocciolando il mesil cloruro nell'arco di un'ora (prova *EN 15-25/5*), anche senza avere significative variazioni di temperatura, si ha una diminuzione della resa poiché probabilmente un accumulo di mesil cloruro non reagito nell'ambiente di reazione e l'aumento della sua concentrazione puntuale sfavoriscono la selettività della reazione.

Lo stesso avviene se il gocciolamento avviene nell'arco di 4,5 ore (prova *EN 15-25/11*): questo probabilmente perché il pralletrolone mesilato rimane più tempo in soluzione in presenza di pralletrolone non reagito e di un eccesso di base, che come precedentemente citato favorisce la formazione di una molecola altamente instabile, il ciclopentadienone, che poi può portare alla formazione di Diels-Alder e peci.

Anche lo stesso work-up acquoso del pralletrolone mesilato, sebbene svolto velocemente e a bassa temperatura (0 °C), potrebbe portare a una parziale idrolisi dello stesso; è tuttavia



necessario effettuarlo per spegnere la reazione e portare in soluzione acquosa il sale formatosi tra l'ammina utilizzata e l'acido cloridrico sviluppato dalla reazione stessa (triethylammonio cloruro).

### 3.3.2 Base

Oltre alla triethylammina (TEA) sono state utilizzate come basi la piridina e la triethylammina (TOA). La triethylammina (prova EN 15-25/17) ha portato a una precipitazione del prodotto formatosi assieme alle peci, senza favorire la resa di reazione.

Prova	Solvente	Base	T (°C)	Tempo di aggiunta	Tempo di esaurimento	% a pralleterolone a spegnimento	Resa pralleterolone mesilato
EN 15-25/6	<b>Toluene</b>	TEA	<b>5-10</b>	3 h	30 min	0	61 %
EN 15-25/12	<b>Toluene</b>	Piridina	<b>5-10</b>	2 h	30 min	12	51 %
EN 15-25/15	<b>Toluene</b>	Piridina	<b>5-10</b>	2 h	45 min	11,7	46 %
EN 15-25/17	<i>Toluene</i>	<i>TOA</i>	<i>5-10</i>	<i>2 h</i>	<i>45 min</i>	<i>0</i>	<i>14 %</i>
EN 15-25/10	Toluene	TEA	<b>-15/-5</b>	3 h	30 min	0	58 %
EN 15-25/16	Toluene	Piridina	<b>-15/-5</b>	2 h	45 min	10,6	44 %
EN 15-25/18	<b>DCM</b>	Piridina	5-10	2 h	45 min	35,5	60 %
EN 15-25/14	<b>DCM</b>	TEA	5-10	2 h	2 h	11,8	54 %

**Tabella 5:** Prove effettuate variando la base utilizzata.

Nota: le prove riportate in tabella sono state effettuate in ambiente e con reagenti anidri e gocciolando il mesil cloruro. Per ulteriori dettagli si veda la parte sperimentale.

La piridina sembra favorire l'andamento della reazione, forse a causa di un parziale effetto solvente che permette di avere quindi una maggiore omogeneità del sistema di reazione e controllare meglio l'esotermicità del processo e le reazioni parassite, limitando accumuli puntuali di prodotti e/o reagenti.

La piridina però, probabilmente a causa della sua minore basicità ( $pK_{aH}$  piridina = 5,25;<sup>46</sup>  $pK_{aH}$  TEA = 10,75),<sup>47</sup> attiva di meno il gruppo alcolico del pralleterolone nei confronti di un

attacco allo zolfo del mesil cloruro e pertanto non permette la completa conversione del pralletrolone mantenendo lo stesso tempo di esaurimento utilizzato con la trietilammina.

### 3.3.3 Solvente

Anche il solvente svolge un ruolo importante nella reazione: infatti sia pralletrolone che pralletrolone mesilato non sono facilmente solubili nei solventi preferibili per una sintesi industriale (toluene o metilcicloesano).

Prova	Solvente	Base	Tempo di aggiunta	Tempo di esaurimento	% a pralletrolone a spegnimento	Resa pralletrolone mesilato
EN 15-25/6	Toluene	<b>TEA</b>	3 h	30 min	0	61 %
EN 15-25/14	DCM	<b>TEA</b>	2 h	2 h	11,8	54 %
EN 15-25/12	Toluene	<b>Piridina</b>	2 h	30 min	12	51 %
EN 15-25/15	Toluene	<b>Piridina</b>	2 h	45 min	11,7	46 %
EN 15-25/18	DCM	<b>Piridina</b>	2 h	45 min	35,5	60 %
EN 15-25/13	<i>Metilcicloesano</i>	<i>TEA</i>	<i>2 h</i>	<i>3 h</i>	25,3	24 %

**Tabella 6:** Prove effettuate variando il solvente.

Nota: le prove riportate in tabella sono state effettuate in ambiente e con reagenti anidri, gocciolando il mesil cloruro, a una temperatura di 5-10 °C e su 20 g di pralletrolone. Per ulteriori dettagli si veda la parte sperimentale.

L'utilizzo di metilcicloesano non permette di portare né reagenti né prodotti in soluzione, e il mesil pralletrolone formato precipita assieme alle molte peci. Neanche usando isopropil etero per effettuare il work up è stato possibile ridisciogliere il prodotto formatosi.

L'utilizzo di toluene porta ad avere una miscela di reazione non omogenea dato che il pralletrolone non è completamente solubile in questo solvente.

Le rese sono paragonabili a quelle ottenute con DCM, che rende la miscela omogenea sciogliendo sia reagenti che prodotti; come visto precedentemente con la piridina, anche nel caso del DCM il pralletrolone non è convertito completamente mantenendo il tempo di esaurimento utilizzato con il toluene. Questo può essere dovuto anche alla diversa visibilità

analitica al GC-LR: infatti essendo il pralletrolone più solubile in diclorometano potrebbe essere rivelato in misura maggiore rispetto che in toluene.

### 3.3.4 Temperatura

Un abbassamento della temperatura potrebbe diminuire l'insorgere di reazioni parassite e favorire così la selettività. Esso però diminuisce anche la velocità della reazione desiderata e le solubilità; il precipitare dei prodotti pesanti nell'ambiente di reazione, se essi derivano da reazioni consecutive, potrebbe favorire uno spostamento dell'equilibrio di reazione in tal senso e portare pertanto all'ulteriore formazione di peci.

Dalle prove effettuate, mostrate in Tabella 7, i due effetti sopracitati sembrano parzialmente compensarsi, poiché un abbassamento della temperatura non ha portato a una significativa variazione della resa.

Prova	Base	T (°C)	Tempo di aggiunta	Tempo di esaurimento	% a pralletrolone a spegnimento	Resa pralletrolone mesilato
EN 15-25/6	TEA	5-10	3 h	30 min	0	61 %
EN 15-25/10	TEA	-15/-5	3 h	30 min	0	58 %
EN 15-25/12	Piridina	5-10	2 h	30 min	12	51 %
EN 15-25/15	Piridina	5-10	2 h	45 min	11,7	46 %
EN 15-25/16	Piridina	-15/-5	2 h	45 min	10,6	44 %

**Tabella 7:** Prove effettuate variando la temperatura.

Nota: le prove riportate in tabella sono state effettuate in ambiente e con reagenti anidri, gocciolando il mesil cloruro, utilizzando come solvente toluene e su 20 g di pralletrolone. Per ulteriori dettagli si veda la parte sperimentale.

### 3.3.5 Considerazioni finali

Confrontando infine le sintesi effettuate utilizzando le diverse combinazioni di solvente/base riportate in tabella, mantenendo circa lo stesso tempo di gocciolamento ed esaurimento, si può notare che le rese sono circa confrontabili.

La presenza di percentuali variabili, anche elevate, di pralletrolone non reagito dopo lo spegnimento, potrebbe essere dovuta alla diversa visibilità analitica al GC-LR del pralletrolone nelle diverse miscele solvente come prima citato, ma probabilmente è attribuibile anche al fatto che il pralletrolone non è convertito completamente mantenendo il tempo di esaurimento usato con toluene e TEA.

Prova	Solvente	Base	T (°C)	Tempo di aggiunta	Tempo di esaurimento	% a pralletrolone a spegnimento	Resa pralletrolone mesilato
EN 15-25/6	Toluene	TEA	5-10	3 h	30 min	0	61 %
EN 15-25/10	Toluene	TEA	-15/-5	3 h	30 min	0	58 %
EN 15-25/18	DCM	Piridina	5-10	2 h	45 min	35,5	60 %
EN 15-25/14	DCM	TEA	5-10	2 h	2 h	11,8	54 %
EN 15-25/12	Toluene	Piridina	5-10	2 h	30 min	12	51 %
EN 15-25/15	Toluene	Piridina	5-10	2 h	45 min	11,7	46 %
EN 15-25/16	Toluene	Piridina	-15/-5	2 h	45 min	10,6	44 %

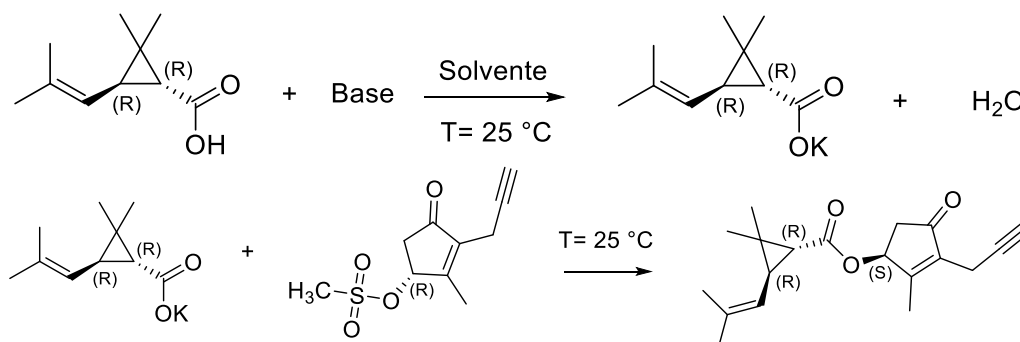
**Tabella 8**

Nota: le prove riportate in tabella sono state effettuate in ambiente e con reagenti anidri, gocciolando il mesil cloruro e su 20 g di pralletrolone. Per ulteriori dettagli si veda la parte sperimentale.

### 3.4 Resa stadio I e III: sintesi crisantemato di potassio ed esterificazione a pralletrina

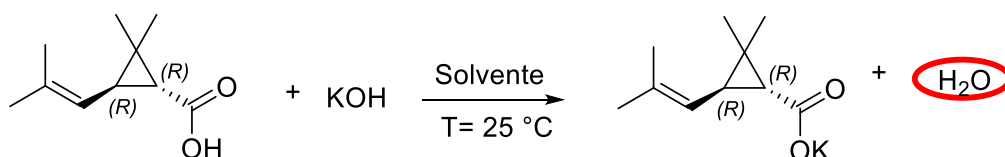
Le rese in pralletrina del secondo passaggio, calcolate sul pralletrolone mesilato, non sono omogenee e perfettamente confrontabili tra loro poiché il reagente di partenza (pralletrolone mesilato in soluzione) ha ogni volta una concentrazione e una quantità di impurezze diverse.

Si possono comunque fare alcune osservazioni qualitative sui risultati ottenuti.



**Schema 17:** Sintesi crisantemato di potassio ed esterificazione a pralletrina.

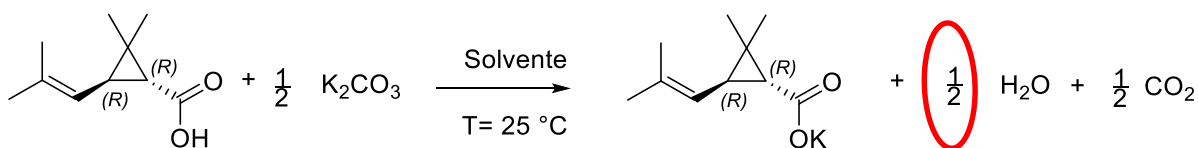
Durante la formazione del sale dell'acido crisantemico si forma acqua in quantità equimolare con il sale (Schema 18). Essa rimane nell'ambiente di reazione e potrebbe competere con il sale nella reazione  $S_N2$  con il mesil pralleteolone e/o favorire la formazione di Diels Alder e peci, anche in virtù del fatto che il crisantemato non è un buonissimo gruppo entrante ed è necessario molto tempo affinché esso reagisca completamente con il pralleteolone mesilato.



**Schema 18:** Salificazione di (1R)-*trans*-acido crisantemico.

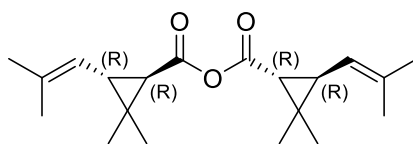
Per ovviare a questo problema si è provato a condurre la reazione inserendo nel pallone di reazione dei setacci molecolari al fine di catturare l'acqua che si forma, ma non si è riscontrato un aumento della resa, oltre ad essere poco scalabili in un'ottica industriale e laboriosi da trattare nel work-up, che dovrebbe prevedere un'ulteriore filtrazione per evitare di disgregarli con il lavaggio acquoso.

Come ulteriore tentativo si è utilizzato  $K_2CO_3$  per formare il sale dell'acido e limitare la presenza di acqua nell'ambiente di reazione, che si forma in quantità dimezzata rispetto a quando si impiega KOH (Schema 19); la resa è rimasta paragonabile a quella ottenuta con l'utilizzo di KOH.



**Schema 19:** Salificazione di acido (1R)-*trans*-crisantemico ad opera di  $K_2CO_3$ .

Un ulteriore problema della sintesi è la formazione di anidride crisantemica (Figura 18).



**Figura 18:** Anidride crisantemica.

Gli aspetti relativi alla formazione di questa impurezza non sono stati approfonditi; tuttavia ci sono alcuni fattori che sfavoriscono la reazione desiderata e possono portare all'insorgere di reazioni parassite. Tra essi si può citare la leggera esotermicità della reazione di salificazione dell'acido crisantemico, l'utilizzo di un eccesso di acido rispetto alla base per evitare che essa rimanga nell'ambiente di reazione e degradi il pralletrolone mesilato e la lenta cinetica della reazione tra pralletrolone mesilato e crisantemato.

Dal punto di vista analitico è emerso che l'andamento di reazione non è ben rilevato dalle analisi gascromatografiche (qualitative, presso GC-LR): anche quando, ad esempio, un'analisi di monitoraggio intermedio della reazione mostra la scomparsa del reagente (pralletrolone mesilato), lo si ritrova poi in controlli successivi. Questo comportamento potrebbe essere dovuto a una parziale idrolisi del pralletrolone mesilato durante il work-up acquoso, che rende difficile la sua rivelazione in basse concentrazioni.

Lasciando in esaurimento la reazione per tempi molto lunghi (fino a 70 ore) è stato generalmente riscontrato un miglioramento delle rese.

L'utilizzo di diclorometano ha portato in genere a rese più basse per questo passaggio: questo può essere dovuto alla possibile interferenza dei prodotti pesanti che permangono in soluzione; anche l'isolamento del prodotto è risultato più difficoltoso a causa della maggiore formazione di emulsioni.

L'utilizzo di toluene solo nel secondo passaggio (prova *EN 3-173/14*) ha portato a una bassa resa, e l'impiego di una miscela di solventi quali *t*-butanolo/DCM/toluene non è facilmente praticabile in un'ottica di sviluppo di processo.

## 4. Conclusioni

Il presente lavoro di ricerca ha permesso di esplorare una possibile via sintetica per il recupero e l'utilizzo di quello che sarebbe uno scarto di produzione ad altissimo valore aggiunto, (*R*)-pralletrolone. La via di sintesi studiata permette di ottenere con perfetta inversione di configurazione l'isomero desiderato, la (*S*),(1*R*)-*trans*-pralletrina.

Il presente studio preliminare su questa via sintetica ha permesso di evidenziare i punti di forza e di debolezza di questa sintesi e apre la strada a futuri studi sul tema. Si tratta infatti di una via di sintesi apparentemente semplice, ma in realtà influenzata da diversi fattori che agiscono in modo contemporaneo e talvolta inaspettato che è stato possibile individuare per permettere lo sviluppo di studi futuri di approfondimento sugli stessi, scartando le soluzioni che sono risultate inefficaci, con lo scopo finale di raggiungere un optimum.

Considerando soprattutto le prove fatte su 20 g di pralletrolone, che si avvicinano maggiormente a un'ottica di *scale up* successivo, si può dire che in questo studio preliminare le rese massime ottenibili con le condizioni sperimentate sono circa del 60 % per quanto riguarda il primo passaggio e del 70 % per quanto riguarda il secondo, che corrispondono a una resa globale di circa il 40 %. Questo permette comunque già un recupero parziale di (*R*)-pralletrolone, prodotto ad altissimo valore aggiunto che altrimenti sarebbe inutilizzato.

Sono possibili numerosi futuri sviluppi: si potrebbero ad esempio condurre ulteriori prove aumentando il tempo di esaurimento della reazione di formazione del pralletrolone mesilato (utilizzando come base TEA o piridina) per vedere come variano la conversione e la resa; anche il tempo di aggiunta del mesil cloruro potrebbe essere oggetto di approfondimento.

Altri parametri su cui si possono effettuare ulteriori studi futuri sono il tipo di base utilizzata, il tipo di solvente e la temperatura: una combinazione che non è stata tentata è ad esempio utilizzare piridina e diclorometano a temperatura pari a -15/-5 °C.

Inoltre sono presenti alcuni aspetti che non sono stati approfonditi ma che potrebbero meritare uno studio dedicato: tra questi vi sono la stabilità del pralletrolone in presenza di ammine terziarie, la degradazione del mesil cloruro dovuta al calore e all'umidità e le cause che portano alla formazione di anidride crisantemica.

Si potrebbe infine monitorare la cinetica della reazione tra pralletrolone mesilato e crisantemato di potassio facendo controlli periodici, al fine di determinare il titolo in peso della pralletrina presente, per valutare meglio l'andamento della reazione nel tempo.

Questi sono solo alcuni spunti per possibili sviluppi futuri sul tema che si aprono a partire da questo lavoro di tesi.

## 5. Parte sperimentale

### 5.1 Reagenti

I reagenti utilizzati di cui non è stata riportata la sintesi e che sono contrassegnati con provenienza LR o LS sono commercialmente disponibili (Sigma-Aldrich, Fluka) e sono stati impiegati senza essere stati sottoposti a ulteriori purificazioni, tranne quando diversamente specificato.

I reagenti che invece hanno come provenienza un codice EN o R sono stati sintetizzati in precedenza nel laboratorio di ricerca o di sviluppo o vengono da lotti già presenti. In particolare si riportano le specifiche dei tre lotti di acido utilizzati.

*Acido crisantemico EN 3-3/60*

titolo 99,2 % p 99,7 % a

*d-cis* 0,4 % a

*d-trans* 97,2 % a

*l-trans* 1,3 % a

*l-cis* 1,1 % a

*Acido crisantemico EN 3-3/60 + EN 3-3/64*

titolo 97,1 % p, 98,6 % a

*d-cis* 0,3 % a

*d-trans* 99,0 % a

*l-trans* 0,6 % a

*l-cis* 0,1 % a

*Acido crisantemico R 164 14*

titolo 96,7 % p 97,0 % a

*d-cis* 0,3 % a

*d-trans* 98,6 % a

*l-trans* 1,0 % a

*l-cis* 0,1 % a

### 5.2 Strumentazioni

- Le reazioni durante il loro svolgimento sono state monitorate tramite gascromatografia con il GC-LR Hewlett Packard attraverso un metodo analitico (MBDO), precedentemente messo a punto dal gruppo di ricerca, che permette di separare e attribuire i picchi dei prodotti di interesse.



### **Metodo analitico MBDO.M: caratteristiche**

#### **Forno**

Temperatura iniziale = 80 °C

Temperatura massima = 325 °C

Tempo iniziale: 2,00 minuti

Rampa

<b>Velocità (°C/min)</b>	<b>T (°C)</b>	<b>Hold time (minuti)</b>	<b>Run time (minuti)</b>
	80	2,00	2,00
15,00	170	0,00	8,00
20,00	250	8,00	20,00

Durata della corsa = 20,00 min

#### **Iniettore**

T iniziale = 250 °C

Tipo di gas (fase mobile): N<sub>2</sub>

#### **Detector (FID)**

T = 300 °C

#### **Colonna**

Colonna capillare

Modello numero: Agilent 19091J-413E

Fase stazionaria: HP-5 5% fenil metil silossano

T massima = 325 °C

Lunghezza nominale = 30 m

Diametro nominale = 320 µm

Spessore nominale del film = 0,25 µm

Modalità: flusso costante

Flusso iniziale: 1,3 mL/min

- I composti studiati in questa tesi sono stati analizzati mediante gascromatografia (GC) e cromatografia liquida (HPLC). La gascromatografia è stata usata a livello di laboratorio analitico per determinare quantitativamente la percentuale in area e in peso di prodotto e di conseguenza la resa di reazione. L'HPLC è stato utilizzato dal laboratorio analitico per separare i diversi stereoisomeri della pralletrina e del pralletrolone attraverso una colonna con fase stazionaria chirale. Sono stati utilizzati

rispettivamente il GC-LA Agilent e HPLC-LA Agilent, attraverso metodi precedentemente messi a punto presso il laboratorio Analisi e di seguito riportati.

***Pralletrina: metodo GC-FID LA66 (% p, metodo a standard interno) e LA67 (% a)***

*Colonna:* DB5-MS

Fase stazionaria: fenil-aril-polimero

Fase mobile: N<sub>2</sub>

Lunghezza = 30 m

Diametro = 0,25 mm

Spessore del film = 0,25 µm

Modalità:

- flusso costante per LA66, con flusso = 1 mL/min
- pressione costante (circa 13 psi) per LA 67, con flusso iniziale = 1,32 mL/min

**Condizioni:**

*Iniettore* T = 250°C

*Forno*

<b>Velocità (°C/min)</b>	<b>T (°C)</b>	<b>Hold Time (min)</b>	<b>Run Time (min)</b>
	70	3.00	3.00
10	200	1.00	17.00
1	220	10.00	47.00
40	240	10.00	57.50

*Detector* T = 300°C (LOD 1-5 ppm)

**Preparazione:**

Si fanno pesate in matracci tarati. Per la determinazione del % a si desidera vedere le impurezze, quindi si usano concentrazioni maggiori rispetto al % p. I campioni di pralletrina analizzati hanno concentrazioni attorno al 50 % p, che viene quindi presa come concentrazione di lavoro.

- **LA66 (% p):** 4000 ppm (mg/L) di campione + 2000 ppm di standard interno (dibutilftalato) in acetone.

*Preparazione curva di calibrazione:* 3 livelli di concentrazione tra 1000-3000 ppm, per ogni aliquota si aggiungono 2000 ppm di standard interno. Si fanno in totale 3 preparazioni e si iniettano due vial per ciascuna preparazione.

Lo standard interno serve per tenere conto delle variazioni strumentali; esso deve essere stabile, dare un buon segnale e non cadere su altri picchi.

La retta di taratura passa per l'origine; essa è fatta una volta soltanto per tutte le analisi ma è periodicamente controllata e ha un  $R^2$  di almeno 0,99. Si assume che tutti i diastereoisomeri della pralletrina rispondano uguali al FID.

- **LA67 (% a):** 8000 ppm di campione (circa 160 mg in 20 mL) in acetone.

## **Risultati:**

### **LA66 (% peso a standard interno)**

$$\% p/p = \frac{\left(\frac{Area_{analita}}{Area_{SI}}\right) \cdot Conc_{SI}}{m \cdot Conc_{campione}} \cdot 100$$

dove:

- $Area_{analita}$ : area del picco (o somma dei picchi cis e trans) dell'analita;
- $Area_{SI}$ : area del picco di standard interno (DBF);
- $Conc_{campione}$ : concentrazione del campione;
- $Conc_{SI}$ : concentrazione dello standard interno;
- $m$ : pendenza della retta di taratura;

### **LA67 (% area)**

$$\% a/a = \frac{Area_{analita}}{\sum Area_{analiti}} \cdot 100$$

dove:

- $Area_{analita}$ : area del picco (o somma dei picchi cis e trans) dell'analita;
- $\sum Area_{analiti}$ : somma delle aree di tutti i picchi integrati.

### ***Stereoisomeri pralletrina: Metodo HPLC LA189***

*Colonna:* Lux 3 Cellulose (fase inversa)

*Fase stazionaria:* cellulosa tris (4-metilbenzoato)

*Lunghezza =* 150 mm

*Diametro =* 4,6 mm

Spessore del film= 3 µm

**Condizioni:**

Flusso (isocratica) = 1,0 ml/min

Fase mobile: 36% (Acetonitrile) – 64% (H<sub>2</sub>O milli-Q)

Stop time = 50 min

Termostato colonna = 30°C

*Detector UV-VIS*

Lunghezza d'onda = 225 nm

**Preparazione:** 1000 ppm di campione in acetonitrile

**Risultati:**

$$\text{Isomero \% a/a} = \frac{\text{Area}_{\text{isomero}}}{\sum \text{Area}_{\text{isomeri}}} \cdot 100$$

dove:

- Area<sub>isomero</sub> = area del singolo isomero
- $\sum$ Area<sub>isomeri</sub> = somma delle aree di tutti gli isomeri

***Pralletrolone, Pralletrolone acetato, Pralletrolone mesilato: Metodo GC-FID LA178 (% a e % p, metodo a standard esterno o punto singolo)***

*Colonna:* DB5-MS

Fase stazionaria: fenil-aril-polimero

Fase mobile = N<sub>2</sub>

Lunghezza = 30 m

Diametro = 0,25 mm

Spessore del film = 0,25 µm

Flusso costante = 1 mL/min

**Condizioni:**

*Iniettore* T = 250°C

Forno

Velocità (°C/min)	T (°C)	Hold Time (min)	Run Time (min)
	70	3.00	3.00
10	200	1.00	17.00
40	290	0.75	20.00

Detector T= 300°C

### Preparazione:

- **% area:** 2000 ppm di campione (6000 ppm in caso di pralietrolone mesilato in soluzione) in acetone. Si segna la pesata esatta per il calcolo successivo del % peso.
- **% peso:** 2000 ppm di standard esterno in acetone, si inietta in doppio. Si segna la pesata esatta per i calcoli.

### Risultati:

#### % area

$$\% a/a = \frac{Area_{analita}}{\sum Area_{analiti}} \cdot 100$$

dove:

- $Area_{analita}$ : area del picco dell'analita;
- $\sum Area_{analiti}$ : somma delle aree di tutti i picchi integrati.

#### % peso

$$\% p/p = \frac{Area_{analita} \cdot Conc_{STD}}{Area_{STD} \cdot Conc_{campione}} \cdot 100$$

dove:

- $Area_{analita}$ : area del picco dell'analita;
- $Area_{STD}$ : area del picco di standard esterno;
- $Conc_{campione}$ : concentrazione del campione = peso campione/ volume matraccio;
- $Conc_{STD}$ : concentrazione dello standard esterno = (peso<sub>STD</sub>/ volume matraccio) \* purezza<sub>STD</sub>;

In caso di iniezioni ripetute del campione e/o dello standard si fa la media tra le aree ottenute.

### ***Stereoisomeri pralsetrolone: Metodo HPLC LA202***

Colonna: Lux 1 Cellulose (fase inversa)

Fase stazionaria: cellulosa tris-(3,5-dimetilfenilcarbammato)

Lunghezza = 150 mm

Diametro = 4,6 mm

Spessore del film = 3  $\mu$ m

#### **Condizioni:**

Flusso (isocratica) = 0,2 ml/min

Fase mobile: 30% (Metanolo) – 70% (H<sub>2</sub>O milli-Q)

Stop time = 45 min

Termostato colonna = 25°C

*Detector UV-VIS*

Lunghezza d'onda = 225 nm

**Preparazione:** 1000 ppm di campione in metanolo

#### **Risultati:**

$$\text{Isomero \% } a/a = \frac{\text{Area}_{\text{isomero}}}{\sum \text{Area}_{\text{isomeri}}} \cdot 100$$

dove:

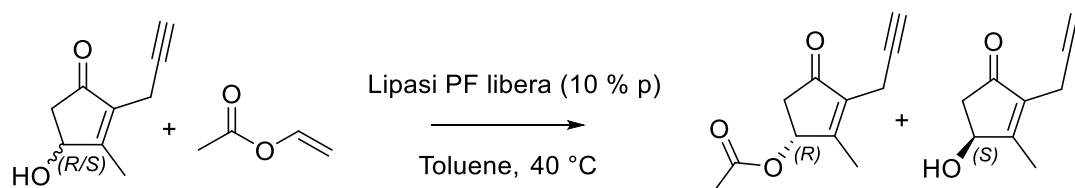
- $\text{Area}_{\text{isomero}}$  = area del singolo isomero
  - $\sum \text{Area}_{\text{isomeri}}$  = somma delle aree di tutti gli isomeri
- 
- Gli spettri di massa sono stati eseguiti con un GC Agilent “6890N” collegato al modulo della massa Agilent “5973 Network” in alto vuoto. Il detector ha un LOD dell'ordine di grandezza dei ppb.
  - Le misure di potere ottico rotatorio specifico ( $[\alpha]_D$ ) sono state eseguite con un polarimetro Perkin Elmer 341 a una T = 20 °C e ad una lunghezza d'onda  $\lambda = 589$  nm.
  - Gli spettri <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C NMR sono stati registrati con uno spettrometro Mercury 400. I *chemical shift*  $\delta$  sono stati calibrati usando la risonanza interna di CDCl<sub>3</sub> riferita al TMS. Le notazioni s = singoletto, d = doppietto, dd = doppio doppietto, td = triplo

doppio, t = tripletto, ddt = doppio doppietto di tripletto, m = multipletto e dm = doppio multipletto sono riferite alle molteplicità del segnale. La notazione br indica l'allargamento del chemical shift di risonanza e le costanti di accoppiamento sono indicate con  $J$  in Hertz (Hz).

### 5.3 Sintesi

Le sintesi dei vari composti sono state ripetute più volte cambiando alcuni parametri sperimentali, condizioni e/o reagenti seguendo però la stessa procedura. Per brevità la procedura sperimentale viene riportata una volta sola e le differenze delle varie prove sono specificate nelle tabelle che le seguono. Se nella stessa sintesi sono riportati più valori per una stessa grandezza quelli che seguono il primo sono indicati tra parentesi e si riferiscono alle prove nell'ordine in cui sono enunciate nel titolo.

#### Sintesi di (R)-pralletrolone acetato EN 15-20/4 e 9



In un pallone a 4 colli da 1 L munito di termometro, agitazione meccanica e refrigerante a ricadere si pongono:

Reagente	Titolo	PM (g/mol)	Moli	Eq	Massa (g)	Volume (mL)	Provenienza
<i>Pralletrolone</i>	97 %	150,19	0,323	1	50,21 (50,00)	-	EN 15-7/8
<i>Toluene</i>	-	-	-	-	-	500	LR
<i>Lipasi PF</i>	-	-	-	10%p	5,05 (4,80)	-	LR
<i>Vinil acetato</i>	>= 99%	86,09	0,323	1	28,41 (29,04)	-	LR

Si scalda a 40 °C tramite bagno ad acqua. Si conduce la reazione per 27 (36,5) ore, di cui 16 (17) a temperatura ambiente. La soluzione rimane di colore giallo/arancione per tutta la durata della prova. Da analisi GC-LR il pralletrolone è al 51,5 % a (47,7 % a) e il pralletrolone acetato è al 46 % a (48,5 % a). Si filtra la soluzione con celite su Gooch e si porta a secco il filtrato al rotavapor a T=50 °C (soluzione gialla) in un pallone da 500 mL.

Si ottengono 57,18 g (59,42 g) di grezzo come olio giallo ocre.

#### GC-LA EN 15-20/4

pralletrolone acetato 43,8 % p, 42,8 % a



pralletrolone 45,2 % p, 49,7% a

Resa calcolata su (R)-pralletrolone = 80 %

### **GC-LA EN 15-20/9**

pralletrolone acetato 49,5 % p, 43,1 % a

pralletrolone 42,3 % p, 42,8% a

Resa calcolata su (R)-pralletrolone = 94 %

Il grezzo *EN 15-20/4* è stato purificato tramite cromatografia su colonna usando gel di silice 60 (marca Zeoprep 60) come fase stazionaria e una miscela esano:etil acetato inizialmente 4:1 e successivamente 3:2 come fase mobile.

Miscela esano:etil acetato 4:1

Rf pralletrolone = 0,035

Rf pralletrolone acetato = 0,174

Miscela esano:etil acetato 3:2

Rf pralletrolone = 0,109

Rf pralletrolone acetato = 0,418

Sono purificate due aliquote di grezzo.

*Prima aliquota EN 15-20/5*

Da 28,00 g di grezzo della prova *EN 15-20/4* si ottengono 13,54 g di prodotto come olio giallo ocra scuro.

### **GC-LA**

pralletrolone acetato 93 % p, 96,6 % a

Resa quantitativa

*Seconda aliquota EN 15-20/6*

Da 27,98 g di grezzo della prova *EN 15-20/4* si ottengono 10,38 g di prodotto come olio arancione.

## **GC-LA**

pralletrolone acetato 87,9 % p, 88,5 % a

pralletrolone 5,49 % a

Resa = 74 %

Il grezzo *EN 15-20/9* è stato purificato tramite cromatografia su colonna, in parte tramite scolonnatore automatico (Sepacore-Buchi) usando gel di silice (230-400 mesh) come fase stazionaria e una miscela esano:etil acetato 3:2 come fase mobile.

Parametri impostati sull'apparecchiatura:

- Flusso = 50 mL/min (pressione di esercizio ~ 7 bar)
- $\lambda$  rivelazione = 254 nm

pressione massima = 15 bar

Sono purificate due aliquote di grezzo *EN 15-20/10*

*Prima aliquota*

Da 10,12 g di grezzo della prova *EN 15-20/9* si ottengono 3,53 g di prodotto come olio giallo.

## **GC-LA**

pralletrolone acetato 92,3 % p, 94,2 % a

Resa = 65%

*Seconda aliquota*

Da 15,15 g di grezzo della *EN 15-20/9* si ottengono 6,61 g di prodotto come olio giallo.

## **GC-LA**

pralletrolone acetato 95,9 % p, 93,4 % a

Resa = 85 %

Una terza aliquota di grezzo è stato purificato per via cromatografia su colonna manuale usando gel di silice 60 (marca Zeoprep 60) come fase stazionaria e una miscela esano:etil acetato 3:2 come fase mobile (prova *EN 15-20/11*).

Sono stati ottenuti due campioni di prodotto.

*Primo campione:* 2,89 g come olio giallo ocra

## **GC-LA**

pralletrolone acetato 88,1 % p, 88,0 % a

*Secondo campione:* 13,26 g come olio giallo ocre

**GC-LA**

pralletrolone acetato 89,9 % p, 94,6 % a

Resa totale = 88 %

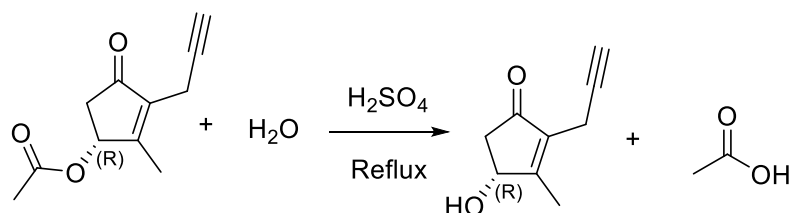
**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 5.65 (ddt, *J* = 6.3, 2.1, 1.0 Hz, 1H), 3.09 (dd, *J* = 1.7, 0.9 Hz, 2H), 2.83 (dd, *J* = 18.7, 6.4 Hz, 1H), 2.23 (dd, *J* = 18.7, 2.1 Hz, 1H), 2.10 (s, 3H), 2.07 (d, *J* = 0.8 Hz, 3H), 1.95 (td, *J* = 2.8, 0.6 Hz, 1H).

**<sup>13</sup>C NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 202.12, 170.50, 166.57, 138.23, 79.15, 72.71, 68.94, 41.22, 20.71, 13.97, 12.30.

**GC-MS** m/z 192,2 (M<sup>+</sup>)

[α]<sub>D</sub><sup>20</sup> -29,6 (c 1,435; CHCl<sub>3</sub>)

Sintesi di (R)-pralletrolone EN 15-21/2,3,5



In un pallone a 4 colli da 500 mL (250 mL, 1L) munito di agitatore meccanico, termometro e refrigerante a ricadere introduco:

EN 15-21/2	Titolo	PM (g/mol)	Moli	Eq	Massa (g)	Provenienza
<b>Reagente</b>						
(R)-pralletrolone acetato	93 %	192,21	0,063	1	13	EN 15-20/5
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	5 %	98,08	0,085	1,35	155,2	LR
<b>EN 15-21/3</b>	<b>Titolo</b>	<b>PM (g/mol)</b>	<b>Moli</b>	<b>Eq</b>	<b>Massa (g)</b>	<b>Provenienza</b>
<b>Reagente</b>						
(R)-pralletrolone acetato	87,9 %	192,21	0,0461	1	10,09	EN 15-20/6
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	5 %	98,08	0,0564	1,35	109,26	LR
<b>EN 15-21/5</b>	<b>Titolo</b>	<b>PM (g/mol)</b>	<b>Moli</b>	<b>Eq</b>	<b>Massa (g)</b>	<b>Provenienza</b>
<b>Reagente</b>						
(R)-pralletrolone acetato	81,2 %	192,21	0,0967	1	22,88	EN 15-20/10 EN 15-20/11
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	5 %	98,08	0,130	1,35	256,33	LR

Si scalda a riflusso (100 °C) tramite bagno ad olio e si monitora la reazione tramite GC.

EN 15-21/2 GC-LR dopo 2,5 h pralletrolone 99,667 % a

EN 15-21/3 GC-LR dopo 2 h pralletrolone 98,17 % a

EN 15-21/5 GC-LR dopo 1 h e 40 min pralletrolone 100 % a

Si neutralizza (pH=9 nel caso della prova EN 15-21/5) con 70 (55, 120) mL di NaOH 3 M e si estrae con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> per tre volte (150 (75,250) mL, 75 (50,125) mL, 50 (40,85) mL).

Si evaporano le fasi organiche riunite e si ottengono 6,81 (6,28, 12,15) g di prodotto come olio rosso bordeaux.

**GC-LA EN 15-21/2**

Pralsetrolone 95,3 % p, 96,8 % a

Pralsetrolone acetato 0,37 % a

Resa = 69 %

**HPLC-LA EN 15-21/2**

(*R*)-pralsetrolone 92,2 % a

(*S*)-pralsetrolone 7,8 % a

**GC-LA EN 15-21/3**

Pralsetrolone 94,4 % p, 95,9 % a

Resa = 86 %

**HPLC-LA EN 15-21/3**

(*R*)-pralsetrolone 87,5 % a

(*S*)-pralsetrolone 12,5 % a

**GC-LA EN 15-21/5**

Pralsetrolone 92,6 % p, 96,5 % a

Resa = 77 %

**HPLC-LA EN 15-21/5**

(*R*)-pralsetrolone 90,8 % a

(*S*)-pralsetrolone 9,2 % a

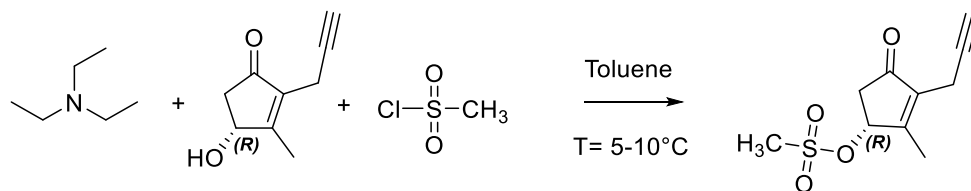
**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CHCl<sub>3</sub>) δ 4.78 – 4.57 (m, 1H), 3.75 (s, 1H), 3.08 – 2.91 (m, 2H), 2.72 (dd, J = 18.5, 6.2 Hz, 1H), 2.32 – 2.19 (m, 1H), 2.16 (s, 3H), 1.93 (td, J = 2.8, 0.5 Hz, 1H).

**<sup>13</sup>C NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 204.36, 172.07, 135.94, 79.55, 71.14, 68.83, 43.80, 13.85, 12.19.

**GC-MS** m/z 150,1 (M<sup>+</sup>)

[α]<sub>D</sub><sup>20</sup> -17,3 (c 1,41; CHCl<sub>3</sub>)

Sintesi di (R)-pralletrolone mesilato EN 15-24/1



In un pallone a 4 colli da 100 mL con agitazione meccanica, termometro, imbuto gocciolatore e flusso di N<sub>2</sub> inserisco:

Reagente	Titolo	PM (g/mol)	Moli	Eq	Massa (g)	Volume (mL)	Provenienza
(R)-pralletrolone	94,4 %	150,19	0,0376	1	5,99	-	EN 15-21/3
Toluene	>99 %	-	-	-	-	25	LR

Si porta la temperatura tramite bagno di ghiaccio a 5-10 °C e si aggiunge:

Reagente	Titolo	PM (g/mol)	Moli	Eq	Massa (g)	Provenienza
TEA	98 %	101,19	0,0489	1,3	5,50	LR

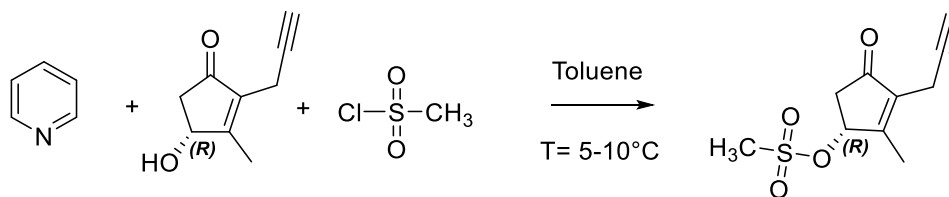
Dopo 10 minuti dall'aggiunta si fa gocciolare per circa 4 ore mantenendo la temperatura tra 5-10 °C:

Reagente	Titolo	PM (g/mol)	Moli	Eq	Massa (g)	Provenienza
Mesil cloruro	98 %	114,54	0,0451	1,2	5,27	LR

Si lascia in esaurimento per 30 minuti. Si lava la soluzione con 25 mL di H<sub>2</sub>O demi a 0 °C. Si effettuano rapidamente altri 3x12 mL lavaggi con H<sub>2</sub>O demi a 0 °C. Si anidifica la fase organica con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

Dall'analisi GC-LR si nota la scomparsa del pralletrolone e numerosi picchi di degradazione. Si filtra la fase organica anidrificata su Gooch, si lava il Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> con 2 x 10 mL di toluene e si usa la soluzione tal quale per la prova successiva (soluzione limpida giallo ocra).

Sintesi di (R)-pralletrolone mesilato a scopo analitico EN 15-24/2



In un pallone a 4 colli da 100 mL con agitazione meccanica, termometro, imbuto gocciolatore e flusso di N<sub>2</sub> inserisco:

Reagente	Titolo	PM (g/mol)	Moli	Eq	Massa (g)	Volume (mL)	Provenienza
(R)-pralletrolone	95,3 %	150,19	0,0428	1	6,75	-	EN 15-21/2
Toluene	>99 %	-	-	-	-	25	LR

Si porta la temperatura tramite bagno di ghiaccio a 5-10 °C e si aggiunge:

Reagente	PM (g/mol)	Moli	Eq	Massa (g)	Provenienza
Piridina	79,1	0,0557	1,3	4,41	R 83/15

Dopo 10 minuti dall'aggiunta si fa gocciolare per circa 40 minuti mantenendo la temperatura tra 5-10 °C:

Reagente	Titolo	PM (g/mol)	Moli	Eq	Massa (g)	Provenienza
Mesil cloruro	98 %	114,54	0,0514	1,2	6,00	EN 84-5/2

Si lascia in esaurimento per 2 ore. Si lava la soluzione con 25 mL di H<sub>2</sub>O demi a 0 °C. Si effettuano rapidamente altri 3x15 mL lavaggi con H<sub>2</sub>O demi a 0 °C (pH primo lavaggio = 3, pH secondo-quarto lavaggio = 6). Si anidrifica la fase organica con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Si filtra la fase organica anidrificata su Gooch e si lava il Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> con toluene. Si ottengono 106,5 g di soluzione gialla.

Si porta a secco il filtrato e si ottengono circa 4 g di un olio ambrato che viene conservato in frigo per una notte. Aggiungendo circa 2 g di isopropil etere si nota la formazione di un precipitato che viene filtrato su Gooch e seccato in stufa a 31 gradi per 24 ore circa.

## GC-LA

Pralsetrolone mesilato 78 % p, 85,8 % a

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  5.44 (m, 1H), 3.02 (br s, 2H), 2.98 (s, 3H), 2.79 (dd,  $J = 18.7$ , 6.4 Hz, 1H), 2.46 (dd,  $J = 18.7$ , 1.9 Hz, 1H), 2.10 (s, 3H), 1.89 (t,  $J = 2.8$  Hz, 1H).

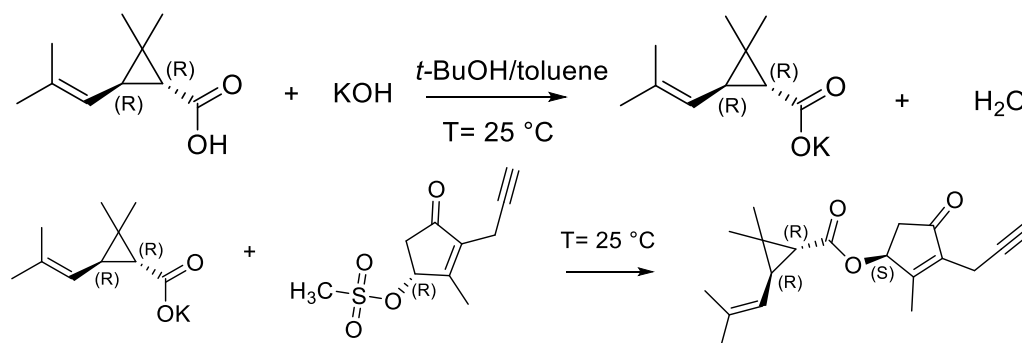
$^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  200.57, 164.35, 139.72, 78.75, 78.41, 69.46, 41.06, 38.48, 13.97, 12.53.

GC-MS  $m/z$  228,1 ( $\text{M}^+$ )

$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$  -16,9 (c 1,266;  $\text{CHCl}_3$ )



Sintesi di (S),(1R)-trans-pralletrina EN 3-51/211



In un pallone da 250 mL a 4 colli munito di agitazione meccanica, termometro e flusso di azoto inserisco:

Reagente	Titolo	PM (g/mol)	Moli	Eq	Massa (g)	Volume (mL)	Provenienza
<i>KOH</i>	85 %	56,11	0,050	1,34	3,33	-	LR
<i>t-BuOH</i>	> 99 %	-	-	-	-	12	LR
<i>Toluene</i>	> 99 %	-	-	-	-	9	LR

Dopo 5 minuti di agitazione si gocciola in circa 1 ora:

Reagente	Titolo	PM (g/mol)	Moli	Eq	Massa (g)	Provenienza
<i>d-trans-acido crisantemico</i>	97 %	168,24	0,055	1,45	9,46	EN 3-3/60

La soluzione così ottenuta è lasciata in agitazione e dopo 15 minuti vi si gocciola la soluzione proveniente dalla prova *EN 15-24/1* in circa 40 minuti. Si lascia in agitazione per 70 ore.

Si tratta la soluzione come segue:

- 25 mL di H<sub>2</sub>O demi
- 2 mL di NaOH 1M diluito in 7 mL di H<sub>2</sub>O demi
- 2 mL di NH<sub>3</sub> 28 %p diluito in 10 mL di H<sub>2</sub>O demi

Le fasi sono lasciate separare per 30 minuti. Dopo l'estrazione con NH<sub>3</sub> si filtra su celite per eliminare l'interfase e si esegue un'ultima estrazione con 25 ml di H<sub>2</sub>O demi. Si separano le fasi e si evapora il solvente della fase organica.

Si ottengono 7,53 g di prodotto come olio marrone ambrato.

### GC-LA

pralletrina 58,5 % p, 70,3 % a

toluene 8,6 % p

Resa calcolata sul pralletrolone = 39 %

### HPLC-LA

(*S*)-*d*-trans-pralletrina 89,0 % a

(*R*)-*d*-trans-pralletrina 11,0 % a

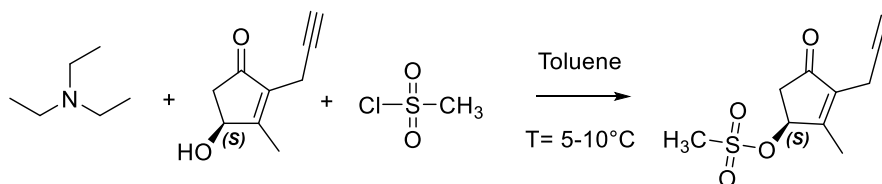
$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  5.63 (dm,  $J = 6.3$  Hz, 1H), 4.86 (dm,  $J = 7.6$  Hz, 1H), 3.10 (br s, 2H), 2.85 (dd,  $J = 18.7, 6.3$  Hz, 1H), 2.20 (dd,  $J = 18.7, 2.1$  Hz, 1H), 2.12 (s, 3H), 2.04 (dd,  $J = 7.6, 5.4$  Hz, 1H), 1.95 (t,  $J = 2.8$  Hz, 1H), 1.71 – 1.63 (m, 6H), 1.37 (d,  $J = 5.4$  Hz, 1H), 1.21 e 1.09 (2s, 2x3H).

$^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  202.41, 172.12, 166.98, 138.15, 135.85, 120.70, 79.33, 72.73, 69.00, 41.75, 34.41, 32.97, 29.11, 25.50, 22.03, 20.34, 18.45, 14.17, 12.39.

GC-MS  $m/z$  300 ( $\text{M}^+$ )

$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$  -41,88 (c 5,018; toluene)

*Sintesi di (S)-pralletrolone mesilato utilizzato come standard EN 15-25/1*



In un pallone a 4 colli da 100 mL con agitazione meccanica, termometro, imbuto gocciolatore e flusso di N<sub>2</sub> inserisco:

Reagente	Titolo	PM (g/mol)	Moli	Eq	Massa (g)	Volume (mL)	Provenienza
(S)-pralletrolone	92,8 %	150,19	0,0370	1	5,99	-	R 342/14
Toluene	>99 %	-	-	-	-	25	LR

Si porta la temperatura tramite bagno di ghiaccio a 5-10 °C e si aggiunge:

Reagente	Titolo	PM (g/mol)	Moli	Eq	Massa (g)	Provenienza
TEA	98 %	101,19	0,0489	1,3	5,50	LR

Dopo 10 minuti dall'aggiunta si fa gocciolare per circa 30 minuti mantenendo la temperatura tra 5-10 °C:

Reagente	Titolo	PM (g/mol)	Moli	Eq	Massa (g)	Provenienza
Mesil cloruro	98 %	114,54	0,0451	1,2	5,27	LR

Si lascia in esaurimento per 3,5 ore. Si lava la soluzione con 25 mL di H<sub>2</sub>O demi a 0 °C. Si effettuano rapidamente altri 3x12 mL lavaggi con H<sub>2</sub>O demi a 0 °C. Si anidrifca la fase organica con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Si filtra la fase organica anidrificata su cotone e si evapora il solvente.

Si ottengono 7,02 g di prodotto come solido giallo-arancione.

#### GC-LA

pralletrolone mesilato 88,1 % p, 84,3 % a

Resa = 73 %

Una aliquota di prodotto è purificata tramite cristallizzazione. *EN 15-25/2*

In un pallone a un collo da 50 mL munito di ancoretta magnetica e refrigerante a ricadere si pongono 4,96 g di pralletrolone mesilato dalla prova *EN 15-25/1* e circa 25 mL di una miscela 1:1 esano:etil acetato. Si scalda a 85 °C tramite bagno ad olio (T del bagno) con T pallone = 70 °C. Raggiunta questa temperatura tutto il grezzo risulta sciolto quindi si spegne il riscaldamento e si lascia che la miscela torni lentamente a T ambiente.

Dopo circa 2 ore si pone il pallone in bagno di ghiaccio per 2 ore circa. Si filtra su Gooch e si lava il solido con poco esano.

Da analisi GC-LR pralletrolone mesilato 98,7 % a

Si secca il solido in stufa per una notte a 30 °C e si ottengono 3,65 g di prodotto sotto forma di solido giallo.

Resa = 74 %

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 5.44 (m, 1H), 3.02 (br s, 2H), 2.98 (s, 3H), 2.79 (dd, *J* = 18.7, 6.4 Hz, 1H), 2.46 (dd, *J* = 18.7, 1.9 Hz, 1H), 2.10 (s, 3H), 1.89 (t, *J* = 2.8 Hz, 1H).

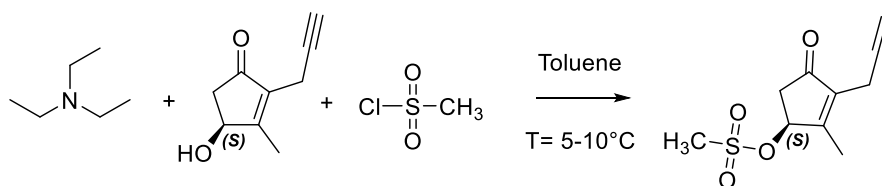
**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 200.57, 164.35, 139.72, 78.75, 78.41, 69.46, 41.06, 38.48, 13.97, 12.53.

**GC-MS** m/z 228,1 (M<sup>+</sup>)

**[α]<sub>D</sub><sup>20</sup>** +19,7 (c 1,25; CHCl<sub>3</sub>)

## Prove di sintesi su 6 g di (S)-pralletrolone

Sintesi di (S)-pralletrolone mesilato EN 15-25/3



In un pallone a 4 colli da 100 mL con agitazione meccanica, termometro, imbuto gocciolatore e flusso di N<sub>2</sub> inserisco:

Reagente	Titolo	PM (g/mol)	Moli	Eq	Massa (g)	Volume (mL)	Provenienza
(S)-pralletrolone	92,8 %	150,19	0,0370	1	5,99	-	R 342/14
Toluene	>99 %	-	-	-	-	25	LR

Si porta la temperatura tramite bagno di ghiaccio a 5-10 °C e si aggiunge:

Reagente	Titolo	PM (g/mol)	Moli	Eq	Massa (g)	Provenienza
TEA	98 %	101,19	0,0489	1,3	5,50	LR

Dopo 10 minuti dall'aggiunta si fa gocciolare per circa 30 minuti mantenendo la temperatura tra 5-10 °C:

Reagente	Titolo	PM (g/mol)	Moli	Eq	Massa (g)	Provenienza
Mesil cloruro	98 %	114,54	0,0451	1,2	5,27	LR

Si lascia in esaurimento per 3,5 ore. Si lava la soluzione con 25 mL di H<sub>2</sub>O demi a 0 °C. Si scalda per eliminare l'emulsione. Si effettuano rapidamente altri 3x15 mL lavaggi con H<sub>2</sub>O demi a 0 °C. Si anidrifca la fase organica con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

Da analisi GC-LR pralletrolone mesilato 95 % a, dopo due giorni in frigo il titolo è sceso al 90 % a.

Si filtra la fase organica anidrificata su cotone, si lava il Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> con 3 x 20 mL di toluene e si usa la soluzione tal quale per la prova successiva.

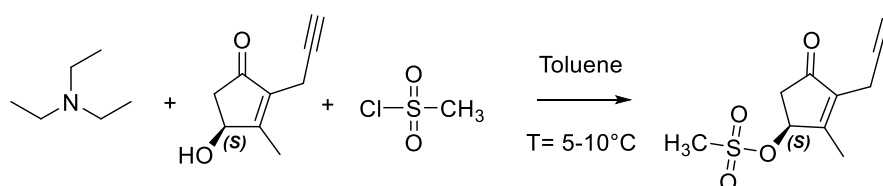
Si ottengono 99,2 g di soluzione di colore giallo.

### GC-LA

pralletrolone mesilato 5,0 % p, 2,1 % a

Resa = 59 % (calcolata dopo due giorni in frigo)

#### Sintesi di (S)-pralletrolone mesilato EN 15-25/4



In un pallone a 4 colli da 100 mL con agitazione meccanica, termometro, imbuto gocciolatore e flusso di N<sub>2</sub> inserisco:

Reagente	Titolo	PM (g/mol)	Moli	Eq	Massa (g)	Volume (mL)	Provenienza
(S)-pralletrolone	92,8 %	150,19	0,0370	1	5,99	-	R 342/14
Toluene	>99 %	-	-	-	-	25	LR

Si porta la temperatura tramite bagno di ghiaccio a 5-10 °C e si gocciolano in circa 20 minuti mantenendo la temperatura tra 5-10 °C:

Reagente	Titolo	PM (g/mol)	Moli	Eq	Massa (g)	Provenienza
TEA	98 %	101,19	0,0489	1,5	6,18	LR
Mesil cloruro	98 %	114,54	0,0479	1,2	5,60	LR

Si lascia in esaurimento per 2,5 ore. Si nota la massiccia formazione di peci. Si lava la soluzione con 25 mL di H<sub>2</sub>O demi a 0 °C. Si scalda e si filtra su celite per eliminare l'emulsione. Si effettuano rapidamente altri 3x15 mL lavaggi con H<sub>2</sub>O demi a 0°C. Si anidrifca la fase organica con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

Si filtra la fase organica anidrificata su Gooch, si lava il Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> con 2 x 10 mL di toluene e si usa la soluzione tal quale per la prova successiva.

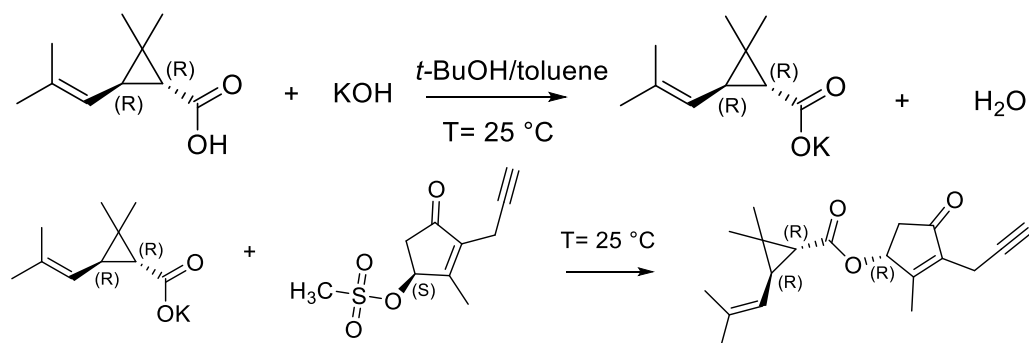
Si ottengono 111,50 g di soluzione di colore giallo.

**GC-LA**

pralsetrolone mesilato 1,3 % p, 0,6 % a

Resa = 17 %

Sintesi (R),(1R)-trans-pralletrina EN 3-173/3 e 4



In un pallone da 250 mL a 4 colli munito di agitazione meccanica, termometro e flusso di azoto inserisco:

Reagente	Titolo	PM (g/mol)	Moli	Eq	Massa (g)	Volume (mL)	Provenienza
<i>KOH</i>	85 %	56,11	0,050	1,34	3,33	-	LR
<i>t-BuOH</i>	> 99 %	-	-	-	-	12	LR
<i>Toluene</i>	> 99 %	-	-	-	-	9	LR

Dopo 5 minuti di agitazione si gocciola in circa 35 minuti:

Reagente	Titolo	PM (g/mol)	Moli	Eq	Massa (g)	Provenienza
<i>d-trans-acido crisantemico</i>	97 %	168,24	0,055	1,45	9,46	EN 3-3/60

La temperatura tende a salire leggermente durante la reazione nella EN 3-173/3. La soluzione così ottenuta è lasciata in agitazione e dopo 15 minuti vi si gocciola la soluzione proveniente dalla prova EN 15-25/3 (o 4) in circa 1 ora.

Si lascia in agitazione per 22 ore.

Si tratta la soluzione come segue:

- 30 mL di H<sub>2</sub>O demi
- 2 mL di NaOH 1 M diluito in 10 mL di H<sub>2</sub>O demi
- 2 mL di NH<sub>3</sub> 28 % p diluito in 15 mL di H<sub>2</sub>O demi
- 25 mL di H<sub>2</sub>O demi



Le fasi sono lasciate separare per 30 minuti. Nelle estrazioni basiche è stato necessario scaldare per eliminare l'emulsione. Si separano le fasi e si evapora il solvente della fase organica.

Si ottengono 6,09 (2,22) g di prodotto come olio marrone ambrato.

#### **GC-LA EN 3-173/3**

pralletrina 61,2 % p, 73,3 % a

toulene 4,1 % p

Resa calcolata sul pralletrolone = 33 %

Resa calcolata sul pralletrolone mesilato= 57 %

#### **HPLC LA EN 3-173/3**

(*R*)-*d-trans*-pralletrina 96,7 % a

(*S*)-*d-trans*-pralletrina 0,9 % a

(*R*)-*d-cis*-pralletrina 0,8 % a

(*R*)-*l-trans*-pralletrina + (*R*)-*l-cis*-pralletrina 1,6 % a

#### **GC-LA EN 3-173/4**

Pralletrina 40,4 % p, 60,4 % a

Resa calcolata sul pralletrolone = 8 %

Resa calcolata sul pralletrolone mesilato= 47 %

#### **HPLC LA EN 3-173/4**

(*R*)-*d-trans*-pralletrina 95,5 % a

(*S*)-*d-trans*-pralletrina 0,0 % a

(*R*)-*d-cis*-pralletrina 1,7 % a

(*R*)-*l-trans*-pralletrina + (*R*)-*l-cis*-pralletrina 2,8 % a

## **Prove effettuate in ambiente e con reagenti anidri**

### *Distillazione tert-Butanolo EN 54-5/1*

Si distilla con colonna di Vigreux, testa di colonna con dito freddo e bagno ad olio.

T caldaia = 55 °C

T testa = 39 °C

Pressione = 95-100 mmHg

### *Distillazione mesil cloruro EN 48-5/2*

Si distilla con colonna di Vigreux, testa di colonna con dito freddo e bagno ad olio.

T caldaia = 110-115 °C

T testa = 85-95 °C

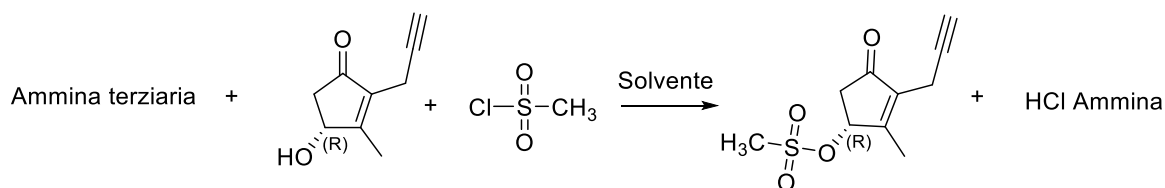
Pressione = 95 mmHg

Si scarta la prima frazione (10,38 g) e si raccoglie il successivo distillato (496,82 g).

Per le prove successive di sintesi della pralletrina sono stati utilizzati i sopra citati reagenti distillati. La trietilammina, la triottilammina e la piridina sono state anidificate tramite setacci molecolari (attivati in muffola a T = 280 °C) che assorbono il 20 % del loro peso di acqua.

Da analisi Karl-Fischer la tiretilammina non anidrificata contiene lo 0,10 % p di acqua.

Sintesi di (S)-pralletrolone mesilato EN 15-25/5-18



In un pallone a 4 colli da 250 mL con agitazione meccanica, termometro, imbuto gocciolatore o pompa a pistone, pompa da vuoto e flusso di N<sub>2</sub> inserisco:

Reagente	Titolo	PM (g/mol)	Moli	Eq	Massa (g)	Volume (mL)	Provenienza
(S)-pralletrolone	92,8 %	150,19	0,133	1	21,5	-	R 342/14
Solvente	>99 %	-	-	-	-	85-100	LR

Si porta il pallone sottovuoto a circa 100 mmHg e tramite bagno ad olio (T bagno = 55-60 °C) la temperatura interna al reattore è portata a circa 40-45 °C, si azeotropa per circa 40 minuti (10-12 mL di toluene) e successivamente si ripristina la pressione atmosferica con azoto. Questo passaggio è effettuato soltanto quando si utilizza come solvente toluene.

Si porta la temperatura tramite bagno di ghiaccio a 5-10 °C o tramite bagno di ghiaccio e sale a -15/-5 °C. Si aggiunge:

Reagente	Moli	Eq
Ammina terziaria*	0,173	1,3

\*Le ammine utilizzate nelle singole prove sono riportate in Tabella 9

Dopo 10 minuti dall'aggiunta si fa gocciolare (nei tempi indicati in Tabella 9) mantenendo la temperatura tra 5-10 °C o tra -15/-5 °C:

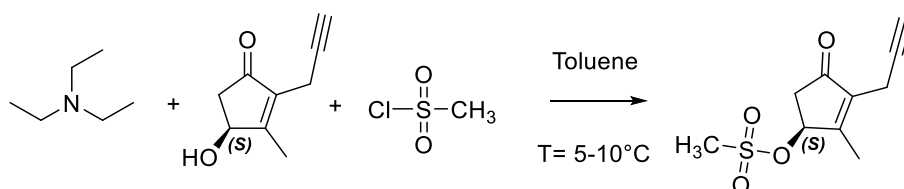
Reagente	Titolo	PM (g/mol)	Moli	Eq	Massa (g)	Provenienza
Mesil cloruro	98 %	114,54	0,160	1,2	18,65	EN 48-5/2

Nel caso di pompa a pistone si utilizza una siringa da 50 mL, factor=1 e flusso = 0,15-0,16 mm/min.

Si lascia in esaurimento (per il tempo indicato in Tabella 9). Si lava la soluzione con 80 mL di H<sub>2</sub>O demi a 0 °C. Si filtra su celite per eliminare l'emulsione e/o le peci. Si effettuano rapidamente altri 3x40 mL lavaggi con H<sub>2</sub>O demi a 0 °C. Si anidrifica la fase organica con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

Si filtra la fase organica anidrificata su Gooch, si lava il Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> on 2 x 20 mL di toluene e si usa la soluzione tal quale per la prova successiva. La soluzione ottenuta ha un colore che varia dal giallo, all'arancione al rosso fino ad arrivare al marrone nel caso di utilizzo di CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> come solvente.

*Sintesi di (S)-pralletrolone mesilato con gocciolamento TEA EN 15-25/7*



In un pallone a 4 colli da 250 mL con agitazione meccanica, termometro, imbuto gocciolatore, pompa da vuoto e flusso di N<sub>2</sub> inserisco:

Reagente	Titolo	PM (g/mol)	Moli	Eq	Massa (g)	Volume (mL)	Provenienza
(S)-pralletrolone	92,8 %	150,19	0,124	1	20,0	-	R 342/14
Toluene	>99 %	-	-	-	-	100	LR

Si porta il pallone sottovuoto a circa 100 mmHg e tramite bagno ad olio (T bagno = 55 °C) la temperatura interna al reattore è portata a circa 45-46 °C; si azeotropano circa 10 mL di toluene e successivamente si ripristina la pressione atmosferica con azoto e si porta la temperatura tramite bagno di ghiaccio a 5-10 °C. Si aggiunge sottovuoto in circa 5 minuti:

Reagente	Titolo	PM (g/mol)	Moli	Eq	Massa (g)	Provenienza
Mesil cloruro	98 %	114,54	0,160	1,2	18,65	EN 48-5/2

Terminata l'aggiunta si ripristina l'atmosfera con azoto e si fa gocciolare per circa 1 ora e 45 minuti mantenendo la temperatura tra 5-10 °C:

<b>Reagente</b>	<b>Titolo</b>	<b>PM (g/mol)</b>	<b>Moli</b>	<b>Eq</b>	<b>Massa (g)</b>	<b>Provenienza</b>
<i>TEA</i>	98 %	101,19	0,173	1,3	17,86	LR

Si lascia in esaurimento per 1,5 ore. Si nota la massiccia formazione di peci.

Si lava la soluzione con 80 mL di H<sub>2</sub>O demi a 0 °C. Si filtra su celite per eliminare le peci. Si effettuano rapidamente altri 3x40 mL lavaggi con H<sub>2</sub>O demi a 0 °C. Si anidrifca la fase organica con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

Si filtra la fase organica anidrificata su Gooch, si lava il Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> on 2 x 20 mL di toluene e si usa la soluzione tal quale per la prova successiva.

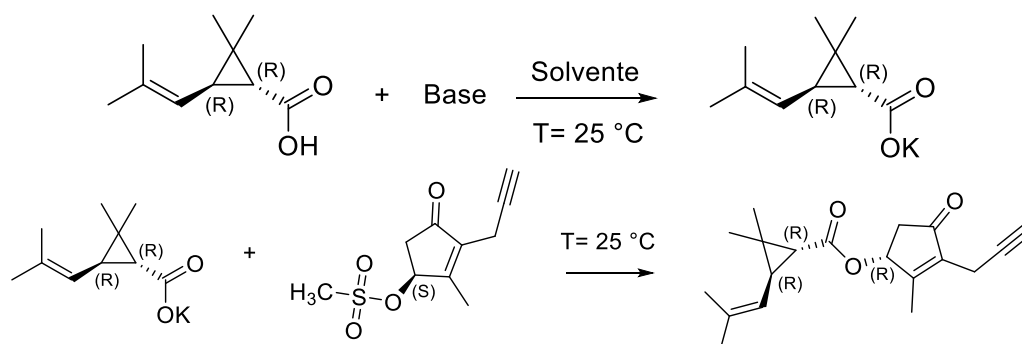
Si ottengono 139,12 g di soluzione organica di colore giallo.

#### **GC-LA**

pralletrolone mesilato 3,3 % p, 1,5 % a

Resa = 16 %

Sintesi (R),(1R)-trans-pralletrina EN 3-173/5-15



In un pallone da 500 mL a 4 colli munito di agitazione meccanica, termometro e flusso di azoto inserisco:

Reagente	Titolo	PM (g/mol)	Eq	Volume (mL)	Provenienza
Base*			1,34	-	LR
<i>t</i> -BuOH	> 99 %	74,12	-	40	EN 54-5/1

Applico un vuoto leggero tramite pompa a membrana per circa 10 minuti e successivamente inserisco:

Reagente	Titolo	Volume (mL)	Provenienza
Solvente*	> 99 %	30	LR

\*La base e il solvente utilizzato nelle singole prove sono riportati in Tabella 9

Dopo 5 minuti di agitazione si gocciola in circa 1 ora:

Reagente	PM (g/mol)	Moli	Eq	Massa (g)	Provenienza
<i>d</i> -trans-acido crisantemico	168,24	0,193	1,45	32,45-34,10	(**)

(\*\*) Per le prove EN 3-173/5-7 l'acido ha provenienza EN 3-3/60.

Per le prove EN 3-173/8,10,11 l'acido ha provenienza EN 3-3/60 + EN 3-3/64

Per le prove EN 3-173/12-15 l'acido ha provenienza R 164 14

La temperatura sale fino a 30-40 °C durante l'aggiunta. La soluzione così ottenuta è lasciata in agitazione e dopo circa 45 minuti vi si gocciola la soluzione proveniente dalla prova EN 15-25/5-18 in circa 10-15 minuti.

Si lascia in agitazione per il tempo indicato in Tabella 9.

Si tratta la soluzione come segue:

- 80 mL di H<sub>2</sub>O demi
- 10 mL di NaOH 1 M diluito in 30 mL di H<sub>2</sub>O demi
- 8 mL di NH<sub>3</sub> 28% p diluiti in 35 mL di H<sub>2</sub>O demi
- 40 mL di H<sub>2</sub>O demi

Le fasi sono lasciate separare per 30 minuti. Se necessario si filtra su celite per eliminare l'emulsione. Si porta a secco la soluzione organica al rotavapor. Il prodotto è un olio arancione ambrato per le prove *EN 3-173/5-13* e un olio marrone per le prove *EN 3-173/14 e 15*.

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 5.77 (dm, *J* = 6.3 Hz, 1H), 4.89 (dm, *J* = 7.6 Hz, 1H), 3.16 (br s, 2H), 2.87 (dd, *J* = 18.7, 6.3 Hz, 1H), 2.32 (dd, *J* = 18.7, 2.1 Hz, 1H), 2.15 (s, 3H), 2.10 (dd, *J* = 7.6, 5.4 Hz, 1H), 2.00 (t, *J* = 2.8 Hz, 1H), 1.72 e 1.70 (s, 3H, e d, *J* < 2 Hz, 3H), 1.41 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 1.29 e 1.16 (2s, 2x3H).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 202.45, 172.16, 167.14, 138.11, 135.93, 120.62, 79.35, 72.42, 68.98, 41.35, 34.50, 33.22, 29.19, 25.52, 22.10, 20.49, 18.46, 14.09, 12.43.

**GC-MS** m/z 300 (M<sup>+</sup>)

**[α]<sub>D</sub><sup>20</sup>** +4,69 (c 4,998; toluene)

*Tabelle per dettagli delle singole prove*

<b>Prova</b>	<b>Solvente EN 15- 25</b>	<b>Base EN 15-25</b>	<b>T (°C)</b>	<b>Tempo di ag- giunta MsCl</b>	<b>Tempo di esau- rimento EN 15- 25</b>	<b>Base EN 3-173</b>	<b>Solvente EN 3- 173</b>	<b>Tempo di esau- rimento EN 3- 173</b>
EN 15- 25/5 EN 3- 173/5	Toluene	TEA	5-10	1 h	1 h	KOH	toluene	20 h
EN 15- 25/6 EN 3- 173/6	Toluene	TEA	5-10	3 h	30 min	KOH	toluene	70 h
EN 15- 25/7 EN 3- 173/7	Toluene	TEA	5-10	1 h e 45 min	1,5 h	KOH	toluene	22 h
EN 15- 25/8 EN 3- 173/8	Toluene	TEA	5-10	1h	1,5 h	KOH	toluene	46 h
EN 15- 25/10 EN 3- 173/10	Toluene	TEA	-15/-5	3 h	30 min	KOH	toluene	20 h
EN 15- 25/11 EN 3- 173/11	Toluene	TEA	-15/-5	4,5 h	30 min	KOH	toluene	46 h
EN 15- 25/12 EN 3- 173/12	Toluene	Piridina	5-10	2 h	30 min	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	toluene	72 h
EN 15- 25/13 EN 3- 173/13	Metilcicl oesano	TEA	5-10	2 h	3 h	KOH	toluene	72 h
EN 15- 25/14 EN 3- 173/14	Dicloro metano	TEA	5-10	2 h	2 h	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	toluene	72 h
EN 15- 25/15	Toluene	Piridina	5-10	2 h	45 min	-	-	-
EN 15- 25/16	Toluene	Piridina	-15/-5	2 h	45 min	-	-	-
EN 15- 25/17	Toluene	TOA	5-10	2 h	45 min	-	-	-
EN 15- 25/18 EN 3- 173/15	Dicloro metano	Piridina	5-10	2 h	45 min	KOH	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	10 giorni

**Tabella 9:** Modalità di conduzione delle prove



Nota: per il gocciolamento del mesil cloruro/TEA si è utilizzato un imbuto gocciolatore fino alla prova EN 15-25/11 compresa e una pompa a pistone dalla prova EN 15-25/12 compresa in poi.

Reagente	Purezza	PM (g/mol)	Moli	Massa	Provenienza
TEA	98 %	101,19	0,173	17,86	LR
Piridina		79,1	0,173	13,68	R 83/15
TOA	98 %	353,78	0,173	21,00	LR
KOH	85 %	56,11	0,178	11,75	LR
K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	> 99 %	138,21	0,089	12,33	LR

**Tabella 10:** Quantità di reagenti utilizzate.

Prova	%p	%a	Massa prodotto (g)	Stereoisomeri pralletrina				Resa (*)	Resa totale
				(R)-d-trans	(R)-d-cis	(R)-l-trans + (R)-l-cis	(S)-d-trans		
EN 15-25/5	6,3	2,9	161,12			-		33 %	18%
EN 3-173/5	34,5	46,1	21,31	97,1	-	2,9	-	54 %	
EN 15-25/6	10,4	5,0	166,92			-		61 %	45 %
EN 3-173/6	58,5	68,0	28,70	97,4	1,2	1,4	-	74 %	
EN 15-25/7	3,3	1,5	139,12			-		16 %	11 %
EN 3-173/7	65,2	76,6	6,59	96,8	1,0	1,7	0,5	71 %	

<i>EN 15-25/8</i>	3,1	1,4	139,44						15 %	8 %
<i>EN 3-173/8</i>	42,7	60,8	7,40	96,7	0,6	1,2	1,5		55 %	
<i>EN 15-25/10</i>	9,2	4,3	187,47						58 %	37%
<i>EN 3-173/10</i>	49,0	57,3	29,33	98,4	0,3	1,0	0,3		63%	
<i>EN 15-25/11</i>	4,1	2,0	181,38						25 %	19 %
<i>EN 3-173/11</i>	44,9	54,5	16,53	97,7	0,4	1,2	0,7		76 %	
<i>EN 15-25/12</i>	4,4 + 93,9	2,1 + 97,8	171,54 + 7,35						51 %	
<i>EN 3-173/12</i>	34,6	42,2	16,18	97,2	0,3	1,3	1,2		71 %	
<i>EN 15-25/13</i>	0,17 + 54,4	0,18+ 62,0	204,35 + 14,9						24 %	
<i>EN 3-173/13</i>	11,6	23,3	4,02	-	-	-	-		quantitativa	
<i>EN 15-25/14</i>	6,0	59,0	277,61						54 %	15 %
<i>EN 3-173/14</i>	20,9	34,1	29,66	-	-	-	-		28 %	

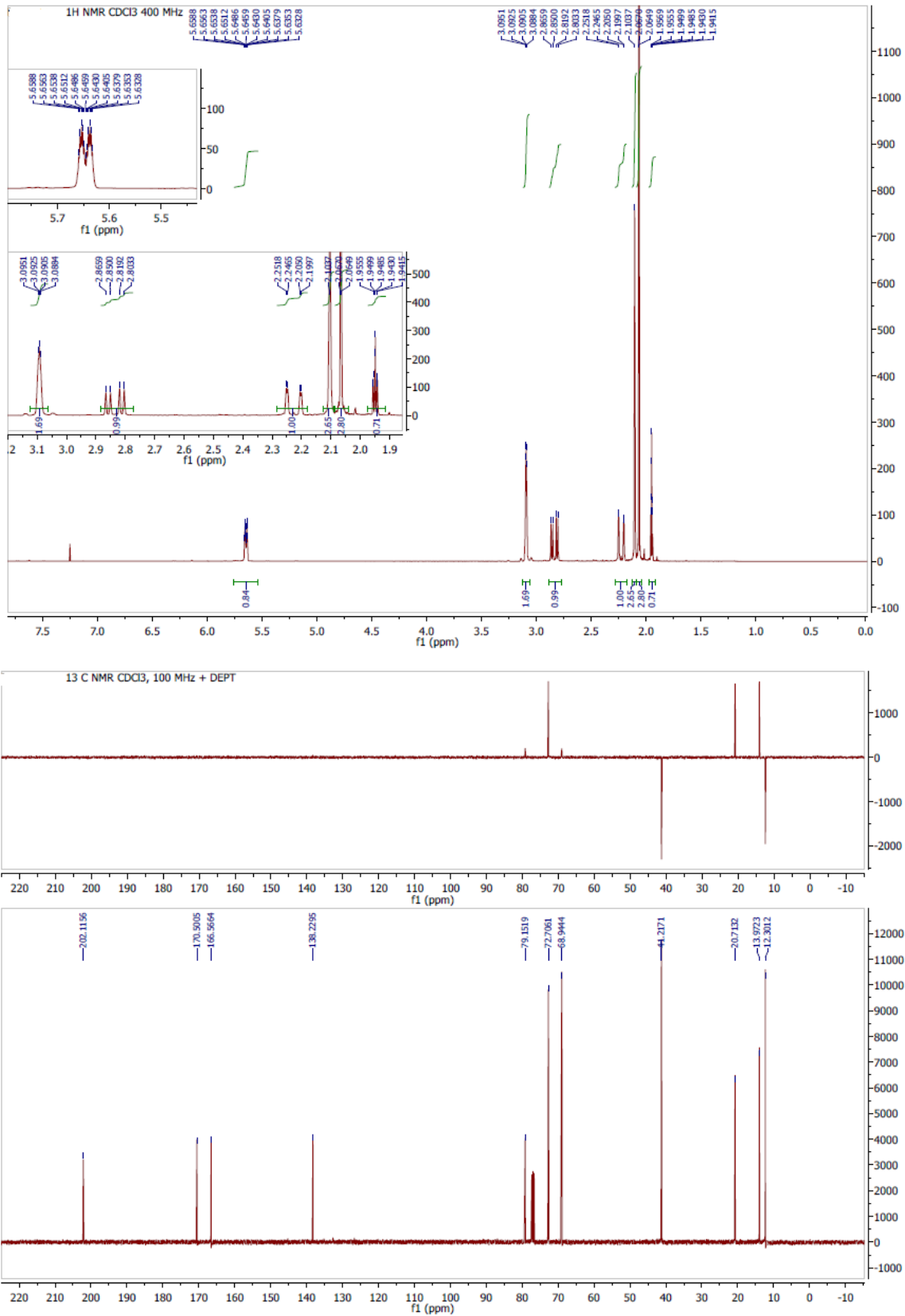
<i>EN 15-25/15</i>	18,4	71,3	77,88					46 %	
<i>EN 15-25/16</i>	7,8	3,6	179,26	-				44 %	
<i>EN 15-25/17</i>	64,7	88,1	6,44	-				14 %	
<i>EN 15-25/18</i>	7,6	59,9	236,16	-				60 %	37 %
<i>EN 3-173/15</i>	56,2	71,7	26,1	94,8	0,3	1,2	3,7	62 %	

**Tabella 11:** Profili GC e HPLC dei prodotti di reazione.

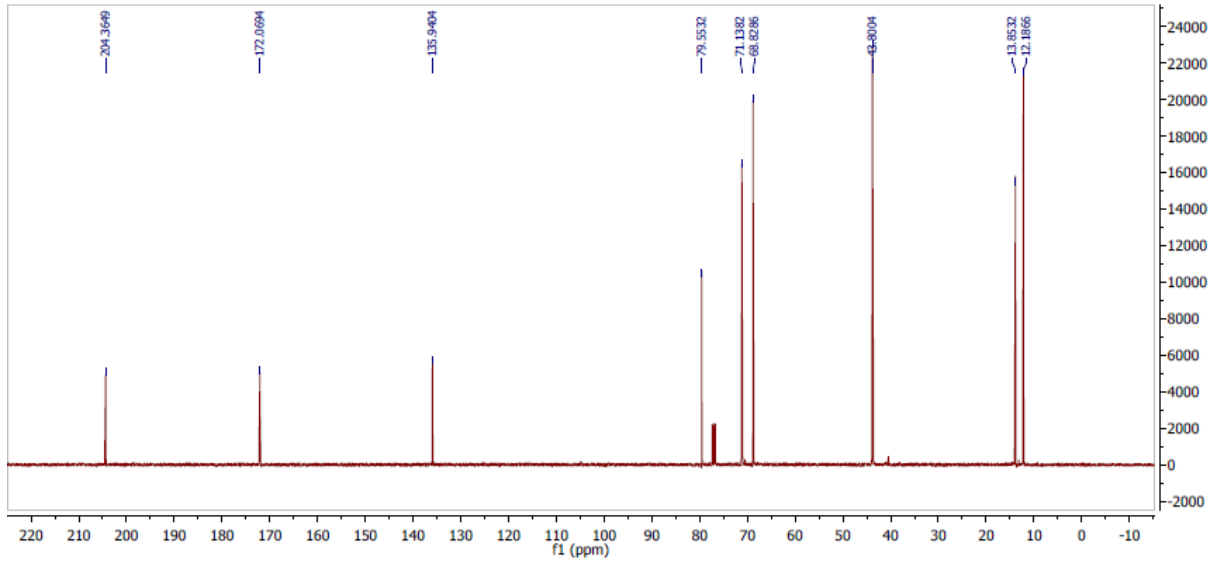
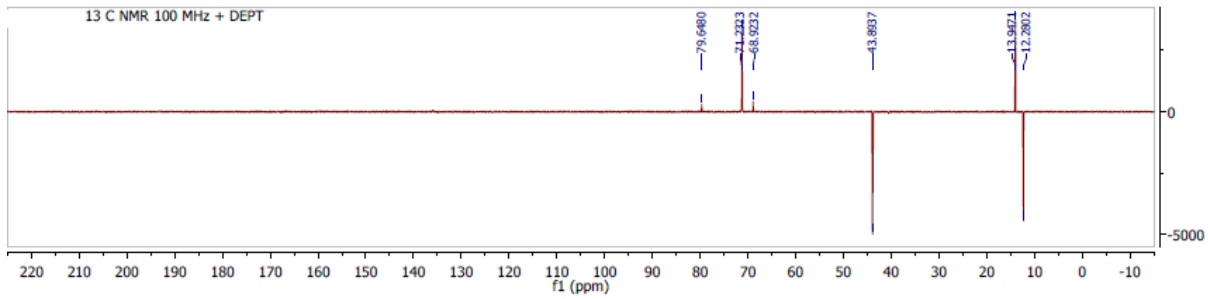
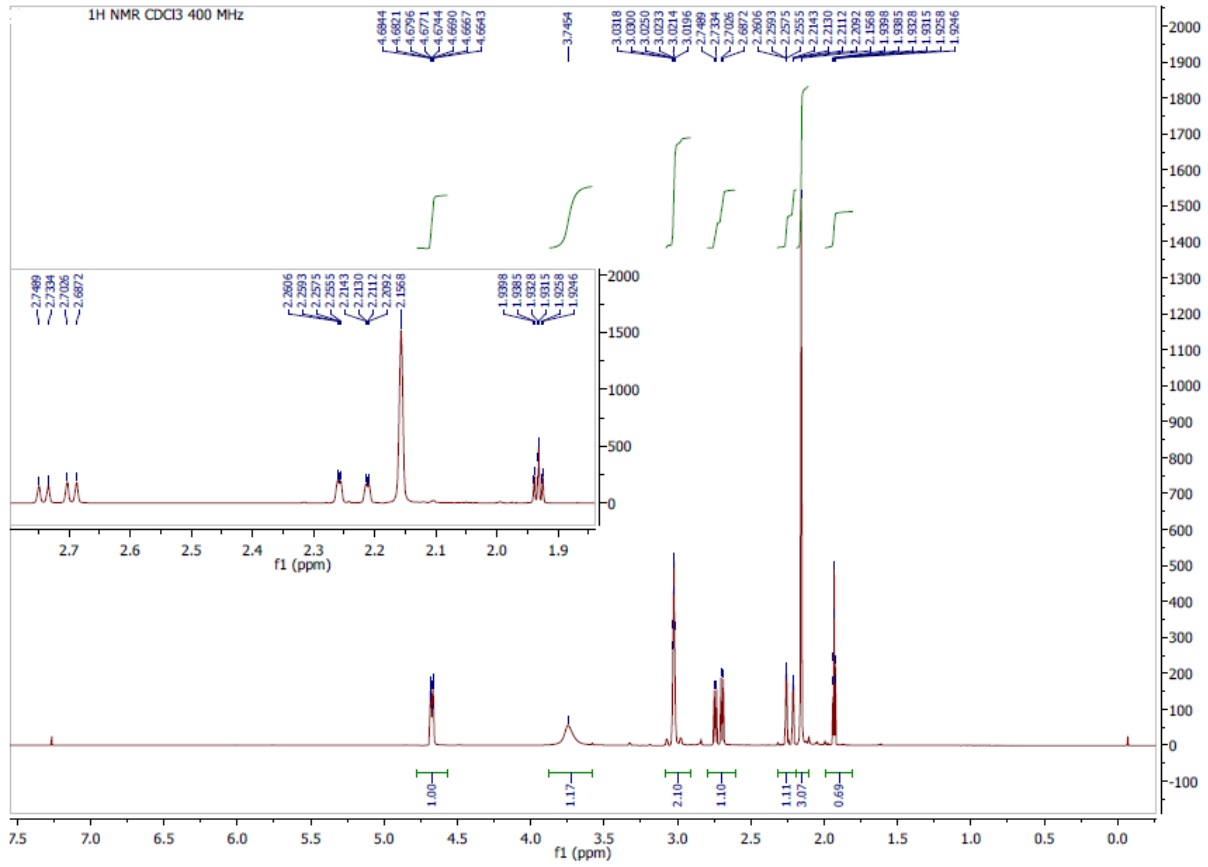
Nota: (\*) per le prove *EN 15-25* si tratta di rese in pralietrolone mesilato calcolate sul pralietrolone; per le prove *EN 3-173* si tratta di rese in pralietrina calcolata sul pralietrolone mesilato. La resa totale è la resa in pralietrina calcolata sul pralietrolone considerando i due step.

# Spettri $^1\text{H-NMR}$ e $^{13}\text{C-NMR}$ dei prodotti finali sintetizzati

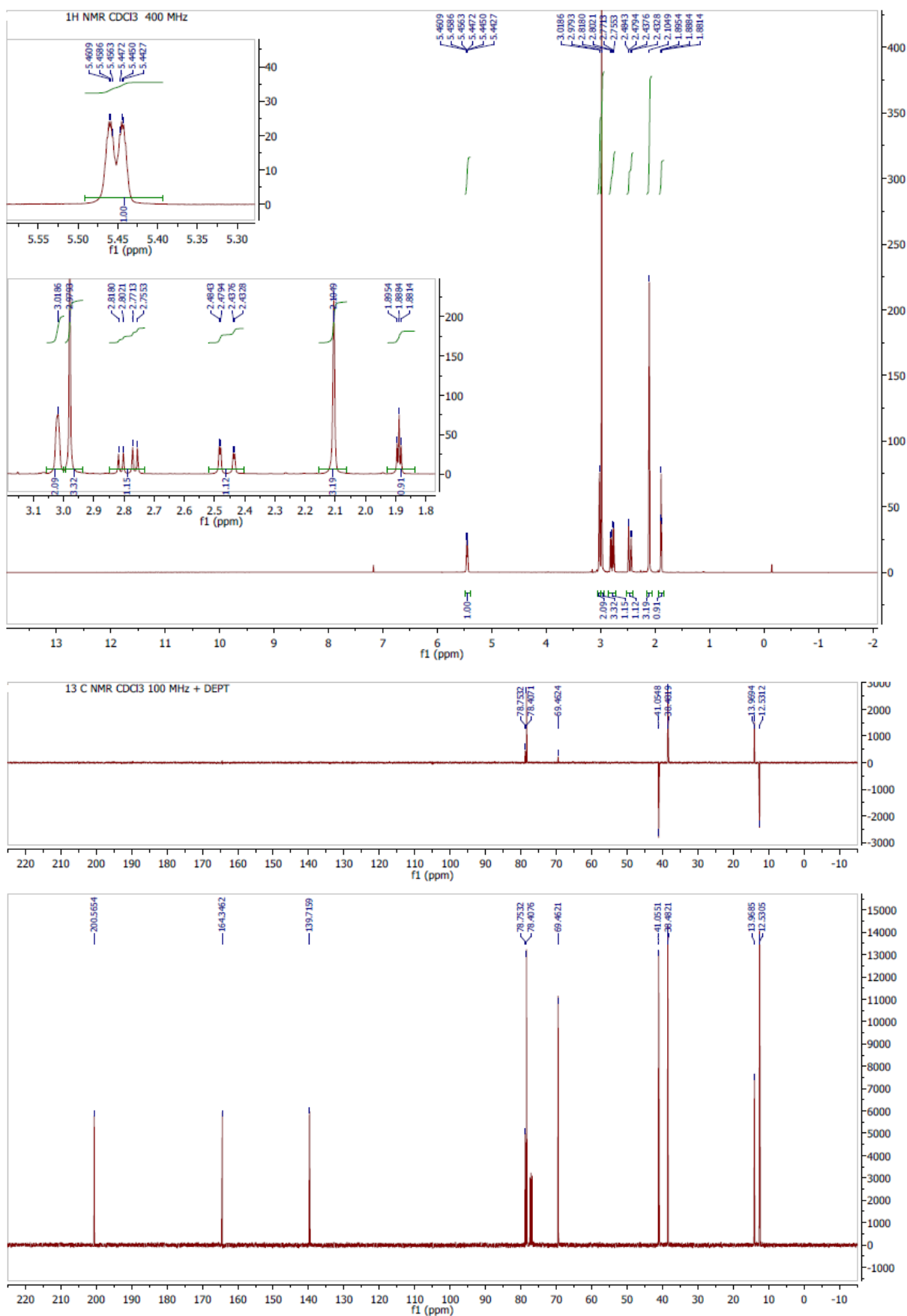
## EN 15-20



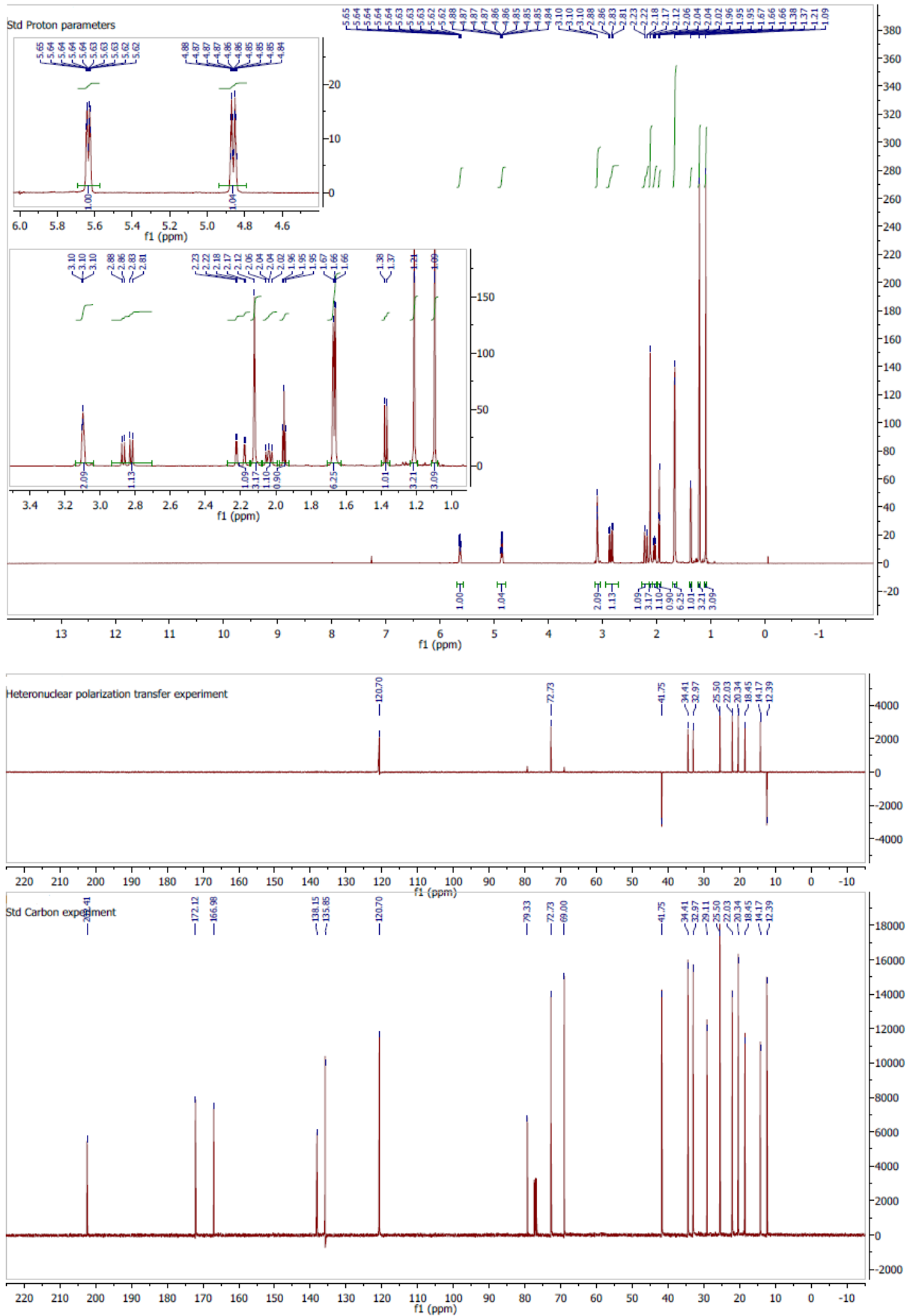
# EN 15-21



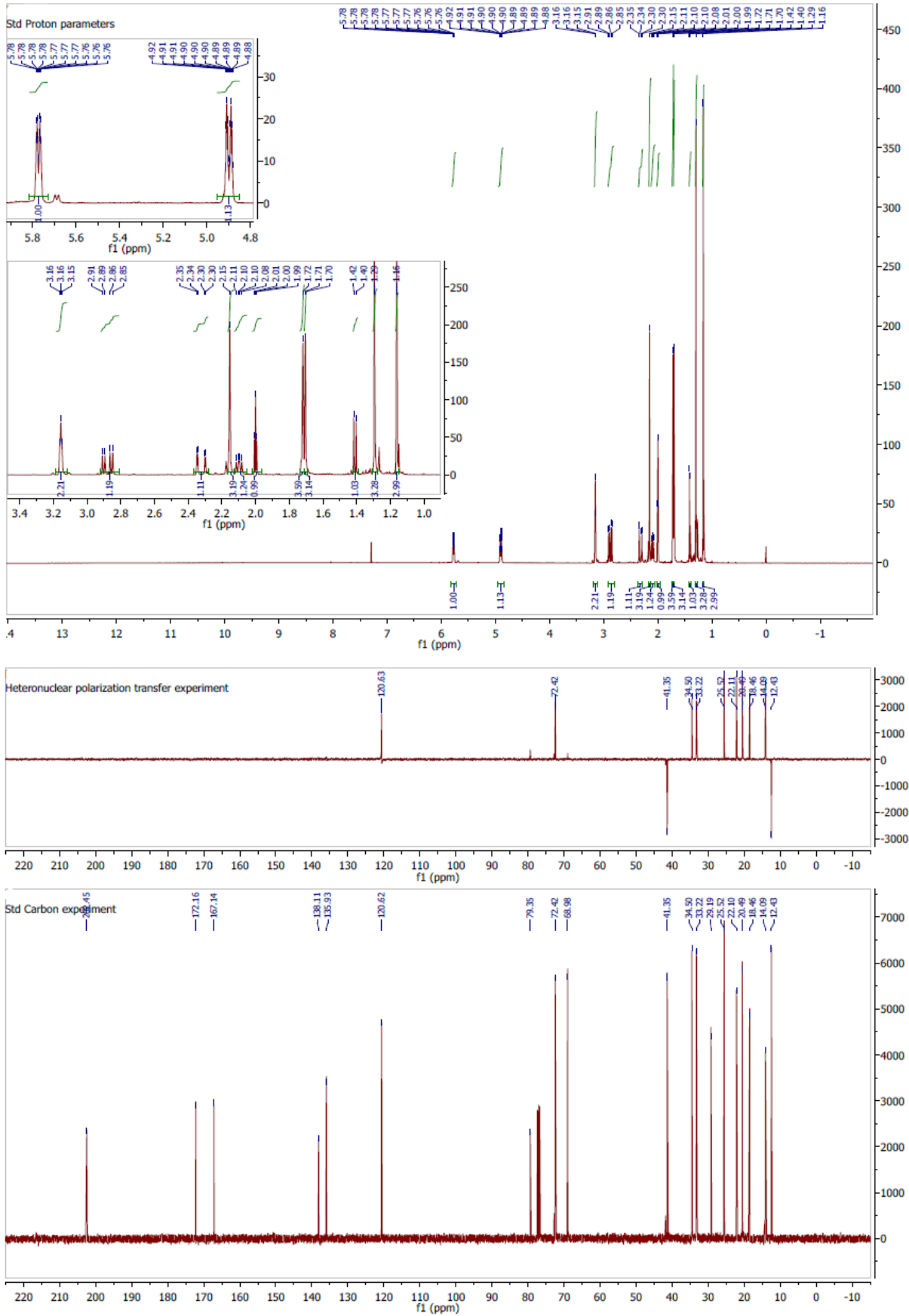
# EN 15-24 e EN 15-25



# EN 3-51



# EN 3-173





## 7. Bibliografia

- <sup>1</sup> N. Matsuo, T. Mori, "Pyrethroids: From Chrysanthemum to Modern Industrial Insecticide", vol. 314, **2012**.
- <sup>2</sup> N. Matsuo, J. Miyamoto "Development of Synthetic Pyrethroids with Emphasis on Stereochemical Aspects" Phytochemicals for Pest Control, ACS Symposium Series, American Chemical Society, Washington, DC, **1997**, 14, 183-194.
- <sup>3</sup> Y. Katsuda, "Progress and future of pyrethroids", in: Pyrethroids: From Chrysanthemum to Modern Industrial Insecticide, Top Curr Chem, **2012**, 314, 1-30
- <sup>4</sup> J. Fujitani, "Chemistry and pharmacology of insect powder", Arch Exp Path Pharmacol, **1909**, 61, 47-75
- <sup>5</sup> a) R. Yamamoto, "The insecticidal principle in Chrysanthemum cinerariaefolium. Parts I and II. On the constitution of Pyrethronic acid." J. Chem. Soc. Jpn, **1923**, 44, 311-330 b) R. Yamamoto, "On the insecticidal principle of insect powder.", Inst Phys Chem Res Tokyo, **1925**, 3, 193
- <sup>6</sup> H. Staudinger, L. Ruzicka, "Insektentotende stoffe I-IV e VIII-X.", Helv Chim Acta, **1924**, 7, 177-458
- <sup>7</sup> a) F.B. LaForge, W.F. Barthel, "Constituents of pyrethrum flowers XVIII. The structure and isomerism of pyrethrolone and cinerolone" J. Org. Chem., **1945**, 10, 114-120 b) F. B. LaForge, S. B. Soloway, J. Am. Chem. Soc., **1947**, 69, 186
- <sup>8</sup> P.J. Gordin, R. L. Sleeman, M. Snarey, E. M. Thain, "The jasmolins, new insecticidally active constituents of Chrysanthemum cinerariaefolium Vis." J. Chem. Soc., **1966**, C, 332-334.
- <sup>9</sup> L. Crombie, S. H. Harper, "The chrysanthemum carboxylic acids. VI. The configurations of the chrysanthemic acids.", **1954**, J. Chem. Soc., 470
- <sup>10</sup> Y. Inouye, Y. Takeshita, M. Ohno, "Studies on synthetic pyrethroids V. Synthesis of geometrical isomers of chrysanthemum dicarboxylic acid." Bull. Agric. Chem. Soc. Jpn., **1955**, 19, 193-199
- <sup>11</sup> Y. Katsuda, T. Chikamoto, Y. Inouye, "The absolute configuration of naturally derived pyrethrolone and cinerolone", Bull. Agric. Chem. Soc. Jpn., **1958**, 22, 427-428
- <sup>12</sup> K. Ujihara, T. Mori, N. Matsuo "Recent Advances of Pyrethroids for Household Use", in: Pyrethroids: From Chrysanthemum to Modern Industrial Insecticide, Top Curr Chem, **2012**, 314, 31-48
- <sup>13</sup> H. Staudinger, L. Ruzicka, Helv Chim Acta, **1924**, 7, 448.
- <sup>14</sup> M.S. Schechter, N. Green, F. B. LaForge, "Constituents of pyrethrum flowers XXIII. Cinerolone and the synthesis of related cyclopentenolones", J. Amer. Chem. Soc., **1949**, 71, 1717 e 3165-3173.
- <sup>15</sup> a) N. Matsuo, J. Miyamoto, ACS Symposium Series 658, *Phytochemicals for Pest Control*, **1995**, 183-194 b) T. Matsuo, T. Nishioka, M. Hirano, Y. Suzuki, K. Tsushima, N. Itaya, H. Yoshioka, "Recent topics in the chemistry of synthetic pyrethroids containing certain secondary alcohol moieties", Pestic Sci, **1980**, 11, 202-218 c) S. Mitsuda, T. Umemura, H. Hirohara "Preparation of an optically pure secondary alcohol of synthetic pyrethroids using microbial lipases" Appl. Microbiol. Biotechnol., **1988**, 29, 310-315
- <sup>16</sup> W. A. Gersdorff, P. G. Piquett, "The relative effectiveness of two synthetic pyrethroids more toxic to houseflies than pyrethrins in kerosene sprays." J. Econ. Entomol., **1961**, 54, 1250-1252
- <sup>17</sup> T. Matsuo, T. Nishioka, M. Hirano, Y. Suzuki, K. Tsushima, N. Itaya, H. Yoshioka, *Pestic. Sci.* **1980**, 11, 202.

- 
- <sup>18</sup> N. Matsuo, F. Fujita, O. Magara, H. Yamazaki, K. Aketa, T. Nishioka, N. Itaya *Agr. Biol. Chem.* **1982**, *46*, 1911.
- <sup>19</sup> N. Matsuo, “*Structure of pyrethroids and their development*” Hirokawa Publishing Co, Tokyo, **1993**, vol 18, The 2nd series of Pharmaceutical Research and Development, pp 494-515.
- <sup>20</sup> M. Matsui, F. B. LaForge., N. Green, M.S. Schechter, *J. Am. Chem. Soc.*, **1952**, *74*, 2181.
- <sup>21</sup> M. Elliott, A. W. Farnham, N. F. Janes, P. H. Needham, B. C. Pearson *Nature*, **1967**, *213*, 493.
- <sup>22</sup> K. Fujimoto, N. Itaya, Y. Okuno, T. Kadota, T. Yamaguchi *Agr. Biol. Chem.* **1973**, *37*, 2681.
- <sup>23</sup> T. Matsuo, N. Itaya, T. Mizutani, N. Ohno, K. Fujimoto, Y. Okuno, H. Yoshioka *Agr. Biol. Chem.* **1976**, *40*, 247.
- <sup>24</sup> T. Kato, K. Ueda, K. Fujimoto *Agr. Biol. Chem.* **1964**, *28*, 914.
- <sup>25</sup> Japanese Patent Kokai 54-9269, **1979**, (Sumitomo Chemical ).
- <sup>26</sup> T. Mori Sumitomo Chemical Co. Ltd., Japan (**2000**) EP1004569 A1
- <sup>27</sup> Roussel-Uclaf: FR 1536458 (**1967**)
- <sup>28</sup> Sumitomo: DOS 2348930 **29. 9. 72/11. 4.74**
- <sup>29</sup> M. Nishizawa, M. Shimizu, H. Ohkawa, M. Kanaoka, *Appl. Environ. Microbiol.* **1995**, *61*, 3208.
- <sup>30</sup> a) T. Aratani, Y. Yoneyoshi, T. Nagase, *Tetrahedron Letters* **1975**, 1707. b) M. Itagaki, K. Masumoto, Y.J. Yamamoto *Org Chem*, **2005**, *70*, 3292–3295
- <sup>31</sup> J. Farkas, P. Kourim, F. Sorm, *Chem. Listy.* **1958**, *52*, 688.
- <sup>32</sup> M. Matsui, T. Kitahara, *Agr. Biol. Chem.* **1967**, *31*, 1143.
- <sup>33</sup> M. Elliott, A. W. Farham, N. F. Janes, P. H. Needham, D. A. Pulman, J. H. Stevenson *Nature*, **1973**, *246*, 169.
- <sup>34</sup> M. J. Robson, R. Cheetham, D. J. Flettes, J. Crosby, *Brit. Crop. Prot. Conf.*, Croydon, UK, **1984**, 853.
- <sup>35</sup> M. Elliott, A. W. Farham, N. F. Janes, P. H. Needham, D. A. Pulman, *Nature*, **1974**, *248*, 710.
- <sup>36</sup> J. F. Engel, E. L. Plummer, R. R. Stewart, W. A. Vansaun, “*Pesticide Chemistry, Human Welfare and Environment, Vol. I, Synthesis and Structure Activity Relationships*”, Editor-in-Chief, J. Miyamoto and P. C. Kearney, **1983**, 101.
- <sup>37</sup> E. McDonald, N. Punja, A. R. Jutsum, “*Proceedings of the 1986 British Crop Protection Conference, Pests and Diseases*”, **1986**, Vol. 1, 199, Brighton.
- <sup>38</sup> J. R. Tessier, *Recent Advances in the Chemistry of Insect Control*, Editor, N. F. Janes, The Royal Society of Chemistry : London, **1984**, Special Publication No. 53, pp 26-52.
- <sup>39</sup> J. Miyamoto, K. I. Beynon, T. R. Roberts, R. J. Hemingway, H. Swaine, *Pure & Applied Chemistry*, **1981**, *53*, 1967.
- <sup>40</sup> K. Shiba, N. Kakuta, H. Kaneko, I. Nakatsuka, A. Yoshitake, H. Yamada, J. Miyamoto, *J. Pestic. Sci.*, **1988**, *13*, 557.
- <sup>41</sup> J. Miyamoto, H. Kaneko, R. Tsuji, Y. Okuno, *Toxicology Letters*, **1995**, *82/83*, 933.
- <sup>42</sup> H. V. Ferreira, L. C. Rocha, R. P. Severino, A. L. M. Porto, *Molecules*, **2012**, *17*, 8955-8967
- <sup>43</sup> a) R. Keller et al. “*Method for the enzymatic racemate resolution of racemic alcohols with/in vinyl esters by transesterification*” US Patent: 4,963,492, **10/1990**. b) M. Schudok et al. “*Process for enzymatic acylation of alcohols with alkoxyvinyl acetates by transesterification*” US Patent: 5, 756,321, **05/1998**.

- 
- <sup>44</sup> S. Mitsuda, T. Umemura, H. Hirohara "Preparation of an optically pure secondary alcohol of synthetic pyrethroids using microbial lipases" *Appl. Microbiol. Biotech.*, **1998**, 29, 310-315.
- <sup>45</sup> Rapporto di ricerca Endura n°676, Riferito al piano di ricerca 004/05
- <sup>46</sup> R. Linnell "Notes – Dissociation Constants of 2-Substituted Pyridines". *Journal of Organic Chemistry*, **1960**, 25 (2), 290
- <sup>47</sup> [https://web.archive.org/web/20120121150933/http://www2.lsddiv.harvard.edu/labs/evans/pdf/evans\\_pKa\\_table.pdf](https://web.archive.org/web/20120121150933/http://www2.lsddiv.harvard.edu/labs/evans/pdf/evans_pKa_table.pdf), consultato il 27/08/2018