

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

**Nuova strategia di sintesi metal-free di
substrati arilamminici**

Tesi di laurea sperimentale

CANDIDATO

Mattia Gara

RELATORE

Prof. Giorgio Bencivenni

CORRELATORE

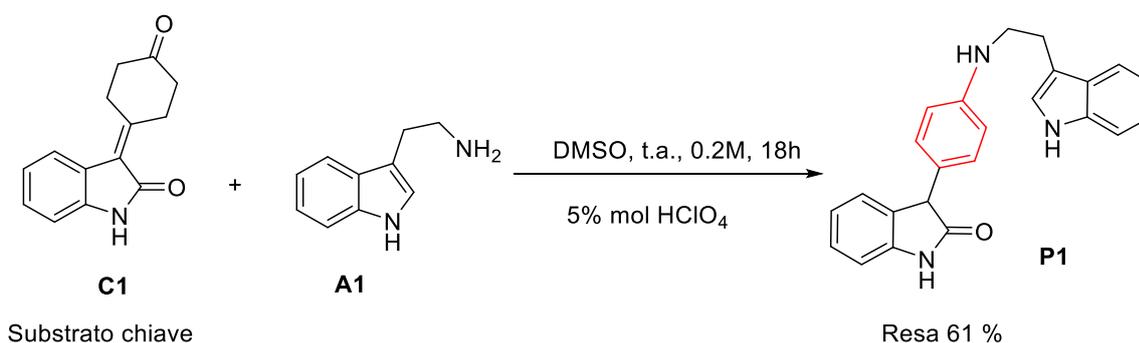
Dr. Nicola Di Iorio

Simone Crotti

Anno Accademico 2017-2018

Abstract

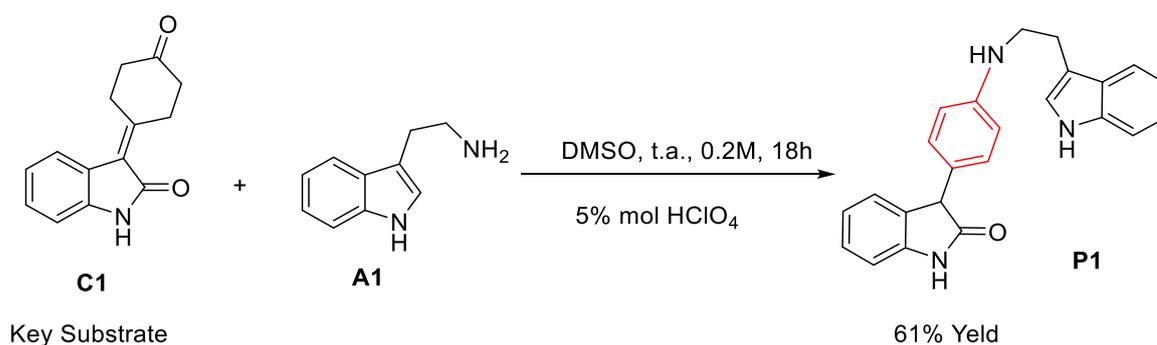
Le arilammine sono una classe di composti la cui importanza in ambito chimico e farmaceutico si è consolidata nel tempo. Con l'impiego crescente dell'utilizzo di questi principi attivi, sono state realizzate moltissime tecniche di sintesi dagli inizi degli anni '90. Le più note tecniche di sintesi di arilammine ad oggi sono tutte reazioni metallo catalizzate, cronologicamente si è passati dall'utilizzo di reazioni di cross coupling come la Buchwald-Hartwig o la Chan-Evans-Lam a reazioni di tipo ossidativo in presenza di metalli nobili. L'obbiettivo di questo lavoro è stato quello di impostare una nuova strategia sintetica non metallo catalizzata per ottenere substrati arilamminici, evitando di impiegare catalizzatori composti da metalli nobili. La reazione è stata scoperta casualmente in seguito ad un'evidenza sperimentale, poiché si ottenne un sottoprodotto differente da quello desiderato. Lo scopo principale della tesi è stato ottimizzare la seguente reazione per ottenere una resa elevata e nel frattempo provare a comprendere come la particolare struttura del substrato impiegato potesse essere fondamentale per permettere l'aromatizzazione della molecola.



Abstract

Arylamines are a class of compounds whose importance in chemical and pharmaceutical fields has been consolidated over time. With the increasing use of these Active Pharmaceutical Ingredients (APIs), many synthesis techniques have been created since the 1990s to obtain these products. The most well-known arylamines synthesis techniques to date are all catalyzed metal reactions.

Chronologically, the synthesis changed from the use of cross coupling reactions such as Buchwald-Hartwig or Chan-Evans-Lam, to oxidative reactions in the presence of noble metals. The aim of this project was to outline a new synthetic strategy to obtain arylamine substrates, thus avoiding the use of catalysts made by noble metals. The reaction was discovered accidentally following an experimental evidence, since a by-product different was obtained. The main purpose of the thesis was to optimize the following reaction to obtain a high yield and in the meantime try to understand how the particular structure of substrate could be fundamental to allow the aromatization of the molecule.



INDICE

1	INTRODUZIONE	1
1.1	Metallo catalisi e sintesi di arilammine	1
1.2	Reazioni di aromatizzazione.....	10
1.2.1	Deidrogenazioni	12
1.2.2	Reazioni di ciclizzazione	13
1.2.3	Reazioni di eliminazione	13
1.2.4	Isomerizzazione	14
2	OBIETTIVI.....	15
3	RISULTATI E DISCUSSIONE	18
3.1	Scelta dei substrati.....	18
3.1.1	La sintesi dei substrati	19
3.2	Reazione di aromatizzazione	21
3.2.1	Studio NMR e identificazione della struttura del substrato.....	22
3.2.2	Screening	24
3.2.2.1	Solvente	24
3.2.2.2	Catalisi acido-base	26
3.2.2.3	Tempo di reazione.....	29
3.2.2.4	Concentrazione.....	30
3.2.2.5	Stechiometria.....	31
3.2.2.6	Temperatura	32
3.2.3	Verifica della generalità della reazione	33
3.2.3.1	Substrato amminico	33

3.2.3.2	Substrato chetonico.....	34
3.3	Meccanismo di reazione	35
3.3.1	Ipotesi meccanismo della reazione.....	35
3.3.2	Risultati a motivazione del meccanismo di reazione	35
4	CONCLUSIONI	38
4.1	Prospettive Future	38
5	PARTE SPERIMENTALE	39
5.1	Informazioni generali.....	39
5.2	Sintesi dei substrati.....	39

Abbreviazioni

NMR: Risonanza Magnetica Nucleare

THF: Tetraidrofurano

MTBE: Metil-terbutil etere

DMF: Dimetilformammide

DMSO: Dimetilsulfossido

TFA: Acido trifluoroacetico

PTSA: Acido para-toluensolfonico

TA: Temperatura ambiente

NOE: Nuclear Overhauser Effect

HSQC: Heteronuclear Single Quantum Coherence

1 INTRODUZIONE

1.1 Metallo catalisi e sintesi di arilammine

Da 30 anni a questa parte la ricerca in ambito chimico ha portato alla scoperta di un elevato numero di nuove strategie sintetiche volte a semplificare procedure complesse o delimitare l'uso di substrati o catalizzatori problematici.

Tali problematiche possono risiedere nel costo o nella tossicità intrinseca della sostanza impiegata o talvolta semplicemente in uno smaltimento poco sostenibile dal punto di vista ambientale. Ognuna di queste problematiche può essere sufficiente a far scegliere una determinata strada sintetica rispetto ad un'altra.

Un arilammina è un composto organico composto da almeno un anello aromatico legato direttamente ad un'ammina, l'esempio più semplice di questa definizione è l'anilina.

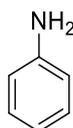


Figura 1 - Rappresentazione dell'anilina

Le arilammine sono una vasta categoria di composti che trova largo impiego in sintesi organica. Hanno un comportamento basico secondo la definizione di Brønsted, per la presenza di un gruppo amminico. Sono generalmente meno basiche delle ammine alifatiche e questa caratteristica è dovuta al fatto che il doppietto elettronico dell'atomo di azoto risulta delocalizzato all'interno della struttura aromatica.

L'impiego di composti arilamminici all'interno delle varie aree della chimica è pressoché ubiquitario¹, come evidenzia la figura 2.

Uno dei settori in cui l'impiego di questi composti è stato sicuramente rapido ed importante è quello medicale-farmaceutico dato il grande numero di composti

¹ P. Ruiz-Castillo, S. L. Buchwald. *Chemical Reviews* **2016** 116 (19), 12564-12649

attivi biologicamente che contengono atomi di azoto, molti dei quali legati a strutture aromatiche.

Altrettanto di pari passo si sono sviluppati impieghi di questa classe di composti nell'ambito della ricerca, come ad esempio il riprodurre sintesi di prodotti naturali per discostarsi dalla necessità di estrarre i suddetti composti dalla flora per poterli introdurre sul mercato in larga scala.

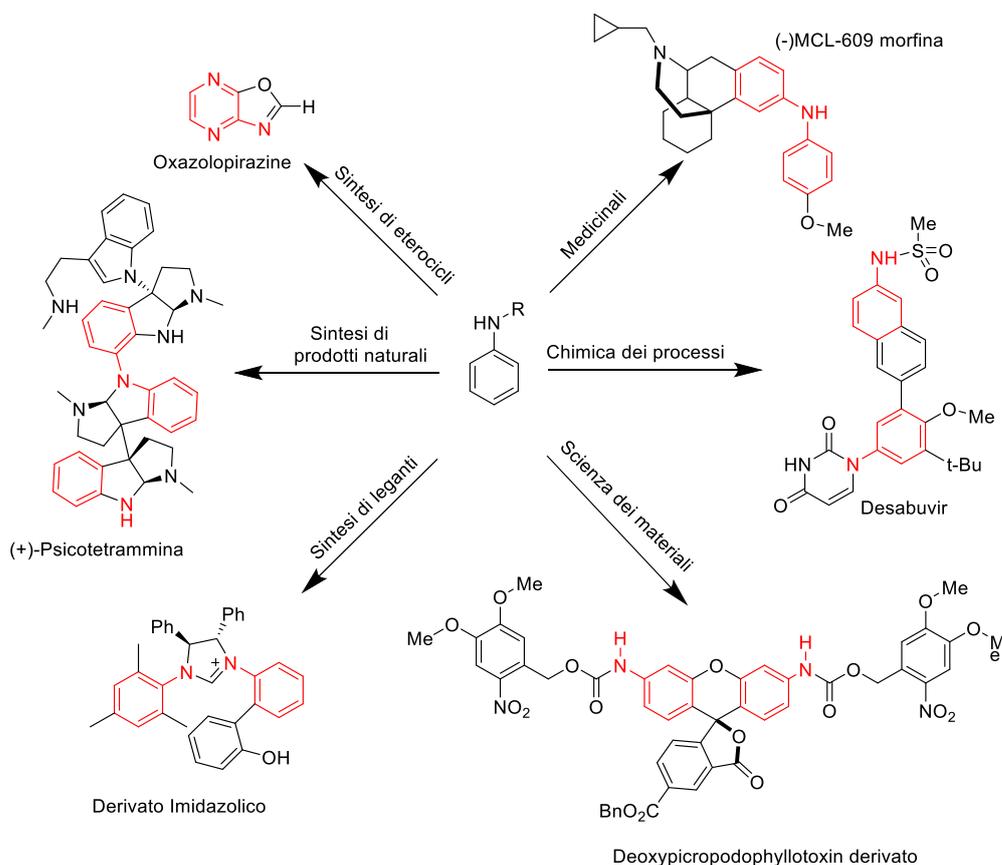


Figura 2 - Esempi di applicazioni di composti aminoarilici.

Una delle più affascinanti tecniche moderne di sintesi metallo catalizzata per la formazione di legami carbonio-carbonio è la reazione di cross coupling, di cui un esempio generico è rappresentato in figura 3.

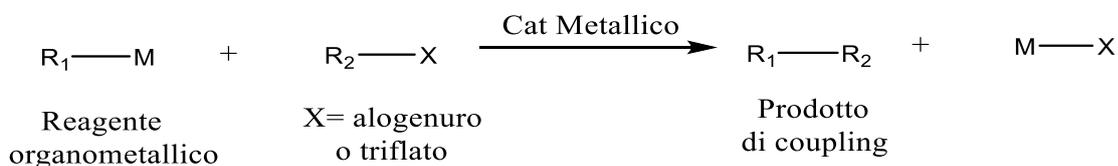
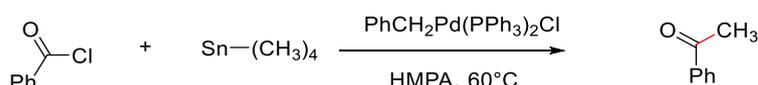


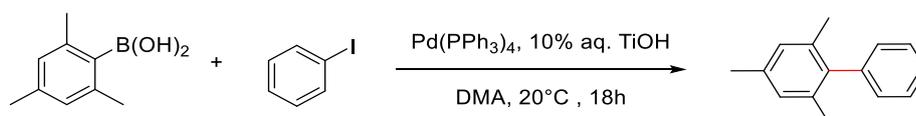
Figura 3 - Generica reazione di cross coupling

Impiegando metalli di transizione quali Palladio, Nichel, Ferro e Rame è possibile ottenere l'unione (coupling appunto) di due frammenti precedentemente separati². La reazione² permette di far reagire carboni sp³, sp² o anche sp con un altro carbonio generalmente legato ad un gruppo uscente. Molteplici sono le varianti sviluppate dalla prima reazione di questo tipo scoperta nel 1855 da Wurtz³. (Figura 4)

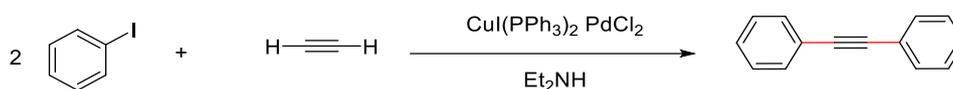
Stille Coupling Reaction



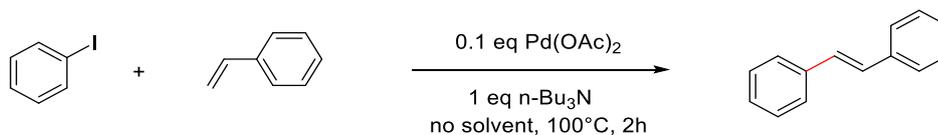
Suzuki Coupling Reaction



Sonogashira Coupling Reaction



Heck Coupling Reaction



Negishi Coupling Reaction

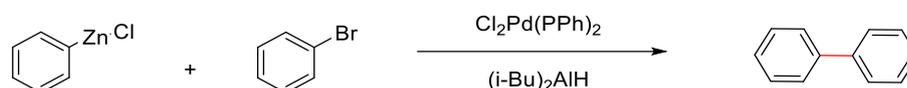


Figura 4 - Alcune delle più note reazioni di Cross Coupling: Stille⁴, Suzuki⁵, Sonogashira⁶, Heck⁷, Negishi⁸.

² R. F. Heck, and J. P. Nolley *J. Org. Chem.* **1972**, 37 (14), pp 2320–2322

³ A. Wurtz, *Annalen der Chemie und Pharmacie*, vol. 96, n° 3, **1855**, pp. 364–375

⁴ D. Milstein, J. K. Stille. *J. Am. Chem. Soc.*, **1978**, 100 (11), pp 3636–3638

⁵ A. Suzuki. *The Journal of Organometallic Chemistry*, **1999**, Volume 576, Issues 1–2, 15 March, Pages 147–168

⁶ K. Sonogashira, Y. Tohda, N. Hagihara. *Tetrahedron Lett.*, **1975**, 16: 4467–4470

⁷ R.F. Heck, J.P. Nolley. *The Journal of Organic Chemistry*. **1972** 37 (14): 2320–2322.

⁸ E. Negishi, A.O. King, N. Okukado. *The Journal of Organic Chemistry*. **1977**. 42 (10): 1821–1823.

L'avvento delle reazioni di cross coupling catalizzate da metalli di transizione ha gettato le fondamenta per la successiva scoperta delle sintesi di cross coupling eteroatomiche che sono state uno dei primi strumenti di sintesi di composti arilamminici. L'enorme interesse per la ricerca di nuove reazioni di coupling catalizzate da Palladio sono valsi il premio Nobel per la chimica a R. F. Heck, E. Negishi e A. Suzuki per il loro contributo al perfezionamento di sintesi utili ad ottenere molecole complesse attraverso l'utilizzo di catalizzatori di Palladio⁹.

La reazione di Heck, di cui un esempio è mostrata in Figura 4, è una generica reazione chimica tra un alogenuro alchilico insaturo ed un alchene in presenza di un catalizzatore di Palladio e di una base forte. Questo composto di organopalladio generato per addizione ossidativa (1) possiede orbitali d vuoti elettron-accettori attraverso i quali riesce a coordinarsi al doppio legame vinilico, che possiede natura elettronica, in maniera regioselettiva. In questo modo il doppio legame reagisce con sistemi nucleofili, permettendo il coupling con il substrato alchilico o arilico precedentemente coordinato al Palladio. L'alogeno insieme all'idrogeno eliminato dal doppio legame vanno a formare l'acido relativo mentre il Pd⁰ viene rigenerato, questo processo viene definito eliminazione riduttiva (2). (Figura 5)

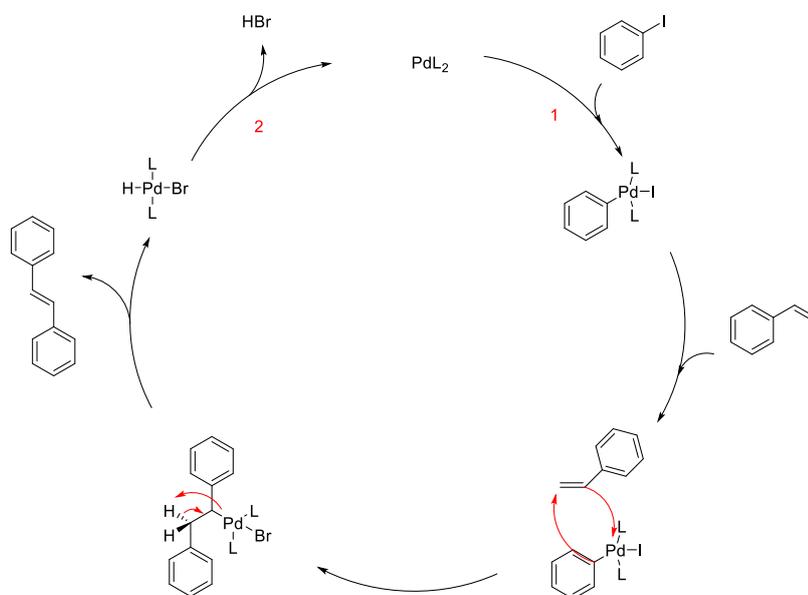


Figura 5 - Ciclo catalitico reazione di Heck

⁹http://www.lescienze.it/news/2010/10/06/news/il_nobel_2010_per_la_chimica-554510/

L'impiego delle reazioni di cross coupling fu esteso alla sintesi di arilammine grazie a Buchwald¹⁰ ed Hartwig¹¹, che dal 1994 pubblicarono molteplici articoli in cui dimostrarono la versatilità e la robustezza del loro metodo. La reazione è un esempio di aminazione Palladio catalizzata tra un alogenuro aromatico ed una stannilammina. Più in generale si tratta di una reazione di eterocoupling poiché si viene a formare un nuovo legame che porta alla formazione di un legame C-N. (Figura 6)

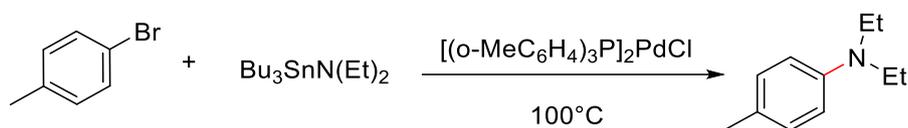


Figura 6 - Esempio di reazione di arilamminazione riportata da Hartwig nel suo articolo¹¹

La scoperta di questa strategia sintetica fu di notevole impatto scientifico poiché le classiche reazioni che venivano sfruttate precedentemente risultavano molto limitate.

In generale la sintesi di un'ammina aromatica secondaria o terziaria passa attraverso tre stadi: la nitratura di un anello aromatico, seguita da riduzione del gruppo nitro ad ammina primaria e successiva alchilazione. L'utilizzo della Buchwald-Hartwig permette direttamente la formazione del legame carbonio arilico-azoto, riducendo così il numero di reazione da effettuare per la preparazione di ammine mono e bis-alchilate. Altri ricercatori iniziarono quindi a sviluppare nuove strategie sintetiche per la formazione di prodotti di etero cross coupling.

¹⁰ A. S. Guram, S. L. Buchwald. *J. Am. Chem. Soc.*, **1994**, 116 (17), pp 7901–7902

¹¹ F. Paul, J. Patt, J. F. Hartwig. *J. Am. Chem. Soc.*, **1994**, 116 (13), pp 5969–5970

Un interessantissimo contributo è stato dato da Chan, Evans e Lam che con la loro reazione, schematizzata in figura 7, svilupparono una notevole via sintetica molto utilizzata per la sintesi di prodotti contenenti uno core arile-eteroatomico, presente in molteplici molecole biologicamente attive¹².

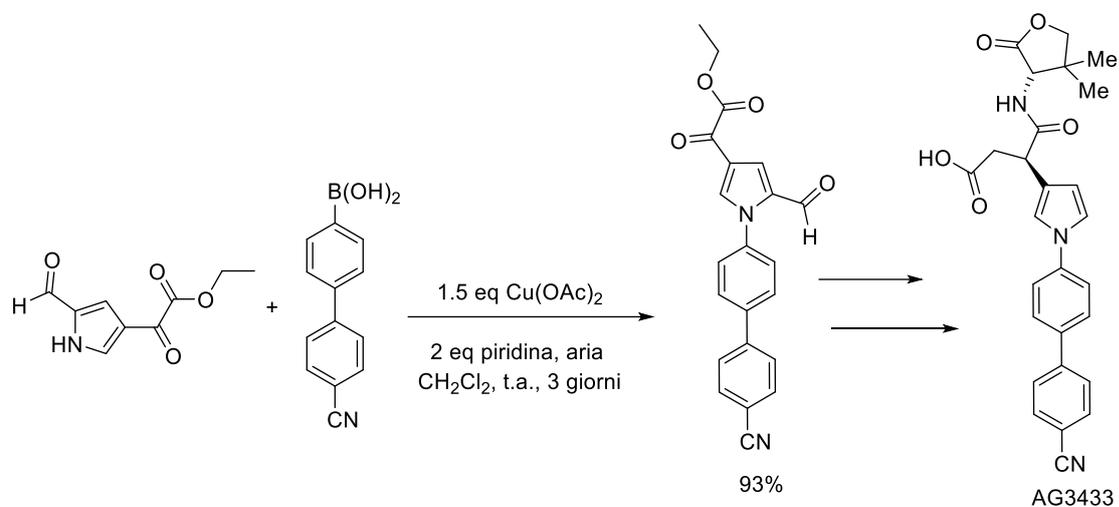


Figura 7 - Reazione di Chan-Evans-Lam volta a sintetizzare un inibitore enzimatico¹²

Questa importante reazione, catalizzata da $\text{Cu}(\text{OAc})_2$, oltre ad avere il vantaggio di avvenire a temperatura ambiente anziché a 100°C come la Buchwald-Hartwig, permette anche la formazione di legami C-O e C-S.

¹² C. Fischer, B. Koenig. *Beilstein J. Org. Chem.* **2011**, 7, 59–74.

Nel 2012 un'ulteriore strategia sintetica¹³ metallo catalizzata per la sintesi di ammine aromatiche è stata riportata da Li.

Il metodo prevede una reazione tra un chetone ciclico α,β -insaturo ed una ammina in presenza di un catalizzatore di Palladio con leganti al fosforo in presenza di un'atmosfera di ossigeno.

Questa reazione rappresenta sia uno dei primi esempi di catalisi ossidativa di arilammine in presenza di ossigeno molecolare, sia uno dei primi esempi di formazione di arilammine attraverso addizione di un'ammina ad un carbonile e sua successiva aromatizzazione (Figura 8).

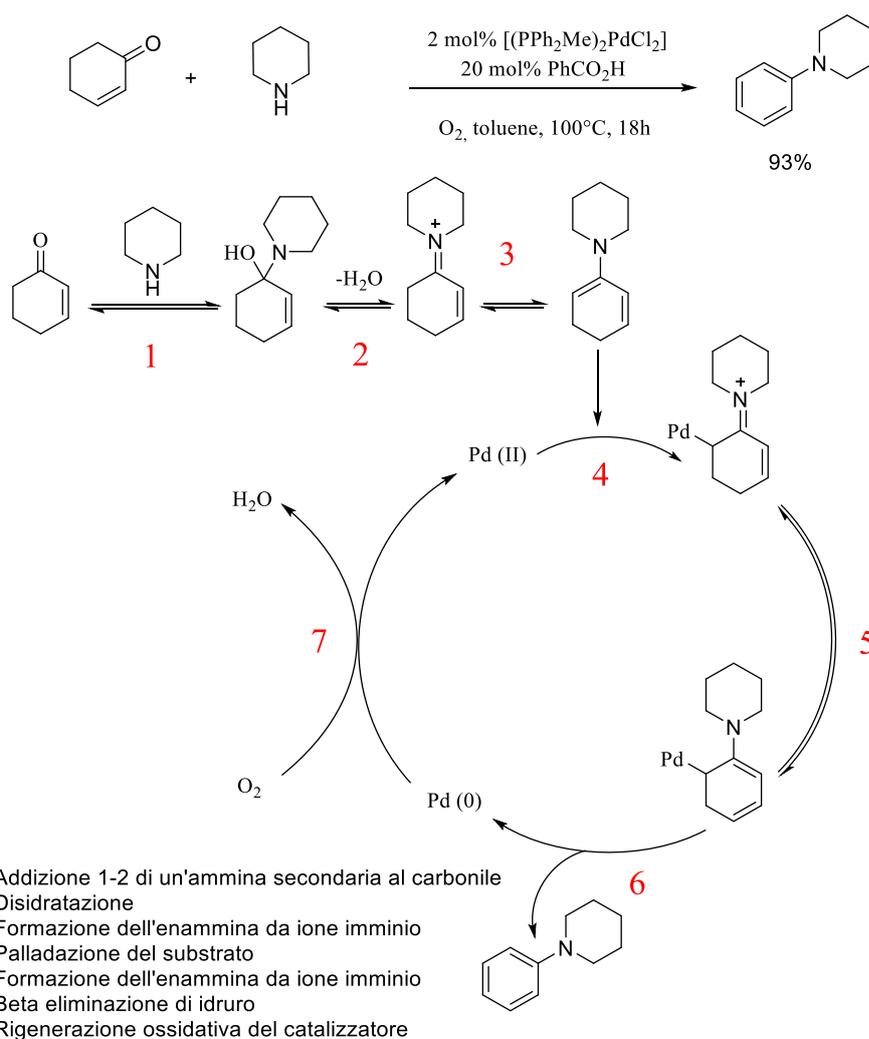


Figura 8 – Reazione di aromatizzazione ossidativa di un chetone ciclico insaturo ad opera di Palladio e relativo ciclo catalitico.

¹³ S.A. Girard, X. Hu, T. Knauber, F. Zhou, M. Simon, G. Deng, C. Li. *Organic Letters* **2012** *14* (21), 5606-5609

L'esempio in figura 8 rappresenta una controtendenza rispetto ai lavori effettuati nei ultimi 20-30 anni poiché anziché andare ad effettuare il coupling su una molecola già aromatizzata su cui è presente un alogeno, si va a formare il legame C-N ed aromatizzare tutto in un singolo step sintetico con un'elevata resa.

Nello stesso anno, un altro esempio di reazione di aromatizzazione Palladio catalizzata viene riportato da Yoshikai¹⁴ (Figura 9).

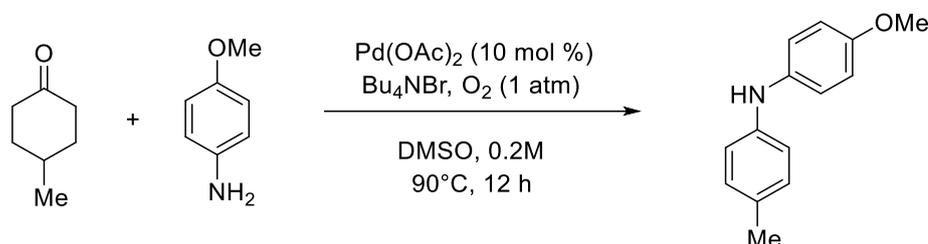


Figura 9 - Reazione di aromatizzazione ad opera di Ossigeno e Palladio di un chetone ciclico saturo

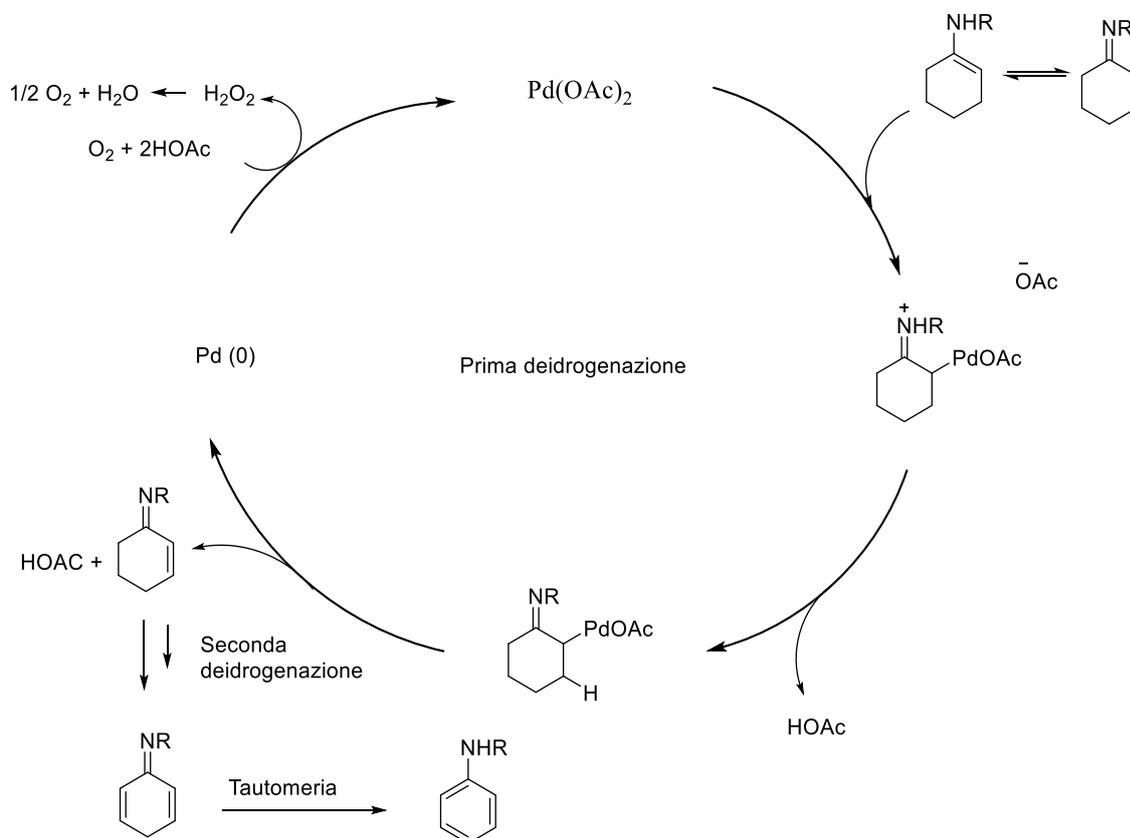


Figura 10 - Ciclo catalitico della reazione di arilamminazione descritta da Yoshikai, Hajra e Wei

È interessante notare come l'aromatizzazione avvenga anche senza che il reagente abbia un ciclo insaturo.

¹⁴ A. Hajra, Y. Wei, N. Yoshikai - *Organic Letters* **2012** 14 (21), 5488-5491

Per spiegare come questo avvenga gli autori illustrano, attraverso la loro proposta di meccanismo, come la formazione diretta del composto aromatico sia attribuibile a successive deidrogenazioni dovute al catalizzatore, che viene coordinato nuovamente, fino a portare la molecola ad essere completamente aromatica (Figura 10).

Dopo questa breve ricapitolazione di tutte le più comuni tecniche sintetiche ad oggi per la formazione di arilammine, risulta lampante come esse siano tutte vincolate all'impiego di catalizzatori composti da metalli di transizione.

1.2 Reazioni di aromatizzazione

Vi sono molteplici tecniche sintetiche per la sintesi di substrati aromatici, conoscere queste trasformazioni potrebbe risultare utile nella comprensione del meccanismo della reazione presentata all'interno di questo lavoro, approfondendo come gli elettroni tendono a spostarsi all'interno delle molecole per formare cicli aromatici.

I composti aromatici sono una classe di composti molto importante poiché largamente diffusi in tutte le branche della chimica.

Si trovano esempi in molti settori a partire dai polimeri, come il Polistirene ed il Polietilentereftalato, fino ad arrivare a veri e propri bulk chemicals come il Toluene.

Le molecole aromatiche sono ampiamente presenti in substrati biologicamente attivi, tanto che vengono sintetizzate in quantità elevate e commercializzate come farmaci. In figura 11 sono riportati alcuni famosi principi attivi contenenti cicli aromatici, alcuni dei quali arilamminici.

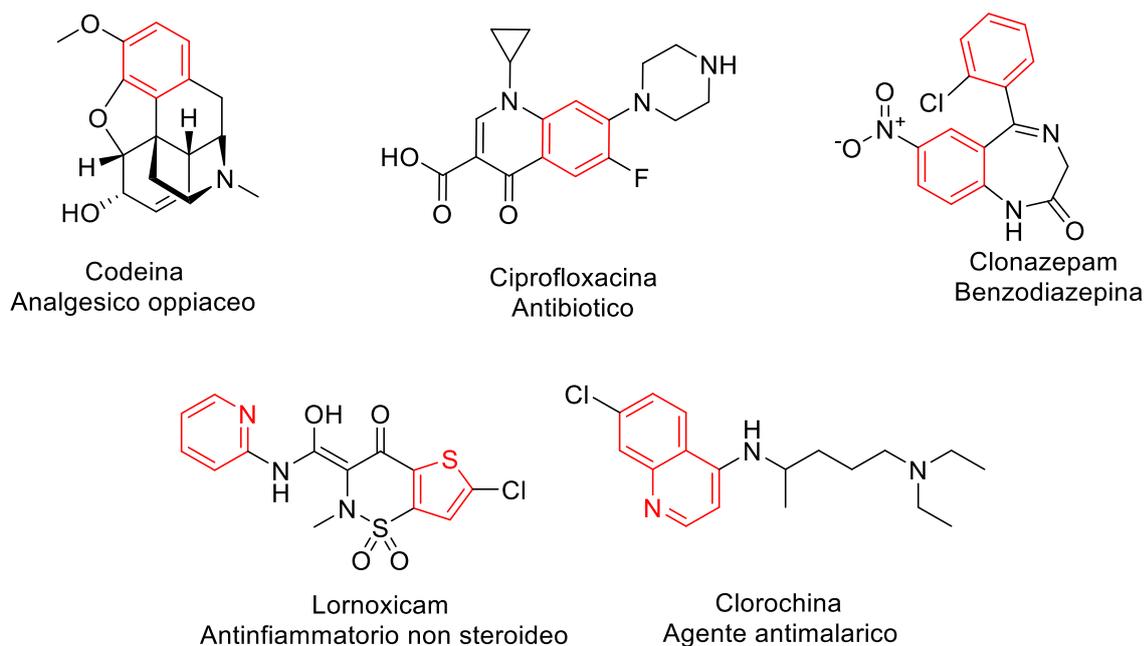


Figura 11 - Alcuni composti aromatici di larga produzione, alcuni dei quali arilamminici

L'aromaticità viene a formarsi quando gli elettroni di tipo pi-greco tendono ad essere delocalizzati sull'intero ciclo, questa condizione rende le molecole più stabili dei rispettivi alcheni e gli conferisce una reattività peculiare.

Un metodo efficiente per determinare se il composto in questione possieda proprietà aromatiche è attraverso le regole di Hückel:

- Il composto deve possedere una struttura planare e atomi di carbonio ibridati sp^2
- Il composto deve anche avere un numero di elettroni π delocalizzati sul ciclo pari a $4n+2$, dove n è un numero intero maggiore o uguale a 0.

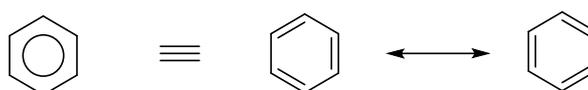


Figura 12 - Formule di risonanza del benzene, il quale è planare e possiede 6 elettroni π .

Per queste particolari proprietà le molecole aromatiche danno reazioni di sostituzione elettrofila anziché di addizione elettrofila, per mantenere la stabilità acquisita in termini di energia dello stato fondamentale. Una reazione può essere definita di aromatizzazione quando si osserva la formazione di un sistema aromatico, anche in presenza di eteroatomi all'interno del ciclo a prescindere dal numero di atomi che lo compongono.

I modi convenzionali per la formazione di un ciclo aromatico sono deidrogenazione di un sistema saturo o la formazione di un nuovo sistema ciclico il quale poi andrà ad aromatizzare o per eliminazione o per isomerizzazione.

1.2.1 Deidrogenazioni

La via sintetica più nota sicuramente per ottenere cicli aromatici è la deidrogenazione di molecole cicliche sature ad opera di catalizzatori metallici, in questo caso si parla di deidrogenazione catalitica. I metalli generalmente più utilizzati sono Palladio, Rodio, Platino e Nichel, vengono impiegati ad alte temperature, essendo la reazione altamente endotermica, per formare il prodotto designato.

In alternativa si può attuare una deidrogenazione termica, la quale è favorita cineticamente e termodinamicamente ad elevatissime temperature e risulta però svantaggiosa in termini economici. La necessità di lavorare ad alte temperature (maggiori di 300°C) implica altre problematiche quali la concorrenza della reazione parassita di cracking e la formazione di coke che potrebbe andare ad avvelenare il catalizzatore. Quindi all'interno del bilancio economico bisogna valutare se è preferibile lavorare ad alte temperature senza impiegare catalizzatori o viceversa. I catalizzatori¹⁵ vengono principalmente sfruttati con l'ottica di migliorare la produttività e la selettività.

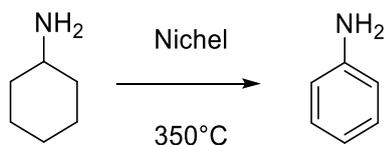


Figura 13 - Reazione di deidrogenazione catalitica della cicloesanammina in anilina

¹⁵ Sabatier; Gaudion - *Comptes Rendus Hebdomadaires des Seances de l'Academie des Sciences*, **1917**, vol. 165, p. 309

1.2.2 Reazioni di ciclizzazione

Un'altra strategia di sintesi per ottenere cicli aromatici è quella di effettuare delle reazioni che prevedano la chiusura intramolecolare¹⁶ o intermolecolare di un ciclo¹⁷. Una volta ciclizzata la molecola può direttamente presentare una struttura aromatica (Figura 14) o può essere indotta attraverso eliminazione di un gruppo funzionale.

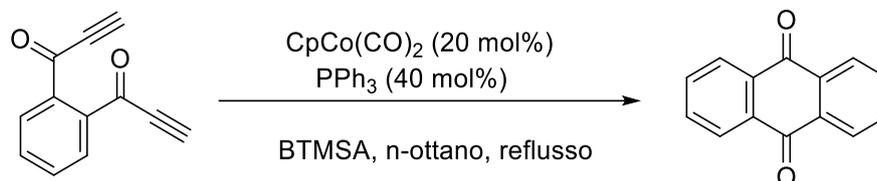


Figura 14 – Ciclizzazione intermolecolare catalizzata da cobalto¹⁸.

Reazione di questo genere solitamente sono caratterizzate da rese piuttosto basse essendo trasformazioni molto complesse con problemi di selettività.

1.2.3 Reazioni di eliminazione

Talvolta è possibile sfruttare la capacità di fungere da buon gruppo uscente di alcuni sostituenti presenti sul ciclo, al quale manca solo un'insaturazione, per favorire l'aromatizzazione ed ottenere il prodotto aromatico di interesse.

Un esempio di eliminazione¹⁸ può essere la disidratazione di un alcol, Figura 15, in cui si favorisce l'uscita di acqua dalla molecola sfruttando un catalizzatore basico per ottenere il relativo composto aromatico:

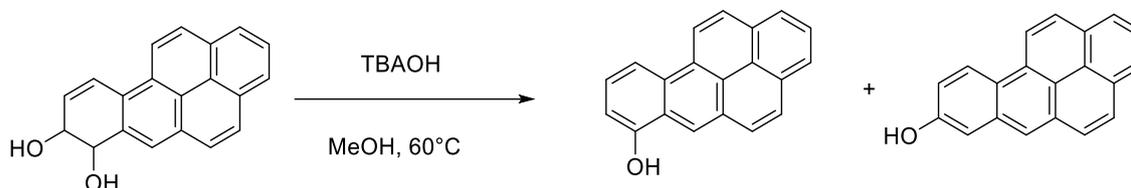


Figura 15 - Reazione di aromatizzazione per disidratazione ad opera di Idrossido di Tetrammoniobutile

¹⁶ S.J. Neeson, P.J. Stevenson. **1988**. *Tetrahedron Letters*. **29** (7): 813–814.

¹⁷ R.L. Hillard, K.P.C. Vollhardt. **1977**. *Journal of the American Chemical Society*. **99** (12): 4058–4069.

¹⁸ D.W. McCourt, P.P. Roller, H.V. Gelboin. *JOC* **1981**, **46**, 4157

1.2.4 Isomerizzazione

Le reazioni di isomerizzazione per la sintesi di sistemi aromatici, sono delle trasformazioni chimiche che si basano su equilibri di varia natura, come ad esempio quello cheto-enolico e possono essere indotte da acidi, basi, radiazioni o equilibri termodinamici. (Figura 16)

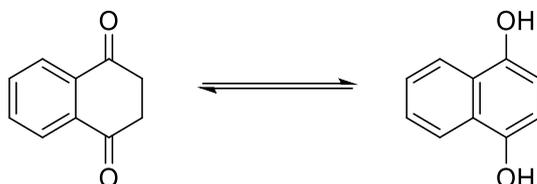


Figura 16- Tautomeria cheto-enolica tra un dichetone naftalenico e il relativo diolo

2 OBIETTIVI

Questo lavoro intende illustrare una nuova strategia sintetica per la sintesi di arilammine. L'idea della sintesi è nata da un'evidenza sperimentale riscontrata durante lo svolgimento di una reazione di Pictet-Spengler, da parte del gruppo di ricerca presso cui ho svolto il tirocinio.

La reazione di Pictet-Spengler¹⁹, rappresentata in figura 17 è una generica reazione chimica tra un substrato arilamminico sostituito con un etilenammina ed un aldeide o un chetone.

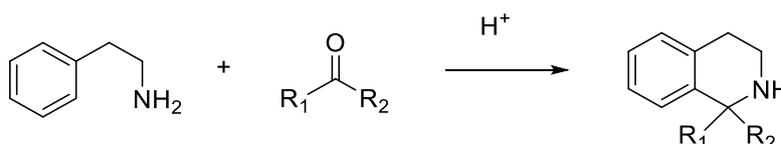


Figura 17 - Sintesi della tetraidrossichinolina attraverso la reazione di Pictet-Spengler

Questa sintesi, inizialmente scoperta nel 1911, risulta tutt'ora sfruttata per la sintesi di composti farmaceutici contenenti uno scheletro beta-carbolinico, ovvero un nucleo di indolo unito ad una piridina. Si trova un esempio²⁰ di questa reazione anche nei organismi viventi, nei quali viene effettuata attraverso l'enzima Strictosidina sintetasi.

¹⁹ A. Pictet, T. Spengler. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1911**, 44, 2030–2036.

²⁰ J. Stöckigt, A.P. Antonchick, F. Wu, H., Waldmann. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2011**, 50 (37), 8538–64.

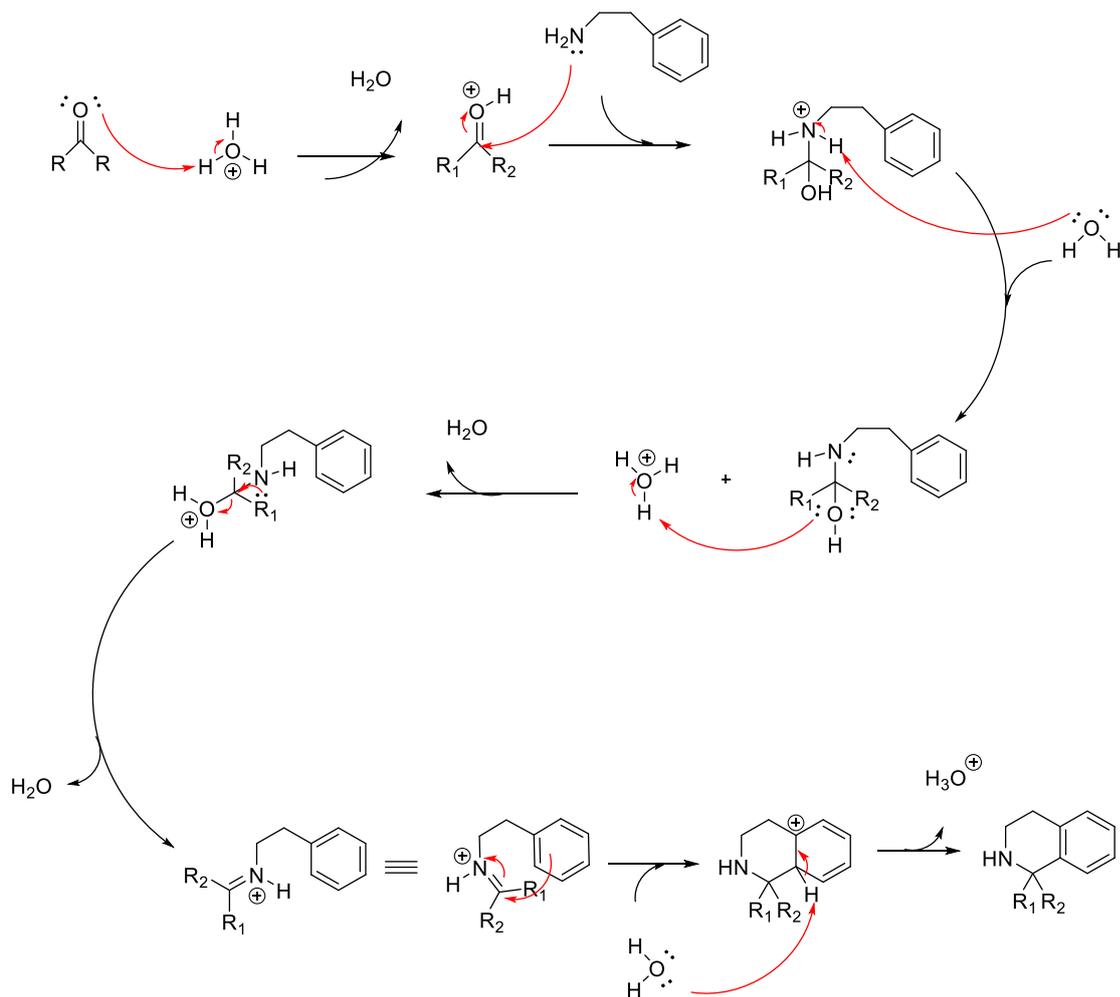


Figura 18 – Meccanismo della reazione di Pictet-Spengler per la sintesi della Tetraidroisochinolina

Il meccanismo di questa reazione riportato in figura 18, inizia con un primo passaggio di protonazione dell'ossigeno del carbonile dall'acido, il carbonile viene poi successivamente attaccato dall'ammina; vi sono due passaggi di proton-transfer che terminano con una eliminazione di una molecola di acqua formando un intermedio imminico. Successivamente vi è una ciclizzazione 6-endo-trig che provoca una perdita di aromaticità dell'anello che viene ripristinata attraverso uno step di deprotonazione che rigenera l'ambiente acido iniziale.

Svolgendo questo tipo di reazione tra la Triptamina ed il chetone C1 non si è ottenuto il prodotto della Pictet-Spengler T1, bensì l'arilammina P1 rappresentata in figura 19.

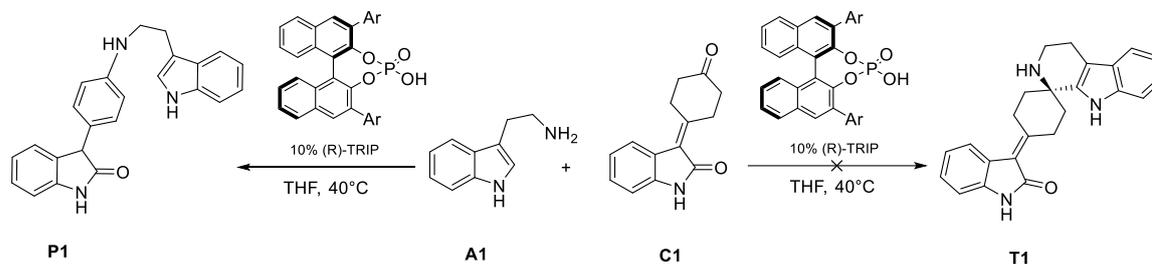


Figura 19 - Reazione tra 3-(4-oxociclohexylidene)indolin-2-one e Triptamina

La tesi si è quindi incentrata sulla possibilità di realizzare la sintesi di arilammine attraverso una procedura sintetica in assenza di catalizzatori metallici.

3 RISULTATI E DISCUSSIONE

3.1 Scelta dei substrati

La scelta del substrato, per effettuare l'ottimizzazione di questa nuova strategia sintetica per la formazione di arilammine è ricaduta sul composto C1 con cui è stata scoperta.

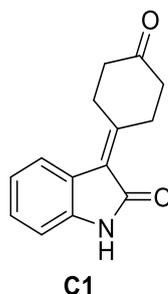


Figura 20 - 3-(4-oxocyclohexylidene)indolin-2-one

La motivazione principale per cui si è continuato con questo composto è dovuta alla presenza di uno scaffold ossindolico. I derivati dell'ossindolo sono substrati ampiamente ricercati a livello chimico e medico-farmaceutico infatti vengono impiegati come anti-HIV, anticancro, antitubercolosi ed antimalarici.²¹ Alcuni esempi di queste molecole impiegati come API sono riportati in figura 21.

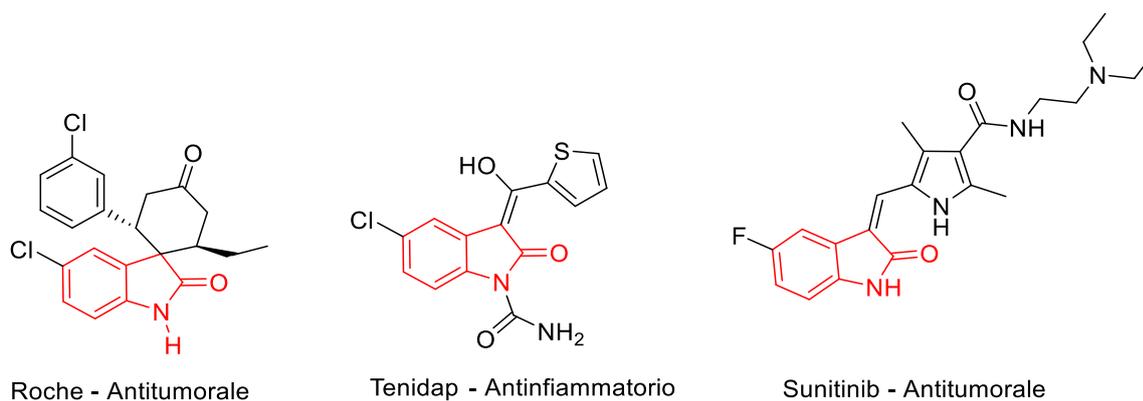


Figura 21 - Applicazioni di sistemi ossindolici come Active Pharmaceutical Ingredients

²¹ G.S. Singh, Z.Y. Desta *Chem. Rev.* **2012**, *112*, 6104-6155

Per quanto riguarda la scelta dell'ammina si è scelto anche qui di continuare ad impiegare la triptamina, un alcaloide naturale largamente presente in piante, funghi ed animali (Figura 22).



Figura 22- Derivati dell'amminoacido triptofano

Essa contiene uno scheletro indolico anch'esso biologicamente attivo, nello specifico è presente nel cervello dei mammiferi come neurotrasmettitore e neuromodulatore. La triptamina è una anche un'ammina ad elevato peso molecolare, per cui solida e più semplice da pesare e maneggiare ed è inoltre un composto reperibile commercialmente, per tutte queste motivazione è stata designato come reagente per la reazione. Esempi molto noti di questi classe di composti sono la serotonina e la melatonina (Figura 22).

3.1.1 La sintesi dei substrati

Delineata la reazione per poter iniziare lo screening era necessario ottenere il substrato cheto-ossindolico quindi è stata messa a punto una sintesi scegliendo come reagente commercialmente disponibile l'ossindolo O1 e il cicloesanoone monoacetale E1. (Figura 23)

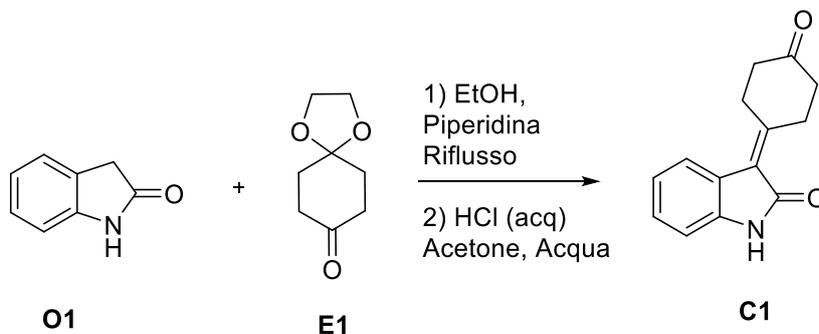


Figura 23 - Condensazione di Knoevenagel per la sintesi del substrato designato

Il primo passaggio sintetico è una condensazione di Knoevenagel.

3.2 Reazione di aromatizzazione

Noto l'obiettivo del lavoro, appena ottenuto il reagente C1, si è subito effettuata una reazione di aromatizzazione tra i substrati designati.

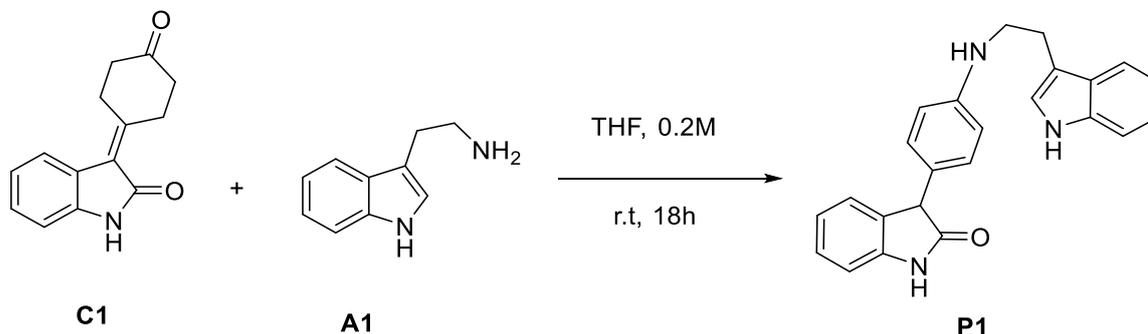


Figura 26 - Reazione di aromatizzazione di arilammine non metallocatalizzata

La reazione, avvenuta alle condizioni di reazione riportate nella figura 26, ha portato una resa del 27% nel prodotto P1. Essendo il primo tentativo di sintesi attraverso questa strategia sintetica l'obiettivo principale era verificare la fattibilità della reazione, avere un riferimento di resa ed ottenere del prodotto da caratterizzare. Avendo ottenuto il prodotto designato, senza l'impiego di catalizzatori e con condizioni di reazioni piuttosto semplici, si può affermare che una via sintetica per la sintesi di arilammine in assenza di catalizzatori metallici è possibile.

3.2.1 Studio NMR e identificazione della struttura del substrato

La struttura del prodotto di aromatizzazione è stata confermata attraverso lo studio NMR della molecola una volta purificato.

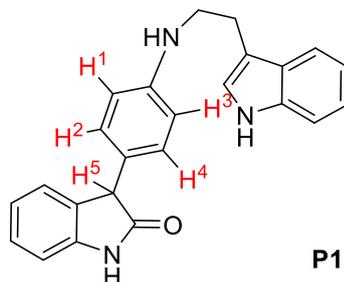


Figura 27 - Prodotto della reazione di aromatizzazione

La suddetta molecola permette di essere rapidamente identificata grazie alla presenza di due picchi caratteristici all'interno dello spettro NMR al protone. Uno dei picchi in questione è dato dall'idrogeno 1 e 3, i quali risultano equivalenti essendo l'anello simmetrico ed il risultato pratico sarà un caratteristico picco che integra 2 rispetto ad un segnale che vale 1 come l'idrogeno 5. Stesso comportamento avranno l'idrogeno 2 e 4 che formeranno un altro picco con le medesime caratteristiche del precedente ma chiaramente un chemical shift diverso.

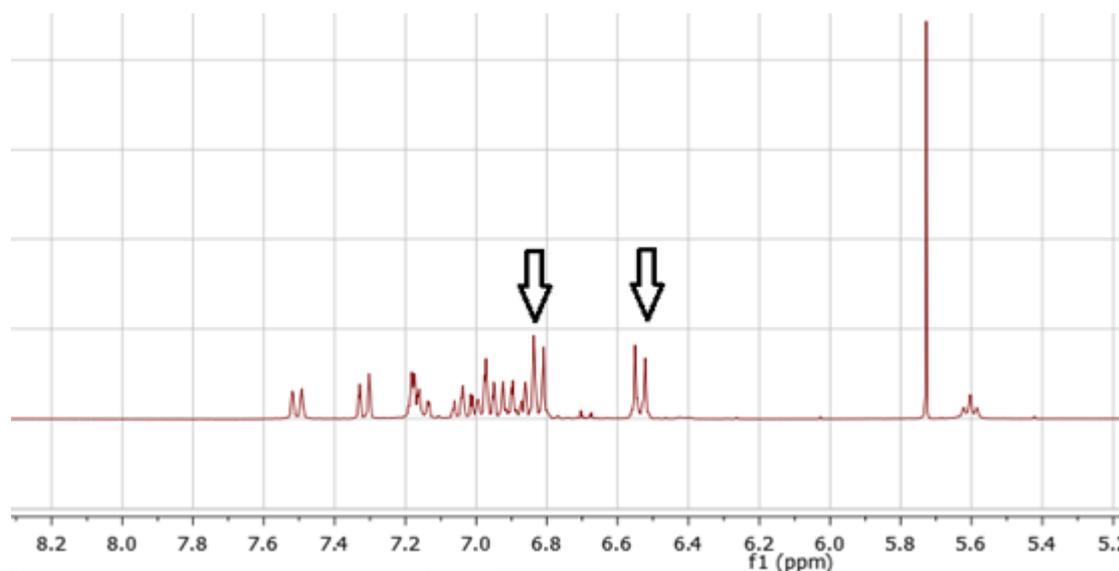


Figura 28 - Spettro NMR che evidenzia la presenza del prodotto attraverso l'identificazione dei due picchi para

Questa peculiarità del prodotto ne permette una chiara tracciabilità sia per quanto riguarda l'identificazione all'interno del grezzo di reazione, che per la possibilità

di eseguire in un tubo NMR contenente l'opportuno solvente di reazione deuterato, per monitorarne l'andamento della reazione nel tempo.

Osservando lo spettro NMR di un grezzo di reazione, come quello riportato nella figura 28, è anche possibile vedere come i segnali di reagenti e prodotti non si sovrappongano, il che dà la possibilità di quantificare la presenza del prodotto e di calcolare la resa della reazione introducendo uno standard interno. Nel caso specifico riportato in precedenza si è utilizzato l'1,3,5-trimetossibenzene come standard, il quale presenta dei picchi a 6.09 e 3.70 ppm in cloroformio deuterato rappresentanti gli idrogeni alifatici e quelli aromatici (Figura 29).

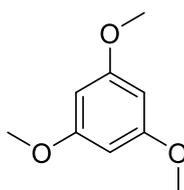


Figura 29 - Struttura del' 1,3,5-trimetossibenzene

Essendo questa molecola completamente simmetrica si osserva lo stesso fenomeno di chemical shift descritto in precedenza per il prodotto di reazione, di cui è necessario tenere conto per calcolare la resa correttamente.

3.2.2 Screening

Essendo intenzionati ad ottimizzare la sintesi seguente ed avendo ottenuto un primo risultato soddisfacente si è effettuato uno screening delle condizioni di reazione per migliorare la resa.

3.2.2.1 Solvente

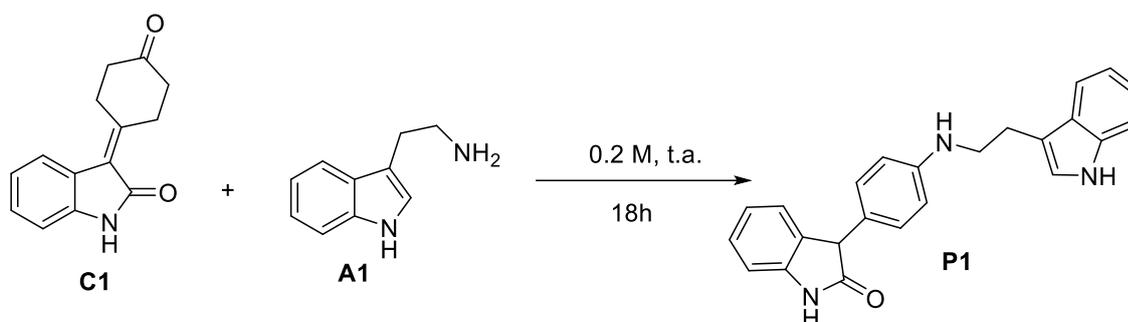


Figura 30 – Condizioni di reazione dello screening dell' solvente

Dopo aver valutato l'andamento della reazione nei diversi solventi testati il dimetilsolfossido (DMSO) è stato identificato come il miglior solvente di reazione avendo fornito il prodotto in una resa del 48% dopo 18 ore di reazione (tab. 1).

Tabella 1 – Risultati screening dei solventi

Reazione	Solvente	Resa
MGA_016	THF	29%
MGA_020	Diclorometano	-
MGA_021	Toluene	-
MGA_022	Acetonitrile	16%
MGA_023	Etere etilico	12%
MGA_024	MTBE	13%
MGA_026	Metanolo	27%
MGA_027	DMF	31%
MGA_035	DMSO	48%
MGA_038	Terbutilbenzene	13%

Quale miglior solvente il DMSO esso verrà impiegato in tutti i successivi screening come solvente di reazione. I vantaggi dell'impiego del DMSO all'interno della reazione, come solvente, possono essere riassunti in:

1. Solvente altobollente, 189°C di temperatura di ebollizione, ed anche bassa tensione di vapore per cui non si hanno problemi di evaporazione con lunghi tempi di reazione né lavorando ad alte temperature.
2. Solvente molto polare, il che riduce il problema della solubilizzazione dei due reagenti.

Gli svantaggi del suo utilizzo invece possono essere:

1. È un solvente molto igroscopico, questo potrebbe andare ad influenzare negativamente lo screening nel momento in cui la fonte di DMSO assorba umidità dall'aria variando il suo contenuto di acqua.
2. È un solvente che è piuttosto viscoso ed ha una densità paragonabile a quella dell'acqua a bassa temperatura 1,10 g/cm³
3. Essendo altobollente per rimuoverlo dall'ambiente di reazione una volta terminata è necessaria un'estrazione per recuperare i composti organici disciolti con un solvente più basso bollente organico che è possibile tirare a secco al rotavapor. Si è risolto questa problematica estraendo con etil acetato una volta diluito il DMSO ed il grezzo di reazione in acqua.

In generale comunque in DMSO la reazione risulta essere molto più pulita rispetto agli altri solventi testati, il grezzo di reazione presenta infatti solo i reagenti ed il prodotto.

3.2.2.2 Catalisi acido-base

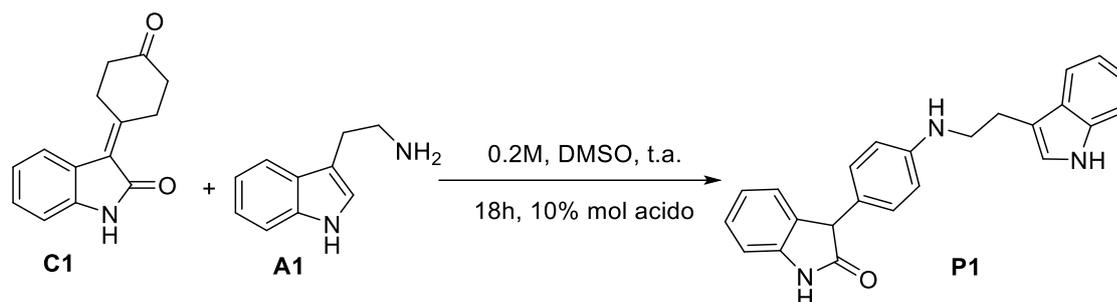


Figura 31 - Condizioni di reazione dello screening del catalizzatore acido

All'interno dello screening si è cercato di osservare se l'aggiunta di acidi organici o inorganici potesse favorire ulteriormente la reazione ed aiutarci a comprendere il meccanismo della stessa.

Tabella 2 – Risultati screening catalizzatore acido

Reazione	Acido	Resa
MGA_041	TFA	51%
MGA_042	H ₂ SO ₄	55%
MGA_045	PTSA	44%
MGA_046	Canforsolfonico	41%
MGA_047	HClO ₄	61%
MGA_048	H ₃ PO ₄	25%
MGA_049	Sc(OTf) ₃	19%
MGA_051	Difenilfosfato	40%
MGA_054	HNO ₃	53%
MGA_055	HCl	49%
MGA_056	HBr	35%
MGA_102	HClO ₄ / SiO ₂	44%

Come si osserva dalla Tabella 2, in alcuni casi l'utilizzo di un 10% molare di catalizzatore acido ha portato ad un aumento di resa del prodotto desiderato P1, si è identificata inoltre una lieve preferenza di acidi inorganici piuttosto che organici. Il miglior acido che è riuscito a catalizzare la reazione è stato l'acido

perclorico il quale è un acido estremamente forte con capacità ossidanti. Per confermare che non fosse la sua capacità da ossidante a favorire la reazione si è eseguita una reazione aggiungendo un forte ossidante. Si è effettuata una reazione con l'acido 2-iodossibenzonico (IBX) in quantità stechiometrica per osservare se la presenza di un ossidante potesse aumentare la resa della reazione. La conseguenza di questa aggiunta ha portato alla mancata formazione del prodotto P1, favorendo la formazione di sottoprodotti non identificati. Determinato il migliore acido si è proseguito a valutare il miglior rapporto molare rispetto al reagente limitante (Figura 33).

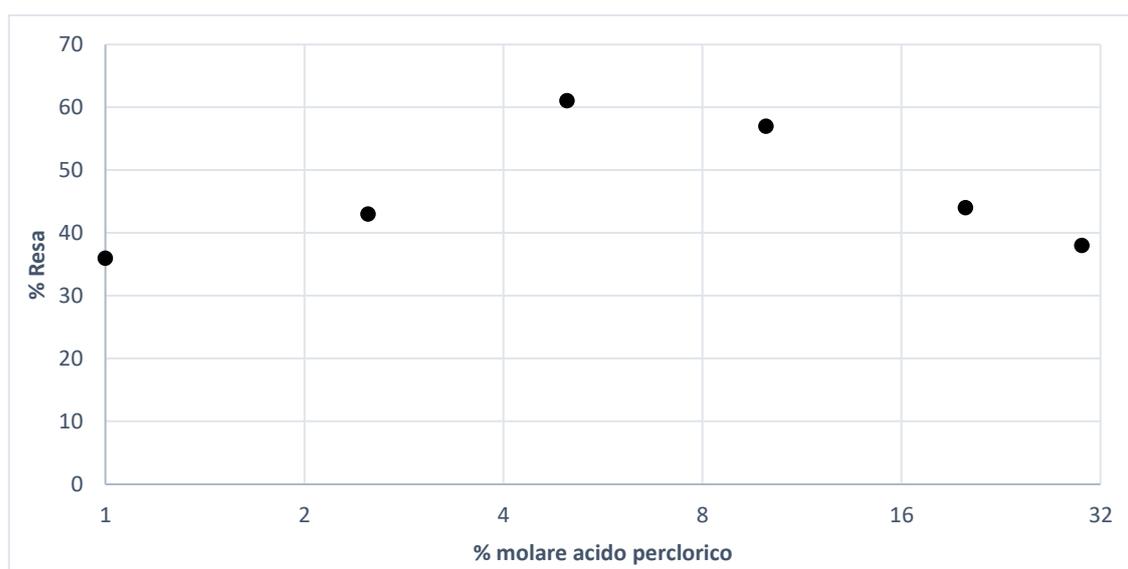


Figura 32 - Grafico che paragona la resa del prodotto di aromatizzazione contro il rapporto molare di acido perclorico

Il grafico mostra un evidente trend dove a basse concentrazioni di acido, esso non riesce a catalizzare la reazione ed addirittura il risultato sperimentale è peggiore alla reazione con solo il DMSO (MGA_035), stessa cosa avviene ad elevate concentrazioni. Una quantità pari al 5% molare di acido perclorico è risultata ottimale per promuovere efficacemente la reazione.

Per osservare se la reazione potesse essere catalizzata anche da una base si è deciso di effettuare un rapido screening di alcune basi per verificare questa possibilità.

Sono state provate una base organica ed una inorganica a campione per poi eventualmente estendere la ricerca.



Figura 33 - Condizioni di reazione dello screening del catalizzatore basico

Tabella 3 – Risultati screening catalizzatore basico

<i>Reazione</i>	<i>Base</i>	<i>Resa</i>
<i>MGA_043</i>	Trietilammina	50%
<i>MGA_044</i>	CS ₂ CO ₃	9%

Con questo screening si può affermare che l'aggiunta una base inorganica non favorisce la formazione del prodotto aromatico, la trietilammina invece ha permesso di ottenere una buona resa ma non di molto superiore alla reazione in assenza di catalisi.

3.2.2.3 Tempo di reazione

Lo screening è stato continuato portando avanti la reazione con il miglior risultato analitico, ovvero con l'aggiunta del 5% di acido perclorico, ed in questo specifico caso si è andato a variare il tempo di reazione per osservarne l'influenza sulla resa.

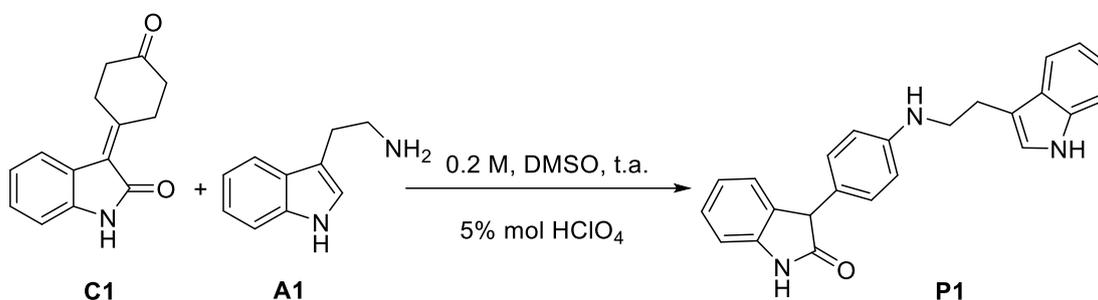


Figura 34 - Condizioni di reazione dello screening del tempo di reazione

Il miglior risultato sperimentale all'interno di questa prova è stato ottenuto dopo 18 ore di reazione, la resa del 59% ottenuta è molto simile a quella osservata nelle reazioni di screening del catalizzatore acido poiché il tempo di reazione coincideva. Per motivi logistici si è deciso di continuare lo screening della reazione con 18 ore come tempo di reazione.

Tabella 4 - Risultati screening tempo di reazione

Reazione	Tempo	Resa
MGA_065	8h	52%
MGA_066	15h	48%
MGA_069	18h	59%
MGA_070	21h	54%

3.2.2.4 Concentrazione



Figura 35 - Condizioni di reazione dello screening della concentrazione

Il successivo parametro che è stato ottimizzato è la concentrazione della soluzione reagente. Al termine delle prove si è constatato che la concentrazione non influenza notevolmente la resa della reazione, le prove condotte a concentrazioni di 0.1 M, 0.2 M e 0.3 M hanno prodotto infatti la stessa resa (tabella 5).

Tabella 5 - Risultati screening concentrazione

Reazione	Concentrazione	Resa
MGA_069	0.2 M	59%
MGA_071	0.1 M	57%
MGA_074	0.4 M	47%
MGA_075	0.3 M	59%

Differente è la valutazione del risultato della reazione condotta con concentrazione pari a 0.4 M la quale ha mostrato un abbassamento della resa e la formazione di sottoprodotti che normalmente in DMSO non venivano a crearsi. Per tale motivo si è deciso di continuare lo screening mantenendo la concentrazione pari a 0.2M.

3.2.2.5 Stechiometria

Con questo screening si intende studiare l'effetto sulla resa della variazione del rapporto stechiometrico tra i reagenti.

La reazione normalmente avviene con un rapporto 1:1 dei reagenti, per osservare il comportamento della reazione sono stati provati i rapporti 1:1,5 e 1,5:1.

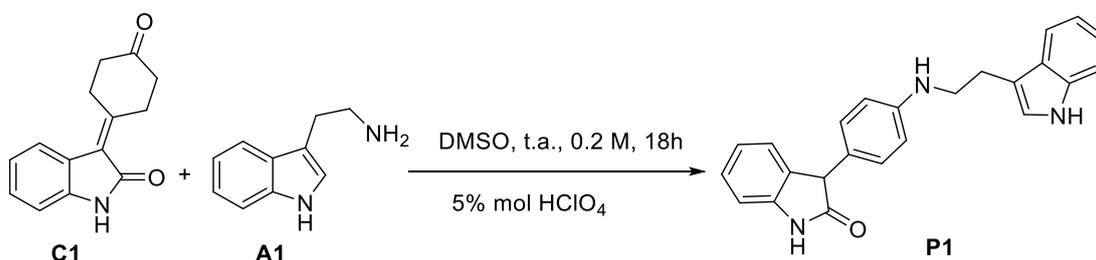


Figura 36 - Condizioni di reazione dello screening del rapporto stechiometrico dei reagenti

La prova MGA_076 con l'eccesso di A1 ha portato ad una resa esigua nel prodotto desiderato P1, i principali prodotti ottenuti sono stati sottoprodotti non identificati. Al contrario la prova con eccesso del chetone ossindolico C1 ha avuto una resa paragonabile a quella con rapporto stechiometrico 1:1 e non ha presentato sottoprodotti (tabella 6).

Tabella 6 - Risultati screening rapporto stechiometrico

Reazione	Rapporto C1/A1	Resa
MGA_076	1 : 1,5	5%
MGA_077	1,5 : 1	57%

Alla luce di questi risultati si è deciso di continuare ad usare i reagenti in rapporto 1:1 per limitare la quantità in uso non essendoci un riscontro pratico nella resa.

3.2.2.6 Temperatura

L'ultimo screening effettuato è stato sulla temperatura. Il fatto che la reazione avvenga in DMSO permette anche una certa flessibilità delle condizioni dato che è un solvente altobollente e con bassissima tensione di vapore.

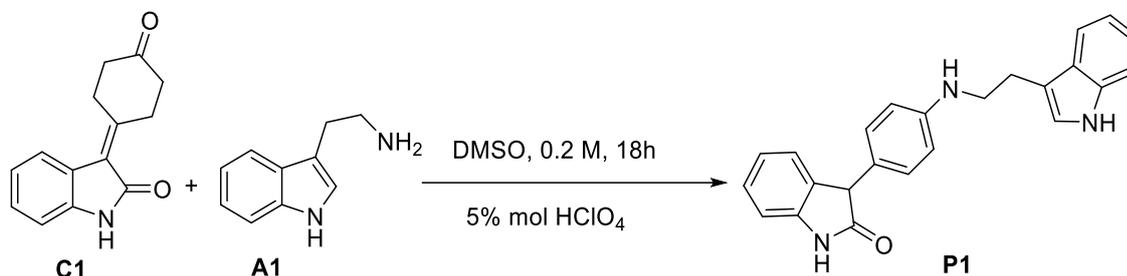


Figura 37 - Condizioni di reazione dello screening di temperatura

Come si osserva dalla tabella 7 è stato necessario effettuare anche delle variazioni del tempo di reazione questo perché la temperatura va ad influenzare la velocità di reazione. L'incremento di temperatura non ha portato ad un aumento di resa rispetto alla reazione condotta a 25°C, ma dai risultati è possibile osservare un effetto secondario ovvero la riduzione del tempo di reazione a parità di resa.

Tabella 7 - Risultati screening temperatura

Reazione	Temperatura	Tempo di reazione	Resa
MGA_079	40°C	4h	51%
MGA_081	40°C	6h	50%
MGA_082	40°C	6h	53%
MGA_083	80°C	0.5h	56%
MGA_080	80°C	1.5h	61%
MGA_084	80°C	1h	58%
MGA_078	80°C	4h	54%

Questo effetto è lampante nella reazione MGA_080 dove si raggiunge il valore del 61% di resa in sole 1,5 ore.

3.2.3 Verifica della generalità della reazione

Una volta ottimizzata la reazione è stato necessario verificare che la reazione sia estendibile ad altri substrati, ovvero che l'aromatizzazione del ciclo possa avvenire a prescindere dell'impiego dell'ossindolo. Variare i substrati potrebbe aiutare anche a comprendere se il limite raggiunto di resa non sia superabile per problematiche legate al meccanismo di reazione o se sia semplicemente legato ai due reagenti impiegati nello screening.

3.2.3.1 Substrato amminico

La prova è stata quindi ripetuta impiegando la butilammina (A2) al posto della triptammina (A1). La reazione tra i due substrati nelle condizioni di reazione riportate (Figura 38) ha portato alla formazione del prodotto P2 con una resa del 28,3%.

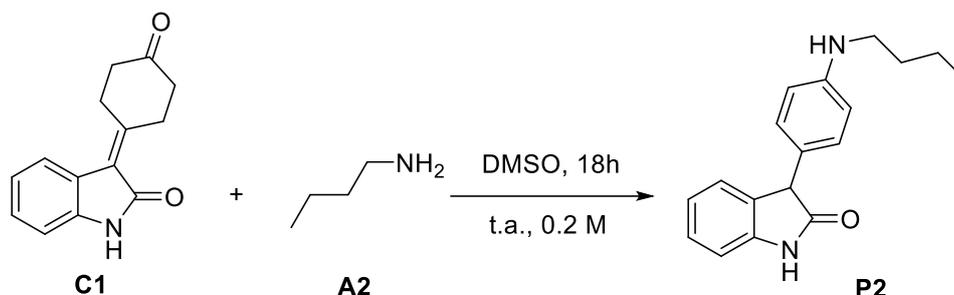


Figura 38 - Reazione tra l'indolinone e la butilammina per dare la corrispondente arilammina

Questo evidenzia la possibilità di generalizzazione della reazione utilizzando altre ammine diverse dalla triptammina.

3.2.3.2 Substrato chetonico

Per espandere lo scopo della reazione si è deciso di sintetizzare un substrato che non contenesse uno scheletro ossindolico, ma che comunque avesse simili caratteristiche, si è deciso di mantenere un carbonile in alfa al doppio legame affiancandolo ad un altro gruppo elettron accettore.

La scelta del substrato chetonico con il quale effettuare la reazione è ricaduta sul Etil 2-ciano-2-(4-ossocicloesilidene) acetato rappresentato in figura 39.

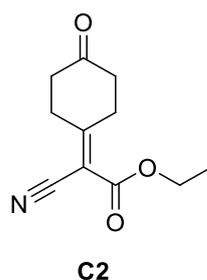


Figura 39 – Ethyl 2-cyano-2-(4-oxocyclohexylidene)acetate

Anche la molecola C2 è stata sintetizzata attraverso una condensazione di Knoevenagel, come il substrato chetonico C1. Il miglior risultato sperimentale è stato ottenuto con le condizioni riportate in figura 40.

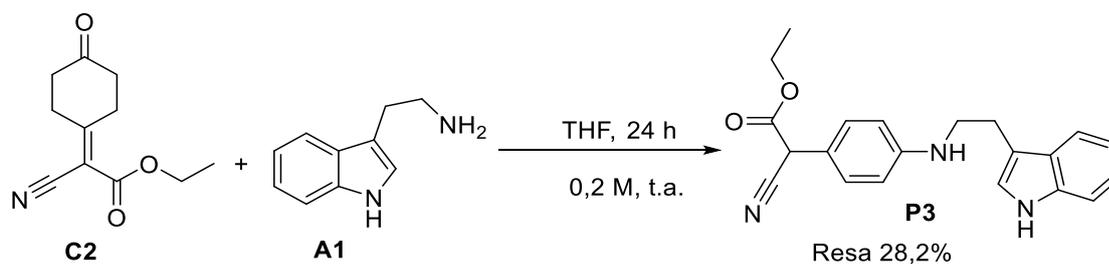


Figura 40- Reazione tra ethyl 2-cyano-2-(4-oxocyclohexylidene)acetate e triptamina

La reazione effettuata in DMSO per 1h a 80°C, ovvero le migliori condizioni ottenute dallo screening, hanno portato ad una resa nel prodotto P3 del solo 7,5%.

3.3 Meccanismo di reazione

3.3.1 Ipotesi meccanismo della reazione

Durante lo screening dei solventi, per la precisione durante la reazione MGA_030 si è osservata la presenza di un sottoprodotto durante le prime ore di reazione.

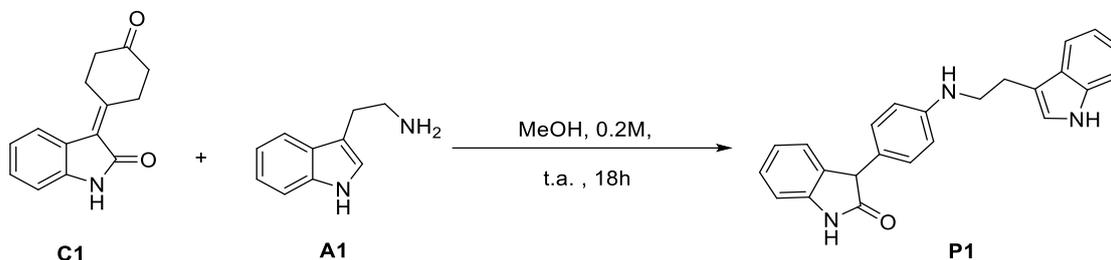


Figura 41 - Reazione MGA_030

Nell'operazione di purificazione del prodotto attraverso una colonna cromatografica si è notato che esso veniva degradato in un ulteriore prodotto.

Il sottoprodotto iniziale per questa motivazione non è stato possibile caratterizzarlo ma al contrario attraverso lo studio NMR e la caratterizzazione attraverso la Massa si è potuto osservare la presenza del seguente composto K2:



Figura 42 – Possibile prodotto di degradazione dell'intermedio di reazione

Dal risultato si è ipotizzato che questo sottoprodotto, potesse essere il risultato dalla degradazione su silice del relativo ione imminio K1 (Figura 44) il quale si viene ad idrolizzare e viene ripristinato il carbonile (Figura 43)

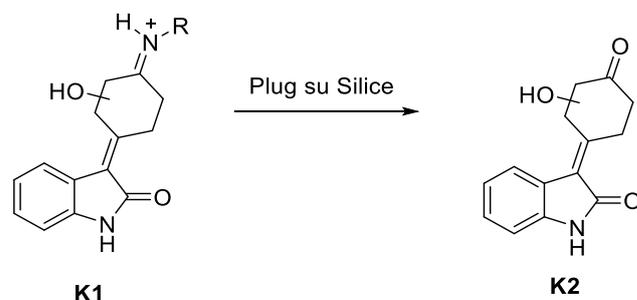


Figura 43 – Reazione di degradazione dell'immina

Essendo presente solo durante la prima parte della reazione e venendo a scomparire successivamente quando poi si veniva ad osservare la presenza del prodotto di aromatizzazione si è ipotizzato che questo composto potesse essere un intermedio, il quale fosse più stabile all'interno dell'ambiente di reazione in metanolo e quindi fosse osservabile. Non si è riusciti a determinare la posizione dell' OH sul ciclo attraverso uno studio NMR NOE ed HSQC per la poca quantità di sostanza che rendeva gli spettri di difficile comprensione.

Per descrivere il fenomeno osservato sperimentalmente si è cercato di impostare una ipotesi di quello che potrebbe essere il meccanismo di reazione, ovviamente è da comprendere ancora tutto il meccanismo di tipo ossidativo che vi è dietro.

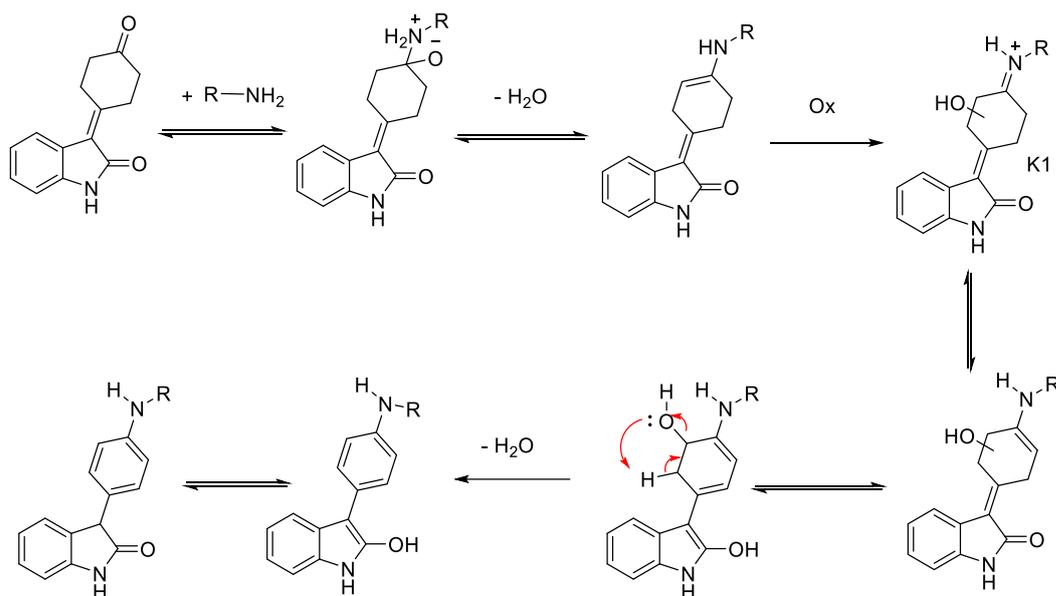


Figura 44 - Ipotesi del meccanismo di reazione

All'interno del meccanismo si può osservare che la presenza di un gruppo elettroattrattore di tipo carbonilico sembra poter essere fondamentale per formare uno dei doppi legami all'interno dell'anello per propagazione degli elettroni

attraverso la tautomeria cheto-enolica, la presenza di questo gruppo in entrambi i substrati C1 e C2 avvalorata questa ipotesi. Il secondo doppio legame viene formato dall'equilibrio enammina-ione imminio. Per quanto riguarda la spiegazione sulla formazione dell'ultima insaturazione che porta poi l'aromatizzazione non si è certi di come avvenga.

3.3.2 Prove legate al meccanismo di reazione

Sono state effettuate delle prove per controllare l'impatto della quantità di acqua presente nell'ambiente di reazione sulla formazione del prodotto.

Tabella 8 - Prove di addizione di acqua alla reazione

<i>Reazione</i>	<i>Quantità di acqua</i>	<i>Resa</i>
<i>MGA_102</i>	DMSO- <i>d</i> ₆ anidro	61%
<i>MGA_069</i>	DMSO non anidro	59%
<i>MGA_067</i>	DMSO + 10 mg	35%
<i>MGA_068</i>	DMSO + 20 mg	30%

Come si evidenzia dalla tabella la presenza di ulteriore acqua all'interno dell'ambiente di reazione ha un effetto negativo sulla resa.

Successivamente delle reazioni di tipo qualitativo sono state effettuate per cercare di osservare se ad incidere su questo frangente ossidativo incognito fossero reazioni radicaliche in concomitanza o meno alla presenza di ossigeno.

Una prova è stata effettuata con l'aggiunta stechiometrica di butilidrossitoluene (BHT), un fenolo alchilato con note proprietà antiossidanti nei polimeri, il quale è stato sfruttato per intrappolare i radicali che si sarebbero potuti formare ed evitare quindi l'aromatizzazione del composto P1. Nonostante l'addizione di questo composto si è osservata la formazione del prodotto, questa prova non esclude comunque il coinvolgimento di radicali. Una reazione è stata effettuata facendo andare la reazione al buio ed un'altra esclusivamente esposta a luce LED per osservare se fosse uno step fotoradicalico, ma entrambe le reazioni hanno portato all'ottenimento del prodotto P1.

4 CONCLUSIONI

L'obiettivo prefissatosi di riuscire ad ottenere una nuova strategia sintetica per la sintesi di arilammine è stato portato a compimento con discreti risultati.

La reazione è uno dei pochi esempi fino ad ora di formazione di ammine aromatiche senza l'impiego di catalizzatori metallici.

Il meccanismo ipotizzato sembra essere riconducibile ad un'ossidazione, ma non si è riusciti a capire la natura di tale passaggio sintetico.

Nonostante non si sia certi di come un secondo gruppo funzionale elettron-donatore vada ad influire sulla formazione del prodotto, si è riusciti a dimostrare che la presenza di un altro gruppo elettron-accettore come il ciano non vada ad influenzare negativamente la formazione del prodotto.

Questo permette di dimostrare la possibilità di estendere l'applicabilità della reazione sia a substrati amminici ma soprattutto chetonici.

Lo screening della reazione è andato a buon fine portando ad una resa finale del 61%, duplicando la resa ottenuta durante la prima reazione.

4.1 Prospettive Future

Questa metodica fornisce un nuovo strumento di sintesi per la formazione di arilammine, il quale però dovrà essere ancora ampiamente studiato. Uno dei punti principali da comprendere è il meccanismo di reazione, parte non facile dato che la reazione non necessita di catalisi di alcun tipo né ha dato risposte evidenti alle prove di ossidazione e intrappolamento di radicali.

È necessario effettuare uno screening di gruppi funzionali per identificare il reale impatto di gruppi elettron-attrattori e elettron-donatori come sostituenti.

È necessario allargare lo scope della reazione impiegando anche ammine secondarie anziché primarie per valutare che effetto hanno sulla reazione. Un altro obiettivo è sicuramente quello di definire l'esatta struttura dell'intermedio per poter comprendere al meglio il meccanismo; per fare ciò è possibile sfruttare un'analisi NMR di tipo NOE integrata con un'analisi HSQC.

5 PARTE SPERIMENTALE

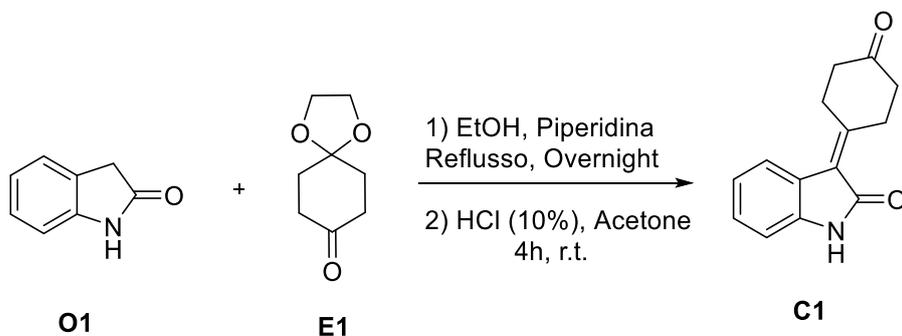
5.1 Informazioni generali

Gli spettri NMR, se non diversamente specificato, sono stati registrati utilizzando spettrometri Varian Inova 300 MHz, Varian Gemini 400 MHz in soluzione di cloroformio deuterato con 0.03% di tetrametilsilano come standard interno. I chemical shift sono forniti in δ (ppm) rispetto al TMS e le costanti di accoppiamento sono indicate in Hz. Per indicare le molteplicità dei segnali sono state impiegate le seguenti abbreviazioni: s, singoletto; d, doppietto; t, tripletto; q, quartetto; dd, doppietto di doppietto; ddd doppietto di doppietto di doppietto; m, multipletto. Le rese sono state determinate per pesata dopo purificazione. L'andamento delle reazioni è stato seguito tramite TLC utilizzando lastre in gel di silice supportato su alluminio di tipo Kieselgel. Le purificazioni finali sono state effettuate per cromatografia flash su colonna, utilizzando come fase fissa silice Kieselgel (4.0 μm – 6.3 μm ; Fluka)

I reattivi ed i solventi sono prodotti commerciali e sono utilizzati senza ulteriore purificazione, salvo diversa dicitura.

5.2 Sintesi dei substrati

Procedura per la sintesi di 3-(4-oxocyclohexylidene)indolin-2-one



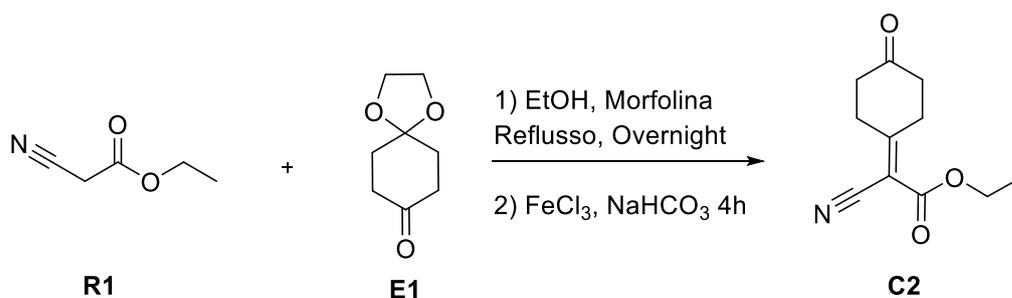
1) In un pallone da 50 mL, dotato di agitatore magnetico e contenente una sospensione di indolin-2-one (1.33 gr, 10 mmol, 1 eq.) e 1,4-dioxaspiro[4.5]decan-8-one (1.56 gr, 10 mmol, 1 eq.) in una soluzione di 20 mL

di etanolo alla quale viene addizionata piperidina (1 ml, 10 mmol, 1 eq.). La reazione viene lasciata reagire overnight a refluxo. Al termine della reazione l'intermedio E2, poco solubile in etanolo, precipita ed è possibile recuperarlo attraverso filtrazione su carta filtro. La resa del prodotto protetto dal gruppo acetale E2 del solo filtrato è del 67%. È possibile recuperare ulteriore intermedio E2 effettuando una colonna cromatografica (esano / acetone 1:1) del soluto in etanolo. La resa finale del prodotto E2 è del 84%. 2) In un pallone da 200 mL, munito di agitatore magnetico e contenente 3-(1,4-dioxaspiro[4.5]decan-8-ylidene)indolin-2-one (2.28 gr , 8.4 mmol, 1 eq.) vengono aggiunti 40 mL di una soluzione al 10% di HCl e 80 mL di acqua. La reazione viene condotta a temperatura ambiente per 4 ore, al termine delle quali il prodotto, unica sostanza presente in soluzione, viene estratto con etil acetato (3 lavaggi da 50 mL), anidrificato con MgSO₄ ed una volta rimosso il sale tramite filtrazione. Il prodotto C1 si mostra come un solido di colore ocra. La resa del prodotto 3-(4-oxocyclohexylidene)indolin-2-one è del 99%, portando ad una resa complessiva del 83%.

300 MHz. ¹H-NMR: δ (ppm): δ 7.77 (s, 1H), 7.47 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.21 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.09 – 6.98 (m, 1H), 6.87 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 3.71 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H), 3.22 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H), 2.68 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H), 2.54 (dd, *J* = 7.8, 5.7 Hz, 2H).

300MHz. ¹³C NMR: δ (ppm) 211.21, 169.55, 155.61, 139.86, 128.40, 124.03, 123.38, 123.04, 121.90, 109.82, 53.43, 37.42, 37.16, 28.99, 25.62.

Procedura per la sintesi di ethyl 2-cyano-2-(4-oxocyclohexylidene)acetate



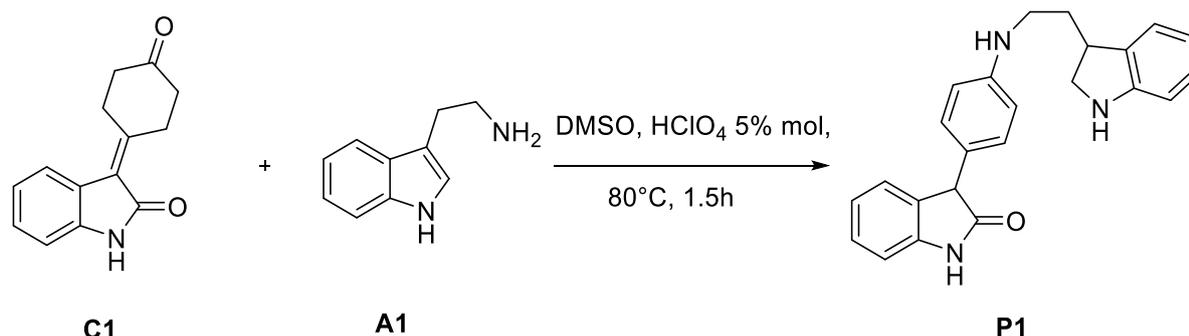
1) In un pallone da 50 mL, dotato di agitatore magnetico e contenente una sospensione di ethyl 2-cyanoacetate (1.1 ml, 10 mmol, 1 eq.) e 1,4-dioxaspiro[4.5]decan-8-one (1.56 gr, 10 mmol, 1 eq.) in una soluzione di etanolo (50 mL) alla quale viene addizionata morfolina (0,84 ml, 10 mmol, 1 eq.). La reazione viene lasciata reagire overnight a refluxo. Al termine della reazione l'intermedio, poco solubile in etanolo, precipita ed è possibile recuperarlo attraverso filtrazione su carta filtro. La resa del prodotto protetto dal gruppo acetale del solo filtrato è del 32%.

2) In un pallone da 100 mL, munito di agitatore magnetico e contenente ethyl 2-cyano-2-(1,4-dioxaspiro[4.5]decan-8-ylidene)acetate (0.8 gr, 3.2 mmol, 1 eq.) vengono aggiunto 45 mL di diclorometano ed FeCl₃·6H₂O (3 gr, 11,2 mmol, 3.5 eq.). La reazione viene condotta a temperatura ambiente per 4 ore, al termine delle quali si effettua un work up con NaHCO₃ saturo, si filtra la soluzione con celite. Successivamente si estrae la fase organica con diclorometano e si anidrifca con MgSO₄. Il prodotto si presenta come un solido di colore marrone chiaro. La resa del prodotto ethyl 2-cyano-2-(4-oxocyclohexylidene)acetate dopo deprotezione è del 21%, portando ad una resa complessiva del 7%.

300 MHz. ¹H-NMR: δ (ppm): 4.22 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 3.33 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H), 3.05 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H), 2.48 (q, *J* = 7.1 Hz, 4H), 1.28 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H).

400MHz. ¹³C NMR: δ 208.42, 174.51, 161.32, 114.76, 104.74, 62.02, 36.96, 36.86, 31.87, 27.97, 14.02.

Procedura per la sintesi di 3-(4-((2-(indolin-3-yl)ethyl)amino)phenyl)indolin-2-one

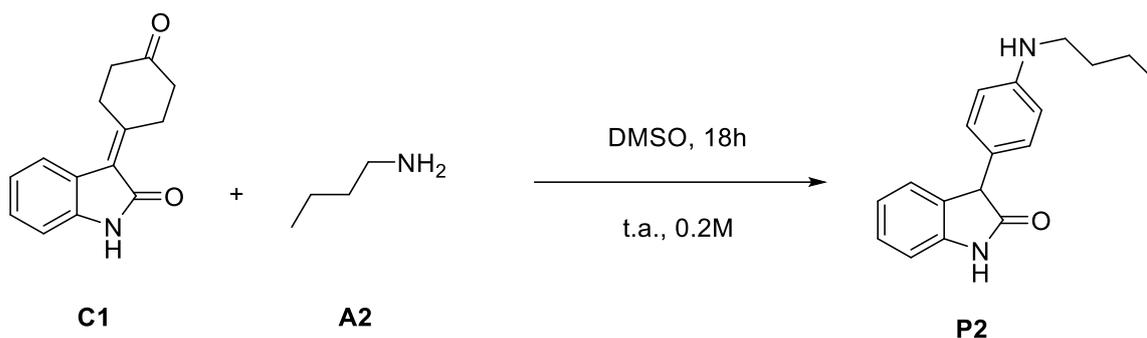


In un vial da 3 mL contenente un agitatore magnetico vengono solubilizzati 3-(4-oxociclohexilidene)indolin-2-one (22.7 mg, 0.1 mmol, 1 eq.) e triptamina (16 mg, 0.1 mmol, 1 eq.) con 500 μ L di soluzione composta da DMSO e HClO₄ 5% molare e lasciata reagire per 1.5 ore ad 80°C in un bagno di silicone termoregolato. Al termine della reazione il grezzo di reazione viene estratto con etil acetato (3 lavaggi da 10 mL), anidrificato con MgSO₄ e poi filtrato su Gooch. La soluzione viene tirata a secco e purificata con una miscela 7:3 Diclorometano/Etil Acetato. Il prodotto P1 è un solido di colore bruno. Il prodotto viene isolato con una resa del 61% in 3-(4-((2-(indolin-3-yl)ethyl)amino)phenyl)indolin-2-one.

300 MHz. ¹H NMR: (DMSO-*d*₆) δ (ppm) 10.82 (s, 1H), 10.38 (s, 1H), 7.53 (ddt, $J = 7.8, 1.3, 0.7$ Hz, 1H), 7.34 (dt, $J = 8.0, 1.0$ Hz, 1H), 7.25 – 7.11 (m, 2H), 7.06 (ddd, $J = 8.1, 7.0, 1.3$ Hz, 1H), 7.06 – 6.93 (m, 2H), 6.92 (dd, $J = 7.4, 1.0$ Hz, 2H), 6.85 (m, 2H), 6.56 (m, 2H), 5.63 (s, 1H), 4.50 (s, 1H), 3.28 (dd, $J = 8.2, 6.7$ Hz, 2H), 2.94 (dd, $J = 8.2, 6.7$ Hz, 2H).

400 MHz. ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 178.39, 148.37, 143.11, 136.68, 131.27, 129.37, 128.19, 127.67, 125.11, 124.66, 123.21, 121.91, 121.32, 118.69, 118.65, 112.54, 112.51, 111.81, 109.69, 51.55, 44.33, 25.23.

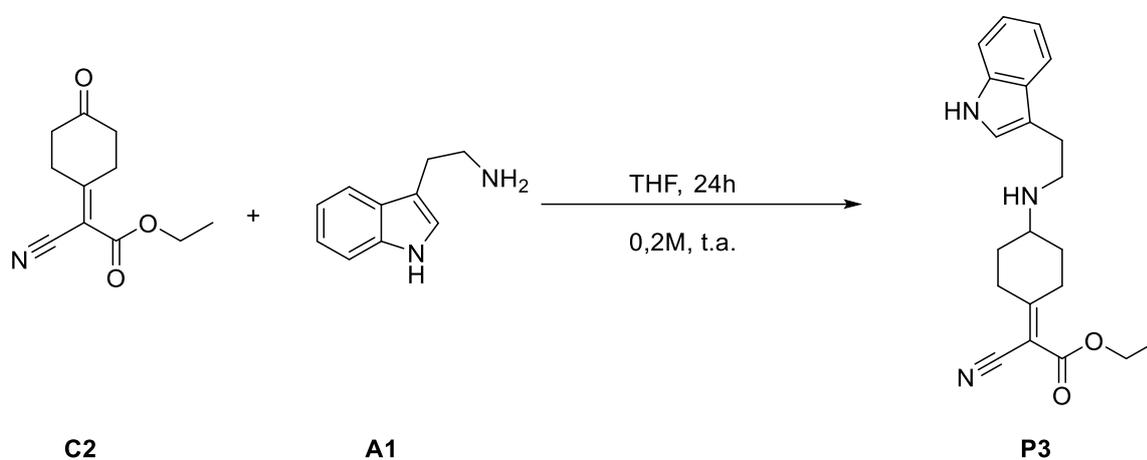
Procedura per la sintesi di 3-(4-(butylamino)phenyl)indolin-2-one



In un vial da 3 mL contenente un agitatore magnetico vengono solubilizzati 3-(4-oxocyclohexylidene)indolin-2-one (22.7 mg , 0.1 mmol, 1 eq.) e butilamina (10 μ L, 0.1 mmol, 1 eq.) con 500 μ L di DMSO, la reazione viene lasciata reagire per 18 ore a temperatura ambiente. Al termine della reazione il grezzo di reazione viene estratto con etil acetato (3 lavaggi da 10 mL), anidrificato con MgSO_4 e poi filtrato su Gooch. La soluzione viene tirata a secco e purificata con una miscela 7:3 Diclorometano/Etil Acetato. Il prodotto P2 è un solido di colore bruno. Il prodotto viene isolato con una resa del 28% in 3-(4-(butylamino)phenyl)indolin-2-one

300 MHz. ^1H NMR: (DMSO- d_6) δ : 10.37 (s, 1H), 7.32 – 7.13 (m, 1H), 7.04 – 6.77 (m, 5H), 6.54 – 6.45 (m, 2H), 5.49 (t, $J = 5.4$ Hz, 1H), 4.48 (s, 1H), 2.96 (q, $J = 6.6$ Hz, 2H), 1.50 (p, $J = 6.8$ Hz, 2H), 1.36 (h, $J = 7.1$ Hz, 2H), 0.90 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H).

Procedura per la sintesi di ethyl 2-(4-((2-(1H-indol-3-yl)ethyl)amino)cyclohexylidene)-2-cyanoacetate



In un vial da 3 mL contenente un agitatore magnetico vengono solubilizzati ethyl 2-cyano-2-(4-oxocyclohexylidene)acetate (20.7 mg, 0.1 mmol, 1 eq.) e triptamina (16 mg, 0.1 mmol, 1 eq.) con 500 μL di THF, la reazione viene lasciata reagire per 24 ore a temperatura ambiente. Al termine della reazione il grezzo di reazione viene estratto con etil acetato (3 lavaggi da 10 mL), anidrificato con MgSO_4 e poi filtrato su Gooch. La soluzione viene tirata a secco e purificata con una miscela 4:1 Esano/Acetone. Il prodotto P3 è un solido di colore rosso scuro. Il prodotto viene isolato con una resa del 28% in ethyl 2-(4-((2-(1H-indol-3-yl)ethyl)amino)cyclohexylidene)-2-cyanoacetate

300 MHz. ^1H NMR: ($\text{DMSO-}d_6$) δ : 10.85 – 10.77 (m, 2H), 7.54 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H), 7.42 – 7.29 (m, 1H), 7.27 – 6.94 (m, 4H), 6.65-6.49 (s, 3H), 6.09 (s, 4H), 1.38 – 1.10 (m, 9H).