

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 e caratterizzazione di catalizzatori
squaramidici chirali e loro applicazione ad
una reazione aldolica enantioselettiva

Tesi di laurea sperimentale

CANDIDATO

Marco Guidotti

RELATORE

Prof. Luca Bernardi

CORRELATORE

Giorgiana Denisa Bisag

Anno Accademico 2020-2021

Riassunto

L'utilizzo dell'organocatalisi asimmetrica in ambito industriale sta ricevendo sempre più attenzioni negli ultimi anni per via dei suoi numerosi vantaggi. Uno degli esempi riportati è rappresentato dalla sintesi del Funapide, un ossindolo contenente uno spirociclo chirale, che sta venendo testato come farmaco contro la nevralgia post-erpetica dalla Xenon Pharmaceuticals. Lo step sintetico chiave della sintesi è una reazione aldolica asimmetrica tra un ossindolo e la formaldeide, catalizzata da un organocatalizzatore bifunzionale di origine tioureidica, il cui eccesso enantiomerico però risulta non del tutto soddisfacente. In questo lavoro di tesi si è studiata la possibilità di migliorare l'enantioselezione di questa reazione utilizzando catalizzatori della medesima classe ma di origine squaramidica per via delle loro interessanti proprietà. Sono stati quindi sintetizzati otto catalizzatori squaramidici diversamente funzionalizzati per poi essere testati in uno screening preliminare su un substrato simile a quello target. Quello che ha dato i risultati migliori è stato successivamente utilizzato per ottimizzare i parametri di reazione applicati poi sul substrato target e su un'ulteriore variante di quest'ultimo.

Abstract

Recently, the application of asymmetric organocatalysis on industrial scale is becoming more and more relevant because of its many advantages. One of the reported examples is the synthesis of Funapide, an oxindole with a chiral spirocycle, which has been tested as a drug candidate against the postherpetic neuralgia by Xenon Pharmaceuticals. The key step in its synthesis is an asymmetric aldol reaction between an oxindole and formaldehyde, catalyzed by a thioureidic bifunctional organocatalyst, which affords the product with a moderate enantiomeric excess. In this thesis, it was studied the possibility to improve the enantioselectivity of the aldol reaction by using catalysts of the same class but with squaramide groups instead of thioureas, because of their powerful catalytic properties. We synthesized eight different functionalized squaramide catalysts, and then we tested them in a preliminary screening on a substrate similar to the target. The one who showed the best results was then used to optimize the reaction parameters, and applied to the target substrate.

Sommario

1.Introduzione	1
1.1. Organocatalisi	1
1.2. Sintesi del Funapide.....	1
1.3. Catalizzatori Bifunzionali	6
1.3.1. Catalizzatori bifunzionali di origine squaramidica.....	8
2.Obiettivi della tesi	10
3.Risultati e discussione.....	12
3.1. Sintesi dei catalizzatori	12
3.1.1. Sintesi ammina chirale.....	12
3.1.2. Sintesi catalizzatore tioureidico	14
3.1.3. Sintesi one-pot catalizzatori squaramidici	15
3.1.4. Sintesi in due step di catalizzatori squaramidici.....	16
3.2. Reazione aldolica enantioselettiva.....	19
4.Conclusioni	26
5.Parte sperimentale	28
6.Bibliografia.....	41

1.Introduzione

1.1. Organocatalisi

L'organocatalisi è uno dei tre pilastri fondamentali della catalisi asimmetrica insieme alla bio- e alla metallo-catalisi. Essa consiste nell'utilizzo di molecole organiche chirali, relativamente piccole, come catalizzatori enantioselettivi di reazioni organiche, necessarie per la formazione di intermedi farmaceutici, composti naturali e complesse molecole biologicamente attive. L'utilizzo di molecole organiche come alternativa a complessi metallici comporta notevoli vantaggi come, ad esempio, la diminuzione di tossicità dovuta alla totale assenza di metalli, il minor costo e la più facile reperibilità. Tuttavia, l'organocatalisi asimmetrica è stata utilizzata su larga scala solo recentemente per via della minor attività catalitica delle molecole organiche rispetto ad enzimi e metalli. I risultati ottenuti però, hanno incrementato l'interesse verso la sua applicazione in abito industriale che risulta essere sempre più promettente.^{1,2}

1.2. Sintesi del Funapide³

Un esempio di organocatalisi enantioselettiva applicata all'industria è la sintesi del Funapide, un candidato farmaceutico studiato dalla Xenon Pharmaceuticals in collaborazione con Teva per il trattamento della patologia nota come nevralgia post-erpetica. Il Funapide è un ossindolo spirociclico chirale ed è stato individuato come antagonista della proteina del canale del sodio Nav1.7. La prima sintesi utilizzata nella fase uno degli studi clinici (*Figura 1*) è stata applicata con successo su larga scala, pur presentando dei difetti considerevoli:

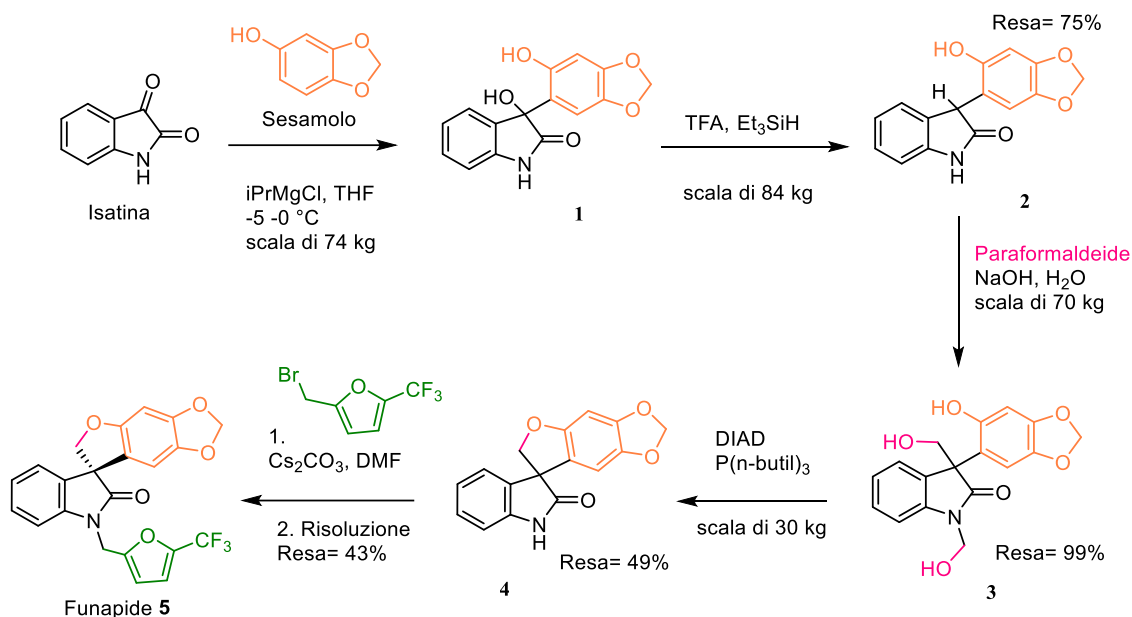


Figura 1 Sintesi preliminare del Funapide

- La reazione aldolica promossa da base tra il composto **2** e la formaldeide produce una miscela racemica del prodotto **3**. Questo comporta la necessità di una risoluzione, che viene effettuata mediante cromatografia su fase stazionaria chirale per ottenere l'enantiomero desiderato. Inoltre, la reazione porta alla formazione di un emiamminale non necessario tramite l'aggiunta di un secondo equivalente di formaldeide.
- I sottoprodotti fosfinici della ciclizzazione di Mitsunobu (da **3** a **4**) richiedono una cromatografia su larga scala per essere rimossi.
- L'alchilazione del composto **4**, effettuata tramite un derivato bromo metil furanico, incrementa la sua solubilità rendendo più facile la risoluzione per cromatografia che però viene effettuata alla fine della sintesi riducendo di molto l'efficienza del processo. Inoltre, l'utilizzo di un bromuro alchilante potenzialmente genotossico nell'ultimo stadio della sintesi comporta un notevole rischio di contaminazione del prodotto finale **5**.

La strategia di una via sintetica asimmetrica nasce quindi per poter evitare l'utilizzo di una risoluzione cromatografica su larga scala. Essa consiste nell'installazione della funzionalità alcolica tramite alchilazione asimmetrica con catalizzatore a trasferimento di fase (Figura 2) richiedendo però la protezione dei siti sensibili all'alchilazione della molecola **2** identificati nella funzionalità fenolica del sesamolo e nell'atomo di azoto ossindolico.

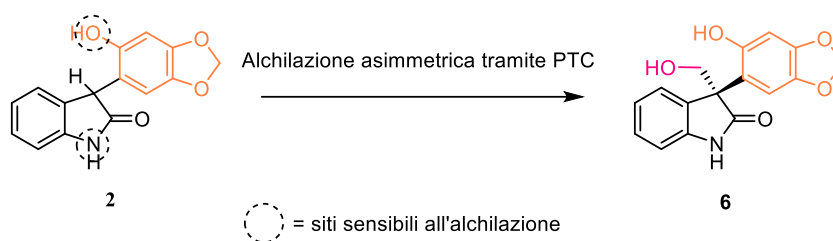


Figura 2 Alchilazione asimmetrica

E' stato utilizzato un gruppo protettore di tipo benzilico per la funzionalità fenolica per poter effettuare una deprotezione simultanea con quella del gruppo alchilico all'azoto e quindi risparmiare uno step sintetico. Dopo aver protetto i siti sensibili è stata effettuata l'alchilazione enantioselettiva del composto **7** utilizzando il catalizzatore a trasferimento di fase di Lygo che ha permesso di ottenere il prodotto **8** con un buon eccesso enantiomerico (Figura 3):

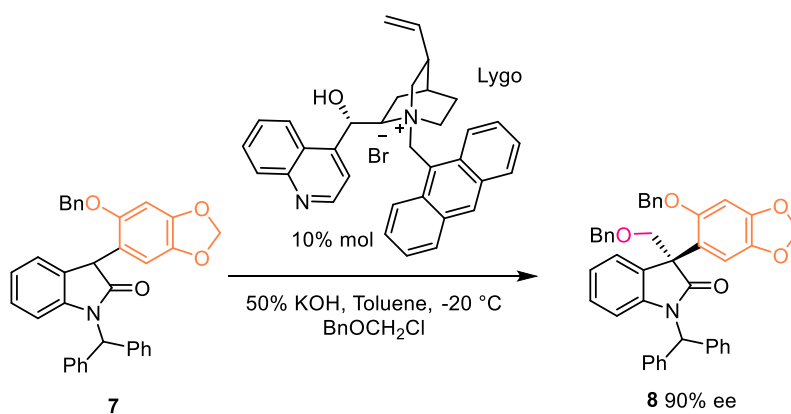


Figura 3 Step di alchilazione asimmetrica per PTC con catalizzatore di Lygo

Nella reazione di ciclizzazione di Mitsunobu, step immediatamente successivo alla catalisi in Figura 3, è stata utilizzata una fosfina in grado di essere rimossa tramite trattamento acquoso acido rendendo quindi non necessaria la purificazione per cromatografia. La via sintetica enantioselettiva di prima generazione condivide l'ultimo step sintetico con la prima sintesi descritta, e quindi anche la problematica della contaminazione del prodotto con impurezze genotossiche, oltre ad avere un numero maggiore di step sintetici. Inoltre, per portare l'eccesso enantiomerico ottenuto (90%) a quello richiesto (99%), sono necessarie diverse ricristallizzazioni il che ha fornito lo spunto necessario per sviluppare una via sintetica enantioselettiva di seconda generazione.

I ricercatori si sono quindi concentrati sullo sviluppo della reazione aldolica asimmetrica tra formaldeide e ossindolo utilizzando catalizzatori bifunzionali, ottenendo i risultati migliori con le seguenti condizioni (*Figura 4*):

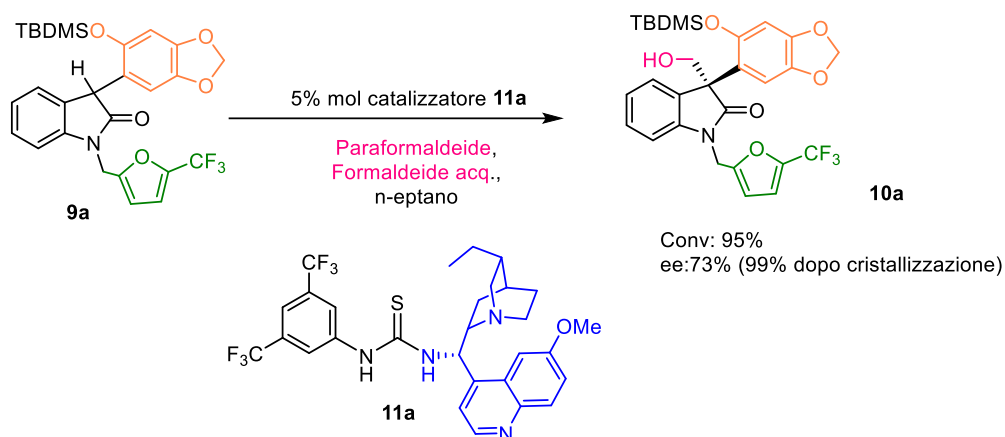


Figura 4 Reazione aldolica enantioselettiva con catalizzatore bifunzionale tioureidico

Lo studio della reazione si è focalizzato sull'utilizzo di derivati degli alcaloidi della *Cinchona* (es. **11a** in *Figura 4*) come catalizzatori in quanto hanno mostrato una notevole capacità di ridurre impurezze e sottoprodotti. Questo ha però comportato la necessità di modificare il substrato per evitare che la formazione di legami ad idrogeno di quest'ultimo col catalizzatore inibisse la sua enantioselezione. Lo step di alchilazione dell'atomo di azoto ossindolico è stato quindi anticipato, riducendo il numero di step sintetici richiesti e rimuovendo inoltre la problematica della contaminazione del prodotto finale con un alchil bromuro (*Figura 5*). La reazione ha dato i migliori risultati se effettuata come slurry lievemente concentrato in *n*-eptano con un carico catalitico che passa dal 5% al 1,1%, condizioni che portano alla precipitazione del prodotto di reazione **10a** durante il processo. L'utilizzo di concentrazioni minori diminuiva infatti l'eccesso enantiomerico della reazione, suggerendo che la funzionalità idrossilica del prodotto **10a** potesse competere con la formaldeide nel legarsi al catalizzatore. Nelle condizioni migliori è stato ottenuto un eccesso enantiomerico discreto, il che ha reso necessario un unico step di cristallizzazione, effettuata in metanolo, che lo ha incrementato fino ai livelli richiesti (da 73% al 99%).

La via sintetica di seconda generazione ha quindi apportato notevoli migliorie alla sintesi su scala industriale (Figura 5):

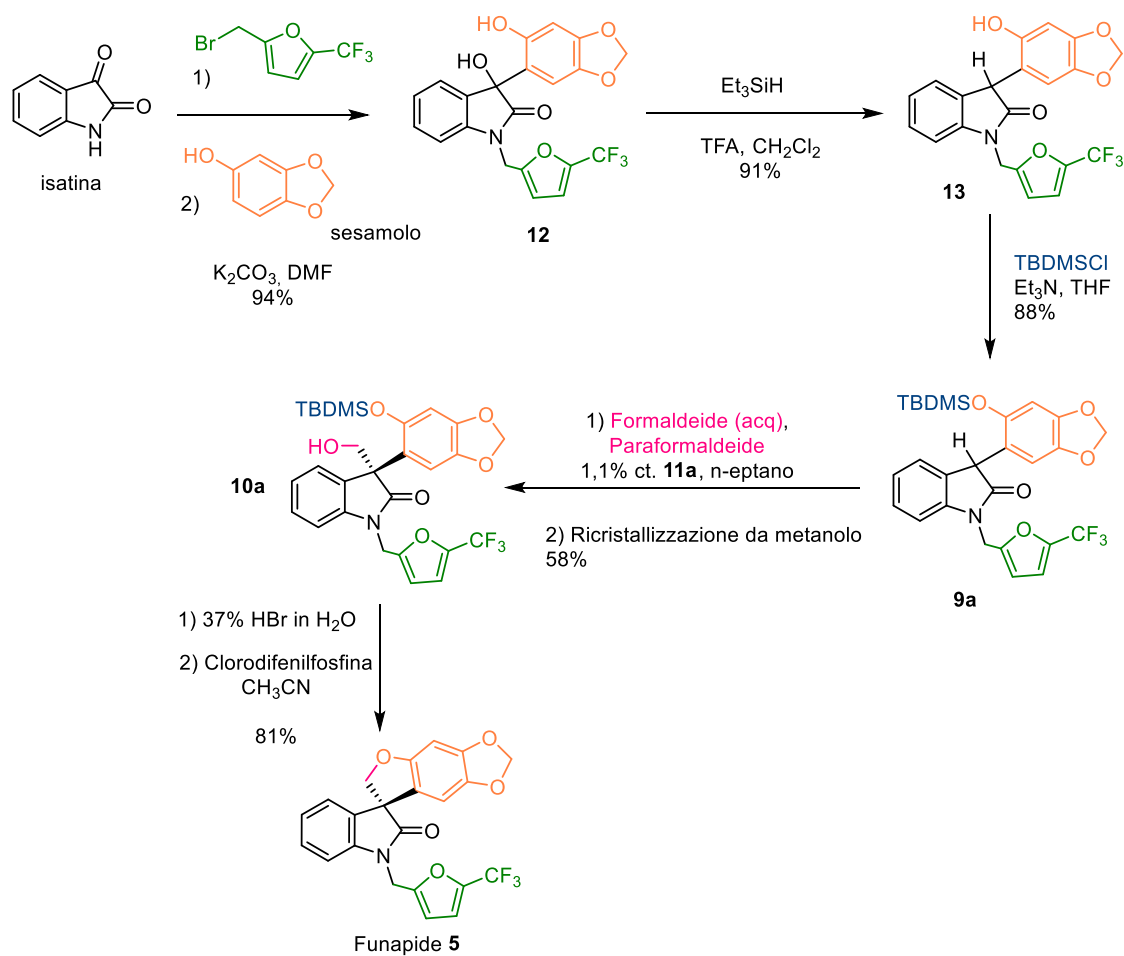


Figura 5 Sintesi di seconda generazione del Funapide

1.3. Catalizzatori Bifunzionali

I catalizzatori utilizzati nella sintesi asimmetrica di seconda generazione del Funapide fanno parte della classe degli **organo-catalizzatori bifunzionali**.

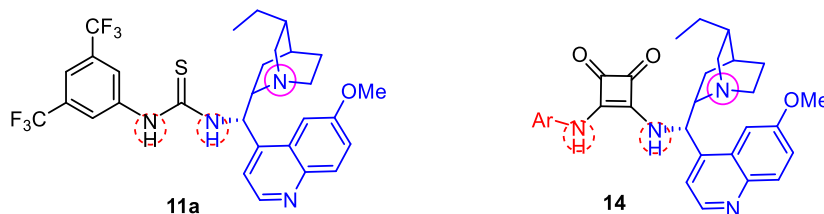


Figura 6 Esempio di catalizzatori bifunzionali

La struttura generale dei catalizzatori bifunzionali prevede una base di Brønsted, che nel caso in questione è un'ammina terziaria (cerchiata in viola in *Figura 6*) collegata ad un intorno chirale e delle funzionalità donatrici di protoni (cerchiate in rosso in *Figura 6*) come, ad esempio, alcoli, fenoli, tiouree (**11a**) e squaramidi (**14**), che sono noti come donatori "neutri" di legami ad idrogeno in quanto non posseggono un'acidità tale per cui si avrebbe la protonazione della funzionalità basica del catalizzatore, necessaria per il funzionamento enantioselettivo dello stesso. Questa classe di catalizzatori agisce sulle reazioni aldoliche tramite l'enolizzazione "soft", che prevede la formazione dell'enolato promossa dall'azione congiunta di un acido di Lewis e di una base debole di Brønsted. Un chiaro esempio del loro funzionamento è dato dall'azione del catalizzatore di Takemoto (**11b**) sull'addizione di malonati a nitroalcheni (*Figura 7*)⁴:

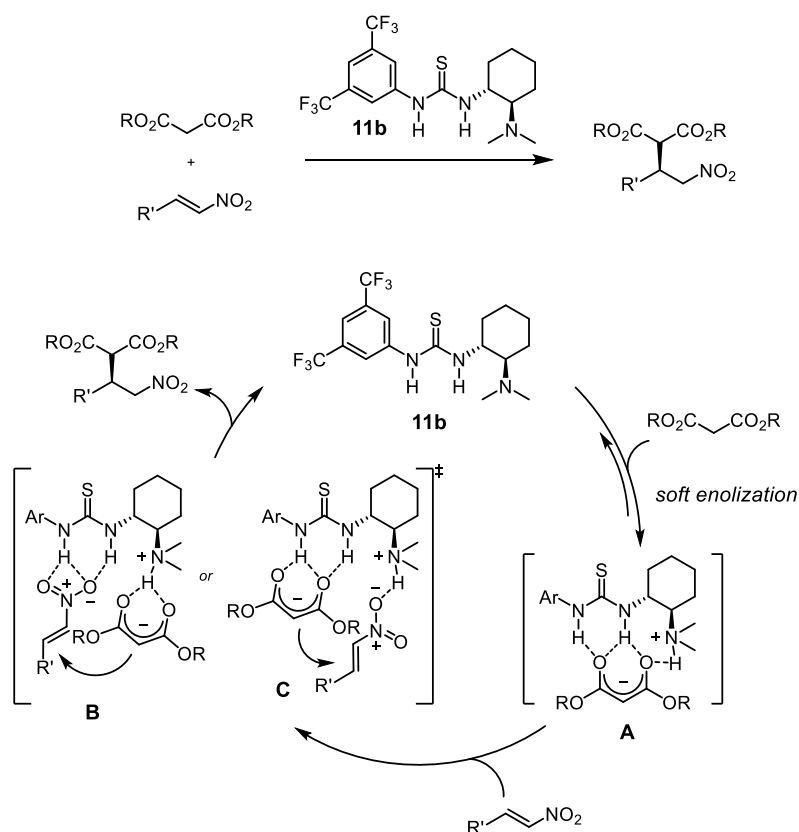


Figura 7 Funzionamento del catalizzatore bifunzionale di Takemoto

L'enolizzazione del malonato viene attivata tramite la sua coordinazione via ponti ad idrogeno con i gruppi N-H del catalizzatore di Takemoto **11b**. Questa coordinazione incrementa l'acidità del protone del malonato che viene facilmente strappato dall'ammina terziaria presente anch'essa sul catalizzatore. Lo ione ammonio così formatosi contribuisce tramite un ulteriore ponte ad idrogeno alla stabilizzazione dell'enolato, mostrata nel complesso **A** in Figura 7. A questo punto avviene l'attivazione dell'elettrofilo (il nitroalchene), anch'essa per coordinazione con il catalizzatore, con formazione di un complesso ternario. L'attivazione simultanea delle due specie porta alla formazione del legame C-C generando un nitronato che si separa dal catalizzatore dopo aver ricevuto un protone dallo ione ammonio di quest'ultimo. Sono stati proposti due stati di transizione ad energia lievemente differente che descrivono la formazione del legame C-C. Lo stadio descritto da Takemoto prevede che la nitrolefina si coordini alla porzione tioureidica del catalizzatore mentre l'enolato interagisca con lo ione ammonio (stato di transizione **B** in Figura 7) mentre quello descritto da Pàpai *et al.*⁴ mostra una coordinazione opposta. Vista la minima differenza energetica tra i due, è ragionevole pensare che lo stato di transizione effettivo, e la conseguente configurazione stereochimica del prodotto, dipenda esclusivamente dai substrati utilizzati.

1.3.1. Catalizzatori bifunzionali di origine squaramidica

Il primo utilizzo di organocatalizzatori enantioselettivi squaramidici risale al 2008 quando Rawal li utilizzò in una reazione di addizione di composti dicarbonilici a nitroalcheni⁵. Fino a quel momento erano infatti utilizzati unicamente come recettori di anioni in studi di riconoscimento molecolare.

Le squaramidi presentano un funzionamento analogo alla loro controparte tioureidica ma con delle sostanziali differenze strutturali⁶ che ne influenzano la catalisi, ovvero rigidità, distanza tra i gruppi N-H, angolo formato tra i legami ad idrogeno e pK_a . La rigidità strutturale è una caratteristica comune di squaramidi e tiouree dovuta principalmente alla capacità di delocalizzare il doppietto libero dell'azoto, comportando una limitata rotazione del legame C-N, e arrivando a coinvolgere i doppi legami carbonio-eteroatomo. La stabilità delle strutture di risonanza delle squaramidi, e quindi la loro rilevanza, risulta essere decisamente superiore alle analoghe tioureidiche per via del coinvolgimento di un anello ciclobutendionico semi-aromatico (*Figura 8*).

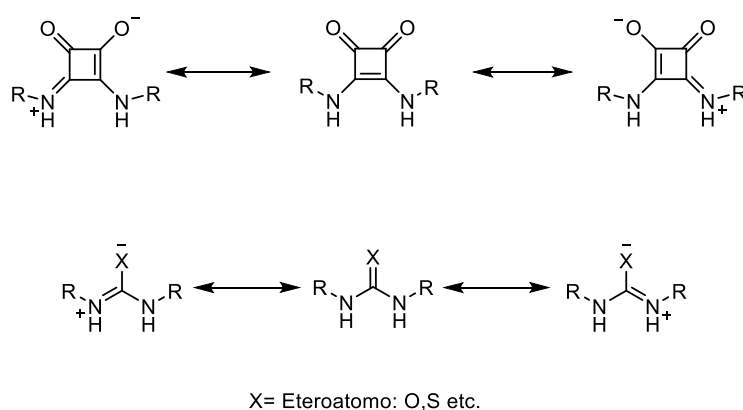


Figura 8 Formule di risonanza di squaramidi e tiouree

Questa rigidità induce i gruppi carbonilici e quelli amminici della struttura squaramidica ad essere quasi co-planari. I gruppi amminici responsabili dei legami ad idrogeno sono distanziati e orientati diversamente a seconda della struttura squaramidica o tioureidica, questo comporta affinità anioniche differenti. Il rigido anello a quattro delle squaramidi determina una maggior distanza tra i gruppi N-H (2,72 Å contro i 2,13 Å tioureidici) e anche una loro orientazione convergente (circa 6 gradi) che invece è completamente assente nei gruppi tioureidici (*Figura 9*).

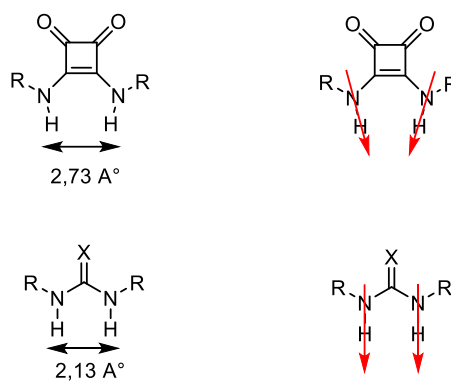


Figura 9 Confronto di orientazione e distanza dei gruppi amminici di squaramidi e tiouree

Infine, la maggior delocalizzazione elettronica della struttura squaramidica rispetto a quella tioureidica comporta una maggior acidità dei protoni amminici testimoniata dalla pK_a delle squaramidi (8.37), inferiore quella delle tiouree (8.5). Pertanto, le interazioni ad idrogeno di una squaramide tendono ad essere più forti rispetto a quelle di una tiourea.

2. Obiettivi della tesi

Riprendendo la reazione aldolica asimmetrica utilizzata per la sintesi del Funapide, l'utilizzo in condizioni ottimizzate di catalizzatori di origine tioureidica (**11a**) ha portato all'ottenimento di un valore discreto ma non ottimale dell'eccesso enantiomerico (73%).

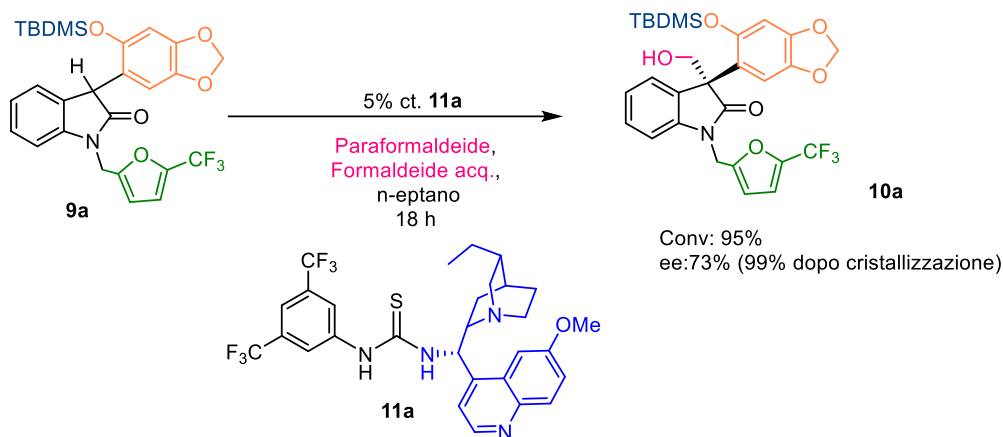


Figura 10

Sorprendentemente, né nell'articolo che descrive la sintesi del Funapide, né nel corrispondente brevetto della Xenon Pharmaceuticals⁷, sono citati utilizzi di organocatalizzatori di origine squaramidica, nonostante le loro grandi potenzialità nell'ambito della catalisi asimmetrica. Questa osservazione, che può venire interpretata considerando che il lavoro di ottimizzazione industriale è stato portato avanti prima dell'introduzione dei catalizzatori squaramidici, ha portato alla nascita dello studio di cui fa parte il mio lavoro di tirocinio, sviluppato in collaborazione con la Prof. Raquel Herrera e il Dr. Isaac Sonsona dell'Università di Saragozza.

Precedentemente a questo lavoro di tesi è stato svolto uno screening di catalizzatori, nelle condizioni in cui la Xenon Pharmaceuticals aveva ultimato lo screening iniziale, con lo scopo di verificare l'attività delle squaramidi nella reazione aldolica asimmetrica tra l'ossindolo **9a** e la formaldeide. I risultati ottenuti hanno mostrato come l'enantioselezione dei catalizzatori squaramidici sia dipendente dalla natura del sostituente amminico (in rosso in *Figura 11*): in caso di origine benzilica o alifatica il prodotto **10** è stato ottenuto sotto forma di miscela racemica mentre nel caso di origine aromatica sono stati ottenuti eccessi enantiomerici superiori a quelli dei corrispettivi catalizzatori tioureidici.

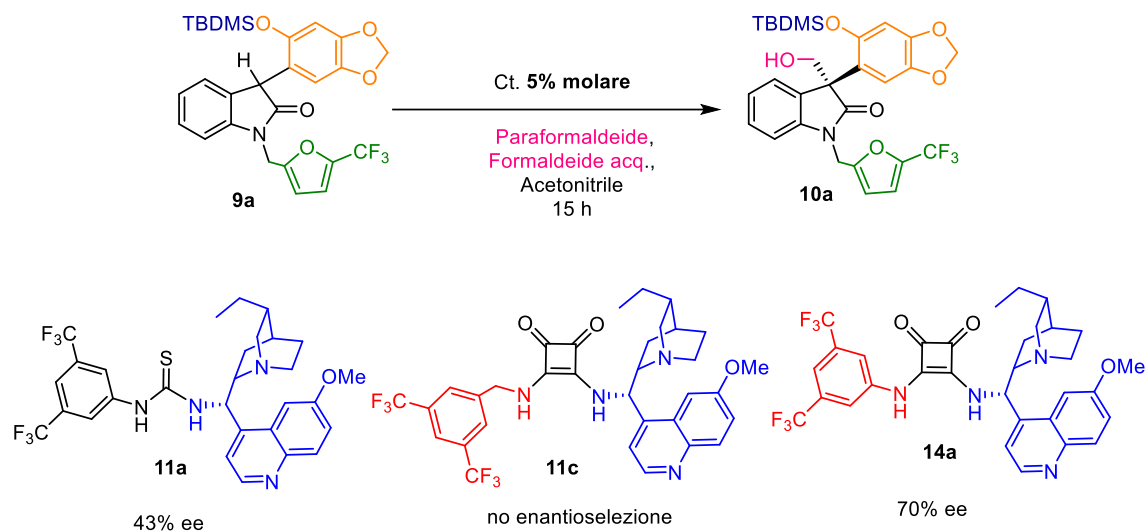


Figura 11 Risultati ottenuti con catalizzatore **11c**, **11a** e **14a**

Sulla base di queste premesse, l'obiettivo del mio lavoro di tirocinio è stato quello di sintetizzare catalizzatori squaramidici con differenti sostituenti di natura aromatica per poi testarli in una reazione aldolica enantioselettiva sul substrato **9b**, alternativa più economica rispetto al target **9a** che invece è stato utilizzato solo dopo i risultati di questo screening iniziale. Infine, si è sintetizzato e impiegato **9c** per valutare l'attività dei catalizzatori nei confronti di substrati differenti (Figura 12).

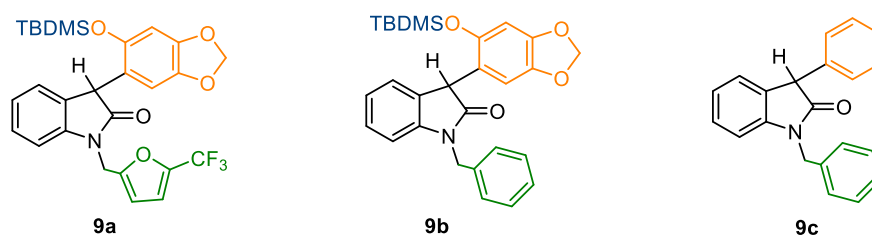


Figura 12 Substrati impiegati in questa tesi

3. Risultati e discussione

3.1. Sintesi dei catalizzatori

I catalizzatori sintetizzati hanno una struttura che si compone di tre parti (*Figura 13*): un nucleo centrale **A**, un sostituito anilino **B** e un'ammina chirale **C**

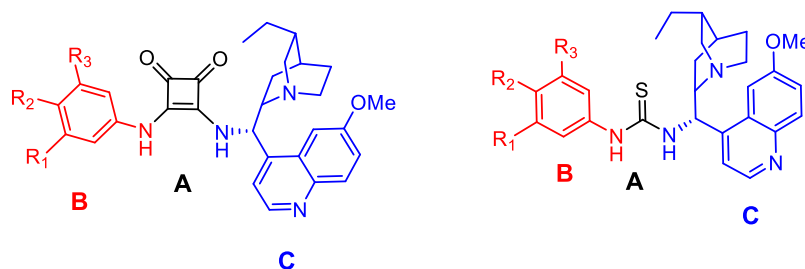


Figura 13. Struttura dei catalizzatori

3.1.1. Sintesi ammina chirale

Come ammina chirale è stata utilizzata la 9-ammino-9-deossi *epi*-diidrochinina la cui sintesi, mostrata in *Figura 14*, è stata riadattata da una procedura di letteratura su larga scala³.

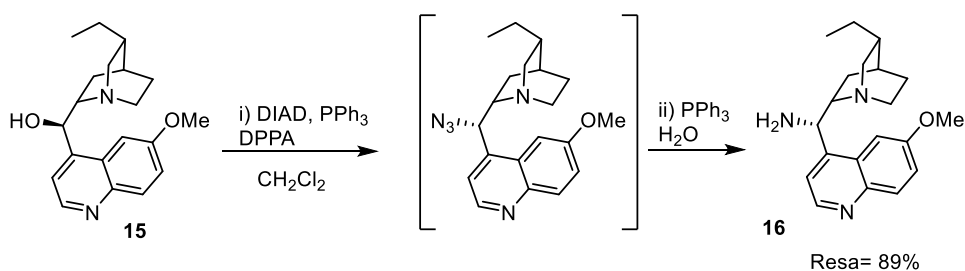


Figura 14 Sintesi 9-ammino-9-deossi epidiidrochinina.

Essa consiste in una reazione di Mitsunobu (*Figura 15*) seguita da una Staudinger (*Figura 16*). Più precisamente la reazione inizia con un attacco nucleofilo della trifenilfosfina al diisopropilazodicarbossilato (DIAD) che forma una specie altamente nucleofila (**17**) che è in grado di attaccare il fosforo della difenilfosforilazide (DPPA) causando la formazione dell'anione azoturo e della specie **18**, la quale reagisce con l'idrochinina (**15**) formando l'intermedio **19**. Quest'ultimo subisce una reazione di tipo S_N2 con inversione del centro chirale che porta alla formazione della 9-azido-9-deossi epidiidrochinina (**20**) e di trifenilfosfinossido.

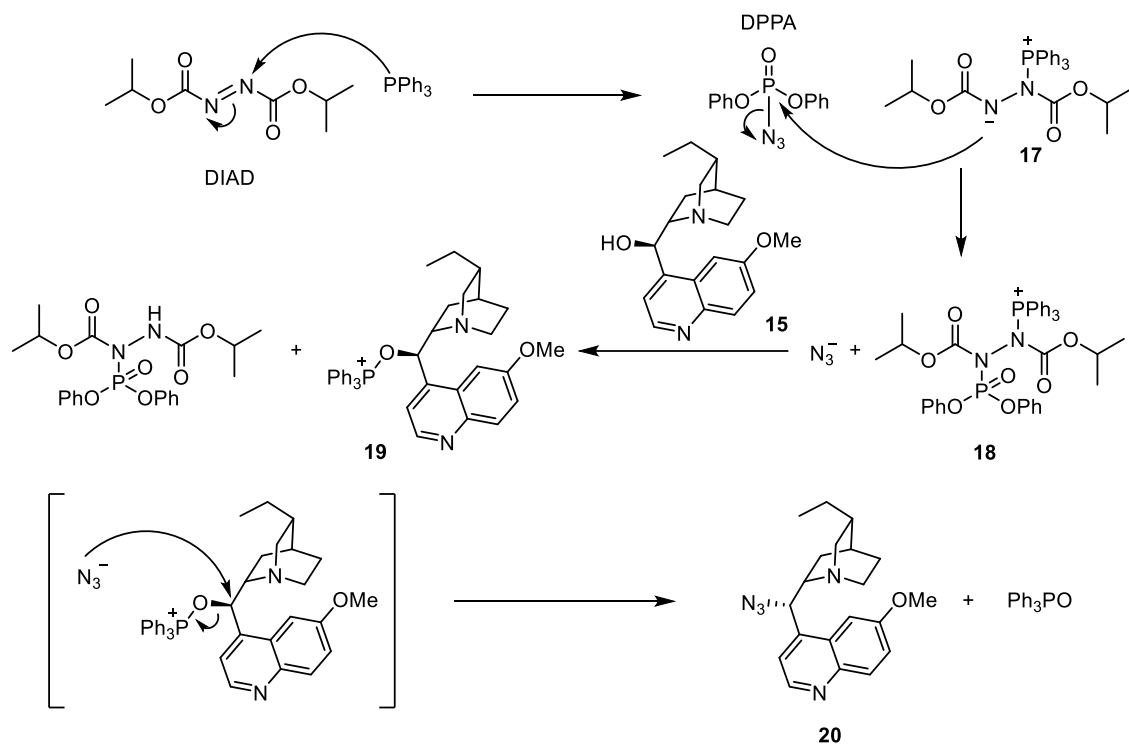


Figura 15 Meccanismo della reazione di Mitsunobu

L'intermedio **20** subisce quindi un'addizione nucleofila da parte della trifenilfosfina con formazione del composto **21** che, riarrangiandosi per eliminare azoto, diventa un imminofosforano (**22**) che viene idrolizzato tramite acqua per dare la corrispondente ammina (**16**). Infine, un work-up acquoso acido permette di trasferire in fase acquosa il composto **16** come cloridrato, separandolo quindi da sottoprodotti e impurezze che invece rimangono in fase organica.

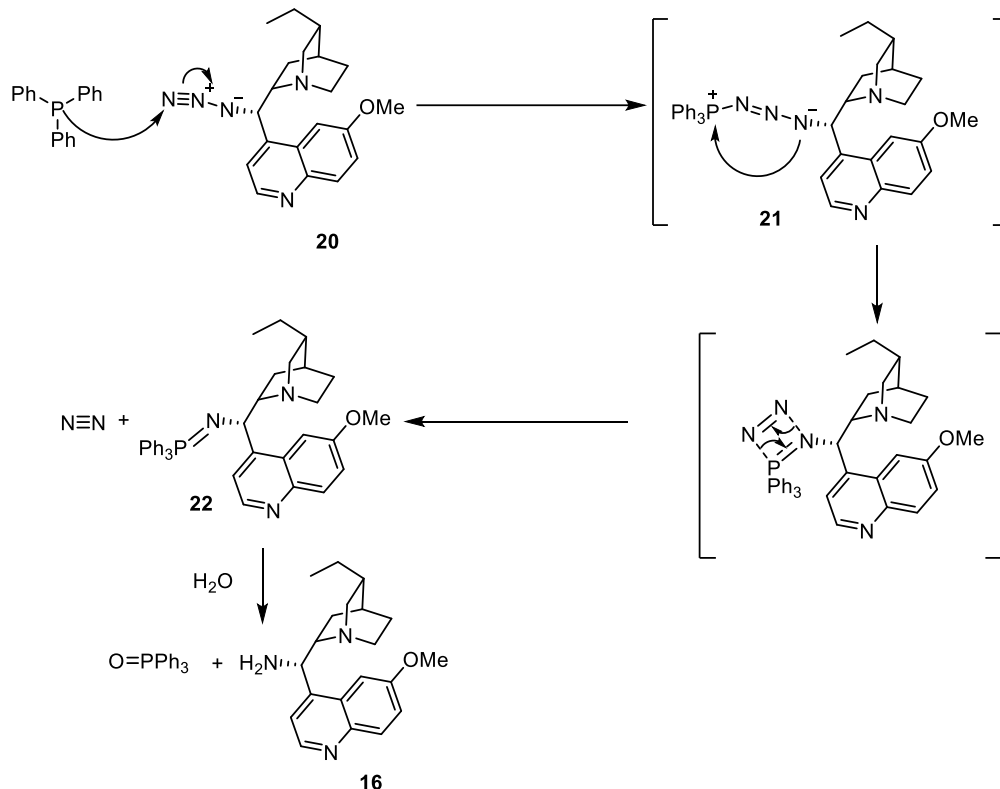


Figura 16 Meccanismo della reazione di Staudinger

3.1.2. Sintesi catalizzatore tioureidico

La procedura sintetica per questo tipo di catalizzatori è più corta rispetto ai corrispettivi squaramidici e consiste in un unico step dove si aggiunge l'ammina chirale **16** a un isotiocianato arilico (**23** in Figura 17).

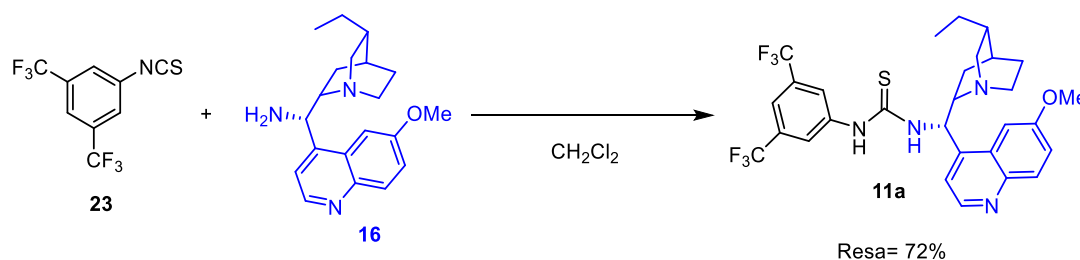


Figura 17 Sintesi del catalizzatore tioureico

L'ammina chirale funge da nucleofilo tramite il suo doppietto libero e attacca il carbonio altamente elettrofilo del gruppo isotiocianato. La riorganizzazione elettronica porta alla formazione di un intermedio con una carica negativa su un azoto e una positiva sull'altro. Quest'ultimo viene deprotonato dal primo con formazione del catalizzatore **11a**. La purificazione consiste in una colonna cromatografica su gel di silice.

3.1.3. Sintesi one-pot di catalizzatori squaramidici

Tra le varie metodologie disponibili per l'ottenimento dei catalizzatori squaramidici sicuramente la tipologia "one-pot"¹¹ è una delle più comode e sinteticamente attraenti per via della possibilità di effettuare in successione due step sintetici senza necessità di isolare e purificare l'intermedio di reazione (nel nostro caso il composto **26** in *Figura 18*).

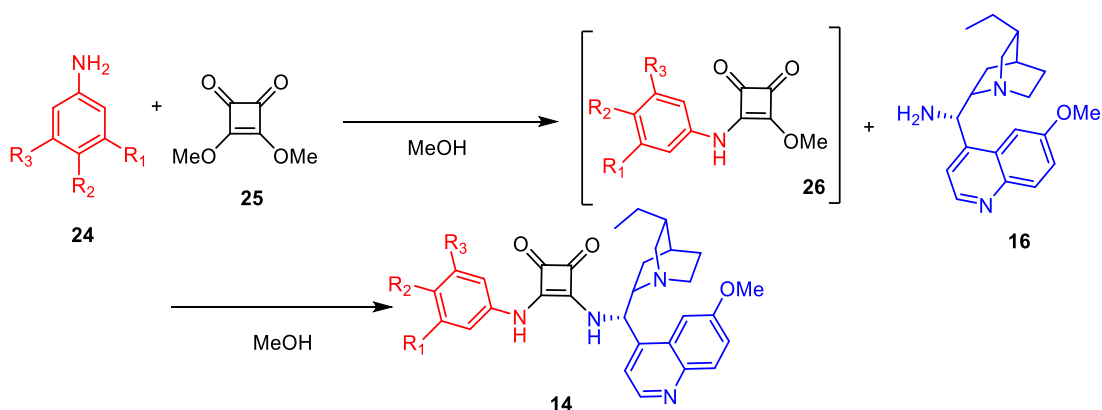


Figura 18 Sintesi generica one-pot di catalizzatori squaramidici

La sintesi in questione consta di due sostituzioni nucleofile: una sul dimetilsquarato (**25**) da parte di un'anilina (**24**) e l'altra sull'intermedio (**26**) da parte dell'ammina chirale **16**. Sono state effettuate cinque diverse sintesi one-pot variando l'anilina di partenza (**24**) al fine di ottenere i catalizzatori **14a-e** (*Figura 19*). I prodotti sono stati isolati mediante filtrazione della miscela di reazione, analizzati mediante $^1\text{H-NMR}$ e, se necessario, sottoposti a purificazione cromatografica su gel di silice.

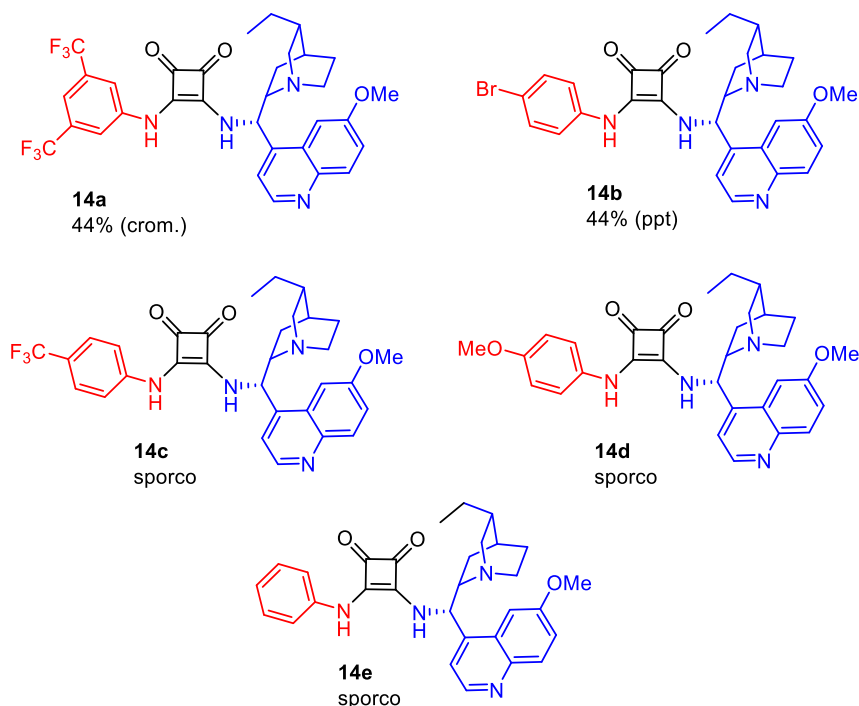


Figura 19 Prove di sintesi one pot di catalizzatori squaramidici

Il catalizzatore **14a** è stato ottenuto come solido contenente impurezze partendo da 3,5-bis(trifluorometil)anilina e si è disciolto senza fatica in una miscela di etilacetato e metanolo per poi essere purificato con successo tramite colonna cromatografica con una resa complessiva del 44%. Il prodotto **14b** invece, è risultato un solido molto insolubile che non ha necessitato di ulteriori purificazioni ed è stato ottenuto con una resa del 44%. Il catalizzatore **14c**, derivante dalla 4-trifluorometilanilina, si è dimostrato analogo a **14a** sia per stato fisico che per solubilità, ma le impurezze sono risultate difficilmente separabili tramite colonna cromatografica. Sia il catalizzatore **14d** che **14e**, derivanti rispettivamente da 4-metossianilina e anilina, sono stati ottenuti entrambi come solidi contaminanti da impurezze e difficilmente purificabili data la loro scarsa solubilità in solventi organici (diclorometano, metanolo, etil acetato).

3.1.4. Sintesi in due step di catalizzatori squaramidici

Visto che i catalizzatori **14c-e** sintetizzati mediante la metodologia one-pot hanno mostrato notevoli quantità di impurezze difficili da separare, si è adottata una procedura sintetica in due step¹⁵ (Figura 20) che prevede una purificazione dell'intermedio **26** e quindi una riduzione della quantità di impurezze che si portano nel secondo stadio. Inoltre, vista la

scarsa generalità della procedura one-pot, per la sintesi dei restanti catalizzatori **14f** e **14g** si è deciso di applicare direttamente la sintesi a due stadi.

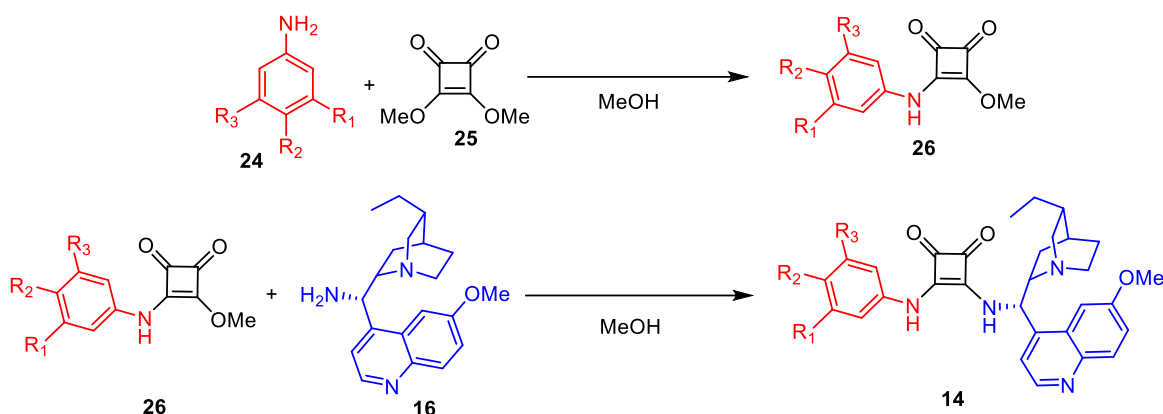


Figura 20 Sintesi generica in due step di catalizzatori squaramidici

Gli intermedi ottenuti tramite questa procedura (**26c-g** in Figura 21) sono risultati molto più facili da purificare rispetto ai catalizzatori completi:

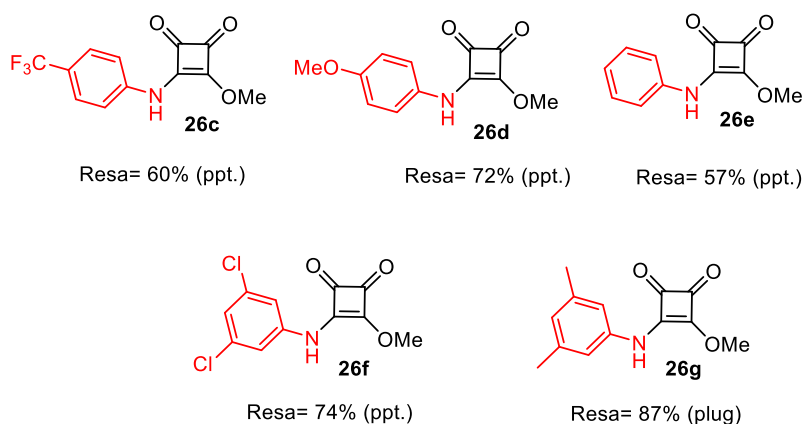


Figura 21 Intermedi squaramidici isolati con successo e metodo di purificazione

Di questi cinque, l'intermedio **26c** si è dimostrato solubile in metanolo (ambiente di reazione) ed è quindi stato essiccato e successivamente messo in sospensione con diclorometano ottenendo, in seguito a filtrazione, un precipitato puro. Gli intermedi **26d-f** invece, precipitati in ambiente di reazione, sono stati successivamente isolati tramite semplice filtrazione. Infine, l'intermedio **26g** ha mostrato una maggiore solubilità ed è stato purificato tramite plug su silice con etere di petrolio ed etere etilico.

La purificazione degli intermedi **26c-g** ci ha permesso di utilizzare una miscela di reagenti più pura rispetto alla procedura one-pot e sono stati quindi sintetizzati con successo i

seguenti catalizzatori (**14c-g** in *Figura 22*), ottenuti tutti in forma pura in seguito a semplice filtrazione della miscela di reazione.

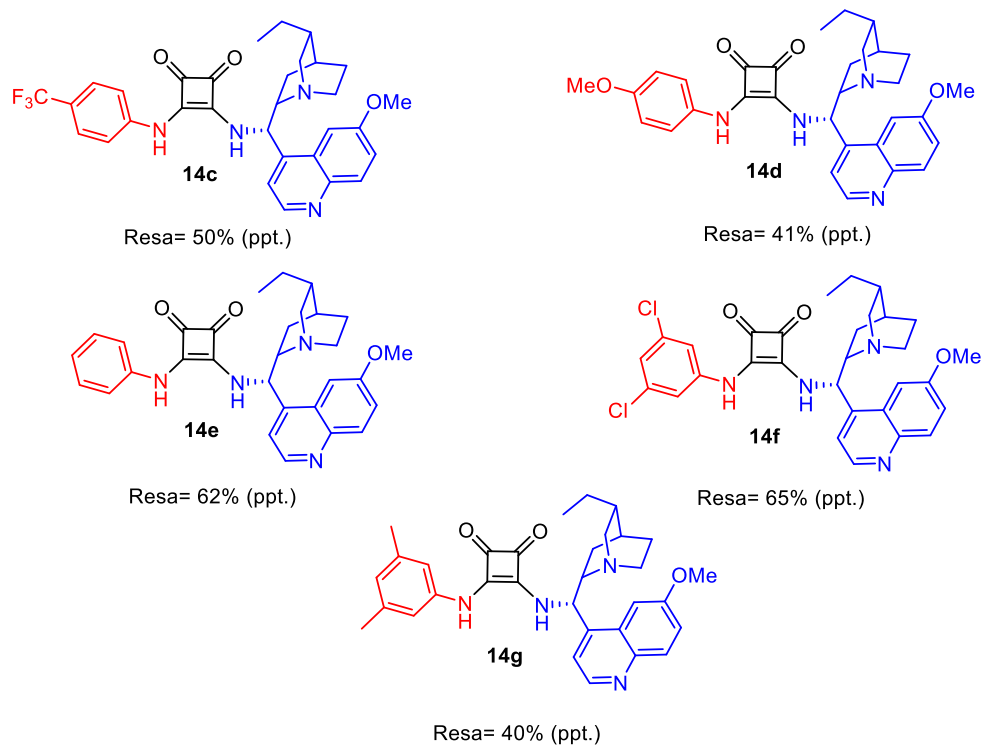


Figura 22 Catalizzatori squaramidici sintetizzati in due step

3.2. Reazione aldolica enantioselettiva

La sintesi del substrato alternativo **9b** (Figura 23) è analoga a quella del target industriale **9a**, l'unica differenza sta nell'agente alchilante che risulta essere di natura benzilica invece che metilfurilica.

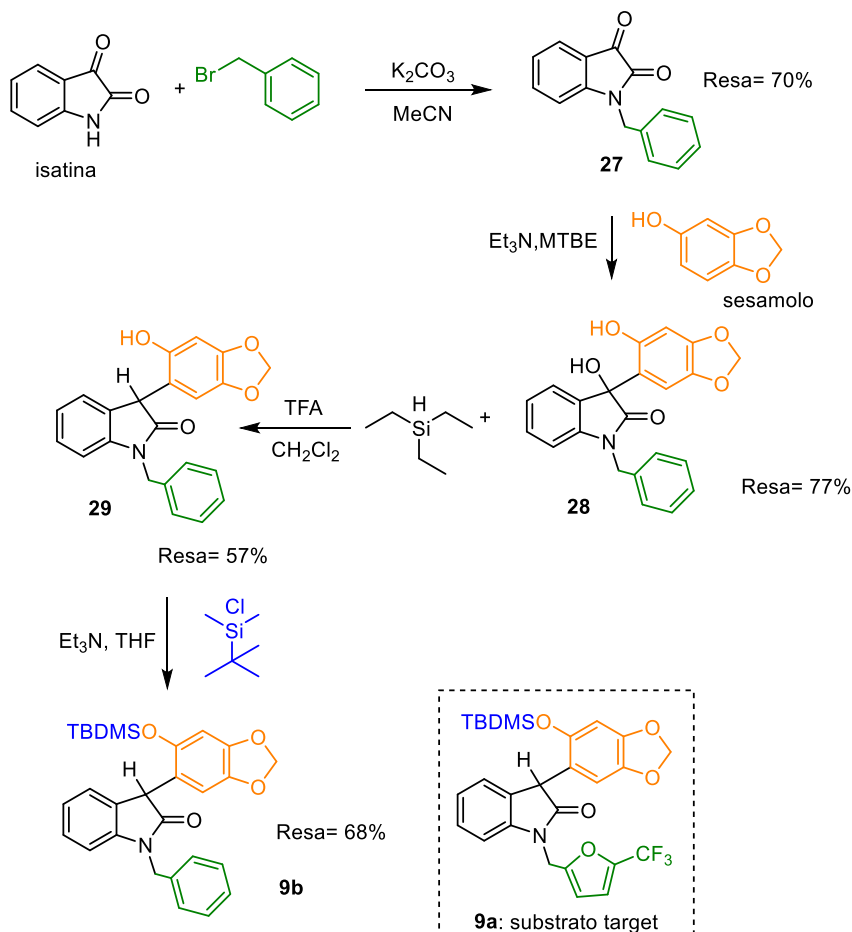


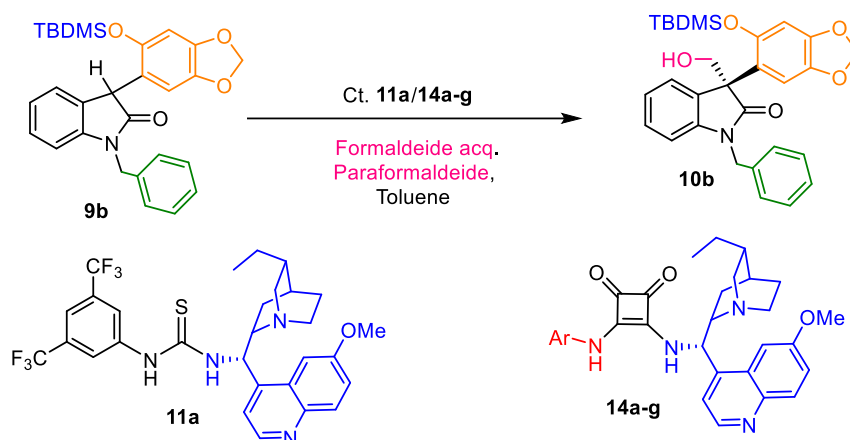
Figura 23 Sintesi del substrato ossindolico N-benzilato.

Il primo dei quattro step sintetici è la benzilazione dell'isatina da parte di benzil bromuro per dare l'intermedio **27**. Quest'ultimo viene poi fatto reagire con il sesamolo che si addiziona al suo carbonio carbonilico ottenendo il prodotto **28**, la cui funzionalità ossidrilica viene ridotta tramite trietilsilano in condizioni acide. L'ultimo step sintetico consiste nella protezione della funzionalità fenolica del composto **29** tramite terbutildimetilsilil cloruro.

Il prodotto **9b** è stato poi utilizzato come substrato per testare l'attività e l'enantioselezione dei catalizzatori **14a-g** nella reazione aldolica con formaldeide (Tabella 1), analoga alla reazione utilizzata per la sintesi del Funapide. Uno studio parallelo aveva mostrato come

le condizioni riportate (toluene come solvente, 0,01 M, miscela di formaldeide acquosa e paraformaldeide, t. amb) fossero ottimali per effettuare questo screening.

Tabella 1. Screening di catalizzatori nella reazione aldolica fra substrato **9b** e formaldeide



Prova ^a	Cat.	Ar	Conc. (M)	Conv. ^b (%)	ee ^c (%)
1	11a	3,5-(CF ₃) ₂ C ₆ H ₃	0,1	71	48
2	14a	3,5-(CF ₃) ₂ C ₆ H ₃	0,1	54	67
3	14b	4-BrC ₆ H ₄	0,1	24	81
4	14c	4-CF ₃ C ₆ H ₄	0,1	44	74
5	14e	Anilina	0,1	16	91
6	14d	4-MeOC ₆ H ₄	0,1	44	75
7	14d	4-MeOC ₆ H ₄	0,2	42	88
8	14d	4-MeOC ₆ H ₄	0,5	46	84
9	14f	3,5-Cl ₂ C ₆ H ₃	0,1	24	85
10	14g	3,5-Me ₂ C ₆ H ₃	0,1	52	93

^aCondizioni di reazione: Substrato **9b** (0.05 mmol), Cat **14a-g/11a** (10% mol, 0.005 mmol), paraformaldeide (1 eq. 0.05 mmol), formaldeide acquosa 37% w/w (1 eq. 0.05 mmol) Toluene (500 μ L), t. amb, 15 h. ^bConversione calcolata mediante analisi ¹H NMR sul grezzo di reazione. ^c Eccessi enantiomerici determinati tramite analisi HPLC su fase stazionaria chirale sul prodotto **10b**.

I catalizzatori **14a-d** e **11a** sono stati i primi ad essere stati sintetizzati e testati (prove 1-6). I risultati mostrano come i catalizzatori squaramidici siano decisamente più efficaci in termini di enantioselezione, rispetto al catalizzatore tioureidico **11a**, anche se in termini di conversione quest'ultimo risulta essere superiore. Per quanto riguarda la serie di catalizzatori squaramidici, la natura dei sostituenti dell'anello aromatico influenza in maniera significativa l'andamento di reazione. E' interessante notare come il catalizzatore "standard" **14a**, che presenta due sostituenti trifluorometilici in posizioni 3 e 5 del sostituente anilino, dia risultati peggiori in termini di enantioselezione rispetto ai catalizzatori con sostituenti in posizione para (o nessun sostituente). Il catalizzatore **14d** presenta la miglior combinazione di conversione ed eccesso enantiomerico, e per questa ragione è stato utilizzato per verificare l'influenza della concentrazione sull'andamento

della catalisi. Osservando le prove 6-8 si nota come eseguendo la reazione leggermente più concentrata (0.2 M) si ottengano i risultati migliori, mantenendo quasi inalterata la conversione ma con un notevole incremento dell'eccesso enantiomerico rispetto alla prova con concentrazione 0.1 M. Successivamente, sono stati testati due catalizzatori con sostituenti di differente natura elettronica in posizioni 3 e 5 dell'anello aromatico ovvero **14f** e **14g** (prove 9 e 10). Quest'ultima struttura (il catalizzatore **14g**) spicca in termini sia di conversione che di eccesso enantiomerico, ed è stata quindi utilizzata per un'ulteriore ottimizzazione dei parametri di reazione, primo tra tutti il solvente. Sono stati testati diclorometano, acetonitrile ed etilacetato che però hanno dato dei risultati peggiori rispetto al toluene. Ai fini di migliorare la conversione delle reazioni sono state effettuate due prove catalitiche che differiscono per la fonte di formaldeide (*Figura 24*).

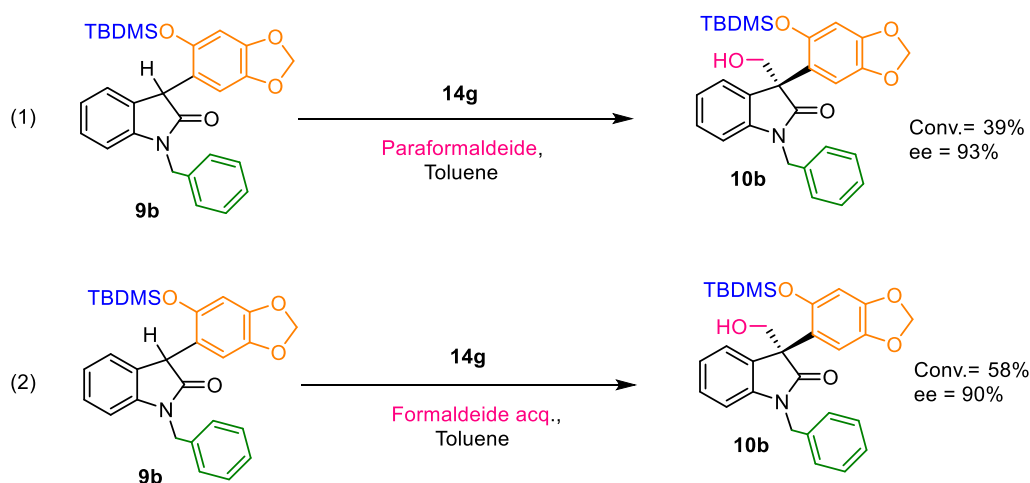


Figura 24 Prove con fonte carbonilica differente

La *Figura 24* mostra come la sostituzione della paraformaldeide con ulteriore formaldeide acquosa porti a risultati comparabili, se confrontata con la reazione fatta utilizzando una miscela di formaldeide acquosa e paraformaldeide (*Tabella 1*, prova 10). D'altra parte, l'utilizzo di semplice paraformaldeide porta ad un peggioramento della conversione. Data la maggiore praticità della formaldeide acquosa, le condizioni riportate nella seconda equazione della *Figura 24* sono state utilizzate per le prove successive, in cui si è voluto verificare se la presenza del gruppo protettore silylato fosse determinante per l'ottimizzazione della catalisi, in quanto la rimozione di due step sintetici comporterebbe una miglior resa globale della sintesi. Per verificare questa ipotesi sono state quindi effettuate quattro prove catalitiche sul precursore non protetto di **9b** (**29** in *Figura 25*), utilizzando le condizioni ottimizzate precedentemente (concentrazione 0.2 M, Toluene, 2

equivalenti di formaldeide acquosa), con quattro catalizzatori differenti (Figura 25). Per queste prove, oltre al catalizzatore ottimale **14g**, si è deciso di utilizzare anche il derivato tioureidico **11a**, in modo da avere un confronto fra derivati tioureidici e squaramidici, oltre ai catalizzatori **14a** e **14c**, rappresentativi della serie di catalizzatori squaramidici sintetizzati.

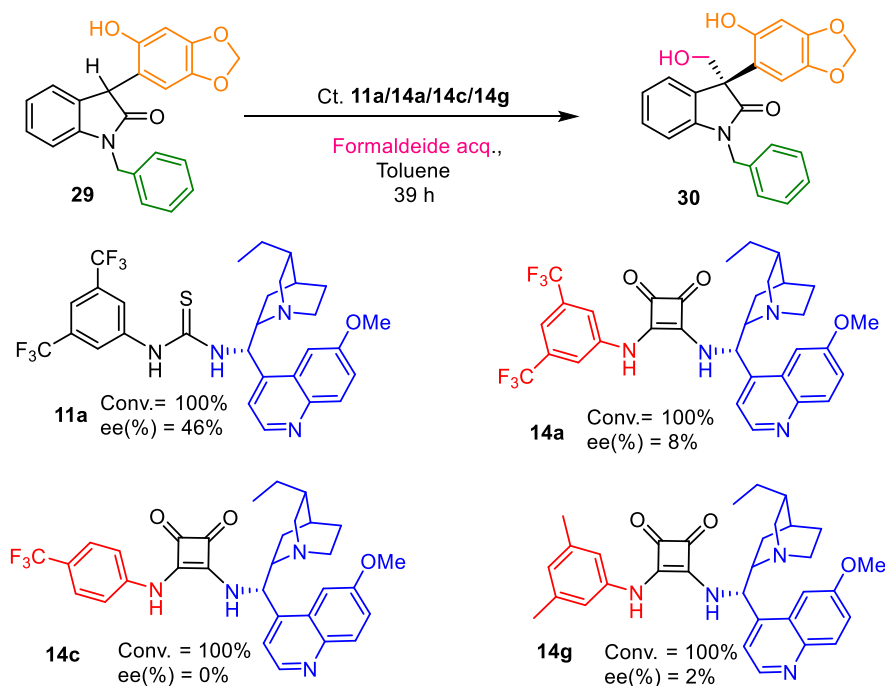


Figura 25 Reazione aldolica asimmetrica sul substrato non protetto **29**

Dai risultati ottenuti si può evincere che la mancata protezione della funzionalità fenolica del sesamolo influenza pesantemente l'enantioselezione dei catalizzatori **14a/14c/14g**, ottenendo dei prodotti quasi racemi, con conversione totale, mentre il catalizzatore **11a** ha dato delle prestazioni analoghe a quelle del substrato protetto, che tuttavia sono lontane dall'accettabilità.

Successivamente, si è deciso di testare alcuni dei catalizzatori squaramidici sintetizzati sul substrato target **9a** (Figura 26):

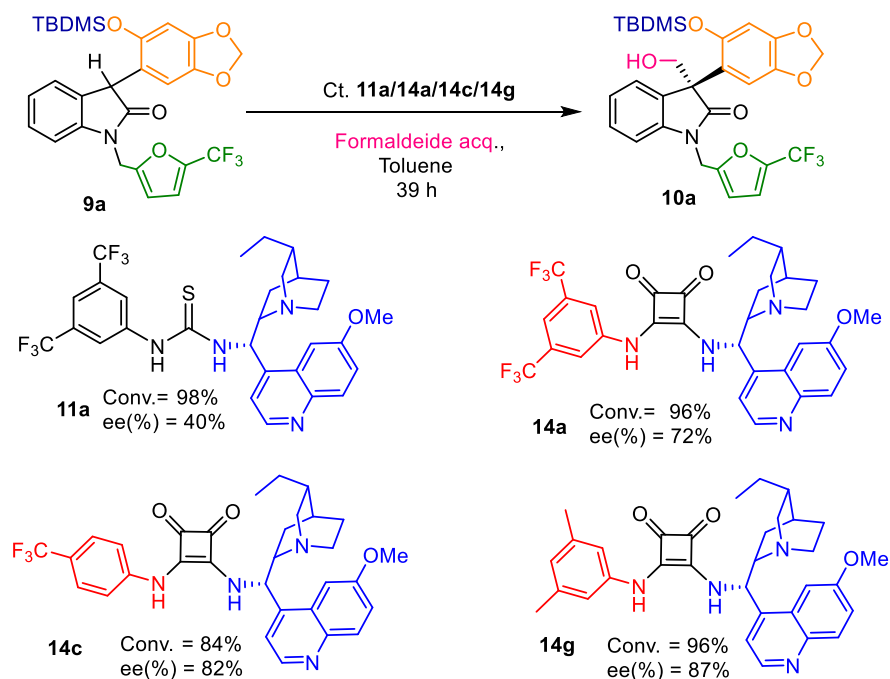


Figura 26 Reazione aldolica asimmetrica sul substrato target

I risultati dei test hanno mostrato come il catalizzatore **14g** abbia il miglior eccesso enantiomerico (87%), che combinato alla sua ottima conversione (96%) lo rende il catalizzatore più performante di quelli testati. Il catalizzatore **14c** invece presenta sì un buon eccesso enantiomerico (se confrontato con **14a** e **11a**) ma mostra un'attività decisamente inferiore a quella degli altri tre. Per quanto riguarda il catalizzatore squaramidico **14a** e quello tioureidico **11a** entrambi presentano un'elevata conversione, giustificata dalla loro maggior solubilità rispetto ai catalizzatori **14c** e **14g**, abbinata però a un'enantioselezione non comparabile a quella degli altri due. Questo stesso andamento (sia di conversione che di eccesso enantiomerico) è riscontrato anche sulle analoghe reazioni (prove 1, 2, 4 e 10 in *Tabella 1*) effettuate sul substrato benzilato **9b** indicando quindi una certa generalità nell'azione dei catalizzatori su substrati lievemente differenti.

Quindi, per valutare la generalità dei catalizzatori squaramidici sintetizzati nella catalisi di reazioni aldoliche enantioselettive, si sono effettuate quattro reazioni analoghe alle precedenti sul composto **9c**, un substrato che differisce dal target non solo per l'agente alchilante (benzilico invece che trifluorometilfurilico) ma anche per la sostituzione in posizione 3 del sesamolo con un gruppo fenilico. La sintesi del substrato **9c** (Figura 27) consta di tre passaggi sintetici, analogamente a quella dei substrati **9a** e **9b** che però presentano uno step in più per via della necessità di proteggere la funzionalità fenolica del sesamolo.

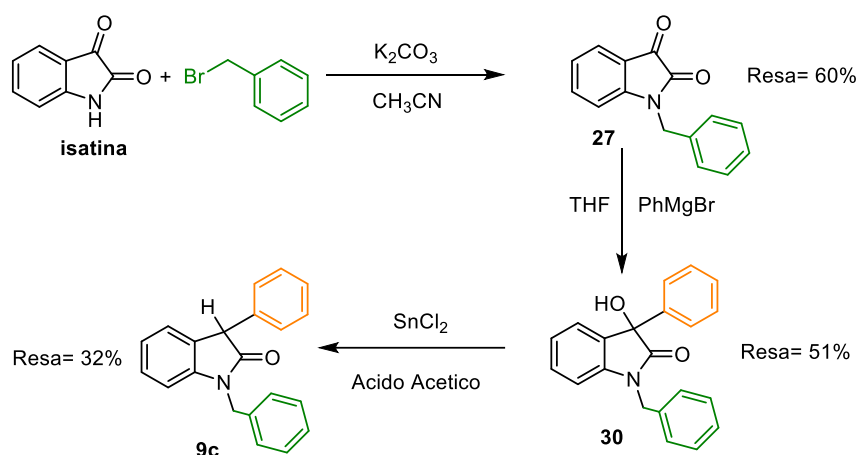


Figura 27 Sintesi del substrato **9c**

Il primo passaggio sintetico è identico a quello della sintesi del substrato **9b** dove l'isatina viene protetta con benzilbromuro per dare l'intermedio **27**. Quest'ultimo subisce un'addizione sul carbonio carbonilico da parte di fenilmagnesio bromuro formando una funzionalità ossidrilica in posizione 3 che viene ridotta nell'ultimo step tramite stagno cloruro per dare il substrato **9c**.

Il substrato così sintetizzato è stato utilizzato per effettuare quattro prove con i consueti catalizzatori squaramidici **14a**, **14c** e **14g** e il catalizzatore tioureidico **11a** (*Figura 28*) nelle stesse condizioni utilizzate per i substrati **9a** e **29**.

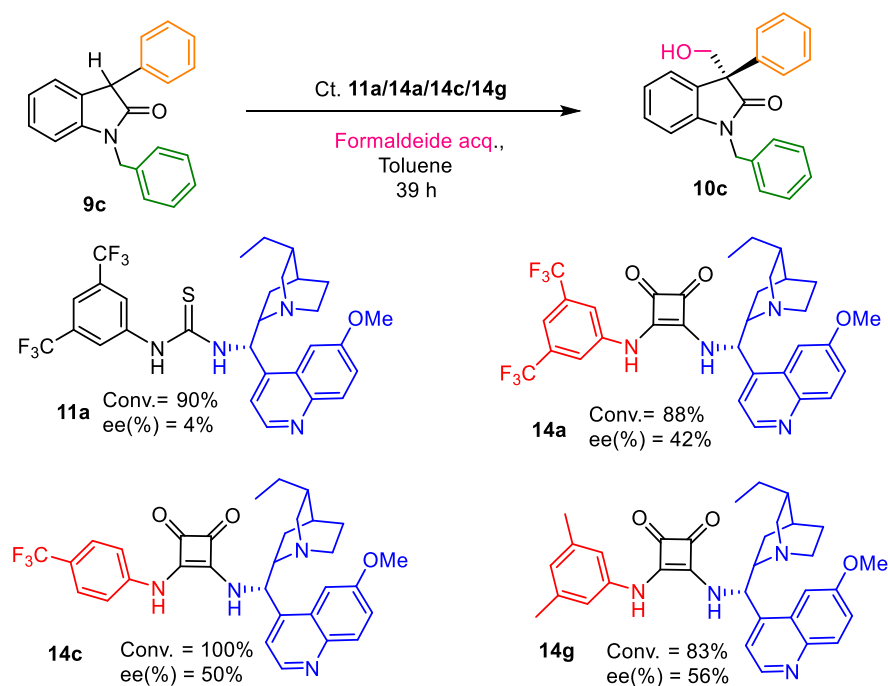


Figura 28 Reazione aldolica asimmetrica sul substrato **9c**

I dati in *Figura 28* mostrano un'attività catalitica comparabile a quella osservata nelle reazioni sugli altri substrati ma anche un generico peggioramento dell'enantioselezione, sia per i catalizzatori squaramidici che per quello tioureidico. È interessante notare che anche in questo caso il pattern di enantioselettività viene rispettato, in quanto **14a** ed **11a** hanno valori decisamente più bassi di **14c** e **14g** e quest'ultimo risulta essere il più performante, in maniera del tutto concordante coi risultati ottenuti sui substrati **9a** e **9b**. Nonostante questo, però, i dati mostrano come i catalizzatori squaramidici non siano in grado di catalizzare reazioni aldoliche in maniera sufficientemente enantioselettiva su un substrato che non presenta la porzione sesamolica.

4. Conclusioni

Sono stati sintetizzati in maniera soddisfacente un catalizzatore tioureidico e sette catalizzatori squaramidici di cui due tramite una metodologia "one-pot" mentre i restanti cinque tramite una sintesi classica in due step (*Figura 29*):

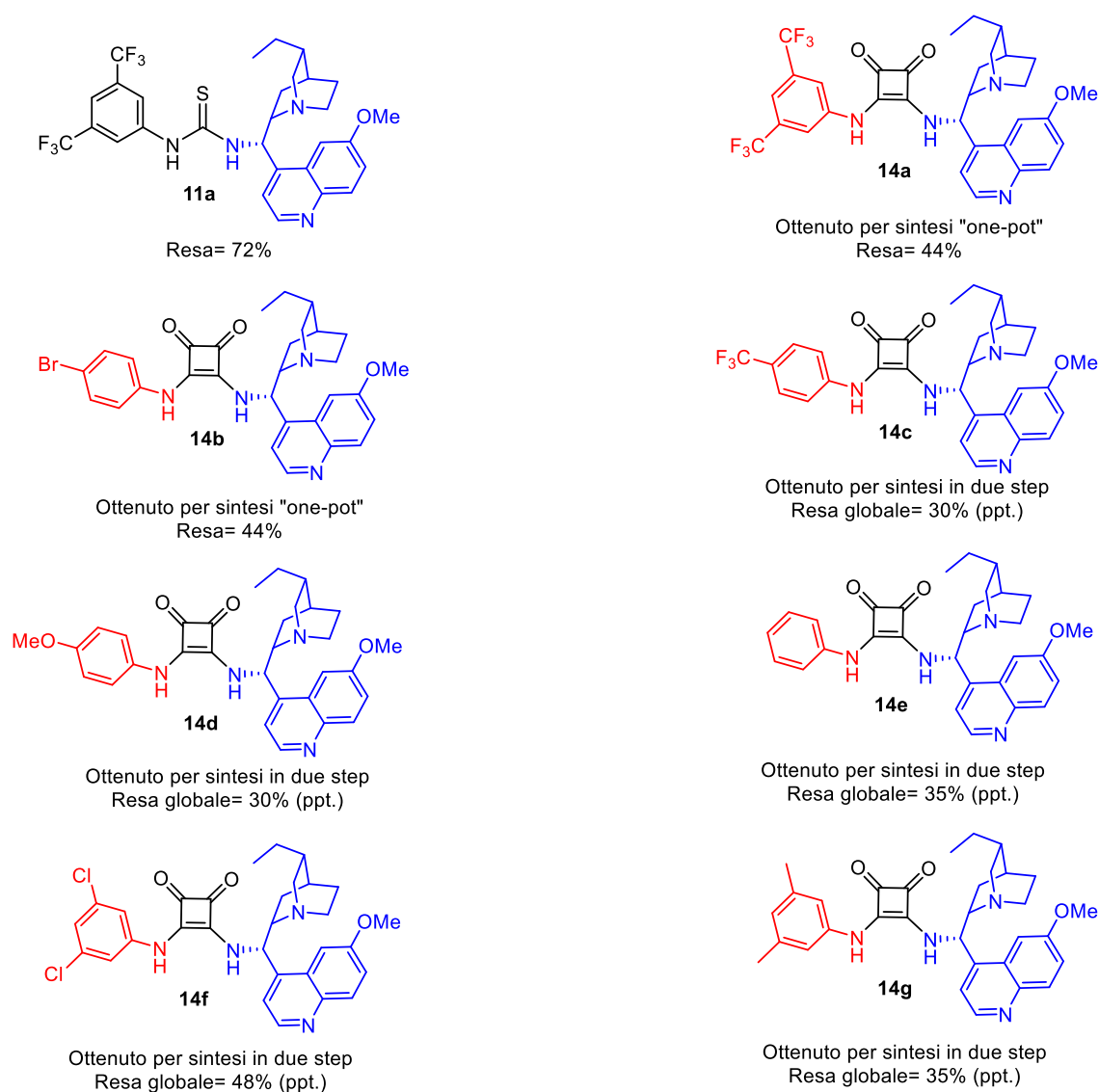


Figura 29 Catalizzatori squaramidici sintetizzati

Una volta sintetizzati, sono stati successivamente testati sulla reazione aldolica asimmetrica tra il substrato **9b**, analogo al target industriale **9a**, e formaldeide (*Figura 30*). Questo screening preliminare ha permesso di ottenere diverse informazioni: i catalizzatori di origine squaramidica con sostituito aromatico presentano generalmente un'enantioselezione maggiore e delle conversioni comparabili rispetto al catalizzatore

tioureidico **11a** risultando quindi più performanti. Tra di essi il migliore è risultato essere **14g** con un eccesso enantiomerico del 93% e una conversione del 52%. Quest'ultimo è stato usato per ottimizzare le condizioni applicate successive reazioni aldoliche asimmetriche. I test effettuati sul substrato **29** hanno mostrato come, per il funzionamento enantioselettivo dei catalizzatori squaramidici, sia necessaria la protezione della funzionalità fenolica del substrato. Le prove catalitiche sul substrato target **9a** hanno riportato risultati concordanti con lo screening preliminare, mostrando eccessi enantiomerici maggiori utilizzando catalizzatori squaramidici invece che tioureidici. Anche in questo caso il catalizzatore che ha dato i risultati migliori è stato il **14g** con una conversione del 96% e un eccesso enantiomerico dell'87%. La reazione aldolica asimmetrica effettuata sul substrato **9c** ha mostrato un pattern di eccesso enantiomerico analogo a quello ottenuto per i substrati **9a** e **9b** ma con dei valori decisamente inferiori, suggerendo che la porzione sesamolica del substrato sia fondamentale per l'enantioselezione dei catalizzatori squaramidici in questa reazione.

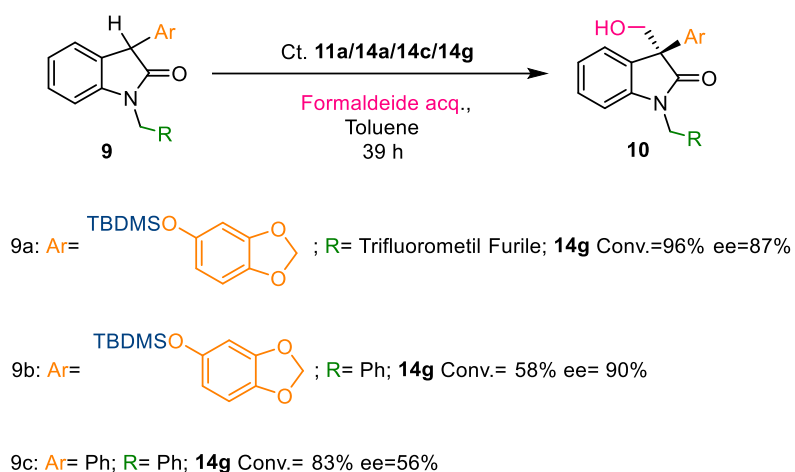
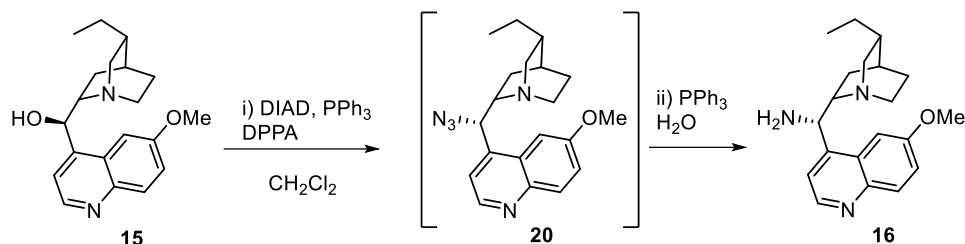


Figura 30 Reazione aldolica enantioselettiva generica

5. Parte sperimentale

Materiali e metodi.

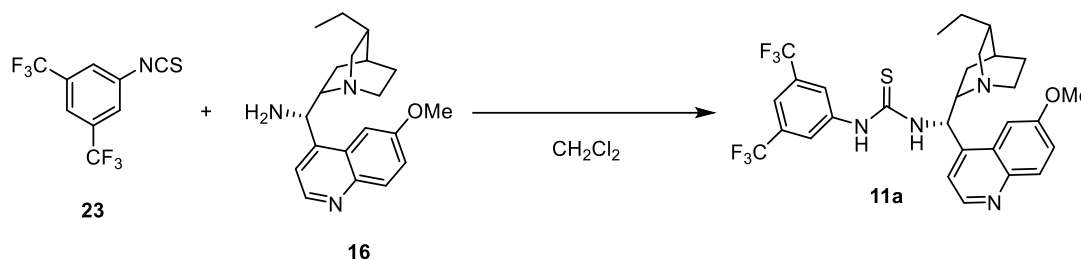
Sono stati usati reagenti e solventi di uso commerciale o disponibili in laboratorio. Gli spettri ^1H NMR sono stati effettuati su uno spettrometro Varian AS 300 o 400. La rotazione ottica è stata misurata con un polarimetro Perkin-Elmer 241. Le purificazioni cromatografiche sono state effettuate utilizzando silice mesh 70-230. L'eccesso enantiomerico dei prodotti (*ee*) è stato determinato da HPLC a fase stazionaria chirale (Chiralcel OD-H columns), utilizzando un rilevatore UV operante a 254 nm.

Sintesi di 9-ammino-9-deossi *epi*-diidrochinina³

Si sono posti 2.50 g di idrochinina (**15**; 7.60 mmol) in un pallone a tre colli da 100 mL, anidrificato in stufa e posto sotto flusso di azoto, insieme a 2.40 g di trifenilfosfina (9.20 mmol). Si è tenuto il sistema sotto flusso di azoto e sono stati aggiunti 15 mL di diclorometano (passato su allumina basica). Dopo 30 minuti sotto agitazione tramite agitatore magnetico (necessari ad ottenere una soluzione) si è raffreddato il sistema tramite bagno di ghiaccio e si sono aggiunti 1.80 mL di DIAD (diisopropilazodicarbossilato 9.20 mmol) tramite siringa. Successivamente si è addizionata una soluzione composta da 1.85 mL di DPPA (difetilfosforilazide 9.20 mmol) sciolti in 2.50 mL di diclorometano goccia a goccia sempre tramite siringa. Si è lasciato il sistema sotto agitazione per 2 h a temperatura ambiente, e si è poi effettuata una TLC di controllo per verificare il completo consumo dell'idrochinina, con soluzione eluente 9:1 CH₂Cl₂/MeOH. La reazione successiva è stata effettuata in modalità "one-pot", tramite una aggiunta di 3.40 mL di acqua distillata seguita un'altra di una soluzione di 3.60 g di trifenilfosfina (13.68 mmol) in 4 mL di diclorometano. Quest'ultima è stata effettuata goccia a goccia per mitigare lo sviluppo di gas. Dopo circa 18 h si è effettuato il work-up: si è acidificato il sistema tramite HCl 3M fino a pH 2 controllando tramite cartina tornasole. Si è trasferita la soluzione in un imbuto separatore e si è raccolta la fase organica contenente impurezze, e la fase acquosa è stata poi lavata con altre due porzioni di CH₂Cl₂. Si è poi aggiunta NH₃ acquosa concentrata (28% w/w) fino al raggiungimento di pH >10 per rendere il prodotto nuovamente solubile in fase organica. Si sono effettuate tre estrazioni con diclorometano, le fasi organiche riunite sono state anidificate con Na₂SO₄, filtrate, ed evaporate tramite rotavapor, portando ad un olio denso giallo scuro (**16**; 2.195 g, 6.74 mmol, 89% di resa) che è poi stato trasferito in un vial. L'analisi NMR commentata di seguito ha mostrato un prodotto ad elevata purezza.

8 ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8.71 (d, 1H, $J = 4.6$ Hz), 8.00 (d, 1H, $J = 9.2$ Hz), 7.62 (bs, 1H), 7.50 - 7.38 (m, 1H), 7.35 (dd, 1H, $J_1 = 9.1$, $J_2 = 2.6$ Hz), 4.63 - 4.46 (m, 1H), 3.93 (d, 3H, $J = 1.2$ Hz), 3.21 (dd, 1H, $J_1 = 13.7$, $J_2 = 9.9$ Hz), 3.18 - 3.10 (m, 1H), 3.08 - 2.95 (m, 1H), 2.74 (ddd, 1H, $J_1 = 14.7$, $J_2 = 10.4$, $J_3 = 4.7$ Hz), 2.52 - 2.43 (m, 1H), 2.11 (bs, 3H), 1.62 - 1.15 (m, 7H), 0.78 (t, 3H, $J = 7.3$ Hz) and 0.75 - 0.66 (m, 1H).

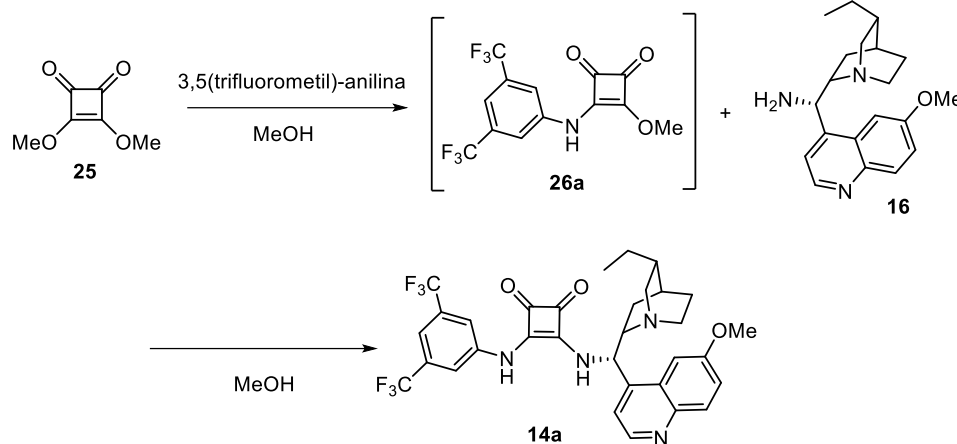
Sintesi del catalizzatore tioureico 3,5-bis(trifluorometil)anilina⁹



Si sono pesati 81.4 mg di 9-ammino-9-deossi *epi*-dihydrochinina (**16**; 0.25 mmol) nel vial per poi utilizzare 0.5 mL di diclorometano per discioglierla. Si sono poi aggiunti, dopo aver raffreddato il vial tramite bagno di ghiaccio, 45.7 μL di 1-isotiocianato-3,5-bis(trifluorometil)benzene (**23**; 0.25 mmol) tramite microsiringa e si è lasciata decorrere la reazione sotto agitazione magnetica per 18 h. Si è controllato il decorso della reazione tramite TLC con miscela eluente $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 20/1 che è stata poi utilizzata per la colonna cromatografica. L'analisi NMR ha confermato la presenza del prodotto **11a** in forma sufficientemente pura (106 mg, 0.18 mmol, 72% di resa).

10 ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD): δ 8.67 (d, $J = 4.7$ Hz, 1 H), 8.11 (s, 2 H), 8.04 (d, $J = 1.4$ Hz, 1 H), 7.93 (d, $J = 9.4$ Hz, 1 H), 7.60 (s, 1 H), 7.57 (d, $J = 4.8$ Hz, 1 H), 7.43 (dd, $J = 9.2$, 2.5 Hz, 1 H), 6.42 (d, $J = 10.7$ Hz, 1 H), 5.98-5.91 (m, 1 H), 5.24 (d, $J = 17.4$ Hz, 1 H), 5.14 (d, $J = 10.6$ Hz, 1 H), 4.02 (s, 3 H), 3.47-3.99 (m, 2 H), 3.09-3.00 (m, 3 H), 2.42-2.36 (m, 1 H), 1.64 (bs, 3 H), 1.24-1.19 (m, 1 H), 1.07 (t, $J = 10.0$ Hz, 1 H)

Sintesi one-pot del catalizzatore squaramidico 3,5-bis(trifluorometil)anilina¹¹

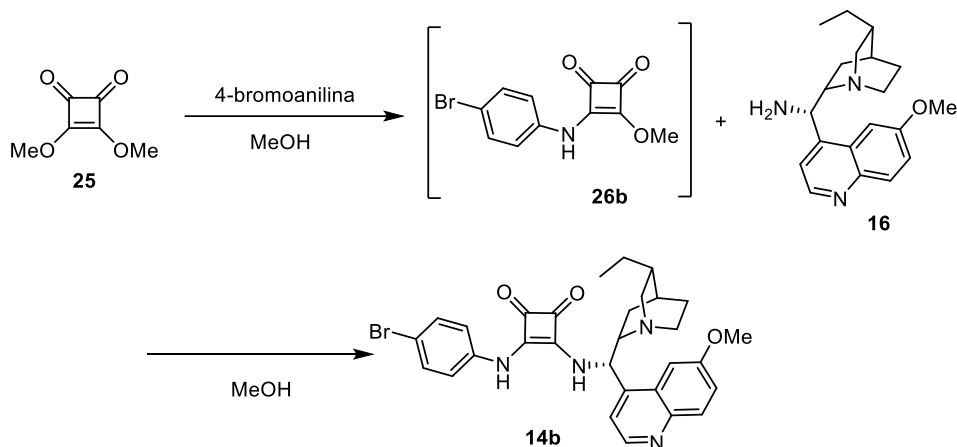


Ad un vial si sono aggiunti 35.5 mg di dimetil squarato (**25**; 0.25 mmol) che sono poi stati sciolti in 0.30 mL di metanolo. Si sono poi addizionati alla miscela 39 μ L di 3,5-bis(trifluorometil)anilina (0.25 mmol). Si è lasciata decorrere la reazione a Tamb per 70 h. Si sono poi aggiunti 81.4 mg di 9-ammino-9-deossi *epi*-diidrochinina (**16**; 0.25 mmol) sciolti con 2.2 mL di metanolo tramite pipetta Pasteur. Dopo 48 h si è effettuata un'analisi TLC per verificare l'andamento della reazione con eluente 7:3 EtOAc/MeOH che ha confermato il completo decorso della reazione. Si è quindi trasferita la miscela in un pallone da 50 mL, lavando il vial con diclorometano, e si è eliminato il solvente al rotavapor. Si è successivamente effettuata una colonna cromatografica con miscela eluente 7/3 EtOAc/MeOH. Si è effettuata un'analisi NMR che ha identificato il prodotto nelle prime due frazioni, seppure non puro. Si è trasferito il prodotto in un vial e si è essiccato tramite flusso di azoto e pompa da vuoto. Si è aggiunto diclorometano e si è lasciato decantare per la notte. Si sono formate due fasi distinte: precipitato bianco sul fondo, indentificato precedentemente come prodotto, e fase liquida gialla. La fase liquida è stata separata mediante decantazione ed evaporata, e l'analisi NMR di quest'ultima ha mostrato la presenza del catalizzatore **14a** con delle impurezze mentre il precipitato è risultato esserne privo (58 mg, 0.09 mmol, 36% di resa). La fase gialla è stata quindi sottoposta a colonna cromatografica con miscela eluente CH₂Cl₂/MeOH 95/5. La successiva analisi NMR ha confermato la separazione delle componenti e l'ottenimento di un'ulteriore porzione di prodotto pulito, che è stata aggiunta al primo solido ottenuto (totale 70 mg, 0.11 mmol, 44% di resa).

¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆, Me₄Si): δ 10.23 (br s, 1H), 8.84 (d, J = 4.5 Hz, 1H), 8.36 (br s, 1H), 8.01(m, 3H), 7.78 (s, 1H), 7.71 (d, J = 4.5 Hz, 1H), 7.66 (s, 1H), 7.47 (dd, J = 9.3 and 2.4 Hz, 1H), 6.07 (br s, 1H), 3.97 (s, 3H), 3.63-3.32 (m, 3H), 3.21-3.14 (m,

1H), 2.76-2.57 (m, 1H), 2.50-2.45 (m, 1H), 1.58-1.39 (m, 7H), 0.85-0.80 (m, 3H), 0.76 (br s, 1H)

Sintesi one pot del catalizzatore squaramidico 4-bromoanilino¹¹



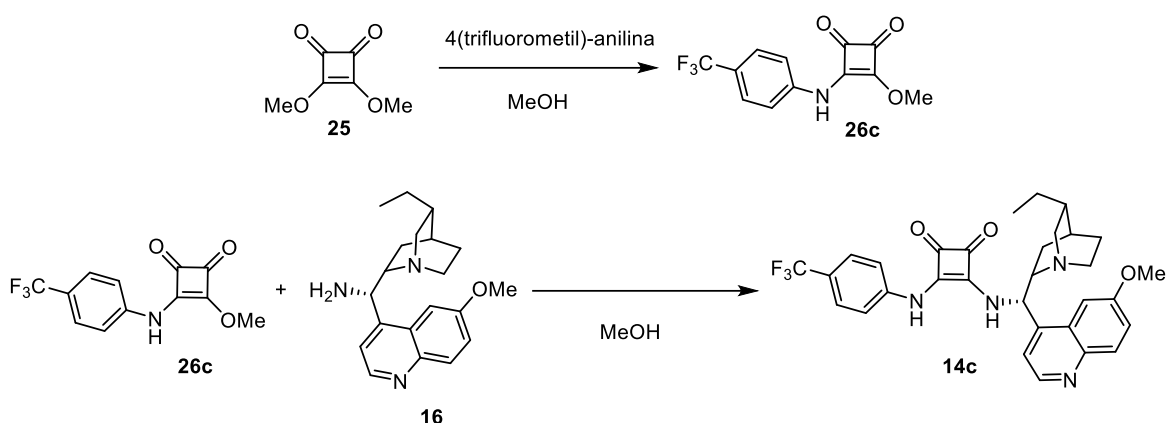
Ad un vial si sono aggiunti 35.5 mg di dimetil-squarato (**25**; 0.25 mmol) successivamente sciolti in 0.6 mL di metanolo. Si sono poi addizionati alla miscela 43 mg di 4-bromoanilina (0.25 mmol). Si è lasciata decorrere la reazione a Tamb per 72 h. Si sono poi aggiunti al vial 81.4 mg di 9-ammino-9-deossi *epi*-diidrochinina (**16**) sciolti in 2.2 mL di metanolo. Dopo 48 h si è filtrata la soluzione tramite Buchner lavando con metanolo ottenendo un solido giallo pallido (**14b**; 62 mg, 0.11 mmol, 43% di resa) la cui analisi NMR ha confermato la purezza.

$[\alpha]_D^{RT} = -106^\circ$ ($c = 0.10$, DMSO).

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.72 (s, 1H), 8.80 (d, $J = 4.6$ Hz, 1H), 8.17 (s, 1H), 7.97 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 7.75 (d, $J = 2.7$ Hz, 1H), 7.66 (d, $J = 4.6$ Hz, 1H), 7.57 – 7.39 (m, 3H), 7.37 – 7.28 (m, 2H), 5.99 (s, 1H), 3.93 (s, 3H), 3.42 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 3.15 (dd, $J = 13.4$, 9.0 Hz, 1H), 1.49 – 1.19 (m, 7H), 0.81 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H), 0.62 (s, 1H). Non sono stati riportati 3 segnali a 3.10-3.50 ppm e 2.40-2.70 ppm vista la vicinanza ai segnali di DMSO (2.50 ppm) e H₂O (3.35 ppm) che impedisce la loro integrazione.

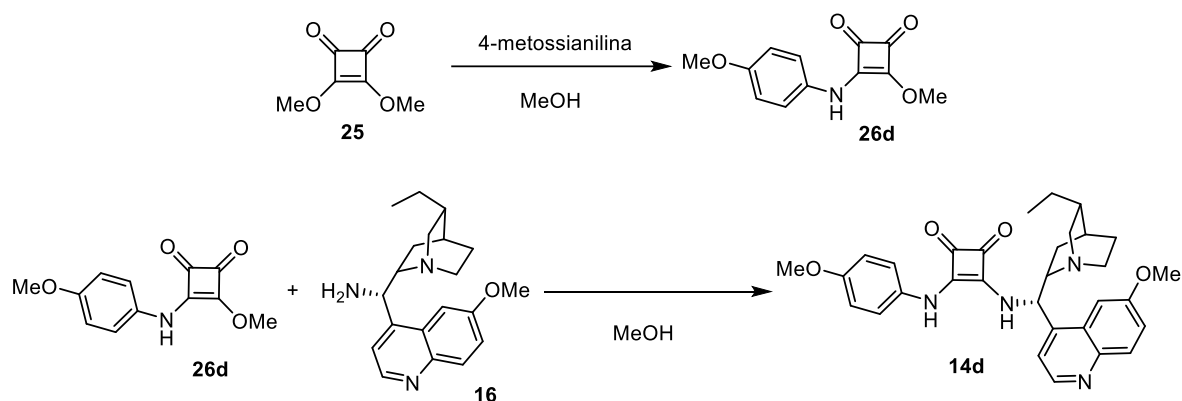
¹³C NMR (75 MHz, DMSO) δ 184.07, 179.79, 168.12, 163.27, 157.86, 147.82, 144.29, 143.14, 138.15, 132.05, 131.54, 127.48, 121.91, 120.19, 114.65, 101.50, 58.69, 57.19, 55.70, 40.25, 36.74, 27.95, 26.87, 25.88, 25.00, 12.00.

HRMS (ESI+) calcolata per C₃₀H₃₂BrN₄O₃ 575.1652; trovata sperimentalmente 575.1633 [M+H].

Sintesi del catalizzatore squaramidico 4-trifluorometilanilिनico¹³

Si sono posti in un vial 142 mg di dimetil-squarato (**25**; 1 mmol), sciolti in 3 mL di metanolo, e vi si sono aggiunti 161 mg di 4-(trifluorometil)anilina (1 mmol) precedentemente sciolti in 1 mL di metanolo. Dopo 72 h si è filtrata la soluzione tramite Buchner ottenendo un solido giallo intenso (**26c**; 163 mg, 0.60 mmol, 60% di resa) la cui analisi NMR ha confermato la sua purezza. Si sono posti in un vial 50 mg (0.18 mmol) di solido così ottenuto ai quali vi si sono aggiunti tramite pipetta Pasteur 60 mg (0.18 mmol) di 9-ammino-9-deossi *epi*-diidrochinina (**16**) sciolti in 2 mL di metanolo. Si è lasciato il sistema sotto agitazione magnetica per 48 h. Si è quindi effettuata una filtrazione tramite Buchner ottenendo poco solido giallo. Si è quindi riunito il precipitato con le acque madri e si è evaporata la soluzione tramite flusso di azoto ottenendo un solido. Si è aggiunto del diclorometano, si è posto sotto agitazione magnetica per 10 minuti e si è filtrata la sospensione creatasi tramite Buchner ottenendo così un solido giallo chiaro (**14c**; 52 mg, 0.09 mmol, 50% di resa). L'analisi NMR effettuata su quest'ultimo ha confermato la sua purezza.

¹⁴ ¹ H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 8.66 (s, 1H), 8.04 (d, J = 9.1 Hz, 1H), 7.82 (s, 1H), 7.52 (s, 1H), 7.42 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.23 (d, J = 7.2 Hz, 2H), 7.02 (br s, 2H), 6.23 (br s, 1H), 3.96 (s, 3H), 3.62 (m, 1H), 3.42 (m, 1H), 3.11 (m, 1H), 2.67 (m, 1H), 2.49 (m, 1H), 1.75–1.15 (m, 9H), 0.79 (br s, 5H).

Sintesi del catalizzatore squaramidico 4-metossianilino¹⁵

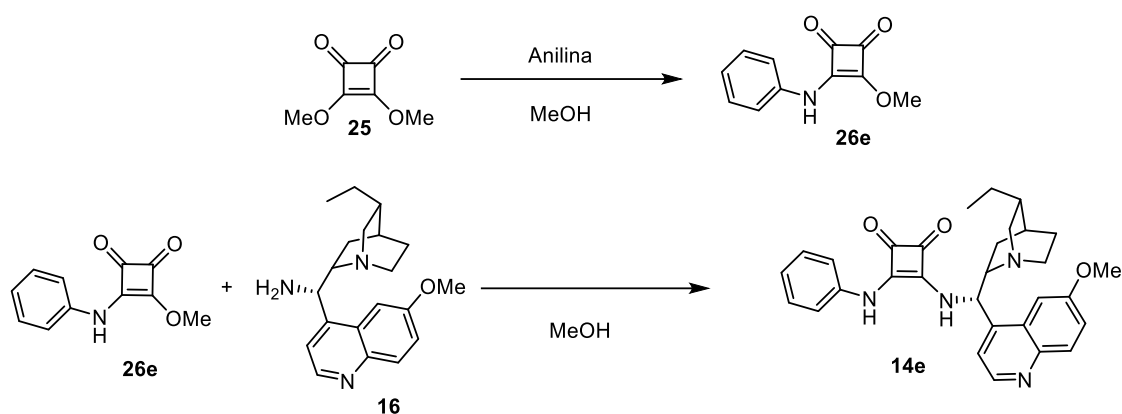
Si sono posti in un vial 142 mg di dimetil-squarato (**25**; 1 mmol), sciolti in 3 mL di metanolo, e vi si sono aggiunti 123 mg di 4-metossianilina ovvero anisidina (1 mmol) precedentemente sciolti in 1 mL di metanolo e si è lasciato il sistema sotto agitazione magnetica per 6 h. Si è poi filtrata la soluzione tramite Buchner, lavando con metanolo, ottenendo un solido bianco (**26d**; 168 mg, 0.72 mmol, 72% di resa) che è stato poi analizzato tramite NMR. Si sono posti in un vial 58.3 mg (0.25 mmol) di solido **26d** ai quali si sono aggiunti tramite pipetta Pasteur 81 mg (0.25 mmol) di 9-ammino-9-deossi *epi*-diidrochinina (**16**) sciolti in 2 mL di metanolo. Si è lasciato il sistema sotto agitazione magnetica per 48 h per poi procedere con una filtrazione su Buchner con lavaggi in metanolo ottenendo un solido bianco (**14d**; 54 mg, 0.10 mmol, 41% di resa) la cui analisi NMR ha confermato la purezza.

$[\alpha]_{\text{D}}^{\text{RT}} = -85^{\circ}$ ($c = 0.11$, DMSO).

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6) δ 9.53 (s, 1H), 8.81 (d, $J = 4.5$ Hz, 1H), 8.07 (s, 1H), 7.98 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 7.79 (d, $J = 2.7$ Hz, 1H), 7.66 (d, $J = 4.6$ Hz, 1H), 7.45 (dd, $J = 9.2$, 2.6 Hz, 1H), 7.34 – 7.24 (m, 2H), 6.92 – 6.85 (m, 2H), 5.99 (s, 1H), 3.94 (s, 3H), 3.71 (s, 3H), 3.50 – 3.36 (m, 1H), 3.15 (dd, $J = 13.5$, 8.8 Hz, 1H), 2.74 – 2.52 (m, 1H), 2.44 (d, $J = 13.7$ Hz, 2H), 1.36 (dd, $J = 13.6$, 7.3 Hz, 7H), 0.82 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H), 0.62 (d, $J = 11.1$ Hz, 1H).

$^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, DMSO) δ 183.22, 167.61, 163.59, 157.84, 155.32, 147.82, 144.29, 143.42, 131.88, 131.51, 127.52, 121.89, 120.06, 119.72, 114.52, 101.57, 58.71, 57.27, 55.71, 55.31, 55.25, 40.23, 36.81, 28.08, 26.90, 26.02, 25.05, 12.01.

HRMS (ESI+) calcolata per $\text{C}_{31}\text{H}_{35}\text{N}_4\text{O}_4$ 527.2653; sperimentalmente trovata 527.2647 [M+H].

Sintesi del catalizzatore squaramidico anilिनico¹⁶

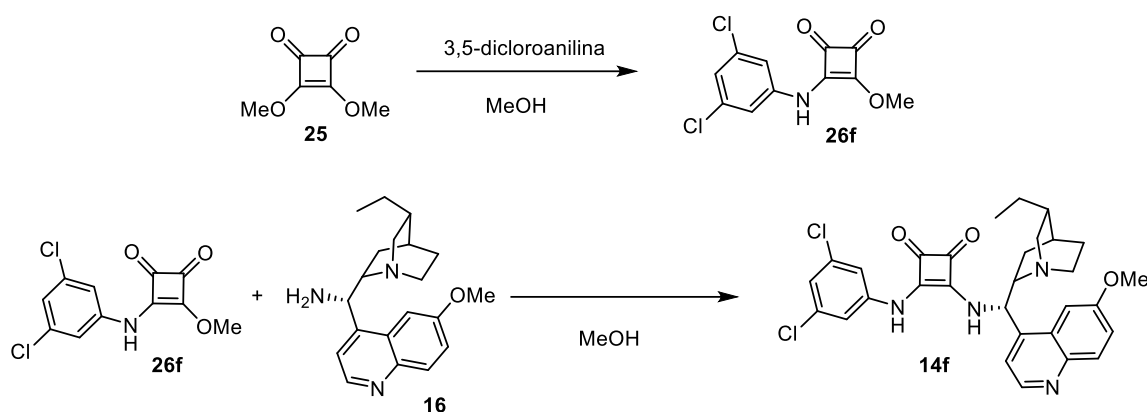
Si sono posti in un vial 142 mg di dimetil-squarato (**25**; 1 mmol), sciolti in 4 mL di metanolo, e vi si sono aggiunti 91 μ L di anilina (1 mmol). Dopo 72 h si è filtrata la soluzione tramite Buchner ottenendo un solido giallo (**26e**; 115 mg, 0.57 mmol 57% di resa), che è stato analizzato tramite NMR confermando la sua purezza. Si sono posti in un vial 50.8 mg (0.25 mmol) del solido ai quali vi si sono aggiunti tramite pipetta Pasteur 81 mg (0.25 mmol) di 9-ammino-9-deossi *epi*-dihydrochinina (**16**) sciolti in 2 mL di metanolo. Si è lasciato il sistema sotto agitazione per 48 h per poi effettuare una filtrazione con Buchner con lavaggi con metanolo, ottenendo un solido giallo chiaro (**14e**; 76.4 mg 0.154 mmol, 62% di resa) la cui analisi NMR ha confermato la purezza.

$[\alpha]_{\text{D}}^{\text{RT}} = -67^\circ$ ($c = 0.12$, DMSO).

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 9.67 (s, 1H), 8.81 (d, $J = 4.5$ Hz, 1H), 8.20 (s, 1H), 7.98 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 7.78 (d, $J = 2.7$ Hz, 1H), 7.67 (d, $J = 4.6$ Hz, 1H), 7.45 (dd, $J = 9.2, 2.6$ Hz, 1H), 7.41 – 7.35 (m, 2H), 7.34 – 7.26 (m, 2H), 7.04 – 6.97 (m, 1H), 6.00 (s, 1H), 3.94 (s, 3H), 2.44 – 2.38 (m, 1H), 1.57 (s, 1H), 1.43 – 1.30 (m, 7H), 0.82 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H), 0.61 (s, 1H). Non sono stati riportati segnali a 3.10-3.50 ppm e 2.40-2.70 ppm vista la vicinanza ai segnali di DMSO (2.50 ppm) e della sua acqua (3.35 ppm) che impedisce la loro integrazione.

^{13}C NMR (75 MHz, DMSO) δ 183.86, 179.74, 168.02, 163.60, 157.84, 147.82, 144.29, 143.30, 138.71, 131.52, 129.41, 129.33, 127.50, 123.30, 122.79, 121.89, 118.48, 118.08, 101.54, 58.74, 57.27, 55.71, 48.60, 40.24, 36.81, 28.07, 26.90, 25.98, 25.05, 12.01

HRMS (ESI+) calcolata per for $\text{C}_{30}\text{H}_{33}\text{N}_4\text{O}_3$ 497.2547; sperimentalmente trovata 497.2543 [M+H].

Sintesi del catalizzatore squaramidico 3,5-dicloroanilिनico¹⁵

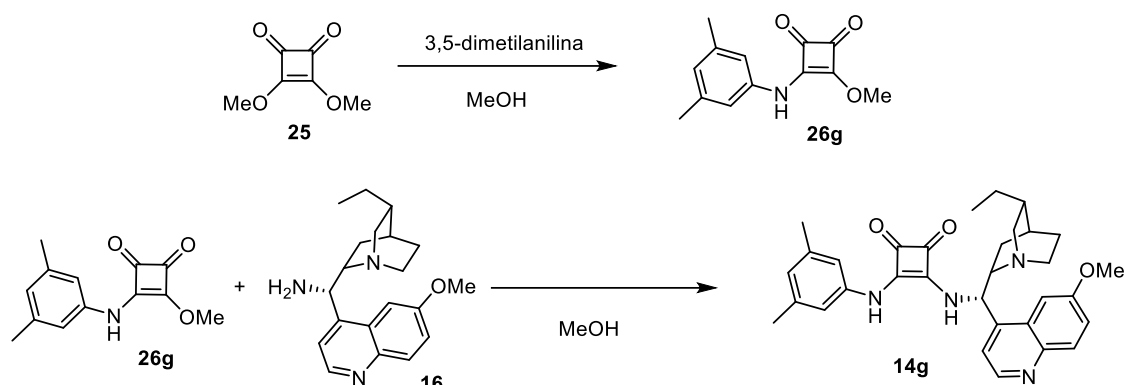
Si sono posti in un vial 142 mg di dimetil-squarato (**25**; 1 mmol), sciolti in 4 mL di metanolo, e vi si sono aggiunti 162 mg di 3,5-dicloroanilina (1 mmol). Si è lasciata la soluzione sotto agitazione magnetica a Tamb. per 96 h. Si è effettuata una filtrazione su Buchner ottenendo un solido marrone (**26f**; 200 mg, 0.74 mmol, 74% di resa). Si sono posti in un vial 68 mg (0.25 mmol) di solido ai quali vi si sono aggiunti tramite pipetta Pasteur 81 mg (0.25 mmol) di 9-ammino-9-deossi *epi*-diidrochinina (**16**) sciolti in 2 mL di metanolo. Si è lasciato il sistema sotto agitazione magnetica per 48 h. Si è effettuata una filtrazione su Buchner per ottenere un solido marrone chiaro (**14f**; 92 mg, 0.16 mmol, 65% di resa) che è stato analizzato tramite NMR confermando la sua purezza.

$[\alpha]_{\text{D}}^{\text{RT}} = -76^\circ$ ($c = 0.10$, DMSO).

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 8.80 (d, $J = 4.5$ Hz, 1H), 7.97 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 7.66 (d, $J = 4.7$ Hz, 1H), 7.44 (dd, $J = 9.2, 2.6$ Hz, 1H), 7.37 (d, $J = 1.7$ Hz, 2H), 7.15 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 6.00 (s, 1H), 3.94 (s, 3H), 1.56 (s, 1H), 1.46 – 1.25 (m, 7H), 0.80 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H).

^{13}C NMR (75 MHz, DMSO) δ 195.82, 184.69, 168.37, 162.74, 157.85, 147.82, 144.26, 143.08, 141.19, 134.56, 131.54, 127.47, 121.89, 121.59, 116.67, 101.46, 58.72, 57.16, 55.69, 48.60, 40.26, 36.79, 28.00, 26.88, 25.85, 25.00, 11.99

HRMS (ESI+) calcolata per $\text{C}_{30}\text{H}_{31}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}_3$ 565.1768; sperimentalmente trovata 565.1742 [M+H].

Sintesi del catalizzatore squaramidico 3,5-dimetilanilino¹⁵

Si sono posti in un vial 71 mg di dimetil-squarato (**25**; 0.5 mmol), sciolti in 2 mL di metanolo e vi si sono aggiunti 69 μL di 3,5-dimetilanilina (0.5 mmol). Si è lasciata la soluzione sotto agitazione magnetica a Tamb. per 48 h. Si è quindi effettuata un TLC di controllo con miscela eluente etere di petrolio/EtOAc 7/3 per verificare il completamento della reazione. Si è quindi proceduto con la filtrazione su Buchner e con l'analisi NMR di solido e acque madri. Il primo ha mostrato una prevalenza di derivato diamminico, mentre le seconde presentano il prodotto con delle impurezze. Si sono quindi evaporate le acque madri per ottenere un solido giallo. Si è effettuato un plug su silice con etere di petrolio seguito da etere etilico caricando il solido mediante dissoluzione in etilacetato contenente tracce di metanolo. L'analisi NMR effettuata sul solido giallo essiccato così ottenuto (**26g**; 100 mg, 0.43 mmol, 87% di resa) ha confermato la sua purezza. Si sono quindi posti in un vial 57.8 mg (0.25 mmol) di solido ai quali si sono aggiunti tramite pipetta Pasteur 81 mg (0.25 mmol) di 9-ammino-9-deossi *epi*-diidrochinina sciolti in 2 mL di metanolo. Si è lasciato il sistema sotto agitazione magnetica per 48 h e si è effettuata una filtrazione tramite Buchner ottenendo un solido bianco (**14g**; 52 mg, 0.10 mmol, 40% di resa). L'analisi NMR effettuata su quest'ultimo ha confermato la sua purezza.

$[\alpha]_{\text{D}}^{\text{RT}} = -85^\circ$ ($c = 0.09$, DMSO).

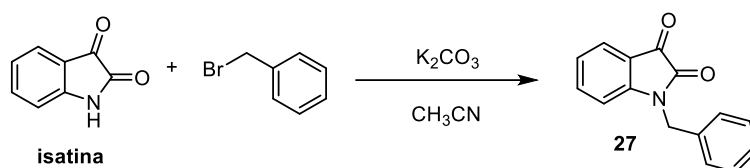
$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 9.59 (s, 1H), 8.80 (d, $J = 4.6$ Hz, 1H), 8.10 (s, 1H), 7.97 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 7.78 (d, $J = 2.7$ Hz, 1H), 7.66 (d, $J = 4.6$ Hz, 1H), 7.44 (dd, $J = 9.2$, 2.6 Hz, 1H), 6.98 – 6.92 (m, 2H), 6.68 – 6.62 (m, 1H), 6.01 (s, 1H), 3.94 (s, 3H), 3.41 (d, $J = 9.5$ Hz, 1H), 3.21 – 3.07 (m, 1H), 2.67 – 2.52 (m, 1H), 2.43 (d, $J = 13.6$ Hz, 1H), 2.26 (d, $J = 3.2$ Hz, 1H), 1.48 – 1.31 (m, 8H), 0.81 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H), 0.60 (s, 1H).

^{13}C NMR (75 MHz, DMSO) δ 183.91, 179.90, 167.85, 163.65, 157.82, 147.79, 144.28, 143.40, 138.44, 131.50, 127.49, 124.47, 121.85, 115.95, 101.53, 58.65, 57.23, 55.68, 40.23, 36.80, 28.07, 26.89, 25.96, 25.04, 21.04, 11.97.

HRMS (ESI+) calcolata per $\text{C}_{32}\text{H}_{36}\text{N}_4\text{O}_3$ 525.2860; sperimentalmente trovata 525.2879 [M+H].

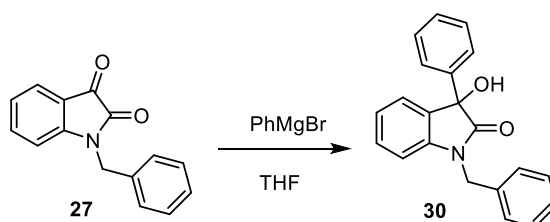
Sintesi del substrato ossindolico^{17,18}

Benzilazione dell'ossindolo



Si sono posti in un pallone da 250 mL 5 g (34 mmol) di isatina, 14.09 g (102 mmol) di K_2CO_3 , 100 mL di acetonitrile e 4 mL (43 mmol) di benzil bromuro. Si è montato il refrigerante e si è scaldato tramite bagno ad olio a 50 °C. Si è lasciato il sistema in agitazione alla suddetta temperatura per 24 h. Si è evaporato l'acetonitrile al rotavapor, ottenendo un solido che è stato disciolto in diclorometano per poi essere lavato 3 volte con acqua, e successivamente con brine. La fase organica è stata anidrificata con Na_2SO_4 , filtrata ed evaporata. L'analisi NMR effettuata subito dopo ha mostrato ancora presenza di isatina, si è quindi proceduto con cristallizzazione da etanolo ottenendo un solido giallo (27; 4.83 g, 20.4 mmol, 60% di resa).

Addizione di fenil magnesio bromuro

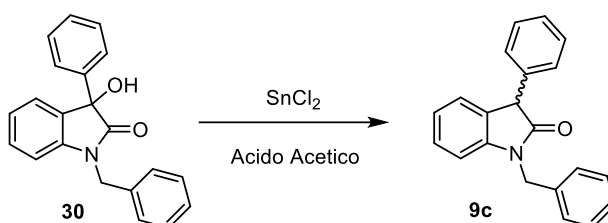


Si sono posti in un pallone a due colli da 100 mL, precedentemente anidrificato in stufa e posto sotto azoto, 2.38 g (10 mmol) di isatina benzilata (27) e 30 mL di THF. Si sono poi aggiunte tramite siringa 6 mL di soluzione 2 M di fenil magnesio bromuro (12 mmol). Si è controllato l'andamento tramite TLC con soluzione eluente etilacetato in diclorometano al 5%. Dopo 3 h, la reazione è risultata completa e si sono aggiunti alla miscela di reazione 20 mL di cloruro di ammonio acquoso saturo e si è estratto con etilacetato. Dopo aver anidrificato con MgSO_4 la fase organica, filtrato ed aver eliminato il solvente si è ottenuto

un solido giallo/arancione leggermente bagnato. L'analisi NMR effettuata su quest'ultimo ha confermato la presenza di prodotto (in maggioranza) e poco reagente. Si è quindi effettuata una colonna cromatografica con eluente iniziale diclorometano la cui polarità è stata innalzata gradualmente passando da etilacetato al 5% in diclorometano per finire al 10%. L'analisi NMR effettuata sul prodotto solido (**30**; 1.622 g, 5.1 mmol, 51% di resa) ha confermato la sua purezza.

^1H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.49 – 7.38 (m, 2H), 7.38 – 7.27 (m, 7H), 7.27 – 7.15 (m, 2H), 7.04 (td, $J = 7.6, 1.0$ Hz, 1H), 6.78 (dt, $J = 7.8, 0.8$ Hz, 1H), 5.04 (d, $J = 15.7$ Hz, 1H), 4.81 (d, $J = 15.8$ Hz, 1H), 4.09 (s, 0H), 3.81 (s, 1H), 2.04 (s, 1H), 1.26 (t, $J = 7.1$ Hz, 1H).

Riduzione con Cloruro di stagno



Si sono posti 0.95 g (3 mmol) di 3-idrossi ossindolo (**30**) in un pallone da 100 mL, e si sono sciolti in 15 mL di acido acetico glaciale. Si sono quindi aggiunti 1.14 g (6 mmol) di stagno cloruro. Il sistema è stato messo sotto agitazione magnetica a 80 °C per 2.30 h. Si sono aggiunti quindi H₂O e brine alla miscela di reazione per poi effettuare estrazioni con etilacetato. Dopo aver anidrificato le fasi organiche, filtrato ed eliminato il solvente tramite rotavapor, si è effettuata una colonna cromatografica con eluente Esano/etilacetato al 20%. L'analisi NMR effettuata sul prodotto purificato mostra comunque una ingente presenza di acido acetico il quale è stato eliminato con lavaggi di bicarbonato di sodio acquoso di una sua soluzione in EtOAc. Si è ottenuto un solido giallo chiaro (**9c**; 290 mg, 0.97 mmol, 32% di resa) la cui analisi NMR ha confermato la purezza.

^1H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.42 – 7.10 (m, 13H), 7.03 (dt, $J = 8.4, 4.2$ Hz, 1H), 6.80 (dd, $J = 7.7, 2.2$ Hz, 1H), 5.02 (dd, $J = 15.6, 2.1$ Hz, 1H), 4.91 (dd, $J = 15.6, 2.1$ Hz, 1H), 4.72 (s, 1H).

6. Bibliografia

-
- ¹ Xu, F. (2013). Organocatalysis for asymmetric synthesis: from lab to factory. In Sustainable Catalysis, (ed. Dunn, P.J., Hii, K.K., Krische, M.J., and Williams, M.T.), 317–337, Hoboken, USA, John Wiley & Sons.
- ² Carlone, A., and Bernardi, L. (2019). Enantioselective organocatalytic approaches to active pharmaceutical ingredients – selected industrial examples. *Phys. Sci. Rev.*, 4, Article number UNSP 20180097, DOI:10.1515/psr-2018-0097.
- ³ J. A. Sclafani, J. Chen, D. V. Levy, H. Reese, M. Dimitri, P. Mudipalli, M. Christie, C. J. Neville, M. Olsen, R. P. Bakale, The First Asymmetric Pilot-Scale Synthesis of TV-45070. *Org. Process Res. Dev.* **2017**, 21, 1616
- ⁴ Hamza, A., Schubert, G., Soós, T., et al. (2006). Theoretical studies on the bifunctionality of chiral thiourea-based organocatalysts: competing routes to C–C bond formation. *J. Am. Chem. Soc.* 128, 13151-13160; b) Zhu, J.-L., Zhang, Y., Liu, C., et al. (2012). Insights into the dual activation mechanism involving bifunctional Cinchona alkaloid thiourea organocatalysts: an NMR and DFT study. *J. Org. Chem.* 77, 9813-9825; c) Kótai, B., Kardos, G., Hamza, A., et al. (2014). On the mechanism of bifunctional squaramide-catalyzed organocatalytic Michael addition: a protonated catalyst as an oxyanion hole. *Chem. Eur. J.* 20, 5631-5639.
- ⁵ J. P. Malerich, K. Hagihara, V. H. Rawal, Chiral Squaramide Derivatives are Excellent Hydrogen Bond Donor Catalysts, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130, 14416.
- ⁶ J. Alemán, A. Parra, H. Jiang, K. A. Jørgensen, Squaramides: Bridging from Molecular Recognition to Bifunctional Organocatalysis. *Chem. Eur. J.* **2011**, 17, 6890
- ⁷ M. Chafeev, S. Chowdhury, R. Fraser, J. Fu, R. K. Kamboj, D. Hou, S. Liu, M. S. Bagherzadeh, S. Sviridov, S. Sun, J. Sun, N. Chakka, T. Hsieh, V. Raina, Spiro-oxindole compounds and their uses as therapeutic agents, CA2853635A1 (**2006**)
- ⁸ L. Zhang, M.-M. Lee, S.-M. Lee, J. Lee, M. Cheng, B.-S. Jeong, H.-G. Park, S.-S. Jew, Novel Cinchona-Aminobenzimidazole Bifunctional Organocatalysts, *Adv. Synth. Catal.* **2009**, 351, 3063
- ⁹ Y. Wang, K. L. Milkiewicz, M. L. Kaufman, L. He, N. G. Landmesser, D. V. Levy, S. P. Allwein, M. A. Christie, M. A. Olsen, C. J. Neville, K. Muthukumar, Plant Process for the Preparation of Cinchona Alkaloid-Based Thiourea Catalysts, *Org. Process Res. Dev.* **2017**, 21, 408.
- ¹⁰ Raghunath C., A. K. Dubey, S. K. Ghosh, Organocatalyzed Diastereo- and Enantioselective Conjugate Addition of Nitroalkanes to β -Silylmethylene Malonates: Direct Access to Enantioenriched Organosilanes, *Eur. J. Org. Chem.* **2020**, 19, 2962
- ¹¹ J. V. Alegre-Requena, E. Marqués-López, R. P. Herrera, One-pot synthesis of unsymmetrical squaramides, *RSC Adv.* **2015**, 5, 33450.
- ¹² B. H. Yong, S. Surajit, L. J. Heon, K. Ju-Young, S. M. Jong, L. Sungyul, Z. Y. Jian, S. C. Eui, Organocatalytic Enantioselective Michael-Addition of Malonic Acid Half-Thioesters to β -Nitroolefins: From Mimicry of Polyketide Synthases to Scalable Synthesis of γ -Amino Acids, *Adv. Synth. Catal.* **2011**, 353, 3196.

-
- ¹³ Ye Zhu, Jeremiah P. Malerich, and Viresh H. Rawal, Squaramide-Catalyzed Enantioselective Michael Addition of Diphenyl Phosphite to Nitroalkenes, *Angew. Chem. Int.*, **2010**, *49*, 153
- ¹⁴ I. V. Kuchurov, A. G. Nigmatov, E. V. Kryuchkova, A. A. Kostenko, A. S. Kucherenko, S. G. Zlotin, Stereodivergent Michael addition of diphenylphosphite to α -nitroalkenes in the presence of squaramide-derived tertiary amines: an enantioselective organocatalytic reaction in supercritical carbon dioxide, *Green Chem.*, **2014**, *16*, 1521
- ¹⁵ L. Dai, S. X. Wang, F. E. Chen, A Bifunctional Cinchona Alkaloid-Squaramide Catalyst for the Highly Enantioselective Conjugate Addition of Thiols to trans-Chalcones, *Adv. Synth. Catal.* **2010**, *352*, 2137
- ¹⁶ S. Bujosa, E. Castellanos, A. Frontera, C. Rotger, A. Costa, B. Soberats, Self-assembly of amphiphilic aryl-squaramides in water driven by dipolar π - π interactions, *Org. Biomol. Chem.*, **2020**, *18*, 888
- ¹⁷ C. S. Marques, P. McArdle, A. Erxleben, A. J. Burke, Accessing New 5- α -(3,3-Disubstituted Oxindole)-Benzylamine Derivatives from Isatin: Stereoselective Organocatalytic Three Component Petasis Reaction, *Eur. J. Org. Chem.*, **2020**, 3622
- ¹⁸ J. T. Xia, X. P. Hu, Copper-Catalyzed Asymmetric Propargylic Alkylation with Oxindoles: Diastereo- and Enantioselective Construction of Vicinal Tertiary and All-Carbon Quaternary Stereocenters, *Org. Lett.* **2020**, *22*, 1102