
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 strutturale di derivati piperidinici e morfolinici chirali

Tesi di laurea sperimentale

CANDIDATO

Pierluigi Moimare

RELATORE

Chiar.mo Prof. Luca Bernardi

CORRELATORI

Chiar.mo Prof. Andrea Mazzanti

Dott. Giulio Bertuzzi

Anno Accademico 2018/2019

Riassunto

L'argomento di questa tesi riguarda lo studio di processi catalitici per la sintesi di piperidine chirali 3,4,5-trisostituite e di morfoline 2,6-disostituite, valutando substrati contenenti due siti elettrofili: un estere α,β -insaturo e un chetone, capaci di dare delle reazioni a cascata di addizione e ciclizzazione in combinazione con diversi pro-nucleofili (tiofenoli, acetone cianidrina, malononitrile). Come catalizzatori, sono stati applicati sistemi chirali e achirali a trasferimento di fase: per le reazioni enantioselettive sono stati usati ciclopeptoidi o un sale d'ammonio quaternario derivato dagli alcaloidi della Cinchona, ottenendo eccessi enantiomerici moderati per i prodotti morfolinici, e da buoni ad ottimi per le piperidine. È stata altresì determinata la configurazione assoluta delle piperidine 3,4,5-trisostituite con simulazioni quantomeccaniche dei loro spettri chiroottici. Infine, la configurazione relativa dei composti morfolinici 2,6-disostituiti è stata assegnata mediante esperimenti NMR.

Abstract

The topic of this thesis concerns the study of catalytic processes for the synthesis of chiral 3,4,5-trisubstituted piperidine and 2,6-disubstituted morpholine. Substrates possessing an α,β -unsaturated ester and a ketone moiety, able to undergo addition/cyclization cascade reactions with different pro-nucleophiles (thiophenols, acetone cyanohydrin and malononitrile), have been evaluated. Chiral and achiral systems for phase-transfer catalysis have been applied as catalysts.

Moderate enantiomeric excesses have been obtained for the morpholinic products and good to excellent values for the piperidinic products, by using cyclopeptoids and quaternary ammonium salts derived from Cinchona alkaloids as catalysts respectively. Moreover, the absolute configuration of the 3,4,5-trisubstituted piperidines has been determined through quantummechanical simulations of their chiroptical spectra. Finally, the relative configuration of the 2,6-disubstituted morpholines has been assigned through NMR experiments.

Sommario

1	Introduzione	4
1.1	Piperidine	4
1.2	Morfoline	6
1.3	Organocatalisi asimmetrica.....	8
1.4	Alcaloidi della Cinchona.....	10
1.5	Catalisi a trasferimento di fase.....	13
1.6	Ciclopeptoidi.....	16
1.7	Addizione di Michael e reazioni domino.....	18
1.8	Metodi per la determinazione della configurazione nei composti organici	21
1.8.1	Birifrangenza e dicroismo circolare (CD)	22
1.8.2	Simulazione quantomeccanica dello spettro ECD.....	27
1.8.3	Teoria del funzionale densità (DFT).....	30
2	Obiettivi	34
3	Risultati e discussione.....	38
3.1	Preparazione dei substrati	38
3.2	Prodotti delle reazioni a cascata sulfa-Michael/aldolica.....	39
3.3	reazioni con l'aceton cianidrina	43
3.4	reazioni con il malononitrile	48
3.5	Determinazione della configurazione del prodotto 3aa	52
3.5.1	Configurazione relativa di 3aa.....	52
3.5.2	Configurazione assoluta di 3aa	54
3.6	Determinazione della configurazione relativa del prodotto 6.....	67
4	Conclusioni	71
5	Sezione sperimentale	74
5.1	Metodi generali	74
5.2	Materiali	74
5.3	Preparazione dei substrati 1b e 1c.....	75
5.3.1	Sintesi dell'intermedio 14.....	75
5.3.2	Sintesi dell'intermedio 12.....	75
5.3.3	Sintesi del substrato 1b	76

5.3.4	Sintesi del substrato 1c	76
5.4	Preparazione dei prodotti racemici 3	77
5.4.1	Sintesi del prodotto rac-3ba	77
5.4.2	Sintesi del prodotto rac-3ca	77
5.5	Preparazione dei prodotti 3	78
5.5.1	Sintesi del prodotto 3ba	78
5.5.2	Sintesi del prodotto 3ca	78
5.6	Preparazione del prodotto 3aa	79
5.7	test catalitici con i ciclopeptoidi	80
5.7.1	Ottimizzazione delle condizioni di reazione	80
5.7.2	Test con i ciclopeptoidi	81
5.7.3	Prove senza catalizzatore	81
5.8	Preparazione dei prodotti 7 e 8	82
5.8.1	Sintesi del prodotto 7	82
5.8.2	Sintesi del prodotto 8	82
5.9	Preparazione dei prodotti 9 e 10	83
5.9.1	Sintesi del prodotto 9	83
5.9.2	Sintesi del prodotto 10	84
5.10	Spettri NMR allegati	85

1 INTRODUZIONE

1.1 PIPERIDINE

Le piperidine e i suoi derivati sono dei building block importanti in numerosi protocolli sintetici. L'anello piperidinico si trova in molti alcaloidi e composti naturali o sintetici aventi proprietà biologiche interessanti¹.

La Figura 1.1 riporta la struttura della piperidina (A) e alcuni esempi di composti naturali e farmacologicamente attivi contenenti un nucleo piperidinico: il composto meso (B) è stato isolato dalla pianta brasiliana *Siphocampylus verticillatus*, la morfina (C) è un alcaloide dell'oppio usato nei farmaci analgesici per il trattamento del dolore acuto e cronico e il metilfenidato (D) è un farmaco usato per curare il disturbo da deficit di attenzione/iperattività (ADHD).

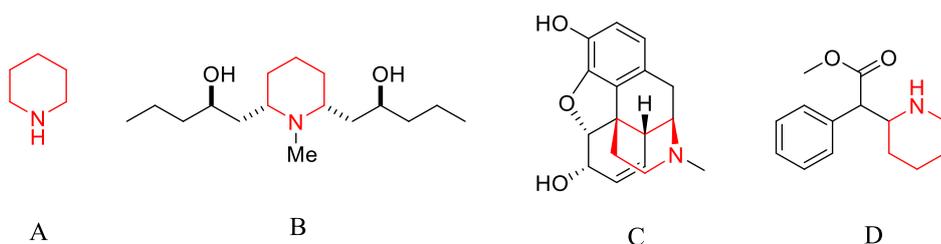


Figura 1.1-Struttura della piperidina (A) e esempi di composti naturali o biologicamente attivi contenenti l'anello piperidinico.

La sintesi delle piperidine e dei suoi derivati è oggetto di continui studi nel campo della chimica organica sintetica². In particolare, risulta estremamente funzionale lo sviluppo di metodologie sintetiche con lo scopo di produrre delle piperidine funzionalizzate, aventi stereocentri, con eccellenti valori di diastereoselezione ed enantioselezione.

D'altra parte, il completo controllo della stereochimica di una determinata struttura che presenta uno o più centri stereogenici è estremamente importante, soprattutto nel campo farmaceutico, dove differenti stereoisomeri della stessa struttura possono avere una diversa attività farmacologica.

¹ D. O'Hagan *Nat. Prod. Rep.* **2000**, 17, 435-446.

² M. G. P. Buffat *Tetrahedron* **2004**, 60, 1701-1729.

I metodi sintetici più usati per la sintesi di piperidine utilizzano delle reazioni di espansione dell'anello (Figura 1.2, a), riduzione di piridine (Figura 1.2, b) e ciclizzazioni con la formazione di nuovi legami C-N (Figura 1.2, c) o C-C (Figura 1.2, d).

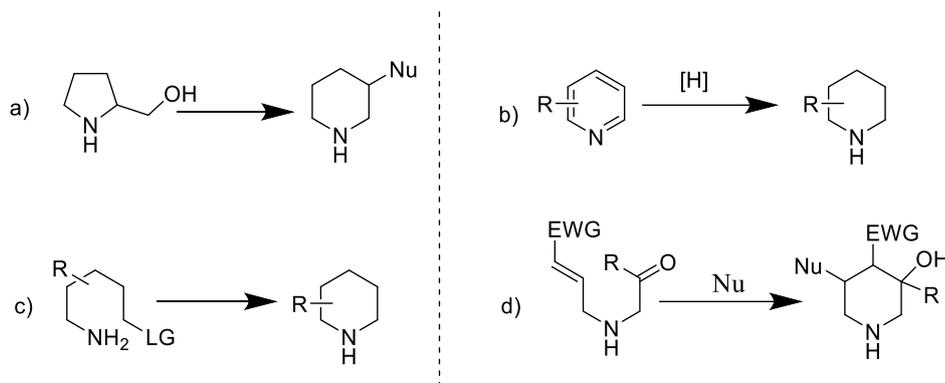


Figura 1.2-Metodi generali per la sintesi di piperidine.

Alcuni esempi rappresentativi sono riportati nella Figura 1.3. Più in dettaglio, Cossy ha riportato la sintesi di 3-idrossipiperidine, con ottime rese e ritenzione dell'enantiopurezza partendo da derivati del pirrolidinmetanolo, con un meccanismo di espansione dell'anello (Figura 1.3, a)³. Cheng e Xu hanno invece sviluppato una nuova strategia per un'efficiente reazione di idrogenazione di nuclei piridinici, usando palladio supportato su carbone attivo (Pd/C) come catalizzatore in condizioni blande, per ottenere 4-piperidincarbossamidi partendo da isonicotinammidi (Figura 1.3, b)⁴. Fustero ha riportato una reazione di “cross-metatesi”, seguita da una reazione di aza-Michael, per produrre piperidine 2-sostituite, con rese eccellenti. (Figura 1.3, c)⁵. Infine, Serpier, nel 2015, ha sviluppato reazioni di addizione-carbociclizzazione a cascata, sfruttando, come nucleofili, acidi boronici e, come elettrofili, particolari accettori di Michael. Queste reazioni vengono promosse da complessi di Rh chirali⁶. Questo processo dà accesso a piperidine altamente funzionalizzate caratterizzate da tre centri stereogenici, con buone rese ed ottime enantioselezioni (Figura 1.3, d).

³ J. Cossy, C. Dummas, D. Gomez Pardo *Eur. J. Org. Chem.* **1999**, 1693-1699.

⁴ C. Cheng, J. Xu, R. Zhu, L. Zing, X. Wang, Y. Hu *Tetrahedron*, **2009**, 65, 8538-8541.

⁵ S. Fustero, D. Jiménez, M. Sánchez-Rosselló, C. del Pozo *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, 129, 6700-6701.

⁶ F. Serpier, J-L, Brayer, B. Folléas, S. Darses *Org. Lett.* **2015**, 17, 5496-5499.

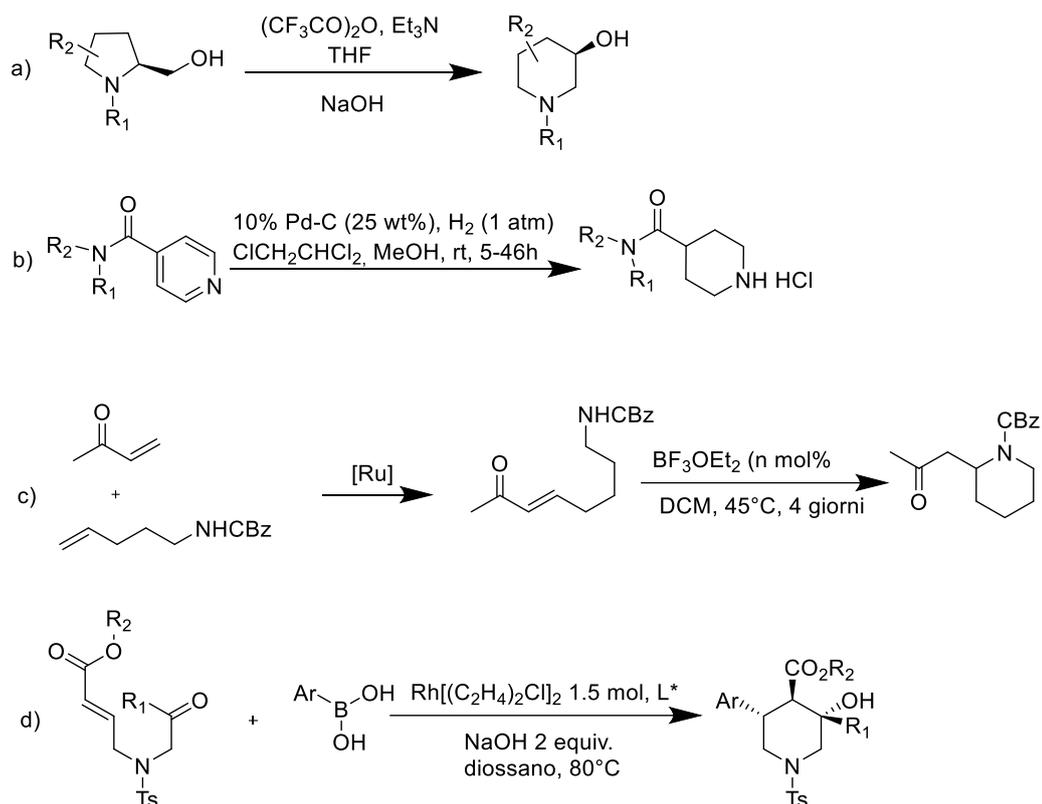


Figura 1.3-Esempi di metodi sintetici riportati nella letteratura utilizzati per ottenere piperidine funzionalizzate.

1.2 MORFOLINE

La morfolina è una molecola costituita da un ciclo a 6 termini, caratterizzata da un atomo di ossigeno e da uno di azoto in posizione 1,4. Le morfoline C-sostituite sono delle molecole importanti, in quanto mostrano un ampio spettro di attività biologica. In particolare, i derivati della morfolina trovano applicazioni come inibitori dell'HIV proteasi, antiinfiammatori, agenti antimicrobici, nel campo delle terapie per il trattamento di diabete e obesità, disordini mentali, disfunzioni sessuali e cura dei tumori⁷.

La Figura 1.4 riporta la struttura della morfolina (A) e alcuni esempi di farmaci contenenti l'anello morfolinico: la Viloxazina (B), un farmaco antidepressivo, il Linezolid (C), un antibiotico della famiglia degli ossazolidinoni e l'Aprepitant (D), un antiemetico per la prevenzione di nausea e vomito.

⁷ F. Foschi, D. Albanese, I. Pecnikaj, A. Tagliabue, M. Penso *Org. Lett.* **2017**, 19, 70-73.

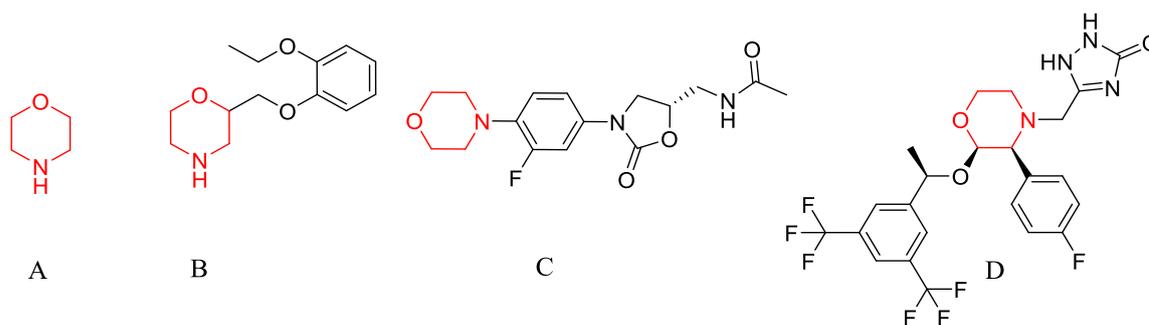


Figura 1.4-Struttura della morfolina con esempi di farmaci contenenti l'anello morfolinico.

Diverse sono, anche in questo caso, le metodologie sintetiche elaborate per ottenere morfoline variamente sostituite, come riportato negli esempi della Figura 1.5. In particolare, Penso ha riportato una reazione di ciclizzazione intramolecolare di un tosilammido-diolo monosolfonato⁸ per la sintesi di morfoline 2,6-bisostituite (Figura 1.5, a). Bouron ha riportato invece una reazione di alchilazione di un lattame chirale non racemico, con ottimi valori di diastereoselezione (d.e.>95%)⁹, attraverso la formazione di un enolato intermedio. Riducendo il gruppo chetonico e rimuovendo l'appendice chirale, tramite un'idrogenolisi, Bouron ha ottenuto delle morfoline 2,6-bisostituite (Figura 1.5, b). Un altro esempio significativo è stato riportato da Fatima, che ha preparato delle morfoline 2,5 e 2,6-disostituite tramite una reazione stereoselettiva di ammino-ossigenazione di alcheni¹⁰ (Figura 1.5, c). Inoltre, Leathen ha sfruttato una reazione di carboamminazione mediata da Pd (0) per la preparazione di morfoline cis-3,5 bisostituite¹¹ (Figura 1.5, d). Infine, Luescher ha sviluppato una metodologia, dove vengono usati dei reagenti SnAP (Sn Amine Protocol), per la trasformazione di aldeidi in morfoline sostituite¹² (Figura 1.5, e).

⁸ M. Penso, V. Lupi, D. Albanese, F. Foschi, D. Landini, A. Tagliabue *Synlett* **2008**, 2451-2454.

⁹ E. Bouron, G. Goussard, C. Marchand, M. Bonin, X. Pannecoucke, J-C. Quiron, H-P. Husson. *Tetrahedron Letters*. **1999**, 40, 7227-7230.

¹⁰ C. F. Sequeira, S. R. Chemler *Org. Lett.* **2012**, 14, 17, 4482-4485.

¹¹ M. L. Leathen, B. R. Rosen, J. P. Wolfe *J. Org. Chem* **2009**, 74, 14, 5107-5110.

¹² M. U. Luescher, C-V. T. Vo, J. W. Bode *Org. Lett* **2014**, 16, 1236-1239.

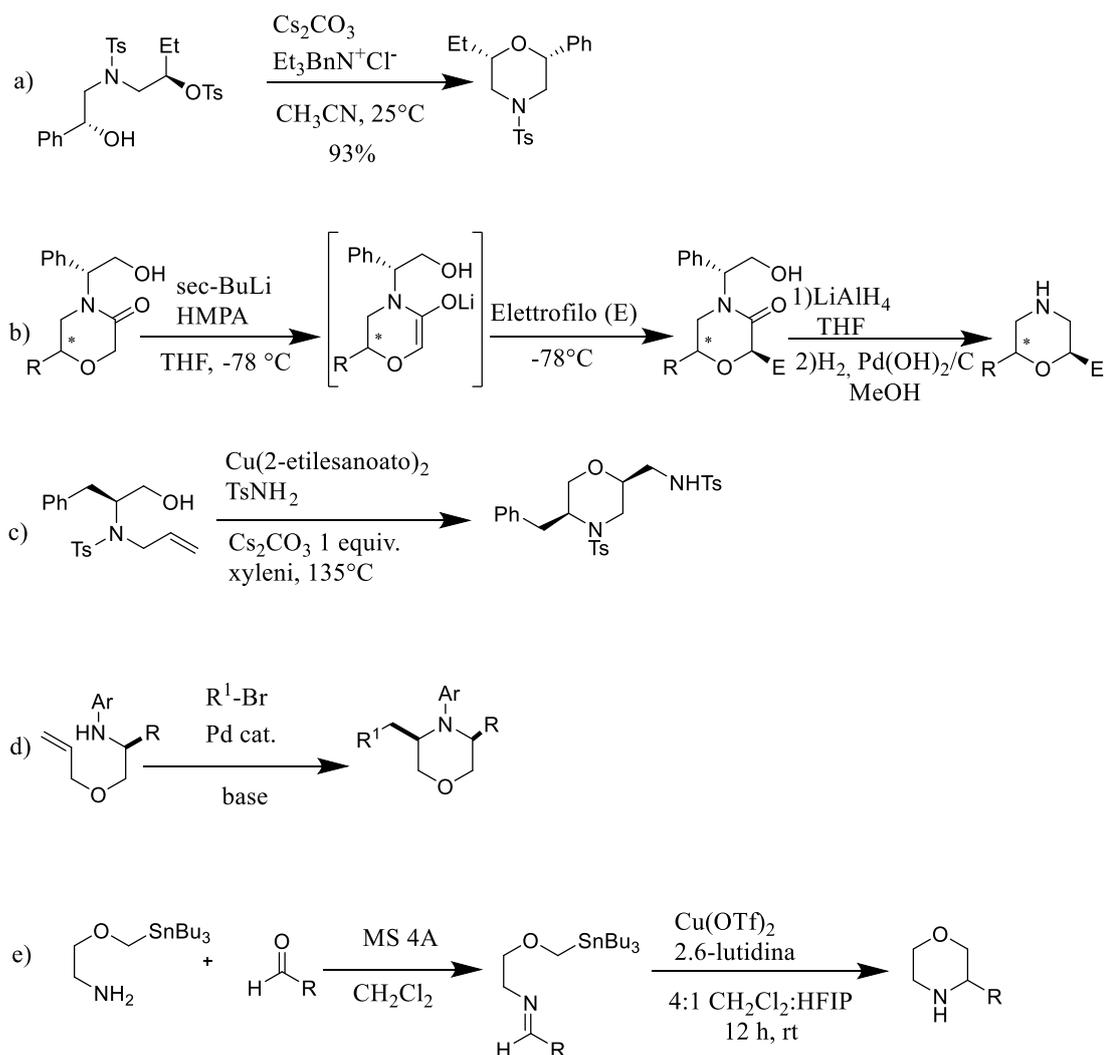


Figura 1.5- Esempi di metodi sintetici riportati nella letteratura utilizzati per ottenere morfoline sostituite.

1.3 ORGANOCATALISI ASIMMETRICA

La produzione di composti organici otticamente puri è molto importante, specialmente nel campo farmaceutico. Esistono tre classi principali di catalizzatori in grado di catalizzare delle reazioni con una selettività verso un solo enantiomero:

1. Complessi di metalli di transizione
2. Enzimi (biocatalizzatori)
3. Organocatalizzatori

L'organocatalisi usa piccole molecole organiche chirali per catalizzare svariate trasformazioni sintetiche¹³. Gli organocatalizzatori presentano numerosi vantaggi, poiché sono robusti, economici, facilmente disponibili da fonti naturali e non tossici. Spesso non sono necessarie condizioni particolari di reazione, come atmosfere inerti, basse temperature, solventi anidri, ecc.

L'assenza di metalli nell'ambiente di reazione consente di produrre agevolmente prodotti con applicazioni in campi dove non sono tollerate contaminazioni da questi elementi, come nell'area farmaceutica. Di conseguenza l'uso di metodiche per la sintesi asimmetrica con organocatalizzatori è particolarmente adatto nelle industrie, in particolare per la versatilità e per il basso impatto ambientale.¹⁴

Gli organocatalizzatori, per la sintesi asimmetrica, possono essere raggruppati in diverse categorie (Figura 1.6) classificandoli secondo il loro meccanismo di azione, che risulta essere influenzato da interazioni covalenti e non covalenti con il substrato o con i reagenti¹⁵.

Nella organocatalisi basata su interazioni covalenti, viene formato un nuovo legame covalente tra il substrato e il catalizzatore, che viene rotto alla fine del ciclo catalitico.

Nella organocatalisi basata su interazioni non covalenti tra il substrato e il catalizzatore, l'attivazione del substrato avviene attraverso la formazione di legami deboli, ad esempio legami a idrogeno o interazioni ioniche, come nel caso dei catalizzatori a trasferimento di fase.

¹³ a) P. I. Dalko, L. Moisan *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, 43, 5138-5175. b) B. List *Chem. Rev.* **2007**, 107, 5413-5415. c) D. W. C. MacMillan, *Nature* **2008**, 455, 304-308.

¹⁴ I. R. Shaikh, *Journal of Catalysis*, volume 2014, ID 402860, 1-35.

¹⁵ A. Ricci *ISRN Org Chem.* **2014**, 2014: 531695.

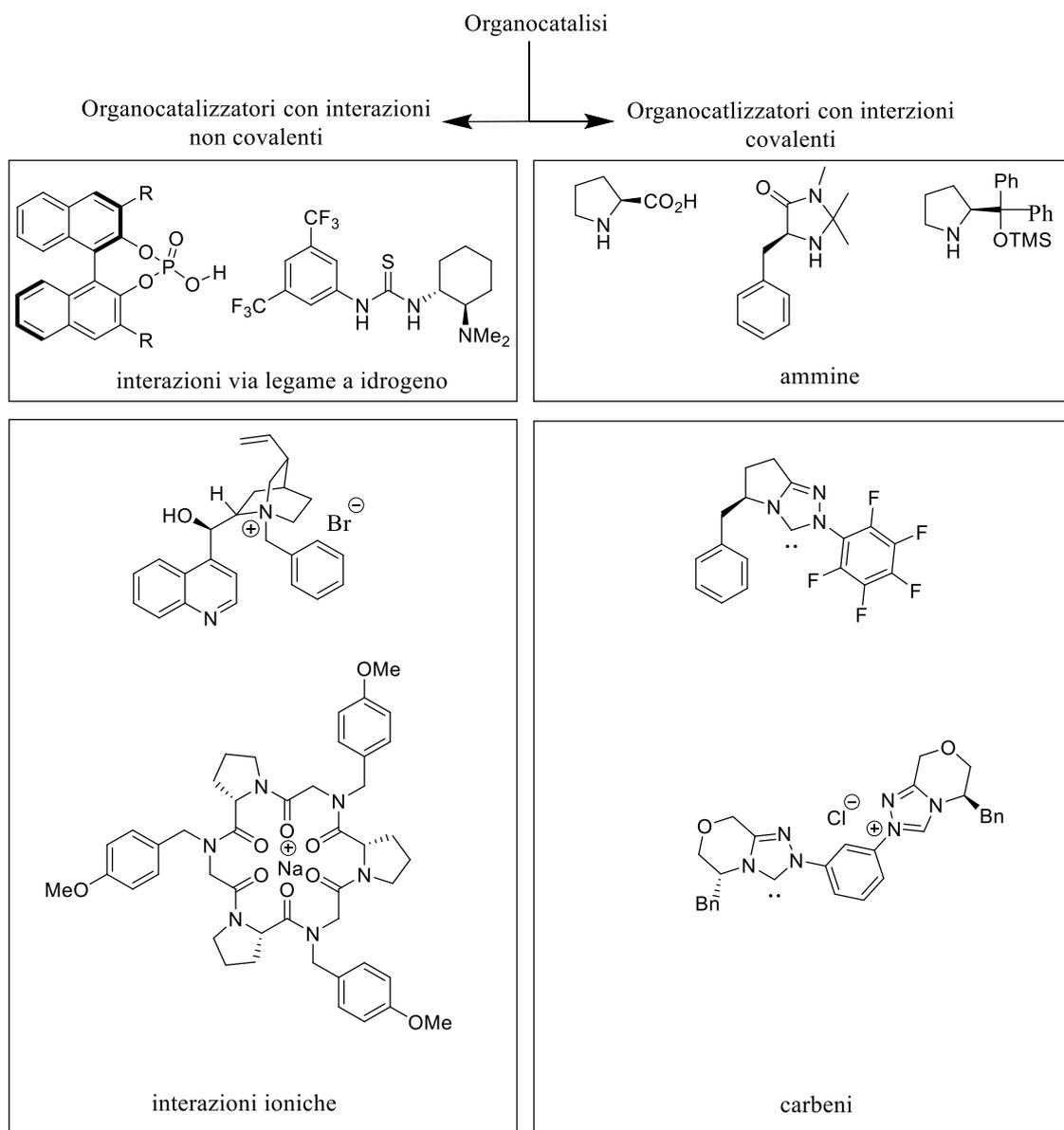


Figura 1.6-Differenti classi di organocatalizzatori.

1.4 ALCALOIDI DELLA CINCHONA

La Cinchona¹⁶ è un genere di piante fiorite della famiglia delle Rubiaceae. Comprende 25 specie, spesso caratterizzate da un grande arbusto che può raggiungere delle altezze comprese tra i 5 e 15 metri. L'albero Quino si trova nelle foreste che si estendono dalla Costa Rica fino alla Bolivia. La corteccia dell'albero Quino contiene numerosi alcaloidi

¹⁶ Cinchona Alkaloids in Synthesis and Catalysis, ed. C. E. Song, Wiley-VCH, Weinheim 2009.

tra i quali la chinina (Figura 1.7) (QN), che possiede delle proprietà medicinali. Viene infatti utilizzata per trattare malattie febbrili, specialmente la malaria¹⁷.

Altri alcaloidi derivanti dall'albero della Cinchona sono la chinidina (QD), la cinconidina (CD) e la cinconina (CN) le cui strutture sono riportate nella Figura 1.7.

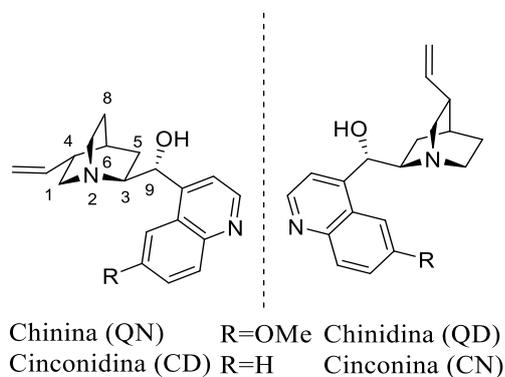


Figura 1.7-Alcaloidi della Cinchona.

Gli alcaloidi della Cinchona, oltre ad essere utilizzati in campo medico e come additivi alimentari, vengono usati anche come organocatalizzatori nella sintesi asimmetrica, spesso previa funzionalizzazione^{16 18}.

La funzionalizzazione di queste molecole permette l'inserimento di specifici gruppi funzionali che favoriscono la formazione di interazioni tra il catalizzatore chirale e il substrato, promuovendo la formazione maggioritaria di uno stereoisomero tra tutti i possibili. Gli alcaloidi della Cinchona sono molecole relativamente piccole, ma altamente funzionalizzate, con cinque centri stereogenici, un'unità chinuclidinica, un alcol secondario, un gruppo vinilico e una porzione chinolinica.

QN (Chinina) e QD (Chinidina) presentano un gruppo metossile in posizione 6 dell'anello chinolinico (R), mentre CD (Cinconidina) e CN (Cinconina) non presentano alcun sostituito (Figura 1.7).

La configurazione del C4, C6 e dell'N dell'unità chinuclidinica è la stessa per tutti e quattro gli alcaloidi della Cinchona, mentre la configurazione al C3 e al C9 della QN e della CD è opposta rispetto a quella nella QD e nella CN, ovvero QN/QD e CD/CN sono due coppie di diastereoisomeri. I due stereocentri C3 e C9 sono responsabili dell'induzione asimmetrica di queste molecole su substrati con gruppi prochirali. Quindi, le coppie di

¹⁷ M. Honigsbaum, *The Fever Trail: In search of the cure for Malaria*, Picador, New York, 2003.

¹⁸ a) K. Kacprzak, J. Gawrònski *Synthesis* **2001**, 961-998. b) T. Ooi, K. Maruoka *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, 46, 4222-4266.

diastereoisomeri si comportano come enantiomeri, che infatti vengono definiti pseudo-enantiomeri. Questo è molto importante nella catalisi asimmetrica perché l'uso di uno o l'altro pseudo-enantiomero, come catalizzatore, porta alla formazione di un enantiomero rispetto a quello con configurazione opposta di una determinata molecola. Ad esempio, se si utilizza la Chinina come organocatalizzatore, si ottiene un enantiomero di una data molecola, mentre se si utilizza la Chinidina, nella stessa reazione, si ottiene l'enantiomero opposto.

Entrambe le coppie pseudo-enantiomeriche degli alcaloidi in Figura 1.7, sono commercialmente disponibili in grande quantità ad un prezzo relativamente basso.

L'attività catalitica di questi alcaloidi è legata alla presenza di un gruppo amminico e di un gruppo ossidrilico presenti insieme nella stessa molecola. La presenza di questi due gruppi rende questi alcaloidi dei catalizzatori bifunzionali, capaci di catalizzare reazioni di alchilazione, addizioni di Michael, condensazioni aldoliche, reazioni di Darzens, epossidazioni asimmetriche, ecc.

La derivatizzazione del gruppo OH sul C9 permette la sintesi di derivati eteri e esteri o l'introduzione di ammine con inversione di configurazione al C9 (reazione di Mitsunobu). Una volta introdotta la funzionalità amminica è possibile preparare tiouree, uree e squaramidi, molto usate in organocatalisi (Figura 1.8).

Inoltre, il gruppo vinilico può essere ridotto con formazione del diidroderivato, o può essere usato per l'immobilizzazione di alcaloidi o di substrati polimerici.

La quaternizzazione dell'azoto con un alogenuro alchilico consente di ottenere dei catalizzatori a trasferimento di fase.

Tutte queste caratteristiche di questi alcaloidi della Cinchona rendono questi composti adatti per l'organocatalisi asimmetrica.

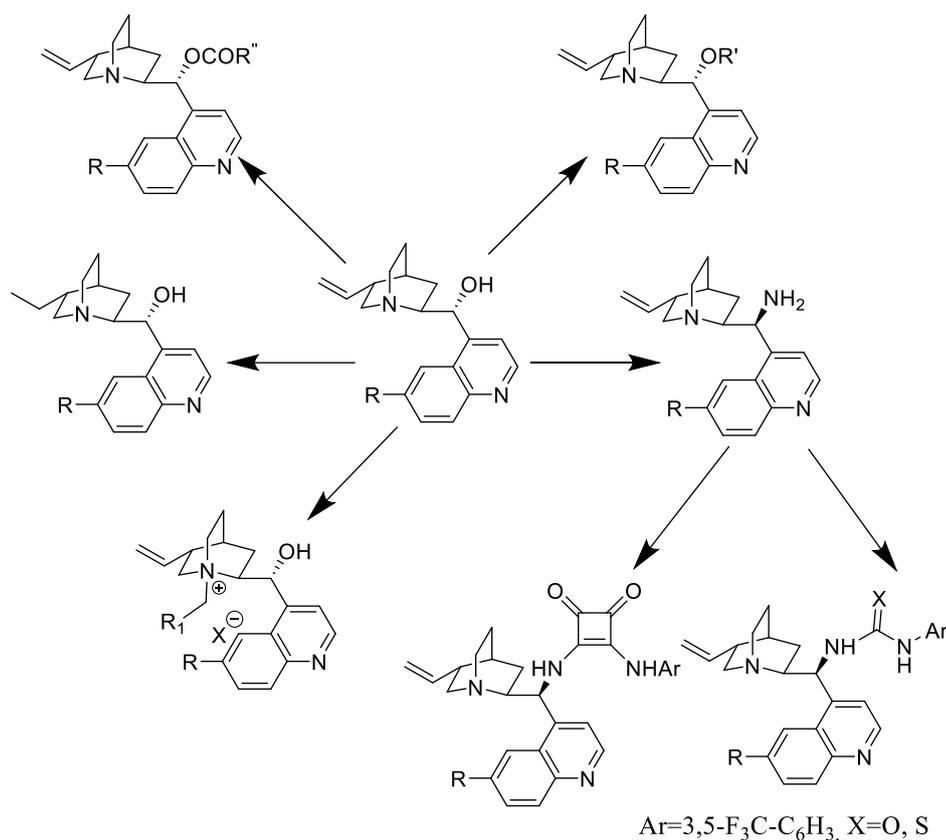


Figura 1.8-Esempi di catalizzatori derivati dagli alcaloidi della Cinchona.

1.5 CATALISI A TRASFERIMENTO DI FASE

La catalisi a trasferimento di fase (PTC) costituisce un metodo versatile nella chimica organica di sintesi sia in ambiti accademici che industriali¹⁹.

La PTC spesso permette di accelerare le reazioni organiche e, qualora si usino catalizzatori enantiopuri, di controllarne l'esito stereochimico.

I catalizzatori a trasferimento di fase sono dei composti chimici con la proprietà di facilitare il trasferimento di molecole e ioni dal cuore di una fase a un'altra, accelerando quindi la velocità dell'intero processo chimico.

Ci sono diversi tipi di composti capaci di catalizzare trasferimenti di fase, tra cui i sali di ammonio quaternari (come alcuni derivati degli alcaloidi della Cinchona), i sali di fosfonio, gli eteri corona, i criptandi, gli oligomeri dei peptoidi (come i ciclopeptoidi), ecc. Il meccanismo della catalisi a trasferimento di fase viene riportato in Figura 1.9 dove l'attività catalitica viene promossa con i sali di ammonio quaternari (a) e con i complessi

¹⁹ D. Sanjeev, L. K. D. Maik *AIChE J.* **1998**, 44, 612-646.

metallo-macrocielo non ionici (b)²³. Nel caso di reazioni che portano alla formazione di composti chirali, è possibile indurre enantioselezione utilizzando un catalizzatore chirale, grazie alla sua vicinanza con gli intermedi o gli stati di transizione prochirali.

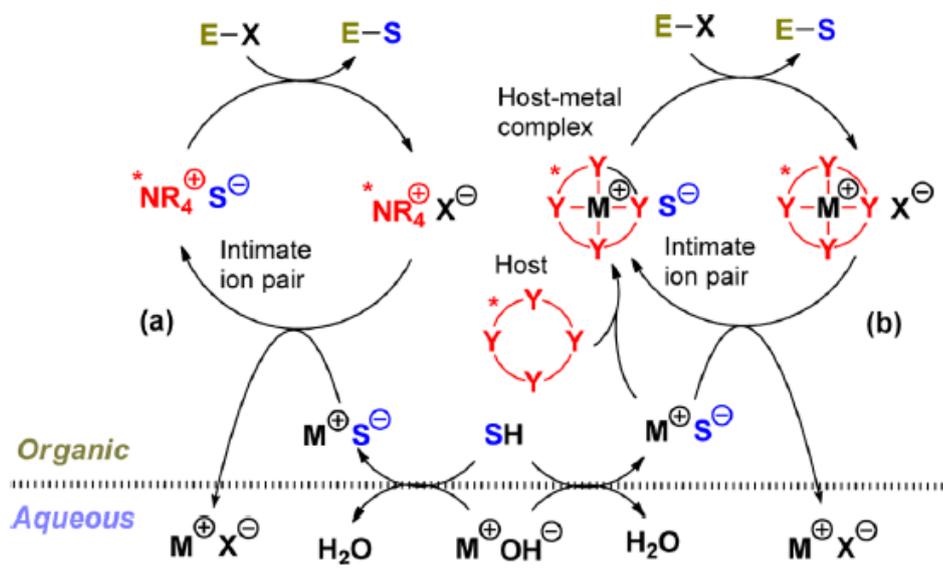


Figura 1.9-Meccanismo della catalisi a trasferimento di fase per i sali di ammonio quaternari (a) e per i complessi metallo-macrocielo non ionici (b).

La catalisi a trasferimento di fase permette di avere i seguenti vantaggi rispetto alla catalisi in fase omogenea:

1. La reattività dell'anione, ovvero del nucleofilo (S^-), nella fase organica viene spesso aumentata
2. Le reazioni sono in genere più selettive, ovvero ci sono minori reazioni indesiderate, dovuto al controllo della diffusione del reagente nella fase dove risiede il substrato
3. La natura bifasica del processo semplifica la separazione dai reagenti e dai sottoprodotti, facilitando l'isolamento del prodotto desiderato
4. Molti catalizzatori sono poco costosi e biodegradabili.

Nel 1984 è stato pubblicato il primo esempio sull'uso degli alcaloidi della Cinchona, derivatizzati come sali di ammonio quaternari, come catalizzatori chirali a trasferimento di fase.

Dolling e i suoi collaboratori utilizzarono questi sistemi catalitici in una reazione di allilazione asimmetrica di un 2-propilindanone²⁰ (Figura 1.10).

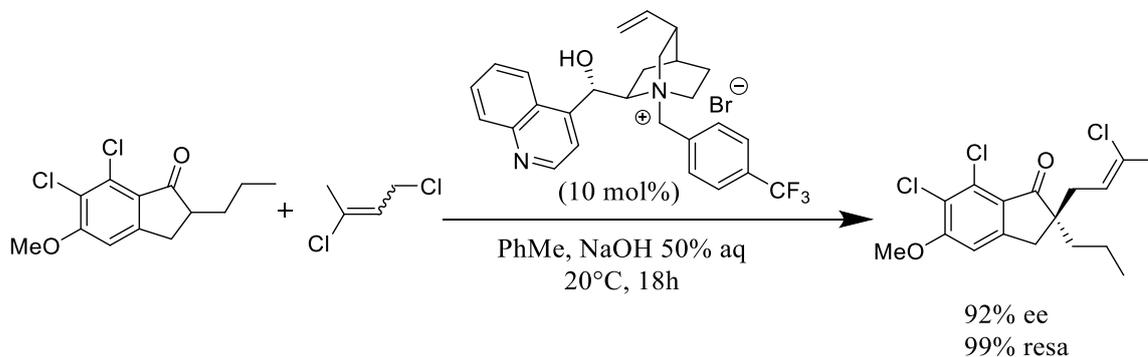


Figura 1.10

I catalizzatori chirali a trasferimento di fase, sono stati ampiamente usati per catalizzare reazioni di alchilazione di immine degli esteri della glicina, ottenendo così degli amminoacidi chirali α -sostituiti e α,α -disostituiti²¹ (Figura 1.11).

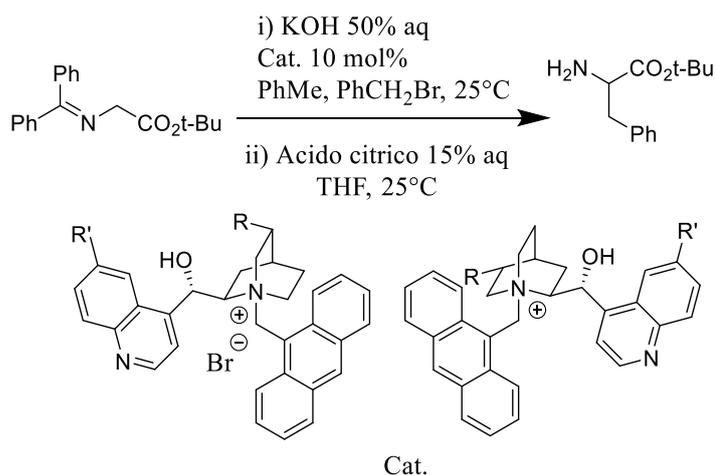


Figura 1.11

Sono stati inoltre proposti altri catalizzatori a trasferimento di fase, come i ciclopeptoidi, per catalizzare delle trasformazioni asimmetriche di alchilazione delle immine degli esteri della glicina²³ (Figura 1.12).

²⁰ U. H. Dolling, P. Davis, E. J. J. Grabowski *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, 106, 446-447.

²¹ a) K. Maruoka, T. Ooi, *Chem. Rev.* **2003**, 103, 3013-3028; b) T. Ooi, K. Maruoka, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, 46, 4222-4266; c) S. Shirakawa, K. Maruoka, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, 52, 4312-4348. d) M. J. O'Donnell, D. B. Williams, S. Wu, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, 111, 2353-2355.

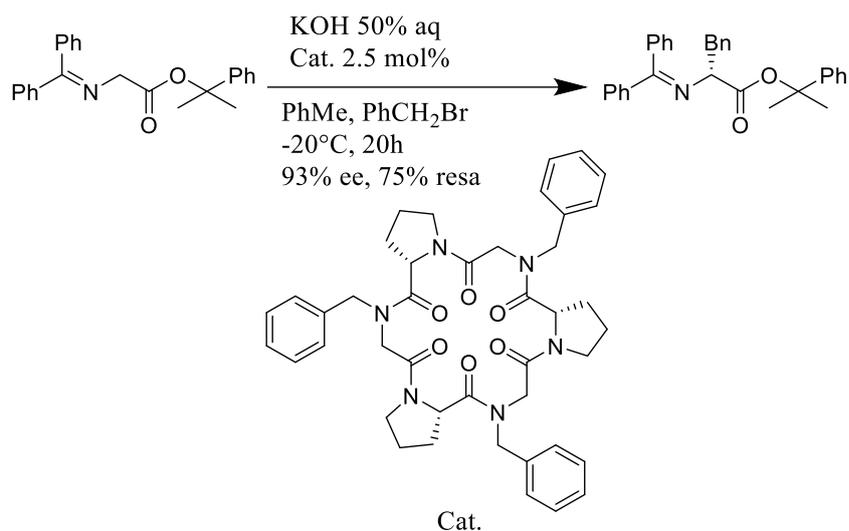


Figura 1.12

I catalizzatori a trasferimento di fase sono stati anche usati per condurre delle addizioni di Michael, come l'addizione di un derivato dell'indanone al metil vinil chetone, catalizzata da un sale di ammonio quaternario degli alcaloidi della Cinchona²² (Figura 1.13).

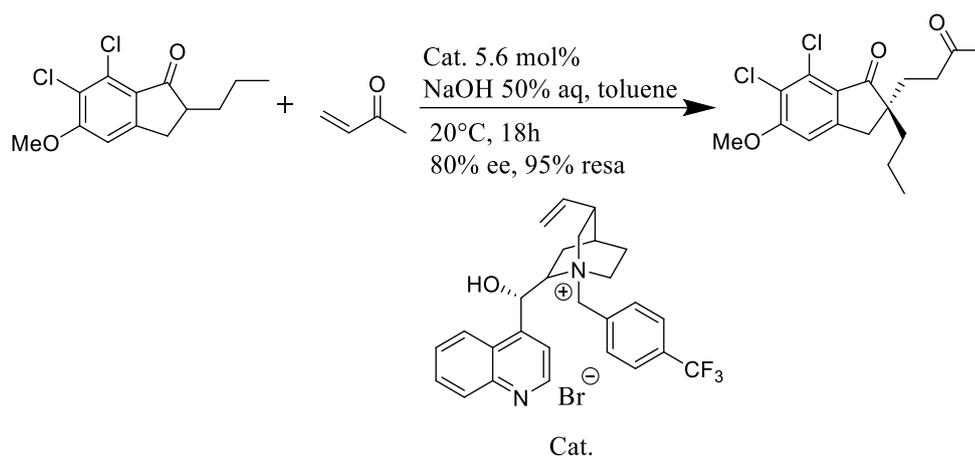


Figura 1.13

1.6 CICLOPEPTIDI

I ciclopeptoidi sono degli oligomeri peptidici ciclici, composti ad esempio da unità a base di prolina e da unità a base di glicina N-sostituita (Figura 1.14).

²² R. S. E. Conn, A. V. Lovell, S. Karady, L. M. Weinstock. *J. Org. Chem.* **1986**, 51, 4710-4711.

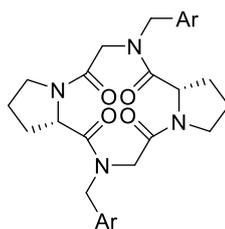


Figura 1.14-Struttura di un ciclopeptide a base di prolina e glicina N-sostituita.

I ciclopeptoidi fungono da molecole ospitanti per cationi metallici, che possono essere introdotti nella cavità e trasportati dalla molecola. Il residuo della prolina riduce la libertà conformazionale della molecola e rende la concavità del ciclopeptide chirale, mentre le porzioni sostituite della glicina permettono la complessazione e quindi l'attività catalitica. I ciclopeptoidi costituiscono delle valide alternative ai sali ionici, come catalizzatori a trasferimento di fase, per la loro maggiore stabilità in presenza di basi e nucleofili e per il loro elevato grado di diversità risultante da una facile modulazione della struttura molecolare.

I ciclopeptoidi possono essere sintetizzati con l'approccio sub-monomero/monomero²³ attraverso una sintesi in fase solida (Figura 1.15).

Il monomero dell'N-alchil glicina viene inizialmente preparato sulla resina clorotritilica e attraverso un coupling con la prolina, protetta all'N con il gruppo Fmoc, in presenza dell'agente condensante HATU.

La catena oligomerica viene allungata ripetendo gli step precedenti con (N,N-diisopropilcarbodiimmide) DIC o (1-[bis(dimetilammino)metilene]-1H-1,2,3-triazolo [4,5-b]pridino esafluorofosfato 3-ossido) HATU come agenti condensanti, fino ad arrivare alla giusta lunghezza della catena desiderata. Una volta rimosso l'oligomero dalla resina si forma il ciclopeptide, attraverso una reazione di condensazione testa-coda, indotta dall'agente condensante HATU.

La sintesi in fase solida dei ciclopeptoidi permette una veloce preparazione dei catalizzatori, il prodotto non necessita di purificazioni o di workup e si può realizzare in modo automatico²⁴.

I ciclopeptoidi riportati nella Figura 1.15 (dove Ar = Ph) mostrano una maggiore abilità nel complessare lo ione sodio rispetto allo ione potassio e i valori delle K_a risultano superiori di un'unità rispetto al noto agente complessante per lo ione sodio, 15-crown-5²³.

²³ R. Schettini, F. De Riccardis, G. Della Sala, I. Izzo. *J. Org. Chem.* **2016**, 81, 2494-2505.

²⁴ R. Schietini, B. Nardone, F. De Riccardis, G. Della Sala, I. Izzo. *Eur. J. Org. Chem.* **2014**, 7793-7797.

La reazione di Michael viene usata ampiamente nella sintesi organica per la formazione di legami C-C e la versione tradizionale di questa reazione prevede l'attacco nucleofilo di un enolato sulla posizione β di un composto carbonilico α,β -insaturo.

Una variante della reazione di Michael è l'addizione "sulfa-Michael" dove si utilizza come nucleofilo un composto contenente un atomo di zolfo elettronrico, permettendo così la formazione di nuovi legami C-S.

L'addizione asimmetrica di sulfa-Michael di un tiolo (nucleofilo) ad un alchene elettronpovero rappresenta un metodo versatile e affidabile per la preparazione di composti chirali contenenti atomi di zolfo con applicazioni in campo farmaceutico²⁶.

L'addizione di sulfa-Michael può essere accoppiata con altri processi reattivi in una reazione domino.

Un esempio di reazione a cascata viene riportato in Figura 1.16, e consiste in una reazione di apertura di un epossido seguita da una cicloisomerizzazione 6-exo e infine da un'addizione nucleofila ad un doppio legame in substrati caratterizzati da un gruppo acetilenico ed un epossido²⁷, con formazione di derivati morfolinici 2,6 bisostituiti con stereochimica relativa trans.

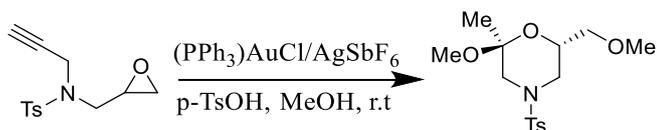


Figura 1.16-Esempio di reazione domino per la sintesi di morfoline 2,6-trans bisostituite.

Di seguito vengono riportati due esempi di reazioni domino asimmetriche dove il primo passaggio consiste nell'addizione di un tiolo ad un doppio legame elettronpovero.

L'esempio A è una reazione sulfa-Michael/aldolica, dove il secondo accettore è presente nel tiolo di partenza (Figura 1.17, a)²⁸.

L'esempio B è una reazione sulfa-Michael/Michael, dove il primo e il secondo accettore sono presenti sulla stessa molecola (Figura 1.17, b)²⁹.

²⁶ J. J. R. Frausto da Silva, R. J. P. Williams, *The Biological Chemistry of the Elements*; Oxford University Press: New York, 2001.

²⁷ L. Z. Dai, M. J. Qi, Y. L. Shi, X. G. Liu, M. Shi, *Org. Lett.*, **2007**, Vol. 9, No. 16, 3191-3194.

²⁸ L. Zu, J. Wang, H. Li, H. Xie, W. Jiang, W. Wang, *J. Am. Chem. Soc.*, **2007**, 129, 1036-1037.

²⁹ X. F. Wang, Q. L. Hua, Y. Cheng, X. L. An, Cheng, Q. Q. Yang, J. R. Chen, W. J. Xiao, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2010**, 49, 8379-8383.

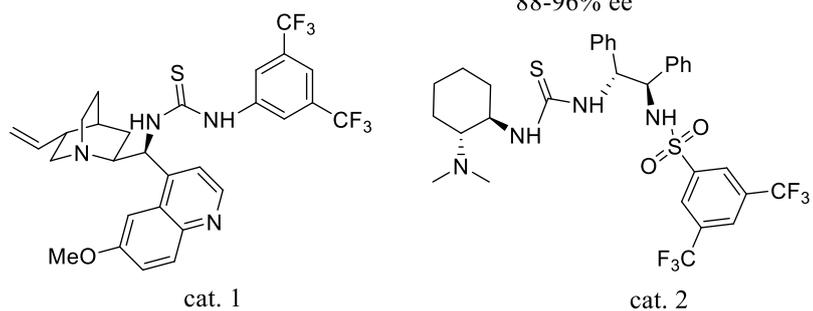
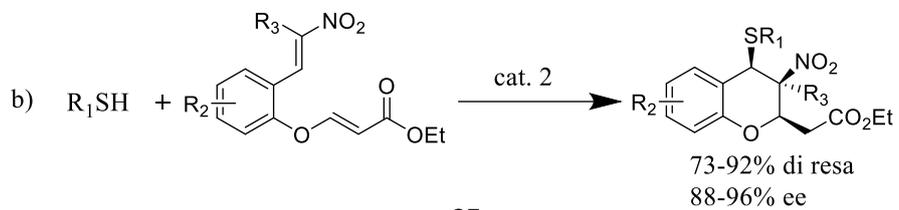
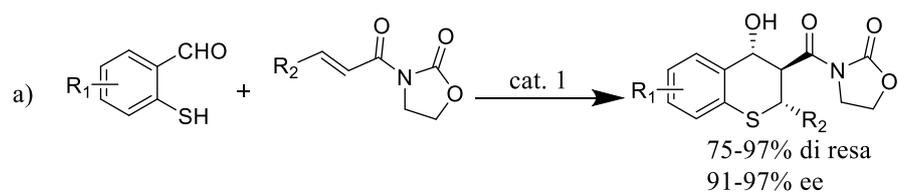


Figura 1.17-Esempi di reazioni domino con un'addizione iniziale di un tiolo ad un doppio legame elettronpovero.

1.8 METODI PER LA DETERMINAZIONE DELLA CONFIGURAZIONE NEI COMPOSTI ORGANICI³⁰

La determinazione della configurazione relativa mediante metodi spettroscopici è strettamente correlata ad una indagine approfondita delle conformazioni molecolari, risultano quindi determinanti i dati sperimentali e computazionali sensibili alle tre dimensioni come i risultati degli esperimenti NMR.

I dati NMR più importanti per la determinazione della configurazione relativa sono le costanti di accoppiamento (specialmente le $^3J_{HH}$ e le $^3J_{CH}$) e gli effetti NOE. Le costanti di accoppiamento vicinali (3J) sono correlabili agli angoli diedri tra gli idrogeni secondo la correlazione di Karplus e dalla natura e dall'ibridazione degli atomi. Tuttavia, i valori delle costanti di accoppiamento sono una media pesata dei valori delle costanti nelle singole conformazioni popolate.

Anche gli effetti NOE osservati dipendono dalle varie conformazioni della sostanza, ma l'intensità dei segnali NOE diminuisce alla sesta potenza con la distanza, quindi anche le conformazioni poco popolate possono contribuire significativamente all'effetto NOE complessivo. Quindi se la struttura molecolare è flessibile risulta difficile la determinazione della configurazione relativa.

La configurazione assoluta può essere invece determinata con metodi assoluti e relativi.

I metodi relativi utilizzano un composto di riferimento.

Si utilizzano tre tipi diversi di riferimento:

1. Lo stesso composto del campione con configurazione assoluta nota
2. Un composto strutturalmente simile al campione o che può essere preparato dal campione con configurazione assoluta nota
3. Una porzione della molecola, con configurazione assoluta nota, che può essere aggiunta alla molecola del campione, in modo da derivatizzarlo per consentire una determinata caratterizzazione.

I metodi assoluti sono indipendenti dai composti di riferimento per assegnare la configurazione assoluta di nuovi composti. Per questo i metodi assoluti sono intrinsecamente più versatili dei metodi relativi. Tra i metodi assoluti la più importante

³⁰ Sono state consultate le seguenti fonti: a) S. Superchi, P. Scafato, M. Górecki, G. Pescitelli *Current Medicinal Chemistry*, **2018**, 25, 287-320. b) L. Moggi, A. Juris, M. T. Gandolfi. *Manuale del fotochimico* (p. 129-143). Bologna: Bononia University Press, 2006. c) C. Puzzarini. *Modellistica molecolare: Chimica, Termodinamica e Spettroscopia Computazionale*. 38-43. Bologna, Italia.

tecnica per assegnare la configurazione assoluta è l'analisi dei composti cristallini tramite i raggi X utilizzando la tecnica della diffrazione anomala.

Le tecniche chiro-ottiche sono delle valide sostitute ai raggi X specialmente nei casi in cui non è possibile ottenere dei singoli cristalli.

Queste tecniche sfruttano la particolare interazione della luce circolarmente polarizzata con le sostanze chirali, non racemiche e includono le tecniche ECD (Electronic Circular Dichroism, VCD (Vibrational Circular Dichroism) e OR (Optical Rotation).

Gli spettri chiroottici di due enantiometri di un composto chirale sono speculari, ovvero entrambi gli spettri mostrano una sequenza di bande con la stessa forma, posizione e intensità ma con segno opposto. Quindi uno spettro chiroottico è unico e specifico per un solo enantiometro di una molecola chirale e quindi può essere usato per assegnare la configurazione assoluta di una molecola, simulando lo spettro sperimentale con metodi quantomeccanici computazionali. Non essendo necessario un riferimento questa metodica fa parte dei metodi assoluti.

1.8.1 Birifrangenza e dicroismo circolare (CD)

Gli enantiomeri di una molecola chirale vengono definiti come composti otticamente attivi perché sono in grado di ruotare il piano della luce polarizzata dello stesso angolo, ma in direzioni opposte. L'attività ottica delle molecole chirali ha origine dal fatto che esse interagiscono in maniera differente con le due componenti polarizzate circolarmente della luce, tramite i fenomeni di dispersione, di assorbimento o di emissione di radiazione. Quando tutte le onde che costituiscono una radiazione hanno lo stesso piano di polarizzazione, la luce si dice linearmente polarizzata (Figura 1.18).

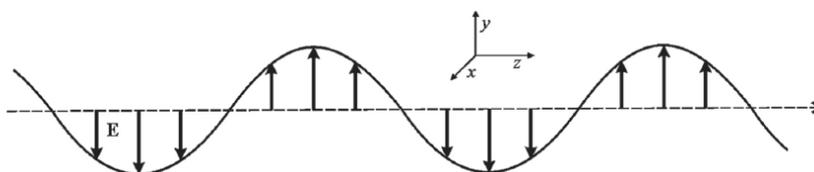


Figura 1.18-Rappresentazione dell'oscillazione del campo elettrico di un'onda polarizzata linearmente sul piano yz che si propaga nello spazio lungo l'asse z. La direzione di polarizzazione dell'onda è l'asse y. Ciascun vettore rappresenta il campo elettrico nello stesso istante di tempo in posizioni diverse, oppure nello stesso punto dello spazio a tempi successivi (in questo caso l'asse z rappresenta il tempo).

Una radiazione polarizzata circolarmente è composta da onde caratterizzate da una rotazione del vettore campo elettrico attorno all'asse di propagazione. Nella polarizzazione circolare è la direzione del vettore campo elettrico ad oscillare mentre il modulo rimane

costante, diversamente dalla polarizzazione lineare dove oscilla il modulo e rimane costante la direzione.

Un'onda può essere polarizzata in modo circolare a destra e a sinistra, ovvero, osservando in direzione della sorgente dell'onda, il vettore campo elettrico ruota in senso orario e in senso antiorario rispettivamente (Figura 1.19).

Una polarizzazione circolare a destra o a sinistra assegna chiralità all'onda elettromagnetica.

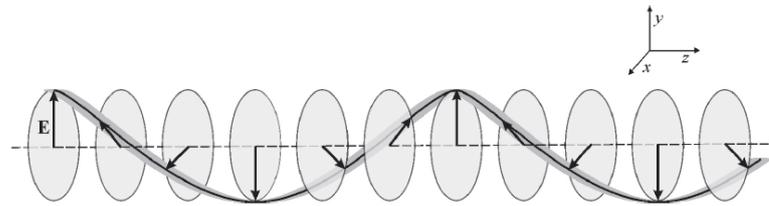


Figura 1.19-Rappresentazione dell'oscillazione del vettore del campo elettrico di un'onda con polarizzazione circolare a sinistra che si propaga lungo l'asse z. Ciascun vettore rappresenta il campo elettrico nello stesso istante di tempo in posizioni successive, oppure nello stesso punto dello spazio a tempi successivi (in questo caso l'asse z rappresenta il tempo).

Un'onda polarizzata circolarmente può essere ottenuta sommando due onde polarizzate linearmente su due piani perpendicolari e aventi la stessa frequenza e ampiezza massima ma sfasate di $\pi/2$.

Al contrario un'onda polarizzata linearmente può essere ottenuta sommando due onde polarizzate circolarmente aventi la stessa ampiezza massima e la stessa frequenza. La diversa fase determinerà la direzione di polarizzazione dell'onda risultante (Figura 1.20).

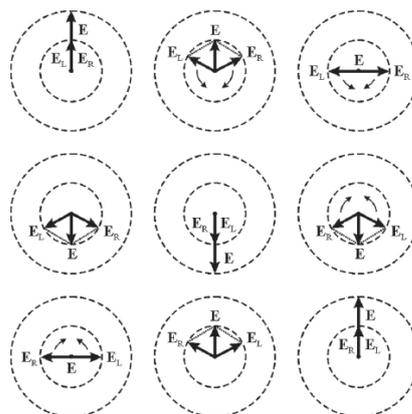


Figura 1.20-Composizione dei vettori campo elettrico E_L e E_R di due onde con stessa frequenza ed ampiezza, ma con polarizzazione circolare opposta. Il vettore risultante E oscilla su un piano perpendicolare alla direzione di propagazione, dando origine ad un'onda polarizzata linearmente.

Quando una luce linearmente polarizzata interagisce con una sostanza chirale ed enantiomericamente arricchita, le due componenti chirali della luce circolarmente polarizzata interagiranno in modo diverso, in particolare si propagheranno nel mezzo otticamente attivo con velocità diverse. Questo fenomeno prende il nome di birifrangenza circolare ovvero $n_L(\lambda) \neq n_R(\lambda)$, dove $n_L(\lambda)$ e $n_R(\lambda)$ sono gli indici di rifrazione per la radiazione di lunghezza d'onda λ con polarizzazione circolare rispettivamente a sinistra e a destra. Di conseguenza la radiazione uscente dal campione sarà costituita da due onde polarizzate circolarmente non in fase tra loro, quindi il piano di polarizzazione della luce linearmente polarizzata risulterà ruotato di un certo angolo (α) rispetto alla luce incidente. Questo angolo dipenderà dalla differenza fra gli indici di rifrazione n_L e n_R , dallo spessore del campione attraversato dalla luce, dalla lunghezza d'onda della radiazione incidente, dal solvente, dalla concentrazione del campione e dalla temperatura.

Dal valore di α viene calcolata la rotazione specifica anche chiamata OR (Equazione 1.1).

Equazione 1.1

$$OR = [\alpha]_{\lambda}^T = \frac{100\alpha}{lc} \text{ (soluzione)}$$

Dove α è l'angolo misurato dal polarimetro in gradi, l è il cammino ottico in dm e c è la concentrazione del campione in g/100 mL.

Come precedentemente accennato, α dipende dalla differenza tra i due indici di rifrazione della luce circolarmente polarizzata a sinistra e a destra (Equazione 1.2).

Equazione 1.2

$$\alpha = \frac{1800}{\lambda(cm)} (n_L - n_R)$$

I valori di n sono dell'ordine delle unità, mentre i valori del Δn sono circa un milionesimo del valore di n_L o n_R .

Il valore della rotazione ottica (OR) viene registrato ad una lunghezza d'onda specifica, generalmente corrispondente alla linea-D del sodio a 589.3 nm.

Diagrammando OR in funzione della lunghezza d'onda si ottengono gli spettri ORD (Optical Rotation Dispersion) utili per determinare la configurazione assoluta.

Se le lunghezze d'onda della radiazione incidente sono opportune si può verificare il fenomeno dell'assorbimento della radiazione polarizzata linearmente da parte dell'enantiomero e l'onda polarizzata circolarmente a destra avrà un diverso coefficiente di assorbimento rispetto all'onda polarizzata circolarmente a sinistra, ovvero $\epsilon_L(\lambda) \neq \epsilon_R(\lambda)$.

Questo fenomeno appena descritto prende il nome di dicroismo circolare (CD) e la radiazione uscente dal campione sarà polarizzata ellitticamente e non linearmente, ovvero il vettore risultante del campo elettrico, mentre oscilla, descrive un'elisse (Figura 1.21).

L'angolo di rotazione ottica α viene definito con l'asse principale dell'elisse e la direzione di polarizzazione della luce incidente (Figura 1.21).

Il diverso assorbimento per le due componenti polarizzate circolarmente si esprime attraverso l'ellitticità θ , in mdeg (Figura 1.21), ovvero l'angolo la cui tangente è pari al rapporto tra l'asse minore e quello maggiore dell'elisse (Equazione 1.3).

Equazione 1.3

$$\tan \theta = \frac{m}{M}$$

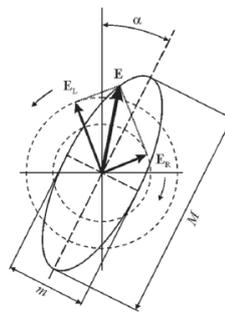


Figura 1.21-Composizione del vettore campo elettrico di due onde con la stessa frequenza ma diversa ampiezza polarizzate circolarmente a destra e a sinistra. L'onda risultante è polarizzata ellitticamente.

L'ellitticità θ è collegabile alla differenza di assorbanza per le due componenti polarizzate circolarmente della luce linearmente polarizzata, tramite l'Equazione 1.4.

Equazione 1.4

$$\theta = \left(\frac{180}{4\pi} \ln 10 \right) \cdot \Delta A = 32.98 \cdot \Delta A$$

Dove

Equazione 1.5

$$\Delta A(\lambda) = A_L(\lambda) - A_R(\lambda)$$

L'Equazione 1.5 indica la grandezza misurata sperimentalmente nella spettroscopia CD, ovvero la differenza fra l'assorbanza della luce levogira (A_L) e l'assorbanza della luce destrogira (A_R) ad una data lunghezza d'onda (λ).

Per una sostanza enantiomericamente pura in soluzione vale la legge di Lambert-Beer (Equazione 1.6).

Equazione 1.6

$$\Delta A = \Delta \varepsilon \cdot l \cdot c$$

Dove $\Delta \varepsilon = \varepsilon_L - \varepsilon_R$ (normalmente espresso in $L \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) alla lunghezza d'onda esaminata, l è il cammino ottico in cm e c è la concentrazione molare in mol L^{-1} .

L'intensità degli spettri CD dipende dalla forza rotatoria $R_{i \rightarrow f}$ associata alle transizioni elettroniche da uno stato iniziale i a uno stato finale f . La forza rotatoria di una transizione elettronica è uguale al prodotto scalare fra il momento di dipolo elettrico μ e il dipolo magnetico m indotti dalla radiazione elettromagnetica sulla molecola (Equazione 1.7).

Equazione 1.7

$$R_{i \rightarrow f} = \vec{\mu}_{i \rightarrow f} \cdot \vec{m}_{i \rightarrow f}$$

Quindi lo spettro ECD è funzione dell'angolo tra i due momenti di dipolo indotti, quindi è sensibile alla geometria della molecola, ovvero alle varie conformazioni esistenti nel campione e alla configurazione relativa e assoluta. Le conformazioni influenzano la forma complessiva dell'interno spettro incluso anche il segno.

La forza rotatoria di un enantiomero è uguale e di segno opposto a quella dell'altro enantiomero, quindi lo spettro risulterà invertito per la configurazione assoluta opposta.

Se il campione è achirale la forza rotatoria è pari a zero e non si registra uno spettro CD. L'integrale della banda di una specifica transizione elettronica da i a f è proporzionale a $R_{i \rightarrow f}$.

Gli spettri CD mettono in correlazione l'ellitticità o la differenza di assorbanza in funzione della lunghezza d'onda della radiazione incidente. Si possono utilizzare varie regioni

spettrali come l'UV-visibile (ECD) e l'IR (VCD). La tecnica ECD può essere applicata solamente alle molecole con almeno un cromoforo per poter assorbire una radiazione elettromagnetica nel campo dell'UV-visibile, mentre le tecniche VCD e ORD non necessitano di cromofori nella molecola.

Esiste una relazione tra spettri ECD e ORD, ovvero all'aumentare della frequenza il valore di OR aumenta, ma in corrispondenza di una banda CD positiva il valore di OR diminuisce fino ad arrivare ad un valore minimo. Aumentando ulteriormente la frequenza il valore di OR aumenta di nuovo. Questo fenomeno prende il nome di effetto Cotton positivo (Figura 1.22 B) dove la OR ha lo stesso andamento dell'indice di rifrazione nel caso senza luce polarizzata.

Al contrario l'effetto Cotton negativo (Figura 1.22 C) si verifica in corrispondenza di una banda CD negativa.

La rotazione ottica si annulla alla frequenza corrispondente al valore massimo dell'ellitticità (Figura 1.22 B e C).

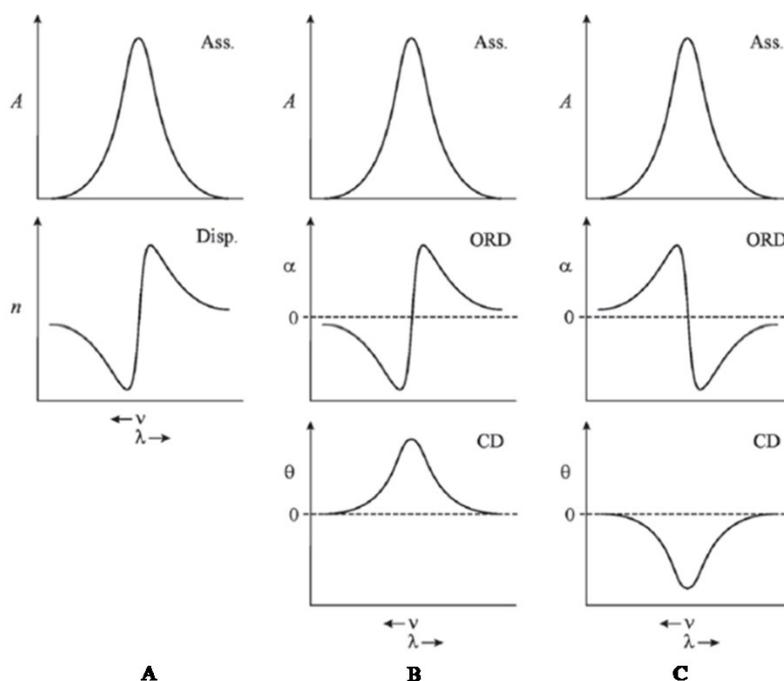


Figura 1.22-Relazione fra lo spettro di assorbimento e lo spettro di dispersione (A). Effetto Cotton positivo (B). Effetto Cotton negativo (C).

1.8.2 Simulazione quantomeccanica dello spettro ECD

La simulazione quantomeccanica degli spettri ECD può essere riassunta con lo schema riportato in Figura 1.23.

L'elaborazione della conformazione iniziale (1) deve essere coerente con gli esperimenti NOE e deve avere la giusta configurazione relativa. La configurazione assoluta viene assegnata in modo del tutto arbitrario e verrà confermata al punto (10).

Una volta ottimizzata la conformazione iniziale (2) si inizia la ricerca conformazionale usando metodi di meccanica molecolare (MM) (3). Le conformazioni ottenute vengono ottimizzate con DFT (4), usando tipicamente la combinazione funzionale-base B3LYP/6-31G(d). Vengono tenute in genere solamente le conformazioni entro le 5-10 Kcal/mol, per una successiva ottimizzazione con metodi più raffinati, come ad esempio il funzionale 6-311G+(d,p) e la presenza del solvente utilizzando metodi di polarizzazioni continua (PCM).

Le energie finali vengono calcolate (5) come energie relative rispetto al valore dell'energia della conformazione più stabile. Generalmente per la simulazione degli spettri ECD si considerano le conformazioni entro le 2.5- 3 Kcal/mol.

Le popolazioni delle conformazioni trovate, espresse in frazioni molari, vengono calcolate (6) con l'Equazione 1.8.

Equazione 1.8

$$\frac{N_i}{N} = \frac{e^{-\frac{E_i}{k_B T N a}}}{\sum_{j=i}^n e^{-\frac{E_j}{k_B T N a}}}$$

E_i è l'energia della conformazione i , generalmente la più stabile (0 Kcal/mol), k_B è la costante di Boltzmann e $N a$ è il numero di Avogadro. Le energie delle singole conformazioni E_j sono relative alla conformazione più stabile e vengono calcolate dalle energie assolute fornite dal calcolatore in Hartree convertendole in Kcal/mol e facendo la differenza con il valore più basso (più negativo) corrispondente alla conformazione più stabile.

Una volta identificate le popolazioni delle varie conformazioni ottenute, bisogna verificare la coerenza di queste conformazioni e di come sono popolate, alla temperatura di registrazione degli spettri, in base ai risultati sperimentali (7), tipicamente dati NMR come le costanti di accoppiamento e gli effetti NOE.

Per il calcolo degli spettri ECD (8), per ognuna delle conformazioni a più bassa energia trovate nel punto (5) bisogna valutare gli stati elettronici eccitati usando il metodo TDDFT (Time Dependent Density Functional Theory).

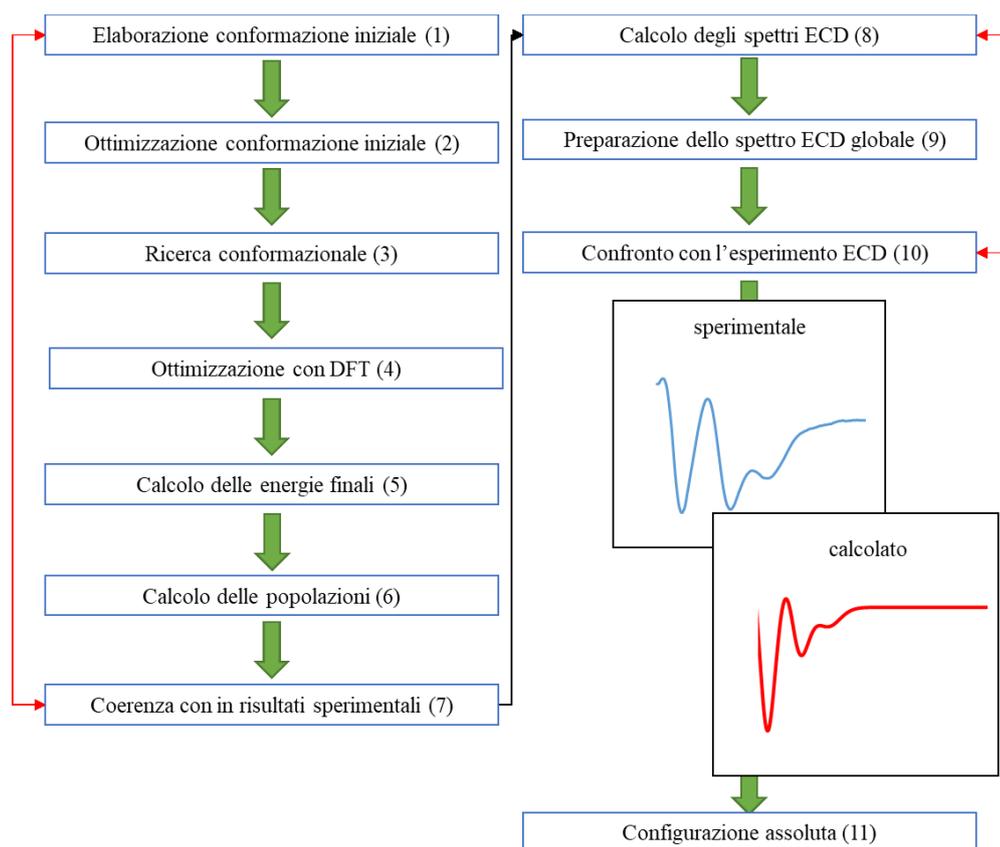


Figura 1.23-Schema dei principali step per il calcolo della configurazione assoluta, nella simulazione quantomeccanica di spettri ECD.

Gli spettri di assorbimento UV/vis vengono calcolati in parallelo agli ECD. Nei calcoli degli spettri ECD bisogna decidere il numero di stati eccitati da tenere in considerazione in relazione al range sperimentale disponibile.

La scelta dei funzionali è molto importante per i calcoli degli ECD, sia le lunghezze d'onda e le intensità delle bande ECD e UV-vis dipendono dai funzionali usati. La scelta del miglior funzionale per una data molecola non è un'operazione semplice e di conseguenza spesso viene realizzata per tentativi usando diversi tipi di funzionali e controllando la riproducibilità con i risultati sperimentali.

Siccome tutte le proprietà chiroottiche dipendono dal tipo di solvente usato nell'analisi, bisogna utilizzare un modello che include il solvente, anche se gli spettri ECD sono meno sensibili al tipo di solvente usato per la registrazione dello spettro, rispetto alle altre tecniche chiroottiche. Un modello che include il solvente è il modello PCM (Polarizable Continuum Model).

La preparazione dello spettro ECD globale (9) serve per creare un unico spettro ECD globale, ovvero che tiene conto di tutte le conformazioni trovate al punto (5).

L'ellitticità sull'asse delle ordinate sarà quindi un valore medio, ponderato per le varie popolazioni delle molecole occupanti le varie conformazioni, ad ogni lunghezza d'onda analizzata. Il confronto dello spettro ECD sperimentale con quello calcolato (10) viene realizzato applicando una manuale correzione di red-shift, perché i calcoli TDDFT degli ECD sovrastimano le energie di transizione. Il confronto viene quindi eseguito dopo aver scalato lo spettro. Se si osserva un buon match tra lo spettro calcolato e quello sperimentale, incluso il segno delle bande più importanti, la configurazione assoluta assegnata nel punto (1) risulta corretta. Se lo spettro calcolato risulta speculare a quello sperimentale, la configurazione assoluta opposta risulta quella corretta. Infine, se i due spettri presentano poca somiglianza nella regione spettrale sperimentale disponibile significa che qualcosa non funziona e bisogna riconsiderare l'intera procedura computazionale e la possibilità di non avere inserito nella simulazione una conformazione a bassa energia e quindi con una popolazione molecolare non trascurabile.

1.8.3 Teoria del funzionale densità (DFT)

Questa teoria viene usata per descrivere i sistemi molecolari, in particolare l'energia del sistema, senza dover risolvere l'equazione di Schrödinger elettronica.

Questa teoria si basa sulla densità elettronica, in quanto una volta integrata nello spazio fornisce il numero totale di elettroni N (Equazione 1.9).

Equazione 1.9

$$N = \int \rho(r) dr$$

Le posizioni dei nuclei, ($r_A=0$), corrispondono ai massimi locali della densità elettronica (Equazione 1.10).

Equazione 1.10

$$\left(\frac{\partial \bar{\rho}(r_A)}{\partial r_A} \right)_{r_A} = -2Z_A \rho(r_A)$$

Dove $\bar{\rho}(r_A)$ è la densità elettronica sfericamente mediata, Z_A il numero atomico dell'atomo A ed r_A è la distanza radiale dal nucleo A. L'energia viene scritta come una funzione della densità elettronica, che a sua volta è funzione delle coordinate cartesiane, ovvero è un funzionale. L'energia (Equazione 1.11) risulta costituita dalla somma dell'energia cinetica degli elettroni considerati non interagenti (T_{ni}), dall'interazione attrattiva nucleo-elettrone (V_{ne}), dalla repulsione classica elettrone-elettrone (V_{ee}) e infine dall'energia di scambio-correlazione (E_{xc}).

Equazione 1.11

$$E[\rho(r)] = T_{ni}[\rho(r)] + V_{ne}[\rho(r)] + V_{ee}[\rho(r)] + E_{xc}[\rho(r)]$$

Nel termine E_{xc} sono contenute le correzioni dovute all'interazione tra gli elettroni e alla repulsione elettrone-elettrone (ΔV_{ee}). Queste due correzioni rappresentano il termine difficile da trattare matematicamente.

Il funzionale E_{xc} dipende dalla densità elettronica e può essere espresso attraverso un'interazione tra la densità elettronica ρ e la densità di energia ε_{xc} che a sua volta dipende dalla densità elettronica (Equazione 1.12).

Equazione 1.12

$$E_{xc}[\rho(r)] = \int \rho(r) \varepsilon_{xc}[\rho(r)] dr$$

La densità di energia ε_{xc} può essere scritta come somma tra due contributi:

1. Scambio ε_x
2. Correlazione ε_c

Quindi per determinare il termine E_{xc} bisogna prima determinare ε_{xc} introducendo delle approssimazioni. Una approssimazione molto nota è la “Local Density Approximation” (LDA). La LDA consente di calcolare il valore di ε_{xc} , ad una data posizione r , dal valore di ρ in corrispondenza di tale posizione. Quindi deve esistere un singolo valore di ρ in corrispondenza della coordinata r . I funzionali in accordo con questa definizione sono quelli derivanti dall'analisi di un gas di elettroni uniforme.

Nei sistemi molecolari la densità elettronica è diversa da quella di un gas di elettroni, quindi sono state introdotte delle approssimazioni migliori della LDA per determinare ε_x o ε_c o entrambi. Una soluzione è quella di considerare ε_{xc} dipendente sia dalla densità elettronica locale sia dalla sua variazione locale.

L'approssimazione corrispondente prende il nome di “Generalized Gradient Approximation” (GGA) e viene ottenuta applicando un termine correttivo al funzionale LDA (Equazione 1.13).

Equazione 1.13

$$\varepsilon_{xc}^{GGA}[\rho(r)] = \varepsilon_{xc}^{LDA}[\rho(r)] + \Delta\varepsilon_{xc} \left[\frac{\nabla\rho(r)}{\rho^{\frac{4}{3}}(r)} \right] [\rho(r)]$$

Tra i funzionali di scambio più popolari vi è il funzionale B (Becke), mentre il più noto tra i funzionali di correlazione è il LYP (Lee-Yang-Parr).

La completa specificazione del funzionale è data dalla sigla del funzionale di scambio seguita dalla sigla del funzionale di correlazione, ad esempio il funzionale DFT BLYP.

I metodi DFT ibridi esprimono l'energia di scambio anche in termini di un contributo di Hartree-Fock, ovvero:

Equazione 1.14

$$E_x = (1 - \alpha)E_x^{DFT} + \alpha E_x^{HF}$$

L'Equazione 1.14 contiene un solo parametro, ma esistono espressioni più complesse contenenti più parametri, come il metodo DFT B3LYP, dove i parametri empirici da ottimizzare sono 3.

La multiple Gaussian-Type Orbital (GTO) consente di descrivere matematicamente ogni orbitale. Per definire gli orbitali in un atomo si attribuisce una combinazione di GTO (funzioni base) ad ogni orbitale occupato. Si definisce quindi un set di basi per ogni orbitale di un atomo (basi minime). I set delle basi minime sono inadeguati per descrivere le interazioni tra gli atomi, quindi devono essere assegnati dei funzionali multibase per ogni orbitale, in particolare per gli orbitali di valenza responsabili della formazione di legami chimici. Nella notazione di Pople, i set di basi vengono descritti nella forma A-BCg, dove A è il numero di GTO assegnati nel core shell, mentre le lettere B e C indicano la composizione degli orbitali di valenza. Un set di base molto usato per le molecole organiche è il 6-31G. L'atomo di carbonio con questo set di basi viene descritto da:

- 6 GTO per l'orbitale di core $1s^2$
- 3 GTO per gli orbitali di valenza $2s^2, 2p_x, 2p_y, 2p_z$
- 1 GTO aggiuntivo per gli orbitali di valenza $2s^2, 2p_x, 2p_y, 2p_z$

Questo funzionale non riesce a descrivere la dispersione elettronica presente nelle molecole organiche, quindi viene aggiunta una funzione di polarizzazione. Nella notazione di Pople questa funzione viene indicata con (d) o (d,p).

Il simbolo (d), per l'atomo di carbonio, indica l'aggiunta di 6 funzioni base tipo-d per atomi pesanti, in modo da ibridizzare gli orbitali di valenza, mentre il simbolo (d,p) indica 6 funzioni base tipo-d per atomi pesanti e 3 funzioni base tipo-p per l'idrogeno.

Le funzioni diffuse servono per permettere l'espansione dell'elettrone quando qualche carica netta è presente, ovvero in presenza di ioni. Per permettere questa diffusione

vengono aggiunti delle funzioni base, una per ogni orbitale di valenza. Per l'atomo di carbonio possono essere aggiunti quattro funzioni diffuse, una tipo-s e tre tipo-p, con la denotazione, secondo Pople, "+". Questo può essere esteso all'idrogeno (una funzione diffusione tipo-s) con la notazione "++".

2 OBIETTIVI

L'obiettivo di questo lavoro di ricerca ha riguardato la conclusione di un progetto sperimentale per lo studio di un nuovo processo organocatalitico asimmetrico per la preparazione di piperidine polifunzionalizzate enantioarricchite. L'obiettivo del progetto generale in cui si è inserito questo lavoro era quello di sintetizzare dei derivati della piperidina 3,4,5-trisostituiti chirali (**3**), con una reazione a cascata sulfa-Michael/aldolica del tiofenolo **2a** con il substrato **1**, contenente due siti elettrofili: un estere α,β -insaturo e un chetone (Figura 2.1).

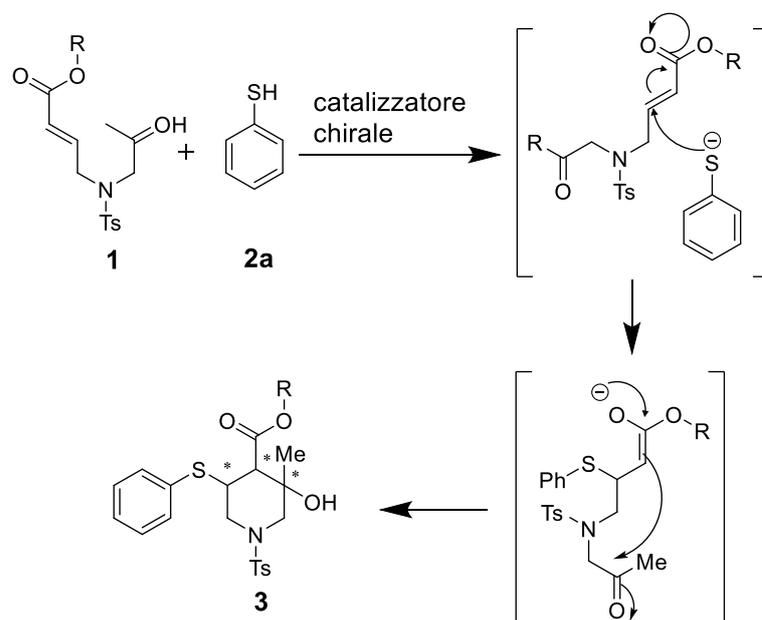


Figura 2.1 Reazione oggetto di studio in cui si è inserito il lavoro di tesi

La reazione era stata ottimizzata provando diversi catalizzatori, diversi substrati e diverse condizioni di reazione. I risultati ottenuti avevano permesso di trovare le condizioni ottimali per il processo (Figura 2.2), che consistono nel fare reagire il substrato **1a**, con il tiofenolo **2a**, aggiungendo Cs_2CO_3 solido come base, usando come solvente il toluene e a bassa temperatura (0°C). La reazione viene catalizzata da un derivato della Cinconidina (**A**) e in condizioni di trasferimento di fase il prodotto **3aa** viene ottenuto con risultati più che soddisfacenti, in termini di resa, dr, ed eccesso enantiomerico.

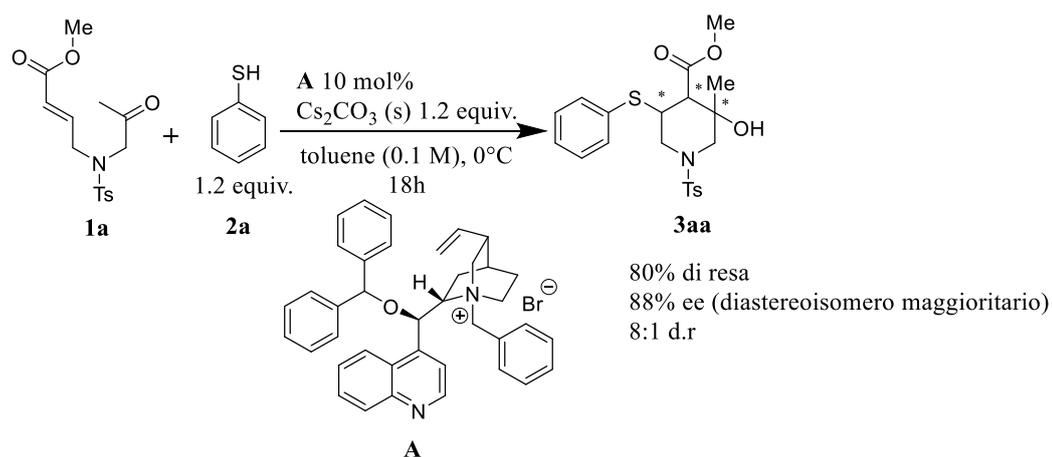


Figura 2.2-Reazione ottimizzata con gli studi precedenti al lavoro svolto.

Sulla base di questi risultati, il primo obiettivo del presente lavoro è stato quello di preparare i substrati **1b** e **1c**, ed applicarli alla reazione con il tiofenolo **2a** nelle condizioni ottimizzate, per studiare l'impatto dei gruppi legati al chetone sulla resa, conversione ed eccesso enantiomerico (Figura 2.3).

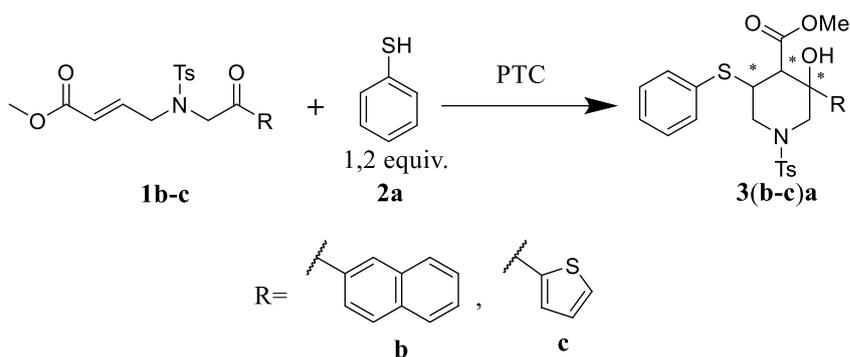
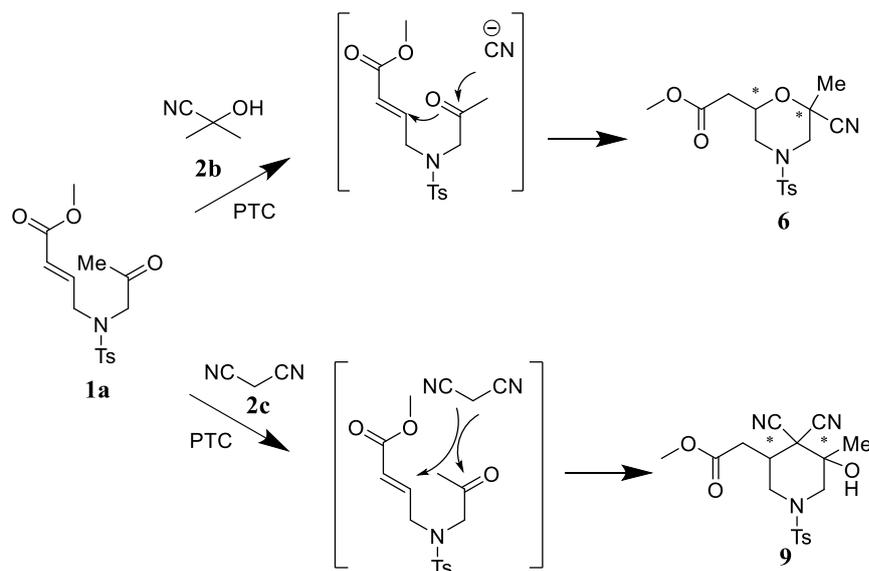


Figura 2.3 Primo obiettivo della tesi.

Il secondo obiettivo di questo lavoro è stato invece quello di studiare possibili variazioni nel partner nucleofilo di reazione, ovvero utilizzando un precursore dello ione cianuro o malononitrile al posto del tiofenolo **2a** (Figura 2.4). Questi nucleofili sono stati presi in considerazione in quanto risultati preliminari avevano mostrato come queste specie presentassero una reattività particolare con il substrato **1a**, distinta rispetto a quella del tiofenolo **2a**. In particolare, è stato deciso di studiare in maniera approfondita la reazione fra il substrato **1a** e aceton cianidrina **2b**, che porta alla formazione della morfolina **6** tramite una sequenza aldolica-ossa-Michael, generalizzando anche la reazione ad altri substrati **4** e **5** e analizzando la possibilità di sviluppare la versione enantioselectiva della reazione. I substrati **4** e **5** erano già stati usati per valutare l'efficienza della catalisi a trasferimento di fase con il tiofenolo **2a**. Infine, questo secondo obiettivo del lavoro ha

riguardato uno studio della reazione fra il substrato **1a** e il malononitrile **2c**, che porta invece alla piperidina **9**.



Altri substrati per la reazione con acetone cianidrina **2b** e malononitrile **2c**

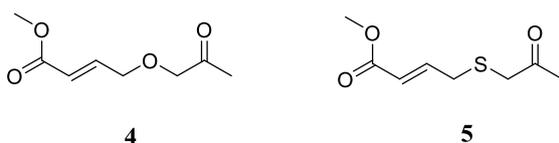


Figura 2.4 Secondo obiettivo della tesi.

Il terzo ed ultimo obiettivo di questo lavoro di tesi è stato quello di determinare la configurazione relativa ed assoluta del prodotto **3aa**, che presenta ben tre centri di chiralità, e la configurazione relativa del prodotto **6**, che presenta due centri stereogenici. Siccome tentativi precedenti di cristallizzare i prodotti piperidinici **3** sono falliti e con essi anche la strada più rapida per determinare la loro configurazione mediante la diffrazione a raggi X, in questo lavoro di tesi si è utilizzata per questo obiettivo una combinazione di tecniche spettroscopiche e computazionali (analisi conformazionale con molecular mechanics e calcoli DFT, spettroscopia NMR, spettroscopia ECD e simulazione degli spettri ECD mediante calcoli TD-DFT) (Figura 2.5).

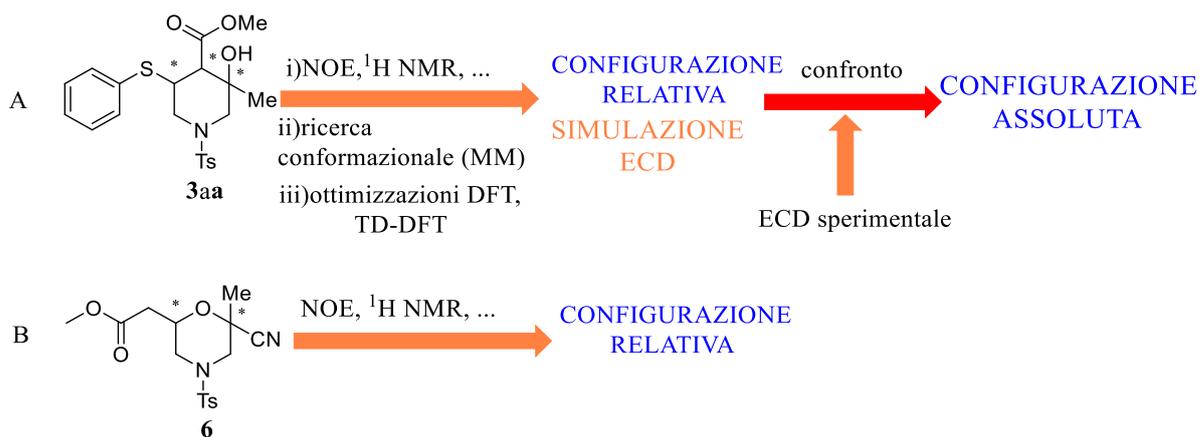


Figura 2.5 Terzo obiettivo della tesi.

3 RISULTATI E DISCUSSIONE

3.1 PREPARAZIONE DEI SUBSTRATI

Per studiare la reattività dei substrati **1b** e **1c** con il tiofenolo, inizialmente mi sono occupato della loro preparazione e caratterizzazione.

Lo schema retrosintetico adottato viene riportato in Figura 3.1.

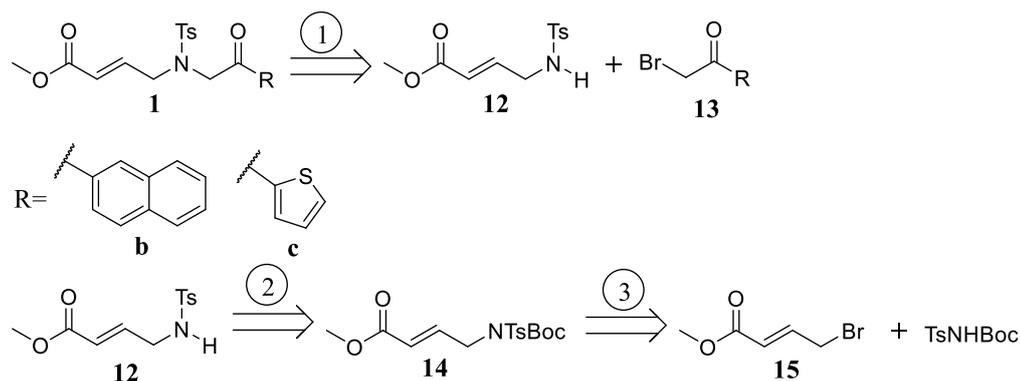


Figura 3.1-Strategia retrosintetica per la sintesi dei substrati **1b** e **1c**.

Il composto **14** è stato preparato a partire dal composto **15** mediante una reazione di sostituzione nucleofila con la tosilammina protetta con il Boc. È stato usato lo ioduro di sodio come catalizzatore e come solvente la dimetilformammide (Figura 3.2, a).

Il composto **12** è stato preparato dal composto **14** tramite una reazione di rimozione del gruppo Boc con l'acido trifluoro acetico (TFA) nelle condizioni riportate in Figura 3.2, b. L'ultimo passaggio sintetico coinvolge una reazione di sostituzione nucleofila, dove il nucleofilo **12**, attivato da una base, si sostituisce allo ione bromuro nel composto **13** ottenendo il prodotto di sostituzione **1** (Figura 3.2, c), utilizzando come solvente l'acetonitrile.

I composti **13** sono disponibili in commercio.

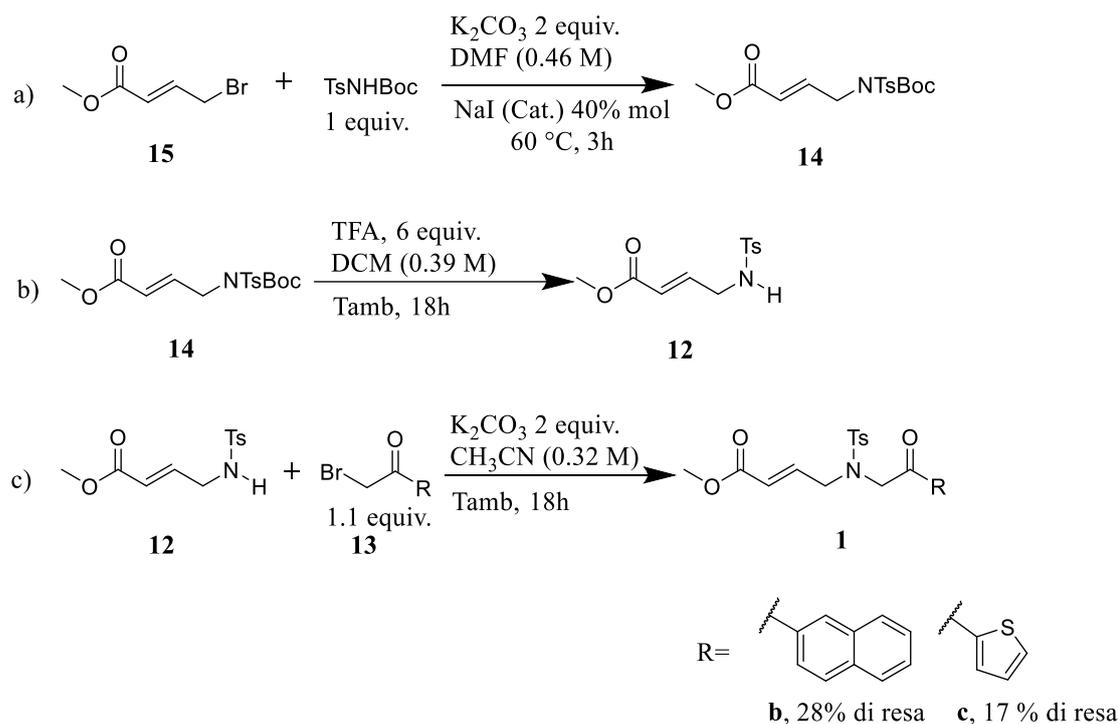


Figura 3.2-Schema delle reazioni usate per la preparazione dei substrati **1b-c** con riportate le condizioni di reazione adottate. Resa su 3 passaggi.

3.2 PRODOTTI DELLE REAZIONI A CASCATA SULFA-MICHAEL/ALDOLICA

Dopo la sintesi dei substrati si è passati allo sviluppo delle reazioni a cascata sulfa-Michael/aldolica tra un substrato che presenta due gruppi elettrofili **1** e un tiolo aromatico nucleofilo **2a**. In particolare, si sono fatti reagire i substrati **1b** e **1c** con il tiofenolo, per studiare l'effetto della variazione del gruppo chetonico del substrato sulla reazione (Tabella 3-1). Si è utilizzato Cs_2CO_3 come base per la deprotonazione del tiofenolo, e un opportuno catalizzatore chirale a trasferimento di fase (catalizzatore **A**).

Questo catalizzatore come le condizioni di reazione ottimali sono state scelte dai dati raccolti in lavori precedenti dal gruppo di ricerca.

Ogni reazione è stata ripetuta utilizzando un catalizzatore achirale, il tetrabuttilammonio bromuro (TBABr, Figura 3.3), per permettere l'identificazione delle bande degli enantiomeri all'HPLC. Si è osservato come il catalizzatore in questione non influisca sulla selettività nella formazione dei diastereoisomeri, infatti gli esperimenti ^1H NMR sul grezzo di reazione mostrano solo un diastereoisomero, che corrisponde a quello formatosi utilizzando il catalizzatore chirale. La reazione racemica dei substrati **1b-c** con il tiofenolo (Figura 3.3) è stata condotta con ottimi risultati, in condizioni di trasferimento di fase.

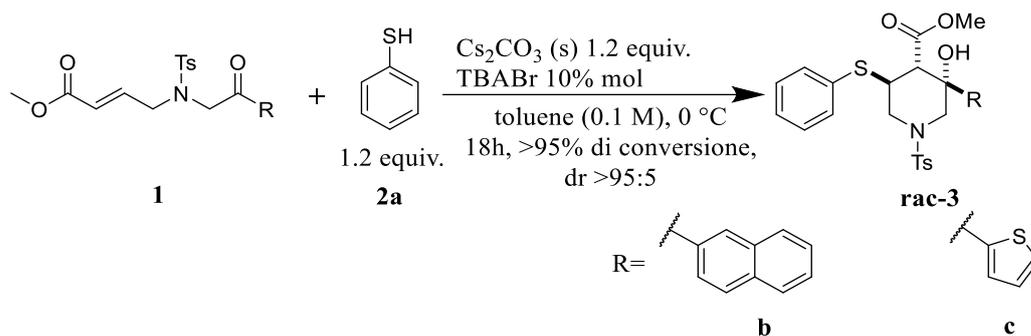
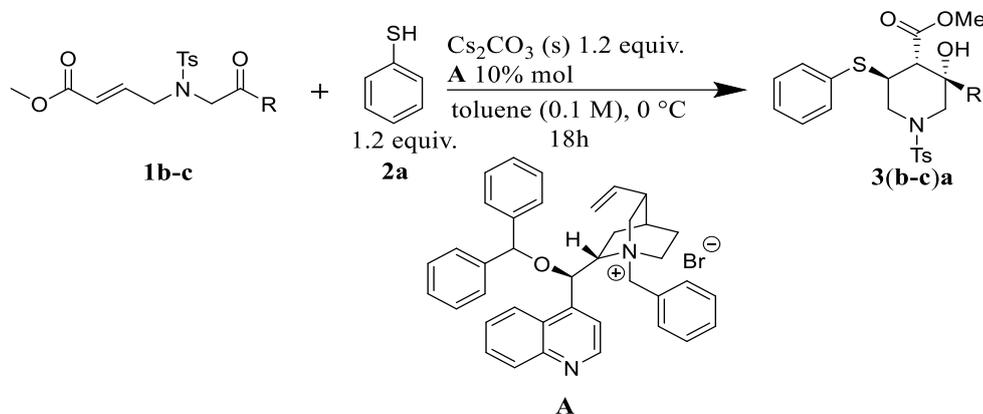


Figura 3.3--Schema della reazione usata per la preparazione dei prodotti racemici **rac-3**.

Utilizzando il catalizzatore chirale **A**, il prodotto **3ba** è stato ottenuto con resa ed eccesso enantiomerico molto soddisfacenti (Tabella 3-1, prova 1), mentre i dati del prodotto **3ca** sono inferiori (prova 2). Questo porta a dedurre come la variazione di un sostituyente legato al gruppo carbonilico del chetone influisca sulla resa e sull'eccesso enantiomerico della reazione.

Nel capitolo 3.5 è stata determinata la configurazione assoluta del composto **3aa**, che risulta essere pari a 3S, 4S, 5S. Questa configurazione viene assunta uguale ai composti **3(b-c)a** che derivano dalla stessa reazione.

Tabella 3-1



Prova	R	Prodotto	Resa [*]	ee ^{**}	Conversione ^{***}	dr ^{***}
1		3ba	85%	84%	>95%	>95:5
2		3ca	66%	63%	>95%	>95:5

^{*}La resa è stata calcolata sul prodotto purificato per colonna cromatografica su gel di silice.

^{**}L'eccesso enantiomerico è stato calcolato tramite analisi HPLC su fase stazionaria chirale.

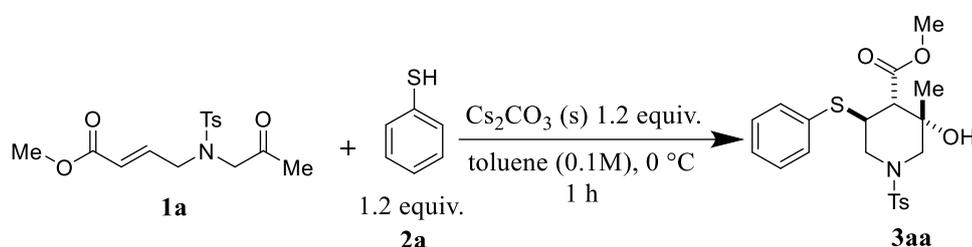
^{***}La conversione e il dr sono stati valutati direttamente sul grezzo di reazione tramite un'analisi ¹H NMR.

Infine, per valutare possibili reazioni di background sono state condotte tre prove sul substrato **1a** (Tabella 3-2, prove 1-3), aggiungendo in una il catalizzatore **A**, nella seconda il TBABr e conducendo la terza senza catalizzatore.

Dopo un'ora, con il catalizzatore **A** e con il TBABr, si è osservata una conversione completa (prove 1-2), invece, in assenza di catalizzatore, la conversione è risultata del 43% (prova 3). Pertanto, si è verificata la presenza di una reazione di background, ovvero non promossa dal catalizzatore a trasferimento di fase. Questa potrebbe essere una delle cause di un abbassamento nel valore dell'eccesso enantiomerico, registrato per il substrato **1c**.

Da questa tabella si può notare come il dr venga influenzato dal catalizzatore, con una maggiore diastereoselezione usando il catalizzatore chirale **A**.

Tabella 3-2



Prova	Catalizzatore	Conversione*	dr**
1	A (10% mol)	>95%	6:1
2	TBABr (10% mol)	>95%	2:1
3	/	43%	4:1

*La conversione è stata valutata sul grezzo di reazione tramite un'analisi $^1\text{H NMR}$, prendendo il picco a 1,20 ppm (Me del prodotto) e il picco a 2,13 ppm (Me del substrato).

**Il rapporto diastereomerico è stato valutato sul grezzo di reazione tramite un'analisi $^1\text{H NMR}$, prendendo i picchi a 3,78 ppm (maggioritario) e 3,77 ppm (minoritario) corrispondenti al segnale del metile dell'estere.

Il meccanismo della reazione è riportato in Figura 3.4 e prevede l'attacco del tiofenolo deprotonato sul carbonio in β al gruppo estereo di **1** (reazione di sulfa-Michael), con la formazione del primo centro chirale, quindi la formazione dell'enolato segue una reazione aldolica intramolecolare, tra il carbonile chetonico e il carbonio nucleofilo, con la formazione di altri due centri chirali, in una sequenza a cascata.

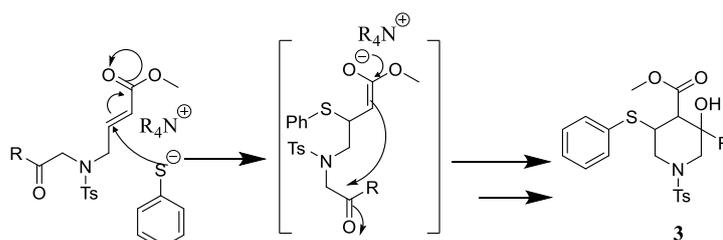


Figura 3.4-Meccanismo della reazione dei substrati **1** con il tiofenolo **2a**.

È stata compiuta una ricerca delle reazioni simili alla Michael-aldolica in letteratura per cercare di razionalizzare la diastereoselezione osservata verso un solo diastereoisomero sui quattro possibili, trovando diversi esempi per la sintesi di cicli a sei membri, recanti centri chirali in posizioni analoghe al prodotto in esame, con differenti stereochimiche relative (Figura 3.5). La stereochimica relativa trans tra il gruppo R e il gruppo COOMe della piperidina **3aa** risulta opposta a quella riportata da Serpier e collaboratori³¹ su uno studio di una reazione domino di addizione/carbociclizzazione per la sintesi di piperidine chirali 3,4,5-trisostituite (Figura 3.5 A). Anche Cauble e collaboratori³² hanno studiato una reazione domino di addizione/carbociclizzazione, ottenendo invece delle piperidine chirali 3,4,5-trisostituite con stereochimica relativa dei sostituenti uguale a quella ottenuta in questo lavoro (Figura 3.5 B). D'altra parte, Huddleston e collaboratori³³ hanno studiato una reazione domino di idroborazione e carbociclizzazione ottenendo dei composti ciclici a 6 termini 1,2 bisostituiti con stereochimica relativa trans tra il metile e il carbonile (Figura 3.5 C). Infine Ono e collaboratori³⁴ hanno studiato delle reazioni di ciclizzazione con substrati a base di esteri α,β -insaturi capaci di dare delle reazioni domino sulfa-Michael/aldolica, ottenendo dei prodotti ciclici 1,2,3-trisostituiti (Figura 3.5 D) con stereochimica relativa identica a quella riportata in questo lavoro (cis-trans).

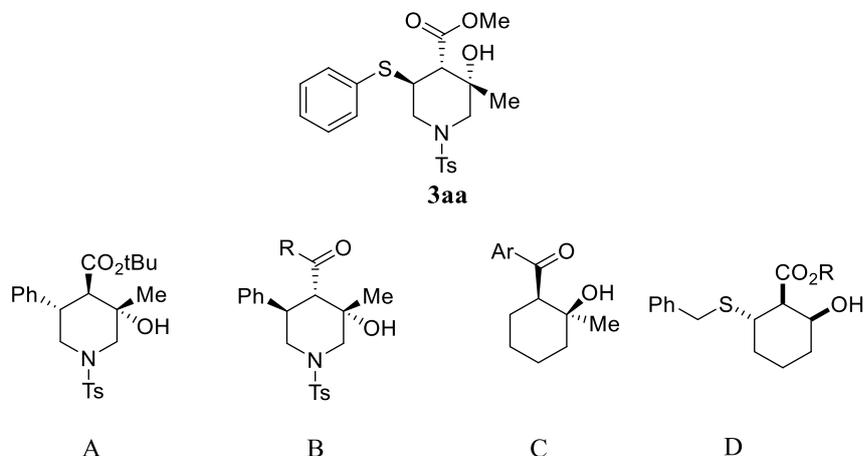


Figura 3.5

³¹ F. Serpier, J. L. Brayer, B. Folléas, S. Darses *Org. Lett.* **2015**, 17, 5496-5499.

³² D. F. Cauble, J. D. Gipson, M. J. J. Krische *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 1110-1111.

³³ R. R. Huddleston, D. F. Cauble, M. J. Krische *J. Org. Chem.* **2003**, 68, 11-14.

³⁴ M. Ono, K. Nishimura, Y. Nagaoka, K. Tomioka *Tetrahedron Letters*, **1999**, 40, 6979, 6982.

Basandosi sui modelli con stati di transizione ciclici a pseudo sedia, trovati in letteratura per giustificare la diastereoselezione, è possibile proporre il modello stereochimico riportato in Figura 3.6 per la stereochimica relativa trans-cis.

In ambiente chirale, ovvero con il catalizzatore **A** si ottiene un'induzione asimmetrica durante l'attacco del tiofenolo nella reazione di sulfa-Michael, e passando idealmente attraverso lo stato di transizione in Figura 3.6 si ottiene un solo enantiomero con configurazione assoluta pari a 3S, 4S, 5S.

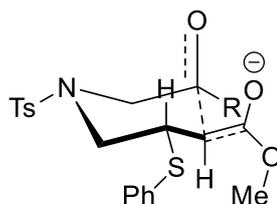


Figura 3.6-Modello stereochimico per la reazione studiata.

3.3 REAZIONI CON L'ACETON CIANIDRINA

Dopo la sintesi dei prodotti **3ba** e **3ca** si è passati allo sviluppo delle reazioni a cascata aldolica/ossa-Michael tra il substrato **1a** e un precursore dello ione cianuro (**2b**) come nucleofilo.

La reazione racema tra l'aceton cianidrina **2b** e il substrato **1a** (Figura 3.7) è stata condotta con ottimi risultati, nelle stesse condizioni riportate per la ciclizzazione sulfa-Michael/aldolica.

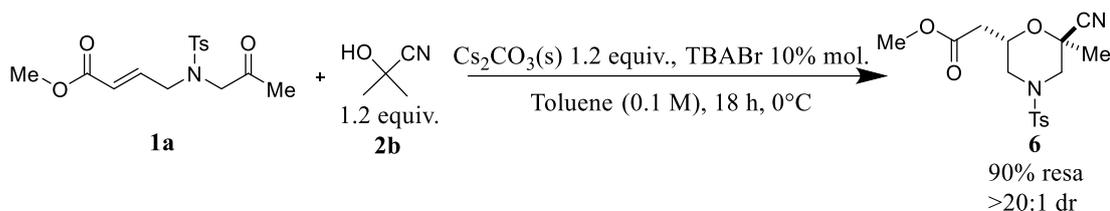


Figura 3.7-Versione racema della reazione.

Il prodotto **6** che si osserva in questo caso è differente rispetto a quello della reazione mostrata nel capitolo precedente. Il meccanismo alla base di questa reazione infatti, comprende un attacco 1,2 dello ione cianuro al carbonile del chetone, con la formazione del primo centro chirale, seguita da una reazione di ossa-Michael, in una sequenza a cascata, come riportato in Figura 3.8.

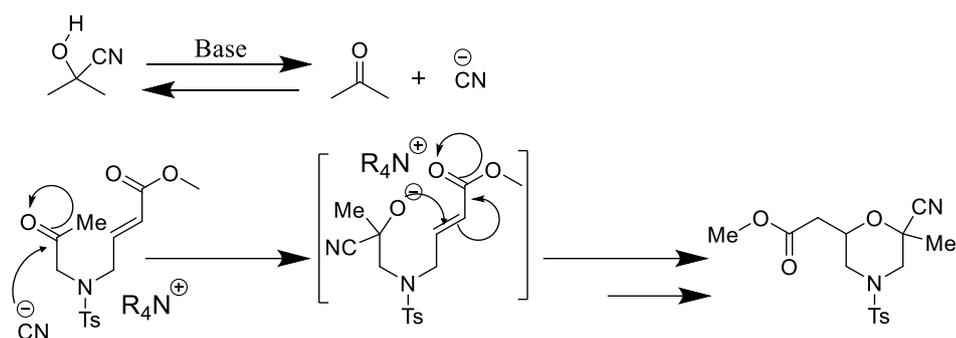


Figura 3.8-Meccanismo della reazione domino con la cianidrina.

La reazione è diastereoselettiva e il prodotto **6** si presenta come singolo diastereoisomero, con una configurazione relativa $2S^*$, $6R^*$ determinata nel capitolo 3.6.

Per spiegare la presenza di un solo diastereoisomero dei prodotti è stato proposto il modello stereochimico riportato in Figura 3.9, basato su uno stato di transizione ciclico a pseudo sedia. In questo modello il metile e il sostituente estereo occupano delle posizioni equatoriali.

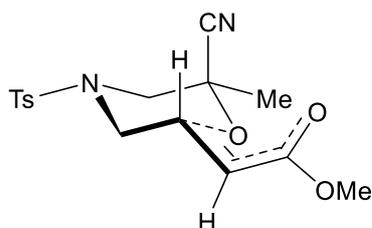


Figura 3.9-Stato di transizione ciclico a pseudo sedia.

La versione asimmetrica della reazione era stata valutata con i derivati degli alcaloidi della Cinchona, ottenendo scarsi risultati, quindi come alternative sono stati scelti i ciclopentoidi **B-F** (Figura 3.10), forniti dal prof. Giorgio Della Sala (Università degli Studi di Salerno). Questi catalizzatori erano stati ottimizzati per altre metodologie con catalisi a trasferimento di fase³⁵.

Per cercare di ottenere le condizioni ottimali di reazione in termini di base e temperatura, sono state condotte diverse prove, mantenendo fisso il catalizzatore **C** (Tabella 3-3).

Le condizioni ottimali sono state raggiunte con il carbonato di sodio solido, ad una temperatura di $0\text{ }^\circ\text{C}$ (Tabella 3-3, prova 1). La reazione condotta con l'idrossido di potassio acquoso al 50% in peso non è andata a compimento (prova 3), mentre con K_2CO_3 (s) e con Na_2CO_3 (aq) si sono ottenuti dei valori molto bassi di ee.

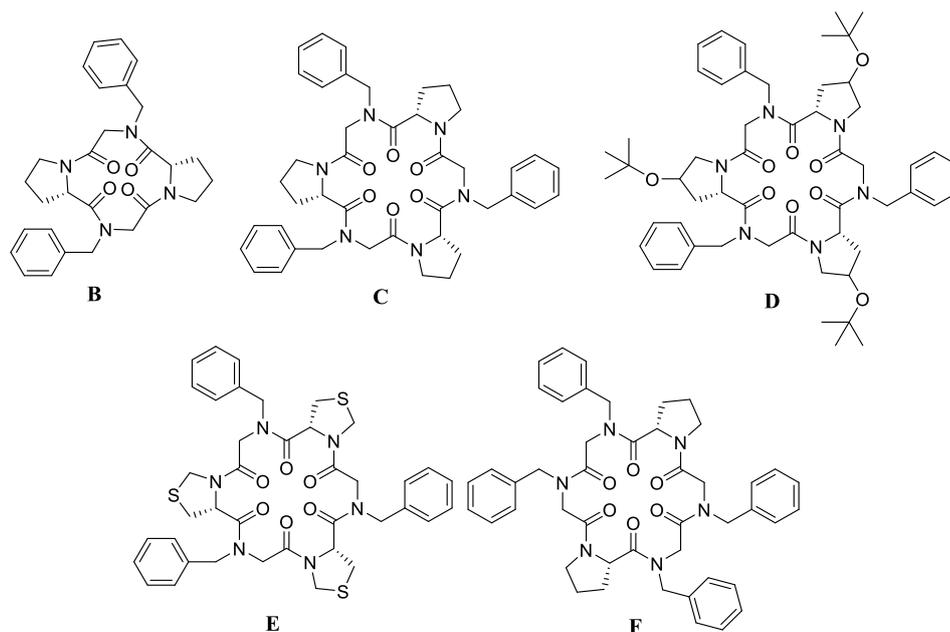
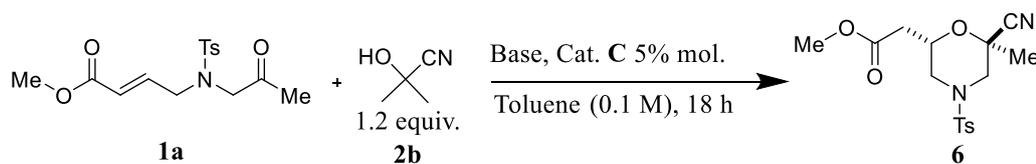


Figura 3.10-ciclopeptoidi **B-F**.

Tabella 3-3



Prova	Base*	Temp.*	Conversione**	dr**	Resa***	ee****
1	Na ₂ CO _{3(s)} (1,2 equiv.)	0 °C	>95%	>95:5	69%	29%
2	K ₂ CO _{3(s)} (1,2 equiv.)	0 °C	>95%	>95:5	72%	8%
3	KOH _(aq) (50% w)	-20 °C	<i>n.d.</i>	>95:5	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>
4	Na ₂ CO _{3(aq)} (10% w)	0 °C	88%	>95:5	73%	1%

*Le condizioni operative sono state scelte in base ai risultati riportati da Schettini e collaboratori³⁵.

**La conversione e il dr sono stati valutati dallo spettro ¹H NMR, direttamente sul grezzo di reazione, prendendo i picchi a 4,41 ppm (dt) del prodotto e a 6,73 ppm (dt) del substrato.

***La resa è stata calcolata sul prodotto purificato per colonna cromatografica su gel di silice.

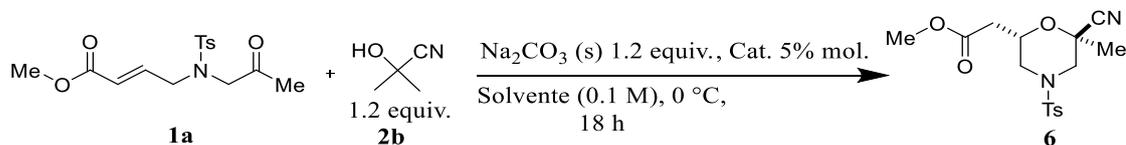
****L'eccesso enantiomerico è stato calcolato tramite analisi HPLC su fase stazionaria chirale.

Una volta identificate le condizioni ottimali di reazione, sono state condotte diverse prove, variando i ciclopeptoidi (Tabella 3-4), ottenendo purtroppo scarsi risultati.

³⁵ a) R. Schettini, A. D'amato, F. De Riccardis, G. Della Sala, I. Izzo, *Synthesis*, **2017**, 49, 1319-1326; b) R. Schettini, F. De Riccardis, G. Della Sala, I. Izzo, *J. Org. Chem.* **2016**, 81, 2494-2505; c) R. Schettini, F. De Riccardis, G. Della Sala, I. Izzo, B. Nardone, *Eur. J. Org. Chem.*, **2014**, 7793-7797.

Il catalizzatore **B** risulta poco solubile nel toluene, quindi è stato provato in diclorometano dove risulta solubile (Tabella 3-4, prova 5), ottenendo tuttavia conversione nulla.

Tabella 3-4



Prova	Catalizzatore	Solvente	Conversione*	dr*	Resa**	ee***
1	D	Toluene	>95%	>95:5	78%	24%
2	E	Toluene	88%	>95:5	59%	20%
3	F	Toluene	65%	>95:5	59%	21%
4	B	Toluene	32%****	>95:5	24%	17%
5	B	DCM	<i>n.d.</i>	>95:5	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>

*La conversione e il dr sono stati valutati dallo spettro ^1H NMR, direttamente sul grezzo di reazione, prendendo i picchi a 4,41 ppm (dtd) del prodotto e a 6,73 ppm (dt) del substrato.

**La resa è stata calcolata sul prodotto purificato per colonna cromatografica su gel di silice.

***L'eccesso enantiomerico è stato calcolato tramite analisi HPLC su fase stazionaria chirale.

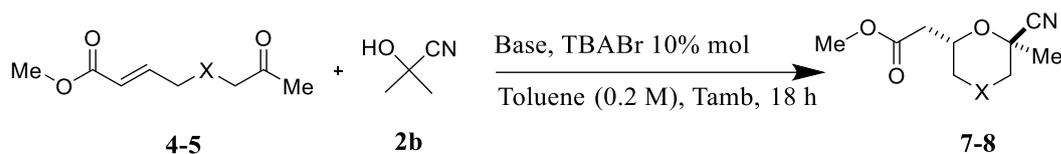
****La reazione è stata condotta per un tempo superiore a quello riportato, circa 42 ore, perché la conversione era ancora molto bassa.

Infine, per valutare possibili reazioni di background sono state condotte due prove in assenza di catalizzatore (Tabella 3-5), aggiungendo nella prima il carbonato di sodio solido e nella seconda il carbonato di sodio acquoso al 10% in peso.

I dati riportati in Tabella 3-5 mostrano un lieve background utilizzando il carbonato di sodio solido, al contrario ci potrebbe essere un effetto di background non trascurabile lavorando con il carbonato di sodio acquoso al 10% in peso.

Nella prova 1 è stato osservato un sottoprodotto (**1a-s**), in Figura 3.11 derivato dal substrato **1a** attraverso uno shift del doppio legame.

Tabella 3-6



Prova	X	Base	HO-CN	Conversione*	dr*	Resa**
1	O (4)	Cs ₂ CO ₃ (s)	1.2 equiv.	>95%	>95:5	76%
2	S (5)	K ₂ CO ₃ (aq) (10% w)	1.2 equiv.	37%	>95:5	n.d.
3	S (5)	K ₂ CO ₃ (aq) (10% w)	5 equiv.	26%	>95:5	n.d.
4	S (5)	K ₂ CO ₃ (aq)(10% w)	2 equiv.	73%	>95:5	24%

*La conversione e il dr sono stati valutati dallo spettro 1H NMR sul grezzo di reazione, prendendo il picco a 4,48 ppm (dtd) caratteristico del prodotto e il picco a 6,83 ppm (dt) caratteristico del substrato.

**La resa è stata calcolata sul prodotto purificato per colonna cromatografica su gel di silice.

3.4 REAZIONI CON IL MALONONITRILE

Dopo lo studio delle reazioni con l'aceton cianidrina si è passati allo sviluppo delle reazioni tra il substrato **1a** e il malononitrile **2c** (Figura 3.12).

Si è utilizzato il Cs₂CO₃ come base per la deprotonazione del malononitrile, e un opportuno catalizzatore achirale a trasferimento di fase come il TBABr.

Questo catalizzatore, come le condizioni di reazione ottimali, sono state scelte dai dati raccolti in lavori precedenti dal gruppo di ricerca.

Il prodotto **9** si presenta sotto forma di due diastereoisomeri. È stato osservato un cambiamento nel rapporto diastereomerico al variare del solvente deuterato durante gli esperimenti ¹H NMR, ad esempio il dr in CDCl₃ risulta 1:1, in (CD₃)₂CO risulta 4:1, in CD₂Cl₂ risulta 3:1 e in (CD₃)₂SO risulta 1:1.

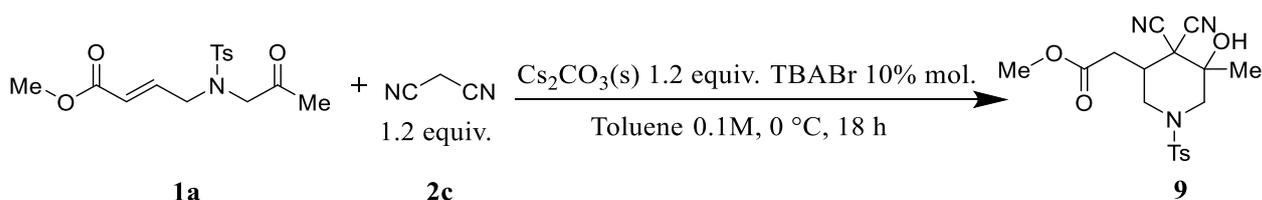


Figura 3.12-Schema di reazione.

In linea di principio, sono possibili almeno tre differenti strutture derivanti da tre tipologie diverse di reazioni domino del substrato **1a** con il malononitrile.

L'assegnazione della struttura del prodotto è stata possibile tramite esperimenti NMR DEPT, registrando gli spettri con uno spettrometro operante a 400 MHz, sciogliendo il prodotto in DMSO deuterato.

I composti **9**, **12** e **13** si possono distinguere e differenziare dal numero di CH₂, CH e di carboni quaternari alifatici, marcati in rosso nella Figura 3.13.

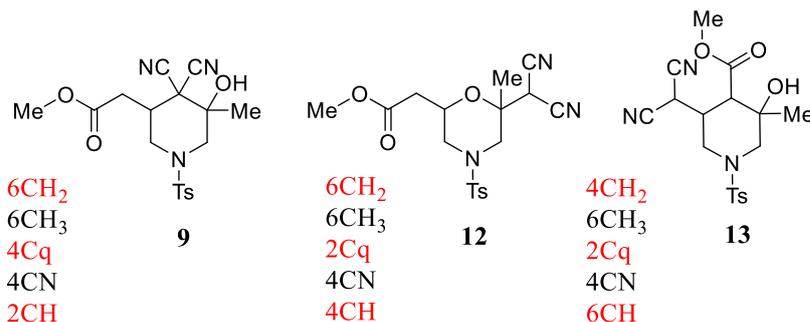


Figura 3.13- Possibili strutture ottenibili aggiungendo il malononitrile al substrato **1a**. Ogni struttura è composta da due diastereoisomeri e il conteggio dei carboni tiene conto di entrambi.

Lo spettro del DEPT 135, nella regione alifatica, (Figura 3.14 B) ha permesso di identificare 6 picchi corrispondenti ai CH₂, il DEPT 90 (Figura 3.14 C) ha evidenziato 2 CH. Per confronto sono stati trovati 6 CH₃ e 4 carboni quaternari, tenendo conto della presenza equimolare di due diastereoisomeri.

L'unica struttura, tra quelle proposte in Figura 3.13 che contiene 4 carboni quaternari e 2 CH alifatici è la **9**.

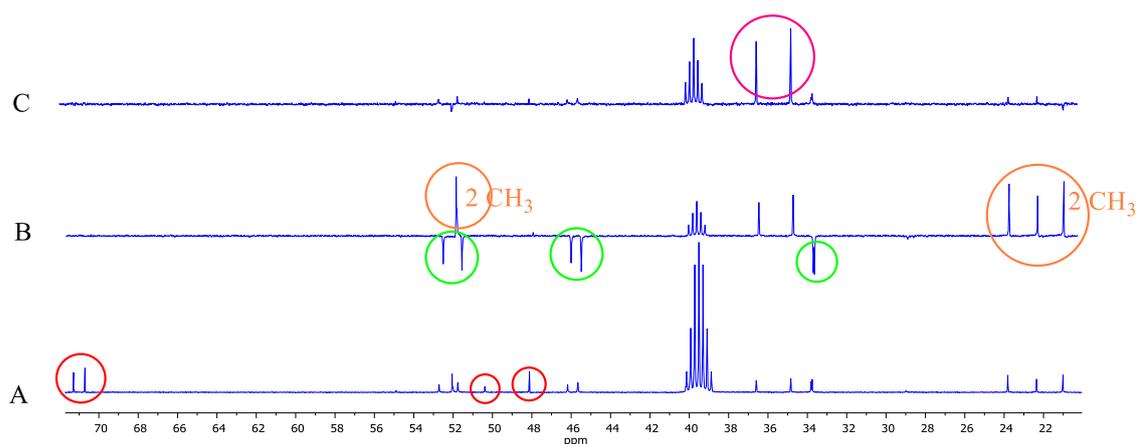


Figura 3.14-Spettro ¹³C NMR (A), DEPT 135 (B) e DEPT 90 (C), del composto **9** nella zona alifatica. Rosso = carboni quaternari, verde = CH₂, arancione = CH₃ e viola = CH.

Il prodotto **9** (Figura 3.13) deriva da una reazione di addizione di Michael del malononitrile deprotonato, sull'estere α-β insaturo di **1a**, seguita da una deprotonazione del gruppo

propanedinitrile di **11** che attacca così il gruppo carbonilico del chetone (Figura 3.15). L'ordine degli attacchi nucleofili può essere invertito, portando comunque allo stesso prodotto. Invece il prodotto **12** (Figura 3.13) deriva da una reazione a cascata aldolica/ossa-Michael, infine il composto **13** (Figura 3.13) deriva da una reazione a cascata Michael/aldolica.

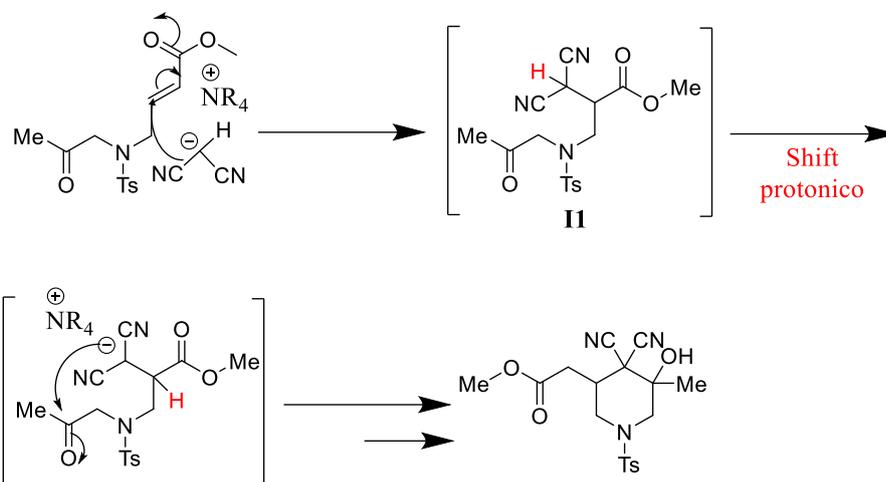


Figura 3.15- Meccanismo della reazione tra il malononitrile **2c** e il substrato **1a**.

Il prodotto **9** (Tabella 3-7, prova 1) è stato ottenuto sotto forma di due diastereoisomeri, con ottima resa.

Un equilibrio tra i due diastereoisomeri spiega l'impossibilità nel separarli con colonna su gel di silice e il cambiamento tra il loro rapporto, al variare del solvente.

Estendendo la reazione ai substrati **4** e **5** è stato ottenuto il prodotto **10** (Tabella 3-7, prova 2) insieme al sottoprodotto **4-s** (Figura 3.16), con conversione completa.

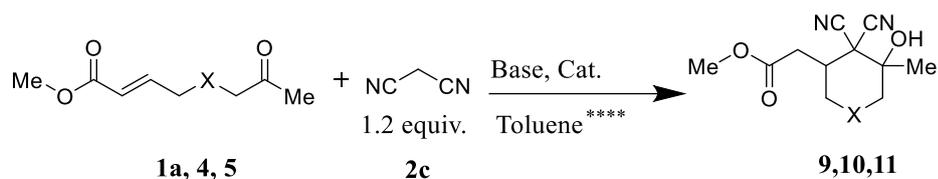
Non è stato possibile purificare il prodotto **10** dal sottoprodotto **4-s** per colonna su gel di silice.

Per ottenere il prodotto **10** più pulito e facilmente separabile dal sottoprodotto **4-s**, è stata cambiata la composizione della base (Tabella 3-7, prove 3-5).

Usando il K_2CO_3 (s) si è ottenuto il prodotto **10** più pulito (prova 3) e la separazione con colonna cromatografica su gel di silice ha permesso di isolare il prodotto **10** con una resa del 40% con un dr maggiore di 20:1 in CD_3Cl .

Non è stato possibile sintetizzare il prodotto **11** a partire dal substrato **5** (Tabella 3-7, prova 3) anche modificando le condizioni di reazione o utilizzando un catalizzatore chirale che si era invece usato con il substrato **1a** in altre reazioni.

Tabella 3-7



Prova	X	Base	Cat.*	Temp	Conversione**	Resa***
1	NTs (1a)	Cs ₂ CO ₃ (s)	TBABr	0°C	>95%	66%
2	O (4)	Cs ₂ CO ₃ (s)	TBABr	Tamb	>95%	80%
3	O (4)	K ₂ CO ₃ (s)	TBABr	Tamb	>95%	40%
4	O (4)	K ₂ CO ₃ (aq) (50% w)	TBABr	Tamb	>95%	<i>n.d.</i>
5	O (4)	Na ₂ CO ₃ (aq) (10% w)	TBABr	Tamb	>95%	<i>n.d.</i>
6	S (5)	K ₂ CO ₃ (aq) (10% w)	 G	Tamb	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>

*La TBABr è stata aggiunta al 10% mol e il catalizzatore **G** è stato aggiunto al 20 % mol.

**La conversione è stata valutata dallo spettro ¹H NMR direttamente sul grezzo di reazione.

***La resa è stata calcolata sul prodotto isolato, dopo separazione cromatografica su gel di silice.

****Soluzione 0.1 M per i substrati **1a** e **5**; 0.2 M per il substrato **4**.

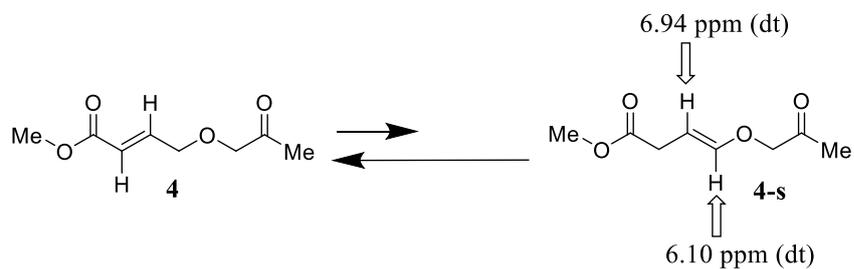


Figura 3.16-Possibile sottoprodotto derivante dal substrato **4**.

3.5 DETERMINAZIONE DELLA CONFIGURAZIONE DEL PRODOTTO 3aa

3.5.1 Configurazione relativa di 3aa

La configurazione relativa è stata determinata con esperimenti NMR condotti con uno strumento operante a 600 MHz registrando gli spettri in acetonitrile deuterato, lo stesso solvente usato per acquisire gli spettri ECD.

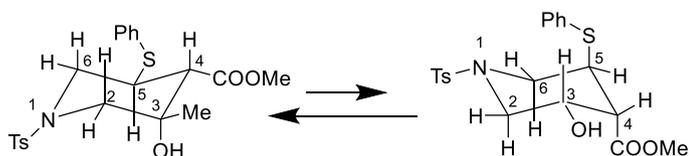


Figura 3.17-Le due possibili conformazioni a sedia di 3aa, con configurazione assoluta 3S, 4S e 5S arbitraria e configurazione relativa assegnata con esperimenti NOE.

Nella regione alifatica dello spettro ^1H NMR (Figura 3.18 A), il protone H-6' (2.23 ppm) è un doppio doppietto con due costanti di accoppiamento grandi e quasi uguali tra di loro (11.8 Hz), con il protone H-6'' (3.88 ppm) e il protone H-5 (3.57 ppm). Questo è un doppietto di doppio doppietto con una costante di accoppiamento grande (11.8 Hz) con H-6' (2.23 ppm) disposto in assiale, con una costante di accoppiamento grande (12.4 Hz) con H-4 (2.31 ppm) disposto in assiale e con una costante di accoppiamento piccola (4.7 Hz) con H-6'' (3.86 ppm) disposto in equatoriale.

Quindi i protoni H-5 e H-4 sono disposti in anti con un angolo diedro vicino a 180° e con stereochimica relativa anti tra il tiofenile e l'estere.

Il protone H-6'' (3.86 ppm) in equatoriale è un triplo doppietto con una costante di accoppiamento grande (12.0 Hz) con il protone H-6' geminale, una costante di accoppiamento piccola (4.7 Hz) con H-5 assiale e una costante di accoppiamento a lunga distanza (2 Hz) con H-2 (3.48 ppm) in equatoriale tramite una conformazione a "W" a quattro legami σ .

Il protone H-2' (2.23 ppm) è un doppietto con una costante di accoppiamento grande (12.2 Hz) con il protone vicinale e una costante di accoppiamento piccola (0.9 Hz) con il protone dell'ossidrilico, tramite una conformazione a "W". Essendo in assiale non può generare accoppiamento con i protoni H-6, tramite la conformazione a "W".

Per determinare la stereochimica relativa del gruppo metile rispetto al protone H-5 sono stati condotti due esperimenti NOE irraggiando il metile (Figura 3.18 B) e irraggiando il protone H-5 (Figura 3.18 C).

Saturando il metile si ottengono dei segnali NOE corrispondenti ai protoni H-2, H-4 e al metile dell'estere.

Non si ottiene un segnale NOE corrispondente al protone H-5 quindi la stereochimica relativa del metile e cis rispetto al tiofenile e l'OH occupa la posizione assiale.

Saturando il protone H-5 non si ottiene un segnale NOE corrispondente al metile, confermando la stereochimica relativa che risulta essere 3S*, 4S*, 5S*. Inoltre, la conformazione a sedia osservata è quella a sinistra nella Figura 3.17.

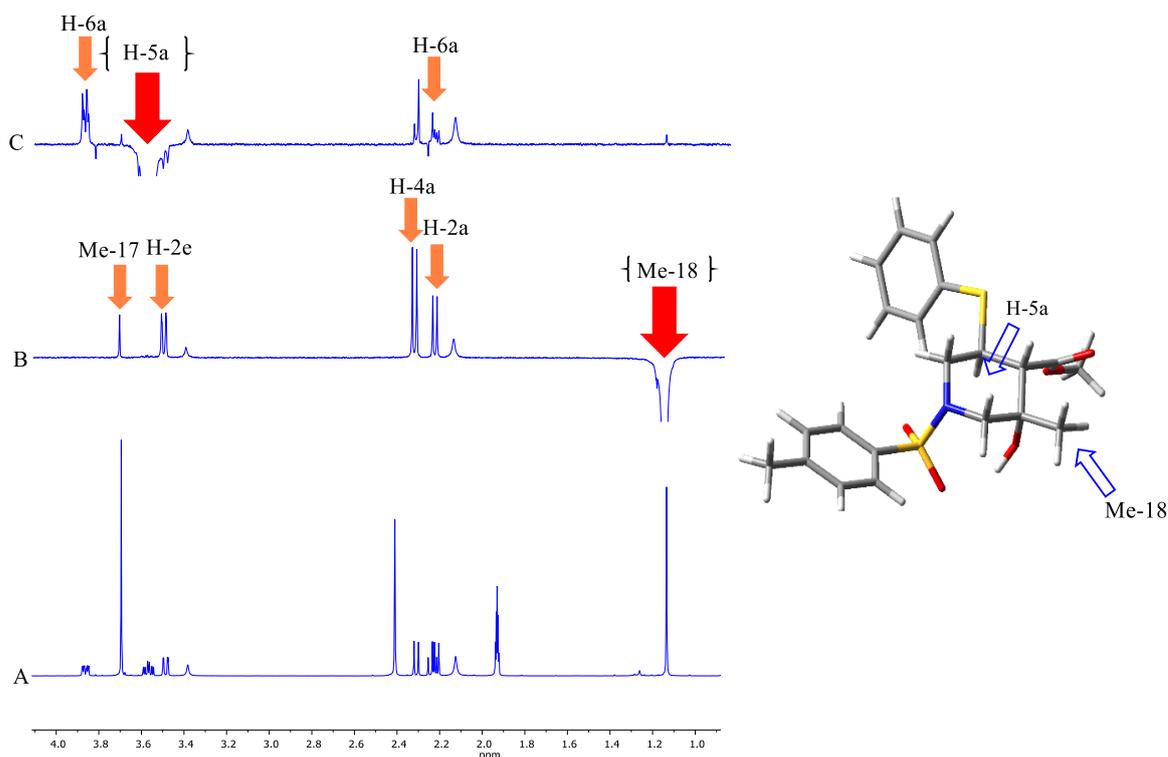


Figura 3.18-Spettro ¹H NMR (A), NOE sul metile (B), NOE sul protone H-5 (C) per il composto **3aa**, registrato a 600 MHz.

È stata proposta una struttura preliminare del composto avente configurazione assoluta 3S, 4S e 5S e ottimizzata con DFT ad un livello di teoria B3LYP/6-31G(d) (Figura 3.19).

Nella struttura ottimizzata le distanze tra il metile e il protone H-2 assiale, tra il metile e il protone H-2 equatoriale e tra il metile e il protone H-4 assiale sono rispettivamente di 2.52 Å, 2.49 Å e 2.54 Å, in accordo con i risultati del NOE sul metile.

Le distanze tra il protone H-5 assiale e il protone H-6 assiale, tra il protone H-5 assiale e il protone H-6 equatoriale e tra il protone H-5 assiale e il protone H-4 assiale sono rispettivamente di 3.07 Å, 2.49 Å e 3.06 Å, in accordo con i risultati del NOE sul protone H-5 assiale.

L'angolo diedro ottimizzato tra i protoni H-6 e H-5 disposti in assiale è di 174.45°, in congruenza con quanto osservato sperimentalmente con la grande costante di accoppiamento (circa 12 Hz).

L'angolo diedro tra i protoni H-5 e H-4 è di 173.19°, in coerenza con la grande costante di accoppiamento misurata sperimentalmente (12.4 Hz).

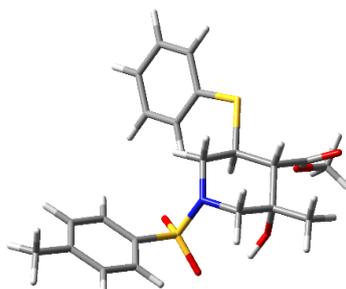


Figura 3.19- struttura preliminare ottimizzata con B3LYP/6-31G(d) del composto **3aa**. Configurazione assoluta 3S, 4S, 5S.

3.5.2 Configurazione assoluta di 3aa

La struttura preliminare ottimizzata è stata usata come input per la ricerca conformazionale con metodi MM (Molecular Mechanics), trovando 61 possibili conformazioni.

Dall'ottimizzazione con DFT ad un livello di teoria B3LYP/3-21G sono state prese in considerazione solo le prime 15 conformazione a più bassa energia (fino a 7 Kcal/mol, considerando l'energia elettronica relativa).

Dall'ottimizzazione delle 15 conformazioni con DFT ad un livello di teoria B3LYP/6-31G(d) sono state isolate le prime 12 conformazioni a più bassa energia (fino a 3 Kcal/mol, considerando l'energia elettronica relativa).

Queste 12 conformazioni sono state ottimizzate completamente, considerando il solvente (acetonitrile), con DFT ad un livello di teoria pari a PCM-B3LYP/6-311+G(d,p). Tutte le conformazioni sono state validate come stati fondamentali mediante il calcolo delle

frequenze, che ha trovato solo frequenze positive. Sono state prese in considerazione le prime 3 conformazioni a più bassa energia (Figura 3.20) per la simulazione dello spettro ECD.

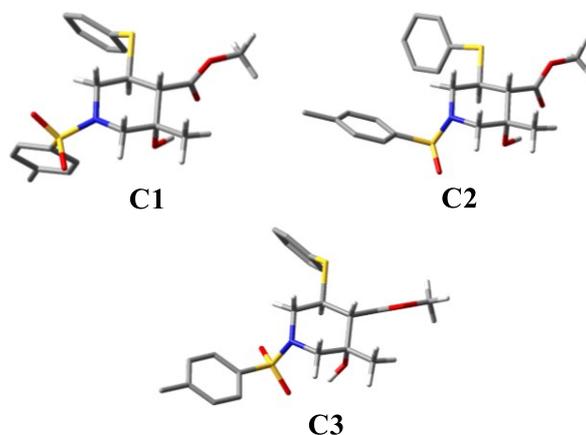


Figura 3.20-Le tre migliori conformazioni ottimizzate con PCM-B3LYP/6-31+G(d,p) di **3aa**.

I valori energetici (Tabella 3.8) e i vari angoli diedri (Tabella 3.9) sono riportati di seguito.

Tabella 3.8-Energie relative e popolazioni calcolate come frazione molare a 25°C. Energie in Kcal/mol del composto **3aa**.

PCM-B3LYP/6-311+G(d,p)						
Conf.	rel. EE	Pop.	rel. H°	Pop.	rel. G°	Pop.
C1	0.00	0.50	0.00	0.50	0.00	0.64
C2	0.07	0.44	0.10	0.43	0.43	0.31
C3	1.26	0.06	1.17	0.07	1.45	0.05

Tabella 3.9-Valori degli angoli diedri e delle distanze intramolecolari tra il protone ossidrilico e il carbonile e tra il protone ossidrilico e l'ossigeno del Ts del composto **3aa**.

PCM-B3LYP/6-311+G(d,p)						
Conf.	H4-C=O	H5-C12	-Ts	C6-C7	H(OH)-SO2	H(OH)-CO
C1	172.4°	43.7°	Eq	70.7°	<i>n.d.</i>	2 Å
C2	172.9°	43.7°	Ax	-72.8°	<i>n.d.</i>	2 Å
C3	-160.1°	42.01°	Ax	-143.3°	1.9 Å	<i>n.d.</i>

Lo spettro ECD sperimentale è composto da 6 bande centrate a 253, 243, 230, 217, 200 e 189 nm (Figura 3.21).

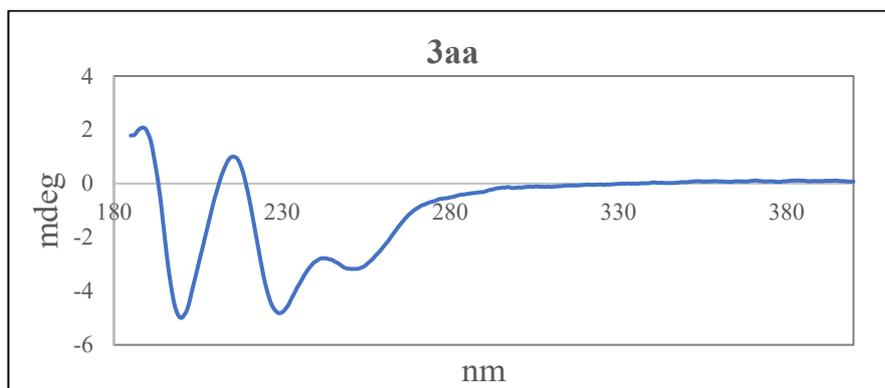


Figura 3.21-Spettro ECD sperimentale di **3aa**, registrato in acetonitrile.

La simulazione TD-DFT dello spettro ECD della piperidina è stata calcolata tenendo in considerazione le conformazioni **C1**, **C2** e **C3** alle popolazioni determinate con i valori delle entalpie relative.

Lo spettro simulato è stato sovrapposto a quello sperimentale applicando un red shift (Figura 3.22; fattori di scala: 0.1, 0.08, 0.1, 0.1; red shift: 15, 15, 15, 15 nm per CAM-B3LYP, ω B97X-D, BH&HLYP e M06-2X rispettivamente).

Gli spettri ECD simulati non si sovrappongono bene allo spettro sperimentale e non vengono simulate le bande a 243 nm e a 253 nm.

Evidentemente la popolazione delle conformazioni presa in considerazione per simulare lo spettro sperimentale non è quella reale a temperatura ambiente.

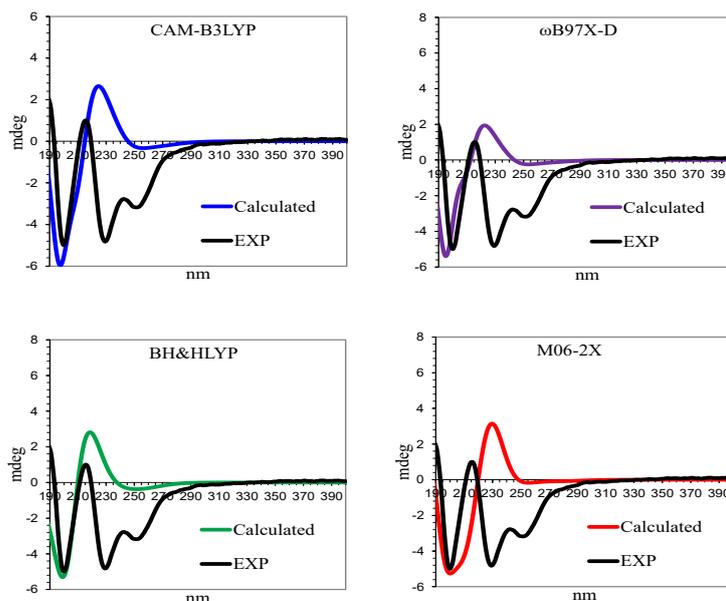


Figura 3.22- Simulazione dello spettro ECD sperimentale. Lo spettro simulato è stato scalato e shiftato a λ maggiori. Sono state calcolate le prime 50 transizioni con TD-DFT ad un livello di teoria 6-311++G(2d,p). È stata simulata la configurazione assoluta 3S, 4S e 5S di **3aa**.

Per cercare di identificare la corretta popolazione, si è deciso di simulare gli spettri ECD sulla conformazione **C1** (Figura 3.23) a più bassa energia tra quelle ottimizzate con DFT ad un livello di teoria B3LYP/6-31G(d).

Gli spettri ECD simulati per la conformazione **C1** non riproducono correttamente lo spettro sperimentale (Figura 3.24; fattori di scala: -0.15, -0.12, -0.18, -0.09; red shift: 9, 9, 16, 9 nm per CAM-B3LYP, ω B97X-D, BH&HLYP e M06-2X rispettivamente).

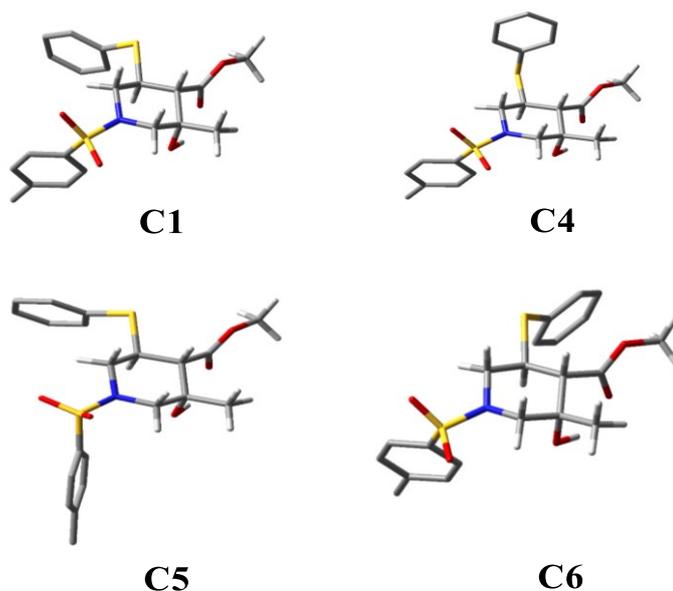


Figura 3.23-Conformazioni ottimizzate con DFT ad un livello B3LYP/6-31G(d).

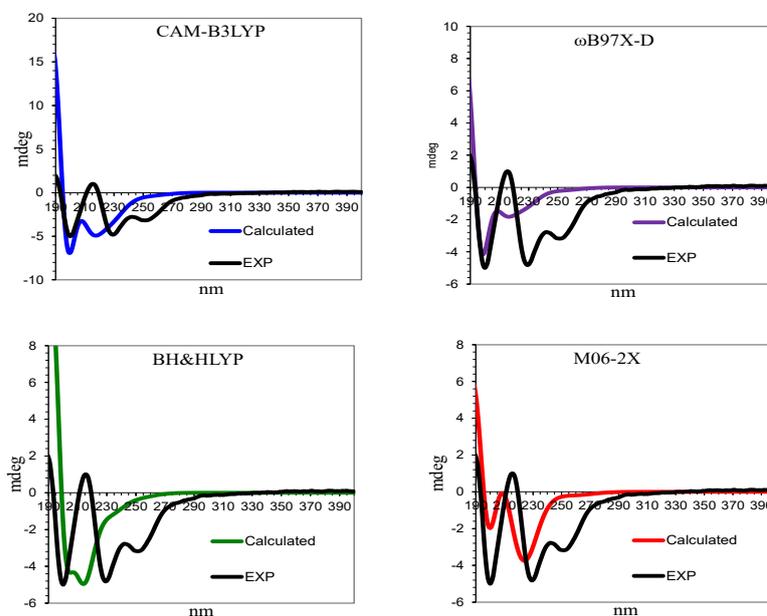


Figura 3.24- Simulazione dello spettro ECD sperimentale. Lo spettro simulato è stato scalato, invertito e shiftato a λ maggiori. Sono state calcolate le prime 50 transizioni con TD-DFT ad un livello di teoria 6-311++G(2d,p). È stata simulata la configurazione assoluta 3R, 4R e 5R di **3aa** nella conformazione **C1**.

La conformazione **C1** non simula bene il risultato sperimentale ovvero lo spettro calcolato non contiene tutte le bande dello spettro sperimentale.

Si è deciso quindi di apportare delle modifiche alla disposizione spaziale del gruppo SPh e del gruppo Ts al fine di esplorare anche lo spazio conformazionale di questi gruppi. Cambiando l'angolo diedro H5-C12 della conformazione **C1**, da 30.86° a -180° e ottimizzando con DFT ad un livello di teoria B3LYP/6-31G(d) si è ottenuta la conformazione **C4** (Figura 3.23).

Il relativo spettro ECD non simula in maniera esauriente il profilo sperimentale (Figura 3.25 A; fattore di scala: -0.15; red shift: 11 nm per CAM-B3LYP).

Cambiando l'angolo diedro C6-C7, della conformazione **C1**, da 82.15° a 122.72° e ottimizzandolo con DFT ad un livello di teoria B3LYP/6-31G(d) si è ottenuta la conformazione **C5** (Figura 3.23).

Il relativo spettro ECD non è coerente con quello sperimentale (Figura 3.25 B; fattore di scala: -0.08; red shift: 9 nm per CAM-B3LYP).

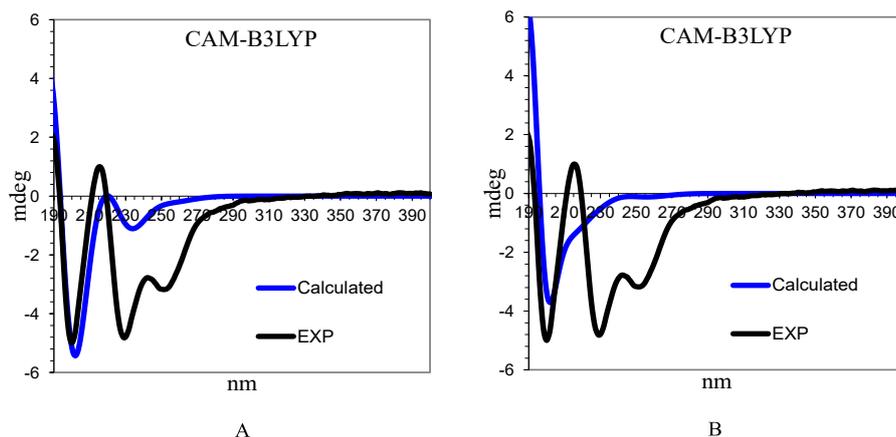


Figura 3.25-Simulazione degli spettri ECD per le conformazioni **C4** (A) e **C5** (B). Lo spettro simulato è stato scalato, invertito e shiftato a λ superiori. Sono state calcolate le prime 50 transizioni con TD-DFT ad un livello di teoria 6-31++G (2d, p). È stata simulata la configurazione assoluta 3R, 4R e 5R di **3aa**.

La conformazione **C6** ottenuta cambiando l'angolo diedro H-5-C12 da 30.86° a -43.81° non è stata presa in considerazione per la simulazione dello spettro ECD, in quanto dopo ottimizzazione con DFT ad un livello di teoria B3LYP/6-31G(d), risulta essere ad energia superiore rispetto alle altre tre conformazioni (Tabella 3.10).

I risultati ottenuti con queste simulazioni sono indicativi di una configurazione assoluta 3R, 4R e 5R, opposta rispetto a quella calcolata per le conformazioni ottimizzate con il solvente e ad un livello di teoria superiore.

Le simulazioni con queste conformazioni sono inaffidabili perchè gli spettri ECD calcolati non simulano in maniera corretta il comportamento sperimentale, anche dopo l'aggiunta di due ulteriori possibili conformazioni.

Tabella 3.10-Valori della EE (Kcal/mol) relativi alla conformazione più stabile e dati sugli angoli diedri relativi al SPh e al Ts. La popolazione è in frazione molare.

B3LYP/6-31G(d)				
Conf.	rel. EE	Pop.	C6-C7	H5-C12
C1	0	0.46	82.15°	30.86°
C4	0.15	0.35	82.08°	173.16°
C5	0.62	0.16	148.11°	41.51°
C6	1.68	0.03	81.45°	-32.41°

Per cercare di riuscire a simulare in maniera completa lo spettro sperimentale, è stato registrato un ECD su un composto simile, ovvero il metil 5-((4-clorofenil)tio)-3-idrossi-3-fenil-1-tosilpiperidina-4-carbossilato (**3db**).

Lo spettro ECD del composto **3db** risulta spostato λ maggiori rispetto al composto **3aa** e presenta stesso segno e stesso profilo, ovvero la stessa configurazione assoluta.

Per il composto **3db** sono state costruite ed ottimizzate con DFT ad un livello di teoria B3LYP/6-31G(d) le conformazioni **C7** e **C8** e simulati gli spettri con TD-DFT, tenendo in considerazione le entalpie relative in Tabella 3.11 (Figura 3.26; fattore di scala: -0.15; red shift: 10 nm per CAM-B3LYP).

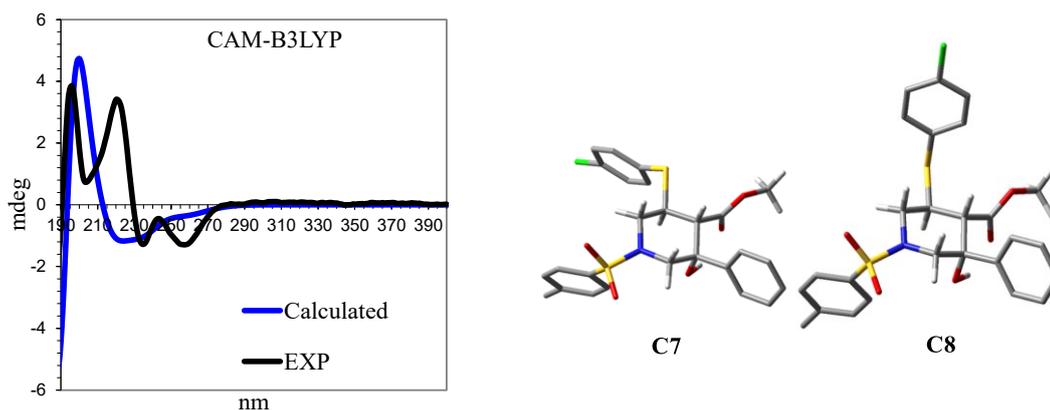


Figura 3.26-Conformazioni ottimizzate con B3LYP/6-31G(d) a destra. Spettro ECD simulati con TD-DFT, ad un livello di teoria 6-311++G(2d,p), calcolando le prime 50 transizioni, a sinistra. Lo spettro ECD calcolato è stato scalato, invertito e shiftato a λ superiori per consentire una migliore sovrapposizione con quello sperimentale. È stata simulata la configurazione assoluta 3R, 4R e 5R di **3db**.

Tabella 3.11-Energie relative in Kcal/mol e popolazione in frazione molare per il composto **3db**.

B3LYP/6-31G(d)						
Conf	rel. EE	Pop.	rel.H°	Pop.	Rel.G°	Pop.
C7	0	0.58	0	0.61	0	0.90
C8	0.20	0.41	0.27	0.39	1.29	0.10

Tabella 3.12-Valori degli angoli diedri, posizione del Ts e distanze tra il protone ossidrilico e il carbonile per il composto **3db**.

B3LYP/6-31G(d)					
Conf.	H4-C=O	H5-C12	Ts	C6-C7	H(OH)-CO
C7	176.3°	26.2°	Eq	80.5°	1.9 Å
C8	172.4°	173.7°	Eq	79.9°	1.9 Å

Data la scarsa simulazione dello spettro sperimentale è stata provata l'ottimizzazione della conformazione **C7** con DFT ad un livello di teoria PCM-B3LYP/6-31+G(d,p), considerando quindi il solvente nei calcoli. Si è ottenuto quindi lo spettro ECD, calcolato con TD-DFT, che non simula ancora in maniera corretta il profilo tipico dell'ECD sperimentale (Figura 3.27; fattore di scala: -0.15; red shift: 4 nm per CAM-B3LYP).

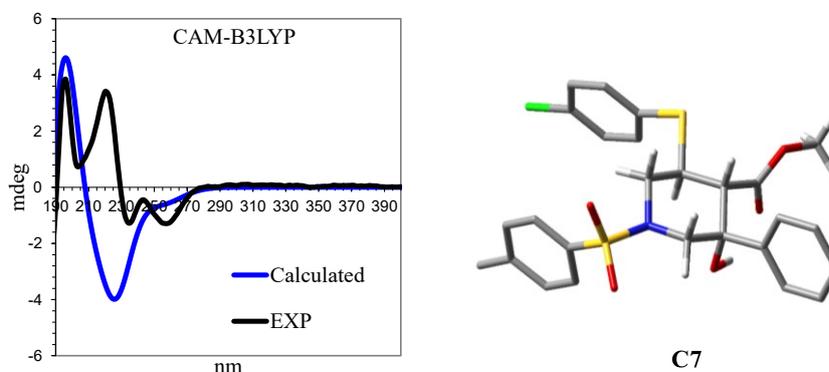


Figura 3.27-Conformazione ottimizzata con PCM-B3LYP/6-31+G(d,p) sulla destra. Spettro ECD simulato con TD-DFT ad un livello di teoria 6-311++g(2d,p), calcolando le prime 50 transizioni, sulla sinistra. Lo spettro ECD è stato scalato, invertito e shiftato a λ superiori per consentire una migliore sovrapposizione con l'ECD sperimentale. È stata quindi simulata la configurazione assoluta 3R, 4R e 5R **3db**.

Riassumendo:

1. Le conformazioni trovate con la ricerca conformazionale non hanno permesso di simulare in maniera corretta lo spettro ECD sperimentale.
2. Anche dopo l'ottimizzazione delle conformazioni **C4** e **C5** non si sono ottenuti dei risultati congruenti con lo spettro sperimentale.
3. Lo stesso vale per le conformazioni **C7** e **C8** ottimizzate per il composto **3db**.

Questi spettri ECD simulati non sono coerenti con i risultati sperimentali e sono indice di una non giusta interpretazione della popolazione delle conformazioni del campione a temperatura ambiente.

Al fine di trovare degli indizi sperimentali sulle possibili conformazioni del composto **3aa**, a più bassa energia e quindi più popolate a temperatura ambiente, sono stati condotti due esperimenti NOE con l'obiettivo di identificare altre possibili conformazioni sfuggite alla ricerca conformazionale. Gli spettri NOE sono stati registrati in acetonitrile con uno strumento operante a 600 MHz, saturando i due protoni in orto al tostile (Figura 3.28 B) e i due protoni in orto al tiofenile (Figura 3.28 C).

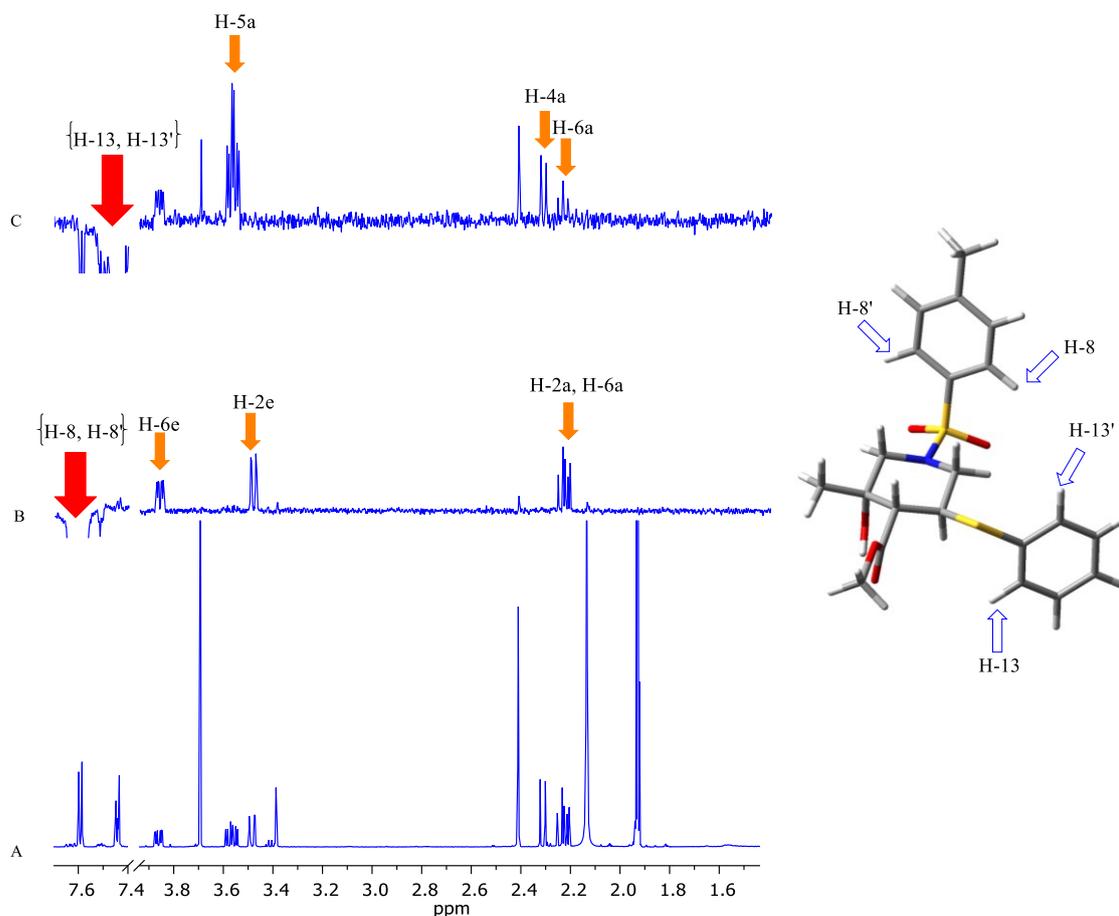


Figura 3.28-Spettro ^1H NMR (A), NOE sui protoni in orto al Ts (B), NOE sui protoni in orto al tiofenile (C) per il composto **3aa**, registrato a 600 MHz.

Irraggiando i protoni in orto al tosile si sono ottenuti i seguenti segnali:

- H-2 equatoriale a 3.49 ppm con integrale pari a 1.63
- H-6 equatoriale a 3.86 ppm con integrale pari a 1.63.

I valori degli integrali dei protoni in equatoriale sono uguali e sono significativi di una conformazione con l'arile del tosile disposto in una posizione pseudo- assiale.

È stata quindi modificata e ottimizzata la conformazione **C1** (Figura 3.23), cambiando l'angolo diedro C6-C7 da 82.15° a -78.51°, ottenendo la conformazione **C9** (Figura 3.29).

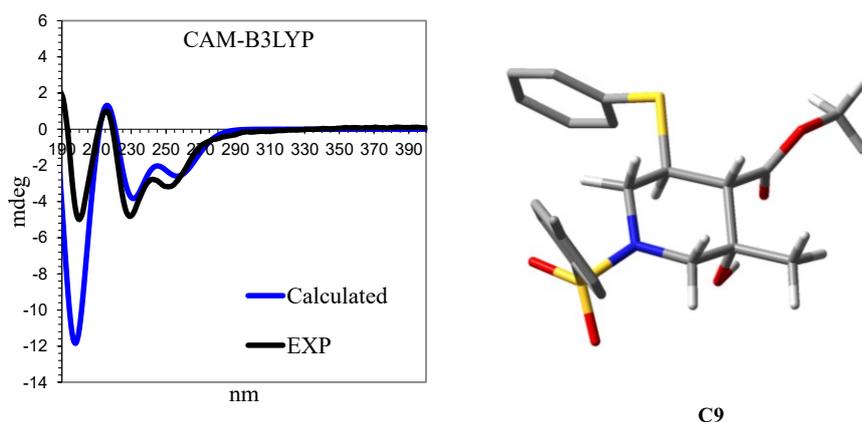


Figura 3.29-Conformazione ottimizzata con DFT ad un livello B3LYP/6-31G(d) sulla destra. Spettro ECD calcolato con TD-DFT ad un livello di teoria 6-311++g(2d,p), calcolando le prime 50 transizioni, sulla sinistra. Lo spettro calcolato è stato scalato e shiftato a λ superiori. È stata simulata la configurazione assoluta 3S, 4S e 5S di **3aa**.

Calcolando lo spettro ECD e sovrapponendolo a quello sperimentale si è ottenuta una buona simulazione del profilo spettrale sperimentale (Figura 3.29; fattore di scala: 0.15; red shift: 9 nm), confermando i risultati degli esperimenti NOE.

Una volta trovata la giusta conformazione del gruppo tosile si è deciso di ottimizzare, con DFT ad un livello di teoria PCM-B3LYP/6-311+g(d,p), la conformazione **C9** e la conformazione **C4**.

È stata ottimizzata anche una conformazione ottenuta cambiando l'angolo diedro H5-C12 a -180° alla conformazione **C9** ottenendo la conformazione **C10** (Figura 3.30).

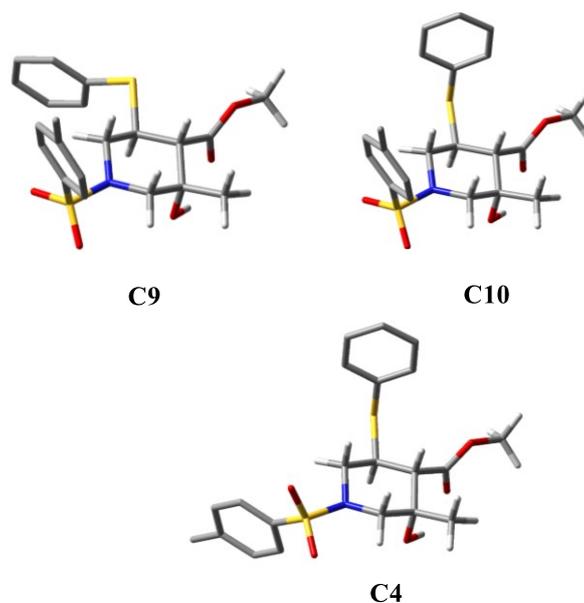


Figura 3.30-Conformazioni ottimizzate con DFT ad un livello PCM-B3LYP/6-311+G(d,p), considerando come solvente l'acetonitrile.

Confrontando le entalpie di queste conformazioni con i valori delle prime conformazioni ottimizzate con DFT ad un livello di teoria PCM-B3LYP/6-311+G(d,p), dopo la ricerca conformazionale, sono state prese in considerazioni anche le conformazioni C1 e C2 per la simulazione dello spettro ECD.

Tutte e 5 le conformazioni presentano un legame a idrogeno intramolecolare tra l'idrossile e l'ossigeno del carbossile. Questo ponte idrogeno fissa il protone ossidrilico in una conformazione a "W" a 4 legami σ con il protone H-2. Attraverso questa particolare conformazione è possibile avere un accoppiamento a lunga distanza tra i due protoni, come è stato osservato negli spettri ^1H NMR.

Nella conformazione C9, le distanze tra il protone H-8 e i protoni H-2e e H-2a sono rispettivamente di 3.0 Å e 3.2 Å, mentre le distanze tra il protone H-8' e i protoni H-6e e H-6a sono rispettivamente di 3.02 Å e 3.19 Å.

Il rapporto tra le distanze dei protoni in equatoriali risulta essere pari a 1.01 (Equazione 3.1), mentre il rapporto tra gli integrali dei segnali dei protoni in equatoriali elevato all'1/6 risulta essere pari a 1 (Equazione 3.2), nello spettro NOE irraggiando i protoni in orto al Ts (Figura 3.28 B).

Equazione 3.1-Rapporto tra le distanze dei due protoni disposti in equatoriali con i protoni in orto al Ts per la conformazione 2d.1

$$\frac{H6e}{H2e} = \frac{3.02}{3} = 1.01$$

Equazione 3.2-Rapporto tra i valori degli integrali dei due protoni in equatoriale per la conformazione 2d.1

$$\left(\frac{H6e}{H2e}\right)^{\frac{1}{6}} = \left(\frac{1.63}{1.63}\right)^{\frac{1}{6}} = 1$$

Il valore dell'Equazione 3.1 e il valore dell'Equazione 3.2 sono circa uguali. Le conformazioni **C9** e **C10** hanno l'arile del tosile disposto in assiale e insieme occupano l'83% delle popolazioni a temperatura ambiente (Tabella 3.13), confermando anche sperimentalmente la stabilità di questa particolare disposizione del gruppo Ts nella molecola.

Tabella 3.13-Valori di EE (Electronic Energy), entalpia e energia libera relativi in Kcal/mol. Popolazione calcolata a 25°C in frazione molare per il composto **3aa**.

PCM-B3LYP/6-311+G(d,p)						
Conf.	Rel.EE	Pop.	Rel.H°	Pop.	Rel.G°	pop
C9	0.00	0.69	0.00	0.66	0.00	0.59
C10	0.94	0.14	1.01	0.12	1.74	0.03
C1	1.28	0.08	1.10	0.10	0.52	0.24
C2	1.36	0.07	1.20	0.09	0.96	0.12
C4	2.04	0.02	1.92	0.03	2.38	0.01

Tabella 3.14-Valori relativi agli angoli diedri. Posizione del gruppo tosile e distanza tra il protone dell'ossidrile e il gruppo carbonile per il composto **3aa**.

PCM-B3LYP/6-311+G(d,p)					
Conf.	H4-C=O	H5-C12	Ts	C6-C7	H(OH)-CO
C9	171.82°	44.07°	Eq	-70.75°	2 Å
C10	174.12°	172.62°	Eq	-70.78°	2 Å
C1	172.4°	43.7°	Eq	70.7°	2 Å
C2	172.9°	43.7°	Ax	-72.8°	2 Å
C4	174.67°	173°	Eq	70.89°	2 Å

Gli spettri simulati con DFT per le singole conformazioni (Tabella 3.13) sono riportati in Figura 3.31.

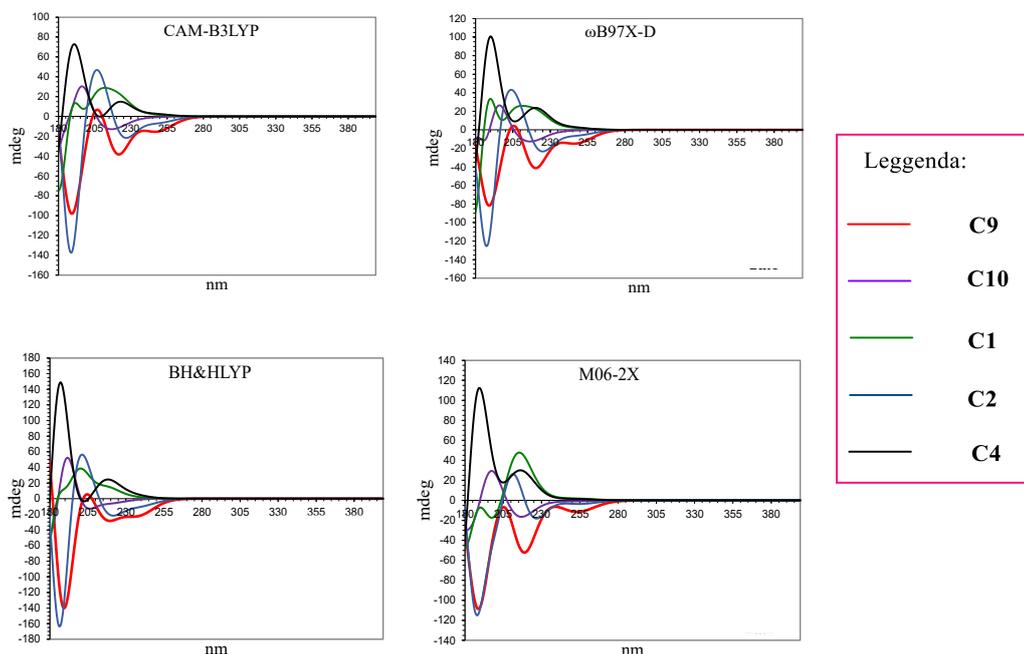


Figura 3.31-Spettri ECD calcolati con DFT ad un livello di teoria pari a 6-311++G(2d,p) per le 5 conformazioni finali.

Gli spettri ECD differiscono notevolmente per le diverse conformazioni.

Tenendo in considerazione i valori delle entalpie relative (Tabella 3.13) è stato simulato lo spettro ECD complessivo (Figura 3.32).

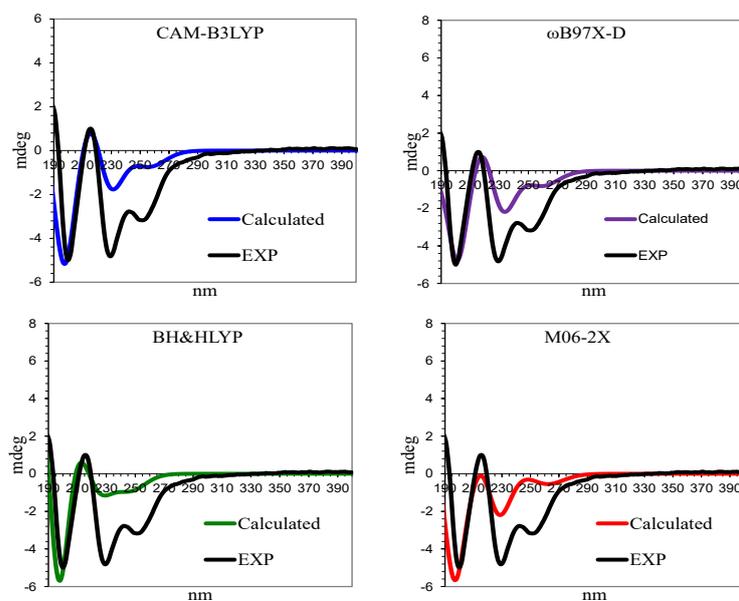


Figura 3.32- Spettri ECD calcolati con TD-DFT ad un livello di teoria 6-311++G(2d,p), simulando le prime 50 transizioni. Lo spettro calcolato è stato scalato e shiftato a λ superiori. È stata simulata la configurazione assoluta 3S, 4S e 5S di 3aa.

Dal confronto dello spettro calcolato con quello sperimentale si nota una buona simulazione di tutte le bande di assorbimento sperimentali (Figura 3.32; fattori di scala: 0.07, 0.08; 0.06; 0.07; red shift: 9, 13, 9, 9 nm per CAM-B3LYP, ω B97X-D, BH&HLYP e M06-2X rispettivamente), trovando quindi una configurazione assoluta pari a 3S, 4S, 5S per il composto **3aa**.

Sono stati anche simulati con TD-DFT gli spettri UV relativi alle conformazioni riportate in Tabella 3.13.

Come per gli spettri ECD, è stato calcolato lo spettro UV relativo alle popolazioni definite dai valori entalpici in Tabella 3.13 (Figura 3.33; fattore di scala 0.3; red shift: 10 nm).

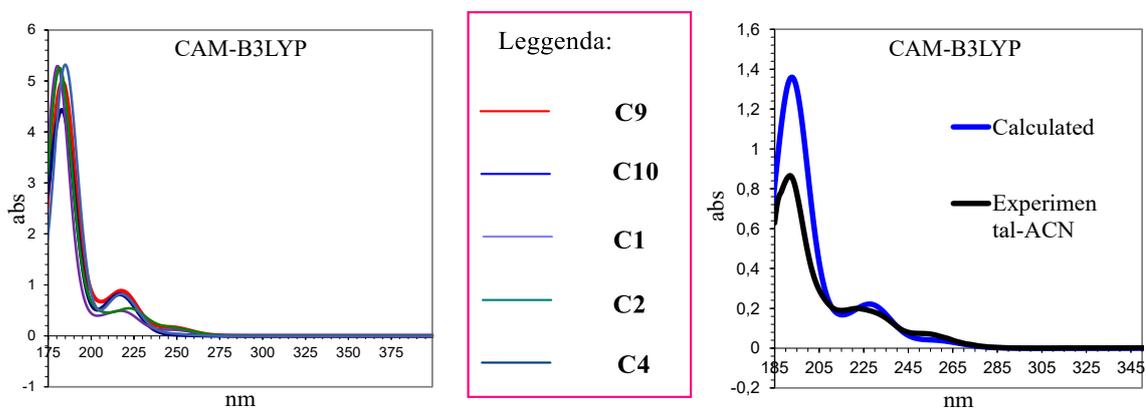


Figura 3.33-Spettri UV calcolati con TD-DFT ad un livello di teoria pari a 6-311++G(2d, p), simulando le prime 50 transizioni, per le diverse conformazioni sulla sinistra. Spettro calcolato per la popolazione delle conformazioni definita dai valori dell'entalpia, sulla destra.

3.6 DETERMINAZIONE DELLA CONFIGURAZIONE RELATIVA DEL PRODOTTO

6

La configurazione relativa è stata determinata con esperimenti NMR condotti con uno strumento operante a 600 MHz registrando gli spettri in acetonitrile deuterato.

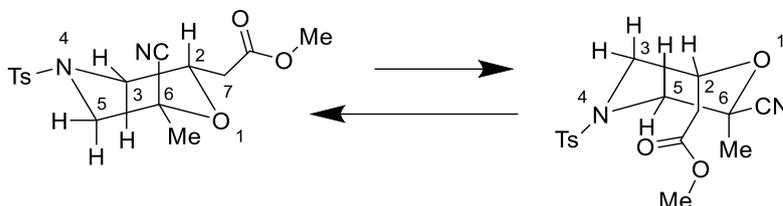


Figura 3.34-Conformazioni a sedia del composto 6. La configurazione assoluta è stata scelta arbitrariamente. La configurazione relativa (2*S**, 6*R*) è stata determinata con esperimenti NOE.

Nella regione alifatica dello spettro ^1H NMR (Figura 3.35 A) si può notare un valore elevato (10.5 Hz) relativo alla *J* a tre legami tra uno dei due protoni H-3 e il protone H-2, indicando una posizione assiale di questi due idrogeni. Uno dei due protoni H-3 e uno dei due protoni H-5 mostrano una piccola *J* (1.9 Hz) a lunga distanza. È stata quindi ipotizzata una conformazione a “W” a 4 legami σ con i due protoni disposti in equatoriale.

Sono stati condotti degli esperimenti di disaccoppiamento (Figura 3.35).

Disaccoppiando il segnale corrispondente al protone H-2a (4.31 ppm), il dd a 2.11 ppm (H-3a) diventa un doppietto, il ddd a 3.73 ppm (H-3e) diventa un dd e i dd a 2.53 ppm e a 2.42 ppm (CH₂-7) diventano dei doppietti (Figura 3.35 B).

Disaccoppiando il segnale corrispondente al protone H-5e (3.85 ppm), il d a 2.24 ppm (H-5a) diventa un singoletto (Figura 3.35 C).

Disaccoppiando il segnale corrispondente al protone H-3e (3.73 ppm), il dd a 2.11 ppm (H-3a) diventa un doppietto, il dddd a 4.31 ppm (H-2a) diventa un ddd e il dd a 3.85 ppm (H-5e) diventa un doppietto (Figura 3.35 D).

Quindi il protone H-2 in assiale è un dddd (4.31 ppm) e accoppia con H-3 assiale (10.5 Hz), H-3 equatoriale (2.7 Hz) e con i due protoni del CH₂ (7.6 Hz e 5 Hz).

Il protone H-5 in equatoriale è un doppietto (3.85 ppm) e accoppia con H-5 in assiale (12,3 Hz) e con H-3 in equatoriale (1.9 Hz).

Il protone H-3 in equatoriale è un ddd (3.73 ppm) e accoppia con H-3 in assiale (11.8 Hz), con H-2 in assiale (2.7 Hz) e con H-5 in equatoriale (1.9 Hz).

I due protoni diastereotopici del CH₂ (7) accoppiano tra di loro (16.3 Hz) e con il protone in assiale H-2 (7.6 Hz e 5 Hz).

Il protone H-5 in assiale (2,24 ppm) è un doppietto con accoppiamento geminale (12.3 Hz).

Infine, il protone in assiale H-3 (2.11 ppm) è un dd con un accoppiamento geminale con H-3 in equatoriale (11.8 Hz) e con il protone H-2 in assiale (10.5 Hz).

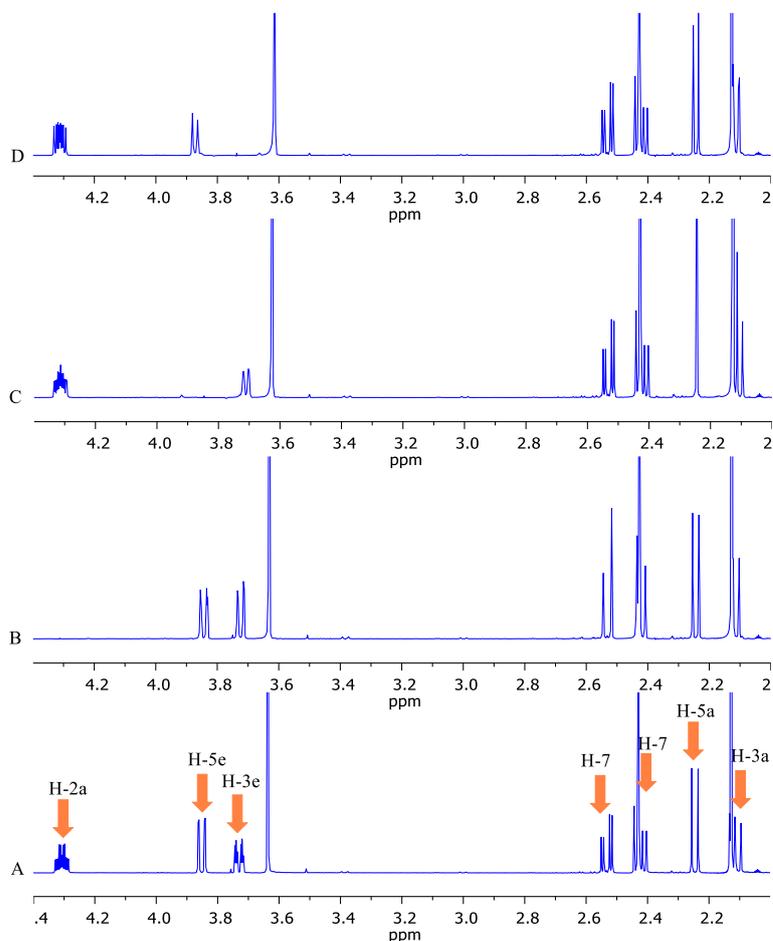


Figura 3.35-Spettro ^1H NMR(A), disaccoppiamento del protone H-2a (B), disaccoppiamento del protone H-5e (C), disaccoppiamento del protone H-3e (D), per il prodotto **6**. Gli spettri sono stati registrati a 600 MHz.

Per determinare la configurazione relativi sono stati condotti due esperimenti NOE irradiando i protoni del metile (Figura 3.36 B) e il protone H-2a (Figura 3.36 C).

Irraggiando il metile, aumentano di intensità i segnali corrispondenti al protone H-5e (3.85 ppm) e al protone H-5a (2.24 ppm). Il protone H-2a (4.31 ppm) è poco intenso.

Irraggiando il protone H-2a, aumentano di intensità i segnali corrispondenti al protone H-3e (3.73 ppm), ai protoni H-7 del CH_2 (2.42 ppm e 2.53 ppm). Il protone H-5e (3.85 ppm), H-5a (2.24 ppm), H-3a (2.11 ppm) e il metile (1.49 ppm) risultano poco intensi.

La configurazione relativa risulta pertanto essere 2S^* , 6R^* con il metile in trans rispetto al protone H-2a. La conformazione a sedia più stabile risulta pertanto essere quella a sinistra nella Figura 3.34.

Se il metile e il protone fossero stati in posizioni cis, ovvero entrambi in assiale, il segnale del protone H-2a dovrebbe essere stato molto più intenso nella Figura 3.36 B. Lo stesso vale per il segnale del metile nella Figura 3.36 C.

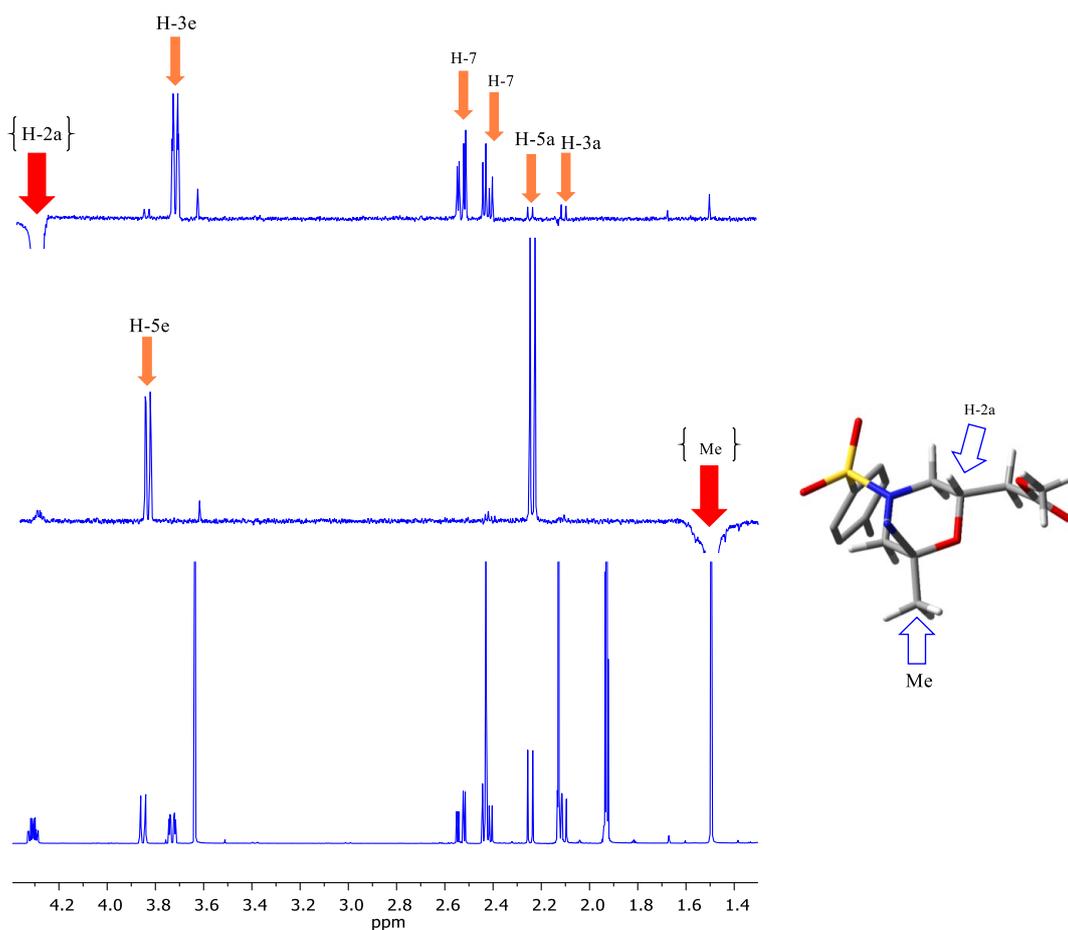


Figura 3.36-Spettro ^1H NMR (A), NOE sul metile (B), NOE sul protone H-2a (C) per il prodotto **6**, registrato a 600 MHz.

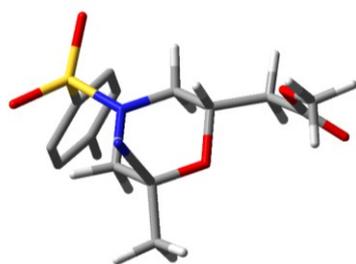
Costruendo e ottimizzando con DFT ad un livello B3LYP/6-31G le due conformazioni a sedia riportate in Figura 3.34 si sono ottenute le conformazioni **C11** e **C12** (Figura 3.37). I calcoli confermano i risultati sperimentali (Tabella 3.15), la conformazione Morf-1 risulta la sola conformazione occupata a 25°C in coerenza con i risultati degli esperimenti NOE.

Tabella 3.15-Energie relative in Kcal/mol e popolazioni espresse in frazioni molari a 25°C.

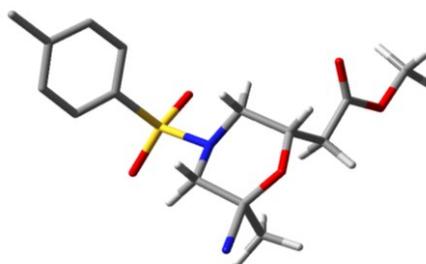
B3LYP/6-31G						
Conf.	Rel.EE	Pop.	Rel.H°	Pop.	Rel.G°	Pop.
C11	0	0.99	0	0.99	0	0.99
C12	2.74	0.01	2.77	0.01	2.86	0.01

L'angolo diedro tra i protoni H-2a e H-3a è di 174.45°, in accordo con la grande costante di accoppiamento osservata (10.5 Hz) nella conformazione **C11**.

La distanza tra il metile e il protone H-2a risulta essere di 4,28 Å, mentre la distanza tra il metile e il protone H-5a risulta essere di 2.42 Å per la conformazione **C11**, in accordo con i risultati del NOE sul metile (Figura 3.36 B).



C11



C12

Figura 3.37-Conformazioni ottimizzate con DFT ad un livello B3LYP/6-31G per il composto 6.

4 CONCLUSIONI

I substrati **1b** e **1c** sono stati preparati e dal substrato **1b** è stata sintetizzata la piperidina **3ba**, attraverso una reazione a cascata sulfa-Michael-aldolica catalizzata dal catalizzatore chirale **A** con rese ed ee ottimi, in linea con quelli che erano stati ottenuti con il substrato ottimale **1a**. Dal substrato **1c** è stata ottenuta la piperidina **3ca** con rese ed ee inferiori (Figura 4.1).

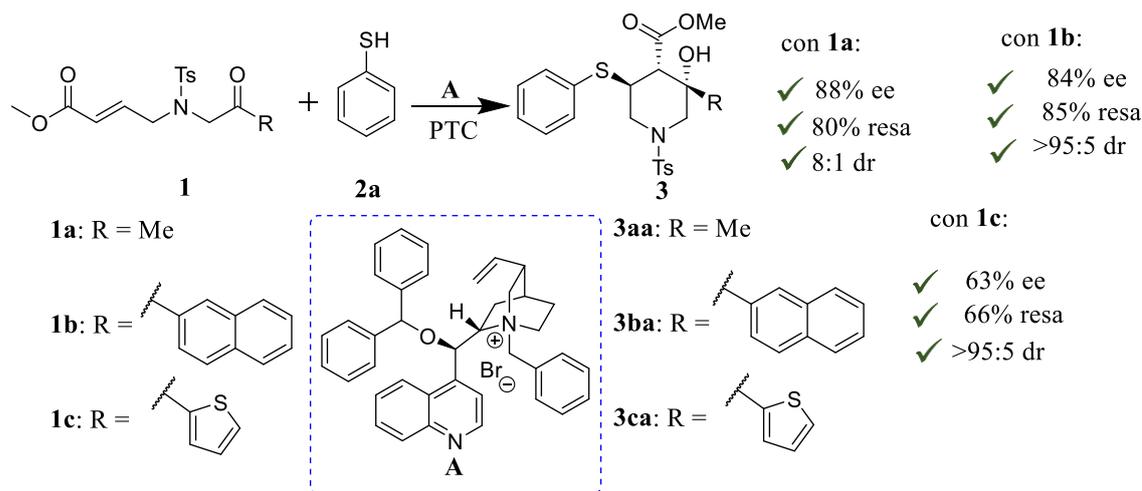


Figura 4.1-Schema riassuntivo dei risultati ottenuti per la reazione sulfa-Michael-aldolica.

Lo sviluppo della versione enantioselettiva della reazione aldolica-ossa-Michael, per il substrato **1a**, non ha avuto successo usando i ciclopeptoidi (**B-F**) come alternative ai derivati degli alcaloidi della Cinchona. Con questi catalizzatori la morfolina **6** è stata ottenuta con bassi valori di ee, registrando un valore massimo del 29% catalizzando la reazione con **C** (Figura 4.2).

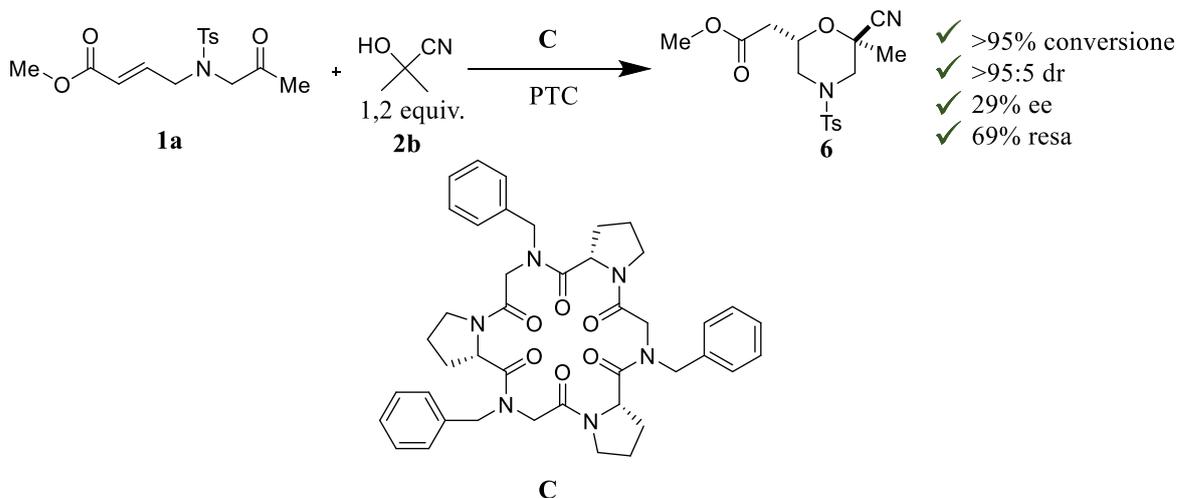


Figura 4.2-Reazione del substrato **1a** con l'acetonitrile 2b e risultati ottenuti con il catalizzatore **C**.

Dallo studio della reazione estesa ai substrati **4** e **5**, si può affermare che la catalisi a trasferimento di fase funziona molto bene per il substrato **4**, ma non si può dire altrettanto per il substrato **5** (Figura 4.3).

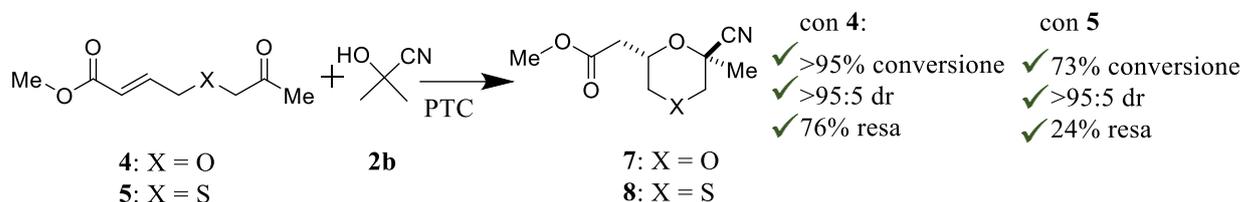


Figura 4.3-Reazione racema dei substrati **4** e **5** con l'acetonitrile e risultati ottenuti.

Infine, è stata considerata la reazione racema tra il substrato **1a** e il malononitrile. È stata ottenuta la morfolina **9** sotto forma di due diastereoisomeri presumibilmente in equilibrio tra di loro. La reazione funziona anche con il substrato **4**, ma con scarsa resa, mentre con il substrato **5** non si sono ottenuti risultati (Figura 4.4).

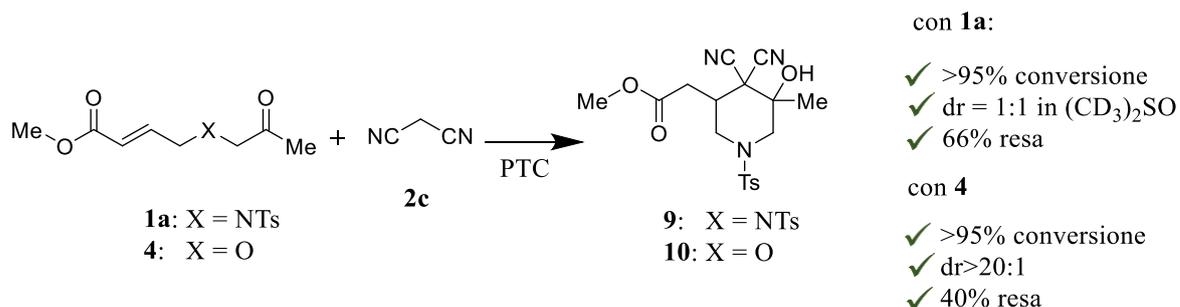


Figura 4.4-Risultati ottenuti con le prove condotte con i substrati **1a** e **4** con il malononitrile.

Analizzando complessivamente i risultati ottenuti si può confermare che la catalisi a trasferimento di fase rappresenta un metodo versatile, pratico con condizioni operative blande per l'ottenimento di una serie di derivati eterociclici mediante reazioni domino.

La simulazione quantomeccanica delle proprietà chiroottiche, essendo un metodo non empirico, non necessita di specifici gruppi funzionali da poter derivatizzare, quindi è un approccio versatile per assegnare la configurazione assoluta di composti organici. Inoltre i risultati di queste simulazioni sono confrontabili con i dati sperimentali, ottenibili anche da composti non cristallini e questo ha permesso di determinare la configurazione assoluta in questo lavoro dove non è stato possibile ottenere dei singoli cristalli.

Con questo tipo di approccio, è stata determinata quindi la configurazione 3S, 4S, 5S per la piperina **3aa** (Figura 4.5).

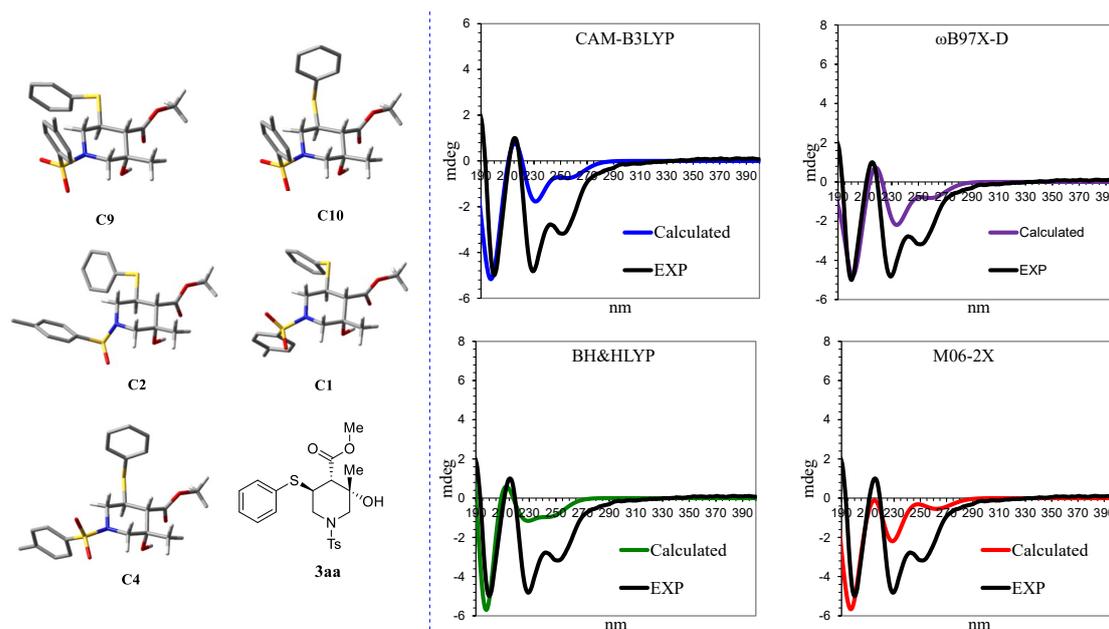


Figura 4.5-Risultati finale della ricerca con i relativi spettri ECD calcolati e sperimentali.

Inoltre, dall'analisi degli spettri ^1H NMR e dall'interpretazione degli esperimenti NOE è stato possibile concludere che la configurazione relativa della morfolina **6** risulta pari a $2S^*$, $6R^*$ (Figura 4.6).

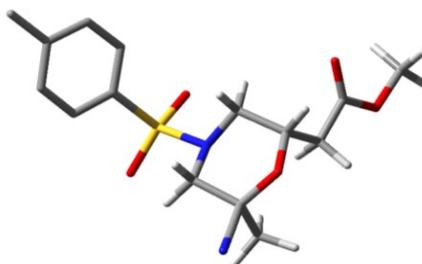


Figura 4.6-Modello della molecola **6** con configurazione relativa pari $2S^*$, $6R^*$ e configurazione assoluta arbitraria.

5 SEZIONE SPERIMENTALE

5.1 METODI GENERALI

Gli spettri ^1H NMR e ^{13}C NMR sono stati registrati tramite uno spettrometro Varian AS da 300, 400 e 600 MHz. In particolare, gli spettri ^{13}C NMR sono stati acquisiti utilizzando il disaccoppiamento a banda larga. I Chemical shift sono stati riportati in ppm utilizzando come riferimenti i segnali residui dei solventi deuterati. Le costanti di accoppiamento (J) sono riportate in Hz.

Solvente	^1H NMR (ppm)	^{13}C NMR (ppm)
CDCl_3	7.26	77.23
CD_2Cl_2	5.32	54.0
$(\text{CD}_3)_2\text{CO}$	2.04	29.92
$(\text{CD}_3)_2\text{SO}$	2.49	39.51
CD_3CN	1.93	1.39

La rotazione ottica è stata misurata con un polarimetro Perkin-Elmer 241 (cammino ottico 10 cm). Gli eccessi enantiomerici (ee) dei prodotti sono stati determinati tramite HPLC su fase stazionaria chirale (colonna OD-H) utilizzando un rilevatore UV operante a 234 nm. Gli spettri ECD sono stati registrati con un spettropolarimetro Jasco (J-810), sciogliendo il campione in acetonitrile, con una cuvetta di quarzo dal cammino ottico di 2 mm, in modo che la concentrazione sia circa 10^{-4} M, per avere un'assorbanza compresa tra 0.5-0.9.

Per i calcoli MM è stato usato il software MacroModel.

Per i calcoli DFT e TD-DFT è stato usato il software Gaussian 16.

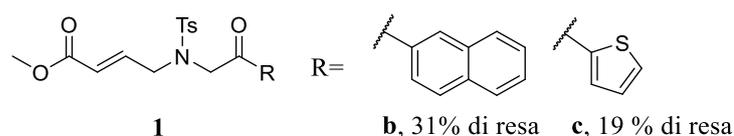
5.2 MATERIALI

Se non diversamente specificato, solventi e reagenti disponibili commercialmente sono stati utilizzati senza ulteriori purificazioni.

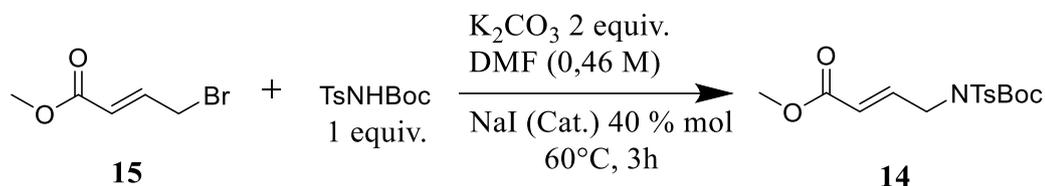
Le purificazioni cromatografiche sono state effettuate usando silice con mesh 70-230. I catalizzatori **A** e **F** sono stati preparati dalla Cinconidina in lavori di tesi precedenti.

I ciclopeptoidi **B-F** sono stati forniti dal prof. Giorgio Della Sala (Università degli Studi di Salerno). I substrati **1a**, **4** e **5** sono stati preparato in lavori di tesi precedenti.

5.3 PREPARAZIONE DEI SUBSTRATI 1b e 1c



5.3.1 Sintesi dell'intermedio 14



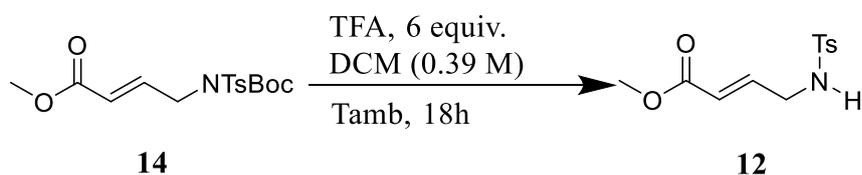
In un pallone, sotto flusso di azoto, è stato disciolto il composto **15** (1.3 mL, 10.7 mmol) in 23.3 mL di DMF. Successivamente il carbonato di potassio (3.0 g, 21.5 mmol), lo ioduro di sodio (0.64 g, 4.3 mmol) e la N-(tert-butossicarbonile)-p-toluensulfonammide (2.9 g, 10.7 mmol) sono stati aggiunti alla soluzione. La miscela di reazione è stata riscaldata a 60°C per tre ore.

Al termine della reazione, è stata aggiunta acqua e acetato di etile. Le due fasi sono state separate e la fase acquosa è stata estratta con acetato di etile, e le fasi organiche riunite lavate con acqua e brine.

La fase organica è stata anidrificata con solfato di sodio, filtrata e il solvente evaporato sotto vuoto.

Il prodotto **14** è stato usato direttamente, senza ulteriori purificazioni, per il successivo passaggio.

5.3.2 Sintesi dell'intermedio 12



Il composto **14** (4.0 g, 10.7 mmol) è stato disciolto in 27.9 mL di diclorometano.

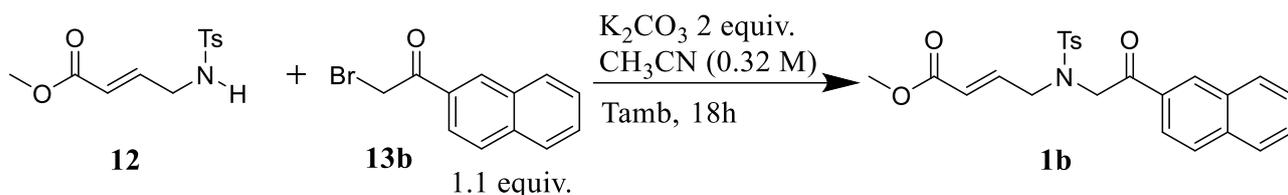
La soluzione è stata raffreddata a 0°C. Il TFA (4.9 mL, 64.5 mmol) è stato aggiunto lentamente.

La reazione è stata condotta per 15 h sotto agitazione a temperatura ambiente.

La reazione è stata condotta per 15 h sotto agitazione a temperatura ambiente.

Al termine della reazione il diclorometano e il TFA sono stati rimossi sotto vuoto, ottenendo l'intermedio **12** (2.6g, 9.7 mmol) come solido giallo al 90% di resa.

5.3.3 Sintesi del substrato 1b



Il composto **12** (269 mg, 1 mmol) è stato disciolto in 3.1 mL di acetonitrile.

Successivamente il carbonato di potassio (276 mg, 2 mmol) e il **13b** (272 mg, 1.1 mmol) sono stati aggiunti. La soluzione è stata messa sotto agitazione per 18 h.

Al termine della reazione, è stata aggiunta acqua e poi diclorometano. Le due fasi sono state separate e le fasi organiche riunite lavate con acqua e brine, e la fase acquosa è stata estratta con diclorometano.

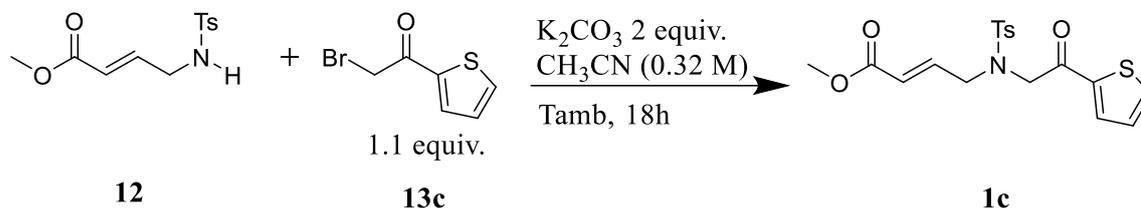
La fase organica è stata anidrificata con solfato di sodio, filtrata e il solvente evaporato sotto vuoto.

Il residuo è stato purificato con una colonna cromatografica su gel di silice (etere di petrolio/acetato di etile 4:1 e poi 3:1), ottenendo **1b** (134.6 mg, 0.31 mmol) come solido giallo con il 28% di resa sul totale.

1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.42 (s, 1H), 8.05 – 7.83 (m, 4H), 7.78 – 7.73 (m, 2H), 7.68 – 7.51 (m, J Hz, 2H), 7.36 – 7.28 (m, 2H), 6.82 (dt, J = 15.7, 5.8 Hz, 1H), 5.95 (dt, J = 15.7, 1.6 Hz, 1H), 4.90 (s, 2H), 4.15 (dd, J = 5.8, 1.6 Hz, 2H), 3.68 (s, 3H), 2.42 (s, 3H).

^{13}C NMR (101 MHz, $CDCl_3$) δ 193.58, 166.14, 143.96, 142.49, 136.82, 136.05, 132.53, 132.12, 130.06, 129.89, 129.82, 129.18, 129.01, 128.03, 127.68, 127.31, 124.13, 123.50, 52.61, 51.87, 48.95, 21.77.

5.3.4 Sintesi del substrato 1c



Il composto **12** (404 mg, 1.5 mmol) è stato disciolto in 4.6 mL di acetonitrile. Successivamente il carbonato di potassio (415 mg, 3 mmol) e **13c** (207 mg, 1.6 mmol) sono stati aggiunti. La soluzione è stata messa sotto agitazione per 18 h.

Al termine della reazione, è stata aggiunta acqua e poi diclorometano. Le fasi sono state separate e le fasi organiche riunite lavate con acqua e brine, e la fase acquosa estratta con diclorometano.

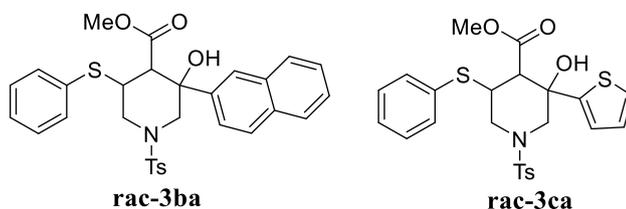
La fase organica è stata anidrificata con solfato di sodio, filtrata e il solvente evaporato sotto vuoto.

Il residuo è stato purificato con una colonna cromatografica su gel di silice (etere di petrolio/acetato di etile 3:1), ottenendo **1c** (112 mg, 0.28 mmol) come olio scuro con il 17% di resa sul totale.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.80 – 7.77 (m, 1H), 7.73 – 7.70 (m, 2H), 7.69 – 7.67 (m, 1H), 7.30 – 7.27 (m, 2H), 7.16 – 7.13 (m, 1H), 6.77 (dt, $J = 15.7, 5.9$ Hz, 1H), 5.92 (dt, $J = 15.7, 1.4$ Hz, 1H), 4.64 (s, 2H), 4.08 (dd, $J = 5.9, 1.4$ Hz, 2H), 3.69 (s, 3H), 2.42 (s, 3H).

^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ 186.76, 166.11, 144.06, 142.21, 141.12, 136.52, 134.85, 132.79, 129.89, 128.65, 127.67, 124.22, 52.56, 51.89, 49.03, 21.76.

5.4 PREPARAZIONE DEI PRODOTTI RACEMICI 3



5.4.1 Sintesi del prodotto rac-3ba

Il substrato **1b** (21.9 mg, 0.05 mmol), il Cs_2CO_3 (19.5 mg, 0.06 mmol) e il TBABr (1.6 mg, 0.005 mmol) sono stati introdotti in una provetta. Sono stati aggiunti 500 μL di toluene. La soluzione è stata raffreddata a 0 °C. Il tiofenolo (6 μL , 0.06 mmol) è stato aggiunto e la soluzione è stata messa sotto agitazione a 0 °C per 18 h.

Al termine della reazione la miscela è stata filtrata su plug di silice con diclorometano/etere etilico e poi solo etere etilico e il solvente è stato evaporato sotto vuoto.

Il residuo è stato purificato con una colonna cromatografica su gel di silice (diclorometano/etere etilico 70:1).

Il prodotto è stato analizzato mediante CSP-HPLC usando una colonna OD-H, 90/10 n-esano alcol isopropilico, 1mL/min, rilevatore a 234nm. Tempi di ritenzione: $t_1=33.4$ min, $t_2=52.9$ min.

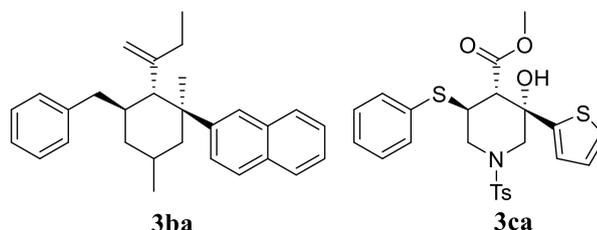
5.4.2 Sintesi del prodotto rac-3ca

Il prodotto **rac-3ca** è stato ottenuto seguendo la procedura sopra per **rac-3ba**.

Il residuo è stato purificato con una colonna cromatografica su gel di silice (diclorometano/etere etilico 100:1).

Il prodotto è stato analizzato mediante CSP-HPLC usando una colonna OD-H, 90/10 n-esano:alcol isopropilico, 1mL/min, rilevatore a 234nm. Tempi di ritenzione: t1=16.4 min, t2=26.1 min.

5.5 PREPARAZIONE DEI PRODOTTI 3



5.5.1 Sintesi del prodotto 3ba

Il substrato **1b** (43.8 mg, 0.1 mmol), il Cs₂CO₃ (39 mg, 0.12 mmol) e il catalizzatore **A** (6.3 mg, 0.01 mmol) sono stati introdotti in una provetta. Sono stati aggiunti 1000 μL di toluene. La soluzione è stata raffreddata a 0 °C. Il tiofenolo (12 μL, 0.12 mmol) è stato aggiunto e la soluzione è stata messa sotto agitazione a 0 °C per 18 h.

Al termine della reazione la miscela è stata filtrata su plug di silice con diclorometano/etere etilico e poi solo etere etilico e il solvente è stato evaporato sotto vuoto.

Il residuo è stato purificato con una colonna cromatografica su gel di silice (diclorometano/etere etilico 100:1), ottenendo **3ba** (46.4 mg, 0.08 mmol) come solido bianco con l'85% di resa.

Il prodotto **3ba** è stato analizzato mediante CSP-HPLC usando una colonna OD-H, 90/10 n-esano:alcol isopropilico, 1mL/min, rilevatore a 234 nm. Eccesso enantiomerico (ee) 83% (2° picco maggioritario).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.0 – 7.96 (m, 1H), 7.88 – 7.73 (m, 3H), 7.67 – 7.55 (m, 2H), 7.54 – 7.31 (m, 7H), 7.27 – 7.25(m, 3H), 4.15 (ddd, J = 12.7, 4.4, 1.8 Hz, 1H), 3.86 (dd, J = 13.0, 1.8 Hz, 1H), 3.77 (td, J = 11.7, 4.4 Hz, 1H), 3.40 (s, 3H), 3.08 (d, J = 12.1 Hz, 1H), 2.65 (d, J = 13.0 Hz, 1H), 2.62 (dd, J = 11.6, 12.7 Hz, 1H), 2.43 (s, 3H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 173.28, 143.79, 139.26, 134.88, 133.25, 133.10, 132.00, 129.85, 129.53, 128.57, 128.50, 127.84, 127.73, 126.70, 126.64, 124.87, 122.98, 73.75, 55.77, 54.37, 52.35, 50.63, 43.56, 21.78.

$[\alpha]_{589nm}^{25°C} = +15,3°$ (Conc. 0.96 g/100 mL, in diclorometano), p.f = 194-201 °C.

5.5.2 Sintesi del prodotto 3ca

Il prodotto **3ca** è stato ottenuto seguendo la procedura sopra per il **3ba**.

Il residuo è stato purificato con una colonna cromatografica su gel di silice (diclorometano/etere etilico 100:1), ottenendo **3ca** (33.2 mg, 0.07 mmol) come solido bianco con il 66% di resa.

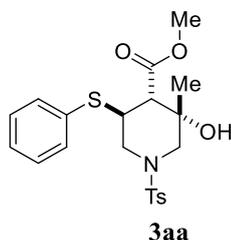
Il prodotto **3ca** è stato analizzato mediante CSP-HPLC usando una colonna OD-H, 90/10 n-esano:alcol isopropilico, 1mL/min, rilevatore a 234 nm. Eccesso enantiomerico (ee) 63% (2° picco maggioritario).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.63 – 7.58 (m, 2H), 7.44 – 7.29 (m, 6H), 7.27 – 7.23(m, 2H), 7.00 – 6.82 (m, 2H), 4.07 (ddd, $J = 12.8, 4.4, 1.8$ Hz, 1H), 3.99 (dd, $J = 13.1, 1.8$ Hz, 1H), 3.60 (td, $J=12.8, 4.4$ Hz, 1H), 3.56 (s, 3H), 2.84 (d, $J = 12.2$ Hz, 1H), 2.58 (d, $J = 13.1$ Hz, 1H), 2.57 (dt, $J = 11.6, 12.8$ Hz, 1H), 2.42 (s, 3H).

^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ 173.28, 147.24, 143.79, 134.99, 133.15, 131.77, 129.81, 129.51, 128.54, 127.82, 127.27, 125.68, 123.76, 72.68, 56.40, 55.67, 52.53, 50.42, 43.20, 21.77.

$[\alpha]_{589\text{nm}}^{25^\circ\text{C}} = -23^\circ$ (Conc. 0.57 g/100 mL, in diclorometano), p.f = 161-169°C.

5.6 PREPARAZIONE DEL PRODOTTO 3AA



Il substrato **1a** (16.3 mg, 0.05 mmol), il Cs_2CO_3 (19.5 mg, 0.06 mmol) sono stati introdotti in tre provette, e sono stati aggiunti 500 μL di toluene.

Nella prima provetta è stata aggiunto il TBABr (1.6 mg, 0.005 mmol), nella seconda il catalizzatore **A** (3.2mg, 0.005 mmol) e nella terza non è stato messo nessun catalizzatore.

Il tiofenolo (6 μL , 0.06 mmol) è stato aggiunto alla miscela contenuta nelle tre provette.

Il sistema è stato messo sotto agitazione a 0 °C.

Conversione: completa per le prove con il catalizzatore e del 43% per la prova senza il catalizzatore (^1H NMR: 1,20 ppm di **3aa** e 2,13 ppm di **1a**).

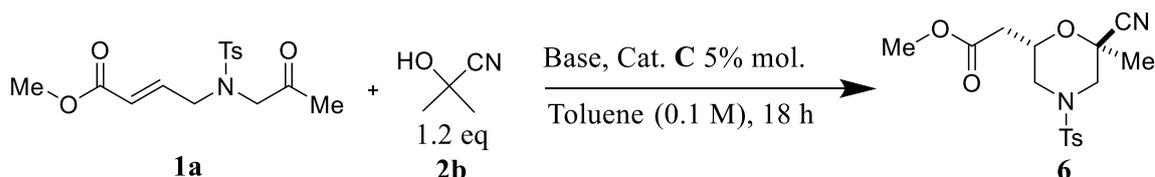
^1H NMR (600 MHz, CD_3CN) δ 7.64 – 7.58 (m, 2H), 7.48 – 7.43 (m, 2H), 7.41 – 7.32 (m, 5H), 3.88 (ddd, $J = 12.0, 4.7, 1.9$ Hz, 1H), 3.71 (s, 3H), 3.58 (td, $J = 12.0, 4.7$ Hz, 1H), 3.50 (dd, $J = 12.2, 1.9$ Hz, 1H), 3.40 (s, 1H), 2.43 (s, 3H), 2.33 (d, $J = 12.4$ Hz, 1H), 2.25 (t, $J = 11.8$ Hz, 1H), 2.23 (d, $J = 12.2$ Hz, 1H), 1.15 (s, 3H).

^{13}C NMR (151 MHz, CD_3CN) δ 171.47, 144.11, 133.50, 132.85, 132.35, 129.75, 129.29, 128.20, 127.52, 69.09, 55.45, 55.16, 51.45, 50.32, 43.23, 24.90, 20.54.

$[\alpha]_{589\text{nm}}^{25^\circ\text{C}} = -89.1^\circ$ (Conc. 0.69 g/100 mL, in cloroformio), 85% ee (1° maggioritario).

5.7 TEST CATALITICI CON I CICLOPEPTOIDI

5.7.1 Ottimizzazione delle condizioni di reazione



Il substrato **1a** (16.3 mg, 0.05 mmol) e il catalizzatore **C** (1.8 mg, 0.0025 mmol) sono stati introdotti in una provetta. Sono stati aggiunti 500 μL di toluene. Quindi è stata aggiunta l'aceton cianidrina (5.5 μL , 0.06 mmol). In quattro prove diverse sono stati aggiunti 6.3 mg di Na_2CO_3 (0.06 mmol), 200 μL di Na_2CO_3 acquoso al 10% in peso, 8.3 mg di K_2CO_3 solido (0.06 mmol) e 200 μL di KOH acquoso al 50 % in peso, rispettivamente.

Il sistema è stato lasciato sotto agitazione a 0°C (o a -20°C per la reazione con il $\text{KOH}_{(\text{aq})}$) per 18h.

Al termine della reazione la miscela è stata filtrata su plug di silice con Diclorometano/etere etilico e poi solo etere etilico e il solvente è stato evaporato sotto vuoto.

Il residuo delle reazioni (eccetto quella con il $\text{KOH}_{(\text{aq})}$) è stato purificato con una colonna cromatografica su gel di silice (diclorometano/etere etilico 30:1 per la prima prova, 50:1 per la seconda e terza prova), ottenendo **6** (12.2 mg, 0.03 mmol) con il 69% di resa aggiungendo $\text{Na}_2\text{CO}_{3(\text{s})}$, **6** (12.8 mg, 0.04 mmol) con il 73% di resa aggiungendo $\text{Na}_2\text{CO}_{3(\text{aq})}$ e **6** (12.6 mg, 0.04 mmol) con il 72% di resa aggiungendo $\text{K}_2\text{CO}_{3(\text{s})}$.

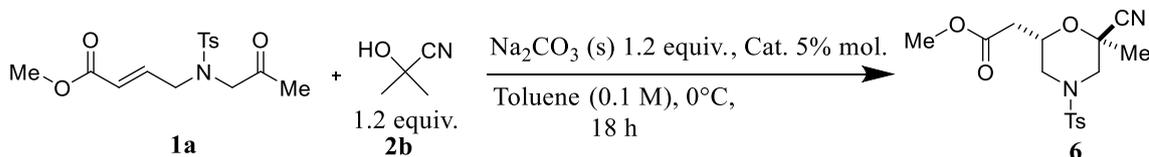
I prodotti **6** sono stati caratterizzati con CSP-HPLC usando una colonna OD-H, 90/10 esano:alcol isopropilico, 1 mL/min, rilevatore a 234 nm: ee 29% per $\text{Na}_2\text{CO}_{3(\text{s})}$, ee 1% per $\text{Na}_2\text{CO}_{3(\text{aq})}$, ee 8% con $\text{K}_2\text{CO}_{3(\text{s})}$. Tempi di ritenzione: $t_1 = 20.5$ min, $t_2 = 24.1$ min.

^1H NMR (600 MHz, CD_3CN) δ 7.65 – 7.62 (m, 2H), 7.45 – 7.41 (m, 2H), 4.31 (dddd, $J = 10.5, 7.6, 4.9, 2.7$ Hz, 1H), 3.85 (dd, $J = 12.3, 1.9$ Hz, 1H), 3.73 (ddd, $J = 11.8, 2.7, 1.9$ Hz, 1H), 3.64 (s, 3H), 2.53 (dd, $J = 16.3, 4.9$ Hz, 1H), 2.42 (dd, $J = 16.3, 7.6$ Hz, 1H), 2.43 (s, 3H), 2.25 (d, $J = 12.3$ Hz, 1H), 2.11 (dd, $J = 11.8, 10.5$ Hz, 1H), 1.49 (s, 3H).

^{13}C NMR (151 MHz, CD_3CN) δ 171.03, 145.86, 133.33, 131.06, 128.82, 119.46, 72.07, 71.82, 53.71, 52.50, 49.41, 37.90, 24.32, 21.63.

$[\alpha]_{589\text{nm}}^{25^\circ\text{C}} = -6^\circ$ (Conc. 0.49 g/100 mL in diclorometano), 29% ee (1° picco maggioritario).

5.7.2 Test con i ciclopeptoidi



Aggiungendo, in quattro prove diverse, 0.0025 mmol di **D**, **E**, **F** e **B**, rispettivamente e 6.3 mg di $\text{Na}_2\text{CO}_3(\text{s})$ (0.06 mmol), **1a** (16.3 mg, 0.05 mmol), con 500 μL di toluene e 5.5 μL di aceton cianidrina.

Il sistema è stato lasciato sotto agitazione per 18 ore a 0°C . Al termine della reazione la miscela è stata filtrata su plug di silice con diclorometano/etere etilico e poi solo etere etilico.

Quindi **6** è stato purificato con una colonna su gel di silice (diclorometano/etere etilico 50:1).

6 è stato ottenuto con il 78% di resa (13.7 mg, 0.04 mmol), con il 59% di resa (10.4 mg, 0.03 mmol), con il 58% di resa (10.3 mg, 0.03 mmol) e con il 29% di resa (11.9 mg 0.03 mmol), rispettivamente.

I prodotti **6** sono stati caratterizzati con CSP-HPLC usando una colonna OD-H, 90/10 esano:alcol isopropilico, 1mL/min, rilevatore a 234 nm: ee 24%, 20%, 21% e 17%, rispettivamente. Tempi di ritenzione: $t_1 = 20.5$ min, $t_2 = 24.1$ min.

5.7.3 Prove senza catalizzatore

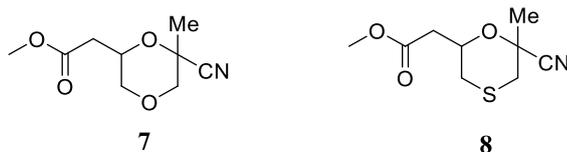
Aggiungendo in due prove separate 6.3 mg di $\text{Na}_2\text{CO}_3(\text{s})$ e 200 μL di Na_2CO_3 acquoso al 10% in peso, rispettivamente e **1a** (16.3 mg, 0.05 mmol) con 500 μL di toluene e 5.5 μL di aceton cianidrina. Il sistema è stato lasciato sotto agitazione a 0°C per 18h.

Al termine della reazione la miscela è stata filtrata su plug di silice con diclorometano/etere etilico e poi solo etere etilico e il solvente è stato evaporato sotto vuoto.

I prodotti **6** non sono stati purificati.

È stata ottenuta una conversione del 10% e del 41 %, rispettivamente (^1H NMR: 4,41 ppm (dtd), **6** e 6,73 ppm (dt), **1a**).

5.8 PREPARAZIONE DEI PRODOTTI 7 E 8



5.8.1 Sintesi del prodotto 7

Il substrato **4** (17.2 mg, 0.1 mmol), il Cs_2CO_3 (39 mg, 0.12 mmol) e il TBABr (3.2 mg, 0.01 mmol) sono stati introdotti in una provetta. Sono stati aggiunti 500 μL di toluene. L'aceton cianidrina (11.0 μL , 0.12 mmol) è stata aggiunta e la soluzione è stata messa sotto agitazione a temperatura ambiente per 18 h.

Al termine della reazione la miscela è stata filtrata su plug di silice con diclorometano/etere etilico e poi solo etere etilico e il solvente è stato evaporato sotto vuoto.

Il residuo è stato purificato con una colonna cromatografica su gel di silice (diclorometano/etere etilico 30:1), ottenendo **7** (15.1 mg, 0.08 mmol), come olio incolore all'76% di resa.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.44 (dtd, $J = 10.5, 6.5, 2.7$ Hz, 1H), 3.96 (dd, $J = 11.6, 2.7$ Hz, 1H), 3.90 (d, $J = 11.9$ Hz, 1H), 3.71 (s, 3H), 3.30 (d, $J = 11.9$ Hz, 1H), 3.26 (dd, $J = 10.5, 11.6$ Hz, 1H), 2.52 (dd, $J = 15.9, 6.5$ Hz, 1H), 2.41 (dd, $J = 15.9, 6.5$ Hz, 1H), 1.48 (s, 3H).

^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ 170.01, 118.96, 72.77, 69.88, 52.23, 36.65, 31.78, 22.85, 22.67.

5.8.2 Sintesi del prodotto 8

Il substrato **5** (18.8 mg, 0.1 mmol) e il TBABr (3.2 mg, 0.01 mmol) sono stati introdotti in una provetta. Sono stati aggiunti 500 μL di toluene e 100 μL di K_2CO_3 acquoso al 10% in peso. Quindi è stata aggiunta l'aceton cianidrina (18.3 μL , 0.2 mmol). Il sistema è stato messo sotto agitazione a temperatura ambiente per 18 h.

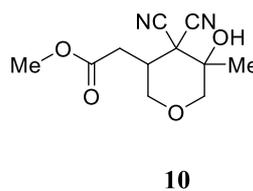
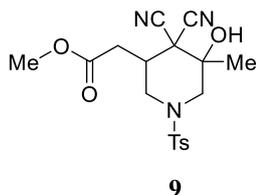
Al termine della reazione la miscela è stata filtrata su plug di silice con diclorometano/etere etilico e poi solo etere etilico e il solvente è stato evaporato sotto vuoto.

Il residuo è stato purificato con una colonna cromatografica a gel di silice (diclorometano/etere etilico 70:1), **8** (5.2 mg, 0.02 mmol), come olio incolore con il 24% di resa.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.48 (dtd, $J = 9.8, 6.5, 3.4$ Hz, 1H), 3.71 (s, 3H), 2.74 (d, $J = 13.9$ Hz, 1H), 2.64 – 2.56 (m, 3H), 2.55 (dd, $J = 3.3, 1.4$ Hz, 1H), 2.53 – 2.46 (m, 1H), 1.64 (s, 3H).

^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ 170.18, 118.69, 72.84, 72.53, 52.17, 40.92, 35.28, 29.97, 28.10.

5.9 PREPARAZIONE DEI PRODOTTI 9 E 10



5.9.1 Sintesi del prodotto 9

Il substrato **1a** (32.5 mg, 0.1 mmol), il TBABr (3.2 mg, 0.01 mmol) e il Cs_2CO_3 (39 mg, 0.12 mmol) sono stati introdotti in una provetta. Sono stati aggiunti 1000 μL di toluene e successivamente è stata aggiunto il malononitrile (7.9 mg, 0.12 mmol).

Il sistema è stato messo sotto agitazione a 0°C per 18 h.

Al termine della reazione la miscela è stata filtrata su plug di silice con diclorometano/etere etilico e poi solo etere etilico e il solvente è stato evaporato sotto vuoto.

Il residuo è stato purificato con una colonna cromatografica su gel di silice (diclorometano/etere etilico 20:1), ottenendo **9** (26 mg, 0.07 mmol) come solido bianco con il 66% di resa.

In $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ il dr è pari a 4:1, mentre in $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ è pari a 1:1, notando equilibrio tra i due diastereoisomeri.

^1H NMR (300 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$, diastereoisomero maggioritario) δ 7.74 – 7.67 (m, 2H), 7.48 – 7.41 (m, 2H), 5.86 (s, 1H) 4.15 (ddd, $J = 12.9, 4.0, 1.9$ Hz, 1H), 3.83 (dd, $J = 13.3, 1.9$ Hz, 1H), 3.72 (s, 3H), 3.21 (ddt, $J = 11.3, 10.0, 3.8$ Hz, 1H), 2.75 (dd, $J = 16.8, 3.7$ Hz, 1H), 2.62(d, $J = 13.3$ Hz, 1H), 2.57 (dd, $J = 16.8, 10.0$ Hz, 1H), 2.44 (s, 3H), 2.32 (dd, $J = 12.9, 11.3$ Hz, 1H), 1.63 (s, 3H).

^1H NMR (400 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$) δ 7.69 – 7.62 (m, 4H), 7.50 – 7.43 (m, 4H), 4.03 – 3.88 (m, 2H), 3.68 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H), 3.66 (s, 3H), 3.66 (s, 3H), 3.49 (dd, $J = 13.9, 7.0$ Hz, 1H), 3.06 – 2.97 (m, 2H), 2.83 (ddt, $J = 9.5, 7.7, 4.8$ Hz, 1H), 2.60 (ddd, $J = 11.3, 7.5, 4.7$ Hz, 4H), 2.41 (s, 3H), 2.40 (s, 3H), 2.38 – 2.10 (m, 3H), 1.51 (s, 3H), 1.46 (s, 3H).

^{13}C NMR (101 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$) δ 170.04, 169.96, 144.29, 143.94, 132.75, 132.30, 130.19, 130.00, 127.40, 127.32, 113.73, 113.52, 112.62, 112.36, 71.28, 70.71, 52.72, 52.05, 52.02, 51.76, 50.39, 48.12, 46.18, 45.66, 36.59, 34.84, 33.81, 33.75, 23.81, 22.36, 21.03, 21.01.

5.9.2 Sintesi del prodotto **10**

Il substrato **4** (17.2 mg, 0.1 mmol), il TBABr (3.2 mg, 0.01 mmol) e il Cs_2CO_3 (39 mg, 0.12 mmol) sono stati introdotti in una provetta. Sono stati aggiunti 500 μL di toluene e successivamente è stata aggiunto il malononitrile (7.9 mg, 0.12 mmol).

Il sistema è stato messo sotto agitazione a temperatura ambiente per 18 h.

Al termine della reazione la miscela è stata filtrata su plug di silice con diclorometano/etere etilico e poi solo etere etilico e il solvente è stato evaporato sotto vuoto.

Il residuo è stato purificato con una colonna cromatografica su gel di silice (diclorometano/etere etilico 70:1), ottenendo **10** (79.8 mg, 0.08 mmol) come olio verde con l'80% di resa.

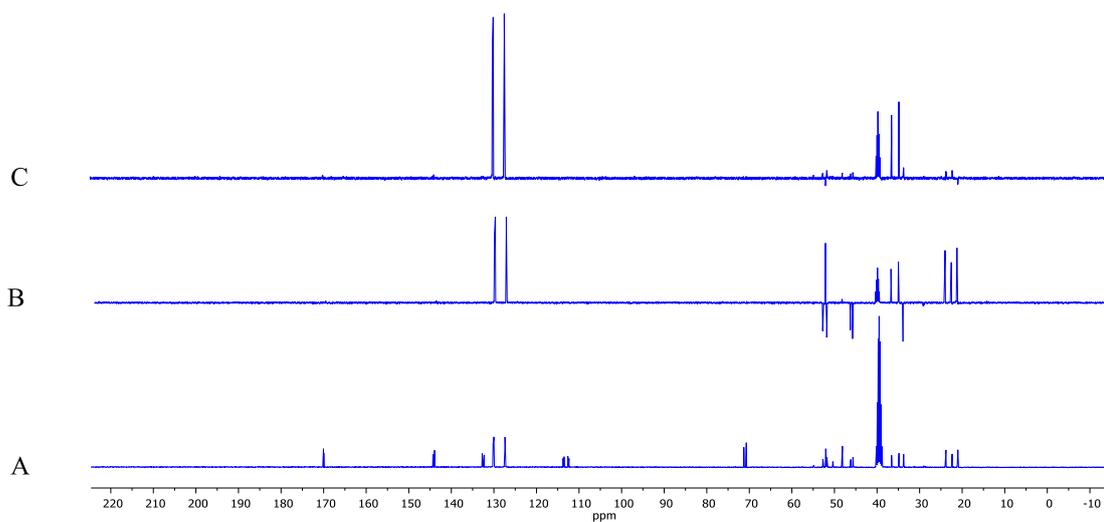
Seguendo la stessa procedura, ma aggiungendo il K_2CO_3 solido (19 mg, 0.5 mmol) al posto del Cs_2CO_3 , è stato ottenuto **10** (9.5 mg, 0.04 mmol) come olio verde con il 40% di resa.

In CD_3Cl il dr è pari a 20:1.

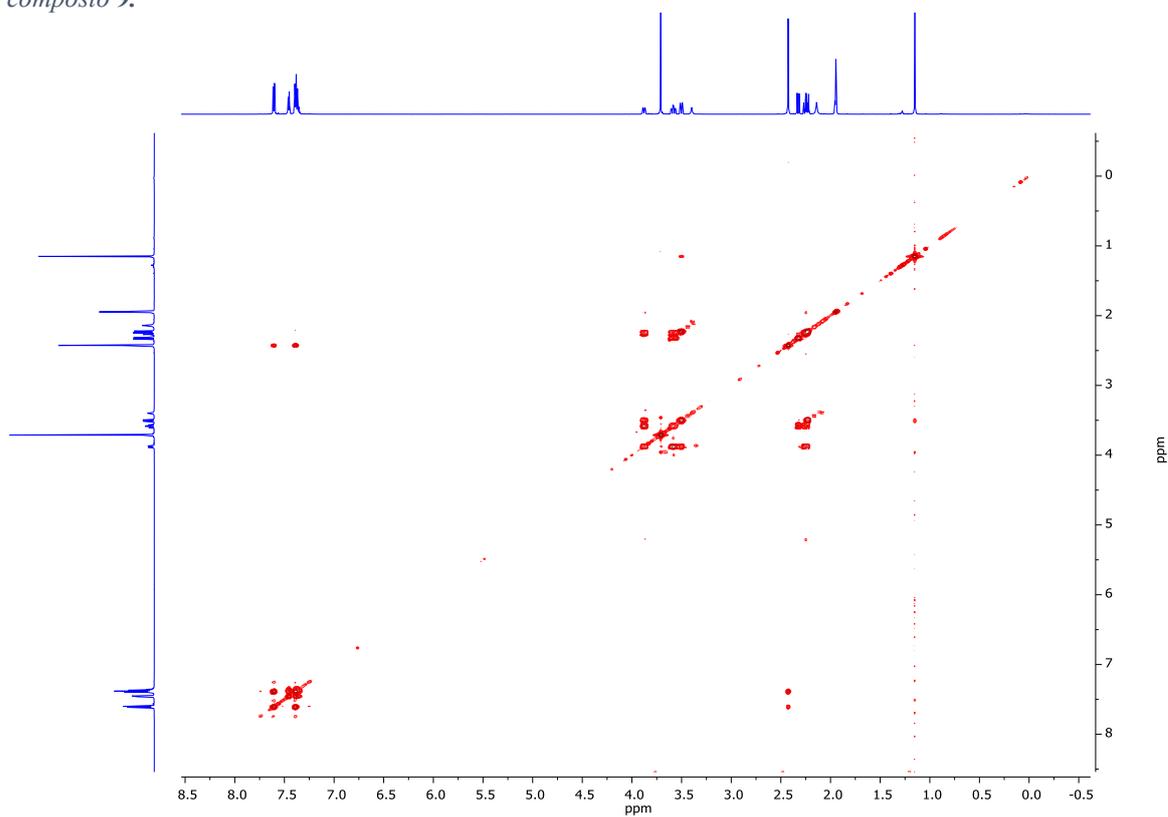
^1H NMR (400 MHz, CD_3Cl , diastereoisomero maggioritario) δ 4.16 (dd, $J = 12.4, 4.2$ Hz, 1H), 3.75 (s, 3H), 3.71 (d, $J = 12.9$ Hz, 1H), 3.64 (d, $J = 12.9$ Hz, 1H), 3.31 (dd, $J = 12.4, 11.2$ Hz, 1H), 3.02 (tdd, $J = 11.2, 4.2, 3.2$ Hz, 1H), 2.75 (dd, $J = 16.8, 3.2$ Hz, 1H), 2.43 (dd, $J = 16.8, 10.7$ Hz, 1H), 1.25 (s, 3H).

^{13}C NMR (101 MHz, CD_3Cl , diastereoisomero maggioritario) δ 170.18, 113.01, 112.92, 71.87, 67.38, 52.68, 47.49, 36.23, 33.34, 29.92, 21.74.

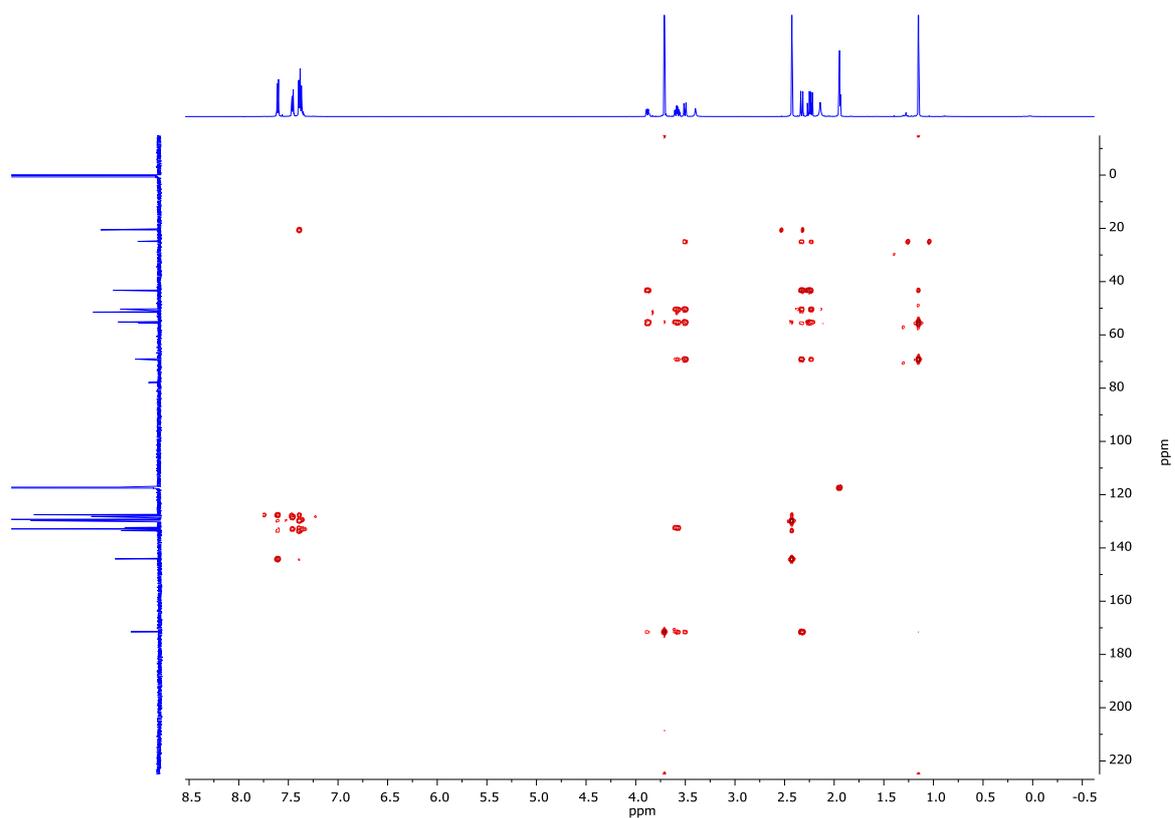
5.10 SPETTRI NMR ALLEGATI



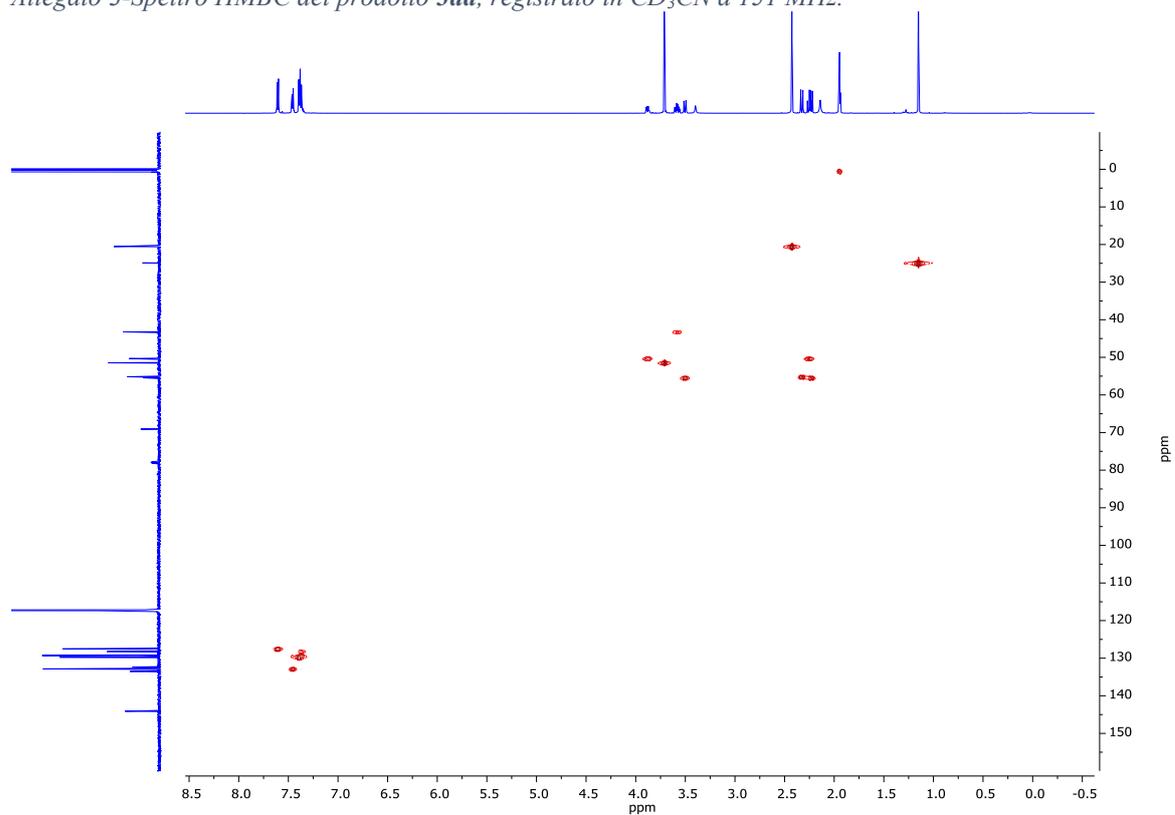
Allegato 1- Spettro ^{13}C NMR (A), DEPT 135 (B) e DEPT 90 (C) in $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$, registrato a 101 MHz per il composto **9**.



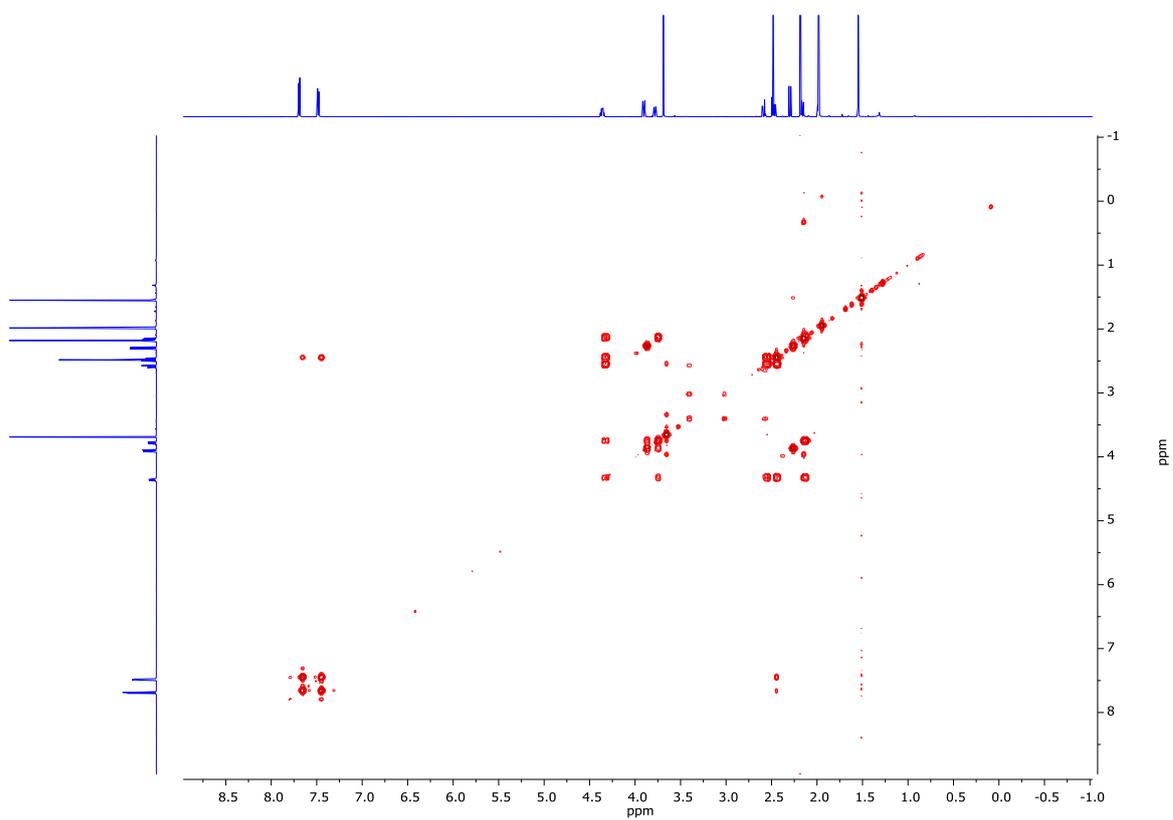
Allegato 2-Spettro COSY del prodotto **3aa**, registrato in CD_3CN a 600 MHz.



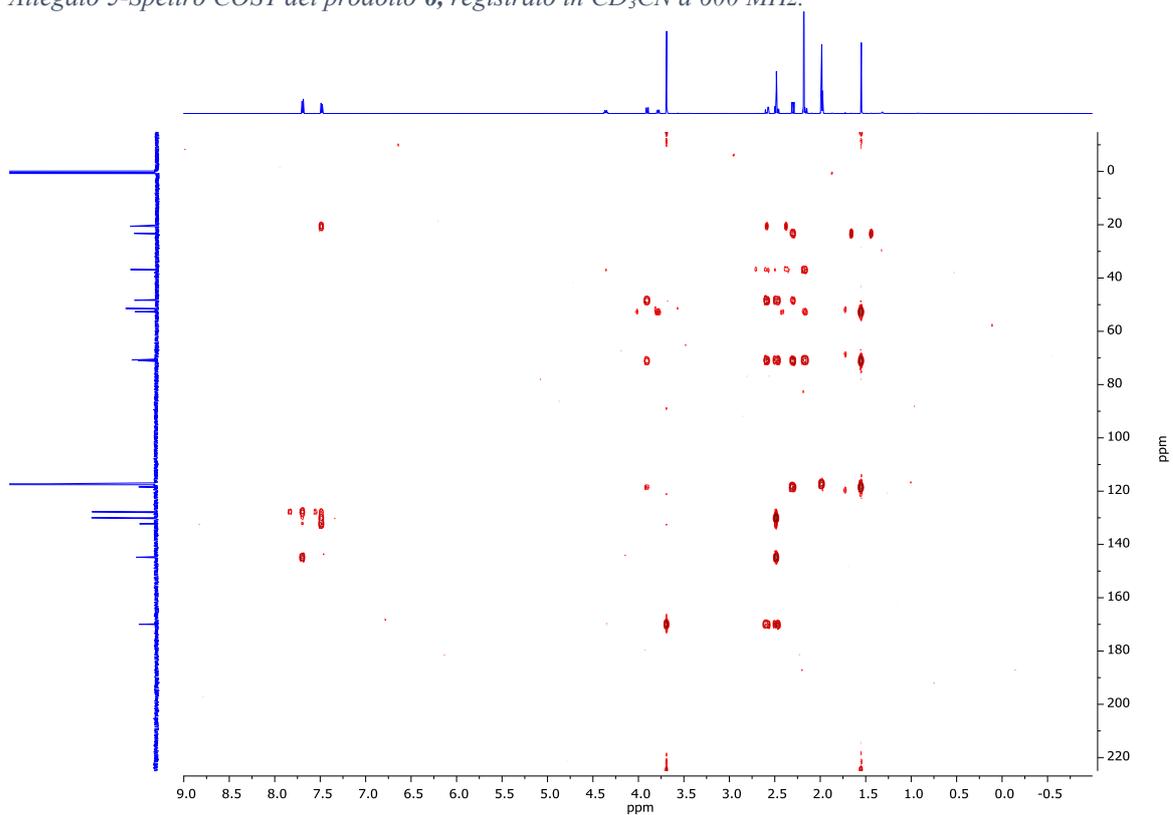
Allegato 3-Spettro HMBC del prodotto **3aa**, registrato in CD_3CN a 151 MHz.



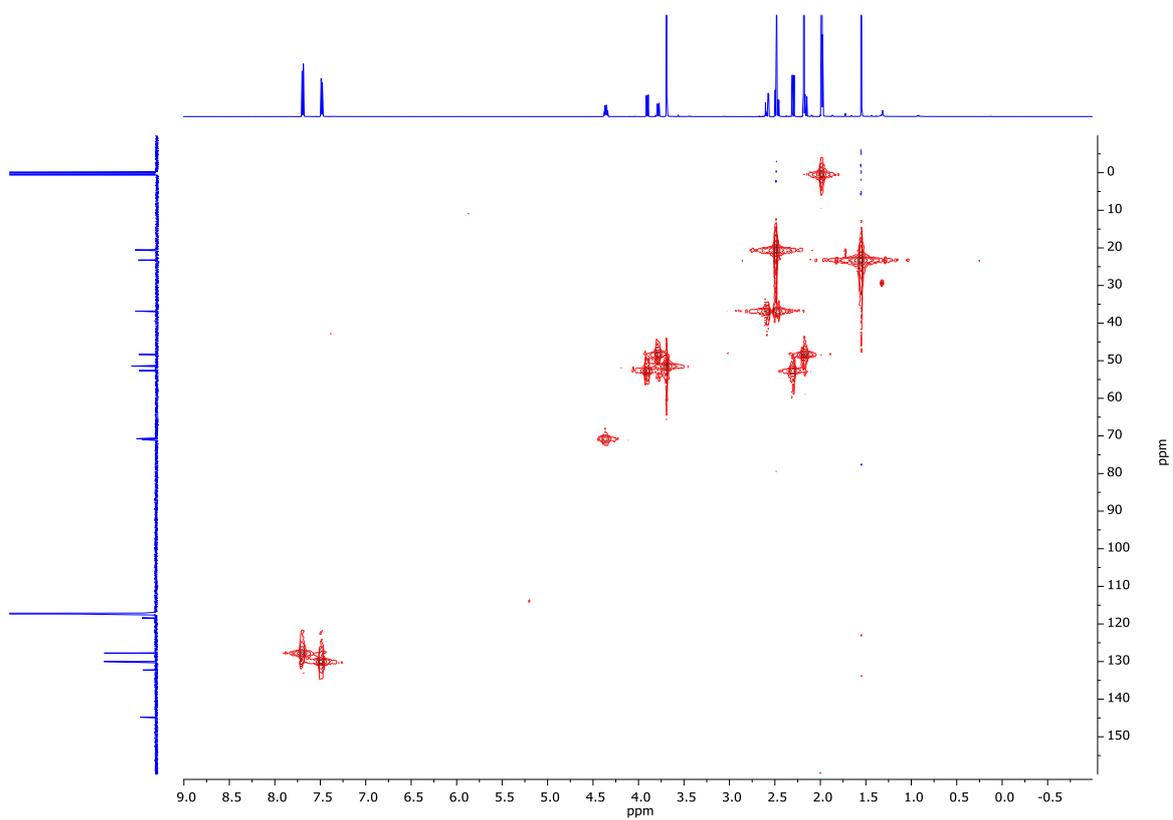
Allegato 4-Spettro HSQC del prodotto **3aa**, registrato in CD_3CN a 151 MHz.



Allegato 5-Spettro COSY del prodotto 6, registrato in CD₃CN a 600 MHz.



Allegato 6-Spettro HMBC del prodotto 6, registrato in CD₃CN a 151 MHz.



Allegato 7- Spettro HSQC del prodotto 6, registrato in CD_3CN a 151 MHz.