

Alma Mater Studiorum – Università di Bologna

DIPARTIMENTO DI CHIMICA INDUSTRIALE

“Toso Montanari”

Corso di laurea magistrale in Chimica Industriale

Classe LM-71- Scienze e Tecnologie della Chimica Industriale

**Idrossiamminazione asimmetrica di
nitroolefine catalizzata da derivati
degli alcaloidi della cinchona**

TESI DI LAUREA SPERIMENTALE

Presentato da:
Riccardo Carbone

Relatore:
Prof. Paolo Righi

Co-Relatore:
Dr. Giorgio Bencivenni
Dr. Enrico Paradisi

III sessione

Anno Accademico 2011-2012

Alma Mater Studiorum – Università di Bologna

DIPARTIMENTO DI CHIMICA INDUSTRIALE

“Toso Montanari”

Corso di laurea magistrale in Chimica Industriale

Classe LM-71- Scienze e Tecnologie della Chimica Industriale

**Idrossiamminazione asimmetrica di
nitroolefine catalizzata da derivati
degli alcaloidi della cinchona**

TESI DI LAUREA SPERIMENTALE

Presentato da:
Riccardo Carbone

Relatore:
Prof. Paolo Righi

Co-Relatore:
Dr. Giorgio Bencivenni
Dr. Enrico Paradisi

III sessione

Anno Accademico 2011-2012

*“A volte la sapienza più grande consiste nel
non sapere o nel fingere di non sapere.”*

Baltasar Gracián

Abstract:

Questo lavoro di tesi ha riguardato lo studio della reazione di addizione coniugata enantioselettiva di idrossilammine N-Cbz-protette a nitroolefine, attraverso l'utilizzo di una serie di catalizzatori organici bi-funzionali in grado di attivare contemporaneamente la nucleofilicità dell'idrossilammina, per mezzo di una reazione acido-base, e il trans- β -nitrostirene, attraverso interazione via legame a idrogeno.

This thesis dealt with the enantioselective conjugate addition of N-Cbz-protected hydroxylamines to nitroolefins, through the use of a series of bi-functional organocatalysts capable to simultaneously activate the nucleophilicity of hydroxylamine, by means an acid-base reaction, and of the trans- β -nitrostyrene, through interaction via hydrogen bonding.

1. INTRODUZIONE	9
1.1 Chiralità	9
1.2 Sintesi asimmetrica	12
1.3 Organocatalisi asimmetrica enantioselettiva.....	15
2. METODI DI ATTIVAZIONE	17
2.1 Ammine secondarie: catalisi via enammina	17
2.2 Ammine secondarie: catalisi via ione imminio	19
2.3 Base catalisi: alcaloidi della cinchona	21
2.4 Catalisi a trasferimento di fase (PTC).....	27
2.5 Catalisi H-bonding: derivati chirali della tiourea.....	30
3. REAZIONE DI ADDIZIONE CONIUGATA DI MICHAEL.....	32
3.1 Addizione di aza-Michael intermolecolare	34
4. OBIETTIVI.....	37
5. RISULTATI E DISCUSSIONE	39
5.1 Studio NMR del prodotto	41
5.2 Screening catalizzatori.....	44
5.3 Screening del solvente	49
5.4 Analisi a raggi X.....	51
6. CONCLUSIONI	53
7. PARTE SPERIMENTALE	55
8.BIBLIOGRAFIA	71

SIGLE E ABBREVIAZIONI

9 epi -NH₂-CD-BN-3,5-CF₃-SQA: 3-(((*S*)-1-(3,5-bis(trifluoromethyl)phenyl)ethyl)amino)-4-(((*S*)-quinolin-4-yl((2*S*,4*S*,5*R*)-5-vinylquinuclidin-2-yl)methyl)amino)cyclobut-3-ene-1,2-dione

9 epi -NH₂-HQD-(*S*)-Phenylethanamine: 3-(((1*R*)-((2*S*,4*S*,5*R*)-5-ethylquinuclidin-2-yl)(6-methoxyquinolin-4-yl)methyl)amino)-4-(((*S*)-1-phenylethyl)amino)cyclobut-3-ene-1,2-dione

9 epi -NH-HQD-Valin-Thiourea: (*S*)-2-(3-(3,5-bis(trifluoromethyl)phenyl)thioureido)N-(((*S*)-((1*R*,2*R*,4*S*,5*R*)-5-ethylquinuclidin-2-yl)(6-methoxyquinolin-4-yl)methyl)-3-methylbutanamide

9 epi -NH-HQD-L-tert-Leucina-Thiourea:

9 epi -NH₂-Thiourea-HQ-OH: 1-(3,5-bis(trifluoromethyl)phenyl)-3-(((*S*)-((2*R*,4*S*,5*R*)-5-ethylquinuclidin-2-yl)(6-hydroxyquinolin-4-yl)methyl)thiourea

9 epi -NH₂-Tiourea-HQ: 1-(3,5-bis(trifluoromethyl)phenyl)-3-(((*S*)-((2*R*,4*S*,5*R*)-5-ethylquinuclidin-2-yl)(6-hydroxyquinolin-4-yl)methyl)thiourea

9 epi -NH₂-Tiourea-HQD: 1-(3,5-bis(trifluoromethyl)phenyl)-3-(((1*R*)-((2*S*,4*S*,5*R*)-5-ethylquinuclidin-2-yl)(6-methoxyquinolin-4-yl)methyl)thiourea

9 epi -NH₂-HQD-n-butyl: (1*R*)-(2-butyl-6-methoxyquinolin-4-yl)((1*S*,2*R*,4*S*)-5-ethylquinuclidin-2-yl)methanamine

9 epi -NH₂-Tiourea-HQD-n-butyl: 1-(3,5-bis(trifluoromethyl)phenyl)-3-(((1*R*)-(2-butyl-6-methoxyquinolin-4-yl)((1*S*,2*R*,4*S*)-5-ethylquinuclidin-2-yl)methyl)thiourea

9 epi -NH₂-HQD-phenil: (1*R*)-(((1*S*,2*R*,4*S*)-5-ethylquinuclidin-2-yl)(6-methoxy-2-phenylquinolin-4-yl)methanamine

9 epi -NH₂-Tiourea-HQD-phenil: 1-(3,5-bis(trifluoromethyl)phenyl)-3-(((1*R*)-(((1*S*,2*R*,4*S*)-5-ethylquinuclidin-2-yl)(6-methoxy-2-phenylquinolin-4-yl)methyl)thiourea

Bis-CD-SQA: 3,4-bis(((1*S*)-quinolin-4-yl((2*S*,4*S*,5*R*)-5-vinylquinuclidin-2-yl)methyl)amino)cyclobut-3-ene-1,2-dione

HQ: idrochinina

HQD: idrochinidina

3C: 4-(((1*S*,3*R*,5*R*)-3-ethyl-4-oxa-1-azatricyclo[4.4.0.0^{3,8}]decan-5-yl)quinolin-6-ol

4C: (1*R*)-(6-methoxyquinolin-4-yl)((1*S*,2*R*,4*S*)-5-vinylquinuclidin-2-yl)methyl benzoate

18C: (1*S*,4*S*,5*R*)-1-benzyl-2-(((*S*)-hydroxy(quinolin-4-yl)methyl)-5-vinylquinuclidin-1-ium bromide

19C: (1*S*,4*S*,5*R*)-1-benzyl-2-(((*S*)-3-(3,5-bis(trifluoromethyl)phenyl)ureido)(6-methoxyquinolin-4-yl)methyl)-5-vinylquinuclidin-1-ium bromide

Boc: tert-butilossicarbonile

Cbz: benzilossicarbonile

DABCO: 1,4-diazabiciclo[2.2.2]ottano

DCM: Diclorometano

MTBE: Metil-Tert-Butil-Etere

CHCl₃: cloroformio

PTFE: Poli-Tetra-Fluoro-Etilene (Teflon[®])

TMS: trimetilsilano

ESI: elettrospray

TPP: trifenil fosfina

DIAD: DiIsopropil-AzoDicarbossilato

DPPA: difenil fosforoammide

TEA: trietilammina

ee%: eccesso enantiomerico %

HPLC: High Pressure Liquid Chromatography

NMR: risonanza magnetica nucleare

DEPT: Distortionless Enhancement by Polarization Transfer

Plug: Filtrazione su silice

r.t.: Room temperature, temperature ambiente

R_f : Fattore di ritenzione

Takemoto: 1-(3,5-bis(trifluoromethyl)phenyl)-3-((1*R*,2*R*)-2(dibenzilamino)cyclohexyl)thiourea

TFA: Acido Trifluoroacetico

THF: Tetraidrofurano

TLC: Thin Line Chromatography

PTC: Catalisi a trasferimento di fase (Phase-Transfer Catalysis)

1. INTRODUZIONE

1.1 Chiralità

La parola “chiralità” deriva dal greco “*χείρ*” (*cheir*, mano) ed è in generale la proprietà di un oggetto di avere l’immagine speculare e non sovrapponibile con se stesso, come avviene appunto nel caso delle mani. L’oggetto che ha questa proprietà è quindi detto *chirale*. In chimica parliamo di molecole chirali, cioè quelle molecole che hanno almeno un elemento stereogenico. In chimica organica l’elemento chirale più comune è il carbonio tetra-sostituito (ibridato quindi sp^3) con tutti e quattro i sostituenti differenti (Figura 1). Facendo uno scambio di posizioni fra due sostituenti legati a questo elemento si produce uno stereoisomero del composto stesso. L’elemento stereogenico può essere un singolo atomo oppure un asse, un piano o una conformazione a spirale presenti nella geometria della molecola. Esistono poi molecole con proprietà geometriche tali da essere chirali anche senza avere un carbonio con quattro sostituenti differenti.

Una molecola non è chirale se presenta un piano di simmetria.

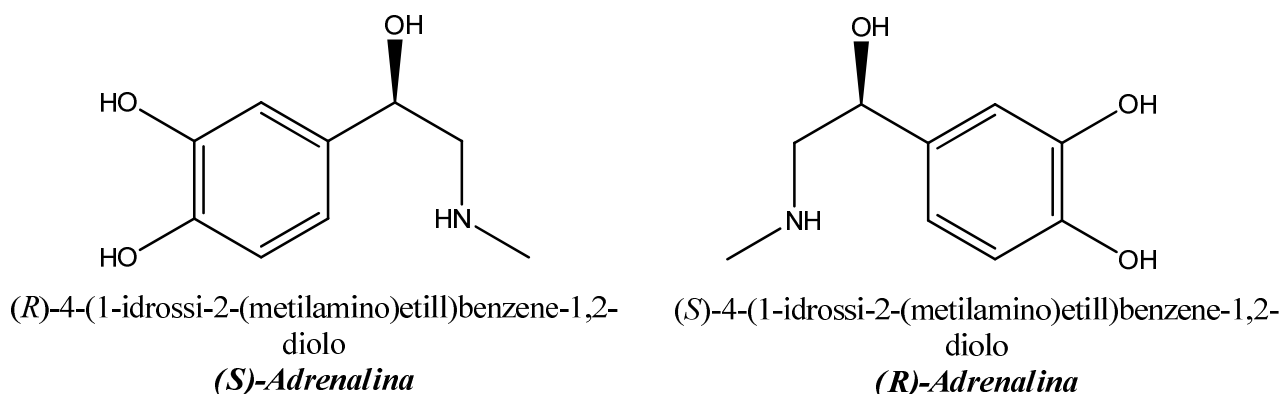
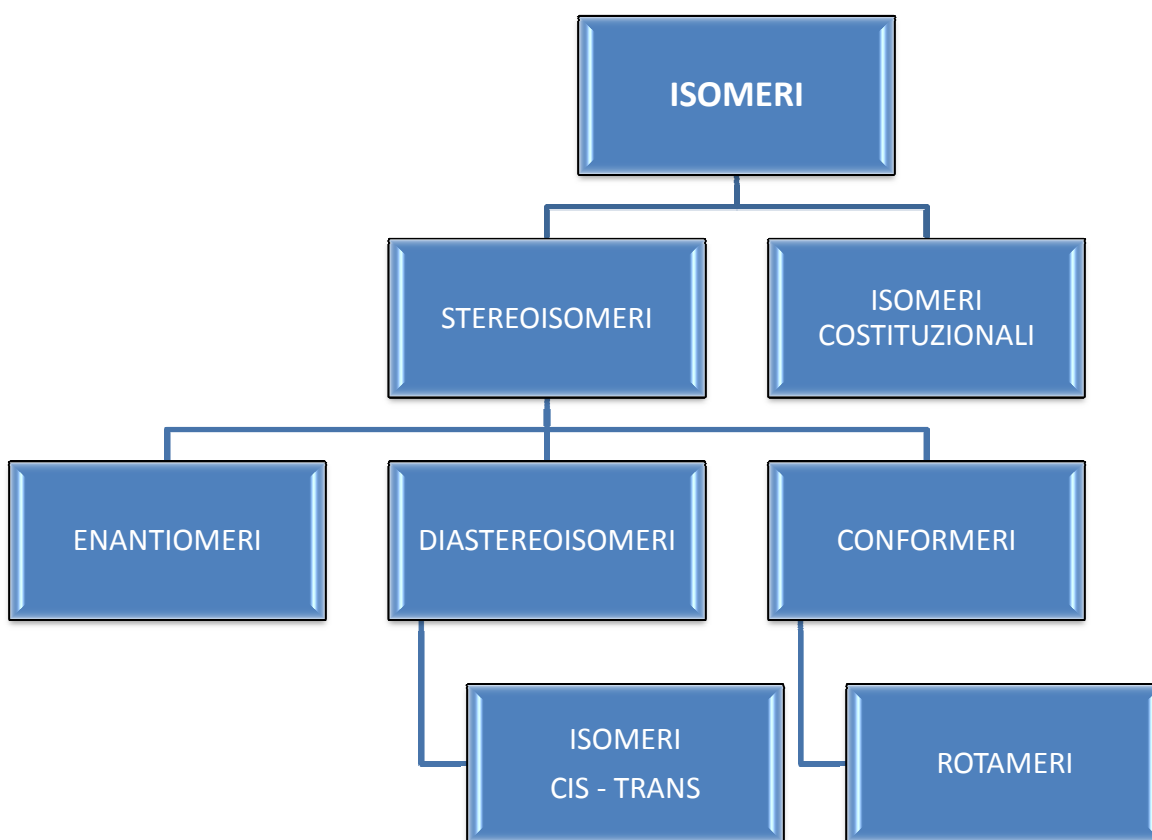


Figura 1. Esempio di molecola chirale

In chimica, le strutture che si differenziano “soltanto” per la disposizione nello spazio degli atomi che le costituiscono si chiamano stereoisomeri. Gli stereoisomeri si dividono in enantiomeri e diastereoisomeri. Due molecole si dicono enantiomeri tra loro se, indipendentemente dal numero di centri chirali, sono speculari e non sovrapponibili; si dicono invece diastereoisomeri quegli

stereoisomeri che non sono speculari fra loro. La presenza di elementi stereogenici è condizione necessaria, ma non sufficiente a rendere una molecola chirale, esistono infatti anche degli stereoisomeri detti meso, ovvero molecole con elementi stereogenici ma che possiedono un piano di simmetria.

E' importante sottolineare che due enantiomeri puri in ambiente achirale si comportano in maniera identica sia chimicamente che fisicamente mentre i diastereoisomeri sono sempre chimicamente e fisicamente differenti¹.



Schema 1. Isomeria

Il primo chimico ad accorgersi del concetto di chiralità fu Louis Pasteur, nel 1848, che esaminando al microscopio i cristalli del sodio ammonio tartrato dal vino, si accorse che se n'erano formati di due tipi. Dopo aver sciolto i cristalli ed averli analizzati alla luce polarizzata, Pasteur notò che le due soluzioni facevano ruotare la luce in direzioni opposte: una soluzione in senso orario (destrorso

“+”) e l'altra in senso antiorario (sinistrorso “-”). Questi erano l'uno l'immagine speculare dell'altro ma non erano tra loro sovrapponibili².

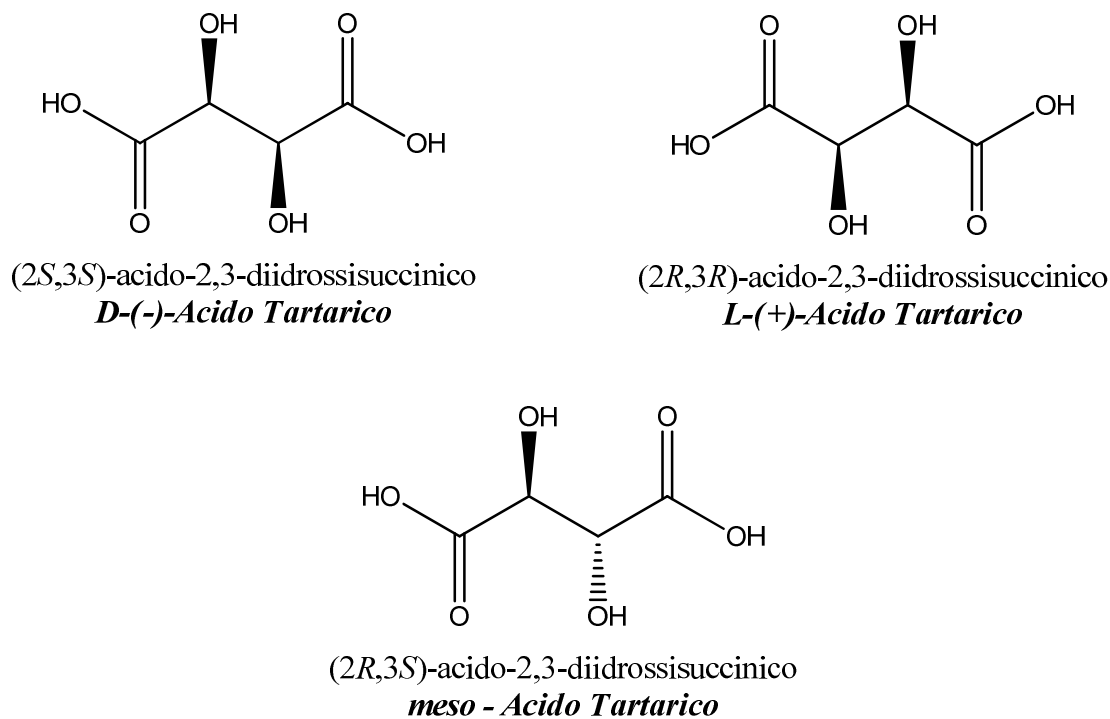


Figura 2. Isomeri dell'acido tartarico

In generale una molecola con “n” carboni asimmetrici possiede 2^n stereoisomeri. Bisogna ricordare che un atomo è solo uno dei possibili elementi stereogenici: esistono molecole che non hanno carboni asimmetrici, però sono chirali a causa della presenza di un asse o di un piano.

Esiste anche una prova sperimentale per avere conferma della chiralità di un composto: un composto è chirale quando è in grado di ruotare il piano della luce polarizzata. Attraverso l'uso del polarimetro è possibile valutare ciò. La luce emessa da una lampada ad una determinata lunghezza d'onda è fatta passare attraverso un polarizzatore che permette l'uscita solo della luce polarizzata lungo un piano ben preciso. A questo punto la luce passa attraverso una cella (di lunghezza nota e ben definita) contenente una soluzione della molecola in esame (con concentrazione nota). Se nella molecola sono presenti elementi di chiralità il piano della luce viene ruotato di un certo angolo. Ogni molecola chirale ha sulla sua “carta d'identità” anche un valore di potere ottico specifico; si tratta di un numero ottenuto dal rapporto tra il valore dell'angolo di rotazione del piano della luce polarizzato, la lunghezza della cella in cui è contenuto il campione e la concentrazione dello stesso. Una molecola, fissate le condizioni sperimentali, avrà sempre lo stesso valore di potere ottico rotatorio specifico.

Una miscela in cui sono presenti entrambi gli enantiomeri di una molecola in rapporto 1/1 viene detta “miscela racemica”.

Secondo le convenzioni di nomenclatura, i centri chirali di una molecola possono assumere la configurazione **S** oppure **R**, a seconda di come sono disposti nello spazio i loro sostituenti ordinati in base a regole che ne definiscono le priorità relative.

La trasformazione di un reattivo prochirale in un prodotto con formazione di un nuovo centro chirale, conduce ad una miscela racemica dei due enantiomeri, cioè una miscela con il 50% dell'isomero **S** e il 50% dell'isomero **R**.

Una delle tecniche per ottenere una miscela arricchita di uno dei due enantiomeri è la “sintesi asimmetrica” e l'arricchimento viene indicato come eccesso enantiomerico (Equazione 1).

$$ee\% = \frac{R - S}{R + S} \times 100$$

Equazione 1. Calcolo eccesso enantiomerico

1.2 Sintesi asimmetrica

Gli enantiomeri puri possiedono le medesime proprietà fisiche (tranne il potere rotatorio) e mostrano lo stesso comportamento chimico nei confronti di sostanze non chirali. Diversa è invece la loro interazione chimica nei confronti delle altre molecole chirali.

Molti dei principi attivi utilizzati nell'industria farmaceutica sono le molecole chirali e solo uno degli enantiomeri (eutomero) di queste molecole ha l'effetto farmacologico desiderato. L'altro enantiomero (distomero) è, nella migliore delle ipotesi, una inutile zavorra chimica somministrata all'organismo da curare e può, nei casi peggiori, essere dannoso; ad esempio, si consideri il caso della Talidomide, un farmaco usato come sedativo negli anni '50.

Si scoprì che l'effetto sedante era il risultato dell'azione del solo enantiomero (**R**) mentre l'(**S**) provocava gravi patologie teratogene. Un altro esempio è quello della Penicillamina, dove la funzione di antiartritico è dato solo dall'enantiomero (**S**), mentre l'(**R**) è risultato estremamente tossico (Figura 3).

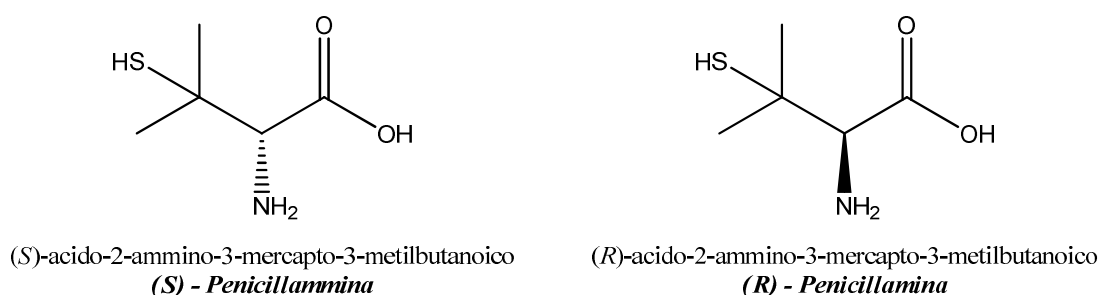
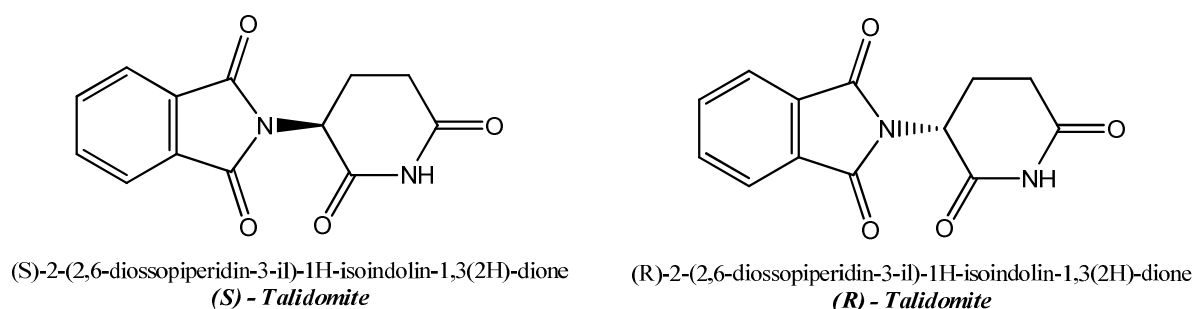


Figura 3. Struttura di alcuni principi attivi e loro enantiomeri

Pertanto avere un farmaco costituito dal solo enantiomero giusto e non da quello sbagliato elimina tutti i problemi associati alla utilizzazione di principi attivi in forma racemica.

Negli ultimi anni, anche e soprattutto sotto la spinta degli enti regolatori che di fatto non consentono più lo sviluppo di nuovi farmaci in forma racemica, è aumentata la necessità di sviluppare una strategia sintetica che miri ad ottenere un singolo enantiomero, cioè quello che ha azione terapeutica.

A tal fine esistono tecniche che consentono la separazione degli enantiomeri o alternativamente si mira ad avere un composto enantiomericamente arricchito attraverso la “sintesi asimmetrica”. Tradizionalmente il singolo enantiomero, o una miscela arricchita di uno dei due, può essere ottenuto tramite risoluzione. Questa tecnica prevede la derivatizzazione del racemato con un ausiliario chirale enantiomericamente puro e permette, di separare, arricchire o addirittura convertire un’enantiomero nell’altro. Un’altra strategia applicata sia in industria che a livello di ricerca, consiste nella sintesi di composti otticamente attivi a partire da composti facenti parte del chiral pool, ovvero molecole presenti già in natura come singolo enantiomero che vengono trasformate attraverso una serie di reazioni stereospecifiche nel prodotto di interesse. Un limite di quest’approccio consiste nell’accessibilità dell’enantiomero di partenza giusto, essendo la

stereochimica di questo a determinare la configurazione assoluta del prodotto finale. Altro limite è costituito dal dover ricondurre il materiale di partenza chirale al vero “building block” utile per la sintesi. Una terza strategia per l’ottenimento di singoli enantiomeri consiste nella sintesi asimmetrica che si basa su tre diversi approcci che coinvolgono l’uso di reagenti chirali, ausiliari chirali e catalizzatori chirali in forma enantiopura.

Sicuramente la via più attraente dal punto di vista economico utile ad introdurre chiralità in una molecola è quella di utilizzare catalizzatori chirali in grado di promuovere una data trasformazione chimica in maniera enantioselettiva³.

Un buon catalizzatore per una produzione industriale deve rispondere a diversi requisiti, fra i quali:

- una facile accessibilità ad entrambi gli enantiomeri a prezzi bassi o comunque accettabili e competitivi;
- una buona stabilità nelle condizioni di utilizzo
- una stabilità che permetta un buon immagazzinamento senza subire deteriorazioni (conservabilità);
- una facilità di recupero ed una buona conservazione dell’efficienza catalitica e della stereoselettività nel riutilizzo;
- un elevato valore di TON (TurnOver Number = moli di prodotto ottenute per unità di mole di catalizzatore) e di TOF (TurnOver Frequency = moli di prodotto ottenute per mole di catalizzatore per unità di tempo);
- una nulla o scarsa tossicità;
- nessuna limitazione o vincolo legislativo per il suo impiego;

Negli ultimi decenni per far fronte alle nuove sfide che si sono presentate nella sintesi asimmetrica, è stata sviluppata una nuova strategia di sintesi di composti otticamente attivi: l’organocatalisi asimmetrica.

1.3 Organocatalisi asimmetrica enantioselettiva

Gli ultimi anni hanno visto un notevole progresso per quanto riguarda i nuovi metodi catalitici a base di molecole organiche. In molti casi, questi composti organici danno luogo a enantioselettività estremamente elevate. Questi catalizzatori hanno vantaggi assai notevoli: in genere le reazioni possono essere eseguite in atmosfera aerobica con solventi non anidri; sono economici e sono spesso più stabili di enzimi o altri catalizzatori bioorganici, inoltre, possono essere ancorati ad un supporto solido e riutilizzati. Gli organocatalizzatori possono essere sintetizzati o possono provenire da molecole chirali naturali.

Le molecole organiche possono agire da catalizzatori attraverso quattro diversi meccanismi:

1. attivazione della reazione in base alla nucleofilicità/elettrofilicità del catalizzatore; quest'ultimo non è consumato nella reazione e non richiede una rigenerazione in parallelo. Questo tipo di catalisi ha molto in comune con la convenzionale attivazione ad opera di acidi/basi di Lewis.
2. trasformazioni in cui il catalizzatore organico partecipa alla formazione di intermedi reattivi, in questo caso il catalizzatore è consumato nella reazione e richiede, di conseguenza, rigenerazione in un ciclo catalitico parallelo.
3. reazioni a trasferimento di fase (PTC): Il catalizzatore chirale forma un complesso con il substrato e fa da spola tra la fase organica e la seconda fase (solida, acquosa o fluorosa) in cui avviene la reazione.
4. utilizzo di cavità molecolari in grado di accelerare trasformazioni asimmetriche: il catalizzatore è in grado di scegliere selettivamente tra diversi substrati in competizione in dipendenza delle loro dimensioni e strutture;

Le reazioni organocatalitiche, in generale, procedono sia attraverso stati di transizione formati da legami primari (legami intramolecolari di tipo ionici, covalenti polari e apolari) che da legami secondari (legami intermolecolari di tipo legami a idrogeno, interazioni dipolo-dipolo, forze di dispersione), rispettivamente più forti e più deboli rispetto agli stati di transizione che si formano per interazione del substrato con catalizzatori metallici⁴.

La prima classe di organo catalizzatori include composti in grado di formare legami covalenti con il substrato tra questi, ad esempio, vi sono le ammine chirali primarie e secondarie.

Nella seconda classe invece, l'induzione enantioselettiva è data attraverso interazioni deboli del tipo van der Waals o legami ad idrogeno tra catalizzatore e substrato.

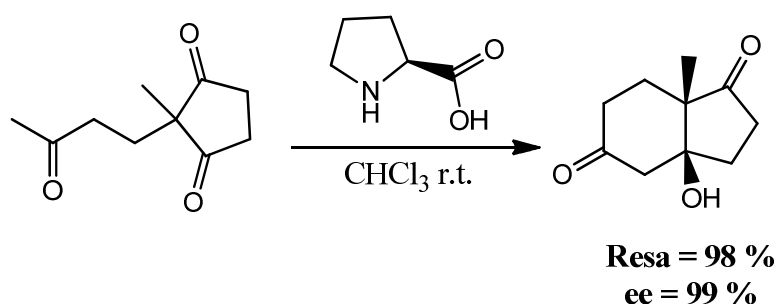
2. METODI DI ATTIVAZIONE

Di seguito saranno presentati i principali metodi di attivazione, per la maggior parte dei quali, intervengono interazioni di tipo covalente fra substrato e catalizzatore, mimando quelle che sono le trasformazioni mediate dagli acidi di Lewis, in cui l'intermedio reattivo a seconda dei casi può essere HOMO-attivato (Highest Occupied Molecular Orbital) oppure LUMO-attivato (Lowest Occupied Molecular Orbital)⁵.

2.1 Ammine secondarie: catalisi via enammina

Una delle prime reazioni aminocatalizzate enantioselettive è stata scoperta negli anni '70 da Hajos, Parrish, Eder, Sauer e Wiechert che utilizzarono un aminoacido naturale, la L-prolina per catalizzare una condensazione aldolica intramolecolare⁶ (Schema 2).

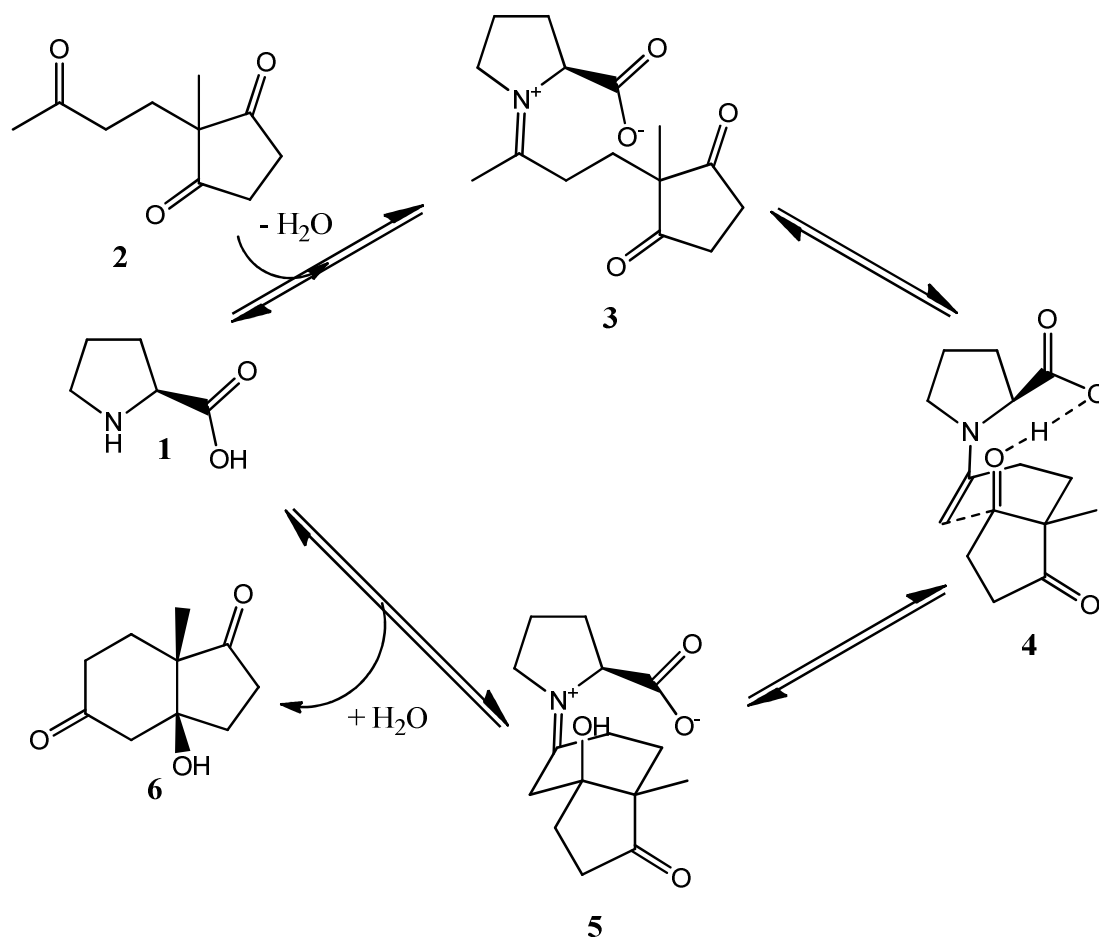
L'organocatalisi via enammina e ione imminio è strettamente legata ai composti carbonilici (in particolare α,β -insaturi) ed offre una valida alternativa ai tradizionali catalizzatori basati sugli acidi di Lewis.



Schema 2. Reazione di Hajos-Parrish-Eder-Sauer-Wiechert

Il ciclo catalitico (Schema 3) inizia con la condensazione di un chetone (o aldeide) **2** con la prolina **1**, formando uno ione imminio **3** in equilibrio con la forma enamminica **4**.

Poi l'elettrofilo reagisce con l'enammina **4** formando l'intermedio **5** (Attivazione HOMO-raising) che perdendo una molecola d'acqua forma il prodotto **6** liberando la prolina che ricomincia il ciclo.



Schema 3. Ciclo organo catalitico via enammina

Il meccanismo di reazione ipotizzato prevede che la prolina agisca come un catalizzatore bifunzionale (Figura 4) in grado cioè di formare simultaneamente, oltre all'enammina reattiva, un ponte a idrogeno con l'elettrofilo, garantendo una elevata rigidità strutturale che permette un'ottima discriminazione facciale.

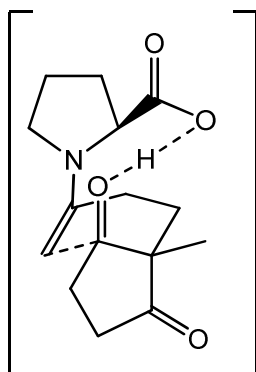


Figura 4. Interazione bi funzionale della prolina con un elettrofilo

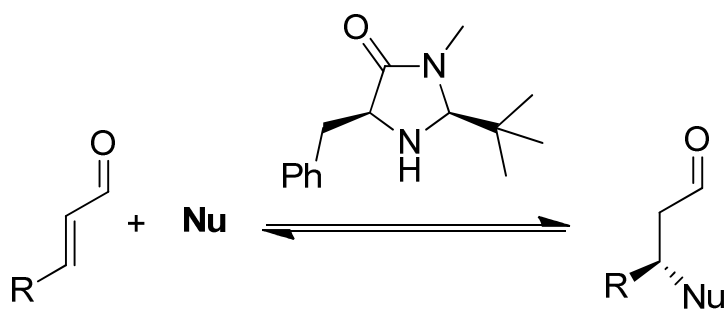
2.2 Ammine secondarie: catalisi via ione imminio

La prima reazione aminocatalizzata enantioselettiva via ione imminio è stata sviluppata da McMillan⁷ nel 2000 in seguito alla pubblicazione di List, Lerner e Barbas⁸.

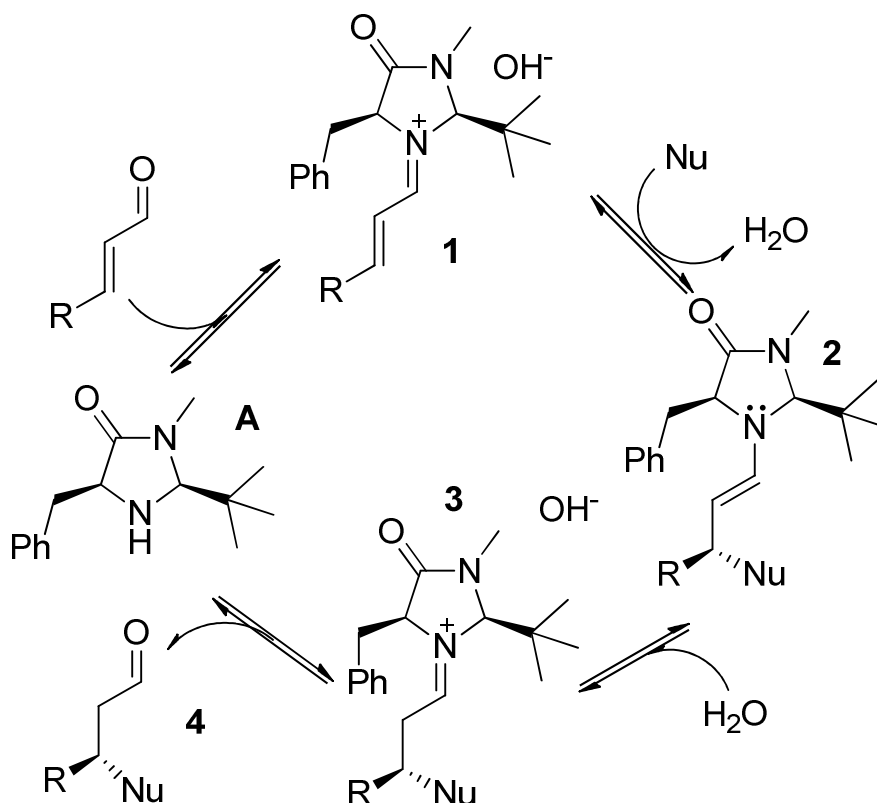
Consiste in una condensazione tra una ammina secondaria chirale (*imidazolidinoni* diversamente funzionalizzati) e un enale (α,β -insatura) formando l'intermedio ione imminio.

L'orbitale LUMO della specie imminio si abbassa in termini di energia (attivazione di tipo LUMO-lowering) interagendo con i composti carbonilici, sia attraverso reazioni pericicliche che addizioni coniugate.

Il meccanismo di reazione è simile a quello della catalisi via enammina. L'aldeide α,β -insatura condensa con il catalizzatore di McMillan **A** formando lo ione imminio **1**, reagisce successivamente con un nucleofilo che si attacca in posizione β formando l'enammina **2** che, infine, si converte nello ione imminio **3** formando per idrolisi il prodotto **4**, liberando nuovamente il catalizzatore **A** (Schema 4-5).

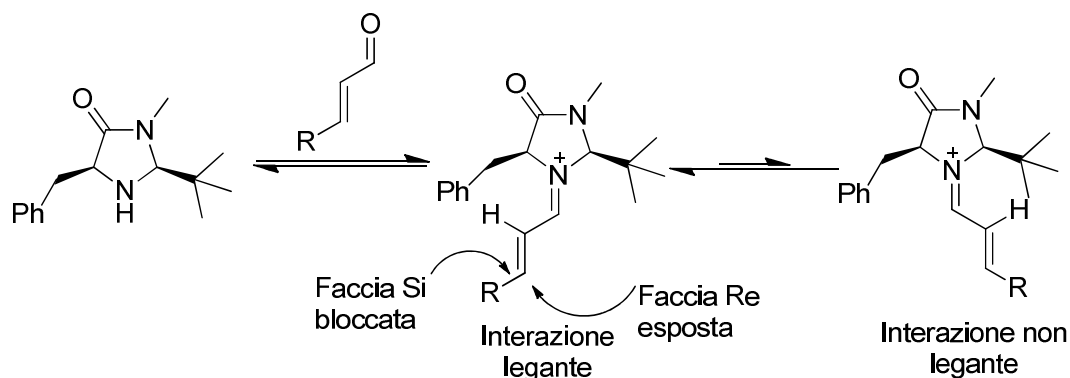


Schema 4. Schema generale della catalisi via ione imminio



Schema 5. Ciclo organo catalitico via ione imminio

Il controllo stereochimico è regolato sia dalla presenza dell'ingombro sterico (gruppo t-butilico), sia della configurazione del gruppo benzilico presente sull'anello del catalizzatore. L'ingombro sterico impedisce l'interazione legante con l'idrogeno, obbligando la struttura a disporsi in maniera ben precisa (Schema 6).



Schema 6. Controllo stereochimico dell'organocatalizzatore

Il gruppo benzilico scherma la faccia Si consentendo l'attacco del nucleofilo solo sotto il piano della molecola, la faccia Re.

Contrariamente, se viene utilizzato l'altro enantiomero del catalizzatore, il gruppo benzilico scherma la faccia opposta che in questo caso sarà quella *Si*, mentre la faccia *Re* sarà impossibilitata a subire l'attacco da parte del nucleofilo.

2.3 Base catalisi: alcaloidi della cinchona

Molti degli alcaloidi che sono stati testati in reazioni organocatalitiche non presentano una controparte naturale enantiomerica, solo alcuni di loro godono di questa caratteristica che li rende efficaci nella sintesi enantioselettiva.

I più studiati tra questi ultimi sono gli alcaloidi della cinchona⁹, disponibili e poco costosi, e presentano due forme pseudo-enantiomeriche come la chinina **1a** e la chinidina **2a** (Figura 5).

Si parla di pseudo-enantiomeri perché anche se i centri 8 e 9 della molecola (mostrati con la propria configurazione in Figura 5) sono fra di loro speculari, il carbonio dove è collocato il gruppo vinilico/etilico è differente: in altre parole, se la chinina e la chinidina non avessero il gruppo vinilico sarebbero enantiomeri.

Entrambe le forme di questo prodotto naturale e i loro derivati hanno dato risultati impressionanti in reazioni catalitiche enantioselettive. Un esempio sono le addizioni di aza-Michael tra chetoni α - β -insaturi e ammine primarie¹⁰.

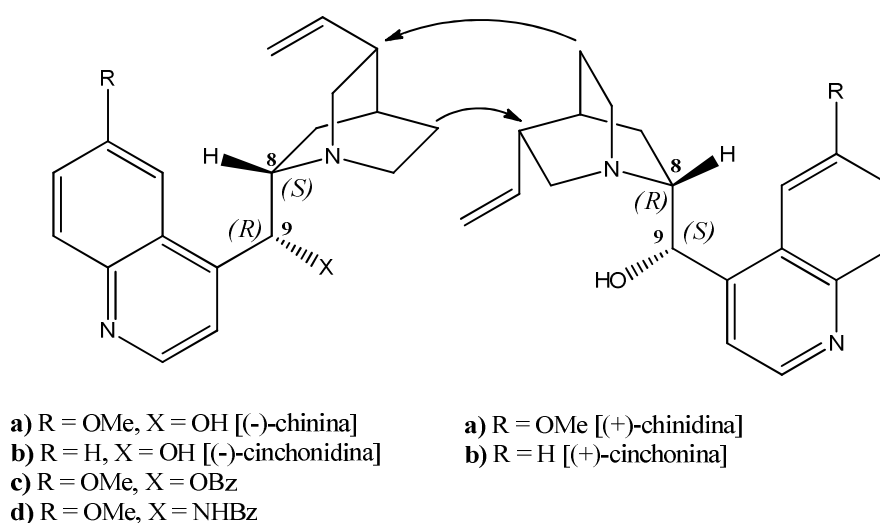
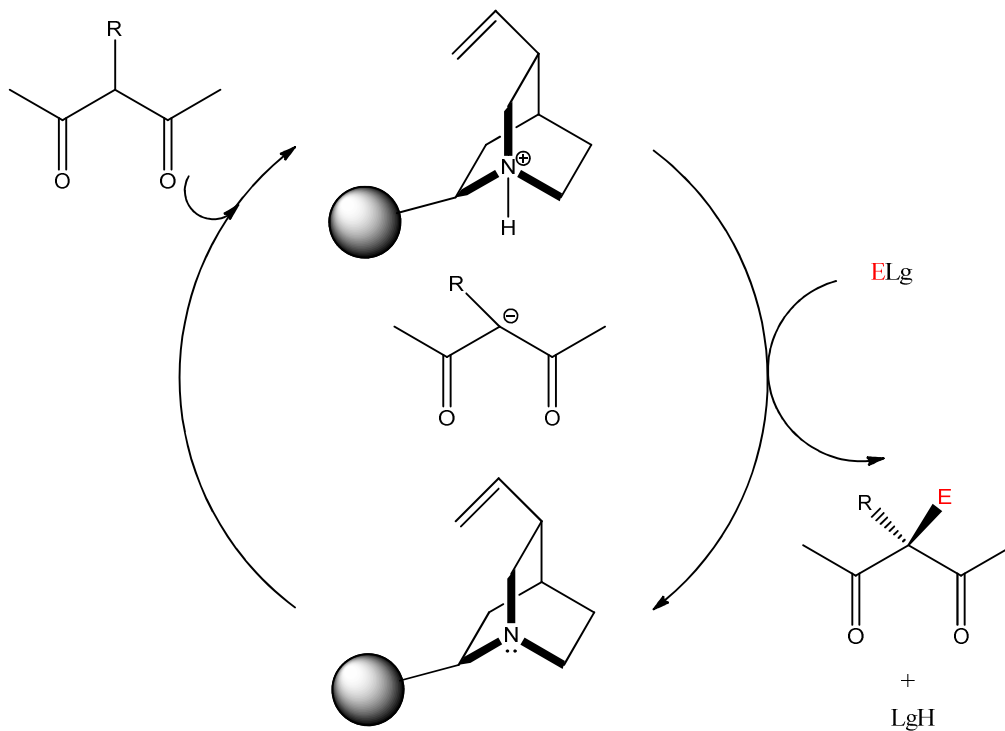


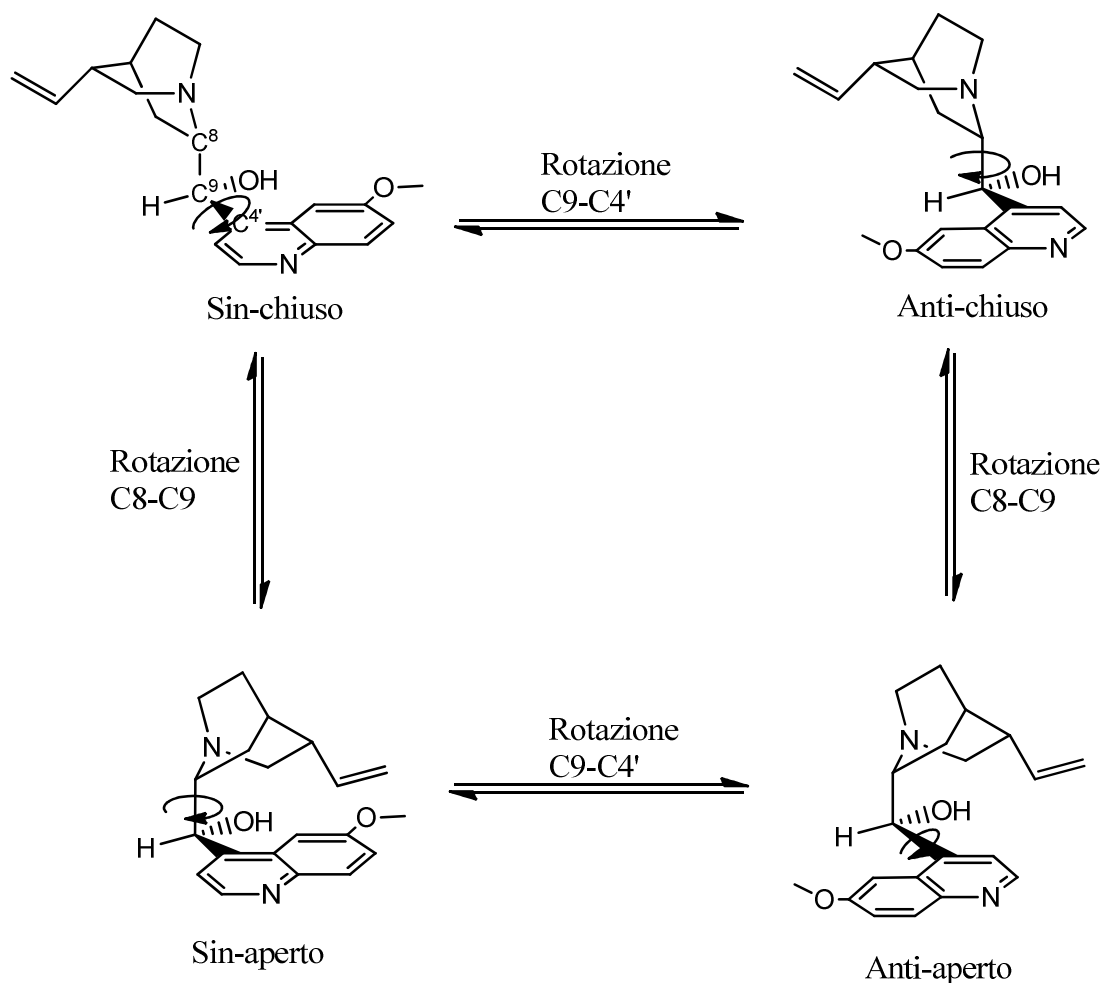
Figura 5. Forme enantiomeriche degli alcaloidi della cinchona

Il loro metodo di attivazione prevede una reazione acido-base, in cui il catalizzatore rappresenta la specie basica, mentre il substrato deve presentare protoni facilmente rimovibili per fungere da acido. La specie risultante è un carbanione in grado di attaccare le specie elettrofile (Schema 7).



Schema 7. Ciclo organo catalitico via base catalisi

A lungo sono state studiate le conformazioni che queste molecole possono assumere tramite la rotazione dei due legami che collegano l'anello chinolinico all'anello chinuclidinico. Nello schema **8** si possono vedere tutte le possibili conformazioni assunte da uno di questi alcaloidi, e in che modo si interconvertono l'una nell'altra.



Schema 8. Strutture conformazionali della chinidina

Dato che la conformazione spaziale adottata dal catalizzatore è di grande importanza nell'enantioselezione, sono stati fatti degli studi attraverso calcoli *ab-initio*, grazie ai quali si è dimostrato che la forma a più bassa energia è la anti- aperta in solventi apolari, mentre in solventi polari, i due isomeri sin-chiuso e anti-chiuso sono le conformazioni più stabili a causa della stabilizzazione dovuta al loro grande momento di dipolo¹¹.

Quindi al variare del solvente si avrà una diversa conformazione spaziale del catalizzatore: questo è molto importante in quanto influenza l'eccesso enantiomerico del prodotto in esame.

Questi catalizzatori sono anche detti bifunzionali perché hanno un gruppo idrossilico che può fungere da acido di Lewis e donatore di H^{12,13}, oltre al gruppo amminico terziario che funge da catalizzatore basico di Brønsted.

Nella Figura 6 sono mostrate due forme pseudo-enantiomeriche e le applicabilità delle varie funzionalità degli alcaloidi della cincona.

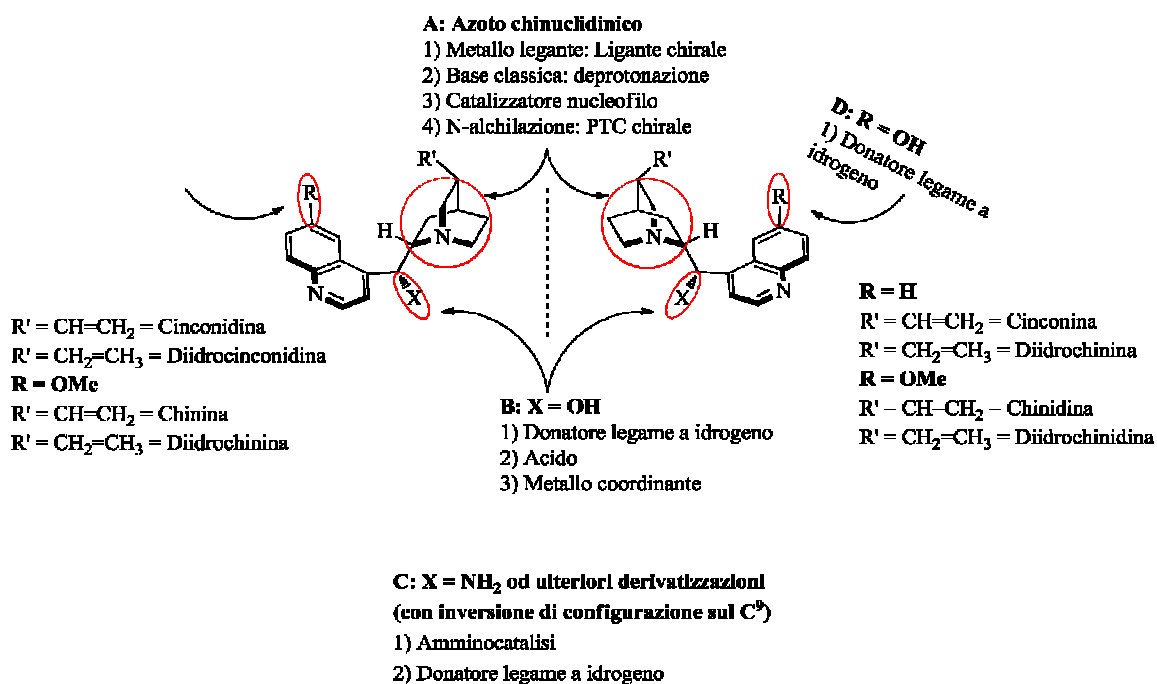
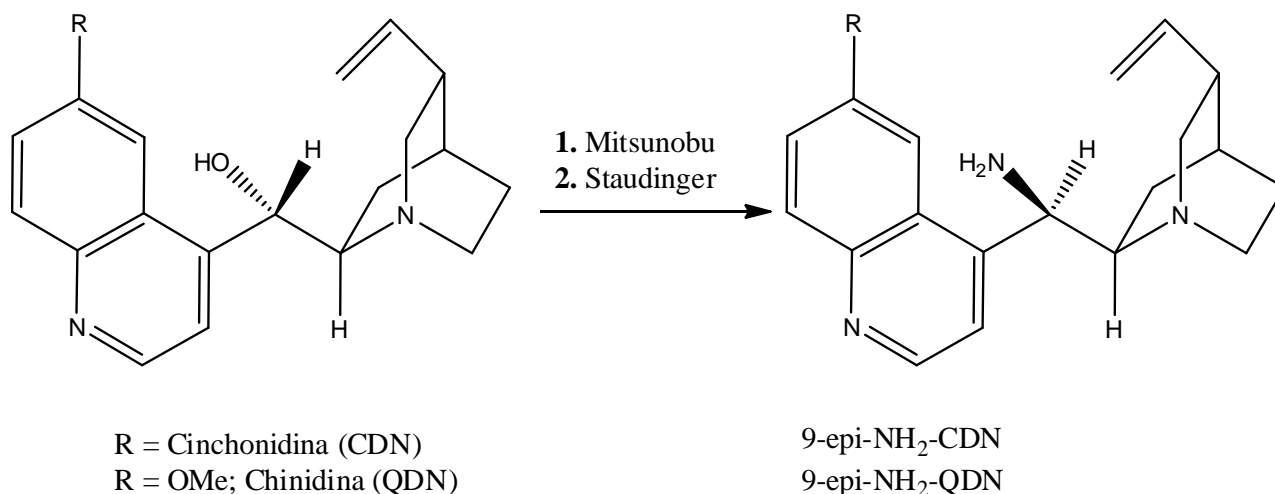


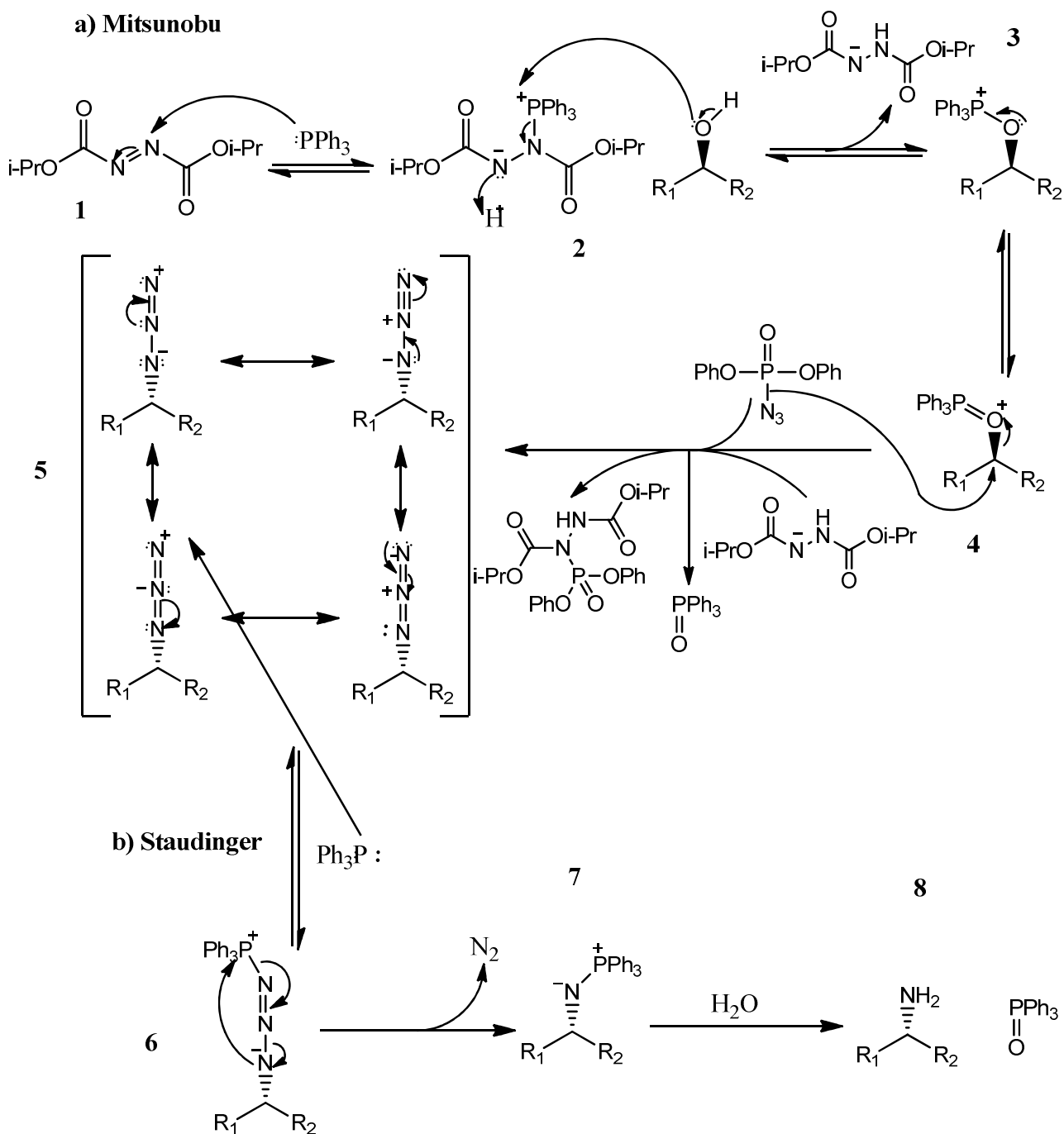
Figura 6. Siti attivi dei derivati della cinchona

Il maggiore impiego ed il largo successo di queste molecole è dovuto ad una loro semplice derivatizzazione. E' possibile infatti derivatizzare questi composti sostituendo il gruppo OH con un gruppo amminico utilizzando una procedura "one pot".

Questa procedura consiste nella reazione di Mitsunobu seguita da una reazione di Staudinger^{14,15} (Schema 9-10).



Schema 9. Reazione di Mitsunobu seguita dalla reazione di Staudinger



Schema 10. Meccanismo Mitsunobu/Staudinger con inversione di configurazione sul C⁹

Il suffisso 9-epi indica che la chinidina, ad esempio, dopo la reazione di Mitsunobu sull'ossidrilie in posizione 9, inverte la sua configurazione assoluta fornendo l'epimero corrispondente (si ricorda che gli epimeri sono diastereoisomeri che differiscono solo per la configurazione di un centro chirale).

Questi nuovi catalizzatori, ottenuti a partire da prodotti naturali enantiopuri, sono usati nello stesso tipo di reazioni catalizzate dalla prolina; ma, a differenza di quest'ultima, hanno il grande vantaggio di riuscire ad attivare facilmente substrati più ingombrati. Questo, insieme alla loro particolare struttura che li rende spesso altamente enantioselettivi, ne ha determinato un forte sviluppo ed un uso massiccio in aminocatalisi asimmetrica anche perché riescono a seguire sia il meccanismo di catalisi attraverso ione imminio sia quello attraverso enammina.

Esistono molti altri tipi di derivatizzazione, come ad esempio la formazione di dimeri legati tra loro attraverso specifici leganti (Figura 7).

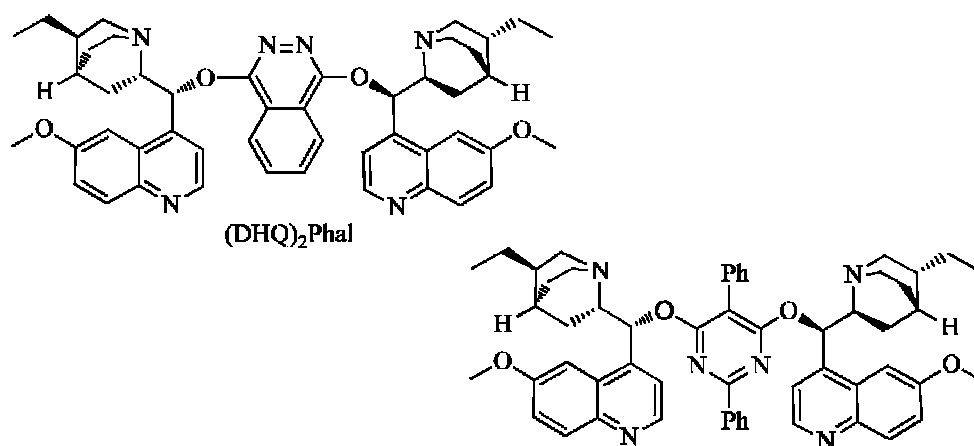


Figura 7. Dimeri dell' idrochinina

Un'altra derivatizzazione è data dalla formazione del sale quaternizzando l'azoto chinuclidinico (azoto terziario). Quest'ultimo si è dimostrato un ottimo catalizzatore (Figura 8) per la catalisi a trasferimento di fase (PTC: Phase Transfer Catalysis).

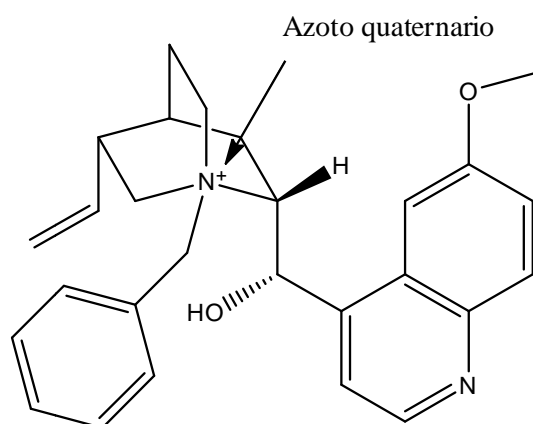
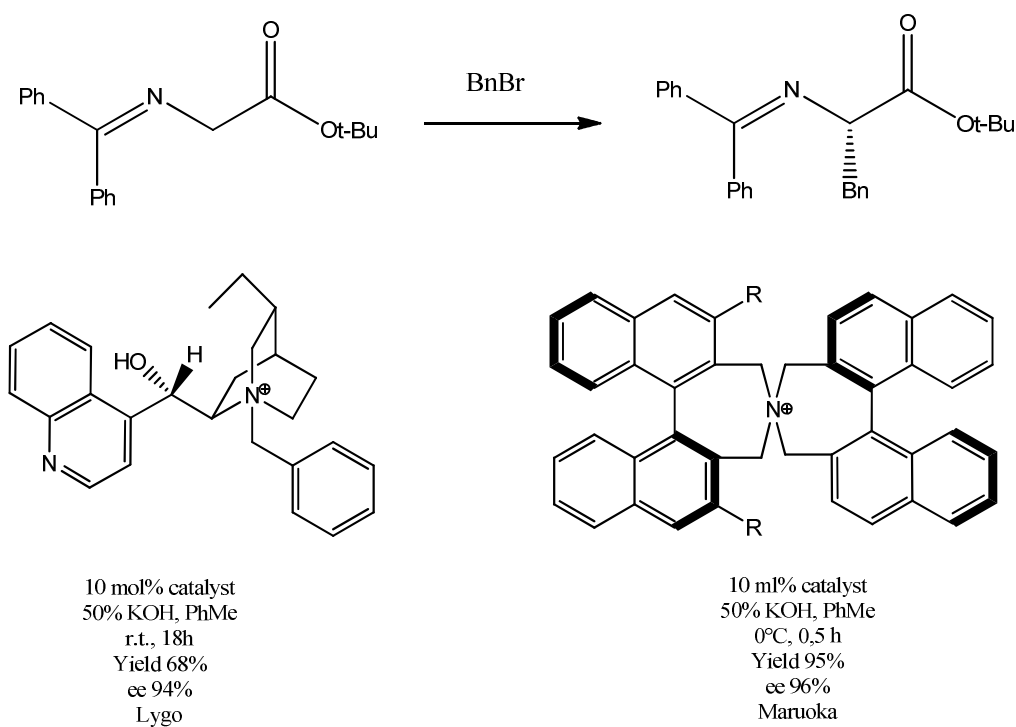


Figura 8. Catalizzatore a trasferimento di fase derivato dalla chinidina

2.4 Catalisi a trasferimento di fase (PTC)

L'uso di catalizzatori chirali a trasferimento¹⁶ di fase ha avuto un impatto importante sulla sintesi organica nel corso degli anni, in particolare per la sintesi di derivati di amminoacidi tramite reazioni di alchilazione asimmetrica.

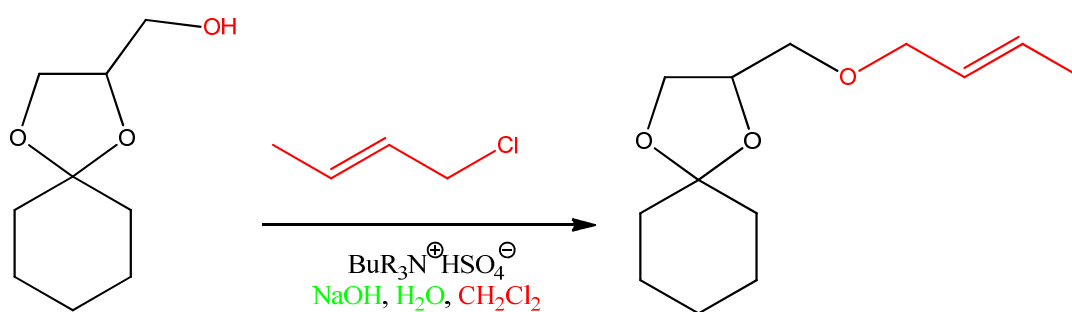


Schema 11. Reazione con catalisi a trasferimento di fase

L'esempio riportato nello schema **11** è interessante perché spiega bene il meccanismo di reazione.

Il materiale di partenza contiene un acetale con gruppo alcolico primario. Gli acetali sono facilmente idrolizzabili in ambiente acido per questo le condizioni devono essere tenute rigorosamente alcaline. Per fare ciò si utilizza idrossido di sodio ma è insolubile in solventi organici.

Per questo si utilizza un sistema bifasico di acqua e diclorometano. Le molecole organiche sono nella fase organica e l'idrossido di sodio è nella fase acquosa. Il sale di ammonio ha un gruppo polare (N^+) e catene laterali di idrocarburi. Le coppie ioniche $BuR_3N^+ HO^-$, sebbene dotate di carica, sono solubili nella fase organica, in questo modo il sale di ammonio permette ad una bassa concentrazione di ioni idrossido di passare nella fase organica dove agiscono come catalizzatore basico per la reazione.



Schema 12. Esempio reazione PTC

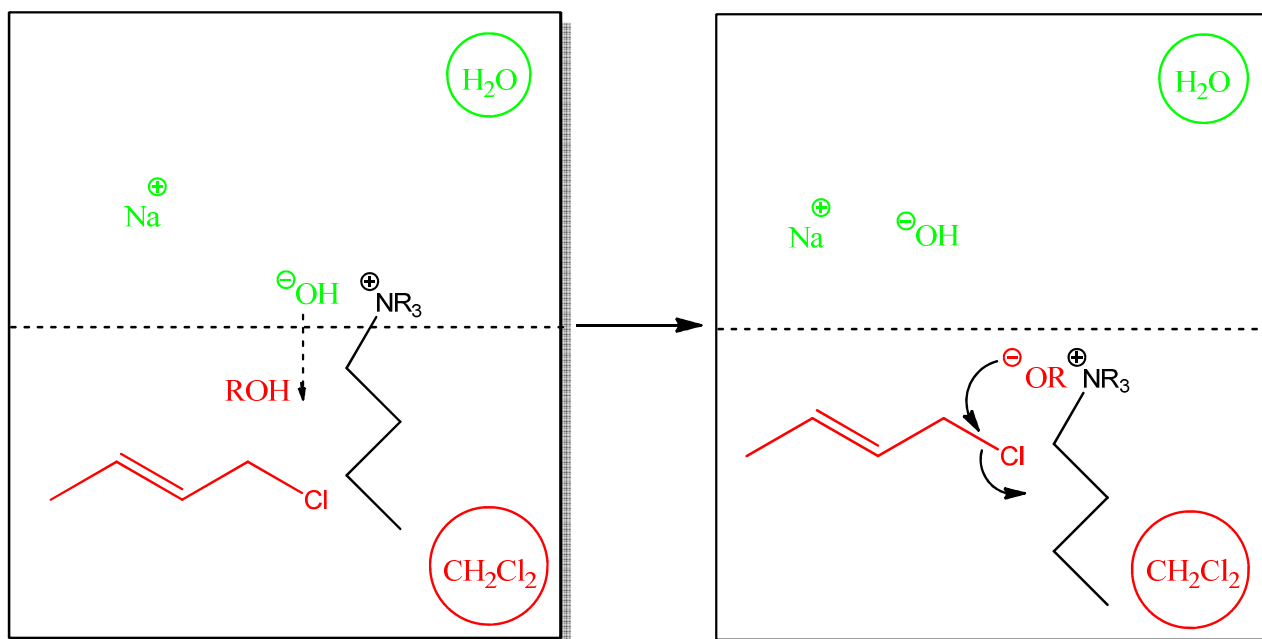


Figura 9. Meccanismo di reazione tra le due fasi

Questo metodo è chiamato catalisi a trasferimento di fase, perché il sale di ammonio agisce come agente di trasferimento di fase, permettendo agli ioni di passare nella fase organica. Il prodotto etero è, ovviamente, solubile nella fase organica e questo rende il work – up della reazione molto più semplice separando i reagenti e i sottoprodotti inorganici presenti nella fase acquosa dal prodotto presente nella fase organica¹⁷.

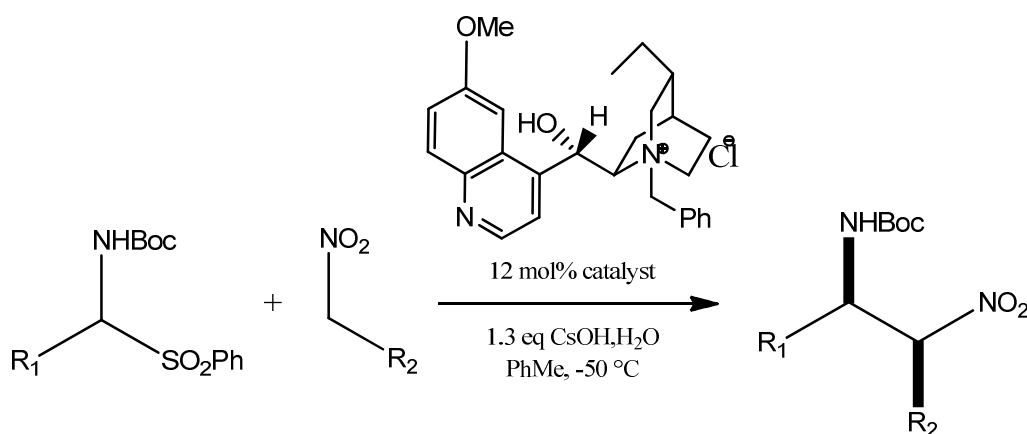
Recentemente la gamma di reazioni che può essere catalizzata da molecole a trasferimento di fase è aumentata significativamente. Per esempio epossidazione asimmetrica di enoni mediante il catalizzatore Marouka¹⁸, i nitroalcani utilizzati anche come nucleofili in reazioni di addizione coniugate¹⁹.

Questi catalizzatori sono molto versatili ed enantioselettivi.

La gamma di reazioni che possono essere raggiunte da questa catalisi sta aumentando costantemente essendo un metodo conveniente per preparare molecole chirali.

Jørgensen ha riportato un processo sull' α -arilazione di un chetone basato sull' addizione di enolati stabilizzati a sistemi aromatici attivati tramite un meccanismo S_NAr che genera centri quaternari in ottimi eccessi enantiomerici²⁰.

Di particolare interesse, nel campo delle nuove reazioni PTC, è il processo Aza - Henry riportato da Palomo e collaboratori, che hanno messo a punto un processo efficiente che mostra una notevole concentrazione di substrato per questa trasformazione e ottimi risultati con gli equivalenti imminici recanti gruppi arilici, alchilici, ramificati e coniugati²¹ (Schema 13).



Schema 13. Reazione PTC utilizzando un sale d'ammonio dell'idrochinidina

2.5 Catalisi H-bonding: derivati chirali della tiourea

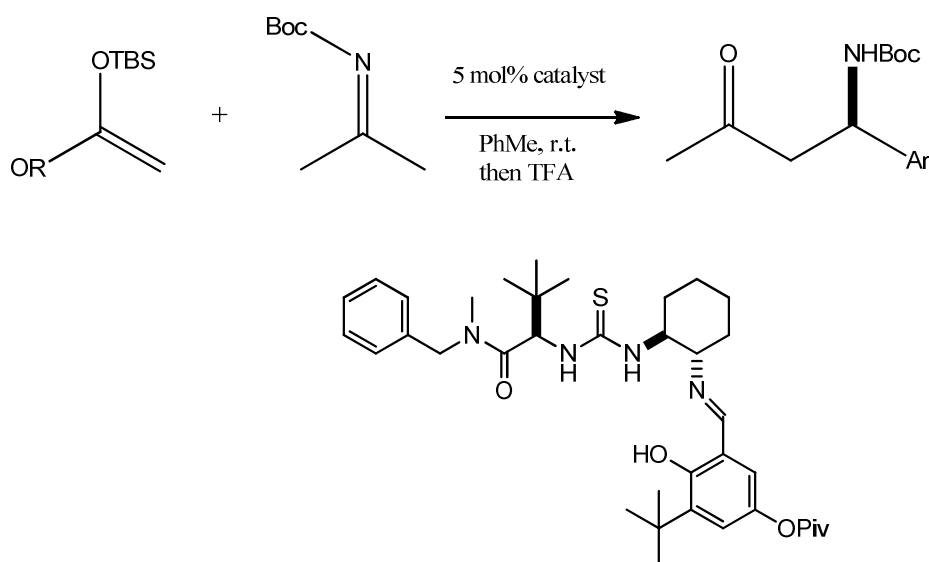
Sebbene la catalisi H-bonding sia nota da tempo, solo negli ultimi anni, come conseguenza del rapido sviluppo dell'organocatalisi, ha ricevuto molta più di attenzione²².

Analogamente a quanto succede con la catalisi promossa da acidi di Lewis, la catalisi via H-bonding agisce direttamente attivando una specie elettrofisica presente nell'ambiente di reazione.

Per esempio, attraverso un legame a idrogeno che interagisce direttamente con il doppietto elettronico presente sull'ossigeno carbonilico, è possibile attivare un'aldeide o un chetone affinché possa subire attacco da parte di una specie nucleofila. Nel caso in cui la specie donatrice di legami a idrogeno, responsabile dell'attivazione del gruppo carbonilico, sia chirale, è possibile realizzare trasformazioni stereoselettive.

Questo tipo di interazione è stato spesso considerato troppo debole per poter agire efficacemente come metodo di attivazione, fu utilizzato da Jacobsen nel 2002 quando realizzò la variante della reazione di Strecker²³ asimmetrica in cui veniva utilizzato un catalizzatore a base di tiourea, che attivava mediante un legame a idrogeno un'immina (Schema 14).

Successivamente fu dimostrato dallo stesso Jacobsen, che i derivati della tiourea possono essere utilizzati anche per altre reazioni come l'idrofosforilazione²⁴, la nitro-Mannich²⁵ e la Mannich²⁶, ottenendo alte rese ed eccellenti eccessi enantiomerici.



Schema 14. Reazione di Strecker

Questo tipo di catalisi può essere anche esteso per esempio a chetoni o ammidi (l'attacco su queste ultime avviene in posizione coniugata), le quali per interazione a idrogeno con il

catalizzatore creano una specie elettrofila facilmente attaccabile da nucleofili (attivazione LUMO, Figura 10).

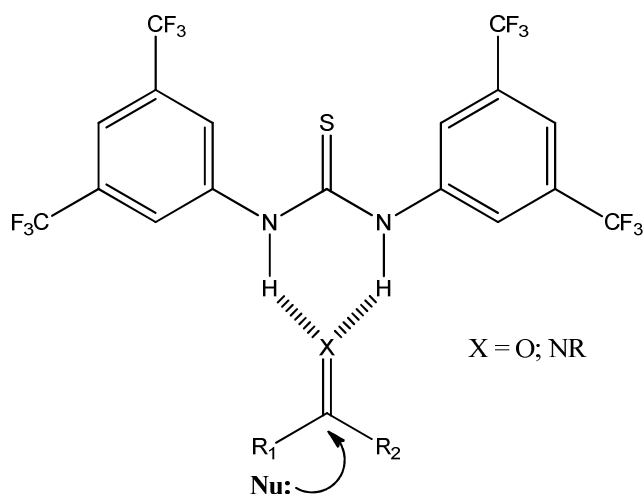


Figura 10. Intermedio reattivo (attivazione LUMO) nella catalisi H-bonding

Ovviamente le tiouree chirali, non sono l'unico esempio di organo catalizzatori in grado di catalizzare efficacemente svariate trasformazioni asimmetriche organiche, esistono infatti altri composti altrettanto utilizzati, in grado di svolgere lo stesso ruolo con pari efficienza. Tipici esempi sono i derivati del Binol, derivati squaramidici, e derivati di acidi fosforici chirali (Figura 11).

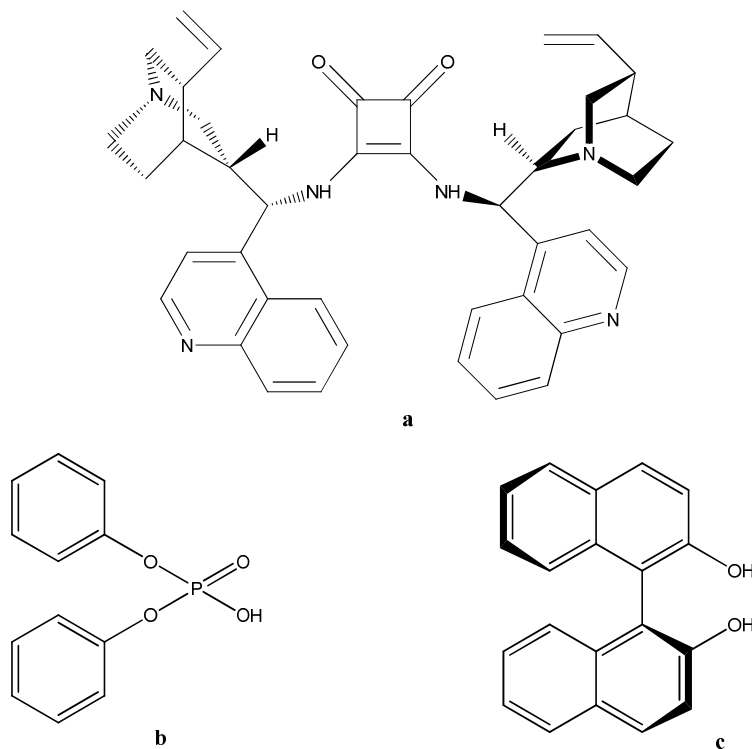


Figura 11. a) Bis-CD-SQA; b) Difenil idrogeno fosfato; c) (S)-BINOL

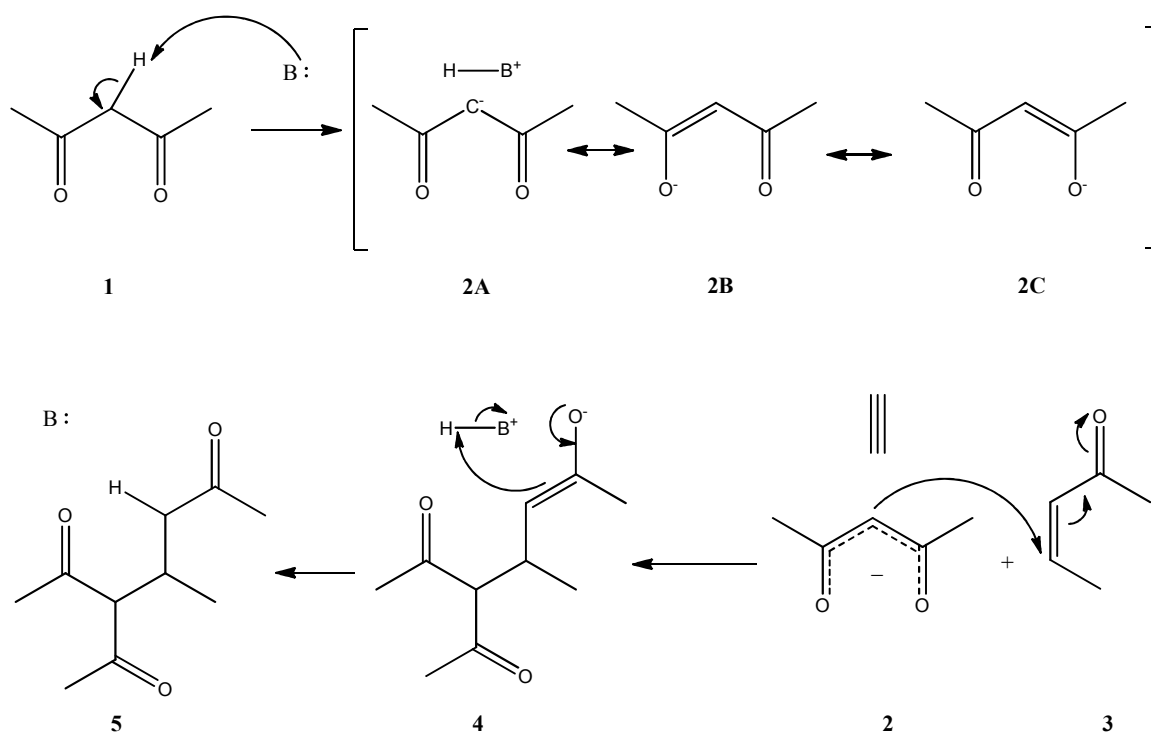
3. REAZIONE DI ADDIZIONE CONIUGATA DI MICHAEL

L'addizione di Michael coniugata di un atomo di azoto (aza-Michael) è un'importante processo di sintesi organica, poiché fornisce composti contenenti un atomo di azoto che spesso rivestono ruoli importanti sia come composti biologicamente attivi, come β -amminoacidi o β -lattami ad esempio, sia come importanti intermedi nella sintesi *multi-step*. Negli ultimi dieci anni l'organocatalisi è emersa come un potente strumento di sintesi asimmetrica e ha avuto un grande impatto sullo sviluppo di addizioni coniugate asimmetriche e catalitiche di nucleofili azotati ad accettori di Michael.

Questo tipo di processo è stato sviluppato negli anni '80 del XIX secolo da Hantzsch, Komnenos, Crismer, Claisen²⁷ e poi pubblicato da Michael²⁸ nel 1887, da qui prende il nome di addizione di Michael: è una delle reazioni più importanti e meglio studiate in chimica organica.

La reazione, come originariamente definita dallo stesso Michael²⁹, consiste nell'addizione nucleofila di anioni enolato di un derivato metilenico (di un chetone o di un'aldeide) a composti carbonilici α - β insaturi, e precisamente al carbonio β . L'attivazione del nucleofilo avviene ad opera di una base.

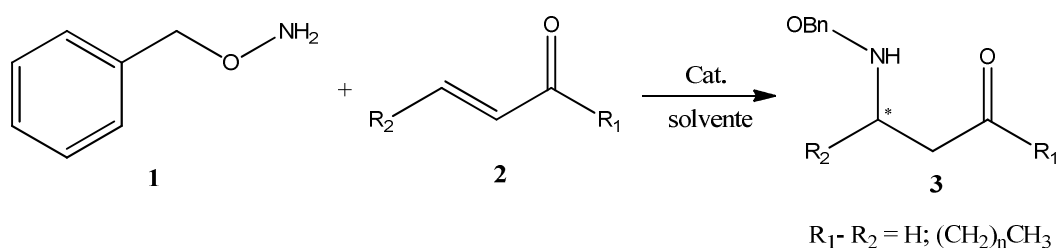
In generale il meccanismo di un'addizione di Michael (Schema 15) parte con la deprotonazione di **1** da parte della base che porta alla formazione di un carboanione **2** stabilizzato per risonanza (**2A** e **2B-C**). Il nucleofilo quindi si addiziona al composto carbonilico α - β insaturo **3**, formando l'intermedio **4**. La base protonata cede quindi il protone all'intermedio dando il prodotto finale **5**.



Schema 15. Meccanismo di reazione dell'addizione coniugata aza-Michael

La reazione enantioselettiva di aza-Michael, è basata sulla formazione di legami C-N. La versione enantioselettiva di quest'ultima reazione, può essere realizzata attraverso l'utilizzo di ausiliari chirali, materie prime chirali, come ad esempio gli alcaloidi della cinchona, o quantità stechiometriche di ligandi chirali su metalli ed hanno portato allo sviluppo di procedure efficienti con elevate induzioni asimmetriche³⁰.

Il primo esempio di addizione di aza-Michael è stata pubblicata da Jørgensen nel 1996³¹ (Schema 16), e per questo tipo di reazioni sono stati sviluppati un certo numero di sistemi di catalizzatori chirali³²(Figura 12).



Schema 16. Esempio di addizione aza-Michael pubblicata da Jørgensen nel 1996

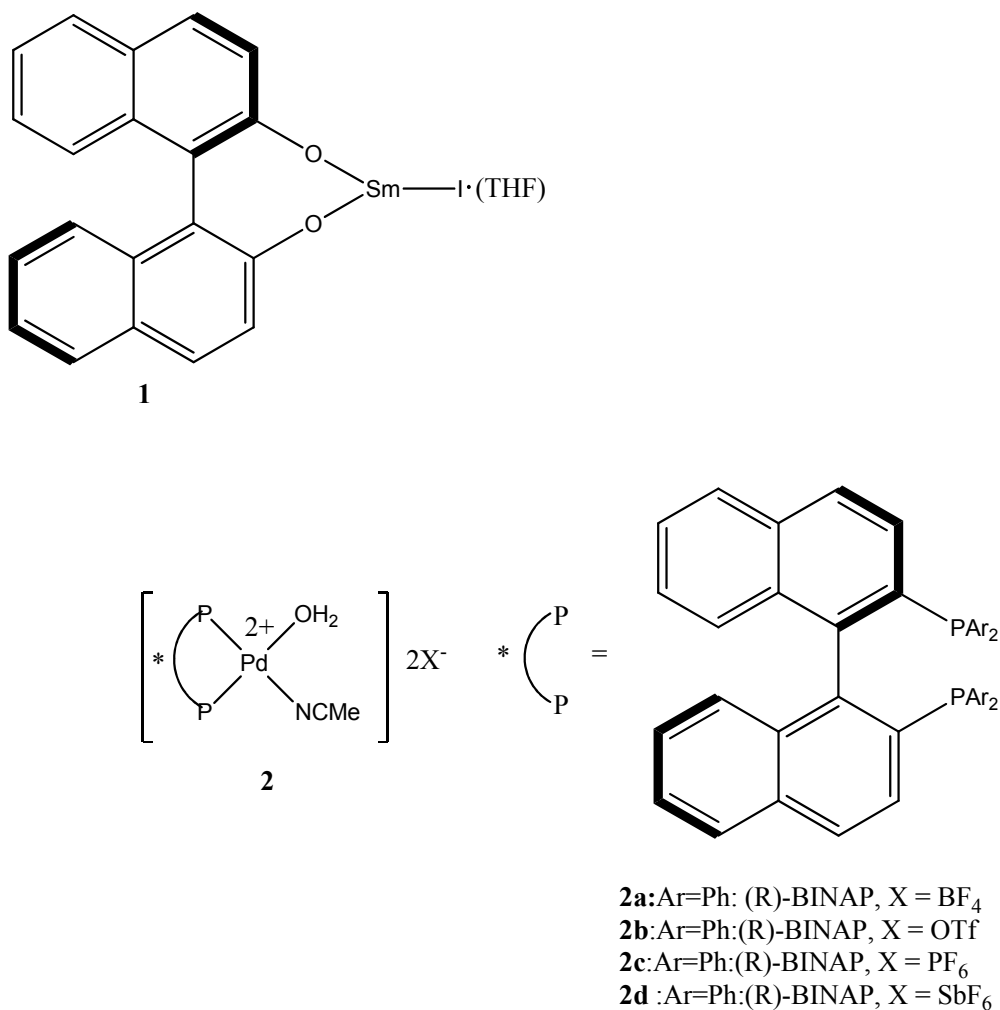
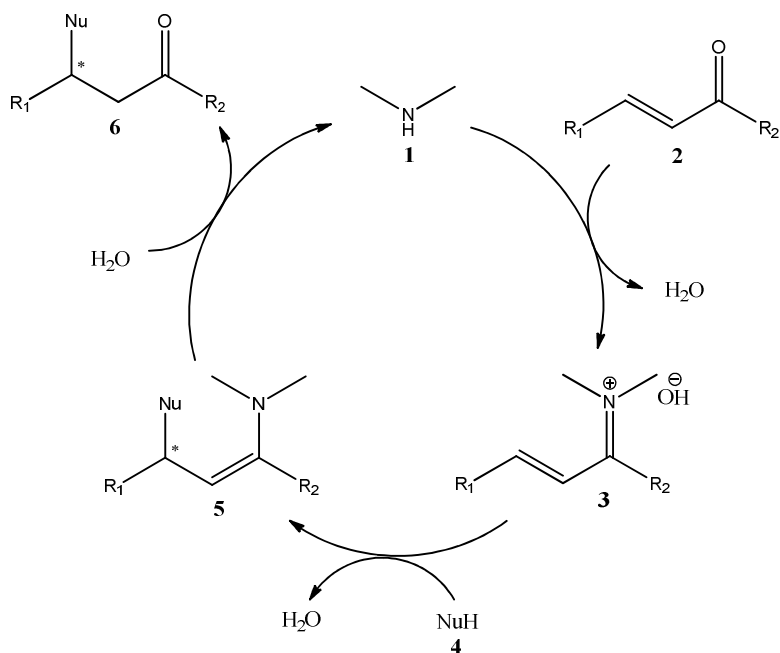


Figura 12. Esempi catalizzatori chirali

3.1 Addizione di aza-Michael intermolecolare

Da quando MacMillan ha formalizzato il concetto di LUMO-lowering riportando l'attivazione via ione imminio di aldeidi α,β -insature da parte di ammine secondarie chirali³³, l'addizione coniugata asimmetrica che segue questo tipo di attivazione è stata studiata approfonditamente, infatti sono stati pubblicati numerosi nuovi protocolli.

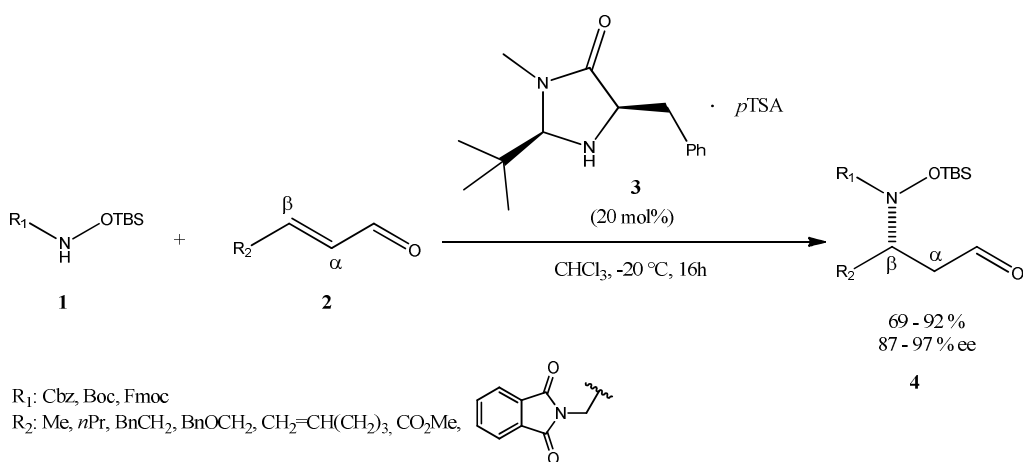
In questo processo, aldeidi e chetoni **2** sono attivati dal catalizzatore **1** mediante formazione di uno ione imminio **3**, che subisce l'attacco di un nucleofilo **4** sull'atomo di carbonio in β al gruppo carbonilico e genera un nuovo ione imminio **5** che, a seguito di idrolisi, fornisce il prodotto di addizione **6** e rilascia il catalizzatore **1** per il successivo ciclo catalitico (Schema 17).



Schema 17. Ciclo catalitico aza-michael via ione imminio

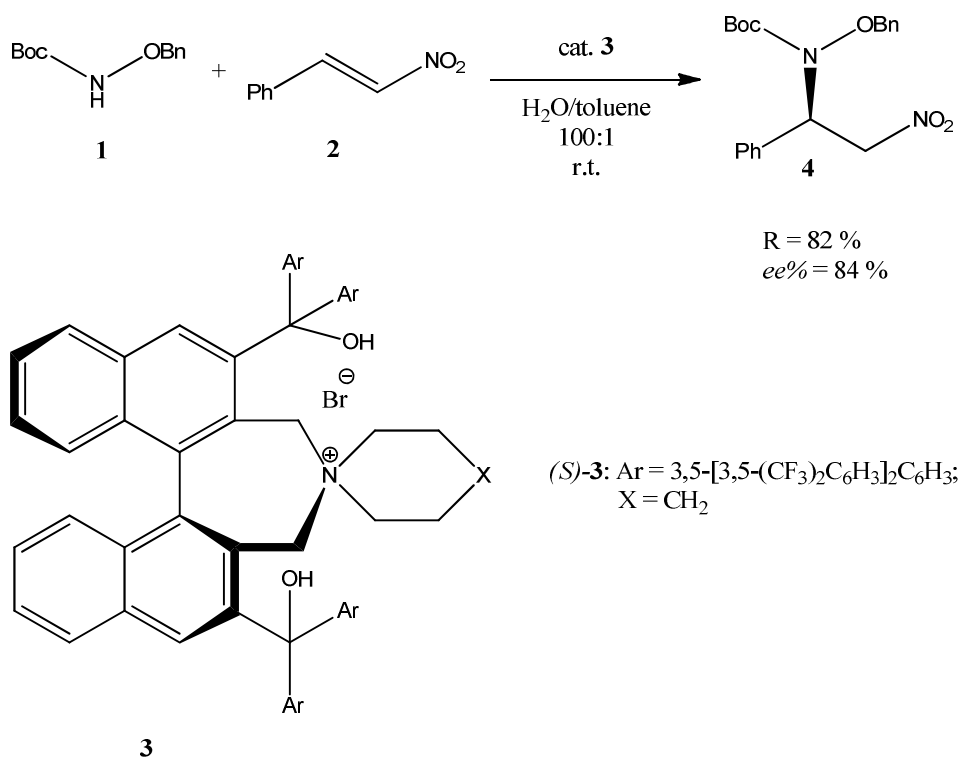
La prima aza-Michael asimmetrica intermolecolare, catalizzata da ammine secondarie, è stata realizzata nel 2006 dallo stesso MacMillan³⁴.

In questo lavoro la specie nucleofila azotata era rappresentata dagli N-silil-ossicarbammati **1** composti altamente nucleofili. La parte non basica del carbammato (gruppo N-H) consente la perdita permanente del protone dopo l'addizione 1,4, e quindi viene evitata la reazione inversa. Questo processo inizia con l'attivazione dell'aldeide **2** da parte dell'imidazolidinone **3** attraverso la formazione di uno ione imminio intermedio al quale si aggiunge enantioselettivamente l'N-sililossicarbammato (Schema 18).



Schema 18. Addizione di aza-Michael catalizzata da imidazolidinone enantiopuro

Un altro esempio, su cui ci siamo basati per sviluppare questa tesi, tratta l'addizione di O-benzilidrossilammina-N-Boc a nitrostirene utilizzando un catalizzatore a trasferimento di fase (sale d'ammonio di un derivato del binaftil) riuscendo ad ottenere delle buone rese ed elevati ee³⁵ (Schema 19).

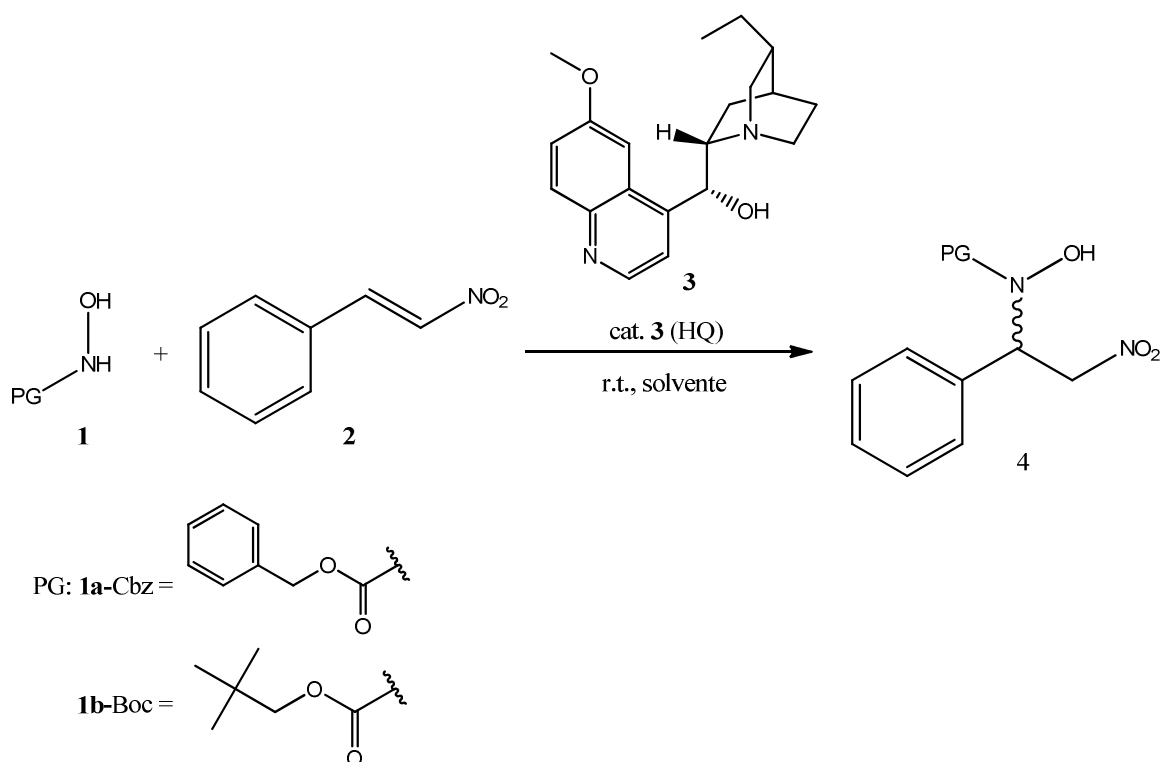


Schema 19. Reazione PTC tra nitrostirene e O-benzilidrossilammina-N-Boc

4. OBIETTIVI

Le ammine chirali sono presenti in numerose molecole biologicamente attive e terapeuticamente importanti. Esse costituiscono una delle più importanti classi di building blocks in sintesi organica. Di conseguenza, sviluppare metodologie sintetiche che portino alla formazione di tali composti in maniera rapida ed economica è, al giorno d'oggi, particolarmente importante³⁶.

Nell'ambito delle reazioni di aza-Michael, fin ora riportate, è evidente come la specie azotata utilizzata sia un derivato sintetico di idrossilammine N-protette. Abbiamo voluto quindi investigare la possibilità di realizzare un processo enantioselettivo di addizione di nucleofili azotati a partire da composti commercialmente disponibili, senza dover quindi derivatizzare la specie nucleofila, affinché potesse reagire con la specie elettrofila. Di conseguenza, in questo progetto di tesi è stata studiata la reattività di idrossilammine N-protette aventi la funzionalità ossidrilica libera come specie nucleofila in reazioni di addizione coniugate di aza-Michael al trans-β-nitrostirene, utilizzando come catalizzatori derivati degli alcaloidi della cinchona (Schema 20).



Schema 20. Reazione generale tra idrossilammine protette e nitrostirene

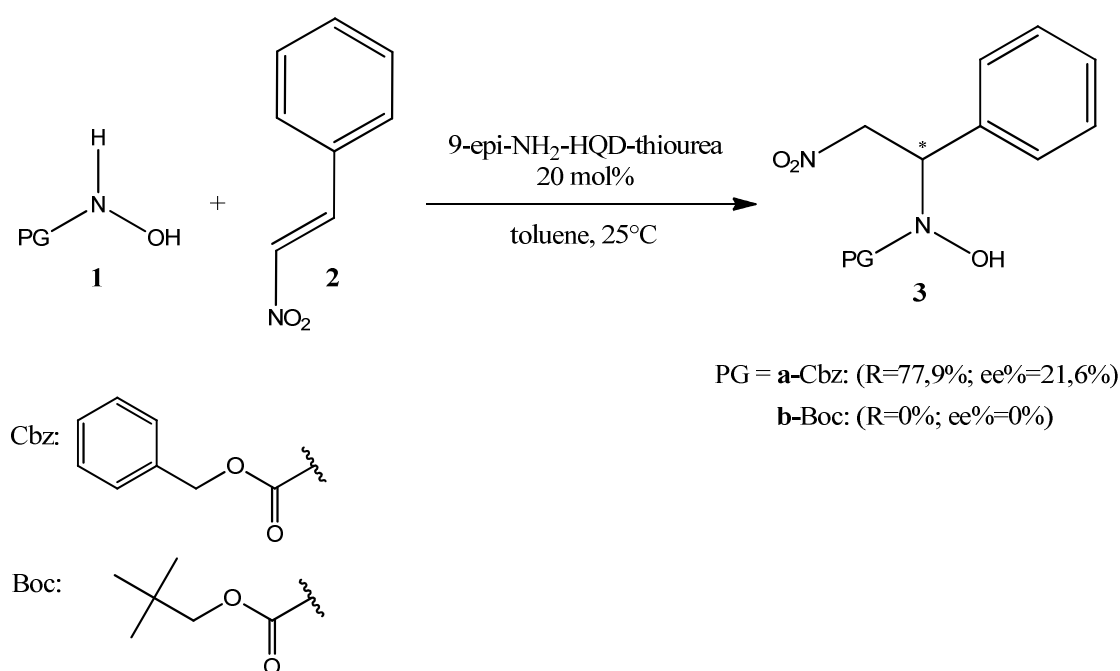
In via preliminare si cercherà di comprendere la reattività del sistema catalitico impiegato, facendo particolarmente attenzione alle interazioni che si generano con il nucleofilo e l'elettrofilo, per poi

comprendere al meglio quale meccanismo guidi l'addizione dell'idrossilammina al trans- β -nitrostirene .

Si procederà attraverso lo screening della specie catalitica e del solvente al fine di trovare le migliori condizioni di reazione per ottenere una buona resa ed una buona enantioselezione.

5. RISULTATI E DISCUSSIONE

All'inizio del progetto si è esplorata la reattività dei due diversi nucleofili tra quelli descritti precedentemente e disponibili in commercio. Utilizzando condizioni di reazione del tutto standard, cioè condizioni che generalmente vengono utilizzate per comprendere la fattibilità di una data reazione (Schema 21), abbiamo osservato che la reazione di aza-Michael sul trans- β -nitrostirene **2** risultava essere efficace solo quando veniva impiegato come nucleofilo l'idrossilammina protetta con il Cbz **1a** (R=77,9%). Quella con il Boc **1b** come gruppo protettore, al contrario, non forniva alcuna traccia del prodotto desiderato **3**.



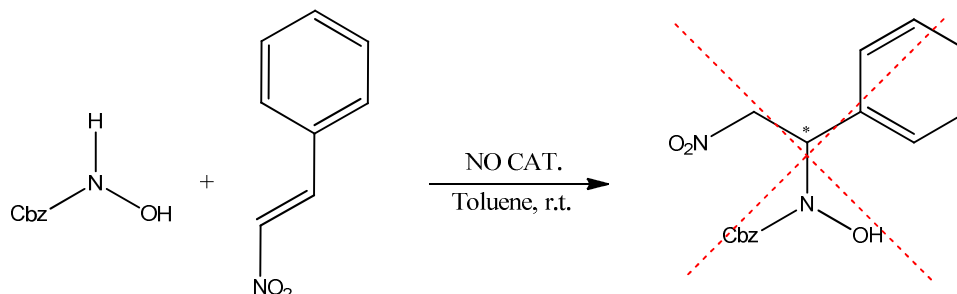
Schema 21. Addizione di aza-Michael tra idrossilammina protetta e nitrostirene

Una volta osservato che l'idrossilammina **1a** è risultata essere molto reattiva, abbiamo voluto verificare che la reazione fosse effettivamente base catalizzata e che non vi fossero cosiddette reazioni di background, vale a dire reazioni che avvengono anche in assenza del catalizzatore (Schema 22).

Questo aspetto è particolarmente fondamentale quando si vuole realizzare un processo catalitico ed enantioselettivo. Infatti l'eventuale presenza di prodotto anche in assenza del catalizzatore, porterebbe alla formazione del composto desiderato in forma racema.

Dopo tre giorni di reazione, dalla TLC si è notata una leggerissima traccia del prodotto di addizione **3** e una volta analizzata la miscela di reazione via ¹H-NMR abbiamo potuto osservare che la

conversione in **3** era inferiore al 5 %, il che indica come la reazione presenti un leggerissimo background tale però da non influenzare la stereo selezione del processo quando si impiega un catalizzatore chirale.



Schema 22. Reazione di prova senza catalizzatore

Infatti utilizzando l'HQ al 20 mol% come catalizzatore, la reazione va quasi a completamento dopo 72 ore. La conversione determinata via NMR è stata maggiore del 99 % e ciò è stato anche qualitativamente evidenziato dalla TLC del grezzo di reazione.

Utilizzando una miscela eluente composta dall'80 % di esano e il 20 % di etil acetato si è osservato come la macchia corrispondente al trans-β-nitrostirene ($R_f = 0,75$) fosse quasi del tutto assente (così come quella dell'idrossilammina ($R_f = 0,07$)), mentre quella relativa al prodotto **3** ($R_f = 0,32$) fosse l'unica ad essere particolarmente evidente (Figura 13).

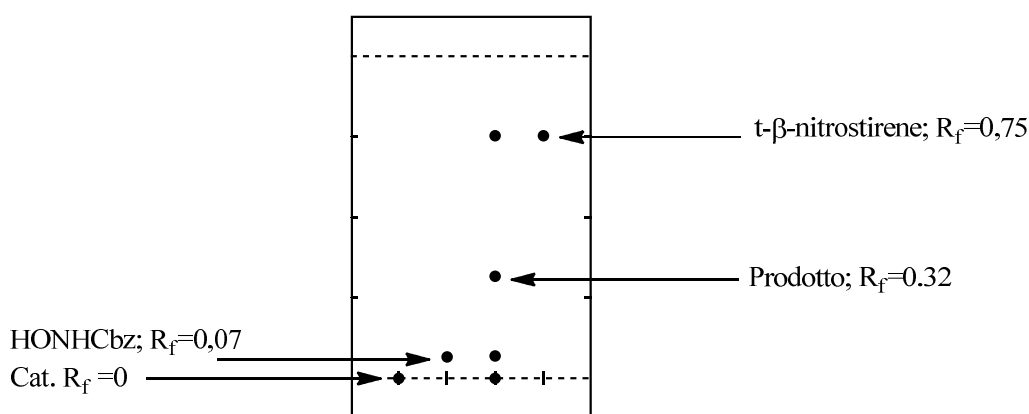


Figura 13. TLC del grezzo di reazione

Inoltre l'analisi HPLC con colonna chirale, ha permesso di determinare un ee del 8,9 %.

5.1 Studio NMR del prodotto

Il prodotto che si è cercato di sintetizzare è il *benzil idrossi(2-nitro-1-feniletil)carbammato* e per confermarlo sono stati svolti vari studi NMR.

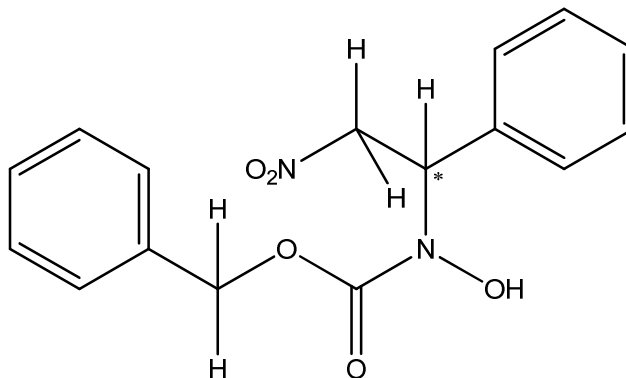


Figura 14. *idrossi(2-nitro-1-feniletil)carbammato*

Per prima cosa è stato fatto un'analisi $^1\text{H-NMR}$ e $^{13}\text{C-NMR}$ per cercare di capire se tornano in numero i protoni e i carboni.

1) $^1\text{H-NMR}$

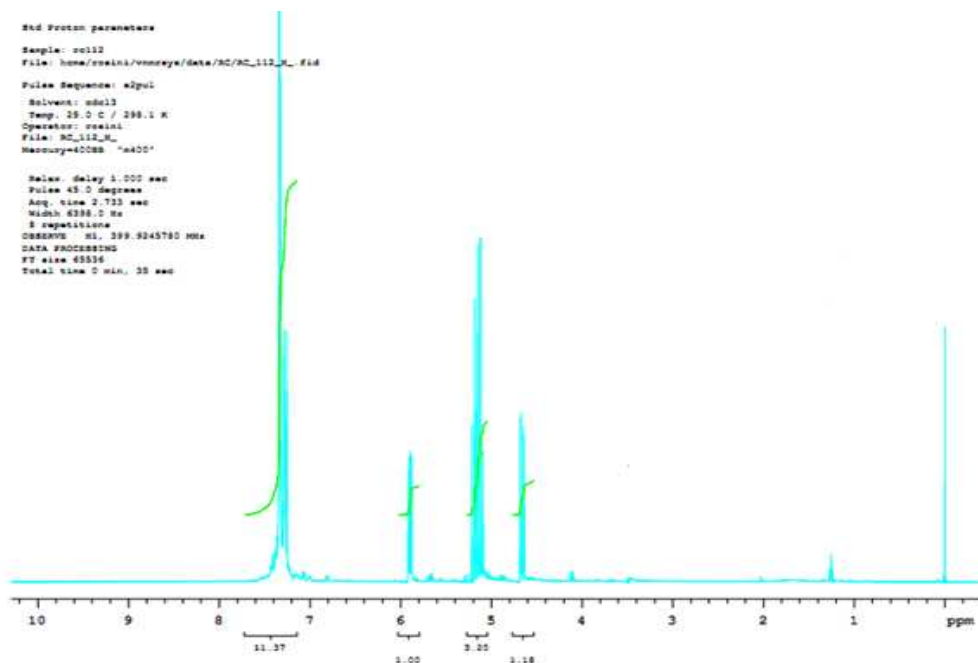


Figura 15. Spettro $^1\text{H-NMR}$

In questo spettro tutti i segnali aromatici cadono nella stessa zona; questo è un problema perché sarà difficile assegnare i vari picchi ad ogni idrogeno.

Dall'integrazione però, togliendo 1 unità riferita all'idrogeno del solvente (CHCl_3) risulterà un'integrazione di circa 10, a conferma dei protoni aromatici.

Nella zona tra 4,5 e 6 ppm ci sono i segnali riferiti ai 5 idrogeni alifatici (assegnati nella sezione "Parte sperimentale").

2) ^{13}C -NMR

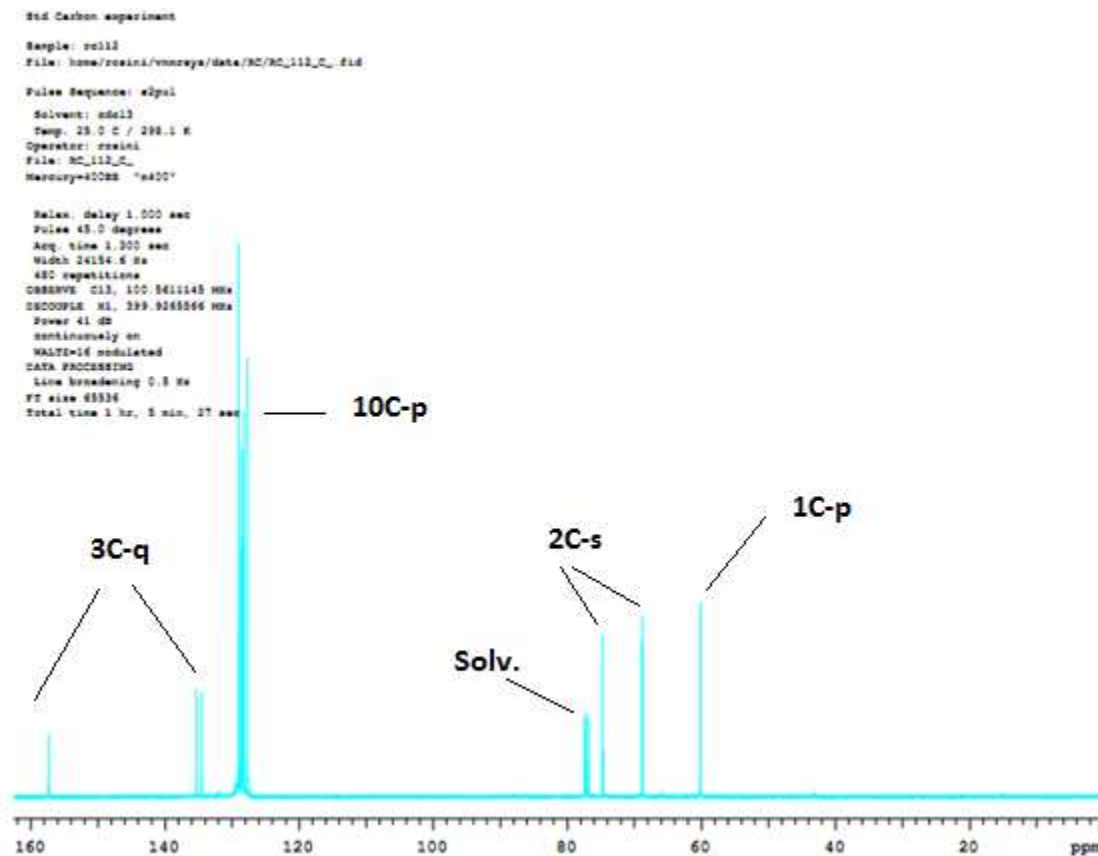


Figura 16. Spettro ^{13}C -NMR

Un ulteriore test è stato quello di capire i tipi di C presenti sullo spettro attraverso un'analisi al Carbonio DEPT 1, dove vengono evidenziati solo i carboni legati ad un idrogeno (-CH), e un'analisi DEPT 1.5, dove vengono evidenziati i CH e i CH_3 e in negativo i CH_2 .

Quindi per differenza verranno identificati i Carboni quaternari.

Il prodotto contiene 3 C quaternari, 11 C terziari, 2 C secondari e nessun C primario.

3)DEPT 1

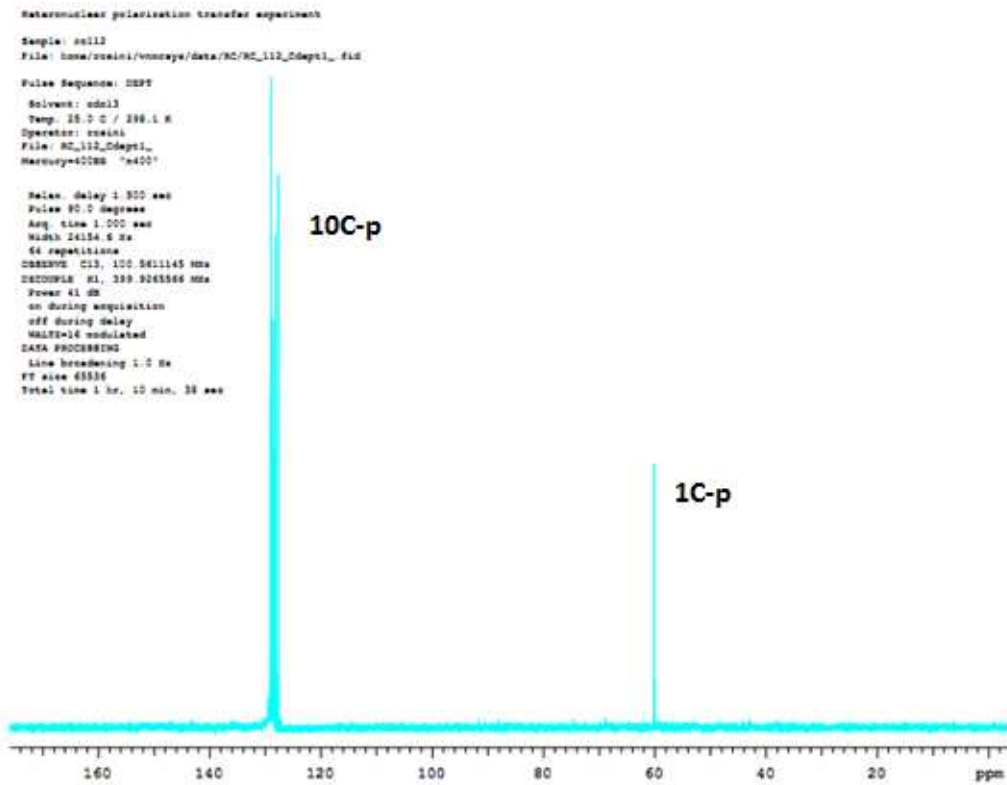


Figura 17. Spettro ¹³C-NMR-DEPT 1

4) DEPT 1.5

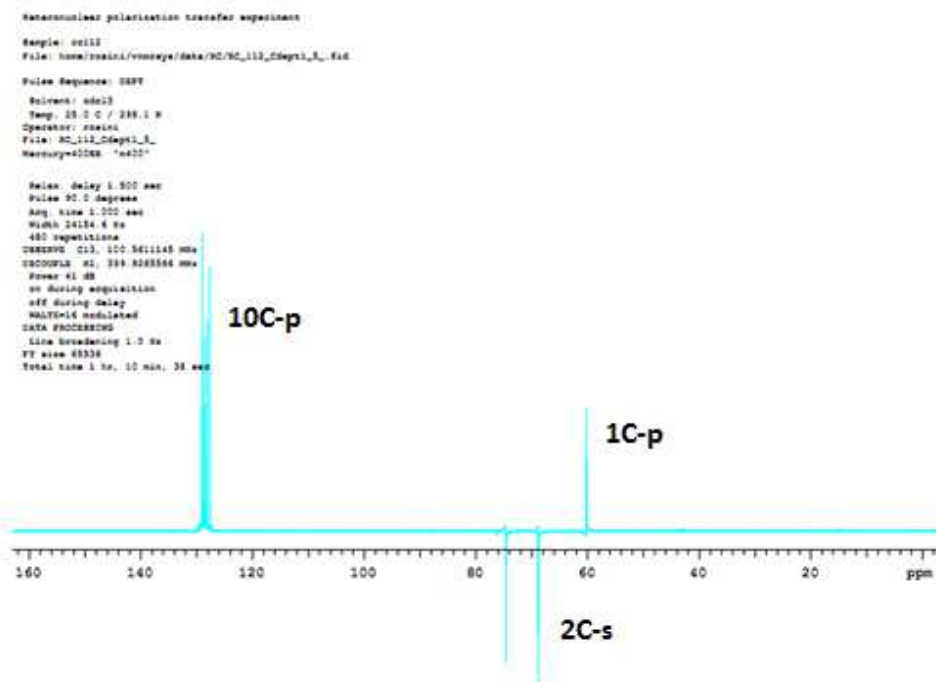
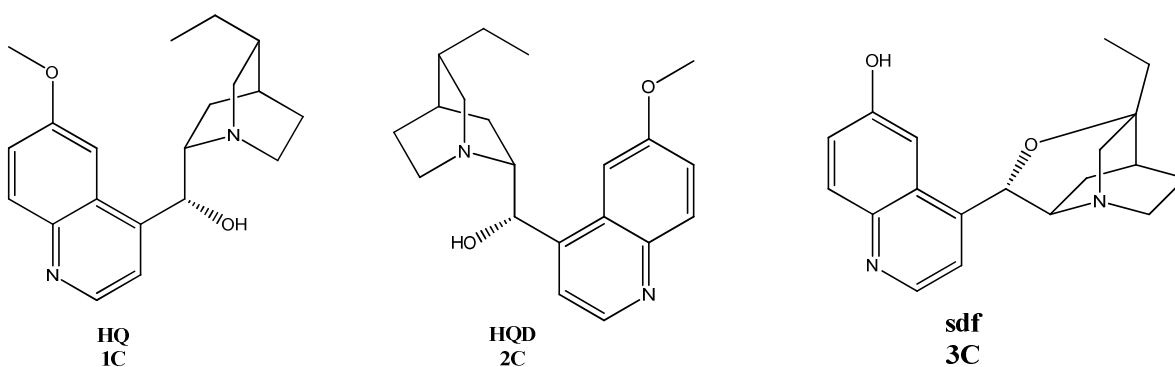


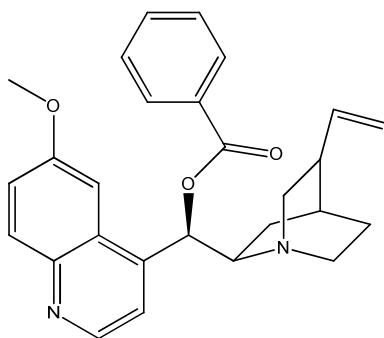
Figura 18. Spettro ¹³C-NMR-DEPT 1.5

Osservando gli spettri ^{13}C -NMR possiamo confermare la presenza di 3 C quaternari, 2C secondari e 11 C primari.

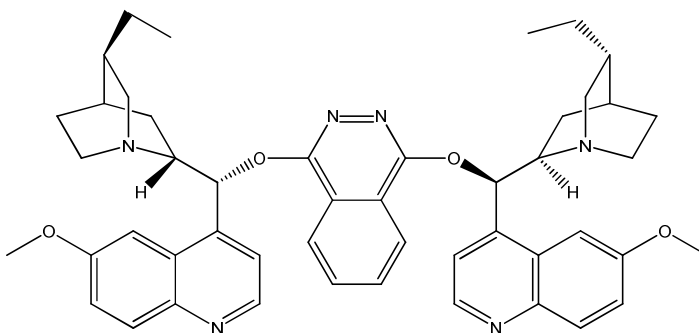
5.2 Screening catalizzatori

Come detto precedentemente, al fine di ottimizzare l'enantioselezione della nostra sintesi, si è proceduto ad uno screening accurato di diverse specie catalitiche, tutte comunque aventi come struttura di base quella degli alcaloidi della cinchona (Figura 19). Lo screening dei catalizzatori è stato eseguito in una soluzione di toluene (0,2 M) per 72 ore a temperatura ambiente, utilizzando un rapporto stechiometrico 1.1:1 di idrossilammina e nitro stirene. Al termine delle 72 ore il grezzo di reazione è stato eluito rapidamente con una miscela di DCM:etil acetato 1:1 attraverso un piccolo plug di silice per rimuovere il catalizzatore e analizzato via ^1H -NMR per determinare la resa, con il metodo dello standard interno (3 μL di dibromometano). Successivamente il *benzilidrossi(2-nitro-1-fenil)carbammato* è stato isolato tramite colonna cromatografica ed analizzato all'HPLC su fase chirale diretta per determinare l'*ee*%. La prima reazione che è stata effettuata ha visto l'impiego dell'HQ (**1C**) come catalizzatore. Il prodotto desiderato è stato isolato con una resa del 99 % ed un *ee* del 8,9 % (Tabella 1, Entry 1). Il risultato molto scarso ci ha spinto alla ricerca di un catalizzatore che migliorasse l'enantioselezione.

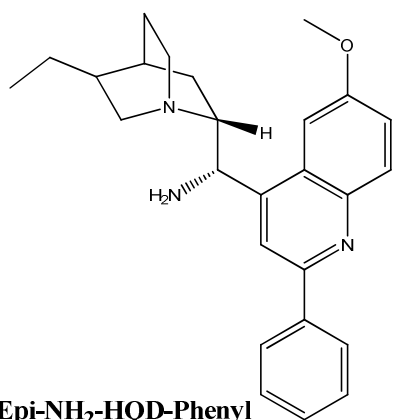




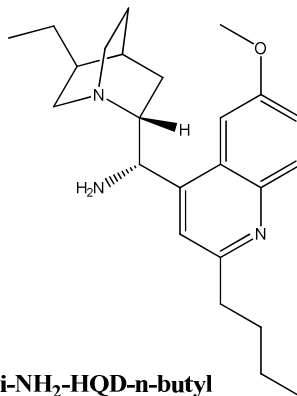
asdas
4C



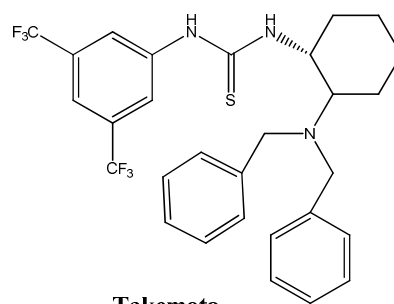
(DHQ)₂Phal
5C



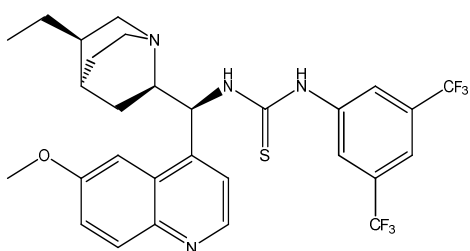
9-Epi-NH₂-HQD-Phenyl
6C



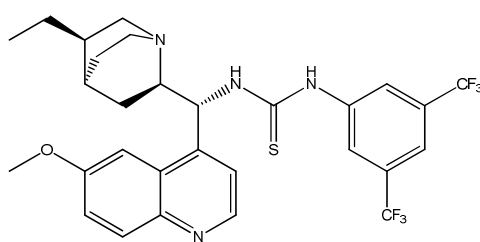
9-Epi-NH₂-HQD-n-butyl
7C



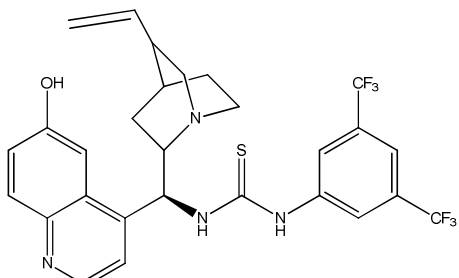
Takemoto
8C



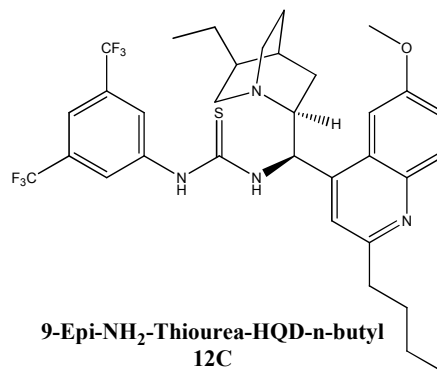
9-Epi-NH₂-Thiourea-HQ
9C



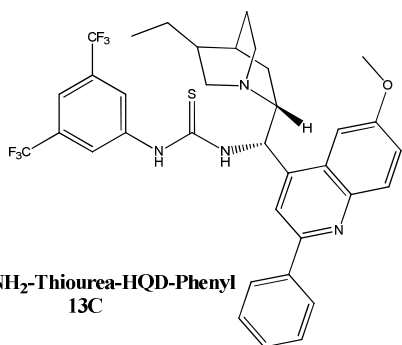
9-Epi-NH₂-Thiourea-HQD
10C



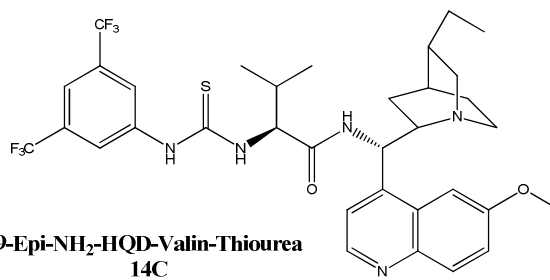
9-Epi-NH₂-Thiourea-Q-OH
11C



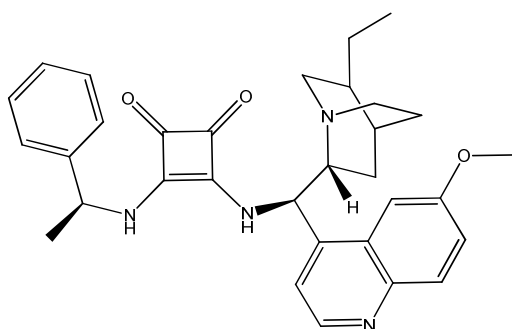
9-Epi-NH₂-Thiourea-HQD-n-butyl
12C



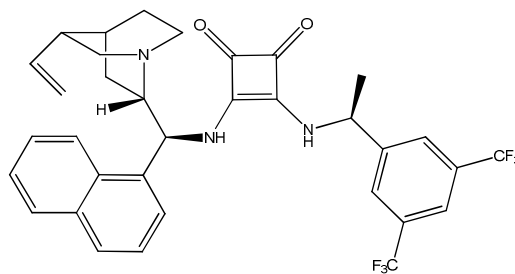
9-Epi-NH₂-Thiourea-HQD-Phenyl
13C



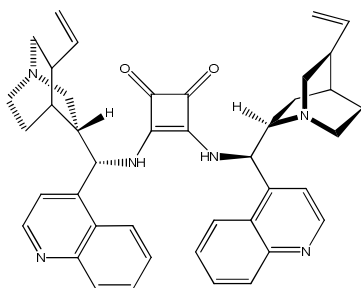
9-Epi-NH₂-HQD-Valin-Thiourea
14C



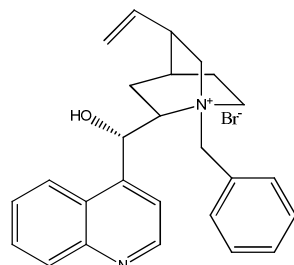
9-Epi-NH₂-HQD-(S)-Phenylethylamine
15C



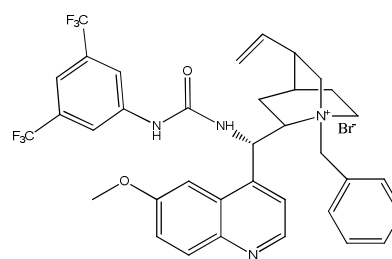
9-Epi-NH₂-CD-BN-3,5-CF₃-SQA
16C



Bis-CD-SQA
17C

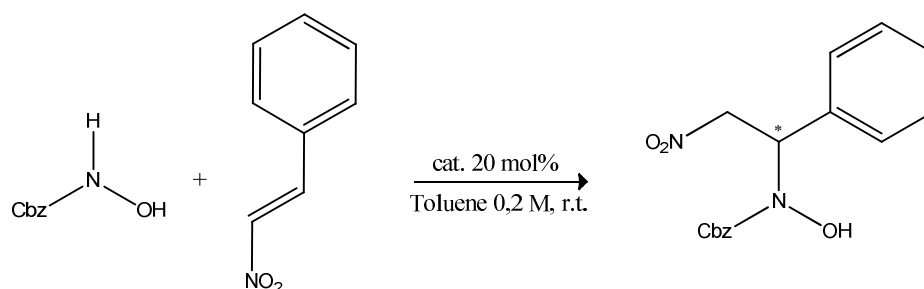


asda
18C



sefs
19C

Figura 19. Catalizzatori



Schema 23. Addizione di aza-Michael tra idrossilammina-*N*-Cbz protetta e nitrostirene

Entry	Catalyst	t [h]	Yield [%] ^[a]	ee [%] ^[b]	Entry	Catalyst	t[h]	Yield [%] ^[a]	ee [%] ^[b]
1	1C	48	>99,9	8,9	11	11C	48	99,0	13,2
2	2C	48	>99,9	9,2	12	12C	72	89,2	22,0
3	3C	72	92,0	20,2	13	13C	72	82,0	15,4
4	4C	72	28,8	5,2	14	14C	72	99,1	23,6
5	5C	72	56,0	2,8	15	15C	72	42,9	31,6
6	6C	72	46,8	5,3	16	16C	72	92,1	9,6
7 ^c	7C	72	40,7	rac	17	17C	72	59,4	5,2
8	8C	72	24,1	8,6	18	18C	72	13,6	rac
9	9C	72	79,0	20,8	19 ^c	19C	72	62,7	5,8
10	10C	48	77,9	21,6					

Condizioni di reazione: ad una soluzione di *trans*- β -nitrostirene (0,1 mmol) e catalizzatore **C** (20 mol%) in Toluene 0,2 M è stato aggiunta l'idrossilammina (0,11 mmol). [a] Resa pesata dopo purificazione. [b] Eccesso determinato con HPLC chirale. [c] Resa determinata con standard di riferimento via ¹H-NMR.

Tabella 1. Screening catalizzatori

I primi catalizzatori usati sono stati HQ (**1C**) e HQD (**2C**) e hanno dato degli ottimi risultati in termini di resa, ma scarsi risultati per quanto riguarda gli eccessi. Entrambi i catalizzatori hanno dato delle rese maggiori del 99 % ma eccessi compresi tra l'8,9 e 9,2 %.

Dopodichè sono stati usati dei catalizzatori privi del gruppo ossidrilico (**3C-4C-5C**), per indagare se la formazione del legame ad idrogeno è fondamentale, per i catalizzatori **4C** e **5C** si è ottenuta una certa reattività, ma con rese basse ed eccessi compresi tra 2 e 5 punti percentuale, per quanto

riguarda il catalizzatore **3C** si è ottenuta una resa del 92 % e un ee del 20,2 % . Questo ci fa dedurre che il legame ad H che si instaura tra catalizzatore e nitrostirene non è del tutto fondamentale ai fini della sola attivazione dell'elettrofilo, tuttavia sembra necessario per dare una certa rigidità al sistema aiutando così il nucleofilo a legarsi in maniera stereospecifica all'elettrofilo, aumentando così l'eccesso enantiomerico.

Successivamente sono stati provati dei catalizzatori (**6C** e **7C**) aventi il gruppo amminico anziché il gruppo ossidrilico, ed entrambi i catalizzatori hanno portato scarsi risultati sia in termini di resa che in termini di ee.

Poi sono stati provati dei catalizzatori con sistema tioureico, la *9-epi-NH₂-HQ-thiourea* (**9C**) e la *9-epi-NH₂-HQD-thiourea* (**10C**) i quali hanno dimostrato una buona reattività con rese rispettivamente del 79,0 % e del 77,9 % ed eccessi enantiomerici compresi tra 20 e 22 punti percentuali; quindi da questa prova si è capito che i catalizzatori con sistema tioureico e sistema chininico riescono ad attivare contemporaneamente sia il nucleofilo (*idrossilammine-N-Cbz*) attraverso una reazione acido-base, sia l'elettrofilo (*trans-β-nitrostirene*) attraverso una coordinazione via legame ad idrogeno³⁷ (Figura 20).

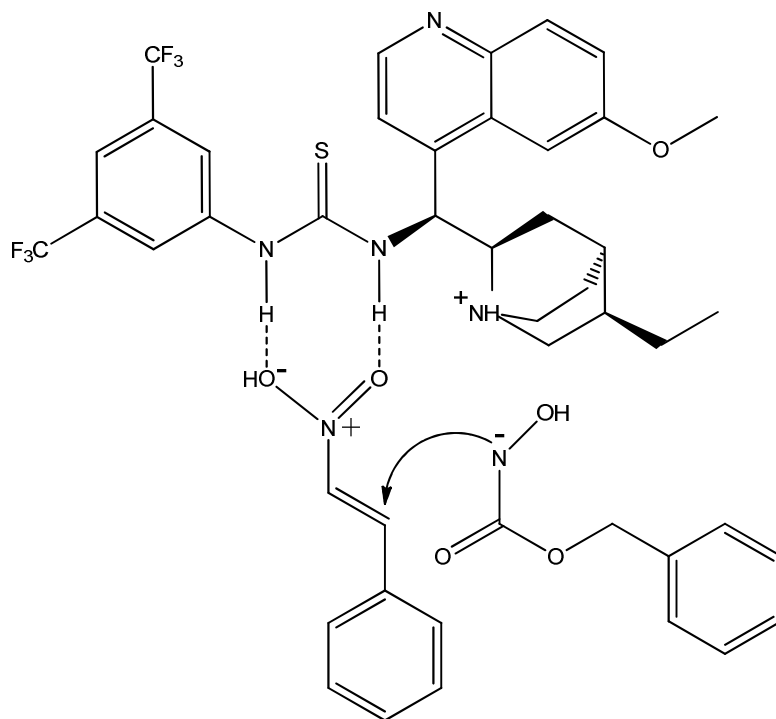


Figura 20. Attivazione dell'elettrofilo mediante legame a idrogeno e attivazione del nucleofilo mediante interazione acido-base

Poi sono state fatte delle prove utilizzando dei catalizzatori a trasferimento di fase (**18C-19C**), ma entrambi hanno dato risultati deludenti in termini di resa ma soprattutto in termini di eccesso enantiomerico.

Infine, tra tutti i catalizzatori provati, solo 2 hanno dato dei risultati migliori rispetto agli altri (**14C-15C**). Il catalizzatore **14C**, con sistema tioureico, ha dato un eccesso del 23,6 %, mentre il catalizzatore **15C**, con sistema squarammidico³⁶, ha dato un eccesso del 31,6 %; quest'ultimo però portava alla formazione di un sotto prodotto, che non siamo riusciti ad identificare, quindi si è preferito utilizzare il catalizzatore **14C** per la fase successiva di screening.

5.3 Screening del solvente

La scelta del solvente è molto importante perché è il mezzo in cui avviene la reazione e, oltre ad essere spesso responsabile della riuscita o meno di essa, è in grado di modificare tutti i parametri di nostro interesse: eccesso enantiomerico e resa. Come detto precedentemente la scelta del solvente è stata effettuata impiegando la *9-Epi-NH₂-HQD-Valin-Tiourea* (**14C**).

Nella tabella 2 di seguito, si osserva come al variare del solvente vari in modo significativo sia la resa che l'eccesso enantiomerico. In particolare solventi aromatici e clorurati forniscono la miglior combinazione tra eccesso enantiomerico e resa. Al contrario, solventi polari protici inibiscono completamente l'attività del catalizzatore. Un comportamento particolarmente strano è quello che si è osservato con solventi eterati. Infatti, se con l'MBTE la reazione ha comunque fornito un discreto eccesso enantiomerico, in linea con quelli ottenuti con toluene e clorobenzene, con il THF non si osserva nessuna traccia di prodotto. Questo comportamento risulta di difficile razionalizzazione. Infatti non è possibile ipotizzare una particolare interazione negativa tra catalizzatore ed ossigeno, ad esempio, visto che anche in solventi non eterati, ma ossigenati come etil acetato, la reazione ha comunque fornito una discreta conversione ed un discreto eccesso enantiomerico. Anche la polarità sembra non avere un ruolo fondamentale, infatti sia l'etil acetato (1,78 D), che il THF (1,63 D) e l'MTBE (1,40 D) hanno valori di momento dipolare paragonabili. Visti comunque i risultati ottenuti possiamo considerare il cloroformio come il miglior solvente in cui effettuare la reazione.

Entry	Catalyst	Solvente	t [h]	Yield [%] ^[a]	ee[%] ^[b]
1	14C	MTBE	72	24,5	21,4
2 ^c	14C	Toluene	72	99,0	23,6
3	14C	Cl-benzene	72	95,0	19,6
4 ^c	14C	THF	72	0	0
5	14C	CHCl ₃	72	88,1	35,4
6	14C	Etil acetato	72	57,5	22,0
7 ^c	14C	2-Propanolo	72	tracce	0
8	14C	MeOH	72	tracce	0

[a] Resa pesata dopo purificazione. [b] Eccesso determinato con HPLC chirale.

[c] Resa determinata con standard di riferimento via ¹H-NMR.

Tabella 2. Screening solventi

Come ultima prova di questo progetto si è tentato di sintetizzare un catalizzatore simile a **14C**, ma con un ingombro sterico maggiore al fine di aumentare l'enantioselezione. Tale catalizzatore è stato ottenuto per addizione della *L*-tert-leucina alla 9-epi- *NH*₂-HQD (**14C'**) (Vedi parte sperimentale).

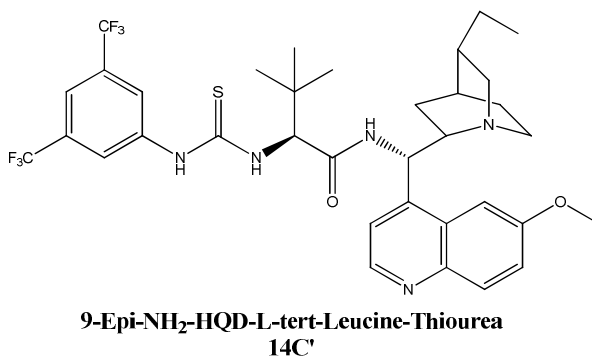


Figura 21. Struttura catalizzatore

Inserendo un gruppo tert-butilico viene aumentato l'ingombro sterico del catalizzatore stesso.

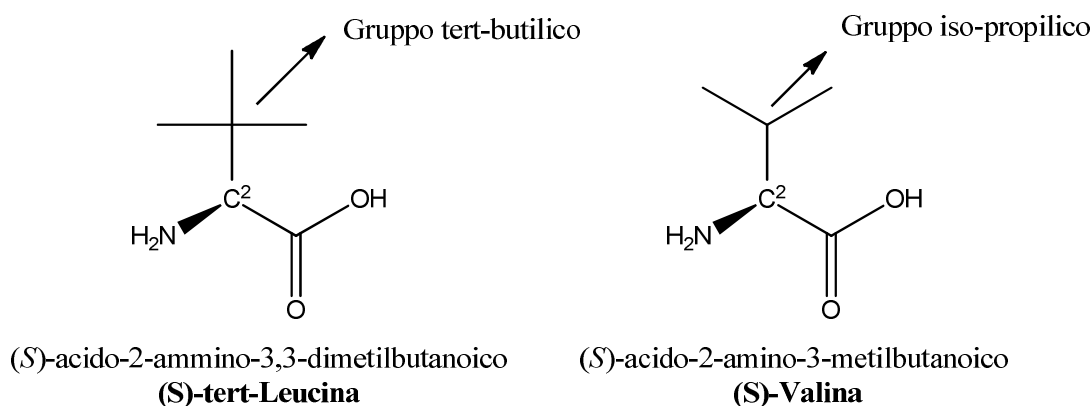


Figura 22. Strutture leganto amminoacidici

Utilizzando le stesse condizioni di reazione, in cloroformio, si è ottenuto una resa dell'88 % e un eccesso enantiomerico del 56 %.

Da quest'ultima reazione si può dedurre che, secondo le nostre ipotesi, aumentare l'ingombro sterico del catalizzatore, per favorire una maggiore selettività nell'approccio del nucleofilo al nitrostirene, risulta essere fondamentale.

5.4 Analisi a raggi X

Al fine di condurre un'analisi dettagliata del prodotto ottenuto abbiamo tentato di realizzare un'analisi ai raggi X. La necessità di ottenere informazioni strutturali era principalmente legata alla difficoltà di sapere con esattezza se la reazione procedesse attraverso una addizione all'ossigeno, oppure, come ipotizzato un'addizione all'azoto (Figura 23).

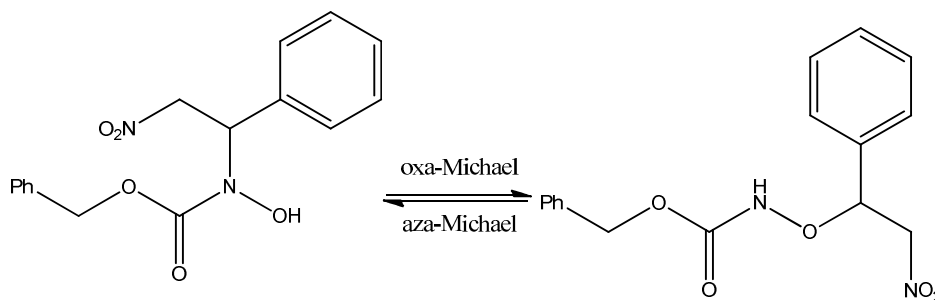


Figura 23. Differenza tra un'addizione aza o oxa Michael

All’NMR, infatti, non è stato possibile, fin da subito, comprendere attraverso l’analisi dei chimica shift, quale delle due strutture avessimo ottenuto.

Questa difficoltà è risultata ancora più evidente dal fatto che in letteratura strutture identiche a quelle da noi sintetizzate, tali da poter effettuare un confronto non esistono. L’analisi ai raggi X da noi realizzata, ha consentito di stabilire che la reazione procede effettivamente attraverso un meccanismo di addizione di Michael all’azoto.

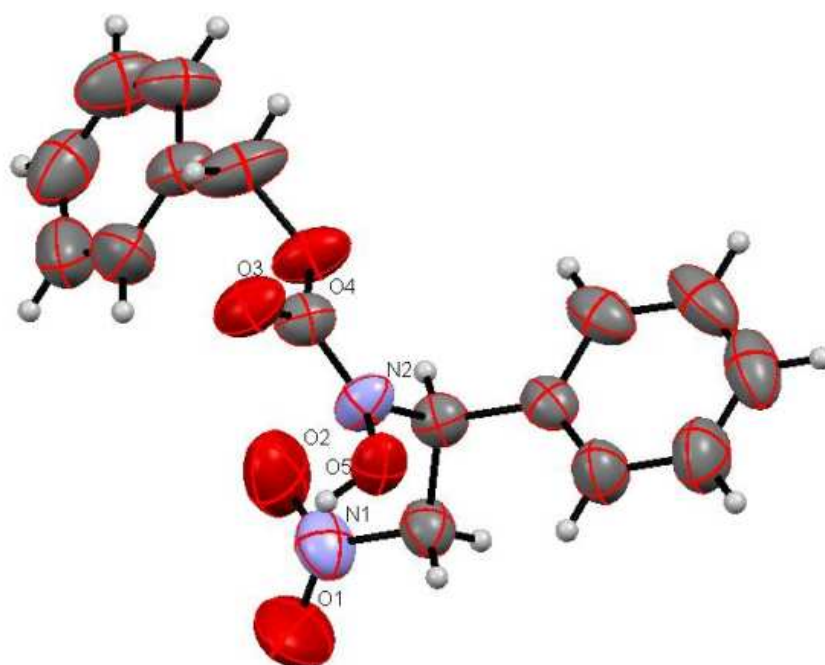


Figura 24. Struttura vista ai raggi X

6. CONCLUSIONI

Il lavoro della presente tesi è stato indirizzato allo sviluppo dell' addizione enantioselettiva di aza-Michael tra idrossilammine N-Cbz protette commerciali e trans- β -nitrostirene, utilizzando come catalizzatore dei derivati degli alcaloidi della cinchona. La reazione è risultata essere particolarmente efficiente, mettendo in evidenza, come la scelta del sistema catalitico basato sull'uso di ammine terziarie azotate si sia rivelato efficace. Si è inoltre dimostrato come sia ancora necessaria una fase di ottimizzazione di una nuova serie di catalizzatori simili al **14C'** aventi un elevato ingombro sterico, ma soprattutto presentando un ulteriore elemento di chiralità oltre a quello già presente nello scheletro base dei derivati della cinchona. La reazione presenta un ottimo andamento se condotta a temperatura ambiente e usando come solvente il cloroformio risultando quello migliore, poichè ha fornito eccessi enantiomerici molto più elevati rispetto agli altri. Uno studio NMR e un' immagine dettagliata attraverso un'analisi ai raggi X, hanno confermato la struttura del prodotto.

Possiamo concludere che i derivati delle cincone possono catalizzare questi sistemi, ma necessitano di modifiche più profonde per sperare in valori più alti di eccessi enantiomerici.

L'addizione dell' *L-tert-Leucina* di sicuro è stata un'indicazione molto utile; in futuro si cercherà di capire il vero ruolo di questo legante, cercando di trovarne uno in grado di dare risultati migliori.

7. PARTE SPERIMENTALE

I reattivi ed i solventi sono prodotti commerciali e sono utilizzati senza ulteriore purificazione.

Il tetraidrofurano è ottenuto anidro attraverso distillazione su sodio e benzofenone.

L'andamento delle reazioni è stato seguito tramite TLC, utilizzando piastre di gel di silice supportato su fogli di alluminio con indicatore fluorescente a 254 nm;

Le reazioni sono state effettuate in un vial da 1,5 mL con tappo a vite, munito di ancoretta magnetica rivestita di PTFE[®].

Le purificazioni finali sono state effettuate per cromatografia flash su colonna con fase fissa silice Kieselgel (4.0 μm - 6.3 μm ; Fluka).

Gli eccessi enantiomerici sono determinati mediante HPLC, utilizzando uno strumento *Agilent 1100*, su colonna chirale *Chiral-Pak[®] OJ-H* (0.46 cm ϕ x 25cm). L'eluente utilizzato è composto da n-esano/isopropanolo in miscela 70/30 con un flusso di 1 ml/min. Gli spettri del prodotto sono confrontati con il campione racemo preparato utilizzando un catalizzatore achirale (DABCO).

Gli spettri ¹H-NMR e ¹³C-NMR sono registrati o con uno spettrometro Varian Gemini 300 o Varian Mercuri 400 in soluzione di cloroformio deuterato contenente lo 0.03% di tetrametilsilano come standard interno. I chemical shift sono dati in δ (ppm) rispetto al TMS e le costanti di accoppiamento sono riportate in Hz. Le seguenti abbreviazioni sono state utilizzate per indicare le molteplicità: s, singoletto; d, doppietto; t, tripletto; dd, doppio doppietto; m, multiplletto; b,broad.

Le molteplicità al carbonio sono stabilite attraverso esperimenti DEPT.

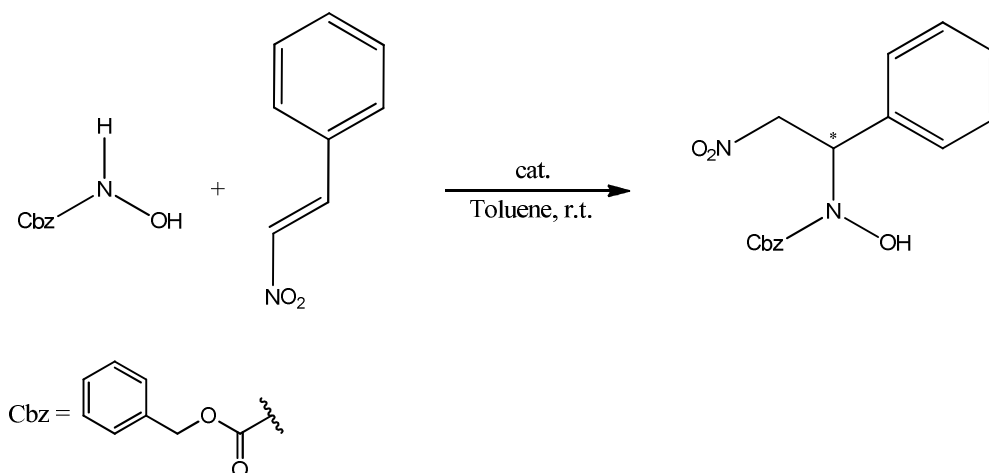
I poteri rotatori specifici sono misurati con polarimetro *Perkin Elmer 341*.

Le masse dei prodotti sono state misurate con

L'analisi ai raggi X è stata fatta utilizzando un

Le rese sono state determinate per pesata dopo purificazione.

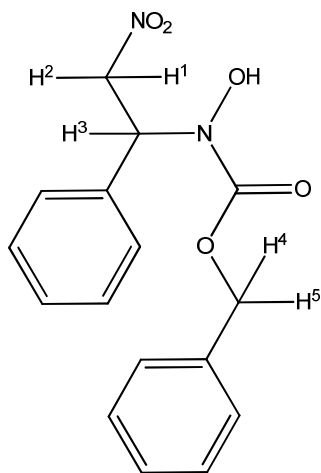
Sintesi del *benzil idrossi(2-nitro-1-feniletil)carbammato*



Schema 24. Addizione di aza-Michael tra idrossilammina-*N*-Cbz protetta e nitrostirene

In un vial vengono posti 14,3 mg (20% mol) di catalizzatore 9-*epi*-NH -HQD -*t*-butil-L-Leucina-tiourea e 14,9 mg (0,1 mmol, 1 eq) di trans-β-nitrostirene in 0,5 ml di cloroformio (soluzione 0,2 M). Viene agitata 5 minuti e infine si aggiungono 18,4 mg (0,11 mmol, 1,1 eq) dell'idrossilammina protetta. La reazione viene mantenuta sotto agitazione per 72 h a temperatura ambiente. Successivamente viene eseguito un plug di silice usando come eluente una miscela 1:1 di DCM/etere etilico per eliminare il catalizzatore ed il grezzo di reazione viene analizzato all'NMR e poi purificato per separare il prodotto dal resto della miscela, su colonna cromatografica flash usando come eluente una miscela 8:2 di esano:etilacetato. Il prodotto si presenta come un solido bianco cristallino.

Studio NMR benzil idrossi(2-nitro-1-feniletil)carbammato



Analisi HPLC: $\tau_{\max}=35$ min.; $\tau_{\min}=22$ min

Punto di fusione: 106,5-107,4 °C

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 4,65 (dd, $J = 4,7$ Hz e 13,2 Hz; 1H); 5,10 (d, $J = 12,2$ Hz; 1H); 5,16 (d, $J = 12,2$ Hz; 1H); 5,18 (dd, $J = 10,2$ Hz e 13,2 Hz; 1H); 5,89 (dd, $J = 4,7$ Hz e 10,2 Hz; 1H); 7,27 (m, 2H); 7,33 (m, 8H); 7,53 (bs, 1H, OH).

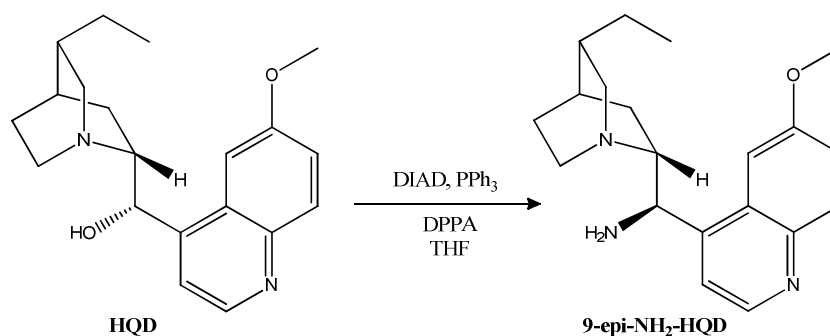
^{13}C NMR (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 60,2 (CH); 68,8 (CH₂); 74,7 (CH₂); 127,7 (CH_{arom.}); 128,1 (CH_{arom.}); 128,5 (CH_{arom.}); 128,6 (CH_{arom.}); 129 (CH_{arom.}); 130 (CH_{arom.}); 134,6 (C); 135,3 (C); 157,4 (CO). **ESI:** 316 [M]⁺

Sintesi dei catalizzatori

In questo lavoro sono stati fatti 3 catalizzatori, gli altri derivati impiegati erano già stati preparati in precedenza. In ogni caso le procedura per la trasformazione del gruppo ossidrilico degli alcaloidi delle cincone in amminico è sempre la stessa³⁸.

Sintesi del 9-epi-NH₂-HQD-n-butil-Tiourea

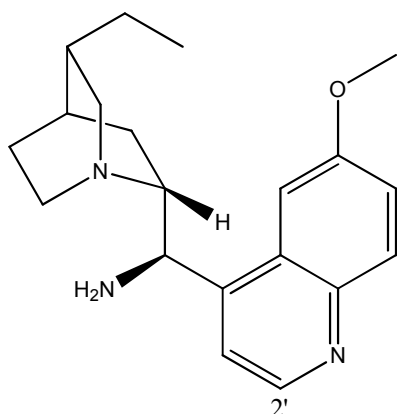
Per sintetizzare questo catalizzatore si è partito dall'HQD (Sigma Aldrich) e la prima fase consiste nel trasformare il gruppo OH in NH₂ con inversione dello stereocentro attraverso la reazione di Mitsunobu seguita dalla reazione di Staudinger (meccanismo mostrato nello schema 10).



Schema 25. Reazione Mitsunobu/Staudinger

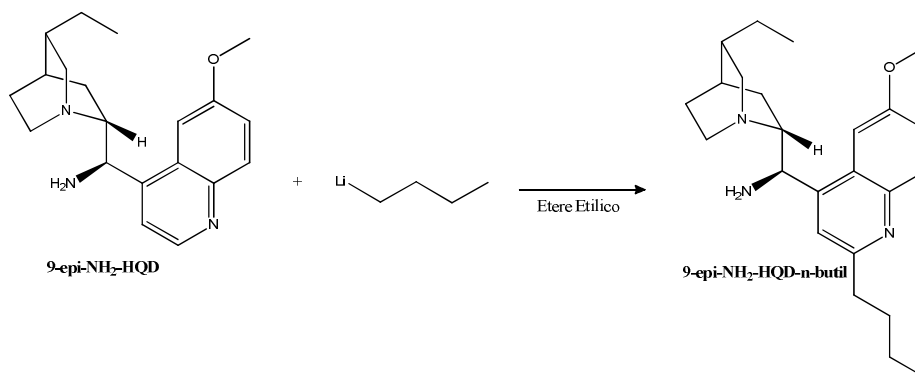
La reazione richiede diverse operazioni nell'arco di una giornata ed è quindi necessario cominciare questo processo di primo mattino. In un pallone a tre colli da 50 mL tenuto in stufa almeno una notte e di nuovo anidrificato una volta collegato alla linea dell'azoto con la pistola termica si mette un' ancoretta magnetica e un setto per siringhe. Si introducono poi rapidamente, e sempre sotto flusso di Azoto, 1,0000 g (3,06 mmol, 1 eq.) di idrochinidina (HQD) e 15 mL di THF anidro. Una volta disciolto il solido si introduce 0,964 g di TPP (3,68 mmol, 1,2 eq.) si porta la soluzione a 0°C e si aggiunge 0,724 mL di DIAD (3,68 mmol, 1,2 eq.). Dopo 5 minuti si addizionano lentamente 0,792 mL di DPPA (3,68 mmol, 1,2 eq.). Si porta la soluzione a temperatura ambiente e si lascia sotto agitazione per 4 ore. Al termine di questo tempo si prepara il mantello riscaldante per portare la reazione a 48 °C e si lascia la soluzione sotto agitazione per 2 ore. Dopo queste 2 ore si aggiungono 0,8 g di TPP (1 eq.) e dopo 2 ore si introducono 2 mL di H₂O. Finite queste aggiunte si lascia andare la reazione fino al giorno successivo a temperatura ambiente. Terminato il tempo di reazione si fa evaporare sotto vuoto il THF e utilizzando circa 15 mL di DCM, per lavare il pallone di reazione, si travasa tutto il grezzo in un imbuto separatore. Si aggiunge un volume simile di HCl 3N (almeno 100 mmol) per formare il sale cloridrato del catalizzatore con la funzione amminica. Il sale passa in fase acquosa mentre la maggior parte delle impurezze resta in fase organica. Si esegue due estrazioni successive e si fa poi un lavaggio sempre con DCM. Si tira a secco la fase acquosa sotto vuoto, aggiungendo verso la fine dell'etanolo per seccarla bene. I cristalli gialli che si formano vanno purificati per cristallizzazione utilizzando del MeOH come solvente e dell'EtOAc come antisolvente che fa precipitare un solido bianco. Si filtra su filtro a pieghe spostando tutto il solido in un altro imbuto separatore. Si usa una miscela DCM/NH₄OH acq. per neutralizzare il sale e liberare l'ammina. Raccolta la fase organica stavolta, si anidrifica con magnesio solfato anidro, si filtra con sistema Gooch e si rimuove il DCM sotto vuoto. A questo punto si purifica ulteriormente il prodotto tramite colonna cromatografica flash con una miscela eluente EtOAc/MeOH/TEA 60:30:10. La resa sul prodotto purificato è stata dell'83 %.

9-epi-NH₂-HQD



¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 0.9 (m, 3H), 1.20 – 1.60 (m, 8H), 1.71 (bs, 1H); 1.89 (t, 1H); 2.91 (dd, 1H); 2.60 (m, 1H), 4.00 (s, 3H), 4.60 (bd, 2H), 7.40 (dd, 1H), 7.52 (d, 1H), 7.65 (bs, 1H), 8.00 (d, 1H), 8.75 (d, 1H). **ESI:** 325 [M]⁺

La seconda fase consiste nell'aggiungere il gruppo n-bulico in posizione 2' all'anello chinolinico³⁹.



Schema 26. Addizione del gruppo butile

Ad una soluzione di 10 ml di etil etere anidro, in un pallone a tre colli da 25 ml, sono stati aggiunti 0,5 g (1,54 mmoli, 1 eq.) di 9-epi-NH₂-HQD. Una volta solubilizzato lo starting si porta la soluzione a -10 °C e attraverso una siringa anidrificata in stufa si è aggiunto lentamente 2,88 ml (soluzione 1,6 M in esano, 3 eq.) di n-butillitio e si lascia sotto vigorosa agitazione per 20 minuti. Dopodichè di porta la soluzione a temperatura ambiente e si lascia sotto agitazione per 1 ora. La reazione è monitorata con TLC con una miscela 90:10:1 di Etil Acetato:Metanolo:TEA. La reazione viene spenta con l'aggiunta di 0,45 ml di acido acetico a 0°C, si lascia sotto agitazione per 5 minuti e si aggiungono 7,5 ml di acqua e 7,5 ml di Etil Acetato.

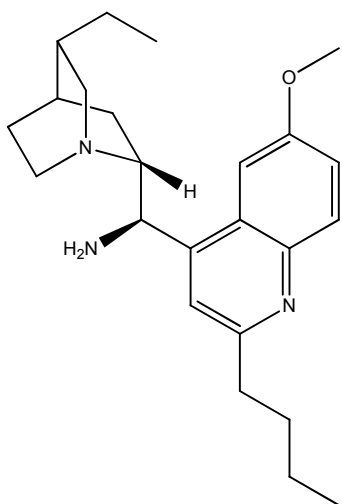
Per completare del tutto la reazione vengono aggiunti 0,37 g (questo valore è indicativo, si aggiunge iodio affinché nella soluzione, all'inizio gialla, non persiste un colore marroncino) di iodio metallico.

Per terminare la reazione si aggiungono 0,15 g di sodio bisolfito (in 3 ml di acqua); infine si basifica con 3 ml di NH_4OH .

Al termine della reazione la fase organica viene lavata con 10 ml di Brine e la fase acquosa viene estratta con 10x3 di DCM. Infine vengono riunite le fasi organiche, si anidrifca con magnesio solfato anidro, si tira a secco e si purifica con colonna cromatografica flash con miscela eluente 90:10:1 di Etil Acetato:Metanolo:TEA.

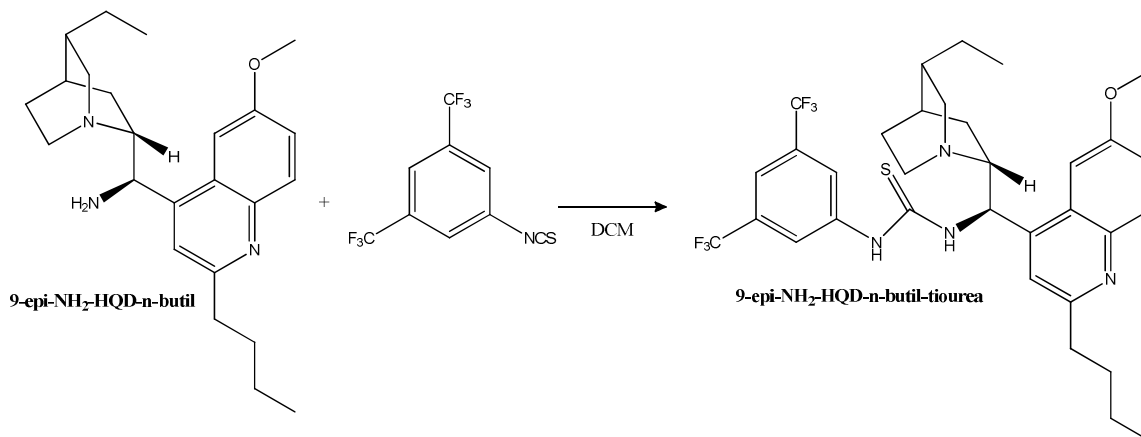
La resa sul prodotto purificato è stata dell'84 %.

9-epi-NH₂-HQD-n-butil



¹H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 0,85 (t, 3H); 0,9 (m, 3H); 1,16 (m, 2H); 1,20 – 1,60 (m, 8H), 1,60–1,71 (m, 3H); 1,89 (t, 1H); 2,83 (t, 2H); 2,91 (dd, 1H); 2,60 (m, 1H), 4,00 (s, 3H), 4,60 (bd, 2H), 7,40 (dd, 1H), 7,52 (d, 1H), 7,65 (bs, 1H), 8,00 (d, 1H). **ESI:** 382 $[\text{M}]^+$; $[\alpha]_D^{25} = +160,8$

La terza ed ultima fase consiste nel formare la tiourea.



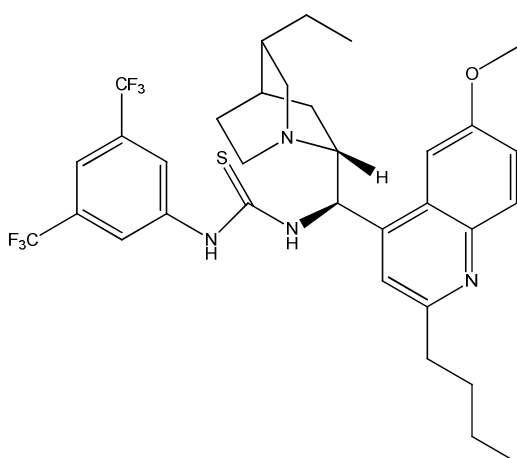
Schema 27. Formazione tiourea

In un pallone ad un collo da 25 ml vengono disciolti 0,2 g (0,524 mmoli, 1 eq.) di 9-epi-NH₂-HQD-n-butil in 10 ml di DCM. Si aggiungono con una siringa 0,105 ml (0,577 mmoli, 1 eq.) di 1-isotiocianato-3,5-bis(trifluorometil)benzene e si lascia sotto agitazione a temperatura ambiente tutta la notte.

Al termine della reazione si tira a secco e si purifica il prodotto con colonna cromatografica flash con miscela eluente 3,5:6,5 di Esano:Etil Acetato.

La resa sul prodotto purificato è stata dell'82 %.

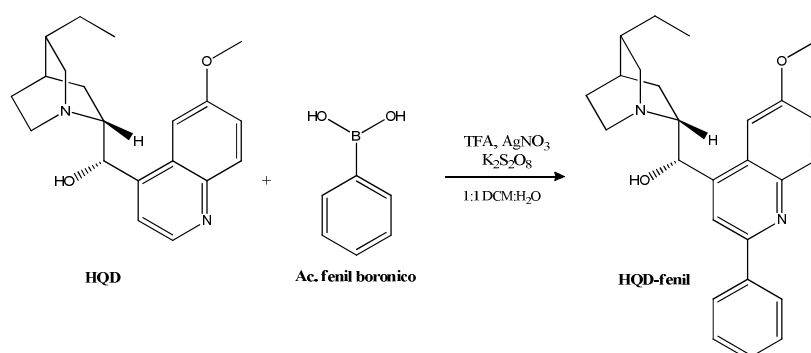
9-epi-NH₂-HQD-n-butil-tiourea



¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 0,85 (t, 3H); 0,9 (m, 3H); 1,16 (m, 2H); 1,20 – 1,60 (m, 8H), 1,60–1,71 (m, 3H); 1,89 (t, 1H); 2,83 (t, 2H); 2,91 (dd, 1H); 2,60 (m, 1H), 4,00 (s, 3H), 4,60 (bd, 2H), 7,40 (dd, 1H), 7,52 (d, 1H); 7,61 (dd, 1H); 7,65 (bs, 1H), 7,98 (dd, 1H); 8,00 (d, 1H); 8,03 (dd, 1H). ESI: 382 [M]⁺;

Sintesi del 9-epi-NH₂-HQD-fenil-Tiourea⁴⁰

Per sintetizzare questo catalizzatore si è partito dall'HQD (Sigma Aldrich) e la prima fase consiste nel legare il gruppo fenilico in posizione 2' all'anello chinolinico.



Schema 28. Addizione gruppo fenile

A una soluzione di 1,632 g (5 mmoli, 1 eq.) di HQD, 1,219 g (10 mmoli, 2 eq.) di acido fenilboronico, 2,70 g (10 mmoli, 2 eq.) di potassio persolfato in 25,5 ml di DCM e 10,2 ml di acqua sono stati aggiunti 1,157 ml (15 mmoli, 3 eq.) di acido trifluoroacetico seguito da 0,170 g (1 mmoli, 0,2 eq.) di nitrato di argento(I); la soluzione è mantenuta sotto agitazione vigorosa a temperatura ambiente per 4 ore. Successivamente sono stati aggiunti 0,61g (5 mmoli, 1 eq.) di acido fenilboronico e la reazione viene lasciata sotto agitazione tutta la notte.

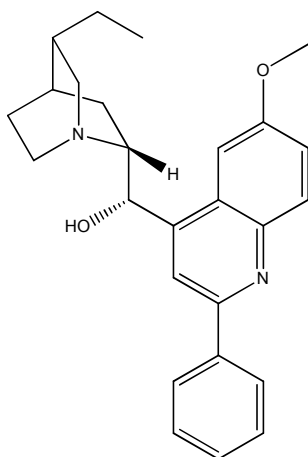
Al termine della reazione la soluzione è stata lavata con 40 ml di DCM e 80 ml di NaOH 2 M.

Le fase acquosa viene separata dalla fase organica per mezzo di un imbuto separatore: la fase acquosa viene estratta con 6x160 ml di una soluzione 70:30 di Cloroformio:Alcol isopropilico.

Una volta riunite le fasi organiche si tirano a secco e il grezzo di reazione viene purificato con una colonna cromatografica flash con una miscela di eluizione 6:3:1:1 di Esano:EtilAcetato:Metanolo:TEA

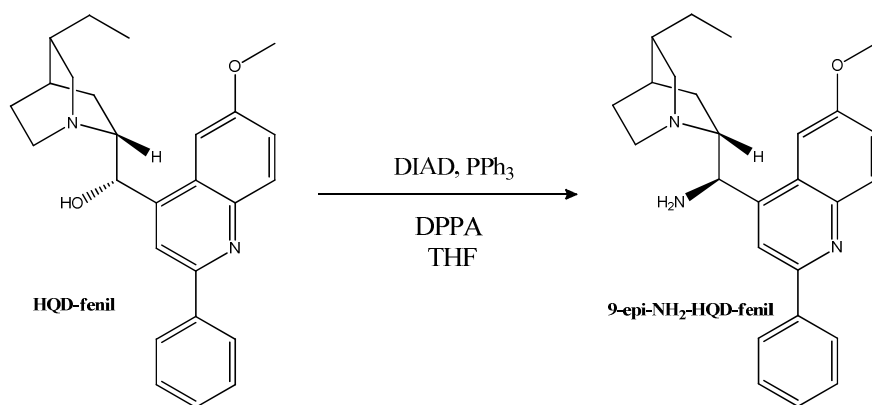
La resa sul prodotto purificato è stata dell'42,4 %.

HQD-fenil



¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 0.9 (m, 3H), 1.20 – 1.60 (m, 8H), 1.71 (bs, 1H); 1.89 (t, 1H); 2.91 (dd, 1H); 2.60 (m, 1H), 4.00 (s, 3H), 4.60 (bd, 2H), 7.40-7.46 (m, 2H), 7.51- 7.54 (m, 2H); 7.71 (bs, 1H); 7.99 (d, 1H); 8.11-8.16 (m, 3H). **ESI:** 402 [M]⁺.

La seconda fase consiste nel trasformare il gruppo OH in NH₂ con inversione dello stereocentro attraverso la reazione di Mitsunobu seguita dalla reazione di Staudinger.

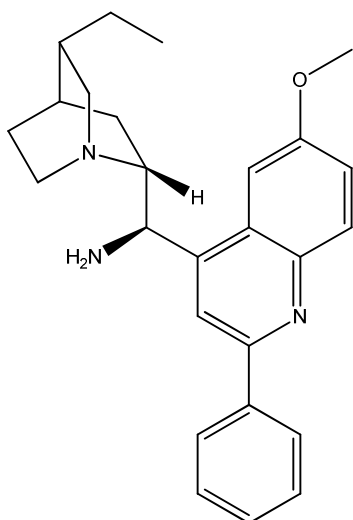


Schema 29. Reazione Mitsunobu/Staudinger

In un pallone a tre colli da 25 mL tenuto in stufa almeno una notte e di nuovo anidrificato una volta collegato alla linea dell'azoto con la pistola termica si mette un'ancoretta magnetica e un setto per siringhe. Si introducono poi rapidamente, e sempre sotto flusso di Azoto, 0,5 g (1,53 mmol, 1 eq.) di idrochinidina (HQD-fenil) e 7 mL di THF anidro. Una volta disciolto il solido si introducono 0,482 g di TPP (1,84 mmol, 1,2 eq.) si porta la soluzione a 0°C e si aggiunge 0,362 mL di DIAD (1,84 mmol, 1,2 eq.). Dopo 5 minuti si aggiungono lentamente 0,396 mL di DPPA (1,84 mmol, 1,2 eq.). Si porta la soluzione a temperatura ambiente e si lascia sotto agitazione per 4 ore. Al termine di questo tempo si prepara il mantello riscaldante per portare la reazione a 48 °C e si lascia la soluzione sotto agitazione per 2 ore. Dopo queste 2 ore si aggiungono 0,4 g di TPP (1 eq.) e dopo 2 ore si introduce 1 mL di H₂O. Finite queste aggiunte si lascia andare la reazione fino al giorno successivo a temperatura ambiente. Terminato il tempo di reazione si fa evaporare sotto vuoto il THF e utilizzando circa 7,5 mL di DCM, per lavare il pallone di reazione, si travasa tutto il grezzo in un imbuto separatore. Si aggiunge un volume simile di HCl 3N (almeno 50 mmol) per formare il sale cloridrato del catalizzatore con la funzione amminica. Il sale passa in fase acquosa mentre la maggior parte delle impurezze resta in fase organica. Si esegue due estrazioni successive e si fa poi un lavaggio sempre con DCM. Si tira a secco la fase acquosa sotto vuoto, aggiungendo verso la fine dell'etanolo per seccarla bene. I cristalli gialli che si formano vanno purificati per cristallizzazione utilizzando del MeOH come solvente e dell'EtOAc come antisolvente che fa precipitare un solido bianco. Si filtra su filtro a pieghe spostando tutto il solido in un altro imbuto separatore. Si usa una miscela DCM/NHOH acq. per neutralizzare il sale e liberare l'ammina. Raccolta la fase organica stavolta, si anidifica con magnesio solfato anidro, si filtra con sistema Gooch e si rimuove il DCM sotto vuoto. A questo punto si purifica ulteriormente il prodotto tramite colonna cromatografica flash con una miscela eluente EtOAc/MeOH/TEA 50:40:10.

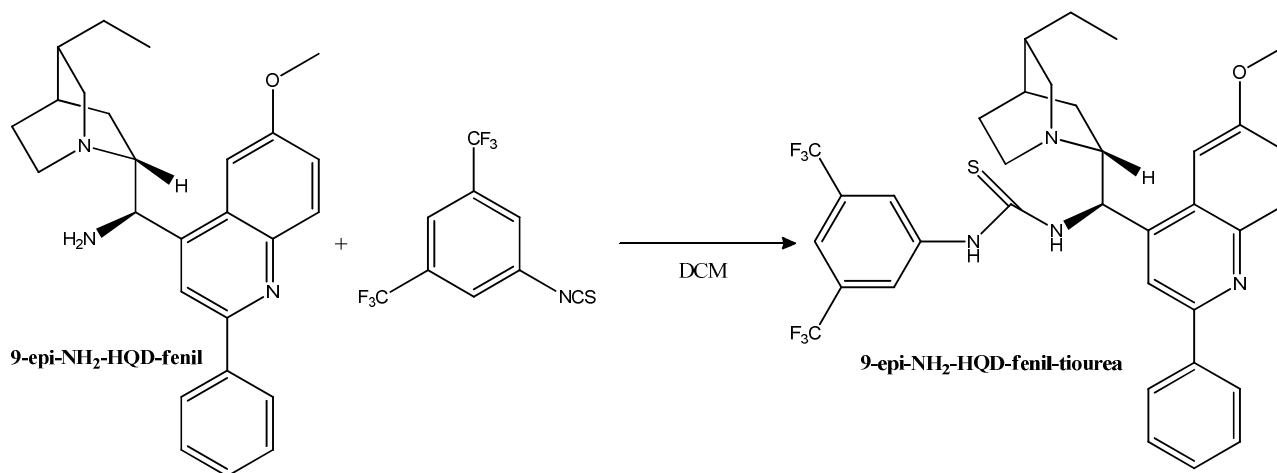
La resa sul prodotto purificato è stata del 22 %.

9-epi-NH₂-HQD-fenil



¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 0.9 (m, 3H), 1.20 – 1.60 (m, 8H), 1.71 (bs, 1H); 1.89 (t, 1H); 2.91 (dd, 1H); 2.60 (m, 1H), 4.00 (s, 3H), 4.60 (bd, 2H), 7.40-7.46 (m, 2H), 7.51- 7.54 (m, 2H); 7.71 (bs, 1H); 7.99 (d, 1H); 8.11-8.16 (m, 3H). ESI: 401 [M]⁺. [α]_D = +85,6

La terza ed ultima fase consiste nel formare la tiourea.



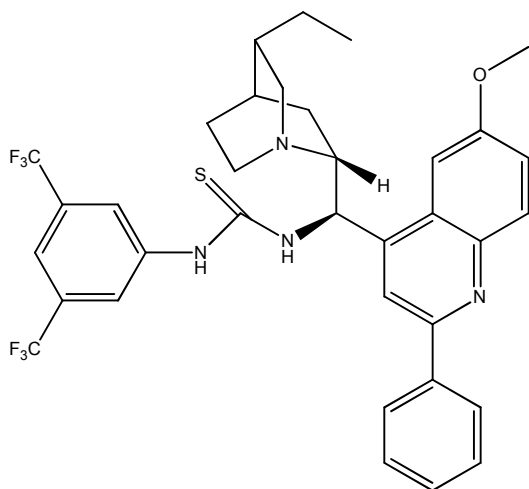
Schema 30. Formazione tiourea

In un pallone ad un collo da 5 ml vengono disciolti 0,07 g (0,174 mmoli, 1 eq.) di 9-epi-NH₂-HQD-fenil in un 1 ml di DCM. Si aggiungono con una siringa 0,032 ml (0,174 mmoli, 1 eq.) di 1-isotiocianato-3,5-bis(trifluorometil)benzene e si lascia sotto agitazione a temperatura ambiente tutta la notte.

Al termine della reazione si tira a secco e si purifica il prodotto con colonna cromatografica flash con miscela eluente 3,5:6,5 di Esano:Etil Acetato.

La resa sul prodotto purificato è stata del 48,6 %.

9-epi-NH₂-HQD-fenil-tiourea

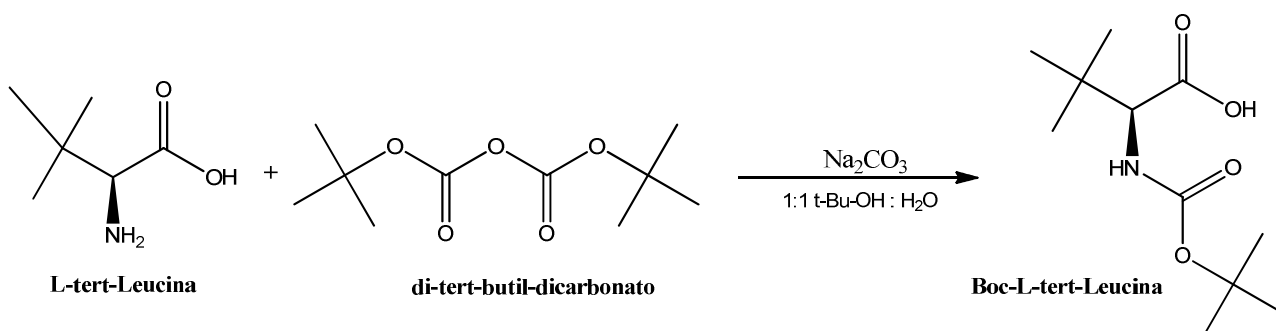


¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 0.9 (m, 3H), 1.20 – 1.60 (m, 8H), 1.71 (bs, 1H); 1.89 (t, 1H); 2.91 (dd, 1H); 2.60 (m, 1H), 4.00 (s, 3H), 4.60 (bd, 2H), 7.40-7.46 (m, 3H), 7.51- 7.54 (m, 2H); 7.71 (bs, 1H); 7.99 (d, 1H); 8.11-8.16 (m, 5H). **ESI:** 672 [M]⁺.

Sintesi del 9-epi-NH₂-HQD-L-tert-Leucina-Tiourea

Per preparare questo catalizzatore si è partiti dalla 9-epi-NH₂-HQD preparata in precedenza e consiste nel legare all'ammina primaria di essi un'amminoacido (L-tert-leucina) protetto con il Boc, per poi deproteggerlo e quindi formare la tiourea.

La prima fase, quindi, è quella di proteggere l'amminoacido che in questo caso è la L-tert-leucina⁴¹.



Schema 31. Reazione di protezione con il Boc

In un pallone a quattro colli munito di condensatore a riflusso, termometro e ancoretta magnetica vengono disciolti 1,212 g (11,44 mmoli, 1 eq.) di carbonato di sodio in 29 ml di acqua.

Vengono sciolti in 19 ml di t-butil alcol 1,5 g (11,44 mmoli, 1 eq.) e quest'ultima soluzione viene miscelata nella soluzione di carbonato di sodio. Si lascia sotto agitazione per 1 ora e si aggiungono 2,5 g (11,44 mmoli, 1 eq.) di di-tert-butil-dicarbonato (sciolto in 10 ml di t-butil alcol).

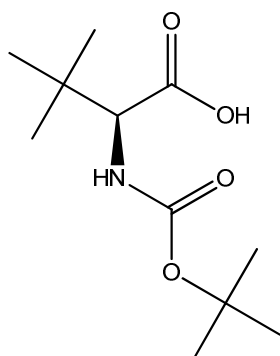
Si nota subito la formazione di un precipitato bianco, quindi si riscalda intorno ai 50 °C affinché non ritorna limpida. Si lascia sotto agitazione per tutta la notte.

Al termine della reazione si deve controllare il pH con una cartina al tornasole e deve essere compreso tra 7,5 e 8,0. Una volta controllato il pH la soluzione viene estratta con 2x30 ml di pentano, e la fase organica viene estratta con 3x15 ml di una soluzione di bicarbonato di sodio.

Si riuniscono le fasi acquose e si acidificano con una soluzione 1,1 M di bisolfato di potassio affinché il pH non arriva ad un valore compreso tra 1 e 1,5. Infine la soluzione viene estratta con 4x25 ml di etere etilico, anidrificata con solfato di magnesio anidro e una volta portato a secco si purifica attraverso colonna cromatografica flash con una miscela eluente 50:50 di esano:etere etilico.

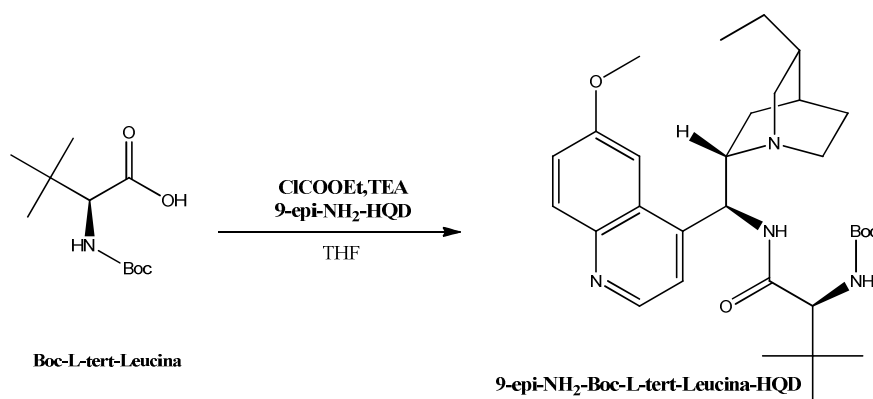
La resa sul prodotto purificato è stata del 53 %.

Boc-L-tert-Leucina



¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 1,03 (s, 9H); 1,45 (s, 9H); 4,12 (d, 1H); **ESI**: 231 [M]⁺.

La seconda fase consiste nel legare il Boc-L-tert-Leucina all'ammina primaria della 9-epi-NH₂-HQD⁴².



Schema 32. Addizione della Boc-L-tert-Leucina

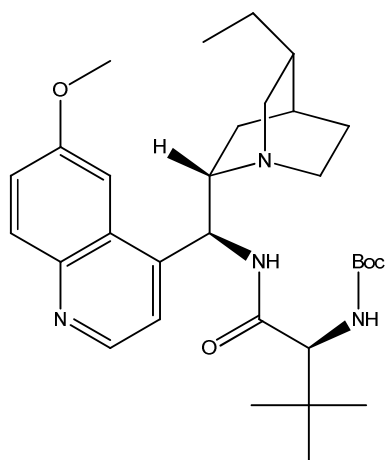
In un pallone a tre colli da 10 mL tenuto in stufa almeno una notte, e di nuovo anidrificato una volta collegato alla linea dell'azoto con la pistola termica, si mette un' ancoretta magnetica e un setto per siringhe. Si introducono poi rapidamente, e sempre sotto flusso di Azoto, 0,178 g (0,768 mmoli, 1 eq.) di Boc-L-tert-Leucina in 38 ml di THF anidro. Poi si aggiungono con una siringa 0,235 ml (1,7 mmoli, 2,2 eq.) di TEA e 0,081 ml (0,845 mmoli, 1,1 eq.) di etil cloroformiato e si porta la soluzione a 0 °C. A questo punto si aggiungono 0,25 g (0,768 mmoli, 1 eq.) di 9-epi-NH₂-HQD. Si riporta la soluzione a temperatura ambiente e si lascia reagire sotto agitazione tutta la notte.

A fine reazione si concentra la soluzione sotto ridotta pressione e si lava con 30 ml di acqua e la soluzione risultante si estrae con 2x30 ml di DCM. Si combinano le fasi organiche, si anidrificano con solfato di magnesio anidro e si concentra sotto ridotta pressione.

Il grezzo di reazione viene purificato via colonna cromatografica flash con una miscela eluente 95:2,5:2,5 di EtilAcetato:MeOH:TEA

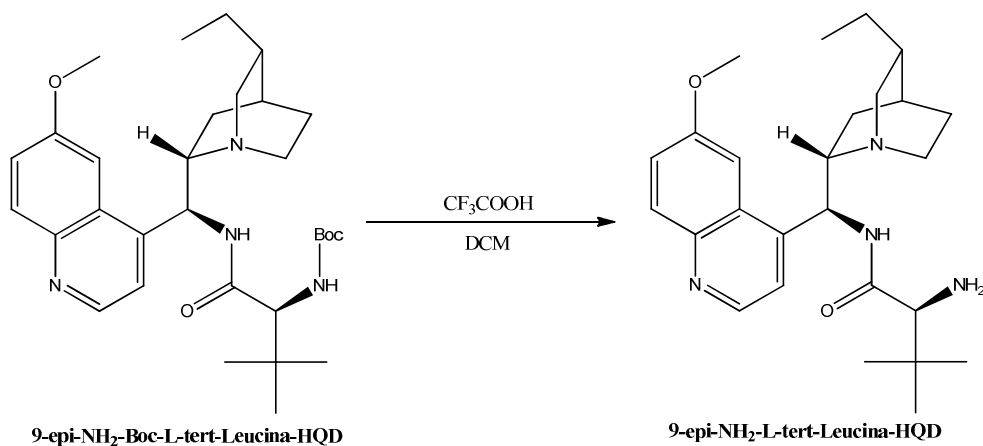
La resa sul prodotto purificato è stata del 30,7 %.

9-epi-NH₂-Boc-L-tert-Leucina-HQD



¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 0.9 (m, 3H); 1.03 (s, 3H); 1.45 (s, 9H); 1.20 – 1.60 (m, 8H); 1.71 (bs, 1H); 1.89 (t, 1H); 2.91 (dd, 1H); 2.60 (m, 1H); 4.00 (s, 3H); 4.12 (d, 1H); 4.60 (bd, 2H); 7.40 (dd, 1H); 7.52 (d, 1H); 7.65 (bs, 1H); 8.00 (d, 1H); 8.75 (d, 1H). **ESI:** 538 [M]⁺

La terza fase consiste nel deproteggere la di 9-epi-NH- Boc-L-tert-Leucina –HQD.



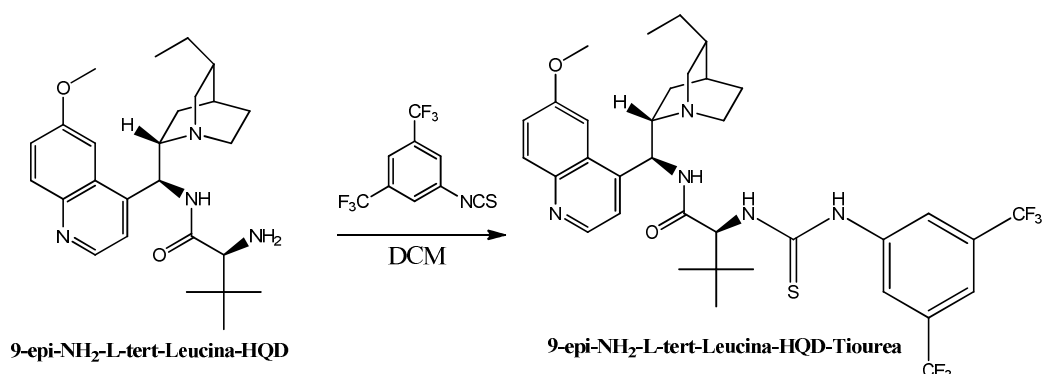
Schema 33. Reazione di eliminazione del Boc

In un pallone da 10 ml sono stati sciolti 0,127 g (0,236 mmoli, 1 eq.) di 9-epi-NH- Boc-L-tert-Leucina –HQD in 3 ml di DCM. Lentamente viene aggiunta con una siringa 1 ml (12,26 mmoli, 52 eq.) di acido trifluoroacetico. La soluzione viene lasciata reagire per tutta la notte.

A fine reazione vengono aggiunti 30 ml di una soluzione acquosa di bicarbonato di sodio.

Si estrae con 3x20 ml di DCM, si anidifica con solfato di magnesio, si filtra e si concentra il prodotto sotto ridotta pressione. Questa fase non necessita purificazione e si passa direttamente alla fase successiva.

La quarta ed ultima fase consiste nel formare la tiourea.



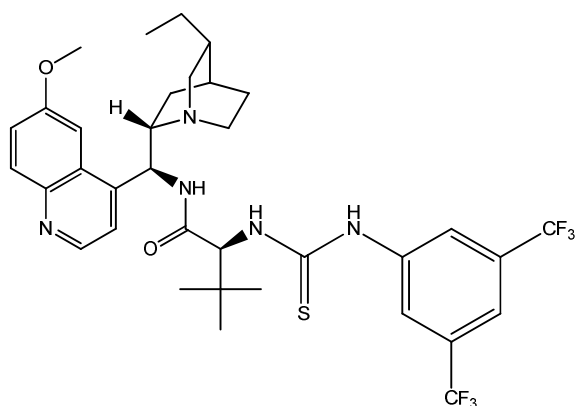
Schema 34. Formazione della tiourea

In un pallone ad un collo da 5 ml vengono disciolti 0,1 g (0,228 mmoli, 1 eq.) di 9-epi-NH-L-tert-Leucina –HQD in un 2 ml di DCM. Si aggiungono con una siringa 0,05 ml (0,274 mmoli, 1 eq.) di 1-isotiocianato-3,5-bis(trifluorometil)benzene e si lascia sotto agitazione a temperatura ambiente tutta la notte.

Al termine della reazione si tira a secco e si purifica il prodotto con colonna cromatografica flash con miscela eluente 70:15:10:5 di Esano:Etil Acetato:TEA:MeOH

La resa sul prodotto purificato è stata del 41,2 %.

9-epi-NH₂-L-tert-Leucina-HQD-Tiourea



¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 0.9 (m, 3H); 1,45 (s, 9H); 1.20 – 1.60 (m, 8H); 1,71 (bs, 1H); 1,89 (t, 1H); 2,91 (dd, 1H); 2,60 (m, 1H), 4.00 (s, 3H); 4,12 (d, 1H); 4.60 (bd, 2H); 7.40 (dd, 1H); 7.52 (d, 1H); 7.61 (dd, 1H); 7.65 (bs, 1H); 7,98 (dd, 1H); 8.00 (d, 1H); 8,03 (dd, 1H). **ESI:** 709 [M]⁺. **[α]_d** = +42,8

8.BIBLIOGRAFIA

1. B. W. T. Kelvin, *Baltimore Lecture on Molecular Dynamics and the Wave Theory of Light*, C. J. Clay, London, **1904**.
2. L. Pasteur, *La dissymétrie moléculaire*, Œuvres de Pasteur, Vol.1, Masson, Paris, **1922**, 21.
3. J. Seyden-Penne, *Chiral Auxiliaries and Ligands in Asymmetric Synthesis*, J. Wiley: New York, **1995**.
4. Dalko, P.I.; Moisan, L. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2001**, 40, 3726.
5. B. List, *Chem. Commun.*, **2006**, 819 – 824.
6. a) Z. G. Hajos, D. R. Parrish, German Patent DE 2102623, 29 July, **1971**; b) U. Eder, G. Sauer, R. Wiechert, German Patent DE 2014757, 7 October, **1971**; c) U. Eder, G. Sauer, R. Wiechert, *Angew. Chem.* **1971**, 83, 492-493; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1971**, 10, 496-497; d) Z. G. Hajos, D. R. Parrish, *J. Org. Chem.* **1974**, 39, 1615-1621.
7. K. A. Ahrendt, C. J. Borths, D. W. C. MacMillan, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 4243-4244.
8. B. List, R. A. Lerner, C. F. Barbas III, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 2395-2396.
9. C. E. Song, (ed) (2009) *Front Matter*, in *Cinchona Alkaloids in Synthesis and Catalysis: Ligands, Immobilization and Organocatalysis*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Germany.
10. A. Scettri, A. Massa, L. Palombi, R. Villano, M.R. Acocella, *Tetrahedron: Asymmetry* **2008**, 19, 2149-2152.
11. Iwabuchi, Y.; Nakatani, M.; Yokoyama, N.; Hatakeyama, S., *J. Am. Chem. Soc.*, **1999**, 121, 10219-10220.
12. Paolo Melchiorre*, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2012**, 51, 2–25.
13. *Cinchona Alkaloids in Synthesis and Catalysis* - Choong Eui Song, **2001**, 1-529.
14. O. Mitsunobu *Synthesys* **1981**, 1.
15. M. Vaultier, N. Knouzi, R. Carrière, *Tetrahedron Lett.* **1983**, 24, 763.
16. For representative reviews on asymmetric phase-transfer catalysis, see: a) M. J. O'Donnell in *Catalytic Asymmetric Synthesis* (Ed.: I. Ojima), Verlag Chemie, New York, **1993**, Chapter 8; b) T. Shioiri in *Handbook of Phase-Transfer Catalysis* (Eds. : Y. Sasson, R. Neumann), Blackie Academic & Professional, London, **1997**, Chapter 14; c) A. Nelson, *Angew. Chem.* 1999, 111, 1685; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, 38, 1583;
17. Jonathan Clayden, Nick Greevs, Stuart Warren, Peter Wothers, *Organic Chemistry*(Cambridge University),**2010**, 606.
18. Ooi, T. et al. (**2004**) Highly enantioselective conjugate addition of nitroalkanes to alkylidenemalonates using efficient phase-transfer catalysis of N-spiro chiral ammonium bromides. *J. Am. Chem. Soc.* 126, 11790–11791.
19. Ooi, T. et al. (**2004**) Design of new chiral phase-transfer catalysts with dual functions for highly enantioselective epoxidation unsaturated ketones. *J. Am. Chem. Soc.* 126, 6844–6845.

20. Bella, M. et al. (2005) Organocatalytic regio- and asymmetric C-selective S_NAr reactions-stereoselective synthesis of optically active spiro-pyrrolidone-3,3 oxoindoles. *J. Am. Chem. Soc.* 127, 3670–3671.
21. Palomo, C. et al. (2005) Catalytic enantioselective aza-henry reaction with broad substrate scope. *J. Am. Chem. Soc.* 127, 17622–17623.
22. Pihko, P. (2004) Activation of carbonyl compounds by double hydrogen bonding: An emerging tool in asymmetric catalysis. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 43, 2062–2064.
23. Vachal, P. et al. (2002) Structure-based analysis and optimization of a highly enantioselective catalyst for the Strecker reaction. *J. Am. Chem. Soc.* 124, 10012–10014.
24. Joly, G.D. et al. (2004) Thiourea-catalysed enantioselective hydrophosphonylation of imines: practical access to enantiomerically enriched-amino phosphonic acids. *J. Am. Chem. Soc.* 126, 4102–4103.
25. Yoon, T.P. et al. (2005) Highly enantioselective thiourea-catalysed nitro-Mannich reactions. *Angew. Chem. Int. Ed.* 44, 466–468.
26. Wenzel, A.G. et al. (2002) Asymmetric catalytic Mannich reactions catalysed by urea derivatives: enantioselective synthesis of α -aryl- β -amino acids. *J. Am. Chem. Soc.* 124, 12964–12965.
27. L. Claisen, *J. Prakt. Chem.* **1886**, 35, 413 – 415.
28. A. Michael, *J. Prakt. Chem.* **1886**, 35, 349.
29. Arthur Michael (1887). *Ueber die Addition von Natriumacetessig- und Natriummalonsäureäthern zu den Aethern ungesättigter Säuren.* *Journal für Praktische Chemie* **35** (1): 349-356.
30. S. Fustero, G. Chiva, J. Piera, J. F. SanzCervera, A. Volonterio, M. Zanda, C. R. de Arellano, *J. Org. Chem.* **2009**, 74, 3122 –3132.
31. L. Falborg, K. A. Jørgensen, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1996**, 2823 – 2826.
32. S. H. Kang, Y. K. Kang, D. Y. Kim, *Tetrahedron* **2009**, 65, 5676 – 5679.
33. K. A. Ahrendt, C. J. Borths, D. W. C. MacMillan, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 4243 –4244.
34. Y. K. Chen, M. Yoshida, D. W. C. MacMillan, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 9328 –9329.
35. L. Wang, S. Shirakawa, and K. Maruoka, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, 50, 5327-5330.
36. A. G. Doyle, E. N. Jacobsen, *Chemical Reviews*, **2007**, 107, 5713 - 5743.
37. J. Alemà, A. Parra, H. Jiang, K. A. Jørgensen, *Chem. Eur. J.*, **2011**, 17, 6890 - 6899.
38. B. Vakulya, S. Varga, A. Csámpai, T. Soós, *Org. Lett.* **2005**, 7, 1967.
39. L. Hintermann, M. Schmitz, U. Englert, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, 46, 5164-5167.
40. Ian B. Seiple, S. Su, R. A. Rodriguez, R. Gianatassio, Y. Fujiwara, A. L. Sobel, Phil S. Baran, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, 132, 13194-13196.
41. O. Keller, W. E. Keller, G. van Look, G. Wersin, *Organic Syntheses, Coll. Vol. 7, p. 70 (1990); Vol. 63, p. 160 (1985).*
42. Q. Zhu and Y. Lu, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, 49, 7753-7756.