



Università
Ca' Foscari
Venezia

Corso di Laurea magistrale (*ordinamento ex D.M.
270/2004*)
in Chimica e Tecnologie Sostenibili, curriculum in Chimica

Tesi di Laurea

—

Ca' Foscari
Dorsoduro 3246
30123 Venezia

Sviluppo di Potenziali Organocatalizzatori Fotomodulabili

Relatore

Ch. Prof. Alessandro Scarso

Correlatore

Ch. Prof. Giorgio Strukul

Laureando

Alberto Trevisan

Matricola 834161

Anno Accademico

2015 / 2016

La mente è come un paracadute. Funziona solo se si apre.
(Albert Einstein)

Sommario

| | |
|---|----|
| INTRODUZIONE..... | 5 |
| I catalizzatori come “acceleratori” delle reazioni..... | 5 |
| Gli enzimi: i catalizzatori della Natura..... | 6 |
| Enzimi allosterici | 7 |
| Emoglobina, una proteina allosterica..... | 8 |
| Proprietà degli enzimi allosterici | 10 |
| La catalisi supramolecolare come mimesi degli enzimi | 10 |
| Catalisi fotomodulabile | 12 |
| Fotocromismo nella catalisi fotomodulabile | 13 |
| Azobenzeni | 14 |
| Diarileteni | 15 |
| Spiropirani | 17 |
| Progettazione dei catalizzatori fotomodulabili | 18 |
| SCOPO DELLA TESI..... | 20 |
| RISULTATI E DISCUSSIONE | 22 |
| Sintesi del metil nicotinato..... | 22 |
| Sintesi della nicotinidrazina | 26 |
| Acilidrazoni come foto-interruttori regolabili..... | 29 |
| Sintesi | 29 |
| Test di interconversione | 31 |
| Test catalitici..... | 36 |
| Reazione di acilazione del 3-metossifenolo con anidride acetica organo-catalizzata dagli idrazoni fotomodulabili..... | 36 |
| Studio dell'attività catalitica degli acilidrazoni E/Z | 39 |
| Prova di modulazione della cinetica con organocatalizzatore E/Z..... | 43 |
| CONCLUSIONI | 45 |
| PARTE SPERIMENTALE | 46 |
| Strumentazione..... | 46 |
| Cromatografia su colonna | 46 |
| Materiale..... | 47 |
| Procedure sperimentali | 47 |
| Sintesi del metil nicotinato | 47 |

| | |
|--|----|
| <i>Metil nicotinato</i> | 48 |
| Sintesi della nicotinidrazina | 48 |
| <i>Nicotinidrazina</i> | 48 |
| Sintesi generale degli acilidrazoni..... | 48 |
| <i>(E)-N'-(2-pirrolilmetilene)nicotinidrazone</i> | 49 |
| <i>(E)-N'-(2-tiofenilmetilene)nicotinidrazone</i> | 52 |
| <i>(E)-N'-(4-bifenililmetilene)nicotinidrazone</i> | 55 |
| <i>(E)-N'-(1-pirenilmetilene)nicotinidrazone</i> | 58 |
| Reazione di esterificazione del 3-metossifenolo a dare il 3-metossifenil acetato | 61 |
| Esterificazione foto-modulata del 3-metossifenolo a dare il 3-metossifenil acetato | 61 |
| BIBLIOGRAFIA | 62 |

INTRODUZIONE

I catalizzatori come “acceleratori” delle reazioni

Un catalizzatore è una sostanza che aumenta la velocità di una reazione chimica restando inalterato alla fine del processo; questo fenomeno è noto come catalisi (dal greco *katalýein*, “rompere, sciogliere”), termine coniato nel 1835 da Jöns J. Berzelius.¹

La catalisi ha un effetto prettamente cinetico: il catalizzatore abbassa l'energia di intermedi ed in particolare dello stato di transizione limitante la velocità di reazione portando allo stesso prodotto termodinamico. In altre parole, il catalizzatore fornisce un percorso reattivo a minor energia di attivazione.

Si distinguono due tipi di catalisi: omogenea ed eterogenea. Nella prima catalizzatore, reagenti e prodotti sono nella stessa fase, nella seconda il catalizzatore è in una fase diversa rispetto a quella dei reagenti e dei prodotti.

Un esempio per ciascuna tipologia è dato rispettivamente dalla decomposizione dell'acido formico in presenza di ioni H^+ e dall'ossidazione del monossido di carbonio catalizzata da rodio metallico.² Come mostrato nel caso **I** della Figura 1, lo ione H^+ protona l'ossigeno carbossilico generando un buon gruppo uscente ed il successivo ripristino del catalizzatore genera il prodotto finale di reazione. Nel caso **II** i reagenti gassosi si adsorbono sulla superficie di Rh (**a**), dopodiché le molecole di NO si scindono in atomi di N e di O (**b**), che diffondono sulla superficie stessa per reagire con CO nei siti attivi. I prodotti risultanti sono infine desorbiti (**c**).

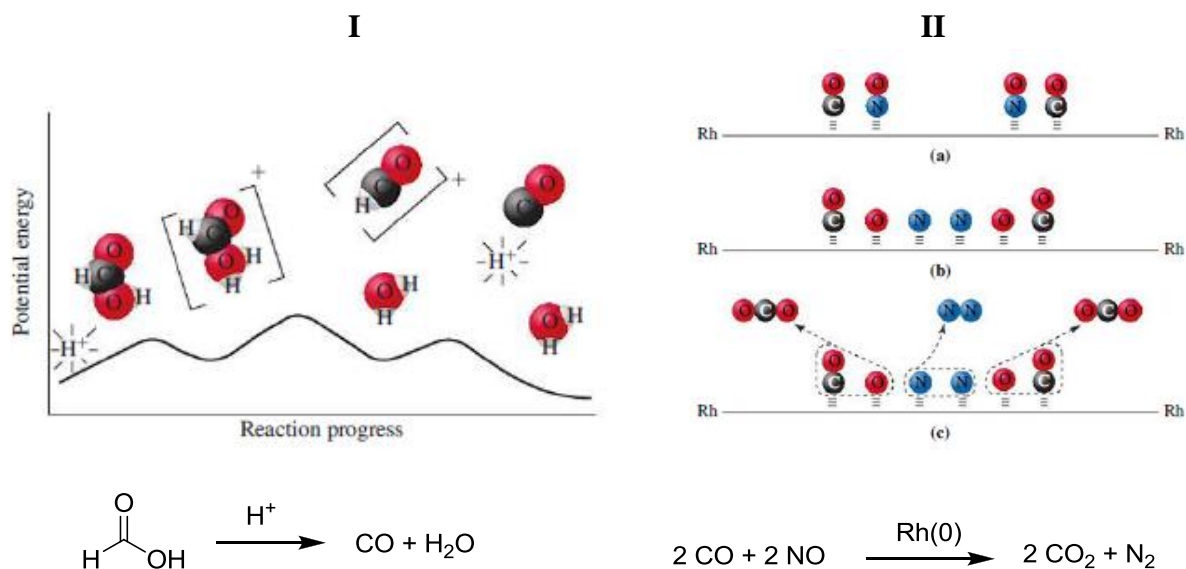


Figura 1 Decomposizione dell'acido formico (**I**) e ossidazione del CO (**II**).

Gli enzimi: i catalizzatori della Natura

Gli enzimi accelerano di diversi ordini di grandezza le reazioni biochimiche operando in ambiente acquoso ed in condizioni blande di temperatura e pH.

Questi catalizzatori biologici furono per la prima volta investigati tra il XIX ed il XX secolo: nel 1850 Louis Pasteur concluse che le cellule di lievito convertissero lo zucchero in alcol mediante “fermenti” inseparabili dalle cellule stesse, ma nel 1897 Eduard Buchner dimostrò che un estratto cellulare di lievito promuoveva altrettanto efficacemente la fermentazione e per questo motivo Friedrich W. Kühne nominò enzimi (dal greco *en zýmō*, “nel lievito”) queste molecole. Nel 1926 James Sumner isolò e cristallizzò l’enzima ureasi (Figura 2) dimostrandone la natura proteica mediante cristallografia; negli anni successivi John Northrop e Moses Kunitz cristallizzarono altri enzimi quali la pepsina e la tripsina.^{3,4}

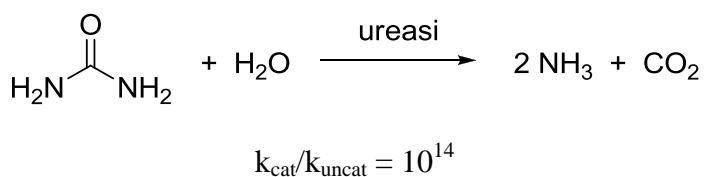
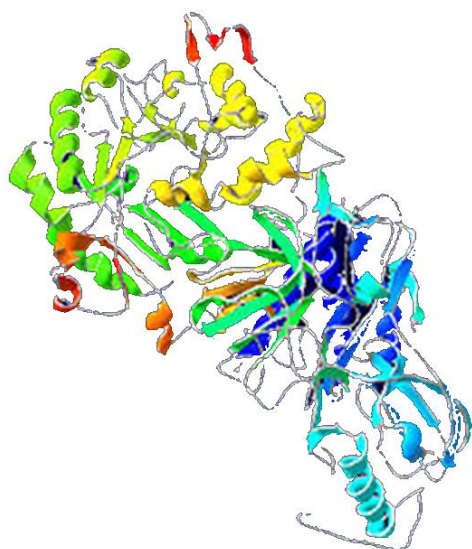


Figura 2 Modello computazionale dell’ureasi ed idrolisi dell’urea catalizzata dal suddetto enzima. L’enzima accelera la reazione di 100000 miliardi di volte

Ogni cellula vivente possiede centinaia di enzimi diversi, che catalizzano reazioni essenziali per la vita e sono caratterizzati da:

- Specificità di reazione, ovvero l’assenza di prodotti secondari;
- Stereospecificità, cioè la capacità di agire su un singolo stereoisomero del substrato.

Queste caratteristiche non solo permettono alle cellule di risparmiare energia conducendo le reazioni in condizioni blande, ma prevengono anche la formazione di prodotti metabolici di scarto potenzialmente tossici.⁵

Gli enzimi sono una classe di proteine globulari che si ripiegano su sé stesse attraverso legami ad idrogeno, interazioni elettrostatiche ed interazioni idrofobiche e la specificità di questi sistemi è descritta qualitativamente dal modello dell’adattamento indotto di Daniel Koshland (1958).

Sulla superficie dell'enzima si trova il sito attivo, una cavità dove può inserirsi la molecola reagente detta substrato; l'interazione tra queste due unità genera il complesso enzima-substrato. Il sito attivo si distorce per risultare esattamente complementare in forma, dimensione e carica al substrato e l'energia derivante da questa distorsione si disperde in parte sulla struttura dell'enzima ed in parte sul legame suscettibile del substrato. Una o più reazioni consecutive generano il complesso enzima-prodotto che si dissocia nei prodotti finali e nell'enzima libero, il quale è pronto per un nuovo ciclo catalitico (Figura 3). Per ogni intermedio si ha un minor dispendio energetico e la velocità di reazione è data dallo stadio cineticamente determinante.

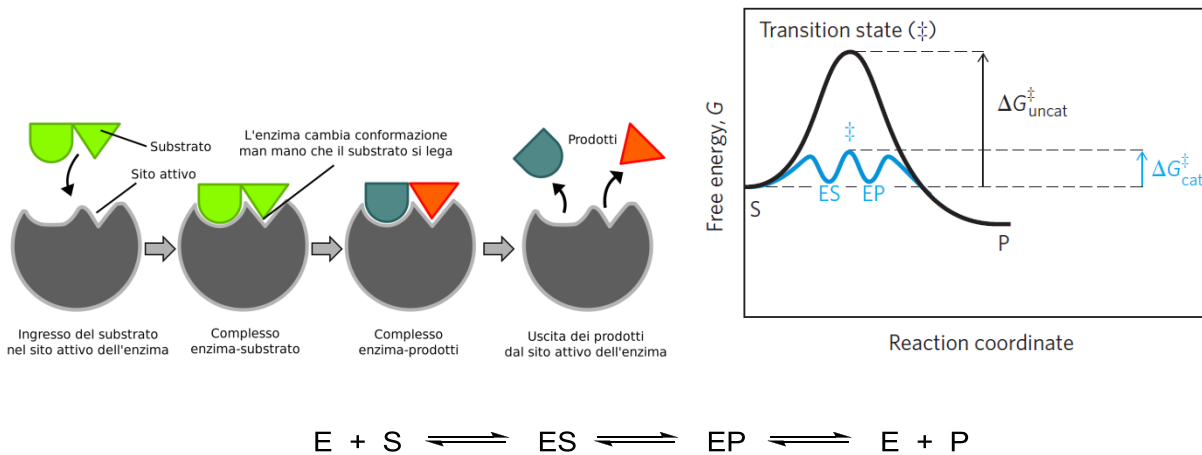


Figura 3 Modello dell'adattamento indotto e diagramma energetico di una reazione enzimatica catalizzata.

Enzimi allosterici

L'attività di un enzima può essere modulata per regolazione allosterica non covalente (Figura 4) o per modificazione covalente: la prima si realizza attraverso piccoli ma significativi cambiamenti nella conformazione proteica, la seconda richiede solitamente l'ausilio di ulteriori enzimi modificatori per l'attivazione e l'inattivazione.

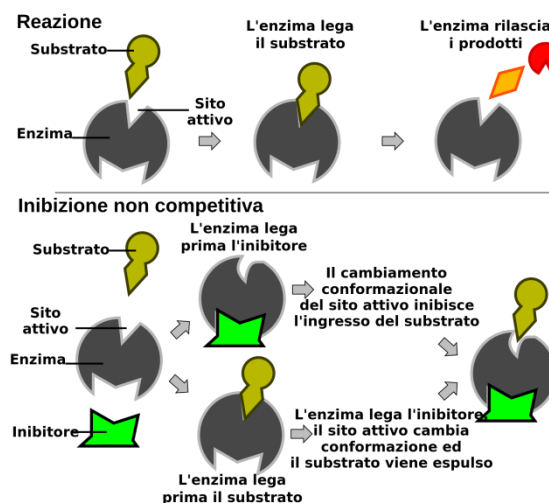


Figura 4 Inibizione di un enzima attraverso l'intervento di un modulatore allosterico

Un enzima allosterico si trova in equilibrio tra due forme rapidamente interconvertibili, dette stato R (attivo) e stato T (inattivo). Una molecola attivatrice o inibitrice, detta modulatore o effettore allosterico, si lega reversibilmente ad un secondo sito di legame chiamato sito regolatore o allosterico; i due siti sono generalmente in regioni fisicamente distinte della proteina. Quando un inibitore si lega al sito allosterico, la proteina passa dallo stato R allo stato T; il legame di un attivatore al suddetto sito determina invece il cambiamento opposto. Il cambio di conformazione dell'enzima causato dal legame o dal rilascio dell'effettore si trasmette dal sito allosterico al sito attivo, che modifica la sua attività.

Emoglobina, una proteina allosterica

L'emoglobina è una proteina tetramericata che trasporta l'ossigeno nel sangue degli organismi vertebrati (Figura 5). Sebbene non sia un enzima, essa assomiglia agli enzimi modulabili.

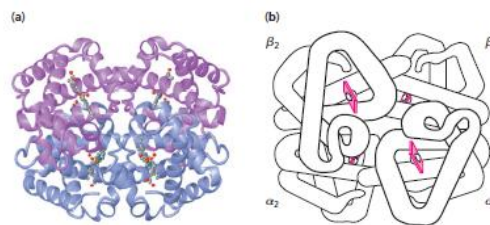


Figura 5 Modello computazionale (a) e diagramma schematico (b) dell'emoglobina umana con le due subunità α e due subunità β (il gruppo eme è evidenziato in rosso)

Come mostrato nella sottostante Figura 6, l'ossigeno si lega reversibilmente tra il centro metallico del gruppo prostetico eme ed un residuo istidinico della catena polipeptidica; un secondo residuo istidinico interagisce col Fe(II) per creare un complesso ottaedrico. La forma ossigenata e deossigenata sono dette rispettivamente ossiemoglobina (HbO_2) e deossiemoglobina (Hb).

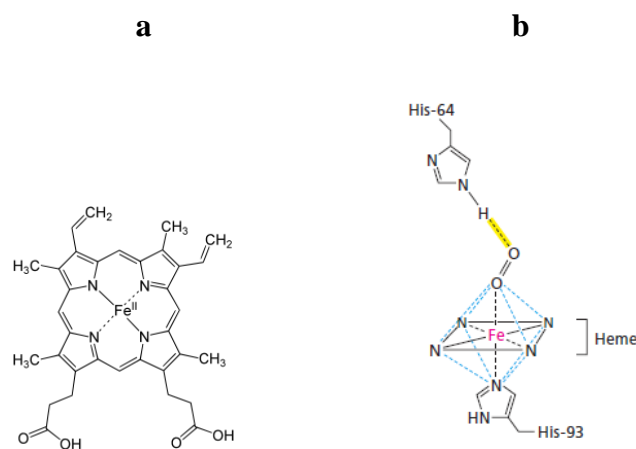


Figura 6 Struttura chimica del gruppo eme (a) e sito di legame dell'ossigeno nell'emoglobina (b). L'eme è rappresentato da un parallelogramma recante un atomo di azoto per ciascun spigolo. Le linee blu tratteggiate mostrano la geometria ottaedrica del complesso di coordinazione.

L'ossigenazione cambia la struttura dell'emoglobina (Figura 7): Hb è stabilizzata da diverse coppie ioniche intra- ed intersubunitarie e, quando O_2 lega ad una subunità, si ha uno spostamento che separa queste coppie ioniche e favorisce una conformazione leggermente diversa.

Lo spostamento è innescato dalla reattività del Fe(II): in Hb l'atomo di ferro presenta cinque leganti, è leggermente più grande rispetto alla cavità delimitata dall'anello porfirinico e giace sotto il piano dell'anello. Quando O_2 (il sesto legante) si lega, il centro metallico si ossida a Fe(III), il diametro diminuisce e si sposta dentro il piano della porfirina tirando l'elica contenente l'istidina prossimale.

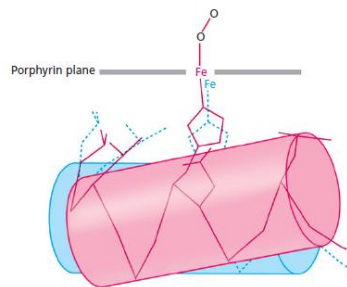


Figura 7 Modificazioni conformazionali nell'emoglobina indotte dall'ossigenazione

Il cambiamento nella struttura terziaria comporta un leggero cambiamento nella struttura quaternaria e permette alle restanti subunità di legare l'ossigeno più facilmente: l'affinità dell'emoglobina per l'ossigeno aumenta ad ogni molecola legata e questo fenomeno è detto cooperatività positiva di legame.

Il livello di legame all'equilibrio dipende dalla concentrazione della proteina e dell'ossigeno; questa relazione è descritta dalla curva di legame dell'ossigeno. Il grafico in Figura 8 riporta la frazione di saturazione (Y) contro la pressione parziale di ossigeno (pO_2): mentre HbO_2 (stato R) ha un andamento iperbolico, Hb (stato T) avrebbe anch'esso un andamento iperbolico ma con una concentrazione di metà saturazione molto più elevata. Soluzioni di emoglobina contenenti sia la forma R sia la forma T formano una curva sigmoideale con affinità per l'ossigeno intermedie.⁵

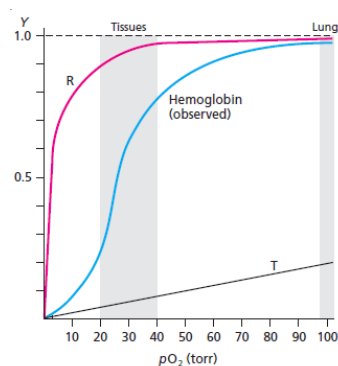


Figura 8 Curva di legame dell'ossigeno per l'emoglobina

Proprietà degli enzimi allosterici

Gli enzimi allosterici hanno quattro proprietà generali:

- Le attività sono modificate da inibitori ed attivatori metabolici. Spesso questi modulatori allosterici non assomigliano ai substrati o ai prodotti dell'enzima.
- I modulatori allosterici si legano in modo non covalente agli enzimi che regolano e non sono modificati chimicamente dagli enzimi stessi.
- Con poche eccezioni, gli enzimi regolati sono proteine composte da più subunità
- Un enzima allosterico di solito ha almeno un substrato per il quale la curva v_0 rispetto a $[S]$ è sigmoideale invece che iperbolica.

L'andamento sigmoideale degli enzimi allosterici è dovuto al legame cooperativo del substrato (Figura 9) e la loro attività può essere alterata fortemente quando o un attivatore o un inibitore si legano all'enzima. L'aggiunta di attivatore può abbassare la K_M apparente aumentando l'attività ad una data $[S]$, invece l'aggiunta di inibitore può aumentare la K_M apparente abbassando l'attività ad una data $[S]$.⁵

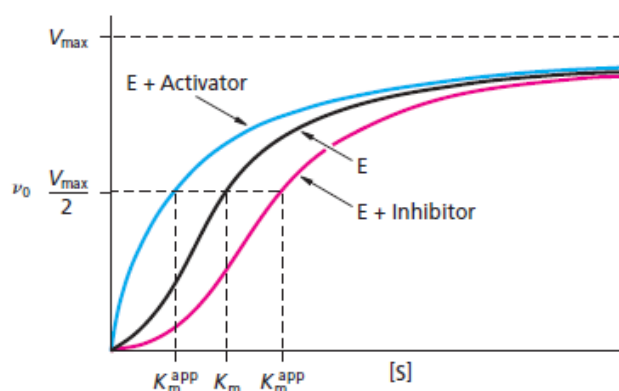


Figura 9 Ruolo della cooperatività di legame nella regolazione allosterica

La catalisi supramolecolare come mimesi degli enzimi

La catalisi ha un notevole interesse applicativo, poiché sta alla base di gran parte dei processi della chimica industriale, e gli enzimi sono da sempre fonte d'ispirazione per la comunità scientifica, che mira a sviluppare catalizzatori artificiali che mimino il sito attivo ed il comportamento allosterico di questi sistemi naturali. Un'ottima base a questo scopo è offerta dalla chimica supramolecolare, ossia lo studio del riconoscimento molecolare e degli assemblaggi di ordine superiore per interazioni non covalenti sviluppato da Donald Cram, Jean-Marie Lehn e Charles Pedersen, premi Nobel per la Chimica nel 1987.^{6, 7}

Per colmare la distanza tra la tradizionale catalisi omogenea e la catalisi enzimatica è necessario aumentare le interazioni superficiali tra il catalizzatore ed il substrato ed una soluzione è rappresentata dalla catalisi supramolecolare, un campo multidisciplinare in continua espansione che include l'implementazione di forze intermolecolari deboli in catalizzatori artificiali per ottenere un'elevata attività e selettività sia di substrato che di prodotto.

Gli esempi di catalizzatori supramolecolari modulabili sono tuttora limitati. A questo proposito è opportuno descriverne alcuni, tra cui uno sviluppato nel gruppo di ricerca in cui si è svolto questo lavoro di tesi basato sull'impiego del resorcin[4]arene. Tale molecola si auto-assembla spontaneamente allo stato solido ed in cloroformio saturo d'acqua per dare una capsula esamerica ($1_6 \times 8H_2O$ o caps) capace di accogliere piccole molecole ospiti attraverso interazioni non covalenti (Figura 10). L'esamero costituisce un nano-ambiente utilizzabile come:

- schermo reversibile per controllare l'attività di un catalizzatore tradizionale,
- ambiente per impartire selettività di substrato e prodotto,
- catalizzatore per legare substrati, stabilizzare stati di transizione ed accelerare reazioni

Nell'aggiunta di trimetilsililazide ($TMSN_3$) ad isonitrili⁸ e nelle cicloaddizioni 1,3-dipolari tra diazocomposti ed alcheni elettronpoveri⁹ Scarso, Strukul e collaboratori riscontrarono che in presenza di NEt_4BF_4 (tetrafluoroborato di tetraetilammonio) l'attività catalitica della molecola *host* diminuiva: il sale d'ammonio funge da *guest* competitivo e la sua azione ricorda l'inibizione riscontrata spesso nella catalisi enzimatica.

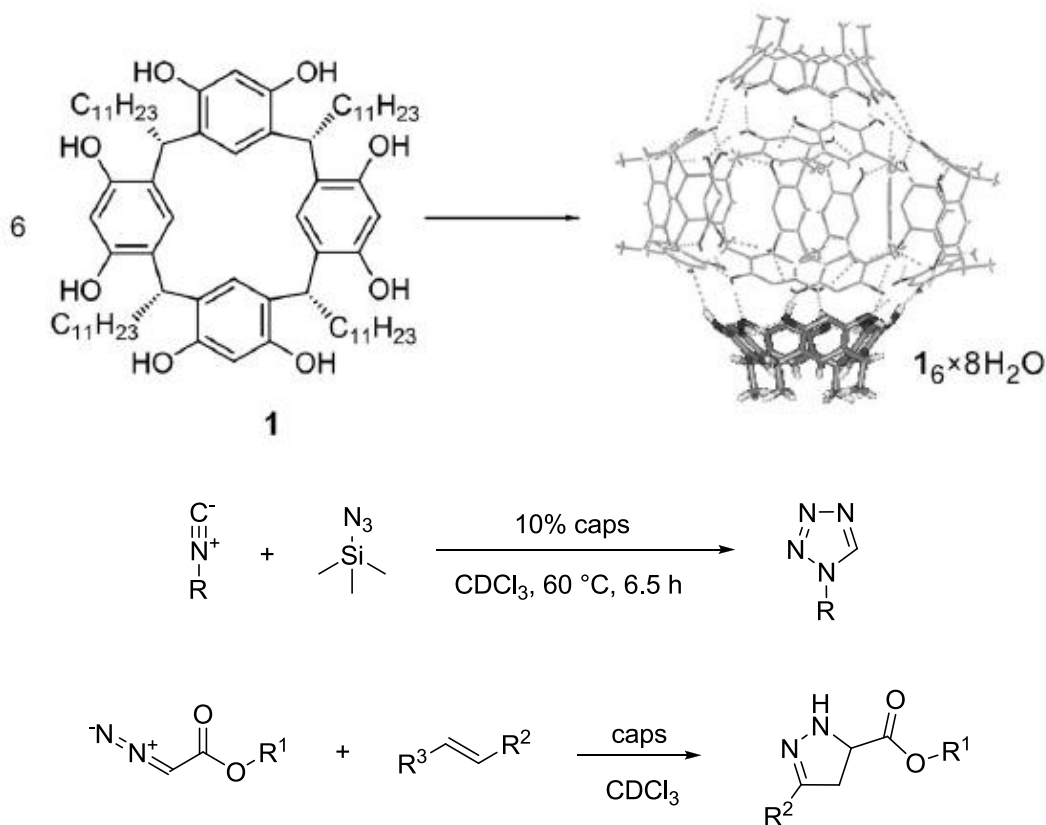


Figura 10 Struttura del resorcin[4]arene (1) e sintesi di 1H-tetrazoli e di derivati 4,5-diidro-1H-pirazolici catalizzate dalla capsula auto-assemblata

Un altro esempio deriva da un recente lavoro di Willner e collaboratori, che dimostrarono la possibilità di modulare la catalisi supramolecolare incorporando nei sistemi catalitici strutture contenenti tratti di DNA (Figura 11): l'idrolisi del m-terbutilfenil acetato è indotta da una β -ciclodestrina (β -CD) in presenza di oligonucleotidi β -CD/adamantani.

La β -CD si lega alla funzionalità m-terbutilfenilica e catalizza l'idrolisi dell'estere con conseguente acilazione della ciclodestrina. La porzione adamantanica può anch'essa legarsi alla β -CD e fungere da inibitore nella cavità della β -CD, ma a concentrazioni micromolari la maggior parte della β -CD è libera in soluzione. L'attività della suddetta struttura può essere "accesa" oppure "spenta" in presenza di appropriati filamenti di DNA attivatori ed inibitori.¹⁰

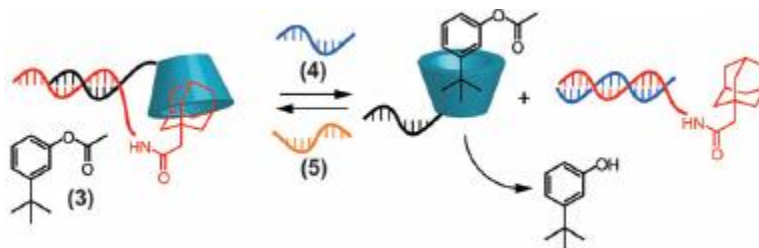


Figura 11 Idrolisi β -CD-catalizzata del m-terbutilfenil acetato (3) modulata da filamenti di DNA attivatori (4) ed inibitori (5)

Catalisi fotomodulabile

In natura tutte le funzioni essenziali degli organismi viventi sono governate da sofisticati meccanismi; quest'ultimi sono a loro volta controllati da complesse reti di unità funzionali la cui attività può essere regolata da stimoli interni ed esterni.

La maggior parte dei processi biologici è regolata da stimoli chimici (es: pH, interazione con effettori/inibitori) oltre alla temperatura che è noto possa modificare considerevolmente l'attività degli enzimi.

L'energia meccanica e la luce inducono con successo trasformazioni chimiche, ma, tra le due, la luce è forse lo stimolo più vantaggioso per la modulazione allosterica, poiché grazie agli strumenti ottici moderni è possibile selezionare lunghezze d'onda che consentono un'induzione controllata sulla reattività chimica e soprattutto l'uso di stimoli luminosi, contrariamente a quelli chimici, consente più cicli senza lascia residui legati alle ripetute aggiunte di altre specie chimiche.

Processi biologici come la vista e la fotosintesi fungono da spunto per creare catalizzatori fotosensibili artificiali, che possono essere realizzati in vari modi (Figura 12).

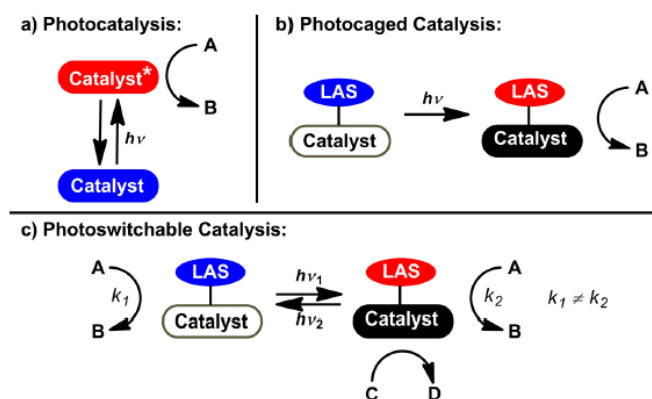


Figura 12 Diversi approcci concettuali per la catalisi fotomediata (LAS = *light absorbing species*, specie che assorbe luce)

Nella fotocatalisi (caso **a**) un precatalizzatore inattivo viene irraggiato per generare uno stato fotoeccitato cataliticamente attivo. Nella catalisi fotoattivabile (caso **b**) l'irraggiamento genera irreversibilmente la specie cataliticamente attiva. Nella catalisi fotomodulabile (caso **c**) una specie

cataliticamente attiva sottostà ad una trasformazione fotochimica reversibile ed altera le sue proprietà catalitiche intrinseche. Nel suo stato iniziale il catalizzatore può essere attivo o inattivo e la trasformazione fotoindotta può sia cambiare la velocità con cui il catalizzatore facilita una data reazione ($A \rightarrow B$; $k_1 \neq k_2$), sia permettere la promozione di una reazione diversa ($C \rightarrow D$).^{11, 12}

La luce è particolarmente attraente come stimolo perché non è invasivo ed offre un ineguagliabile livello di controllo mediante un'attenta selezione della lunghezza d'onda e della potenza d'irraggiamento.

La grande disponibilità di fotosensibilizzanti e la facilità con cui una radiazione UV/Vis può esservi incorporata hanno permesso lo sviluppo di diversi catalizzatori fotomodulabili di polimerizzazione. Studiando gli iniziatori Co-porfirina per la polimerizzazione radicalica controllata delle acrilammidi (Figura 13), nel 2013 Fu e collaboratori osservarono come i pendagli di polimetilacrilato oppure polidimetilacrilammide uniti ai complessi Co-porfirina sottostessero alla rottura omolitica del legame Co-C in seguito ad esposizione a luce visibile e come in assenza di tale stimolo il suddetto processo non avesse luogo.¹³

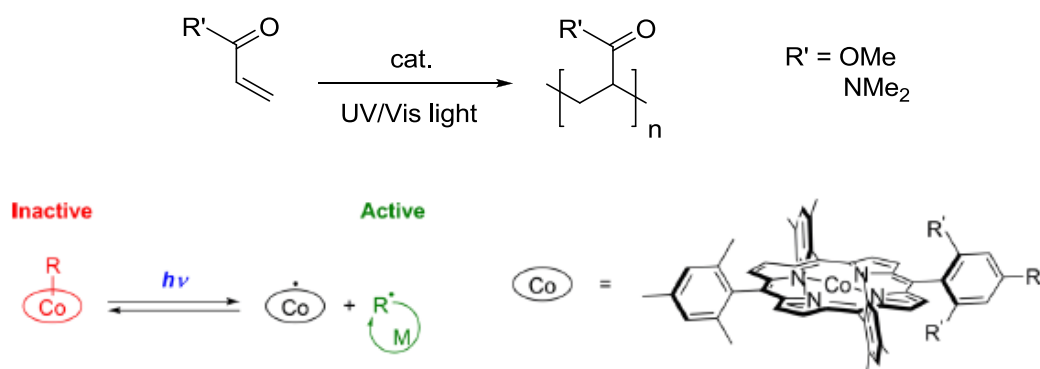


Figura 13 Polimerizzazione fotoindotta del polimetilacrilato/polidimetilacrilammide attraverso la rottura reversibile del legame Co-C nel complesso Co-porfirina

Un catalizzatore fotomodulabile ideale richiede che la trasformazione fotoindotta soddisfi tre requisiti:

- Elevata efficienza sia per la reazione diretta che per quella inversa;
- Alterazione significativa delle proprietà stereo-elettroniche del catalizzatore;
- Cambiamento nell'attività e/o selettività catalitica.

Inoltre l'unità fotosensibile dovrebbe assorbire ad una lunghezza d'onda tale da non eccitare altre componenti della stessa molecola o potenziali substrati per evitare fotodegradazioni premature.

Fotocromismo nella catalisi fotomodulabile

Il fotocromismo è la trasformazione reversibile di una specie chimica tra due forme aventi spettri d'assorbimento diversi mediante assorbimento di radiazione elettromagnetica. Durante questa fotoisomerizzazione cambiano diverse proprietà chimico-fisiche, tra cui la struttura geometrica. Questo fenomeno può essere sfruttato per creare non solo dispositivi ottici e materiali "intelligenti" per la nanotecnologia e la farmacologia,^{14, 15, 16} ma anche sistemi catalitici modulabili.¹⁷ Il campo della catalisi fotomodulabile ha visto un rapido sviluppo negli ultimi trent'anni e la catalisi fotomodulabile omogenea ha comportato soprattutto l'incorporazione di funzionalità fotocromiche,

che possono essere cambiate reversibilmente tra due stati aventi diverse proprietà stereo-elettroniche, in specie cataliticamente attive.¹²

Le molecole fotocromiche appartengono a diverse classi, tra le quali si contano gli azobenzeni, i diarilieteni e gli spiropirani.

Azobenzeni

Gli stilbeni ed azobenzeni sottostanno ad isomerizzazioni fotochimiche E/Z e permettono di modulare l'attività catalitica attraverso modifiche nella geometria molecolare.

L'azobenzene in Figura 14 esiste principalmente come isomero *trans* planare, ma in seguito a fotolisi dell'azogruppo può convertirsi nell'isomero *cis* non più perfettamente planare con conseguenti grosse variazioni strutturali.

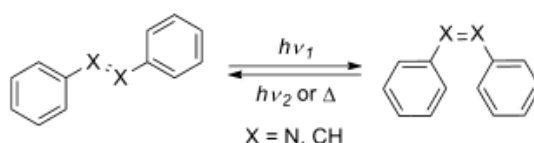
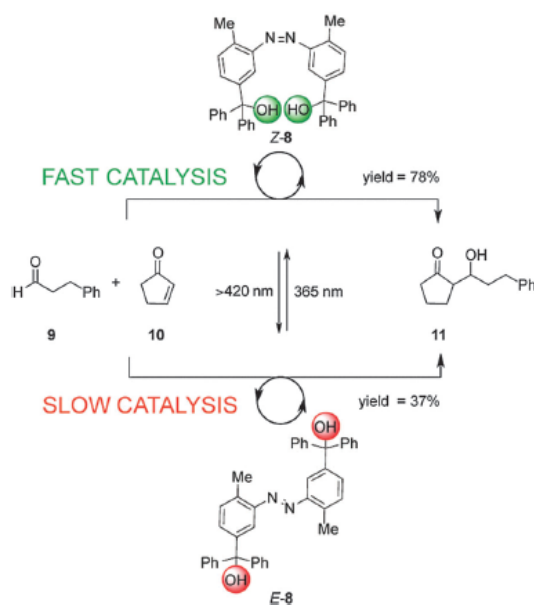


Figura 14 Fotoisomerizzazione dell'azobenzene/stilbene

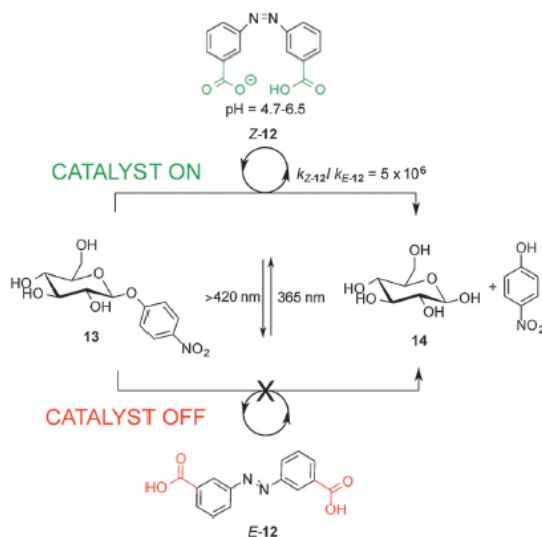
La fotolisi del doppio legame N=N è largamente usata negli interruttori molecolari, che trovano applicazione come catalizzatori per varie tipologie di reazione. Come mostrato nel sottostante Schema 1, i gruppi ossidrilici di E-8 sono troppo distanti per dare il legame idrogeno intramolecolare necessario ad aumentare l'acidità dell'alcol e la resa della reazione di Morita-Baylis-Hillman arriva al 37%. Z-8, generato per irraggiamento UV di E-8, permette invece rese pari al 78%.



Schema 1 Reazione di Morita-Baylis-Hillman tra 3-fenilpropanale (9) e 2-ciclopenten-1-one (10) usando il catalizzatore fotomodulabile E/Z-8

I catalizzatori E-12 e Z-12 (Schema 2) hanno pK_a molto diverse: mentre in E-12 entrambi i gruppi carbossilici hanno approssimativamente la stessa pK_a , la deprotonazione di Z-12 avviene gradualmente, con l'acido carbossilico e l'anione carbossilato che coesistono a $pH = 4.7-6.5$.

Questo si traduce in una diversa attività dei due isomeri nella reazione di idrolisi: Z-12 aumenta l'idrolisi del nitrofenil glicoside di sei ordini di grandezza.¹⁷



Schema 2 Idrolisi del nitrofenil β-D-glucosio (13) usando il catalizzatore fotomodulabile E/Z-12

Diarileteni

I diarileteni possiedono gruppi aromatici legati a ciascuna estremità di un doppio legame C=C e presentano due tipi di isomerizzazione reversibile innescata dalla luce:

- Isomerizzazione E/Z, molto comune per stilbeni ed azobenzeni, in cui l'isomero Z presenta gli anelli aromatici ortogonali tra di loro.
- Eterocicloaddizione 6π dell'isomero Z, che forma un legame tra le due funzionalità aromatiche rimuovendone l'aromaticità; molti diarileteni non sostituiti sono propensi ad ossidarsi ripristinando così l'aromaticità del sistema π (Figura 15).

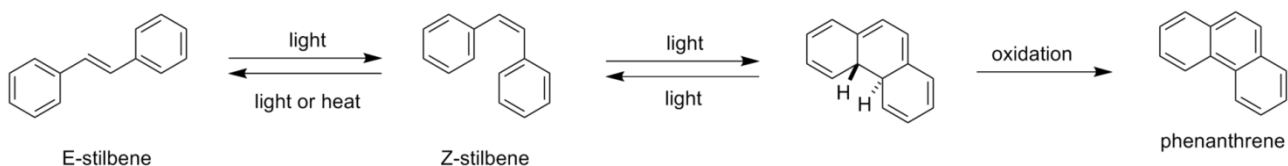


Figura 15 Fotoisomerizzazione dello stilbene. L'eterocicloaddizione 6π dearomatizza l'isomero Z, ma quest'ultimo si stabilizza ossidandosi.

Questa ossidazione può essere evitata grazie ai ditienilieteni: come mostrato in Figura 16, i gruppi metilici in posizione-2 dell'anello tiofenico impediscono la formazione del doppio legame C=C e spesso gli idrogeni sul doppio legame alchenico sono sostituiti con cicli a 5-6 membri per bloccare la struttura nella conformazione Z.

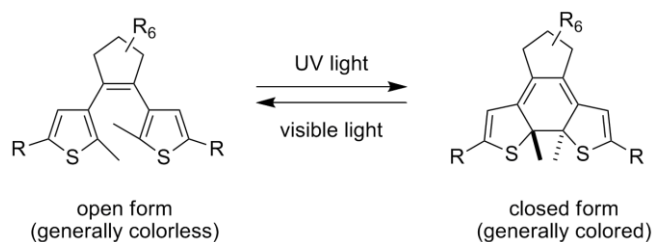
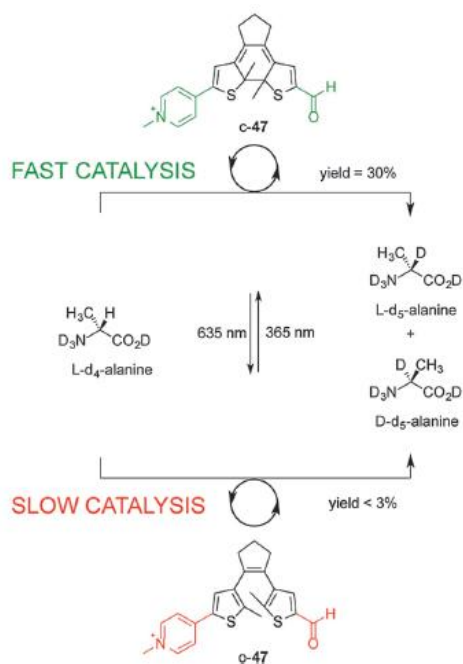


Figura 16 Interruttore molecolare diteniletlenico

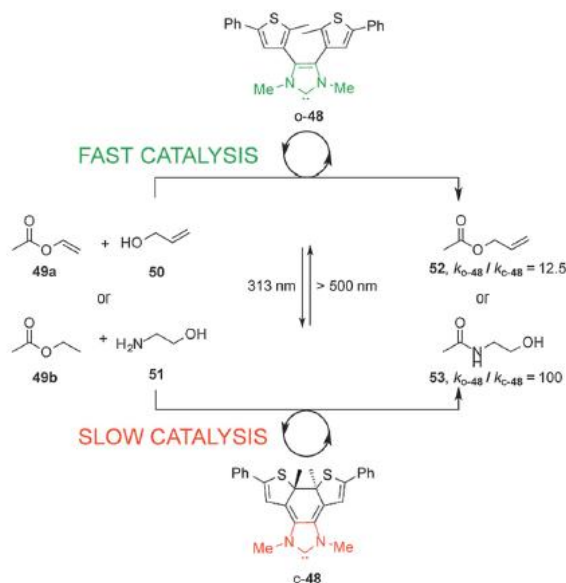
Quando sono esposti a luce UV e VIS, i diteniletene sottostanno rispettivamente a reazioni di apertura e chiusura d'anello e le corrispondenti forme acicliche e cicliche possono catalizzare o inibire vari tipi di reazioni.

Branda e collaboratori svilupparono un diteniletene la cui attività catalitica dipendeva dalla coniugazione elettronica tra due gruppi funzionali (Schema 3): in **o-47** lo ione piridinico e l'aldeide sono elettronicamente isolati tra loro "spegnendo" la catalisi (resa minore del 3%), mentre l'irraggiamento UV genera la forma ciclica **c-47** interamente coniugata "accendendo" l'attività catalitica con rese pari al 30%.



Schema 3 Racemizzazione della L-d₄-alanina usando il catalizzatore modulabile o/c-47

Bielawski e collaboratori dimostrarono che un carbene N-eterociclico (NHC) incorporato in una struttura diteniletetica catalizzava reazioni di transesterificazione ed amidazione in ambiente basico ed in presenza di luce VIS (Schema 4); l'esposizione della suddetto organocatalizzatore a radiazioni UV provocava un'isomerizzazione elettrociclica che inibisce la catalisi.^{17, 18}



Schema 4 Reazioni di transesterificazione ed ammidazione accelerate dal catalizzatore modulabile o/c-48

Spiropirani

Gli spiroirani sono la famiglia di fotocromi nota da più tempo e maggiormente studiata. Queste molecole sono formate da due eterocicli disposti ortogonalmente tra di loro ed uniti da un atomo di carbonio. Allo stato solido gli spiroirani non manifestano fotocromismo, ma in soluzione questi si trasformano nella corrispondente merocianina colorata dopo irraggiamento con una radiazione UV (Figura 17). Il substrato incolore è termodinamicamente più stabile del prodotto, pertanto, quando la radiazione cessa, la merocianina si decolora riconvertendosi a spiroirano.

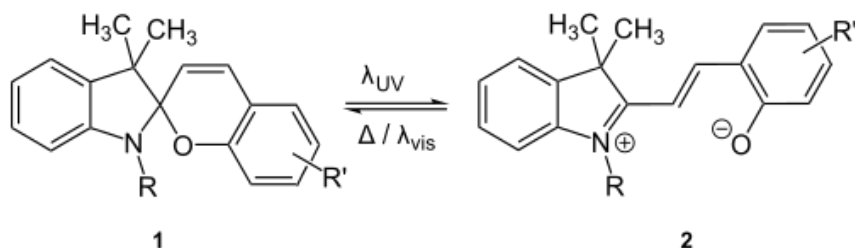
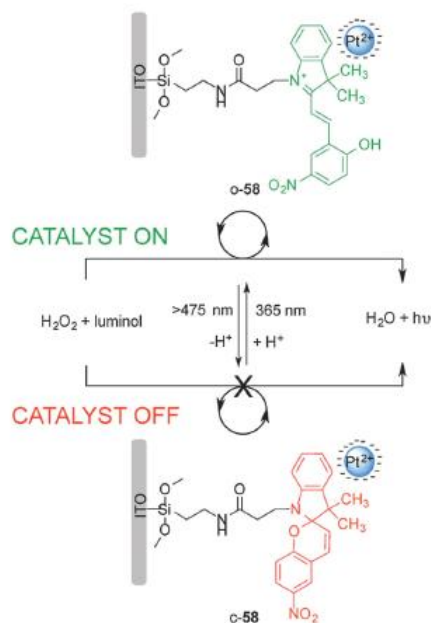


Figura 17 Isomerizzazione dello spiroirano (1) a merocianina (2)

Sistemi fotocromici a base di spiroirani costituiscono potenziali materiali per la registrazione ottica di dati e la creazione di fotointerruttori.¹⁹

Willner e collaboratori misero a punto un catalizzatore eterogeneo formato da un nitrospiroirano unito a ossido di In-Sn (ITO): il risultato è un *monolayer* la cui forma chiusa c-58 non ha affinità per nanoparticelle di Pt cariche negativamente e non catalizza la riduzione di H₂O₂. Non appena viene irraggiato con luce UV, il nitrospiroirano si apre ed acquista un protone per dare la specie o-58, che attrae le nanoparticelle di Pt all'elettrodo ITO permettendo la riduzione elettrocatalitica del substrato (Schema 5).

Questa reazione può essere monitorata aggiungendo all'ambiente di reazione luminol, che mostra chemiluminescenza se irraggiato con luce UV in presenza di H₂O₂. La catalisi può essere "accesa" e "spenta" con successo attraverso esposizioni alternate a diverse lunghezze d'onda di luce fino a 10 cicli senza degradazioni rilevabili del catalizzatore.^{12, 17}



Schema 5 Catalizzatore eterogeneo fotomodulabile o/c-58 per la riduzione di H_2O_2

Progettazione dei catalizzatori fotomodulabili

Le specie reattive ed inattive di un catalizzatore fotomodulabile sono chiamate rispettivamente stato ON e stato OFF. Un importante parametro per caratterizzare questi sistemi è la k_{rel} , cioè il rapporto tra le costanti cinetiche del *ON state* e del *OFF state* ($k_{\text{ON}}/k_{\text{OFF}}$): elevati k_{rel} indicano sia un'elevata reattività dello stato ON, sia una bassa reattività dello stato OFF per evitare reazioni secondarie indesiderate.

Per avere elevati k_{rel} e modulare l'attività catalitica sono obbligatori due prerequisiti:

1. Significativa popolazione della specie catalitica desiderata.
I gruppi fotocromici devono essere accuratamente scelti affinché vengano eccitati senza trasferimenti dissipativi di energia e di elettroni dal o al catalizzatore.
2. Modifiche alle proprietà geometriche ed elettroniche dei fotocromi.
Importanti modifiche nelle configurazioni E/Z di sistemi insaturi devono influenzare il più possibile le *performance* del catalizzatore.

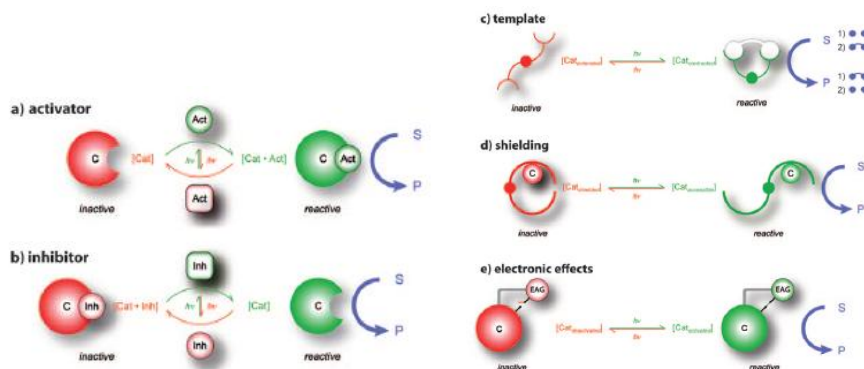
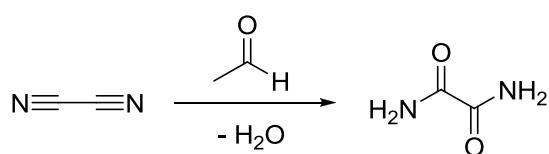


Figura 18 Vari approcci concettuali nel *design* di catalizzatori foto-modulabili

Ci sono vari modi per accoppiare la reattività fotocromica con l'attività catalitica (Figura 18). Un attivatore oppure un inibitore fotocromico rispettivamente si lega o si dissocia al centro catalitico attraverso uno stimolo luminoso (casi **a**, **b**). Quando invece cambia la geometria del catalizzatore, sono possibili due approcci: nel primo caso alcuni pendagli del catalizzatore riarrangiano generando una specie in cui due o più leganti possono interagire efficacemente col substrato (caso **c**), nel secondo caso si ha una modificazione che permette al substrato di accedere al sito attivo inizialmente ingombrato stericamente (caso **d**). Un'ulteriore possibilità consiste nel modulare le interazioni elettroniche tra il centro catalitico ed un sostituito, che può avviare o arrestare la catalisi in seguito alle sue interazioni col sito catalitico e lo stimolo esterno (caso **e**).¹¹

SCOPO DELLA TESI

Tutte le ricerche riportate nel precedente capitolo sono esempi di organocatalisi, ossia l'accelerazione di reazioni chimiche in cui il catalizzatore impiegato è una molecola organica. Il primo esempio riportato in letteratura risale al 1859, anno in cui Justus von Liebig scoprì la trasformazione del cianogeno in ossammide catalizzata da acetaldeide (Schema 6). In passato questa branca della chimica è stata a lungo ignorata perché i composti organici reagiscono prontamente tra di loro.²⁰ Nell'ultimo decennio l'organocatalisi ha invece assunto un ruolo di prim'ordine soprattutto nella trasformazione stereoselettiva di molecole, per le quali in alcuni casi rivaleggia in termini di performance catalitica, attività e selettività con gli enzimi, rappresentandone una versione estremamente più semplice.

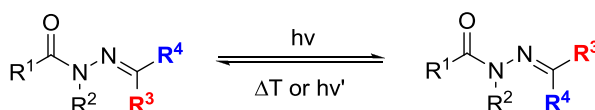


Schema 6 Formazione dell'ossammide da cianogeno (Liebig, 1859)

I fotointerruttori sono uno strumento prezioso in molti i campi della chimica (dalla biologia alla scienza dei materiali) e attraggono sempre di più l'attenzione della comunità scientifica. Ciononostante sviluppare nuove famiglie di queste molecole rappresenta una sfida: le sintesi sono impegnative e non sempre è possibile indagare le proprietà ricercate.

In un recente lavoro Hecht e collaboratori hanno sintetizzato e caratterizzato gli N-acilidrazoni (*N*-acylhydrazones, NAH), una nuova e ancora molto poco investigata classe di molecole fotocromiche basate su una struttura imminica.²¹ Questa stessa classe di molecole ha inoltre mostrato importanti proprietà antinfiammatorie utili per sviluppare potenziali farmaci contro varie patologie, quali morbo di Crohn, endometriosi ed artrite reumatoide.^{22, 23}

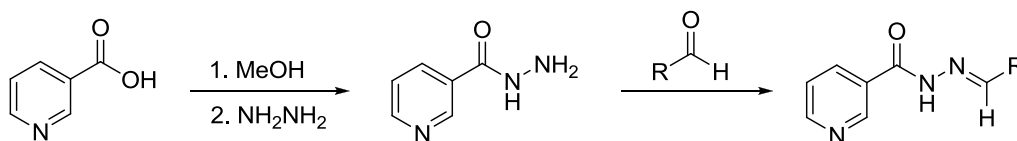
I NAH manifestano isomerizzazione fotochimica E/Z attorno al doppio legame imminico C=N (Schema 7) e, di conseguenza, le proprietà stereo-elettroniche delle due estremità idrazoniche risultano fortemente modificate. La geometria degli idrazoni E e Z può essere controllata: l'isomero Z è termodinamicamente meno favorito rispetto all'isomero E e può essere stabilizzato da legami ad idrogeno intramolecolari.



Schema 7 Struttura generale ed isomerizzazione dei NAH

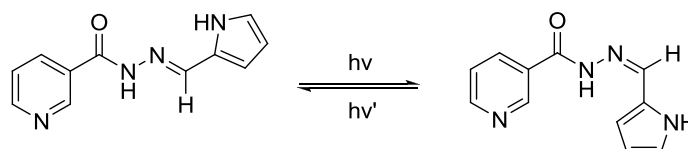
Nessun gruppo di ricerca ha finora implementato queste molecole per costruire catalizzatori fotomodulabili, quindi si è deciso di sintetizzare una serie di acilidrazoni a base di acido nicotinico

unito via idrazone ad aldeidi con dimensioni e caratteristiche elettroniche diverse (Schema 8) da sfruttare come organocatalizzatori.



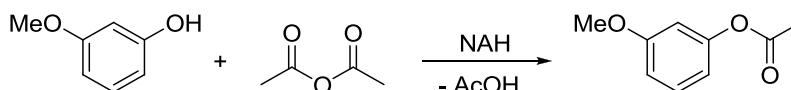
Schema 8 Sintesi generale dei NAH studiati in questo lavoro di tesi

Obiettivo primario di questo lavoro di tesi è lo studio delle proprietà fotocromiche di queste nuove molecole mediante spettroscopia ultravioletta/visibile (UV-Vis) per interconvertire gli isomeri E e Z attorno al doppio legame imminico C=N mediante irraggiamento con luce UV-Vis (Schema 9).



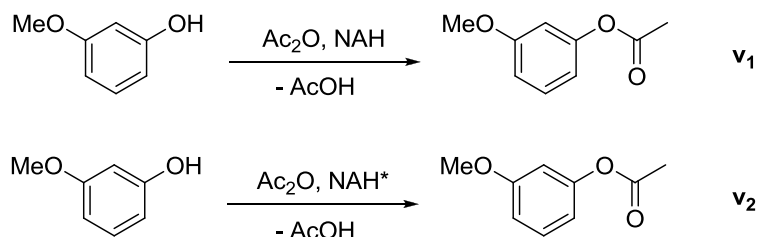
Schema 9 Fotoisomerizzazione del N'-(2-pirrolilmetilene)nicotinidrazone

L'azoto nicotinic è debolmente basico, quindi si è deciso di studiare preliminarmente per spettroscopia NMR la sua azione catalitica in una reazione di acilazione, che è tipicamente catalizzata da residui piridinici (Schema 10).



Schema 10 Acetilazione del 3-metossifenolo catalizzate da NAH

In particolare, come riportato in Schema 11, si vuole ricercare una variazione dell'attività catalitica quando il suddetto organocatalizzatore NAH viene preliminarmente isomerizzato a NAH* mediante irraggiamento con un'opportuna lunghezza d'onda.



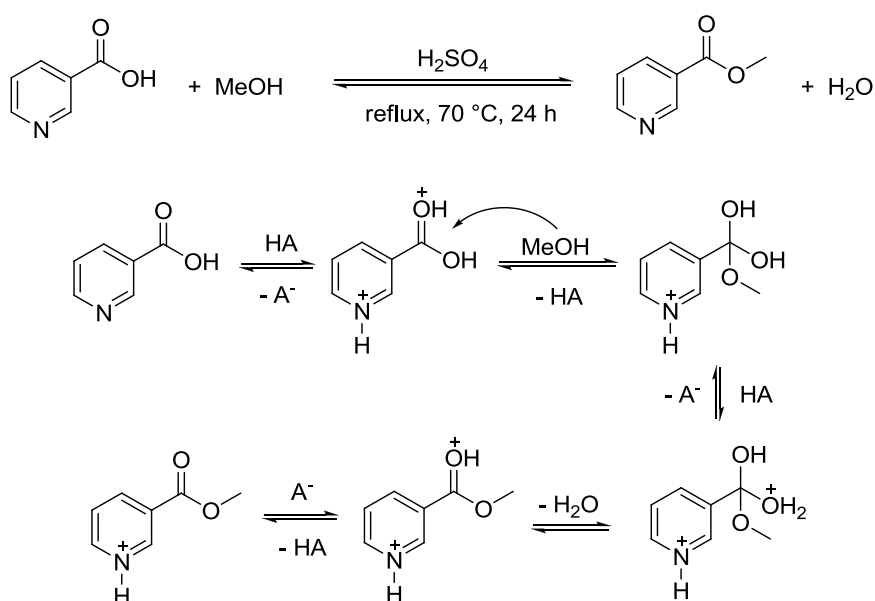
Schema 11 Acetilazione catalizzata dall'idrazone non irraggiato (NAH) e dall'idrazone irraggiato (NAH*) con $v_2 \neq v_1$

RISULTATI E DISCUSSIONE

Sintesi del metil nicotinato

Il metil nicotinato costituisce la porzione recante il sito catalitico piridinico presente sull'acilidrazione.

La suddetta porzione è sintetizzata per esterificazione di Fischer a partire dall'acido nicotinic: la protonazione da parte dell'acido solforico rende il gruppo carbossilico più elettrofilo e la successiva addizione del metanolo forma un intermedio tetraedrico neutro in seguito alla perdita di un protone. La protonazione di un gruppo OH forma un buon gruppo uscente e la successiva perdita di un protone ripristina il catalizzatore (acido di Brønsted forte).²⁴



Schema 12 Esterificazione dell'acido nicotinic con meccanismo di reazione

Come mostrato nello Schema 12, l'estere viene sintetizzato facendo reagire a riflusso acido nicotinic in metanolo con largo eccesso di acido solforico concentrato rispetto all'acido nicotinic. Non si usano quantità catalitiche di acido a causa dell'anello piridinico: l'azoto ha un doppietto basico, che sottrae protoni necessari alla catalisi e questo porta all'uso di acido forte in quantità sovra-stechiometrica.

La miscela grezza di reazione viene diluita con acqua e neutralizzata con bicarbonato sodico, dopodiché il prodotto viene estratto con etil acetato, concentrato a pressione ridotta ed infine tirato a secco. La resa isolata dell'estere è risultata inizialmente inferiore al valore riportato dal brevetto,²⁵ pertanto la suddetta reazione è stata ripetuta più volte al fine di apportare alcune modifiche alla procedura originale:

1. Usare NaHCO_3 sottoforma di:
 - 60 mL di soluzione acquosa satura
 - 1 eq rispetto a H_2SO_4
 - Una quantità tale da portare il grezzo di reazione a pH 8-9

2. Usare etere etilico come solvente d'estrazione
3. Riflussare la miscela di reazione a 70, 80 e 90 °C

L'applicazione delle suddette metodiche ha portato ai seguenti risultati (Tabella 1):

| Prova # | T (°C) | NaHCO ₃ (aq) sat | NaHCO ₃ 1:1 con H ₂ SO ₄ | NaHCO ₃ con pH = 8-9 | Solvente d'estraz. | Resa isolata (%) |
|---------|--------|--------------------------------|---|---------------------------------------|-----------------------|------------------------|
| 1 | 80 | | | x | EtOAc | 32 |
| 2 | 80 | | | x | EtOAc | 47 |
| 3 | 80 | | x | | Et ₂ O | / |
| 4 | 80 | | | x | EtOAc | 15 |
| 5 | 90 | x | | | EtOAc | / |
| 6 | 70 | | | x | EtOAc | 68 |
| 7 | 80 | | | x | EtOAc | 25 |

Tabella 1 Sintesi del metil nicotinato

Le prove #1, #2, #4 e #7 evidenziano rese isolate inferiori rispetto alla prova #6, che presenta una resa del 68%: molto probabilmente la basificazione eccessiva del grezzo di reazione provoca l'idrolisi del prodotto. Le prove #3 e #5 non hanno invece permesso di isolare il prodotto desiderato. Il suddetto prodotto è stato caratterizzato mediante spettroscopia ¹H-NMR, ¹³C {¹H}-NMR, COSY HSQC e HMBC in CDCl₃.

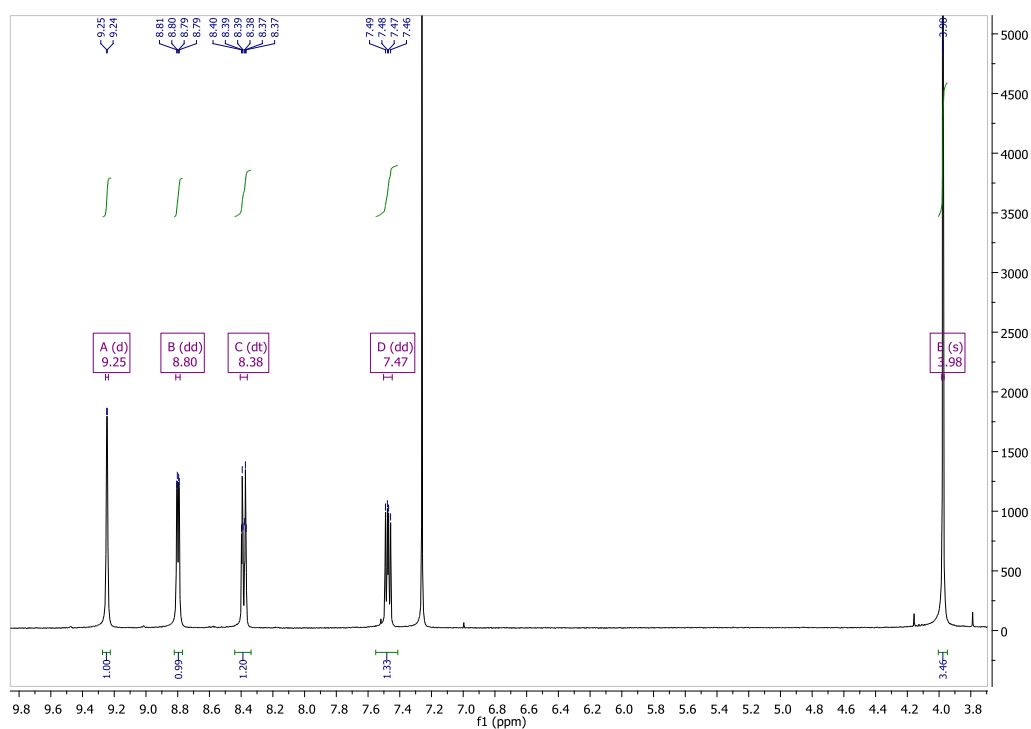


Figura 19 Spettro ¹H-NMR del metil nicotinato

Come evidenziato nelle Figure 19 e 20, il protone presente tra l'azoto piridinico ed il gruppo estereo (in rosso) è quello che risuona a campi più bassi (9.25 ppm). A campi più alti risuonano in quest'ordine il protone arancione, verde e blu a causa del graduale aumento dell'effetto schermatura attorno ai suddetti nuclei. I protoni metil esterei (in nero) sono i più schermati e quindi risuonano a 3.98 ppm.

Lo spettro NMR-COSY (Figura 24) permette invece di giustificare la molteplicità dei segnali dello spettro $^1\text{H-NMR}$:

- Rosso accoppia con verde generando un doppietto
- Arancione accoppia con blu e verde generando un doppietto di doppietti
- Verde accoppia con blu, arancione e rosso generando un doppietto di tripletti
- Blu accoppia con verde ed arancione generando un doppietto di doppietti

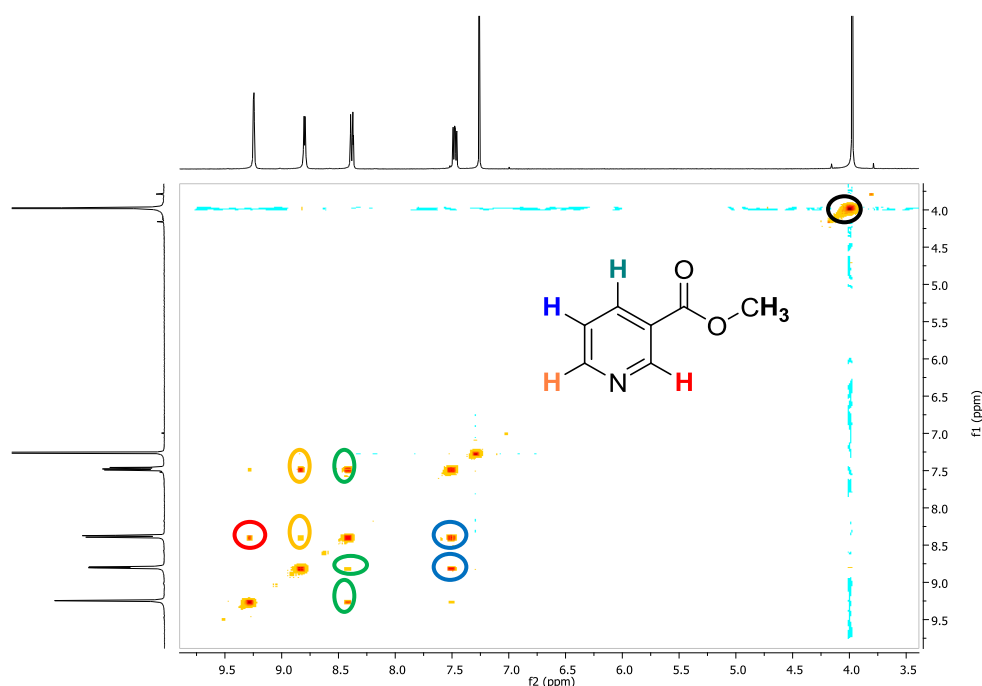


Figura 20 Spettro NMR-COSY del metil nicotinato

Lo spettro HSQC in Figura 21 pone in ascissa lo spettro $^1\text{H-NMR}$ ed in ordinata lo spettro ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ -NMR permettendo così di associare i protoni ed i carboni legati direttamente tra di loro.

La disposizione dei segnali relativi al carbonio rispecchia quella vista per i protoni, eccetto per i carboni evidenziati in rosso ed arancione: il carbonio arancione risuona a campi più bassi rispetto al carbonio rosso.

I segnali del carbonio carbonilico e del carbonio ipso possono essere visualizzati mediante spettroscopia HMBC e sono facilmente identificabili, perché i corrispondenti segnali non intersecano alcun segnale protonico.

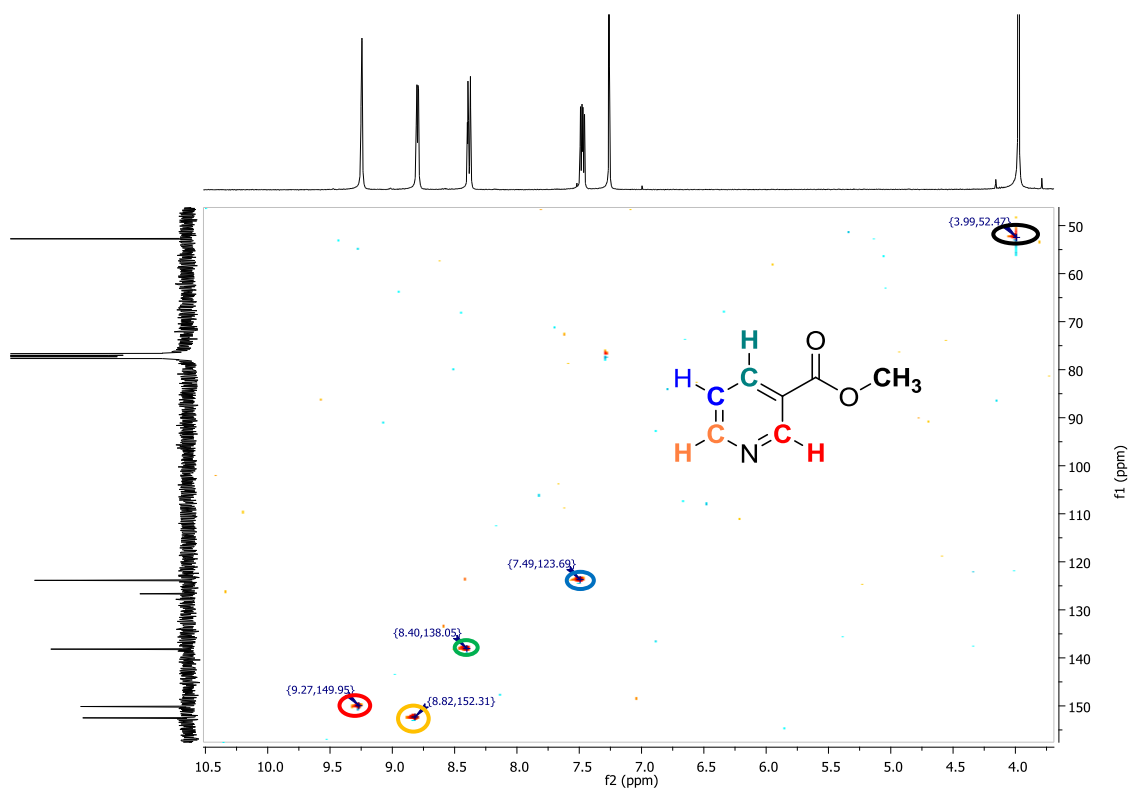


Figura 21 Spettro ^1H - ^{13}C HSQC del metil nicotinato

Nello spettro ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ -NMR (Figura 22) il segnale più deschermato è quello del carbonio carbonilico (165.45 ppm, in viola), mentre quello del carbonio ipso (126.66 ppm, in celeste) si frappone tra i carboni meta e para all'azoto piridinico.

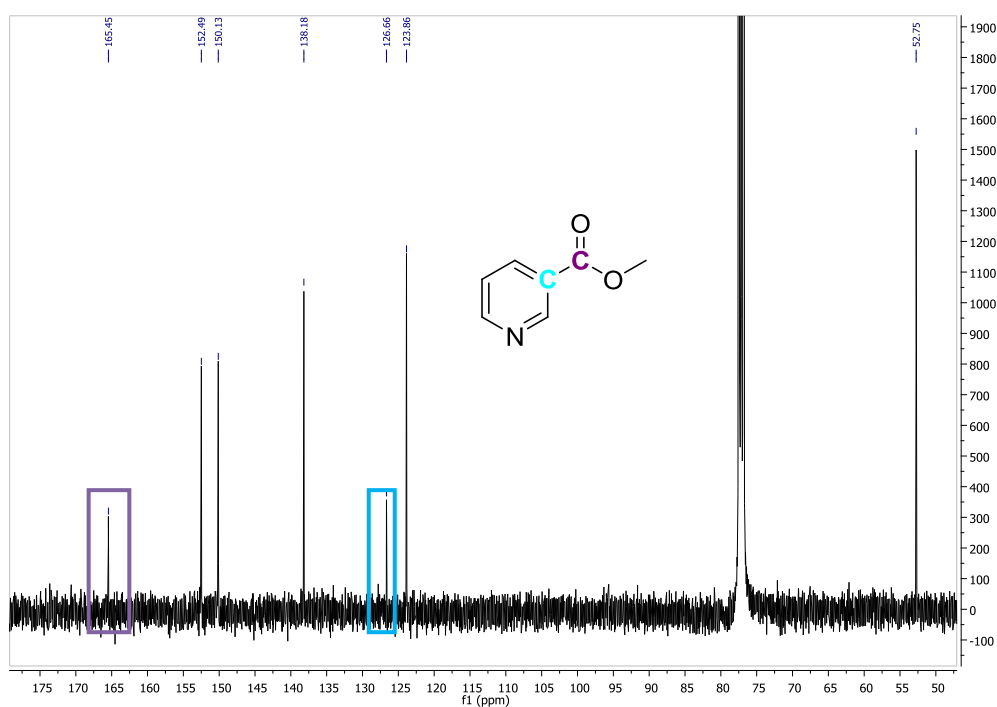
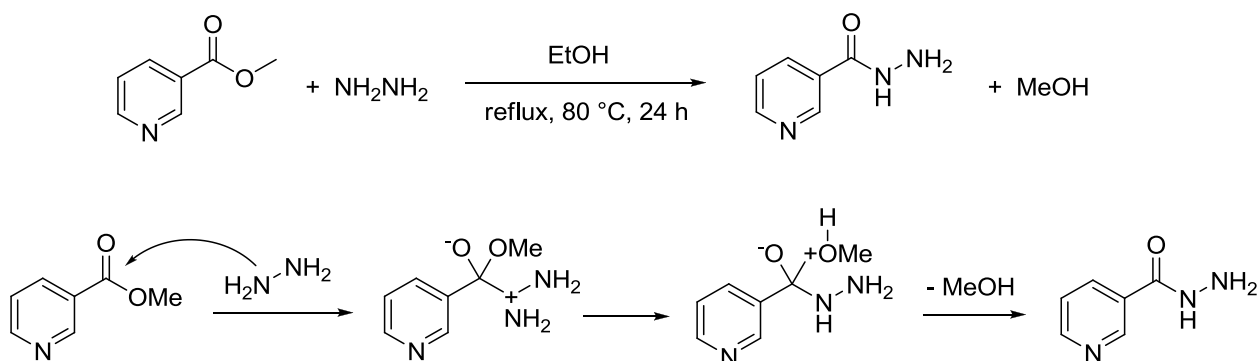


Figura 22 Spettro ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ -NMR del metil nicotinato

Sintesi della nicotinidrazina

La nicotinidrazina rappresenta il precursore per sintetizzare i vari acilidrazoni su cui eseguire gli studi catalitici.

Per questa reazione è ipotizzabile un meccanismo a due *step* (Schema 13): all'addizione nucleofila dell'idrazina sul carbonio estereo segue l'eliminazione del metanolo.



Schema 13 Sintesi della nicotinidrazina con meccanismo di reazione

Per sintetizzare questo precursore viene riflussata per una notte una miscela di metil nicotinato ed idrazina monoidrata in rapporto 1:1 in etanolo. A reazione completata il grezzo viene tirato a secco con una trappola refrigerata ad N_2 liquido per eliminare eventuali tracce di idrazina non reagita. Successivamente il prodotto viene trattato con toluene per anidrificare ed infine concentrato a pressione ridotta.

Il prodotto ottenuto con rese molto elevate (>90%) è stato caratterizzato mediante spettroscopia ^1H -NMR e ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ -NMR in DMSO- d_6 . Nonostante l'assenza dei protoni metil esterei, lo spettro ^1H -NMR (Figura 23) presenta in totale quattro segnali e non sei come da previsione. Infatti non c'è traccia del protone ammidico ed dei protoni amminici: il DMSO- d_6 è debolmente acido ($\text{pK}_a = 35.1$)²⁶ e si instaura un equilibrio acido-base tale da sostituire i suddetti protoni.

Il protone rosso, frapposto tra l'azoto piridinico e la funzionalità ammidica, risulta essere il più deschermato risuonando a campi bassi (8.95 ppm), mentre a campi maggiori risuonano in quest'ordine il protone arancione, verde e blu, rispettivamente in orto, para e meta all'azoto piridinico.

La molteplicità dei segnali può essere giustificata grazie allo spettro NMR-COSY (Figura 24):

- Rosso accoppia con blu e verde generando un doppietto di doppietti
- Arancione accoppia con blu e verde generando un doppietto di doppietti
- Verde accoppia con blu, arancione e rosso generando un multipletto
- Blu accoppia con verde, arancione e rosso generando un doppietto di doppietti di doppietti

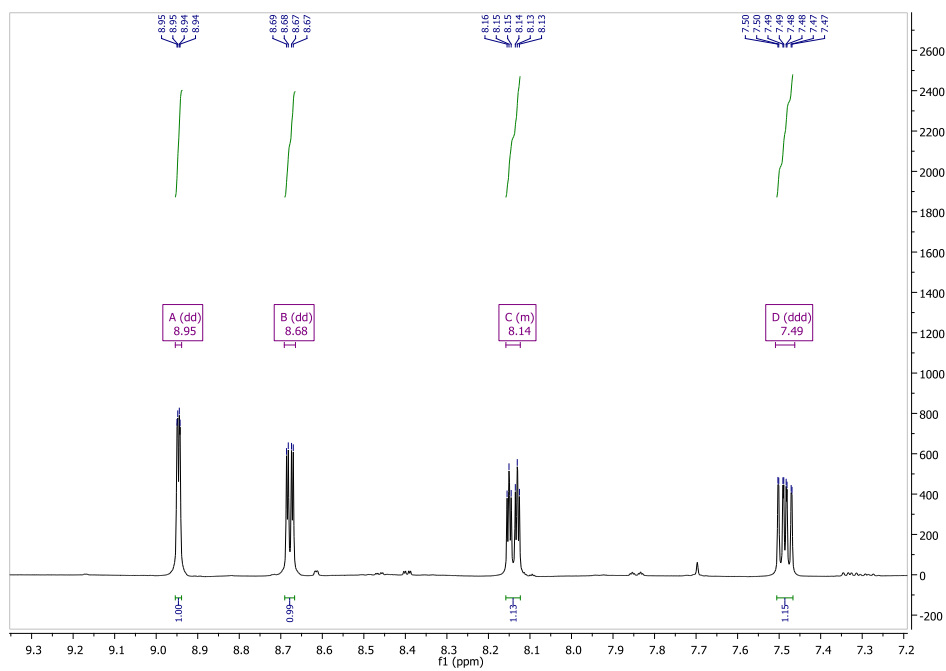


Figura 23 Posizione dei protoni aromatici della nicotinidrazina nello spettro $^1\text{H-NMR}$

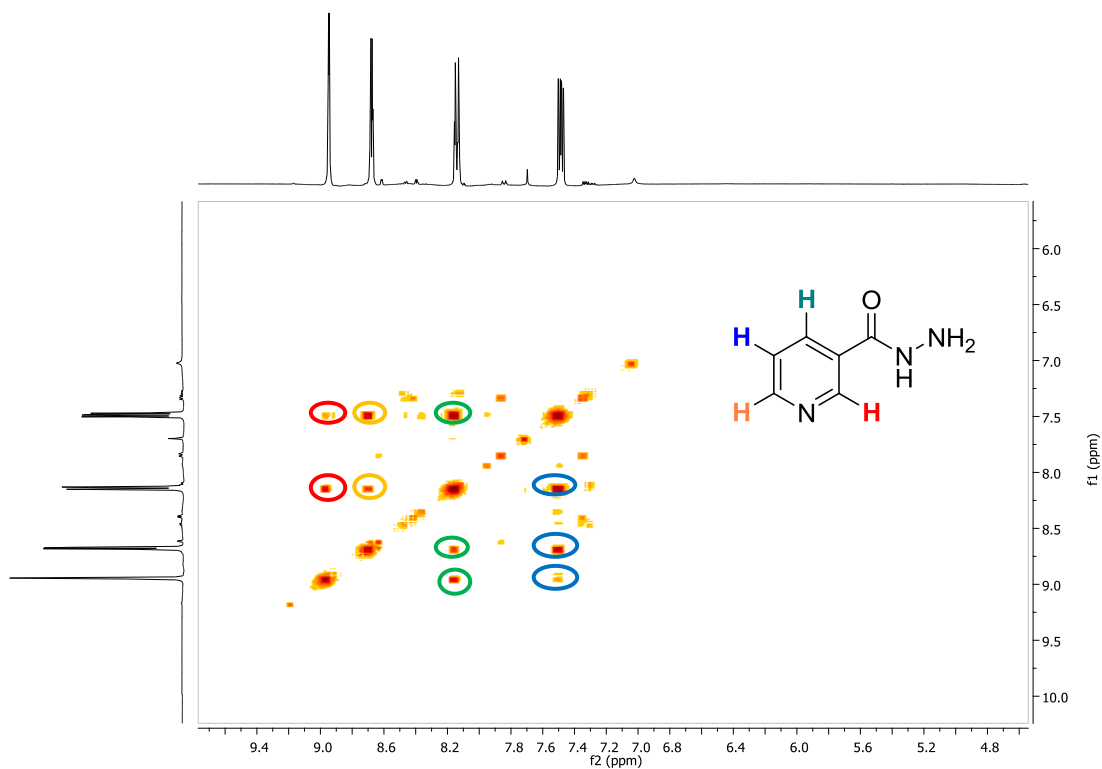


Figura 24 Spettro NMR-COSY della nicotinidrazina

I legami C-H diretti sono visualizzabili attraverso lo spettro $^1\text{H-}^{13}\text{C}$ HSQC mostrato nella sottostante Figura 25: mentre i carboni blu e verde rispecchiano la stessa disposizione dei protoni, il carbonio arancione risuona a campi minori rispetto al carbonio rosso.

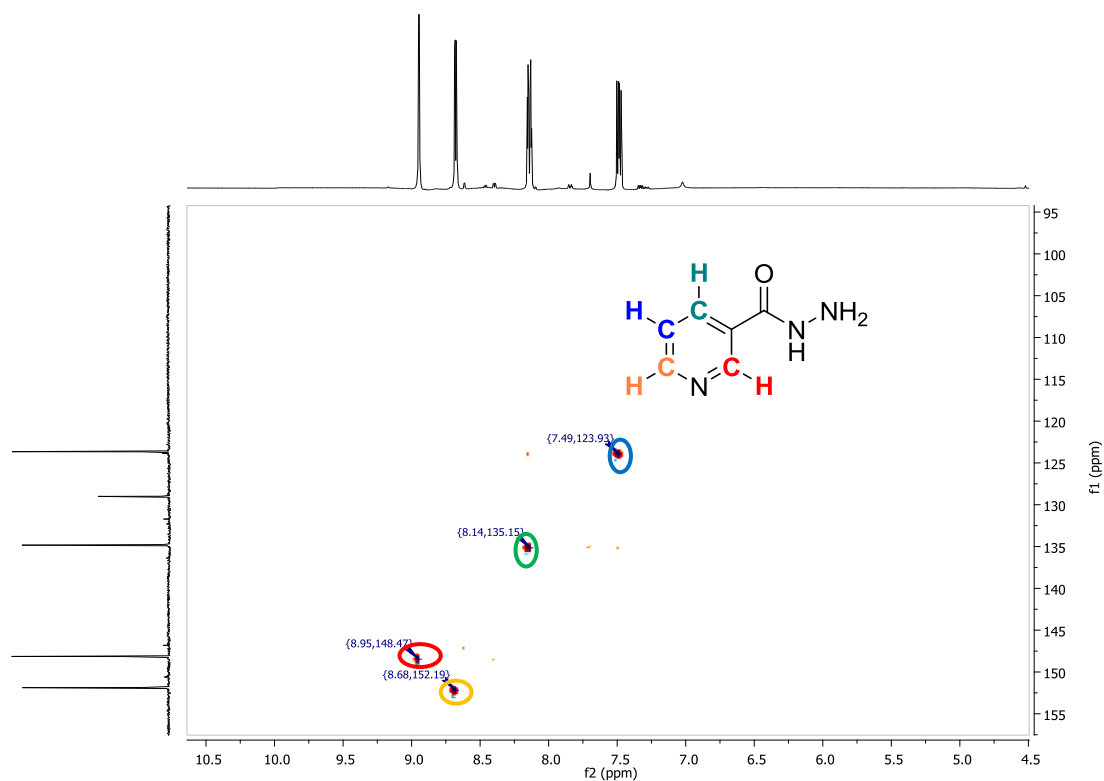


Figura 25 Spettro ^1H - ^{13}C HSQC della nicotinidrazina

Come previsto, nello spettro ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ -NMR (Figura 26) manca il segnale associato al carbonio metil estereo e si contano in totale sei segnali. Il carbonio carbonilico (in viola) è il segnale più deschermato ed il segnale meno intenso è da associarsi probabilmente al carbonio ipso (in celeste); gli altri carboni possono essere assegnati con lo stesso criterio usato nello spettro ^1H - ^{13}C HSQC.

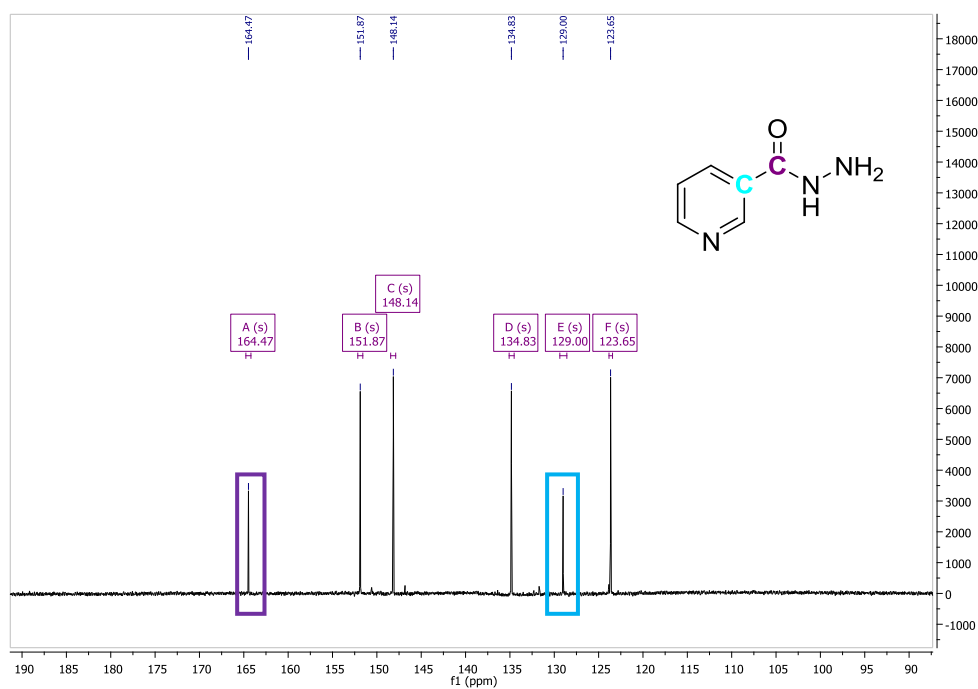


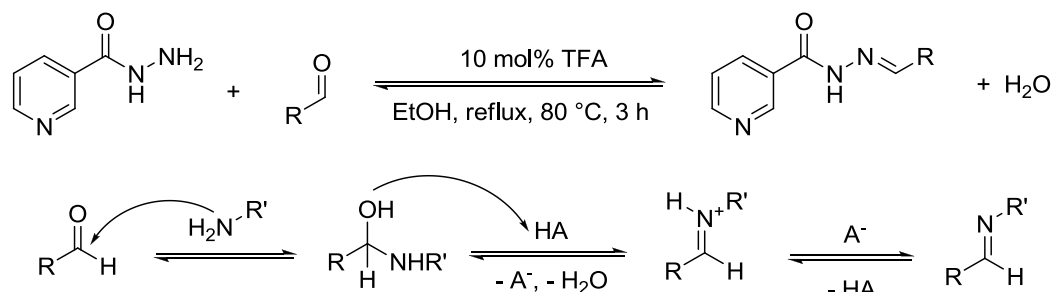
Figura 26 Spettro ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ -NMR della nicotinidrazina

Acilidrazoni come foto-interruttori regolabili

Sintesi

La nicotinidrazina è un'ammina primaria e, in quanto tale, può aggiungersi ad aldeidi per produrre immine; come risultato finale si ha la sostituzione di un doppio legame C=O con un doppio legame C=N.

Il meccanismo di reazione ipotizzato (Schema 14) è un'addizione al carbonile di un nucleofilo all'N: il doppietto elettronico libero dell'ammina attacca il carbonio aldeidico generando un intermedio tetraedrico dipolare, che si trasforma nella corrispondente carbinolammina neutra mediante trasferimento protonico. A questo punto il catalizzatore acido protona l'ossigeno dell'alcol e la coppia di elettroni non condivisi dell'azoto espelle l'acqua per formare lo ione imminio, infine la perdita di H⁺ dall'azoto produce l'immina neutra.²⁷



Schema 14 Addizione nucleofila della nicotinidrazina ad un'aldeide e relativo meccanismo

La nicotinidrazina viene fatta rifluire in etanolo in presenza dell'aldeide e 10 mol% di acido trifluoroacetico (TFA, pK_a = - 0.25)²⁶ rispetto all'ammina, dopodiché la miscela di reazione viene lasciata a riposo per permettere la decantazione del prodotto, il quale viene infine filtrato su Gooch. Come riportato nella Tabella 2, sono state scelte aldeidi aromatiche tali da offrire o una serie di extra gruppi funzionali o ingombro sterico diverso di fronte all'azoto piridinico per i derivati in configurazione Z. Le reazioni sono state allestite sulla scala di decine di milligrammi e la via sintetica descritta nello Schema 12 permette di isolare gli acilidrazoni riportati in Tabella 2 con rese mediamente elevate (>80%).

Sebbene la sintesi sia facile, la scelta del miglior solvente deuterato per solubilizzare queste molecole rappresenta una sfida: gli acilidrazoni hanno funzionalità tali da renderli solubili in solventi polari ed il miglior compromesso è rappresentato dal DMSO-d₆.

Mediante spettroscopia ¹H-NMR si può stabilire la configurazione dei NAH: Hecht e collaboratori hanno studiato una vasta gamma di NAH con varie funzioni aciliche ed imminiche aromatiche ed il rapporto d'isomerizzazione E/Z è stato calcolato integrando il segnale del protone imminico. Tuttavia, quest'ultima operazione è stata effettuata solo su un ristretto numero di molecole, poiché non tutti i NAH isolati sono tali da poter essere caratterizzati in questo modo.²¹

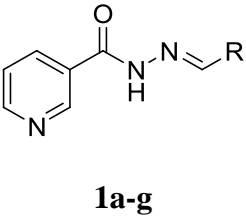
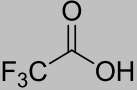
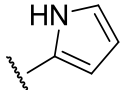
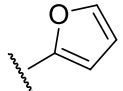
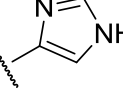
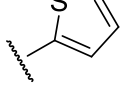
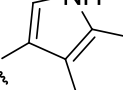
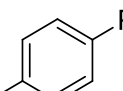
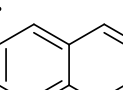
| Acilidrazone | Catalizzatore | Aldeide (gruppo R) | Prodotto | Resa isolata (%) |
|--|--|---|----------|---------------------|
|  1a-g |  $F_3C-COOH$ |  1a | 85 | |
| | |  1b | 0 | |
| | |  1c | 0 | |
| | |  1d | 82 | |
| | |  1e | 0 | |
| | |  1f | 88 | |
| | |  1g | 86 | |

Tabella 2 Sintesi degli acilidrazoni

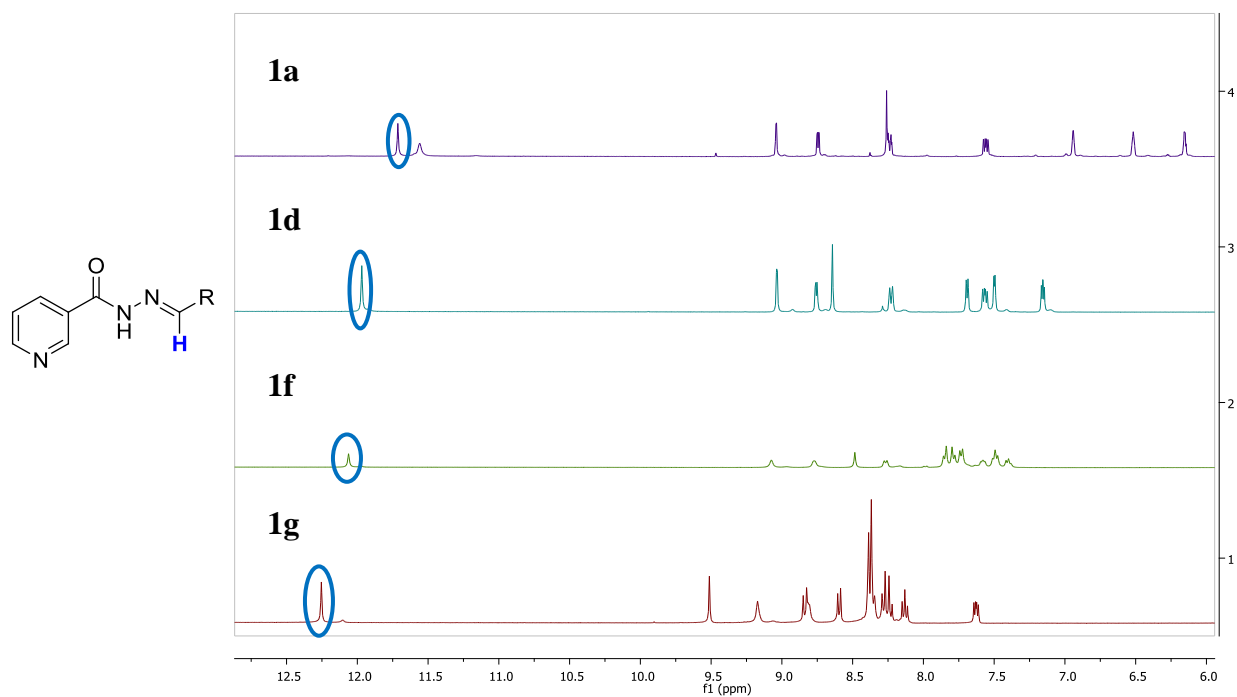


Figura 27 Spettri ¹H-NMR di **1a**, **1d**, **1f** e **1g** isolati a confronto. Il singoletto blu indica che in tutti i casi si ottiene l'isomero E.

I NAH sintetizzati dal gruppo di Hecht hanno il protone imminico che risuona intorno ai 12 ppm nella configurazione E; essendo frapposto tra due funzionalità elettronattratrici, questi risulta essere il più deschermato di tutta la molecola. Inoltre si ottiene un unico *set* di segnali negli spettri raccolti, segno che i prodotti isolati si trovano sottoforma di un unico isomero.

Il protone imminico di **1a**, **1d**, **1f** e **1g** risuona intorno a 12 ppm (Figura 27) e, a differenza della nicotinidrazina, l'azoto ammidico non è basico, quindi non può scambiare il suo protone con i deuteri acidi del DMSO-d₆.

Non è stato possibile isolare i prodotti **1b**, **1c** e **1e** molto probabilmente a causa dell'eccessiva acidità dell'ambiente di reazione indispensabile per favorire la condensazione ma che probabilmente porta a reazioni collaterali di decomposizione e/o auto condensazione delle aldeidi relative, tutte caratterizzate da un carattere particolarmente elettronricco.

Test di interconversione

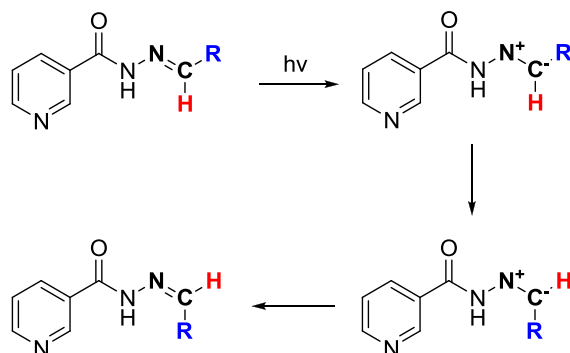
Quando un fotone ultravioletto o visibile di opportuna energia viene assorbito da una molecola, questa passa dal suo stato elettronico fondamentale ad uno stato elettronico eccitato. In soluzioni monocomponente diluite (10^{-4} - 10^{-5} M) ed in presenza di luce monocromatica l'assorbimento segue la legge di Lambert-Beer:

$$A = \epsilon bC$$

dove:

- ϵ è l'assorbività molare [$L \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$]
- b è il cammino ottico, cioè lo spessore del campione attraversato dal raggio luminoso [cm]
- C è la concentrazione molare della soluzione [mol L^{-1}]

In questa transizione elettronica vengono generalmente eccitati gli elettroni di legame e per questo motivo le lunghezze d'onda delle bande d'assorbimento possono essere correlate al tipo di legami delle specie studiate.²⁸ Nel caso dei NAH il centro coinvolto è il doppio legame imminico C=N (Schema 15): la rottura del legame π C-N dell'isomero E consente all'unità H-C-R di ruotare attorno al legame σ C-N ed il ripristino del legame π permette di ottenere l'isomero Z.

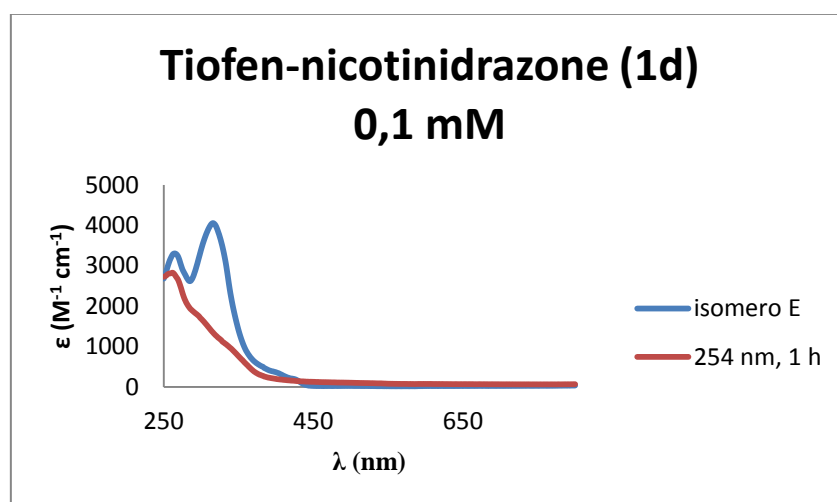
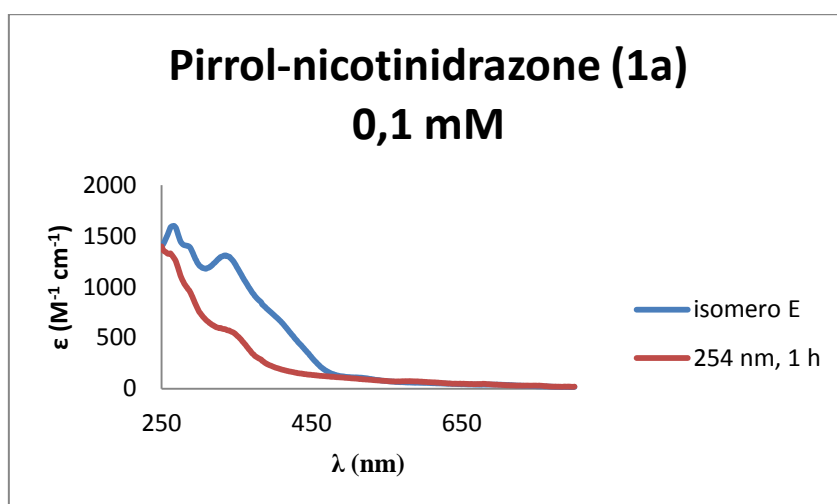


Schema 15 Meccanismo di reazione ipotizzato per la foto-isomerizzazione attorno al legame imminico dei NAH

La foto-isomerizzazione E→Z può essere studiata mediante spettroscopia UV-Vis e ¹H-NMR. Irraggiando i composti con luce UV per un intervallo di tempo variabile tra 5 e 120 minuti, Hecht e collaboratori hanno riscontrato come la maggior parte degli spettri UV-Vis raccolti evidenziasse un effetto ipocromico ($\epsilon = 1.5 \times 10^4 - 2.0 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$); il tempo d'irraggiamento dipende dalla natura del foto-interruttore, che viene analizzato sottoforma di soluzione a concentrazione nota in MeCN.

Per un ristretto numero di molecole sono stati registrati i corrispondenti spettri ¹H-NMR sia prima che dopo l'irraggiamento con luce UV e quest'ultimi presentavano un unico *set* di segnali, ma con una differenza. Mentre nel composto non irraggiato (isomero E) il protone imminico risuonava intorno ai 12 ppm, nel composto irraggiato si formava un ulteriore segnale a 16 ppm e contemporaneamente il segnale a 12 ppm diminuiva d'intensità. Questo dato dimostra come la radiazione ultravioletta trasformi parzialmente il NAH nell'isomero Z.²¹

Si è quindi deciso di studiare la potenziale isomerizzazione E→Z dei composti **1a**, **1d**, **1f** e **1g** preparando per diluizione quattro soluzioni 0.1 mM in CDCl₃, in modo da poterle utilizzare sia per le analisi UV-Vis sia per le analisi ¹H-NMR. Più precisamente, sono stati registrati lo spettro UV-Vis del prodotto isolato e lo spettro dello stesso dopo irraggiamento per 1 ora con una lampada ultravioletta a 254 nm; i risultati ottenuti nell'intervallo tra 250 e 800 nm sono riportati nelle sottostanti Figura 28 e Tabella 3.



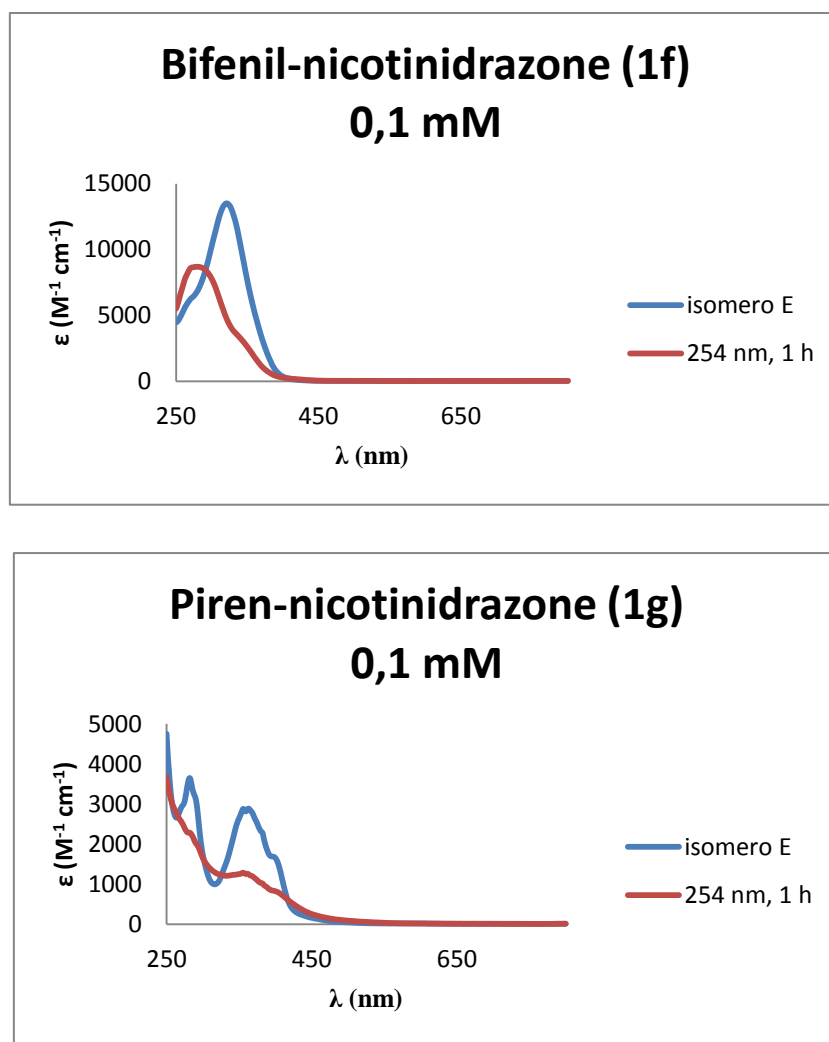


Figura 28 Spettri UV-vis degli acilidrazoni non irraggiati ed irraggiati a confronto

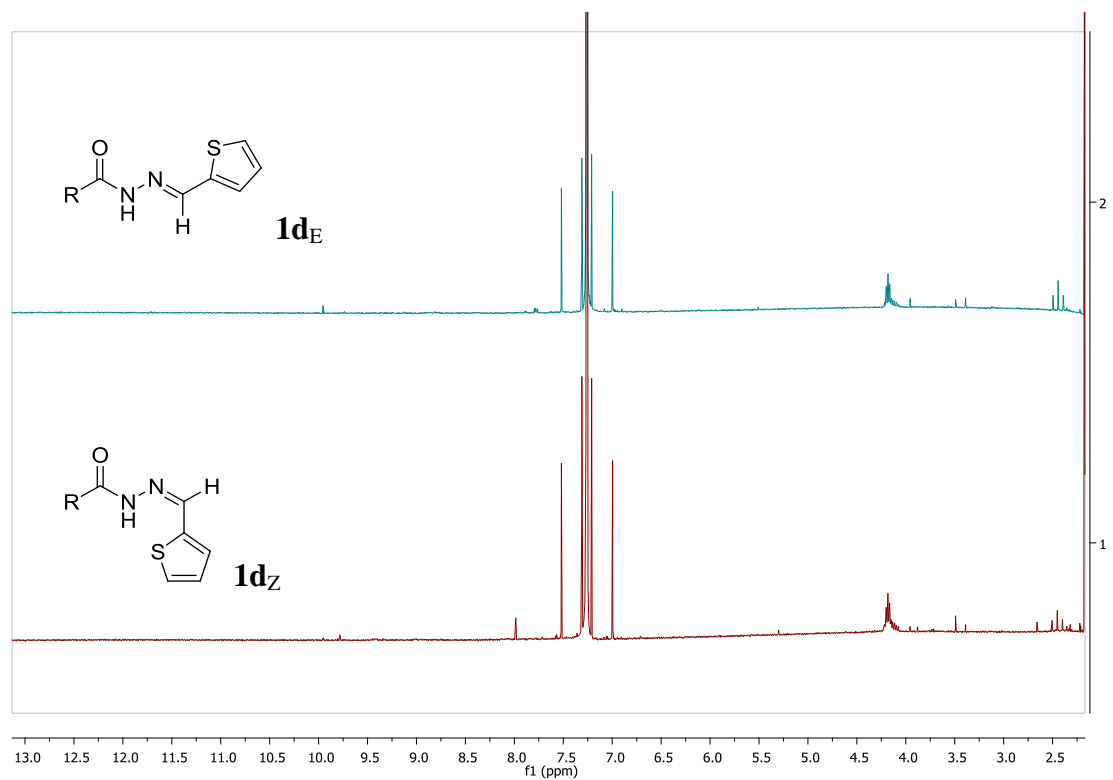
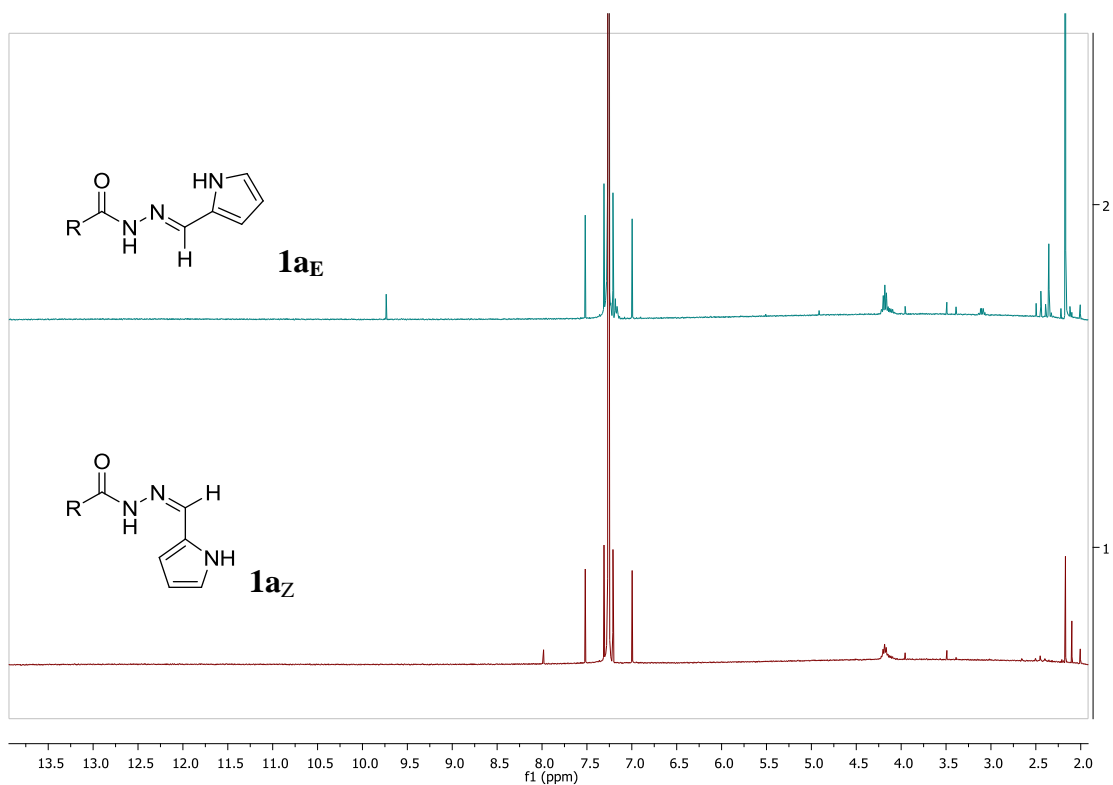
| Idrazone | 1a | | 1d | | 1f | | 1g | |
|------------|--------------------------|--|--------------------------|--|--------------------------|--|--------------------------|--|
| | λ_{\max} (nm) | ϵ_{\max} ($M^{-1}cm^{-1}$) | λ_{\max} (nm) | ϵ_{\max} ($M^{-1}cm^{-1}$) | λ_{\max} (nm) | ϵ_{\max} ($M^{-1}cm^{-1}$) | λ_{\max} (nm) | ϵ_{\max} ($M^{-1}cm^{-1}$) |
| Non irrag. | 336 | 1.3×10^3 | 316 | 4.1×10^3 | 320 | 1.4×10^4 | 282 | 3.7×10^3 |
| Irrag. | 336 | 5.8×10^2 | 261 | 2.8×10^3 | 280 | 8.7×10^3 | 282 | 2.3×10^3 |

Tabella 3 Lunghezze d'onda e coefficienti d'estinzione molare di massimo assorbimento degli acilidrazoni isolati in questo lavoro di tesi

L'uso di $CDCl_3$ anziché del $DMSO-d_6$ è giustificato dalle proprietà chimico-fisiche dei solventi: il primo ha una lunghezza d'onda di *cut off* pari a 245 nm, il secondo invece 265 nm.²⁹

Ognuno dei quattro acilidrazoni isolati **1a**, **1d**, **1f** e **1g** possiede un ben preciso cromoforo, che dipende dall'aldeide aromatica impiegata; quest'ultima è responsabile dell'insorgere di una banda spettrale caratteristica. Un'ora è un tempo sufficiente per avere una completa E conversione: per **1a**, **1d**, **1f** e **1g** si osserva un effetto ipsocromico (*blue shift*) in seguito all'irraggiamento. Per confermare l'ipotesi che la luce UV promuova l'isomerizzazione E→Z, si è deciso di confrontare gli spettri ¹H-NMR delle soluzioni 0.1 mM di **1a**, **1d**, **1f** e **1g** irraggiate e non irraggiate. Poiché

ogni isomero possiede un proprio spettro caratteristico, si è deciso di usare il protone imminico come segnale diagnostico del processo.



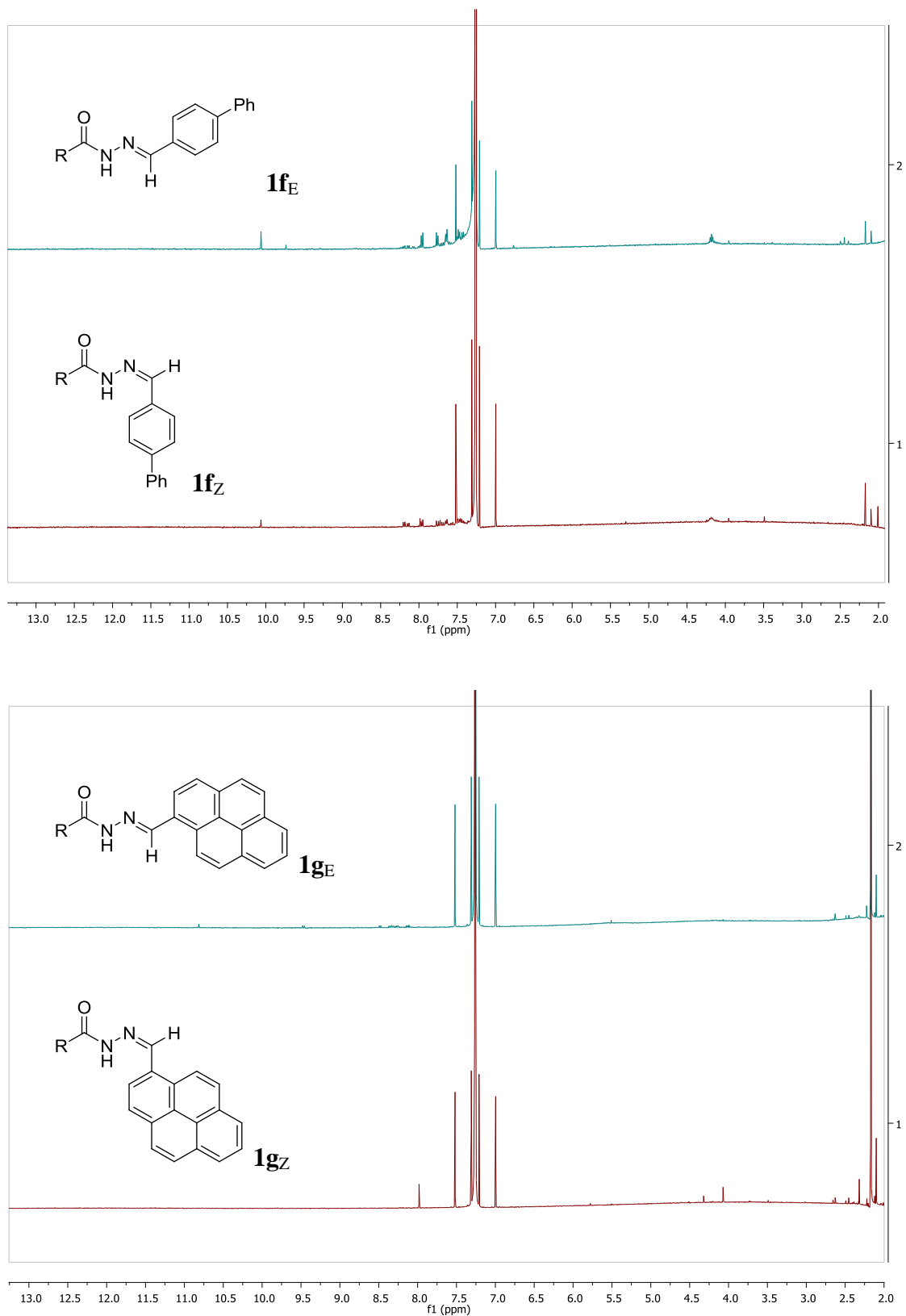


Figura 29 Spettri $^1\text{H-NMR}$ di **1a**, **1d**, **1f** e **1g** 0.1 mM non irraggiati (blu) ed irraggiati (rosso) a confronto

Come riportato in Figura 29, per **1a_E**, **1d_E**, **1f_E** e **1g_E** si ottiene un unico *set* di segnali, segno che i suddetti prodotti si trovano sottoforma di un unico isomero. La debole intensità dei segnali è da ricollegarsi all'elevata diluizione dei campioni e alla bassa solubilizzazione dei composti: il segnale

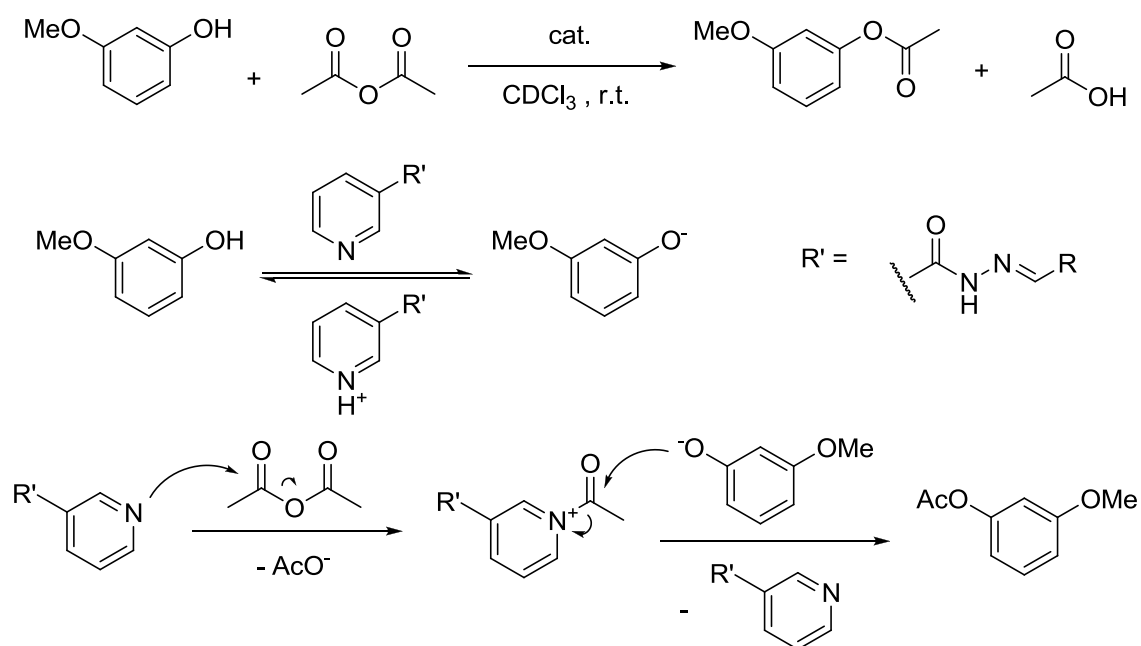
residuo del solvente a 7.26 ppm³⁰ è tale per cui i segnali di **1a**_{E, Z}, **1d**_{E, Z}, **1f**_{E, Z} e **1g**_{E, Z} sono poco risolti. Dai risultati ottenuti si può concludere che l'irraggiamento provoca una trasformazione nella geometria molecolare (scompare in tutti i casi il segnale attribuito al protone imminico inizialmente in configurazione E), ciononostante le informazioni ottenute dall'NMR non consentono con certezza di caratterizzare la specie ottenuta in seguito ad irraggiamento.

Test catalitici

Reazione di acilazione del 3-metossifenolo con anidride acetica organo-catalizzata dagli idrazoni fotomodulabili

Si è deciso di testare la potenziale attività catalitica degli acilidrazoni in configurazione E in una reazione di esterificazione. In condizione blande di reazione i fenoli sono acilati efficacemente con anidride acetica in presenza di piridina³¹ ed è ipotizzabile una sostituzione nucleofila acilica come meccanismo di reazione.

L'azoto piridinico funge sia da base che da nucleofilo, nel primo caso deprotonando il fenolo e nel secondo caso attivando l'anidride per formare il corrispondente catione acilpiridinio (Schema 16). A questo punto l'anione fenato attacca l'acetile anidridico per dare un intermedio tetraedrico, che espelle l'estere finale e ripristina il catalizzatore.

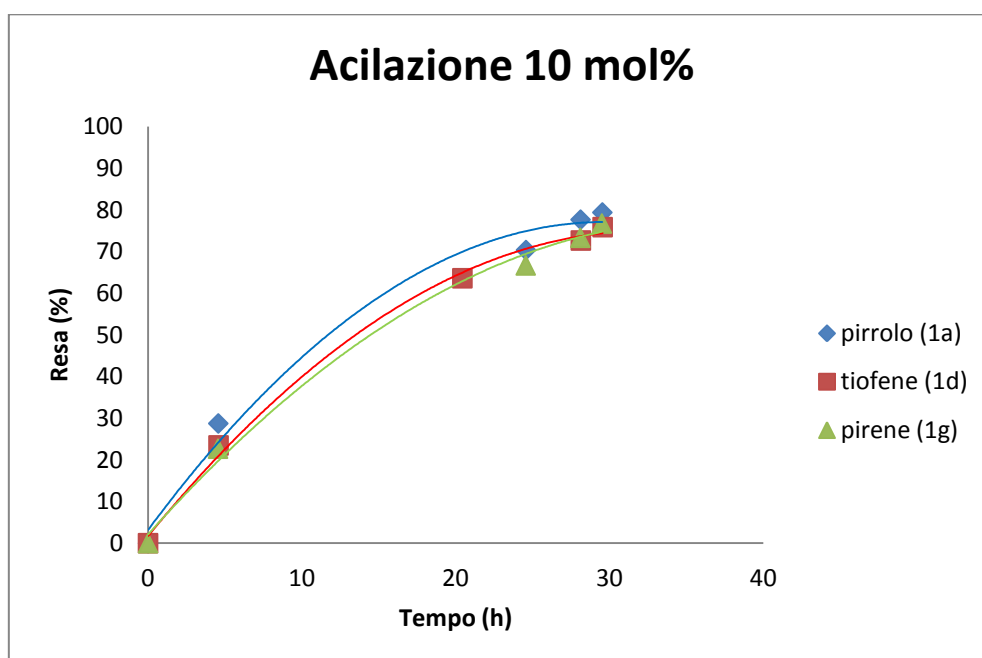


Schema 16 Acilazione del 3-metossifenolo catalizzata da un acilidrazone e meccanismo di reazione ipotizzato

L'acilazione del 3-metossifenolo ad opera dell'anidride acetica è stata studiata in presenza ed assenza del catalizzatore per analizzare quali fossero i tempi di reazione.

Preliminarmente sono stati effettuati tre *test* con il 10 mol% degli acilidrazoni **1a**_E, **1d**_E e **1g**_E rispetto al fenolo per accertare o meno l'azione catalitica dell'azoto piridinico. Le reazioni – condotte su scala millimolare – sono state seguite nell'arco di 30 ore mediante spettroscopia ¹H-NMR monitorando nel tempo le variazioni del segnale del gruppo OCH₃, visualizzabile come un

singoletto che in CDCl_3 cade a 3.75 ppm.³² Il fenolo acilato è una molecola con una funzionalità elettronattrattrice in più, quindi è ragionevole prevedere per il sostituente metossilico la formazione di un segnale più deschermato adiacente a quello del reagente.



| 10 mol% 1a_E | | 10 mol% 1d_E | | 10 mol% 1g_E | |
|-------------------------------|------------------|-------------------------------|------------------|-------------------------------|------------------|
| t (h) | resa* (%) | t (h) | resa* (%) | t (h) | resa* (%) |
| 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 5 | 29 | 5 | 24 | 5 | 23 |
| 25 | 70 | 20 | 64 | 25 | 67 |
| 28 | 78 | 28 | 73 | 28 | 73 |
| 30 | 79 | 30 | 76 | 30 | 77 |

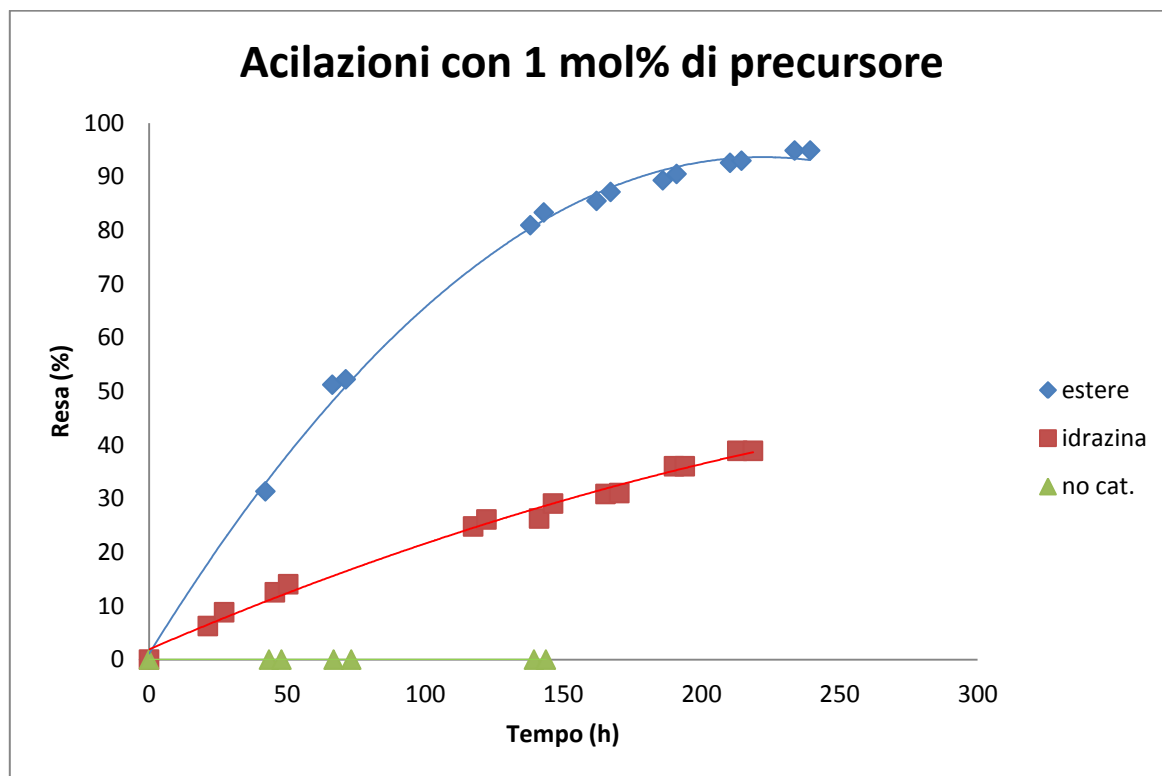
Grafico 1 Acilazioni preliminari 10 mol% idrazone-catalizzate

* = calcolo attraverso $^1\text{H-NMR}$

I punti sperimentali sono stati acquisiti prelevando piccole aliquote di miscela grezza di reazione e registrando i corrispondenti spettri $^1\text{H-NMR}$. Nel Grafico 1 si osserva come i tre acilidrazoni manifestino catalisi comparabili: dopo 30 ore di reazione si ha una conversione del substrato pari al 79% con l'organocatalizzatore **1a_E**.

In queste condizioni sperimentali la reazione decorre in tempi relativamente brevi e l'acquisizione dei punti (acquisizione dello spettro NMR) dura in media mezz'ora. Si è quindi deciso di replicare questo *test* usando lo 1 mol% di organocatalizzatore affinché l'acquisizione dei punti mediante NMR risulti trascurabile in termini temporali rispetto al tempo totale di reazione. Inoltre, se l'irraggiamento per permettere la conversione da isomero E a Z dura 1 ora, la cinetica deve durare molto più di 24-30 ore in confronto, in modo da poter fare operazioni di modifica geometrica con la luce che impieghino tempi trascurabili rispetto alla durata dell'esperimento.

Per capire quale fosse nella molecola il gruppo funzionale importante per la catalisi (idrazone o piridina) la medesima acilazione è stata condotta senza catalizzatore, con lo 1 mol% di metil nicotinato (solo residuo piridinico) e con lo 1 mol% di nicotinidrazina (residuo piridinico e idrazinico) (Grafico 2).

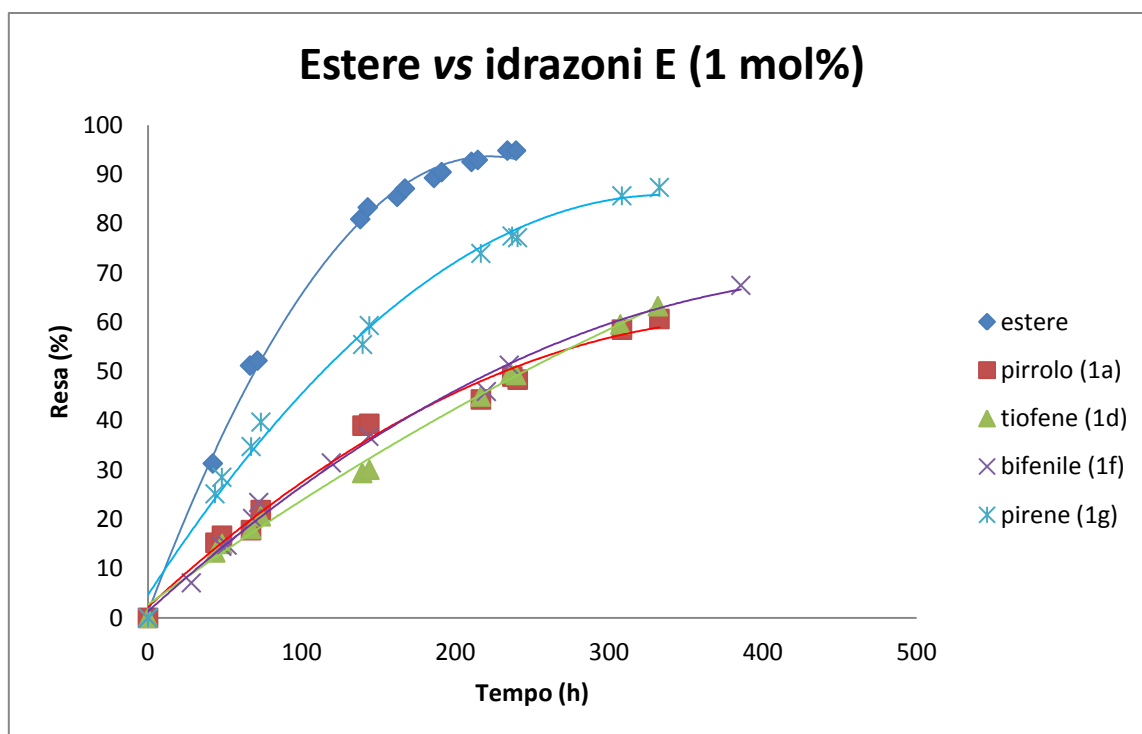


| no cat. | | 1 mol% estere | | 1 mol% idrazina | |
|---------|-----------|---------------|-----------|-----------------|-----------|
| t (h) | resa* (%) | t (h) | resa* (%) | t (h) | resa* (%) |
| 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 43 | 0 | 42 | 31 | 46 | 13 |
| 139 | 0 | 138 | 81 | 141 | 26 |
| 216 | 0 | 215 | 93 | 213 | 39 |

Grafico 2 Acilazioni condotte senza catalizzatore e con lo 1 mol% di metil nicotinato e nicotinidrazina
* = calcolo attraverso ¹H-NMR

Il residuo piridinico del metil nicotinato e della nicotinidrazina è fondamentale per la catalisi, perché senza di questi la reazione non ha luogo. Dopo 210 ore l'estere catalizza più efficacemente rispetto all'idrazina (rispettivamente 93% e 39%) perché più elettronattrattore: il gruppo elettronattrattore acilidrazinico in posizione *meta* all'azoto piridinico sottrae densità elettronica all'intera molecola e conseguentemente al sito catalitico stesso.

Quest'ultimo dato trova conferma quando vengono confrontate le acilazioni catalizzate dal 1 mol% di **1a_E**, **1d_E**, **1f_E** e **1g_E** con la medesima reazione catalizzata dallo 1 mol% di metil nicotinato (Grafico 3): dopo 237 ore di reazione il metil nicotinato converte il 95% del fenolo contro il 78% dell'organocatalizzatore **1g_E**, il 51% di **1f_E**, il 50% di **1d_E** ed il 49% di **1a_E**.



| 1 mol% estere | | 1 mol% 1a_E | | 1mol% 1d_E | | 1mol% 1f_E | | 1mol% 1g_E | |
|---------------|-----------|------------------------------|-----------|-----------------------------|-----------|-----------------------------|-----------|-----------------------------|-----------|
| t (h) | resa* (%) | t (h) | resa* (%) | t (h) | resa* (%) | t (h) | resa* (%) | t (h) | resa* (%) |
| 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 42 | 31 | 48 | 17 | 48 | 15 | 48 | 14 | 48 | 29 |
| 66 | 51 | 67 | 18 | 67 | 18 | 68 | 20 | 67 | 35 |
| 71 | 52 | 73 | 22 | 73 | 21 | 72 | 23 | 73 | 40 |
| 143 | 83 | 144 | 39 | 144 | 30 | 144 | 37 | 144 | 59 |
| 215 | 93 | 217 | 44 | 216 | 45 | 220 | 46 | 216 | 74 |
| 234 | 95 | 237 | 49 | 236 | 50 | 235 | 51 | 237 | 78 |

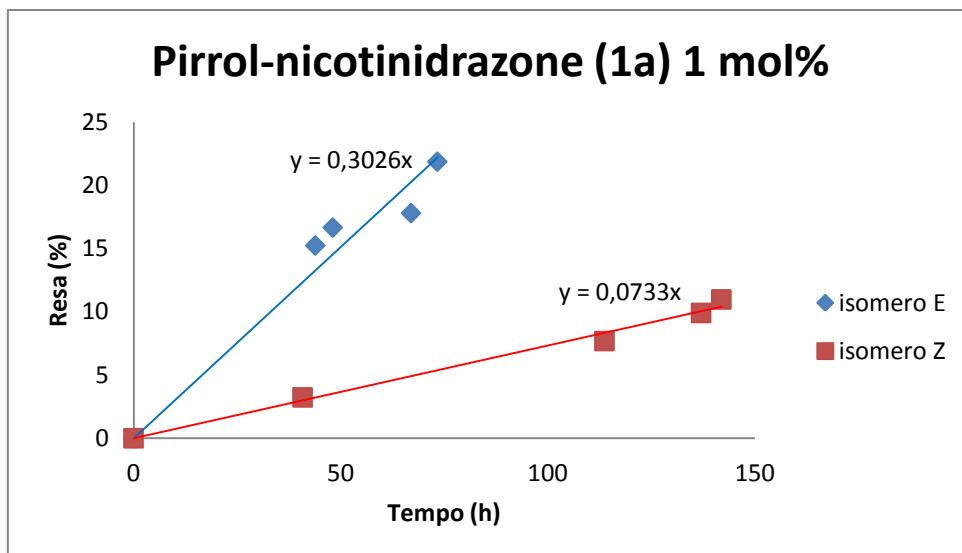
Grafico 3 Acilazione 1 mol% estere-catalizzata a confronto con le acilazioni 1 mol% idrazoni E-catalizzate
 * = calcolo attraverso ¹H-NMR

Studio dell'attività catalitica degli acilidrazoni E/Z

La velocità di reazione è definita come la variazione di concentrazione dei reagenti o dei prodotti nell'unità di tempo.^{33, 34}

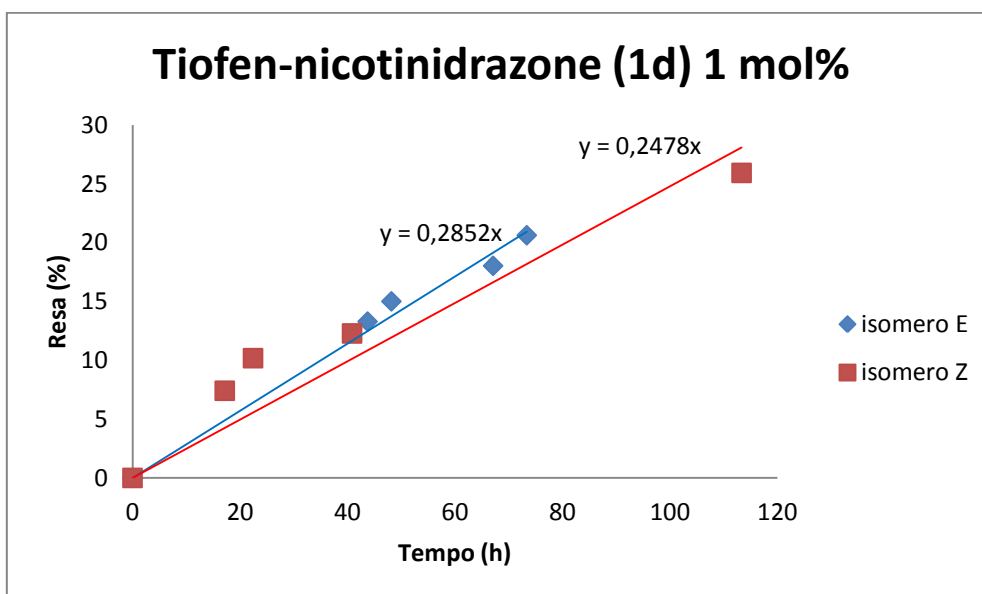
Per quantificare la catalisi degli acilidrazoni **1a**, **1d**, **1f** e **1g** nelle configurazioni E e Z sono stati allestiti otto *test* suddivisibili in quattro coppie. Ogni coppia è stata distinta in base al tipo di organocatalizzatore utilizzato ed è costituita da due esterificazioni: una con lo 1 mol% di isomero E, l'altra invece con lo 1 mol% di isomero Z ottenuto dall'isomero E per irraggiamento con luce UV per 1h.

Nel sottostanti Grafici 4, 5, 6 e 7 la concentrazione del prodotto è stata espressa come resa percentuale calcolata per integrazione del segnale ¹H-NMR del gruppo metossilico del prodotto rispetto a quello del reagente; il rapporto k_E/k_Z rappresenta la k_{rel} dell'organocatalizzatore fotomodulabile.



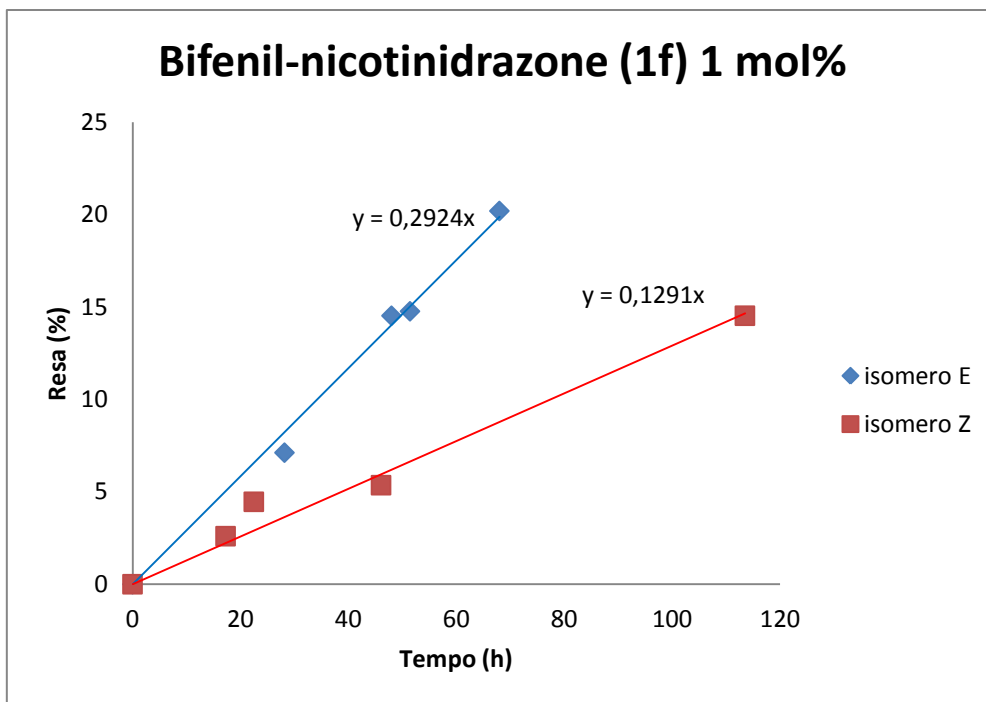
| | |
|--------------------|------|
| k_E (h^{-1}) | 0.30 |
| k_Z (h^{-1}) | 0.07 |
| k_E/k_Z | 4.3 |

Grafico 4 Acilazioni 1 mol% $1a_{E/Z}$ -catalizzate a confronto



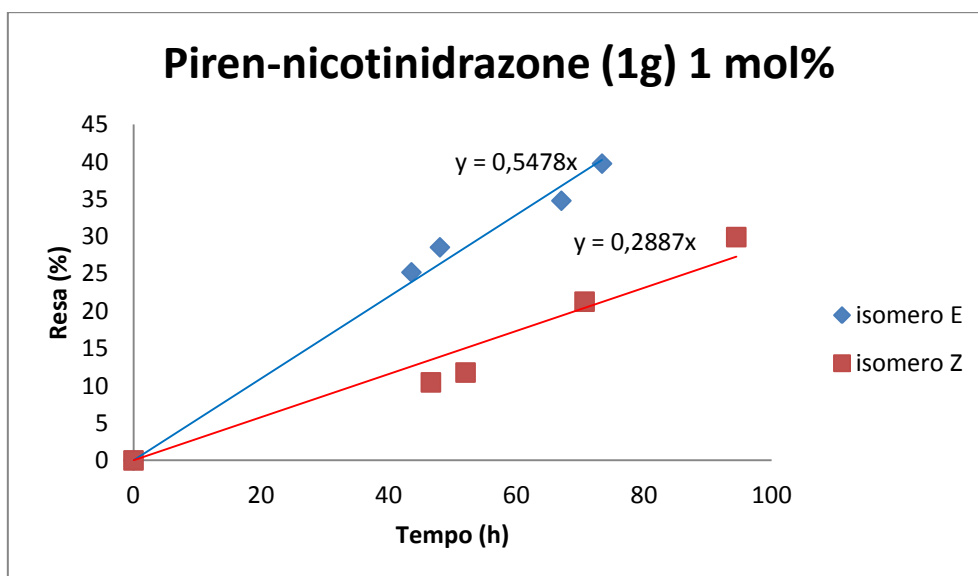
| | |
|--------------------|------|
| k_E (h^{-1}) | 0.29 |
| k_Z (h^{-1}) | 0.25 |
| k_E/k_Z | 1.2 |

Grafico 5 Acilazioni 1 mol% $1d_{E/Z}$ -catalizzate a confronto



| | |
|--------------------|------|
| k_E (h^{-1}) | 0.29 |
| k_Z (h^{-1}) | 0.13 |
| k_E/k_Z | 2.2 |

Grafico 6 Acilazioni 1 mol% **1f**_{E/Z}-catalizzate a confronto



| | |
|--------------------|------|
| k_E (h^{-1}) | 0.55 |
| k_Z (h^{-1}) | 0.29 |
| k_E/k_Z | 1.9 |

Grafico 7 Acilazioni 1 mol% **1g**_{E/Z}-catalizzate a confronto

L'organocatalizzatore **1a** presenta un valore k_{rel} maggiore rispetto a quello di **1d** a causa dell'eteroatomo presente nel pentaciclo aromatico: il protone pirrolico di **1a_Z** è in una posizione tale da poter potenzialmente instaurare un legame ad idrogeno col fenato, rendendo più difficile a quest'ultimo l'attacco nucleofilo sul sito reattivo (Figura 30). Il risultato è un maggior rallentamento della catalisi.

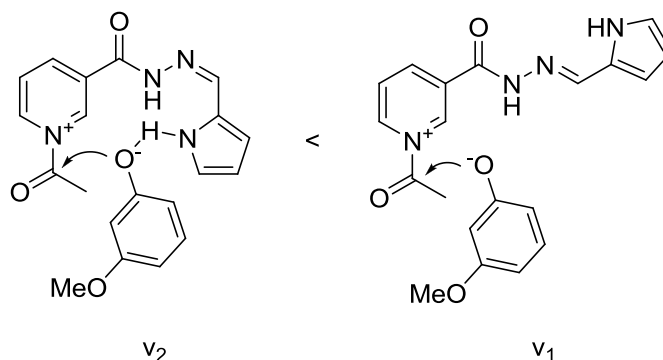


Figura 30 Interazione ipotizzata per giustificare le diverse velocità di reazione nell'acilazione **1a_{E/Z}**-catalizzata

A prescindere dalla configurazione di **1d** il residuo tiofenico non influisce in modo determinante sulla cinetica chimica. Lo zolfo non è sufficientemente elettronegativo per instaurare un legame ad idrogeno con il fenolo, ma è più probabile che si eserciti una repulsione elettrostatica tra la carica negativa del fenato ed il doppietto libero dello zolfo non coinvolto nella coniugazione dell'eterociclo (Figura 31). Siccome il legame singolo C-C tra tiofene e carbonio imminico è libero di ruotare attorno al proprio asse, la differenza di velocità tra l'acilazione **1d_E**-catalizzata e l'acilazione **1d_Z**-catalizzata è bassa.

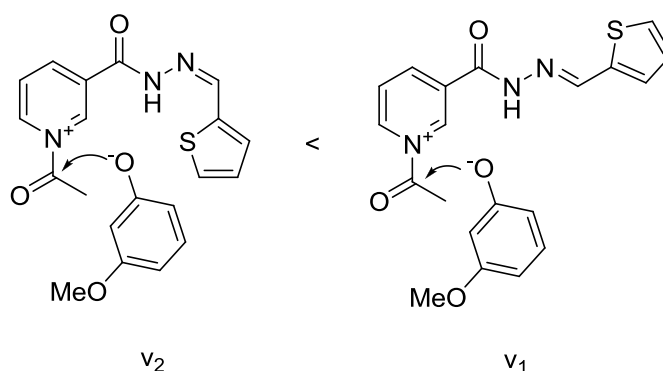


Figura 31 Interazione ipotizzata per giustificare le diverse velocità di reazione nell'acilazione **1d_{E/Z}**-catalizzata

Per gli acilidrazoni **1f** e **1g** la differenza di catalisi è giustificabile attraverso il diverso ingombro sterico dei residui bifenilico e pirenico (Figura 32). In particolare k_{rel} di **1f** è maggiore di k_{rel} di **1g** perché la libera rotazione attorno ai legami singoli C-C del residuo bifenilico crea una cavità meno accessibile allo ione fenato, nonostante il residuo pirenico espliciti un ingombro sterico ed una repulsione elettrostatica maggiore.

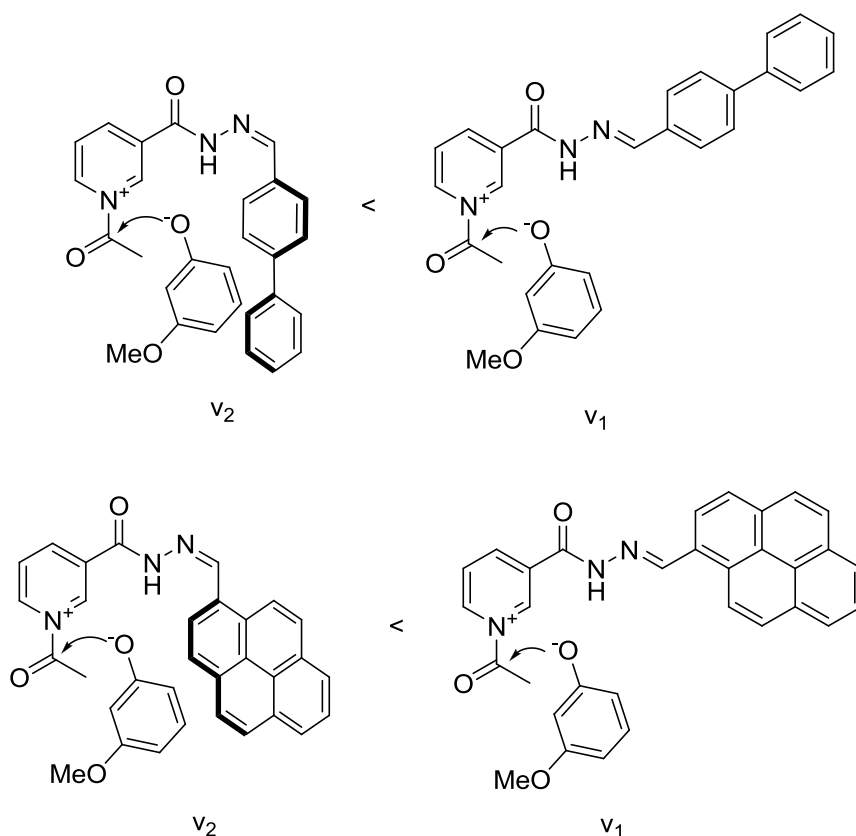
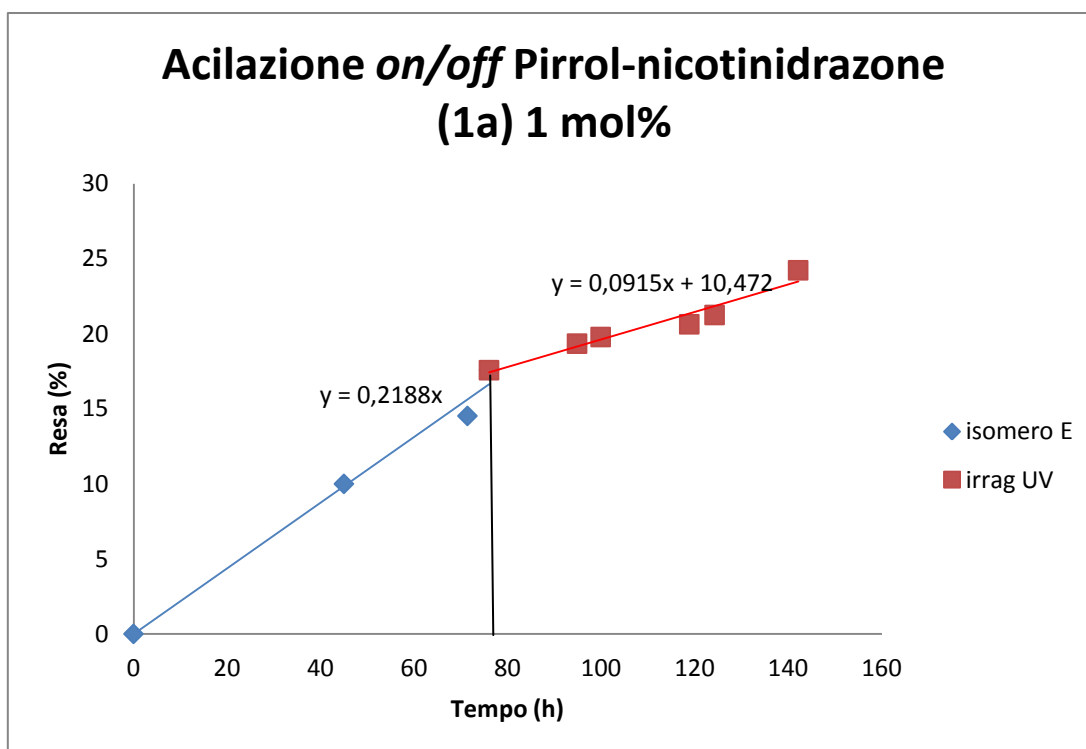


Figura 32 Interazione ipotizzata per giustificare le diverse velocità di reazione nelle acilazioni **1f_{E/Z}**-catalizzata e **1g_{E/Z}**-catalizzata

Prova di modulazione della cinetica con organocatalizzatore E/Z

I precedenti *test* catalitici hanno evidenziato come gli organocatalizzatori **1a_E**, **1d_E**, **1f_E** e **1g_E** abbiano costanti cinetiche maggiori rispetto **1a_Z**, **1d_Z**, **1f_Z** e **1g_Z** a causa delle diverse proprietà steriche e di legame ad idrogeno. Al fine di testare la possibilità di effettuare l'isomerizzazione E→Z dell'organocatalizzatore nel corso della reazione di acilazione, si è tentato un esperimento di modifica in corsa dell'attività del catalizzatore partendo da idrazone E per un certo periodo e poi isomerizzandolo per irraggiamento UV a dare Z meno attivo (Grafico 8).

E' stato riscontrato per l'acilazione 1 mol% **1a**-catalizzata un cambio di velocità di reazione e di pendenza nella formazione dei prodotti. Il rapporto tra k_{rel} riportata in Grafico 4 e k_{rel} del Grafico 8 è pari a 2.4, segno che la velocità di reazione cambia meno drasticamente per un'isomerizzazione *in situ* rispetto ad un'isomerizzazione condotta prima dell'aggiunta dei reagenti. Il cambio di velocità osservato non è pari a circa 4 come osservato nel corso degli esperimenti singoli (Grafico 4).



| | |
|--------------------|------|
| k_E (h^{-1}) | 0.22 |
| k_Z (h^{-1}) | 0.09 |
| k_E/k_Z | 2.4 |

Grafico 8 Test di modulazione della cinetica con luce UV-Vis in un'acilazione 1 mol% **1a**_{E/Z}-catalizzata

La spiegazione più plausibile per questo fenomeno è da ricercarsi nella composizione dell'ambiente di reazione. Nel Grafico 4 il *test* catalitico è stato effettuato in due fasi: prima è stata irraggiata con luce UV la soluzione di **1a**_E in CDCl₃, poi sono stati aggiunti i reagenti. Nel Grafico 8, invece, l'irraggiamento UV è stato effettuato dopo 76 h dall'aggiunta dei reagenti.

Il fenolo è un sistema insaturo coniugato e come tale può assorbire parte della radiazione elettromagnetica destinata alla foto-isomerizzazione E→Z dell'organocatalizzatore **1a**. Di conseguenza la resa quantica del processo è minore, perché l'alcol sottrae all'acilidrazione fotoni necessari al suo riarrangiamento geometrico.

CONCLUSIONI

Lo scopo principale di questo lavoro di tesi è stato lo sviluppo di una nuova classe di organocatalizzatori con unità fotosensibili per modularne la catalisi.

A partire da *building block* commercialmente disponibili – acido nicotinico ed idrazina - e da una procedura sperimentale ottimizzata è stato possibile isolare e caratterizzare quattro N-acilidrazoni recanti rispettivamente residui pirrolici (**1a**), tiofenici (**1d**), bifenilici (**1f**) e pirenici (**1g**) con rese isolate comprese tra lo 82% e lo 88%.

Questi sistemi possiedono un azoto piridinico basico, che può essere impiegato come organocatalizzatore a geometria modulabile per acetilare alcoli aromatici *m*-sostituiti con rese soddisfacenti ed in tempi brevi (es. 80% dopo 30 h con 10 mol% di **1a_E**); nel caso da noi studiato è stata sfruttata l'anidride acetica come agente acilante nei confronti del 3-metossifenolo.

Questi composti infatti isomerizzano attorno al doppio legame imminico C=N cambiando l'ingombro stereo-elettronico in prossimità dell'azoto piridinico, sede della catalisi basica. In particolare è stato osservato un range di k_{rel} tra 4.3 per l'organocatalizzatore **1a** e 1.2 per l'organocatalizzatore **1d**. Confrontando l'attività catalitica degli acilidrazoni nelle configurazioni E e Z è stato dimostrato come gli isomeri E accelerino più efficacemente l'acetilazione del 3-metossifenolo rispetto ai corrispondenti isomeri Z per minor ingombro sterico ed interazione mediante legame ad idrogeno nel caso del residuo pirrolico.

In un *test* acilante con l'organocatalizzatore **1a_E** è stato inoltre osservato una variazione apprezzabile della catalisi quando tale catalizzatore, dopo un determinato intervallo temporale nella configurazione E, viene convertito nell'isomero Z mediante irraggiamento UV ($k_{rel} = 2.4$).

Futuri sviluppi saranno l'ottimizzazione dei sistemi per avere sicuramente dei sistemi foto-modulabili in cui sia possibile effettuare più cicli *on-off*.

PARTE SPERIMENTALE

Strumentazione

Gli spettri ^1H -NMR e ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ -NMR sono stati registrati a 298 K mediante spettrometro Bruker Advance 400 operante rispettivamente a 400 MHz e 100 MHz ed impiegando CD_3OD , CDCl_3 , D_2O e dimetilsolfossido- d_6 (DMSO) come solventi. I valori di *chemical shift* sono stati assegnati in base alla convenzione di attribuire segno positivo ai segnali posti ad alte frequenze rispetto al riferimento. Gli spettri protonici e gli spettri del carbonio sono stati calibrati usando il picco residuo del solvente non deuterato come riferimento tabulato, a sua volta relativamente al tetrametilsilano (TMS) quale segnale a cui per convenzione viene attribuito valore 0 ppm.

Gli spettri UV/VIS sono stati registrati mediante spettrometro Lambda 35 PerkinElmer termostato a 25 °C ed operante nell'intervallo di lunghezze d'onda comprese tra 250 e 800 nm.

Le analisi GC-MS sono state eseguite con un gascromatografo Trace GC 2000 (colonna capillare HP5-MS, 30 m D.I. 0.25 mm, film 0.25 μm , He gas carrier) accoppiato ad uno spettrometro di massa a quadrupolo Trace MS della Thermo Finnigan in modalità *Full Scan*.

Vengono di seguito riportate le condizioni operative utilizzate:

| Condizioni gascromatografiche/spettrometro di massa | |
|---|---|
| Colonna capillare: | HP5-MS 30 m, 0.25 mm x 0.25 μm |
| Temperatura forno iniziale, °C: | 80 per 5 minuti |
| Rampa, °C/minuto: | 20 |
| Temperatura finale, °C: | 300 per 30 minuti |
| Temperatura iniettore (split), °C: | 300 |
| Flusso, mL/minuto: | 0.8 |
| Volume iniettato di estratto, μL : | 1 |
| Solvent delay, minuti: | 3.5 |
| Mass range, amu: | 35-500 |
| Detector voltage, V: | 350 |
| Temperatura interfaccia, °C: | 300 |
| Temperatura sorgente, °C: | 200 |

Cromatografia su colonna

Viene ottimizzata la procedura riportata da Still e collaboratori.³⁵

Piccole aliquote di prodotto grezzo e di reagenti usati nella sintesi sono sospesi in CH_2Cl_2 in beute differenti. Su una lastrina TLC vengono segnati i corrispondenti punti di semina sulla linea di base e piccole aliquote delle suddette sospensioni sono depositate mediante un capillare.

La lastrina viene quindi immersa in un barattolo caricato con 5 mL di eluente e, una volta chiuso il tappo, gli analiti vengono eluiti in modo che il prodotto abbia fattore di ritenzione (R_f) pari a 0.35.

Il campione grezzo contenuto nel pallone viene ripreso con CH_2Cl_2 , una spatolata di SiO_2 fine viene aggiunta ed il tutto è concentrato delicatamente al Rotavapor.

Un batuffolo di ovatta viene inserito in una colonna di vetro affinché questi lambisca il rubinetto in Teflon. Alcune spatolate di SiO₂ sono sospese nell'eluente ed il tutto viene travasato nella colonna senza creare bolle d'aria e flussando N₂ per compattare la fase fissa (NB: la fase fissa non deve seccarsi).

La linea di base precedentemente ottenuta (campione impregnato in SiO₂) viene versata nella colonna cercando di ottenere un disco il più sottile ed uniforme possibile e successivamente bagnata con l'eluente flussando N₂. Infine alcune spatolate di SiO₂ grossa vengono aggiunte delicatamente sopra la linea di base ed il tutto viene bagnato con l'eluente flussando nuovamente N₂.

A questo punto la colonna viene caricata con l'eluente e si eluiscono gli analiti sotto flusso di N₂.

Le frazioni contenenti il prodotto purificato sono raccolte in un pallone ed infine concentrate al Rotavapor.

Materiale

I reagenti impiegati sono prodotti Sigma-Aldrich® e sono utilizzati senza ulteriori purificazioni: acido nicotinico, metanolo, acido solforico, sodio bicarbonato, etil acetato, diclorometano, sodio solfato, idrazina monoidrata, etanolo, toluene, 1-pirenecarbossaldeide, pirrolo-2-carbossaldeide, furfurale, 2-tiofenecarbossaldeide, 4-formilimidazolo, 3-formilindolo, acido trifluoroacetico, 3-metossifenolo, anidride acetica.

CDCl₃, D₂O e DMSO-d₆ sono prodotti Euriso-Top®.

Le cromatografie su strato sottile sono state eseguite su fogli ALUGRAM® Xtra SIL G/UV₂₅₄.
Le cromatografie su colonna sono state effettuate con gel di silice FLASH 0.04-0.063 mm.

Procedure sperimentali

Sintesi del metil nicotinato

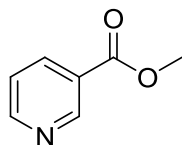
In un pallone munito di ancoretta magnetica e refrigerante a bolle viene sciolto 1 g di acido nicotinico (123.11 uma, 8.1 mmol) in 20 mL di MeOH (32.04 uma, 0.5 mol, ρ = 0.79 g/mL), dopodiché vengono gocciolati a freddo 3 mL di H₂SO₄ conc. (98.08 uma, 56.3 mmol, ρ = 1.84 g/mL). La miscela viene agitata a riflusso a 70 °C per una notte e poi raffreddata a temperatura ambiente.

La miscela grezza viene diluita con 10 mL di H₂O e neutralizzata con NaHCO₃ fino a raggiungere pH = 8-9; in quest'ultima operazione ci si avvale della cartina tornasole.

Il prodotto viene estratto con tre aliquote di EtOAc (3 x 10 mL) mediante imbuto separatore, dopodiché la fase organica viene anidrificata con Na₂SO₄, filtrata, concentrata al Rotavapor e tirata a secco.

Il prodotto di reazione isolato viene caratterizzato mediante spettroscopia ¹H-NMR e ¹³C {¹H}-NMR.

Metil nicotinato



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 9.25 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H), 8.80 (dd, $J_1 = 4.9$ Hz, $J_2 = 1.6$ Hz, 1H), 8.38 (dt, $J_1 = 8.0$ Hz, $J_2 = 1.9$ Hz, 1H), 7.47 (dd, $J_1 = 7.9$ Hz, $J_2 = 5.0$ Hz, 1H), 3.98 (s, 3H) ppm.

^{13}C $\{^1\text{H}\}$ -NMR (100 MHz, CDCl_3): δ 165.45, 152.49, 150.13, 138.18, 126.66, 123.86, 52.75 ppm.

Sintesi della nicotinidrazina

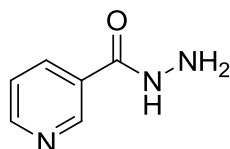
Viene ottimizzata la procedura riportata da Hecht e collaboratori.²¹

In un pallone munito di ancorotta magnetica e refrigerante a bolle vengono disciolti 1 eq di metil nicotinato (137.14 μmol , 2.6 mmol) e 2 eq di idrazina monoidrata (50.06 μmol , 5.2 mmol, $\rho = 1.03$ g/mL) in 10 mL di EtOH; la miscela viene agitata a refluxo a 80 °C per una notte.

Il grezzo di reazione viene raffreddato a temperatura ambiente e poi tirato a secco con trappola di N_2 liquido. La miscela così ottenuta viene anidrificata aggiungendo 2.5 mL di toluene ed infine concentrata al Rotavapor.

Il prodotto di reazione isolato viene caratterizzato mediante spettroscopia $^1\text{H-NMR}$ e ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ -NMR.

Nicotinidrazina



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6): δ 8.95 (dd, $J_1 = 2.2$ Hz, $J_2 = 0.8$ Hz, 1H), 8.68 (dd, $J_1 = 4.8$ Hz, $J_2 = 1.7$ Hz, 1H), 8.16 - 8.12 (m, 1H), 7.49 (ddd, $J_1 = 7.9$ Hz, $J_2 = 4.8$ Hz, $J_3 = 0.8$ Hz, 1H) ppm.

^{13}C $\{^1\text{H}\}$ -NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 164.47, 151.87, 148.14, 134.83, 129.00, 123.65 ppm.

Sintesi generale degli acilidrazoni

Viene ottimizzata la procedura riportata da Hecht e collaboratori.²¹

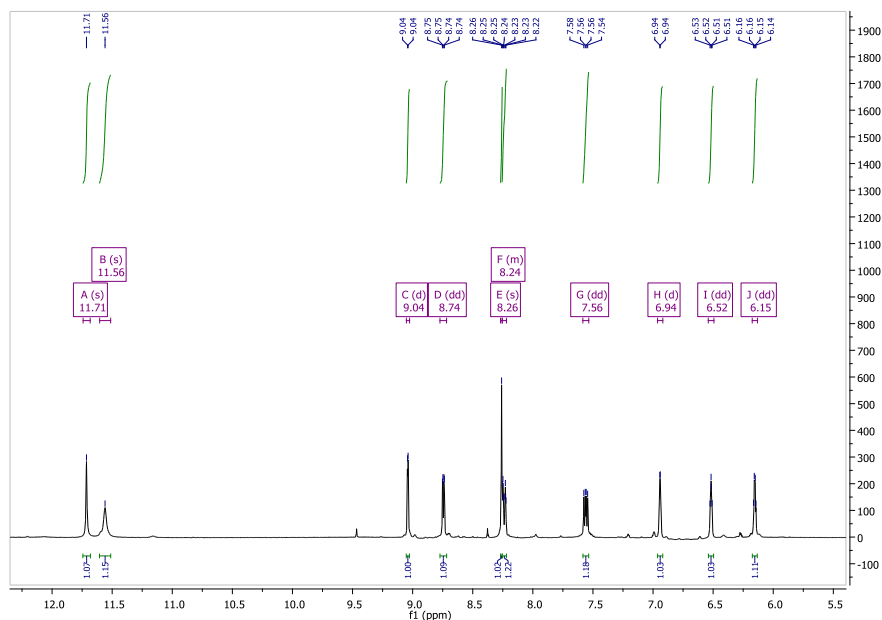
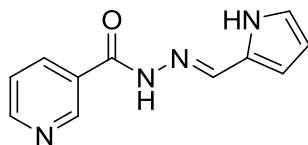
In un pallone munito di ancorotta magnetica e refrigerante a bolle 1 eq di nicotinidrazina (137.14 μmol , 0.7 mmol) ed 1 eq di aldeide (0.7 mmol) sono sospesi in 10 mL di EtOH. Successivamente vengono aggiunti a freddo 5.4 μL di TFA (114.02 μmol , 73 μmol , $\rho = 1.54$ g/mL) sono gocciolati a freddo, dopodiché la miscela viene agitata a refluxo a 80 °C per 3 ore.

Il prodotto grezzo di reazione viene stoccato in congelatore per una notte per favorire la precipitazione, dopodiché viene filtrato su Gooch con EtOH a temperatura ambiente.

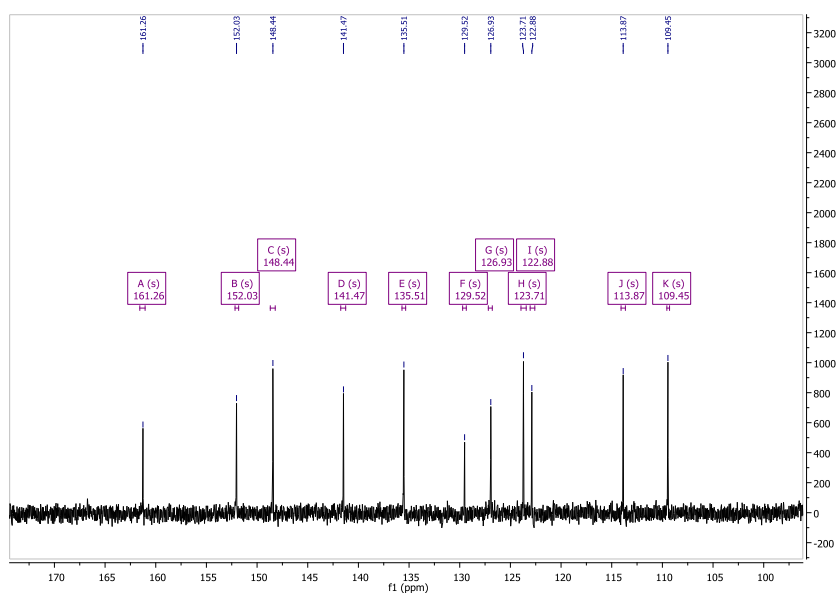
Il prodotto isolato viene caratterizzato mediante spettroscopia $^1\text{H-NMR}$ e ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ -NMR.

Per N^7 -(pirenilmetilene)idrazone: il prodotto isolato viene purificato mediante cromatografia su colonna (AcOEt/MeOH 8:2), concentrato al Rotavapor, ripreso con DCM e tirato a secco.

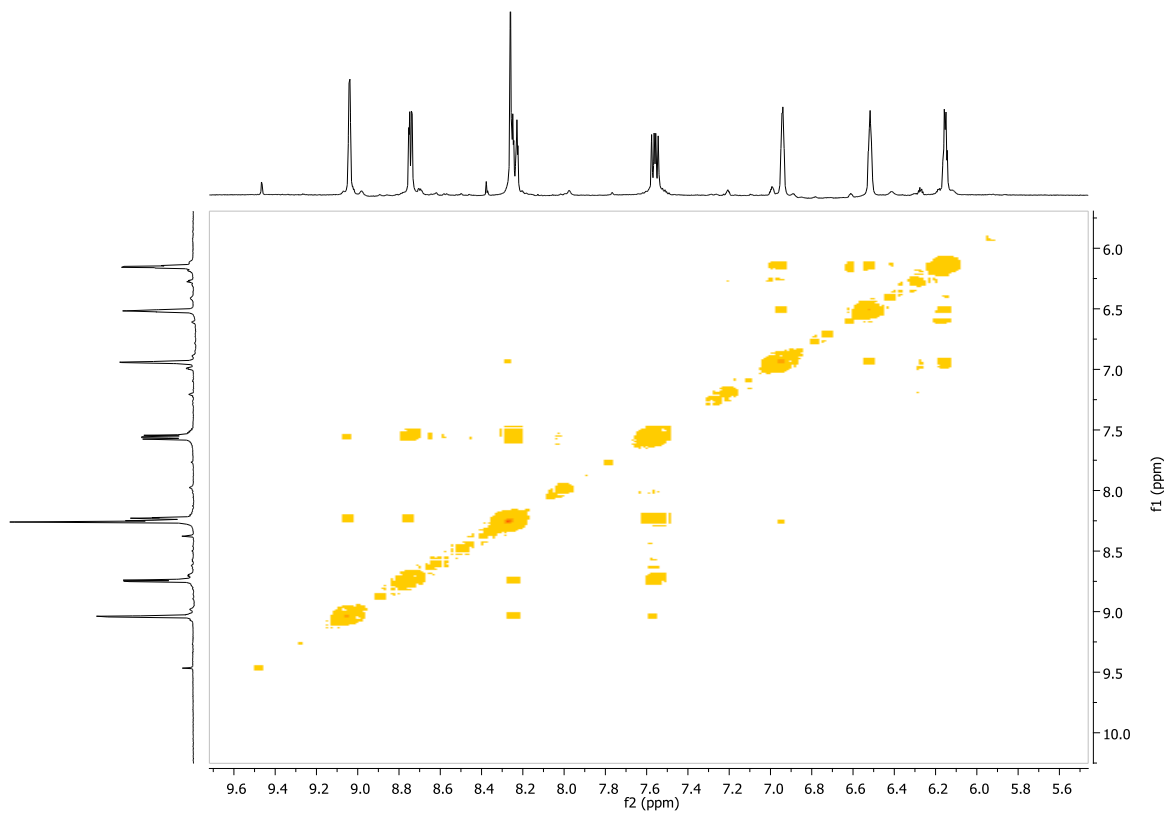
(E)-N'-(2-pirrolilmetilene)nicotinidrazone



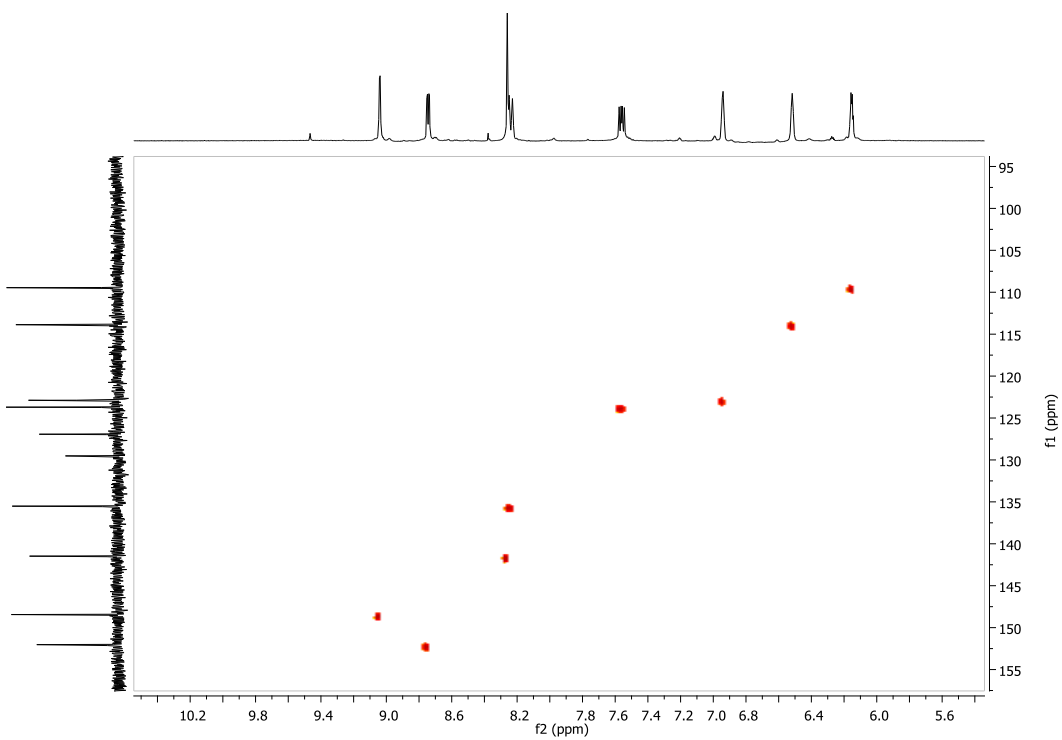
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6): δ 11.71 (s, 1H), 11.56 (s, 1H), 9.04 (d, $J = 1.7$ Hz, 1H), 8.74 (dd, $J_1 = 4.8$ Hz, $J_2 = 1.6$ Hz, 1H), 8.26 (s, 1H), 8.25 – 8.22 (m, 1H), 7.56 (dd, $J_1 = 7.9$ Hz, $J_2 = 4.8$ Hz, 1H), 6.94 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 6.52 (s, 1H), 6.15 (dd, $J_1 = 5.7$ Hz, $J_2 = 2.4$ Hz, 1H) ppm.



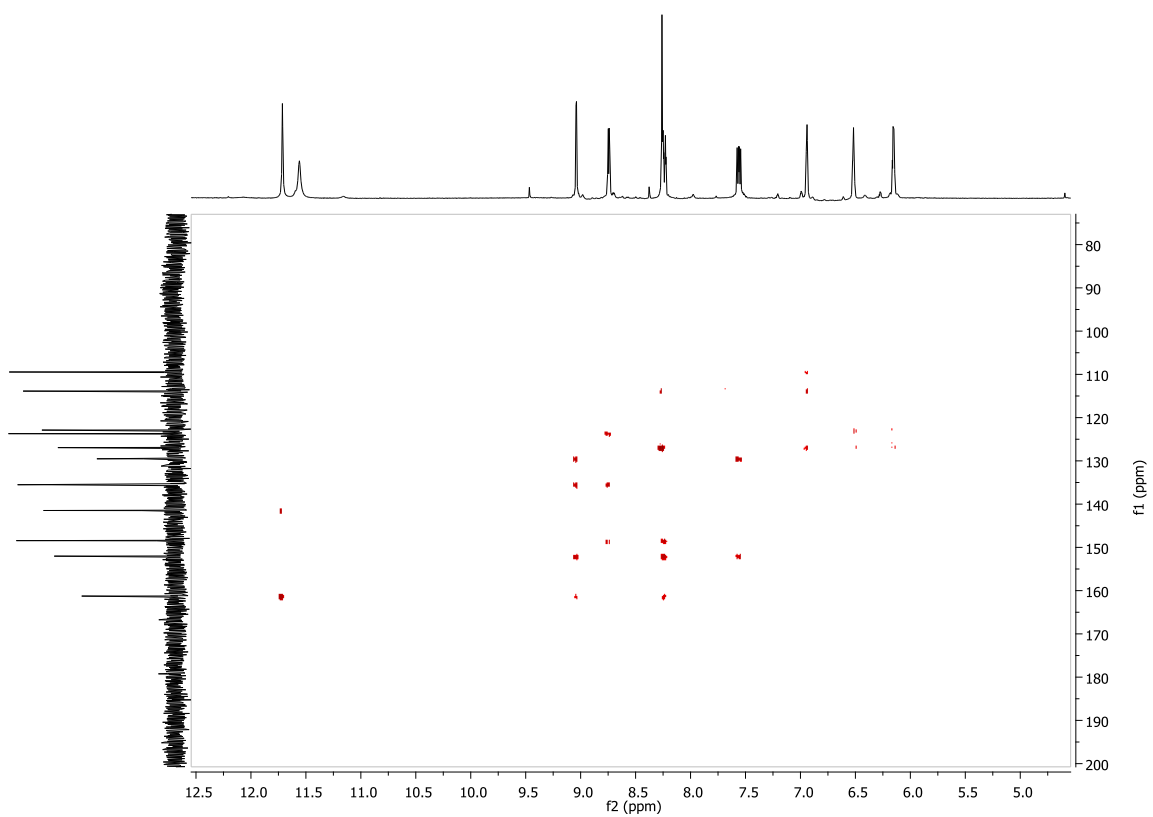
$^{13}\text{C} \{^1\text{H}\}$ -NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 161.26, 152.03, 148.44, 141.47, 135.51, 129.52, 126.93, 123.71, 122.88, 113.87, 109.45 ppm.



NMR - COSY

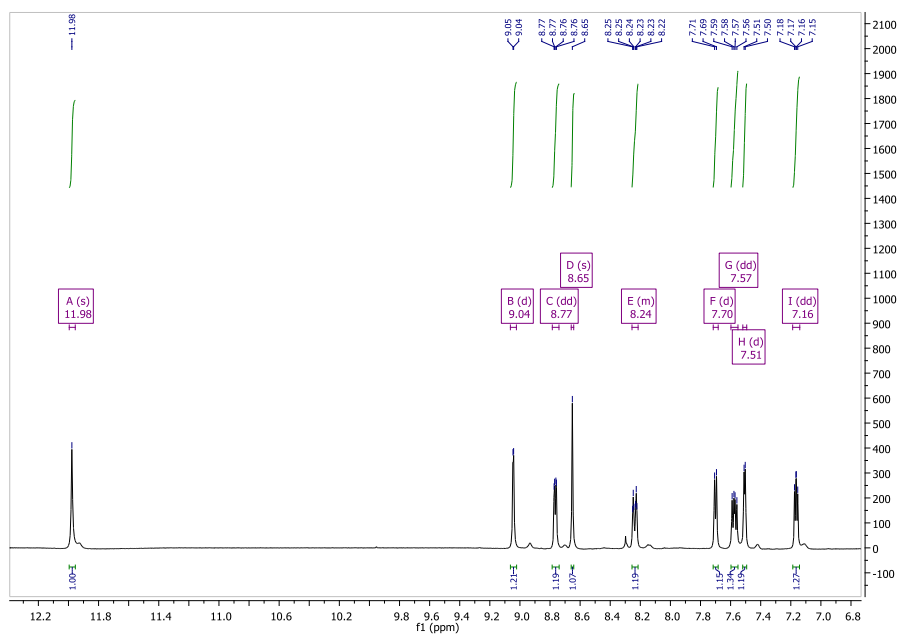
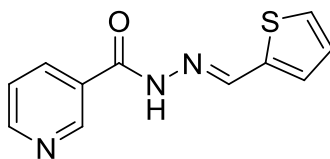


NMR - ¹H-¹³C HSQC

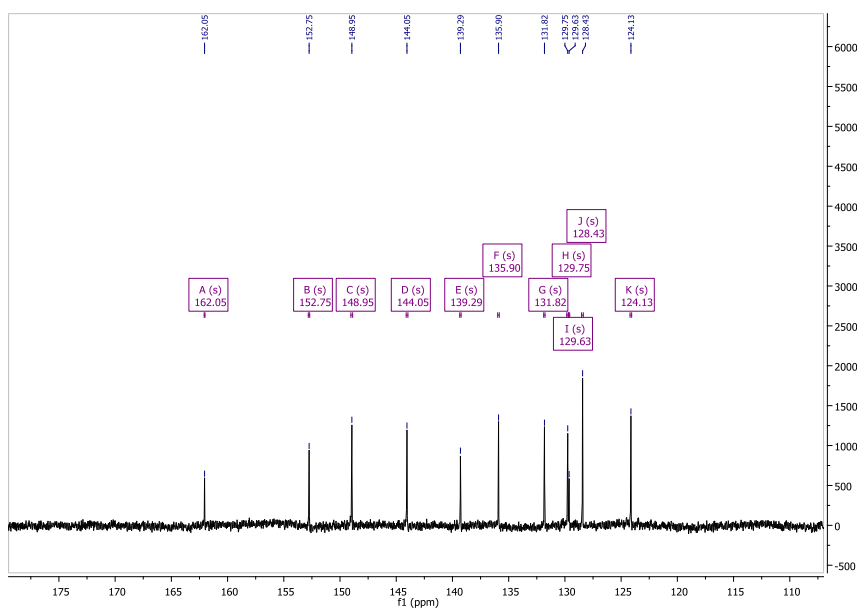


NMR - ^1H - ^{13}C HMBC

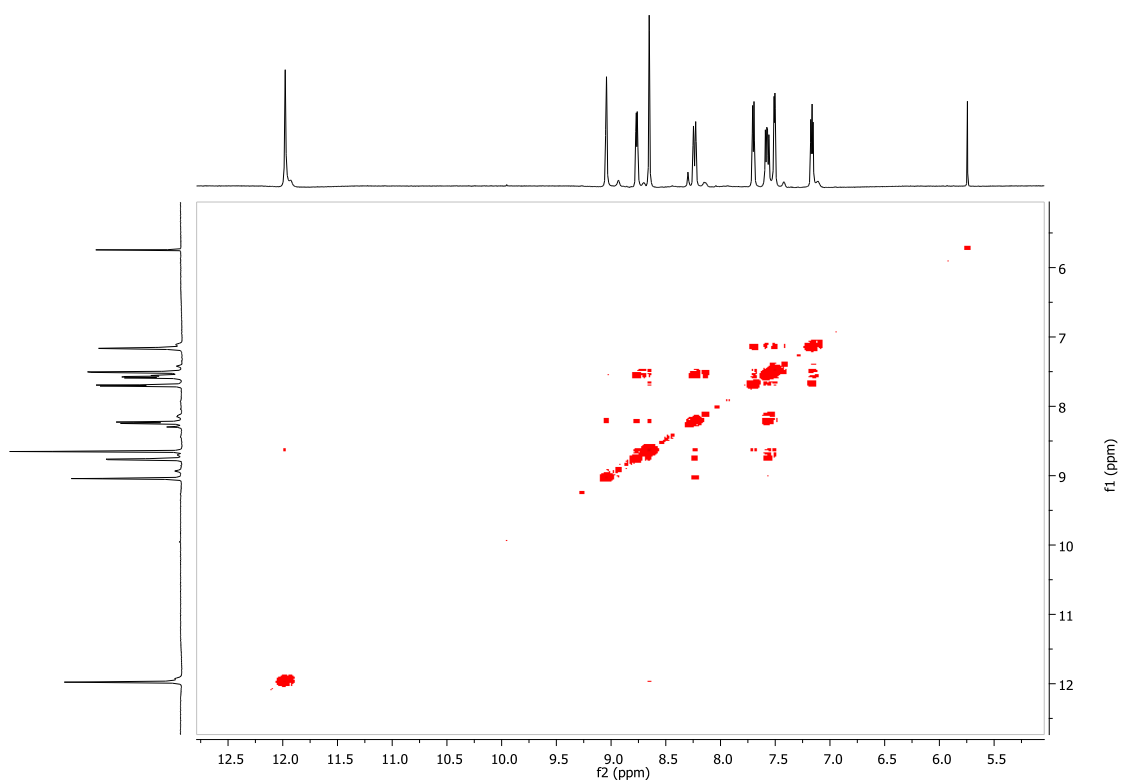
(E)-N'-(2-tiofenilmetilene)nicotinidrazone



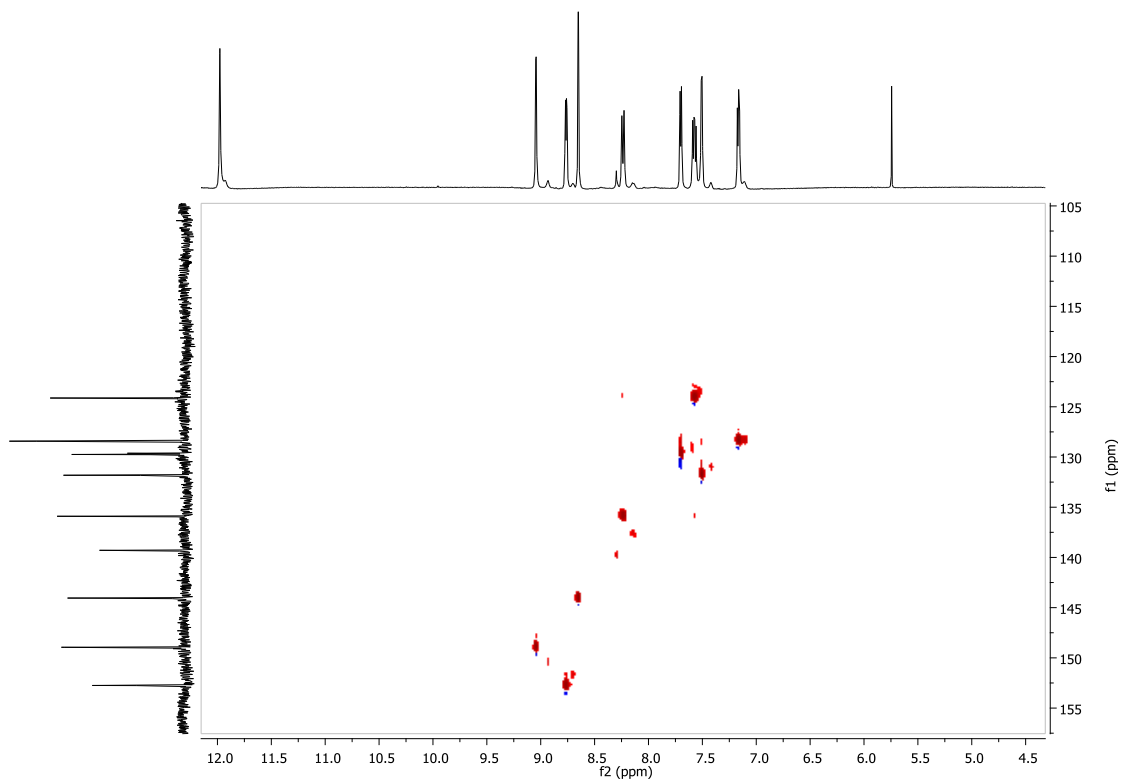
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6): δ 11.98 (s, 1H), 9.04 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H), 8.77 (dd, $J_1 = 4.7$ Hz, $J_2 = 1.4$ Hz, 1H), 8.65 (s, 1H), 8.24 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.70 (d, $J = 5.0$ Hz, 1H), 7.57 (dd, $J_1 = 7.8$ Hz, $J_2 = 4.9$ Hz, 1H), 7.51 (d, $J = 3.1$ Hz, 1H), 7.16 (dd, $J_1 = 4.9$ Hz, $J_2 = 3.7$ Hz, 1H) ppm.



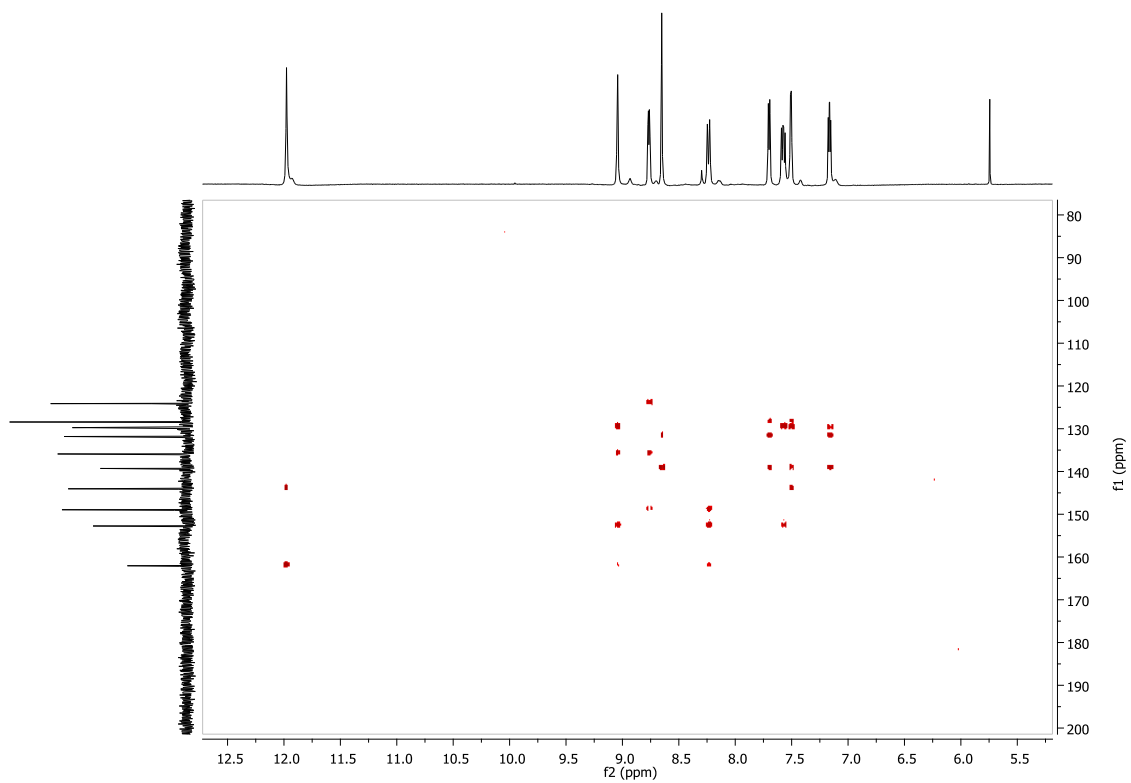
^{13}C $\{^1\text{H}\}$ -NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 162.05, 152.75, 148.95, 144.05, 139.29, 135.90, 131.82, 129.75, 129.63, 128.43, 124.13 ppm.



NMR - COSY

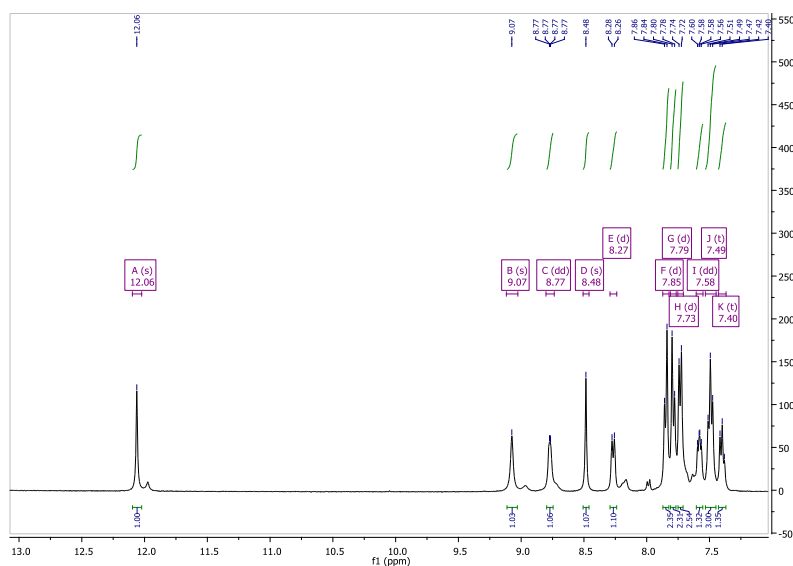
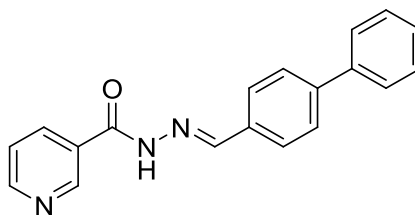


NMR - ¹H-¹³C HSQC

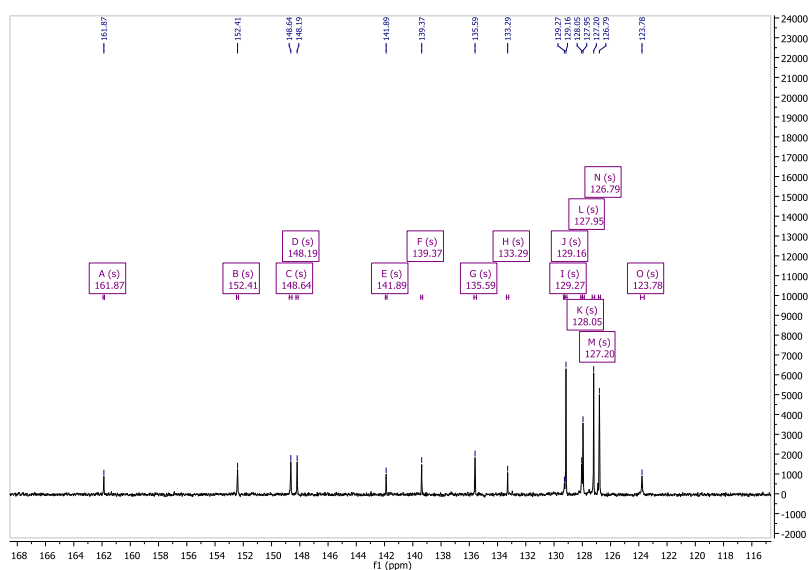


NMR - ^1H - ^{13}C HMBC

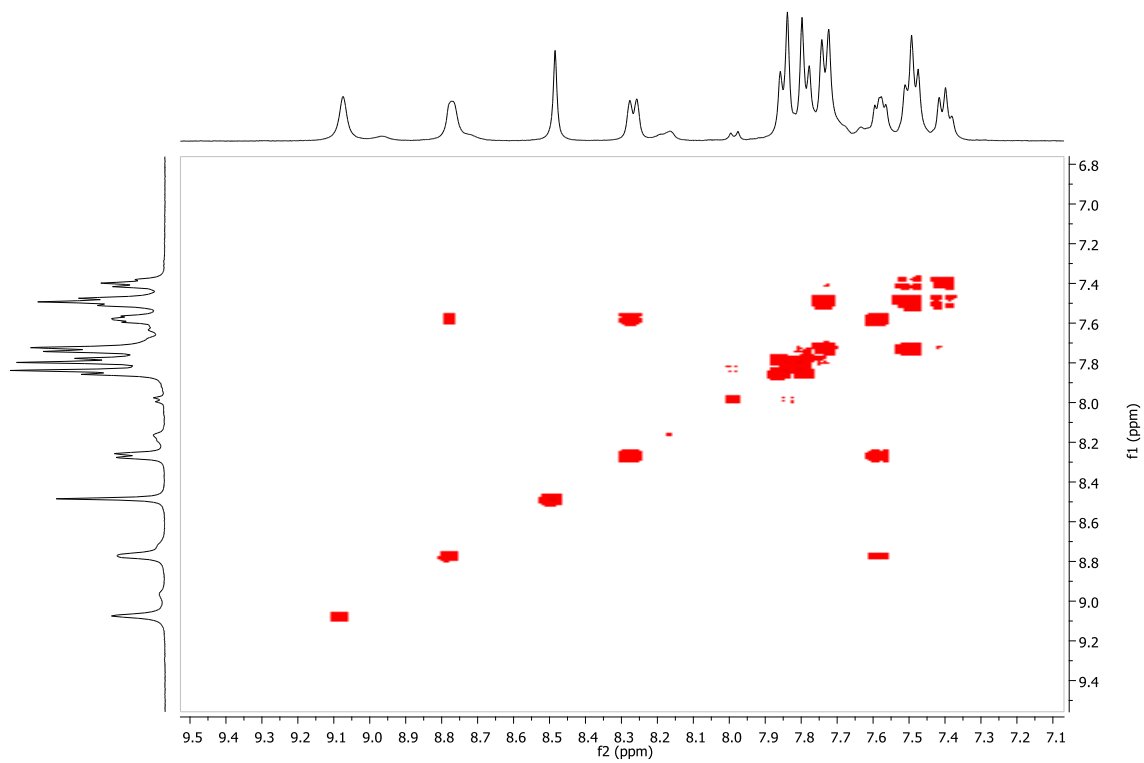
(E)-N'-(4-bifenilimetilene)nicotinidrazone



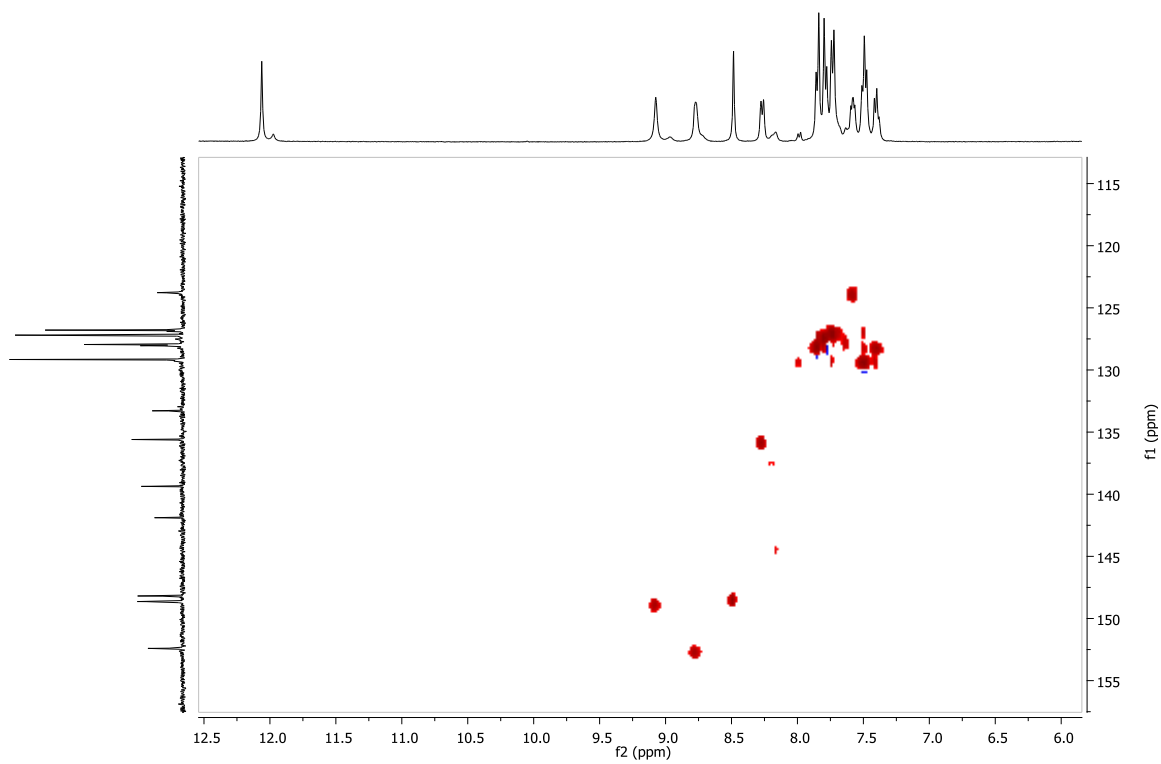
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6): δ 12.06 (s, 1H), 9.07 (s, 1H), 8.77 (dd, $J_1 = 2.1$ Hz, $J_2 = 0.8$ Hz, 1H), 8.48 (s, 1H), 8.27 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.85 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 7.79 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 7.73 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H), 7.58 (dd, $J_1 = 7.2$ Hz, $J_2 = 4.9$ Hz, 1H), 7.49 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H), 7.40 (t, $J = 7.0$ Hz, 1H) ppm.



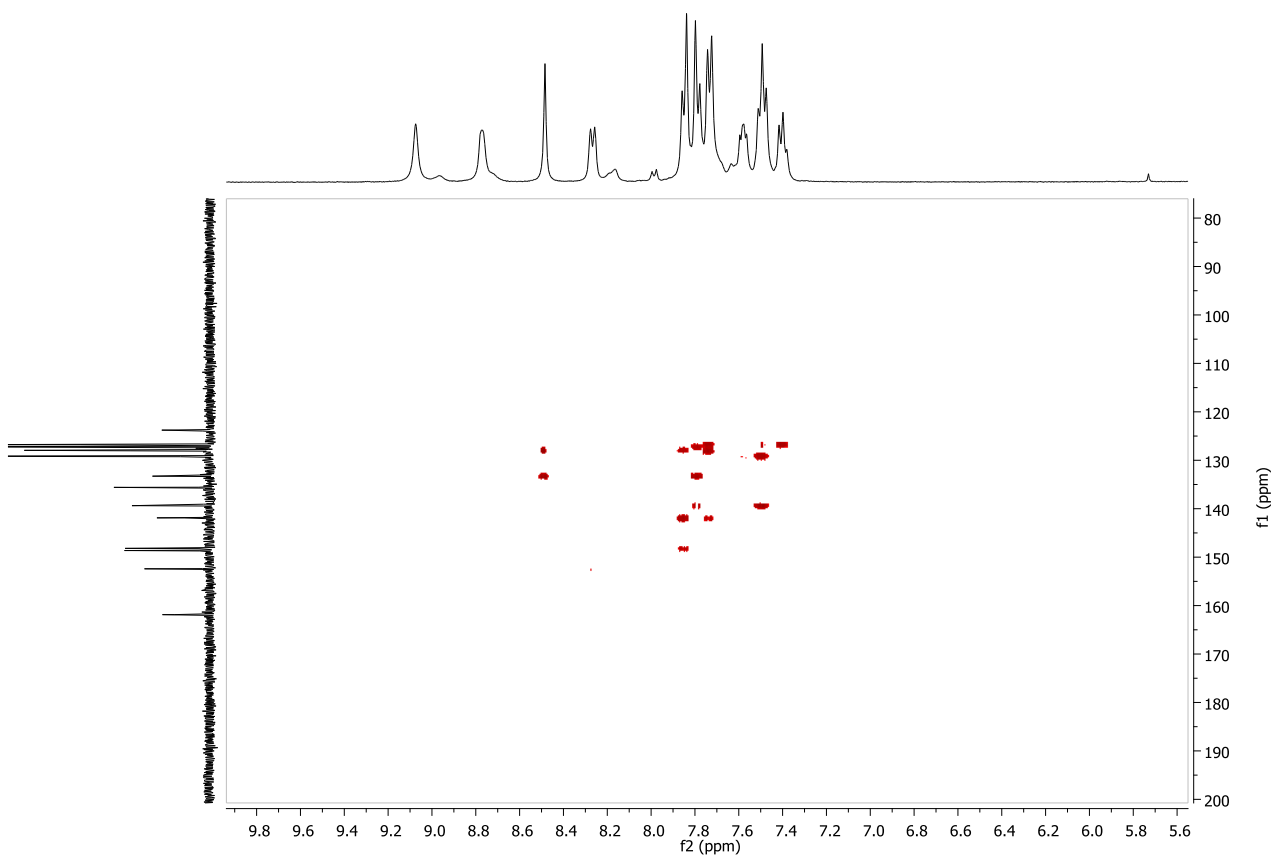
$^{13}\text{C} \{^1\text{H}\}$ -NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 161.87, 152.41, 148.64, 148.19, 141.89, 139.37, 135.59, 133.29, 129.27, 129.16 (2C), 128.05, 127.95 (2C), 127.20 (2C), 126.79 (2C), 123.78 ppm.



NMR - COSY

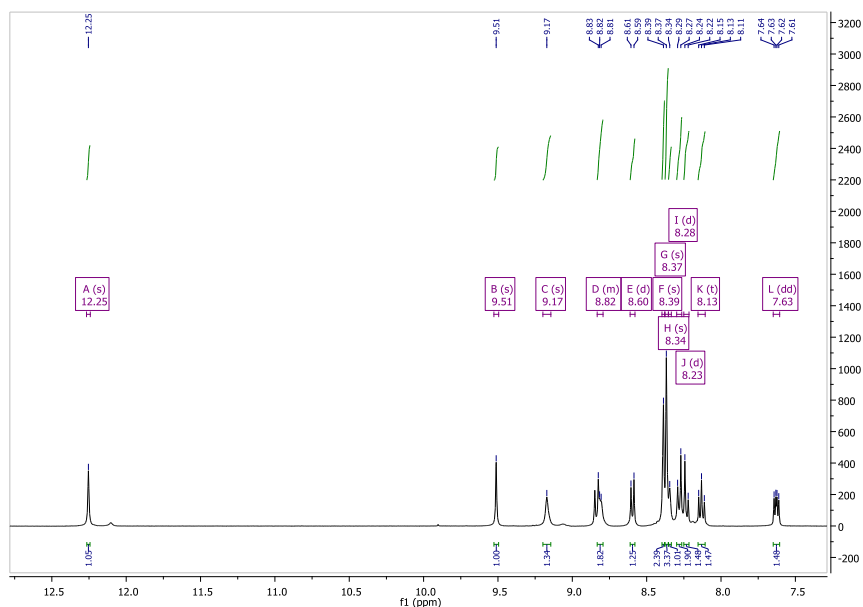
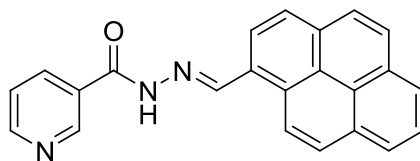


NMR - ^1H - ^{13}C HSQC

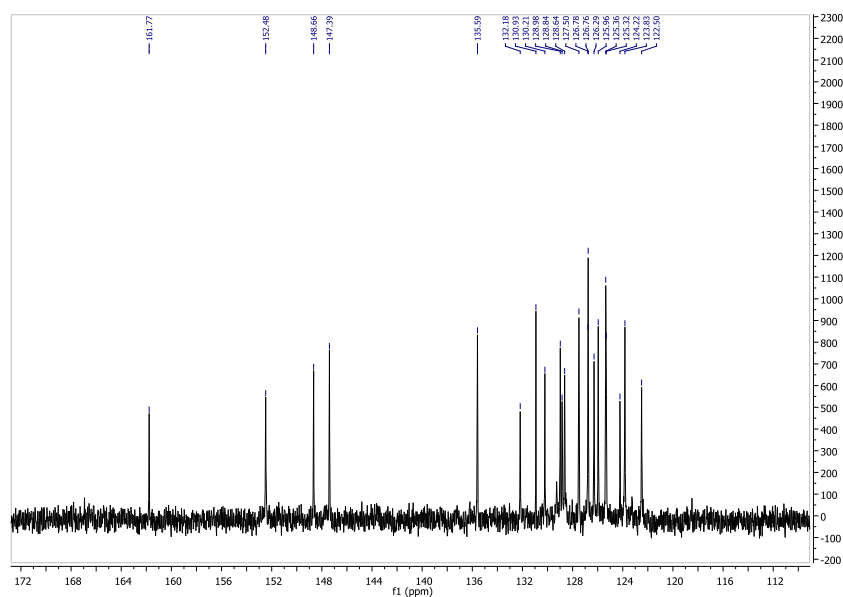


NMR - ^1H - ^{13}C HMBC

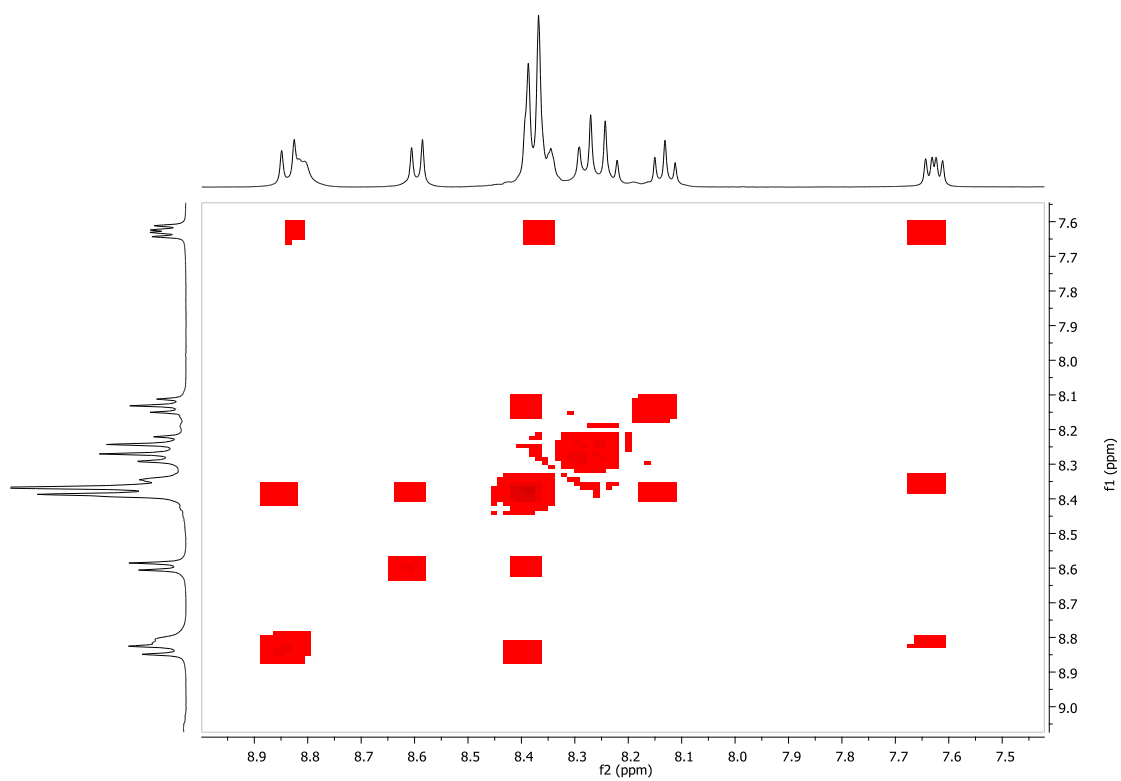
(E)-N'-(1-pirenimetilene)nicotinidrazone



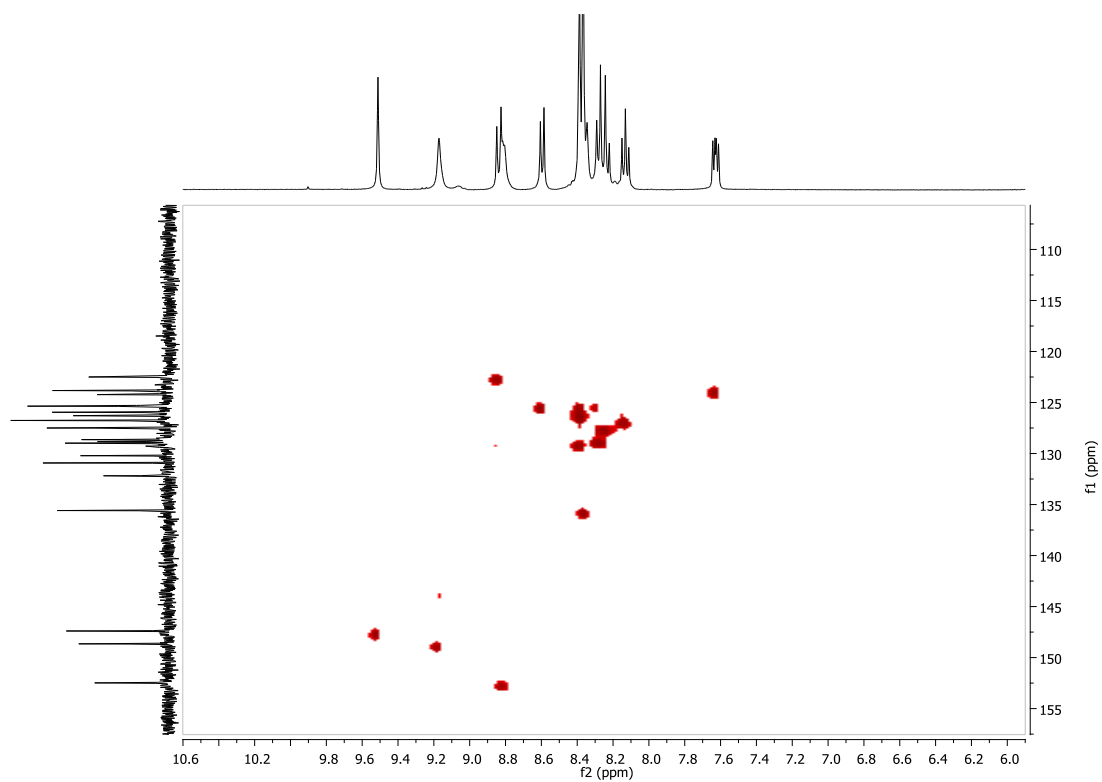
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6): δ 12.25 (s, 1H), 9.51 (s, 1H), 9.17 (s, 1H), 8.83 – 8.79 (m, 1H), 8.60 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 8.39 (s, 2H), 8.37 (s, 3H), 8.34 (s, 1H), 8.28 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 8.23 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 8.13 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.63 (dd, $J_1 = 7.8$ Hz, $J_2 = 4.8$ Hz, 1H) ppm.



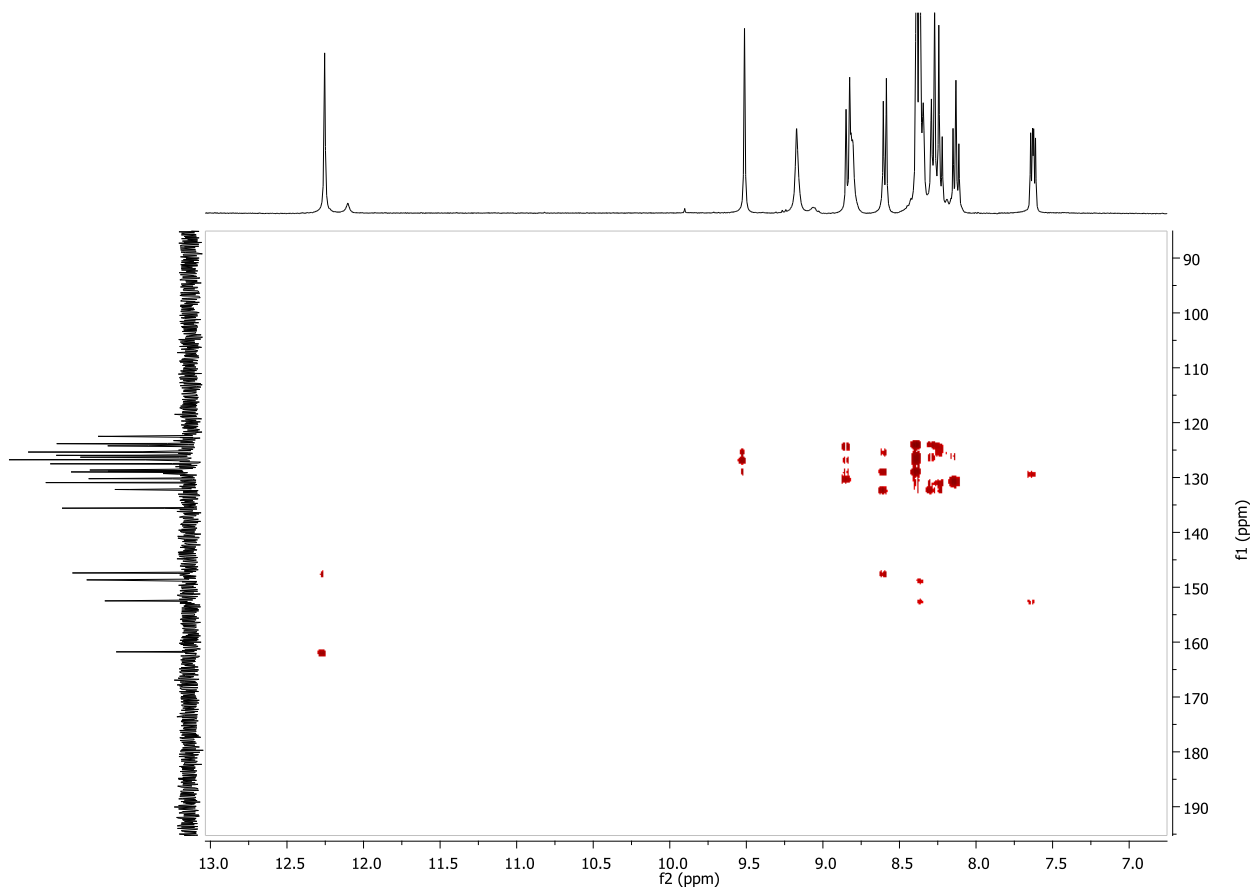
$^{13}\text{C} \{^1\text{H}\}$ -NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 161.77, 152.48, 148.66, 147.39, 135.59, 132.18, 130.93, 130.21, 128.98, 128.84, 128.64, 127.50, 126.78, 126.76, 126.29, 125.96, 125.36, 125.32, 124.22, 123.83, 122.50 ppm.



NMR – COSY

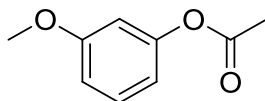


NMR - ¹H-¹³C HSQC



NMR - ^1H - ^{13}C HMBC

Reazione di esterificazione del 3-metossifenolo a dare il 3-metossifenil acetato



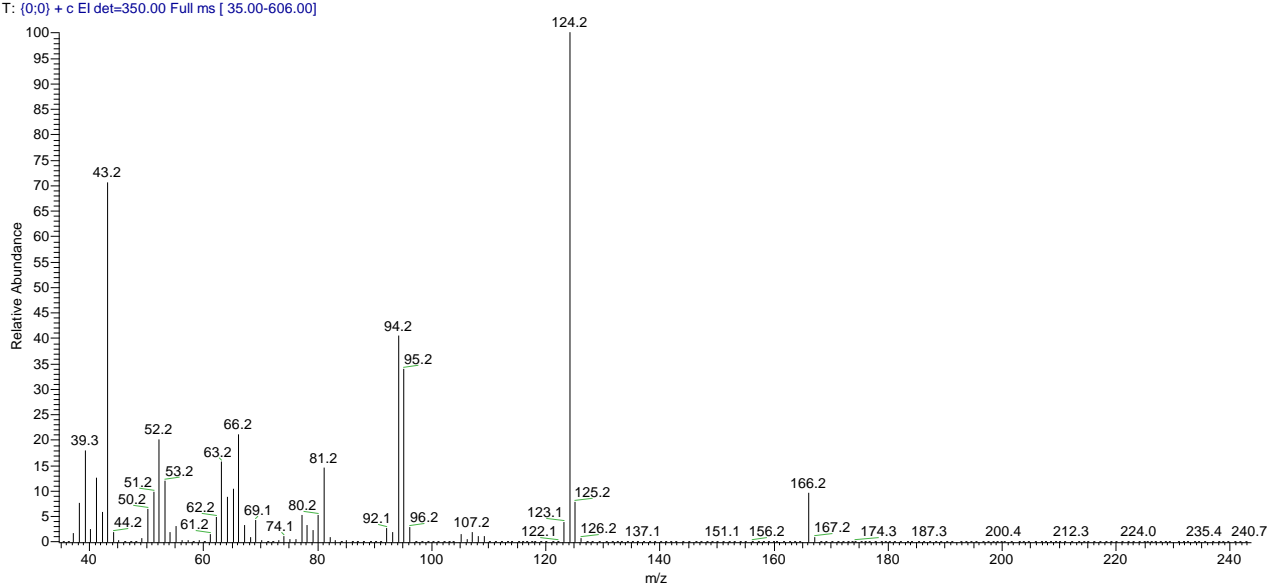
In una *vial* dotata di ancoretta magnetica sono sciolti 1 eq di 3-metossifenolo (124.14 uma, 0.3 mmol, $\rho = 1.13$ g/mL) e 5 eq di anidride acetica (102.09 uma, 1.5 mmol, $\rho = 1.08$ g/mL) in 2.5 mL di CDCl_3 con il 10 mol% di acilidrazone (25 μmol) rispetto al fenolo.

La miscela viene agitata a temperatura ambiente analizzando il grezzo di reazione mediante $^1\text{H-NMR}$.

D:\1_chim\alberto\AdAlberto116_080716

08/07/2016 13.40.46

AdAlberto116_080716 #608 RT: 8.92 AV: 1 NL: 7.40E5
T: (0;0) + c EI det=350.00 Full ms [35.00-606.00]



GC-MS, m/z : 166.2 [M^+], 124.2 [$\text{M}^+ - \text{MeCO}$], 94.2 [$\text{M}^+ - \text{MeO}$], 43.2 [MeCO].

Esterificazione foto-modulata del 3-metossifenolo a dare il 3-metossifenil acetato

In una *vial* dotata di ancoretta magnetica vengono introdotti: 1 eq di 3-metossifenolo (124.14 uma, 0.3 mmol, $\rho = 1.13$ g/mL), 5 eq di anidride acetica (102.09 uma, 1.5 mmol, $\rho = 1.08$ g/mL) e 2.5 mL di CDCl_3 con lo 1 mol% di acilidrazone (3 μmol) rispetto al fenolo.

La miscela viene agitata a temperatura ambiente analizzando il grezzo di reazione mediante $^1\text{H-NMR}$.

BIBLIOGRAFIA

- 1 [Catalyst and Catalysis](http://science.jrank.org/pages/1266/Catalyst-Catalysis.html)
- 2 R. H. Petrucci, F. G. Herring, J. D. Madura, C. Bissonnette, *General Chemistry: Principles and Modern Applications*, Pearson Canada - Toronto, 10th ed., **2011**, 637-640
- 3 [Enzyme - Historical Background Of Enzyme Research](http://science.jrank.org/pages/2535/Enzyme-Historical-background-enzyme-research.html)
- 4 D. L. Nelson, M. M. Cox, *Lehninger's Principles of Biochemistry*, W. H. Freeman and Company – New York, 6th ed., **2012**, 189-236
- 5 H. R. Horton, L. A. Moran, K. G. Scrimgeour, M. D. Perry, J. D. Rawn, *Principles of Biochemistry*, Pearson, 5th ed., **2011**, 85-130, 134-159
- 6 F. Huang, E. V. Anslyn, *Chem. Rev.*, **2015**, 115 (15), 6999–7000
- 7 J.-M. Lehn, *Chem. Soc. Rev.*, **2007**, 36, 151-160
- 8 S. Giust, G. La Sorella, L. Sporni, F. Fabris, G. Strukul, A. Scarso, *Asian J. Org. Chem.*, **2015**, 4 (3), 217 – 220
- 9 G. La Sorella, L. Sporni, G. Strukul, A. Scarso, *ChemCatChem*, **2015**, 7 (2), 291 – 296
- 10 M. A. A. Garcia, Y. Hu, I. Willner, *Chem. Commun.*, **2016**, 52 (10), 2153-2156
- 11 R. S. Stoll, S. Hecht, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2010**, 49 (30), 5054-5075
- 12 B. M. Neilson, C. W. Bielawski, *ACS Catal.*, **2013**, 3 (8), 1874–1885
- 13 A. J. Teator, D. N. Lastovickova, C. W. Bielawski, *Chem. Rev.*, **2016**, 116 (4), 1969–1992
- 14 M. Irie, *Chem. Rev.*, **2000**, 100 (5), 1683–1684
- 15 Z. Yu, S. Hecht, *Chem. Commun.*, **2016**, 52, 6639-6653
- 16 M. Bälter, S. Li, M. Morimoto, S. Tang, J. Hernando, G. Guirado, M. Irie, F. M. Raymo, J. Andréasson, *Chem. Sci.*, **2016**, 7, 5867-5871
- 17 V. Blanco, D. A. Leigh, V. Marcos, *Chem. Soc. Rev.*, **2015**, 44 (15), 5341-5370
- 18 B. M. Neilson, C. W. Bielawski, *J. Am. Chem. Soc.*, **2012**, 134 (30), 12693–12699
- 19 B. S. Lukyanov, M. B. Lukyanova, *Chemistry of Heterocyclic Compounds*, **2005**, 41 (3), 281-311
- 20 B. List, *Chem. Rev.*, **2007**, 107 (12), 5413–5415

-
- 21 D. J. Van Dijken, P. Kovaricek, S. V. Ihrig, S. Hecht, *J. Am. Chem. Soc.*, **2015**, *137* (47), 14982–14991
- 22 N. M. Cordeiro, R. H. C. N. Freitas, C. A. M. Fraga, P. D. Fernandes, *PLoS ONE*, **2016**, *11* (5), 1-17
- 23 A. Nakhostin, S. Mirseyedhosein, M. Toolabi, P. Khodabakhsh, H. Aghamiri, S. Ghaffari, H. Shafaroodi, A. Shayesteh, M. Amini, A. Shafiee, L. Navidpour, *Med. Chem. Res.*, **2016**, 1-17
- 24 J. G. Smith, *Organic Chemistry*, McGraw Hill Higher Education, *2nd ed.*, **2007**, 826-881
- 25 https://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/biblio?CC=WO&NR=2005054198&KC=&FT=E&locale=en_EP
- 26 <http://www.commonorganicchemistry.com/Sidebar/Resources.htm>
- 27 J. McMurry, *Organic Chemistry*, Brooks/Cole Cengage Learning, *8th ed.*, **2012**, 722-777
- 28 D. A. Skoog, F. J. Holler, S. R. Crouch, *Principles of Instrumental Analysis*, Thomson Brooks/Cole, *6th ed.*, **2006**, 367-398
- 29 <http://www.sigmaaldrich.com/chemistry/solvents.html>
- 30 G. R. Fulmer, A. J. M. Miller, N. H. Sherden, H. E. Gottlieb, A. Nudelman, B. M. Stoltz, J. E. Bercaw, K. I. Goldberg, *Organometallics*, **2010**, *29*, 2176–2179
- 31 <http://reag.paperplane.io/00002419.htm>
- 32 http://sdbs.db.aist.go.jp/sdbs/cgi-bin/direct_frame_top.cgi
- 33 <http://goldbook.iupac.org/R05156.html>
- 34 P. Atkins, J. De Paula, *Physical Chemistry*, W. H. Freeman and Company - New York, *9th ed.*, **2010**, 782-830
- 35 W. C. Still, M. Kahn, A. Mitra, *J. Org. Chem.*, **1978**, *43* (14), 2923-2925