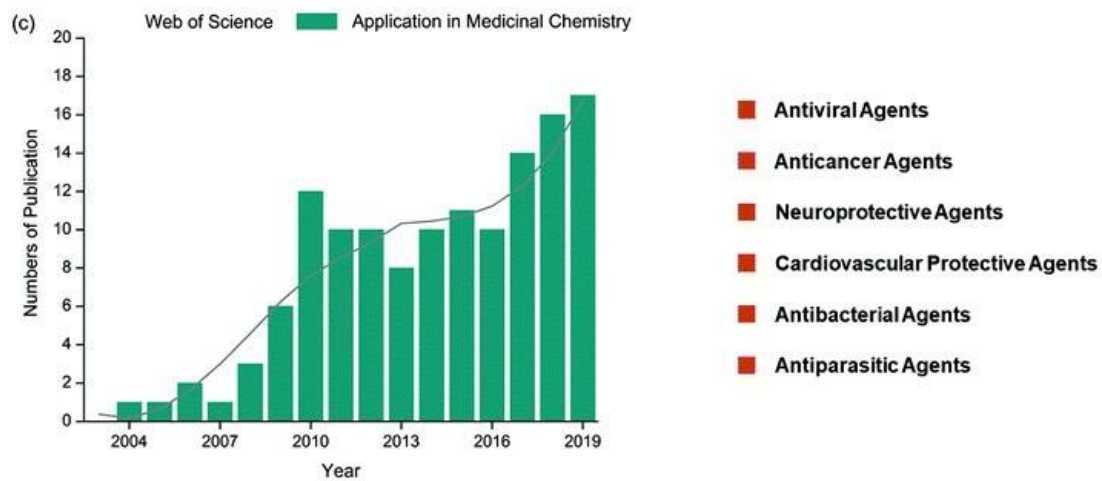
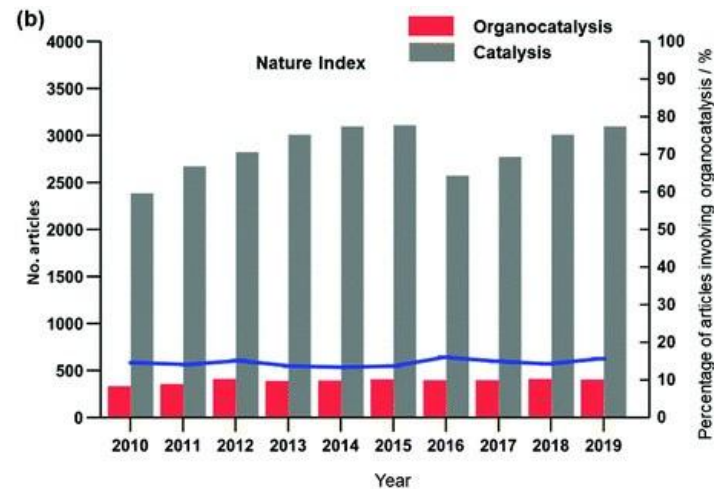
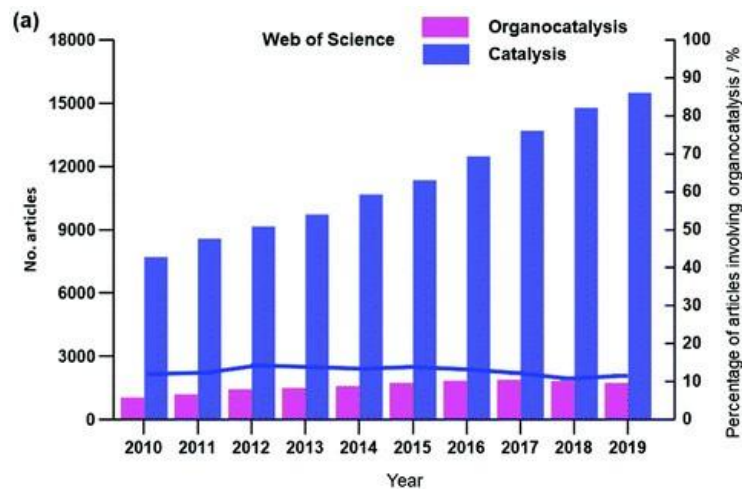

Metodologie sintetiche ed analitiche
in chimica farmaceutica

METODI OTTENIMENTO EPC
(Enantiomerically Pure Compounds)

CATALISI
IN MEDICINAL CHEMISTRY

ORGANOCATALISI

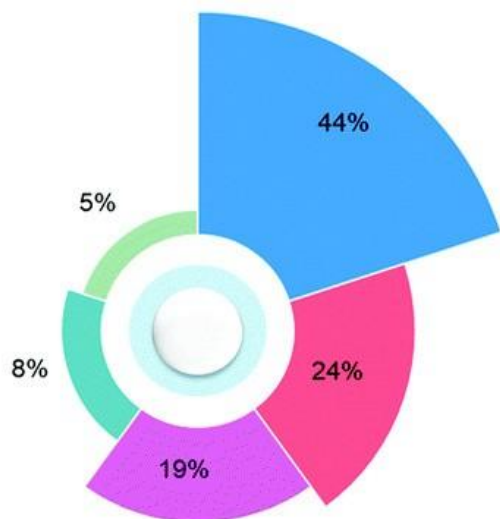


Numero di pubblicazioni per anno indicizzate in (a) Web of Science o in (b) Nature Index **che includa la parola chiave catalysis** e almeno una delle seguenti parole chiave: organocat*, ammina cat*, fosfina cat*, acido fosforico cat*, carbene N-eterociclico cat* o trasferimento di fase cat*.

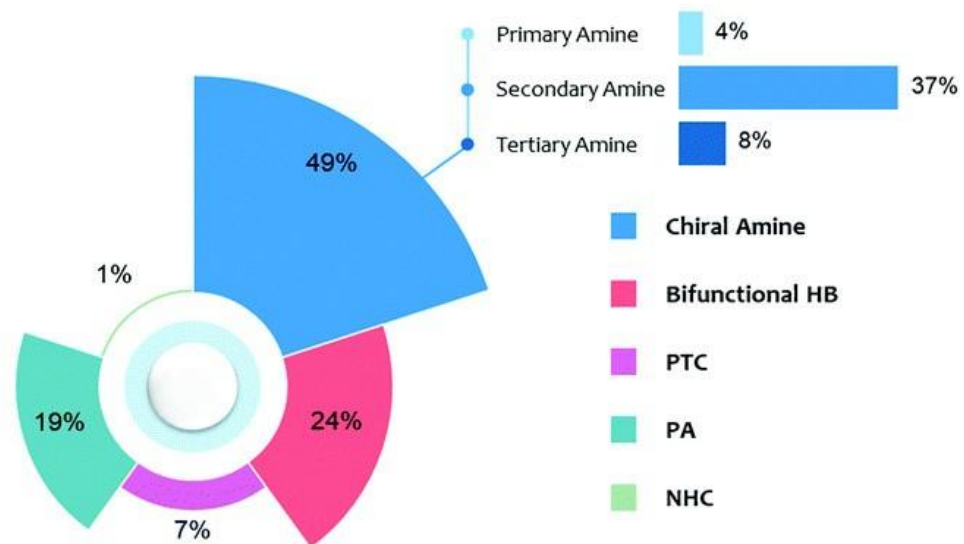
(c) Numero di pubblicazioni per anno in Web of Science che riportano applicazioni dell'organocatalisi asimmetrica in chimica farmaceutica

ORGANOCATALISI

(a) Proportion of the general organocatalytic mode type analysed from Web of Science

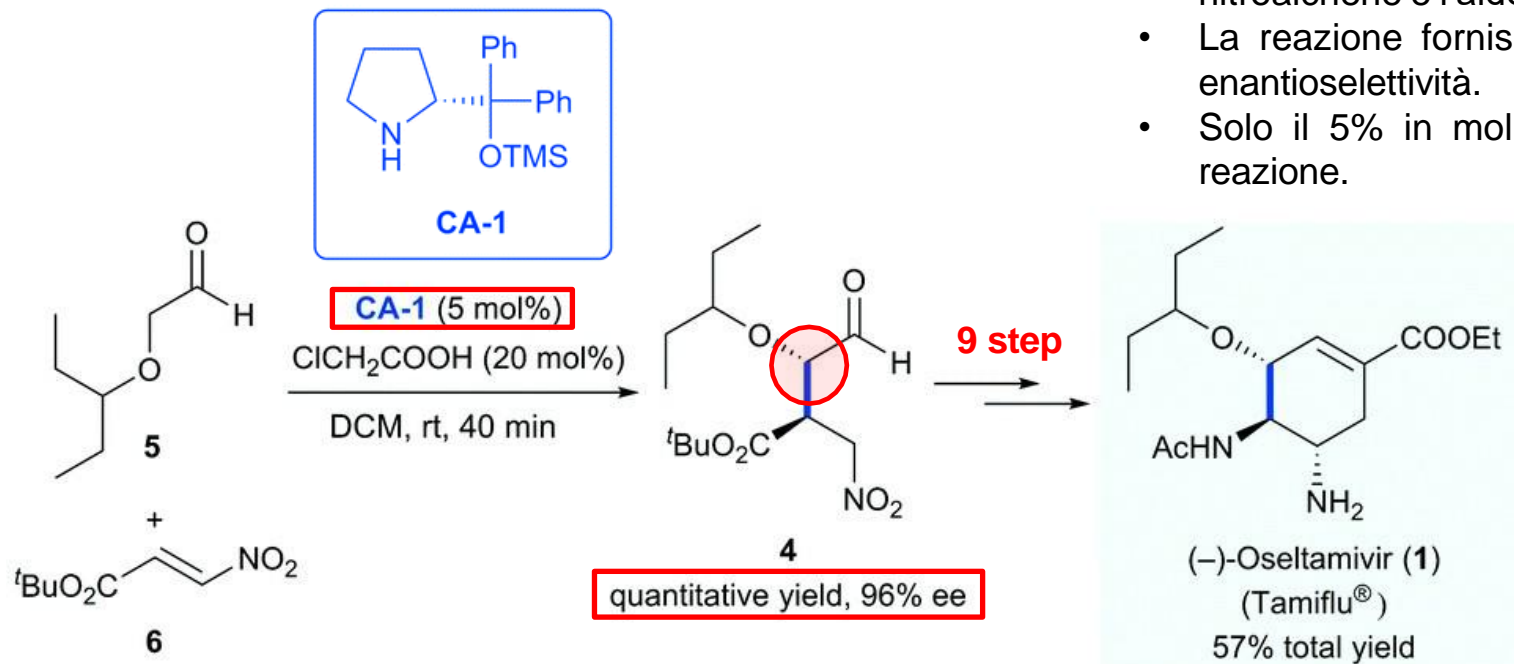


(b) Proportion of the organocatalytic mode type applied in medicinal chemistry



Tipologia di organocatalizzatore (a) analizzato da Web of Science o (b) **applicato in chimica medicinale**, inclusi catalizzatori amminici chirali, catalizzatori bifunzionali di legame idrogeno, catalizzatori di acido fosforico, catalizzatori di trasferimento di fase, catalizzatori di carbene N-eterociclico

ORGANOCATALISI



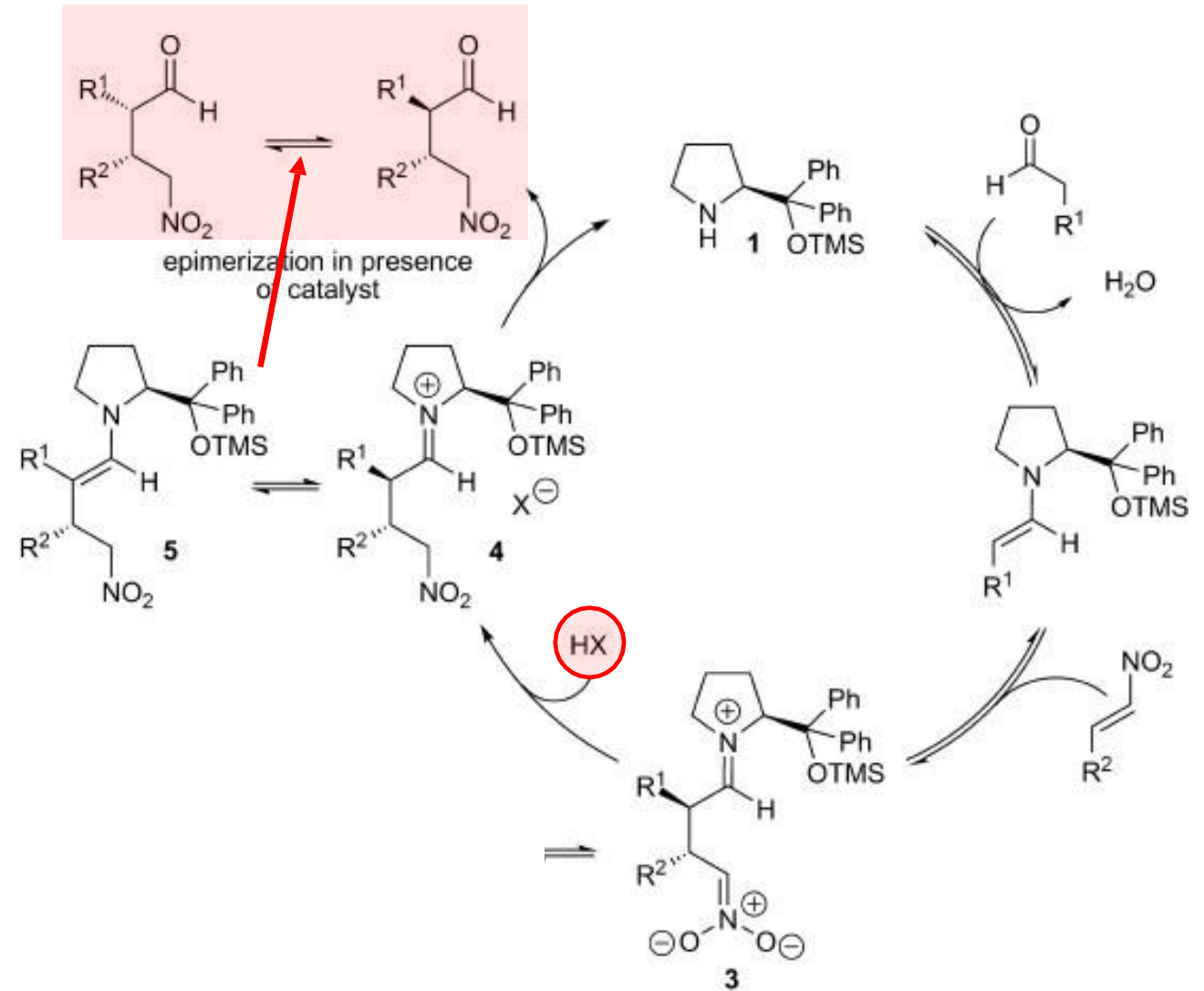
- Il **passaggio chiave** prevede una reazione di Michael asimmetrica del nitroalchene e l'aldeide, catalizzata dal difenilprolinolo silil etere (**CA-1**).
- La reazione fornisce l'addotto 4 in resa quantitativa con eccellente enantioselettività.
- Solo il 5% in moli di catalizzatore è sufficiente per promuovere la reazione.

Oseltamivir è un **farmaco antivirale** per il trattamento e la profilassi della influenza A e B, disponibile sotto forma di sale fosfato in capsule rigide o in sospensione per uso orale (**Tamiflu, Roche**).

ORGANOCATALISI

È noto che i **co-catalizzatori acidi svolgono un ruolo vitale nella reazione:**

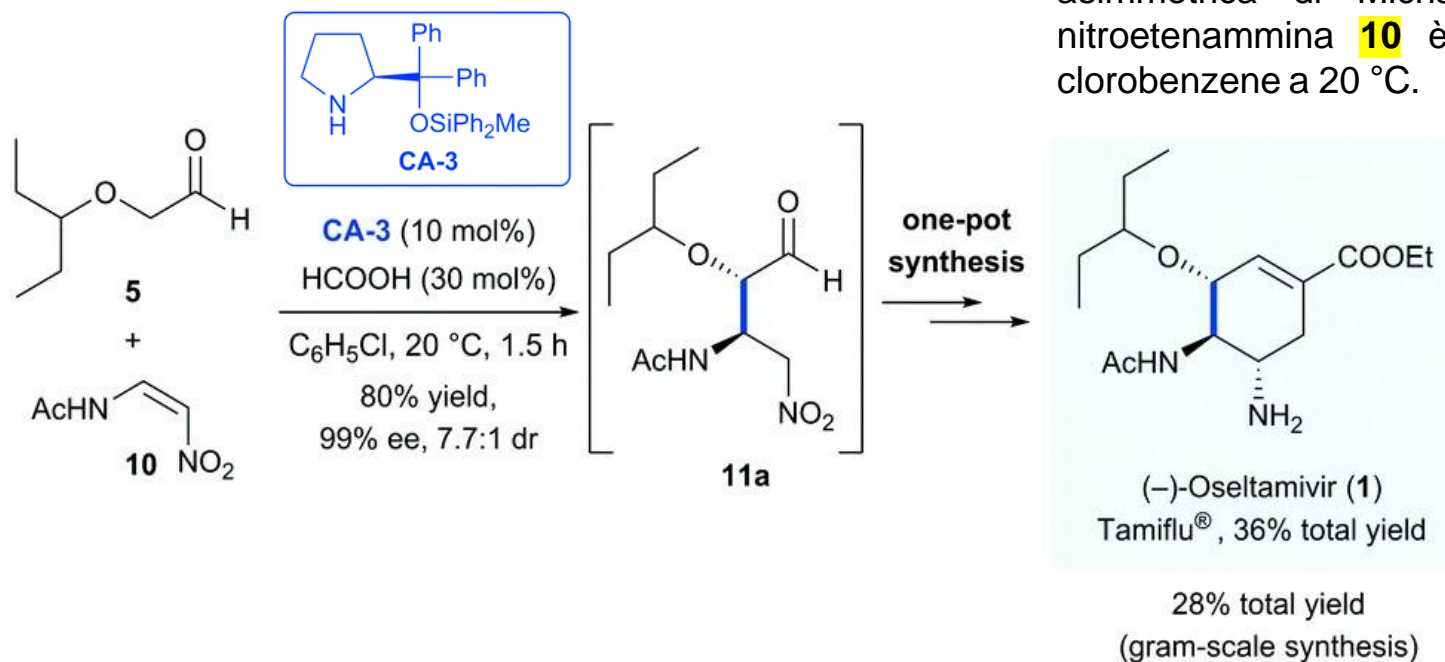
- Uno studio ha rivelato che, sebbene diversi passaggi siano accelerati dall'acido, il suo ruolo decisivo è nella **protonazione dell'intermedio zwitterionico 3** per produrre il composto imminio **4**.
- È stato inoltre scoperto che l'acido ha un ruolo benefico per la diastereoselettività **sopprimendo la deprotonazione di 4** per dare il prodotto enamina **5**.



ORGANOCATALISTI

Successivamente, è stata realizzata una sintesi altamente economica per l'Oseltamivir in una sequenza one-pot.

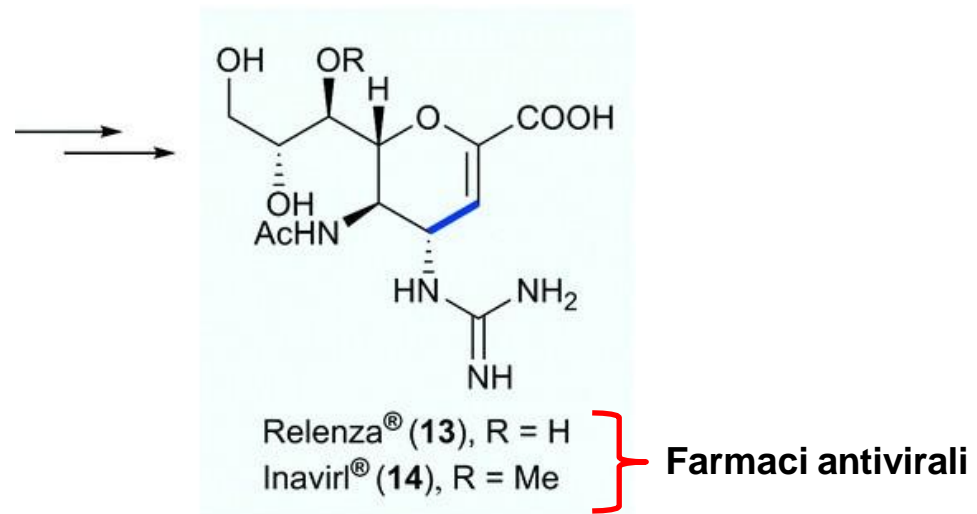
Utilizzando il 10% in moli di difenilprolinol silil etere (**CA-3**), la reazione asimmetrica di Michael della 2-(pentan-3-ilossi)acetaldeide **5** a 2-nitroetenammina **10** è eseguita con l'assistenza dell'acido formico in clorobenzene a 20 °C.



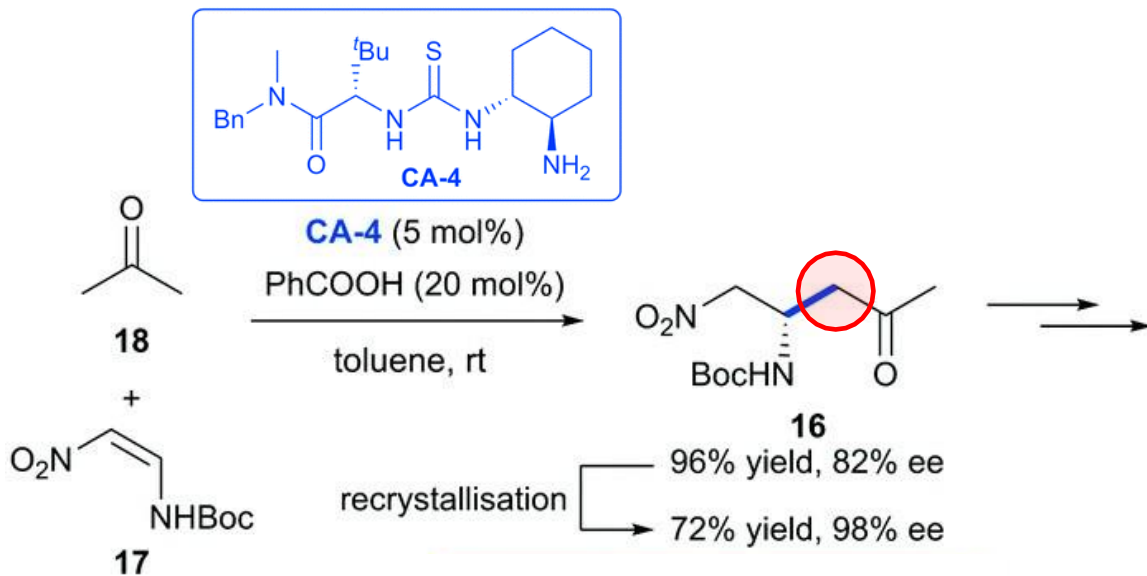
ORGANOCATALISI

I primi processi di produzione di queste molecole richiedevano 9-12 passaggi con una resa complessiva del 5-21%.

Oltre ciò, il **prezzo elevato di alcuni reagenti richiesti (acido sialico)** in determinati step rendevano il costo di questi processi estremamente elevato.

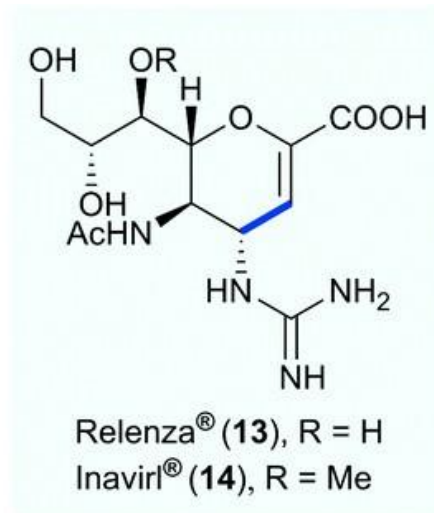


ORGANOCATALISI



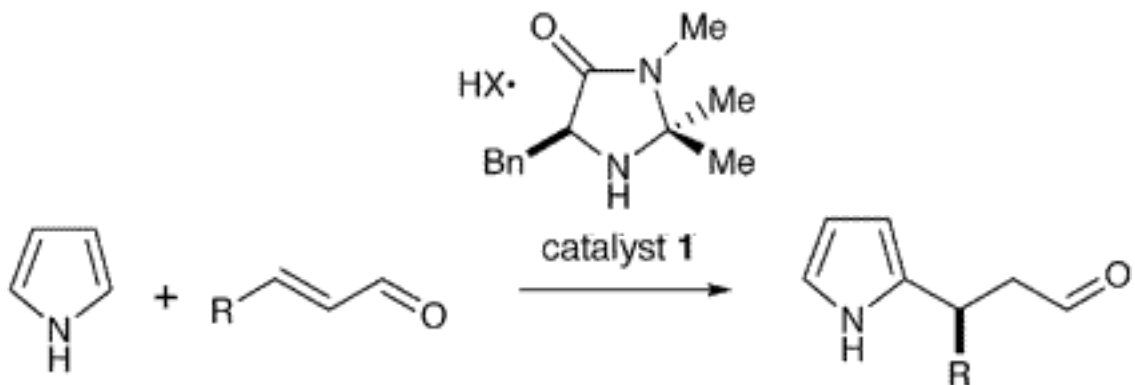
La purezza ottica può essere ulteriormente migliorata al 98% ee dopo una singola ricristallizzazione dell'addotto grezzo, anche se con resa leggermente ridotta.

Sfruttando l'addizione organocatalitica di Michael dell'acetone **18** al Z-tert-butyl(2-nitrovinil)carbammato **17** con il 5% in moli di **ammina primaria chirale** (**CA-4**) si ottiene l'addotto desiderato con una resa del 96% con un ee dell'82% anche su larga scala (>18%, 12 step).

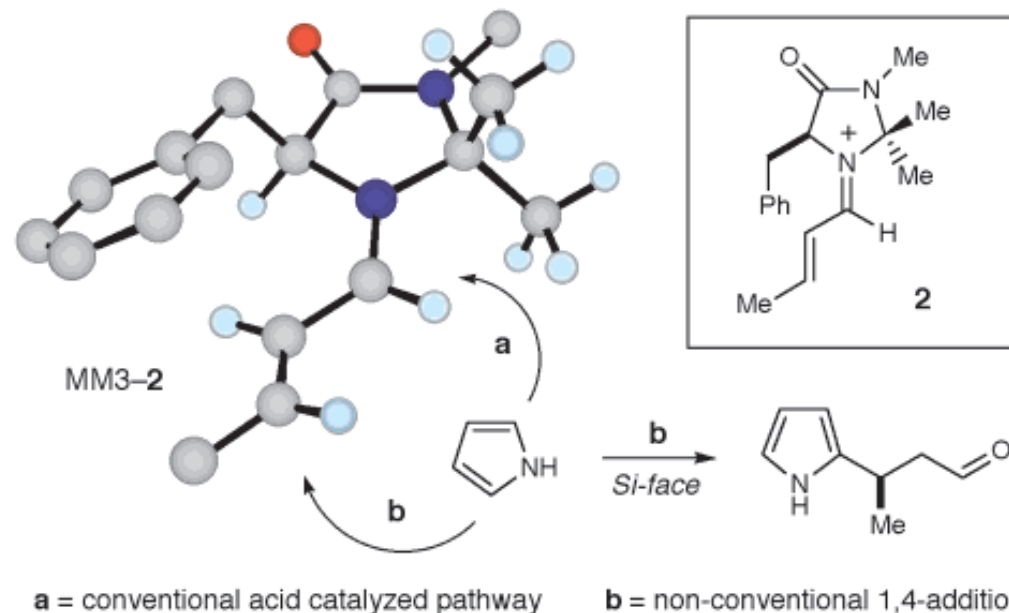


ORGANOCATALISI

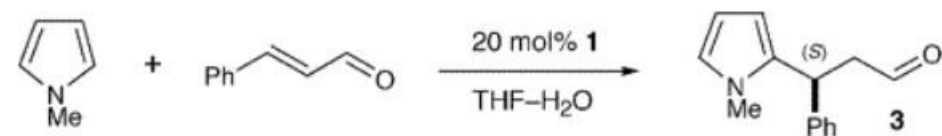
- Alchilazione Friedel-Crafts via ione imminio-catalisi



Primo esempio di addizione enantioselettiva del pirrolo utilizzando un catalizzatori amminico chirale



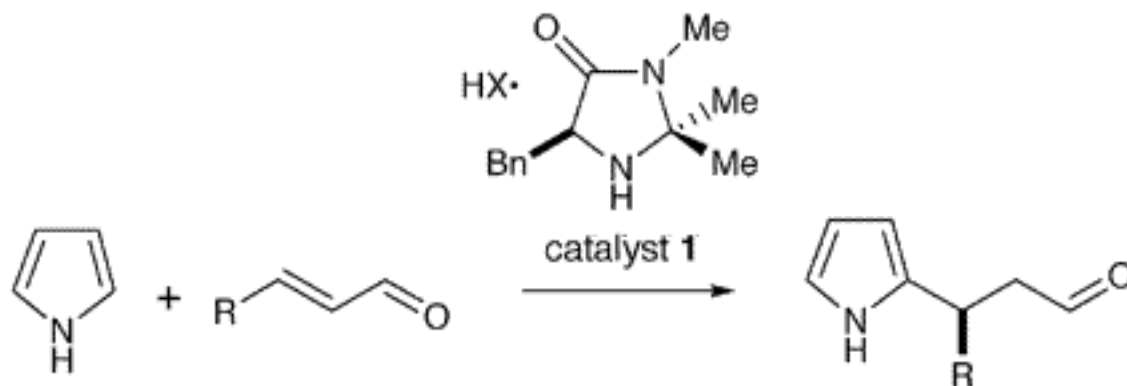
a = conventional acid catalyzed pathway b = non-conventional 1,4-addition



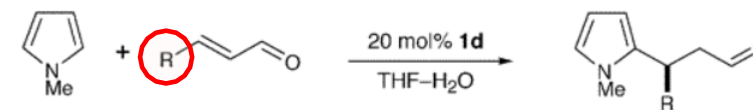
entry	H-X cocatalyst	Temp (°C)	Time (h)	% yield ^a	% ee ^{b,c}
1	NCCH ₂ CO ₂ H (1a)	23	32	10	80
2	Cl ₂ CHCO ₂ H (1b)	23	32	62	80
3	Cl ₃ CCO ₂ H (1c)	23	3	64	81
4	TFA (1d)	23	3	78	81
5	TFA (1d)	-30	42	87	93

ORGANOCATALISI

- Alchilazione Friedel-Crafts via ione imminio-catalisi



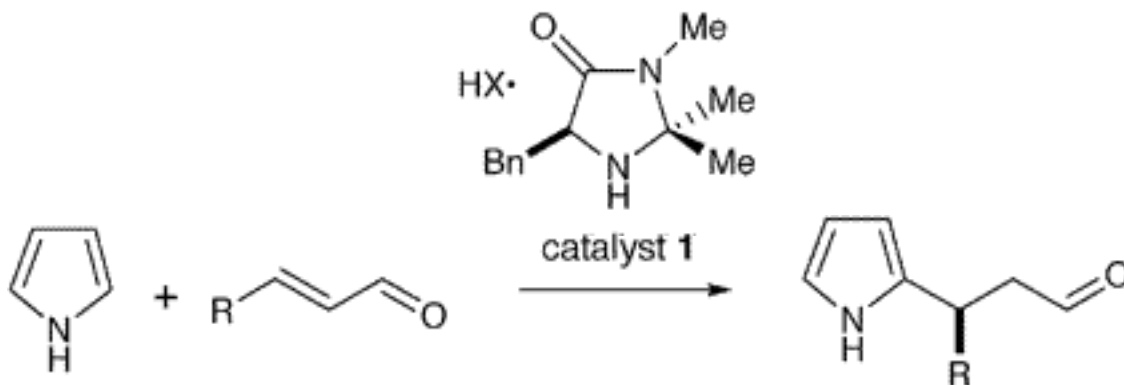
Primo esempio di addizione enantioselettiva del pirrolo utilizzando un catalizzatori amminico chirale



entry	R	temp (°C)	time (h)	% yield ^a	% ee ^{b,c}
1	Me	-60	72	83	91 ^d
2	Pr	-50	72	81	90
3	<i>i</i> -Pr	-50	72	80	91
4	Ph	-30	42	87	93
5	4-MeOPh	-30	104	79	91
6	CH ₂ OBn	-60	72	90	87 ^d
7	CO ₂ Me	-50	104	72	90 ^e

ORGANOCATALISI

- Alchilazione Friedel-Crafts via ione imminio-catalisi



Primo esempio di addizione enantioselettiva del pirrolo utilizzando un catalizzatori amminico chirale

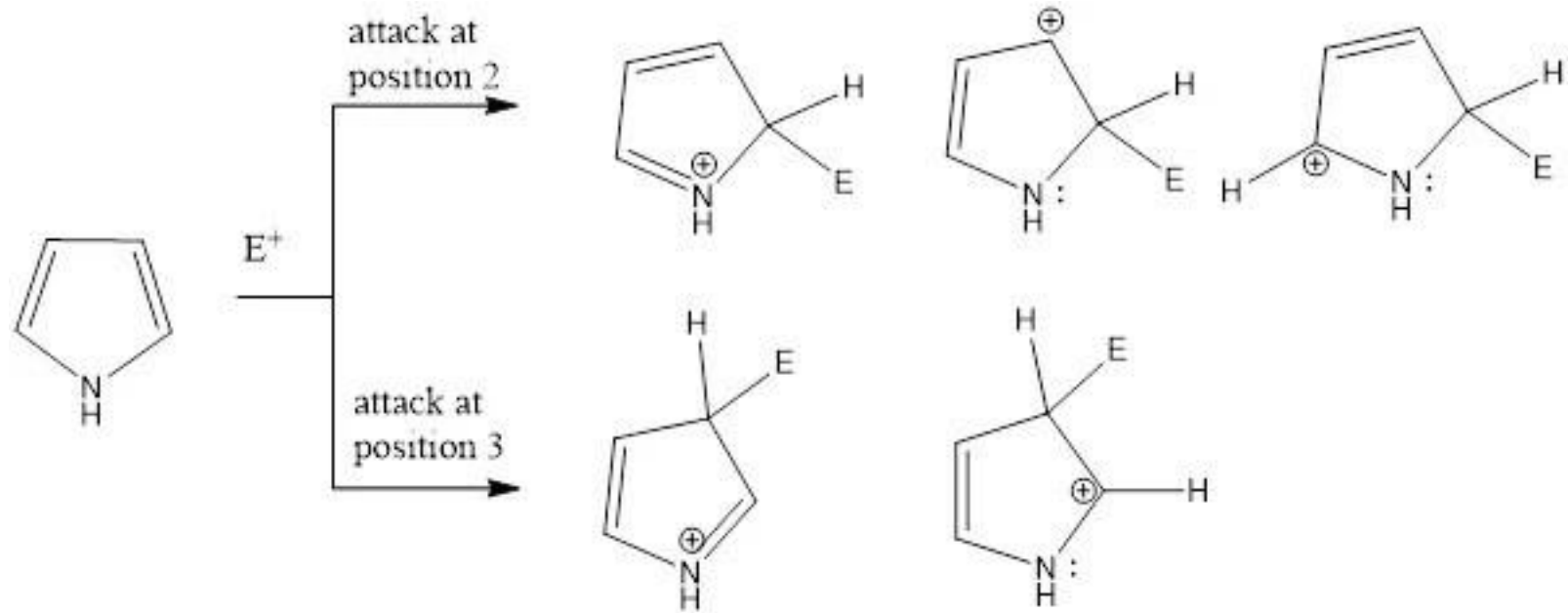


Si dimostra l'applicabilità della catalisi asimmetrica via ione imminio nella reazione di Friedel-Crafts

entry	pyrrole	Z	product	yield ^a	% ee ^{b,c}
1		Ph		87	93 ^d
2		Ph		80	89 ^e
3		Ph		83	91 ^e
4		CO ₂ Me		74	90 ^f
5		Ph		87	90 ^e
6		Ph		68	97 ^c

ORGANOCATALISI

- Alchilazione Friedel-Crafts via ione imminio-catalisi



ORGANOCATALISI

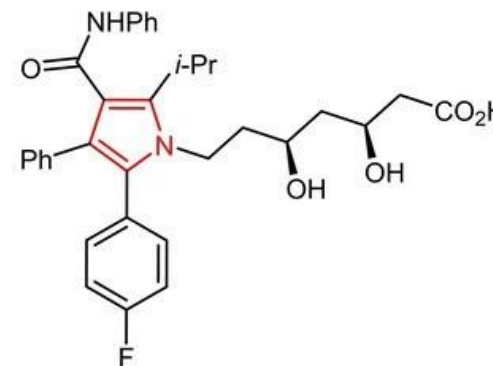
• Alchilazione Friedel-Crafts asimmetrica

- Il motivo strutturale del pirrolo è molto diffuso in natura e in composti sintetici biologicamente attivi, come prodotti naturali, farmaci e prodotti chimici per l'agricoltura, nonché nei catalizzatori e nei materiali avanzati.

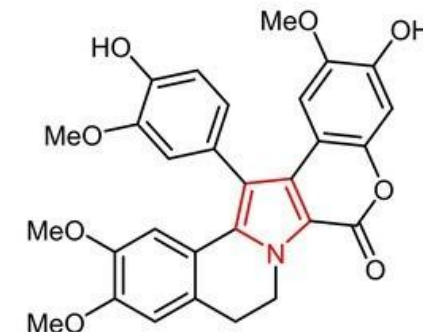
- La reazione di alchilazione di Friedel-Crafts (FCA) rimane uno degli approcci più diretti alla funzionalizzazione di composti aromatici e all'introduzione di stereocentri.

- Nel caso del pirrolo, la FCA è una delle principali strategie per la costruzione di centri di carbonio stereogenici. In particolare, l'alchilazione intramolecolare di Friedel-Crafts dei derivati pirrolici dà accesso alle indolizidine e alle pirrolizidine, che sono strutture ampiamente estese nei prodotti naturali.

Trattamento delle condizioni associate e per prevenire malattie cardio-cerebrovascolari. Appartiene alla classe di medicinali denominati statine, che regolano i livelli di lipidi (grassi). LIPITOR viene utilizzato per ridurre i livelli di lipidi nel sangue, noti come colesterolo e trigliceridi



Atorvastatin (Lipitor)

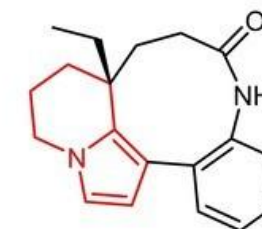


Lamellarin D



Licofelone

appartenente alla classe dei farmaci antinfiammatori non steroidei



Rhazinilam

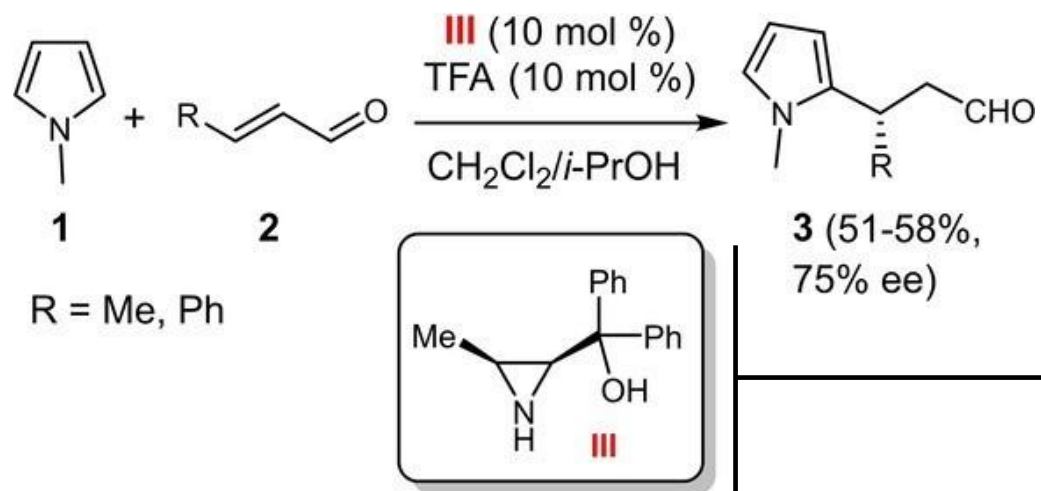
antitumorale



Polygonatines

ORGANOCATALISI

- Alchilazione Friedel-Crafts asimmetrica



Seguendo la strategia della catalisi dell'imminio sono stati testati strutture come un **anello aziridinico enantiomericamente puro** come **organocatalizzatore**

ORGANOCATALISI

- **Alchilazione Friedel-Crafts asimmetrica**

- L'introduzione **di un gruppo trifluorometile** è un compito molto importante e impegnativo in chimica farmaceutica. Tale gruppo viene introdotto sulle molecole di interesse farmacologico **per modulare le proprietà fisico-chimiche e per aumentare l'affinità di legame delle molecole del farmaco**



Tra i farmaci noti contenenti gruppi trifluorometilici si include:

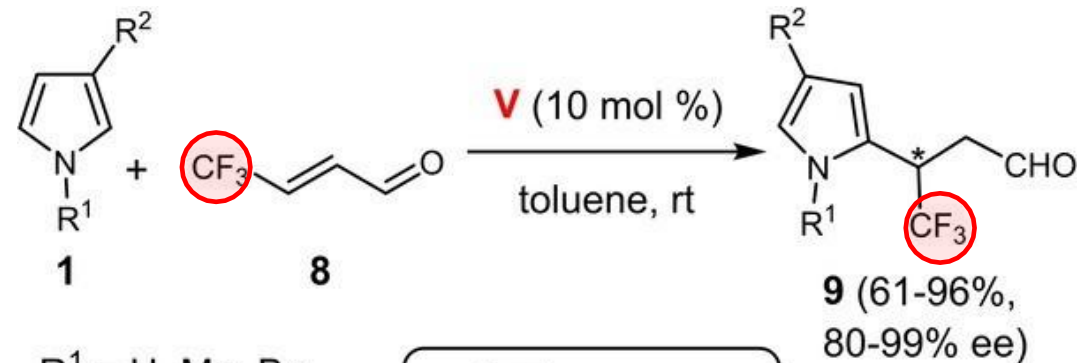
- **Efavirenz (Sustiva)**, un inibitore della trascrittasi inversa dell'**HIV**
- **Fluoxetina (Prozac)**, un **antidepressivo**
- **Celecoxib (Celebrex)**, un farmaco **antinfiammatorio non steroideo**

ORGANOCATALISI

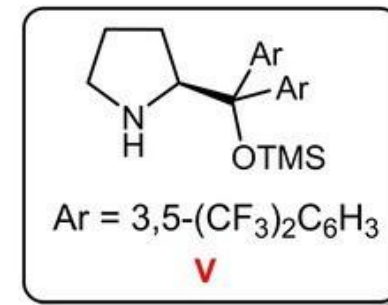
• Alchilazione Friedel-Crafts asimmetrica

- L'introduzione di un gruppo trifluorometile è un compito molto importante e impegnativo in chimica farmaceutica. Tale gruppo viene introdotto sulle molecole di interesse farmacologico per modulare le proprietà fisico-chimiche e per aumentare l'affinità di legame delle molecole del farmaco

- L'FCA aminocatalizzata dei pirroli ha dimostrato di essere una buona metodologia per l'introduzione di un trifluorometilgruppo.



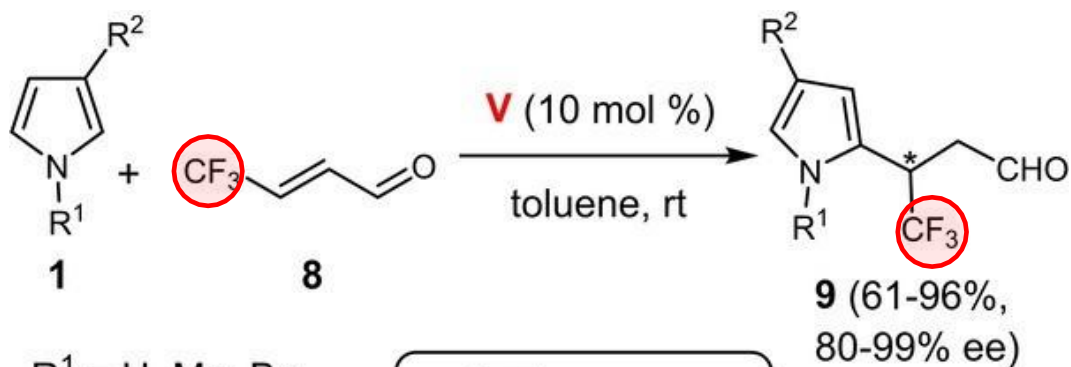
R¹ = H, Me, Bn
R² = H, Me



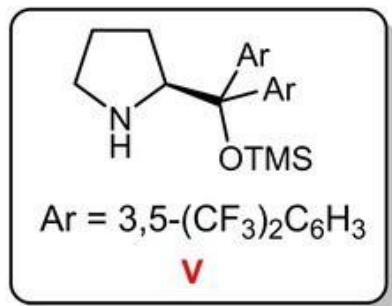
ORGANOCATALISI

• Alchilazione Friedel-Crafts asimmetrica

- L'introduzione di un gruppo trifluorometile è un compito molto importante e impegnativo in chimica farmaceutica. Tale gruppo viene introdotto sulle molecole di interesse farmacologico per modulare le proprietà fisico-chimiche e per aumentare l'affinità di legame delle molecole del farmaco



$R^1 = \text{H, Me, Bn}$
 $R^2 = \text{H, Me}$



L'addizione organocatalitica per questa reazione avviene in presenza del catalizzatore **senza la necessità di un co-catalizzatore acido**.

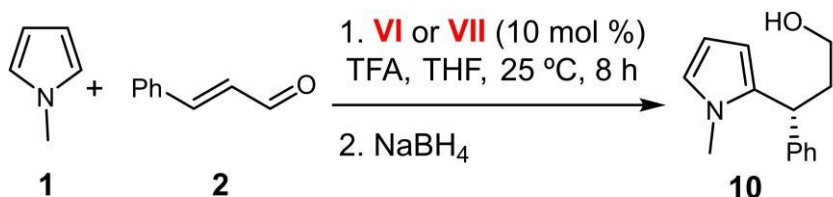
- I pirroli non sostituiti (**1**, $R_2 = \text{H}$) hanno fornito i corrispondenti pirroli 2-sostituiti con rese (**85-96%**) ed enantioselettività (**93-99% ee**) eccellenti, anche con pirrolo N-non protetto.
- Tuttavia, quando è stato utilizzato il **3-metilpirrolo**, il prodotto è stato ottenuto con una resa (**61%**) e un'enantioselettività inferiori (**80% ee**)

ORGANOCATALISI

• Alchilazione Friedel-Crafts asimmetrica

Questi catalizzatori amminici possono essere immobilizzati su un supporto solido.

- ✓ L'obiettivo principale dell'immobilizzazione degli organocatalizzatori è **facilitare il loro recupero e riciclaggio, nonché semplificare il processo di reazione.**

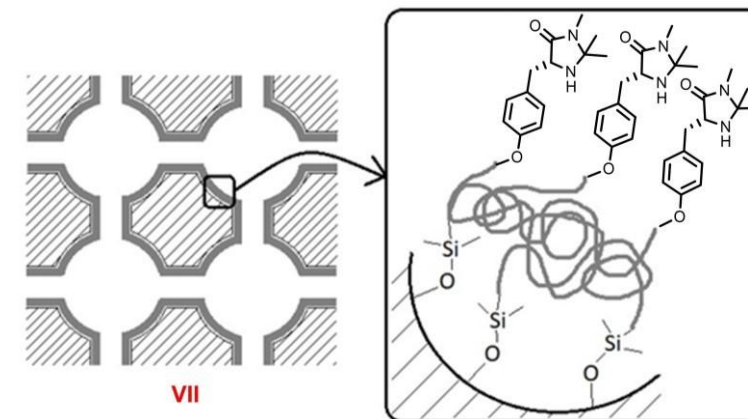
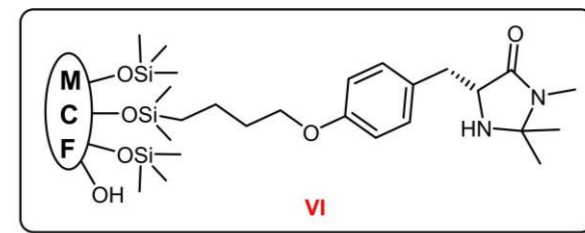


1st run: 1 equiv. of TFA
Other runs: 0.2 equiv. of TFA
MCF = Mesocellular foams

VI (72 to 69% yield)
(74 to 68% ee)
1st to 4th run

VII (72% yield, 71% ee)
1st to 2nd run

La silice MCF (MesoCellular Foam) è una forma particolare di silice mesoporosa caratterizzata da una struttura tridimensionale “spugnosa”. Questo supporto solido è un tipico materiale mesoporoso che presenta notevoli vantaggi come materiale di supporto grazie alla **sua facile sintesi, grande dimensione uniforme dei pori ed elevata area superficiale**

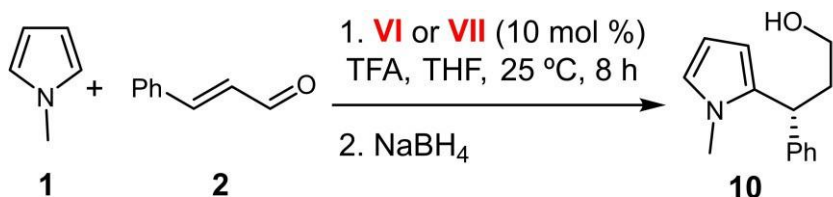


ORGANOCATALISI

• Alchilazione Friedel-Crafts asimmetrica

Questi catalizzatori amminici possono essere immobilizzati su un supporto solido.

- ✓ L'obiettivo principale dell'immobilizzazione degli organocatalizzatori è **facilitare il loro recupero e riciclaggio, nonché semplificare il processo di reazione.**

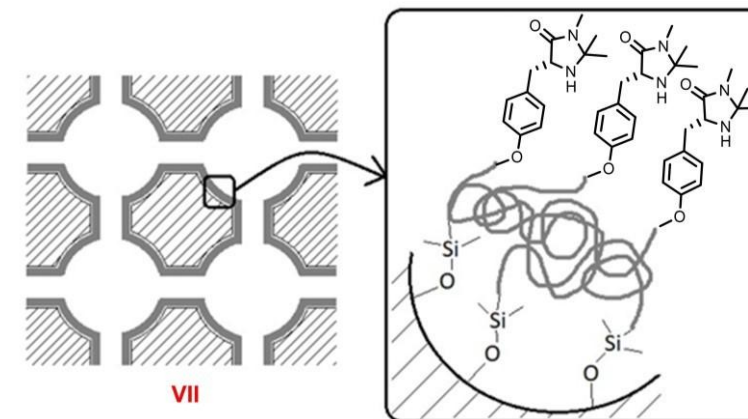
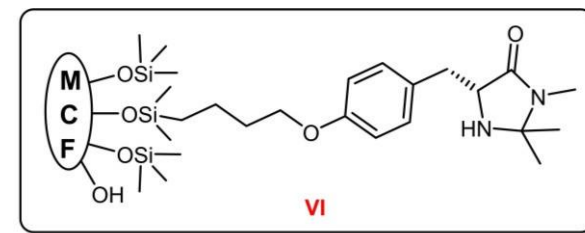


1st run: 1 equiv. of TFA
Other runs: 0.2 equiv. of TFA
MCF = Mesocellular foams

VI (72 to 69% yield)
(74 to 68% ee)
1st to 4th run

VII (72% yield, 71% ee)
1st to 2nd run

Le prestazioni dell'imidazolidinone **VI** immobilizzato **dipendevano fortemente dalla superficie MCF**. Infatti si è riscontrato che il **pre-capping parziale** di MCF con gruppi trimetisilile (TMS, nel catalizzatore VI) ha un effetto benefico sull'enantioselettività e sul riutilizzo.

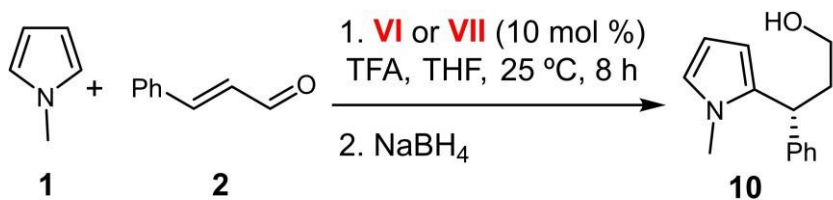


ORGANOCATALISI

Alchilazione Friedel-Crafts asimmetrica

Questi catalizzatori amminici possono essere immobilizzati su un supporto solido.

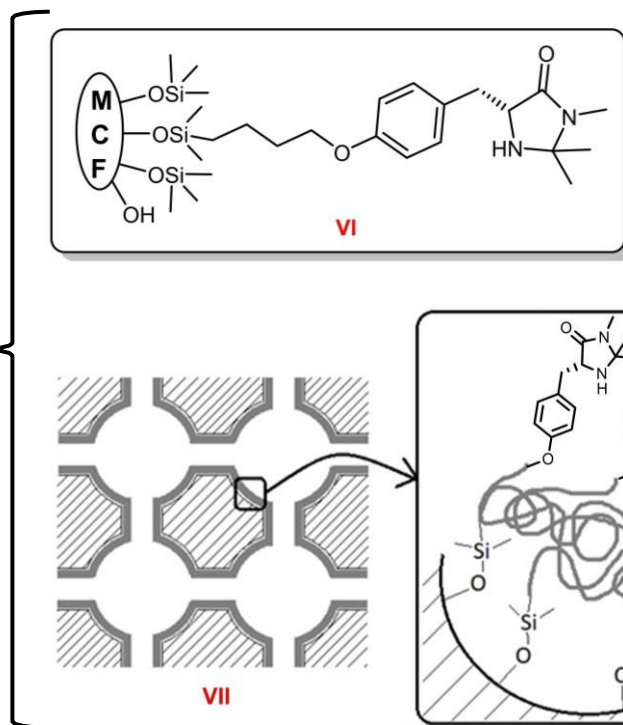
- ✓ L'obiettivo principale dell'immobilizzazione degli organocatalizzatori è **facilitare il loro recupero e riciclaggio, nonché semplificare il processo di reazione.**



1st run: 1 equiv. of TFA
Other runs: 0.2 equiv. of TFA
MCF = Mesocellular foams

VI (72 to 69% yield)
(74 to 68% ee)
1st to 4th run

VII (72% yield, 71% ee)
1st to 2nd run



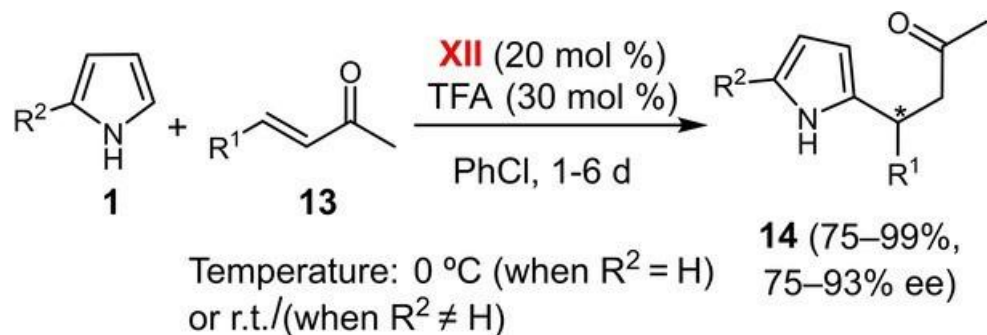
Il catalizzatore VI ha mostrato buone prestazioni catalitiche per la FCA di N-metilpirrolo **1** con aldeide cinnamica **2** in termini sia di resa che di enantioselettività, nonché di buona riciclabilità

Utilizzando il catalizzatore immobilizzato in cui la **struttura MCF è stata rivestita da un polimero**, l'enantioselettività e le rese sono risultate essere simili a quello precedente (VI), ma la riciclabilità è stata migliorata di molto.

ORGANOCATALISI

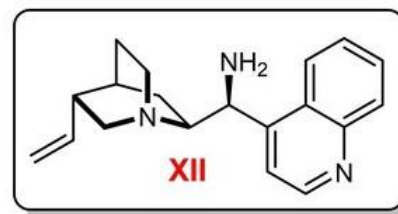
• Alchilazione Friedel-Crafts asimmetrica

- Non solo le aldeidi α,β -insature possono essere utilizzate nell'**FCA aminocatalizzata**, anche i **chetoni α,β -insaturi** sono elettrofili adatti per queste reazioni. Un esempio è l'addizione di Michael asimmetrica organocatalizzata di pirroli N-non sostituiti ai **chetoni α,β -insaturi in presenza dell'ammina primaria derivata dall'alcaloide della Cinchona.**



R² = H, Ph, 4-MeOC₆H₄, 2-naphthyl, 4-FC₆H₄

R¹ = Ph, 4-NO₂C₆H₄, 4-MeOC₆H₄, 4-FC₆H₄, 4-ClC₆H₄,
4-BrC₆H₄, 4-MeC₆H₄, 3-ClC₆H₄, 2-ClC₆H₄, 2-BrC₆H₄,
2-FC₆H₄, 2-MeC₆H₄, 2-MeOC₆H₄, 2-furanyl, 2-thienyl,

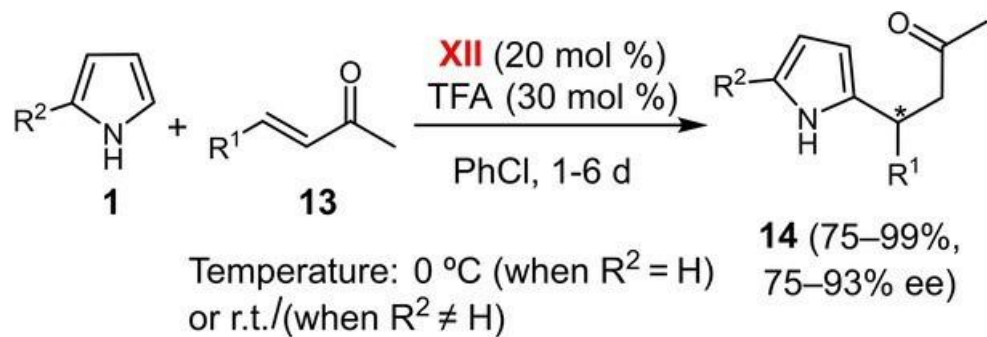


I prodotti di addizione sono stati ottenuti con rese e purezze ottiche sia buone che eccellenti, **testando un'ampia varietà di enoni β -sostituiti, nonché pirroli non sostituiti e diversi pirroli 2-sostituiti**

ORGANOCATALISI

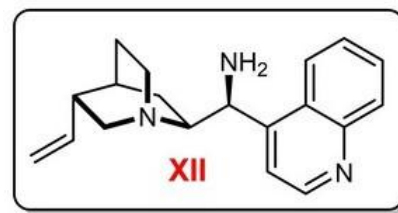
• Alchilazione Friedel-Crafts asimmetrica

- Nel caso del **pirrolo non sostituito** come nucleofilo, la reazione è stata eseguita a **0 °C** per sfavorire la formazione dei prodotti 2,5-dialchilati.
- D'altra parte, con pirroli **2-aril-sostituiti** la reazione è stata condotta a **temperatura ambiente** per aumentare la velocità di reazione.



$R^2 = H, Ph, 4\text{-MeOC}_6\text{H}_4, 2\text{-naphthyl}, 4\text{-FC}_6\text{H}_4$

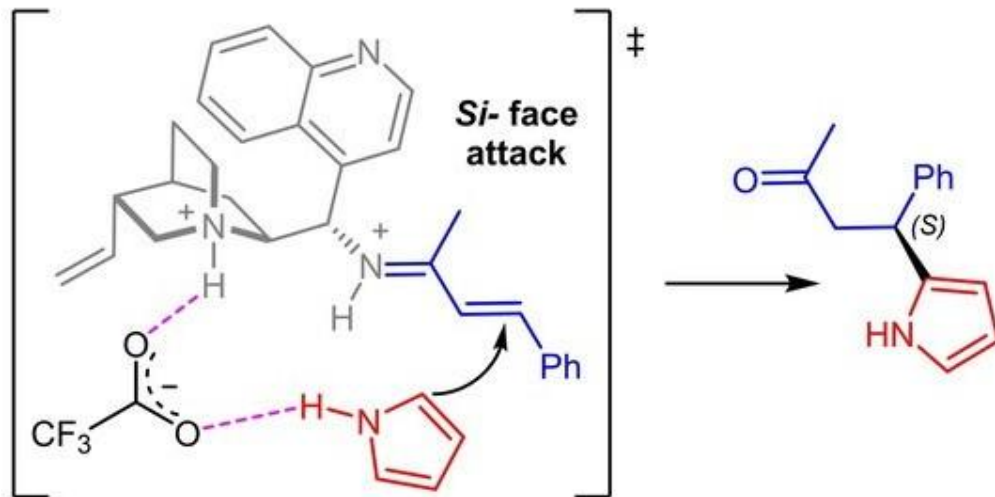
$R^1 = Ph, 4\text{-NO}_2\text{C}_6\text{H}_4, 4\text{-MeOC}_6\text{H}_4, 4\text{-FC}_6\text{H}_4, 4\text{-ClC}_6\text{H}_4, 4\text{-BrC}_6\text{H}_4, 4\text{-MeC}_6\text{H}_4, 3\text{-ClC}_6\text{H}_4, 2\text{-ClC}_6\text{H}_4, 2\text{-BrC}_6\text{H}_4, 2\text{-FC}_6\text{H}_4, 2\text{-MeC}_6\text{H}_4, 2\text{-MeOC}_6\text{H}_4, 2\text{-furanyl}, 2\text{-thienyl},$



ORGANOCATALISI

- Alchilazione Friedel-Crafts asimmetrica

Lo stato di transizione proposto per questa reazione prevede il legame idrogeno tra l'anione trifluoroacetato con la porzione dell'ammina protonata e il substrato pirrolico.

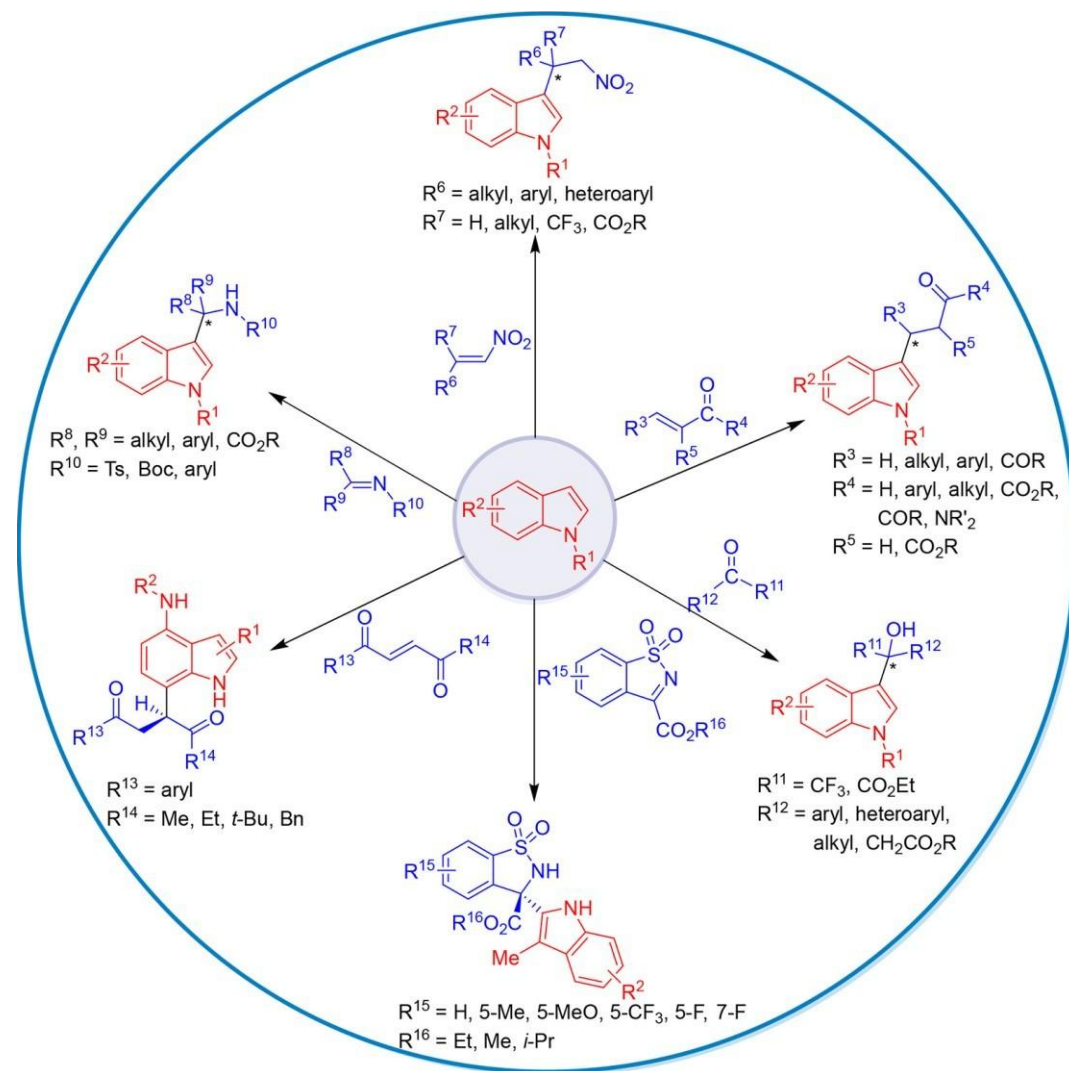


- Una prova a sostegno di questo stato di transizione era che quando veniva utilizzato **l'*N*-metilpirrolo**, si ottenevano **enantioselettività e rese inferiori, nonché una reattività inferiore**.
- Un'altra prova era che **era necessario un eccesso di acido** (rapporto TFA/catalizzatore = 1,5:1 (è stata osservata solo una bassa conversione con quantità equimolari di TFA e organocatalizzatore)).

ORGANOCATALISI

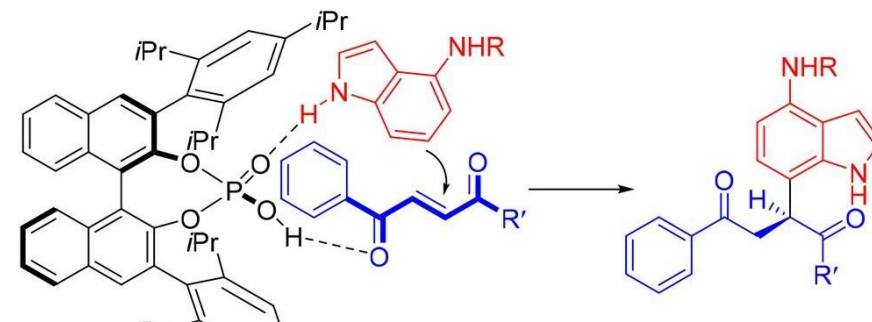
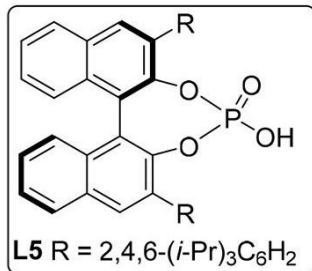
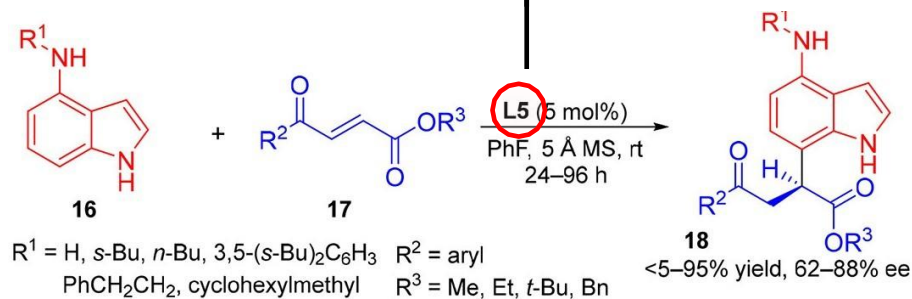
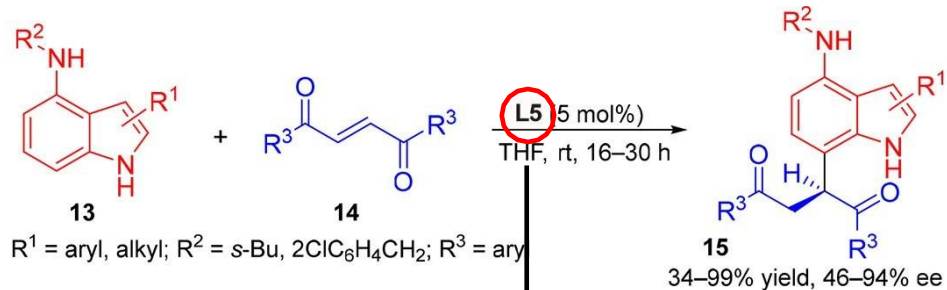
• Alchilazione Friedel-Crafts asimmetrica

- I derivati dell'indolo chirale funzionalizzati sono **strutture organiche versatili riscontrate in numerosi agenti farmaceuticamente attivi e prodotti naturali biologicamente attivi.**
- La **reazione catalitica asimmetrica di Friedel-Crafts** degli indoli, catalizzata da organocatalizzatori chirali, è uno degli approcci più attraenti ed economici **per accedere ai derivati dell'indolo otticamente attivi.** Di conseguenza, un'ampia gamma di partner elettrofili tra cui chetoni α,β -insaturi, esteri, ammidi, immine e molti altri sono stati impiegati con successo per ottenere un pletora di porzioni indoliche chirali funzionalizzate.



ORGANOCATALISI

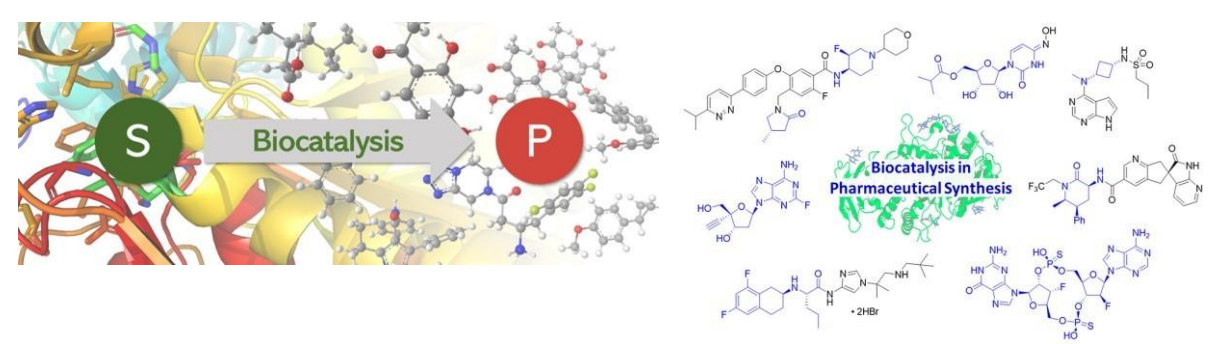
- Alchilazione Friedel-Crafts asimmetrica con **acidi fosforici chirali**



Per delineare la configurazione assoluta del prodotto C7-alchilato, è stato proposto uno stato di transizione plausibile.

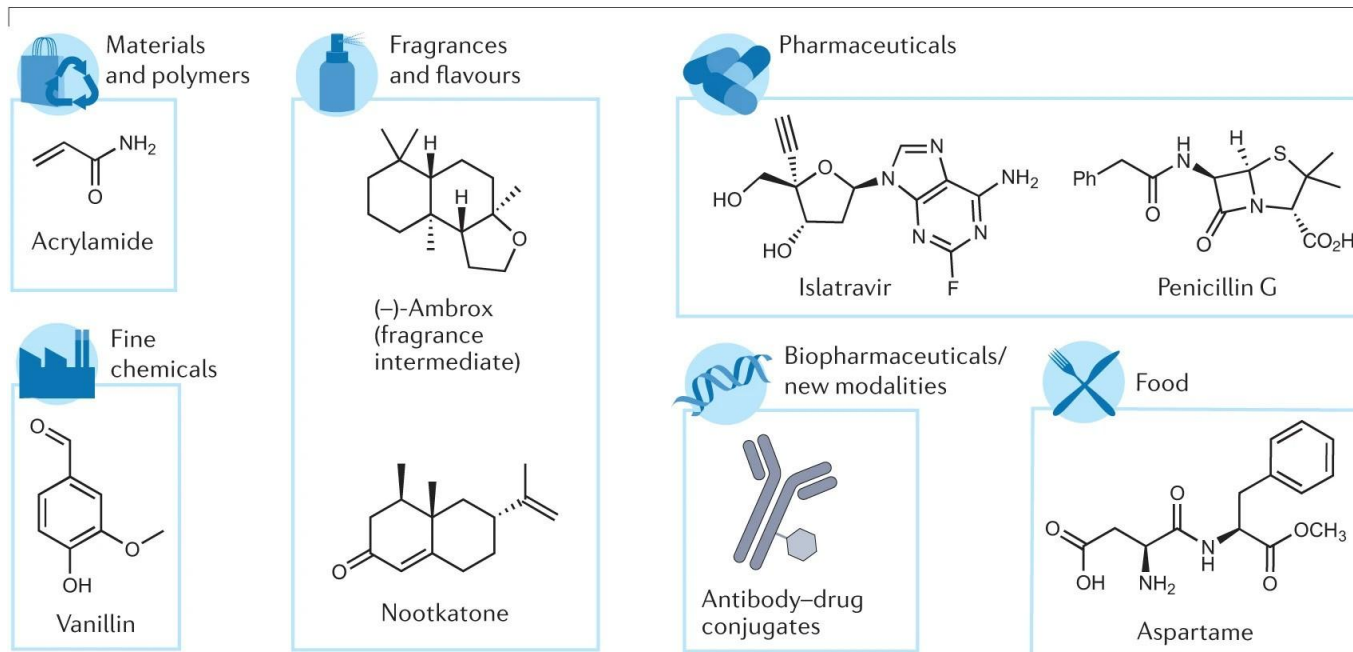
L'attivazione di entrambi i substrati da parte del catalizzatore CPA (chiral phosphoric acid) **attraverso interazioni cooperative di legame idrogeno** (legame H) in una tasca chirale facilita **l'attacco dell'indolo dal *Re*-face degli accettori elettrofili attivati 14 o 17**

BIOCATALYST



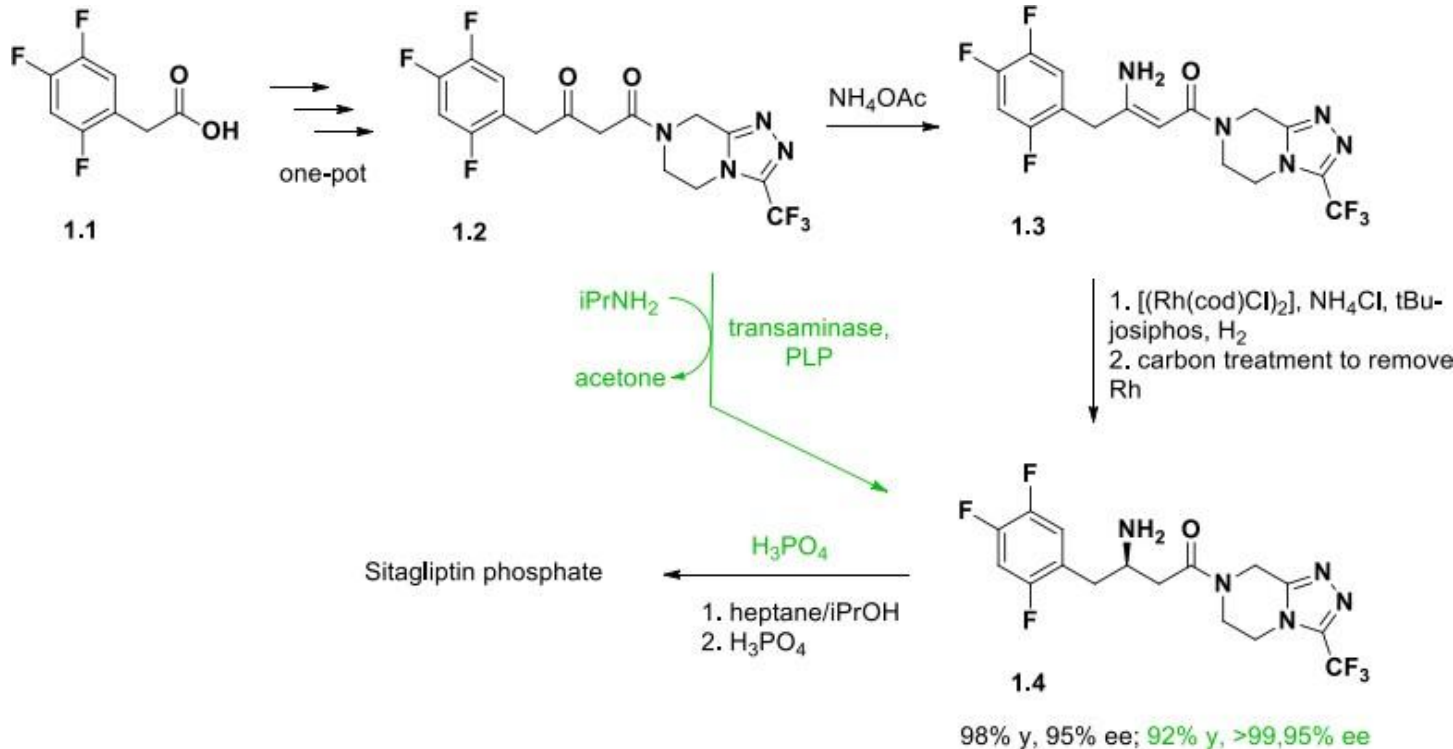
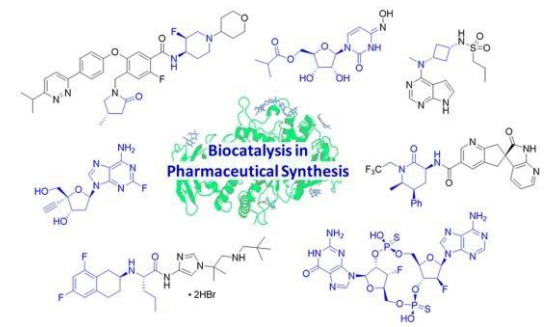
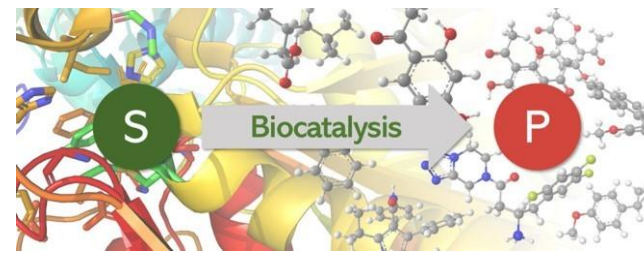
Factors that enable biocatalysis

- **Reaction design**
Manual, automatic
- **Choice of biocatalyst**
Genomic database, de novo design
- **Biocatalyst optimization**
Rational engineering, directed evolution
- **Bioprocess development**



La biocatalisi è una tecnologia molto apprezzata per la ricerca e lo sviluppo farmaceutico in quanto può sbloccare percorsi sintetici verso motivi chirali complessi con selettività ed efficienza senza precedenti

BIOCATALISTI



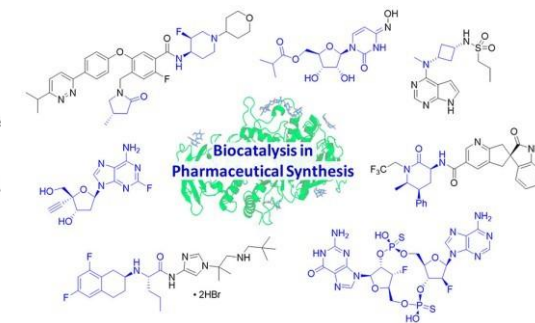
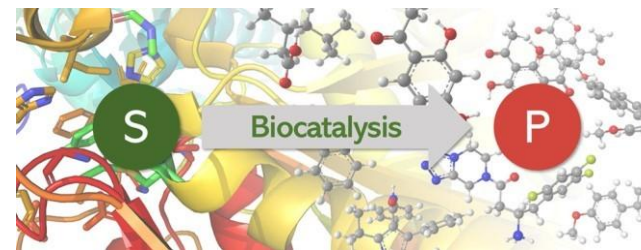
Ottenimento dello **Sitagliptin (farmaco antidiabetico)** utilizzando una **transaminasi ingegnerizzata** che permette di ottenere un'ammina chirale direttamente da un precursore carbonilico, utilizzando un donatore di **ammina economica (iso-propilammina)** **che viene trasformato in un sottoprodotto facilmente rimovibile, l'acetone**.

Il composto **1.4** si ottiene in elevata resa ed ottimo eccesso enantiomerico (92% e 99,95%, rispettivamente).

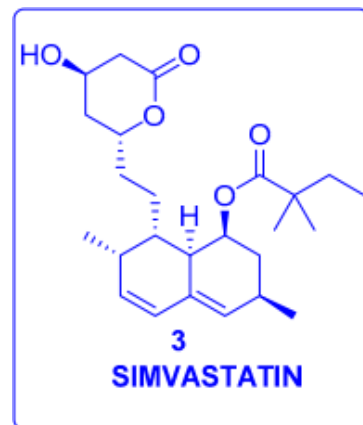
Il precedente processo (frecche nere) presentava due svantaggi:

- Era necessario un ulteriore passaggio sintetico
- Nella fase sintetica finale è stato utilizzato un catalizzatore inorganico che richiede un trattamento efficace e dispendioso per rimuoverne le tracce nel prodotto finale.

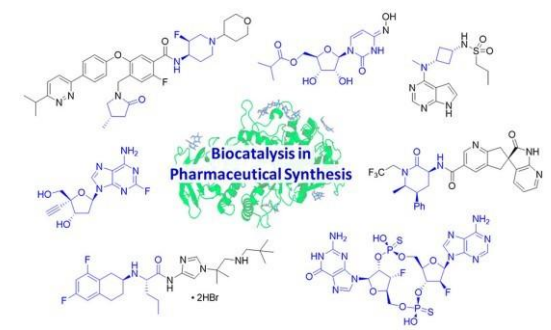
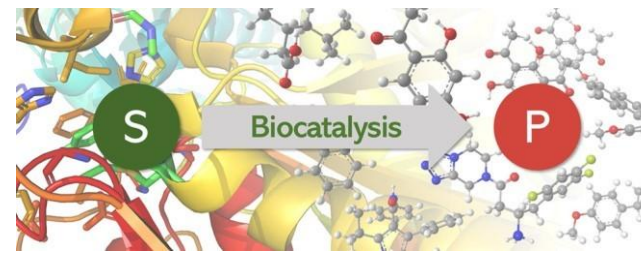
BIOCATALISTI



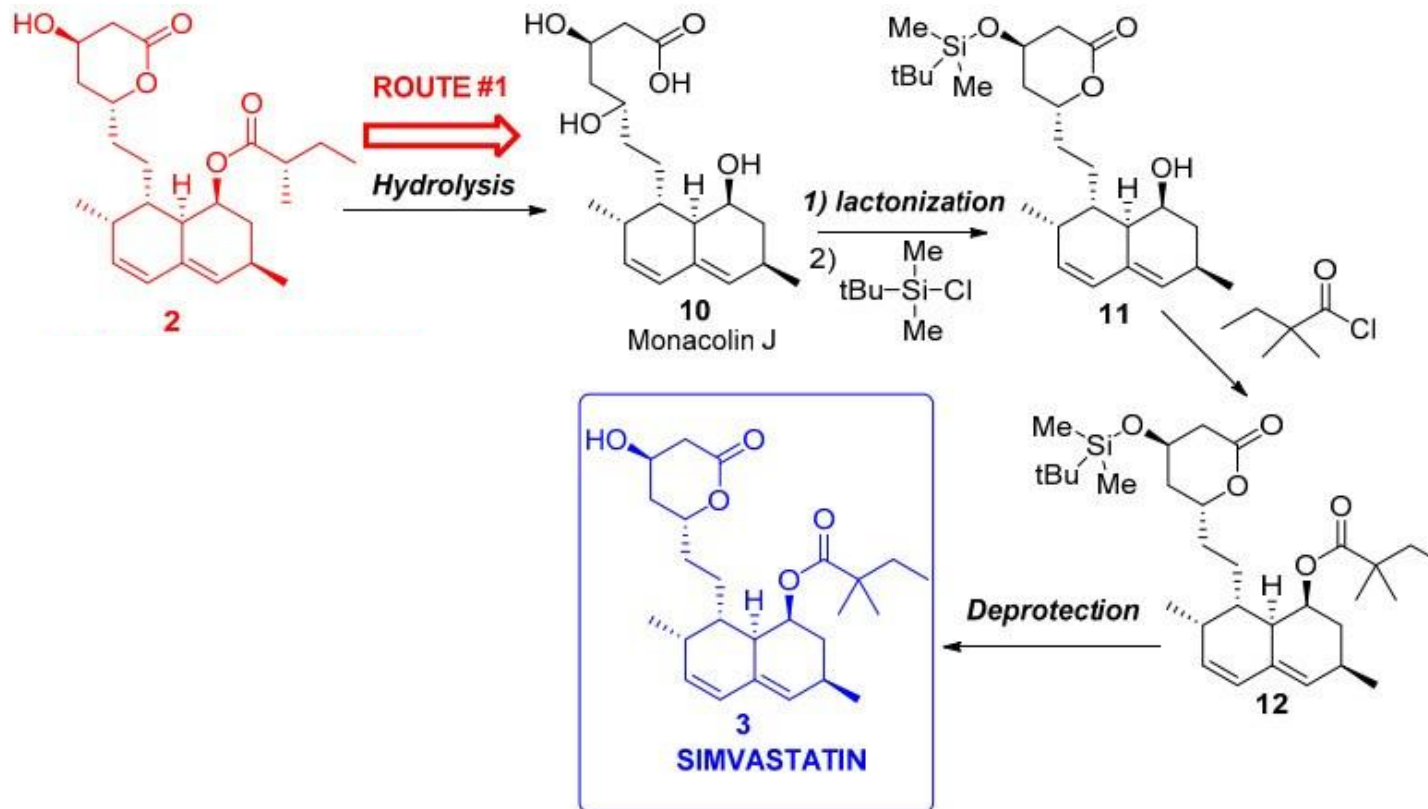
Uno degli esempi di maggior successo nell'applicazione pratica degli enzimi nell'industria farmaceutica è la **sintesi della simvastatina**, un **farmaco per abbassare il colesterolo** commercializzato dalla Merck come Zocor.



BIOCATALISTI



Uno degli esempi di maggior successo nell'applicazione pratica degli enzimi nell'industria farmaceutica è la **sintesi della simvastatina**, un **farmaco per abbassare il colesterolo** commercializzato dalla Merck come Zocor.

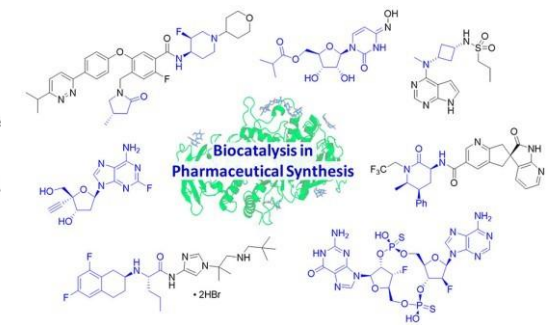
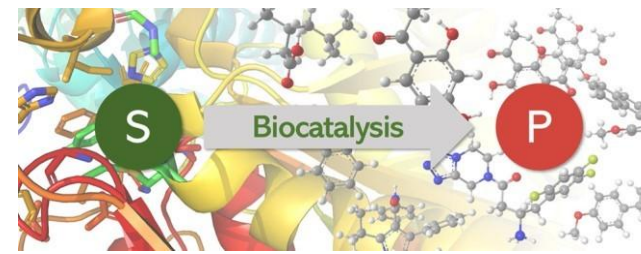


La simvastatina è stata sintetizzata chimicamente a **partire dall'idrolisi del prodotto naturale lovastatina** per dare la **monacolina J**, che può essere convertita nel derivato della simvastatina mediante **lattonizzazione dell'acido**.

La successiva **protezione del gruppo ossidrilico** seguita **dall'acilazione per inserire la catena laterale dimetilbutirile** produce la forma **protetta di simvastatina**, che viene quindi **deprotetta** per produrre la finale simvastatina.

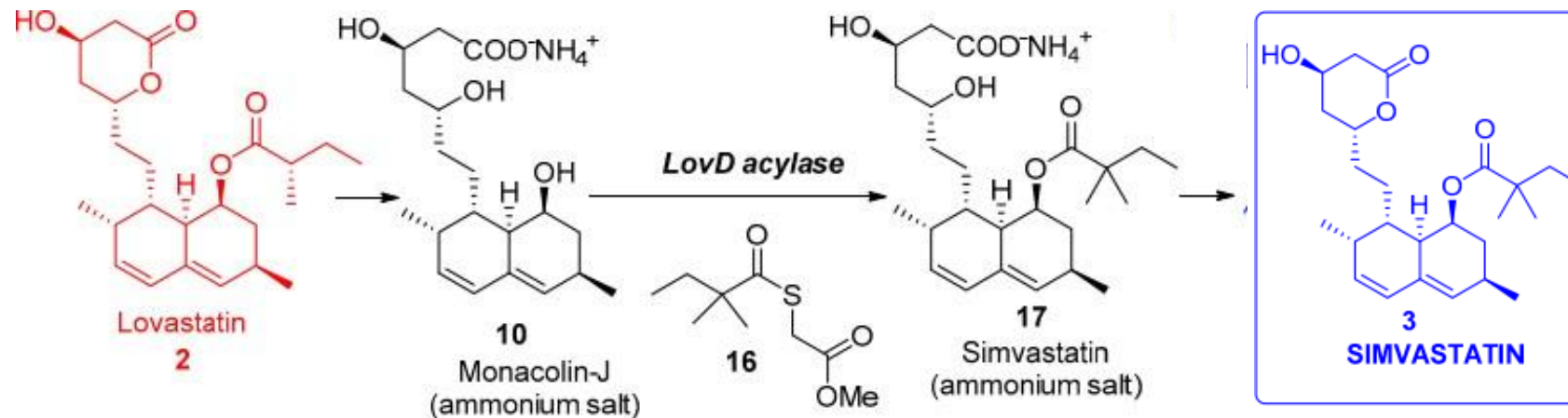
Il processo complessivo richiede cinque fasi.

BIOCATALISTI

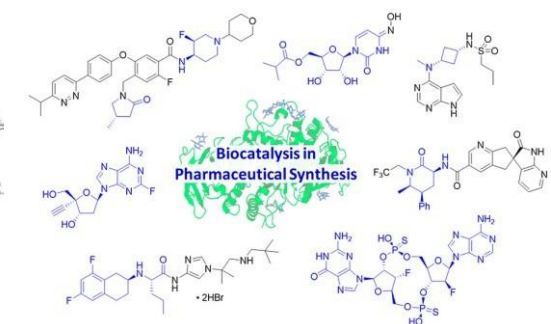
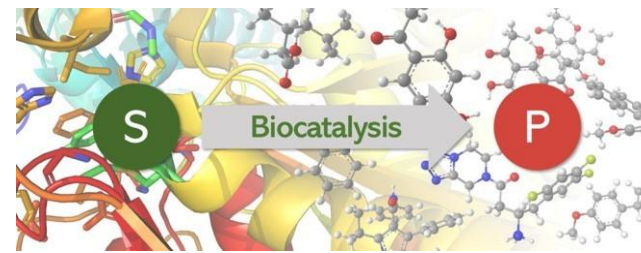


Tramite approccio biocatalitico è possibile ottenere la simvastatina in soli due passaggi.

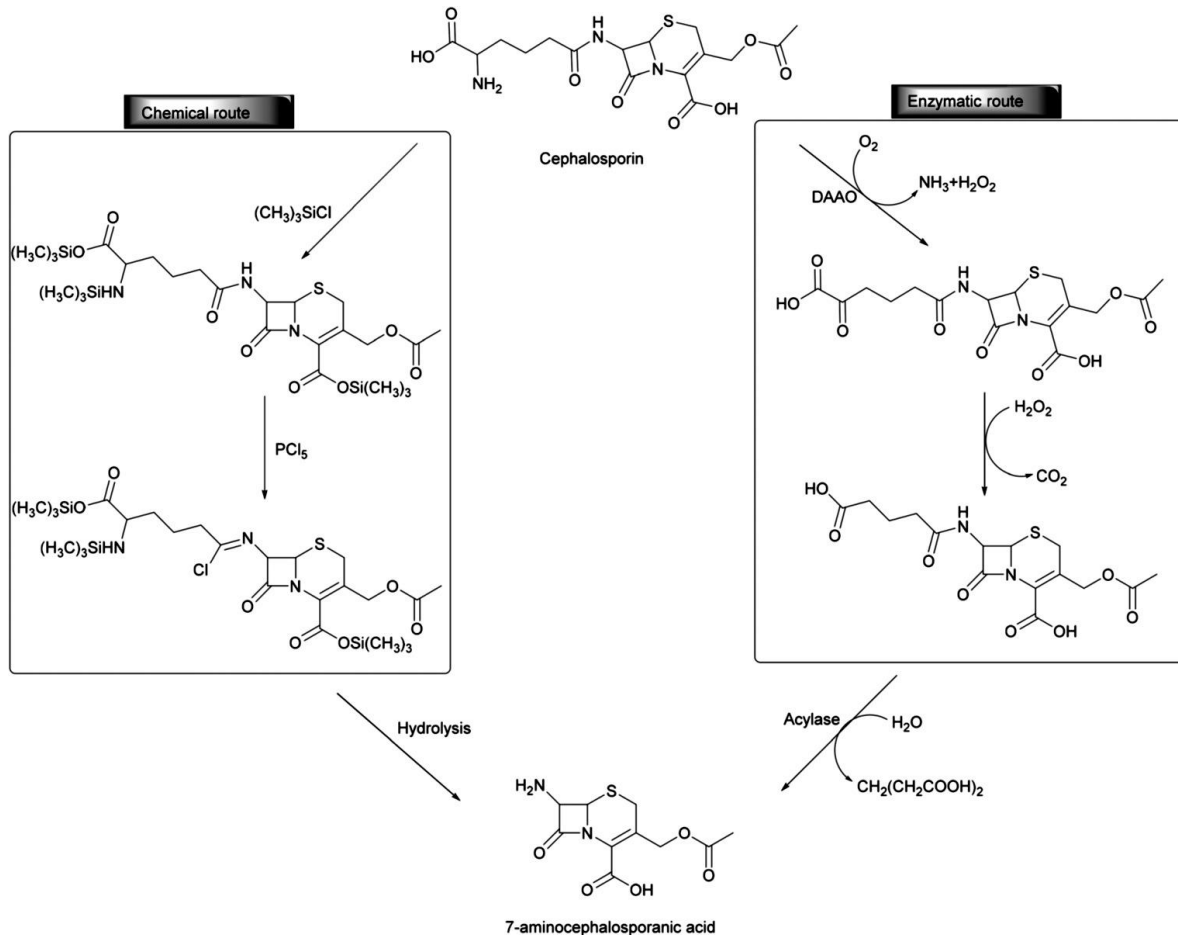
Con lo sviluppo di un'aciltransferasi LovD che **consente l'acilazione regioselettiva del gruppo ossidrilico C-8 della monacolina J** con la α -dimetilbutiril-S-N-acetilcisteamina (DMB-S-NAC), si ottiene direttamente il farmaco finale



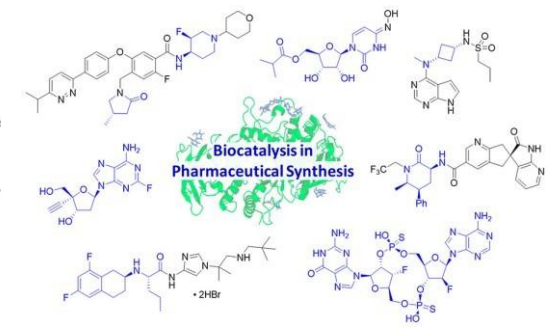
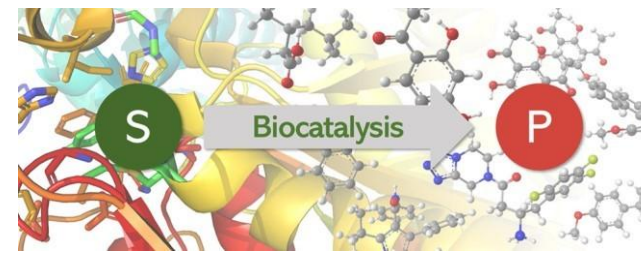
BIOCATALYSTS



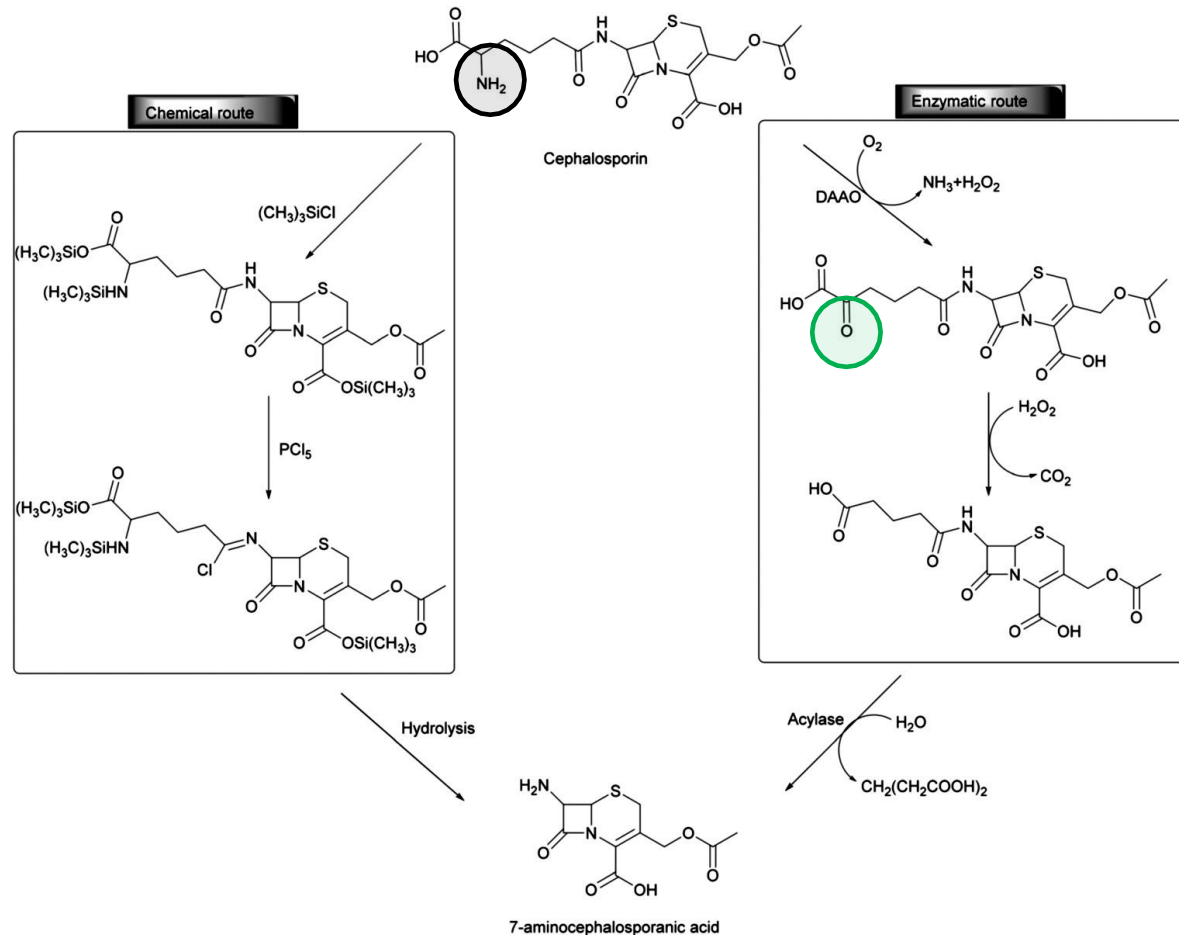
Le **ossidoriduttasi** hanno trovato un'applicazione industriale e sono tipicamente **combinati con altri enzimi (transferasi, liasi)** stabilendo così cascate enzimatiche.



BIOCATALISTI



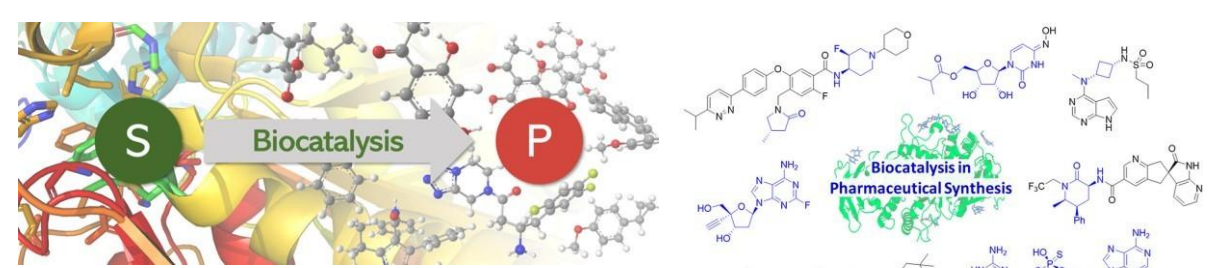
Le **ossidoriduttasi** hanno trovato un'applicazione industriale nell'industria e sono tipicamente **combinati con altri enzimi (transferasi, liasi)** stabilendo così cascate enzimatiche.



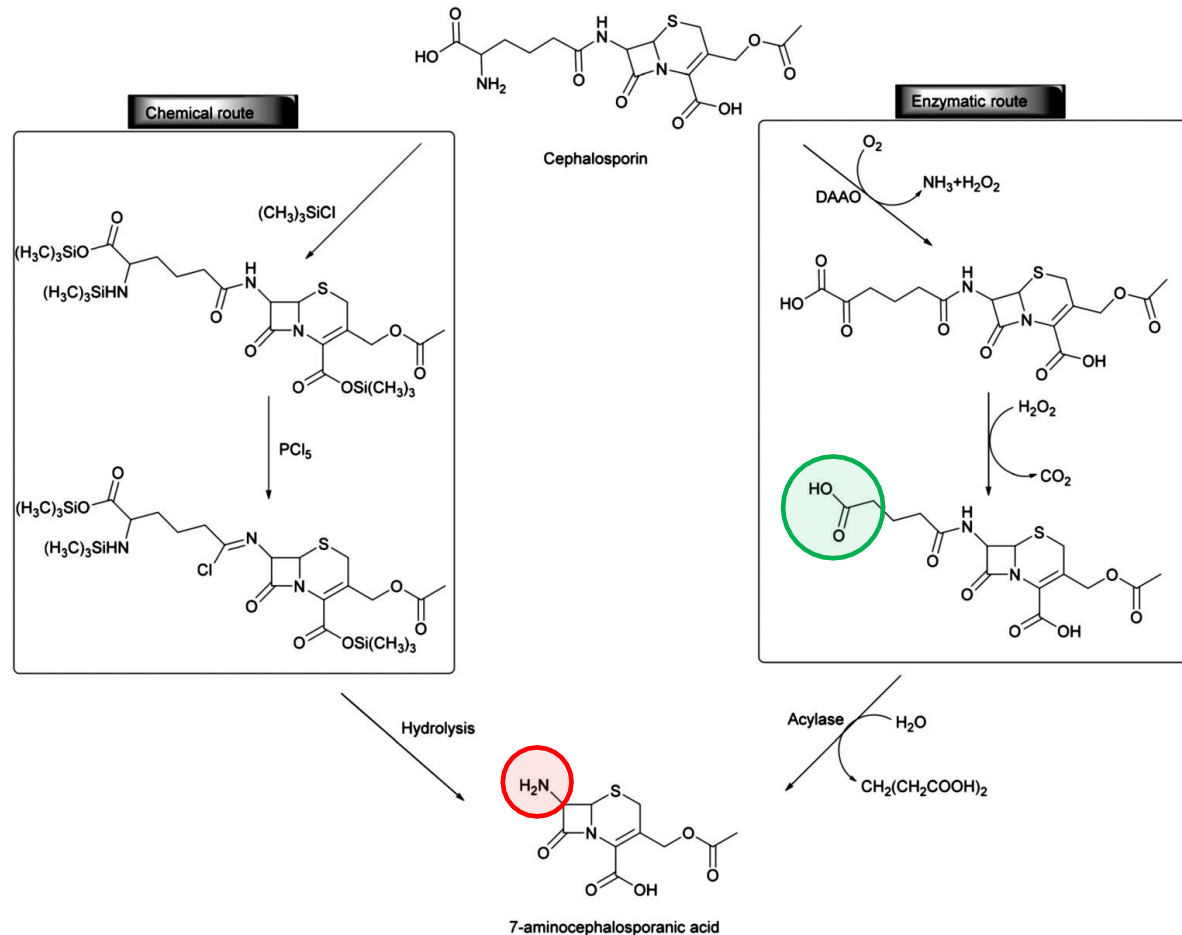
Ad esempio, **nella preparazione industriale delle cefalosporine semisintetiche, la deacilazione della cefalosporina C viene ottenuta impiegando una reazione bienzimatica a cascata.**

La **D-amminoacido ossidasi (DAAO)** viene utilizzata per **l'ossidazione della catena laterale glutammica** nel rispettivo β -chetoacido.

BIOCATALISTI



Le **ossidoriduttasi** hanno trovato un'applicazione industriale nell'industria e sono tipicamente **combinati con altri enzimi (transferasi, liasi)** stabilendo così cascate enzimatiche.

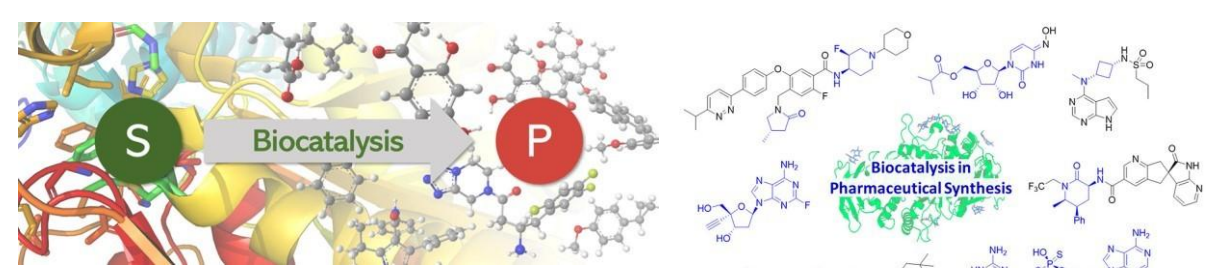


Ad esempio, **nella preparazione industriale delle cefalosporine semisintetiche, la deacilazione della cefalosporina C viene ottenuta impiegando una reazione bienzimatica a cascata.**

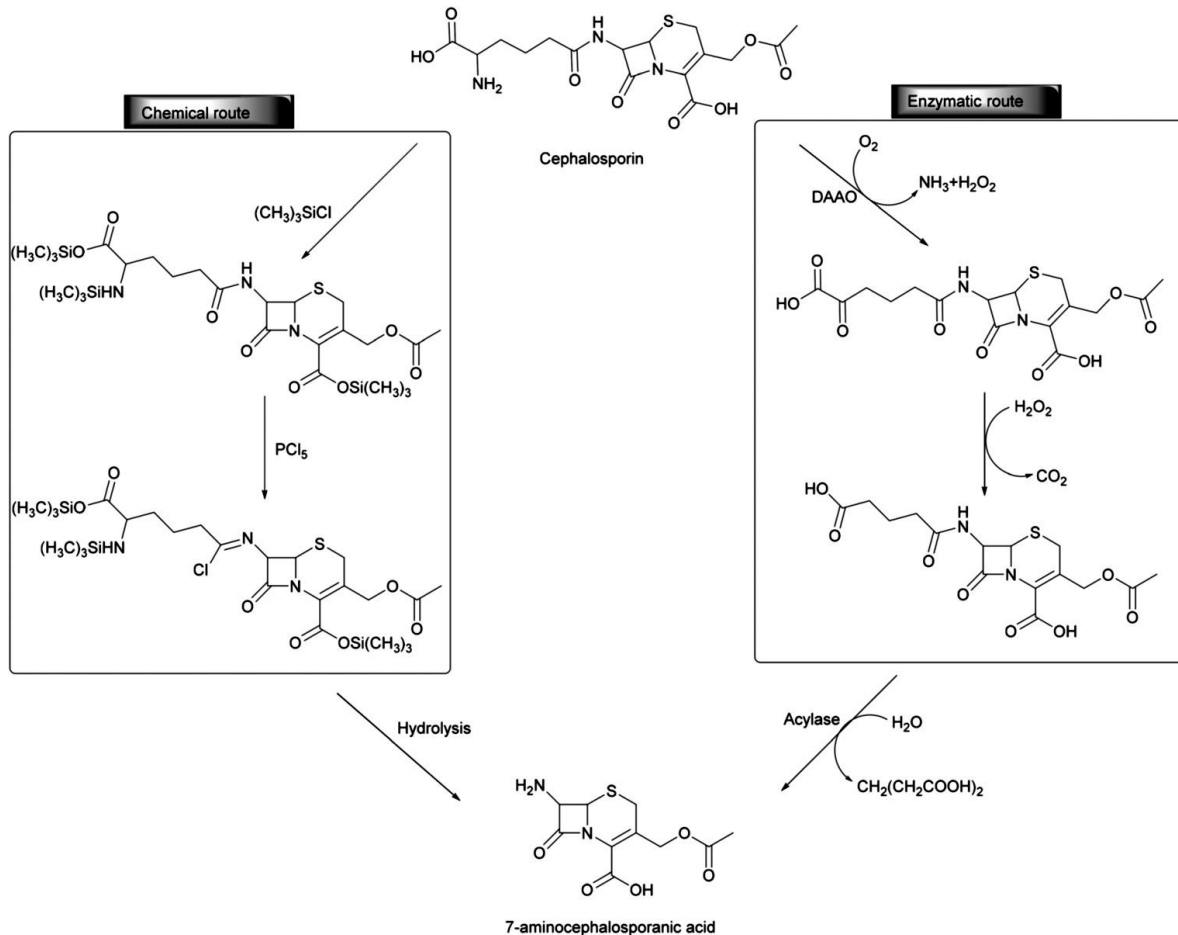
La **D-amminoacido ossidasi (DAAO)** viene utilizzata per **l'ossidazione della catena laterale glutammica** nel rispettivo β -chetoacido.

Dopo **la decarbossilazione ossidativa spontanea**, l'acido glutarico **viene scisso** dall'acido glutail-7-amminocefalosporanico (ACA) **acilasi**, dando luogo alla formazione del 7-ACA.

BIOCATALISTI



Le **ossidoriduttasi** hanno trovato un'applicazione industriale nell'industria e sono tipicamente **combinati con altri enzimi (transferasi, liasi)** stabilendo così cascate enzimatiche.

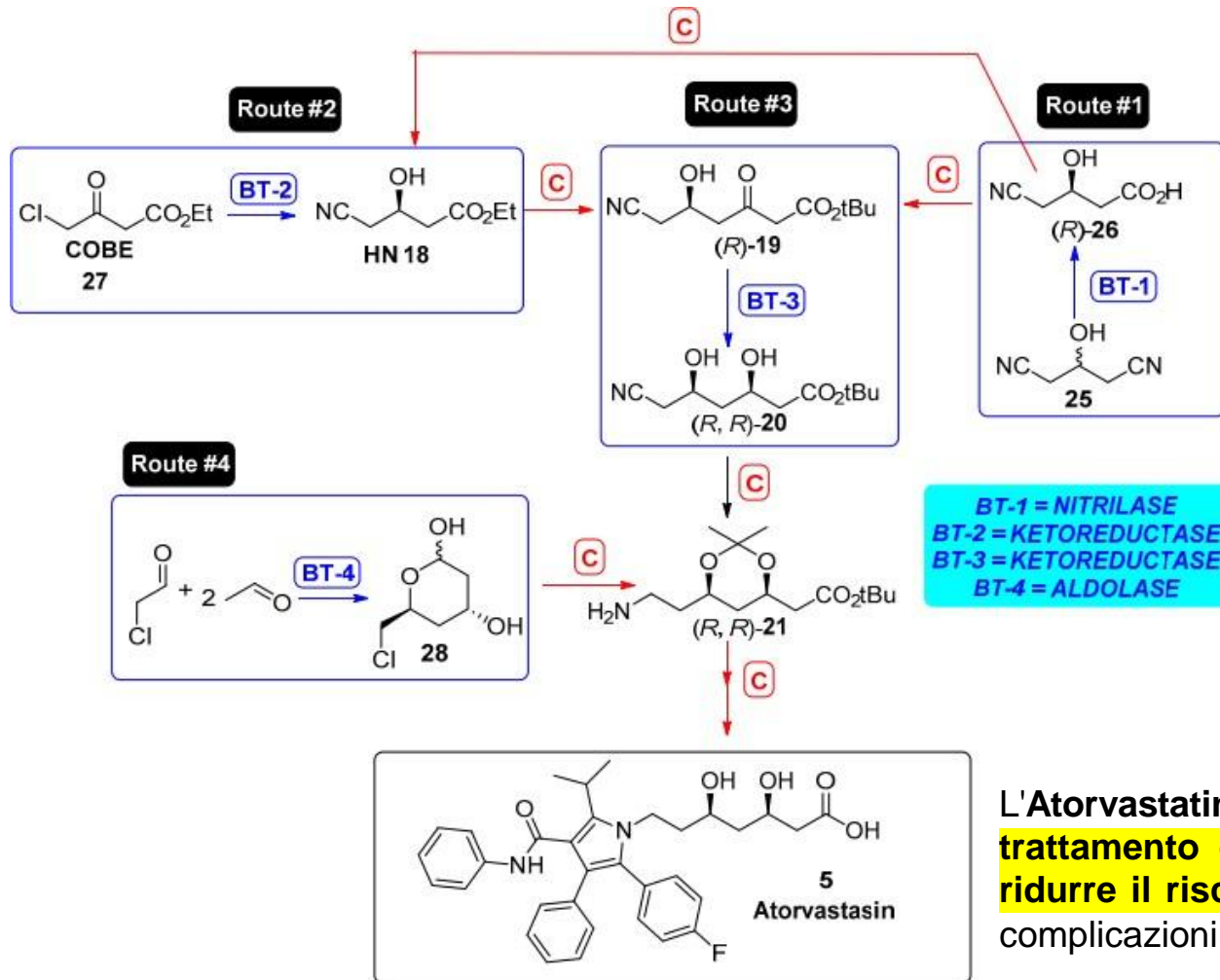
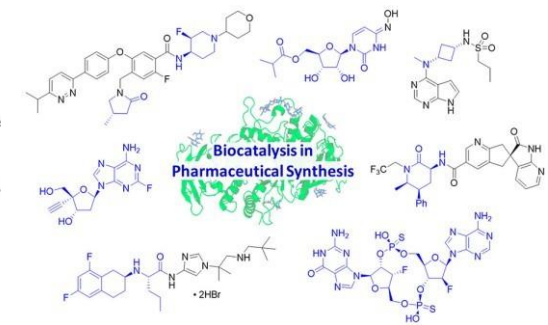
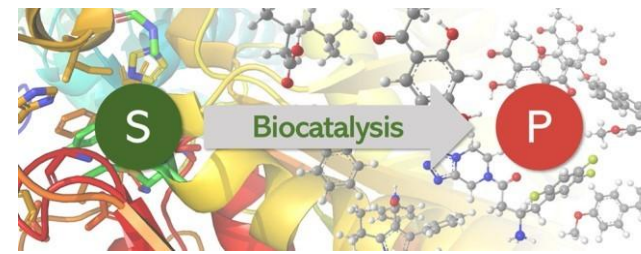


Questo approccio bienzimatico sostituisce il metodo chimico, evitando l'uso di solventi clorurati, condizioni operative difficili e **additivi tossici** come $(\text{CH}_3)_3\text{SiCl}$ e PCl_5 semplificando così le fasi di purificazione.

Il **processo enzimatico** viene tipicamente condotto a un **pH leggermente basico (7,5)** a **33 °C** con agitazione e aerazione.

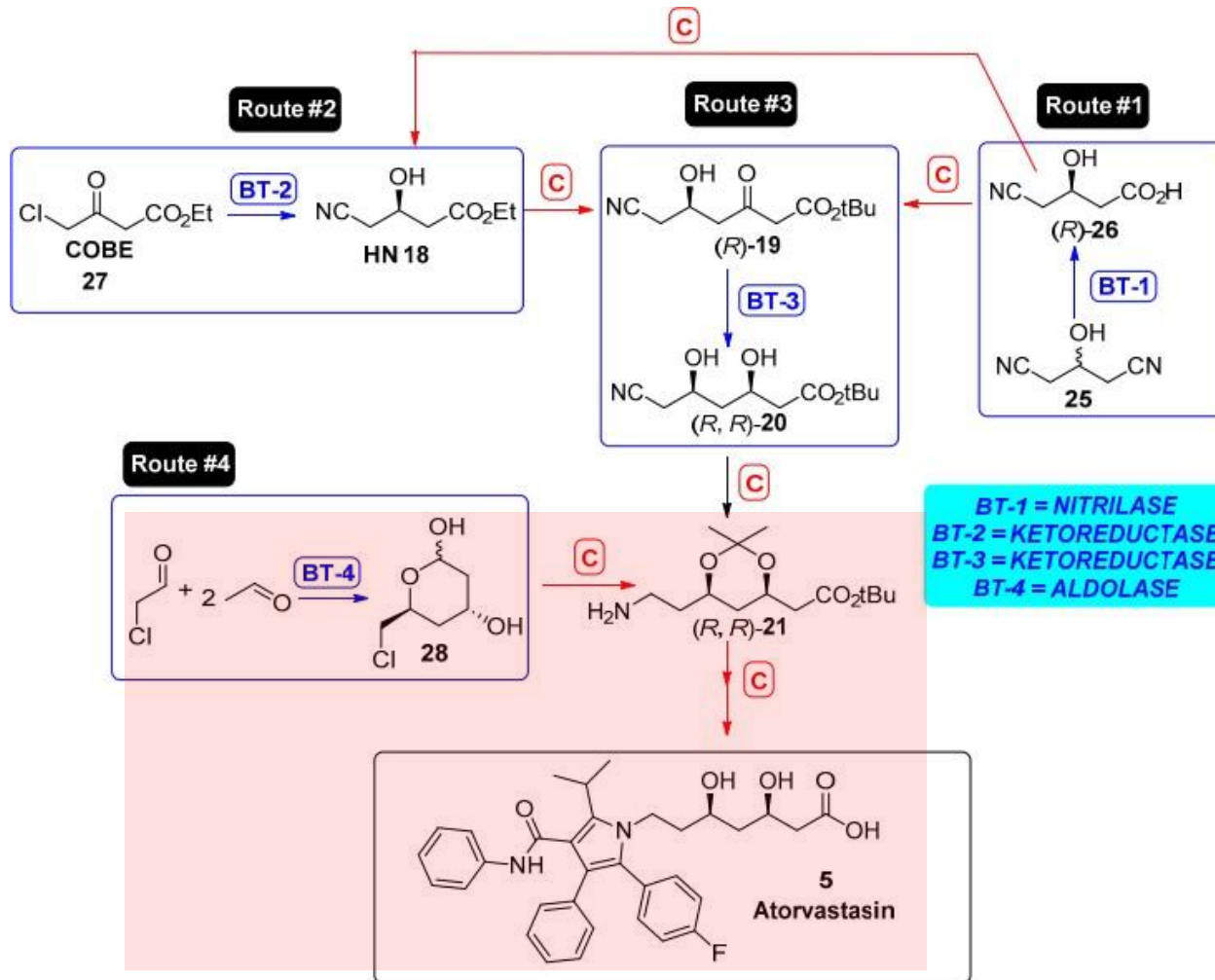
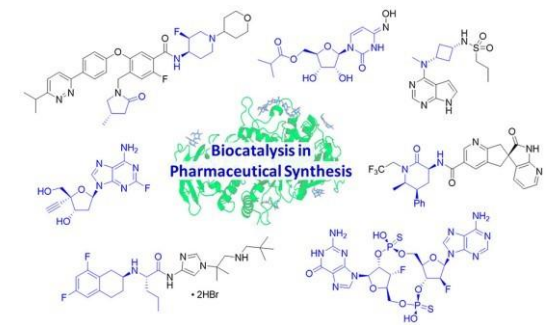
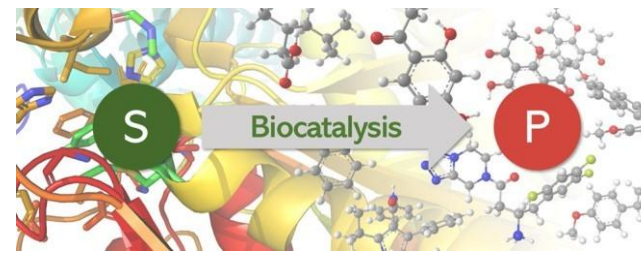
Il **trattamento a valle** del composto desiderato viene normalmente **eseguito mediante filtrazione** e può essere ulteriormente semplificato utilizzando enzimi immobilizzati.

BIOCATALYST



L'Atorvastatina viene utilizzata nel trattamento del colesterolo alto e per ridurre il rischio di ictus, infarto o altre complicazioni cardiovascolari

BIOCATALISTI



La sintesi enzimatica ha permesso di ottenere la catena laterale dell' atorvastatina in un unico passaggio partendo da **acetaldeide e cloroacetaldeide**, economiche e facilmente reperibili, grazie all'ausilio catalitico della desossiribosio-fosfato **aldolasi** (DERA) da *E. coli*.

La notevole **selettività** di questo enzima ha permesso di ottenere in modalità **one-pot** le formazioni di legami **C-C** e due centri stereogenici