



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PADOVA  
DIPARTIMENTO DI SCIENZE CHIMICHE  
CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN CHIMICA

TESI DI LAUREA MAGISTRALE

**Sintesi multicomponente di piccole librerie di [n]Rotassani**

**Relatore:** Moretto Alessandro  
**Controrelatrice:** Tubaro Cristina

**Laureando:** Rosella Ettore

ANNO ACCADEMICO 2023-2024

*A mia mamma, La persona più importante della mia vita  
A lei dedico questa tesi certo che continuerà a guidarmi da lassù.*

# INDICE

Abbreviazioni.....	ii
Riassunto.....	iii
Abstract.....	iv
<b>1.INTRODUZIONE.....</b>	<b>1</b>
<b>1.2 Scopo della tesi.....</b>	<b>6</b>
<b>2. PARTE SPERIMENTALE.....</b>	<b>7</b>
<b>2.2 Strumentazione e metodi.....</b>	<b>7</b>
<b>2.3 Sintesi indipendente degli assi e dei suoi relativi precursori.....</b>	<b>9</b>
<b>2.3.1 Sintesi di N,N'-tetraottil-fumarammide (asse 1).....</b>	<b>9</b>
<b>2.3.2 Sintesi di N,N'-tetracicloesil-fumarammide (asse 2).....</b>	<b>10</b>
<b>2.3.3 Sintesi di N,N-bisottil,N',N'-biscicloesil-fumarammide (asse 3).....</b>	<b>11</b>
<b>2.3.4 Sintesi di N-azobenzen,N-benzil, N'-azobenzen, N'-benzil fumarammide (asse 4).....</b>	<b>13</b>
<b>2.3.5 Sintesi di N,N-bisottil, N'-benzil, N'-azobenzen fumarammide (asse 5).....</b>	<b>15</b>
<b>2.3.6 Sintesi di N,N-bisciloesil, N'-benzil, N'-azobenzen fumarammide (asse 6).....</b>	<b>16</b>
<b>2.4 Sintesi indipendente di [2]Rotassani dai corrispettivi assi.....</b>	<b>18</b>
<b>2.4.1 Sintesi di [2]Rotassano-1' da asse 1.....</b>	<b>18</b>
<b>2.4.2 Sintesi di [2]Rotassano-2' da asse 2.....</b>	<b>19</b>
<b>2.4.3 Sintesi di [2]Rotassano-3' da asse 3.....</b>	<b>20</b>
<b>2.4.4 Sintesi di [2]Rotassano-4' da asse 4.....</b>	<b>21</b>
<b>2.4.5 Sintesi di [2]Rotassano -5' da asse 5.....</b>	<b>22</b>
<b>2.4.6 Sintesi di [2]Rotassano-6' da asse 6.....</b>	<b>23</b>
<b>2.5 Sintesi di [2]Rotassano-7' da asse 7.....</b>	<b>24</b>
<b>3. RISULTATI E DISCUSSIONE.....</b>	<b>29</b>
<b>3.1. Sintesi indipendente dei composti che si vorranno ottenere tramite la sintesi multicomponente di una libreria di [2]Rotassani.....</b>	<b>29</b>
<b>3.2 Confronto assi e corrispondenti [2]Rotassani.....</b>	<b>32</b>
<b>3.3 Sintesi Rotassano con tre stazioni insature, una fumarica e due <math>\alpha,\beta</math> peptidiche.....</b>	<b>38</b>
<b>3.4 Sintesi multicomponente di una libreria di [2]Rotassani.....</b>	<b>56</b>
<b>4.CONCLUSIONI.....</b>	<b>61</b>
<b>5.BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>62</b>

## Abbreviazioni

acetato di etile	AcOEt
1-Idrossi-7-azobenzotriazolo	HOAt
N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilcarbodiimide	EDC·HCl
Acido acetico	AcOH
triethylammina	TEA
diisopropyletilammina	DIPEA
dimetilformammide	DMF
dimetilsolfossido	DMSO
tetraidrofurano	THF
Triethylammina	TEA
4-( N,N -dimetilammino)piridina	DMAP
metanolo	MeOH
Di-terz-butyl dicarbonato	BOC
Acido trifluoroacetico	TFA
Effetto nucleare Overhauser	NOE
Risonanza magnetica nucleare	NMR
Cromatografia liquida ad alta prestazione	HPLC
Cromatografia liquida ad alte prestazioni a fase inversa	RP-HPLC
Ionizzazione elettrospray	ESI
Ionizzazione elettrospray a tempo di volo	ESI-TOF
Spettroscopia infrarossa a trasformata di Fourier	FT-IR
Spettroscopia di correlazione totale	TOCSY
Spettroscopia di correlazione	COSY

## Riassunto

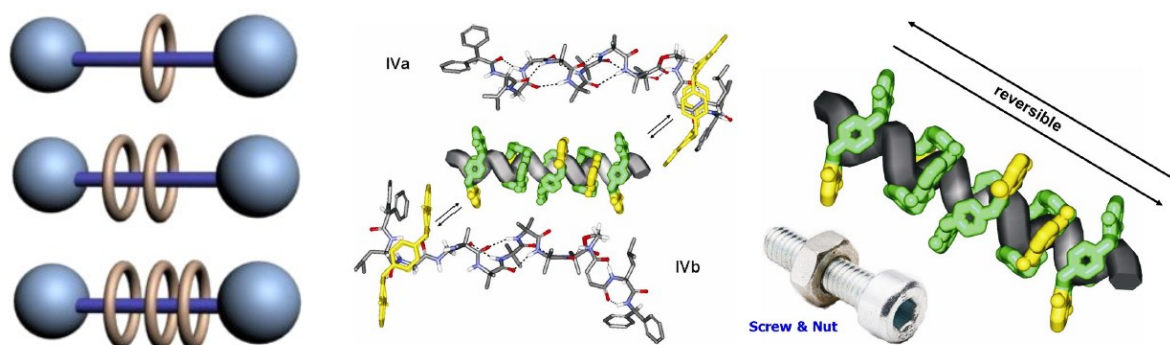
I rotassani sono specie chimiche in cui uno o più macrocicli sono inseriti su una componente lineare, la cui sfilatura è impedita da “tappi” ingombranti. Sebbene il macrociclo e il filo non siano collegati covalentemente, i rotassani si definiscono più correttamente come specie molecolari piuttosto che come complessi supramolecolari, poiché i legami covalenti devono essere rotti per separare le loro componenti. Un modo per costruire [2]Rotassani (un asse, un macrociclo) prevede la costruzione di una tetra-ammide aromatica modellata supramolecolarmente su una stazione fumarammidica. Nel nostro lavoro descriviamo i nostri risultati sulla sintesi di [2]Rotassani che si formano durante una sintesi combinatoriale a partire da una miscela composta da ammine secondarie altamente ingombrate, e dal cloruro fumarilico. In una prima parte del nostro lavoro siamo stati in grado di generare in un unico passaggio una libreria di sei assi (stazioni), a partire da tre diverse ammine secondarie come la diottilammina, la dicioesilammina e la *N-p*-azobenzene-*N'*-benzilammina, che sono state fatte reagire con il cloruro fumarilico. La sintesi complessiva è stata monitorata mediante HPLC, spettrometria di massa e NMR. Dopo diverse ottimizzazioni delle condizioni di reazione è stato possibile rilevare tutti i sei assi sintetizzati. Successivamente alla miscela degli assi sono stati addizionati contemporaneamente e lentamente i due precursori macrociclici, l'*m*-isoftaloil cloruro e la *p*-xililiendiammina. Nel corso del tempo la miscela è stata monitorata mediante spettrometria di massa ed HPLC, rivelando la formazione di tutti i sei [2]Rotassani corrispondenti. Dopo una cromatografia su silice tutti e sei i [2]Rotassani sono stati separati con successo, caratterizzati mediante NMR, e dopo la cristallizzazione anche caratterizzati al livello di stato solido mediante diffrazione dei Raggi-X. Cinque delle sei strutture possibili sono state risolte mediante cristallografia. Tutte le strutture hanno dimostrato come la stazione fumar-diammidica sia un'ottima stazione per la costruzione supramolecolare dell'anello tetra-ammidico aromatico, nonostante la vicinanza dei terminali ingombranti. Per tutti i [2]Rotassani l'anello è tenuto nella sua posizione sopra l'asse da due serie di legami idrogeno che coinvolgono i due gruppi NH (come donatori) di ciascuna delle porzioni isoftaldiammidiche e ciascuno dei gruppi carbonilici fumar-diammidici che fungono da doppi accettori. L'architettura complessiva è ulteriormente stabilizzata da due interazioni  $\pi$ -stacking xililene...olefina...xililene (macrociclo...asse...macrociclo). La cavità interna del macrociclo è approssimativamente rettangolare e il lume della ruota è significativamente più piccolo dello spazio complessivo occupato dalle estremità ingombrate.

## Abstract

Rotaxanes are chemical species in which one or more macrocycles are threaded onto a linear component, de-threading from which is prevented by bulky “stoppers”. Although macrocycle and thread are not covalently connected, rotaxanes are better expressed as molecules rather than supramolecular complexes, since covalent bonds need to be broken to separate their components. One way to construct [2]Rotaxanes (one thread, one macrocycle) involved the construction of an aromatic tetra-amide that is supramolecularly templated over a fumardiamide station. In our work we describe our results on the synthesis of [2]Rotaxanes that are formed under a combinatorial synthesis starting from a mixture composed by bulky amines and fumaryl chloride. In a first part of our work we were able to generate in a single step a library of six axles (stations), starting from three different bulky secondary amines as dioctylamine, dicyclohexylamine and *N-p*-azobenzene-*N'*-benzylamine and fumaryl chloride. The overall synthesis was monitored by HPLC, Mass spectrometry and NMR and after several optimizations of the reaction conditions it was possible to detect all of the six axles synthesized. Successively, to the axles mixture the two macrocyclic precursors, named *m*-isophthaloyl chloride and *p*-xylylenediamine were simultaneously and slowly added. During time the mixture was monitored by HPLC Mass spectrometry, unraveling the formation of all corresponding six [2]Rotaxanes. After a flash chromatography all the six [2]Rotaxanes were successfully separated, characterized by NMR, and after crystallization characterized at the solid state level by X-Ray. Five of the six possible structures were crystallography solved. All of the structures shown that the fumardiamide is an excellent station for the supramolecular construction of the aromatic tetra amide ring, despite the proximity of the bulky stoppers. For all of the [2]rotaxanes the ring is held in place by two sets of hydrogen bonds from the two NH groups of each of its two isophthaldiamide moieties to each of the two double-acceptor fumardiamide carbonyl groups. The overall architecture is further stabilized by two xylylene...olefin...xylylene (macrocycle...axle...macrocycle) $\pi$ -stacking interaction. The inner cavity of the macrocycle is roughly rectangular, and the lumen of the wheel is significantly smaller than the overall space occupied by the bulky stop

## 1.INTRODUZIONE

I rotassani sono sistemi chimici meccanicamente interconnessi, che contengono una componente molecolare lineare che è avvolta da almeno un'altra componente molecolare ciclica. La sfilatura delle due componenti è impedita da “tappi” ingombranti. Sebbene il macrociclo e il filo non siano collegati covalentemente, i rotassani si definiscono più correttamente come specie molecolari piuttosto che come complessi supramolecolari, poiché i legami covalenti devono essere rotti per separare le loro componenti. Queste strutture molecolari hanno suscitato l'interesse di numerosi scienziati nel campo della chimica supramolecolare a causa delle loro potenziali applicazioni.<sup>1</sup> Come conseguenza della proprietà conferite dal legame meccanico<sup>2</sup> stabilito tra le controparti di queste architetture intrecciate, sono state sviluppate negli anni applicazioni come macchine molecolari<sup>3</sup>, materiali intelligenti,<sup>4</sup> dispositivi per sensing<sup>5</sup> e nuovi tipi di chiralità.<sup>6</sup> In questo scenario diversi gruppi di ricerca stanno dedicando enfasi allo sviluppo di nuove strategie sintetiche per la sintesi di rotassani aventi nuove applicazioni. Come nomenclatura si definiscono come  $[n]$ rotassani, con  $[n]$  maggiore o uguale a 2. Il prefisso  $[n]$  indica il numero dei componenti interconnessi **Figura 1**.

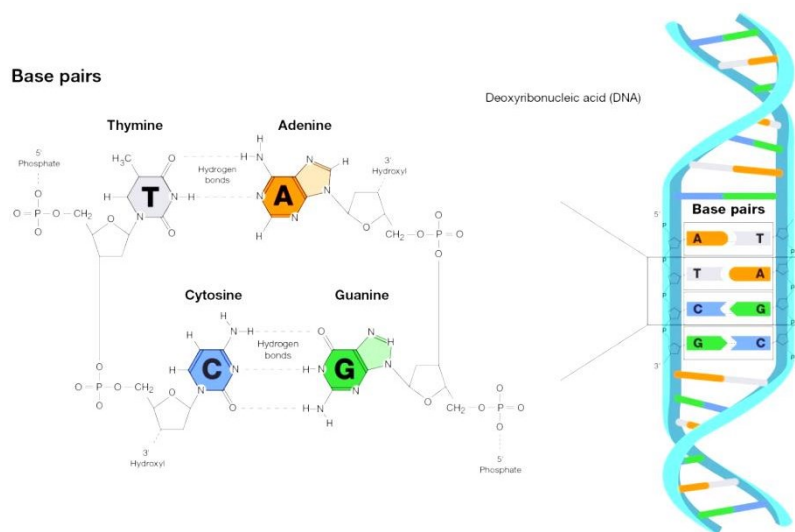


**Figura 1. A:** Dall’alto verso il basso: Rappresentazione schematica di un [2]Rotassano, [3]Rotassano e [4]Rotassano. **B** Esempio di un [2]Rotassano costruito nei nostri laboratori, in cui si evidenzia il movimento rotazionale e traslazionale del macrociclo lungo l’asse molecolare che in questo esempio è costituito da un peptide con struttura secondaria elicoidale. Il movimento può essere considerato come quello di un bullone lungo una vite filettata.<sup>3i</sup>

Negli ultimi decenni è stata riportata in letteratura un vasto assortimento di metodologie sintetiche, soprattutto utilizzando il processo di *self-sorting*.<sup>7</sup> Il termine *self-sorting* descrive la capacità di miscele di molecole diverse di riconoscere selettivamente le loro reciproche controparti in modo che si formino coppie specifiche piuttosto che librerie di tutti i possibili

complessi non covalenti e covalenti dei composti presenti nella miscela.<sup>8</sup> L'auto-ordinamento è legato alla chimica intrinseca dei sistemi. Esso è il risultato di un network di eventi di riconoscimento cooperativi definiti dalle costanti di associazione tra tutte le possibili componenti del sistema complesso.

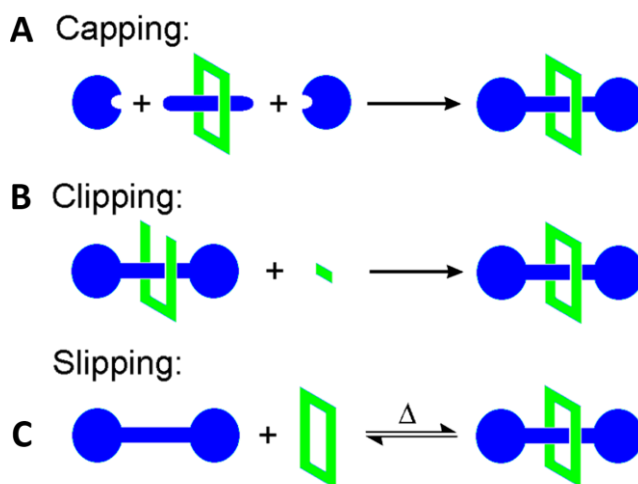
Gli organismi viventi si possono considerare come dei laboratori chimici molto sofisticati, che operano secondo un ordine spazio-temporale ben orchestrato.<sup>9</sup> Questi organismi sono in grado di eseguire processi selettivi senza apparenti difficoltà. La dissipazione di energia consente alla cellula vivente di generare schemi transitori sempre lontani dall'equilibrio termodinamico. Nelle miscele complesse, diverse biomolecole riconoscono selettivamente le loro reciproche controparti formando coppie specifiche di biomolecole invece di una vasta libreria di tutti gli aggregati supramolecolari possibili. Questo processo, che è il risultato delle diverse entalpie libere di legame delle coppie concorrenti, si può definire come l'esempio perfetto del processo di *self-sorting*.<sup>10</sup> In particolare, l'associazione spontanea delle coppie di basi del DNA è solo l'esempio più noto di *self-sorting* in natura **Figura 2**, ma ne esistono molti altri.



**Figura 2.** Il legame idrogeno è l'interazione chimica principale alla base delle regole di accoppiamento delle nucleobasi che compongono il DNA. L'esatta corrispondenza geometrica dei donatori e degli accettori di legami idrogeno consente solo alle coppie "giuste" di formare legami ad idrogeno altamente stabilizzati per geometria. Il DNA con un alto contenuto di Guanosina (G) e Citosina (C) è più stabile alla denaturazione del DNA con un più basso contenuto di GC. Le interazioni di impilamento verticale sono le principali responsabili della stabilizzazione della struttura a doppia elica. Il contributo dell'accoppiamento di basi, via modello Watson-Crick, alla stabilità strutturale globale è minimo, ma il suo ruolo nella specificità alla base della complementarità dei filamenti che si riconoscono è, al contrario, di massima importanza poiché è cruciale nel processo di replicazione del DNA.



I sistemi di auto-ordinamento hanno quindi un contenuto informativo più elevato e sono più organizzati di una miscela non specifica, perché solo uno o pochissimi complessi vengono selezionati da un numero maggiore di assemblaggi potenzialmente possibili in base ad un delicato equilibrio. Ciò distingue l'auto-ordinamento da altre strategie di autoassemblaggio, in cui solitamente vengono utilizzati ripetutamente elementi costitutivi identici (noto come processo di *self-assembly*). Sebbene i motivi di legame ortogonali siano di primaria importanza, fattori non direttamente correlati ai motivi di legame stessi, come la stechiometria, la dimensione e la forma del distanziatore o le interazioni distanziatore-distanziatore, possono aiutare a controllare il risultato finale dell'auto-ordinamento. Nel dettaglio, queste strategie sintetiche sfruttano l'uso di siti di affinità posti nelle diverse controparti interconnesse, o nei loro precursori, per accedere alla molecola finale target. Pertanto, tutte le interazioni non covalenti, come le interazioni CH- $\pi$  e  $\pi$ - $\pi$ , il legame idrogeno e l'effetto idrofobico, sono cooperativamente coinvolte fra le controparti formando dei precursori supramolecolari che assemblano le parti in gioco in modo da orientare nella giusta locazione per consentire la formazione finale del rotassano progettato. Sebbene esistano diversi metodi generali per ottenere rotassani, tre di essi sono di particolare rilevanza in letteratura. La metodologia "*capping*" (**Figura 3**) prevede la formazione preventiva di complesso host-guest tra un asse senza stopper (gruppi terminali stericamente ingombrati) ed un macrociclo, seguito dall'aggiunta di due gruppi ingombranti sulle parti terminali dell'asse.



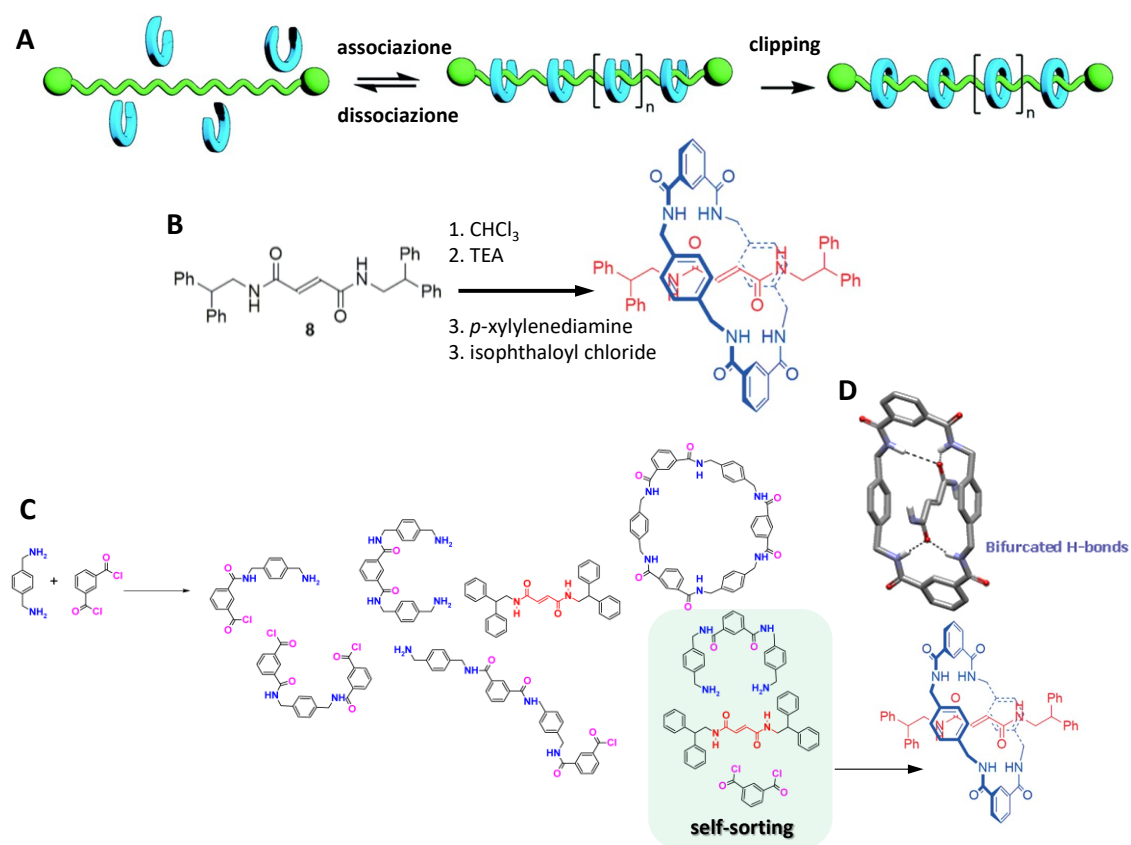
**Figura 3.** Metodologie per la sintesi di rotassani **A:** Schematizzazione della metodologia "*capping*"; **B:** Schematizzazione della metodologia "*clipping*"; **C:** Schematizzazione della metodologia "*slipping*".

Nella metodologia "*clipping*" (**Figura 3-B**), viene eseguita la ciclizzazione di un precursore a forma di **U** attorno alla componente lineare (asse) che viene preventivamente dotata di gruppi terminali

ingombranti. A seguito della associazione delle componenti ad **U** (*U-shape*) questa viene ciclizzata **O** (*O-shape*) solo quando parte del complesso viene templato con l'asse. Infine la metodologia "slipping" (**Figura 3-C**) sfrutta le diverse conformazioni che può assumere il macrociclo a causa della temperatura a cui è sottoposto. Pertanto, dimensioni compatte di conformeri del macrociclo possono presentare dimensioni più ampie in termini di cavità interna durante il riscaldamento del macrociclo stesso in modo da favorire l'entrata di questo nell'asse che contiene terminali ingombranti. Questo processo di riscaldamento e raffreddamento può portare dunque ad un processo di *self-sorting* e pertanto condurre alla formazione dei rotassani.

## 1.1 Sintesi

Con riferimento alla metodologia "clipping" sopra citata (**Figura 3-B**), si riporta a seguito la schematizzazione del processo di *self-sorting* per la formazione di rotassani della tipologia introdotta in letteratura dal gruppo di ricerca del Prof. D. Leigh, Figura 4.

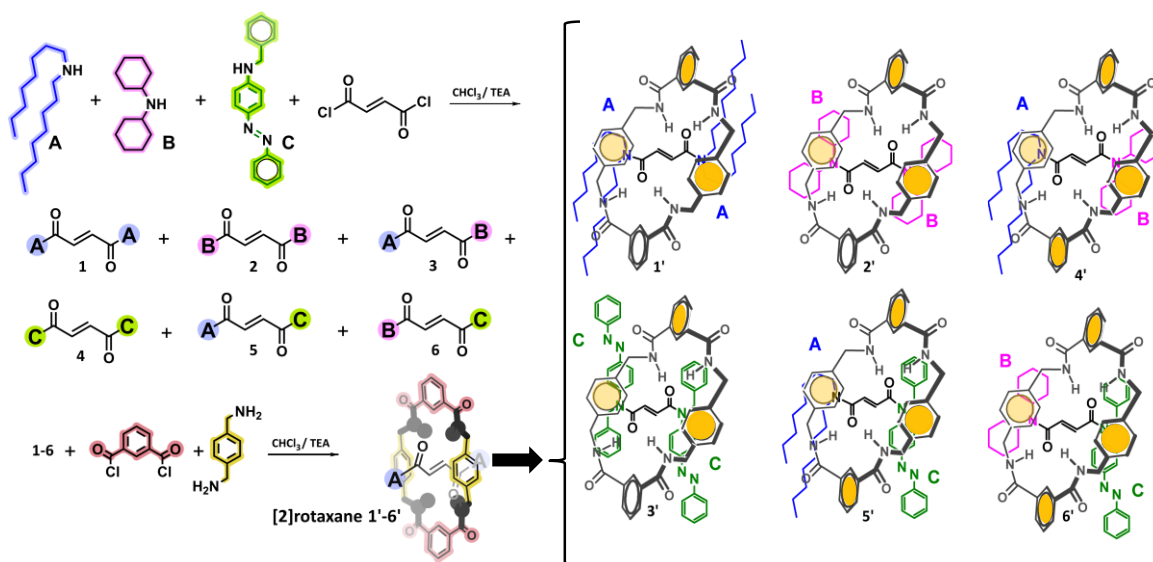


**Figura 4.** **A:** Schema generale di associazione-dissociazione e clipping. **B:** Schema sintetico della prima reazione per la formazione di un [2]Rotassano preparato nei laboratori del Prof. D. Leigh.<sup>3b</sup> **C:** Dettaglio della sintesi multicomponente e del processo di self-sorting. **D:** Dettaglio di una struttura di un rotassano ottenuta per diffrazione ai Raggi-X, nei nostri laboratori.<sup>3i</sup>

La **Figura 4-A** riporta genericamente la strategia sintetica, in cui un precursore del macrociclo, non ancora chiuso ciclicamente, viene assemblato via interazioni non covalenti su alcuni siti preferenziali di un asse. Successivamente, una volta assemblato una reazione chimica conduce alla ciclizzazione del precursore direttamente sopra l'asse, chiudendo meccanicamente le due componenti del rotassano. La prima sintesi è stata riportata nei laboratori del Prof. D. Leigh ed è descritta nella **Figura 4-B**. La componente lineare prevede l'uso di una stazione fumarammidica, che è funzionalizzata alle due estremità da due ammidi primarie contenenti due gruppi ingombrati. La reazione per sintetizzare l'asse prevede l'uso di fumaril-dicloruro e di due equivalenti di 2,2 difenil-etilenammina. Questo asse contiene due gruppi ammidici orientati in trans grazie alla presenza della olefina trans contenuta nell'unità fumarica. Successivamente grazie all'aggiunta contemporanea di della *p*-xililidiammina e del dicloruro dell'acido *m*-isoftalico, si ha la formazione di una serie di poliammidi ammidi fra queste due componenti, come illustrato nella **Figura 4-C**, fra le quali solo una viene selezionata dal processo di *self-sorting* per formare l'intermedio supramolecolare necessario alla formazione successiva del rotassano. La *driving-force* del processo è il riconoscimento supramolecolare fra la stazione fumarammidica e la componente macrociclica, attraverso la formazione di due coppie di legami ad idrogeno "biforcuti" (dettagli nella **Figura 4-D**, ottenuta da diffrazione dei Raggi-x nei nostri laboratori) che stabilizzano la struttura tridimensionale del rotassano. Sebbene siano stati riportati numerosi esempi di questa tipologia di reazione, con variazione di entrambe le componenti, quella ciclica e quella lineare, quello che manca in letteratura è la possibile generazione in situ di una libreria di assi e dei relativi rotassani direttamente nella stessa miscela di reazione.

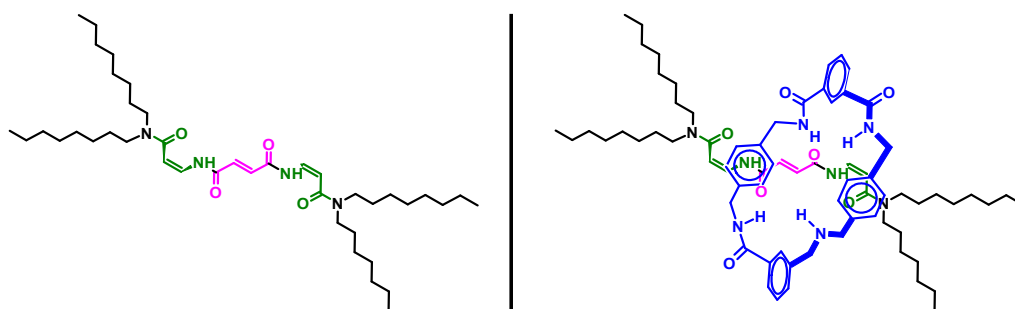
## 1.2 Scopo della tesi

In questo lavoro sperimentale si vuole proporre un metodo per la generazione *in situ* di una serie di assi e di una serie di rotassani attraverso un processo combinatoriale come riportato in **Figura 5**. L'idea è quella di mescolare 3 ammine secondarie altamente ingombrate, assieme al dicloruro dell'acido fumarico. Pertanto questo metodo dovrebbe consentire la formazione di sei assi denominati **1-6**, dei quali tre simmetrici e tre asimmetrici. Una volta generati gli assi, nella stessa soluzione si addiziona le due componenti per la generazione dei corrispondenti rotassani **1'-6'**. Per questa tipologia di reazione si dovrà trovare un metodo per seguire la formazione dei prodotti e per la separazione degli stessi. Inoltre ci prefiggiamo di caratterizzare completamente gli assi e rotassani corrispondenti.



**Figura 5. A:** Schematizzazione della generazione di una libreria composta da sei assi e la corrispondente conversione nella libreria composta da sei [2]Rotassani.

Una esaustiva descrizione del processo qui illustrato verrà discussa a seguito nella Tesi. Inoltre, verrà riportata la sintesi di un nuovo asse e del relativo [2]Rotassano contenente tre stazioni insature, una fumarica e due costituite da un amminoacido  $\alpha$ - $\beta$  insaturo come riportato in **Figura 6**.



**Figura 6** – Strutture molecolari di un asse contenete tre insaturazioni e del [2]Rotassano corrispondente.

## 2. PARTE SPERIMENTALE

### 2.1 Reagenti e solventi

Sigma – Aldrich Co (St. Louis, USA)	Dicicloesilammina, fumaril dicloruro, CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> anidro, CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , CHCl <sub>3</sub> deuterato, CHCl <sub>3</sub> , <i>p</i> -xililien diammina, <i>m</i> -isoftail dicloruro, diottillammina, 4-ammino azobenzene, benzaldeide, MeOH anidro, MeOH, etere di petrolio, TEA, DMF, DMF anidra, THF, DMSO deuterato, furano, anidride maleica, EDC·HCl,
Lancaster	NaCNBH <sub>3</sub>
Fluka (Neu-Ulm, Svizzera)	Ossail dicloruro
Alfa Aesar (Karlsruhe, Germania)	DIPEA
VWR (Leuven, Belgio)	KOH
GL Biochem (Shanghai)	HOAt

### 2.2 Strumentazione e metodi

#### Cromatografia liquida ad alte prestazioni

Le misurazioni HPLC sono state eseguite utilizzando un apparecchio Agilent 1200 (Palo Alto, CA), dotato di un rivelatore UV a varie lunghezze d'onda e di una colonna Agilent extend-C18 (fase stazionaria). Eluenti: A= 9:1 H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>CN, 0.05 % TFA; B= 1:9 H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>CN, 0.05 % TFA.

#### Risonanza magnetica nucleare

Gli spettri <sup>1</sup>H NMR <sup>13</sup>C NMR e 2D-NMR sono stati registrati con lo spettrometro Bruker Avance 400 MHz. I campioni sono stati disciolti in CDCl<sub>3</sub> (Sigma-Aldrich, 99.80% d) o DMSO-d<sub>6</sub> (Sigma-Aldrich, 99.80% d). Gli spostamenti chimici (δ) sono espressi in parti per milione rispetto ai segnali della frazione non deuterata dei solventi. Le molteplicità dei picchi sono espresse come: s – singoletto, d – doppietto, t – tripletto, q – quartetto, qui – quintetto, sex – sestetto, dd – doppietto di doppietti e m – multipletto.

### **Spettrometria di massa**

Gli spettri di massa mediante ionizzazione elettrospray (ESI), raccolti in modalità positiva, sono stati eseguiti sullo spettrometro Perseptive Biosystem Mariner ESI-ToF5220 (Foster City, CA).

### **Spettroscopia dell'infrarosso in trasformata di Fourier**

Gli spettri di assorbimento FT-IR sono stati registrati con uno spettrometro FT-IR Nexus 670 ThermoNicolet. Sono state eseguite n° 20 scansioni utilizzando pastiglia KBr e sono riportati i massimi  $\bar{\nu}$  delle bande di assorbimento principali.

### **Flash cromatografia**

La flash cromatografia è stata eseguita utilizzando come fase stazionaria il gel di silice 60 Macherey-Nagel (granulometria 40-63  $\mu\text{m}$ ), mentre la sabbia utilizzata è AppliChem (granulometria 0.1 - 0.3 mm). Il caricamento del campione è avvenuto per adsorbimento su gel di silice.

### **Cromatografia su strato sottile**

Le reazioni sono state seguite tramite cromatografia su strato sottile utilizzando lastre di gel di silice 60 F254 (Merck). I composti contenenti cromofori sono stati rivelati tramite lampada UV (Upland, modello UVG-54,  $\lambda = 254 \text{ nm}$ , 230 V, 50/60 Hz). Si è utilizzata anche l'ossidazione con acido fosfomolibdico, ninidrina.

### **Siringhe automatiche**

Le soluzioni utilizzate per la sintesi dei Rotassani sono state iniettate con le siringhe automatiche New Era Pump System, Inc modello NE-1000 (12 VDC, 0.75 A).

### **TLC Stains**

- **Ninidrina:** (usato per rilevare ammine/amminoacidi con gruppo amminico primario). Sciogliere 1.5 g di ninidrina in 100 ml di n-butanolo e aggiungere 3 ml di AcOH.
- **Acido Fosfomolibdico:** (usato per rilevare diversi gruppi funzionali). Sciogliere 10 g di PMA in 100 ml di etanolo assoluto.

## 2.3 Sintesi indipendente degli assi e dei suoi relativi precursori

### 2.3.1 Sintesi di N,N'-tetraottil-fumarammide (asse 1)

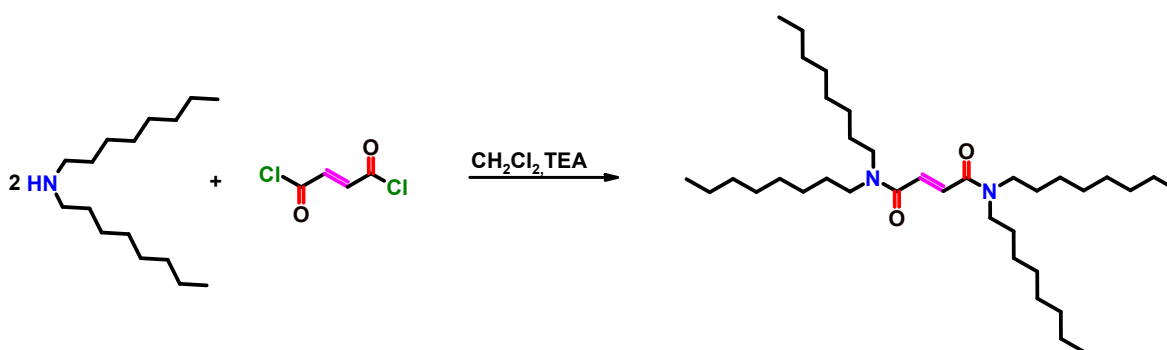


Figura 7 – Sintesi di N,N'-tetraottil-fumarammide (asse 1).

In un pallone di reazione, in bagno di ghiaccio, la diottilammina (1.42 g, 5.88 mmol, V = 1.79 ml) e TEA (0.99 g, 9.81 mmol, V = 1.37 ml) sono state solubilizzate in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro (15 ml). Una soluzione di fumaril dicloruro (0.5 g, 3.3 mmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (5 ml) è stata aggiunta alla reazione goccia a goccia sotto agitazione per circa 15 ore. Dopo aver evaporato il solvente la fase organica è stata lavata con HCl 0.1 M, NaOH 0.1 M e Brine ed anidrificata su Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro, filtrata, e successivamente concentrata sotto vuoto per ottenere il composto che è stato purificato tramite colonna cromatografica flash (fase stazionaria di silice, eluente CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH = 98:2) ottenendo un prodotto come **olio di color giallo**.

**Resa:** 58.7%

**<sup>1</sup>H NMR:** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.35 (s, 2H), 3.41 – 3.30 (m, 8H), 1.56 (h, J = 7.7, 7.3 Hz, 8H), 1.32 – 1.19 (m, 40H), 0.90 – 0.83 (m, 12H).

**<sup>13</sup>C NMR:** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 164.9, 131.5, 48.4, 47.0, 31.9, 31.9, 30.1, 29.5, 29.4, 29.3, 27.9, 27.2, 26.9, 22.8, 14.2.

**IR:** 3376, 2926, 2855, 1660, 1598, 1536 cm<sup>-1</sup>.

**MS (ESI-TOF):** [M+H]<sup>+</sup> calc. per C<sub>36</sub>H<sub>70</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> = 563.5510 m/z; [M+H]<sup>+</sup> sper. 563.5588 m/z.

### 2.3.2 Sintesi di N,N'-tetracicloesil-fumarammide (asse 2)

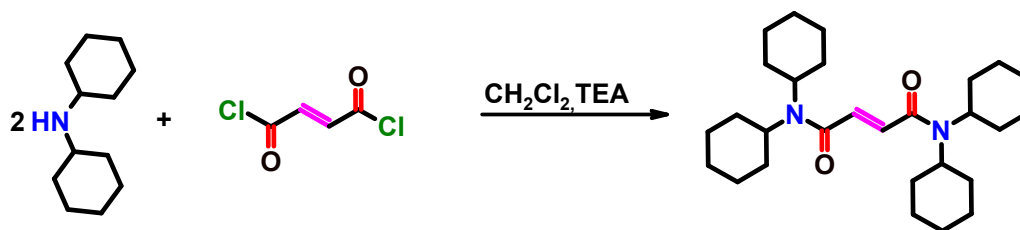


Figura 8 – Sintesi di N,N'-tetracicloesil-fumarammide (asse 2).

In un pallone di reazione, si solubilizzano Dicicloesilammina (1.5 g, 8.3 mmol) e TEA (0.83 g, 8.22 mmol, V= 1.15 ml) sono state solubilizzate in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro (10 ml). Una soluzione di fumaril dicloruro (0.42 g, 2.74 mmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1.5 ml) è stata aggiunta alla reazione goccia a goccia sotto agitazione per circa 15 ore. Dopo aver evaporato il solvente la fase organica è stata lavata con HCl 0.1 M, NaOH 0.1 M e Brine e successivamente è stata anidrificata con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro. Il solvente è stato evaporato sotto vuoto per ottenere il composto che è stato purificato tramite colonna cromatografica flash (fase stazionaria di silice, eluente CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH = 98:2) ottenendo un prodotto come **solido di colore bianco**.

**Resa:** 82.6 %

**<sup>1</sup>H NMR:** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.30 (s, 2H), 3.58 (t, J = 12.2 Hz, 2H), 3.28 – 3.24 (m, 1H), 2.29 – 2.25 (m, 3H), 1.86–1.46 (m, 25H), 1.38–1.00 (m, 13H).

**<sup>13</sup>C NMR:** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 165.3, 133.0, 57.8, 56.2, 53.9, 31.9, 30.2, 26.6, 25.9, 25.5, 25.3.

**IR:** 3354, 3052, 2935, 2853, 1664, 1538 cm<sup>-1</sup>.

**MS (ESI-TOF):** [M+H]<sup>+</sup> calc. per C<sub>28</sub>H<sub>46</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> = 443.3632 m/z; [M+H]<sup>+</sup> sper.= 443.3739 m/z.



### 2.3.3 Sintesi di N,N-bisottil,N',N'-biscicloesil-fumarammide (asse 3)

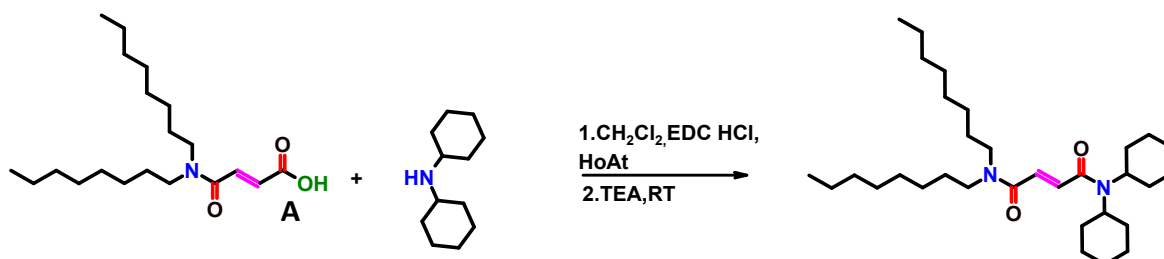


Figura 9 – Sintesi di N,N-bis(1-octil),N',N'-dicicloesil-fumarammide (asse 3).

Come primo passaggio sintetico viene sintetizzato il precursore A:

#### Sintesi di N,N-bis(1-octil), monofumarammide – precursore A

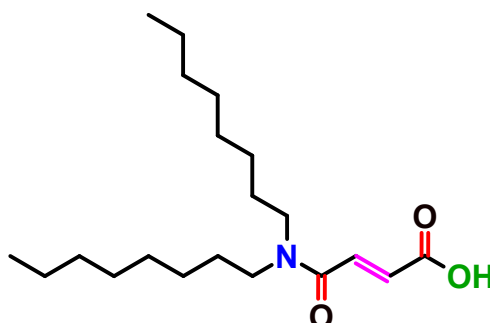


Figura 10 – Struttura molecolare di N,N-bis(1-octil), monofumarammide – precursore A.

In un pallone di reazione etil- N,N-bis(1-octil)-4-fumarato (1.5 g, 4.2 mmol) è stata diluito con 10 ml di THF anidro (12 ml). È stata aggiunta una soluzione di LiOH · H<sub>2</sub>O (0.58 g, 2.44 mmol) in H<sub>2</sub>O (10 ml) e la reazione è stata lasciata sotto agitazione a 35°C per 4 ore. Dopo aver evaporato il THF la fase organica è stata lavata con KHSO<sub>4</sub> 5% ed anidrificata su Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro, filtrata, e successivamente concentrata sotto vuoto per ottenere il prodotto come **olio di color giallo**.

**Resa:** 89.4 %

**<sup>1</sup>H NMR:** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.17 (dd, 2H, CH=CH), δ 3.41 (t, 2H, CH<sub>2</sub>), δ 3.35 (t, 2H, CH<sub>2</sub>), δ 1.59 (q, 4H, CH<sub>2</sub>), δ 1.32 (s, 20H, CH<sub>2</sub>), δ 0.89 (t, 6H, CH<sub>3</sub>)

**IR:** 2955, 2926, 2855, 1722, 1600 cm<sup>-1</sup>.

**MS (ESI-TOF):** [M+H]<sup>+</sup> calc. per C<sub>20</sub>H<sub>37</sub>NO<sub>3</sub> = 339.5127 m/z; [M+H]<sup>+</sup> sper. = 340.2917 m/z

Al precursore **A** (0.8 g 2.4 mmol) sospeso in CH<sub>3</sub>CN (15 ml) è stato aggiunto HOAt (0.32 g, 2.36 mmol) e EDC·HCl (0.45 g, 2.36 mmol). La soluzione è stata lasciata sotto agitazione a temperatura ambiente fino a solubilizzazione del precursore **A** attivato. Alla soluzione viene aggiunta dicicloesilammina (0.64 g, 3.53 mmol) e TEA (0.91 g, 9.0 mmol, V= 1.2 ml) e la reazione è stata agitata per 24 ore a 40 °C. Dopo aver evaporato il solvente la fase organica è stata lavata con KHSO<sub>4</sub> 5%, NaHCO<sub>3</sub> 5% e Brine e successivamente è stata anidrificata con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro. Il solvente è stato evaporato sotto vuoto per ottenere il composto che è stato purificato tramite colonna cromatografica flash (fase stazionaria di silice, eluente n-Esano:AcOEt = 8:2) ottenendo un prodotto come **solido di colore bianco**.

**Resa:** 50.56 %

**<sup>1</sup>H NMR:** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.39 (d, J = 14.5 Hz, 1H), 7.21 (d, J = 14.5 Hz, 1H), 3.60 – 3.49 (m, 1H), 3.32 (dt, J = 15.4, 7.6 Hz, 4H), 2.33 – 2.19 (m, 1H), 1.81 – 1.65 (m, 5H), 1.64 – 1.45 (m, 9H), 1.29 – 1.17 (m, 25H), 0.84 (td, J = 6.9, 2.0 Hz 6H).

**<sup>13</sup>C NMR:** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 165.1, 165.0, 134.4, 130.0, 48.4, 47.0, 31.9, 31.8, 30.1, 30.0, 29.4, 29.4, 29.4, 29.3, 29.3, 27.9, 27.8, 27.2, 27.1, 26.9, 26.5, 25.9, 25.5, 25.2, 22.7, 22.7, 14.1, 14.1.

**MS (ESI-TOF):** [M+H]<sup>+</sup> calc. per C<sub>32</sub>H<sub>68</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> = 503.4571 m/z; [M+H]<sup>+</sup> sper. = 503.4603 m/z.

### 2.3.4 Sintesi di N-azobenzen,N-benzil, N'-azobenzen, N'-benzil fumarammide (asse 4)

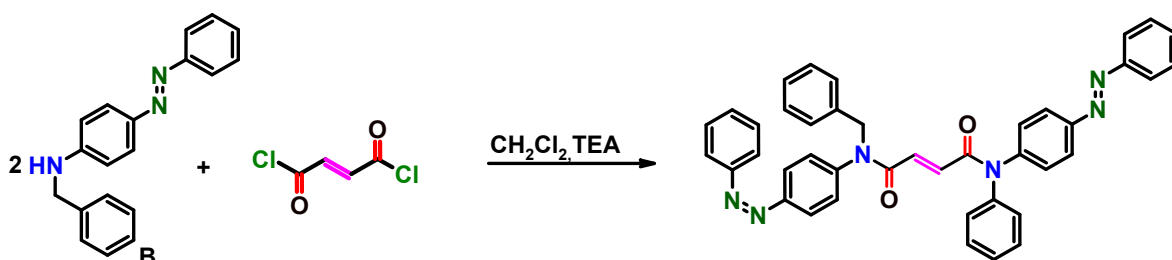


Figura 11 - Sintesi di N-azobenzen,N-benzil, N'-azobenzen, N'-benzil fumarammide (asse 4).

Come primo passaggio sintetico viene sintetizzato il precursore **B**:

#### Sintesi di N-benzil, 4-aminoazobenene – precursore B

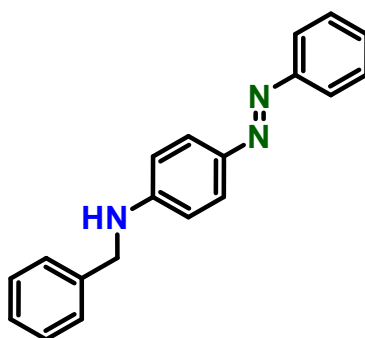


Figura 12 – Struttura molecolare di N-benzil, 4-aminoazobenene precursore B.

In un pallone di reazione è stata disciolta benzaldeide (0.27 g, 2.56 mmol) in CHCl<sub>3</sub> (20 ml) e MeOH anidro (2 ml) ed è stato aggiunto Ac. Acetico (0.15 g 2.5 mmol). La reazione è stata agitata per 5 minuti ed è stata aggiunto 4-amminoazobenene (0.5 g, 2.6 mmol) quindi, dopo 10 minuti, NaBH<sub>3</sub>CN (0.54 g, 8.51 mmol) è stato addizionato. La reazione è stata monitorata con TLC (Eluente CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> + 3 gocce Ac. Acetico). Dopo aver evaporato il solvente la fase organica è stata lavata con NaHCO<sub>3</sub> 5% ed anidrificata su Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro, filtrata, e successivamente concentrata sotto vuoto per ottenere il prodotto un **solido di colore rosso**.

Resa: 64.2 %

**<sup>1</sup>H NMR:** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.88 (d, 4H, Ar), δ 7.49 (t, 2H, Ar), δ 7.41 (m, 6H, Ar), δ 6.77 (d, 2H, Ar), δ 4.71 (s, 1H, NH), δ 4.44 (s, 2H, CH<sub>2</sub>)

**IR:** 3418, 3062, 3029, 2920, 2850, 1601, 1516, 1139 cm<sup>-1</sup>.

**MS (ESI-TOF):** [M+H]<sup>+</sup> calc. per C<sub>19</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub> = 287.3584 m/z; [M+H]<sup>+</sup> sper. = 288.1564 m/z

In un pallone di reazione, in bagno di ghiaccio, il precursore **B** (0.2 g, 0.7 mmol) e TEA (0.09 g, 9.81 mmol, V= 0.12 ml) sono state solubilizzate in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro (15 ml). Una soluzione di fumaril dicloruro (0.05 g, 0.31 mmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (5 ml) è stata aggiunta alla reazione goccia a goccia sotto agitazione per circa 24 ore. Il solvente è stato evaporato sotto vuoto e il prodotto è stato sciolto in AcOEt. Dopo aver evaporato il solvente la fase organica è stata lavata con HCl 0.1 M, NaOH 0.1 M e Brine e successivamente è stata anidrificata con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro. Il solvente è stato evaporato sotto vuoto per ottenere il composto che è stato purificato tramite colonna cromatografica flash (fase stazionaria di silice, eluente CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: etere di petrolio = 7:3) ottenendo un prodotto come **solido di colore arancione**.

**Resa:** 32.4 %

**<sup>1</sup>H NMR:** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>, Me<sub>4</sub>Si): δ 7.94 (t, 8H, Ar), δ 7.54 (m, 6H, Ar), δ 7.26 (m, 6H, Ar), δ 7.20 (d, 4H, Ar), δ 7.16 (d, 4H, Ar), δ 7.01 (s, 2H, CH=CH), δ 5.00 (s, 4H, CH<sub>2</sub>)

**IR:** 3437, 3062, 2926, 1646, 1596, 1498, 1384 cm<sup>-1</sup>.

**MS (ESI-TOF):** [M+H]<sup>+</sup> calc. per C<sub>40</sub>H<sub>30</sub>N<sub>6</sub>O<sub>2</sub> = 654.7584 m/z; [M+H]<sup>+</sup> sper. = 655.2706 m/z

### 2.3.5 Sintesi di N,N-bisottil, N'-benzil, N'-azobenzen fumarammide (asse 5)

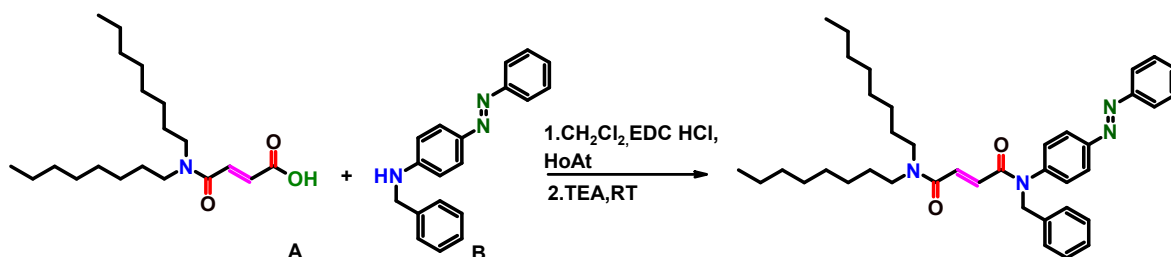


Figura 13 – Sintesi di N,N-bisottil, N'-benzil, N'-azobenzen fumarammide (asse 5).

Al precursore **A** (0.4 g 1.2 mmol) sospeso in CH<sub>3</sub>CN (15 ml) è stato aggiunto HOAt (0.16 g, 1.18 mmol) e EDC·HCl (0.23 g, 1.18 mmol). La soluzione è stata lasciata sotto agitazione a temperatura ambiente fino a solubilizzazione del precursore **A** attivato. Alla soluzione viene aggiunta il precursore **B** (0.23 g, 0.78 mmol) e TEA (0.31 g, 3.01 mmol, V= 0.4 ml) e la reazione è stata agitata per 18 ore a temperatura ambiente. Dopo aver evaporato il solvente la fase organica è stata lavata con KHSO<sub>4</sub> 5%, NaHCO<sub>3</sub> 5% e Brine e successivamente è stata anidrificata con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro. Il solvente è stato evaporato sotto vuoto per ottenere il composto che è stato purificato tramite colonna cromatografica flash (fase stazionaria di silice, eluente CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: MeOH = 96:4) ottenendo un prodotto come un **olio di colore rosso**.

**Resa:** 54%

**<sup>1</sup>H NMR:** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.91 (t, 4H, Ar), δ 7.52 (m, 4H, Ar), δ 7.28 (m, 6H, Ar), δ 7.05 (dd, 2H, CH=CH), δ 5.08 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), δ 3.34 (qui, 4H, CH<sub>2</sub>), δ 1.59 (qui, 4H, CH<sub>2</sub>), δ 1.52 (2H, CH<sub>2</sub>), δ 1.28 (m, 22H, CH<sub>2</sub>), δ 0.92 (t, 3H, CH<sub>3</sub>), δ 0.87 (t, 3H, CH<sub>3</sub>)

**IR:** 3086, 3063, 2954, 2926, 2855, 1719, 1642, 1426 cm<sup>-1</sup>.

**MS (ESI-TOF):** [M+H]<sup>+</sup> calc. C<sub>39</sub>H<sub>52</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub> = 608.8558 m/z; [M+H]<sup>+</sup> sper. = 609.4260 m/z

### 2.3.6 Sintesi di N,N-biscloesil, N'-benzil, N'-azobenzen fumarammide (asse 6)

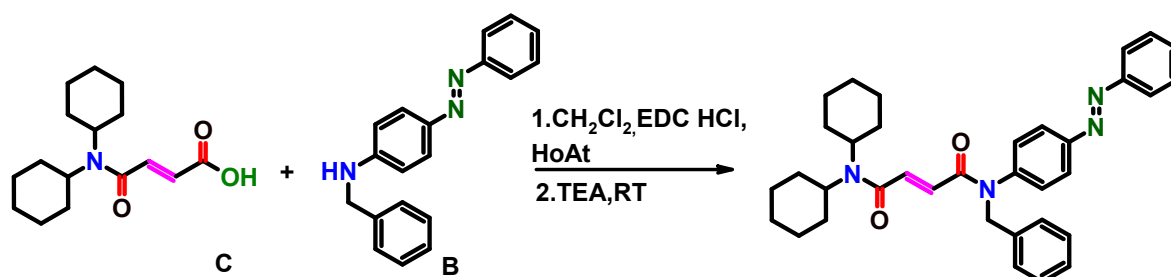


Figura 14 – Sintesi di N,N-biscloesil, N'-benzil, N'-azobenzen fumarammide (asse 6).

Per prima cosa viene sintetizzato il precursore C:

#### Sintesi di N,N-biscloesil monofumammide – precursore C

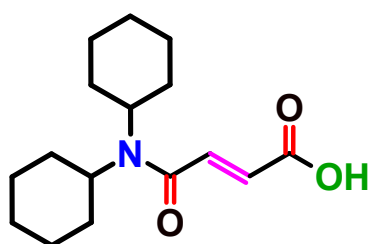


Figura 15 - Struttura molecolare di N,N-biscloesil monofumammide precursore B.

In un pallone di reazione N,N-biscloesil 4-fumarato (1.09 g, 3.9 mmol) è stata diluita con 10 ml di THF anidro (10 ml). È stata aggiunta una soluzione di LiOH · H<sub>2</sub>O (0.34 g, 7.8 mmol) in H<sub>2</sub>O (10 ml) e la reazione è stata lasciata sotto agitazione a 40°C per 6 ore. Dopo aver evaporato il THF la fase organica è stata lavata con KHSO<sub>4</sub> 5% ed anidrificata su Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro, filtrata, e successivamente concentrata sotto vuoto per ottenere il prodotto come **solido di colore bianco**.

Al precursore **C** (0.7 g 2.5 mmol) sospeso in CH<sub>3</sub>CN (15 ml) è stato aggiunto HOAt (0.34 g, 2.25 mmol) e EDC·HCl (0.34 g, 2.25 mmol). La soluzione è stata lasciata sotto agitazione a temperatura ambiente fino a solubilizzazione del precursore **C** attivato. Alla soluzione viene aggiunta il precursore **B** (0.48 g, 1.65 mmol) e TEA (0.7 g, 7.0 mmol, V= 0.9 ml) e la reazione è stata agitata per 18 ore a temperatura ambiente. Dopo aver evaporato il solvente la fase organica è stata lavata con KHSO<sub>4</sub> 5%, NaHCO<sub>3</sub> 5% e Brine e successivamente è stata anidrificata con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro. Il solvente è stato evaporato sotto vuoto per ottenere il composto che è stato purificato tramite colonna cromatografica flash (fase stazionaria di silice, eluente n-Esano: AcOEt = 8:2) ottenendo un prodotto come un **solido di colore rosso**.

**Resa:** 54%

**<sup>1</sup>H NMR:** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.94 – 7.83 (m, 4H), 7.56 – 7.45 (m, 4H), 7.32 – 7.20 (m, 6H), 7.16 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 6.79 – 6.73 (m, 1H), 5.05 (s, 2H), 3.61 – 3.49 (m, 1H), 3.28 – 3.12 (m, 1H), 2.32 – 2.09 (m, 2H), 1.88 – 1.63 (m, 8H), 1.64 – 1.42 (m, 6H), 1.41 – 1.04 (m, 8H).

**MS (ESI-TOF):** [M+H]<sup>+</sup> calc. per C<sub>35</sub>H<sub>40</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub> = 549.3224 m/z; [M+H]<sup>+</sup> sper. = 549.3215 m/z.

## 2.4 Sintesi indipendente di [2]Rotassani dai corrispettivi assi

### 2.4.1 Sintesi di [2]Rotassano-1' da asse 1

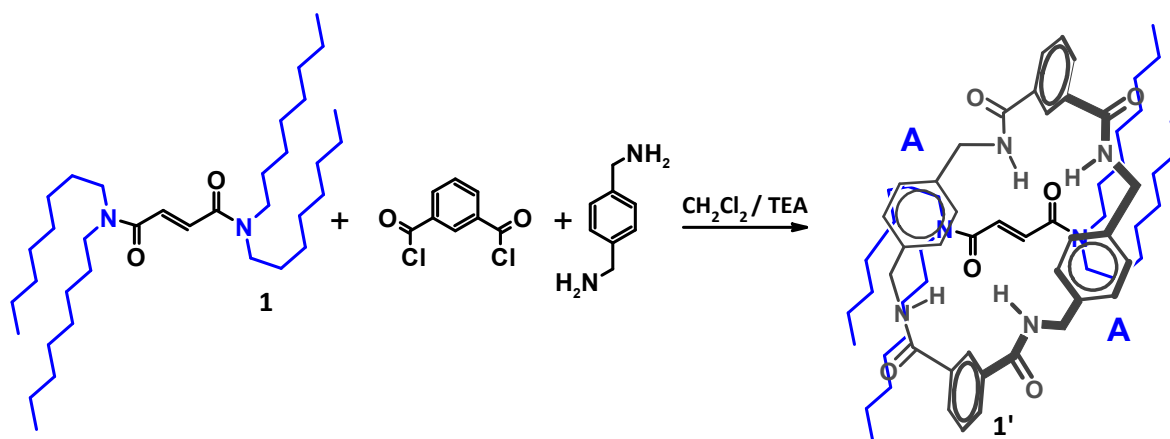


Figura 16 – Sintesi di [2]Rotassano-1' da asse 1.

In un pallone a 3 colli l'asse **1** (0.35 g, 0.62 mmol) e DIPEA (1.24 g, 9.62 mmol, V= 1.68 ml) sono stati solubilizzati in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro (200 ml). Separatamente sono state preparate: una soluzione di *p*-xililendiammina (0.35 g, 2.48 mmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro (20 ml) e una soluzione di *m*-isofthaloil dicloruro (0.52 g, 2.48 mmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro (20 ml) che sono state trasferite in due siringhe a parte e, tramite l'utilizzo di *syringe-pump*, sono state iniettate con una velocità di (10 ml/h) alla reazione sotto agitazione. Dopo 24 ore la sospensione viene filtrata sotto vuoto e le acque madri vengono recuperate. Dopo aver evaporato il solvente sotto vuoto, il prodotto viene sospeso in AcOEt e tramite centrifugazione, il surnatante viene recuperato. Il solvente è stato evaporato sotto vuoto per ottenere il composto che è stato purificato per precipitazione in etere dietilico/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> ottenendo un prodotto come **solido bianco**.

**Resa:** 14.0%

**<sup>1</sup>H NMR:** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.88 (s, 2H), 8.52 – 8.22 (m, 4H), 7.77 (d, J = 9.0 Hz, 3H), 7.66 (t, J = 7.8 Hz, 3H), 7.03 (s, 8H), 6.00 (s, 2H), 5.28 (dd, J = 14.0, 8.8 Hz, 4H), 3.86 – 3.66 (m, 4H), 3.44 – 3.21 (m, 4H), 3.07 – 2.86 (m, 4H), 1.60 (s, 5H), 1.43 – 1.12 (m, 36H), 1.05 – 0.75 (m, 21H), 0.69 – 0.53 (m, 4H).

**MS (ESI-TOF):** [M+H]<sup>+</sup> calc. per C<sub>74</sub>H<sub>106</sub>N<sub>8</sub>O<sub>8</sub> = 1235.0073 m/z; [M+H]<sup>+</sup> sper. = 1235.8082 m/z.



## 2.4.2 Sintesi di [2]Rotassano-2' da asse 2

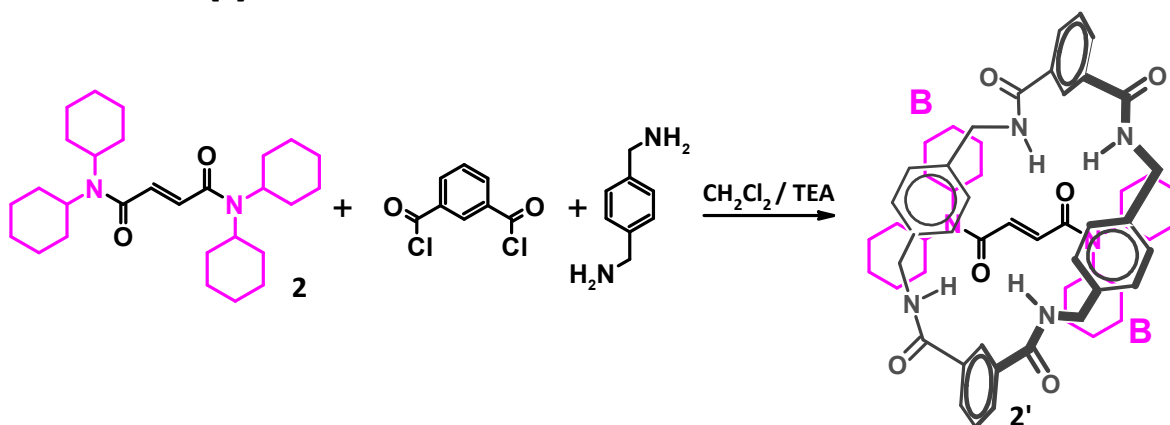


Figura 17 – Sintesi di [2]Rotassano-2' da asse 2.

In un pallone a 3 colli l'asse **2** (0.6 g, 1.4 mol) e DIPEA (1.4 g, 10.9 mmol, V= 1.9 ml) sono stati solubilizzati in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  anidro (200 ml). Separatamente sono state preparate: una soluzione di *p*-xililendiammina (0.72 g, 5.44 mmol) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  anidro (20 ml) e una soluzione di *m*-isofthaloil dicloruro (1.07 g, 5.44 mmol) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  anidro (20 ml) che sono state trasferite in due siringhe a parte e, tramite l'utilizzo di *syringe-pump*, sono state iniettate con una velocità di (10 ml/h) alla reazione sotto agitazione. Dopo 24 ore, la sospensione viene filtrata sotto vuoto e le acque madri vengono recuperate. Il solvente è stato evaporato sotto vuoto per ottenere il composto che è stato purificato tramite colonna cromatografica flash (fase stazionaria di silice, eluente  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ : EtOH = 98:2) ottenendo un prodotto come un **solido di colore bianco**.

**Resa:** 21%

**$^1\text{H NMR}$ :** INSOLUBILE

**IR:** 3354, 3052, 2935, 2853, 1664, 1538  $\text{cm}^{-1}$ .

**MS (ESI-TOF):** INSOLUBILE

### 2.4.3 Sintesi di [2]Rotassano-3' da asse 3

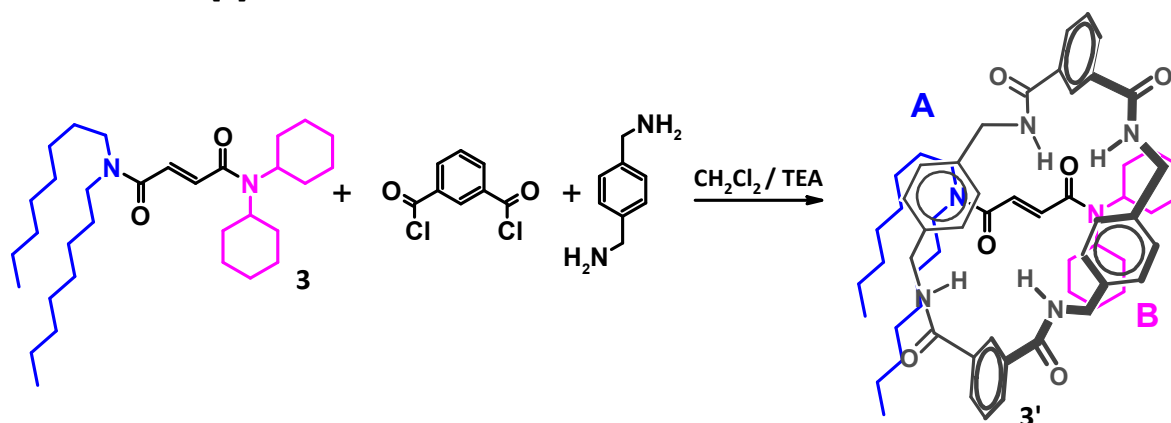


Figura 18 – Sintesi di [2]Rotassano-3' da asse 3.

In un pallone a 3 colli l'asse **3** (0.53 g, 0.79 mmol) e TEA (0.64 g, 6.37 mmol, V= 0.9 ml) sono stati solubilizzati in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro (200 ml). Separatamente sono state preparate: una soluzione *p*-xililendiammina (0.43 g, 3.18 mmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro (20 ml) e una soluzione di *m*-isoftaloil dicloruro (0.64 g, 3.18 mmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro (20 ml) che sono state trasferite in due siringhe a parte e, tramite l'utilizzo di *syringe-pump*, sono state iniettate con una velocità di (10 ml/h) alla reazione sotto agitazione. Dopo 18 ore, la sospensione viene filtrata sotto vuoto e le acque madri vengono recuperate. Il solvente è stato evaporato sotto vuoto per ottenere il composto che è stato purificato tramite colonna cromatografica flash (fase stazionaria di silice, eluente CHCl<sub>3</sub>: MeOH = 98:2) ottenendo un prodotto come un **solido di colore bianco**.

**Resa:** 21%

**<sup>1</sup>H NMR:** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.93 (d, J = 17.9 Hz, 1H), 8.40 – 8.29 (m, 4H), 7.82 (d, J = 9.1 Hz, 2H), 7.77 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.65 (t, J = 7.8 Hz, 1H), 7.08 – 6.94 (m, 5H), 5.88 (dd, J = 57.7, 13.6 Hz, 1H), 5.34 (ddd, J = 19.5, 14.1, 9.4 Hz, 3H), 3.69 (dd, J = 13.7, 7.6 Hz, 3H), 3.35 – 3.27 (m, 2H), 2.99 – 2.92 (m, 0H), 2.89 (t, J = 8.2, 6.0 Hz, 1H), 2.39 – 2.29 (m, 0H), 1.79 (d, J = 13.1 Hz, 1H), 1.65 – 1.48 (m, 9H), 1.38 – 1.06 (m, 21H), 0.99 – 0.93 (m, 6H), 0.93 – 0.79 (m, 7H), 0.55 – 0.48 (m, 1H), 0.33 – 0.21 (m, 3H).

**MS (ESI-TOF):** [M+H]<sup>+</sup> calc. per C<sub>74</sub>H<sub>86</sub>N<sub>6</sub>O<sub>6</sub> = 1035.6682 m/z; [M+H]<sup>+</sup> sper. = 1035.6600 m/z

#### 2.4.4 Sintesi di [2]Rotassano-4' da asse 4

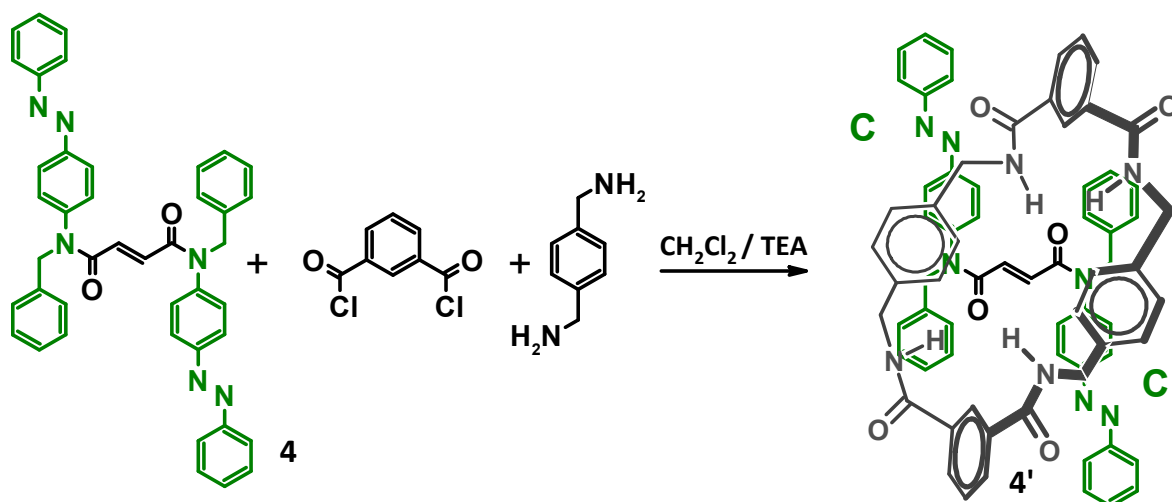


Figura 19 – Sintesi di [2]Rotassano-4' da asse 4.

Si mescolano in un pallone a tre colli l'asse **4** (0.10 g, 0.15 mmol) e DIPEA (0.2 g, 1.2 mmol  $V = 0.2$  ml) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  anidro (50 ml). Separatamente sono state preparate: una soluzione di *p*-xililidiammina (0.08 g, 0.60 mmol) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  anidro (20 ml) e una soluzione di *m*-isofaltoil dicloruro (0.12 g, 0.60 mmol) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  anidro (20 ml) che sono state trasferite in due siringhe a parte e, tramite l'utilizzo di *syringe-pump*, sono state iniettate con una velocità di (10 ml/h) alla reazione sotto agitazione. Dopo 20 ore, la sospensione viene filtrata sotto vuoto e le acque madri vengono recuperate. Il solvente è stato evaporato sotto vuoto per ottenere il composto che è stato purificato tramite colonna cromatografica flash (fase stazionaria di silice, eluente  $\text{CHCl}_3$ : MeOH = 99:1) ottenendo un prodotto come un **solido di colore arancione**.

**Resa:** 24.2 %

**$^1\text{H NMR}$ :** (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.17 (t, 2H, Ar),  $\delta$  8.03 (dd, 4H, Ar),  $\delta$  7.92 (m, 6H, Ar, (C=O) NH),  $\delta$  7.63 (m, 8H, Ar),  $\delta$  7.21 (m, 20H, Ar),  $\delta$  6.98 (s, 8H, Ar),  $\delta$  5.75 (s, 2H, CH=CH),  $\delta$  5.28 (q, 4H,  $\text{CH}_2$ ),  $\delta$  4.84 (q, 4H,  $\text{CH}_2$ ),  $\delta$  3.55 (q, 4H,  $\text{CH}_2$ )

**IR:** 3368, 2922, 1718, 1568, 1529  $\text{cm}^{-1}$ .

**MS (ESI-TOF):**  $[\text{M}+\text{H}]^+$  calc. per  $\text{C}_{74}\text{H}_{62}\text{N}_{10}\text{O}_6 = 1186.4854$  m/z;  $[\text{M}+\text{H}]^+$  sper. = 1187.4878 m/z

### 2.4.5 Sintesi di [2]Rotassano -5' da asse 5

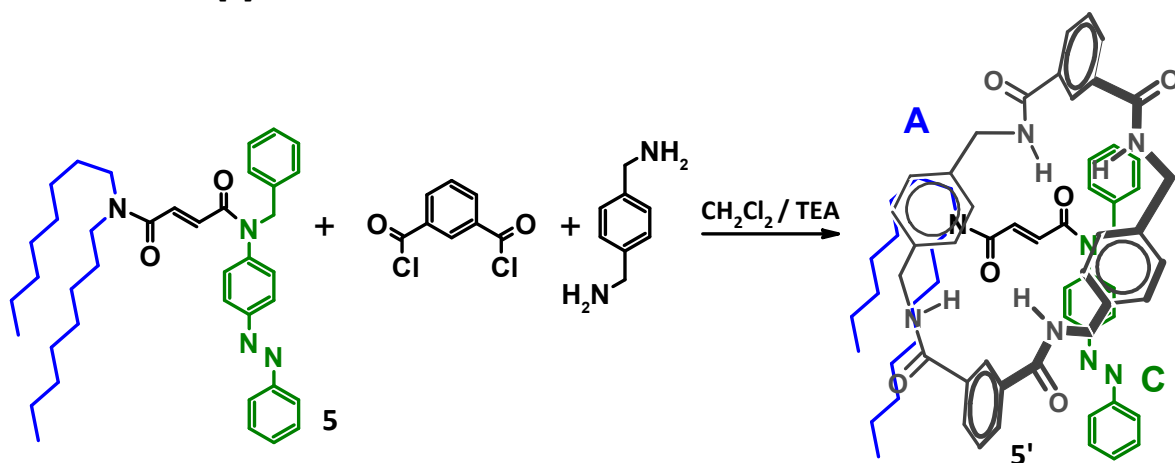


Figura 20 – Sintesi di [2]Rotassano -5' da asse 5.

In un pallone a 3 colli l'asse 5 (0.15 g, 0.25 mmol) e TEA (0.22 g, 2.00 mmol, V= 0.31 ml) sono stati solubilizzati in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro (50 ml). Separatamente sono state preparate: una soluzione di *p*-xilididiammina (0.15 g, 1.07 mmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro (20 ml) e una soluzione di *m*-isofthaloil dicloruro (0.21 g, 1.07 mmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro (20 ml) che sono state trasferite in due siringhe a parte e, tramite l'utilizzo di *syringe-pump*, sono state iniettate con una velocità di (10 ml/h) alla reazione sotto agitazione. Dopo 20 ore, la sospensione viene filtrata sotto vuoto e le acque madri vengono recuperate. Il solvente è stato evaporato sotto vuoto per ottenere il composto che è stato purificato tramite colonna cromatografica flash (fase eluente AcOEt: etere di petrolio = 1:1) ottenendo un prodotto come un **solido di colore arancione**.

**Resa:** 22.8 %

**<sup>1</sup>H NMR:** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 9.05 (s, 2H), 8.43 (d, J = 7.2 Hz, 5H), 8.17 (s, 2H), 7.97 – 7.84 (m, 5H), 7.72 (t, J = 7.2 Hz, 7H), 7.54 – 7.50 (m, 12H), 7.36 – 7.24 (m, 10H), 7.21- 7.14 (m, 15H), 7.04 – 6.99 (m, 25H), 6.06 (d, J = 14.5 Hz, 2H), 5.50 (d, J = 14.2 Hz, 2H), 5.32 – 5.19 (m, 10H), 4.91 (s, 5H), 2.96 – 2.86 (m, 5H), 1.73 – 1.70 (m, 12H), 1.55 (s, 20H), 1.21 (s, 20H), 0.89 – 0.74 (m, 7H), 0.29-0.26 (m, 5H).

**IR:** 3367, 3068, 2927, 2855, 1719, 1662, 1594, 1534, 1260 cm<sup>-1</sup>.

**MS (ESI-TOF):** [M+H]<sup>+</sup> calc. per C<sub>71</sub>H<sub>80</sub>N<sub>8</sub>O<sub>6</sub> = 1140.6201 m/z; [M+H]<sup>+</sup> sper. = 1141.6562 m/z

#### 2.4.6 Sintesi di [2]Rotassano-6' da asse 6

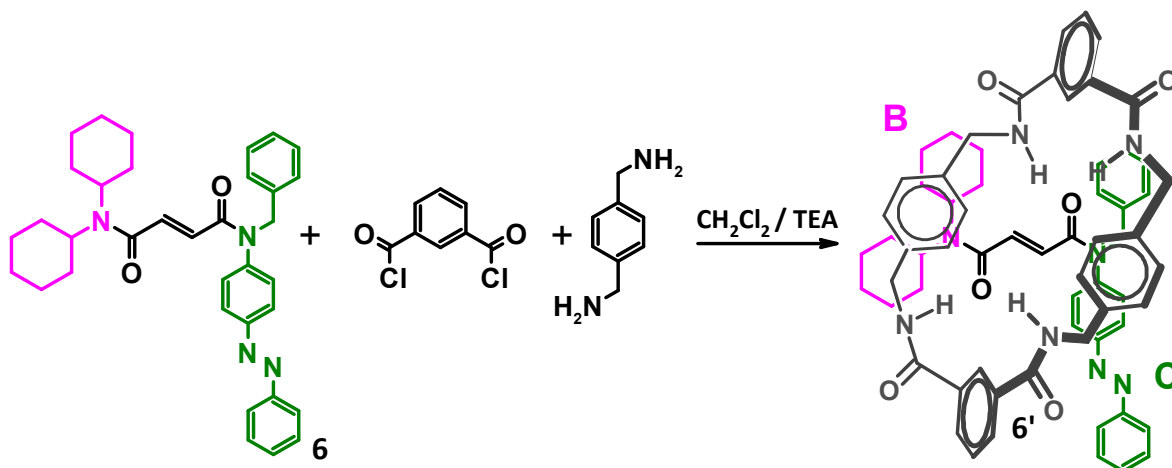


Figura 21 – Sintesi di [2]Rotassano-6' da asse 6.

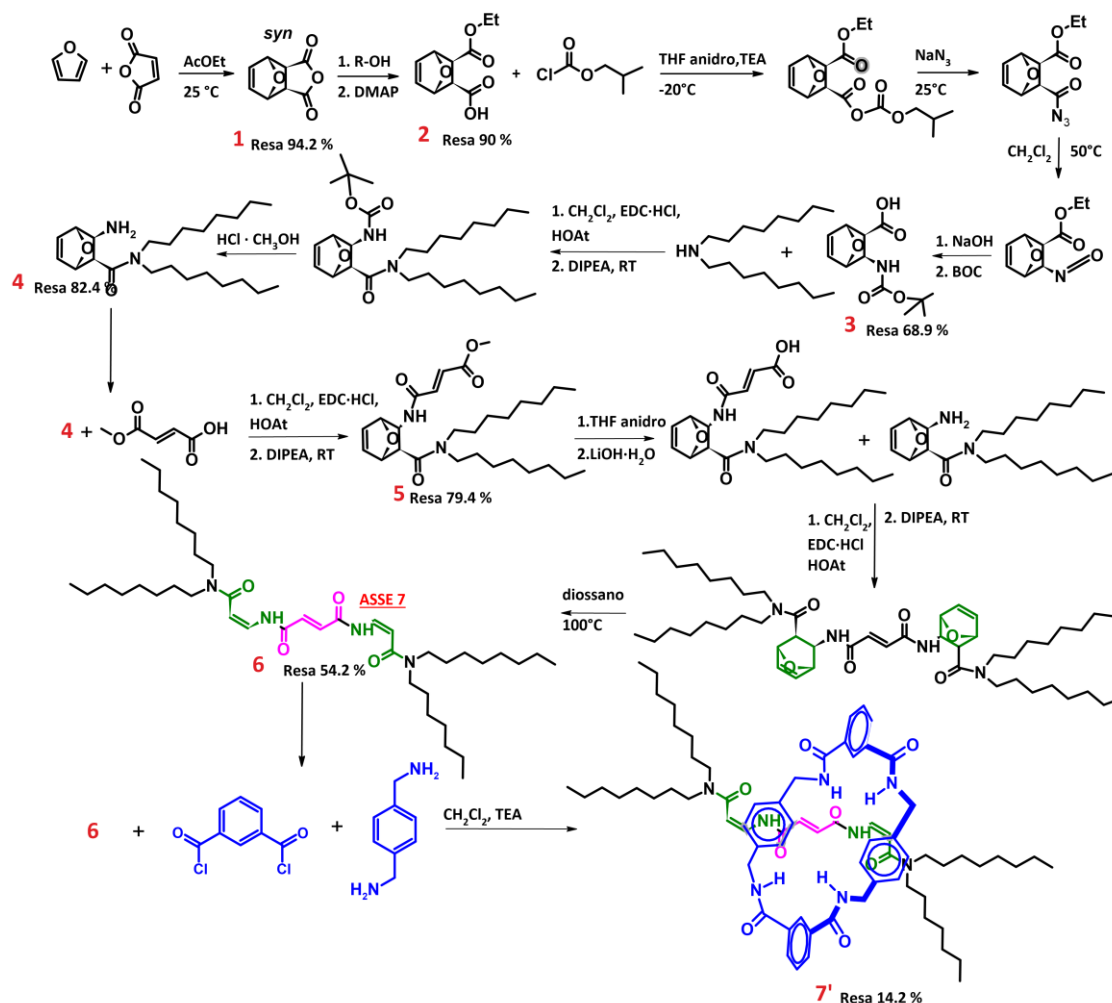
In un pallone a 3 colli l'asse 6 (0.27 g, 0.45 mmol) e TEA (0.36 g, 3.60 mmol, V= 0.51 ml) sono stati solubilizzati in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro (80 ml). Separatamente sono state preparate: una soluzione di *p*-xililidiammina (0,24 g ,1.80 mmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro (20 ml) e una soluzione di *m*-isofaloil dicloruro (0.41 g, 1.80 mmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro (20 ml) che sono state trasferite in due siringhe a parte e, tramite l'utilizzo di *syringe-pump*, sono state iniettate con una velocità di (10 ml/h) alla reazione sotto agitazione. Dopo 20 ore, la sospensione viene filtrata sotto vuoto e le acque madri vengono recuperate. Il solvente è stato evaporato sotto vuoto per ottenere il composto che è stato purificato tramite colonna cromatografica flash (fase eluente CHCl<sub>3</sub>: MeOH = 99:1) ottenendo un prodotto come un **solido di colore arancione**.

**Resa:** 18.9 %

**<sup>1</sup>H NMR** (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 9.05 (s, 1H), 8.43 (dd, J = 7.7, 1.4 Hz, 2H), 8.17 (s, 1H), 7.97 (dd, J = 7.8, 1.4 Hz, 2H), 7.93 – 7.86 (m, 1H), 7.77 – 7.67 (m, 2H), 7.62 – 7.51 (m, 4H), 7.40 – 7.33 (m, 3H), 7.21 (dd, J = 6.5, 3.0 Hz, 1H), 7.08 – 6.91 (m, 10H), 6.06 (d, J = 14.5 Hz, 1H), 5.50 (d, J = 14.6 Hz, 1H), 5.32 (ddd, J = 26.9, 14.2, 9.5 Hz, 4H), 4.91 (s, 2H), 3.59 (t, J = 14.6 Hz, 4H), 2.96 (d, J = 11.1 Hz, 2H), 2.34 – 2.11 (m, 3H), 1.89 – 1.66 (m, 5H), 1.64 – 1.47 (m, 10H), 1.38 – 1.08 (m, 3H), 1.03 – 0.64 (m, 0H), 0.55 – 0.09 (m, 2H).

**MS (ESI-TOF):** [M+H]<sup>+</sup> calc. per C<sub>67</sub>H<sub>68</sub>N<sub>8</sub>O<sub>6</sub> = 1081.5335 m/z; [M+H]<sup>+</sup> sper..= 1081.5294 m/z.

## 2.5 Sintesi di [2]Rotassano-7' da asse 7



Schema 1 – Sintesi di [2]Rotassano-7' da asse 7.

### Passaggio sintetico 1

L'anidride maleica (16 g, 180 mmol) è stata sciolta in AcOEt (80 ml) e il furano (16 ml, 252 mmol) è stato aggiunto sotto forte agitazione.

La soluzione è stata posta in 4 beute da 50 ml per favorire il processo di cristallizzazione e refrigerata per 4 settimane. Il prodotto è stato filtrato, lavato con acetato di etile e asciugato ottenendo il prodotto come un **solido di colore bianco**.

Resa: 94.2 %

$^1\text{H NMR}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.59 (t, 2H), 5.47 (t, 2H), 3.19 (s, 2H).

### Passaggio sintetico 2

Il composto **1** (10.2 g, 61.5 mmol) è stato sospeso in etanolo anidro (80 ml) ed è stata aggiunto DMAP (1.51 g, 0.12 mmol) come catalizzatore. La reazione è stata agitata a temperatura ambiente fino alla completa dissoluzione del composto **1**. Dopo aver evaporato il solvente la fase organica è stata lavata con  $\text{KHSO}_4$  5% saturo di NaCl ed anidrificata su  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro, filtrata, e successivamente concentrata sotto vuoto per ottenere il prodotto **solido di colore bianco**.

Resa: 90 %

$^1\text{H NMR}$ : (400 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  6.51 – 6.42 (m, 2H), 5.31 (t,  $J = 1.3$  Hz, 1H), 5.25 (t,  $J = 1.2$  Hz, 1H), 4.16 (q,  $J = 7.1$  Hz, 2H), 2.90 – 2.80 (m, 2H), 1.25 (t,  $J = 7.2$  Hz, 3H).

### Passaggio sintetico 3

L'isobutil-cloroformiato (11.1 ml, 85.5 mmol) è stato aggiunto a una miscela di **2** (11.1 g, 56.0 mmol) e TEA (15.2 ml, 108 mmol) in THF anidro (160 ml) e la soluzione è stata agitata a  $-20^\circ\text{C}$ . per 1 ora. Una soluzione di  $\text{NaN}_3$  (9.2 g, 138 mmol) in  $\text{H}_2\text{O}$  (160 ml) è stata aggiunta a  $-20^\circ\text{C}$  e la reazione è stata agitata per due ore a temperatura ambiente. La miscela è stata diluita con acqua ed estratta con AcOEt e la fase organica è stata lavata con  $\text{NaHCO}_3$  5% e Brine ed anidrificata su  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro, filtrata, e successivamente concentrata sotto vuoto per ottenere il prodotto che è stato ricristallizzato da acetato/esano e filtrato ottenendo un prodotto di colore bianco. Il prodotto così ottenuto è stato solubilizzato in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  anidro (120 ml) e la soluzione è stata agitata a  $50^\circ\text{C}$  con condensatore a riflusso per circa 24 ore. La conversione da azide a isocianato è stata seguita mediante spettroscopia NMR.

Il solvente è stato evaporato sotto vuoto per ottenere l'isocianato (7.9 g 38 mmol) che è stato solubilizzato in  $\text{CH}_3\text{CN}$  (55 ml) e la soluzione è stata basificata aggiungendo ad essa, una soluzione di NaOH 2 M fino a raggiungere un pH di circa 12. Alla soluzione basica è stata aggiunta una soluzione acida HCl 6 M fino a raggiungere pH 7. Successivamente è stata addizionata, alla soluzione acida, una soluzione di BOC (11 g 51 mmol) in  $\text{CH}_3\text{CN}$  (35 ml). La reazione è stata agitata per circa 24 ore ed è stata monitorata con TLC (fase eluente 18 ml di  $\text{CHCl}_3$  e 3 ml di  $\text{CH}_3\text{OH}$  + 4 gocce di acido acetico) - saggio ninidrina per rilevare un eventuale ammina libera. Dopo aver evaporato il solvente la fase organica è stata lavata con  $\text{KHSO}_4$  5% saturo di NaCl ed anidrificata su

Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro, filtrata, e successivamente concentrata sotto vuoto per ottenere il prodotto che è stato ricristallizzato da etilacetato/esano e filtrato ottenendo il prodotto come un **solido di colore bianco**.

**Resa:** 68.9 %

**<sup>1</sup>H NMR:** (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 6.52 – 6.34 (m, 2H), 5.43 (d, *J* = 10.1 Hz, 1H), 5.32 – 5.12 (m, 1H), 4.77 (d, *J* = 10.9 Hz, 1H), 4.40 – 4.02 (m, 1H), 2.93 – 2.68 (m, 1H), 1.53 – 1.38 (m, 9H).

#### **Passaggio sintetico 4**

Al composto **3** (1.39 g 5.44 mmol) sospeso in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (15 ml) è stato aggiunto HOAt (0.74 g, 5.44 mmol) e EDC·HCl (1.05 g 5.44 mmol). La soluzione è stata lasciata sotto agitazione a temperatura ambiente fino a solubilizzazione del composto **3** attivato. Una soluzione di diottilammina (1.34 g, 5.56 mmol, V 1.7 ml) e TEA (1.7 g, 16.4 mmol, V=2.3 ml) è stata aggiunta alla soluzione che è stata agitata per 24 ore a temperatura ambiente. Dopo aver evaporato il solvente la fase organica è stata lavata con KHSO<sub>4</sub> 5%, NaHCO<sub>3</sub> 5% e Brine ed anidrificata su Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro, filtrata, e successivamente concentrata sotto vuoto per ottenere il prodotto che è stato sciolto in HCl-CH<sub>3</sub>OH 3 M. Dopo aver evaporato il solvente la fase organica è stata lavata con KHSO<sub>4</sub> 5%, NaHCO<sub>3</sub> 5% e Brine ed anidrificata su Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro, filtrata, e successivamente concentrata sotto vuoto ottenendo il prodotto come un **solido di colore bianco**.

**Resa:** 82.4 %

**<sup>1</sup>H NMR:** (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 8.68 (s, 2H), 6.53 (s, 2H), 5.49 (s, 1H), 4.91 (s, 1H), 4.01 – 3.61 (m, 1H), 3.54 – 3.10 (m, 4H), 3.10 – 2.77 (m, 1H), 1.68 – 1.45 (m, 4H), 1.26 (d, *J* = 9.9 Hz, 20H), 0.86 (d, *J* = 5.8 Hz, 6H).

#### **Passaggio sintetico 5**

Il metil-monofumarato (0.25 g, 1.88 mmol) viene sospeso in CH<sub>3</sub>CN (6 ml) è successivamente vengono aggiunti HOAt (0.25 g, 1.88 mmol) e EDC·HCl (0.36 g, 1.88 mmol). La soluzione è stata lasciata sotto agitazione a temperatura ambiente fino a solubilizzazione del metil-monofumarato attivato. Alla reazione è stata aggiunta una soluzione del composto **4** (0.35 g, 0.92 mmol) in CH<sub>3</sub>CN (3ml) e TEA (0.58 g, 5.74 mmol, V = 0.82 ml) e la reazione è stata agitata per 2 ore a temperatura ambiente. Dopo aver evaporato il solvente la fase organica è stata lavata con KHSO<sub>4</sub> 5%, NaHCO<sub>3</sub> 5% e Brine ed anidrificata su Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro, filtrata, e successivamente concentrata sotto vuoto



ottenendo il prodotto che viene solubilizzato THF anidro (10 ml). Alla reazione è stata aggiunta una soluzione di LiOH · H<sub>2</sub>O (0.07 g, 1.55 mmol) in H<sub>2</sub>O (5 ml). La reazione è stata agitata per 20 minuti monitorandola tramite TLC (CHCl<sub>3</sub>/CH<sub>3</sub>OH 99:1 + 3 gocce di acido acetico. Dopo aver evaporato il solvente la fase organica è stata lavata con KHSO<sub>4</sub> 5%, e Brine ed anidrificata su Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro, filtrata, e successivamente concentrata sotto vuoto ottenendo il prodotto come un **solido di colore bianco**.

**Resa:** 79.4 %

**<sup>1</sup>H NMR:** (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 6.95 (d, *J* = 9.7 Hz, 1H), 6.89 – 6.74 (m, 2H), 6.57 – 6.41 (m, 2H), 5.14 (s, 1H), 4.77 (s, 1H), 4.57 (dd, *J* = 9.8, 7.6 Hz, 1H), 3.78 (s, 3H), 3.63 – 3.53 (m, 1H), 3.38 – 3.27 (m, 1H), 2.99 – 2.85 (m, 2H), 2.83 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 1.76 – 1.34 (m, 4H), 1.33 – 1.14 (m, 20H), 0.87 (s, 6H).

### **Passaggio sintetico 6**

Il composto **5** (0.30 g, 0.63 mmol) viene sospeso in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (8 ml) successivamente vengono aggiunti HOAt (0.09 g, 0.63 mmol) e EDC · HCl (0.15 g, 0.63 mmol). La soluzione è stata lasciata sotto agitazione a temperatura ambiente fino a solubilizzazione del composto **5** attivato. Alla reazione è stata aggiunta una soluzione del composto **4** (0.35 g, 0.92 mmol) in CH<sub>3</sub>CN (3 ml) e TEA (0.19 g, 1.55 mmol, *V* = 0.26 ml) e la reazione è stata agitata per 48 ore a temperatura ambiente. Dopo aver evaporato il solvente la fase organica è stata lavata con KHSO<sub>4</sub> 5%, NaHCO<sub>3</sub> 5% e Brine e successivamente è stata anidrificata con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro. Il solvente è stato evaporato sotto vuoto per ottenere il composto che purificato tramite colonna cromatografica flash (fase eluente CHCl<sub>3</sub>) ottenendo il prodotto che viene solubilizzato in diossano (15 ml). La soluzione viene posta a riflusso a 100°C con condensatore a bolle 24 ore. La reazione è stata monitorata con TLC (fase eluente 19 ml di CHCl<sub>3</sub> e 1 ml di CH<sub>3</sub>OH + 3 gocce di acido acetico) e successivamente, il solvente è stato evaporato sotto vuoto per ottenere il prodotto come un **olio di colore giallo**.

**Resa:** 54.2 %

**<sup>1</sup>H NMR:** (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 12.01 (d, *J* = 10.4 Hz, 2H), 7.52 – 7.41 (m, 2H), 7.06 (s, 2H), 5.43 (d, *J* = 9.2 Hz, 2H), 3.45 – 3.19 (m, 8H), 1.56 (dp, *J* = 14.5, 7.1 Hz, 8H), 1.34 – 1.20 (m, 40H), 0.87 (h, *J* = 3.1 Hz, 12H).

**<sup>13</sup>C NMR:** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 167.81, 161.62, 135.17, 134.06, 97.38, 66.92, 48.46, 46.53, 31.63, 31.58, 30.75, 29.39, 29.25, 29.10, 29.08, 29.02, 27.87, 26.96, 26.71, 22.45, 13.90.

## Passaggio sintetico 7

Il composto **6** (0.10 g, 0.15 mmol), trasferito in un pallone a 3 colli, viene solubilizzato in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro (20 ml) e alla soluzione viene aggiunta TEA (1.22 g, 1.21 mmol, V=0.12 ml). Separatamente sono state preparate: una soluzione di *p*-xililien diammina (0.07 g 0.60 mmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro (20 ml) e una soluzione di *m*-isoftaloil dicloruro (0.09 g, 0.60 mmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro (20 ml) che sono state trasferite in due siringhe a parte e, tramite l'utilizzo di *syringe-pump*, sono state iniettate con una velocità di (5 ml/h) alla reazione sotto agitazione. Dopo 48 ore, la sospensione viene filtrata sotto vuoto e le acque madri vengono recuperate. Il solvente è stato evaporato sotto vuoto per ottenere il composto che è stato purificato tramite colonna cromatografica flash (fase eluente CHCl<sub>3</sub>) ottenendo un prodotto che è stato sospeso in etere dietilico. Attraverso centrifugazione è stato recuperato il prodotto come un **solido di colore bianco**.

**Resa:** 14.2%

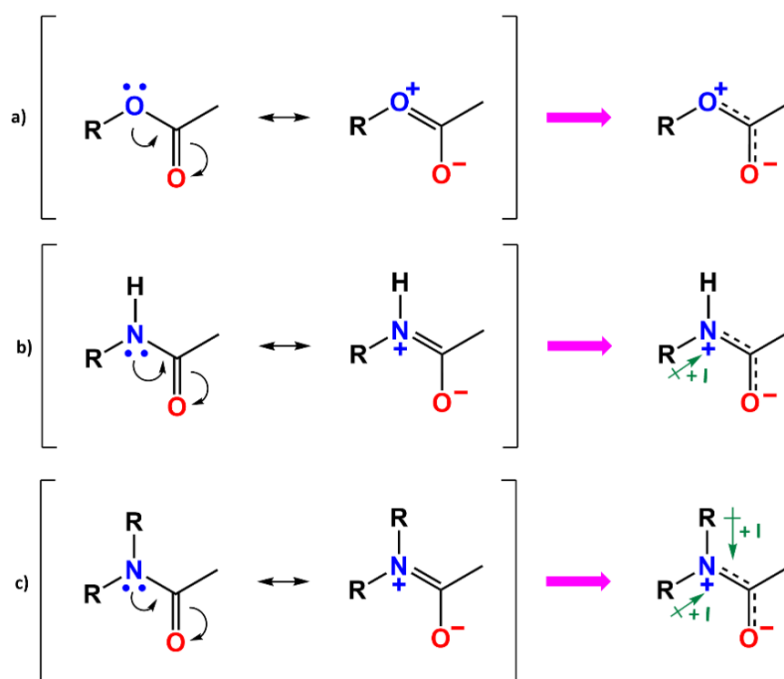
**<sup>1</sup>H NMR:** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 11.86 (d, *J* = 10.2 Hz, 2H), 8.39 (d, *J* = 1.8 Hz, 2H), 8.22 (s, 4H), 7.66 – 7.56 (m, 6H), 7.02 (s, 10H), 6.14 (s, 2H), 5.41 (d, *J* = 9.1 Hz, 2H), 4.46 (d, *J* = 5.1 Hz, 8H), 3.23 (dt, *J* = 27.3, 7.8 Hz, 8H), 1.64 – 1.54 (m, 4H), 1.49 – 1.39 (m, 4H), 1.37 – 1.09 (m, 40H), 0.92 – 0.83 (m, 12H).

**<sup>13</sup>C NMR:** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 167.63, 166.72, 161.74, 137.25, 134.43, 134.19, 132.41, 131.51, 129.18, 128.94, 123.17, 98.54, 48.65, 46.86, 43.84, 31.56, 31.53, 29.48, 29.10, 27.87, 26.91, 26.69, 22.42, 13.88.

### 3. RISULTATI E DISCUSSIONE

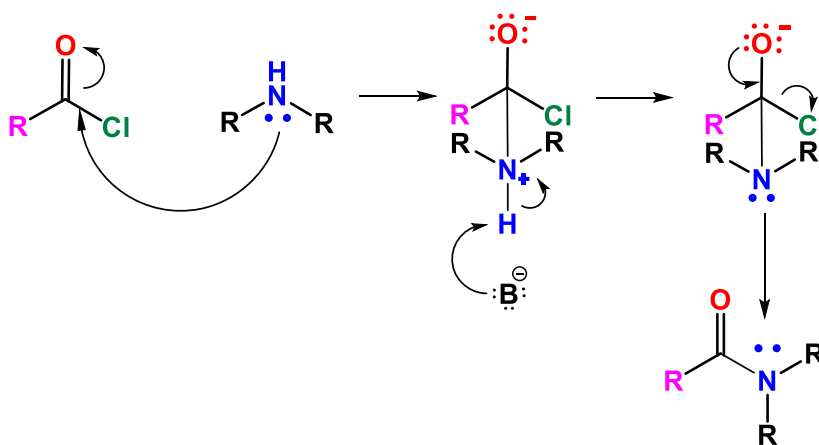
#### 3.1. Sintesi indipendente dei composti che si vorranno ottenere tramite la sintesi multicomponente di una libreria di [2]Rotassani

Come premessa, per la sintesi di [2]Rotassani mediante il metodo del "clipping", il ruolo dell'asse risulta cruciale per la formazione del complesso selezionato tramite *self-sorting*. Nel caso specifico della formazione di questa tipologia di rotassani il legame ad idrogeno gioca un ruolo fondamentale nel templare la formazione del complesso supramolecolare tramite selezione fra le due specie più complementari. Il carbonile nella stazione contenuta nell'asse funge da accettore, mentre le ammidi contenute nel macrociclo in via di formazione fungono da donatori. Pertanto poter attivare la funzione accettrice, il carbonile, nel suo carattere di accettore potrebbe risultare in una maggiore stabilità del complesso formato via *self-sorting* e pertanto portar poi ad una maggiore efficienza nella reazione di *clipping* e perciò la formazione finale del rotassano. Dallo **Schema 2-a**, si nota come la delocalizzazione della carica negli esteri genera una carica positiva sull'ossigeno. La perdita di un elettrone da un atomo di ossigeno porta a una configurazione elettronica  $2p^3$ , energeticamente sfavorevole, aumentando così la reattività chimica dell'ossigeno.



**Schema 2** - Schema delocalizzazione carica a) esteri b) ammidi secondarie c) ammidi terziarie.

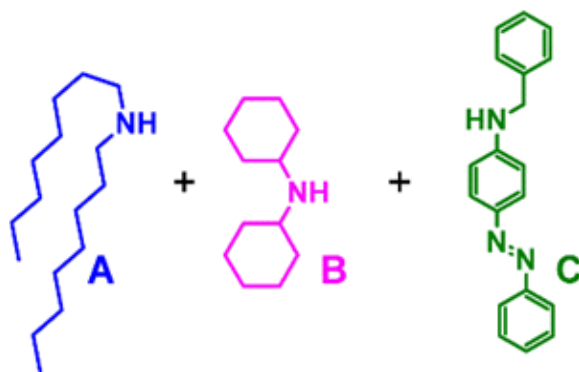
In letteratura erano presenti diversi assi, come quelli sintetizzati ad esempio da Leigh e Evans, che contenevano esclusivamente degli stopper ammidici secondari. Dalla **Schema2-b** si vede come la delocalizzazione della carica del gruppo ammidico produce una carica positiva sull'atomo di azoto, che viene stabilizzata dalla presenza gruppo **R** ma che non viene neutralizzata completamente, a causa della presenza dell'idrogeno ammidico che non esercita un effetto induttivo significativo sul carbonio. Date queste premesse, nel seguente lavoro di tesi, sono state scelte le ammidi terziarie come candidati migliori per la sintesi di [2]Rotassani **Schema 2-c** in quanto i due gruppi "R" stabilizzano notevolmente la carica positiva sull'azoto. Gli assi sono stati sintetizzati attraverso un processo di acilazione, come illustrato nella **Schema 3**.



**Schema 3** - Schema di reazione – acilazione.

---

In particolare, sono state proposte tre ammine di partenza per la sintesi degli stopper e per la concomitante attivazione del carattere accettore dei carbonili (**Figura 22**). L'ammina **A** (diottilammina) è stata scelta per aumentare la solubilità dell'asse mentre le ammine **B** (dicloesilammina) e **C** (N-benzil, 4-aminoazobenene) per cercare di dimostrare sperimentalmente la formazione del macrociclo tramite *clipping* a discapito di effetti sterici.

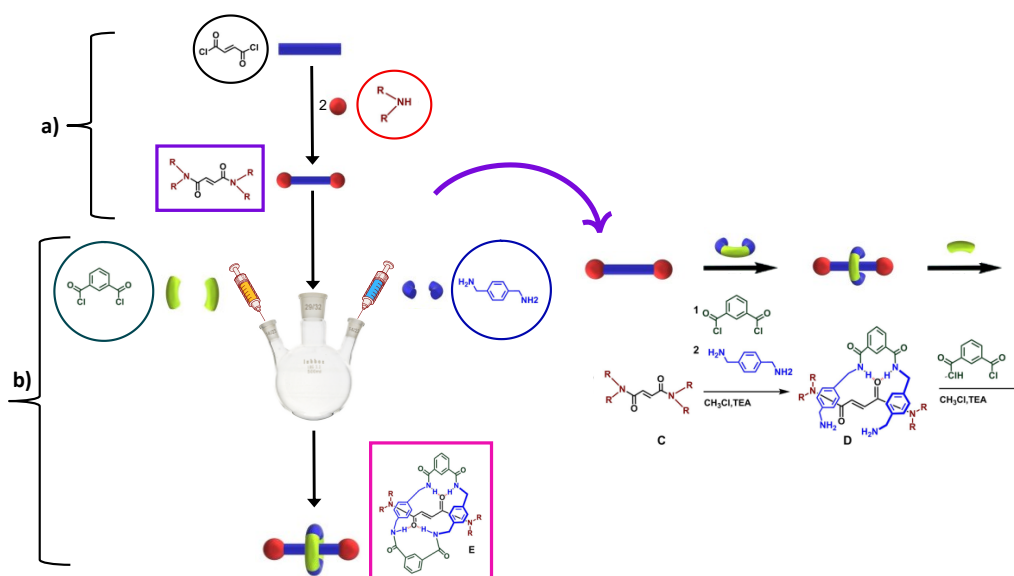


**Figura 22** – Ammine utilizzate per la sintesi di una miscela di [2]Rotassani A) diottilammina B) dicicloesilammina C) N-benzil, 4-aminoazobenene.

Data l'adozione di stopper ammidici terziari ingombranti, si è optato per l'utilizzo del fumaril dicloruro in sostituzione dell'acido fumarico. Il cloruro acilico mostra una maggiore reattività, facilitando la formazione di legami covalenti con maggiore efficienza e selettività, riducendo così il rischio di formazione di sottoprodotti indesiderati.

Lo schema sintetico per la sintesi indipendente degli assi e dei relativi rotassani è riassunto nella **Figura 23** e può essere diviso in due parti:

- Sintesi degli assi mediante acilazione.
- Sintesi dei rotassani mediante *clipping* utilizzando la stazione fumarica come template.



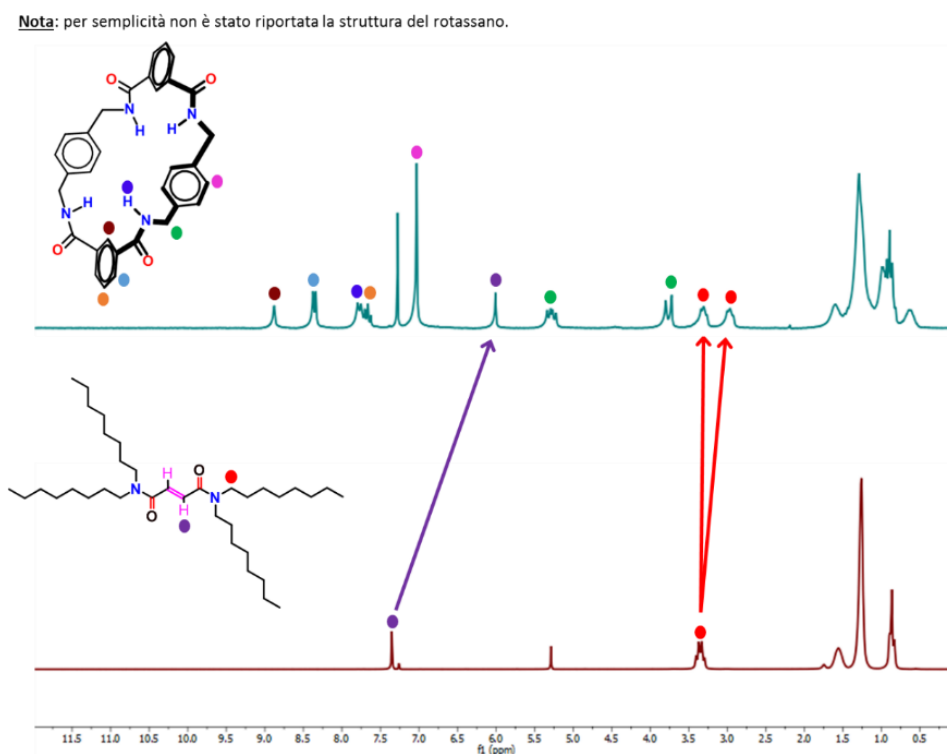
**Figura 23** - Schema generale sintesi [2]Rotassani mediante *clipping*: a) Formazione asse b) Sintesi rotassano.

### 3.2 Confronto assi e corrispondenti [2]Rotassani

Vengono caratterizzati i sei assi e i sei rispettivi [2]Rotassani, ottenuti attraverso la sintesi indipendente, per avere gli standard da iniettare in HPLC in modo da avere dei riferimenti precisi sull'andamento della sintesi multicomponente. La caratterizzazione è stata effettuata mediante  $^1\text{H-NMR}$  e in particolare si mette in risalto il confronto tra gli assi e i [2]Rotassani corrispondenti.

#### 3.2.1 Confronto asse 1 - [2]Rotassano-1'

In **Figura 24** viene mostrato il confronto tra gli spettri  $^1\text{H-NMR}$  dell'asse 1 e del suo corrispettivo [2]Rotassano-1'. Di particolare interesse è lo spostamento chimico dei protoni fumarici (evidenziato dalla freccia viola in **Figura 24**), che subisce una variazione di chemical-shift da 7.30 ppm (nell'asse 1) a 6.1 ppm in 1'. Questo spostamento è dovuto ai campi magnetici locali generati dalle correnti di anello aromatiche della ruota che schermano i protoni fumarici facendoli risuonare a valori di chemical-shift più bassi e ciò conferma che il macrociclo si posiziona sulla stazione fumarica. Lo stesso fenomeno (schermatura dovuta a correnti di anello aromatiche), anche se meno pronunciato, è osservabile per i protoni  $\text{CH}_2$  alchilici direttamente legati all'azoto ammidico della diottilammina (indicati in rosso in **Figura 24**). L'identificazione e assegnazione dei protoni aromatici, benzilici e ammidici del macrociclo è stata possibile grazie al confronto con anelli tetrammidici presenti in letteratura su sistemi simili.

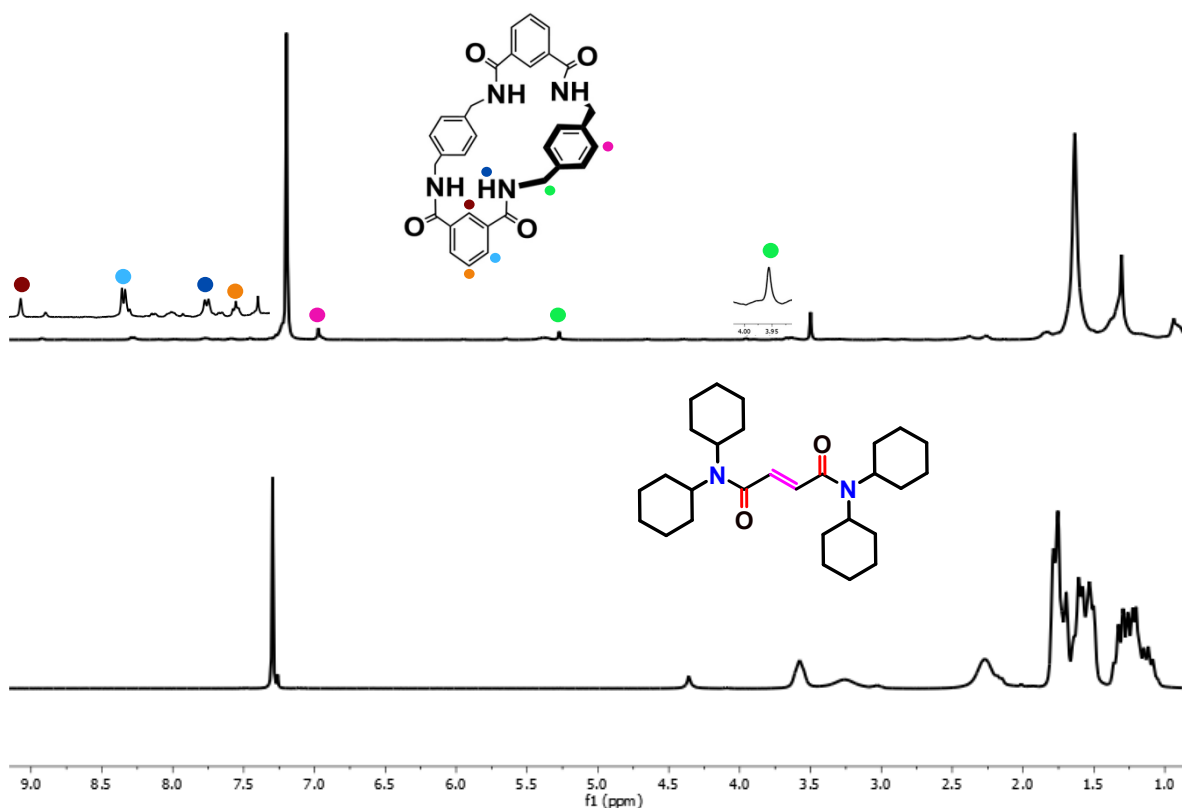


**Figura 24** - Confronto spettri  $^1\text{H-NMR}$  dell'asse 1 e relativo [2]Rotassano 1'.

### 3.2.2 Confronto asse 2 - [2]Rotassano-2'

In **Figura 25** viene mostrato il confronto tra gli spettri  $^1\text{H-NMR}$  dell'asse **2** e del suo corrispettivo **[2]Rotassano-2'**. Come noto dalla letteratura Il rotassano **2'** risulta insolubile in quasi la totalità dei solventi deuterati ma nel seguente lavoro di tesi si è provato a solubilizzare **2'** in  $\text{DMSO-d}_6$  e a registrarne uno spettro. L'eccessivo rumore, causato dalla scarsa solubilità del Rotassano **2'**, non ha permesso l'assegnazione dei protoni fumarici e di quelli più rilevanti dell'asse. Gli unici segnali che sono stati assegnati sono quelli relativi ai segnali del macrociclo. Gli spettri sovrapposti sono visibili in **Figura 25**.

**NOTA IMPORTANTE:** non si evidenzia lo stacking ma spettri singoli sovrapposti



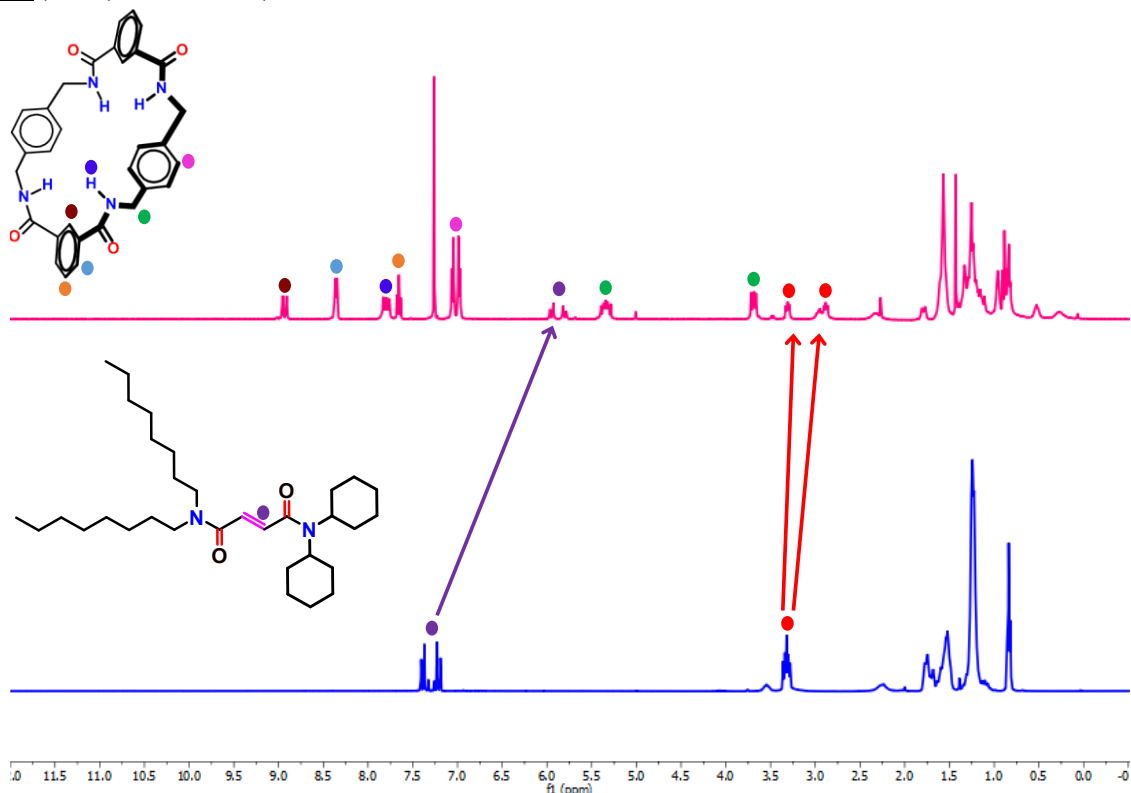
**Figura 25** - Confronto spettri  $^1\text{H-NMR}$  dell'asse 2 e relativo **[2]Rotassano 2'**.

### 3.2.3 Confronto asse3 - [2]Rotassano-3'

In **Figura 26** viene mostrato il confronto tra gli spettri  $^1\text{H-NMR}$  dell'asse **3** e del suo corrispettivo **[2]Rotassano-3'**. Si nota, nuovamente uno spostamento chimico dei protoni fumarici (evidenziato dalla freccia viola in **Figura 26**), da 7.30 ppm (nell'asse **3**) a 6.1 ppm in **3'** a causa dei campi

magnetici locali generati dalle correnti di anello aromatiche della ruota. Quest'ultime sono responsabili dello splitting dei protoni **CH<sub>2</sub> alchilici** (cicloesilici e ottilici) direttamente legati all'azoto amidico (indicati in rosso in **Figura 26**).

**Nota:** per semplicità non è stato riportata la struttura del rotassano.



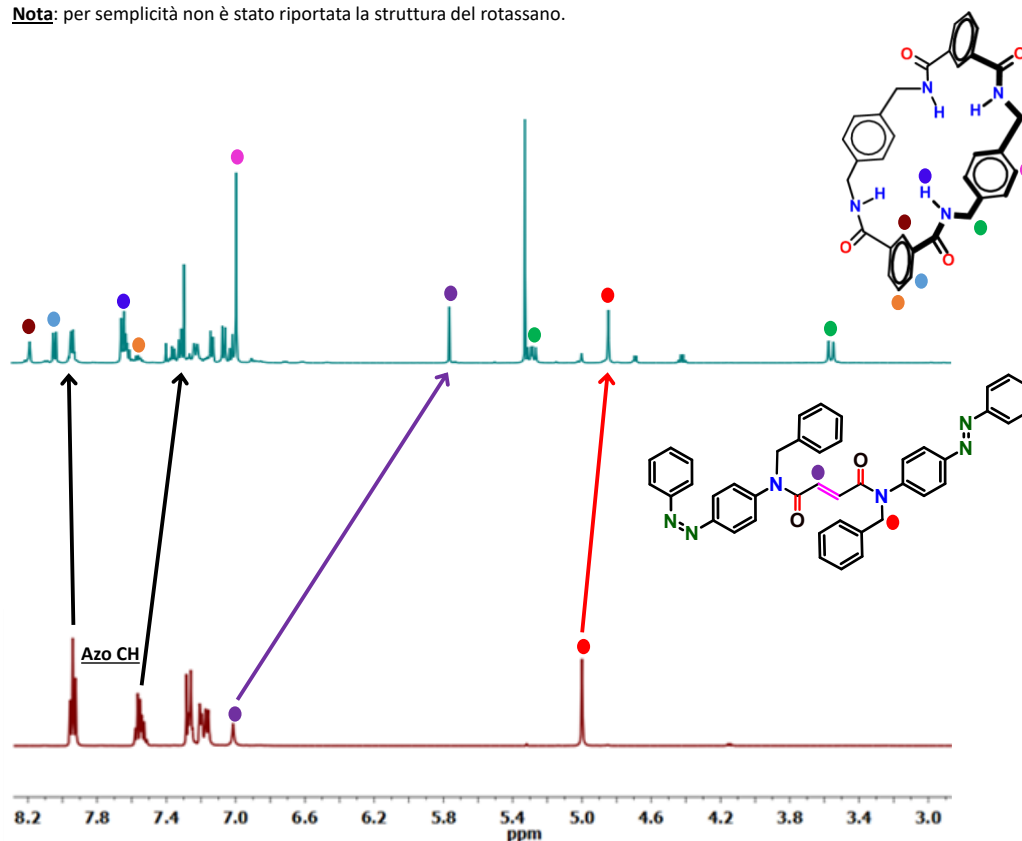
**Figura 26** – Confronto spettri  $^1\text{H-NMR}$  dell'asse 3 e relativo [2]Rotassano 3'.

### 3.2.4 Confronto asse 4 - [2]Rotassano-4'

In **Figura 27** viene mostrato il confronto tra gli spettri  $^1\text{H-NMR}$  dell'asse 4 e del suo corrispettivo [2]Rotassano-4'. In particolare, si nota uno spostamento significativo, in termine di chemical-shift, dei protoni fumarici, che passano da 7.1 ppm nell'asse 4 a 5.7 ppm per il rotassano 4' a causa dei campi magnetici locali forniti dalle correnti di anello aromatiche. Si riscontra come i protoni **CH aromatici** dell'azobenzene vengono influenzati dalla presenza della tetrammide subendo una serie complessa di spostamenti chimici. I protoni **H benzilici** (in rosso **Figura 27**) appartenenti all'azobenzene subiscono uno spostamento, seppur modesto da 5 ppm (nel caso dell'asse 4) a 4.8 ppm (nel rotassano 4').



**Nota:** per semplicità non è stato riportata la struttura del rotassano.

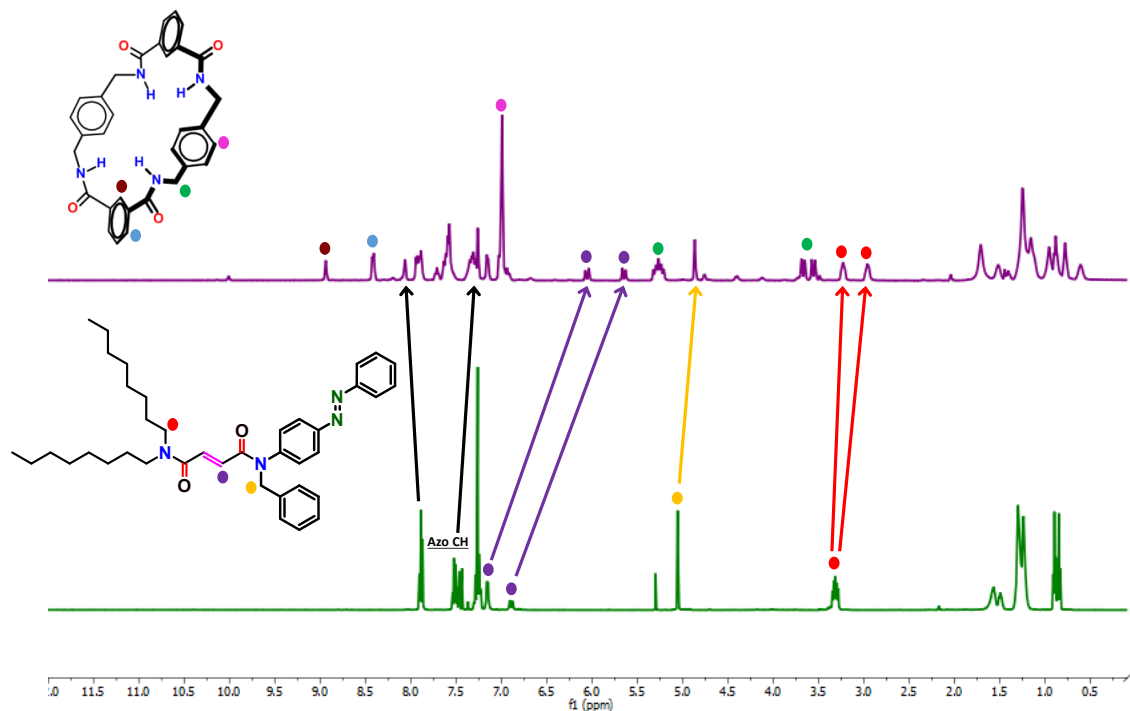


**Figura 27** – Confronto spettri <sup>1</sup>H-NMR dell'asse 4 e relativo [2]Rotassano 4'.

### 3.2.5 Confronto asse 5 - [2]Rotassano-5'

In **Figura 28** viene mostrato il confronto tra gli spettri <sup>1</sup>H-NMR dell'asse 5 e del suo corrispettivo [2]Rotassano-5'. La presenza di ammidi miste complica lo spettro <sup>1</sup>H-NMR di 5' rendendo difficile l'assegnazione di ciascun picco al corrispondente protone ma non impedisce di identificare i segnali caratteristici del macrociclo e degli spostamenti chimici più importanti. In particolare è possibile notare lo spostamento, in termine di chemical-shift, dei doppietti dei protoni fumarici che passano da 7.2 e 2.9 ppm per l'asse 5 a 6.1 e 5.7 ppm per il rotassano 5' (freccie viola nella **Figura 28**). Si nota anche, come i protoni dell'unità azobenzenica sembrano fortemente influenzati dalla presenza del macrociclo (freccie nere nella **Figura 28**). Le correnti di anello indotte dalle unità aromatiche del macrociclo splitta i segnali dei protoni CH alchilici direttamente legati all'azoto ammidico dell'unità diottilica (freccie rosse nella **Figura 28**) e, in generale, per tutti i protoni delle due catene alchiliche. Seppur modestamente si riscontra un chemical-shift dei protoni metilenici dell'unità benzilica (freccia gialla nella **Figura 28**).

**Nota:** per semplicità non è stato riportata la struttura del rotassano.

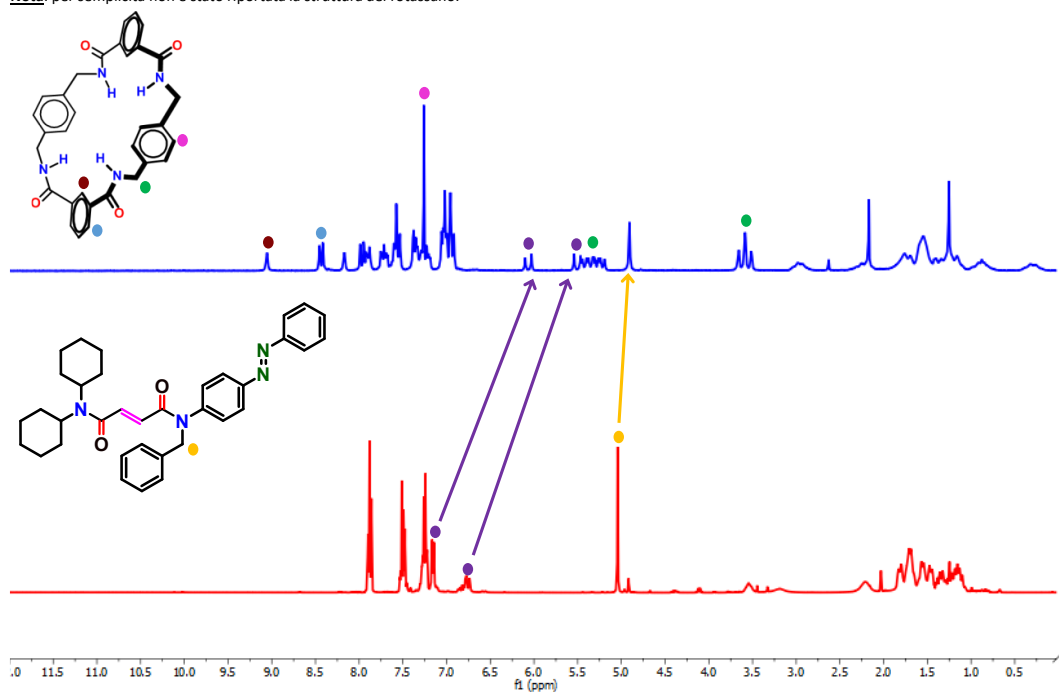


**Figura 28** – Confronto spettri <sup>1</sup>H-NMR dell'asse 5 e relativo [2]Rotassano 5'.

### 3.2.6 Confronto asse 6 - [2]Rotassano-6'

In **Figura 29** viene mostrato il confronto tra gli spettri <sup>1</sup>H-NMR dell'asse 6 e del suo corrispettivo [2]Rotassano-6'. Contrariamente al rotassano misto con la diottilammina, la presenza del dicloesile rende meno solubile il composto complicando ulteriormente lo spettro <sup>1</sup>H-NMR. Le uniche assegnazioni possibili sono, a parte qualche segnale del macrociclo, quella relativa ai doppietti dei protoni fumarici che si spostano da chemical-shift di 7.2 e 6.7 ppm per l'asse 6 a 6.1 e 5.5 ppm per il rotassano 6' (freccie viola nella **Figura 29**) e quella relativa ai protoni metilenici dell'unità benzilica, (freccia gialla nella **Figura 29**). In analogia al rotassano 5' i protoni dell'unità azobenzenica vengono influenzati dalla presenza del macrociclo.

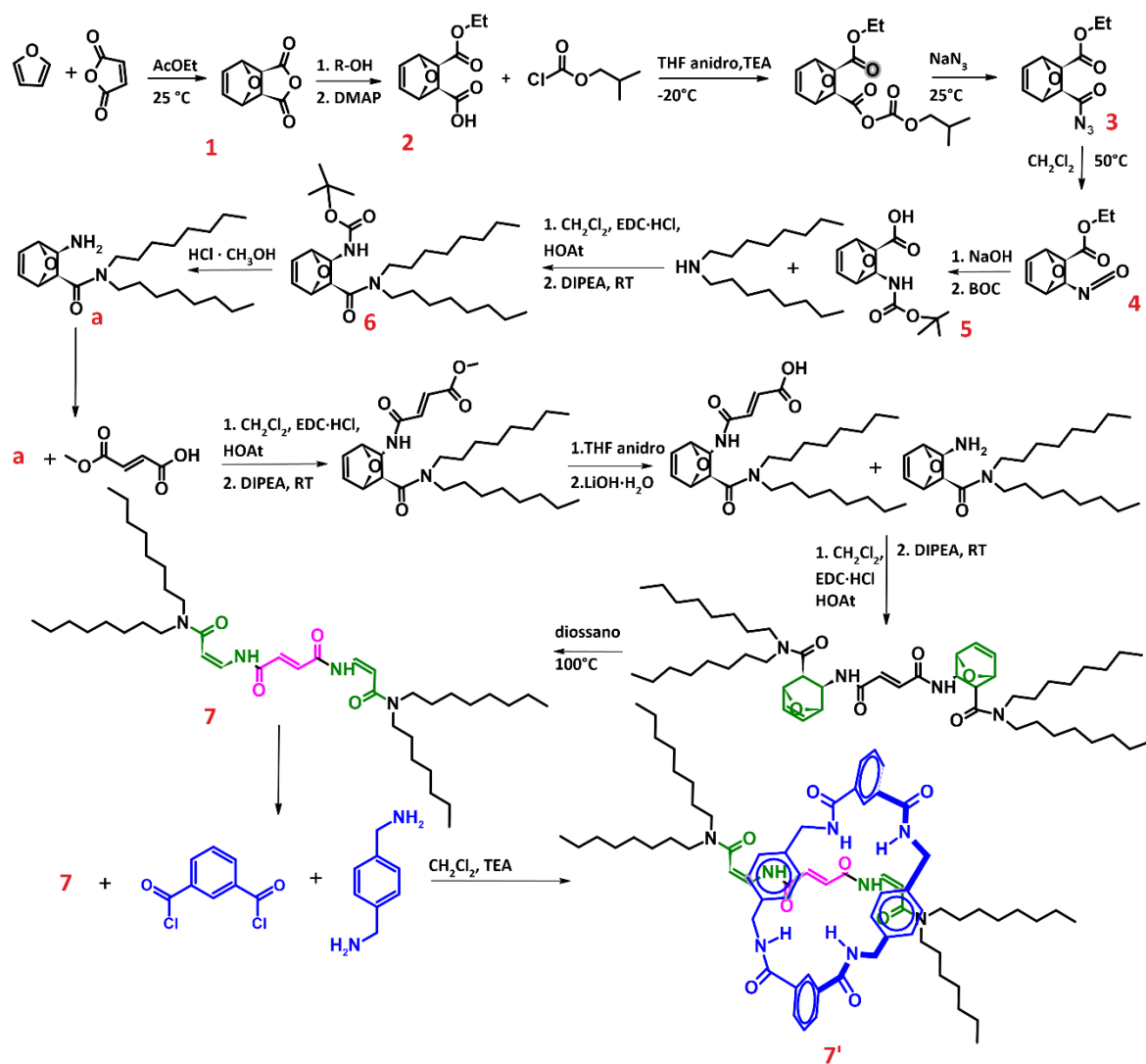
**Nota:** per semplicità non è stato riportata la struttura del rotassano.



**Figura 29** – Confronto spettri <sup>1</sup>H-NMR dell'asse 6 e relativo [2]Rotassano 6'.

### 3.3 Sintesi Rotassano con tre stazioni insature, una fumarica e due $\alpha,\beta$ peptidiche

Nel seguente lavoro di sintesi è stato sintetizzato e caratterizzato un nuovo tipo di Rotassano con tre stazioni insature, una fumarica e due  $\alpha,\beta$  peptidiche insature. La sintesi consiste in otto passaggi sintetici che verranno discussi in questa sezione accorpando le caratterizzazioni  $^1\text{H-NMR}$  degli intermedi e dei composti finali sintetizzati.



**Schema 4** – Step sintetici sintesi di un [2]Rotassano contenente una stazione fumarica e due  $\alpha,\beta$  peptidiche insature.

### 3.3.1 Sintesi di composto 1

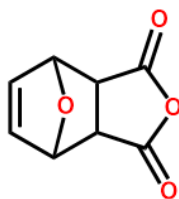
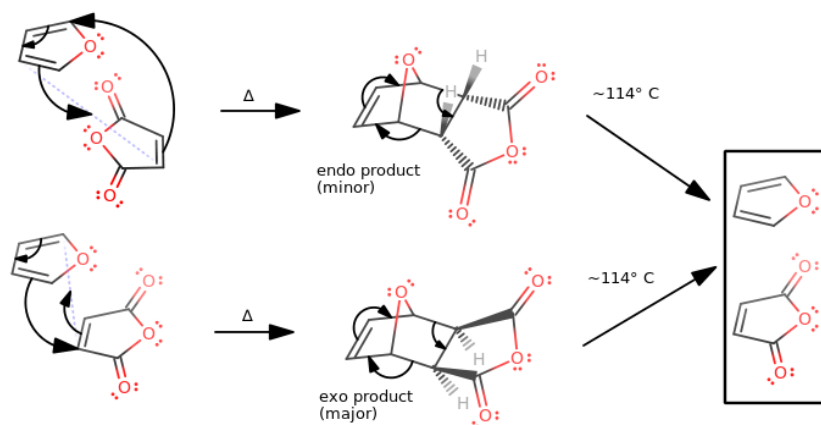


Figura 30 - Struttura molecolare del composto 1.



Schema 5 - Sintesi di composto 1.

Per sintetizzare il **composto 1** si procede attraverso una Diels-Alder alla reazione tra l'**anidride maleica** e il **furano**. La reazione avviene secondo due step:

- **Orientamento e allineamento:** Il furano e l'anidride maleica si orientano in modo tale che i doppi legami del furano siano allineati con il doppio legame dell'anidride maleica.
- **Formazione dell'adotto ciclico:** I doppi legami si rompono e si formano due nuovi legami  $\sigma$  tra i carboni del diene (furano) e i carboni del dienofilo (anidride maleica), risultando nella formazione di un adotto ciclico.

La reazione avviene attraverso un passaggio sincronizzato di 6 elettroni, che comporta la formazione simultanea di due legami carbonio-carbonio  $\sigma$  e la rottura di due legami  $\pi$ . Rispetto ad altre Diels-Alder questa reazione avviene a temperatura ambiente per una serie di ragioni:

1. **Elevata reattività dei reagenti:** Nell'anidride maleica il doppio legame è attivato dai due gruppi carbonilici elettron-attrattori che aumentando l'elettronegatività del doppio legame, rendendolo più suscettibile all'attacco nucleofilo. Invece, nel furano la delocalizzazione degli elettroni nell'anello eterociclico rende i due doppi legami coniugati reattivi.
2. La **struttura planare** dell'anidride maleica e la **flessibilità** del furano facilitano il corretto allineamento dei doppi legami.

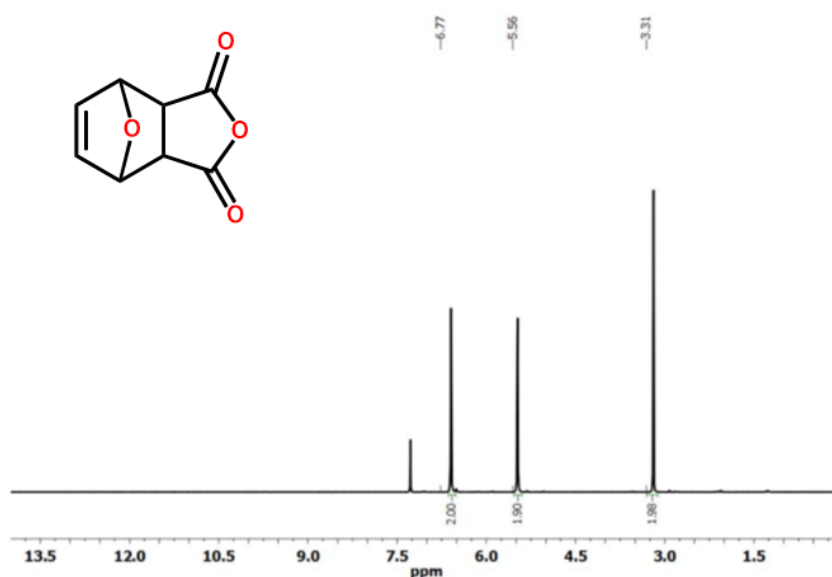


Figura 31 – Spettro <sup>1</sup>H-NMR composto 1.

---

### 3.3.2 Sintesi di composto 2

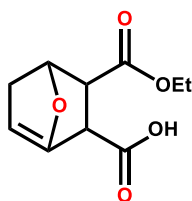
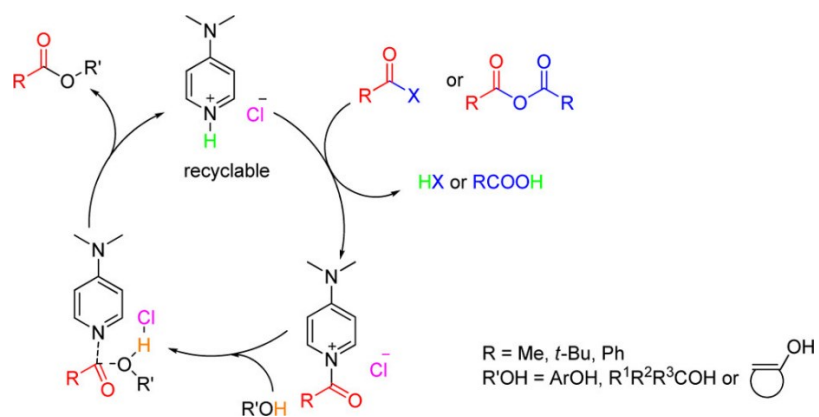
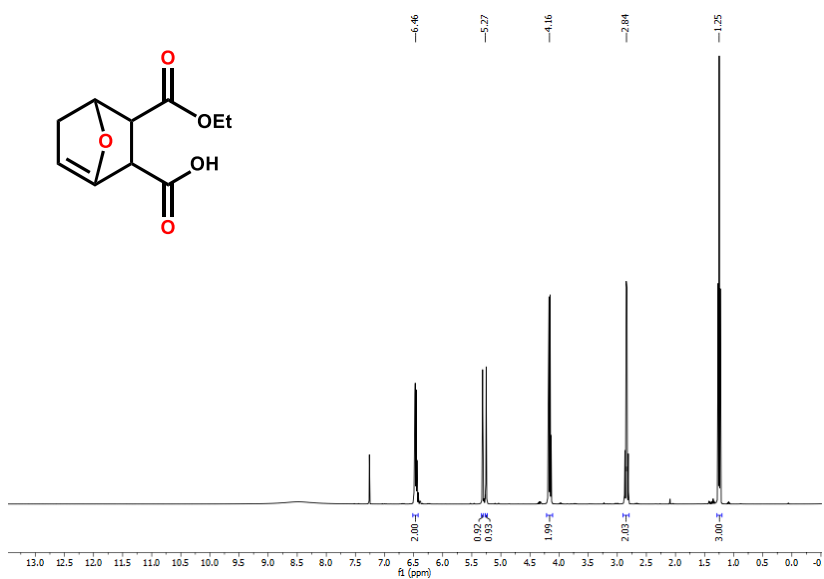


Figura 32 - Struttura molecolare del composto 2.



**Schema 6** - Sintesi di composto 1.<sup>11</sup>

Per sintetizzare il **composto 2** si utilizza una reazione di attivazione utilizzando DMAP (4-(di-metil ammino)piridina) che in presenza di alcol forma l'estere corrispondente. La DMAP reagisce con l'anidride (composto 1) aprendo il ciclo e formando un complesso attivato che sarà più suscettibile all'attacco nucleofilo da parte dell'alcol. L'alcol attacca il carbonio elettrofilo portando alla formazione di un estere e liberando DMAP che sarà così disponibile per un altro ciclo catalitico. Sebbene questi siano gli step principali, il meccanismo effettivo non è stato chiaramente identificato.<sup>11</sup>



**Figura 33** – Spettro <sup>1</sup>H-NMR composto 2.

### 3.3.3 Sintesi di composto 3

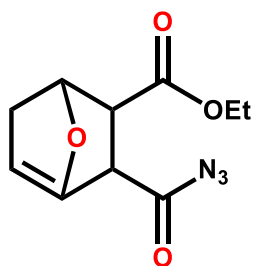
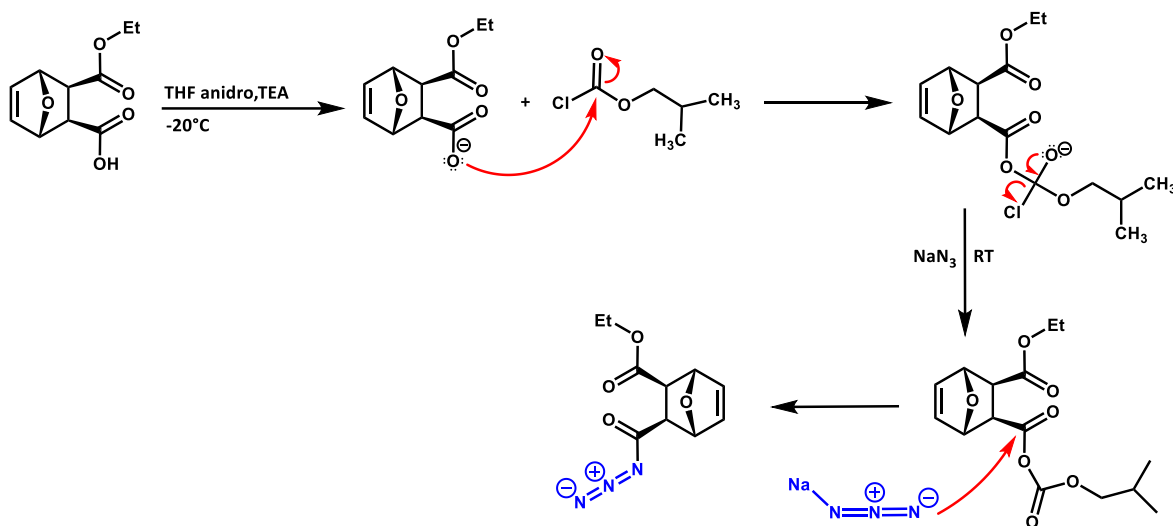


Figura 34 - Struttura molecolare del composto 3.



Schema 7 - Sintesi del composto 3.

Per la sintesi del **composto 3**, il primo step è quello di attivare il gruppo carbossilico formando un estere che sarà sostituito dall'azide attraverso una sostituzione nucleofila. A questo scopo si forma il carbossilato che reagendo con isobutil cloroformiato forma il corrispettivo estere che viene attaccato successivamente da NaN<sub>3</sub> liberando Cl<sup>-</sup>. L'attacco dell'azide avviene preferenzialmente con il carbonile più vicino al 7-Oxabicyclo[2.2.1]hept-2-ene in quanto la parziale carica positiva del carbonio carbonilico è maggiore rispetto l'altro carbonile.



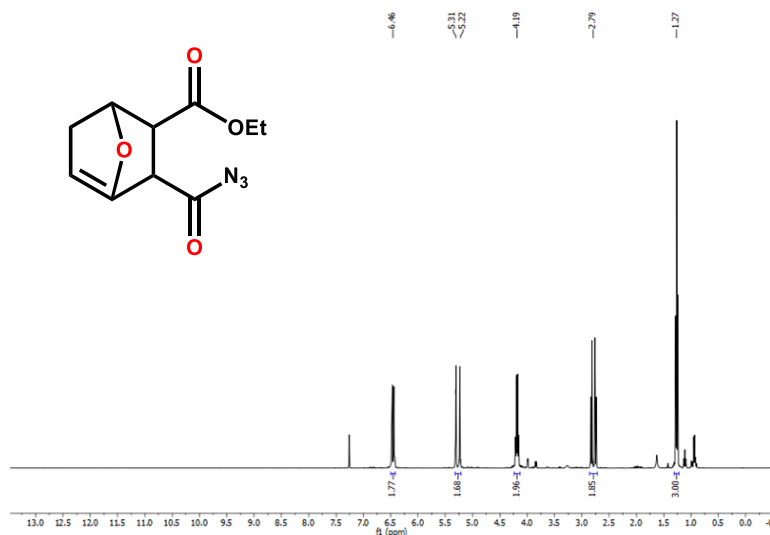


Figura 35 – Spettro  $^1\text{H-NMR}$  composto 3

### 3.3.4 Sintesi di composto 4

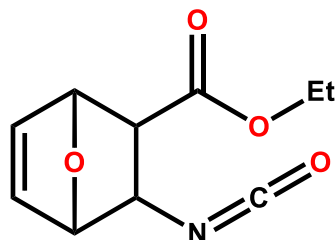
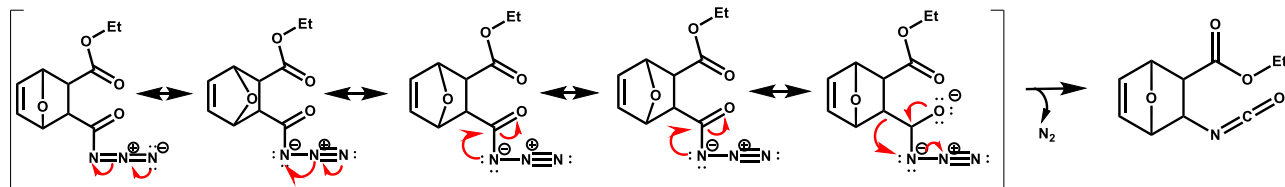
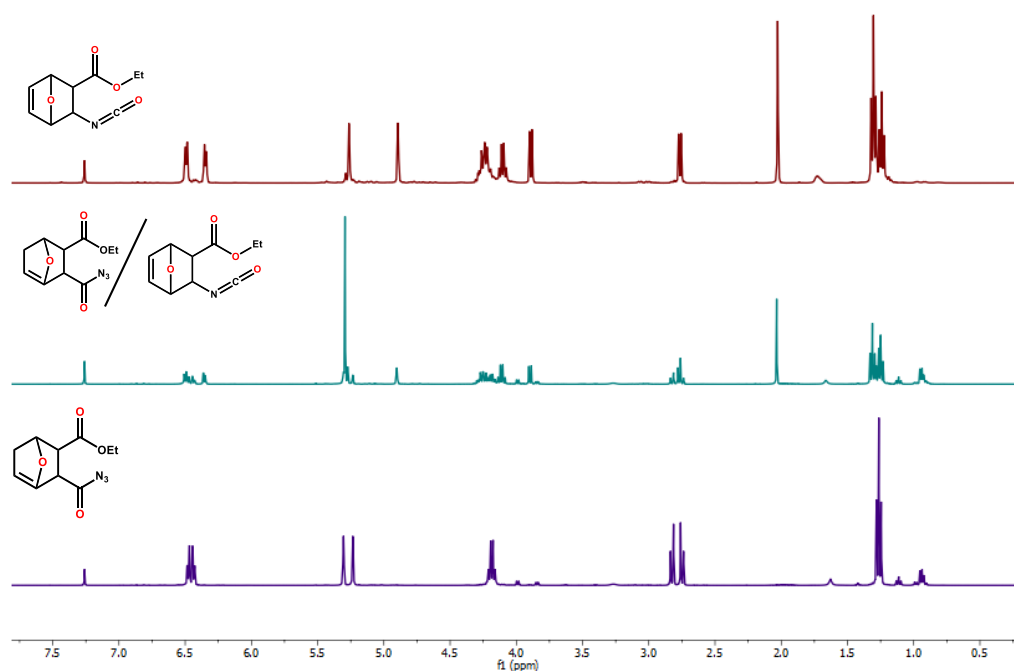


Figura 36 - Struttura molecolare del composto 4.



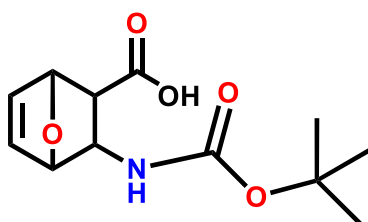
Schema 8 – Sintesi del composto 4.

Per la sintesi del **composto 4** si utilizza il riarrangiamento di Curtius per convertire un azide acilico nel corrispondente isocianato attraverso riscaldamento. L'azide acilico viene riscaldato, causando la decomposizione del composto. Durante questa decomposizione, il gruppo azide ( $N_3$ ) si rompe, liberando azoto molecolare ( $N_2$ ) come gas. La decomposizione termica segue un meccanismo concertato, in cui entrambi i passaggi della reazione avvengono simultaneamente. Questa conclusione è supportata dall'assenza di sottoprodotti di inserzione o addizione al nitrene, che non sono stati né osservati né isolati. È possibile seguire la conversione azide – isocianato tramite NMR. In **Figura 37** viene riportato uno stacking che mostra la conversione dopo 11 e 24 ore.

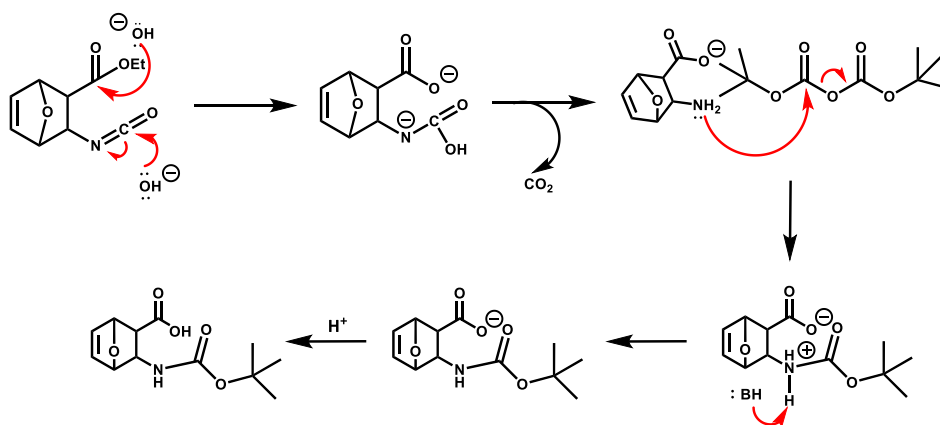


**Figura 37** – Stacking spettri <sup>1</sup>H-NMR composto 3 (viola) – miscela composto 3 e 4 dopo 11 ore (verde) – composto 4 (rosso)

### 3.3.5 Sintesi di composto 5

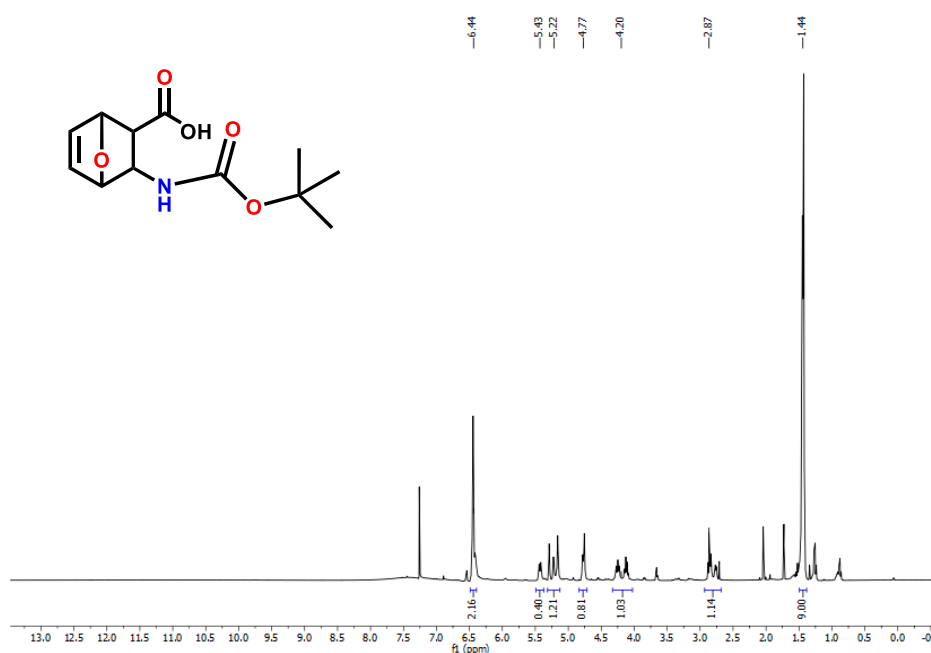


**Figura 38** - Struttura molecolare del composto 5.



**Schema 9** – Sintesi del composto 5.

Per la sintesi del **composto 5** si utilizza una base e BOC. Il gruppo BOC serve per proteggere una funzione amminica dalle reazioni indesiderate ed esso può essere eliminato facilmente utilizzando un acido opportuno. Lo scopo della base è quello di formare l'acido carbossilico a partire dall'isocianato acilico. Esso attraverso decarbossilazione e, successivamente aggiunta di acido, forma l'ammina che attacca l'anidride. L'utilizzo di NaOH è anche quello di idrolizzare il gruppo estereo così da creare un acido che verrà successivamente attivato per il coupling.



**Figura 39** – Spettro  $^1\text{H-NMR}$  composto 5.

### 3.3.6 Sintesi di composto 6

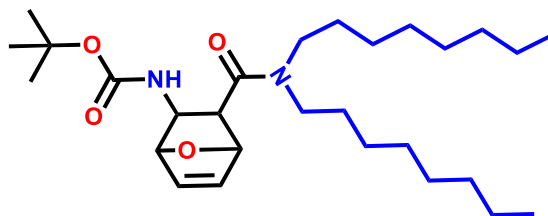
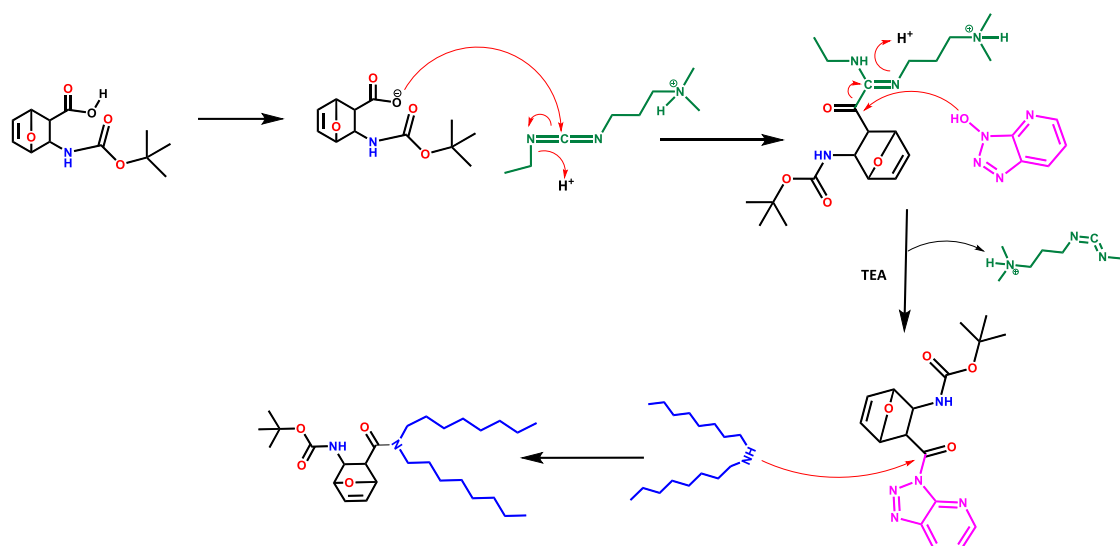


Figura 40 - Struttura molecolare del composto 6.



Schema 10 – Sintesi del composto 6.

Per la sintesi del **composto 6** si procede ad una reazione di coupling utilizzando EDC·HCl e HOAt. La reazione inizia con l'attivazione del gruppo carbossilico dell'acido carbossilico da parte dell'EDC formando un intermedio che è instabile e reattivo. La HOAt, attraverso una sostituzione nucleofila, forma l'estere attivato liberando acilurea. Questo estere attivato è molto più reattivo rispetto all'intermedio con EDC iniziale e facilita l'attacco nucleofilo dell'ammina, portando alla formazione del legame ammidico.

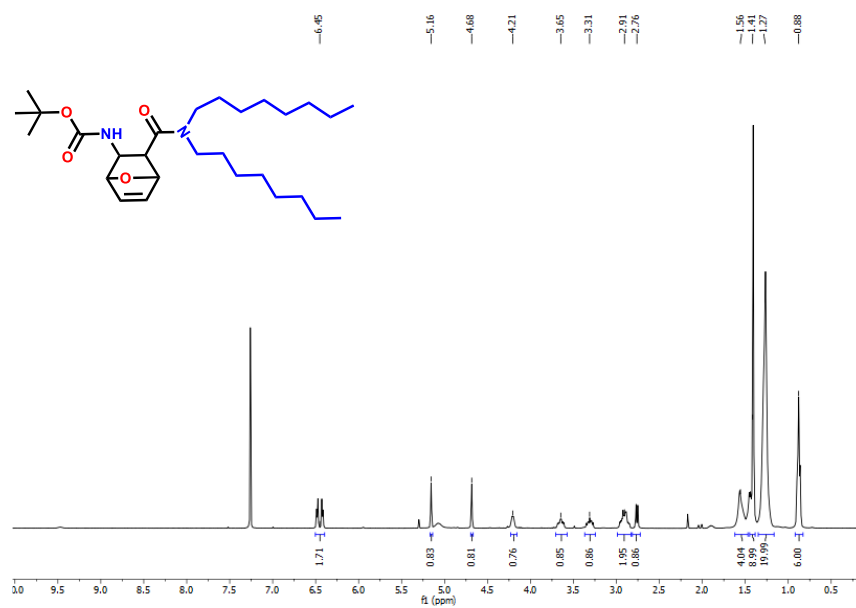


Figura 41 – spettro <sup>1</sup>H-NMR composto 6.

### 3.3.7 Sintesi di composto 7 (asse7)

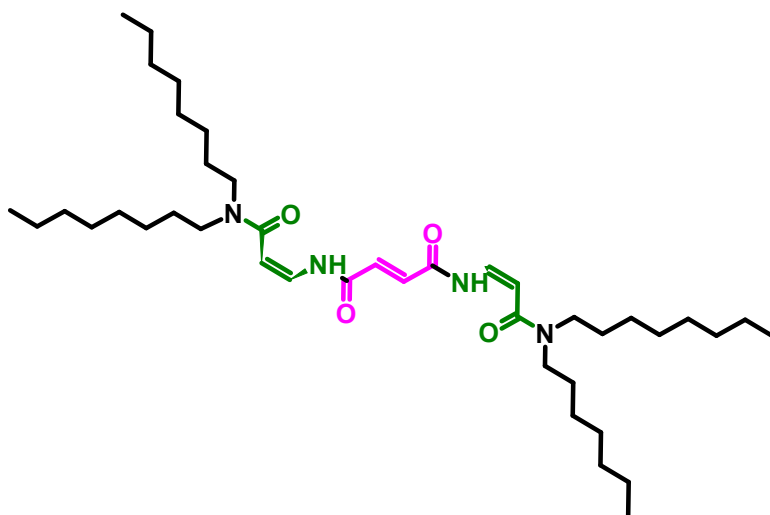
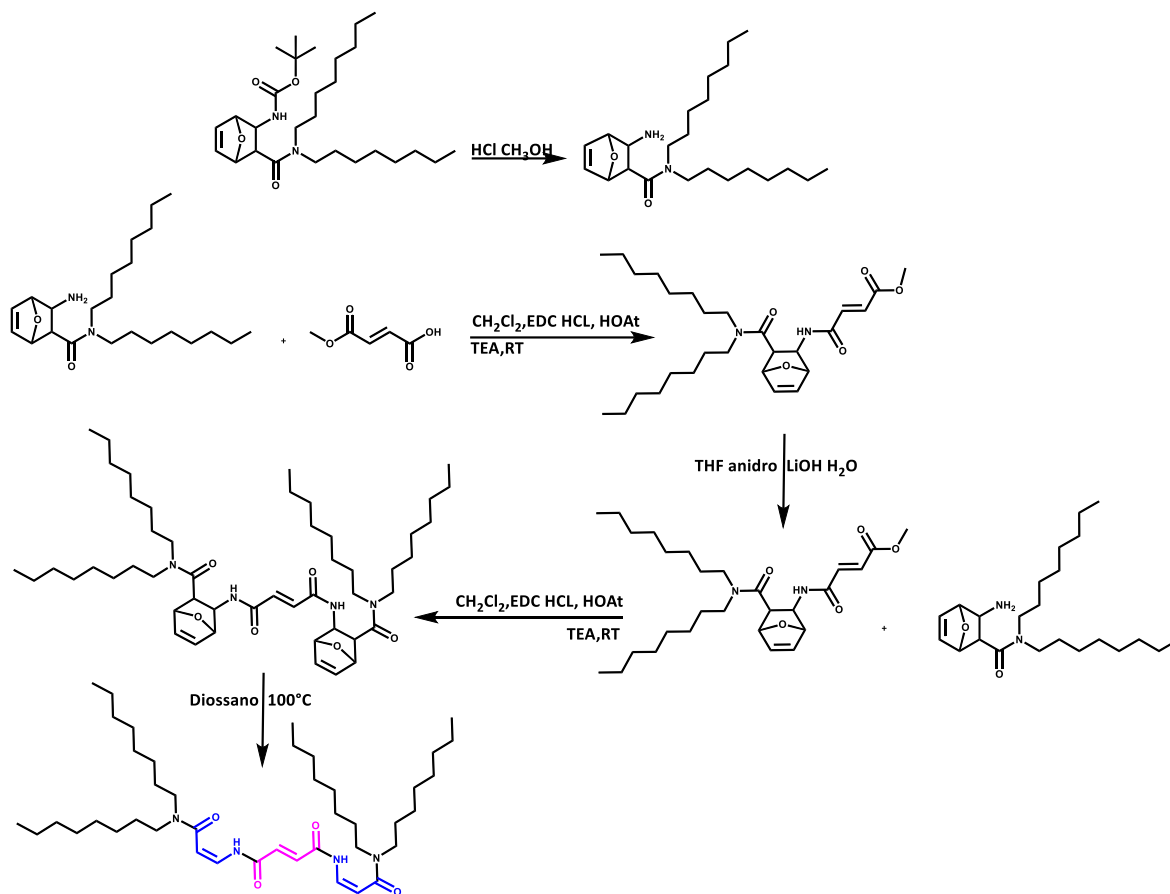


Figura 42 - Struttura molecolare del composto 7 (asse 7).



**Schema 11** – Sintesi del composto 7 (asse 7).

Per la sintesi dell'asse 7 si è scelto di non utilizzare il cloruro acilico in quanto la sua elevata reattività ha abbassato di molto le rese di reazione e quindi si è optato per un'altra via sintetica. Il primo step sintetico consiste in una reazione di coupling tra l'ammina, che è stata sintetizzata per deprotezione del gruppo BOC al composto 6, e metil-monofumarato ottenendo l'estere che è stato idrolizzato. Successivamente, l'acido formato viene fatto reagire con l'ammina precedente attraverso un meccanismo di coupling per formare l'asse che è stato deprotezionato attraverso riscaldamento.

Essendo un composto nuovo in letteratura è stato caratterizzato mediante  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$ . È stato acquisito un COSY per l'assegnamento dei picchi al  $^1\text{H-NMR}$

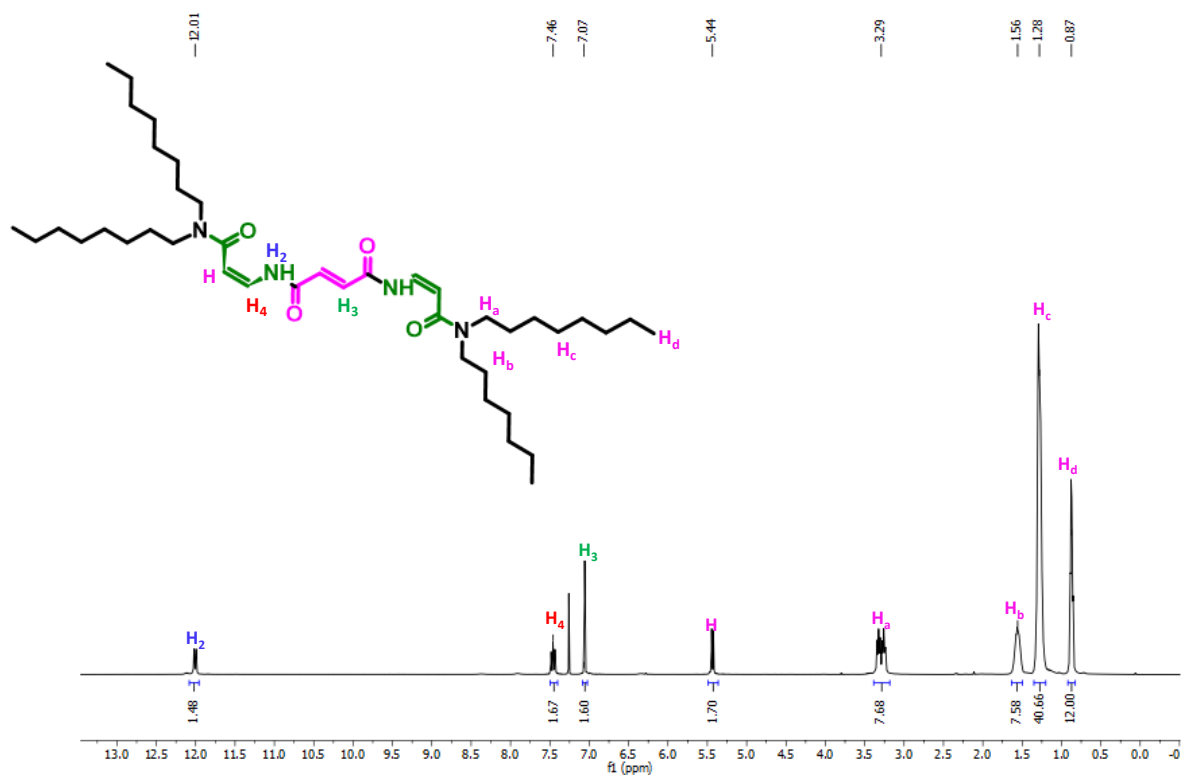


Figura 43 – spettro <sup>1</sup>H-NMR composto 7 (asse7).

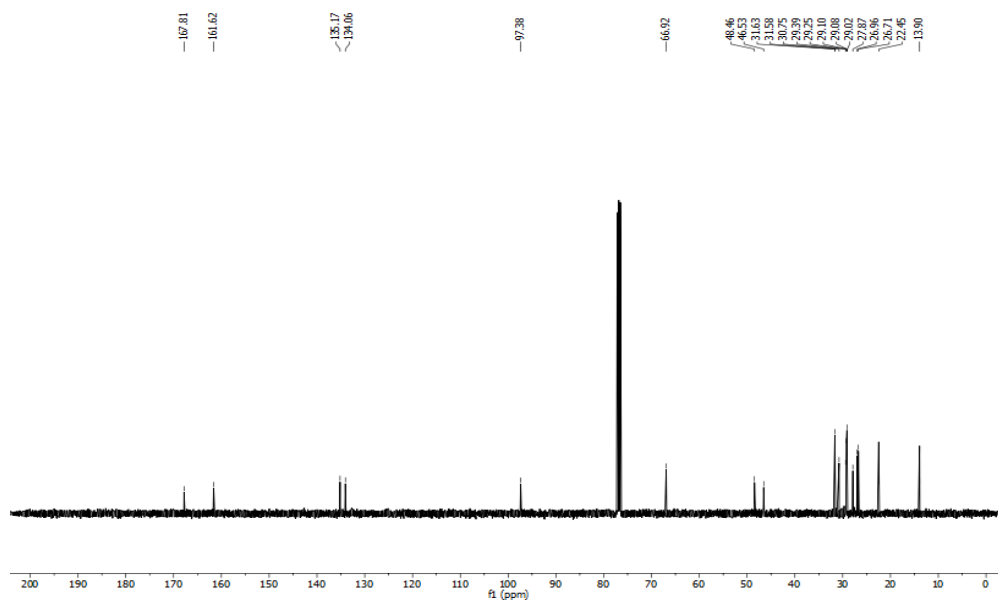


Figura 44 – spettro <sup>13</sup>C-NMR composto 7 (asse7).

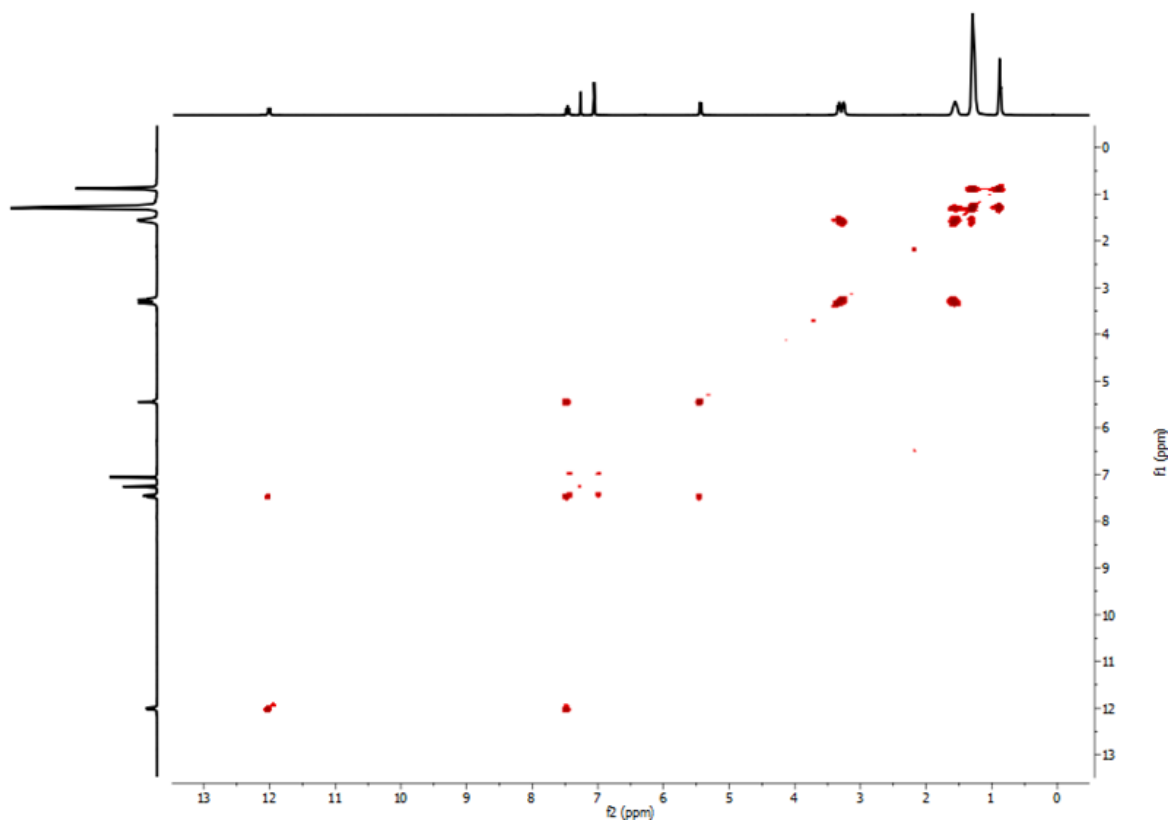


Figura 45 – spettro COSY composto 7 (asse7).

### 3.3.8 Sintesi di composto 7' ([2]Rotassano-7')

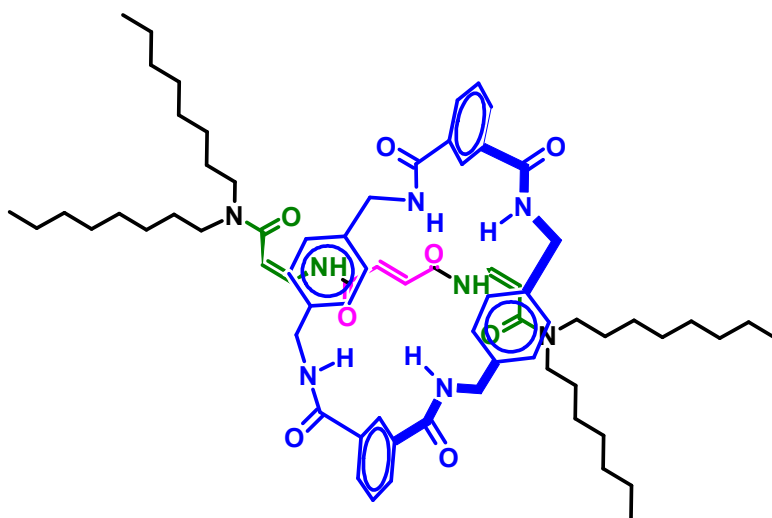
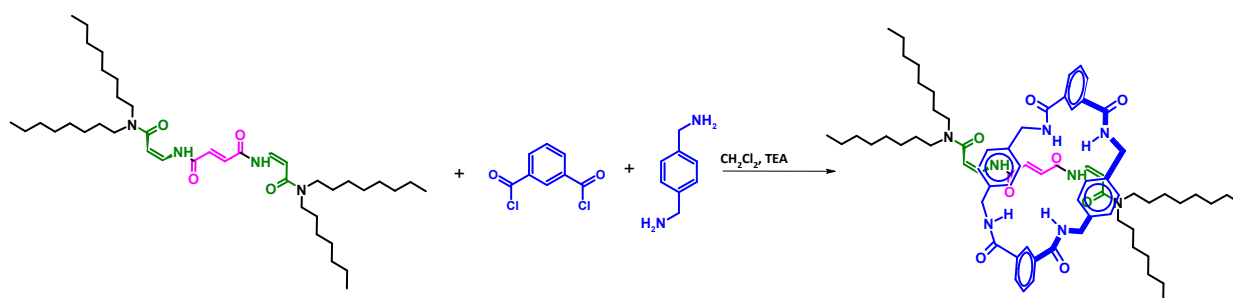


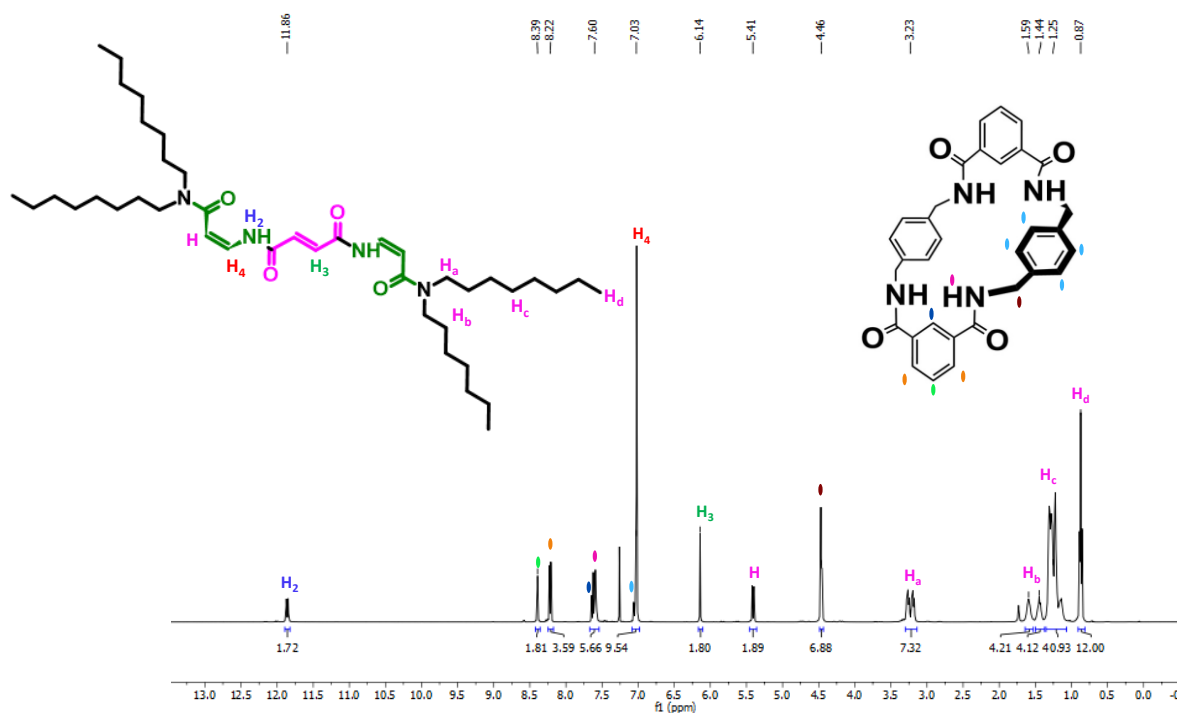
Figura 46 - Struttura molecolare composto 7' ([2]Rotassano-7').





**Schema 12** – Sintesi del composto 7' ([2]Rotassano-7').

Per la sintesi di **[2]Rotassano 7'** si è utilizzato la procedura del *clipping* iniettando la *p*-xililendiidiammina *m*-isoftaloil attraverso l'utilizzo di *syringe-pump*, alla soluzione contenente l'asse 7 e la TEA. Il [2]Rotassano è stato separato dal suo relativo asse utilizzando etere dietilico sfruttando la diversa solubilità dei due. Essendo un composto nuovo in letteratura è stato caratterizzato mediante  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$ . È stato acquisito un COSY per l'assegnamento dei picchi al  $^1\text{H-NMR}$ .



**Figura 47** – spettro  $^1\text{H-NMR}$  del composto 7' ([2]Rotassano-7').

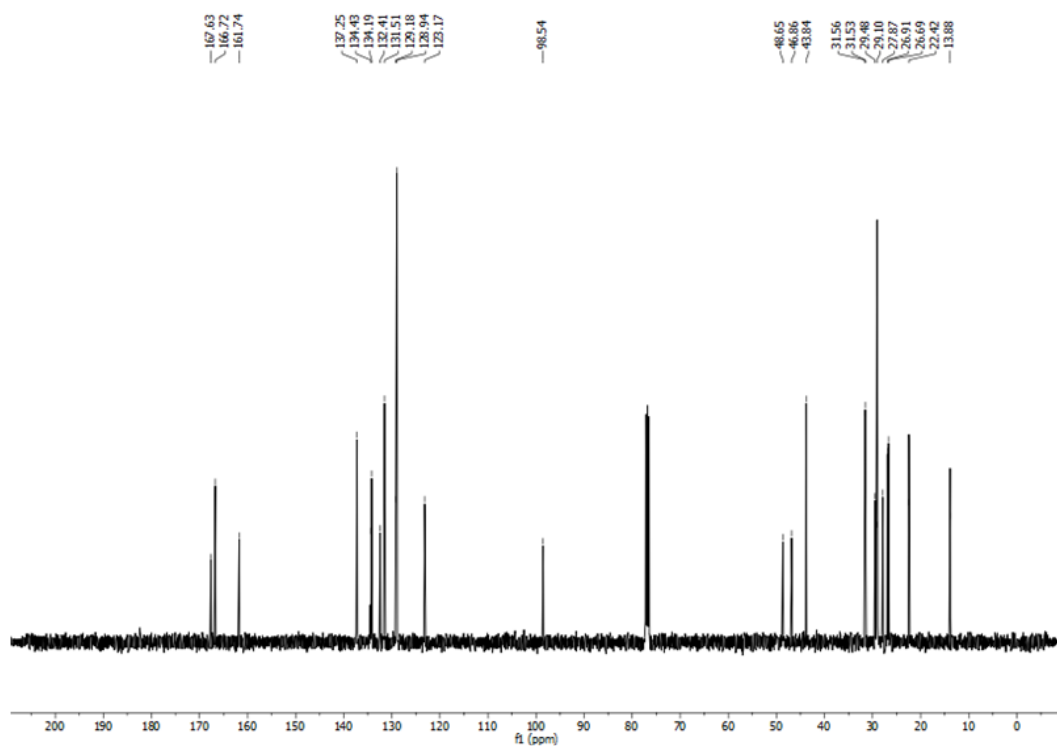


Figura 48 – spettro  $^{13}\text{C}$ -NMR del composto 7' ([2]Rotassano-7').

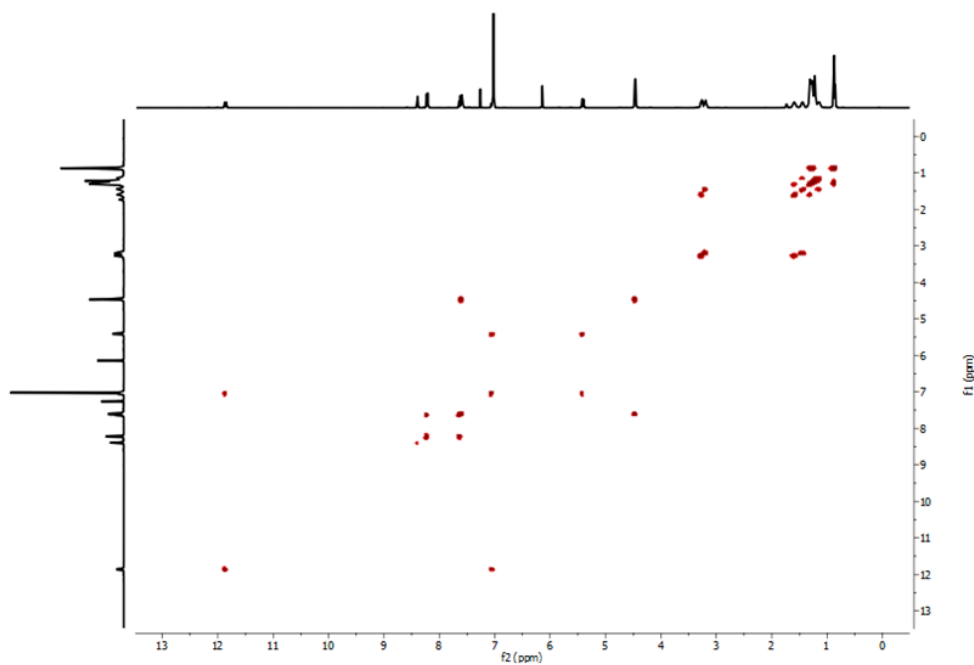
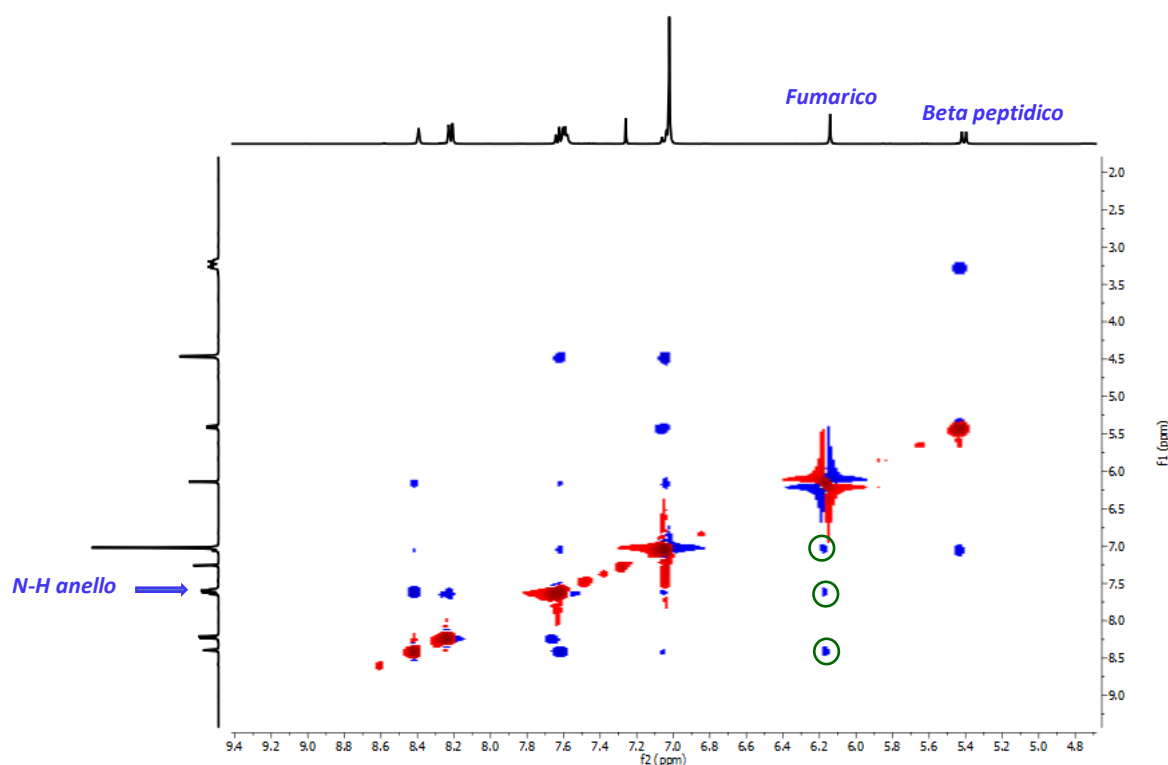


Figura 49 – spettro COSY del composto 7' ([2]Rotassano-7').

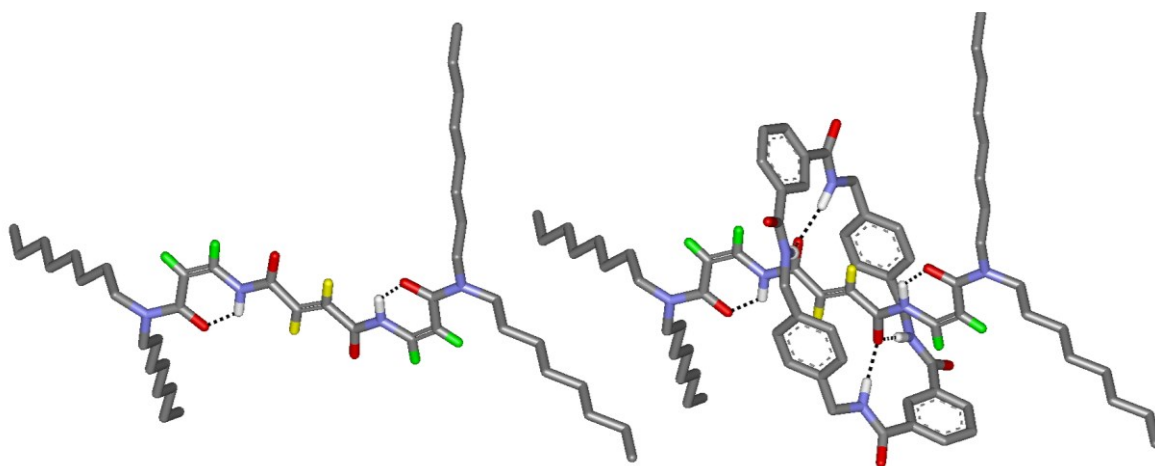
L'integrazione dello spettro  $^1\text{H}$ NMR ha mostrato la presenza di un anello tetrammidico. Contrariamente ai [2]Rotassani, sintetizzati nelle sintesi precedentemente discusse, nel rotassano 7' oltre la stazione fumarica, si ha la copresenza di ulteriori due stazioni amminoacidiche  $\alpha$ - $\beta$  insature. Per capire dove la ruota si posiziona nell'asse è stato necessario utilizzare un esperimento NMR bidimensionale che desse informazioni strutturali nello spazio. Si è optato per un esperimento ROESY dato che il Rotassano ha una massa molecolare di circa 1000 e a queste dimensioni l'esperimento NOESY non è fattibile in quanto il NOE è uguale a 0. La **Figura 50** mostra in dettaglio la zona d'interesse da 9.4 a 4.7 che corrisponde alla finestra spettrale dove risuonano i protoni ammidici dell'anello e i protoni fumarici e  $\alpha$ - $\beta$  insaturi dell'asse.



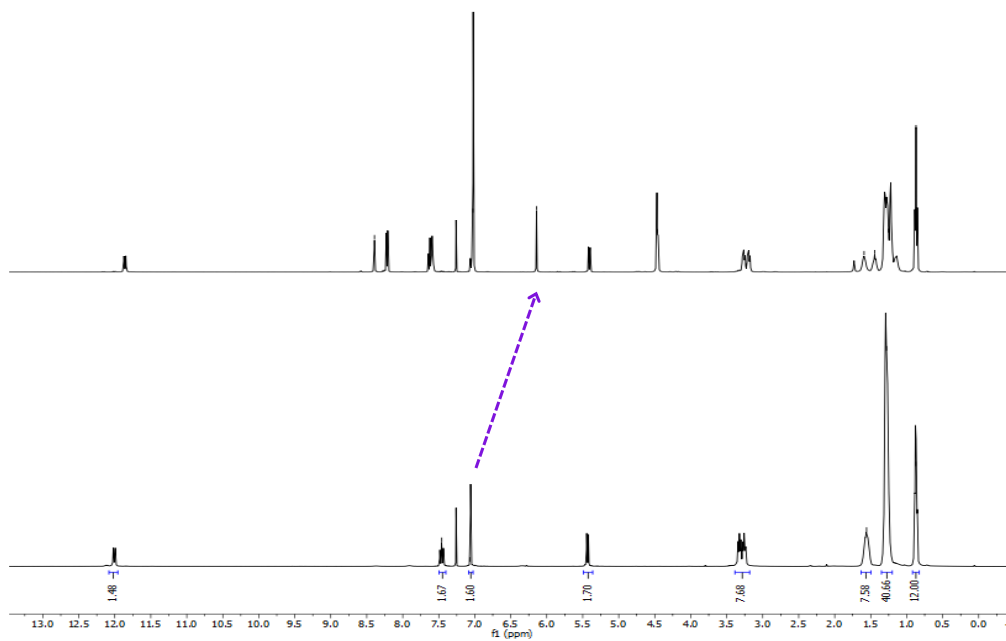
**Figura 50**– Dettaglio spettro ROESY del composto 7' ([2]Rotassano-7').

La presenza di cross picchi ROESY (cerchiati in verde nella **Figura 50**) non presenti al TOCSY nella regione dove risuonano i protoni fumarici ci conferma che la ruota staziona, in soluzione, nella stazione fumarica. Un'ulteriore conferma della struttura tridimensionale del rotassano 7' arriva dalla diffrazione dei raggi X. In particolare è stato possibile cristallizzare il composto purificato ed ottenere da esso cristalli singoli utili per la Diffrazione dei raggi X. Il risultato è mostrato nella **Figura 51**. Il rotassano 7' si presenta come un solido bianco. I cristalli singoli cristalli sono stati

ottenuti mediante lenta evaporazione di una soluzione di **7'** in AcOEt e la struttura molecolare è stata risolta dal professor Marzio Rancan. Dalla **Figura 51** si nota come l'unità fumarica si trova in configurazione **E** mentre la stazione amminoacidiche  $\alpha$ - $\beta$  insatura sia in configurazione **Z** dimostrando che il sistema stabilisce un'interazione a legame ad idrogeno intramolecolare tra l'ammina e il carbonile dell'ammide come riscontrato da NMR. Il macrociclo tetrammidico si chiude attorno all'asse grazie alla formazione di due legami ad idrogeno bidentati, fra gli idrogeni del gruppo **NH** della tetrammide e gli ossigeni dei carbonili della stazione fumarica e questo è riscontrato dallo spostamento del chemical shift del fumarico nel sistema templato (**Figura 52**) Infine, si nota come non vi siano interazioni del macrociclo con la stazione amminoacidiche  $\alpha$ - $\beta$  insatura confermando l'analisi fatta al ROESY cioè all'assenza di cross picchi tra gli **NH** dell'anello e la stazione insatura.



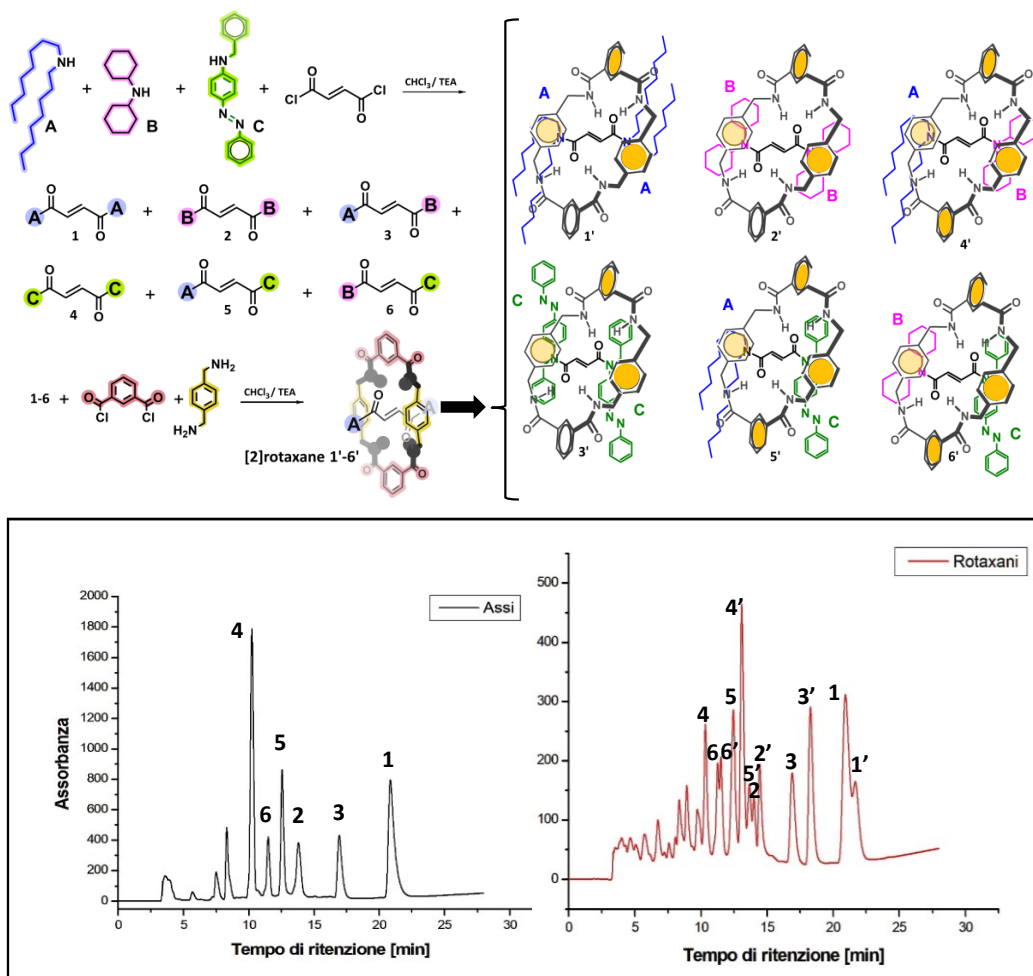
**Figura 51** – Sinistra: struttura tridimensionale (asse 7) è stata ottenuta togliendo graficamente il macrociclo dalla struttura tridimensionale del rotassano 7' Destra: struttura tridimensionale ([2]Rotassano-7') risolta attraverso Diffrazione ai Raggi X su cristallo singolo.



**Figura 52** – Stacking <sup>1</sup>H-NMR asse 7 (sotto) e [2]Rotassano-7' (sopra) con dettaglio riguardante spostamento chemical-shift del fumarico (freccia viola).

### 3.4 Sintesi multicomponente di una libreria di [2]Rotassani

Al fine della generazione di una libreria di assi, la diottilammina (**A**), la dicicloesilammina (**B**) e la N-benzil-4-amminoazobenzene (**C**) sono state messe a reagire con il fumaril dicloruro in modo da generare simultaneamente i sei assi **1-6** sintetizzati precedentemente, in maniera indipendente, come riportato nella parte sperimentale (**Figura 53.**). Per ottimizzare le rese nella formazione degli assi della libreria, causa della diversa reattività delle diverse ammine (in particolare una è aromatica), l'ammina **C** è stata aggiunta come prima componente al fumaril dicloruro in  $\text{CHCl}_3$ , seguita dall'aggiunta della ammina **B** e successivamente della ammina **A**. Importante, non è necessario aggiungere una ammina terziaria quale coadiuvante della reazione (spugna protonica). L'aggiunta di questa in quantità stechiometrica, o superiore, alla soluzione del fumaril dicloruro produce una serie di composti insolubili di colore nero. La sintesi è stata monitorata con RP- HPLC monitorando con UV alla lunghezza d'onda di 224 nm. Dopo parecchie ottimizzazioni sulla metodologia di separazione ed identificazione dei picchi cromatografici, grazie ai riferimenti **1-6** precedentemente sintetizzati sono state trovate le condizioni ottimali di monitoraggio del progresso sintetico delle reazioni. Come fase stazionaria si è selezionata la colonna *nucleosil-C<sub>4</sub>*, 18 cm, mentre come gradiente 20-100 % B (A:  $\text{H}_2\text{O}$  TFA 0.05% e B  $\text{CH}_3\text{CN}$  TFA 0.05%), alla velocità di flusso di 1 ml/min. Il risultato è mostrato nel profilo cromatografico riportato nella **Figura 53.**

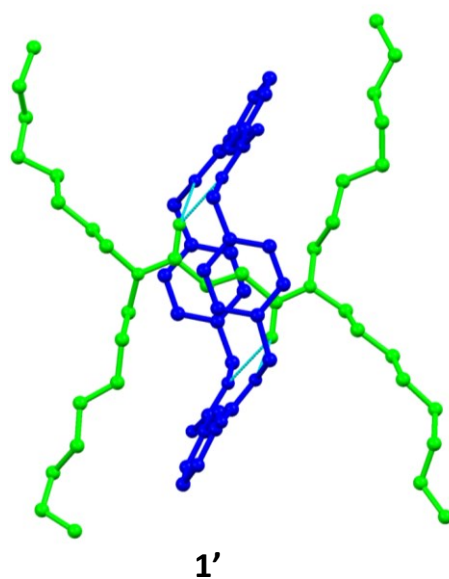


**Figura 53** – In alto - Schema sintetico della sintesi multicomponente di assi e dei corrispettivi [2]Rotassani. In basso - Sinistra: Identificazione delle componenti **1-6** generate della sintesi combinatoriale. Destra: RP- HPLC della miscela durante la conversione degli assi nei corrispettivi [2]Rotassani **1'-6'**.

Come illustrato nel profilo cromatografico è stato possibile identificare e separare i sei assi che sono stati identificati anche via spettrometria di massa. Successivamente, nella generazione della libreria di [2]Rotassani-**1'-6'** abbiamo trovato più conveniente lavare la soluzione di  $\text{CHCl}_3$  con  $\text{NaOH}$  2M prima di condurre la sintesi successiva. La soluzione omogenea così ottenuta, è stata dapprima anidrificata e ulteriormente diluita ad una concentrazione finale pari a 0.5 mM riferita al fumaril-dicloruro utilizzato. A questa soluzione sono stati aggiunti simultaneamente i due precursori del macrociclo, il *m*-isoftaloil dicloruro e la *p*-xililendiammina, entrambi sciolti in due soluzioni separate in  $\text{CHCl}_3$ . Dopo 24 ore di reazione la soluzione è stata monitorata via HPLC rivelando la formazione dei [2]Rotassani-**1'-6'** (**Figura 53**). A seguito della rimozione della parte insolubile della reazione, via filtrazione, la soluzione di  $\text{CHCl}_3$  è stata concentrata sotto vuoto. Il

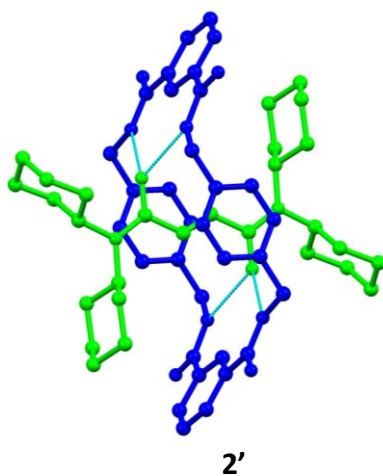
concentrato è stato cromatografato su gel di silice, ed i [2]Rotassani **1'-6'** sono stati separati e confrontati con i rotassani sintetizzati indipendentemente nelle sintesi precedentemente discusse rivelando l'identità dei composti. La ricristallizzazione dei [2]Rotassani **1'-6'** ha prodotto cristalli singoli utilizzabili per la diffrazione dei raggi-X per cinque di essi. Per il [2]Rotassano-**3'** sono state fatte diverse prove di solubilizzazione ma a causa della sua natura ad aggregare non è stato possibile cristallizzarlo.

### 3.4.1 Strutture risolte per Diffrazione dei raggi-X su cristallo singolo



**Figura 54** – Struttura ai raggi X di [2]Rotassano-1'.

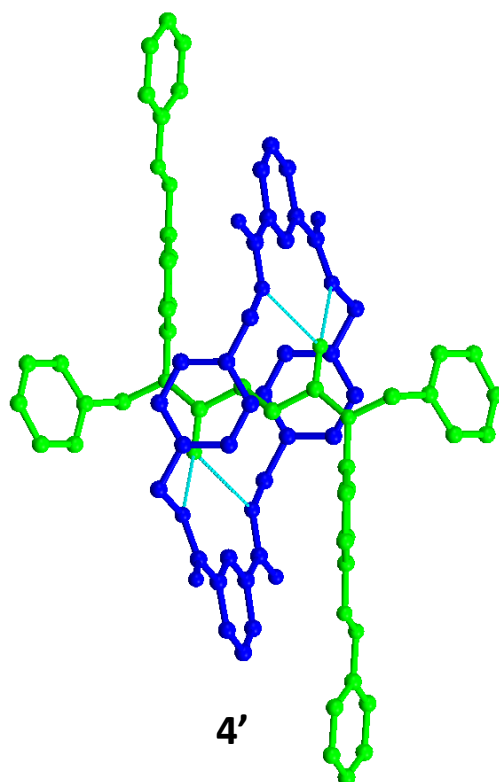
---



**Figura 55** – Struttura ai raggi X di [2]Rotassano-2'.

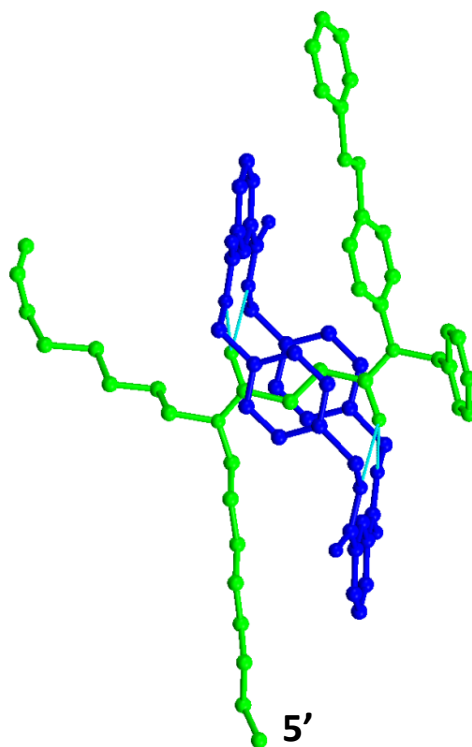
---





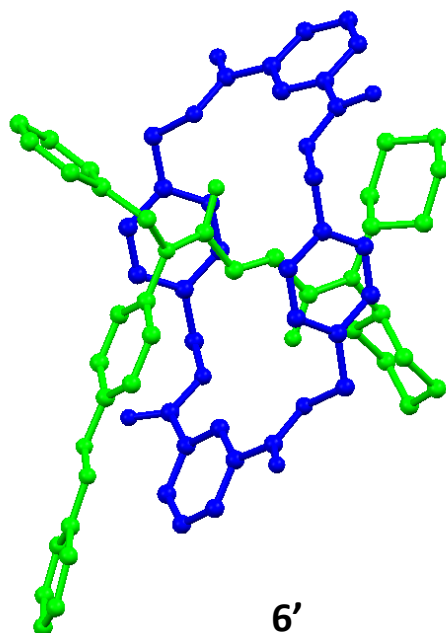
**Figura 56**– Struttura ai raggi X di [2]Rotassano-4'.

---



**Figura 57**– Struttura ai raggi X di [2]Rotassano-5'.

---



**Figura 58**– Struttura ai raggi X di [2]Rotassano-6'.

---

Tutte le strutture mostrate dimostrano come la fumarammide, come ci si aspettava, è una eccellente stazione per la costruzione supramolecolare di una tetra-ammide aromatica ciclica, nonostante la presenza di gruppi terminali molto ingombrati. In tutti questi sistemi, il ciclo è saldamente ancorato alla stazione fumarica da due set di legami ad idrogeno costituiti fra i due gruppi NH (diamide) di ogni sua unità *isofthalimmidica*, con ognuno dei doppi accettori carbonilici della unità fumarammidica. L'architettura tridimensionale è in tutti i casi stabilizzata da ulteriori interazioni di  $\pi$ -stacking xililen...olefina...xililen (macrociclo ...asse... macrociclo). Da notare che la cavità della tetrammide ciclica è rettangolare con un volume molto minore rispetto al volume occupato dagli stopper.

## 4.CONCLUSIONI

Nel corso di questo lavoro di tesi, sono stati sintetizzati sei diversi assi e i relativi sei [2]Rotassani formati da un macrociclo tetrammidico e un asse dotato di una stazione fumarica, ancorato da due ammidi terziarie utilizzate come stoppers. L'introduzione di vari gruppi amminici lungo l'asse ha consentito di ottenere una gamma di [2]Rotassani, ognuno con proprietà distinte e peculiari. I macrocicli sono stati assemblati attorno agli assi tramite una reazione di *clipping* in cui la stazione fumarica dell'asse, attraverso legami ad idrogeno funge da template per la formazione dell'anello. I prodotti ottenuti sono stati separati e purificati mediante cromatografia flash e caratterizzati attraverso tecniche  $^1\text{H-NMR}$ , FT-IR, spettrometria di massa (ESI) in maniera tale da avere degli standard da utilizzare come riferimenti da iniettare in HPLC. È stato proposto un metodo di sintesi multicomponente in cui è stata generata una libreria di sei assi (stazioni) in un unico passaggio, utilizzando tre diverse ammine secondarie: diottilammina, dicicloesilammina e N-p-azobenzene-N'-benzilammina che sono state fatte reagire con il cloruro fumarilico. Da questa miscela di assi sono stati aggiunti contemporaneamente e lentamente i due precursori macrociclici, *m*-isofaltoil cloruro e *p*-xililendiammina al fine di ottenere i sei [2]Rotassani che sono stati purificati e isolati mediante cromatografia flash e caratterizzati con  $^1\text{H-NMR}$ , FT-IR, spettrometria di massa (ESI) e mediante diffrazione dei Raggi-X. Sono state risolte cinque delle sei strutture in quanto una di esse aveva una preferenza ad aggregare sotto forma di fibre. È stato sviluppato un protocollo di monitoraggio e caratterizzazione mediante HPLC in quanto la stazione fumarica assorbe nel UV e il suo spostamento nei cromatogrammi dipende dall'ammide legata. Per un'analisi qualitativa sono stati iniettati singolarmente i sei assi e i relativi sei [2]Rotassani sintetizzati e purificati nella sintesi indipendente. Tutte le strutture hanno dimostrato come la stazione fumar-diammidica sia un'ottima stazione per la costruzione supramolecolare dell'anello tetra-ammidico aromatico, nonostante la vicinanza dei terminali ingombranti. Inoltre, è stato sintetizzato un nuovo asse e [2]Rotassano contenente tre stazioni insature, una fumarica e due costituite da un amminoacido  $\alpha$ - $\beta$  insaturo e caratterizzato mediante spettroscopia NMR e diffrattometria di Raggi-X. Dallo spettro ROESY e dalla struttura tridimensionale risolta ai Raggi-X è stato possibile confermare che il macrociclo tetrammidico, in soluzione e allo stato solido, ha una preferenza a stazionare nella stazione fumarica rispetto a quella amminoacidica  $\alpha$ - $\beta$  insatura.

## 5. BIBLIOGRAFIA

- [1] M. Xue, Y. Yang, X. Chi, X. Yan, F. Huang, *Chem. Rev.* 2015, **115**, 7398 – 7501.
- [2] a) J. F. Stoddart, *Chem. Soc. Rev.* 2009, **38**, 1802–1820; b) S. R. Beeren, C. T. McTernan, F. Schaufelberger, *Chem* 2023, **9**, 1378–1412.
- [3] a) M. R. Panman, P. Bodis, D. J. Shaw, B. H. Bakker, A. C. Newton, E. R. Kay, A. M. Brouwer, W. J. Buma, D. A. Leigh, S. Woutersen, *Science* 2010, **328**, 1255–1258; b) M. N. Chatterjee, E. R. Kay, D. A. Leigh, *J. Am. Chem. Soc.* 2006, **128**, 4058–4073. c) V. Serreli, C.-F. Lee, E. R. Kay, D. A. Leigh, *Nature* 2007, **445**, 523–527; d) L. S. Witus, K. J. Harlietb, Y. Wang, A. Prokofjevs, M. Frasconi, J. C. Barnes, E. J. Dale, A. C. Fahrenbach, J. F. Stoddart *Org. Biomol. Chem.* 2014, **12**, 6089–6093; e) S. Erbas-Cakmak, D. A. Leigh, C. T. McTernan, A. L. Nussbaumer, *Chem. Rev.* 2015, **115**, 10081–10206; f) Z. Yu, M. Centola, J. Valero, M. Matthies, P. Šulc, M. Famulok, *J. Am. Chem. Soc.* 2021, **143**, 13292–13298; g) Y. Ren, R. Jamagne, D. J. Tetlow, D. A. Leigh, *Nature* 2022, **612**, 78–82; h) M. S. Neumann, A. F. Smith, S. K. Jensen, R. Frederiksen, M. L. Skavenborg, J. O. Jeppesen, *Chem. Commun.* 2023, **59**, 6335–6338. i) A. Moretto, I. Menegazzo, M. Crisma, E. J. Shotton, H. Nowell, S. Mammi, C. Toniolo, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2009, **48**, 8986–8989.
- [4] a) J. Berna, D. A. Leigh, M. Lubomska, S. M. Mendoza, E. M. Pérez, P. Rudolf, G. Teobaldi, F. Zerbetto, *Nat. Mater.* 2005, **4**, 704–710; b) W. Zhang, E. Delonno, W. R. Dichtel, L. Fang, A. Trabolsi, J.-C. Olsen, D. Benítez, J. R. Heath, J. F. Stoddart, *J. Mater. Chem.* 2011, **21**, 1487–1495; c) A. Saura-Sanmartin, A. Martinez-Cuezva, D. Bautista, M. R. B. Marzari, M. A. P. Martins, M. Alajarin, J. Berna, *J. Am. Chem. Soc.* 2020, **142**, 13442–13449; d) B. H. Wilson, L. M. Abdulla, R. W. Schurko, S. J. Loeb, *Chem. Sci.* 2021, **12**, 3944–3951; e) X.-Q. Wang, W. J. Li, W. Wang, H.-B. Yang, *Acc. Chem. Res.* 2021, **54**, 4091–4106; f) A. Saura-Sanmartin, *Beilstein J. Org. Chem.* 2023, **19**, 873–880; g) J. Krämer, L. M. Grimm, C. Zhong, M. Hirtz, F. Biedermann, *Nat. Commun.* 2023, **14**, 518; h) F. Ishiwari, T. Takata, *Front. Chem.* 2022, **10**, 1025977; i) X. Song, X. Zhu, S. Qiu, W. Tian, M. Liu, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2022, **61**, e202208574.
- [5] a) J. Y. C. Lim, P. D. Beer, *Eur. J. Org. Chem.* 2019, 3433–3441; b) R. J. Goodwin, A. Docker, H. I. MacDermott-Opeskin, H. M. Aitken, M. L. O’Mara, P. D. Beer, N. G. White, *Chem. Eur. J.* 2022, **28**, e202200389; c) J. Krämer, L. M. Grimm, C. Zhong, M. Hirtz, F. Biedermann, *Nat. Commun.* 2023, **14**, 518.

[6] a) C. Tian, S. D. P. Fielden, B. Pérez-Saavedra, I. J. Vitorica-Yrezabal, D. A. Leigh, *J. Am. Chem. Soc.* 2020, **142**, 9803–9808; b) A. W. Heard, S. M. Goldup, *Chem.* 2020, 994–1006; c) A. H. G. David, J. F. Stoddart, *Isr. J. Chem.* 2021, **61**, 608–621.

[7] a) Z. He, W. Jiang, C. A. Schalley, *Chem. Soc. Rev.* 2015, **44**, 779–789; b) A. Saura–Sanmartin, C. A. Schalley, *Chem* 2023, **9**, 823–846.

[8]. M. M. Safont–Sempere, G. Fernandez and F. Würthner, *Chem. Rev.* 2011, **111**, 5784–5814.

[9]. A. Borrmann, J.C.M. van Hest, *Chem. Sci.* 2014, **5**, 2123–2134.

[10]. Z. He, W. Jiang, C.A. Schalley *Chem. Soc. Rev.* 2015, **44**, 779–789.

[11]. Qingmin Wang, *Org. Lett.* 2014, 16, **1**, 236–239