

**Uniwersytet Łódzki**  
**Wydział Chemii**  
**Katedra Chemii Organicznej i Stosowanej**

**Praca doktorska**

**Enancjoselektywna reakcja Betti’ego  
w warunkach katalizy dwufunkcyjnej.  
Aktywność biologiczna otrzymanych  
zasad Betti’ego.**

**Martyna Malinowska**

Monotematyczny cykl publikacji wraz z komentarzem przedstawiony Komisji Uniwersytetu Łódzkiego  
do spraw stopni naukowych w dyscyplinie nauki chemiczne w celu uzyskania stopnia  
doktora nauk chemicznych

*Praca wykonana pod kierunkiem  
dr hab. Anny Zawiszy, prof. UŁ oraz  
dr hab. inż. Izabeli Witońskiej, prof. PŁ*

Łódź 2024



Praca wykonana w ramach Interdyscyplinarnych Studiów Doktoranckich  
Łódzkich Uczelni Publicznych InterChemMed  
grant WND-POWR.03.02.00-00-1029/16-01.

*Pragnę serdecznie podziękować **Pani dr hab. Annie Zawiszy, prof. UŁ**,  
za nieocenioną pomoc, ogrom wsparcia i motywacji, życzliwość  
oraz nieskończone pokłady cierpliwości na każdym etapie wieloletniej współpracy.*

*Serdecznie dziękuję **Pani dr hab. inż. Izabeli Witońskiej, prof. PŁ**,  
za objęcie mnie opieką promotorską, wszelką pomoc i wskazówki,  
oraz Pani dr inż. Elżbiecie Szubiakiewicz za wykonanie widm FTIR.*

*Dziękuję także dr hab. Renacie Kontek, prof. UŁ i dr Mateuszowi Kciukowi,  
za owocną współpracę przy badaniach biologicznych.*

*Ogromne podziękowania kieruję także do wszystkich pracowników  
Katedry Chemii Organicznej i Stosowanej,  
za cenne rady i miłą, rodzinną atmosferę.*

*Szczególne podziękowania składam  
pracownikom Zakładu Katalizy i Syntezy Organicznej,  
za uśmiech, dobry humor, wsparcie i niepowtarzalny klimat.*

*Dziękuję koleżankom i kolegom,  
a w szczególności Karolinie Koselak i Oli Tracz,  
za wspólnie spędzone lata przy laboratoryjnym stole (i nie tylko).  
Praca z Wami to była przyjemność! Dziękuję za wszystko.*

*Dziękuję też moim Rodzicom, Rodzeństwu, Dziadkom i Znajomym,  
za nieustanne motywowanie mnie do działania.  
I mojej sznaucerce Kasi, która dzielnie towarzyszyła mi podczas pisania tej rozprawy.*

# SPIS TREŚCI

|                                                                                                                                              |              |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| Wykaz stosowanych skrótów.....                                                                                                               | 7 -          |
| Streszczenie rozprawy doktorskiej .....                                                                                                      | 9 -          |
| Summary of Ph.D. Thesis .....                                                                                                                | 11 -         |
| Aktywność naukowa .....                                                                                                                      | 12 -         |
| <b>1. WSTĘP .....</b>                                                                                                                        | <b>16 -</b>  |
| <b>2. CZĘŚĆ LITERATUROWA .....</b>                                                                                                           | <b>21 -</b>  |
| 2.1. Metody otrzymywania związków enancjomerycznie czystych – rozdział mieszaniny<br>racemicznej .....                                       | 21 -         |
| 2.2. Synteza asymetryczna .....                                                                                                              | 24 -         |
| 2.3. Organokatalizatory .....                                                                                                                | 26 -         |
| 2.3.1. Organokatalizatory tiomocznikowe .....                                                                                                | 30 -         |
| 2.3.1.1. Reakcja Streckera .....                                                                                                             | 35 -         |
| 2.3.1.2. Reakcja Dielsa-Aldera .....                                                                                                         | 37 -         |
| 2.3.1.3. Addycja Michaela .....                                                                                                              | 38 -         |
| 2.3.1.4. Reakcja Mannicha .....                                                                                                              | 42 -         |
| 2.3.1.5. Reakcja aza-Henry'ego (nitro-Mannicha) .....                                                                                        | 46 -         |
| 2.3.1.6. Reakcja Mority-Baylisa-Hillmana (MBH) .....                                                                                         | 48 -         |
| 2.3.1.7. Reakcja aza-Baylisa-Hilmana .....                                                                                                   | 50 -         |
| 2.3.1.8. Reakcja Picteta-Spenglera .....                                                                                                     | 50 -         |
| 2.3.2. Organokatalizatory squaramidowe i tiosquaramidowe .....                                                                               | 52 -         |
| 2.4. Mario Betti i reakcja Betti'ego .....                                                                                                   | 66 -         |
| 2.4.1. Asymetryczna reakcja Betti'ego .....                                                                                                  | 71 -         |
| <b>3. OMÓWIENIE WYNIKÓW BADAŃ WŁASNYCH .....</b>                                                                                             | <b>104 -</b> |
| 3.1. Dwufunkcyjne organokatalizatory tiomocznikowe i tiosquaramidowe w syntezie<br>zasad Betti'ego .....                                     | 104 -        |
| 3.2. Homogeniczne organokatalizatory pochodne mocznika, tiomocznika,<br>azirydynylokarbinoli, fosfin i ich tlenków w reakcji Betti'ego ..... | 118 -        |



|                                                                                                                                                                                   |              |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| 3.3. Heterogenizacja organokatalizatora tiomocznikowego na porowatych adsorbentach i jego wykorzystanie w syntezie aminobenzylonaftoli (zasad Betti'ego).....                     | 123 -        |
| 3.4. Aminobenzylonaftole (zasady Betti'ego) pochodzące z 2-naftolu, benzaldehidów i $\alpha$ -aminokwasów - synteza, badania obliczeniowe i przeciwnowotworowe <i>in vitro</i> .- | 133 -        |
| <b>4. PODSUMOWANIE .....</b>                                                                                                                                                      | <b>154 -</b> |
| <b>5. CZĘŚĆ EKSPERYMENTALNA .....</b>                                                                                                                                             | <b>158 -</b> |
| 5.1. Procedura ogólna .....                                                                                                                                                       | 158 -        |
| 5.2. Synteza organokatalizatorów homogenicznych .....                                                                                                                             | 160 -        |
| 5.2.1. Synteza organokatalizatorów tiomocznikowych.....                                                                                                                           | 160 -        |
| 5.2.1.1. 1-[3,5-Bis(trifluorometylo)fenylo]-3-[(1R,2R)-2-(piperydyn-1-ylo)cycloheksylo] tiomocznik (O3.1).....                                                                    | 160 -        |
| 5.2.1.2. 1-[2,3,4,6-Tetra-O-acetylo- $\beta$ -D-galaktozylo]-3-[(1R,2R)-2-(piperydyn-1-ylo)-cycloheksylo]tiomocznik (O3.35) .....                                                 | 161 -        |
| 5.2.1.3. 1-[2,3,6,2',3',4',6'-Hepta-O-acetylo- $\beta$ -D-celobiozylo]-3-[(1R,2R)-2-(piperydyn-1-ylo)cycloheksylo]tiomocznik (O3.36).....                                         | 161 -        |
| 5.2.2. Synteza organokatalizatorów mocznikowych.....                                                                                                                              | 162 -        |
| 5.2.2.1. 1-[2,3,6,2',3',4',6'-Hepta-O-acetylo- $\beta$ -D-celobiozylo]-3-[(2S)-(1-etylopirolidyn-2-ylo)metylo]mocznik (O3.37) .....                                               | 162 -        |
| 5.2.2.2. N-[ $\beta$ -D-Celobiozylo]-3-(S)-(dimetyloamino)pirolidyno-1-karboksyamid (O3.38) .....                                                                                 | 163 -        |
| 5.2.3. Synteza organokatalizatorów pochodnych azirydynylokarbinoli .....                                                                                                          | 164 -        |
| 5.2.3.1. ((2S,2'S)-1,10-((2-Hydroksy-5-metylo-1,3-fenyleno)bis(metyleno))-bis(azirydyn-2,1-diylo))bis(difenylometanol) (O3.39) .....                                              | 164 -        |
| 5.2.3.2. [(S)-Azirydyn-2-ylo]bis(4-fluorofenylo)metanol (O3.40) .....                                                                                                             | 165 -        |
| 5.2.3.3. [(S)-Azirydyn-2-ylo]bis(4-(trifluorometylo)fenylo)metanol (O3.41) ....                                                                                                   | 166 -        |
| 5.2.3.4. [(S)-Azirydyn-2-ylo]bis(4-metylofenylo)metanol (O3.42) .....                                                                                                             | 166 -        |
| 5.2.3.5. [(S)-Azirydyn-2-ylo](difenylo)methanol (O3.43) .....                                                                                                                     | 166 -        |
| 5.2.3.6. [(S)-1-Trifenylo-metyloazirydyn-2-ylo]bis(4-metylofenylo)metanol (O3.44) .....                                                                                           | 167 -        |
| 5.2.3.7. [(S)-1-Trifenylo-metyloazirydyn-2-ylo](difenylo)metanol (O3.45).....                                                                                                     | 167 -        |

|                                                                                                             |                |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|
| 5.2.4. Synteza katalizatorów fosfinoilo-azirydynowych.....                                                  | - 168 -        |
| 5.2.4.1. (2 <i>S</i> )-2-Difenylofosfinoilo-2-fenyloazirydyna (O3.46).....                                  | - 168 -        |
| 5.2.4.2. (2 <i>S</i> )-1-[2-(Difenylofosfinoilo)fenylo]-2-fenyloazirydyna (O3.47) .....                     | - 168 -        |
| 5.2.4.3. (2 <i>S</i> )-1-[2-(Difenylofosfinoilo)benzylo]-2-fenyloazirydyna (O3.48).....                     | - 169 -        |
| 5.2.4.4. (2 <i>S</i> )-1-[2-(Difenylofosfinoilo)benzylo]-2-metyloazirydyna (O3.49) .....                    | - 170 -        |
| 5.2.5. Synteza katalizatorów fosfino-azirydynowych.....                                                     | - 171 -        |
| 5.2.5.1. (2 <i>S</i> )-1-[2-(Difenylofosfino)benzylo]-2-metyloazirydyna (O3.50).....                        | - 171 -        |
| 5.2.5.2. (2 <i>S</i> )-1-[2-(Difenylofosfino)fenylo]-2-izopropyloazirydyna (O3.51) .....                    | - 172 -        |
| 5.3. Osadzanie organokatalizatora O3.1 na nośnikach stałych i ich charakterystyka....                       | - 172 -        |
| 5.3.1. Stosowane adsorbenty i ich modyfikacje .....                                                         | - 172 -        |
| 5.3.2. Procedura adsorpcji katalizatora tiomocznikowego O3.1 na fazie stałej.....                           | - 173 -        |
| 5.3.3. Charakterystyka adsorbentów i katalizatorów heterogenicznych za pomocą<br>techniki FTIR .....        | - 173 -        |
| 5.4. Synteza zasad Betti'ego .....                                                                          | - 174 -        |
| 5.4.1. <i>N</i> -[(1-Hydroksynaftalen-2-ylo)(fenylo)metylo]-4-metylobenzeno-sulfonamid<br>(3.26) .....      | - 174 -        |
| 5.4.2. [1-Benzylo-3-(6-hydroksychinolin-5-ylo)-2-oksoindolin-3-ylo]karbaminian tert-<br>butylu (3.32) ..... | - 174 -        |
| <b>6. BIBLIOGRAFIA .....</b>                                                                                | <b>- 176 -</b> |
| <b>7. PUBLIKACJE STANOWIĄCE PODSTAWĘ ROZPRAWY<br/>    DOKTORSKIEJ.....</b>                                  | <b>- 186 -</b> |
| <b>8. OŚWIADCZENIA WSPÓŁAUTORÓW .....</b>                                                                   | <b>- 233 -</b> |

## Wykaz stosowanych skrótów

|                   |                                                                                |
|-------------------|--------------------------------------------------------------------------------|
| Ac <sub>2</sub> O | - bezwodnik octowy                                                             |
| Ac                | - grupa acetylowa                                                              |
| ADMET             | - procesy adsorpcji, dystrybucji, metabolizmu, wydalania i toksyczności        |
| AO/EB             | - oranż akrydyny/bromek etydyny                                                |
| Bn                | - grupa benzylowa                                                              |
| Boc               | - grupa <i>tert</i> -butoksykarbonylowa                                        |
| Bu                | - grupa butylowa                                                               |
| Bz                | - grupa benzoilowa                                                             |
| CADD              | - projektowanie leków wspomagane komputerowo                                   |
| Cbz               | - grupa benzyloksykarbonylowa                                                  |
| Cy                | - grupa cykloheksylowa                                                         |
| Cp                | - grupa cyklopentadienylowa                                                    |
| DABCO             | - 1,4-diazabicyklo[2.2.2]oktan                                                 |
| DCM               | - dichlorometan (chlorek metylenu)                                             |
| DCE               | - dichloroetan                                                                 |
| DFT               | - teoria funkcjonału gęstości                                                  |
| DMAP              | - 4-dimetyloaminopirydyna                                                      |
| DME               | - 1,2-dimetoksyetan                                                            |
| DMF               | - <i>N,N</i> -dimetyloformamid                                                 |
| DMSO              | - dimetylosulfotlenek                                                          |
| <i>dr</i>         | - stosunek diastereoizomerów                                                   |
| EDA               | - etylenodiamina                                                               |
| EDC               | - 1-etylo-3-(3-dimetyloaminopropyl)karbodiimid                                 |
| <i>ee</i>         | - nadmiar enancjomeryczny                                                      |
| <i>er</i>         | - stosunek enancjomerów                                                        |
| ESP               | - potencjał elektrostatyczny                                                   |
| Et                | - grupa etylowa                                                                |
| EWG               | - grupa elektronoakceptorowa                                                   |
| FITC              | - izotiocyanian fluoresceiny                                                   |
| HLG               | - przerwa pomiędzy orbitalami HOMO-LUMO                                        |
| HOBt              | - 1-hydroksybenzotriazol                                                       |
| HOMO              | - najwyższy obsadzony orbital molekularny                                      |
| HSE               | - odpowiedź na szok cieplny                                                    |
| IC <sub>50</sub>  | - stężenie hamujące, przy którym proliferacja komórek zostaje zahamowana w 50% |
| konf. abs.        | - konfiguracja absolutna                                                       |
| LUMO              | - najniższy nieobsadzony orbital molekularny                                   |
| MCE               | - filtr membranowy wykonany z estrów celulozy                                  |

|                                    |                                                                |
|------------------------------------|----------------------------------------------------------------|
| MCR                                | - reakcje wieloskładnikowe                                     |
| MD                                 | - dynamika molekularna                                         |
| MDR                                | - oporność wielolekowa                                         |
| Me                                 | - grupa metylowa                                               |
| MESP                               | - molekularny potencjał elektrostatyczny                       |
| MMP                                | - zaburzenia potencjału błony mitochondrialnej                 |
| mol%                               | - procent molowy                                               |
| Ms                                 | - grupa mesylowa (metanosulfonyl)                              |
| MTT                                | - bromek 3-(4,5-dimetylo-2-tiazolylo)-2,5-difenylo-tetrazolowy |
| Ns                                 | - grupa nosylowa (4-nitrofenylosulfonyl)                       |
| ns                                 | - nanosekunda                                                  |
| Pd(PPh <sub>3</sub> ) <sub>4</sub> | - tetrakis(trifenylofosfina)pallad(0)                          |
| Ph                                 | - grupa fenylowa                                               |
| Pr                                 | - grupa propylowa                                              |
| P-gp                               | - glikoproteina P                                              |
| R <sub>f</sub>                     | - współczynnik retencji                                        |
| RMSD                               | - średnie odchylenie kwadratowe                                |
| rt                                 | - temperatura pokojowa                                         |
| SD                                 | - odchylenie standardowe                                       |
| TBDMS                              | - grupa <i>tert</i> -butylodimetylosililowa                    |
| TBDPS                              | - grupa <i>tert</i> -butylodifenylosililowa                    |
| TBME                               | - eter <i>tert</i> -butylometylowy                             |
| TEA                                | - trietyloamina                                                |
| Tf                                 | - grupa triflanowa (trifluorometanosulfonyl)                   |
| TFA                                | - kwas trifluorooctowy                                         |
| TFAA                               | - bezwodnik trifluorooctowy                                    |
| THF                                | - tetrahydrofuran                                              |
| TMS                                | - grupa trimetylosililowa                                      |
| TM                                 | - tiomocznik                                                   |
| TP53                               | - komórkowy antygen nowotworowy p53                            |
| Ts                                 | - grupa tosylowa ( <i>para</i> -toluenosulfonyl)               |
| Tr                                 | - grupa tritylowa (trifenylo-metyl)                            |
| tw                                 | - temperatura wrzenia                                          |
| wyd.                               | - wydajność chemiczna                                          |
| 5-FU                               | - 5-fluorouracyl                                               |

## Streszczenie rozprawy doktorskiej

Celem niniejszej rozprawy doktorskiej była synteza nowych, skutecznych organokatalizatorów oraz zbadanie ich aktywności katalitycznej w asymetrycznej reakcji Betti'ego. Dodatkowo, zaplanowano heterogenizację wybranego organokatalizatora tiomocznikowego na adsorbentach porowatych i sprawdzenie jego działania w badanej reakcji. Za cel obrano także syntezę aminokwasowych pochodnych zasad Betti'ego oraz zbadanie ich właściwości przeciwnowotworowych.

Praca została podzielona na trzy główne rozdziały – Część literaturową, Omówienie wyników badań własnych i Część eksperymentalną. Z uwagi na hybrydowy charakter pracy omówienie wyników zawiera opis badań opublikowanych w czasopismach naukowych oraz oczekujących na publikację. Część eksperymentalna dotyczy wyłącznie części nieopublikowanej.

W części literaturowej wyodrębniono 3 zasadnicze podrozdziały. W pierwszym zaprezentowano metody otrzymywania związków enancjomerycznie czystych ze szczególnym uwzględnieniem syntezy asymetrycznej. W kolejnym skupiono się na organokatalizatorach tiomocznikowych i tiosquaramidowych i ich wykorzystaniu w reakcjach asymetrycznych. W trzeciej części tego rozdziału, przybliżono sylwetkę Mario Betti'ego oraz zamieszczono doniesienia literaturowe związane z asymetrycznym wariantem reakcji Betti'ego.

Część zawierająca omówienie wyników badań własnych podzielona została na cztery części. Pierwsza z nich dotyczy rozwoju dwufunkcyjnych organokatalizatorów tiomocznikowych i tiosquaramidowych w syntezie zasad Betti'ego. Opisuje ona syntezę prostych organokatalizatorów typu Takemoto oraz ich wykorzystanie w reakcji 1- i 2-naftoli z *N*-tosyloiminą, oraz 6-hydroksychinoliny z *N*-Boc-ketiminą. Dla każdej z reakcji zaproponowano i opisano model podwójnej aktywacji. Kolejny podrozdział stanowi rozwinięcie prowadzonych badań i obejmuje wykorzystanie homogenicznych organokatalizatorów pochodnych mocznika i tiomocznika zawierających w swej strukturze fragment cukrowy, azirydynylokarbinoli oraz fosfin i ich tlenków w reakcji 1-naftolu z *N*-tosyloiminą, oraz 6-hydroksychinoliny z *N*-Boc-ketiminą. Trzecia część powstała we współpracy z pracownikami Politechniki Łódzkiej i opisuje heterogenizację wybranego organokatalizatora tiomocznikowego na nośnikach stałych i jego wykorzystanie w syntezie zasad Betti'ego. Zawiera analizy HPLC i FTIR adsorbentów i ich modyfikacji (miedzią, amoniakiem i etylenodiaminą), które potwierdzają skuteczność osadzenia się organokatalizatora na nośniku. W ostatniej części opisano syntezę modyfikowanych estrami aminokwasów zasad Betti'ego. Te nieznane dotąd w literaturze pochodne poddano szerokim badaniom *in vitro* i *in silico* we współpracy z pracownikami Katedry Biotechnologii Molekularnej i Genetyki Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego, celem zbadania ich potencjału przeciwnowotworowego na liniach komórkowych raka trzustki (BxPC-3) i jelita grubego (HT-29).

Część eksperymentalna dotyczy wyników nieopublikowanych jeszcze w literaturze i zawiera opisy przeprowadzonych syntez wraz z charakterystyką otrzymanych związków w oparciu o analizę widm  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR oraz spektrometrię mas.

## Summary of Ph.D. Thesis

The aim of this doctoral dissertation was to synthesize new, effective organocatalysts and evaluate their catalytic activity in the asymmetric Betti reaction. Additionally, the heterogenization of a selected thiourea organocatalyst on porous adsorbents was planned, followed by assessment of its performance in the studied reaction. Another goal was the synthesis of aminoacid derivatives of Betti bases and the investigation of their anticancer properties.

The work is divided into three main chapters - Literature Review, Discussion of own research results and Experimental Section. Due to the hybrid nature of the work, the discussion of results includes a description of research already published in scientific journals as well as research pending publication. The experimental part deals only with the unpublished part.

The literature review is divided into three main subsections. The first subsection presents methods for obtaining enantiomerically pure compounds, with special emphasis on asymmetric synthesis. The next subsection focuses on thiourea and thiosquaramide organocatalysts and their use in asymmetric reactions. The final subsection introduces the figure of Mario Betti and provides a review of literature on the asymmetric variant of the Betti reaction.

The section containing a discussion of my own research results is divided into four parts. The first part focuses on the development of bifunctional thiourea and thiosquaramide organocatalysts for the synthesis of Betti bases. It describes the synthesis of simple Takemoto-type organocatalysts and their application in the reaction of 1- and 2-naphthols with *N*-tosylimine, and 6-hydroxyquinoline with *N*-Boc-ketimine. A dual activation model is proposed and described for each reaction. The next part extends ongoing research, covering the use of homogeneous organocatalysts, including urea and thiourea derivatives with sugar fragment, aziridinylcarbinols and phosphines and their oxides in the reaction of 1-naphthol with *N*-tosylimine, and 6-hydroxyquinoline with *N*-Boc-ketimine. The third part created in collaboration with the staff of the Technical University of Lodz, describes the heterogenization of a selected thiourea organocatalyst on solid supports and its application in the synthesis of Betti bases. HPLC and FTIR analyses of the adsorbents and their modifications (with copper, ammonia, and ethylenediamine) are presented, confirming the efficient deposition of the organocatalyst on the carrier. The final section describes the synthesis of aminoacid ester-modified Betti bases. These derivatives, previously unknown in the literature, were subjected to extensive *in vitro* and *in silico* studies in collaboration with staff from the Department of Molecular Biotechnology and Genetics of the Faculty of Biology and Environmental Protection at the University of Lodz, to assess their anticancer potential against pancreatic (BxPC-3) and colorectal (HT-29) cancer cell lines.

The experimental section presents unpublished research, describes the synthetic methods and the characterization of the compounds using  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR spectroscopy and mass spectrometry.

# Aktywność naukowa

## Wykaz publikacji bezpośrednio związanych z tematyką rozprawy doktorskiej:

1. M. Kciuk, M. Malinowska, A. Gielecińska, R. Sundaraj, S. Mujwar, A. Zawisza, R. Kontek  
Synthesis, Computational, and Anticancer In Vitro Investigations of Aminobenzyl naphthols Derived from 2-Naphthol, Benzaldehydes, and  $\alpha$ -Aminoacids via the Betti Reaction, *Molecules*, **2023**, 28, 7230.
2. M. Malinowska, A. Zawisza  
Development of Bifunctional Chiral Thioureas and Thiosquaramides in the Synthesis of Betti Bases, *Molecules*, **2023**, 28, 7835.
3. M. Malinowska, E. Szubiakiewicz, A. Zawisza, I. Witońska  
Heterogenization of thiourea organocatalyst on porous adsorbents for the preparation of aminobenzyl naphthols – praca w recenzji

## Wykaz publikacji niezwiązanych bezpośrednio z tematyką rozprawy doktorskiej:

1. Tracz, M. Malinowska, S. Leśniak, A. Zawisza  
Aziridine ring opening as regio- and stereoselective access to C-glycosyl-aminoethyl sulfide derivatives, *Molecules*, **2022**, 27, 1764.
2. M. Malinowska, S. Jarzyński, A. Pieczonka, M. Rachwalski, S. Leśniak, A. Zawisza  
Optically Pure Aziridin-2-yl Methanols as Readily Available  $^1\text{H}$  NMR Sensors for Enantiodiscrimination of  $\alpha$ -Racemic Carboxylic Acids Containing Tertiary or Quaternary Stereogenic Centers, *J. Org. Chem.*, **2020**, 85, 11794.

## Wykaz wystąpień konferencyjnych bezpośrednio związanych z tematyką rozprawy:

1. M. Malinowska, A. Zawisza, S. Leśniak  
*Stereokontrolowana synteza zasad Betti'ego jako związków o potencjalnych właściwościach biologicznych*  
Zjazd Wiosenny Sekcji Studenckiej PTChem 2019, Ustroń 10-14.04.2019, P21.
2. M. Malinowska, A. Zawisza, S. Leśniak  
*Stereocontrolled synthesis of Betti bases*  
VII Łódzkie Sympozjum Doktorantów Chemii, Łódź 9-10.05.2019, S01-P14.



3. M. Malinowska, A. Zawisza, S. Leśniak  
*Stereokontrolowana synteza Zasad Betti'ego*  
62. Zjazd Naukowy Polskiego Towarzystwa Chemicznego 2019, Warszawa  
2-5.09.2019, P18.
4. M. Malinowska, A. Zawisza, S. Leśniak  
*Stereocontrolled synthesis of Betti Bases*  
XXII International Symposium "Advances in the Chemistry of Heteroorganic Compounds", Łódź, 22.11.2019, P-076.
5. M. Malinowska, A. Zawisza, S. Leśniak  
*Stereocontrolled synthesis of Betti Bases*  
63<sup>RD</sup> International Conference for Students of Physics and Natural Sciences OPEN READINGS 2020, Wilno 17-20.03.2020, P1-14.
6. M. Malinowska, A. Zawisza, S. Leśniak  
*Asymmetric Betti reaction – searching for new ligands*  
64<sup>TH</sup> International Conference for Students of Physics and Natural Sciences, OPEN READINGS 2021, Wilno, 16-19.03.2020, P1-48.
7. M. Malinowska, A. Zawisza, S. Leśniak  
*Poskromić nieposkromione – słów kilka o stereokontrolowanej syntezie Zasad Betti'ego*  
E-Zjazd Wiosenny Sekcji Studenckiej PTChem 2021, 27-29.05.2021.  
komunikat ustny
8. M. Malinowska, A. Zawisza, S. Leśniak  
*Organokatalizatory tiomocznikowe i tiosquaramidowe i ich wykorzystanie w reakcji Betti'ego*  
63. Zjazd Naukowy PTChem, Łódź 13-17.09.2021, S01 P028.
9. M. Malinowska, A. Zawisza, S. Leśniak  
*Tiomoczniki i tiosquaramidy w syntezie Zasad Betti'ego,*  
IX Łódzkie Sympozjum Doktorantów Chemii, Łódź 19-20.05.2022, K18.  
komunikat ustny
10. M. Malinowska, A. Zawisza, S. Leśniak  
*Wykorzystanie katalizatorów tiomocznikowych i tiosquaramidowych w asymetrycznej reakcji Betti'ego*  
64. Zjazd Naukowy PTChem, Lublin 11-16.09.2022, S01 P027.

**Doniesienia niezwiązane bezpośrednio z tematem rozprawy:**

1. A. Jabłońska, M. Malinowska, A. Zawisza, S. Leśniak  
*Węglowodany w syntezie nowych C-glikozydowych bloków budulcowych*  
Pomiędzy Naukami 2017, Chorzów 15.09.2017, P-31
2. A. Jabłońska, M. Malinowska, A. Zawisza, S. Leśniak  
*Azyrydyny jako związki przejściowe w syntezie glikozylo-aminokwasów*  
60. Zjazd Naukowy PTChem, Wrocław 17-21.09.2017, S01P37.
3. A. Jabłońska, M. Malinowska, A. Zawisza, S. Leśniak  
*Carbohydrates in the synthesis of original building blocks*  
XX International Symposium "Advances in the Chemistry of Heteroorganic Compounds", Łódź 23-24.11.2017, P-091.
4. A. Jabłońska, M. Malinowska, A. Zawisza, S. Leśniak  
*Węglowodany w syntezie oryginalnych bloków budulcowych*  
VI Łódzkie Sympozjum Doktorantów Chemii, Łódź 10-11.05.2018, P-86.
5. M. Malinowska, A. Zawisza  
*Azyrydyny jako kluczowe związki w syntezie C-glikozyloaminokwasów*  
IX Sesja Magistrantów i Doktorantów Łódzkiego Środowiska Chemików, Łódź 21.06.2018, P-43.
6. M. Malinowska, A. Jabłońska, A. Zawisza, S. Leśniak  
*Węglowodany w syntezie oryginalnych bloków budulcowych*  
I Interdyscyplinarna Konferencja Naukowa z cyklu Badania Młodych Naukowców 'Wiedza – Inspiracja – Pasja', Łódź 22-23.06.2018.
7. A. Tracz, M. Malinowska, A. Zawisza, S. Leśniak  
*Wykorzystanie azyrydyn w syntezie C-glikozyloaminokwasów*  
Pomiędzy Naukami 2018, Chorzów 14.09.2018, P-61.
8. M. Malinowska, A. Tracz, A. Zawisza, S. Leśniak  
*Azyrydyny jako kluczowe związki w syntezie C-glikozydów*  
61 Zjazd Naukowy PTChem, Kraków 17-21.09.2018, S02P40.

9. M. Malinowska, A. Tracz, A. Zawisza, S. Leśniak  
*Aziridines as key compounds for the synthesis of C-glycosides*  
XXI International Symposium "Advances in the Chemistry of Heterorganic Compounds, Łódź 23.11.2018, P-101.
10. M. Malinowska, A. Tracz, A. Zawisza, S. Leśniak  
*Aziridines as key compounds for the synthesis of C-glycosides*  
63<sup>RD</sup> International Conference for Students of Physics and Natural Sciences, OPEN READINGS 2020, Wilno, 17-20.03.2020, P1-15 .
11. M. Malinowska, A. Zawisza, S. Leśniak  
*Aziridin-2-yl methanols as chiral solvating agents for carboxylic acids*  
64<sup>TH</sup> International Conference for Students of Physics and Natural Sciences, OPEN READINGS 2021, Wilno, 16-19.03.2020, P6-26.

#### **Udział w projektach badawczych:**

1. „Badania nad syntezą nowych związków heteroatomowych” – projekt w ramach programu Studenckie Granty Badawcze UŁ
2. „Stereokontrolowana synteza zasad Betti’ego jako potencjalnych związków o aktywności biologicznej” – projekt finansowany przez InterChemMed (201536/E-345/M/2018)

#### **Praktyki zagraniczne:**

1. Friedrich-Schiller-University Jena  
Institute of Inorganic and Analytical Chemistry, Niemcy  
3-miesięczne praktyki w ramach program ERASMUS+ (czerwiec – wrzesień 2017)
2. Transilvania University of Brasov  
Faculty of Medicine, Rumunia  
3-tygodniowe praktyki w ramach programu CEEPUS (luty – marzec 2018)

#### **Członkostwo w organizacjach naukowych**

Członek Polskiego Towarzystwa Chemicznego – 2019 r.

# 1. WSTĘP

Synteza asymetryczna jest jednym z najintensywniej badanych i rozwijanych obszarów współczesnej chemii organicznej. Jej znaczenie wynika przede wszystkim z zapotrzebowania przemysłowego na wydajne metody i technologie pozwalające na wytwarzanie optycznie czystych związków organicznych o dokładnie określonych właściwościach fizykochemicznych oraz biologicznych.

W przemyśle spożywczym synteza asymetryczna jest wykorzystywana do produkcji dodatków smakowych i aromatycznych, które często mają specyficzne właściwości sensoryczne zależne od chiralności. W chemii materiałowej związki asymetryczne znajdują zastosowanie do wytwarzania polimerów o określonych właściwościach fizycznych, czego przykładem jest polilaktyd<sup>1</sup>. Polimer izotaktyczny z merami o konfiguracji absolutnej „L” wykazuje inne właściwości mechaniczne i czas całkowitej biodegradacji niż ataktyczny poli-DL-laktyd.

Synteza asymetryczna ma również zastosowanie w produkcji agrochemikaliów. Przykładem jest Metolachlor<sup>2</sup> – herbicyd używany do zwalczania chwastów w uprawach kukurydzy i soi. (*S*)-Metolachlor jest znacznie bardziej aktywny niż jego *R*-enancjomer<sup>3</sup>, co pozwala na zmniejszenie dawki stosowanego środka i ograniczenie jego negatywnego wpływu na środowisko. W produkcji materiałów optycznych (np. enancjomerycznych luminoforów opartych na optycznie czynnych pochodnych 1-(9-fluorenylo)etanolu) czyste enancjomery są niezbędne do uzyskania pożądanych właściwości optycznych<sup>4</sup>. W badaniach naukowych, stosowanie enancjomerycznie czystych związków pozwala na precyzyjne zrozumienie mechanizmów reakcji chemicznych i biologicznych. Dzięki ciągłym postępom w tej dziedzinie, chemicy mogą tworzyć coraz bardziej złożone i specyficzne struktury molekularne, otwierając nowe możliwości w nauce i przemyśle.

Na szczególną uwagę zasługuje wykorzystanie syntezy asymetrycznej w medycynie i farmacji<sup>5,6,7,8,9,10</sup>, gdzie czystość enancjomeryczna ma ogromny wpływ na skuteczność i bezpieczeństwo leków, co jest szczególnie istotne w kontekście obserwowanego w ostatnich dziesięcioleciach wzrostu zachorowań na tzw. choroby cywilizacyjne oraz nowotwory. Przewlekły stres, jakość pożywienia, niewłaściwe nawyki czy predyspozycje genetyczne powodują, że choroby metaboliczne, w tym cukrzyca, choroby dużych i małych naczyń, nadciśnienie tętnicze, choroby autoimmunologiczne, otyłość czy nowotwory, zaczęto określać mianem epidemii. Chcąc poprawić jakość i długość życia ludzi, a także zapobiec rozwojowi

---

<sup>1</sup> A. Duda, S. Penczek, *Polimery* **2003**, 48, 16.

<sup>2</sup> H. Liu, W. Ye, X. Zhan, W. Liu, *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **2006**, 63, 451.

<sup>3</sup> M. D. Müller, T. Poiger, H.-R. Buser, *J. Agric. Food Chem.* **2001**, 49, 42.

<sup>4</sup> Z. Ochal, S. Balter, Patent PL 221232, 31.03.2016 WUP 03/16.

<sup>5</sup> D. L. Hughes, *Org. Process Res. Dev.* **2018**, 22, 574.

<sup>6</sup> J. Alemán, S. Cabrera, *Chem. Soc. Rev.* **2013**, 42, 774.

<sup>7</sup> Y. Qin, L. Zhu, S. Luo, *Chem. Rev.* **2017**, 117, 9433.

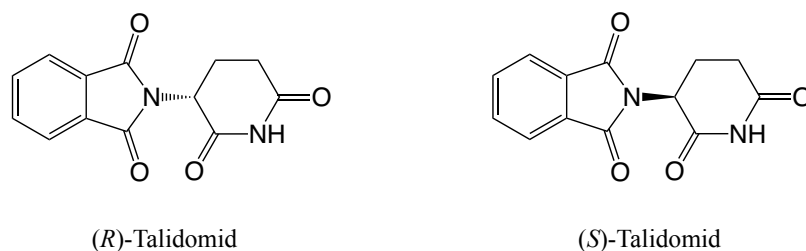
<sup>8</sup> A. Moyano, R. Rios, *Chem. Rev.* **2011**, 111, 4703.

<sup>9</sup> J. G. Hernandez, E. Juaristi, *Chem. Commun.* **2012**, 48, 5396.

<sup>10</sup> E. M. López, R. P. Herreraand, M. Christmann, *Nat. Prod. Rep.* **2010**, 27, 1138.

tych chorób, naukowcy na całym świecie poświęcają wiele uwagi rozwojowi coraz to nowszych terapii. Można więc uznać, że poszukiwanie nowych metod syntezy związków organicznych o pożądanych właściwościach biologicznych jest wciąż niezaspokojoną potrzebą lekarzy i pacjentów zmagających się z różnymi jednostkami chorobowymi, w tym chorobami rzadkimi. Odpowiedź na te potrzeby stanowi właśnie synteza asymetryczna, której intensywny rozwój stał się potężnym narzędziem syntetycznym, dającym dostęp do całej gamy związków chiralnych<sup>11,12,13</sup>. Ostatnie dziesięciolecia pokazują, że rozwój chemii organicznej, w tym chemii leków zmierza ku prowadzeniu syntezy w sposób stereokontrolowany, aby otrzymać jeden główny związek (stereoizomer) będący pożądanym produktem, na drodze możliwie najprostszej syntezy.

Jak ważne jest to zagadnienie, przypomina nam historia Talidomidu<sup>14</sup> (Rysunek 1.1) z lat sześćdziesiątych XX wieku. Związek ten w postaci mieszaniny racemicznej został dopuszczony do obrotu w 47 krajach świata, gdzie był powszechnie stosowany głównie przez kobiety w ciąży jako środek przeciwwymiotny, przeciwbólowy oraz pomagający w zasypianiu. Okazało się jednak, że tylko jeden z jego enancjomerów – (*R*)-Talidomid wykazywał pożądane właściwości farmakologiczne. (*S*)-Talidomid natomiast był teratogeny i mutageny, a dzieci urodzone przez kobiety zażywające tę substancję cierpiały z powodu m. in. ciężkich deformacji ciała, np. braku kończyn. (*R*)-Talidomid o wysokiej czystości optycznej wykorzystywany jest do dziś, głównie u mężczyzn. Hamuje on rozwój szpiczaka mnogiego – nowotworu układu krwiotwórczego<sup>15</sup>. Poruszające doniesienia związane z Talidomidem poskutkowały znacznym zaostrzeniem przepisów regulujących rejestrację nowych leków. Dla chemika jest to jasny sygnał, jak ważna jest czystość optyczna produktu podczas syntezy związków o potencjalnym zastosowaniu leczniczym. To z kolei przyczyniło się do rozwoju i walidacji metod analitycznych stosowanych do badania optycznie czynnych substancji<sup>16</sup>.



**Rysunek 1.1.** Enancjomery Talidomidu.

<sup>11</sup> V. Farina, J. T. Reeves, C. H. Senanayake, J. J. Song, *Chem. Rev.* **2006**, 106, 2734.

<sup>12</sup> H. Caner, E. Groner, L. Levy, I. Agranat, *Drug Discov. Today*. **2004**, 9, 105.

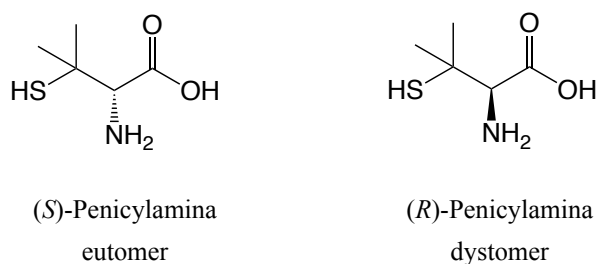
<sup>13</sup> A. Nag, *Asymmetric Synthesis of Drugs and Natural Products*. CRC Press; Boca Raton, FL, USA, **2018**.

<sup>14</sup> M. E. Franks, G. R. Macpherson, W. D. Figg, *Lancet*. **2004**, 363, 1802.

<sup>15</sup> P. S. Haas, U. Denz, G. Ihorst, M. Engelhardt, *Eur. J. Haematol.* **2008**, 4, 303.

<sup>16</sup> G. Hancu, A. Modroiu, *Pharmaceuticals* **2022**, 15, 240.

Lek w postaci racematu może więc wykazywać dwa odmienne profile działania farmakologicznego, toksykologicznego, a także różną aktywność terapeutyczną<sup>17</sup>. Jeden z enancjomerów może nie wykazywać efektu klinicznego lub istotnie słabszy efekt i aktywność, bądź wykazywać działanie toksyczne, antagonistyczne czy też zwiększać siłę działań niepożądanych. Przykład Talidomidu jest bez wątpienia tym najbardziej znamienym – to od niego zaczęła się wielka farmaceutyczna rewolucja. Przykładów związków, których przeciwne enancjomery wykazują odmienne właściwości jest jednak znacznie więcej – np. chinina ma właściwości przeciwmalaryczne, a jej prawoskrętny izomer chinidyna – przeciwwarytmiczne<sup>18</sup>. Czasem jeden z enancjomerów może być toksyczny, tak jak ma to miejsce w przypadku L-penicylaminy<sup>19</sup>, która hamuje działanie pirodoksyny (wit. B6). Z kolei D-penicylamina chelatuje kationy metali w organizmie, co wykorzystuje się w leczeniu zatruc, reumatoidalnego zapalenia stawów oraz choroby Wilsona (Rysunek 1.2). Podobnie sytuacja wygląda w przypadku (*S*)-propranololu, który zasłynął jako pierwszy i najpopularniejszy beta-bloker stosowany w leczeniu m.in. nadciśnienia tętniczego czy choroby niedokrwiennej serca, podczas gdy jego *R*-enancjomer wykazuje 100 razy niższą aktywność<sup>20</sup>.



**Rysunek 1.2.** Enancjomery penicylaminy.

Synteza asymetryczna jest zatem kluczowa nie tylko dla rozwoju nowych, bardziej skutecznych i bezpiecznych leków, a także dla tworzenia innowacyjnych produktów w różnych gałęziach przemysłu. To podejście przynosi korzyści zarówno ekonomiczne, jak i ekologiczne, przyczyniając się do ogólnego postępu technologicznego i naukowego. Z tego też powodu liczne grupy badawcze na całym świecie nieustannie donoszą o nowych odkryciach i rozwiązaniach prowadzących do enancjoselektywnego otrzymywania związków optycznie czynnych.

Wpisując się w ten nurt badań naukowych, w ramach niniejszej pracy doktorskiej zaplanowana została synteza nowych, prostych i skutecznych organokatalizatorów oraz sprawdzenie ich aktywności katalitycznej w asymetrycznej reakcji Betti’ego, która stanowi nieco zapomniane, aczkolwiek niezwykle użyteczne narzędzie do tworzenia wiązań C-C.

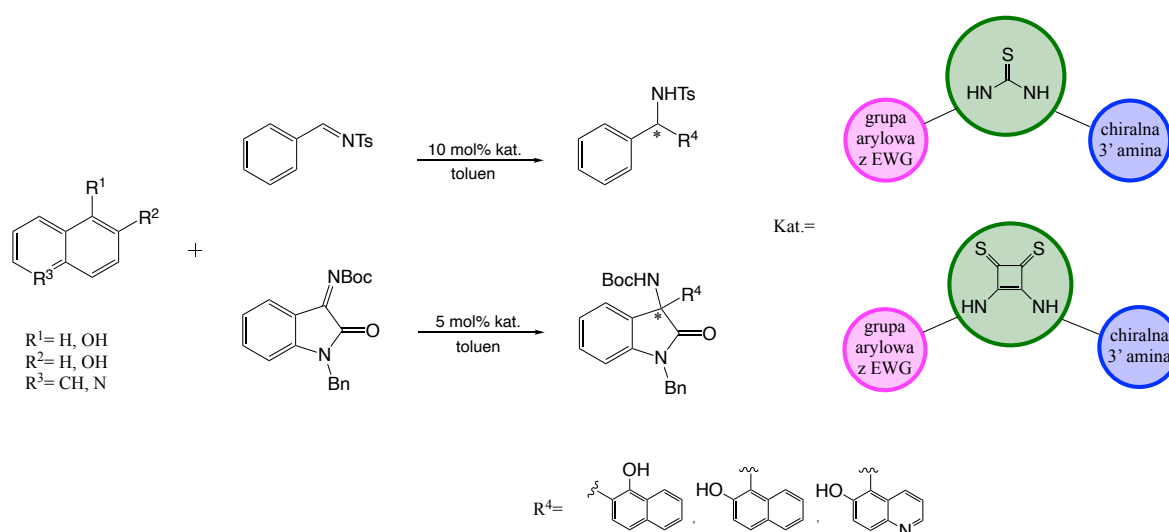
<sup>17</sup> N. Kocot, R. Mastalerz, J. Dulęba, T. Siódmiak, M. P. Marszał, *Farmacja Polska* **2022**, 78, 29.

<sup>18</sup> J. Achan, A. O. Talisuna, A. Erhart, A. Yeka, J. K. Tibenderana, F. N. Baliraine, P. J. Rosenthal, U. D'Alessandro, *Malar. J.* **2011**, 10, 144.

<sup>19</sup> J. K. Aronson, *Amsterdam: Elsevier Science*, **2010**, 613.

<sup>20</sup> D. Alex, *Chem. Br.* **1988**, 24, 847.

Reakcja Betti'ego jest prostą wieloskładnikową kondensacją 2-naftolu, aldehydów arylowych i amin, a w uproszczonym wariancie, kondensacją 2-naftolu ze wstępnie uformowaną iminą, prowadzącą do aminobenzylonaftoli zwanych zasadami Betti'ego. Optycznie aktywne aminobenzylonaftole to klasa cząsteczek występujących w wielu związkach naturalnych i syntetycznych, które mają szeroki zakres interesujących właściwości i zastosowań. Ze względu na duże zapotrzebowanie na rozwój skutecznych metod asymetrycznego wariantu tej reakcji zdecydowałam się przetestować homogeniczne katalizatory tiomocznikowe oraz, po raz pierwszy, tiosquaramidowe. Na podstawie uzyskanych wyników postanowiłam wyciągnąć ogólne wnioski na temat użycia tego typu dwufunkcyjnych organokatalizatorów w reakcjach  $\alpha$ - i  $\beta$ -naftoli oraz 6-hydroksychinoliny z *N*-tosyloiminą i *N*-Boc-ketiminą (Schemat 1.1).



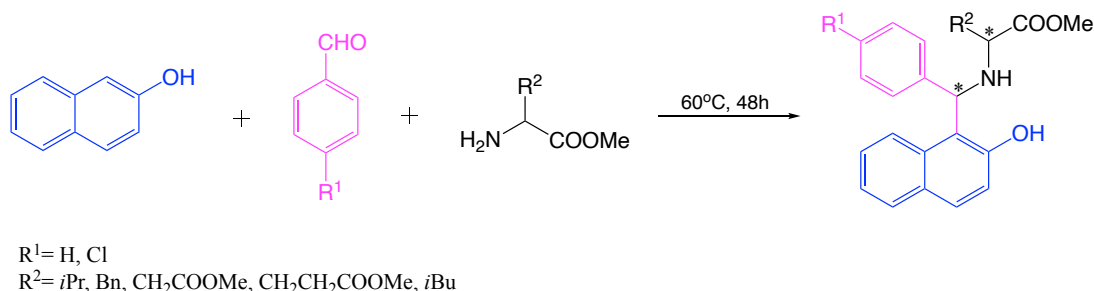
**Schemat 1.1.** Enancjoselektywna reakcja Betti'ego w warunkach katalizy dwufunkcyjnej.

Dwufunkcyjne katalizatory tiomocznikowe oraz tiosquaramidowe posiadają wiele zalet: są proste w syntezie, umożliwiają reakcje w łagodnych warunkach i nie wymagają obecności kationów metali. Dodatkowo mostek tiomocznikowy lub tiosquaramidowy oraz silnie kwasowe protony umożliwiają tworzenie silnych wiązań wodorowych, co prowadzi do aktywacji substratu. Kolejnym celem było zbadanie aktywności katalitycznej trzech innych grup organokatalizatorów, które dotychczas były z powodzeniem stosowane w naszym zespole w wielu innych reakcjach asymetrycznych. Do badań wybrane zostały: pochodne mocznika i tiomocznika zawierające pierścień cukrowy, azirydynylokarbinole oraz fosfiny i ich tlenki zawierające podjednostkę azirydynową.

Chociaż najbardziej zaawansowane procesy chemiczne i złożone transformacje w dużej mierze opierają się na katalizie homogenicznej, przemysł chemiczny i farmaceutyczny nadal preferuje katalizatory heterogeniczne, które można łatwiej oddzielić od reagentów i poddać recyklingowi w celu wykorzystania w kolejnych cyklach. Jednym z możliwych

sposobów połączenia zalet katalizatorów homogenicznych i heterogenicznych może być trwała adsorpcja katalizatorów homogenicznych na powierzchni porowatych nośników, w taki sposób, aby aktywne centra pozostały dostępne dla substratów, czyli tzw. heterogenizacja układów. Z tego powodu kolejna część badań obejmowała próby osadzenia jednego z otrzymanych organokatalizatorów tiomocznikowych na adsorbentach przemysłowych: C, SiO<sub>2</sub>, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> i ich modyfikacjach miedzią, amoniakiem lub etylenodiaminą, a następnie przeprowadzenie reakcji Betti'ego 1-naftolu z *N*-tosyloiminą, oraz 6-hydroksychinoliny z *N*-Boc-ketiminą w warunkach katalizy heterogenicznej.

W ostatniej części pracy skupiłam się na badaniach aktywności biologicznej otrzymanych zasad Betti'ego. Postanowiłam jednak nieco zmodyfikować ich strukturę wykorzystując do syntezy estry aminokwasów zamiast amin, z nadzieją na dostrojenie ich biodostępności i właściwości. Do badań biologicznych użyłam zmodyfikowanych strukturalnie pochodnych aminobenzylonaftoli, otrzymanych w reakcji 2-naftolu z benzaldehydami oraz estrami  $\alpha$ -aminokwasów (Schemat 1.2).



**Schemat 1.2.** Schemat reakcji Betti'ego z pochodnymi aminokwasów.

W celu zbadania potencjału przeciwnowotworowego otrzymanych zasad Betti'ego przeprowadzone zostały badania *in vitro* i *in silico*.



## 2. CZĘŚĆ LITERATUROWA

### 2.1. Metody otrzymywania związków enancjomerycznie czystych – rozdział mieszaniny racemicznej

Synteza związków optycznie czynnych w postaci czystych enancjomerów jest procesem kluczowym dla osiągnięcia wysokiej jakości i skuteczności w wielu dziedzinach nauki i przemysłu. Ma to szczególne znaczenie w medycynie i farmakologii z uwagi na różne właściwości biologiczne enancjomerów, o czym wspomniano we wstępie do niniejszej pracy.

Potrzeba stosowania substancji enancjomerycznie czystych przyczyniła się do rozwoju metod ich otrzymywania (Rysunek 2.1)<sup>16,21,22,23</sup>. Okazuje się, że pomimo ogólnego trendu i postępu w otrzymywaniu pojedynczych enancjomerów z prekursorów chiralnych na drodze asymetrycznej syntezy, której poświęcony zostanie kolejny rozdział pracy, wciąż to rozdział mieszanin racemicznych jest najczęściej wykorzystywaną metodą w uzyskiwaniu czystych enancjomerów<sup>24</sup>. Synteza racematu jest jeszcze wciąż prostsza, tańsza i mniej czasochłonna niż inne metody, a wprowadzenie metody rozdziału można potraktować jako kolejny etap we wcześniej opracowanym sposobie otrzymywania związku leczniczego<sup>20,25</sup>. Dlatego wciąż wiele wysiłków koncentruje się na optymalizacji rozdziału mieszanin, a przede wszystkim na wynalezieniu szybszych i prostszych metod otrzymywania pojedynczych enancjomerów.



Rysunek 2.1. Metody otrzymywania związków enancjomerycznie czystych.

Jedną z najstarszych metod otrzymywania czystych enancjomerów jest rozdział mieszaniny racemicznej poprzez tworzenie diastereoizomerycznych soli. Jest to możliwe, gdy enancjomery rozdzielanej mieszaniny posiadają odpowiednią chemicznie czynną grupę,

<sup>21</sup> A. Ghanem, H. Y. Aboul-Encin, *Chirality* **2005**, 17, 1.

<sup>22</sup> W. H. Brooks, W. C. Guida, K. G. Daniel, *Curr. Top. Med. Chem.* **2011**, 11, 760.

<sup>23</sup> R. N. Patel, *Bioorg. Med. Chem.* **2018**, 26, 1252.

<sup>24</sup> A. Patti, *Green Approaches to Asymmetric Catalytic Synthesis*, Springer, Katania, **2011**.

<sup>25</sup> G. Duan, C. B. Ching, *Biochem. Eng. J.* **1998**, 2, 237.

mogącą oddziaływać z czynnikiem chiralnym. Powstałe diastereoizomeryczne sole różnią się właściwościami fizycznymi, np. rozpuszczalnością, co może stanowić podstawę ich rozdzielania. Przykładem może być rozdzielanie mieszaniny enancjomerów amlodypiny za pomocą powszechnie stosowanego w tej metodzie kwasu (*R,R*)-winowego w DMF z dodatkiem 15% wody<sup>26</sup>. Do dziś metodę tę wykorzystuje się np. w syntezie naproksenu<sup>27</sup>.

Rozwinięciem opisanej metody jest enancjoselektywne tworzenie związków kompleksowych poprzez wiązania wodorowe lub inne słabe oddziaływania z chiralnym gospodarzem. Diastereoizomeryczne kompleksy typu gość-gospodarz, które w ten sposób powstają, zazwyczaj przyjmują formę krystaliczną. Technika ta jest szczególnie użyteczna dla związków, które posiadają inne grupy funkcyjne niż kwasowe czy zasadowe, np. suflotlenków, epoksydów, laktamów<sup>28</sup> czy aryloalkoholi<sup>29</sup>.

Kolejną doskonałą strategią otrzymywania pojedynczych enancjomerów z mieszaniny racemicznej jest kinetyczny rozdział (KR), który wykorzystuje różnice w szybkości reakcji poszczególnych enancjomerów z optycznie czystym związkiem, np. enzymem. Jeden z enancjomerów substratu, posiadający niższą energię aktywacji reaguje znacznie szybciej z dodanym odczynnikiem niż drugi. Tak powstały produkt można łatwo wyizolować z mieszaniny reagentów za pomocą prostych metod, np. sączenia. Jako ciekawy przykład kinetycznego rozdzielania można posłużyć wyizolowanie (*S*)-(+)-pentan-2-olu, który stanowi kluczowy produkt pośredni w syntezie leków stosowanych w leczeniu choroby Alzheimera przy użyciu lipazy z *Candida antarctica* B<sup>30</sup>.

Istotnym ograniczeniem kinetycznego rozdzielania jest wydajność procesu, która może wynosić maksymalnie 50%, z uwagi na przerwanie reakcji, gdy jeden z enancjomerów ulegnie całkowitemu przekształceniu. Związkiem ubocznym jest drugi z enancjomerów, który nie zawsze udaje się wykorzystać. Aby zwiększyć ilość pożądanego stereoizomeru stosuje się tzw. dynamiczny kinetyczny rozdział (DKR), w którym możliwa jest 100% konwersja. Różni się on od konwencjonalnego rozdzielania tym, że nieprzereagowany substrat poddaje się racemizacji, a następnie ponownej reakcji z czystym optycznie odczynnikiem, a cały proces powtarza się aż do momentu wyczerpania obydwu enancjomerów. Stereoselektywną syntezę opartą na dynamicznym kinetycznym rozdzielaniu mieszaniny diastereoizomerów wykorzystuje się m.in. w syntezie ugrupowania epoksycykloheksenylowego, które jest kluczowym elementem (+)-Scyfostatyny<sup>31</sup>. Jest ona uważana za najbardziej specyficzny i silny inhibitor neutralnej sfingomielinazy stosowanej w leczeniu stanów zapalnych oraz zaburzeń immunologicznych i neurologicznych.

<sup>26</sup> D. M. Gotrane, R. D. Deshmukh, P. V. Ranade, S. P. Sonawane, B. M. Bhawal, M. M. Gharpure, M. K. Gurjar, *Org. Process Res. Dev.* **2010**, *14*, 640.

<sup>27</sup> P. J. Harrington, E. Lodewijk *Org. Process Res. Dev.* **1997**, *1*, 72.

<sup>28</sup> O. Bortolini, G. Fantin, M. Fogagnolo, S. Maietti, *Arkivoc*, **2006**, *6*, 40.

<sup>29</sup> K. Kodama, Y. Kobayashi, K. Saigo, *Chem. Eur. J.* **2007**, *13*, 2144.

<sup>30</sup> R. N. Patel, A. Banerjee, V. Nanduri, A. Goswami, F. T. Comezoglu, *J. Am. Oil Chem. Soc.* **2000**, *77*, 1015.

<sup>31</sup> T. H. Hoye, C. S. Jeffrey, D. P. Nelson, *Org. Lett.* **2010**, *12*, 52.

Inna metoda otrzymywania związków enancjomerycznie czystych polega na wykorzystaniu chiralnego zbioru substancji, tzw. podejście „chiral pool”. Zakłada ono wykorzystanie jako substratów łatwo dostępnych (często handlowo) związków ze zdefiniowanym centrum stereogenicznym, które to indukuje powstanie nowego, określonego centrum stereogenicznego w produkcie. To nowe centrum stereogeniczne nie ulega modyfikacjom w kolejnych etapach i zostaje zachowane w związku docelowym. Jako substraty w tym podejściu stosuje się np. cukry, aminokwasy<sup>32</sup> czy terpeny<sup>33</sup>. Metoda ta generuje minimalne straty w porównaniu z innymi, często też bardziej czasochłonnymi metodami i jest szczególnie użyteczna w syntezie związków naturalnych, mających potencjalne właściwości lecznicze<sup>34</sup>, np. (-)-presilofiperfolan-8-olu<sup>35</sup>.

Wykorzystanie pomocnika chiralnego (chiral auxiliary) stanowi kolejną metodę syntezy związków optycznie czystych. Polega ona na kowalencyjnym, odwracalnym wiązaniu achiralnego substratu z chiralnym pomocnikiem, co prowadzi do utworzenia chiralnego produktu pośredniego. W kolejnym etapie taki układ ulega właściwej reakcji na centrum prochiralnym, po czym następuje odłączenie cząsteczki pomocnika w stanie niezmienionym np. poprzez hydrolizę i otrzymanie pożądanego produktu. Ze względu na rozbudowaną strukturę pomocników chiralnych, atak właściwego odczynnika (nukleofila) może nastąpić wyłącznie z jednej, mniej zatłoczonej strony. To powoduje, że otrzymany produkt posiada wysoką czystość optyczną. Pomocniki chiralne muszą być enancjomerycznie czyste i zawierać co najmniej jedno centrum stereogeniczne. Najczęściej w tym celu wykorzystuje się pochodne oksazolidyny, aminy, hydrazyny, cukry oraz alkohole<sup>36,37,38,39,40,41,42,43,44,45,46,47,48,49</sup>.

Obecnie jedną z najczęściej wybieranych metod analitycznego rozdzielania enancjomerów jest wysokosprawną chromatografię cieczową (*HPLC – high performance liquid chromatography*). Mechanizm rozdzielania izomerów optycznych metodami chromatograficznymi polega na ich enancjoróżnicowaniu poprzez tworzenie diastereoizomerycznych połączeń lub kompleksów z chiralnym selektorem/odcynnikiem kompleksującym. Rozdział można prowadzić w sposób pośredni lub bezpośredni.

<sup>32</sup> A. Gogoi, A. Mezhubeinuo, S. Nongrum, G. Bez, *Curr. Org. Chem.* **2021**, 25, 1566.

<sup>33</sup> Z. G. Brill, M. L. Condakes, C. P. Ting, T. J. Maimone, *Chem. Rev.* **2017**, 117, 11753.

<sup>34</sup> K. C. Nicolaou, S. Rigol, *Nat. Prod. Rep.* **2020**, 37, 1404.

<sup>35</sup> P. Hu, S. A. Snyder, *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, 139, 5007.

<sup>36</sup> D. A. Evans, J. Bartoli, T. L. Shih, *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, 103, 2127.

<sup>37</sup> D. A. Evans, M. D. Ennis, D. J. Mathre, *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, 104, 1737.

<sup>38</sup> D. A. Evans, K. T. Chapman, J. Bisaha, *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, 106, 4261.

<sup>39</sup> A. G. Myers, B. H. Yang, H. Chen, L. McKinsty, D. J. Kopecky, J. L. Gleason, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 6496.

<sup>40</sup> M. R. Morales, K. T. Mellem, A. G. Myers, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, 51, 4568.

<sup>41</sup> W. Oppolzer, C. Chapuis, G. Bemardinelli, *Helv. Chim. Acta*, **1984**, 67, 1397.

<sup>42</sup> W. P. Deng, K. A. Wong, K. L. Kirk, *Tetrahedron: Asymmetry* **2002**, 13, 1135.

<sup>43</sup> K. Kiegiel, J. Jurczak, *Tetrahedron Lett.* **1999**, 40, 1009.

<sup>44</sup> S. Hajra, M. Bhowmick, *Tetrahedron: Asymmetry* **2010**, 21, 2223.

<sup>45</sup> Ch. Chapuis, A. Kucharska, J. Jurczak, *Tetrahedron: Asymmetry* **2000**, 11, 4581.

<sup>46</sup> P. Merino, G. Greco, T. Tejero, R. Hurtado-Guerrero, R. Matute, U. Chiacchio, A. Corsaro, V. Pistara, R. Romeo, *Tetrahedron*, **2013**, 69, 9381.

<sup>47</sup> J. M. Garcia, M. Oiarbide, C. Palomo, *Chem. Soc. Rev.* **2004**, 33, 65.

<sup>48</sup> D. A. Evans, K. T. Chapman, D. T. Hung, A. T. Kawaguchii, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1987**, 26, 1184.

<sup>49</sup> W. Oppolzer, G. Poli, A. J. Kingma, C. Starkemann, G. Bemardinelli, *Hel. Chim. Acta*, **1998**, 81, 324.

Metoda pośrednia polega na reakcji mieszaniny racemicznej z chiralnym czynnikiem, celem wytworzenia pary diastereoizomerów, które różnią się właściwościami fizycznymi i chemicznymi i łatwo można je rozdzielić na achiralnych fazach stacjonarnych. Takimi czynnikami chiralnymi mogą być chinina, chinidyna, brucyna, kwas kamforowy czy kwas pirolidono-5-karboksylowy<sup>50</sup>.

Zdecydowanie częściej stosuje się jednak metodę bezpośrednią, co możliwe jest przy użyciu kolumn z chiralnym wypełnieniem przyłączonym do fazy stacjonarnej lub przy dodatku chiralnego odczynnika do fazy ruchomej. Interakcja racematu z selektorem powoduje powstawanie dwóch labilnych, diastereoizomerycznych kompleksów o zróżnicowanej trwałości i elucji, bezpośrednio podczas analizy chromatograficznej. W przypadku chiralnego wypełnienia kolumny, ten enancjomer, który tworzy stabilniejszy kompleks z wypełnieniem będzie wolniej wymywany z kolumny. Dzięki różnicy w czasie wymywania diastereoizomerycznych kompleksów z kolumny, możliwe jest ich łatwe rozdzielenie. Obecnie preparatywne kolumny chiralne pozwalają rozdzielić mieszaniny enancjomerów nawet w ilościach gramowych.

Synteza asymetryczna z użyciem chiralnych katalizatorów jest kolejną, ważną metodą pozyskiwania związków enancjomerycznie czystych, której z uwagi na charakter pracy poświęciłam kolejne rozdziały, szczegółowo pochylając się nad tą tematyką.

## 2.2. Synteza asymetryczna

W odpowiedzi na potrzeby społeczeństwa, wymagania podmiotów rejestrujących leki oraz firmy farmaceutycznych, a przede wszystkim w trosce o zdrowie i życie człowieka, synteza asymetryczna staje się jedną z najbardziej intensywnie badanych i rozwijanych dziedzin współczesnej chemii organicznej, pozwalającej na otrzymanie czystych enancjomerów. Ogromne zapotrzebowanie przemysłowe na metody i technologie prowadzące do optycznie czystych związków organicznych o zdefiniowanych właściwościach fizykochemicznych (nowe materiały) oraz biologicznych (substancje czynne dla nowych leków, półprodukty dla przemysłu chemicznego, kosmetycznego i spożywczego), podkreśla ogromną wartość syntezy asymetrycznej i niesłabnące zainteresowanie tym tematem. Ponadto wśród wielu metod uzyskiwania związków chiralnych synteza asymetryczna jest jedną z najbardziej efektywnych pod kątem wydajności i ekonomii. Zgodnie z definicją IUPAC jest to reakcja chemiczna (lub sekwencja kilku reakcji), w wyniku której w cząsteczce substratu tworzy się nowe centrum stereogeniczne, a stereoizomery produktu powstają w różnych ilościach<sup>51</sup>. Najprościej mówiąc, jest to reakcja, w której achiralny substrat przeprowadzamy w związek chiralny poprzez przekształcenie centrum prochiralnego w chiralne. Ten prochiralny atom węgla jest albo w hybrydyzacji  $sp^3$  i zawiera parę identycznych podstawników, albo jest

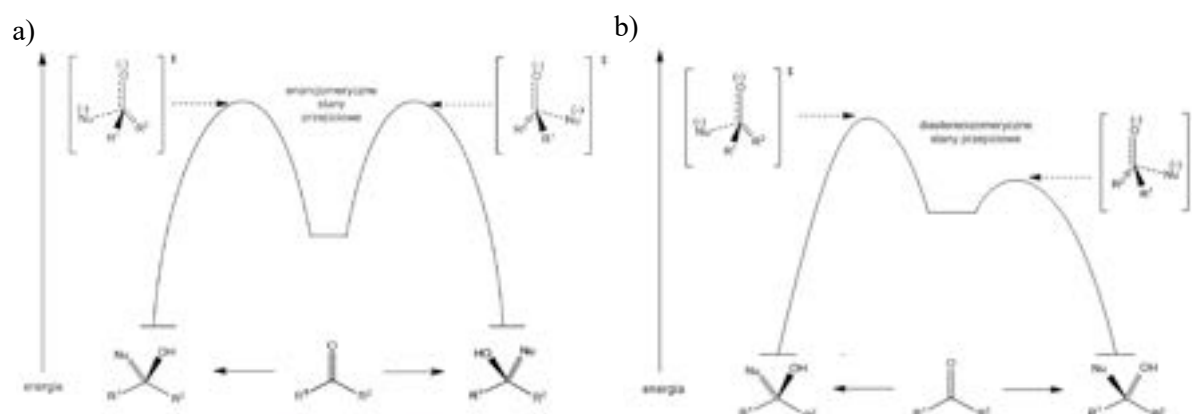
<sup>50</sup> X. X. Sun, L. Z. Sun, H. Y. Aboul-Enein, *Biomed. Chromatogr.* **2001**, 12, 116.

<sup>51</sup> A. D. McNaught, A. Wilkinson, *IUPAC. Compendium of Chemical Terminology*, ed. 2. Blackwell Scientific Publications, Oxford, **1997**.

atomem o hybrydyzacji  $sp^2$  i w reakcji stereoselektywnej przekształca się w atom chiralny. Nowe centrum stereogeniczne kształtuje się pod wpływem chiralnego katalizatora, a związek pośredni utworzony przez katalizator i substrat nie jest izolowany – wszystkie transformacje mają miejsce w środowisku reakcji. Katalizator oddziałuje z cząsteczką jednego z reagentów ułatwiając lub wymuszając tylko jedną z dwóch możliwych dróg reakcji. W ten sposób, w wyniku reakcji enancjoselektywnej otrzymujemy produkt o preferowanej konfiguracji absolutnej. W wielu przypadkach możliwe jest także odzyskanie katalizatora i jego ponowne użycie. W trakcie reakcji chemicznej nie ulega on zużyciu, po jej zakończeniu całkowicie się odtwarza, a jego ilość i postać jest taka sama na początku, jak i na końcu reakcji. Staranne dobranie chiralnego układu katalitycznego jest gwarancją otrzymania pożądanego enancjomeru z wysoką czystością optyczną.

Mimo prowadzenia licznych badań, o chiralnych katalizatorach świat na dobre usłyszał na przełomie XX i XXI w. Wtedy też opublikowano pierwsze przełomowe badania wykorzystujące te aktywne cząsteczki. Prawdziwy przełom nastąpił w 2001 r., kiedy to Ryoji Noyori, William Knowles i Barry Sharpless otrzymali Nagrodę Nobla za badania nad syntezą asymetryczną, wykorzystaniem chiralnych katalizatorów w reakcjach uwodornienia i udowodnieniem wpływu tej izomerii na aktywność biologiczną związków chemicznych<sup>52</sup>. Ich badania przyczyniły się do rozwoju syntezy asymetrycznej oraz gwałtownego rozwoju chemii leków, w tym także do wycofania Talidomidu.

Zasadniczą różnicę w przebiegu reakcji w obecności i bez udziału katalizatora obrazują stany przejściowe takich reakcji. Gdy w achiralnej początkowo cząsteczce z użyciem achiralnych reagentów, powstaje nowe centrum stereogeniczne, to otrzymuje się mieszaninę racemiczną - powstają bowiem dwa równocenne energetycznie (enancjomeryczne) stany przejściowe (Rysunek 2.2.a)<sup>53</sup>.



**Rysunek 2.2.** a) Wykres energetyczny enancjomerycznych stanów przejściowych; b) Wykres energetyczny diastereoizomerycznych stanów przejściowych.

<sup>52</sup> A. Ault, *J. Chem. Educ.* **2002**, 79, 572.

<sup>53</sup> J. Clayden, N. Greeves, S. Warren, P. Wothers, *Chemia Organiczna*, Wydawnictwo Naukowo-Techniczne, Warszawa, **2001**.

Natomiast enancjomerycznie czysta cząsteczka (bądź jej fragment) poddana reakcji z achiralnym substratem doprowadzi do powstania nierównocennych energetycznie (diastereoizomerycznych) stanów przejściowych, spośród których faworyzowany jest ten o niższej energii, co skutkuje powstawaniem jednego z enancjomerów w przewadze (Rysunek 2.2b)<sup>54</sup>.

Funkcje katalizatorów w reakcjach asymetrycznych mogą pełnić związki kompleksowe generowane *in situ* z kationów metali grup przejściowych i chiralnych ligandów, związki organiczne nieposiadające atomów metali (organokatalizatory) lub enzymy. Przez lata reakcje syntezy asymetrycznej prowadzono z wykorzystaniem kompleksów metali z chiralnymi ligandami organicznymi. Jednymi z najbardziej znanych przykładów takich reakcji są katalizowana tytanem epoksydacja alkenów, kompleksami osmu dihydroksylacja alkenów<sup>55</sup>, katalizowane palladem reakcje krzyżowego sprzęgania<sup>56</sup>, czy reakcje metatezy krzyżowej olefin prowadzone w obecności słynnego już katalizatora Grubbsa<sup>57,58</sup>. Nie można jednak zignorować faktu, że metody te, choć istotnie przyczyniły się do rozwoju syntezy asymetrycznej, wymagają użycia szkodliwych metali, mogących zanieczyszczać oczekiwany produkt, a ponadto ich synteza i oczyszczanie wymaga ściśle bezwodnych lub beztlenowych warunków, co nastręcza dodatkowych trudności.

Tworzenie różnorodnych i złożonych cząsteczek, w jednym etapie z prostych i łatwo dostępnych substratów, wciąż pozostaje wyzwaniem dla współczesnej syntezy organicznej. Aby temu sprostać, od początku obecnego stulecia szeroko wykorzystuje się organokatalizę<sup>59,60,61</sup>, której z uwagi na realizowaną tematykę poświęcono kolejne rozdziały dysertacji.

### 2.3. Organokatalizatory

Wśród wielu katalizatorów stosowanych w syntezie organicznej, na szczególną uwagę zasługują organokatalizatory, czyli katalizatory, które nie zawierają w swojej strukturze atomów metali. Mimo iż pierwsze wzmianki o użyciu tych małych, chiralnych cząsteczek do katalizowania reakcji stereoselektywnych sięgają początków XX w.<sup>62</sup>, to nie wzbudziły one wtedy większego zainteresowania i uznano je za pojedyncze przypadki nie mające większego potencjału aplikacyjnego. Dopiero pod koniec lat 90. XX w. ukazały się nowe przełomowe prace<sup>63,64</sup>, a organokataliza zdominowała współczesną chemię organiczną i została nazwana trzecim filarem katalizy asymetrycznej (tuż obok enzymów i tradycyjnych katalizatorów metalicznych)<sup>65</sup>. Organokatalizatory mogą oddziaływać z reagentami na wiele sposobów,

<sup>54</sup> R. T. Morrison, R. N. Boyd, *Chemia organiczna*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, **2009**.

<sup>55</sup> K. B. Sharpless, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2022**, *41*, 2024.

<sup>56</sup> Á. Molnár, *Palladium-Catalyzed Coupling Reactions*, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, **2013**.

<sup>57</sup> P. Schwab, R. H. Grubbs, J. W. Ziller, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 100.

<sup>58</sup> J. Louie, R. H. Grubbs, *Organometallics* **2002**, *21*, 2153.

<sup>59</sup> M. P. Van der Helm, B. Klemm, R. Eelkema, *Nat. Rev. Chem.* **2019**, *3*, 491.

<sup>60</sup> S.-H. Xiang, B. Tan, *Nat. Commun.* **2020**, *11*, 3786.

<sup>61</sup> B. Han, X.-H. He, Y.-Q. Liu, G. He, C. Peng, J.-L. Li, *Chem. Soc. Rev.* **2021**, *50*, 1522.

<sup>62</sup> H. H. Freedman, R. A. Dubois, *Tetrahedron Lett.* **1975**, *16*, 3251.

<sup>63</sup> B. List, R. A. Lerner, C. F. Barbas III, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 2395.

<sup>64</sup> K. A. Ahrendt, C. J. Borths, D.W.C. MacMillan, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 4243.

<sup>65</sup> O. G. Mancheño, M. Waser, *Eur. J. Org. Chem.* **2023**, *26*, e202200950.

dzięki czemu znalazły zastosowanie w wielu zróżnicowanych typach reakcji. Charakteryzują się wysoką stereoselektywnością i generują produkty z nadmiarami enancjomerycznymi nawet do 99%. To wszystko sprawia, że te niewielkie cząsteczki organiczne znajdują się dziś w centrum zainteresowania wielu chemików organików, a liczba doniesień literaturowych na ich temat z roku na rok rośnie.

Pojęcie ‘organokatalizy’ wprowadził profesor David MacMillan w 2000 r., aby opisać aktywowanie reakcji przez użycie cząsteczek organicznych w ilościach niestechiometrycznych<sup>64</sup>. W 2005 r. profesor Benjamin List zaproponował klasyfikowanie organokatalizatorów na podstawie mechanizmu ich działania, tzn. czy działają jako kwasy lub zasady Lewisa, czy jako kwasy lub zasady Brønsteda<sup>63,66</sup>. Obydwaj za swój wkład w rozwój asymetrycznej katalizy organicznej w 2021 r. otrzymali Nagrodę Nobla w dziedzinie chemii, co tylko podkreśla ogromną wartość tych odkryć i sens prowadzonych wciąż badań.

Organokatalizatory to małe cząsteczki organiczne, zbudowane z atomów węgla, wodoru, siarki, azotu lub tlenu. Łączą one zalety katalizatorów metalicznych oraz enzymów. Z uwagi na fakt, iż w swojej strukturze nie zawierają atomów metali, są nietoksyczne, niewielka ich ilość potrzebna jest do przeprowadzenia reakcji, a przy tym są wyjątkowo efektywne i selektywne. Spełniają tym samym główne założenia ‘zielonej chemii’, umożliwiając prowadzenie bezpiecznych, bardziej przyjaznych środowisku syntez, o wysokiej ekonomii energetycznej i atomowej. W przeciwieństwie do katalizatorów metalicznych pozwalają uniknąć zanieczyszczenia ostatecznego produktu metalami grup przejściowych, co ma ogromne znaczenie z punktu widzenia syntezy m.in. leków. Zazwyczaj są to proste, stabilne w warunkach normalnych cząsteczki, których synteza jest nieskomplikowana, tania i szybka, a substraty są łatwo dostępne i niekosztowne. Co ważne istnieją bardzo szerokie, wręcz nieograniczone możliwości ich modyfikacji. Organokatalizator możemy dostosować do konkretnego procesu, używając bowiem odmiennych komponentów można łatwo zmienić jego strukturę lub zmodyfikować charakter elektronowy czy steryczny poprzez wprowadzenie odpowiednich podstawników. Jest kompatybilny z różnymi grupami funkcyjnymi w substracie, co zmniejsza potrzebę stosowania grup zabezpieczających i całkowitą liczbę etapów reakcji. Warunki reakcji prowadzonych w obecności organokatalizatorów są mniej wymagające, niewrażliwe na obecność wilgoci, podwyższonej temperatury (zazwyczaj od -25°C do 25°C) czy powietrza, w porównaniu z metaloorganicznymi odpowiednikami, co znacznie ułatwia ich użycie i zapewnia stabilne przechowywanie. Charakter chemiczny pozwala na stosowanie w kontakcie z substratami wrażliwymi na działanie kwasów czy zasad. Wadą może być problematyczne późniejsze oddzielenie produktu od katalizatora, co prowadzi do jego strat i właściwie wyklucza ich przemysłowe zastosowania. By temu zapobiec organokatalizatory poddaje się immobilizacji, czyli stabilnemu zakotwiczeniu na złożu stałym<sup>67</sup>. Pozwala to na

---

<sup>66</sup> J. Seayad, B. List, *Org. Biomol. Chem.* **2005**, 3, 719.

<sup>67</sup> H. Miyabe, S. Tachida, M. Yamauchi, Y. Takemoto, *Synthesis* **2006**, 19, 3295.

wykorzystanie ich w procesach heterogenicznych, co skutkuje zwiększeniem ich wydajności, a przede wszystkim pozwala na znacznie łatwiejsze odzyskanie po reakcji.

Organokatalizatory czasem nazywane są ‘synzymami’, co oznacza syntetyczne enzymy powodujące powstawanie w organizmie wyłącznie związków biologicznie czynnych o ściśle określonej konfiguracji. Przykładem jest *fumaraza*, która katalizuje reakcję addycji wody do kwasu fumarowego w cyklu kwasu cytrynowego, prowadząc do powstania wyłącznie L-jabłczanu<sup>68</sup>. Ponadto, organokatalizatory umożliwiły przeprowadzenie syntez trudnych, a nawet dotychczas niemożliwych do osiągnięcia za pomocą innych metod. Jest to ich ogromna zaleta, chociaż naturalne katalizatory enzymatyczne (enzymy), będące dziełem samej natury, wciąż są niedoścignione w swej syntezie i aktywności.

Z chemicznego punktu widzenia chiralne organokatalizatory odgrywają w reakcji dwie kluczowe role. Tworzą one asymetryczne środowisko reakcji prowadząc do jej stereoselektywnego przebiegu, a ponadto odpowiadają za aktywację elektrofila, nukleofila lub obu. Aktywacja ta jest skuteczna dzięki np. przestrzennemu ułożeniu kompleksu katalizator-elektrofil tak, by odczynnik nukleofilowy miał zdecydowanie lepszy dostęp do centrum elektrofilowego z jednej strony utworzonego kompleksu niż od strony przeciwnej.

Organokatalizatory najprościej podzielić można ze względu na mechanizm ich działania, czyli sposób interakcji z innymi odczynnikami, na kowalencyjne i niekowalencyjne (oddziałujące poprzez wiązania wodorowe, jon-jon, dipol-dipol oraz interakcje steryczne).

Organokatalizatory kowalencyjne tworzą z jednym z substratów związek przejściowy, który wydajnie i stereoselektywnie reaguje z drugim reagentem, prowadząc do powstania produktu o określonej konfiguracji absolutnej<sup>69,70,71</sup>. Ich stosowanie jest jednak ograniczone do substratów, z którymi mogą tworzyć produkty przejściowe. Najczęściej są to związki karbonylowe, aldehydy, które z katalizatorami w postaci pochodnych proliny dają enaminy<sup>63</sup>, lub z imidazolidionami – jony iminowe<sup>72</sup> (aktywacja iminowo-enaminowa).

Natomiast organokatalizatory niekowalencyjne mogą oddziaływać z jednym lub z obydwojoma substratami poprzez słabe wiązania chemiczne (np. wodorowe)<sup>73,74,75</sup>. W stanie przejściowym powstaje wtedy struktura chemiczna, w której przestrzenne ułożenie katalizatora i substratów wymusza określoną drogę reakcji prowadzącą do powstania preferowanego enancjomeru jako produktu. Ich zastosowanie jest jednak zdecydowanie szersze ze względu na oddziaływanie nienaładowanych, obojętnych cząsteczek organokatalizatora z substratami za pomocą różnego typu oddziaływań typu jon-jon, jon-dipol, dipol-dipol, jon-dipol indukowany, dipol-dipol indukowany, odpychanie steryczne czy wiązania wodorowe, które rozpatruje się priorytetowo w przypadku analizowania reakcji z udziałem organokatalizatorów

<sup>68</sup> M. Mescam, K. C. Vinnakota, D. A. Beard, *J. Biol. Chem.* **2011**, 286, 21100.

<sup>69</sup> M. C. Holland, R. Gilmour *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, 54, 3862.

<sup>70</sup> V. Piano, B. A. Palfey, A. Mattevi, *Trends Biochem. Sci.* **2017**, 42, 457.

<sup>71</sup> B. Sarkhel, A. Chatterjee, D. Das, *J. Am. Chem. Soc.* **2020**, 142, 4098.

<sup>72</sup> A. B. Morthrup, D. W. C. MacMillan, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 2458.

<sup>73</sup> M. S. Taylor, E. N. Jacobsen, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, 45, 1520.

<sup>74</sup> S. E. Wheeler, T. J. Seguin, Y. Guan, A. C. Doney, *Acc. Chem. Res.* **2016**, 49, 1061.

<sup>75</sup> G. Doyle, E. N. Jacobsen, *Chem. Rev.* **2007**, 107, 5713.



np. tiomocznikowych. W ten sposób następuje aktywacja reagenta. Różnorodność tych interakcji umożliwia wykorzystanie organokatalizatorów w wielu typach reakcji. Z drugiej jednak strony, utrudnia to przewidzenie mechanizmu reakcji, co jest znacznie prostsze w przypadku organokatalizatorów kowalencyjnych. Należy pamiętać, że interakcje niekowalencyjne umożliwiają oddziaływanie między molekułami znajdującymi się w większych odległościach i niekoniecznie zorientowanych w zdefiniowany sposób. Należy przez to rozumieć, że cząsteczka substratu związana jednym niekowalencyjnym oddziaływaniem z organokatalizatorem może przyjąć wiele różnych położeń geometrycznych, często nieznacznie różniących się energią. Reakcja przebiega z reguły tą drogą, której stan przejściowy ma najniższą energię aktywacji, a zatem stereoindukcja jest tu wynikiem unikania niestabilnych wysokoenergetycznych stanów przejściowych. Wraz z rosnącą liczbą oddziaływań między substratem i organokatalizatorem maleje ilość możliwych ułożeń indywiduów względem siebie. Niejednokrotnie ustawienia te różnią się istotnie energią, co bezpośrednio wpływa na stereoselektywność reakcji.

Inny, spotykany w literaturze chemicznej podział, klasyfikuje organokatalizatory według ich właściwości kwasowo-zasadowych, na te które działają jak kwasy lub zasady Lewisa<sup>76</sup> lub Brønsteda<sup>77</sup>. Natomiast ze względu na budowę/naturę grup funkcyjnych, organokatalizatory można też podzielić na: pochodne mocznika/tiomocznika, imidazolidynony, alkaloidy chinowca, pochodne prolinolu i proliny, fosforany, enaminy, 2-amino-2'-hydroksy-1,1'-binaftyl czy 4-dimetyloaminopirydyny. Należy jednak mieć świadomość, że ten ostatni podział nie jest kompletny i stale uzupełniany jest o nowe pochodne, w miarę postępów w dziedzinie organokatalizy dokonywanych przez liczne grupy badawcze na całym świecie<sup>65</sup>.

Co istotne, zakres zastosowań organokatalizy rośnie wykładniczo ze względu na związane z nią zalety. Wzrost ten po części wynika ze zrozumienia kinetyki, mechanizmu i ścieżek procesów katalitycznych tego rodzaju, a ponieważ większy nacisk kładzie się na przemysłowe zastosowania organokatalizy, to rośnie zapotrzebowanie na informacje dotyczące sposobów zwiększania skali reakcji i optymalizacji warunków.

Organokataliza stała się niepodważalnie potężnym narzędziem we współczesnej syntezie organicznej. Obok klasycznych katalizatorów jednofunkcyjnych, w ostatnich latach coraz większą uwagę zwracają także pochodne dwu- lub wielofunkcyjne (zawierające różne grupy katalitycznie aktywne w jednej cząsteczce) oraz synergiczne układy katalityczne, składające się z co najmniej dwóch różnych pojedynczych katalizatorów. Do grupy katalizatorów dwufunkcyjnych zaliczyć można szeroko eksploatowane w ostatnim czasie pochodne tiomocznikowe oraz tiosquaramidowe zawierające dodatkowo ugrupowanie trzecirzędowej aminy. Pochodnym tym, z uwagi na temat niniejszej rozprawy, poświęcone zostaną kolejne rozdziały pracy.

---

<sup>76</sup> S. E. Denmark, G. L. Beutner, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, 47, 1560.

<sup>77</sup> T. Akiyama, J. Itoh, K. Fuchibe, *Adv. Synth. Catal.* **2006**, 348, 99.

### 2.3.1. Organokatalizatory tiomocznikowe

Organokatalizatory tiomocznikowe cieszą się w ostatnim czasie szczególnie dużym zainteresowaniem<sup>78,79,80,81</sup>. Kluczowym elementem ich struktury jest ugrupowanie tiomocznikowe (tioamidowe) (Rysunek 2.3), które z uwagi na obecność silnie kwasowych protonów z łatwością tworzy podwójne wiązania wodorowe sprzyjające katalizowaniu reakcji (aktywowaniu substratów)<sup>82</sup>. Ta wyjątkowa zdolność czyni je użytecznymi organokatalizatorami niekowalencyjnymi, stosowanymi w szeregu reakcji chemicznych<sup>83,84,85,86,87,88,89,90</sup>, syntezach produktów farmaceutycznych czy tych używanych w rolnictwie<sup>91,92,93,94</sup>. Ugrupowanie tiomocznikowe występuje w wielu farmaceutykach, które wykazują ciekawe właściwości biologiczne, np. działanie przeciwwirusowe, przeciwdrgawkowe czy przeciwzapalne<sup>95,96</sup>. Pierwsze wzmianki o syntezie tiokarbamidów sięgają roku 1873<sup>97,98</sup> i pochodzą od polskiego chemika Marcelego Nenckiego. Również chiralne tiomoczniki znane są od dawna, jednak zainteresowanie nimi wzrosło dopiero po latach, wraz z rozwojem katalizy enancjoselektywnej<sup>99,100</sup>. Mimo iż temat ten doczekał się licznych artykułów przeglądowych<sup>6,75,78,79,83,87,101,102,103,104,105,106,107,108,109,110,111,112,113,114,115</sup>

<sup>78</sup> Y. Takemoto, *Chem. Pharm. Bull.* **2010**, 58, 593.

<sup>79</sup> X. Fang, C.-J. Wang, *Chem. Commun.* **2015**, 51, 1185.

<sup>80</sup> T. Parvin, R. Yadava, L. H. Choudhury, *Org. Biomol. Chem.* **2020**, 18, 5513.

<sup>81</sup> E. Wojaczyńska, F. Steppeler, D. Iwan, M.-C. Scherrmann, A. Marra, *Molecules* **2021**, 26, 7291.

<sup>82</sup> P. M. Pihko, *Hydrogen Bonding in Organic Synthesis*, Wiley-VCH, **2009**.

<sup>83</sup> Y. Takemoto, *Org. Biomol. Chem.* **2005**, 3, 4299.

<sup>84</sup> S. J. Connon, *Synlett* **2009**, 3, 354.

<sup>85</sup> Z. Zhang, P. R. Schreiner, *Chem. Soc. Rev.* **2009**, 38, 1187.

<sup>86</sup> A. Hamza, G. Schubert, T. Soós, I. Pápai, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 13151.

<sup>87</sup> S. J. Connon, *Chem. Commun.* **2008**, 2499.

<sup>88</sup> A. P. Dove, R. C. Pratt, B. G. G. Lohmeijer, R. M. Waymouth, J. L. Hedrick, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 13798.

<sup>89</sup> M. Kotke, P. R. Schreiner, *(Thio)urea Organocatalysts. In Hydrogen Bonding in Organic Synthesis*, Wiley-VCH, **2009**, 141.

<sup>90</sup> F. Steppeler, D. Iwan, E. Wojaczyńska, J. Wojaczynski, *Molecules* **2020**, 25, 401.

<sup>91</sup> F. J. Ruder, W. Guyer, J. A. Benson, H. Kayser, *Pestic. Biochem. Physiol.* **1991**, 41, 207.

<sup>92</sup> A. Shakeel, A. A. Altaf, A. M. Qureshi, A. Badshah, *J. Drug Des. Med. Chem.* **2016**, 2, 10.

<sup>93</sup> J. Choi, J.-G. Jee, *Int. J. Mol. Sci.* **2015**, 16, 28534.

<sup>94</sup> S. Xiao, L. Wei, Z. Hong, L. Rao, Y. Ren, J. Wan, L. Feng, *Bioorg. Med. Chem.* **2019**, 27, 805.

<sup>95</sup> R. C. Wende, P. R. Schreiner, *Green Chem.* **2012**, 14, 1821.

<sup>96</sup> Z. Zhang, Z. Bao, H. Xing, *Org. Biomol. Chem.* **2014**, 12, 3151.

<sup>97</sup> M. Nencki, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1873**, 6, 598.

<sup>98</sup> A. Brückner, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1873**, 6, 1103.

<sup>99</sup> E. L. Brown, N. Campbell, *J. Chem. Soc.* **1937**, 1699.

<sup>100</sup> L. S. Luskin, G. E. Gantert, W. E. Craig, *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, 78, 4965.

<sup>101</sup> P. R. Schreiner, *Chem. Soc. Rev.* **2003**, 32, 289.

<sup>102</sup> R. Ronchetti, G. Moroni, A. Carotti, A. Gioiello, E. Camaioni, *RSC Med. Chem.* **2021**, 12, 1046.

<sup>103</sup> S. Narayanaperumal, D. G. Rivera, R. C. Silva, M. W. Paixao, *ChemCatChem*, **2013**, 5, 2756.

<sup>104</sup> F. E. Held, S. B. Tsogoeva, *Catal. Sci. Technol.* **2016**, 6, 645.

<sup>105</sup> W.-Y. Siau, J. Wang, *Catal. Sci. Technol.* **2011**, 1, 1298.

<sup>106</sup> Y. L. Sun, Y. Wei, M. Shi, *Chem. Cat. Chem.* **2017**, 9, 718.

<sup>107</sup> P. Ricci, T. Khotavivattana, L. Pfeifer, M. Médebielle, J. R. Morphy, V. Gouverneur, *Chem. Sci.* **2017**, 8, 1195.

<sup>108</sup> H. Miyabe, Y. Takemoto, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **2008**, 81, 785.

<sup>109</sup> Y. Takemoto, H. Miyabe, *Chimia* **2007**, 61, 269.

<sup>110</sup> S. B. Tsogoeva, *Eur. J. Org. Chem.* **2007**, 1701.

<sup>111</sup> X. Yu, W. Wang, *Chem. Asian J.* **2008**, 3, 516.

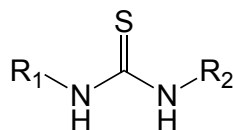
<sup>112</sup> L. Hong, W. Sun, D. Yang, G. Li, R. Wang, *Chem. Rev.* **2016**, 116, 4006.

<sup>113</sup> C. M. R. R. Volla, I. Atodiresei, M. Rueping, *Chem. Rev.* **2014**, 114, 2390.

<sup>114</sup> O. V. Serdyuk, C. M. Heckel, S. B. Tsogoeva, *Org. Biomol. Chem.* **2013**, 11, 7051.

<sup>115</sup> H. Pellissier, *Tetrahedron* **2007**, 63, 9267.

czy wydań książkowych<sup>82,116,117,118</sup>, ostatnie dziesięciolecie pokazało, że temat siarkowych analogów mocznika wciąż cieszy się niesłabnącym zainteresowaniem.



2.1

**Rysunek 2.3.** Schematyczny wzór tiomocznika

Organokatalizatory tiomocznikowe posiadają ogrom zalet, o których wspominałam już w Rozdziale 2.3 poświęconym organokatalizatorom. Warto podkreślić, że są one łatwiej rozpuszczalne w typowych rozpuszczalnikach organicznych niż pozostałe organokatalizatory np. mocznikowe<sup>101</sup>. Niezwykle niewielka ilość katalizatora (nawet do 0.001 mol%) potrzebna jest do efektywnego katalizowania reakcji, a ponadto ich synteza z odpowiednich izotiocyanianów i amin jest bardzo prosta i wydajna, a oczyszczanie nie przysparza trudności<sup>119</sup>. Dzięki temu cały proces syntezy generuje niewiele niebezpiecznych chemikaliów, można więc powiedzieć, że katalizatory tiomocznikowe wpisują się w ideę zielonej chemii<sup>120,121</sup>. Za ich ogromną użyteczność i aktywność odpowiada grupa tiomocznikowa, która jest słabszym akceptorem wiązań wodorowych<sup>122,123</sup>, a obecność np. pierścieni fenyłowych zawierających podstawniki elektronoakceptorowe w pozycji *meta* skutkuje wzrostem ich aktywności katalitycznej<sup>124</sup>. Z powodzeniem stosować je można w wielu reakcjach asymetrycznych, gdyż praktycznie każdy związek posiadający heteroatomy o wysokiej elektroujemności (np. tlen, azot, fluor), mogących pełnić funkcję akceptora wiązań wodorowych, jest w stanie oddziaływać z organokatalizatorem tiomocznikowym. Zastąpienie elektroujemnego atomu tlenu mocznika siarką (o elektroujemności porównywalnej z węglem) okazuje się kluczowa i ma duży wpływ na właściwości – tiomoczniki wykazują wyższą kwasowość<sup>125,126</sup>. pKa pochodnych tiomocznika **2.1** (Rysunek 2.4) jest znacząco niższe niż pKa analogicznych mocznikowych pochodnych<sup>127</sup> **2.2**, co sprzyja tworzeniu się silniejszych wiązań wodorowych, stanowiących podstawę katalizy tiomocznikowej<sup>111</sup>. Mogłoby się wydawać, że za to zjawisko odpowiadają właśnie różnice w elektroujemności atomów O (3.5) i S (2.5),

<sup>116</sup> A. Berkessel, H. Groger, *Asymmetric Organocatalysis*, ed. A. Berkessel, H. Groger, Wiley-VCH, Weinheim, **2005**.

<sup>117</sup> P. I. Dalko, *Enantioselective Organocatalysis*, ed. P. I. Dalko, Wiley-VCH, Weinheim, **2007**.

<sup>118</sup> P. I. Dalko, *Comprehensive Enantioselective Organocatalysis*, ed. P. I. Dalko, Wiley-VCH, Weinheim, **2013**.

<sup>119</sup> D. Limnios, C. G. Kokotos, *RSC Green Chemistry*, **2016**, 41, 196.

<sup>120</sup> M. K. Barman, A. K. Sinha, S. Nembenna, *Green Chem.* **2016**, 18, 2534.

<sup>121</sup> N. Spiliopoulou, N. F. Nikitas, C. G. Kokotos, *Green Chem.* **2020**, 22, 3539.

<sup>122</sup> C. S. Wilcox, E. Kim, D. Romano, L. H. Kuo, A. L. Burt, D. P. Curran, *Tetrahedron Lett.* **1995**, 36, 6647.

<sup>123</sup> P. R. Schreiner, A. Wittkopp, *Org. Lett.* **2002**, 4, 217.

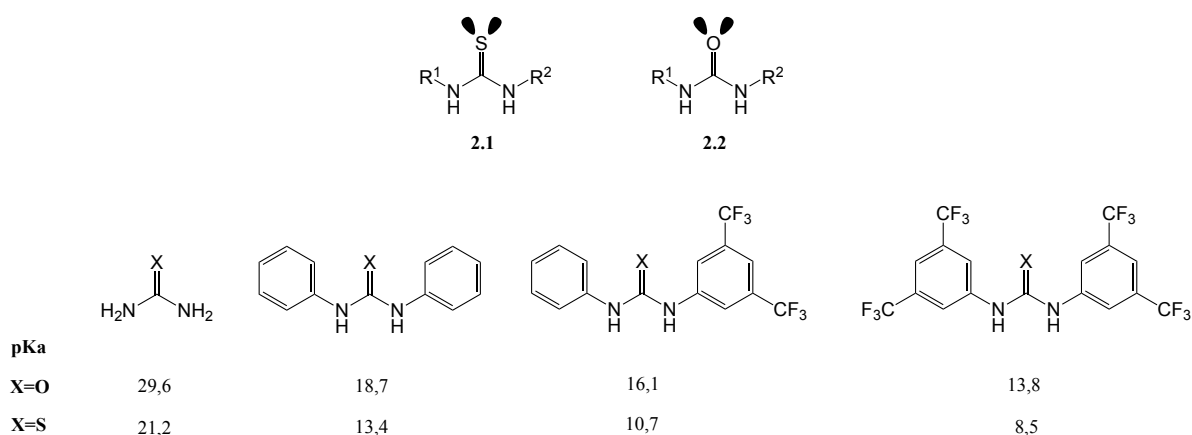
<sup>124</sup> A. Wittkopp, P. R. Schreiner, *J. Eur. Chem.* **2003**, 9, 407.

<sup>125</sup> D. E. Gómez, L. Fabbri, M. Licchelli, E. Monzani, *Org. Biomol. Chem.* **2005**, 3, 1495.

<sup>126</sup> C. Schroeder, *Chem. Rev.* **1955**, 55, 181.

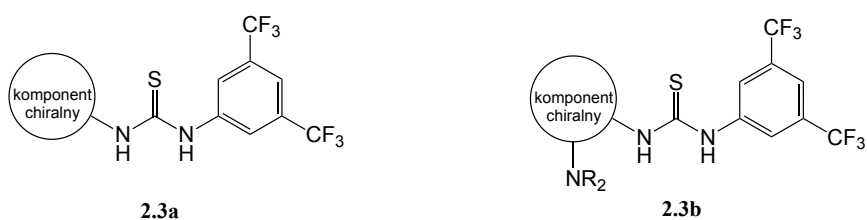
<sup>127</sup> G. Jakab, C. Tancon, Z. Zhang, K. M. Lippert, P. R. Schreiner, *Org. Lett.* **2012**, 14, 1724.

jednak kluczową rolę okazuje się mieć tu wielkość tych atomów. Siarka i jej orbitale *p* są dość znacznych rozmiarów, więc słabo nakładają się bocznie z niewielkimi orbitalami *p* atomu węgla. To powoduje, że chmura elektronowa przesunięta jest w stronę atomu siarki, tworząc na atomie węgla cząstkowy ładunek dodatni. Dodatkowo kwasowość protonów mostka tiomocznikowego wzrasta wraz z obecnością podstawników elektronoakceptorowych, które powodują zaangażowanie wolnej pary elektronowej z atomu azotu. Wykazano również, że pochodne mocznika mają większe skłonności do dimeryzacji z uwagi na fakt, iż są dobrymi akceptorami wiązania wodorowego (protonu)<sup>128</sup>, co skutkuje niższą ich aktywnością w porównaniu do siarkowych analogów.



**Rysunek 2.4.** Porównanie pKa mocznika i tiomocznika.

Organokatalizatory tiomocznikowe podzielić można na dwie grupy: jednofunkcyjne i dwufunkcyjne (Rysunek 2.5)<sup>79,80,81</sup>.



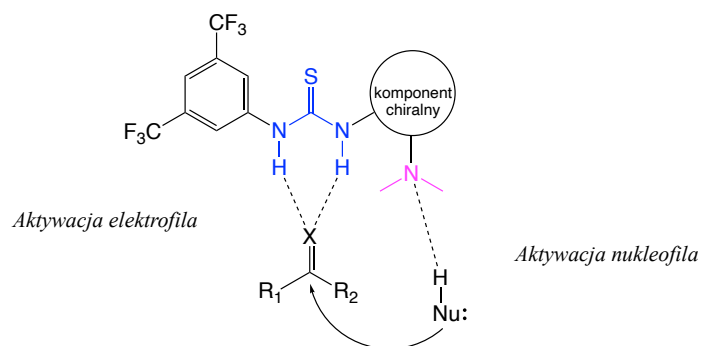
**Rysunek 2.5.** Organokatalizatory tiomocznikowe jedno- i dwufunkcyjne.

Organokatalizatory jednofunkcyjne 2.3a w swojej strukturze posiadają kwasowe ugrupowanie tiomocznikowe odpowiedzialne za tworzenie wiązań wodorowych oraz fragment chiralny idukujący asymetrię. W 1988 r. pierwszą tego typu chiralną pochodną tiomocznikową

<sup>128</sup> K. A. Haushalter, J. Lau, J. D. Roberts, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 8891.

opisał Jacobsen<sup>129</sup>, stąd też katalizatory te często nazywane są od jego nazwiska (o czym więcej przy reakcji Streckera) i z powodzeniem wykorzystywane w wielu typach reakcji chemicznych. W tym przypadku proces katalizy opiera się na oddziaływaniu katalizatora z odczynnikiem elektrofilowym. To powoduje obniżenie gęstości elektronowej w substracie i co ważniejsze, ustawienie kompleksu tak, by reakcja z odczynnikiem nukleofilowym biegła w określonym stereochemicznie kierunku.

W odpowiedzi na prostotę w modyfikacji struktury, powstały organokatalizatory dwufunkcyjne 2.3b, posiadające dodatkowo podstawnik np. dialkiloaminowy wraz z donorem wiązań wodorowych, pełniącym rolę zasady – miejsce dodatkowego ‘chwytu’ dla wiązań wodorowych (Rysunek 2.6). Takie dwufunkcyjne chiralne organokatalizatory tiomocznikowo-aminowe stały się w ostatnich latach szczególnie popularne w syntezie organicznej ze względu na możliwość podwójnej aktywacji – odczynnika elektrofilowego i nukleofilowego jednocześnie, co odróżnia je od organokatalizatorów jednofunkcyjnych. Fragment ubogi w elektrony oddziałuje z częścią tiomocznikową organokatalizatora („*LUMO lowering*”) podobnie jak kwas Lewisa. Natomiast fragment aminowy organokatalizatora wiąże się z reguły odczynnikiem nukleofilowym, zwiększając na nim gęstość elektronową („*HOMO raising*”). Należy jednak zaznaczyć, iż warunki te nie są niezmiennie. Oba fragmenty katalizatora mogą zamienić się rolami, co jest szczególnie widoczne, gdy fragment aminowy katalizatora tworzy wiązanie kowalencyjne z jednym z substratów, np. z aldehydem. Jest to kolejna różnica między organokatalizatorami dwufunkcyjnymi i jednofunkcyjnymi. Najczęściej używa się ich w temperaturze pokojowej, pamiętając o zachowaniu aprotycznego charakteru rozpuszczalników.



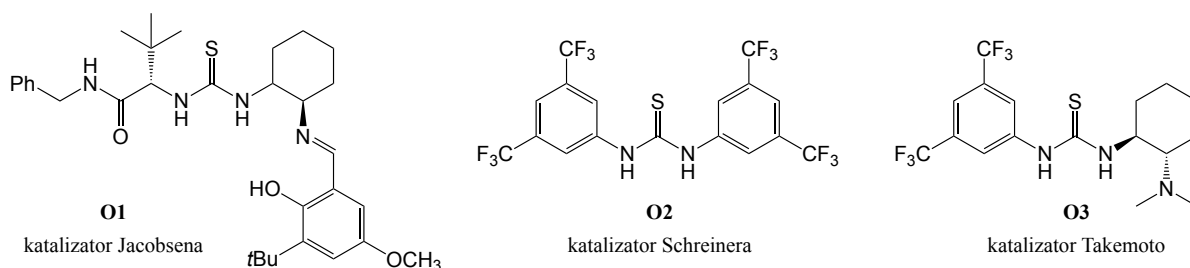
**Rysunek 2.6.** Model podwójnej aktywacji elektrofila i nukleofila za pomocą tiomocznikowego organokatalizatora dwufunkcyjnego.

Generalnie więc ugrupowanie tiomocznikowe będące donorem podwójnego wiązania wodorowego, służy jako słaby kwas Lewisa do aktywacji typowych związków karbonylowych, podczas gdy przyłączona do niego np. grupa aminowa działa jako zasada Lewisa lub Brønsteda.

<sup>129</sup> M. S. Sigman, E. N. Jacobsen, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 4901.

Dzięki temu w zależności od mechanizmu reakcji i natury stosowanych reagentów opracowano wiele różnych, także bardziej strukturalnie złożonych organokatalizatorów, w tym wielofunkcyjnych, zawierających dodatkowe ugrupowania chiralne i grupy wiążące wodory. Takie organokatalizatory wielofukcyjne z powodzeniem można zastosować w kowalencyjnej i niekowalencyjnej organokatalizie, rozszerzając podstawową koncepcję aktywacji początkowo zilustrowaną przez Takemoto<sup>130,131,132</sup>. Mimo iż trudno jest jasno zdefiniować mechanizmy, które odpowiadają za aktywację substratów w niekowalencyjnych reakcjach, wszystkie obliczenia teoretyczne i wyniki eksperymentalne wskazują na duże znaczenie dodatkowych grup donorowych lub akceptorowych dla kwasowości protonu.

Przykładami organokatalizatorów opartych na mostku tiomocznikowym są katalizatory Jacobsena<sup>129</sup>, Schreiner<sup>101</sup> i Takemoto<sup>133,134,135</sup> (Rysunek 2.7), które doczekały się licznych modyfikacji<sup>79,83,105,113,136,137</sup>, spośród których najbardziej popularne są pochodne chininy<sup>138,139,140,141,142</sup> oraz zawierające *N*-[3,5-bis(CF<sub>3</sub>)fenylo]-podstawiony fragment tiomocznikowy<sup>143</sup>.



**Rysunek 2.7.** Przykłady organokatalizatorów opartych na mostku tiomocznikowym.

W niniejszej pracy dokonano przeglądu organokatalizatorów tiomocznikowych, dzieląc je według typów reakcji, w których znalazły zastosowanie. Z uwagi na mnogość doniesień literaturowych, zamieszczone zostały jedynie wybrane przykłady.

<sup>130</sup> P. Li, Y. Wang, X. Liang, J. Ye, *Chem. Commun.* **2008**, 3302.

<sup>131</sup> X. Liu, L. Lin, X. Feng, *Chem. Commun.* **2009**, 6145.

<sup>132</sup> C.-J. Wang, X.-Q. Dong, Z.-H. Zhang, Z.-Y. Xue, H.-L. Teng, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 8606.

<sup>133</sup> T. Okino, Y. Hoashi, Y. Takemoto, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 12672.

<sup>134</sup> T. Okino, Y. Hoashi, T. Furukawa, X. Xu, Y. Takemoto, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 119.

<sup>135</sup> A. Berkessel, B. Seelig, *Synthesis* **2009**, 12, 2113.

<sup>136</sup> G. Jakab, A. Hosseini, H. Hausmann, P. R. Schreiner, *Synthesis* **2013**, 1635.

<sup>137</sup> Y. Takemoto, T. Inokuma, *In Asymmetric Synthesis II*, Wiley: New York, **2012**, 233.

<sup>138</sup> J. Ye, D. J. Dixon, P. S. Hynes, *Chem. Commun.* **2005**, 4481.

<sup>139</sup> B. J. Li, L. Jiang, M. Liu, Y. C. Chen, L. S. Ding, Y. Wu, *Synlett* **2005**, 603.

<sup>140</sup> B. Vakulya, Sz. Varga, A. Csampai, T. Soos, *Org. Lett.* **2005**, *7*, 1967.

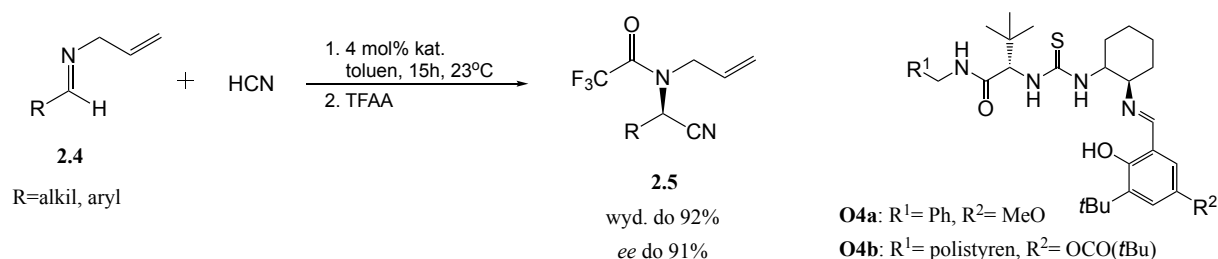
<sup>141</sup> T. Marcelli, R. N. S. van der Haas, J. H. van Maarseveen, H. Hiemstra, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 929.

<sup>142</sup> S. H. McCooley, S. J. Connon, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 6367.

<sup>143</sup> A. Madarasz, Z. Dosa, S. Varga, T. Soós, A. Csampai, I. Papai, *ACS Catal.* **2016**, *6*, 4379.

### 2.3.1.1. Reakcja Streckera

Reakcja Streckera jest jedną z najstarszych znanych wieloskładnikowych reakcji syntezy  $\alpha$ -aminonitryli, stanowiąc tym samym użyteczne narzędzie w enancjoselektywnej syntezie pochodnych  $\alpha$ -aminokwasów<sup>144,145</sup>. Jak już wspomniano pionierem w dziedzinie asymetrycznej organokatalizy tiomocznikowej był Eric Jacobsen, który w 1988 r. opisał chiralną pochodną tiomocznikową **O4**, użytą z powodzeniem w asymetrycznej reakcji Streckera<sup>129</sup> (Schemat 2.1). Katalizatory tego typu można stosować w roztworze lub osadzone na żywicy polistyrenowej, co jest ich dodatkową zaletą z uwagi na zachowanie skuteczności nawet po wielokrotnym recyklingu<sup>146</sup>. Późniejsze badania mechanistyczne wykazały, że kluczowa interakcja pomiędzy N-H protonami mostka tiomocznikowego a cyjankiem była odpowiedzialna za wynik stereochemiczny prowadzonej reakcji<sup>147</sup>. Ważnym czynnikiem odpowiedzialnym za wysoką enancjoselektywność była także obecność dużych objętościowo podstawników w pierścieniu aromatycznym oraz w pozycji aminowej katalizatora. W badaniach z 1998 roku wykorzystano 6 różnych imin (4 aryldenowe oraz 2 alkilidenowe), które dawały produkty z wydajnościami do 92% i nadmiarami enancjomerycznymi sięgającymi nawet do 91%.



**Schemat 2.1.** Pierwsza asymetryczna reakcja Streckera z użyciem organokatalizatora tiomocznikowego.

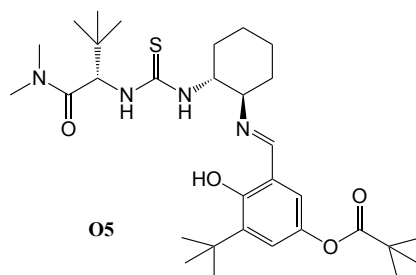
Dwa lata później rozszerzono spektrum imin stosowanych w asymetrycznej reakcji Streckera, testując m.in. cykliczną zasadę Schiffa – dihydroizochinolinę, co dało zadawalające efekty (88% wydajności i 91% *ee*)<sup>146</sup>. Ponadto zmodyfikowano nieznacznie strukturę organokatalizatora (**O5**, Rysunek 2.8.). Pozostawiono jednak duże objętościowo podstawniki *tert*-butylowe na asymetrycznym atomie węgla oraz w pierścieniu fenyłowym, co poskutkowało wzrostem enancjoselektywności.

<sup>144</sup> A. Strecker, *Ann. Chem.* **1850**, 75, 27.

<sup>145</sup> H. Groger, *Chem. Rev.* **2003**, 103, 2795.

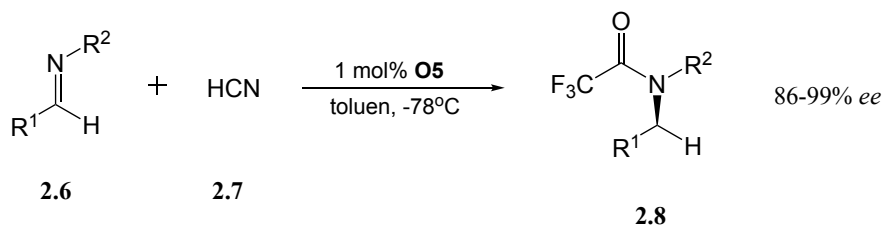
<sup>146</sup> M. S. Sigman, P. Vachal, E. N. Jacobsen, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, 39, 1279.

<sup>147</sup> S. J. Zuend, E. N. Jacobsen, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, 131, 15358.



**Rysunek 2.8.** Katalizator jednofunkcyjny stosowany w reakcji Streckera.

W roku 2002 roku ta sama grupa badawcza zgłosiła kolejną modyfikację, zamieszczając także bardziej szczegółowe badania mechanistyczne<sup>148</sup>. Zarówno aldiminy, jak i ketiminy poddano hydrocyjanowaniu przy użyciu zaledwie 1 mol% tiomocznika **O5** (Schemat 2.2). Autorzy wykazali, że na stereochemiczny wynik reakcji wpływ mają: obecność atomu siarki, drugorzędowe ugrupowanie amidowe w cząsteczce katalizatora oraz przestrzennie rozbudowany podstawnik R<sup>2</sup> w iminie.



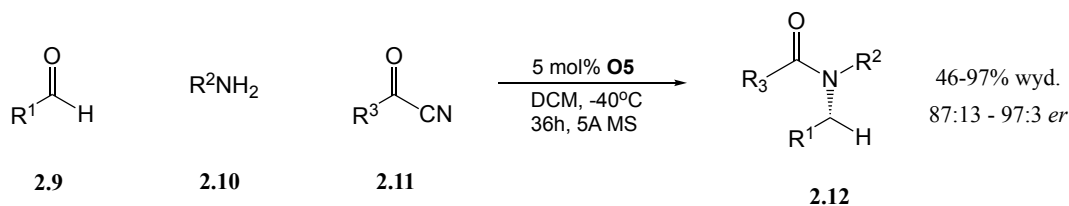
**Schemat 2.2.** Wykorzystanie organokatalizatora **O5** w asymetrycznej reakcji Streckera.

Dopiero w 2009 roku, po 11 latach od rozpoczęcia badań nad organokatalizatorami tiomocznikowymi jako induktorami asymetrii w reakcji Streckera, zaproponowano mechanizm oddziaływania tiomocznika z substratami<sup>147</sup>. Jednym z głównych ograniczeń reakcji Streckera było użycie toksycznego i lotnego cyjanowodoru. Zaproponowano więc reakcję acylo-Streckera wykorzystującą cyjanek acetylu **2.11** jako źródło grupy cyjankowej<sup>149</sup> (Schemat 2.3). Doskonałe wydajności i czystość optyczną produktów **2.12** uzyskano modyfikując odpowiednio wszystkie trzy materiały wyjściowe. Nieco wyższe wartości *er* otrzymano w przypadku aldehydów  $\alpha$ -rozgałęzionych w porównaniu z aldehydami aromatycznymi i  $\alpha,\beta$ -nienasyconymi.

<sup>148</sup> P. Vachal, E. N. Jacobsen, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 10012.

<sup>149</sup> S. C. Pan, B. List, *Org. Lett.* **2007**, 9, 1149.

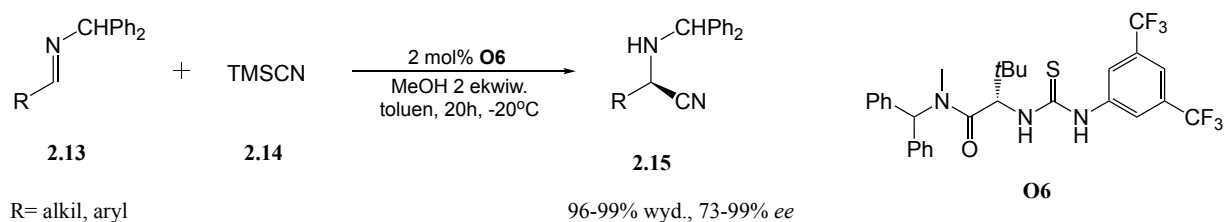




$\text{R}^1 = \text{Ph, 4-MeOC}_6\text{H}_4, 4\text{-ClC}_6\text{H}_4, 2\text{-naftyl, PhCH=CH, } i\text{Pr, } t\text{Bu, } n\text{Bu, } t\text{BuCH}_2$   
 $\text{R}^2 = 4\text{-MeOC}_6\text{H}_4\text{CH}_2, 4\text{-ClC}_6\text{H}_4\text{CH}_2, 2\text{-furCH}_2, \text{allil, Bn}$   
 $\text{R}^3 = \text{Me, } n\text{Hex}$

**Schemat 2.3.** Asymetryczna trójskładnikowa reakcja acylo-Streckera.

Opracowanie mechanizmu streoselektywnej reakcji Streckera umożliwiło użycie prostszych pod względem budowy organokatalizatorów tiomocznikowych. Potwierdziła to seria eksperymentów na pochodnych *N*-difenylometylenoiminy **2.13**, w których stosowano zaledwie 2 mol% organokatalizatora **O6** (Schemat 2.4), natomiast cyjanowodór generowano *in situ* z cyjanku trimetylosililu **2.14** oraz metanolu<sup>150</sup>.



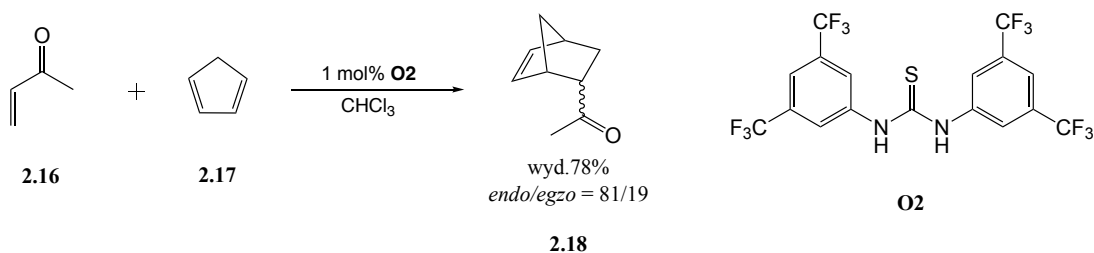
**Schemat 2.4.** Asymetryczna reakcja Streckera z generowanym *in situ* HCN.

### 2.3.1.2. Reakcja Dielsa-Aldera

W 2002 r. Schreiner i Wittkopp bazując na badaniach teoretycznych i eksperymentalnych zaproponowali nową strukturę *N,N'*-bis[3,5-bis(trifluorometylo)phenylo]tiomocznika **O2**, który znany jest dziś jako katalizator Schreiner<sup>101,123,151</sup>. Okazało się, że aktywność katalizatora zależała nie tyle od reagentów czy rozpuszczalnika, a od podstawnika/podstawników w jego cząsteczce – te zawierające podstawniki wyciągające elektrony zdecydowanie silniej katalizowały reakcję Dielsa-Aldera (Schemat 2.5).

<sup>150</sup> S. J. Zuend, M. P. Coughlin, M. P. Lalonde, E. N. Jacobsen, *Nat. Lett.* **2009**, 461, 968.

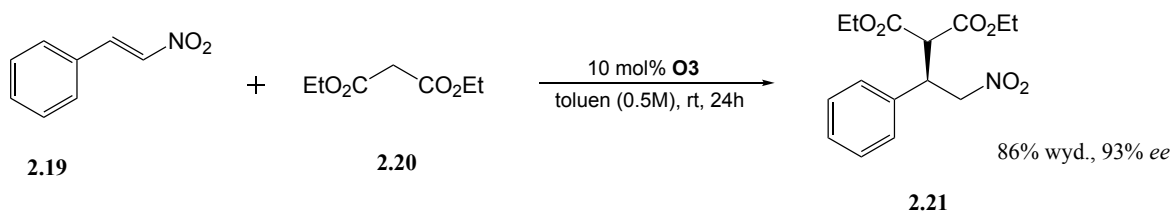
<sup>151</sup> A. Wittkopp, P. R. Schreiner, *Chem. – Eur. J.* **2003**, 9, 407.



**Schemat 2.5.** Reakcja Dielsa-Aldera katalizowana tiomocznikiem Schreiner.

### 2.3.1.3. Addycja Michaela

Addycja Michaela jest ważnym narzędziem syntetycznym i stanowi jedną z najskuteczniejszych metod tworzenia wiązania węgiel-węgiel w syntezie organicznej<sup>110,152</sup>. Szczególnie dużo wysiłku poświęcono opracowaniu katalizatorów dla asymetrycznej addycji Michaela związków karbonylowych do nitroalkenów<sup>153</sup>. Odpowiedzialny za inukcję asymetryczną „rdzeń” organokatalizatorów dwufunkcyjnych został po raz pierwszy zaprojektowany i zaprezentowany przez Takemoto, który użył pochodnej **O3** w stereoselektywnej addycji Michaela malonianów do nitroolefin (Schemat 2.6)<sup>154</sup>. Zaobserwowano wtedy, że nadmiar enancjomeryczny produktu zależy od użytego rozpuszczalnika – wraz ze spadkiem jego polarności, wzrastała enancjoselektywność (dla metanolu 33% *ee*, a dla toluenu 93% *ee*), co jest ściśle związane z oddziaływaniami wodorowymi.



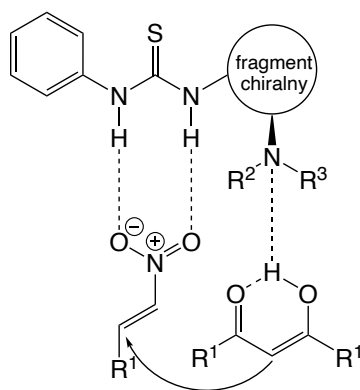
**Schemat 2.6.** Reakcja Michaela katalizowana organokatalizatorem Takemoto.

Autorzy wykazali także, że aminowa część katalizatora pełni rolę zasady, a brak tego fragmentu prowadzi do otrzymania racemicznego produktu. Zaproponowany mechanizm obejmował dwufunkcyjny stan przejściowy, w którym grupa tiomocznikowa aktywuje nitroolefinę, podczas gdy za aktywację malonianu odpowiada amina trzeciorzędowa (Schemat 2.7).

<sup>152</sup> Y. Zhang, W. Wang, *Catal. Sci. Technol.* **2012**, 2, 42.

<sup>153</sup> N. Ono, *The Nitro Group in Organic Synthesis*, Wiley-VCH, Weinheim, **2001**.

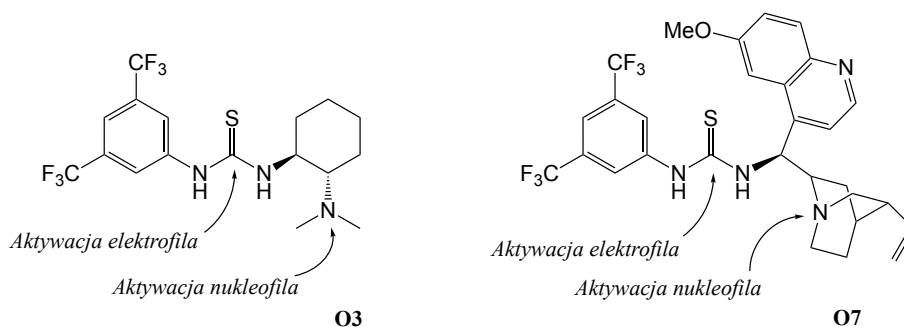
<sup>154</sup> T. Okino, Y. Hoashi, Y. Takemoto, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 12672.



**Schemat 2.7.** Stereoselektywna addycja Michaela malonianów do nitroalkenów z użyciem katalizatora tiomocznikowego.

Rok później katalizator Takemoto **O3** wykorzystano także w ‘podwójnej addycji Michaela’, w której powstawały trzy nowe centra stereogeniczne<sup>155</sup>.

Budowa dwufunkcyjnych katalizatorów tiomocznikowych pozwala na łatwe modyfikacje strukturalne tych związków, a dotyczą one zazwyczaj części aktywującej odczynnik nukleofilowy. Jedną z takich modyfikacji jest wbudowanie w strukturę katalizatora fragmentu pochodzącego z alkaloidu chininowego. Dzięki trzeciorzędowemu atomowi azotu może on pełnić funkcję aktywatora odczynnika nukleofilowego podobnie jak *N,N*-dimetylocykloheksyloamina (Rysunek 2.9).

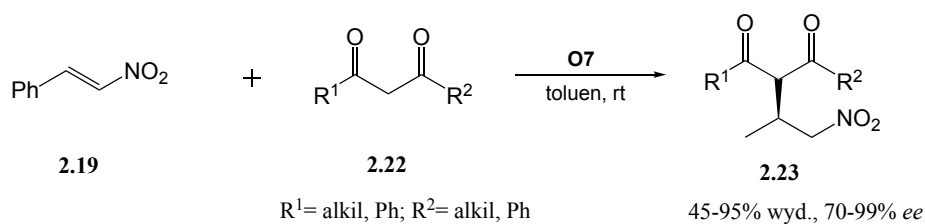


**Rysunek 2.9.** Tiomocznikowy organokatalizator dwufunkcyjny modyfikowany pochodną alkaloidu *Cinchona*.

Organokatalizator **O7** zastosowano z powodzeniem w reakcji związków 1,3-dikarbonylowych **2.22** z 1-fenyl-2-nitroetenem **2.19** (Schemat 2.8)<sup>156</sup>. Uzyskano produkty z wydajnościami wahającymi się od 84-95% (z wyjątkiem ketonu di-*tert*-butylowego – 45%) oraz nadmiarem enancjomerycznym od 94 do 99%.

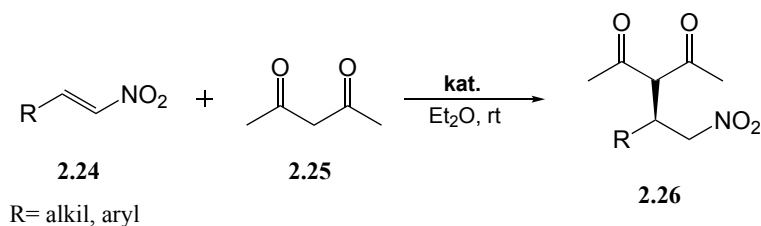
<sup>155</sup> Y. Hoashi, T. Yabuta, Y. Takemoto, *Tetrahedron Lett.* **2004**, 45, 9185.

<sup>156</sup> D. P. Gavin, J. C. Stephens, *Arkivoc* **2011**, 9, 407.

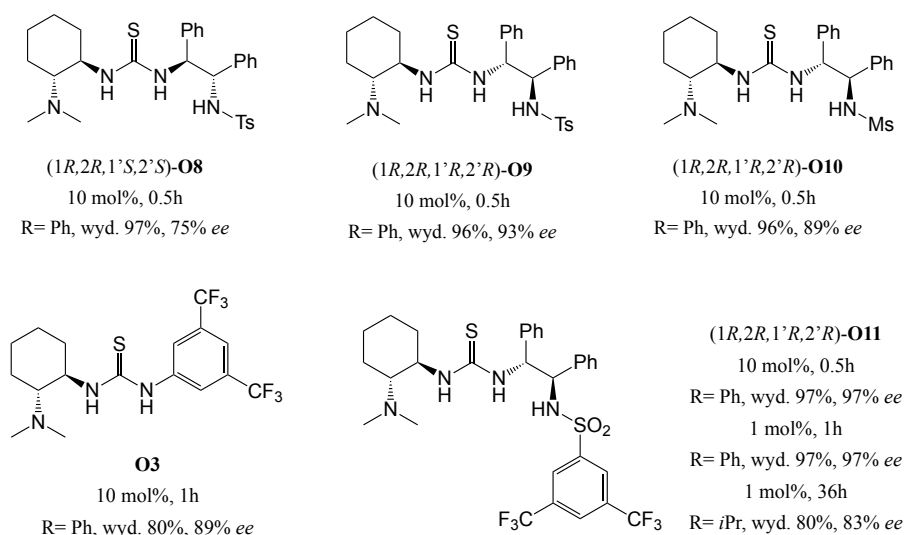


**Schemat 2.8.** Stereoselektywna reakcja Michaela 1-fenyl-2-nitroetenu ze związkami 1,3-dikarbonyłowymi.

Ciekawym przykładem jest zastosowanie multifunkcyjnych organokatalizatorów tiomocznikowych **O8-O11**, zawierających dodatkowy donor wiązania wodorowego, w reakcji acetyloacetonu **2.25** z nitroolefinami **2.24** (Schemat 2.9). Najlepsze rezultaty (wydajność 97% i 97% *ee*) uzyskano w obecności katalizatora **O11**, co przypisuje się dodatkowemu, wyjątkowo silnemu donorowi wiązań wodorowych z ugrupowania NHSO<sub>2</sub>Ar, gdzie Ar jest grupą fenyłową zawierającą dwa podstawniki trifluorometylowe<sup>157</sup>. W katalizowanej **O11** addycji Michaela acetyloacetonu **2.25** do nitroolefin **2.24** zarówno nitroolefiny aromatyczne jak i mniej reaktywne nitroolefiny alifatyczne były dobrze tolerowane i dawały oczekiwane addukty z dobrymi wydajnościami i wysokimi nadmiarami enancjomerycznymi (do 99% *ee*).



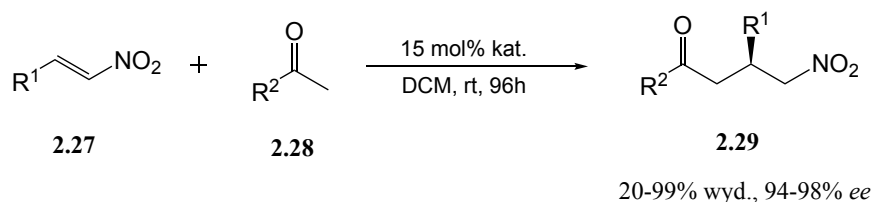
Katalizatory:



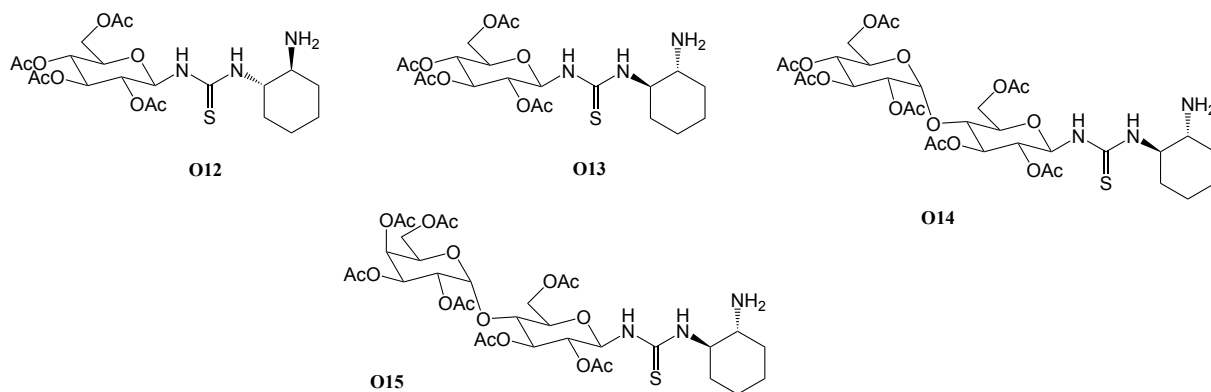
**Schemat 2.9.** Asymetryczna addycja Michaela acetyloacetonu do nitroolefin.

<sup>157</sup> C.-J. Wang, Z.-H. Zhang, X.-Q. Dong, X.-J. Wu, *Chem. Commun.* **2008**, 1431.

Zastosowanie tanich, łatwo dostępnych i stabilnych konfiguracyjnie węglowodanów jako dodatkowego źródła chiralności wprowadzono w 2007 roku i od tego czasu opisano wiele modyfikacji rozszerzających ich zastosowanie w reakcjach asymetrycznych. Spośród organokatalizatorów zawierających pierścień cukrowy tiomocznikowe pochodne znalazły zastosowanie m. in. w asymetrycznych addycjach Michaela<sup>81</sup>. Przykładem mogą być organokatalizatory **O12–O15**, które otrzymano w prostej reakcji (1*R*,2*R*)- lub (1*S*,2*S*)-1,2-diaminocykloheksanu (DACH) z odpowiednimi izotiocyanianami glikozyłowymi<sup>158</sup>. Addycję aromatycznych ketonów **2.28** do nitroolefin aromatycznych, heteroaromatycznych i alifatycznych **2.27** przeprowadzono w obecności 15 mol% katalizatora (Schemat 2.10), spośród których tiomocznikowa pochodna β-D-glukopiranozy **O13** zapewniała produkt o najwyższej czystości optycznej *ee* = 98%.



R<sup>1</sup> = Ph, 4-MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, 4-MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, 4-ClC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, 2-ClC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, 2-BrC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, 2-naftyl, 2-furyl, Et  
R<sup>2</sup> = Ph, 4-MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, 4-MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, 4-ClC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, 4-BrC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, 2-naftyl

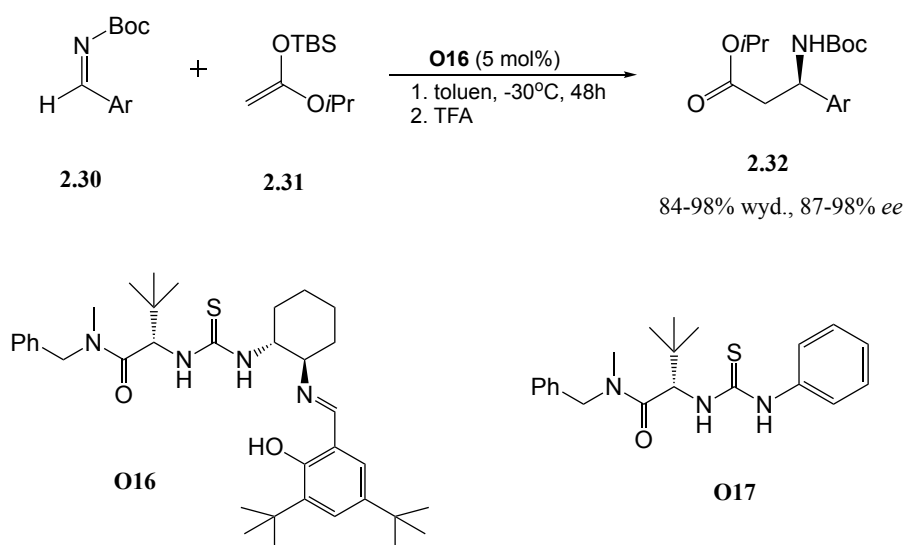


**Schemat 2.10.** Addycja Michaela katalizowana tiomocznikami **O12–O15**.

<sup>158</sup> K. Liu, H.-F. Cui, J. Nie, K.-Y. Dong, X.-J. Li, J.-A. Ma, *Org. Lett.* **2007**, 9, 923.

### 2.3.1.4. Reakcja Mannicha

Reakcja Mannicha podobnie jak Streckera wykorzystuje nukleofile węglowe oraz zasady Schiffa jako dobre elektrofile. W 2002 r. Jacobsen potwierdził wysoką reaktywność *N*-Boc-aldiminy **2.30** wobec acetalu trimetylosililowego ketenu **2.31** w obecności jednofunkcyjnego organokatalizatora **O16** (Schemat 2.11)<sup>159</sup>. Otrzymano produkt z doskonałą wydajnością (92%), podczas gdy reakcja prowadzona bez udziału katalizatora, dawała **2.32** jedynie z 47% wydajnością. Udowodniono także wyższość ugrupowania tiomocznikowego nad mocznikowym – wzrost wydajności z 47% do 70%. Równie skuteczne okazały się prostsze strukturalnie organokatalizatory typu **O17**<sup>160</sup>.



**Schemat 2.11.** Stereoselektywna reakcja Mannicha z udziałem acetalu ketenu i organonokatalizatora **O16**.

Organokatalizator Takemoto **O3** stosowany w reakcjach addycji Michaela został także użyty do indukcji asymetrycznej w reakcji Mannicha (Schemat 2.12)<sup>161</sup>. Zasady Schiffa **2.33** używane w tym przypadku, posiadały podstawniki elektronoakceptorowe (np. Boc), natomiast jako odczynniki nukleofilowe zastosowano niesymetryczne związki 1,3-dikarbonyłowe **2.34**. Mechanizm katalizy został wyjaśniony 7 lat później - efektywną indukcję asymetrii gwarantowała jednoczesna interakcja katalizatora z enolem nukleofila oraz oddziaływanie fragmentu iminowego odczynnika elektrofilowego z częścią tiomocznikową katalizatora<sup>162</sup>. Związki dikarbonyłowe były w większości przypadków podstawione w pozycji  $\alpha$ - więc otrzymywano mieszaninę distereoizomerów (*dr* od 9 do 98%), natomiast czystość enancjomeryczna głównego produktu oscylowała pomiędzy 56 a 96% *ee*. Tego typu odczynniki

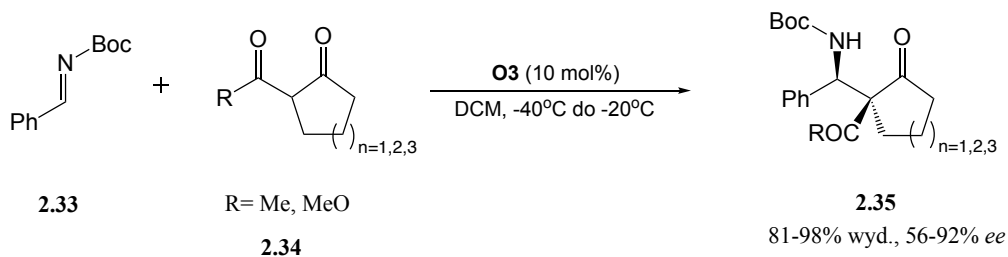
<sup>159</sup> A. G. Wenzel, E. N. Jacobsen, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 12964.

<sup>160</sup> A. G. Wenzel, M. P. Lalonde, E. N. Jacobsen, *Synlett* **2003**, *12*, 1919.

<sup>161</sup> Y. Yamaoka, H. Miyabe, Y. Yasui, Y. Takemoto, *Synthesis* **2007**, *16*, 2571.

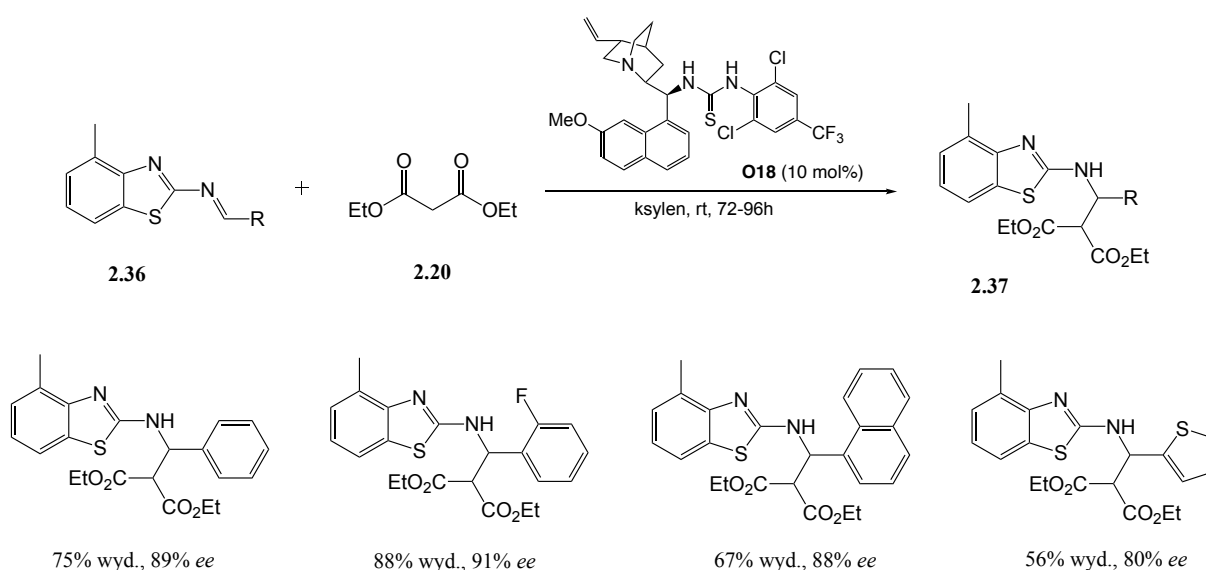
<sup>162</sup> M. Wasa, R. Y. Liu, S. P. Roche, E. N. Jacobsen, *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 12872.

nukleofilowe wykorzystano także w połączeniu ze związkami diazowymi, otrzymując serię pochodnych aminokwasowych<sup>163</sup>.



**Schemat 2.12.** Stereoselektywna reakcja Mannicha z wykorzystaniem katalizatora Takemoto **O3**.

W 2011 roku grupa Yanga dowiodła skuteczności tiomocznikowej pochodnej alkaloidu *cinchona* **O18** w reakcji Mannicha imin zawierających grupę benzotiazolową z malonianem dietylu<sup>164</sup>. Już 10 mol% katalizatora **O18** prowadziło do  $\beta$ -aminoestrów z dobrą wydajnością i wysoką enancjoselektywnością (Schemat 2.13).

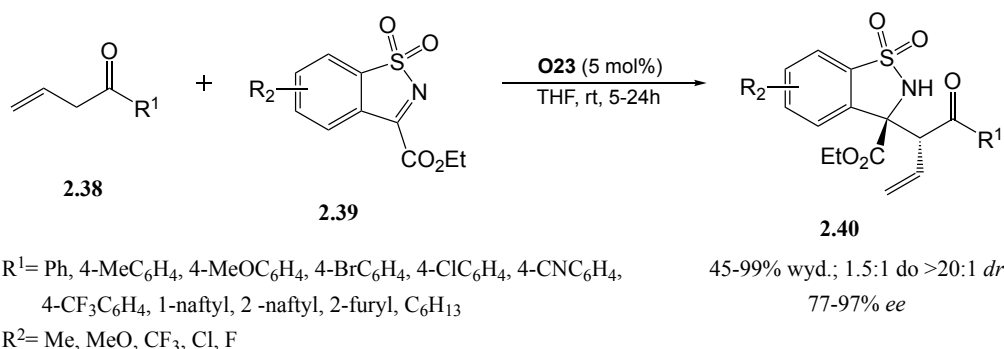


**Schemat 2.13.** Asymetryczna reakcja Mannicha katalizowana tiomocznikową pochodną chinidyny **O18**.

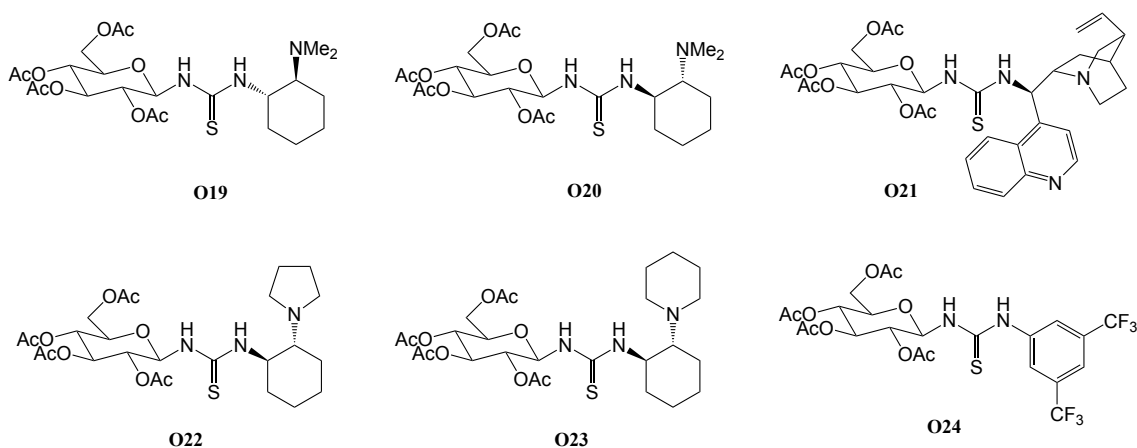
<sup>163</sup> X. Xu, T. Yabuta, P. Yuan, Y. Takemoto, *Synlett* **2006**, 1, 137.

<sup>164</sup> L. Li, B. Song, P. S. Bhadury, Y.-P. Zhang, D.-Y. Hu, S. Yang, *Eur. J.Org. Chem.* **2011**, 4743.

W asymetrycznych reakcjach Mannicha stosowano także chiralne katalizatory tiomocznikowe pochodne węglowodanów<sup>165,166,167,168</sup>. Grupa Ma przedstawiła reakcje ketonów allilowych **2.38** z cyklicznymi *N*-sulfonylo- $\alpha$ -iminoestrami **2.39**, katalizowane przez trzeciorzędowe aminotiomoczniki zawierające fragment węglowodanowy **O19-O23**, a także ‘nieaminowany’ cukrowy tiomocznik **O24**<sup>169</sup>. Zastosowanie tiomocznika cukrowego **O23**, zawierającego ugrupowanie (*R,R*)-1,2-diaminocykloheksylowe połączone z jednostką  $\beta$ -D-glukopiranozy, dało oczekiwane produkty **2.40** z *dr* > 20:1 i 85–97% *ee* (Schemat 2.14). Takie tetrapodstawione  $\alpha$ -aminoestry mogą posłużyć jako materiał wyjściowy do otrzymywania chiralnych, nieracemicznych spiro- i tricyklicznych pochodnych benzosultamu.



Katalizatory:



**Schemat 2.14.** Reakcja Mannicha pomiędzy ketonami allilowymi a *N*-sulfonyloketiminami.

<sup>165</sup> A. Puglisi, M. Benaglia, L. Raimondi, L. Lay, L. Poletti, *Org. Biomol. Chem.* **2011**, 9, 3295.

<sup>166</sup> Y.-J. Liu, J.-S. Li, J. Nie, J.-A. Ma, *Org. Lett.* **2018**, 20, 3643.

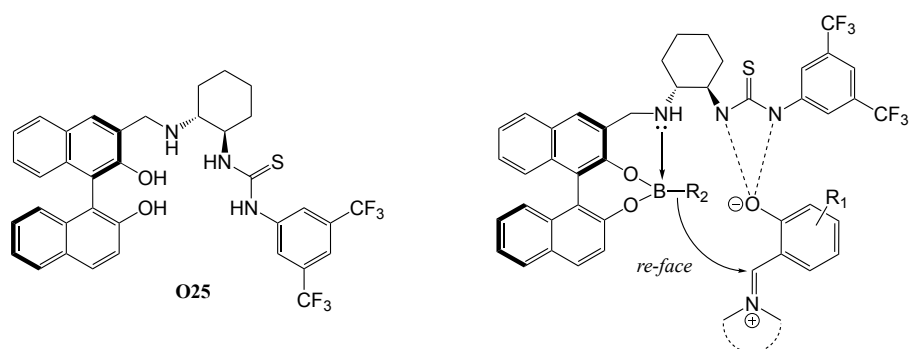
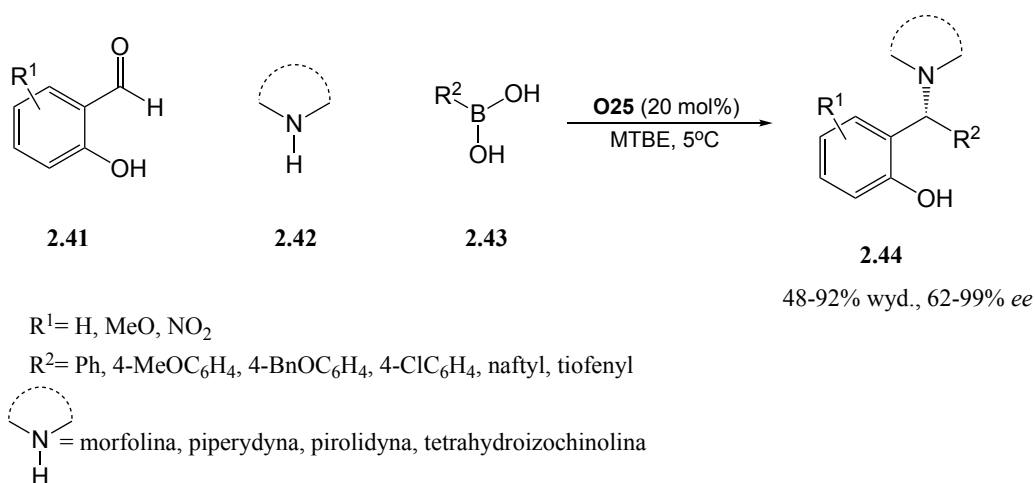
<sup>167</sup> H.-N. Yuan, S. Li, J. Nie, Y. Zheng, J.-A. Ma, *Chem. Eur. J.* **2013**, 19, 15856.

<sup>168</sup> H.-N. Yuan, S. Wang, J. Nie, W. Meng, Q. Yao, J.-A. Ma, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, 52, 3869.

<sup>169</sup> B. Qiao, Y.-J. Huang, J. Nie, J.-A. Ma, *Org. Lett.* **2015**, 17, 4608.



Ciekawym przykładem są reakcje wieloskładnikowe, np. reakcja Petasisa, tzw. reakcja Mannicha z kwasem boronowym, gdzie jednoczesna aktywacja nukleofila i elektrofila jest szczególnie użyteczna<sup>170</sup>. Yuan i współpracownicy<sup>171</sup> badali nowo zaprojektowany chiralny organokatalizator tiomocznikowy **O25** zawierający fragment BINOLu w enancjoselektywnej reakcji Petasisa aldehydów salicylowych, amin i kwasów organoboronowych w środowisku eteru metylo-*tert*-butylowego (MTBE) (Schemat 2.15). Zbadano szeroką gamę aldehydów salicylowych, amin drugorzędowych i kwasów boronowych, które poddane reakcji prowadziły do odpowiednich alkiloaminofenoli **2.44** z wydajnością od umiarkowanej do dobrej (48–92%) i *ee* od 62 do 99%. Zgodnie z proponowanym mechanizmem reakcja zachodzi poprzez stan przejściowy zaprezentowany na schemacie poniżej.



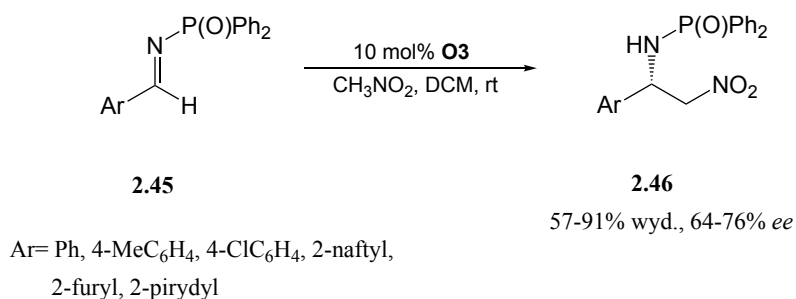
**Schemat 2.15.** Asymetryczna trójskładnikowa reakcja Petasisa i proponowany dla niej stan przejściowy.

<sup>170</sup> N. R. Candeias, F. Montalbano, P. M. S. D. Cal, P. M. P. Gois, *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 6169.

<sup>171</sup> W.-Y. Han, Z.-J. Wu, X.-M. Zhang and W.-C. Yuan, *Org. Lett.* **2012**, *14*, 976.

### 2.3.1.5. Reakcja aza-Henry'ego (nitro-Mannicha)

Przeprowadzona w grupie Takemoto reakcja aza-Henry'ego (lub nitro-Mannicha) imin z nitroalkanami promowana przez chiralny tiomocznik z grupą *N,N*-dimetyloaminową **O3**<sup>172</sup> jest bardzo przydatną metodą tworzenia wiązania C–C (Schemat 2.16)<sup>172</sup>. Otrzymane w reakcji nitroalkanów z iminami β-nitroaminy można następnie łatwo przekształcić w niezwykle użyteczne 1,2-diaminy<sup>173</sup> lub związki α-aminokarbonylowe<sup>174</sup>. Reakcje prowadzono na różnie *N*-zabezpieczonych iminach **2.45**, spośród których *N*-fosfinoilimina dała najlepszy wynik pod względem wydajności chemicznej jak i enancjoselektywności (do 91% wydajności i *ee* do 76%)<sup>175</sup>. Autorzy założyli, że nitrometan, stanowiący odczynnik nukleofilowy oddziaływał z katalizatorem **O3** zarówno poprzez mostek tiomocznikowy jak i ugrupowanie aminowe.



**Schemat 2.16.** Stereoselektywna reakcja aza-Henry'ego.

Z kolei wprowadzenie grupy *tert*-butyloksykarbonylowej do iminy przyniosło znaczny wzrost stereoselektywności – do 98% *ee*, prawdopodobnie przez nieco inny mechanizm oddziaływania substratów z katalizatorem (Schemat 2.17)<sup>176</sup>. Autorzy postulowali, że to imina tworzy z tiomocznikiem kompleks przejściowy, który następnie reaguje z nitroalkanem, co wyjaśnia odmienne konfiguracje absolutne produktów zawierających ugrupowanie Boc i fragment P(O)Ph<sub>2</sub>.

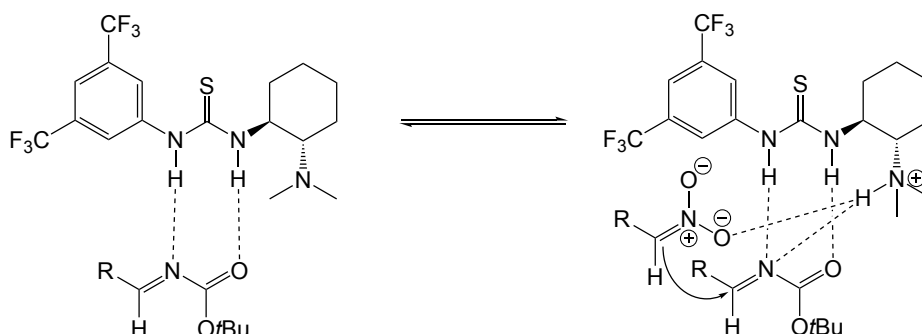
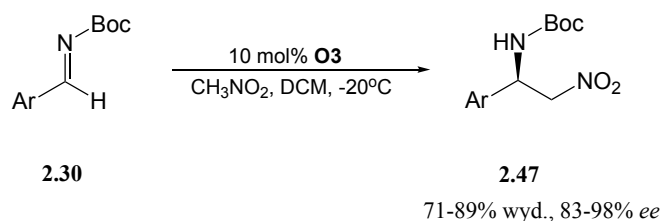
<sup>172</sup> B. Westermann, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, 42, 151.

<sup>173</sup> H. Adams, J. C. Anderson, S. Peace, A. M. K. Pennell, *J. Org. Chem.* **1998**, 63, 9932.

<sup>174</sup> E. Foresti, G. Palmieri, M. Petrini, R. Profeta, *Org. Biomol. Chem.* **2003**, 1, 4275.

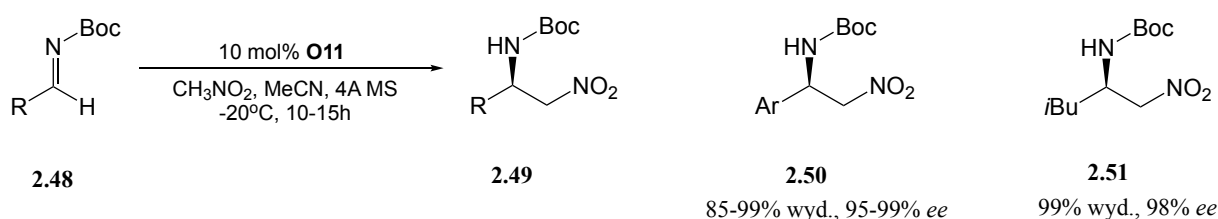
<sup>175</sup> T. Okino, S. Nakamura, T. Furukawa, Y. Takemoto, *Org. Lett.* **2004**, 6, 625.

<sup>176</sup> X. Xu, T. Furukawa, T. Okino, H. Miyabe, Y. Takemoto, *Chem. Eur. J.* **2006**, 12, 466.



**Schemat 2.17.** Stereoselektywna reakcja aza-Henry’ego przy użyciu dwufunkcyjnego organokatalizatora tiomocznikowego.

W 2008 roku ukazała się praca Tenga prezentująca wysoce enancjoselektywną reakcję nitro-Mannicha, gdzie różne *N*-Boc-aldiminy **2.48** wspomagane przez dwufunkcyjny katalizator amino-tiomocznikowy **O11** łatwo reagowały z nitrometanem, dając oczekiwane addukty z wysoką wydajnością (85-98%) i doskonałą enancjoselektywnością (97 -99% *ee*) (Schemat 2.18)<sup>177</sup>. Atrakcyjną cechą zaprezentowanej metody była wyjątkowa kompatybilność z heteroaromatycznymi i alifatycznymi *N*-Boc-aldiminami.

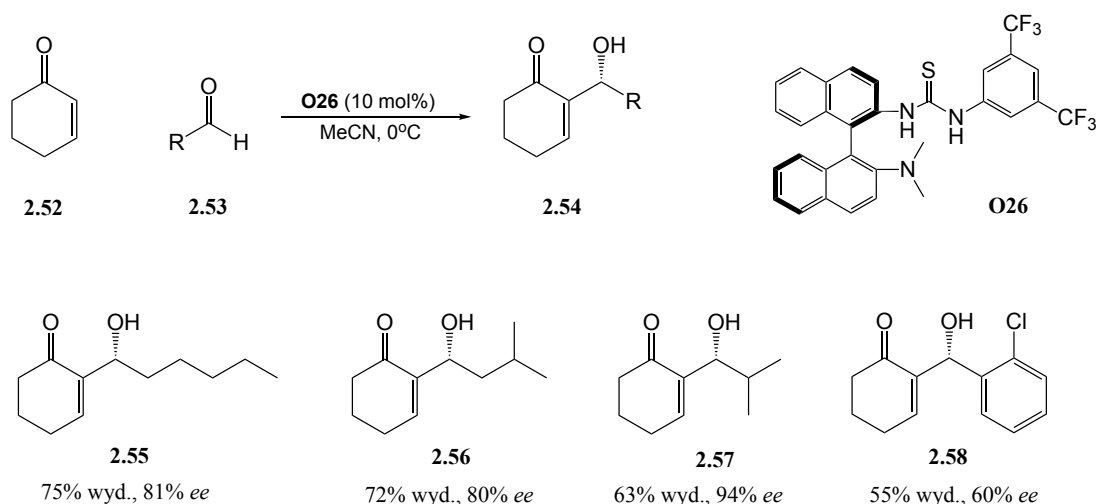


**Schemat 2.18.** Asymetryczna reakcja aza-Henry’ego *N*-Boc-aldimin z nitrometanem.

<sup>177</sup> C.-J. Wang, X.-Q. Dong, Z.-H. Zhang, Z.-Y. Xue, H.-L. Teng, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 8606.

### 2.3.1.6. Reakcja Mority-Baylisa-Hillmana (MBH)

W 2005 roku Wang i współpracownicy opisali nowy dwufunkcyjny tiomocznik zawierający ugrupowanie trzeciorzędowej aminy oraz binaftyli **O26** jako skuteczny organokatalizator w reakcji Mority-Baylisa-Hillmana cykloheksenonu z aldehydami alifatycznymi jak i aromatycznymi<sup>178</sup>. Reakcja zapewniła dostęp do użytecznych bloków budulcowych – chiralnych alkoholi alilowych z dobrą wydajnością i wysoką enancjoselektywnością (Schemat 2.19).



**Schemat 2.19.** Reakcja Morita-Baylisa-Hillmana z wykorzystaniem katalizatora tiomocznikowego.

Fragment aminowy w strukturze katalizatora tiomocznikowego, odpowiadający za aktywację odczynnika nukleofilowego z biegiem czasu ulegał wielu modyfikacjom. Jedną z nich jest zastąpienie ugrupowania  $\text{NH}_2$  lub  $\text{NR}_2$  jednostką difenylofosfiny. Z tą zmianą związane jest obniżenie zasadowości oraz podwyższenie nukleofilowości z uwagi na charakter atomu fosforu. Różnice te wykorzystano do stereoselektywnej syntezy między innymi pochodnych pirolidyny<sup>179</sup>,  $\gamma$ -aminokwasów<sup>180</sup> czy enancjoselektywnego otwarcia pierścienia azirydynowego<sup>181</sup>. Wykazano także, że dwufunkcyjne fosfinotiomoczniki skutecznie katalizują tę reakcję MBH<sup>182</sup>. Wu i współpracownicy wykorzystali tiomoczniki cukrowe **O27–O32** zawierające ugrupowanie (*R,R*)- lub (*S,S*)-*trans*-2-amino-1-(difenylfosfino)cykloheksylowe w reakcji MBH pomiędzy akrylanami **2.59** i aldehydami **2.60**. Chiralne alkohole alilowe **2.61** otrzymano z dobrą do doskonałej wydajnością i umiarkowaną do dobrej enancjoselektywnością (w większości przypadków 68–83% *ee*) (Schemat 2.20). Autorzy postulują utworzenie

<sup>178</sup> J. Wang, H. Li, X. Yu, L. Zu, W. Wang, *Org. Lett.* **2005**, 7, 4293.

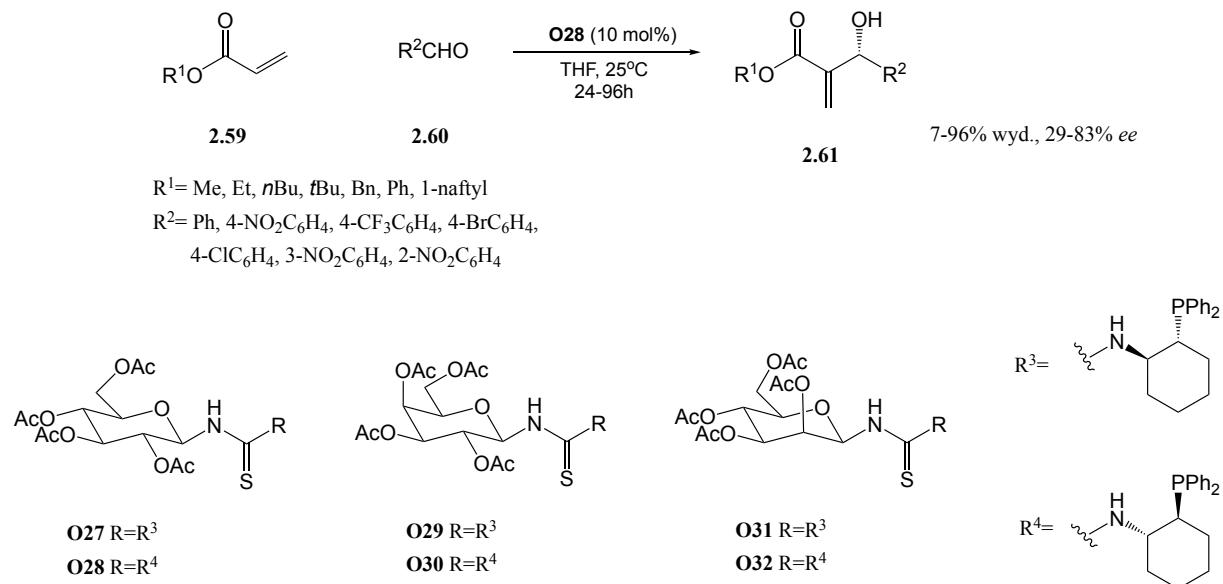
<sup>179</sup> Y. Q. Fang, E. N. Jacobsen, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130, 5660.

<sup>180</sup> Y. Q. Fang, P. M. Tadross, E. N. Jacobsen, *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, 136, 17966.

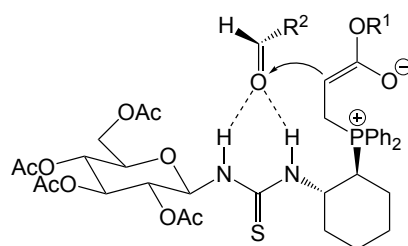
<sup>181</sup> T. Mita, E. N. Jacobsen, *Synlett* **2009**, 10, 1680.

<sup>182</sup> W. Yang, F. Sha, X. Zhang, K. Yuan, X. Wu, *Chin. J. Chem.* **2012**, 30, 2652.

wiązania wodorowego pomiędzy grupą tiomocznikową a tlenem aldehydu aromatycznego, podczas gdy jon enolanowy związany z fosfiną atakuje grupę karbonylową od *Si*-strony, dając produkt o konfiguracji *R* (Rysunek 2.10).



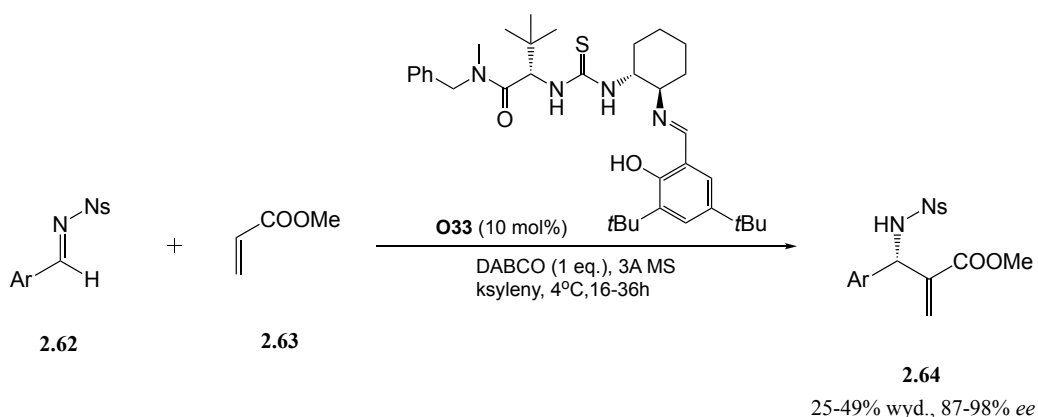
**Schemat 2.20.** Stereoselektywna reakcja Mority-Baylisa-Hillmana katalizowana tiomocznikami węglowodanowymi.



**Rysunek 2.10.** Proponowany stan przejściowy dla reakcji Mority-Baylisa-Hillmana katalizowanej przez **O28**.

### 2.3.1.7. Reakcja aza-Baylisa-Hilmana

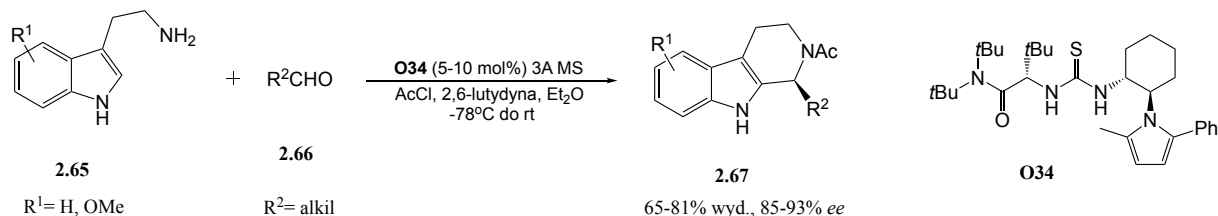
Jacobsen wykorzystał organokatalizator tiomocznikowy **O33** w reakcji aza-Baylisa-Hilmana, której poddano *N*-*para*-nitrobenzenosulfonyloiminy **2.62** z akrylanem metylu (**2.63**) (Schemat 2.21)<sup>183</sup>. W reakcji tej duże znaczenie miał użyty rozpuszczalnik – w DCM otrzymano produkt o czystości 12% *ee* (dla R=Ph), a w tych samych warunkach mieszanina ksylenów dawała **2.64** z 97% nadmiarem enancjomerycznym.



**Schemat 2.21.** Asymetryczna reakcja aza-Baylis-Hillmana przy użyciu jednofunkcyjnego organokatalizatora tiomocznikowego **O33**.

### 2.3.1.8. Reakcja Picteta-Spenglera

Organokatalizatory jednofunkcyjne mogą pełnić funkcje czynników indukujących asymetrię także w reakcjach z udziałem związków heterocyklicznych, zawierających np. atom azotu. Cieszą się one dużym zainteresowaniem, gdyż wykorzystuje się je do syntezy m.in. produktów o właściwościach biologicznych. Jacobsen w reakcji Picteta-Spenglera wykorzystał 3-podstawione indole **2.65** do syntezy tetrahydro- $\beta$ -karbolin **2.67**<sup>184,185</sup> (Schemat 2.22). Reakcje prowadzone w obecności katalizatora **O34** prowadziły do pożądaných produktów z wysoką czystością optyczną (*ee* od 85 do 93%).



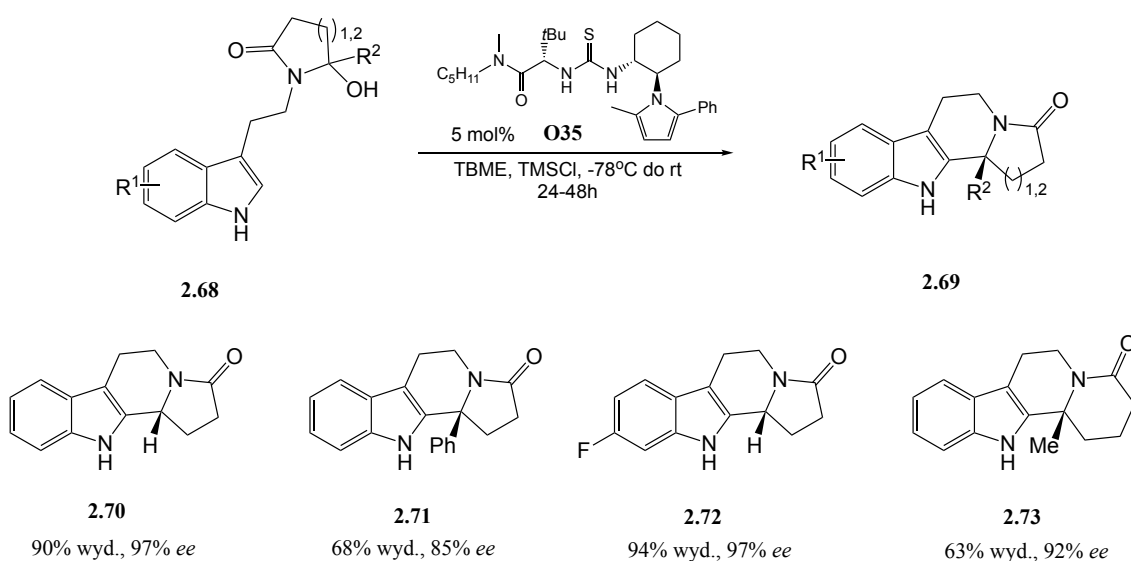
**Schemat 2.22.** Stereoselektywna reakcja Picteta-Spenglera przy użyciu jednofunkcyjnego organokatalizatora tiomocznikowego **O34**.

<sup>183</sup> I. T. Raheem, E. N. Jacobsen, *Adv. Synth. Catal.* **2005**, 347, 1701.

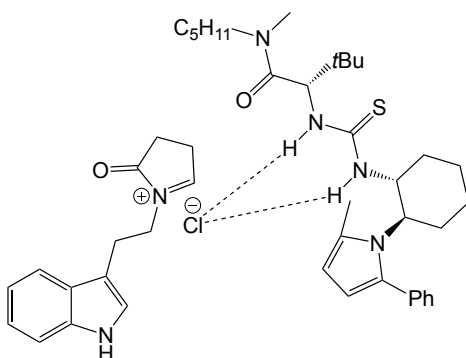
<sup>184</sup> M. S. Taylor, E. N. Jacobsen, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 10558.

<sup>185</sup> T. Herraiz, *J. Agric. Food Chem.* **2000**, 48, 4900.

Wysoce enancjoselektywną syntezę indolizynonu i chinolizynonu w katalizowanej tiomocznikiem **O35** cyklizacji Picteta-Spenglera hydroksylaktamów pochodzących z tryptaminy zaprezentował w 2007 roku Jacobsen (Schemat 2.23)<sup>186</sup>. Przeprowadzone badania dowiodły wpływu podstawników i przeciwjonów na przebieg reakcji, co wskazywało na nowy mechanizm tej katalizowanej tiomocznikiem **O35** reakcji. Zauważono, że wymiana chlorku na jodek powoduje całkowitą utratę enancjoselektywności. Ponadto zaobserwowano zwiększoną reaktywność substratu z dodatkową grupą  $\alpha$ -Me w odniesieniu do amidowego atomu azotu. Wyniki te silnie wskazują na mechanizm obejmujący wiązanie chlorku przez katalizator tiomocznikowy i etap cyklizacji zachodzący według mechanizmu S<sub>N</sub>1 (Rysunek 2.11).



**Schemat 2.23.** Enancjoselektywna cyklizacja Picteta-Spenglera hydroksylaktamów.

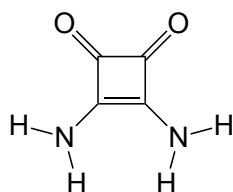


**Rysunek 2.11.** Mechanizm wiązania jonów chlorkowych przez katalizator tiomocznikowy.

<sup>186</sup> I. T. Raheem, P. S. Thiara, E. A. Peterson, E. N. Jacobsen, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 13404.

### 2.3.2. Organokatalizatory squaramidowe i tiosquaramidowe

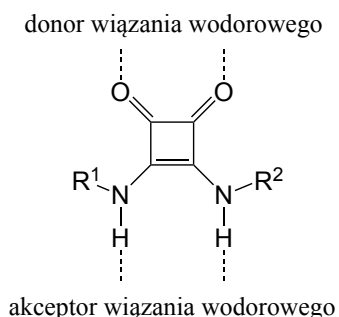
Squaramid (Rysunek 2.12) to czteroczłonowy układ pierścieniowy, diamid 3,4-dihydroksy-3-cyklobuteno-1,2-dionu, czyli kwasu kwadratowego, otrzymany i opisany po raz pierwszy w 1966 roku przez Cohena<sup>187</sup>. Squaramidy to duża klasa związków, charakteryzująca się łatwością modyfikacji, gdzie jeden z amidowych atomów wodoru został zastąpiony organicznym podstawnikiem, alkilowym lub arylowym.



2.74

**Rysunek 2.12.** Budowa cząsteczki squaramidu.

Chociaż istnieją wyraźne podobieństwa między amidami i squaramidami, jedną z charakterystycznych cech squaramidów jest ich sztywna i płaska struktura pierścienia cyklobutenowego zawierającego dwa koplarnarne karbonyle i dwa ugrupowania NH, które są prawie koplarnarne. Wyjątkową cechą squaramidów jest ich zdolność do tworzenia silnych wiązań wodorowych do akceptorów, donorów jak i mieszanych grup akceptorów i donorów. Dzieje się tak na skutek wzmocnienia ich charakteru aromatycznego po utworzeniu wiązania wodorowego, co odróżnia tę grupę od ich mocznikowych, mniej kwasowych analogów. Z uwagi na swe sztywne planarne struktury, związki te znajdują zastosowanie jako donory wiązań wodorowych w chemii supramolekularnej, ale także szeroko wykorzystuje się je w organokatalizie, albowiem wiązania wodorowe nie tylko aktywują substrat, ale także zapewniają odpowiednią orientację przestrzenną, konieczną do indukcji asymetrycznej.



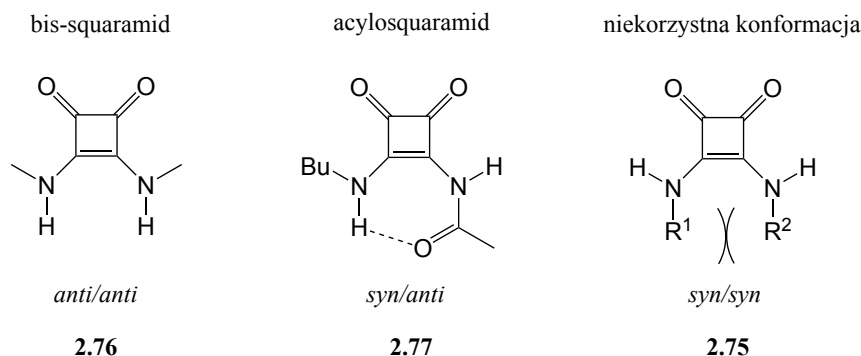
2.75

**Rysunek 2.13.** Zdolność tworzenia wiązań wodorowych przez squaramidy.

<sup>187</sup> S. Cohen, S. G. Cohen, *J. Am. Chem. Soc.* **1966**, 88, 1533.



Zakładając istnienie ograniczonej rotacji wokół wiązania C-N squaramidu, drugorzędowe squaramidy posiadające dwa wiązania C-N mogą zasadniczo istnieć jako mieszaniny konformerów *anti/syn*. Przeprowadzone badania wykazały, że w przypadku standardowego drugorzędowego squaramidu, jednoczesny udział dwóch grup NH wymusza konformację *anti/anti* jako preferowaną (Rysunek 2.14)<sup>188,189</sup>. Jednakże konformację *syn/anti* zaobserwowano w niektórych specjalnie zaprojektowanych układach, np. w mieszanym *N*-acylosquaramidzie **2.77**, gdzie octan może tworzyć wewnątrzcząsteczkowe wiązanie wodorowe do sąsiedniej grupy NH, stabilizując konformację *syn/anti*.



**Rysunek 2.14.** Możliwe konformacje squaramidów.

Potencjalny konformer *syn/syn* **2.75** nie został dotychczas zaobserwowany, prawdopodobnie ze względu na wyższą energię tej formy, spowodowaną zawadą steryczną wynikającą z bliskości podstawników aminowych (Rysunek 2.14).

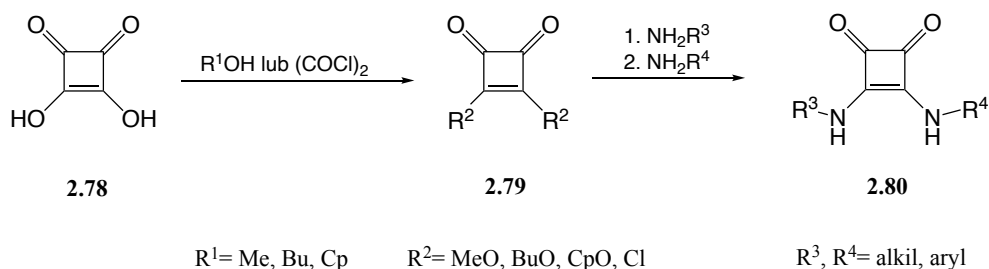
Squaramidy posiadają zdolność do samoagregacji, tworząc sieci głowa-ogon poprzez podwójne wiązania wodorowe, co niestety skutkuje ich niską rozpuszczalnością i możliwością wytrącania z roztworów<sup>190</sup>. Ich niewątpliwą zaletą jest jednak łatwość ich otrzymywania. Powszechnie stosowana dwuetapowa synteza obejmuje najpierw otrzymanie z kwasu kwadratowego **2.78** squaranu dimetylu/dibutyłu/dicyklopentyłu **2.79** lub dichlorku kwasu kwadratowego, a następnie poddanie ich reakcji z jedną lub dwiema aminami, co prowadzi do otrzymania właściwego katalizatora **2.80**<sup>188,191</sup>. Zaletą tej metody jest możliwość stosowania szerokiej gamy różnie podstawionych amin (Schemat 2.24).

<sup>188</sup> R. I. Storer, C. Aciro, L. H. Jones, *Chem. Soc. Rev.* **2011**, 40, 2330.

<sup>189</sup> S. Tomàs, R. Prohens, M. Vega, M. C. Rotger, P. M. Deya, P. Ballester, A. Costa, *J. Org. Chem.* **1996**, 61, 9394.

<sup>190</sup> S. Nagy, P. Kisszékelyi, J. Kupai, *Period. Polytech. Chem. Eng.* **2018**, 62, 467.

<sup>191</sup> M. Rombola, V. H. Rawal, *Org. Lett.* **2018**, 20, 514.



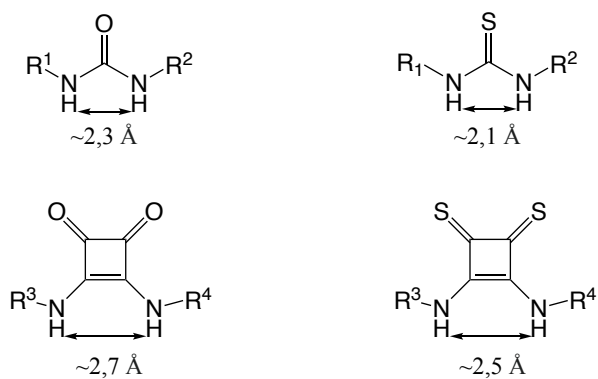
**Schemat 2.24.** Synteza squaramidów.

Pomimo ich szerokiego zastosowania w syntezie organicznej, niska rozpuszczalność w rozpuszczalnikach niepolarnych i ograniczona zdolność do modulowania pKa donorowych atomów wodoru (im wyższa kwasowość donora wiązań wodorowych, tym silniejsze jest powstałe wiązanie wodorowe i tym wyższa aktywność katalityczna) ogranicza stosowanie tych związków w niektórych reakcjach. Wystarczy jednak zastąpić grupę/grupy karbonyłowe tiokarbonyłem, a tworzenie się agregatów staje się niemożliwe, co korzystnie wpływa na rozpuszczalność siarkowych analogów squaramidów.

Tiosquaramidy to siarkowe analogi squaramidów, które podobnie jak ich tlenowe odpowiedniki, posiadają sztywny czteroczłonowy pierścień i mogą być zarówno donorami jak i akceptorami wiązań wodorowych. Drugorzędowe pochodne tego typu występują głównie w postaci konformerów *anty/anti*, choć i *syn/anti* konformacja także jest możliwa<sup>189</sup>. Ponadto, dzięki atomowi siarki wykazują większą kwasowość wiązań NH, podobnie jak ma to miejsce w przypadku mocznika i tiomocznika. Przeprowadzone badania wykazały, że tiosquaramidy są jeszcze bardziej kwaśne (4-5 jednostek pKa), niż odpowiadające im squaramidy<sup>192</sup>. Odległość między atomami wodoru w tiosquaramidzie jest jednak mniejsza, a wynika to ze sterycznego i elektronowego odpychania grup karbonyłowych (Rysunek 2.15). Nie obserwuje się tu tworzenia agregatów, a wzmocnione oddziaływanie wiązań wodorowych w tiosquaramidzie, w porównaniu do (tio)mocznika, wynika ze wzrostu aromatyczności w układzie cyklicznym po utworzeniu wiązań wodorowych, analogicznie jak to ma miejsce w squaramidach. Zwiększona kwasowość tej grupy związków powoduje tworzenie silniejszych wiązań wodorowych w porównaniu do moczników, tiomoczników i squaramidów<sup>193</sup>. Charakteryistyczne różnice w budowie i właściwościach tych czterech grup związków zamieszczone zostały na rysunku poniżej (Rysunek 2.15).

<sup>192</sup> J. M. Ho, V. E. Zwicker, K. K. Y. Yuen, K. A. Jolliffe, *J. Org. Chem.* **2017**, 82, 10732.

<sup>193</sup> M. Rombola, C. S. Sumaria T. D. Montgomery, V. H. Rawal, *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, 139, 5297.



**Rysunek 2.15.** Struktury (tio)moczników i (tio)squaramidów.

Generalnie powiedzieć więc można, że tiosquaramidy charakteryzują się większą kwasowością i rozpuszczalnością w rozpuszczalnikach niepolarnych w porównaniu do ichtlenowych analogów.

Pierwszej próby syntezy tiosquaramidu podjęli się w 1966 roku Maahs i Hegenberg, poddając reakcji *N,N'*-dicykloheksylosquaramid z pentasiarczkiem difosforu w dichlorometanie<sup>194</sup>. Następnie Seitz<sup>195,196</sup>, a później jeszcze Frauenhoff<sup>197</sup> użyli dekasiarczku tetrafosforu do tionowania squaramidów. To podejście dało pożądany produkt jednak z niską wydajnością i ze złożoną mieszaniną produktów ubocznych, powstałych prawdopodobnie z zanieczyszczeń pozostałych po przygotowaniu odczynnika tionującego. Jak donosi Busschaert zastosowanie wolnego od zanieczyszczeń pirydynowego kompleksu dekasiarczku tetrafosforu w acetonitrylu prowadzi do tiosquaramidów ze średnimi wydajnościami<sup>198</sup>. W 2018 roku, kontynuując badania w tym zakresie, Rombola i Rawal zaproponowali nową procedurę, w której odpowiednie ditiosquaramidy były otrzymywane przez tionowanie dicyklopentylosquaramidu za pomocą odczynnika Lawessona (Schemat 2.25)<sup>191</sup>.

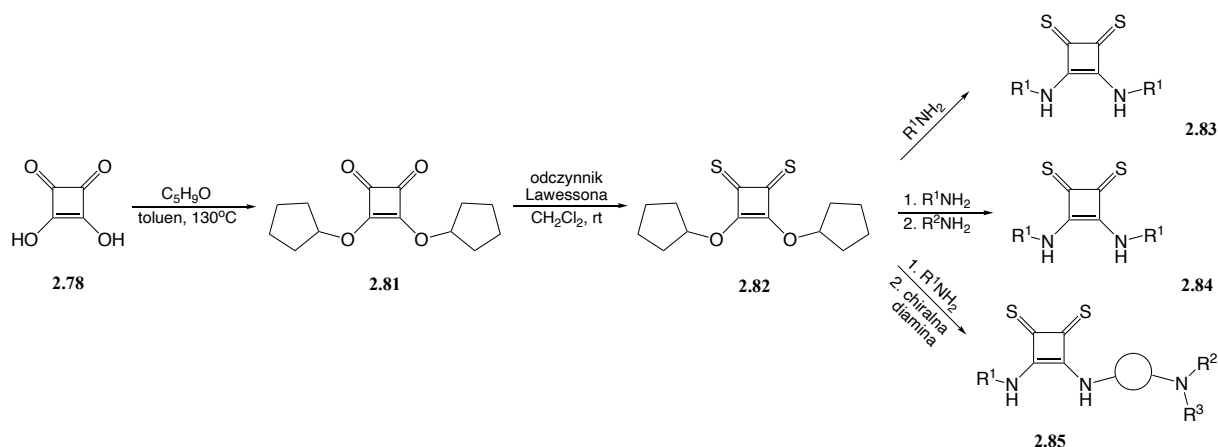
<sup>194</sup> G. Maahs, P. Hegenberg, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1966**, 5, 888.

<sup>195</sup> G. Seitz, H. Morck, K. Mann, R. Schmiedel, *Chemiker-Zeitung* **1974**, 98, 459.

<sup>196</sup> G. Seitz, K. Mann, R. Schmiedel, *Chemiker-Zeitung* **1975**, 9, 332.

<sup>197</sup> G. R. Frauenhoff, F. Takusagawa, D. H. Busch, *Inorg. Chem.* **1992**, 31, 4002.

<sup>198</sup> N. Busschaert, R. B. P. Elmes, D. D. Czech, X. Wu, I. L. Kirby, E. M. Peck, K. D. Hendzel, S. K. Shaw, B. Chan, B. D. Smith, K. A. Jolliffe, P. A. Gale, *Chem. Sci.* **2014**, 5, 3617.

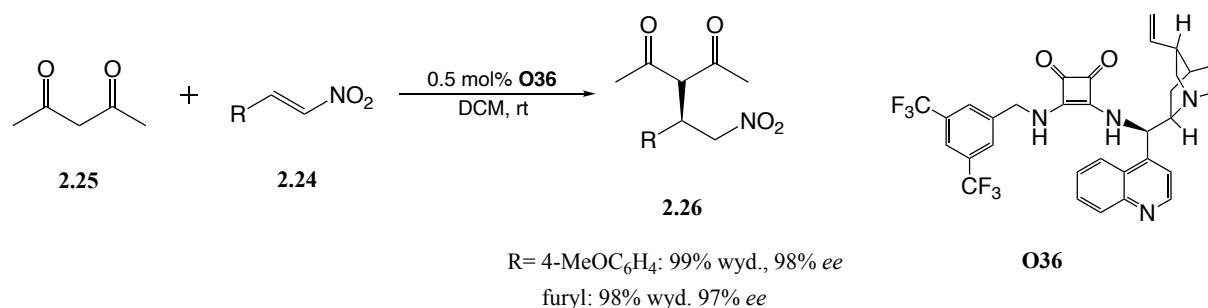


**Schemat 2.25.** Synteza tiosquaramidów z zastosowaniem dicyklopentylsquaramidu.

Okazało się, że pochodna dicyklopentylowa w porównaniu do wcześniej stosowanego squaramidu dibutyłu wykazuje większą stabilność i reaktywność w stosunku do różnych amin zarówno pierwszo- jak i drugorzędowych. Daje to możliwość syntezy zarówno symetrycznych jak i niesymetrycznych ditiosquaramidów. Co więcej, użycie chiralnej diaminy, w szczególności zawierającej fragment trzeciorzędowej aminy prowadzi do dwufunkcyjnych tiosquaramidów (Schemat 2.25).

Odkąd wprowadzono katalizę z udziałem donorów wiązań wodorowych, zarówno tiomoczniki jak i squaramidy oraz tiosquaramidy stały się jedną z najchętniej wybieranych grup organokatalizatorów<sup>190</sup>. Ogromną zaletą tych związków jest zapewnienie silnej aktywacji substratu oraz pożądanej orientacji przestrzennej dla indukcji asymetrycznej.

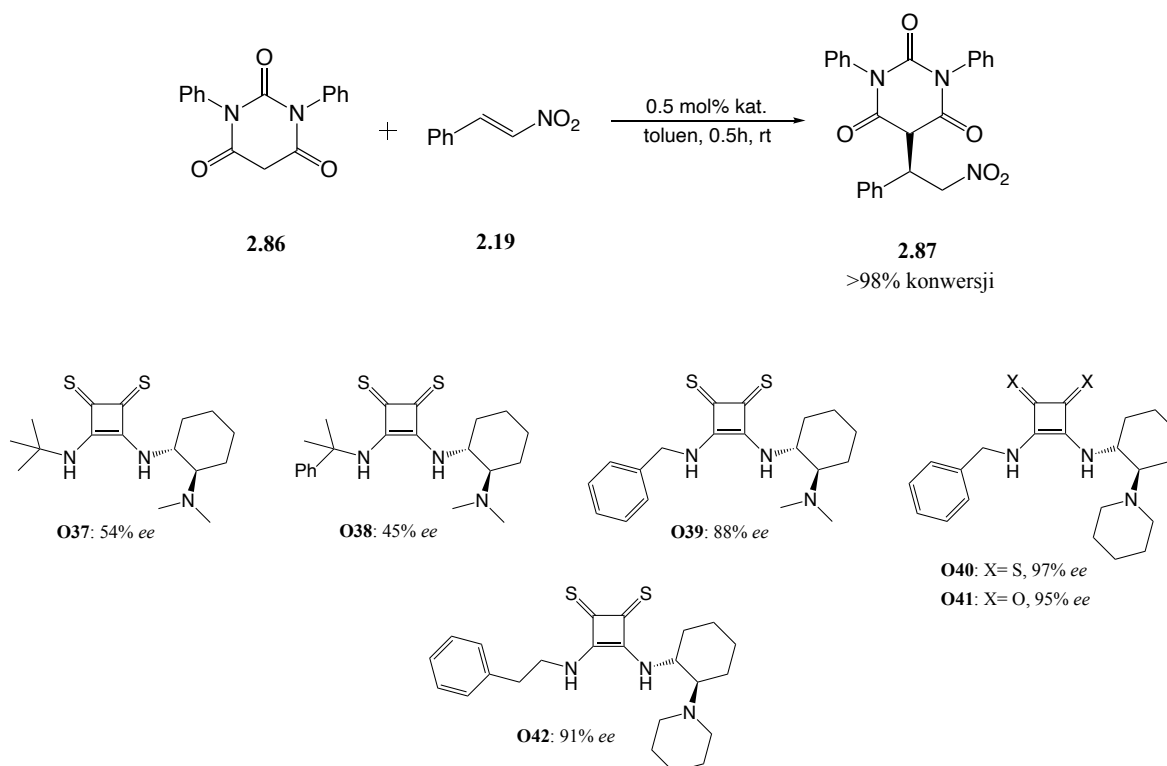
Po raz pierwszy chiralne squaramidy wykorzystano z powodzeniem w 2008 roku, kiedy to Rawal ze współpracownikami przeprowadzali reakcję addycji 2,4-pentanodionu **2.25** do  $\beta$ -nitrostryrenów **2.24** w obecności organokatalizatora **O36** uzyskując pożądane produkty z wydajnościami powyżej 89% i nadmiarami enancjomerycznymi sięgającymi 97-98% (Schemat 2.26)<sup>199</sup>.



**Schemat 2.26.** Reakcja addycji 2,4-pentanodionu do  $\beta$ -nitrostryrenu w obecności organokatalizatora squaramidowego **O36**.

<sup>199</sup> J. P. Malerich, K. Hagihara, V. H Rawal, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 14416.

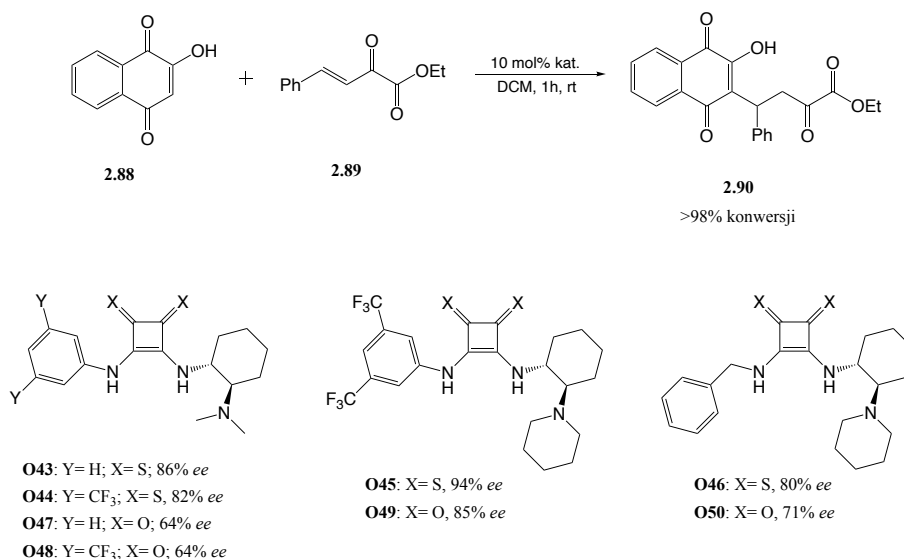
Niecałą dekadę później, w 2017 r. Rombola opisał pierwszą syntezę chiralnej, dwufunkcyjnej pochodnej tiosquaramidowej, której aktywność katalityczną testował w enancjoselektywnej addycji kwasu *N,N'*-difenylorbarbiturowego **2.86** do  $\beta$ -nitrostyrenu **2.19** (Schemat 2.27), a następnie do innych nitroolefin<sup>193</sup>. Odpowiedni addukt Michaela **2.87** otrzymywano z wysoką wydajnością >98% i enancjoselektywnością do 99% *ee*, stosując jedynie 0.05 mol% odpowiedniego organokatalizatora. Ponadto udowodniono, że podstawniki przy amidowym atomie azotu w tiosquaramidzie mają znaczący wpływ na ich aktywność (Schemat 2.27, organokatalizatory **O37-O38** vs. **O39-O41**). Tlenowy analog **O41** i tiosquaramid **O40** dawały dobre wyniki, choć ten pierwszy dawał produkty z niższymi nadmiarami enancjomerycznymi. Pozornie niewielka różnica obserwowana w *ee* (95% vs. 97%) odpowiada stosunkom selektywności odpowiednio ~40:1 i ~70:1. Porównano także rozpuszczalność organokatalizatorów **O40** i **O41** w toluenie i okazało się, że tiosquaramid był prawie 30-krotnie lepiej rozpuszczalny, co można wytłumaczyć brakiem międzycząsteczkowych wiązań wodorowych.



**Schemat 2.27.** Enancjoselektywna addycji kwasu *N,N'*-difenylorbarbiturowego do  $\beta$ -nitrostyrenu, katalizowana tiosquaramidami **O37-O42**.

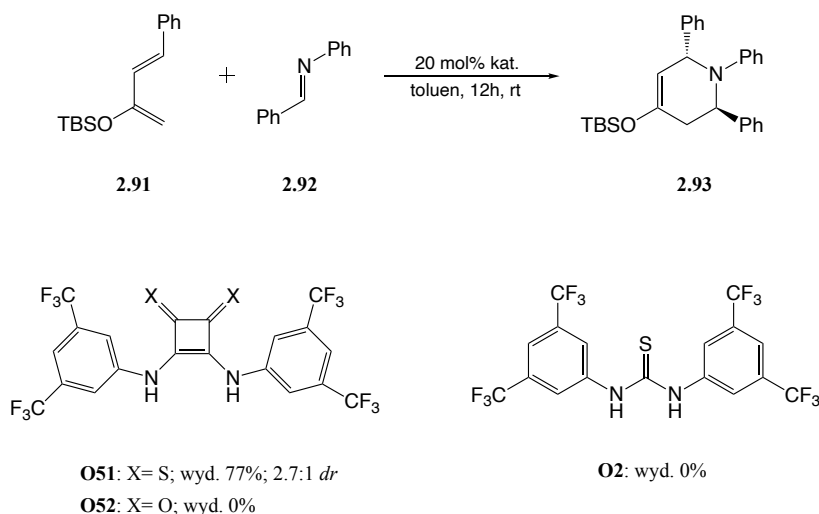
Ponadto Rombola i Rawal badali właściwości katalityczne squaramidów i tiosquaramidów w sprzężonej addycji lawsonu **2.88** do  $\beta,\gamma$ -nienasyconych  $\alpha$ -ketoestrów **2.89** (Schemat 2.28)<sup>191</sup>. Wszystkie zastosowane tiosquaramidy **O43-O46** spisywały się znacznie

lepiej niż ich tlenowe analogi (**O47-O50**), generując nadmiary enancjomeryczne wyższe nawet o 22%. Co warto podkreślić, nawet bez specjalnej optymalizacji warunków, tiosquaramid **O45** dawał produkt z 94% nadmiarem enancjomerycznym.



**Schemat 2.28.** Addycja lawsonu do  $\beta,\gamma$ -nienasyconych  $\alpha$ -ketoestrów katalizowana tiosquaramidami **O43-O50**.

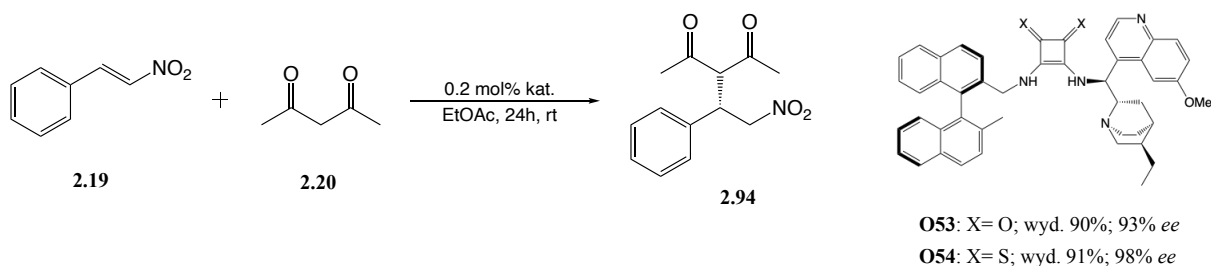
Zwiększona kwasowość tiosquaramidów arylowych otwiera możliwości ich wykorzystania jako kwasów Brønsteda. Rombola i Rawal badali tę zdolność dla tiosquaramidu **O51** z podstawnikami wyciągającymi elektrony w reakcji aza-Dielsa-Aldera pomiędzy 2-sililoksydienem **2.91** a *N*-benzylidenoaniliną **2.92** (Schemat 2.29)<sup>191</sup>. Reakcja prowadziła do adduktu **2.93** z 77% wydajnością i stosunkiem diastereoizomerów 2.7:1. Analogiczny squaramid, oraz tiomocznik (katalizator Schreiner) w tych warunkach nie dawały adduktu **2.93**.



**Schemat 2.29.** Reakcja aza-Dielsa-Aldera z wykorzystaniem katalizatorów tiosquaramidowych.

Badania w tej tematyce kontynuowali Lu i Wheeler<sup>200</sup>. Wykorzystując nowoczesne narzędzia obliczeniowej chemii kwantowej porównali aktywność tiosquaramidów z analogicznymi katalizatorami mocznikowymi, tiomocznikowymi i squaramidowymi w cykloaddycji Dielsa-Aldera antracenu i nitrostyrenu. Przeprowadzone badania wykazały, że organokatalizatory tiosquaramidowe sprzyjają powstawaniu stanów przejściowych o najniższej energii, zachowując jednocześnie ten sam wysoki stopień enancjoselektywności co squaramidy.

W 2019 roku grupa Kupai zaprezentowała syntezę nowych chiralnych, binaftyłowych organokatalizatorów squaramidowych i tiosquaramidowych, zawierających pierścień chinidynowy oraz wykazała ich aktywność katalityczną w reakcji addycji Michaela pentano-2,4-dionu **2.20** do *trans*- $\beta$ -nitrostyrenu **2.19** (Schemat 2.30)<sup>201</sup>. Tego typu katalizatory squaramidowe były już z powodzeniem wykorzystywane w reakcjach asymetrycznych, a ich binaftyłowa dyssymetria osiowa wywołana ograniczoną rotacją wokół wiązania biaryłowego jest niewątpliwą zaletą tych struktur. Osiągnięto doskonałe wyniki jedynie dla 0.2 mol% organokatalizatora, prowadząc reakcje w temperaturze pokojowej, w octanie etylu przez 24 godziny.

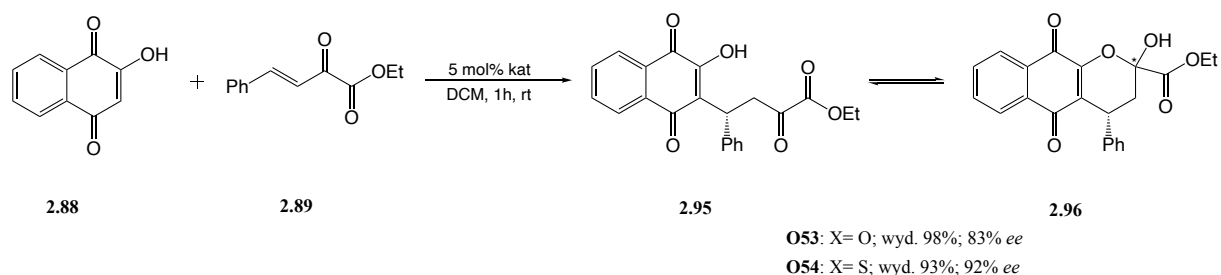


**Schemat 2.30.** Addycja Michaela pentano-2,4-dionu do *trans*- $\beta$ -nitrostyrenu katalizowana (tio)squaramidami.

Kupai i współpracownicy zbadali także aktywność katalityczną **O53** i **O54** w reakcji lawsonu z  $\beta,\gamma$ -nienasyconym  $\alpha$ -ketoestrem **2.89**, otrzymując pożądaný produkt nawet przy 5 mol% organokatalizatora (Schemat 2.31)<sup>201</sup>. Również w tym przypadku tiosquaramid dawał lepsze wyniki niż jego tlenowy analog, co świadczy o jego wyższej aktywności katalitycznej.

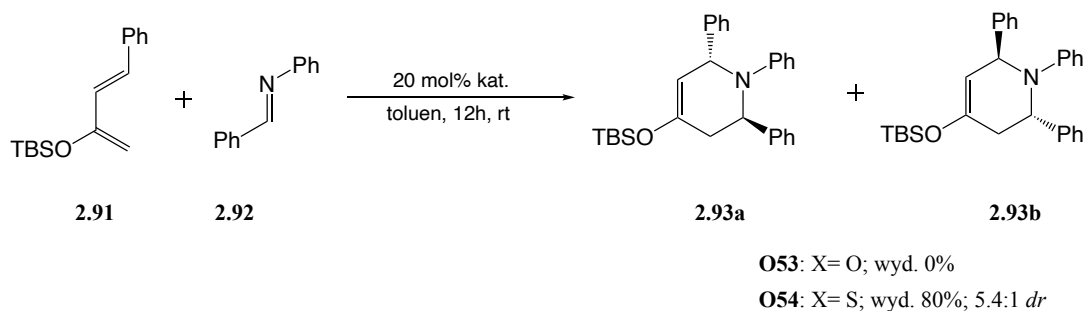
<sup>200</sup> T. Lu, S. E. Wheeler, *Chem. – Eur. J.* **2013**, *19*, 15141.

<sup>201</sup> S. Nagy, G. Dargo, P. Kisszekelyi, Z. Feher, A. Simon, J. Barabas, T. Holtzl, B. Matravolgyi, L. Karpati, L. Drahos, P. Huszthy, J. Kupai, *New J. Chem.* **2019**, *43*, 5948.



**Schemat 2.31.** Reakcja lawsonu z  $\beta,\gamma$ -nienasyconym  $\alpha$ -ketoestrem.

Po wstępnych badaniach Rawala i Romboli<sup>191,193</sup> oraz Kupai<sup>201</sup>, organokatalizatory **O53** i **O54** testowano również w reakcji aza-Dielsa-Aldera (Schemat 2.32). Potwierdziły się wcześniejsze obserwacje, że tylko tiosquaramid **O54** był w stanie działać jak kwas Brønsteda i dawać addukt **2.93**. Cykliczne, diastereoizomeryczne produkty **2.93a** i **2.93b** otrzymano z sumaryczną wydajnością 80% w stosunku 5.4:1. W obecności tlenowego organokatalizatora **O53**, udało się wydzielić jedynie nieprzereagowany materiał wyjściowy.

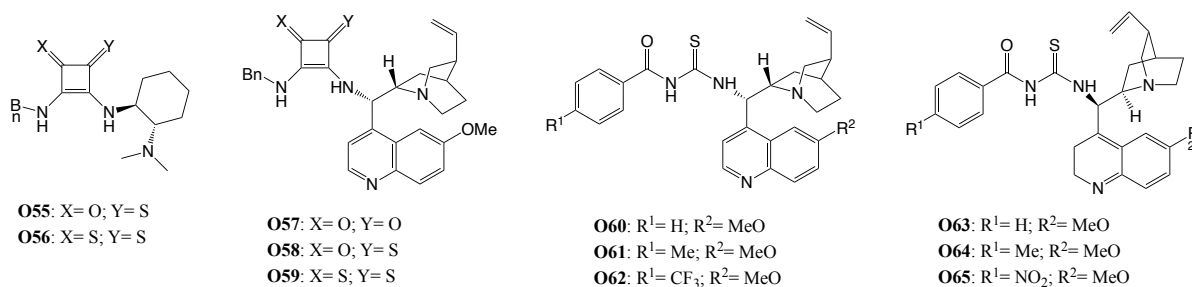


**Schemat 2.32.** Reakcja aza-Dielsa-Aldera katalizowana squaramidem **O53** i tiosquaramidem **O54**.

Rok 2019 obfitował w liczne doniesienia z zakresu wykorzystania squaramidowych i tiosquaramidowych katalizatorów. Grupa Bana zaprezentowała wykorzystanie serii nowych organokatalizatorów tiosquaramidowych **O55-O56** w reakcji podwójnej addycji 5-metylo-2(3H)-furanonu **2.97** do nitroolefin **2.24** (Rysunek 2.16)<sup>202</sup>.

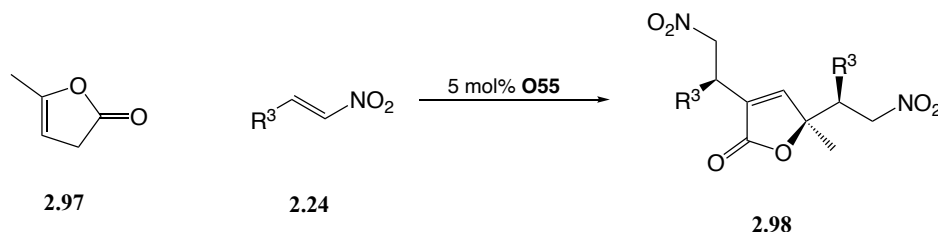
<sup>202</sup> M. Yang, C. Chen, X. Yi, Y. Li, X. Wu, Q. Li, S. Ban, *Org. Biomol. Chem.* **2019**, *17*, 2883.





**Rysunek 2.16.** Squaramidowe i tiosquaramidowe katalizatory wykorzystane w reakcji podwójnej addycji 5-metylo-2(3H)-furanonu do nitroolefin.

Biologicznie aktywne, enancjomerycznie wzbogacone 2,4,4-trójpodstawione butenolidy **2.98**, posiadające czwartorzędowe centrum stereogeniczne otrzymywano w łagodnych warunkach z dobrymi wydajnościami i wysoką stereoselektywnością (Schemat 2.33, *ee* do 95% i *dr* > 99:1). Wszystkie zaprezentowane organokatalizatory wykazywały doskonałą aktywność, z wyjątkiem katalizatora **O56**, który w tych warunkach nie dawał produktu reakcji. Z kolei najlepsze wyniki uzyskano dla nieznanego wcześniej w literaturze monotiosquaramidowego organokatalizatora **O55** (Tabela 2.1).



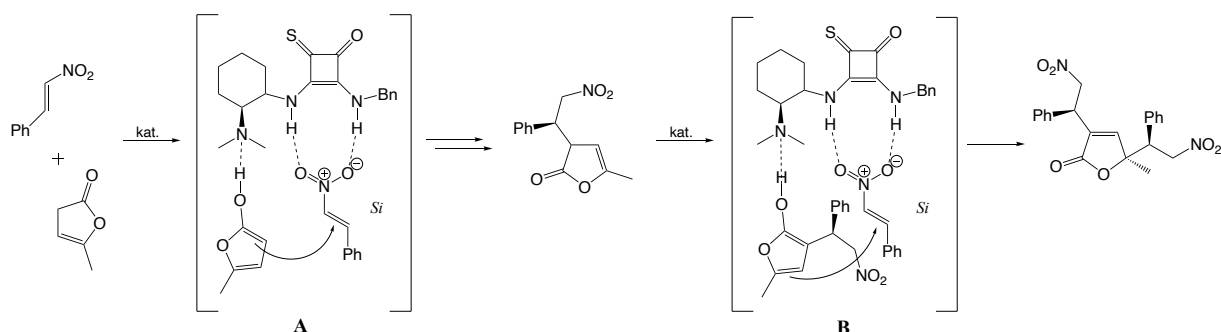
**Schemat 2.33.** Asymetryczna podwójna reakcja Michaela.

**Tabela 2.1.** Podwójna addycja 5-metylo-2(3H)-furanonu do nitroolefin w obecności monotiosquaramidu **O55**.

| Lp. | R <sup>3</sup>                                  | Wydajność [%] | <i>ee</i> [%] | <i>dr</i> |
|-----|-------------------------------------------------|---------------|---------------|-----------|
| 1   | Ph                                              | 77            | 86            | 93:7      |
| 2   | 4-MeC <sub>6</sub> H <sub>4</sub>               | 86            | 86            | >99:1     |
| 3   | 4-ClC <sub>6</sub> H <sub>4</sub>               | 67            | 94            | 99:1      |
| 4   | 4-CF <sub>3</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> | 75            | 92            | 99:1      |

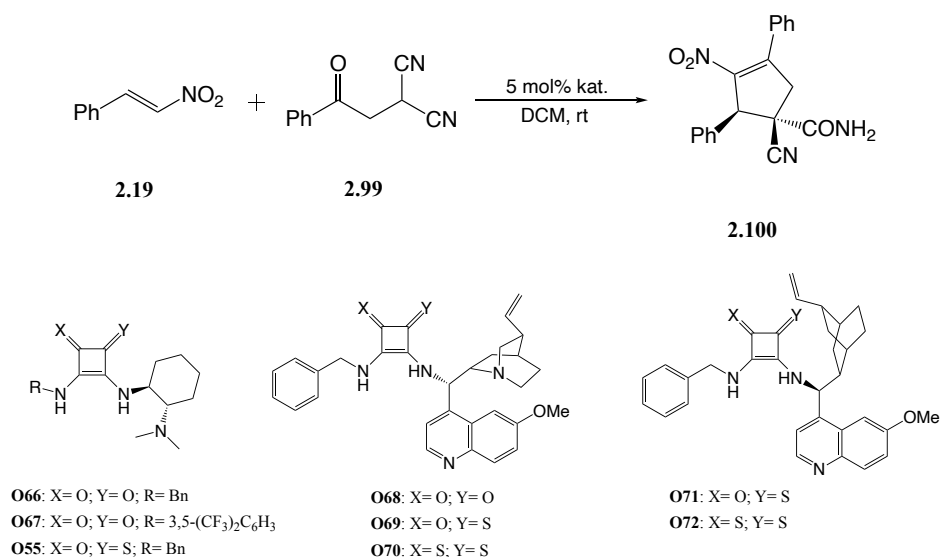
Mechanizm powyższej reakcji prezentuje Schemat 2.34. Dwufunkcyjny organokatalizator **O55** bierze udział kolejno w dwóch reakcjach addycji Michaela. Grupy NH squaramidu **O55** aktywują nitroolefinę przez utworzenie wiązań wodorowych z grupą nitrową. Z kolei fragment trzeciorzędowej aminy w squaramidzie jest odpowiedzialny za deprotonowanie

furanonu, co prowadzi do utworzenia dienolanu, który działa jako nukleofil w addycji Michaela. W stanie przejściowym **A** i **B** nukleofil atakuje stronę *Si* nitrostyrenu, co prowadzi do finalnego adduktu o obserwowanej konfiguracji absolutnej.



**Schemat 2.34.** Proponowany mechanizm podwójnej addycji Michaela.

W 2019 roku, ta sama grupa badawcza użyła dwufunkcyjnych organokatalizatorów **O66-O72** (w tym monotiosquaramidowych) do wysoce stereoselektywnej syntezy chiralnych cyklopentenów **2.100**, zawierających czwartorzędowe centrum chiralne, w tandemowej reakcji Michaela-Henry'ego acylomalononitryli **2.99** z  $\beta$ -nitroolefinami **2.19** (Schemat 2.35)<sup>203</sup>. Wszystkie użyte organokatalizatory prowadziły do oczekiwanego produktu z wydajnościami od dobrych do bardzo dobrych oraz umiarkowaną diastereoselektywnością. Warte podkreślenia są wyniki uzyskane dla monotiosquaramidu **O71** i ditiosquaramidu **O72**, wskazujące na znacznie wyższą aktywność tego drugiego (Tabela 2.2).



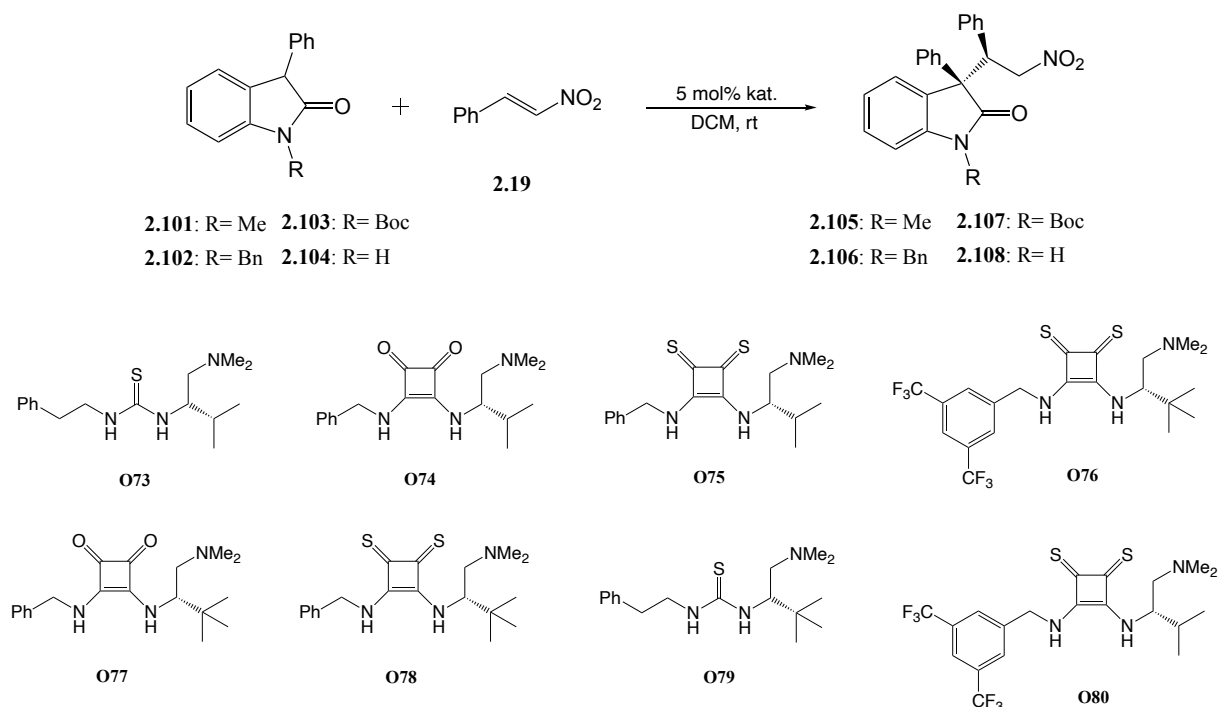
**Schemat 2.35.** Screening katalizatorów w reakcji Michaela-Henry'ego fenacylomalononitryli z  $\beta$ -nitroolefinami.

<sup>203</sup> C. Chen, R. Wei, X. Yi, L. Gao, M. Zhang, H. Liu, Q. Li, H. Song, S. Ban, *J. Org. Chem.* **2019**, *84*, 15655.

**Tabela 2.2.** Tandemowa reakcja Michaela-Henry'ego katalizowana przez dwufunkcyjne organokatalizatory **O66-O72**.

| Lp. | Katalizator | Czas [h] | Wydajność [%] | ee [%] | dr    |
|-----|-------------|----------|---------------|--------|-------|
| 1   | <b>O66</b>  | 72       | 57            | -64    | 87:13 |
| 2   | <b>O67</b>  | 63       | 42            | -35    | 76:24 |
| 3   | <b>O55</b>  | 39       | 60            | -47    | 70:30 |
| 4   | <b>O68</b>  | 72       | 36            | 3      | 82:18 |
| 5   | <b>O69</b>  | 48       | 57            | -14    | 68:32 |
| 6   | <b>O70</b>  | 48       | 60            | -25    | 76:24 |
| 7   | <b>O71</b>  | 48       | 75            | 80     | 78:22 |
| 8   | <b>O72</b>  | 48       | 82            | 86     | 87:13 |

Nowe chiralne dwufunkcyjne organokatalizatory tiosquaramidowe, ale także tiomocznikowe i squaramidowe **O73-O80**, oparte na pochodnych L-waliny i L-*tert*-leucyny zaprezentował zespół Pedrosa<sup>204</sup>. Ich aktywność katalityczna była badana w reakcji addycji nitro-Michaela 3-podstawionych oksyindoli **2.101-2.104** do  $\beta$ -fenylopodstawionego nitroalkenu **2.19**. Reakcje zachodziły łatwo, z wysoką wydajnością i doskonałą stereoselektywnością, a uzyskane wyniki dowiodły, że nowe organokatalizatory tiosquaramidowe są znacznie bardziej efektywne niż ich homologi tiomocznikowe czy squaramidowe (Schemat 2.36 i Tabela 2.3).



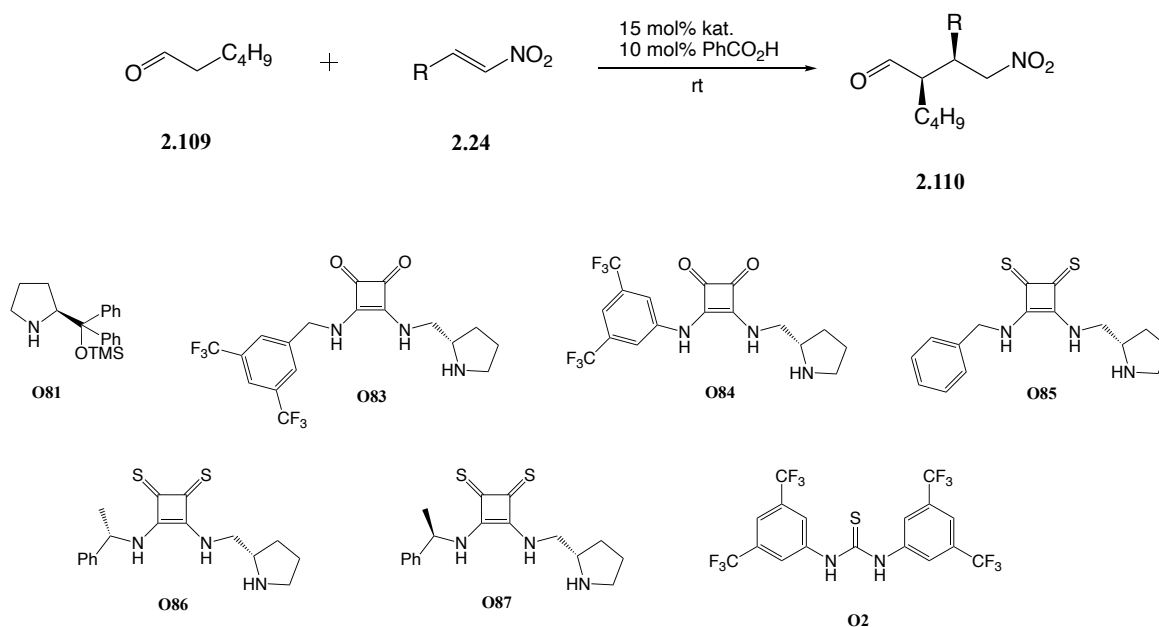
**Schemat 2.36.** Reakcja addycji nitro-Michaela 3-podstawionych oksyindoli do  $\beta$ -fenylnitroalkenu.

<sup>204</sup> P. Rodríguez-Ferrer, D. Naharro, A. Maestro, J. M. Andrés, R. Pedrosa, *Eur. J. Org. Chem.* **2019**, 6539.

**Tabela 2.3.** Addycja nitro-Michaela 3-podstawionych oksyindoli do  $\beta$ -fenylnitroalkenu.

| Lp. | R   | Kat.       | Czas [h] | Produkt      | Wyd. [%] | <i>dr</i> | <i>er</i> |
|-----|-----|------------|----------|--------------|----------|-----------|-----------|
| 1   | Me  | <b>O75</b> | 2        | <b>2.105</b> | 92       | 89:11     | 93:7      |
| 2   | Me  | <b>O73</b> | 2        | <b>2.105</b> | 99       | 84:16     | 87:11     |
| 3   | Me  | <b>O79</b> | 1        | <b>2.105</b> | 67       | 78:22     | 88:12     |
| 4   | Me  | <b>O74</b> | 1        | <b>2.105</b> | 99       | 85:15     | 85:15     |
| 5   | Me  | <b>O77</b> | 3        | <b>2.105</b> | 62       | 82:18     | 92:8      |
| 6   | Me  | <b>O78</b> | 1.5      | <b>2.105</b> | 81       | 87:13     | 96:4      |
| 7   | Me  | <b>O80</b> | 0.5      | <b>2.105</b> | 82       | 93:7      | 95:5      |
| 8   | Me  | <b>O76</b> | 1        | <b>2.105</b> | 76       | 86:14     | 97:3      |
| 9   | Bn  | <b>O75</b> | 1        | <b>2.106</b> | 80       | 95:5      | 97:3      |
| 10  | Boc | <b>O75</b> | 2        | <b>2.107</b> | 67       | 71:29     | 68:32     |
| 11  | H   | <b>O75</b> | 1        | <b>2.108</b> | 96       | 81:19     | 89:11     |

Słowacki zespół pod kierunkiem Šebesta również przeprowadził stereoselektywną addycję Michaela aldehydów **2.109** do nitroalkenów **2.24** w obecności katalizatorów squaramidowych i tiosquaramidowych zawierających ugrupowanie pirolidynowe **O81-O87**<sup>205</sup>. Założono, że drugorzędowa grupa aminowa będzie aktywowała aldehydy poprzez tworzenie enaminy, a ugrupowanie (tio)squaramidowe będzie aktywowało związki nitrowe poprzez tworzenie wiązań wodorowych. Odpowiednie addukty Michaela **2.110** otrzymano z dobrymi wydajnościami i z dobrą do wysokiej czystości enancjomeryczną (Schemat 2.37, Tabela 2.4).



**Schemat 2.37.** Reakcja addycji Michaela aldehydów do nitroalkenów.

<sup>205</sup> K. Ormandyová, S. Bilka, M. Mečiarová, R. Šebesta, *ChemistrySelect* **2019**, 4, 8870.

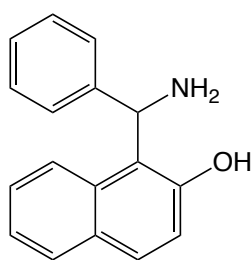
**Tabela 2.4.** Addycja Michaela heksanalu (**2.109**) do nitroalkenów **2.24**.

| Lp. | Kat.   | Czas [h] | R                                               | Wyd. [%] | <i>dr (syn/anti)</i> | <i>er (syn/anti)</i> |
|-----|--------|----------|-------------------------------------------------|----------|----------------------|----------------------|
| 1   | O81    | 20       | Ph                                              | 96       | 60:40                | 61:39/9:91           |
| 2   | O81+O2 | 24       | Ph                                              | 82       | 75:25                | 2:98/34:66           |
| 3   | O83    | 3        | Ph                                              | 81       | 82:18                | 15:85/21:79          |
| 4   | O84    | 3        | Ph                                              | 93       | 81:19                | 15:85/29:71          |
| 5   | O83    | 72       | 4-MeC <sub>6</sub> H <sub>4</sub>               | 82       | 71:29                | 2:98/43:57           |
| 6   | O83    | 72       | 4-MeOC <sub>6</sub> H <sub>4</sub>              | 24       | 60:40                | -                    |
| 7   | O83    | 72       | 4-FC <sub>6</sub> H <sub>4</sub>                | 99       | 77:23                | 54:46/76:24          |
| 8   | O84    | 24       | 4-CF <sub>3</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> | 50       | 71:29                | 62:38/72:28          |
| 9   | O81    | 24       | 2-furyl                                         | 61       | 50:50                | 14:86/88:12          |
| 10  | O84    | 24       | 1-naftyl                                        | 80       | 91:9                 | 81:19/58:42          |
| 11  | O85    | 24       | 1-naftyl                                        | 32       | 94:6                 | 96:4/30:70           |
| 12  | O86    | 72       | Ph                                              | 40       | 95:5                 | 87:13/8:15           |
| 13  | O86    | 48       | 2-furyl                                         | 53       | 67:33                | 94:6/30:70           |
| 14  | O87    | 48       | 1-naftyl                                        | 27       | 84:16                | 71:29/22:78          |

## 2.4. Mario Betti i reakcja Betti’ego

Nie byłoby zasad Betti’ego bez Mario Betti’ego, podobnie jak nie byłoby niniejszej pracy bez jego odkryć. Ten włoski chemik, przez lata jakby zapomniany, dziś na nowo, dzięki swojej spuściźnie wyznacza trendy w syntezie organicznej. Rozdział ten postanowiłam więc poświęcić tej niezwykle ciekawej postaci świata nauki.

Mario Betti urodził się 21 marca 1875 roku w Bagni di Lucca, małym miasteczku położonym w Toskanii<sup>206</sup>. Wykazywał skłonności w kierunku nauk humanistycznych, interesował się malarstwem i muzyką, ale zaplanowano dla niego inną przyszłość. W 1892 roku, za namową ojca aptekarza, rozpoczął studia chemiczne na prestiżowym Uniwersytecie w Pizie – tym samym, którego absolwentem był Stanisław Cannizzaro. Po ukończeniu kursu, który zapewniał mu możliwość prowadzenia apteki i spokojną przyszłość w rodzinnej miejscowości, Mario zdał sobie sprawę, że jego zainteresowanie chemią rośnie. Kontynuował naukę rozwijając badania dotyczące syntezy i zachowania związków heterocyklicznych, a także zależności między strukturą a właściwościami fizycznymi związków. Współpracował między innymi z Roberto Schiffem, siostrzeńcem wielkiego chemika Ugo Schifffa, z którym to opublikował dwie pierwsze prace w swojej karierze<sup>207,208</sup>. W 1897 roku uzyskał stopień naukowy na podstawie pracy o reakcjach metyloizooksazonów z aldehydami. W 1898 roku przeniósł się na Uniwersytet we Florencji jako asystent Ugo Schifffa, założyciela i dyrektora Instytutu Chemii, gdzie rozwinął swoje zainteresowania stereochemią, przeprowadzając ważne badania dotyczące związku pomiędzy wielkością skręcalności optycznej, a strukturą grup związanych z centrum stereogenicznym<sup>209,210</sup>. W 1900 roku opublikował reakcję 2-naftolu z benzaldehydem i amoniakiem, prowadzącą do 1-( $\alpha$ -aminobenzyl)-2-naftolu, nazwaną później od jego nazwiska reakcją Betti’ego, a produkt tej reakcji - zasadą Betti’ego (Rysunek 2.16)<sup>211,212</sup>.



Rysunek 2.16. Struktura 1-( $\alpha$ -aminobenzyl)-2-naftolu.

<sup>206</sup> F. Naso, *Substantia* **2017**, 1, 2, 111.

<sup>207</sup> M. Betti, R. Schiff, *Gazz. Chim. Ital.* **1897**, 27, II, 206.

<sup>208</sup> M. Betti, R. Schiff, *Ber.* **1897**, 30, 1337.

<sup>209</sup> M. Betti, *Gazz. Chim. Ital.* **1923**, 537, 417.

<sup>210</sup> M. Betti, G. B. Bonino, *Memorie Accad. Sci. Istituto Bologna*, **1925-1926**, 8, 3, 39; **1929-1930**, 8, 7, 81; *Trans. Far. Soc.* **1930**, 26, 337.

<sup>211</sup> M. Betti, *Gazz. Chim. Ital.* **1900**, 30, II, 310.

<sup>212</sup> M. Betti, *Gazz. Chim. Ital.* **1906**, 36, II, 392.

Synteza 1-(aminobenzyl)-2-naftolu została opublikowana na łamach prestiżowego, międzynarodowego wydawnictwa *Organic Synthesis*, w którym ukazywały się jedynie niezależnie sprawdzone procedury<sup>213</sup>. Mario tym samym udowodnił, że 2-naftol jest dobrym nukleofilem węglowym w reakcji z iminą wytwarzaną z benzaldehydu. Od tego czasu jego kariera nabrała tempa. W 1907 roku został wybrany na kierownika Katedry Chemii Farmaceutycznej w Cagliari, gdzie spędził dwa lata i założył Instytut Chemii Farmaceutycznej. Następne 10 lat spędził na Uniwersytecie w Sienie. Był to niezwykle owocny naukowo czas, który wzbogacił Betti'ego także o doświadczenie na wysokich stanowiskach kierowniczych. Został pierwszym dziekanem Wydziału Nauk, a w wieku 40 lat najmłodszym Rektorem we Włoszech. Jego kariera była bardzo dynamiczna, w 1921 roku został profesorem na Uniwersytecie w Genui. W 1922 roku po śmierci Giacomo Ciamiciana w wyniku konkursu ogłoszonego jako 'najtrudniejszy publiczny konkurs stulecia', jego stanowisko na Uniwersytecie w Bolonii objął jednogłośnie Mario Betti. Już w pierwszych latach pobytu Betti zaczął interesować się związkiem pomiędzy reakcjami chemicznymi *in vitro*, a przemianami biochemicznymi. Zdał sobie sprawę, że granice pomiędzy tymi dwoma obszarami mogą być bardziej zatarte, niż do tej pory uważano. Te przemyślenia zebrał w książkę, w której poruszał także tematy związane z jego zainteresowaniami stereochemicznymi (asymetrią i życiem, enzymami)<sup>214</sup>. Betti zaczął być uważany za prawdziwego pioniera syntezy asymetrycznej - to on jako pierwszy poddał reakcji odczynnik Grignarda (jodek metylomagnezu) i benzaldehyd, celem wytworzenia alkoholu. Zamiast rozpuszczalnika zastosował aktywną optycznie *N,N*-dimetyloboryloaminę<sup>215</sup>. Powstały alkohol wykazał niewielką, aczkolwiek znaczącą czynność optyczną, co było pierwszym przykładem asymetrycznej syntezy z użyciem chiralnego liganda. Mario Betti był innowatorem, wykazywał duże zainteresowanie problemami wykraczającymi poza typowe laboratorium syntezy organicznej. Być może dzięki sentymentalnemu związkowi z rodzinnym miastem stał się cenionym znawcą wód termalnych wielu regionów Włoch. Wprowadził zastosowanie mobilnego laboratorium, dzięki któremu można było analizować wodę u źródła. Betti interesował się też chemią i właściwościami gumy – to on znacznie udoskonalił maskę przeciwgazową używaną podczas I wojny światowej. W 1939 roku został mianowany senatorem Królestwa Włoch.

Pod koniec 1941 roku Betti borykał się z poważnymi problemami zdrowotnymi, mimo których kontynuował swoje badania. 19 Kwietnia 1942 roku zaprezentował swój ostatni komunikat dotyczący syntezy asymetrycznej na posiedzeniu Akademii Nauk w Bolonii. Zmarł 13 maja, w wieku 67 lat.

Na jego domu w Bagni di Lucca, w którym wciąż mieści się zabytkowa apteka, ukazała się płyta upamiętniająca braci Betti i ich zasługi (brat bliźniak był słynnym na cały świat

---

<sup>213</sup> M. Betti, *Organic Syntheses* **1929**, 9, 60.

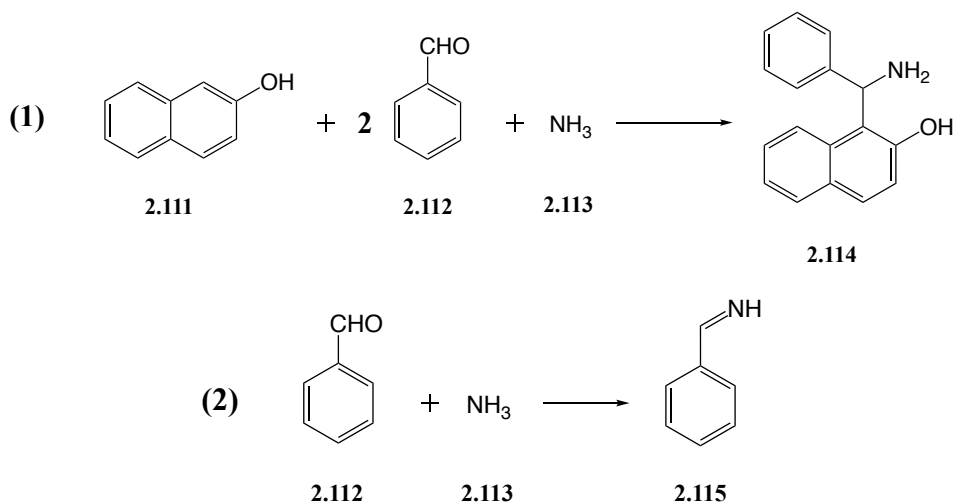
<sup>214</sup> M. Betti, *Problemi e Aspetti della Chimica della Materia Vivente*, **1926**, Zanichelli, Bologna.

<sup>215</sup> M. Betti, E. Lucchi. *Boll. Sci. Fac. Chim. Ind. Bologna*, **1940**, I-II, 2.

skrzypkiem i kompozytorem): „*Mario i Adolfo, atomy i nuty, reakcje i partytury, chemia i muzyka teraz tak blisko siebie*”.

Współautorem większości prac z ostatniego okresu życia Betti’ego był Elio Lucchi, który w wyniku wypadku zmarł kilka miesięcy po Betti’u. Z tego powodu ważne badania w Bolonii zostały wstrzymane i na wiele lat zapomniane. W latach 1961-1968 Bertoluzza i Marinangeli z Instytutu Chemii Ciamiciana opublikowali serię artykułów poruszających temat korelacji pomiędzy skręcalnością optyczną, a naturą grupy związanej z centrum stereogenicznym - ulubiony temat Betti’ego, w którym wykonał obszerną pracę i ustalił najważniejsze korelacje <sup>216,217,218,219,220</sup>. Bonino, współautor tych artykułów uznał osiągnięcia Betti’ego za ‘najważniejszy wkład w chemię organiczną pierwszej połowy XX wieku’. Nowe podejście naukowców obejmowało obliczenia teoretyczne, spektroskopię UV-VIS i dichroizm kołowy. Następnie nastąpiły lata ciszy. Koniec XX w. i początek obecnego stulecia to okres stałego wzrostu zainteresowania osiągnięciami Betti’ego, których znaczenie jest doceniane w ich rzeczywistym wymiarze.

Krótko o samej reakcji Betti’ego. W pierwotnej wersji była przedstawiana jako trójskładnikowa reakcja pomiędzy 2-naftolem (**2.111**), etanolemowym roztworem amoniaku (**2.113**) i 2 ekwiwalentami benzaldehydu (**2.112**) (Schemat 2.38, reakcja 1). Pierwszy etap reakcji obejmował tworzenie się iminy **2.115** (Schemat 2.38, reakcja 2), która następnie była atakowana przez nukleofil węglowy z pozycji pierwszej 2-naftolu (Schemat 2.38, reakcja 3). Po utworzeniu zasady Betti’ego **2.114**, nadmiarowy benzaldehyd (**2.112**) łatwo reagował z powstałym aminobenzylonaftolem **2.114** i prowadził do równowagi imino-oksazynowej pomiędzy **2.116a** i **2.116b** (Schemat 2.38, reakcja 4). Produkt końcowy – (α-benzyloamino)-2-naftol **2.114** był odzyskiwany z dobrą wydajnością poprzez potraktowanie najpierw kwasem (HCl), a następnie zasadą (NaOH) (Schemat 2.38, reakcja 5).



<sup>216</sup> A. Bertoluzza, A. M. Marinangeli, *Ann. Chim.* **1961**, 51, 322.

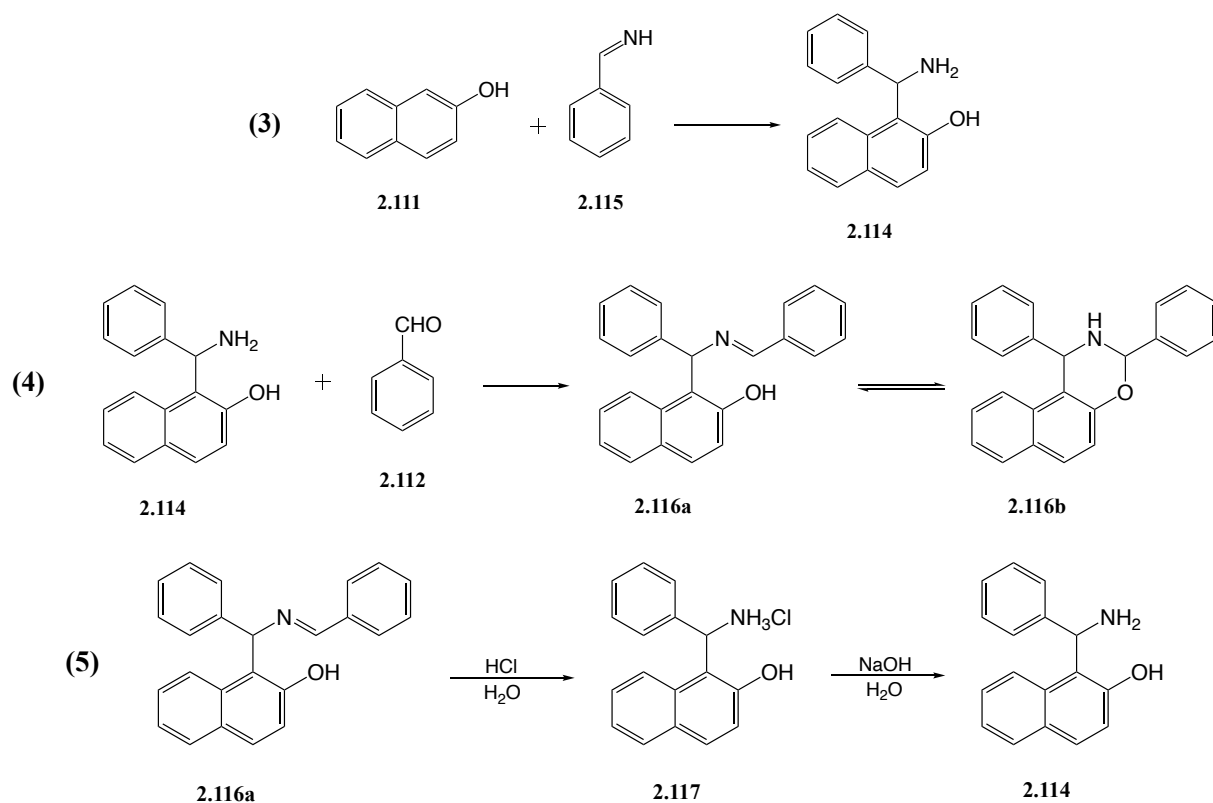
<sup>217</sup> A. Bertoluzza, A. M. Marinangeli, *Ann. Chim.* **1961**, 51, 981.

<sup>218</sup> A. Bertoluzza, A. M. Marinangeli, *Ann. Chim.* **1962**, 52, 731.

<sup>219</sup> A. Bertoluzza, A. M. Marinangeli, *Ann. Chim.* **1964**, 54, 1020.

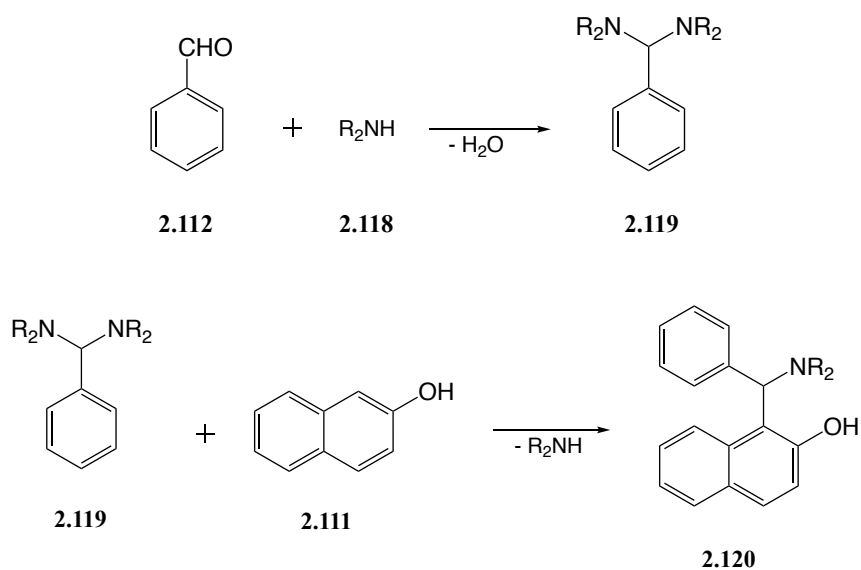
<sup>220</sup> A. Bertoluzza, A. M. Marinangeli, *Ann. Chim.* **1968**, 205.





**Schemat 2.38.** Pierwsza reakcja Betti’ego.

Zastąpienie amoniaku innymi pochodnymi aminowymi zajęło kilka dziesięcioleci. Dopiero w 1935 roku Littman i Brode z powodzeniem użyli dimetyloaminy i piperydyny, proponując mechanizm dla amin drugorzędowych obejmujący wytworzenie aminalu **2.119** (Schemat 2.39)<sup>221</sup>.

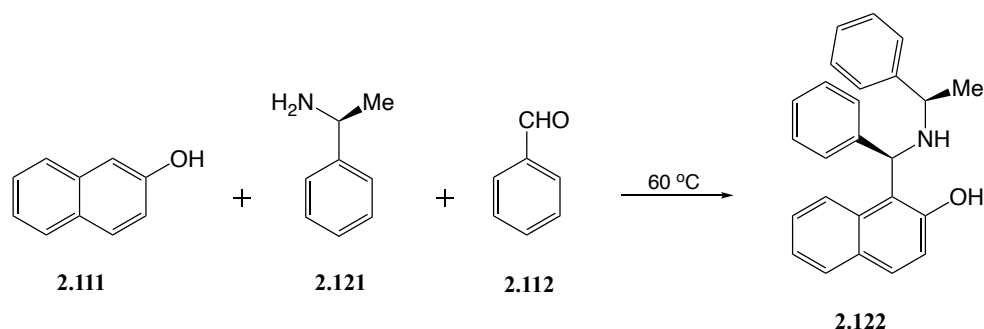


**Schemat 2.39.** Reakcja Betti’ego z drugorzędową aminą.

<sup>221</sup> J. B. Littman, W. H. Brode, *J. Am. Chem. Soc.* **1935**, 52, 1655.

W literaturze chemicznej często można spotkać się z określeniem reakcji Betti’ego jako reakcji Mannicha, lub reakcji typu-Mannicha. Istotnie, te dwie reakcje są do siebie podobne, jeśli chodzi o używane substraty i mechanizm. Warto jednak podkreślić pojawiającą się nieścisłość – Betti swoją reakcję opublikował w 1900 roku<sup>211</sup>, natomiast praca Mannicha ukazała się 12 lat później<sup>222</sup>. Dlatego nazywanie reakcji Betti’ego specjalnym przykładem reakcji Mannicha jest niepoprawne, choć trudno już oczekiwać zmiany, po ponad stuleciu używania tej terminologii.

W 1998 roku na Uniwersytecie w Bari, po wielu latach przestoju podjęto się reaktywacji badań nad reakcją Betti’ego<sup>223,224,225</sup>. Powstała zmodyfikowana procedura tej reakcji, gdzie metodami rentgenowskimi ustalono także konfigurację absolutną powstających produktów, otrzymano serię podobnych, różnie zmodyfikowanych struktur, które w liczbie mnogiej nazywano ‘Zasadami Betti’ego’. Dużym postępowaniem była praca Palmieriego, który przeprowadził szereg reakcji pomiędzy 2-naftolem, aldehydami aryłowymi i (*R*)-fenyloetyloaminą (**2.121**) w warunkach bezrozpuszczalnikowych, otrzymując stereoselektywnie (*R,R*)-aminoalkilonaftole **2.122** (*dr* 99%) (Schemat 2.40)<sup>226</sup>.



**Schemat 2.40.** Reakcja pomiędzy 2-naftolem, benzaldehydem i (*R*)-fenylometyloaminą.

Od końca XX i początku XXI wieku obserwujemy znaczny wzrost zainteresowania zarówno syntezą asymetryczną jak i reakcją Betti’ego. Liczne grupy badawcze z całego świata przyczyniły się i wciąż przyczyniają do rozwoju tej reakcji i użyteczności jej produktów<sup>225,227</sup>.

<sup>222</sup> C. Mannich, W. Krosche, *Arch. Pharm.* **1912**, 250, 1647.

<sup>223</sup> C. Cardellicchio, G. Ciccarella, F. Naso, E. Schingaro, F. Scordari, *Tetrahedron: Asymmetry* **1998**, 9, 3667.

<sup>224</sup> C. Cardellicchio, G. Ciccarella, F. Naso, F. Perna, P. Tortorella, *Tetrahedron* **1999**, 55, 14685.

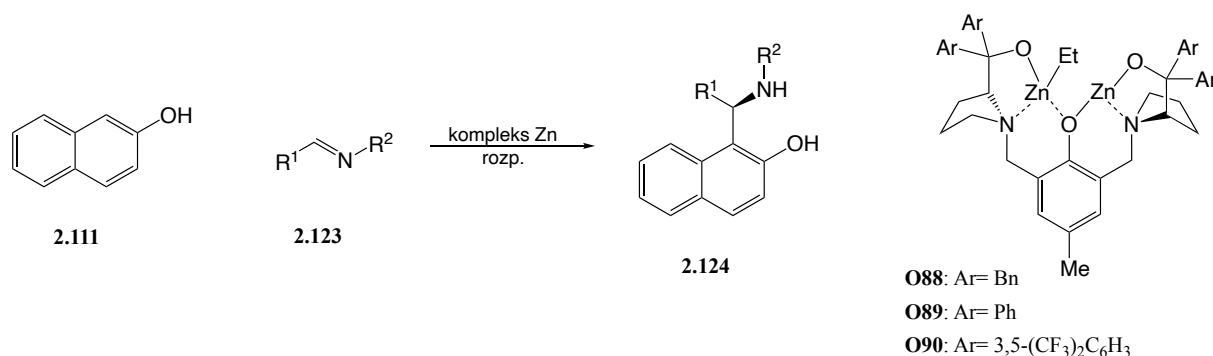
<sup>225</sup> C. Cardellicchio, M. A. M. Capozzi, F. Naso, *Tetrahedron: Asymmetry* **2010**, 21, 507.

<sup>226</sup> C. Cimarelli, A. Mozzanti, G. Palmieri, E. Volpini, *J. Org. Chem.* **2001**, 66, 4759.

<sup>227</sup> A. Olyaei, M. Sadeghpour, *RSC Adv.* **2019**, 9, 18467.

### 2.4.1. Asymetryczna reakcja Betti'ego

Pierwszą asymetryczną reakcją Betti'ego, pomiędzy 2-naftolem (**2.111**) a iminą ubogą w elektrony **2.123**, opisał w 2010 roku Hui ze współpracownikami<sup>228</sup>. Wcześniejsze modyfikacje standardowej reakcji Betti'ego, prowadziły do otrzymania czystych stereoizomerów jedynie na drodze rozdzielu<sup>229</sup>, lub poprzez indukcję chiralności przy użyciu optycznie czystych imin lub aldehydów<sup>230,231</sup>. Metoda prezentowana przez grupę badawczą Hui wykorzystywała dwukleszczowe kompleksy cynku **O88-O90**, które w reakcji z 2-naftolem i iminami prowadziły do nowych pochodnych zasad Betti'ego **2.124** z doskonałymi nadmiarami enancjomerycznymi, nawet do 98% (Schemat 2.41, Tabela 2.5).



**Schemat 2.41.** Reakcja Betti'ego katalizowana dwukleszczowym kompleksem cynku.

Spośród trzech nowych katalizatorów najbardziej skutecznym okazał się kompleks cynku z podstawnikami fenylowymi **O89**. Reakcja 2-naftolu z (*E*)-*N*-benzylideno-4-metylbenzenesulfonamidem bez użycia katalizatora nie zachodziła w ogóle (Tabela 2.5, poz. 1), natomiast dodatek stechiometrycznej ilości kompleksu **O89** prowadził do produktu z 90% wydajnością i 96% nadmiarem enancjomerycznym, na korzyść enancjomeru *R*. Niestety autorzy zaobserwowali, że wraz ze spadkiem ilości katalizatora użytego do reakcji, maleje jego efektywność. Podobną zależność zaobserwowano dla rozpuszczalników takich jak ksylen, DCM, czy THF, dla których reakcja zachodziła ze znacznie słabszymi wydajnościami i nieco niższą selektywnością, natomiast w obecności dioksanu zaobserwowano jedynie śladowe ilości tworzącego się produktu (Tabela 2.5).

<sup>228</sup> L.-F. Niu, Y.-C. Xin, R.-L. Wang, F. Jiang, P.-F. Xu, X.-P. Hui, *Synlett* **2010**, 5, 765.

<sup>229</sup> Y. Dong, R. Li, J. Lu, X. Xu, X. Wang, Y. Hu, *J. Org. Chem.* **2005**, 70, 8617.

<sup>230</sup> P. Kocovsky, S. Vyskocil, M. Smrcina, *Chem. Rev.* **2003**, 103, 3213.

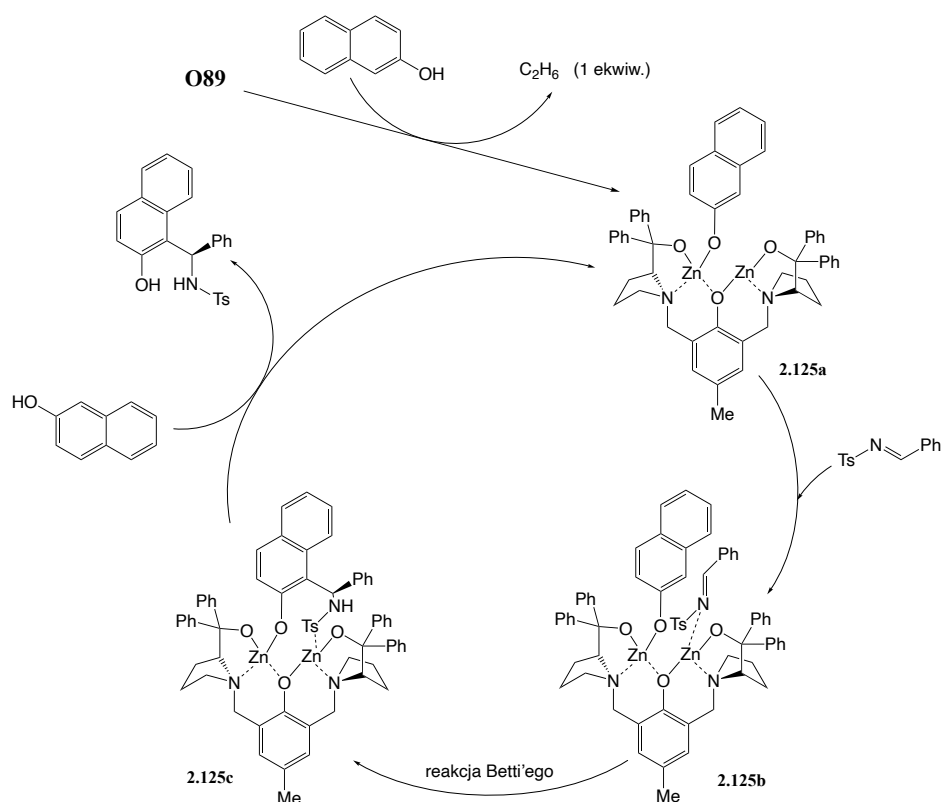
<sup>231</sup> L. Cappannini, C. Cimarrelli, S. Giuli, G. Palmieri, M. Petrini, *Tetrahedron: Asymmetry* **2007**, 18, 1022.

**Tabela 2.5.** Reakcja Betti’ego 2-naftolu z (*E*)-*N*-benzylideno-4-metylobenzenesulfonamidem katalizowana dwukleszczowymi kompleksami cynku.

| Lp. | Kompleks (ekwiw.) | Temp. [°C] | Rozp.   | Wyd. [%] | ee (%)          |
|-----|-------------------|------------|---------|----------|-----------------|
| 1   | -                 | 30         | toluen  | -        | -               |
| 2   | <b>O89</b> (0.1)  | 30         | toluen  | 37       | 10              |
| 3   | <b>O89</b> (0.3)  | 30         | toluen  | 73       | 55              |
| 4   | <b>O89</b> (0.5)  | 30         | toluen  | 82       | 87              |
| 5   | <b>O89</b> (0.3)  | 50         | toluen  | 78       | 38              |
| 6   | <b>O89</b> (1)    | 30         | toluen  | 90       | 96 ( <i>R</i> ) |
| 7   | <b>O88</b> (1)    | 30         | toluen  | 81       | 85              |
| 8   | <b>O90</b> (1)    | 30         | toluen  | 95       | 54              |
| 9   | <b>O89</b> (1)    | 30         | dioksan | ślady    | -               |
| 10  | <b>O89</b> (1)    | 30         | ksylen  | 83       | 86              |
| 11  | <b>O89</b> (1)    | 30         | DCM     | 89       | 92              |
| 12  | <b>O89</b> (1)    | 30         | THF     | 20       | 24              |

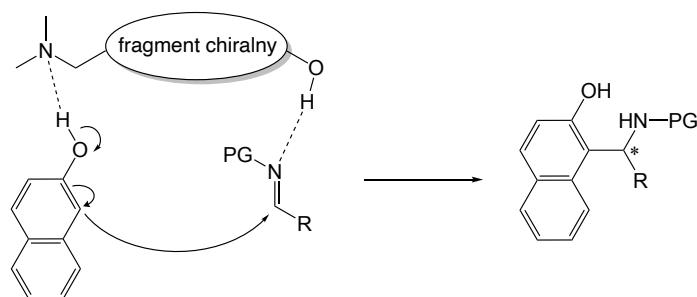
Autorzy rozszerzyli zakres stosowalności opracowanej metodologii na inne iminy. Reakcja prowadzona w zoptymalizowanych warunkach – 3 ekwiw. *N*-tosyloiminy, 1 ekwiw. katalizatora, 48 h, temperatura pokojowa – prowadziła do pożądaných produktów z bardzo dobrymi wydajnościami (82-95%) i równie dobrymi nadmiarami enancjomerycznymi (74-98% *ee*)<sup>228</sup>.

Zaproponowany dla tej przemiany mechanizm (Schemat 2.42) w pierwszym etapie obejmuje deprotonację 2-naftolu przez kompleks **O89**, z jednoczesnym wytworzeniem 1 ekwiw. etanu. Następnie tosyloimina koordynuje do katalizatora tworząc związek przejściowy **2.125a**, który ulega alkilowaniu, prowadząc do **2.125b**. Właściwy produkt jest uwalniany, a katalizator regenerowany przez wymianę protonu ze związkiem przejściowym **2.125c** i 2-naftolem.



**Schemat 2.42.** Mechanizm reakcji Betti'ego zaproponowany przez Hui.

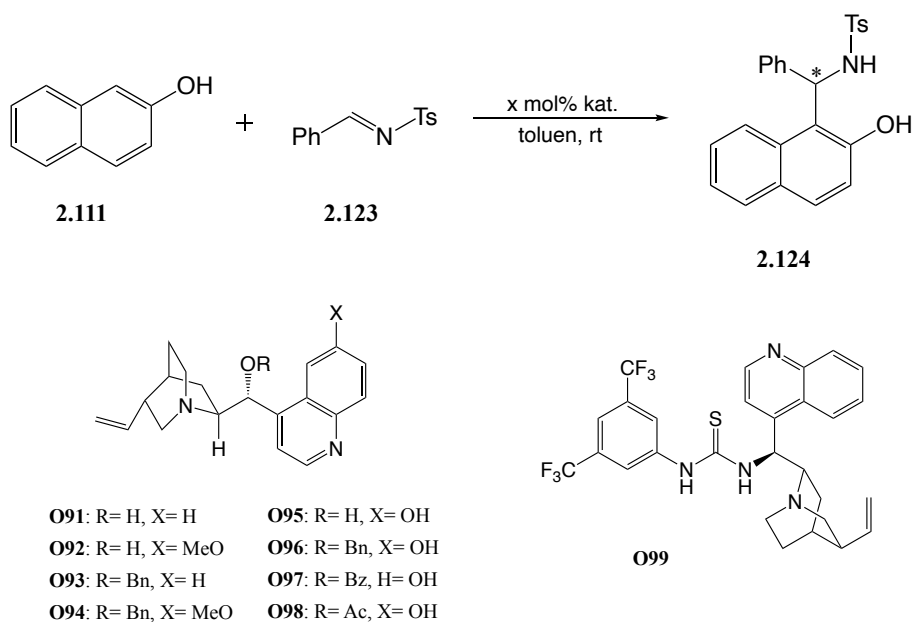
W 2011 roku Chauhan i Chimni zaprezentowali reakcję Betti'ego pomiędzy 2-naftolem i *N*-tosyloiminą prowadzoną po raz pierwszy w obecności bifunkcyjnych oragnokatalizatorów pochodnych chininy<sup>232</sup>. Pochodne alkaloidów chinowca cieszą się dużą popularnością jako niezwykle użyteczne organokatalizatory w wielu asymetrycznych przemianach. Wyjątkową cechą tych związków jest ich podwójna funkcjonalność, umożliwiającą aktywację obu substratów jednocześnie (Rysunek 2.17) oraz łatwość funkcjonalizacji, pozwalającej zmieniać zasadowość czy konformację tych pochodnych, a co za tym idzie wpływać na ich wydajność katalityczną.



**Rysunek 2.17.** Proponowany stan przejściowy obejmujący podwójną aktywację iminy i 2-naftolu przez organokatalizator bifunkcyjny.

<sup>232</sup> P. Chauhan, S. S. Chimni, *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, 2011, 1636.

Autorzy dowiedli, że 2-naftol łatwo reaguje z *N*-tosyloiminą w obecności organokatalizatorów pochodnych chininy (Schemat 2.43, Tabela 2.6). Zbadali także wpływ ilości użytego katalizatora, sit molekularnych, temperatury i rozpuszczalnika na przebieg prowadzonych reakcji. W zoptymalizowanych warunkach (5 mol% katalizatora, sita molekularne 4Å, temperatura pokojowa, toluen) najwyższą aktywność katalityczną wykazywała pochodna **O97**, natomiast zaskakująco słabe wyniki w tych warunkach generowała tiomocznikowa pochodna cynchonidyny **O99**.



**Schemat 2.43.** Reakcja Betti’ego katalizowana bifunkcyjnymi katalizatorami pochodnymi chininy.

**Tabela 2.6.** Reakcja Betti’ego w obecności bifunkcyjnych organokatalizatorów pochodnych chininy.

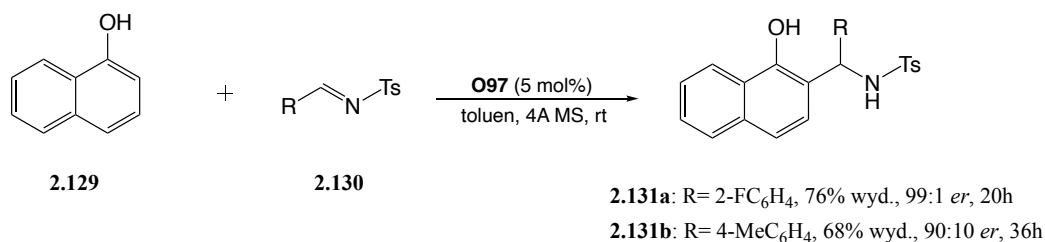
| Lp. | Katalizator        | mol% kat. | Czas [h] | Wyd. [%] | er        |
|-----|--------------------|-----------|----------|----------|-----------|
| 1   | <b>O91</b>         | 10        | 5        | 92       | 47.5:52.5 |
| 2   | <b>O92</b>         | 10        | 6        | 91       | 47.5:52.5 |
| 3   | <b>O93</b>         | 10        | 24       | 78       | 54.5:45.5 |
| 4   | <b>O94</b>         | 10        | 24       | 81       | 53:47     |
| 5   | <b>O95</b>         | 10        | 4        | 92       | 69.5:30.5 |
| 6   | <b>O96</b>         | 10        | 5        | 94       | 73:27     |
| 7   | <b>O98</b>         | 10        | 10       | 87       | 88:12     |
| 8   | <b>O99</b>         | 10        | 5        | 85       | 53.5:46.5 |
| 9   | <b>O97</b>         | 10        | 10       | 90       | 89:11     |
| 10  | <b>O97</b> + 4Å MS | 10        | 10       | 89       | 90:10     |
| 11  | <b>O97</b>         | 5         | 24       | 88       | 89:11     |
| 12  | <b>O97</b> + 4Å MS | 5         | 24       | 88       | 91:9      |

Zoptymalizowane warunki reakcji rozszerzono na pochodne *N*-sulfonyloimin **2.127a-f**, poddając je reakcji z 2-naftolem w obecności **O97**. Okazało się, że grupy elektronoakceptorowe (F, Cl) w pierścieniu fenylovym iminy w pozycjach *orto*- i *para*- dają produkty z doskonałymi wydajnościami i nadmiarami enancjomerycznymi (Tabela 2.7, poz. 2-3), podczas gdy produkt reakcji z 3-nitropodstawioną iminą był mieszaniną enancjomerów 80:20 (Tabela 2.7, poz. 4). Grupy elektronodonorowe w pozycjach *para*- (Me, MeO), również dawały produkty ze świetnymi wynikami (Tabela 2.7, poz. 5, 6). Zbadano także wpływ podstawników w 2-naftolu na przebieg reakcji. Naftol z grupami elektronodonorowymi lub elektronoakceptorowymi w pozycji C-6 z powodzeniem reagował z iminą **2.127** (Tabela 2.7, poz. 7 i 8). Najwyższą stereoselektywność (*er* = 99.5:0.5) odnotowano dla reakcji 6-metoksy-2-naftolu (**2.126b**) z *N*-tosyloiminą **2.127b** (Tabela 2.7, poz. 7).

**Tabela 2.7.** Reakcje *N*-sulfonyloimin **2.127a-f** z 2-naftolem katalizowane **O97**.

| Lp. | R <sub>1</sub>        | R <sub>2</sub>                                                    | Produkt       | Wyd. [%] | <i>er</i> |
|-----|-----------------------|-------------------------------------------------------------------|---------------|----------|-----------|
| 1   | H ( <b>2.126a</b> )   | Ph ( <b>2.127a</b> )                                              | <b>2.128a</b> | 88       | 92:8      |
| 2   | H ( <b>2.126a</b> )   | 2-FC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> ( <b>2.127b</b> )                | <b>2.128b</b> | 99       | 96:4      |
| 3   | H ( <b>2.126a</b> )   | 4-ClC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> ( <b>2.127c</b> )               | <b>2.128c</b> | 98       | 93.5:6.5  |
| 4   | H ( <b>2.126a</b> )   | 3-NO <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> ( <b>2.127d</b> ) | <b>2.128d</b> | 97       | 80:20     |
| 5   | H ( <b>2.126a</b> )   | 4-MeC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> ( <b>2.127e</b> )               | <b>2.128e</b> | 87       | 92:8      |
| 6   | H ( <b>2.126a</b> )   | 4-MeOC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> ( <b>2.127f</b> )              | <b>2.128f</b> | 82       | 90.5:9.5  |
| 7   | MeO ( <b>2.126b</b> ) | 2-FC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> ( <b>2.127b</b> )                | <b>2.128g</b> | 94       | 99.5:0.5  |
| 8   | Br ( <b>2.126c</b> )  | 2-FC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> ( <b>2.127b</b> )                | <b>2.128h</b> | 95       | 89.5:10.5 |

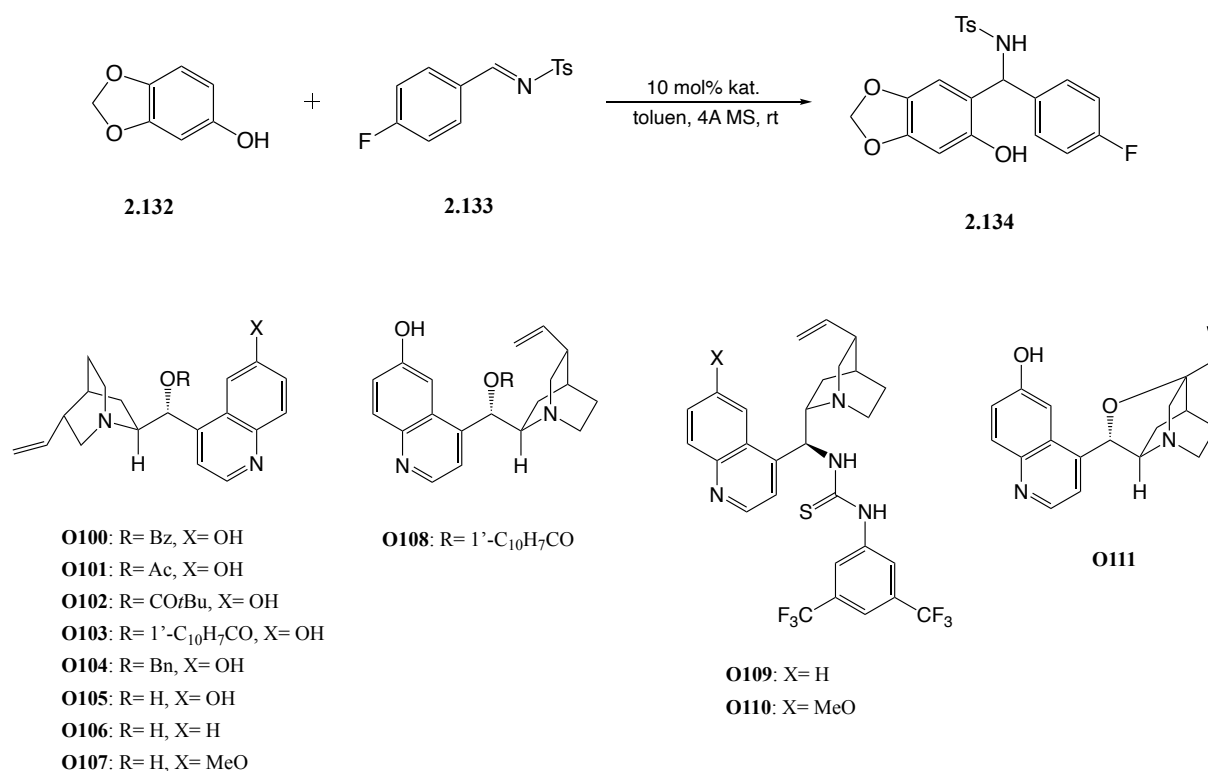
Grupa Chimni rozszerzyła opracowaną metodologię na reakcję 1-naftolu (**2.129**) z dwiema pochodnymi *N*-tosyloiminy **2.130** (Schemat 2.44)<sup>232</sup>. Uzyskano równie satysfakcjonujące wyniki, co dowodzi szerokiego zakresu stosowalności zaproponowanej metody syntezy aminoarylonaftoli.



**Schemat 2.44.** Reakcja 1-naftolu z *N*-tosyloiminami w warunkach katalizy dwufunkcyjnej.

Dwa lata później Chauhan i Chimni zaproponowali zastąpienie 2-naftolu sezamolem, dając tym samym początek nowej serii chiralnych adduktów aminofenolowych<sup>233</sup>. Ten bogaty w elektrony fenol, to niezwykle użyteczna cząsteczka łatwo poddająca się licznym modyfikacjom. Jego ugrupowanie 1,3-benzodioksolowe można znaleźć w wielu związkach naturalnych jak np. w: (+)-bikukulinie (substancja psychoaktywna), paroksetynie (działanie przeciwdepresyjne), tadalafilu (lek stosowany w leczeniu przerostu prostaty i nadciśnienia) czy 5,6-metylenodioksy-2-aminoindanie (środek uwalniający serotoninę).

Autorzy ponownie wykorzystali dwufunkcyjne organokatalizatory pochodne chinolidyny, prowadząc reakcję w temperaturze pokojowej w toluenie, z dodatkiem sit molekularnych 4Å (Schemat 2.45, Tabela 2.8). Zaobserwowano, że enancjoselektywna addycja sezamolu do *N*-tosyloiminy przebiega efektywniej w obecności alkaloidów zawierających ugrupowanie estrowe w pozycji C9 (Tabela 2.8, poz. 1-4), niż z ugrupowaniem eterowym (Tabela 2.8, poz. 5) lub hydroksylowym (Tabela 2.8, poz. 6). Najlepsze wyniki uzyskano dla 10-naftoilowej pochodnej kupreiny **O103**, która dawała produkt z 87% wydajnością i *ee* = 78% (Tabela 2.8, poz. 4). Naturalnie występując alkaloidy **O106** i **O107** dawały racemiczne produkty, a pochodne β-izokupreidyny **O111** oraz tiomoczników **O109** i **O110** prowadziły do produktów z wysokimi wydajnościami, lecz umiarkowanymi nadmiarami enancjoerycznymi.



**Schemat 2.45.** Reakcja Betti'ego sezamolu i iminy **2.133** katalizowana bifunkcyjnymi katalizatorami pochodnymi chininy.

<sup>233</sup> P. Chauhan, S. S. Chimni, *Tetrahedron Lett.* **2013**, 54, 4613.



**Tabela 2.8.** Screening katalizatora dla reakcji Bettiego sezamolu z *N*-tosyloiminą.

| Lp. | Katalizator | Czas [h] | Wyd. [%] | ee [%] |
|-----|-------------|----------|----------|--------|
| 1   | <b>O100</b> | 48       | 88       | 77     |
| 2   | <b>O101</b> | 50       | 90       | 73     |
| 3   | <b>O102</b> | 48       | 85       | 69     |
| 4   | <b>O103</b> | 48       | 87       | 78     |
| 5   | <b>O104</b> | 50       | 92       | 61     |
| 6   | <b>O105</b> | 50       | 93       | 40     |
| 7   | <b>O106</b> | 48       | 81       | 0      |
| 8   | <b>O107</b> | 48       | 79       | 0      |
| 9   | <b>O108</b> | 48       | 86       | -60    |
| 10  | <b>O109</b> | 48       | 93       | -43    |
| 11  | <b>O110</b> | 48       | 91       | -40    |
| 12  | <b>O111</b> | 48       | 93       | -45    |

Kolejne lata przyniosły nowe doniesienia w zakresie asymetrycznej reakcji Betti’ego. Grupa Sasai wykorzystała dwukleszczowe kompleksy wanadu **O112-O117**<sup>234</sup>. Tego typu katalizatory są wykorzystywane przede wszystkim w reakcjach utleniania siarczków do sulfotlenków<sup>235,236</sup>, sprzęganiu 2-naftoli<sup>237,238,239,240</sup> czy utlenianiu związków  $\alpha$ -hydroksykarbonylowych<sup>241,242,243</sup>. Okazuje się jednak, że dwukleszczowy kompleks wanadu działa jak chiralny kwas Lewisa i z łatwością prowadzi do powstania produktów reakcji Betti’ego z wysokimi nadmiarami enancjomerycznymi (Schemat 2.46). Najlepszy wynik (83% *ee*) uzyskano dla reakcji prowadzonej w obecności katalizatora **O112**, natomiast najniższą aktywność katalityczną wykazywał katalizator **O117**, dla którego zaobserwowano gwałtowny spadek enancjoselektywności (19% *ee*).

<sup>234</sup> S. Takizawa, F. A. Arteaga, Y. Yoshida, J. Kadera, Y. Nagata, H. Sasai, *Dalton Trans.* **2013**, 42, 11787.

<sup>235</sup> K. P. Volcho, N. F. Salakhutdinov, *Russ. Chem. Rev.* **2009**, 78, 457.

<sup>236</sup> W. Plass, *Coord. Chem. Rev.* **2011**, 255, 2378.

<sup>237</sup> S. Takizawa, T. Katayama, H. Sasai, *Chem. Commun.* **2008**, 4113.

<sup>238</sup> S. Takizawa, *Chem. Pharm. Bull.* **2009**, 57, 1179.

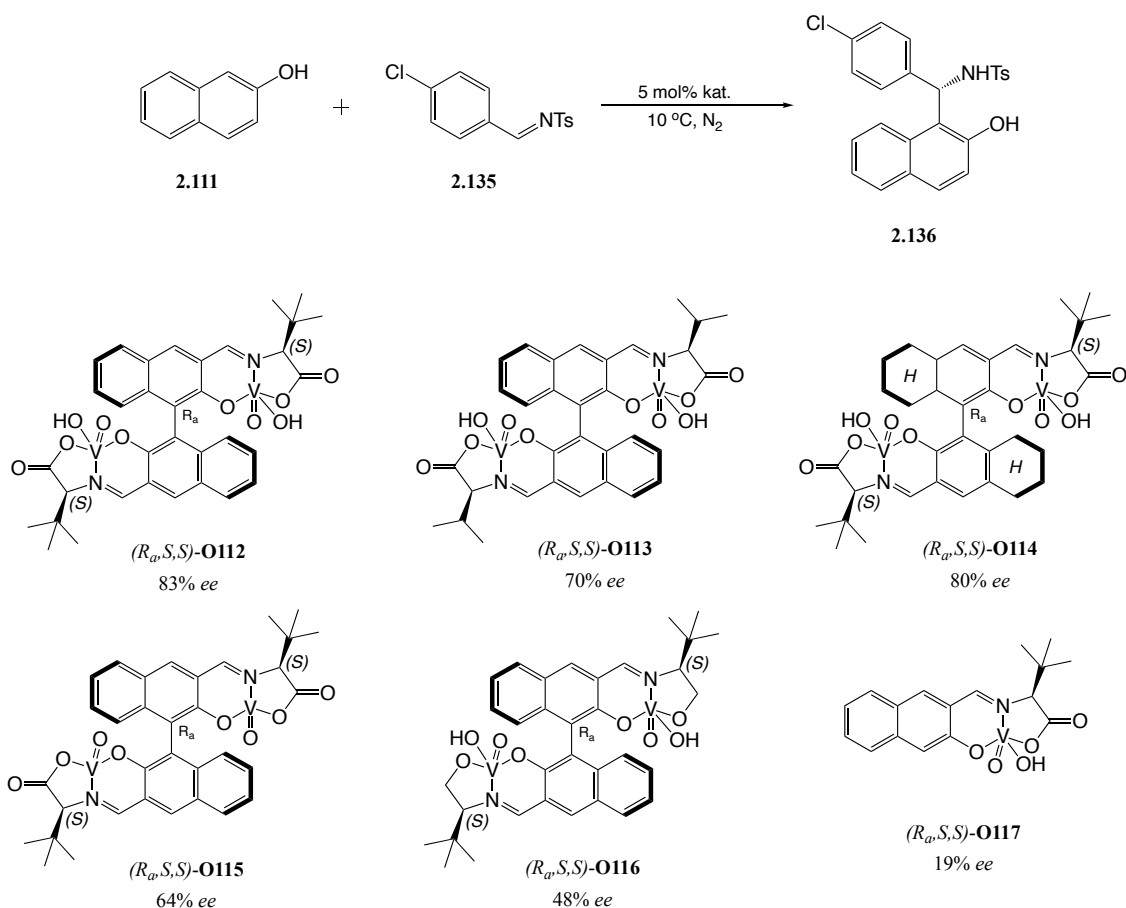
<sup>239</sup> M. Ogasawara, S. Watanabe, *Synthesis* **2009**, 1761.

<sup>240</sup> H. Wang, *Chirality* **2010**, 22, 827.

<sup>241</sup> A. T. Radosevich, C. Musich, F. D. Toste, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 1090.

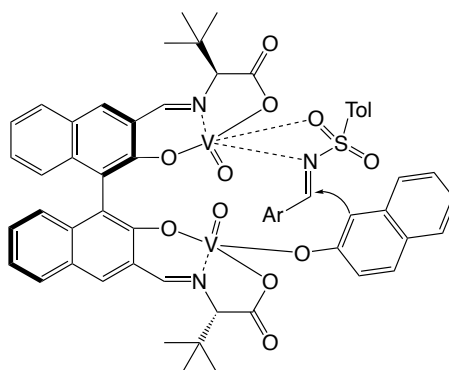
<sup>242</sup> S.-S. Weng, M.-W. Shen, J.-Q. Kao, Y. S. Munot, C. T. Chen, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2006**, 103, 3522.

<sup>243</sup> V. D. Pawar, S. Bettigeri, S.-S. Weng, J.-Q. Kao, C.-T. Chen, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 6308.



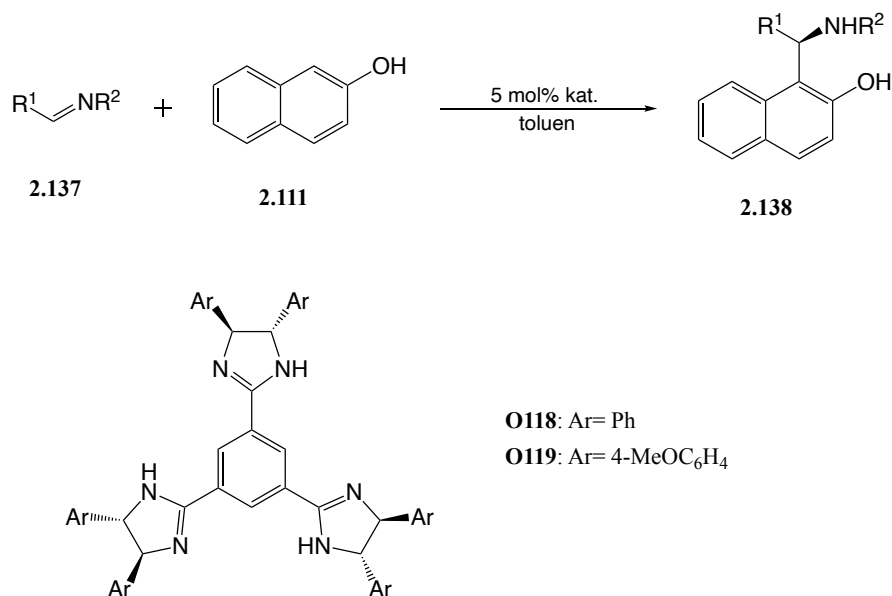
**Schemat 2.46.** Reakcja Betti’ego katalizowana kompleksami wanadu.

Autorzy postulują, że dwukleszczowy katalizator wanadowy działa w tej reakcji jako katalizator dwufunkcyjny, jednocześnie aktywując oba substraty (Rysunek 2.18).



**Rysunek 2.18.** Prawdopodobny stan przejściowy reakcji Betti’ego katalizowanej kompleksami wanadu.

Rok później ta sama grupa badawcza wykorzystała w reakcji Betti'ego C<sub>3</sub>-symetryczne chiralne tris-imidazoliny **O118-O119** (Schemat 2.47)<sup>244</sup>. Eliminacja kationu metalu to ogromna zaleta tego podejścia, podobnie jak wykorzystanie wielu grup funkcyjnych mogących synergicznie współpracować, wydajnie tworząc pożądane produkty. Imidazoliny mają ogromny potencjał jako organokatalizatory reakcji, ze względu na ich właściwości zasadowe i nukleofilowe, a także kwasowość Brønsteda ich soli.



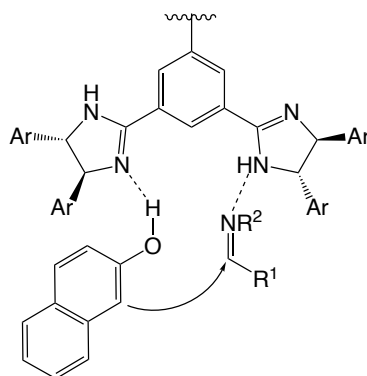
**Schemat 2.47.** Reakcja Betti'ego katalizowana przez tris-imidazoliny.

**Tabela 2.9.** Reakcja Betti'ego różnie podstawionych imin z 2-naftolem katalizowana przez tris-imidazoliny.

| Lp. | R <sup>1</sup>                    | R <sup>2</sup>                                    | Kat.        | Temp. [°C] | Czas [h] | Wyd. [%] | ee [%]     |
|-----|-----------------------------------|---------------------------------------------------|-------------|------------|----------|----------|------------|
| 1   | 4-ClC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> | 4-BrC <sub>6</sub> H <sub>4</sub>                 | <b>O118</b> | 25         | 24       | 82       | <i>rac</i> |
| 2   | 4-ClC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> | Boc                                               | <b>O118</b> | 25         | 24       | 17       | 17         |
| 3   | 4-ClC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> | 4-Ts                                              | <b>O118</b> | 25         | 24       | 70       | 27         |
| 4   | 4-ClC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> | PhSO <sub>2</sub>                                 | <b>O118</b> | 25         | 24       | 88       | 22         |
| 5   | 4-ClC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> | 4-ClC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> SO <sub>2</sub> | <b>O118</b> | 25         | 12       | 100      | 40         |
| 6   | 4-ClC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> | 4-ClC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> SO <sub>2</sub> | <b>O118</b> | -5         | 24       | 100      | 48         |
| 7   | 4-ClC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> | 4-Ns                                              | <b>O118</b> | -5         | 36       | 89       | 96         |
| 8   | 3-ClC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> | 4-Ns                                              | <b>O118</b> | -5         | 48       | 92       | 98         |
| 9   | 2-ClC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> | 4-Ns                                              | <b>O118</b> | -5         | 24       | 97       | 83         |
| 10  | 3-ClC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> | 4-Ns                                              | <b>O119</b> | -5         | 24       | 90       | 88         |
| 11  | 4-MeC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> | 4-Ns                                              | <b>O118</b> | -5         | 36       | 100      | 77         |
| 12  | 4-MeC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> | 4-Ns                                              | <b>O119</b> | -5         | 36       | 100      | 90         |
| 13  | 4-BrC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> | 4-Ns                                              | <b>O119</b> | -5         | 48       | 90       | 90         |

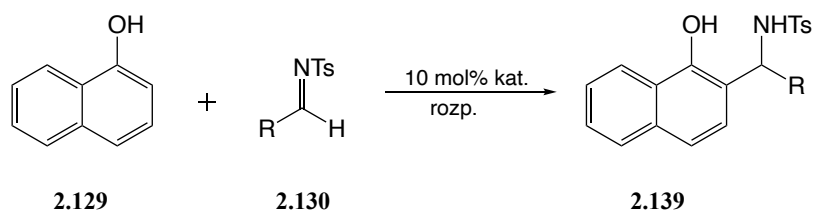
<sup>244</sup> S. Takizawa, S. Hirata, K. Murai, H. Fujioka, H. Sasai, *Org. Biomol. Chem.* **2014**, *12*, 5827.

Autorzy udowodnili, że w katalizowanych tris-imidazolinowymi pochodnymi reakcjach 2-naftolu (**2.111**) z różnie podstawionymi iminami **2.137**, jedna z imidazolin może działać jako zasada Brønsteda, a druga jako donor protonów, co prowadzi do prostego sprzężenia (Rysunek 2.19), dającego produkt z wysoką wydajnością i przyzwoitą enancjoselektywnością (Tabela 2.9, poz. 1-5). Użycie bardziej elektronoakceptorowych grup sulfonowych na iminie oraz obniżenie temperatury, miało korzystny wpływ na przebieg reakcji i prowadziło do wytworzenia odpowiednich adduktów z wysoką wydajnością i *ee* do 98% (Tabela 2.9, poz. 6-13).

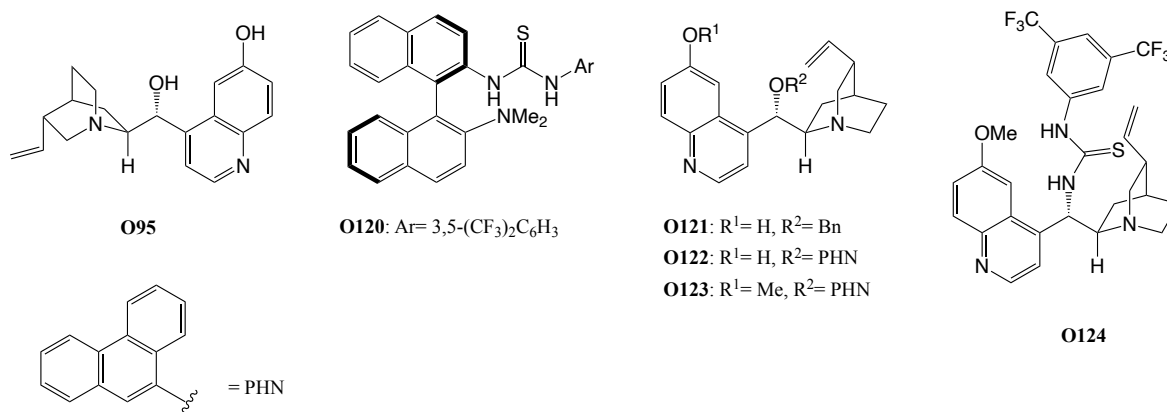


**Rysunek 2.19.** Prawdopodobny stan przejściowy dla reakcja Betti’ego katalizowanej tris-imidazoliną.

Grupa Wanga w 2011 roku postanowiła sprawdzić jaki wpływ na przebieg reakcji Betti’ego będzie miała zamiana głównego substratu z 2- na 1-naftol (**2.129**)<sup>245</sup>. Do badań ponownie wybrano dwufunkcyjne organokatalizatory pochodne chinidyny oraz tiomocznika **O95**, **O120-O124** (Schemat 2.48).



<sup>245</sup> G. Liu, S. Zhang, H. Li, T. Zhang, W. Wang, *Org. Lett.* **2011**, *13*, 828.



**Schemat 2.48.** Reakcja 1-naftolu z *N*-tosyloiminą i stosowane w niej organokatalizatory.

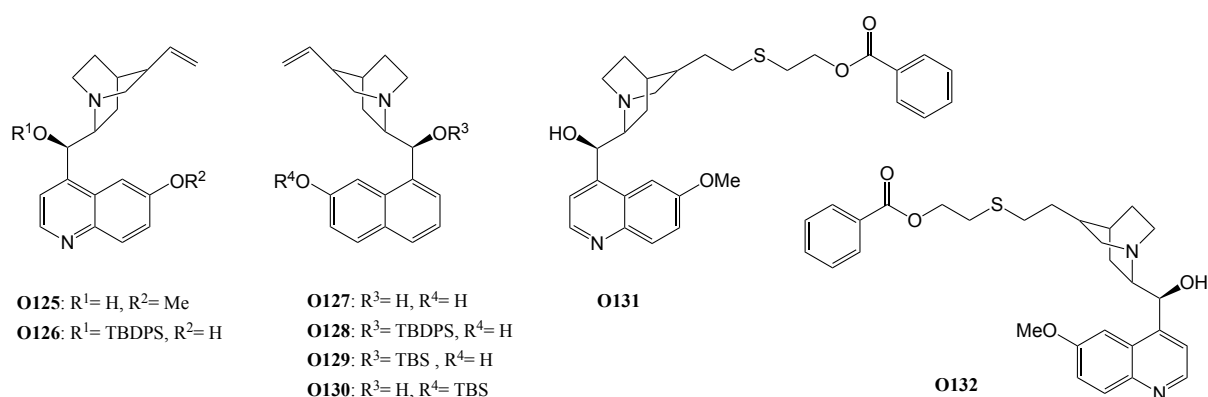
Badania dowiodły, że 1-naftole łatwo reagują z *N*-tosyloiminami w obecności dwufunkcyjnych organokatalizatorów **O95** i **O120-O124**, spośród których pochodna chinidyny **O122** z wolną grupą hydroksylową zlokalizowaną na 6 atomie węgla charakteryzowała się najwyższą aktywnością katalityczną (Tabela 2.10, wyd. 76%, *ee* do 88%). Warto zauważyć, że we wszystkich przypadkach otrzymano tylko jeden regioizomer, ponieważ bliskość dwóch grup funkcyjnych w tych katalizatorach umożliwia przebieg reakcji tylko w pozycji 2 naftolu. Z kolei zabezpieczenie donora wiązania wodorowego grupą metoksyłową całkowicie zatrzymało aktywność katalizatora **O123** (Tabela 2.10, poz. 5), co jasno wskazuje na ważność oddziaływania wiązania wodorowego z substratem. Ponadto efekt steryczny podstawnika w pozycji C-9 również odgrywa znaczącą rolę w kontrolowaniu wydajności reakcji (Tabela 2.10, poz. 3 vs. 4).

Opisany proces ma zastosowanie do różnych imin, zawierających zarówno grupy aryłowe jak i alkilowe. Iminy te niezależnie od podstawników, elektronoobojętnych (Tabela 2.10, poz. 1-6), elektronoakceptorowych (Tabela 2.10, poz. 7-9) czy elektronodonorowych (Tabela 2.10, poz. 10) w pierścieniu fenyłowym, a także od miejsca podstawienia (*orto*-, *para*-) prowadzą do produktów z wysoką wydajnością (do 92%) i z doskonałymi nadmiarami enancjomerycznymi (do 95% *ee*).

**Tabela 2.10.** Optymalizacja warunków reakcji 1-naftolu z różnymi pochodnymi *N*-tosyloiminy.

| Lp. | X, R                                               | Kat.        | Rozp.                           | Temp. [°C] | Czas [h] | Wyd. [%] | ee [%] |
|-----|----------------------------------------------------|-------------|---------------------------------|------------|----------|----------|--------|
| 1   | H, Ph                                              | <b>O95</b>  | CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> | rt         | 32       | 69       | -37    |
| 2   | H, Ph                                              | <b>O120</b> | CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> | rt         | 62       | 49       | -32    |
| 3   | H, Ph                                              | <b>O121</b> | CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> | rt         | 48       | 62       | 80     |
| 4   | H, Ph                                              | <b>O122</b> | CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> | rt         | 22       | 76       | 88     |
| 5   | H, Ph                                              | <b>O123</b> | CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> | rt         | 24       | -        | -      |
| 6   | H, Ph                                              | <b>O124</b> | CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> | rt         | 11       | 92       | -42    |
| 7   | H, 4-NO <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> | <b>O122</b> | toluen                          | 0          | 20       | 88       | 95     |
| 8   | H, 2-NO <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> | <b>O122</b> | toluen                          | 0          | 24       | 89       | 91     |
| 9   | H, 4-ClC <sub>6</sub> H <sub>4</sub>               | <b>O122</b> | toluen                          | 0          | 28       | 66       | 93     |
| 10  | H, 4-MeOC <sub>6</sub> H <sub>4</sub>              | <b>O122</b> | toluen                          | 0          | 96       | 62       | 95     |
| 11  | H, <i>n</i> -C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>         | <b>O122</b> | toluen                          | 0          | 48       | 87       | 92     |
| 12  | H, 2-naftyl                                        | <b>O122</b> | toluen                          | 0          | 18       | 77       | 94     |

Badnia nad 1-naftolami kontynuowała grupa Changa, która w 2017 roku zaprezentowała syntezę szeregu pochodnych alkaloidów chinowca ze zmodyfikowanymi grupami 9-OH i 6'-OH (**O125-O132**, Rysunek 2.20) oraz oceniła ich wydajność katalityczną w asymetrycznej reakcji Betti'ego z aryłowymi aldiminami<sup>246</sup>.



**Rysunek 2.20.** Pochodne alkaloidów chinowca jako organokatalizatory.

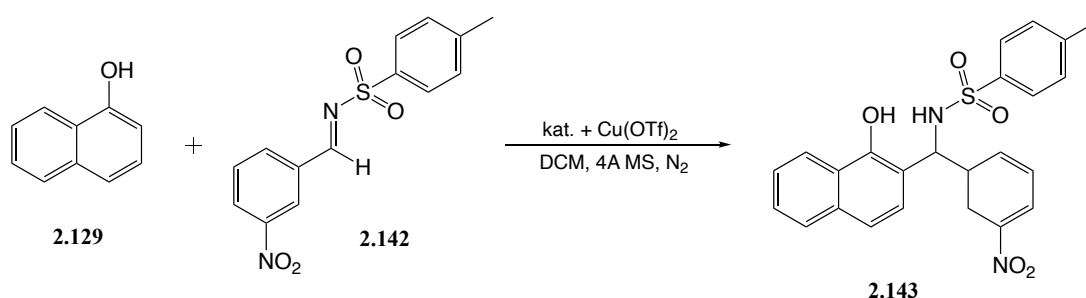
Spośród sześciu testowanych organokatalizatorów, pochodna chininy **O126** okazała się najbardziej efektywna i zapewniała łatwy dostęp do aminobenzylonaftoli z dobrymi wydajnościami (75-88%) i wysokimi nadmiarami enancjomerycznymi (56-85% *ee*) (Tabela 2.11).

<sup>246</sup> Y. W. Li, L. M. Wang, Y. Jin, S. Chang, *Chirality* **2017**, 29, 458.

**Tabela 2.11.** Reakcja 1-naftolu z różnie podstawionymi *N*-tosyloiminami w obecności katalizatora **O126**.

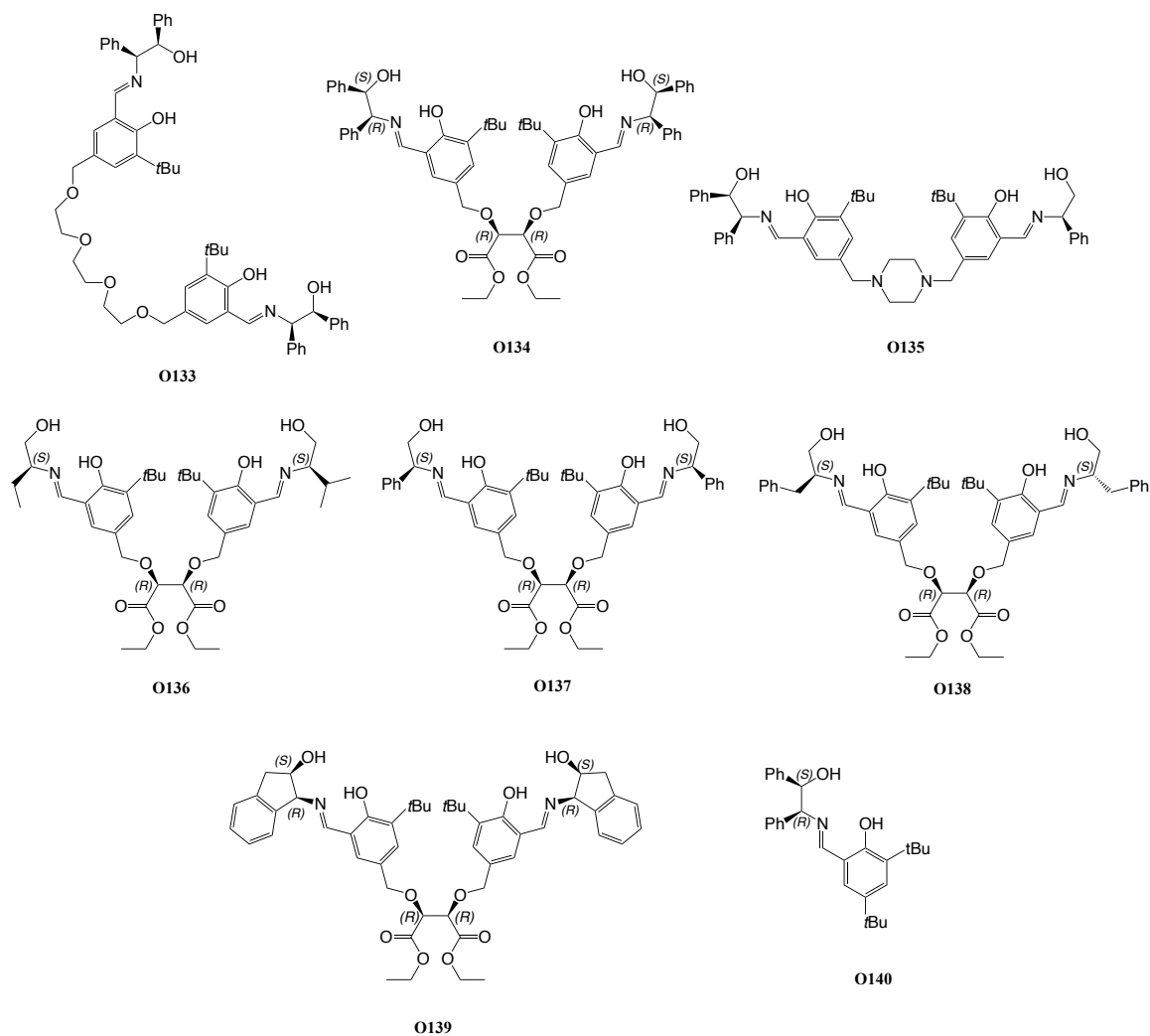
|  | Lp. | R                 | Wyd. [%] | ee [%] |
|--|-----|-------------------|----------|--------|
|  | 1   | H                 | 87       | 80     |
|  | 2   | 2-Cl              | 85       | 76     |
|  | 3   | 2-Br              | 88       | 73     |
|  | 4   | 2-CF <sub>3</sub> | 86       | 85     |
|  | 5   | 2-Me              | 83       | 75     |
|  | 6   | 3-F               | 79       | 56     |
|  | 7   | 3-Cl              | 87       | 60     |
|  | 8   | 3-Br              | 85       | 65     |
|  | 9   | 3-Me              | 80       | 67     |
|  | 10  | 4-Me              | 75       | 73     |
|  | 11  | 4-NO <sub>2</sub> | 82       | 72     |

W 2015 roku grupa Bajaja wykorzystała do katalizowania reakcji 1-naftolu z *N*-(3-nitrobenzylideno)tosyloiminą (**2.142**) generowane *in situ* kompleksy miedzi(II), które z powodzeniem można odzyskiwać i poddawać recyklingowi bez utraty aktywności katalitycznej (Schemat 2.49)<sup>247</sup>. Przeprowadzone badania wykazały, że chiralny dinuklearny kompleks Cu(II)-**O134** posiadający chiralny łącznik D-winianu dietylu katalizował tę asymetryczną reakcję, umożliwiając powstawanie zasady Betti'ego **2.143** z praktycznie ilościową wydajnością i wysoką enancjoselektywnością (*ee* do 99%) z dodatkową zaletą możliwości recyklingu katalizatora w kilku seriach (Tabela 2.12).



<sup>247</sup> P. Kumari, A. Jakhar, N. H. Khan, R. Tak, R. I. Kureshy, S. H. R. Abdi, H. C. Bajaj, *Catalysis Commun.* **2015**, 69, 138.

Katalizatory:



**Schemat 2.49.** Reakcja 1-naftolu z *N*-(3-nitrobenzylideno)tosyloiminą (**2.142**) katalizowana przez generowane *in situ* kompleksy miedzi(II) z **O133-O140**.

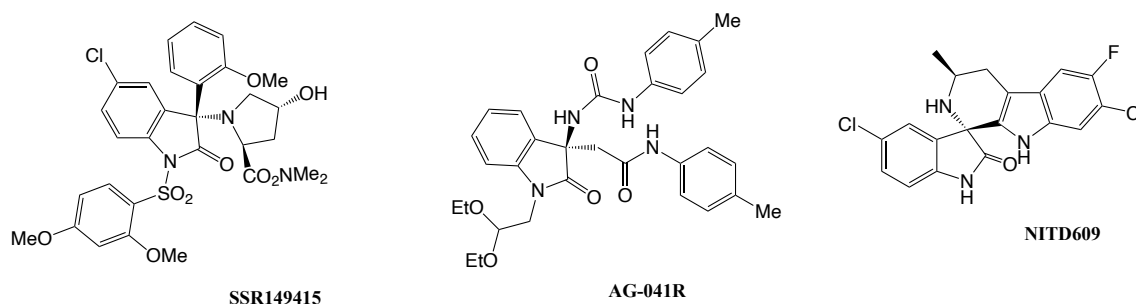
**Tabela 2.12.** Reakcja 1-naftolu z *N*-(3-nitrobenzylideno)tosyloiminą katalizowana kompleksami miedzi(II) z **O133-O140**.

| Lp. | Ligand | Kat. [mol%] | Wyd. [%] | <i>ee</i> [%] |
|-----|--------|-------------|----------|---------------|
| 1   | O133   | 5           | 60       | 31            |
| 2   | O134   | 5           | 98       | 75            |
| 3   | O135   | 5           | 85       | 43            |
| 4   | O136   | 5           | 60       | 51            |
| 5   | O137   | 5           | 55       | 32            |
| 6   | O138   | 5           | 65       | 25            |
| 7   | O139   | 5           | 45       | 41            |
| 8   | O140   | 5           | 37       | 42            |
| 9   | O134   | 1.5         | 80       | 70            |
| 10  | O134   | 2.5         | 98       | 99            |



O ile reakcje 1- i 2-naftolu z *N*-tosyloiminami prowadzone w obecności dwufunkcyjnych katalizatorów pochodnych chinolidyny czy tiomocznika, a także z ligandami dwukleszczowymi zawierającymi kation metalu charakteryzują się bardzo dobrymi wydajnościami i enancjoselektywnym przebiegiem, tak wykorzystanie ketimin wydaje się być znacznie bardziej wymagające. Związki zawierające ugrupowanie ketiminowe charakteryzują się wyższą aktywnością biologiczną, stąd duże zainteresowanie takimi pochodnymi. W przeciągu wielu lat ketiminy poddawane były z powodzeniem takim reakcjom jak: Mannicha<sup>248</sup>, Steckera<sup>249</sup> czy też aza-Henry'ego<sup>250</sup>, z zastosowaniem indoli lub piroli jako nukleofili, natomiast reakcja z naftolem, o mniejszej nukleofilowości wydawała się czymś nieosiągalnym.

Poniższy schemat prezentuje pierwszą enancjoselektywną addycję 1-naftolu do *N*-Boc-zabezpieczonej ketiminy **2.144** prowadzoną w obecności organokatalizatorów tiomocznikowych pochodnych chinolidyny **O3**, **O141-O144** (Schemat 2.50)<sup>251</sup>. W wyniku tej reakcji otrzymywano chiralne tetrapodstawione 3-amino-2-oksindole **2.145**, co było przełomowym odkryciem, pozwalającym na łatwy dostęp do tej niezwykle użytecznej klasy związków. Oksindole typu **2.145** znajdują bowiem zastosowania w farmacji i medycynie, np. SSR149415 (antagonista receptora wazopresyny V1b), AG-041R (antagonista receptora cholecystokininy B)<sup>252</sup> czy NITD609 (środek przeciwmalaryczny)<sup>253</sup> (Rysunek 2.21).



**Rysunek 2.21.** Przykłady aktywnych biologicznie 3-podstawionych-3-amino-2-oksindoli.

<sup>248</sup> N. Hara, S. Nakamura, M. Sano, R. Tamura, Y. Funahashi, N. Shibata, *Chem. Eur. J.* **2012**, *18*, 9276.

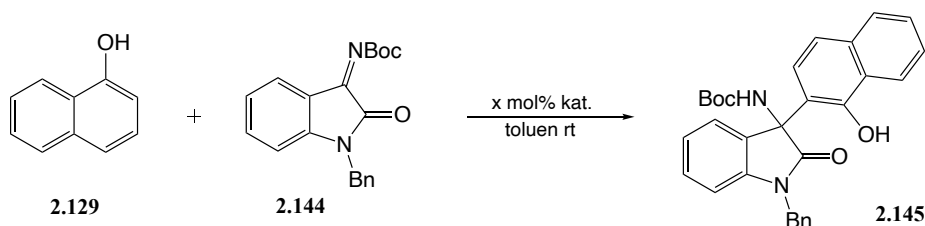
<sup>249</sup> Y.-L. Lin, F. Zhou, J.-J. Cao, C.-B. Ji, M. Ding, J. Zhou, *Org. Biomol. Chem.* **2010**, *8*, 3847.

<sup>250</sup> T. Arai, E. Matsumura, H. Masu, *Org. Lett.* **2014**, *16*, 2768.

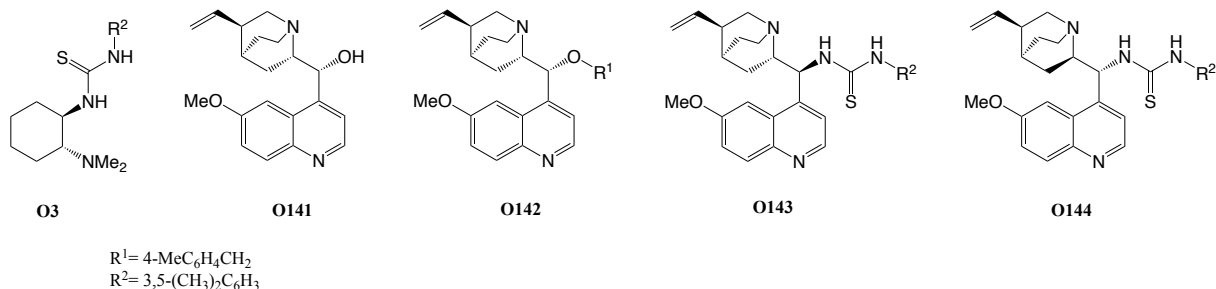
<sup>251</sup> M. Montesinos-Magtaner, C. Vila, R. Cantón, G. Blay, I. Fernandez, M. C. Munoz, J. R. Pedro, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 1.

<sup>252</sup> M. Ochi, K. Kawasaki, H. Kataoka, Y. Uchio, H. Nishi, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2001**, *283*, 1118.

<sup>253</sup> M. Rottmann, C. McNamara, B. K. S. Yeung, M. C. S. Lee, [+22 autorów] T. T. Diagana, *Science* **2010**, *329*, 1175.



Katalizatory:



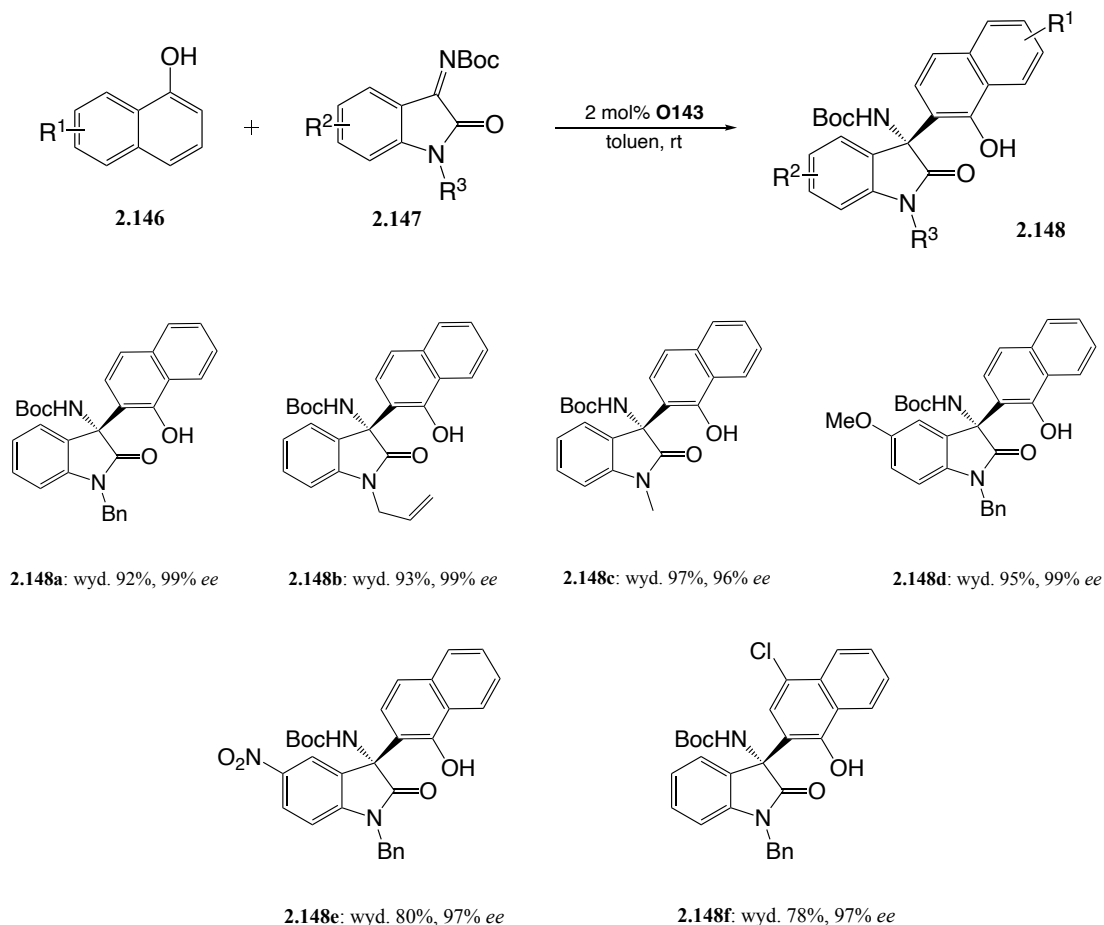
**Schemat 2.50.** Pierwsza enancjoselektywna addycja 1-naftolu (**2.129**) do *N*-Boc-zabezpieczonej ketiminy **2.144** prowadzona w obecności organokatalizatorów tiomocznikowych pochodnych chinolidyny **O3**, **O141-O144**.

**Tabela 2.13.** Addycja 1-naftolu do *N*-Boc-zabezpieczonej ketiminy.

| Lp. | Katalizator | Kat. [mol%] | Czas [h] | Wyd. [%] | ee [%] |
|-----|-------------|-------------|----------|----------|--------|
| 1   | <b>O3</b>   | 5           | 24       | 78       | 96     |
| 2   | <b>O141</b> | 5           | 72       | 60       | 2      |
| 3   | <b>O142</b> | 5           | 24       | 41       | 45     |
| 4   | <b>O143</b> | 5           | 7        | 95       | 99     |
| 5   | <b>O143</b> | 2           | 7        | 92       | 99     |
| 6   | <b>O144</b> | 2           | 13       | 94       | - 99   |

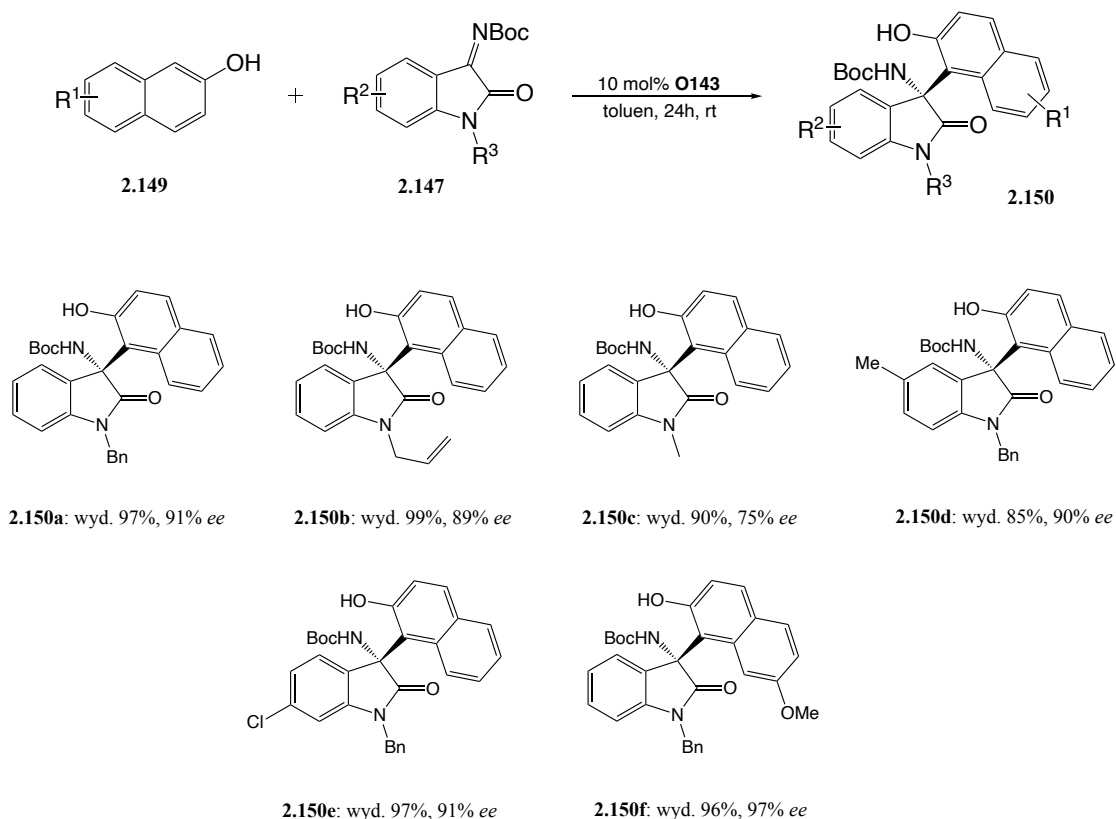
Katalizator chininowy **O141** dawał oczekiwany produkt reakcji z wydajnością 60% po 3 dniach, niestety niemal racemiczny (Tabela 2.13, poz. 2). Nieco lepsze wyniki, bo 45% *ee* i 41% wydajności, otrzymano dla katalizatora **O142** z zabezpieczoną grupą OH na węglu C9 (Tabela 2.13, poz. 3). Najbardziej skuteczne okazały się tiomocznikowe pochodne chinolidyny. Użycie 5 mol% katalizatora **O143** w toluenie prowadziło do powstania produktu z 95% wydajnością i aż 99% nadmiarem enancjomerycznym (Tabela 2.13, poz. 4). Równie dobrze sprawdzał się w tej reakcji katalizator Takemoto **O3**, choć dawał produkt z nieco niższą wydajnością (Tabela 2.13, poz. 1). Na pokreślenie zasługują łagodne warunki reakcji oraz krótki czas jej prowadzenia.

W optymalnych warunkach reakcji, w obecności 2 mol% katalizatora **O143**, rozszerzono zakres stosowanych substratów. Przede wszystkim zbadano wpływ podstawnika w pozycji 1 ketiminy. Zasady Betti’ego zawierające na atomie azotu benzyl, allil lub metyl (**2.148a-c**) były skutecznie syntezowane z doskonałą czystością optyczną (96-99% *ee*) (Schemat 2.51). *N*-Boc-zabezpieczone ketiminy z różnymi podstawnikami w pierścieniu aromatycznym (np. **2.148d-e**) reagowały tak samo dobrze, niezależnie od charakteru i pozycji podstawnika. Różnie podstawione 1-naftole (np. **2.148f**) również dawały oczekiwane produkty z doskonałymi wynikami.



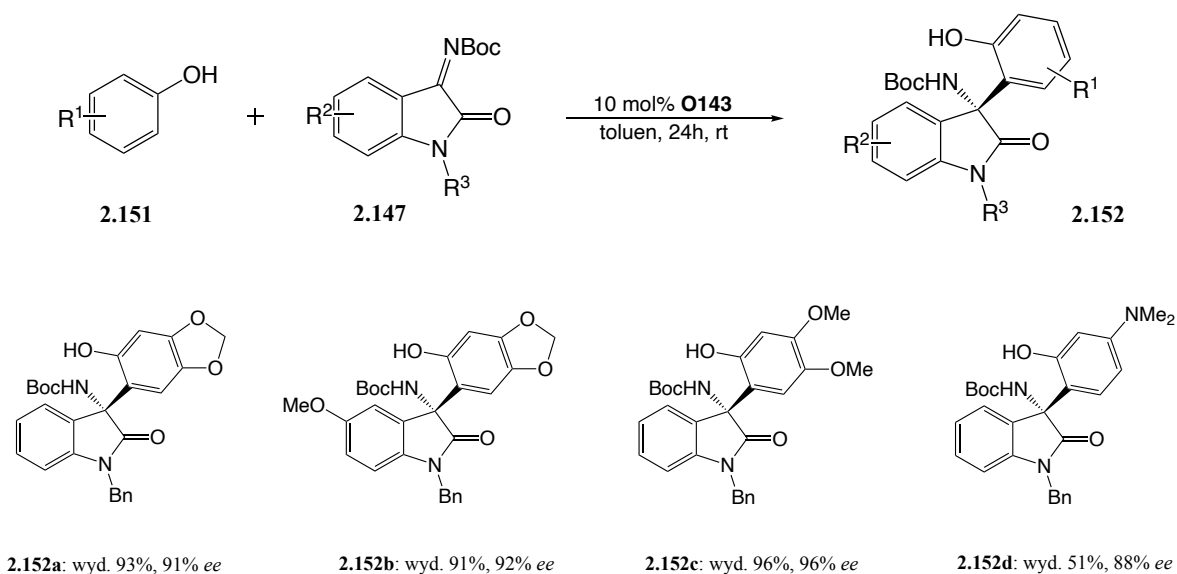
**Schemat 2.51.** Asymetryczna reakcja Betti’ego pomiędzy 1-naftolem i jego pochodną, a różnie podstawionymi ketiminami **2.147** w obecności katalizatora **O143**.

Autorzy skupili swoją uwagę także na reakcji ketimin z 2-naftolami (Schemat 2.52). Wykazali, że 2-naftol jest mniej reaktywny w tych warunkach, a do uzyskania zadawalających wyników konieczne było zwiększenie ilości katalizatora z 2 do 10 mol%<sup>251</sup>.



**Schemat 2.52.** Asymetryczna reakcja Betti’ego pomiędzy 2-naftolem i jego pochodną, a różnie podstawionymi ketiminami **2.147** w obecności katalizatora **O143**.

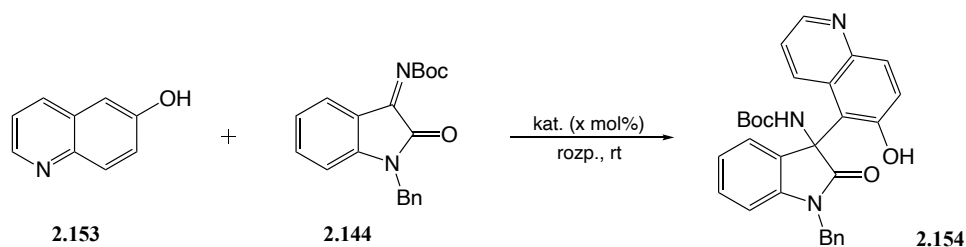
Grupa Pedro dowiodła także, że metoda ta może być z powodzeniem stosowana dla sezamolu i innych aktywowanych fenoli **2.151** jako nukleofili (Schemat 2.53)<sup>251</sup>. Jak wiadomo ugrupowanie sezamolu jest obecne w wielu lekach i produktach naturalnych, a wyniki otrzymane dla pochodnych **2.152a-d** potwierdzają skuteczność opracowanej metody syntezy takich połączeń.



**Schemat 2.53.** Asymetryczna reakcja Betti’ego aktywowanych fenoli z ketiminami w obecności katalizatora **O143**.

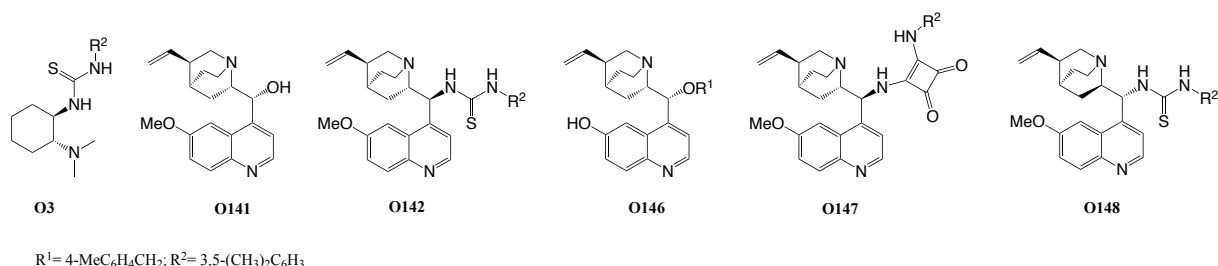
W 2018 roku Pedro ze współpracownikami, po raz kolejny wnieśli duży wkład w rozwój asymetrycznej reakcji Betti’ego. Przedstawili pierwszą tego typu reakcję z użyciem 6-hydroksychinoliny (**2.153**) i *N*-Boc-zabezpieczonej ketiminy **2.144** jako elektrofila (Schemat 2.54)<sup>254</sup>. Reakcja była katalizowana przez te same dwufunkcyjne organokatalizatory pochodne chininy **O141-146**, **O148** oraz nową squaramidową pochodną chinidyny **O147**. Aromatyczne heterocykle azotowe są wszechobecne w agrochemikaliach, farmaceutykach i produktach naturalnych, dlatego też ich synteza stanowi silnie rozwijający się obszar, będący w kręgu zainteresowania naukowców i przemysłu. W tym kontekście chinoliny lub 1-azanaftaleny są jednymi z najbardziej użytecznych substratów, ze względu na szerokie zastosowania ich pochodnych.

Reakcja 6-hydroksychinoliny **2.153** z ketiminą **2.144** była modelową reakcją do zoptymalizowania jej warunków.



<sup>254</sup> C. Vila, A. Rendón-Patiño, M. Montesinos-Magraner, G. Blay, M. C. M. Muñoz, J. R. Pedro, *Adv. Synth. Catal.* **2018**, 360, 859.

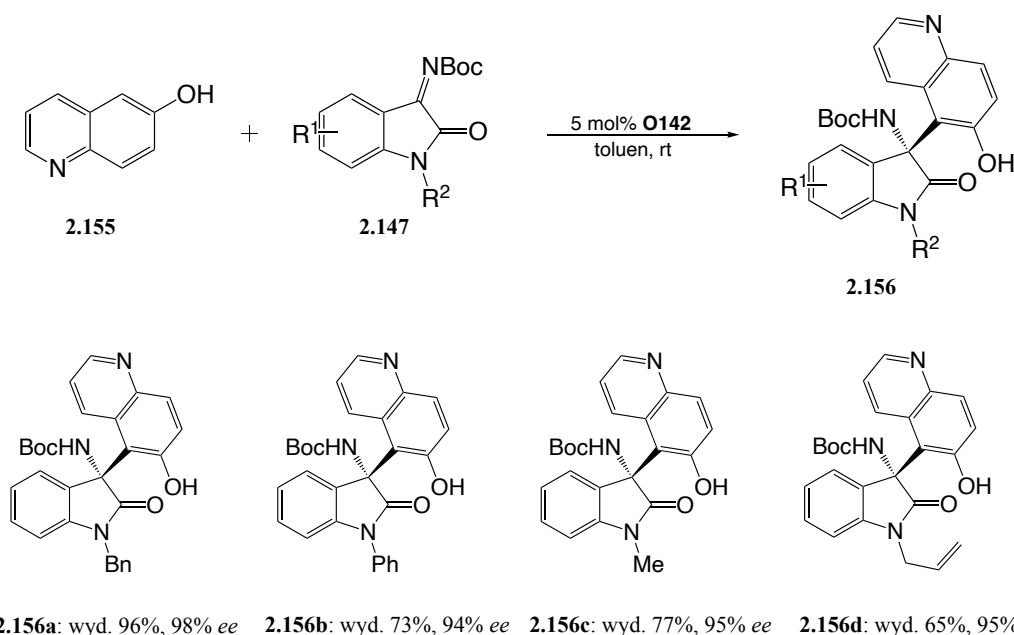
## Organokatalizatory:

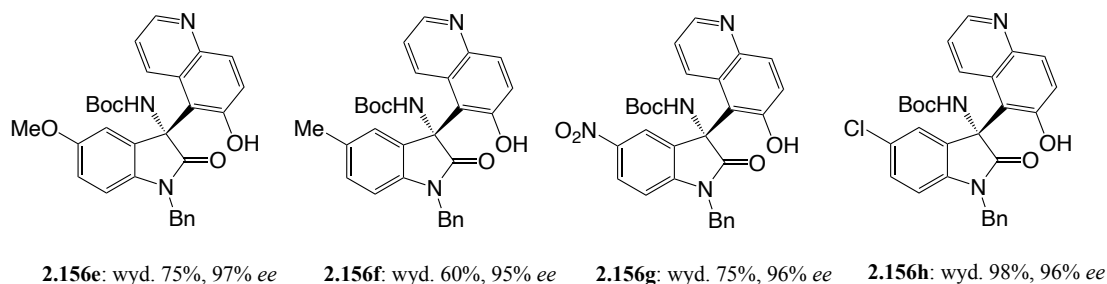


**Schemat 2.54.** Screening organokatalizatorów w asymetrycznej reakcji Betti’ego pomiędzy 6-hydroksychinoliną, a *N*-Boc-ketiminą.

Wszystkie dwufunkcyjne organokatalizatory **O3**, **O141-O142**, **O146-O148** z wyjątkiem pochodnej chininy **O141** zapewniały wysoką indukcję asymetryczną (89-99% *ee*). Squaramidowa pochodna **O147** generowała najwyższe nadmiary enancjomeryczne (99% *ee*), jednak z uwagi na wydajność otrzymywania adduktu **3aa** – zaledwie 55% - do dalszych badań wybrano tiomocznikową pochodną chininy **O142** (96% wyd. i 98% *ee*).

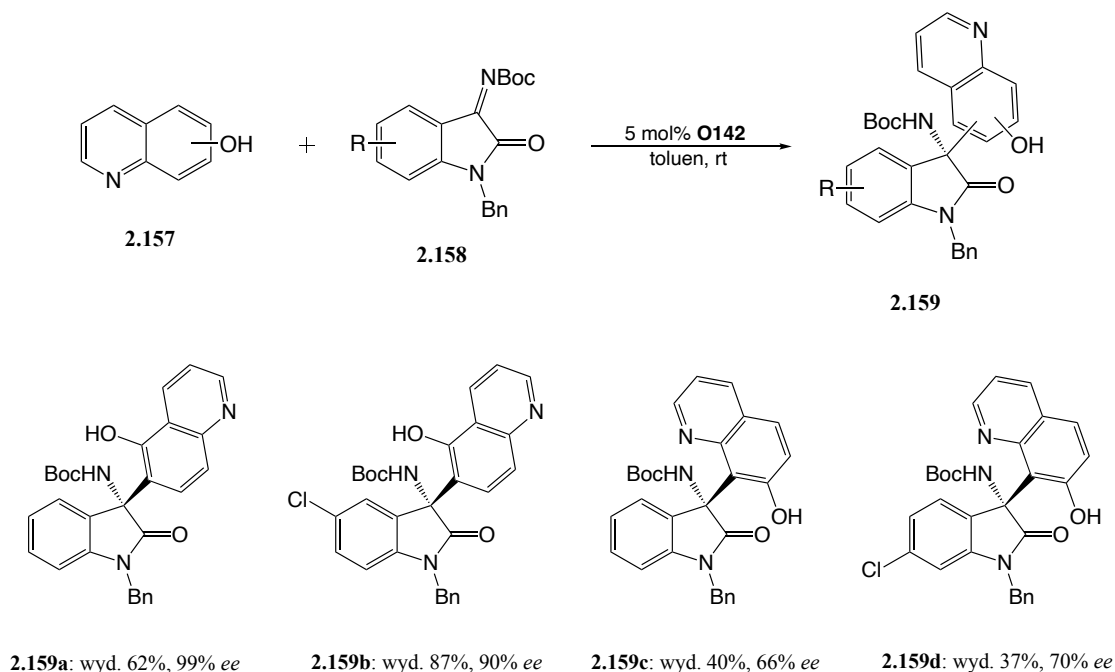
Po zoptymalizowaniu warunków reakcji zbadano wpływ grupy zabezpieczającej na atomie azotu ketiminy (**2.156a-d**) (Schemat 2.56). Uzyskane wyniki wskazują, że grupy takie jak benzyłowa, fenyłowa, alililowa czy metylowa są dobrze tolerowane i dają produkty z wysokimi nadmiarami enancjomerycznymi (94-98% *ee*). Również 5-podstawione ketiminy, grupami zarówno elektronodonorowymi (MeO i Me) jak i elektronoakceptorowymi (NO<sub>2</sub>, Cl) oraz 6- i 7-podstawione ketiminy prowadzą do aminoalkilowanych hydroksychinolin **2.156e-h** z dobrymi wynikami.





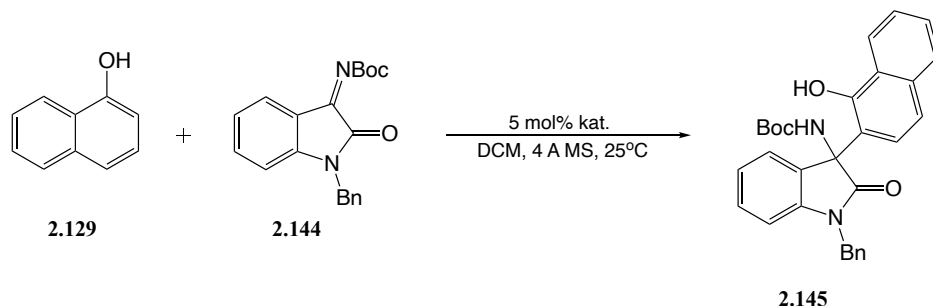
**Schemat 2.56.** Asymetryczna reakcja Betti’ego pomiędzy 6-hydroksychinoliną, a różnie podstawionymi *N*-Boc-ketiminami w obecności organokatalizatora **O142**.

Kolejnym celem autorów była funkcjonalizacja każdej pozycji w pierścieniu hydroksychinolinowym poprzez prostą zmianę pozycji grupy kierującej. I tak 5-hydroksychinolina w reakcji z ketiminami dawała odpowiednio produkty **2.159a** i **2.159b** podstawione przy węglu C-6, z dobrą wydajnością i wysokim nadmiarem enancjomerycznym (Schemat 2.57). Zastosowanie 7-hydroksychinoliny prowadziło do C-8 podstawionych produktów **2.159c** i **2.159d**, ale już z niższą wydajnością i *ee*. Co ciekawe 8-hydroksychinolina nie reagowała w ogóle w tych warunkach, co autorzy tłumaczyli możliwością tworzenia się wewnątrzcząsteczkowego wiązania wodorowego między grupą hydroksylową a atomem azotu chinoliny.

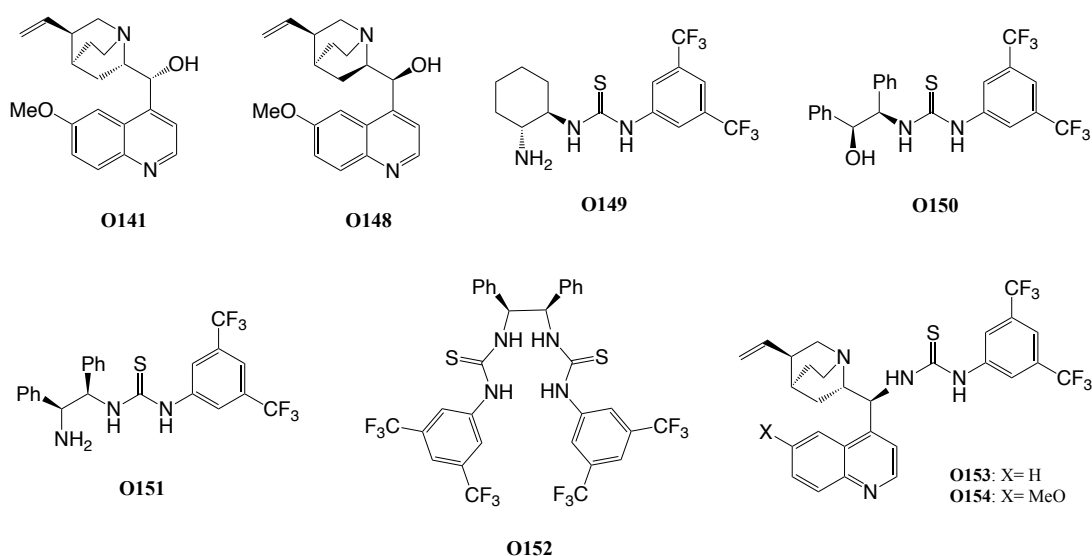


**Schemat 2.57.** Asymetryczna reakcja Betti’ego pomiędzy 5- i 7-hydroksychinoliną, a różnie podstawionymi *N*-Boc-ketiminami w obecności organokatalizatora **O142**.

W tym samym roku, niezależnie od Pedro<sup>254</sup>, grupa Bajaja zaprezentowała reakcję 1-naftolu z pochodnymi *N*-Boc-ketiminy katalizowaną dwufunkcyjnymi organokatalizatorami tiomocznikowymi pochodnymi m. in. chininy i chinidyny (Schemat 2.58)<sup>255</sup>.



Organokatalizatory:



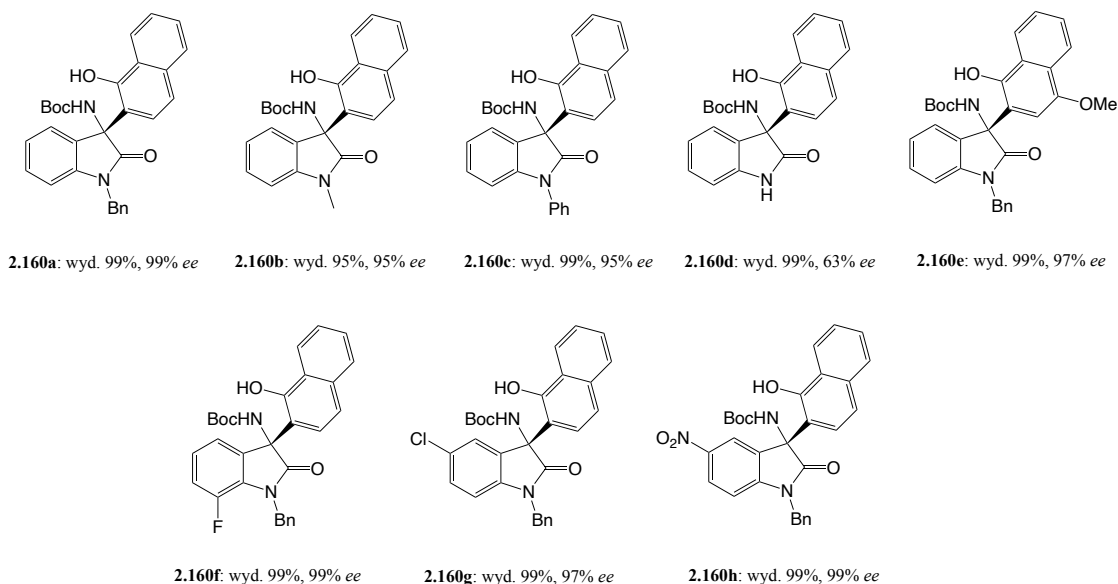
**Schemat 2.58.** Asymetryczna reakcja Betti’ego 1-naftolu z pochodnymi *N*-Boc-ketiminy w obecności katalizatorów tiomocznikowych pochodnych chininy i chinidyny **O141**, **O148-O154**.

Reakcje prowadzone w temperaturze pokojowej w DCM, z dodatkiem sit molekularnych w obecności 5 mol% chininy **O141**, chinidyny **O148** czy tiomocznikowych pochodnych na bazie chiralnej diaminy bądź aminoalkoholu **O149-O152** nie przyniosły oczekiwanych rezultatów i prowadziły do praktycznie racemicznego produktu **2.145**. Skuteczna okazała się pochodna **O154** z ugrupowaniem tiomocznikowym na węglu C9 chinidyny, w obecności której otrzymano produkt z wydajnością 98% i 99% nadmiarem enancjomerycznym. Badania z udziałem tego organokatalizatora zostały rozszerzone

<sup>255</sup> P. Kumari, S. Barik, N. H. Khan, B. Ganguly, R. I. Kureshy, S. H. R. Abdi, H. C. Bajaj, *RSC Adv.* **2015**, 5, 69493.



na podstawione pochodne zarówno ketiminy jak i 1-naftolu. Wykazały one, że zaproponowany układ katalityczny jest bardzo skuteczny zarówno pod względem wydajności (95-99%) jak i stereoselektwności (92-99% *ee*), niezależnie od rodzaju podstawników i ich położenia w użytych substratach (Rysunek 2.22).



**Rysunek 2.22.** Produkty reakcji ketiminy z 1-naftolem katalizowanej tiomocznikową pochodną **O154**.

W 2015 roku grupa Xie przedstawiła reakcję 1-naftolu oraz jego pochodnych z cyklicznymi trifluorometyloketiminami prowadzącą do trifluorometylo-dihydrochinazolinonów<sup>256</sup>. Związki tego typu wykazują szeroką aktywność biologiczną m. in. działają przeciw otyłości<sup>257</sup>, przeciwwirusowo<sup>258</sup>, służą także jako inhibitory wymiany  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ <sup>259</sup>, a te zawierające grupę trifluorometylową na asymetrycznym, czwartorzędowym atomie węgla (**DPC 961** i **DPC 083**, Rysunek 2.23) są silnymi nienukleozydowymi inhibitorami odwrotnej transkryptazy (NNRTI) HIV. Z tego też względu liczne grupy badawcze wykorzystywały cykliczne trifluorometylowane ketiminy w reakcjach Mannicha<sup>260</sup>, aza-Henrygo<sup>261</sup>, Steckera<sup>262</sup>, hydrofosfonylowania<sup>263</sup> czy uwodornienia<sup>264</sup>.

<sup>256</sup> D. Zhou, Z. Huang, X. Yu, Y. Wang, J. Li, W. Wang, H. Xie, *Org. Lett.* **2015**, *17*, 5554.

<sup>257</sup> M. S. Mueller, K. Rudolf, P. Lustenberger, D. Stenkamp, K. Arndt, H. Doods, G. Schaenzle, Patent 20050234054, **2005**.

<sup>258</sup> J. W. Corbett, *Curr. Med. Chem.: Anti-Infect. Agents* **2002**, *1*, 119.

<sup>259</sup> H. Hasegawa, M. Muraoka, K. Matsui, A. Kojima, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 3471.

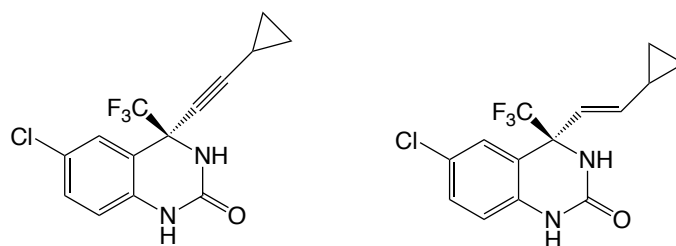
<sup>260</sup> B. Jiang, J. J. Dong, Y. G. Si, X. L. Zhao, Z. G. Huang, M. Xu, *Adv. Synth. Catal.* **2008**, *350*, 1360.

<sup>261</sup> H. Xie, Y. Zhang, S. Zhang, X. Chen, W. Wang, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 11773.

<sup>262</sup> F. G. Zhang, X. Y. Zhu, S. Li, J. Nie, J. A. Ma, *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 11552.

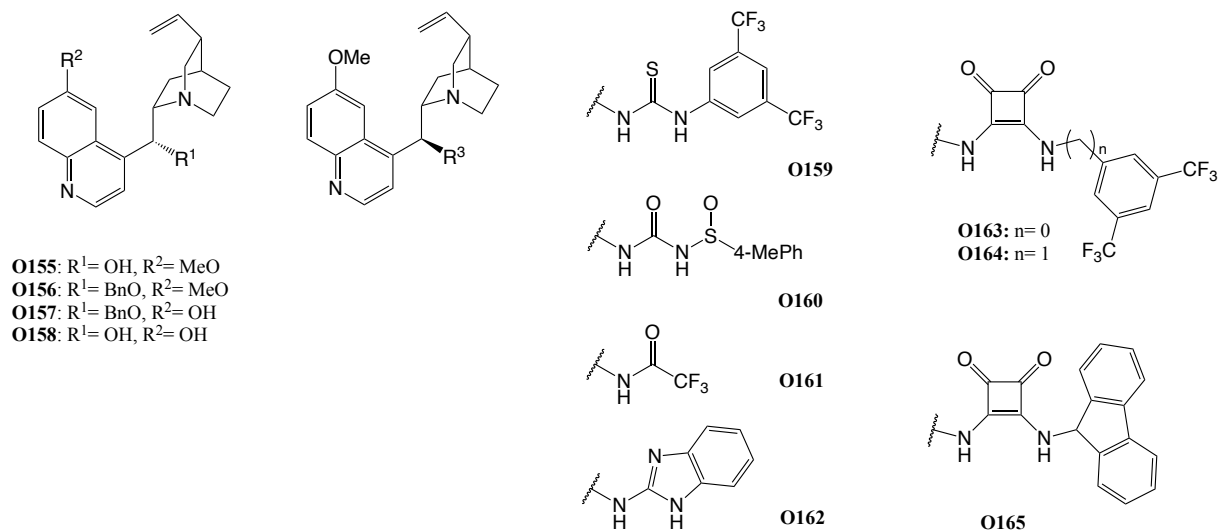
<sup>263</sup> H. Xie, A. Song, X. Zhang, X. Chen, H. Li, C. Sheng W. Wang, *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 928.

<sup>264</sup> Y. Duan, X. Y. Zhu, J. A. Ma, Y. G. Zhou, *Tetrahedron Lett.* **2013**, *54*, 6161.

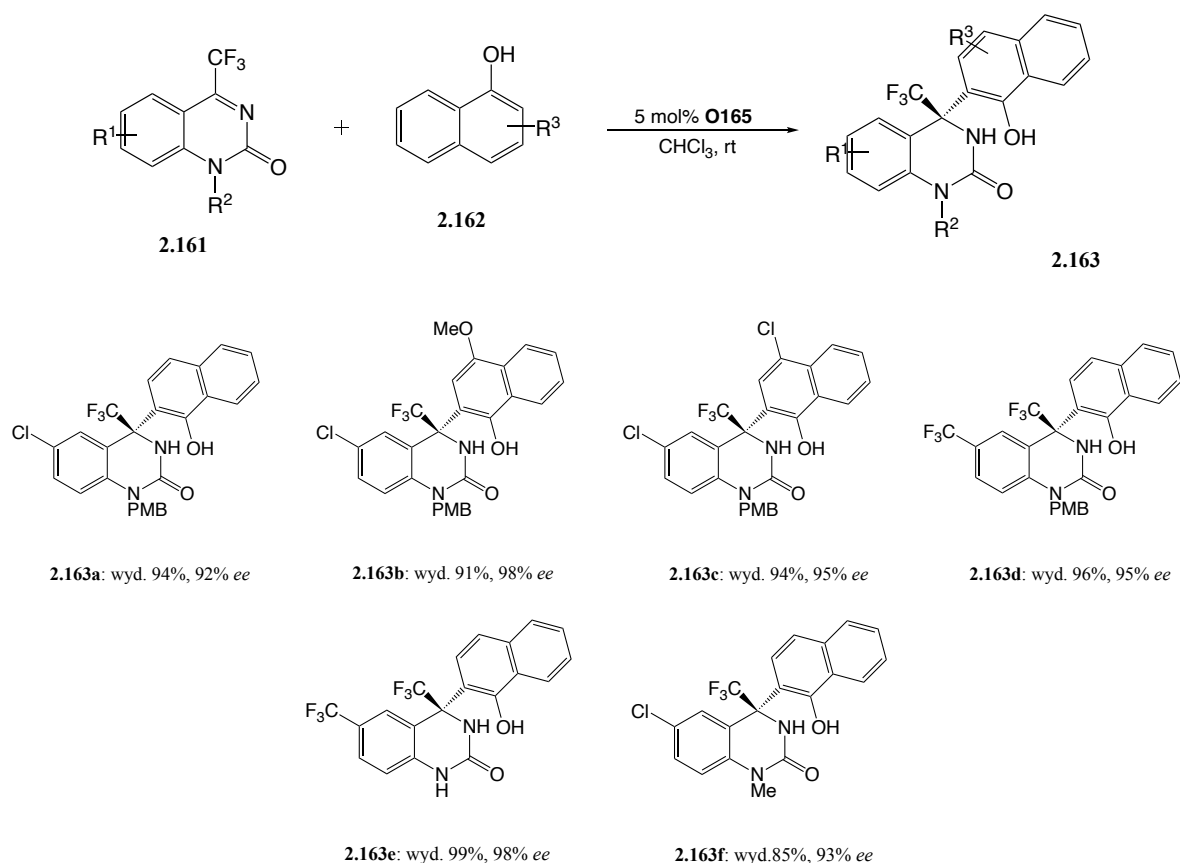


**Rysunek 2.23.** Struktury **DPC 961** i **DPC 083**.

Zespół Xie badania prowadził w obecności chininy i jej beznylowych pochodnych **O155-O158** oraz katalizatorów na bazie tiomocznika **O159**, mocznika **O160**, amidu **O161**, aminy **O162**, a także squaramidow **O163-O164** (Rysunek 2.24)<sup>256</sup>. Spośród testowanych organokatalizatorów najbardziej skuteczny okazał się chinino-squaramid **O165**, który umożliwiał bezpośredni dostęp do chiralnych trifluorometylodihydrochinazolinonów z wydajnością do 99% i *ee* do 99% (Schemat 2.59). Warto podkreślić, że 2-naftol w tych warunkach okazał się niereaktywny.

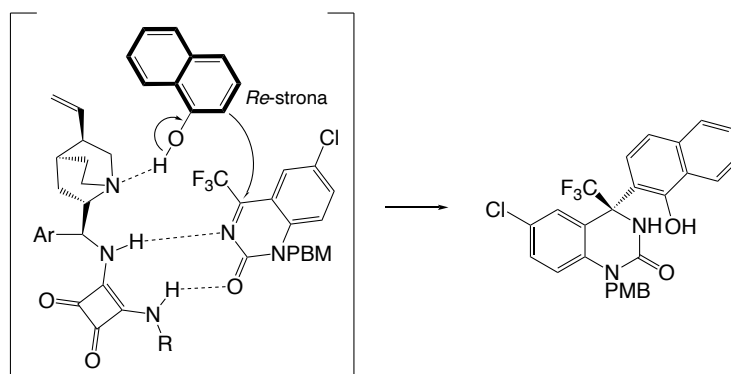


**Rysunek 2.24.** Organokatalizatory stosowane w syntezie chiralnych trifluorometylodihydrochinazolinonów.



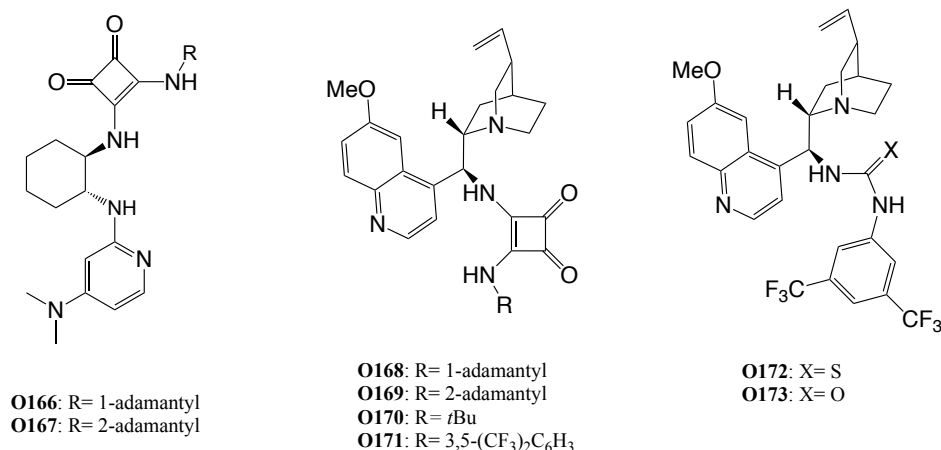
**Schemat 2.59.** Synteza chiralnych trifluorometylodihydrochinazolinonów w obecności organokatalizatorów **O155-O165**.

Podobnie jak w przypadku wcześniej opisanych organokatalizatorów pochodnych chinoliny, wykorzystany tu chinino-squaramid **O165** katalizuje reakcje na drodze podwójnej aktywacji: ketimina tworzy dwa wiązania wodorowe ze squaramidem, a nukleofilowość naftolu zwiększa się dzięki ugrupowaniu trzeciorzędowej aminy, która to wymusza atak na ketiminę od *Re*-strony i prowadzi do produktu o konfiguracji absolutnej *R* (Rysunek 2.25).



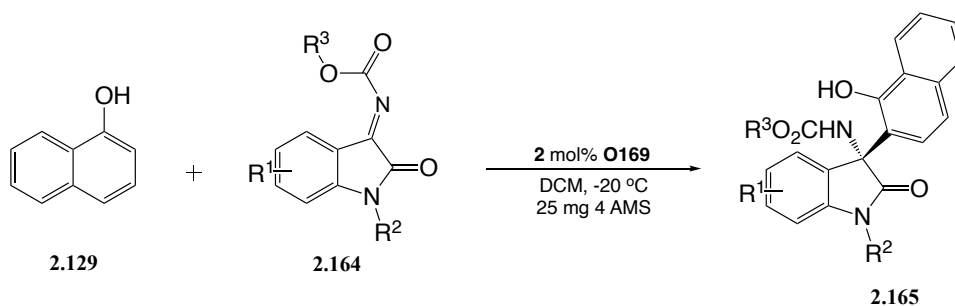
**Rysunek 2.25.** Proponowany model stanu przejściowego dla syntezy chiralnych trifluorometylodihydrochinazolinonów.

W roku 2017 grupa Tanyeli przedstawiła syntezę chiralnych prekursorów naftoksazepiny w reakcji Betti’ego *N*-alkoksykarbonyloketimin **2.164** z 1-naftolem<sup>265</sup>. Badania prowadzono w obecności dwufunkcyjnych organokatalizatorów squaramidowych pochodnych 2-amino-DMAPu (**O166-O167**), squaramidowych pochodnych chinidyny (**O168-O171**), oraz mocznikowej (**O173**) i tiomocznikowej (**O172**) pochodnej chinidyny (Rysunek 2.26).

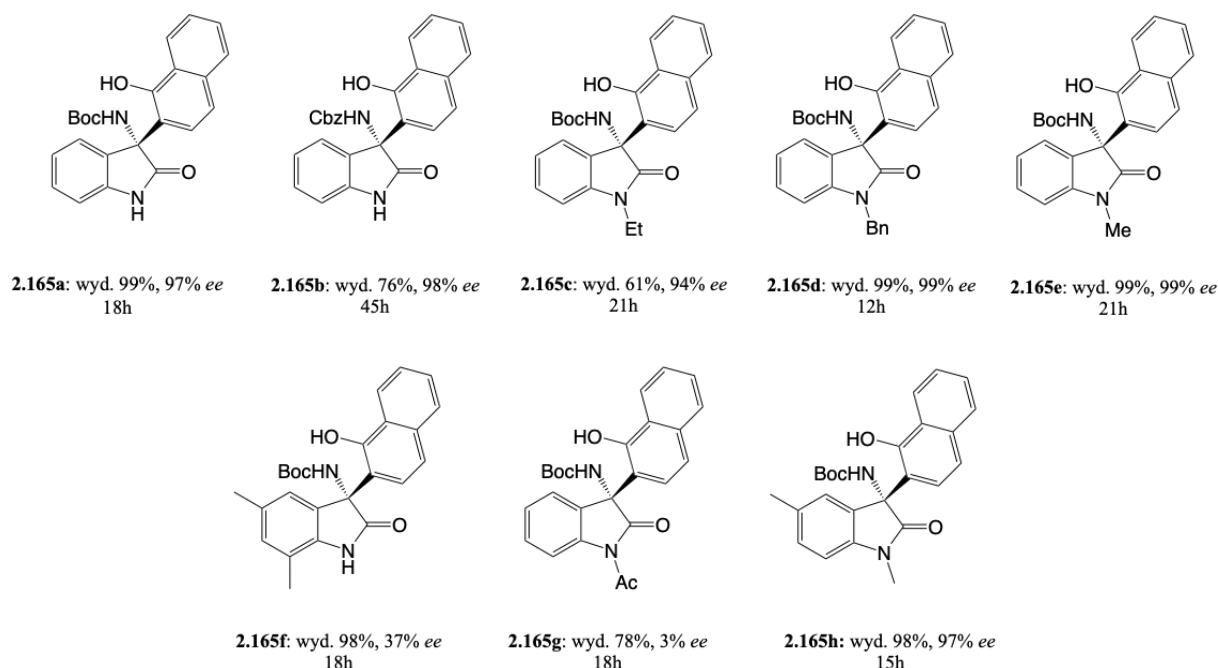


**Rysunek 2.26.** Organokatalizatory stosowane w reakcji Betti’ego *N*-alkoksykarbonyloketimin **2.164** z 1-naftolem.

Najwyższą aktywność katalityczną wykazywał squaramid będący pochodną chininy, zawierający dodatkowo podstawnik 2-adamantylowy **O169**, który umożliwiał otrzymywanie chiralnych tetrapodstawionych 3-amino-2-oksindoli z doskonałymi wydajnościami i *ee* do 99%. Autorzy sugerują, że na rewelacyjne wyniki reakcji wpływ miała zawada przestrzenna przy squaramidowym centrum. Warto także zauważyć, że obecność podstawników w pozycji 1-ketiminy nie ma istotnego wpływu na stereoselektywny przebieg prowadzonych reakcji, a ich niezabezpieczone pochodne, także dobrze reagują w tych warunkach (Schemat 2.60).



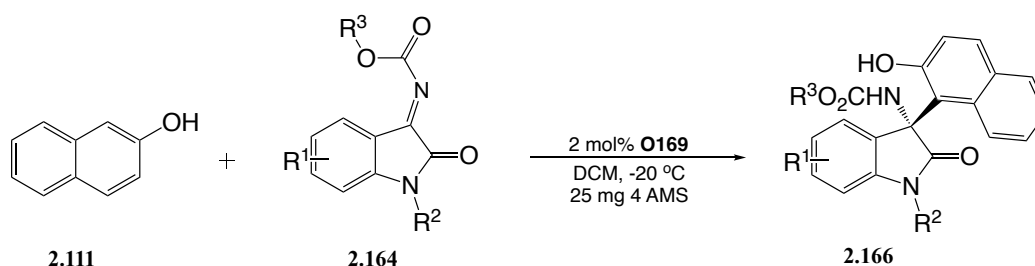
<sup>265</sup> S. Karahan, C. Tanyeli, *New J. Chem.* **2017**, 41, 9192.

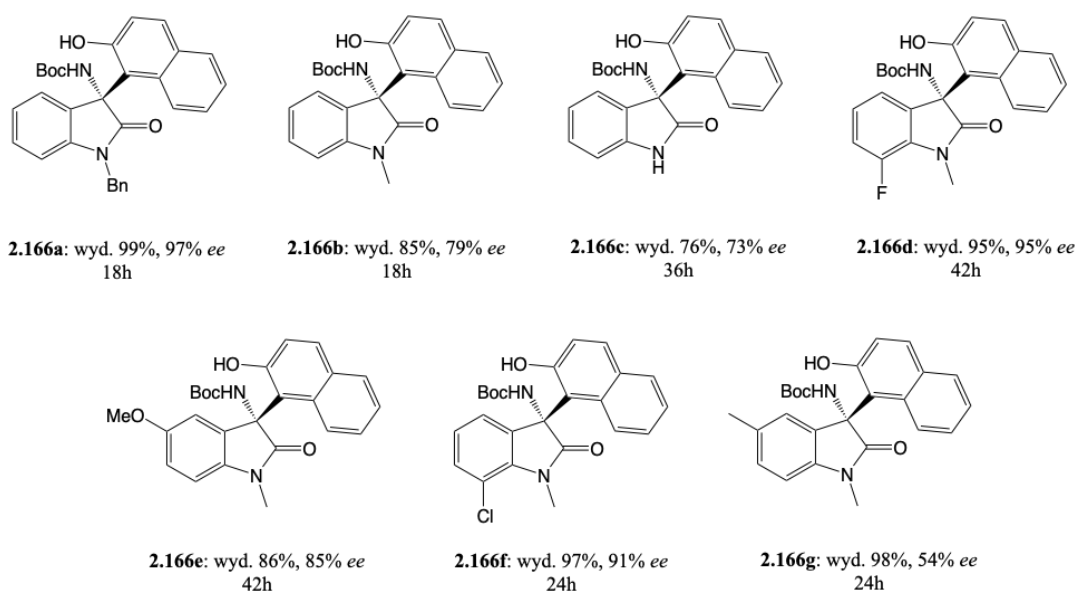


**Schemat 2.60.** Asymetryczna reakcja Betti’ego *N*-alkoksykarbonyloketimin **2.164** z 1-naftolem w obecności organokatalizatora **O169**.

Wyjątek stanowi *N*-acetylowa pochodna, która nieoczekiwanie dostarczała prawie racemiczny addukt **2.165g** (Schemat 2.60). Prawdopodobnie ugrupowanie acetylokarbonyłowe może powstrzymywać selektywne wiązanie substratu z katalizatorem, tak, że koordynuje on raczej z powstałą jednostką 1,3-dikarbonyłową niż z iminą. W badaniach wykorzystano także ketiminy różniące się podstawnikami w pierścieniu aromatycznym. Dowiodły one, że elektronowy charakter pierścienia aromatycznego nie odgrywa żadnej znaczącej roli w tej przemianie.

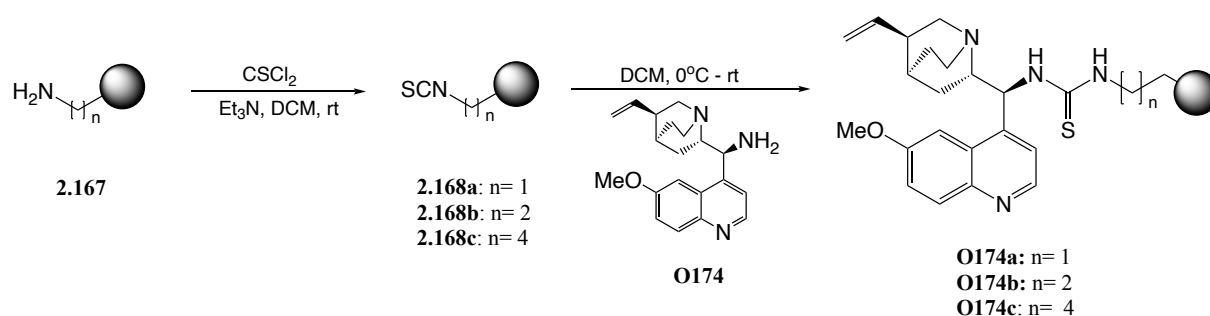
Ponadto autorzy postanowili rozszerzyć swoje badania o 2-naftol (Schemat 2.61). Mimo iż w badaniach prowadzonych przez Montesinos-Magranera<sup>278</sup> wymagane było użycie większej ilości katalizatora (10 mol%), to w omawianym przypadku już użycie 2 mol% katalizatora **O169**, 2-adamantylosquaramidowej pochodnej chinidyny, prowadziło do produktu **2.166** nawet z 99% wydajnością i 97% *ee*. Podobnie jak we wszystkich dotychczasowych badaniach podstawniki elektronodonorowe lub elektronoakceptorowe na ketiminie nie miały znaczącego wpływu na przebieg reakcji.



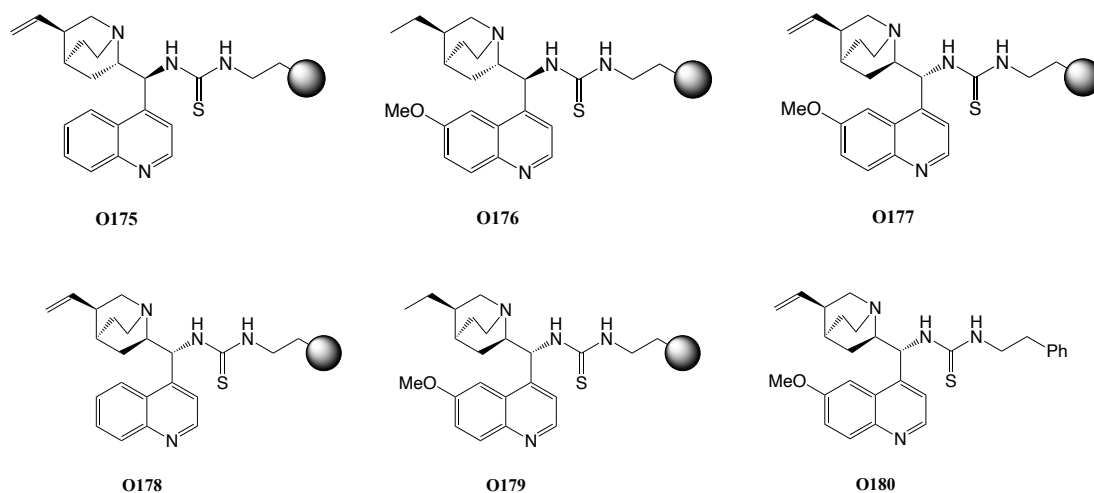


**Schemat 2.61.** Asymetryczna reakcja Betti’ego *N*-alkoksykarbonyloketimin **2.164** z 2-naftolem w obecności organokatalizatora **O169**.

Zainteresowanie syntezą 3-amino-2-oksindoli nie słabło i w 2020 roku ukazała się kolejna praca zespołu Pedrosa<sup>266</sup>. To co odróżnia te badania od wcześniejszych to fakt, że autorzy skupili się na syntezie łatwo odzyskiwalnych i nadających się do ponownego użycia dwufunkcyjnych katalizatorów tiomocznikowych pochodnych chininy osadzonych na nośniku polistyrenowym. Testowano je z powodzeniem w reakcji naftoli z ketiminami w warunkach rozpuszczalnikowych, a także w procesie przepływowym umożliwiającym syntezę pochodnych 3-amino-2-oksindoli w skali wielogramowej.

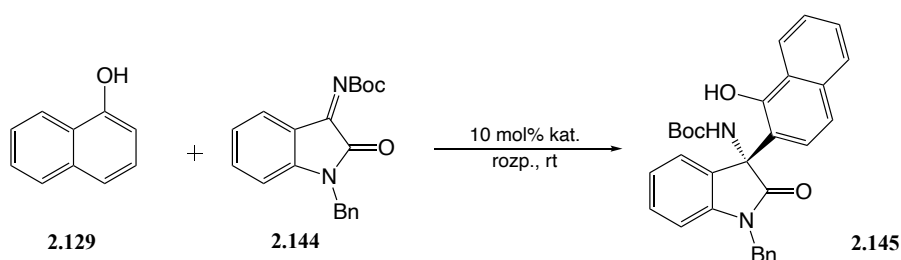


<sup>266</sup> M. Rodriguez-Rodriguez, A. Maesto, J. M., Andres, R. Pedrosa, *Adv. Synth. Catal.* **2020**, 362, 2744.



**Schemat 2.62.** Synteza organokatalizatorów tiomocznikowych pochodnych chininy osadzonych na żywicach polistyrenowych.

Otrzymano 8 tiomocznikowych katalizatorów pochodnych chininy osadzonych na żywicach polistyrenowych **O174a-c** i **O175-O179** (Schemat 2.62). Dla porównania wykorzystano także katalizator **O180**, którego używano w warunkach katalizy homogenicznej. Jako reakcję modelową do optymalizacji warunków reakcji katalizowanej przez polimeryczne katalizatory, wybrano przemianę pochodzącej z izatyny ketiminy **2.144** z 1-naftolem (**2.129**) (Schemat 2.63). Przeprowadzone badania wykazały, że w reakcji prowadzonej w toluenie wszystkie katalizatory **O174a-c**, bez względu na długość wiązania łączącego polimer z katalizatorem, wykazują dużą aktywność i zapewniają produkt z doskonałą konwersją. Spośród nich katalizator **O174b** zapewniał najlepszą selektywność  $er = 93:7$  (Tabela 2.14, poz. 8). Daje on podobne wyniki, jak jego analog **O180** w warunkach homogenicznych. Zbadano także wpływ innych rozpuszczalników na przebieg reakcji i zaobserwowano, że rozpuszczalniki eterowe i polarne dają racemiczne produkty z dobrymi wydajnościami (Tabela 2.14, przykłady 1-4). Praktycznie ilościową wydajność, ale umiarkowaną enancjoselektywność zapewniały rozpuszczalniki fluorowcowe (Tabela 2.14, poz. 5-7). Ponadto autorzy zauważyli, że zmniejszenie ilości katalizatora do 5 mol% skutkuje spadkiem  $er$ , oraz wydłużeniem czasu prowadzenia reakcji (Tabela 2.14, poz. 9).



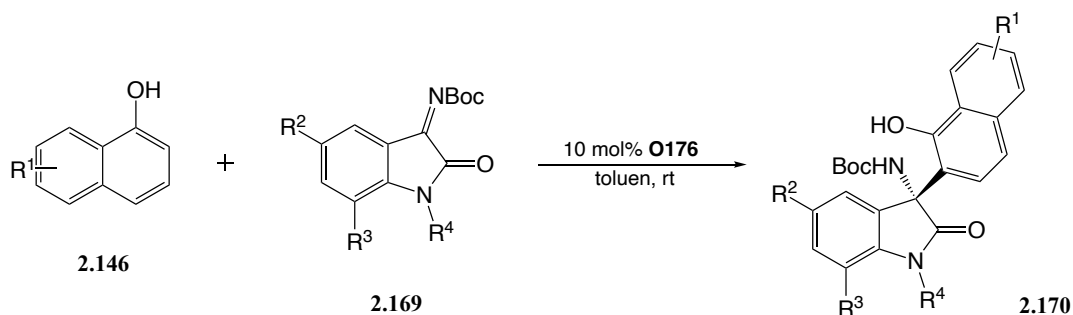
**Schemat 2.63.** Asymetryczna reakcja Betti'ego 1-naftolu i *N*-Boc-ketiminy z użyciem katalizatorów tiomocznikowych osadzonych na żywicy polistyrenowej.

**Tabela 2.14.** Asymetryczna reakcja Betti’ego 1-naftolu i *N*-Boc-ketiminy.

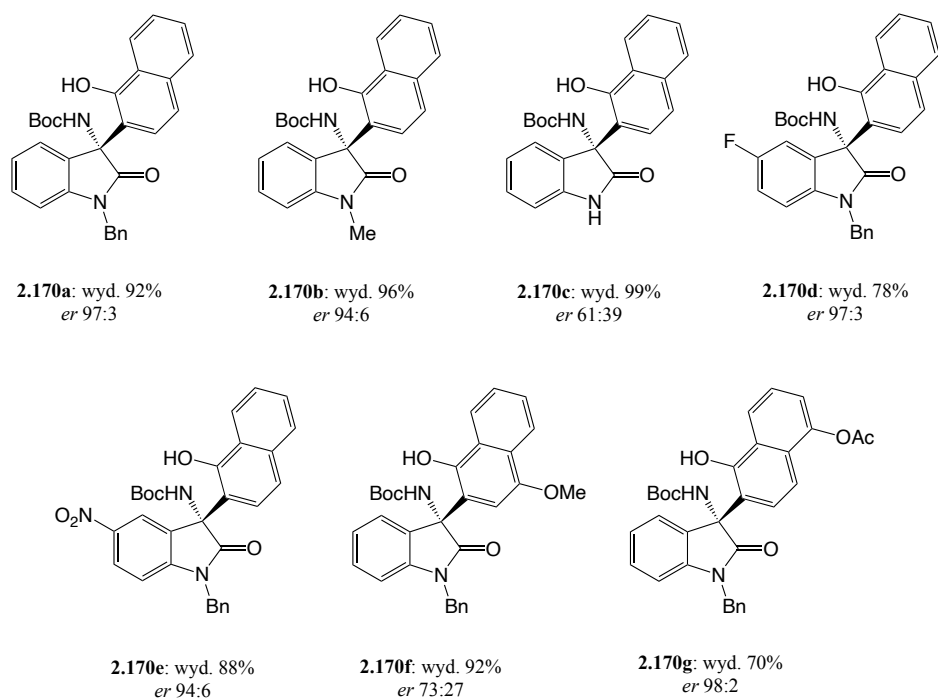
| Lp. | Katalizator  | mol% kat. | Czas [h] | Rozp.              | Konwersja [%] | <i>er</i> |
|-----|--------------|-----------|----------|--------------------|---------------|-----------|
| 1   | <b>O174a</b> | 10        | 8        | CH <sub>3</sub> CN | 79            | 50:50     |
| 2   | <b>O174b</b> | 10        | 8        | dioksan            | 27            | 51:49     |
| 3   | <b>O174b</b> | 10        | 8        | TBME               | 72            | 51:49     |
| 4   | <b>O174b</b> | 10        | 8        | THF                | 60            | 51:49     |
| 5   | <b>O174b</b> | 10        | 8        | CHCl <sub>3</sub>  | 98            | 84:16     |
| 6   | <b>O174b</b> | 10        | 8        | DCM                | 77            | 82:18     |
| 7   | <b>O174b</b> | 10        | 8        | DCE                | 98            | 79:21     |
| 8   | <b>O174b</b> | 10        | 8        | toluen             | 96            | 93:7      |
| 9   | <b>O174b</b> | 5         | 24       | toluen             | 93            | 88:12     |
| 10  | <b>O174a</b> | 10        | 8        | toluen             | 100           | 90:10     |
| 11  | <b>O174c</b> | 10        | 8        | toluen             | 96            | 81:19     |
| 12  | <b>O175</b>  | 10        | 8        | toluen             | 97            | 90:10     |
| 13  | <b>O176</b>  | 10        | 8        | toluen             | 100           | 97:3      |
| 14  | <b>O177</b>  | 10        | 8        | toluen             | 91            | 11:89     |
| 15  | <b>O178</b>  | 10        | 8        | toluen             | 98            | 22:78     |
| 16  | <b>O179</b>  | 10        | 8        | toluen             | 97            | 5:95      |
| 17  | <b>O180</b>  | 10        | 8        | toluen             | 98            | 99:1      |

W zoptymalizowanych warunkach przetestowano wszystkie katalizatory. Przeciwne enancjomery produktu otrzymano w obecności organokatalizatorów **O177-O179** (Tabela 2.14, poz. 14-16). Zdolność katalizatora do recyklingu została zbadana dla najbardziej aktywnego tiomocznika **O176**. Uzyskane wyniki wykazały, że katalizator można odzyskać i ponownie wykorzystać w pięciu cyklach, bez utraty aktywności.

W kolejnym etapie, grupa Pedrosa rozszerzyła badania na pochodne ketiminy oraz podstawione 1-naftole (Schemat 2.64). Generalnie, wszystkie reakcje prowadziły do oczekiwanych produktów z dobrymi wydajnościami i charakteryzowały się wysoką stereoselektywnością z wyjątkiem produktu **2.170c**, dla którego stosunek *er* wynosił 61:39.

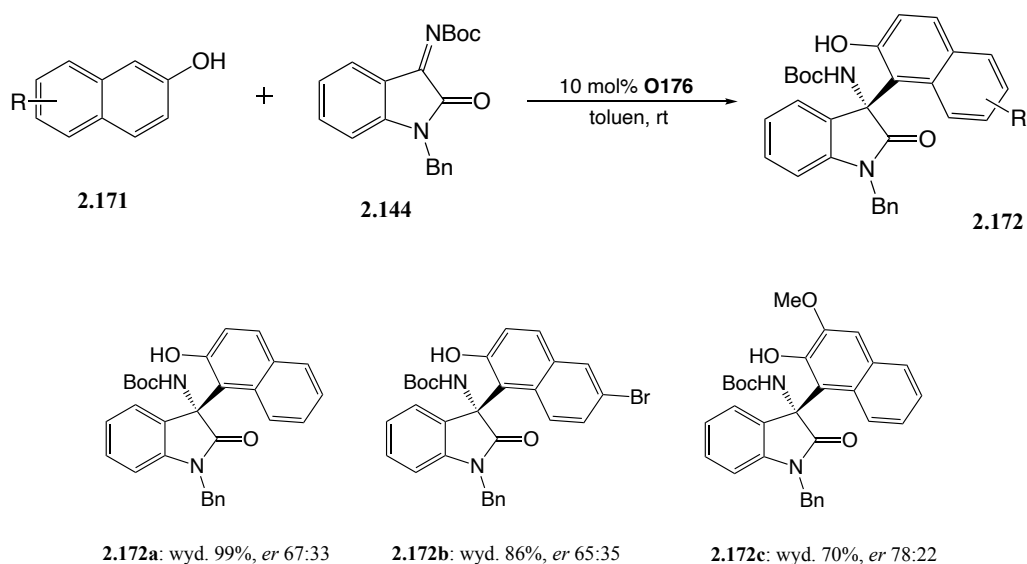






**Schemat 2.64.** Asymetryczna reakcja Betti’ego różnie podstawionych 1-naftoli i *N*-Boc-ketiminy przy użyciu organokatalizatora **O176**.

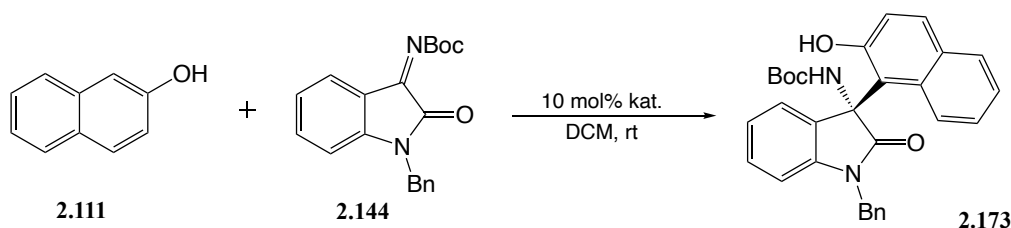
Reakcje z różnie podstawionymi 2-naftolami jako nukleofilami także zachodziły z dobrymi wydajnościami, ale z niższą enancjoselektywnością niż miało to miejsce w warunkach homogenicznych (Schemat 2.65)<sup>251</sup>.



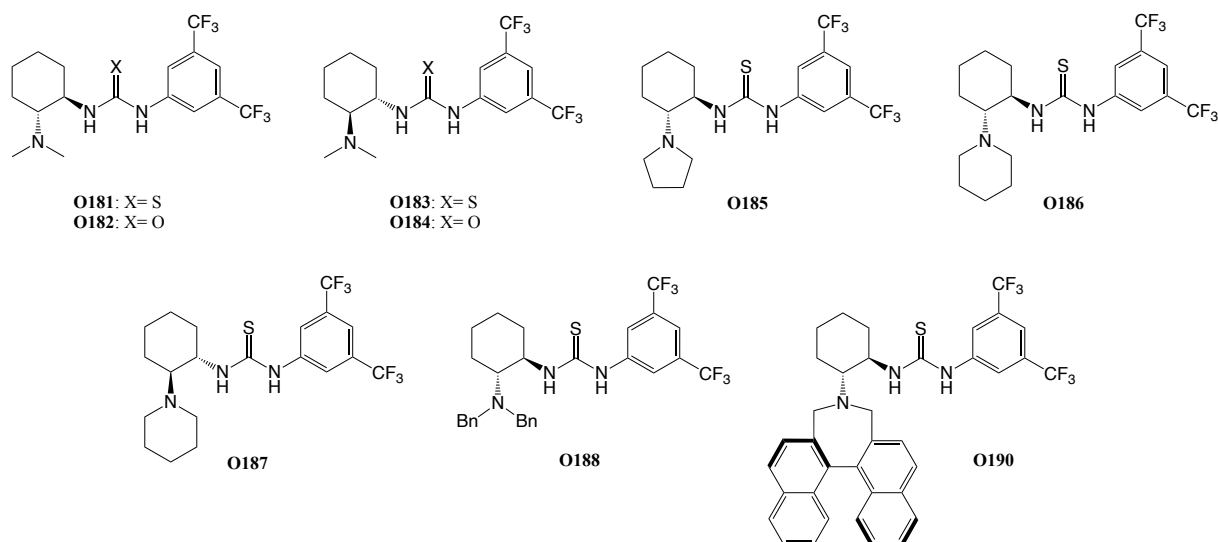
**Schemat 2.65.** Asymetryczna reakcja Betti’ego różnie podstawionych 2-naftoli i *N*-Boc-ketiminy przy użyciu organokatalizatora **O176**.

Reakcja Betti’ego z wykorzystaniem ketimin wciąż jest intensywnie badana. W 2021 roku grupa Jina wykorzystwała w reakcji z 2-naftolem proste katalizatory tiomocznikowe, pochodne katalizatora Takemoto (Schemat 2.66)<sup>267</sup>. Mimo licznych zastosowań ketimin w reakcji Betti’ego, bardzo dobre wyniki otrzymywano do tej pory głównie dla 1-naftolu natomiast reakcje z 2-naftolem, wciąż stanowią wyzwanie.

Autorzy polegając na zoptymalizowanych przez Tanyeli warunkach<sup>265</sup> najpierw przetestowali katalizatory **O181-O190** w reakcji *N*-Boc-zabezpieczonej ketiminy **2.144** i 2-naftolu **2.111**, w DCM jako rozpuszczalniku, w obecności 10 mol% katalizatora (Schemat 2.66). Wszystkie katalizatory łagodnie i efektywnie katalizowały reakcje dając produkty z wydajnościami od 78 do 91%. Większość z nich prezentowała jednak niską, do średniej enancjoindukcję, a w przypadku katalizatora **O185** na bazie (*R,R*)-pirolu otrzymano produkt niemalże racemiczny (5% *ee*). Najlepszy wynik otrzymano dla tiomocznika **O186** zawierającego podstawnik (*R,R*)-piperydynowy, w obecności którego otrzymano produkt z aż 91% wydajnością i 73% nadmiarem enancjomerycznym.



Organokatalizatory:



**Schemat 2.66.** Asymetryczna reakcja Betti’ego 2-naftolu i *N*-Boc-ketiminy przy użyciu organokatalizatorów **O181-O190**.

<sup>267</sup> Z. Chen, T. Zhang, Y. Sun, L. Wang, Y. Jin, *New J. Chem.* **2021**, 45, 10481.

Zespół Jina przeprowadzając dalszą optymalizację warunków reakcji, zauważył wyraźny wpływ rozpuszczalnika na wydajność reakcji. Najlepszym okazał się eter dietylowy, podczas gdy użycie 1,4-dioksanu lub THF nie dostarczało produktu.

Z tak zoptymalizowanymi warunkami (Et<sub>2</sub>O, temp. pokojowa, 10 mol%, **O186**) zbadano szeroką gamę różnie podstawionych 2-naftoli i ketimin (Tabela 2.15). Wszystkie reakcje prowadziły to produktów z wydajnościami powyżej 89% i bardzo wysokimi nadmiarami enancjomerycznymi (powyżej 90% *ee*). Na stereoselektywność i wydajność reakcji praktycznie nie wpływały ani charakter, ani pozycja podstawników w substratach. Co ciekawe, nie zaobserwowano produktu reakcji, gdy zastosowano 1-naftol lub 3,5-dimetoksyfenol jako nukleofile.

**Tabela 2.15.** Asymetryczna reakcja Betti’ego różnie podstawionych 2-naftoli i *N*-Boc-ketimin przy użyciu organokatalizatora **O186**.

| Lp. | Produkt       | R <sub>1</sub> , R <sub>2</sub> , R <sub>3</sub> | Wyd. [%] | <i>ee</i> [%] |
|-----|---------------|--------------------------------------------------|----------|---------------|
| 1   | <b>2.174a</b> | Bn, H, H                                         | 91       | 93            |
| 2   | <b>2.174b</b> | Bn, 5-F, H                                       | 91       | 94            |
| 3   | <b>2.174c</b> | Bn, 5-Cl, H                                      | 95       | 96            |
| 4   | <b>2.174d</b> | Bn, 5-Me, H                                      | 93       | 97            |
| 5   | <b>2.174e</b> | Bn, 6-Br, H                                      | 89       | 92            |
| 6   | <b>2.174f</b> | Bn, 7-Br, H                                      | 91       | 92            |
| 7   | <b>2.174g</b> | Me, H, H                                         | 90       | 96            |
| 8   | <b>2.174h</b> | Bn, H, 3-Me                                      | 90       | 90            |
| 9   | <b>2.174i</b> | Bn, H, 3-MeO                                     | 94       | 97            |
| 10  | <b>2.174j</b> | Bn, H, 6-MeO                                     | 92       | 91            |
| 11  | <b>2.174k</b> | Bn, H, 6-Br                                      | 90       | 91            |
| 12  | <b>2.174l</b> | Bn, 5-Cl, 6-MeO                                  | 94       | 97            |
| 13  | <b>2.174m</b> | Bn, 5-Me, 7-MeO                                  | 91       | 93            |
| 14  | <b>2.174n</b> | Bn, 7-F, 3-MeO                                   | 95       | 96            |
| 15  | <b>2.174o</b> | Me, H, 7-MeO                                     | 92       | 90            |

### 3. OMÓWIENIE WYNIKÓW BADAŃ WŁASNYCH

#### 3.1. Dwufunkcyjne organokatalizatory tiomocznikowe i tiosquaramidowe w syntezie zasad Betti'ego

*“Development of Bifunctional Chiral Thioureas and Thiosquaramides in the Synthesis of Betti Bases”*

*Molecules* **2023**, *28*, 7835.

Reakcja Betti'ego, alternatywnie określana jako reakcja Aza-Friedela-Craftsa, stanowi ważny wariant reakcji Mannicha i jest jedną z kluczowych reakcji tworzących wiązania C-C. W ciągu ostatniej dekady wiele grup badawczych przedstawiło różne warianty tej reakcji, głównie z wykorzystaniem wstępnie utworzonej iminy zabezpieczonej w postaci sulfonamidu, bądź ketiminy pochodzącej z izatyny, o czym szczegółowo informowałam w Rozdziale 2.4 niniejszej pracy. Produktami reakcji Betti'ego są aminoarylonaftole, których struktury występują w wielu istotnych związkach naturalnych, wykazujących szeroki zakres interesujących właściwości i zastosowań. Chiralne zasady Betti'ego znalazły zastosowanie w optoelektronice, jednak na szczególną uwagę zasługuje ich szeroka aktywność biologiczna. Pochodne tego typu wykazują działanie przeciwnowotworowe, przeciwbakteryjne, przeciwutleniające, przeciwzapalne, przeciwbólowe, przeciwnadciśnieniowe, przeciw chorobie Alzheimera i bradykardii<sup>268</sup>. Ponadto udowodniono, że chiralne zasady Betti'ego są użytecznymi ligandami i pomocnikami chiralnymi w syntezie organicznej<sup>193,269,270,271</sup>, a ich szeroki zakres zastosowań wywołał duże zainteresowanie opracowaniem asymetrycznych metod ich otrzymywania. Wpisując się w nurt tych badań, postanowiłam dogłębnie zbadać tematykę wykorzystania organokatalizatorów tiomocznikowych, oraz po raz pierwszy organokatalizatorów tiosquaramidowych w reakcji Betti'ego, 1- i 2-naftoli oraz 6-hydroksychinoliny z *N*-tosyloiminą i ketiminą. Zależało mi na opracowaniu możliwie prostej, wydajnej i bezproblemowej metody syntezy, przebiegającej w łagodnych warunkach i bez udziału kationu metalu. Jak wiadomo, organokatalizatory tiomocznikowe posiadają szereg zalet, które sprzyjają takiemu sposobowi prowadzenia reakcji. Obecność mostka tiomocznikowego oraz silnie kwasowych protonów umożliwia tworzenie wiązań wodorowych z substratem i jego aktywację. Podczas gdy dwufunkcyjne chiralne tiomoczniki były szeroko stosowane w syntezie asymetrycznej (patrz Rozdział 2.3.1), w tym także w reakcji Betti'ego (patrz Rozdział 2.4), dwufunkcyjne chiralne tiosquaramidy znalazły zastosowanie jedynie w addycji Michaela<sup>193,201,202,204,205</sup>, asymetrycznej reakcji tandemowej Michaela–Henry'ego<sup>203</sup> i addycji lawsonu do  $\beta$ -,  $\gamma$ -nienasyconego  $\alpha$ -ketoestru<sup>191</sup>. Stanowiło to dodatkową motywację do kontynuowania prac w tej tematyce.

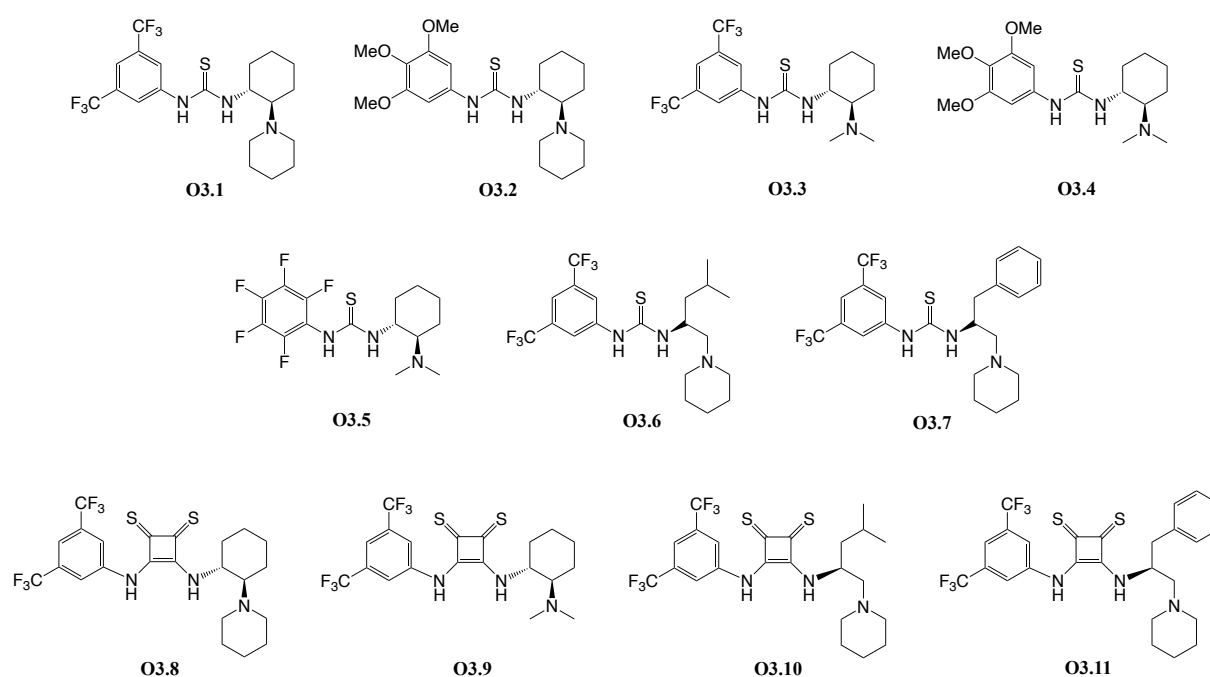
<sup>268</sup> R. Iftikhar, M. Kamran, A. Iftikhar, S. Parveen, N. Naeem, N. Jamil, *Mol. Divers.* **2023**, *27*, 543.

<sup>269</sup> A. R. Chaudhary, P. Yadav, A. V. Bedekar, *Tetrahedron Asymmetry* **2014**, *25*, 767.

<sup>270</sup> X. Wang, J. Dong, J. Sun, X. Xu, R. Li, Y. Hu, *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 1897.

<sup>271</sup> T. Rigotti, P. Righi, E. Marotta, C. Paolucci, *ChemistrySelect* **2016**, *1*, 2624.

Do badań wybrałam siedem organokatalizatorów tiomocznikowych **O3.1-O3.7**, spośród których dwa były związkami nowymi, nieopisanymi w literaturze chemicznej (**O3.2** i **O3.5**), natomiast dwufunkcyjny katalizator Takemoto **O3.3** był dostępny w handlu. Ponadto wybrałam cztery organokatalizatory tiosquaramidowe **O3.8-O3.11**, spośród których dwa były dotąd nieznanne w literaturze (**O3.10** i **O3.11**) (Rysunek 3.1). Struktury badanych związków zostały zaplanowane tak, abym mogła określić wpływ podstawników przy tioamidowych atomach azotu na przebieg prowadzonych reakcji, jak również aby dawały możliwość porównania reaktywności tych dwóch grup organokatalizatorów. Ponadto, wszystkie zaproponowane do badań organokatalizatory posiadały funkcję 3° aminy w takiej samej odległości od jednego z tioamidowych atomów azotu, aby zapewnić skuteczne kompleksowanie z substratami.



**Rysunek 3.1.** Organokatalizatory tiomocznikowe i tiosquaramidowe badane w reakcji Betti'ego.

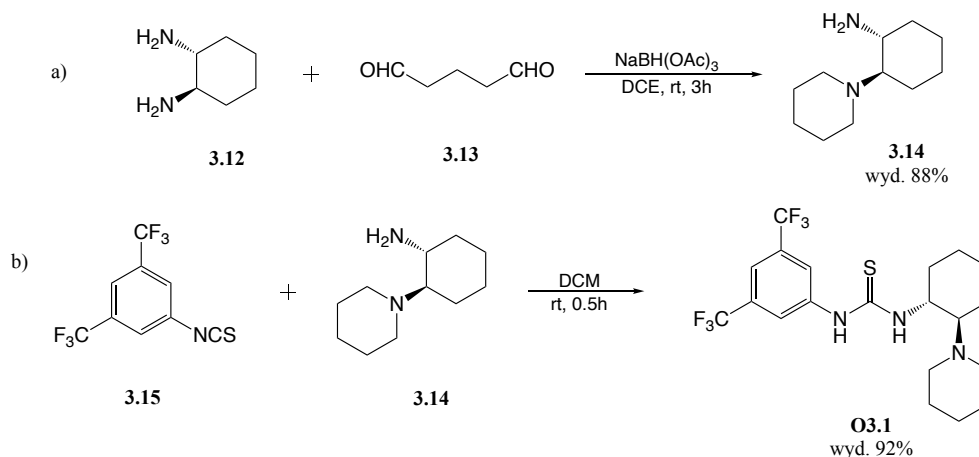
Dwufunkcyjne organokatalizatory tiomocznikowe otrzymałam w jednoetapowej reakcji, według znanej procedury literaturowej<sup>272,273,274</sup>. Obejmuje ona reakcję handlowo dostępnych izotiocyanianów z uprzednio przygotowanymi aminami, pochodnymi diaminocykloheksanu bądź aminokwasów. Cały proces zachodzi niezwykle szybko (około 30 min.) i prowadzi do pożądanych tiomoczników z wydajnościami niemalże ilościowymi (76-98%) (Schemat 3.1b).

<sup>272</sup> A. R. Choudhury, S. Mukherjee, *Adv. Synth. Catal.* **2013**, 355, 1989.

<sup>273</sup> G.-X. Li, J. Qu, *Chem. Commun.* **2012**, 48, 5518.

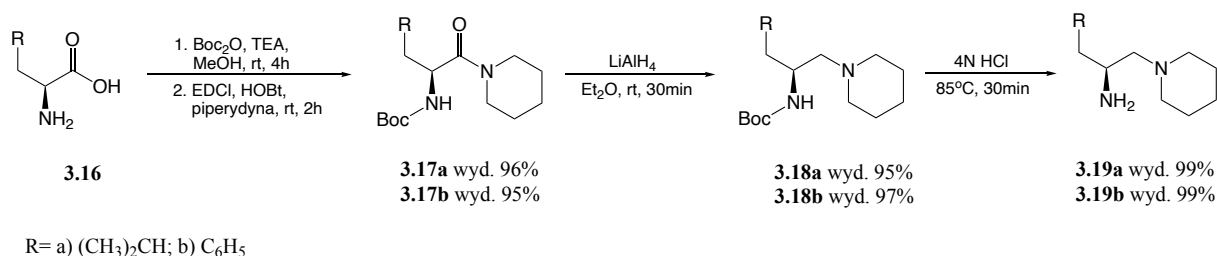
<sup>274</sup> P. Li, Z. Chai, S. Zhao, Y.-Q. Yang, H.-F. Wang, C.-W. Zheng, Y.-P. Cai, G. Zhao, S.-Q. Zhu, *Chem. Commun.* **2009**, 7369.

W syntezie organokatalizatorów **O3.1** i **O3.2** (Rysunek 3.1) stosowałam (1*R*,2*R*)-2-(piperydyn-1-ylo)cykloheksyloaminę (**3.14**) otrzymaną w reakcji (1*R*,2*R*)-1,2-diaminocykloheksanu (**3.12**) z aldehydem glutarowym (**3.13**) w obecności triacetoksyborowodoru sodu (Schemat 3.1) według procedury opracowanej przez Jianga<sup>275</sup>. Z kolei katalizatory **O3.4** i **O3.5** otrzymałam stosując handlowo dostępną (1*R*,2*R*)-*N,N*-dimetylocykloheksylo-1,2-diaminę.



**Schemat 3.1.** a) Synteza (1*R*,2*R*)-2-(piperydyn-1-ylo)cykloheksyloaminy; b) synteza katalizatorów tiomocznikowych na przykładzie katalizatora **O3.1**.

Do syntezy katalizatorów **O3.6** oraz **O3.7** wykorzystywałam aminy, pochodne odpowiednio L-leucyny **3.16a** i L-feniloalaniny **3.16b**. Ich syntezę prowadziłam zgodnie z opisaną wcześniej procedurą<sup>273,276</sup>, według której pierwszy etap obejmował zabezpieczenie grupy aminowej aminokwasu grupą *tert*-butoksykarbonylową, tak aby w kolejnym etapie móc przeprowadzić grupę kwasową w amidową w reakcji z piperydyną w obecności 1-etylo-3-(3-dimetyloamino-propylo)karbodiimidu i 1-hydroksybenzotriazolu (Schemat 3.2). W następnym kroku dokonałam redukcyjnego uwodornienia grupy karbonylowej za pomocą LiAlH<sub>4</sub>, by ostatecznie w warunkach kwasowych odbezpieczyć grupę aminową i otrzymać aminy gotowe do syntezy właściwych organokatalizatorów.

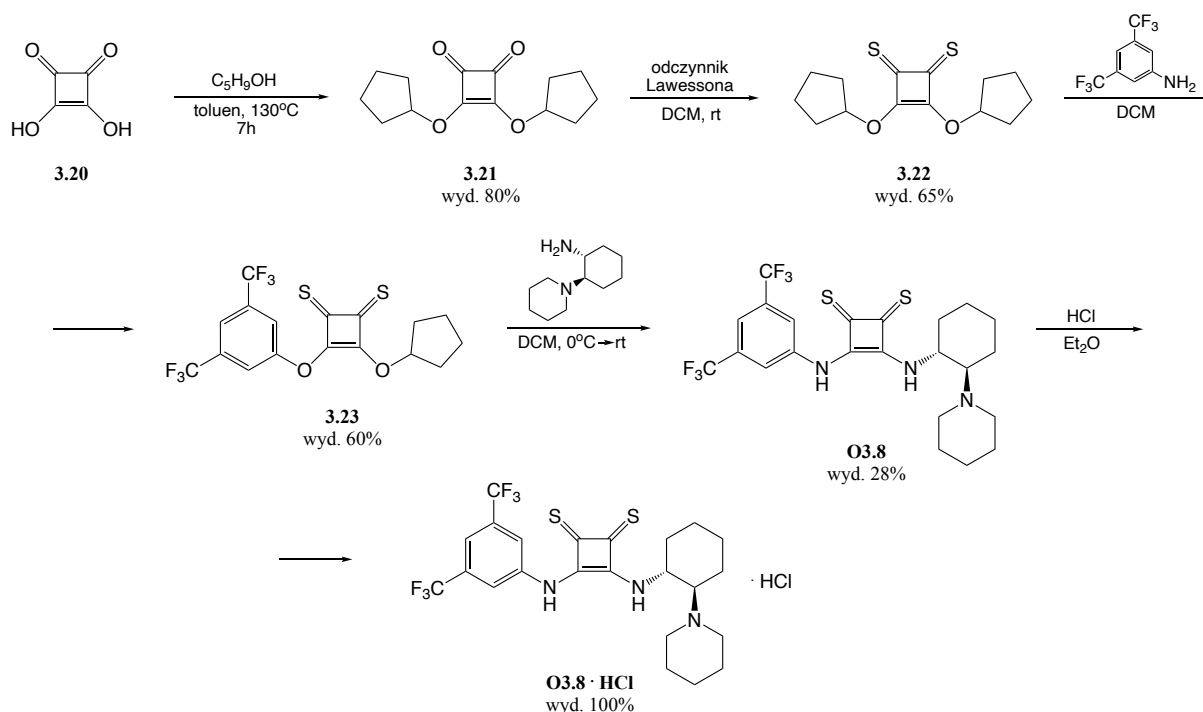


**Schemat 3.2.** Synteza amin pochodnych L-leucyny i L-feniloalaniny.

<sup>275</sup> Z. Jing, X. Bai, W. Chen, G. Zhang, B. Zhu, Z. Jiang, *Org. Lett.* **2016**, *18*, 260.

<sup>276</sup> L. Zhao, G. Raabe, D. Enders, *Synthesis* **2018**, *51*, 1391.

Synteza czterech organokatalizatorów tiosquaramidowych **O3.8–O3.11** posiadających identyczne funkcje aminowe jak katalizatory tiomocznikowe (Rysunek 3.1), okazała się nieco bardziej skomplikowana i wymagała czterech etapów. Związkiem wyjściowym w tak zaplanowanej syntezie był 3,4-dihydroksycyklobut-3-en-1,2-dion (kwas kwadratowy) (**3.20**), który poddałam reakcji estryfikacji z cyklopentanołem według procedury opisanej przez Rawala<sup>191</sup>. Otrzymany squaran dicyklopentylu **3.21**, który jest związkiem o znacznie wyższej stabilności i reaktywności, w reakcji tionowania odczynnikiem Lawessona dawał ditiosquaran dicyklopentylu **3.22**, który okazał się doskonałą bazą do syntezy organokatalizatorów **O3.8–O3.11**<sup>191,193</sup>. Dipodstawiona pochodna tiosquaramidu w kolejnych etapach reagowała z aminami pierwszorzędowymi – najpierw z 3,5-bis(trifluorometylo)aniliną, a następnie z uprzednio zsyntezowaną optycznie czynną aminą posiadającą funkcję trzeciorzędowej aminy, dając pożądane organokatalizatory (Schemat 3.3).

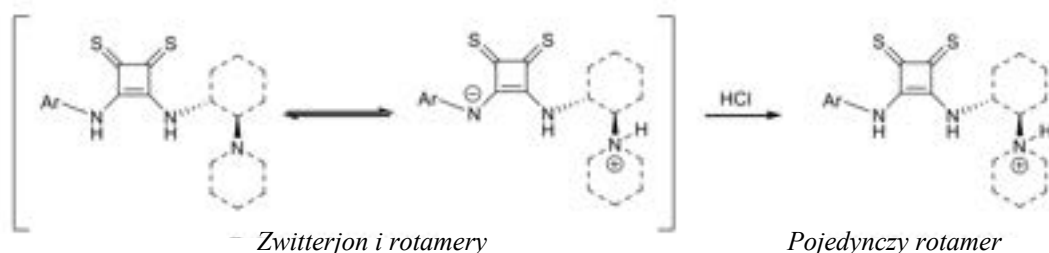


**Schemat 3.3.** Synteza organokatalizatorów tiosquaramidowych na przykładzie katalizatora **O3.8**.

We wszystkich przypadkach ostatni etap syntezy organokatalizatorów tiosquaramidowych przeprowadziłam tradycyjną metodą rozpuszczalnikową, ale także z wykorzystaniem mechanochemii. Warto podkreślić, że zastosowanie młyna kulowego spowodowało znaczny wzrost wydajności chemicznej (nawet o 30%) i czystości otrzymanego produktu, a ponadto ograniczyło stosowanie rozpuszczalników i ułatwiło proces oczyszczania.

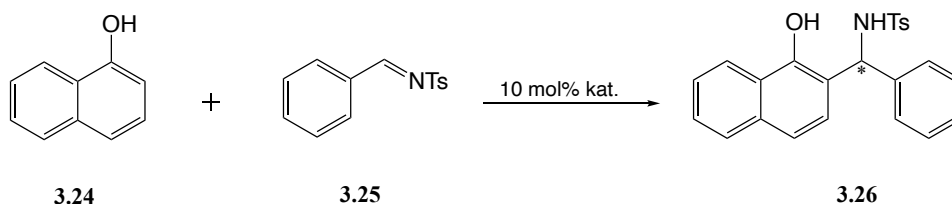
Ze względu na możliwość tworzenia przez dwufunkcyjne tiosquaramidy (szczególnie te posiadające podstawnik aryłowy) rotamerów i form zwitterjonowych (Rysunek 3.2),

przekształcałam je w odpowiednie chlorowodorki, co skutkowało uproszczeniem ich widm, wyostrzeniem wielu sygnałów i umożliwiło identyfikację<sup>191</sup>.



**Rysunek 3.2.** Protonowanie bifunkcyjnych tiosquaramidów.

Aby określić najlepsze warunki prowadzenia reakcji Betti’ego, jako związek testowy wybrałam dwufunkcyjny organokatalizator **O3.1** posiadający zarówno donor wiązań wodorowych jak i ugrupowanie 3°-aminy. Jego aktywność katalityczną zbadalam w modelowej reakcji 1-naftolu (**3.24**) z *N*-tosyloiminą **3.25** w toluenie w temperaturze pokojowej (Schemat 3.4 i Tabela 3.1).



**Schemat 3.4.** Reakcja Betti’ego 1-naftolu (**3.24**) z *N*-tosyloiminą **3.25**.

Pożądany produkt **3.26** wyizolowałam z dobrą wydajnością po 20 godzinach (87%) oraz 65% nadmiarem enancjomerycznym, stosując pięciokrotny nadmiar 1-naftolu w stosunku do iminy oraz 10 mol% katalizatora (Tabela 3.1, poz. 1). Zmiana stosunku molowego 1-naftol : *N*-tosyloimina na 3:1 skutkowała wzrostem wydajności produktu do 98% oraz jego wyższą czystością optyczną ( $ee = 75\%$ ) (Tabela 3.1, poz. 2). Aby poprawić wydajność i stereoselektywność reakcji, przeprowadziłam dalszą optymalizację warunków, badając stosunek molowy użytych substratów, wpływ użytego rozpuszczalnika, temperatury oraz ilości użytego katalizatora (Tabela 3.1). Uzyskane wyniki wykazały, że wybór rozpuszczalnika miał istotny wpływ na efektywność reakcji. Optymalnym wyborem okazał się toluen (Tabela 3.1, poz. 2), natomiast reakcje przeprowadzone w THF, ACN, *o*-ksylenie i DCM powodowały zarówno spadek wydajności jak i enancjoselektywności (Tabela 3.1, poz. 9-12). Badanie ilości użytego organokatalizatora wykazało, że optymalne było zastosowanie 10% molowych katalizatora **O3.1**, podczas gdy 5% molowych i 30% molowych nie skutkowało poprawą indukcji asymetrycznej (Tabela 3.1, poz. 7–8). Zauważalny wpływ na przebieg reakcji testowej miały



także zmiany stosunku molowego substratów, a najlepszym wyborem okazał się 3-krotny nadmiar 1-naftolu w stosunku do iminy (Tabela 3.1, poz. 1-5). Warto zauważyć, że temperatura również oddziaływała na przebieg reakcji – jej obniżenie z temperatury pokojowej do 0°C powodowało niewielki wzrost enancjoselektywności - z 75 do 80% *ee*, z zachowaniem 98% wydajności (Tabela 3.1, poz. 6). Na podstawie przeprowadzonych eksperymentów określiłam optymalne warunki reakcji 1-naftolu (**3.24**) z *N*-tosyloiminą **3.25**. Najlepszym wyborem okazały się: toluen jako rozpuszczalnik, użycie 10% molowych katalizatora **O3.1**, temperatura 0°C i trzykrotny nadmia 1-naftolu w stosunku do iminy (Tabela 3.1, poz. 6). Konfigurację absolutną produktu przypisałam jako (*S*) na podstawie porównania wartości skręcalności optycznej wyizolowanego produktu z danymi literaturowymi<sup>272,277</sup>.

**Tabela 3.1.** Optymalizacja warunków reakcji Betti’ego 1-naftolu (**3.24**) z *N*-tosyloiminą **3.25** katalizowanej tiomocznikiem **O3.1**.

| Lp. | 1-naftol<br>(ekwiw.) | <i>N</i> -tosyloimina<br>(ekwiw.) | mol% kat. | Rozp.            | Temp.<br>[°C] | Wyd.<br>[%] <sup>1</sup> | <i>ee</i> [%] <sup>2</sup><br>(Konf.) <sup>3</sup> |
|-----|----------------------|-----------------------------------|-----------|------------------|---------------|--------------------------|----------------------------------------------------|
| 1   | 5                    | 1                                 | 10        | toluen           | 20            | 87                       | 68 ( <i>S</i> )                                    |
| 2   | 3                    | 1                                 | 10        | toluen           | 20            | 98                       | 75 ( <i>S</i> )                                    |
| 3   | 1.5                  | 1                                 | 10        | toluen           | 20            | 85                       | 66 ( <i>S</i> )                                    |
| 4   | 1                    | 1.5                               | 10        | toluen           | 20            | 80                       | 66 ( <i>S</i> )                                    |
| 5   | 1                    | 3                                 | 10        | toluen           | 20            | 92                       | 66 ( <i>S</i> )                                    |
| 6   | 3                    | 1                                 | 10        | toluen           | 0             | 98                       | 80 ( <i>S</i> )                                    |
| 7   | 3                    | 1                                 | 5         | toluen           | 20            | 85                       | 68 ( <i>S</i> )                                    |
| 8   | 3                    | 1                                 | 30        | toluen           | 20            | 80                       | 60 ( <i>S</i> )                                    |
| 9   | 3                    | 1                                 | 10        | THF              | 20            | 20                       | 46 ( <i>S</i> )                                    |
| 10  | 3                    | 1                                 | 10        | ACN              | 20            | 35                       | 44 ( <i>S</i> )                                    |
| 11  | 3                    | 1                                 | 10        | <i>o</i> -ksylen | 20            | 94                       | 68 ( <i>S</i> )                                    |
| 12  | 3                    | 1                                 | 10        | DCM              | 20            | 70                       | 64 ( <i>S</i> )                                    |

Warunki reakcji: 1-naftol (0.15 mmol, 3 ekwiw.), *N*-tosyloimina (0.05 mmol, 1 ekwiw.), rozpuszczalnik (1 ml), siła molekularne 4 Å, 20 h. <sup>1</sup> Wyizolowany produkt. <sup>2</sup> Oznaczono za pomocą analizy HPLC: Chiralpak AD-H, heksan:PrOH 90:10, 1 ml/min, 235 nm. <sup>3</sup> Określono poprzez porównanie skręcalności właściwej produktu z wartością literaturową<sup>245,246</sup>.

Dysponując zoptymalizowanymi warunkami, dokonałam oceny aktywności pozostałych dwufunkcyjnych organokatalizatorów tiomocznikowych **O3.2–O3.7** w reakcji Betti’ego pomiędzy 1-naftolem a *N*-tosyloiminą (Tabela 3.2, poz. 1–7). Wszystkie testowane organokatalizatory dały oczekiwany produkt z wysoką wydajnością (80–98%) i umiarkowaną do wysokiej enancjoselektywnością (58–80% *ee*). Tiomoczniki **O3.1** oraz **O3.3** (katalizator Takemoto) zawierające odpowiednio fragment piperydylowy bądź dimetyloaminowy oraz podstawnik 3,5-bis(trifluorometylo)fenylowy zapewniły najlepszą wydajność reakcji oraz jej enancjoselektywny przebieg (Tabela 3.2, poz. 1 i 3). Uzyskane wyniki potwierdzają wyższą aktywność katalizatorów tiomocznikowych posiadających przy jednym z atomów azotu grupę aryłową z podstawnikami silnie elektronoakceptorowymi (CF<sub>3</sub>), które poprzez zwiększenie

kwasowości wiązania N-H ułatwiają tworzenie wiązania wodorowego z substratem. Z kolei dwufunkcyjne organokatalizatory **O3.6–O3.7**, pochodne aminokwasów, wykazywały w tej reakcji niższą indukcję asymetryczną (58-60% *ee*, Tabela 3.2, poz. 6–7).

**Tabela 3.2.** Asymetryczna reakcja Betti’ego 1-naftolu (**3.24**) z *N*-tosyloiminą **3.25** katalizowana tiomocznikami **O3.1–O3.7** i tiosquaramidami **O3.8–O3.11**.

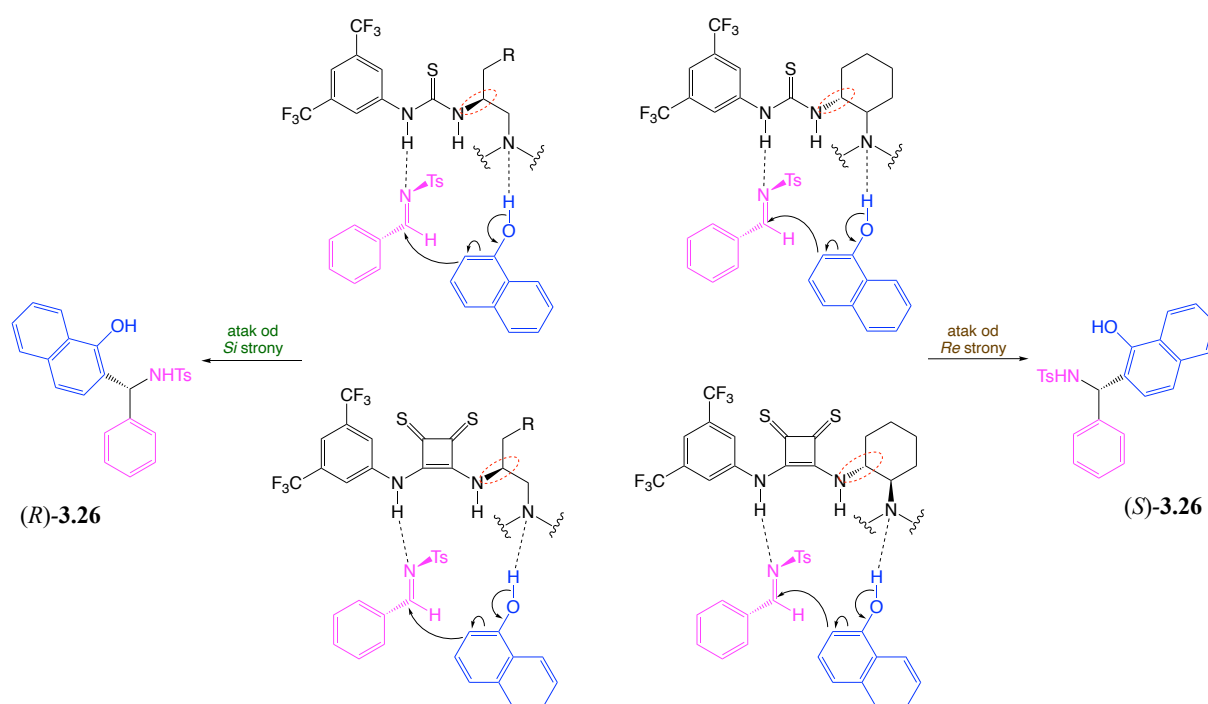
| Lp. | Katalizator      | Wyd. [%] <sup>1</sup> | <i>ee</i> [%] <sup>2</sup> (Konf.) <sup>3</sup> |
|-----|------------------|-----------------------|-------------------------------------------------|
| 1   | <b>O3.1</b>      | 98                    | 80 ( <i>S</i> )                                 |
| 2   | <b>O3.2</b>      | 86                    | 50 ( <i>S</i> )                                 |
| 3   | <b>O3.3</b>      | 98                    | 68 ( <i>S</i> )                                 |
| 4   | <b>O3.4</b>      | 93                    | 62 ( <i>S</i> )                                 |
| 5   | <b>O3.5</b>      | 95                    | 64 ( <i>S</i> )                                 |
| 6   | <b>O3.6</b>      | 80                    | 58 ( <i>R</i> )                                 |
| 7   | <b>O3.7</b>      | 98                    | 60 ( <i>R</i> )                                 |
| 8   | <b>O3.8</b>      | 75                    | 56 ( <i>S</i> )                                 |
| 9   | <b>O3.8</b> HCl  | 53                    | 40 ( <i>S</i> )                                 |
| 10  | <b>O3.9</b>      | 80                    | 42 ( <i>S</i> )                                 |
| 11  | <b>O3.9</b> HCl  | 30                    | 30 ( <i>S</i> )                                 |
| 12  | <b>O3.10</b>     | 70                    | 20 ( <i>R</i> )                                 |
| 13  | <b>O3.10</b> HCl | 45                    | 16 ( <i>R</i> )                                 |
| 14  | <b>O3.11</b>     | 72                    | 36 ( <i>R</i> )                                 |
| 15  | <b>O3.11</b> HCl | 50                    | 28 ( <i>R</i> )                                 |

Warunki reakcji: 1-naftol (0.15 mmol, 3 ekwiw.), *N*-tosyloimina (0.05 mmol, 1 ekwiw.), 10 mol% kat., toluen (1 ml), sita molekularne 4 Å, 0°C, 20 h. <sup>1</sup> Wyizolowany produkt. <sup>2</sup> Oznaczono za pomocą analizy HPLC: Chiralpak AD-H, heksan:iPrOH 90:10, 1 ml/min, 235 nm. <sup>3</sup> Określono poprzez porównanie skręcalności właściwej produktu z wartością literaturową<sup>245,246</sup>.

Organokatalizatory tiosquaramidowe **O3.8–O3.11**, użyte po raz pierwszy w reakcji Betti’ego, katalizowały reakcję skutecznie, choć dawały niższe wydajności i wartości *ee* (Tabela 3.2, poz. 8–15). Organokatalizatory **O3.8–O3.9** zawierające ugrupowanie ((1*R*,2*R*)-2-(dimetyloamino)cykloheksylo)aminowe lub ((1*R*,2*R*)-2-(piperydyn-1-ylo)cykloheksylo)-aminowe dawały głównie (*S*)-produkt, podczas gdy te niezawierające tych ugrupowań przeciwny enancjomer **3.26**. Podobną zależność zaobserwowano dla tiomoczników **O3.1–O3.7**. Należy również zwrócić uwagę na wyższą aktywność tiosquaramidów **O3.8–O3.11** (Tabela 3.2, poz. 8, 10, 12 i 14) w porównaniu do ich chlorowodorków (Tabela 3.2, poz. 9, 11, 13 i 15).

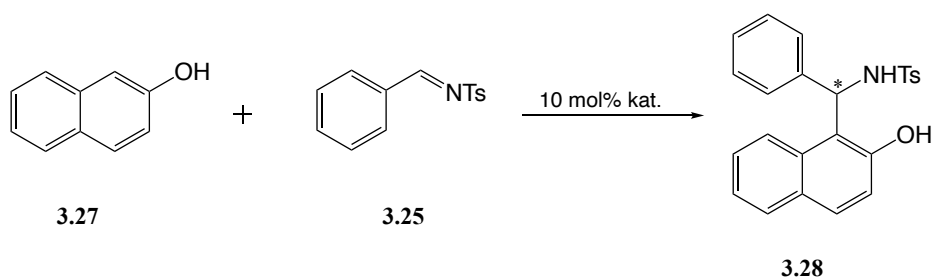
Aby zracjonalizować stereochemiczny wynik reakcji, na Schemacie 3.5 zaproponowałam podwójną aktywację dla katalizowanej tiomocznikiem i tiosquaramidem asymetrycznej reakcji Betti’ego 1-naftolu (**3.24**) z *N*-tosyloiminą **3.25**. W oparciu o wcześniejsze doniesienia literaturowe<sup>78,79,80,232</sup> i obserwowaną stereochemię reakcji, można zaproponować stan przejściowy obejmujący trójskładnikowy kompleks pomiędzy katalizatorem i substratami. Zarówno katalizatory tiomocznikowe, jak i tiosquaramidowe wspomagają reakcję w dwojaki

sposób: aktywując *N*-tosyloiminę poprzez utworzenie wiązania wodorowego z ugrupowaniem tiomocznikowym/tiosquaramidowym, a także zwiększając nukleofilowość 1-naftolu poprzez oddziaływanie z fragmentem trzeciorzędowej aminy. Jak pokazałam na Schemacie 3.5, konfiguracja produktu jest zależna od konfiguracji absolutnej atomu węgla przy tioamidowym atomie azotu ugrupowania tiomocznikowego lub tiosquaramidowego. W przypadku organokatalizatorów **03.1-03.5** i **03.8-03.9** aktywowany 1-naftol jest zdolny do ataku nukleofilowego z pozycji C2 na *Re* stronę iminy, dając w rezultacie enancjomer *S* produktu. Natomiast dla organokatalizatorów **03.6-03.7** i **03.10-03.11** o przeciwnej konfiguracji absolutnej preferowany jest atak nukleofila na stronę *Si* iminy, co prowadzi do (*R*)-**3.26**.



**Schemat 3.5.** Proponowany model podwójnej aktywacji w asymetrycznej reakcji Betti'ego pomiędzy 1-naftolem i *N*-tosyloiminą katalizowanej przez tiomoczniki i tiosquaramidy.

Aby wykazać wszechstronność organokatalizatorów **03.1–03.11** w asymetrycznej reakcji Betti'ego przeprowadziłam badania z innymi iminami i naftolami (Tabele 3.3–3.7). Optymalizacja warunków reakcji 2-naftolu (**3.27**) z *N*-tosyloiminą **3.25** (Schemat 3.6), prowadzona w obecności tiomocznika **03.1** wykazała, że zastosowanie substratów w stosunku molowym naftol : imina = 3:1, 10% molowych **03.1** w toluenie, w temperaturze 0°C jest optymalne dla tej transformacji i prowadzi do chiralnego produktu **3.28** z wydajnością 98% i 54% nadmiarem enancjomerycznym (Tabela 3.3, poz. 2).



**Schemat 3.6.** Reakcja Betti’ego 2-naftolu (**3.27**) z *N*-tosyloiminą **3.25**.

**Tabela 3.3.** Optymalizacja warunków reakcji Betti’ego 2-naftolu (**3.27**) z *N*-tosyloiminą **3.25** katalizowanej przez tiomocznik **O3.1**.

| Lp. | 2-naftol<br>(ekwiw.) | <i>N</i> -tosyloimina<br>(ekwiw.) | mol% kat. | Temp.<br>[°C] | Wyd. [%] <sup>1</sup> | <i>ee</i> [%] <sup>2</sup><br>(Konf.) <sup>3</sup> |
|-----|----------------------|-----------------------------------|-----------|---------------|-----------------------|----------------------------------------------------|
| 1   | 5                    | 1                                 | 10        | 0             | 90                    | 34 ( <i>S</i> )                                    |
| 2   | 3                    | 1                                 | 10        | 0             | 98                    | 54 ( <i>S</i> )                                    |
| 3   | 3                    | 1                                 | 10        | 20            | 95                    | 24 ( <i>S</i> )                                    |
| 4   | 1.5                  | 1                                 | 10        | 0             | 85                    | 24 ( <i>S</i> )                                    |
| 5   | 3                    | 1                                 | 5         | 0             | 90                    | 52 ( <i>S</i> )                                    |
| 6   | 3                    | 1                                 | 30        | 0             | 87                    | 42 ( <i>S</i> )                                    |

Warunki reakcji: 2-naftol (0.15 mmol, 3 ekwiw.), *N*-tosyloimina (0.05 mmol, 1 ekwiw.), toluen (1 ml), sita molekularne 4 Å, 20 h. <sup>1</sup> Wyizolowany produkt. <sup>2</sup> Oznaczono za pomocą analizy HPLC: Chiralpak OD-H, heksan:*i*PrOH 94:6, 1 ml/min, 235 nm. <sup>3</sup> Określono poprzez porównanie skręcalności właściwej produktu z wartością literaturową<sup>228,232</sup>.

W kolejnym etapie postanowiłam poddać reakcji 2-naftol (**3.27**) z iminą **3.25** w obecności pozostałych organokatalizatorów **O3.2–O3.11** (Tabela 3.4). Wszystkie testowane dwufunkcyjne tiomoczniki **O3.1–O3.7** dały produkt **3.28** z wysokimi wydajnościami (65–98%), ale z niskimi nadmiarami enancjomerycznymi (6–61% *ee*, Tabela 3.4, poz. 1–7).

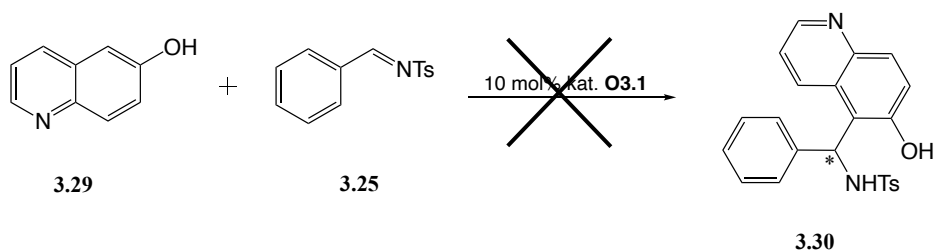
**Tabela 3.4.** Asymetryczna reakcja Betti’ego 2-naftolu (**3.27**) z *N*-tosyloiminą **3.25** katalizowana tiomocznikami **O3.1–O3.7** i tiosquaramidami **O3.8–O3.11**.

| Lp. | Katalizator       | Wyd. [%] <sup>1</sup> | <i>ee</i> [%] <sup>2</sup> (Konf.) <sup>3</sup> |
|-----|-------------------|-----------------------|-------------------------------------------------|
| 1   | <b>O3.1</b>       | 98                    | 54 ( <i>S</i> )                                 |
| 2   | <b>O3.2</b>       | 65                    | 34 ( <i>S</i> )                                 |
| 3   | <b>O3.3</b>       | 78                    | 26 ( <i>R</i> )                                 |
| 4   | <b>O3.4</b>       | 95                    | 6 ( <i>S</i> )                                  |
| 5   | <b>O3.5</b>       | 65                    | 6 ( <i>S</i> )                                  |
| 6   | <b>O3.6</b>       | 70                    | 61 ( <i>R</i> )                                 |
| 7   | <b>O3.7</b>       | 70                    | 24 ( <i>R</i> )                                 |
| 8   | <b>O3.8</b>       | 65                    | 71 ( <i>S</i> )                                 |
| 9   | <b>O3.8</b> HCl   | 40                    | 64 ( <i>S</i> )                                 |
| 10  | <b>O3.9</b>       | 50                    | 52 ( <i>S</i> )                                 |
| 11  | <b>O3.9</b> HCl   | 60                    | 56 ( <i>S</i> )                                 |
| 12  | <b>O3.10</b>      | 40                    | 61 ( <i>R</i> )                                 |
| 13  | <b>O3.10</b> HCl  | 25                    | 46 ( <i>R</i> )                                 |
| 14  | <b>O3.11</b>      | 30                    | 48 ( <i>R</i> )                                 |
| 15  | <b>O3.11</b> -HCl | 30                    | 46 ( <i>R</i> )                                 |

Warunki reakcji: 2-naftol (0.15 mmol, 3 ekwiw.), *N*-tosyloimina (0.05 mmol, 1 ekwiw.), 10 mol% kat., toluen (1 ml), sita molekularne 4 Å, 0°C, 20 h. <sup>1</sup> Wyizolowany produkt. <sup>2</sup> Oznaczono za pomocą analizy HPLC: Chiralpak OD-H, heksan:*i*PrOH 94:6, 1 ml/min, 235 nm. <sup>3</sup> Określono poprzez porównanie skręcalności właściwej produktu z wartością literaturową<sup>228,232</sup>.

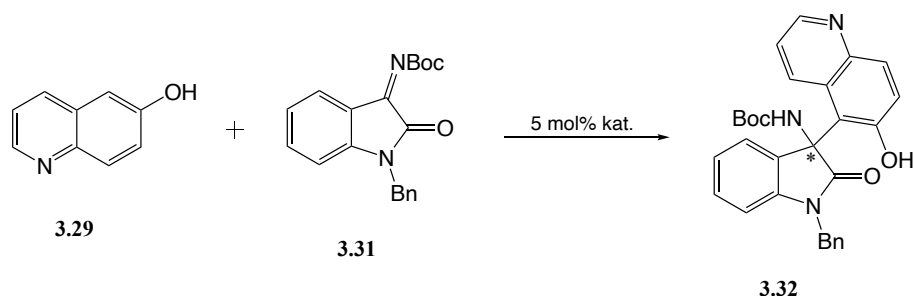
Uzyskane wyniki wskazują, że organokatalizatory typu Takemoto **O3.1–O3.5** są mniej skuteczne w tej transformacji, natomiast wszystkie dwufunkcyjne tiosquaramidy **O3.8–O3.11** i ich chlorowodorki nieznacznie poprawiały indukcję asymetryczną (Tabela 4, poz. 8–15). Chociaż wydajności reakcji katalizowanych przez tiosquaramidy były niskie w porównaniu z tiomocznikami, to wartości *ee* były wyższe (46–71% *ee*). Niemniej jednak jest to pierwszy przykład zastosowania organokatalizatorów tiosquaramidowych w reakcji Betti’ego 2-naftolu (**3.27**) z iminą **3.25**. Warto również zwrócić uwagę na ich wyższą aktywność katalityczną w reakcji 2-naftolu w porównaniu z 1-naftolem (Tabela 3.2 vs. Tabela 3.4).

W kolejnym etapie badań postanowiłam sprawdzić efektywność tiomocznika **O3.1** w reakcji *N*-tosyloiminy **3.25** z 6-hydroksychinoliną (**3.29**) jako nukleofilem (Schemat 3.7). Niestety pomimo wielu podjętych prób nie udało mi się uzyskać pożądanego produktu.



**Schemat 3.7.** Reakcja Betti’ego 6-hydroksychinoliny (**3.29**) z *N*-tosyloiminą **3.25**.

Bazując na doniesieniach literaturowych postanowiłam 6-hydroksychinolinę (**3.29**) poddać reakcji z *N*-Boc-ketiminą - pochodną izatyny **3.31** (Schemat 3.8, Tabela 3.5). Pierwszą testową reakcję przeprowadziłam w warunkach opracowanych dla tej transformacji przez Pedro<sup>254</sup>. Tiomocznik **O3.1** (5 mol%) katalizował reakcję prowadzoną w toluenie, dając po 48 godzinach regioselektywnie alkilowany w pozycji C-5 chiralny produkt **3.32** z wydajnością 68% i dobrym nadmiarem enancjomerycznym sięgającym 76% (Tabela 3.5, poz. 1). Gdy temperaturę reakcji obniżyłam do 0°C, obserwowałam wzrost wartości *ee* do 87% (Tabela 3.5, poz. 2). Zmiana rozpuszczalnika na DCM spowodowała natomiast drastyczny spadek wydajności i selektywności reakcji (Tabela 3.5, poz. 3). Badałam także wpływ ilości użytego katalizatora na wynik reakcji. Wykazałam, że optymalne było zastosowanie 5% molowych katalizatora **O3.1**, podczas gdy 10 i 30 mol% nie skutkowało zwiększeniem indukcji asymetrycznej (Tabela 3.5, poz. 4–5).



**Schemat 3.8.** Reakcja Betti’ego 6-hydroksychinoliny (**3.29**) z *N*-Boc-ketiminą **3.31**.

**Tabela 3.5.** Optymalizacja warunków reakcji Betti’ego 6-hydroksychinoliny (**3.29**) z *N*-Boc-ketiminą **3.31** katalizowanej tiomocznikiem **O3.1**.

| Lp. | mol% kat. | Rozp.  | Temp. [°C] | Wyd. [%] <sup>1</sup> | <i>ee</i> [%] <sup>2</sup><br>(Konf.) <sup>3</sup> |
|-----|-----------|--------|------------|-----------------------|----------------------------------------------------|
| 1   | 5         | toluen | 20         | 68                    | 76 ( <i>S</i> )                                    |
| 2   | 5         | toluen | 0          | 60                    | 87 ( <i>S</i> )                                    |
| 3   | 5         | DCM    | 20         | 45                    | 26 ( <i>S</i> )                                    |
| 4   | 10        | toluen | 20         | 65                    | 50 ( <i>S</i> )                                    |
| 5   | 30        | toluen | 20         | 60                    | 71 ( <i>S</i> )                                    |

Warunki reakcji: 6-hydroksychinolina (0.1 mmol, 1 ekwiw.), ketimina (0.1 mmol, 1 ekwiw.), rozpuszczalnik (1 ml), sita molekularne 4 Å, 48 h. <sup>1</sup> Wyizolowany produkt. <sup>2</sup> Oznaczono za pomocą analizy HPLC: Chiralpak AD-H, heksan:*i*PrOH 80:20, 1 ml/min, 254 nm. <sup>3</sup> Określono poprzez porównanie skręcalności właściwej produktu z wartością literaturową<sup>254</sup>.

Następnie, w zoptymalizowanych warunkach zbadalam aktywność pozostałych katalizatorów (Tabela 3.6). Tiomocznik **O3.3** okazał się najbardziej efektywny pod względem enancjoselektywności ze wszystkich badanych organokatalizatorów tiomocznikowych typu Takemoto (92% *ee*), choć prowadził do produktu **3.32** jedynie z 65% wydajnością (Tabela 3.6,

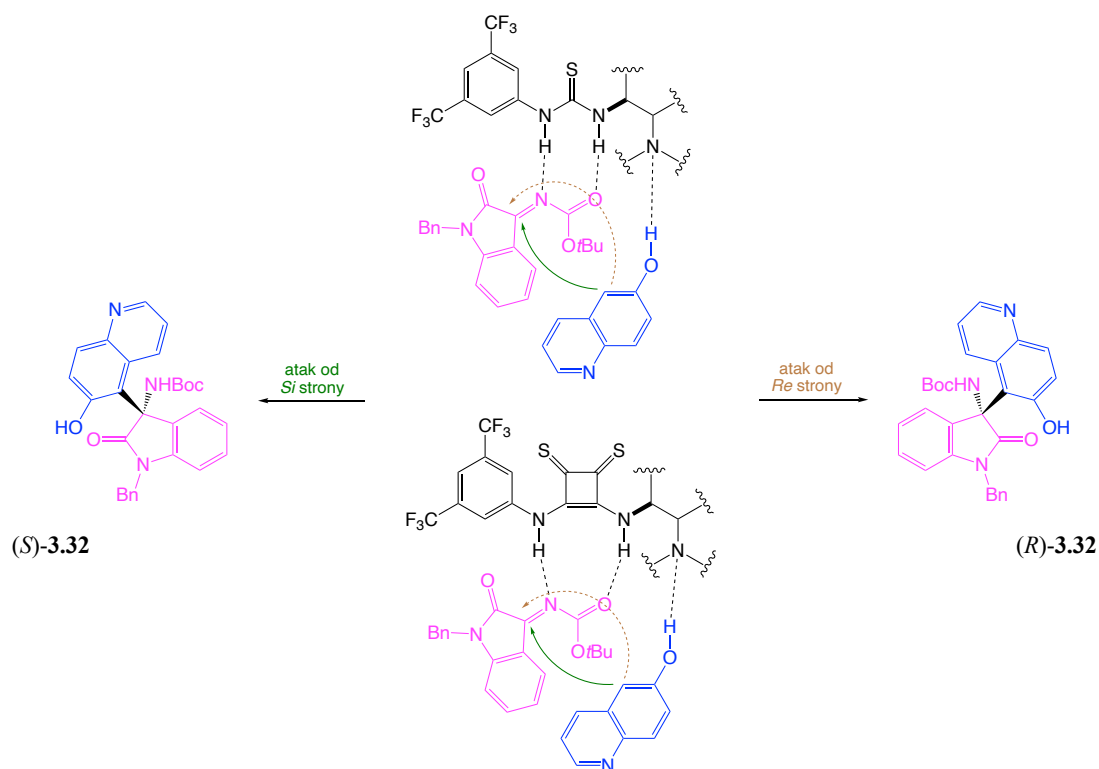
poz. 1–6). Tiomoczniki **O3.6** i **O3.7**, nie zawierające podsawnika cykloheksyloaminowego, okazały się bardziej skuteczne w tych warunkach (Tabela 3.6, poz. 7–9). Najlepsze wyniki – wydajność 75% i 98% *ee* otrzymałam prowadząc reakcję w temperaturze 0°C. Zarówno tiosquaramidy **O3.8-O3.11**, jak i ich chlorowodorki wykazywały bardzo niską aktywność katalityczną (Tabela 3.6, poz. 10-17), chociaż chinino-squaramidy w tych warunkach zapewniały doskonałą enancjoselektywność, o czym dososili Pedro<sup>254</sup> i Tanyeli<sup>265</sup>.

**Tabela 3.6.** Asymetryczna reakcja Betti’ego 6-hidroksychinoliny (**3.29**) z *N*-Boc-ketiminą **3.31** katalizowana tiomocznikami **O3.1-O3.7** i tiosquaramidami **O3.8-O3.11**.

| Lp. | Katalizator      | Temp. [°C] | Wyd. [%] <sup>1</sup> | <i>ee</i> [%] <sup>2</sup> (Konf.) <sup>3</sup>      |
|-----|------------------|------------|-----------------------|------------------------------------------------------|
| 1   | <b>O3.1</b>      | 20         | 68                    | 76 ( <i>S</i> )                                      |
| 2   | <b>O3.1</b>      | 0          | 60                    | 87 ( <i>S</i> )                                      |
| 3   | <b>O3.2</b>      | 20         | 55                    | 66 ( <i>S</i> )                                      |
| 4   | <b>O3.3</b>      | 20         | 65                    | 92 ( <i>S</i> ) [Lit. <sup>254</sup> <i>ee</i> =93%] |
| 5   | <b>O3.4</b>      | 20         | 55                    | 74 ( <i>S</i> )                                      |
| 6   | <b>O3.5</b>      | 20         | 68                    | 66 ( <i>R</i> )                                      |
| 7   | <b>O3.6</b>      | 20         | 68                    | 76 ( <i>R</i> )                                      |
| 8   | <b>O3.7</b>      | 20         | 78                    | 90 ( <i>R</i> )                                      |
| 9   | <b>O3.7</b>      | 0          | 75                    | 98 ( <i>R</i> )                                      |
| 10  | <b>O3.8</b>      | 20         | 50                    | 8 ( <i>R</i> )                                       |
| 11  | <b>O3.8</b> HCl  | 20         | 35                    | 12 ( <i>R</i> )                                      |
| 12  | <b>O3.9</b>      | 20         | 50                    | 12 ( <i>S</i> )                                      |
| 13  | <b>O3.9</b> HCl  | 20         | 40                    | 14 ( <i>S</i> )                                      |
| 14  | <b>O3.10</b>     | 20         | 65                    | 2 ( <i>R</i> )                                       |
| 15  | <b>O3.10</b> HCl | 20         | 45                    | 6 ( <i>R</i> )                                       |
| 16  | <b>O3.11</b>     | 20         | 65                    | 10( <i>R</i> )                                       |
| 17  | <b>O3.11</b> HCl | 20         | 40                    | 2 ( <i>R</i> )                                       |

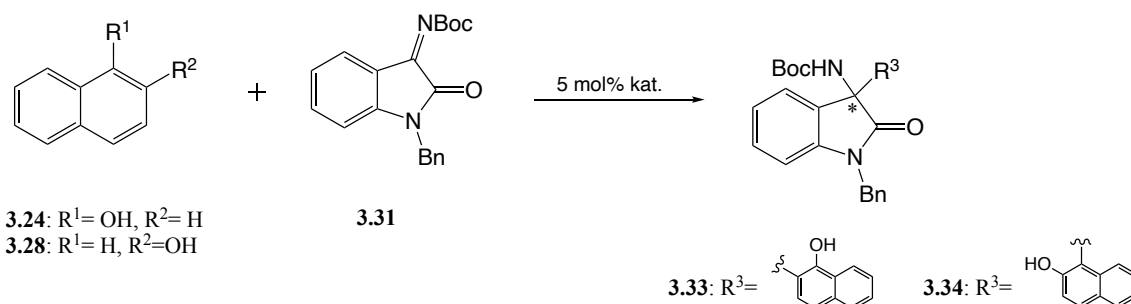
Warunki reakcji: 6-hidroksychinolina (0.1 mmol, 1 ekwiw.), ketimina (0.1 mmol, 1 ekwiw.), 5 mol% kat., toluen (1 ml), sita molekularne 4 Å, 48 h. <sup>1</sup> Wyizolowany produkt. <sup>2</sup> Oznaczono za pomocą analizy HPLC: Chiralpak AD-H, heksan:*i*PrOH 80:20, 1 ml/min, 254 nm. <sup>3</sup> Określono poprzez porównanie skręcalności właściwej produktu z wartością literaturową<sup>254</sup>.

Biorąc pod uwagę uzyskane wyniki, zaproponowałam prawdopodobny stan przejściowy dla powyższej przemiany (Schemat 3.9). Dwufunkcyjne organokatalizatory odpowiadają za preorientację i jednoczesną aktywację elektrofila poprzez ugrupowanie tiomocznikowe/tiosquaramidowe będące donorem wiązania wodorowego oraz wzmocnienie nukleofilowości 6-hidroksychinoliny przez ugrupowanie trzeciorzędowej aminy katalizatora<sup>254,255,265</sup>. Generalnie atak nukleofilowa z pozycji C-5 6-hidroksychinoliny na stronę *Si* ketiminy skutkuje konfiguracją *S* produktu w przypadku organokatalizatorów typu Takemoto **O3.1–O3.5** i **O3.9**. Natomiast w reakcjach katalizowanych przez **O3.6-O3.7** i **O3.10-O3.11** strona *Si* ketiminy staje się mniej dostępna i tworzenie izomeru *R* jest uprzywilejowane.



**Schemat 3.9.** Proponowany model podwójnej aktywacji w asymetrycznej reakcji Betti'ego pomiędzy 6-hydroksychinoliną a *N*-Boc-ketiminą katalizowanej tiomocznikami i tiosquaramidami.

Na zakończenie tej części badań przeprowadziłam reakcje naftoli **3.24** i **3.27** z ketiminą **3.31** (Schemat 3.10, Tabela 3.7). Do badań wybrałam tiomocznik **O3.7**, który najlepiej reagował z 6-hydroksychinoliną, oraz jego tiosquaramidowy odpowiednik **O3.11**. Uzyskane wyniki, podobnie jak te otrzymane w reakcji 6-hydroksychinoliny **3.29** z ketiminą **3.31**, wykazały wyższą aktywność tiomocznika **O3.7** w porównaniu do tiosquaramidu **O3.11** (Tabela 3.7). 3-Podstawione-3-amino-2-oksindole **3.33** i **3.34** otrzymałam z umiarkowaną wydajnością (53 i 49%, odpowiednio) oraz 78 i 46% nadmiarem enancjomerycznym w obecności organokatalizatora **O3.7**, podczas gdy tiosquaramid **O3.11** prowadził do otrzymania praktycznie racemicznych produktów.



**Schemat 3.10.** Reakcja Betti'ego 1- i 2-naftolu z *N*-Boc-ketiminą **3.31**.



**Tabela 3.7.** Asymetryczne reakcje Betti’ego pomiędzy 1-naftolem (**3.24**) i 2-naftolem (**3.27**), a *N*-Boc-ketiminą **3.31** katalizowane tiomocznikiem **O3.7** i tiosquaramidem **O3.11**

| Lp. | Naftol      | Katalizator  | Wyd. [%] <sup>1</sup> | ee [%] <sup>2</sup> (Konf.) <sup>3</sup> |
|-----|-------------|--------------|-----------------------|------------------------------------------|
| 1   | <b>3.24</b> | <b>O3.7</b>  | 53                    | 78 ( <i>R</i> )                          |
| 2   | <b>3.24</b> | <b>O3.11</b> | 30                    | 2 ( <i>S</i> )                           |
| 3   | <b>3.27</b> | <b>O3.7</b>  | 49                    | 46 ( <i>R</i> )                          |
| 4   | <b>3.27</b> | <b>O3.11</b> | 33                    | 4 ( <i>S</i> )                           |

Warunki reakcji: naftol (0.1 mmol, 1 ekwiw.), ketimina (0.1 mmol, 1 ekwiw.), 5 mol% kat., toluen (1 ml), sita molekularne 4 Å, 20°C, 48 h. <sup>1</sup> Wyizolowany produkt. <sup>2</sup> Oznaczono za pomocą analizy HPLC: Chiralpak AD-H, heksan:*i*PrOH 80:20, 1.5 ml/min, 254 nm. <sup>3</sup> Określono poprzez porównanie skręcalności właściwej produktu z wartością literaturową<sup>265,266,267,278</sup>.

### 3.2. Homogeniczne organokatalizatory pochodne mocznika, tiomocznika, azirydynylokarbinoli, fosfin i ich tlenków w reakcji Betti'ego

Optycznie czynne aminobenzylonaftole to klasa cząsteczek obecnych w wielu związkach naturalnych i syntetycznych, które charakteryzują się różnorodnymi właściwościami oraz szerokim zakresem zastosowań, o czym wspominałam już w poprzednich rozdziałach pracy.

Obecne metody enancjoselektywnej syntezy zasad Betti'ego opierają się na homogenicznej katalizie przy użyciu dwufunkcyjnych organokatalizatorów, głównie squaramidów i tiomoczników pochodnych chininy i chinidyny oraz katalizatorów typu Takemoto<sup>232,233,254,255,256,265,266,267,277,278</sup>.

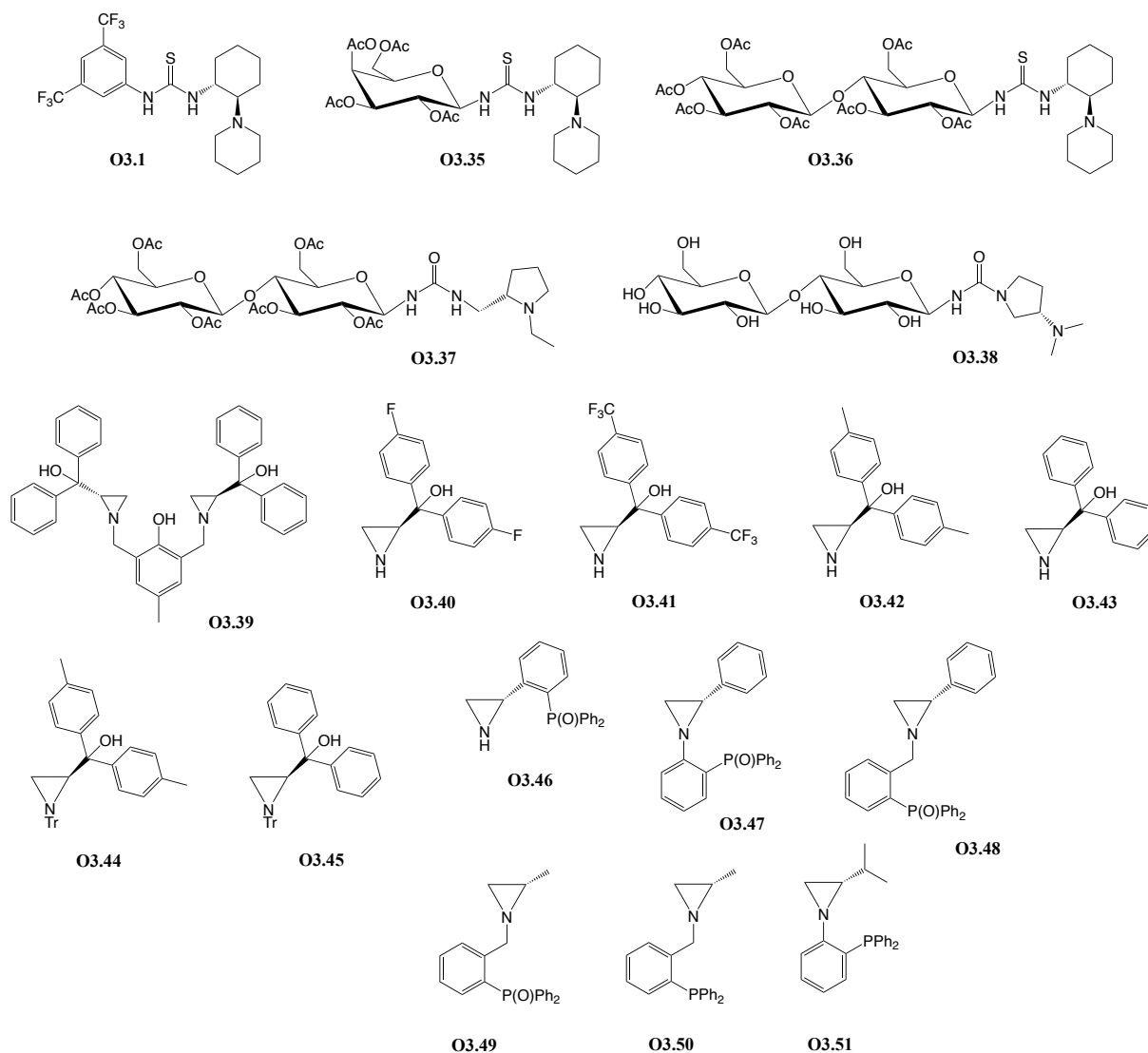
W swoich badaniach postanowiłam sprawdzić aktywność kataliczną innych organokatalizatorów, z powodzeniem od wielu lat stosowanych w Zakładzie Katalizy i Syntezy Organicznej UŁ w szeregu asymetrycznych reakcji. Do badań wybrałam trzy grupy homogenicznych katalizatorów: (1) organokatalizatory tiomocznikowe i mocznikowe zawierające pierścień węglowodanowy, (2) azirydynylokarbinole oraz (3) fosfiny i tlenki fosfin zawierające podjednostkę azirydynową (Rysunek 3.3). Uzyskane wyniki porównałam z uzyskanymi wcześniej dla dwufunkcyjnych chiralnych tiomoczników typu Takemoto<sup>279</sup>.

W poprzednim rozdziale pracy zaprezentowałam dwufunkcyjne organokatalizatory tiomocznikowe i tiosquaramidowe w asymetrycznej reakcji Betti'ego 1- i 2-naftoli z *N*-tosyloiminą. Metoda ta zapewnia bezpośredni dostęp do chiralnych aminoarylonaftoli z doskonałą wydajnością (do 98%) i wysoką enancjoselektywnością (do 80% *ee*). Najlepsze wyniki uzyskałam dla 1-naftolu/*N*-tosyloiminy użytych w stosunku molowym 3:1, w toluenie w obecności 10 mol% katalizatora **O3.1** w temperaturze 0°C (Tabela 3.2, poz. 1). W oparciu o te wyniki postanowiłam przeprowadzić reakcję Betti'ego 1-naftolu z *N*-tosyloiminą przy użyciu tiomoczników **O3.35-O3.36**, moczników **O3.37-O3.38**, azirydyno-2-ylo-metanoli (karbinoli) **O3.39-O3.45**, fosfinoilo-azirydyn **O3.46-O3.49**, oraz fosfino-azirydyn **O3.50-O3.51** w takich samych warunkach (Rysunek 3.3, Tabela 3.8).

<sup>277</sup> G. Liu, Z. Zhang, H. Li, T. Zhang, W. Wang, *Org. Lett.* **2011**, 13, 828.

<sup>278</sup> M. Montesinos-Magraner, C. Vila, R. Cantón, G. Blay, I. Fernández, M. C. Muñoz, J. R. Pedro, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2015**, 54, 6320.

<sup>279</sup> M. Malinowska, A. Zawisza, *Molecules* **2023**, 28, 7835.



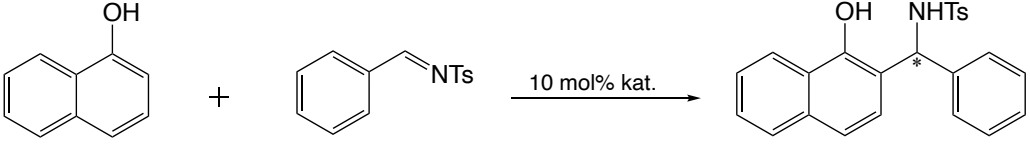
**Rysunek 3.3.** Pochodne tiomoczników, moczników, azirydyno-2-ylometanoli, fosfinoilo-azirydyn i fosfino-azirydyn jako organokatalizatory w reakcji Betti’ego.

Jako pierwsze poddałam badaniom dwufunkcyjne chiralne tiomoczniki **O3.35** i **O3.36** zawierające pierścień cukrowy - odpowiednio pochodną galaktozy i celobiozy. Testowane organokatalizatory dały oczekiwany produkt **3.26** z dobrą wydajnością (70–75%), ale z bardzo niskim nadmiarem enancjomerycznym - tylko 6% *ee* (Tabela 3.8, poz. 2-3). Podobnie, organokatalizatory mocznikowe<sup>280</sup> **O3.37** i **O3.38** wykazały bardzo niską aktywność katalityczną (Tabela 3.8, poz. 4-5). Chociaż zawierały one funkcję trzeciorzędowej aminy wzmacniającą nukleofilowość 1-naftolu (podobnie jak organokatalizator typu Takemoto **O3.1**), to prowadziły do niemal racemicznego produktu. Otrzymane wyniki dowodzą wyższej skuteczności organokatalizatorów mocznikowych i tiomocznikowych zawierających przy

<sup>280</sup> J. Robak, K. Koselak, A. Zawisza, S. Porwański, *Arkivoc* **2020**, VIII, 150.

jednym z atomów azotu grupę arylową z silnie elektronoakceptorowymi grupami, np. CF<sub>3</sub>. W przeciwieństwie do podstawników węglowodanowych, zwiększa ona kwasowość wiązania N-H, co ułatwia tworzenie wiązania wodorowego z substratem (*N*-tosyloiminą) i w konsekwencji skutkuje wyższą enancjoselektywnością całego procesu<sup>78,79,80,232,279</sup>.

**Tabela 3.8.** Asymetryczna reakcja Betti’ego 1-naftolu (**3.24**) z *N*-tosyloiminą **3.25** katalizowana przez tiomoczniki **O3.1**, **O3.35**-**O3.36**, moczniki **O3.37**-**O3.38**, azirydino-2-ylo metanole (karbinole) **O3.39**-**O3.45**, fosfinoilo-azirydiny **O3.46**-**O3.49** oraz fosfino-azirydiny **O3.50**-**O3.51**.

|  |                           |                            |                                          |
|------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|----------------------------|------------------------------------------|
| <b>3.24</b>                                                                        | <b>3.25</b>               | <b>3.26</b>                |                                          |
| Lp.                                                                                | Katalizator               | Wydajność [%] <sup>1</sup> | ee [%] <sup>2</sup> (Konf.) <sup>3</sup> |
| 1                                                                                  | <b>O3.1</b>               | 98                         | 80 ( <i>S</i> )                          |
| 2                                                                                  | <b>O3.35</b>              | 70                         | 6 ( <i>R</i> )                           |
| 3                                                                                  | <b>O3.36</b>              | 75                         | 6 ( <i>R</i> )                           |
| 4                                                                                  | <b>O3.37</b>              | 55                         | 4 ( <i>S</i> )                           |
| 5                                                                                  | <b>O3.38</b>              | 70                         | racemat                                  |
| 6                                                                                  | <b>O3.39</b> <sup>4</sup> | 84                         | 60 ( <i>R</i> )                          |
| 7                                                                                  | <b>O3.40</b> <sup>4</sup> | 69                         | 32 ( <i>S</i> )                          |
| 8                                                                                  | <b>O3.40</b>              | 75                         | 40 ( <i>R</i> )                          |
| 9                                                                                  | <b>O3.41</b>              | 75                         | 34 ( <i>R</i> )                          |
| 10                                                                                 | <b>O3.42</b>              | 73                         | 20 ( <i>R</i> )                          |
| 11                                                                                 | <b>O3.43</b>              | 87                         | 30 ( <i>R</i> )                          |
| 12                                                                                 | <b>O3.44</b>              | 83                         | 4 ( <i>R</i> )                           |
| 13                                                                                 | <b>O3.45</b>              | 86                         | 2 ( <i>R</i> )                           |
| 14                                                                                 | <b>O3.46</b>              | 68                         | 2 ( <i>R</i> )                           |
| 15                                                                                 | <b>O3.47</b>              | 71                         | 6 ( <i>R</i> )                           |
| 16                                                                                 | <b>O3.48</b>              | 70                         | 4 ( <i>R</i> )                           |
| 17                                                                                 | <b>O3.49</b>              | 67                         | racemat                                  |
| 18                                                                                 | <b>O3.50</b>              | 69                         | 8 ( <i>R</i> )                           |
| 19                                                                                 | <b>O3.51</b>              | 58                         | 16 ( <i>R</i> )                          |

Warunki reakcji: 1-naftol (0.015 mmol, 3 ekwiw.), *N*-tosyloimina (0.05 mmol, 1 ekwiw.), 10 mol% kat., toluen (1 ml), sita molekularne 4 Å, 0°C, 20 h. <sup>1</sup>Wyizolowany produkt. <sup>2</sup>Oznaczono za pomocą analizy HPLC, Kromasil AD-H, heksan:iPrOH 90:10, 1 ml/min, 235 nm. <sup>3</sup>Określono poprzez porównanie skręcalności właściwej produktu z wartością literaturową<sup>277,287</sup>.

<sup>4</sup>Użyto dwukleszczowego kompleksu z cynkiem (**O3.39** lub **O3.40**: Et<sub>2</sub>Zn = 1 : 2).

Drugą grupę testowanych organokatalizatorów stanowiły azirydynylokarbinole **O3.39**-**O3.45** (Rysunek 3.3). Pochodne tego typu były z powodzeniem stosowane w naszym zespole

w asymetrycznym arylowaniu aldehydów aromatycznych, epoksydowaniu chalkonu<sup>281</sup> oraz jako odczynnik przesunięcia chemicznego <sup>1</sup>H NMR do enancjoróżnicowania α-racemicznych kwasów karboksylowych zawierających trzecio- lub czwartorzędowe centra stereogeniczne<sup>282</sup>. Szczególnie duże nadzieje pokładałam w katalizatorze **O3.39**, z uwagi na fakt, iż podobny katalizator stosowany przez Hui w reakcji 2-naftolu z *N*-tosyloiminą (patrz str. 71) dawał produkt z wydajnością 90% i 96% *ee* w obecności dwukleszczowego kompleksu cynku (bis-ProFenol : Et<sub>2</sub>Zn = 1 : 2)<sup>228</sup>. Zmiana pierścieni pirolidynowych w katalizatorze Hui (bis-ProFenol) na pierścienie azirydynowe (**O3.39**: bis-AziFenol) skutkowała spadkiem wydajności i selektywności reakcji (Tabela 3.8, poz. 6). Katalizator **O3.39** promował reakcję Betti'ego i prowadził do powstania głównie (*R*)-produktu z wydajnością 84% i 60% *ee*. W kolejnym etapie badań postanowiłam sprawdzić aktywność katalityczną chiralnego azirydyn-2-ylometanolu **O3.40** (Tabela 3.8, poz.7-8). Pierwszy test przeprowadziłam w warunkach opisanych przez Hui<sup>228</sup>, w obecności Et<sub>2</sub>Zn, uzyskując produkt **3.26** z 69 % wydajnością i 32% nadmiarem enancjomerycznym na korzyść enancjomeru *S* (Tabela 3.8, poz. 7). Ta sama reakcja przeprowadzona bez udziału dietylocynku dała chiralny produkt **3.26** z nieco wyższą wydajnością -75% i 40% *ee* na korzyść przeciwnego enancjomeru (Tabela 3.8, poz. 8). W kolejnych próbach zweryfikowałam aktywność katalityczną azirydynylokarbinoli **O3.41-O3.43** różniących się charakterem podstawników w pierścieniach fenyłowych (Tabela 3.8, poz. 9-11). Zaobserwowałam podobną indukcję asymetryczną dla wszystkich przeprowadzonych prób. Chiralny produkt **3.26** otrzymałam z wydajnością 73-87% i 20-34% *ee*, a tworzenie *R*-enancjomeru było preferowane. W tych samych warunkach *N*-trityłowe pochodne okazały się całkowicie nieaktywne. Reakcje z azirydynylokarbinolami **O3.44** i **O3.45** charakteryzowały się dobrymi wydajnościami (odpowiednio 83 i 86%), jednak ich użycie prowadziło do niemal racemicznego produktu (Tabela 3.8, poz. 12-13). Otrzymane wyniki wskazują, że *N*-niezabezpieczona azirydyna jest niezbędna do bardziej efektywnego aktywowania substratów, a co za tym idzie, to enancjoselektywnego przebiegu reakcji.

Ostatnią badaną grupą organokatalizatorów były tlenki fosfin **O3.46-O3.49** oraz fosfiny **O3.50-O3.51** zawierające ugrupowanie azirydynowe. Katalizatory tego typu zostały przygotowane w naszym zespole zgodnie z ze znanymi procedurami<sup>283,284</sup> i znalazły zastosowanie w enancjoselektywnej addycji Michaela<sup>284</sup>, asymetrycznej reakcji Mority-Baylisa-Hillmana<sup>285</sup>, asymetrycznym cyklopropanowaniu Simmonsa-Smitha, addycji dietylocynku do aldehydów<sup>286</sup>, alkilowaniu indoli<sup>287</sup> i reakcji Mannicha<sup>283</sup>. Wyniki uzyskane w reakcji 1-naftolu (**3.24**) z *N*-tosyloiminą **3.25** wyraźnie wskazują, że katalizatory **O3.46-O3.51** są praktycznie nieaktywne w reakcji Betti'ego. Wykazują one bardzo niską aktywność katalityczną i choć dają

<sup>281</sup> S. Jarzyński, G. Utecht, S. Leśniak, M. Rachwalski, *Tetrahedron: Asymmetry* **2017**, 28, 1774.

<sup>282</sup> M. Malinowska, S. Jarzyński, A. M. Pieczonka, M. Rachwalski, S. Leśniak, A. Zawisza, *J. Org. Chem.* **2020**, 85, 11794.

<sup>283</sup> A. Buchcic, A. Zawisza, S. Leśniak, J. Adamczyk, A. M. Pieczonka, M. Rachwalski, *Catalysts* **2019**, 9, 837.

<sup>284</sup> Z. Wujkowska, A. Zawisza, S. Leśniak, M. Rachwalski, *Tetrahedron* **2019**, 75, 230.

<sup>285</sup> A. Buchcic-Szychowska, A. Zawisza, S. Leśniak, M. Rachwalski, *Catalysts* **2022**, 12, 394.

<sup>286</sup> A. Buchcic-Szychowska, J. Adamczyk, L. Marciniak, A. M. Pieczonka, A. Zawisza, S. Leśniak, M. Rachwalski, *Catalysts* **2021**, 11, 968.

<sup>287</sup> A. Buchcic, A. Zawisza, S. Leśniak, M. Rachwalski, *Catalysts* **2020**, 10, 971.

pożądany produkt z dobrą wydajnością (58-71%), to generują maksymalnie 16% nadmiary enancjomeryczne (Tabela 3.8, pozycje 14-19).

Z uwagi na zdecydowanie słabsze rezultaty uzyskane w powyższych próbach, w porównaniu do reakcji prowadzonych w obecności organokatalizatorów typu Takemoto, opisanych w poprzednim rozdziale (Rozdział 3.1), nie badałam aktywności organokatalizatorów **O3.35-O3.51** w reakcji 2-naftolu z *N*-tosyloiminą. Zdecydowałam się jednak zbadać aktywność najbardziej skutecznych organokatalizatorów z każdej z grup **O3.35**, **O3.40** i **O3.51** jako przedstawicieli trzech badanych grup organokatalizatorów, w reakcji 6-hydroksychinoliny (**3.29**) z *N*-Boc-ketiminy **3.31** (Tabela 3.9).

**Tabela 3.9.** Asymetryczna reakcja Betti’ego 6-hydroksychinoliny (**3.29**) z *N*-Boc-ketiminy **3.31** katalizowana przez tiomocznik **O3.35**, azirydynylokarbinol **O3.40** oraz fosfino-azirydynę **O3.51**.

| Lp. | Katalizator  | Wydajność [%] <sup>1</sup> | ee [%] <sup>2</sup> (Konf.) <sup>3</sup> |
|-----|--------------|----------------------------|------------------------------------------|
| 1   | <b>O3.35</b> | 25                         | 18 ( <i>R</i> )                          |
| 2   | <b>O3.40</b> | 21                         | 16 ( <i>R</i> )                          |
| 3   | <b>O3.51</b> | 29                         | racemat                                  |

Warunki reakcji: 6-hydroksychinolina (0.1 mmol, 1 ekwiw.), ketiminy (0.1 mmol, 1 ekwiw.), 5 mol% kat., toluen (1 ml), sita molekularne 4 Å, 48 h. <sup>1</sup> Wyizolowany produkt. <sup>2</sup> Oznaczono za pomocą analizy HPLC: Chiralpak AD-H, heksan:iPrOH 80:20, 1 ml/min, 254 nm. <sup>3</sup> Określono poprzez porównanie skręcalności właściwej produktu z wartością literaturową<sup>277</sup>.

Wszystkie przeprowadzone reakcje prowadziły do produktu **3.32** z niską wydajnością (21-29%). Niewielki nadmiar enancjomeryczny zaobserwowałam jedynie dla reakcji katalizowanej tiomocznikiem z jednostką galaktopiranozową **O3.35** (18% *ee*) oraz azirydynylokarbinolem **O3.40** (16% *ee*). Reakcja prowadzona w obecności fosfino-azirydyny **O3.51** dostarczyła jedynie racemicznego produktu.

### 3.3. Heterogenizacja organokatalizatora tiomocznikowego na porowatych adsorbentach i jego wykorzystanie w syntezie aminobenzylonaftoli (zasad Betti'ego)

Katalizatory homogeniczne, opisywane w poprzednich rozdziałach, zazwyczaj działają w łagodnych warunkach, cechują się wysoką aktywnością i selektywnością, są łatwe do monitorowania za pomocą technik spektroskopowych oraz posiadają łatwe do przekształcenia centra reakcyjne. Najbardziej zaawansowane procesy syntezy organicznej oraz złożone transformacje w dużej mierze opierają się właśnie na katalizie homogenicznej<sup>288</sup>. Mimo iż katalizatory homogeniczne są stosowane w wielu procesach komercyjnych, przemysł chemiczny i farmaceutyczny nadal preferuje heterogeniczne katalizatory, które można łatwiej oddzielić od reagentów i zastosować w kolejnych cyklach reakcyjnych<sup>289</sup>.

Jednym z możliwych sposobów połączenia zalet katalizatorów homogenicznych i heterogenicznych może być trwała adsorpcja katalizatorów homogenicznych na powierzchni porowatych nośników, w taki sposób, aby aktywne centra pozostały dostępne dla reagentów tj. heterogenizacja systemów. Katalizatory heterogeniczne stanowią około 80% katalizatorów stosowanych w przemyśle<sup>290</sup>, są związane z bardziej opłacalnymi i zrównoważonymi procesami przemysłowymi<sup>291,292</sup>. Heterogenizacja układów katalitycznych może również wyeliminować potrzebę kosztownego oczyszczania związków w celu usunięcia śladów katalizatora z produktów końcowych. Takie podejście poprawia bilans ekonomiczny, gdyż z 1g katalizatora można wytworzyć znacznie większą ilość pożądanego produktu, a ponadto można zastosować je do procesów przepływowych lub półprzepływowych. Niestety heterogenizacja bardziej złożonych struktur organicznych na typowych powierzchniach porowatych może być trudna lub nawet niemożliwa do osiągnięcia. Często wymaga wcześniejszej modyfikacji nośników związkami chemicznymi, które wprowadzają dodatkowe grupy funkcyjne lub metale na ich powierzchnię, tworząc nowe centra adsorpcyjne.

Jak dotąd tylko jedna grupa badawcza prowadziła syntezę zasad Betti'ego przy użyciu heterogenicznego układu katalitycznego. W 2020 r. Pedrosa ze współpracownikami donosili, że katalizatory tiomocznikowe pochodne chininy osadzone na nośniku polistyrenowym mogą być odzyskiwane i ponownie używane w wysoce enancjoselektywnej reakcji aza-Friedla-Craftsa z udziałem różnych naftoli i *N*-Boc-ketimin pochodzących z izatyny<sup>266</sup> (więcej szczegółów patrz str. 98-99).

<sup>288</sup> F. Poovan, V. G. Chandrashekar, K. Natte, R. V. Jagadeesh, *Catal. Sci. Technol.* **2022**, 12, 6623.

<sup>289</sup> S. Bhaduri, D. Mukesh, *Homogeneous Catalysis: Mechanisms and Industrial Applications*, 2<sup>nd</sup> Edition, John Wiley & Sons, Inc, **2014**.

<sup>290</sup> B. Cornils, W. A. Herrmann, M. Beller, R. Paciello, *Applied Homogeneous Catalysis with Organometallic Compounds: A Comprehensive Handbook in Four Volumes*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co, KGaA, **2018**.

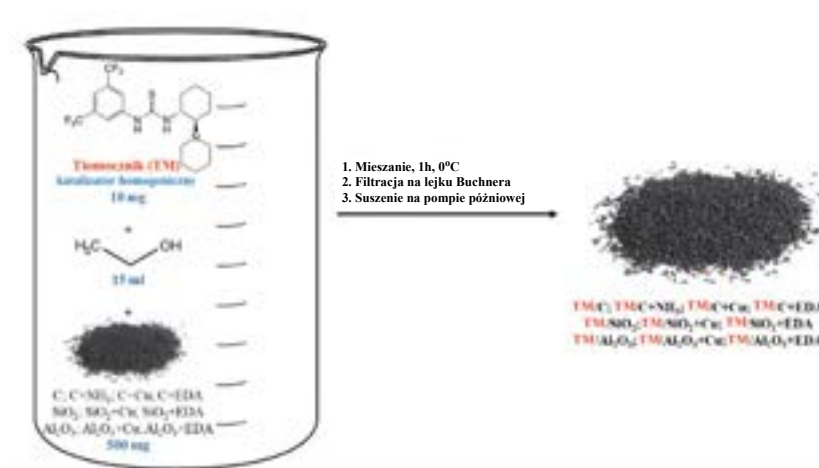
<sup>291</sup> W. Y. Teoh, A. Urakawa, Y. H. Ng, P. Sit, *Heterogeneous Catalysts: Advanced Design, Characterization and Applications*, II WILEY-VCH GmbH, **2021**.

<sup>292</sup> B. Torok, C. Schaefer, A. Kokel, *Heterogeneous Catalysis in Sustainable Synthesis*, Elsevier Inc., **2021**.

Z powyższych powodów postanowiłam podjąć próbę opracowania metody osadzania katalizatora tiomocznikowego **O3.1** na standardowych nośnikach stałych takich jak węgiel, krzemionka, tlenek glinu oraz ich modyfikacjach miedzią, amoniakiem lub etylenodiaminą. Skuteczność osadzania katalizatora na nośniku badałam za pomocą analizy HPLC i FTIR. Aktywność otrzymanych układów obserwowałam w reakcji Betti'ego 1-naftolu z *N*-tosylaminą oraz 6-hydroksychinoliny z ketiminą.

Pierwszy etap badań obejmował osadzenie jednorodnego organokatalizatora tiomocznikowego **O3.1** na komercyjnie dostępnych nośnikach stałych (C, SiO<sub>2</sub>, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>). W tym celu 10 mg (0.02 mmol) tiomocznika **O3.1** rozpuszczałam w 5 ml etanolu, a następnie dodawałam 500 mg odpowiedniej fazy stałej. Całość mieszałam w temperaturze 0°C przez 1h, a następnie otrzymaną zawiesinę sączyłam przez lejek Büchnera z filtrem membranowym MCE. Stały osad zawierający osadzony na nośniku organokatalizator suszyłam na pompie próżniowej, a pozostały roztwór, zarówno przed jak i po adsorpcji, poddałam analizie HPLC.

Zbadałam również, w jaki sposób modyfikacja powierzchni adsorbentów miedzią, amoniakiem lub etylenodiaminą wpływa na adsorpcję katalizatora oraz jego aktywność. Modyfikacja nośników miedzią miała na celu stworzenie dodatkowych centrów adsorpcji na powierzchni, gdzie cząsteczka tiomocznika byłaby adsorbowana przez atom siarki (który nie bierze bezpośrednio udziału w katalizowaniu reakcji Betti'ego)<sup>293,294</sup>. Natomiast modyfikacja za pomocą amoniaku<sup>295</sup> i etylenodiaminy (EDA)<sup>296,297</sup> miała nasycić centra zdolne do wiązania tiomocznika na powierzchniach adsorbentów atomami azotu, które to są katalitycznie aktywne w reakcji, wymuszając tym samym inny sposób wiązania się katalizatora z adsorbentem. Schemat procesu heterogenizacji zamieściłam na Rysunku 3.4.



**Rysunek 3.4.** Schemat osadzania homogenicznego katalizatora tiomocznikowego **O3.1** na nośnikach stałych (heterogenizacja katalizatora tiomocznikowego).

<sup>293</sup> H. Kim, K.-J. Ko, M. Mofarahi, K.-M. Kim, C.-H. Lee, *Chem. Engin. J.* **2023**, 470, 144274.

<sup>294</sup> A. Benbella, H. Jabraoui, I. Matranea, M. Mazrouia, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2023**, 25, 27553.

<sup>295</sup> C. Rodrigues, D. de Moraes, S. W. da Nóbrega, M. G. Barboza, *Bioresource Technology* **2007**, 98, 886.

<sup>296</sup> N. Cai, P. Larese-Casanova, *J. Environ. Chem. Engin.* **2016**, 4, 2941.

<sup>297</sup> L. Shao, C.-H. Lau, T.-S. Chung, *Int. J. Hydrogen Energy* **2009**, 34, 8716.



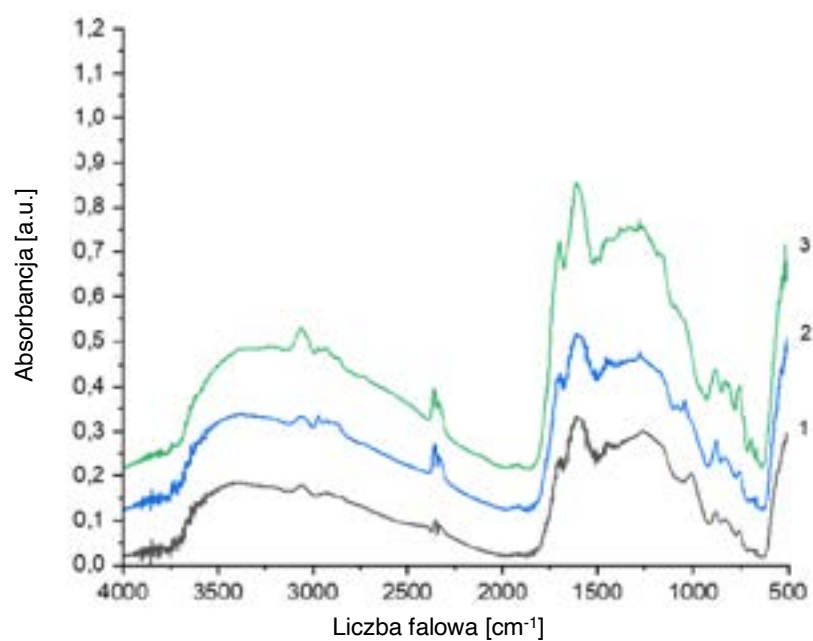
Skuteczność osadzania tiomocznika **O3.1** na nośnikach określiłam na podstawie ilościowej analizy HPLC roztworu początkowego i przesącza po procesie adsorpcji. Zanik sygnału pochodzącego od katalizatora na chromatogramie wskazywał czy i w jakim stopniu został on zaabsorbowany na fazie stałej. Wyniki dla wszystkich nośników zamieściłam w Tabeli 3.10. Jak można zaobserwować, stopień osadzania tiomocznika był niższy w układach zmodyfikowanych etylenodiaminą, niezależnie od zastosowanego adsorbenta. To wyraźnie wskazuje, że tiomocznik, podobnie jak etylenodiamina, wiąże się z powierzchnią nośnika przez atomy azotu. Dlatego też, gdy powierzchnia nośnika jest nasycona etylenodiaminą, liczba centrów na powierzchni adsorbenta zdolnych do wiązania tiomocznika znacząco maleje.

**Tabela 3.10.** Powierzchnie i porowatość adsorbentów oraz zmodyfikowanych adsorbentów stosowanych jako nośniki dla katalizatora tiomocznikowego oraz efektywność jego osadzania.

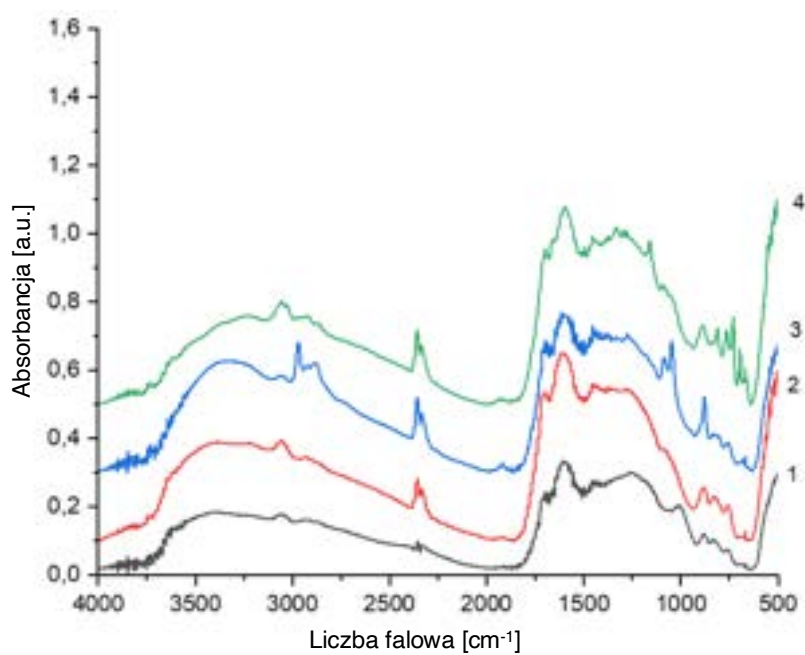
| Adsorbent                                     | Powierzchnia | Średnica porów<br>[nm] | Dominująca<br>średnica kapilary<br>[nm] | Efektywność<br>osadzenia<br>tiomocznika [%] |
|-----------------------------------------------|--------------|------------------------|-----------------------------------------|---------------------------------------------|
| C                                             | 960*         | -                      | -                                       | 100                                         |
| C + NH <sub>3</sub>                           | 600*         | -                      | -                                       | 100                                         |
| C + Cu (5%-wt.)                               | 450*         | -                      | -                                       | 100                                         |
| C + EDA (5%-wt.)                              | 370**        | -                      | -                                       | 90                                          |
| SiO <sub>2</sub>                              | 320**        | 2-5***                 | 4.5***                                  | 100                                         |
| SiO <sub>2</sub> + Cu (5%-wt.)                | 240**        | -                      | -                                       | 100                                         |
| SiO <sub>2</sub> + EDA (5%-wt.)               | 190**        | -                      | -                                       | 15                                          |
| Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>                | 130**        | 2-8***                 | 6***                                    | 100                                         |
| Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> + Cu (5%-wt.)  | 95**         | -                      | -                                       | 100                                         |
| Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> + EDA (5%-wt.) | 80**         | -                      | -                                       | 30                                          |

Powierzchnie adsorbentów (C, SiO<sub>2</sub>, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) przed i po modyfikacji określono standardową niskotemperaturową, objętościową metodą adsorpcji azotu, stosując równania Dubinina-Radushkevicha\* lub BET\*\*. Parametry porowatości określono metodą Dollima/Heala\*\*\*.

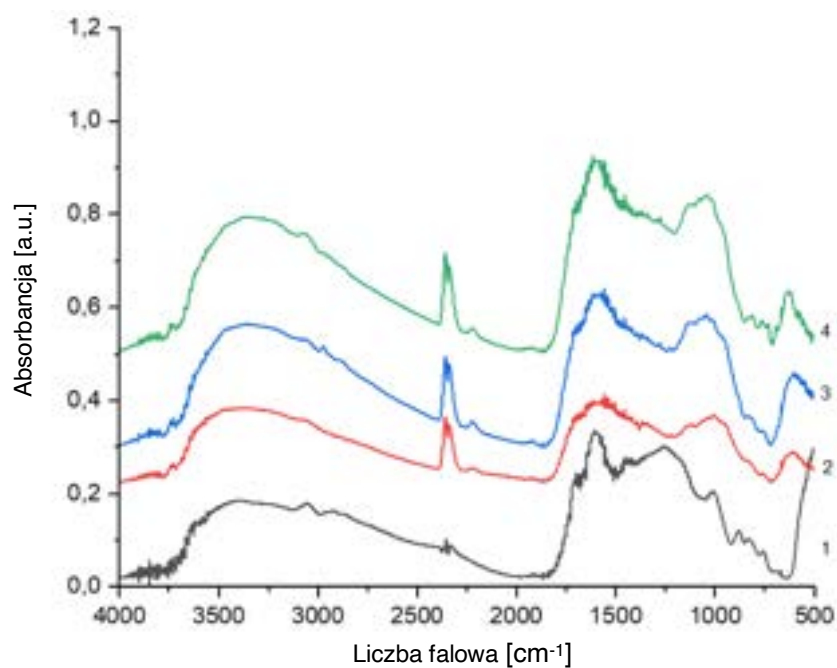
Jeśli postuluje się, że atomy azotu w cząsteczce tiomocznika zawierają katalitycznie aktywne centra niezbędne do aktywacji substratów w syntezie zasad Betti'ego, można oczekiwać, że osadzenie homogenicznego katalizatora na stałym nośniku ograniczy aktywność katalityczną tiomocznika w tej reakcji, ponieważ atomy azotu będą zaangażowane w adsorpcję na nośniku stałym. Aby ustalić, które grupy funkcyjne na adsorbentach, zmodyfikowanych adsorbentach i heterogenicznych katalizatorach (przed i po reakcji) były dostępne dla substratów w procesie syntezy zasad Betti'ego, przeprowadziłam badania spektroskopii w podczerwieni. Uzyskane widma zamieściłam na Rysunkach 3.5-3.9.



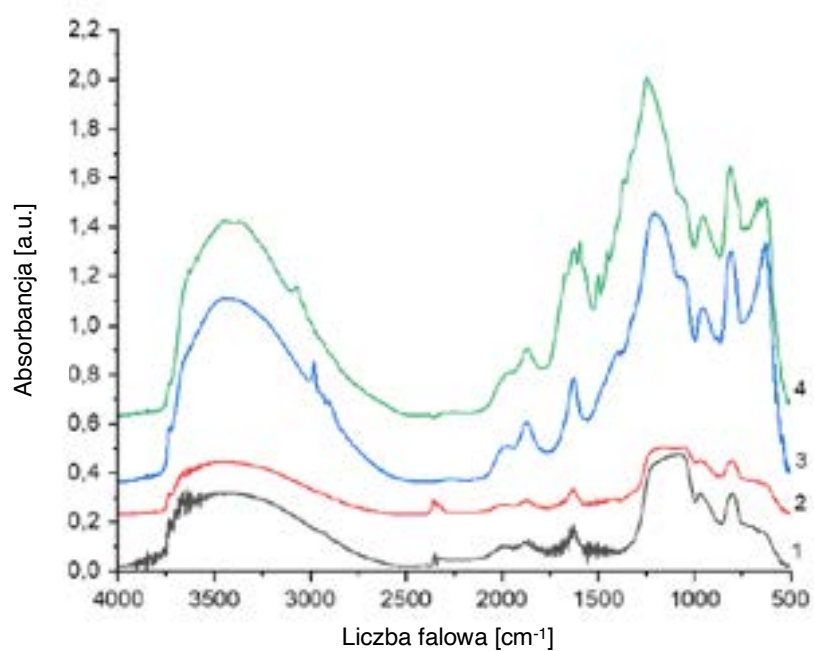
**Rysunek 3.5.** Widma FTIR dla (1) C; (2) TM/C; (3) TM/C (po syntezie zasady Betti'ego).



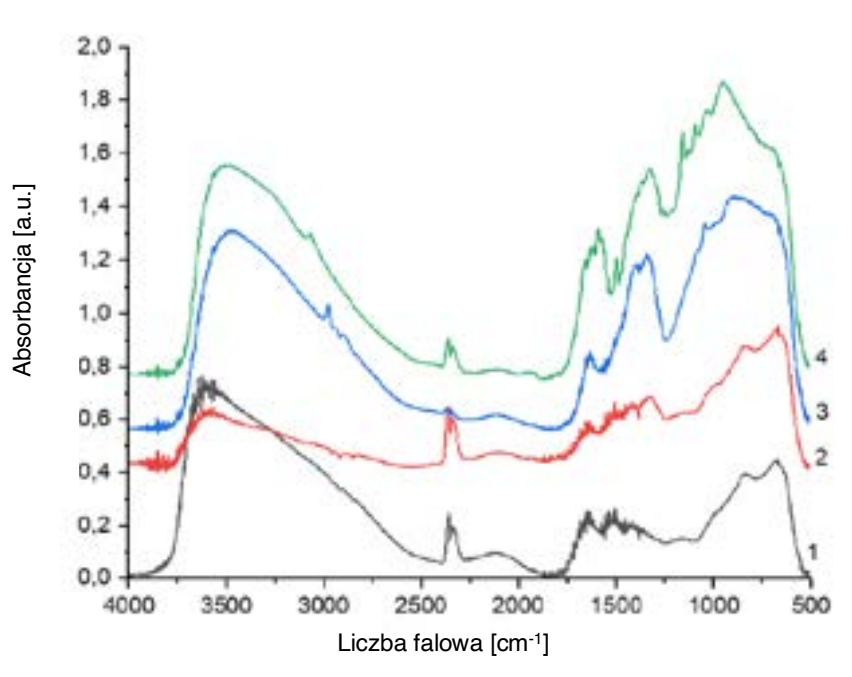
**Rysunek 3.6.** Widma FTIR dla (1) C; (2) C + NH<sub>3</sub>; (3) TM/C + NH<sub>3</sub>; (4) TM/C + NH<sub>3</sub> (po syntezie zasady Betti'ego).



**Rysunek 3.7.** Widma FTIR dla (1) C; (2) C + Cu; (3) TM/C + Cu; (4) TM/C + Cu (po syntezie zasady Betti'ego).



**Rysunek 3.8.** Widma FTIR dla (1) SiO₂; (2) SiO₂ + Cu; (3) TM/SiO₂ + Cu; (4) TM/SiO₂ + Cu (po syntezie zasady Betti'ego).



**Rysunek 3.9.** Widma FTIR dla (1)  $\text{Al}_2\text{O}_3$ ; (2)  $\text{Al}_2\text{O}_3 + \text{Cu}$ ; (3)  $\text{TM}/\text{Al}_2\text{O}_3 + \text{Cu}$ ; (4)  $\text{TM}/\text{Al}_2\text{O}_3 + \text{Cu}$  (po syntezie zasady Betti'ego).

Rysunki 3.5-3.7 przedstawiają widma FTIR zebrane dla adsorbentów węglowych i katalizatora. Najważniejszymi grupami powierzchniowymi, które wpływają na właściwości fizykochemiczne węgla aktywnego są połączenia węgiel-tlen. I faktycznie, głównymi grupami powierzchniowymi obecnymi na powierzchni węgla aktywnego były grupy -OH (szerokie pasmo z maksimum absorpcji przy  $3450\text{ cm}^{-1}$  odpowiadające drganiom rozciągającym O-H z fenoli i alkoholi), a ponadto: wiązania -C-O (pasmo przy  $1070\text{ cm}^{-1}$ ), struktury allilowe lub aromatyczne (pasma w zakresie  $1750\text{--}1500\text{ cm}^{-1}$  odpowiadające drganiom rozciągającym C=C), grupy winylowe i aryłowe (charakterystyczne pasma dla tych grup pochodzą od drgań rozciągających C-H i dają multiplet w zakresie  $3100\text{--}3010\text{ cm}^{-1}$  oraz pasma od drgań deformacyjnych C-H przy  $995\text{ cm}^{-1}$  i  $987\text{ cm}^{-1}$ ). Po zmodyfikowaniu powierzchni węgla amoniakiem (Rysunek 3.6.2) nie zaobserwowałam istotnych zmian w widmie IR. Może to wynikać z nakładania się zakresów absorpcji IR grup -OH i NH, a także grup -C-O i -C-N.

Po osadzeniu katalizatora tiomocznikowego na węglu i węglu modyfikowanym amoniakiem zaobserwowałam niewielkie zmiany w obszarze  $<1500\text{ cm}^{-1}$  (Rysunki 3.5.2 i 3.6.3). W zakresie  $1100\text{--}1045\text{ cm}^{-1}$  pojawia się dublet, który może odpowiadać ugrupowaniu tioamidowemu -N-C=S lub eterowi =C-O-C. Widoczne jest również pasmo przy  $876\text{ cm}^{-1}$ , co odpowiada drganiom deformacyjnym grupy winylowej  $\text{CH}=\text{CH}_2$ . Charakterystyczne pasma pojawiają się także w zakresie  $2970\text{--}2850\text{ cm}^{-1}$  i związane są z symetrycznymi i asymetrycznymi drganiami rozciągającymi alifatycznych grup CH oraz przy  $1410\text{--}1370\text{ cm}^{-1}$  i  $1095\text{ cm}^{-1}$  od drgań deformacyjnych C-H w grupach alifatycznych. Nie obserwowałam jednak żadnych połączeń z fluorem. Widmo katalizatora po reakcji (Rysunki 3.5.3. i 3.6.4.)

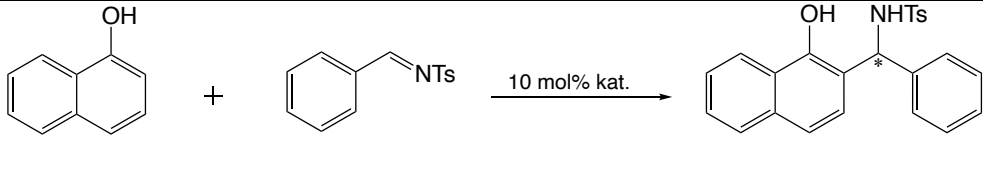
ukazuje zanik pasm przy 1100–1045  $\text{cm}^{-1}$  (dublet), 2970–2850  $\text{cm}^{-1}$  (multiplet) i 876  $\text{cm}^{-1}$ , a zmiany obserwowałam w obszarze poniżej 1000  $\text{cm}^{-1}$ . Pojawiają się nowe pasma przy 815  $\text{cm}^{-1}$ , 731  $\text{cm}^{-1}$  i 698  $\text{cm}^{-1}$ , odpowiadające drganiom deformacyjnym CH w nienasyconych (ale prawdopodobnie nie winylowych) grupach. Może to oznaczać, że produkty reakcji zostały częściowo osadzone na powierzchniach katalizatorów.

Osadzenie Cu na C (Rys. 3.7.2) częściowo zmodyfikowało jego powierzchnię, co widać w widmach przy liczbach falowych poniżej 1800  $\text{cm}^{-1}$ . Intensywność pasm związanych z grupami powierzchniowymi C-O i aryłowymi zmalała. Szerokie pasmo przesunęło się z maksimum przy 1250  $\text{cm}^{-1}$  w kierunku niższych liczb falowych, osiągając 1000  $\text{cm}^{-1}$ . Widmo tiomocznika osadzonego na modyfikowanym miedzią węglu (C+Cu) przed (Rysunek 3.7.3) i po reakcji (Rysunek 3.7.4) jest identyczne z widmem samego nośnika. Nie ma pasm charakterystycznych dla katalizatora, takich jak te widoczne na Rysunkach 3.5 i 3.6.

Aby lepiej zrozumieć wpływ modyfikacji powierzchni nośnika miedzią, przeprowadziłam badania FTIR dla katalizatorów immobilizowanych na krzemionce ( $\text{SiO}_2$ +Cu, Rysunek 3.8) i tlenku glinu ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ +Cu, Rysunek 3.9). Na widmie dla  $\text{Al}_2\text{O}_3$  (Rysunek 3.9.1) widoczne są pasma związane z grupami hydroksylowymi: dla drgań rozciągających O-H przy 3750–2500  $\text{cm}^{-1}$ , a dla deformacyjnych O-H przy 1640  $\text{cm}^{-1}$ , 1495  $\text{cm}^{-1}$  i 1420  $\text{cm}^{-1}$ . Interpretacja widma tlenku glinu poniżej 1000  $\text{cm}^{-1}$  jest bardzo trudna ze względu na silną absorpcję promieniowania IR w tym zakresie. Dodanie Cu tylko nieznacznie zmodyfikowało powierzchnię  $\text{Al}_2\text{O}_3$ . Zmniejszyła się jedynie intensywność pasm hydroksylowych (Rysunek 3.9.2.). Z kolei naniesienie katalizatora tiomocznikowego na zmodyfikowaną miedzią powierzchnię  $\text{Al}_2\text{O}_3$  spowodowało pojawienie się nowych pasm związanych ze strukturą cząsteczki katalizatora (multiplet przy 2970–2850  $\text{cm}^{-1}$  pochodzący od drgań rozciągających C-H; pasmo przy 1650  $\text{cm}^{-1}$  związane z drganiami rozciągającymi C=C aryłowymi lub allilowymi; dublet przy 1402–1340  $\text{cm}^{-1}$  od drgań rozciągających, które mogą odpowiadać drganiom C-N, C-O i/lub C-H; pasmo przy 1041  $\text{cm}^{-1}$  związane z grupą tioamidową -N-C=S; pasmo przy 890  $\text{cm}^{-1}$  związane z drganiami deformacyjnymi C=C). Widmo uzyskane dla układu TM/ $\text{Al}_2\text{O}_3$ +Cu po reakcji (Rysunek 3.9.4.) pokazuje wzrost intensywności niektórych pasm i pojawienie się nowych, co sugeruje adsorpcję produktów reakcji na układzie katalitycznym. Widma dla katalizatorów osadzonych na krzemionce zmodyfikowanej miedzią, prowadziły do takich samych wniosków (Rysunek 3.8.1-3.8.4).

Tak uzyskane heterogeniczne katalizatory zastosowałam w syntezie zasad Betti'ego. Aby umożliwić porównanie z wynikami uzyskanymi wcześniej w warunkach katalizy homogenicznej, jako modelową transformację wybrałam ponownie reakcję 1-naftolu (**3.24**) z *N*-tosyloiminą **3.25** w toluenie w temperaturze w 0°C<sup>279</sup>.

**Tabela 3.11.** Asymetryczna reakcja Betti’ego 1-naftolu z *N*-tosyloiminą katalizowana przez heterogeniczny katalizator tiomocznikowy osadzony na nośnikach stałych.

|  |                                         |                       |                                          |
|------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------|-----------------------|------------------------------------------|
| 3.24                                                                               | 3.25                                    | 3.26                  |                                          |
| Lp.                                                                                | Katalizator                             | Wyd. [%] <sup>1</sup> | ee [%] <sup>2</sup> (Konf.) <sup>3</sup> |
| 1                                                                                  | TM/C                                    | 10                    | 20 ( <i>S</i> )                          |
| 2                                                                                  | TM/C + NH <sub>3</sub>                  | 10                    | 6 ( <i>S</i> )                           |
| 3                                                                                  | TM/C + Cu                               | 25                    | 6 ( <i>S</i> )                           |
| 4                                                                                  | TM/C + EDA                              | 20                    | 6 ( <i>R</i> )                           |
| 5                                                                                  | TM/SiO <sub>2</sub>                     | 20                    | 32 ( <i>S</i> )                          |
| 6                                                                                  | TM/SiO <sub>2</sub> + Cu                | 55                    | 22 ( <i>R</i> )                          |
| 7                                                                                  | TM/SiO <sub>2</sub> + EDA               | 0                     | -                                        |
| 8                                                                                  | TM/Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> + Cu  | 20                    | 10 ( <i>S</i> )                          |
| 9                                                                                  | TM/Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> + EDA | 0                     | -                                        |

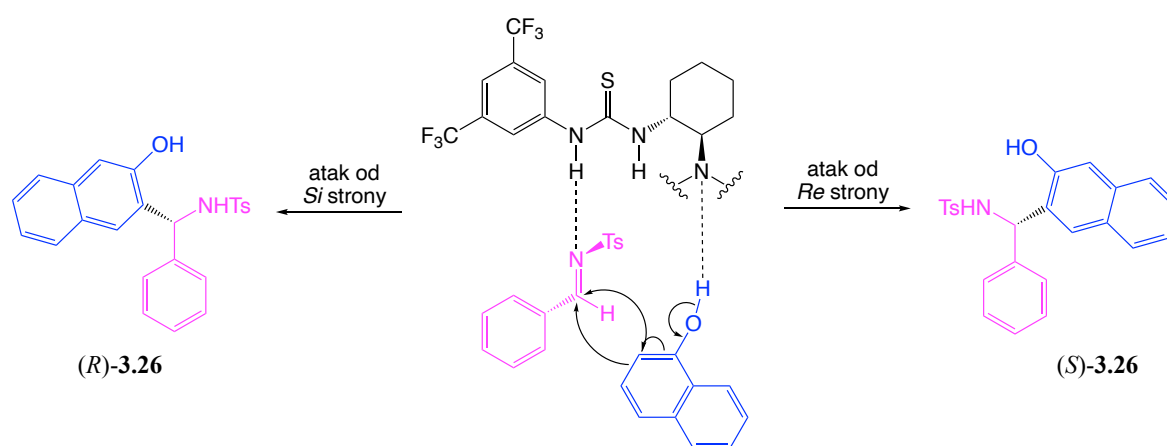
Warunki reakcji: 1-naftol (0.015 mmol, 3 ekw.), *N*-tosyloimina (0.05 mmol, 1 ekw.), 10 mol% kat., toluen (1 ml), sita molekularne 4 Å, 0°C, 20 godz. <sup>1</sup>Wyizolowany produkt. <sup>2</sup>Oznaczono za pomocą analizy HPLC, Kromasil AD-H, heksan: *i*PrOH 90:10, 1 ml/min, 235 nm. <sup>3</sup>Określono poprzez porównanie skręcalności właściwej produktu z wartością literaturową<sup>277,287</sup>.

Niestety, reakcja katalizowana przez heterogeniczne katalizatory tiomocznikowe dawała niskie wydajności i wartości *ee* (Tabela 3.11, poz. 1–6 i 8). Najwyższą indukcję asymetryczną zaobserwowano dla tiomocznika osadzonego na SiO<sub>2</sub>, który dostarczał produkt **3.26** z wydajnością 20% i 32% *ee* na korzyść enancjomeru *S* (Tabela 3.11, poz. 5). W tych samych warunkach katalizator TM/SiO<sub>2</sub>+Cu dał przeciwny enancjomer **3.26** z wyższą wydajnością (55%), ale z niższym nadmiarem enancjomerycznym (22% *ee*, Tabela 3.11, poz. 6). Katalizatory immobilizowane na SiO<sub>2</sub>+EDA i na Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>+EDA okazały się całkowicie nieskuteczne w tych warunkach (Tabela 3.11, poz. 7 i 9).

Chociaż wyniki nie były zadowalające, jak te osiągnięte w obecności homogenicznego katalizatora tiomocznikowego (Tabela 3.2, poz. 1)<sup>279</sup>, warto podkreślić, iż są to pierwsze badania osadzonego na nośnikach stałych katalizatora typu Takemoto i stanowią obiecujący punkt wyjścia dla dalszych badań. Heterogenizacja katalizatora tiomocznikowego na nośniku SiO<sub>2</sub>+Cu dała najlepsze wyniki, a niższą wydajność i selektywność (w porównaniu z wynikami uzyskanymi dla katalizatora homogenicznego) można prawdopodobnie przypisać adsorpcji produktów reakcji na układzie katalitycznym, co potwierdziły widma FTIR (Rysunek. 3.8 i 3.9).

Aby zrationalizować stereochemiczny wynik tej reakcji (Tabela 3.11, poz. 5 vs. poz. 6), można postawić hipotezę o stanie przejściowym obejmującym trójskładnikowy kompleks pomiędzy katalizatorem a substratami. Hipoteza ta opiera się na doniesieniach literaturowych<sup>78,79,80</sup> i stereochemii obserwowanej w warunkach homogenicznych<sup>279</sup> (Schemat 3.11). Katalizator tiomocznikowy promuje reakcję w dwojaki sposób: aktywuje

*N*-tosyloiminę poprzez utworzenie wiązania wodorowego z ugrupowaniem tiomocznikowym, a dodatkowo zwiększa nukleofilowość 1-naftolu za pomocą trzeciorzędowej grupy aminowej. Jak pokazano w Rozdziale 3.1, konfiguracja produktu uzyskana w warunkach jednorodnych jest określana przez konfigurację absolutną atomu węgla przy atomie azotu tioamidowego ugrupowania tiomocznikowego. W przypadku badanego organokatalizatora aktywowany 1-naftol był zdolny do ataku nukleofilowego z pozycji C2 na *Re*-stronę iminy, dostarczając enancjomer *S* produktu. Dane zamieszczone w Tabeli 3.11 wskazują, że dla tego organokatalizatora unieruchomionego na niektórych heterogenicznych nośnikach, powierzchnia *Si* iminy staje się bardziej dostępna i preferowane jest tworzenie izomeru *R*.



**Schemat 3.11.** Model podwójnej aktywacji substratów przez katalizator tiomocznikowy.

W kolejnym etapie badań postanowiliśmy poddać reakcji 6-hydroksychinolinę (**3.29**) z pochodzącą z izatyny *N*-Boc-ketiminą **3.31** stosując podstawowy heterogeniczny układ katalityczny TM/C (Tabela 3.12).

**Tabela 3.12.** Asymetryczna reakcja Betti’ego 6-hidroksychinoliny (**3.29**) z ketiminą **3.31** katalizowana przez heterogeniczny katalizator tiomocznikowy osadzony na węglu.

Oc1ccc2ncncc2c1 (**3.18**) + CC1(C)OC(=O)N(C1)c2ccccc2 (**3.20**)  $\xrightarrow{5 \text{ mol\% kat.}}$  CC1(C)OC(=O)N(C1)c2ccccc2C3=C(O)c4ccc5c(c3)ncncc45 (**3.21**)

| Lp. | Katalizator     | Wyd. [%] <sup>1</sup> | ee [%] <sup>2</sup> (Konf.) <sup>3</sup> |
|-----|-----------------|-----------------------|------------------------------------------|
| 1   | TM/C            | 10                    | 8 ( <i>R</i> )                           |
| 2   | TM <sup>4</sup> | 60                    | 87 ( <i>S</i> )                          |

Warunki reakcji: 6-hidroksychinoliny (0.1 mmol, 1 ekw.), ketiminy (0.1 mmol, 1 ekw.), 10 mol% kat., toluen (1 ml), sita molekularne 4 Å, 0°C, 48 godz. <sup>1</sup>Wyzolowany produkt. <sup>2</sup>Oznaczono za pomocą analizy HPLC, Kromasil AD-H, heksan:iPrOH 90:10, 1 ml/min, 235 nm. <sup>3</sup> Określono poprzez porównanie skręcalności właściwej produktu z wartością literaturową<sup>277,287</sup>.

<sup>4</sup>Homogeniczny katalizator tiomocznikowy<sup>279</sup>.

Badanie prowadziłam w warunkach ustalonych wcześniej dla tej transformacji w warunkach katalizy homogenicznej<sup>279</sup>. Tiomocznik **O3.1** osadzony na węglu (5 mol%), katalizował reakcję w toluenie w 0°C, dając regioselektywnie alkilowany przy węglu C-5 chiralny produkt, aczkolwiek tylko z 10% wydajnością po 48 godzinach (Tabela 3.12, poz.1) i zaledwie 8% nadmiarem enancjomerycznym. Ze względu na niską wydajność i selektywność tej reakcji, nie badałam aktywności innych układów heterogenicznych.

Przeprowadzone badania FTIR i HPLC potwierdziły możliwość osadzenia organokatalizatora tiomocznikowego na typowych nośnikach stałych (C, SiO<sub>2</sub>, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> i ich modyfikacjach amoniakiem, miedzią i etylenodiaminą) oraz ich wysoki stopień adsorpcji.

Według mojej najlepszej wiedzy, przedstawiona metoda jest pierwszą, w której zastosowano katalizator typu Takemoto immobilizowany na heterogenicznych nośnikach w reakcji Betti’ego. Jak dotąd jedynie Pericàs ze współpracownikami przedstawili unieruchomienie bifunkcyjnego tiomocznika typu Takemoto na polistyrenie do enancjoselektywnego  $\alpha$ -aminowania związków 1,3-dikarbonylowych azodikarboksylanami<sup>298</sup>.

<sup>298</sup> P. Kasaplar, E. Ozkal, C. Rodríguez-Esrich, M.A. Pericàs, *Green Chem.* **2015**, *17*, 3122.



### 3.4. Aminobenzylonaftole (zasady Betti'ego) pochodzące z 2-naftolu, benzaldehydów i $\alpha$ -aminokwasów - synteza, badania obliczeniowe i przeciwnowotworowe *in vitro*

*"Synthesis, Computational, and Anticancer In Vitro Investigations of Aminobenzyl-naphthols Derived from 2-Naphthol, Benzaldehydes, and  $\alpha$ -Aminoacids via the Betti Reaction"*  
*Molecules* **2023**, 28, 7230.

Nowotwory stanowią istotne wyzwanie zdrowotne na całym świecie. Wrażliwość różnych ich typów na środki chemioterapeutyczne jest ograniczona i zależna od profilu genetycznego oraz molekularnego wchodzących w jego skład komórek. Wiele wysiłku poświęca się odkrywaniu nowych leków o zwiększonej skuteczności, które można opracować poprzez selektywne dopasowywanie leku do celów molekularnych związanych ze wzrostem nowotworu, przerzutami czy też rozwojem mechanizmów oporności. Zastosowanie większości obecnie dostępnych leków przeciwnowotworowych wiąże się z występowaniem poważnych działań niepożądanych, które mogą znacząco pogarszać jakość życia pacjentów. Zatem, celem opracowywania nowych terapeutyków jest nie tylko przezwyciężenie oporności, rozwój nowych terapii skojarzonych, ale przede wszystkim ograniczenie działań niepożądanych przy jednoczesnym zachowaniu lub poprawie skuteczności działania, co pozwala ratować życie chorych i jego jakość<sup>299,300,301,302</sup>.

Projektowanie leków wspomagane komputerowo (CADD) to interdyscyplinarna dziedzina, która wykorzystuje metody i technologie obliczeniowe w celu odkrywania i opracowywania nowych leków. Połączenie wielu narzędzi obliczeniowych, modelowania molekularnego i metodologii symulacji umożliwia przeszukiwanie ogromnych bibliotek cząsteczek chemicznych, które potencjalnie mogą oddziaływać z wytypowanym, konkretnym obiektem docelowym, najczęściej z białkiem lub DNA. Wirtualne badania przesiewowe opierające się na narzędziach umożliwiających dokowanie molekularne i symulacje dynamiki molekularnej, ułatwiają przewidywanie powinowactwa wiązania małych cząsteczek i sposobu wiązania z makromolekułami. Umożliwia to priorytetyzację lub wybór najbardziej obiecujących związków do przyszłych prac eksperymentalnych, oszczędzając zarówno czas, jak i koszty badań przesiewowych w układzie *in vitro*. Podejścia CADD mogą pomóc w optymalizacji takich cech jak siła oddziaływania z celem molekularnym, selektywność wiązania, a także parametrów farmakokinetycznych, takich jak wchłanianie, dystrybucja, metabolizm, wydalanie i toksyczność (ADMET) potencjalnych leków. Ta iteracyjna metoda

<sup>299</sup> S. Olgen, *Curr. Med. Chem.* **2018**, 25, 1704.

<sup>300</sup> D. J. Stewart, A. A. Stewart, P. Wheatley-Price, G. Batist, H. M. Kantarjian, J. Schiller, M. Clemons, J.-P. Bradford, L. Gillespie, R. Kurzrock, *Cancer Med.* **2018**, 7, 1824.

<sup>301</sup> T. Connors, *Oncologist* **1996**, 1, 180.

<sup>302</sup> R. Ali, Z. Mirza, G. M. D. Ashraf, M. A. Kamal, S. A. Ansari, G. A. Damanhour, A. M. Abuzenadah, A. G. Chaudhary, I. A. Sheikh, *Anticancer Res.* **2012**, 32, 2999.

rzuca również światło na mechanizmy molekularne leżące u podstaw interakcji lek-cel i napędza rozwój skuteczniejszych i bezpieczniejszych leków<sup>303,304,305,306,307</sup>.

Reakcje wieloskładnikowe (MCR) okazały się kluczową metodą syntezy różnorodnych związków chemicznych. W porównaniu z reakcjami dwuskładnikowymi oferują one kilka dodatkowych zalet, m.in. łatwość stosowania z uwagi na użycie jednego naczynia, a także możliwość szerokiej modyfikacji struktury. Dzięki temu możemy oszczędzić czas, energię i surowce m.in. niezbędne do oczyszczania produktów reakcji. Reakcja Betti'ego, zyskała znaczenie w chemii organicznej ze względu na prostą metodę tworzenia wiązań C–C w łagodnych warunkach eksperymentalnych<sup>308</sup>. Powstałe w wyniku tej reakcji aminobenzylonaftole, występują w wielu związkach naturalnych, a także wykazują szeroką gamę interesujących aktywności i zastosowań<sup>309</sup>. Pochodne zasad Betti'ego badano do tej pory m.in. jako potencjalne cząsteczki o właściwościach przeciwnowotworowych<sup>309,310,311</sup>, związki o aktywności hamującej względem kanałów jonowych zależnych od sodu i chloru w tym SLC6A14. Podobieństwo strukturalne tych związków do naturalnie występujących w naturze aminokwasów, stanowiących dla komórek materiał budulcowy oraz energetyczny, stanowić może podstawę antyproliferacyjnego działania badanych związków oraz wspomagać wychwyt oraz wprowadzenie związku terapeutycznego do komórki nowotworowej, charakteryzującej się zwiększonym tempem metabolizmu. Ponadto, związki z tej grupy chemicznej wykazują wysoki potencjał terapeutyczny poprzez zahamowanie zjawiska oporności wielolekowej komórek nowotworowych<sup>312</sup>, która obecnie stanowi przyczynę niepowodzeń leczenia. Testowano je także jako środki przeciwdrożdżakowe, hamujące wzrost *Candida albicans*<sup>313</sup> oraz przeciwutleniacze<sup>314</sup>.

W ostatnim czasie obserwuje się również wzrost zainteresowania pochodnymi aminokwasów jako prolekami. Funkcjonalizacja leku resztą aminokwasową prowadzi do pewnych korzyści, takich jak lepszy transport leku do obszaru docelowego i zmniejszenie toksyczności. Wykazano na przykład, że boroksazolidony, choć posiadają pewne właściwości przeciwnowotworowe, wykazują jedynie ograniczoną skuteczność działania<sup>315,316,317</sup>.

<sup>303</sup> G. D. Geromichalos, *J. BUON Off. J. Balk. Union Oncol.* **2007**, 12 (Suppl. S1), S101–S118.

<sup>304</sup> M. Garofalo, G. Grazioso, A. Cavalli, J. Sgrignani, *Molecules* **2020**, 25, 1756.

<sup>305</sup> M. H. Baig, K. Ahmad, G. Rabbani, M. Danishuddin, I. Choi, *Curr. Neuropharmacol.* **2018**, 16, 740.

<sup>306</sup> G. D. Geromichalos, C. E. Alifieris, E. G. Geromichalou, D. T. Trafalis, *J. BUON Off. J. Balk. Union Oncol.* **2016**, 21, 1337.

<sup>307</sup> W. Cui, A. Aouidate, S. Wang, Q. Yu, Y. Li, S. Yuan, *Front. Pharmacol.* **2020**, 11, 733.

<sup>308</sup> I. Mohanram, J. Meshram, *ISRN Org. Chem.* **2014**, 2014, 639392.

<sup>309</sup> P. Adrián, R. G. Alexis, A. Roderick, D. Kaylie, X. F. Miguel, B. Giovanna, M. P. José, *J. Mol. Clin. Med.* **2019**, 2, 35.

<sup>310</sup> M. A. M. Capozzi, F. Capitelli, A. Bottoni, M. Calvaresi, C. Cardellicchio, *J. Org. Chem.* **2014**, 79, 11101.

<sup>311</sup> B. Nagaraju, J. Kovvuri, C. G. Kumar, S. R. Routhu, M. A. Shareef, M. Kadagathur, P. R. Adiyala, S. Alavala, N. Nagesh, A. Kamal, *Bioorg. Med. Chem.* **2019**, 27, 708.

<sup>312</sup> N. Gyémánt, H. Engi, Z. Schelz, I. Szatmári, D. Tóth, F. Fülöp, J. Molnár, P. A. M. de Witte, *Br. J. Cancer* **2010**, 103, 178.

<sup>313</sup> M. A. M. Capozzi, C. Cardellicchio, A. Magaletti, A. Bevilacqua, M. Perricone, M. R. Corbo, *Molecules* **2014**, 19, 5219.

<sup>314</sup> I. Yellapurkar, S. Shaikh, G. Pavale, S. Bhabal, M. M. V. Ramana, *Res. Chem. Intermed.* **2021**, 47, 4067.

<sup>315</sup> R. Mallamaci, M. A. M. Capozzi, C. Cardellicchio, *Appl. Sci.* **2022**, 12, 7779.

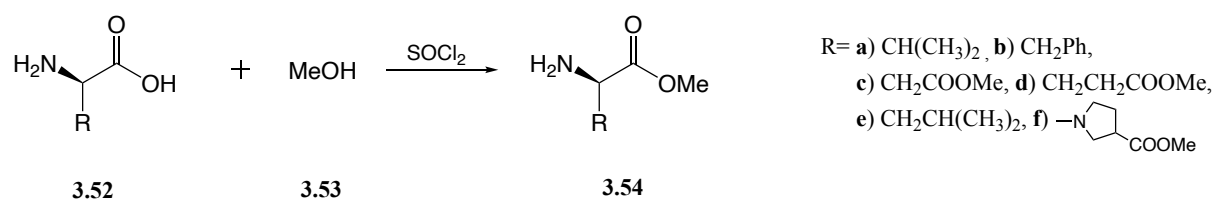
<sup>316</sup> D.-Y. Lee, H.-Y. Lin, M. Ramasamy, S.-C. Kuo, P.-C. Lee, M.-T. Hsieh, *Molecules* **2021**, 26, 7050.

<sup>317</sup> A. Viswanathan, G. Sebastianelli, K. Brown, J. Raunio, V. Sipilä, O. Yli-Harja, N. R. Candeias, M. Kandhavelu, *Eur. J. Pharmacol.* **2019**, 854, 194.

W przeciwieństwie do nich, pochodne L-waliny okazały się znacząco bardziej skuteczne, wykazując istotne działanie cytotoksyczne. Co więcej, dimetylokurkumina modyfikowana L-waliną wykazała znacznie większe działanie antyproliferacyjne w porównaniu do swoich oryginalnych form, co czyni ją obiecującym środkiem przeciwnowotworowym. Odkrycia te podkreślają potencjał modyfikacji chemicznych, takich jak wprowadzenie L-waliny, w zwiększaniu skuteczności związków przeciwnowotworowych. Okazuje się, że związki modyfikowane aminokwasami, w porównaniu do ich pochodnych pozbawionych tego ugrupowania, wykazują znacznie większą aktywność biologiczną oraz cytotoksyczność<sup>316,317</sup>. To sugeruje, że wprowadzenie aminokwasów do struktury chemicznej związków może znacząco zwiększać ich potencjał terapeutyczny, co stanowi istotny kierunek w rozwoju nowych, bardziej skutecznych leków przeciwnowotworowych. Zgodnie z moją najlepszą wiedzą, dane literaturowe dotyczące zastosowania funkcjonalizowanych aminokwasami zasad Betti'ego są ograniczone do badań Cardellicchio, gdzie testowano je jako środek przeciwnowotworowy<sup>315</sup>. Autorzy do badań użyli jedynie pochodnej waliny i potwierdzili jej potencjalną aktywność biologiczną.

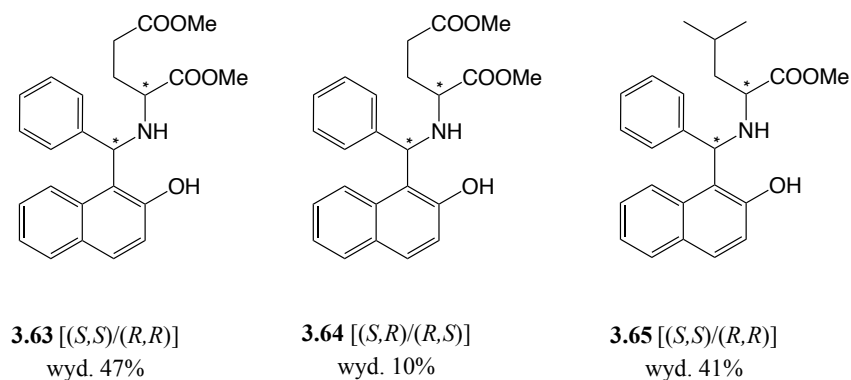
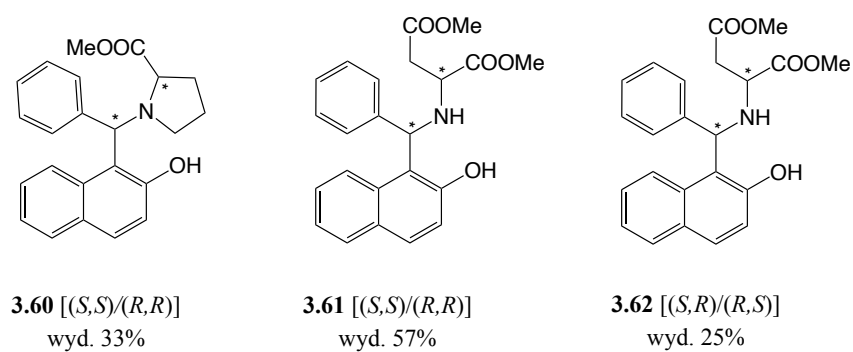
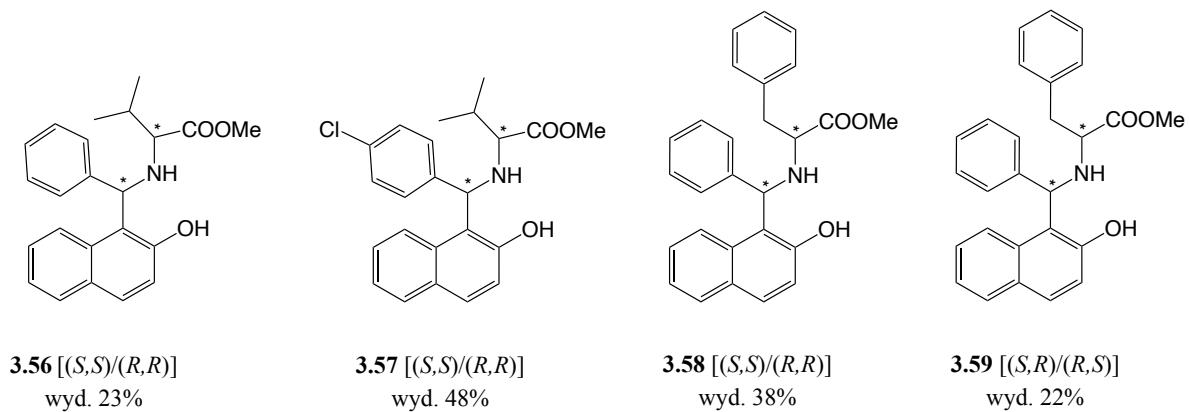
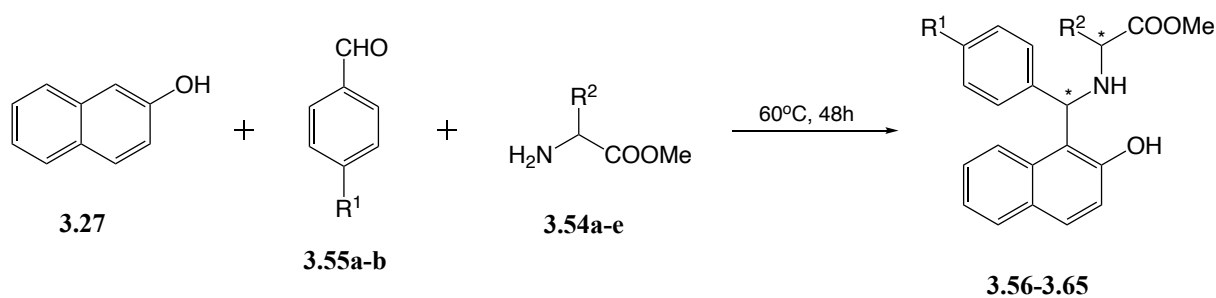
Te doniesienia skłoniły mnie do rozszerzenia badań nad zasadami Betti'ego i opracowania syntezy nowych, funkcjonalizowanych D- i L-aminokwasami aminobenzylonaftoli. W tym celu wykorzystałam estry metylowe (*R*)-waliny, (*S*)-fenyloalaniny, (*S*)-proliny, (*S*)-kwasu glutaminowego, (*S*)-kwasu asparaginowego i (*S*)-leucyny. Badania rozszerzyłam o metodologię *in vitro* oraz *in silico* w celu określenia potencjału przeciwnowotworowego nowo zsyntezowanych aminobenzylonaftoli uzyskanych w reakcji Betti'ego.

Pierwszym etapem syntezy nowych pochodnych zasad Betti'ego było otrzymanie odpowiednich estrów metylowych aminokwasów. W tym celu wybrane, handlowo dostępne D- i L- aminokwasy poddałam reakcji z chlorkiem tionylu w metanolu (Schemat 3.12).



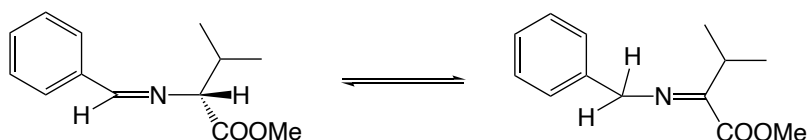
**Schemat 3.12.** Schemat syntezy estrów metylowych aminokwasów.

Tak przygotowane estry metylowe aminokwasów poddałam reakcji Betti'ego z 2-naftolem (3.27) i aldehydami aryłowymi 3.55. Reakcję prowadziłam w bezrozpuszczalnikowym, ekologicznym procesie, w temperaturze 60°C, zgodnie z protokołem opisanym w literaturze<sup>226</sup>, otrzymując odpowiednie aminobenzylonaftole w postaci bezbarwnych ciał stałych (Schemat 3.13).



**Schemat 3.13.** Reakcja Betti'ego pomiędzy 2-naftolem (**3.27**), aldehydami aryłowymi **3.55** i estrami metylowymi aminokwasów **3.54**.

Reakcja bez rozpuszczalnika i w podwyższonej temperaturze ma jednak swoje wady. Okazuje się, że centrum stereogeniczne aminokwasu, które teoretycznie nie powinno brać udziału w reakcji, nie jest stabilne w takich warunkach, a jako główny produkt powstaje mieszanina enancjomerów (*S,S*) i (*R,R*)<sup>226</sup>. Prawdopodobnie dzieje się tak na skutek tautomerizacji aza-allilowej, której ulega imina, powstająca z aldehydu i estru aminokwasu (Rysunek 3.10).



**Rysunek 3.10.** Tautomeria aza-allilowa aldiminy pochodzącej z estru metylowego (*R*)-waliny.

Co więcej, pochodne aminokwasów mogą ulegać racemizacji w obecności nie tylko podwyższonej temperatury, ale także aldehydów<sup>318</sup>. W trakcie prowadzonych badań sporadycznie izolowałam niewielkie ilości (*R,S*) i (*S,R*)-stereoizomerów<sup>319</sup>. Stereoizomery (*S,S*) i (*R,R*) ze względu na stabilność krystaliczną powstają w większych ilościach i są jako pierwsze wymywane podczas oczyszczania metodami chromatograficznymi. Zaraz po nich, w niektórych przypadkach, udało mi się wyizolować mieszaninę (*R,S*) i (*S,R*)-stereoizomerów. Widma <sup>1</sup>H-NMR stereoizomerów (*R,S*)/(*S,R*) i (*S,S*)/(*R,R*) mają charakterystyczne, nienakładalne na siebie sygnały i można tę technikę zastosować do ich rozróżniania. Zgodnie z literaturą, sygnały znajdujące się w wyższym polu są charakterystyczne dla stereoizomerów (*S,S*)/(*R,R*), natomiast sygnały w niskim polu są charakterystyczne dla stereoizomerów (*R,S*)/(*S,R*), co znalazło potwierdzenie również w moich badaniach<sup>319,320</sup>. Z kolei, małe wartości skręcalności optycznej i dość wysokie wartości temperatur topnienia wskazywały, że miałam do czynienia z mieszaniną enancjomerów (*S,S*)/(*R,R*) i (*R,S*)/(*S,R*). Wspólnie z pracownikami Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska, z którymi realizowałam omawiany projekt, nie uznaliśmy tego za przeszkodę i postanowiliśmy kontynuować badania biologiczne nad mieszaninami. Ze względu na słabą rozpuszczalność związków **3.63** i **3.64**, nie były one poddane dalszym testom.

Otrzymane aminokwasowe pochodne zasad Betti'ego, w postaci mieszaniny enancjomerów (*S,S*)/(*R,R*) lub (*R,S*)/(*S,R*), poddaliśmy ocenie właściwości cytotoksycznych. Badania zostały uzupełnione metodami obliczeniowymi (*in silico*), które umożliwiły przewidywanie właściwości związków związanych z farmakokinetyką (parametry ADMET), określenie ich reaktywności chemicznej oraz właściwości elektronowych cząsteczek (obliczenia zgodne z teorią funkcjonału gęstości - DFT). Dodatkowo przeprowadziliśmy

<sup>318</sup> D. A. Schichl, S. Enthaler, W. Holla, T. Riermeier, U. Kragl, M. Beller, *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, 2008, 3506.

<sup>319</sup> C. Cardellicchio, M. A. M. Capozzi, A. Alvarez-Larena, J. F. Piniella, F. Capitelli, *CrystEngComm* **2012**, 14, 3972.

<sup>320</sup> M. A. M. Capozzi, C. Cardellicchio, *Molbank* **2022**, 2022, M1522.

analizę oddziaływań badanych związków **3.56-3.65** z potencjalnymi celami molekularnymi wytypowanymi na podstawie podobieństwa strukturalnego przy użyciu dokowania molekularnego oraz dynamiki molekularnej.

### 3.4.1. Test MTT

Test z użyciem MTT jest kolorymetryczną metodą pozwalającą na określenia żywotności oraz proliferacji badanych komórek poddanych ekspozycji na badany związek. Istotą testu MTT jest przekształcenie żółtej rozpuszczalnej w medium hodowlanym soli tetrazolowej (bromku 3-(4,5-dimetylo-2-tiazolylo)-2,5-difenylo-3,4-tetrazolu) w nierozpuszczalne purpurowe kryształy formazanu przez aktywne metabolicznie komórki (komórki żywe). Powstałe kryształy rozpuszcza się w rozpuszczalniku organicznym (DMSO), a następnie wykonuje się pomiaru absorbancji przy długości fali  $\lambda = 570$  nm. Intensywność zabarwienia, a zatem absorbancja, jest proporcjonalna do liczby żywych komórek obecnych w hodowli.

Test MTT wykorzystaliśmy do oceny aktywności cytotoksycznych badanych związków względem komórek nowotworowych linii BxPC-3 (komórki gruczolaka trzustki) i HT-29 (komórki gruczolaka jelita grubego) oraz prawidłowych fibroblastów płuc człowieka (linia komórek WI-38) po 24h oraz 72h inkubacji z pochodnymi zasad Betti'ego. Aktywność badanych związków została porównana z działaniem referencyjnego chemioterapeutyku (5-fluorouracylu; 5-FU), powszechnie stosowanego w terapii nowotworów trzustki oraz jelita<sup>321,322,323</sup>. Do oceny skali aktywności cytotoksycznej związków wykorzystaliśmy parametr IC<sub>50</sub>, odpowiadający stężeniu badanego związku, które prowadzi do zahamowania aktywności metabolicznej 50% komórek, względem komórek grupy kontrolnej (komórki niepoddane ekspozycji na badane związki), dla których przyjmuje się 100% żywotność.

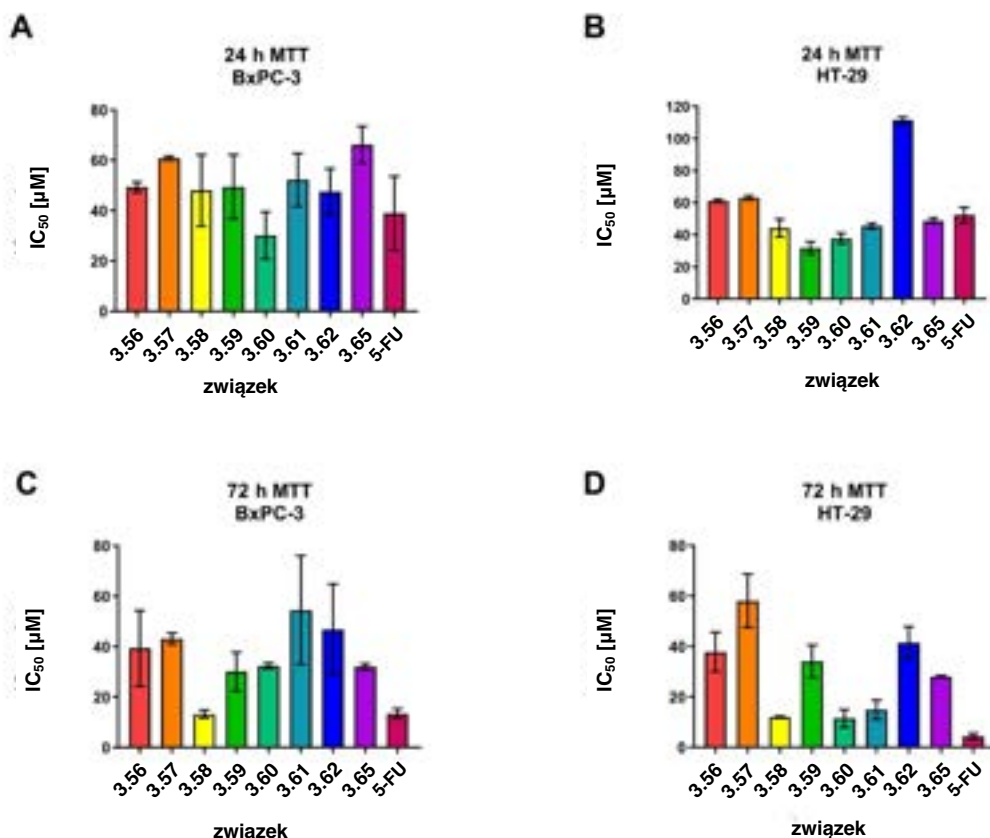
Przeprowadzone badania wykazały, że związki **3.56-3.65** wykazują działanie cytotoksyczne wobec komórek gruczolaka trzustki oraz gruczolaka jelita grubego (Rysunek 3.11).

---

<sup>321</sup> S. Vodenkova, T. Buchler, K. Cervena, V. Veskrnova, P. Vodicka, V. Vymetalkova, *Pharmacol. Ther.* **2020**, 206, 107447.

<sup>322</sup> W. H. Isacoff, H. A. Reber, R. Bedford, W. Hoos, L. Rahib, A. Upfill-Brown, T. Donahue, O. J. Hines, *Target. Oncol.* **2018**, 13, 461.

<sup>323</sup> W.-B. Wang, Y. Yang, Y.-P. Zhao, T.-P. Zhang, Q. Liao, H. Shu, *World J. Gastroenterol. WJG* **2014**, 20, 15682.



**Rysunek 3.11.** Wyniki po 24h (A, B) i 72h (C, D) testu MMT: średnie wartości  $IC_{50} \pm SD$  uzyskane dla pochodnych zasad Betti’ego i 5-fluorouracylu w liniach komórkowych BxPC-3 i HT-29.

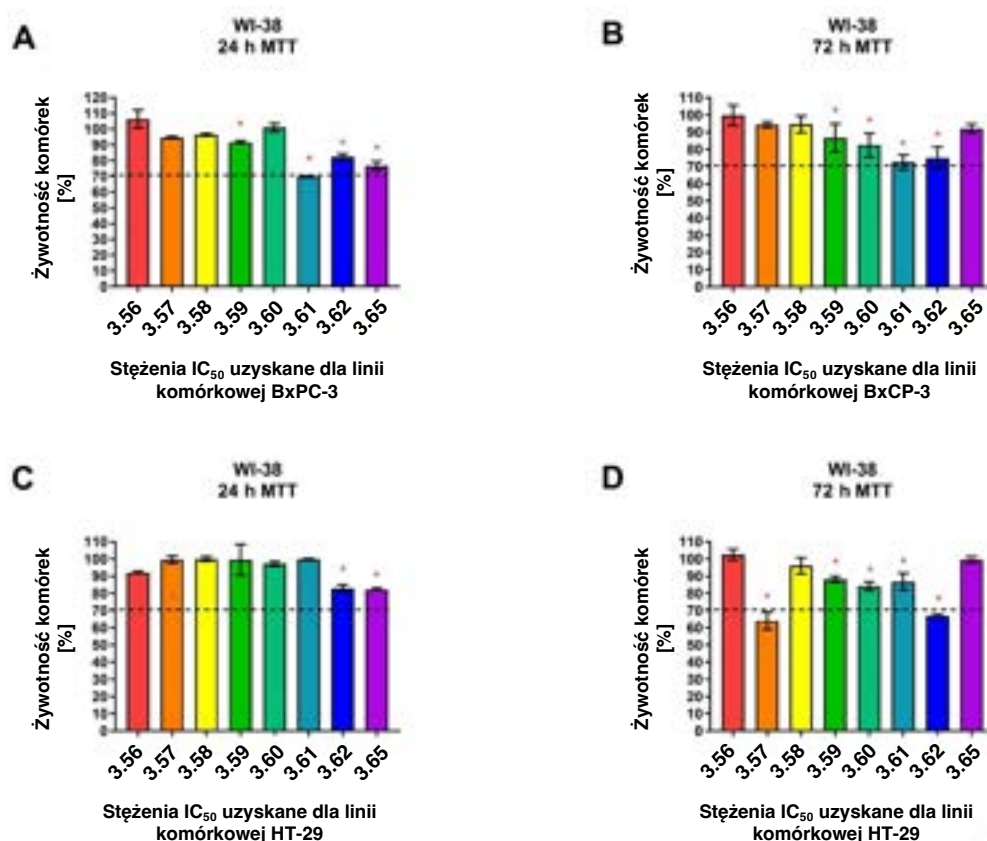
Po 24-godzinnej ekspozycji komórek linii BxPC-3 na pochodne zasad Betti’ego, średnie wartości  $IC_{50}$  wahały się od  $30.15 \pm 9.39 \mu M$  (dla **3.60**) do  $66.19 \pm 7.36 \mu M$  (dla **3.65**). Aktywność cytotoksyczna związku **3.60** była porównywalna z tą obserwowaną dla 5-FU ( $IC_{50} = 38.99 \pm 14.67 \mu M$ ) (Rysunek 3.11A). W przypadku komórek linii HT-29 zastosowanie aminobenzylonaftoli skutkowało aktywnością cytotoksyczną w zakresie od  $31.78 \pm 3.93 \mu M$  (**3.59**) do  $111.5 \pm 2.12 \mu M$  (**3.62**). Aktywności cytotoksyczne związków **3.59** oraz **3.60** były porównywalne z tymi obserwowanymi dla 5-fluorouracylu ( $IC_{50} = 52.26 \pm 4.9 \mu M$ ) (Rysunek 3.11B).

Po 72-godzinnej inkubacji komórek linii BxPC-3 z badanymi związkami zaobserwowaliśmy efekt cytotoksyczny pochodnych zasad Betti’ego w zakresie stężeń  $IC_{50}$  od  $13.26 \mu M$  (**3.58**) do  $54.55 \mu M$  (**3.61**). Związki **3.59**, **3.60** i **3.65** wykazywały podobną cytotoksyczność, ze średnimi wartościami  $IC_{50}$  od  $30.13$  do  $32.42 \mu M$ . Aktywność cytotoksyczna **3.58** była porównywalna z obserwowaną dla 5-FU ( $IC_{50} = 13.43 \pm 1.9 \mu M$ ) (Rysunek 3.11C).

Dla linii komórkowej HT-29 wartości  $IC_{50}$  mieściły się w zakresie od  $11.55 \mu M$  (**3.60**) do  $58.11 \mu M$  (**3.57**). Aktywność cytotoksyczna badanych związków nie przekroczyła tej

obserwowanej dla 5-fluorouracylu, dla którego wartość  $IC_{50}$  wynosi  $4.38 \pm 1.1 \mu M$  (Rysunek 3.11D).

Istotnym elementem oceny aktywności przeciwnowotworowej związków, jest określenie ich wpływu na komórki prawidłowe. W tym celu określiliśmy wpływ aminobenzylonaftoli **3.56-3.65** na przeżywalność prawidłowych, zdrowych fibroblastów człowieka (WI-38) w układzie *in vitro*. W teście stosowaliśmy stężenia  $IC_{50}$  badanych związków uzyskanych wcześniej dla linii nowotworowych BxPC-3 oraz HT-29 po 24- i 72-godzinnej inkubacji (Rysunek 3.12D).



**Rysunek 3.12.** Przeżywalność komórek prawidłowych ludzkich fibroblastów płuc (WI-38) po 24 i 72 godzinach ekspozycji na związki **3.56-3.62** i **3.65** stosowane w stężeniach  $IC_{50}$ , uzyskanych w teście MTT dla linii komórkowych BxPC-3 (A, B) i HT-29 (C, D) po czasach inkubacji odpowiednio 24 lub 72 godziny. Wyniki przedstawiono jako procent przeżywalności komórek. Różnice między próbkami eksperymentalnymi a grupą kontrolną (100% przeżywalności / traktowane DMSO) oceniono za pomocą testu ANOVA, a następnie testu Dunnetta. Gwiazdka (\*) wskazuje istotną różnicę w porównaniu do grupy kontrolnej.

Po 24-godzinnej inkubacji zaobserwowano istotny statystycznie ( $p < 0.05$ ) spadek żywotności komórek WI-38 w obecności **3.59** ( $91.73 \pm 0.87\%$ ;  $p = 0.0388$ ), **3.61** ( $69.94 \pm 0.21\%$ ;  $p < 0.0001$ ), **3.62** ( $82.45 \pm 1.8\%$ ;  $p = 0.0003$ ) oraz **3.65** ( $76.77 \pm 1.8\%$ ;



$p < 0.0001$ ) w stężeniach  $IC_{50}$  ustalonych dla komórek BxPC-3. Tylko **3.61** zmniejszył żywotność komórek poniżej przyjętej w literaturze wartości granicznej wynoszącej 70% (Rysunek 3.12A). Związki **3.59** ( $86.71 \pm 8.14\%$ ;  $p = 0.03$ ), **3.60** ( $82.32 \pm 6.96\%$ ;  $p = 0.0037$ ), **3.61** ( $72.45 \pm 4.37\%$ ;  $p < 0.0001$ ) oraz **3.62** ( $74.93 \pm 6.4\%$ ;  $p < 0.0001$ ) indukowały istotny statystycznie ( $p < 0.05$ ) spadek żywotności komórek linii BxPC-3 po ich 72 godzinnej ekspozycji. Jednakże inkubacja komórek WI-38 z badanymi związkami nie spowodowała spadku żywotności komórek poniżej 70% (Rysunek 3.12B).

Po 24-godzinnej inkubacji komórek WI-38 ze związkami w stężeniach  $IC_{50}$  uzyskanych dla komórek HT-29, jedynie **3.60** ( $82.90 \pm 2.06\%$ ;  $p = 0.0031$ ) i **3.65** ( $82.19 \pm 0.69\%$ ;  $p = 0.0023$ ) spowodowały istotną statystycznie utratę żywotności komórek WI-38 (Rysunek 3.12C). Silniejszą odpowiedź zaobserwowano po 72 h inkubacji, gdzie **3.29** ( $64.03 \pm 4.9\%$ ;  $p < 0.0001$ ), **3.59** ( $88.2 \pm 1.6\%$ ;  $p = 0.0021$ ), **3.60** ( $84.15 \pm 2.56\%$ ;  $p < 0.0001$ ), **3.61** ( $86.8 \pm 5\%$ ;  $p = 0.0006$ ) oraz **3.62** ( $66.9 \pm 1.08\%$ ;  $p < 0.0001$ ) spowodowały istotny statystycznie spadek żywotności komórek prawidłowych. Jedynie związek **3.62** obniżył żywotność komórek WI-38 poniżej 70% (Rysunek 3.12D).

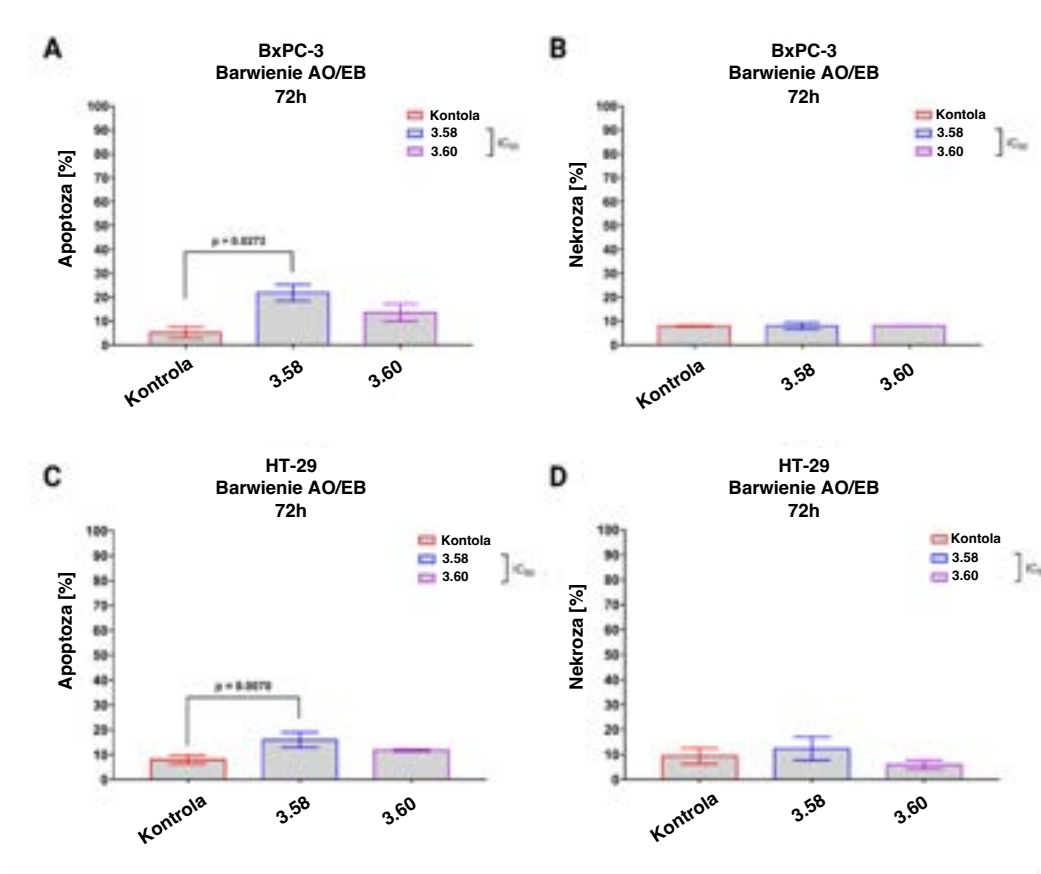
Z uwagi na wyższą cytotoksyczność związków **3.58** i **3.60** wobec komórek nowotworowych oraz ich marginalny wpływ na żywotność komórek prawidłowych zdecydowaliśmy o wyborze tych pochodnych do dalszych badań biologicznych.

### 3.4.2 Barwienie mieszaniną fluorochromów - oranżem akrydyny (AO) oraz bromkiem etydy (EB)

Barwienie mieszaniną fluorochromów - oranżem akrydyny (AO) oraz bromkiem etydy (bromkiem 3,8-diamino-*N*-etylo-6-fenylfenantrydyny, EB), jest powszechnie stosowaną metodą w biologii komórki do oceny żywotności komórek, a także do różnicowania pomiędzy komórkami żywymi, nekrotycznymi oraz apoptotycznymi. AO przenika przez błony komórkowe żywych komórek. W komórkach żywych barwi kwasy nukleinowe (DNA i RNA) na zielono. EB nie przenika przez błony komórkowe żywych komórek, ale z łatwością wnika do komórek martwych, które utraciły integralność błony komórkowej. Wiąże się z DNA, emitując czerwoną fluorescencję. Umożliwia to rozróżnienie trzech typów komórek: żywych (barwionych na zielono), apoptotycznych (pomarańczowych) oraz nekrotycznych (pomarańczowo-czerwonych). Ponadto, w celu identyfikacji komórek kluczowa jest ocena ich morfologii, w tym stopnia kondensacji chromatyny lub struktury błony komórkowej<sup>324</sup>. Wyselekcjonowane do badań pochodne **3.58** oraz **3.60**, w stężeniach odpowiadających wyznaczonym wartościom  $IC_{50}$ , poddaliśmy analizie pod kątem indukcji apoptozy i nekrozy komórek nowotworowych linii BxPC-3 (Rysunek 3.13A, B) i HT-29 (Rysunek 3.13C, D) w układzie 72-godzinnej ekspozycji.

---

<sup>324</sup> S. Kasibhatla, G. P. Amarante-Mendes, D. Finucane, T. Brunner, E. Bossy-Wetzel, D. R. Green, *CSH Protoc.* **2006**, 2006, 4493.



**Rysunek 3.13.** Indukcja apoptozy i nekrozy w komórkach BxPC-3 (A, B) i HT-29 (C, D) po ekspozycji na związki **3.58** i **3.60** w stężeniach  $IC_{50}$ , oceniana za pomocą podwójnego barwienia AO/EB po 72 godzinach inkubacji. Dane przedstawiono jako średni procent komórek apoptotycznych (wczesnych i późnych) oraz komórek nekrotycznych, z uwzględnieniem wartości odchylenia standardowego. Różnice między próbkami eksperymentalnymi a kontrolną (nieleczoną) oceniano za pomocą testu ANOVA, a następnie testu Tukeya ( $p < 0.05$ );  $N = 200$ .

W komórkach BxPC-3 (Rysunek 3.13A) poddanych działaniu **3.58** zaobserwowaliśmy istotny statystycznie ( $p = 0.0272$ ) wzrost frakcji komórek apoptotycznych (% komórek apoptotycznych =  $21.9 \pm 3.4\%$ ) w porównaniu do próby kontrolnej (% komórek apoptotycznych =  $5.15 \pm 2.33\%$ ). Nie zaobserwowaliśmy istotnych statystycznie zmian ( $p = 0.15$ ) we frakcji komórek apoptotycznych w przypadku ekspozycji na związek **3.60** w stężeniu  $IC_{50}$ . Podobnie, nie zaobserwowaliśmy statystycznie istotnych ( $p = 0.97$ ) zmian w średniej liczbie komórek nekrotycznych pomiędzy badanymi grupami (Rysunek 3.13B).

W komórkach HT-29 (Rysunek 3.13C) zaobserwowaliśmy statystycznie istotny ( $p = 0.007$ ) wzrost frakcji komórek apoptotycznych po ich potraktowaniu związkiem **3.58** (% komórek apoptotycznych =  $15.93 \pm 3\%$ ) w porównaniu z komórkami grupy kontrolnej (% komórek apoptotycznych =  $8 \pm 1.73\%$ ). Nie zaobserwowaliśmy istotnego statystycznie wzrostu ( $p = 0.14$ ) liczby komórek apoptotycznych po inkubacji komórek HT-29 ze związkiem **3.60** (% komórek apoptotycznych =  $11.73 \pm 0.38\%$ ), jak również nie zaobserwowaliśmy

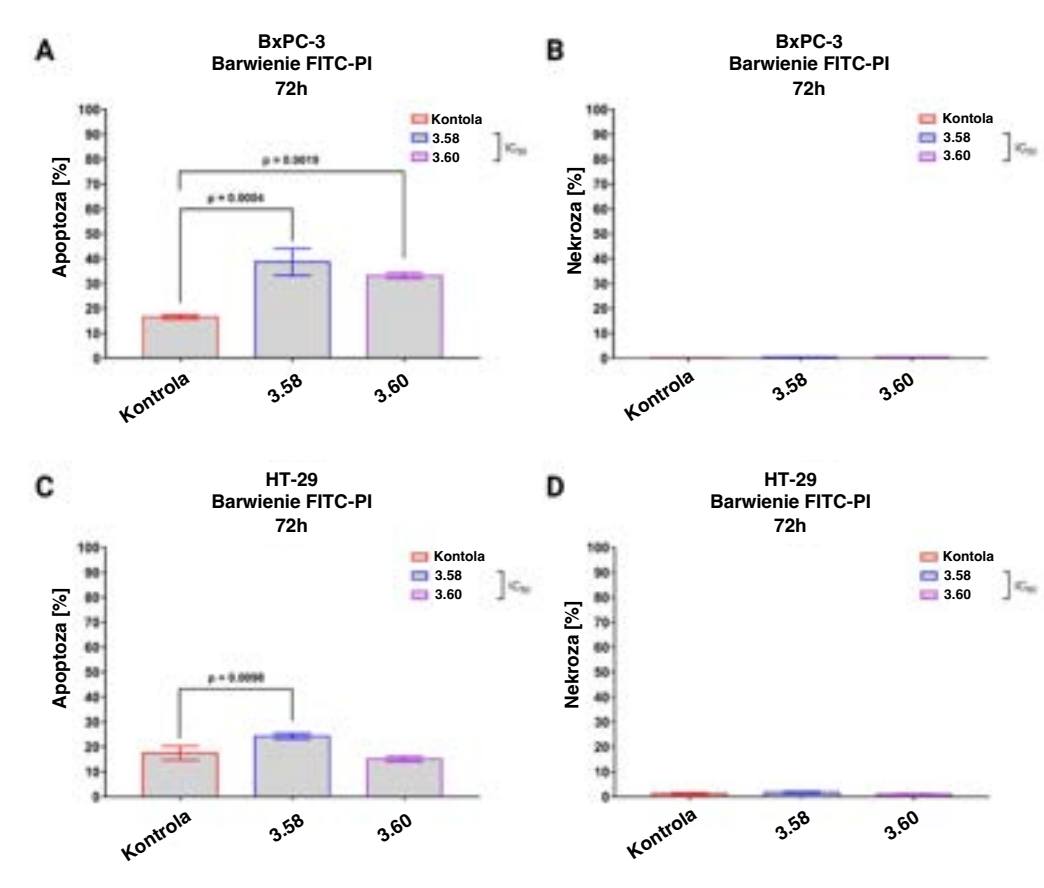
istotnego statystycznie wzrostu ( $p < 0.05$ ) frakcji nekrotycznej po ekspozycji komórek linii HT-29 pochodnymi zasad Betti'ego (Rysunek 3.13D).

### 3.4.3. Cytometria przepływowa z użyciem aneksyny V-FITC i jodku propidyny

Cytometria przepływowa z aneksyną V sprzężoną z izotiocyjanianem fluoresceiny (FITC) i jodkiem propidyny (PI) jest popularną metodą określania apoptozy i martwicy komórek. Pozwala ona precyzyjnie określić skuteczność związków indukujących apoptozę w komórkach nowotworowych, co jest kluczowe w rozwoju nowych terapii. Aneksyna V jest białkiem o wysokim powinowactwie do fosfatydyloseryny, która występuje na zewnętrznej powierzchni błony komórek apoptotycznych. W trakcie apoptozy fosfatydyloseryna przemieszcza się na zewnętrzną warstwę błony komórkowej, gdzie może być wykryta przez skoniugowaną aneksynę V. Jodek propidyny (PI) jest barwnikiem fluorescencyjnym barwiącym DNA komórek martwiczych z uszkodzonymi błonami plazmatycznymi<sup>325</sup>. Po wejściu do komórki, PI wiąże się z DNA i emituje silną fluorescencję, która może być zmierzona za pomocą cytometrii przepływowej. Jodek propidyny jest więc stosowany do odróżniania komórek martwych od tych, które są w fazie apoptozy. Umożliwia detekcję aneksyny V za pomocą cytometrii przepływowej, co pozwala na identyfikację komórek apoptotycznych. Podobnie jak w przypadku barwienia AO/EB, jedynie związki **3.58** i **3.60** użyliśmy do oceny indukcji apoptozy/nekrozy w komórkach BxPC-3 (Rysunek 3.14A, B) i HT-29 (Rysunek 3.14C, D) po ich ekspozycji na te związki w odpowiednich stężeniach  $IC_{50}$ .

---

<sup>325</sup> D. Włodkowic, J. Skommer, Z. Darzynkiewicz, *Apoptosis Methods in Molecular Biology*; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, **2009**, Volume 559.



**Rysunek 3.14.** Indukcja apoptozy i nekrozy w komórkach BxPC-3 (A, B) i HT-29 (C, D) po 72 h ekspozycji na związki **3.58** i **3.60** w stężeniach  $IC_{50}$ , mierzona za pomocą aneksyny V sprzężonej z izotiocyanianem fluoresceiny. Dane przedstawiono jako średni procent komórek apoptotycznych (wczesnych i późnych) oraz nekrotycznych z uwzględnieniem wartości SD. Różnice między próbkami eksperymentalnymi a kontrolą (nieleczoną) oceniano za pomocą testu ANOVA, a następnie testu Tukeya ( $p < 0,05$ );  $N = 200$ .

W komórkach BxPC-3 (Rysunek 3.14A) zaobserwowaliśmy istotny statystycznie ( $p = 0.0004$ ) wzrost frakcji komórek apoptotycznych po ekspozycji komórek na związek **3.58** w stężeniu  $IC_{50}$  (% komórek apoptotycznych =  $38.7 \pm 5.43\%$ ) i **3.60** (% komórek apoptotycznych =  $33.1 \pm 1.12\%$ ;  $p = 0.0019$ ) w porównaniu z komórkami kontrolnymi (% komórek apoptotycznych =  $16.5 \pm 0.87\%$ ). Nie zaobserwowaliśmy istotnego statystycznie wzrostu ( $p < 0.05$ ) frakcji nekrotycznej po inkubacji komórek BxPC-3 z badanymi związkami w stężeniach odpowiadających wyznaczonym wartościom  $IC_{50}$  (Rysunek 3.14B).

W komórkach HT-29 (Rysunek 3.14C) zauważyliśmy statystycznie istotny ( $p = 0.0098$ ) wzrost frakcji komórek apoptotycznych po potraktowaniu **3.58** w stężeniu  $IC_{50}$  (% komórek apoptotycznych =  $24.23 \pm 1.1\%$ ) w porównaniu z komórkami kontrolnymi (% komórek apoptotycznych =  $17.5 \pm 2.8\%$ ). Nie zaobserwowaliśmy istotnego statystycznie wzrostu ( $p = 0.3233$ ) liczby komórek apoptotycznych po zastosowaniu związku **3.60** w stężeniu  $IC_{50}$  (% komórek apoptotycznych =  $15.13 \pm 1\%$ ). Podobnie nie był zauważalny istotny statystycznie

wzrost ( $p < 0.05$ ) frakcji nekrotycznej po inkubacji komórek HT-29 z pochodnymi zasad Betti'ego w stężeniach odpowiadających wartościom  $IC_{50}$  (Rysunek 3.14D).

### 3.4.4 Badania obliczeniowe - podobieństwo do leków i ADMET

Procesy chemicznej adsorpcji, dystrybucji, metabolizmu, wydalania i toksyczności, zwane w skrócie ADMET, odgrywają kluczową rolę w opracowywaniu nowych leków. Potencjalny, wysokiej jakości lek powinien bowiem nie tylko wykazywać odpowiednią skuteczność terapeutyczną, ale także charakteryzować się optymalnymi właściwościami ADMET w dawce terapeutycznej. W tym celu buduje się znaczną liczbę modeli *in silico*, dzięki czemu można przewidzieć właściwości ADMET dla nowych, potencjalnych leków stosując metody obliczeniowe<sup>326</sup>. Koncepcja lekopodobieństwa bierze pod uwagę cechy strukturalne, fizykochemiczne, biochemiczne, farmakokinetyczne, a także toksyczność środków chemicznych. Zrozumienie tych cech stało się niezbędnym aspektem procesu odkrywania nowych leków i pozwala opracować precyzyjny planu syntetyczny dla nowych połączeń. Aby lek mógł oddziaływać z odpowiednimi receptorami lub enzymami musi pokonać błonę komórkową. W związku z tym, powinien spełniać pewne podstawowe kryteria, które umożliwią mu transport do wnętrza komórki. Kryteria te określa tzw. reguła Lipińskiego, która pomaga w wyborze cząsteczek o największym potencjale do przekroczenia tej bariery. Według reguły pięciu Lipińskiego, aby związek mógł odnieść sukces w badaniach klinicznych I fazy, powinien posiadać masę cząsteczkową nie większą niż 500 Da, logP (współczynnik podziału pomiędzy dwie niemieszające się fazy woda/*n*-oktanol) nie większy niż 5, liczbę donorów wiązań wodorowych nie większą niż 5 (zwykle są to grupy -OH lub -NH) i nie więcej niż 10 akceptorów wiązań wodorowych (zwykle są to atomy tlenu lub azotu)<sup>327</sup>. Warto jednak pamiętać, że Piątka Lipińskiego nie gwarantuje sukcesu leku, a raczej służy jako wskazówka na etapie wczesnego projektowania leków.

Biorąc pod uwagę powyższe, sześć z otrzymanych związków poddaliśmy analizie *in silico* ADMET, koncentrując się wyłącznie na ich właściwościach fizykochemicznych uzyskanych z danych obliczeniowych dwuwymiarowych struktur. Obecność form izomerycznych w konkretnym ligandzie przypisuje się zmianom w jego trójwymiarowym układzie strukturalnym. W związku z tym, przeprowadzenie analizy ADMET na izomerach jest niepraktyczne, ponieważ daje podobne lub nawet te same wyniki dla dwóch różnych izomerów, niezależnie od ich różnic strukturalnych. Dlatego postanowiliśmy przeprowadzić analizę ADMET, opierając się na dwuwymiarowych danych dla izomerów *SS/RR*. Właściwości ADMET i lekopodobieństwo badanych związków **3.56-3.62** i **3.65** wykazały że z wyjątkiem **3.58/3.59**, wszystkie pozostałe podlegają regule pięciu Lipińskiego (Tabela 3.12).

<sup>326</sup> L. Guan, H. Yang, Y. Cai, L. Sun, P. Di, W. Li, G. Liu, Y. Tang, *MedChemComm* **2018**, *10*, 148.

<sup>327</sup> C. Agoni, F. A. Olotu, P. Ramharack, M. E. Soliman, *J. Mol. Model.* **2020**, *26*, 120.

**Tabela 3.12.** Właściwości molekularne opisujące regułę pięciu Lipińskiego przewidziane przez serwis internetowy SwissADME (<http://www.swissadme.ch>, dostęp 26 lutego 2023 r.).

| Compound           | Molecular Weight | Hydrogen Bond Acceptors | Hydrogen Bond Donors | Consensus Log p Value | Drug-Likeness                  |
|--------------------|------------------|-------------------------|----------------------|-----------------------|--------------------------------|
| <b>3.56</b>        | 363.45           | 4                       | 2                    | 4.32                  | Yes; 0 violation               |
| <b>3.57</b>        | 397.89           | 4                       | 2                    | 4.86                  | Yes; 0 violation               |
| <b>3.58 / 3.59</b> | 411.49           | 4                       | 2                    | 4.86                  | Yes; 1 violation: MLOGP > 4.15 |
| <b>3.60</b>        | 361.43           | 4                       | 1                    | 3.79                  | Yes; 0 violation               |
| <b>3.61 / 3.62</b> | 393.43           | 6                       | 2                    | 3.37                  | Yes; 0 violation               |
| <b>3.65</b>        | 377.48           | 4                       | 2                    | 4.62                  | Yes; 0 violation               |

Właściwości farmakokinetyczne badanych związków, takie jak przepuszczalność przez barierę krew-mózg (BBB) i wchłanianie z przewodu pokarmowego (GI), a także działanie toksykologiczne (hepatotoksyczność, kardiotoxyczność i hamowanie cytochromu P450 (CYP)) zostały określone z wykorzystaniem serwisów internetowych pkCSM<sup>328</sup>, SwissADME<sup>329</sup> i PreADMET<sup>330</sup>, dostęp: 26 lutego 2023 r. i zamieszczone w Tabeli 3.13.

**Tabela 3.13.** Przewidywane właściwości ADMET związków **3.56-3.65**.

| Compound/Property  | Gastrointestinal (GI) Absorption (SwissADME) | CYP2D6 Inhibition (SwissADME/pkCSM) | CYP3A4 Inhibition (SwissADME/pkCSM) | Blood-Brain Barrier (BBB) Permeability (SwissADME) | P-glycoprotein Inhibition (SwissADME) | Ames Toxicity (pkCSM/PreADMET) | Cardiotoxicity (hERG Inhibition) (PreADMET) | Hepatotoxicity (pkCSM) |
|--------------------|----------------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|----------------------------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------|---------------------------------------------|------------------------|
| <b>3.56</b>        | High                                         | Yes/No                              | No/No                               | Yes                                                | Yes                                   | No/No                          | Acetaminophen                               | Yes                    |
| <b>3.57</b>        | High                                         | Yes/No                              | Yes/No                              | Yes                                                | Yes                                   | Yes/No                         | Acetaminophen                               | Yes                    |
| <b>3.58 / 3.59</b> | High                                         | Yes                                 | Yes                                 | Yes                                                | Yes                                   | Yes/No                         | Acetaminophen                               | Yes                    |
| <b>3.60</b>        | High                                         | Yes                                 | No/Yes                              | Yes                                                | No                                    | Yes/No                         | Acetaminophen                               | Yes                    |
| <b>3.61 / 3.62</b> | High                                         | Yes/No                              | Yes                                 | No                                                 | No                                    | Yes/No                         | Acetaminophen                               | Yes                    |
| <b>3.65</b>        | High                                         | Yes                                 | Yes                                 | Yes                                                | Yes                                   | Yes/No                         | Acetaminophen                               | Yes                    |

Zsyntetyzowane związki wykazywały wysoką wchłanialność z przewodu pokarmowego (GI). Dla związków **3.56**, **3.57**, **3.60** i **3.61/3.62** uzyskaliśmy niejednoznaczne wyniki przewidywania działania hamującego CYP. Natomiast **3.58/3.59** i **3.65** mogą hamować enzymy CYP2D6 i CYP3A4. Ludzkie enzymy CYP odgrywają kluczową rolę w procesie detoksykacji leków, metabolizmie komórkowym i homeostazie. U ludzi, jeden lub więcej enzymów z rodziny CYP odpowiada za prawie 80% procesów utleniania leków, a CYP2D6 i CYP3A4 metabolizują ponad połowę dostępnych obecnie leków. CYP mogą wpływać na działanie leków na wiele różnych sposobów, na przykład poprzez wpływ na ich eliminację, bezpieczeństwo, biodostępność i rozwój oporności na nie<sup>331</sup>.

Bariera krew-mózg, zwyczajowo nazywana BBB (blood-brain barrier), to mechanizm ochronny oddzielający tkanki mózgu od substancji przepływających w układzie krążenia we krwi. Jest to także bariera dyfuzyjna, która umożliwia przenikanie wody i małych, lipofilowych cząsteczek do mózgu pod wpływem gradientu stężeń<sup>332</sup>. Aby tworzyć leki, które będą skuteczne, ważne jest dokładne zrozumienie, w jaki sposób cząsteczki leku oddziałują

<sup>328</sup> D. E. V. Pires, T. L. Blundell, D. B. Ascher, *J. Med. Chem.* **2015**, 58, 4066.

<sup>329</sup> A. Daina, O. Michielin, V. Zoete, *Sci. Rep.* **2017**, 7, 42717

<sup>330</sup> S. Z. Kovacević, L. R. Jevrić, S. O. Podunavac Kuzmanović, E. S. Loncar, *Iran. J. Pharm. Res. IJPR* **2014**, 13, 899.

<sup>331</sup> M. Zhao, J. Ma, M. Li, Y. Zhang, B. Jiang, X. Zhao, C. Huai, L. Shen, N. Zhang, L. He, *Int. J. Mol. Sci.* **2021**, 22, 12808.

<sup>332</sup> J. Bernacki, A. Dobrowolska, K. Nierwińska, A. Małecki, *Pharmacol. Rep. PR* **2008**, 60, 600.

z BBB<sup>333</sup>. Spośród badanych związków stwierdzono, że **3.56**, **3.57**, **3.58/3.59** i **3.60** posiadają właściwości fizykochemiczne umożliwiające im przenikanie przez barierę krew-mózg (BBB).

Glikoproteina P (P-gp), jest rodzajem transportera transbłonowego kontrolowanego przez ATP, który jest zdolny do eksportowania z komórki szerokiej gamy hydrofobowych cząsteczek, które są strukturalnie różne i funkcjonalnie niepowiązane. Sugeruje się, że zjawisko oporności wielolekowej (ang. Multi-drug resistance, MDR), często wiąże się z nadekspresją P-gp, co stanowi główną przeszkodę w opracowaniu skutecznej chemioterapii różnych nowotworów. Zmniejszenie wchłaniania leku w przewodzie pokarmowym, w wyniku działania P-gp, prowadzi do obniżenia jego biodostępności po podaniu doustnym<sup>334</sup>. Stwierdziliśmy, że związki **360**. i **3.61/3.62** nie działają jako substraty P-gp.

W kolejnym kroku wykonaliśmy test Ames, który jest powszechnie stosowanym badaniem w toksykologii, służącym do wykrywania potencjalnych mutagenów. Wyniki testu przeprowadzonego z wykorzystaniem serwisów internetowych pkCSM i PreADMET, wskazują, że jedynie związek **3.56** nie posiada potencjału mutagennego.

Oszacowaliśmy także kardiotoksyczność badanych związków, która jak wiadomo jest istotnym działaniem niepożądanym związanym z przyjmowaniem niektórych leków. Niskie i średnie ryzyko kardiotoksyczności zostało przewidziane przez oprogramowanie PreADMET odpowiednio dla **3.57** i **3.60**, natomiast dla **3.56**, **3.58/3.59**, **3.61/3.62** i **3.65** przewidywania były niejednoznaczne.

Oszacowaliśmy także hepatotoksyczność badanych aminokwasowych pochodnych zasad Betti'ego. W większości przypadków hepatotoksyczność jest identyfikowana na późniejszych etapach opracowywania leków, zarówno podczas badań na ludziach jak i w testach toksyczności na zwierzętach. Chociaż hepatotoksyczność rzadko powoduje zatrzymanie rozwoju leku na etapie przedklinicznym, to wątroba jest najczęściej badany u zwierząt narządem pod względem toksyczności. W przeciwieństwie do toksyczności, która może dotyczyć innych narządów docelowych, toksyczność dla wątroby jest zazwyczaj odwracalna i można ją monitorować u ludzi za pomocą czułych testów enzymatycznych w surowicy. Dlatego w wielu przypadkach substancja, która została uznana za hepatotoksyczną u zwierząt, zostanie poddana ocenie u ludzi w celu ustalenia, potwierdzenia lub wykluczenia potencjału hepatotoksycznego. Jeśli lek ma znaczący potencjał terapeutyczny, możliwe, że potencjalne uszkodzenie wątroby u ludzi będzie akceptowalne. W tym kontekście badania mechanistyczne są kluczowe do oceny poziomu zagrożenia dla ludzi, a czasami również do opracowania środków ochronnych<sup>335</sup>. Nasze badania przeprowadziliśmy korzystając z serwisu internetowego Protox-II, który sklasyfikował wszystkie związki jako nieaktywne pod względem toksyczności dla wątroby (Tabela 3.14). Dodatkowo, przy użyciu tego samego oprogramowania, oszacowane zostały m.in. immunotoksyczność i mutagenność badanych związków, co pokazuje Tabela 3.14.

<sup>333</sup> M. Gupta, H. J. Lee, C. J. Barden, D. F. Weaver, *J. Med. Chem.* **2019**, 62, 9824.

<sup>334</sup> Y. Li, H. Yuan, K. Yang, W. Xu, W. Tang, X. Li, *Curr. Med. Chem.* **2010**, 17, 786.

<sup>335</sup> F. Ballet, *J. Hepatol.* **1997**, 26, 26.

**Tabela 3.14.** Profile toksyczności pochodnych zasad Betti'ego oszacowane przy użyciu Protox-II ([http://tox.charite.de/protox\\_II](http://tox.charite.de/protox_II), dostęp 26 lutego 2023 r.).

| Compound / Property | Hepatotoxicity             | Immunotoxicity             | Mutagenicity               | ATAD5                      | HSE                        | MMP                        | nr2/ARE                    | TP53                       |
|---------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| <b>3.56</b>         | Inactive<br>( $p = 0.55$ ) | Inactive<br>( $p = 0.98$ ) | Inactive<br>( $p = 0.56$ ) | Inactive<br>( $p = 0.85$ ) | Inactive<br>( $p = 0.92$ ) | Active<br>( $p = 0.59$ )   | Inactive<br>( $p = 0.92$ ) | Inactive<br>( $p = 0.8$ )  |
| <b>3.57</b>         | Active<br>( $p = 0.5$ )    | Inactive<br>( $p = 0.93$ ) | Inactive<br>( $p = 0.64$ ) | Inactive<br>( $p = 0.88$ ) | Inactive<br>( $p = 0.86$ ) | Active<br>( $p = 0.6$ )    | Inactive<br>( $p = 0.86$ ) | Inactive<br>( $p = 0.72$ ) |
| <b>3.58 / 3.59</b>  | Inactive<br>( $p = 0.64$ ) | Inactive<br>( $p = 0.99$ ) | Inactive<br>( $p = 0.54$ ) | Inactive<br>( $p = 0.88$ ) | Inactive<br>( $p = 0.93$ ) | Inactive<br>( $p = 0.63$ ) | Inactive<br>( $p = 0.93$ ) | Inactive<br>( $p = 0.85$ ) |
| <b>3.60</b>         | Inactive<br>( $p = 0.82$ ) | Inactive<br>( $p = 0.86$ ) | Inactive<br>( $p = 0.51$ ) | Inactive<br>( $p = 0.95$ ) | Inactive<br>( $p = 0.95$ ) | Inactive<br>( $p = 0.69$ ) | Inactive<br>( $p = 0.95$ ) | Inactive<br>( $p = 0.92$ ) |
| <b>3.61 / 3.62</b>  | Inactive<br>( $p = 0.65$ ) | Inactive<br>( $p = 0.99$ ) | Inactive<br>( $p = 0.5$ )  | Inactive<br>( $p = 0.86$ ) | Inactive<br>( $p = 0.94$ ) | Inactive<br>( $p = 0.56$ ) | Inactive<br>( $p = 0.94$ ) | Inactive<br>( $p = 0.74$ ) |
| <b>3.65</b>         | Inactive<br>( $p = 0.62$ ) | Inactive<br>( $p = 0.86$ ) | Inactive<br>( $p = 0.6$ )  | Inactive<br>( $p = 0.86$ ) | Inactive<br>( $p = 0.63$ ) | Inactive<br>( $p = 0.63$ ) | Inactive<br>( $p = 0.93$ ) | Inactive<br>( $p = 0.83$ ) |

Prognozy Protox-II wskazują, że badane związki nie wykazują właściwości immunotoksycznych ani mutagennych. Jest to sprzeczne z wynikami pkCSM/PreADMET, jednak oprogramowanie używane do przewidywania toksyczności często wykorzystuje inny zestaw struktur i modeli chemicznych, dlatego wyniki mogą się różnić.

Ponadto zbadaliśmy wpływ naszych związków na szlaki odpowiedzi na stres, w tym aktywację elementu odpowiedzi antyoksydacyjnej (ARE), odpowiedzi na szok cieplny (HSE), komórkowego antygenu nowotworowego p53 (TP53), zaburzenia potencjału błony mitochondrialnej (MMP) oraz indukcję genotoksyczności. Prognozy *in silico* wskazują, że badane związki nie wpływają na te szlaki.

### 3.4.5. Obliczenia zgodne z teorią funkcjonału gęstości (DFT)

Większość poddanych badaniom związków była dostępna w formie mieszaniny enancjomerów (*S,S/R,R*). To, w połączeniu ze zwiększoną cytotoksycznością wykazywaną przez te układy (w szczególności **3.58** i **3.61** w porównaniu z pochodnymi (*S,R*)/(*R,S*) **3.59** i **3.62**), stanowiło motywację do zbadania tych form w kolejnych badaniach *in silico*.

Tendencję cząsteczek do oddawania i przyjmowania elektronów można oszacować korzystając z wartości energii najwyższego obsadzonego orbitalu molekularnego (HOMO) i najniższego nieobsadzonego orbitalu molekularnego (LUMO). Wartości tych granicznych orbitali molekularnych i przerwy energetycznej pomiędzy nimi (HLG) dostarczają informacji na temat reaktywności chemicznej, kinetyki, stabilności strukturalnej i właściwości elektronowych, a także pozwalają wskazać najbardziej reaktywne miejsca w cząsteczce<sup>336</sup>. Wszystkie badane cząsteczki wykazywały zbliżone wartości HOMO, LUMO i przerwy energetycznej, co sugeruje ich podobną reaktywność, a potwierdza ocena biologiczna. Niska wartość luki energetycznej (0.15 eV) wskazuje na wysoką reaktywność, polaryzowalność i aktywność biologiczną analizowanych cząsteczek<sup>337</sup>. Obliczone wartości HOMO i LUMO mieszczą się odpowiednio w zakresie –0.21 do –0.20 eV i 0.05 do –0.04 eV (Tabela 3.15).

<sup>336</sup> M. Amati, S. Stoia, E. J. Baerends, *J. Chem. Theory Comput.* **2020**, 16, 443.

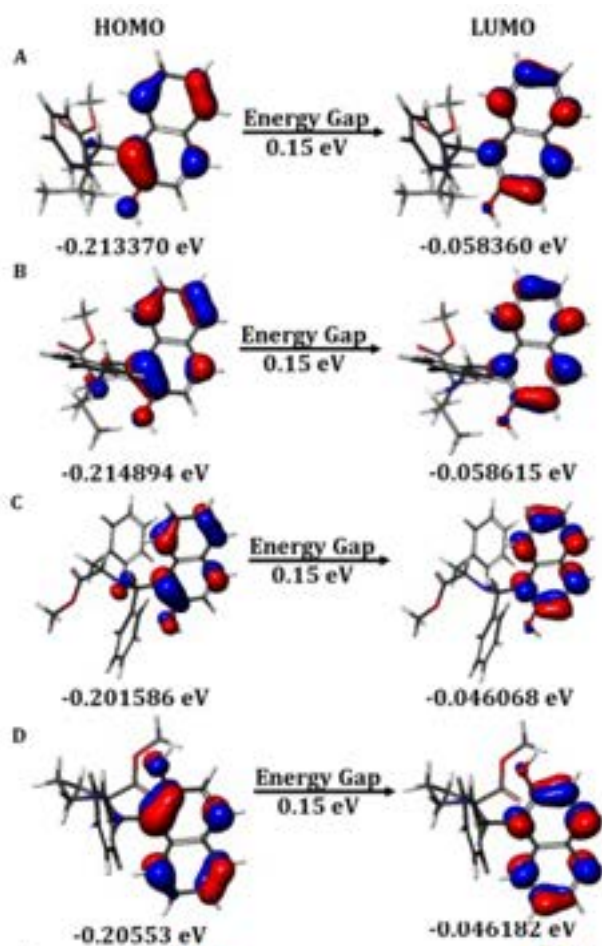
<sup>337</sup> R. Curpan, S. Avram, R. Vianello, C. Bologna, *Bioorg. Med. Chem.* **2014**, 22, 2461.

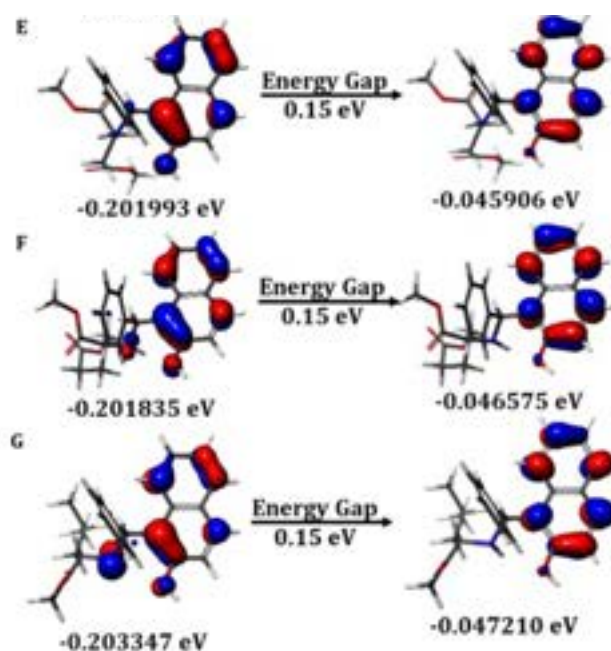


**Tabela 3.15.** Obliczenia teorii funkcjonału gęstości dla badanych aminobenzylonaftoli.

| Compound ID | HOMO (eV) | LUMO (eV) | HLG (eV) |
|-------------|-----------|-----------|----------|
| 3.56        | -0.213    | -0.058    | 0.15     |
| 3.57        | -0.214    | -0.058    | 0.15     |
| 3.58 / 3.59 | -0.201    | -0.046    | 0.15     |
| 3.60        | -0.201    | -0.046    | 0.15     |
| 3.61 / 3.62 | -0.201    | -0.045    | 0.15     |
| 3.63 / 3.64 | -0.201    | -0.046    | 0.15     |
| 3.65        | -0.203    | -0.047    | 0.15     |

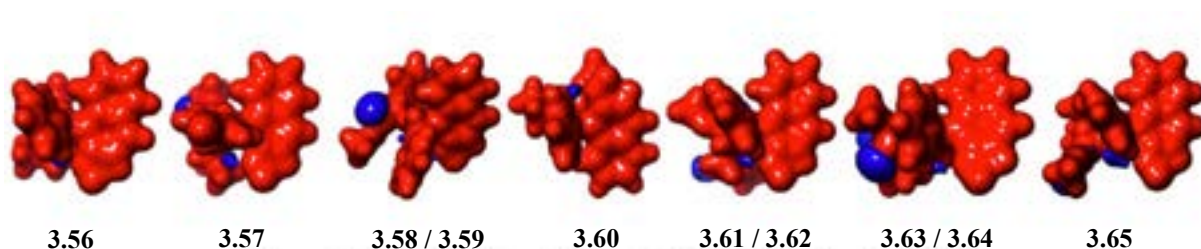
Profile rozkładu orbitali molekularnych badanych cząsteczek przedstawiłam na Rysunku 3.15. Co istotne, we wszystkich związkach to grupa naftylowa okazała się obszarem o wysokiej reaktywności.





**Rysunek 3.15.** Profil rozkładu HOMO i LUMO związków. A) 3.56, B) 3.57, C) 3.58/3.59, D) 3.60, E) 3.61/3.62, F) 3.63/3.64, G) 3.65

Dodatkowo przeprowadziliśmy analizę molekularnego potencjału elektrostatycznego (MESP) w celu zbadania reaktywności oraz wzorców wiązań molekularnych w związkach. MESP dostarcza informacji o rozkładzie ładunków na powierzchni cząsteczki, co umożliwia identyfikację obszarów podatnych na atak elektrofila lub nukleofila w procesach enzymatycznych. Wyniki dokowania molekularnego z charakterystyką elektronową cząsteczek leku określoną metodą DFT można także wykorzystać do przewidywania wiązań niekowalencyjnych, takich jak oddziaływania van der Waalsa i wiązania wodorowe<sup>338</sup>. Kolory czerwony (najniższy potencjał elektrostatyczny) i niebieski (najwyższy potencjał elektrostatyczny) reprezentują miejsca reaktywne w cząsteczkach podatne na atak elektrofila i nukleofila (Rysunek 3.16). Wszystkie badane cząsteczki wykazywały silnie ujemne wartości ESP, z najwyższymi wartościami ESP na atomach tlenu grupy estrowej.



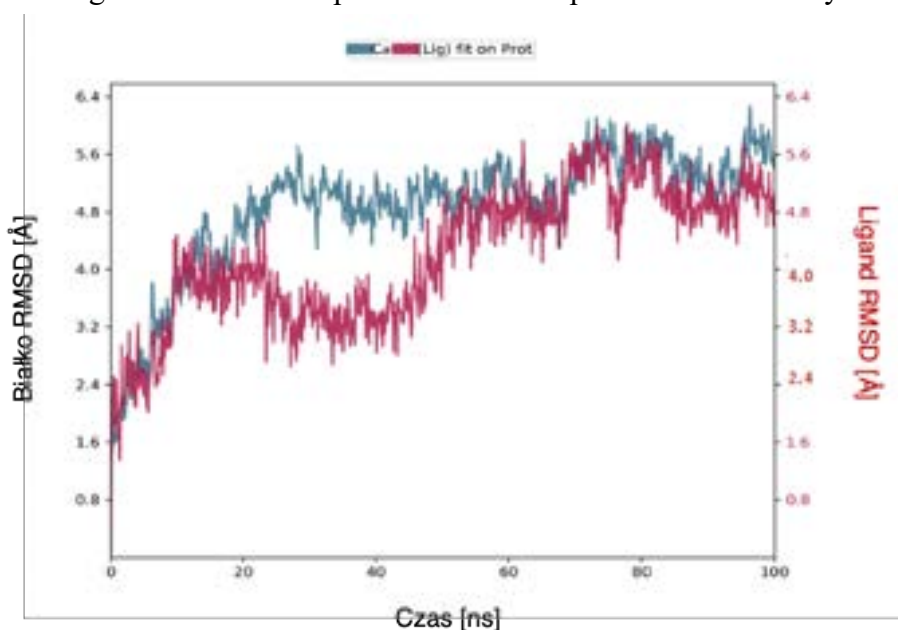
**Rysunek 3.16.** Analiza potencjału elektrostatycznego cząsteczek (MESP) badanych związków.

<sup>338</sup> N. Ye, Z. Yang, Y. Liu, *Drug Discov. Today* **2022**, 27, 1411.

### 3.4.6 Symulacja dynamiki molekularnej

Symulacja dynamiki molekularnej (MD) to technika obliczeniowa używana do badania ruchów i interakcji atomów oraz cząsteczek w czasie. Jest szeroko stosowana w chemii, fizyce, biologii oraz naukach o materiałach, aby modelować i przewidywać zachowanie układów molekularnych na poziomie atomowym. Do badań wybraliśmy pochodną fenyloalaniny **3.58/3.59**.

Przeprowadzone symulacje dynamiki molekularnej wykazały, że makrocząsteczkowe kompleksy **3.58/3.59** z receptorem adenozyiny A1 (ADORA1) są najbardziej stabilne przez cały okres symulacji. To wskazuje, że ligand **3.58/3.59** może być skutecznym środkiem przeciwnowotworowym, działającym poprzez oddziaływanie z enzymem ADORA1. Docelowe białko ADORA1 ma 288 reszt rozmieszczonych w łańcuchu makrocząsteczkowym składającym się z 2276 ciężkich atomów z łącznej liczby 4703 atomów. Cel makrocząsteczkowy ma tylko 58.7% nici beta stanowiących drugorzędową strukturę białka, która pozostaje zachowana przez cały proces symulacji. Ligand **3.58/3.59** zawiera 31 ciężkich atomów z łącznej liczby 56. Dynamiczna symulacja kompleksu makromolekularnego **3.58/3.59** z celem ADORA1 wykazała, że średnie odchylenie kwadratowe (RMSD) dla fluktuacji szkieletu białka wynosi od 1.8 do 5.8 Å, co mieści się w dopuszczalnym zakresie. Szkielet makromolekularny przeszedł dwie zmiany konformacyjne w ciągu pierwszych 20 ns, aby osiągnąć najbardziej stabilną konformację, która została utrzymana przez pozostałą część symulacji. Podobnie sam ligand **3.58/3.59** wykazywał początkowe fluktuacje do 15 ns, po czym utrzymywał stabilną konformację przez cały czas trwania symulacji, z RMSD w zakresie od 4.0 do 5.6 Å. Wyniki dotyczące kompleksu makromolekularnego **3.58/3.59** z receptorem ADORA1 przedstawiłam na Rysunku 3.17.



**Rysunek 3.17.** Średnie odchylenie kwadratowe (RMSD) dla kompleksu makromolekularnego **3.58/3.59** z receptorami adenozyiny A1 (ADORA1) uzyskane podczas symulacji MD trwającej 100 ns.

Dalsze badania wykazały, że reszty makromolekularne (aminokwasy tworzące białko receptora adenozyiny A1), takie jak Tyr12, Val62, Leu65, Ala66, Ile69, Val87, Leu88, Phe171, Met180, Leu250, His251, Leu253, Leu269, Tyr271, Ala273, Ile274 i Leu276 oddziałują hydrofobowo. Z kolei reszty: Asn254, Thr277, His278 tworzą wiązania wodorowe ze skompleksowanym ligandem **3.58/3.59**.

Dodatkowo zaobserwowaliśmy wystarczającą stabilność **3.58/3.59** w połączeniu z dwoma innymi enzymami: kinazą zależną od cykliny 2 (CDK2) oraz czynnikiem pośredniczącym transkrypcji 1-alfa (TRIM24).

Uzyskane wyniki wskazują, że reszty makrocząsteczkowe TRIM24 takie jak Ala923, Phe924, Val928, Ile939, Pro942, Cys976, Phe979 i Val986, uczestniczą w interakcjach hydrofobowych, podczas gdy reszta Met920 tworzy z ligandem **3.58/3.59** wiązania wodorowe. Ponadto reszty Met920, Ala923, Tyr935 i Asn980 są zaangażowane w tworzenie wiązań wodorowych z ligandem **3.58/3.59**. W przypadku enzymu CDK2, reszty takie jak Ile10, Val18, Ala31, Phe80, Phe82, Lys89, Lys129, Leu134, Ala144 i Val164, oddziałują hydrofobowo; Leu83, Asp86 i Gln131 poprzez wiązania wodorowe, a reszty takie jak Lys33, Asp86, Lys89, Gln131 i Asp145 uczestniczą w tworzeniu wiązań wodorowych ze skompleksowanym ligandem **3.58/3.59**.

Uzyskane wyniki dostarczają informacji na temat stabilności i interakcji utworzonego kompleksu makrocząsteczkowego, wskazując na możliwe konformacyjne zarówno szkieletu białka, jak i liganda **3.58/3.59** podczas symulacji dynamiki molekularnej. Biorąc pod uwagę ograniczoną wiedzę na temat roli ADORA1 w patofizjologii raka, zaobserwowane działanie przeciwnowotworowe liganda **3.58/3.59** można przypisać hamowaniu dwóch pozostałych celów (TRIM24 i CDK2).

### 3.4.7. Analiza Prime MM-GBSA

Analiza Prime MM-GBSA jest zaawansowaną techniką używaną w chemii obliczeniowej i biochemii do oceny siły wiązań i stabilności kompleksów molekularnych, takich jak białka z ligandami. Do naszych badań wybraliśmy 7 białek, które poddaliśmy interakcji z **3.58/3.59** (Tabela 3.16). Obliczone wartości energii swobodnej wiązania dla kompleksów białko-ligand mieściły się w zakresie od -66.73 do -23.71 kcal/mol (Tabela 3.16). Najbardziej ujemną wartość energii uzyskaliśmy dla kompleksu **3.58/3.59** z CDK2 (PDB id: 2FVD) -66.73 kcal/mol oraz **3.58/3.59** z ADORA1 (PDB id: 6D9H) -51.57 kcal/mol, co wskazuje na silniejsze wiązanie tych ligandów z miejscem aktywnym odpowiednich białek. Pozostałe kompleksy również wykazywały odpowiednie wartości energii wiązania z obiektami docelowymi. Uzyskane wyniki potwierdziły wkład poszczególnych energii swobodnych wiązań w osiągnięciu stabilnej konformacji, a także wykazały, że badane kompleksy są stabilne termodynamicznie.

**Tabela 3.16.** Energia swobodna wiązań dla kompleksów białko-ligand **3.58/3.59**.

| Protein | PDB id | $\Delta G_{\text{coulomb}}^a$ | $\Delta G_{\text{vdw}}^b$ | $\Delta G_{\text{covalent}}^c$ | $\Delta G_{\text{solv}}^d$ | $\Delta G_{\text{solvipo}}^e$ | $\Delta G_{\text{bind}}^f$ |
|---------|--------|-------------------------------|---------------------------|--------------------------------|----------------------------|-------------------------------|----------------------------|
| ADORA1  | 6D9H   | -12.86                        | -52.55                    | 17.9                           | 35.45                      | -35.2                         | -51.57                     |
| CDK1    | 6GU6   | -7.7                          | -47.87                    | 15.01                          | 38.36                      | -24.03                        | -28.53                     |
| CDK2    | 2FVD   | -10.49                        | -49.28                    | 12.96                          | 28.05                      | -46.92                        | -66.73                     |
| CK      | 6TLS   | -7.57                         | -31.17                    | 3.54                           | 21.06                      | -26.48                        | -41.89                     |
| NFKB1   | 1SVC   | -16.51                        | -35.67                    | 2.8                            | 37.3                       | -10.43                        | -23.71                     |
| PLK1    | 3PC2   | -18.94                        | -34.95                    | 10.71                          | 26.68                      | -22.78                        | -42.18                     |
| TRIM24  | 4YBM   | -18.94                        | -34.95                    | 10.71                          | 26.68                      | -22.78                        | -42.18                     |

Wkład do energii swobodnej wiązania MM-GBSA pochodzący z: <sup>a</sup> energii Coulomba; <sup>b</sup> energii van der Waalsa; <sup>c</sup> wiązania kowalencyjnego; <sup>d</sup> niespolaryzowanego wkładu do energii solwatacji ze względu na pole powierzchni; <sup>e</sup> wiązania lipofilowego; <sup>f</sup> Energia swobodna wiązania.

## 4. PODSUMOWANIE

Celem niniejszej pracy była synteza nowych, skutecznych organokatalizatorów oraz zbadanie ich aktywności katalitycznej w asymetrycznej reakcji Betti'ego, stanowiącej niezwykle użyteczne narzędzie do tworzenia wiązań C-C. Dodatkowo, zaplanowano osadzenie wybranego organokatalizatora tiomocznikowego na porowatych adsorbentach oraz sprawdzenie jego aktywności w badanej reakcji. Ponadto, zaplanowano syntezę nowych aminokwasowych pochodnych zasad Betti'ego oraz dokonanie oceny ich potencjalnych właściwości przeciwnowotworowych.

Reakcja Betti'ego jest prostą wieloskładnikową kondensacją 2-naftolu, aldehydów arylowych i amin, a w uproszczonym wariacie, kondensacją 2-naftolu z wstępnie uformowaną iminą, prowadzącą do aminobenzylonaftoli, zwanych zasadami Betti'ego. Powstałe optycznie aktywne aminobenzylonaftole to klasa cząsteczek występujących w wielu związkach naturalnych i syntetycznych, które mają szeroki zakres interesujących właściwości i zastosowań. Reakcja ta została poddana licznym modyfikacjom, głównie dotyczącym stosowanych substratów. Najbardziej znane warianty obejmują reakcje 1-naftoli i 6-hydroksychinoliny z odpowiednio *N*-tosyloiminą lub ketiminą.

Ze względu na duże zapotrzebowanie na rozwój skutecznych metod asymetrycznego wariantu tej reakcji, postanowiłam w pierwszym etapie zbadać aktywność katalityczną dwufunkcyjnych organokatalizatorów tiomocznikowych oraz, po raz pierwszy, tiosquaramidowych. W tym celu otrzymałam serię 7 organokatalizatorów tiomocznikowych **O3.1-O3.7** oraz 4 organokatalizatorów tiosquaramidowych **O3.8-O3.11**, różniących się podstawnikami przy tioamidowych atomach azotu. Następnie w zoptymalizowanych warunkach przeprowadziłam reakcję z użyciem 1- i 2-naftoli oraz 6-hydroksychinoliny z *N*-tosyloiminą i ketiminą. Z doskonałymi wydajnościami (do 98%) i wysoką enancjoselektywnością (do 80% *ee*) otrzymałam chiralne aminobenzylonaftole oraz enancjowzbożone 3-amino-2-oksindole (wydajność do 78%, *ee* do 98%). Ponadto, wykazałam, że tiomoczniki typu Takemoto najskuteczniej katalizują reakcję 1-naftolu z *N*-tosyliminą (80% *ee*), podczas gdy w reakcji 2-naftolu z *N*-tosyliminą to dwufunkcyjne tiosquaramidy wykazały wyższą aktywność katalityczną (do 71% *ee*). Reakcja 6-hydroksychinoliny z *N*-Boc-ketiminą pochodną izatyny prowadziła do regioselektywnie alkilowanego w pozycji C-5 produktu. Organokatalizator tiomocznikowy **O3.7**, który nie posiadał fragmentu cykloheksyloaminowego, okazał się najbardziej skuteczny dla tej przemiany (*ee* do 98%), podczas gdy jego odpowiednik tiosquaramidowy **O3.10** generował zaledwie 10% nadmiar enancjomeryczny. Podobne obserwacje poczyniono dla reakcji 1- i 2-naftoli z 6-hydroksychinoliną.

W oparciu o doniesienia literaturowe i obserwowaną stereochemię reakcji, zaproponowałam stan przejściowy obejmujący trójskładnikowy kompleks pomiędzy katalizatorem i substratami. Wykazałam, że zarówno organokatalizatory tiomocznikowe, jak i tiosquaramidowe wspomagają reakcję w dwojaki sposób: aktywując *N*-tosyliminę/*N*-Boc-

ketiminę poprzez utworzenie wiązania wodorowego z ugrupowaniem tiomocznikowym/tiosquaramidowym (obecność grupy aryłowej z podstawnikami silnie elektronoakceptorowymi ( $\text{CF}_3$ ) zwiększającymi kwasowość wiązania N-H jest preferowana), a także zwiększając nukleofilowość 1-naftolu/2-naftolu/6-hydroksychinoliny poprzez oddziaływanie z fragmentem trzeciorzędowej aminy.

W kolejnej części badań sprawdziłam aktywność katalityczną trzech innych grup katalizatorów. Pierwszą grupę stanowiły organokatalizatory tiomocznikowe i mocznikowe zawierające pierścień węglowodanowy, drugą – azirydynylokarbinole, ostatnią fosfiny i tlenki fosfin zawierające podjednostkę azirydynową.

Chiralne tiomoczniki zawierające pierścień galaktozy **O3.35** i celobiozy **O3.36** dawały produkty z dobrymi wydajnościami (70-75%), ale prowadziły do niemal racemicznego produktu ( $ee = 6\%$ ) pomimo, że posiadały funkcję trzeciorzędowej aminy wzmacniającej nukleofilowość 1-naftolu. Podobnie mało satysfakcjonujące wyniki otrzymałam dla mocznikowych pochodnych celobiozy **O3.37** i **O3.38** (do 4%  $ee$ ).

Nieco wyższą wydajność i enancjoindukcję generowały azirydynylokarbinole **O3.39-O3.45**, spośród których bis-AziFenol **O3.39** prowadził do produktu z 84% wydajnością i 60%  $ee$ . Ostatnia grupa organokatalizatorów, którą stanowiły fosfinoilo-azirydyny **O3.46-O3.49** oraz fosfino-azirydyny **O3.50-O3.51** okazała się praktycznie nieaktywna pod względem enancjoselektywności (wyd. 58-71%,  $0 \leq ee \leq 16\%$ ).

Ze względu na zdecydowanie słabsze wyniki uzyskane w powyższych próbach, w porównaniu do tych uzyskanych w obecności organokatalizatorów tiomocznikowych typu Takemoto, a także tiosquaramidowych, nie podejmowałam próby badania ich aktywności w reakcji 2-naftolu z *N*-tosyloiminą. Trzy najskuteczniejsze organokatalizatory **O3.35**, **O3.40** i **O3.51** postanowiłam jednak przetestować w reakcji 6-hydroksychinoliny z *N*-Boc ketiminą, co skutkowało otrzymaniem produktu z wydajnością do 29% i nadmiarem enancjomerycznym do 18%  $ee$ .

Chociaż katalizatory homogeniczne znajdują zastosowanie w wielu procesach komercyjnych, przemysł chemiczny i farmaceutyczny preferuje katalizatory heterogeniczne, ponieważ są one łatwiejsze do oddzielenia od reagentów i można je ponownie użyć w kolejnych cyklach reakcyjnych. W odpowiedzi na te potrzeby postanowiłam połączyć zalety katalizatorów homogenicznych i heterogenicznych poprzez trwałe osadzenie katalizatorów homogenicznych na powierzchni porowatych adsorbentów.

Do badań wybrałam organokatalizator tiomocznikowy **O3.1**, opracowując skuteczną metodę jego osadzania na standardowych nośnikach stałych: węglu, krzemionce i tlenku glinu, co potwierdziły przeprowadzone analizy FTIR i HPLC. Dodatkowo powierzchnię adsorbentów zmodyfikowałam miedzią, amoniakiem lub etylenodiaminą. Modyfikacja nośników miedzią miała na celu stworzenie dodatkowych centrów adsorpcji na powierzchni, gdzie cząsteczka tiomocznika byłaby adsorbowana przez atom siarki (który nie uczestniczy bezpośrednio w katalizowaniu reakcji Betti'ego). Z kolei modyfikacja amoniakiem i etylenodiaminą miała na celu nasycenie atomami azotu centrów zdolnych do wiązania tiomocznika, które są

katalitycznie aktywne w reakcji, wymuszając tym samym inny sposób wiązania się katalizatora z adsorbentem.

Aktywność otrzymanych katalizatorów zbadalam w reakcji Betti'ego 1-naftolu z *N*-tosyloiminą. Otrzymane wyniki wskazały na niższą aktywność układów heterogenicznych w porównaniu do homogenicznych. Najwyższą indukcję asymetryczną zaobserwowałam dla tiomocznika osadzonego na SiO<sub>2</sub>, który dostarczał produkt z 20% wydajnością i 32% *ee* na korzyść enancjomeru *S*. Co interesujące, w tych samych warunkach katalizator TU/SiO<sub>2</sub> modyfikowany miedzią, dawał z 22% *ee* przeciwny enancjomer, z prawie trzykrotnie wyższą wydajnością.

Warto podkreślić, że zgodnie z moją najlepszą wiedzą są to pierwsze badania, w których wykorzystano katalizator typu Takemoto immobilizowany na porowatych adsorbentach w reakcji Betti'ego, co stanowi obiecujący punkt wyjścia dla przyszłych badań.

Ostatnim celem niniejszej pracy było otrzymanie zmodyfikowanych strukturalnie aminobenzylonaftoli pochodnych aminokwasów. Ta zmiana w strukturze miała wpłynąć na biodostępność i właściwości otrzymanych aminokwasowych pochodnych. W tym celu otrzymałam 10 pochodnych zasad Betti'ego, z których 8 to nowe związki, dotąd nieopisane w literaturze chemicznej. Badania *in vitro* i *in silico*, mające na celu ocenę potencjału przeciwnowotworowego otrzymanych pochodnych, przeprowadziłam we współpracy z pracownikami Katedry Biotechnologii Molekularnej i Genetyki Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego. Test MTT został wykorzystany do oceny aktywności cytotoksycznej związków na liniach komórkowych raka trzustki (komórki BxPC-3) i jelita grubego (HT-29). Właściwości proapoptotyczne dwóch pochodnych **3.58** i **3.60** zbadaliśmy przy użyciu barwienia AO/EB i aneksyny V-FITC/PI. Zastosowaliśmy badania *in silico*, w tym profilowanie ADMET, przewidywanie celów molekularnych, dokowanie i dynamikę molekularną. Wykonane analizy potwierdziły, że badane związki (z wyjątkiem **3.61/3.62**) wykazują cechy podobne do leków i korzystne właściwości farmakokinetyczne, takie jak wysoka wchłanialność z przewodu pokarmowego i zdolność przenikania przez barierę krew-mózg (BBB).

Z przeprowadzonych badań wynika, że aminokwasowe pochodne zasad Betti'ego wykazują silne właściwości cytotoksyczne i proapoptotyczne, co czyni je obiecującymi blokami budulcowymi do poszukiwania nowych leków przeciwnowotworowych. Najlepsze właściwości cytotoksyczne zaobserwowano dla zasad Betti'ego zawierających (*S*)-prolinę i (*S*)-fenyloalaninę (**3.58** i **3.60**), a więc dla aromatycznych lub heterocyklicznych pochodnych. Alifatyczne pochodne aminokwasów charakteryzowały się słabszymi właściwościami cytotoksycznymi. Ponadto, zastosowanie prawidłowych ludzkich fibroblastów pozwoliło wykazać preferencyjną aktywność badanych związków w stosunku do komórek nowotworowych. Obserwowaną aktywność przeciwnowotworową może przypisać inhibicji kluczowych celów molekularnych zaangażowanych w patogenezę raka, takich jak ADORA1, CDK2 i TRIM24.



Zaprezentowane wyniki wskazują, że założenia niniejszej pracy zostały pomyślnie zrealizowane. Opracowane metody syntezy czynnych optycznie zasad Betti'ego w warunkach katalizy zarówno homogenicznej, jak i heterogenicznej, stanowią dobrą podstawę do dalszych optymalizacji i badań nad aktywnością biologiczną tej klasy związków.

## 5. CZĘŚĆ EKSPERYMENTALNA

*\*Dotyczy wyłącznie Rozdziału 3.2 i 3.3.*

### 5.1. Procedura ogólna

Większość reakcji prowadzona była w atmosferze argonu oraz w bezwodnych rozpuszczalnikach, w specjalnie przystosowanej do tego typu reakcji aparaturze.

Komercyjnie dostępne substancje chemiczne użyte w tej pracy zostały zakupione od firmy Merck (Darmstadt, Germany) i były używane w postaci dostarczonej, bez dodatkowego oczyszczania.

Rozpuszczalniki używane do chromatografii kolumnowej były wcześniej destylowane.

#### Chromatografia cienkowarstwowa

Przebieg prowadzonych reakcji kontrolowano za pomocą chromatografii cienkowarstwowej. Używano do tego celu płytek z folii aluminiowej, pokrytych żelam krzemionkowym firmy Merck (DC Alufolien Kiesegel 60 F254). Do wywoływania stosowano lampę UV.

#### Chromatografia kolumnowa

Otrzymane związki oczyszczano za pomocą chromatografii kolumnowej oraz chromatografii pod ciśnieniem (flash), używając jako wypełniacza żelu krzemionkowego firmy Merck SI60 (230-400 mesh).

#### Magnetyczny rezonans jądrowy $^1\text{H}$ -NMR

Widma  $^1\text{H}$ -NMR rejestrowano na aparacie Bruker Avance III (600 MHz) oraz Bruker AvanceNeo (600 MHz) wyposażony w kriosondę Prodigy w  $\text{CDCl}_3$  stosując TMS jako wzorzec wewnętrzny lub w  $\text{D}_2\text{O}$ . Wartość przesunięć chemicznych określono w ppm, zaś stałe sprzężenia w hercach (Hz).

#### Magnetyczny rezonans jądrowy $^{13}\text{C}$ -NMR

Widma  $^{13}\text{C}$ -NMR wykonano na aparacie Bruker Avance III (150 MHz) oraz Bruker AvanceNeo (600 MHz) wyposażony w kriosondę Prodigy.

#### Spektroskopia IR

Pomiarów widm IR dokonano dla ciał stałych w formie pastylek (KBr), na aparacie Thermo Nicolet FT-IR Negus. Pomiarów widm FTIR dokonano za pomocą spektrometru Nicolet 6700 z przystawką DRIFT serii 19900 firmy Specac, wyposażonego w detektor MCT (Thermo Scientific) i celkę transmisyjną. Wartości przesunięć chemicznych określono w  $\text{cm}^{-1}$ .

### **Spektrometria mas**

Widma masowe wykonano na aparacie Varian 500-MS LC Ion Trap. Pomiary wysokorozdzielczej spektrometrii mas (HRMS) wykonano przy użyciu spektrometru mas Synapt G2-Si (Waters) wyposażonego w źródło ESI oraz kwadrupolowy analizator mas typu Time-of-Flight.

### **Skręcalność właściwa**

Kąt skręcenia płaszczyzny światła spolaryzowanego mierzono za pomocą polarymetru Anton Paar MCP 500 przy długości fali 589 nm, wykorzystując zależność:

$$[\alpha]_D^T = \frac{\alpha * 100}{c * l}$$

gdzie:  $\alpha$  – kąt skręcenia odczytany z aparatu,  $c$  – stężenie [g/100 ml r-ru],  $l$  – długość kuwety [dm]

### **Nadmiary enancjomeryczne**

Nadmiary enancjomeryczne ( $ee$ ) oznaczono na aparacie HPLC 1260 Infinity firmy Agilent Technologies stosując kolumny Kromasil AD (250 x 4.6 mm) oraz Chiralcel OD-H (250 x 4.6mm).

### **Temperatura topnienia**

Temperatury topnienia badanych związków oznaczono na aparacie DigiMelt i nie korygowano.

## 5.2. Synteza organokatalizatorów homogenicznych

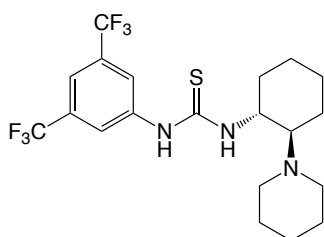
### 5.2.1. Synteza organokatalizatorów tiomocznikowych

#### *Procedura ogólna:*

Do roztworu (1*R*,2*R*)-2-(piperydino-1-ylo)cykloheksano-1-aminy (73 mg, 0.4 mmol) w CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> w temperaturze 0°C dodano kroplami odpowiedni izotiocyanian (0.48 mmol) w atmosferze argonu. Całość mieszano w temperaturze pokojowej przez 30 min. Postęp reakcji monitorowano za pomocą chromatografii cienkowarstwowej TLC. Po zakończeniu reakcji surowy produkt zatężono na wyparce próżniowej i oczyszczono za pomocą chromatografii kolumnowej.

#### 5.2.1.1. 1-[3,5-Bis(trifluorometylo)fenylo]-3-[(1*R*,2*R*)-2-(piperydyn-1-ylo)cykloheksylo]tiomocznik (O3.1)

Otrzymano bezbarwne ciało stałe (167 mg, wyd. 92%).



$R_f = 0.09$  (heksan/octan etylu, 2:1)

$[\alpha]_D^{20} = -6.0$  ( $c$  0.40, CHCl<sub>3</sub>), {Lit.<sup>272</sup>:  $[\alpha]_D^{20} = +0.60$  ( $c$  0.50, CHCl<sub>3</sub>)}

$T.t. = 53.2-55.5^\circ\text{C}$ , {Lit.<sup>272</sup>:  $T.t. = 57-59^\circ\text{C}$ }

<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 1.10-1.47$  (m, 10H, H<sub>alif</sub>), 1.75 (d, 1H,  $J = 13.1$ , H<sub>alif</sub>), 1.85 (d, 1H,  $J = 11.2$ , H<sub>alif</sub>), 1.94 (d, 1H,  $J = 11.5$ , H<sub>alif</sub>), 2.33-2.55 (m, 3H, H<sub>alif</sub>), 2.57-2.82 (m,

3H, H<sub>alif</sub>), 3.85 (bs, 1H, NH), 7.68 (s, 1H, H<sub>ar</sub>), 7.87 (s, 2H, H<sub>ar</sub>).

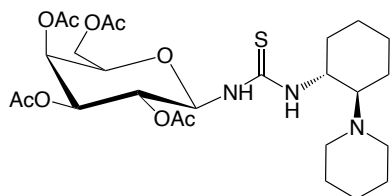
<sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 23.5, 23.8, 24.4, 25.1, 25.7, 27.2, 32.6$  (C<sub>alif</sub>), 49.7 (CH<sub>2</sub>N), 55.6 (CHNH), 68.6 (CHN), 118.7, 120.3, 122.1, 123.8, 124.1 (q,  $^1J_{C-F} = 270.0$ ), 132.5 (q,  $^2J_{C-F} = 34.7$ ), 140.0 (C<sub>ar</sub>), 180.3 (CS).

**Analiza elementarna:** C<sub>20</sub>H<sub>25</sub>F<sub>6</sub>N<sub>3</sub>S (453.49 g/mol): teoretyczna: C% 52.97, H% 5.56, N% 9.27, S% 7.07; oznaczona: C% 52.81, H% 5.61, N% 9.47, S% 6.97.

Dane spektralne zgodne z danymi literaturowymi<sup>272,279</sup>.

**5.2.1.2. 1-[2,3,4,6-Tetra-O-acetylo-β-D-galaktozylo]-3-[(1R,2R)-2-(piperydyn-1-ylo)-cycloheksylo]tiomocznik (O3.35)**

Otrzymano bezbarwne ciało stałe (204 mg, wyd. 87%).



$R_f = 0.53$  (octan etylu/metanol, 4:1)

$[\alpha]_D^{20} = +5.5$  (c 0.35, CHCl<sub>3</sub>)

T.t. = 82.2-83.5°C

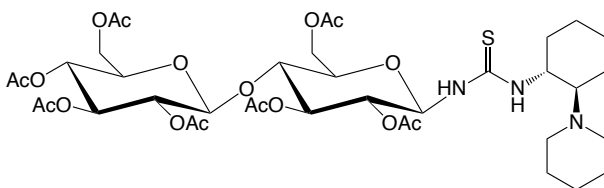
<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 1.07-1.30 (m, 9H, H<sub>alif</sub>), 1.36-1.43 (m, 2H, H<sub>alif</sub>), 1.48-1.55 (d, 2H, H<sub>alif</sub>), 1.60-1.65 (m, 2H, H<sub>alif</sub>), 1.92 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.96 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.99 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.08 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.32-2.41 (m, 2H, H<sub>alif</sub>), 2.59-2.69 (m, 2H, H<sub>alif</sub>), 3.94-4.01 (m, 1H, H-5), 4.02-4.09 (m, 2H, 2H-6), 5.07-5.14 (m, 2H, H-2, H-3), 5.36-5.39 (m, 1H, H-4), 5.59 (bs, 1H, H-1), 6.76 (bs, 1H, NH).

<sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 20.6 (CH<sub>3</sub>), 20.7 (CH<sub>3</sub>), 20.8 (CH<sub>3</sub>), 20.9 (CH<sub>3</sub>), 23.3, 24.3, 24.5, 25.3, 25.9, 27.8, 32.6 (C<sub>alif</sub>), 49.3 (CH<sub>2</sub>N), 54.8 (CHNH), 61.2 (C-6), 67.3 (C-2), 67.8 (C-4), 68.7 (CH<sub>2</sub>N), 71.0 (C-3), 72.2 (C-5), 83.4 (C-1), 169.9 (CO), 170.2 (CO), 170.5 (CO), 171.5 (CO), 183.2 (CS).

TOF MS ES<sup>+</sup> teoretyczna dla C<sub>26</sub>H<sub>42</sub>N<sub>3</sub>O<sub>9</sub>S [M]<sup>+</sup> 572.2642; oznaczona 572.2651.

**5.2.1.3. 1-[2,3,6,2',3',4',6'-Hepta-O-acetylo-β-D-celobiozylo]-3-[(1R,2R)-2-(piperydyn-1-ylo)cycloheksylo]tiomocznik (O3.36)**

Otrzymano bezbarwne ciało stałe (238 mg, wyd. 68%).



$R_f = 0.5$  (octan etylu/metanol, 4:1)

$[\alpha]_D^{20} = -7.6$  (c 0.35, CHCl<sub>3</sub>)

T.t. = 105-106.5°C

<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 1.11-1.31 (m, 9H, H<sub>alif</sub>), 1.38-1.45 (m, 2H, H<sub>alif</sub>), 1.52-1.58 (d, 2H, H<sub>alif</sub>), 1.62-1.68 (m, 2H, H<sub>alif</sub>), 1.91 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.94 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.95 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.96 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.97 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.03 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.05 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.34-2.45 (m, 2H, H<sub>alif</sub>), 2.71-2.77 (m, 2H, H<sub>alif</sub>), 3.59 (ddd, 1H, J = 10.0, 4.6, 2.3, H-5'), 3.63-3.68 (m, 1H, H-5), 3.71 (dd, 1H, J = 9.8, 9.8, H-4), 3.99 (dd, 1H, J = 12.4, 2.2, H-6'), 4.05 (dd, 1H, J = 12.1, 4.6, H-6), 4.28 (dd, 1H, J = 12.4, 4.6, H-6'), 4.41-4.46 (m, 2H, H-1', H-6), 4.83-4.89 (m, 2H, H-2, H-2'), 4.99 (dd, 1H, J = 10.0, 9.8, H-4'), 5.07 (dd, 1H, J = 9.8, 9.4, H-3'), 5.23 (dd, 1H, J = 9.8, 9.4, H-3), 5.52 (bs, 1H, H-1), 6.78 (bs, 1H, NH).

**$^{13}\text{C}$ -NMR** (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 20.5-21.1 (7xCH<sub>3</sub>), 23.4, 24.5, 25.2, 29.8, 32.6 (C<sub>alif</sub>), 45.8 (CH<sub>2</sub>N), 52.7 (CHN), 61.8 (C-6'), 61.9 (C-6), 68.0 (C-4'), 71.2 (C-2), 71.7 (C-2', C-5'), 72.2 (C-3), 73.1 (C-3'), 74.2 (C-5), 76.5 (C-4), 82.9 (C-1), 100.7 (C-1'), 169.1-170.8 (7xCO), 183.9 (CS).

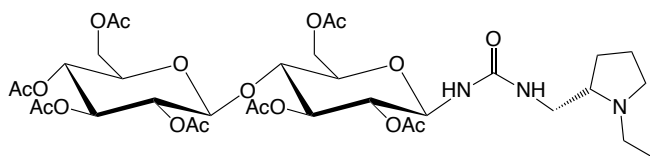
**TOF MS ES<sup>+</sup>** teoretyczna dla C<sub>38</sub>H<sub>58</sub>N<sub>3</sub>O<sub>17</sub>S [M]<sup>+</sup> 860.3487; oznaczona 860.3492.

## 5.2.2. Synteza organokatalizatorów mocznikowych

### 5.2.2.1. 1-[2,3,6,2',3',4',6'-Hepta-O-acetylo- $\beta$ -D-celobiozylo]-3-[(2S)-(1-etylopirolidyn-2-ylo)metylo]mocznik (O3.37)

Azydek celobiozy (1.02 g, 1.5 mmol) rozpuszczono w 10 ml toluenu, a następnie dodano trifenylofosfinę (1.19 g, 4.5 mmol). Całość mieszano w temperaturze pokojowej przez 1h w atmosferze CO<sub>2</sub>. Następnie dodano (S)-(-)-2-aminometylo-1-etylopirolidynę (0.21 g, 1.6 mmol) i kontynuowano mieszanie przez 24h w atmosferze CO<sub>2</sub>. Postęp reakcji monitorowano za pomocą chromatografii cienkowarstwowej TLC. Po tym czasie rozpuszczalnik odparowano, a surowy produkt oczyszczono na kolumnie chromatograficznej, stosując jako eluent mieszaninę rozpuszczalników octan etylu/metanol w stosunku 2:1.

Otrzymano bezbarwne ciało stałe (552 mg, wyd. 75%).



**R<sub>f</sub>** = 0.75 (octan etylu/metanol, 7:3)

**T.t.** = 158.7-159.9°C,

{Lit.<sup>280</sup>: **T.t.** = 160-161°C}

**[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup>** = + 3.0 (c 0.50, CHCl<sub>3</sub>),

{Lit.<sup>280</sup>: **[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup>** = - 7.2 (c 0.50, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)}

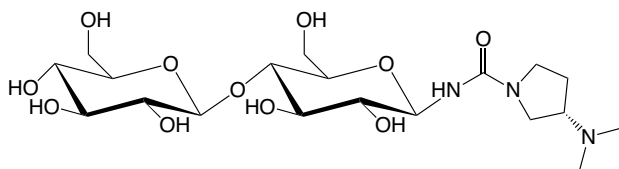
**$^1\text{H}$ -NMR** (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 1.09 (t, 3H,  $J$  = 7.2, H-8''), 1.50-1.57 (m, 1H, H-3''), 1.61-1.74 (m, 2H, H-4'', H-4''), 1.78-1.85 (m, 1H, H-3''), 1.85-1.93 (m, 1H, H-5''), 1.98-2.11 (7s, 21H, CH<sub>3</sub>), 2.12-2.19 (m, 1H, H-6''), 2.21-2.27 (m, 1H, H-7''), 2.51-2.62 (m, 1H, H-2''), 2.75-2.28 (m, 1H, H-7''), 3.05-3.12 (m, 1H, H-6''), 3.10-3.17 (m, 1H, H-5''), 3.17-3.34 (m, 1H, NH), 3.66 (ddd, 1H,  $J$  = 9.5, 2.0, 2.0, H-5'), 3.70 (ddd, 1H,  $J$  = 9.5, 4.5, 1.1, H-5), 3.76 (t, 1H,  $J$  = 9.5, 9.4, H-4), 4.05 (dd, 1H,  $J$  = 12.4, 2.0, H-6'), 4.14 (dd, 1H,  $J$  = 12.0, 4.5, H-6), 4.38 (dd, 1H,  $J$  = 12.4, 2.0, H-6'), 4.45 (dd, 1H,  $J$  = 12.0, 1.1, H-6), 4.51 (d, 1H,  $J$  = 9.1, H-1'), 4.84 (t, 1H,  $J$  = 9.4, 9.4, H-2), 4.91 (t, 1H,  $J$  = 9.5, 9.1, H-2'), 5.07 (t, 1H,  $J$  = 9.5, 9.5, H-4'), 5.12 (d, 1H,  $J$  = 9.4, NH), 5.11 (t, 1H,  $J$  = 9.5, 9.5, H-3'), 5.15 (t, 1H,  $J$  = 9.4, 9.4, H-1), 5.25 (t, 1H,  $J$  = 9.4, 9.4, H-3).

Dane spektralne zgodne z danymi literaturowymi<sup>280</sup>.

#### 5.2.2.2. *N*-[ $\beta$ -D-Celobiozyl]-3-(*S*)-(dimetyloamino)pirolidyno-1-karboksyamid (O3.38)

Katalityczną ilość sodu obmyto w heksanie i rozтворzono w 50 ml metanolu w celu otrzymania roztworu metanolanu sodu. Następnie dodano *N*-[2,3,6,2',3',4',6'-hepta-*O*-acetylo- $\beta$ -D-celobiozyl]-3-(*S*)-(dimetyloamino)pirolidyno-1-karboksyamid (0.387 g, 0.5 mmol) uprzednio rozpuszczony w 20 ml metanolu. Całość mieszano przez 24h w temperaturze pokojowej, kontrolując postęp reakcji za pomocą chromatografii cienkowarstwowej TLC. Po tym czasie rozpuszczalnik odparowano, surowy produkt poddano oczyszczaniu na kolumnie chromatograficznej stosując jako eluent mieszaninę rozpuszczalników octan etylu/metanol w stosunku 25:1.

Otrzymano bezbarwne ciało stałe (205 mg, wyd. 85%).



$R_f = 0.28$  (octan etylu/metanol, 25:1)

$^1\text{H-NMR}$  (600 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta = 1.92$ - $1.79$  (m, 1H, H-4''),  $2.26$ - $2.18$  (m, 1H, H-4''),  $2.26$  (s, 6H,  $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ),  $3.03$ - $3.93$  (m, 1H, H-3''),  $3.19$  (dt, 1H,  $J = 9.8, 8.1$ , H-5''b),

$3.34$  (t, 1H,  $J = 9.3, 7.9$ , H-2'),  $3.41$ - $3.35$  (m, 1H, H-2''),  $3.44$  (t, 1H,  $J = 9.7, 9.7$ , H-4'),  $3.55$ - $3.48$  (m, 3H, H-2, H-4, H-5'),  $3.62$ - $3.55$  (m, 1H, H-2''),  $3.73$ - $3.66$  (m, 4H, H-5, H-3, H-3', H-5''),  $3.75$  (dd, 1H,  $J = 12.3, 5.8$ , H-6''),  $3.83$  (dd, 1H,  $J = 12.3, 4.3$ , H-6),  $3.94$  (dd, 1H,  $J = 12.3, 2.1$ , H-6'a),  $3.95$  (dd, 1H,  $J = 12.3, 1.9$ , H-6),  $4.54$  (d, 1H,  $J = 7.9$ , H-1'),  $4.93$  (d, 1H,  $J = 9.3$  H-1).

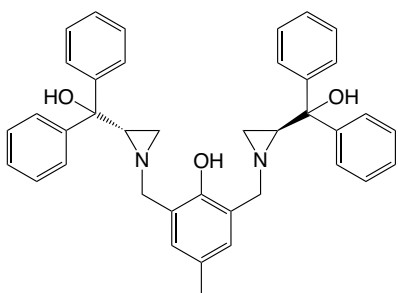
$^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta = 28.9$  (C-4''),  $42.6$  ( $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ),  $44.8$  (C-2''),  $49.0$  (C-5''),  $63.9$  (C-3''),  $69.6$  (C-4'),  $71.5$  (C-2),  $73.2$  (C-2'),  $75.2$  (C-4),  $75.6$  (C-3'),  $76.1$  (C-5'),  $76.2$  (C-5),  $78.5$  (C-3),  $81.3$  (C-1),  $102.6$  (C-1'),  $157.4$  (CO).

### 5.2.3. Synteza organokatalizatorów pochodnych azirydynylokarbinoli

#### 5.2.3.1. ((2*S*,2'*S*)-1,10-((2-Hydroksy-5-metylo-1,3-fenylene)bis(metyleno))bis(azirydyn-2,1-diylo))bis(difenylometanol) (O3.39)

W kolbie okrągłodennej, w 5 ml suchego DMF rozpuszczono (*S*)-azirydyn-2-ylo(difenylo)metanol (0.45 g, 2 mmol) oraz K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (1.1 g, 8 mmol). Całość schłodzono w łaźni wodno-lodowej do 0°C i mieszano przez 15 min w atmosferze argonu, a następnie dodano 2,6-bis(bromometylo)-4-metylofenol (0.294 g, 1 mmol). Mieszanie kontynuowano w temperaturze pokojowej przez 12 h, kontrolując postęp reakcji za pomocą chromatografii cienkowarstwowej TLC. W celu zakończenia reakcji dodano wodę (10 ml), a następnie warstwę wodną ekstrahowano Et<sub>2</sub>O (3 x 10 ml). Połączone warstwy organiczne wysuszono nad bezwodnym MgSO<sub>4</sub>, odsączono, a rozpuszczalnik odparowano na wyparce próżniowej. Surowy produkt oczyszczono za pomocą chromatografii kolumnowej stosując jako eluent heksan/octan etylu gradientowo.

Otrzymano bezbarwne ciało stałe (366 mg, wyd. 74%).



**R<sub>f</sub>** = 0.22 (heksan/octan etylu, 4:1)

**[α]<sub>D</sub><sup>20</sup>** = + 19.4 (*c* 0.30, CHCl<sub>3</sub>), {Lit.<sup>281</sup>: **[α]<sub>D</sub><sup>20</sup>** = + 19.6 (*c* 0.30, CHCl<sub>3</sub>)}

**T.t.** = 141.2-142.7°C, {Lit.<sup>281</sup>: **T.t.** = 141-143°C}

**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 1.46 (d, 2H, *J* = 6.1, CHN), 2.02 (d, 2H, *J* = 3.0 CHN), 2.12 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.47 (dd, 2H, *J* = 6.1, 3.0, CHN), 3.04 (s, 2H, OH), 3.36 (d, 2H, *J* = 13.5, CH<sub>2</sub>), 3.63 (d, 2H, *J* = 13.5, CH<sub>2</sub>), 6.72 (s, 2H,

H<sub>ar</sub>), 7.08-7.18 (m, 9H, H<sub>ar</sub>), 7.20-7.23 (m, 4H, H<sub>ar</sub>), 7.27-7.32 (m, 7H, H<sub>ar</sub>).

Dane spektralne zgodne z danymi literaturowymi<sup>281</sup>.



### Procedura ogólna dla organokatalizatorów O3.40-O3.45

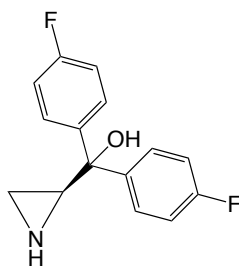
Wyjściowy (*S*)-1-trifenylometyloazirydynylokarboksylan metylu otrzymano z (*S*)-3-hydroksy-2-(*N*-trifenylometyloamino)propanianu metylu w reakcji z chlorkiem metanosulfonylu w obecności trietyloaminy zgodnie ze znaną procedurą<sup>339</sup>, a następnie przekształcono w azirydynylokarbinole w reakcji z odpowiednimi odczynnikami Grignarda<sup>340</sup>. Dla części uzyskanych azirydynylokarbinoli zdjęto zabezpieczenie tritylowe z atomu azotu według procedury zamieszczonej poniżej.

W kolbie Schlenka, w atmosferze argonu umieszczono 11.7 mmola odpowiedniego odczynnika Grignarda (roztwór w THF), a następnie dodawano po kropli przez 5 minut *N*-Tr-azirydynylokarboksylan metylu (1 g, 2.9 mmol) w 12 ml suchego THF. Mieszanie kontynuowano przez 3 godziny w temperaturze pokojowej. Po tym czasie dodano 7 ml wodnego nasyconego roztworu chlorku amonu w celu przerywania reakcji, a następnie poddano ekstrakcji octanem etylu (3x20 ml). Połączone warstwy organiczne suszono nad bezwodnym MgSO<sub>4</sub>, przefiltrowano i zatężono na wyparce próżniowej. Surowy produkt oczyszczono za pomocą chromatografii kolumnowej.

**Reakcja detrytylacji:** W kolbie okrągłodennej o pojemności 150 ml umieszczono 2 mmol odpowiedniej azirydyny i rozpuszczono w 12 ml mieszaniny metanol/woda/stężony kwas siarkowy(VI) (60:8:3), zanurzając w łaźni ultradźwiękowej na 5 min. Całość mieszało przez 24 godziny w temperaturze pokojowej. Po upływie tego czasu, dodano 10 ml wody w celu zakończenia reakcji. Następnie mieszaninę zalkalizowano do pH = 10 za pomocą 30% wodnego roztworu NaOH i poddano ekstrakcji octanem etylu (3x20 ml). Połączone fazy organiczne przemyto NaHCO<sub>3</sub> (20 ml) oraz solanką (20 ml), przesączono i zatężono na wyparce próżniowej. Surowy produkt oczyszczono na kolumnie chromatograficznej.

#### 5.2.3.2. [(*S*)-Azirydyn-2-yl]bis(4-fluorofenylo)metanol (O3.40)

Otrzymano bezbarwne ciało stałe (870 mg, wyd. 70%).



**R<sub>f</sub>** = 0.46 (heksan/octan etylu/metanol, 3:1.5:0.5)

**[α]<sub>D</sub><sup>20</sup>** = -19.4 (*c* 0.05, CHCl<sub>3</sub>)

**T.t.** = 94.7-96.4°C

**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 1.75 (d, 1H, *J* = 3.6, CHN), 1.91 (d, 1H, *J* = 6.1, CHN), 2.89 (dd, 1H, *J* = 6.1, 3.6, CHN), 7.01-7.08 (m, 4H, H<sub>ar</sub>), 7.38-7.46 (m, 4H, H<sub>ar</sub>).

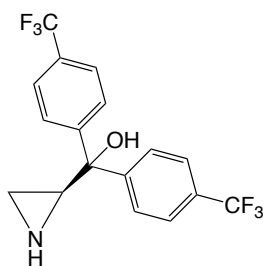
Dane spektralne zgodne z danymi literaturowymi<sup>282</sup>.

<sup>339</sup> B. F. Bonini, E. Capito, M. Comes-Franchini, M. Fochi, A. Ricci, B. Zwanenburg, *Tetrahedron: Asymmetry* **2006**, 17, 3135.

<sup>340</sup> J. G. H. Willems, M. C. Hersmis, R. De Gelder, J. M. M. Smits, J. B. Hammink, F. J. Dommerholt, L. Thijs, B. Zwanenburg, *J. Chem. Soc.* **1997**, 6, 963.

#### 5.2.3.3. [(S)-Azirydyn-2-ylo]bis(4-(trifluorometylo)fenylo)metanol (O3.41)

Otrzymano bezbarwne ciało stałe (750 mg, wyd. 85%).



$R_f = 0.40$  (heksan/octan etylu/metanol, 3:1.5:0.5)

$[\alpha]_D^{20} = -14.2$  ( $c$  0.50,  $\text{CHCl}_3$ ), {Lit.<sup>339</sup>:  $[\alpha]_D^{20} = -14.7$  ( $c$  1.0,  $\text{CHCl}_3$ )}

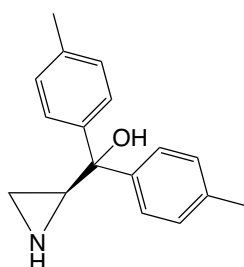
$T.t. = 151.0-152.3^\circ\text{C}$ , {Lit.<sup>339</sup>:  $T.t. = 151-153^\circ\text{C}$ }

$^1\text{H-NMR}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 1.73$  (d, 1H,  $J = 3.5$ , CHN), 1.96 (d, 1H,  $J = 6.1$ , CHN), 3.00 (dd, 1H,  $J = 6.1, 3.5$ , CHN), 7.57-7.62 (m, 8H,  $H_{ar}$ ).

Dane spektralne zgodne z danymi literaturowymi<sup>282,339</sup>.

#### 5.2.3.4. [(S)-Azirydyn-2-ylo]bis(4-metylofenylo)metanol (O3.42)

Otrzymano bezbarwne ciało stałe (760 mg, wyd. 65%).



$R_f = 0.32$  (heksan/octan etylu/metanol, 3:1.5:0.5)

$[\alpha]_D^{20} = -20.1$  ( $c$  1.0,  $\text{CHCl}_3$ )

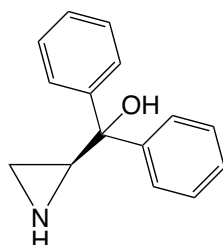
$T.t. = 134.3-136.1^\circ\text{C}$

$^1\text{H-NMR}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 1.77$  (d, 1H,  $J = 3.6$ , CHN), 1.89 (d, 1H,  $J = 6.0$ , CHN), 2.36 (s, 6H, 2x $\text{CH}_3$ ), 2.89-2.95 (m, 1H, CHN), 7.16 (dd, 4H,  $J = 7.8, 4.9$ ,  $H_{ar}$ ), 7.31 (d, 2H,  $J = 8.2$ ,  $H_{ar}$ ), 7.34 (d, 2H,  $J = 8.2$ ,  $H_{ar}$ ).

Dane spektralne zgodne z danymi literaturowymi<sup>282</sup>.

#### 5.2.3.5. [(S)-Azirydyn-2-ylo](difenylo)metanol (O3.43)

Otrzymano bezbarwne ciało stałe (1.25 g, wyd. 71%).



$R_f = 0.66$  (heksan/octan etylu/metanol, 3:1.5:0.5)

$[\alpha]_D^{20} = -23.3$  ( $c$  1.0,  $\text{CHCl}_3$ ) {Lit.<sup>341</sup>:  $[\alpha]_D^{20} = -22.6$  ( $c$  1.0,  $\text{CHCl}_3$ )}

$T.t. = 154.5-156.2^\circ\text{C}$ , {Lit.<sup>341</sup>:  $T.t. = 155-157^\circ\text{C}$ }

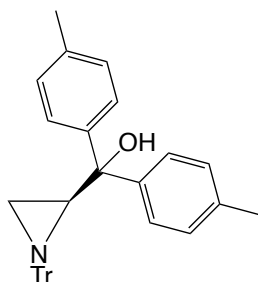
$^1\text{H-NMR}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 1.73$  (d, 1H,  $J = 3.6$ , CHN), 1.89 (d, 1H,  $J = 6.1$ , CHN), 2.94 (dd, 1H,  $J = 6.1, 3.6$ , CHN), 7.26 (t, 2H,  $J = 7.9$ ,  $H_{ar}$ ), 7.30-7.36 (m, 4H,  $H_{ar}$ ), 7.44 (d, 2H,  $J = 7.4$ ,  $H_{ar}$ ), 7.47 (d, 2H,  $J = 7.4$ ,  $H_{ar}$ ).

Dane spektralne zgodne z danymi literaturowymi<sup>282,341</sup>.

<sup>341</sup> F. Xichun, Q. Guofu, L. Shucui, T. Hanbing, W. Lamei, H. Xianming, *Tetrahedron: Asymmetry* **2006**, 17, 1394.

#### 5.2.3.6. [(S)-1-Trifenyloaziryny-2-ylo]bis(4-metylofenylo)metanol (O3.44)

Otrzymano bezbarwne ciało stałe (710 mg, wyd. 49%).



$R_f = 0.62$  (heksan/octan etylu, 8:1)

$[\alpha]_D^{20} = -91.5$  ( $c$  1.0,  $\text{CHCl}_3$ )

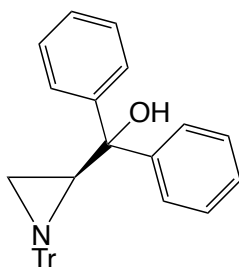
T.t. = 158.5-160.5°C

$^1\text{H-NMR}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 1.34 (d, 1H,  $J$  = 6.2, CHN), 2.12 (d, 1H,  $J$  = 3.2, CHN), 2.27 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2.29 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2.35 (dd, 1H,  $J$  = 6.2, 3.2, CHN), 4.30 (s, 1H, OH), 6.99 (d, 2H,  $J$  = 8.0,  $\text{H}_{\text{ar}}$ ), 7.02 (d, 2H,  $J$  = 8.0,  $\text{H}_{\text{ar}}$ ), 7.15-7.22 (m, 11H,  $\text{H}_{\text{ar}}$ ), 7.30-7.36 (m, 8H,  $\text{H}_{\text{ar}}$ ).

Dane spektralne zgodne z danymi literaturowymi<sup>342</sup>

#### 5.2.3.7. [(S)-1-Trifenyloaziryny-2-ylo](difenylo)metanol (O3.45)

Otrzymano bezbarwne ciało stałe (1.5 g, wyd. 67%).



$R_f = 0.76$  (heksan/octan etylu, 8:1)

$[\alpha]_D^{20} = -80.5$  ( $c$  1.0,  $\text{CHCl}_3$ ), {Lit.<sup>340</sup>:  $[\alpha]_D^{20} = -78.8$  ( $c$  1.0,  $\text{CHCl}_3$ )}

T.t. = 131.6-132.5°C, {Lit.<sup>340</sup>: T.t. = 133.5-134.5°C}

$^1\text{H-NMR}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 1.36 (d, 1H,  $J$  = 6.3 CHN), 2.12 (d, 1H,  $J$  = 3.2 CHN), 2.39 (dd, 1H,  $J$  = 6.3, 3.2 CHN), 4.47 (s, 1H, OH), 7.12-7.25 (m, 15H,  $\text{H}_{\text{ar}}$ ), 7.30-7.37 (m, 8H,  $\text{H}_{\text{ar}}$ ), 7.45 (d, 2H,  $J$  = 7.3  $\text{H}_{\text{ar}}$ ).

Dane spektralne zgodne z danymi literaturowymi<sup>282,340</sup>.

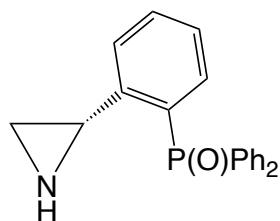
<sup>342</sup> M. Godai, E. E. Alberto, M. W. Paixão, L. A. Soares, P. H. Schneider, A. L. Braga, *Tetrahedron* **2010**, 66, 1341.

## 5.2.4. Synteza katalizatorów fosfinoilo-azirydynowych

### 5.2.4.1. (2*S*)-2-Difenylofosfinoilo-2-fenyloazirydyna (O3.46)

Sec-BuLi (1.43 ml, 2 mmol, 1.4 M roztwór w cykloheksanie) dodano kroplami do roztworu (*S*)-2-fenyloazirydyny (119 mg, 1 mmol) w bezwodnym THF (10 ml) w temperaturze -78°C w atmosferze argonu. Otrzymany brązowy roztwór mieszano w tej temperaturze przez 2 h, a następnie dodano chlorek difenylofosfinowy (237 mg, 1 mmol). Całość mieszano w temperaturze -78°C przez kolejne 2 h, a następnie ogrzano do temperatury pokojowej. Celem zakończenia reakcji dodano nasyconego wodnego roztworu NH<sub>4</sub>Cl (5 ml). Zawartość kolby wlało do 10 ml wody i ekstrahowano Et<sub>2</sub>O (3 x 10 ml). Połączone warstwy organiczne wysuszono nad bezwodnym Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> i zateżono na wyparce próżniowej. Surowy produkt oczyszczono za pomocą chromatografii kolumnowej.

Otrzymano lekko żółte ciało stałe (220 mg, wyd. 69%).



$R_f = 0.70$  (heksan/octan etylu, 1:1)

$[\alpha]_D^{20} = +19.5$  ( $c$  0.45, CHCl<sub>3</sub>); {Lit.<sup>283</sup>:  $[\alpha]_D^{20} = +18.5$  ( $c$  0.50, CHCl<sub>3</sub>)}

T.t. = 78.8-80.1°C; {Lit.<sup>283</sup>: T.t. = 77.6-79.0°C }

<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 1.84 (br. s, 1H, NH), 2.24 (dd, 1H,  $J$  = 13.0, 2.0, CHN), 2.95 (dd, 1H,  $J$  = 17.9, 6.0, CHN), 3.78 (dq, 1H,  $J$  = 6.0, 3.2, CHN), 7.30-7.33 (m, 1H, CH<sub>ar</sub>), 7.35-7.40 (m, 5H, CH<sub>ar</sub>), 7.44-7.48 (m, 1H, CH<sub>ar</sub>), 7.49-7.53 (m, 2H, CH<sub>ar</sub>), 7.54-7.57 (m, 1H, CH<sub>ar</sub>), 7.87-7.92 (m, 2H, CH<sub>ar</sub>), 7.98-8.03 (m, 2H, CH<sub>ar</sub>).

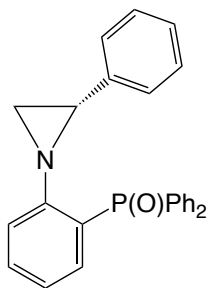
<sup>31</sup>P-NMR (243 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 32.9 ppm.

Dane spektralne zgodne z danymi literaturowymi<sup>283</sup>.

### 5.2.4.2. (2*S*)-1-[2-(Difenylofosfinoilo)fenylo]-2-fenyloazirydyna (O3.47)

*n*-BuLi (0.82 ml, 1.6 mmol, 1.95 M roztwór w heksanie) dodano kroplami do roztworu (*S*)-2-fenyloazirydyny (1.50 mmol) w bezwodnym THF (2 ml) w temperaturze -78°C w atmosferze argonu. Roztwór mieszano w temperaturze pokojowej przez 2 h, po czym dodano tlenek (2-metoksyfenylo)difenylofosfiny (0.456 g, 1.48 mmol) po uprzednim schłodzeniu roztworu do 0°C. Mieszanie kontynuowano przez noc w temperaturze pokojowej. Następnie mieszaninę rozcieńczono eterem i przemyto nasyconym wodnym roztworem NH<sub>4</sub>Cl. Fazę organiczną przemyto solanką, wysuszono nad bezwodnym MgSO<sub>4</sub> i zateżono na wyparce próżniowej. Pozostałość oczyszczono za pomocą chromatografii kolumnowej.

Otrzymano lekko żółty olej (530 mg, wyd. 67%).



$R_f = 0.35$  (heksan/octan etylu/metanol, 3:3:0.25)

$[\alpha]_D^{20} = +60.20$  ( $c$  0.50,  $\text{CHCl}_3$ ); {Lit.<sup>284</sup>:  $[\alpha]_D^{20} = +58.12$  ( $c$  0.50,  $\text{CHCl}_3$ )}

$^1\text{H-NMR}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 2.01$  (d, 1H,  $J = 3.5$  Hz, CHN), 2.58 (d, 1H,  $J = 6.5$  Hz, CHN), 3.34-3.36 (m, 1H, CHN), 6.75-6.87 (m, 5H,  $H_{ar}$ ), 6.95-6.96 (m, 3H,  $H_{ar}$ ), 7.06-7.28 (m, 7H,  $H_{ar}$ ), 7.37-7.38 (m, 4H,  $H_{ar}$ ).

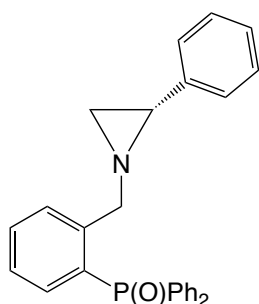
$^{31}\text{P-NMR}$  (243 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 35.52$  ppm

Dane spektralne zgodne z danymi literaturowymi<sup>284</sup>.

#### 5.2.4.3. (2S)-1-[2-(Difenylofosfinoilo)benzylo]-2-fenyloaziryna (O3.48)

W kolbie Schlenka umieszczono bromek 2-(difenylofosfinoilo)benzylowy (0.56 g, 1.5 mmol),  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (0.83 g, 6 mmol), 3 ml suchego DMF, po czym całość mieszano przez 15 minut w temperaturze  $0^\circ\text{C}$  w atmosferze argonu. Po tym czasie dodano kroplami 1.5 mmol (S)-2-fenyloaziryny rozpuszczonej w 2 ml DMF. Zawartość kolby mieszano przez 15 minut, po czym usunięto łaźnię lodową kontynuując mieszanie w temperaturze pokojowej przez 12 h. Na zakończenie reakcji dodano 5 ml wody i ekstrahowano  $\text{Et}_2\text{O}$  (3x10 ml). Połączone warstwy organiczne wysuszono nad bezwodnym  $\text{MgSO}_4$ , przesączono, a rozpuszczalnik odparowano na wyparce próżniowej. Surowy produkt oczyszczono za pomocą chromatografii kolumnowej.

Otrzymano bezbarwne ciało stałe (510 mg, wyd. 83%).



$R_f = 0.32$  (heksan/octan etylu/methanol, 3:3:0.5)

$[\alpha]_D^{20} = +69.83$  ( $c$  0.50,  $\text{CHCl}_3$ ); {Lit.<sup>284</sup>:  $[\alpha]_D^{20} = +68.51$  ( $c$  0.50,  $\text{CHCl}_3$ )}

T.t. =  $53.3$ - $57.0^\circ\text{C}$ ; {Lit.<sup>284</sup>: T.t. =  $53.6$ - $56.3^\circ\text{C}$ }

$^1\text{H-NMR}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 1.71$  (d, 1H,  $J = 6.5$ , CHN), 1.87 (d, 1H,  $J = 3.3$ , CHN), 2.28-2.32 (m, 1H, CHN), 3.88 (d, 1H,  $J = 16.1$ ,  $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_4$ ), 4.04 (d, 1H,  $J = 16.1$ ,  $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_4$ ), 6.98 (dd, 1H,  $J = 14.3$ , 7.6,  $H_{ar}$ ), 7.13-7.22 (m, 4H,  $H_{ar}$ ), 7.24-7.28 (m, 2H,  $H_{ar}$ ), 7.44-7.51 (m, 5H,  $H_{ar}$ ), 7.53-7.58 (m, 2H,  $H_{ar}$ ), 7.59-7.65 (m, 4H,  $H_{ar}$ ), 7.95-7.99 (m, 1H,  $H_{ar}$ )

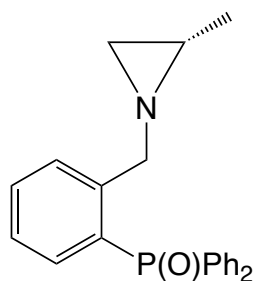
$^{31}\text{P-NMR}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 31.89$

Dane spektralne zgodne z danymi literaturowymi<sup>284</sup>.

#### 5.2.4.4. (2S)-1-[2-(Difenylofosfinoilo)benzylo]-2-metyloaziryna (O3.49)

W kolbie Schlenka umieszczono bromek 2-(difenylfosfinoilo)benzylowy (0.56 g, 1.5 mmol),  $K_2CO_3$  (0.83 g, 6 mmol), 3 ml suchego DMF, po czym całość mieszano przez 15 minut w temperaturze 0°C w atmosferze argonu. Po tym czasie dodano kroplami 1.5 mmol (S)-2-metyloaziryny rozpuszczonej w 2 ml DMF. Zawartość kolby mieszano przez 15 minut, po czym usunięto łaźnię lodową kontynuując mieszanie w temperaturze pokojowej przez 12 h. Na zakończenie reakcji dodano 5 ml wody i ekstrahowano  $Et_2O$  (3x10 ml). Połączone warstwy organiczne wysuszono nad bezwodnym  $MgSO_4$ , przesączono, a rozpuszczalnik odparowano na wyparce próżniowej. Surowy produkt oczyszczono za pomocą chromatografii kolumnowej.

Otrzymano lekko żółty olej (410 mg, wyd.79%).



$R_f = 0.68$  (heksan/octan etylu/methanol, 3:3:0.5)

$[\alpha]_D^{20} = + 11.75$  ( $c$  0.50,  $CHCl_3$ ); {Lit.<sup>284</sup>:  $[\alpha]_D^{20} = + 12.36$  ( $c$  0.50,  $CHCl_3$ )}

$^1H$ -NMR (600 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  = 1.17 (d, 3H,  $J$  = 5.5,  $CH_3$ ), 1.24 (d, 1H,  $J$  = 6.4, CHN), 1.33-1.38 (m, 1H, CHN), 1.50 (d, 1H,  $J$  = 3.5, CHN), 3.75 (d, 1H,  $J$  = 16.3,  $CH_2C_6H_4$ ), 3.79 (d, 1H,  $J$  = 16.3,  $CH_2C_6H_4$ ), 7.00 (dd, 1H,  $J$  = 14.2, 7.6,  $H_{ar}$ ), 7.19 (t, 1H,  $J$  = 7.3,  $H_{ar}$ ), 7.43- 7.50 (m, 4H,  $H_{ar}$ ), 7.52-7.58 (m, 3H,  $H_{ar}$ ), 7.58-7.65 (m, 4H,  $H_{ar}$ ), 8.02 8.05 (m, 1H,  $H_{ar}$ )

$^{31}P$ -NMR (600 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  = 31.75

Dane spektralne zgodne z danymi literaturowymi<sup>284</sup>.

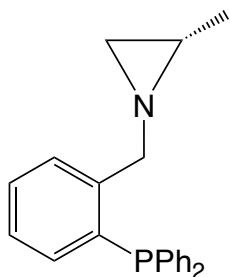
## 5.2.5. Synteza katalizatorów fosfino-azirydynowych

### *Procedura ogólna*

Do kolby Schlenka zawierającej 1 mmol odpowiedniej fosfinoiloazirydyny i  $\text{CeCl}_3$  (0.37 g, 1.5 mmol) w atmosferze argonu dodano 2 ml THF i mieszano przez 15 minut. Następnie ostrożnie małymi porcjami dodano  $\text{LiAlH}_4$  (0.15 g, 4 mmol). Całość mieszano przez 2 h w  $50^\circ\text{C}$ , kontrolując przebieg reakcji za pomocą testów TLC. Po zakończeniu reakcji zawartość kolby schłodzono w łaźni wodno-łodowej do  $0^\circ\text{C}$  i dodano 3 ml mieszaniny  $\text{CH}_2\text{Cl}_2 : \text{H}_2\text{O}$  (2:1). Całość przesączono przez warstwę celitu, a następnie ekstrahowano  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3x10 ml). Połączone warstwy organiczne wysuszono nad bezwodnym  $\text{MgSO}_4$ , przesączono, a rozpuszczalnik odparowano na wyparce próżniowej. Surowy produkt oczyszczono za pomocą chromatografii kolumnowej.

### 5.2.5.1. (2S)-1-[2-(Difenylofosfino)benzylo]-2-metyloazirydyna (O3.50)

Otrzymano lekko żółty olej (182 mg, wyd. 55%).



$R_f = 0.89$  (heksan/octan etylu, 7:1)

$[\alpha]_D^{20} = +14.04$  ( $c$  0.50,  $\text{CHCl}_3$ )

$^1\text{H-NMR}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 1.17$  (d, 3H,  $J = 5.4$ ,  $\text{CH}_3$ ), 1.31 (d, 1H,  $J = 6.3$ , CHN), 1.42-1.46 (m, 1H, CHN), 1.53 (d, 1H,  $J = 3.4$ , CHN), 3.58 (d, 1H,  $J = 3.6$ ,  $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_4$ ), 3.68 (d, 1H,  $J = 3.6$ ,  $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_4$ ), 6.81 (dd, 1H,  $J = 7.4, 4.6$ ,  $\text{H}_{\text{ar}}$ ), 7.14 (t, 1H,  $J = 7.5$ ,  $\text{H}_{\text{ar}}$ ), 7.20-7.26 (m, 4H,  $\text{H}_{\text{ar}}$ ), 7.27-7.35 (m, 6H,  $\text{H}_{\text{ar}}$ ), 7.38 (t, 1H,  $J = 7.6$ ,  $\text{H}_{\text{ar}}$ ), 7.78 (dd, 1H,  $J = 7.6, 4.3$ ,  $\text{H}_{\text{ar}}$ ).

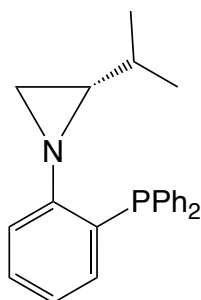
$^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 18.4$  ( $\text{CH}_3$ ), 35.1 (CHN), 35.2 (CHN), 62.2 (d,  $J = 23.9$ ,  $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_4$ ), 126.9 ( $\text{C}_{\text{ar}}$ ), 127.6 (d,  $J = 5.4$ ,  $\text{C}_{\text{ar}}$ ), 128.6 (d,  $J = 6.7$ ,  $\text{C}_{\text{ar}}$ ), 128.8, 129.1, 132.0 ( $\text{C}_{\text{ar}}$ ), 133.9 (d,  $J = 5.0$ ,  $\text{C}_{\text{ar}}$ ), 134.1 (d,  $J = 5.2$ ,  $\text{C}_{\text{ar}}$ ), 134.6 (d,  $J = 14.1$ ,  $\text{C}_{\text{ar}}$ ), 136.4 (d,  $J = 4.2$ ,  $\text{C}_{\text{ar}}$ ), 136.5 (d,  $J = 4.2$ ,  $\text{C}_{\text{ar}}$ ), 144.2 (d,  $J = 22.9$ ,  $\text{C}_{\text{ar}}$ )

$^{31}\text{P-NMR}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = -15.73$

**Analiza elementarna:**  $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{NP}$  (331.15 g/mol): teoretyczna: C% 79.74, H% 6.69, N% 4.23; oznaczona: C% 79.75, H% 6.75, N% 4.07.

#### 5.2.5.2. (2S)-1-[2-(Difenylofosfino)fenylo]-2-izopropylaziryna (O3.51)

Otrzymano bezbarwny olej (225 mg, wyd. 65%).



$R_f = 0.75$  (heksan/octan etylu, 7:1)

$[\alpha]_D^{20} = +21.89$  ( $c$  0.50,  $\text{CHCl}_3$ ) {Lit.<sup>287</sup>:  $[\alpha]_D^{20} = +21.3$  ( $c$  0.50,  $\text{CHCl}_3$ )}

$^1\text{H-NMR}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 0.87$  (d, 3H,  $J = 6.7$  Hz,  $\text{CH}_3$ ), 1.06 (d, 3H,  $J = 6.7$  Hz,  $\text{CH}_3$ ), 1.71-1.75 (m, 1H, CHN), 1.77-1.80 (m, 1H, CHN), 2.07-2.11 (m, 2H, CHN, CH), 6.76-6.80 (m, 1H,  $\text{CH}_{\text{ar}}$ ), 6.88-6.91 (m, 1H,  $\text{CH}_{\text{ar}}$ ), 6.93-6.97 (m, 1H,  $\text{CH}_{\text{ar}}$ ), 7.23-7.27 (m, 1H,  $\text{CH}_{\text{ar}}$ ), 7.28-7.31 (m, 2H,  $\text{CH}_{\text{ar}}$ ), 7.31-7.34 (m, 3H,  $\text{CH}_{\text{ar}}$ ), 7.36-7.41 (m, 5H,  $\text{CH}_{\text{ar}}$ )

$^{31}\text{P-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 243 MHz):  $\delta = 17.3$

Dane spektralne zgodne z danymi literaturowym<sup>287</sup>.

### 5.3. Osadzanie organokatalizatora O3.1 na nośnikach stałych i ich charakterystyka

#### 5.3.1. Stosowane adsorbenty i ich modyfikacje

W badaniach nad heterogenizacją katalizatorów homogenicznych użyto komercyjnych adsorbentów: węgla aktywnego, typ AG-5 z pyłu węgla kamiennego, Gryfskand; tlenku glinu ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) typ 507C, Fluka, CAS 1344-28-1; krzemionki AEROSIL® ( $\text{SiO}_2$ , cz.d.a.), Degussa, CAS 60676-86-0, jako nośników katalizatorów. Dodatkowo, powierzchnię adsorbentów zmodyfikowano miedzią, nanosząc metodą mokrej impregnacji 5% wag. jonów  $\text{Cu}^{2+}$  z  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ , a następnie redukując układ w atmosferze gazowego wodoru ( $T = 250^\circ\text{C}$ , 2 godz.) w celu wytworzenia fazy  $\text{CuO}$ . Zastosowano również modyfikację adsorbentów etylenodiaminą (EDA), nanosząc ją metodą suchej impregnacji w ilości 5% wag. Z kolei w celu wprowadzenia grup  $\text{NH}_2$  na powierzchnię adsorbentów, a tym samym zablokowania centrów adsorpcyjnych, wiążących cząsteczki katalizatora przez atom azotu z powierzchnią adsorbenta, wykonano suchą impregnację adsorbentów amoniakiem ( $\text{NH}_3\cdot\text{H}_2\text{O}$  cz.d.a., POCH, Gliwice, CAS 1336-21-6) wprowadzając w ten sposób 5% wag.  $\text{NH}_3\cdot\text{H}_2\text{O}$ .

Powierzchnie właściwe i dominujące średnice porów w badanych adsorbentach wyznaczono na podstawie niskotemperaturowej adsorpcji azotu. Pomiary wykonano w sorptometrze Sorptomatic 1900 (Carlo Erba Instruments)<sup>343</sup>. Powierzchnię adsorbentów do pomiarów przygotowano poprzez ogrzewanie próbki w próżni przez 4h w temperaturze  $300^\circ\text{C}$ . Powierzchnie właściwe obliczono z równania Brunauera, Emmetta i Tellera (BET), a przypadku węgla aktywnych z równania Dubinina-Radushkevicha (DR). Porowatość określono metodą Dollimore'a i Heala.

<sup>343</sup> N. Krawczyk, S. Karski, I. Witońska, *Reac. Kinet. Mech. Cat.* **2011**, 103, 311.



### 5.3.2. Procedura adsorpcji katalizatora tiomocznikowego O3.1 na fazie stałej

Katalizator tiomocznikowy **O3.1** (10 mg, 0.02 mmol) rozpuszczono w 5 ml etanolu, a następnie dodano 500 mg odpowiedniego adsorbenta. Całość mieszano w temperaturze 0°C przez 1 h. Po zakończeniu adsorpcji roztwór przefiltrowano przez lejek Büchnera, używając membranowych filtrów MCE (Chemland, 0.45  $\mu\text{m}$ ,  $\Phi$  47 mm). Stały osad wysuszono na pompie próżniowej, a pozostały przesącz poddano dalszej analizie. Procent adsorpcji katalizatora na fazie stałej określono za pomocą HPLC. Roztwór przed i po adsorpcji katalizatora wstrzykiwano na kolumnę HPLC. Obniżenie stężenia katalizatora tiomocznikowego lub potwierdzona za pomocą HPLC jego nieobecność w przesączu, pozwalały na określenie stopnia adsorpcji na fazie stałej.

**HPLC:** Kromasil AD-H (250  $\times$  4.6 mm), heksan/*i*PrOH = 85/15, flow = 1 ml/min,  $\lambda$  = 253 nm,  $R_t$  = 3.2 min.

### 5.3.3. Charakterystyka adsorbentów i katalizatorów heterogenicznych za pomocą techniki FTIR

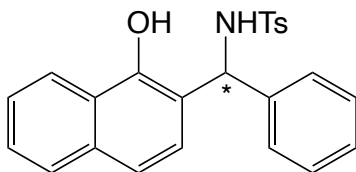
Do określenia składu chemicznego powierzchni adsorbentów i katalizatorów heterogenicznych wykorzystano technikę spektroskopii fourierowskiej w podczerwieni (FTIR). Technika ta pozwala na identyfikację związków chemicznych naniesionych na powierzchnię fazy stacjonarnej, a wykonana dla próbek katalizatorów po reakcji, również na identyfikację zaadsorbowanych reagentów, produktów pośrednich i końcowych poprzez analizę ich charakterystycznych widm adsorpcji. Badania wykonano na spektrofotometrze FTIR Nicolet 6700 z przystawką DRIFT serii 19900 firmy Specac, wyposażonym w detektor MCT (Thermo Scientific) i celkę transmisyjną. Pomiary wykonano dla 64 skanów przy rozdzielczości spektralnej 4  $\text{cm}^{-1}$ . Przed pomiarami próbki stałe o masie ok. 20 mg, przemywano argonem z objętościową szybkością przepływu 10 ml/min w temperaturze 20°C przez 15 min.

## 5.4. Synteza zasad Betti'ego

### 5.4.1. *N*-[(1-Hydroksynaftalen-2-ylo)(fenylo)metylo]-4-metylobenzeno-sulfonamid (3.26)

22 mg  $\alpha$ -Naftolu (0.15 mmol, 3 ekwiw.), 13 mg *N*-benzylideno-*para*-toluenosulfonamidu (0.05 mmol, 1 ekwiw.) i 0.005 mmol (10 mol%) odpowiedniego homogenicznego lub heterogenicznego organokatalizatora wraz z sitami molekularnymi 4Å w 1 ml toluenu umieszczono w kolbie Schlenka. Reakcję prowadzono w atmosferze argonu w temperaturze 0°C. Postęp reakcji monitorowano za pomocą testów TLC. Po zakończeniu reakcji rozpuszczalnik odparowano, a pozostałość oczyszczono za pomocą chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym, stosując jako eluent mieszaninę rozpuszczalników heksan/octan etylu w stosunku 4:1.

Otrzymano bezbarwny olej (20 mg, wyd. 98%).



$R_f = 0.29$  (heksan/octan etylu, 4:1)

$[\alpha]_D^{20} = -12.6$  ( $c$  0.50;  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) dla  $ee = 32\%$ ,

{Lit.<sup>277</sup>:  $[\alpha]_D^{22} = -38.8$  ( $c$  1.0,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  dla  $ee = 94\%$  (*S*))}

$^1\text{H-NMR}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 2.18$  (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 5.91 (s, 1H, CH), 6.89 (d, 2H,  $J = 8.5$ ), 6.97 (d, 2H,  $J = 8.0$ ), 7.18-7.21 (m, 2H), 7.22-7.28 (m, 3H), 7.45-7.48 (m, 2H), 7.53-7.56 (m, 2H), 7.71-7.74 (m, 1H), 8.03-8.07 (m, 1H).

$^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta =$  (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 21.3, 58.7, 119.5, 120.6, 121.3, 125.3, 125.6, 126.2, 126.6, 127.1, 127.2, 127.6, 127.8, 128.7, 129.2, 134.2, 136.1, 139.0, 143.7, 149.5.

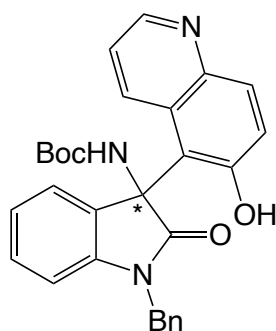
**HPLC**: Kromasil AD-H (250  $\times$  4.6 mm), heksan/*i*PrOH = 90/10, flow = 1 ml/min,  $\lambda = 235$  nm,  $t_S = 26.2$  min and  $t_R = 31.7$  min.

Dane spektralne zgodne z danymi literaturowymi<sup>277,279</sup>.

### 5.4.2. [1-Benzyl-3-(6-hydroksychinolin-5-ylo)-2-oksoindolin-3-ylo]karbaminian *tert*-butylu (3.32)

14.5 mg (0.1 mmol, 1 ekwiw.) 6-Hydroksychinoliny, 33.6 mg (0.1 mmol, 1 ekwiw.) ketiminy i 114 mg (0.005 mmol, 5 mol%) heterogenicznego katalizatora tiomocznikowego wraz z sitami molekularnymi 4Å w 1 ml toluenu umieszczono w kolbie Schlenka. Reakcję prowadzono w atmosferze argonu w temperaturze 0°C. Postęp reakcji kontrolowano za pomocą testów TLC. Po zakończeniu reakcji rozpuszczalnik odparowano, a pozostałość oczyszczono za pomocą chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym, stosując jako eluent mieszaninę rozpuszczalników heksan/octan etylu w stosunku 1:5.

Otrzymano lekko żółte ciało stałe (38 mg, wyd. 78%)



$R_f = 0.26$  (heksan/octan etylu, 1:5)

**T.t.** = 180.5-183.0°C, {Lit.<sup>254</sup>: **T.t.** = 183-186°C}

$[\alpha]_D^{20} = -3.6$  (*c* 0.30, MeOH) dla *ee* = 8%,

{Lit.<sup>254</sup>:  $[\alpha]_D^{20} = -368.7$  (*c* 0.31, MeOH) dla *ee* = 98%}

**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 132 (s, 9H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 4.86 (d, *J* = 16.1 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>Ph), 5.21 (d, *J* = 16.1 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>Ph), 5.82 (s, 1H), 6.71-6.80 (m, 2H), 6.85 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.08-7.12 (m, 1H), 7.19-7.25 (m, 4H), 7.27-7.32 (m, 2H), 7.34-7.38 (m, 1H), 7.48 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 8.00 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 8.57 (dd, *J* = 4.0, 1.3 Hz, 1H), 8.77 (dd, 1H), 10.45 (s, 1H, OH).

**<sup>13</sup>C-NMR** (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 28.2 (CH<sub>3</sub>), 44.7 (CH<sub>2</sub>), 65.1, 80.9, 110.1, 114.4, 119.9, 123.4, 124.8, 125.8, 127.2, 127.5, 127.7, 129.7, 130.1, 132.2, 132.7, 135.2, 143.2, 144.4, 146.4, 153.9, 155.8, 178.8.

**HPLC**: Kromasil AD-H (250 x 4.6 mm), heksan/*i*PrOH = 80/20, flow = 1 ml/min,  $\lambda$  = 254 nm, *t*<sub>S</sub> = 12.9 min and *t*<sub>R</sub> = 31.7 min.

Dane spektralne zgodne z danymi literaturowymi<sup>254,279</sup>.

## 6. BIBLIOGRAFIA

1. A. Duda, S. Penczek, *Polimery* **2003**, 48, 16.
2. H. Liu, W. Ye, X. Zhan, W. Liu, *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **2006**, 63, 451.
3. M. D. Müller, T. Poiger, H.-R. Buser, *J. Agric. Food Chem.* **2001**, 49, 42.
4. Z. Ochal, S. Balter, Patent PL 221232, 31.03.2016 WUP 03/16.
5. D. L. Hughes, *Org. Process Res. Dev.* **2018**, 22, 574.
6. J. Alemán, S. Cabrera, *Chem. Soc. Rev.* **2013**, 42, 774.
7. Y. Qin, L. Zhu, S. Luo, *Chem. Rev.* **2017**, 117, 9433.
8. A. Moyano, R. Rios, *Chem. Rev.* **2011**, 111, 4703.
9. J. G. Hernandez, E. Juaristi, *Chem. Commun.* **2012**, 48, 5396.
10. E. M. López, R. P. Herreraand, M. Christmann, *Nat. Prod. Rep.* **2010**, 27, 1138.
11. V. Farina, J. T. Reeves, C. H. Senanayake, J. J. Song, *Chem. Rev.* **2006**, 106, 2734.
12. H. Caner, E. Groner, L. Levy, I. Agranat, *Drug Discov. Today.* **2004**, 9, 105.
13. A. Nag, *Asymmetric Synthesis of Drugs and Natural Products*. CRC Press; Boca Raton, FL, USA, **2018**.
14. M. E. Franks, G. R. Macpherson, W. D. Figg, *Lancet.* **2004**, 363, 1802.
15. P. S. Haas, U. Denz, G. Ihorst, M. Engelhardt, *Eur. J. Haematol.* **2008**, 4, 303.
16. G. Hancu, A. Modroiu, *Pharmaceuticals* **2022**, 15, 240.
17. N. Kocot, R. Mastalerz, J. Dulęba, T. Siódmiak, M. P. Marszał, *Farmacja Polska* **2022**, 78, 29.
18. J. Achan, A. O. Talisuna, A. Erhart, A. Yeka, J. K. Tibenderana, F. N. Baliraine, P. J. Rosenthal, U. D'Alessandro, *Malar. J.* **2011**, 10, 144.
19. J. K. Aronson, *Amsterdam: Elsevier Science*, **2010**, 613.
20. D. Alex, *Chem. Br.* **1988**, 24, 847.
21. A. Ghanem, H. Y. Aboul-Enein, *Chirality* **2005**, 17, 1.
22. W. H. Brooks, W. C. Guida, K. G. Daniel, *Curr. Top. Med. Chem.* **2011**, 11, 760.
23. R. N. Patel, *Bioorg. Med. Chem.* **2018**, 26, 1252.
24. A. Patti, *Green Approaches to Asymmetric Catalytic Synthesis*, Springer, Katania, **2011**.
25. G. Duan, C. B. Ching, *Biochem. Eng. J.* **1998**, 2, 237.
26. D. M. Gotrane, R. D. Deshmukh, P. V. Ranade, S. P. Sonawane, B. M. Bhawal, M. M. Gharpure, M. K. Gurjar, *Org. Process Res. Dev.* **2010**, 14, 640.
27. P. J. Harrington, E. Lodewijk *Org. Process Res. Dev.* **1997**, 1, 72.
28. O. Bortolini, G. Fantin, M. Fogagnolo, S. Maietti, *Arkivoc*, **2006**, 6, 40.
29. K. Kodama, Y. Kobayashi, K. Saigo, *Chem. Eur. J.* **2007**, 13, 2144.
30. R. N. Patel, A. Banerjee, V. Nanduri, A. Goswami, F. T. Comezoglu, *J. Am. Oil Chem. Soc.* **2000**, 77, 1015.
31. T. H. Hoye, C. S. Jeffrey, D. P. Nelson, *Org. Lett.* **2010**, 12, 52.
32. A. Gogoi, A. Mezhubeinuo, S. Nongrum, G. Bez, *Curr. Org. Chem.* **2021**, 25, 1566.
33. Z. G. Brill, M. L. Condakes, C. P. Ting, T. J. Maimone, *Chem. Rev.* **2017**, 117, 11753.
34. K. C. Nicolaou, S. Rigol, *Nat. Prod. Rep.* **2020**, 37, 1404.
35. P. Hu, S. A. Snyder, *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, 139, 5007.
36. D. A. Evans, J. Bartroli, T. L. Shih, *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, 103, 2127.
37. D. A. Evans, M. D. Ennis, D. J. Mathre, *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, 104, 1737.

38. D. A. Evans, K. T. Chapman, J. Bisaha, *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 4261.
39. A. G. Myers, B. H. Yang, H. Chen, L. McKinstry, D. J. Kopecky, J. L. Gleason, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 6496.
40. M. R. Morales, K. T. Mellem, A. G. Myers, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 4568.
41. W. Oppolzer, C. Chapuis, G. Bemardinelli, *Helv. Chim. Acta*, **1984**, *67*, 1397.
42. W. P. Deng, K. A. Wong, K. L. Kirk, *Tetrahedron: Asymmetry* **2002**, *13*, 1135.
43. K. Kiegiel, J. Jurczak, *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 1009.
44. S. Hajra, M. Bhowmick, *Tetrahedron: Asymmetry* **2010**, *21*, 2223.
45. Ch. Chapuis, A. Kucharska, J. Jurczak, *Tetrahedron: Asymmetry* **2000**, *11*, 4581.
46. P. Merino, G. Greco, T. Tejero, R. Hurtado-Guerrero, R. Matute, U. Chiacchio, A. Corsaro, V. Pistara, R. Romeo, *Tetrahedron*, **2013**, *69*, 9381.
47. J. M. Garcia, M. Oiarbide, C. Palomo, *Chem. Soc. Rev.* **2004**, *33*, 65.
48. D. A. Evans, K. T. Chapman, D. T. Hung, A. T. Kawaguchii, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1987**, *26*, 1184.
49. W. Oppolzer, G. Poli, A. J. Kingma, C. Starkemann, G. Bemardinelli, *Hel. Chim. Acta*, **1998**, *81*, 324.
50. X. X. Sun, L. Z. Sun, H. Y. Aboul-Enein, *Biomed. Chromatogr.* **2001**, *12*, 116.
51. A. D. McNaught, A. Wilkinson, *IUPAC. Compendium of Chemical Terminology*, ed. 2. Blackwell Scientific Publications, Oxford, **1997**.
52. A. Ault, *J. Chem. Educ.* **2002**, *79*, 572.
53. J. Clayden, N. Greeves, S. Warren, P. Wothers, *Chemia Organiczna*, Wydawnictwo Naukowo-Techniczne, Warszawa, **2001**.
54. R. T. Morrison, R. N. Boyd, *Chemia organiczna*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, **2009**.
55. K. B. Sharpless, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2022**, *41*, 2024.
56. Á. Molnár, *Palladium-Catalyzed Coupling Reactions*, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, **2013**.
57. P. Schwab, R. H. Grubbs, J. W. Ziller, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 100.
58. J. Louie, R. H. Grubbs, *Organometallics* **2002**, *21*, 2153.
59. M. P. Van der Helm, B. Klemm, R. Eelkema, *Nat. Rev. Chem.* **2019**, *3*, 491.
60. S.-H. Xiang, B. Tan, *Nat. Commun.* **2020**, *11*, 3786.
61. B. Han, X.-H. He, Y.-Q. Liu, G. He, C. Peng, J.-L. Li, *Chem. Soc. Rev.* **2021**, *50*, 1522.
62. H. H. Freedman, R. A. Dubois, *Tetrahedron Lett.* **1975**, *16*, 3251.
63. B. List, R. A. Lerner, C. F. Barbas III, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 2395.
64. K. A. Ahrendt, C. J. Borths, D.W.C. MacMillan, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 4243.
65. O. G. Mancheño, M. Waser, *Eur. J. Org. Chem.* **2023**, *26*, e202200950.
66. J. Seayad, B. List, *Org. Biomol. Chem.* **2005**, *3*, 719.
67. H. Miyabe, S. Tachida, M. Yamauchi, Y. Takemoto, *Synthesis* **2006**, *19*, 3295.
68. M. Mescam, K. C. Vinnakota, D. A. Beard, *J. Biol. Chem.* **2011**, *286*, 21100.
69. M. C. Holland, R. Gilmour *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 3862.
70. V. Piano, B. A. Palfey, A. Mattevi, *Trends Biochem. Sci.* **2017**, *42*, 457.
71. B. Sarkhel, A. Chatterjee, D. Das, *J. Am. Chem. Soc.* **2020**, *142*, 4098.
72. A. B. Morthrup, D. W. C. MacMillan, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 2458.
73. M. S. Taylor, E. N. Jacobsen, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 1520.
74. S. E. Wheeler, T. J. Seguin, Y. Guan, A. C. Doney, *Acc. Chem. Res.* **2016**, *49*, 1061.

75. G. Doyle, E. N. Jacobsen, *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 5713.
76. S. E. Denmark, G. L. Beutner, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 1560.
77. T. Akiyama, J. Itoh, K. Fuchibe, *Adv. Synth. Catal.* **2006**, *348*, 99.
78. Y. Takemoto, *Chem. Pharm. Bull.* **2010**, *58*, 593.
79. X. Fang, C.-J. Wang, *Chem. Commun.* **2015**, *51*, 1185.
80. T. Parvin, R. Yadava, L. H. Choudhury, *Org. Biomol. Chem.* **2020**, *18*, 5513.
81. E. Wojaczyńska, F. Steppeler, D. Iwan, M.-C. Scherrmann, A. Marra, *Molecules* **2021**, *26*, 7291.
82. P. M. Pihko, *Hydrogen Bonding in Organic Synthesis*, Wiley-VCH, **2009**.
83. Y. Takemoto, *Org. Biomol. Chem.* **2005**, *3*, 4299.
84. S. J. Connon, *Synlett* **2009**, *3*, 354.
85. Z. Zhang, P. R. Schreiner, *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *38*, 1187.
86. A. Hamza, G. Schubert, T. Soós, I. Pápai, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 13151.
87. S. J. Connon, *Chem. Commun.* **2008**, 2499.
88. A. P. Dove, R. C. Pratt, B. G. G. Lohmeijer, R. M. Waymouth, J. L. Hedrick, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 13798.
89. M. Kotke, P. R. Schreiner, *(Thio)urea Organocatalysts. In Hydrogen Bonding in Organic Synthesis*, Wiley-VCH, **2009**, 141.
90. F. Steppeler, D. Iwan, E. Wojaczynska, J. Wojaczynski, *Molecules* **2020**, *25*, 401.
91. F. J. Ruder, W. Guyer, J. A. Benson, H. Kayser, *Pestic. Biochem. Physiol.* **1991**, *41*, 207.
92. A. Shakeel, A. A. Altaf, A. M. Qureshi, A. Badshah, *J. Drug Des. Med. Chem.* **2016**, *2*, 10.
93. J. Choi, J.-G. Jee, *Int. J. Mol. Sci.* **2015**, *16*, 28534.
94. S. Xiao, L. Wei, Z. Hong, L. Rao, Y. Ren, J. Wan, L. Feng, *Bioorg. Med. Chem.* **2019**, *27*, 805.
95. R. C. Wende, P. R. Schreiner, *Green Chem.* **2012**, *14*, 1821.
96. Z. Zhang, Z. Bao, H. Xing, *Org. Biomol. Chem.* **2014**, *12*, 3151.
97. M. Nencki, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1873**, *6*, 598.
98. A. Brückner, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1873**, *6*, 1103.
99. E. L. Brown, N. Campbell, *J. Chem. Soc.* **1937**, 1699.
100. L. S. Luskin, G. E. Gantert, W. E. Craig, *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, *78*, 4965.
101. P. R. Schreiner, *Chem. Soc. Rev.* **2003**, *32*, 289.
102. R. Ronchetti, G. Moroni, A. Carotti, A. Gioiello, E. Camaioni, *RSC Med. Chem.* **2021**, *12*, 1046.
103. S. Narayanaperumal, D. G. Rivera, R. C. Silva, M. W. Paixao, *ChemCatChem*, **2013**, *5*, 2756.
104. F. E. Held, S. B. Tsogoeva, *Catal. Sci. Technol.* **2016**, *6*, 645.
105. W.-Y. Siau, J. Wang, *Catal. Sci. Technol.* **2011**, *1*, 1298.
106. Y. L. Sun, Y. Wei, M. Shi, *Chem. Cat. Chem.* **2017**, *9*, 718.
107. P. Ricci, T. Khotavivattana, L. Pfeifer, M. Médebielle, J. R. Morphy, V. Gouverneur, *Chem. Sci.* **2017**, *8*, 1195.
108. H. Miyabe, Y. Takemoto, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **2008**, *81*, 785.
109. Y. Takemoto, H. Miyabe, *Chimia* **2007**, *61*, 269.
110. S. B. Tsogoeva, *Eur. J. Org. Chem.* **2007**, 1701.
111. X. Yu, W. Wang, *Chem. Asian J.* **2008**, *3*, 516.
112. L. Hong, W. Sun, D. Yang, G. Li, R. Wang, *Chem. Rev.* **2016**, *116*, 4006.
113. C. M. R. R. Volla, I. Atodiresei, M. Rueping, *Chem. Rev.* **2014**, *114*, 2390.
114. O. V. Serdyuk, C. M. Heckel, S. B. Tsogoeva, *Org. Biomol. Chem.* **2013**, *11*, 7051.

115. H. Pellissier, *Tetrahedron* **2007**, *63*, 9267.
116. A. Berkessel, H. Groger, *Asymmetric Organocatalysis*, ed. A. Berkessel, H. Groger, Wiley-VCH, Weinheim, **2005**.
117. P. I. Dalko, *Enantioselective Organocatalysis*, ed. P. I. Dalko, Wiley-VCH, Weinheim, **2007**.
118. P. I. Dalko, *Comprehensive Enantioselective Organocatalysis*, ed. P. I. Dalko, Wiley-VCH, Weinheim, **2013**.
119. D. Limnios, C. G. Kokotos, *RSC Green Chemistry*, **2016**, *41*, 196.
120. M. K. Barman, A. K. Sinha, S. Nembenna, *Green Chem.* **2016**, *18*, 2534.
121. N. Spiliopoulou, N. F. Nikitas, C. G. Kokotos, *Green Chem.* **2020**, *22*, 3539.
122. C. S. Wilcox, E. Kim, D. Romano, L. H. Kuo, A. L. Burt, D. P. Curran, *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 6647.
123. P. R. Schreiner, A. Wittkopp, *Org. Lett.* **2002**, *4*, 217.
124. A. Wittkopp, P. R. Schreiner, *J. Eur. Chem.* **2003**, *9*, 407.
125. D. E. Gómez, L. Fabbrizzi, M. Licchelli, E. Monzani, *Org. Biomol. Chem.* **2005**, *3*, 1495.
126. C. Schroeder, *Chem. Rev.* **1955**, *55*, 181.
127. G. Jakab, C. Tancon, Z. Zhang, K. M. Lippert, P. R. Schreiner, *Org. Lett.* **2012**, *14*, 1724.
128. K. A. Haushalter, J. Lau, J. D. Roberts, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 8891.
129. M. S. Sigman, E. N. Jacobsen, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 4901.
130. P. Li, Y. Wang, X. Liang, J. Ye, *Chem. Commun.* **2008**, 3302.
131. X. Liu, L. Lin, X. Feng, *Chem. Commun.* **2009**, 6145.
132. C.-J. Wang, X.-Q. Dong, Z.-H. Zhang, Z.-Y. Xue, H.-L. Teng, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 8606.
133. T. Okino, Y. Hoashi, Y. Takemoto, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 12672.
134. T. Okino, Y. Hoashi, T. Furukawa, X. Xu, Y. Takemoto, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 119.
135. A. Berkessel, B. Seelig, *Synthesis* **2009**, *12*, 2113.
136. G. Jakab, A. Hosseini, H. Hausmann, P. R. Schreiner, *Synthesis* **2013**, 1635.
137. Y. Takemoto, T. Inokuma, *In Asymmetric Synthesis II*, Wiley: New York, **2012**, 233.
138. J. Ye, D. J. Dixon, P. S. Hynes, *Chem. Chommun.* **2005**, 4481.
139. B. J. Li, L. Jiang, M. Liu, Y. C. Chen, L. S. Ding, Y. Wu, *Synlett* **2005**, 603.
140. B. Vakulya, Sz. Varga, A. Csampai, T. Soos, *Org. Lett.* **2005**, *7*, 1967.
141. T. Marcelli, R. N. S. van der Haas, J. H. van Maarseveen, H. Hiemstra, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 929.
142. S. H. McCooley, S. J. Connon, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 6367.
143. A. Madarasz, Z. Dosa, S. Varga, T. Soós, A. Csampai, I. Papai, *ACS Catal.* **2016**, *6*, 4379.
144. A. Strecker, *Ann. Chem.* **1850**, *75*, 27.
145. H. Groger, *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 2795.
146. M. S. Sigman, P. Vachal, E. N. Jacobsen, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 1279.
147. S. J. Zuend, E. N. Jacobsen, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 15358.
148. P. Vachal, E. N. Jacobsen, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 10012.
149. S. C. Pan. B. List, *Org. Lett.* **2007**, *9*, 1149.
150. S. J. Zuend, M. P. Coughlin, M. P. Lalonde, E. N. Jacobsen, *Nat. Lett.* **2009**, *461*, 968.
151. A. Wittkopp, P. R. Schreiner, *Chem. – Eur. J.* **2003**, *9*, 407.
152. Y. Zhang, W. Wang, *Catal. Sci. Technol.* **2012**, *2*, 42.
153. N. Ono, *The Nitro Group in Organic Synthesis*, Wiley-VCH, Weinheim, **2001**.

154. T. Okino, Y. Hoashi, Y. Takemoto, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 12672.
155. Y. Hoashi, T. Yabuta, Y. Takemoto, *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 9185.
156. D. P. Gavin, J. C. Stephens, *Arkivoc* **2011**, *9*, 407.
157. C.-J. Wang, Z.-H. Zhang, X.-Q. Dong, X.-J. Wu, *Chem. Commun.* **2008**, 1431.
158. K. Liu, H.-F. Cui, J. Nie, K.-Y. Dong, X.-J. Li, J.-A. Ma, *Org. Lett.* **2007**, *9*, 923.
159. A. G. Wenzel, E. N. Jacobsen, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 12964.
160. A. G. Wenzel, M. P. Lalonde, E. N. Jacobsen, *Synlett* **2003**, *12*, 1919.
161. Y. Yamaoka, H. Miyabe, Y. Yasui, Y. Takemoto, *Synthesis* **2007**, *16*, 2571.
162. M. Wasa, R. Y. Liu, S. P. Roche, E. N. Jacobsen, *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 12872.
163. X. Xu, T. Yabuta, P. Yuan, Y. Takemoto, *Synlett* **2006**, *1*, 137.
164. L. Li, B. Song, P. S. Bhadury, Y.-P. Zhang, D.-Y. Hu, S. Yang, *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, 4743.
165. A. Puglisi, M. Benaglia, L. Raimondi, L. Lay, L. Poletti, *Org. Biomol. Chem.* **2011**, *9*, 3295.
166. Y.-J. Liu, J.-S. Li, J. Nie, J.-A. Ma, *Org. Lett.* **2018**, *20*, 3643.
167. H.-N. Yuan, S. Li, J. Nie, Y. Zheng, J.-A. Ma, *Chem. Eur. J.* **2013**, *19*, 15856.
168. H.-N. Yuan, S. Wang, J. Nie, W. Meng, Q. Yao, J.-A. Ma, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 3869.
169. B. Qiao, Y.-J. Huang, J. Nie, J.-A. Ma, *Org. Lett.* **2015**, *17*, 4608.
170. N. R. Candeias, F. Montalbano, P. M. S. D. Cal, P. M. P. Gois, *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 6169.
171. W.-Y. Han, Z.-J. Wu, X.-M. Zhang and W.-C. Yuan, *Org. Lett.* **2012**, *14*, 976.
172. B. Westermann, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 151.
173. H. Adams, J. C. Anderson, S. Peace, A. M. K. Pennell, *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 9932.
174. E. Foresti, G. Palmieri, M. Petrini, R. Profeta, *Org. Biomol. Chem.* **2003**, *1*, 4275.
175. T. Okino, S. Nakamura, T. Furukawa, Y. Takemoto, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 625.
176. X. Xu, T. Furukawa, T. Okino, H. Miyabe, Y. Takemoto, *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 466.
177. C.-J. Wang, X.-Q. Dong, Z.-H. Zhang, Z.-Y. Xue, H.-L. Teng, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 8606.
178. J. Wang, H. Li, X. Yu, L. Zu, W. Wang, *Org. Lett.* **2005**, *7*, 4293.
179. Y. Q. Fang, E. N. Jacobsen, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 5660.
180. Y. Q. Fang, P. M. Tadross, E. N. Jacobsen, *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 17966.
181. T. Mita, E. N. Jacobsen, *Synlett* **2009**, *10*, 1680.
182. W. Yang, F. Sha, X. Zhang, K. Yuan, X. Wu, *Chin. J. Chem.* **2012**, *30*, 2652.
183. I. T. Raheem, E. N. Jacobsen, *Adv. Synth. Catal.* **2005**, *347*, 1701.
184. M. S. Taylor, E. N. Jacobsen, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 10558.
185. T. Herranz, *J. Agric. Food Chem.* **2000**, *48*, 4900.
186. I. T. Raheem, P. S. Thiara, E. A. Peterson, E. N. Jacobsen, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 13404.
187. S. Cohen, S. G. Cohen, *J. Am. Chem. Soc.* **1966**, *88*, 1533.
188. R. I. Storer, C. Aciro, L. H. Jones, *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 2330.
189. S. Tomàs, R. Prohens, M. Vega, M. C. Rotger, P. M. Deya, P. Ballester, A. Costa, *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 9394.
190. S. Nagy, P. Kisszékelyi, J. Kupai, *Period. Polytech. Chem. Eng.* **2018**, *62*, 467.
191. M. Rombola, V. H. Rawal, *Org. Lett.* **2018**, *20*, 514.
192. J. M. Ho, V. E. Zwicker, K. K. Y. Yuen, K. A. Jolliffe, *J. Org. Chem.* **2017**, *82*, 10732.
193. M. Rombola, C. S. Sumaria T. D. Montgomery, V. H. Rawal, *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139*, 5297.
194. G. Maahs, P. Hegenberg, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1966**, *5*, 888.
195. G. Seitz, H. Morck, K. Mann, R. Schmiedel, *Chemiker-Zeitung* **1974**, *98*, 459.



196. G. Seitz, K. Mann, R. Schmiedel, *Chemiker-Zeitung* **1975**, 9, 332.
197. G. R. Fraunhoff, F. Takusagawa, D. H. Busch, *Inorg. Chem.* **1992**, 31, 4002.
198. N. Busschaert, R. B. P. Elmes, D. D. Czech, X. Wu, I. L. Kirby, E. M. Peck, K. D. Hendzel, S. K. Shaw, B. Chan, B. D. Smith, K. A. Jolliffe, P. A. Gale, *Chem. Sci.* **2014**, 5, 3617.
199. J. P. Malerich, K. Hagihara, V. H Rawal, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130, 14416.
200. T. Lu, S. E. Wheeler, *Chem. – Eur. J.* **2013**, 19, 15141.
201. S. Nagy, G. Dargo, P. Kisszekelyi, Z. Feher, A. Simon, J. Barabas, T. Holtzl, B. Matravolgyi, L. Karpati, L. Drahos, P. Huszthy, J. Kupai, *New J. Chem.* **2019**, 43, 5948.
202. M. Yang, C. Chen, X. Yi, Y. Li, X. Wu, Q. Li, S. Ban, *Org. Biomol. Chem.* **2019**, 17, 2883.
203. C. Chen, R. Wei, X. Yi, L. Gao, M. Zhang, H. Liu, Q. Li, H. Song, S. Ban, *J. Org. Chem.* **2019**, 84, 15655.
204. P. Rodríguez-Ferrer, D. Naharro, A. Maestro, J. M. Andrés, R. Pedrosa, *Eur. J. Org. Chem.* **2019**, 6539.
205. K. Ormandyová, S. Bilka, M. Mečiarová, R. Šebesta, *ChemistrySelect* **2019**, 4, 8870.
206. F. Naso, *Substantia* **2017**, 1, 2, 111.
207. M. Betti, R. Schiff, *Gazz. Chim. Ital.* **1897**, 27, II, 206.
208. M. Betti, R. Schiff, *Ber.* **1897**, 30, 1337.
209. M. Betti, *Gazz. Chim. Ital.* **1923**, 537, 417.
210. M. Betti, G. B. Bonino, *Memorie Accad. Sci. Istituto Bologna*, **1925-1926**, 8, 3, 39; **1929-1930**, 8, 7, 81; *Trans. Far. Soc.* **1930**, 26, 337.
211. M. Betti, *Gazz. Chim. Ital.* **1900**, 30, II, 310.
212. M. Betti, *Gazz. Chim. Ital.* **1906**, 36, II, 392.
213. M. Betti, *Organic Syntheses* **1929**, 9, 60.
214. M. Betti, *Problemi e Aspetti della Chimica della Materia Vivente*, **1926**, Zanichelli, Bologna.
215. M. Betti, E. Lucchi, *Boll. Sci. Fac. Chim. Ind. Bologna*, **1940**, I-II, 2.
216. A. Bertoluzza, A. M. Marinangeli, *Ann. Chim.* **1961**, 51, 322.
217. A. Bertoluzza, A. M. Marinangeli, *Ann. Chim.* **1961**, 51, 981.
218. A. Bertoluzza, A. M. Marinangeli, *Ann. Chim.* **1962**, 52, 731.
219. A. Bertoluzza, A. M. Marinangeli, *Ann. Chim.* **1964**, 54, 1020.
220. A. Bertoluzza, A. M. Marinangeli, *Ann. Chim.* **1968**, 205.
221. J. B. Littman, W. H. Brode, *J. Am. Chem. Soc.* **1935**, 52, 1655.
222. C. Mannich, W. Krosche, *Arch. Pharm.* **1912**, 250, 1647.
223. C. Cardellicchio, G. Ciccarella, F. Naso, E. Schingaro, F. Scordari, *Tetrahedron: Asymmetry* **1998**, 9, 3667.
224. C. Cardellicchio, G. Ciccarella, F. Naso, F. Perna, P. Tortorella, *Tetrahedron* **1999**, 55, 14685.
225. C. Cardellicchio, M. A. M. Capozzi, F. Naso, *Tetrahedron: Asymmetry* **2010**, 21, 507.
226. C. Cimarrelli, A. Mozzanti, G. Palmieri, E. Volpini, *J. Org. Chem.* **2001**, 66, 4759.
227. A. Olyaei, M. Sadeghpour, *RSC Adv.* **2019**, 9, 18467.
228. L.-F. Niu, Y.-C. Xin, R.-L. Wang, F. Jiang, P.-F. Xu, X.-P. Hui, *Synlett* **2010**, 5, 765.
229. Y. Dong, R. Li, J. Lu, X. Xu, X. Wang, Y. Hu, *J. Org. Chem.* **2005**, 70, 8617.
230. P. Kocovsky, S. Vyskocil, M. Smrcina, *Chem. Rev.* **2003**, 103, 3213.
231. L. Cappannini, C. Cimarrelli, S. Giuli, G. Palmieri, M. Petrini, *Tetrahedron: Asymmetry* **2007**, 18, 1022.

232. P. Chauhan, S. S. Chimni, *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, 2011, 1636.
233. P. Chauhan, S. S. Chimni, *Tetrahedron Lett.* **2013**, 54, 4613.
234. S. Takizawa, F. A. Arteaga, Y. Yoshida, J. Kodera, Y. Nagata, H. Sasai, *Dalton Trans.* **2013**, 42, 11787.
235. K. P. Volcho, N. F. Salakhutdinov, *Russ. Chem. Rev.* **2009**, 78, 457.
236. W. Plass, *Coord. Chem. Rev.* **2011**, 255, 2378.
237. S. Takizawa, T. Katayama, H. Sasai, *Chem. Commun.* **2008**, 4113.
238. S. Takizawa, *Chem. Pharm. Bull.* **2009**, 57, 1179.
239. M. Ogasawara, S. Watanabe, *Synthesis* **2009**, 1761.
240. H. Wang, *Chirality* **2010**, 22, 827.
241. A. T. Radosevich, C. Musich, F. D. Toste, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 1090.
242. S.-S. Weng, M.-W. Shen, J.-Q. Kao, Y. S. Munot, C. T. Chen, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2006**, 103, 3522.
243. V. D. Pawar, S. Bettigeri, S.-S. Weng, J.-Q. Kao, C.-T. Chen, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 6308.
244. S. Takizawa, S. Hirata, K. Murai, H. Fujioka, H. Sasai, *Org. Biomol. Chem.* **2014**, 12, 5827.
245. G. Liu, S. Zhang, H. Li, T. Zhang, W. Wang, *Org. Lett.* **2011**, 13, 828.
246. Y. W. Li, L. M. Wang, Y. Jin, S. Chang, *Chirality* **2017**, 29, 458.
247. P. Kumari, A. Jakhar, N. H. Khan, R. Tak, R. I. Kureshy, S. H. R. Abdi, H. C. Bajaj, *Catalysis Commun.* **2015**, 69, 138.
248. N. Hara, S. Nakamura, M. Sano, R. Tamura, Y. Funahashi, N. Shibata, *Chem. Eur. J.* **2012**, 18, 9276.
249. Y.-L. Lin, F. Zhou, J.-J. Cao, C.-B. Ji, M. Ding, J. Zhou, *Org. Biomol. Chem.* **2010**, 8, 3847.
250. T. Arai, E. Matsumura, H. Masu, *Org. Lett.* **2014**, 16, 2768.
251. M. Montesinos-Magtaner, C. Vila, R. Cantón, G. Blay, I. Fernandez, M. C. Munoz, J. R. Pedro, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, 54, 1.
252. M. Ochi, K. Kawasaki, H. Kataoka, Y. Uchio, H. Nishi, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2001**, 283, 1118.
253. M. Rottmann, C. McNamara, B. K. S. Yeung, M. C. S. Lee, [+22 autorów] T. T. Diagana, *Science* **2010**, 329, 1175.
254. C. Vila, A. Rendón-Patiño, M. Montesinos-Magraner, G. Blay, M. C. M. Muñoz, J. R. Pedro, *Adv. Synth. Catal.* **2018**, 360, 859.
255. P. Kumari, S. Barik, N. H. Khan, B. Ganguly, R. I. Kureshy, S. H. R. Abdi, H. C. Bajaj, *RSC Adv.* **2015**, 5, 69493.
256. D. Zhou, Z. Huang, X. Yu, Y. Wang, J. Li, W. Wang, H. Xie, *Org. Lett.* **2015**, 17, 5554.
257. M. S. Mueller, K. Rudolf, P. Lustenberger, D. Stenkamp, K. Arndt, H. Doods, G. Schaenzle, Patent 20050234054, **2005**.
258. J. W. Corbett, *Curr. Med. Chem.: Anti-Infect. Agents* **2002**, 1, 119.
259. H. Hasegawa, M. Muraoka, K. Matsui, A. Kojima, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, 13, 3471.
260. B. Jiang, J. J. Dong, Y. G. Si, X. L. Zhao, Z. G. Huang, M. Xu, *Adv. Synth. Catal.* **2008**, 350, 1360.
261. H. Xie, Y. Zhang, S. Zhang, X. Chen, W. Wang, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, 50, 11773.
262. F. G. Zhang, X. Y. Zhu, S. Li, J. Nie, J. A. Ma, *Chem. Commun.* **2012**, 48, 11552.
263. H. Xie, A. Song, X. Zhang, X. Chen, H. Li, C. Sheng W. Wang, *Chem. Commun.* **2013**, 49, 928.
264. Y. Duan, X. Y. Zhu, J. A. Ma, Y. G. Zhou, *Tetrahedron Lett.* **2013**, 54, 6161.

265. S. Karahan, C. Tanyeli, *New J. Chem.* **2017**, *41*, 9192.
266. M. Rodriguez-Rodriguez, A. Maesto, J. M., Andres, R. Pedrosa, *Adv. Synth. Catal.* **2020**, *362*, 2744.
267. Z. Chen, T. Zhang, Y. Sun, L. Wang, Y. Jin, *New J. Chem.* **2021**, *45*, 10481.
268. R. Iftikhar, M. Kamran, A. Iftikhar, S. Parveen, N. Naeem, N. Jamil, *Mol. Divers.* **2023**, *27*, 543.
269. A. R. Chaudhary, P. Yadav, A. V. Bedekar, *Tetrahedron Asymmetry* **2014**, *25*, 767.
270. X. Wang, J. Dong, J. Sun, X. Xu, R. Li, Y. Hu, *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 1897.
271. T. Rigotti, P. Righi, E. Marotta, C. Paolucci, *ChemistrySelect* **2016**, *1*, 2624.
272. A. R. Choudhury, S. Mukherjee, *Adv. Synth. Catal.* **2013**, *355*, 1989.
273. G.-X. Li, J. Qu, *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 5518.
274. P. Li, Z. Chai, S. Zhao, Y.-Q. Yang, H.-F. Wang, C.-W. Zheng, Y.-P. Cai, G. Zhao, S.-Q. Zhu, *Chem. Commun.* **2009**, 7369.
275. Z. Jing, X. Bai, W. Chen, G. Zhang, B. Zhu, Z. Jiang, *Org. Lett.* **2016**, *18*, 260.
276. L. Zhao, G. Raabe, D. Enders, *Synthesis* **2018**, *51*, 1391.
277. G. Liu, Z. Zhang, H. Li, T. Zhang, W. Wang, *Org. Lett.* **2011**, *13*, 828.
278. M. Montesinos-Magraner, C. Vila, R. Cantón, G. Blay, I. Fernández, M. C. Muñoz, J. R. Pedro, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2015**, *54*, 6320.
279. M. Malinowska, A. Zawisza, *Molecules* **2023**, *28*, 7835.
280. J. Robak, K. Koselak, A. Zawisza, S. Porwański, *Arkivoc* **2020**, *VIII*, 150.
281. S. Jarzyński, G. Utecht, S. Leśniak, M. Rachwalski, *Tetrahedron: Asymmetry* **2017**, *28*, 1774.
282. M. Malinowska, S. Jarzyński, A. M. Pieczonka, M. Rachwalski, S. Leśniak, A. Zawisza, *J. Org. Chem.* **2020**, *85*, 11794.
283. A. Buchcic, A. Zawisza, S. Leśniak, J. Adamczyk, A. M. Pieczonka, M. Rachwalski, *Catalysts* **2019**, *9*, 837.
284. Z. Wujkowska, A. Zawisza, S. Leśniak, M. Rachwalski, *Tetrahedron* **2019**, *75*, 230.
285. A. Buchcic-Szychowska, A. Zawisza, S. Leśniak, M. Rachwalski, *Catalysts* **2022**, *12*, 394.
286. A. Buchcic-Szychowska, J. Adamczyk, L. Marciniak, A. M. Pieczonka, A. Zawisza, S. Leśniak, M. Rachwalski, *Catalysts* **2021**, *11*, 968.
287. A. Buchcic, A. Zawisza, S. Leśniak, M. Rachwalski, *Catalysts* **2020**, *10*, 971.
288. F. Poovan, V. G. Chandrashekhar, K. Natte, R. V. Jagadeesh, *Catal. Sci. Technol.* **2022**, *12*, 6623.
289. S. Bhaduri, D. Mukesh, *Homogeneous Catalysis: Mechanisms and Industrial Applications*, 2<sup>nd</sup> Edition, John Wiley & Sons, Inc, **2014**.
290. B. Cornils, W. A. Herrmann, M. Beller, R. Paciello, *Applied Homogeneous Catalysis with Organometallic Compounds: A Comprehensive Handbook in Four Volumes*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co, KGaA, **2018**.
291. W. Y. Teoh, A. Urakawa, Y. H. Ng, P. Sit, *Heterogeneous Catalysts: Advanced Design, Characterization and Applications*, II WILEY-VCH GmbH, **2021**.
292. B. Torok, C. Schaefer, A. Kokel, *Heterogeneous Catalysis in Sustainable Synthesis*, Elsevier Inc., **2021**.
293. H. Kim, K.-J. Ko, M. Mofarahi, K.-M. Kim, C.-H. Lee, *Chem. Engin. J.* **2023**, *470*, 144274.
294. A. Benbella, H. Jabraoui, I. Matranea, M. Mazrouia, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2023**, *25*, 27553.
295. C. Rodrigues, D. de Moraes, S. W. da Nóbrega, M. G. Barboza, *Bioresource Technology* **2007**, *98*, 886.
296. N. Cai, P. Larese-Casanova, *J. Environ. Chem. Engin.* **2016**, *4*, 2941.

297. L. Shao, C.-H. Lau, T.-S. Chung, *Int. J. Hydrogen Energy* **2009**, *34*, 8716.
298. P. Kasaplar, E. Ozkal, C. Rodríguez-Esrich, M.A. Pericàs, *Green Chem.* **2015**, *17*, 3122.
299. S. Olgen, *Curr. Med. Chem.* **2018**, *25*, 1704.
300. D. J. Stewart, A. A. Stewart, P. Wheatley-Price, G. Batist, H. M. Kantarjian, J. Schiller, M. Clemons, J.-P. Bradford, L. Gillespie, R. Kurzrock, *Cancer Med.* **2018**, *7*, 1824.
301. T. Connors, *Oncologist* **1996**, *1*, 180.
302. R. Ali, Z. Mirza, G. M. D. Ashraf, M. A. Kamal, S. A. Ansari, G. A. Damanhour, A. M. Abuzenadah, A. G. Chaudhary, I. A. Sheikh, *Anticancer Res.* **2012**, *32*, 2999.
303. G. D. Geromichalos, *J. BUON Off. J. Balk. Union Oncol.* **2007**, *12* (Suppl. S1), S101–S118.
304. M. Garofalo, G. Grazioso, A. Cavalli, J. Sgrignani, *Molecules* **2020**, *25*, 1756.
305. M. H. Baig, K. Ahmad, G. Rabbani, M. Danishuddin, I. Choi, *Curr. Neuropharmacol.* **2018**, *16*, 740.
306. G. D. Geromichalos, C. E. Alifieris, E. G. Geromichalou, D. T. Trafalis, *J. BUON Off. J. Balk. Union Oncol.* **2016**, *21*, 1337.
307. W. Cui, A. Aouidate, S. Wang, Q. Yu, Y. Li, S. Yuan, *Front. Pharmacol.* **2020**, *11*, 733.
308. I. Mohanram, J. Meshram, *ISRN Org. Chem.* **2014**, *2014*, 639392.
309. P. Adrián, R. G. Alexis, A. Roderick, D. Kaylie, X. F. Miguel, B. Giovanna, M. P. José, *J. Mol. Clin. Med.* **2019**, *2*, 35.
310. M. A. M. Capozzi, F. Capitelli, A. Bottoni, M. Calvaresi, C. Cardellicchio, *J. Org. Chem.* **2014**, *79*, 11101.
311. B. Nagaraju, J. Kovvuri, C. G. Kumar, S. R. Routhu, M. A. Shareef, M. Kadagathur, P. R. Adiyala, S. Alavala, N. Nagesh, A. Kamal, *Bioorg. Med. Chem.* **2019**, *27*, 708.
312. N. Gyémánt, H. Engi, Z. Schelz, I. Szatmári, D. Tóth, F. Fülöp, J. Molnár, P. A. M. de Witte, *Br. J. Cancer* **2010**, *103*, 178.
313. M. A. M. Capozzi, C. Cardellicchio, A. Magaletti, A. Bevilacqua, M. Perricone, M. R. Corbo, *Molecules* **2014**, *19*, 5219.
314. I. Yellapurkar, S. Shaikh, G. Pavale, S. Bhabal, M. M. V. Ramana, *Res. Chem. Intermed.* **2021**, *47*, 4067.
315. R. Mallamaci, M. A. M. Capozzi, C. Cardellicchio, *Appl. Sci.* **2022**, *12*, 7779.
316. D.-Y. Lee, H.-Y. Lin, M. Ramasamy, S.-C. Kuo, P.-C. Lee, M.-T. Hsieh, *Molecules* **2021**, *26*, 7050.
317. A. Viswanathan, G. Sebastianelli, K. Brown, J. Raunio, V. Sipilä, O. Yli-Harja, N. R. Candeias, M. Kandhavelu, *Eur. J. Pharmacol.* **2019**, *854*, 194.
318. D. A. Schichl, S. Enthaler, W. Holla, T. Riermeier, U. Kragl, M. Beller, *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, *2008*, 3506.
319. C. Cardellicchio, M. A. M. Capozzi, A. Alvarez-Larena, J. F. Piniella, F. Capitelli, *CrystEngComm* **2012**, *14*, 3972.
320. M. A. M. Capozzi, C. Cardellicchio, *Molbank* **2022**, *2022*, M1522.
321. S. Vodenkova, T. Buchler, K. Cervena, V. Veskrnova, P. Vodicka, V. Vymetalkova, *Pharmacol. Ther.* **2020**, *206*, 107447.
322. W. H. Isacoff, H. A. Reber, R. Bedford, W. Hoos, L. Rahib, A. Upfill-Brown, T. Donahue, O. J. Hines, *Target. Oncol.* **2018**, *13*, 461.
323. W.-B. Wang, Y. Yang, Y.-P. Zhao, T.-P. Zhang, Q. Liao, H. Shu, *World J. Gastroenterol. WJG* **2014**, *20*, 15682.

324. S. Kasibhatla, G. P. Amarante-Mendes, D. Finucane, T. Brunner, E. Bossy-Wetzel, D. R. Green, *CSH Protoc.* **2006**, 2006, 4493.
325. D. Wlodkowic, J. Skommer, Z. Darzynkiewicz, *Apoptosis Methods in Molecular Biology*; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, **2009**, Volume 559.
326. L. Guan, H. Yang, Y. Cai, L. Sun, P. Di, W. Li, G. Liu, Y. Tang, *MedChemComm* **2018**, 10, 148.
327. C. Agoni, F. A. Olotu, P. Ramharack, M. E. Soliman, *J. Mol. Model.* **2020**, 26, 120.
328. D. E. V. Pires, T. L. Blundell, D. B. Ascher, *J. Med. Chem.* **2015**, 58, 4066.
329. A. Daina, O. Michielin, V. Zoete, *Sci. Rep.* **2017**, 7, 42717
330. S. Z. Kovacević, L. R. Jevrić, S. O. Podunavac Kuzmanović, E. S. Loncar, *Iran. J. Pharm. Res. IJPR* **2014**, 13, 899.
331. M. Zhao, J. Ma, M. Li, Y. Zhang, B. Jiang, X. Zhao, C. Huai, L. Shen, N. Zhang, L. He, *Int. J. Mol. Sci.* **2021**, 22, 12808.
332. J. Bernacki, A. Dobrowolska, K. Nierwińska, A. Małecki, *Pharmacol. Rep. PR* **2008**, 60, 600.
333. M. Gupta, H. J. Lee, C. J. Barden, D. F. Weaver, *J. Med. Chem.* **2019**, 62, 9824.
334. Y. Li, H. Yuan, K. Yang, W. Xu, W. Tang, X. Li, *Curr. Med. Chem.* **2010**, 17, 786.
335. F. Ballet, *J. Hepatol.* **1997**, 26, 26.
336. M. Amati, S. Stoia, E. J. Baerends, *J. Chem. Theory Comput.* **2020**, 16, 443.
337. R. Curpan, S. Avram, R. Vianello, C. Bologa, *Bioorg. Med. Chem.* **2014**, 22, 2461.
338. N. Ye, Z. Yang, Y. Liu, *Drug Discov. Today* **2022**, 27, 1411.
339. B. F. Bonini, E. Capito, M. Comes-Franchini, M. Fochi, A. Ricci, B. Zwanenburg, *Tetrahedron: Asymmetry* **2006**, 17, 3135.
340. J. G. H. Willems, M. C. Hersmis, R. De Gelder, J. M. M. Smits, J. B. Hammink, F. J. Dommerholt, L. Thijs, B. Zwanenburg, *J. Chem. Soc.* **1997**, 6, 963.
341. F. Xichun, Q. Guofu, L. Shucui, T. Hanbing, W. Lamei, H. Xianming, *Tetrahedron: Asymmetry* **2006**, 17, 1394.
342. M. Godai, E. E. Alberto, M. W. Paixão, L. A. Soares, P. H. Schneider, A. L. Braga, *Tetrahedron* **2010**, 66, 1341.
343. N. Krawczyk, S. Karski, I. Witońska, *Reac. Kinet. Mech. Cat.* **2011**, 103, 311.

## **7. PUBLIKACJE STANOWIĄCE PODSTAWĘ ROZPRAWY DOKTORSKIEJ**

## Article

# Development of Bifunctional Chiral Thioureas and Thiosquaramides in the Synthesis of Betti Bases

Martyna Malinowska  and Anna Zawisza \* 

Department of Organic and Applied Chemistry, Faculty of Chemistry, University of Lodz, Tamka 12, 91-403 Lodz, Poland; martyna.malinowska@chemia.uni.lodz.pl

\* Correspondence: anna.zawisza@chemia.uni.lodz.pl

**Abstract:** Bifunctional thioureas and, for the first time, bifunctional thiosquaramides as organocatalysts were used in the asymmetric Betti reaction involving 1-, 2-naphthols and hydroxyquinoline with *N*-tosylimine and ketimine. The described methodology affords direct access to chiral aminoarylnaphthols in excellent yield (up to 98%) with high enantioselectivity (up to 80% ee) and enantioenriched 3-amino-2-oxindoles (up to 78% yield, up to 98% ee).

**Keywords:** asymmetric organocatalysis; bifunctional organocatalyst; thiourea; thiosquaramide; Betti bases

## 1. Introduction

The Betti reaction, alternatively referred to as the Aza-Friedel–Crafts reaction, represents an important variant of the Mannich reaction and is one of the most important C–C bond-forming reactions in organic chemistry. The Betti reaction is a simple multi-component condensation between 2-naphthol, aryl aldehydes, and amines that leads to aminobenzyl-naphthols, the so-called Betti bases [1–3]. Over the past decade, many research groups have reported different variants of this reaction, generally using a pre-formed imine that is often protected as a sulfonamide [4–6]. Aminoarylnaphthols are a class of molecules found in natural and synthetic compounds with a wide range of interesting activities and applications. Chiral Betti bases have been widely used in optoelectronics, but their biological properties, such as anticancer, anti-bacterial, antioxidant, anti-inflammatory, antipain, antihypertensive, anti-Alzheimer, and bradycardia activities, deserve special attention [7]. In addition, chiral Betti bases have been proven to be useful ligands and auxiliaries in asymmetric synthesis [7–10]. Their widespread applications have generated considerable interest in developing asymmetric methods for their preparation. In 2010, the Hui group reported an enantioselective Betti reaction of 2-naphthol with tosylamines catalyzed by a dinuclear zinc complex, to prepare chiral Betti base derivatives with high yields and excellent enantioselectivity of up to 96% [11]. Subsequent studies were carried out using quinine-squaramide organocatalysts [12]. The results obtained by Chimni and Wang's group demonstrated that  $\alpha$ - and  $\beta$ -naphthol derivatives react readily with various aromatic and heteroaromatic *N*-sulfonylimines in the presence of *Cinchona* alkaloid derived bifunctional organocatalyst [13,14]. The reaction of naphthols with isatin-derived ketimines turned out to be more demanding. In 2015, Pedro and Khan's groups, respectively, reported an enantioselective version of this reaction organocatalyzed by the same quinine-derived thiourea to yield chiral 3-amino-2-oxindoles in high yields with excellent enantioselectivity [15–17]. Two years later, Tanyeli used bulky cinchona-derived squaramides in the same transformation on naphthols [18]. In 2020, Pedrosa and coworkers reported that aminoethyl polystyrene-supported cinchona-thiourea derivatives could be recovered and reused in a highly enantioselective aza-Friedel–Crafts reaction of different naphthols with a variety of *N*-Boc ketimines derived from isatin [19]. Recently, Wang and Jin reported simple Takemoto-type thiourea-catalyzed reactions of  $\beta$ -naphthols with



**Citation:** Malinowska, M.; Zawisza, A. Development of Bifunctional Chiral Thioureas and Thiosquaramides in the Synthesis of Betti Bases. *Molecules* **2023**, *28*, 7835. <https://doi.org/10.3390/molecules28237835>

Academic Editor: Carmela De Risi

Received: 30 October 2023

Revised: 27 November 2023

Accepted: 28 November 2023

Published: 29 November 2023



**Copyright:** © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).



isatines leading to 3-(naphthalen-1-yl)-3-amino-2-oxindoles with excellent 89–95% yield and high enantioselectivity (90–97% ee) [20]. We would also like to mention the enantio- and diastereoselective cascade Betti/aza-Michael reaction of phenols and *N*-tosylimine containing Michael acceptor catalyzed by bifunctional thiourea organocatalysts leading to 1,3-disubstituted isoindolines [21]. To our knowledge, these are the most important, if not the only, literature reports on the asymmetric Betti reaction. Due to the high demand for the development of this reaction, we decided to test thiourea and, for the first time, thiosquaramide catalysts, compare the obtained results with those already published, and then draw general conclusions regarding the use of organocatalysts of this type in the reactions of  $\alpha$ - and  $\beta$ -naphthols and 6-hydroxyquinoline with tosylimine and ketimine. Catalysts of this type have a number of advantages: their synthesis is uncomplicated, and the reactions involving them proceed under mild conditions, without metal cation. Moreover, the presence of a thiourea/thiosquaramide bridge and strongly acidic protons leads to the formation of strong hydrogen bonds and activation of the substrate. While bifunctional chiral thioureas have been widely used in asymmetric synthesis [22–24], including the Betti reaction, bifunctional chiral thiosquaramides were used only in Michael addition [25–29], asymmetric Michael–Henry tandem reaction [30], and the addition of lawsone to  $\beta,\gamma$ -unsaturated  $\alpha$ -keto ester [31].

## 2. Results and Discussion

Bifunctional thioureas were prepared in one step, as previously described [32–34]. The reaction of appropriate, commercially available isothiocyanates with amines leads to thioureas in near quantitative yields. Two of the synthesized thioureas, **2** and **5**, are new compounds, while the bifunctional Takemoto catalyst **3** is commercially available (Figure 1). Thiosquaramides **8–11** were prepared in four steps from 3,4-dihydroxycyclobut-3-en-1,2-dione (squaric acid). In the first step, esterification of the square acid with cyclopentanol gave dicyclopentyl squarate [25,31]. Subsequently, dithionation with Lawesson's reagent led to dicyclopentyl dithiosquarate, which was found to be an excellent platform for the synthesis of **8–11** (Figure 1). Disubstituted thiosquaramide derivatives reacted vigorously with primary amines—first with 3,4-bis(trifluoromethyl)aniline and then with the appropriate amine having a chiral center and a tertiary amine. The last step was carried out using the traditional solvent method, but also using mechanochemistry. It should be emphasized that the use of a ball mill resulted in a significant increase in chemical efficiency. Due to the possibility of creating rotamers and zwitterionic species by bifunctional thiosquaramides, especially those possessing an aryl substituent, we transformed them into appropriate hydrochlorides, which resulted in simplifying their spectra and sharpening many signals [31].

To study the feasibility and enantioselectivity of the Betti reaction, a bifunctional catalyst **1** which consists of H-bond donor and amine moieties was screened for a model reaction of 1-naphthol (**12**) with *N*-tosylimine (**13**) in toluene at room temperature (Scheme 1 and Table 1). The desired product **14** was isolated in good yield (98%) and with 75% ee after 20 h (Table 1, entry 2) when a threefold excess of 1-naphthol relative to imine was used.

To further improve the enantioselectivity of the transformation, we investigated a variety of different reaction conditions, including the solvent, temperature, and catalyst loading (Table 2).

The obtained results revealed that the solvent effect had a significant impact on the efficiency of the reaction. Toluene was found to be optimal (Table 1, entry 2), while reactions carried out in THF, ACN, *o*-xylene, and DCM resulted in a decrease in yield and enantioselectivity (Table 1, entries 9–12). The screening of catalyst loading exhibited that 10 mol% equivalent of **1** was optimal, while 5 mol% and 30 mol% offered no improvement in the asymmetric induction (Table 1, entries 7–8). It is noteworthy that the temperature also influenced the reaction—after lowering it from rt to 0 °C, a slight increase in enantioselectivity was observed (Table 1, entry 6). Based on these experiments, the optimized conditions were determined to be toluene as the solvent with a 10 mol% loading of catalyst



1 at 0 °C (Table 1, entry 6). The absolute configuration of the product was assigned as (*S*) based on a comparison of the optical rotation of the product material with a value from the literature [14,32].

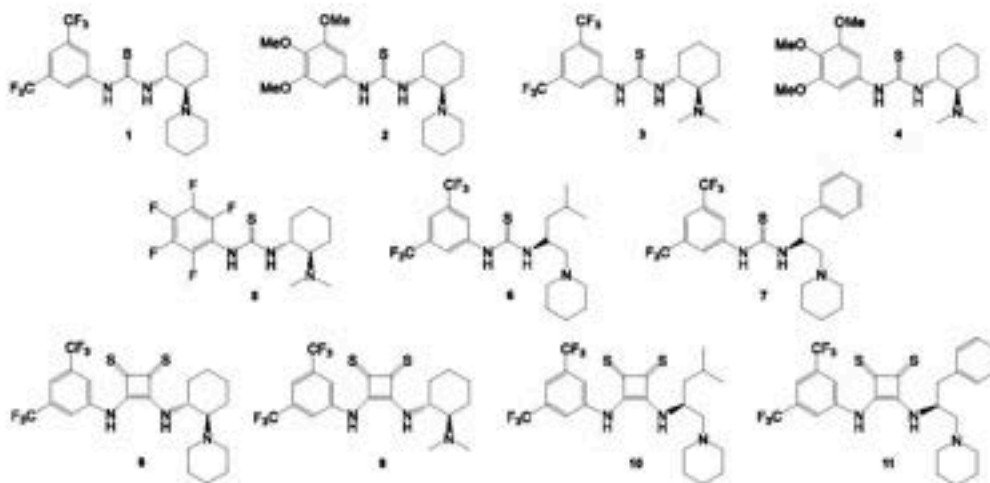
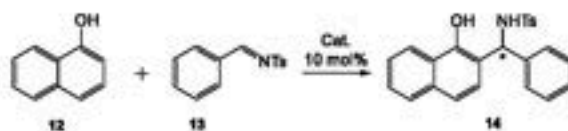


Figure 1. Thiourea and thiosquaramide derivatives screened as organocatalysts.



Scheme 1. Betti reaction of 1-naphthol (12) with *N*-tosylimine 13.

Table 1. Screening of reaction conditions of 1-naphthol (12) with *N*-tosylimine 13 catalyzed by thiourea 1.

| Entry | 1-Naphthol (eq.) | <i>N</i> -tosylimine (eq.) | mol% Cat. | Solvent          | Temp. [°C] | Yield [%] <sup>1</sup> | ee [%] <sup>2</sup> (Conf) <sup>3</sup> |
|-------|------------------|----------------------------|-----------|------------------|------------|------------------------|-----------------------------------------|
| 1     | 5                | 1                          | 10        | toluene          | 20         | 87                     | 68 ( <i>S</i> )                         |
| 2     | 3                | 1                          | 10        | toluene          | 20         | 98                     | 75 ( <i>S</i> )                         |
| 3     | 1.5              | 1                          | 10        | toluene          | 20         | 85                     | 66 ( <i>S</i> )                         |
| 4     | 1                | 1.5                        | 10        | toluene          | 20         | 80                     | 66 ( <i>S</i> )                         |
| 5     | 1                | 3                          | 10        | toluene          | 20         | 92                     | 66 ( <i>S</i> )                         |
| 6     | 3                | 1                          | 10        | toluene          | 0          | 98                     | 80 ( <i>S</i> )                         |
| 7     | 3                | 1                          | 5         | toluene          | 20         | 85                     | 68 ( <i>S</i> )                         |
| 8     | 3                | 1                          | 30        | toluene          | 20         | 80                     | 60 ( <i>S</i> )                         |
| 9     | 3                | 1                          | 10        | THF              | 20         | 20                     | 46 ( <i>S</i> )                         |
| 10    | 3                | 1                          | 10        | ACN              | 20         | 35                     | 44 ( <i>S</i> )                         |
| 11    | 3                | 1                          | 10        | <i>o</i> -xylene | 20         | 94                     | 68 ( <i>S</i> )                         |
| 12    | 3                | 1                          | 10        | DCM              | 20         | 70                     | 64 ( <i>S</i> )                         |

Reagents and conditions: 1-naphthol (0.15 mmol, 3 eq.), *N*-tosylimine (0.05 mmol, 1 eq.), solvent (1 mL), molecular sieves 4 Å, 20 h. <sup>1</sup> Isolated product. <sup>2</sup> Determined by HPLC analysis, Chiralpak AD-H, hexane:PrOH 90:10, 1 mL/min, 235 nm. <sup>3</sup> The configuration was established by comparison with the optical rotation from the literature [14,33].

**Table 2.** Asymmetric Betti reaction of 1-naphthol (**12**) with *N*-tosylimine **13** catalyzed by thioureas **1–7** or thiosquaramides **8–11**.

| Entry | Catalyst       | Yield [%] <sup>1</sup> | ee [%] <sup>2</sup> (Conf.) <sup>3</sup> |
|-------|----------------|------------------------|------------------------------------------|
| 1     | <b>1</b>       | 98                     | 80 (S)                                   |
| 2     | <b>2</b>       | 86                     | 50 (S)                                   |
| 3     | <b>3</b>       | 98                     | 68 (S)                                   |
| 4     | <b>4</b>       | 93                     | 62 (S)                                   |
| 5     | <b>5</b>       | 95                     | 64 (S)                                   |
| 6     | <b>6</b>       | 80                     | 58 (R)                                   |
| 7     | <b>7</b>       | 98                     | 60 (R)                                   |
| 8     | <b>8</b>       | 75                     | 56 (S)                                   |
| 9     | <b>8</b> ·HCl  | 53                     | 40 (S)                                   |
| 10    | <b>9</b>       | 80                     | 42 (S)                                   |
| 11    | <b>9</b> ·HCl  | 30                     | 30 (S)                                   |
| 12    | <b>10</b>      | 70                     | 20 (R)                                   |
| 13    | <b>10</b> ·HCl | 45                     | 16 (R)                                   |
| 14    | <b>11</b>      | 72                     | 36 (R)                                   |
| 15    | <b>11</b> ·HCl | 50                     | 28 (R)                                   |

Reagents and conditions: 1-naphthol (0.015 mmol, 3 eq.), *N*-tosylimine (0.05 mmol, 1 eq.), 10 mol% cat., toluene (1 mL), molecular sieves 4 Å, 0 °C, 20 h. <sup>1</sup> Isolated product. <sup>2</sup> Determined by HPLC analysis, Chiralpak AD-H, hexane:PrOH 90:10, 1 mL/min, 235 nm. <sup>3</sup> The configuration was established by comparison with the optical rotation from the literature [14,35].

With the optimized conditions in hand, we evaluated the general applicability of this asymmetric Betti reaction using bifunctional thioureas **1–7** (Table 2 entries 1–7). All tested organocatalysts gave the expected product in high yields (80–98%) with moderate to high enantioselectivities (58–80% ee). (*R,R*)-piperidine-based thiourea **1** and Takemoto catalyst **3** with the 3,5-bis(trifluoromethyl)phenyl moiety provided the best yield and enantioselectivity (Table 2, entries 1 and 3). The obtained results prove the higher efficiency of thiourea catalysts having at one of the nitrogen atoms an aryl group with strongly electron-acceptor substituents (CF<sub>3</sub>), which by increasing the acidity of the N-H bond facilitates the formation of a hydrogen bond with the substrate. In contrast, bifunctional organocatalysts **6–7** without the aminocyclohexyl moiety showed lower asymmetric induction (Table 2, entries 6–7).

Thiosquaramide organocatalysts **8–11**, used for the first time in the Betti reaction, promoted the reaction but gave lower yields and ee values (Table 2, entries 8–15). Organocatalysts **8–9** containing ((1*R*,2*R*)-2-(dimethylamino)cyclohexyl)amine or ((1*R*,2*R*)-2-(piperidin-1-yl)cyclohexyl)amine moiety gave predominantly (*S*)-product, while those not containing these moieties had the opposite enantiomer of **14**. A similar relationship was observed for thioureas **1–7**. The higher activity of thiosquaramides **8–11** (Table 2, entries 8, 10, 12, and 14) should also be noted compared to their appropriate hydrochlorides (Table 2, entries 9, 11, 13, and 15).

To rationalize the stereochemical outcome, a dual activation for the thiourea and thiosquaramide-catalyzed asymmetric Betti reaction of 1-naphthol (**12**) with *N*-tosylimine **13** is proposed in Scheme 2. Based on previous literature reports [13,22–24] and the observed stereochemistry, a transition state involving a ternary complex between the catalyst and the substrates can be proposed. Both thiourea and thiosquaramide catalysts promote the reaction in a dual manner: activating *N*-tosylimine through forming H-bond with the thiourea/thiosquaramide motif and enhancing the nucleophilicity of 1-naphthol by the tertiary amine moiety of catalyst. As shown in Scheme 2, a configuration of the product was determined by the absolute configuration of the carbon atom at the thioamide nitrogen atom of the thiourea/thiosquaramide moiety. For organocatalysts **1–5** and **8–9**, the activated 1-naphthol is capable of nucleophilic attack from C2 on the *Re* face of the imine providing the *S* enantiomer of the product. On the other hand, for organocatalysts **6–7** and **10–11** with the opposite absolute configuration (the compatibility of the relative configuration results

from the different priority of the substituents), the attack of the nucleophile on the *Si* face of the imine is favored which leads to (*R*)-16.



**Scheme 2.** Proposed dual activation for the thiourea and thiosquaramide-catalyzed asymmetric Betti reaction of 1-naphthol with *N*-tosylimine.

To demonstrate the generality of the 1–11-promoted asymmetric Betti reaction, other imines and naphthols were explored (Tables 3–7). The optimization of the reaction conditions of 2-naphthol (15) with *N*-tosylimine 13 (Scheme 3) catalyzed by thiourea 1 indicated that the use of substrates in the molar ratio naphtholimine = 3:1, 10 mol% of 1 in toluene at 0 °C was optimal for this transformation and led to chiral product 16 in 98% yield and 54% ee value (Table 3, entry 2).

**Table 3.** Optimization of the reaction conditions of 2-naphthol (15) with *N*-tosylimine 13 catalyzed by thiourea 1.

| Entry | 2-Naphthol (eq.) | <i>N</i> -tosylimine (eq.) | mol% Cat. | Temp. [°C] | Yield [%] <sup>1</sup> | ee [%] <sup>2</sup> (Conf.) <sup>3</sup> |
|-------|------------------|----------------------------|-----------|------------|------------------------|------------------------------------------|
| 1     | 5                | 1                          | 10        | 0          | 90                     | 34 ( <i>S</i> )                          |
| 2     | 3                | 1                          | 10        | 0          | 98                     | 54 ( <i>S</i> )                          |
| 3     | 3                | 1                          | 10        | 20         | 95                     | 24 ( <i>S</i> )                          |
| 4     | 1.5              | 1                          | 10        | 0          | 85                     | 24 ( <i>S</i> )                          |
| 5     | 3                | 1                          | 5         | 0          | 90                     | 52 ( <i>S</i> )                          |
| 6     | 3                | 1                          | 30        | 0          | 87                     | 42 ( <i>S</i> )                          |

Reagents and conditions: 2-naphthol (0.15 mmol, 3 eq.), *N*-tosylimine (0.05 mmol, 1 eq.), toluene (1 mL), molecular sieves 4 Å, 20 h. <sup>1</sup> Isolated product. <sup>2</sup> Determined by HPLC analysis, Chiralpak OD-H, hexane/iPrOH 94/6, 1 mL/min, 235 nm. <sup>3</sup> The configuration was established by comparison with the optical rotation from the literature [11,13].

**Table 4.** Asymmetric Betti reaction of 2-naphthol (**15**) with *N*-tosylimine **13** catalyzed by thioureas **1–7** or thiosquaramides **8–11**.

| Entry | Catalyst       | Yield [%] <sup>1</sup> | ee [%] <sup>2</sup> (Conf.) <sup>3</sup> |
|-------|----------------|------------------------|------------------------------------------|
| 1     | <b>1</b>       | 98                     | 54 (S)                                   |
| 2     | <b>2</b>       | 65                     | 34 (S)                                   |
| 3     | <b>3</b>       | 78                     | 26 (R)                                   |
| 4     | <b>4</b>       | 95                     | 6 (S)                                    |
| 5     | <b>5</b>       | 65                     | 6 (S)                                    |
| 6     | <b>6</b>       | 70                     | 61 (R)                                   |
| 7     | <b>7</b>       | 70                     | 24 (R)                                   |
| 8     | <b>8</b>       | 65                     | 71 (S)                                   |
| 9     | <b>8</b> -HCl  | 40                     | 64 (S)                                   |
| 10    | <b>9</b>       | 50                     | 52 (S)                                   |
| 11    | <b>9</b> -HCl  | 60                     | 56 (S)                                   |
| 12    | <b>10</b>      | 40                     | 61 (R)                                   |
| 13    | <b>10</b> -HCl | 25                     | 46 (R)                                   |
| 14    | <b>11</b>      | 30                     | 48 (R)                                   |
| 15    | <b>11</b> -HCl | 30                     | 46 (R)                                   |

Reagents and conditions: 2-naphthol (0.15 mmol, 3 eq.), *N*-tosylimine (0.05 mmol, 1 eq.), 10 mol% cat., toluene (1 mL), molecular sieves 4 Å, 0 °C, 20 h. <sup>1</sup> Isolated product. <sup>2</sup> Determined by HPLC analysis, Chiralpak OD-H, hexane:PrOH 94:6, 1 mL/min, 235 nm. <sup>3</sup> The configuration was established by comparison with the optical rotation from the literature [11,13].

**Table 5.** Optimization of the reaction conditions of 6-hydroxyquinoline (**17**) with ketimine **18** catalyzed by thiourea **1**.

| Entry | mol% Cat. | Solvent | Temp. [°C] | Yield [%] <sup>1</sup> | ee [%] <sup>2</sup> (Conf.) <sup>3</sup> |
|-------|-----------|---------|------------|------------------------|------------------------------------------|
| 1     | 5         | toluene | 20         | 68                     | 76 (S)                                   |
| 2     | 5         | toluene | 0          | 60                     | 87 (S)                                   |
| 3     | 5         | DCM     | 20         | 45                     | 16 (S)                                   |
| 4     | 10        | toluene | 20         | 65                     | 50 (S)                                   |
| 5     | 30        | toluene | 20         | 60                     | 71 (S)                                   |

Reagents and conditions: 6-hydroxyquinoline (0.1 mmol, 1 eq.), ketimine (0.1 mmol, 1 eq.), solvent (1 mL), molecular sieves 4 Å, 48 h. <sup>1</sup> Isolated product. <sup>2</sup> Determined by HPLC analysis, Chiralpak AD-H, hexane:PrOH 80:20, 1 mL/min, 254 nm. <sup>3</sup> The configuration was established by comparison with the optical rotation from the literature [17].

In the next step, we decided to react 2-naphthol (**15**) with imine **13** in the presence of other organocatalysts **2–11** (Table 4).

All tested bifunctional thioureas **1–7** gave product **16** in high yields (65–98%) but with low enantiomeric excesses (6–61% ee, Table 4, entries 1–7). The obtained results showed that Takemoto-type organocatalysts **1–5** were less effective in this transformation. In contrast, all bifunctional thiosquaramides **8–11** and their hydrochlorides slightly improved the asymmetric induction (Table 4, entries 8–15). Although the yields of reactions catalyzed by thiosquaramides were low compared to thioureas, the ee values were higher (46–71% ee). Nevertheless, this is the first example of the use of thiosquaramide organocatalysts in the reaction of 2-naphthol with imine **13**. Their higher catalytic activity in the reaction of 2-naphthol compared to 1-naphthol should also be noted (Table 2 vs. Table 4).

In the next stage of our research, we decided to test the catalytic activity of thiourea **1** in the reaction of 6-hydroxyquinoline as a nucleophile (**17**) with *N*-tosylimine **13**. Unfortunately, despite many attempts, we were unable to obtain the desired product.

Based on literature reports [17], we decided to react 6-hydroxyquinoline (**17**) with isatin-derived *N*-Boc ketimine **18** (Scheme 4, Table 5). We carried out the first test under the conditions developed by Pedro for this transformation [17]. Thiourea **1** (5 mol%) catalyzed the reaction in toluene to afford regioselectively alkylated at C-5 carbon atom chiral product **19** with 68% yield after 48 h (Table 5, entry 1) with a good enantiomeric excess (76% ee). When the reaction temperature was lowered to 0 °C, the ee value could be further enhanced



to 87% (Table 5, entry 2). Changing the solvent to DCM resulted in a drastic decrease in the yield and selectivity of the reaction (Table 5, entry 3). The screening of catalyst loading exhibited that 5 mol% equivalent of **1** was optimal, while 10 mol% and 30 mol% offered no improvement in the asymmetric induction (Table 5, entries 4–5).

**Table 6.** Asymmetric Betti reaction of 6-hydroxyquinoline (**17**) with ketimine **18** catalyzed by thioureas **1–7** or thiosquaramides **8–11**.

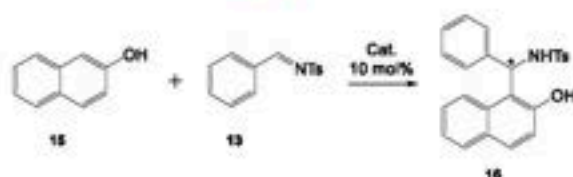
| Entry | Catalyst       | Temp. [°C] | Yield [%] <sup>1</sup> | ee [%] <sup>2</sup> (Conf.) <sup>3</sup> |
|-------|----------------|------------|------------------------|------------------------------------------|
| 1     | <b>1</b>       | 20         | 68                     | 76 (S)                                   |
| 2     | <b>1</b>       | 0          | 60                     | 87 (S)                                   |
| 3     | <b>2</b>       | 20         | 55                     | 66 (S)                                   |
| 4     | <b>3</b>       | 20         | 65                     | 92 (S) <sup>4</sup>                      |
| 5     | <b>4</b>       | 20         | 55                     | 74 (S)                                   |
| 6     | <b>5</b>       | 20         | 68                     | 66 (S)                                   |
| 7     | <b>6</b>       | 20         | 68                     | 76 (R)                                   |
| 8     | <b>7</b>       | 20         | 78                     | 90 (R)                                   |
| 9     | <b>7</b>       | 0          | 75                     | 98 (R)                                   |
| 10    | <b>8</b>       | 20         | 50                     | 8 (R)                                    |
| 11    | <b>8</b> -HCl  | 20         | 35                     | 12 (R)                                   |
| 12    | <b>9</b>       | 20         | 50                     | 12 (S)                                   |
| 13    | <b>9</b> -HCl  | 20         | 40                     | 14 (S)                                   |
| 14    | <b>10</b>      | 20         | 65                     | 2 (R)                                    |
| 15    | <b>10</b> -HCl | 20         | 45                     | 6 (R)                                    |
| 16    | <b>11</b>      | 20         | 65                     | 10 (R)                                   |
| 17    | <b>11</b> -HCl | 20         | 40                     | 2 (R)                                    |

Reagents and conditions: 6-hydroxyquinoline (0.1 mmol, 1 eq.), ketimine (0.1 mmol, 1 eq.), 5 mol% cat., toluene (1 mL), molecular sieves 4 Å, 48 h. <sup>1</sup> Isolated product. <sup>2</sup> Determined by HPLC analysis, Chiralpak AD-H, hexanes/PrOH 80:20, 1 mL/min, 235 nm. <sup>3</sup> The configuration was established by comparison with the optical rotation from the literature [17]. <sup>4</sup> Lit. [17] ee = 93%.

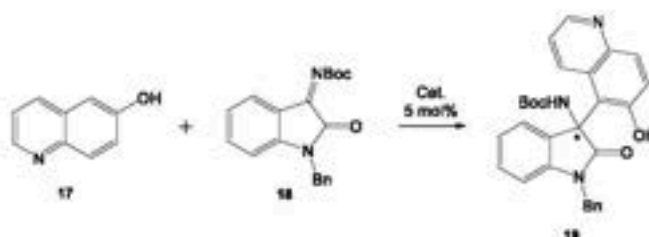
**Table 7.** Asymmetric Betti reaction of 1-naphthol (**12**) and 2-naphthol (**15**) with ketimine **18** catalyzed by thiourea **7** or thiosquaramide **11**.

| Entry | Naphthol  | Catalyst  | Yield [%] <sup>1</sup> | ee [%] <sup>2</sup> (Conf.) <sup>3</sup> |
|-------|-----------|-----------|------------------------|------------------------------------------|
| 1     | <b>12</b> | <b>7</b>  | 53                     | 78 (R)                                   |
| 2     | <b>12</b> | <b>11</b> | 30                     | 2 (S)                                    |
| 3     | <b>15</b> | <b>7</b>  | 49                     | 46 (R)                                   |
| 4     | <b>15</b> | <b>11</b> | 33                     | 4 (S)                                    |

Reagents and conditions: naphthol (0.1 mmol, 1 eq.), ketimine (0.1 mmol, 1 eq.), 5% mol cat., toluene (1 mL), molecular sieves 4 Å, 20 °C, 48 h. <sup>1</sup> Isolated product. <sup>2</sup> Determined by HPLC analysis, Chiralpak AD-H, hexanes/PrOH 80:20, 1.5 mL/min, 254 nm. <sup>3</sup> The configuration was established by comparison with the optical rotation from the literature [15,18–20].



**Scheme 3.** Betti reaction of 2-naphthol (**15**) with *N*-tosylimine **13**.



Scheme 4. Betti reaction of 6-hydroxyquinoline (17) and ketimine 18.

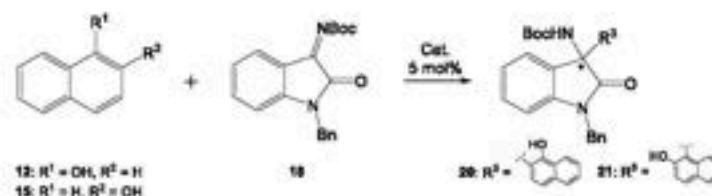
Next, we investigated the Betti reaction under optimal conditions with the other catalysts (Table 6). Thiourea **3** proved to be the most effective in terms of enantioselectivity of all Takemoto's type organocatalysts (92% ee), although with unsatisfactory yield—only 65% (Table 6, entries 1–6). Thioureas **6** and **7**, which lacked the cyclohexylamine grouping, performed better under these conditions (Table 6, entries 7–9) (Table 6, entries 7–9). The chiral product **19** was obtained with 75% yield and 98% ee at 0 °C. Thiosquaramides **8–11**, as well as their hydrochlorides, showed very low catalytic activity (Table 6, entries 10–17), although quinine-derived squaramides gave excellent enantioselectivity under these conditions, as reported by Pedro [17] and Tanyeli [18].

Taking into account the obtained results, we have proposed the possible transition state shown in Scheme 5. Bifunctional organocatalysts are responsible for the preorientation and simultaneous activation of electrophile via H-bond donor thiourea/thiosquaramide moiety and the enhancement of the nucleophilicity of 6-hydroxyquinoline by the tertiary amine unit of catalyst [16–18]. Generally, nucleophile attacks from C-5 of 6-hydroxyquinoline on the *Si* face of ketimine results in the *S* configuration of product in the case of Takemoto-type organocatalysts **1–5** and **9**, while in reactions catalyzed by **6–7** and **10–11** *Si* face of ketimine becomes less available and the formation of the *R* isomer is favored.



Scheme 5. Proposed dual activation for the thiourea and thiosquaramide-catalyzed asymmetric Betti reaction of 6-hydroxyquinoline with ketimine.

Finally, the reactions of naphthols **12** and **15** with ketimine **18** were developed (Scheme 6, Table 7). For testing, we chose thiourea **7**, which reacted best with 6-hydroxyquinoline, and its thiosquaramide counterpart **11**. The obtained results, similarly to those obtained for the reaction 6-hydroxyquinoline (**17**) with ketimine **18**, indicated a higher activity of thiourea **7** compared to thiosquaramide **11**. 3-Substituted 3-amino-2-oxindoles were obtained in moderate yield (53%) and enantioselectivity (78% ee) in the presence of **7**, while thiosquaramide **11** led to racemic products.



Scheme 6. Betti reaction of naphthols **12** and **15** with ketimine **18**.

### 3. Materials and Methods

Commercially available chemicals used in this work were purchased from Merck (Darmstadt, Germany) and were used as supplied, without additional purification. NMR spectra were recorded in CDCl<sub>3</sub> on a Bruker Avance III (600 MHz for <sup>1</sup>H NMR, 150 MHz for <sup>13</sup>C NMR); coupling constants are reported in hertz (Hz). The chemical shift values were expressed in ppm (part per million) with tetramethylsilane (TMS) as an internal reference. The rotations were measured using an Anton Paar MCP 500 polarimeter. Melting points measured on the DigiMelt apparatus are uncorrected. The milling treatments were carried out in a vibrating Retsch Mixer Mill 400 (vbm). Milling load is defined as the sum of the mass of the reactants per free volume in the jar. All the reactions using a vibratory ball mill were performed at 25 Hz under air with no interruption of the milling. Chromatographic purification of compounds was achieved with 230–400 mesh size silica gel. The progress of reactions was monitored by silica gel thin-layer chromatography plates (Merck TLC Silicagel 60 F254). The enantiomeric excess was determined by HPLC (1260 Infinity, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA), employing a Chiralpak AD-H or OD-H column (25 cm × 4.6 mm).

Copies of <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR spectra of compounds **1–3**, **5–11**, **14**, **16**, **19–21** and selected HPLC chromatograms of Betti bases are included in the Supplementary Materials.

#### 3.1. General Procedure for the Synthesis of Thiourea Catalysts

To the solution of corresponding diamine (0.4 mmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> at 0 °C, isothiocyanate (0.48 mmol) was added dropwisely under argon atmosphere. The resulting mixture was stirred at room temperature for around 30 min. The progress of the reaction was monitored by silica gel thin-layer chromatography plates. After reaction completion, the crude product was concentrated and purified by column chromatography.

##### 3.1.1. 1-[3,5-Bis(trifluoromethyl)phenyl]-3-[(1*R*,2*R*)-2-(piperidin-1-yl)cyclohexyl]thiourea (**1**)

Yellowish solid, 167 mg, 92% yield; *R*<sub>f</sub> = 0.09 (hexane/ethyl acetate, 2:1); [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = −6.0 (c 0.4, CHCl<sub>3</sub>), [Lit. [32]: [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = 0.60 (c 0.5, CHCl<sub>3</sub>)]; m.p. = 53.2–55.5 °C, [Lit. [32]: m.p. = 57–59 °C]; δ<sub>H</sub> (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 1.10–1.47 (m, 10H, H<sub>aliph</sub>), 1.75 (d, 1H, *J* = 13.1, H<sub>aliph</sub>), 1.85 (d, 1H, *J* = 11.2, H<sub>aliph</sub>), 1.94 (d, 1H, *J* = 11.5, H<sub>aliph</sub>), 2.33–2.55 (m, 3H, H<sub>aliph</sub>), 2.57–2.82 (m, 3H, H<sub>aliph</sub>), 3.85 (bs, 1H, NH), 7.68 (s, 1H, H<sub>ar</sub>), 7.87 (s, 2H, H<sub>ar</sub>); δ<sub>C</sub> (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 23.5, 23.8, 24.4, 25.1, 25.7, 27.2, 32.6 (C<sub>aliph</sub>), 49.7 (CH<sub>2</sub>N), 55.6 (CHNH), 68.6 (CHN), 118.7, 120.3, 122.1, 123.8, 124.1 (q, <sup>1</sup>*J*<sub>C-F</sub> = 270.0 Hz), 132.5 (q, <sup>2</sup>*J*<sub>C-F</sub> = 34.7 Hz), 140.0 (C<sub>ar</sub>), 180.3 (CS); Elemental analysis: C<sub>20</sub>H<sub>25</sub>F<sub>6</sub>N<sub>3</sub>S (453.49 g/mol) calculated: C% 52.97, H% 5.56, N% 9.27, S% 7.07; found: C% 52.81, H% 5.61, N% 9.47, S% 6.97.



Spectral data matched that reported by Mukherjee [32].

### 3.1.2. 1-(3,4,5-Trimethoxyphenyl)-3-[(1*R*,2*R*)-2-(piperidin-1-yl)cyclohexyl]thiourea (2)

Yellowish solid, 143 mg, 88% yield;  $R_f = 0.12$  (hexane/ethyl acetate, 2:1);  $[\alpha]_D^{20} = -23.80$  ( $c$  0.5,  $\text{CHCl}_3$ ); m.p. = 99.3–103.1 °C;  $\delta_H$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 0.80–0.91 (m, 1H,  $H_{\text{aliph}}$ ), 1.05–1.14 (m, 1H,  $H_{\text{aliph}}$ ), 1.21–1.31 (m, 5H,  $H_{\text{aliph}}$ ), 1.32–1.42 (m, 6H,  $H_{\text{aliph}}$ ), 1.71 (d, 1H,  $J = 13.8$  Hz,  $H_{\text{aliph}}$ ), 1.83 (d, 1H,  $J = 10.7$  Hz,  $H_{\text{aliph}}$ ), 1.88 (d, 1H,  $J = 11.4$  Hz,  $H_{\text{aliph}}$ ), 2.27 (bs, 2H, CHN), 2.42 (bs, 1H, NH), 2.63 (bs, 2H, CHN), 2.89 (bs, 1H, NH), 3.84 (s, 9H,  $\text{OCH}_3$ ), 6.57 (s, 2H,  $H_{\text{ar}}$ );  $\delta_C$  (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 14.2, 23.4, 24.6, 25.6, 29.8, 30.4, 32.7 ( $C_{\text{aliph}}$ ), 49.3 (CHN), 55.5 (CHN), 56.5 ( $2\text{OCH}_3$ ), 61.0 ( $\text{OCH}_3$ ), 68.3 (CHN), 103.5, 132.7, 137.0, 153.9 ( $C_{\text{ar}}$ ), 181.0 (CS); Elemental analysis:  $\text{C}_{21}\text{H}_{33}\text{N}_3\text{O}_3\text{S}$  (407.57 g/mol) calculated: C% 61.89, H% 8.16, N% 10.31, S% 7.87; found: C% 61.79, H% 8.10, N% 10.10, S% 7.75.

### 3.1.3. 1-[3,5-Bis(trifluoromethyl)phenyl]-3-[(1*R*,2*R*)-2-(dimethylamino)cyclohexyl]thiourea (3)

Commercially available catalyst (Merck).

### 3.1.4. 1-(3,4,5-Trimethoxyphenyl)-3-[(1*R*,2*R*)-2-(dimethylamino)cyclohexyl]thiourea (4)

Yellowish solid, 144 mg, 98% yield;  $R_f = 0.24$  (hexane/ethyl acetate, 2:1);  $[\alpha]_D^{20} = -82.17$  ( $c$  0.5,  $\text{CHCl}_3$ ); m.p. = 135.5–136.5 °C;  $\delta_H$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 0.95–1.05 (m, 1H,  $H_{\text{aliph}}$ ), 1.11–1.27 (m, 3H,  $H_{\text{aliph}}$ ), 1.30–1.39 (m, 1H,  $H_{\text{aliph}}$ ), 1.68 (d, 1H,  $J = 13.5$  Hz,  $H_{\text{aliph}}$ ), 1.82 (d, 1H,  $J = 12.8$  Hz,  $H_{\text{aliph}}$ ), 1.86 (d, 1H,  $J = 12.8$  Hz,  $H_{\text{aliph}}$ ), 2.23 (s, 6H,  $2\text{CH}_3$ ), 2.32–2.41 (ddd, 1H,  $J = 5.5, 5.5, 2.88$  Hz, CHN), 2.64–2.74 (m, 1H, CHN), 3.82 (s, 6H,  $2\text{OCH}_3$ ), 3.83 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3.97 (bs, 1H, NH), 6.50 (s, 2H,  $H_{\text{ar}}$ ), 6.91 (bs, 1H, NH);  $\delta_C$  (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 21.6, 24.6, 25.1, 32.9 ( $C_{\text{aliph}}$ ), 40.1 ( $\text{CH}_3$ ), 56.0 (CHN), 56.3 ( $2\text{OCH}_3$ ), 61.0 ( $\text{OCH}_3$ ), 66.8 (CHN), 102.4, 133.2, 136.3, 153.7 ( $C_{\text{ar}}$ ), 179.9 (CS); Elemental analysis:  $\text{C}_{18}\text{H}_{29}\text{N}_3\text{O}_3\text{S}$  (367.51 g/mol) calculated: C% 58.83, H% 7.95, N% 11.43, S% 8.72; found: C% 58.64, H% 7.81, N% 11.68, S% 8.56.

Spectral data matched that reported by Steve Tse and Yeung [36].

### 3.1.5. 1-(Perfluorophenyl)-3-[(1*R*,2*R*)-2-(dimethylamino)cyclohexyl]thiourea (5)

Yellowish solid, 144 mg, 78% yield;  $R_f = 0.44$  (hexane/ethyl acetate, 2:1);  $[\alpha]_D^{20} = +101.68$  ( $c$  0.35,  $\text{CHCl}_3$ ); m.p. = 117.8–119.5 °C;  $\delta_H$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 0.96–1.30 (m, 5H,  $H_{\text{aliph}}$ ), 1.70 (d, 1H,  $J = 9.4$  Hz,  $H_{\text{aliph}}$ ), 1.77 (m, 1H,  $J = 12.7$  Hz,  $H_{\text{aliph}}$ ), 1.85 (d, 1H,  $J = 12.7$  Hz,  $H_{\text{aliph}}$ ), 2.13–2.20 (m, 1H,  $H_{\text{aliph}}$ ), 2.28 (s, 6H,  $2\text{CH}_3$ ), 2.38–2.47 (m, 1H,  $H_{\text{aliph}}$ ), 3.58 (bs, 1H, NH), 6.34 (bs, 1H, NH);  $\delta_C$  (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 20.9, 25.3, 25.8, 33.3 ( $C_{\text{aliph}}$ ), 40.3, 40.7 ( $\text{CH}_3$ ), 57.3, 69.9 (CHN), 137.2, 138.8 ( $C_{\text{ar}}$ ), 178.3 (CS); Elemental analysis:  $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{F}_5\text{N}_3\text{S}$  (367.38 g/mol) calculated: C% 49.04, H% 4.94, N% 11.44, S% 8.73; found: C% 48.89, H% 5.30, N% 10.59, S% 8.76.

### 3.1.6. 1-[3,5-Bis(trifluoromethyl)phenyl]-3-[(*R*)-4-methyl-1-(piperidin-1-yl)pentan-2-yl]thiourea (6)

Colorless solid, 138 mg, 76% yield;  $R_f = 0.21$  (hexane/ethyl acetate, 2:1);  $[\alpha]_D^{20} = -26.20$  ( $c$  0.4,  $\text{CHCl}_3$ ); [Lit. [33]:  $[\alpha]_D^{20} = -30.80$  ( $c$  1.0,  $\text{CHCl}_3$ ); m.p. = 43.5–45.5 °C;  $\delta_H$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 0.96 (d, 3H,  $J = 5.5$  Hz,  $\text{CH}_3$ ), 0.98 (d, 3H,  $J = 6.7$  Hz,  $\text{CH}_3$ ), 1.29–1.35 (m, 1H,  $H_{\text{aliph}}$ ), 1.41–1.67 (m, 7H,  $H_{\text{aliph}}$ ), 1.72–1.80 (m, 1H,  $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ), 2.30–2.50 (m, 3H,  $H_{\text{aliph}}$ ), 2.55–2.85 (m, 3H,  $H_{\text{aliph}}$ ), 3.79 (bs, 1H,  $H_{\text{aliph}}$ ), 6.23 (s, 1H), 7.64 (s, 1H,  $H_{\text{ar}}$ ), 8.05 (s, 2H,  $H_{\text{ar}}$ ), 12.77 (bs, 1H, NH);  $\delta_C$  (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 22.2 ( $C_{\text{aliph}}$ ), 22.8 ( $\text{CH}_3$ ), 23.5 ( $C_{\text{aliph}}$ ), 25.0 ( $\text{CH}_3$ ), 25.7 ( $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ), 31.0, 43.0 ( $\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ), 53.0 ( $\text{CH}_2\text{N}$ ), 55.3 (CHN), 67.2 ( $\text{CH}_2\text{N}$ ), 118.3, 122.4, 124.2, 124.8, 126.0 ( $\text{C}_6\text{H}_3(\text{CF}_3)_2$ ), 131.8 ( $q, {}^2J_{\text{C-F}} = 32.7$  Hz), 141.9 ( $C_{\text{ar}}$ ), 183.8 (CS); Elemental analysis:  $\text{C}_{20}\text{H}_{27}\text{F}_6\text{N}_3\text{S}$  (455.51 g/mol) calculated: C% 52.74, H% 5.97, N% 9.23, S% 7.04; found: C% 52.66, H% 6.02, N% 9.08, S% 7.02.

Spectral data matched that reported by Qu [33].



### 3.1.7. 1-[3,5-Bis(trifluoromethyl)phenyl]-3-[(R)-1-phenyl-3-(piperidin-1-yl)propan-2-yl]thiourea (7)

Colorless solid, 161 mg, 82% yield;  $R_f = 0.17$  (hexane/ethyl acetate, 2:1);  $[\alpha]_D^{20} = -30.36$  (c 0.4,  $\text{CHCl}_3$ ); [Lit. [34]:  $[\alpha]_D^{20} = -32.90$  (c 0.65,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ); m.p. = 52.5–54.5 °C;  $\delta_H$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 1.34–1.69 (m, 7H,  $H_{\text{aliph}}$ ), 2.29 (bs, 2H,  $H_{\text{aliph}}$ ), 2.42–2.66 (m, 4H,  $H_{\text{aliph}}$ ), 2.72–2.82 (m, 1H,  $H_{\text{aliph}}$ ), 2.92–3.04 (m, 1H,  $H_{\text{aliph}}$ ), 4.02 (bs, 1H, NH), 6.35 (bs, 1H, NH), 7.22 (d, 2H,  $J = 7.2$ ,  $H_{\text{ar}}$ ), 7.27–7.32 (m, 1H,  $H_{\text{ar}}$ ), 7.34–7.38 (m, 2H,  $H_{\text{ar}}$ ), 7.65 (s, 1H,  $H_{\text{ar}}$ ), 8.01 (s, 2H,  $H_{\text{ar}}$ ), 12.85 (bs, 1H, NH);  $\delta_C$  (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 23.5, 25.6 ( $C_{\text{aliph}}$ ), 40.0 ( $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ ), 54.8 ( $2\text{CH}_2\text{N}$ ), 55.5 (CHN), 65.1 ( $\text{CH}_2\text{N}$ ), 118.5, 120.6, 122.4, 124.2, 125.0, 126.0, 127.5, 128.9, 129.2, 129.3, 131.0, 131.9 (q,  $^2J_{\text{C-F}} = 32.7$  Hz), 136.2, 141.8 ( $C_{\text{ar}}$ ), 183.5 (CS); Elemental analysis:  $\text{C}_{23}\text{H}_{25}\text{F}_6\text{N}_3\text{S}$  (489.52 g/mol) calculated: C% 6.43, H% 5.15, N% 8.58, S% 6.55; found: C% 56.49, H% 5.04, N% 8.64, S% 6.53.

Spectral data matched that reported by Zhu [34].

### 3.2. General Procedure for the Synthesis of Thiosquaramides

Procedure A: The 3-[(3,5-bis(trifluoromethyl)phenyl)amino]-4-(cyclopentyloxy)cyclobut-3-ene-1,2-thione (124.0 mg, 0.3 mmol, 1 eq.) was dissolved under argon atmosphere in dry  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (1 mL), cooled to 0 °C, then the appropriate amine (0.3 mmol, 1 eq.) was added. The mixture was stirred for about 1 h at 0 °C, while the reaction was monitored by TLC tests. Then, the solvent was evaporated, and the obtained crude product was purified by silica gel column chromatography, using a solvent mixture of ethyl acetate:methanol = 7:1 as the eluent.

Procedure B: The 3-[(3,5-bis(trifluoromethyl)phenyl)amino]-4-(cyclopentyloxy)cyclobut-3-ene-1,2-thione [31] (124.0 mg, 0.3 mmol, 1 eq.) and appropriate amine (0.3 mmol, 1 eq.) were introduced in a 5 mL stainless steel grinding jar with 3 stainless steel balls (5 mm diameter). The jar was closed and subjected to grinding for 35 min in the vibratory ball mill operated at 23 Hz. The progress of the reaction was monitored by silica gel thin-layer chromatography plates and the obtained crude product was purified by silica gel column chromatography, using a solvent mixture of ethyl acetate:methanol = 7:1 as the eluent.

A detailed analysis of the resulting structure was performed for the hydrochlorides.

#### 3.2.1. 3-[(3,5-Bis(trifluoromethyl)phenyl)amino]-4-[(1R,2R)-2-(piperidin-1-yl)cyclohexyl]amino]cyclobut-3-ene-1,2-dithione (8)

Yellow-orange solid, 112 mg, 69% yield (procedure A), 138 mg, 85% yield (procedure B);  $R_f = 0.80$  (ethyl acetate/methanol, 7:1);  $[\alpha]_D^{20} = -34.14$  (c 0.1,  $\text{CHCl}_3$ ); m.p. = 137.5–139.8 °C [Lit. [31]: m.p. = 138–144 °C]; NMR characterization for 8-HCl:  $\delta_H$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 1.35–1.63 (m, 4H,  $H_{\text{aliph}}$ ), 1.84–2.11 (m, 7H,  $H_{\text{aliph}}$ ), 2.15–2.25 (m, 1H,  $H_{\text{aliph}}$ ), 2.48–2.59 (m, 2H,  $H_{\text{aliph}}$ ), 2.76–2.87 (m, 1H,  $H_{\text{aliph}}$ ), 3.06–3.16 (m, 1H,  $H_{\text{aliph}}$ ), 3.34–3.45 (m, 2H, CHN), 3.46–3.54 (m, 1H, CHN), 5.09–5.19 (m, 1H, CHN), 7.63 (s, 1H,  $H_{\text{ar}}$ ), 8.23 (s, 2H,  $H_{\text{ar}}$ ), 9.26 (bs, 1H, NH), 9.46 (bs, 1H, NH), 10.51 (bs, 1H, NH);  $\delta_C$  (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 22.3, 23.2, 23.6, 24.0, 24.5, 29.8, 35.7 ( $C_{\text{aliph}}$ ), 47.4 ( $2\text{CH}_3$ ), 53.2, 53.7 (CHN), 68.2, 118.4, 121.9, 122.2, 124.0, 125.8 ( $\text{C}_6\text{H}_3(\text{CF}_3)_2$ ), 132.3 (q,  $^2J_{\text{C-F}} = 33.6$  Hz), 137.8 ( $C_{\text{ar}}$ ), 169.4, 170.4 ( $\text{C}=\text{C}$ ), 206.3, 209.4 (CS); TOF MS  $\text{ES}^+$  calculated for  $\text{C}_{23}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{F}_6\text{S}_2$  [M] $^+$  522.1472; found 522.1475.

Spectral data matched that reported by Rawal [31].

#### 3.2.2. 3-[(3,5)-Bis(trifluoromethyl)phenyl]amino]-4-[(1R,2R)-2-(dimethylamino)cyclohexyl]amino]cyclobut-3-ene-1,2-dithione (9)

Yellow-orange solid, 112 mg, 74% yield (procedure A), 134 mg, 89% yield (procedure B);  $R_f = 0.82$  (ethyl acetate/methanol, 7:1);  $[\alpha]_D^{20} = -28.82$  (c 0.3,  $\text{CHCl}_3$ ); m.p. = 153.2–156.0 °C [Lit. [31]: m.p. = 156–160 °C]; NMR characterization for 9-HCl:  $\delta_H$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 0.85–0.91 (m, 1H,  $H_{\text{aliph}}$ ), 1.83–1.91 (m, 2H,  $H_{\text{aliph}}$ ), 2.00–2.04 (m, 1H,  $H_{\text{aliph}}$ ), 2.09–2.14 (m, 1H,  $H_{\text{aliph}}$ ), 2.40–2.47 (m, 1H,  $H_{\text{aliph}}$ ), 2.74–2.82 (m, 2H,  $H_{\text{aliph}}$ ), 2.85 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2.93 (m, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.28–3.36 (m, 1H,  $H_{\text{aliph}}$ ), 5.23–5.29 (m, 1H, CHN), 7.63 (s, 1H,  $H_{\text{ar}}$ ), 8.26 (s, 2H,  $H_{\text{ar}}$ ), 9.03 (bs, 1H, NH), 10.30 (bs, 1H, NH), 10.79 (bs, 1H, NH);  $\delta_C$  (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 23.0, 23.6, 23.7, 34.5, 37.5 ( $C_{\text{aliph}}$ ), 43.4 ( $2\text{CH}_3$ ), 52.9 (CHN), 68.1, 114.3, 118.1, 121.8, 122.0, 123.9,

125.7 ( $C_6H_3(CF_3)_2$ ), 132.2 ( $q$ ,  $^2J_{C-F} = 33.5$  Hz), 138.0 ( $C_{ar}$ ), 169.6, 171.6 ( $C=C$ ), 205.2, 209.1 (CS); TOF MS ES<sup>+</sup> calculated for  $C_{26}H_{26}N_3F_6S_2$  [M]<sup>+</sup> 558.1472; found 558.1468. TOF MS ES<sup>+</sup> calculated for  $C_{20}H_{21}N_3F_6S_2$  [M]<sup>+</sup> 482.1159; found 482.1160.

Spectral data matched that reported by Rawal [31].

### 3.2.3. 3-[(3,5)-Bis(trifluoromethyl)phenyl]amino]-4-[(S)-4-methyl-1-(piperidin-1-yl)pentan-2-yl]amino]cyclobut-3-ene-1,2-dithione (10)

Yellow–orange solid, 114 mg, 70% yield (procedure A), 140 mg, 86% yield (procedure B);  $R_f = 0.75$  (ethyl acetate/methanol, 7:1);  $[\alpha]_D^{20} = -81.0$  (c 0.2,  $CHCl_3$ ); m.p. = 153.9–156.5 °C; NMR characterization for 10·HCl:  $\delta_H$  (600 MHz,  $CDCl_3$ ): 0.97 (d, 3H,  $J = 7.0$ ,  $CH_3$ ), 0.98 (d, 3H,  $J = 7.0$ ,  $CH_3$ ), 1.37–1.49 (m, 2H,  $H_{aliph}$ ), 1.68–1.77 (m, 2H,  $H_{aliph}$ ), 1.83–1.93 (m, 4H,  $H_{aliph}$ ), 2.10–2.20 (m, 1H,  $H_{aliph}$ ), 2.78–2.91 (m, 2H,  $H_{aliph}$ ), 2.95–3.06 (m, 1H,  $H_{aliph}$ ), 3.15–3.32 (m, 1H,  $H_{aliph}$ ), 3.45–3.58 (m, 1H,  $H_{aliph}$ ), 4.00–4.12 (m, 1H,  $H_{aliph}$ ), 5.63 (bs, 1H, CHN), 7.62 (s, 1H,  $H_{ar}$ ), 8.33 (s, 2H,  $H_{ar}$ ), 9.15 (bs, 1H, NH), 9.84 (bs, 1H, NH), 11.17 (bs, 1H, NH);  $\delta_C$  (150 MHz,  $CDCl_3$ ): 21.7, 22.3, 22.5 ( $C_{aliph}$ ), 22.7 ( $CH_3$ ), 22.9 ( $C_{aliph}$ ), 24.8 ( $CH_3$ ), 43.7 ( $CH_2$ ), 48.0 (CHN), 53.4, 56.1, 60.8 ( $CH_2$ ), 114.2, 118.2, 122.2, 123.9, 125.7, 129.0 ( $C_6H_3(CF_3)_2$ ), 132.1 ( $q$ ,  $^2J_{C-F} = 34.0$  Hz), 137.9 ( $C_{ar}$ ), 169.1, 171.3, ( $C=C$ ), 204.8, 209.0 (CS); TOF MS ES<sup>+</sup> calculated for  $C_{23}H_{27}N_3F_6S_2$  [M]<sup>+</sup> 524.1629; found 524.1631.

### 3.2.4. 3-[(3,5)-Bis(trifluoromethyl)phenyl]amino]-4-[(S)-1-phenyl-3-(piperidin-1-yl)propan-2-yl]amino]cyclobut-3-ene-1,2-dithione (11)

Yellow–orange solid, 132 mg, 76% yield (procedure A), 157 mg, 91% yield (procedure B);  $R_f = 0.70$  (ethyl acetate/methanol, 7:1);  $[\alpha]_D^{20} = -35.9$  (c 0.2,  $CHCl_3$ ); m.p. = 159.3–163.0 °C; NMR characterization for 11·HCl:  $\delta_H$  (600 MHz,  $CDCl_3$ ): 1.38–1.44 (m, 1H,  $H_{aliph}$ ), 1.69–1.90 (m, 3H,  $H_{aliph}$ ), 1.94–2.02 (m, 1H,  $H_{aliph}$ ), 2.11–2.18 (m, 1H,  $H_{aliph}$ ), 2.63–2.70 (m, 1H,  $H_{aliph}$ ), 2.83–2.91 (m, 2H,  $H_{aliph}$ ), 2.96–3.04 (m, 1H,  $H_{aliph}$ ), 3.43–3.49 (m, 1H,  $H_{aliph}$ ), 3.50–3.57 (m, 1H,  $H_{aliph}$ ), 3.63–3.70 (m, 1H,  $H_{aliph}$ ), 3.76–3.84 (m, 1H,  $H_{aliph}$ ), 5.77 (bs, 1H, CHN), 7.30–7.35 (m, 5H,  $H_{ar}$ ), 7.58 (s, 1H,  $H_{ar}$ ), 8.27 (s, 2H,  $H_{ar}$ ), 9.65 (bs, 1H, NH), 9.81 (bs, 1H, NH), 11.04 (bs, 1H, NH);  $\delta_C$  (150 MHz,  $CDCl_3$ ): 21.8, 22.9 ( $C_{aliph}$ ), 42.2 ( $CH_2N$ ), 50.8 (CHN), 53.2 ( $CH_2N$ ), 56.6 ( $CH_2N$ ), 59.4 ( $CH_2N$ ), 118.5, 121.9, 122.2, 124.0, 128.0, 129.3, 129.4 ( $C_{ar}$ ), 132.2 ( $q$ ,  $^2J_{C-F} = 34.0$  Hz), 135.0 ( $C_6H_3(CF_3)_2$ ), 137.9, 169.0 ( $C=C$ ), 171.2, 209.0, 209.8 (CS); TOF MS ES<sup>+</sup> calculated for  $C_{26}H_{26}N_3F_6S_2$  [M]<sup>+</sup> 558.1472; found 558.1468.

## 3.3. General Procedure for the Reaction of *N*-tosylimine (13) with 1- and 2-naphthol (12 or 15) in the Presence of Catalyst 1–11

22.0 mg of 1- or 2-naphthol (0.15 mmol, 3 eq.), 13.0 mg of *N*-benzylidene-*para*-toluenesulfonamide (13) (0.05 mmol, 1 eq.), 0.005 mmol (10 mol%) of a corresponding organocatalyst, 4 Å molecular sieves, and 1 mL of toluene were placed in the Schlenk flask. The reaction was carried out under an argon atmosphere at 0 °C and the progress of the reaction was controlled by TLC tests. After completion of the reaction, the solvent was evaporated, and the residue was purified by silica gel column chromatography using a solvent mixture of hexane:ethyl acetate = 4:1 as eluent.

### 3.3.1. *N*-[(1-hydroxynaphthalen-2-yl)(phenyl)methyl]-4-methylbenzene sulfonamide (14)

Colorless oil, 20 mg, 98% yield;  $R_f = 0.29$  (hexane/ethyl acetate, 4:1);  $[\alpha]_D^{20} = -30.2$  (c 0.9;  $CH_2Cl_2$ ) for ee = 80% (Table 1, entry 6) [Lit. [14]:  $[\alpha]_D^{22} = -38.8$  (c 1.0;  $CH_2Cl_2$  for ee = 94%)];  $\delta_H$  (600 MHz,  $CDCl_3$ ): 2.18 (s, 3H,  $CH_3$ ), 5.91 (s, 1H, CH), 6.89 (d, 2H,  $J = 8.5$ ), 6.97 (d, 2H,  $J = 8.0$ ), 7.18–7.21 (m, 2H), 7.22–7.28 (m, 3H), 7.45–7.48 (m, 2H), 7.53–7.56 (m, 2H), 7.71–7.74 (m, 1H), 8.03–8.07 (m, 1H);  $\delta_C$  (150 MHz,  $CDCl_3$ ): 21.3, 58.7, 119.5, 120.6, 121.3, 125.3, 125.6, 126.2, 126.6, 127.1, 127.2, 127.6, 127.8, 128.7, 129.2, 134.2, 136.1, 139.0, 143.7, 149.5.

Spectral data matched that reported by Wang [14].

HPLC: Kromasil AD-H (250 × 4.6 mm), hexane/*i*PrOH = 90/10, flow = 1 mL/min,  $\lambda = 235$  nm,  $t_R = 26.2$  min and  $t_R = 31.7$  min.



### 3.3.2. N-[(2-hydroxynaphthalen-1-yl)(phenyl)methyl]-4-methylbenzene sulfonamide (16)

Colorless solid, 20 mg, 98% yield;  $R_f$  = 0.32 (hexane/ethyl acetate, 4:1); m.p. = 139.0–140.9 °C [Lit. [13]: m.p. = 140–142 °C];  $[\alpha]_D^{20}$  = +33.4 (c 0.5, CHCl<sub>3</sub>) for ee = 54% (Table 3, entry 2) [Lit. [13]:  $[\alpha]_D^{25}$  = +50.0 (c 0.26; CHCl<sub>3</sub> for ee = 84%)];  $\delta_H$  (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 2.07 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 5.68 (s, 1H, CH), 6.23 (d, 1H,  $J$  = 9.2), 6.38 (d, 1H,  $J$  = 9.2), 6.63 (d, 2H,  $J$  = 8.0), 6.73 (d, 1H,  $J$  = 8.7), 7.12–7.18 (m, 3H), 7.22–7.29 (m, 5H), 7.32–7.37 (m, 1H), 7.49 (d, 1H,  $J$  = 8.8), 7.60 (d,  $J$  = 8.0 Hz), 7.68 (d, 1H,  $J$  = 8.5);  $\delta_C$  (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 21.2, 54.3, 117.7, 118.1, 122.0, 123.4, 126.7, 126.8, 127.2, 127.4, 128.4, 128.7, 129.0, 129.7, 132.4, 136.3, 140.0, 142.8, 151.1.

Spectral data matched that reported by Hui [11].

HPLC: Chiralpak OD-H (250 × 4.6 mm), hexane/*i*PrOH = 94/6, flow = 1 mL/min,  $\lambda$  = 235 nm,  $t_R$  = 17.3 min, and  $t_R$  = 22.9 min.

### 3.4. General Procedure for the Reaction of Ketimine (18) with 6-hydroxyquinoline (17) and Ketimine (18) with 1- and 2-naphthol (12 or 15) in the Presence of Catalyst 1–11

14.5 mg (0.1 mmol, 1 eq.) of 6-hydroxyquinoline or 14.4 mg (0.1 mmol, 1 eq.) of corresponding naphthol, 33.6 mg (0.1 mmol, 1 eq.) of ketimine, 0.005 mmol (5 mol%) of the appropriate organocatalyst and 4 Å molecular sieves were placed in the Schlenk flask and diluted with 1 mL of toluene. The reaction was carried out under an argon atmosphere at room temperature (or 0 °C) and the progress of the reaction was controlled by TLC tests. After completion of the reaction, the solvent was evaporated, and the residue was purified by silica gel column chromatography using a solvent mixture of hexane:ethyl acetate = 1:5 as eluent.

#### 3.4.1. [1-Benzyl-3-(6-hydroxyquinolin-5-yl)-2-oxoindolin-3-yl]carbamate tert-butyl (19)

Yellowish solid, 37.5 mg, 78% yield;  $R_f$  = 0.26 (hexane/ethyl acetate, 1:5); m.p. = 180.5–183.0 °C [Lit. [17]: m.p. = 183–186 °C];  $[\alpha]_D^{20}$  = −366.3 (c 0.3, MeOH) for ee = 98% (Table 6, entry 9) [Lit. [17]:  $[\alpha]_D^{20}$  = −368.7 (c 0.31; MeOH for ee = 98%)];  $\delta_H$  (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 1.32 (s, 9H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 4.86 (d, 1H,  $J$  = 16.1, CH<sub>2</sub>Ph), 5.21 (d, 1H,  $J$  = 16.1, CH<sub>2</sub>Ph), 5.82 (s, 1H), 6.71–6.80 (m, 2H), 6.85 (d, 1H,  $J$  = 7.9), 7.08–7.12 (m, 1H), 7.19–7.25 (m, 4H), 7.27–7.32 (m, 2H), 7.34–7.38 (m, 1H), 7.48 (d, 1H,  $J$  = 9.1), 8.00 (d, 1H,  $J$  = 9.1), 8.57 (dd, 1H,  $J$  = 4.0, 1.3), 8.77 (dd, 1H), 10.45 (s, 1H, OH);  $\delta_C$  (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 28.2 (CH<sub>3</sub>), 44.7 (CH<sub>2</sub>), 65.1, 80.9, 110.1, 114.4, 119.9, 123.4, 124.8, 125.8, 127.2, 127.5, 127.7, 129.7, 130.1, 132.2, 132.7, 135.2, 143.2, 144.4, 146.4, 153.9, 155.8, 178.8.

Spectral data matched that reported by Pedro [17].

HPLC: Kromasil AD-H (250 × 4.6 mm), eluent hexane/*i*PrOH = 80/20, flow = 1 mL/min,  $\lambda$  = 235 nm,  $t_R$  = 12.9 min and  $t_R$  = 31.7 min.

#### 3.4.2. [1-Benzyl-3-(1-hydroxynaphthalen-2-yl)-2-oxoindolin-3-yl]carbamate tert-butyl (20)

Colorless solid, 25.4 mg, 53% yield;  $R_f$  = 0.55 (hexane/ethyl acetate, 2:1); m.p. = 102.4–103.9 °C [Lit. [15]: m.p. = 104–105 °C];  $[\alpha]_D^{20}$  = +284.7 (c 0.4, CHCl<sub>3</sub>) for ee = 78% (Table 7, entry 1) [Lit. [15]:  $[\alpha]_D^{20}$  = +359.6 (c 0.44, CHCl<sub>3</sub> for ee = 99%)];  $\delta_H$  (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 1.32 (s, 9H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 4.84 (s, 1H, CH<sub>2</sub>Ph), 5.06 (d, 1H,  $J$  = 12.0, CH<sub>2</sub>Ph), 5.79 (s, 1H), 6.77 (d, 1H,  $J$  = 7.8), 6.81 (d, 1H,  $J$  = 8.7), 7.16–7.27 (m, 7H), 7.28–7.34 (m, 1H), 7.41 (d, 1H,  $J$  = 7.3), 7.48–7.55 (m, 2H), 7.68–7.75 (m, 1H), 8.44–8.50 (m, 1H), 10.79 (s, 1H, OH);  $\delta_C$  (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 28.3 (CH<sub>3</sub>), 44.6 (CH<sub>2</sub>), 65.3, 80.9, 108.7, 110.5, 114.7, 119.8, 123.4, 123.6, 125.2, 125.5, 125.8, 127.2, 127.3, 127.6, 127.8, 128.9, 129.6, 135.0, 135.1, 142.8, 154.1, 155.4, 180.0.

Spectral data matched that reported by Pedro [15].

HPLC: Kromasil AD-H (250 × 4.6 mm), eluent hexane/*i*PrOH = 80/20, flow = 1.5 mL/min,  $\lambda$  = 254 nm,  $t_R$  = 10.5 min and  $t_R$  = 49.8 min.

#### 3.4.3. [1-Benzyl-3-(2-hydroxynaphthalen-1-yl)-2-oxoindolin-3-yl]carbamate tert-butyl (21)

Colorless solid, 23.5 mg, 49% yield;  $R_f$  = 0.42 (hexane/ethyl acetate, 2:1); m.p. = 140.2–141.7 °C [Lit. [20]: m.p. = 140.5–142.0 °C];  $[\alpha]_D^{20}$  = −7.6 (c 0.4, CHCl<sub>3</sub>) for ee = 46% (Table 7, entry

3) [Lit. [20]:  $[\alpha]_D^{25} = -15.6$  (c 0.50,  $\text{CHCl}_3$  for ee = 93%);  $\delta_H$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 1.31 (s, 9H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 4.87 (d,  $J = 16.0$  Hz, 1H,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 5.11 (d,  $J = 16.0$  Hz, 1H,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 5.90 (s, 1H), 6.76 (d, 1H,  $J = 7.8$ ), 7.00 (d, 1H,  $J = 7.7$  Hz), 7.05–7.12 (m, 2H), 7.18–7.27 (m, 6H), 7.31–7.37 (m, 3H), 7.53 (d, 1H,  $J = 8.7$ ), 7.66 (d, 1H,  $J = 7.5$ ), 9.76 (s, 1H, OH);  $\delta_C$  (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 28.3 ( $\text{CH}_3$ ), 44.8 ( $\text{CH}_2$ ), 65.5, 80.8, 110.1, 114.8, 121.2, 123.0, 123.5, 124.6, 125.4, 125.8, 127.7, 128.9, 130.4, 130.7, 131.6, 132.0, 135.3, 143.2, 154.0, 155.3, 179.8.

Spectral data matched that reported by Jin [20].

HPLC: Kromasil AD-H ( $250 \times 4.6$  mm), eluent hexane/*i*PrOH = 80/20, flow = 1.5 mL/min,  $\lambda = 254$  nm,  $t_R = 10.6$  min, and  $t_R = 21.7$  min.

#### 4. Conclusions

In conclusion, we have developed an enantioselective Betti reaction of 1- and 2-naphthols and 6-hydroxyquinoline with tosylimine and ketimine compounds using thioureas and, for the first time, thiosquaramide bifunctional organocatalysts.

We obtained synthetically and medicinally useful chiral aminoarylnaphthols, in excellent yield (up to 98%) with high enantioselectivity (up to 80% ee) and enantioenriched 3-amino-2-oxindoles (up to 78% yield, up to 98% ee). Moreover, we have shown that Takemoto-type thioureas most efficiently catalyze the reaction of 1-naphthol with *N*-tosyl imine (80% ee), while in the reaction of 2-naphthol with *N*-tosyl imine, the bifunctional thiosquaramides organocatalysts demonstrated higher catalytic activity (up to 71% for thiosquaramide 8 vs. 61% ee for thiourea 6). The reaction of 6-hydroxyquinoline with isatin-derived *N*-Boc ketimine led regioselectively to the alkylated at C-5 chiral product with moderate yield and enantioselectivity, and thiourea 7, which lacked the cyclohexylamine moiety and performed best under these conditions (up to 98% ee) while its thiosquaramide counterpart generated up to 10% ee. Similar observations were made for the reactions of 1- and 2-naphthols with 6-hydroxyquinoline.

**Supplementary Materials:** The following supporting information can be downloaded at: <https://www.mdpi.com/article/10.3390/molecules28237835/s1>: Figure S1.  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) spectrum of 1; Figure S2.  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) spectrum of 1; Figure S3.  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY spectrum of 2; Figure S4.  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HMQC spectrum of 2; Figure S5.  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) spectrum of 4; Figure S6.  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) spectrum of 4; Figure S7.  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) spectrum of 5; Figure S8.  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) spectrum of 5; Figure S9.  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) spectrum of 6; Figure S10.  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) spectrum of 6; Figure S11.  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) spectrum of 7; Figure S12.  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) spectrum of 7; Figure S13.  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) spectrum of 8; Figure S14.  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) spectrum of 8; Figure S15.  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) spectrum of 9; Figure S16.  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) spectrum of 9; Figure S17.  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) spectrum of 10; Figure S18.  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) spectrum of 10; Figure S19.  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) spectrum of 11; Figure S20.  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) spectrum of 11; Figure S21.  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) spectrum of 14; Figure S22.  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) spectrum of 14; Figure S23.  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) spectrum of 16; Figure S24.  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) spectrum of 16; Figure S25.  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) spectrum of 19; Figure S26.  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) spectrum of 19; Figure S27.  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) spectrum of 20; Figure S28.  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) spectrum of 20; Figure S29.  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) spectrum of 21; Figure S30.  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) spectrum of 21. Copies of selected HPLC chromatograms of Betti bases.

**Author Contributions:** Conceptualization, methodology: A.Z.; writing—original draft preparation: A.Z.; writing—review and editing: A.Z. and M.M.; experimental part: M.M. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** This research was funded within the InterChemMed grant (WND-POWR.03.02.00-00-1029/16-01).

**Institutional Review Board Statement:** Not applicable.

**Informed Consent Statement:** Not applicable.



**Data Availability Statement:** The data presented in this study are available in the main text of this article/Supplementary Materials of this article or on request from the corresponding author.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

## References

- Cardellicchio, C.; Capozzi, M.A.M.; Naso, F. The Betti base: The awakening of a sleeping beauty. *Tetrahedron Asymmetry* **2010**, *21*, 507–517. [\[CrossRef\]](#)
- Szatmari, I.; Fülöp, F. Syntheses, transformations and applications of aminonaphthol derivatives prepared via modified Mannich reactions. *Tetrahedron* **2013**, *69*, 1255–1278. [\[CrossRef\]](#)
- Naso, F. Mario Betti: A Giant in the Chemistry Scenario of the Twentieth Century. *Substanz* **2017**, *1*, 111–121. [\[CrossRef\]](#)
- Gao, H.; Sun, J.; Yan, C.-G. Synthesis of new type of Betti bases via three-component reaction of  $\beta$ -naphthol, cyclic amines and isatins. *Chin. Chem. Lett.* **2013**, *26*, 353–356. [\[CrossRef\]](#)
- Szatmari, I.; Fülöp, F. Syntheses and Transformations of 1-( $\alpha$ -Aminobenzyl)-2-Naphthol Derivatives. *Curr. Org. Synth.* **2004**, *1*, 155–165. [\[CrossRef\]](#)
- Olyaei, A.; Sadeghpour, M. Recent advances in the synthesis and synthetic applications of Betti base (aminoalkylnaphthol) and bis-Betti base derivatives. *RSC Adv.* **2019**, *9*, 18467–18497. [\[CrossRef\]](#)
- Itikhar, R.; Kamran, M.; Itikhar, A.; Parveen, S.; Naem, N.; Jamil, N. Recent advances in the green synthesis of Betti bases and their applications: A review. *Mol. Divers.* **2023**, *27*, 543–569. [\[CrossRef\]](#)
- Chaudhary, A.R.; Yadav, P.; Bedekar, A.V. Application of optically active aminonaphthols as NMR solvating agents for chiral discrimination of mandelic acid. *Tetrahedron Asymmetry* **2014**, *25*, 767–774. [\[CrossRef\]](#)
- Wang, X.; Dong, J.; Sun, J.; Xu, X.; Li, R.; Hu, Y. Nonracemic Betti Base as a New Chiral Auxiliary: Application to Total Syntheses of Enantiopure (2S,6R)-Dihydropinidine and (2S,6R)-Isosolenopsins. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 1897–1900. [\[CrossRef\]](#)
- Rigotti, T.; Righi, P.; Marotta, E.; Paolucci, C. Synthesis and Preliminary Results on the Catalytic Activity of Metal Complexes obtained from C2-Symmetric Ligands Derived from R-(+)-Betti base. *ChemistrySelect* **2016**, *1*, 2624–2629. [\[CrossRef\]](#)
- Niu, L.-F.; Xin, Y.-C.; Wang, R.-L.; Jiang, F.; Xu, P.-F.; Hui, X.-P. Asymmetric Aza-Friedel-Crafts Reaction of 2-Naphthol with Tosylimines Catalyzed by a Dinuclear Zinc Complex. *Synlett* **2010**, *5*, 765–768. [\[CrossRef\]](#)
- Zhou, D.; Huang, Z.; Yu, X.; Wang, Y.; Li, J.; Wang, W.; Xie, H. A Quinine-Squaramide Catalyzed Enantioselective Aza-Friedel-Crafts Reaction of Cyclic Trifluoromethyl Ketimines with Naphthols and Electron-Rich Phenols. *Org. Lett.* **2015**, *17*, 5554–5557. [\[CrossRef\]](#)
- Chauhan, P.; Chinnai, S.S. Asymmetric Organocatalytic Aza Friedel–Crafts Reaction of Naphthols with N-Sulfonyl Imines. *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, *2011*, 1636–1640. [\[CrossRef\]](#)
- Liu, G.; Zhang, S.; Li, H.; Zhang, T.; Wang, W. Organocatalytic Enantioselective Friedel–Crafts Reactions of 1-Naphthols with Aldimines. *Org. Lett.* **2011**, *13*, 828–831. [\[CrossRef\]](#)
- Montesinos-Magraner, M.; Vila, C.; Cantón, R.; Blay, G.; Fernández, I.; Muñoz, M.C.; Pedro, J.R. Organocatalytic Asymmetric Addition of Naphthols and Electron-Rich Phenols to Isatin-Derived Ketimines: Highly Enantioselective Construction of Tetrasubstituted Stereocenters. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 6320–6324. [\[CrossRef\]](#)
- Kumari, P.; Barik, S.; Khan, N.H.; Ganguly, R.; Kureshy, R.I.; Abdi, S.H.R.; Bajaj, H.C. The origin for highly enantioselective induction of 1-naphthol to isatin-derived N-Boc ketimines catalyzed by quinine thiourea catalyst: An experimental and computational study. *RSC Adv.* **2015**, *5*, 69493–69501. [\[CrossRef\]](#)
- Vila, C.; Rendón-Patiño, A.; Montesinos-Magraner, M.; Blay, G.; Muñoz, M.C.; Pedro, J.R. Organocatalytic Enantioselective Functionalization of Hydroxyquinolines through an Aza-Friedel–Crafts Alkylation with Isatin-derived Ketimines. *Adv. Synth. Catal.* **2018**, *360*, 859–864. [\[CrossRef\]](#)
- Karaban, S.; Tanyeli, C. Organocatalytic enantioselective construction of isatin-derived N-alkoxycarbonyl 1,3-aminonaphthols via sterically encumbered hydrocarbon-substituted quinine-based squaramide. *New J. Chem.* **2017**, *41*, 9192–9202. [\[CrossRef\]](#)
- Rodríguez-Rodríguez, M.; Maestro, A.; Andrés, J.M.; Pedrosa, R. Supported Bifunctional Chiral Thioureas as Catalysts in the Synthesis of 3-Amino-2-Oxindoles through Enantioselective azaFriedel–Crafts Reaction: Application in Continuous Flow Processes. *Adv. Synth. Catal.* **2020**, *362*, 2744–2754. [\[CrossRef\]](#)
- Chen, Z.; Zhang, T.; Sun, Y.; Wang, L.; Jin, Y. Organocatalytic enantioselective aza-Friedel–Crafts alkylation of  $\beta$ -naphthols and isatin-derived ketimines via a Takemoto-type catalyst. *New J. Chem.* **2021**, *45*, 10481–10487. [\[CrossRef\]](#)
- Takizawa, S.; Sako, M.; Abozeid, M.A.; Kishi, K.; Wathusala, H.D.P.; Hirata, S.; Murai, K.; Fujioka, H.; Sasai, H. Enantio- and Diastereoselective Betti/aza-Michael Sequence: Single Operated Preparation of Chiral 1,3-Disubstituted Isoindolines. *Org. Lett.* **2017**, *19*, 5426–5429. [\[CrossRef\]](#)
- Takemoto, Y. Development of Chiral Thiourea Catalysts and Its Application to Asymmetric Catalytic Reactions. *Chem. Pharm. Bull.* **2010**, *58*, 593–601. [\[CrossRef\]](#)
- Feng, X.; Wang, C.-J. Recent advances in asymmetric organocatalysis mediated by bifunctional amine-thioureas bearing multiple hydrogen-bonding donors. *Chem. Commun.* **2015**, *51*, 1185–1197. [\[CrossRef\]](#)
- Parvin, T.; Yadava, R.; Choudhury, L.H. Recent applications of thiourea-based organocatalysts in asymmetric multicomponent reactions (AMCRs). *Org. Biomol. Chem.* **2020**, *18*, 5513–5532. [\[CrossRef\]](#)

25. Rombola, M.; Sumaria, C.S.; Montgomery, T.D.; Rawal, V.H. Development of Chiral, Bifunctional Thiosquaramides: Enantioselective Michael Additions of Barbituric Acids to Nitroalkenes. *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139*, 5297–5300. [\[CrossRef\]](#)
26. Nagy, S.; Dango, G.; Kisszekelyi, P.; Feher, Z.; Simon, A.; Barabas, J.; Holtzl, T.; Matravolgyi, B.; Karpati, L.; Drahos, L.; et al. New enantiopure binaphthyl-cinchona thiosquaramides: Synthesis and application for enantioselective organocatalysis. *New J. Chem.* **2019**, *43*, 5948–5959. [\[CrossRef\]](#)
27. Yang, M.; Chen, C.; Yi, X.; Li, Y.; Wu, X.; Li, Q.; Ban, S. Thiosquaramide-catalysed Asymmetric Double Michael Addition of 2-(3H)-Furanone to Nitroolefines. *Org. Biomol. Chem.* **2019**, *17*, 2883–2886. [\[CrossRef\]](#)
28. Rodríguez-Ferrer, P.; Naharro, D.; Maestro, A.; Andrés, J.M.; Pedrosa, R. Chiral Bifunctional Thiosquaramides as Organocatalysts in the Synthesis of Enantioenriched 3,3-Disubstituted Oxindoles. *Eur. J. Org. Chem.* **2019**, 6539–6549. [\[CrossRef\]](#)
29. Ormandyov, K.; Bilka, S.; Mečiarov, M.; Šebesta, R. Bifunctional Thio/Squaramide Catalyzed Stereoselective Michael Additions of Aldehydes to Nitroalkenes towards Synthesis of Chiral Pyrrolidines. *ChemistrySelect* **2019**, *4*, 8870–8875. [\[CrossRef\]](#)
30. Chen, C.; Wei, R.; Yi, X.; Gao, L.; Zhang, M.; Liu, H.; Li, Q.; Song, H.; Ban, S. Diastereo- and Enantioselective Synthesis of Functionalized Cyclopentenes Containing a Quaternary Chiral Center via a Thiosquaramide-Catalyzed Cascade Michael–Henry Reaction. *J. Org. Chem.* **2019**, *84*, 15655–15661. [\[CrossRef\]](#)
31. Rombola, M.; Rawal, V.H. Dicyclopentyl Dithiosquarate as an Intermediate for the Synthesis of Thiosquaramides. *Org. Lett.* **2018**, *20*, 514–517. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
32. Choudhury, A.R.; Mukherjee, S. A catalytic Michael/Horner-Wadsworth-Emmons Cascade Reaction for Enantioselective Synthesis of Thiochromenes. *Adv. Synth. Catal.* **2013**, *355*, 1989–1995. [\[CrossRef\]](#)
33. Guo-Xing, L.; Qu, L. Enantioselective Friedel–Crafts reactions between phenols and *N*-tosylaldimines catalyzed by a leucine-derived bifunctional catalyst. *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 5518–5520. [\[CrossRef\]](#)
34. Li, P.; Chai, Z.; Zhao, S.; Yang, Y.-Q.; Wang, H.-F.; Zheng, C.-W.; Cai, Y.-P.; Zhao, G.; Zhu, S.-Q. Highly enantio- and diastereoselective synthesis of  $\alpha$ -trifluoromethylhydopyrans using a novel bifunctional piperazine-thiourea catalyst. *Chem. Commun.* **2009**, 7369–7371. [\[CrossRef\]](#)
35. Li, Y.W.; Wang, L.M.; Jin, Y.; Chang, S. Cinchona alkaloid derivatives catalyzed asymmetric aza-Friedel–Crafts reaction of  $\alpha$ -naphthols with aryl aldimines. *Chirality* **2017**, *29*, 458–463. [\[CrossRef\]](#)
36. Zheng, T.; Wang, X.; Ng, W.-H.; Steve Tse, Y.-L.; Yeung, Y.-Y. Catalytic enantio- and diastereoselective domino halocyclization and spiroketalization. *Nat. Catal.* **2020**, *3*, 993–1001. [\[CrossRef\]](#)

**Disclaimer/Publisher's Note:** The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.



## Article

# Synthesis, Computational, and Anticancer In Vitro Investigations of Aminobenzyl naphthols Derived from 2-Naphthol, Benzaldehydes, and $\alpha$ -Aminoacids via the Betti Reaction

Mateusz Kciuk <sup>1,2,\*</sup>, Martyna Malinowska <sup>3,\*</sup>, Adrianna Gielecińska <sup>1,2</sup>, Rajamanikandan Sundaraj <sup>4</sup>, Somdutt Mujwar <sup>5</sup>, Anna Zawisza <sup>3</sup> and Renata Kontek <sup>1</sup>

<sup>1</sup> University of Lodz, Faculty of Biology and Environmental Protection, Department of Molecular Biotechnology and Genetics, Banacha St. 12/16, 90-237 Lodz, Poland

<sup>2</sup> University of Lodz, Doctoral School of Exact and Natural Sciences, Banacha St. 12/16, 90-237 Lodz, Poland

<sup>3</sup> University of Lodz, Department of Organic and Applied Chemistry, Tamka 12, 91-403 Lodz, Poland

<sup>4</sup> Centre for Drug Discovery, Department of Biochemistry, Karpagam Academy of Higher Education, Coimbatore 641021, Tamil Nadu, India

<sup>5</sup> Chitkara College of Pharmacy, Chitkara University, Rajpura 140401, Punjab, India

\* Correspondence: mateusz.kciuk@edu.uni.lodz.pl (M.K.); martyna.malinowska@chemia.uni.lodz.pl (M.M.)

<sup>†</sup> These authors contributed equally to this work.

**Abstract:** Multicomponent reactions have emerged as an important approach for the synthesis of diverse and complicated chemical compounds. They have various advantages over two-component reactions, including the convenience of one-pot procedures and the ability to modify the structure of agents. Here, we employed in vitro and in silico studies to explore the anticancer potential of novel aminobenzyl naphthols derived from the Betti reaction (MMZ compounds). MTT assay was used to explore the cytotoxic activity of the compounds in pancreatic (BxPC-3 cells) and colorectal (HT-29) cancer cell lines or normal human lung fibroblasts (WI-38 cells). Proapoptotic properties of two derivatives MMZ-45AA and MMZ-140C were explored using AO/EB and annexin V-FITC/PI staining. In silico studies including ADMET profiling, molecular target prediction, docking, and dynamics were employed. The compounds exhibited cytotoxic properties and showed proapoptotic properties in respective IC<sub>50</sub> concentrations. As indicated by in silico investigations, anticancer activity of MMZs can be attributed to the inhibition of ADORA1, CDK2, and TRIM24. Furthermore, compounds exhibited favorable ADMET properties. MMZs constitute an interesting scaffold for the potential development of new anticancer agents.

**Keywords:** anticancer; apoptosis; Betti bases; cytotoxicity; molecular docking; molecular dynamics



**Citation:** Kciuk, M.; Malinowska, M.; Gielecińska, A.; Sundaraj, R.; Mujwar, S.; Zawisza, A.; Kontek, R. Synthesis, Computational, and Anticancer In Vitro Investigations of Aminobenzyl naphthols Derived from 2-Naphthol, Benzaldehydes, and  $\alpha$ -Aminoacids via the Betti Reaction. *Molecules* **2023**, *28*, 7230. <https://doi.org/10.3390/molecules28207230>

Academic Editors: Wayne W. Harding and Hari Krishna Namballa

Received: 6 July 2023

Revised: 2 October 2023

Accepted: 19 October 2023

Published: 23 October 2023



**Copyright:** © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

## 1. Introduction

Cancer is a significant worldwide health challenge. Different types of cancer, and even individual tumors, can have distinct characteristics that influence their susceptibility to therapeutic agents. New medications with increased effectiveness can be developed by selectively tailoring the drug against molecular targets involved in tumor growth, metastasis, and the development of resistance mechanisms. Many currently available anticancer medications have considerable side effects that might impair patients' quality of life. The goal of new drug development is to reduce adverse effects while preserving or improving therapeutic efficacy. Search for new anticancer medications is critical for boosting efficacy, minimizing side effects, overcoming resistance, and promoting the development of effective combination therapies. These activities are critical in the continuous fight against cancer, intending to save lives and improve the quality of life for cancer patients [1–4].

Computer-assisted drug design (CADD) is a multidisciplinary area that uses computational methods and technologies to aid in the discovery and development of novel

medications. It combines many computational tools, molecular modeling, and simulation methodologies to speed drug development and optimize the features of possible therapeutic candidates. CADD plays an important role in numerous facets of anticancer drug design. CADD enables the screening of vast chemical libraries of molecules that have the potential to interact with a specific target of interest. Virtual screening approaches, such as molecular docking and molecular dynamics simulations, facilitate the prediction of small molecule binding affinity and mode of association with target proteins. This allows researchers to prioritize and pick the most promising compounds for future experimental evaluation, saving time and money on experimental screening. CADD approaches may aid in the optimization of features such as potency, selectivity, and pharmacokinetic parameters once prospective drug candidates have been identified. Furthermore, molecular modeling and simulation techniques can help to improve binding affinity, enhance drug-likeness, and predict the absorption, distribution, metabolism, excretion, and toxicity (ADMET) features of substances. This iterative method also sheds light on the molecular mechanisms underlying drug–target interactions and drives the development of more effective and safe medicines [5–9].

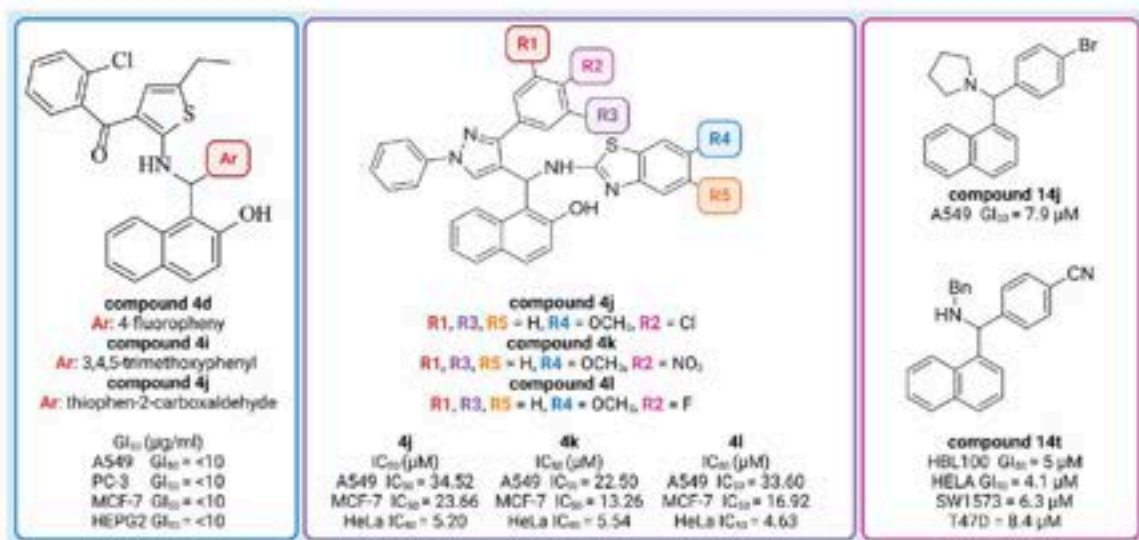
Multicomponent reactions (MCRs) have emerged as a critical method for the synthesis of varied and complex chemical compounds. They offer several inherent advantages over two-component reactions, including the ease of one-pot techniques and the possibility of structural modification. Synthetic competency is derived from several tandem bond formation processes in MCRs, which conserve time, energy, and raw material. The Betti reaction, a modified version of the Mannich reaction, has become important in synthetic chemistry due to the production of C–C bonds under light experimental conditions [10].

In the Betti condensation reaction, aminobenzyl naphthols are synthesized from 2-naphthol, aryl aldehydes, and amines [11]. It was discovered in the early 20th century by the Italian chemist Mario Betti and was forgotten for decades until 1998 when it was brought back to life [12]. Since then, the Betti reaction has returned to the interest of organic chemists around the world and is now experiencing its second youth. Aminobenzyl naphthols formed in this transformation, the so-called Betti bases, are a class of molecules found in many natural and synthetic compounds with a wide range of interesting activities and applications [13]. Betti base derivatives were tested as antitumor agents [14], sodium- and chloride-dependent neutral and basic amino acid transporter B(0+) (SLC6A14) blockers [13], antiyeast agents inhibiting *Candida albicans* growth [15], antitumor and antioxidants [16], and multidrug resistance (MDR) reversal agents [17].

So far, naphthol derivatives have been investigated for bioactivity or employed as building blocks in drug discovery. For example, Yellapurkar et al. [16] synthesized thiophene containing aminobenzyl naphthols. Three of them (compound 4d, compound 4i, and compound 4j) exhibited profound anticancer activity ( $GI_{50}$  10  $\mu\text{g/mL}$ ) against four cancer cell lines (A549 (lung), PC-3 (prostate), MCF-7 (breast) and HEPG2 (liver)), which was equivalent to the standard agent doxorubicin (Figure 1) [16]. Nagaraju et al. [18] developed a new class of pyrazole-linked benzothiazole–naphthol derivatives. Three compounds (compound 4j, 4k, 4l) showed significant cytotoxicity against human cervical cancer cells (HeLa), with  $IC_{50}$  values ranging from 4.63 to 5.54  $\mu\text{M}$  (Figure 1). Flow cytometry examination demonstrated that these derivatives caused cell cycle arrest in the G2/M phase, and spectroscopic experiments such as UV–visible, fluorescence, and circular dichroism studies suggested that these compounds had a high affinity for binding DNA. Furthermore, these compounds efficiently suppressed the activity of topoisomerase I. Most notably, compounds 102, 103, and 104 inhibited topoisomerase I at 100  $\mu\text{M}$  concentrations, similar to known topoisomerase inhibitor–camptothecin. Furthermore, compounds demonstrated promising cytotoxic and antiproliferative activity against the human cervical cancer cell line (HeLa), with  $IC_{50}$  values ranging from 4.63 to 5.54  $\mu\text{M}$  [18]. Puerta et al. [13] synthesized a library of 23 Betti bases and tested their cytotoxic activities against human breast cancer cell lines (A549, HBL-100, T-47D), human cervical cancer cell line (HeLa), alveolar cell carcinoma (SW1573), and human colon cancer cell line (WiDr). Compound 14j had the highest



antiproliferative activity against the human breast cancer cell line A549, with  $GI_{50}$  values of 7.9  $\mu$ M, while the reference drug (cisplatin) had a  $GI_{50}$  value of 4.9  $\mu$ M. **Compound 14i** was found to have significant antiproliferative action, with  $GI_{50}$  values in the micromolar range: HBL100 (5  $\mu$ M), HeLa (4.1  $\mu$ M), SW1573 (6.3  $\mu$ M), and T47D (8.4  $\mu$ M) (Figure 1) [13]. Furthermore, docking experiments demonstrated that Betti bases disrupt the SLC6A14 solute transporter, resulting in amino acid deprivation and suppressing the proliferation of cells by acting as tryptophan mimetics [13].



**Figure 1.** Examples of Betti compounds with profound antiproliferative activity against various cell lines. Created with Biorender.com, accessed on 6 March 2023.

Recently, there has been renewed interest in the use of amino acid derivatives as prodrugs. The functionalization of a medicine with an amino acid residue leads to certain advantages, such as improved drug transport to the target area and reduced toxicity. Boroxazolidones, for example, were shown to have limited anticancer characteristics; nevertheless, L-valine derivatives had substantial cytotoxic effects. L-valine-modified dimethyl-curcumin demonstrated significantly more antiproliferative activity than the original drugs, differentiating itself as a strong anticancer agent [19–21]. The functionalization of the drug with an amino acid moiety results in positive effects, such as improved delivery of the drug to the target tissue and reduction in its toxicity. In addition, such compounds show stronger cytotoxic and anticancer properties [20,21] compared to derivatives without an amino acid group. However, to the best of our knowledge, there is only one example of testing aminoacid-functionalized Betti base as an antitumor agent [19].

Here, we report a synthesis of new aminobenzylnaphthols (**MMZ** compounds) obtained by the Betti reaction using methyl derivatives of (*R*)-valine, (*S*)-phenylalanine, (*S*)-proline, (*S*)-glutamic acid, (*S*)-aspartic acid, and (*S*)-leucine. The resulting derivatives, in the form of a mixture of enantiomers (*S,S*) and (*R,R*) or (*R,S*) and (*S,R*), were subjected to cytotoxic and proapoptotic properties evaluation. These studies were complemented with extensive prediction of compound properties, including absorption, distribution, metabolism, excretion and toxicity features (ADMET), chemical reactivity, kinetic structural stability, and electronic properties, followed by *in silico* target prediction, molecular docking, and investigation of the stability of the best target-compound complexes.

## 2. Results

### 2.1. Chemistry

#### Synthesis of MMZ Compounds

We have recently subjected chiral D- and L-amino acid methyl esters to the Betti reaction to obtain a library of new amino acid derivatives of Betti bases, the MMZ compounds (Figure 2), which appear to be of interest over a wide range of bioactivities. Note that we present first examples of Betti reaction with methyl derivatives of (*R*)-valine, (*S*)-phenylalanine, (*S*)-proline, (*S*)-glutamic acid, (*S*)-aspartic acid, and (*S*)-leucine.

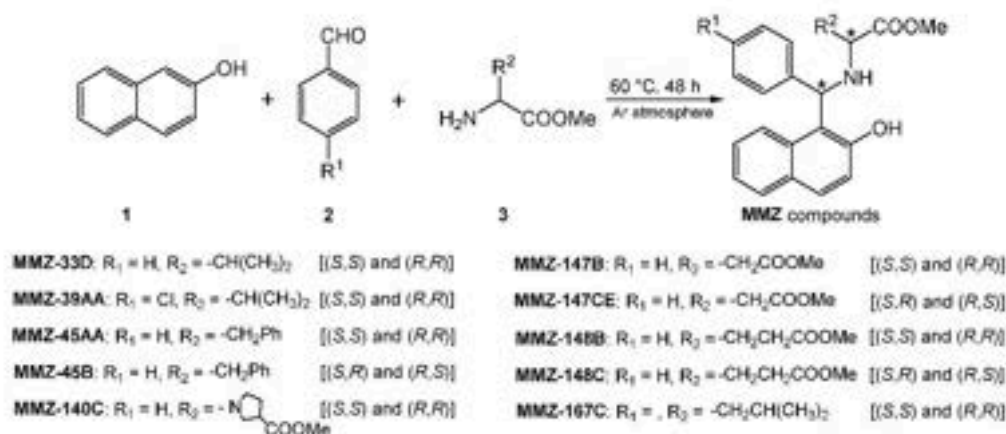


Figure 2. Scheme of the Betti reaction with amino acid derivatives.

It was a solvent-free, green synthetic process where 2-naphthol (**1**), aryl aldehydes **2**, and amino acid methyl esters **3** reacted at 60 °C to yield corresponding aminobenzylnaphthols, according to a protocol reported in the literature [22].

Reaction without solvent and at elevated temperature has disadvantages. It turns out that the stereogenic center of the amino acid, which theoretically should not be involved in the reaction, is not fixed under these conditions, and a mixture of (*S,S*) and (*R,R*) enantiomers is formed as the main product [22]. This is due to the aza-allyl tautomerization to which the imine is formed from an aldehyde and an amino acid ester (Figure 3).



Figure 3. Aza-allyl tautomerism in an aldimine derived from (*R*)-valine methyl ester.

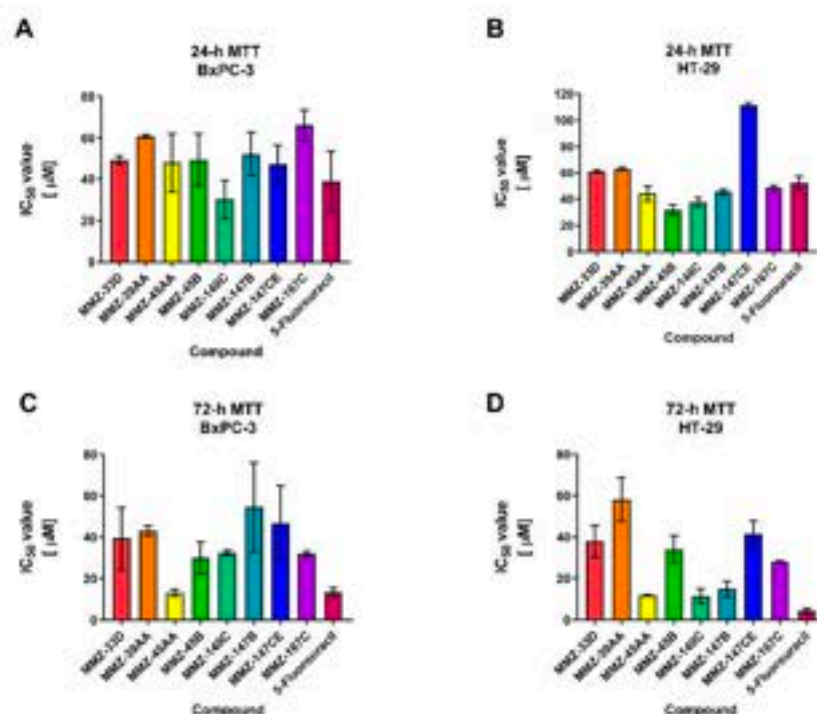
The amino acid derivatives can undergo racemization in the presence of not only elevated temperature, but also of aldehydes [23]. In our work, we occasionally isolated small amounts of the (*R,S*) and (*S,R*)-stereoisomers [24]. The (*S,S*) and (*R,R*)-stereoisomers, because of their crystal stability, present in larger quantities and they are the first eluting in chromatographic separations. Right afterward, in some cases, we were able to isolate a mixture of (*R,S*) and (*S,R*)-stereoisomers. However, since the 1H-NMR spectra of the stereoisomers (*R,S*)/(*S,R*) and (*S,S*)/(*R,R*) have characteristic, nonoverlapping patterns, they can be used to distinguish them. According to the literature, high-field signals are characteristic of (*S,S*)/(*R,R*), and low-field signals are characteristic of (*R,S*)/(*S,R*) stereoisomers, which was also reflected in our case [24,25]. Small values of optical rotation and quite high values of melting points indicate that we are aware that this is a mixture of (*S,S*)/(*R,R*) and (*R,S*)/(*S,R*)-enantiomers. This was not considered as an obstacle and

we decided to continue biological research on mixtures. Due to the poor solubility of compounds **MMZ-148B** and **MMZ-148C**, they have not been further investigated, but we present them as compounds previously unknown in the literature. The NMR spectra are included in Supplementary Figures S1–S10 (SM1.pdf file).

## 2.2. Biological Studies

### 2.2.1. MTT Assay

The 24 and 72 h MTT assay was used to determine the cytotoxic properties of **MMZ** compounds used in the concentration range 5–400  $\mu$ M. The investigation revealed that all of the **MMZ** compounds tested in the current study possessed cytotoxic activity toward BxPC-3 and HT-29 cells. The activity of Betti bases and their derivatives have not been previously tested in BxPC-3 and HT-29 cells, therefore these cell lines were selected for the initial evaluation of their anticancer potential. 5-Fluorouracil was used as a positive control in the experiment, given its application in the treatment of both pancreatic and colorectal cancers [26–28]. The results are shown in Figure 4 and Supplementary Table S1 (SM1.pdf file).



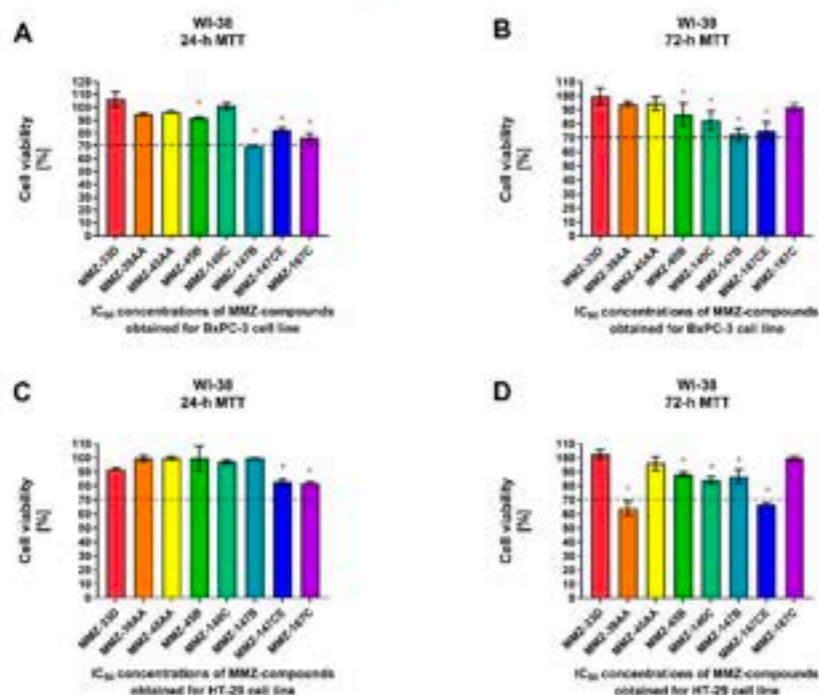
**Figure 4.** Results of 24 h (A,B) and 72 h (C,D) MTT assay: mean  $IC_{50} \pm SD$  values obtained for **MMZ-33D**, **MMZ-49AA**, **MMZ-45AA**, **MMZ-45B**, **MMZ-140C**, **MMZ-147B**, **MMZ-147CE**, and **MMZ-167C** compounds, and 5-Fluorouracil in BxPC-3 and HT-29 cells.

Following 24 h treatment of BxPC-3 cells with **MMZ** compounds, the mean  $IC_{50}$  values varied between  $30.15 \pm 9.39$   $\mu$ M (**MMZ-140C**) and  $66.19 \pm 7.36$  (**MMZ-167C**). The cytotoxic activity of compound **MMZ-140C** was comparable to this observed for 5-Fluorouracil ( $IC_{50} = 38.99 \pm 14.67$ ) (Figure 4A). In HT-29 cells, treatment with **MMZ** derivatives resulted in the cytotoxic effects in the range  $31.78 \pm 3.93$   $\mu$ M (**MMZ-45B**) to  $111.5 \pm 2.12$   $\mu$ M (**MMZ-147CE**). The cytotoxic effects of **MMZ-45B** and **MMZ-140C** ( $37.76 \pm 3.2$   $\mu$ M) were comparable and exceeded this observed for 5-Fluorouracil ( $IC_{50} = 52.26 \pm 4.9$ ) (Figure 4B).



Following 72 h, the mean  $IC_{50}$  values varied between 13.26  $\mu$ M (MMZ-45AA) and 54.55  $\mu$ M (MMZ-147B) in BxPC-3 cells. MMZ-45B, MMZ-140C, and MMZ-167C exhibited similar cytotoxicity with mean  $IC_{50}$  values between 30.13 and 32.42  $\mu$ M. The cytotoxic activity of MMZ-45AA was comparable to this observed for 5-Fluorouracil ( $IC_{50} = 13.43 \pm 1.9 \mu$ M) (Figure 4C). In the HT-29 cell line,  $IC_{50}$  values varied between 11.55  $\mu$ M (MMZ-140C) and 58.11  $\mu$ M (MMZ-39AA). The cytotoxic activity of MMZ compounds did not exceed this observed for 5-Fluorouracil ( $IC_{50} = 4.38 \pm 1.1 \mu$ M) (Figure 4D).

Additionally, we used the human fibroblast cell line WI-38 to determine the effects of MMZ compounds on normal cell viability following 24 and 72 h treatment with  $IC_{50}$  concentrations of the compounds previously obtained for BxPC-3 and HT-29 cells following respective incubation times (Figure 5).



**Figure 5.** Cell viability of normal human lung fibroblast cells (WI-38) after 24 and 72 h treatment with MMZ compounds used in  $IC_{50}$  concentrations obtained in the MTT assay for BxPC-3 (A,B) and HT-29 (C,D) cell lines following respective 24 or 72 h incubation times. Data are presented as the percentage of cell viability (% cell viability  $\pm$  SD). The differences between the experimental samples and control group (100% viability/DMSO-treated) were evaluated by the ANOVA test followed by Dunnett's test. Asterisk (\*) indicates significant difference compared to the control group.

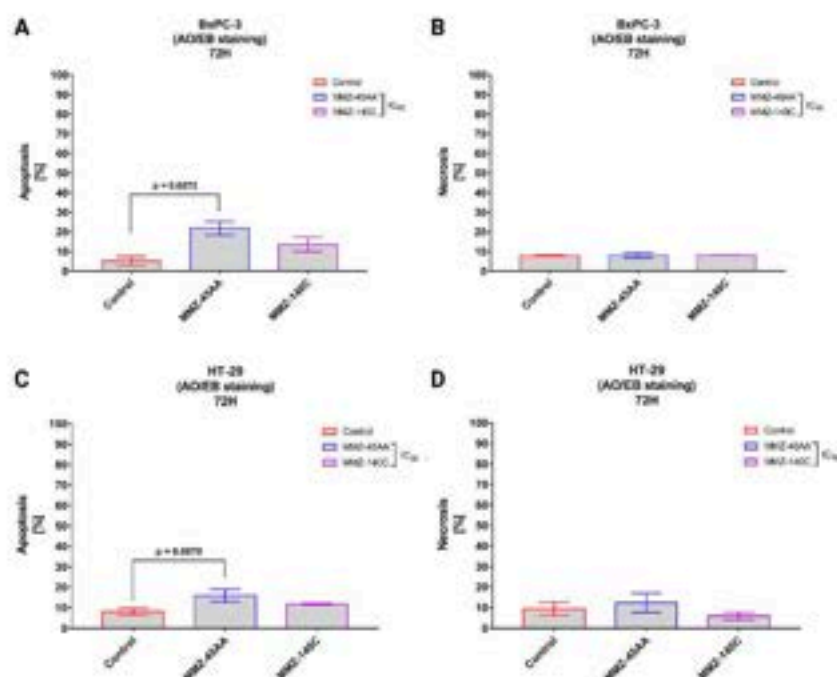
For 24 h incubation time, a statistically significant ( $p < 0.05$ ) decrease in WI-38 cell viability was observed following treatment with MMZ-45B ( $91.73 \pm 0.87\%$ ;  $p = 0.0388$ ), MMZ-147B ( $69.94 \pm 0.21\%$ ;  $p < 0.0001$ ), MMZ-147CE ( $82.45 \pm 1.8\%$ ;  $p = 0.0003$ ), and MMZ-167C ( $76.77 \pm 1.8\%$ ;  $p < 0.0001$ ) compounds used in  $IC_{50}$  concentrations estimated for BxPC-3 cells. Only MMZ-147B reduced cell viability below 70% cell viability threshold (Figure 5A). In contrast, MMZ-45B ( $86.71 \pm 8.14\%$ ;  $p = 0.03$ ), MMZ-140C ( $82.32 \pm 6.96\%$ ;  $p = 0.0037$ ), MMZ-147B ( $72.45 \pm 4.37\%$ ;  $p < 0.0001$ ), and MMZ-147CE ( $74.93 \pm 6.4\%$ ;  $p < 0.0001$ ) compounds induced a statistically significant ( $p < 0.05$ ) decrease in cell viability following 72 h incubation time. However, the incubation of WI-38 cells with the tested compounds did not result in decrease in cell viability below 70% (Figure 5B).

Following 24 h incubation of WI-38 cells with compounds in  $IC_{50}$  concentrations obtained for HT-29 cells, only **MMZ-140C** ( $82.90 \pm 2.06\%$ ;  $p = 0.0031$ ) and **MMZ-167C** ( $82.19 \pm 0.69\%$ ;  $p = 0.0023$ ) caused a statistically significant loss in WI-38 cell viability (Figure 5C), while a more pronounced response was observed following 72 h incubation, where **MMZ-39AA** ( $64.03 \pm 4.9\%$ ;  $p < 0.0001$ ), **MMZ-45B** ( $88.2 \pm 1.6\%$ ;  $p = 0.0021$ ), **MMZ-140C** ( $84.15 \pm 2.56\%$ ;  $p < 0.0001$ ), **MMZ-147B** ( $86.8 \pm 5\%$ ;  $p = 0.0006$ ), and **MMZ-147CE** ( $66.9 \pm 1.08\%$ ;  $p < 0.0001$ ) led to a decrease in normal human cell viability. Nevertheless, only **MMZ-147CE** suppressed WI-38 cell viability below 70% (Figure 5D).

Given the observed cytotoxic activity of **MMZ** compounds **MMZ-45AA** and **MMZ-140C** derivatives and their effects on normal cell viability, these compounds were selected for further investigation.

## 2.2.2. Dual Acridine Orange/Ethidium Bromide (AO/EB) Fluorescent Staining

Dual Acridine Orange/Ethidium Bromide (AO/EB) combines the distinct uptake of fluorescent DNA-binding dyes AO and EB with the morphologic feature of chromatin condensation in the stained nucleus to differentiate between live, apoptotic, and necrotic cells [29]. **MMZ-45AA** and **MMZ-140C** were chosen for further studies and analyzed for apoptosis and necrosis induction in BxPC-3 (Figure 6A,B) and HT-29 cells (Figure 6C,D).



**Figure 6.** Apoptosis and necrosis induction in BxPC-3 cells (A,B) and HT-29 cells (C,D) treated with  $IC_{50}$  concentrations of **MMZ-45AA** and **MMZ-140C** compounds measured with AO/EB double staining following 72 h incubation time. Data are presented as mean percentage of apoptotic cells (early and late apoptotic) or necrotic cells  $\pm$  SD values. The differences between the experimental samples and (untreated) control were evaluated by the ANOVA test followed by Tukey's test ( $p < 0.05$ );  $N = 200$ .

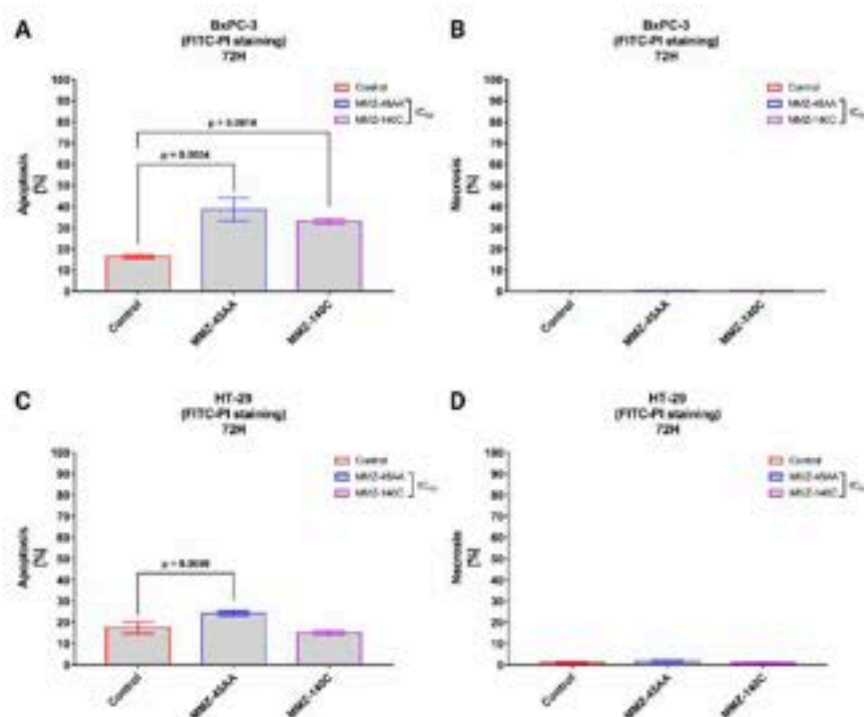
In BxPC-3 cells (Figure 6A), a statistically significant ( $p = 0.0272$ ) increase in apoptotic cell fraction (% of apoptotic cell =  $21.9 \pm 3.4\%$ ) was observed in cells treated with  $IC_{50}$  concentration of **MMZ-45AA** compared to a negative control group (% of apoptotic cell =  $5.15 \pm 2.33\%$ ). No statistically significant changes ( $p = 0.15$ ) in apoptotic cell fraction

were observed for cells treated with  $IC_{50}$  concentration of **MMZ-140C**. Similarly, no statistically significant ( $p = 0.97$ ) changes in the mean number of necrotic cells were observed among experimental groups (Figure 6B).

In HT-29 cells (Figure 6C), a statistically significant ( $p = 0.007$ ) increase in apoptotic cell fraction was observed following treatment of cells with  $IC_{50}$  concentration of **MMZ-45AA** (% of apoptotic cells =  $15.93 \pm 3\%$ ) compared with control cells (% of apoptotic cell =  $8 \pm 1.73\%$ ). No statistically significant increase ( $p = 0.14$ ) in the number of apoptotic cells was observed following treatment with the **MMZ-140C** compound used in  $IC_{50}$  concentration (% of apoptotic cells =  $11.73 \pm 0.38\%$ ). No statistically significant increase ( $p < 0.05$ ) in the necrotic fraction was observed following the treatment of HT-29 cells with the two **MMZ** compounds used in  $IC_{50}$  concentrations (Figure 6D). The final solvent concentration of DMSO was  $< 0.5\%$  v/v in all experimental samples.

### 2.2.3. Annexin V-FITC and Propidium Iodide Flow Cytometry Analysis

Flow cytometry with Annexin V conjugated with fluorescein isothiocyanate (FITC) and propidium iodide (PI) is a popular approach for determining cell apoptosis and necrosis. Annexin V is a protein with a high affinity for phosphatidylserine, which is found on the outer membrane surface of apoptotic cells. PI is a fluorescent dye that stains the DNA of necrotic cells with damaged plasma membranes [30]. Similarly to AO/EB staining, we used **MMZ-45AA** and **MM-140C** compounds to further assess apoptosis/necrosis induction in BxPC-3 cells (Figure 7A,B) and HT-29 (Figure 7C,D) after exposure to the compounds in their respective  $IC_{50}$  concentrations.



**Figure 7.** Apoptosis and necrosis induction in BxPC-3 cells (A,B) and HT-29 cells (C,D) treated with  $IC_{50}$  concentrations of **MMZ-45AA** and **MMZ-140C** compounds measured with Annexin V FITC following 72 h incubation time. Data are presented as mean percentage of apoptotic cells (early and late apoptotic) or necrotic cells  $\pm$  SD values. The differences between the experimental samples and (untreated) control were evaluated by the ANOVA test followed by Tukey's test ( $p < 0.05$ );  $N = 200$ .



In BxPC-3 cells (Figure 7A), a statistically significant ( $p = 0.0004$ ) increase in apoptotic cell fraction was observed following treatment of cells with  $IC_{50}$  concentration of **MMZ-45AA** (% of apoptotic cells =  $38.7 \pm 5.43\%$ ) and **MMZ-140C** (% of apoptotic cells =  $33.1 \pm 1.12\%$ ;  $p = 0.0019$ ) compared with control cells (% of apoptotic cell =  $16.5 \pm 0.87\%$ ). No statistically significant increase ( $p < 0.05$ ) in the necrotic fraction was observed following the treatment of BxPC-3 cells with the two **MMZ** compounds used in  $IC_{50}$  concentrations (Figure 7B).

In HT-29 cells (Figure 7C), a statistically significant ( $p = 0.0098$ ) increase in apoptotic cell fraction was observed following treatment of cells with  $IC_{50}$  concentration of **MMZ-45AA** (% of apoptotic cells =  $24.23 \pm 1.1\%$ ) compared with control cells (% of apoptotic cell =  $17.5 \pm 2.8\%$ ). No statistically significant increase ( $p = 0.3233$ ) in the number of apoptotic cells was observed following treatment with the **MMZ-140C** compound used in  $IC_{50}$  concentration (% of apoptotic cells =  $15.13 \pm 1\%$ ). No statistically significant increase ( $p < 0.05$ ) in the necrotic fraction was observed following the treatment of HT-29 cells with the two **MMZ** compounds used in  $IC_{50}$  concentrations (Figure 7D). The final solvent concentration of DMSO was  $< 0.5\%$  v/v in all experimental samples.

### 2.3. Computational Studies

#### 2.3.1. Drug Likeness and ADMET

The processes of chemical absorption, distribution, metabolism, and excretion, collectively referred to as ADMET, play an important role in the discovery and development of new drugs. Not only should a high-quality drug candidate demonstrate adequate efficacy against the therapeutic target, but it should also demonstrate optimal ADMET characteristics at the therapeutic dose. As a result, a significant number of *in silico* models are being built to make predictions regarding the ADMET properties of new drugs [31]. The prediction of whether or not a biological target can be drugged and the drug-likeness of possible therapeutic agents can be improved by the use of computational methods. The concept of drug-likeness has advanced significantly over the years, taking into account the structural, physicochemical, biochemical, pharmacokinetic, and toxicity attributes of chemical agents. The comprehension of these characteristics has turned into an indispensable aspect of the drug discovery process and made it possible to make precise selections of hits that are appropriate beginning points for the determination of new clinical candidates. The Lipinski rule of five emerged as the analysis of the drug-likeness of compounds based on lipophilicity, molecular weight, and counts of hydrogen bond acceptors and hydrogen bond donors of agents. The Lipinski rule of five is one of the first principles that was proposed for estimating the drug-likeness of compounds. According to Lipinski, to succeed in Phase I clinical trials, a compound should have a molecular weight that is not greater than 500 Da, a log *P* that is not greater than 5, and no more than 5 moieties capable of acting as hydrogen-bond donors and no more than 10 hydrogen-bond acceptors [32].

The compounds underwent *in silico* ADMET analysis, which focused solely on their physicochemical properties derived from computationally calculated two-dimensional structural features. The presence of isomeric forms in a particular ligand is attributed to variations in its three-dimensional structural arrangement. Consequently, conducting computational ADMET analysis on isomeric ligands is impractical, as it yields similar/the same outcomes for two distinct isomers, regardless of their structural differences. Therefore, we conducted ADMET analysis on the compounds using SS/RR isomeric two-dimensional input. ADMET and drug-likeness properties of the investigated compounds **MMZ-33**, **MMZ-39**, **MMZ-45**, **MMZ-140**, **MMZ-147**, and **MMZ-167** are presented in the following section and reveal that **MMZ** compounds follow Lipinski's rule of five (with one violation in the case of **MMZ-45** related to  $MLOGP > 4.15$ ). The physicochemical properties obtained for the compounds are tabulated in Table 1.

**Table 1.** Molecular properties describing Lipinski's rule of five predicted with SwissADME webserver (<http://www.swissadme.ch/>, accessed on 26 February 2023).

| Compound | Molecular Weight | Hydrogen Bond Acceptors | Hydrogen Bond Donors | Consensus Log <i>p</i> Value | Drug-Likeness                     |
|----------|------------------|-------------------------|----------------------|------------------------------|-----------------------------------|
| MMZ-33   | 363.45           | 4                       | 2                    | 4.32                         | Yes; 0 violation                  |
| MMZ-39   | 397.89           | 4                       | 2                    | 4.86                         | Yes; 0 violation                  |
| MMZ-45   | 411.49           | 4                       | 2                    | 4.86                         | Yes; 1 violation:<br>MLOGP > 4.15 |
| MMZ-140  | 361.43           | 4                       | 1                    | 3.79                         | Yes; 0 violation                  |
| MMZ-147  | 393.43           | 6                       | 2                    | 3.37                         | Yes; 0 violation                  |
| MMZ-167  | 377.48           | 4                       | 2                    | 4.62                         | Yes; 0 violation                  |

The pharmacokinetic properties of the investigated **MMZ** compounds are shown in Table 2, including the permeability across the blood–brain barrier (BBB) and gastrointestinal (GI) absorption, together with toxicological effects (hepatotoxicity, cardiotoxicity, and cytochrome P450 (CYP) inhibition) predicted by pkCSM [33], SwissADME [34], and PreADMET [35] online servers, accessed on 26 February 2023.

**Table 2.** Predicted ADMET properties of **MMZ** compounds.

| Compound/Property | Gastrointestinal (GI) Absorption (SwissADME) | CYP2D6 Inhibition (SwissADME/pkCSM) | CYP3A4 Inhibition (SwissADME/pkCSM) | Blood–Brain Barrier (BBB) Permeability (SwissADME) | P-glycoprotein Substrate (SwissADME) | Ames Toxicity (pkCSM/PreADMET) | Cardiotoxicity (hERG Inhibition) (PreADMET) | Hepatotoxicity (pkCSM) |
|-------------------|----------------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|----------------------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------|---------------------------------------------|------------------------|
| MMZ-33            | High                                         | Yes/No                              | No/No                               | Yes                                                | Yes                                  | No/No                          | Acetaminophen                               | Yes                    |
| MMZ-39            | High                                         | Yes/No                              | Yes/No                              | Yes                                                | Yes                                  | Yes/No                         | Medium risk                                 | Yes                    |
| MMZ-45            | High                                         | Yes                                 | Yes                                 | Yes                                                | Yes                                  | Yes/Yes                        | Acetaminophen                               | Yes                    |
| MMZ-140           | High                                         | Yes                                 | No/Yes                              | Yes                                                | No                                   | Yes/Yes                        | Low risk                                    | Yes                    |
| MMZ-147           | High                                         | Yes/No                              | Yes                                 | No                                                 | No                                   | Yes/No                         | Acetaminophen                               | Yes                    |
| MMZ-167           | High                                         | Yes                                 | Yes                                 | Yes                                                | Yes                                  | Yes/No                         | Acetaminophen                               | Yes                    |

The synthesized **MMZ** compounds exhibited high GI absorption. Ambiguous prediction results were obtained for CYP inhibitory effects for **MMZ-33**, **MMZ-39**, **MMZ-140**, and **MMZ-147** compounds. In contrast, predictions of inhibitory effects on CYP enzymes have clearly shown that **MMZ-45** and **MMZ-167** may inhibit CYP2D6 and CYP3A4 enzymes. Human CYP enzymes play a significant role in the process of drug detoxification as well as cellular metabolism and homeostasis. In humans, one or more members of the CYP family are accountable for almost 80% of the oxidative metabolism, and CYP2D6 and CYP3A4 enzymes are responsible for the metabolism of more than 50% of the drugs that are now available on the market. CYPs can alter pharmacological responses in a variety of different ways, some of which include the influence they have on the elimination, safety, bioavailability, and resistance to drugs [36].

The blood–brain barrier, often known as the BBB, is the protective measure that separates the tissues of the brain from the substances that are flowing in the circulatory system in the blood. It is also a diffusion barrier that permits the penetrance of water and small, lipophilic molecules into the brain under their concentration gradients [37]. To create drugs that are both effective and efficient, it is necessary to have a solid understanding of how drug molecules interact with the BBB [38]. Among **MMZ** compounds, **MMZ-33**, **-39**, **-45**, and **-140** were found to have physicochemical properties that allow their BBB permeability.

P-glycoprotein, also known as P-gp, is a type of ATP-driven transmembrane transporter that is capable of exporting from the cell a wide variety of hydrophobic molecules that are structurally distinct and functionally unrelated. The phenomenon known as MDR, which is frequently linked to an overexpression of P-gp, has been suggested as a major obstacle in the development of successful chemotherapeutic treatments for a variety of malignancies. By reducing the amount of medicine that is absorbed through the intestinal tract, drug efflux that is mediated by P-gp contributes to a decrease in the oral bioavailability of the drug [39]. **MMZ-140** and **MMZ-147** compounds were found not to act as P-gp substrates.



The Ames test is a bacterial bioassay that is performed *in vitro* to determine the mutagenicity of a wide range of environmental carcinogens and toxins. The Ames test is used to identify revert mutations that are present in the bacterial strains, but it can also be used to detect the mutagenicity of various substances including drugs that are easily solubilized in a liquid suspension [40]. Only MMZ-33 was predicted to lack the mutagenic potential in the Ames test, as evidenced by pkCSM and PreADMET online servers.

Cardiotoxicity is a crucial side-effect related with the use of drugs. It may result from the inhibition of the potassium ion channel of the human ether-a-go-go-related gene (hERG) that potentially contributes to the development of long QT syndrome (LQTS) and heart failure [41]. Low and medium risk of cardiotoxicity was predicted by PreADMET software for MMZ-140 and MMZ-39, respectively. Ambiguous predictions were made for MMZ-33, -45, -147, and 167.

The liver is accountable for a wide variety of functions, some of which include the detoxification of xenobiotics, the synthesis of proteins, the synthesis and storage of glucose, and others. Because of its location downstream from the gastrointestinal tract, the organ can facilitate the “first-pass” clearance of chemicals and medications that are consumed orally. Because hepatocytes have a great capacity for biotransformation, they are also effective at facilitating the production of reactive metabolites, which can lead to damage in the liver [42]. In most instances, hepatotoxicity is identified during later phases of drug development, either during human trials or animal toxicity tests. Even though hepatotoxicity seldom causes drug development to be halted during the preclinical stage, the liver is the organ that is most frequently targeted by drug candidates during animal toxicity tests. In contrast to the toxicity that can be caused in other target organs, liver toxicity is typically reversible and can be monitored in humans through the use of sensitive serum enzyme testing. Therefore, in many instances, a substance that was discovered to be hepatotoxic in an animal species will be evaluated in humans to determine whether or not it has the potential to be hepatotoxic. When medicine has significant therapeutic promise, it is possible that liver damage in humans can be tolerated. In this context, mechanistic investigations are necessary for determining the level of danger posed to humans and, in some instances, for locating protective agents [43]. All MMZ compounds were predicted to be hepatotoxic, which contrasts with the Protox-II webserver prediction in which the compounds were classified as inactive for liver toxicity.

The major toxic effects, including hepatotoxicity, immunotoxicity, mutagenicity, etc. for the MMZ compounds, were additionally predicted by using the Protox-II webserver ([http://tox.charite.de/protox\\_II](http://tox.charite.de/protox_II), accessed on 26 February 2023) [44,45], as shown in Table 3.

**Table 3.** Toxicity profiles of MMZ compounds estimated using Protox-II ([http://tox.charite.de/protox\\_II](http://tox.charite.de/protox_II), accessed on 26 February 2023).

| Compound /Property | Hepatotoxicity                 | Immunotoxicity                 | Mutagenicity                   | ATAAS                          | HSE                            | MMP                            | nrf2/ARE                       | TP53                           |
|--------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| MMZ-33             | Inactive<br>( <i>p</i> = 0.55) | Inactive<br>( <i>p</i> = 0.98) | Inactive<br>( <i>p</i> = 0.56) | Inactive<br>( <i>p</i> = 0.55) | Inactive<br>( <i>p</i> = 0.92) | Active<br>( <i>p</i> = 0.59)   | Inactive<br>( <i>p</i> = 0.92) | Inactive<br>( <i>p</i> = 0.8)  |
| MMZ-39             | Active<br>( <i>p</i> = 0.5)    | Inactive<br>( <i>p</i> = 0.93) | Inactive<br>( <i>p</i> = 0.64) | Inactive<br>( <i>p</i> = 0.58) | Inactive<br>( <i>p</i> = 0.86) | Active<br>( <i>p</i> = 0.6)    | Inactive<br>( <i>p</i> = 0.86) | Inactive<br>( <i>p</i> = 0.72) |
| MMZ-45             | Inactive<br>( <i>p</i> = 0.64) | Inactive<br>( <i>p</i> = 0.99) | Inactive<br>( <i>p</i> = 0.54) | Inactive<br>( <i>p</i> = 0.58) | Inactive<br>( <i>p</i> = 0.93) | Inactive<br>( <i>p</i> = 0.61) | Inactive<br>( <i>p</i> = 0.93) | Inactive<br>( <i>p</i> = 0.35) |
| MMZ-140            | Inactive<br>( <i>p</i> = 0.82) | Inactive<br>( <i>p</i> = 0.86) | Inactive<br>( <i>p</i> = 0.51) | Inactive<br>( <i>p</i> = 0.95) | Inactive<br>( <i>p</i> = 0.95) | Inactive<br>( <i>p</i> = 0.69) | Inactive<br>( <i>p</i> = 0.95) | Inactive<br>( <i>p</i> = 0.92) |
| MMZ-147            | Inactive<br>( <i>p</i> = 0.65) | Inactive<br>( <i>p</i> = 0.99) | Inactive<br>( <i>p</i> = 0.5)  | Inactive<br>( <i>p</i> = 0.56) | Inactive<br>( <i>p</i> = 0.94) | Inactive<br>( <i>p</i> = 0.56) | Inactive<br>( <i>p</i> = 0.96) | Inactive<br>( <i>p</i> = 0.74) |
| MMZ-167            | Inactive<br>( <i>p</i> = 0.62) | Inactive<br>( <i>p</i> = 0.86) | Inactive<br>( <i>p</i> = 0.6)  | Inactive<br>( <i>p</i> = 0.56) | Inactive<br>( <i>p</i> = 0.63) | Inactive<br>( <i>p</i> = 0.61) | Inactive<br>( <i>p</i> = 0.93) | Inactive<br>( <i>p</i> = 0.83) |

*p*—probability.

Protox-II predictions indicate that MMZ compounds do not exhibit hepatotoxic, immunotoxic, or mutagenic properties. This is opposed to the results of pkCSM/PreADMET. However, the software used for the toxicity predictions often use a different set of chemical structures and models for the prediction; therefore, the results may differ. Nonetheless, it

is essential to determine whether or not certain substances harm the immune system. Immunotoxicity caused by the medications is a primary contributor to the morbidity and death experienced by patients undergoing therapy. A drug's effects on the immune system can include immunosuppression, immunostimulation, hypersensitivity, or autoimmunity [46]. Furthermore, we have explored the effect of MMZ compounds on the stress response pathways, including the activation of the antioxidant response element (ARE), heat shock response (HSE), cellular tumor antigen p53 (TP53), disruption of mitochondrial membrane potential (MMP), and induction of genotoxicity (ATPase family AAA domain-containing protein 5; ATAD5). In the *in silico* predictions, MMZ compounds were found to not affect these pathways.

### 2.3.2. Density Functional Theory (DFT) Calculations

The majority of compounds examined in this research comprised *S,S/R,R* enantiomers. This observation, coupled with the enhanced cytotoxicity exhibited by these enantiomeric compounds (specifically, MMZ-45AA and -147B compounds compared to MMZ-45B and -147CE derivatives), served as a driving force to explore these forms in subsequent *in silico* investigations.

The tendency of a molecule in donating and accepting electrons can be estimated using the highest occupied molecular orbital (HOMO) and lowest occupied molecular orbital (LUMO) energy values. The values for these frontier molecular orbital (HOMO, LUMO) and HOMO-LUMO energy gap (HLG) provide information on chemical reactivity, kinetic, structural stability, and electronic properties, and also fetch the most reactive position of a molecule [47]. All of the molecules studied showed similar HOMO, LUMO, and energy gap values, suggesting similar reactivity of the compounds as evidenced by the biological evaluation. The low energy gap value (0.15 eV) obtained denotes the high reactivity, polarizability, and biological activity of the studied molecules [48]. The calculated HOMO and LUMO values were found to be in the range  $-0.21$  to  $-0.20$  eV and  $0.05$  to  $-0.04$  eV, respectively (Table 4).

**Table 4.** Density functional theory calculation for the MMZ compounds.

| Compound ID | HOMO (eV) | LUMO (eV) | HLG (eV) |
|-------------|-----------|-----------|----------|
| MMZ-33      | $-0.213$  | $-0.058$  | 0.15     |
| MMZ-39      | $-0.214$  | $-0.058$  | 0.15     |
| MMZ-45      | $-0.201$  | $-0.046$  | 0.15     |
| MMZ-140     | $-0.201$  | $-0.046$  | 0.15     |
| MMZ-147     | $-0.201$  | $-0.045$  | 0.15     |
| MMZ-148     | $-0.201$  | $-0.046$  | 0.15     |
| MMZ-167     | $-0.203$  | $-0.047$  | 0.15     |

The molecular orbital distribution of the molecules is depicted in Supplementary Figure S11 (SM1.pdf file). Interestingly, all the molecules showed the HOMO and LUMO distribution in the naphthalene group, which represents the high reactivity region in the molecules.

In addition, molecular electrostatic potential (MESP) analysis was carried out to explore the reactivity and molecular bonding patterns in the compounds. Insights into charge distributions around the molecular surface provided by MESP can be used to identify areas that are vulnerable to electrophilic or nucleophilic attacks during enzymatic processes. The results of molecular docking in conjunction with the electronic characteristics of drug molecules as determined by DFT can also be used to predict noncovalent bonding, such as van der Waals interactions and hydrogen bonds [49]. The red (negative) and blue (positive) represent the electrophilic and nucleophilic reactive sites in the molecules (Figure 8). All the molecules are highly negative and a small portion of positive ESP is located in the oxygen atoms in the 2-(methyl-3-phenylpropanoate) group.



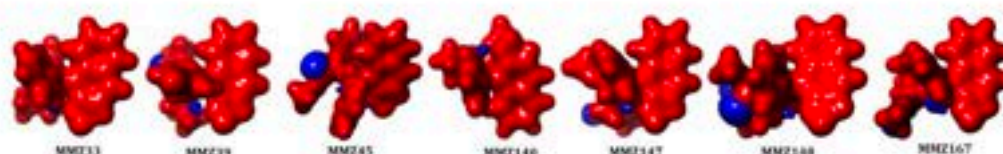


Figure 8. Molecular electrostatic potential (MESP) analysis of MMZ compounds.

### 2.3.3. Molecular Target Prediction

In addition to the good ADMET profile, a potential drug candidate should demonstrate adequate efficacy against the specifically determined therapeutic target or targets. The knowledge about the chemical structure of the chemical compound can be used for the prediction of the molecular targets for the promising chemical entity [32]. The key fifteen macromolecular targets for each MMZ compound that are supposed to interact were predicted by the SwissTargetPrediction web server (<http://www.swisstargetprediction.ch/>, accessed on 26 February 2023) [50,51], as shown in Figure 9.

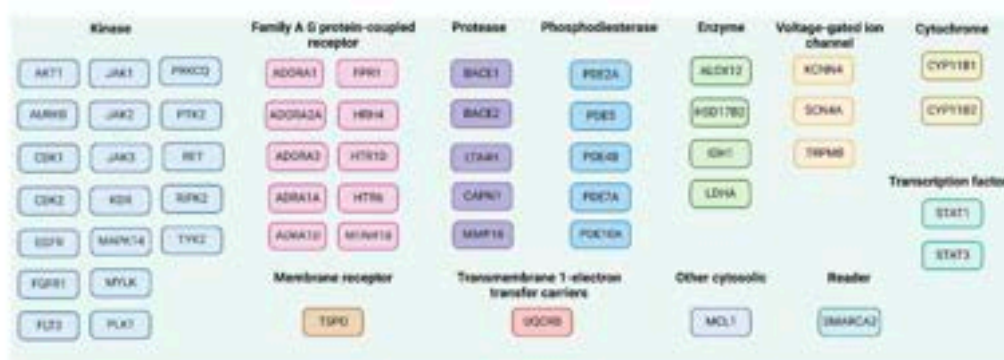


Figure 9. The predicted molecular targets for MMZ compounds in Homo Sapiens as the selected organism model using SwissTargetPrediction, accessed on 26 February 2023 and ordered given the protein function. The common targets for MMZ compounds are mentioned as one target. Created with Biorender.com.

Additionally, the SuperPred 3.0 webserver ([https://prediction.charite.de/subpages/target\\_prediction.php](https://prediction.charite.de/subpages/target_prediction.php), accessed on 26 February 2023), was used for the prediction of possible molecular targets for MMZ compounds. We chose the results with the highest probability of being a target ( $p > 80\%$ ). Additionally, model accuracies, ChEMBL-IDs, and Protein Data Bank (PDB) codes are shown in Supplementary Table S2 (SM1.pdf file).

### 2.3.4. Molecular Docking

Molecular docking was performed for targets predicted with the SwissTargetPrediction and SuperPred 3 webserver with available PDB structures (<https://www.rcsb.org/>, accessed on 26 February 2023) as follows: the generated macromolecular target, together with the native ligands and MMZ compounds, were employed by Autogrid software (<https://www.auto-grid.com/>, accessed on 26 February 2023) to build map files for various atoms of the protein target as well as ligands to run docking analysis. The docking protocols for each of the macromolecular targets that were used in this study were successfully validated by examining the overlay conformation and chemical similarity of the reported native ligand complexed with the bioactive conformation of the investigated target macromolecule. This comparison was carried out to ensure that the docking protocols were accurate representations for the interaction of the native ligand with the protein. After the docking parameters were validated by using the abovementioned parameters, analogous

settings were used to run the simulation studies of **MMZ** compounds with predicted targets. The observed docking findings are summarized in Supplementary Table S3 (SM1.pdf file). The compound **MMZ-45** exhibited the best binding properties with ADORA1 (PDBid: 6D9H), CDK1 (PDBid: 2FVD), CDK2 (PDBid: 6GU6), CK (PDBid: 6TLS), NFKB1 (PDBid: 1SVC), PLK1 (PDBid: 3FC2), and TRIM24 (PDBid: 4YBM). For full protein names, see the Abbreviations section.

### 2.3.5. Molecular Dynamics Simulation

Simulations of molecular dynamics revealed that the macromolecular complexes of ligands **MMZ-45** against adenosine A1 receptor (ADORA1) were found to be most stable throughout the simulation time, concluding that the ligand **MMZ-45** was supposed to be a potent anticancer agent and its therapeutic effect is executed via targeting ADORA1 enzyme. The target protein ADORA1 has 288 residues distributed in a macromolecular chain consisting of 2276 heavy atoms out of a total of 4703 atoms. The macromolecular target has only 58.7% beta strands constituting the secondary structure of the protein that remains conserved throughout the simulation process. Ligand **MMZ-45** possesses 31 heavy atoms out of a total of 56 atoms. Dynamic simulation of the **MMZ-45** macromolecular complex against the ADORA1 target clearly showed that the root-mean-square deviation (RMSD) for the fluctuation of the protein backbone was between 1.8 and 5.8 Å, which is well within the acceptable range. The macromolecular backbone required two conformational changes within the initial 20 ns to achieve the most stabilized conformation, which was maintained throughout the remaining simulation. Similarly, to achieve a stabilized conformation, the ligand **MMZ-45** showed some initial fluctuations until 15 ns and then maintained the same throughout the simulation with the RMSD ranging between 4.0 and 5.6 Å. Observed RMSD for the macromolecular complex of **MMZ-45** with the ADORA1 receptor is depicted in Figure 10.

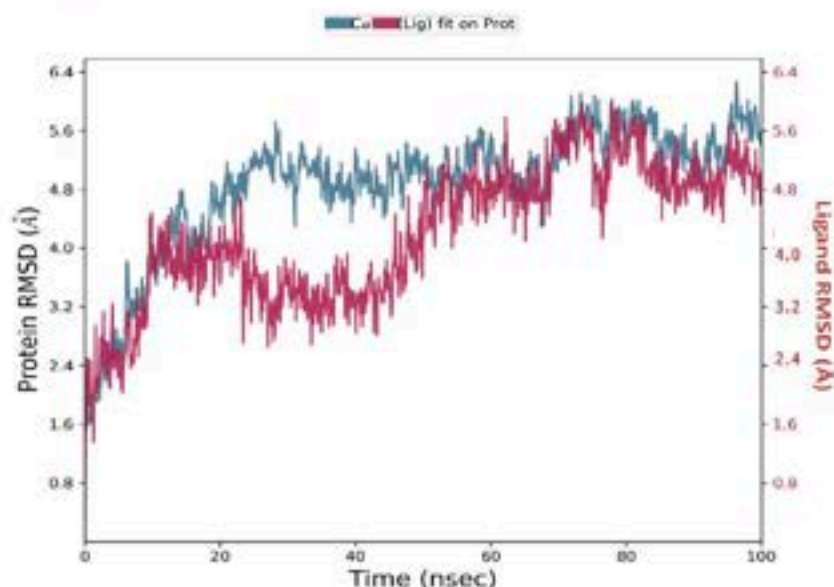
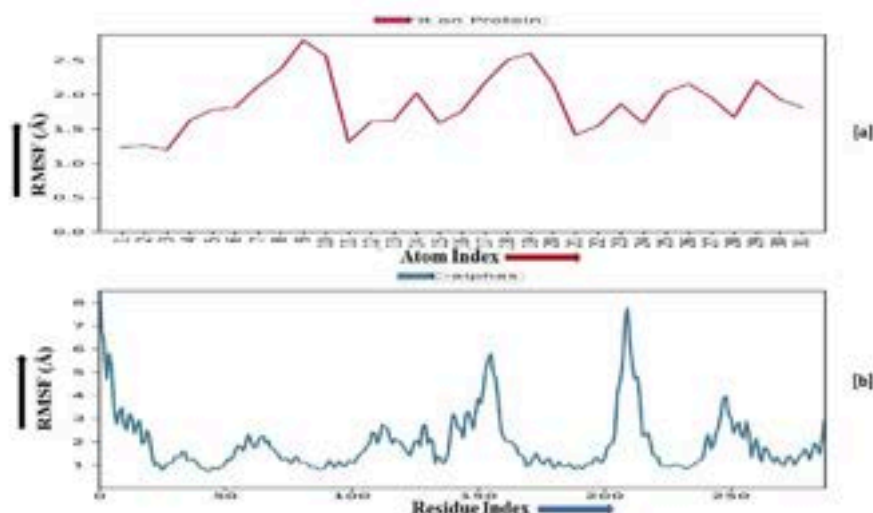


Figure 10. Root-mean-square deviation (RMSD) observed for the macromolecular complex of **MMZ-45** complexed within the macromolecular backbone of adenosine A1 (ADORA1) receptor during MD simulation of 100 ns.

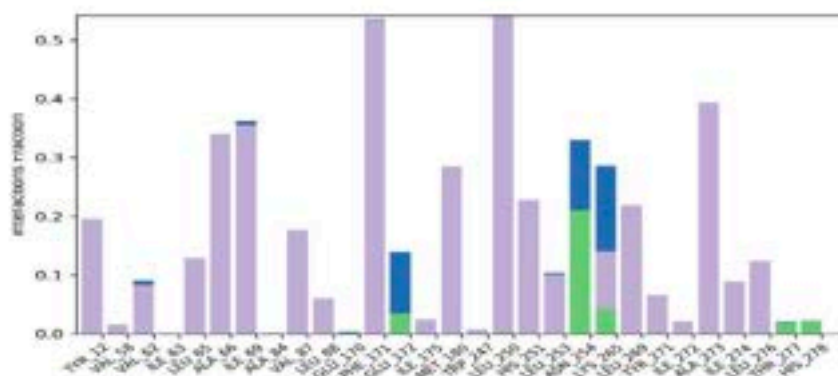
The root-mean-square fluctuation (RMSF) of the macromolecular backbone was found to be well within the range for the ADORA1 receptor, which was found to be 1–3 Å, except

for some residues having higher fluctuations. The RMSF for the complexed ligand **MMZ-45** was found to be within 2–3 Å throughout the simulation. RMSF observed for **MMZ-45** and the macromolecular backbone of ADORA1 receptor during 100 ns MD simulation is depicted in Figure 11.



**Figure 11.** Root-mean-square fluctuation (RMSF) observed for the macromolecular complex of **MMZ-45** (a) together with the macromolecular backbone of the adenosine A1 (ADORA1) receptor (b) during MD simulation of 100 ns.

Macromolecular residues such as Tyr12, Val62, Leu65, Ala66, Ile69, Val87, Leu88, Phe171, Met180, Leu250, His251, Leu253, Leu269, Tyr271, Ala273, Ile274, and Leu276 were found to be interacting hydrophobically. Residues like Asn254, Thr277, His278, via forming H-bonds and residues like Glu172, and Lys265 were found to be interacting via forming water bridges with the complexed ligand **MMZ-45**. The ligand receptor contacts between **MMZ-45** and ADORA1 receptor observed during 100 ns MD simulation are depicted in Figure 12.

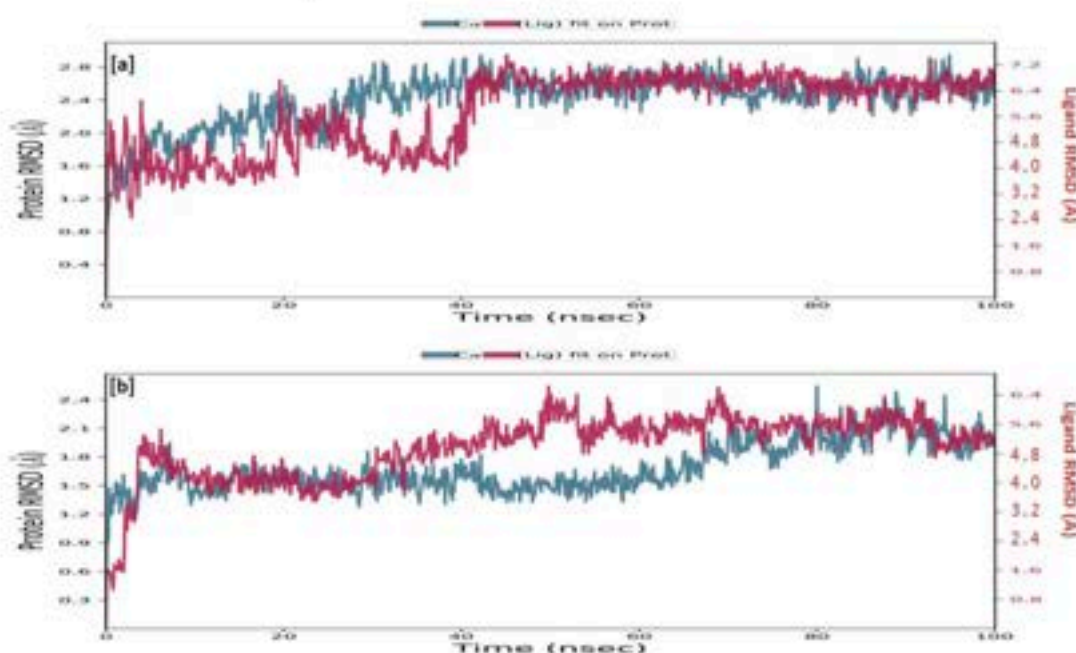


**Figure 12.** Ligand-receptor contacts for **MMZ-45** and adenosine A1 (ADORA1) receptor observed during MD simulation of 100 ns. Purple—hydrophobic interaction; green—hydrogen bonds; blue—water bridges.

Moreover, sufficient stability was observed for **MMZ-45** and two other enzymes: cyclin-dependent kinase 2 (CDK2) and transcription intermediary factor 1-alpha (TRIM24).



TRIM24 consists of 170 residues and forms a macromolecular chain with a total of 2278 atoms, of which 1384 are heavy. The secondary structure analysis indicated that the protein predominantly comprises 30% alpha helices and 1% beta strands, and this secondary structure conformation remained conserved during the simulation process. **MMZ-45** contains 56 atoms, with 31 of them being heavy atoms. The dynamic simulation of the macromolecular complex formed by **MMZ-45** and the TRIM24 target demonstrated that RMSD for the protein backbone fluctuations ranged from 1.2 to 2.5 Å, which falls within an acceptable range (Figure 13). Importantly, the macromolecular backbone exhibited a stable conformation throughout the simulation period. Similarly, the ligand **MMZ-45** initially showed some fluctuations at 20 and 40 ns, but achieved a stabilized conformation thereafter, maintaining this conformation throughout the simulation with an RMSD ranging between 6.0 and 7.0 Å. The RMSF analysis of the TRIM24 macromolecular backbone showed values within the range 0.5 to 2.0 Å for most residues, with a few residues exhibiting slightly higher fluctuations. As for the complexed ligand **MMZ-45**, the RMSF ranged from 1 to 4 Å during the entire simulation (Figure 14).



**Figure 13.** Root-mean-square deviation (RMSD) observed for the macromolecular complex consisting of **MMZ-45** complexed within the macromolecular backbone of transcription intermediary factor 1-alpha (TRIM24) (a) and cyclin-dependent kinase 2 (CDK2) (b) observed during 100 ns MD simulation.

The CDK2 enzyme is composed of 284 residues, forming a macromolecular chain comprising a total of 4645 atoms, with 2292 of them being heavy atoms. The secondary structure analysis revealed that the protein consists of 23.4% alpha helices and 13.76% beta strands, and this secondary structure conformation remained conserved throughout the simulation process. The dynamic simulation of the macromolecular complex involving **MMZ-45** and the CDK2 target demonstrated that the RMSD for the protein backbone fluctuations fell within the range 1.2 to 2.4 Å, which is considered acceptable (Figure 13). Initially, the ligand **MMZ-45** exhibited some fluctuations until 10 ns, after which it attained a stabilized conformation that was maintained throughout the simulation, with the RMSD ranging from 4.0 to 6.0 Å (Figure 13). RMSF analysis of the CDK2 macromolecular back-

bone revealed values well within the range 0.5 to 2 Å, except for a few terminal residues exhibiting higher fluctuations. In contrast, the RMSF for the ligand **MMZ-45** in complex with CDK2 remained within the range 2 to 3 Å throughout the simulation (Figure 15).

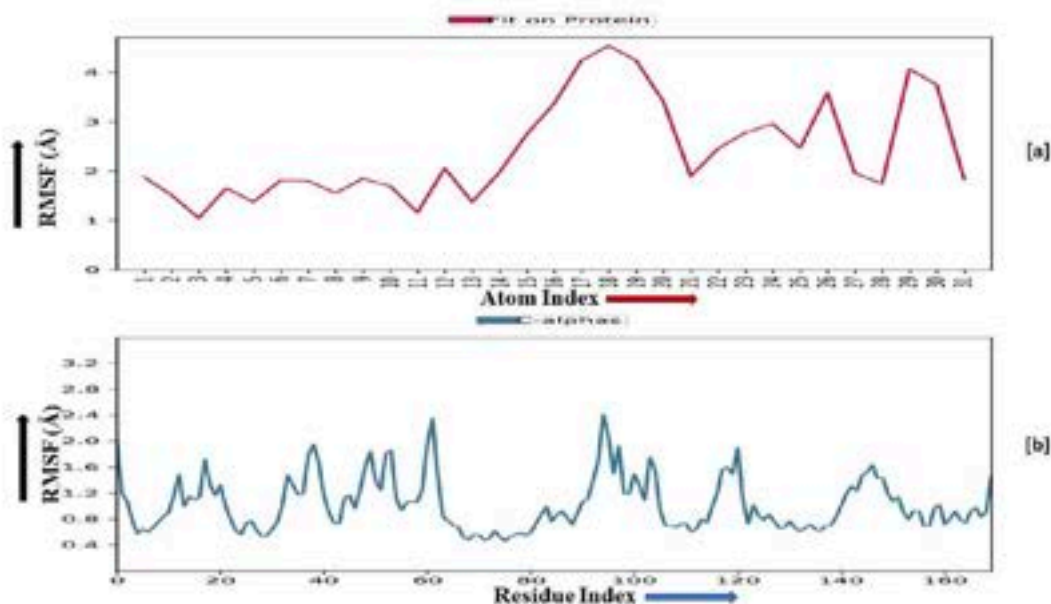


Figure 14. Root-mean-square fluctuation (RMSF) observed for the macromolecular complex of **MMZ-45** (a) and the macromolecular backbone of transcription intermediary factor 1-alpha (TRIM24) protein (b) observed during 100 ns MD simulation.

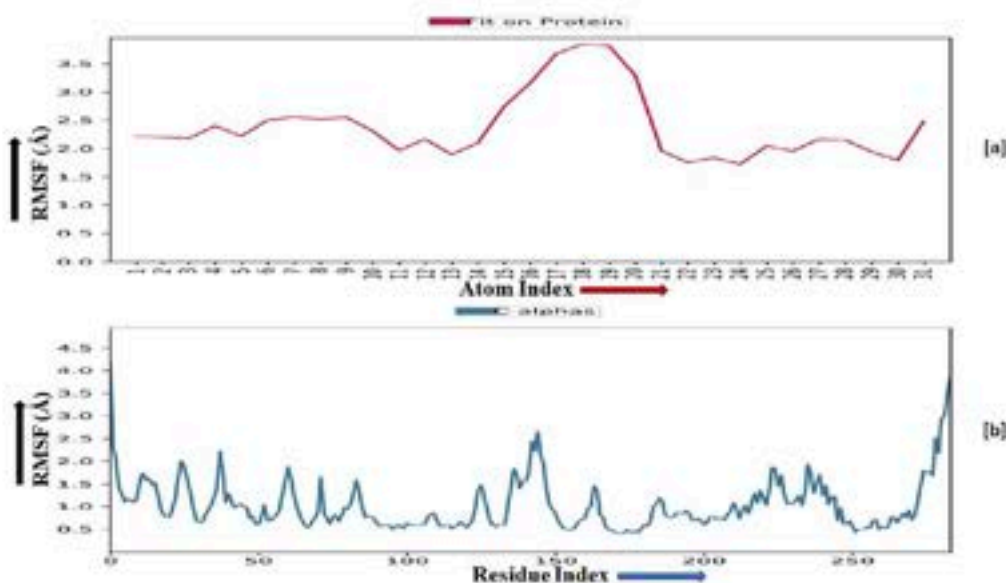


Figure 15. Root-mean-square fluctuation (RMSF) observed for the macromolecular complex of **MMZ-45** (a) and the macromolecular backbone of cyclin-dependent kinase 2 (CDK2) (b) observed during 100 ns MD simulation.





**Table 5.** Binding free energy calculation for the protein–ligand complexes of the **MMZ-45** compound.

| Protein | PDB id | $\Delta G_{\text{coulomb}}^a$ | $\Delta G_{\text{vdw}}^b$ | $\Delta G_{\text{covalent}}^c$ | $\Delta G_{\text{solv}}^d$ | $\Delta G_{\text{solvtype}}^e$ | $\Delta G_{\text{bind}}^f$ |
|---------|--------|-------------------------------|---------------------------|--------------------------------|----------------------------|--------------------------------|----------------------------|
| ADORA1  | 6D9H   | −12.86                        | −52.55                    | 17.9                           | 35.45                      | −35.2                          | −51.57                     |
| CDK1    | 6GU6   | −7.7                          | −47.87                    | 15.01                          | 38.36                      | −24.03                         | −28.53                     |
| CDK2    | 2FVD   | −10.49                        | −49.28                    | 12.96                          | 28.05                      | −46.92                         | −66.73                     |
| CK      | 6TSL   | −7.57                         | −31.17                    | 3.54                           | 21.06                      | −26.48                         | −41.89                     |
| NFKB1   | 1SVC   | −16.51                        | −35.67                    | 2.8                            | 37.3                       | −10.43                         | −23.71                     |
| PLK1    | 3FC2   | −18.94                        | −34.95                    | 10.71                          | 26.68                      | −22.78                         | −42.18                     |
| TRIM24  | 4YBM   | −18.94                        | −34.95                    | 10.71                          | 26.68                      | −22.78                         | −42.18                     |

<sup>a</sup> contribution to the MM-GBSA free energy of binding from the Coulomb energy; <sup>b</sup> contribution to the MM-GBSA free energy of binding from the van der Waals energy; <sup>c</sup> contribution to the MM-GBSA free energy of binding from the covalent binding; <sup>d</sup> contribution to the MM-GBSA free energy of binding from the nonpolar contribution to the solvation energy due to the surface area; <sup>e</sup> contribution to the MM-GBSA free energy of binding lipophilic binding; <sup>f</sup> free energy of binding.

### 3. Discussion

The investigated **MMZ** compounds exhibited potent cytotoxic activity with  $IC_{50}$  values between  $30.15 \pm 9.39$  and  $66.19 \pm 7.36$   $\mu\text{M}$  following 24 h treatment of BxPC-3 cells, and a cytotoxicity between  $31.78 \pm 3.93$  and  $111.5 \pm 2.12$   $\mu\text{M}$  for HT-29 cells. In contrast, 72 h incubation with tested derivatives resulted in the cytotoxicity range 13.26 to 54.55  $\mu\text{M}$  in BxPC-3 cells and 11.55 to 58.11  $\mu\text{M}$  in the HT-29 cell line. At the same time, the compounds did not exhibit pronounced cytotoxic potential and did not reduce normal cell (WI-38) viability to a level below 70%, except for **MMZ-39AA**, **MMZ-147B**, and **MM-147CE** when used in respective  $IC_{50}$  values obtained for cancer cells.

Furthermore, for the first time, we report the proapoptotic potential of two **MMZ** derivatives (**MMZ-45AA** and **MMZ-140C**) as estimated by the exposition of phosphatidylserine on the surface of cancer cells and morphological changes observed during staining with AO/EB. A more profound apoptotic response was observed for BxPC-3 cells, for example, following 72 h incubation of BxPC-3 cells with **MMZ-45AA** used in  $IC_{50}$  concentration % of apoptotic cells =  $21.9 \pm 3.4\%$  for OA/EB staining and  $38.7 \pm 5.43\%$  for annexin-FITC staining, compared with HT-29 cells where % of apoptotic cells =  $15.93 \pm 3\%$  for OA/EB staining and  $24.23 \pm 1.1\%$  for annexin-FITC staining. Furthermore, the **MMZ-140C** compound induced a statistically significant increase in apoptotic cell fraction (% of apoptotic cells =  $33.1 \pm 1.12\%$ ) only in BxPC-3 cells (as evidenced by annexin-FITC staining). No changes in necrotic cell fractions were observed in any of the experimental samples compared with cells used as the negative control.

Using in silico approaches, we show that the compounds exhibit drug-likeness properties and good pharmacokinetic properties, including high GI absorption and BBB permeability (except for **MMZ-147**). However, their future therapeutical use may be restricted by CYP enzymes' inhibitory properties and the fact that the compounds may act as substrates of P-gp. Furthermore, DFT and MESP calculations were performed to establish the chemical reactivity of the compounds and show the electrophilic and nucleophilic components of the compounds. The naphthalene group was proposed as the high reactivity region in the molecules examined.

A potential drug candidate should exhibit sufficient efficacy against the explicitly specified therapeutic target or targets, in addition to a favorable ADMET profile. Therefore, we predicted probable molecular targets for **MMZ** compounds by using the SwissTarget-Prediction web server (<http://www.swisstargetprediction.ch/> or SuperPred 3.0 webserver [https://prediction.charite.de/subpages/target\\_prediction.php](https://prediction.charite.de/subpages/target_prediction.php)), and performed molecular docking investigation to select probable targets for the compounds (software accessed on 26 February 2023). Among the compounds, **MMZ-45** showed the best binding efficiency and stability with ADORA1, CDK2, and TRIM24 in the docking and initial molecular dynamics simulation. Therefore, we performed a 100 ns MD simulation to further reveal the stability of the formed complexes and determine the crucial amino acids involved in associations. The binding strength between protein targets and **MMZ-45** molecule was

estimated using Prime MM-GBSA analysis. The calculated free energy of binding for the protein–ligand complexes was in the range  $-66.73$  to  $-23.71$  kcal/mol. The binding free energy of **MMZ-43** complexed CDK2 (PDB id: 2FVD) ( $-66.73$  kcal/mol) and **MMZ-45** complexed with ADORA1 (PDB id: 6D9H) ( $-51.57$  kcal/mol) had the most negative free energy of binding, which signifies a stronger binding of ligands into the active site of the respective proteins.

This study indicates that aminobenzyl-naphthols (**MMZ** compounds) obtained by the Betti reaction using methyl derivatives of (*R*)-valine, (*S*)-phenylalanine, (*S*)-proline, (*S*)-glutamic acid, (*S*)-aspartic acid, and (*S*)-leucine exhibit potent cytotoxic and proapoptotic properties and constitute a profound scaffold for anticancer drug discovery. The best cytotoxic properties were observed for Betti bases containing (*S*)-proline and (*S*)-phenylalanine (**MMZ-45AA** and **-140C**), with an aromatic or heterocyclic fragment present in the amino acid part. Aliphatic amino acid derivatives in these tests were characterized by weaker cytotoxic properties. The compounds exhibited comparable cytotoxic activity to 5-Fluorouracil used as a positive control in our study. Moreover, the use of normal human fibroblasts allowed us to show preferential activity of the tested compounds toward cancer cells. The resulting antitumor activity may, in turn, be derived from the inhibition of important molecular targets involved in cancer pathogenesis, including ADORA1, CDK2, and TRIM24. Future studies will elucidate the exact molecular mechanisms in the anticancer activity of these compounds that could explain potential selectivity toward cancer cells.

#### 4. Materials and Methods

##### 4.1. Chemical Studies

##### Synthesis of Betti Bases (MMZs)

Commercially available chemicals used in this work were purchased from Sigma-Aldrich and were used as supplied, without additional purification. NMR spectra were recorded in  $\text{CDCl}_3$  on a Bruker Avance III (600 MHz for  $^1\text{H}$  NMR, 150 MHz for  $^{13}\text{C}$  NMR); coupling constants are reported in hertz (Hz). The chemical shift values were expressed in ppm (part per million) with tetramethylsilane (TMS) as an internal reference. The rotations were measured using an Anton Paar MCP 500 polarimeter. Melting points measured on the DigiMelt apparatus were uncorrected. Chromatographic purification of compounds was achieved with 230–400 mesh size silica gel. The progress of reactions was monitored by silica gel thin-layer chromatography plates (Merck TLC Silicagel 60 F254).

Aminoacids methyl ester (1.46 mmol, 1.2 eq.) was added to benzaldehyde or *p*-chlorobenzaldehyde (1.27 mmol, 1.05 eq.) and stirred for 10 min at room temperature under an argon atmosphere. 2-Naphthol (174 mg, 1.21 mmol, 1 eq.) was added and the mixture was heated to  $60^\circ\text{C}$  for two days. The progress of the reaction was monitored by silica gel thin-layer chromatography plates (*n*-hexane/ethyl acetate 4:1). The crude reaction mixture was purified first by chromatography (silica gel, eluent *n*-hexane/ethyl acetate 4:1), followed by crystallization (ethanol) to obtain the product.

##### (*S,S*) and (*R,R*)-methyl ((2-hydroxynaphthalen-1-yl)(phenyl)methyl)-D-valinate (**MMZ-33D**)

Colorless solid. Yield 23%.  $R_f = 0.49$ ; Melting point:  $74.5\text{--}76.5^\circ\text{C}$  [Lit.<sup>22</sup> m.p. =  $146\text{--}148^\circ\text{C}$ ];  $[\alpha]_D^{20} = 106.34$  (c 0.50,  $\text{CHCl}_3$ ) [Lit.<sup>22</sup>  $[\alpha]_D^{20} = 428.0$  (c 0.36,  $\text{CHCl}_3$ )];  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 0.97 (d, 3H,  $J = 6.9$ ,  $\text{CH}_3$ ), 0.98 (d, 3H,  $J = 6.9$ ,  $\text{CH}_3$ ), 2.04–2.12 (m, 1H,  $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ), 2.68 (d, 1H,  $J = 12.8$  Hz, NH), 3.33 (dd, 1H,  $J = 12.7, 5.3$  Hz,  $\text{CHCO}$ ), 3.79 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 5.58 (s, 1H,  $\text{CHAr}_2$ ), 7.16 (d, 1H,  $J = 8.8$  Hz,  $\text{H}_{Ar}$ ), 7.22–7.27 (m, 2H,  $\text{H}_{Ar}$ ), 7.29–7.34 (m, 3H,  $\text{H}_{Ar}$ ), 7.43 (d, 2H,  $J = 7.5$  Hz,  $\text{H}_{Ar}$ ), 7.59 (d, 1H,  $J = 8.6$  Hz,  $\text{H}_{Ar}$ ), 7.74 (d, 2H,  $J = 9.1$  Hz,  $\text{H}_{Ar}$ ), 12.49 (s, 1H, OH). Spectral data matched that reported by Bedekar [52].

##### (*S,S*) and (*R,R*)-methyl ((4-chlorophenyl)(2-hydroxynaphthalen-1-yl)methyl)-D-valinate (**MMZ-39AA**)

Colorless solid. Yield 48%.  $R_f = 0.65$ ; Melting point:  $64\text{--}65.5^\circ\text{C}$  [Lit.<sup>21</sup> m.p. =  $119\text{--}121^\circ\text{C}$ ];  $[\alpha]_D^{20} = -63.32$  (c 0.52,  $\text{CHCl}_3$ ) [Lit.<sup>21</sup>  $[\alpha]_D^{20} = 105.0$  (c 0.9,  $\text{CHCl}_3$ )];  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 0.96–1.0 (m, 6H,  $2\times\text{CH}_3$ ), 2.05–2.13 (m, 1H,  $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ), 2.63 (d, 1H,  $J = 12.8$  Hz,



NH), 3.34 (dd, 1H,  $J = 12.3, 5.1$  Hz, CHCO), 3.79 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 5.55 (s, 1H, CHAr<sub>2</sub>), 7.16 (d, 1H,  $J = 8.9$  Hz, H<sub>Ar</sub>), 7.26–7.29 (m, 3H, H<sub>Ar</sub>), 7.31–7.35 (m, 1H, H<sub>Ar</sub>), 7.37 (d, 2H,  $J = 8.5$  Hz, H<sub>Ar</sub>), 7.54 (d, 1H,  $J = 8.6$  Hz, H<sub>Ar</sub>), 7.75 (d, 2H,  $J = 9.20$  Hz, H<sub>Ar</sub>), 12.39 (s, 1H, OH). Spectral data matched that reported by Cardellicchio [53].

**(S,S) and (R,R)-methyl ((2-hydroxynaphthalen-1-yl)(phenyl)methyl)-L-phenylalaninate (MMZ-45AA)**

Colorless solid. Yield 38%.  $R_f = 0.67$ ; Melting point: 114–115.5 °C;  $[\alpha]_D^{20} = 2.31$  (c 0.39, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 2.67 (d, 1H,  $J = 12.4$  Hz, NH), 3.06 (dd, 1H,  $J = 13.7, 6.8$ , CH<sub>2</sub>Ar), 3.14 (dd, 1H,  $J = 13.7, 5.4$ , CH<sub>2</sub>Ar), 3.71 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.75–3.82 (m, 1H, CHCO), 5.63 (s, 1H, CHAr<sub>2</sub>), 7.08 (dd, 2H,  $J = 8.1, 1.4$  Hz, H<sub>Ar</sub>), 7.15 (d, 1H,  $J = 8.9$  Hz, H<sub>Ar</sub>), 7.21–7.32 (m, 8H, H<sub>Ar</sub>), 7.40 (d, 2H,  $J = 7.3$  Hz, H<sub>Ar</sub>), 7.57 (d, 1H,  $J = 8.6$  Hz, H<sub>Ar</sub>), 7.74 (d, 2H,  $J = 8.6$  Hz, H<sub>Ar</sub>), 12.61 (s, 1H, OH); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 39.6 (CH<sub>2</sub>Ar), 52.2 (OCH<sub>3</sub>), 60.7 (CHCO), 61.9 (CHAr<sub>2</sub>), 112.5, 120.2, 121.2, 122.7, 126.7, 127.3, 128.1, 128.3, 128.8, 128.9, 129.0, 129.2, 129.4, 130.1, 132.9, 135.7, 140.5, 156.9 (C<sub>Ar</sub>), 174.1 (CO); elemental analysis: C<sub>27</sub>H<sub>25</sub>NO<sub>3</sub> (411.50 g/mol) calculated: C% 78.81, H% 6.12, N% 3.40; found: C% 78.80, H% 6.10, N% 3.60.

**(S,R) and (R,S)-methyl ((2-hydroxynaphthalen-1-yl)(phenyl)methyl)-L-phenylalaninate (MMZ-45B)**

Colorless solid. Yield 22%.  $R_f = 0.52$ ; Melting point: 73.5–75.0 °C;  $[\alpha]_D^{20} = -6.74$  (c 0.34, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 2.67 (bs, 1H, NH), 3.01 (dd, 1H,  $J = 13.8, 7.3$ , CH<sub>2</sub>Ar), 3.14 (dd, 1H,  $J = 13.8, 5.3$ , CH<sub>2</sub>Ar), 3.66 (dd, 1H,  $J = 7.3, 5.3$ , CHCO), 3.72 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 5.83 (s, 1H, CHAr<sub>2</sub>), 7.12 (d, 1H,  $J = 8.9$  Hz, H<sub>Ar</sub>), 7.13 (d, 2H,  $J = 7.0$  Hz, H<sub>Ar</sub>), 7.18–7.26 (m, 4H, H<sub>Ar</sub>), 7.28–7.32 (m, 3H, H<sub>Ar</sub>), 7.32–7.39 (m, 3H, H<sub>Ar</sub>), 7.66 (d, 1H,  $J = 8.9$  Hz, H<sub>Ar</sub>), 7.70 (d, 1H,  $J = 8.0$  Hz, H<sub>Ar</sub>), 7.76 (d, 1H,  $J = 8.7$  Hz, H<sub>Ar</sub>), 12.10 (s, 1H, OH); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 38.9 (CH<sub>2</sub>Ar), 52.3 (OCH<sub>3</sub>), 59.3 (CHCO), 60.5 (CHAr<sub>2</sub>), 115.4, 120.4, 121.2, 122.7, 126.7, 127.4, 128.2, 128.2, 129.0, 129.1, 129.3, 130.0, 132.2, 136.3, 140.0, 155.9 (C<sub>Ar</sub>), 173.4 (CO); elemental analysis: C<sub>27</sub>H<sub>25</sub>NO<sub>3</sub> (411.50 g/mol) calculated: C% 78.81, H% 6.12, N% 3.40; found: C% 78.64, H% 53.92, N% 3.15.

**(S,S) and (R,R)-methyl ((2-hydroxynaphthalen-1-yl)(phenyl)methyl)-L-prolinate (MMZ-140C)**

Colorless solid. Yield 33%.  $R_f = 0.38$ ; Melting point: 119.5–120.5 °C;  $[\alpha]_D^{20} = 0.63$  (c 0.32, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 1.91–2.00 (m, 2H, CH), 2.01–2.10 (m, 1H, CH), 2.23–2.31 (m, 1H, CH), 2.60–2.67 (m, 1H, CH), 3.37–3.45 (m, 1H, CH), 3.43 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.60 (dd, 1H,  $J = 9.3, 4.7$  Hz, CHN), 5.45 (s, 1H, CHAr<sub>2</sub>), 7.20–7.30 (m, 5H, H<sub>Ar</sub>), 7.36–7.40 (m, 1H, H<sub>Ar</sub>), 7.59 (d, 1H,  $J = 7.1$  Hz, H<sub>Ar</sub>), 7.72 (d, 1H,  $J = 9.3$  Hz, H<sub>Ar</sub>), 7.73 (d, 1H,  $J = 9.0$  Hz, H<sub>Ar</sub>), 7.84 (d, 1H,  $J = 8.6$  Hz, H<sub>Ar</sub>), 13.22 (s, 1H, OH); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 24.4 (CH<sub>2</sub>), 30.9 (CH<sub>2</sub>), 38.9 (CH<sub>2</sub>Ar), 52.0 (OCH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>N), 63.2 (CHN, CHAr<sub>2</sub>), 116.3, 120.2, 121.1, 122.6, 126.5, 128.4, 128.6, 128.8, 129.0, 129.8, 130.0, 132.0, 139.7, 155.4 (C<sub>Ar</sub>), 174.3 (CO); elemental analysis: C<sub>23</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>3</sub> (361.44 g/mol) calculated: C% 76.43, H% 6.41, N% 3.88; found: C% 76.42, H% 6.67, N% 3.86.

**(S,S) and (R,R)-dimethyl ((2-hydroxynaphthalen-1-yl)(phenyl)methyl)-L-aspartate (MMZ-147B)**

Colorless solid. Yield 57%.  $R_f = 0.35$ ; Melting point: 153.0–154.5 °C;  $[\alpha]_D^{20} = 9.79$  (c 0.42, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 2.86–2.94 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.22 (d, 1H,  $J = 11.3$  Hz, NH), 3.66 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.67–3.73 (m, 1H, CHN), 3.81 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 5.93 (s, 1H, CHAr<sub>2</sub>), 7.16 (d, 1H,  $J = 8.9$  Hz, H<sub>Ar</sub>), 7.23–7.28 (m, 1H, H<sub>Ar</sub>), 7.29–7.35 (m, 3H, H<sub>Ar</sub>), 7.50 (d, 2H,  $J = 7.3$  Hz, H<sub>Ar</sub>), 7.65 (d, 1H,  $J = 8.6$  Hz, H<sub>Ar</sub>), 7.73 (d, 2H,  $J = 8.7$  Hz, H<sub>Ar</sub>), 12.33 (s, 1H, OH); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 37.5 (CH<sub>2</sub>), 52.1 (OCH<sub>3</sub>), 52.6 (OCH<sub>3</sub>), 55.5 (CHCO), 62.0 (CHAr<sub>2</sub>), 112.5, 120.0, 121.2, 122.7, 126.7, 128.0, 128.2, 128.7, 128.8, 129.1, 130.1, 132.9, 140.2, 156.6 (C<sub>Ar</sub>), 170.9 (CO), 173.0 (CO); elemental analysis: C<sub>23</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>5</sub> (393.44 g/mol) calculated: C% 70.21, H% 5.89, N% 3.56; found: C% 70.02, H% 5.96, N% 3.61.

**(S,R) and (R,S)-dimethyl ((2-hydroxynaphthalen-1-yl)(phenyl)methyl)-L-aspartate (MMZ-147C)**

Colorless solid. Yield 25%.  $R_f = 0.27$ ; Melting point: 119.5–121.0 °C;  $[\alpha]_D^{20} = -3.40$  (c 0.47, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 2.81–2.91 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.06 (bs, 1H, NH), 3.68 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.75 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.75–3.79 (m, 1H, CHN), 5.95 (s, 1H, CHAr<sub>2</sub>), 7.15 (d, 1H,  $J = 8.9$  Hz, H<sub>Ar</sub>), 7.23–7.26 (m, 2H, H<sub>Ar</sub>), 7.28–7.32 (m, 2H, H<sub>Ar</sub>), 7.35–7.39 (m, 1H, H<sub>Ar</sub>), 7.47 (d, 2H,  $J = 7.4$  Hz, H<sub>Ar</sub>), 7.70 (d, 1H,  $J = 8.9$  Hz, H<sub>Ar</sub>), 7.72 (d, 1H,  $J = 8.1$  Hz, H<sub>Ar</sub>), 7.78 (d, 1H,  $J = 8.7$  Hz, H<sub>Ar</sub>), 12.22 (s, 1H, OH); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 35.2 (CH<sub>2</sub>), 52.2 (OCH<sub>3</sub>), 52.7 (OCH<sub>3</sub>), 54.7 (CHCO), 59.9 (CHAr<sub>2</sub>), 114.2, 120.3, 121.1, 122.7, 126.6, 126.8, 126.9, 128.1, 128.2, 128.3, 128.8, 129.2, 129.3, 130.1, 132.2, 140.0, 156.1 (C<sub>Ar</sub>), 170.9 (CO), 172.2 (CO); elemental analysis: C<sub>23</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>5</sub> (393.44 g/mol) calculated: C% 70.21, H% 5.89, N% 3.56; found: C% 70.07, H% 5.92, N% 3.27.

**(S,S) and (R,R)-dimethyl ((2-hydroxynaphthalen-1-yl)(phenyl)methyl)-L-glutamate (MMZ-148B)**

Colorless solid. Yield 47%.  $R_f = 0.22$ ;  $[\alpha]_D^{20} = 27.88$  (c 0.52, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 2.01–2.15 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.44 (t, 1H,  $J = 7.6$  Hz, CH<sub>2</sub>CO), 2.75 (d, 1H,  $J = 12.0$  Hz, NH), 3.50–3.57 (m, 1H, CHN), 3.63 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.78 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 5.63 (s, 1H, CHAr<sub>2</sub>), 7.16 (d, 1H,  $J = 8.9$  Hz, H<sub>Ar</sub>), 7.21–7.27 (m, 2H, H<sub>Ar</sub>), 7.29–7.33 (m, 3H, H<sub>Ar</sub>), 7.44 (d, 2H,  $J = 7.4$  Hz, H<sub>Ar</sub>), 7.59 (d, 1H,  $J = 8.6$  Hz, H<sub>Ar</sub>), 7.74 (d, 2H,  $J = 8.7$  Hz, H<sub>Ar</sub>), 12.39 (s, 1H, OH); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 28.4 (CH<sub>2</sub>), 30.2 (CH<sub>2</sub>CO), 51.9 (OCH<sub>3</sub>), 52.5 (OCH<sub>3</sub>), 58.9 (CHCO), 61.9 (CHAr<sub>2</sub>), 112.4, 120.1, 121.1, 122.8, 126.8, 128.0, 128.4, 128.9, 129.0, 129.2, 130.2, 132.9, 140.4, 156.6 (C<sub>Ar</sub>), 172.8 (CO), 174.5 (CO); elemental analysis: C<sub>24</sub>H<sub>25</sub>NO<sub>5</sub> (407.47 g/mol) calculated: C% 70.75, H% 6.18, N% 3.44; found: C% 70.80, H% 6.18, N% 3.38.

**(S,R) and (R,S)-dimethyl ((2-hydroxynaphthalen-1-yl)(phenyl)methyl)-L-glutamate (MMZ-148C)**

Colorless oil. Yield 10%.  $R_f = 0.17$ ;  $[\alpha]_D^{20} = -15.64$  (c 0.36, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 0.04–2.17 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.41 (t, 1H,  $J = 7.5$  Hz, CH<sub>2</sub>CO), 2.77 (bs, 1H, NH), 3.37–3.43 (m, 1H, CHN), 3.63 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.76 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 5.87 (s, 1H, CHAr<sub>2</sub>), 7.15 (d, 1H,  $J = 8.9$  Hz, H<sub>Ar</sub>), 7.22–7.26 (m, 2H, H<sub>Ar</sub>), 7.28–7.32 (m, 2H, H<sub>Ar</sub>), 7.36–7.40 (m, 1H, H<sub>Ar</sub>), 7.49 (d, 2H,  $J = 7.3$  Hz, H<sub>Ar</sub>), 7.68 (d, 1H,  $J = 8.9$  Hz, H<sub>Ar</sub>), 7.71 (d, 1H,  $J = 8.0$  Hz, H<sub>Ar</sub>), 7.82 (d, 1H,  $J = 8.6$  Hz, H<sub>Ar</sub>), 12.31 (s, 1H, OH); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 27.3 (CH<sub>2</sub>), 30.1 (CH<sub>2</sub>CO), 51.9 (OCH<sub>3</sub>), 52.4 (OCH<sub>3</sub>), 57.1 (CHCO), 60.4 (CHAr<sub>2</sub>), 115.3, 129.3, 121.2, 122.8, 126.8, 128.3, 128.8, 128.9, 129.2, 130.1, 132.1, 140.0, 155.8 (C<sub>Ar</sub>), 172.8 (CO), 173.5 (CO); elemental analysis: C<sub>24</sub>H<sub>25</sub>NO<sub>5</sub> (407.47 g/mol) calculated: C% 70.75, H% 6.18, N% 3.44; found: C% 70.64, H% 6.19, N% 3.24.

**(S,S) and (R,R)-methyl ((2-hydroxynaphthalen-1-yl)(phenyl)methyl)-L-leucinate (MMZ-167C)**

Colorless solid. Yield 41%.  $R_f = 0.55$ ; Melting point: 92.5–93.5 °C;  $[\alpha]_D^{20} = 52.4$  (c 0.45, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 0.86 (d, 3H,  $J = 6.9$ , CH<sub>3</sub>), 0.88 (d, 3H,  $J = 7.0$ , CH<sub>3</sub>), 1.54–1.63 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 1.72–1.81 (m, 1H, CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 2.65 (d, 1H,  $J = 12.5$  Hz, NH), 3.49–3.55 (m, 1H, CHCO), 3.78 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 5.61 (s, 1H, CHAr<sub>2</sub>), 7.16 (d, 1H,  $J = 8.9$  Hz, H<sub>Ar</sub>), 7.22–7.25 (m, 2H, H<sub>Ar</sub>), 7.27–7.34 (m, 3H, H<sub>Ar</sub>), 7.42 (d, 2H,  $J = 7.4$  Hz, H<sub>Ar</sub>), 7.58 (d, 1H,  $J = 8.6$  Hz, H<sub>Ar</sub>), 7.72 (d, 1H,  $J = 8.9$  Hz, H<sub>Ar</sub>), 7.74 (d, 1H,  $J = 7.7$  Hz, H<sub>Ar</sub>), 12.49 (s, 1H, OH); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 22.5 (CH<sub>3</sub>), 22.7 (CH<sub>3</sub>), 25.1 (CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 43.2 (CH<sub>2</sub>), 52.2 (OCH<sub>3</sub>), 58.5 (CHCO), 61.8 (CHAr<sub>2</sub>), 112.7, 120.1, 121.2, 122.7, 126.7, 128.1, 128.3, 128.9, 129.0, 129.2, 130.2, 133.0, 140.7, 156.9 (C<sub>Ar</sub>), 175.8 (CO); elemental analysis: C<sub>24</sub>H<sub>27</sub>NO<sub>3</sub> (377.48 g/mol) calculated: C% 76.36, H% 7.21, N% 3.71; found: C% 76.30, H% 7.05, N% 3.60.

## 4.2. Biological Studies

### 4.2.1. Chemicals

Trypsin-EDTA and RPMI-164 were purchased from Biowest (CytoGen, Zgierz, Poland). Amino acids solution (MEM), acridine orange/ethidium bromide (AO/BE), buffered saline (PBS), 5-Fluorouracil, sodium chloride, penicillin-streptomycin solution stabilized, fetal

bovine serum (FBS), dimethyl sulfoxide (DMSO), and MTT 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,3-diphenyltetrazolium bromide were supplied by Merck/Sigma Aldrich Chemical Co (Burlington, MA, USA). FITC Annexin V Apoptosis Detection Kit I was purchased from B.D. Biosciences (Franklin Lakes, NJ, USA).

#### 4.2.2. Cell Culture

Cancer cell lines: BxPC-3 (pancreas adenocarcinoma, ATCC® CRL-1687™), and HT-29 (colorectal adenocarcinoma, ATCC® HTB-38™) and normal cell line—WI-38 (human lung fibroblasts, ATCC® CCL-75™) were obtained from American Type Culture Collection (ATCC, Rockville, MD, USA). BxPC-3 cells were grown in RPMI-1640 medium supplemented with 10% (v/v) FBS and 1% (v/v) of both antibiotics (streptomycin and penicillin). For the HT-29 cell line, RPMI-1640 medium supplemented with 10% (v/v) FBS and 1% (v/v) of both antibiotics and 1% MEM nonessential amino acids was used to ensure proper cell growth. WI-38 cells were grown in MEM medium supplemented with 10% (v/v) FBS, L-Glutamine, 25 mM HEPES, and 1% penicillin–streptomycin. MycoBlue™ Mycoplasma Detector kit (Vazyme Biotech, Nanjing, China) was used at least every month for the control of mycoplasma contamination in the cell cultures.

Cells were grown at 37 °C in a humidified atmosphere of 5% CO<sub>2</sub> in the air. The culture medium was changed every 24–48 h. Subculture was performed using 0.25% trypsin/EDTA after cells reached confluence.

#### 4.2.3. MTT Assay

The MTT assay, also known as the 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide assay, is a colorimetric assay used in biological and biomedical research to determine cell viability and proliferation. The MTT assay works on the assumption that live cells with active metabolism convert MTT into formazan crystals. These crystals are insoluble; however, they can be dissolved in an organic solvent such as DMSO to produce a colorful solution. The color intensity is proportional to the number of viable cells present in the culture.

BxPC-3, HT-29, and WI-38 cells were seeded on 96-well plates at a density of approximately  $8\text{--}10 \times 10^3$  cells per 100 µL medium/well. Cells were allowed to grow for 24 h in controlled conditions (37 °C; 5% CO<sub>2</sub>). Afterward, the cells were treated with MMZ compounds and 5-Fluorouracil (dissolved in sterile distilled water) in concentrations ranging from 5 to 400 µM (final concentration of DMSO was < 0.5% v/v) or IC<sub>50</sub> concentrations determined for cancer cell lines for respective time periods (24 or 72 h) and respective cancer cell lines for cell viability testing in WI-38 cells [54] in the culture medium for another 24 or 72 h. The experimental design included nontreated controls and blanks (wells without cells). Following 24 or 72 h of culture with the investigated compounds, 20 µL of MTT tetrazolium salt (5 mg/mL in PBS) was added to each well, and the plates were incubated for 3 h in a humidified environment (37 °C; 5% CO<sub>2</sub>). The solutions were withdrawn after incubation, and 100 µL of DMSO was added to dissolve the formazan complexes. Afterward, a spectrophotometer (microplate reader Power Wave XS BioTek Instruments, Inc., Winooski, VT, USA) reading at 570 nm was conducted. The experiments were carried out in duplicates.

GraphPad Prism 7 software was used to calculate the concentration of an MMZ compound reflecting a 50% growth inhibition (IC<sub>50</sub>). IC<sub>50</sub> is defined as a concentration of tested compound that leads to a reduction in cell pool viability by 50% compared to the negative control (accepted as 100%).

$$\% \text{ cell viability} = \frac{(\text{Absorbance value of treated cells} - \text{Absorbance value of blank})}{(\text{Absorbance value of untreated cells} - \text{Absorbance value of blank})} \times 100\%$$



#### 4.2.4. Dual Acridine Orange/Ethidium Bromide (AO/EB) Fluorescent Staining

BxPC-3 and HT-29 cells were plated at a density of  $5 \times 10^4$  cells per well in 12-well plates. After 24 h, the cells were treated with **MMZ-45AA** and **MMZ-140C** at concentrations corresponding to their  $IC_{50}$  values obtained from the MTT assay. The cells were exposed to the compounds for 72 h. Following the incubation period, the cells were treated with a mixture of fluorochromes (100  $\mu$ M AO/EB in a 1:1 ratio, v/v) for 5 min at 37 °C in the absence of light.

The staining technique allowed for the differentiation of viable, apoptotic, and necrotic cells based on their varying uptake of fluorescent DNA-binding dyes and the degree of chromatin condensation in the stained nuclei. A fluorescence microscope (Olympus BX60 F5, Olympus Optical Co., Ltd., Nagano, Japan) with an excitation wavelength of 360 nm was used to analyze the cells. The results were obtained from three independent experiments.

#### 4.2.5. Annexin V-FITC and Propidium Iodide Flow Cytometry Analysis

The Annexin V-FITC Apoptosis Detection Kit was utilized to assess the induction of apoptosis following 72 h incubation with the tested **MMZ** compounds. BxPC-3 and HT-29 cells were plated at a density of  $4 \times 10^5$  cells in 6-well plates. After 24 h, the cells were exposed to  $IC_{50}$  concentrations of **MMZ-45AA** and **MMZ-140C**, determined in the MTT assay. The experimental setup included a vehicle control with a final solvent concentration of less than 0.5% v/v DMSO, and cells treated with 2  $\mu$ M SN-38 (the active metabolite of irinotecan) as a positive control. The cells were then incubated for an additional 72 h at 37 °C with 5% CO<sub>2</sub>.

Following the exposure period, the cells were trypsinized, transferred to cytometric tubes, and allowed to incubate for 40 min. Subsequently, they were centrifuged at 1400 rpm for 10 min at 4 °C. The supernatant was then removed, and the cell pellet was diluted in 1 mL PBS. The remaining steps were carried out according to the instructions provided by the manufacturer of the Annexin V-FITC Apoptosis Detection Kit. The results reported in this study were obtained from three independent experiments.

### 4.3. Computational Analysis

#### 4.3.1. Drug-Likeness and ADMET

The Swiss-ADME web tool (<http://www.swissadme.ch>) [34], pkCSM (<https://bicsig.lab.uq.edu.au/pkcsml/>) [33], PreADMET (<https://preadmet.webservice.bmdrc.org/>), and Protox-II ([http://tox.charite.de/protox\\_II](http://tox.charite.de/protox_II)) [44,45] online servers (accessed on 26 February 2023) were used to estimate critical physicochemical, pharmacological, toxicological, and drug-likeness properties of tested **MMZ** compounds.

#### 4.3.2. DFT Calculations

DFT calculations were performed using Jaguar v11.5 module in Schrödinger to predict the chemical reactivity of the molecules. Hybrid DFT with Becke's three-parameter exchange potential and Lee-Yang-Parr correlation functional (B3LYP), using basis set 6-31G++\*\* level was used to optimize the structures. All DFT calculations were performed in an aqueous environment using PBE. Calculations such as HOMO, LUMO, and MESP were performed.

#### 4.3.3. Molecular Target Prediction

SwissTargetPrediction web server (<http://www.swisstargetprediction.ch/>) [50,51] and SuperPred 3.0 webserver ([https://prediction.charite.de/subpages/target\\_prediction.php](https://prediction.charite.de/subpages/target_prediction.php)) [55] were used to fetch possible molecular targets for **MMZ** compounds in the molecular docking studies that followed. The databases were accessed on 26 February 2023.

#### 4.3.4. Molecular Docking

Molecular docking analysis was performed in an attempt to explore the potential inhibitory effects of compounds **MMZ-33**, **MMZ-39**, **MMZ-45**, **MMZ-140**, **MMZ-147**, and

**MMZ-167** on the selected anticancer drug targets. **MMZ** compounds were docked against the anticancer drug targets predicted by the SwissTargetPrediction and SuperPred 3 web-servers. The proposed ligands were sketched in ChemDraw 12.0 software and their three-dimensional structure was obtained following energy minimization using an MM2 force field. To obtain the ligands ready for molecular docking simulation, we used AutoDock Tools (The Scripps Research Institute, La Jolla, CA, USA) to find aromatic carbons and rotatable bonds, configure the automated torsion number, margin nonpolar hydrogens, and add Gasteiger charges.

The PDB codes for the downloaded proteins were obtained from PDB <https://www.rcsb.org/> (accessed on 26 February 2023). Using AutoDockTools, the macromolecules were assigned autdock atom type (AD4), and the Gasteiger charge was added and distributed along the macromolecule. The structures were saved in PDBQT file format.

The grid box values were adjusted following the docking of reference ligands already complexed in the PDB structure after thorough observation of the drug's conformational poses. The grid parameters for each enzyme were saved in a grid parameter file (GPF). The Autogrid utility from the Autodock suite was used to create the additional map files required for running the molecular docking simulations (Table 6).

**Table 6.** The coordinates of the grid boxes used in the docking studies of **MMZ** compounds to currently investigated anticancer drug targets together with their PDB codes.

| Drug Target | PDB Code | x-D | y-D | z-D | Spacing (Å) | x Center | y Center | z Center |
|-------------|----------|-----|-----|-----|-------------|----------|----------|----------|
| AKT1        | 6CCY     | 40  | 50  | 48  | 0.425       | −9.801   | 15.312   | −31.398  |
| AURKB       | 4AF3     | 40  | 50  | 40  | 0.408       | 21.226   | −21.921  | −10.221  |
| CDK1        | 6GU6     | 40  | 40  | 40  | 0.469       | 23.159   | 21.848   | −2.268   |
| CDK2        | 2FVD     | 40  | 40  | 40  | 0.397       | 1.231    | 28.133   | 8.792    |
| EGFR        | 7VRA     | 40  | 40  | 40  | 0.397       | 50.153   | 1.467    | −19.629  |
| FGFR        | 5AM6     | 40  | 40  | 48  | 0.392       | 217.536  | −7.806   | 24.459   |
| FLT3        | 4RT7     | 40  | 50  | 48  | 0.425       | −38.825  | 11.685   | −15.423  |
| JAK2        | 2B7A     | 40  | 40  | 40  | 0.419       | 114.221  | 64.945   | 10.271   |
| JAK3        | 3PIC     | 40  | 50  | 40  | 0.403       | 8.857    | −5.345   | 10.707   |
| PLK1        | 3FC2     | 40  | 50  | 40  | 0.431       | 47.588   | −5.939   | 9.028    |
| PRKQ        | 4Q9Z     | 40  | 50  | 40  | 0.408       | 21.315   | −8.295   | −8.006   |
| RIPK2       | 5W5O     | 40  | 50  | 48  | 0.431       | −1.027   | 16.243   | 94.25    |
| ADORA1      | 6D9H     | 40  | 50  | 48  | 0.419       | 92.16    | 120.297  | 92.496   |
| BACE1       | 4IVT     | 40  | 50  | 40  | 0.414       | 22.376   | 22.871   | 0.873    |
| BACE2       | 2EWY     | 40  | 40  | 40  | 0.442       | 106.825  | 24.801   | 2.867    |
| LTA4H       | 5N3W     | 40  | 50  | 48  | 0.431       | 11.962   | −1.41    | 0.812    |
| CAPN1       | 2NQG     | 40  | 40  | 40  | 0.419       | 13.64    | 8.089    | −21.839  |
| MMP16       | 1RM8     | 40  | 40  | 40  | 0.431       | 0.381    | 3.249    | 48.361   |
| PDE2A       | 5U7D     | 40  | 50  | 48  | 0.408       | 14.119   | 6.752    | 19.46    |
| PDE5        | 2H42     | 40  | 40  | 40  | 0.408       | 30.79    | 119.342  | 11.038   |
| PDE4B       | 4KP6     | 40  | 50  | 40  | 0.386       | −41.761  | 91.222   | 114.399  |
| PDE7A       | 4PM0     | 40  | 50  | 40  | 0.403       | −45.444  | 25.125   | 1.399    |
| PDE10A      | 3WI2     | 40  | 50  | 40  | 0.414       | 20.523   | 3.048    | 58.144   |
| HSD17B2     | 3HB4     | 40  | 42  | 40  | 0.408       | 11.394   | 6.482    | −10.657  |
| IDH1        | 5LGE     | 40  | 42  | 40  | 0.392       | −29.141  | −99.881  | 25.215   |
| LDHA        | 6MV8     | 40  | 40  | 40  | 0.414       | 40.266   | 14.748   | 27.266   |
| CYP11B1     | 6MTX     | 40  | 40  | 40  | 0.397       | 51.53    | −45.46   | −6.116   |
| CYP11B2     | 4ZGX     | 40  | 42  | 40  | 0.419       | 60.088   | −54.484  | 115.987  |
| STAT3       | 6NUQ     | 44  | 60  | 44  | 0.403       | 13.619   | 54.024   | −0.083   |
| SMARCA2     | 5DKH     | 40  | 42  | 40  | 0.386       | −12.258  | 38.92    | 7.45     |
| UQCRL       | 5NMI     | 40  | 40  | 40  | 0.403       | 39.838   | 15.607   | 1.039    |
| MCL1        | 5FDR     | 40  | 42  | 40  | 0.403       | 37.551   | 1.085    | 19.468   |
| APE1        | 6BOW     | 66  | 66  | 66  | 0.731       | 9.292    | −30.663  | −0.237   |
| BCHE        | 5LKR     | 40  | 42  | 40  | 0.408       | −41.505  | 50.849   | −12.665  |
| CSAR        | 6C1R     | 40  | 40  | 40  | 0.403       | 12.846   | 1.777    | −45.271  |
| CAPN1       | 1ZCM     | 40  | 40  | 40  | 0.386       | −21.825  | 5.536    | 34.882   |
| CHRM4       | 5DSG     | 40  | 42  | 40  | 0.392       | 50.41    | 8.435    | 63.576   |
| CHRM5       | 6OL9     | 40  | 40  | 40  | 0.431       | 35.173   | 23.793   | −40.677  |
| CHRNA4      | 6UR8     | 40  | 40  | 40  | 0.403       | 124.113  | 145.382  | 189.741  |
| CK          | 6TLS     | 44  | 44  | 44  | 0.403       | 77.273   | 7.948    | 21.258   |

Table 6. Cont.

| Drug Target | PDB Code | x-D | y-D | z-D | Spacing (Å) | x Center | y Center | z Center |
|-------------|----------|-----|-----|-----|-------------|----------|----------|----------|
| CLK4        | 6FYV     | 40  | 40  | 40  | 0.414       | −28.205  | 22.947   | −18.2    |
| COX2        | 5F19     | 40  | 42  | 40  | 0.436       | 27.852   | 30.441   | 63.17    |
| CPAR        | 6C1R     | 40  | 40  | 40  | 0.403       | 12.846   | 1.777    | −45.271  |
| CPSD        | 4OD9     | 44  | 44  | 44  | 0.408       | −3.204   | 12.697   | −34.841  |
| CYP3A4      | 5VCC     | 40  | 40  | 40  | 0.425       | −23.77   | −27.5    | −11.384  |
| DUSP3       | 3F81     | 40  | 42  | 40  | 0.397       | −0.908   | 0.681    | −6.463   |
| FPR2        | 6OMM     | 40  | 40  | 40  | 0.486       | 116.151  | 131.184  | 111.263  |
| GLUT1       | 6THA     | 40  | 40  | 40  | 0.392       | 18.054   | 59.12    | 11.134   |
| GNAI1       | 6N4B     | 40  | 40  | 40  | 0.397       | 92.223   | 131.93   | 120.478  |
| HADH2       | 2OZ3     | 40  | 42  | 40  | 0.414       | 19.88    | 13.935   | −12.26   |
| HERG        | 5VA1     | 100 | 82  | 108 | 1.000       | 93.575   | 57.237   | 60.469   |
| MDM4        | 6Q9Y     | 40  | 40  | 40  | 0.392       | −5.108   | 10.302   | −14.609  |
| NFKB1       | 1SVC     | 48  | 58  | 58  | 0.394       | 28.358   | 17.443   | 43.771   |
| NRLA1       | 3ILZ     | 40  | 42  | 40  | 0.425       | 28.128   | 38.913   | 32.411   |
| NR1H2       | 6TH      | 40  | 40  | 40  | 0.403       | 51.713   | 36.805   | 15.99    |
| PRCP        | 3NZZ     | 80  | 84  | 96  | 0.686       | 51.603   | 32.164   | 72.575   |
| PSMA2       | 6KWY     | 40  | 40  | 40  | 0.436       | 238.36   | 189.562  | 104.143  |
| SLC1A3      | 5LM4     | 40  | 42  | 40  | 0.397       | −476.806 | 301.433  | 12.118   |
| TDP1        | 6N6D     | 40  | 40  | 40  | 0.392       | 8.387    | −14.555  | −34.733  |
| TRIM24      | 4YBM     | 44  | 44  | 44  | 0.347       | 36.436   | −18.263  | −32.015  |

#### 4.3.5. Molecular Dynamics

MD simulation is a complex structural analysis that provides copious dynamical structural evidence of biomacromolecules. It reveals the affluence of valuable information related to the thermodynamic stability of protein and ligand complex with time. Dynamic structural behavior of the macromolecule is imperative to expose the structure–function relationship of the macromolecular target. The observed protein–ligand interactions during the MD simulation play a vital role in the drug design and discovery process. Thus, MD simulations have been an essential and widely used method imparting successful implementation of each step involved in modern drug discovery.

Based upon the observed docking results, pharmacokinetic and toxicity profiling of the MMZ compounds, the macromolecular complex of compound MMZ-45 against nuclear factor-kappa B1 (NF-KB1), ADORA1, CDK1, CDK2, polo-like kinase 1 (PLK1), TRIM24, and casein kinase 2 (CK2) were shortlisted to execute MD simulation analysis. A total of ten MD simulations were performed for the shortlisted macromolecular complexes by using Schrödinger's Desmond module with GPU acceleration. The macromolecular complex was prepared and parameterized by using the OPLS45 force field. The generated system was neutralized and solvated by adding sodium and chloride ions and suspending it in an orthorhombic box of TIP3P water molecules so that all atoms were within 8 Å of the box edges. A 2000-step partial minimization was performed, while applying a 1000-step restraint potential of 500 Kcal/mol, using the steepest descent method followed by 1000 steps of conjugate gradients. Furthermore, 1000 steps of full minimization were executed using a conjugate gradient algorithm without restraint. A heating MD simulation from 0 to 300 K was gradually carried out by maintaining a fixed number of atoms and volume.

#### 4.3.6. Prime MM-GBSA Calculations

The Prime MM-GBSA module of Schrödinger is used to evaluate the binding free energies for the protein–ligand complexes. The protein–ligand complexes are minimized using an optimized potential liquid solvation–all atom (OPLS-AA) force field and generalized Born/Surface (GB/SA) continuum solvent model. The free energy of binding for the protein–ligand complexes is estimated using the following formula.

$$\Delta G_{\text{bind}} = G_{\text{complex}} - (G_{\text{protein}} + G_{\text{ligand}})$$

$$G = \text{EMM} + \text{GSGB} + \text{GNP}$$



The energies of the complex, protein, and unbound ligand are represented as  $G_{\text{complex}}$ ,  $G_{\text{protein}}$ , and  $G_{\text{ligand}}$ , respectively. The molecular mechanic's energies (EMM), in addition to SGB polar solvation model (GSGS), and nonpolar solvation (GNP) are together represented as  $G$ .

**Supplementary Materials:** The following supporting information can be downloaded at: <https://www.mdpi.com/article/10.3390/molecules28207230/s1>. Figure S1.  $^1\text{H}$  NMR spectra of (S,S) and (R,R)-methyl ((2-hydroxynaphthalen-1-yl)(phenyl)methyl)-D-valinate (MMZ-33D). Figure S2.  $^1\text{H}$  NMR spectra of (S,S) and (R,R)-methyl ((4-chlorophenyl)(2-hydroxynaphthalen-1-yl)methyl)-D-valinate (MMZ-39AA). Figure S4.  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR spectra of (S,R) and (R,S)-methyl ((2-hydroxynaphthalen-1-yl)(phenyl)methyl)-L-phenylalaninate (MMZ-45B). Figure S5.  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR spectra of (S,S) and (R,R)-methyl ((2-hydroxynaphthalen-1-yl)(phenyl)methyl)-L-prolinate (MMZ-140C). Figure S6.  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR spectra of (S,S) and (R,R)-dimethyl ((2-hydroxynaphthalen-1-yl)(phenyl)methyl)-L-aspartate (MMZ-147B). Figure S7.  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR spectra of (S,R) and (R,S)-dimethyl ((2-hydroxynaphthalen-1-yl)(phenyl)methyl)-L-aspartate (MMZ-147C). Figure S8.  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR spectra of (S,S) and (R,R)-dimethyl ((2-hydroxynaphthalen-1-yl)(phenyl)methyl)-L-glutamate (MMZ-148B). Figure S9.  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR spectra of (S,R) and (R,S)-dimethyl ((2-hydroxynaphthalen-1-yl)(phenyl)methyl)-L-glutamate (MMZ-148C). Figure S10.  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR spectra of (S,S) and (R,R)-methyl ((2-hydroxynaphthalen-1-yl)(phenyl)methyl)-L-leucinate (MMZ-167C). Figure S11. HOMO and LUMO distribution profile of the compounds. (A) MMZ-33, (B) MMZ-39, (C) MMZ-45, (D) MMZ-140, (E) MMZ-147, (F) MMZ-148, (G) MMZ-167. Table S1. Results of 24-h and 72-h MTT assay.  $\text{IC}_{50}$  values from two independent experiments ( $\text{IC}_{50(1)}$  and  $\text{IC}_{50(2)}$ ) with corresponding coefficients of determination ( $R^2$ ), 95% confidence interval (95%CI) values and calculated mean  $\text{IC}_{50}$  values  $\pm$  SD. Table S2. The predicted molecular targets MMZ compounds using SuperPred 3.0 webserver. Table S3. Molecular docking results of Betti reaction products (MMZ-compounds) as well as all the reference ligands.

**Author Contributions:** Conceptualization, M.K. and M.M.; supervision, A.Z., R.K. and R.K.; writing—original draft, M.K., M.M., A.G., R.S. and S.M.; writing—review and editing, M.K., M.M., A.G. and R.S. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** This research was funded from the InterChemMed grant (WND-POWR.03.02.00-00-1029/16-01).

**Institutional Review Board Statement:** Not applicable.

**Informed Consent Statement:** Not applicable.

**Data Availability Statement:** The data presented in this study are available in the main text of this article/Supplementary Materials of this article or on request from the corresponding author.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

**Sample Availability:** Not available.

## Abbreviations

|        |                                                               |
|--------|---------------------------------------------------------------|
| ADMET  | absorption, distribution, metabolism, excretion, and toxicity |
| ADORA1 | adenosine A1 receptor                                         |
| AKT    | protein kinase B                                              |
| AO     | acridine orange                                               |
| ARE    | antioxidant response element                                  |
| ATAD5  | ATPase family AAA domain-containing protein 5                 |
| BBB    | blood–brain barrier                                           |
| CADD   | computer-assisted drug design                                 |
| CDK2   | cyclin-dependent kinase 2                                     |
| CYP    | cytochrome P                                                  |
| DFT    | density functional theory                                     |
| DMSO   | dimethyl sulfoxide                                            |
| EB     | ethidium bromide                                              |
| EMM    | molecular mechanic energies                                   |

|               |                                                                               |
|---------------|-------------------------------------------------------------------------------|
| ERK           | extracellular signal-regulated kinase                                         |
| FBS           | fetal bovine serum                                                            |
| FITC          | fluorescein isothiocyanate                                                    |
| GB/SA         | generalized Born/Surface                                                      |
| GI            | gastrointestinal                                                              |
| GNP           | nonpolar solvation                                                            |
| GPF           | grid parameter file                                                           |
| GSCB          | SCB polar solvation model                                                     |
| GSK-3 $\beta$ | glycogen synthase kinase-3 beta                                               |
| Herg          | ether-a-go-go-related gene                                                    |
| HLG           | HOMO-LUMO energy gap                                                          |
| HOMO          | highest occupied molecular orbital                                            |
| HSE           | heat shock response                                                           |
| JNK           | c-Jun N-terminal kinase                                                       |
| LQTS          | long QT syndrome                                                              |
| LUMO          | lowest occupied molecular orbital                                             |
| MCR           | multicomponent reactions                                                      |
| MDR           | multidrug resistance                                                          |
| MESP          | molecular electrostatic potential                                             |
| MMP           | mitochondrial membrane potential                                              |
| NF-KB1        | nuclear factor-kappa B1                                                       |
| OPLS-AA       | optimized potential liquid solvation-all atom                                 |
| PBS           | buffered saline                                                               |
| PDB           | protein data bank                                                             |
| P-gp          | P-glycoprotein                                                                |
| PI            | propidium iodide                                                              |
| PI3K          | phosphatidylinositol 3-kinase                                                 |
| PLK1          | polo-like kinase 1                                                            |
| RMSD          | root-mean-square deviation                                                    |
| RMSF          | root-mean-square fluctuation                                                  |
| SLC6A14       | sodium- and chloride-dependent neutral and basic amino acid transporter B(0+) |
| TP53          | cellular tumor antigen p53                                                    |
| TRIM24        | transcription intermediary factor 1-alpha                                     |

## References

- Olgen, S. Overview on Anticancer Drug Design and Development. *Curr. Med. Chem.* **2018**, *25*, 1704–1719. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Stewart, D.J.; Stewart, A.A.; Wheatley-Price, P.; Batist, G.; Kantarjian, H.M.; Schiller, J.; Clemons, M.; Bradford, J.-P.; Gillespie, L.; Kurzrock, R. The Importance of Greater Speed in Drug Development for Advanced Malignancies. *Cancer Med.* **2018**, *7*, 1824–1836. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Connors, T. Anticancer Drug Development: The Way Forward. *Oncologist* **1996**, *1*, 180–181. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Ali, R.; Mirza, Z.; Ashraf, G.M.D.; Kamal, M.A.; Ansari, S.A.; Damanhour, G.A.; Abuzenadah, A.M.; Chaudhary, A.G.; Sheikh, I.A. New Anticancer Agents: Recent Developments in Tumor Therapy. *Anticancer Res.* **2012**, *32*, 2999–3005.
- Geromichalos, G.D. Importance of Molecular Computer Modeling in Anticancer Drug Development. *J. BUON Off. J. Balk. Union Oncol.* **2007**, *12* (Suppl. S1), S101–S118.
- Garofalo, M.; Grazioso, G.; Cavalli, A.; Sgrignani, J. How Computational Chemistry and Drug Delivery Techniques Can Support the Development of New Anticancer Drugs. *Molecules* **2020**, *25*, 1756. [\[CrossRef\]](#)
- Baig, M.H.; Ahmad, K.; Rabbani, G.; Danishuddin, M.; Choi, I. Computer Aided Drug Design and Its Application to the Development of Potential Drugs for Neurodegenerative Disorders. *Curr. Neuropharmacol.* **2018**, *16*, 740–748. [\[CrossRef\]](#)
- Geromichalos, G.D.; Aliferis, C.E.; Geromichalou, E.G.; Trafalis, D.T. Overview on the Current Status on Virtual High-Throughput Screening and Combinatorial Chemistry Approaches in Multi-Target Anticancer Drug Discovery; Part II. *J. BUON Off. J. Balk. Union Oncol.* **2016**, *21*, 1337–1358.
- Cui, W.; Aouidate, A.; Wang, S.; Yu, Q.; Li, Y.; Yuan, S. Discovering Anti-Cancer Drugs via Computational Methods. *Front. Pharmacol.* **2020**, *11*, 733. [\[CrossRef\]](#)
- Mohanram, I.; Meshram, J. Synthesis and Biological Activities of 4-Aminoantipyrene Derivatives Derived from Bettis-Type Reaction. *ISRN Org. Chem.* **2014**, *2014*, 639392. [\[CrossRef\]](#)
- Cardellìchio, C.; Capozzi, M.A.M.; Naso, F. The Betti Base: The Awakening of a Sleeping Beauty. *Tetrahedron Asymmetry* **2010**, *21*, 507–517. [\[CrossRef\]](#)



12. Cardellicchio, C.; Ciccarella, G.; Naso, F.; Schingaro, E.; Scordari, F. The Betti Base: Absolute Configuration and Routes to a Family of Related Chiral Nonracemic Bases. *Tetrahedron Asymmetry* **1998**, *9*, 3667–3675. [\[CrossRef\]](#)
13. Adrián, P.; Alexis, R.G.; Roderick, A.; Kaylie, D.; Miguel, X.F.; Giovanna, B.; José, M.P. Naphthol-Derived Betti Bases as Potential SLC6A14 Blockers. *J. Mol. Clin. Med.* **2019**, *2*, 35–40. [\[CrossRef\]](#)
14. Capozzi, M.A.M.; Capitelli, F.; Bottoni, A.; Calvaresi, M.; Cardellicchio, C. Stacked Naphthyls and Weak Hydrogen-Bond Interactions Govern the Conformational Behavior of P-Resolved Cyclic Phosphonamides: A Combined Experimental and Computational Study. *J. Org. Chem.* **2014**, *79*, 11101–11109. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
15. Capozzi, M.A.M.; Cardellicchio, C.; Magaletti, A.; Bevilacqua, A.; Perricone, M.; Corbo, M.R. Bioactivity of a Family of Chiral Nonracemic Aminobenzylnaphthols towards *Candida Albicans*. *Molecules* **2014**, *19*, 5219–5230. [\[CrossRef\]](#)
16. Yellapurkar, I.; Shaikh, S.; Pavale, G.; Bhabal, S.; Ramana, M.M.V. Kaolin-Catalysed One-Pot Synthesis of Thiophene Containing Aminonaphthols under Solvent-Free Condition and Their in Vitro Anticancer and Antioxidant Activity. *Res. Chem. Intermed.* **2021**, *47*, 4067–4082. [\[CrossRef\]](#)
17. Gyémánt, N.; Engli, H.; Schelz, Z.; Szatmári, I.; Tóth, D.; Fülöp, F.; Molnár, J.; de Witte, P.A.M. In Vitro and in Vivo Multidrug Resistance Reversal Activity by a Betti-Base Derivative of Tylosin. *Br. J. Cancer* **2010**, *103*, 178–185. [\[CrossRef\]](#)
18. Nagaraju, B.; Kovvuri, J.; Kumar, C.G.; Routhu, S.R.; Shareef, M.A.; Kadagathur, M.; Adiyala, P.R.; Alavala, S.; Nagesh, N.; Kamal, A. Synthesis and Biological Evaluation of Pyrazole Linked Benzothiazole- $\beta$ -Naphthol Derivatives as Topoisomerase I Inhibitors with DNA Binding Ability. *Bioorg. Med. Chem.* **2019**, *27*, 708–720. [\[CrossRef\]](#)
19. Mallamaci, R.; Capozzi, M.A.M.; Cardellicchio, C. Antiproliferative Activity of Aminobenzylnaphthols Deriving from the Betti Reaction. *Appl. Sci.* **2022**, *12*, 7779. [\[CrossRef\]](#)
20. Lee, D.-Y.; Lin, H.-Y.; Ramasamy, M.; Kuo, S.-C.; Lee, P.-C.; Hsieh, M.-T. Synthesis and Characterization of the Ethylene-Carbonate-Linked L-Valine Derivatives of 4,4-Dimethylcurcumin with Potential Anticancer Activities. *Molecules* **2021**, *26*, 7050. [\[CrossRef\]](#)
21. Viswanathan, A.; Sebastianelli, G.; Brown, K.; Raunio, J.; Sipilä, V.; Yli-Harja, O.; Candeias, N.R.; Kandhavelu, M. In Vitro Anti-Glioblastoma Activity of L-Valine Derived Boroxazolidones. *Eur. J. Pharmacol.* **2019**, *854*, 194–200. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
22. Cimarelli, C.; Mazzanti, A.; Palmieri, G.; Volpinì, E. Solvent-Free Asymmetric Aminoalkylation of Electron-Rich Aromatic Compounds: Stereoselective Synthesis of Aminoalkynaphthols by Crystallization-Induced Asymmetric Transformation. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 4759–4765. [\[CrossRef\]](#)
23. Schichl, D.A.; Enthaler, S.; Holla, W.; Riermeier, T.; Kragl, U.; Beller, M. Dynamic Kinetic Resolution of  $\alpha$ -Amino Acid Esters in the Presence of Aldelydes. *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, *2008*, 3506–3512. [\[CrossRef\]](#)
24. Cardellicchio, C.; Capozzi, M.A.M.; Alvarez-Larena, A.; Piniella, J.F.; Capitelli, F. Investigation on the Weak Interactions Assembling the Crystal Structures of Betti Bases. *CrystEngComm* **2012**, *14*, 3972–3981. [\[CrossRef\]](#)
25. Capozzi, M.A.M.; Cardellicchio, C. (S,S)-1-(Phenyl((1'-4-Nitrophenyl-Ethyl)Amino)Methyl)-2-Naphthol. *Molbank* **2022**, *2022*, M1522. [\[CrossRef\]](#)
26. Vodenkova, S.; Buchler, T.; Cervena, K.; Veskmova, V.; Vodicka, P.; Vymetalkova, V. 5-Fluorouracil and Other Fluoropyrimidines in Colorectal Cancer: Past, Present and Future. *Pharmacol. Ther.* **2020**, *206*, 107447. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
27. Isacoff, W.H.; Reber, H.A.; Bedford, R.; Hoos, W.; Rahib, L.; Upfill-Brown, A.; Donahue, T.; Hines, O.J. Low-Dose Continuous 5-Fluorouracil Combined with Leucovorin, Nab-Paclitaxel, Oxaliplatin, and Bevacizumab for Patients with Advanced Pancreatic Cancer: A Retrospective Analysis. *Target. Oncol.* **2018**, *13*, 461–468. [\[CrossRef\]](#)
28. Wang, W.-B.; Yang, Y.; Zhao, Y.-P.; Zhang, T.-P.; Liao, Q.; Shu, H. Recent Studies of 5-Fluorouracil Resistance in Pancreatic Cancer. *World J. Gastroenterol. WJG* **2014**, *20*, 15682–15690. [\[CrossRef\]](#)
29. Kasibhatla, S.; Amarante-Mendes, G.P.; Finucane, D.; Brunner, T.; Bossy-Wetzel, E.; Green, D.R. Acridine Orange/Ethidium Bromide (AO/EB) Staining to Detect Apoptosis. *CSH Protoc.* **2006**, *2006*, 4493. [\[CrossRef\]](#)
30. Wlodkowic, D.; Skommer, J.; Darzynkiewicz, Z. Flow Cytometry-Based Apoptosis Detection. In *Apoptosis Methods in Molecular Biology*; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, 2009; Volume 559. [\[CrossRef\]](#)
31. Guan, L.; Yang, H.; Cai, Y.; Sun, L.; Di, P.; Li, W.; Liu, G.; Tang, Y. ADMET-Score—A Comprehensive Scoring Function for Evaluation of Chemical Drug-Likeness. *MolChemComm* **2018**, *10*, 148–157. [\[CrossRef\]](#)
32. Agoni, C.; Olotu, F.A.; Ramharack, P.; Soliman, M.E. Druggability and Drug-Likeness Concepts in Drug Design: Are Biomodelling and Predictive Tools Having Their Say? *J. Mol. Model.* **2020**, *26*, 120. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
33. Pires, D.E.V.; Blundell, T.L.; Ascher, D.B. pkCSM: Predicting Small-Molecule Pharmacokinetic and Toxicity Properties Using Graph-Based Signatures. *J. Mol. Chem.* **2015**, *58*, 4066–4072. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
34. Daina, A.; Michielin, O.; Zoete, V. SwissADME: A Free Web Tool to Evaluate Pharmacokinetics, Drug-Likeness and Medicinal Chemistry Friendliness of Small Molecules. *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 42717. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
35. Kovačević, S.Z.; Jevrić, L.R.; Podunavac Kuzmanović, S.O.; Lončar, E.S. Prediction of In-Silico ADME Properties of 1,2-O-Isopropylidene Aldohexose Derivatives. *Iran. J. Pharm. Res. IJPR* **2014**, *13*, 899–907.
36. Zhao, M.; Ma, J.; Li, M.; Zhang, Y.; Jiang, B.; Zhao, X.; Huai, C.; Shen, L.; Zhang, N.; He, L.; et al. Cytochrome P450 Enzymes and Drug Metabolism in Humans. *Int. J. Mol. Sci.* **2021**, *22*, 12808. [\[CrossRef\]](#)
37. Bernacki, J.; Dobrowolska, A.; Nierwińska, K.; Malecki, A. Physiology and Pharmacological Role of the Blood-Brain Barrier. *Pharmacol. Rep. PR* **2008**, *60*, 600–622.
38. Gupta, M.; Lee, H.J.; Barden, C.J.; Weaver, D.F. The Blood-Brain Barrier (BBB) Score. *J. Med. Chem.* **2019**, *62*, 9824–9836. [\[CrossRef\]](#)

39. Li, Y.; Yuan, H.; Yang, K.; Xu, W.; Tang, W.; Li, X. The Structure and Functions of P-Glycoprotein. *Curr. Med. Chem.* **2010**, *17*, 786–800. [\[CrossRef\]](#)
40. Vijay, U.; Gupta, S.; Mathur, P.; Suravajhala, P.; Bhatnagar, P. Microbial Mutagenicity Assay: Ames Test. *Bio-Protocol* **2018**, *8*, e2763. [\[CrossRef\]](#)
41. Lee, H.-M.; Yu, M.-S.; Kazmi, S.R.; Oh, S.Y.; Rhee, K.-H.; Bae, M.-A.; Lee, B.H.; Shin, D.-S.; Oh, K.-S.; Ceong, H.; et al. Computational Determination of hERG-Related Cardiotoxicity of Drug Candidates. *BMC Bioinform.* **2019**, *20*, 250. [\[CrossRef\]](#)
42. Vernet, L.A.; Vogt, A.; Gough, A.; Taylor, D.L. Evolution of Experimental Models of the Liver to Predict Human Drug Hepatotoxicity and Efficacy. *Clin. Liver Dis.* **2017**, *21*, 197–214. [\[CrossRef\]](#)
43. Ballet, F. Hepatotoxicity in Drug Development: Detection, Significance and Solutions. *J. Hepatol.* **1997**, *26* (Suppl. 2), 26–36. [\[CrossRef\]](#)
44. Banerjee, P.; Eckert, A.O.; Schrey, A.K.; Preissner, R. ProTox-II: A Webserver for the Prediction of Toxicity of Chemicals. *Nucleic Acids Res.* **2018**, *46*, W257–W263. [\[CrossRef\]](#)
45. Drwal, M.N.; Banerjee, P.; Dunkel, M.; Wettig, M.R.; Preissner, R. ProTox: A Web Server for the In Silico Prediction of Rodent Oral Toxicity. *Nucleic Acids Res.* **2014**, *42*, W53–W58. [\[CrossRef\]](#)
46. Descotes, J. Immunotoxicology: Role in the Safety Assessment of Drugs. *Drug Saf.* **2005**, *28*, 127–136. [\[CrossRef\]](#)
47. Amati, M.; Stola, S.; Baerends, E.J. The Electron Affinity as the Highest Occupied Anion Orbital Energy with a Sufficiently Accurate Approximation of the Exact Kohn-Sham Potential. *J. Chem. Theory Comput.* **2020**, *16*, 443–452. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
48. Curpín, R.; Avram, S.; Vianello, R.; Bologna, C. Exploring the Biological Promiscuity of High-Throughput Screening Hits through DFT Calculations. *Bioorg. Med. Chem.* **2014**, *22*, 2461–2468. [\[CrossRef\]](#)
49. Ye, N.; Yang, Z.; Liu, Y. Applications of Density Functional Theory in COVID-19 Drug Modeling. *Drug Discov. Today* **2022**, *27*, 1411–1419. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
50. Daina, A.; Michielin, O.; Zoete, V. SwissTargetPrediction: Updated Data and New Features for Efficient Prediction of Protein Targets of Small Molecules. *Nucleic Acids Res.* **2019**, *47*, W357–W364. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
51. Gfeller, D.; Grosdidier, A.; Wirth, M.; Daina, A.; Michielin, O.; Zoete, V. SwissTargetPrediction: A Web Server for Target Prediction of Bioactive Small Molecules. *Nucleic Acids Res.* **2014**, *42*, W32–W38. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
52. Chaudhary, A.R.; Yadav, P.; Bedekar, A.V. Application of Optically Active Aminonaphthols as NMR Solvating Agents for Chiral Discrimination of Mandelic Acid. *Tetrahedron Asymmetry* **2014**, *25*, 767–774. [\[CrossRef\]](#)
53. Capozzi, M.A.M.; Cardellicchio, C. Stereoselection in the Betti Reaction of Valine Methyl Esters. *Tetrahedron Asymmetry* **2017**, *28*, 1792–1796. [\[CrossRef\]](#)
54. Da Volante, G.; Zerrouk, N.; Richard, I.; Provot, G.; Chaumel, J.C.; Arnaud, P. Evaluation of the Cytotoxicity Effect of Dimethyl Sulfoxide (DMSO) on Caco2/TC7 Colon Tumor Cell Cultures. *Biol. Pharm. Bull.* **2002**, *25*, 1600–1603. [\[CrossRef\]](#)
55. Gallo, K.; Goede, A.; Preissner, R.; Gohlke, B.-O. SuperPred 3.0: Drug Classification and Target Prediction—a Machine Learning Approach. *Nucleic Acids Res.* **2022**, *50*, W726–W731. [\[CrossRef\]](#)

**Disclaimer/Publisher's Note:** The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

## 8. OŚWIADCZENIA WSPÓŁAUTORÓW

Łódź, 10.07.2024 r.

### Statement of the co-author

I hereby declare that Martyna Malinowska contribution to the publication, entitled *Development of Bifunctional Chiral Thioureas and Thiosquaramides in the Synthesis of Betti Bases*.

Following list describes the input of co-authors:

**Martyna Malinowska:** experimental part, writing - review and editing.

**Anna Zawisza:** Conceptualization, methodology, writing - original draft preparation, writing - review and editing.


### Statement of the co-authors

We hereby declare that Martyna Malinowska contribution to the publication, entitled "Synthesis, Computational, and Anticancer In Vitro Investigations of Aminobenzyl-naphthols Derived from 2-Naphthol, Benzaldehydes, and  $\alpha$ -Aminoacids via the Betti Reaction" preparation is equal with Mateusz Kciuk.

Following list describes the input of all co-authors:

**Martyna Malinowska:** Conceptualization, writing – original draft, writing – review and editing.

**Mateusz Kciuk:** Conceptualization, writing – original draft, writing – review and editing.

**Adrianna Gielecińska:** Writing – original draft, writing – review and editing.

**Rajamanikandan Sundaraj:** Writing – original draft, writing – review and editing.

**Somdutt Mujwar:** Writing – original draft.

**Anna Zawisza:** Supervision.

**Renata Kontek:** Supervision.

Mateusz Kciuk  
Adrianna Gielecińska  
Somdutt Mujwar  
Rajamanikandan Sundaraj  
Anna Zawisza  
Renata Kontek  
Martyna Malinowska



Lódź, 10.07.2024 r.

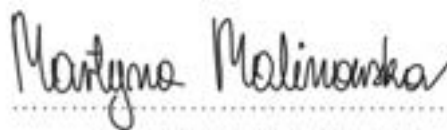
mgr Martyna Malinowska  
Katedra Chemii Organicznej i Stosowanej  
Uniwersytet Łódzki

### Oświadczenie

#### Dotyczy publikacji:

Kciuk, M.; Malinowska, M.; Gielecińska, A.; Sundaraj, R.; Mujwar, S.; Zawisza, A.; Kontek, R. Synthesis, Computational, and Anticancer In Vitro Investigations of Aminobenzyl-naphthols Derived from 2-Naphthol, Benzaldehydes, and  $\alpha$ -Aminoacids via the Betti Reaction. *Molecules* **2023**, 28, 7230.

W związku z brakiem kontaktu z dr Rajamanikandanem Sundarajem spowodowanym jego podróżą badawczą do Chin, w imieniu wszystkich współautorów oświadczam, że dr Sundaraj w ww. publikacji opracował część dotyczącą badań przeprowadzonych zgodnie z teorią funkcjonału gęstości (ang. density functional theory (DFT)).

  
mgr Martyna Malinowska

