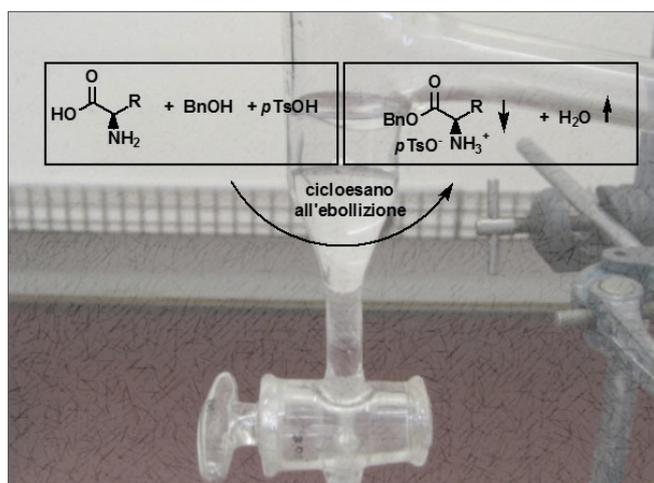


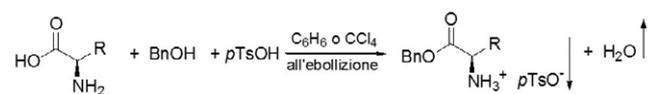
ENANTIOPURI, SENZA USARE SOLVENTI 'HH'

Gli amminoacidi con BnOH e *p*-TsOH in benzene o CCl₄ a refluxo danno l'estere benzilico salificato enantiomericamente puro. Se si usa toluene, in sostituzione di questi solventi 'highly hazardous' (HH), l'estere racemizza. Il cicloesano è, invece, una valida alternativa: acido aspartico ed acido glutammico ne sono un esempio.



Nell'ambito del cosiddetto 'chiral pool', che è l'insieme dei composti enantiomericamente puri di origine naturale, gli amminoacidi hanno una posizione di preminente importanza. Da tempo commercialmente disponibili in grande quantità in entrambe le forme enantiomeriche, essi costituiscono non solo la materia prima per la preparazione di peptidi e peptidomimetici, ma anche i 'building blocks' per la sintesi di composti unichirali, utilizzati oggi nei più disparati settori.

Tra i loro derivati più impiegati come intermedi di sintesi vi sono gli esteri benzilici, in cui la funzione acida è protetta e facilmente ripristinabile per idrolisi o idrogenolisi. I primi esempi di preparazione, corredati da iniziali tentativi di sistematica caratterizzazione analitica dei prodotti, risalgono agli anni Cinquanta e sono ad opera di ricercatori giapponesi e nordamericani [1, 2]. La metodica da loro sviluppata si basa invariabilmente sul trattamento dell'amminoacido tal quale con alcool benzilico in un solvente scaldato all'ebollizione, quasi sempre benzene o tetracloruro di carbonio, più raramente toluene o alcool benzilico:



Si allontana in questo modo azeotropicamente l'acqua risultante dall'esterificazione rendendo la reazione quantitativa (Tab. 1). Nella miscela di reazione è inoltre presente un acido, generalmente acido *p*-toluenesolfonico, che catalizza l'esterificazione e consente di precipitare l'estere come sale cristallino a fine reazione per aggiunta di etere etilico. Questa procedura, molto semplice ed efficiente, non ha mai subito modifiche sostanziali e la si ritrova immutata anche nella letteratura più recente [3, 4] e, come allora, sprovvista di quei dati di purezza stereoisomerica dei prodotti, che attualmente sono indispensabili ed accessibili con i mezzi di indagine di cui si dispone.

È evidente che non siano più proponibili oggi procedure sintetiche che prevedono l'utilizzo di solventi classificati come 'highly hazardous', quali benzene, carbonio tetracloruro o etere etilico, solventi cioè banditi sia dalla produzione sia dalla sperimentazione in laboratorio [5]. Si pone quindi il problema di sostituirli con solventi quantomeno accettabili secondo i più recenti criteri di valutazione della sicurezza e dei rischi per la salute e l'ambiente [6]. Accanto a questa problematica e ad essa strettamente

Componenti	T ebollizione	T eb. azeotropo	Comp. Az. (wt%)	Fase sup. (wt%)	Fase inf. (wt%)
acqua	100,0 °C	69,4 °C	8,9	0,06	99,93
benzene	80,1 °C		91,1	99,94	0,07
acqua	100,0 °C	66,8 °C	4,1	99,97	0,03
CCl ₄	76,8 °C		95,9	0,03	99,97
Acqua	100,0 °C	85,0 °C	20,2	0,05	99,94
toluene	110,6 °C		79,8	99,95	0,06
acqua	100,0 °C	99,9 °C	91,4	96,1	4,9
benzil alcool	205,4 °C		8,6	3,9	95,1
acqua	100,0 °C	69,8 °C	8,5	0,01	99,99
cicloesano	81,4 °C		91,5	99,99	0,01

Tab. 1 - Confronto tra le caratteristiche fisiche degli azeotropi di benzene, carbonio tetracloruro, toluene, alcool benzilico e cicloesano con acqua

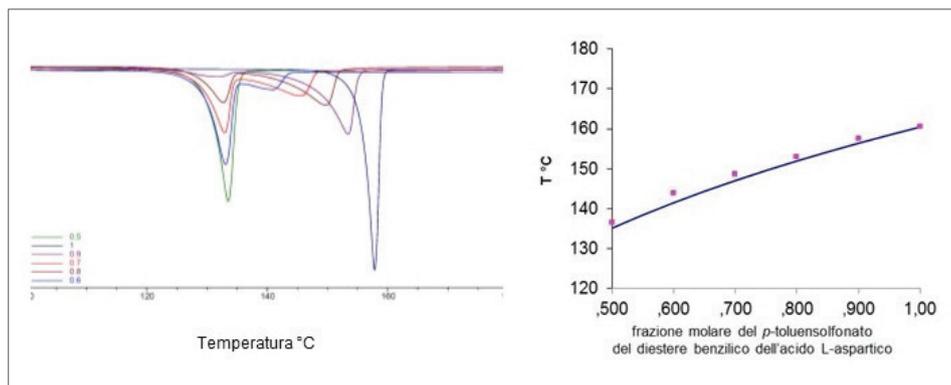


Fig. 1 - A sinistra: tracce DSC del *p*-toluenosolfonato del dibenzil estere dell'acido L-aspartico (blu), del corrispondente racemo (verde) e di miscele a composizione intermedia (altri colori); a destra: diagramma binario punto di fusione/composizione (adattato con il permesso del rif. 9. Copyright 2015 American Chemical Society)

connessa, vi è quella della purezza enantiomerica dei benzil esteri aminoacidici. È noto, infatti, che gli aminoacidi liberi e, in misura anche maggiore, quelli derivatizzati alla funzione carbossilica o inseriti in peptidi vanno incontro a racemizzazione [7, 8]. Fattore determinante a questo riguardo è ovviamente il residuo legato al carbonio α dell'amminoacido, quello stereogenico, soggetto alla racemizzazione. La presenza di sistemi aromatici e di gruppi funzionali in catena laterale, ma anche l'ingombro sterico nelle vicinanze del centro stereogenico stesso giocano un ruolo importante nel diversificare il comportamento dei vari aminoacidi. L'acido aspartico, libero e soprattutto all'interno di peptidi, racemizza più facilmente degli altri aminoacidi, tanto che si è proposto l'utilizzo in archeologia della determinazione del suo grado di racemizzazione per la datazione di materiali biologici, quali ossa o denti. La fenilalanina è più racemizzabile dell'alanina e la leucina della più ingombrata valina. Oltre alle caratteristiche chimiche dell'amminoacido, influiscono sulla racemizzazione la posizione all'interno di un peptide, il pH, il solvente, la temperatura. Nell'individuare solventi alternativi è necessario perciò verificare, per ogni aminoacido, se questi solventi, per la loro natura e soprattutto per la temperatura di ebollizione del loro azeotropo con l'acqua, siano in grado di assicurare l'ottenimento di un benzil estere enantiomericamente puro. Toluene e alcool benzilico, ad esempio, sono classificati nelle più aggiornate 'solvent selection guides' come solventi solo 'problematici' e rappresentano quindi accettabili alternative a benzene e carbonio tetracloruro. È indispensabile, tuttavia, considerare che il punto di ebollizione dei loro azeotropi con l'acqua è sensibilmente maggiore e ciò può causare racemizzazione più o meno spinta a seconda dell'amminoacido sottoposto a esterificazione.

In questo contesto, l'accertamento della composizione enantiomerica degli aminoacidi esterificati diventa imprescindibile. Il solo dato di attività ottica, infatti, non garantisce che l'estere non sia parzialmente racemizzato, sia perché il valore dell'attività ottica è generalmente modesto e variabile sia perché in letteratura esso non è quasi mai associato ad un eccesso enantiomerico analiticamente determinato. In secondo lu-

go, anche la determinazione dei punti di fusione dei benzelesteri aminoacidici *p*-toluenosolfonati, per i quali la letteratura riporta valori spesso sensibilmente discordi, dovrebbe essere oggetto di una più attenta valutazione unitamente alla natura dei sistemi enantiomerici da essi formati. Questo perché la loro procedura di preparazione prevede l'isolamento del prodotto estere-sale mediante cristallizzazione, mediante cioè un processo fisico che può influire diversamente sulla composizione enantiomerica del prodotto isolato a seconda che si tratti, ad esempio, di un conglomerato o di un composto racemico.

Il caso qui riportato, quello dei dibenzil esteri *p*-toluenosolfonati dell'acido aspartico e dell'acido glutammico, è a questo riguardo 'esemplare' [9]. In letteratura la preparazione del *p*-toluenosolfonato dell'acido L- o D-aspartico dibenzil estere viene più volte descritta a partire dagli anni Cinquanta e i solventi utilizzati sono benzene, carbonio tetracloruro o alcool benzilico. In anni recenti, ricercatori cinesi hanno utilizzato il toluene come solvente per allontanare azeotropicamente l'acqua della reazione [10, 11]. I poteri rotatori sono discordi e non significativi, mentre il punto di fusione è sensibilmente più alto (159-160 °C) per il prodotto preparato in solventi con azeotropo acquoso bassobollente (benzene e tetracloruro di carbonio) rispetto a quello (<152 °C) determinato per lo stesso prodotto preparato in solventi con azeotropo altobollente (toluene e alcool benzilico) [1, 2]. Questo dato, più delle attività ottiche, è indizio di una diversa composizione enantiomerica. Le nostre indagini hanno, in primo luogo, consentito di stabilire che gli enantiomeri del dibenzil estere *p*-toluenosolfonato dell'acido aspartico formano un conglomerato (Fig. 1) e che quindi la precipitazione del sale toluenosolfonato a fine reazione può contribuire ad arricchire l'estere benzilico nell'enantiomero maggioritario fino ad eliminare completamente un'eventuale frazione minoritaria di racemo. In secondo luogo, mediante analisi HPLC su fase stazionaria chirale, abbiamo dimostrato che il prodotto si forma enantiomericamente puro in benzene e, al contrario, quasi completamente racemizzato in toluene e in alcool benzilico (Fig. 2).

Accertato, quindi, che toluene ed alcool benzilico, solventi di gran lunga più accettabili del benzene e del tetracloruro di carbonio, non possono sostituire questi ultimi, perché conducono alla formazione di un prodotto racemizzato, abbiamo cercato un solvente alternativo. Le caratteristiche

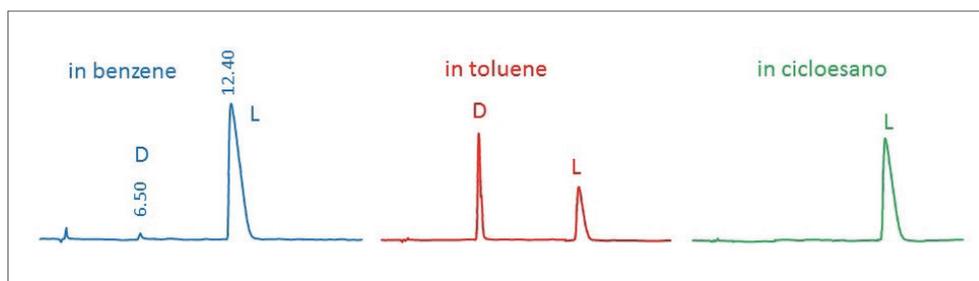


Fig. 2 - Cromatogrammi HPLC su fase stazionaria chirale del dibenzil estere dell'acido L-aspartico preparato in benzene (ee 98,1 %) e in cicloesano (ee 100%) (adattato con il permesso del rif. 9. Copyright 2015 American Chemical Society)

richieste erano: punto di ebollizione simile a quello del benzene, formazione di azeotropo eterogeneo con l'acqua, possibilmente con alto contenuto d'acqua e bassa solubilità reciproca e, ovviamente, classificazione come solvente 'raccomandato' o tutt'al più 'problematico' nelle 'solvent selection guides'. Ciò ha portato ad individuare nel cicloesano il candidato idoneo e la successiva sperimentazione ha effettivamente dimostrato la bontà della selezione. La reazione, condotta in questo solvente secondo le modalità descritte in letteratura per il benzene ed elaborata precipitando l'estere-sale per aggiunta di alcool isopropilico, ha infatti fornito il prodotto desiderato con resa del 94% ed eccesso enantiomerico del 100% (Fig. 2).

La stessa indagine, condotta sulla preparazione del benzil estere dell'acido glutammico, ha dimostrato che in toluene di nuovo si ha racemizzazione, anche se più contenuta (20%). In cicloesano, invece, l'esterificazione avviene senza racemizzazione e il *p*-toluenesolfonato può essere precipitato a fine reazione con acetato d'etile in resa quantitativa e con eccesso enantiomerico del 99,7%.

Questa sperimentazione è stata estesa ad una serie di altri amminoacidi e i risultati confermano che l'utilizzo di un solvente azeotropante l'acqua, altobollente come il toluene, in sostituzione del benzene o del carbonio tetracloruro, non è proponibile in quanto si ottengono benzil esteri con un grado di racemizzazione che varia in relazione alla struttura dell'amminoacido e che è, comunque, quasi sempre tutt'altro che trascurabile. È necessario quindi cercare solventi alternativi e determinare, per ogni substrato, la composizione enantiomerica del prodotto. Il semplice confronto con i poteri rotatori riportati in letteratura non costituisce una prova sufficiente dell'assenza di un'aliquota di estere racemico. Il solvente di reazione da noi scelto, il cicloesano, costituisce una valida opzione e così pure l'alcool isopropilico e l'etile acetato, al posto dell'etere etilico, per insolubilizzare il sale dell'estere amminoacidico.

BIBLIOGRAFIA

- [1] N. Izumiya, S. Makisumi, *Nippon Kagaku Zasshi*, 1957, **78**, 662.
- [2] L. Zervas, M. Winitz, J. P. Greenstein, *J. Org. Chem.*, 1957, **22**, 1515.
- [3] A.A. Fayad *et al.*, *Eur. J. Org. Chem.*, 2015, 5603.
- [4] E. Tayama *et al.*, *Org. Biomol. Chem.*, 2012, **10**, 339.
- [5] D. Prat *et al.*, *Green Chem.*, 2016, **18**, 288.
- [6] F.P. Byrne *et al.*, *Sustain. Chem. Process*, 2016, **4**, 7.
- [7] J.L. Radkiewicz *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, 1996, **118**, 9148.
- [8] J. Robins, M. Jones, E. Matisoo-Smith, Amino acid racemization dating in New Zealand: an overview and bibliography. Auckland University, Private Bag 92019, Auckland, New Zealand, Match 20, 2001.
- [9] C. Bolchi *et al.*, *Org. Process Res. Dev.*, 2015, **19**, 878.
- [10] D. Yang, L. Fan, X. Tang, J. Yan, CN101445468, 2009.
- [11] Y.C. Li, S.P. Pang, Y.Z. Yu, *Chin. Chem. Lett.*, 2007, **18**, 516.

Enantiopure Without Using HH Solvents

Amino acids are converted into the enantiomerically pure salified benzyl ester by reaction with BnOH and *p*-TsOH in refluxing benzene or CCl₄. The ester is obtained partially racemized if toluene is used instead of these Highly Hazardous (HH) solvents to azeotropically remove water. Cyclohexane is a valid alternative as aspartic and glutamic acids demonstrate.

Istruzioni per gli Autori

La *Chimica e l'Industria* è una rivista di scienza e tecnologia e di informazione per i chimici.

Nella rubrica "Attualità" ospita articoli o comunicati brevi su argomenti di interesse rilevante per tutti coloro che operano nella chimica, richiesti dalla redazione o ricevuti come lettere al direttore. Nella sezione "Science and Technology" pubblica in inglese monografie scientifiche di chimica, ingegneria chimica e tecnologie farmaceutiche, concordate o richieste dal comitato scientifico o dalla redazione.

Nella sezione "Chimica e..." ospita articoli in italiano o in inglese di carattere applicativo, tecnologico e informativo per tutti i settori rilevanti della chimica.

Tutti gli articoli saranno sottoposti al giudizio di almeno un referee.

Testi

I testi possono essere trasmessi via e-mail, completi di tabelle e figure, con chiara indicazione dei nomi degli autori, scrivendo per esteso anche il nome di battesimo, gli Istituti o Enti presso i quali svolgono la loro attività e relativo indirizzo. Va allegato inoltre un breve riassunto del testo sia in italiano sia in inglese (max 300 battute).

I testi dovranno essere contenuti in non più di 30.000 battute per quanto riguarda la sezione "Science and Technology", e non più di 20.000 battute per quanto riguarda la sezione "Chimica e...". Il numero complessivo di tabelle e figure non dovrebbe essere superiore a 10 per la sezione "Science..." e a 5 per la sezione "Chimica e...". Tutti gli articoli dovranno essere corredati di un'immagine esplicativa dell'argomento da poter utilizzare come foto di apertura. Il titolo non dovrà essere lungo più di 30 battute.

Immagini, schemi, figure vanno inviate in formato jpg, tiff o gif in file separati. Si raccomanda di uniformare la lingua delle immagini a quella del testo;

I richiami bibliografici (non più di 30-35), da citare all'interno del testo, devono essere numerati progressivamente, con numeri arabi tra parentesi quadre. La bibliografia va riportata in fondo al testo secondo gli esempi:

- [1] D.W. Breck, *Zeolite Molecular Sieves*, J. Wiley, New York, 1974, 320.
- [2] R.D. Shannon, *Acta Crystallogr.*, 1976, **32**, 751.
- [3] U.S. Pat. 4.410.501, 1983.
- [4] Chemical Marketing Reporter, Schnell Publ. Co. Inc. (Ed.), June 15, 1992.
- [5] G. Perego *et al.*, Proceedings of 7th Int. Conf. on Zeolites, Tokyo, 1986, Tonk Kodansha, Elsevier, Amsterdam, 129.

La redazione invita inoltre gli Autori ad inviare in allegato (fuori testo) con gli articoli anche fotografie o illustrazioni relative al contenuto, sia di tipo simbolico sia descrittivo, per migliorare l'aspetto redazionale e comunicativo (la direzione se ne riserva comunque la pubblicazione).

Tutto il materiale deve essere inviato per e-mail a:
dott. Anna Simonini, anna.simonini@soc.chim.it