

Lezione 6

Metodi per la determinazione della purezza di miscele di stereoisomeri.

La determinazione della purezza è importante per accertarsi della stereochimica della reazione.

I metodi per l'analisi si distinguono in base al fatto se ci troviamo davanti a diastereoisomeri oppure enantiomeri.

- Miscele di diastereoisomeri
 - Metodi analitici spettroscopici
 - Metodi cromatografici
- Miscele di enantiomeri
 - Metodi fisici
 - Potere ottico rotatorio
 - Cromatografia in ambiente chirale
 - NMR con reagenti di shift chirali
 - Metodi chimici
 - Derivatizzazione chirale con agenti chirali (CDA: Chiral Derivatisation Agent)

Miscele di diastereoisomeri

Tra i metodi analitici spettroscopici uno strumento di elezione è la **NMR**. I diastereoisomeri hanno caratteristiche chimico-fisiche diverse ed alla NMR daranno dei picchi generalmente distinguibili.

La concentrazione dei composti è proporzionale all'intensità dei segnali (nell'NMR è l'integrale del segnale). I diastereoisomeri sono effettivamente molecole diverse e quindi daranno segnali diversi. Il rapporto tra i segnali delle due molecole si riesce a definire il rapporto quantitativo dei composti, che ci dà indicazione sulla purezza della miscela.

I **metodi cromatografici** si basano sulla polarità dei composti. Un sistema cromatografico che sfrutta la diversa ripartizione, in base alla polarità, tra fase mobile e fase stazionaria del sistema permette di distinguere i diastereoisomeri. Al livello industriale la cromatografia più utilizzata è a HPLC, high performance liquid chromatography.

Il rapporto di intensità tra i picchi del cromatogramma permette di avere un rapporto in termini di concentrazione, da cui si può definire la purezza della miscela.

Miscele di enantiomeri

Gli enantiomeri hanno proprietà chimiche e fisiche scalari identiche. Per identificare gli enantiomeri è quindi necessario un intorno chirale.

Potere ottico rotatorio

La valutazione del potere ottico rotatorio è il metodo più immediato per determinare la purezza di una miscela di enantiomeri.

L'*eccesso enantiomerico* è una grandezza che ci dice quale è la percentuale di enantiomero in eccesso rispetto al racemo.

ECCESSO ENANTIOMERICO (E.E.):

$$\text{e.e. (\%)} = \frac{[R] - [S]}{[R] + [S]} \cdot 100$$

L'eccesso enantiomerico è facilmente determinabile dal potere ottico rotatorio.

Es: (R) = 80 % (S) = 20 %; e.e. = (80-20)/(80 + 20)*100 = 60 %

Il racemo annulla la rotazione della luce polarizzata. Il potere ottico che si osserva in una miscela di enantiomeri è dato dall'eccesso enantiomerico.

$$\text{e.e. (\%)} = \frac{[\alpha]_{\text{obs}}}{[\alpha]_{\text{max}}} \cdot 100 = \text{p.o. (\%)}$$

Il potere ottico rotatorio dell'eccesso enantiomerico è dato da:

potere ottico osservato / il potere ottico massimo del composto puro.

Questa è la *purezza ottica*.

Questo metodo presuppone il fatto che si conosca il potere ottico rotatorio specifico dell'enantiomero puro. Questo metodo è quindi possibile solo se conosco il prodotto sintetizzato e il suo potere ottico rotatorio in forma pura.

Cromatografia

Il metodo cromatografico si basa sulla ripartizione dell'analita in una fase stazionaria ed una fase mobile. Servono condizioni chirali se il nostro analita è una miscela di enantiomeri. Si può rendere chirale la fase stazionaria o la fase mobile. Il metodo più usato è quello di rendere chirale la fase stazionaria, generalmente costituita da silice. Gli enantiomeri interagiranno in maniera diversa con la fase stazionaria, uno dei due enantiomeri verrà eluito prima, l'altro verrà eluito in un tempo successivo.

Alla fase stazionaria si lega una molecola che la rende chirale. Le interazioni degli enantiomeri con la molecola legata alla fase stazionaria saranno diverse.

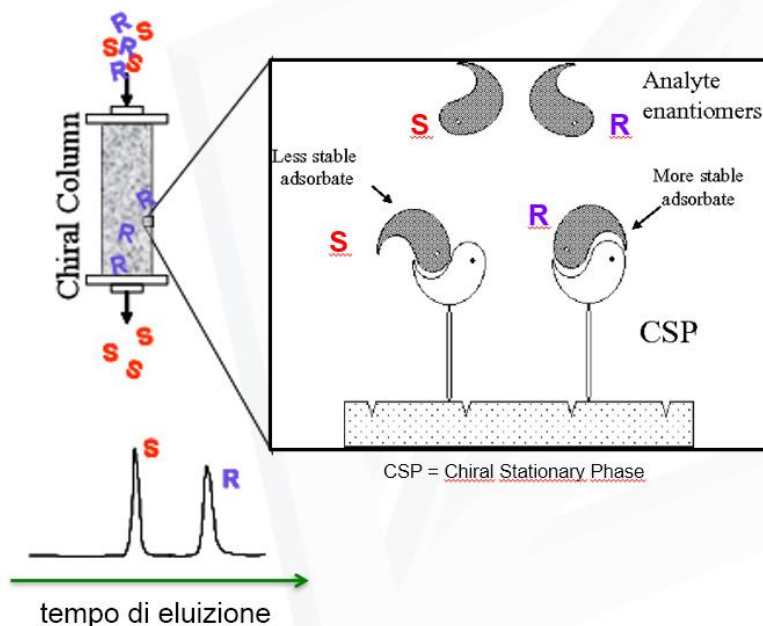
Si separano i due picchi e si riesce ad avere un rapporto tra la concentrazione dei due enantiomeri nella miscela.

Le fasi stazionarie chirali sono commercializzate. Deve essere scelta in funzione dell'analita, e se la miscela è nuova spesso si va per tentativi, finché si trova la colonna chirale più adeguata all'analisi. Le fasi stazionarie chirali sono più costose di quelle achirali.

Ci sono varie molecole che è possibile legare alla fase stazionaria per renderla chirale.

Tra queste troviamo ciclodestrine, polisaccaridi, aminoacidi e proteine.

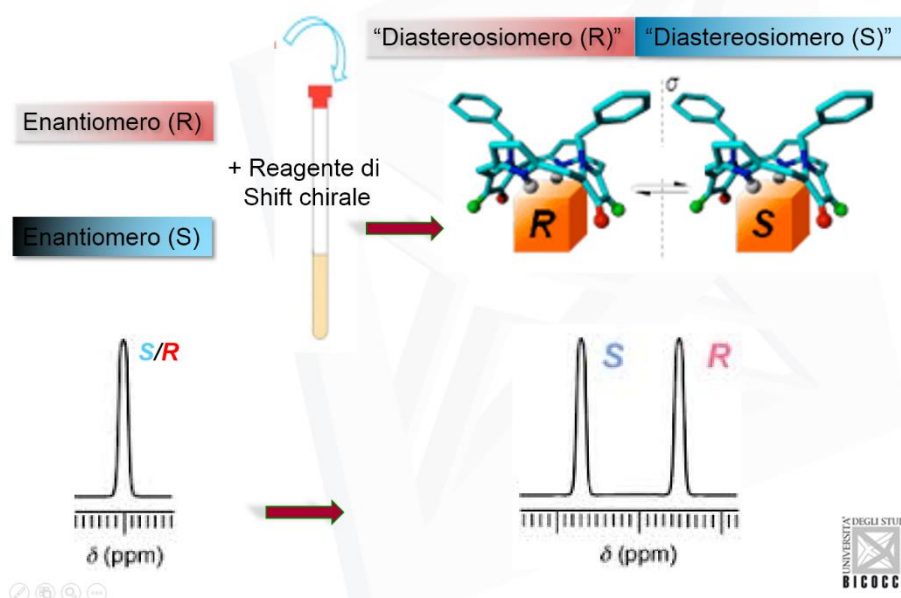
Tutte queste molecole devono necessariamente essere chirali, per poter distinguere altri composti chirali.



NMR

L'NMR necessita di un sistema chirale per poter distinguere gli enantiomeri. Questi sono *reagenti di shift chirale*.

Una miscela di enantiomeri viene sciolta in un solvente adeguato. Il campione è inserito nel tubo NMR, nella soluzione è aggiunto un reagente di shift chirale, che è una molecola chirale enantiomericamente pura. Il reagente chirale reagirà con gli enantiomeri in maniera diversa, dando luogo a degli addotti con caratteristiche di diastereoisomeri. I diastereoisomeri sono così distinguibili. Si fa quindi



l'integrazione dei segnali per calcolare la purezza della miscela. In questo caso nell'immagine abbiamo una miscela racema, quindi equimolare.

Anche nella NMR la scelta dell'agente di shift è molto importante per distinguere gli enantiomeri.

Derivatizzazione

Supponiamo di avere un analita che è una miscela di enantiomeri. Questa miscela viene fatta reagire con l'agente di derivatizzazione chirale. Questa reazione darà luogo a dei diastereoisomeri che possono poi essere separati. Spesso i diastereoisomeri vengono separati grazie all'HPLC.

Gli agenti di derivatizzazione chirale sono diversi. Si effettua una reazione chimica, la reattività dell'analita deve essere quindi complementare alla reattività dell'agente di derivatizzazione chirale. Bisogna quindi conoscere la reattività dell'analita.

Ad esempio avendo un analita con gruppo amminico, dovremo usare un agente di derivatizzazione chirale con gruppo carbossilico.

Dopo aver visto i metodi analitici, dobbiamo separare le miscele ed ottenere il prodotto in forma pura.