

Lezione 5

Metodi per la determinazione della configurazione assoluta.

Per determinare la configurazione assoluta di una molecola possono usare:

- Metodi assoluti
- Metodi correlativi

Il **metodo assoluto** dà una diretta indicazione della disposizione spaziale dei sostituenti attorno all'elemento stereogenico. Da questa indicazione si può ricavare poi agevolmente la configurazione dell'enantiomero secondo le convenzioni. L'unico metodo assoluto è la diffrazione anomala dei raggi X, che però richiede la cristallizzazione del composto. Non sempre il cristallo è ottenibile.

I **metodi correlativi** permettono di definire la configurazione assoluta dell'elemento stereogenico per mezzo di una caratteristica nota della molecola in esame.

Metodi fisici correlativi per caratterizzare la configurazione assoluta sono la NMR e la diffrazione ordinaria dei raggi X.

Metodi chimici correlativi sono:

- la trasformazione del composto ignoto in un composto a configurazione nota.
- Mediante reazioni stereoselettive
 - Metodo di Horeau
 - Biotrasformazioni

Metodi fisici per la determinazione della configurazione assoluta

La determinazione della configurazione assoluta è un'analisi che serve a determinare la configurazione di un enantiomero puro di cui non conosciamo la configurazione assoluta dello stereocentro.

L'enantiomero puro è spesso il risultato di una trasformazione specifica effettuata anche con mezzi di biocatalisi.

Cristallografia

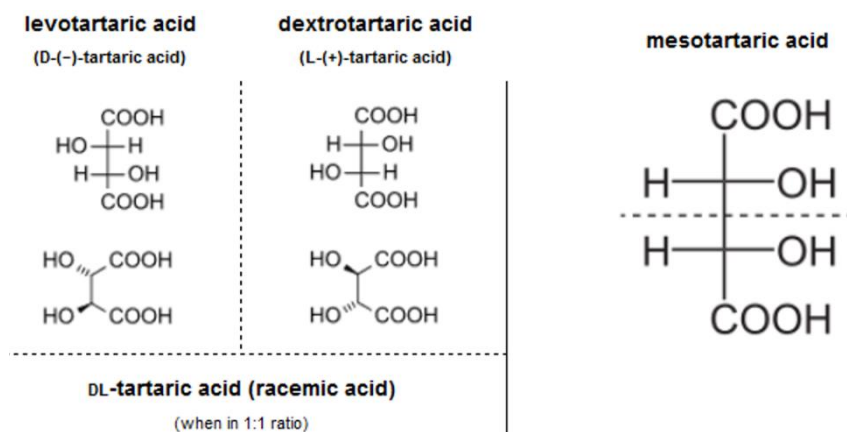
In questa tecnica una fonte di raggi X emette un raggio che attraversa il cristallo del campione e viene diffratto. I raggi diffratti vengono rilevati da un rivelatore. Viene registrata solo l'ampiezza della radiazione elettromagnetica sul rivelatore. Otteniamo però solo una immagine bidimensionale.

Bijvoet introdusse la *Cristallografia anomala*, che permette di rilevare sia ampiezza che fase della radiazione elettromagnetica. Questo permette con mezzi computerizzati di interpretare il dato rilevato come disposizione spaziale tridimensionale della disposizione degli atomi.

***** Vedi review su mezzi di cristallografia a raggi x.

L'acido tartarico possiede 2 stereocentri, quindi si può prevedere che questo possa avere fino a quattro stereoisomeri. In realtà ha due stereoisomeri ed una forma meso.

Bijvoet ha preparato un sale doppio dell'acido tartarico. Un sale doppio si forma quando due gruppi carbossilici sono salificati in maniera diversa.



I cristalli formati da questo sale sono stati sottoposti a dispersione anomala ai raggi X. Dai dati così ottenuti si è ricostruita la struttura e si è dimostrato che l'acido tartarico destrorotatorio avesse la disposizione spaziale nella configurazione L secondo Fischer.

Metodi chimici per la determinazione della configurazione assoluta

I metodi chimici sono correlativi. Uno dei metodi chimici consiste nella trasformazione del composto ignoto in un composto noto.

Un esempio di questa tecnica è la determinazione della configurazione assoluta della gliceraldeide destrorotatoria.

Il metodo generale correlativo è che abbiamo un composto a configurazione ignota, di cui conosciamo bene la chimica. Lo trasformiamo in un composto di cui abbiamo la correlazione tra configurazione assoluta e proprietà chimico fisiche. La più usata delle proprietà chimico fisiche valutate è il potere ottico rotatorio.

Questo metodo è stato usato per la prima volta sulla gliceraldeide.

Per determinare la struttura della gliceraldeide destrorotatoria, questa molecola è stata trasformata in acido tartarico.

Rappresentiamo la molecola con la struttura di Lewis perché non ne conosciamo la disposizione dei costituenti.

L'acido tartarico ha quattro atomi di carbonio. I due carboni terminali portano un gruppo carbossilico ciascuno, i carboni centrali sono funzionalizzati con gruppi ossidrilici.

La gliceraldeide contiene tre atomi di carbonio, di cui due che portano un sostituito ossidrilico ciascuno ed uno che porta una aldeide. Bisogna immaginare sequenze di reazione che permettano di avere due carbossili alle due estremità ed al contempo allungare la catena carboniosa.

Si può usare l'acido cianidrico HCN come donatore di carbonio, per allungare la catena di carboni.

Questo è debolmente dissociato in H^+ e CN^- . L'HCN ha una reattività complementare al gruppo carbonilico, perché il carbonio carbonilico ha una parziale carica positiva e potrà subire l'attacco di HCN che è elettronrico.

Sappiamo che il carbonio carbonilico è ibridato sp^2 e sappiamo anche che è planare. Il carbonio sp^2 è quindi prostereogenico, e nei prodotti diventa stereogenico. Bisogna quindi capire se l'attacco da parte di CN^- su uno dei due piani del carbonile dà luogo a prodotti diversi.

Bisogna valutare se le facce del carbonile sono omotopiche, enantiotopiche o diastereotopiche. Le facce nel caso della gliceraldeide sono diastereotopiche, quindi ci si deve preoccupare di dove attaccherà lo ione cianuro HCN perché il legame darà luogo a due prodotti diversi.

Nella reazione tra carbonile ed HCN, HCN rompe il doppio legame $C=O$ e si lega al C formando un nuovo stereocentro. L' H^+ dissociatosi da HCN si lega all'O che formava il carbonile, per formare un gruppo idrossile. Come prodotto di questa reazione si ottiene la **cianidrina**. Alle due estremità della cianidrina troviamo un nitrile in posizione 1 ed un ossidrilico in posizione 4. Per arrivare all'acido tartarico si deve trasformare il nitrile in $COOH$ e l'idrossimetilene CH_2OH in $COOH$.

Il nitrile CN può essere idrolizzato in condizioni acide al corrispondente acido.

Il CH_2OH si converte in $COOH$ per mezzo di una reazione di ossidazione. Questa trasformazione viene fatta one-pot, cioè entrambe nella stessa miscela acida ed ossidante.

A questo punto si è ottenuto l'acido tartarico.

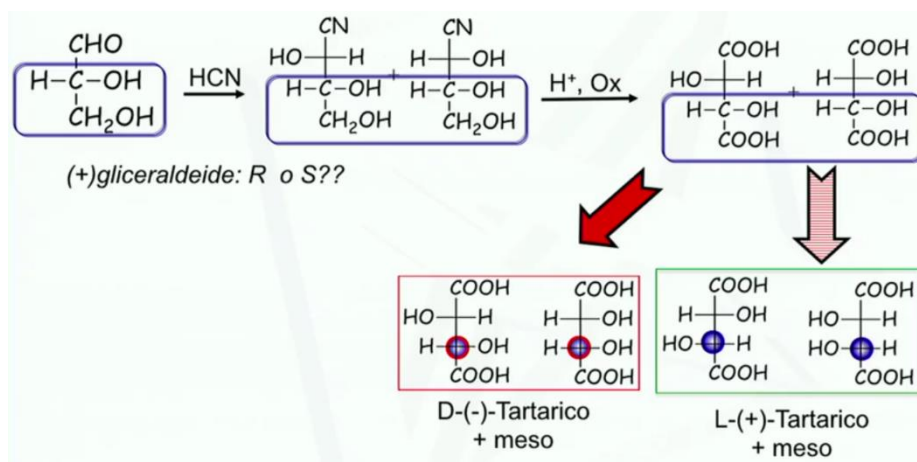
Sono possibili 4 prodotti.

Partendo da un enantiomero puro della gliceraldeide se ne otterranno solo due: un enantiomero dell'acido tartarico, L o D a seconda della configurazione della gliceraldeide di partenza.

Se ne analizza il potere ottico rotatorio. Se il potere ottico rotatorio è levogiro (-) allora la gliceraldeide di partenza sarà stata levogira; se è destrogira allora la gliceraldeide di partenza sarà stata destrogira.

È interessante che se si va ad osservare il potere ottico rotatorio della coppia di prodotti che ottengo, si riuscirà ad avere un potere ottico rotatorio relativo allo stereoisomero D o L dell'acido tartarico; la forma meso è achirale e non interferisce con il potere ottico della miscela.

Se la miscela è levogira la configurazione dell'acido tartarico sarà R, ed R sarà anche la gliceraldeide di partenza.



Da ricordare quando si utilizzano metodi chimici correlativi è che le condizioni di reazione devono essere tali da mantenere l'integrità dello stereocentro, oppure invertire lo stereocentro. Ma ci si deve accertare che dal punto di vista chimico non si va ad ottenere un racemo in seguito alla trasformazione dal prodotto di partenza nel prodotto finale.

Il metodo correlativo richiede una buona conoscenza della chimica e delle trasformazioni utilizzabili per trasformare un composto in un altro, in maniera accurata e possibilmente senza troppi passaggi, che aggiungono costi al processo.

La cosa migliore è spesso fare una rifrazione anomala ai raggi X (cristallografia).

Metodo di Horeau

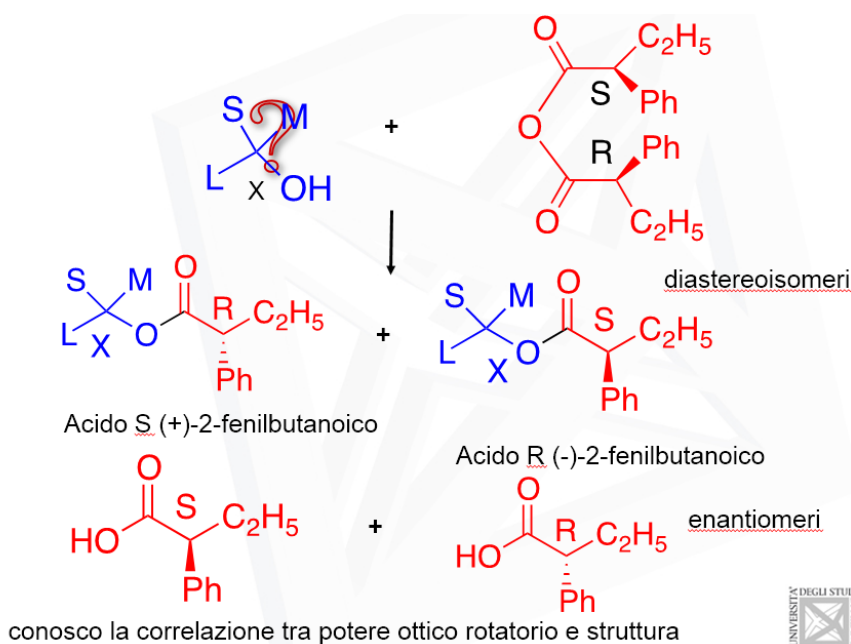
Il metodo di Horeau si basa su reazioni di tipo stereoselettivo.

Immaginiamo di avere come composto di partenza un *alcol* con uno stereocentro e configurazione assoluta ignota.

Invece che definire esplicitamente i sostituenti attorno allo stereocentro definiamo questi in base alle loro dimensioni steriche. Avremo quindi un gruppo *small* (s), un gruppo *medium* (m), ed un gruppo *large* (l).

L'alcol a configurazione ignota viene fatto reagire con una *anidride simmetrica* ma non ciclica. Questa anidride porta due gruppi attorno all'atomo di ossigeno che non sono identici.

A seconda che l'ossidrilico dell'alcol attacchi sul carbonile nella parte S o su quello della parte R si ottengono prodotti diversi.



Se guardiamo nel dettaglio, i gruppi legati all'O centrale sono diastereotopici, e quindi dobbiamo aspettarci due diastereoisomeri.

L'ossidrilico dell'alcol attacca sull'uno o sull'altro gruppo carbonilico dell'anidride, portando alla formazione di uno dei due esteri, in base al carbonile attaccato.

Si formano i due diastereoisomeri e la parte che viene liberata è la parte acida, che è l'acido 2-fenilbutanoico, in configurazione R o S.

Si misura il potere ottico rotatorio della miscela che si va a formare, che ci indica di definire la configurazione assoluta dello stereocentro di partenza. La reazione dovrà essere stereoselettiva, altrimenti si otterranno i due acidi come miscela racemica.

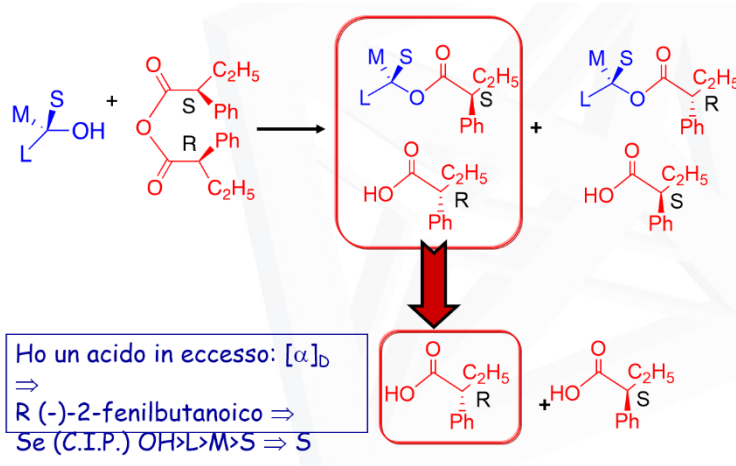
Bisogna capire se la reazione tra l'alcol incognito e l'anidride porta ad una stereoselezione.

Se si guardano i prodotti della reazione tra alcol e anidride vediamo che i prodotti sono già due diastereoisomeri, con due stereocentri di cui uno solo ha configurazione nota.

Se si osservano invece gli acidi prodotti, vediamo che la produzione di questi è enantioselettiva, perché i due acidi formati hanno solo uno stereocentro.

Ipotizziamo qui che la configurazione di partenza dell'alcol in esame sia quella nella immagine. L'OH compie un attacco nucleofilo su uno dei due carbonili. Si formano una coppia di esteri diastereoisomerici ed una coppia di acidi enantiomerici.

In base alla configurazione di partenza ci sarà una coppia di estere ed acido che si formerà in maniera prevalente.



L'estere che si formerà in maniera selettiva è quello in cui il gruppo Fenilico si trova dalla stessa parte del gruppo small dell'alcol, e quindi lontano dal gruppo **m**, il che limita l'interferenza data dall'ingombro sterico.

L'altro stereoisomero sarà prodotto in quantità minore perché l'interazione sterica tra i sostituenti dell'alcol incognito e dell'anidride aumenta l'energia dello stato di transizione.

Nella miscela di quattro composti, due sono esteri e due sono acidi, avranno caratteristiche chimico fisiche diverse. Gli alcoli sono solubili in acqua, gli esteri sono solubili in solvente organico. Si può fare una estrazione per separarli.

Si analizza il potere ottico rotatorio della soluzione di acidi, da cui si deduce la configurazione dell'acido. Dalla configurazione dell'acido si deduce di conseguenza la struttura dell'alcol originario corrispondente.

Tutto questo è da ricordare

Il metodo chimico correlativo di trasformazione di un composto a configurazione ignota in un composto a configurazione nota potrebbe essere applicato a qualsiasi sostanza incognita, purché si conoscano delle trasformazioni adeguate.

Il metodo di Horeau è limitato. Il reagente di Horeau è una anidride, e la reattività dell'anidride è complementare solo a gruppi nucleofili, che tipicamente sono alcoli o ammine.

Metodi Biocatalitici

I metodi biocatalitici prevedono l'utilizzo di biocatalizzatori.

Supponiamo di avere un alcol con uno stereocentro. Si utilizza una **lipasi** ed un agente acilante che ceda un gruppo acetile. Si ottiene il corrispondente estere.



Se la configurazione dell'alcol di partenza fosse diversa, la reazione non porterebbe ad alcun prodotto.



Quindi l'alcol a configurazione ignota può essere messo in ambiente di reazione acilante, con un enzima di cui conosco la stereoselettività. In

base al fatto che si ottengano o meno i prodotti si potrà ricavare la configurazione di partenza dell'alcol.

Regola di Kazlauskas

Le lipasi ad oggi studiate sono in grado di acilare o idrolizzare esteri in cui la disposizione dei sostituenti attorno ad uno stereocentro sia ossidrile, idrogeno, gruppo large, gruppo medium. Solo in queste condizioni la lipasi lavora. Vedi configurazione in immagine a destra.

La stereoselezione è invece variabile con le alcol deidrogenasi, ma va sempre conosciuta la capacità di selezione dell'enzima, quindi l'eccesso enantiomerico che produce.

