

METODI DI OTTENIMENTO DI EPC (Enantiomerically Pure Compounds)

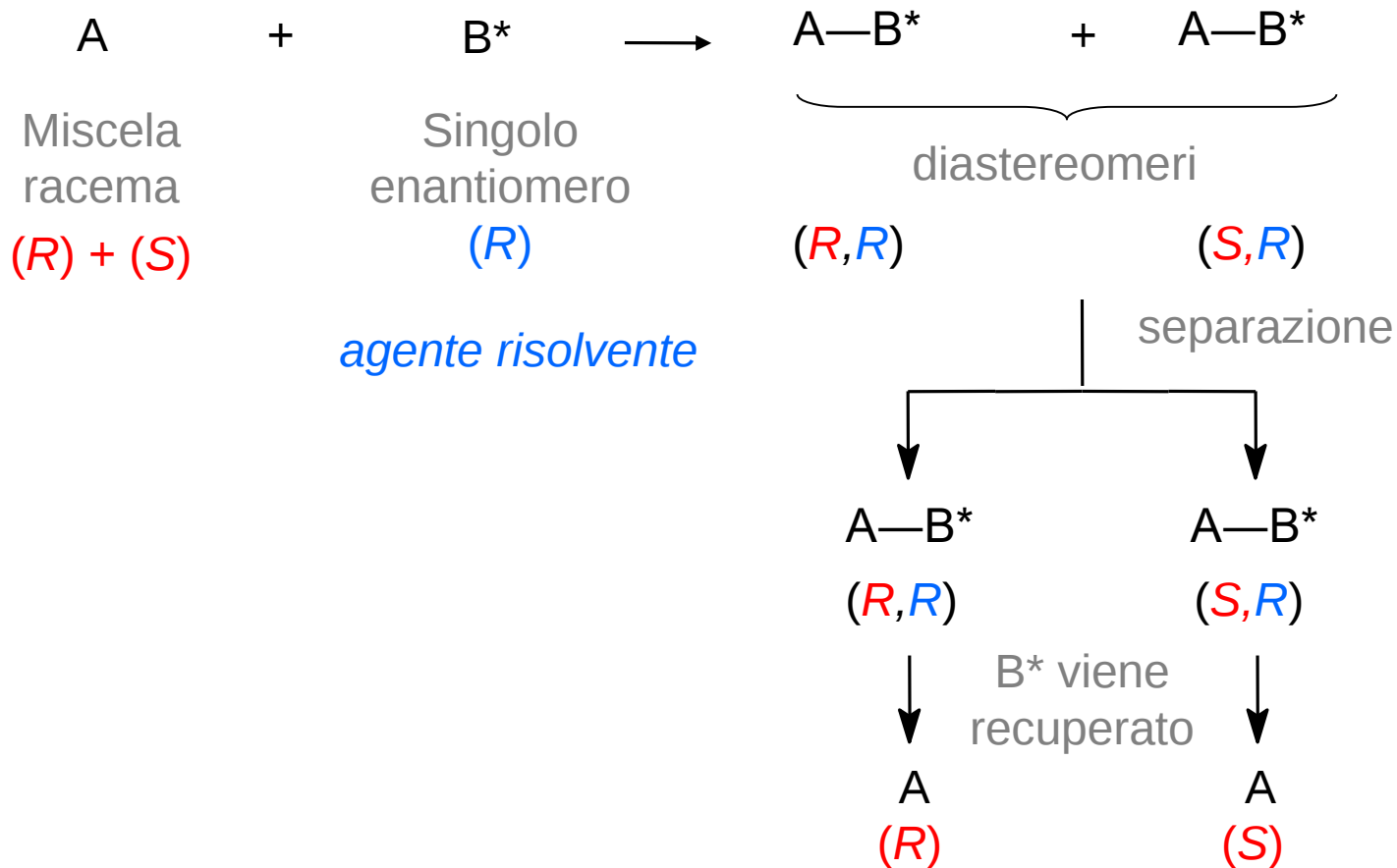


RISOLUZIONE DI RACEMI

Risoluzione di racemi

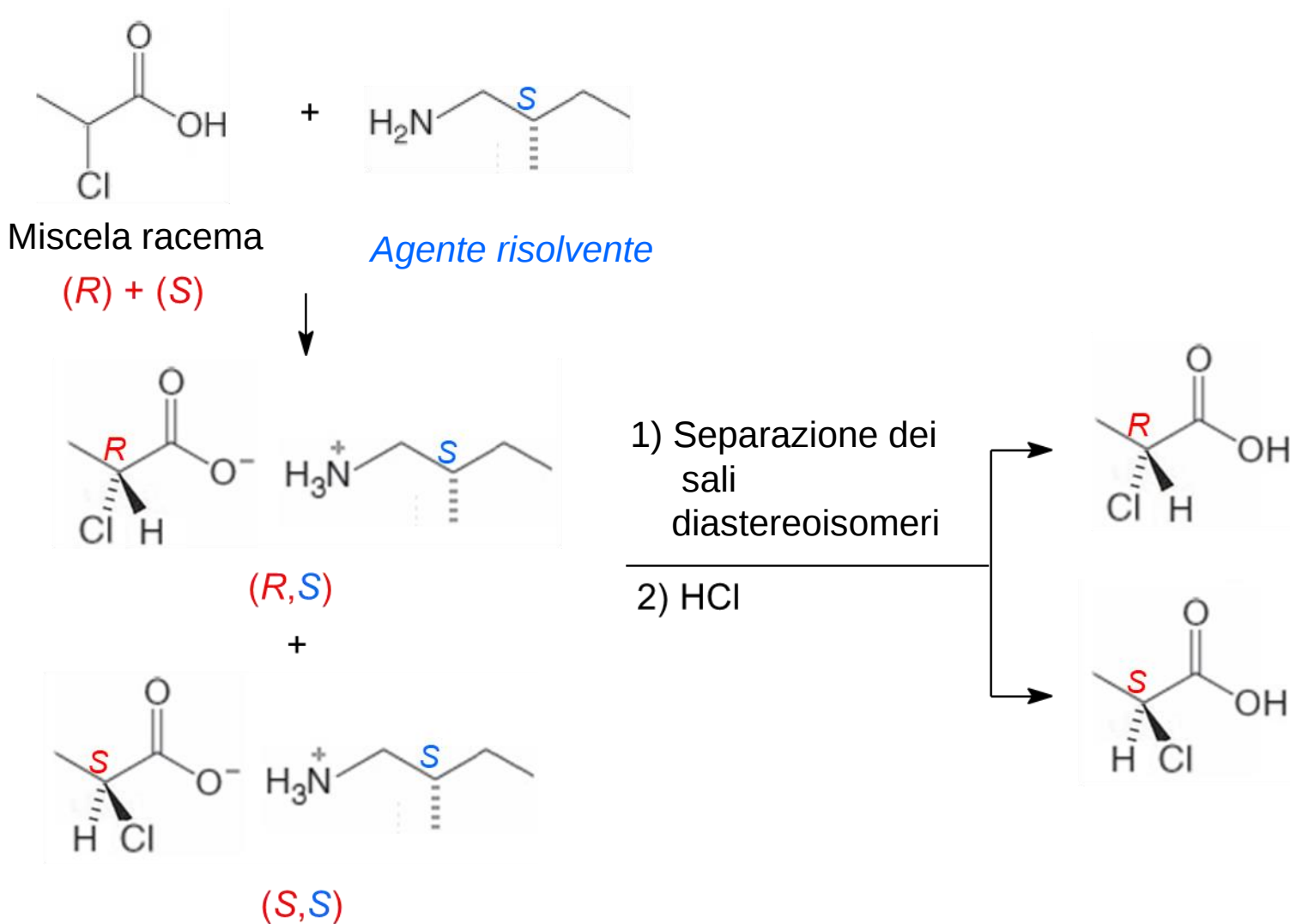
- Gli enantiomeri hanno identiche proprietà fisiche, quindi non possono essere separate con tecniche convenzionali (distillazione, cristallizzazione, ecc).
- La **risoluzione** di un racemo è il processo di separazione degli enantiomeri.

Risoluzione classica



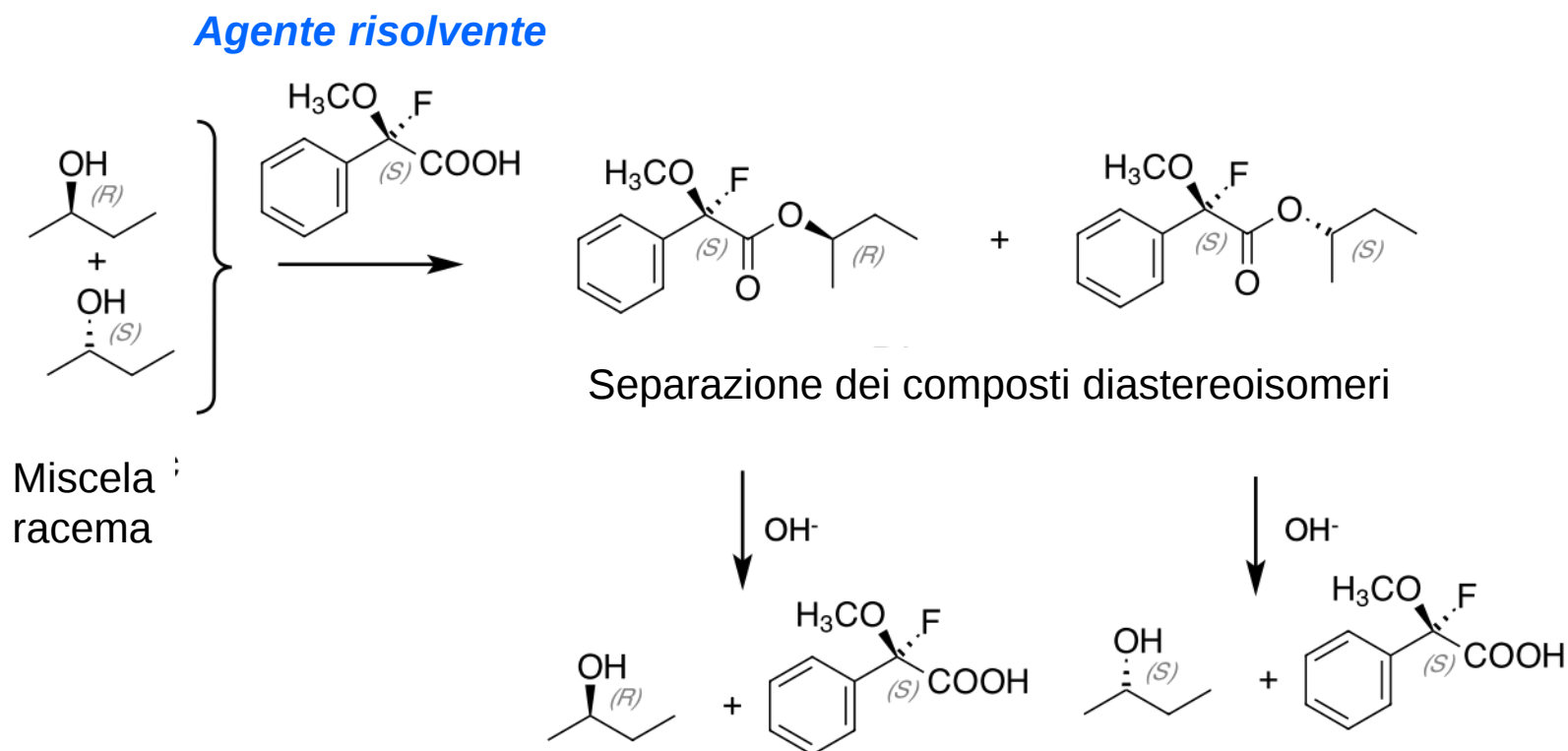
Risoluzione classica

Formazione di sali diastereoisomeri



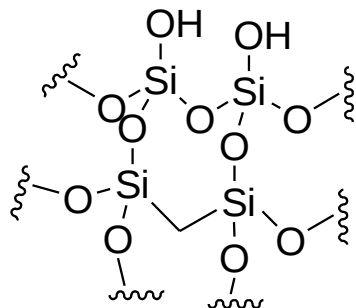
RISOLUZIONE CLASSICA

Formazione di composti diastereoisomeri

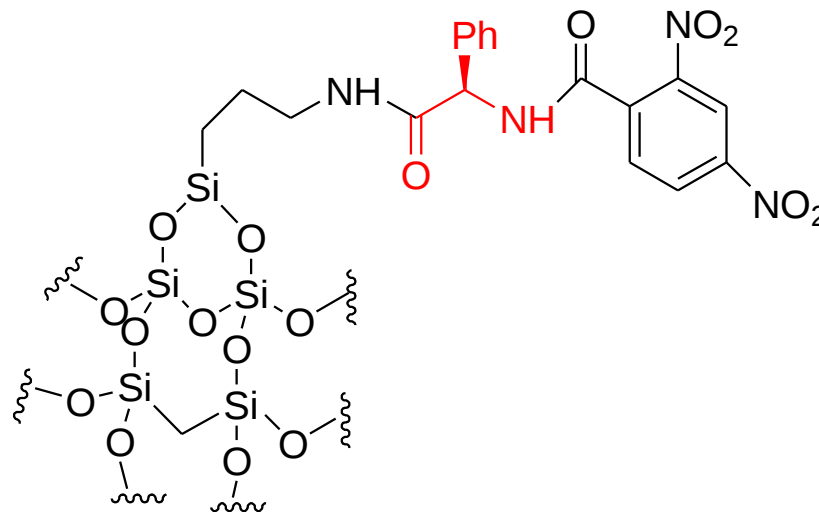


RISOLUZIONE CLASSICA

Risoluzione fisica



Gel di silice
Fase stazionaria achirale

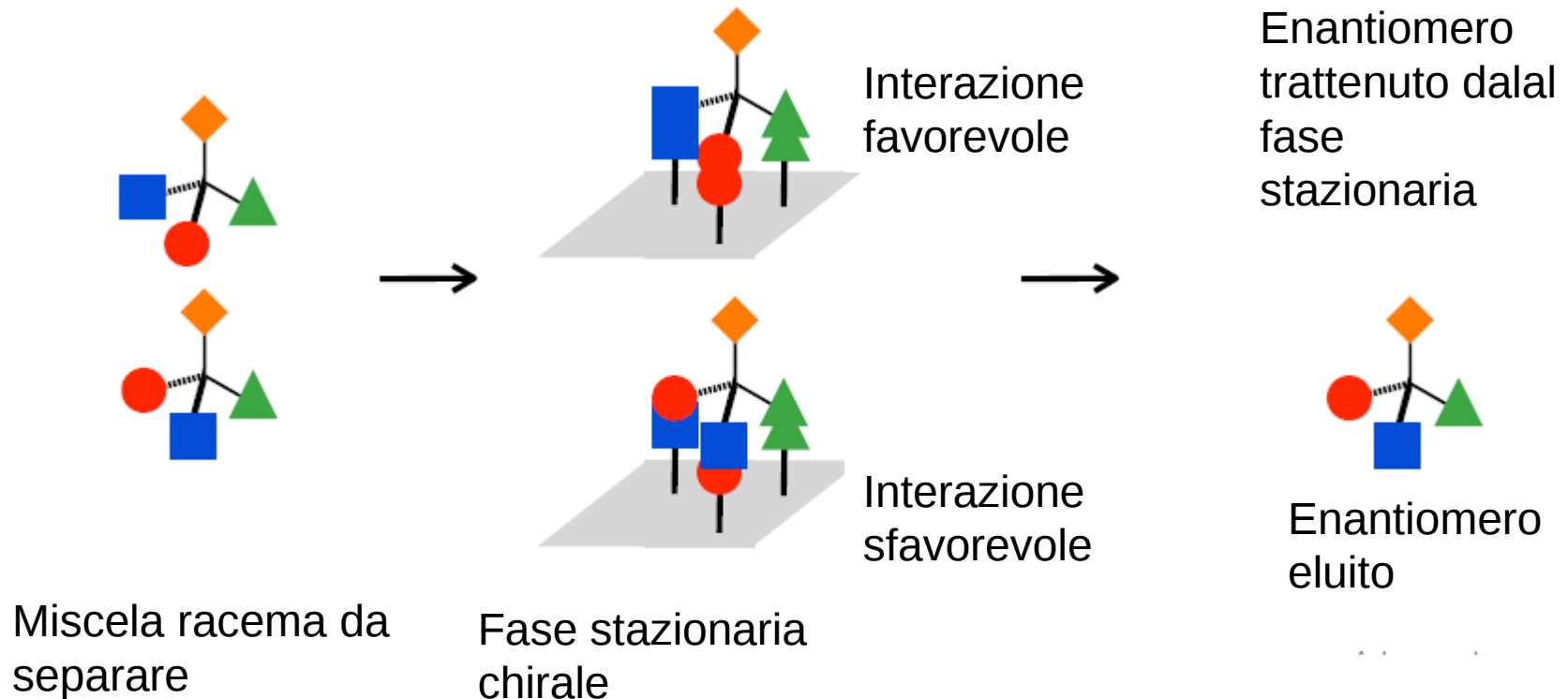


Gel di silice derivatizzata con composto chirale
enantiomericamente puro
Fase stazionaria chirale

RISOLUZIONE CLASSICA

Risoluzione fisica

GC e HPLC chirale



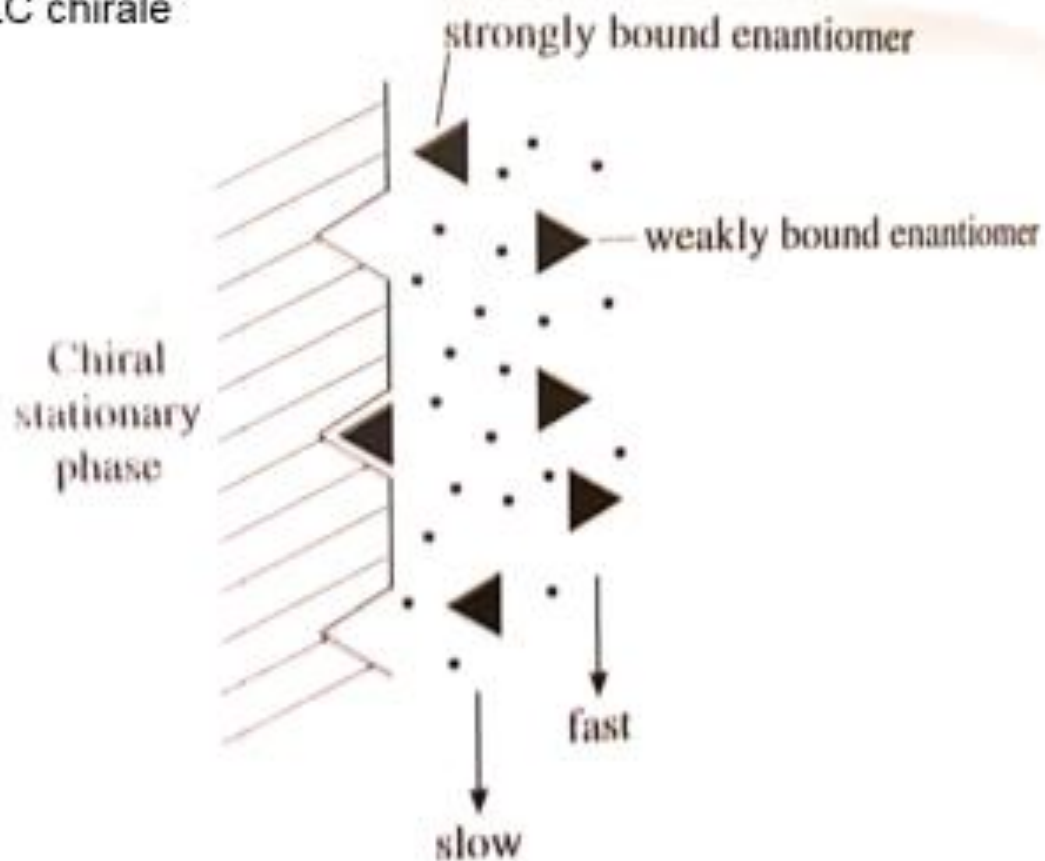
HPLC : High Performance Liquid Chromatography

GC: Gas Chromatography

RISOLUZIONE CLASSICA

Risoluzione fisica

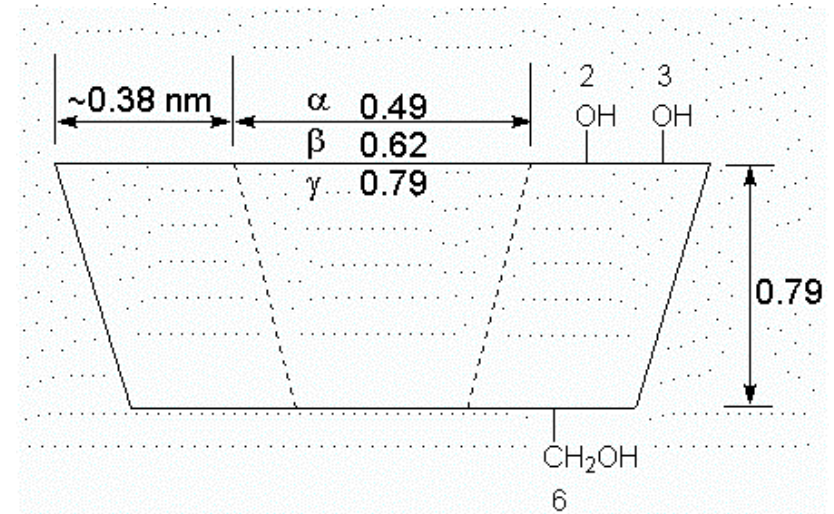
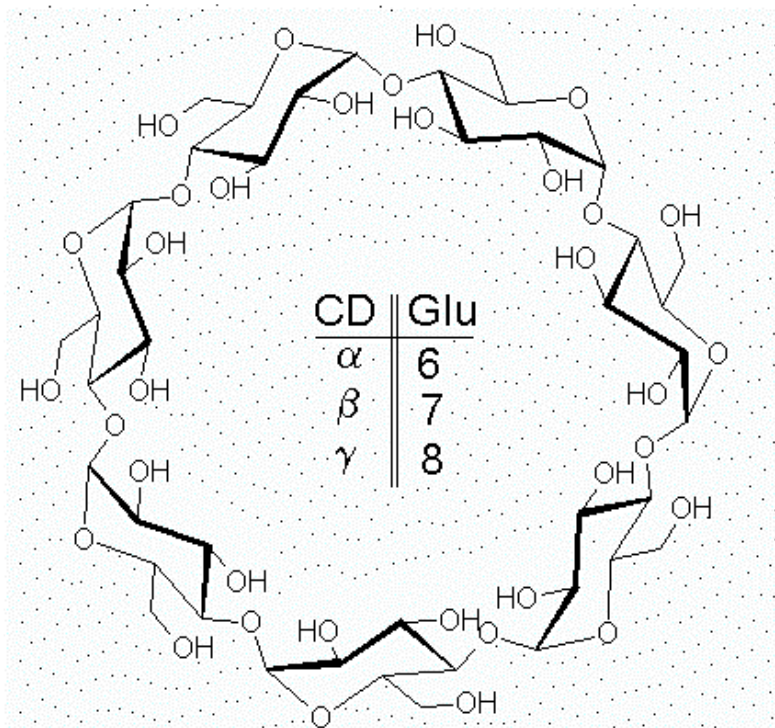
GC e HPLC chirale



RISOLUZIONE CLASSICA

Risoluzione fisica per inclusione

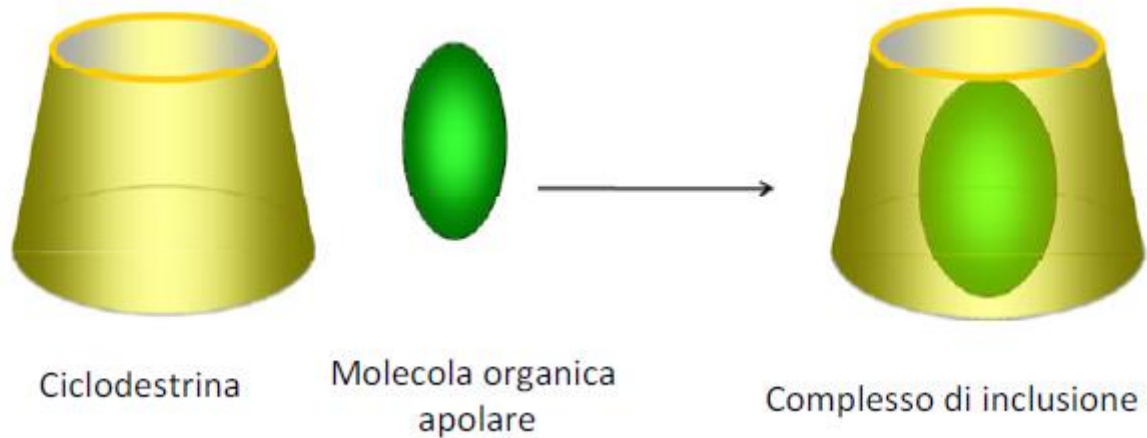
CICLODESTRINE:
Polisaccaridi ciclici
Da 6 a 8 unità di D-(+)-Glucosio



RISOLUZIONE CLASSICA

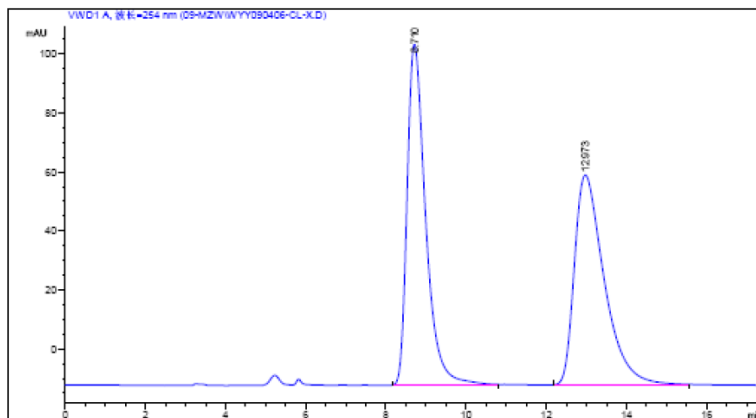
Risoluzione fisica per inclusione

CICLODESTRINE

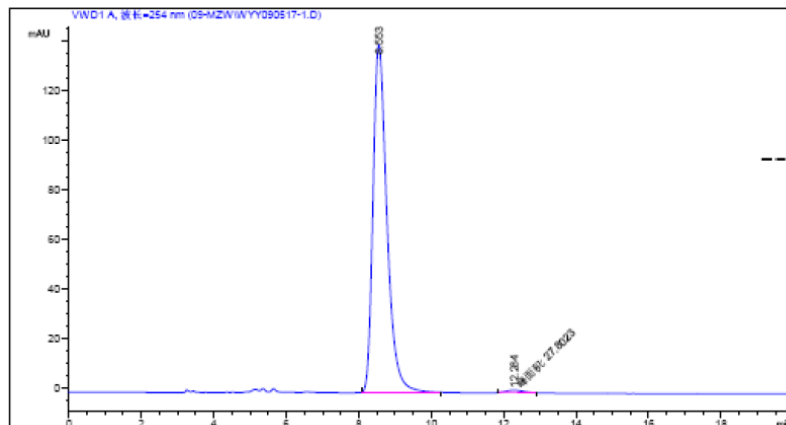


DETERMINAZIONE DELL' ECCESSO ENANTIOMERICO

1. HPLC (o GC) CHIRALE:



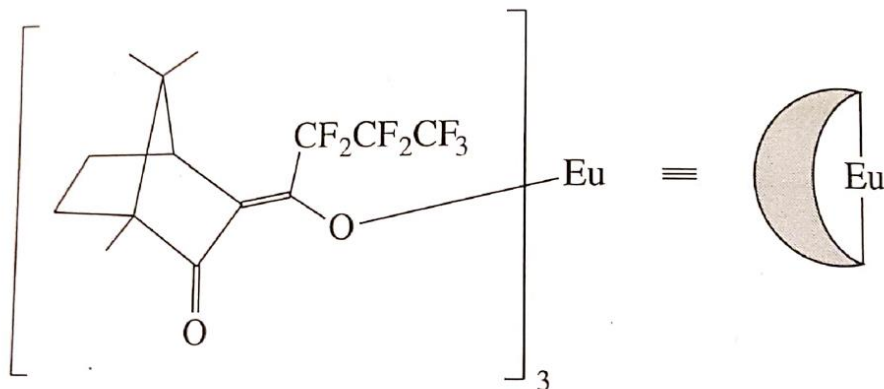
#	[min]		[min]	mAU	*s	[mAU]	%
1	8.710	BB	0.4806	3712.99561	115.27662	50.1381	
2	12.973	BB	0.7805	3692.53442	71.11437	49.8619	



#	[min]		[min]	mAU	*s	[mAU]	%
1	8.552	BB	0.4188	3768.72876	140.03900	99.2677	
2	12.284	MM	0.5209	27.80228	8.89625e-1	0.7323	

DETERMINAZIONE DELL' ECCESSO ENANTIOMERICO

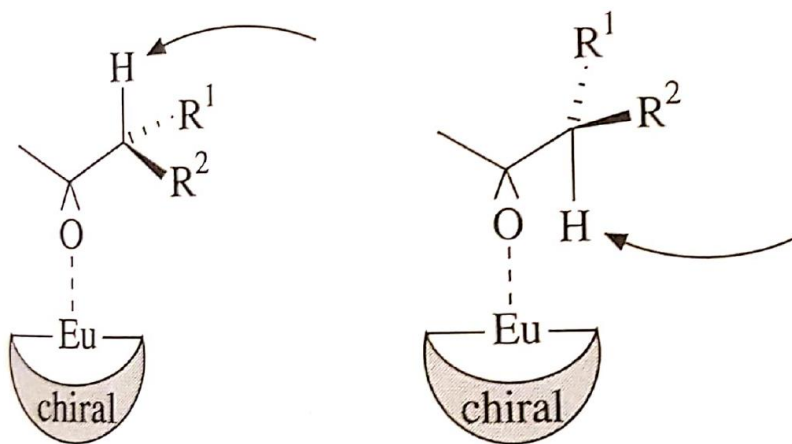
2. NMR: Shift Reagents



Complesso di Eu
enantiomericamente puro

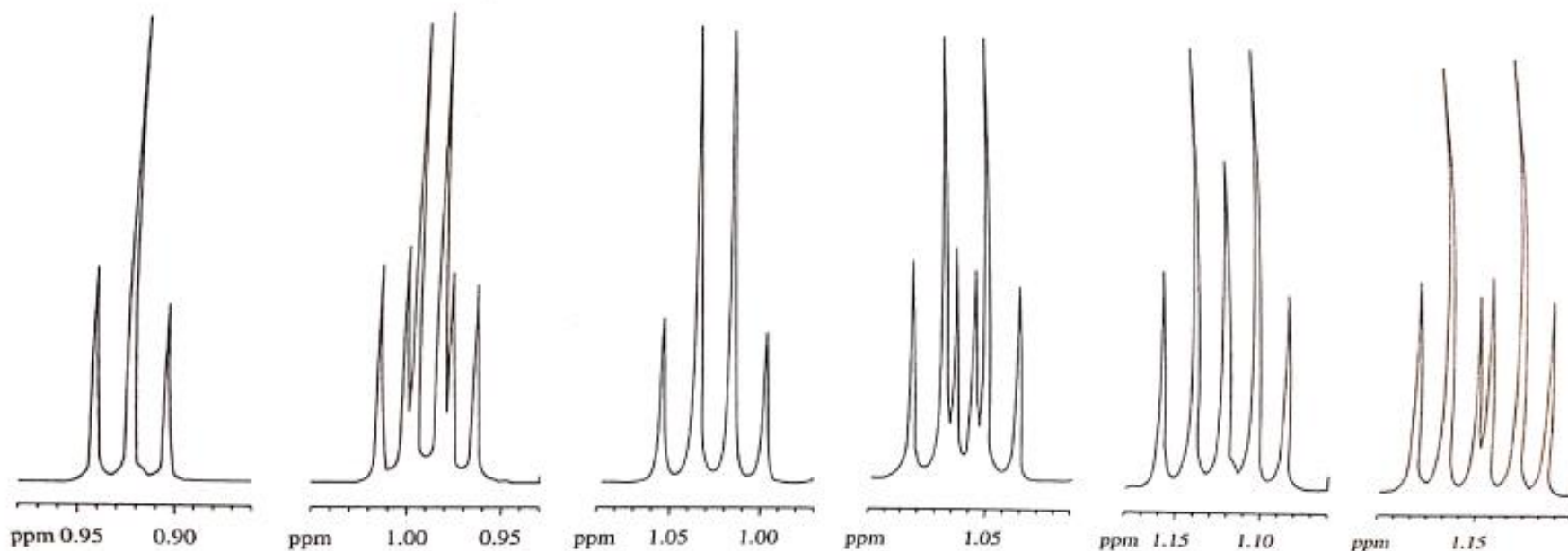
$\text{Eu}(\text{HFC})_3$ HFC: hexafluoropropylhydroxymethylene-(+)-camphorate

$\text{Eu}(\text{hfc})_3$, $\text{R} = \text{CF}_2\text{CF}_2\text{CF}_3$
 $\text{Eu}(\text{tfc})_3$, $\text{R} = \text{CF}_3$



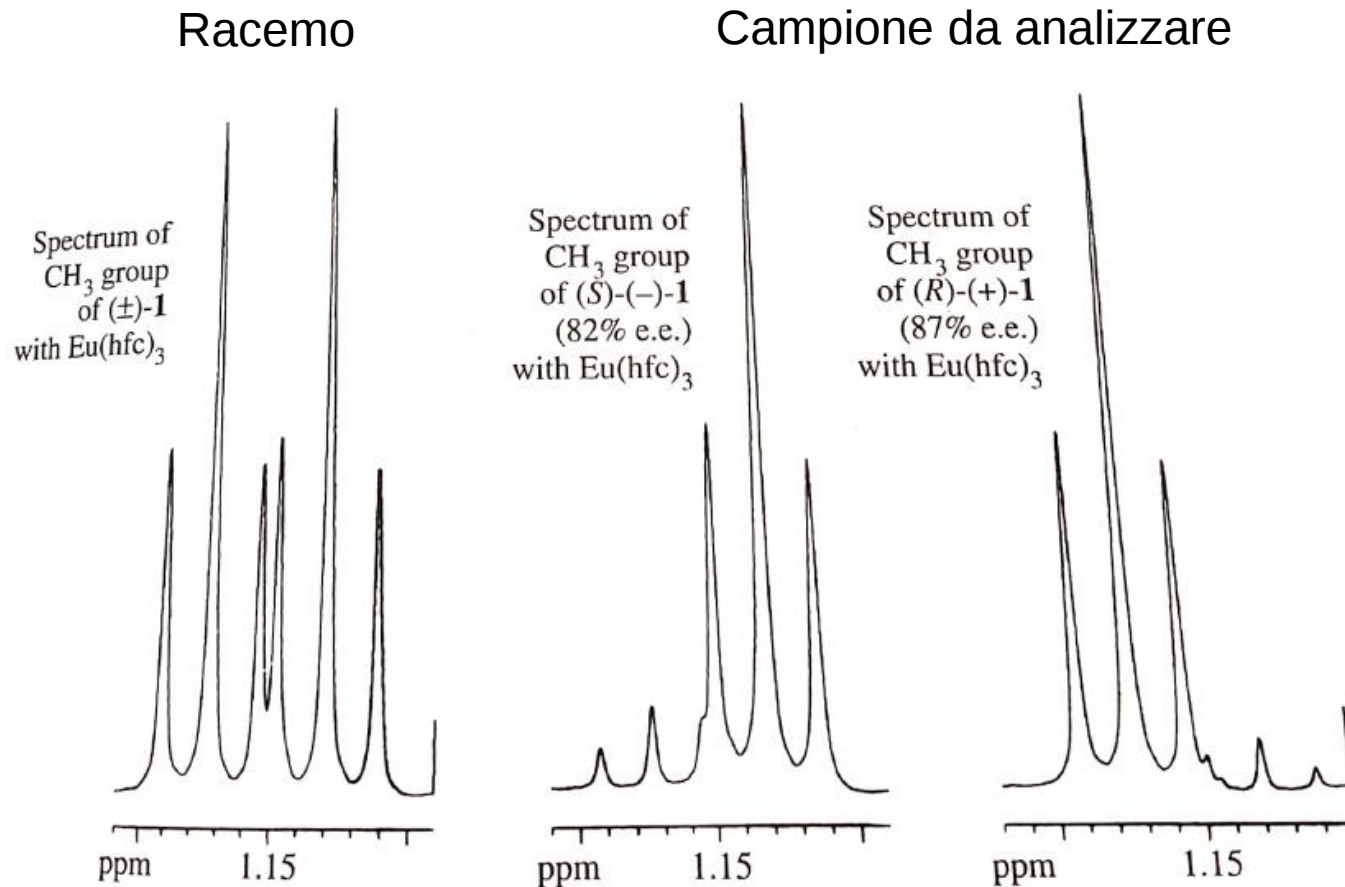
Complessi diastereoisomeri:
Segnali diversi nello
Spettro NMR

La complessazione con il centro metallico induce uno shift nella risonanza dei segnali.
Lo shift è diverso per i due enantiomeri



DETERMINAZIONE DELL' ECCESSO ENANTIOMERICO

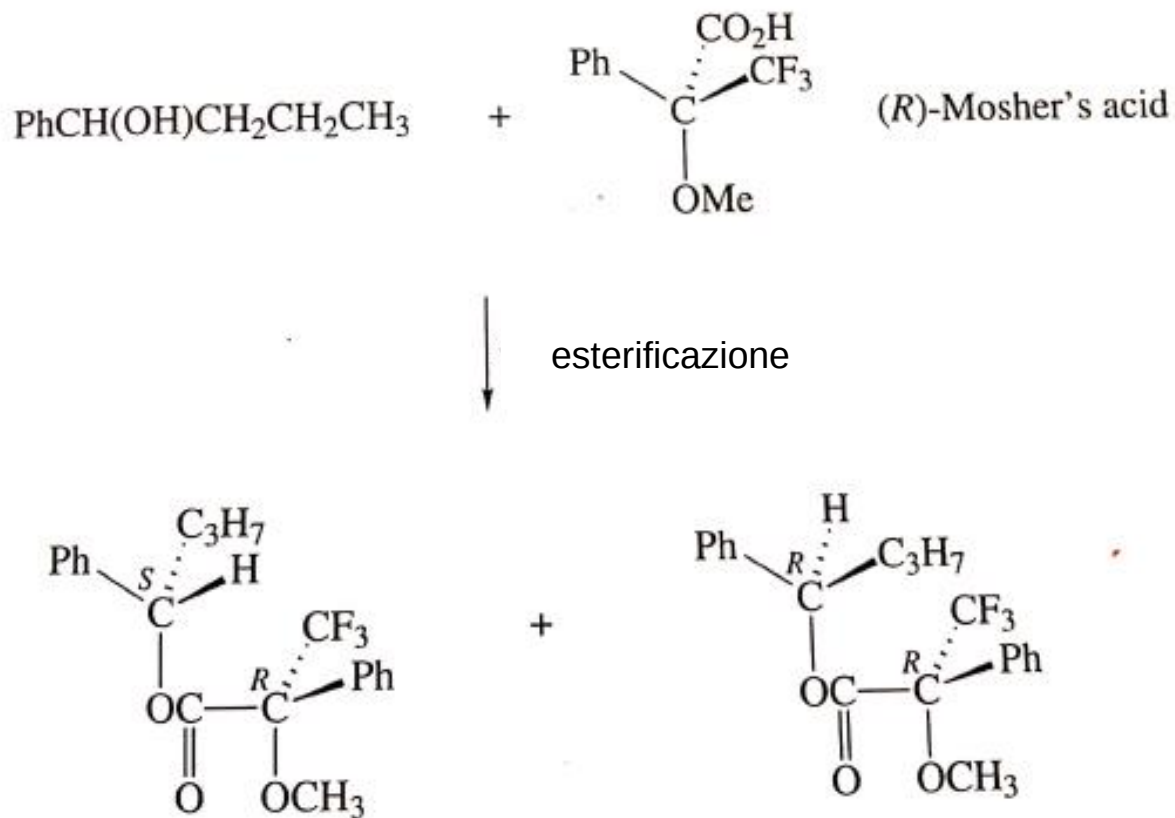
2. NMR: Shift Reagents



Integrando i segnali si ricava il rapporto delle concentrazioni dei due complessi diastereoisomerici. Questo è uguale al rapporto fra le concentrazioni dei due enantiomeri, da cui si risale all'e.e.

DETERMINAZIONE DELL' ECCESSO ENANTIOMERICO

3. NMR: Esteri di Mosher



Esteri diastereoisomeri: segnali diversi nello spettro ^1H NMR e ^{19}F NMR

DETERMINAZIONE DELL' ECCESSO ENANTIOMERICO

3. NMR: ESTERI DI MOSHER

Diastereoisomeri puri

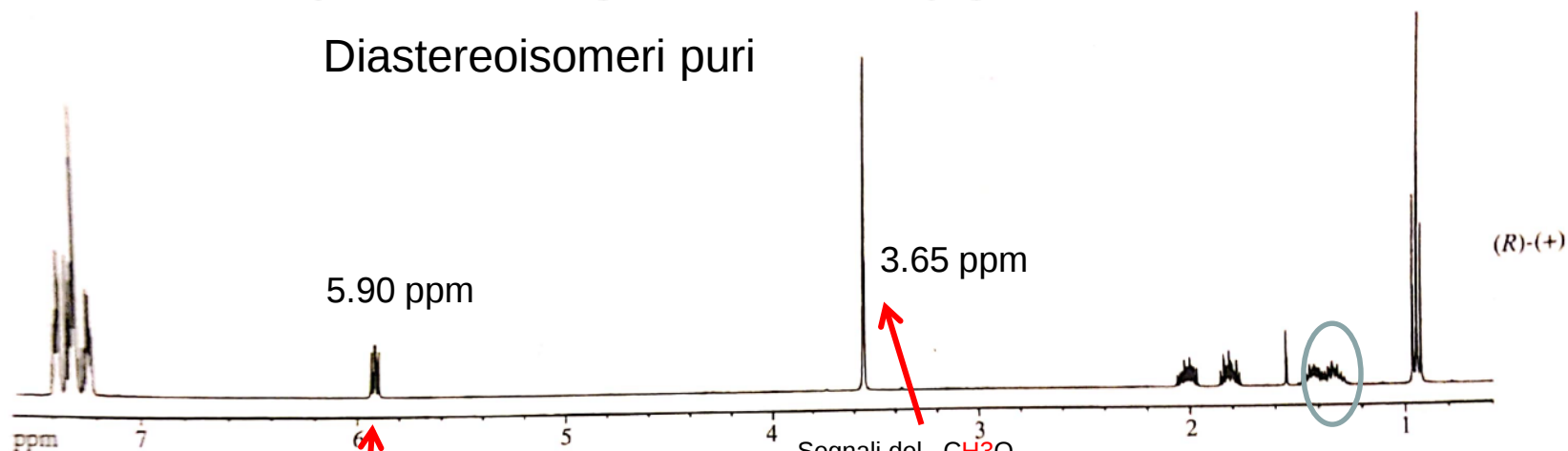


Fig. 6.6(b) Mosher's ester derivative of (R) -(+)-1-phenylbutan-1-ol.

Segnali del $-\text{CH}_3\text{O}$
dei due diastereoisomeri a ppm diversi

Segnali del $-\text{CH-OCO}$
dei due diastereoisomeri a ppm diversi

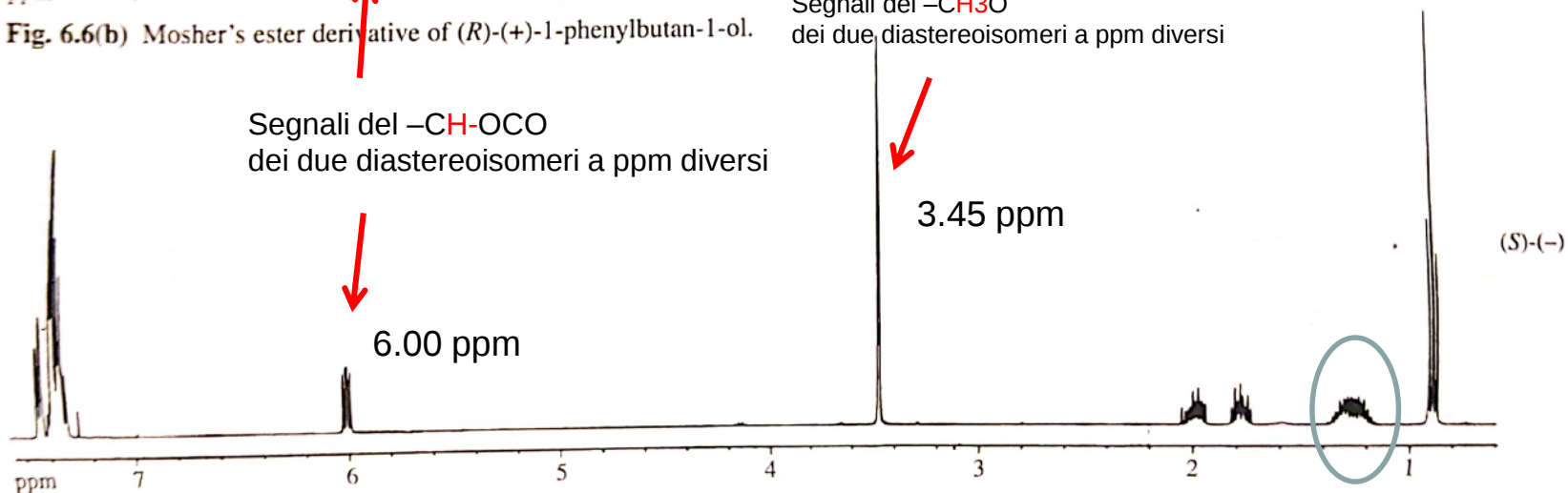


Fig. 6.6(c) Mosher's ester derivative of (S) -(-)-1-phenylbutan-1-ol.

DETERMINAZIONE DELL' ECCESSO ENANTIOMERICO

3. NMR: ESTERI DI MOSHER

Prova sul campione

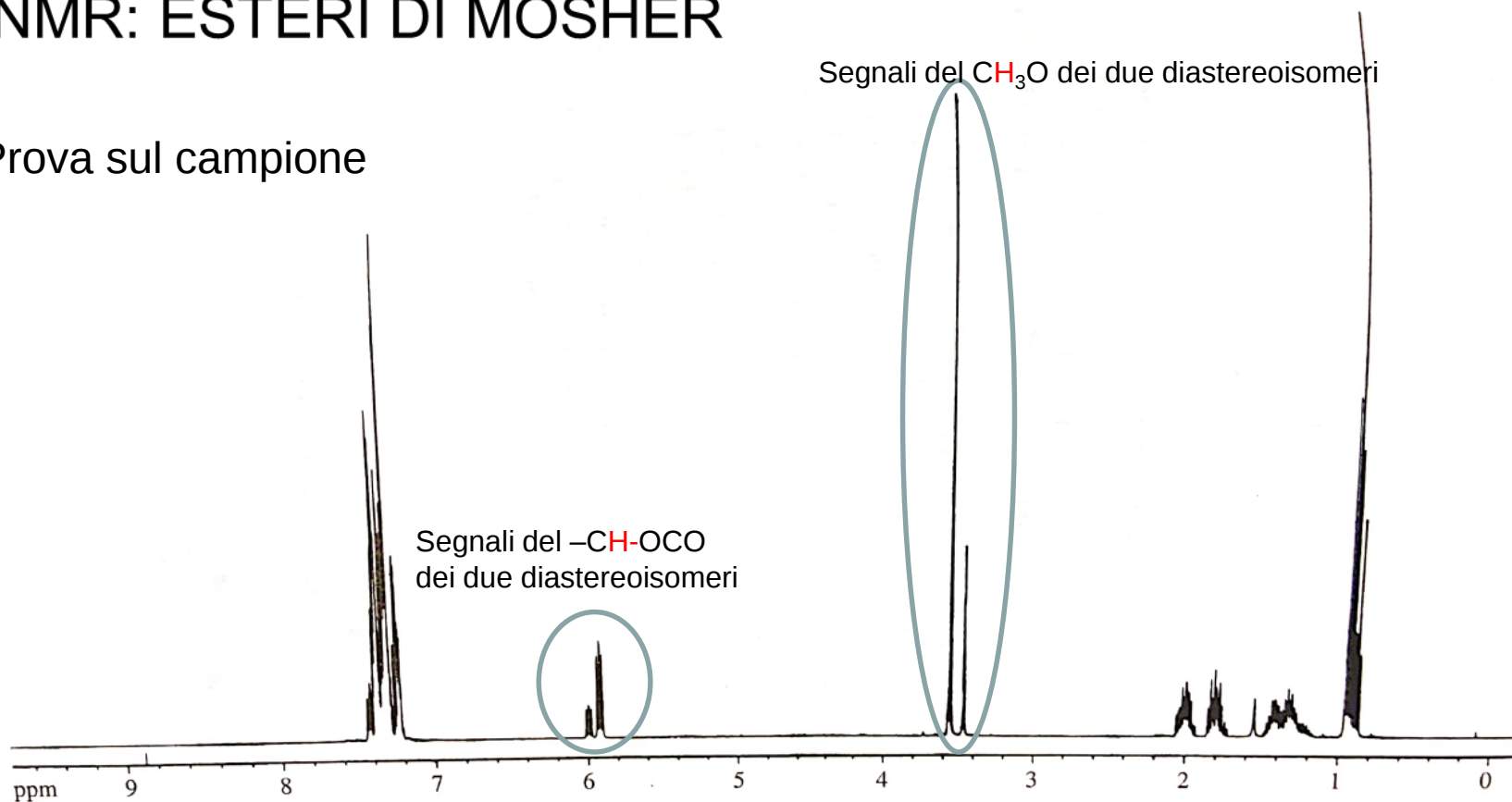
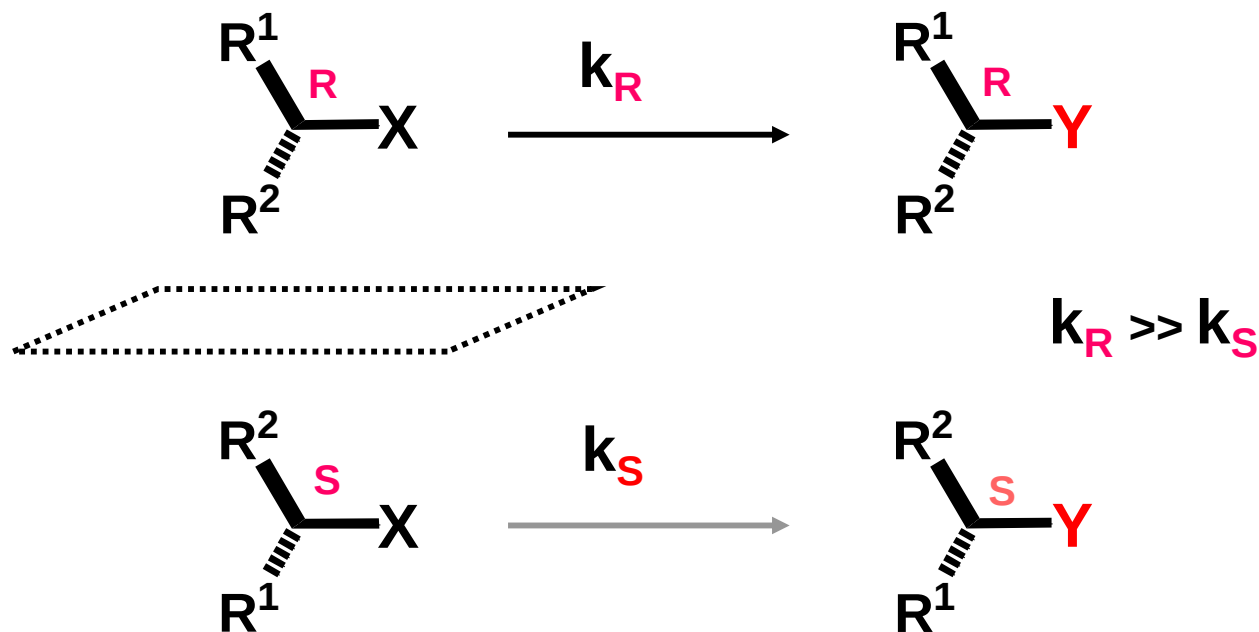


Fig. 6.6(d) Spectrum of a mixture of the Mosher's esters of (*R*)-(+)- (major) and (*S*)-(-)- (minor) 1-phenylbutan-1-ol.

Risoluzione cinetica KR

Reagente o catalizzatore chirali enantiomericamente puri

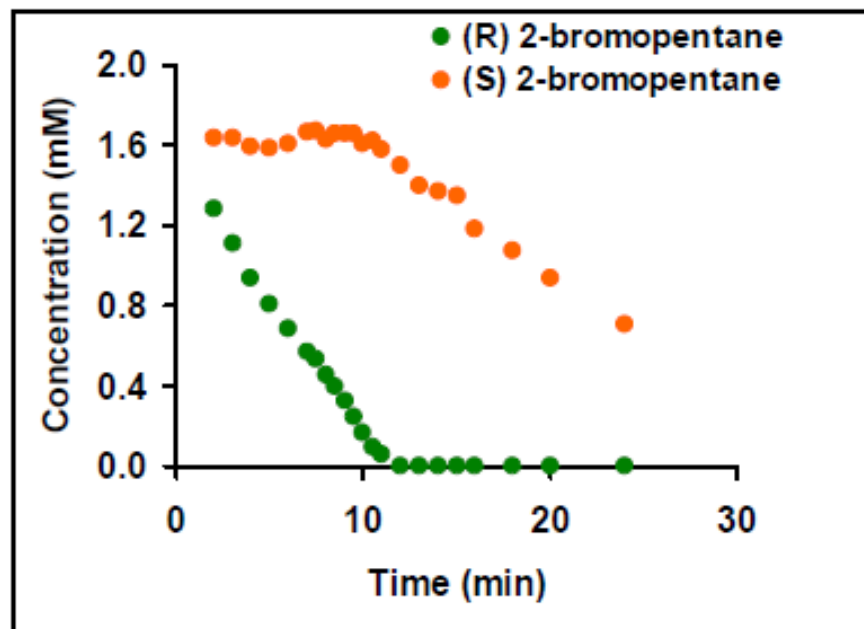
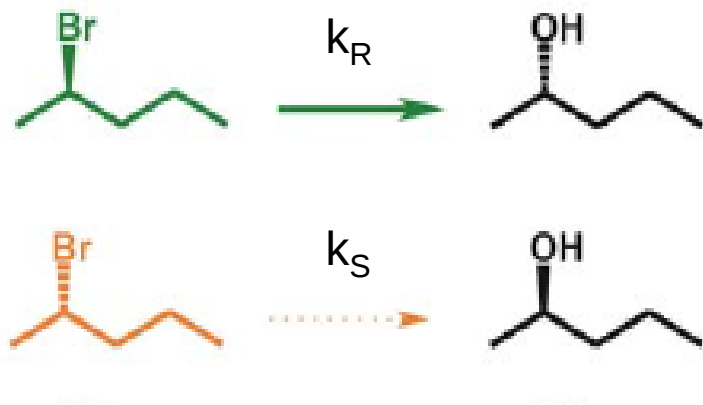


R enantiomero “veloce” o **eutomero**; S enantiomero “lento” o **distomero**

RISOLUZIONE CINETICA

Agente risolvente: enzima (catalizzatore chirale)

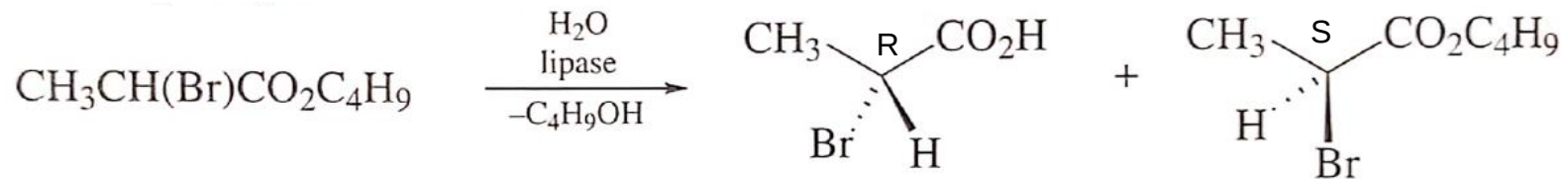
Reagente: H_2O (idrolisi)



R enantiomero “veloce” o **eutomero**; S enantiomero “lento” o **distomero**

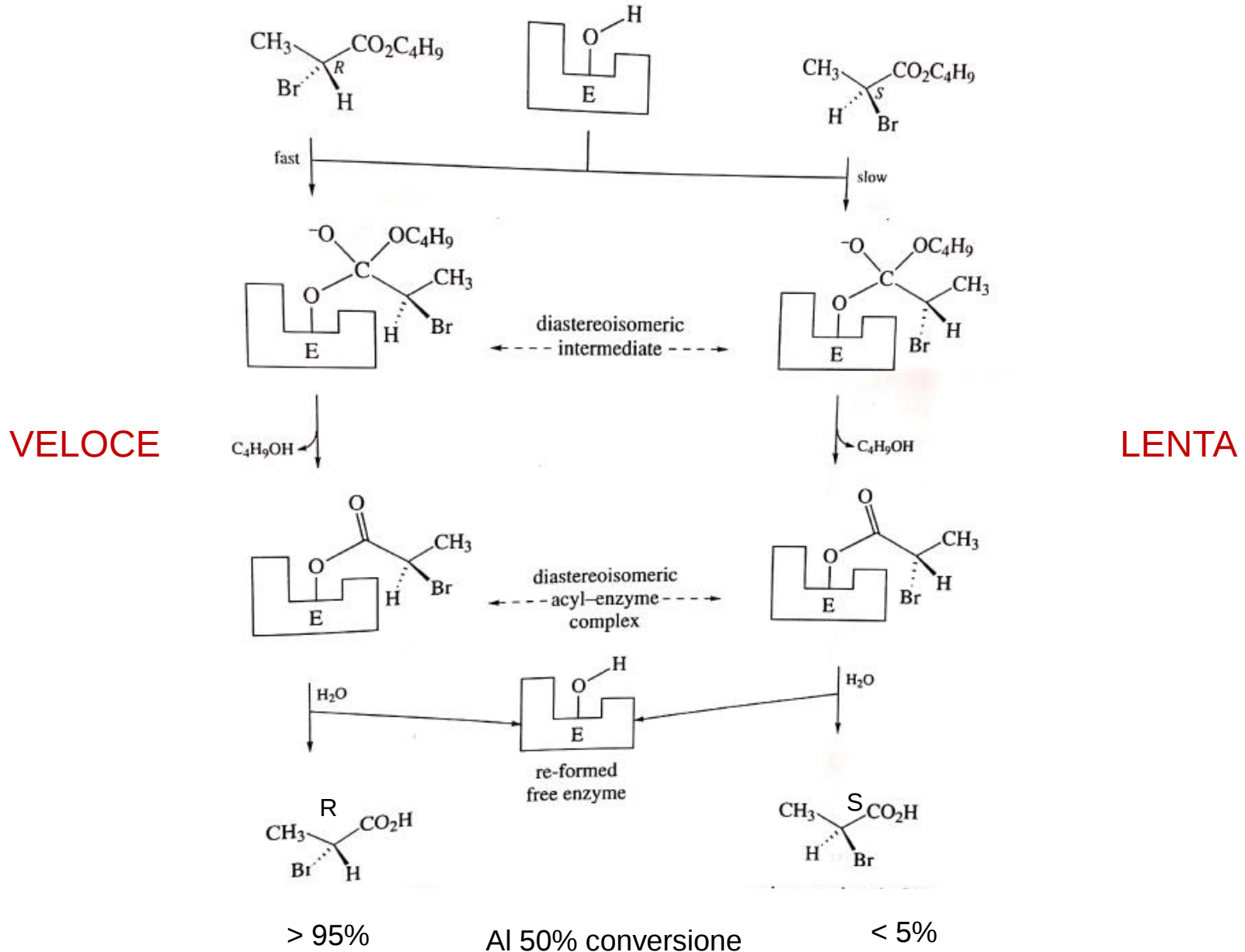
Risoluzione cinetica mediata da enzimi

IDROLISI ENZIMATICA DI UN ESTERE RACEMO

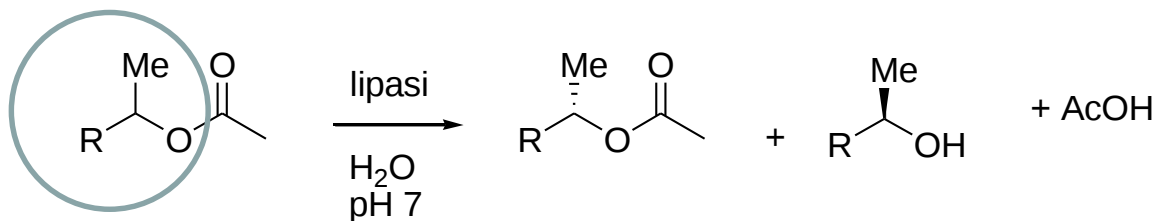


$$k_{\text{R}} > k_{\text{S}}$$

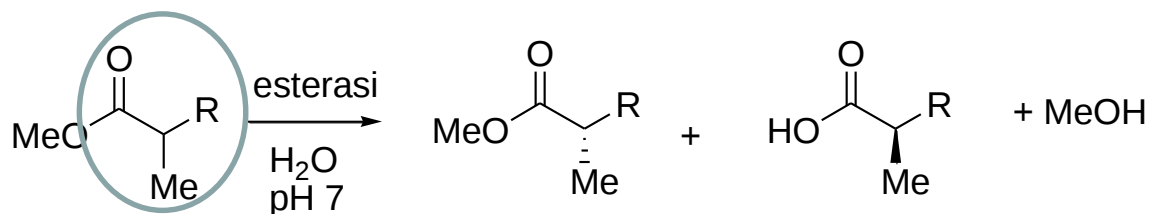
Risoluzione cinetica mediata da enzimi



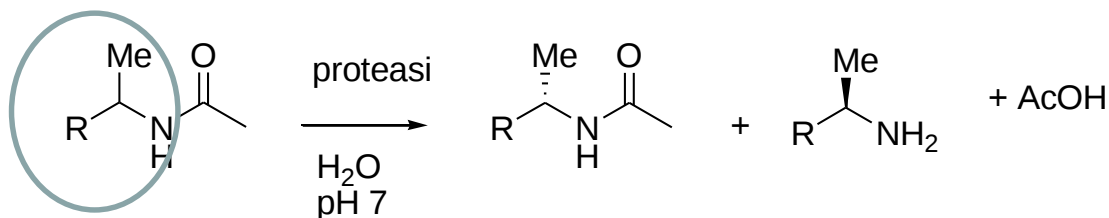
Idrolisi enzimatiche



Idrolisi di esteri di alcoli chirali (enzimi preferiti: lipasi)

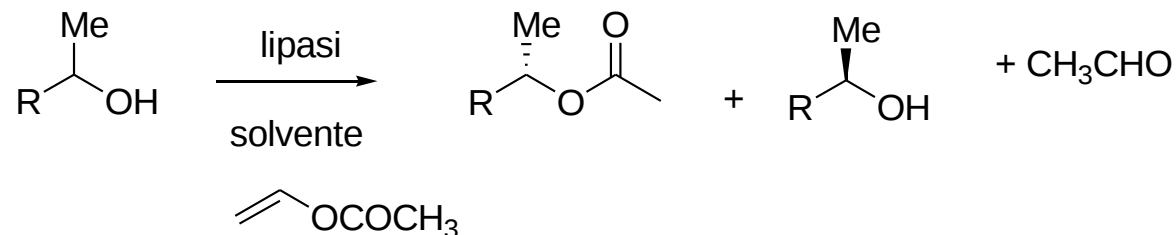


Idrolisi di esteri di acidi carbossilici chirali (enzimi preferiti: esterasi)

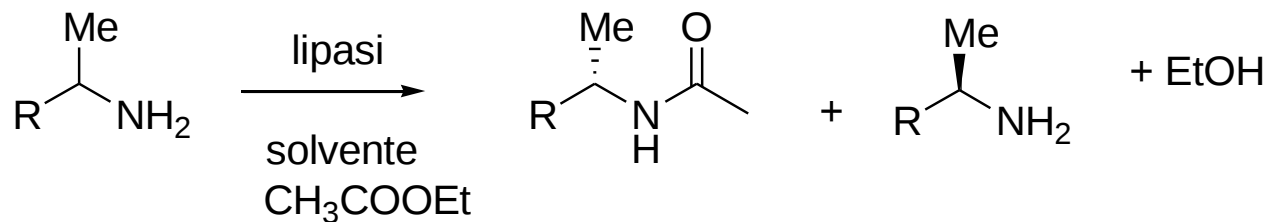


Idrolisi di ammidi di acidi carbossilici chirali (enzimi preferiti: proteasi)

Acilazioni enzimatiche

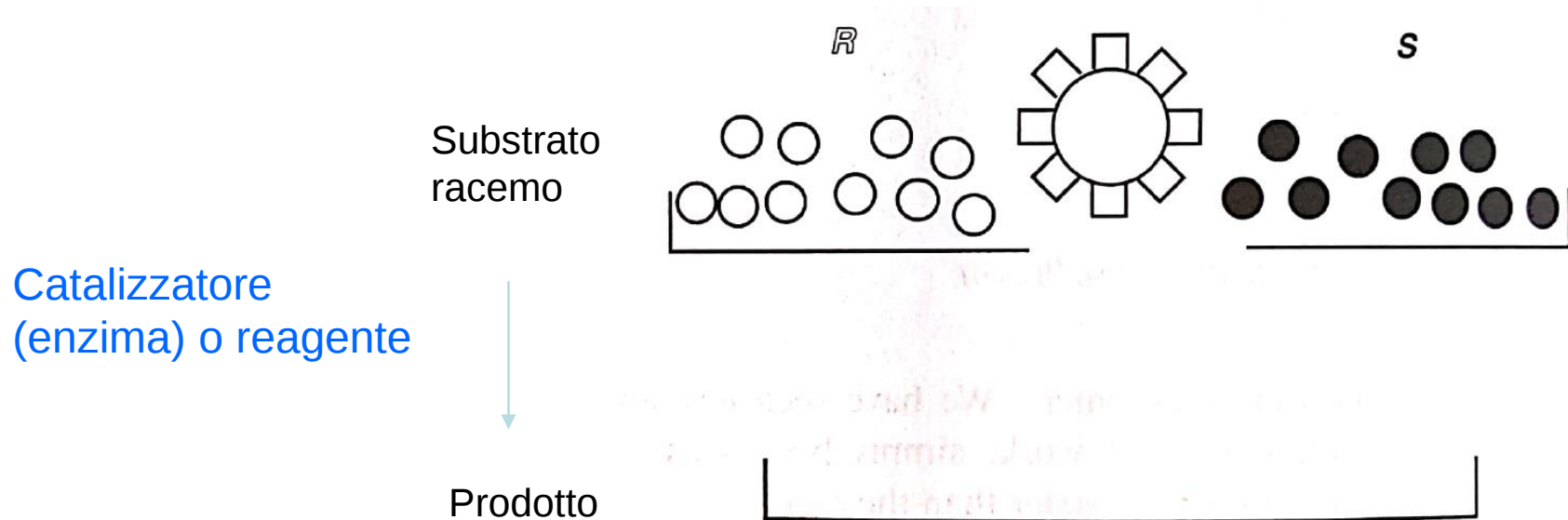


Acetilazioni di alcoli secondari chirali (enzimi preferiti: lipasi)



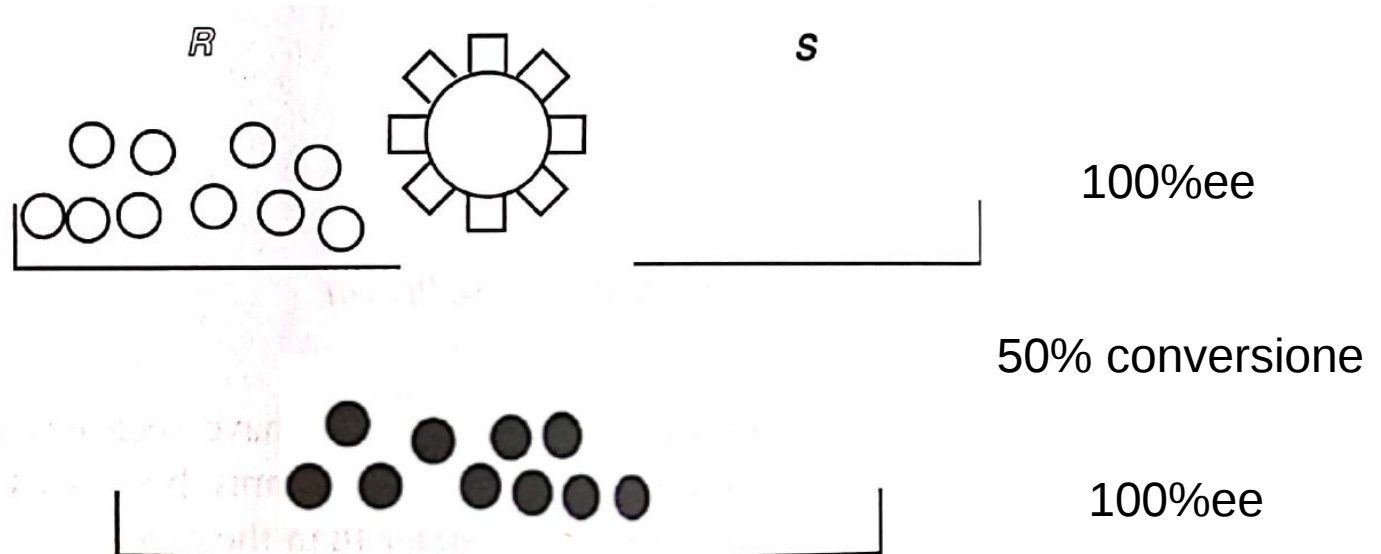
Acetilazioni di ammine primarie chirali (enzimi preferiti: lipasi)

Selettività di una risoluzione cinetica



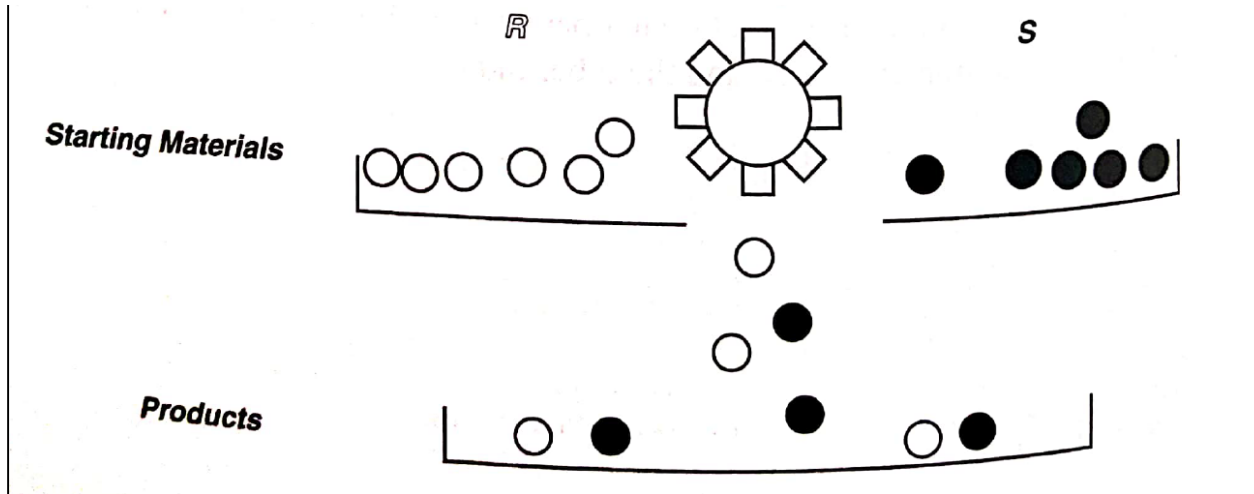
Selettività di una risoluzione cinetica

1. Catalizzatore completamente selettivo

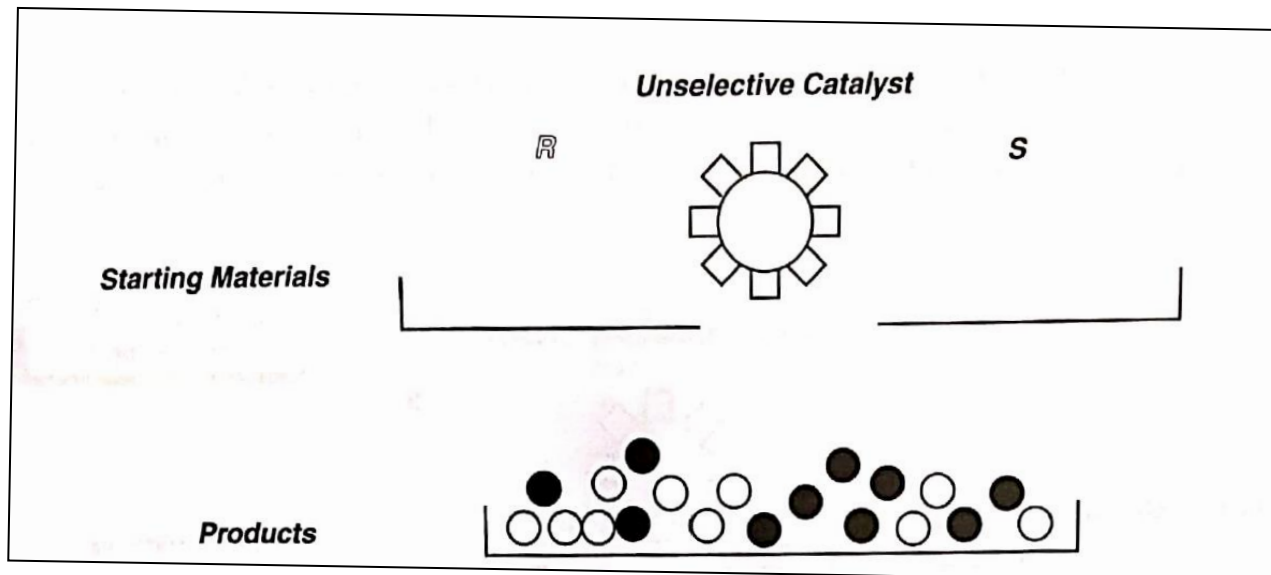


Selettività di una risoluzione cinetica

2. Catalizzatore non selettivo

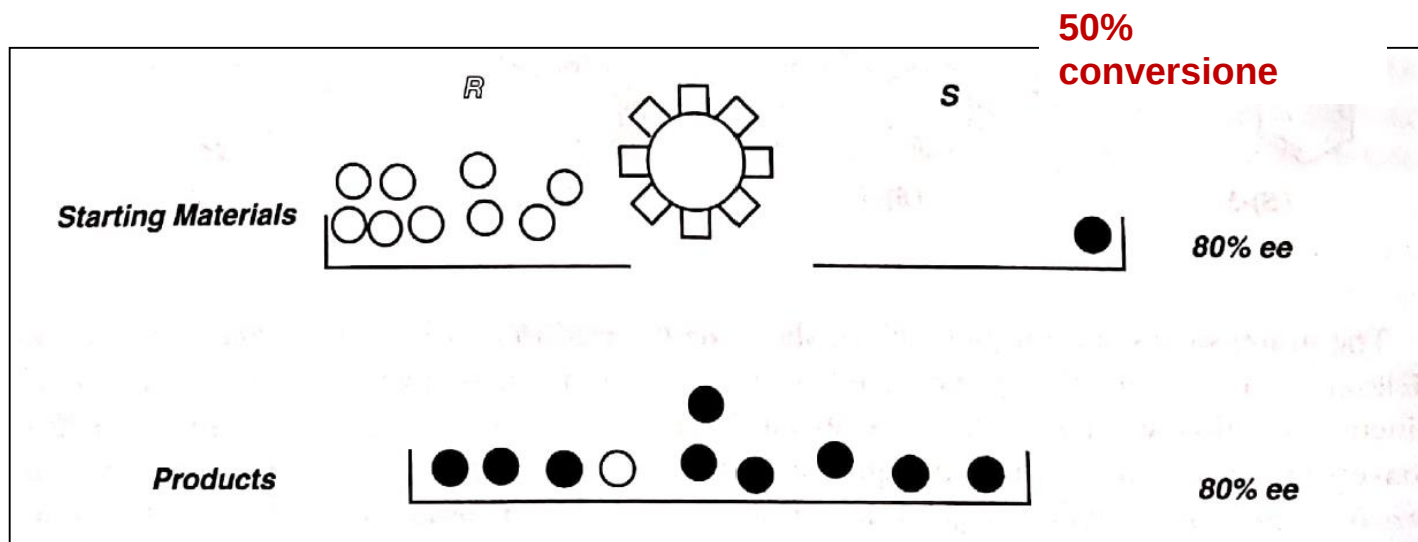
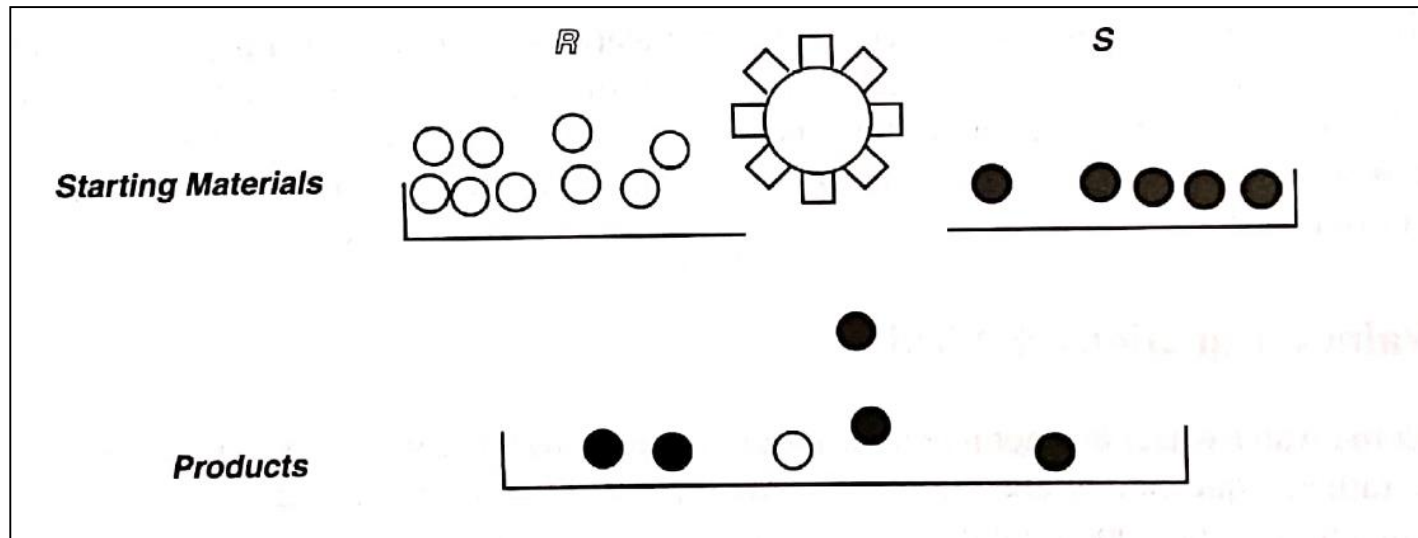


0% ee



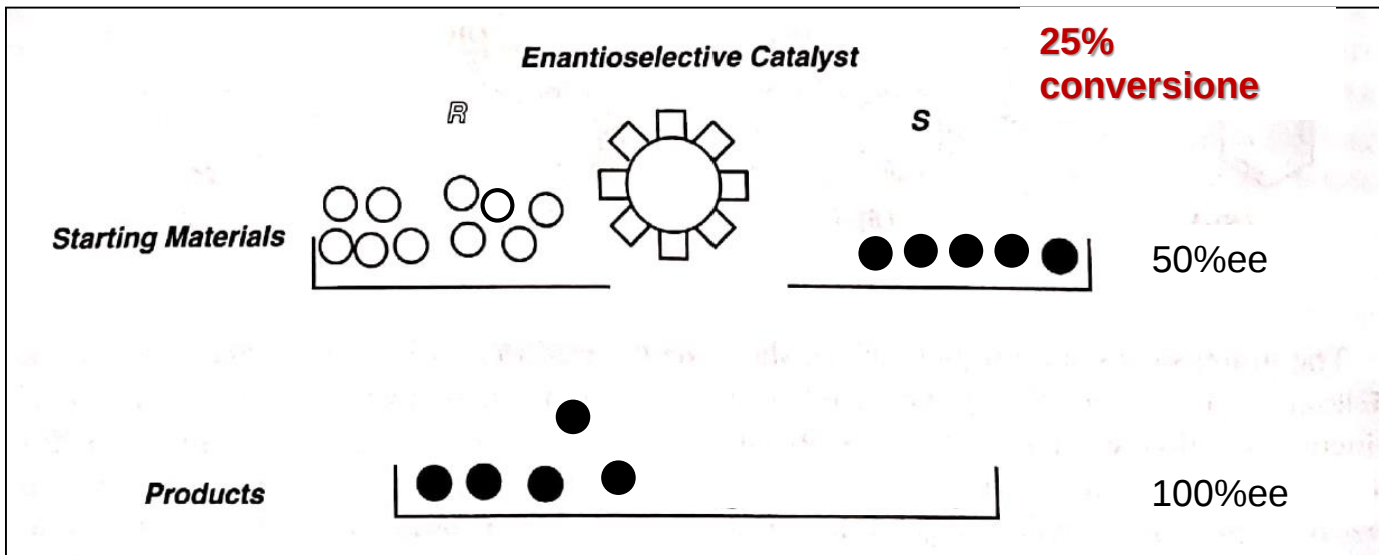
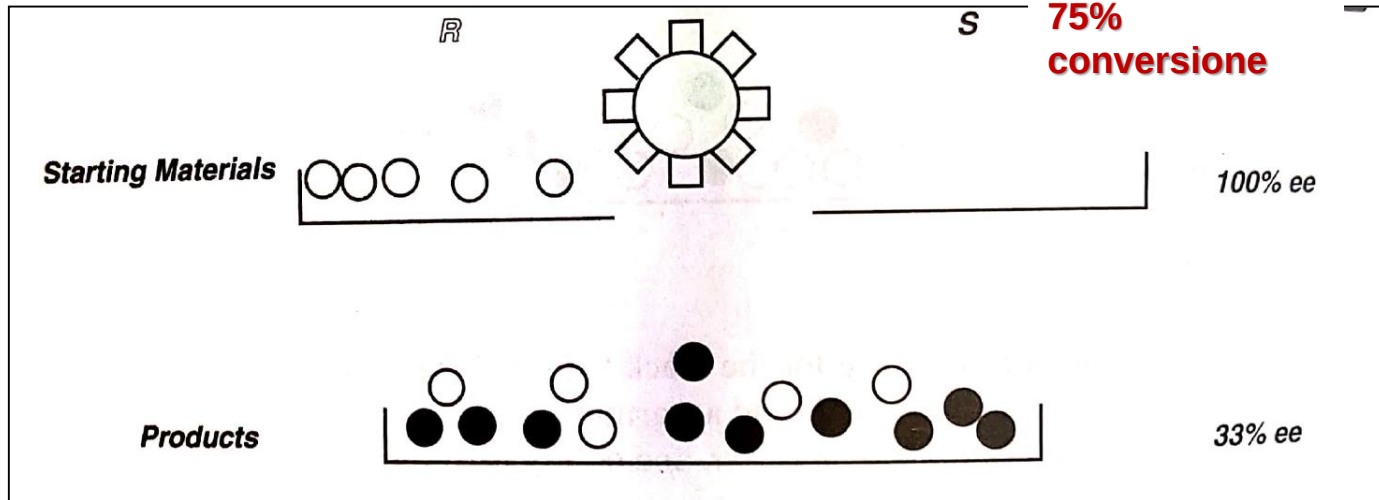
Selettività di una risoluzione cinetica

2. Catalizzatore enantioselettivo

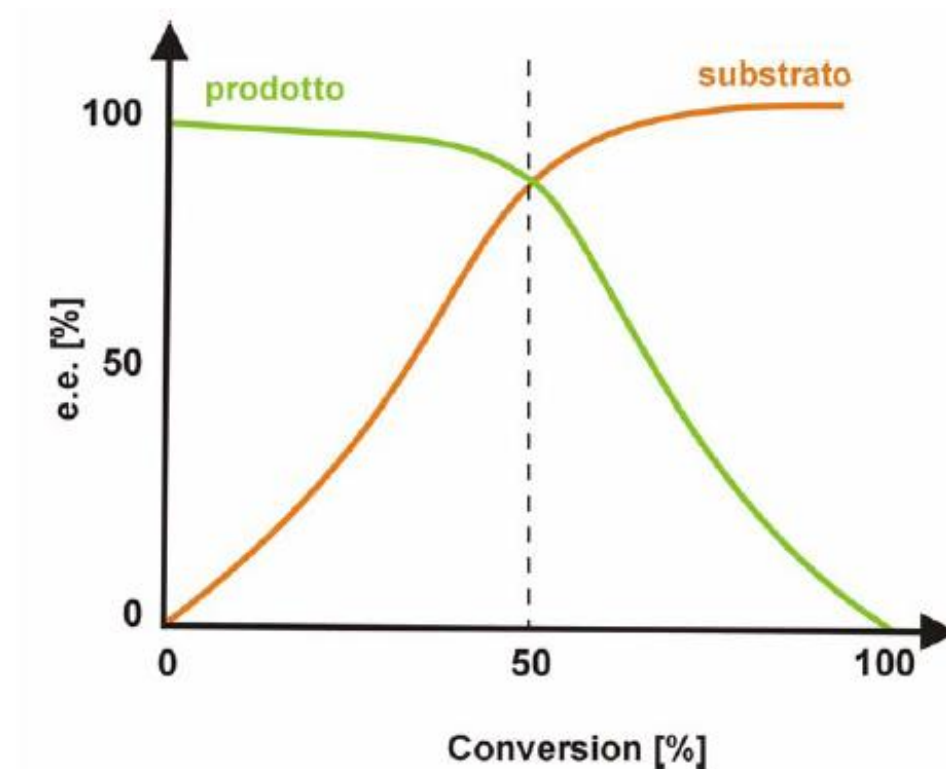


Selettività di una risoluzione cinetica

2. Catalizzatore enantioselettivo (5:1)



Selettività di una risoluzione cinetica



- E.e. dipende dalla conversione
- E.e. Del prodotto diminuisce al di sopra del 50% conversione
- E.e. Del substrato è basso sotto il 40% conversione
- La conversione è la frazione di substrato convertita nel prodotto

$$c = \text{conversion} = \frac{[P]}{[S_0]} = \frac{[S_0] - [S]}{[S_0]}$$

Selettività di una risoluzione cinetica

$$E = \frac{k_{\text{eutomero}}}{k_{\text{distomero}}} \quad \text{Rapporto enantiomerico}$$

$$E = \frac{\ln \frac{[ee_P (1 - ee_S)]}{(ee_P + ee_S)}}{\ln \frac{[ee_P (1 + ee_S)]}{(ee_P + ee_S)}}$$

E non cambia con la conversione

Eutomero enantiomero “veloce”. Coincide con P (prodotto) della seconda relazione.

Dsitomero enantiomero “lento”. Coincide con S (substrato non reagito) della seconda relazione.

Ad un valore basso di conversione:

E	ee _P [%]
10	83
19	90
49	95
100	98

E = 1 nessuna stereoselettività

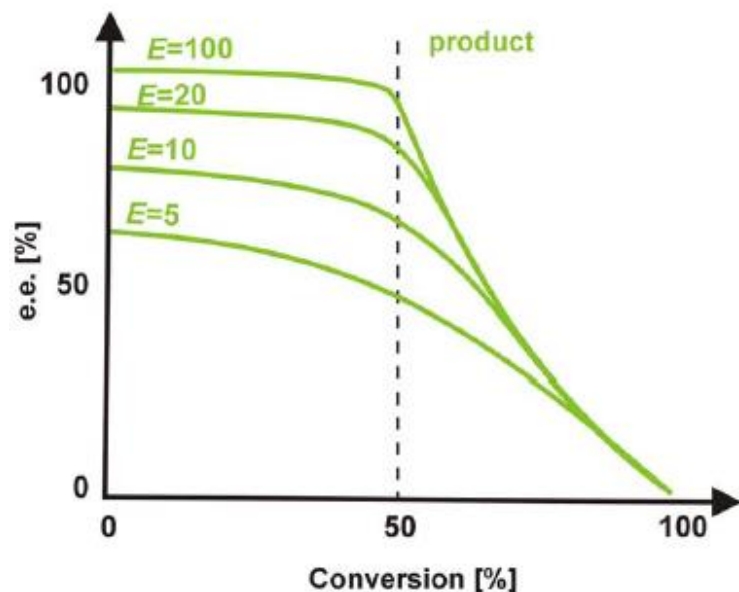
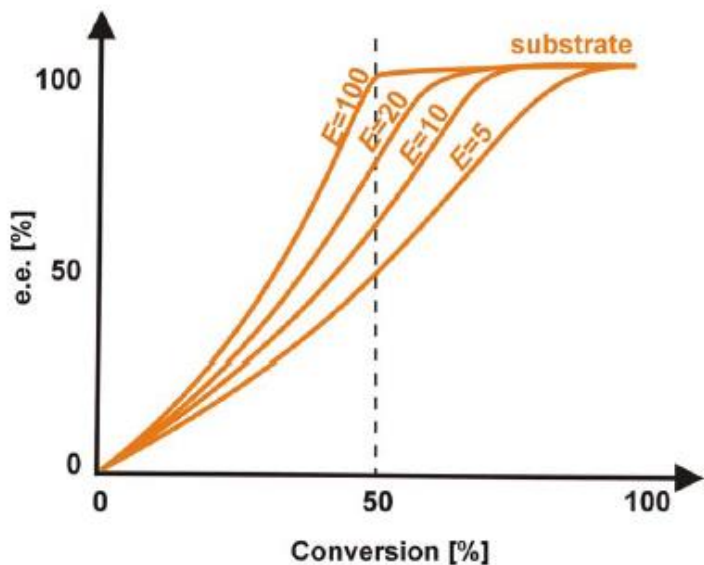
E fino a 10: bassa selettività

E 15 – 30 modesta

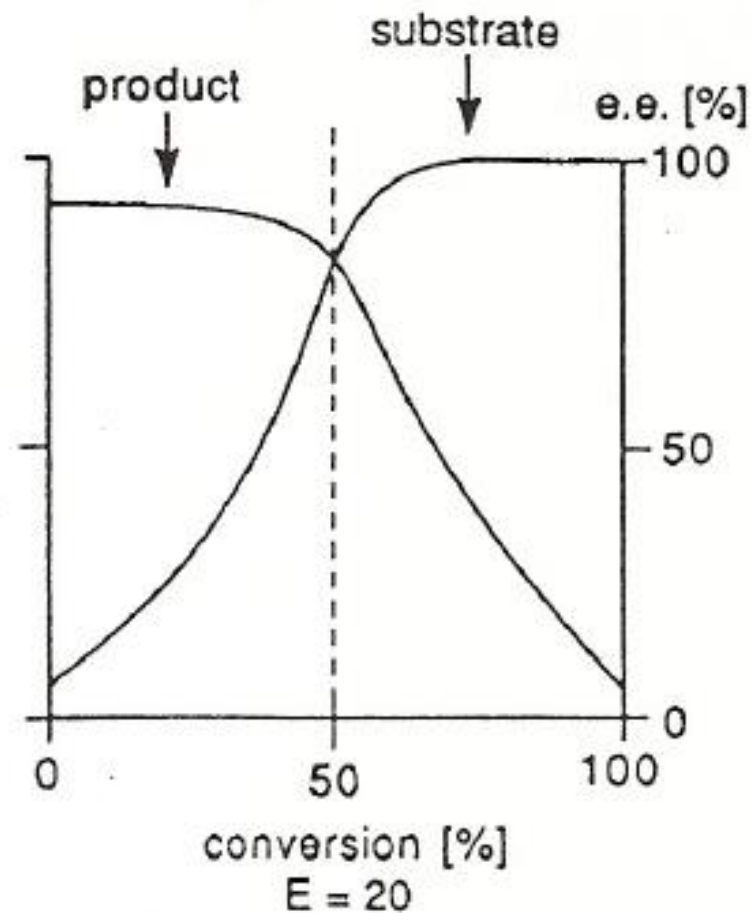
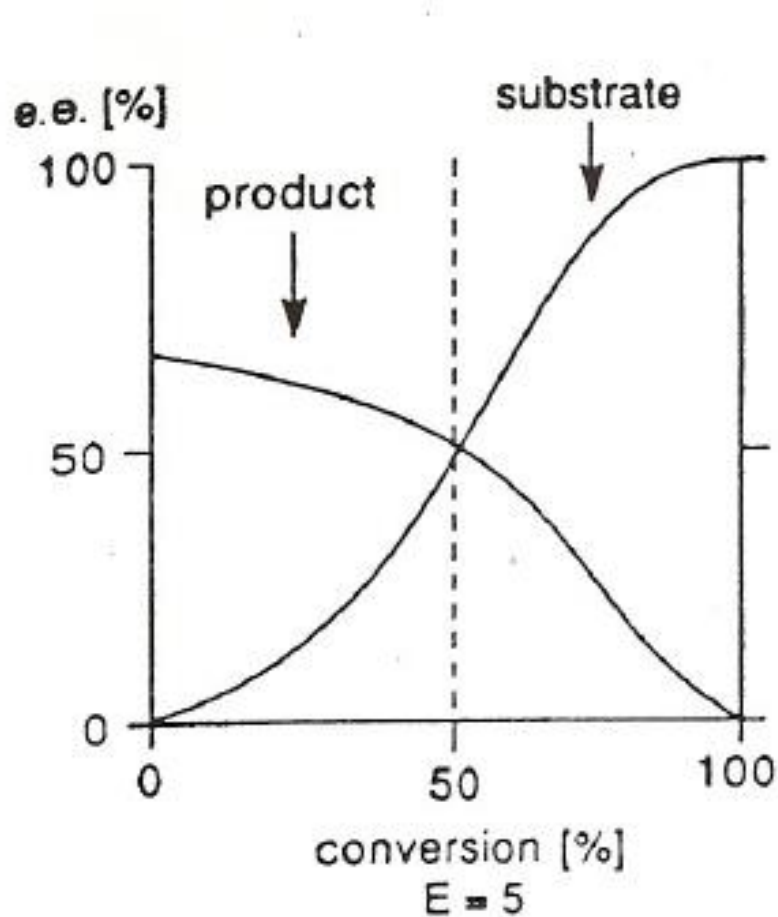
E = 40 – 200 buona - ottima

E > 200 eccellente

Selettività di una risoluzione cinetica



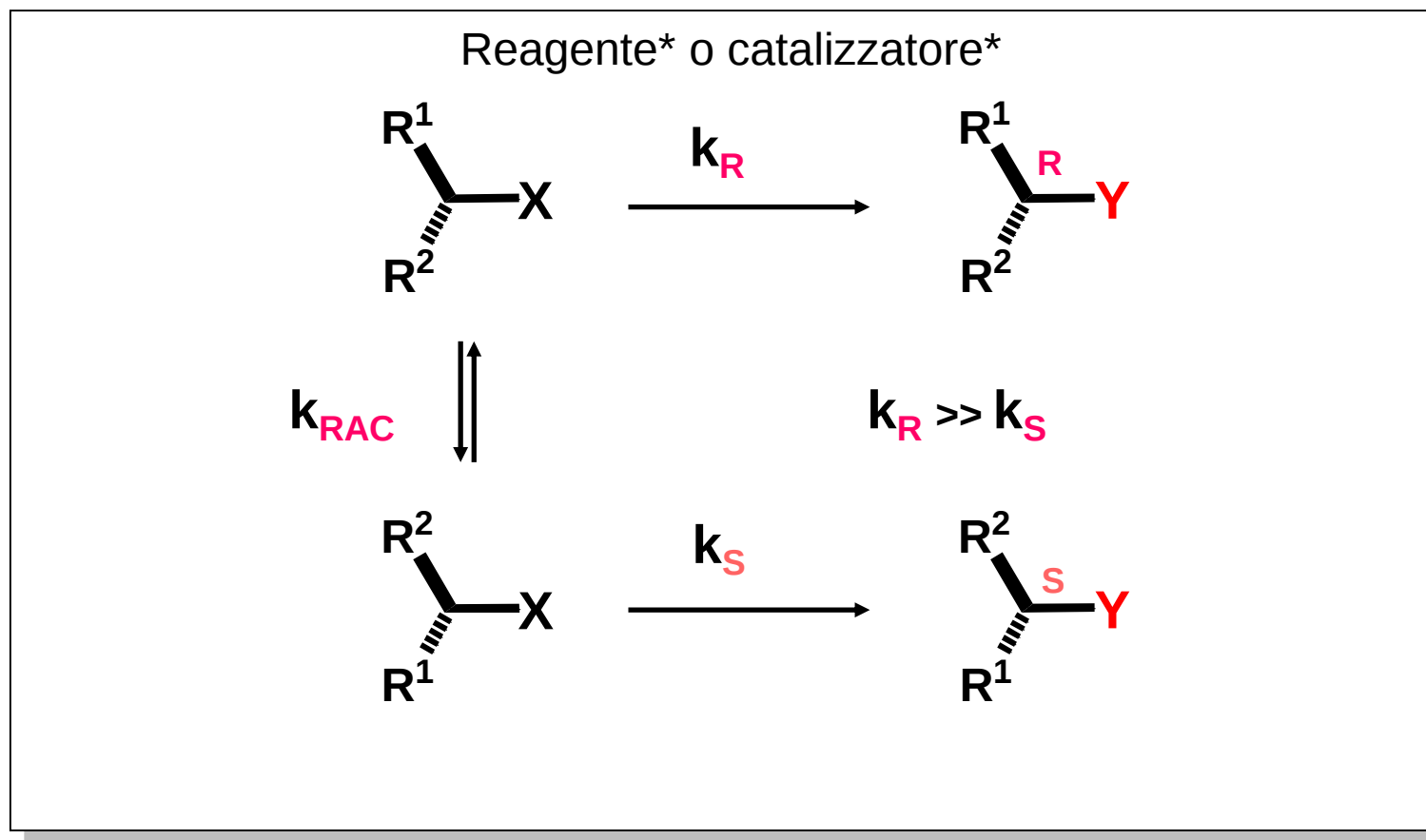
Selettività di una risoluzione cinetica



Caratteristiche di una risoluzione cinetica

- Resa teorica massima del 50%
- Separazione dei prodotti necessaria
- Eventuale smaltimento dell'enantiomero indesiderato

Risoluzione cinetica dinamica DKR



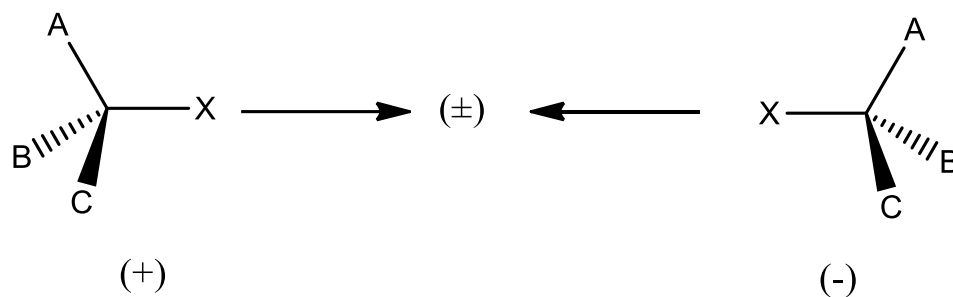
Risoluzione classica accoppiata alla racemizzazione in situ dell'enantiomero "lento"

Risoluzione cinetica dinamica DKR

Per una DKR efficiente

- La corrispondente KR deve essere irreversibile
- La stereoselettività deve essere alta ($k_S \gg k_R$ o $k_R \gg k_S$), (es. $E = k_R/k_S > 20$)
- La velocità di racemizzazione deve essere maggiore della velocità di reazione
- La racemizzazione del prodotto deve essere trascurabile

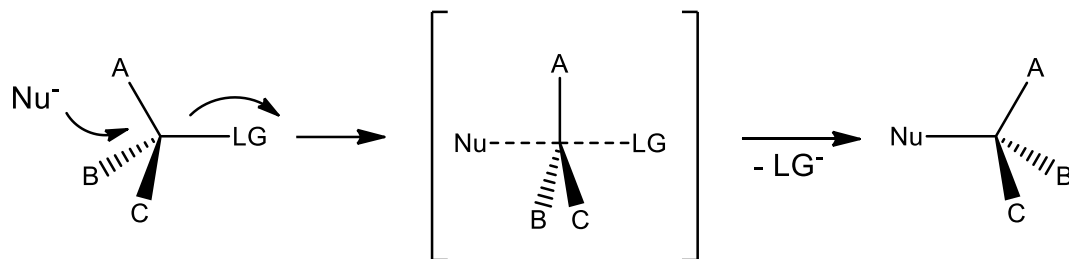
Racemizzazione



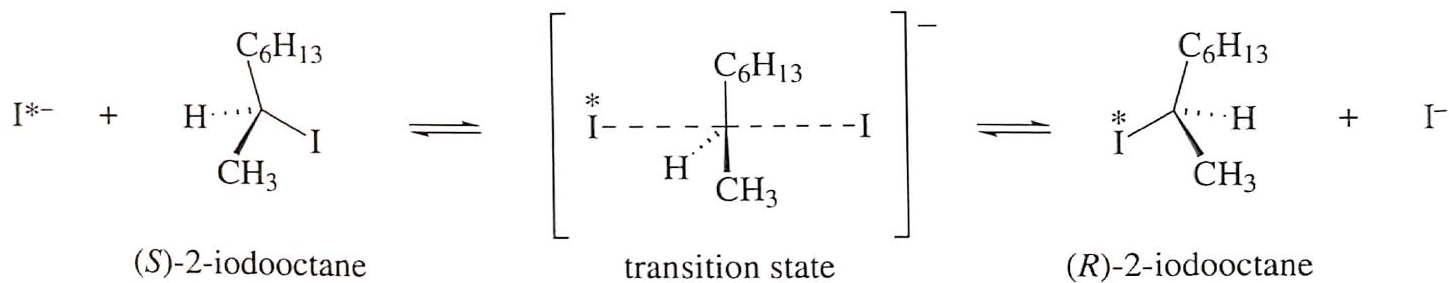
Formazione di una miscela racema a partire da uno dei due enantiomeri

Racemizzazione

1. Via SN2



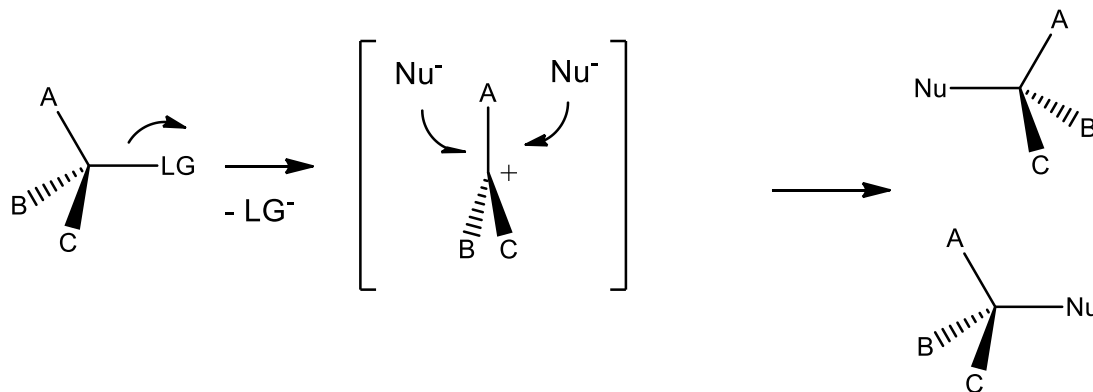
Esempio:



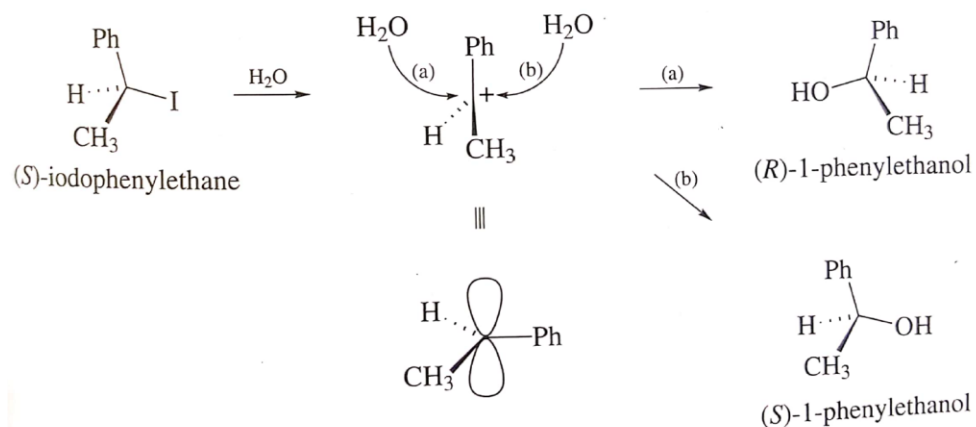
Perdita di attività ottica

Racemizzazione

2. Via SN1



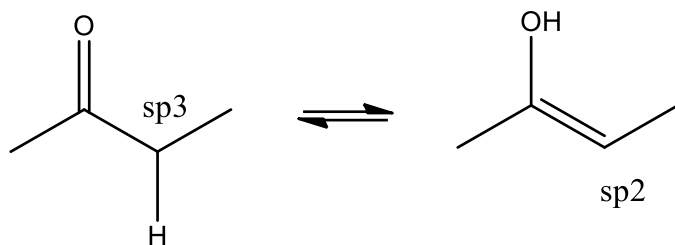
Esempio:



Perdita di attività ottica

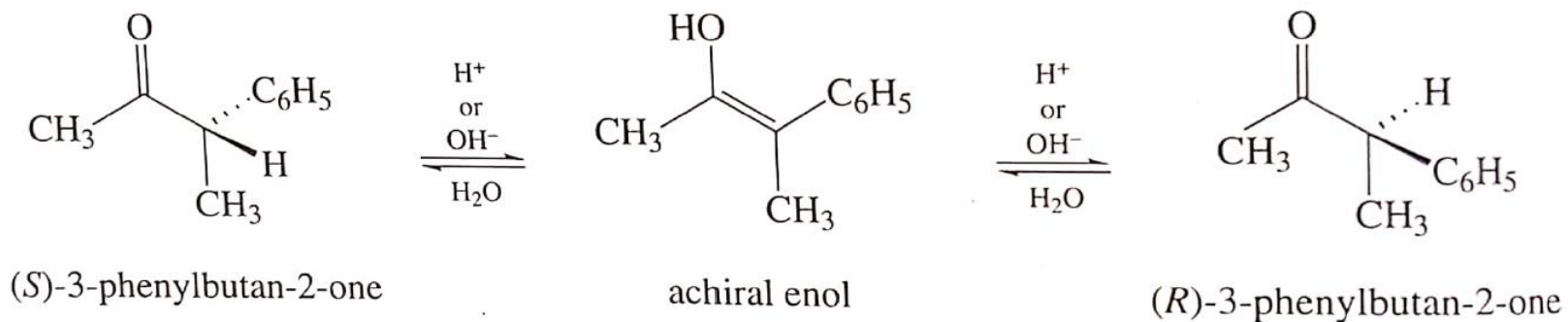
Racemizzazione

3. Via enolo/enolato



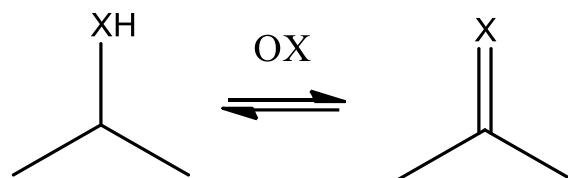
Formazione dell'enolo/enolato
favorita da acidi/basi

Esempio:



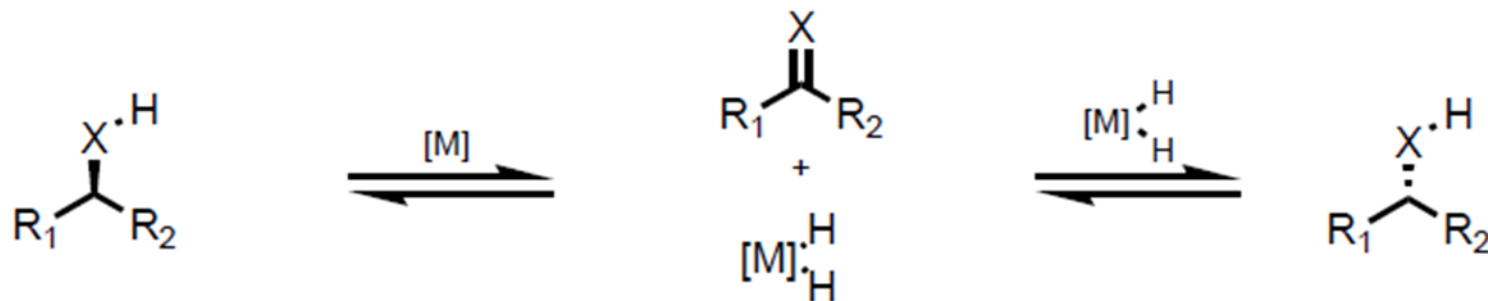
Racemizzazione

4. Ossidoriduzioni



Esempio:

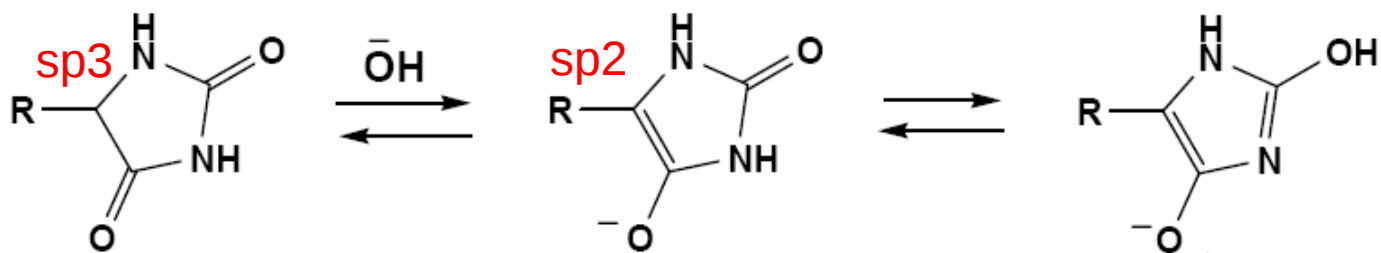
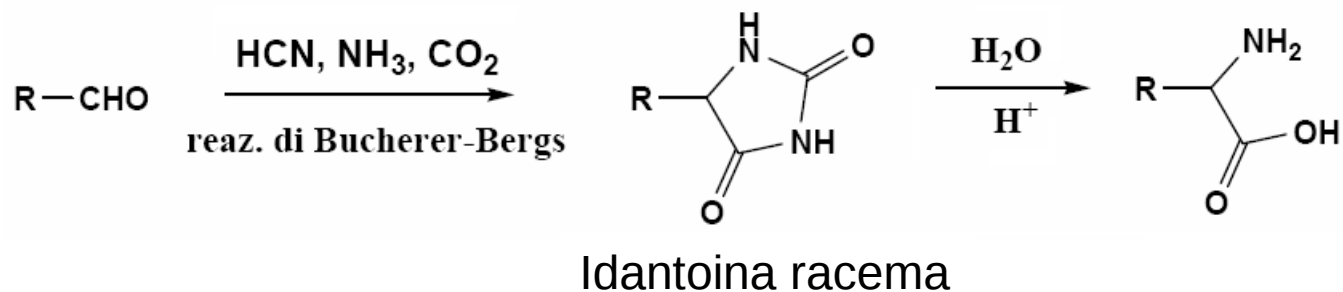
- Racemizzazione via intermedii sp^2



Racemizzazione nelle DKR

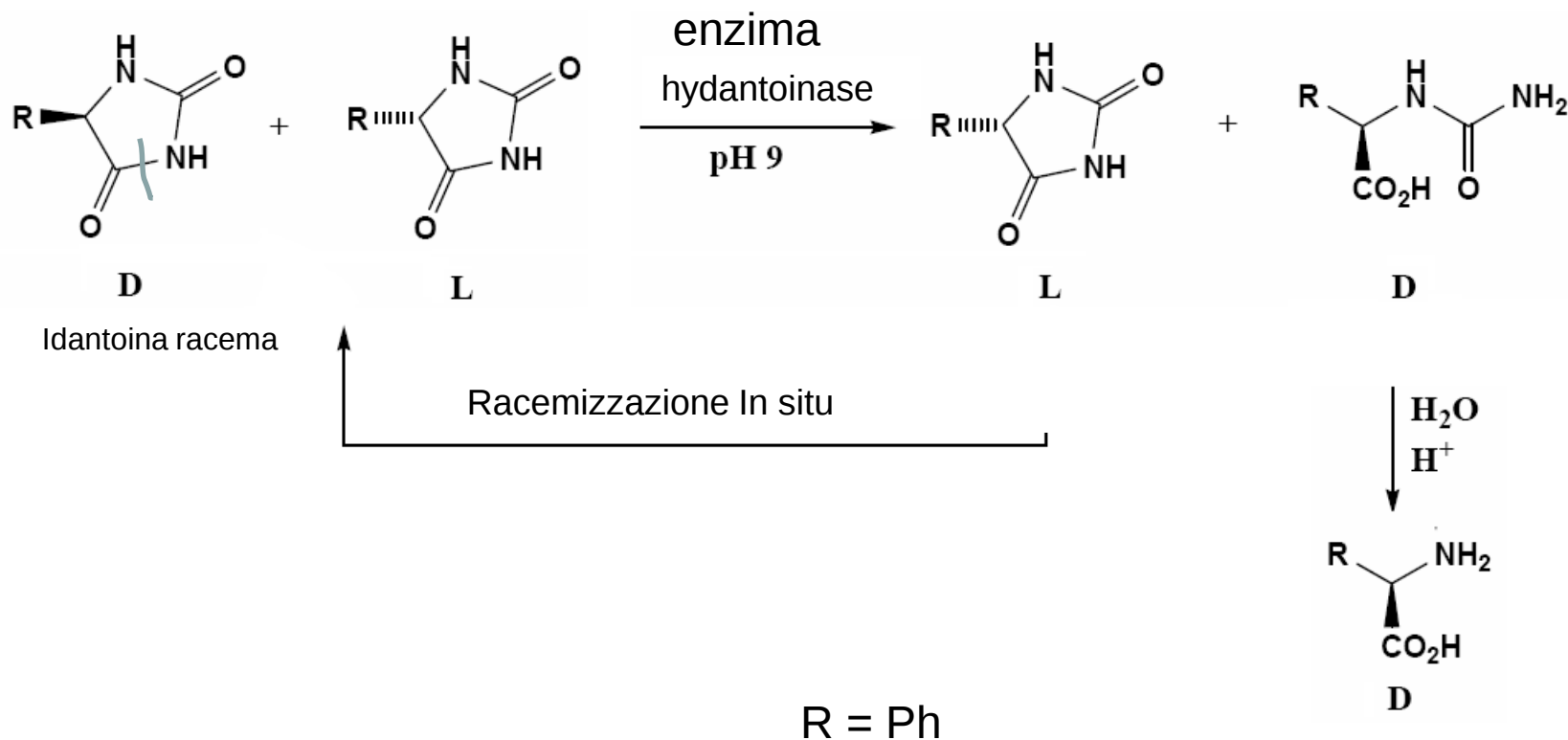
Sintesi di aminoacidi non naturali della serie D

1. Racemizzazione basica (VIA ENOLATI)



Equilibri tautomerici nelle idantoine

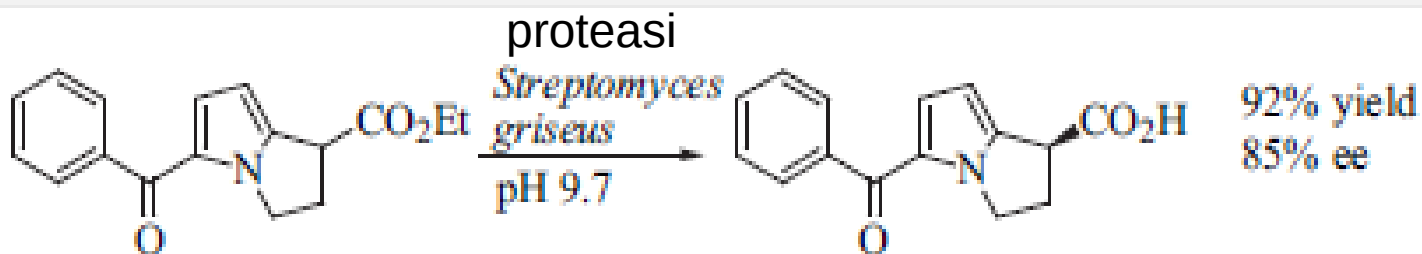
Racemizzazione nelle DKR



Racemizzazione basica applicata alla risoluzione cinetica dinamica di idantoine per la sintesi di aminoacidi non naturali

Racemizzazione nelle DKR

1. Racemizzazione basica via enolato



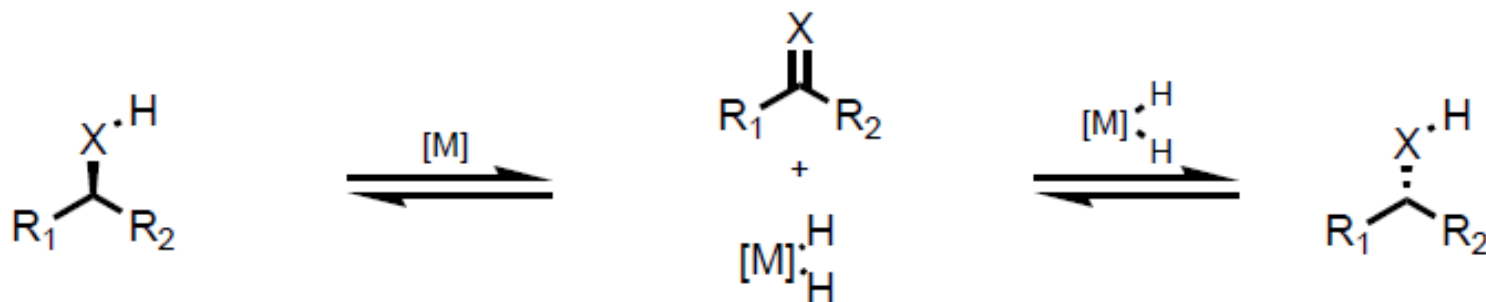
Ketorolac
S-enantiomero
Ee 85%, resa 92%

antiinfiammatorio

Racemizzazione nelle DKR

■ 2. Racemizzazione via intermedi sp²

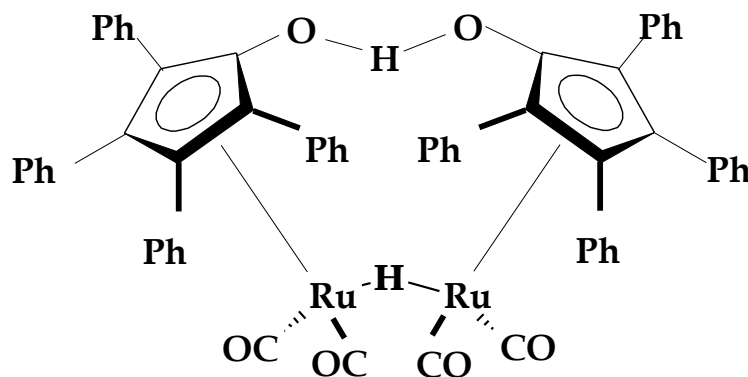
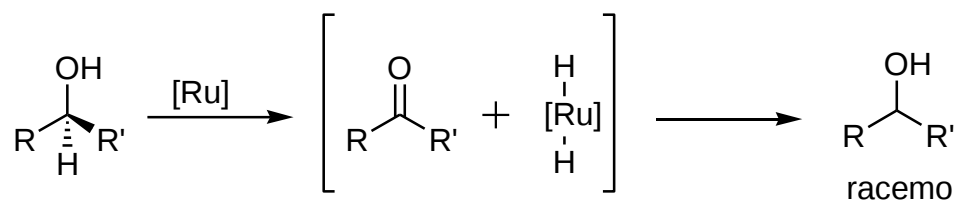
- Racemizzazione via intermedi sp²



Ru(II)

Racemizzazione nelle DKR

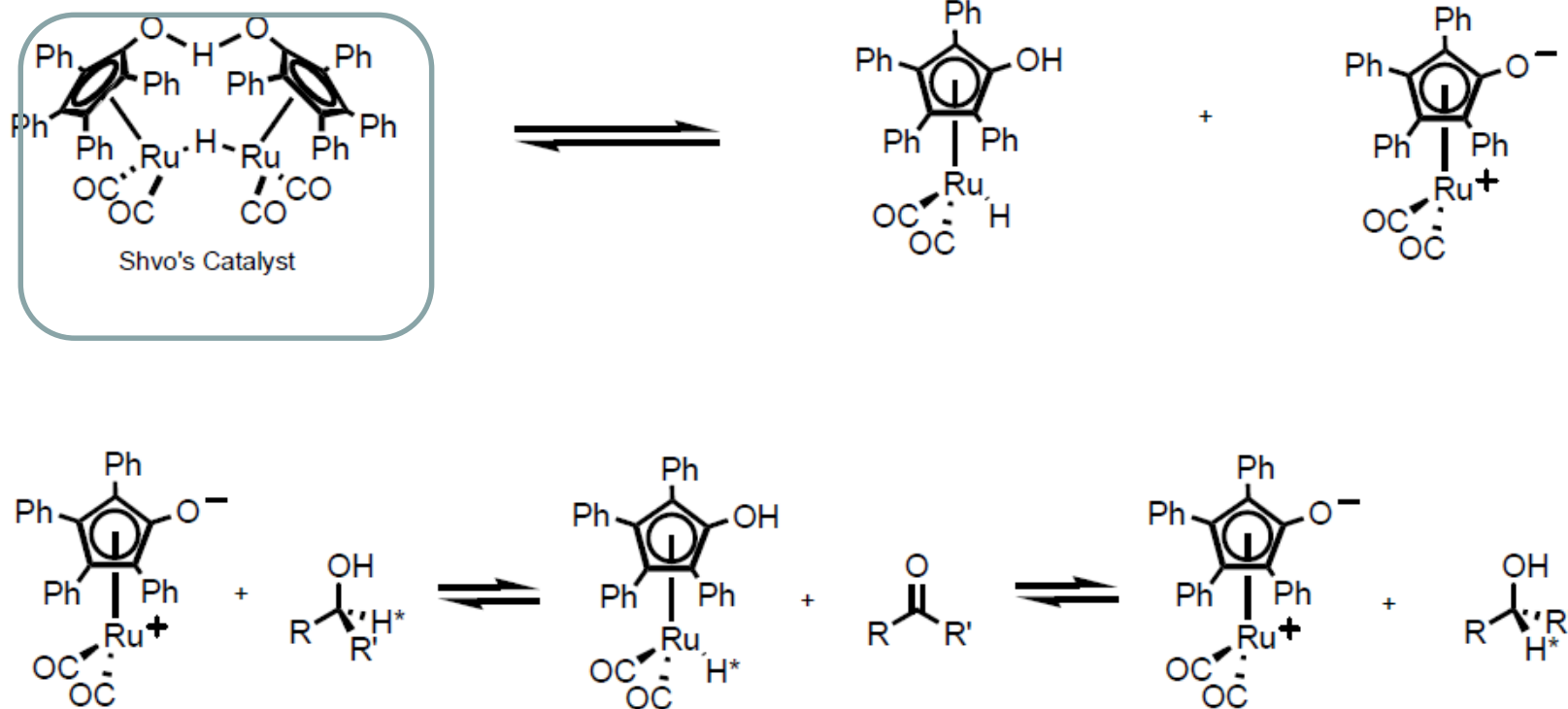
- Catalizzata da metalli di transizione e loro complessi



Shvo's catalyst

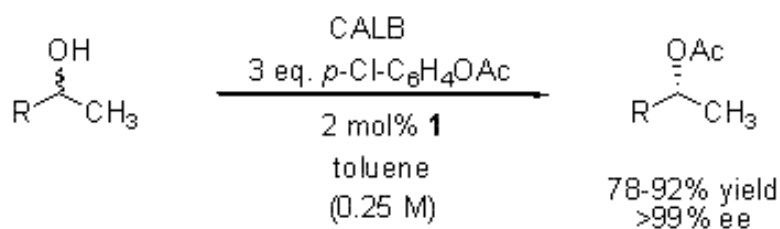


SHVO'S CATALYST



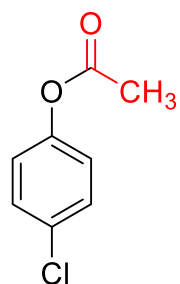
SHVO'S CATALYST

In combination with enzymes:

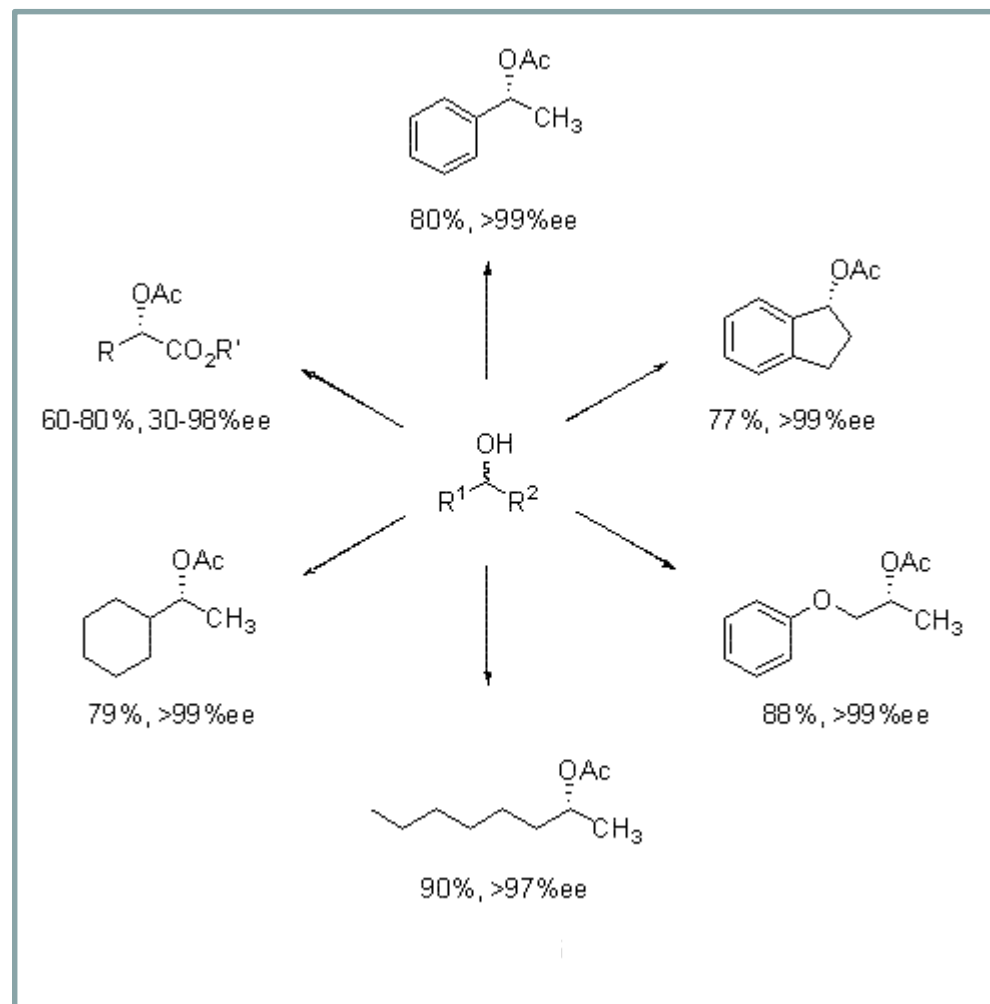


Scheme 4

CAL-B: enzima
Candida Lipasi B

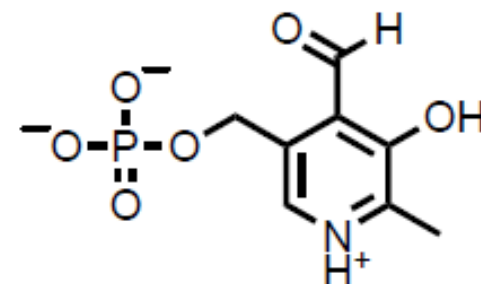
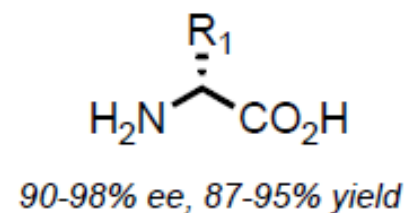
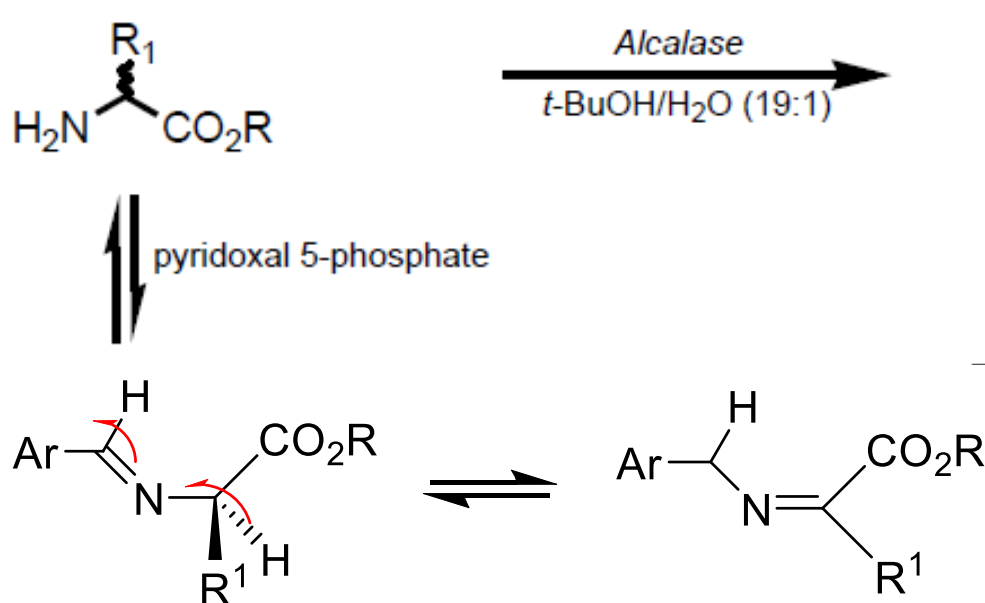


$p\text{-Cl-C}_6\text{H}_4\text{OAc}$



Racemizzazione nelle DKR

3. Via basi di Schiff



Piridossal fosfato