

74. Roberto CAVANNA. — Ricerche su composti alifatici otticamente attivi in rapporto con la struttura dell'acido fitomonico. (*)
Parte II. Sintesi degli antipodi ottici e della forma DL dell'acido 10-metil-nonadecanoico.

Riassunto. — Proseguendo nelle ricerche sulla struttura dell'acido fitomonico, trovato nell'*Agrobacterium (Phytomonas) tumefaciens*, si descrivono le sintesi totali degli antipodi ottici e della forma racemica dell'acido 10-metil-nonadecanoico.

Résumé. — En continuant ses recherches sur la structure de l'acide phytomonique, découvert chez *Agrobacterium (Phytomonas) tumefaciens*, l'auteur décrit la synthèse totale des antipodes optiques et de la forme racémique de l'acide 10-méthyle-nonadecanoïque.

Summary. — Continuing his investigations on the structure of phytomonic acid, found in *Agrobacterium (Phytomonas) tumefaciens*, the author describes the total synthesis of racemic and optically active forms of 10-methyl-nonadecanoic acid.

Zusammenfassung. — Beim Fortfahren einigen Untersuchungen über die Struktur der Phytomonsäure, die im *Agrobacterium (Phytomonas) tumefaciens* gefunden wurde, beschreibt Verfasser die vollständige Synthese der racemisch und der optisch-aktiven Formen der 10-Methyl-nonadecansäure.

Nella Parte I di questo lavoro, apparsa in altro giornale ⁽¹⁾, descrivemmo la sintesi della forma racemica e degli antipodi ottici dell'acido 11-metil-nonadecanoico. Dimostrammo allora che nessuno degli acidi sintetizzati risultava identico all'acido fitomonico estratto dall'*Agrobacterium tumefaciens*: dati preliminari in nostro possesso ci permettevano inoltre di escludere l'identità dell'acido naturale con la forma racemica o con uno degli antipodi ottici dell'acido 10-metil-nonadecanoico. Formulammo allora l'ipotesi che l'acido fitomonico potesse essere un derivato del ciclopropano, simile all'acido lattobacillico isolato da HOFMANN e LUCAS ⁽²⁾ dal *Lactobacillus arabinosus*.

(*) L'edizione inglese di questo lavoro è in corso di pubblicazione su *Acta Chemica Scandinavica* sotto il titolo: « Synthesis of the Racemic and Optically Active Forms of 10-Methylnonadecanoic Acid ».

Intraprendemmo quindi una coltivazione su larga scala di *Agrobacterium tumefaciens*, che conducemmo a termine con successo negli impianti sperimentali dell'Istituto Superiore di Sanità ⁽³⁾. Era nostra intenzione di estrarre l'acido fitomonico dai batteri e di studiarne la struttura, ma purtroppo il lavoro analitico dovette essere rimandato per ragioni che esulavano dal nostro controllo. Nel frattempo HOFMANN e collaboratori ⁽⁴⁾ hanno dimostrato che l'acido fitomonico è invero un derivato del ciclopropano, come suggerito da STÄLLBERG-STENHAGEN e dall'Autore ⁽¹⁾. Secondo HOFMANN *et al.* l'acido fitomonico è identico al latobacillico ⁽⁵⁾. Ma poichè il problema della determinazione della struttura dell'acido naturale non appare completamente risolto, le nostre ricerche sull'argomento continuano.

Nel presente lavoro si danno i dettagli della preparazione degli acidi 10-metil-nonadecanoici. Le vie seguite per le sintesi sono state le stesse di quelle usate per gli isomeri 11-metil-sostituiti.

L'acido 10-DL-metil-nonadecanoico (p.f. 26.8-27.2°) fu preparato per riduzione sec. CLEMMENSEN dall'acido 8-cheto-10-DL-metil-nonadecanoico. Il cheto-acido (p.f. 47.0-47.2°) fu ottenuto con la sintesi dei β -cheto-esteri ⁽⁶⁾ da 3-cheto- δ -DL-metil-tetradecanoato di metile più 6-jodo-esanoato di metile. L'acido 10-DL-metil-nonadecanoico preparato mescolando gli enantiomorfi fondeva a 26.8-27.1°.

Le forme otticamente attive furono sintetizzate con la reazione di KOLBE ⁽⁷⁻¹⁾ dagli enantiomorfi dell'acido 3-metil-dodecanoico più monometilestere dell'acido azelaico. Anche gli acidi 3-metil-dodecanoici otticamente attivi furono preparati con la stessa reazione partendo dagli enantiomorfi del monometilestere dell'acido β -metil-glutarico ⁽⁸⁾ più acido n-nonanoico.

Dopo solidificazione, gli acidi 10-metil-nonadecanoici otticamente attivi rifondono a 12.5°. Dopo cristallizzazione sono stati registrati punti di fusione leggermente più alti. Un comportamento simile è stato incontrato da HALLGREN ⁽⁹⁾ nel caso dell'acido (+)-9-D-metil-ottadecanoico: egli riuscì a ottenere una forma a più alto punto di fusione per cristallizzazione lenta da metanolo a bassa temperatura. E' verosimile che il comportamento degli acidi 10-metil-nonadecanoici stia a indicare l'esistenza di una modificazione cristallina a più alto punto di fusione, benchè non siano state ancora trovate le condizioni per ottenerla.

L'acido D, come pure l'amide e l'estere metilico da esso derivati, sono destrogiri, con rotazioni specifiche molto piccole. Anche l'acido 9-D-metil-ottadecanoico e l'acido 11-D-metil-nonadecanoico ⁽¹⁾ sono destrogiri ⁽⁹⁾, mentre l'acido 10-D-metil-ottadecanoico (tubercolostearico) è levogiro ⁽¹⁰⁻¹¹⁾.

PARTE SPERIMENTALE (*)

SINTESI DELLA FORMA RACEMICA

Dimetilestere dell'acido 3-DL-metil-5-cheto-pimelico (II).

Si preparò nel solito modo il cloruro del monometilestere dell'acido β -DL-metil-glutarico (sintetizzato da crotonato più malonato di etile) ⁽⁸⁾ trattando 110 g di acido con 180 g di SOCl_2 in benzolo anidro, e si fece reagire con il sodioacetato di etile, preparato con 110 g di estere e 16.5 g di Na in 900 ml di benzolo anidro. La miscela di reazione si versò poi su ghiaccio e H_2SO_4 (pH 1), si estrasse con etere, si decompose per 8 ore a temperatura ambiente con 17 g di Na in 550 ml di metanolo anidro, si versò di nuovo su ghiaccio e H_2SO_4 , si estrasse con etere. Per distillazione sotto vuoto del residuo oleoso ottenuto dopo allontanamento dei solventi si ebbero, a 1.5 mm Hg, dopo una prima frazione di estere dimetilico dell'acido β -metil-glutarico che passava a 65-70°C., 75 g di olio incolore a 120°C.

Resa: 54% del teorico.

Acido 3-DL-metil-5-cheto-dodecanoico (III).

Con 40 g di dimetilestere dell'acido 3-DL-metil-5-cheto-pimelico in 300 ml di metil-n-propil-chetone furono messi a reagire 45 g di ioduro di n-esile (preparato con resa del 74% da 102 g (1 mole) di alcol esilico più 132 g di jodio ($\frac{1}{2}$ mole + 5%) e 10 g di fosforo rosso: p.e. 46° a 4 mm Hg) in presenza di 60 g di carbonato di potassio calcinato. Per dettagli su alchilazioni di questo tipo v. STÄLLBERG-STENHAGEN ⁽¹³⁾. Dopo 24 ore di violenta ebollizione si scisse e idrolizzò con 85 g di KOH in 80 ml di acqua e 1000 ml di metanolo, lasciando a 50° per tutta la notte. Portato a pH 1 con HCl diluito, si estrasse 10 volte con benzolo, si seccò con solfato sodico anidro, indi, allontanato il solvente, il residuo si distillò sotto vuoto. A 1 mm Hg e 140° passarono 26 g di olio incolore.

Resa: 49% del teorico.

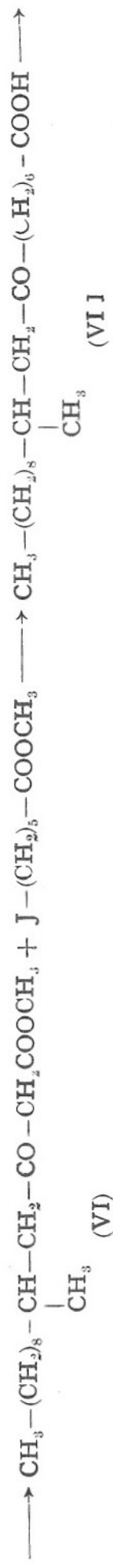
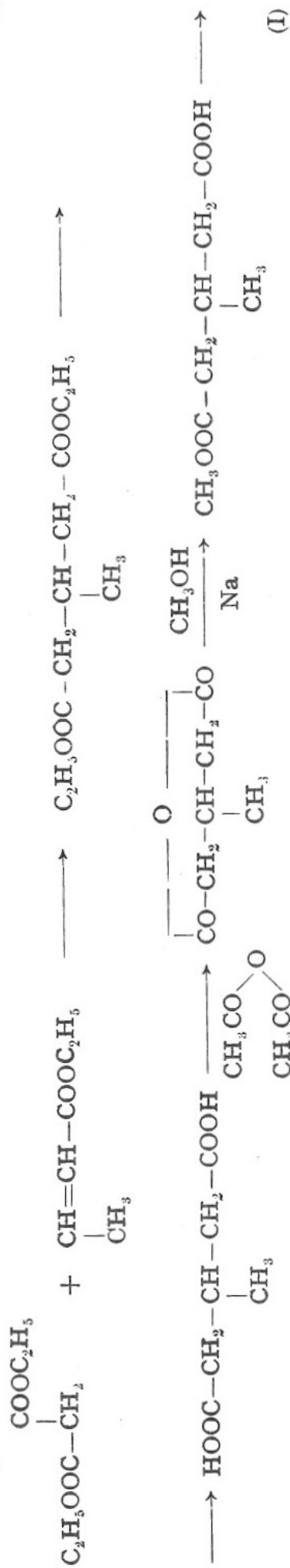
Analisi:

calcolato per $\text{C}_{13}\text{H}_{24}\text{O}_3$ (229.3)	C=68.50%, H=10.51%
trovato	C=68.68%, H=10.42%

(*) I punti di fusione, le distanze reticolari nelle foto di diffrazione ai raggi X e le attività ottiche furono misurate come descritto nella Parte I ⁽¹⁾.

Per la nomenclatura dei composti con atomi di carbonio asimmetrici v. STÄLLBERG-STENHAGEN ⁽¹²⁾.

La preparazione di metanolo ed etanolo assoluto venne fatta secondo LUND e BJERRUM ⁽¹⁷⁾.



Sintesi della forma racemica dell'acido 10-metil-nonadecanoico.

Estere etilico dell'acido 3-DL-metil-dodecanoico (IV).

Si ottenne per riduzione sec. Clemmensen del cheto-acido (15 g) con 250 g di Zn amalgamato in 250 ml di etanolo assoluto (*). Ogni 7 ore veniva fatta passare per 15 minuti nella miscela di reazione una moderata corrente di HCl secco. Dopo 70 ore, l'estere ridotto venne estratto e distillato poi attraverso una colonna Podbielniak da 1 m. Si ottennero 8 g di prodotto puro a 104° e 3 mm Hg.

Resa: 50% del teorico.

Analisi:

calcolato per $C_{15}H_{30}O_2$ (242.4)	C=74.32%, H=12.48%
trovato	C=74.04%, H=12.46%

Acido 3-DL-metil-dodecanoico (V).

Fu ottenuto con resa del 75% per idrolisi dell'estere e distillazione: p.e. 137° a 0.5 mm Hg.

Analisi:

calcolato per $C_{13}H_{26}O_2$ (214.3)	C=72.84%, H=12.23%
trovato	C=73.20%, H=12.20%

Estere metilico dell'acido 3-cheto-5-DL-metil-tetradecanoico (VI).

Venne preparato secondo il metodo generale descritto da STÄLLBERG-STENHAGEN ⁽¹⁵⁾. Il cloruro di 3-DL-metil-dodecanoile (preparato da 8 g dell'acido con 5 ml di cloruro di ossalile in 25 ml di benzolo anidro) venne condensato con sodioacetato di etile (da 15 ml di estere e 1.5 g di Na). L'idrolisi e la scissione furono effettuate con 1.5 g di Na in 45 ml di metanolo. Il cheto-estere si ottenne per distillazione a 134° e 0.5 mm Hg.

Resa 6 g: 59% del teorico.

Analisi:

calcolato per $C_{16}H_{30}O_3$ (270.4)	C=71.06%, H=11.18%
trovato	C=71.00%, H=11.04%

(*) Le bassissime rese, dovute a reazione incompleta, che si ottengono riducendo i β -metil- δ -cheto-acidi con il metodo di Clemmensen potrebbero essere dovute a un tautomerismo cheto-acido $\rightleftharpoons$ idrossilattone, del tipo conosciuto per l'acido levulinico: facendo avvenire la reazione in etanolo, l'esterificazione del carbossile impedirebbe questa trasposizione ⁽¹⁴⁾.

Acido 8-cheto-10-DL-metil-nonadecanoico (VII).

Venne sintetizzato dal precedente cheto-estere (6 g) più 6-jodo-esanoato di metile (5.7 g, preparato dal sale di Ag del monometilestere dell'acido pimelico per demolizione con bromo sec. HUNSDIECKER e HUNSDIECKER ⁽¹⁶⁾). Dopo idrolisi e scissione, condotte nel solito modo ⁽¹⁾, con 15 g di KOH in 15 ml di acqua e 200 ml di metanolo, il cheto-acido fu cristallizzato da etere di petrolio (p.e. < 40°) a — 18°C.. Dopo due ricristallizzazioni dallo stesso solvente si ottenne sotto forma di aghi finissimi: p.f. 47.0-47.2° Le bande di diffrazione ai raggi X non mostravano alcuna serie caratteristica di riflessioni secondo 00l.

Analisi:

calcolato per $C_{20}H_{38}O_3$ (326.5)	C=73.57%, H=11.73%
trovato	C=73.68%, H=11.75%

10-DL-metil-nonadecanamide.

0.6 g del cheto-acido ora descritto furono sottoposti a riduzione sec. Clemmensen come descritto per il cheto-acido a 13 atomi di carbonio. Dopo saponificazione l'acido grezzo venne convertito nell'amide via il cloruro acido, preparato con cloruro di ossalile in soluzione benzenica.

L'amide venne cristallizzata da metanolo-acqua (85:15 v/v): p.f. 78.8-79.2°. Distanza reticolare massima 41.0 Å. Non si osservò polimorfismo.

Resa 0.32 g: 56% del teorico.

Analisi:

calcolato per $C_{20}H_{41}ON$ (311.5)	N = 4.50%
trovato	N = 4.61%

Acido 10-DL-metil-nonadecanoico (VIII).

Fu ottenuto per saponificazione dell'amide: 0.3 g ne furono fatti bollire a ricadere per 48 ore con 3 g di KOH in 2.5 ml di acqua e 20 ml di metanolo. Dopo acidificazione ed estrazione con etere si ottenne un residuo che cristallizzava per raffreddamento. Per ricristallizzazione da etere di petrolio (p.e. < 40°) si ottenne l'acido sotto forma di cristalli incolori: p.f. 26.8-27.2°. Le bande di diffrazione ai raggi X non mostra-

vano serie distinte di riflessioni secondo 00l, comportamento simile a quello dell'acido 9-DL-metil-ottadecanoico.

Analisi:

calcolato per $C_{20}H_{40}O_2$ (312.5)	C=76.86%, H=12.90%
trovato	C=77.15%, H=12.92%

Acido 10-DL-metil-nonadecanoico dagli enantiomorfi.

Quantità uguali degli enantiomorfi descritti più avanti furono mescolati con l'aiuto di un po' di etere, indi questo venne lasciato evaporare a temperatura ambiente. Per rimozione a pressione ridotta delle ultime tracce di solvente il liquido solidificò in una massa cristallina dura, p.f. 26.8-27.1°, senza ulteriore ricristallizzazione.

SINTESI DEGLI ANTIPODI OTTICI

Acido (+)-3-D-metil-dodecanoico.

Venne preparato per elettrolisi, come descritto in ⁽¹⁾ per il suo omologo inferiore, da 20.8 g (0.13 moli) di (+)-monometilestere dell'acido β -L-metil-glutarico più 27 g (0.17 moli, 25% in eccesso) di acido n-nonanoico, purificato per distillazione del suo estere metilico.

Per saponificazione e distillazione si ottennero 10.2 g di acido puro, p.e. 121° a 0.2 mm Hg. Attività ottica $\alpha_D^{22} + 4.16^\circ$ (omogeneo, $l=1$). Indice di rifrazione $n_D^{25} 1.4408$. HALLGREN ⁽⁹⁾ riporta $\alpha_D^{24.5} + 4.23^\circ$ (omogeneo), $n_D^{25} 1.4405$ e $d_4^{24.5} 0.8848$.

Analisi:

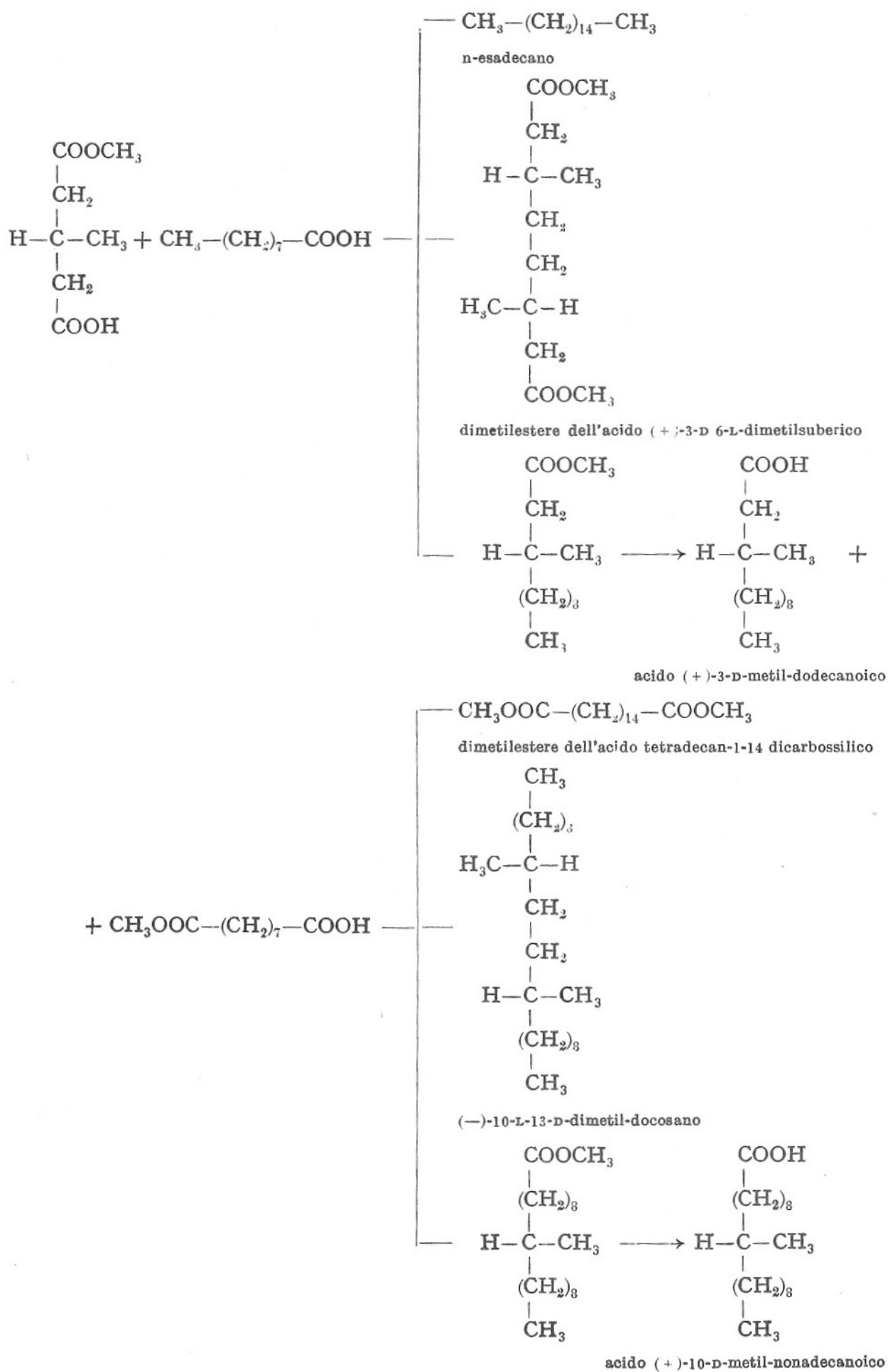
calcolato per $C_{13}H_{26}O_2$ (214.3)	C=72.84%, H=12.23%
trovato	C=72.71%, H=12.20%

Acido (—)-3-L-metil-dodecanoico.

Fu ottenuto nello stesso modo, partendo da (—)-monometilestere dell'acido β -D-metil-glutarico (27 g) più acido n-nonanoico (34 g). Si ebbero 13.5 g di acido per distillazione a 107° e 0.1 mm Hg. $\alpha_D^{24} - 2.06^\circ$ (omogeneo, $l = 0.5$), $n_D^{25} 1.4408$.

Analisi:

calcolato per $C_{13}H_{26}O_2$ (214.3)	C=72.84%, H=12.23%
trovato	C=72.84%, H=12.16%



Sintesi degli antipodi ottici dell'acido 10-metil-nonadecanoico.

Monometilestere dell'acido azelaico.

Venne preparato per parziale esterificazione da 188 g di acido (1 mole) con 48 g (1.5 moli) di metanolo in presenza di 20 ml di HCl concentrato. Dopo sei ore di ebollizione a ricadere si estrasse con etere, indi si distillò sotto vuoto il residuo dopo allontanamento del solvente, ottenendo a 0.5 mm Hg e 103° una prima frazione di diestere (62 g) e poi, a 137°, il monoestere puro (100 g).

Acido (+)-10-D-metil-nonadecanoico.

In 250 ml di metanolo contenenti 0.28 g di Na si condusse un'elettrolisi con 10.2 g (0.03 moli) di monometilestere dell'acido azelaico e 8.6 g (0.04 moli) di acido (+)-3-D-metil-dodecanoico. La reazione si iniziò con metà delle quantità indicate, aggiungendo poi l'altra metà quando il pH della miscela di elettrolisi era salito a 7. Si lasciarono passare nella cella 5 A per un tempo totale di un'ora. Verso la fine della reazione si aggiunsero altri 2 g di monoestere per far reagire la maggior quantità possibile di acido otticamente attivo. La miscela di reazione fu estratta e saponificata come già descritto (1). Per distillazione a 0.1 mm Hg e 173-174° si ottennero 3.0 g di acido, sotto forma di un olio denso, incolore. Resa: 24% del teorico. HALLGREN ha descritto (9) le proprietà dell'idrocarburo otticamente attivo, il (—)-10-L-13-D-dimetil-docosano, che si ottiene come sottoprodotto nell'elettrolisi.

Data la piccolissima quantità di D-acido, p.f. 12.5°, ottenuto per purificazione via l'amide, non abbiamo potuto determinarne l'attività ottica.

n_D^{25} 1.4521, d_4^{24} 0.880.

Analisi:

calcolato per $C_{20}H_{40}O_2$ (312.5)	C=76.86%, H=12.90%
trovato	C=76.8 %, H=13.0 %

La D-amide, cristallizzata da acetone, fondeva a 75.0-75.5°. Distanza reticolare massima a temperatura ambiente 40.0 Å. $\alpha_D^{25} + 0.05^\circ$ (in cloroformio, $l = 1$, $c = 21.5$). $[\alpha]_D^{25} + 0.23^\circ$, $[M]_D^{25} + 72.42^\circ$.

Analisi:

calcolato per $C_{20}H_{41}ON$ (311.5)	N = 4.50%
trovato	N = 4.62%

(+)-10-D-metil-nonadecanoato di metile.

Venne preparato per mezzo di diazometano da un campione di acido che era stato purificato per cromatografia su ossido di alluminio inattivato sec. Asselineau. (250 g di allumina Merck sec. Brockmann si sospesero in 500 ml di acqua distillata, indi si portarono a pH 2 con HCl. Dopo 10 minuti si lavarono con acqua distillata fino a reazione neutra, e poi si seccarono in stufa). Si purificò per distillazione a 0,2 mm Hg e 142°.

$\alpha_D^{25} + 0.03^\circ$ (omogeneo, $l = 0.5$), $d_4^{24} 0.861$.

Analisi:

calcolato per $C_{21}H_{42}O_2$ (326.5)	C=77.23%, H=12.96%
trovato	C=77.0 %, H=12.9 %

Acido (—)-10-L-metil-nonadecanoico.

Venne preparato in modo analogo all'antipodo, partendo dall'acido (—)-3-L-metil-dodecanoico.

Dopo distillazione (176-177° a 0.15 mm Hg, 5 g) il prodotto fondeva a 12.5°. Dopo 2 cristallizzazioni da acetone a — 25° il punto di fusione era 13.0-13.3°. Resa: 4.17 g. $\alpha_D^{25} - 0.03^\circ \pm 0.01$ (omogeneo, $l = 1$), $\alpha_{4358}^{25} - 0.07^\circ$ (omogeneo, $l = 1$). $n_D^{25} 1.4524$, $d_4^{24} 0.879$.

L'acido venne ulteriormente purificato via l'amide, descritta più avanti. 0.5 g di amide, cromatografata su ossido di alluminio, vennero idrolizzati per 48 ore con 5 g di KOH in 5 ml di acqua e 30 ml di etanolo. Dopo acidificazione ed estrazione, furono ottenuti per distillazione 0.12 g di acido, p.f. 12.0-12.6°. La sostanza solidificava a 9.5-9.0°.

Analisi:

calcolato per $C_{20}H_{40}O_2$ (312.5)	C=76.86%, H=12.90%
trovato	C=76.7 %, H=12.8 %

(—)-10-L-metil-nonadecanamide.

Venne preparata nello stesso modo della amide DL e cristallizzata da acetone. P.f. 75.0-75.5°, invariato dopo cromatografia su ossido di alluminio. Distanza reticolare massima 40.0 Å. $\alpha_D^{25} - 0.08^\circ$ (in cloriformio, $l = 1$, $c = 21.25$).

Analisi:

calcolato per $C_{20}H_{41}ON$ (311.5)	N = 4.50%
trovato	N = 4.58%

L'autore è grato al Prof. D. MAROTTA, Direttore dell'Istituto Superiore di Sanità, per avergli consentito di compiere questo lavoro nei laboratori dell'Istituto di Chimica Medica dell'Università di Uppsala, e al Prof. E. STENHAGEN per l'ospitalità e l'assidua guida nelle ricerche. Queste sono state sostenute da fondi concessi a S. e E. STENHAGEN dal Comitato svedese per la lotta contro il cancro. Tutte le analisi sono state effettuate a Uppsala nel laboratorio di microanalisi dell'Istituto di Chimica Medica.

Roma — Istituto Superiore di Sanità - Laboratorio di Chimica.

BIBLIOGRAFIA

- (¹) CAVANNA R. e STÄLLBERG-STENHAGEN S. - Atti Lincei VIII, 3: 31 (1950).
 - (²) HOFMANN K. e LUCAS R. A. - J. Am. Chem. Soc., 72: 4328 (1950).
 - (³) CAVANNA R. e PALADINO S. - Rend. Ist. Sup. Sanità, 17: 774 (1954).
 - (⁴) HOFMANN K., PANOS C. e TAUSIG F. - Feder. Proc., 43: 231 (1954).
 - HOFMANN K., JUCKER O., MILLER W. R., YOUNG A. C. jr. e TAUSIG F. - J. Am. Chem. Soc., 76: 1799 (1954).
 - HOFMANN K. e PANOS C. - J. Biol. Chem., 210: 687 (1954).
 - (⁵) HOFMANN K. e TAUSIG F. - J. Biol. Chem., 213: 425 (1955).
 - (⁶) STÄLLBERG-STENHAGEN S. e STENHAGEN E. - Arkiv. Kemi, Min. o Geol., 19A: No. 1 (1944).
 - (⁷) STÄLLBERG-STENHAGEN S. - Arkiv för Kemi, 2: 95 (1950).
 - CAVANNA R. e STÄLLBERG-STENHAGEN S. - La Ric. Scient., 20: 1709 (1950).
 - (⁸) STÄLLBERG-STENHAGEN S. - Arkiv Kemi, Min. o. Geol., 25A: No. 10 (1947).
 - (⁹) HALLGREN B. - Arkiv för Kemi, 9: 389 (1956).
 - (¹⁰) STÄLLBERG-STENHAGEN S. - Arkiv Kemi, Min. o. Geol., 26A: No. 12 (1948).
 - (¹¹) LINSTEAD R. P., LUNT J. C. e WEEDON B. C. L. - J. Chem. Soc., 1130 (1951).
 - (¹²) STÄLLBERG-STENHAGEN S. - Arkiv för Kemi, 1: 187 (1949).
 - (¹³) STÄLLBERG-STENHAGEN S. - Arkiv Kemi, Min. o. Geol., 23A: No. 15 (1946).
 - (¹⁴) STÄLLBERG-STENHAGEN S. - Arkiv Kemi, Min. o. Geol., 26A: No. 1 (1948).
 - (¹⁵) STÄLLBERG-STENHAGEN S. - Arkiv Kemi, Min. o. Geol., 20A: No. 19 (1945).
 - (¹⁶) *Org. Synth.*, 26: 52 (1946).
 - (¹⁷) LUND H. e BJERRUM J. - Berichte, 64: 210 (1931).
-