

**ROZDZIELENIE MIESZANIN RACEMICZNYCH
ZA POMOCĄ KRYSTALIZACJI. CZĘŚĆ I.
OPTYMALIZACJA WARUNKÓW ROZDZIAŁU**

**SEPARATION OF THE RACEMIC MIXTURES
BY CRYSTALLIZATION. PART I.
OPTIMIZATION OF RESOLUTION CONDITIONS**

**Renata Kołodziejska¹, Ewa Kopkowska¹,
Renata Studzińska², Aleksandra Karczmarzka-Wódzka¹,
Beata Augustyńska¹**

¹ *Katedra i Zakład Biochemii, Collegium Medicum w Bydgoszczy, UMK Toruń
ul. Karłowicza 24, 85-092 Bydgoszcz*

² *Katedra i Zakład Chemii Organicznej, Collegium Medicum w Bydgoszczy,
UMK Toruń
ul. A. Jurasza 2, 85-089 Bydgoszcz*

Abstract

Wprowadzenie

1. Rozdzielenie mieszanin racemicznych
2. Krystalizacja diastereoizomerów z fazy ciekłej
 - 2.1. Optymalizacja warunków rozdzielania mieszaniny enancjomerów – czynnik chiralny, substancja dodatkowa, struktura chemiczna racematu
 - 2.2. Optymalizacja warunków rozdzielania mieszaniny enancjomerów – rozpuszczalnik
 - 2.3. Optymalizacja warunków rozdzielania mieszaniny enancjomerów – czas krystalizacji
3. Krystalizacja diastereoizomerów bez rozpuszczalnika

Uwagi końcowe

Piśmiennictwo cytowane



Dr Renata Kołodziejska, pracownik Katedry i Zakładu Biochemii Collegium Medicum w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu. Zainteresowania naukowe Autorki związane są z badaniami nad regio- i stereoselektywnymi właściwościami biokatalizatorów oraz modyfikacją analogów nukleozydów pirymidynowych.



Dr Ewa Kopkowska, starszy wykładowca w Collegium Medicum w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu w Katedrze Biochemii. Jej zainteresowania naukowe dotyczą wpływu struktury nukleozydów pirymidynowych i ich analogów na ich własności fizykochemiczne (pKa, lipofilowość) w związku z potencjalną aktywnością biologiczną tych związków.



Dr Renata Studzińska, pracownik Katedry i Zakładu Chemii Organicznej Collegium Medicum w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu. Zainteresowania naukowe Autorki związane są z badaniami nad syntezą układów heterocyklicznych m.in. zmodyfikowanych analogów nukleozydów pirymidynowych o potencjalnej aktywności biologicznej.



Dr Aleksandra Karczmarzka-Wódzka, pracownik Katedry i Zakładu Biochemii Collegium Medicum w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu. Zainteresowania naukowe Autorki obejmują badania nad enancjoselektywną redukcją analogów nukleozydowych.



Dr hab. n. med. Beata Augustyńska, kierownik Katedry i Zakładu Biochemii Collegium Medicum w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu. Zainteresowania naukowe Autorki obejmują ocenę stanu oksydacyjnego z zastosowaniem enzymatycznych i nieenzymatycznych wykładników.

ABSTRACT

Methods for obtaining optically active compounds in enantiopure form are commonly classified into three categories: utilization of chiral pool starting materials (stereoselective multistep synthesis), creation of chirality from achiral precursors (asymmetric synthesis) and separation of racemates into their enantiomer constituents (crystallization, chromatography on chiral phases, kinetic resolution). The most important method for the separation of enantiomers is the crystallization. The crystallization can be carried out in the variants: direct crystallization of enantiomer mixtures (homo- and heterochiral aggregates – Scheme 2, 3) and separation of diastereoisomer mixtures (classical resolution) (Scheme 1) [1–5]. The most widely used method for the separation of enantiomers rests on the crystallization of diastereoisomers formed from a racemate and an enantiopure reagent – resolving agent (resolution via salt-formation and complex-formation).

The pair of diastereoisomers exhibit different physicochemical properties (e.g., solubility, melting point, boiling point, adsorption, phase distribution). For this reason, the crystalline material can be separated from the residue by filtration (Scheme 22) [4, 27], distillation (Scheme 23, 24) [28, 29], sublimation (Scheme 25) [4, 30], or extraction (Scheme 26) [2, 31].

The composition of crystalline diastereoisomers is influenced by resolving agent (structure (Scheme 4) [4] and amount of resolving agent (Scheme 5) [4]), structure of racemates (Scheme 10) [2, 15], the character and amount of supplementary additives (Scheme 6–9) [4, 12–15], nature of the solvent (crystallization with solvent) – Scheme 11–18 [2, 4, 16–23] and time of crystallization (Scheme 19–21) [4, 14, 25, 26].

Keywords: crystallization, resolution of racemic mixture, diastereoisomeric salts/complexes

Słowa kluczowe: krystalizacja, rozdzielanie mieszaniny racemicznej, diastereoizomeryczne sole/kompleksy

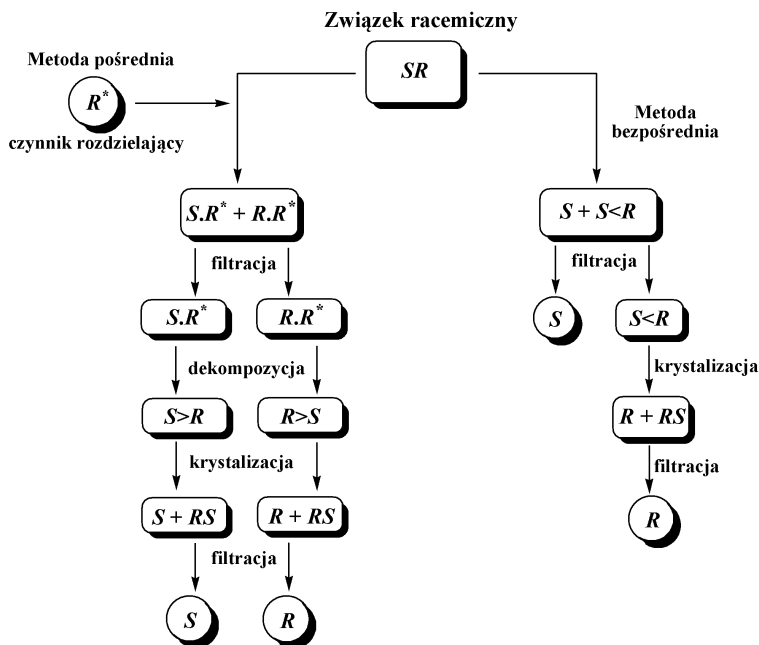
WPROWADZENIE

Otrzymanie czystych enancjomerycznie związków jest jednym z ważniejszych aspektów badań stereochemicznych. W syntezie asymetrycznej uzyskuje się ściśle określony stereoisomer, natomiast w tradycyjnej reakcji chemicznej, jeśli produkt posiada centrum stereogeniczne z reguły otrzymuje się mieszaninę enancjomerów. Równomolowa mieszanina dwóch izomerów optycznych to racemat. Rozdzielenie racematu może odbywać się na drodze rozdziału kinetycznego w obecności chiralnego katalizatora chemicznego lub enzymatycznego, jak również z zastosowaniem chiralnych faz stałych lub ciekłych. Jedną z najstarszych metod rozdzielania mieszaniny enancjomerów jest krystalizacja, która nadal pozostaje najczęstszym sposobem otrzymania czystych enancjomerycznie związków na skalę preparatywną.

Mieszaninę racemiczną można rozdzielić w sposób bezpośredni lub pośredni przeprowadzając enancjomery w odpowiednie pochodne diastereoizomeryczne. Różnica właściwości fizycznych otrzymanych diastereoizomerów takich jak temperatura topnienia, prężność par, rozpuszczalność czy współczynnik adsorpcji w wielu przypadkach wystarcza, aby diastereoizomeryczne pochodne rozdzielić na drodze krystalizacji, destylacji, sublimacji czy chromatografii [1–5].

Metoda pośrednia jest z pewnością lepszą metodą rozczepienia równomolowych mieszanin enancjomerów na drodze krystalizacji, ponieważ łatwiej jest rozdzielić rzeczywiste pochodne diastereoizomeryczne. Proces ten przeprowadza się w trzech etapach. Najpierw dodaje się czynnika chiralnego z wytworzeniem diastereoizomerów (na tym etapie dokonuje się doboru właściwego odczynnika chiralnego jak również optymalizuje się warunki rozdziału). Następnie przeprowadza się krystalizację i w ostatnim etapie dekompozycję otrzymanych diastereoizomerycznych pochodnych z uwolnieniem czystych enancjomerycznie związków optycznych. Substancja rozdzielana powinna posiadać odpowiednią grupę, która może oddziaływać z czynnikiem chiralnym. Najczęściej tworzą się diastereoizomeryczne sole, rzadziej rozdzielanie odbywa się poprzez uzyskanie diastereoizomerycznych kompleksów molekularnych lub addycyjnych [1–5].

Poniżej przedstawiono schemat rozdzielania mieszanin enancjomerów metodą bezpośrednią i pośrednią.



Schemat 1. Schemat rozdzielania mieszanin racemicznych
Scheme 1. General scheme of resolution

Efektywność rozdzielania mieszaniny enancjomerów jest mierzona parametrem F , która wyraża się następującym wzorem: $F = ee \times \gamma$, gdzie ee – nadmiar enancjomeryczny definiowany jako stosunek różnicy zawartości poszczególnych enancjomerów do sumy ich zawartości w określonej mieszaninie wyrażony w procentach; γ – wydajność chemiczna (lub $F = de \times 2 \times \gamma$, gdzie de – nadmiar diastereoizomeryczny).

W pracy na konkretnych przykładach przedstawiono jakie czynniki wpływają na efektywność rozdzielania mieszanin racemicznych za pomocą krystalizacji, ze szczególnym uwzględnieniem metody pośredniej.

1. ROZDZIELENIE MIESZANIN RACEMICZNYCH ZA POMOCĄ KRYSZTAŁIZACJI

Krystalizacja to proces tworzenia się i wzrostu kryształu z cieczy przechłodzonej, roztworu przesyconego lub przesyconej pary (fazy gazowej). Ten proces fizyczny można najogólniej podzielić na dwa etapy: tworzenie zarodków krystalizacji (nukleacja) i wzrost kryształów.

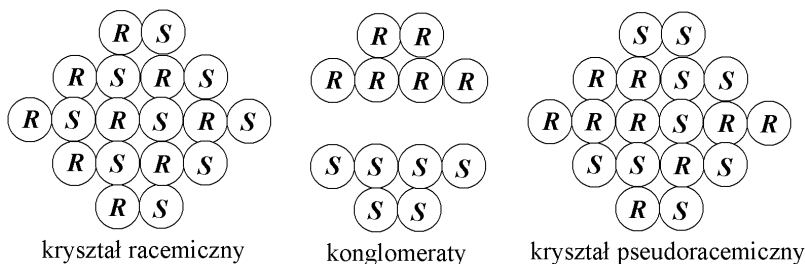
Racjonalne posługiwanie się tą metodą wyodrębniania pojedynczych składników roztworu uwarunkowane jest znajomością zależności temperatury krzepnięcia (topnienia) roztworu od jego składu. Rozważania przeprowadza się dla stałej warto-

ści ciśnienia ($p = \text{const}$), ponieważ wpływ zmian ciśnienia na warunki równowagi w układzie faz skondensowanych jest relatywnie niewielki, szczególnie w zakresie zbliżonym do ciśnienia atmosferycznego, w którym to przeważnie prowadzi się krystalizację. Równowagę w układzie ciecz-ciało stałe przedstawia się na wykresach izobary zależnością temperatury od składu roztworu, zwanych diagramami fazowymi. Przebieg procesu krystalizacji (a więc także kształt wykresu) uzależniony jest od wzajemnej mieszalności składników roztworu zarówno w fazie ciekłej, jak i w fazie stałej. Ze względu na bardzo ograniczoną dyfuzję i brak możliwości mieszania makroskopowego, mieszalność składników w fazie stałej sprowadza się w rzeczywistości do możliwości tworzenia wspólnej struktury krystalicznej. Składniki roztworu ulegającego mieszanii w fazie stałej muszą więc wykazywać duże podobieństwo zarówno pod względem struktury krystalicznej jak i własności chemicznych. Roztwory enancjomerów na ogół dobrze mieszają się w fazie ciekłej, niezależnie od składu. W fazie stałej natomiast, ze względu na obecność centrum chiralnego enancjomery mogą tworzyć roztwory o różnej mieszalności, czyli – zróżnicowanej strukturze krystalicznej.

Jeśli chiralne składniki roztworu wykazują większe powinowactwo do analogicznej struktury tego samego enancjomeru, tworzą się kryształy homochiralne zwane konglomeratami. Faza stała zawiera w takim przypadku dwie odrębne struktury czystych chiralnie produktów. Taki stan odpowiada roztworowi nie ulegającemu mieszanii w fazie stałej.

Jeśli oba enancjomery agregują razem powstają kryształy heterochiralne, przy czym wspólną sieć krystaliczną enancjomery mogą tworzyć na dwa sposoby:

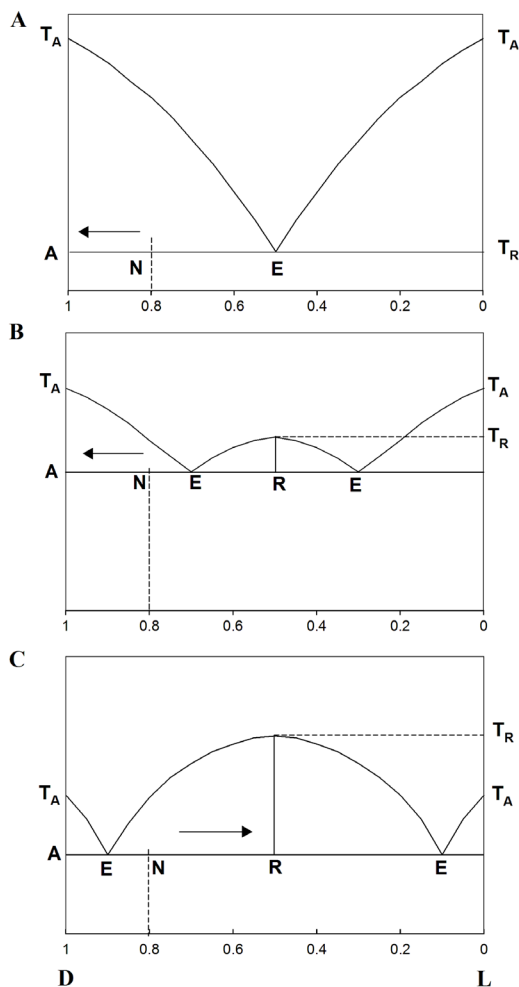
- kryształy racemiczne, czyli regularne struktury przestrzenne, które w elementarnej komórce kryształu zawierają oba składniki w stosunku 1:1,
- kryształy pseudoracemiczne – rozbudowane struktury przestrzenne o zmienionym składzie pojedynczej komórki elementarnej (stosunek liczby obu składników może być dowolny) i nieregularnej strukturze (Schemat 2).



Schemat 2. Trzy sposoby upakowania w sieci krystalicznej związków chiralnych
 Scheme 2. The three crystal packing arrangements for chiral compounds

Kryształy homo- i heterochiralne zachowują się w stosunku do siebie jak diastereoizomery, dlatego mają różne właściwości fizyczne. Kryształy racemiczne i czyste optycznie posiadają różne temperatury topnienia, tę różnicę wykorzystuje się

w określeniu czystości enancjomerycznej próbki za pomocą różnicowej kalorymetrii skaningowej (DSC). Sporządza się tzw. dwuskładnikowy diagram fazowy, czyli wykres temperatur topnienia różnych frakcji molowych (od 0–1) dwóch enancjomerów (Schemat 3).



Schemat 3. A) Dwuskładnikowy diagram fazowy dla konglomeratów; B) i C) Dwuskładnikowy diagram fazowy dla kryształów racemicznych

Scheme 3. A) A binary diagram for a compound that forms conglomerates; B) and C) A binary phase diagram for a compound that forms racemic crystals

Kryształizacja bezpośrednia enancjomerycznie czystych konglomeratów z dobrą wydajnością jest możliwa w przypadku, gdy kryształy nie tworzą roztworu stałego (Schemat 3, przykład A). Fazę stałą tworzy mechaniczna mieszanina kryształów o odrębnej strukturze D i L w stosunku odpowiadającym składowi roztworu

w ułamkach molowych ($x, 1-x$). Diagram fazowy dla konglomeratów zawiera jeden punkt eutektyczny w temperaturze topnienia racematu (T_R) dla składu $x = 0,5$. Temperatura topnienia czystych enancjomerów (T_A) jest średnio o ok. 30 K wyższa od T_R . W punkcie eutektycznym krystalizują jednocześnie obie odmiany enancjomeryczne w formie kryształów D i L, w stosunku równomolowym. Natomiast krystalizacja w temperaturze wyższej od T_R może prowadzić do otrzymania homochiralnego kryształu w czystej postaci.

Krystalizacja mieszanin enancjomerów tworzących kryształy racemiczne przebiega w innych warunkach. Kryształ racemiczny stanowi odrębny składnik układu równowagowego, stąd odpowiedni diagram fazowy (Schemat 3, przykład B i C) ma zdecydowanie inny przebieg. Występują w nim dwa punkty eutektyczne w temperaturze T_E , przy czym $T_A > T_E < T_R$. Punkty eutektyczne odgraniczają obszar równowagi fazowej mieszaniny cieczy i kryształów racemicznych od obszarów równowagi roztwór i kryształy odpowiednio odmiany D (po lewej stronie wykresów B i C) i odmiany L (po prawej stronie). W tych właśnie przedziałach stężeń i temperatur może następować krystalizacja kryształów jednoskładnikowych.

Dodatkowym czynnikiem różnicującym układy racemiczne jest różnica pomiędzy T_R i T_A (średnia różnica pomiędzy T_R i T_A rzadko przekracza 20 K).

Gdy $T_R < T_A$ (Schemat 3, przykład B) punkty eutektyczne występują w zakresie „średnich” stężeń (np. $x_E = 0,3$ i $x_E = 0,7$). Krystalizacja z takiego układu pozwala na otrzymanie kryształów o określonej konfiguracji D lub L dla stężeń $0 - x_E$ i $x_E - 1$ i temperaturze wyższej od T_R .

Natomiast gdy $T_R > T_A$ punkty eutektyczne występują dla roztworów o dużej przewadze jednego ze składników (Schemat 3, przykład C, $x_E = 0,1$ i $0,9$) obszary równowagi kryształów D lub L i fazy ciekłej są tak małe, że w praktyce nie uzyskuje się kryształów homochiralnych, tylko wyłącznie kryształy racemiczne. Nawet w przedziale stężeń $0 - x_E$ i $x_E - 1$ preferowana jest krystalizacja racematu z uwagi na $T_R > T_A$.

Rekrystalizacja na przykład mieszaniny o składzie $x = 0,8$ (60% ee) może prowadzić do wzbogacenia fazy krystalicznej w jeden z enancjomerów tylko jeśli związek ma tendencję do tworzenia homochiralnych kryształów (Schemat 3, przykład A) lub gdy tworzy kryształy racemiczne o temperaturze topnienia niższej od temperatury topnienia czystych optycznie kryształów (Schemat 3, przykład B). Maksymalną wydajność enancjomeryczną wyznacza się ze stosunku odległości NE/EA. W tym konkretnym przykładzie, jeśli $x = 0,8$ to czystość optyczna kryształów w przypadku A wynosi 60% ee, a w przypadku B tylko 33% ee. Dla układu tworzącego kryształy racemiczne i $T_R > T_A$ uzyskuje się wyłącznie mieszaninę racemiczną (Schemat 3, przykład C) [5–9].

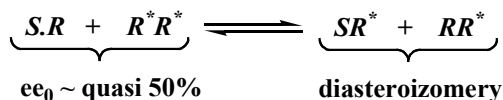
Na podstawie diagramów można stwierdzić, że tylko dla konglomeratów możliwe jest otrzymanie nadmiaru jednego z izomerów z wydajnością optyczną równą nadmiarowi enancjomerycznemu (ee) wyjściowej mieszaniny, podczas gdy w przypadku związków tworzących racematy wydajność enancjomeryczna jest zawsze

niższa niż ee_0 wyjściowej mieszaniny. Wynik krystalizacji w układzie tworzącym heterochiralne kryształy jest uzależniony od enancjomerycznego składu mieszaniny, położenia punktu eutektycznego i różnicy pomiędzy T_R i T_A . W praktyce, aby uzyskać nadmiar enancjomeryczny dla związków tworzących kryształy racemiczne należy wzbogacić wyjściową mieszaninę w jeden z izomerów tak, aby wartość ee_0 była wyższa niż w punkcie eutektycznym (ee_E).

Układy enancjomerów tworzących heterochiralne kryształy pseudoracemiczne są zupełnie nie separowalne metodą krystalizacji bezpośredniej. Tworzą one roztwory zarówno ciekłe jak i stałe o prawie doskonałej mieszalności. Niektóre izomery optyczne np. roztwór oksymów D i L kamfory, tworzą roztwory topiące się i krzepnące w takiej samej temperaturze niezależnie od składu mieszaniny. Krzywe topnienia i krzepnięcia pokrywają się tworząc jedną poziomą linię prostą.

Równomolowe roztwory obu izomerów optycznych aż w 90% mają tendencję do tworzenia kryształów racemicznych. Tylko około 5–10% z nich tworzy kryształy homochiralne (konglomeraty). Znacznie częstsze występowanie związków o strukturze racemicznej niż konglomeratów jest spowodowane ich większą stabilnością termodynamiczną, czego dowodzą odpowiednie badania równowagowych wartości potencjału Gibbsa [9]. Dlatego tak trudno jest rozdzielić racematy w sposób bezpośredni.

Do rozdzielania mieszanin racemicznych stosuje się najczęściej metodę pośrednią, przeprowadzając enancjomery w odpowiednie pochodne diastereoizomeryczne poprzez dodanie do układu czynnika chiralnego. Jeśli do racematu doda się równomolową ilość czynnika chiralnego (na przykład czynnik chiralny o konfiguracji R^*) tworzy się quasi-enancjomeryczna mieszanina:



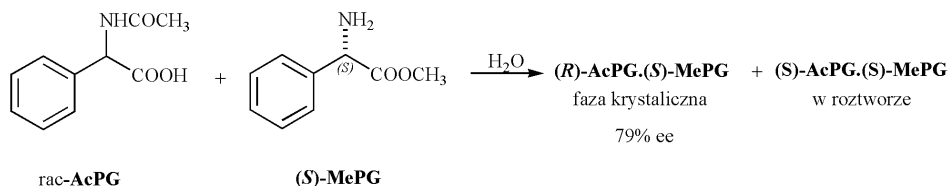
W takiej niesymetrycznej mieszaninie (ee_0 wynosi około 50%) tworzą się dwa rodzaje diastereoizomerów, które mogą wykrywać w postaci quasi-konglomeratów (RR^*) lub quasi-racematów (SR^*). Obie formy zawierają czyste enancjomery (R lub S) rozdzielanej mieszaniny racemicznej, które można w postaci wolnej otrzymać poprzez dekompozycję diastereoizomerycznych pochodnych [2, 5–9].

2. KRYSZALIZACJA DIASTEREIZOMERÓW Z FAZY CIEKŁEJ

2.1. OPTIMALIZACJA WARUNKÓW ROZDZIELENIA MIESZANINY ENANCJOMERÓW - CZYNNIK CHIRALNY, SUBSTANCJA DODATKOWA, STRUKTURA CHEMICZNA RACEMATÓW

Ważnym zadaniem w optymalizacji warunków rozdzielania enancjomerów jest dobór właściwego odczynnika chiralnego tak, aby otrzymane diastereoizomeryczne pochodne różniły się rozpuszczalnością i można było je rozdzielić na drodze krystalizacji. Najczęściej wyboru odpowiedniego czynnika chiralnego dokonuje się na drodze eksperymentalnej. Najważniejsza jest jego struktura oraz charakter chemiczny, a także stabilność w warunkach reakcji. Podczas dokonywania selekcji nie bez znaczenia jest również aspekt ekonomiczny. Dobrze, gdy odczynnik chiralny jest tani i powszechnie dostępny w handlu, najlepiej w postaci pary czystych optycznie enancjomerów (w innym przypadku po rozczepieniu mieszaniny racemicznej należy dokonać regeneracji czynnika chiralnego). Ponadto otrzymane sole lub kompleksy powinny dość łatwo ulegać dekompozycji, w celu uwolnienia czystych enancjomerów.

Istotne jest podobieństwo strukturalne chiralnego odczynnika do enancjomerów rozdzielanej mieszaniny. Z doświadczenia wynika, że jeśli reagenty tworzące diastereoizomery są swoimi strukturalnymi analogami w większości przypadków uzyskuje się dobrą enancjoseparację. Jest to możliwe ze względu na lepsze dopasowanie czynnika chiralnego do jednego z izomerów związku racemicznego. Na przykład *N*-acetylofenyloglicynę (AcPG) można skutecznie rozdzielić w obecności analogu strukturalnego estru metylowego (*S*)-fenyloglicyny (MePG). Z quasi-enancjomerycznej mieszaniny ($ee_0 = 50\%$) krystalizowała słabiej rozpuszczalna diastereoizomeryczna heterochiralna sól zawierająca w przewodzie (*R*)-AcPG (79% ee) [4].



Schemat 4. Rozdzielenie *rac*-AcPG z (*S*)-MePG

Scheme 4. Resolution of *rac*-AcPG with (*S*)-MePG

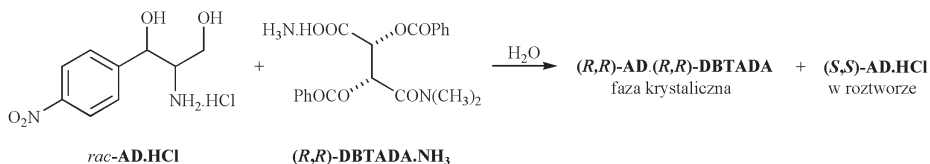
Podobnie *N*-acetylofenyloalaninę (AcPA) rozdzielono estrem metylowym (*S*)-fenyloalaniny. Selektywnie z roztworu krystalizowała sól quasi-racemiczna zawierająca również (*R*)-enancjomer o wysokiej czystości optycznej (93% ee) [4].

Podobieństwo strukturalne odczynnika chiralnego do rozdzielanej mieszaniny nie jest jednak warunkiem koniecznym do uzyskania efektywnej separacji. Stosuje się również niepodobne strukturalnie związki rozdzielające, na przykład znany

i powszechnie stosowany kwas (*R,R*)-winowy (TA) i jego pochodne. Za pomocą tego kwasu i jego analogów rozdzielono wiele racemicznych amin poprzez utworzenie krystalicznych soli [2, 10].

W procesie optymalizacji efektywności rozdzielania ważnym aspektem jest również ilość czynnika chiralnego dodanego do racematu. Na początku dodawano równomolowe ilości obu reagentów. Po raz pierwszy Pope i Peachy zmieszały mieszaninę racemiczną z chiralnym czynnikiem w stosunku 1:0,5 w obecności achiralnego odczynnika mającego podobny charakter chemiczny jak czynnik chiralny rozczepiający mieszaninę racemiczną [11].

W taki sposób rozdzielono pochodne chloramfenikolu. Do pochodnej chloramfenikolu (AD) w postaci soli dodano sól amoniową *N,N*-dimetyloamidu kwasu *O,O'*-dibenzolio- (*R,R*)-winowego ((*R,R*)-DBTADA) w stosunku molowym 1:0,5. Z roztworu krystalizowała sól diastereoizomeryczna zawierająca enancjomer o konfiguracji (*R,R*), podczas gdy enancjomer o przeciwnej konfiguracji pozostał w roztworze (Schemat 5) [4].

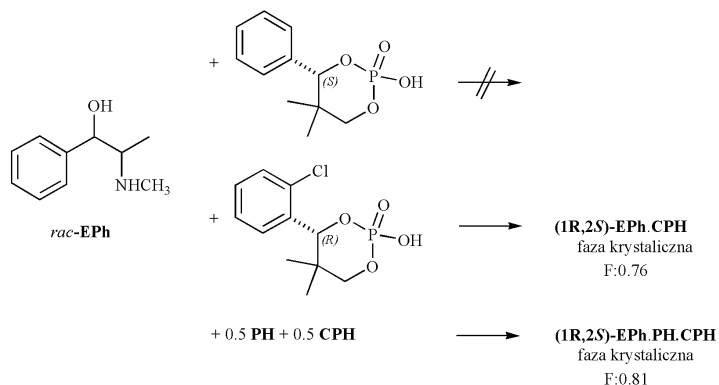


Schemat 5. Rozdzielenie *rac*-AD.HCl z (*R,R*)-DBTADA.NH₃

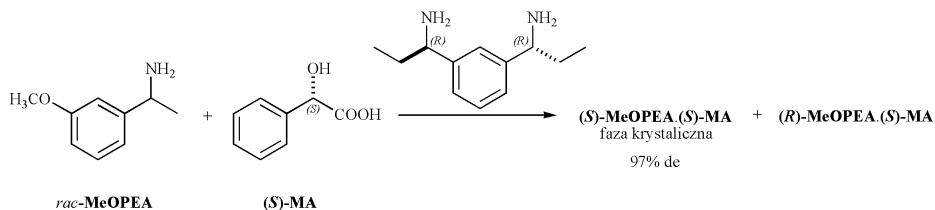
Scheme 5. Resolution of *rac*-AD.HCl with (*R,R*)-DBTADA.NH₃

W celu zwiększenia wydajności rozdzielania do mieszaniny racemicznej obok odczynnika chiralnego dodaje się inny chiralny związek strukturalnie podobny do reagenta rozczepiającego mieszaninę lub do enancjomerów w mieszaninie.

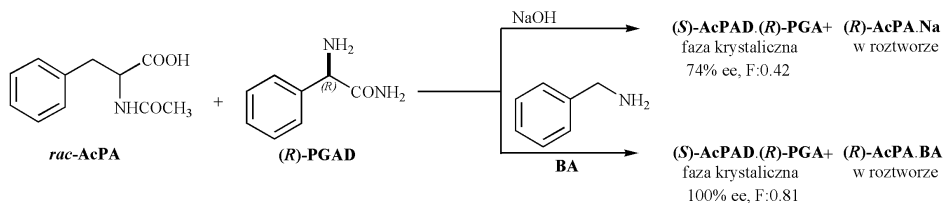
W pierwszym przypadku tzw. Dutch rozdziela część odczynnika chiralnego zastępuje się innym związkiem chiralnym o podobnej strukturze i chemicznym charakterze. Z roztworu z reguły krystalizuje diastereoizomer o wyższej czystości optycznej niż bez dodatku innego czynnika chiralnego. Przykładem rozczepienia z zastosowaniem mieszaniny czynników chiralnych jest rozdzielanie racemicznej efedryny (EPh). Część chiralnego odczynnika cyklicznego diestru 2-chlorofenylo podstawionego kwasu fosforowego(V) ((*S*)-CPH) zastąpiono jego niepodstawionym analogiem ((*S*)-PH). Preferencyjnie z roztworu krystalizował diastereoizomer zawierający trzy składowe: (1*R*,2*S*)-EPh i dwa czynniki chiralne ((*S*)-PH i (*S*)-CPH) – Schemat 6. Dodatek drugiego czynnika chiralnego wpływał na zwiększenie wydajność [12].

Schemat 6. Rozdzielenie *rac*-EPh z (S)-CPH/(S)-PHScheme 6. Resolution of *rac*-EPh with (S)-CPH/(S)-PH

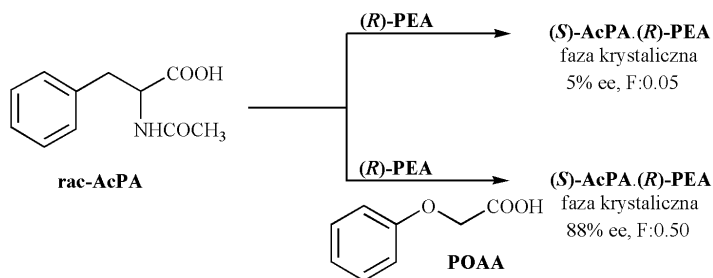
Przeprowadzono również separację racematu, do którego dodano związek będący strukturalnym analogiem składników rozdzielanej mieszaniny. Na przykład racemiczną mieszaninę 1-(3-metoksyfenylo)etyloaminy (MOPEA) rozczepiono z czynnikiem chiralnym kwasem (S)-migdałowym (MA) w obecności bis-aminy. Otrzymano diastereoizomeryczną sól z wysoką czystością optyczną (97% de) – Schemat 7. Podobnie jak w tzw. Dutch rozdziale dodatek chiralnego reagenta, w tym przypadku strukturalnie zbliżonego do rozdzielanej mieszaniny, powoduje zwiększenie efektywności rozczepienia [13].

Schemat 7. Rozdzielenie *rac*-MoPEA z (S)-MA/bis-aminaScheme 7. Resolution of *rac*-MoPEA with (S)-MA/bis-amine

Okazało się również, że diastereoizomery są lepiej rozdzielane w układzie, gdy część czynnika chiralnego lub racematu wymieni się na achiralny związek o podobnej strukturze. Na przykład, kiedy AcPA rozdzielono za pomocą amidu (R)-fenyloglicyny ((R)-PGAD) (1:0,5) w obecności wodorotlenku sodu zarówno czystość enancjomeryczna jak wydajność krystalicznej soli była niższa, niż gdy rozdzielanie odbywało się w obecności benzyloaminy (zamiast wodorotlenku sodu) – Schemat 8 [4, 14].

Schemat 8. Rozdzielenie *rac*-AcPA z (*R*)-PGA/BAScheme 8. Resolution of *rac*-AcPA with (*R*)-PGA/BA

Podobna sytuacja ma miejsce, gdy do rozczepianej mieszaniny wprowadzi się dodatkowo achiralny związek o zbliżonej strukturze do rozdzielanych enancjomerów. Mieszaniny racemicznej *rac*-AcPA z zastosowaniem (*R*)-2-fenyletyloaminy ((*R*)-PEA) nie można rozdzielić. Krystalizująca sól diastereoizomeryczna praktycznie jest równomolową mieszaniną obu izomerów. Jeśli jednak do wyjściowej mieszaniny obok (*R*)-PEA wprowadzi się achiralny analog AcPA – kwas fenoksyoctowy (POAA) – efektywność rozdziału zwiększa się. Achiralny dodatek krystalizuje z czynnikiem chiralnym szybciej, natomiast sól wzbogacona o (*S*)-AcPA wytrąca się po dłuższym czasie (Schemat 9) [4, 13].

Schemat 9. Rozdzielenie *rac*-AcPA z (*R*)-PEA/POAAScheme 9. Resolution of *rac*-AcPA with (*R*)-PEA/POAA

Bezpośrednie otoczenie centrum stereogenicznego w rozdzielanych izomerach optycznych ma wpływ na wzajemne strukturalne dopasowanie określonego enancjomeru i czynnika chiralnego. Aby odpowiedzieć na pytanie, jakie cechy powinien posiadać ligand bezpośrednio związany z centrum chiralnym rozdzielanych enancjomerów żeby efektywność *F* była jak najwyższa, przeprowadzono rozdział serii związków pochodnych fenyloglicyny (PG) tym samym czynnikiem chiralnym, kwasem (*R,R*)-TA (Schemat 10). Wzięto pod uwagę następujące parametry:

- parametr hydrofobowości p ,
- stałe σ^* charakteryzujące elektronowe właściwości ligandów bezpośrednio związanych z centrum chiralnym,
- M_R – zawadę przestrzenną,
- E_T – parametr charakteryzujący polarność rozpuszczalnika.

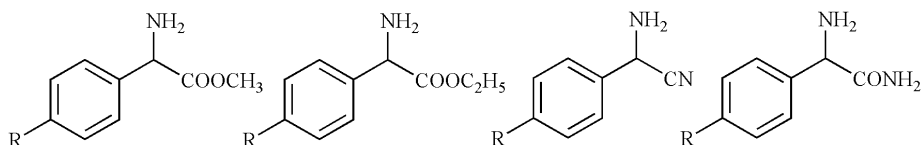
Teoretyczne korelacje pomiędzy poszczególnymi parametrami a wartością rozdziału F można przedstawić za pomocą poniższych równań:

$$F = 0,517\pi_2 + 2,28\sigma_2 - 0,015E_T - 0,001 \quad (1)$$

$$F = 0,524\pi_2 + 2,082\sigma_2 - 0,016E_T + 0,017M_{R_1} - 0,107 \quad (2)$$

$$F = 4,374\sigma_2 + 0,107M_{R_2} - 0,014E_T - 2,590 \quad (3)$$

$$F = 4,183\sigma_2^* + 0,110M_{R_2} - 0,015E_T - 0,021M_{R_2} - 2,461 \quad (4)$$



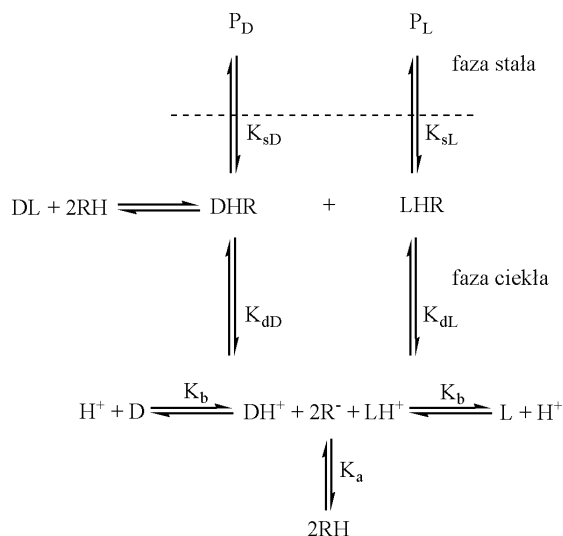
Schemat 10. Seria pochodnych fenyloglicyny
Scheme 10. A series of phenylglycine derivatives

Z rozważań tych wynika, że najważniejszymi parametrami wpływającymi na rozdzielanie racematów są: hydrofobowość oraz własności elektronowe podstawników (-COOH, -COOEt, -CN, -CONH₂) bezpośrednio związanych z centrum chiralnym. Dodatkowo można zauważyć, że wartość F ma różny znak w zależności od konfiguracji rozdzielanego enancjomeru. (*R*)-sól wytrącała się, gdy obliczona wartość F była dodatnia, natomiast sól o konfiguracji przeciwnej, gdy F przyjmowała wartość ujemną. Przewidywania teoretyczne zostały całkowicie potwierdzone przez badania eksperymentalne. Preferencyjnie z roztworu krystalizowała sól homochiralna (tzw. quasi-konglomerat) (*R*)-PG.(*R,R*)-TA, gdy podstawnik związany z centrum chiralnym rozdzielanych pochodnych fenyloglicyny był duży objętościowo i posiadał charakter elektronoakceptorowy (-CN, -COOEt). Natomiast, gdy podstawnik był mały, hydrofilowy o słabym charakterze elektronoakceptorowym preferencyjnie krystalizowała sól heterochiralna (tzw. quasi-racemiczna) zawierająca enancjomer o konfiguracji *S* ((*S*)-PG.(*R,R*)-TA) [2, 15].

2.2. OPTIMALIZACJA WARUNKÓW ROZDZIELENIA MIESZANINY ENANCJOMERÓW - ROZPUSZCZALNIK

Obok chiralnego czynnika na skuteczność rozdzielania racematów z ich mieszanin równomolowych szczególnie wpływ ma zastosowany rozpuszczalnik. Dobór rozpuszczalnika przeprowadza się głównie na drodze doświadczalnej. Najczęściej stosowanym rozpuszczalnikiem w pośredniej metodzie rozdzielania racematów jest woda, dlatego istotne podczas rozdzielania w wodzie jest pH roztworu. Wpływ pH na rozdział przez krystalizację frakcyjną diastereoizomerycznych soli przedstawia model termodynamiczny (Schemat 11). W modelowym układzie mieszaniny race-

micznej D, L z kwasowym czynnikiem chiralnym (RH) można przedstawić równowagi:



Schemat 11. Model równowagi dynamicznej tworzenia soli diastereoizomerycznych z równomolowej mieszaniny D, L i kwasowego czynnika chiralnego RH

Scheme 11. Equilibrium model of diastereomeric salt formation of a racemic base (D + L) with an acidic resolving agent (RH)

Efektywność F można wyznaczyć z równania chemicznego znając stałe termodynamiczne jak również początkowe stężenia czynnika chiralnego oraz stężenia jonów wodorowych.

$$0.5c_0F = K_{sD} - K_{sL} + \left(1 + \frac{K_b}{[H^+]} + \frac{[H^+]}{K_a} + \frac{K_b}{K_a}\right) \times \frac{K_{sD}K_{dD} - K_{sL}K_{dL}}{[RH]_0 - 0.5c_0y - (K_{sD} + K_{sL})} \quad (5)$$

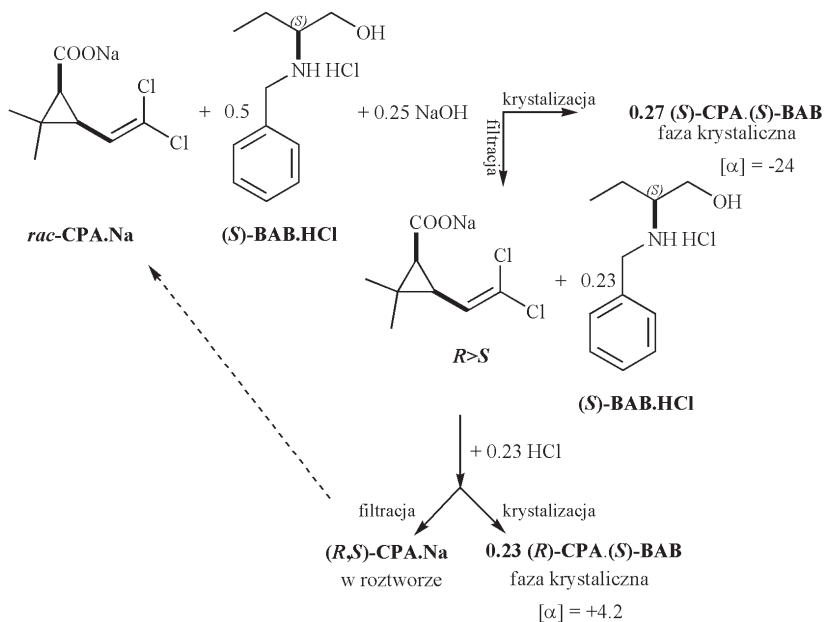
gdzie: K_{sD} , K_{sL} – stałe rozpuszczalności soli, K_{dD} , K_{dL} – stałe dysocjacji soli, K_a , K_b – stała kwasowa i zasadowa, c_0 – początkowe stężenie racematu, $[RH]_0$ – początkowe stężenie czynnika chiralnego, y – wydajność.

Efektywność rozdzielania mieszaniny racemicznej osiąga wartość minimalną gdy $[H^+] = \sqrt{K_a K_b}$. Taka sytuacja ma miejsce, jeśli jony wodorowe pochodzą z dysocjacji obojętnej soli diastereoizomerycznej. Z tego powodu ten typ rozdzielów charakteryzuje się najmniejszą wartością F. Warunkiem koniecznym do uzyskania lepszej efektywności rozdzielu jest stan, gdy stała dysocjacji soli lepiej rozpuszczalnej jest wyższa.

Efektywność F jest również uzależniona od stężenia czynnika chiralnego i osiąga wartość maksymalną ($F \rightarrow F_{\max}$) jeśli $[RH]_0 = 0.5c_0y + (K_{sL} + K_{sD})$. Gdy stałe

K_{sL} i K_{sD} są relatywnie małe wtedy. Stąd wynika, że jeżeli zmiesza się o połowę ilość czynnika chiralnego w stosunku do rozdzielanego racematu to skuteczność rozdzielania będzie najwyższa [2, 4]. Te teoretyczne rozważania znalazły swoje odzwierciedlenie w praktyce, po raz pierwszy taką ilość czynnika chiralnego zastosowali Pope i Peache.

Na rozdzielanie optycznych izomerów kwasu *cis*-3-(2,2-dichlorowinylo)-2,2-dimetylocyklopropanokarboksylowego (CPA) w obecności połowy ilości (*S*)-2-(benzyloamino)butanolu ((*S*)-BAB) miał istotny wpływ odczyn roztworu. Rozszczenie uzyskano, jeśli do mieszaniny wyjściowej dodano 25% nadmiar wodorotlenku sodu. Z roztworu preferencyjnie krystalizowała sól diastereoizomeryczna zawierająca czysty enancjomerycznie izomer (*S*)-CPA (Schemat 12). Po odwirowaniu osadu, roztwór zubożono dodając kwas chlorowodorowy. Po czasie z roztworu wykryształizował diastereoizomer z enancjomerem o konfiguracji przeciwnej. W roztworze pozostała mieszanina racemiczna soli sodowej CPA, którą można było zawrócić do ponownego rozdzielania [2, 16, 17].

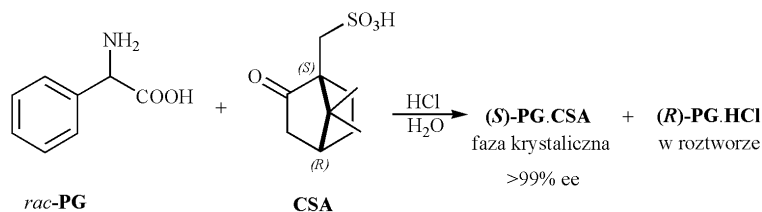


Schemat 12. Rozdzielenie *rac*-CPA.Na z (*S*)-BAB.HCl

Scheme 12. Resolution of *rac*-CPA.Na with (*S*)-BAB.HCl

Aminokwas PG w obojętnym pH z kwasem (*S*)-kamforosulfonowym ((*S*)-CSA) nie rozdziela się, tworzą się diastereoizomeryczne sole zawierające praktycznie mieszaninę racemiczną izomerów. Kiedy do wyjściowej mieszaniny obok czynnika chiralnego (1:0,5) dodano kwas chlorowodorowy (50% nadmiar kwasu w stosunku PG) z roztworu preferencyjnie krystalizowała sól zawierająca (*S*)-PG z wysoką czy-

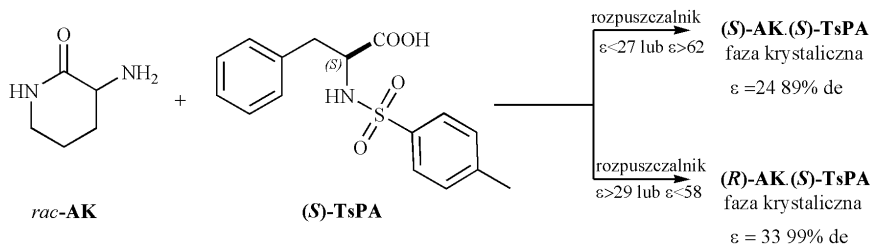
stością optyczną, podczas gdy prawie czysty enancjomer o konfiguracji (*R*) pozostał w roztworze (Schemat 13) [4].



Schemat 13. Rozdzielenie *rac*-PG z (*S*)-CSA

Scheme 13. Resolution of *rac*-PG with (*S*)-CSA

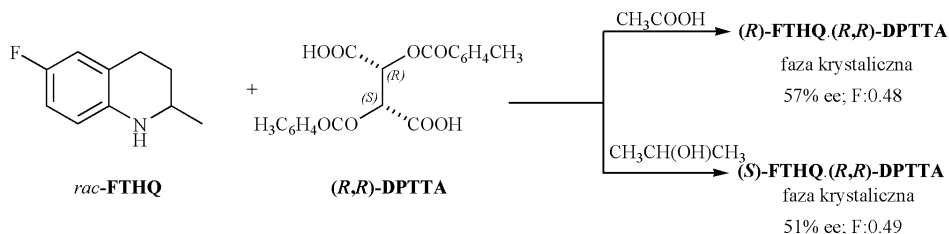
Woda jako rozpuszczalnik rozdziału racematów nie zawsze ma zastosowanie, ponieważ rozpuszczalność zarówno mieszanin racemicznych jak również chiralnego odczynnika w wodzie może być zbyt mała, aby przeprowadzić skuteczny rozdzielanie. W wielu przypadkach stosuje się rozpuszczalniki organiczne o zróżnicowanej polarności. Polarność rozpuszczalnika (charakteryzowana przez stałe dielektryczne rozpuszczalników) pełni ważną rolę w rozczepieniu diastereoizomerycznych soli. Na przykład w rozdziale α -aminokaprolaktamu (AK) w obecności (*S*)-*N*-tosylofenyloalaniny ((*S*)-TsPA) w zależności od polarności rozpuszczalnika otrzymano sól zawierającą w przewadze enancjomer o konfiguracji (*R*) lub (*S*). (*S*)-AK dominował, gdy stała dielektryczna rozpuszczalników wynosiła $\epsilon < 27$ lub $\epsilon > 62$. Natomiast sól z (*R*) enancjomerem krystalizowała z rozpuszczalników o średniej polarności $29 < \epsilon < 58$ (Schemat 14) [18–20].



Schemat 14. Rozdzielenie *rac*-AK z (*S*)-TsPA

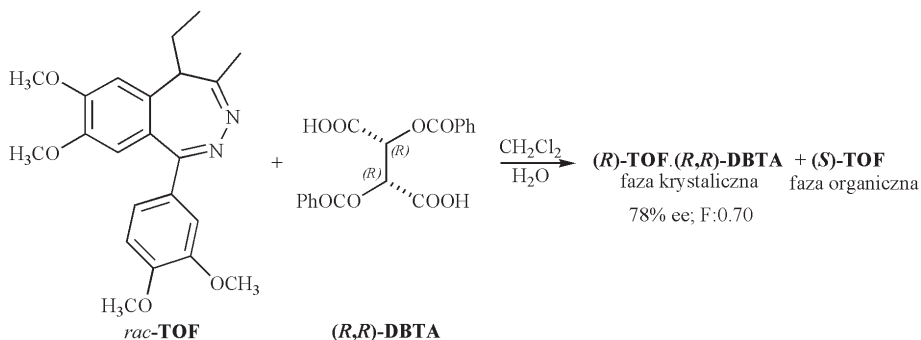
Scheme 14. Resolution of *rac*-AK with (*S*)-TsPA

Innym przykładem wpływu polarności rozpuszczalnika na rozdzielanie racematów jest rozczepienie intermediatu flumechiny (antybiotyk przeciwbakteryjny) ((FTHQ) z kwasem *O,O'*-di-*p*-toluilo-*(R,R)*-winowym ((*R,R*)-DPTTA). W obecności kwasu octowego (*R*) enancjomer krystalizował w postaci soli, natomiast z alkoholu izopropylowego krystalizowała sól zawierająca enancjomer o konfiguracji przeciwnej (Schemat 15) [21].

Schemat 15. Rozdzielenie *rac*-FTHQ z (*R,R*)-DPTTAScheme 15. Resolution of *rac*-FTHQ with (*R,R*)-DPTTA

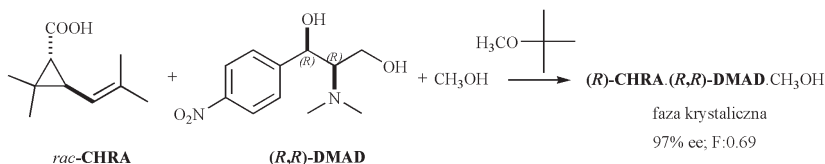
Rozdzielenie enancjomerów można również przeprowadzić w mieszaninie dwóch nie mieszających się rozpuszczalników. W takim układzie najczęściej bardziej trwała sól diastereoizomeryczna wytrąca się w postaci osadu, podczas gdy wolny enancjomer rozpuszcza się w jednej z faz (najczęściej w fazie organicznej).

W mieszaninie dichlorometan-woda rozdzielono racemiczny preparat przeciwłękowy tofisopam (TOF) z zastosowaniem (*R,R*)-DBTA jako czynnika chiralnego. Z dwufazowego układu preferencyjnie krystalizowała sól zawierająca enancjomer (*R*), natomiast wolny enancjomer o konfiguracji (*S*) odzyskano z fazy organicznej (Schemat 16) [4, 22, 23].

Schemat 16. Rozdzielenie *rac*-TOF z (*R,R*)-DBTAScheme 16. Resolution of *rac*-TOF with (*R,R*)-DBTA

Tendencja do tworzenia solwatów diastereoizomerów z rozpuszczalnikiem może znacznie ułatwić proces rozdzielenia, a czasami jest niezbędna żeby została przeprowadzona skuteczna enancjoseparacja. Na przykład rozczepienie racematu kwasu chryzantemowego (CHRA) z (*R,R*)-1-(4-nitrofenylo)-2-*N,N*-dimetyloamino-1,3-propanodiolem ((*R,R*)-DMAD) w metanolu prowadzi do preferencyjnej krystalizacji derywatu zawierającego *trans* (*R*)-CHRA. Sól diastereoizomeryczna krystalizuje w postaci solwatu z metanolem. W innym rozpuszczalniku, na przykład w eterze *tert*-butylowo-metylowym, rozczepienie jest możliwe tylko wtedy, gdy do układu doda się metanol. Jest on konieczny do utworzenia solwatu z jednym

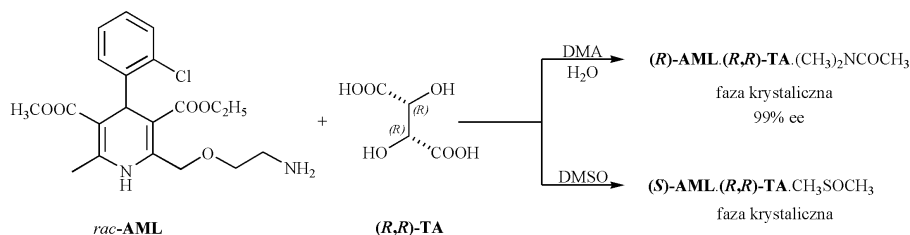
z diastereoizomerów, który selektywnie wytrąca się z wyjściowej mieszaniny (Schemat 17) [24].



Schemat 17. Rozdzielenie *rac*-CHRA z (*R,R*)-DMAD

Scheme 17. Resolution of *rac*-CHRA with (*R,R*)-DMAD

W niektórych przypadkach tworzą się diastereoizomeryczne solваты. Na przykład podczas rozdzielania racemicznej amlodipiny (AML) w obecności (*R,R*)-TA w zależności od zastosowanego rozpuszczalnika otrzymano różne sole diastereoizomeryczne. W DMSO preferencyjnie krystalizował solwat soli zawierającej (*S*)-enancjomer. Natomiast, jeśli proces rozdzielania przeprowadzono w DMA, selektywnie krystalizował solwat soli z enancjomerem o konfiguracji (*R*) (Schemat 18) [4].



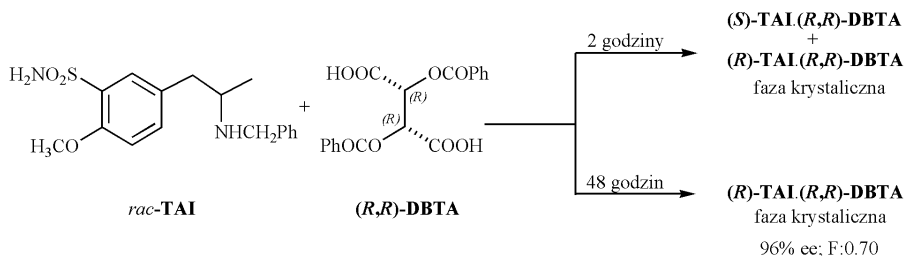
Schemat 18. Rozdzielenie *rac*-AML z (*R,R*)-TA

Scheme 18. Resolution of *rac*-AML with (*R,R*)-TA

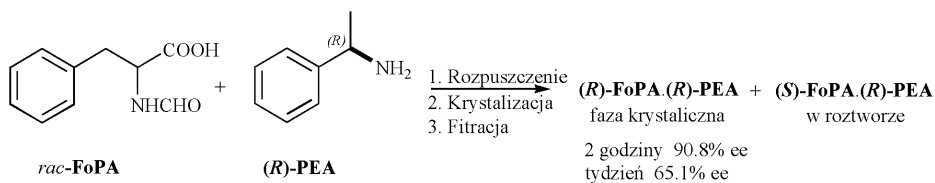
2.3. OPTYMALIZACJA WARUNKÓW ROZDZIELENIA MIESZANINY ENANCJOMERÓW – CZAS KRYSZALIZACJI

Po dodaniu odczynnika chiralnego do mieszaniny enancjomerów krystalizuje po pewnym czasie sól diastereoizomeryczna. Ogólnie przyjętą praktyką jest odsączanie otrzymanego osadu dopiero po dłuższym czasie tak, aby zapewnić kompletne strącenie diastereoizomeru. Takie podejście zakłada kontrolę termodynamiczną, z roztworu krystalizuje sól trwalsza termodynamicznie.

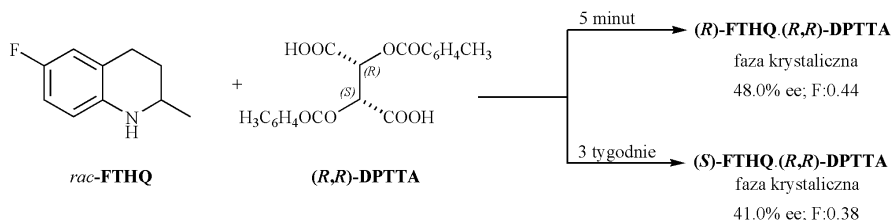
Na przykład w trakcie rozdzielania racemicznego intermediatu tamsulosyny (TAI) z użyciem (*R,R*)-DBTA jako czynnika chiralnego w mieszaninie wody i etanolu po 2 godzinach krystalizował osad, który zawierał równomolową mieszaninę obu diastereoizomerycznych soli. Natomiast po 2 dniach krystalizowała sól trwalsza termodynamicznie wzbogacona w enancjomer o konfiguracji (*R*) (Schemat 19) [4, 25].

Schemat 19. Rozdzielenie *rac*-TAI z *(R,R)*-DBTAScheme 19. Resolution of *rac*-TAI with *(R,R)*-DBTA

Generalnie zaleca się sprawdzanie czystości optycznej krystalizujących frakcji w czasie. Jeśli najpierw krystalizuje mniej stabilna sól diastereoizomeryczna (kontrola kinetyczna) to po dłuższym czasie może ulec zmianie jej czystość optyczna (jeśli krystalizuje sól trwalsza termodynamicznie). Na przykład czystość diastereoizomeryczna soli powstałej podczas rozdzielania racemicznej *N*-formylofenoalaniny (FoPA) z *(R)*-fenoetyloaminą (PEA) była funkcją czasu. Po dwóch godzinach słabiej rozpuszczalna sól diastereoizomeryczna charakteryzowała się wyższą czystością optyczną niż sól, która wykrystalizowała po tygodniu (Schemat 20) [4, 14, 26].

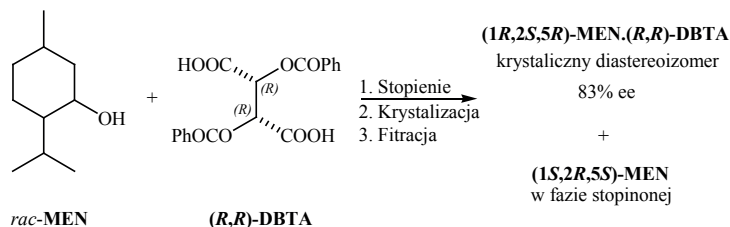
Schemat 20. Rozdzielenie *rac*-FoPA z *(R)*-PEAScheme 20. Resolution of *rac*-FoPA with *(R)*-PEA

Monitorowanie czystości optycznej uzyskanych krystalicznych frakcji w czasie może również prowadzić do otrzymania dwóch czystych optycznie diastereoizomerycznych soli. Na przykład rozczepienie FTHQ w octanie etylu za pomocą *(R,R)*-DPTTA – po 5 minutach krystalizowała mniej stabilna termodynamicznie sól zawierająca enancjomer o konfiguracji *R*. Natomiast po odwirowaniu osadu z roztworu po około 3 tygodniach preferencyjnie krystalizowała trwalsza termodynamicznie sól *(S)*-FTHQ.*(R,R)*-DPTTA (Schemat 21) [21].

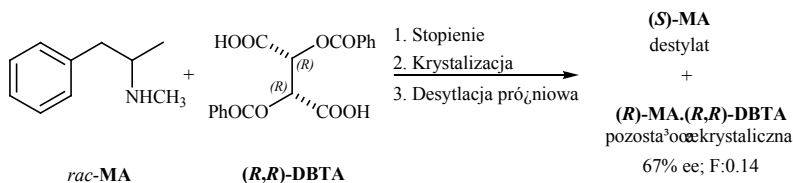
Schemat 21. Rozdzielenie *rac*-FTHQ z *(R,R)*-DPTTAScheme 21. Resolution of *rac*-FTHQ with *(R,R)*-DPTTA

3. KRYSZTAŁIZACJA DIASTEREOIZOMERÓW BEZ ROZPUSSZCZALNIKA

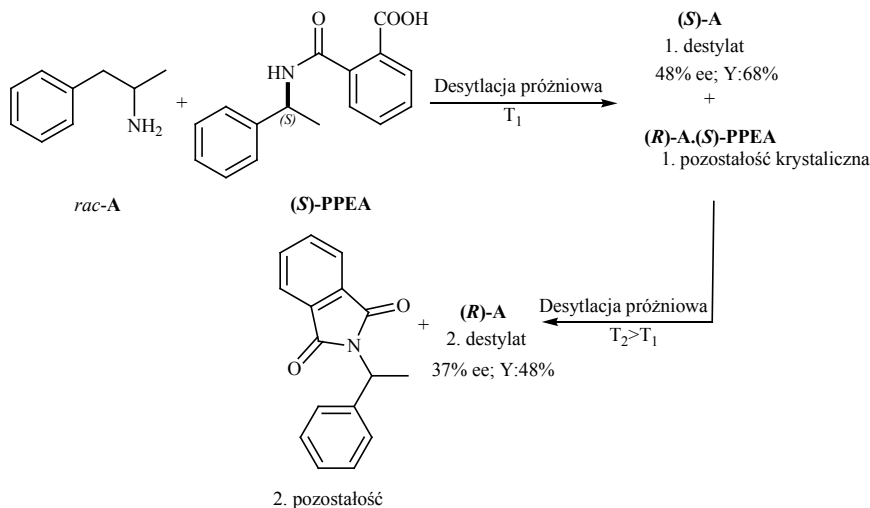
W procesie rozdzielenia mieszanin racemicznych enancjomerów w metodzie pośredniej bez rozpuszczalników najpierw ogrzewa się rozczepianą mieszaninę z czynnikiem chiralnym w celu jej stopnienia, a następnie ochładza, aby wykryształizował jeden z diastereoizomerów. Otrzymaną fazę krystaliczną można oddzielić od fazy stopionej na przykład za pomocą filtracji. Tę metodę wykorzystano do rozdzielania racemicznego mentolu (MEN) z zastosowaniem *(R,R)*-DBTA jako odczynnika rozdzielającego. Preferencyjnie krystalizował diastereoizometryczny kompleks molekularny zawierający izomer *(1R,2S,5R)*-mentolu (*L*-MEN), który za pomocą filtracji usunięto z fazy stopionej, wzbogaconej w enancjomer o konfiguracji przeciwnej (Schemat 22) [4, 27].

Schemat 22. Rozdzielenie *rac*-MEN z *(R,R)*-DBTAScheme 22. Resolution of *rac*-MEN with *(R,R)*-DBTA

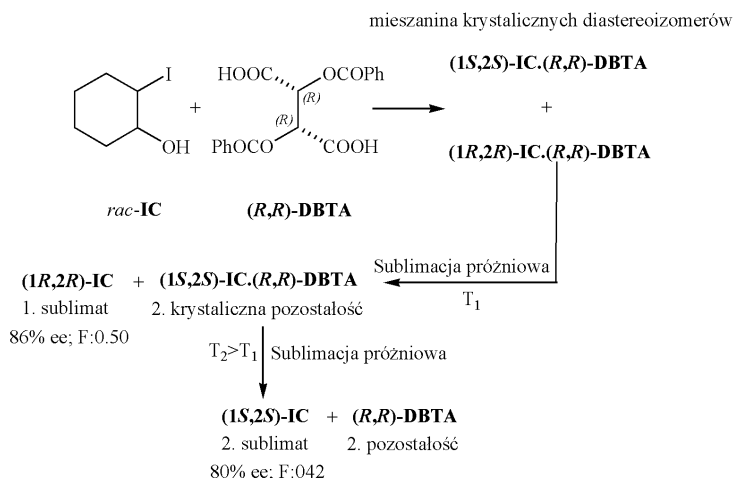
Oddzielenie krystalicznej fazy od enancjomeru znajdującego się w fazie stopionej może również zostać przeprowadzone z zastosowaniem innej metody separacji, na przykład destylacji. W taki sposób oddzielono kryształy otrzymanej pochodnej powstałej w wyniku zmieszania racemicznej mieszaniny *N*-metylofenyloizopropylaminy (MA) z *(R,R)*-DBTA w stosunku 1:0,5. Oddestyłowano *(S)*-MA z nad krystalicznej diastereoizometrycznej soli *(R)*-MA.*(R,R)*-DBTA (Schemat 23) [28].

Schemat 23. Rozdzielenie *rac*-MA z (R,R)-DBTAScheme 23. Resolution of *rac*-MA with (R,R)-DBTA

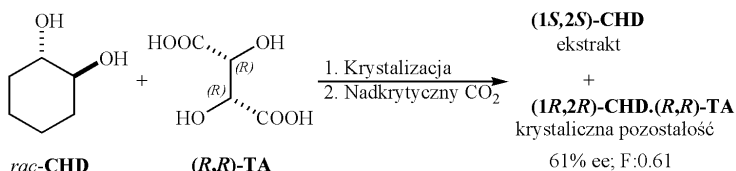
Za pomocą destylacji rozdzielono również racemiczną fenylizopropylaminę (A). Najpierw do racematu dodano czynnika chiralnego, (S)-*N*-ftalioilofenyletyloaminę (PPEA), po stopieniu i ochłodzeniu krystalizowała preferencyjnie sól zawierająca enancjomer o konfiguracji (R). (S)-A oddestylowano w niższej temperaturze z fazy krystalicznej. Po podwyższeniu temperatury diastereoizomeryczna sól ulegała dekompozycji i można było oddestylować enancjomer o konfiguracji (R) (Schemat 24) [29].

Schemat 24. Rozdzielenie *rac*-A z (S)-PPEAScheme 24. Resolution of *rac*-A with (S)-PPEA

Związek racemiczny można również rozdzielić za pomocą sublimacji. Na przykład, jeśli przeprowadzi się w fazie stałej reakcję racematu *trans*-2-jodocykloheksanolu (IC) z czynnikiem chiralnym (R,R)-DBTA otrzymuje się dwa diastereoizomeryczne kompleksy molekularne. W niższej temperaturze dekompozycji ulega kompleks (1*R*,2*R*)-IC.(R,R)-DBTA i selektywnie sublimuje czysty optycznie izomer (1*R*,2*R*)-IC. Jeśli podwyższy się temperaturę za pomocą sublimacji można otrzymać izomer o konfiguracji przeciwnej. Ta metoda pozwala nie tylko rozdzielić związek racemiczny, ale również odzyskać odczynnik chiralny (Schemat 25) [4, 30].

Schemat 25. Rozdzielenie *rac*-IC z (R,R)-DBTAScheme 25. Resolution of *rac*-IC with (R,R)-DBTA

Diastereoizomery rozdzielane w postaci soli lub kompleksów molekularnych można również odseparować poprzez ekstrakcję nadkrytycznym ditlenkiem węgla. Czyste optycznie izomery cykloheksano-1,2-diolu (CHD) z jego racemicznej mieszaniny otrzymano podczas rozczepienia z (R,R)-TA. Wolny izomer (S,S)-CHD rozpuszczał się w nadkrytycznym ditlenku węgla, natomiast diastereoizomer, kompleks molekularny (R,R)-CHD z (R,R)-TA, pozostał w fazie stałej (Schemat 26) [2, 31].

Schemat 26. Rozdzielenie *rac*-CHD z (R,R)-TAScheme 26. Resolution of *rac*-CHD with (R,R)-TA

UWAGI KOŃCOWE

Jedną z metod rozdzielania mieszanin enancjomerów jest krystalizacja. Rozczepienie izomerów optycznych może odbywać się bezpośrednio lub pośrednio przeprowadzając rozdzielaną mieszaninę w odpowiednie pochodne diastereoizomeryczne w wyniku wprowadzenia do układu czynnika chiralnego. Podstawą rozdzielania równomolowej mieszaniny enancjomerów w metodzie pośredniej są różne właściwości fizyczne otrzymanych pochodnych. Na efektywność rozdzielania racematów (F) ma wpływ struktura i charakter chemiczny odczynnika chiralnego, zastosowany rozpuszczalnik jak również czas krystalizacji. Rozdzielenie diastereoizomerycznych soli lub kompleksów poprzez krystalizację przeprowadza się z roztworu lub fazy stopionej.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] W.M Potapow, *Stereochemia*, Państwowe Wydawnictwo Naukowe, Warszawa 1986.
- [2] F. Faigl, E. Fogassy, M. Nógrádi, E. Pálovics, J. Schindler, *Tetrahedron Asymmetry*, 2008, **19**, 519.
- [3] R. Siedlecka, *Tetrahedron Asymmetry*, 2013, **69**, 6331.
- [4] Y. Mastai, *Advances in Crystallization Processes*, Chapter 1: E. Pálovics, F. Faigl, E. Fogassy, *Separation of the Mixtures of Chiral Compounds by Crystallization*, 2012, InTech.
- [5] E. Pálovics, Z. Szelezcky, B. Földi, F. Faigla, E. Fogassy, *RSC Adv.*, 2014, **4**, 21254.
- [6] H. Lorenz, F. Capla, D. Polenske, M.P. Elsner, A. Seidel-Morgenstern, *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy*, 2007, **42**, 5.
- [7] K. Sakai, N. Hirayama, R. Tamura, *Novel Optical Resolution Technologies*, Springer, Berlin, 2007
- [8] P. Anandamanoharan, "Isolation of Enantiomers via Diastereomers Crystallisation" PhD dissertation, Department of Chemical Engineering University College London, Wielka Brytania, 2010
- [9] H. Buchowski, W. Ufnalski, *Roztwory – wykłady z chemii fizycznej*, Wydawnictwo Naukowo-Techniczne, Warszawa, 1995
- [10] L. Synoradzki, U. Bernaś, P. Ruśkowski, *Organic Preparations and procedures Int.*, 2008, **40**, 163.
- [11] W.J. Pope, S.J. Peachey, *J. Chem. Soc.*, 1899, **75**, 1066.
- [12] R.M. Kellogg, J.W. Nieuwenhuijzen, K. Pouwer, T.R. Vries, Q.B. Broxterman, R.F.P. Grimbergen, B. Kaptein, R.M. La Crois, E. de Wever, K. Zwaagstra, A.C. van derLaan, *Synthesis*, 2003, 1626.
- [13] J. Dalmolen, "Synthesis and Application of New Chiral Amines in Dutch Resolution, Family Behaviour in Nucleation Inhibition", PhD dissertation, University of Groningen, Holandia, 2005.
- [14] E. Pálovics, "Structurally related compounds with common skeleton in the resolution processes", PhD dissertation, Department of Organic Chemistry and Technology, Węgry, 2008.
- [15] E. Fogassy, A. Lopata, F. Faigl, M. Ács, F. Darvas, L. Töke, *Tetrahedron Lett.*, 1980, **21**, 647.
- [16] E. Fogassy, F. Faigl, M. Ács, K. Simon, É. Kozsda, B. Podányi, M. Czugler, G. Reck, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, 1988, 1385. Hung. Pat. No. 188.255, 1988.
- [17] K. Simon, É. Kozsda, F. Faigl, E. Fogassy, G. Reck, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, 1990, 1395. Hung. Pat. No. 197.866, 1985.
- [18] K. Sakai, R. Sakurai, A. Yuzawa, N. Hirayama, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2003, **14**, 3713.
- [19] R. Sakurai, K. Sakai, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2003, **14**, 411.
- [20] K. Sakai, R. Sakurai, N. Hirayama, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2004, **15**, 1073.
- [21] J. Bálint, G. Egri, V. Kiss, A. Gajáry, Z. Juvancz, E. Fogassy, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2001, **12**, 3435.
- [22] Hung. Pat. no. 179452, *Chem. Abs.*, 1978, **97** 6331
- [23] E. Fogassy, M. Ács, G. Toth, K. Simon, T. Láng, L. Ladányi, L. Párkányi, *J. Mol. Struct.*, 1986, **147**, 143.
- [24] É. Kozsda-Kovács, G. Keserű, Z. Böcskei, J. Szilágyi, K. Simon, B. Bertók, E. Fogassy, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 2000, 149.
- [25] T. Gizur, *Hun Pat.* 202963 2002, CAS 140 253341
- [26] E. Pálovics, J. Schindler, F. Faigl, E. Fogassy, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2010, **21**, 2429.
- [27] K. Simon, Z. Vincze, K. Marthi, G. Lévai, Gy. Pokol, E. Fogassy and D. Kozma, *J. Therm. Anal. Calorim.*, 2004, **75**, 787.
- [28] D. Kozma, Z. Madarász, Cs. Kassai, E. Fogassy, *Chirality*, 1999, **11**, 373.
- [29] M. Ács, A. Mravik, E. Fogassy, *Zs. Böcskei, Chirality*, 1994, **6**, 314.
- [30] C. Kassai, D. Kozma, E. Fogassy, *Synth. Commun.*, 2006, **36**, 1015.
- [31] P. Molnár, P. Thorey, Gy. Bánsághi, E. Székely, L. Poppe, A. Tomin, S. Kemény, E. Fogassy, B. Simándi, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2008, **19**, 1587.