MAURIZIO D'AURIA*

Alle origini della fotochimica in Italia. Cannizzaro e l'isomerizzazione fotochimica della santonina

Summary – Santonin is a sesquiterpenic molecule unstable under sunlight. The study related to the identification of reaction products obtained in the irradiation of santonin started in 1830. The contributions of Sestini and of Cannizzaro group are discussed showing that they were able to get very close to establish the structures of both santonin and photosantonin.

Riassunto – La santonina è un sesquiterpene instabile sotto l'azione della luce. Lo studio volto all'identificazione dei prodotti di reazione ottenuti per irradiazione è cominciato nel 1830. Vengono discussi il contributo dato da Sestini e dal gruppo di Cannizzaro e verrà mostrato come questi furono capaci di proporre una struttura della santonina e della fotosantonina molto vicina a quella reale.

Nel 1870 Cannizzaro accetta il trasferimento a Roma da Palermo con il compito di fare in modo che la ricerca chimica all'Università di Roma assuma la rilevanza internazionale che gli spetta in quanto università della Capitale del nuovo Regno d'Italia.

Cannizzaro rivolgerà i suoi interessi scientifici in tutti i campi in cui la chimica poteva svolgere un ruolo importante. Nel campo della chimica organica l'attività di Cannizzaro sarà in gran parte occupata dallo determinazione della struttura della santonina.

La santonina è un lattone sesquiterpenico la cui biosintesi, relativamente complessa, prende le mosse dal germacrene A [4, 9]. La struttura della santonina, un composto noto da molto tempo per la sua attività antielmintica, viene riportata nella Figura 1; è stato isolato da piante di *Artemisia maritima* e *Artemisia cina* appartenenti alla famiglia delle Compositae.

* Dipartimento di Scienze, Università della Basilicata, Viale dell'Ateneo Lucano 10, Potenza, Italy. E.mail: maurizio.dauria@unibas.it

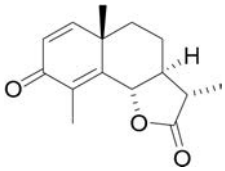


Fig. 1. La santonina.

Oltre al fatto che nel 1870 non si conosceva la struttura della santonina, bisognava considerare che non ne era noto anche il decorso fotochimico. Era noto, di fatti, il fatto che il composto con fosse stabile in presenza della luce. La comprensione del decorso fotochimico della santonina poteva dare utili informazioni sulla struttura della sostanza stessa.

Il primo rapporto relativo al comportamento fotochimico della santonina viene fatto dal farmacista Kahler nel 1830. Il farmacista aveva ottenuto la santonina da *Artemisia cina* e nota: «Im Sonnenlichte nehmen sie eine gelbe Farbe an» [14]. Qualche anno dopo la stessa osservazione viene fatta da Trommsdorf [20].

Heldt scrisse nel 1847 un lavoro complessivo relativo alla santonina e descrisse anche il comportamento fotochimico dei cristalli [13]: «Das Santonin wird durch das Licht gelb gefärbt, weshalb alle Operationen mit demselben bei Abschluss des Tageslichts vorgenommen werden müssen.

Setzt man Santoninkrystalle der Einwirkung der Sonnenstrahlen aus, so bemerkt man schon nach 10 Minuten einen Farbenwechsel; sie erhalten einen Stich ins Gelbliche, werden mit der Zeit immer dunkler gelb und zerspringen dabei mit Lebhaftigkeit, zuletzt nehmen sie eine goldgelbe Farbe an.

Tromsdorf hat nachgewiesen, dass sowohl das unzerlegte Sonnenlicht, als auch der violette und blaue Strahl diese Veränderungen hervorbringen, während der gelbe, grüne und rothe Lichstrahl ohne Wirkung darauf sind. Die Farbenumwandlung ist unabhängig von dem Medium, sie findet sowohl in der atmosphärischen Luft, als unter Flüssigkeiten und Gasen statt.

Ich habe die durch das Licht in der Krystallform bewirkten Veränderungen unter dem Mikroscop beobachtet.

Die Santoninkrystalle zerspringen zuerst nach Schnitten, welche normal auf die Längenaxe zugehen; die zugeschärften Endflachen werden gleichfalls durch Schnitte abgetrennt, welche die Längenaxe rechtwinklich schneiden. Die Schnittflächen sind keine Ebenen, sie haben sehr unregelmäßige Begrenzungen».

L'aspetto più significativo di questo passo sta nel fatto che i cristalli irradiati mostrano delle particolari linee di frattura: «i cristalli vengono scissi prima lungo tagli perpendicolari all'asse lungo; anche le facce inclinate del cristallo vengono separate da tagli perpendicolari all'asse lungo. Le nuove superfici create non sono planari ma hanno bordi alquanto irregolari. Se A è la vista dall'alto del cristallo, le linee a, b, c, indicano la direzione della frattura» (Figura 2). Nel 2011 l'Editor della

rivista *Photochemical and Photobiological Sciences* rivendicò queste osservazioni come un primo esempio di chimica supramolecolare [17].

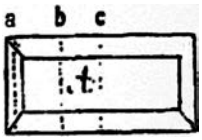


Fig. 2. I tagli su un cristallo di santonina quando questo viene irradiato in presenza di luce solare.

La santonina irradiata diventa gialla. Questo fenomeno è stato studiato da Montemartini anche se il suo studio non ha portato a conclusioni definitive [15]. Non si trova in accordo con le osservazioni fatte da Heldt: «Per mio conto avendo osservato, con un ingrandimento di 80 diametri, dei piccoli cristalli incolori e degli altri ingialliti (...) non vi potei riscontrare differenze; in entrambi i casi si avevano delle strie di sfaldatura normali all'asse longitudinale. Anche esaminando uno stesso cristallo prima e dopo l'ingiallimento non notai variazioni di sorta; neppure le strie di sfaldatura erano aumentate». Egli trovò che: «Il punto di fusione si abbassa continuamente; il rammollimento che precede la fusione credo sia dovuto principalmente al fatto che sul principio la santonina ingiallisce (…); il potere rotatorio della santonina diminuisce per ingiallimento (…); la soluzione di santonina ingiallita non dava (…) bande di assorbimento, limitava però l'estensione dello spettro, esso era visibile solo dal rosso al verde, dopo il verde più nulla si osservava. (…) La santonina ingiallita è più solubile. (…) È (…) indiscutibile che la composizione centesimale del prodotto giallo è identica a quella della santonina. (…) La santonina ingiallendo conserva (…) la stessa grandezza molecolare. (…) Quando la santonina gialla è disciolta in qualunque solvente a caldo, e la soluzione è lasciata raffreddare allo scuro, i cristalli che si depositano sono di santonina incolora, come mi accertai esaminandone la forma cristallina, il punto di fusione, ed anche facendone la combustione. (…) La santonina inalterata (…) è molto stabile in presenza del permanganato (…). Invece ripetendo la stessa esperienza colla santonina ingiallita il permanganato potassico è immediatamente distrutto, e la soluzione rimane decolorata dopo qualche secondo. E non solo la velocità della reazione è diversa, sono, oltre a questa, pure diversi i prodotti da essa derivanti, giacché limitando l'ossidazione della santonina gialla non si trova tra questi prodotti l'acido ossalico che è il prodotto predominante, si può dire il principale offerto dalla santonina inalterata. (…) Appare che la cromosantonina può solo differire dalla santonina per la posizione dei legami che legano fra di loro gli atomi di carbonio del gruppo idronaftalico che ne costituisce il nucleo». Sulla santonina gialla non è stato fatto più nessun studio e l'origine di questo colore non è stato identificato.

Nel 1865 Sestini aveva descritto la prima sintesi chimica della fotosantonina: «Sei mesi or sono (…) feci conoscere che la luce solare, agendo per lo spazio di un

mese sopra la soluzione alcolica della sostanza predetta, trasforma la Santonina in altra, che io più per comodità che per altro chiamai Acido Fotosantonico; (…) Onde averla in questo stato ho dovuto isolare la fotosantonina dalla sua soluzione alcolica, diluendo la soluzione stessa ottenuta per l'azione del sole, con un volume di acqua stillata 15 volte maggiore al proprio. L'aggiunta dell'acqua rende lattescente il liquido, sul quale vengono tosto a galleggiare delle goccie oleose, che dopo uno, due, o tre giorni si trovano consolidate in bianche lamine cristalline; delle quali al fondo del liquido se ne trovano in grande quantità» [18].

Nel 1876 Sestini migliora la procedura per l'isolamento del prodotto di irradiazione effettuando la reazione in acido acetico: «Si sciolgono 40 parti di santonina in 600 di acido acetico contenente dal 70 all'80 p.% di $C_2H_4O_2$, e si espone il soluto in bottiglia a smeriglio alla diretta azione del sole.

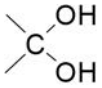
Scorsi 30 o 40 giorni d'insolazione, secondo che è estate o no, o meglio quando nel liquido acetico non si può riscontrare più santonina si aggiunge ad esso un volume di acqua stillata 5 o 6 volte maggiore del soluto acetico, con che si depone l'acido fotosantonico, che cristallizzato più volte nell'alcoole, o nell'etere misto ad alcoole, si purifica» [19].

La procedura descritta da Sestini venne migliorata qualche anno dopo da Villavecchia: «Una soluzione di santonina nell'alcool di 90° fatta in ragione di 20 gr. di santonina per ogni litro d'alcool venne esposta alla luce diretta per 3 mesi. Il liquido prese appena una tinta giallognola e venne distillato nel vuoto a b. m. per eliminare il solvente; al residuo che è un olio denso e colorato in giallo-bruno si aggiunse una soluzione tiepida di carbonato sodico e si riscaldò a blando calore. La parte del prodotto che si sciolse nel liquido alcalino, si riottenne saturando questo con acido cloridrico, in forma di un precipitato fioccoso che fatto cristallizzare dall'alcool, diede i cristalli fusibili a 154° dell'acido fotosantonico» [22]. Questa stessa procedura verrà poi seguita diversi anni dopo da Francesconi e Maggi quando questi studieranno la preparazione di alcuni derivati della fotosantonina [11]. È bene notate che al momento del lavoro di Sestini ed anche quando Villavecchia pubblica il suo lavoro, la fotochimica in Italia è praticamente inesistente. Il primo lavoro di Ciamician e Silber sulla riduzione del chinone è del 1886 [1]. Limitatamente alla mia esperienza in questo settore, conosco un solo lavoro di fotochimica precedente a questo, risalente al 1875, a firma di Paternò e Fileti [16].

Nel 1886 Cannizzaro stesso si occupa del comportamento fotochimico della santonina. Trova un secondo prodotto nella reazione che chiamerà isofotosantonina: «La santonina dunque, che è un lattone dell'acido santonico, fissando gli elementi di una molecola d'acqua, sotto l'azione prolungata della luce, dà i lattoni di due acidi diversi; uno bibasico, il fotosantonico, l'altro monobasico, detto da noi isofotosantonico. Pare dunque, che nell'uno e nell'altro lattone sia rimasto inalterato il gruppo lattonico della santonina. Nel lattone fotosantonico si è formato inoltre un carbossile, che lo fa acido monobasico, capace di dare l'etere corrispondente monoetilico, cioè la fotosantonina. Nel lattone isofotosantonico invece non evvi car-

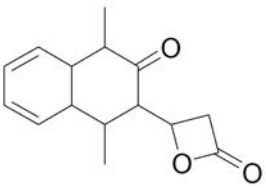
bossile. Nell'uno e nell'altro, il gruppo lattonico si comporta come quello della santonina, cioè non dà l'etere corrispondente.

L'ipotesi più probabile per ispiegare la diversa costituzione dei due lattoni è, che quando la santonina diviene lattone fotosantonico, si apre uno degli anelli della dimetilidronaftalina, cioè il CO diviene CO OH e si stacca dall'altro carbonio, a cui è attaccato il gruppo lattonico ed al quale si somma l'altro atomo di idrogeno dell'acqua, mentre che nel lattone isofotosantonico sono rimasti chiusi tutti i due anelli naftalici; probabilmente il CO, rimanendo collegato ai due carboni come un CO chetonico, diviene

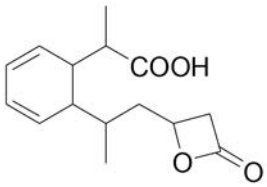


I due prodotti acetilici del lattone isofotosantonico confermerebbero questa supposizione, mentre che il facile scomporsi dell'acido fotosantonico nell'acido monobasico C^{14}… per eliminazione di CO^2, conferma essere in esso aperto l'uno degli anelli naftalici.

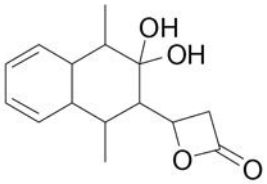
Scriviamo più sotto le formule di struttura, le quali riassumono queste nostre ipotesi, che continueremo a discutere coll'esame di altri fatti» [6].



Santonina



Lattone fotosantonico



Lattone isofotosantonico

In questo contesto Cannizzaro si spinge a fare un'ipotesi sulla struttura della santonina. Se confrontiamo la struttura proposta da Cannizzaro con quella accettata ora non troviamo molte analogie. Ovviamente, anche la struttura dei prodotti di fotoisomerizzazione è priva di fondamento.

Nel 1893, sulla base dei risultati di altri suoi lavori [5] e sulla base del lavoro di Gucci e Grassi Cristaldi [12], formulò un'ipotesi diversa sia della struttura della santonina che di quella della fotosantonina (Figura 3) [7]. Il lavoro di Gucci e Grassi Cristaldi è indicativo delle motivazioni che hanno portato a modificare la proposta di struttura. Le osservazioni principali sono le seguenti: a) la funzione chetonica è stata trasformata in ossima, da questa in ammina, funzione questa poi eliminata. Questa osservazione era in accordo (sbagliando) con la presenza di carbonio saturo in α al carbonile. La facilità, poi, con cui avveniva l'eliminazione faceva pensare che si formasse un sistema coniugato. Questa osservazione permetteva di spostare la funzione chetonica dall'anello dove l'aveva messa inizialmente Cannizzaro all'altro che portava i doppi legami. b) Il trattamento della molecola

ottenuta con un forte ossidante permetteva di ottenere un acido ftalico con due metili in posizione *para* fra di loro. Questa osservazione era in accordo con il fatto che i metili fossero entrambi sullo stesso anello che portava originariamente la funzione chetonica. Qui gli autori commettono uno sbaglio perché, probabilmente, non si accorgono che l'eliminazione della funzione amminica era stata accompagnata da una trasposizione del metile nella giunzione fra i due anelli, senza la quale l'eliminazione era impossibile. c) Si idrolizza il lattone e si elimina la funzione alcolica. Questo porta ad un prodotto ancora otticamente attivo che fa propendere gli autori per ammettere che il lattone è a cinque termini (condizione necessaria per far tornare l'osservazione con la formula della santonina), e che ci sia un atomo di carbonio asimmetrico (unica possibilità residua dopo l'eliminazione della funzione alcolica) sull'anello lattonico. Queste osservazioni sono tutte compatibili con la struttura proposta per la santonina. La struttura conseguente della fotosantonina deriva dall'ipotesi che si sia verificata una scissione in α al carbonile, con idrolisi successiva del biradicale ottenuto. La scissione in α al carbonile (quella che oggi viene chiamata reazione di Norrish di Tipo I) in realtà non era stata ancora descritta come tale e Ciamician la riporterà in dettaglio solo nel 1907 [1].

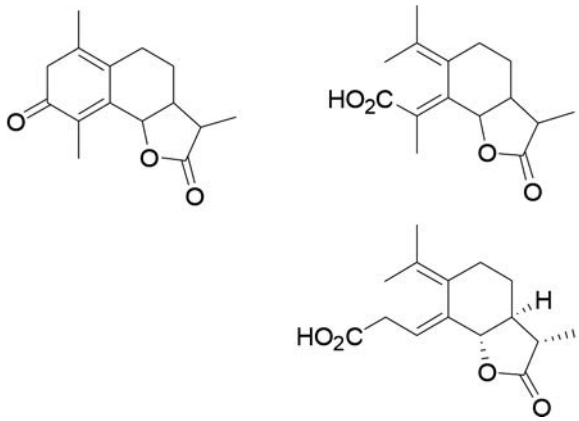
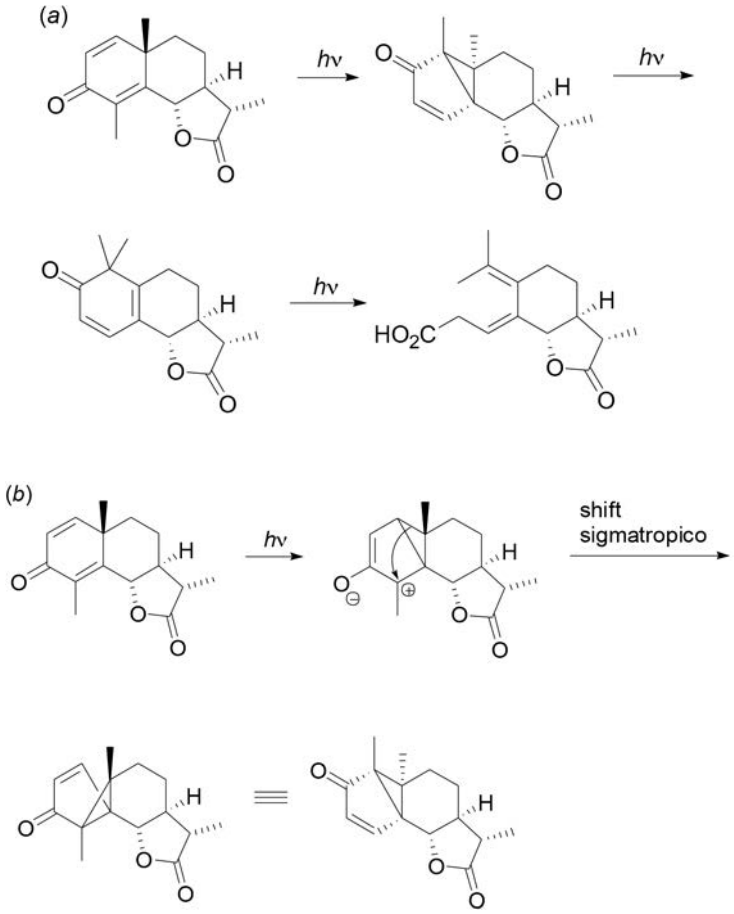


Fig. 3. Santonina (a sinistra) e fotosantonina (a destra) come proposti da Cannizzaro. Sotto la struttura vera della fotosantonina.

La struttura proposta per la santonina in quest'articolo è molto simile a quella accettata. Le differenze sono nella posizione di un metile e sulla posizione di un doppio legame. Questa struttura verrà poi corretta qualche anno dopo da Angelo Angeli [2]. La struttura della fotosantonina sarà invece identificata nel 1958 da van Tamelen [21, 22].

Solo nel 1963 si riuscì a determinare il meccanismo della reazione di trasposizione. Fortunosamente in questo caso fu possibile isolare tutti gli intermedi della reazione (Schema 1a) [3, 8-10]. Critico è soprattutto il primo passaggio che consi-

ste in una ben nota isomerizzazione di un dienone con formazione di ciclopropano e shift sigmatropico (Schema 1b).



Schema 1. (a): la fotoisomerizzazione della santonina. (b): meccanismo di trasposizione del dienone della santonina.

Sestini prima e Cannizzaro poi si erano scontrati con una reazione fotochimica dal decorso molto complesso e di difficile comprensione all'epoca. Risulta ancora più incredibile quindi che, malgrado il deficit di conoscenze che non poteva essere eliminato, Cannizzaro sia riuscito ad arrivare così vicino alla soluzione del problema.

BIBLIOGRAFIA

[1] Albini A., 2008. *The «Belle Epoque» of photochemistry*. «EPA Newsletter», 78, 97-104.
[2] Angeli A., L. Marino, 1908. *Sopra l'acido santoninico.* «Regia Accademia dei Lincei - Memorie», 385
[3] Barton D.H.R., P. De Mayo, M. Shafiq, 1957. *The mechanism of light-catalysed transformation of santonin into 10-hydroxy-3-oxoguai-4-en-6:12-olide.* «Proceedings of the Chemical Society», 205.
[4] Barton D.H.R., G.P. Moss, J.A. Whittle, 1968. *Investigations on the Biosynthesis of Steroids and Terpenoids. Part I. A Preliminary Study of the Biosynthesis of Santonin*. «Journal of Chemical Society C», 1813-1818.
[5] Cannizzaro S., 1883. *Sui prodotti di decomposizione dell'acido santonoso*. «Gazzetta Chimica Italiana», 13, 385.
[6] Cannizzaro S., G. Fabris, 1886. *Sopra un nuovo acido derivato della santonina (acido isofotosantonico*. «R. Accademia dei Lincei, Rendiconti», Serie II, Parte A, 448-453.
[7] Cannizzaro S., P. Gucci, 1893. *Sopra alcuni derivati dell'acido fotosantonico.* «Gazzetta Chimica Italiana», 23(I), 286-294.
[8] Chapman O.L., L.F. Englert, 1963. *A Mechanistically Significant Intermediate in the Lumisantonin to Photosantonic Acid Conversion*. «Journal of the American Chemical Society», 85, 3028-3029.
[9] de Kraker J.W., M.C. Franssen, M.C. Dalm, A. de Groot, H.J. Bouwmeester, 2001. *Biosynthesis of germacrene A carboxylic acid in chicory roots. Demonstration of a cytochrome P450 (+)-germacrene a hydroxylase and NADP+-dependent sesquiterpenoid dehydrogenase(s) involved in sesquiterpene lactone biosynthesis*. «Plant Physiology», 125, 1930-1940.
[10] Fisch M.H., J.H. Richards, 1963. *The Mechanism of the Photoconversion of Santonin.* «Journal of the American Chemical Society», 85, 3029-3030.
[11] Francesconi L., G. Maggi, 1903. *Azione della luce e degli alcali sulla Santonina e suoi derivati. Acido Fotosantoninico.* «Gazzetta Chimica Italiana», 33(II), 65-78.
[12] Gucci P., G. Grassi-Cristaldi, 1892. *Sopra alcuni derivati della santonina.* «Gazzetta Chimica Italiana», 22(I), 1-55.
[13] Heldt W., 1847. *Ueber die Natur des Santonins und die Gesetze der Harzbildung*. «Justus Liebigs Annalen der Chemie», 63, 10-83.
[14] Kahler, 1830. *Ueber einen neuen Stoff im Semen Cinae*. «Arkiv der Pharmazie», 34, 318-319.
[15] Montemartini C., 1902. «Gazzetta Chimica Italiana», 32(I), 325-366.
[16] Paternò E., M. Fileti, 1875. *Azione della luce sull'acido nitrocuminico.* «Gazzetta Chimica Italiana», 5, 385-387.
[17] Roth H.D., 2011. *A tribute to Stanislao Cannizzaro, chemical informationist and photochemist.* «Photochemical and Photobiological Sciences», 10, 1849-1853.
[18] Sestini F., 1865. *Fatti relativi alle metamorfosi chimiche della santonina*. «Repertorio Italiano di Chimica e Farmacia», Firenze.
[19] Sestini F., 1876. *Sull'acido fotosantonico*. «Gazzetta Chimica Italiana», 6, 357-369.
[20] Trommsdorff H., 1834. *Ueber Santonin*. «Annalen der Pharmacie», 11, 190-208.
[21] van Tamelen E.E., S.H. Levin, G. Brenner, J. Wolinsky, P. Aldrich, 1958. *The structure of photosantonic acid*. «Journal of the American Chemical Society», 80, 501-502.
[22] van Tamelen E.E., S.H. Levin, G. Brenner, J. Wolinsky, P. Aldrich, 1959. *The structure of photosantonic acid*. «Journal of the American Chemical Society», 81, 1666-1678
[23] Villavecchia V., 1885. *Sopra alcuni derivati della Santonina*. «Atti R. Accademia dei Licei», Serie IV, 1, 721-726.