



**Universitat de Lleida**  
Escola Tècnica Superior  
d'Enginyeria Agrària

**APORTACIONS QUÍMIO-ENZIMÀTIQUES  
PER A L'OBTENCIÓ DE PRECURSORS DE  
LACTONES I ALCOHOLS QUIRALS**

Memòria presentada per Mireia Oromí Farrús per optar al grau de  
Doctora per la Universitat de Lleida

Treball realitzat als Departaments de Química i Tecnologia  
d'Aliments de la Universitat de Lleida sota la direcció de:

Dr. Ramon Canela i Garayoa  
i Dra. Mercè Torres i Grifo

Lleida, Abril de 2008

*Als qui m'estimen,*

## **AGRAÏMENTS**

Voldria expressar el més sincer agraïment a totes aquelles persones que han fet possible aquesta tesi, és a dir, a TOTHOM que ha estat al meu voltant durant aquests últims 5 anys, ja que sense el seu suport no hagués estat possible.

Al Ramon Canela i Garayoa, director de la meva tesi, pel seu suport incondicional en tot moment i per saber-me guiar i trobar sempre temps i paciència quan ho necessitava tant en el camp de la química com en altres aspectes professionals.

A la Mercè Torres i Grifo, directora de la meva tesi, per saber-me sempre aconsellar encertadament i per la seva total dedicació quan feia falta tant en el camp de la microbiologia com a nivell personal.

Gràcies als dos per confiar en mi.

A la Montse Llovera, per ensenyar-me tots els secrets de la cromatografia de gasos, masses i d'altres i pel seu suport en tot moment i amistat.

Al Jordi Eras per tots els seus bons consells.

Al Joel Torra per la identificació de les plantes recol·lectades al Prepirineu de Lleida.

Al meu amic Jonh, per ser un excel·lent company de congressos i animar-me en els moments baixos.

A les meves “cotxus” Marta Cuadrat, Maria Cerveró i Ana Canela per ajudar-me en la part experimental i per totes les estones divertides que hem passat.

A tots els “orgànics”, Paquita Vilaró, Remei Viladrich, Belen Perpinyà, Albert Tomàs, Ruben Torregrosa, Marc Escribà, Joan Solé, Álvaro Ospina, Albert Macià i Marta Dolcet, i a tots els “inorgànics”, Maria Casamitjana, Carlos Rey, M<sup>a</sup> Josep Pau, Silvia Galitó i Ferran Gatiús.

A tota la gent del departament de química per crear aquest ambient tant agradable i humà que ha fet que tots ells siguin una família per a mi.

A la gent del laboratori de microbiologia de Tecnologia d’Aliments, en especial al Robert Garrofé per estar sempre disposat a ajudar-me i fer-me passar les hores de laboratori molt agradables.

Al Prof. Tom Welton per haver-me acollit al seu laboratori durant 3 mesos i haver-me aconsellat i guiat en el món dels líquids iònics.

A la Verònica Llopis Mestre per ensenyar-me tots els secrets de la síntesi de líquids iònics i compartir hores i hores al laboratori de l’Imperial i per ser la meua família mentre estava a Londres.

Als companys de laboratori de química del Imperial College of London, Lorna Crowhurst, Eduardo Galiana, Jonathan Martinelli, Magdalena Milewska, Ozunimi Iti, Giuseppe Ranieri, Yukio Yoshida i Carolyn McSharry per les bones estones compartides durant el “lunch” i “coffee breaks”.

Als amics de Londres, Konstantinos Gkagkas, Juan Sagasetta, Michaela Pollock, Oliver Stein i Eleftheria Zacharegka per la fantàstica acollida que em van donar i per tots els “diners” i “parties”.

Als meus pares, M<sup>a</sup> Dolors i Josep Ramon, i germans, Neus i Josep Ramon, per ser la millor família.

Al Xavi, una ànima bessona, per confiar sempre en mi i per la seva infinita paciència i aguantar el meu mal humor després de les dures hores de feina.

A la Maribel, Xavier i Eva, pels fantàstics dinars dels diumenges.

A les meves amigues Mire, Cate i Cris per saber entendre en tot moment.

Al Ministerio de Educación y Ciencia per la beca pre-doctoral FPU.

Al Ministerio de Ciencia y Tecnología pel projecte d'investigació: Métodos quimioenzimáticos en la revalorización de productos y subproductos agrarios. Desarrollo de biocatalizadores y obtención de compuestos de interés industrial. PPQ2003-02871.

Al Ministerio de Educación y Ciencia pel Projecte de investigació: Material vegetal como fuente de materia prima para la obtención mediante procesos quimioenzimáticos de monoglicéridos y otros productos con interés comercial. CTQ2006-07451 / PPQ.

## RESUM

L'obtenció de precursors de lactones i d'alcohols asimètrics té gran valor en síntesi orgànica ja que són intermediaris clau per a la preparació de molts compostos bioactius, com medicaments, agroquímics i additius alimentaris. Tot i que es disposa d'un gran nombre de reaccions selectives per a moltes necessitats sintètiques, és encara necessari millorar i trobar nous processos quan es vol disposar de productes amb una estereoquímica definida, a més de trobar nous sistemes més respectuosos amb el medi ambient i la salut humana.

En aquesta tesi es presenten diferents aproximacions per a l'obtenció d'alcohols quirals i de precursors de lactones. Una de les aproximacions consisteix en un mètode quimio-enzimàtic, amb un primer pas de síntesi d'èsters  $\alpha$ -funcionalitzats seguit d'una hidròlisi estereoselectiva d'aquests èsters amb lipases per a l'obtenció d'halohidrines quirals. Es va estudiar l'aplicabilitat dels líquids iònics, l'ús de reactius poc contaminants i l'ús d'enzims comercials i *resting-cells* d'origen fúngic. Aquesta aproximació ha permès l'obtenció del *S*-1-cloro-2-octanol i el *S*-1-bromo-2-octanol. La segona aproximació consisteix en la utilització d'oxidoreductases per a la biotransformació de cetones proquirals. Aquestes estan presents en cèl·lules en creixement de noves soques fúngiques aïllades com a endòfits de plantes. S'ha trobat una soca de *Rhizopus oryzae* amb activitat biocatalítica per a l'obtenció d'alcohols quirals.

## RESUMEN

La obtención de precursores de lactonas y de alcoholes asimétricos tiene gran valor en síntesis orgánica ya que son intermediarios clave para la preparación de muchos compuestos bioactivos, como medicamentos, agroquímicos y aditivos alimentarios. Aunque se dispone de un gran número de reacciones selectivas para muchas necesidades sintéticas, aún es necesario mejorar y encontrar nuevos procesos cuando se quiere disponer de productos con una estereoquímica definida, además de encontrar nuevos procesos más respetuosos con el medio ambiente y la salud humana.

En la presente tesis se describen varias aproximaciones para la obtención de alcoholes quirales y precursores de lactonas. Una de las aproximaciones consiste en un método químico-enzimático, con una primera etapa de síntesis de ésteres  $\alpha$ -funcionalizados seguida de una hidrólisis estereoselectiva de estos ésteres con lipasas para la obtención de halohidrinas quirales. Se estudió la aplicabilidad de los líquidos iónicos, el uso de reactivos poco contaminantes y el uso de enzimas comerciales y *resting-cells* de origen fúngico. Esta aproximación ha permitido la obtención del *S*-1-cloro-2-octanol y el *S*-1-bromo-2-octanol. La segunda aproximación consiste en la utilización de oxidoreductasas para la biotransformación de cetonas proquirales. Dichas enzimas están presentes en células en crecimiento de nuevos microorganismos aislados como hongos endófitos de plantas. Se ha encontrado una cepa de *Rhizopus oryzae* con actividad biocatalítica para la obtención de alcoholes quirales.

## SUMMARY

Asymmetric lactones and alcohols are valuable building blocks in organic chemistry applicable to the synthesis of many bioactive compounds such as drugs, agrochemicals and food additives. There are a large range of selective organic reactions available for most synthetic needs, but there is still one weak area in organic chemical synthesis where stereochemistry is involved. In addition, there is a need to develop new syntheses and processes less hazardous to human health and the environment.

This thesis reports diverse approaches to prepare chiral alcohols and lactones precursors. The first one consists of a chemo-enzymatic method to synthesise chiral halohydrins. This process implies a first step of synthesis of  $\alpha$ -functional esters followed by a stereoselective hydrolysis by lipases. The suitability of ionic liquids as reaction media, the use of less polluting reagents, and the application of commercial enzymes and *resting-cells* from fungus were studied. This methodology permits the preparation of *S*-1-chloro-2-octanol and *S*-1-bromo-2-octanol. The second approach consists of the biotransformation of prochiral ketones by oxidoreductases from new endophytic fungus strains isolated from diverse plants. One *Rhizopus oryzae* strain was found to be a putative biocatalyst to provide chiral alcohols.



## RELACIÓ D'ABREVIATURES

$\alpha$ : factor de separació

AC: derivat acetilat

ACN: acetonitril

ADH: alcohol deshidrogenasa

[B<sub>2</sub>IM][BF<sub>4</sub>]: tetrafluoroborat d'1,3-dibutilimidazoli

[BDIM][BF<sub>4</sub>]: tetrafluoroborat d'1-butyl-3-dodecilimidazoli

[BMIM][BF<sub>4</sub>]: tetrafluoroborat d'1-butyl-3-metilimidazoli

[BMIM][Cl]: clorur d'1-butyl-3-metilimidazoli

[BMIM][N(Tf)<sub>2</sub>]: *bis*-(trifluorometilsulfonil)imidur d'1-butyl-3-metilimidazoli

[BMIM][PF<sub>6</sub>]: hexafluorofosfat d'1-butyl-3-metilimidazoli

[BM<sub>2</sub>IM][BF<sub>4</sub>]: tetrafluoroborat d'1-butyl-2,3-dimetilimidazoli

[BM<sub>2</sub>IM][Cl]: clorur d'1-butyl-2,3-dimetilimidazoli

[BM<sub>2</sub>IM][N(Tf)<sub>2</sub>]: *bis*-(trifluorometilsulfonil)imidur d'1-butyl-2,3-dimetilimidazoli

[BMPy][BF<sub>4</sub>]: tetrafluoroborat d'1-butyl-1-metilpirrolidini

[BMPy][Cl]: clorur d'1-butyl-1-metilpirrolidini

[BMPy][N(Tf)<sub>2</sub>]: *bis*-(trifluorometilsulfonil)imidur d'1-butyl-1-metilpirrolidini

[BPy][N(Tf)<sub>2</sub>]: *bis*-(trifluorometilsulfonil)imidur d'1-butylpiridini

BrTMS: bromotrimetilsilà

B-V: Baeyer-Villiger

BVMOs: monooxigenases Baeyer-Villiger

C2: acetats d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil

C4: butirats d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil

C6: caproats d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil

C8: caprilats d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil

C12: laurats d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil

---

**C16:** palmitats d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil  
**C18:** estearats d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil  
**CD:** ciclodextrina  
**CG-FID:** cromatografia de gasos-detector d'ionització de flama  
**CG-MS:** cromatografia de gasos-espectrometria de masses  
**CTMS:** clorotrimetilsilà  
**DCM:** diclorometà  
**DEPT:** *Distortionless Enhancement by Polarization Transfer*  
**diAC:** derivat diacetilat  
**DMF:** dimetilformamida  
**DS:** desviació estàndard  
**E:** relació enantiomèrica  
**ee:** excés enantiomèric  
**ELSD:** *Evaporative Light Scattering Detector*, detector de difusió lluminosa  
**FAB:** *Fast Atom Bombardment*  
**FID:** *Free Induction Decay*, caiguda lliure de la inducció  
**FTIR:** infraroig per transformada de Fourier  
**gCOSY:** *gradient COrrrelation Spectroscopy*  
**HEDSO:** hexaetilidisiloxà  
**HMDSO:** hexametildisiloxà  
**HMTSO:** 1,1,3,3,5,5-hexametiltrisiloxà  
**HPLC:** cromatografia de líquids d'alta resolució  
**HpMTSO:** 1,1,1,3,5,5,5-heptametiltrisiloxà  
**[HMIM][BF<sub>4</sub>]:** tetrafluoroborat d'1-hexil-3-metilimidazoli  
**[HMIM][Br]:** bromur d'1-hexil-3-metilimidazoli  
**[HMIM][N(Tf)<sub>2</sub>]:** *bis*-(trifluorometilsulfonyl)imidur d'1-hexil-3-metilimidazoli  
**LI:** líquid iònic

**NAD(H)**: dinucleòtid de nicotinamida-adenina (forma reduïda)

**NADP(H)**: dinucleòtid fosfat de nicotinamida-adenina (forma reduïda)

**[OMIM][BF<sub>4</sub>]**: tetrafluoroborat de 3-octil-1-metilimidazoli

**[OMIM][N(Tf)<sub>2</sub>]**: *bis*-(trifluorometilsulfonil)imidur de 3-octil-1-metilimidazoli

**PDA**: agar de patata dextrosa

**PM**: pes molecular

**R-C**: *resting-cells*

**RMN**: ressonància magnètica nuclear

**RTIL**: líquids iònics a temperatura ambient

**TBME**: *t*-butil metil èter

**TEPP**: pirofosfat de tetraetil

**TFA**: derivat trifluoroacetilat

**TFAA**: anhídrid trifluoroacètic

**TR**: temps de retenció

## **TAULA DE CONTINGUTS**

### **INTRODUCCIÓ GENERAL**

<b>1. QUIRALITAT</b>	3
<b>1.1. IMPORTÀNCIA DE LA QUIRALITAT</b>	4
<b>1.2. IMPLICACIONS CIENTÍFIQUES</b>	5
<b>2. DIFERENTS APROXIMACIONS PER A LA SÍNTESI DE COMPOSTOS QUIRALS</b>	6
<b>3. NECESSITAT DE TROBAR NOUS SISTEMES PER A L'OBTENCIÓ D'ALCOHOLS QUIRALS</b>	8
<b>4. OBJECTIUS GENERALS D'AQUESTA TESI</b>	10
<b>5. REFERÈNCIES BIBLIOGRÀFIQUES</b>	11

### **CAPÍTOL I. DESENVOLUPAMENT D'UNA METODOLOGIA PER A L'ANÀLISI D'ALCOHOLS QUIRALS**

<b>1. INTRODUCCIÓ</b>	15
<b>1.1. TÈCNiques ANALÍTIQUES DE SEPARACIÓ D'ENANTIÒMERS</b>	15
<b>1.2. LES CICLODEXTRINES</b>	17
<b>1.3. MÈTODES DE DERIVATITZACIÓ</b>	19
<b>2. OBJECTIUS</b>	23
<b>3. RESULTATS I DISCUSSIÓ</b>	24
<b>4. CONCLUSIONS</b>	42
<b>5. MATERIAL I MÈTODES</b>	43
<b>5.1. MATERIAL</b>	43
<b>5.2. MÈTODES</b>	43
5.2.1. Síntesi de l'acetat d'1-metilhexil	43
5.2.2. Optimització del procés de derivatització	44

---

5.2.3. Derivatització dels diferents alcohols	44
5.2.4. Derivatització dels diferents diols	45
5.2.5. Condicions cromatogràfiques	45
5.2.5.1. Anàlisi per CG amb una columna DB-WAX	45
5.2.5.2. Anàlisi per CG amb una columna de fase quiral	45
5.2.6. Ressonància magnètica nuclear	46
5.2.7. Anàlisi estadística	46
<b>6. REFERÈNCIES BIBLIOGRÀFIQUES</b>	<b>47</b>

## **CAPÍTOL II. PREPARACIÓ DE LÍQUIDS IÒNICS**

<b>1. INTRODUCCIÓ</b>	<b>53</b>
<b>1.1. DISSOLVENTS RESPECTUOSOS AMB EL MEDI AMBIENT</b>	<b>53</b>
<b>1.2. ELS LÍQUIDS IÒNICS</b>	<b>53</b>
1.2.1. Propietats físico-químiques dels líquids iònics	56
1.2.2. Importància de la puresa dels líquids iònics	59
1.2.3. Aplicacions dels líquids iònics	61
<b>2. SÍNTESI I PURIFICACIÓ DELS LÍQUIDS IÒNICS A TEMPERATURA AMBIENT</b>	<b>63</b>
<b>2.1. PREPARACIÓ GENERAL DE LES SALS D'HALUR D'IMIDAZOLI</b>	<b>64</b>
<b>2.2. PREPARACIÓ GENERAL DE LES SALS D'HALUR DE PIRROLIDINI</b>	<b>66</b>
<b>2.3. PREPARACIÓ DELS LÍQUIDS IÒNICS A TEMPERATURA AMBIENT: METÀTESI</b>	<b>66</b>
<b>2.4. PURIFICACIÓ DELS LÍQUIDS IÒNICS</b>	<b>67</b>
<b>3. PART EXPERIMENTAL</b>	<b>68</b>
<b>3.1. REACTIUS I DISSOLVENTS</b>	<b>68</b>
<b>3.2. MATERIAL</b>	<b>69</b>
<b>3.3. SÍNTESI DE LES SALS D'HALUR</b>	<b>69</b>
3.3.1. Síntesi del clorur d'1-butil-3-metilimidazoli, [BMIM][Cl]	69

3.3.2. Síntesi del bromur d'1-hexil-3-metilimidazoli, [HMIM][Br]	71
3.3.3. Síntesi de la sal d'1-butil-2,3-dimetilimidazoli, [BM <sub>2</sub> IM][Cl]	72
3.3.4. Síntesi de la sal d'1-butil-1-metilpirrolidini, [BMPy][Cl]	73
<b>3.4. SÍNTESI DELS LIQUIDS IÒNICS</b>	74
3.4.1. Síntesi del <i>bis</i> -(trifluorometilsulfonyl)imidur d'1-butil-3-metilimidazoli, [BMIM][N(Tf) <sub>2</sub> ]	74
3.4.2. Síntesi del tetrafluoroborat d'1-butil-3-metilimidazoli, [BMIM][BF <sub>4</sub> ]	75
3.4.3. Síntesi del <i>bis</i> -(trifluorometilsulfonyl)imidur d'1-hexil-3-metilimidazoli, [HMIM][N(Tf) <sub>2</sub> ]	77
3.4.4. Síntesi del tetrafluoroborat d'1-hexil-3-metilimidazoli, [HMIM][BF <sub>4</sub> ]	78
3.4.5. Síntesi del <i>bis</i> -(trifluorometilsulfonyl)imidur d'1-butil-2,3-dimetilimidazoli, [BM <sub>2</sub> IM][N(Tf) <sub>2</sub> ]	79
3.4.6. Síntesi del tetrafluoroborat d'1-butil-2,3-metilimidazoli, [BM <sub>2</sub> IM][BF <sub>4</sub> ]	80
3.4.7. Síntesi del <i>bis</i> -(trifluorometilsulfonyl)imidur d'1-butil-1-metilpirrolidini, [BMPy][N(Tf) <sub>2</sub> ]	81
3.4.8. Síntesi del tetrafluoroborat d'1-butil-1-metilpirrolidini, [BMPy][BF <sub>4</sub> ]	82
<b>3.5. ALTRES LÍQUIDS IÒNICS</b>	83
<b>3.6. INSTRUMENTACIÓ</b>	83
3.6.1. Ressonància magnètica nuclear	83
3.6.2. Espectrometria de masses	83
3.6.3. Anàlisi elemental	83
<b>4. REFERÈNCIES BIBLIOGRÀFIQUES</b>	84

## **CAPÍTOL III. PREPARACIÓ D'ÈSTERS D'HALOHIDRINA**

<b>1. INTRODUCCIÓ</b>	91
<b>1.1. ÈSTERS D'HALOHIDRINA</b>	91
1.1.1. Mètodes per sintetitzar èsters d'halohidrina	91
<b>1.2. ELS ORGANOSILANS</b>	99
1.2.1. Els haloalquilsilans	99

---

<b>1.3. IODE COM A CATALITZADOR</b>	101
<b>1.4. ELS ÈTERS CORONA</b>	103
1.4.1. 18-crown-6	104
<b>1.5. LÍQUIDS IÒNICS EN QUÍMICA ORGÀNICA</b>	106
1.5.1. Reaccions d'esterificació amb líquids iònics	106
1.5.2. Reaccions d'halogenació amb líquids iònics	109
<b>2. OBJECTIUS</b>	111
<b>3. RESULTATS I DISCUSSIÓ</b>	112
<b>3.1. SÍNTESI DEL PALMITAT D'α,β-CLOROOCIL</b>	112
<b>3.2. SÍNTESI DEL PALMITAT DE L'α,β-BROMOOCIL</b>	114
3.2.1. Síntesi del palmitat de l'α,β-bromoocil amb BrTMS	114
3.2.2. Síntesi del palmitat de l'α,β -bromoocil amb HBr	116
3.2.3. Síntesi del palmitat d'α,β-bromoocil amb KBr	118
3.2.3.1. <i>Procediment seguit pel seguiment de les reaccions</i>	121
3.2.3.2. <i>Estudi de la reacció de l'1,2-octandiòl, àcid palmític, KBr i I<sub>2</sub> amb diferents dissolvents</i>	124
3.2.3.3. <i>Síntesi del palmitat de l'α,β-bromoocil amb KBr, I<sub>2</sub> i diferents líquids iònics</i>	127
3.2.3.4. <i>Síntesi del palmitat de l'α,β-bromoocil amb KBr i [BMIM][PF<sub>6</sub>] sense I<sub>2</sub></i>	132
3.2.3.5. <i>Síntesi del palmitat de l'α,β-bromoocil amb KBr en [BMIM][PF<sub>6</sub>] sense I<sub>2</sub> amb 18-crown-6 a diferents temps de reacció</i>	135
3.2.3.6. <i>Estudi de la influència de l'estequiometria KBr:àcid palmític en la síntesi del palmitat d'α,β-bromoocil</i>	138
<b>3.3. ESTUDI DE LA REACCIÓ D'ESTERIFICACIÓ-BROMACIÓ AMB DIFERENTS DIOLS</b>	142
<b>3.4. ESTUDI DE LA REACCIÓ D'ESTERIFICACIÓ-BROMACIÓ AMB DIFERENTS ÀCIDS</b>	147
<b>3.5. ESTUDI DE LA REACCIÓ D'ESTERIFICACIÓ-HALOGENACIÓ AMB DIFERENTS FONTS HALOGEN</b>	150
<b>3.6. REACCIÓ DE L'1-OCTANOL AMB L'ÀCID PALMÍTIC</b>	153
<b>3.7. MECANISME DE LA REACCIÓ</b>	154
<b>4. CONCLUSIONS</b>	157

---

<b>5. MATERIAL I MÈTODES</b>	159
<b>5.1. MATERIAL</b>	159
<b>5.2. INSTRUMENTACIÓ</b>	159
5.2.1. Ressonància magnètica nuclear	159
5.2.2. Cromatògraf de líquids, HPLC	159
5.2.3. Espectrometria de masses	160
<b>5.3. MÈTODES</b>	160
5.3.1. Estudi de la síntesi del palmitat de l' $\alpha,\beta$ -clorooctil amb CTMS i del palmitat de l' $\alpha,\beta$ -bromooctil amb BrTMS i HBr	160
5.3.2. Estudi de la síntesi del palmitat de l' $\alpha,\beta$ -bromooctil amb I <sub>2</sub> , KBr i diferents dissolvents	161
5.3.3. Estudi de la síntesi del palmitat de l' $\alpha,\beta$ -bromooctil amb I <sub>2</sub> , KBr i diferents líquids iònics	161
5.3.4. Estudi de la síntesi dels palmitats de l' $\alpha,\beta$ -bromoalquil amb KBr en [BMIM][PF <sub>6</sub> ] i 18-crown-6	161
5.3.5. Estudi de la síntesi d'èsters de l' $\alpha,\beta$ -bromooctil amb KBr en [BMIM][PF <sub>6</sub> ]	162
5.3.6. Estudi de la síntesi de palmitats de l' $\alpha,\beta$ -halooctil en [BMIM][PF <sub>6</sub> ]	162
5.3.7. Purificació dels diferents productes de reacció	163
5.3.8. Reacció de l'1-octanol amb KBr i l'àcid palmític	163
5.3.9. Anàlisi per HPLC-ELSD	164
5.3.10. Anàlisi per RMN	164
<b>5.4. CARACTERITZACIÓ DELS PRODUCTES</b>	165
<b>6. REFERÈNCIES BIBLIOGRÀFIQUES</b>	174

## **CAPÍTOL IV. HIDRÒLISI ENZIMÀTICA D'ÈSTERS D'HALOHIDRINA**

<b>1. INTRODUCCIÓ</b>	183
<b>1.1. HALOHIDRINES</b>	183



---

<b>1.2. METÒDES PER A LA SÍNTESI D'HALOHIDRINES</b>	183
1.2.1. Mètodes químics	183
1.2.2. Mètodes enzimàtics	191
<b>1.3. LIPASES</b>	195
1.3.1. Mecanisme d'hidròlisi d'èsters	195
1.3.2. Especificitat de les lipases	197
1.3.3. Factors que influencien en l'activitat de les lipases	198
1.3.4. Resolució cinètica	199
1.3.5. Lipases en líquids iònics	200
<b>2. ANTECEDENTS</b>	203
<b>3. OBJECTIUS</b>	207
<b>4. RESULTATS I DISCUSSIÓ</b>	208
<b>4.1. OBTENCIÓ DEL R-4-CLORO-2-BUTANOL</b>	208
4.1.1. Influència de la longitud de la cadena del grup acil en els èsters d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil	208
4.1.1.1. <i>Estudi de la regioselectivitat</i>	208
4.1.1.2. <i>Estudi de l'enantioselectivitat de NOVOZYME 435</i>	213
4.1.2. Estudi de noves soques fúngiques en la hidròlisi dels palmitats d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil	215
4.1.3. Estudi de la hidròlisi d'èsters d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil en diferents líquids iònics	218
4.1.3.1. <i>Hidròlisi dels palmitats d'<math>\alpha,\gamma</math>-clorobutil en diferents LIs amb A. flavus UDLTA 3.241</i>	220
4.1.3.2. <i>Estudi del comportament de diferents biocatalitzadors en la hidròlisi dels palmitats d'<math>\alpha,\gamma</math>-clorobutil en [OMIM][BF<sub>4</sub>]</i>	222
4.1.3.3. <i>Estudi de la hidròlisi d'èsters d'<math>\alpha,\gamma</math>-clorobutil en [OMIM][BF<sub>4</sub>] diferents biocatalitzadors</i>	225
<b>4.2. SÍNTESI D'1-HALO-2-OCTANOLS ÒPTICAMENT PURS</b>	228
4.2.1. Estudi de la hidròlisi de palmitats $\alpha,\beta$ -halooctil en <i>t</i> -butanol i diferents biocatalitzadors	231
4.2.2. Estudi de la hidròlisi de palmitats $\alpha,\beta$ -halooctil en [OMIM][BF <sub>4</sub> ] i diferents biocatalitzadors	233
4.2.3. Comportament de novozyme en [BMIM][PF <sub>6</sub> ]	235

<b>5. CONCLUSIONS</b>	239
<b>6. MATERIAL I MÈTODES</b>	242
<b>6.1. MATERIAL</b>	242
6.1.1. Material químic	242
6.1.2. Material biològic	242
<b>6.2. INSTRUMENTACIÓ</b>	243
6.2.1. Ressonància magnètica nuclear	243
6.2.2. Cromatògraf de gasos	243
<b>6.3. MÈTODES</b>	243
6.3.1. Síntesi dels èsters d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil	243
6.3.2. Detecció i aïllament de fongs procedents de pinyola amb activitat lipàsica	244
6.3.3. Cultiu de les <i>resting-cells</i> fúngiques	244
6.3.4. Hidròlisi d'èsters d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil en dissolvents orgànics amb diferents biocatalitzadors	245
6.3.5. Hidròlisi d'èsters d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil en dissolvents orgànics amb NOVOZYME 435	245
6.3.6. Hidròlisi dels palmitats d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil en LIs amb <i>A. flavus</i> UDLTA 3.241	246
6.3.7. Hidròlisi d'èsters d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil en [OMIM][BF <sub>4</sub> ] amb diferents biocatalitzadors	246
6.3.8. Hidròlisi de palmitats d' $\alpha,\beta$ -halooctil en <i>t</i> -butanol i diferents biocatalitzadors	247
6.3.9. Hidròlisi de palmitats d' $\alpha,\beta$ -halooctil en LIs i diferents biocatalitzadors	247
6.3.10. Preparació dels patrons dels èsters d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil per l'anàlisi en CG-FID columna no polar	248
6.3.11. Preparació dels patrons dels èsters d' $\alpha,\beta$ -halooctil per l'anàlisi en RMN de <sup>1</sup> H	250
6.3.12. Anàlisi per CG amb columna de fase no polar	251
6.3.13. Anàlisi per CG amb una columna de fase quiral	251
<b>7. REFERÈNCIES BIBLIOGRÀFIQUES</b>	252

---

## **CAPÍTOL V. OXIDOREDUCTASES PRESENTS EN FONGS ENDÒFITS DE PLANTES DEL PREPIRINEU DE LLEIDA**

<b>1. INTRODUCCIÓ</b>	263
<b>1.1. IMPORTÀNCIA DE LES OXIDOREDUCTASES</b>	263
<b>1.2. L'OXIDACIÓ BAEYER-VILLIGER</b>	264
1.2.1. Monooxigenases Baeyer-Villiger	265
1.2.2. Aplicacions de les monooxigenases Baeyer-Villiger	267
<b>1.3. REDUCCIÓ DE CETONES</b>	267
1.3.1. Les deshidrogenases	268
1.3.2. Aplicacions de les deshidrogenases	270
<b>1.4. RECICLATGE DELS COFACTORS</b>	270
<b>1.5. AVANTATGES DE LES CÈL·LULES EN CREIXEMENT</b>	272
<b>1.6. INCONVENIENTS DE LES CÈL·LULES EN CREIXEMENT</b>	273
<b>2. OBJECTIUS</b>	275
<b>3. RESULTATS I DISCUSSIÓ</b>	276
<b>3.1. CERCA DE NOVES OXIDOREDUCTASES FÚNGIQUES</b>	276
3.1.1. Aïllament de fongs endòfits d'espècies vegetals	276
3.1.2. <i>Screening</i> d'activitat oxidoreductasa	278
<b>3.2. COMPORTAMENT DE <i>R. oryzae</i> ENFRONT DIFERENTS CETONES COMERCIALS</b>	282
3.2.1. Biotransformació de cetones lineals per <i>R. oryzae</i>	282
3.2.2. Biotransformació de cetones cícliques per <i>R. oryzae</i>	285
3.2.3. Biotransformació de diones per <i>R. oryzae</i>	290
3.2.3.1. <i>Cas de la 1,2-ciclohexandiona</i>	293
3.2.3.2. <i>Cas de la benzoilacetona</i>	294
3.2.3.3. <i>Cas de la camforquinona</i>	299
3.2.3.4. <i>Cas de la 2-acetil-1-tetralona</i>	302
3.2.3.5. <i>Cas de la 2,6-dimetil-3,5-heptandiona</i>	306

---

<b>3.3. COMPORTAMENT DE <i>E. nigrum</i> ENFRONT DIFERENTS CETONES COMERCIALS</b>	310
<b>4. CONCLUSIONS</b>	315
<b>5. MATERIAL I MÈTODES</b>	316
<b>5.1. MATERIAL</b>	316
<b>5.2. INSTRUMENTACIÓ</b>	316
5.2.1. Cromatògrafs de gasos	316
5.2.2. Cromatògraf de gasos acoblat a espectòmetre de masses	317
5.2.3. Anàlisi d'infraroig amb transformada de fourier (FTIR)	317
5.3.3. Ressonància magnètica nuclear	317
<b>5.4. MEDOLOGIA</b>	318
5.4.1. Aïllament de fongs endòfits	318
5.4.2. <i>Screening</i> de fongs amb activitat oxidoreductasa	318
5.4.3. Identificació de la soca <i>E. nigrum</i>	319
5.4.4. Estudi de l'activitat oxidoreductasa enfront diferents cetones comercials	319
5.4.5. Preparació dels patrons de les cetones i alcohols	319
5.4.6. Condicions cromatogràfiques	320
5.4.6.1. Anàlisi per CG-FID amb una columna DB-WAX	320
5.4.6.2. Anàlisi per CG-MS amb una columna DB-WAX.	321
5.4.6.3. Anàlisi per CG amb una columna de fase quiral	322
<b>6.REFERÈNCIES BIBLIOGRÀFIQUES</b>	323
<b>CONCLUSIONS GENERALS</b>	333
<b>ANNEX I. LLISTA DE COMPOSTOS</b>	339
<b>ANNEX II. ESPECTRES DE RMN DE <sup>1</sup>H</b>	365
<b>ANNEX II.1. ESPECTRES DE RMN DE <sup>1</sup>H DEL CAPÍTOL III</b>	367
<b>ANNEX II.2. ESPECTRES DE RMN DE <sup>1</sup>H DEL CAPÍTOL IV</b>	397

---

<b>ANNEX III. CROMATOGRAMES DE LES MOSTRES ANALITZADES AMB LA COLUMNA QUIRAL CP Chirasil-DEX CB</b>	401
<b>ANNEX III.1. CROMATOGRAMES DE LES MOSTRES ANALITZADES AMB LA COLUMNA QUIRAL CP Chirasil-DEX CB DEL CAPÍTOL IV</b>	403
<b>ANNEX III.2. CROMATOGRAMES DE LES MOSTRES ANALITZADES AMB LA COLUMNA QUIRAL CP Chirasil-DEX CB DEL CAPÍTOL V</b>	406

# **INTRODUCCIÓ GENERAL**

## 1. QUIRALITAT

Si hom imagina totes les molècules orgàniques possibles amb un pes molecular menor de 1000, pot ràpidament apreciar que la majoria d'aquestes estructures són quirals, és a dir, les seves imatges especulars no es poden superposar. Només aquelles estructures que presenten un pla, centre o eixos alternants de simetria són aquirals.

Les dues imatges especulars que formen la molècula quiral s'anomenen **enantiòmers**, i la seva mescla formada per porcions iguals d'ambdós enantiòmers s'anomenen **mescla racèmica** o **racemat**. Una mescla que conté excés d'un enantiòmer s'anomena **enantioenriquida**, mentre que una mescla que només conté un enantiòmer s'anomena **enantiopura**. L'enantioenriquiment s'expressa normalment amb el percentatge d'excés enantiomeric (% *ee*), terme que indica l'excés d'un enantiòmer pur relatiu al racemat, i es calcula amb la fórmula :

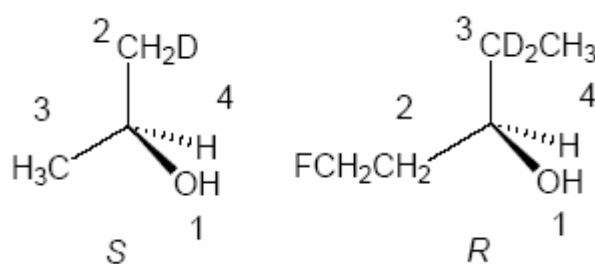
$$ee = \frac{\text{enantiòmer majoritari} - \text{enantiòmer minoritari}}{\text{enantiòmer majoritari} + \text{enantiòmer minoritari}}$$

Clarament, l'enantiopuresa és un ideal i només s'aproxima en el món real, no obstant aquest terme s'utilitza per referir substàncies amb un *ee*>98%. El procés que permet separar una mescla racèmica en els seus corresponents enantiòmers s'anomena **resolució**, i el procés que transforma un producte enantiomèricament ric en un racemat s'anomena **racemització**<sup>1</sup>.

Els enantiòmers tenen les mateixes propietats físiques i químiques en un entorn aquiral i només difereixen en com desvien llum polaritzada en un pla. Els compostos que desvien la llum en el sentit de la agulles d'un rellotge

---

s'anomenen dextrorrotatoris (+) i els que la desvien en sentit contrari s'anomenen levorrotatoris (-). Quan la quiralitat es deguda a la presència d'àtoms quirals, cada enantiòmer també pot ser descrit mitjançant la seva estereoquímica utilitzant la convenció Chan-Ingold-Prelog (**Figura 1**), la qual assigna una prioritat a cada substituent en el centre quiral, prioritat que depèn del nombre atòmic de cada àtom unit a l'àtom quiral. Una vegada assignada una prioritat a cada grup unit a aquest centre quiral, la molècula es visualitza en una orientació que col·loca el substituent amb menys prioritat directament darrera el centre quiral. Si els substituents que queden decreixen en prioritat al voltant del mateix en direcció a les agulles d'un rellotge s'anomena *R* (*rectus*) i si la direcció es contrària s'anomena *S* (*sinister*). La única informació que ens proporciona la nomenclatura R/S és que els enantiòmers desviaran la llum polaritzada en sentit contrari<sup>2</sup>.



**Figura 1.** Convenció Chan-Ingold-Prelog

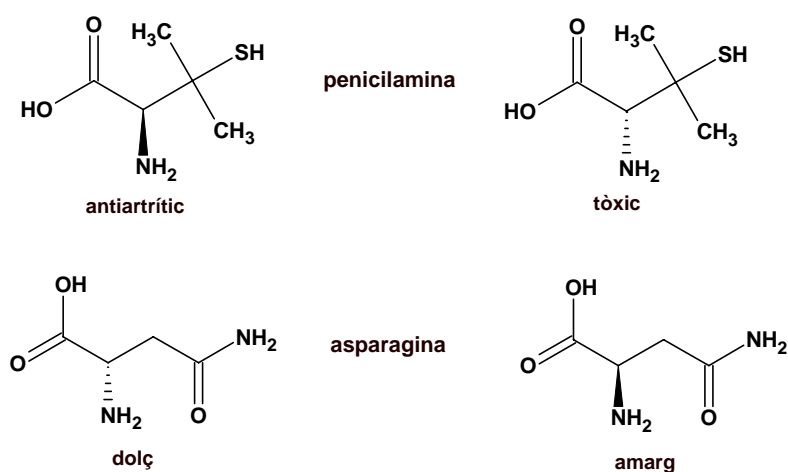
### 1.1. IMPORTÀNCIA DE LA QUIRALITAT

Els sistemes vius tenen una naturalesa quiral. Com a conseqüència, els processos metabòlics i reguladors mediat per sistemes biològics són sensibles a l'estereoquímica i s'observen diferents respostes si es compara amb l'activitat de cada parell d'enantiòmer<sup>3</sup>. Normalment, només un dels



enantiòmers de la molècula quiral es el desitjat, per exemple en el cas de que la molècula objectiu sigui un medicament per ser utilitzat en els éssers vius. Per tal de poder sintetitzar només un enantiòmer hi ha d'haver present en el medi de reacció algun material de partida, reactiu o catalitzador enantiomèricament enriquit<sup>1</sup>.

La **Figura 2** mostra exemples de dos molècules, les quals, l'activitat desitjada la posseeix un dels enantiòmers, mentre que l'altre posseeix efectes no desitjats o fins i tot tòxics.



**Figura 2.** Propietats de cada enantiòmer d'alguns compostos actius

## 1.2. IMPLICACIONS CIENTÍFIQUES

L'isòmer que presenta una elevada activitat per una acció determinada, s'anomena **eutòmer**, i l'altre, **distòmer**. Aquest pot ser actiu en una altra propietat, contribuint a efectes secundaris, toxicitat, o actuant com a antagonista.

---

En el camp dels **agroquímics i protecció de conreus**, la presència d'un estereoisòmer no actiu o menys actiu contribueix a un increment dels nivells de pol·lució sense cap benefici en l'acció desitjada. Pel que fa a l'ús de **feromones** la quiralitat té un paper fonamental en la recepció de la feromona, i establir la configuració absoluta de les formes actives és una condició essencial per a l'estudi i disseny d'anàlegs que poden ser utilitzats per al control dels insectes.

A més, l'anàlisi de compostos quirals té aplicacions interessants en **recerca alimentària**. Per exemple en la detecció de *D*-aminoàcids, els quals poden conduir a una pèrdua nutricional i a productes no segurs ja que són formes d'aminoàcids que poden ser no metabolitzades i biològicament no utilitzables. A més, l'anàlisi de certs components quirals en aliments pot ser un mètode per detectar adulteracions en aquests, per exemple en l'oli d'oliva verge extra. Amb el mateix sentit, es poden utilitzar marcadors quirals en **aplicacions clíniques** per a la diagnosi de malalties, determinant les relacions enantiomèriques de certs metabòlits.

En el camp de l'**arqueologia**, la mesura del grau de racemització d'aminoàcids específics s'utilitza per datar restes humanes com ossos i dents. També s'utilitza la determinació d'*ee* d'aminoàcids en **meteorits**<sup>3</sup>.

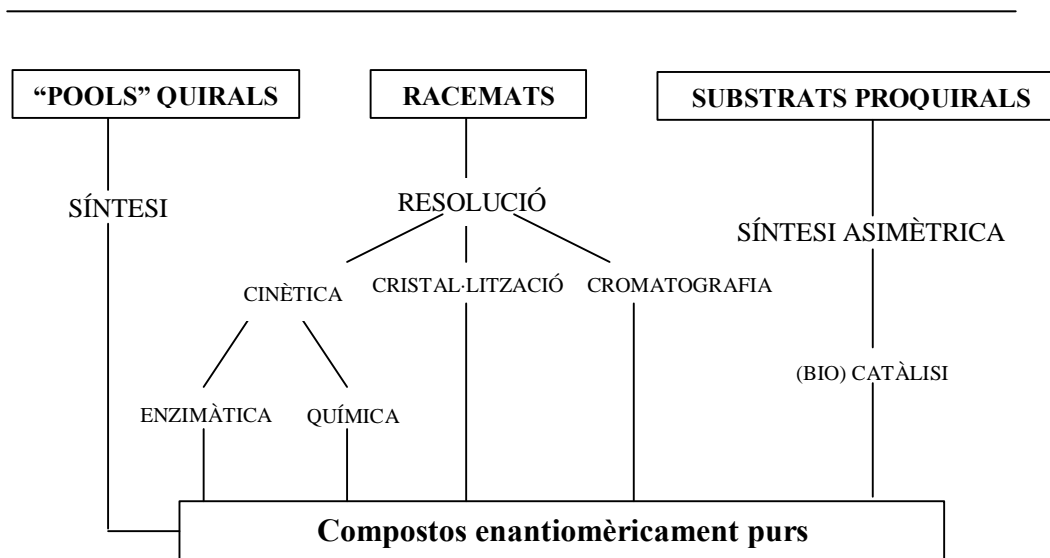
## **2. DIFERENTS APROXIMACIONS PER A LA SÍNTESI DE COMPOSTOS QUIRALS**

Els mètodes utilitzats per a l'obtenció de compostos enantiomèricament purs es poden dividir en tres categories depenent del tipus de material inicial utilitzat<sup>4</sup> (**Figura 3**).

Una d'elles consisteix en aïllar el compost quiral d'interès de productes naturals o productes produïts per fermentacions (“**chiral pool**”)<sup>4</sup>.

Una altra aproximació consisteix en la resolució de mescles racèmiques, la qual es pot dividir a la vegada en quatre subcategories. Una d'aquestes, utilitzada a escala industrial, és la **crystal·lització preferencial**, però només és tècnicament factible amb mescles racèmiques que formen conglomerats, menys d'un 20% de racemats formen conglomerats. Quan les mescles no formen conglomerats es poden resoldre amb una **crystal·lització diastereoisomèrica** desenvolupada per Pasteur al 1848. Aquesta crystal·lització consisteix en fer reaccionar la solució racèmica amb un enantiòmer pur amb la consegüent formació d'una mescla de diastereoisòmers que poden ser separats per crystal·lització<sup>5</sup>. Un altre mètode és la **resolució cinètica** amb enzims o catalitzadors químics com àcids o bases quirals o complexos metàl·lics quirals. Aquest mètode es basa en el fet que aquests catalitzadors o reactius quirals són estereoselectius i reaccionen amb cada enantiòmer a diferents velocitats<sup>4</sup>. La quarta metodologia consisteix en la separació de l'enantiòmer d'interès mitjançant cromatografia o l'electroforesi capil·lar a nivell preparatiu emprant fases quirals<sup>1,6</sup>.

La tercera aproximació consisteix en la **síntesi asimètrica** la qual implica la creació d'un centre asimètric per discriminació quiral de grups equivalents a partir d'un material inicial aquiral (proquiral)<sup>7,8</sup>.



**Figura 3.** Mètodes per a l'obtenció de compostos enantiomèricament purs

### 3. NECESSITAT DE TROBAR NOUS SISTEMES PER A L'OBTENCIÓ D'ALCOHOLS QUIRALS

Els alcohols quirals són intermediaris quirals útils per a la síntesi de variis compostos com medicaments<sup>9</sup>, agroquímics<sup>10</sup>, feromones<sup>11</sup>, aromes<sup>12,13</sup> i additius alimentaris<sup>14</sup>. Per tant, la necessitat de producció en aquests camps d'intermediaris quirals, entre aquest els alcohols quirals, està contínuament incrementant-se. Encara que hi ha un gran nombre de reaccions orgàniques selectives disponibles per a moltes necessitats sintètiques, hi ha encara una necessitat de millorar i trobar nous processos quan es vol disposar de productes amb una esteroquímica definida<sup>15</sup>.

La síntesi d'aquests alcohols quirals es pot realitzar per diferents aproximacions. Una d'aquestes implica processos químics com la hidrogenació asimètrica de cetones amb complexos de ruteni<sup>16</sup>, rodi<sup>17</sup> i

plati<sup>18</sup>, reduccions de cetones amb borans quirals modificats<sup>19</sup>, resolució cinètica via hidròlisi d'epòxids amb complexos de cobalt<sup>20</sup> o l'ús d'organocatalitzadors en la resolució cinètica d'alcohols<sup>20,21</sup>. Una altra de les aproximacions són els processos biotecnològics dintre dels quals es troben les resolucions cinètiques d'alcohols o èsters catalitzades per enzims<sup>22-24</sup> i processos de fermentació on s'inclouen la reducció asimètrica de cetones i obertura d'epòxids<sup>15,25</sup>.

A part de la necessitat de trobar nous sistemes de síntesi per a l'obtenció d'alcohols quirals, cada vegada hi ha més conscienciació que s'han de trobar noves eines de síntesi més respectuoses al medi ambient i la salut humana. Encara que no hi ha processos o síntesis que siguin totalment benignes mediambientalment, hi ha substàncies que són més tòxiques i més nocives que d'altres. La “**Green Chemistry**” (química verda) forma part del concepte de química sostenible i és una filosofia química que encoratja al disseny de nous productes i processos per a reduir o eliminar l'ús i generació de substàncies nocives<sup>26</sup>. Aquesta filosofia té 12 principis bàsics<sup>27</sup>:

- Evitar la producció de residus
- Dissenyar productes menys perillosos i tòxics
- Dissenyar processos de síntesi menys nocius
- Aprofitament de subproductes
- Utilitzar catalitzadors en lloc de reactius estequiomètrics
- Evitar l'ús de derivats químics com grups de protecció o de bloqueig
- Maximitzar l'economia d'àtom, és a dir, utilitzar metodologies en les quals la quantitat del producte final contingui la màxima proporció dels materials inicials

- 
- Utilitzar dissolvents menys contaminants
  - Incrementar l'eficiència de la energia, és a dir, dur a terme les reaccions a temperatura i pressió ambient.
  - Dissenyar productes degradables
  - Prevenir la contaminació en temps real
  - Minimitzar els accidents potencials com explosions, focs o emissions.

#### **4. OBJECTIUS GENERALS D'AQUESTA TESI**

Així doncs, la present tesi es va fixar com a fita l'estudi de dues aproximacions per a l'obtenció de precursors de lactones i alcohols asimètrics emprant metodologies que poguessin contribuir a la química sostenible.

Una de les aproximacions va consistir en **un mètode quimio-enzimàtic**, amb **un primer pas de síntesi d'èsters  $\alpha$ -funcionalitzats** a partir de diferents metodologies **seguit** d'una **hidròlisi estereoselectiva amb lipases**. En aquesta aproximació es va estudiar l'aplicabilitat dels líquids iònics com a alternativa més respectuosa mediambientalment (Capítols III i IV).

La segona aproximació va consistir en la utilització cèl·lules en creixement de **noves soques fúngiques com a font d'oxidoreductases** per a la biotransformació de cetones proquirals (Capítol V).

Per tal de poder estudiar aquestes dues aproximacions es va posar apunt una **metodologia d'anàlisi d'alcohols quirals per cromatografia de gasos** en una columna quirals i es van **sintetitzar un conjunt de líquids iònics** (Capítol I i II, respectivament).

## 5. REFERÈNCIES BIBLIOGRÀFIQUES

1. Welch, C. J. *Abstracts of Papers of the American Chemical Society* **2003**, 226, U111.
2. Stinson, S. C. *Chemical & Engineering News* **2001**, 79 (20), 45-+.
3. Maier, N. M.; Franco, P.; Lindner, W. *Journal of Chromatography A* **2001**, 906 (1-2), 3-33.
4. Sheldon, R. A. *Chirotechnology: Industrial synthesis of optically active compounds*; Marcel Dekker, cop.: **1993**.
5. Ghanem, A.; boule-Enein, H. Y. *Tetrahedron-Asymmetry* **2004**, 15 (21), 3331-3351.
6. Carvalho, P. O.; Cass, Q. B.; Calafatti, S. A.; Contesini, F. J.; Bizaco, R. *Brazilian Journal of Chemical Engineering* **2006**, 23 (3), 291-300.
7. Faber, K. *Biotransformations in organic chemistry*; Springer-Verlag: Berlin, **1992**.
8. Schmitzer, A. R.; Franceschi, S.; Perez, E.; Rico-Lattes, I.; Lattes, A.; Thion, L.; Erard, M.; Vidal, C. *Journal of the American Chemical Society* **2001**, 123 (25), 5956-5961.
9. Chartrain, M.; Greasham, R.; Moore, J.; Reider, P.; Robinson, D.; Buckland, B. *Journal of Molecular Catalysis B-Enzymatic* **2001**, 11 (4-6), 503-512.
10. Kurihara, N.; Miyamoto, J.; Paulson, G. D.; Zeeh, B.; Skidmore, M. W.; Hollingworth, R. M.; Kuiper, H. A. *Pure and Applied Chemistry* **1997**, 69 (6), 1335-1348.
11. Izquierdo, I.; Plaza, M. T.; Rodriguez, M.; Tamayo, J. A.; Martos, A. *Tetrahedron-Asymmetry* **2001**, 12 (2), 293-300.
12. Swift, K. A. D. *Flavour and Fragrances*; The Royal Society of Chemistry: Cambridge, U. K., **1997**; Vol. 214.
13. Berger, F. G. *Aroma Biotechnology*; Springer-Verlag: Berlin, Alemania, **1995**.

- 
14. *Food Flavorings*; Third Edition ed.; Aspen Publishers, Inc.: Kingstone, Hereford, U.K., **1999**.
  15. Kataoka, M.; Kita, K.; Wada, M.; Yasohara, Y.; Hasegawa, J.; Shimizu, S. *Applied Microbiology and Biotechnology* **2003**, *62* (5-6), 437-445.
  16. Noyori, R.; Tokunaga, M.; Kitamura, M. *Bulletin of the Chemical Society of Japan* **1995**, *68* (1), 36-55.
  17. Schmid, R.; Broger, E. A.; Cereghetti, M.; Crameri, Y.; Foricher, J.; Lalonde, M.; Muller, R. K.; Scalone, M.; Schoettel, G.; Zutter, U. *Pure and Applied Chemistry* **1996**, *68* (1), 131-138.
  18. Blaser, H. U.; Studer, M. *Chirality* **1999**, *11* (5-6), 459-464.
  19. Deloux, L.; Srebnik, M. *Chemical Reviews* **1993**, *93* (2), 763-784.
  20. Tokunaga, M.; Larrow, J. F.; Kakiuchi, F.; Jacobsen, E. N. *Science* **1997**, *277* (5328), 936-938.
  21. Dalko, P. I.; Moisan, L. *Angewandte Chemie-International Edition* **2001**, *40* (20), 3726-3748.
  22. Patel, R. N.; Banerjee, A.; Nanduri, V.; Goswami, A.; Comezoglu, F. T. *Journal of the American Oil Chemists Society* **2000**, *77* (10), 1015-1019.
  23. Cambou, B.; Klibanov, A. M. *Journal of the American Chemical Society* **1984**, *106* (9), 2687-2692.
  24. Klibanov, A. M. *Accounts of Chemical Research* **1990**, *23* (4), 114-120.
  25. Liese, A. *Abstracts of Papers of the American Chemical Society* **2000**, *219*, U169.
  26. Anastas, P. T.; Williamson, T. C. *Green Chemistry* **1996**, *626*, 1-17.
  27. Anastas, P. T.; Warner, J. *Green Chemistry: Theory and Practice*; Oxford University Press: **1998**.



## **CAPÍTOL I.**

### **DESENVOLUPAMENT D'UNA METODOLOGIA PER A L'ANÀLISI D'ALCOHOLS QUIRALS**

## 1. INTRODUCCIÓ

Com s'ha explicat a la introducció general, la determinació acurada i ràpida de l'excés enantiomèric (*ee*) d'una mescla és cada vegada més necessària. Així, s'han desenvolupat diversos mètodes per determinar el grau de puresa enantiomèrica d'alcohols quirals emprant tècniques cromatogràfiques i electroforètiques<sup>1,2</sup>.

### 1.1. TÈCNiques ANALÍTIQUES DE SEPARACIÓ D'ENANTIÒMERS

La cromatografia de gasos (CG)<sup>3,4</sup>, l'electroforesi capil·lar (EC)<sup>2,5,6</sup>, l'electrocromatografia capil·lar (ECC)<sup>7</sup>, la cromatografia de líquids d'alta resolució (HPLC)<sup>2</sup>, la cromatografia de fluids supercrítics (CFS)<sup>2,8,9</sup> i la cromatografia de capa prima (CPP)<sup>2</sup> són les tècniques cromatogràfiques actualment més utilitzades per la resolució d'enantiòmers<sup>10</sup>.

La dificultat inherent per a la determinació d'excés enantiomèric (*ee*) es dona al fet que els enantiòmers mostren propietat idèntiques, a excepció de la rotació òptica, en un ambient aquiral. La inducció de la quiralitat o la resolució de mescles racèmiques permet la separació d'aquests<sup>11</sup>.

Els mètodes de separació d'enantiòmers per cromatografia i electroforesi impliquen la creació d'un ambient quiral. Un ambient quiral es pot aconseguir amb un reactiu derivatitzant homoquiral<sup>12</sup> o bé amb una fase estacionària homoquiral o una fase mòbil que contingui additius homoquirals<sup>13</sup>.

Així, els mètodes de separació es poden classificar en mètodes directes i indirectes. Els primers estan generalment basats en la formació de parells moleculars diastereoisomèrics temporals. Les interaccions de tipus

electrostàtica, pont d'hidrogen,  $\pi$ - $\pi$ , dipol-dipol i fenòmens d'inclusió contribueixen al procés de formació d'aquests tipus de parells moleculars temporals, permeten així el reconeixement quiral. La resolució directa es pot efectuar per interacció entre la mescla enantiomèrica i un selector quiral, incorporat a una fase estacionària o addicionat a una fase mòbil. Les fases estacionàries quirals es classifiquen segons el tipus de selector quiral utilitzat, per exemple, ciclodextrines, polisacàrids, aminoàcids, amides o complexos metàl·lics. Els selectors quirals s'han estat utilitzat en la seva forma pura o bé dissolts o, alternativament, covalentment ancorats a polisiloxans<sup>3</sup>. Entre els mètodes de derivatització indirectes tindriem la derivatització quiral.

Avui en dia, la tècnica més utilitzada per a la separació de mescles enantiomèriques d'alcohols alifàtics de cadena curta és la CG<sup>14</sup> degut a la seva eficàcia, sensibilitat i rapidesa de l'anàlisi. Són especialment emprades les fases de ciclodextrines per-*O*-modificades<sup>15</sup>, que juguen un rol dominant en les separacions quirals d'un ampli ventall de compostos volàtils. Aquest fet és degut a que són de fàcil utilització i hi ha una gran disponibilitat de columnes comercials, cada vegada amb més fases estacionàries i millor estabilitat tèrmica<sup>11</sup>.

La limitació que pot presentar la CG és la volatilitat i l'estabilitat tèrmica dels compostos, representant l'EC i l'HPLC els mètodes complementaris més eficaços, amb les limitacions de solubilitat de certs selectors i/o soluts en les fases mòbils<sup>2</sup>.

## 1.2. LES CICLODEXTRINES

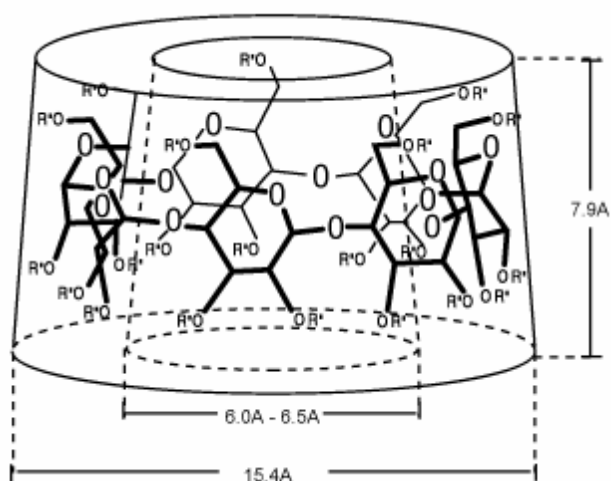
Les ciclodextrines (CDs) s'han estat utilitzant àmpliament en les ciències de la separació des de principis de 1980. La recerca en ciclodextrines i els seus derivats per a la separació d'enantiòmers per CG<sup>3,4,16,16</sup> i HPLC<sup>9,17</sup> ha estat molt intensa en els últims anys. En la majoria dels casos les molècules de ciclodextrines es troben directament unides a un dimetilpolisiloxà. Aquesta unió evita que la ciclodextrina migri a diferents llocs de la superfície, donant homogeneïtat a través de la fase, estabilitat de l'enantioselectivitat i una millora del temps de vida de la columna capil·lar de ciclodextrina<sup>18</sup>. Les CDs i els seus derivats també es poden utilitzar en EC<sup>6,19</sup> i com agents d'inducció o solvatació quirals (CSA) en RMN<sup>20-25</sup>.

Les CDs estan formades per oligosacàrids cíclics, unitats glucopiranoses lligades entre elles per unions glicosídiques  $\alpha(1-4)$ . Les CDs comercialment disponibles i estudiades són les  $\alpha$  (formades per 6 unitats de glucosa),  $\beta$  (7 unitats de glucosa) i  $\gamma$  (8 unitats de glucosa). Cada unitat glucopiranososa es troba en una conformació de cadira rígida. La distribució macrocíclica de les CDs correspon a un tor (**Figura 1**). La cara més gran del tor està ocupada exclusivament per les funcions alcohol secundaris (posicions 2 i 3), i a la cara petita del tor hi ha les funcions d'alcohols primaris (posició 6). Els grups hidroxils situats sobre les obertures són responsables de la hidrofília de les ciclodextrines natives. L'absència de grups hidroxils a l'interior de la cavitat fa que aquesta sigui hidròfoba i apolar, afavorint la formació de complexos d'inclusió per interaccions hidrofòbiques<sup>11</sup>.

Un gran nombre de derivats de CDs de diferent mida ( $\alpha$ ,  $\beta$  i  $\gamma$ ), tipus i posició de la substitució (2-O-, 3-O-, o 6-O-) són útils com a fases estacionaries quirals<sup>26</sup>.

El tipus de substituents poden ser grups metil, pentil, *t*-butildimetilsilil, (*S*)-2-hidroxiopropil, acetil, trifluoroacetil o reemplaçament d'un grup hidroxil per un hidrogen. L'efecte de la substitució està fortament influenciat per la posició del grup hidroxil que s'ha derivatitzat. La substitució a la posició 3-*O*- és la més estudiada i és la que s'espera que influeixi més en la selectivitat de la fase <sup>4</sup>.

Els mecanismes de separació de les fases estacionaries quirals basades en CDs no està encara del tot resolt i es pensa que varia depenent de la funcionalitat de cada CD derivatitzada<sup>27-31</sup>. De totes maneres, està acceptat que aquests processos de separació per CDs passen per la formació d'un complex d'inclusió entre la substància a separar i la CD<sup>18</sup>.



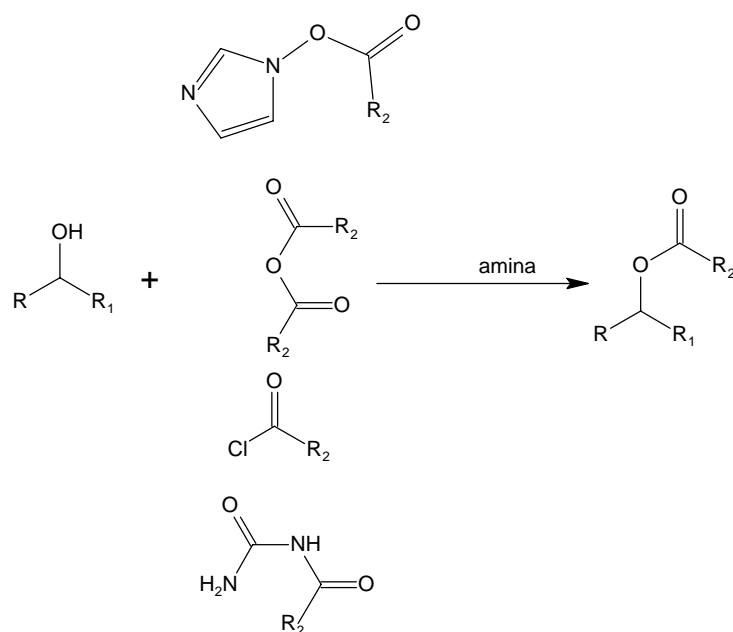
**Figura 1.** Esquema d'una ciclodextrina.

### 1.3. MÈTODES DE DERIVATITZACIÓ

En la separació d'enantiòmers per CG, la derivatització aquiral ofereix la possibilitat d'incrementar la volatilitat o millorar el reconeixement quiral dels analits polars. Una transformació dels analits a menys polar i a més volàtils sovint resulta en un increment de la selectivitat donat que la temperatura que es requereix per a l'anàlisi és més baixa. A més, la selectivitat pot millorar quan la derivatització introdueix canvis en l'estructura i funcionalitat que incrementen el reconeixement quiral. Una derivatització aquiral i una separació directa per cromatografia és un camí més senzill i menys subjecte a errors que la derivatització quiral seguida per una separació cromatogràfica indirecta<sup>12,13</sup>. De totes maneres, sempre s'ha de tenir en compte que es poden donar processos de racemització o descomposició dels analits durant el procés de derivatització o la separació cromatogràfica<sup>3,4,32</sup>.

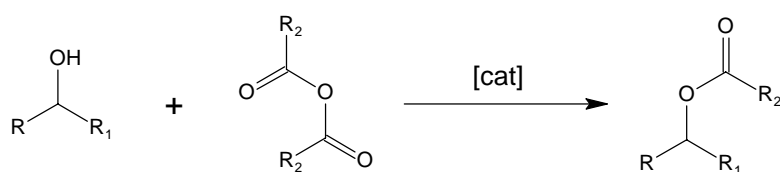
Un procés usual per millorar la separació dels enantiòmers passa per llur transformació a èsters volàtils, com acetats o trifluoroacetats. L'acilació redueix la polaritat millorant la volatilitat, incrementant-se així la seva separació en la columna cromatogràfica al poder emprar temperatures més baixes. Normalment, només la derivatització amb grups acetil o amb grups acil perfluorats fins a heptafluorobutiril milloren la volatilitat<sup>33</sup>.

L'acilació d'alcohols és un dels processos més freqüentment utilitzats en síntesi orgànica. Típicament, es poden dur a terme amb derivats d'àcids carboxílics activats com anhídrids d'àcid, clorurs d'àcid, acilimidazols o acilurees. Aquest procés és activat amb l'addició d'amines poc nucleòfiles com trietilamina, piridina o 4-(dimetilamino)piridina (DMAP)<sup>34-39</sup> (**Figura 2**).



**Figura 2.** Reaccions d'acilació d'alcohols.

A part de la catàlisi bàsica, varies sals metàl·liques, alguns triflats metàl·lics<sup>40</sup>, àcids pròtics com HClO<sub>4</sub>, àcids de Lewis com Zn, Cl<sub>2</sub>, CoCl<sub>2</sub>, TiCl<sub>4</sub>/AgClO<sub>4</sub>, clorotrimetilsilà (CTMS), Cu(NTf<sub>2</sub>)<sub>3</sub>, Bi(OTf)<sub>3</sub><sup>35,36,38,40,41</sup>, s'han utilitzat per a catalitzar l'acilació d'alcohols amb anhídrids d'àcid<sup>33,37</sup> (**Figura 3**).

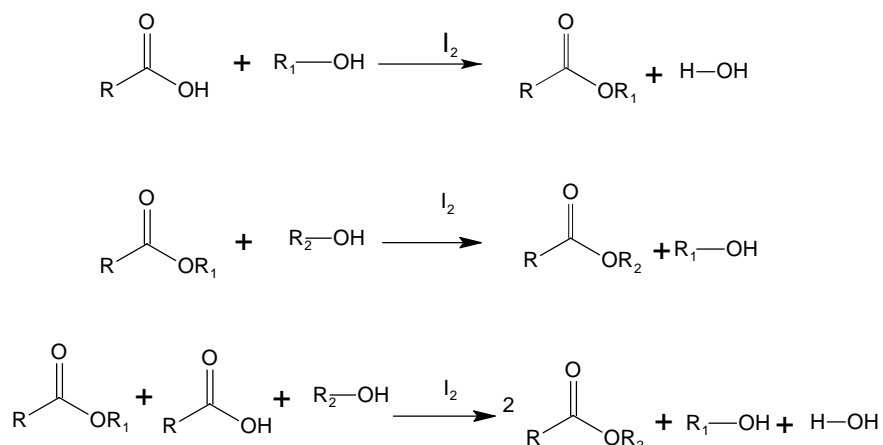


**Figura 3.** Reacció d'acilació d'alcohols amb anhídrids d'àcid.

No obstant, alguns d'aquests mètodes són poc efectius o inefectius per l'acilació d'alcohols secundaris i terciaris, altres són sensibles a la humitat o molt cars, i

poden ser potencialment explosius (per exemple els perclorats o l'àcid perclòric). A més els excessos de reactius s'han d'eliminar per evitar problemes en l'anàlisi per CG. La utilització d'halurs i anhídrids d'àcid poden donar reaccions secundàries com deshidratació o enolització degut a les fortes condicions acídiques de medi<sup>42</sup>.

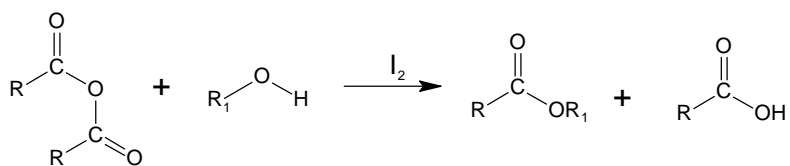
Ramalinga i col.<sup>43</sup> van descriure l'ús de iode, I<sub>2</sub>, com a catalitzador de Lewis per a l'esterificació i transesterificació d'àcids utilitzant un excés d'alcohol (**Figura 4**).



**Figura 4.** Reaccions d'esterificació, transesterificació i esterificació i transesterificació simultània amb iode com a catalitzador.

Recentment, Phukan i col.<sup>36</sup> van publicar una metodologia on s'utilitzava iode com a catalitzador actiu per l'acilació d'alcohols amb anhídrids d'àcid (**Figura 5**).





**Figura 5.** Reacció d'acilació d'alcohols amb anhídrids d'àcid i iode com a catalitzador.

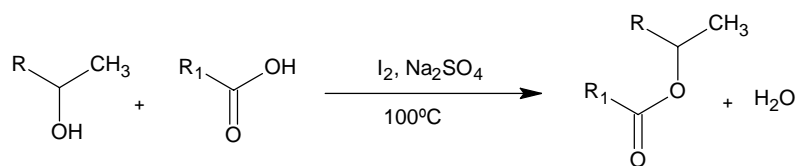
Ahmed i col.<sup>32,44</sup> van descriure l'ús de iode com a catalitzador per l'acilació d'una varietat d'alcohols. Les reaccions es van fer en excés d'alcohol, el que va permetre evitar l'ús de cap altre dissolvent. Altres treballs descrits en la literatura utilitzen el iode com a catalitzador en acilacions<sup>32,45</sup>.

## 2. OBJECTIUS

Considerant l'estat de la qüestió, em vaig plantejar la possibilitat d'estudiar l'acilació d'alcohols quirals utilitzant el  $I_2$  com a catalitzador i l'àcid acètic o l'àcid trifluoracètic com a reactius derivatitzants (**Figura 6**).

Amb aquest procés es pretenia millorar la separació de tots els estereoisòmers objecte d'estudi en una columna quiral (CP Chirasil-DEX CB) a la vegada que s'evitaria l'ús d'anhídrids d'àcid. En aquest cas, però, tenint en compte que el reactiu car és l'alcohol quiral, aquest no es podria fer servir amb excés tal com el mètode de referència descrivia. Per això, es van estudiar les condicions òptimes per a l'acilació dels alcohols quirals, com són: la relació molar alcohol:àcid, la temperatura, el temps de reacció i la introducció d'un dissolvent que, si fos el cas, permetessin no treballar amb excés d'alcohol.

L'optimització del mètode es portà a terme amb 2-heptanol. Posteriorment es va estudiar l'acilació amb diferents alcohols secundaris lineals, cíclics i alguns diols.



**Figura 6 .** Reacció d'acilació d'alcohols secundaris amb l'àcid acètic o l'àcid trifluoacètic amb iode com a catalitzador.

### **3. RESULTATS I DISCUSSIÓ**

Per tal de trobar les millors condicions d'esterificació d'alcohols secundaris amb l'àcid acètic (**1**) i el iode com a catalitzador de la reacció, primer de tot es va estudiar la influència de la relació molar àcid:alcohol a diferents temps de reacció. La reacció també es va provar sense dissolvent i amb un alcohol terciari, el *t*-butanol, com a dissolvent. El *t*-butanol podria permetre acostar-se a les condicions descrites en el procediment inicial (excés d'alcohol) sense que consumís reactiu acilant, al ser un alcohol terciari, a la vegada que permetria fer la reacció sense un excés d'alcohol quiral. L'alcohol quiral triat per l'estudi va ser el 2-heptanol (**2**). En les reaccions d'esterificació s'hi va afegir sulfat de sodi anhidre (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), com agent dessecant, per tal de desplaçar l'equilibri de la reacció cap a la formació de l'èster sense necessitat d'emprar cap excés de cap dels reactius. La temperatura del bloc de calefacció s'ajustà a 100°C. A més, per tal de poder quantificar l'èster format es va addicionar un patró intern, el tridecà, i es van analitzar les mostres per CG en una columna capil·lar polar, DB-Wax.

Com es pot observar a la **Taula 1** quan s'utilitza *t*-butanol la reacció és més lenta, es necessiten, amb qualsevol relació molar, 48 h per obtenir un rendiment elevat. Amb una relació molar d'àcid:alcohol de 2:1 s'obté ja el màxim rendiment (entrada 10). En canvi, sense dissolvent amb 24 h de reacció i una relació molar de 2:1 ja s'obté un rendiment força elevat, per sobre del 90% (entrada 1). Per tant, es va decidir seguir l'estudi sense dissolvent, per ser més econòmic, ràpid i fàcil.

**Taula 1.** Efecte de diferents paràmetres en el rendiment de reacció del 2-heptanol (**2**) amb l'àcid acètic (**1**).

	DISSOLVENT	Temps (h)	Relació molar (1/2)	% acetat d'1-metilhexil	DS	Tukey-Kramer*
1	Sense dissolvent	24	2	90,63	0,51	A
2		24	6	90,03	2,12	A B
3		24	10	84,00	1,79	B
4		48	2	91,76	2,84	A
5		48	6	93,74	2,93	A
6		48	10	93,11	1,26	A
7	<i>t</i> -butanol	24	2	16,63	1,05	C
8		24	6	34,67	0,04	D
9		24	10	56,20	0,01	E
10		48	2	81,72	1,17	B
11		48	6	88,00	0,09	A B
12		48	10	82,11	3,22	B

DS: desviació estàndard; \*Tukey-Kramer: ajustament de les diferències de cada parella de resultats,  $n=3$ ,  $\alpha=0,05$ .

Seguidament es va estudiar la reacció a relacions molars més baixes d'àcid:alcohol i a diferents temps de reacció. A la **Taula 2** es poden veure els resultats obtinguts. El rendiment més elevat amb la menor proporció d'àcid s'obté amb un relació molar de 1,5:1 a les 48 h (entrada 5). Rendiment no

significativament diferent del que s'obté quan s'utilitza un relació molar de 2:1 amb 24 h i 48 h de reacció (entrades 8 i 9).

**Taula 2.** Efecte del temps de reacció (h) en el rendiment d'esterificació del 2-heptanol(2): amb l'àcid acètic(1) a diferents relacions molars

	<b>Relació molar (2:1)</b>	<b>Temps (h)</b>	<b>% acetat d' 1-metilhexil</b>	<b>DS</b>	<b>Tukey-Kramer*</b>
1	1:1	24	71,04	-	A
2		48	87,03	1,70	B
3	1:1,5	4	76,60	0,97	C A
4		24	82,42	3,61	D B
5		48	91,48	3,16	G B
6	1:2	4	65,49	5,11	F A
7		8	78,58	0,82	A C D
8		24	90,63	0,51	G B
9		48	91,76	2,84	G B

DS: desviació estàndard; \*Tukey-Kramer: ajustament de les diferències de cada parella de resultats, n=3,  $\alpha=0,05$ .

Finalment, es va voler comprovar si augmentant la temperatura aconseguíem una millora del rendiment. Per això es van estudiar dues temperatures més elevades, 120°C i 140°C, amb una relació molar de 1:1 i 24 h de reacció. A la **Taula 3** es pot observar que a l'augmentar la temperatura no va augmentar el rendiment de la reacció.

**Taula 3.** Efecte de la temperatura en el rendiment d'esterificació del 2-heptanol amb l'àcid acètic (relació molar de 1:1) a les 24 h i sense dissolvent.

	<b>Temperatura (°C)</b>	<b>% acetat d'1-metilhexil</b>	<b>DS</b>	<b>Tukey-Kramer*</b>
1	100	71,24	2,15	A
2	120	64,13	1,11	B
3	140	66,41	2,56	B

DS: desviació estàndard; \*Tukey-Kramer: ajustament de les diferències de cada parella de resultats,  $n=3$ ,  $\alpha=0,05$ .

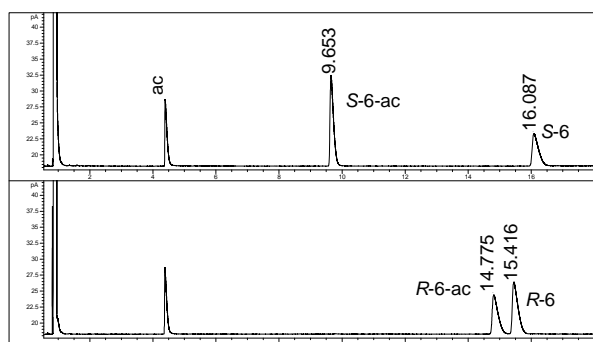
Per tant, si es té en compte l'economia atòmica del procés tot buscant la màxima conversió, les millors condicions de reacció són 100°C, relació molar d'alcohol:àcid de 1:1,5 i 48 h de reacció. En canvi, si es valora el temps de reacció per obtenir la màxima conversió, les millors condicions serien 100°C, una relació 1:2 i 24 h de reacció. Finalment, si es té en compte que l'objectiu principal en el desenvolupament d'aquesta metodologia és conèixer el percentatge de cada estereoisòmer, per tant no és imprescindible aconseguir un màxim rendiment de transformació; i si es vol consumir el mínim de reactiu possible, tenim que amb 4 h de reacció i un relació molar d'1:1 d'alcohol:àcid, ja s'obté més del 50% d'acilació de l'alcohol i podria ser suficient per fer les corresponents determinacions d'excés enantiomèric .

Tenim doncs que s'ha desenvolupat un mètode que evita l'ús d'excés considerable de reactius, que no necessita de dissolvent, que empra l'àcid i no l'anhídrid d'àcid i que és catalitzat per iode, producte fàcilment eliminable del medi de reacció. Per tant, es disposa d'un mètode d'acilació alternatiu als mètodes convencionals més respectuosos amb al medi ambient, amb l'ús d'un

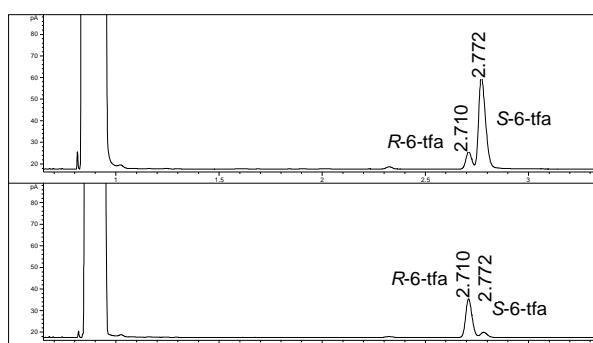
agent acilant barat, l'àcid acètic, sense la utilització de dissolvent, i amb una eficiència atòmica elevada<sup>46</sup>.

Una vegada posat a punt aquest mètode amb el 2-heptanol s'estudià la possibilitat d'emprar un nou reactiu acilant, l'àcid trifluoroacètic (**3**), com a complement a l'àcid acètic (**1**), i d'estendre la reacció a un seguit d'alcohols. Igualment es volia tenir dades sobre l'estabilitat dels carbonis quirals en front d'aquesta reacció d'esterificació, és a dir, es volia comprovar que no es produís cap procés de racemització. Les esterificacions es van dur a terme amb el *R*-2-butanol (**R-4**), *S*-2-butanol (**S-4**), *R*-2-pentanol (**R-5**), *S*-2-pentanol (**S-5**), *R*-4-metil-2-pentanol (**R-6**), *S*-4-metil-2-pentanol (**S-6**), *R*-2-hexanol (**R-7**), *S*-2-hexanol (**S-7**), *R*-2-heptanol (**R-2**), *S*-2-heptanol (**S-2**), *R*-2-octanol (**R-8**), *S*-2-octanol (**S-8**), *trans*<sub>SS</sub>-1,2-ciclohexandiol (*trans*<sub>S,S</sub>-**9**), *trans*<sub>RR</sub>-1,2-ciclohexandiol (*trans*<sub>R,R</sub>-**9**) i *cis*-1,2-ciclohexandiol (*cis*-**9**). Les condicions de la reacció van ser 100°C, 24 h i relació molar de 2:1 (àcid: alcohol). La columna quiral utilitzada va ser una CP Chirasil-DEX CB, Varian. En tots els alcohols quirals estudiats es va observar que la utilització d'àcid acètic com agent derivatitzant no produïa isomerització, en canvi quan es va utilitzar l'àcid trifluoroacètic si que es va produir isomerització. Les següents figures mostren el cas del *S*-4-metil-2-pentanol (**S-6**) i el *R*-4-metil-2-pentanol (**R-6**) i el seus corresponents acetats, **S-6-ac**, **R-6-ac**, i trifluoroacetats, **S-6-tfa**, **R-6-tfa**. Com es pot veure, no es produeix isomerització quan s'utilitza l'àcid acètic com grup acilant, **Figura 7**, però si que se'n produeix quan s'utilitza l'àcid trifluoroacètic, **Figura 8**, on es pot veure que quan es derivatitza amb àcid trifluoroacètic el **S-6**, apareix l'estereoisòmer **R-6-tfa** i quan es derivatitza el **R-6**, apareix l'estereoisòmer **S-6-tfa**. Si bé els derivats trifluoroacetilats tenen un temps d'anàlisi molt més curt, no es possible la seva utilització en aquestes condicions doncs produeix una

certa isomerització. Aquest és un dels inconvenients de la derivatització aquiral, la possible racemització durant l'etapa de derivatització<sup>47</sup>.



**Figura 7.** Anàlisi dels derivats acetilats del 4-metil-2-pentanol (6) a la columna quiral.



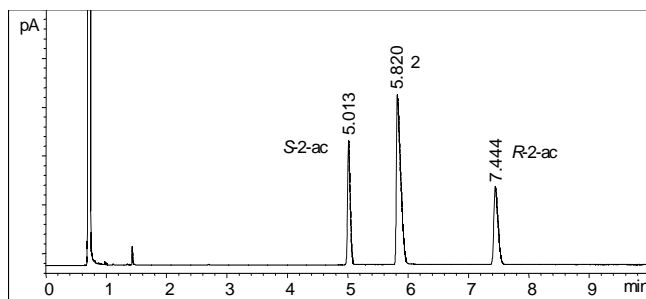
**Figura 8.** Anàlisi dels derivats trifluoroacetilats del 4-metil-2-pentanol (6) a la columna quiral.

Finalment s'aplicà el procediment d'esterificació amb àcid acètic amb una relació molar 2:1 (àcid:alcohol), iode i sense dissolvent a 100°C durant 24 h a altres alcohols secundaris. L'objectiu fou comprovar si es milloraven els factors de separació ( $\alpha$ ) d'aquests alcohols o bé, si s'aconseguien separar els estereoisòmers d'aquells alcohols que no es podien separar en la columna quiral

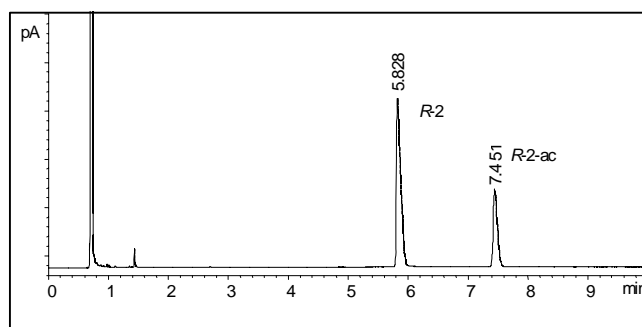


emprada. Es van estudiar tres tipus d'alcohols. Alcohols secundaris lineals, alcohols secundaris cíclics i diols.

Pel que fa als alcohols secundaris lineals (**Taula 4**), quan aquests són acetilats el factor de separació s'incrementa en tots els casos, a excepció del 3-hexanol (**10**) que sense derivatitzar no es separaven els seus enantiòmers i derivatitzant al seu corresponent acetat continuen sense separar-se. Destaca el factor de separació dels derivats acetilats del 2-pentanol (**5**) en els que ara és molt alt, de 3,00 (essent el del alcohol lliure de 1,07). Destaquen també el del 2-hexanol (**7**) on l' $\alpha$  dels derivats acetilats és de 1,95, mentre que la dels corresponents alcohols és de 1,05. A més, amb l'acetilació es permet la separació dels enantiòmers del 2-heptanol (**figures 9 i 10**) i del 2-octanol, que no es separen en aquesta columna en forma d'alcohols lliures.



**Figura 9.** Anàlisi en la columna quiral de l'acetat de 2-heptil. (**S-2-ac**: acetat de *S*-2-heptil; **2**: 2-heptanol; **R-2-ac**: acetat de *R*-2-heptil).



**Figura 10.** Anàlisi en la columna quiral de l'acetat de *R*-2-heptil. (**R-2**: *R*-2-heptanol; **R-2-ac**: acetat de *R*-2-heptil).

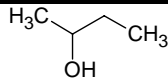
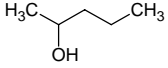
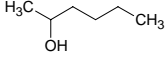
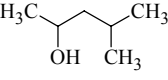
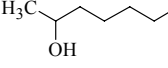
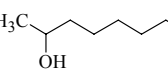
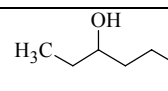
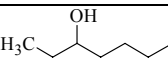
Si comparem les  $\alpha$  dels derivats acetilats dels alcohols amb les descrites en la literatura per diversos autors, s'observa que els factors de separació obtinguts pels derivats acetilats en la columna CP Chirasil-DEX CB són molt alts. Li i col.<sup>48</sup> van estudiar la separació de més de 150 parells d'enantiòmers en una sèrie de fases estacionàries quirals d' $\alpha$ -,  $\beta$ - i  $\gamma$ -ciclodextrines 2,6-di-*O*-pentil-3-*O*-trifluoroacetilades. Entre aquests hi estaven inclosos els compostos **2**, **4**, **5**, **6**, **7**, i **8** amb valors de separació que van de 1,10 a 1,30. En tots els casos són valors més alts que els obtinguts en la nostra columna pels alcohols lliures, però més baixos que els obtinguts pel corresponent derivat acetilat. Smith i col.<sup>27</sup> van estudiar la separació dels alcohols **2**, **4**, **5**, **6**, **7**, **10**, **8** i **11** en una  $\gamma$ -ciclodextrina trifluoroacetilada a 35°C, mostrant uns valors d' $\alpha$  pels alcohols més baixos que els obtinguts en la nostra columna pels alcohols, a excepció del **2**, **10** i **11**, que amb la columna utilitzada per nosaltres no es separen. En una altre treball, s'estudià la separació dels dos enantiòmers del **8** en sis diferents ciclodextrines 6-*t*-butildimetilsililades. En aquest cas el màxim factor de separació va ser de 1,03<sup>49</sup>. La separació dels enantiòmers del **2** i **10** va ser estudiada també en una columna capil·lar de CG amb una  $\beta$ -ciclodextrina heptakis(6-*O*-etil-2,3-*O*-pentil) i es va obtenir una  $\alpha$  d' 1,03 i 1,08 respectivament<sup>50</sup>.

També es troben en la literatura estudis de separació dels enantiòmers dels alcohols **4**, **5** i **7** en altres fases de CDs modificades amb factors de separació  $<1$ ,<sup>51,52</sup>. Només quan es va utilitzar una fase de  $\gamma$ -cyclodextrina octakis(2,6-di-*O*-pentil-3-trifluoroacetil) es va obtenir un valor alt per als enantiòmers del **7**,  $\alpha=1,47$ , i del **2**  $\alpha=1,33$ <sup>51-53</sup>. En aquest cas, sense la necessitat de derivatitzar, sí que són valors similars als obtinguts en la nostra columna pels corresponents derivats acetilats dels alcohols.

La **Taula 4** mostra també que l'acetilació va provocar un canvi en l'ordre d'elució dels alcohols secundaris lineals assajats, a excepció del 2-hexanol.

L'ordre d'elució dels enantiòmers, (-) i (+), depenen del tipus de ciclodextrina ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ), de la estereoconfiguració del producte (que pot tenir una influència dominant en les interaccions quirals provocant un canvi de l'ordre d'elució), del tipus de derivats de les ciclodextrines i de la temperatura. A més, alguns estudis indiquen que la retenció dels enantiòmers està relacionada amb l'activitat òptica<sup>31</sup>. El canvi en l'ordre d'elució dels enantiòmers per l'ús de reactius derivatitzants aquirals ha estat considerat una curiositat, i no hi ha regles o tendències que semblin estar establertes per aquest fenomen<sup>54</sup>.

**Taula 4.** Factors de separació ( $\alpha$ ) dels enantiòmers de diversos alcohols acíclics i el seus corresponents derivats acetilats.

ALCOHOL	T	TR		$\alpha$	TR		$\alpha$ AC
		R-(-)	S-(+)		S-(+)	R-(-)	
 <b>4</b>	40	1,85	1,93	1,05	2,94	4,24	1,44
 <b>5</b>	40	5,09	5,45	1,07	3,79	11,31	3,00
 <b>7</b>	50	7,61	8,02	1,05	6,35	12,39	1,95
 <b>6</b>	50	14,78	16,09	1,09	9,65	15,42	1,60
 <b>2</b>	80	1,92	1,92	1,00	2,32	1,76	1,32
 <b>8</b>	80	5,36	5,45	1,02	5,04	7,46	1,50
 <b>10</b>	50	6,91	6,91	1,00	9,04	9,04	1,00
 <b>11</b>	70	10,18	10,18	1,00	7,53	9,91	1,32

T: temperatura del forn del CG (°C); TR: temps de retenció (min);  $\alpha$ : factor de separació; AC: derivat acetilat.

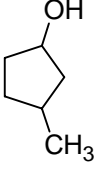
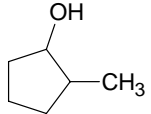
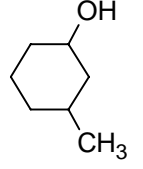
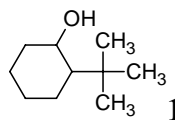
La **Taula 5** mostra els resultats de la derivatització dels alcohols cíclics estudiats. En alguns casos, alcohols **12**, **14**, **15** i **19**, la derivatització permet la separació de tots els seus isòmers, no resolts com alcohols lliures. Per altres alcohols (**18**, **16** i **20**), l'acetilació augmenta el factor de separació dels corresponents isòmers.

A la literatura hi ha informació sobre la separació del mentol, **20**, en diverses columnes quirals. Es va estudiar la separació del D/L-mentol, en una  $\beta$ -cyclodextrina heptakis(6-*O*-etil-2,3-*O*-pentil) obtenint-se una  $\alpha$  de 1,08 a 70°C<sup>50</sup>. Derivatitzant-lo al seu corresponent acetat, i en la columna utilitzada per nosaltres, s'obté un  $\alpha$  major (1,16) tot i emprar una temperatura més alta, que permet un temps de retenció menor i per tant un temps d'anàlisi inferior. El màxim  $\alpha$  obtingut pel 2-mentol en sis diferents ciclodextrines 6-*t*-butildimetilsililades va ser d'1,04, el mateix obtingut amb la nostra columna i més baix que el corresponent derivat acetilat<sup>49</sup>. La separació del mentol també ha estat estudiada en una  $\gamma$ -cyclodextrina octakis(2,6-di-*O*-pentil-3-trifluoroacetil) i l' $\alpha$  obtingut va ser de 1,06<sup>51-53</sup>. La separació dels enantiòmers del mentol en altres fases de CDs modificades va ser entre 1,01-1,04<sup>51</sup>.

Per l'alcohol **18**, el 2-clorociclohexanol, quan es va fer la reacció amb la proporció 2:1, no es va observar la formació del corresponent èster. A l'augmentar l'excés d'àcid acètic fins a una relació molar de 10:1 (àcid:alcohol) si que es va formar el corresponent derivat acetilat. Aquest fenomen es podria explicar considerant que la presència d'un àtom electronegatiu, com el clor, en la posició 2 de l'alcohol, augmenta l'acidesa d'aquest i, per tant, augmenta la seva capacitat com a grup sortint. Aquest fet faria que l'equilibri present en tot procés d'esterificació estigués en aquest cas molt més desplaçat cap als reactius

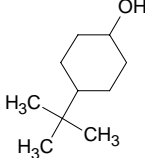
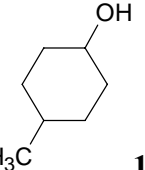
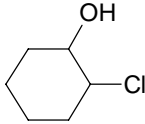
(àcid i alcohol) que no cap als productes (èster i aigua). Així, quan la concentració d'àcid acètic fos baixa, el poc èster que es pogués formar ràpidament seria hidrolitzat de nou a través de l'atac nucleòfil de l'aigua present, sense poder-se detectar en el moment de l'anàlisi. En aquest cas el procés d'atac nucleòfil per part de l'aigua sobre el carboni carboxílic seria molt més ràpid que el procés de captació de la mateixa pel sulfat sòdic sòlid present en el medi de reacció. Només, quan tinguéssim prou excés d'àcid, l'equilibri s'acabaria desplaçant cap a la formació d'èster i aquest seria detectat. La presència de densitat de carrega positiva sobre el carboni carboxílic, sembla que també seria la raó que explicaria les diferents relacions regioisomèriques obtingudes en la síntesi d'esters de clorohidrina amb diferents àcids i amb el 1,3-butandiòl, on, com més curta és la cadena de l'àcid, més s'afavoreix la síntesi de d'isòmer que té el clor sobre el carboni secundari<sup>55</sup>.

**Taula 5.** Factors de separació ( $\alpha$ ) dels estereoisòmers de diversos alcohols cíclics i el seus corresponents derivats acetilats.

ALCOHOL	T	I	TR		$\alpha$	TR		$\alpha$ AC
 <b>12</b>	70	<i>trans</i>	5,51	5,51	1,00	4,57	5,17	1,13
		<i>cis</i>	5,51	5,51		4,803	6,08	1,27
 <b>13</b>	70	<i>trans</i>	5,53	5,53	1,08	4,29	4,29	1,01
		<i>cis</i>	5,99	5,99		4,338	4,34	
 <b>14</b>	70	<i>trans</i>	14,56	14,56	1,03	9,23	10,59	1,15
		<i>cis</i>	15,00	15,00		11,83	11,83	
 <b>15</b>	110	<i>trans</i>	4,48	4,48	1,02	3,25	3,78	1,16
		<i>cis</i>	4,57	4,57		4,11	4,18	1,02

T: temperatura del forn del CG (°C); I: isòmers; TR: temps de retenció (min.);  $\alpha$ : factor de separació; AC: derivat acetil; Les dades pels corresponents isòmers *cis/trans* es donen en les diferents files, mentre que les dades corresponents als altres estereoisòmers es donen en les corresponents columnes.

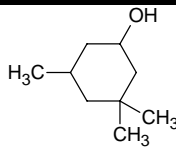
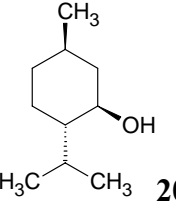
Taula 5 (cont.).

ALCOHOL	T	I	TR		$\alpha$	TR		$\alpha$ AC
 <b>16</b>	110	<i>trans</i>	5,73		1,07	4,82		1,61
		<i>cis</i>	6,12			7,76		
 <b>17</b>	90	<i>trans</i>	3,964		1,14	3,274		1,06
		<i>cis</i>	4,523			3,476		
 <b>18</b>	80	<i>trans</i>	15,71	15,71	1,02	4,76	4,76	1,04*
		<i>cis</i>	15,96	15,96		4,93	4,93	

T: temperatura del forn del CG (°C); I: isòmers; TR: temps de retenció (min.);  $\alpha$ : factor de separació; AC: derivat acetil; \*: relació molar àcid:alcohol (10:1). Pels compostos **16** i **18**, les dades pels corresponents isòmers *cis/trans* es donen en les diferents files, mentre que les dades corresponents als altres estereoisòmers es donen en les corresponents columnes.



Taula 5 (cont.).

ALCOHOL	T	I	TR	$\alpha$	TR	$\alpha$ AC
 <b>19</b>	110	<i>cis</i>	2,82	1,00	1,85	1,04
		<i>trans</i>	2,82		1,94	
 <b>20</b>	110	(-)	4,37	1,04	3,18	1,16
		(+)	4,53		3,70	

T: temperatura del forn del CG (°C); I: isòmers; TR: temps de retenció (min.);  $\alpha$ : factor de separació; AC: derivat acetil.

En la derivatització dels diols, l'1,2-octandioli (**21**), l'1,2-ciclohexandioli (**9**) i l'1,3-ciclohexandioli (**22**), **Taula 6**, es poden acetilar un grup hidroxil o ambdós grups. En la derivatització es van obtenir la barreja de molècules amb un hidroxil acetilat i amb 2 hidroxils acetilats. La relació molar que es va utilitzar aquesta vegada va ser de 4:1 i de 2:1 (àcid acètic: diol) per tal de poder conèixer el temps de retenció dels alcohols amb un grup hidroxil acetilat o ambdós grups hidroxils acetilats. Quan es va utilitzar un relació molar de 2:1, només es va acetilar un dels hidroxils dels diols, en canvi quan es va utilitzar una relació molar de 4:1 es van formar els derivat acetilats sobre un dels grups hidroxils i sobre d'ambdós grups. Quan s'acetilà un dels grups hidroxils del **9**, l' $\alpha$  dels enantiòmers *trans* es va mantenir, en canvi quan els dos hidroxils van ser acetilats l' $\alpha$  d'aquests augmentà de 1,11 (dos grups hidroxils lliures) a 1,15. Els

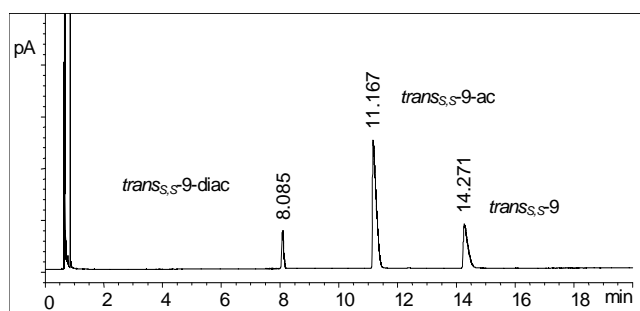
diastereoisòmers *cis* del **9** i **22** són la forma *meso* i són per tant aquirals. Aquests diastereoisòmers es converteixen en quirals quan només un dels grups hidroxils es acetilat, podent-se separar els seus enantiòmers en la columna quiral. No obstant quan els dos grups són acetilats es tornen a convertir en la forma *meso*. Li i col.<sup>48</sup> van estudiar el factor de separació de l'alcohol **21** en una  $\beta$ -ciclodextrina 2,6-di-*O*-pentil-3-*O*-trifluoroacetilada obtenint-se una  $\alpha$  de 1,05,  $\alpha$  una mica més elevada que en la nostra columna però més baixa que els corresponents acetats. També van analitzar el *trans*-**9** en una  $\gamma$ -ciclodextrina 2,6-di-*O*-pentil-3-*O*-trifluoroacetilada obtenint un factor de separació molt més elevat, de 1,58, que els corresponent acetats del *trans*-**9** en la nostra columna. Els tres diferents isòmers del **22** no es separaven en la columna quiral com diols lliure, però si que ho van fer quan es van acetilar un dels alcohols, separant-se en aquest cas, els seus quatre isòmers amb una  $\alpha$  pels isòmers *trans* de 1,06 i pels *cis* de 1,02. També quan els dos grups hidroxils foren acetilats es van separar tots els seus isòmers, en aquest cas, en els seus tres possibles isòmers amb una  $\alpha$  dels dos enantiòmers de l'isòmer *trans* de 1,17.

**Taula 6.** Factors de separació ( $\alpha$ ) dels estereoisòmers de diversos diols i els seus corresponents derivats acetilats

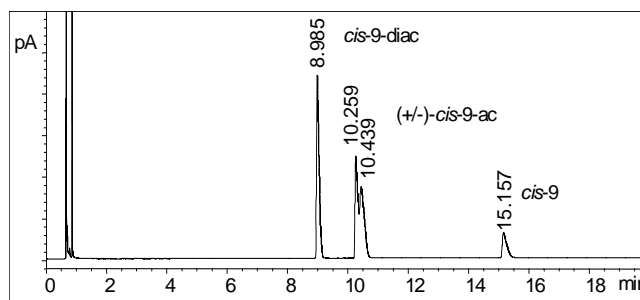
DIOL	T (°C)	I	DIOL		$\alpha$	AC		$\alpha$	diAC		$\alpha$
			TR			TR			TR		
<b>21</b>	120		11,83	12,62	1,03	10,08	13,68	1,07	9,23	9,50	1,34
<b>9</b>	110	<i>trans</i>	14,23 (S,S)	15,76 (R,R)	1,11	11,14 (S,S)	12,13 (R,R)	1,10	8,07 (S,S)	9,26 (R,R)	1,15
		<i>cis</i>	14,97		-	10,23	10,41	1,02	9,02		-
<b>22</b>	120	<i>trans</i>	14,12	14,12	1,00	9,58	10,15	1,06	5,88	6,86	1,17
		<i>cis</i>	14,64	-	-	10,97	11,25	1,02	7,79	-	-

T: temperatura del forn del CG, °C; I: isòmer; TR: temps de retenció (min.); AC: derivat acetilat; diAC: derivat diacetilat. Les dades pels corresponents isòmers *cis/trans* es donen en les diferents files, mentre que les dades corresponents als altres estereoisòmers es donen en les corresponents columnes.

A les **figures 11 i 12** es poden veure els cromatogrames corresponents a la separació dels estereoisòmers del diol **9**, dels seus alcohols lliures i dels seus corresponents acetats i diacetats.



**Figura 11.** Anàlisi en la columna quiral del *trans*<sub>S,S</sub>-1,2-ciclohexandiòl (*trans*<sub>S,S</sub>-9) i dels seus acetats, diacetat de *trans*<sub>S,S</sub>-1,2-ciclohexandiòl (*trans*<sub>S,S</sub>-9-diac) i l'acetat de *trans*<sub>S,S</sub>-2-hidroxiciclohexil (*trans*<sub>S,S</sub>-9-ac)



**Figura 12.** Anàlisi en la columna quiral del *cis*-1,2-ciclohexandiòl (*cis*-9) i dels seus acetats, diacetat de *cis*-1,2-ciclohexandiòl (*cis*-9-diac) i l'acetat de (+/-)-*cis*-2-hidroxiciclohexil ((+/-)-*cis*-9-ac)

## **4. CONCLUSIONS**

S'ha desenvolupat una metodologia simple i eficient d'esterificació d'alcohols secundaris amb àcid acètic i iode com a catalitzador, que permet emprar quantitats properes a l'equimolaritat d'alcohol i àcid per a la determinació de la composició enantiòmerica d'alcohols quirals. Aquest nou procediment empra l'àcid i no l'anhídrid d'àcid com a reactiu acilant i iode com a catalitzador, producte fàcilment eliminable del medi de reacció, representant un mètode d'acilació alternatiu als mètodes convencionals més respectuosos amb al medi ambient, amb l'ús d'un agent acilant barat, l'àcid acètic, sense la utilització de dissolvent, i amb una eficiència atòmica elevada. Contràriament, l'ús d'àcid trifluoroacètic com agent derivatitzant provoca una isomerització parcial dels enantiòmers purs.

L'esterificació d'alcohols secundaris lineals, cíclics i d'alguns diols amb àcid acètic permet la separació dels seus estereoisòmers quan són analitzats per cromatografia de gasos en una fase quiral, incrementant-ne el factor de separació ( $\alpha$ ) dels estereoisòmers i reduint el temps d'anàlisi.

L'acetilació dels alcohols secundaris quirals estudiats provoca una enantioselectivitat més gran en la columna quiral Chirasil-DEX que la corresponent als alcohols lliures mostrant la millor separació els derivats del 2-pentanol, amb un valor  $\alpha$  de 3,00, i els derivats del 2-hexanol, amb un  $\alpha$  de 1,95.

## 5. MATERIAL I MÈTODES

### 5.1. MATERIAL

L'àcid acètic (**1**), el 4-metil-2-pentanol (**6**), l'1,2-ciclohexandiol (**9**), el 3-hexanol (**10**), el 3-metilciclopentanol (**12**), el 2-metilciclopentanol (**13**), el 3-metilciclohexanol (**14**), el 2-*t*-butilciclohexanol (**15**), el 4-*t*-butilciclohexanol (**16**), el 4-metilciclohexanol (**17**), el 2-clorociclohexanol (**18**), el 3,3,5-trimetilciclohexanol (**19**), el DL-mentol (**20**), l'1,2-octandiol (**21**), l'1,3-ciclohexandiol (**22**) i el iode van ser subministrats per Acros Organics, Barcelona, Espanya. El 2-butanol (**4**), el *S*(+)-2-butanol (**S-4**), el *R*(-)-2-butanol (**R-4**), el 2-hexanol (**7**), el *S*(+)-2-hexanol (**S-7**), el *trans*<sub>*S,S*</sub>-1,2-ciclohexandiol (***trans*<sub>*S,S*</sub>-9**), el *trans*<sub>*R,R*</sub>-1,2-ciclohexandiol (***trans*<sub>*R,R*</sub>-9**), el 2-heptanol (**2**), el *R*(-)-2-heptanol (**R-2**), el (+)-mentol (+-**20**) i el *t*-butanol van ser subministrats per Fluka, Madrid, Espanya. El *S*(+)-2-heptanol (**S-2**), el *R*(-)-4-metil-2-pentanol (**R-6**), el *S*(+)-4-metil-2-pentanol (**S-6**), el *R*(-)-2-pentanol (**R-5**), el *S*(+)-2-pentanol (**S-5**), el *R*(-)-2-hexanol (**R-7**), el 2-octanol (**8**), el *R*(-)-2-octanol (**R-8**), el *S*(+)-2-octanol (**S-8**), el 3-octanol (**11**) i el *cis*-1,2-ciclohexandiol (***cis*-9**) van ser subministrats per Sigma-Aldrich, Madrid, Espanya. El 2-pentanol (**5**) va ser subministrat per Merck, Barcelona, Espanya.

### 5.2. MÈTODES

#### 5.2.1. SÍNTESI DE L'ACETAT D'1-METILHEXIL

En un vial de rosca es van agitar a 100°C durant 48 h una mescla de 2-heptanol (3 g, 26 mmols), àcid acètic (14,89 ml, 26 mmols), iode (0,2 g; 0,6 mmols) i sulfat sòdic (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) anhidre (0,31 g, 0,2 mmols). Després, es van addicionar 25 ml d'hexà i es van filtrar. La solució orgànica es va rentar amb una solució

aquosa de tiosulfat sòdic saturat, seguidament amb una solució aquosa de bicarbonat sòdic (NaHCO<sub>3</sub>) saturada i finalment amb aigua. La solució es va assecar amb MgSO<sub>4</sub> anhidre i es va eliminar l'hexà per destil·lació 40°C i buit a 300 mmHg. El producte obtingut, l'acetat d'1-metilhexil va ser caracteritzat per RMN de <sup>1</sup>H i <sup>13</sup>C.

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CHLOROFORM-*d*) δ ppm 0.88 (t, *J*= 7,03, 3 H) 1,20 (d, *J*=6,25 Hz, 3 H) 1,22 – 1,38 (m, 6 H) 1,40 – 1,50 (m, 1 H) 1,53 – 1,62 (m, 1 H) 2,03 (s, 3 H) 4,82 – 4,95 (m, 1 H)

<sup>13</sup>C NMR (MHz, CHLOROFORM-D) δ ppm 14,25 (1C, CH<sub>3</sub>) 20,20 (1C, CH<sub>3</sub>) 21,66 (1C, CH<sub>3</sub>) 2,79 (1C, CH<sub>2</sub>) 25,31 (1C, CH<sub>2</sub>) 31,88 (1C, CH<sub>2</sub>) 36,12 (1C, CH<sub>2</sub>) 71,32 (1C, CH) 171,08 (1C, C)

### **5.2.2. OPTIMITZACIÓ DEL PROCÉS DE DERIVATITZACIÓ**

En un vial àmbar de rosca de 3 ml es van agitar diferents mescles de 2-heptanol (2 mmols), àcid acètic a diferents relacions molars (2, 3, 4, 12 and 20 mmol), iode (0,06 mmols), tridecà (4 mmols) com a patró intern i Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidre (0,02 mmols) amb 0,5 ml de *t*-butanol (7 mmols) o sense dissolvent, a diferents temperatures (100, 120 i 140°C) i diferents temps de reacció (4, 8, 24 i 48 h). El producte de reacció es va dissoldre en 1 ml de diclorometà i es va filtrar. La solució és va analitzar directament per CG en una columna DB-Wax. Les reaccions es van dur a terme per triplicat.

### **5.2.3. DERIVATITZACIÓ DELS DIFERENTS ALCOHOLS**

En un vial àmbar de 3 ml de capacitat es va agitar una mescla de cada alcohol (2 mmols), àcid acètic (2 equivalents), iode (0,06 mmols) i Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidre (0,02 mmols) a 100°C durant 24 h. El producte de reacció es va dissoldre amb 1ml de diclorometà, es va filtrar i analitzar per CG-FID amb una columna DB-WAX i

per CG-FID amb una columna quiral. Les reaccions es van dur a terme per duplicat.

Per l'alcohol **18**, el 2-clorociclohexanol, es va utilitzar una proporció molar de 10:1 (àcid:alcohol).

#### **5.2.4. DERIVATITZACIÓ DELS DIFERENTS DIOLS**

En un vial àmbar de 3 ml de capacitat es va agitar una mescla de cada alcohol (2 mmol), àcid acètic (2 i 4 equivalents), iode (0,06 mmol) i Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidre (0,02 mmol) a 100°C durant 24 h. El producte de reacció es va dissoldre amb 1ml de diclorometà, es va filtrar i analitzar per CG/MS amb una columna DB-WAX i per CG-FID amb una columna quiral. Les reaccions es van dur a terme per duplicat.

#### **5.2.5. CONDICIONS CROMATOGRÀFIQUES**

##### **5.2.5.1. ANÀLISI PER CG AMB UNA COLUMNA DB-WAX.**

Les anàlisis per CG-FID es van dur a terme en un cromatògraf de gasos Trace 2000 series (ThermoQuest) GC amb una columna capil·lar DB-Wax (polietilè glicol) de 30 m x 0,25 mm diàmetre, 0,25 µm de gruix de fase. Es va utilitzar heli (1 ml/min) com a gas transportador. Les condicions cromatogràfiques van ser:  $T_{\text{injector}} = 250^{\circ}\text{C}$ ,  $T_{\text{detector}} = 275^{\circ}\text{C}$ , la temperatura inicial del forn va ser de 70°C i es va fer pujar amb rampa de 5°C/min fins a 160°C, seguit d'una rampa de 10°C/min fins 200°C.

##### **5.2.5.2. ANÀLISI PER CG AMB UNA COLUMNA DE FASE QUIRAL**

Les anàlisis per CG-FID en la columna quiral es van dur a terme en un cromatògraf de gasos Hewlett Packard GC System HP 6890 una columna



capil·lar quiral CP Chirasil–DEX CB de Varian ( $\beta$ -ciclodextrines modificades lligades a dimetilpolisiloxà) de 25 m x 0,25 mm diàmetre, 0,25  $\mu$ m gruix de fase. El gas transportador va ser hidrogen (80 cm/s). La temperatura del forn va ser isoterma i diferent dependent del compost a analitzar. La  $T_{\text{injector}} = 230$  °C,  $T_{\text{detector}} = 250$  °C. El factor de separació,  $\alpha$ , es va calcular segons la IUPAC<sup>56</sup>.

### **5.2.6 RESSONÀNCIA MAGNÈTICA NUCLEAR**

L'equip de Ressonància Magnètica Nuclear utilitzat va ser un MERCURYplus AS400 MHz NMR Spectrometer Systems de VARIAN amb una sonda 400 AutoSwitchable 4 Nucleus Probe  $^1\text{H}/^{19}\text{F}/^{13}\text{C}/^{31}\text{P}$ ,  $^1\text{H}/^{19}\text{F}/\{^{15}\text{N}-^{31}\text{P}\}$  PFG, dels Serveis Científico-Tècnics de la Universitat de Lleida.

### **5.2.7. ANÀLISI ESTADÍSTICA**

Per a determinar les diferències estadístiques entre els rendiments obtinguts d'acetat d'1-metilhexil en les reaccions d'optimització del rendiment de la reacció es va realitzar una anàlisi de la variància lineal (ANOVA) i es va utilitzar mètode de Tukey-Kramer per l'ajustament de les diferències de cada parella de resultats amb  $n=3$  i  $\alpha=0,5$ . Es va utilitzar el programa estadístic SAS versió 9.0 (SAS Institute, Inc).

## 6. REFERÈNCIES BIBLIOGRÀFIQUES

1. Francotte, E. R. *Journal of Chromatography A* **2001**, 906 (1-2), 379-397.
2. Zhang, Y.; Wu, D. R.; Wang-Iverson, D. B.; Tymiak, A. A. *Drug Discovery Today* **2005**, 10 (8), 571-577.
3. Schurig, V. *Journal of Chromatography A* **2001**, 906 (1-2), 275-299.
4. Juvancz, Z.; Petersson, P. *Journal of Microcolumn Separations* **1996**, 8 (2), 99-114.
5. Kang, J. W.; Wistuba, D.; Schurig, V. *Electrophoresis* **2002**, 23 (22-23), 4005-4021.
6. Chankvetadze, B. *Chemical Society Reviews* **2004**, 33 (6), 337-347.
7. Kapnissi-Christodoulou, C. P.; Zhu, X. F.; Warner, I. M. *Electrophoresis* **2003**, 24 (22-23), 3917-3934.
8. Terfloth, G. *Journal of Chromatography A* **2001**, 906 (1-2), 301-307.
9. Liu, Y.; Lantz, A. W.; Armstrong, D. W. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies* **2004**, 27 (7-9), 1121-1178.
10. Maier, N. M.; Franco, P.; Lindner, W. *Journal of Chromatography A* **2001**, 906 (1-2), 3-33.
11. Tharin, M. Synthèse de polyéthers linéaires et cycliques substitués par des cyclodextrines. Applications en chromatographie gazeuse et électrophorèse capillaire. Thesis/Dissertation Université de Neuchâtel, Faculté des Sciences, **2002**.
12. Doolittle, R. E.; Heath, R. R. *Journal of Organic Chemistry* **1984**, 49 (26), 5041-5050.
13. Rimmer, D. A.; Rose, M. E. *Journal of Chromatography* **1992**, 598 (2), 251-265.
14. Walther, W.; Netscher, T. *Chirality* **1996**, 8 (5), 397-401.

15. Sponsler, S.; Biedermann, M. *International Chromatography Laboratory* **1998**, 8, A-F.
16. Yi, G. L.; Bradshaw, J. S.; Rossiter, B. E.; Malik, A.; Li, W. B.; Lee, M. L. *Journal of Organic Chemistry* **1993**, 58 (18), 4844-4850.
17. Hinze, W. L.; Riehl, T. E.; Armstrong, D. W.; Demond, W.; Alak, A.; Ward, T. *Analytical Chemistry* **1985**, 57 (1), 237-242.
18. Li, S.; Purdy, W. C. *Chemical Reviews* **1992**, 92 (6), 1457-1470.
19. Phinney, K. W.; Jackson, J. W.; Sander, L. C. *Electrophoresis* **2002**, 23 (9), 1308-1313.
20. Redondo, J.; Blazquez, M. A.; Torrens, A. *Chirality* **1999**, 11 (9), 694-700.
21. Holzgrabe, U.; Mallwitz, H.; Branch, S. K.; Jefferies, T. M.; Wiese, M. *Chirality* **1997**, 9 (3), 211-219.
22. MacNicol, D. D.; Rycroft, D. S. *Tetrahedron Letters* **1977**, 18 (25), 2173-2176.
23. Lee, S.; Yi, D. H.; Jung, S. *Bulletin of the Korean Chemical Society* **2004**, 25 (2), 216-220.
24. Greatbanks, D.; Pickford, R. *Magnetic Resonance in Chemistry* **1987**, 25 (3), 208-215.
25. Uccello-Barretta, G.; Balzano, F.; Sicoli, G.; Scarselli, A.; Salvadori, P. *European Journal of Organic Chemistry* **2005**, (24), 5349-5355.
26. Armstrong, D. W.; Tang, Y. B.; Ward, T.; Nichols, M. *Analytical Chemistry* **1993**, 65 (8), 1114-1117.
27. Smith, I. D.; Simpson, C. F. *Hrc-Journal of High Resolution Chromatography* **1992**, 15 (12), 800-806.
28. Krupcik, J.; Spanik, I.; Oswald, P.; Skacani, I.; Onuska, F. I.; Sandra, P. *Hrc-Journal of High Resolution Chromatography* **1998**, 21 (3), 197-199.

29. Berthod, A.; Li, W. Y.; Armstrong, D. W. *Analytical Chemistry* **1992**, *64* (8), 873-879.
30. Pino, V.; Lantz, A. W.; Anderson, J. L.; Berthod, A.; Armstrong, D. W. *Analytical Chemistry* **2006**, *78* (1), 113-119.
31. Krupcik, J.; Benicka, E.; Majek, P.; Skacani, I.; Sandra, P. *Journal of Chromatography A* **1994**, *665* (1), 175-184.
32. Karimi, B.; Golshani, B. *Synthesis-Stuttgart* **2002**, (6), 784-788.
33. Moldoneanu, S. C.; David, V. Chemical Reactions Used in Derivatization. 18.3. Acetylation reactions. In *Journal of Chromatography Library*, **2002**; pp 569-576.
34. Stork, G.; Takahashi, T.; Kawamoto, I.; Suzuki, T. *Journal of the American Chemical Society* **1978**, *100* (26), 8272-8273.
35. Sevrin, M.; Krief, A. *Tetrahedron Letters* **1980**, *21* (6), 585-586.
36. Phukan, P. *Tetrahedron Letters* **2004**, *45* (24), 4785-4787.
37. Fritz, J. S.; Schenk, G. H. *Analytical Chemistry* **1959**, *31* (11), 1808-1812.
38. Chandra, K. L.; Saravanan, P.; Singh, R. K.; Singh, V. K. *Tetrahedron* **2002**, *58* (7), 1369-1374.
39. Ghanem, A.; Ginatta, C.; Jiang, Z. J.; Schurig, V. *Chromatographia* **2003**, *57*, S275-S281.
40. Orita, A.; Tanahashi, C.; Kakuda, A.; Otera, J. *Angewandte Chemie-International Edition* **2000**, *39* (16), 2877-2879.
41. Nakae, Y.; Kusaki, I.; Sato, T. *Synlett* **2001**, (10), 1584-1586.
42. Segura, J.; Ventura, R.; Jurado, C. *Journal of Chromatography B* **1998**, *713* (1), 61-90.
43. Ramalinga, K.; Vijayalakshmi, P.; Kaimal, T. N. B. *Tetrahedron Letters* **2001**, *43*, 879-882.
44. Ahmed, N.; van Lier, J. E. *Tetrahedron Letters* **2006**, *47* (30), 5345-5349.

45. Dasgupta, A.; Banerjee, P. *Chemistry and Physics of Lipids* **1993**, 65 (3), 217-224.
46. Sheldon, R. A. *Pure and Applied Chemistry* **2000**, 72 (7), 1233-1246.
47. Juvancz, Z.; Grolimund, K.; Schurig, V. *Journal of Microcolumn Separations* **1993**, 5 (5), 459-468.
48. Li, W. Y.; Jin, H. L.; Armstrong, D. W. *Journal of Chromatography* **1990**, 509 (2), 303-324.
49. Maas, B.; Dietrich, A.; Mosandl, A. *Journal of Microcolumn Separations* **1996**, 8 (1), 47-56.
50. Dessoy, M. A.; Moreira, J. D.; Ethur, E. M.; Dessoy, E. C. M.; Morel, A. F. *Hrc-Journal of High Resolution Chromatography* **1999**, 22 (4), 242-244.
51. Meierhenrich, U.; Thiemann, W. H. P.; Rosenbauer, H. *Chirality* **1999**, 11 (7), 575-582.
52. Miranda, E.; Sanchez, F.; Sanz, J.; Jimenez, M. I.; Martinez-Castro, I. *Hrc-Journal of High Resolution Chromatography* **1998**, 21 (4), 225-233.
53. Stalcup, A. M.; Ekborg, K. H.; Gasper, M. P.; Armstrong, D. W. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1993**, 41 (10), 1684-1689.
54. Juvancz, Z.; Kiss, V.; Schindler, J.; Balint, J. *Chromatographia* **2004**, 60, S161-S163.
55. Mendez, J.; Eras, J.; Balcells, M.; Canela, R. *Synthetic Communications* **2006**, 36 (9), 1167-1175.
56. *IUPAC Compendium of Chemical terminology*; 2nd Edition ed.; **1997**.

**CAPÍTOL II.**  
**PREPARACIÓ DE LÍQUIDS IÒNICS**

## 1. INTRODUCCIÓ

### 1.1. DISSOLVENTS RESPECTUOSOS AMB EL MEDI AMBIENT

Els dissolvents tenen un paper fonamental en processos químics i biotecnològics ja que, no només serveixen per a que els diferents reactius entrin en contacte per dissolució, sinó que també afecten a la velocitat de la reacció i a la químic-, regio- i estereoselectiva de les mateixes. A més, també s'utilitzen posteriorment per a l'extracció i purificació dels productes. Els dissolvents més utilitzats són els hidrocarburs (incloent els halogenats i aromàtics), èters i alcohols. Encara que són molt útils i importants per al desenvolupament de reaccions químiques, la majoria d'aquests tenen un impacte negatiu sobre el medi ambient. Algunes propietats intrínseques de la majoria dels dissolvents orgànics són la seva elevada inflamabilitat, volatilitat, perillositat i toxicitat. Cada any milions de tones de dissolvents són alliberades a l'atmosfera per les indústries incrementant la pol·lució de l'aire i contribuint al canvi climàtic global<sup>1</sup>.

Un dissolvent respectuós amb el medi ambient hauria de tenir un punt d'ebullició alt, una baixa pressió de vapor, no ser tòxic, dissoldre un ampli rang de compostos orgànics, ser barat i reciclable. Possibles alternatives als dissolvents orgànics inclouen l'aigua<sup>2</sup>, els fluids supercrítics<sup>3</sup>, els líquids iònics, polímers de baix punt de fusió<sup>4</sup> i dissolvents perfluorats<sup>5</sup>.

### 1.2. ELS LÍQUIDS IÒNICS

Els **líquids iònics (LIs)** són sals amb un baix punt de fusió, per sota dels 100°C, que representen una nova classe de dissolvents iònics, “no-moleculares”, formats només per cations i anions. Alguns LIs són líquids a temperatura ambient i són anomenats **líquids iònics a temperatura ambient (RTIL)**: “room temperature

ionic liquid”). Cada dia augmenta el nombre de LIs, però generalment tots ells estan formats per cations generalment voluminosos tals com sals fosfòriques o amòniques, o compostos heteroaromàtics. Aquestes unitats presenten baixa simetria, interaccions moleculars febles i baixes densitat de càrrega <sup>6</sup>.

La presència de cations orgànics de baixa simetria i càrrega positiva poc localitzada interromp la formació de cristalls, redueix les interaccions coulòmbiques i disminueix el punt de fusió.

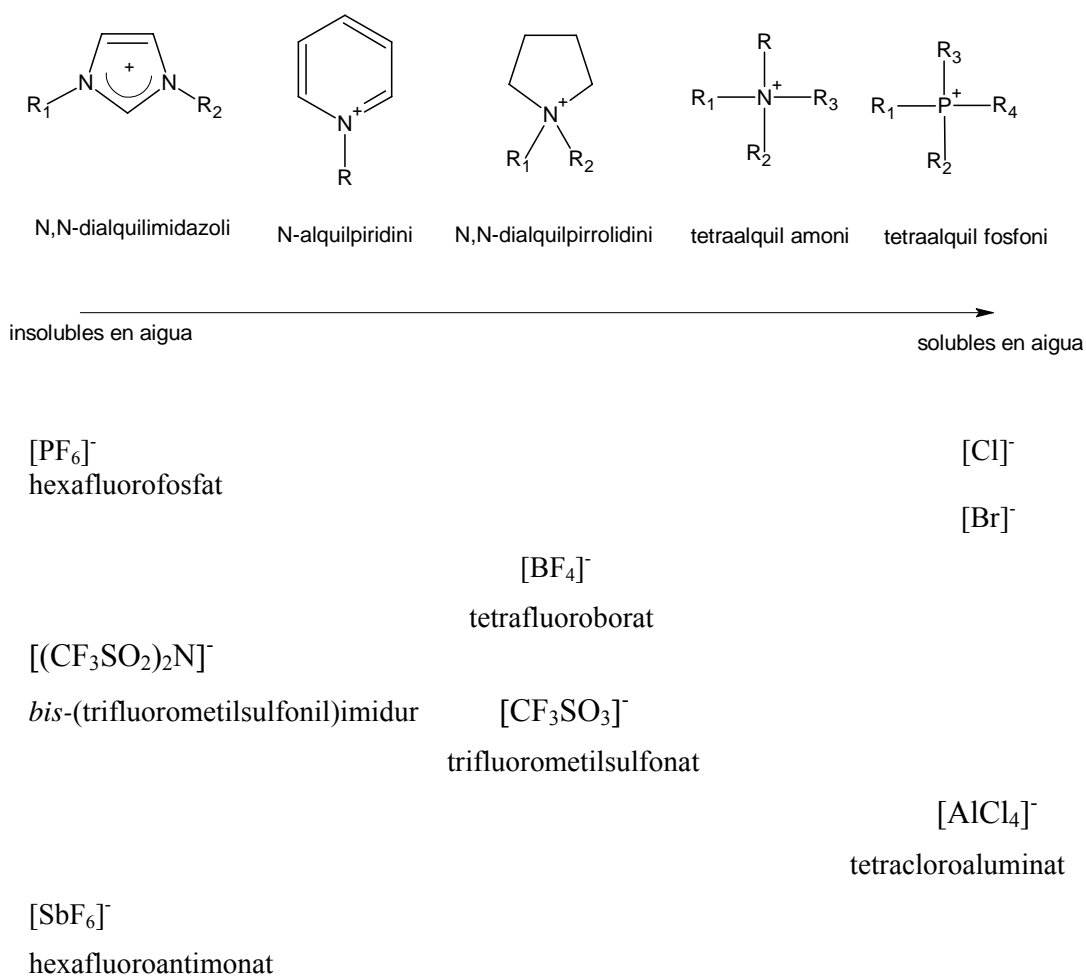
Actualment, els LIs basats en N,N'-dialquilimidazoli tenen un particular interès degut a l'ampli espectre de propietats físico-químiques que presenten. Són preferides les bases amb el catió 1,3-dialquilimidazoli ja que generalment interaccionen feblement amb els anions i són més estables tèrmicament que altres cations d'amoni quaternari<sup>7</sup>.

Pel que fa als anions, típicament són inorgànics com:  $[\text{PF}_6]^-$ ,  $[\text{BF}_4]^-$ ,  $[\text{CF}_3\text{SO}_3]^-$ ,  $[(\text{CF}_3\text{SO}_3)_2\text{N}]^-$ , encara que recentment s'estan introduint anions orgànics com per exemple  $[\text{RCO}_2]^-$ . Les propietats físiques i químiques dels LIs, incloent els punts de fusió, depenen de la natura dels cations i anions els quals els formen<sup>6</sup>. La **Figura 1** mostra alguns dels anions i cations més comuns emprats fins ara per preparar els LIs.

Juntament amb el catió imidazoli, l'anió *bis*-(trifluorometilsulfonil)imidur,  $[\text{N}(\text{Tf})_2]^-$ , és el més preferit degut a que la forta deslocalització de la càrrega negativa que presenta fa que l'anió probablement s'associï menys amb el catió i llavors es pot obtenir una disminució més gran del punt de fusió<sup>7</sup>.



**Cations i anions comuns:**



**Figura 1.** Cations i anions més comuns per a preparar líquids iònics.

### 1.2.1. PROPIETATS FÍSICO-QUÍMIQUES DELS LÍQUIDS IÒNICS

Les propietats físico-químiques dels LIs els fan molt atractius com a potencials dissolvents, entre elles destaquen<sup>7</sup>:

- Les seves pressions de vapor són molt baixes en condicions ambientals essent per tant una bona alternativa als dissolvents orgànics volàtils
- Tenen una gran estabilitat tèrmica, les temperatures de descomposició trobades a la literatura són generalment  $>400^{\circ}\text{C}$ <sup>8</sup>.
- Dissolen un ampli espectre de compostos inorgànics, orgànics i materials polimèrics i són immiscibles en un gran nombre de dissolvents orgànics, essent una alternativa polar no-aquosa en sistemes bifàsics
- Com estant formats de dues parts, hi ha una flexibilitat sintètica molt gran que no es possible amb els dissolvents moleculars. Es poden dissenyar LIs per processos i síntesis específics per tal d'optimitzar els rendiments, selectivitats, solubilitat dels substrats i separació de productes.
- La separació dels productes en la indústria i la recuperació i la reutilització del catalitzador és un aspecte molt important i sembla que els LIs tenen un gran potencial per cobrir aquests aspectes. Poden ser separats de productes no-polars per decantació, per què formen una fase líquida de separació i permeten catàlisis bifàsiques, on el catalitzador està dissolt en el LI i el producte va a la part orgànica i pot ser decantat al final per a la seva recuperació. Després el LI amb el catalitzador dissolt està ja llest per ser reutilitzat .
- Els LIs són reciclables i s'estan investigant noves metodologies per millorar aquest potencial de reciclatge<sup>9</sup>. Quan els productes són volàtils,

aquests poden ser destil·lats del LI. No obstant si els productes no són volàtils, s'ha d'utilitzar un sistema bifàsic amb un altre dissolvent, normalment convencional, que pot ser molt efectiu però fa perdre l'objectiu ambiental d'utilització d'un LI. Hi ha una alternativa recent que sembla ser prometedora que és l'ús de CO<sub>2</sub> com a segona fase per la recuperació del producte del LI, reduint així els residus de dissolvent<sup>10</sup>.

No obstant, algunes de les seves propietats presenten certs desavantatges com:

- Són cars en comparació amb els dissolvents orgànics, no obstant aquests es poden reciclar.
- No hi ha dades de toxicitat, encara que per la seva constitució i propietats sembla poc probable que siguin tòxics. Fins a la data no s'han realitzat gaires estudis de toxicitat i a més es coneix molt poc sobre els efectes a llarg termini del seu ús. Recentment un estudi de la biodegradabilitat d'alguns LIs dialquilimidazolis comuns ha mostrat que cap dels LIs testats es pot classificar com a vertaderament biodegradables i no-tòxic<sup>11</sup>.

Una altra propietat particularment interessant és la **miscibilitat dels LIs amb l'aigua**. Tots els LIs descrits fins ara són higroscòpics. Alguns es barregen amb l'aigua amb qualsevol proporció, mentre que d'altres es saturen i després formen dues capes amb l'aigua. Aquest comportament està principalment controlat per l'anió del LI, degut a que depèn dels ponts d'hidrogen forts que es poden formar entre l'aigua i l'anió<sup>12</sup>. La solubilitat pot ser manipulada amb l'addició de cadenes curtes d'alcohols<sup>13</sup> al sistema bifàsic per incrementar la barreja, o

l'addició de sals per a separar LI miscibles amb aigua<sup>14</sup>. Els LIs  $[C_nMIM][BF_4]$  són casos atípics, on la miscibilitat amb l'aigua es pot controlar tèrmicament<sup>15</sup>.

Les característiques claus d'un líquid per a ser utilitzat com a dissolvent són aquelles que determinen com interacciona amb els soluts potencials. Per als dissolvents moleculars, la més utilitzada és la polaritat del líquid pur, expressada a través de la seva constant dielèctrica. No obstant, no es possible mesurar la constant dielèctrica d'un LI directament degut a l'alta conductivitat d'aquest<sup>7</sup>, per això, l'habilitat dels LIs per interaccionar amb els soluts s'està investigant mitjançant **mesures empíriques** derivades de les seves propietats, amb mesures solvatocròmiques, ús de tints solvatocròmics i mesura de les seves absorcions o emissions. Aquestes mesures empíriques es poden relacionar amb la polaritat<sup>8,16-18</sup>.

Els LIs interactuen amb el solut a través de diferents forces intermoleculars entres les quals hi ha les forces ió-íó, també anomenades coulòmbiques, forces de dispersió i forces de pont d'hidrogen. Els LIs es caracteritzen per tenir elevades **forces dipolars ( $\pi^*$ )** i de dispersió i a més actuen formant ponts d'hidrogen molt forts. Les forces dipolars i la **força dels ponts d'hidrogen** varien per a cada LI, mentre que les forces de dispersió són pràcticament constants per a tots els LIs. Mentre l'anió domina la interacció amb els protons a través del **pont d'hidrogen ( $\beta$ )**, és principalment el catió, qui té incidència sobre la interacció amb àtoms electronegatius a través del **pont d'hidrogen ( $\alpha$ )**, encara que aquesta interacció també està influenciada per l'anió. Les forces dipolars ( $\pi^*$ ) depenen del catió i l'anió<sup>6,18,19</sup>.

Les fortes interaccions ió-ió que presenten els LIs porten a un alt ordre de xarxes polimèriques supermoleculares tridimensionals dels anions i cations lligades pels ponts d'hidrogen i/o interaccions coulòmbiques, produint un entorn completament diferent als dissolvents moleculars. Així, els LIs presenten propietats físico-químiques com viscositats elevades, densitats més grans que l'aigua, elevats valors de pressió de cohesió i un alt grau d'ordre, que poden afectar a la reactivitat dels soluts. La **viscositat** dels LIs és normalment més alta que l'aigua, similar als olis, i disminueix amb l'increment de la temperatura. Una viscositat alta pot produir una reducció de la velocitat de la reacció en moltes reaccions orgàniques i una reducció de la velocitat de difusió en les espècies redox<sup>8</sup>. Els alts valors de pressió de cohesió, mostren que és necessària més energia per crear un “forat” en els LIs, a més d'acomodar un solut o permetre que tots els components puguin trobar-se per tal de reaccionar. Ara bé, la formació del complex activat pot anar acompanyada per una desestructuració de tot el sistema, amb la conseqüent davallada de l'activació entròpica<sup>19</sup>.

### 1.2.2. IMPORTÀNCIA DE LA PURESA DELS LÍQUIDS IÒNICS

Les propietats físiques i químiques dels LIs es poden alterar per la presència d'impureses procedents de la seva preparació, essent per tant, la purificació dels LIs essencial, no només per evitar les possibles interaccions entre els reactius i les impureses sinó també per evitar el canvi de la naturalesa del dissolvent. Els principals contaminants són els anions halur i bases orgàniques, que provenen del material inicial sense reaccionar, i l'aigua. Moltes vegades la pureza dels LIs no es té en compte, especialment a nivell de contaminació per traces. Un exemple són les diferents dades publicades respecte als punts de fusió d'un mateix LI, el tetrafluoroborat d'1-etil-3-metilimidazoli, [EMIM][BF<sub>4</sub>]: 12°C, 5,8°C, de 12,0°C a 12,5°C, 11°C i 14,6°C<sup>20</sup>. La diferència entre els punts de fusió

demostra que les propietats físiques depenen fortament de la puresa d'aquests i que els resultats catalítics d'aquests no poden ser comparables. Seddon i col. han realitzat un estudi per RMN de  $^1\text{H}$  sobre com afecten els nivells d'impuresa en la viscositat, densitat i desplaçament químic d'un LI<sup>20</sup>.

La total eliminació de l'aigua pot ser molt difícil degut a l'existència d'interaccions per pont d'hidrogen entre el LI i les molècules d'aigua. Com a conseqüència, les propietats químiques dels LIs poden ser modificades i la densitat i viscositat es pot reduir. A més a més, la presència de traces d'aigua pot també reaccionar amb els constituents dels RTILs basats en els anions  $[\text{PF}_6]^-$  i  $[\text{BF}_4]^-$  provocant una descomposició d'aquests anions amb la producció de HF resultant d'una hidròlisi lenta del  $[\text{PF}_6]^-$  i  $[\text{BF}_4]^-$ <sup>21</sup>.

Un altre problema que limita l'ús dels LIs en aplicacions espectroscòpiques, com RMN, espectrometria de masses, HPLC i cromatografia iònica<sup>22</sup>, és la presència de **colors grogosos o marronosos**. Recentment, s'ha comparat l'efecte de diversos mètodes de purificació per a la transparència dels LIs<sup>22,23</sup>.

Encara que la purificació dels LIs sembla llarga, és útil portar-la a terme ja que la majoria dels LIs tenen una elevada estabilitat i, per tant, es poden emmagatzemar sense descomposició durant llargs períodes. No obstant són higroscòpics i necessiten ser assecats just abans de la seva utilització.

### 1.2.3. APLICACIONS DELS LÍQUIDS IÒNICS

Hi ha nombroses aplicacions descrites per als LIs en diferents camps com la síntesi orgànica, en biotransformacions, en extraccions i en química analítica<sup>24</sup>.

En **síntesi orgànica** els LIs s'estan utilitzant tant com a dissolvents com a catalitzadors, amb l'objectiu principal de desplaçar els dissolvents orgànics moleculars i fer el procés més específic essent d'aquesta manera més respectuosos amb al medi ambient. A més, la capacitat per formar sistemes bifàsics amb l'aigua permet la substitució dels sistemes bifàsics aigua-dissolvent orgànic no requerint en aquest cas cap canvi de modificació del lligant (per donar als catalitzadors la necessària solubilitat en aigua) o canvi de la fase orgànica<sup>25,26</sup>.

Entre l'ampli espectre de reaccions<sup>6,26-33</sup> on s'estan utilitzant els LIs podem destacar les **reaccions d'addició d'hidrogen i de transposició**. Entre aquestes hi ha les que estan catalitzades per metalls de transició com metàtesi d'olefines, hidrogenacions i hidroformilacions (on també poden actuar els LIs com a co-catalitzadors). També s'estan estudiant els LIs en **reaccions d'isomerització i reaccions pericíclicues**. Un altre tipus de reacció són en les que hi ha **trencament d'enllaços C-O** com acilacions i obertures asimètriques d'epòxids, i les **reaccions d'acoblament C-C o C-heteroàtom**. Entre aquestes últimes tindriem les cicloaddicions Diels-Alder, alquilacions, reaccions *Friedel-Crafts*, dimeritzacions d'olefines (on també poden actuar com a co-catalitzadors), reaccions de desplaçament nucleofílic, preparació de compostos heterocíclics, substitucions i reaccions catalitzades per metalls de transició com oligomeritzacions, polimeritzacions, al·lilacions, hidroformilacions, catàlisis amb compostos basats en pal·ladi amb els quals el LI actua com a co-

catalitzador formant un complex amb aquests. També s'estan estudiant en reaccions **redox**. Els LIs estan tenint cada vegada més importància en síntesi **asimètrica**<sup>34</sup>. Així, s'està estudiant l'ús de LIs quirals<sup>34,35</sup> i com a catalitzadors de les reaccions, en diferents substitucions electrofíliques i condensacions<sup>6</sup>.

Els LIs poden ser utilitzats en **biotransformacions**<sup>27,28,34,36-40</sup> ja que nombrosos tipus d'enzims són catalíticament actius en LIs o en sistemes bifàsics aquosos. En aquest cas la puresa dels LIs encara és més important, ja que aquesta pot disminuir dràsticament l'activitat dels enzims. Les lipases, degut a que tenen una alta tolerància en dissolvents orgànics són actualment les més estudiades; no obstant, també s'estan utilitzant com a medi per a proteases, glicosidases i reaccions redox. En general s'ha observat que les activitats enzimàtiques exhibides en LIs, són iguals o més grans que amb dissolvents orgànics i a més a més es millora l'estabilitat de l'enzim i la regio-i enantioselectivitat. Els LIs tenen un gran potencial com a medi de reacció de certes biotransformacions amb substrats molt polars, les quals no es poden dur a terme en aigua degut a limitacions de l'equilibri.

Els LIs s'estan començant a utilitzar en **química analítica**<sup>27,41</sup>, especialment en la separació de compostos. S'utilitzen en la preparació de la mostra, bàsicament extraccions<sup>42,43</sup>. En cromatografia de gasos com a fases estacionàries<sup>44,45</sup> o per dissoldre ciclodextrines<sup>46</sup>. En cromatografia líquida com a fases estacionàries<sup>47</sup> o addició a fases mòbils en baixes concentracions<sup>48</sup> i en electroforesis<sup>41</sup>. També es comencen a utilitzar en detecció com a sensors de vapors orgànics<sup>49</sup> o gasos<sup>50</sup>, en espectroscopia de masses com a part de les matrius MALDI<sup>34,51</sup> (Matrix-assisted laser desorption/ionisation; tècnica suau d'ionització), en UV/Vis i en espectroscòpia Raman com a solució electrolítica<sup>52</sup>.



## 2. SÍNTESI I PURIFICACIÓ DELS LÍQUIDS IÒNICS A TEMPERATURA AMBIENT

La majoria dels líquids iònics a temperatura ambient (RTIL) estant formats per un catió orgànic estèricament voluminos amb baixa simetria associat amb un anió inorgànic o orgànic feblement coordinat. Els anions es poden classificar en dos grups, anions polinuclears (ex.  $[\text{Al}_2\text{Cl}_7]^-$ ,  $[\text{Al}_3\text{Cl}_{10}]^-$ ) i anions mononuclears (ex.  $[\text{BF}_4]^-$ ,  $[\text{PF}_6]^-$ ). La segona classe de LIs dona a LIs estequiomètrics. Normalment s'escull un anió amb una àmplia simetria com  $[\text{BF}_4]^-$ , o bé anions voluminosos com  $[\text{F}_3\text{CSO}_3]^-$ , on la càrrega pot estar localitzada.

El primer pas per a la síntesi de LIs és la **quaternització** i alquilació d'un centre de nitrogen per generar una sal d'halur. Després hi ha dos mètodes generals per a passar de la sal d'halur al LI desitjat. El primer, i més estès en la síntesi de LIs, és la **metàtesi** (intercanvi) de la sal d'halur amb una sal metàl·lica del Grup I o d'amoni de l'anió desitjat. El segon mètode es basa en reaccions de neutralització àcid-base<sup>7,53,54</sup>. Com la majoria dels LIs són higroscòpics, les reaccions per a la seva síntesi s'han de dur a terme sota atmosfera inert.

Com ja s'ha comentat, la puresa dels LIs és essencial ja que aquests no poden ser purificats per destil·lació degut a la seva negligible pressió de vapor, contràriament als dissolvents moleculars. En conseqüència, s'han de produir altament purs.

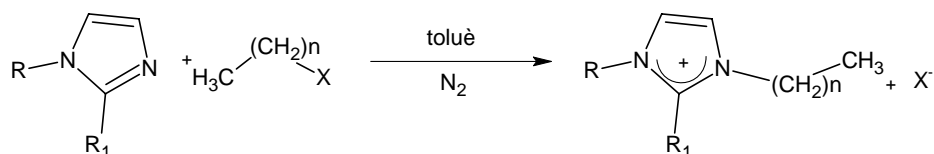
Per a la majoria dels LIs, és possible desenvolupar síntesis que portin a dissolvents lliures de la presència d'halurs. Això, es pot aconseguir rentant el producte amb aigua destil·lada fins que no hi hagin traces d'ions halur detectables amb nitrat de plata ( $\text{AgNO}_3$ )<sup>7,55</sup>.

Ara bé, la impuresa més probable de trobar en grans concentracions en la majoria dels LIs és l'aigua. L'aigua es pot eliminar agitant el LI i escalfant fins 80°C sota condicions de buit durant unes hores<sup>7</sup>.

Per evitar la presència de colors grogosos o marronosos els aspectes claus són la utilització de reactius inicials acabats de destil·lar i processos a baixa temperatura durant la síntesi i assecat. Si sota aquestes precaucions el LI encara té color, és possible fer una purificació d'aquest agitant el LI amb carbó actiu i després fer passar el líquid per una columna amb alumina neutra o àcida<sup>7</sup>. La font de la presència de color en els LIs encara no ha estat identificada tot i les investigacions realitzades en nombrosos laboratoris durant 20 anys. Sembla ser, que les impureses causants del color estan a una concentració molt baixa, probablement de l'ordre de les parts per bilió, tenint aquestes uns coeficients d'extinció molar molt elevats<sup>22</sup>.

## 2.1. PREPARACIÓ GENERAL DE LES SALS D'HALUR D'IMIDAZOLI

Els halurs de N-alquilimidazoli i N,N'-alquilimidazoli es van preparar per alquilació a temperatura moderada (**Figura 2**)



**Figura 2.** Esquema general de la síntesi de les sals d'halur.

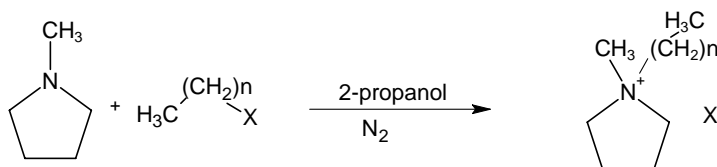
L'alquilació amb bromoalcans va ser lleugerament diferent a la realitzada amb cloroalcans, ja que els bromoalcans reaccionen més ràpidament que els corresponents cloroalcans.

Per tal d'assegurar alts rendiments de reacció i evitar la pèrdua de producte en el procés de purificació, la mescla amb cloroalcans va ser agitada i escalfada a 45°C, equipada amb un refrigerant de reflux, durant 5 dies i la mescla amb bromoalcans va ser agitada a temperatura més baixa, 35°C, també equipada amb un refrigerant de reflux, durant 5 dies. A més, com el bromoalcans són molt reactius, es va addicionar aquest poc a poc a la mescla d'imidazole amb toluè, la qual estava dins un bany de gel. Per tal d'assegurar la total reacció de l'alquilimidazoli es va addicionar un lleuger excés dels haloalcans. La preparació de les sals d'halur van ser realitzades sota atmosfera de N<sub>2</sub>.

L'eliminació dels possibles contaminants procedents dels materials inicials, es va realitzar per recristal·lització de les sals d'halur en acetonitril o èter etílic amb successius rentats amb acetat d'etil per tal d'obtenir un sòlid cristal·lí sense color. Es va addicionar la mateixa quantitat de dissolvents, del dissolvent per dissoldre la sal i del dissolvent per precipitar-la, per facilitar la precipitació del sòlid cristal·lí i evitar pèrdues en el rendiment. Entre cada recristal·lització s'eliminà el dissolvent residual per decantació, filtració i assecat al buit i es continuà recristal·litzant fins que els cristalls fossin completament blancs.

## 2.2. PREPARACIÓ GENERAL DE LES SALS D'HALUR DE PIRROLIDINI

Els halurs de pirrolidini es van preparar de manera similar als halurs d'imidazoli, per alquilació a baixa temperatura (**Figura 3**).



**Figura 3.** Esquema general de la síntesi de les sals d'halur de pirrolidini

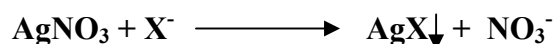
En aquest cas la síntesi es va dur a terme en 2-propanol i la recristal·lització de les sals d'halur es va realitzar a partir del 2-propanol amb successius rentats amb acetat d'etil.

## 2.3. PREPARACIÓ DELS LÍQUIDS IÒNICS A TEMPERATURA AMBIENT: METÀTESI

La preparació dels LIs, amb anió no halur, va ser per metàtesi. La reacció va implicar l'agitació dels precursors halur d'imidazoli i de pirrolidini amb una sal metàl·lica de l'anió desitjat, NaBF<sub>4</sub> o Li(N(Tf)<sub>2</sub>), en diclorometà durant 36 h a temperatura ambient i sota atmosfera de N<sub>2</sub>. Seguidament es va deixar precipitar la sal que no va reaccionar i la solució incolora es va filtrar mitjançant el transvasament amb cànula a un altre baló sota atmosfera de N<sub>2</sub>. La sal que va quedar es va rentar varies vegades amb diclorometà i es va filtrar i transvasar al baló. Les operacions posteriors al transvasament de la solució de diclorometà que conté el producte de la reacció, el LI, no va ser necessari realitzar-les sota atmosfera de N<sub>2</sub>.

## 2.4. PURIFICACIÓ DELS LÍQUIDS IÒNICS

Posteriorment, per tal d'eliminar els possibles residus d'halur, es va dissoldre el LI amb més diclorometà (per tal de reduir la seva viscositat) i es va rentar amb aigua. L'aigua dels rentats es va testar amb  $\text{AgNO}_3$ , **Figura 4**, i es va rentar el LI fins que el test va sortir negatiu (no s'observava precipitació en l'aigua). Com que la solubilitat màxima del  $\text{AgCl}$  a l'aigua és de 1,4 mg/l, el LI final va tenir una concentració de  $\text{X}^- < 1,4$  mg/l, sempre i quan suposem una solubilitat igual o superior de l'ió clorur en aigua que en el líquid iònic.



**Figura 4.** Reacció de l'halogen present en el LI, Cl o Br, amb  $\text{AgNO}_3$

És molt important tenir en compte la naturalesa hidrofòbica o hidrofílica dels LIs en l'eliminació de l'halur. Els LIs hidrofòbics, els que contenen anions  $[\text{N}(\text{Tf})_2]^-$  i  $[\text{PF}_6]^-$ , es van dissoldre amb la quantitat mínima de diclorometà i es van rentar amb grans quantitats d'aigua. No obstant, els LIs hidrofílics,  $[\text{BF}_4]^-$ , es van dissoldre en grans quantitats de diclorometà i es van rentar amb petites alíquotes d'aigua (1-2 ml) per tal de minimitzar la pèrdua del LI per solubilitat amb la fase aquosa.

Tot i tenint cura durant la síntesi dels LIs, de vegades aquests tenen un color grogós o marronós. No hi ha cap evidència que aquestes impureses que donen color al LI afectin a les seves propietats físico-químiques. No obstant, sí que poden interferir quan es realitzen mesures que impliquin absorció o emissió de llum.

Com ja s'ha comentat, el color del LI es pot eliminar agitant amb carbó actiu durant 1 setmana. Tot seguit es filtra a través d'una columna d'alúmina neutra. El tractament amb carbó actiu es realitza les vegades necessàries fins que el LI és completament incolor<sup>22</sup>.

### 3. PART EXPERIMENTAL

#### 3.1. REACTIUS I DISSOLVENTS

L'1-metilimidazole, 1,2-dimetilimidazole i 1-metilpirrolidina van ser subministrats per Avocado i destil·lats en presència d'hidròxid potàssic (80°C) a pressió reduïda. El 2-propanol, l'1-clorobutà i l'1-bromohexà van ser subministrats per Lancaster. El 2-propanol va ser destil·lat en presència d'hidrur de calci sota atmosfera de N<sub>2</sub> amb reflux durant 1 hora. Els haloalcans van ser destil·lats en presència de pentòxid de fòsfor sota atmosfera de N<sub>2</sub> amb reflux durant 1 hora. El tetrafluoroborat de sodi (NaBF<sub>4</sub>) va ser subministrat per Lancaster i el *bis*(trifluorometàsulfonyl)imidur de liti per Fluka.

Els dissolvents utilitzats van ser purificant per destil·lació a partir d'agents dessecants estàndards: toluè (amb Na), èter dietílic, acetat d'etil (hidrur de calci, H<sub>2</sub>Ca), diclorometà i acetonitril.

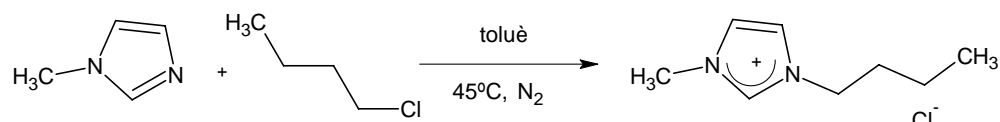
L'alúmina neutra, Brockman I STD grade 150 mesh, i el carbó actiu van ser subministrats per Aldrich.

### 3.2. MATERIAL

Tot el material utilitzat es va assecar abans en una estufa a 100°C un mínim d'una hora o bé va ser sotmès a buit durant 24 h. A més, abans d'addicionar els productes de reacció prèviament destil·lats, es va desplaçar l'aire de tots els balons i matrassos amb N<sub>2</sub>.

### 3.3. SÍNTESI DE LES SALS D'HALUR

#### 3.3.1. Síntesi del clorur d'1-butil-3-metilimidazoli, [BMIM][Cl]



**Figura 5.** Síntesi del clorur d'1-butil-3-metilimidazoli

En un matràs rodó de dues boques, situat dins d'un bany de gel, el qual contenia l'1-metilimidazole (100 ml, 1,25 mols) en toluè (75 ml) agitant-se amb imant, es va addicionar lentament l'1-clorobutà (150 ml, 14,4 mols). La mescla es va deixar agitant durant 5 dies en un bany d'oli a 45°C, sota atmosfera de N<sub>2</sub> i equipat amb un refrigerant de reflux. A partir d'ara totes les operacions van ser realitzades sota atmosfera de N<sub>2</sub>.

La corresponent mescla es va deixar decantar. El toluè s'eliminà mitjançant decantació i filtració i la fase que va quedar es va evaporar al buit per eliminar les restes de toluè i cristal·litzar la sal.

A continuació, es va procedir a la seva purificació dissolent la sal amb el mínim d'acetonitril (20 ml) i seguidament addicionant el mateix volum d'acetat d'etil

(20 ml) per a recristal·litzar. Es va deixar recristal·litzar a  $-20^{\circ}\text{C}$  durant 12 h. Una vegada cristal·litzat es va separar la part orgànica per decantació, filtració i assecat al buit. Aquesta operació es va repetir fins que el producte dissolt amb acetonitril va ser completament transparent i els cristalls foren completament blancs. Totes les operacions es van realitzar sempre sota atmosfera de  $\text{N}_2$ .

Es van obtenir 185 g, 1,06 mols. El rendiment va ser del 85%.

$^1\text{H}$  NMR (270 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  ppm 0,83 (t,  $J=7,3$ , 3 H) 1.19 (sextuplet,  $J = 7,3$  Hz, 2 H) 1.74 (quintuplet,  $J = 7,4$  Hz, 2 H) 3.94 (s, 3 H) 3.90 (s, 3 H) 4,23 (t,  $J = 7,1$  Hz, 2H) 7,92 (s, 1H) 9,80 (s, 1 H)

$^{13}\text{C}$  NMR (68 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  ppm 13,15 (1C,  $\text{CH}_3$ ) 18,63 (1C,  $\text{CH}_2$ ) 31,33 (1C,  $\text{CH}_2$ ) 35,57 (1C,  $\text{CH}_3$ ) 48,20 (1C,  $\text{CH}_2$ ) 122,20 (1C, CH) 123,42 (1C, CH) 136,76 (1C, CH)

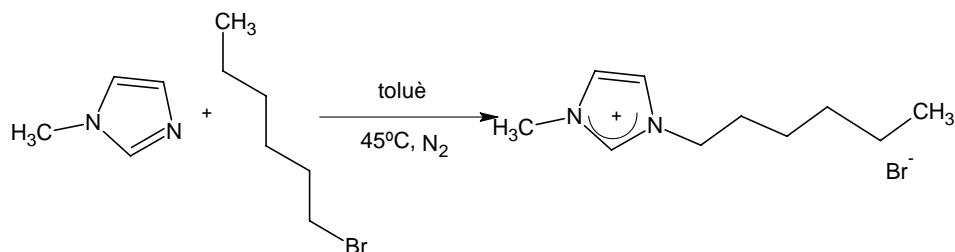
$m/z$  FAB+ MS: 313,  $[(\text{bmim})_2\text{Cl}]^+$ , 20 %; 139,  $[\text{bmim}]^+$ , 100 %.

$m/z$  FAB- MS: 383,  $[(\text{bmim})_2\text{Cl}_3]^-$ , 20 %; 209,  $[(\text{bmim})\text{Cl}_2]^-$ , 100 %; 35,  $[\text{Cl}]^-$ , 50 %.

Anàlisi elemental: teòric: H 8,66 %, C 55,01%, N 16,04%; obtingut: H 8,74%, C 55,14%, N 15,72%.



### 3.3.2. Síntesi del bromur d'1-hexil-3-metilimidazoli, [HMIM][Br]



**Figura 6.** Síntesi del bromur d'1-hexil-3-metilimidazoli.

En un matràs rodó de dues boques, situat dins d'un bany de gel, el qual contenia 1-metilimidazole (100 ml, 1,25 mols) en toluè (75 ml) agitant-se amb imant, es va addicionar lentament l'1-bromohexà (203 ml, 1,44 mols). La corresponent mescla es va deixar agitant durant 5 dies a 35°C en un bany d'oli, amb atmosfera de nitrogen i equipat amb un refrigerant de reflux. A continuació els passos van ser els mateixos que pel [BMIM][Cl]. En aquest cas els rentats es van dur a terme amb èter etílic (20 ml)/ acetat d'etil (20 ml).

Es van obtenir 279 g de cristalls, essent el rendiment del 90%.

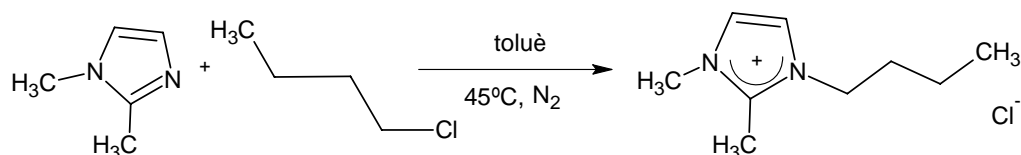
<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm 0,58 (t, *J*=7,0, 3 H) 1,02 (m, 6 H) 1,64 (m, 2 H) 3,87 (s, 3 H) 4,07 (t, *J* = 7,4 Hz, 2 H) 7,37 (s, 1H) 7,53 (s, 1H) 10,0 (s, 1 H)

<sup>13</sup>C NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm 13,72 (1C, CH<sub>3</sub>) 22,10 (1C, CH<sub>2</sub>) 25,58 (1C, CH<sub>2</sub>) 30,30 (1C, CH<sub>2</sub>) 30,80 (1C, CH<sub>2</sub>) 36,43 (1C, CH<sub>3</sub>) 49,76 (1C, CH<sub>2</sub>) 122,08 (1C, CH) 123,73 (1C, CH) 136,74(1C, CH)

*m/z* FAB+ MS: 413, [(hmim)<sub>2</sub>Br]<sup>+</sup>, 45 %; 167, [hmim]<sup>+</sup>, 100 %.

*m/z* FAB- MS: 138, [Br<sub>2</sub>]<sup>-</sup>, 2 %; 81, [Br]<sup>-</sup>, 85 %; 79, [Br]<sup>-</sup>, 100 %.

Anàlisi elemental: teòric: H 7,73%, C 48,75%, N 11,22%; obtingut: H 7,75%, C 48,62%, N 11,34%.

3.3.3. Síntesi de la sal d'1-butil-2,3-dimetilimidazoli, [BM<sub>2</sub>IM][Cl]

**Figura 7.** Síntesi del clorur d'1-butil-2,3-dimetilimidazoli

En un matràs rodó de dues boques, situat dins d'un bany de gel, el qual contenia l'1,2-dimetilimidazole (66 ml, 0,85 mols) en toluè (100 ml) agitant-se amb imant, es va addicionar lentament l'1-clorobutà (95 ml, 0,97 mols). La corresponent mescla es va deixar agitant durant 5 dies a 45°C en un bany d'oli sota atmosfera de nitrogen i equipat amb un refrigerant de reflux. La metodologia posterior, cristal·lització i recristal·lització, és la mateixa que pel [BMIM][Cl].

Es van obtenir 120 g de cristalls, essent el rendiment del 84%.

<sup>1</sup>H NMR (270 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 0.88 (t, *J*=7.3, 3 H) 1.28 (sextuplet, *J* = 7.5 Hz, 2 H) 1.74 (quintuplet, *J* = 7.4 Hz, 2 H) 2.60 (s, 3 H) 3.73 (s, 3 H) 4.12 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H) 7.53 (s, 1H) 7.78 (s, 1 H)

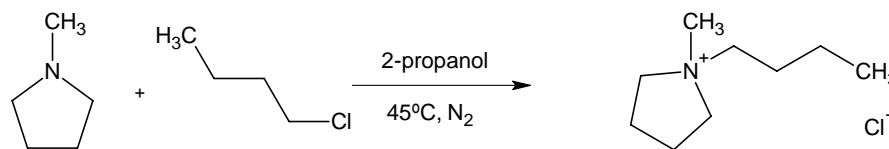
<sup>13</sup>C NMR (68 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 8.90 (1C, CH<sub>3</sub>) 13.15 (1C, CH<sub>3</sub>) 18.88 (1C, CH<sub>2</sub>) 31.19 (1C, CH<sub>2</sub>) 34.50 (1C, CH<sub>3</sub>) 47.37 (1C, CH<sub>2</sub>) 120.76 (1C, CH) 122.21 (1C, CH) 144.36 (1C, CH)

*m/z* (FAB+): 342 ([*(bm*<sub>2</sub>*im)*<sub>2</sub>Cl]<sup>+</sup>, 41 %), 153 ([*bm*<sub>2</sub>*im*]<sup>+</sup>, 100 %).

*m/z* (FAB-): 223 ([*(bm*<sub>2</sub>*im)*Cl<sub>2</sub>]<sup>-</sup>, 100 %), 35 ([Cl]<sup>-</sup>, 40 %).

Anàlisi Elemental: teòric: H 9,08%, C 57,29%, N 14,85%; obtingut: H 9,26%, C 57,28%, N 14,72%.

### 3.3.4. Síntesi de la sal d'1-butil-1-metilpirrolidini, [BMPy][Cl]



**Figura 8.** Síntesi del clorur d'1-butil-1-metilpirrolidini

En un matràs rodó de dues boques, situat dins d'un bany de gel, el qual contenia 1-metilpirrolidina (100 ml, 0,94 mols) en 2-propanol (100 ml) agitant-se amb imant, es va addicionar lentament l'1-clorobutà (111 ml, 1,00 mol). La corresponent mescla es va deixar agitant durant 5 dies a 45°C en un bany d'oli, amb atmosfera de nitrogen i equipat amb un refrigerant de reflux. A continuació els passos van ser els mateixos que pel [BMIM][Cl]. En aquest cas els rentats es van dur a terme amb 2-propanol (20 ml)/ acetat d'etil (20 ml).

Es van obtenir 151 g de cristalls essent el rendiment del 92%.

<sup>1</sup>H NMR (270 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 0,91 (t, *J*=7,3, 3 H) 1,29 (sextuplet, *J* = 7,3 Hz, 2 H) 1,66 (m Hz, 2 H) 2,06 (m, 4H) 3,02 (s, 3 H) 3,69-3,40 (m, 6H)

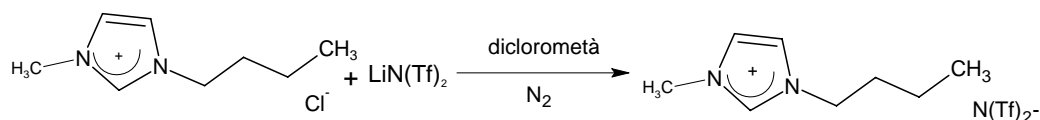
<sup>13</sup>C NMR (68 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 13,39 (1C, CH<sub>3</sub>) 19,19 (1C, CH<sub>2</sub>) 20,82 (2C, CH<sub>2</sub>) 24,85 (1C, CH<sub>2</sub>) 46,97 (1C, CH<sub>3</sub>) 62,11 (1C, CH<sub>2</sub>) 62,83 (2C, CH<sub>2</sub>)

*m/z* (FAB+) MS: 319 ([bmpy]<sub>2</sub>Cl<sup>+</sup>, 15%); 142 ([bmpy]<sup>+</sup>, 100 %),  
*m/z* (FAB-) MS: 212 ([bmpy]Cl<sub>2</sub>)<sup>-</sup>, 100%); 37 ([<sup>37</sup>Cl]<sup>-</sup>, 34%); 35 ([<sup>35</sup>Cl]<sup>-</sup>, 40%).

Anàlisi elemental: teòric: H 11,34%, C 60,83%, N 7,88%; obtingut: H 11,44%, C 60,62%, N 7,92%,

### 3.4. SÍNTESI DELS LIQUIDS IÒNICS

#### 3.4.1. Síntesi del *bis*-(trifluorometilsulfonyl)imidur d'1-butil-3-metilimidazoli, [BMIM][N(Tf)<sub>2</sub>]



**Figura 9.** Síntesi del *bis*-(trifluorometilsulfonyl)imidur d'1-butil-3-metilimidazoli.

En un matràs rodó de dues boques, el qual contenia [BMIM][Cl] (10,9 g, 0,1 mols) es va addicionar *bis*-(trifluorometilsulfonyl)imidur de liti (19,4 g ml, 0,11 mols). El *bis*-(trifluorometilsulfonyl)imidur de liti es va manipular i pesar dintre una cabina d'atmosfera inert (*dry box*). Posteriorment, es van addicionar 50 ml de diclorometà i es va deixar agitant la mescla a temperatura ambient durant 36 h. El producte format es va decantar del dissolvent mitjançant filtració amb cànula. Una vegada filtrat es va dissoldre amb diclorometà (per disminuir la seva viscositat, 50 ml) i es van fer rentats amb petites quantitats d'aigua (2 ml) per eliminar el LiCl sobrant. Per comprovar la total eliminació del clorur de liti es va anar determinant el nivell de clor a l'aigua de rentat amb addició de AgNO<sub>3</sub> concentrat. Es van fer els rentats necessaris fins no observar precipitats de AgCl i després es van rentar dues vegades més amb aigua per assegurar la total eliminació del clor. Una vegada lliure d'halogen, es va eliminar el diclorometà al buit i es va deixar agitant durant 1 setmana amb carbó actiu. Després es va filtrar amb una columna d'alúmina neutra. Finalment es va assecar al buit a 80°C, durant 12 h.

Es van obtenir 23 g de LI. El rendiment va ser del 90%.

$^1\text{H}$  NMR (270 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  ppm 0,91 (t,  $J=7,3$ , 3 H) 1,28 (sextuplet,  $J = 7,4$  Hz, 2 H) 1,79 (quintuplet,  $J = 7,3$  Hz, 2 H) 3,86 (s, 3 H) 4,17 (t,  $J = 7,2$  Hz, 2H) 7,70 (s, 1H) 7,70 (s, 1 H) 9,08 (s, 1H)

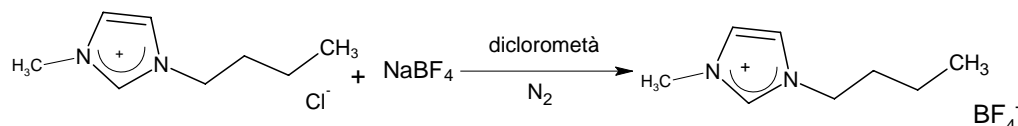
$^{13}\text{C}$  NMR (68 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  ppm 12,93 (1C,  $\text{CH}_3$ ) 18,75 (1C,  $\text{CH}_2$ ) 31,38 (1C,  $\text{CH}_2$ ) 35,60 (1C,  $\text{CH}_3$ ) 48,67 (1C,  $\text{CH}_2$ ) 119,57 (q,  $^1J_{^{13}\text{C}-^{19}\text{F}} = 321,8$  Hz, 2C) 122,21 (1C, CH) 126,68 (1C, CH) 136,54 (1C, CH)

$m/z$  (FAB+) MS: 558,  $[(\text{bmim})_2(\text{N}(\text{Tf})_2)]^+$ , 1 %; 139,  $[(\text{bmim})]^+$ , 100%

$m/z$  (FAB-) MS: 699,  $[(\text{bmim})(\text{N}(\text{Tf})_2)_2]^-$ , 8 %; 280,  $[\text{N}(\text{Tf})_2]^-$ , 92%

Anàlisi elemental: teòric: H 3,61%, C 28,60%, N 10,02%; obtingut: H 3,49%, C 28,65%, N 9,85%

### 3.4.2. Síntesi del tetrafluoroborat d'1-butil-3-metilimidazoli, [BMIM][BF<sub>4</sub>]



**Figura 10.** Síntesi del tetrafluoroborat d'1-butil-3-metilimidazoli

En un matràs rodó de dues boques, el qual contenia [BMIM][Cl] (15,8 g, 0,18 mols) es va addicionar tetrafluororat de sodi (21,96 g, 0,20 mol). El  $\text{NaBF}_4$  es va manipular i pesar dintre una cabina d'atmosfera inert. Posteriorment, es van addicionar 50 ml de diclorometà i es va deixar agitant la mescla a temperatura ambient durant 36 h. El producte format es va decantar del dissolvent mitjançant filtració amb cànula. Una vegada filtrat es va dissoldre amb diclorometà per disminuir la seva viscositat (50 ml) i es van fer rentats amb petites quantitats

d'aigua (2 ml) per eliminar el NaCl sobrant. Per comprovar la total eliminació del clorur de sodi es va anar determinant el nivell de clor a l'aigua de rentat amb addició de AgNO<sub>3</sub> concentrat. Es van fer els rentats necessaris fins no observar precipitats de AgCl i després es van rentar dues vegades més amb aigua per assegurar la total eliminació del clor. Una vegada lliure d'halogen, es va eliminar el diclorometà al buit i es va deixar agitant durant 1 setmana amb carbó actiu. Després es va filtrar amb una columna d'alúmina neutra. Finalment es va assecar al buit a 80°C, durant 12 hores.

Es van obtenir 37,43 g de LI. El rendiment va ser del 92%.

<sup>1</sup>H NMR (270 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 0,88 (t, *J*=7,3, 3 H) 1,26 (sextuplet, *J* = 7,4 Hz, 2 H) 1,77 (quintuplet, *J* = 7,3 Hz, 2 H) 3,85 (s, 3 H) 4,16 (t, *J* = 7,2 Hz, 2H) 7,61 (s, 1H) 7,68 (s, 1 H) 8,96 (s, 1H)

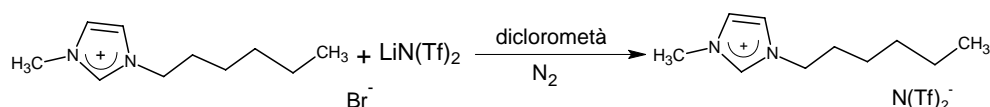
<sup>13</sup>C NMR (68 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 13,16 (1C, CH<sub>3</sub>) 18,83 (1C, CH<sub>2</sub>) 31,43 (1C, CH<sub>2</sub>) 35,66 (1C, CH<sub>3</sub>) 48,68 (1C, CH<sub>2</sub>) 122,26 (1C, CH) 136,52 (1C, CH) 136,54 (1C, CH)

*m/z* (FAB+) MS: 365, [(bmim)(BF<sub>4</sub>)]<sup>+</sup>, 12 %; 139, [(bmim)]<sup>+</sup>, 100 %

*m/z* (FAB-) MS: 313, [(bmim)(BF<sub>4</sub>)<sub>2</sub>]<sup>-</sup>, 8 %; 87, [BF<sub>4</sub>]<sup>-</sup>, 92 %; 19, F<sup>-</sup>, 100%

Anàlisi elemental: teòric: H 6,79%, C 42,51%, N 12,39%; obtingut: H 6,71%, C 42,45%, N 12,26%.

### 3.4.3. Síntesi del *bis*-(trifluorometilsulfonyl)imidur d'1-hexil-3-metilimidazoli, [HMIM][N(Tf)<sub>2</sub>]



**Figura 11.** Síntesi del *bis*-(trifluorometilsulfonyl)imidur d'1-hexil-3-metilimidazoli

La metodologia seguida va ser la mateixa que per la síntesi de [BMIM][N(Tf)<sub>2</sub>]. En aquest cas, en un matràs rodó de dues boques, el qual contenia [HMIM][Br] (141 g, 0,57 mols) es va addicionar la imida de liti *bis*-(trifluorometilsulfonyl) (224 g, 0,80 mols) i 75 ml de diclorometà. Aquesta vegada l'halogen a eliminar va ser el Br, NaBr.

Es van obtenir 230 g de LI. El rendiment va ser del 90%.

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CHLOROFORM-*d*) δ ppm 0,88 (t, *J*=6,90, 3 H) 1,25 - 1,39 (m, 6 H) 1,80 - 1,91 (m, 2 H) 3,94 (s, 3 H) 4,15 (t, *J*=7,69, 2 H) 7,28 (t, *J*=1,59 Hz, 1 H) 7,29 (t, *J*=1,59 Hz, 1 H) 8,76 (s, 1 H)

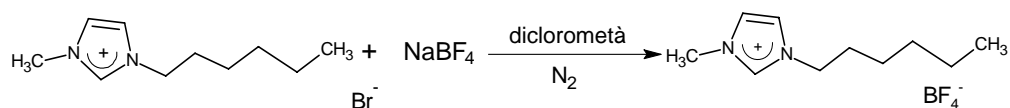
<sup>13</sup>C NMR (MHz, CHLOROFORM-D) δ ppm 14,02 (1C, CH<sub>3</sub>) 22,49 (1C, CH<sub>2</sub>) 25,95 (1C, CH<sub>2</sub>) 30,22 (1C, CH<sub>2</sub>) 31,14 (1C, CH<sub>2</sub>) 36,58 (1C, CH<sub>3</sub>) 50,45 (1C, CH<sub>2</sub>) 118,41 (q, <sup>1</sup>*J*<sub>13C-19F</sub> = 321,40 Hz, 2C) 122,37 (1C, CH) 123,86 (1C, CH) 136,35 (1C, CH)

*m/z* (FAB+) MS: 614, [(hmim)<sub>2</sub>N(Tf)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 14 %; 167, [(hmim)]<sup>+</sup>, 100 %

*m/z* (FAB-) MS: 280, [N(Tf)<sub>2</sub>]<sup>-</sup>, 100 %.

Anàlisi elemental: teòric: H 4,23%, C 32,27%, N 9,32%; obtingut: H 4,28%, C 32,22%, N 9,39%

### 3.4.4. Síntesi del tetrafluoroborat d'1-hexil-3-metilimidazoli, [HMIM][BF<sub>4</sub>]



**Figura 12.** Síntesi del tetrafluoroborat d'1-hexil-3-metilimidazoli

En un matràs rodó de dues boques, el qual contenia [HMIM][Br] (138 g, 0,56 mols) es va addicionar tetrafluoroborat de sodi (76,1 g, 0,70 mols) i 100 ml de diclorometà. La metodologia va ser la mateixa que per [BMIM][BF<sub>4</sub>]. Aquesta vegada l'halogen a eliminar va ser el Br, NaBr.

Es van obtenir 132 g de LI. El rendiment va ser del 93%.

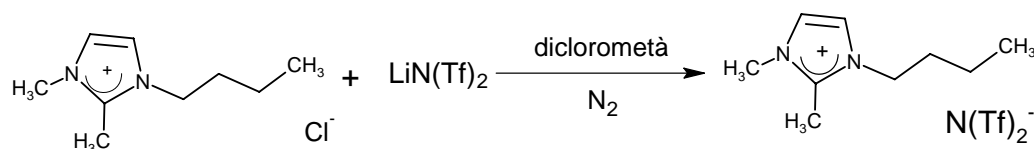
<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CHLOROFORM-*d*) δ ppm 0,88 (t, *J*=6,90, 3 H) 1,25 - 1,39 (m, 6 H) 1,80 - 1,91 (m, 2 H) 3,94 (s, 3 H) 4,15 (t, *J*=7,69, 2 H) 7,28 (t, *J*=1,59 Hz, 1 H) 7,29 (t, *J*=1,59 Hz, 1 H) 8,76 (s, 1 H)

<sup>13</sup>C NMR (MHz, CHLOROFORM-D) δ ppm 13,80 (1C, CH<sub>3</sub>) 22,52 (1C, CH<sub>2</sub>) 25,85 (1C, CH<sub>2</sub>) 29,96 (1C, CH<sub>2</sub>) 30,74 (1C, CH<sub>2</sub>) 36,66 (1C, CH<sub>3</sub>) 50,42 (1C, CH<sub>2</sub>) 122,54 (1C, CH) 123,70 (1C, CH) 135,96 (1C, CH)

Anàlisi de masses FAB i elemental no realitzat



### 3.4.5. Síntesi del *bis*-(trifluorometilsulfonyl)imidur d'1-butil-2,3-dimetilimidazoli, [BM<sub>2</sub>IM][N(Tf)<sub>2</sub>]



**Figura 13.** Síntesi del *bis*-(trifluorometilsulfonyl)imidur d'1-butil-2,3-dimetil imidazoli

En un matràs rodó de dues boques, el qual contenia [B<sub>2</sub>MIM][Cl] (18,82 g, 1,00 mol) es va addicionar *bis*-(trifluorometilsulfonyl)imidur de liti (31,5 g, 1,10 mols) i 50 ml de diclorometà. La metodologia va ser igual que pel [BMIM][N(Tf)<sub>2</sub>].

Es van obtenir 38,47 g de LI. El rendiment va ser del 89%.

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CHLOROFORM-*d*) δ ppm 0,97 (t, *J*= 7,42, 3 H) 1,32 - 1,43 (m, 2 H) 1,72 - 1,83 (m, 2 H) 2,60 (s, 3 H) 3,81 (s, 3 H) 4,05 (t, *J*= 7,42, 2 H) 7,16 (d, *J*=1,95 Hz, 1 H) 7,20 (d, *J*=1,95 Hz, 1 H)

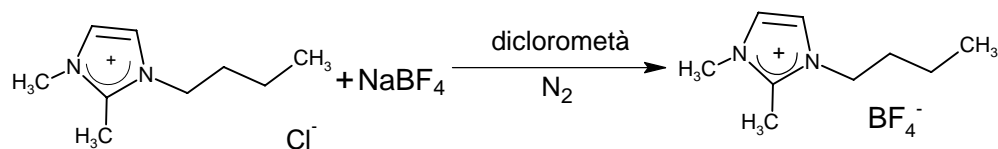
<sup>13</sup>C NMR (MHz, CHLOROFORM-D) δ ppm 9,86 (1C, CH<sub>3</sub>) 13,56 (1C, CH<sub>3</sub>) 19,76 (1C, CH<sub>2</sub>) 32,93 (1C, CH<sub>2</sub>) 35,60 (1C, CH<sub>2</sub>) 48,88 (1C, CH<sub>2</sub>) 119,57 (q, <sup>1</sup>*J*<sub>13C-19F</sub> = 321,6 Hz, 2C) 121,04 (1C, CH) 126,61(1C, CH) 144,17 (s, 1C)

*m/z* (FAB+) MS: 586, [(bm<sub>2</sub>im)<sub>2</sub>(N(Tf)<sub>2</sub>)]<sup>+</sup>, 1 %; 153, [(bm<sub>2</sub>im)]<sup>+</sup>, 100%

*m/z* (FAB-) MS: 280, [N(Tf)<sub>2</sub>]<sup>-</sup>, 100%

Anàlisi elemental: teòric: H 3,95%, C 30,69%, N 9,70%; obtingut: H 4,00%, C 30,52%, N 9,51%

### 3.4.6. Síntesi del tetrafluoroborat d'1-butil-2,3-metilimidazoli, [BM<sub>2</sub>IM][BF<sub>4</sub>]



**Figura 14.** Síntesi del tetrafluoroborat d'1-butil-2,3-dimetilimidazoli

En un matràs rodó de dues boques, el qual contenia [B<sub>2</sub>MIM][Cl] (13,12 g, 0,70 mols) es va addicionar el tetrafluoroborat de sodi (8,4 g, 0,77 mols) i 40 ml de diclorometà. La metodologia va ser igual que pel [BMIM][BF<sub>4</sub>].

Es van obtenir 13,35 g de LI. El rendiment va ser del 80%.

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CHLOROFORM-*d*) δ ppm 0,96 (t, *J*= 7,42, 3 H) 1,31 - 1,43 (m, 2 H) 1,73 - 1,83 (m, 2 H) 2,58 (s, 3 H) 3,75 (s, 3 H) 4,08 (t, *J*= 7,42, 2 H) 7,18 (d, *J*=1,95 Hz, 1 H) 7,21 (d, *J*=1,95 Hz, 1 H)

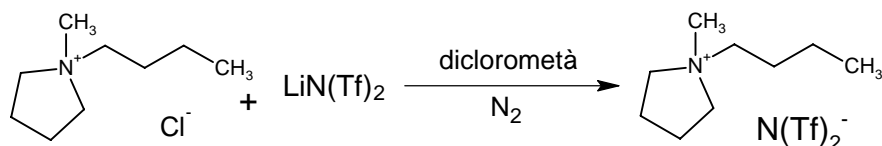
<sup>13</sup>C NMR (MHz, CHLOROFORM-D) δ ppm 9,88 (1C, CH<sub>3</sub>) 13,64 (1C, CH<sub>3</sub>) 19,69 (1C, CH<sub>2</sub>) 32,29 (1C, CH<sub>2</sub>) 35,55 (1C, CH<sub>2</sub>) 50,15 (1C, CH<sub>2</sub>) 122,25 (1C, CH) 126,62 (1C, CH) 144,20 (s, 1C)

*m/z* (FAB+) MS: 393, [(bm<sub>2</sub>im)<sub>2</sub>(BF<sub>4</sub>)]<sup>+</sup>, 1 %; 153, [(bm<sub>2</sub>im)]<sup>+</sup>, 100 %,

*m/z* (FAB-) MS: 87, [BF<sub>4</sub>]<sup>-</sup>, 95 %, 19 [F]<sup>-</sup>, 100%

Anàlisi elemental no realitzat

### 3.4.7. Síntesi del *bis*-(trifluorometilsulfonyl)imidur d'1-butil-1-metilpirrolidini, [BMPy][N(Tf)<sub>2</sub>]



**Figura 15.** Síntesi del *bis*-(trifluorometilsulfonyl)imidur d'1-butil-1-metilpirrolidini

En un matràs rodó de dues boques, el qual contenia [BMPy][Cl] (13,56 g, 0,078 mols) es va addicionar la imida de liti *bis*-(trifluorometilsulfonyl) (24,52 g, 0,085 mols) i 50 ml de diclorometà. La metodologia va ser igual que pel [BMIM][N(Tf)<sub>2</sub>].

Es van obtenir 28,01 g de LI. El rendiment va ser del 85%.

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CHLOROFORM-*d*) δ ppm 0,97 (t, *J*=7,42 Hz, 3 H) 1,33-1,49 (sextuplet, *J*=7,42, 2H) 1,64 - 1,81 (m, 4 H) 3,04 (s, 3 H) 3,27 - 3,35 (m, *J*=8,21, 3,91 Hz, 2 H) 3,39 - 3,60 (m, 4 H)

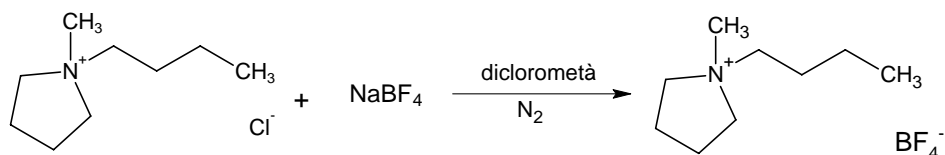
<sup>13</sup>C NMR (MHz, CHLOROFORM-D) δ ppm 13,63 (1C, CH<sub>3</sub>) 19,77 (1C, CH<sub>2</sub>) 21,77 (2C, CH<sub>2</sub>) 25,98 (1C, CH<sub>2</sub>) 48,72 (1C, CH<sub>3</sub>) 64,72 (1C, CH<sub>2</sub>) 64,83 (2C, 1CH<sub>2</sub>) 116,10 (q, <sup>1</sup>*J*<sub>13C-19F</sub> = 321,2 Hz, 2C)

*m/z* (FAB+) MS: 564, [(bmpy) (N(Tf)<sub>2</sub>)]<sup>+</sup>, 1%; 142, [(bmpy)]<sup>+</sup>, 100%

*m/z* (FAB-) MS: 702, [(bmpy)(N(Tf)<sub>2</sub>)]<sup>-</sup>, 5 %; 280, [N(Tf)<sub>2</sub>]<sup>-</sup>, 100%

Anàlisi elemental: teòric: H 4,77%, C 31,28%, N 6,63%; obtingut: H 4,86%, C 31,38%, N 6,51%

### 3.4.8. Síntesi del tetrafluorborat d'1-butil-1metilpirrolidini, [BMPy][BF<sub>4</sub>]



**Figura 16.** Síntesi del tetrafluorborat d'1-butil-1metilpirrolidini

En un matràs rodó de dues boques, el qual contenia [BMPy][Cl] (3,75 g, 0,022 mols) es va addicionar el tetrafluorborat de sodi (2,60 g, 0,023 mols) i 35 ml de diclorometà. La metodologia va ser igual que pel [BMIM][BF<sub>4</sub>].

Es van obtenir 4,08 g de LI. El rendiment va ser del 81%.

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CHLOROFORM-*d*) δ ppm 0,92 (t, *J*=7,42 Hz, 3 H) 1,29 - 1,44 (sextuplet, *J*=7,42, 2H) 1,60 - 1,74 (m, 4 H) 3,01 (s, 3 H) 3,26 - 3,33 (m, *J*=8,60, 3,52 Hz, 2 H) 3,35 - 3,56 (m, 4 H)

<sup>13</sup>C NMR (MHz, CHLOROFORM-D) δ ppm 13,75 (1C, CH<sub>3</sub>) 19,88 (1C, CH<sub>2</sub>) 21,84 (2C, CH<sub>2</sub>) 25,97 (1C, CH<sub>2</sub>) 48,36 (1C, CH<sub>3</sub>) 64,37 (1C, CH<sub>2</sub>) 64,55 (2C, 1CH<sub>2</sub>)

Anàlisi de masses FAB i elemental no realitzat

### 3.5. ALTRES LÍQUIDS IÒNICS

Els següents LIs sintetitzats per Veronica Llopis Mestre<sup>7</sup> també es van provar per la síntesi d'èsters d'halohidridina i per la hidròlisi d'aquests èsters per a la seva transformació a la corresponent halohidrina:

[OMIM][N(Tf)<sub>2</sub>]: *bis*-(trifluorometilsulfonyl)imidur d'1-octil-3-metilimidazoli

[OMIM][BF<sub>4</sub>]: tetrafluoroborat d'1-octil-3-metilimidazoli

[BDIM][BF<sub>4</sub>]: tetrafluoroborat d'1-dodecil-3-butylimidazoli

[B<sub>2</sub>IM][BF<sub>4</sub>]: tetrafluoroborat d'1,3-dibutylimidazoli

[BPy][N(Tf)<sub>2</sub>]: *bis*-(trifluorometilsulfonyl)imidur d'1-butilpiridini

### 3.6. INSTRUMENTACIÓ

#### 3.6.1. RESSONÀNCIA MAGNÈTICA NUCLEAR

Els equips de RMN utilitzats van ser un JEOL 270 i Varian 400 MHz de Imperial College of London i un MERCURYplus AS400 MHz de Varian.

#### 3.6.2. ESPECTROMETRIA DE MASSES

Els espectres de Masses FAB (Fast-Atom Bombardment) van ser enregistrats en un Espectròmetre de Masses VG AutoSpec-Q del Imperial College of London.

#### 3.6.3. ANÀLISI ELEMENTAL

L'anàlisi elemental va ser dut a terme per la Metropolitan University of London.

#### 4. REFERÈNCIES BIBLIOGRÀFIQUES

1. Andrade, C. K. Z.; Alves, L. M. *Current Organic Chemistry* **2005**, 9 (2), 195-218.
2. Lindstrom, U. M. *Chemical Reviews* **2002**, 102 (8), 2751-2771.
3. Nagai, Y.; Matubayasi, N.; Nakahara, M. *Chemistry Letters* **2004**, 33 (5), 622-623.
4. Dickerson, T. J.; Reed, N. N.; Janda, K. D. *Chemical Reviews* **2002**, 102 (10), 3325-3343.
5. Curran, D. P. *Pure and Applied Chemistry* **2000**, 72, 1649-1653.
6. Welton, T. *Coordination Chemistry Reviews* **2004**, 248 (21-24), 2459-2477.
7. Llopis-Mestre, V. Environmental control of chemical reactivity: Diels-Alder Reactions in Ionic Liquids. Thesis/Dissertation Chemistry **2007**.
8. Chiappe, C.; Pieraccini, D. *Journal of Physical Organic Chemistry* **2005**, 18 (4), 275-297.
9. Jeapes, A. J.; Thied, R. C.; Seddon, K. R.; Pitner, W. R.; Rooney, D. W.; Hatter, J. E.; Welton, T. Process for recycling ionic liquids. British Nuclear Fuels Plc. UK.2000-GB3234(2001015175),8. 8-21 2000 WO, **2000**.
10. Blanchard, L. A.; Brennecke, J. F. *Ind. Eng. Chem. Res.* **2001**, 40 (1), 287-292.
11. Garcia, M. T.; Gathergood, N.; Scammells, P. J. *Green Chemistry* **2005**, 7 (1), 9-14.
12. Cammarata, L.; Kazarian, S. G.; Salter, P. A.; Welton, T. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2001**, 3 (23), 5192-5200.
13. Najdanovic-Visak, V.; Esperanca, J. M. S. S.; Rebelo, L. P. N.; da Ponte, M. N.; Guedes, H. J. R.; Seddon, K. R.; Szydłowski, J. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2002**, 4 (10), 1701-1703.

14. Gutowski, K. E.; Broker, G. A.; Willauer, H. D.; Huddleston, J. G.; Swatloski, R. P.; Holbrey, J. D.; Rogers, R. D. *Journal of the American Chemical Society* **2003**, *125* (22), 6632-6633.
15. Dullius, J. E. L.; Suarez, P. A. Z.; Einloft, S.; de Souza, R. F.; Dupont, J.; Fischer, J.; De Cian, A. *Organometallics* **1998**, *17* (5), 815-819.
16. Kamlet, M. J.; Abboud, J. L.; Taft, R. W. *Journal of the American Chemical Society* **1977**, *99* (18), 6027-6038.
17. Kamlet, M. J.; Taft, R. W. *Journal of the American Chemical Society* **1976**, *98* (2), 377-383.
18. Crowhurst, L.; Mawdsley, P. R.; Perez-Arlandis, J. M.; Salter, P. A.; Welton, T. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2003**, *5* (13), 2790-2794.
19. Chiappe, C. *Ionic Liquids in Organic Synthesis: Effects on Rate and Selectivity*. **2007**.
20. Seddon, K. R.; Stark, A.; Torres, M. J. *Pure and Applied Chemistry* **2000**, *72* (12), 2275-2287.
21. Huddleston, J. G.; Visser, A. E.; Reichert, W. M.; Willauer, H. D.; Broker, G. A.; Rogers, R. D. *Green Chemistry* **2001**, *3* (4), 156-164.
22. Earle, M. J.; Gordon, C. M.; Plechkova, N. V.; Seddon, K. R.; Welton, T. *Analytical Chemistry* **2007**, *79* (2), 758-764.
23. Nockemann, P.; Binnemans, K.; Driesen, K. *Chemical Physics Letters* **2005**, *415* (1-3), 131-136.
24. *Ionic Liquids Today*. IOLITEC GmbH & Co. KG: Denzlingen, Germany, **2007**.
25. Wasserscheid, P.; Welton, T. *Ionic Liquids in Synthesis*; VCH-Wiley: Weinheim, **2002**.
26. Zhao, D. B.; Wu, M.; Kou, Y.; Min, E. *Catalysis Today* **2002**, *74* (1-2), 157-189.

27. Jain, N.; Kumar, A.; Chauhan, S.; Chauhan, S. M. S. *Tetrahedron* **2005**, *61* (5), 1015-1060.
28. Zhao, H.; Malhotra, S. V. *Aldrichimica Acta* **2002**, *35* (3), 75-83.
29. Olivier-Bourbigou, H.; Magna, L. *Journal of Molecular Catalysis A-Chemical* **2002**, *182* (1), 419-437.
30. Welton, T. *Chemical Reviews* **1999**, *99* (8), 2071-2083.
31. Gordon, C. M. *Applied Catalysis A-General* **2001**, *222* (1-2), 101-117.
32. Wasserscheid, P.; Keim, W. *Angewandte Chemie-International Edition* **2000**, *39* (21), 3773-3789.
33. Dupont, J.; de Souza, R. F.; Suarez, P. A. Z. *Chemical Reviews* **2002**, *102* (10), 3667-3691.
34. Baudequin, C.; Baudoux, J.; Levillain, J.; Cahard, D.; Gaumont, A. C.; Plaquevent, J. C. *Tetrahedron-Asymmetry* **2003**, *14* (20), 3081-3093.
35. Ding, J.; Armstrong, D. W. *Chirality* **2005**, *17* (5), 281-292.
36. Krieger, N.; Bhatnagar, T.; Baratti, J. C.; Baron, A. M.; de Lima, V. M.; Mitchell, D. *Food Technology and Biotechnology* **2004**, *42* (4), 279-286.
37. Yang, Z.; Pan, W. B. *Enzyme and Microbial Technology* **2005**, *37* (1), 19-28.
38. van Rantwijk, F.; Lau, R. M.; Sheldon, R. A. *Trends in Biotechnology* **2003**, *21* (3), 131-138.
39. Sheldon, R. A.; Lau, R. M.; Sorgedraeger, M. J.; van Rantwijk, F.; Seddon, K. R. *Green Chemistry* **2002**, *4* (2), 147-151.
40. van Rantwijk, F.; Sheldon, R. A. *Chemical Reviews* **2007**, *107* (6), 2757-2785.
41. Liu, J. F.; Jonsson, J. A.; Jiang, G. B. *Trac-Trends in Analytical Chemistry* **2005**, *24* (1), 20-27.



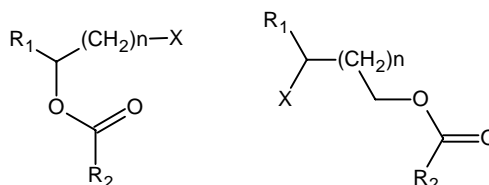
42. Liu, J.; Jiang, G. B.; Chi, Y. G.; Cai, Y. Q.; Zhou, Q. X.; Hu, J. T. *Analytical Chemistry* **2003**, 75 (21), 5870-5876.
43. Huddleston, J. G.; Willauer, H. D.; Swatloski, R. P.; Visser, A. E.; Rogers, R. D. *Chemical Communications* **1998**, (16), 1765-1766.
44. Anderson, J. L.; Armstrong, D. W. *Analytical Chemistry* **2003**, 75 (18), 4851-4858.
45. Armstrong, D. W.; He, L. F.; Liu, Y. S. *Analytical Chemistry* **1999**, 71 (17), 3873-3876.
46. Berthod, A.; He, L.; Armstrong, D. W. *Chromatographia* **2001**, 53 (1-2), 63-68.
47. He, L. J.; Zhang, W. Z.; Zhao, L.; Liu, X.; Jiang, S. X. *Journal of Chromatography A* **2003**, 1007 (1-2), 39-45.
48. Kaliszan, R.; Marszall, M. P.; Markuszewski, M. J.; Baczek, T.; Pernak, J. *Journal of Chromatography A* **2004**, 1030 (1-2), 263-271.
49. Liang, C. D.; Yuan, C. Y.; Warmack, R. J.; Barnes, C. E.; Dai, S. *Analytical Chemistry* **2002**, 74 (9), 2172-2176.
50. Buzzeo, M. C.; Hardacre, C.; Compton, R. G. *Analytical Chemistry* **2004**, 76 (15), 4583-4588.
51. Anderson, J. L.; Ding, J.; Welton, T.; Armstrong, D. W. *Journal of the American Chemical Society* **2002**, 124 (47), 14247-14254.
52. Kavan, L.; Dunsch, L. *Chemphyschem* **2003**, 4 (9), 944-950.
53. Holbrey, J. D.; Reichert, W. M.; Swatloski, R. P.; Broker, G. A.; Pitner, W. R.; Seddon, K. R.; Rogers, R. D. *Green Chemistry* **2002**, 4 (5), 407-413.
54. Branco, L. C.; Rosa, J. N.; Ramos, J. J. M.; Afonso, C. A. M. *Chemistry-A European Journal* **2002**, 8 (16), 3671-3677.
55. Wasserscheid, P.; van Hal, R.; Bosmann, A. *Green Chemistry* **2002**, 4 (4), 400-404.

**CAPÍTOL III.**  
**PREPARACIÓ D'ÈSTERS D'HALOHIDRINA**

## 1. INTRODUCCIÓ

### 1.1. ÈSTERS D'HALOHIDRINA

Els èsters d'halohidrina són compostos orgànics que tenen un grup èster i un halogen en un dels carbonis de la resta d'alcohol (**Figura 1**).

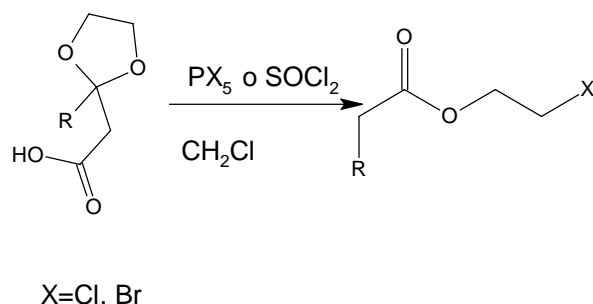


**Figura 1.** Èsters d'halohidrina.

Els èsters d'halohidrina s'estan utilitzant en la preparació d'epiclorohidrines<sup>1,2</sup>, haloalcohols<sup>3-6</sup>, epòxids<sup>3,7,8</sup> i nitrils<sup>9</sup>, els quals poden ser intermediaris sintètics útils per a la preparació de medicaments<sup>1,10</sup>, vitamines<sup>1</sup>, surfactants<sup>11</sup>, aromes<sup>12</sup>, feromones<sup>1</sup>, líquids iònics quirals<sup>13</sup>, resines, polímers i adhesius<sup>3</sup>.

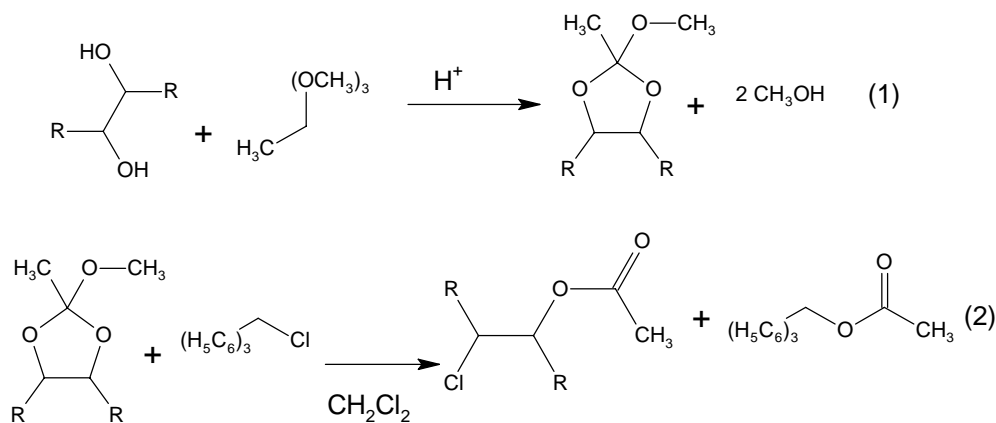
#### 1.1.1. MÈTODES PER SINTETITZAR ÈSTERS D'HALOHIDRINA

Els èsters d'halohidrina es poden obtenir per diferents metodologies. Una d'elles és a partir d'àcids que presenten un cetal cíclic. Aquestes substàncies s'obtenen amb rendiments entre el 50-89% per reacció d'1,2-, 1,3- i 1,4-diols amb un cetoàcid, com l'àcid pirúvic i l'àcid benzoilfòrmic. Posteriorment aquests àcids cetàlics cíclics es fan reaccionar amb clorur de tionil<sup>14</sup> o pentaclorur o pentabromur de fòsfor<sup>15,16</sup> per formar l'èster d'halohidrina amb rendiments al voltant del 80% amb elevada regio- i estereoespecificitat (**Figura 2**).



**Figura 2.** Síntesi d'èsters d'halohidrina a partir d'àcids cetàlics cíclics.

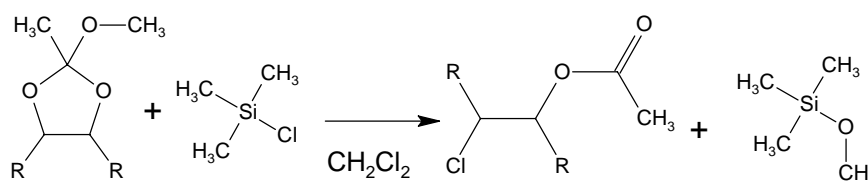
Una variant d'aquesta reacció passa per transformar diols, com 1,2- i 1,3-glicols, en els corresponents ortoèsters emprant àcids com el benzoïc o el cloroacètic com a catalitzadors. Els rendiments d'aquest primer pas es troben entre el 62-91% depenent del diol. Posteriorment aquests èsters es tracten amb clorur de tritil en diclorometà formant-se els acetats de les clorohidrines amb rendiments entre el 38-89%<sup>17</sup> (**Figura 3**).



**Figura 3.** Síntesi d'ortoèsters a partir de diols i conversió d'aquests a èsters de clorohidrina.

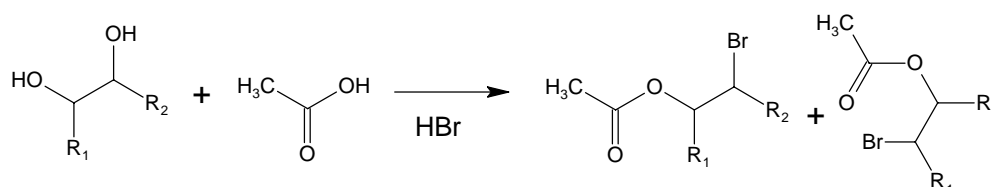
Posteriorment els mateixos autors van proposar una nova metodologia substituint el clorur de tritil pel clorotrimetilsilà (CTMS), ja que el clorur de

tritol és de difícil eliminació i a més el CTMS és més econòmic. Per tant, van tractar els ortoèsters en diclorometà amb un excés de CTMS (**Figura 4**). Els rendiments obtinguts a partir dels ortoèsters estudiats van ser del 73-97%<sup>18</sup>.



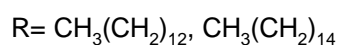
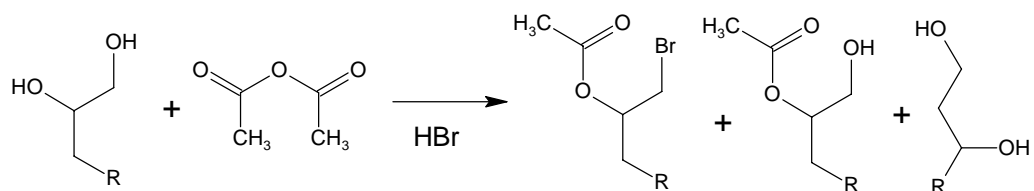
**Figura 4.** Síntesi d'èsters de clorohidrina a partir d'ortoèsters amb CTMS.

Golding i col. van transformar diversos diols veïnals al seu corresponent acetat bromoalquil fent-los reaccionar amb HBr 6M en àcid acètic amb rendiments del 90% i amb preferència pel regioisòmer amb el brom en posició primària<sup>19</sup> (**Figura 5**).



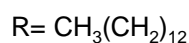
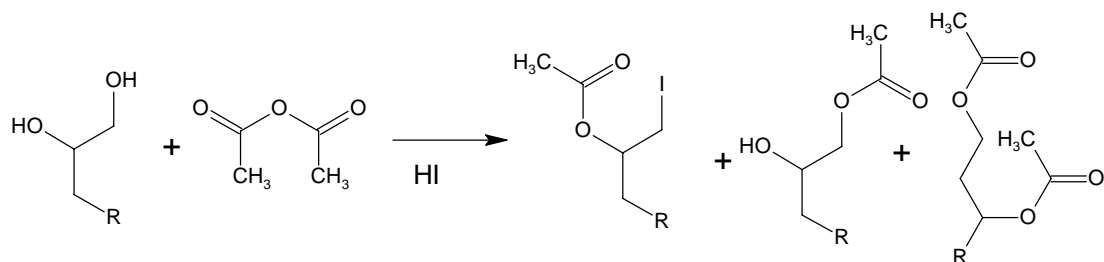
**Figura 5.** Síntesi d'èsters de bromohidrina a partir de diols veïnals i HBr en àcid acètic.

Ahmad i col. van investigar la utilització d'àcid bromhídric amb 1,2-diols de cadena llarga. El tractament amb HBr (48%) en anhídrid acètic de l'1,2-hexadecandiol va donar principalment 1-bromo-2-acetoxihexadecà (66%), 2-acetoxihexadecanol (26%) i 1,3-hexadecandiol (8%). Quan van utilitzar l'1,2-octadecandiol es van obtenir productes similars<sup>20,21</sup> (**Figura 6**).



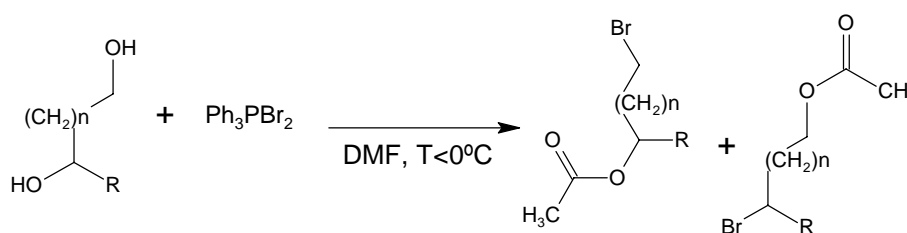
**Figura 6.** Síntesi d'èsters de bromohidrina a partir d'1,2-diols de cadena llarga i HBr en anhídrid acètic.

Posteriorment van estudiar altres halurs d'àcid, en concret HCl i HI, per a la formació d'èsters d'halohidrina amb 1,2-hexadecandiol i anhídrid acètic. Amb HCl no es va formar l'èster d'halohidrina corresponent. En canvi amb HI (**Figura 7**) es va formar un 20% d'èster amb el iode en posició primària i també hi va haver formació de dièster i monoèster amb el grup hidroxil en posició secundària<sup>21</sup>.



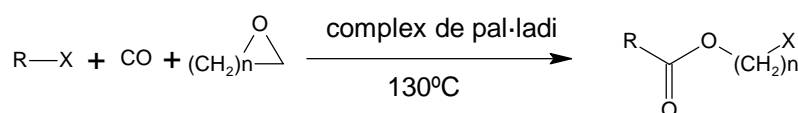
**Figura 7.** Síntesi d'èsters de iodohidrina a partir de l'1,2-hexadecandiol i HI en anhídrid acètic.

Boeckman i col. van descriure la síntesi de formiats de bromoalcohols a partir de diferents diols amb dibromur de trifenilfosfina ( $\text{Ph}_3\text{PBr}_2$ ) i dimetilformamida (DMF) a temperatures per sota dels  $0^\circ\text{C}$  amb rendiments que van de 50-90% i amb la formació també de petites quantitats de diformiats i dibromurs<sup>22</sup> (**Figura 8**).



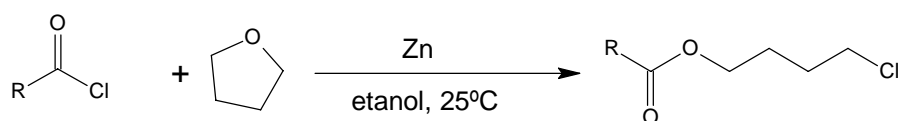
**Figura 8.** Síntesi de formiats de bromoalcohols a partir de diols i dibromur de trifenilfosfina ( $\text{Ph}_3\text{PBr}_2$ ).

Tanaka i col. van descriure la síntesi d'èsters d'halohidrina per carbonilació d'halurs orgànics aromàtics, vinílics i benzílics amb la presència d'èters cíclics catalitzats per complexos de pal·ladi (**Figura 9**) amb rendiments entre baixos i moderats, 4-75 %, depenent del tipus d'halur i èter cíclic<sup>23</sup>.



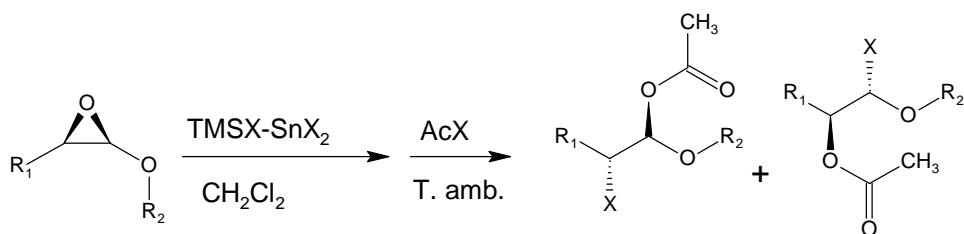
**Figura 9.** Síntesi d'èsters d'halohidrina per carbonilació d'halurs orgànics.

A partir de la hidròlisi del tetrahidrofurà i de diferents epòxids amb clorurs d'acil i zinc com a catalitzador es poden obtenir èsters de clorohidrina amb rendiments que van del 70-90% (**Figura 10**). No obstant, els èsters d'halohidrina que s'obtenen són amb el clor i l'èster ambdós casos en posició primària<sup>24</sup>.



**Figura 10.** Síntesi d'èsters de clorohidrina a partir del tetrahidrofuran.

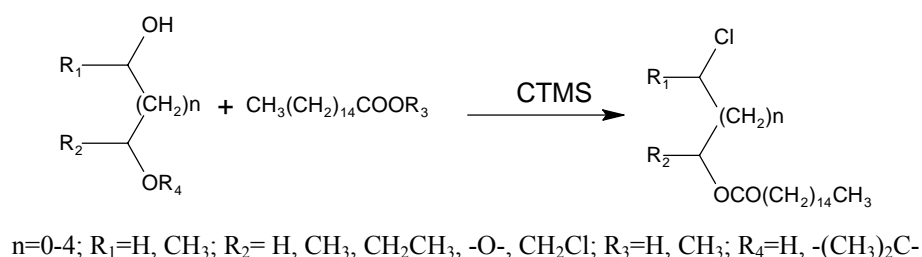
Orimaya i col. van utilitzar els halotrimetilsilans per trencar l'anell de derivats de 2,3-epoxi alcohols amb la conseqüent formació d'una halohidrina, la qual per acilació va donar haloèsters veïnals amb rendiments entre el 68-100%<sup>25</sup> (**Figura 11**).



**Figura 11.** Síntesi d'èsters d'halohidrina a partir de l'obertura d'epòxids amb halurs de trimetilsilil.

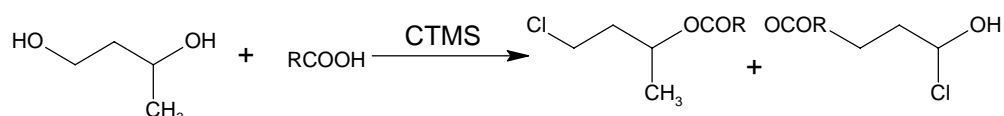
Eras i col. van descriure la síntesi d'èsters de clorohidrina amb clorotrimetilsilà (CTMS) on aquest actua com a reactiu i dissolvent. La formació dels èsters de clorohidrina es va dur a terme en un sol pas d'esterificació-cloració, a partir de diols, amb els grups hidroxil separats d'1 a 6 carbonis, i èsters o àcids carboxílics (**Figura 12**). La reacció és estereoespecífica i la regioselectivitat depèn de la distància entre els dos grups hidroxil amb rendiments entre el 60 i el 94%<sup>26</sup>.





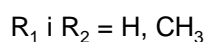
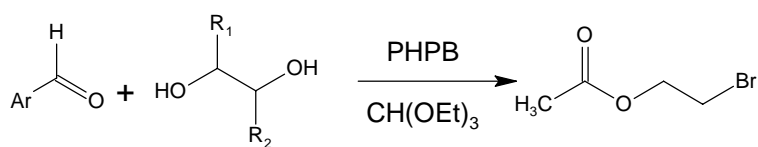
**Figura 12.** Síntesi d'èsters de clorohidrina amb CTMS.

En un treball posterior Méndez i col. van estudiar l'efecte del tipus d'àcid carboxílic en la síntesi d'èsters de clorohidrina a partir de l'1,3-butandiòl (**Figura 13**). Depenent de la longitud de la cadena de l'àcid carboxílic, la proporció de cada regioisòmer va ser diferent. Quan els àcids tenien una cadena més gran de 12 carbonis, es van obtenir principalment èsters amb el clor en posició primària. Aquests èsters, poden ser els precursors del *R*-4-cloro-2-butanol, un intermediari quiral per a la preparació de lactones<sup>5</sup>. Com més curta era la cadena de carbonis més proporció de l'isòmer amb el clor en posició secundària es va obtenir, essent per l'àcid acètic la proporció entre els dos regioisòmers d'1:1<sup>27</sup>.



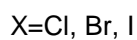
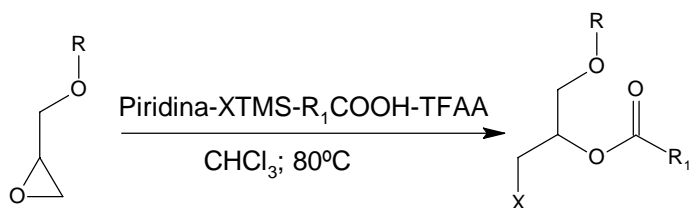
**Figura 13.** Síntesi d'èsters de  $\alpha,\gamma$ -clorobutil amb CTMS.

Aoyama i col. van descriure la síntesi de èsters de  $\omega$ -bromoalcohols a partir d'aldehids aromàtics amb diòls, la majoria d'ells alcohols primaris, en presència de perbromur d'hidrobromur de piridina (PHPB) i trietoximetà amb bons rendiments en la majoria dels casos entre el 70- 97%<sup>28</sup> (**Figura 14**).



**Figura 14.** Síntesi de èsters de  $\omega$ -bromoalcohols a partir d'aldehids aromàtics amb PHPB.

Stamatov i col. van descriure una nova ruta per a la síntesi d'èsters d'halohidrina veïnals amb halotrimetilsilans (XTMS), ja que aquests es poden utilitzar en l'obertura regioselectiva i estereoselectiva d'anells oxirans d'èsters i èters del glicidol amb rendiments entre el 80 i 96%<sup>29</sup> (**Figura 15**).



**Figura 15.** Síntesi d'èsters d'halohidrina veïnals amb halotrimetilsilans

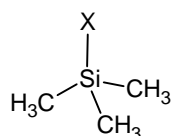
## 1.2. ELS ORGANOSILANS

Els organosilans són compostos que contenen silici enllaçat a un o més àtoms de carboni. La seva importància és cada vegada més gran i s'utilitzen en el camp de la medicina, la indústria dels polímers i el transport entre altres. En química, són importants agents sililants en reaccions de derivatització i protecció de grups funcionals, també com reactius en síntesi orgànica i en anàlisi<sup>30</sup>.

### 1.2.1. ELS HALOALQUILSILANS

Els haloalquilsilans pertanyen al grup dels organosilans. Aquests tenen una estructura química:  $(C_nH_{2n+1})_pSi X_q$ , on p i q poden ser 1, 2 o 3 i es caracteritzen per manifestar una elevada electrofilia, la qual augmenta segons  $I > Br > Cl > F$  implicant diferències de reactivitat molt clares també en aquest ordre<sup>30,31</sup>.

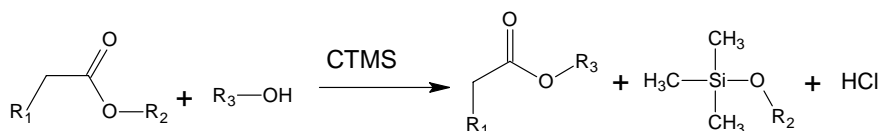
El clorotrimetilsilà i el bromotrimetilsilà són haloalquilsilans amb enllaços covalents senzills d'estructura tetraèdrica (**Figura 16**). Químicament es comporten com agents sililants en front de nucleòfils.



**Figura 16.** Estructura d'un halotrimetilsilà.

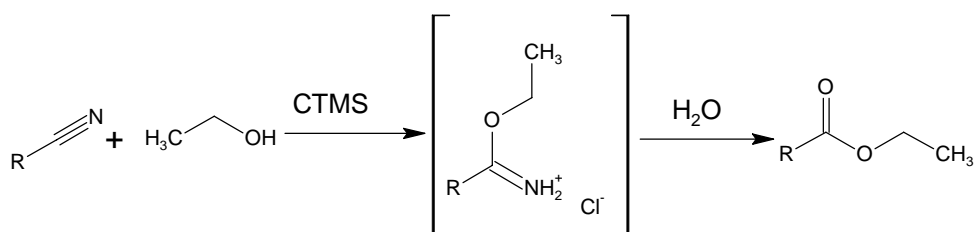
El **clorotrimetilsilà** (CTMS) és el més utilitzat, es va fer servir per primera vegada al 1944 per sililar alcohols<sup>32</sup>. Es pot fer servir sol o en combinació amb altres reactius, normalment també agents sililants, com l'hexametildisilazà (HMDA). Sovint s'hi afegeix una base, com la trietilamina o piridina per captar el clorur d'hidrogen que s'acostuma a alliberar en moltes reaccions.

El CTMS ha estat utilitzat com a catalitzador en l'alcoholisi d'èsters<sup>33-35</sup> i en la síntesi d'èsters d'halohidrina<sup>26,27</sup> (**Figura 17**).



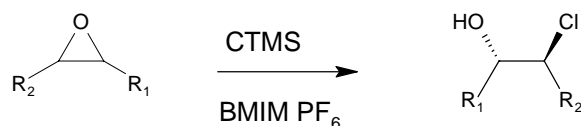
**Figura 17.** Alcoholisi d'èsters amb CTMS.

També s'ha utilitzat el CTMS en la transformació de nitrils a èsters amb rendiments que van de 70-92%<sup>36</sup> (**Figura 18**).



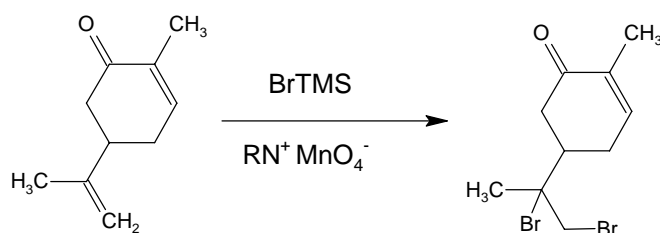
**Figura 18.** Síntesi d'èsters a partir de nitrils amb CTMS.

Xu i col. van publicar la utilització del CTMS en el líquid iònic [BMIM][PF<sub>6</sub>] per al trencament d'epòxids amb la conseqüent formació de clorohidrines amb una elevada estereo- i quimioselectivitat<sup>37</sup> (**Figura 19**).



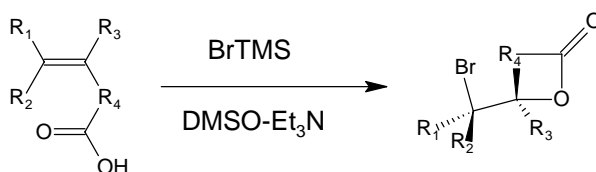
**Figura 19.** Formació de clorohidrines pel trencament d'epòxids amb CTMS en presència d'un líquid iònic.

El **bromotrimetilsilà (BrTMS)** també ha estat utilitzat en síntesi orgànica per a la síntesi de dibromats veïnals i bromolactones. La seva combinació amb un oxidant el converteix en una font de brom. Juntament amb permanganat de tetradeciltrimetilamoni,  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{13}(\text{CH}_3)_3\text{N}^+\text{MnO}_4^-$ , permet la transformació estereo- i quimiosselectiva d'alquens al seu corresponent compost dibromat<sup>19,38</sup> (**Figura 20**).



**Figura 20.** *trans*-dibromació de la carvona.

També s'ha utilitzat en la bromolactonització d'àcids carboxílics insaturats en dimetilsulfòxid (DMSO) i amb una amina,  $\text{Et}_3\text{N}$ , com a base<sup>39</sup> (**Figura 21**).



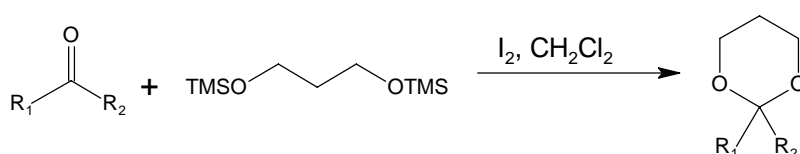
**Figura 21.** Bromolactonització d'àcids carboxílics insaturats.

### 1.3. IODE COM A CATALITZADOR

El iode s'ha estat utilitzat com a catalitzador de diferents reaccions com, deshidratacions d'alcohols, isomeritzacions *cis-trans* de pigments de carotenoides, en acilacions *Friedel-Crafts* de diferents series de benzè, per activar el zinc en les reaccions Reformatsky<sup>40,41</sup> i per la formació d'èters d'arilmetilalquil<sup>40</sup>.

Ramalinga i col. van utilitzar el iode,  $I_2$ , com a catalitzador àcid de Lewis per a l'esterificació d'àcids carboxílics amb alcohols i la transesterificació d'èsters amb diferents alcohols, incloent alcohols terciaris i alcohols primaris i secundaris estèricament impedit<sup>42</sup>.

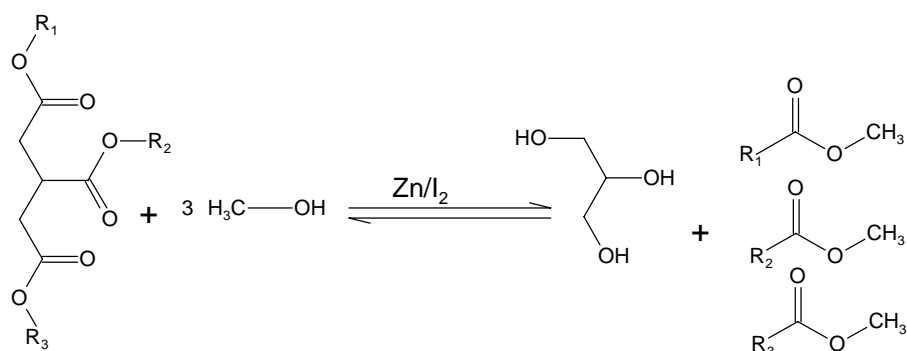
Posteriorment s'han publicat altres treballs on s'utilitza el  $I_2$  com a catalitzador. Karimi i col. van utilitzar el iode com a catalitzador en l'acetalació de compostos carbonílics amb 1,3-bis(trimetil)siroxipropà (BTSP) en condicions neutres i apròtiques<sup>43</sup> (**Figura 22**).



**Figura 22.** Acetalació de compostos carbonílics amb BTSP i  $I_2$  com a catalitzador.

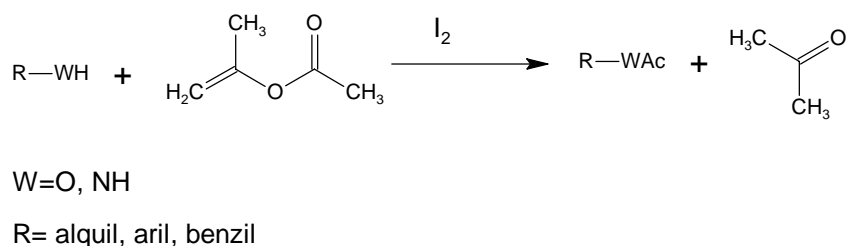
Pukan i col. van utilitzar el  $I_2$  com a catalitzador d'acetilacions d'alcohols primaris i secundaris sense dissolvent amb anhidrid acètic i en condicions suaus obtenint-se rendiments molt alts<sup>44</sup>.

Li i col. van descriure la utilització de  $I_2$  en combinació amb  $Zn$  per a catalitzar la transesterificació dels acilglicèrids de l'oli de llavor de soia amb metanol amb elevada eficiència i en condicions suaus per a la producció de biodiesel<sup>45</sup> (**Figura 23**).



**Figura 23.** Transesterificació d'acilglicèrids de l'oli de soia amb metanol i  $Zn/I_2$  com a catalitzador.

Ahmed i col. van utilitzar el  $I_2$  per acetilar amb acetat d'isopropenil alcohols alifàtics, amines i fenols<sup>46</sup> (**Figura 24**).

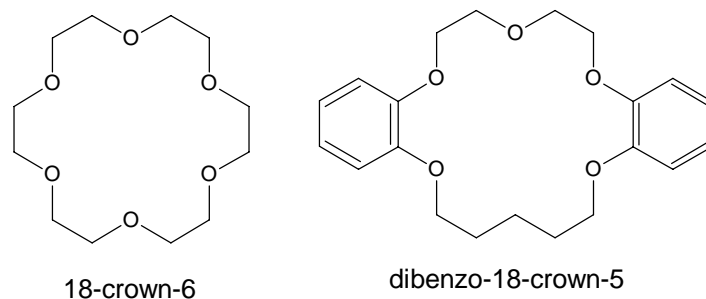


**Figura 24.** Acetilació d'alcohols i amines.

#### 1.4. ELS ÈTERS CORONA

Els èters corona són polièters cíclics capaços de formar complexos estables amb moltes sals de metalls alcalins i alcalins-terris i són catalitzadors de transferència de fase. Els èters corona incrementen la reactivitat dels anions com a resultat de la coordinació amb els cations<sup>47</sup>. Per anomenar-los, en lloc del seu nom sistemàtic, s'utilitza una nomenclatura semitrivial: (1) nombre i tipus d'anells d'hidrocarburs, (2) nombre total d'àtoms de l'anell del polièter, (3) nom de la

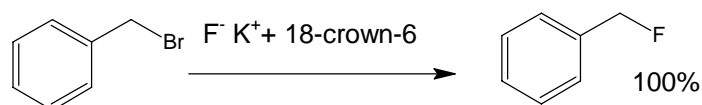
classe, crown (corona), (4) nombre d'àtoms d'oxigen de l'anell polièter. A la **Figura 25** es poden veure dos exemples d'èter corona<sup>48</sup>.



**Figura 25.** Exemple de dos èters corona.

#### 1.4.1. 18-CROWN-6

L'èter corona 18-crown-6 complexa els cations  $K^+$ ,  $NH_4^+$  i  $Rb^+$ . Aquest s'ha estat utilitzant en diferents reaccions per a segrestar el  $K^+$ . Per exemple, el fluorur de potassi (KF) en acetonitril o benzè i amb quantitats catalítiques de 18-crown-6 es comporta com un potent nucleòfil i base. Aquest reacciona amb bromurs d'alquil primaris i tosilsats per donar fluorurs d'alquil en alt rendiment<sup>47</sup> (**Figura 26**).

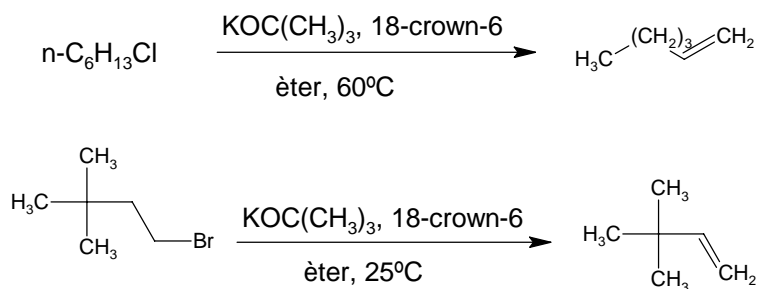


**Figura 26.** Formació del fluorur de metilbenzè.

S'ha utilitzat amb quantitats catalítiques en deshidrohalogenacions, en la conversió d'halurs d'alquil a alquens o d'halurs d'alquil primaris a èters amb *t*-

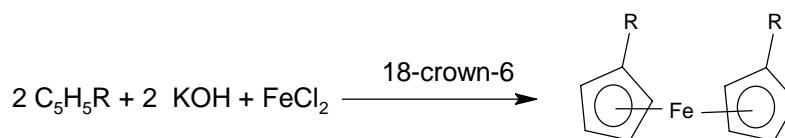


butòxid de potassi,  $\text{KOC}(\text{CH}_3)_3$  (**Figura 27**), no observant-se la reacció sense la presència d'aquest èter corona<sup>49</sup>.



**Figura 27.** Deshidrogenacions d'halurs d'alquil.

També s'utilitza en la síntesi de derivats de ferrocè a partir de solucions d'alquilciclopentadiens en tetrahidrofur, clorur de ferro (II) i hidròxid de potassi amb rendiments de 45-65% (**Figura 28**). Sense l'èter corona s'obté un rendiment menor del 12% en ferrocè<sup>49</sup>.



**Figura 28.** Síntesi d'un derivat del ferrocè.

El 18-crown-6 també s'ha utilitzat en altres reaccions en síntesi orgànica<sup>47,49-53</sup>.

## 1.5. LÍQUIDS IÒNICS EN QUÍMICA ORGÀNICA

Com ja s'ha comentat en capítols anteriors, els líquids iònics (LIs) són una atractiva alternativa als dissolvents moleculars convencionals per reaccions catalítiques i orgàniques, ja que, juntament amb l'aigua, els fluids supercrítics i els dissolvents perfluorats se'ls considera respectuosos amb el medi ambient. Amb els LIs és possible un disseny del dissolvent per a cada tipus de reacció amb la combinació dels cations i anions segons els requeriments. A més els LIs poden actuar com a catalitzadors i es poden reciclar<sup>54</sup>.

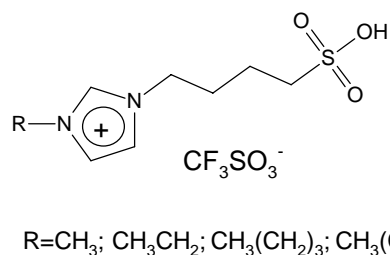
Fins ara, a la literatura no s'han descrit reaccions d'esterificació-halogenació amb líquids iònics. No obstant, si que s'han descrit reaccions d'esterificació i d'halogenació.

### 1.5.1. REACCIONS D'ESTERIFICACIÓ AMB LÍQUIDS IÒNICS

En reaccions d'esterificació s'han utilitzat LIs basats en anions dicianamides,  $[\text{NC-C-CN}]^-$ , com a dissolvents i també com a actius catalitzadors bàsics en reaccions d'*O*-acetilació amb anhídrid acètic d'alcohols i carbohidrats<sup>55</sup>. Aquests LIs, comparats amb altres d'imidazoli amb anions  $[\text{N}(\text{Tf})_2]^-$ ,  $[\text{Cl}]^-$ ,  $[\text{PF}_6]^-$  i  $[\text{BF}_4]^-$ , tenen baixa viscositat i dissolen un ampli grup de compostos inorgànics i orgànics, incloent sacàrids no protegits<sup>56</sup>. Un gran nombre d'alcohols simples com el 2-naftol i alcohols *t*-butílics poden ser acetilats utilitzant aquest LI dicianamida i anhídrid acètic<sup>57</sup>.

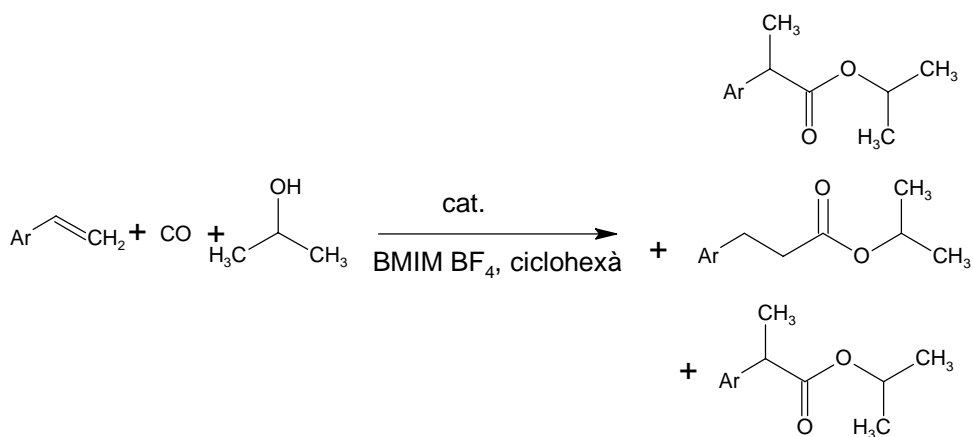
També s'estan utilitzant en l'esterificació d'àcids alifàtics amb olefines amb LIs on s'ha introduït una funció d'àcid sulfònic ( $\text{SO}_3\text{H}$ ), **Figura 29**, els quals actuen tant com a dissolvent com a catalitzador àcid. A més, els èsters produïts són poc

solubles en aquest tipus de LIs i poden ser separats per simple decantació permetent el reciclatge i reutilització del LI<sup>58</sup>.



**Figura 29.** Líquid iònic SO<sub>3</sub>H-funcionalitzat.

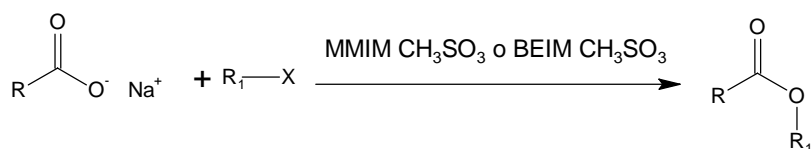
Zim i col. van estudiar la hidroesterificació de derivats d'estirè catalitzada per un sistema format per PdCl<sub>2</sub>(PhCN)<sub>2</sub>, (+)-neomentildifenilfosfina (NMDPP) i àcid *p*-toluesulfònic (TsOH) en sistemes bifàsics amb tetrafluoroborat d'1-butil-3-metilimidazoli, [BMIM][BF<sub>4</sub>], i dissolvents orgànics (**Figura 30**). S'obtenen èsters 2-arilpropionics amb elevada regioselectivitat i rendiments que van de <1% a 97% depenent del derivat d'estirè<sup>59</sup>.



**Figura 30.** Hidroesterificació de derivats d'estirè en un sistema bifàsic [BMIM][BF<sub>4</sub>]/ciclohexà catalitzada per PdCl<sub>2</sub>(PhCN)<sub>2</sub> / (+)-NMDPP / TsOH.

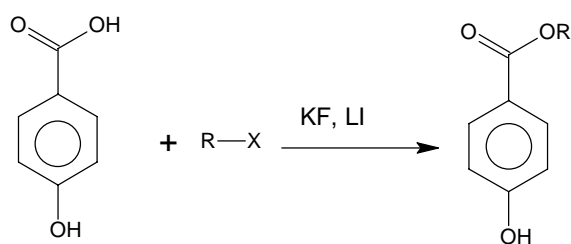
Deng i col. van descriure esterificacions d'alcohols i àcid acètic amb clorur d'1,3-butilpiridini i clorur d'alumini (III), [BPy][Cl] + [AlCl<sub>3</sub>]. Amb quantitats catalítiques de AlCl<sub>3</sub>, s'obtenen uns rendiments i selectivitats satisfactòries i amb fàcil recuperació dels productes degut a la seva immiscibilitat en el LI<sup>60</sup>.

Brinchi i col. han estudiat reaccions d'esterificació amb diferents sals carboxíliques amb halurs d'alquil en metasulfonat d'1,3-dimetilimidazoli, [MMIM][CH<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>], i metasulfonat d'1-butil-3-etilimidazoli [BEIM][CH<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>]<sup>61</sup> (Figura 31).



**Figura 31.** Esterificació de sals carboxíliques amb halurs d'alquil en LIs.

Posteriorment, Biondini i col. van descriure un sistema de reacció amb fluorur potàssic (KF) en [MMIM][CH<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>], metasulfonat d'1-butil-3-metilimidazoli: [BMIM][CH<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>], metasulfonat de tributilmetilamoni: [tbma][CH<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>] i [BMIM][BF<sub>4</sub>] en l'esterificació d'àcids hidroxibenzoics amb halurs d'alquil<sup>62</sup> (Figura 32).

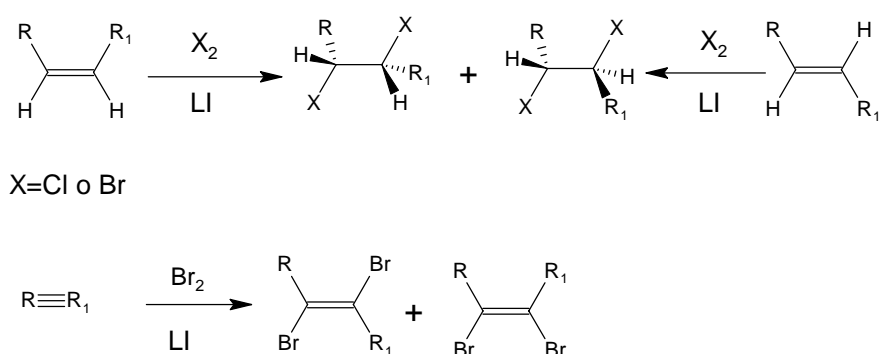


**Figura 32.** Esterificació de l'àcid 4-hidroxibenzoic amb halur d'alquil en LIs.

També s'ha descrit la síntesi d'èsters d'aminoàcids en [EPy][CF<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>]<sup>63</sup>.

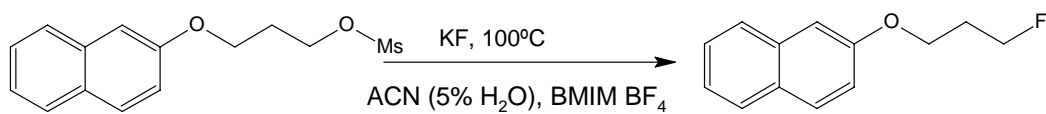
### 1.5.2. REACCIONS D'HALOGENACIÓ AMB LÍQUIDS IÒNICS

S'han publicat diversos estudis sobre l'ús de LIs, [BMIM][PF<sub>6</sub>], [BMIM][BF<sub>4</sub>], [BMIM][Br] i [BMIM][Cl], com alternativa als dissolvents clorats per a l'halogenació estereoselectiva d'alquens i alquins amb X<sub>2</sub> (**Figura 33**). El rendiment és elevat, si bé segons el LI utilitzat es formen diferents proporcions de cada estereoisòmer<sup>64,65</sup>.



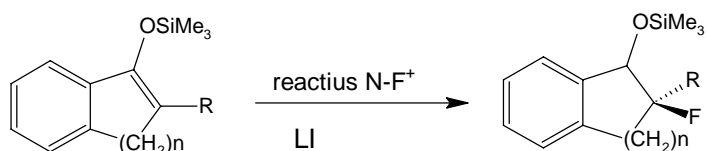
**Figura 33.** Halogenació estereoselectiva d'alquens i alquins.

S'ha estudiat la fluoració per substitució nucleòfila del naftalat del 2-(3-metanosulfoniloxipropil) amb [BMIM][BF<sub>4</sub>] i diferents fluorurs metàl·lics<sup>66</sup>. La fluoració d'aquest naftalat amb KF en un dissolvent orgànic com acetonitril a 100°C rarament es du a terme, en canvi amb [BMIM][BF<sub>4</sub>] la reacció té lloc en 2 h (**Figura 34**). El KF té una solubilitat limitada en dissolvents orgànics i la seva baixa nucleofilicitat requereix condicions vigoroses. No obstant quan s'utilitza un LI en un sistema bifàsic amb aigua, es produeix una significant millora de la seva activitat.



**Figura 34.** Fluoració del naftalat del 2-(3-metanosulfoniloxipropil).

També es pot produir la fluoració per substitució electròfila d'arens en un sol pas i en condicions no àcides en diferents LIs imidazolis com trifluorometanosulfonat d'1-etil-3-metilimidazoli:  $[\text{EMIM}][\text{OTf}]$ ,  $[\text{EMIM}][\text{BF}_4]$ ,  $[\text{EMIM}][\text{PF}_6]$ ,  $[\text{BMIM}][\text{BF}_4]$  i  $[\text{HMIM}][\text{PF}_6]$  amb agents fluorinitzants  $[\text{N-F}]^+$ <sup>67,68</sup> (**Figura 35**).



**Figura 35.** Fluoració electròfila enantioselectiva d'èters sililenòlics en LIs

## 2. OBJECTIUS

Considerant els coneixements que teníem al nostre grup en la preparació d'èsters d'halohidrines a partir de diols ens varem plantejar l'ús del mètode que havíem desenvolupat en la preparació de derivats de l'1,2-octandiol, possible precursor de lactones asimètriques. A més a més, ens varem proposar buscar alternatives a aquest mètode i diferents metodologies descrites per a sintetitzar èsters d'halohidrina. L'alternativa buscada hauria de permetre superar els inconvenients propis d'aquests mètodes ja coneguts com són l'ús de reactius que, ho són difícils de manipular o poden ser contaminants. L'aproximació que ens varem proposar estudiar passava per desenvolupar una nova metodologia de síntesi d'èsters d'halohidrina en un sol pas a partir de diols i àcids carboxílics utilitzant sals d'halur, KX, com a font d'halogen. A més, es va voler estudiar la utilització de LIs en aquest procés d'halogenació-esterificació d'alcohols amb àcids carboxílics.

Concretament es van fixar els següents objectius:

- Estudi de la síntesi del palmitat d' $\alpha,\beta$ -halooctil, utilitzant CTMS, BrTMS i HBr i desenvolupament d'una nova metodologia on la font de d'halogen, en concret el brom, era una sal d'halur, concretament el KBr.
- Extensió de la nova metodologia desenvolupada, més respectuosa mediambientalment, a altres diols, àcids i sals d'halur.

### 3. RESULTATS I DISCUSSIÓ

En primer lloc, es va procedir a estudiar la possible extensió de la reacció descrita per Eras i col.<sup>26</sup>, en la qual es sintetitzen èsters de clorohidrina a partir de diols i àcids carboxílics amb CTMS, a l'1,2-octandiol, ja que l'èster de clorohidrina corresponent pot ser un intermediari útil per a la síntesi de lactones<sup>69</sup>, com la  $\gamma$ -octalactona<sup>70</sup>, de gran interès en la indústria alimentària i del perfum<sup>71</sup> i d'alcohols asimètrics<sup>72</sup>.

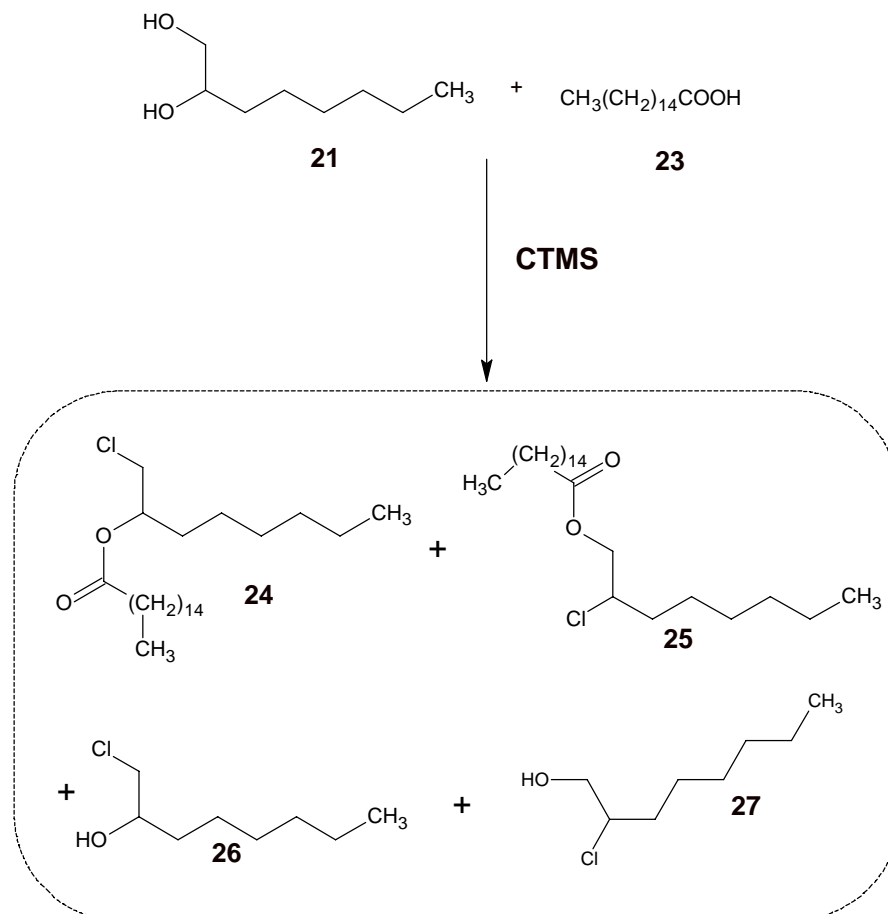
#### 3.1. SÍNTESI DEL PALMITAT D' $\alpha,\beta$ -CLOROOCIL

Com ja s'ha comentat anteriorment, Eras i col. havien desenvolupat una metodologia de síntesi d'èsters de clorohidrina en un únic pas amb CTMS, el qual actua com a dissolvent, font de clor i activador de la reacció d'esterificació-cloració. Els diols estudiats havien estat: 1,2-propandiol, 1,2- i 1,3-butandiol, 1,4-pentandiol i 1,6-hexandiol i diols amb els dos hidroxils en posició secundària: 2,3-butandiol i el 4-hidroximetil-2,2-dimetil-1,3-dioxolà (solketal)<sup>26</sup>. Posteriorment, Méndez i col. havien estudiat la influència de l'àcid carboxílic en la síntesi d'èsters d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil. Els àcids carboxílics que s'estudiaren van ser tots àcids saturats de diferent longitud carbonada, de 2 fins a 18 carbonis, i els àcids tricloroacètic, dicloroacètic i cloroacètic<sup>27</sup>.

Per a l'estudi de la reacció de l'esterificació-cloració de l'1,2-octandiol es va triar l'àcid palmític, ja que en l'estudi de la influència de l'àcid carboxílic en la reacció amb CTMS i l'1,3-butandiol quan es va utilitzar l'àcid palmític es va formar una baixa proporció de l'isòmer amb el clor en posició 2 (25%)<sup>27</sup>. També, al ser sòlid i d'escassa volatilitat a temperatura ambient és més senzilla la seva manipulació, essent, a més, el seu preu assequible. Les proporcions que



es van utilitzar van ser 2:1:7 (diol:àcid:CTMS) i la reacció es va dur a terme a 80°C durant 48h (**Figura 36**).



**Figura 36.** Reacció de l'1,2-octandiol amb l'àcid palmític i el CTMS.

Els productes de reacció de l'1,2-octandiol amb l'àcid palmític i el CTMS van ser majoritàriament els palmitats d' $\alpha,\beta$ -clorooctil (**24** i **25**). Es va obtenir un rendiment del 86% d'aquests, un 77,4% del palmitat d'1-(clorometilheptil) (**24**) i un 8,6% del palmitat de 2-clorooctil (**25**). També hi va haver una petita formació (6%) de cloroalcohols (**26** i **27**), amb una relació isomèrica d'ambdós de 10:90. Respecte del pes total d'èsters d' $\alpha,\beta$ -clorooctil i dels cloroalcohols,

aquests cloroalcohols representaven només un 3%. El rendiment de palmitat d' $\alpha,\beta$ -clorooctil va ser similar a l'obtingut per Eras i col. i Méndez i col. quan van utilitzar l'1,3-butandiol i l'àcid palmític (88% i 86% respectivament)<sup>26,27</sup>, i similar també a l'obtingut per als altres 1,2-diols estudiats, 1,2-propandiol i 1,2-butandiol amb rendiments del 92 i 94% respectivament<sup>26</sup>. De la mateixa manera, el regioisòmer amb més proporció va ser el que té el clor en posició primària (**24**), amb una relació isomeria de **24:25** de 90:10. Amb la metodologia del CTMS, per l'1,2-propandiol i 1,2-butandiol la proporció de l'isòmer amb el clor en posició secundària va ser <10% pel primer i < 25% per l'1,3-butandiol<sup>27</sup>.

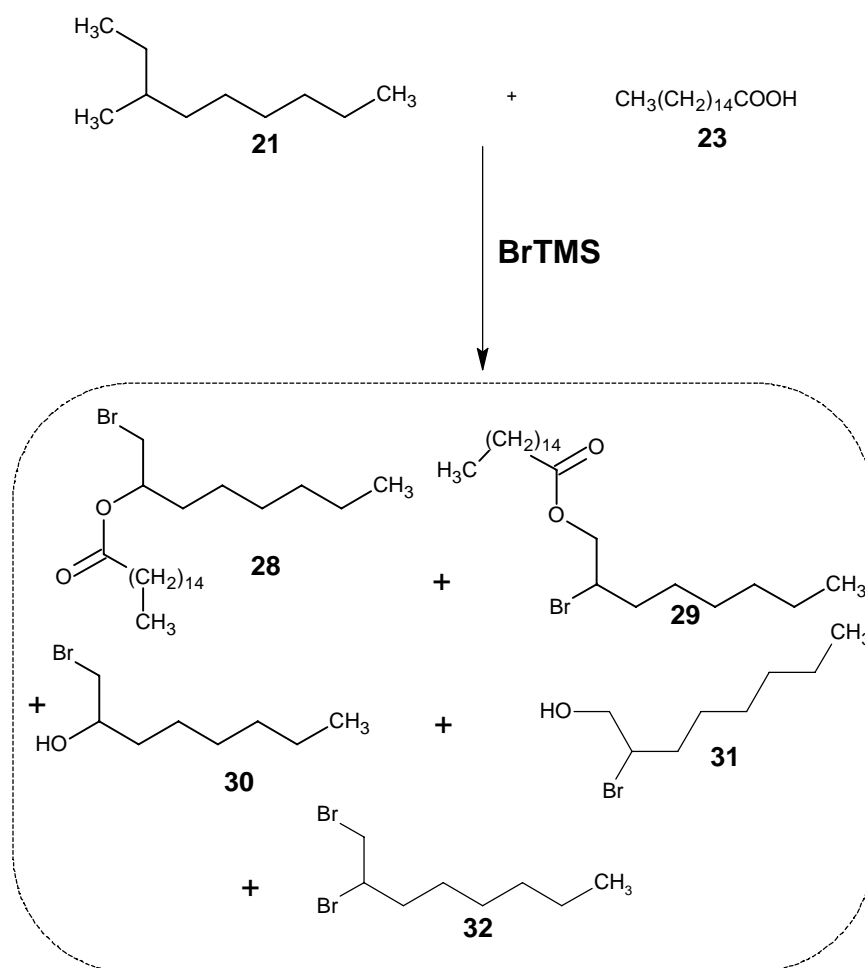
## 3.2. SÍNTESI DEL PALMITAT DE L' $\alpha,\beta$ -BROMOOCTIL

### 3.2.1. SÍNTESI DEL PALMITAT DE L' $\alpha,\beta$ -BROMOOCTIL AMB BrTMS

Després de comprovar que la reacció amb CTMS era efectiva es va voler provar amb bromotrimetilsilà (BrTMS), ja que el brom és millor grup sortint, facilitant després la seva substitució pel nucleòfil desitjat i obtenint-se d'aquesta manera un intermediari més reactiu (**Figura 37**). Les condicions de reacció van ser les mateixes que pel CTMS.

En aquest cas també es van formar majoritàriament els palmitats d' $\alpha,\beta$ -bromooctil (**28** i **29**), amb formació de bromoalcohols (**30** i **31**) i, a més, s'observà la formació de dibromooctà (**32**). Es va obtenir un rendiment del 79% dels palmitats d' $\alpha,\beta$ -bromooctil, un 59% del palmitat d'1-(bromometil)heptil (**28**) i un 20% del palmitat de 2-bromooctil (**29**). El rendiment fou una mica inferior que amb el CTMS i l'isòmer majoritari era també el que té el brom en posició primària, en aquest cas en menor proporció que el seu corresponent èster de clorohidrina, relació isomèrica de 75:25 (**28:29**). Els bromoalcohols es trobaven en major proporció, respecte del pes total d'èsters d' $\alpha,\beta$ -bromooctil,

bromoalcohols i dibromooctà representaven un 27%. La formació de més quantitat de bromoalcohols i d'un 1% de dibromooctà podria ser deguda a la major capacitat del BrTMS de donar reaccions de substitució nucleòfila directa.

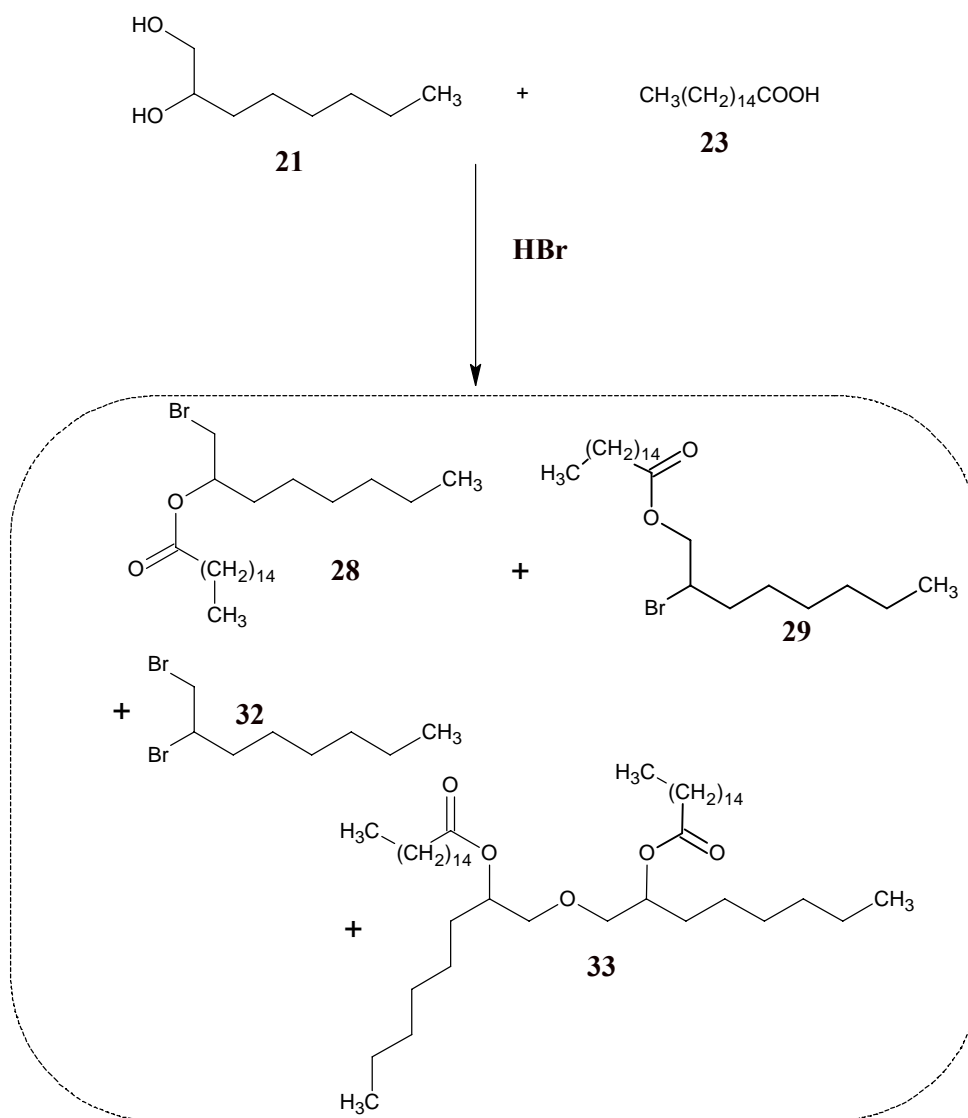


**Figura 37.** Reacció de l'1,2-octandiòl amb l'àcid palmític i el BrTMS.

Així doncs, el BrTMS es pot utilitzar com una font de brom, dissolvent i iniciador de la bromació-esterificació en un sol pas i sense l'addició de cap altre reactiu<sup>38,39</sup>. Encara que es produeix un rendiment considerable de

bromoalcohols, aquests poden ser fàcilment separats fent passar el producte de reacció a través d'una columna de sílice seca amb hexà:èter (99:1).

### 3.2.2. SÍNTESI DEL PALMITAT DE L' $\alpha,\beta$ -BROMOOCTIL AMB HBr



**Figura 38.** Reacció de l'1,2-octandiòl amb l'àcid palmític i l'HBr.

També es va estudiar la bromació-esterificació amb una altra font de brom, amb  $\text{HBr}_{\text{aq}}$  del 62% (**Figura 38**), ja que hi havia diversos mètodes a la literatura que l'utilitzaven, en tots els casos dissolt en àcid acètic o anhídrid acètic<sup>19-21</sup>.

L'HBr és un gas i la seva solubilitat a l'aigua és de 193 g/ 100 ml a 20°C. Aquest es comercialitza, a part d'en forma de gas líquat, dissolt en aigua o àcid acètic. Es va utilitzar l' $\text{HBr}_{\text{aq}}$  del 62% per què és en la màxima concentració en que es comercialitza. Les condicions de reacció van ser les mateixes que pel BrTMS.

Quan la font de brom fou l'HBr el rendiment de palmitat d' $\alpha,\beta$ -bromooctil (**28** i **29**) fou baix, del 44%, un 20% del palmitat d'1-(bromometil)heptil (**28**) i un 24% del palmitat de 2-bromooctil (**29**). A més, aquesta vegada l'isòmer amb més proporció va ser el que tenia el brom en posició 2, essent la proporció entre els dos regioisòmers de 45:55 (**28:29**). No hi va haver formació de bromoalcohols, però sí de dibromooctà (**32**) que, respecte el pes total dels productes formats representava un 33%. Aquesta vegada hi havia l'aparició d'un nou producte, un dímer (**33**) format per la condensació dels dos monoèsters amb el grup palmític en posició secundària. Aquest producte era present en un 7% del pes total del cru.

Golding i col. quan van fer reaccionar 1,2-propandiòl amb HBr 6M en àcid acètic van obtenir un rendiment dels corresponents acetats d' $\alpha,\beta$ -bromopropà del 94% amb un 94% de l'isòmer amb el brom en posició primària. També van obtenir un 93% de (+)-(*S*)-2-acetoxi-1-bromo-1-feniletà a partir del (-)-(*R*)-feniletà-1,2-diòl i un 91% d'àcid d'*eritro*-9(10)-(acetoxi)-10(9)-bromooctadecanoic a partir de l'àcid *threo*-9,10-dihidroxiocetadecanoic<sup>19</sup>.

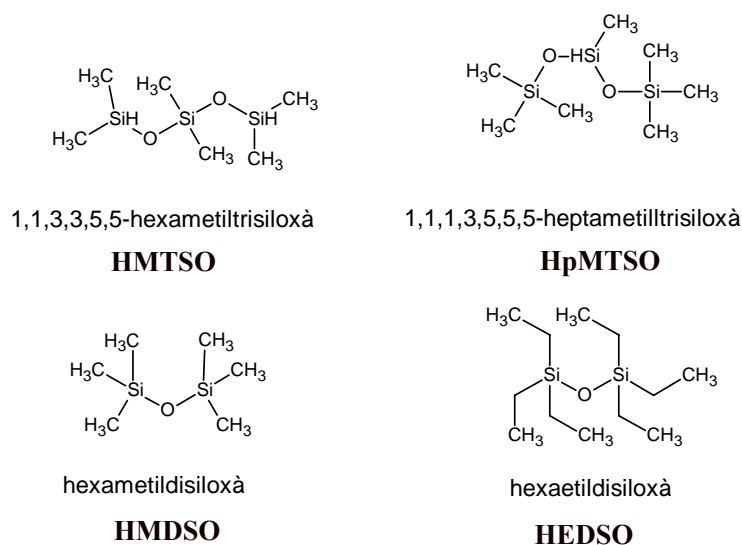
Ahmal i col. també van obtenir rendiments alts, al voltant del 90%, quan van tractar l'1,2-hexadecandiol i l'1,2-octadecandiol amb HBr en anhídrid acètic. Hi va haver també una petita formació, al voltant del 8%, del corresponent 1,3-diol per transposició<sup>20,21</sup>.

No obstant a la literatura no s'ha trobar cap metodologia amb HBr i altres àcids diferents de l'acètic.

En el nostre cas, però, com ja s'ha dit, la utilització d'HBr per a l'esterificació-bromació de l'1,2-octandiol amb l'àcid palmític només va donar un rendiment moderat de palmitat d' $\alpha,\beta$ -bromooctil, acompanyat d'un seguit de molts subproductes. A més, el regioisòmer majoritari era el que tenia el brom en posició 2, i no és un intermediari útil per a la posterior síntesi de les lactones comentades.

### **3.2.3. SÍNTESI DEL PALMITAT D' $\alpha,\beta$ -BROMOOCTIL AMB KBr**

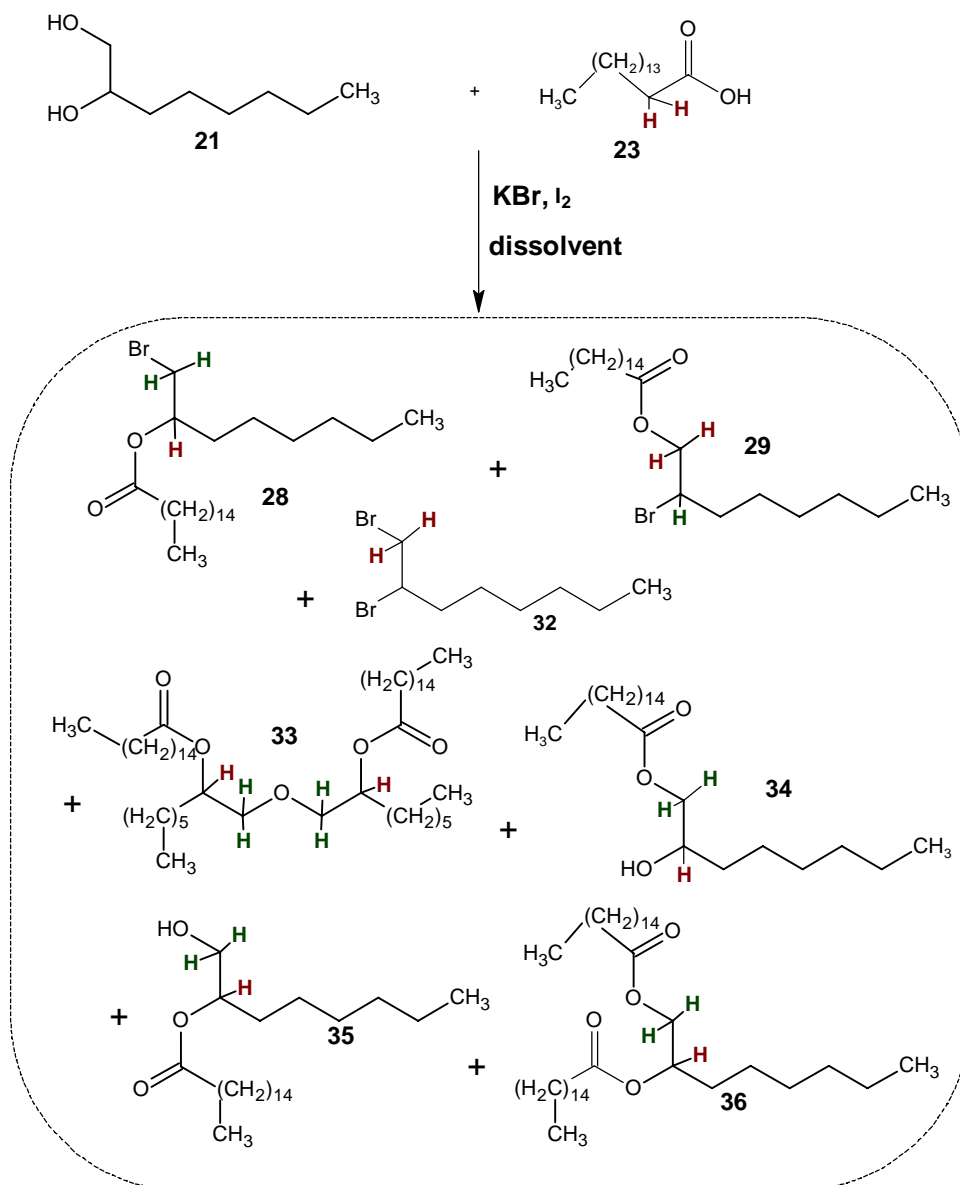
Ramalinga i col.<sup>42</sup> i altres<sup>43,44,46</sup> van utilitzar el iode, I<sub>2</sub>, com a catalitzador àcid de Lewis per a esterificar. Per tant, ens varem plantejar estudiar l'ús del I<sub>2</sub> com a catalitzador de la reacció d'esterificació-bromació de l'1,2-octandiol amb àcid palmític (**Figura 40**). Es va pensar que aquesta aproximació podria permetre emprar bromur potàssic (KBr) com a font de brom, el que portaria a un nou mètode sintètic sense la necessitat d'emprar reactius poc respectuosos amb el medi ambient.



**Figura 39.** Organosilans utilitzats com a dissolvents en l'estudi de la reacció de l'1,2-octandiòl amb àcid palmític, KBr i I<sub>2</sub>.

Primerament es van estudiar diferents dissolvents convencionals tals com: acetona, butanona, pentanona, hexanona, *t*-butil metil èter (TBME) i dimetilformamida (DMF).

A més, com que la reacció d'halogenació-esterificació quan s'utilitzava CTMS o el BrTMS com a dissolvents i font d'halogen es duia a terme amb un elevat rendiment i d'una manera selectiva es va estudiar l'ús d'altres organosilans, ara no halogenats, com a dissolvents en la reacció de bromació-esterificació quan la font d'halògen fos una sal, el KBr. La **Figura 39** mostra els organosilans que es van estudiar.



**Figura 40.** Reacció de l'1,2-octandiòl amb l'àcid palmític,  $\text{KBr}$ ,  $\text{I}_2$  en diferents dissolvents. Els protons en vermell i verd van ser els utilitzats pel seguiment de la reacció. Els protons en vermell van ser els utilitzats per la quantificació de la proporció de cada producte de la reacció.

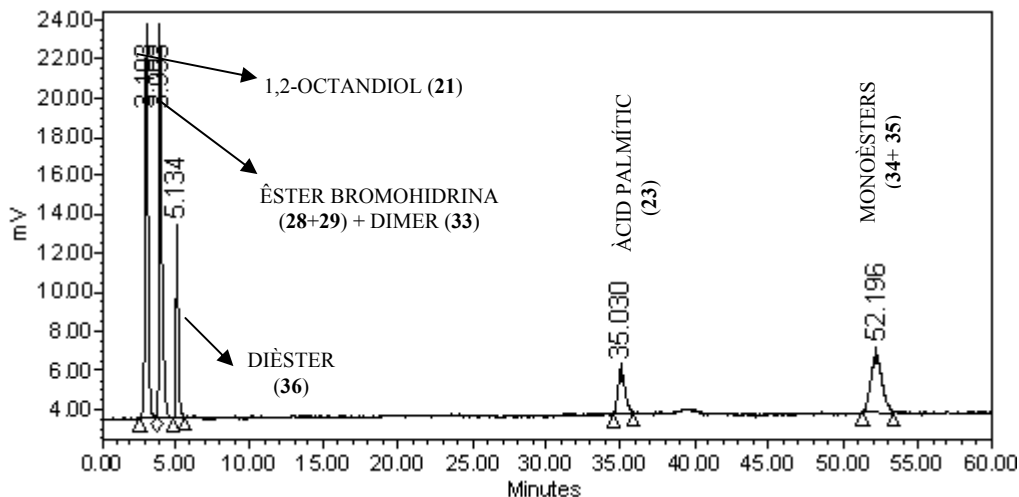


### 3.2.3.1. PROCEDIMENT SEGUIT PEL SEGUIMENT DE LES REACCIONS

Per tal de poder determinar quins productes s'havien format i la seva posterior quantificació, en primer lloc es va plantejar realitzar una anàlisi per cromatografia líquida d'alta resolució (HPLC). Es va triar una columna de sílice, amb una fase mòbil formada d'hexà:acetat d'etil:àcid fòrmic (96:4:0,01), i un detector de difusió lluminosa (Evaporative Light Scattering Detector, ELSD). Per separat es van analitzar els reactius, l'1,2-octandiòl (**21**) i l'àcid palmític (**23**), i els productes purificats en columna de sílice de les reaccions de bromació-esterificació amb BrTMS i HBr: els èsters de bromohidrina (**28** i **29**), els monoèsters (**34** i **35**), el dímer (**33**) i el dièster (**36**).

La **Figura 41** mostra la separació dels èsters de bromohidrina, monoèsters, dímer, àcid palmític i 1,2-octandiòl. L'1,2-octandiòl (**21**), els èsters de bromohidrina (**28** i **29**) i el dièster (**36**) eluïen als 6 min, estaven molt poc separats entre ells, i els monoèsters eren els més retinguts en la columna. No obstant, el dímer (**33**) tenia el mateix temps de retenció que els èsters de bromohidrina. Es van provar diferents fases mòbils amb diferent polaritat i també una columna de fase inversa, una C18, però no es va aconseguir millorar la separació ni separar el dímer dels èsters de bromohidrina. Per tant, l'HPLC-ELSD, amb les columnes assajades, no era un mètode apte per al seguiment i quantificació de palmitats d' $\alpha,\beta$ -bromoòtil. No obstant, si que es podia utilitzar pel seguiment i quantificació de monoèsters.

Per tant, es va decidir seguir les reaccions per RMN, realitzant un espectre de  $^1\text{H}$  a cada mostra. D'aquesta manera es va poder saber si hi havia el producte desitjat i en quin percentatge molar.

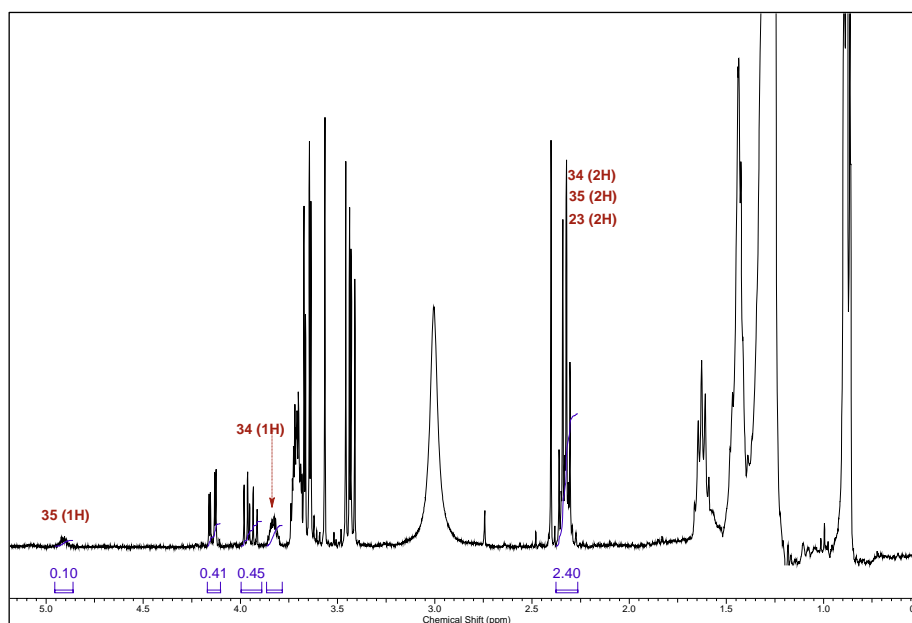


**Figura 41.** Cromatograma d'HPLC dels reactius (àcid palmític i 1,2-octandiòl) i diferents productes de reacció (monoèsters, èsters de bromohidrina i dièster) en una columna de sílice i amb fase mòbil hexà:acetat d'etil:àcid fòrmic (96:4:0,01)

Per a cada producte de reacció es va integrar l'àrea del senyal del/s protó/ns més característic/s de cada compost que no es superposava amb cap altre senyal dels altres productes o reactius. La senyal escollida normalment va correspondre als protons més desapantallats. La **Figura 40** mostra en vermell els protons dels quals es van integrar les senyals pel seguiment de la reacció.

Per a l'àcid palmític, tots els senyals es superposaven amb els dels altres compostos i per poder seguir la reacció es va utilitzar el senyal corresponent als dos protons més propers al grup carboxil, triplet amb un desplaçament químic ( $\delta$ ) de 2,32 ppm, el qual es superposava amb els senyals dels productes que tenien un grup èster: els èsters d' $\alpha,\beta$ -bromooctil, monoèsters, dièster i dímer, els quals tenien també un senyal triplet en la mateixa zona, corresponent als protons de la part del palmitat més propers al grup èster. Per tant, per poder obtenir

l'àrea del senyal corresponent a l'àcid palmític es va restar a l'àrea del senyal compresa entre 2,25-2,40 l'àrea corresponent a dos protons dels compostos amb un grup èster, obtenint-se d'aquesta manera l'àrea per a l'àcid palmític. La **Figura 42** mostra un exemple de càlcul d'àrees.



**Figura 42.** Exemple de càlcul d'àrees d'un protó de cada compost.

Àrea d'un protó del palmitat d'1-(hidroximetil)heptil (**35**): 0,10

Àrea d'un protó del palmitat de 2-hidroxiocetil (**34**): 0,38

Àrea d'un protó d'àcid palmític (**23**):  $(2,40 - (0,10) * 2 - (0,38) * 2) / 2 = 0,72$

A partir de l'àrea del senyal característica de l'espectre de  $^1\text{H}$  de cada producte de reacció i l'àcid palmític es va calcular el percentatge molar de cadascun d'ells. Per tal d'assegurar-nos que al moment d'enregistrar la FID tots els protons estiguessin relaxats i així l'àrea d'integració de cada senyal característic fos més real a la quantitat de producte, es va utilitzar un temps de relaxació de 10 s i un pols de  $30^\circ$ <sup>73</sup>.

En els casos en que es va obtenir un percentatge elevat de l'èster de bromohidrina es va procedir a purificar amb columna de sílice cada producte de la reacció, obtenint així un rendiment final sobre producte aïllat.

### 3.2.3.2. ESTUDI DE LA REACCIÓ DE L'1,2-OCTANDIOL, ÀCID PALMÍTIC, KBr i I<sub>2</sub> AMB DIFERENTS DISSOLVENTS

La **Taula 1** mostra els productes obtinguts per a cada dissolvent estudiat en la reacció de l'1,2-octandiol amb l'àcid palmític, KBr i I<sub>2</sub> com a catalitzador de la reacció. A l'Annex II.1. es poden veure els espectres de <sup>1</sup>H corresponents a la reacció amb cada dissolvent. L'únic dissolvent amb el que es va obtenir palmitats d' $\alpha,\beta$ -bromooctil (**28** i **29**) va ser amb l'organosilà hexametiltrisiloxà (**HMTSO**). No obstant el rendiment va ser molt baix, estimant-se en un 3% respecte als altres productes formats i a l'àcid palmític. Els productes majoritaris van ser els palmitats de l' $\alpha,\beta$ -hidroxiocetil (**34** i **35**), amb més proporció de l'isòmer amb el grup hidroxil en posició secundària (**34**), seguit pel dièster de l'1,2-octandiol (**36**) i pel dímer (**33**), amb els grups èsters en posició secundària, i quedant encara molt àcid palmític sense reaccionar.

Pel que fa als altres dissolvents estudiats, en tots els casos, a excepció de la DMF amb la qual els reactius no van reaccionar, es van sintetitzar palmitats d' $\alpha,\beta$ -hidroxiocetil. Per l'acetona, TBME, butanona, hexanona, HEDSO i HpMTSO es van formar els dos regioisòmers sempre amb proporció majoritària de l'èster amb l'hidroxil en posició secundària (**34**) i amb l'ACN i HMDSO només es va produir el monoèster **34**. Un dels altres productes majoritaris formats va ser el dièster (**36**). Aquest es va formar en un percentatge elevat quan es va utilitzar butanona, pentanona, HEDSO i HpMTSO i en un percentatge més

baix amb TBME. Amb el TBME es va produir també una certa quantitat d'1,2-dibromooctà (**32**). A més, amb l'acetona, butanona i HpMISO es va formar un petit percentatge de dímer (**33**).

En resum, amb cap dels dissolvents estudiats es va produir un percentatge significatiu de palmitats d' $\alpha,\beta$ -bromooctil (**28** i **29**), produint-se amb la majoria dels dissolvents estudiats una barreja de diferents èsters, a excepció de l'ACN i HMISO, amb els quals l'únic producte format va ser el palmitat de 2-hidroxiocil (**34**) quedant, no obstant, molt àcid palmític sense reaccionar, indicant un baix rendiment de la reacció ja que l'àcid palmític era el reactiu limitant. Semblava, doncs, que si bé es formava monoèster, producte que s'ha postulat com l'intermedi de reacció necessari per la posterior formació de l'intermedi cíclic que hauria de portar a l'èster de la bromohidrina, no evolucionava cap el producte desitjat pràcticament en quasi cap cas. En el cas que ho feia (amb HMISO), l'extensió del procés era molt petita.

**Taula 1.** Productes de la reacció de l'1,2-octandiòl amb l'àcid palmític, KBr i I<sub>2</sub> en diferents dissolvents a les 48 h.

DISSOLVENT	T (°C)	PRODUCTES	Integració senyal RMN <sup>a</sup>	% molar
<b>HMTSO</b>	100	<b>28</b>	0,38	2
		<b>29</b>	0,05	1
		<b>34</b>	6,81	36
		<b>35</b>	1,89	10
		<b>36</b>	1,19	6
		<b>33</b>	3,81	20
		<b>23</b>	4,73	25
<b>ACETONA</b>	80	<b>34</b>	1,25	43
		<b>35</b>	0,30	10
		<b>33</b>	0,24	8
		<b>23</b>	1,12	38
<b>TBME</b>	80	<b>34</b>	2,66	14
		<b>35</b>	2,52	13
		<b>36</b>	1,20	6
		<b>38</b>	3,71	18
		<b>23</b>	9,73	20
<b>DMF</b>	80	-	-	-
<b>ACN</b>	80	<b>34</b>	1,24	63
		<b>23</b>	0,73	37
<b>BUTANONA</b>	100	<b>34</b>	6,20	32
		<b>35</b>	2,60	13
		<b>36</b>	9,80	51
		<b>33</b>	0,80	4
		<b>23</b>	nd	-
<b>PENTANONA</b>	100	<b>34</b>	1,46	37
		<b>35</b>	0,62	16
		<b>36</b>	1,92	48
		<b>23</b>	nd	-

<sup>a</sup>: Integració del senyal característic de l'espectre de RMN de <sup>1</sup>H per a cada producte. Les integracions corresponen a la mitja de dues repeticions. A l'Annex II.1. hi ha els espectres RMN de <sup>1</sup>H d'una d'aquestes repeticions.

Taula 1 (cont.).

DISSOLVENT	T (°C)	PRODUCTES	Integració senyal RMN <sup>a</sup>	% molar
HEXANONA	100	34	0,96	79
		35	0,33	17
		36	0,49	25
		23	nd	-
HMDSO	100	34	6,12	64
		23	3,38	36
HEDSO	100	34	2,40	38
		35	0,40	6
		36	3,60	56
		23	nd	-
HpMTO	100	34	2,00	26
		35	0,2	3
		36	5,00	65
		33	0,5	6
		23	nd	-

<sup>a</sup>: Integració del senyal característic de l'espectre de RMN de <sup>1</sup>H per a cada producte. Les integracions corresponen a la mitja de dues repeticions. A l'Annex II.1. hi ha els espectres RMN de <sup>1</sup>H d'una d'aquestes repeticions.

### 3.2.3.3. SÍNTESI DEL PALMITAT DE L' $\alpha,\beta$ -BROMOOCTIL AMB KBr, I<sub>2</sub> I DIFERENTS LÍQUIDS IÒNICS

Com que amb cap dels dissolvents convencionals estudiats es va aconseguir la síntesi d'èsters de bromohidrina en rendiment adequat, es va voler estudiar si la bromació-esterificació es duia a terme amb líquids iònics, amb el KBr com a font d'halogen i el I<sub>2</sub> com a catalitzador de la reacció. Fins ara no s'ha descrit cap reacció d'halogenació-esterificació en un sol pas amb LIs, però sí que han estat emprats LIs en reaccions d'esterificació i d'halogenació.

Ja que tots els LIs descrits a la literatura per esterificacions i halogenacions són tots derivats de l'imidazole i la piridina, es procedí a estudiar un seguit de LIs amb cations derivats de l'imidazole, la pirrolidina i la piridina. Els anions foren:

[BF<sub>4</sub>]<sup>-</sup>, [PF<sub>6</sub>]<sup>-</sup> i [N(Tf)<sub>2</sub>]<sup>-</sup>. Part d'aquests, concretament: [HMIM][N(Tf)<sub>2</sub>], [HMIM][BF<sub>4</sub>], [BMPy][N(Tf)<sub>2</sub>], [BM<sub>2</sub>IM][N(Tf)<sub>2</sub>], [OMIM][N(Tf)<sub>2</sub>], [OMIM][BF<sub>4</sub>], van estar sintetitzats per mi durant la meua estada al grup de recerca del Prof. Tom Welton a l'Imperial College of London. Altres van estar sintetitzats pel seu grup d'investigació: [BPy][N(Tf)<sub>2</sub>], [BHIM][BF<sub>4</sub>], [BDIM][BF<sub>4</sub>], [DBIM][BF<sub>4</sub>] i un era comercial, subministrat per Merck: [BMIM][PF<sub>6</sub>]<sup>\*</sup>.

La **Taula 2** mostra els productes formats i la proporció entre ells i l'àcid palmític sense reaccionar per als LIs que contenen l'anió [N(Tf)<sub>2</sub>]<sup>-</sup>. En tots els casos va quedar bastant àcid palmític sense reaccionar. A excepció del [BM<sub>2</sub>IM][N(Tf)<sub>2</sub>], hi va haver formació de palmitat d' $\alpha,\beta$ -bromooctil (**28** i **29**) amb tots els LIs, essent però el seu percentatge respecte els altres productes formats i l'àcid palmític molt baix.

En tots els casos el producte majoritari que es va formar van ser els palmitats d' $\alpha,\beta$ -hidroxioctil (**34** i **35**), amb proporció sempre més gran del regioisòmer amb el grup hidroxil en posició secundària (**34**).

Al ser en tots els casos el producte majoritari el monoèster **34** i al quedar bastant àcid palmític sense reaccionar ens indicava que la reacció d'esterificació-bromació si que es produïa però molt lentament. En tots els casos, menys pel [BM<sub>2</sub>IM][N(Tf)<sub>2</sub>], també hi va haver formació de dièster (**36**) en un baix percentatge.

---

\* : L'elecció del catió i anió va ser aconsellada pel Prof. Tom Welton, professor de Química Sostenible al Departament de Química de l'Imperial College of London, amb 80 publicacions sobre LIs, un llibre sobre Síntesi en Líquids Iònics<sup>74</sup>, un capítol en un llibre sobre Avenços en sals fosses<sup>75</sup> i una patent sobre un procés de reciclatge de LIs<sup>76</sup>



**Taula 2.** Productes de la reacció de l'1,2-octandiòl amb l'àcid palmític, KBr i I<sub>2</sub> en diferents LIs amb l'anió [N(Tf)<sub>2</sub>]<sup>-</sup> a 100°C durant 48 h.

LÍQUID IÒNIC	PRODUCTE	Integració senyal RMN <sup>a</sup>	% molar
[HMIM][N(Tf) <sub>2</sub> ]	28	0,16	10
	29	0,05	3
	34	1,03	62
	35	0,22	13
	36	0,21	13
	23	0,37	22
	[OMIM][N(Tf) <sub>2</sub> ]	28	0,82
29		0,45	2
34		10,44	38
35		2,72	10
36		1,27	5
33		0,10	1
23		12,00	41
[BM <sub>2</sub> IM][N(Tf) <sub>2</sub> ]	28	0,45	30
	35	0,15	10
	23	0,91	60
[BPy][N(Tf) <sub>2</sub> ]	28	0,88	3
	29	0,25	1
	34	9,70	30
	35	3,31	10
	36	1,42	4
	23	16,40	51
[BMPy][N(Tf) <sub>2</sub> ]	28	1,15	5
	29	0,65	3
	34	11,49	47
	35	3,12	13
	36	1,66	7
	39	0,18	1
	23	6,38	26

<sup>a</sup>: Integració del senyal característic de l'espectre de RMN de <sup>1</sup>H per a cada producte. Les integracions corresponen a la mitja de dues repeticions. A l'Annex II.1. hi ha els espectres RMN de <sup>1</sup>H d'una d'aquestes repeticions.

La **Taula 3** mostra els resultats per als LIs amb l'anió  $[\text{BF}_4]^-$  i  $[\text{PF}_6]^-$ . Quan es van utilitzar els LIs  $[\text{BDIM}][\text{BF}_4]$  i  $[\text{B}_2\text{IM}][\text{BF}_4]$ , els reactius van reaccionar molt poc produint-se únicament palmitats d' $\alpha,\beta$ -hidroxiocetil (**34** i **35**), bàsicament el monoèster amb l'hidroxil en posició secundària (**34**). Amb els LIs  $[\text{BM}_2\text{IM}][\text{BF}_4]$  i  $[\text{HMIM}][\text{BF}_4]$  només hi va haver una petita formació del monoèster **34** i va quedar molt àcid palmític sense reaccionar. Amb els altres LIs estudiats amb l'anió  $[\text{BF}_4]^-$ ,  $[\text{OMIM}][\text{BF}_4]$  i  $[\text{BMPy}][\text{BF}_4]$ , hi va haver formació de palmitat d' $\alpha,\beta$ -bromooctil (**28** i **29**) en una proporció molt baixa i a més també va quedar molt àcid palmític sense reaccionar. En aquests dos casos els productes majoritaris eren els palmitats d' $\alpha,\beta$ -hidroxiocetil (**34** i **35**) i un petit percentatge de dièster (**36**).

Amb aquests LIs, al ser el producte majoritari el monoèster **34** i al quedar molt àcid palmític sense reaccionar ens indicava que la reacció d'esterificació-bromació si que es produïa però molt lentament. Només quan es va utilitzar el  $[\text{BMIM}][\text{PF}_6]$  hi va haver una formació significativa dels palmitats d' $\alpha,\beta$ -bromooctil (**28** i **29**), 48% i 27% respectivament, obtenint-se també en aquest cas, més proporció de l'isòmer amb el brom en posició primària. Hi va haver també formació de dièster i va quedar encara àcid palmític sense reaccionar (16%).

**Taula 3.** Productes de la reacció de l'1,2-octandiol amb l'àcid palmític, KBr i I<sub>2</sub> en diferents LIs amb l'anió [BF<sub>4</sub>]<sup>-</sup> i amb [BMIM][PF<sub>6</sub>] a 100°C durant 48 h.

LI	PRODUCTE	Integració senyal RMN <sup>a</sup>	% molar
[B <sub>2</sub> IM][BF <sub>4</sub> ]	34	0,60	25
	35	0,11	5
	23	1,66	70
[HMIM][BF <sub>4</sub> ]	34	0,54	18
	23	2,45	82
[OMIM][BF <sub>4</sub> ]	28	0,07	4
	34	0,72	37
	35	0,22	11
	36	0,05	3
	23	0,89	46
[BM <sub>2</sub> IM][BF <sub>4</sub> ]	34	2,50	12
	23	17,53	88
[BDIM][BF <sub>4</sub> ]	34	0,23	13
	35	0,05	3
	23	1,53	85
[BMPy][BF <sub>4</sub> ]	28	0,08	4
	29	0,02	1
	34	0,60	29
	35	0,17	8
	36	0,04	2
	23	1,18	56
[BMIM][PF <sub>6</sub> ]	28	0,88	48
	29	0,50	27
	36	0,17	9
	23	0,30	16

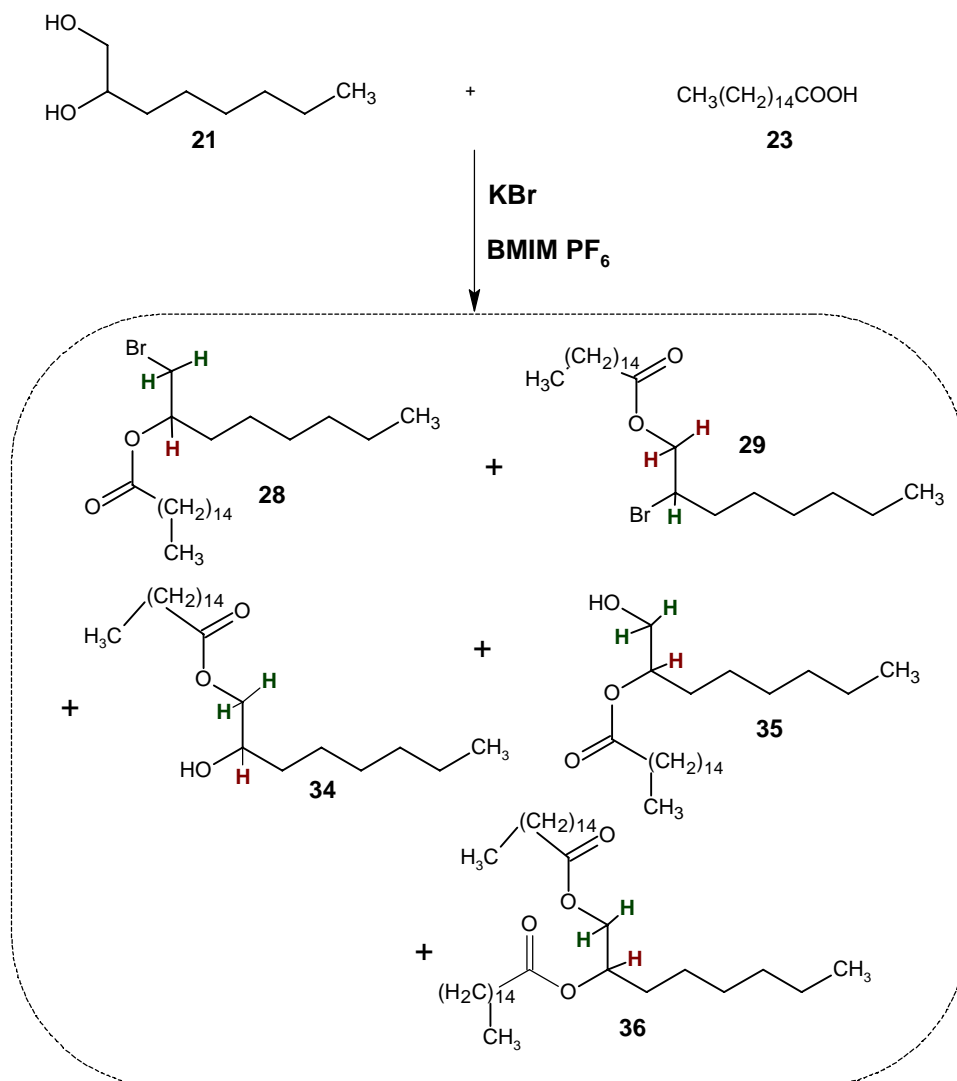
<sup>a</sup>: Integració del senyal característic de l'espectre de RMN de <sup>1</sup>H per a cada producte. Les integracions corresponen a la mitjana de dues repeticions. A l'Annex II.1. hi ha els espectres RMN de <sup>1</sup>H d'una d'aquestes repeticions.

### 3.2.3.4. SÍNTESI DEL PALMITAT DE L' $\alpha,\beta$ -BROMOOCTIL AMB KBr I [BMIM][PF<sub>6</sub>] SENSE I<sub>2</sub>

Els LIs en síntesi orgànica poden actuar, a part de com a dissolvent en reaccions, com a catalitzadors<sup>55,60,77,78</sup>, concretament poden ser considerats com organocatalitzadors. Els organocatalitzadors tenen la particularitat de tenir un fàcil equilibri entre els estats electro-rics i electro-deficients. Per entendre aquest equilibri es pot considerar la protonació-desprotonació, on, d'una banda pot activar el reactiu i per l'altra pot contribuir a l'equilibri cinètic del lligant. Com a resultat d'aquest equilibri el mateix centre pot actuar com a àcid o base de Lewis<sup>37</sup> o Brønsted<sup>79</sup>. Per exemple, la ribonucleasa A, conté una unitat d'imidazole. Aquesta unitat pot actuar com a base general i la seva forma protonada com un àcid general<sup>80</sup>.

Per tant, es va creure convenient estudiar la reacció de esterificació-bromació amb el LI que vam obtenir més formació de palmitat d' $\alpha,\beta$ -bromooctil, amb [BMIM][PF<sub>6</sub>], amb les mateixes condicions però aquesta vegada sense I<sub>2</sub> (**Figura 43**).

La reacció de l'1,2-octandiòl amb l'àcid palmític i el KBr en [BMIM][PF<sub>6</sub>] i sense I<sub>2</sub> va tenir lloc de la mateixa manera i amb la formació dels mateixos productes i en la mateixa proporció que amb I<sub>2</sub>: 50% de **28**, 24% de **29**, 11% de **34**, un 1% de **35**, 1% de **36** i 13% de **23**. Això indica que el LI, el [BMIM][PF<sub>6</sub>], a part de dissolvent també ha catalitzat la reacció.

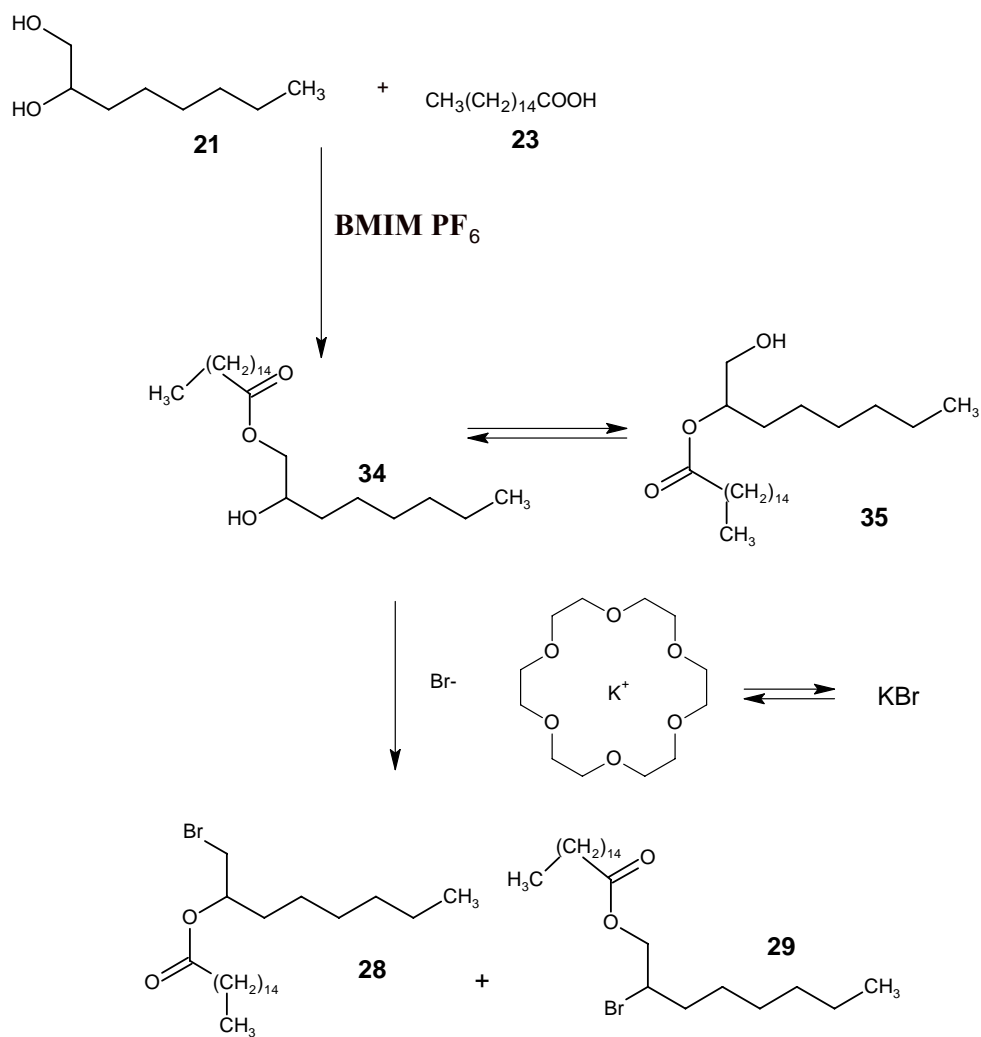


**Figura 43.** Reacció de l'1,2-octandiol, l'àcid palmític, KBr en [BMIM][PF<sub>6</sub>]. Els protons en vermell i verd van ser els utilitzats pel seguiment de la reacció. Els protons en vermell van ser els utilitzats per la quantificació de la proporció de cada producte de la reacció.

Tot seguit es va procedir a la purificació dels productes obtinguts en columna de sílice per tal de conèixer el seu rendiment en pes aïllat de cada producte de reacció. El rendiment de palmitat d' $\alpha,\beta$ -bromooctil fou moderat, d'un 43%, un 30% del palmitat d'1-(bromometil)heptil (**28**) i un 13% del palmitat de 2-bromooctil (**29**). També hi va haver bastant formació de monoèsters (**34** i **35**), un 23%. A més van aparèixer altres productes en més baixa proporció, el bromoalcohol que té l'halogen en posició primària (**30**), rendiment del 4%, i que no s'havia identificat en l'espectre de RMN de  $^1\text{H}$ , segurament per estar en un baix percentatge, i un 6% de dièster (**36**).

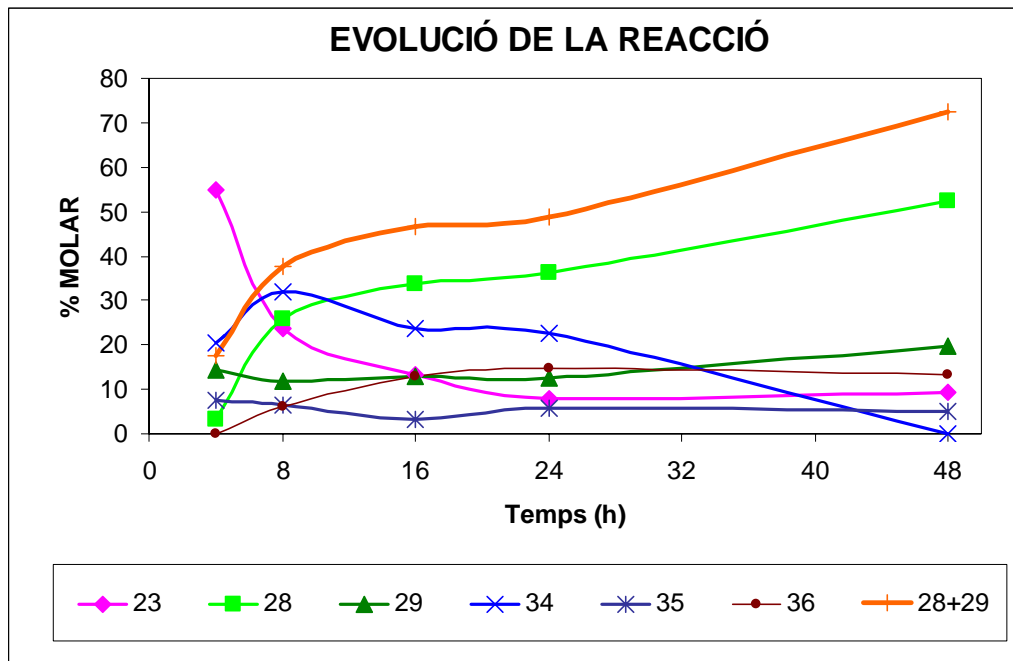
Es va pensar que una possible explicació del per què el rendiment era baix podia ser deguda a la presència del catió  $\text{K}^+$  lliure en el medi de reacció. Per això es va voler estudiar la reacció amb la presència d'un èter corona que segrestés el  $\text{K}^+$  i d'aquesta manera s'augmentés la capacitat de l'ió  $\text{Br}^-$  per halogenar, segons el mecanisme proposat per Eras i col.<sup>26</sup>, comentat més endavant. Segons Sam i Simmons el ions halurs incrementen la seva reactivitat en presència d'èters corona degut a la complexació dels cations, fet que incrementa la dissociació iònica. També la reactivat pot ser deguda a l'augment de les propietats bàsiques dels complexos<sup>47</sup>.

**3.2.3.5. SÍNTESI DEL PALMITAT DE L' $\alpha,\beta$ -BROMOOCTIL AMB KBr EN [BMIM][PF<sub>6</sub>] SENSE I<sub>2</sub> AMB 18-CROWN-6 A DIFERENTS TEMPS DE REACCIÓ**



**Figura 44.** Esquema proposat per l'esterificació-bromació amb presència de 18-crown-6.

Es va realitzar doncs, la reacció en les mateixes condicions a diferents temps de reacció però ara amb l'addició d'un èter corona per segrestar el  $K^+$ , 18-crown-6 (**Figura 44**). El seguiment de la reacció es va dur a terme per RMN de  $^1H$ .



**Figura 45.** Evolució dels diferents productes de reacció de l'1,2-octandiòl amb l'àcid palmític, KBr, 18-crown-6 en [BMIM][PF<sub>6</sub>].

A la **Figura 45** es pot veure l'evolució de cada producte de reacció i de l'àcid palmític amb el temps. El percentatge entre els productes de reacció i l'àcid palmític va ser el calculat a partir de les integracions de cada senyal característic per cada producte de l'espectre de  $^1H$ . L'àcid palmític (**23**) va disminuir de les 0 fins les 24 h de forma exponencial. El monoèster amb l'hidroxil en posició secundària (**34**) va tenir el màxim de proporció a les 8 h, disminuint després fins a percentatges molt baixos. En canvi el monoèster amb l'hidroxil en posició primària (**35**) pràcticament va mantenir durant les 48 h el seu màxim aconseguit a les 4 h. El dièster (**36**) es comportà també d'una manera similar, tenint el seu



màxim de proporció a les 16 h, quan encara quedava àcid palmític per reaccionar, i mantenint-se després. El palmitat d' $\alpha,\beta$ -bromooctil amb el brom en posició secundària (**28**) va tenir el seu màxim de percentatge de formació a les 4 h, percentatge que pràcticament es va mantenir amb el temps. En canvi, el palmitat d' $\alpha,\beta$ -bromooctil amb el brom en posició primària (**29**) va augmentar d'una forma exponencial amb el temps. Com que a partir de les 24 h aquest va continuar augmentant i la proporció d'àcid palmític no va disminuir però si ho va fer la proporció del monoèster amb l'hidroxil en posició secundària (**34**), podem concloure que aquest èster de bromohidrina es va formar a partir del monoèster, confirmant el mecanisme de reacció posteriorment comentat. Golding i col. van observar la mateixa evolució dels productes de reacció amb el temps en la formació d'acetats de bromohidrina a partir del 2,3-butandiol i l'1,2-ciclohexandiol amb HBr 6 M en àcid acètic<sup>19</sup>.

A continuació es va procedir a la purificació dels productes de reacció després de 48 h de reacció en una columna de sílice. La presència de l'èter corona, amb l'objectiu de segrestar el  $K^+$ , va fer augmentar el rendiment de palmitats d' $\alpha,\beta$ -bromooctil d'un 43% a un 85%, un 60% del palmitat d'1-(bromometil)heptil (**28**) i un 25% del palmitat de 2-bromooctil (**29**). Va disminuir la producció de dièster recuperat (**36**), ara del 3%, pel que fa a la reacció sense l'èter corona. Tal i com es veia en la gràfica de la figura, també hi va haver una disminució de palmitats d' $\alpha,\beta$ -hidroxiocil (**34** i **35**), essent el rendiment del 6%, amb una relació d'isòmers de 90:10 (**34:35**). Amb la presència de l'èter corona també es va formar l'1-bromooctan-2-ol (**30**), amb un rendiment del 5%, i un 1% del 2-bromooctan-1-ol (**31**). El percentatge de cada un dels productes formats respecte al total de tots ells va ser d'un 87% pel palmitat d' $\alpha,\beta$ -bromooctil, d'un 5% pels bromoalcohols, un 5% pels monoèsters i d'un 3% pel dièster. Encara que hi ha

formació de subproductes, el palmitat d' $\alpha,\beta$ -bromooctil és de fàcil purificació ja que només s'ha de passar per una columna de sílice seca al buit amb hexà:èter (99:1), essent el primer que elueix.

### 3.2.3.6. ESTUDI DE LA INFLUÈNCIA DE L'ESTEQUIOMETRIA KBr:ÀCID PALMÍTIC EN LA SÍNTESI DEL PALMITAT D' $\alpha,\beta$ -BROMOOCTIL

Una vegada aconseguit un elevat rendiment d'esterificació-bromació es va voler estudiar la influència de la proporció molar del KBr amb l'àcid palmític. Per això es van estudiar diferents estequiometries KBr:àcid palmític (**23**). A l'igual que anteriorment, la reacció es va seguir per RMN de  $^1\text{H}$ .

Si es consideren les dades obtingudes per RMN de  $^1\text{H}$ , amb un excés molar de 3 del KBr respecte del palmític (**23**) ja es va produir el màxim rendiment de la reacció (**Taula 4**).

A continuació es va procedir a la purificació dels productes de les reaccions en les que es va obtenir un alt rendiment d'èsters de bromohidrina, proporcions 5:1 i 3:1 de KBr:àcid palmític (**23**). Com que l'objectiu era conèixer el rendiment de palmitat d' $\alpha,\beta$ -bromooctil, només es van purificar els palmitats d' $\alpha,\beta$ -bromooctil (**28** i **29**) i el dièster (**36**), ja que aquest a l'hora de la purificació en columna de sílice eluïa justament a la fracció següent als palmitats d' $\alpha,\beta$ -bromooctil.

Amb una proporció molar de 3:1, el rendiment de palmitat d' $\alpha,\beta$ -bromooctil baixava fins a un 64%, amb una relació regioisomèrica de **28:29** de 73:27. A més en aquest cas es va veure una mica més afavorida la producció de dièster, amb un rendiment del 8%, que amb una proporció de 7:1 KBr:àcid palmític.

Amb una proporció de 5:1, s'obtenia el mateix rendiment que amb 7:1. Un 84% dels palmitats d' $\alpha,\beta$ -bromooctil, amb una relació 71:29 entre el palmitat d'1-(bromometil)heptil (**28**) i el palmitat de 2-bromooctil (**29**), i un 3% de dièster, el que indicava que la reacció es podia dur a terme reduint la quantitat de KBr de 7:1 a 5:1.

**Taula 4.** Productes de la reacció de l'1,2-octandiòl amb l'àcid palmític, KBr en [BMIM][PF<sub>6</sub>] i 18-Crown-6 a diferents proporcions estequiomètriques de KBr:àcid palmític(**23**) a 100°C i durant 48 h.

KBr:23	PRODUCTES	Integració senyal RMN <sup>a</sup>	% molar
7:1	<b>28</b>	9,00	53
	<b>29</b>	3,39	20
	<b>34</b>	0,83	5
	<b>36</b>	2,27	13
	<b>23</b>	1,62	9
5:1	<b>28</b>	1,60	57
	<b>29</b>	0,47	25
	<b>36</b>	0,16	8
	<b>23</b>	0,18	10
3:1	<b>28</b>	1,12	61
	<b>29</b>	0,47	25
	<b>36</b>	0,14	8
	<b>23</b>	0,12	6
2:1	<b>28</b>	0,89	43
	<b>29</b>	0,50	24
	<b>36</b>	0,30	14
	<b>23</b>	0,39	19
1,1:1	<b>28</b>	0,84	28
	<b>29</b>	0,41	14
	<b>36</b>	0,29	9
	<b>23</b>	1,46	49

<sup>a</sup>:Integració del senyal característic de l'espectre de <sup>1</sup>H per a cada producte. Les integracions corresponen a la mitja de dues repeticions.

Es pot concloure, doncs, que si bé per RMN la proporció 3:1 semblava donar rendiments equivalents, quan es purificaven els crús de reacció es feia evident que s'havia d'anar a una relació 5:1 per obtenir els percentatges més elevats. Per la seva banda la proporció de KBr no semblava afectar en gran mesura a la relació entre els dos regioisòmers.

Així doncs, una de les metodologies per sintetitzar palmitat d' $\alpha,\beta$ -halooctil en un sol pas és l'extensió de la metodologia descrita per Eras i col.<sup>26</sup>. Es pot obtenir el palmitat d' $\alpha,\beta$ -clorooctil a partir de l'1,2-octandiòl i l'àcid palmític amb CTMS amb un rendiment del 86%, un 77,4% del palmitat d'1-(clorometilheptil) i un 8,6% del palmitat de 2-clorooctil (proporció 90:10).

Amb la substitució del CTMS pel BrTMS també es pot obtenir el corresponent palmitat d' $\alpha,\beta$ -bromooctil a partir de l'1,2-octandiòl i l'àcid palmític amb un rendiment en aquest cas del 79%, un 59% del palmitat d'1-(bromometilheptil) i un 20% del palmitat de 2-bromooctil (proporció 75:25).

Al intentar realitzar l'esterificació-bromació amb HBr a partir de l'1,2-octandiòl i l'àcid palmític, el rendiment del palmitat d' $\alpha,\beta$ -bromooctil va ser només del 44%, i hi va haver més proporció de l'isòmer amb el brom en posició secundària. Així s'obté un 20% del palmitat d'1-(bromometilheptil) i un 24% del palmitat de 2-bromooctil (proporció 45:55). Encara que a la literatura hi ha mètodes descrits per la síntesi d'èsters d'halohidrina amb elevat rendiment i regioespecificitat a partir d'HBr aquests sempre són acetats i no hi ha cap mètode descrit amb altres àcids<sup>19-21</sup>. Els acetats d'halohidrina sovint no són tan útils per a la transformació d'aquests amb lipases, ja que aquestes prefereixen èsters de cadena més llarga<sup>81</sup>.

Finalment el palmitat d' $\alpha,\beta$ -bromoocetil es pot també obtenir a partir de l'1,2-octandiol, l'àcid palmític i el KBr en [BMIM][PF<sub>6</sub>] en un sol pas. En aquest cas el rendiment és del 85%, major que amb BrTMS, encara que amb una proporció una mica superior del palmitat de 2-bromoocetil (29% en front del 25%). Amb els altres mètodes químics descrits en la literatura, en cap cas s'obté un rendiment de reacció quantitatiu i en la majoria d'aquests es formen també subproductes com dièsters i monoèsters. Els mètodes químics descrits utilitzen, per a l'obtenció d'èsters d'halohidrina, fonts d'halogen variades com: halurs d'àcid, pentahalogenurs de fòsfor, halurs de tionils, dibromurs de trifenilfosfina, bromosuccimida (NBS) i halotrimetilsilans entre altres. Reactius amb diferent nivell de toxicitat i generalment irritants, per tant no gaire respectuosos amb el medi ambient. A la vegada poden generar subproductes halogenats, entre ells halurs d'àcid. A més, a excepció dels halotrimetilsilans, es necessita de dissolvents com benzè, diclorometà, dimetilformamida, per a que es dugui a terme la reacció i de vegades la presència de bases com la piridina. A més a més generalment es requereix més d'una etapa de reacció.

La metodologia desenvolupada en aquesta tesi per a la síntesi de palmitat d' $\alpha,\beta$ -bromohidrina és ambientalment més respectuosa. El KBr o altres KX són de fàcil manipulació ja que són sòlids i amb baixa pressió de vapor i són menys tòxics que altres fonts d'halogen. El KBr, encara que la Food and Drug Administration (FDA) ha prohibit el seu ús, s'havia utilitzat al segle XIX i al començament del segle XX en medicina i veterinària com anticonvulsiu i sedant. Actualment s'utilitza com a medicament antiepilèptic per a gossos i gats. A Alemanya es permet el seu ús en medicaments antiepilèptics<sup>82,83</sup>. Pel que fa als LIs, en el capítol on es descriu la preparació de líquids iònics, ja s'ha explicat que, degut a les seves propietats físico-químiques són una de les alternatives als

dissolvents convencionals, normalment inflamables, volàtils i tòxics, per tenir una molt baixa pressió de vapor, gran estabilitat tèrmica, dissoldre un ampli rang de compostos i capacitat de ser reciclats entre moltes altres.

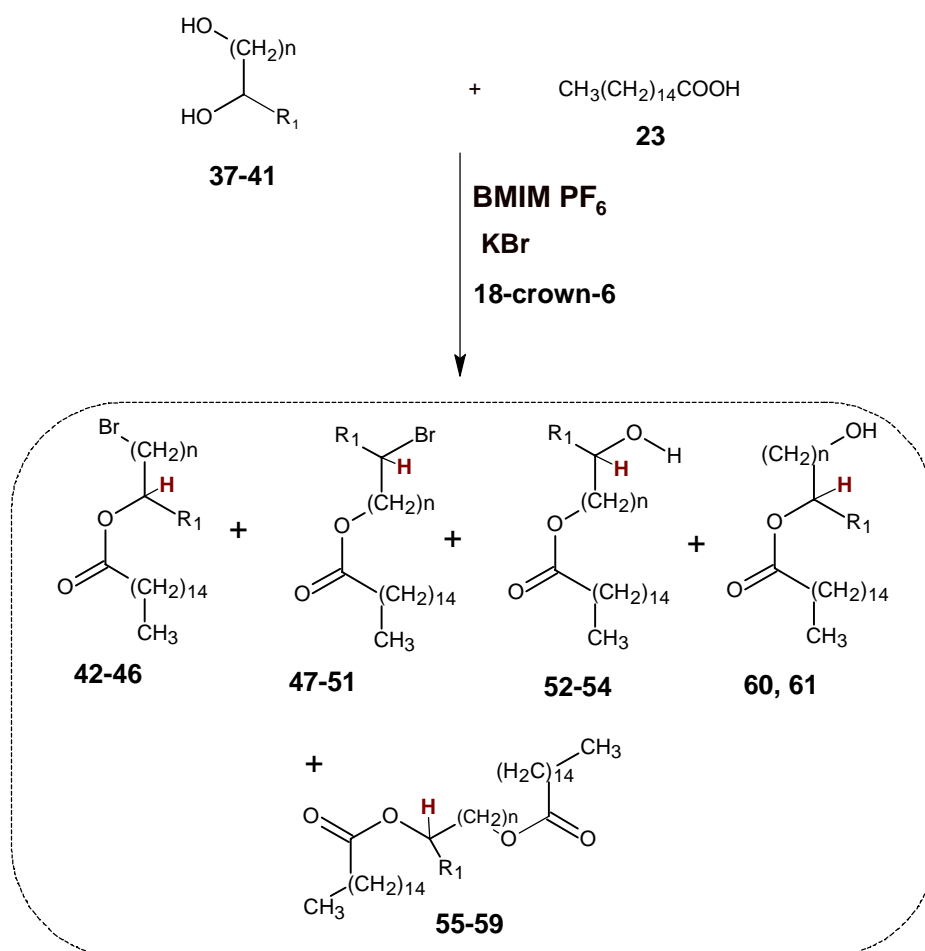
Segons la meua coneixença és la primera vegada que s'utilitza un LI per a la síntesi d'èsters d'halohidrina en un sol pas com a medi de reacció i com catalitzador d'aquesta.

Degut a l'elevat rendiment i bona regioespecificitat de l'esterificació-bromació de l'1,2-octandiol amb l'àcid palmític i el KBr en [BMIM][PF<sub>6</sub>] es va voler estudiar l'extensió de la reacció a altres 1,2-diols, àcids i sals d'halur.

### **3.3. ESTUDI DE LA REACCIÓ D'ESTERIFICACIÓ-BROMACIÓ AMB DIFERENTS DIOLS**

Es va estudiar l'esterificació-bromació de diferents diols amb l'àcid palmític, el KBr i amb [BMIM][PF<sub>6</sub>] (**Figura 46**). En concret es van estudiar l'1,2-hexandiol, 1,2-pentandiol, 1,2-butandiol, 1,2-propandiol i l'1,3-butandiol, un 1,3-diol precursor del *R*-4-cloro-2-butanol, intermediari sintètic per a la preparació de lactones<sup>5</sup>.

La **Taula 5** mostra per als diols estudiats els productes obtinguts i el percentatge molar dels productes de la reacció i l'àcid sense reaccionar. La **Taula 6** mostra els rendiments dels productes recuperats per a cada diol una vegada el cru de reacció fou purificat emprant una columna de sílice.



**37, 42, 47, 52, 55:**  $n=1$  ;  $\text{R}_1=(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3$   
**38, 43, 48, 56:**  $n=1$  ;  $\text{R}_1=(\text{CH}_2)_2\text{CH}_3$   
**39, 44, 49, 53, 57, 60:**  $n=1$  ;  $\text{R}_1=\text{CH}_2\text{CH}_3$   
**40, 45, 50, 58:**  $n=1$  ;  $\text{R}_1=\text{CH}_3$   
**41, 46, 51, 54, 59, 61:**  $n=2$  ;  $\text{R}_1=\text{CH}_2\text{CH}_3$

**Figura 46.** Reacció de diferents diols amb l'àcid palmític, KBr i 18-crown-6 en [BMIM][PF<sub>6</sub>]. Els protons en vermell van ser els utilitzats per la quantificació de la proporció de cada producte de la reacció.

**Taula 5.** Productes obtinguts de la reacció de diferents diols amb l'àcid palmític, KBr i 18-crown-6 en [BMIM][PF<sub>6</sub>] a 100°C i durant 48 h.

DIOL		PRODUCTES	Integració senyal RMN <sup>a</sup>	% molar
<b>37</b>	<b>1,2-hexandiol</b>	<b>42</b>	1,19	50
		<b>47</b>	0,59	25
		<b>55</b>	0,61	26
		<b>23</b>	-	-
<b>38</b>	<b>1,2-pentandiol</b>	<b>43</b>	1,58	57
		<b>48</b>	0,71	25
		<b>56</b>	0,50	18
		<b>23</b>	-	-
<b>39</b>	<b>1,2-butandiol</b>	<b>44</b>	1,01	40
		<b>49</b>	0,55	22
		<b>57</b>	0,26	10
		<b>23</b>	0,73	29
<b>40</b>	<b>1,2-propandiol</b>	<b>45</b>	2,73	41
		<b>50</b>	1,06	16
		<b>58</b>	0,26	4
		<b>23</b>	2,69	40
<b>41</b>	<b>1,3-butandiol</b>	<b>45</b>	1,23	36
		<b>51</b>	0,63	19
		<b>59</b>	1,54	45
		<b>23</b>	-	-

<sup>a</sup>: Integració del senyal característic de l'espectre de <sup>1</sup>H per a cada producte. Les integracions corresponen a la mitja de dues repeticions.

Pel que fa a tots els 1,2-diols estudiats el rendiment de palmitats d' $\alpha,\beta$ -bromoalquil ha disminuït si es compara amb l'1,2-octandiol. Per a l'1,2-hexandiol (**37**) i l'1,2-pentandiol (**38**) el rendiment de palmitats d' $\alpha,\beta$ -bromoalquil (productes **42**, **47** i **43**, **48** respectivament) ha passat d'un 85%, que s'obtenia amb l'1,2-octandiol, a un 60%. No obstant s'ha conservat la proporció entre els dos regioisòmers (70:30). A l'igual que per l'1,2-octandiol, hi ha hagut formació de dièster (**55** i **56** respectivament), aquesta vegada amb un percentatge lleugerament superior. Si bé no es van detectar per RMN de <sup>1</sup>H, quan es va purificar el cru es recuperaren petites quantitats de monoèsters. Així



en el cas de l'1,2-hexandiol es recuperà un 4% del monoèster **52** (hidroxil en posició secundària).

**Taula 6.** Productes i rendiment obtinguts de la reacció de diferents diols amb l'àcid palmític, KBr i 18-crown-6 en [BMIM][PF<sub>6</sub>] una vegada el cru ha estat purificat emprant gel de sílice.

DIOL		Producte	%Rendiment reacció <sup>a</sup>
37	1,2-hexandiol	42	60
		47	(67:33)
		52	4
		55	13
38	1,2-pentandiol	43	60
		48	(70:30)
		56	5
40	1,2-butandiol	44	53
		49	(65:35)
		53	6
		60	(72:28)
		57	8
41	1,2-propandiol	45	47
		50	(72:28)
		58	3
42	1,3-butandiol	46	41
		51	(66:34)
		54	9
		61	(73:27)
		59	21

<sup>a</sup>: El rendiment de cada producte, després purificació en columna de sílice, s'ha calculat respecte els mols màxims que es poden formar a partir del reactiu limitant, l'àcid palmític. Els rendiments corresponen a la mitja de dues repeticions.

El rendiment d'èster de bromohidrina obtingut per l'1,2-butandiol (**39**) va ser encara més baix, del 53 % (**44**, **49**) i va augmentar la proporció de l'èster amb el brom en posició secundària, essent en aquest cas la proporció entre **44** i **49** de 65:35. Hi va haver també formació de monoèsters (**53**, **60**), amb proporció

majoritària de l'èster amb el grup hidroxil en posició secundària (**53**), i formació de dièster (**57**). A més va quedar bastant àcid palmític sense reaccionar. Per l'1,2-propandiòl (**40**) el rendiment va ser encara més inferior, del 47% (**45**, **50**), i quedà encara més àcid palmític sense reaccionar. Aquesta vegada, però, la proporció entre **45:50** fou de 74:29. També hi va haver formació d'una mica de dièster (**58**).

En resum, a l'escurçar la cadena carbonada de l'1,2-diòl el rendiment dels èsters de bromohidrina disminueix. Disminueix en un 26% quan passa de 8 a 6 carbonis, conservant-se de 6 a 5 carbonis. Com que no s'observa un significant increment en la quantitat de dièster podria indicar que la reacció amb cadenes carbonades d'1,2-diòls més curtes que l'1,2-octandiòl és més lenta. La longitud de la cadena carbonada no sembla que tingui cap tipus d'influència amb la proporció entre els dos regioisòmers dels èsters de bromohidrina.

Pel cas del 1,3-diòl estudiat, l'1,3-butandiòl (**41**) dóna també un rendiment baix d'èster d' $\alpha,\gamma$ -bromobutil (**46**, **51**), concretament el 41%. També hi ha formació de monoèsters (**54** i **61**). En aquest cas el rendiment de dièster és molt més elevat que en el cas dels 1,2-diòls, indicant que la major separació dels dos grups hidroxils del diòl podria afavorir l'esterificació dels dos hidroxils en front de la substitució.

### 3.4. ESTUDI DE LA REACCIÓ D'ESTERIFICACIÓ-BROMACIÓ AMB DIFERENTS ÀCIDS

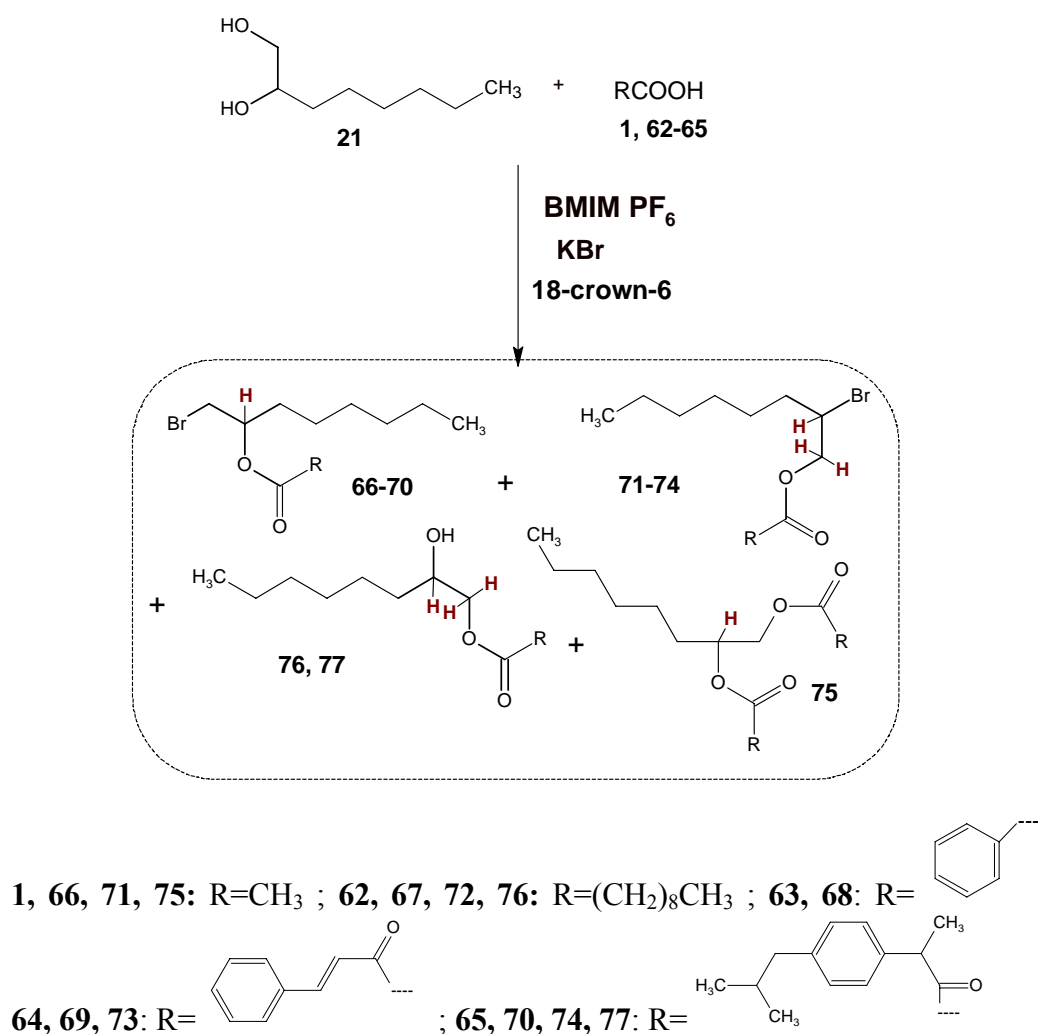
Es va voler també estudiar la influència del tipus d'àcid en la reacció d'esterificació-bromació (**Figura 47**). Per això es van triar diferents tipus d'àcids, dos lineals saturats de cadena més curta que l'àcid palmític: l'àcid decanoic i l'àcid acètic i altres amb un anell de benzè amb diferents substituents, l'àcid benzoic, l'ibuprofè i l'àcid cinàmic. En aquest cas la relació KBr:àcid va ser de 3:1, per així veure millor la diferència entre els rendiments.

La **Taula 7** mostra per als diferents àcids estudiats els productes obtinguts i el percentatge molar entre els productes i l'àcid sense reaccionar. A l'Annex II.1. es poden veure els espectres de RMN de  $^1\text{H}$  corresponents a una de les repeticions de la reacció.

Pel que fa als àcids lineals saturats, l'àcid acètic (**1**) i el decanoic (**62**), es va observar un percentatge elevat, al voltant del 80%, d'èsters d' $\alpha,\beta$ -bromooctil (**66**, **71** i **67** i **72** respectivament) amb la presència en ambdós casos d'àcid sense reaccionar (menys del 10%) i amb la formació de monoèster amb l'hidroxil en posició secundària (**75** i **76** respectivament). Les proporcions entre els dos èsters de bromooctil foren de 62:38 pel cas de l'àcid acètic i de 68:32 per l'àcid decanoic. Sembla ser doncs que es compleix el que ja varen observar Méndez. i col en un estudi semblant amb CTMS, quan més curta és la cadena de l'àcid major és la proporció del regioisòmer amb el brom en posició secundària<sup>27</sup>.

Amb els àcids que tenien un anell de benzè, l'àcid benzoic, cinàmic i l'ibuprofè, també hi va haver formació d'èsters de bromohidrina. Quan l'àcid fou el benzoic

(**63**), aquest reaccionava molt poc ja que s'observà un percentatge d'àcid molt elevat (88%). L'únic producte que s'observava en l'espectre de RMN de  $^1\text{H}$  era el benzoat d'1-(bromometil)heptil (**68**), és a dir, l'èster amb el brom en posició primària.



**Figura 47.** Reacció de l'1,2-octandiòl amb diferents àcids, KBr, 18-crown-6 en [BMIM][PF<sub>6</sub>]. Els protons en vermell van ser els utilitzats per la quantificació de la proporció de cada producte de la reacció.

Quan l'àcid fou el cinàmic (**64**) també va quedar molt àcid per reaccionar i els dos únics productes que es van formar foren els cinamats d' $\alpha,\beta$ -bromooctil (**69**, **73**), en aquest cas els dos regioisòmers estaven en percentatges semblants (58:42), 28% de **69** i 20% de **73**. Quan l'àcid fou l'ibuprofè (**65**) també hi va haver formació d'èsters d' $\alpha,\beta$ -bromooctil (**70**, **74**) en una proporció de 81:19, quedant una quantitat important d'àcid sense reaccionar (28%). En aquest cas també es va formar dièster (**77**).

**Taula 7.** Productes obtinguts de la reacció de diferents àcids amb l'1,2-octandiòl, KBr i 18-crown-6 en [BMIM][PF<sub>6</sub>], amb una proporció de KBr:àcid de 3:1 a 100°C i durant 48 h.

Àcid		PRODUCTES	Integració senyal RMN <sup>a</sup>	% molar
<b>1</b>	<b>acètic</b>	<b>66</b>	1,74	51
		<b>71</b>	1,05	31
		<b>75</b>	0,52	15
		<b>1</b>	0,12	3
<b>62</b>	<b>decanoic</b>	<b>67</b>	1,42	57
		<b>72</b>	0,66	27
		<b>76</b>	0,22	9
		<b>62</b>	0,18	7
<b>63</b>	<b>benzoic</b>	<b>68</b>	0,44	12
		<b>63</b>	3,15	88
<b>64</b>	<b>cinàmic</b>	<b>69</b>	4,09	28
		<b>73</b>	2,90	20
		<b>64</b>	7,68	52
<b>65</b>	<b>ibuprofè</b>	<b>70</b>	8,63	46
		<b>74</b>	2,07	11
		<b>77</b>	2,72	15
		<b>65</b>	5,23	28

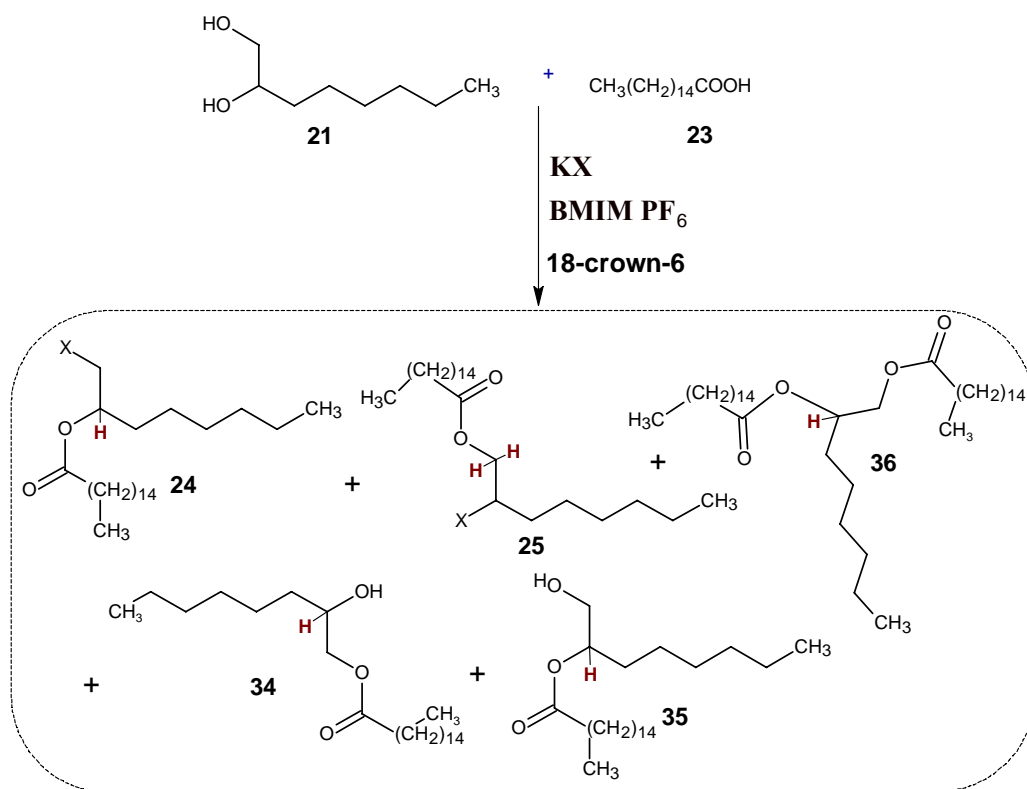
<sup>a</sup>: Integració del senyal característic de l'espectre de <sup>1</sup>H per a cada producte. Les integracions corresponen a la mitja de dues repeticions. A l'Annex II.1. hi ha l'espectre de RMN de <sup>1</sup>H d'una de les repeticions de cada reacció.

La purificació en columna de sílice del cru de reacció resultant d'emprar l'àcid decanoic (**62**) va rendir un 43% de decanoats d' $\alpha,\beta$ -bromooctils purs, concretament un 29% del decanoat d'1-(bromometil)heptil (**67**) i un 14% del decanoat de 2-bromooctil (**72**). Aquest rendiment era un 20% inferior al que s'havia obtingut en el cas dels palmitats d' $\alpha,\beta$ -bromooctil. Tenint en compte aquest resultat i que els percentatges pels altres àcids calculats per RMN de  $^1\text{H}$  eren inferiors als de l'àcid decanoic no es va creure necessari la purificació dels altres crus de reacció .

A continuació es va passar a estudiar la reacció de l'1,2-octandiòl, l'àcid palmític amb 18-crown-6 en [BMIM][PF<sub>6</sub>] amb altres fonts d'halogen, concretament el clorur de potassi (KCl), el iodur de potassi (KI) i el fluorur de potassi (KF), per veure si el nostre sistema de reacció funcionava amb els altres halògens (**Figura 48**).

### 3.5. ESTUDI DE LA REACCIÓ D'ESTERIFICACIÓ-HALOGENACIÓ AMB DIFERENTS FONTS HALOGEN

La **Taula 8** mostra els productes obtinguts i el seu percentatge molar, calculat per RMN de  $^1\text{H}$ , amb els diferents halurs de potassi emprats. En aquest cas només es va obtenir l'èster d'halohidrina desitjat quan la font d'halogen va ser el clor (**24** i **25**), en un 86% de rendiment i en una proporció de 80:20. Quan s'emprà clorur potàssic també es va observar formació de dièster (**36**). Amb el KI només es van obtenir monoèsters (**34** i **35**) quedant encara molt àcid palmític sense reaccionar (65%). Amb KF no es va formar cap producte. El rendiment d'èsters de clorohidrina (**24** i **25**) després de la seva purificació en columna de sílice va ser moderat, d'un 55%, un 44% del palmitat d'1-(clorometil)heptil (**24**) i un 11% del palmitat de 2-clorooctil (**25**).



**KX**: X= Cl; I; F

**24, 25**: X=Cl

**Figura 48.** Reacció de l'1,2-octandiol amb l'àcid palmític, amb diferents sals d'halogen en [BMIM][PF<sub>6</sub>]. Els protons en vermell van ser els utilitzats per la quantificació de la proporció de cada producte de la reacció.

**Taula 8.** Productes obtinguts de la reacció de diferents sals d'halur amb l'1,2-octandiol, l'àcid palmític, 18-crown-6 en [BMIM][PF<sub>6</sub>], amb una proporció de KX:àcid palmític(**23**) de 5:1.

Sal d'halur	PRODUCTES	Integració senyal RMN <sup>a</sup>	% molar
<b>KCl</b>	<b>24</b>	4,10	69
	<b>25</b>	1,02	17
	<b>36</b>	0,83	14
	<b>23</b>	-	-
<b>KI</b>	<b>34</b>	2,33	19
	<b>35</b>	1,89	16
	<b>23</b>	7,79	65
<b>KF</b>	<b>nd</b>	-	-

<sup>a</sup>: Integració del senyal característic de l'espectre de RMN de <sup>1</sup>H per a cada producte. Les integracions corresponen a la mitja de dues repeticions. A l'Annex II.1. hi ha l'espectre de RMN de <sup>1</sup>H d'una de les repeticions de cada reacció.

**nd**: no detectat

Com els LIs estan formats de dues parts, tenen el gran avantatge d'una flexibilitat sintètica molt gran, permetent aquest fet el disseny de LIs per a cada procés específic. No obstant, les fortes interaccions ió-íó que presenten els LIs fa que hi hagi un elevat ordre de xarxes polimèriques supermoleculares tridimensionals dels anions i cations necessitant-se energies més altes per acostar tots els soluts<sup>84</sup>, fent que quan es canvien els soluts canviï la energia per acostar-los i per tant que la reacció sigui més ràpida o més lenta. A més, el LI no només actua com a dissolvent sinó que també fa de catalitzador i la seva interacció amb el solut es deu veure molt afectada per la naturalesa d'aquest.

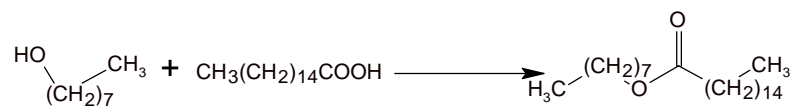
A més, els halògens tenen una gran interacció amb el LI degut a la seva naturalesa iònica, modificant completament les propietats físico-químiques del LI. En el Capítol II ja s'explica que un nivell molt baix d'impureses d'halogen,



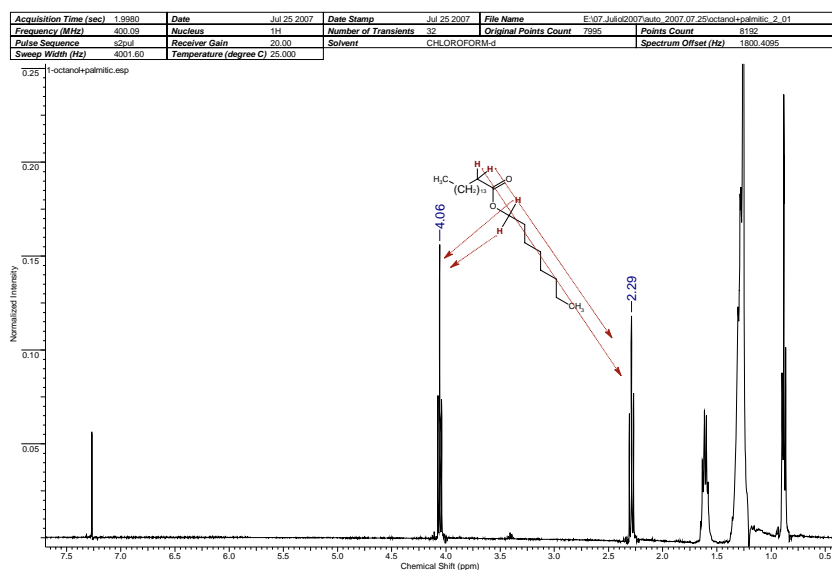
així com també l'aigua, poden modificar les seves propietats d'una manera molt significativa, ja que modifica les xarxes polimèriques tridimensionals.

### 3.6. REACCIÓ DE L'1-OCTANOL AMB L'ÀCID PALMÍTIC

Per tal de comprovar que no es produïa una bromació directa de l'alcohol es va fer reaccionar l'1-octanol amb àcid palmític i KBr en proporcions estequiomètriques de 2:0,5:7 respectivament (**Figura 49**). Com es pot observar en l'espectre de RMN de  $^1\text{H}$  (**Figura 50**) dels productes de reacció no es va observar la formació d'1-bromoactà. Únicament s'observà l'esterificació de l'1-octanol amb l'àcid palmític .



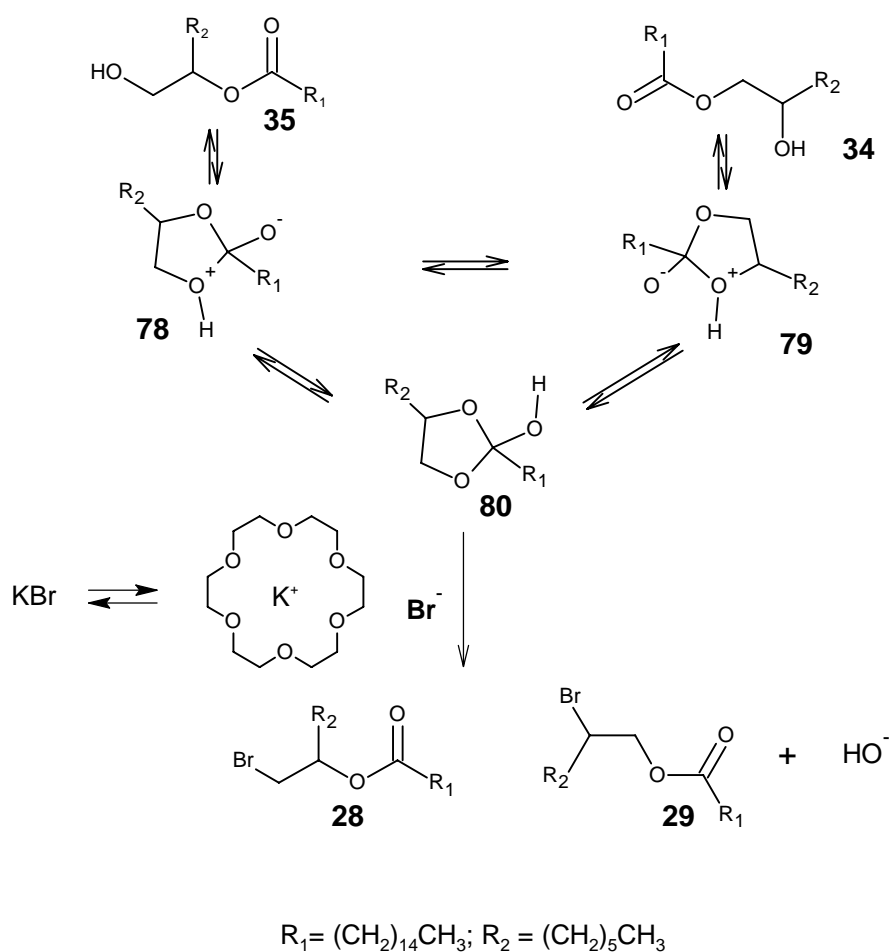
**Figura 49.** Reacció de l'1-octanol amb l'àcid palmític i KBr



**Figura 50.** Espectre de RMN de <sup>1</sup>H del producte de reacció de l'1-octanol amb l'àcid palmític, el palmitat d'1-octanol.

### 3.7. MECANISME DE LA REACCIÓ

El fet de què quan es va realitzar el seguiment de la reacció amb el temps, es va veure com primer hi havia més percentatge del monoèster **34**, monoèster amb l'hidroxil en posició secundària, i que aquest disminuïa amb la formació dels èsters d' $\alpha,\beta$ -bromooctil (**28** i **29**) portà a pensar que per què hi hagi formació dels èsters de bromohidrina s'ha de formar un ortoèster procedent dels monoèsters i aquest posteriorment reacciona amb els ions bromur a través d'un procés nucleòfil. A més, el fet de què no hi hagi formació d'1-bromooctà indica que no es donà una bromació directa de l'alcohol ni una substitució nucleòfila sobre l'èster una vegada format. A la **Figura 51** hi ha el mecanisme proposat per la reacció de formació d'èsters de bromohidrina.



**Figura 51.** Mecanisme de reacció proposat per a la síntesi de palmitat d' $\alpha,\beta$ -bromooctil a partir de l'1,2-octandiòl i l'àcid palmític, KBr, 18-crown-6 en [BMIM][PF<sub>6</sub>].

Segons el mecanisme de reacció proposat, el diòl es pot transformar en els monoèsters corresponents. Els monoèsters (**34** i **35**) poden donar a la formació d'un anell dioxigenat, similar al proposat per diversos autors<sup>7,15,17,19,21,26,85</sup>. Aquests intermediaris, amb equilibri amb el monoèster, poden tautomeritzar cap

a **80**. Després, aquest compost pot reaccionar amb els ions bromur a través d'un procés nucleòfil d'obertura similar al proposat per diversos autors<sup>15,17,19,26,85</sup>.

L'èter corona 18-crown-6, segresta el  $K^+$  provocant la presència de més ions lliures de bromur. L'atac pel bromur pot produir els corresponents èsters de bromohidrina, amb preferència per l'èster amb el brom en posició primària (**28**), posició més favorable estèricament.

Quan augmenta la distància entre els hidroxils, l'anell de l'intermediari dioxigenat és més gran, augmentant la flexibilitat d'aquest intermediari i s'originant-se un nombre superior d'estats conformacionals d'energia similar, permetent que el brom es pugui aproximar amb més facilitat a la posició secundària<sup>26</sup>.

## 4. CONCLUSIONS

Amb la finalitat de trobar noves metodologies per les reaccions orgàniques mediambientalment més respectuoses, s'ha desenvolupat un sistema de reacció per a la síntesi del palmitat d' $\alpha,\beta$ -bromoocetil que consisteix en l'esterificació-bromació de l'1,2-octandiòl amb l'àcid palmític i KBr en un LI, el [BMIM][PF<sub>6</sub>], amb un rendiment elevat, del 85% i en un sol pas. A més hi ha més proporció del regiosòmer amb el grup brom en posició primària, un 70% respecte del que té el brom en posició secundària, essent aquest un intermediari més útil per a la síntesi de compostos d'interès comercial<sup>86</sup>. Pel que ens consta és el primer mètode d'esterificació-bromació en un sol pas amb LIs que s'ha descrit.

L'extensió d'aquest sistema de reacció a altres diòls, àcids o altres sals d'halur no va tenir èxit en tots els casos. Sí que es va aconseguir la síntesi del corresponent èster d'halohidrina per tots els 1,2-diòls estudiats i per l'1,3-butandiòl, però el rendiment va ser moderat, d'un 40-60%. Aquest rendiment moderat podria ser degut a que ara la reacció és molt més lenta, al igual que passava quan es va estudiar la reacció amb l'1,2-octandiòl i altres LIs com [HMIM][N(Tf)<sub>2</sub>], [OMIM][N(Tf)<sub>2</sub>], [BPy][N(Tf)<sub>2</sub>], [BMPy][N(Tf)<sub>2</sub>] i [BMPy][BF<sub>4</sub>] amb els quals sí que es produïa l'èster de bromohidrina desitjat i el seu precursor, el monoèster.

Quan es du a terme la reacció amb altres àcids en lloc del palmític, la davallada en el rendiment encara és més gran indicant també que potser la reacció és molt més lenta, segurament degut a la diferent naturalesa dels àcids respecte de l'àcid palmític.

Quan es va estudiar la reacció amb altres fonts d'halogen, KCl, KI i KF, només es va obtenir l'èster d'halohidrina desitjat pel KCl i el rendiment també va ser moderat, del 55%.

Per tal d'estendre la reacció d'esterificació-halogenació a altres reactius, diols, àcids i fonts d'halogen, així com augmentar els rendiments ara obtinguts, s'haurien d'estudiar modificacions de la reacció, tant pel que fa a temps i temperatura de reacció, quantitat del LI, com en el disseny de nous LIs més específics per a cada procés, per exemple modificant dels substituents del catió que forma part del LI.

La RMN de  $^1\text{H}$  ens permet seguir l'evolució dels productes majoritaris de l'esterificació-halogenació (>10%), coneixent el percentatge entre ells i si els reactius han reaccionat en molt o poc per a la formació dels diferents productes.

## 5. MATERIAL I MÈTODES

### 5.1. MATERIAL

L'1,2-octandiòl (**21**), el iode, el KBr, el KCl, el KI l'acetona, l'1-octanol, 1,2-pentandiòl (**38**), la butanona, pentanona, hexanona i el cloroform deuterat van ser subministrats per Acros Organics, Barcelona, Espanya. El CTMS, BrTMS, HBr<sub>aq</sub> del 62% i l'1,2-butandiòl (**39**), l'àcid benzoic (**63**), l'1-bromooctà van ser subministrats per Fluka, Madrid, Espanya. L'HMTSO, HMDSO, HEDSO, HpMSTO, 18-Crown-6, l'1,2-propandiòl (**40**), l'1,2-hexandiòl (**37**), l'àcid decanoic (**62**), l'ibuprofè (**65**), l'1-bromooctanol van ser subministrats per Sigma-Aldrich, Madrid, Espanya. El [BMIM][PF<sub>6</sub>], l'àcid acètic (**1**), l'àcid cinàmic (**64**) i la sílice gel 60H va ser subministrat per Merck, Barcelona, Espanya. L'àcid palmític (**23**), l'1,3-butandiòl (**41**) va ser subministrat per Riedel-de Haën, Madrid, Espanya.

### 5.2. INSTRUMENTACIÓ

#### 5.2.1. RESSONÀNCIA MAGNÈTICA NUCLEAR

L'equip de Ressonància Magnètica Nuclear utilitzat va ser un MERCURYplus AS400 MHz NMR Spectrometer Systems de VARIAN amb una sonda 400 AutoSwitchable 4 Nucleus Probe <sup>1</sup>H/ <sup>19</sup>F/<sup>13</sup>C/<sup>31</sup>P, <sup>1</sup>H/ <sup>19</sup>F/{ <sup>15</sup>N- <sup>31</sup>P} PFG, dels Serveis Científic-Tècnics de la Universitat de Lleida.

#### 5.2.2. CROMATÒGRAF DE LÍQUIDS, HPLC

Les anàlisis per cromatografia líquida d'alta resolució, HPLC, es van dur a terme en un cromatògraf format per un injector Waters<sup>TM</sup> 717 plus Autosampler, un desgassificador en línia Waters, una Bomba binària, Waters 1525  $\mu$  i un

detector de difusió lluminosa (ELSD), Eurosep. El software utilitzat va ser el Millenium<sup>32</sup> de Waters.

### **5.2.3. ESPECTROMETRIA DE MASSES**

Espectròmetre de masses d'alta resolució VG AutoSpec (Micromass Instruments) amb tècnica d'ionització EI i analitzador de sector elèctric i magnètic, de la Unidad de Espectrometría de Masas de la Universidad de Córdoba, pels productes **28, 29, 34-36**.

Espectròmetre de masses d'alta resolució Finnigan MAT95S amb tècnica d'ionització EI i analitzador de sector magnètic, de la Unitat de Espectrometría de Masses de la Universitat d'Alacant, pels productes **24, 25, 42-51**.

## **5.3. MÈTODES**

### **5.3.1. ESTUDI DE LA SÍNTESI DEL PALMITAT DE L' $\alpha,\beta$ -CLOROCTIL AMB CTMS i DEL PALMITAT DE L' $\alpha,\beta$ -BROMOCTIL AMB BrTMS i HBr**

En un vial de rosca es van agitar a 80°C durant 48 h una mescla d'1,2-octandiòl (0,23 g, 1,6 mmols), àcid palmític (0,20 g, 0,8 mmols) i CTMS (7,1 ml; 5,6 mmols) o BrTMS (7,4 ml; 5,6 mmols) o HBr (3,6 ml; 5,6 mmols). Després, es van addicionar 20 ml d'hexà i 10 ml d'una solució aquosa de bicarbonat sòdic (NaHCO<sub>3</sub>) saturada i es va deixar agitant durant 12 h. La solució orgànica es va rentar amb aigua i es va assecar amb MgSO<sub>4</sub> anhidre. Finalment es va eliminar l'hexà per destil·lació a 40°C i buit a 300 mmHg. Es van realitzar dues repeticions de cada reacció.



### **5.3.2. ESTUDI DE LA SÍNTESI DEL PALMITAT DE L' $\alpha,\beta$ -BROMOOCTIL AMB I<sub>2</sub>, KBr I DIFERENTS DISSOLVENTS**

En un vial de rosca es van agitar a 100°C durant 48 h una mescla d'1,2-octandiòl (0,23 g, 1,6 mmols), àcid palmític (0,20 g, 0,8 mmols), iode (0,004 g, 0,016 mmols), KBr anhidre (0,67 g, 5,6 mmols) i 0,5 ml de cada dissolvent. Després, es van addicionar 20 ml d'hexà i es van filtrar. La solució orgànica es va rentar amb una solució aquosa de tiosulfat sòdic saturat, seguit d'un rentat amb aigua i es va assecar amb MgSO<sub>4</sub> anhidre. Finalment es va eliminar l'hexà per destil·lació a 40°C i buit a 300 mmHg. Es van realitzar dues repeticions de cada reacció.

### **5.3.3. ESTUDI DE LA SÍNTESI DEL PALMITAT DE L' $\alpha,\beta$ -BROMOOCTIL AMB I<sub>2</sub>, KBr I DIFERENTS LÍQUIDS IÒNICS**

En un vial de rosca es van agitar a 100°C durant 48 h una mescla d'1,2-octandiòl (0,11 g, 0,8 mmols), àcid palmític (0,10 g, 0,4 mmols), iode (0,004 g, 0,016 mols), KBr anhidre (0,33 g, 2,8 mmols) i 0,21 g de cada LI. Després, es va realitzar una extracció amb hexà i es va filtrar. La solució orgànica es va rentar amb una solució aquosa de tiosulfat sòdic saturat seguit d'un rentat amb aigua i es va assecar amb MgSO<sub>4</sub> anhidre. Finalment es va eliminar l'hexà per destil·lació a 40°C i buit a 300 mmHg. Es van realitzar dues repeticions de cada reacció.

### **5.3.4. ESTUDI DE LA SÍNTESI DELS PALMITATS DE L' $\alpha,\beta$ -BROMOALQUIL AMB KBr en [BMIM][PF<sub>6</sub>] I 18-CROWN-6**

En un vial de rosca es van agitar a 100°C durant 48 h una mescla de cada diòl [1,2-octandiòl (0,11 g, 0,8 mmols), 1,2-propandiòl (0,06 g, 0,8 mmols), 1,2-butandiòl (0,07 g, 0,8 mmols), 1,2-pentandiòl (0,09 g, 0,8 mmols), 1,2-

hexandiol (0,09 g, 0,8 mmols) i 1,3-butandiol (0,07 g, 0,8 mmols)], àcid palmític (0,10 g, 0,4 mmols), KBr anhidre (0,33 g, 2,8 mmols), 18-crown-6 (0,03 g, 0,013 mmols) i 0,21 g de [BMIM][PF<sub>6</sub>]. Després, es va realitzar una extracció amb hexà i es va filtrar. Finalment es va eliminar l'hexà per destil·lació a 40°C i buit a 300 mmHg. Es van realitzar dues repeticions de cada reacció.

### **5.3.5. ESTUDI DE LA SÍNTESI D'ÈSTERS DE L' $\alpha,\beta$ -BROMOOCIL AMB KBr en [BMIM][PF<sub>6</sub>]**

En un vial de rosca es van agitar a 100°C durant 48 h una mescla d'1,2-octandiol (0,11 g, 0,8 mmols) i diferents àcids [àcid decanoic (0,07 g, 0,4 mmols), àcid acètic (0,03 g, 0,4 mmols), àcid cinàmic (0,06 g, 0,4 mmols), àcid benzoic (0,05 g, 0,4 mmols) i ibuprofè (0,08 g, 0,4 mmols)], KBr anhidre (0,15 g, 1,2 mmols), 18-crown-6 (0,03 g, 0,013 mmols) i 0,21 g de [BMIM][PF<sub>6</sub>]. Després, es va realitzar una extracció amb hexà i es va filtrar. Finalment es va eliminar l'hexà per destil·lació a 40°C i buit a 300 mmHg. Es van realitzar dues repeticions de cada reacció.

### **5.3.6. ESTUDI DE LA SÍNTESI DE PALMITATS DE L' $\alpha,\beta$ -HALOOCIL en [BMIM][PF<sub>6</sub>]**

En un vial de rosca es van agitar a 100°C durant 48 h una mescla d'1,2-octandiol (0,11 g, 0,8 mmols), àcid palmític (0,10 g, 0,4 mmols), KX anhidre [ KCl (0,22 g, 2,8 mmols), KI (0,46 g, 2,8 mmols), KF (0,17 g, 2,8 mmols)], 18-crown-6 (0,03 g, 0,013 mmols) i 0,21 g de [BMIM][PF<sub>6</sub>]. Després, es va realitzar una extracció amb hexà i es va filtrar. Finalment es va eliminar l'hexà per destil·lació a 40°C i buit a 300 mmHg. Es van realitzar dues repeticions de cada reacció.

### 5.3.7. PURIFICACIÓ DELS DIFERENTS PRODUCTES DE REACCIÓ

Els productes obtinguts van ser purificats en una columna de gel de sílice 60H. Si el producte de reacció contenia encara àcid sense reaccionar abans de la seva purificació es dissolia amb hexà i es rentava amb una solució saturada de bicarbonat sòdic durant un mínim de 2 h. Després es filtrava i rentava amb aigua destil·lada en embut de decantació. La solució orgànica s'assecava amb sulfat magnèsic anhidre, es filtrava i s'evaporava l'hexà per destil·lació 40°C i buit a 300 mmHg.

Els diferents productes de reacció es van purificar en una columna de 15 g de sílice al buit (*dry-flash column chromatography*) passant diferents fraccions de 10 ml de dissolvent. La mostra es va introduir amb hexà. El dibromat va eluir el primer amb hexà. Els èsters d'halohidrina van eluir els següents amb hexà:èter etílic 99:1, seguit del dièster amb hexà:èter etílic 98:2. Seguidament es va canviar la proporció de dissolvents per hexà:èter etílic 95:5 on primer eluïa el monoèster de 2-hidroxiocetil, seguit del 2-bromooctan-1-ol i del palmitat d'1-(hidroximetil)heptil. Finalment s'utilitzà una proporció de dissolvents d'hexà:èter (80:20) on primer eluïa l'1-bromooctan-2ol i per últim l'1,2-octandiòl. Els productes purificats es van caracteritzar per RMN de  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  i els productes d'interès es van caracteritzar també per masses exacta.

### 5.3.8. REACCIÓ DE L'1-OCTANOL AMB KBr I L'ÀCID PALMÍTIC

En un vial de rosca es van agitar a 100°C durant 48 h una mescla d'1-octanol (0,10 g, 0,8 mmols), àcid palmític (0,06 g, 0,2 mmols) i KBr anhidre (0,33 g, 2,8 mmols) i 0,21 g de [BMIM][PF<sub>6</sub>]. Després, es va realitzar una extracció amb hexà i es va filtrar. Finalment es va eliminar l'hexà per destil·lació 40°C i buit a 300 mmHg. Es van realitzar dues repeticions.

### **5.3.9. ANÀLISIS PER HPLC-ELSD**

Les anàlisis per HPLC es van dur a terme en una columna de sílice LiChrosorb® Si60 de 5µm x 4mm x 250mm, Waters. L'anàlisi va ser isocràtica amb una fase mòbil d'hexà:acetat d'etil:àcid fòrmic (96:4:0,01) a 1 ml/min. El detector utilitzat va ser de difusió lluminosa (ELSD) a una temperatura de nebulització de 30°C, temperatura d'evaporació de 40°C i HT PM de 400.

### **5.3.10. ANÀLISI PER RMN**

20 mg de cada mostra a analitzar es van dissoldre en 0,7 ml de cloroform deuterat. Per les mostres en les que es va voler saber el percentatge molar dels productes de reacció a través de la integració de l'àrea corresponent al senyal característic per a cada producte, es va realitzar l'experiment de <sup>1</sup>H amb un pols de 30° i un temps de relaxació de 10 s. Per les mostres on es pretenia caracteritzar el producte es va utilitzar un pols de 45° i un temps de relaxació d'1 s.

## 5.4. CARACTERITZACIÓ DELS PRODUCTES

### Palmitat d'1-(clorometil)heptil (24)

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CHLOROFORM-*d*)  $\delta$  ppm 0,80 (t,  $J=7,03$ , 6 H) 1,13 - 1,32 (m, 32 H) 1,52 - 1,65 (m, 4 H) 2,26 (t,  $J=7,82$ , 2 H) 3,49 (dd,  $J=11,33$ , 5,47 Hz, 1 H) 3,57 (dd,  $J=11,72$ , 4,30 Hz, 1 H) 4,92 - 5,02 (m, 1 H)

<sup>13</sup>C NMR (101 MHz, CHLOROFORM-*d*)  $\delta$  ppm 14,25 (s, 1 CH<sub>3</sub>) 14,33 (s, 1 CH<sub>3</sub>) 22,75 (s, 1 C) 22,91 (s, 1 C) 25,23 (s, 1 C) 25,26 (s, 11 C) 29,21-29,91 (s, 1 C) 31,78 (s, 1 C) 31,85 (s, 1 C) 32,14 (s, 1 C) 34,66 (s, 1 C) 46,02 (s, 1 CH<sub>2</sub>) 72,81 (s, 1 CH) 173,57 (s, 1 C)

HRMS (EI<sup>+</sup>) $m/z$ : 402,3271, 323,2540, 256,2383, 239,2384,110,1094 Massa teòrica: 402,3278, Massa trobada:402,3271, -0,7 ppm; 24C, 47H, 2O, 1Cl

### Palmitat de 2-clorooctil (25)

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CHLOROFORM-*d*)  $\delta$  ppm 0,80 (t,  $J=7,03$ , 6 H) 1,13 - 1,32 (m, 32 H) 1,52 - 1,65 (m, 4 H) 2,26 (t,  $J=7,03$ , 2 H) 3,92 - 4,03 (m, 1 H) 4,10 - 4,21 (m, 2 H)

<sup>13</sup>C NMR (101 MHz, CHLOROFORM-*d*)  $\delta$  ppm 14,25 (s, 1 C) 14,33 (s, 1 C) 22,75 (s, 1 C) 22,91 (s, 1 C) 24,44 (s, 1 C) 25,26 (s, 1 C) 29,21-29,91 (s, 11 C) 31,78 (s, 1 C) 31,85 (s, 1 C) 32,14 (s, 1 C) 34,66 (s, 1 C) 46,02 (s, 1 C) 66,88 (s, 1 CH) 67,75 (s, 1 CH<sub>2</sub>) 173,57 (s, 1 C)

HRMS (EI<sup>+</sup>) $m/z$ : 402,3271, 323,2540, 256,2383, 239,2384,110,1094 Massa teòrica: 402,3278, Massa trobada:402,3271, -0,7 ppm; 24C, 47H, 2O, 1Cl

### 1-clorooctan-2-ol (26)<sup>87</sup>

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CHLOROFORM-*d*)  $\delta$  ppm 0,83 (d,  $J=7,03$  Hz, 3 H) 1,13 - 1,32 (m, 7 H) 1,40 - 1,51 (m, 1 H) 1,51 - 1,71 (m, 2 H) 2,05 (d,  $J=4,64$  Hz, 1 H) 3,41 (dd,  $J=11,33$ , 7,03 Hz, 1 H) 3,58 (dd,  $J=11,33$ , 3,13 Hz, 1 H) 3,67 - 3,78 (m, 1 H)

<sup>13</sup>C NMR (101 MHz, CHLOROFORM-D)  $\delta$  ppm 14,28 (2C, CH<sub>3</sub>) 22,79 (1C, CH<sub>2</sub>) 25,34 (1C, CH<sub>2</sub>) 29,77 (1C, CH<sub>2</sub>) 31,92 (1C, CH<sub>2</sub>) 34,30(1C, CH<sub>2</sub>) 49,29 (1C, CH<sub>2</sub>) 74,01 (1C, CH)

**2-clorooctan-1-ol (27)**<sup>87</sup>

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CHLOROFORM-*d*)  $\delta$  ppm 0,82 (d,  $J=7,03$  Hz, 3 H) 1,11 - 1,41 (broad, 6 H) 1,41 - 1,64 (broad, 2 H) 1,53 - 1,64 (m, 2 H) 2,00 (d,  $J=9,74$  Hz, 1 H) 3,50 (dd,  $J=11,33, 5,86$  Hz, 1 H) 3,59 (dd,  $J=11,33, 7,03$  Hz, 1 H) 3,92 - 4,00 (m, 1 H)

<sup>13</sup>C NMR (MHz, CHLOROFORM-D)  $\delta$  ppm 14,26 (2C, CH<sub>3</sub>) 22,77 (1C, CH<sub>2</sub>) 24,93 (1C, CH<sub>2</sub>) 29,51 (1C, CH<sub>2</sub>) 31,82 (1C, CH<sub>2</sub>) 35,84 (1C, CH<sub>2</sub>) 64,24 (1C, CH<sub>2</sub>) 67,12 (1C, CH)

**Palmitat d'1-(bromometil)heptil (28)**

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CHLOROFORM-*d*)  $\delta$  ppm 0,81 (t,  $J=6,64$ , 6 H) 1,14 - 1,40 (m, 32 H) 1,51 - 1,66 (m, 4 H) 2,27 (t,  $J=7,42$ , 2 H) 3,35 (dd,  $J=10,94, 5,47$  Hz, 1 H) 3,44 (dd,  $J=10,94, 4,69$  Hz, 1 H) 4,88 - 4,98 (m, 1 H)

<sup>13</sup>C NMR (101 MHz, CHLOROFORM-D)  $\delta$  ppm 14,25 (2C, CH<sub>3</sub>) 22,75 (1C, CH<sub>2</sub>) 22,92 (1C, CH<sub>2</sub>) 25,20 (2C, CH<sub>2</sub>) 27,32 (1C, CH<sub>2</sub>) 29,71 (broad, 10C, CH<sub>2</sub>) 31,00 (1C, CH<sub>2</sub>) 31,85 (1C, CH<sub>2</sub>) 31,99 (1C, CH<sub>2</sub>) 32,78 (1C, CH<sub>2</sub>) 35,43 (1C, CH<sub>2</sub>) 72,37 (1C, CH) 173,47 (1C, C)

HRMS (EI+)  $m/z$ : 448,293, 446,276, 367,384, 256,287, 239,266, 111,107 Massa teòrica: 446,275942 Massa trobada: 446,276315, -0,8 ppm; 24C, 47H, 2O, 1Br

**Palmitat de 2-bromoocetil (29)**

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CHLOROFORM-*d*)  $\delta$  ppm 0,81 (t,  $J=6,64$ , 6 H) 1,14 - 1,40 (m, 32 H) 1,51 - 1,66 (m, 2 H) 1,65 - 1,86 (m, 2 H) 2,27 (t,  $J=7,42$ , 2 H) 3,99 - 4,09 (m, 1 H) 4,17 - 4,30 (m, 2 H)

<sup>13</sup>C NMR (101 MHz, CHLOROFORM-D)  $\delta$  ppm 14,33 (2C, CH<sub>3</sub>) 22,80 (2C, CH<sub>2</sub>) 25,16 (1C, CH<sub>2</sub>) 28,85 (1C, CH<sub>2</sub>) 29,71 (broad, 10C, CH<sub>2</sub>) 31,82 (1C, CH<sub>2</sub>) 31,94 (1C, CH<sub>2</sub>) 32,15 (1C, CH<sub>2</sub>) 34,53 (1C, CH<sub>2</sub>) 34,70 (1C, CH<sub>2</sub>) 51,95 (1C, CH<sub>2</sub>) 67,84 (1C, CH) 173,55 (1C, C)

HRMS (EI+)  $m/z$ : 448,293, 446,276, 367,384, 256,287, 239,266, 111,107 Massa teòrica: 446,275942 Massa trobada: 446,276315, -0,8 ppm; 24C, 47H, 2O, 1Br

**1-Bromooctan-2-ol (30)**<sup>88</sup>

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CHLOROFORM-*d*)  $\delta$  ppm 0,83 (d,  $J=6,96$  Hz, 3 H) 1,15 - 1,33 (m, 7 H) 1,34 - 1,44 (m, 1 H) 1,45 - 1,55 (m, 2 H) 2,05 (d,  $J=4,64$  Hz, 1 H) 3,31 (dd,  $J=10,21, 6,96$  Hz, 1 H) 3,48 (dd,  $J=10,21, 3,25$  Hz, 1 H) 3,65 - 3,77 (m, 1 H)

<sup>13</sup>C NMR (101 MHz, CHLOROFORM-D)  $\delta$  ppm 14,28 (2C, CH<sub>3</sub>) 22,79 (1C, CH<sub>2</sub>) 25,81(1C, CH<sub>2</sub>) 29,37 (1C, CH<sub>2</sub>) 31,92 (1C, CH<sub>2</sub>) 35,35(1C, CH<sub>2</sub>) 40,94(1C, CH<sub>2</sub>) 71,32 (1C, CH)

**2-Bromooctan-1-ol (31)**<sup>88</sup>

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CHLOROFORM-*d*)  $\delta$  ppm 0,82 (d,  $J=6,96$  Hz, 3 H) 1,11 - 1,41 (broad, 6 H) 1,41 - 1,64 (broad, 2 H) 1,73 - 1,82 (m,  $J=12,95, 7,83, 4,72, 1,82, 0,97$  Hz, 2 H) 2,00 (d,  $J=9,74$  Hz, 1 H) 3,67 (dd,  $J=12,06, 6,96$  Hz, 1 H) 3,76 (dd,  $J=12,06, 5,10$  Hz, 1 H) 4,03 - 4,12 (m, 1 H)

<sup>13</sup>C NMR (MHz, CHLOROFORM-D)  $\delta$  ppm 14,26 (2C, CH<sub>3</sub>) 22,77 (1C, CH<sub>2</sub>) 27,63(1C, CH<sub>2</sub>) 28,89 (1C, CH<sub>2</sub>) 31,82 (1C, CH<sub>2</sub>) 35,10(1C, CH<sub>2</sub>) 60,44(1C, CH<sub>2</sub>) 67,52 (1C, CH)

**1,2-dibromooctà (32)**<sup>89</sup>

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CHLOROFORM-*d*)  $\delta$  ppm 0,91 (d,  $J=6,96$  Hz, 3 H) 1,24 - 1,48 (broad, 6 H) 1,51 - 1,63 (m, 1 H) 1,72 - 1,84 (m, 1 H) 2,08 - 2,20 (m, 1 H) 3,63 (t,  $J=10,21$  Hz, 1 H) 3,86 (dd,  $J=10,21, 4,18$  Hz, 1 H) 4,12 - 4,22 (m, 1 H)

<sup>13</sup>C NMR (MHz, CHLOROFORM-D)  $\delta$  ppm 14,28 (2C, CH<sub>3</sub>) 22,78 (1C, CH<sub>2</sub>) 26,95(1C, CH<sub>2</sub>) 28,71 (1C, CH<sub>2</sub>) 31,82 (1C, CH<sub>2</sub>) 36,28(1C, CH<sub>2</sub>) 36,60(1C, CH<sub>2</sub>) 53,40 (1C, CH)

**Palmitat d'1-{ [(2-etoixioctil)oxi]metil}heptil (33)**

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CHLOROFORM-*d*)  $\delta$  ppm 0,69 (t,  $J=6,25$  Hz, 12 H) 1,05 - 1,20 (broad, 64 H) 1,41 - 1,54 (m, 8 H) 2,16 (t,  $J=7,42$  Hz, 4 H) 3,08 (dd,  $J=10,55, 5,47$  Hz, 2 H) 3,18 (dd,  $J=10,55, 4,69$  Hz, 2 H) 4,48 - 4,59 (m, 2 H)

<sup>13</sup>C NMR (MHz, CHLOROFORM-D)  $\delta$  ppm 8,75 (2C, CH<sub>3</sub>) 14,34 (2C, CH<sub>3</sub>) 22,79 (4C, CH<sub>2</sub>) 25,18 (4C, CH<sub>2</sub>) 28,67 (2C, CH<sub>2</sub>) 29,60 (20C, CH<sub>2</sub>) 31,49 (2C, CH<sub>2</sub>) 32,15 (2C, CH<sub>2</sub>) 34,40 (2C, CH<sub>2</sub>) 36,70 (2C, CH<sub>2</sub>) 69,27 (2C, CH) 72,26 (2C, CH) 173,59 (2C, C)

**Palmitat de 2-hidroxiocetil (34)**

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CHLOROFORM-*d*)  $\delta$  ppm 0,90 (dt, 6 H) 1,21 - 1,37 (m, 32 H) 1,42 - 1,52 (m, 2 H) 1,59 - 1,69 (m, 2 H) 2,35 (t,  $J=7,55$  Hz, 2 H) 3,78 - 3,89 (m, 1 H) 3,96 (q,  $J=11,29, 7,32, 3,97$  Hz, 1 H) 4,15 (dd,  $J=11,29, 2,90$  Hz, 1 H)

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CHLOROFORM-D)  $\delta$  ppm 14,16 (2C, CH<sub>3</sub>) 22,73 (2C, CH<sub>2</sub>) 25,37 (2C, CH<sub>2</sub>) 29,50 (broad, 11C, CH<sub>2</sub>) 31,75 (1C, CH<sub>2</sub>) 31,96 (1C, CH<sub>2</sub>) 33,39 (1C, CH<sub>2</sub>) 34,26 (1C, CH<sub>2</sub>) 68,54 (1C, CH<sub>2</sub>) 75,45 (1C, CH) 173,93 (1C, C)

HRMS (EI+)  $m/z$ : 384,359, 299,287, 270,279, 239,266, Massa teòrica: 384,360346 Massa trobada: 384,358785; 24C, 48H, 3O, 4,10 ppm, 1,6 mDa

**Palmitat d'1-(hidroximetil)heptil (35)**

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CHLOROFORM-*d*)  $\delta$  ppm 0,88 (dt,  $J=7,82$ , 6H) 1,15 - 1,37 (m, 30 H) 1,41 - 1,51 (m, 2 H) 1,50 - 1,70 (m, 4 H) 2,30 (t,  $J=7,32$ , 2 H) 3,60 (q,  $J=11,73, 6,35, 5,86$ , 1 H) 3,70 (dd,  $J=11,72, 3,42$ , 1 H) 4,86 - 4,94 (m, 1 H)

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CHLOROFORM-D)  $\delta$  ppm 14,10 (2C, CH<sub>3</sub>) 22,61 (2C, CH<sub>2</sub>) 25,0 (1C, CH<sub>2</sub>) 25,12 (1C, CH<sub>2</sub>) 29,50 (broad, 11C, CH<sub>2</sub>) 31,70 (1C, CH<sub>2</sub>) 31,96 (1C, CH<sub>2</sub>) 33,39 (1C, CH<sub>2</sub>) 34,59 (1C, CH<sub>2</sub>) 64,97 (1C, CH<sub>2</sub>) 70,05 (1C, CH) 174,26 (1C, C)

HRMS (EI+)  $m/z$ : 384,359, 299,287, 270,279, 239,266, Massa teòrica: 384,360346 Massa trobada: 384,358785; 24C, 48H, 3O, 4,10 ppm, 1,6 mDa



**Palmitat de 2-etoxioctil (36)**

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CHLOROFORM-*d*)  $\delta$  ppm 0,81 (t,  $J=6,45$ , 9 H) 0,90 - 1,31 (m, 58 H) 1,49 - 1,65 (m, 6 H) 2,22 (t,  $J=7,62$ , 2 H) 3,96 (q,  $J=12,01$ , 6,74, 1 H) 4,15 (dd,  $J=12,01$ , 3,52, 1 H) 4,96 - 5,09 (m, 1 H)

<sup>13</sup>C NMR (101 MHz, CHLOROFORM-D)  $\delta$  ppm 13,10 (3C, CH<sub>3</sub>) 21,68 (2C, CH<sub>2</sub>) 23,90 (2C, CH<sub>2</sub>) 24,05 (2C, CH<sub>2</sub>) 28,03 (1C, CH<sub>2</sub>) 28,35(20C, CH<sub>2</sub>) 29,78 (1C, CH<sub>2</sub>) 30,62(2C, CH<sub>2</sub>)30,91(1C, CH<sub>2</sub>) 33,17(1C, CH<sub>2</sub>) 33,48(1C, CH<sub>2</sub>) 63,97 (1C, CH) 70,31 (1C, CH) 172,35 (1C, C) 172,55 (1C, C)

HRMS (EI+) $m/z$  : 623,594, 367,368, 239,241; Massa teòrica: 622,590012 Massa trobada: 622,593961, -6,3 ppm; 40C, 78H, 4O

**Palmitat d'1-(bromometil)pentil (42)**

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CHLOROFORM-*d*)  $\delta$  ppm 0,88 (t,  $J=7,03$ , 3 H) 0,89 - 0,94 (m, 3 H) 1,22 - 1,43 (m, 28 H) 1,53 - 1,73 (m, 4 H) 2,34 (t,  $J=6,25$ , 2 H) 3,43 (dd,  $J=10,94$ , 5,47 Hz, 1 H) 3,51 (dd,  $J=10,94$ , 4,69 Hz, 1 H) 4,96 - 5,06 (m, 1 H)

<sup>13</sup>C NMR (101 MHz, CHLOROFORM-*d*)  $\delta$  ppm 14,11 (s, 1 CH<sub>3</sub>) 14,32 (s, 1 CH<sub>3</sub>) 22,29 (s, 1 C) 22,87 (s, 1 C) 25,15 (s, 1 C) 27,43 (s, 1 C) 29,34-29,90 (s, 10 C) 32,14 (s, 1 C) 32,47 (s, 1 C) 34,55 (s, 1 C) 35,14 (s, 1 C) 72,37 (s, 1 CH) 173,53 (s, 1 C)

HRMS (EI+) $m/z$ : 418,2474, 292,9824, 256,2394, 239,2388, 93,08591, Massa teòrica: 418,2501, Massa trobada:418,2474; 22C, 43H, 2O, 1Br

**Palmitat d'1-(bromometil)butil (43)**

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CHLOROFORM-*d*)  $\delta$  ppm 0,81 (t,  $J=6,84$ , 3 H) 0,87 (t,  $J=7,33$ , 3 H) 1,12 - 1,33 (m, 26 H) 1,52 - 1,65 (m, 4 H) 2,27 (t,  $J=7,33$ , 2 H) 3,35 (dd,  $J=10,75$ , 5,37 Hz, 1 H) 3,44 (dd,  $J=10,75$ , 4,89 Hz, 1 H) 4,90 - 4,99 (m, 1 H)

<sup>13</sup>C NMR (101 MHz, CHLOROFORM-*d*)  $\delta$  ppm 13,10 (s, 2 CH<sub>3</sub>) 21,68 (s, 1 C) 23,68 (s, 1 C) 24,02 (s, 1 C) 28,05- 29,28 (s, 10 C) 32,91 (s, 1 C) 33,22 (s, 1 C) 33,41 (s, 1 C) 33,65 (s, 1 C) 69,58 (s, 1 CH) 178,19 (s, 1 C)

HRMS (EI+)  $m/z$ : 404,2324, 292,9824, 256,2391, 239,2365, 69,0702, Massa teòrica: 404,2358, Massa trobada: 404,2324; 21C, 41H, 2O, 1Br

**Palmitat d'1-(bromometil)propil (44)**

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CHLOROFORM-*d*)  $\delta$  ppm 0,81 (t,  $J=7,03$ , 3 H) 0,86 (t,  $J=7,42$ , 3 H) 1,15 - 1,31 (m, 24 H) 1,53 - 1,62 (m, 2 H) 1,62 - 1,80 (m, 2 H) 2,27 (t,  $J=7,42$ , 2 H) 3,37 (dd,  $J=10,94$ , 5,47 Hz, 1 H) 3,44 (dd,  $J=10,94$ , 4,69 Hz, 1 H) 4,83 - 4,93 (m, 1 H)

<sup>13</sup>C NMR (101 MHz, CHLOROFORM-*d*)  $\delta$  ppm 9,61 (s, 1 CH<sub>3</sub>) 14,33 (s, 1 CH<sub>3</sub>) 22,91 (s, 1 CH<sub>2</sub>) 25,15 (s, 1 CH<sub>2</sub>) 25,26 (s, 1 CH<sub>2</sub>) 29,34-29,90 (s, 10 CH<sub>2</sub>) 32,14 (s, 1 CH<sub>2</sub>) 34,03 (s, 1 CH<sub>2</sub>) 34,64 (s, 1 CH<sub>2</sub>) 73,54 (s, 1 CH) 173,53 (s, 1 C)

HRMS (EI+)  $m/z$ : 404,2324, 257,2460, 239,2350, 55,05238, Massa teòrica: 390,2197, Massa trobada: 390,2165; 20C, 39H, 2O, 1Br

**Palmitat d'1-(bromometil)etil (45)**

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CHLOROFORM-*d*)  $\delta$  ppm 0,81 (t,  $J=7,03$ , 3 H) 1,14 - 1,26 (m, 24 H) 1,28 (d,  $J=6,25$  Hz, 3 H) 1,52 - 1,61 (m, 2 H) 2,25 (t,  $J=7,42$ , 2 H) 3,30 - 3,45 (m, 2 H) 4,97 - 5,07 (m, 1 H)

<sup>13</sup>C NMR (101 MHz, CHLOROFORM-*d*)  $\delta$  ppm 14,33 (s, 1 CH<sub>3</sub>) 18,89 (s, 1 CH<sub>3</sub>) 22,68 (s, 1 C) 25,14 (s, 1 C) 29,31-29,90 (s, 10 C) 32,14 (s, 1 C) 34,37 (s, 1 C) 35,53 (s, 1 CH<sub>2</sub>) 68,92 (s, 1 CH) 173,29 (s, 1 C)

HRMS (EI+)  $m/z$ : 376,1985, 255,2301, 239,2301, 120,9642, Massa teòrica: 376,1993, Massa trobada: 376,1985; 19C, 37H, 2O, 1Br

**Palmitat de 3-bromo-1-metilpropil (46)**

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CHLOROFORM-*d*)  $\delta$  ppm 0,88 (t,  $J=7,03$ , 3 H) 1,22 - 1,37 (m, 27 H) 1,58 - 1,67 (m, 2 H) 1,98 - 2,09 (m, 1 H) 2,10 - 2,22 (m, 1 H) 2,29 (t,  $J=7,42$ , 2 H) 3,31 - 3,46 (m, 2 H) 4,98 - 5,12 (m, 1 H)

<sup>13</sup>C NMR (101 MHz, CHLOROFORM-*d*)  $\delta$  ppm 14,33 (s, 1 CH<sub>3</sub>) 20,06 (s, 1 CH<sub>2</sub>) 22,91 (s, 1 CH<sub>2</sub>) 25,26 (s, 1 CH<sub>3</sub>) 28,84-29,90 (11 CH<sub>2</sub>) 32,14 (s, 1 CH<sub>2</sub>) 34,81 (s, 1 CH<sub>2</sub>) 39,24 (s, 1 CH) 69,13 (s, 1 CH<sub>2</sub>) 173,50 (s, 1 C)

HRMS (EI+)  $m/z$ : 390,2146, 256,2387, 239,2359, 136,9795, 56,06384, Massa teòrica: 390,2158, Massa trobada: 390,2146; 20C, 39H, 2O, 1Br

#### Palmitat de 2-bromohexil (47)

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, CHLOROFORM-*d*)  $\delta$  ppm 0,88 (t,  $J=7,03$ , 3 H) 0,89 - 0,94 (m, 3 H), 1,22 - 1,44 (m, 28 H) 1,53 - 1,73 (m, 2 H) 1,73 - 1,93 (m, 2 H) 2,34 (t,  $J=7,42$ , 2 H) 4,05 - 4,16 (m, 1 H) 4,26 - 4,36 (m, 2 H)

$^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz, CHLOROFORM-*d*)  $\delta$  ppm 11,64 (s, 1 CH<sub>3</sub>) 14,32 (s, 1 CH<sub>3</sub>) 22,62 (s, 1 C) 22,90 (s, 1 C) 25,26 (s, 1 C) 29,34-29,90 (s, 10 C) 31,12 (s, 1 C) 31,81 (s, 1 C) 34,40 (s, 1 C) 34,66 (s, 1 C) 51,95 (s, 1 CH) 67,84 (s, 1 CH<sub>2</sub>) 173,50 (s, 1 C)

HRMS (EI+)  $m/z$ : 418,2474, 292,9824, 256,2394, 239,2388, 93,08591, Massa teòrica: 418,2501, Massa trobada: 418,2474; 22C, 43H, 2O, 1Br

#### Palmitat de 2-bromopentil (48)

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, CHLOROFORM-*d*)  $\delta$  ppm 0,81 (t,  $J=6,84$ , 3 H) 0,88 (t,  $J=7,33$ , 3 H) 1,12 - 1,33 (m, 26 H) 1,52 - 1,65 (m, 2 H) 1,66 - 1,84 (m, 2 H) 2,27 (t,  $J=7,82$ , 2 H) 4,01 - 4,10 (m, 2 H) 4,17 - 4,29 (m, 1 H)

$^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz, CHLOROFORM-*d*)  $\delta$  ppm 13,10 (s, 1 CH<sub>3</sub>) 17,38 (s, 1 CH<sub>3</sub>) 23,91 (s, 1 C) 24,02 (s, 1 C) 25,95 (s, 1 C) 28,05-29,28 (s, 10 C) 30,94 (s, 1 C) 33,22 (s, 1 C) 33,42 (s, 1 C) 50,43 (s, 1 CH) 68,21 (s, 1 CH<sub>2</sub>) 178,19 (s, 1 C)

HRMS (EI+)  $m/z$ : 404,2324, 292,9824, 256,2391, 239,2365, 69,0702, Massa teòrica: 404,2358, Massa trobada: 404,2324; 21C, 41H, 2O, 1Br

#### Palmitat de 2-bromobutil (49)

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, CHLOROFORM-*d*)  $\delta$  ppm 0,81 (t,  $J=7,03$ , 3 H) 1,00 (t,  $J=7,03$ , 3 H) 1,15 - 1,31 (m, 24 H) 1,53 - 1,62 (m, 2 H) 1,81 - 1,96 (m, 2 H) 2,28 (t,  $J=7,42$ , 2 H) 3,93 - 4,06 (m, 1 H) 4,17 - 4,30 (m, 2 H)

$^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz, CHLOROFORM-*d*)  $\delta$  ppm 9,61 (1C, CH<sub>3</sub>) 14,33 (s, 1 CH<sub>3</sub>) 22,91 (s, 1 CH<sub>2</sub>) 25,83 (s, 1 CH<sub>2</sub>) 29,34-29,90 (s, 11 CH<sub>2</sub>) 32,14 (s, 1 CH<sub>2</sub>) 34,39 (s, 1 CH<sub>2</sub>) 53,58 (s, 1 CH) 67,49 (s, 1 CH<sub>2</sub>) 173,00 (s, 1 C)

HRMS (EI+)  $m/z$  : 404,2324, 257,2460, 239,2350, 55,05238, Massa teòrica: 390,2197, Massa trobada: 390,2165; 20C, 39H, 2O, 1Br

**Palmitat de 2-bromopropil (50)**

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, CHLOROFORM-*d*)  $\delta$  ppm 0,81 (t,  $J=7,03$ , 3 H) 1,14 - 1,26 (m, 24 H) 1,52 - 1,61 (m, 2 H) 1,63 (d,  $J=6,64$  Hz, 3 H) 2,28 (t,  $J=7,42$ , 2 H) 4,09 - 4,17 (m, 2 H) 4,18 - 4,25 (m, 1 H)

$^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz, CHLOROFORM-*d*)  $\delta$  ppm 14,33 (s, 1 CH<sub>3</sub>) 22,68 (s, 1 C) 22,91 (s, 1 CH<sub>3</sub>) 25,19 (s, 1 C) 29,31- 29,90 (s, 10 C) 32,14 (s, 1 C) 34,65 (s, 1 C) 45,08 (s, 1 CH) 69,19 (s, 1 C) 173,48 (s, 1 C)

HRMS (EI+)  $m/z$  : 376,1985, 255,2301, 239,2301, 120,9642, Massa teòrica: 376,1993, Massa trobada: 376,1985; 19C, 37H, 2O, 1Br

**Palmitat de 3-bromobutil (51)**

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, CHLOROFORM-*d*)  $\delta$  ppm 0,88 (t,  $J=7,03$ , 3 H) 1,22 - 1,37 (m, 24 H) 1,58 - 1,67 (m, 2 H) 1,75 (d,  $J=6,64$  Hz, 3 H) 1,98 - 2,09 (m, 1 H) 2,10 - 2,22 (m, 1 H) 2,29 (t,  $J=7,42$ , 2 H) 4,17 - 4,22 (m, 2 H) 4,22 - 4,30 (m, 1 H)

$^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz, CHLOROFORM-*d*)  $\delta$  ppm 14,33 (s, 1 CH<sub>3</sub>) 23,46 (s, 1 CH<sub>2</sub>) 26,15 (s, 1 CH<sub>2</sub>) 26,77 (s, 1 CH<sub>3</sub>) 28,71-29,91 (10 CH<sub>2</sub>) 32,15 (CH<sub>2</sub>) 34,30 (s, 1 CH<sub>2</sub>) 39,63 (s, 1 CH<sub>2</sub>) 46,98 (s, 1 CH) 62,31(s, 1 CH<sub>2</sub>) 177,25 (s, 1 C)

HRMS (EI+)  $m/z$ : 390,2146, 256,2387, 239,2359, 136,9795, 56,06384, Massa teòrica: 390,2158, Massa trobada: 390,2146; 20C, 39H, 2O, 1Br

**Decanoat d'1-(bromometil)heptil (67)**

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, CHLOROFORM-*d*)  $\delta$  ppm 0,81 (t,  $J=6,64$ , 6 H) 1,11 - 1,31 (m, 20 H) 1,41 - 1,67 (m, 4 H) 2,26 (t,  $J=7,82$ , 2 H) 3,36 (dd,  $J=10,94$ ,  $J=5,47$ , 1H) 3,44 (dd,  $J=10,94$ ,  $J=4,69$ , 1 H) 4,87 - 4,98 (m, 1 H)

$^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz, CHLOROFORM-*d*)  $\delta$  ppm 14,24 (2C, CH<sub>3</sub>) 25,26 (s, 1 C) 25,29 (s, 1 C) 27,32 (s, 1 C) 28,84-29,52 (s, 5 C) 29,64 (s, 1 C) 31,80-32,78 (s, 4 C) 35,43 (s, 1 C) 72,38 (s, 1 CH) 173,53 (s, 1 C)

**Decanoat de 2-bromoocil (72)**

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, CHLOROFORM-*d*)  $\delta$  ppm 0,81 (t,  $J=6,646$  H) 1,11 - 1,31 (m, 20 H) 1,41 - 1,67 (m, 2 H) 1,65 - 1,85 (m, 2 H) 2,25 (t,  $J=6,64$ , 2 H) 3,99 - 4,10 (m, 1 H) 4,17 - 4,29 (m, 2 H)

$^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz, CHLOROFORM-*d*)  $\delta$  ppm 14,31 (s, 2 CH<sub>3</sub>) 22,88 (s, 1 CH<sub>2</sub>) 25,16 (s, 1 CH<sub>2</sub>) 28,84 (s, 1 CH<sub>2</sub>) 29,19-29,64 (s, 10 CH<sub>2</sub>) 31,80 (s, 1 CH<sub>2</sub>) 32,07 (s, 1 CH<sub>2</sub>) 34,66 (s, 1 CH<sub>2</sub>) 51,99 (s, 1 CH) 67,84 (s, 1 CH<sub>2</sub>) 173,49 (s, 1 C)

## 6. REFERÈNCIES BIBLIOGRÀFIQUES

1. Assis, H. M. S.; Bull, A. T.; Hardman, D. J. *Enzyme and Microbial Technology* **1998**, *22* (7), 545-551.
2. Spelberg, J. H. L.; Tang, L. X.; Kellogg, R. M.; Janssen, D. B. *Tetrahedron-Asymmetry* **2004**, *15* (7), 1095-1102.
3. Kasai, N.; Suzuki, T.; Furukawa, Y. *Journal of Molecular Catalysis B-Enzymatic* **1998**, *4* (5-6), 237-252.
4. Hamaguchi, S.; Ohashi, T.; Watanabe, K. *Agricultural and Biological Chemistry* **1986**, *50* (2), 375-380.
5. Najera, C.; Yus, M.; Seebach, D. *Helvetica Chimica Acta* **1984**, *67* (1), 289-300.
6. Kasai, N.; Suzuki, T.; Furukawa, Y. *Chirality* **1998**, *10* (7), 682-692.
7. Kolb, H. C.; Sharpless, K. B. *Tetrahedron* **1992**, *48* (48), 10515-10530.
8. Balani, S. K.; Boyd, D. R.; Cassidy, E. S.; Greene, R. M. E.; McCombe, K. M.; Sharma, N. D.; Jennings, W. B. *Tetrahedron Letters* **1981**, *22* (34), 3277-3280.
9. Talekar, D. G.; Joshi, P. L.; Ramaiah, P.; Rao, A. S. *Indian Journal of Chemistry Section B-Organic Chemistry Including Medicinal Chemistry* **1986**, *25* (2), 145-151.
10. Watson, K. G.; Fung, Y. M.; Gredley, M.; Bird, G. J.; Jackson, W. R.; Gountzos, H.; Matthews, B. R. *Journal of the Chemical Society-Chemical Communications* **1990**, (15), 1018-1019.
11. Beger, J. *Journal fur Praktische Chemie* **1991**, *333* (5), 677-698.
12. Brenna, E.; Fuganti, C.; Serra, S. *Tetrahedron-Asymmetry* **2003**, *14* (1), 1-42.
13. Ding, J.; Armstrong, D. W. *Chirality* **2005**, *17* (5), 281-292.
14. Mcelvain, S. M.; Bolstad, A. N. *Journal of the American Chemical Society* **1951**, *73* (5), 1988-1992.

15. Newman, M. S.; Chen, C. H. *Journal of the American Chemical Society* **1972**, 94 (6), 2149-&.
16. Newman, M. S.; Chen, C. H. *Journal of Organic Chemistry* **1973**, 38 (6), 1173-1177.
17. Newman, M. S.; Chen, C. H. *Journal of the American Chemical Society* **1973**, 95 (1), 278-279.
18. Newman, M. S.; Olson, D. R. *Journal of Organic Chemistry* **1973**, 38 (24), 4203-4204.
19. Golding, B. T.; Hall, D. R.; Sakrikar, S. *Journal of the Chemical Society-Perkin Transactions I* **1973**, (11), 1214-1220.
20. Ahmad, M. U.; Ansari, A. A.; Osman, S. M. *Fette Seifen Anstrichmittel* **1980**, 82 (3), 106-109.
21. Ahmad, M. S.; Khan, M.; Osman, S. M. *Indian Journal of Chemistry Section B-Organic Chemistry Including Medicinal Chemistry* **1980**, 19 (11), 1001-1003.
22. Robert, K.; Boeckman, Jr. *Tetrahedron Letters* **1974**, 11, 913-916.
23. Tanaka, M.; Koyanagi, M.; Kobayashi, T. *Tetrahedron Letters* **1981**, 22 (39), 3875-3878.
24. Bhar, S.; Ranu, B. C. *Journal of Organic Chemistry* **1995**, 60 (3), 745-747.
25. Oriyama, T.; Ishiwata, A.; Hori, Y.; Yatabe, T.; Hasumi, N.; Koga, G. *Synlett* **1995**, (10), 1004-1006.
26. Eras, J.; Mendez, J. J.; Balcells, M.; Canela, R. *Journal of Organic Chemistry* **2002**, 67 (24), 8631-8634.
27. Mendez, J.; Eras, J.; Balcells, M.; Canela, R. *Synthetic Communications* **2006**, 36 (9), 1167-1175.
28. Aoyama, T.; Takido, T.; Kodomari, M. *Tetrahedron Letters* **2005**, 46 (12), 1989-1992.

29. Stamatov, S. D.; Stawinski, J. *Tetrahedron Letters* **2006**, 47 (15), 2543-2547.
30. Look, G.; Simchen, G.; Heberle, J. *Silylation Agents*. **1995**.
31. Drauz, K.; Kleemann, A.; Martens, J.; Scherberich, P.; Effenberger, F. *Journal of Organic Chemistry* **1986**, 51 (18), 3494-3498.
32. Sauer, R. O. *Journal of the American Chemical Society* **1944**, 66, 1707-1710.
33. Eras, J.; Llovera, M.; Ferran, X.; Canela, R. *Synthetic Communications* **1999**, 29 (7), 1129-1133.
34. Eras, J. Aplicacions sintètiques i analítiques de l'alcohòlisi d'èsters catalitzada amb clorotrimetilsilà. Thesis/Dissertation **2002**.
35. Eras, J.; Ferran, J.; Perpina, B.; Canela, R. *Journal of Chromatography A* **2004**, 1047 (1), 157-161.
36. Luo, F. T.; Jeevanandam, A. *Tetrahedron Letters* **1998**, 39 (51), 9455-9456.
37. Xu, L. W.; Li, L.; Xia, C. G.; Zhao, P. Q. *Tetrahedron Letters* **2004**, 45 (11), 2435-2438.
38. Hazra, B. G.; Chordia, M. D.; Bahule, B. B.; Pore, V. S.; Basu, S. *Journal of the Chemical Society-Perkin Transactions 1* **1994**, (13), 1667-1669.
39. Miyashita, K.; Tanaka, A.; Mizuno, H.; Tanaka, M.; Iwata, C. *Journal of the Chemical Society-Perkin Transactions 1* **1994**, (7), 847-851.
40. Fieser, L. F.; Fieser, M. *Reagents for Organic Synthesis*; Jonh Willey and Sons,INC: **1969**; Vol. II.
41. Fieser, L. F.; Fieser, M. *Reagents for Organic Synthesis*; Jonh Willey and Sons,INC: **1967**; Vol. I.
42. Ramalinga, K.; Vijayalakshmi, P.; Kaimal, T. N. B. *Tetrahedron Letters* **2001**, 43, 879-882.



43. Karimi, B.; Golshani, B. *Synthesis-Stuttgart* **2002**, (6), 784-788.
44. Phukan, P. *Tetrahedron Letters* **2004**, 45 (24), 4785-4787.
45. Li, H. T.; Xie, W. L. *Catalysis Letters* **2006**, 107 (1-2), 25-30.
46. Ahmed, N.; van Lier, J. E. *Tetrahedron Letters* **2006**, 47 (30), 5345-5349.
47. Fieser, L. F.; Fieser, M. *Reagents for Organic Synthesis*; Jonh Willey and Sons,INC: **1975**; Vol. V.
48. Pedersen, C. J. *Journal of the American Chemical Society* **1967**, 89 (26), 7017-&.
49. Fieser, L. F.; Fieser, M. *Reagents for Organic Synthesis*; Jonh Willey and Sons,INC: **1981**; Vol. IX.
50. Fieser, L. F.; Fieser, M. *Reagents for Organic Synthesis*; Jonh Willey and Sons,INC: **1980**; Vol. VIII.
51. Fieser, L. F.; Fieser, M. *Reagents for Organic Synthesis*; Jonh Willey and Sons,INC: **1974**; Vol. IV.
52. Fieser, L. F.; Fieser, M. *Reagents for Organic Synthesis*; Jonh Willey and Sons,INC: **1977**; Vol. VI.
53. Fieser, L. F.; Fieser, M. *Reagents for Organic Synthesis*; Jonh Willey and Sons,INC: **1979**; Vol. VII.
54. Olivier-Bourbigou, H.; Magna, L. *Journal of Molecular Catalysis A-Chemical* **2002**, 182 (1), 419-437.
55. Forsyth, S. A.; MacFarlane, D. R.; Thomson, R. J.; von Itzstein, M. *Chemical Communications* **2002**, (7), 714-715.
56. MacFarlane, D. R.; Golding, J.; Forsyth, S.; Forsyth, M.; Deacon, G. B. *Chemical Communications* **2001**, (16), 1430-1431.
57. Jain, N.; Kumar, A.; Chauhan, S.; Chauhan, S. M. S. *Tetrahedron* **2005**, 61 (5), 1015-1060.

58. Fraga-Dubreuil, J.; Bourahla, K.; Rahmouni, M.; Bazureau, J. P.; Hamelin, J. *Catalysis Communications* **2002**, *3* (5), 185-190.
59. Zim, D.; de Souza, R. F.; Dupont, J.; Monteiro, A. L. *Tetrahedron Letters* **1998**, *39* (39), 7071-7074.
60. Deng, Y. Q.; Shi, F.; Beng, J. J.; Qiao, K. *Journal of Molecular Catalysis A-Chemical* **2001**, *165* (1-2), 33-36.
61. Brinchi, L.; Germani, R.; Savelli, G. *Tetrahedron Letters* **2003**, *44* (10), 2027-2029.
62. Biondini, D.; Brinchi, L.; Germani, R.; Savelli, G. *Letters in Organic Chemistry* **2006**, *3* (3), 207-211.
63. Zhao, H.; Malhotra, S. V. *Aldrichimica Acta* **2002**, *35* (3), 75-83.
64. Chiappe, C.; Capraro, D.; Conte, V.; Pieraccini, D. *Organic Letters* **2001**, *3* (7), 1061-1063.
65. Chiappe, C.; Conte, V.; Pieraccini, D. *European Journal of Organic Chemistry* **2002**, (16), 2831-2837.
66. Kim, D. W.; Song, C. E.; Chi, D. Y. *Journal of the American Chemical Society* **2002**, *124* (35), 10278-10279.
67. Baudequin, C.; Plaquevent, J. C.; Audouard, C.; Cahard, D. *Green Chemistry* **2002**, *4* (6), 584-586.
68. Laali, K. K.; Borodkin, G. I. *Journal of the Chemical Society-Perkin Transactions 2* **2002**, (5), 953-957.
69. Kreimerman, S.; Ryu, I.; Minakata, S.; Komatsu, M. *Organic Letters* **1999**, *2* (3), 389-391.
70. Gatfield, I. L. *Abstracts of Papers of the American Chemical Society* **1998**, *216*, U55.
71. Kule, J.; Sikora, M.; Sadowska, H.; Piwowarski, J. *Tetrahedron* **1996**, *52* (34), 11321-11324.

72. Chartrain, M.; Greasham, R.; Moore, J.; Reider, P.; Robinson, D.; Buckland, B. *Journal of Molecular Catalysis B-Enzymatic* **2001**, *11* (4-6), 503-512.
73. Pauli, G. F.; Jaki, B. U.; Lankin, D. C. *Journal of Natural Products* **2005**, *68* (1), 133-149.
74. Welton, T.; Wasserscheid, P. *Ionic liquids in synthesis*; Cambridge, Wiley-VCH: **2003**.
75. Crofts, D.; Dyson, P. J.; Sanderson, K. M.; Srinivasan, N.; Welton, T. Organometallic synthesis in room-temperature chloroaluminate(III) ionic liquids. In *Advances in molten salts: from structural aspects to waste processing*, New York, Begell House: **1999**.
76. Jeapes, A. J.; Thied, R. C.; Seddon, K. R.; Pitner, W. R.; Rooney, D. W.; Hatter, J. E.; Welton, T. Process for recycling ionic liquids. British Nuclear Fuels Plc. UK.2000-GB3234(2001015175),8. 8-21 2000 WO, **2000**.
77. Zhao, D. B.; Wu, M.; Kou, Y.; Min, E. *Catalysis Today* **2002**, *74* (1-2), 157-189.
78. Welton, T. *Coordination Chemistry Reviews* **2004**, *248* (21-24), 2459-2477.
79. Joseph, T.; Sahoo, S.; Halligudi, S. B. *Journal of Molecular Catalysis A-Chemical* **2005**, *234* (1-2), 107-110.
80. Deakyne, C. A.; Allen, L. C. *Journal of the American Chemical Society* **1979**, *101* (14), 3951-3959.
81. Faber, K. *Biotransformations in organic chemistry*; Springer-Verlag: Berlin, **1992**.
82. Korinthenberg, R.; Burkart, P.; Woelfle, C.; Moenting, J. S.; Ernst, J. P. *Journal of Child Neurology* **2007**, *22* (4), 414-418.
83. Stephani, U.; Diener, W.; Ramm, S. *Nervenheilkunde* **1999**, *18* (6), 311-316.

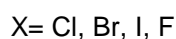
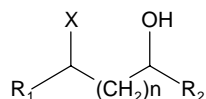
84. Chiappe, C. Ionic Liquids in Organic Synthesis: Effects on Rate and Selectivity. **2007**.
85. Wilen, S. H.; Delguzzo, L.; Saferstein, R. *Tetrahedron* **1987**, *43* (21), 5089-5094.
86. Dewkar, G. K.; Narina, S. V.; Sudalai, A. *Organic Letters* **2003**, *5* (23), 4501-4504.
87. Damin, B.; Garapon, J.; Sillion, B. *Synthesis-Stuttgart* **1981**, (5), 362-363.
88. Rotticci, D.; Orrenius, C.; Hult, K.; Norin, T. *Tetrahedron-Asymmetry* **1997**, *8* (3), 359-362.
89. Wilkinson, R. *Journal of the Chemical Society* **1931**, 3057.

**CAPÍTOL IV.**  
**HIDRÒLISI ENZIMÀTICA D'ÈSTERS**  
**D'HALOHIDRINA**

## 1. INTRODUCCIÓ

### 1.1. HALOHIDRINES

Les halohidrines són alcohols que tenen un àtom d'halogen en un carboni saturat (**Figura 1**).



**Figura 1.** Estructura química d'una halohidrina.

Les halohidrines òpticament pures tenen una àmplia aplicació en síntesi orgànica. Són intermediaris clau en la síntesi de molts compostos bioactius, com diversos productes naturals (per exemple productes naturals marins halogenats<sup>1</sup>, feromones<sup>2</sup>), agroquímics, medicaments<sup>3-5</sup> (per exemple antivírics<sup>5,6</sup>, antidepressius<sup>7</sup>,  $\beta$ -bloquejadors<sup>8-10</sup>), essent per tant de gran importància el desenvolupament de mètodes per a la seva síntesi asimètrica.

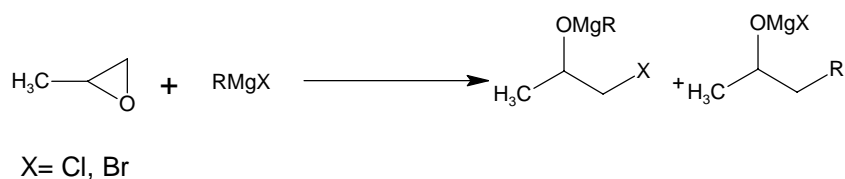
### 1.2. MÈTODES PER A LA SÍNTESI D'HALOHIDRINES

#### 1.2.1. MÈTODES QUÍMICS

Els mètodes químics descrits a la literatura per a la síntesi d'halohidrines empren com a productes de partida epòxids, olefines, monoèsters i dièsters. Aquests mètodes poden ser més o menys regioselectius, però amb la majoria no es poden obtenir halohidrines òpticament pures.

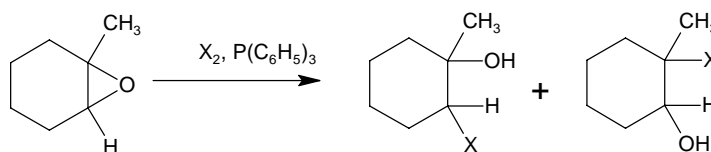
Un mètode per a l'obtenció d'halohidrines és a partir d'un epòxid amb un halur d'alquilmagnesi (reactiu de Grignard), **Figura 2**. El rendiment de l'halohidrina

formada depèn del tipus d'halur, segons tingui l'halogen en posició primària o secundària, i del radical alquil, generalment són rendiments moderats, entre el 35-81%. En aquesta reacció es pot formar en menor o major proporció l'alcohol resultat de l'addició nucleòfila de l'alquil<sup>11-13</sup>.



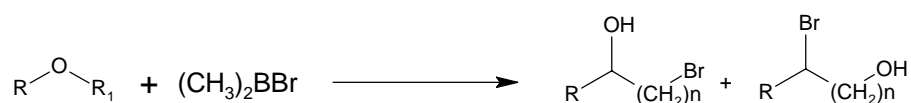
**Figura 2.** Síntesi d'halohidrines a partir d'epòxids i reactius de Grignard.

El tractament d'epòxids amb un lleuger excés de  $\text{I}_2$ ,  $\text{Br}_2$ , o  $\text{Cl}_2$  i  $\text{P}(\text{C}_6\text{H}_5)_3$  en diclorometà també genera halohidrines generalment amb rendiments elevats (**Figura 3**)<sup>14</sup>.



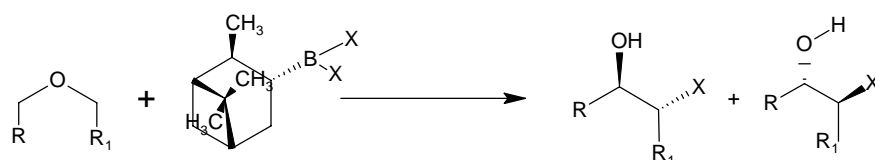
**Figura 3.** Síntesi d'halohidrines a partir d'epòxids amb  $\text{X}_2$ .

El bromur de dimetilborà,  $(\text{CH}_3)_2\text{BBr}$ , pot hidrolitzar epòxids amb l'obtenció dels corresponents bromoalcohols (**Figura 4**). Es va estudiar l'obertura de diferents èters simètrics, asimètrics i tetrahidrofurans amb diferents substituents amb rendiments entre el 70 i 100%<sup>15</sup>.



**Figura 4.** Síntesi de bromohidrines a partir d'epòxids amb  $(CH_3)_2BBr$ .

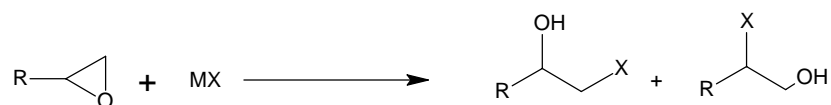
A partir de *meso*-epòxids es pot dur a terme una síntesi asimètrica d'1,2-halohidrines amb  $\beta$ -halodiisopinocampfeilborans (**Figura 5**). Seleccionant el reactiu organoborà quiral apropiat es pot obtenir un o l'altre enantiòmer. Els rendiments són entre el 63 i el 89% i no s'obté un *ee*>95% en cap dels casos<sup>16</sup>.



X=Cl, Br, I

**Figura 5.** Síntesi asimètrica d'1,2-halohidrines amb organoborans

Els halurs metàl·lics poden generar halohidrines d'una manera regioselectiva, majoritàriament l'1-halo-2-alcanol, a partir d'epòxids terminals i amb elevat rendiment, >95% (**Figura 6**)<sup>17</sup>.

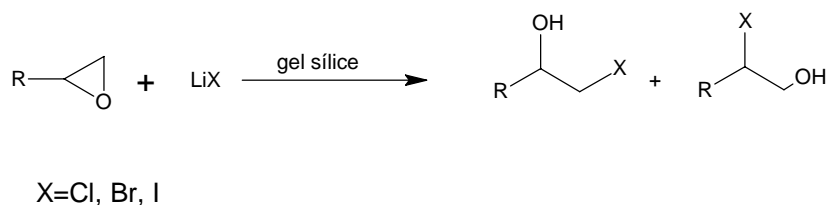


MX= HCl, AlCl<sub>3</sub>, TiCl<sub>4</sub>, *i*-Bu<sub>2</sub>AlO-*s*-Bu+*i*-Bu<sub>2</sub>AlCl, Ti(O-*i*-Pr)<sub>4</sub>+Bu<sub>2</sub>AlCl, Mg(TMP)Br, *i*-BuAlCl<sub>2</sub>, *i*-Bu<sub>2</sub>AlCl, Ti(Ne<sub>2</sub>)<sub>4</sub>+TiBr<sub>4</sub>

**Figura 6.** Síntesi d'halohidrines a partir d'epòxids i halurs metàl·lics.

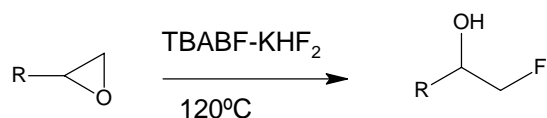


Kotsuki i col. van estudiar la síntesi de  $\beta$ -halohidrines a partir d'epòxids i halurs de liti sense dissolvent i en un suport de gel de sílice (**Figura 7**). Els rendiments obtinguts van ser entre el 42 i el 99%, depenent de l'epòxid<sup>18</sup>.



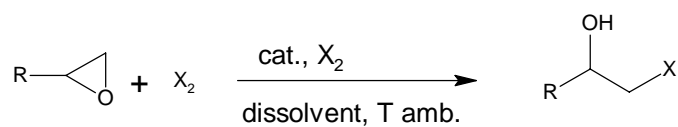
**Figura 7.** Síntesi d'halohidrines a partir d'epòxids i halurs de liti en un suport de gel de sílice.

Akiyama i col. van sintetitzar fluorohidrines mitjançant l'obertura d'un epòxid terminal amb bifluorur de tetrabutil d'amoni [(TBABF)-KHF<sub>2</sub>] amb elevada regioselectivitat (**Figura 8**)<sup>19</sup>.



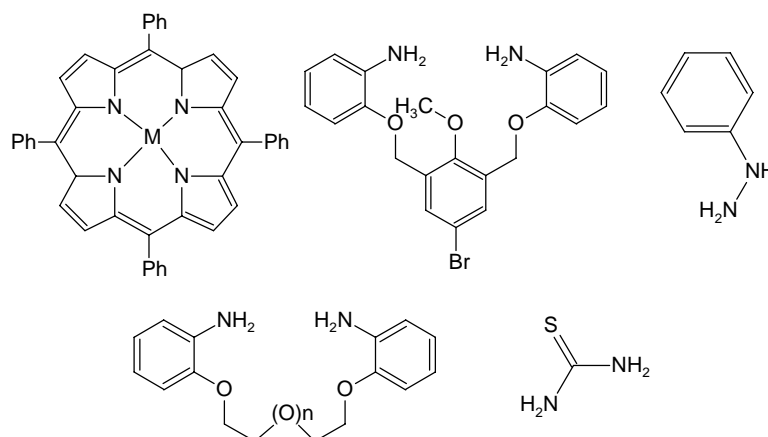
**Figura 8.** Síntesi d'halohidrines a partir d'epòxids amb (TBABF)-KHF<sub>2</sub>.

Les metal·loporfirines poden catalitzar l'obertura dels epòxids amb I<sub>2</sub> i Br<sub>2</sub>, sota condicions neutres i suaus en dissolvents apròtics per a produir la corresponent halohidrina amb elevats rendiments i alta regioselectivitat<sup>20</sup>. El 2,6-bis[2-(o-aminofenoxi)metil]-4-bromo-1-metoxibenzè (BABMB)<sup>21</sup>, la fenilhidrazina<sup>22</sup>, diamines aromàtiques unides<sup>23</sup> i la tiourea<sup>24</sup> també poden catalitzar l'obertura d'epòxids amb I<sub>2</sub> i Br<sub>2</sub> (**Figura 9**).



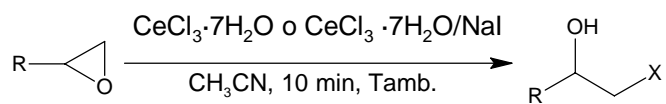
X= Br, I

Organocatalitzadors:



**Figura 9.** Síntesi d'halohidrínes a partir d'epòxids amb diferents organocatalitzadors.

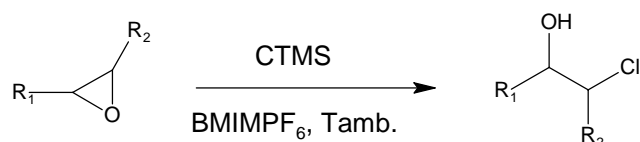
Un gran nombre d'epòxids es van convertir a la seva corresponent  $\beta$ -halohidrina amb la utilització de clorur de ceri (III) o  $\text{CeCl}_3/\text{NaI}$  en acetonitril (**Figura 10**). Les reaccions van ser altament regioselectives i amb un rendiment elevat, entre 90 i 99%, sota condicions suaus i neutres<sup>25</sup>.



X=Cl, I

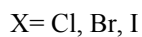
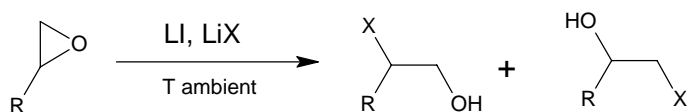
**Figura 10.** Síntesi d'halohidrínes a partir d'epòxids amb  $\text{CeCl}_3$  o  $\text{CeCl}_3/\text{NaI}$ .

No obstant, tots aquests mètodes produeixen productes secundaris com dihalurs i 1,2-diols. Xu i col. van sintetitzar clorohidrines amb CTMS a partir d'epòxids en un LI, l'hexafluorofosfat d'1-butil-3-metilimidazoli: [BMIM][PF<sub>6</sub>], amb excel·lents rendiments i elevada regio- i estereoselectivitat (**Figura 11**). Aquesta reacció en dissolvents orgànics com el diclorometà es du a terme amb rendiments ≤10%, indicant que el LI va actuar de catalitzador de la reacció, degut probablement a l'elevada acidesa de Lewis que presenta<sup>26</sup>.



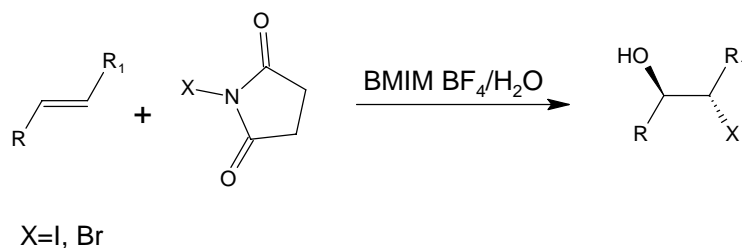
**Figura 11.** Síntesi de clorohidrines amb CTMS en [BMIM][PF<sub>6</sub>] a partir d'epòxids.

Yadav i col. van estudiar la síntesi d'halohidrines a partir d'oxirans emprant LIs tal com: [BMIM][PF<sub>6</sub>] i el tetrafluoroborat d'1-butil-3-metilimidazoli, [BMIM][BF<sub>4</sub>], i halurs de liti (**Figura 12**). Els rendiments de la reacció foren alts, 81-96%, formant-se els dos regioisòmers en alguns casos<sup>1</sup>.



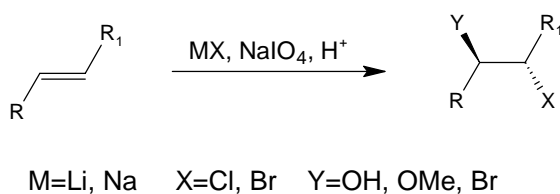
**Figura 12.** Síntesi d'halohidrines a partir d'epòxids amb halurs de liti en LIs.

Posteriorment els mateixos autors també van estudiar la síntesi d'halohidrines a partir d'olefines utilitzant halosuccinimides en un sistema bifàsic [BMIM][BF<sub>4</sub>]-aigua amb rendiments entre 70 i el 96% (**Figura 13**)<sup>27</sup>.



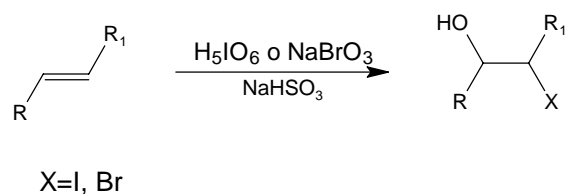
**Figura 13.** Síntesi d'halohidrines a partir d'olefines amb halosuccinimides en LIs.

El periodat de sodi, NaIO<sub>4</sub>, oxida els halurs metàl·lics en medi aquós per halogenar alquens i compostos aromàtics i produir els corresponents haloderivats d'una forma regio- i diastereoselectiva (**Figura 14**)<sup>28</sup>.



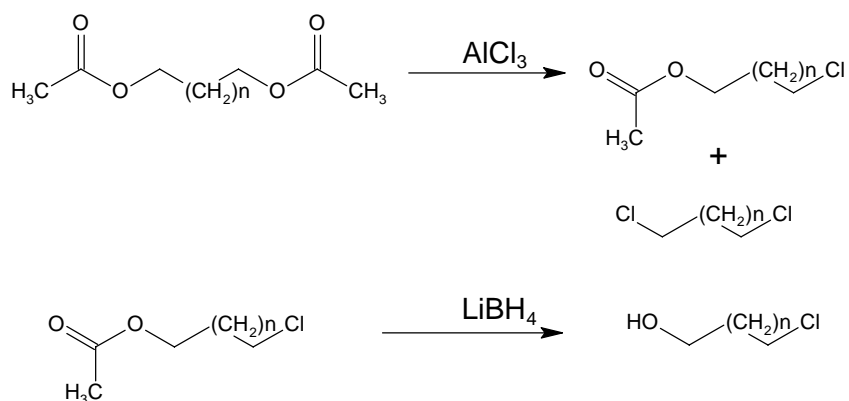
**Figura 14.** Síntesi d'halohidrines a partir d'olefines amb halurs metàl·lics.

Masuda i col. van desenvolupar una metodologia per a la síntesi de iodo- i bromohidrines a partir d'olefines amb H<sub>5</sub>I<sub>6</sub> i NaBrO<sub>3</sub> en presència d'un agent reductor, NaHSO<sub>3</sub> (**Figura 15**)<sup>29</sup>.



**Figura 15.** Síntesi d'halohidrines a partir d'olefines amb  $\text{H}_5\text{IO}_6$  o  $\text{NaBrO}_3$ .

Wilen i col. van descriure la formació de clorohidrines a partir de diacetats amb clorur d'alumini anhidre d'una manera selectiva, amb el desplaçament de només un dels grups acetoxi pel clor. Posteriorment es va tractar amb borohidrur de liti ( $\text{LiBH}_4$ ) per a reduir el corresponent acetat i la conseqüent formació de la clorohidrina (**Figura 16**)<sup>30</sup>.



**Figura 16.** Síntesi d'halohidrines a partir diacetats amb  $\text{AlCl}_3/\text{LiBH}_4$

Una altra forma d'obtenció d'halohidrines enantiomèricament pures a través de mètodes químics és amb catàlisi asimètrica per reducció  $\alpha$ -halocetones amb organocatalitzadors quirals<sup>31,32</sup>.

## 1.2.2. MÈTODES ENZIMÀTICS

Una de les maneres més fàcils per a l'obtenció d'halohidrines òpticament pures és mitjançant enzims. Els enzims poden mostrar tres tipus de selectivitat<sup>33,34</sup>:

**Quimioselectivitat:** preferència de l'enzim per un o més grups funcionals d'un compost químic.

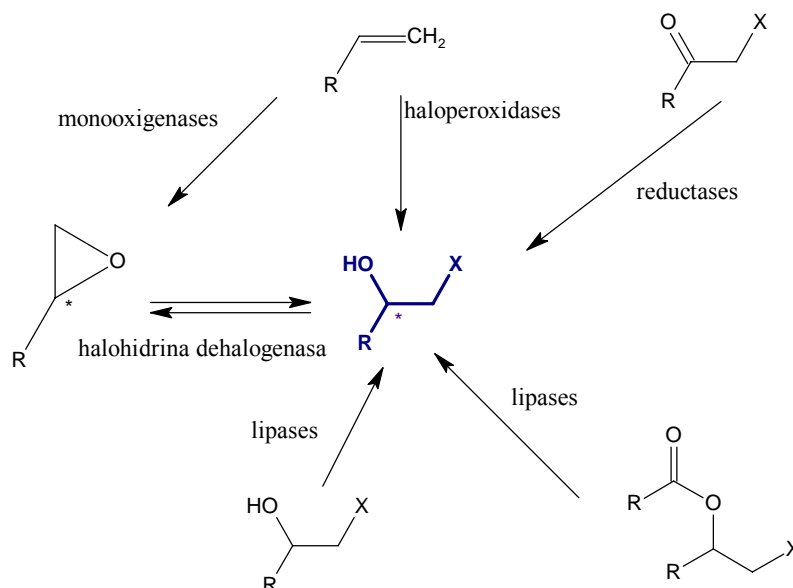
**Regio- i Diastereoselectivitat:** capacitat de distingir entre grups funcionals que estan químicament situats en diferents regions del mateix substrat de la molècula

**Enantioselectivitat:** Com la majoria dels enzims estan formats per L-aminoàcids, són catalitzadors quirals. Conseqüentment, la quiralitat present entre una molècula de substrat es reconeguda a través de la formació del complex enzim-substrat. Per tant, un substrat proquiral pot ser transformat en un producte òpticament actiu a través d'asimetrització, reaccionant els diferents enantiòmers d'una mescla racèmica a diferent velocitat i proporcionant així la resolució cinètica.

A la **Figura 17** hi ha representades les diferents rutes enzimàtiques que es poden utilitzar per a l'obtenció d'halohidrines òpticament pures<sup>33</sup>.

Els enzims es poden utilitzar en diferents formes, en forma d'enzims aïllats procedents de microorganismes (bacteris, floridures i llevats) o organismes eucariotes superiors<sup>35</sup>, incloent els microorganismes recombinants<sup>35</sup> o d'evolució directa (mutació dels microorganismes a l'atzar a nivell de nucleòtid o recombinació de gens)<sup>36</sup>, enzims aïllats immobilitzats<sup>37</sup> o bé *whole-cells* on

s'inclouen les cèl·lules en creixement i les *resting-cells* (enzims lligats a cèl·lules de miceli fúngic)<sup>34</sup>.



**Figura 17.** Mètodes enzimàtics per a la preparació d'halohidrines òpticament pures.

Halohidrines òpticament pures es poden obtenir amb **dehalogenases** d'halohidrines. Aquests enzims catalitzen el tancament d'una halohidrina veïnal formant-se un epòxid i la reacció inversa. S'han aïllat diferents microorganismes capaços de dehalogenar halohidrines<sup>38,38-43</sup>, com per exemple una soca d'*Agrobacterium radiobacter*, de la qual s'utilitza la seva dehalogenasa recombinada<sup>44</sup>.

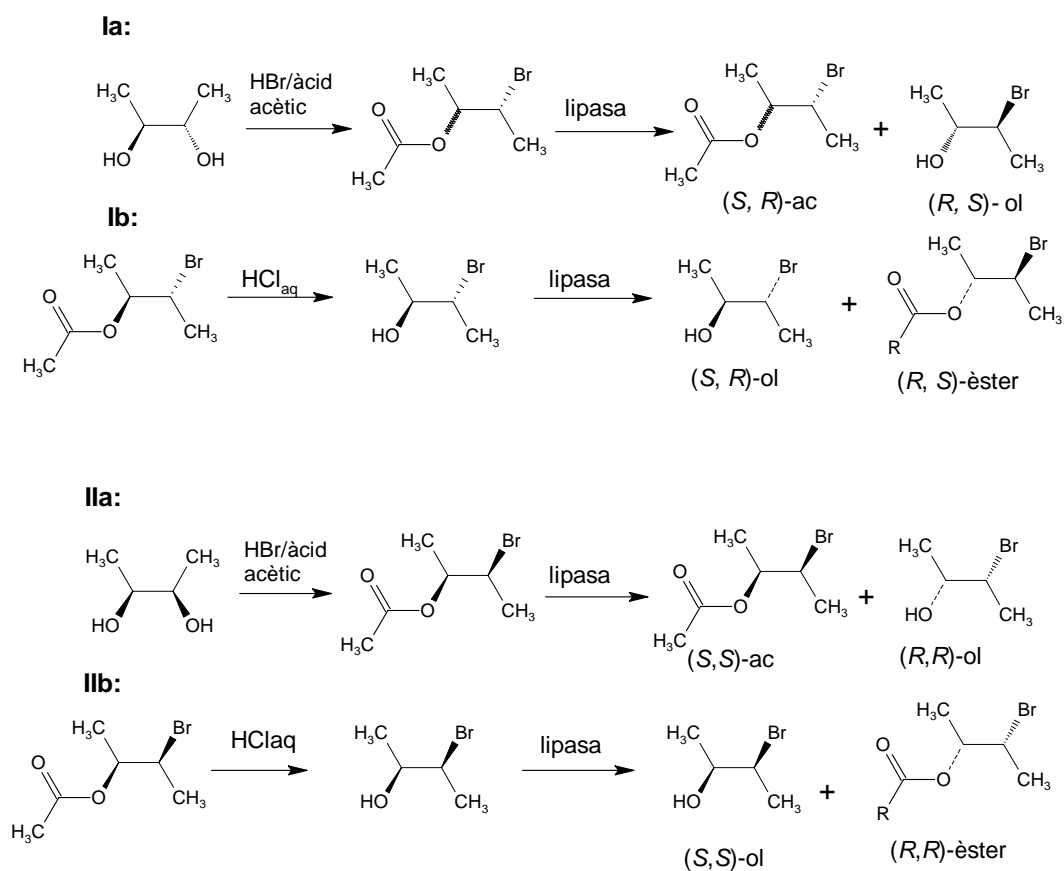
Una altra manera d'obtenir halohidrines òpticament pures passa per la **reducció de cetones**. Martínez i col. van estudiar la reducció d' $\alpha$ -halocetones amb llevats, en concret unes soques de *Saccharomyces cerevisiae*, *Yarrowia lipolytica* i *Pichia mexicana*. Cada soca presentava diferent estereoquímica. Van obtenir uns

elevats rendiments i *ee* de *S*-halohidrines amb les *resting-cells* de la soca de *Y. lipolytica* i de *R*-halohidrines amb *P. mexicana*<sup>9</sup>. Zhu i col. van utilitzar cetoreductases recombinants per a la producció d' $\alpha$ -cloroalcohols enantiomèricament purs els quals són valuosos precursors de medicaments<sup>45</sup>. Altres reductases procedents de microorganismes s'han estudiat per a l'obtenció d'halohidrines òpticament pures<sup>4,6,46-48</sup>.

Amb **lipases** es pot també obtenir halohidrines via resolució cinètica ja bé, a partir d'halohidrines amb esterificacions enantioselectives<sup>49</sup> o bé per hidròlisi enantioselectiva d'èsters d'halohidrina<sup>50</sup>. Hi ha molts treballs sobre l'ús de lipases per a la resolució cinètica d'alcohols i èsters<sup>43,51-53</sup> en dissolvents orgànics, alguns d'aquests utilitzen *resting-cells* com a biocatalitzadors<sup>54</sup>, però pocs per a la resolució cinètica d'èsters d'halohidrines<sup>50,55</sup> o dels seus alcohols<sup>56-62</sup>, i encara menys els que utilitzen *resting-cells* com a biocatalitzadors<sup>38,55</sup>.

Un exemple és el descrit per Liu i col. els quals van preparar els 4 estereoisòmers del 3-bromo-2-butanol i/o els seus acetats per resolució cinètica mitjançant hidròlisi dels acetats amb lipases o per esterificacions dels alcohols. La síntesi dels acetats de bromohidrina va ser a partir de *dl*- o *meso*-2,3-butandiols (**Figura 18**). Les lipases que es van utilitzar van ser les de *Candida antarctica* Lipase B (CALB), *Pseudomonas cepacia* (Amano PS) o *Candida rugosa* (CRL). Es van obtenir uns rendiments del 35-40%, respecte dels *rac*-èsters de bromohidrina, amb un *ee*>95%<sup>63</sup>.





**Figura 18.** Obtenció dels quatre estereoisòmers del 3-bromo-2-butanol a partir del *dl*-2,3-butandiòl (Ia i Ib) i del *meso*-2,3-butandiòl (IIa i IIb) mitjançant resolució amb lipases.

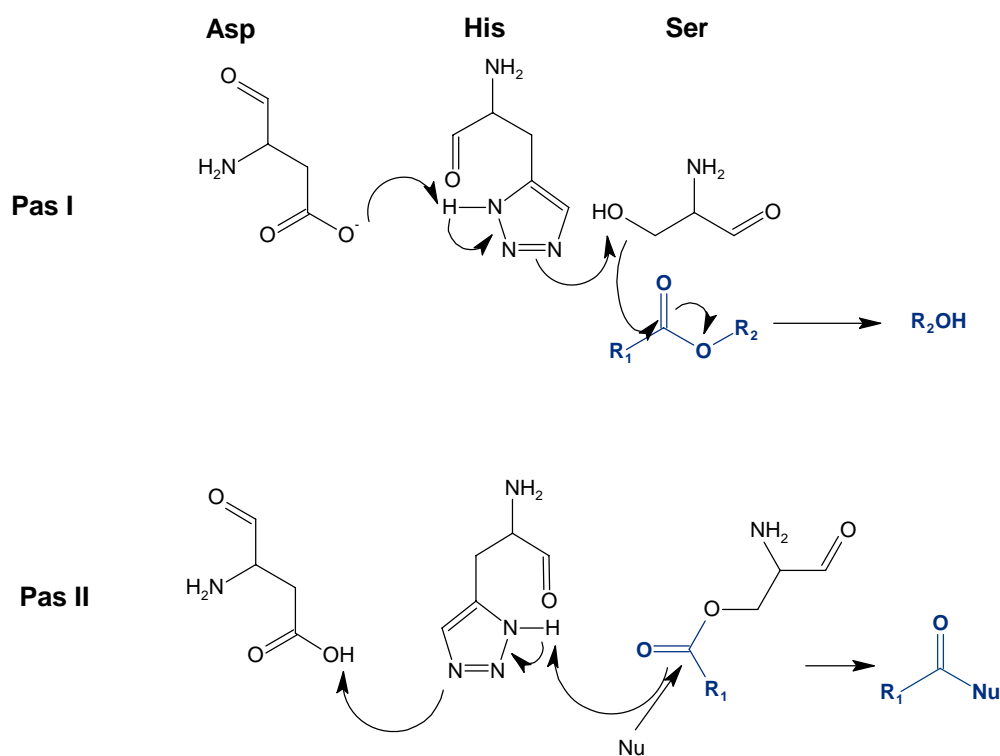
### 1.3. LIPASES

Les lipases (EC 3.1.1.3) són enzims que hidrolitzen triglicèrids a glicerol i àcids grassos en una interfase oli-aigua. A part de la seva funció original, les lipases, són àmpliament utilitzades en síntesi orgànica per a la preparació de valuosos intermediaris quirals<sup>34</sup>, mitjançant reaccions d'esterificació, acidòlisi, alcoholisi, transesterificació i d'hidròlisi a més de reaccions amb altres nucleòfils diferents dels alcohols com, aminòlisis, tiotransesterificacions i oximòlisi entre altres<sup>64</sup>. Les lipases no requereixen de cofactors i accepten un ampli grup de substrats no naturals. En molts casos a més, exhibeixen de bona a excel·lent estereoselectivitat. S'han estat utilitzant àmpliament en diferents tipus de reaccions per a l'obtenció de compostos enantiomèricament purs, entre elles en resolucions cinètiques d'àcids carboxílics racèmics per hidròlisi preferencial d'un dels enantiòmers de l'èster o per esterificació d'alcohols<sup>65</sup>. Les lipases es troben en molts organismes i actualment un ampli grup de lipases estan disponibles comercialment ja bé en forma lliure o immobilitzada.

#### 1.3.1. MECANISME D'HIDRÒLISI D'ÈSTERS

El mecanisme d'hidròlisi d'èsters amb enzims és similar a la hidròlisi química amb una base. Un grup nucleofilic del centre actiu ataca el grup carboxil del substrat. Aquest grup pot ser un grup hidroxil d'una serina (Ser), un grup carboxil d'un àcid aspàrtic (Asp) o un tiol funcionalitzat d'una cisteïna. Les lipases pertanyen al grup de les serina-hidrolases. Juntament amb la Ser hi ha dos grups addicionals, Asp i histidina (Hist) formant l'anomenada triada catalítica. L'especial disposició d'aquests tres grups provoca una disminució del valor pK del grup hidroxil de la serina fent que es doni a terme un atac nucleofilic al grup carboxil del substrat. D'aquesta manera la meitat acil del substrat es lliga covalentment a l'enzim, formant l'intermediari acil-enzim i

alliberant el grup sortint  $R_2OH$  (Pas I de la **Figura 19**). Després, un nucleòfil, normalment aigua, ataca l'intermediari acil-enzim, regenerant l'enzim i alliberant un àcid carboxílic (Pas II de la **Figura 19**). Aquestes acilacions-desacilacions són reversibles. En un ambient amb baixa activitat d'aigua altres nucleòfils poden competir amb l'aigua per l'intermediari acil-enzim donant lloc a diferents transformacions sintètiques útils com interesterificacions, aminòlisi d'èsters, formació de peràcids o formació d'hidrazines<sup>34</sup>.

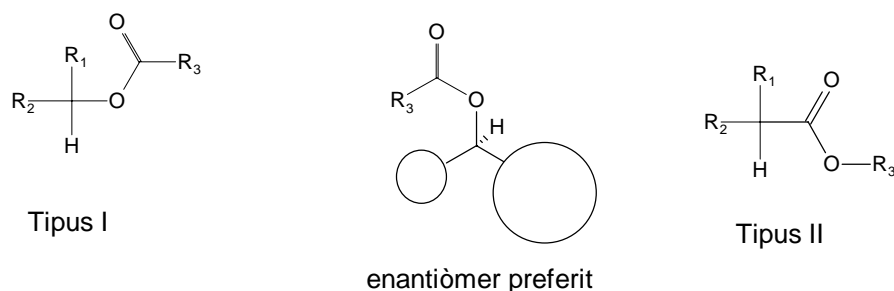


**Figura 19.** Mecanisme de la serina hidrolasa<sup>34</sup>.

### 1.3.2. ESPECIFICITAT DE LES LIPASES

Les lipases es poden dividir segons el seu tipus d'especificitat. Aquestes poden ser àcid gras específiques, segons l'habilitat per hidrolitzar un tipus particular d'àcid gras, regioselectives, habilitat per hidrolitzar grups èsters en posició *sn*-1 i *sn*-3 o bé *sn*-2, i estereoespecífiques, habilitat per diferenciar entre dos enantiòmers d'un substrat racèmic<sup>66</sup>.

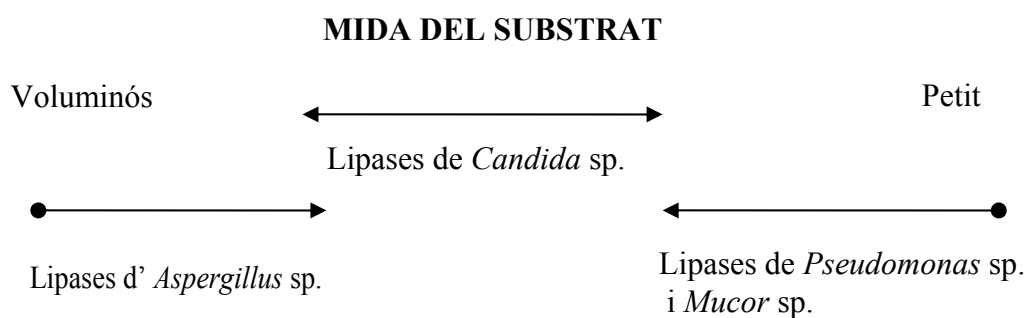
El lloc actiu de l'enzim presenta quiralitat i això causa la preferència per una o altra de les dos possibles direccions estereoquímiques de la reacció. L'estudi de l'especificitat de diferents lipases amb tendències úniques ha portat a la creació de regles simples per a la predicció de quin enantiòmer serà el que reaccionarà més ràpid per a èsters d'alcohols secundaris<sup>67-69</sup>. Un exemple és la regla empírica de Kazlauskas, exemplificat per la lipasa de *Pseudomonas cepacia*, que prediu l'enantiopreferència per un substrat determinat, però no prediu el grau d'enantioselectivitat<sup>67</sup> (**Figura 20**).



**Figura 20.** Tipus de substrats que accepten les lipases i enantiòmer de preferència.

Les lipases que més s'utilitzen es poden caracteritzar segons els requeriments estèrics dels seus substrats èsters de preferència (**Figura 21**).

Mentre que les lipases d'*Aspergillus* sp. són capaces d'acceptar substrats relativament voluminosos, exhibeixen baixes selectivitats per substrats no voluminosos. Les lipases de *Candida* sp. són més versàtils. Les lipases de *Pseudomonas* i *Mucor* sp. s'ha trobat que són més selectives amb substrats amb requeriments estèrics limitats i sovint no accepten compostos voluminosos. Com a conseqüència, els substrats reconeguts amb moderada selectivitat per les lipases de *Candida* sp. sovint són hidrolitzats més selectivament per lipases procedents de *Pseudomonas* sp.<sup>34</sup>.



**Figura 21.** Requeriments estèrics d'algunes lipases

### 1.3.3. FACTORS QUE INFLUENCIEN EN L'ACTIVITAT DE LES LIPASES

A part de l'estructura del substrat i el tipus d'enzim, l'enantioselectivitat de la reacció es veu afectada pel medi de reacció. La naturalesa del medi de reacció amb el qual transcorre la reacció i el contingut d'aigua tenen una gran influència. Encara que el medi natural dels enzims és un medi aquós, l'ús de sistemes no-aquosos presenta certs avantatges com millor solubilitat dels substrats i productes, absència de reaccions secundàries promogudes per l'aigua, desaparició per a molts processos de l'equilibri termodinàmic entre substrat i

productes i, de vegades, exhibeixen noves propietats com millor estabilitat i selectivitat marcadament alterada que es pot controlar amb el tipus de dissolvent i la “memòria molecular”<sup>70,71</sup>.

Normalment els dissolvents hidrofòbics aporten activitats enzimàtiques més altes que els més hidrofílics ja que proporcionen un microambient més favorable per l'enzim. Bàsicament els dissolvents hidrofílics tendeixen a allunyar les molècules d'aigua de la superfície de l'enzim provocant una disminució de l' $a_w$  de l'enzim<sup>70</sup>. Aquest problema, però, es pot solucionar afegint petites quantitats d'aigua al dissolvent<sup>72,73</sup>.

Amb la modificació del medi de reacció, com canvi de tipus de dissolvent, addició d'additius com amines quirals o aquirals, èters corona, sals<sup>74</sup>, es pot modificar o inclòs canviar l'enantiopreferència de l'enzim<sup>75</sup>.

#### 1.3.4. RESOLUCIÓ CINÈTICA

Contràriament a la síntesi asimètrica, en les resolucions cinètiques només es pot obtenir un rendiment màxim del 50% de l'enantiòmer desitjat. No obstant, per aconseguir rendiments més alts, l'enantiòmer no desitjat pot ser separat i racemitzat en un segon pas o bé es pot dur a terme una resolució cinètica dinàmica en la qual els dos enantiòmers del substrat estant en equilibri i l'enantiòmer no desitjat és contínuament isomeritzat durant el procés de resolució per un segon catalitzador, normalment no enzimàtic, amb la possibilitat de convertir tot el producte inicial a l'enantiòmer del producte desitjat<sup>76</sup>.

El paràmetre que s'utilitza per a descriure l'enantioselectivitat en resolució cinètica és l'enantioselectivitat o relació enantiomèrica ( $E$ ). A més, s'utilitza també per descriure la eficiència de la resolució cinètica. Aquest es pot calcular a partir dels  $ee$  del substrat ( $ee_s$ ) o del producte ( $ee_p$ ) a un determinada conversió de la reacció<sup>77</sup>:

$$E = \frac{\ln[(1-ee_s) / (1+ee_s/ee_p)]}{\ln[(1+ee_s) / (1+ee_s/ee_p)]}$$

o bé a partir de l' $ee_p$  i la conversió:

$$E = \frac{\ln [1-c(1+ee_p)]}{\ln [1-c(1-ee_p)]}$$

### 1.3.5. LIPASES EN LÍQUIDS IÒNICS

L'aplicació dels LIs com a medi de reacció en biocatàlisi és molt recent. Enzims de diferents tipus són catalíticament actius en els LIs o en sistemes bifàsics amb LIs. Fins al 2002, només es van publicar tres articles sobre l'ús dels LIs com a medi de reacció per a catalitzar reaccions d'hidròlisi<sup>78</sup> i de síntesi d'èsters<sup>79,80</sup>. Un d'aquests és el de Sheldon i col., els quals van descriure que la lipasa B de *C. antarctica* (Novozyme 435) podia catalitzar reaccions d'alcohòlisi, amonòlisi i perhidròlisi en [BMIM][PF<sub>6</sub>] i [BMIM][BF<sub>4</sub>] com a medi de reacció amb comportament similar o millor que amb dissolvents orgànics<sup>79</sup>.

A partir de llavors, l'ús dels LIs en biocatàlisi està creixent cada vegada més. Els LIs més utilitzats fins ara són els que contenen un catió alquilimidazoli, en especial el [BMIM][PF<sub>6</sub>] i [BMIM][BF<sub>4</sub>]. Aquests han estat estudiats en esterificacions amb lipases que provenen de *C. rugosa*<sup>81-84</sup>, *Aspergillus niger* i *Aspergillus terreus*<sup>85</sup>, *C. antarctica*<sup>86</sup>; en alcohòlisis amb lipases de *C.*

*antarctica*<sup>79</sup> i *P. cepacia*<sup>87</sup>; en transesterificacions amb lipases de *P. cepacia*<sup>88-90</sup>, *C. rugosa*<sup>90</sup>, *C. antarctica*<sup>91</sup>; en resolució d'alcohols secundaris per acilació amb lipases immobilitzades de *P. cepacia*<sup>92</sup> i amb Novozyme 435<sup>93</sup>; en hidròlisis amb *C. rugosa*<sup>94</sup> i *P. cepacia*<sup>87</sup>; en hidròlisis d'aminoàcids amb Novozyme 435<sup>95</sup>; i en acilacions amb lipases de *C. antarctica*<sup>96</sup>, *C. rugosa*<sup>97</sup> entre altres. Altres LIs estudiats com a medi de reacció en lipases són l'hexafluorofostat d'1-butil-3-metilimidazoli: [HMIM][PF<sub>6</sub>]<sup>94</sup>, el tetrafluorofostat d'1-etil-3-metilimidazoli: [EMIM][BF<sub>4</sub>]<sup>86,96</sup>, i el tetrafluorofostat d'1-butil-2,3-dimetilimidazoli: [BM<sub>2</sub>IM][BF<sub>4</sub>] en transesterificacions amb Novozyme 435<sup>8</sup>, el bis-(trifluorometilsulfonyl)imidur d'1-etil-3-metilimidazoli: [EMIM][N(Tf)<sub>2</sub>] i el bis-(trifluorometilsulfonyl)imidur d'1-butil-3-metilimidazoli: [BMIM][N(Tf)<sub>2</sub>]<sup>86</sup>, l'hexafluorofostat d'1-octil-3-N-imidazoli [ONIM][PF<sub>6</sub>]<sup>82</sup>, l'hexafluorofostat d'1-metoxi-3-etilimidazoli [MOEMIM][PF<sub>6</sub>]<sup>97</sup> entre altres<sup>98,99</sup>.

La majoria dels estudis de biocatalitzadors en LIs s'han dut a terme amb enzims aïllats. No obstant el primer article sobre biocatàlisi en LIs implicava l'ús de *whole-cells* de *Rhodococcus* R312 en un sistema bifàsic amb aigua i [BMIM][PF<sub>6</sub>]<sup>100</sup>. Altres *whole-cells* procedents de llevat<sup>101</sup> i *Escherichia coli* també han mantingut la seva activitat en LIs. Sembla que els LIs són molt menys tòxics per a les membranes de les cèl·lules que els dissolvents orgànics convencionals<sup>100</sup>.

Els principals avantatges de l'ús dels LIs en biocatàlisi vers els dissolvents orgànics són que els LIs no inactiven els enzims així com ho fan els dissolvents hidrofílics, sempre que els enzims no es dissolguin en el LI<sup>102</sup>. S'ha trobat que les lipases són inactives en LIs com [MMIM][MeSO<sub>4</sub>]<sup>80</sup>, [BMIM][NO<sub>3</sub>] i [BMIM][lactat]<sup>91</sup>, tots aquests miscibles en aigua, i es suposa que els anions



presentes en aquests LIs solvaten l'enzim provocant la seva inactivació<sup>103,104</sup>. Altres avantatges són: l'increment de la seva estabilitat, que són més estereoespecífics, de més fàcil recuperació els productes, són reciclables, i es pot dissenyar un LI per a cada procés específic amb la combinació del catió i l'anió. El principal desavantatge dels LIs és el seu preu, no obstant, cada dia són més assequibles<sup>105</sup>.

## 2. ANTECEDENTS

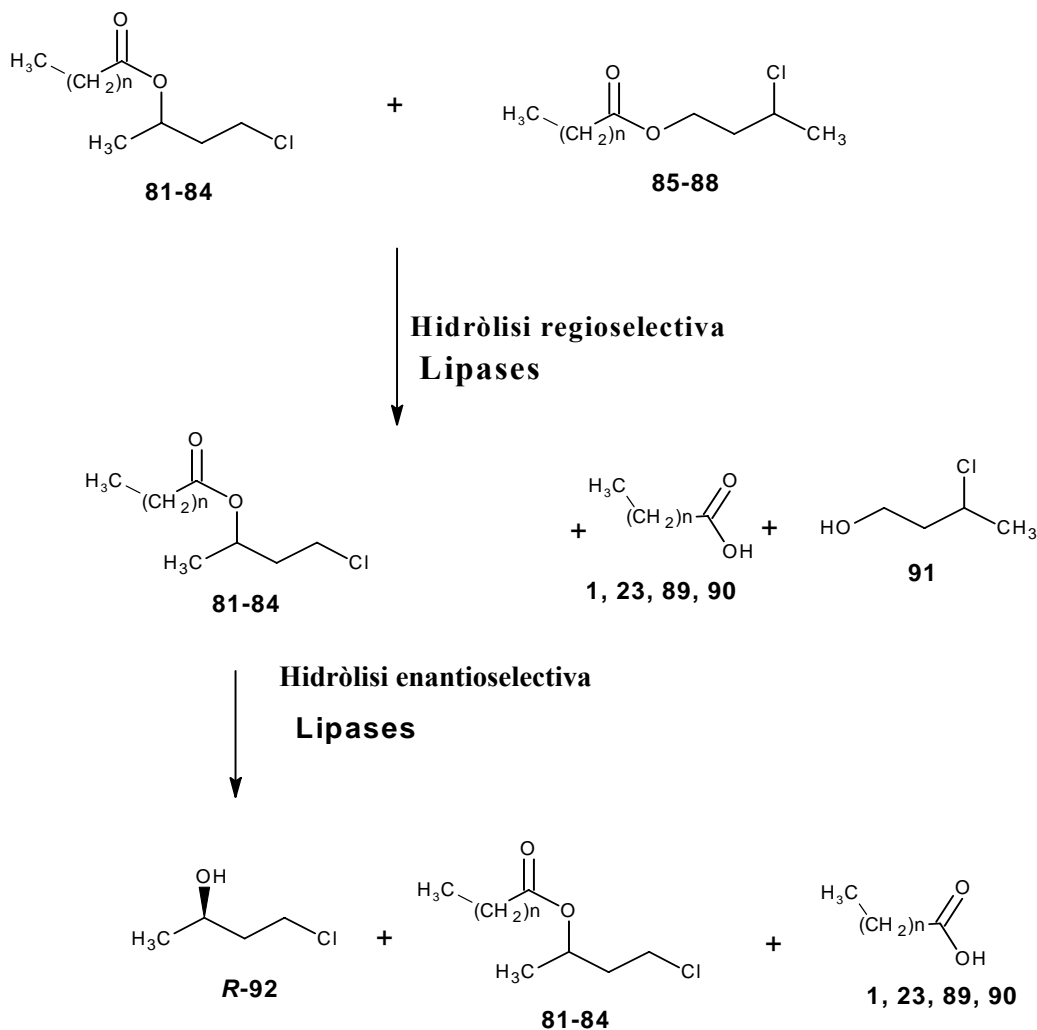
En un treball anterior<sup>57</sup> en els nostres laboratoris s'havia estudiat la hidròlisi selectiva amb enzims de mescles d'isòmers d'èsters d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil per a l'obtenció del *R*-4-cloro-2-butanol.

Els èsters d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil, sintetitzats segons la metodologia descrita per Eras i col.<sup>106</sup>, varen ser sotmesos a dues hidròlisis enzimàtiques consecutives. La primera implicava una hidròlisi regioselectiva amb lipases per a eliminar l'èster d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil que no interessava (**85-88**), el que té el clor en posició secundària, i que a més és el que es trobava en més baixa proporció. Posteriorment, després de l'eliminació dels cloroalcohols derivats de la hidròlisi de l'èster de 3-clorobutil amb rentats amb metanol, es va portar a terme una hidròlisi enantioselectiva amb lipases de l'èster de 3-cloro-1-metilpropil per a l'obtenció del *R*-4-cloro-2-butanol, a través de resolució cinètica (**Figura 22**).

Per tant, l'estudi es va dividir bàsicament en dos blocs, el primer on es pretenia trobar les millors condicions per a dur a terme una hidròlisi regioselectiva i el segon on es pretenia estudiar les millors condicions per dur a terme la hidròlisi enantioselectiva i obtenir el *R*-4-cloro-2-butanol òpticament pur.

Durant aquest estudi es va investigar la influència de diferents dissolvents (TBME, ACN, DCM, acetona i *t*-butanol), de diferents longitud de cadena carbonada del grup acil dels èsters d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil (C2, C8, C16 i C18), i de diferents biocatalitzadors, tant *resting-cells* de diverses soques fúngiques (*Aspergillus flavus* i *Rhizopus oryzae*) com lipases comercials procedents de *Pseudomonas cepacia*, *Candida rugosa*, *Rhizomucor miehei* (Lipozyme<sup>®</sup> IM) i

*Candida antarctica* (Novozyme 435<sup>®</sup>)]. Per fer l'estudi es van emprar diferents temperatures i temps de reacció.



**1, 81, 85:** n= 0 (C2) ; **82, 86, 89:** n= 6 (C8); **23, 83, 87:** n= 14 (C16);  
**84, 88, 90:** n= 16 (C18)

**Figura 22.** Hidròlisi enzimàtica d'èsters d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil de diferent longitud de cadena carbonada del grup àcid, 2, 8, 16 i 18 carbonis, per a l'obtenció del *R*-4-cloro-2-butanol.

Primer es va estudiar la influència del dissolvent en la regioselectivitat de cada biocatalitzador en la hidròlisi dels palmitats d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil a 40°C durant 24 h de reacció. El dissolvent amb el qual *P. cepacia* va mostrar més regioselectivitat va ser l'ACN. *C. rugosa* va hidrolitzar poc i amb regioselectivitat molt baixa en tots els dissolvents i *Novozyme* va mostrar poca regioselectivitat. Els millors resultats es van obtenir amb l'enzim comercial Lipozyme i amb les *resting-cells* de les soques de *R. oryzae* i d'*A. flavus* en *t*-butanol.

La influència de la longitud de la cadena de l'àcid es va estudiar en *t*-butanol. En aquest cas els millors resultats també es van obtenir amb les dos *resting-cells*, *R. oryzae* i *A. flavus*, mostrant més regioselectivitat amb cadenes llargues, de 16 i 18 carbonis, del grup acil. En aquests casos només s'hidrolitzaren els èsters amb el clor en posició secundària (87 i 88). Amb el grup acil de cadena més curta, C2, l'enzim que va mostrar més regioselectivitat va ser *P. cepacia*, resultat en concordança amb els requeriments estèrics estudiats per les lipases de les espècies de *Pseudomonas* les quals prefereixen substrats més petits<sup>34</sup>. Lipozyme va mostrar la màxima regioselectivitat amb el palmitat d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil.

L'efecte de la temperatura en la regioselectivitat de la hidròlisi per als diferents èsters d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil (C2, C8 i C16) es va estudiar en *t*-butanol, per als biocatalitzadors que van mostrar més regioselectivitat i amb temperatures entre 5-50°C. Per Lipozyme i *R. oryzae* la regioselectivitat augmentava amb la temperatura (5-40°C) davallant després a 50°C. Es va observar també que a 5°C *R. oryzae* va hidrolitzar molt els èsters amb el grup acil C2, encara que amb baixa regioselectivitat. Tot semblava indicar que l'àcid acètic alliberat inhibia l'enzim a altes temperatures però no l'inhibia quan la temperatura estava per sota la temperatura de congelació de l'àcid acètic. *P. cepacia* no va exhibir en

cap cas bona regioselectivitat. La millor regioselectivitat es va obtenir amb *R. oryzae* a 40°C i amb el palmitat d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil.

L'estudi de l'enantioselectivitat es va realitzar amb l'únic biocatalitzador que va ser capaç d'hidrolitzar el regioisòmer amb el clor en posició primària amb un rendiment  $\geq 50\%$ , Novozyme, i en TBME a 30 i 40°C. Quan la longitud de la cadena del grup acil va ser de 2 carbonis l'enzim no va mostrar enantioselectivitat. Amb longituds de cadena més llargues, C8, C16 i C18, tant a 30°C com a 40°C i amb 15 min es va aconseguir hidrolitzar  $>49,5\%$  de l'èster amb l'obtenció del *R*-4-cloro-2-butanol amb un  $ee_R > 98\%$  ( $E > 394$ ). A partir dels 30 min de reacció l'enzim ja va començar a hidrolitzar l'altre enantiòmer.

Aquests resultats estant en concordança amb algunes de les regles generals sobre "construcció de substrat" de les lipases, com que el centre quiral o proquiral ha de contenir un àtom d'hidrogen i que la cadena carbonada de l'àcid tingui al menys de 3 a 4 unitats de carboni per assegurar una alta lipofilitat del substrat. A més, la selectivitat es dona per l'enantiòmer més favorable, el de configuració *R* del centre quiral de l'alcohol<sup>34</sup>.

En conclusió, les mescles d'isòmers dels èsters d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil procedents dels àcids palmític i esteàric són hidrolitzades regioselectivament per les *resting-cells* de *R. oryzae* o *A. flavus* en *t*-butanol a 40°C durant 24 h. Novozyme hidrolitza enantioselectivament ( $> 49,5\%$ ) en TBME a 30°C durant 30 min amb un  $ee_R > 98\%$  el regioisòmer que no es hidrolitza per les *resting-cells* obtenint-se d'aquesta manera el *R*-4-cloro-2-butanol desitjat.

### 3. OBJECTIUS

Per tal de continuar l'estudi del comportament de lipases en la hidròlisi d'èsters d'halohidrina per a l'obtenció d'haloalcohols quirals valuosos com a intermediaris en síntesi orgànica es van fixar els següents objectius:

- Completar l'estudi d'hidròlisi selectiva de diferents mescles d'isòmers d'èsters d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil per a l'obtenció del *R*-4-cloro-2-butanol amb altres longituds de cadena carbonada del grup àcid en dissolvents orgànics.
- Estudiar el comportament de noves *resting-cells* d'origen fúngic, amb activitat lipàsica aïllades de diferents fonts, en la hidròlisi de diferents èsters d'halohidrina.
- Investigar el comportament dels diversos biocatalitzadors en la hidròlisi d'èsters d'halohidrina emprant diferents líquids iònics.
- Definir un procediment per la preparació d'enantiòmers de l'1-cloro-2-octanol i l'1-bromo-2-octanol amb una elevada riquesa enantiomèrica a partir dels palmitats d' $\alpha,\beta$ -halooctil emprant lipases.

## 4. RESULTATS I DISCUSSIÓ

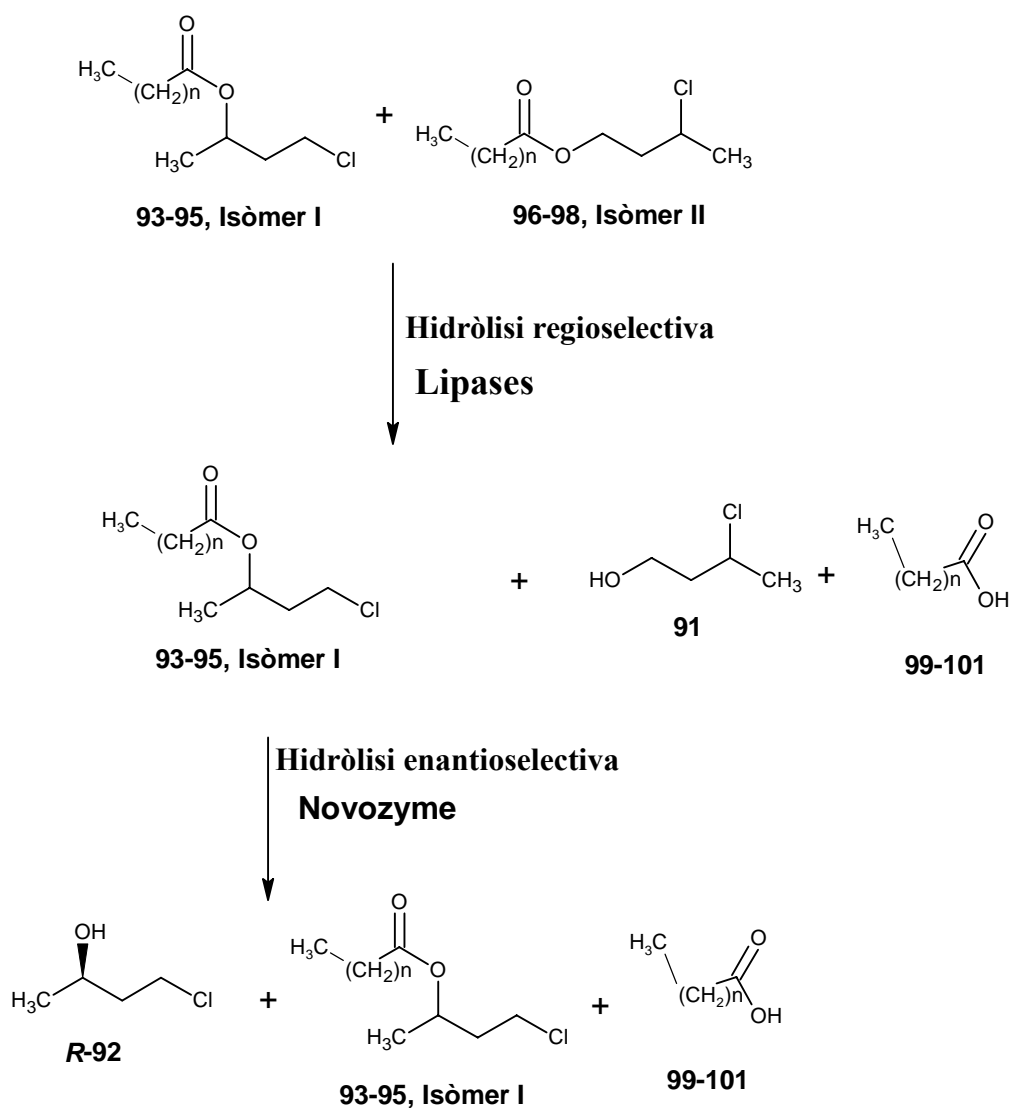
### 4.1. OBTENCIÓ DEL R-4-CLORO-2-BUTANOL

#### 4.1.1. INFLUÈNCIA DE LA LONGITUD DE LA CADENA DEL GRUP ACIL EN ELS ÈSTERS D' $\alpha,\gamma$ -CLOROBUTIL

En els estudis anteriors s'havien investigat cadenes carbonades del grup acil de C2, C8 i C16, per tant, es va voler completar l'estudi amb cadenes carbonades amb un nombre de carbonis entre mig d'aquestes. En aquesta tesi, doncs, es plantejà estudiar el comportament dels diferents biocatalitzadors en la hidròlisi regioselectiva d'èsters d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil amb longitud de cadena del grup acil de C4, C6 i C12, així com el comportament de Novozyme en la hidròlisi enantioselectiva d'aquests èsters (**Figura 23**). En tots els casos l'estudi es va dur a terme emprant *t*-butanol i TBME com a dissolvents. Aquests èsters es sintetitzaren amb la metodologia del CTMS<sup>106</sup>.

##### 4.1.1.1. ESTUDI DE LA REGIOSELECTIVITAT

La **Taula 1** mostra els resultats obtinguts en la hidròlisi del butirat d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil emprant les lipases de *P. cepacia*, Lipozyme, i les *resting-cells (R-C)* de *R. oryzae* i d'*A. flavus*. A l'hora d'analitzar aquests resultats s'ha de tenir en compte que la proporció inicial entre els dos regioisòmers era de 45:55 (isòmer I: isòmer II), proporció força diferent a la que s'obtenia amb cadenes d'àcid gras més llargues.



93, 96, 99 n= 2 (C4); 94, 97, 100: n= 4 (C6); 95, 98, 101: n= 10 (C12)

**Figura 23.** Hidròlisi enzimàtica d'èsters d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil de diferent longitud de cadena carbonada del grup àcid, 4, 6 i 12 carbonis, per a l'obtenció del *R*-4-cloro-2-butanol.



**Taula 1.** Percentatges d'hidròlisi del butirat d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil (C4) en diferents dissolvents i biocatalitzadors durant 24 h de reacció a 40°C.

DISSOLVENT	<i>P. cepacia</i>		Lipozyme <sup>®</sup>		<i>R-C</i> de <i>R. oryzae</i>		<i>R-C</i> d' <i>A. flavus</i>	
	% hidròlisi (Isòmer I:II)		% hidròlisi (Isòmer I:II)		% hidròlisi (Isòmer I:II)		% hidròlisi (Isòmer I:II)	
	93	96	93	96	93	96	93	96
TBME	11	74	10	92	5	91	10	70
	(73:27)		(90:10)		(89:11)		(71:29)	
<i>t</i> -butanol	6	83	3	91	2	76	2	12
	(82:18)		(90:10)		(77:23)		(47:53)	

Entre parèntesi es dona la proporció final d'èsters obtinguda

L'enzim més regioselectiu va ser Lipozyme, tant en *t*-butanol com en TBME. Era d'esperar que amb les *resting-cells* de *R. oryzae* i *A. flavus*, que mostraven excel·lent regioselectivitat quan les cadenes del grup acil de l'èster eren molt llargues, amb cadenes més curtes disminuís la seva regioselectivitat, ja que, com s'ha comentat a la introducció, les lipases són més selectives per a substrats més o menys voluminosos però no per a tots. *P. cepacia* va mostrar similar regioselectivitat, encara que una mica més gran que quan la longitud de la cadena era de 2 carbonis.

La **Taula 2** mostra els resultats obtinguts de la hidròlisi del caproat d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil. En aquest cas la proporció inicial entre els dos regioisòmers era de 47:53 (isòmer I: isòmer II). Es va observar que a l'augmentar la longitud de la cadena de C4 a C6 va augmentar una mica la regioselectivitat per a tots els biocatalitzadors estudiats, sobretot quan el dissolvent utilitzat fou el *t*-butanol .

**Taula 2.** Percentatges d'hidròlisi del caproat d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil (C6) en diferents dissolvents i biocatalitzadors durant 24 h de reacció a 40°C.

DISSOLVENT	<i>P. cepacia</i>		Lipozyme <sup>®</sup>		<i>R-C de R. oryzae</i>		<i>R-C d' A. flavus</i>	
	% hidròlisi (Isòmer I:II)		% hidròlisi (Isòmer I:II)		% hidròlisi (Isòmer I:II)		% hidròlisi (Isòmer I:II)	
	94	97	94	97	94	97	94	97
TBME	2	71	11	86	6	85	14	84
	(77:23)		(89:11)		(89:11)		(86:14)	
<i>t</i> -butanol	10	91	2	93	2	85	1	39
	(90:10)		(92:8)		(86:14)		(59:41)	

Entre parèntesi es dona la proporció final d'èsters obtinguda

La **Taula 3** mostra els resultats obtinguts quan s'emprà el laurat d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil. Ara la proporció inicial entre els dos regioisòmers era de 66:34 (isòmer I: isòmer II). En aquest cas només es van estudiar els biocatalitzadors Lipozyme i les *resting-cells* de *R. oryzae*. En tots els casos la regioselectivitat va ser més alta amb *t*-butanol que amb TBME. Quan es va passar de 8 a 12 carbonis, la regioselectivitat de Lipozyme va disminuir. Pel que fa a *R. oryzae* si bé es va aconseguir obtenir el regioisòmer I (clor en posició 1) pràcticament pur, es va observar també bastant hidròlisi d'aquest regioisòmer, concretament un 22%, resultat que potser es podria millorar disminuint el temps de reacció.

Les lipases de *P. cepacia* no es van estudiar amb aquest èster de clorohidrina, ja que els estudis anteriors havien indicat que per a C8 i C16 no s'obtenien bones regioselectivitats. Per altra part, com que l'*A. flavus* havia presentat un comportament similar a *R. oryzae* pel que fa a la hidròlisi d'èsters de cadena llarga no es va creure convenient tampoc realitzar l'estudi amb C12.

**Taula 3.** Percentatges d'hidròlisi del laurat d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil (C12) en diferents dissolvents i biocatalitzadors durant 24 h de reacció a 40°C.

DISSOLVENT	Lipozyme®		Resting cells de <i>R. oryzae</i>	
	% hidròlisi (Isòmer I:II)		% hidròlisi (Isòmer I:II)	
	95	98	95	98
TBME	55	85	14	97
	(85:15)		(98:2)	
<i>t</i> -butanol	3	84	22	99
	(92:8)		(99:1)	

Entre parèntesi es dona la proporció final d'èsters obtinguda

La **Taula 4** mostra un resum de tots els resultats obtinguts en l'estudi de la hidròlisi dels diferents èsters d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil amb els diferents biocatalitzadors i en *t*-butanol, dissolvent amb el qual quasi tots els enzims van mostrar millor regioselectivitat. Es mostra la relació isomèrica després de la reacció d'hidròlisi i el percentatge d'hidròlisi de l'isòmer I. Per poder comparar millor els resultats i els possibles efectes de la longitud de cadena a aquesta taula s'han inclòs també els resultats publicats pel nostre grup a l'article de Chirality<sup>57</sup>.

A excepció de *P. cepacia*, tots els biocatalitzadors van ser més regioselectius amb longituds de cadena llargues de la resta d'acil. *P. cepacia* va mostrar la màxima regioselectivitat quan la longitud de l'àcid era de 6 carbonis. En aquest cas el percentatge d'hidròlisi del regioisòmer I es pot considerar moderat (10%). Pel que fa a Lipozyme la major regioselectivitat es va obtenir amb el palmitat (C16) amb un percentatge d'hidròlisi del regioisòmer I també moderat (9%).

**Taula 4.** Relació isomèrica i % d'hidròlisi de l'isòmer I obtinguts després de la hidròlisi d'èsters d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil amb diferents biocatalitzadors, a 40°C i 24 h de reacció en *t*-butanol.

Biocatalitzador	Paràmetre	C2	C4	C6	C8	C12	C16	C18
<i>P. cepacia</i>	Is. I:II	78:22	82:18	90:10	85:15	-	76:24	87:13
	% Hid. I	17	6	10	39	-	43	51
Lipozyme	Is. I:II	66:33	90:10	92:8	92:8	92:8	96:4	97:3
	% Hid. I	4	3	2	14	3	9	18
<i>R-C de R. oryzae</i>	Is. I:II	50:50	77:33	86:14	93:7	99:1	96:4	96:4
	% Hid. I	1	2	2	6	22	0	0
<i>R-C d'A. flavus</i>	Is. I:II	53:47	47:53	59:41	93:7	-	97:3	98:2
	% Hid. I	1	2	1	8	-	0	0

Is. I:II: Relació isòmer I:isòmer II; % Hid. Is. I: % d'hidròlisi de l'isòmer I

De totes maneres els millors resultats (alta regioselectivitat i baixa hidròlisi del regioisòmer I) es van aconseguir emprant *R. oryzae* i *A. flavus* amb cadenes de 16 o 18 carbonis. Els resultats que ara s'han obtingut són coincidents amb altres treballs ja publicats on es posa de manifest la influència de la longitud de la cadena carbonada del grup acil en la selectivitat de les lipases<sup>107,108</sup>. D'aquests resultats sembla poder-se també deduir que l'activitat observada en les *resting-cells* de *R. oryzae* i *A. flavus* és clarament una activitat de tipus lipàsica més que carboxiesteràsica.

#### 4.1.1.2. ESTUDI DE L'ENANTIOSELECTIVITAT DE NOVOZYME 435

Una vegada trobades les millors condicions per a l'obtenció de l'èster de 3-cloro-1-metilpropil es va voler disposar de més dades sobre la influència de la longitud de la cadena carbonada sobre la hidròlisi enantioselectiva de Novozyme.

En el treball anterior el nostre grup ja s'havia trobat que, emprant diferents èsters d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil, longituds de la cadena carbonada de 2, 8, 16 i 18 i Novozyme en TBME, s'obtenien en tots els casos percentatges d'hidròlisi  $>49,5\%$  als 15 min de reacció. Ara bé, mentre que per les cadenes de 8 a 18 carbonis s'obtenia un  $ee_R$  del cloroalcohol corresponent (**R-92**)  $>98\%$ , quan la longitud de la cadena carbonada era de 2 carbonis l' $ee_R$  era com a màxim d'un  $9\%$ , corresponent a una hidròlisi de l'isòmer I de 50-60%. Per tant, en aquesta tesi ens varem plantejar estudiar el comportament d'aquest enzim en longituds de cadena compreses entre 2 i 8 carbonis. També es va voler estudiar el comportament quan el dissolvent era *t*-butanol.

La **Taula 5** mostra els resultats obtinguts quan la longitud de la cadena carbonada de l'èster va ser de 4 i 6 carbonis. Novozyme mostra també excel·lent enantioselectivitat amb aquestes longituds de cadena, amb un  $ee_R > 99\%$  en tots els casos, i en ambdós dissolvents, *t*-butanol i TBME, i temperatures, 30 i 40°C, amb un percentatge d'hidròlisi entre 44 i 51%. Als 15 min. l'èster de 3-cloro-1-metilpropil havia estat hidrolitzat amb un percentatge  $\geq 44\%$  en tots els casos. Quan es va utilitzar TBME com a medi de reacció hi havia una mica més d'hidròlisi a 40°C que a 30°C. En canvi en *t*-butanol la hidròlisi era una mica més lenta a 40°C que a 30°C.

Per tant, si només considerem la resolució cinètica dels èsters de 3-cloro-1-metilpropil amb Novozyme 435 podem concloure que qualsevol èster amb una cadena de 4 o més carbonis dona resultats equivalents, semblant indicar una pobra selectivitat d'aquest enzim en front de la longitud de l'àcid carboxílic emprat. Ara bé, si ens plantejem tota la seqüència de reaccions, les millors condicions per la síntesi del *R*-4-cloro-2-butanol, a partir de mescles d'isòmers d'èsters d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil, són hidrolitzar els corresponents palmitat o estearat,

sintetitzats a partir de l'1,3-butandiol, l'àcid palmític o esteàric i CTMS<sup>106</sup>, amb les *resting-cells* de *R. oryzae* en *t*-butanol a 40°C durant 24 h, seguit d'una hidròlisi enantioselectiva per Novozyme 435 en TBME. D'aquesta manera es pot obtenir el corresponent alcohol amb un *ee*>98% i una *E*>394.

**Taula 5.** Percentatge d'hidròlisi del butirat (C4) i caproat (C6) de 3-cloro-1-metilpropil en TBME i *t*-butanol emprant Novozyme, diferents temps de reacció i temperatures

DISSOLVENT	T (°C)	temps (min.)	C4			C6		
			% hidròlisi 93	<i>ee<sub>R</sub></i>	<i>E</i>	% hidròlisi 94	<i>ee<sub>R</sub></i>	<i>E</i>
TBME	30°C	15	47	>99	581	44	>99	473
		30	47	>99	581	44	>99	473
		45	47	>99	581	45	>99	501
	40°C	15	49	>99	752	50	>99	>1000
		30	50	>99	>1000	50	>99	>1000
		45	51	97	227	51	88	42
<i>t</i> -butanol	30°C	15	50	>99	>1000	51	>98	357
		30	51	>98	357	51	>98	357
		45	51	>98	357	52	>98	311
	40°C	15	45	>99	501	48	>99	645
		30	47	>99	581	48	>99	645
		45	48	>99	201	51	87	357

#### 4.1.2. ESTUDI DE NOVES SOQUES FÚNGIQUES EN LA HIDRÒLISI DELS PALMITATS D' $\alpha,\gamma$ -CLOROBUTIL

Fins la data d'avui la majoria de les lipases utilitzades en aplicacions biotecnològiques s'han aïllat de fongs<sup>109</sup>. Entre el gran nombre de lipases descrites en la literatura, només els enzims que pertanyen a unes poques espècies fúngiques han demostrat tenir una adequada estabilitat i capacitats biosintètiques rellevants que permetin la seva utilització com a rutina en

laboratoris i indústries. Encara que s'han aconseguit moltes millores en la eficiència dels enzims en processos catalítics amb el desenvolupament de diferents tècniques d'immobilització d'enzims, modificacions químiques, físiques o genètiques d'enzims<sup>110</sup> i canvis en el medi de reacció, encara queden molts problemes per solucionar en l'aplicació de les lipases en síntesi orgànica, essent necessari per tant, trobar noves lipases amb diferents selectivitats<sup>111</sup>.

Mentre estàvem desenvolupant els treballs indicats en l'apartat anterior, en el nostre grups s'obtingueren 3 noves *resting-cells* d'unes soques fúngiques aïllades de pinyola d'oliva, que pertanyen a les espècies de *Rhizopus*, *Penicillium* i *Aspergillus*, i una nova soca fúngica d'*A. flavus* (*A. flavus* UDLTA 3.241), aïllada com a endòfit d'una planta recol·lectada al Montsec, *Ononis minutissima*. Aquestes soques fúngiques van presentar activitat lipàsica quan van créixer en una placa de Petri amb un medi sintètic amb tributirina. Per tant, ens varem plantejar estudiar la selectivitat en la hidròlisi dels èsters d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil de les mateixes.

El plantejament fou equivalent al cas anterior, determinar la possible regio- i enantioselectivitat d'aquests nous biocatalitzadors en la hidròlisi d'èsters d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil de diferent longitud de cadena carbonada i amb diferents dissolvents orgànics, *t*-butanol i TBME.

La **Taula 6** mostra els resultats de la hidròlisi per a cada una de les *resting-cells* fúngiques aïllades de mostres de pinyola.

Les *resting-cells* de la soca d'*Aspergillus* sp. van exhibir més regioselectivitat en TBME i amb cadenes carbonades llargues del grup èster, a partir de 12 carbonis, en canvi les *resting-cells* de l'espècie de *Penicillium* van mostrar més

regioselectivitat en *t*-butanol, també essent més regioselectives quan la cadena del grup èster era llarga.

**Taula 6.** Percentatge d'hidròlisi i relació isomèrica d'èsters d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil amb diferents *resting-cells* de soques fúngiques aïllades de la pinyola

GRUP ACIL (Isòmer I: IsòmerII)	DISSOLVENT	<i>R- C de Aspergillus sp.</i>		<i>R-C de Penicillium sp</i>		<i>R-C de Rhizopus sp.</i>	
		% hidròlisi		% hidròlisi		% hidròlisi	
		Isòmer I	Isòmer II	Isòmer I	Isòmer II	Isòmer I	Isòmer II
<b>C4</b> (63:37)	TBME	2	41	45	69	1	8
		(73:27)		(74:26)		(64:36)	
	<i>t</i> -butanol	1	27	38	80	1	4
		(69:31)		(84:16)		(63:37)	
<b>C8</b> (65:35)	TBME	10	85	32	72	4	45
		(91:9)		(82:18)		(76:24)	
	<i>t</i> -butanol	3	67	33	84	2	8
		(84:16)		(88:12)		(66:34)	
<b>C12</b> (65:35)	TBME	3	90	14	83	10	44
		(95:5)		(91:9)		(76:24)	
	<i>t</i> -butanol	17	84	36	90	23	24
		(91:9)		(93:7)		(69:31)	
<b>C16</b> (65:35)	TBME	14	89	10	84	1	35
		(93:7)		(91:9)		(74:26)	
	<i>t</i> -butanol	15	88	31	88	1	29
		(93:7)		(91:9)		(72:28)	

Entre parèntesi es dona la proporció final d'èsters obtinguda

Les *resting-cells* de la soca de *Rhizopus sp.* en cap cas van mostrar bona regioselectivitat. Els millors resultats es van obtenir amb la nova soca d'*Aspergillus sp.* amb el laurat (C12) d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil, la qual va hidrolitzar un 90% de l'isòmer II i només un 3% de l'isòmer I, obtenint-se al final una proporció entre regioisòmers de 95:5. De totes maneres, en cap cas es van



obtenir millors resultats que els que s'havien obtingut amb les *resting-cells* de les altres soques fúngiques estudiades anteriorment, *R. oryzae* i *A. flavus*

Pel que fa a la soca fúngica aïllada d'*Ononis minutissima*, les *resting-cells* d'*A. flavus* UDLTA 3.241, es va decidir estudiar primer de tot la hidròlisi dels palmitats d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil, ja que les altres espècies d'*Aspergillus* estudiades havien mostrat una elevada regioselectivitat per aquest èster. Com la regioselectivitat va ser moderada (**Taula 7**), no es va creure convenient fer més estudis de regioselectivitat en dissolvents orgànics amb aquestes noves *resting-cells*.

**Taula 7.** Percentatge d'hidròlisi i relació isomèrica dels palmitats d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil per les *resting-cells* d'una soca d'*A. flavus* aïllada de *Ononis minutissima*.

GRUP ACIL (Isòmer I: IsòmerII)	DISSOLVENT	<i>Resting-cells</i> <i>A. flavus</i> UDL 3.241	
		% hidròlisi	
		Isòmer I 83	Isòmer II 87
C16 (65:35)	TBME	12	69
		(89:11)	
C16 (65:35)	<i>t</i> -butanol	5	79
		(81:19)	

Entre parèntesi es dona la proporció final d'èsters obtinguda

#### 4.1.3. ESTUDI DE LA HIDRÒLISI D'ÈSTERS D' $\alpha,\gamma$ -CLOROBUTIL EN DIFERENTS LÍQUIDS IÒNICS

La utilització de LIs en processos biocatalítics cada vegada s'està plantejant més com una alternativa als dissolvents orgànics convencionals. Els estudis realitzats fins ara mostren que aquests tenen un gran potencial, ja que si es compara el comportament dels enzims en dissolvents orgànics convencionals amb el comportament en LIs, aquests estan presentant millor activitat, estabilitat i selectivitat en LIs. A més l'avantatge de poder modificar les propietats dels LIs

seleccionant l'apropiada combinació catió-anió ens permet un disseny específic per a cada reacció<sup>112</sup>.

En particular, les lipases estan mostrant un bon comportament en LIs, afectant positivament a l'activitat, estereoespecificitat i estabilitat d'aquests enzims. Entre tots els LIs que s'han utilitzat en reaccions amb lipases, alguns dels més interessants són aquells que contenen un catió alquilimidazoli<sup>113</sup>. L'ús dels LIs com a medi per a dur a terme reaccions amb lipases s'està utilitzant tant per hidròlisis, com per esterificacions i transesterificacions<sup>114</sup>.

Així doncs, es va voler estudiar el comportament de les soques fúngiques estudiades anteriorment en la hidròlisi dels èsters d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil en alguns LIs, més concretament en els LIs que vaig sintetitzar durant la meva estada al grup de recerca del Prof. Tom Welton al Imperial College of London: [HMIM][N(Tf)<sub>2</sub>], [HMIM][BF<sub>4</sub>], [BMPy][N(Tf)<sub>2</sub>], [BMPy][BF<sub>4</sub>], [BM<sub>2</sub>IM][N(Tf)<sub>2</sub>], [BM<sub>2</sub>IM][BF<sub>4</sub>], [OMIM][BF<sub>4</sub>], altres sintetitzats pel seu grup d'investigació: [BPY][N(Tf)<sub>2</sub>], [BDIM][BF<sub>4</sub>], [B<sub>2</sub>IM][BF<sub>4</sub>] i un de comercial subministrat per Merck: [BMIM][PF<sub>6</sub>].

Primer es va estudiar la hidròlisi dels palmitats d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil amb les *resting-cells* de la soca fúngica *A. flavus* UDL 3.241, ja que aquesta no havia presentat bona regioselectivitat en dissolvents orgànics i es volia veure si amb LIs es podia aconseguir una millor regioselectivitat. Paral·lelament amb l'estudi de la regioselectivitat es van analitzar les mostres per CG en una columna quiral per determinar l'enantioselectivitat sobre el regioisòmer I d'aquest biocatalitzador en els diferents LIs ja que hi ha diferents publicacions que indiquen que els LIs incrementen l'enantioselectivitat dels enzims<sup>115</sup>.

#### 4.1.3.1. HIDRÒLISI DELS PALMITATS D' $\alpha,\gamma$ -CLOROBUTIL EN DIFERENTS LIs AMB *A. flavus* UDLTA 3.241

La **Taula 8** mostra els resultats obtinguts en la hidròlisi dels palmitats d'  $\alpha,\gamma$ -clorobutil amb les *resting-cells* d'*A. flavus* UDLTA 3.241 en diferents LIs. Com es pot veure no es va observar cap comportament similar entre els LIs que tenen el mateix catió o anió. Els resultats semblen dependre totalment de la combinació catió-anió emprats. Així, si comparem [HMIM][BF<sub>4</sub>] i [HMIM][N(Tf)<sub>2</sub>], que tenen el mateix catió, les *resting-cells* van tenir un comportament similar en quan a regioselectivitat però diferent comportament en quan a enantioselectivitat, presentant certa enantioselectivitat en la hidròlisi de l'isòmer I quan es va utilitzar l'anió [N(Tf)<sub>2</sub>]<sup>-</sup>. Ara bé, si comparem [BM<sub>2</sub>IM][BF<sub>4</sub>] i [BM<sub>2</sub>IM][N(Tf)<sub>2</sub>], també LIs amb un catió equivalent, les *resting-cells* van ser més regioselectives quan l'anió era [BF<sub>4</sub>]<sup>-</sup>. No obstant quan varem canviar el tipus de catió per un catió tipus pirrolidina [BMPy][BF<sub>4</sub>] i [BMPy][N(Tf)<sub>2</sub>] va ser més regioselectiu quan l'anió era [N(Tf)<sub>2</sub>]<sup>-</sup>.

Si ordenem els LIs segons la seva hidrofobicitat, [HMIM][N(Tf)<sub>2</sub>] > [BM<sub>2</sub>IM][N(Tf)<sub>2</sub>] > [BMIM][PF<sub>6</sub>] > [BPy][N(Tf)<sub>2</sub>] > [BMPy][N(Tf)<sub>2</sub>] > [BDIM][BF<sub>4</sub>] > [OMIM][BF<sub>4</sub>] > [HMIM][BF<sub>4</sub>] > [BM<sub>2</sub>IM][BF<sub>4</sub>] > [B<sub>2</sub>IM][BF<sub>4</sub>] > [BMPy][BF<sub>4</sub>] veiem que els que tenen una hidrofobicitat intermèdia són els que van presentar millor regioselectivitat.

El LI amb el que varem obtenir millors resultats va ser l'[OMIM][BF<sub>4</sub>]. Només quan es va utilitzar aquest, es va obtenir un elevat percentatge d'hidròlisi de l'isòmer II (90%), això sí, també es va hidrolitzar un 24% de l'isòmer I. En la hidròlisi de l'isòmer I el biocatalitzador va mostrar moderada enantioselectivitat, *ee<sub>R</sub>* del 77%. Si comparem els resultats amb els obtinguts per aquest biocatalitzador amb [OMIM][BF<sub>4</sub>] amb els dissolvents orgànics estudiats

anteriorment, aquest va mostrar més regioselectivitat que amb TBME o *t*-butanol. Amb tots els altres LIs estudiats la regioselectivitat i enantioselectivitat de les *resting-cells* d'*A. flavus* va ser més baixa.

**Taula 8.** Percentatge d'hidròlisi, relació isomèrica, *ee* i *E* obtinguts en la hidròlisi dels palmitats d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil amb les *resting-cells* d'*A. flavus* UDLTA 3.241 amb diferents LIs a 40°C durant 24 h.

LIQUID IONIC	Isòmer I 83		Isòmer II 87		Relació 83:87
	% hidròlisi	% <i>ee<sub>R</sub></i>	<i>E</i>	% hidròlisi	
[BMIM][PF <sub>6</sub> ]	19	60	5	44	79:21
[BM <sub>2</sub> IM][BF <sub>4</sub> ]	34	nd	-	42	74:26
[OMIM][BF <sub>4</sub> ]	24	77	10	91	96:4
[HMIM][BF <sub>4</sub> ]	31	nd	-	79	79:21
[B <sub>2</sub> IM][BF <sub>4</sub> ]	14	9	1	63	63:37
[BDIM][BF <sub>4</sub> ]	18	20	2	69	70:21
[BMPy][BF <sub>4</sub> ]	24	54	4	51	78:21
[BMPy][N(Tf) <sub>2</sub> ]	31	nd	-	73	82:17
[BPy][N(Tf) <sub>2</sub> ]	27	52	4	76	85:15
[BM <sub>2</sub> IM][N(Tf) <sub>2</sub> ]	13	nd	-	17	66:34
[HMIM][N(Tf) <sub>2</sub> ]	34	55	5	75	83:17

A continuació es va decidir estudiar el comportament d'altres biocatalitzadors amb aquest LI, l'[OMIM][BF<sub>4</sub>], i amb altres èsters d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil.

#### 4.1.3.2. ESTUDI DEL COMPORTAMENT DE DIFERENTS BIOCATALITZADORS EN LA HIDRÒLISI DELS PALMITATS D' $\alpha,\gamma$ -CLOROBUTIL EN [OMIM][BF<sub>4</sub>]

La **Taula 9** mostra els resultats de la hidròlisi dels palmitats d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil en [OMIM][BF<sub>4</sub>] amb diferents enzims comercials i *resting-cells* fúngiques. Es va decidir fer un primer estudi amb els palmitats d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil per què és amb aquests que la majoria dels biocatalitzadors van presentar millor regioselectivitat en dissolvents orgànics.

**Taula 9.** Percentatge d'hidròlisi, relació isomèrica, *ee* i *E* obtinguts en la hidròlisi dels palmitats d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil en [OMIM][BF<sub>4</sub>] amb diferents biocatalitzadors a 40°C durant 24h.

BIOCATALITZADOR	Isòmer I 83			Isòmer II 87	Relació 83:87
	% hidròlisi	% <i>ee</i>	<i>E</i>	% hidròlisi	
<i>R. oryzae</i>	22	7 ( <i>R</i> )	1	91	97:3
<i>P. cepacia</i>	23	74( <i>R</i> )	8	85	91:9
<b>Lipozyme</b>	2	>99( <i>R</i> )	>203	95	98:2
<i>Aspergillus sp.</i>	10	68( <i>R</i> )	6	89	94:6
<i>Penicillium sp.</i>	1	20( <i>S</i> )	2	80	90:10
<i>Rhizopus sp.</i>	1	nd	1	36	74:26
<b>Novozyme<sup>a</sup></b>	47	75( <i>R</i> )	14	80	83:17

<sup>a</sup>: temps de reacció d'1 h; nd: no detectat.

Els millors resultats de regioselectivitat els va mostrar Lipozyme. En aquest cas l'enzim va hidrolitzar un 95% l'isòmer II i un 2% l'isòmer I. Aquesta baixa hidròlisi de l'isòmer I va anar acompanyada d'una alta enantioselectivitat. Valor que de totes maneres s'ha de considerar en el context de la molt baixa hidròlisi d'aquest regioisòmer. Aquest biocatalitzador va ser, de tots els estudiats, el que va millorar més la seva regioselectivitat al passar d'un dels dissolvents convencionals estudiats a un LI. També van ser els millors resultats

si ho comparem amb el comportament de Lipozyme en front d'altres èsters d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil estudiats emprant dissolvents convencionals.

Quan s'utilitzà *P. cepacia* amb [OMIM][BF<sub>4</sub>] el percentatge d'hidròlisi de l'isòmer II i la regioselectivitat exhibida enfront al palmitat d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil va ser molt més alta que amb *t*-butanol. No obstant, aquestes condicions no van aconseguir millorar la regioselectivitat que va presentar aquest enzim quan es va emprar l'hexanoat d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil en *t*-butanol. Resultat que es pot justificar pel fet que en el LI l'enzim va hidrolitzar molt més l'isòmer I, hidròlisi que va anar acompanyada d'una moderada enantioselectivitat.

Les *resting-cells* de *R. oryzae* van presentar regioselectivitat més baixa amb el LI que amb *t*-butanol ja que amb l'[OMIM][BF<sub>4</sub>] hi va haver molta més hidròlisi de l'isòmer I. Les *resting-cells* d'*Aspergillus* sp. i *Rhizopus* sp. aïllades de pinyola van tenir un comportament similar amb el LI que amb TBME i *t*-butanol. Quan les *resting-cells* van ser de *Penicillium* sp. l'ús del LI va provocar una disminució de la velocitat d'hidròlisi dels dos regioisòmers. Com a conseqüència d'aquesta disminució de velocitat l'isòmer I quasi no es va hidrolitzar en el LI. No obstant encara va quedar un 20% de l'isòmer II per hidrolitzar.

Si bé Novozyme encara va conservar certa enantioselectivitat en la hidròlisi de l'isòmer I en [OMIM][BF<sub>4</sub>], aquesta va ser moderada amb un  $ee_R$  del 75%, quan s'havia hidrolitzat un 47% d'èster. A més, va augmentar el temps de reacció de 15 min a 60 min respecte a quan es feia servir un dissolvent orgànic com TBME.

Altres treballs ja han indicat que el comportament de cada biocatalitzador en LIs depèn de la combinació enzim-LI-substrat. Schöfer i col. van estudiar el comportament de diferents lipases en LIs purs, basats en el catió imidazole i pirrolidina. La reacció escollida per fer l'estudi fou la resolució cinètica de l'1-feniletanol per transesterificació amb l'acetat de vinil. L'activitat i estereoselectivitat de cada enzim va dependre del LI amb el qual es trobava i no hi va haver cap LI que anés bé per a tots els enzims. Els millors resultats es van aconseguir amb la lipasa B de *C. antarctica* amb [BMPy][BF<sub>4</sub>] i [OMIM][BF<sub>4</sub>]. Amb Lipozyme en aquests dos LIs l'activitat va ser nul·la o menyspreable<sup>80</sup>. Per la seva banda Xanthakis i col. han estudiat el comportament de tres biocatalitzadors, Novozyme 435, Lipozyme IM i *C. antarctica* no immobilitzada, amb dos LIs, [BMPy][Cl] i el metilsulfonat d'1,3-dimetilimidazoli: [M<sub>2</sub>IM][MeSO<sub>4</sub>]. En aquest cas la reacció estudiada va ser la hidròlisi de l'acetat del *cis/trans*-2-(4-metoxibenzil)ciclohexil. Novozyme 435 en [BMPy][Cl] va ser capaç de realitzar la resolució cinètica de les dues parelles d'enantiòmers, mentre que el [M<sub>2</sub>IM][MeSO<sub>4</sub>] només va permetre la resolució d'una de les parelles d'enantiòmers, concretament la parella *trans*<sup>116</sup>.

L'activitat enzimàtica d'un enzim quan aquest està en un LI no sembla seguir cap pauta concreta, ja que el comportament en un LI en particular sembla que varia significativament segons l'enzim i el substrat. Probablement els LIs afecten molt més a l'activitat enzimàtica que els dissolvents orgànics<sup>103</sup>. Així doncs, es va voler continuar l'estudi del comportament dels diferents biocatalitzadors en [OMIM][BF<sub>4</sub>] amb diferents longituds de la cadena carbonada del grup acil dels èsters d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil.

#### 4.1.3.3. ESTUDI DE LA HIDRÒLISI D'ÈSTERS D' $\alpha,\gamma$ -CLOROBUTIL EN [OMIM][BF<sub>4</sub>] I DIFERENTS BIOCATALITZADORS

Per tal d'estudiar l'efecte de la longitud de la cadena carbonada en la hidròlisi d'èsters d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil en LIs es va escollir [OMIM][BF<sub>4</sub>], els biocatalitzadors amb els que s'havia obtingut millor regioselectivitat en aquest LI i Novozyme (Taula 10).

**Taula 10.** Percentatge d'hidròlisi, relació isomèrica, *ee* i *E* obtinguts en la hidròlisi d'èsters d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil en [OMIM][BF<sub>4</sub>] amb diferents biocatalitzadors a 40°C i durant 24 h.

BIOCATALITZADOR	PARÀMETRE	C4	C8	C12
<i>A. flavus</i> UDLTA 3.241	% Hidr. Is. I	1	5	14
	<i>ee<sub>R</sub></i> (%) / <i>E</i>	-	>99/>210	>99/>233
	% Hidr. Is. II	32	88	97
	Isomèr I:II	70:30	93:7	98:2
<i>Lipozyme</i>	% Hidr. Is. I	2	11	25
	<i>ee<sub>R</sub></i> (%) / <i>E</i>	>99/>203	>99/>224	>99/>275
	% Hidr. Is. II	88	93	98
	Isomèr I:II	93:7	96:4	99:1
<i>Aspergillus sp.</i>	% Hidr. Is. I	1	1	17
	<i>ee<sub>R</sub></i> (%) / <i>E</i>	-	-	>99/>243
	% Hidr. Is. II	68	68	93
	Isomèr I:II	66:34	85:15	95:5
Novozyme <sup>a</sup>	% Hidr. Is. I	54	54	27
	<i>ee<sub>R</sub></i> (%) / <i>E</i>	88/35	93/67	87/20
	% Hidr. Is. II	89	85	90
	Isomèr I:II	87:13	85:15	93:7

<sup>a</sup>: temps de reacció d'1 h, C4: butirat d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil; C8: caprilat d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil; C12: laurat d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil; Hidr.: Hidròlisi; Is. I : Isòmer I; Is. II : Isòmer II.

En tots els casos, menys amb el Novozyme, a mesura que es va augmentar la longitud de la cadena va augmentar el percentatge d'hidròlisi dels dos regioisòmers. Si tenim en compte les dades presentades en les **taules 8 i 9** podem veure que aquesta és una tendència que s'ha conservat per les *resting-*



cells d'*A. flavus* UDL 3.241, pel que fa a la hidròlisi de l'isòmer I (24% per C16), però no en el cas de Lipozyme (2% d'hidròlisi de l'isòmer I per C16) ni *Aspergillus sp* (10% d'hidròlisi de l'isòmer I per C16).

Novozyme va hidrolitzar els dos regioisòmers de manera semblant en tots els casos menys per a l'isòmer I amb C12 que, en aquest cas es va observar un valor menor d'hidròlisi (27%) que en els altres tres productes observats. Aquesta disminució per altra banda no va anar acompanyada d'un augment de l'*ee* de l'alcohol obtingut com es podria esperar d'una menor hidròlisi. Per tant, en aquest cas es pot concloure que si bé amb C12 va augmentar la regioselectivitat de Novozyme, va disminuir la seva enantioselectivitat.

Aquests diferents comportaments, en quan a la velocitat d'hidròlisi segons la longitud de cadena i el biocatalitzador emprat, també han quedat reflectits en la puresa regioisomèrica de l'èster que queda per hidrolitzar i en l'*ee* de l'enantiòmer majoritari obtingut. Així, el biocatalitzador obtingut d'*A. flavus* UDL 3.241 va rendir un 3-cloro-1-metilpropil més pur amb el laurat (C12) que amb el palmitat d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil (C16). Amb l'octanoat d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil l'èster de 3-cloro-1-metilpropil que es va obtenir també va ser més pur que amb el palmitat d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil. A més va mostrar una bona enantioselectivitat en la hidròlisi de l'isòmer I per C8 i C12, que es va mantenir quan el percentatge d'hidròlisi ja era al 14% pel cas del C12, per tant aquest biocatalitzador és un potencial candidat per a la síntesi del *R*-4-cloro-2-butanol a partir del caprilat (C8) o el laurat d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil (C12).

Amb Lipozyme l'èster de 3-cloro-1-metilpropil més pur obtingut es va aconseguir amb el palmitat d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil. Cadenes més curtes van empitjorar

els resultats. Aquests resultats són equivalents als que s'havien trobat per dissolvents orgànics. Ara bé, a diferència del que succeïa en els dissolvents convencionals, Lipozyme va mostrar una elevada enantioselectivitat sobre l'isòmer I. Així, va hidrolitzar un 25% de laurat de 3-cloro-1-metilpropil donant un *ee* superior al 99%. Novament aquest enzim en LIs, es va mostrar com un potencial candidat per a la síntesi del *R*-4-cloro-2-butanol.

Amb *Aspergillus* sp. l'èster de 3-cloro-1-metilpropil que es va obtenir va presentar una puresa similar tant amb el laurat d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil com amb el palmitat d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil en [OMIM][BF<sub>4</sub>]. La millor enantioselectivitat la va presentar en la hidròlisi de C12 quan va hidrolitzar l'isòmer I. Si comparem els resultats amb els que varem obtenir amb TBME i *t*-butanol per als diferents èsters d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil (**Taula 6**), veiem que en tots els casos, menys per C8, el LI va augmentar o mantenir la capacitat d'hidròlisi dels dos regioisòmers per una mateixa longitud de cadena, donant els corresponents èsters de 3-cloro-1-metilpropil amb una puresa similar.

Pel que fa al Novozyme 435, aquest va presentar una enantioselectivitat moderada en el LI estudiat, tant pel laurat d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil com pel palmitat d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil. No obstant quan la cadena era de 4 i 8 carbonis l'enantioselectivitat va augmentar de manera evident, ja que es van obtenir valors d'*ee* al voltant del 90% amb un percentatge d'hidròlisi de l'isòmer I del 54%. Si comparem l'activitat de Novozyme en [OMIM][BF<sub>4</sub>] i amb els dissolvents convencionals estudiats observem que si bé l'enantioselectivitat en general era menor, aquesta va variar de manera molt més significativa segons la longitud de la cadena carbonada, cosa que no passava amb TBME.

L'ús del LI [OMIM][BF<sub>4</sub>] en la hidròlisi d'èsters d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil ha provocat un increment en la regioselectivitat de Lipozyme quan l'èster era el palmitat d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil. A més alguns biocatalitzadors, Lipozyme i les *resting-cells* d'*Aspergillus* sp. podrien ser potencials catalitzadors de la hidròlisi enantioselectiva del laurat de 3-cloro-1-metilpropil. No obstant, les millors condicions per a una hidròlisi regioselectiva dels èsters d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil continuen essent amb les *resting-cells* de *R. oryzae* o *A. flavus* en *t*-butanol a 40°C durant 24 h pel palmitat o estearat d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil.

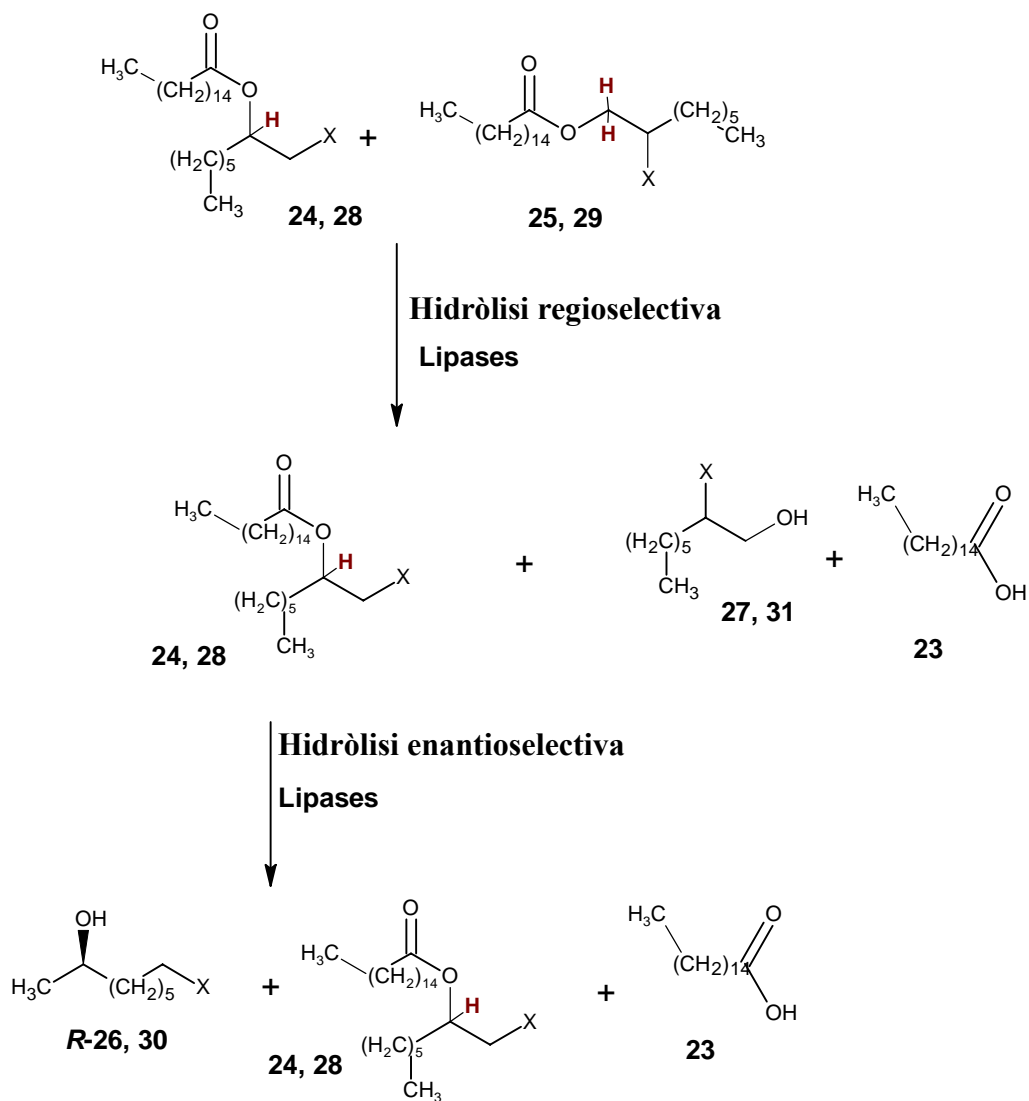
#### 4.2. SÍNTESI D'1-HALO-2-OCTANOLS ÒPTICAMENT PURS

L'1-cloro-2-octanol i l'1-bromo-2-octanol òpticament purs són també valuosos intermediaris per a la síntesi orgànica, poden permetre per exemple la síntesi de lactones quirals comercials. Per tant, es va voler estudiar el comportament dels diferents biocatalitzadors en *t*-butanol i amb l'[OMIM][BF<sub>4</sub>], en la hidròlisi de dos palmitats d' $\alpha,\gamma$ -halooctil, en concret dels palmitats d' $\alpha,\beta$ -bromooctil (**28** i **29**) i dels palmitats d' $\alpha,\beta$ -clorooctil (**24** i **25**), **Figura 23**. El palmitat d' $\alpha,\beta$ -bromooctil va ser sintetitzat amb la nova metodologia descrita en el Capítol III amb [BMIM][PF<sub>6</sub>] i KBr a partir de l'1,2-octandiòl i l'àcid palmític i el palmitat d' $\alpha,\beta$ -clorooctil va ser sintetitzat a partir de l'1,2-octandiòl i l'àcid palmític amb CTMS.

Com ja hem comentat en el capítol anterior, aquests èsters no es poden analitzar per CG-FID, ja bé per què no volatilitzen o per què es descomponen en l'injector. Per tant, la seva hidròlisi es va seguir per RMN de <sup>1</sup>H. Per tal de poder conèixer el percentatge d'èster hidrolitzat es va afegir a les mostres un patró intern, l'1,4-diclorobenzè i es va realitzar una recta patró per a cada èster a partir de l'àrea de l'1,4-diclorobenzè (només dóna un senyal a l'espectre

de  $^1\text{H}$  corresponent als seus 4 protons amb  $\delta=7,26$  ppm) i el senyal de protó corresponent al/s protó/ns de la part de l'alcohol més proper del grup èster: **24**( $\delta=4,92 - 5,02$ ; 1H), **25**( $\delta=4,10 - 4,21$ ; 2H), **28**( $\delta=4,88 - 4,98$ ; 1H) i **29**( $\delta=4.17 - 4.30$ ; 2H), protons en vermell de la **Figura 24** . Per tal d'assegurar-nos que al moment d'enregistrar la FID tots els protons estiguessin relaxats i així l'àrea d'integració de cada senyal característic fos més real a la quantitat de producte, es va utilitzar un temps de relaxació de 10 s i un pols de  $30^\circ$ . A més per cada mostra es van realitzar 4 espectres de  $^1\text{H}$ .

La puresa òptica dels alcohols formats si que es va poder determinar mitjançant cromatografia de gasos amb columnes quirals.



24- 27 : X=Cl

28-31: X=Br

**Figura 24.** Hidròlisi enzimàtica dels palmitats d' $\alpha,\beta$ -halooctil.

#### 4.2.1. ESTUDI DE LA HIDRÒLISI DE PALMITATS $\alpha,\beta$ -HALOOCTIL EN *t*-BUTANOL I DIFERENTS BIOCATALITZADORS

Per a l'estudi de la hidròlisi dels palmitats d' $\alpha,\beta$ -halooctil es van emprar tres biocatalitzadors, les *resting-cells* de *R. oryzae*, l'enzim comercial Lipozyme i Novozyme 435.

Els tres enzims estudiats (**Taula 11**) van hidrolitzar completament l'isòmer II dels dos palmitats d' $\alpha,\beta$ -halooctil. Per a la hidròlisi dels palmitats d' $\alpha,\beta$ -clorooctil l'enzim més adient amb *t*-butanol va ser Lipozyme, ja que aquest era el que va hidrolitzar menys l'isòmer I. No obstant, tots els enzims van hidrolitzar més d'un 50% dels palmitats d' $\alpha,\beta$ -bromooctil i en el cas de *R. oryzae* i Lipozyme ho van fer amb baixa enantioselectivitat. A l'Annex II.2. hi ha l'espectre de RMN de  $^1\text{H}$  dels productes de la hidròlisi i a l'Annex III.1. el cromatograma de l'anàlisi dels cloroalcohols obtinguts en la columna quiral quan es va utilitzar Lipozyme. Sembla ser doncs, que cap dels dos biocatalitzadors són bons candidats per a portar a terme hidròlisis tant regio- com enantioselectives dels palmitats d' $\alpha,\beta$ -bromooctil. La introducció d'un halogen més voluminós sembla que va augmentar la velocitat d'hidròlisi i disminuir clarament la regioselectivitat quan es va emprar un dissolvent orgànic com el *t*-butanol.

Novozyme va hidrolitzar l'isòmer I dels palmitats d' $\alpha,\beta$ -clorooctil amb excel·lent enantioselectivitat ( $ee_s > 99\%$ ) a les 3 h de reacció, però només va hidrolitzar el 35% de l'isòmer I ( $E > 340$ ). A les 24 h de reacció Novozyme ja havia hidrolitzat un 57% de l'isòmer I ( $ee_s = 90\%$ ), indicant que en temps entre 3 i 24 h es podria aconseguir una  $E > 1057$ . Per al palmitat d' $\alpha,\beta$ -bromooctil Novozyme va presentar moderada enantioselectivitat ( $ee_s = 76\%$ ,  $E = 9$ ) a les 3 h

de reacció. A l'Annex III.1. es presenta el cromatograma corresponent a l'anàlisi en la columna quiral dels cloroalcohols obtinguts quan es va utilitzar Novozyme.

**Taula 11.** Percentatge d'hidròlisi, relació isomèrica, *ee* i *E* obtinguts en la hidròlisi dels palmitats d' $\alpha,\beta$ -halooctil en *t*-butanol amb diferents biocatalitzadors a 40°C i durant 24h.

PALMITAT D' $\alpha,\beta$ -HALOOCTIL	BIOCATALITZADOR	PARÀMETRE		
		% Hidr. Is. I	% Hidr. Is. II	
X: Cl Isòmer I:II (90:10)	<i>R-C de R. oryzae</i>	% Hidr. Is. I	13	
		<i>ee<sub>S</sub></i> (%) / <i>E</i>	60 / 4	
		% Hidr. Is. II	100	
	<i>Lipozyme</i>	% Hidr. Is. I	8	
		<i>ee<sub>S</sub></i> (%) / <i>E</i>	11 / 1	
		% Hidr. Is. II	100	
	Novozyme	% Hidr. Is. I	57	35 <sup>a</sup>
		<i>ee<sub>S</sub></i> (%) / <i>E</i>	90/39	>99/>340 <sup>a</sup>
		% Hidr. Is. II	100	100 <sup>a</sup>
X: Br Isòmer I:II (75:25)	<i>R-C de R. oryzae</i>	% Hidr. Is. I	57	
		<i>ee<sub>S</sub></i> (%) / <i>E</i>	47 / 4	
		% Hidr. Is. II	100	
	<i>Lipozyme</i>	% Hidr. Is. I	54	
		<i>ee<sub>S</sub></i> (%) / <i>E</i>	48 / 4	
		% Hidr. Is. II	100	
	Novozyme	% Hidr. Is. I	52	21 <sup>a</sup>
		<i>ee<sub>S</sub></i> (%) / <i>E</i>	90/49	76 / 9 <sup>a</sup>
		% Hidr. Is. II	100	83 <sup>a</sup>

<sup>a</sup>: 3 h de reacció; *R-C*: *resting-cells*; % Hid.: % d'hidròlisi; Is. I: isòmer I; Is. II: isòmer II

En aquest cas l'enantioselectivitat mostrada en la hidròlisi dels palmitats d' $\alpha,\beta$ -halooctil pels diferents biocatalitzadors va ser oposada al cas dels d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil, doncs van presentar preferència per l'isòmer *S*. Com ja s'ha comentat al inici d'aquest capítol la mida dels substituents sobre el carboni quiral té una clara influència sobre el resultat final de la hidròlisi, en aquest cas, doncs, l'augment de la longitud de la cadena es pot suposar com la causant d'aquest

canvi d'estereoespecificitat. Pel que fa a la influència del tipus d'halogen sobre l'enantioselectivitat de la reacció sembla menor, encara que sempre s'ha de tenir en compte que els percentatges d'hidròlisi de l'isòmer I no són equivalents.

#### 4.2.2. ESTUDI DE LA HIDRÒLISI DE PALMITATS $\alpha,\beta$ -HALOOCTIL EN [OMIM][BF<sub>4</sub>] I DIFERENTS BIOCATALITZADORS

Degut que amb *t*-butanol no es van aconseguir uns resultats gaire bons per a la hidròlisi regio- i enantioselectiva del palmitat d' $\alpha,\beta$ -halooctil, sobretot pel palmitat d' $\alpha,\beta$ -bromooctil es va decidir provar les reaccions d'hidròlisi amb el LI [OMIM][BF<sub>4</sub>]. En aquest cas els biocatalitzadors estudiats van ser les *resting-cells* de *d'A. flavus* UDLTA 3.241 i els enzims comercials Lipozyme i Novozyme.

La **Taula 12** mostra els resultats obtinguts per la hidròlisi amb [OMIM][BF<sub>4</sub>]. Els biocatalitzadors van presentar més regioselectivitat que amb *t*-butanol, sobretot pel que fa a la hidròlisi de l'isòmer I, que en aquest cas tots els biocatalitzadors el van hidrolitzar molt poc.

L'enzim que va presentar millor regioselectivitat per als dos palmitats d' $\alpha,\beta$ -halooctil va ser Lipozyme, en especial per al palmitat d' $\alpha,\beta$ -clorooctil. No obstant va quedar un 10% del regioisòmer II sense reaccionar.

Quan el biocatalitzador era les *resting-cells* d'*A. flavus*, encara que pel palmitat d' $\alpha,\beta$ -bromooctil es va aconseguir una relació isomèrica de 93:7, ja s'havia hidrolitzat un 18% de l'isòmer I a un percentatge d'hidròlisi de l'isòmer II del 82%.



**Taula 12.** Percentatge d'hidròlisi, relació isomèrica, *ee* i *E* obtinguts en la hidròlisi dels palmitats d' $\alpha,\beta$ -halooctil en [OMIM][BF<sub>4</sub>] amb diferents biocatalitzadors a 40°C i durant 24h.

PALMITAT D' $\alpha,\beta$ -HALOOCTIL	BIOCATALITZADOR	PARÀMETRE	
X: Cl Isòmer I:II (90:10)	<i>A. flavus</i> UDLTA 3.241	% Hidr. Is. I	1
		<i>ee<sub>S</sub></i> (%) / <i>E</i>	28 / 2
		% Hidr. Is. II	74
		Is. I : Is. II	82:18
	<i>Lipozyme</i>	% Hidr. Is. I	5
		<i>ee<sub>S</sub></i> (%) / <i>E</i>	6 / 1
		% Hidr. Is. II	89
		Is. I : Is. II	99:1
	Novozyme <sup>a</sup>	% Hidr. Is. I	43
		<i>ee<sub>S</sub></i> (%) / <i>E</i>	98 / 221
		% Hidr. Is. II	85
		Is. I : Is. II	69:2
X: Br Isòmer I:II (75:25)	<i>A. flavus</i> UDLTA 3.241	% Hidr. Is. I	18
		<i>ee<sub>S</sub></i> (%) / <i>E</i>	6 / 1
		% Hidr. Is. II	82
		Is. I : Is. II	93:7
	<i>Lipozyme</i>	% Hidr. Is. I	1
		<i>ee</i>	-
		% Hidr. Is. II	90
		Is. I : Is. II	96:4
	Novozyme <sup>a</sup>	% Hidr. Is. I	15
		<i>ee<sub>S</sub></i> (%) / <i>E</i>	95 / 46
		% Hidr. Is. II	91
		Is. I : Is. II	98:2

<sup>a</sup>: 3 h de reacció; % Hid.: % d'hidròlisi; Is. I: isòmer I; Is. II: isòmer II

Pel que fa a Novozyme, aquest va presentar elevada enantioselectivitat (*ee<sub>S</sub>*=98%, *E*=221), però menys que en *t*-butanol (*ee<sub>S</sub>*>99%, *E*>340), pel palmitat d'1-(clorometil)heptil (**24**). Enfront al palmitat d'1-(bromometil)heptil (**28**) va presentar elevada enantioselectivitat (*ee<sub>S</sub>*=95), si bé en aquest cas s'ha de tenir en compte que només s'ha arribat a un 15% d'hidròlisi de l'isòmer I (*E*=46). A

l'Annex II.2. hi ha l'espectre de RMN de  $^1\text{H}$  dels productes de la hidròlisi quan es va utilitzar Lipozyme.

Així com per als èsters d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil *A. flavus* i Lipozyme en [OMIM][BF<sub>4</sub>] el percentatge de l'isòmer I que hidrolitzaven ho feien d'una manera enantioselectiva, per al cas dels palmitats d' $\alpha,\beta$ -halooctil no van mostrar enantioselectivitat per l'isòmer I.

#### 4.2.3. COMPORTAMENT DE NOVOZYME EN [BMIM][PF<sub>6</sub>]

Es va voler fer una prova preliminar amb el LI [BMIM][PF<sub>6</sub>] ja que hi ha diverses publicacions sobre l'ús d'aquest LI i les lipases *C. antarctica* en reaccions d'esterificacions<sup>86</sup>, transesterificacions<sup>88,89</sup>, resolució d'alcohols secundaris via acilació<sup>93</sup> i en alcoholòlisis<sup>79</sup> en les que s'obtenen millors resultats que amb dissolvents orgànics. Es va aplicar doncs aquest biocatalitzador a la hidròlisi dels dos palmitats d' $\alpha,\beta$ -halooctil en aquest LI, el [BMIM][PF<sub>6</sub>]. La **Taula 13** mostra els resultats obtinguts.

**Taula 13.** Percentatge d'hidròlisi, relació isomèrica i *ee* obtinguts en la hidròlisi dels palmitats d' $\alpha,\beta$ -halooctil en [BMIM][PF<sub>6</sub>] amb Novozyme a 40°C i durant 3 h.

PALMITAT D' $\alpha,\beta$ -HALOCTIL	Novozyme			
	% Isòmer I	<i>ee<sub>S</sub></i> (%)	<i>E</i>	% Isòmer II
X: Cl Isòmer I:II (90:10)	51	98	357	53
X: Br Isòmer I:II (75:25)	35	>99	>340	52

En ambdós casos, tant pel palmitat d' $\alpha,\beta$ -clorooctil com pel palmitat d' $\alpha,\beta$ -bromooctil, Novozyme va presentar elevada enantioselectivitat, molt més que

amb [OMIM][BF<sub>4</sub>], amb percentatges d'hidròlisi ja força elevades. A l'Annex II.2. hi ha l'espectre de RMN de <sup>1</sup>H dels productes de la hidròlisi i a l'Annex III.1. el cromatograma de l'anàlisi dels haloalcohols obtinguts en la columna quiral.

Vists els resultats, les millors condicions de les estudiades per a l'obtenció del *S*-1-cloro-2-octanol són fer una hidròlisi regioselectiva amb Lipozyme en *t*-butanol seguit d'una hidròlisi enantioselectiva amb Novozyme en [BMIM][PF<sub>6</sub>] a 40°C durant 3 h.

El rendiment obtingut per al palmitat d' $\alpha,\beta$ -clorooctil va ser del 86%, un 77 % de palmitat d'1-(clorometil)heptil (**24**) i un 9% de palmitat de 2-clorooctil (**25**). Amb la hidròlisi regioselectiva amb Lipozyme hi va haver un 8% d'hidròlisi de **24** i amb la hidròlisi enantioselectiva amb Novozyme hi va haver una conversió del 50%, això implica que es pot arribar a obtenir *S*-1-cloro-2-octanol amb un rendiment màxim del 35% respecte l'àcid palmític (17,7% respecte de l'1,2-octandiol).

Les millors condicions de les assajades per a la síntesi del *S*-1-bromo-2-octanol són hidròlisi regioselectiva amb Lipozyme en [OMIM][BF<sub>4</sub>], encara quedant però, un 10% de l'isòmer no desitjat sense reaccionar, seguit d'una hidròlisi enantioselectiva amb Novozyme en [BMIM][PF<sub>6</sub>] a 40°C. En aquest cas el rendiment sempre seria menor que en el cas del corresponent derivat clorat amb l'inconvenient afegit que sempre tindriem una mescla dels dos regioisòmers.

Els estudis realitzats amb lipases en LIs confirmen el fet ja descrit, que les condicions òptimes per a cada sistema enzimàtic de reacció varien molt segons el biocatalitzador i els substrats, encara que aquests siguin substrats similars. Per

trobar les millors condicions es requereixen estudis molt exhaustius doncs, fins ara, no s'ha pogut arribar a definir cap regla que permeti predir d'una manera fiable quin serà el comportament concret. Les interaccions que tenen lloc en els sistemes amb LIs són molt complexes i, a part dels efectes produïts en la reacció degut a les interaccions LI-solut, el microambient de l'enzim està també afectat. A més, encara que hi ha un ampli rang de LIs disponibles actualment, hi ha molt poca informació sobre les propietats d'aquests i les que hi ha són insuficients per a escollir el millor LI per a un sistema enzimàtic en concret<sup>98</sup>. Podríem concloure que, si bé en aquesta tesi s'han arribat a definir unes condicions que poden permetre preparar el *S*-1-cloro-2-octanol i el *S*-1-bromo-2-octanol amb una puresa i rendiments acceptables, segurament faria falta un estudi més extens per tal de trobar les millors condicions per a l'obtenció d'aquests productes.

Si comparem els resultats amb els descrits en la literatura per a l'obtenció d'1-halo-2-alquils enantiomèricament purs amb els resultats obtinguts amb Novozyme tant amb dissolvents orgànics com en els LIs estudiats, els rendiments que podríem arribar a obtenir amb el mètode ara estudiat i *ee* obtinguts són similars o més elevats, sobre tot si es té en compte la longitud de la cadena del diol.

Rotticci i col. van estudiar el comportament de la lipasa B de *C. antarctica* (CALB) en la resolució cinètica d'halohidrines via transesterificació. Van estudiar el comportament de l'enzim amb halohidrines de cadena curta (1-cloro-2-propanol, 1-bromo-2-propanol i 1-bromo-2-butanol) i amb halohidrines de cadena llarga (1-cloro-2-octanol i 1-bromo-2-octanol). Enfront les halohidrines de cadena llarga va mostrar baixa enantioselectivitat, d'un 41% d'*ee<sub>S</sub>* per l'1-cloro-2-octanol i d'un 56% d'*ee<sub>S</sub>* pel 1-bromo-2-octanol. Quan les cadenes van

ser més curtes es van obtenir millor enantioselectivitat, al voltant del 80% d' $ee_R$ , pels 1-halo-2-propanols però d'un 41% d' $ee_R$  per a l'1-bromo-2-butanol<sup>60</sup>.

## 5. CONCLUSIONS

S'ha estudiat la influència de la longitud de la cadena carbonada en èsters d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil, el dissolvent i els biocatalitzadors sobre la hidròlisi regioselectiva i enantioselectiva d'aquests productes. Com a dissolvents s'han estudiat dos dissolvents orgànics convencionals, el TBME i el *t*-butanol, i un conjunt de LIs. Pel que fa als biocatalitzadors, s'han emprat tant enzims comercials, Lipozyme, Novozyme 435 i *P. cepacia*, com *resting-cells* d'origen fúngic, *R. oryzae*, *A. flavus*, *A. flavus* UDLTA 3.241, *Aspergillus* sp., *Rhizopus* sp., *Penicillium* sp., obtingudes en el nostre laboratori.

Aquests estudis han permès el desenvolupament d'un mètode químic-enzimàtic per a la síntesi del *R*-4-cloro-2-butanol a partir de la mescla d'isòmers del palmitat o estearat d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil. Aquests èsters d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil s'han sintetitzat a partir de l'1,3-butandiol, l'àcid palmític o esteàric i CTMS. Posteriorment aquestes mescles d'isòmers han estat hidrolitzades regioselectivament per les *resting-cells* de *R. oryzae* o *A. flavus* en *t*-butanol a 40°C durant 24 h i després, el regioisòmer que queda, es hidrolitza enantioselectivament (> 49,5%) per Novozyme 435 en TBME a 30°C durant 30 min amb un *ee*>98%. Utilitzant àcid esteàric es va obtenir el màxim rendiment a partir del 1,3-butandiol, un 33%. Si bé el LI [OMIM][BF<sub>4</sub>] ha millorat en alguns casos algun dels paràmetres estudiats, ha millorat de manera evident l'enantioselectivitat de Lipozyme, *A. flavus* UDLTA 3.241 i *Aspergillus* sp. enfront de laurat de 3-cloro-1-metilpropil (*ee<sub>R</sub>*>99% per percentatges d'hidròlisi de 25, 14 i 17% respectivament). Quan s'analitza la reacció en el seu conjunt no han demostrat poder arribar a donar resultats equivalents als obtinguts en dissolvents convencionals.

Finalment, es va estudiar la hidròlisi dels palmitats d' $\alpha,\beta$ -cloroocetil i el palmitat d' $\alpha,\beta$ -bromoocetil amb diferents biocatalitzadors, *A. flavus* UDLTA 3.241, *R. oryzae*, Lipozyme i Novozyme, en *t*-butanol, [OMIM][BF<sub>4</sub>] i [BMIM][PF<sub>6</sub>]. En aquest cas tots els enzims van mostrar enantiopreferència oposada obtenint-se el *S*-1-halo-2-octanol. Lipozyme va ser el biocatalitzador que va mostrar més regioselectivitat, tant en *t*-butanol com en [OMIM][BF<sub>4</sub>]. Novozyme va mostrar moderada enantioselectivitat en *t*-butanol i [OMIM][BF<sub>4</sub>] però excel·lent enantioselectivitat en [BMIM][PF<sub>6</sub>].

El *S*-1-cloro-2-octanol es pot obtenir amb una primera hidròlisi regioselectiva dels palmitats d' $\alpha,\beta$ -cloroocetil amb Lipozyme en *t*-butanol a 40°C durant 24 h seguit d'una hidròlisi enantioselectiva amb Novozyme en [BMIM][PF<sub>6</sub>] a 40°C durant 3 h. Les millors condicions per a obtenir el *S*-1-bromo-2-octanol són una primera hidròlisi dels palmitats d' $\alpha,\beta$ -bromoocetil amb Lipozyme en [OMIM][BF<sub>4</sub>] seguit d'una hidròlisi amb Novozyme en [BMIM][PF<sub>6</sub>], no obstant encara queda isòmer amb el brom en posició secundària sense reaccionar i el percentatge de conversió de l'isòmer amb el brom en posició primària és només del 35%.

Aquests resultats són preliminars i s'han de completar amb l'estudi de les hidròlisis a diferents temps de reacció i altres LIs. Segons la combinació LI, procedència de la lipasa i tipus d'èster d'halohidrina l'activitat de les lipases així com la seva regio- i estereoselectivitat varien, fet que demostra que els LIs tenen un gran potencial en biocatàlisi. Quan s'utilitza LIs, encara que es pot aconseguir una millor estereoselectivitat dels enzims, és crucial la correcta combinació entre catió i anió, i a l'igual que es va observar el Capítol III, s'ha

de dissenyar un LI per a cada procés concret i és molt difícil la seva extrapolació a reactius o enzims similars per a obtenir resultats similars.



## 6. MATERIAL I MÈTODES

### 6.1. MATERIAL

#### 6.1.1. MATERIAL QUÍMIC

El CTMS, l'àcid butíric, l'àcid caproic, l'àcid caprílic, el *t*-butanol i l'1,4-diclorobenzè van ser subministrats per Fluka, Madrid, Espanya. 18-crown-6, l'àcid làuric i el cloroform deuterat van ser subministrats per Sigma-Aldrich, Madrid, Espanya. El [BMIM][PF<sub>6</sub>] i el gel de sílice 60H van ser subministrats per Merck, Barcelona, Espanya. L'àcid palmític, l'1,3-butandiòl van ser subministrats per Riedel-de Haën, Madrid, Espanya. El bicarbonat sòdic i el sulfat magnèsic anhidre van ser subministrats per Panreac. L'1,2-octandiòl, el bromur potàssic i el *n*-tridecà va ser subministrat per Acros Orgànics, Barcelona, Espanya. El TBME va ser subministrat per J.T. Baker, Barcelona, Espanya.

Els altres LIs van ser sintetitzats al laboratori del Prof. Tom Welton del Departament de Química de l'Imperial College of London.

#### 6.1.2. MATERIAL BIOLÒGIC

Lipozyme, lipasa immobilitzada de *Mucor miehei* i l'Amano Lipasa PS de *Pseudomonas cepacia* van ser subministrades per Sigma-Aldrich. Novozyme 435®, lipasa immobilitzada de *Candida antarctica* va ser subministrada per Novo Nordisk.

## 6.2. INSTRUMENTACIÓ

### 6.2.1. RESSONÀNCIA MAGNÈTICA NUCLEAR

L'equip de Ressonància Magnètica Nuclear utilitzat va ser un MERCURYplus AS400 MHz NMR Spectrometer Systems de VARIAN amb una sonda 400 AutoSwitchable 4 Nucleus Probe  $^1\text{H}/^{19}\text{F}/^{13}\text{C}/^{31}\text{P}$ ,  $^1\text{H}/^{19}\text{F}/\{^{15}\text{N}-^{31}\text{P}\}$  PFG, dels Serveis Científic-Tècnics de la Universitat de Lleida.

### 6.2.2. CROMATÒGRAF DE GASOS

Cromatògraf de gasos FISIONS Instruments GC8000 series (ThermoQuest) amb un detector FID-40x i software Millenium<sup>32</sup> de Waters.

Cromatògraf de gasos Hewlett Packard GC System HP 6890 amb detector FID-40x i software ChemStation Plus Rev. A.09.xx 2002.

## 6.3. MÈTODES

### 6.3.1. SÍNTESI DELS ÈSTERS D' $\alpha,\gamma$ -CLOROBUTIL

Els èsters d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil van ser sintetitzats a partir del corresponent àcid (1,56 mmols), l'1,3-butandiol (1 mmol) i CTMS (15 mmols) en una vial roscat a 80°C durant 48 h. Després, es van addicionar 10 ml d'hexà i 10 ml d'una solució aquosa de bicarbonat sòdic ( $\text{NaHCO}_3$ ) saturada i es va deixar agitant durant 12 h. La solució orgànica es va rentar amb aigua, es va assecar amb  $\text{MgSO}_4$  i finalment es va eliminar l'hexà per destil·lació a 40°C i buit a 300 mmHg. Els productes van ser purificats a través d'una columna cromatogràfica de gel de sílice 60H amb hexà:acetat d'etil<sup>106,117</sup>.

### 6.3.2. DETECCIÓ I AÏLLAMENT DE FONGS PROCEDENTS DE PINYOLA AMB ACTIVITAT LIPÀSICA

15 plaques de Petri de medi triptona amb tributirina (5g triptona, 3g d'extracte de llevat, 10 g d'agar i 10 ml de tributirina per litre) van ser inoculades amb 0,1 ml d'una suspensió de pinyola de 0,10 g/ml amb aigua més *tween* en condicions asèptiques. El test es va realitzar a tres tipus de pinyola de diferent procedència. 5 d'aquestes plaques inoculades de cada tipus de pinyola es van deixar incubant a 25°C durant 5 d, 5 plaques a 40°C durant 3 d i 5 plaques a 48°C durant 3 d. Els fongs que van créixer i van mostrar un halo al voltant de la seva colònia es van aïllar fins cultiu pur en plaques amb medi PDA (20g glucosa, 200 ml d'extracte de patata, 800 ml d'aigua destil·lada i 15 g d'agar), incubades a 25°C durant 5 d, i conservar en tub amb medi PDA en nevera. D'aquí es van aïllar tres soques fúngiques: *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. i *Rhizopus* sp.

### 6.3.3. CULTIU DE LES *RESTING-CELLS* FÚNGIQUES

Les *resting-cells* de cada fong estudiat, *R. oryzae*, *A. flavus*, *A. flavus* UDLTA 3.241, *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. i *Rhizopus* sp., es van fer créixer en un medi sintètic consistent en 2,0 g d'asparagina, 1,0 g de fosfat àcid de potassi, 0,5 g sulfat magnèsic anhidre, 5,0 mg de clorhidrat de tiamina, 1,45 mg de nitrat fèrric nonahidratat, 0,88 mg de sulfat de zinc heptahidratat, 0,23 mg de sulfat de manganès tetrahidratat i 1 l d'aigua a un pH de 6. En matrassos Erlenmeyer d'1 l de capacitat amb 200 ml de medi sintètic estèril i 500 ml de capacitat amb 150 mL de medi estèril es va afegir 1% d'oli de gira-sol i seguidament es van inocular amb cada fong en condicions d'asèpsia. Es van deixar incubant en un agitador orbital a 200 rpm a 28°C durant 5 d.

Passats els 5 dies es va filtrar la massa que havia crescut als matrassos Erlenmeyer i es va rentar el miceli fúngic tres vegades amb aigua destil·lada i

acetona. El miceli es va liofilitzar durant 18 h i seguidament es va triturar en un molinet. Va ser conservat en congelació fins la seva utilització.

#### **6.3.4. HIDRÒLISI D'ÈSTERS D' $\alpha,\gamma$ -CLOROBUTIL EN DISSOLVENTS ORGÀNICS AMB DIFERENTS BIOCATALITZADORS**

En diferents tubs *Eppendorf* es varen pesar 30 mg de cada biocatalitzador (Lipozyme®, *P. cepacia*, *resting-cells* de *R. oryzae*, *Aspergillus flavus*, *A. flavus* UDLTA 3.241, *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. *Rhizopus* sp.) i es van afegir 0,5 ml d'una dissolució de 0,174 M d'èster d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil, 4  $\mu$ l/ml tridecà en *t*-butanol o *t*-butil metil èter i 5  $\mu$ l d'aigua. La mescla es va agitar a 1400 rpm a 40°C durant 24 h. Tot seguit es van centrifugar les mostres a 3000 rpm durant 2 min i es va transvasar la part de dissolvent orgànic a un vial. Es va preparar una dilució de 52  $\mu$ l de mostra en 455  $\mu$ l de TBME per injectar al CG-FID amb una columna DB-1. Es va realitzar una reacció sense biocatalitzador per a cada èster d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil per comprovar que no hi havia hidròlisi sense aquest i per referenciar tots els percentatges d'hidròlisi a aquest blanc. Les reaccions es varen dur a terme per duplicat.

#### **6.3.5. HIDRÒLISI D'ÈSTERS D' $\alpha,\gamma$ -CLOROBUTIL EN DISSOLVENTS ORGÀNICS AMB NOVOZYME 435**

En un tub *Eppendorf* es varen pesar 15 mg de Novozyme 435®, 0,250 ml d'una dissolució de 0,174 M d'èster d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil i 4  $\mu$ l/ml tridecà en una en *t*-butanol o *t*-butil metil èter i 2,5  $\mu$ l d'aigua. Les reaccions es varen dur a terme per duplicat i es van agitar a 1400 rpm a 40°C i diferents temps de reacció (15, 30, 45 min). Tot seguit es varen centrifugar les mostres a 3000 rpm durant 2 min i es va transvasar la part orgànica a un vial. Es van preparar una dilució de 52  $\mu$ l de mostra en 455  $\mu$ l de TBME per injectar al CG-columna no quiral i una

altra dissolució amb 20 µl de mostra en 380 µl de TBME per l'anàlisi de les mostres per CG-columna quirals.

### **6.3.6. HIDRÒLISI DELS PALMITATS D' $\alpha,\gamma$ -clorobutil EN LIs AMB *A. flavus* UDLTA 3.241**

En un vial de rosca de 3 ml de capacitat es va addicionar 0,5 ml d'una dissolució 0,174 M d'èster d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil i 4 µl /ml tridecà en diclorometà. Es va evaporar el diclorometà amb corrent de nitrogen gas i seguidament es van pesar 30 mg de resting-cells d'*A. flavus* UDLTA 3.241 i 0,4 g de LI, i es va addicionar 5 µl d'aigua. Es va realitzar una reacció sense biocatalitzador per a cada LI per comprovar que no hi havia hidròlisi sense aquest i per referenciar tots els percentatges d'hidròlisi a aquest blanc. Les reaccions es varen dur a terme per duplicat a 1400 rpm a 40°C durant 24 h. Passat el temps de reacció es va realitzar 4 vegades una extracció amb 0,4 ml d'hexà i es van analitzar les mostres per CG-FID en una columna DB-1.

### **6.3.7. HIDRÒLISI D'ÈSTERS D' $\alpha,\gamma$ -CLOROBUTIL EN [OMIM][BF<sub>4</sub>] AMB DIFERENTS BIOCATALITZADORS**

En un vial de rosca de 3 ml de capacitat es va addicionar 0,5 ml d'una dissolució 0,174 M d'èster d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil i 4 µl /ml tridecà en diclorometà. Es va evaporar el diclorometà amb corrent de nitrogen gas i seguidament es van pesar 30 mg de cada biocatalitzador, 0,4 g de LI i es va addicionar 5 µl d'aigua. Es va realitzar una reacció sense biocatalitzador per a cada èster d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil per comprovar que no hi havia hidròlisi sense aquest i per referenciar tots els percentatges d'hidròlisi a aquest blanc. Les reaccions es varen dur a terme per duplicat a 700 rpm amb imant a 40°C durant 24 h. Passat el temps de reacció es va realitzar 4 vegades una extracció amb 0,4 ml d'hexà i es van analitzar les mostres per CG-FID en una columna DB-1.

### 6.3.8. HIDRÒLISI DE PALMITATS D' $\alpha,\beta$ -HALOOCTIL EN *t*-BUTANOL I DIFERENTS BIOCATALITZADORS

En un tub *Eppendorf* es varen pesar 30 mg de cada biocatalitzador (*resting-cells* de *R. oryzae*, Lypozyme i Novozyme), 0,5 mL d'una dissolució de 0,174 M d'èster d' $\alpha,\gamma$ -halooctil en *t*-butanol i 5  $\mu$ l d'aigua. Es va realitzar una reacció sense biocatalitzador per a cada palmitat d' $\alpha,\beta$ -halooctil per comprovar que no hi havia hidròlisi sense aquest i per referenciar tots els percentatges d'hidròlisi a aquest blanc. Les reaccions es varen dur a terme per duplicat i es van agitar a 1400 rpm a 40°C durant 24 h i durant 1 hora en el cas del Novozyme. Tot seguit es van centrifugar les mostres a 3000 rpm durant 2 min i es va transvasar la part de dissolvent orgànic a un vial. Es van preparar una dilució de 52  $\mu$ l de mostra en 1 ml d'una dissolució 1 mg/ml d'1,4-diclorobenzè en cloroform deuterat i es van analitzar les mostres per RMN i CG-FID columna quiral.

### 6.3.9. HIDRÒLISI DE PALMITATS D' $\alpha,\beta$ -HALOOCTIL EN LIs I DIFERENTS BIOCATALITZADORS

En un vial de rosca de 3 ml de capacitat es va addicionar 0,5 ml d'una dissolució 0,174 M de palmitat d' $\alpha,\beta$ -halooctil en diclorometà. Es va evaporar el diclorometà amb corrent de nitrogen gas i seguidament es van pesar 30 mg de cada biocatalitzador (*A. flavus* 25B, Lypozyme i Novozyme), 0,4 g de LI ([OMIM][BF<sub>4</sub>] o [BMIM][PF<sub>6</sub>]) i es va addicionar 5  $\mu$ l d'aigua. Es va realitzar una reacció sense biocatalitzador per a cada èster d' $\alpha,\beta$ -halooctil i LI per comprovar que no hi havia hidròlisi sense aquest i per referenciar tots els percentatges d'hidròlisi a aquest blanc. Les reaccions es varen dur a terme per duplicat a 700 rpm amb imant a 40°C durant 24 h (i també durant 3 h en el cas de Novozyme). Passat el temps de reacció es va realitzar 4 vegades una extracció amb 0,4 ml d'hexà. Es va evaporar l'hexà en corrent de N<sub>2</sub> i

seguidament es va addicionar 1 ml d'una dissolució 1 mg/ml d'1,4-diclorobenzè en cloroform deuterat i es van analitzar les mostres per RMN i CG-FID columna quirals.

### 6.3.10. PREPARACIÓ DELS PATRONS DELS ÈSTERS D' $\alpha,\gamma$ -CLOROBUTIL PER L'ANÀLISI EN CG-FID COLUMNA NO POLAR

A partir d'una dissolució que contenia 5 mg/ml de cada èster d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil en TBME (per a la quantificació de les hidròlisis dutes a terme en TBME) o en *t*-butanol (per a la quantificació de les hidròlisis dutes a terme en *t*-butanol) i una dissolució de tridecà de 12,3  $\mu$ l/ml en TBME es van preparar els diferents patrons a diferents concentracions (**Taula 14**).

**Taula 14.** Concentracions (mM) dels patrons d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil

	CONCENTRACIÓ (mM) DELS ÈSTERS D' $\alpha,\gamma$ -CLOROBUTIL i (ISÒMER I:ISÒMER II)				
	93 i 96 (45:55)	94 i 97 (47:53)	82 i 86 (47:53)	95 i 98 (66:34)	83 i 87 (65:35)
<b>PATRÓ 1</b>	5,60	4,84	4,26	17,19	14,41
<b>PATRÓ 2</b>	11,19	9,68	8,52	13,75	11,53
<b>PATRÓ 3</b>	16,79	14,51	12,78	10,31	8,65
<b>PATRÓ 4</b>	22,39	19,35	17,04	6,88	5,76
<b>PATRÓ 5</b>	25,19	21,77	19,17	3,44	2,88
<b>PATRÓ 6</b>	-	-	-	1,72	0,36
<b>PATRÓ 7</b>	-	-	-	0,86	0,18
<b>PATRÓ 8</b>	-	-	-	0,43	0,09

Recta patró per <b>93</b> (C4) en TBME:	$y=3,9060x-0,3641 ; R^2=0,9996$
Recta patró per <b>93</b> (C4) en <i>t</i> -butanol:	$y=3,7266x+0,3065 ; R^2=0,9929$
Recta patró per <b>96</b> (C4) en TBME:	$y=3,9036x-0,3641 ; R^2=0,9996$
Recta patró per <b>96</b> (C4) en <i>t</i> -butanol:	$y=3,7291x+0,3703 ; R^2=0,9928$
Recta patró per <b>94</b> (C6) en TBME:	$y=3,1771x-0,3616 ; R^2=0,9998$
Recta patró per <b>94</b> (C6) en <i>t</i> -butanol:	$y=2,961x+0,1016 ; R^2=0,9983$
Recta patró per <b>97</b> (C6) en TBME:	$y=3,1756x-0,3977 ; R^2=0,9998$
Recta patró per <b>97</b> (C6) en <i>t</i> -butanol:	$y=2,9638x+0,1056 ; R^2=0,9984$
Recta patró per <b>82</b> (C8) en TBME:	$y=2,2209x+0,1887 ; R^2=0,9972$
Recta patró per <b>82</b> (C8) en <i>t</i> -butanol:	$y=2,4428x+0,07 ; R^2=0,999$
Recta patró per <b>86</b> (C8) en TBME:	$y=2,2242x+0,2017 ; R^2=0,9973$
Recta patró per <b>86</b> (C8) en <i>t</i> -butanol:	$y=2,4435x+0,0763 ; R^2=0,999$
Recta patró per <b>95</b> (C12) en TBME:	$y=3,2726x-0,6912 ; R^2=0,9867$
Recta patró per <b>95</b> (C12) en <i>t</i> -butanol:	$y=2,4553x-0,2066 ; R^2=0,9948$
Recta patró per <b>98</b> (C12) en TBME:	$y=3,3997x-0,3996 ; R^2=0,9830$
Recta patró per <b>98</b> (C12) en <i>t</i> -butanol:	$y=2,6599x+0,1838 ; R^2=0,9817$
Recta patró per <b>83</b> (C16) en TBME:	$y=7,9462x-0,7687 ; R^2=0,9831$
Recta patró per <b>83</b> (C16) en <i>t</i> -butanol:	$y=5,6478x-0,5026 ; R^2=0,9891$
Recta patró per <b>87</b> (C16) en TBME:	$y=8,0694x-0,4219 ; R^2=0,9837$
Recta patró per <b>87</b> (C16) en <i>t</i> -butanol:	$y=5,7641x-0,2825 ; R^2=0,9854$



### 6.3.11. PREPARACIÓ DELS PATRONS DELS ÈSTERS D' $\alpha,\beta$ -HALOCTIL PER L'ANÀLISI EN RMN DE $^1\text{H}$

La **Taula 15** mostra les diferents concentracions (mM) de cada patró d'èster d' $\alpha,\beta$ -halooctil. Es van realitzar dos tipus de patrons. Un amb cloroform deuterat i amb 1 mg/ml d'1,4-diclorobenzè i uns altres patrons iguals però amb l'addició de 52  $\mu\text{l}$  de *t*-butanol per a la resta dels patrons de les mostres hidrolitzades amb *t*-butanol.

**Taula 15.** Concentracions (mM) dels patrons d' $\alpha,\beta$ -halooctil

	CONCENTRACIÓ (mM) DEL PALMITAT D' $\alpha,\beta$ -HALOCTIL (ISÒMER I:ISÒMER II)	
	24 i 25 (90:10)	28 i 29 (75:25)
<b>PATRÓ 1</b>	44,7	44,5
<b>PATRÓ 2</b>	39,7	40,2
<b>PATRÓ 3</b>	32,3	29,5
<b>PATRÓ 4</b>	18,9	16,3

#### RECTES PATRÓ PER LES HIDRÒLISIS AMB *t*-butanol:

Recta patró per **24**:  $y=0,1008x-0,5114$  ;  $R^2=0,9803$

Recta patró per **25**:  $y=0,0911x-0,0493$  ;  $R^2=0,8028$

Recta patró per **28**:  $y=0,1253x-0,1139$  ;  $R^2=0,9735$

Recta patró per **29**:  $y=0,5698x-0,7282$  ;  $R^2=0,8465$

**RECTES PATRÓ PER LES HIDRÒLISIS AMB LIs:**

Recta patró per <b>24</b> :	$y=0,1127x-0,0362 ; R^2=0,9828$
Recta patró per <b>25</b> :	$y=0,0996x-0,0224 ; R^2=0,9872$
Recta patró per <b>28</b> :	$y=0,0829x+0,0003 ; R^2=0,979$
Recta patró per <b>29</b> :	$y=0,1393x-0,066 ; R^2=0,9275$

**6.3.12. ANÀLISI PER CG AMB COLUMNA DE FASE NO POLAR**

Els anàlisis per CG-FID es van dur en una columna capil·lar DB-1 d'Agilent J&W (100% dimetilpolisiloxà) de 30 m x 0,25 mm diàmetre, 0,25 µm de gruix de fase. Es va utilitzar hidrogen (1 ml/min) com a gas transportador. Les condicions cromatogràfiques van ser:  $T_{\text{injector}} = 250 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $T_{\text{detector}} = 300 \text{ }^\circ\text{C}$ , la temperatura inicial del forn va ser de 50°C i es va mantenir durant 4 min. Seguidament es va fer pujar la temperatura amb una rampa de 5°C/min fins a 110°C seguit d'una rampa de 10°C/min fins 260°C i va estar a 260°C durant 14 min.

**6.3.13. ANÀLISI PER CG AMB UNA COLUMNA DE FASE QUIRAL**

Els anàlisis per CG-FID en la columna quiral es van dur a terme en un cromatògraf de gasos Hewlett Packard GC System HP 6890 una columna capil·lar quiral CP Chirasil-DEX CB de Varian (β-ciclodextrines modificades lligades a dimetilpolisiloxà) de 25 m x 0,25 mm diàmetre, 0,25 µm gruix de fase. El gas transportador va ser hidrogen (80 cm/s). La temperatura del forn va ser de 110°C durant 30 min i es va fer pujar fins a 180°C amb una rampa de 10,0°C/min i va estar a aquesta temperatura durant 17 min. La  $T_{\text{injector}} = 230 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $T_{\text{detector}} = 250 \text{ }^\circ\text{C}$ .

## 7. REFERÈNCIES BIBLIOGRÀFIQUES

1. Yadav, J. S.; Reddy, B. V. S.; Reddy, C. S.; Rajasekhar, K. *Chemistry Letters* **2004**, 33 (4), 476-477.
2. Izquierdo, I.; Plaza, M. T.; Rodriguez, M.; Tamayo, J. A.; Martos, A. *Tetrahedron-Asymmetry* **2001**, 12 (2), 293-300.
3. Chartrain, M.; Greasham, R.; Moore, J.; Reider, P.; Robinson, D.; Buckland, B. *Journal of Molecular Catalysis B-Enzymatic* **2001**, 11 (4-6), 503-512.
4. Hamada, H.; Miura, T.; Kumobayashi, H.; Matsuda, T.; Harada, T.; Nakamura, K. *Biotechnology Letters* **2001**, 23 (19), 1603-1606.
5. Sundby, E.; Holt, J.; Vik, A.; Anthonsen, T. *European Journal of Organic Chemistry* **2004**, (6), 1239-1243.
6. Patel, R. N.; Chu, L.; Mueller, R. *Tetrahedron-Asymmetry* **2003**, 14 (20), 3105-3109.
7. Kamal, A.; Khanna, G. B. R.; Ramu, R.; Krishnaji, T. *Tetrahedron Letters* **2003**, 44 (25), 4783-4787.
8. Itoh, T.; Nishimura, Y.; Ouchi, N.; Hayase, S. *Journal of Molecular Catalysis B-Enzymatic* **2003**, 26 (1-2), 41-45.
9. Martinez, F.; Del Campo, C.; Sinisterra, J. V.; Llama, E. F. *Tetrahedron-Asymmetry* **2000**, 11 (23), 4651-4660.
10. Zelaszczyk, D.; Kiec-Kononowicz, K. *Current Medicinal Chemistry* **2007**, 14 (1), 53-65.
11. Huston, R. C.; Langham, C. C. *Journal of Organic Chemistry* **1947**, 12 (1), 90-95.
12. Huston, R. C.; Tiefenthal, H. E. *Journal of Organic Chemistry* **1951**, 16 (5), 673-678.
13. Huston, R. C.; Bostwick, C. O. *Journal of Organic Chemistry* **1948**, 13 (3), 331-338.

14. Palumbo, G.; Ferreri, C.; Caputo, R. *Tetrahedron Letters* **1983**, 24 (12), 1307-1310.
15. Guindon, Y.; Therien, M.; Girard, Y.; Yoakim, C. *Journal of Organic Chemistry* **1987**, 52 (9), 1680-1686.
16. Joshi, N. N.; Srebnik, M.; Brown, H. C. *Journal of the American Chemical Society* **1988**, 110 (18), 6246-6248.
17. Eisch, J. J.; Liu, Z.-R.; Ma, X.; Zheng, G.-X. *Journal of Organic Chemistry* **1992**, 57, 5140-5144.
18. Kotsuki, H.; Shimanouchi, T.; Ohshima, R.; Fujiwara, S. *Tetrahedron* **1998**, 54 (12), 2709-2722.
19. Akiyama, Y.; Fukuhara, T.; Hara, S. *Synlett* **2003**, (10), 1530-1532.
20. Sharghi, H.; Nejad, A. H.; Nasser, M. A. *New Journal of Chemistry* **2004**, 28 (8), 946-951.
21. Niknam, K.; Nasehi, T. *Tetrahedron* **2002**, 58 (51), 10259-10261.
22. Sharghi, H.; Eskandari, M. M. *Synthesis-Stuttgart* **2002**, (11), 1519-1522.
23. Sharghi, H.; Pazirae, Z.; Niknam, K. *Bulletin of the Korean Chemical Society* **2002**, 23 (11), 1611-1615.
24. Sharghi, H.; Eskandari, M. M. *Tetrahedron* **2003**, 59 (43), 8509-8514.
25. Sabitha, G.; Babu, R. S.; Rajkumar, M.; Reddy, C. S.; Yadav, J. S. *Tetrahedron Letters* **2001**, 42 (23), 3955-3958.
26. Xu, L. W.; Li, L.; Xia, C. G.; Zhao, P. Q. *Tetrahedron Letters* **2004**, 45 (11), 2435-2438.
27. Yadav, J. S.; Reddy, B. V. S.; Baishya, G.; Harshavardhan, S. J.; Chary, C. J.; Gupta, M. K. *Tetrahedron Letters* **2005**, 46 (20), 3569-3572.
28. Dewkar, G. K.; Narina, S. V.; Sudalai, A. *Organic Letters* **2003**, 5 (23), 4501-4504.

29. Masuda, H.; Takase, K.; Nishio, M.; Hasegawa, A.; Nishiyama, Y.; Ishii, Y. *Journal of Organic Chemistry* **1994**, *59* (19), 5550-5555.
30. Wilen, S. H.; Delguzzo, L.; Saferstein, R. *Tetrahedron* **1987**, *43* (21), 5089-5094.
31. Hamada, T.; Torii, T.; Izawa, K.; Noyori, R.; Ikariya, T. *Organic Letters* **2002**, *4* (24), 4373-4376.
32. Hett, R.; Stare, R.; Helquist, P. *Tetrahedron Letters* **1994**, *35* (50), 9375-9378.
33. Carr, J. A. The utilization of enzymes in the synthesis and modification of natural and no-natural compounds: A chemo-enzymatic approach to enantiomerically pure compounds. Thesis/Dissertation Chemistry **Jul 2004**.
34. Faber, K. *Biotransformations in organic chemistry*; Springer-Verlag: Berlin, **1992**.
35. Sharma, R.; Chisti, Y.; Banerjee, U. C. *Biotechnology Advances* **2001**, *19* (8), 627-662.
36. Woodyer, R.; Chen, W.; Zhao, H. M. *Journal of Chemical Education* **2004**, *81* (1), 126-133.
37. Arroyo, M. *Ars Pharmaceutica* **1998**, *39* (2), 23-39.
38. Kasai, N.; Suzuki, T.; Furukawa, Y. *Journal of Molecular Catalysis B-Enzymatic* **1998**, *4* (5-6), 237-252.
39. Kaluzna, I. A.; Feske, B. D.; Wittayanan, W.; Ghiviriga, I.; Stewart, J. D. *Journal of Organic Chemistry* **2005**, *70* (1), 342-345.
40. Kaluzna, W. A.; Matsuda, T.; Sewell, A. K.; Stewart, J. D. *Journal of the American Chemical Society* **2004**, *126* (40), 12827-12832.
41. Schubert, T.; Hummel, W.; Muller, M. *Angewandte Chemie-International Edition* **2002**, *41* (4), 634-+.
42. Bradshaw, C. W.; Fu, H.; Shen, G. J.; Wong, C. H. *Journal of Organic Chemistry* **1992**, *57* (5), 1526-1532.

43. Patel, R. N. *Advanced Synthesis & Catalysis* **2001**, 343 (6-7), 527-546.
44. Spelberg, J. H. L.; Vlieg, J. E. T. V.; Bosma, T.; Kellogg, R. M.; Janssen, D. B. *Tetrahedron-Asymmetry* **1999**, 10 (15), 2863-2870.
45. Zhu, D. M.; Mukherjee, C.; Hua, L. *Tetrahedron-Asymmetry* **2005**, 16 (19), 3275-3278.
46. Nakamura, K.; Yamanaka, R.; Matsuda, T.; Harada, T. *Tetrahedron:Asymmetry* **2003**, 14, 2659-2681.
47. Lagos, F. M.; Carballeira, J. D.; Bermudez, J. L.; Alvarez, E.; Sinisterra, J. V. *Tetrahedron-Asymmetry* **2004**, 15 (5), 763-770.
48. Lagos, F. M.; Del Campo, C.; Llama, E. F.; Sinisterra, J. V. *Enzyme and Microbial Technology* **2002**, 30 (7), 895-901.
49. Izquierdo, I.; Plaza, M. T.; Rodriguez, M.; Tamayo, J. *Tetrahedron-Asymmetry* **2000**, 11 (8), 1749-1756.
50. Overbeeke, P. L. A.; Jongejan, J. A. *Journal of Molecular Catalysis B-Enzymatic* **2003**, 21 (1-2), 89-91.
51. Suginaka, K.; Hayashi, Y.; Yamamoto, Y. *Tetrahedron Letters* **1996**, 7 (4), 1153-1158.
52. Patel, R. N.; Banerjee, A.; Nanduri, V.; Goswami, A.; Comezoglu, F. T. *Journal of the American Oil Chemists Society* **2000**, 77 (10), 1015-1019.
53. Shishido, K.; Bando, T. *Journal of Molecular Catalysis B-Enzymatic* **1998**, 5 (1-4), 183-186.
54. Gandolfi, R.; Converti, A.; Pirozzi, D.; Molinari, F. *Journal of Biotechnology* **2001**, 92 (1), 21-26.
55. Idogaki, H.; Kasai, N.; Takeuchi, M.; Hatada, M.; Suzuki, T. *Tetrahedron-Asymmetry* **2001**, 12 (3), 369-373.
56. Anastas, P. T.; Williamson, T. C. *Green Chemistry* **1996**, 626, 1-17.

57. Mendez, J. J.; Oromi, M.; Cervero, M.; Balcells, M.; Torres, M.; Canela, R. *Chirality* **2007**, *19* (1), 44-50.
58. Liu, H.-L.; Anthonsen, T. *Chirality* **2002**, *14*, 25-27.
59. Cambou, B.; Klibanov, A. M. *Journal of the American Chemical Society* **1984**, *106* (9), 2687-2692.
60. Rotticci, D.; Orrenius, C.; Hult, K.; Norin, T. *Tetrahedron-Asymmetry* **1997**, *8* (3), 359-362.
61. Janssen, A. J. M.; Klunder, A. J. H.; Zwanenburg, B. *Tetrahedron* **1991**, *47* (36), 7645-7662.
62. Fuglseth, E.; Anthonsen, T.; Hoff, B. H. *Tetrahedron-Asymmetry* **2006**, *17* (8), 1290-1295.
63. Liu, R.; Berglund, P.; Hogberg, H. E. *Tetrahedron-Asymmetry* **2005**, *16* (15), 2607-2611.
64. Faber, K. *Pure and Applied Chemistry* **1997**, *69* (8), 1613-1632.
65. Ghanem, A.; Boul-Enein, H. Y. *Tetrahedron-Asymmetry* **2004**, *15* (21), 3331-3351.
66. Muralidhar, R. V.; Chirumamilla, R. R.; Marchant, R.; Ramachandran, V. N.; Ward, O. P.; Nigam, P. *World Journal of Microbiology & Biotechnology* **2002**, *18* (2), 81-97.
67. Kazlauskas, R. J.; Weissfloch, A. N. E.; Rappaport, A. T.; Cuccia, L. A. *Journal of Organic Chemistry* **1991**, *56* (8), 2656-2665.
68. Naemura, K.; Fukuda, R.; Konishi, M.; Hirose, K.; Tobe, Y. *Journal of the Chemical Society-Perkin Transactions 1* **1994**, (10), 1253-1256.
69. Boaz, N. W. *Journal of Organic Chemistry* **1992**, *57* (15), 4289-4292.
70. Adamczak, M.; Krishna, S. H. *Food Technology and Biotechnology* **2004**, *42* (4), 251-264.
71. Torres, M.; Barbosa, E.; Loscos, V.; Canela, R. *Biotechnology Letters* **2000**, *22* (15), 1265-1268.

- 
72. Zaks, A.; Klibanov, A. M. *Journal of Biological Chemistry* **1988**, *263* (17), 8017-8021.
  73. Chamorro, S.; Alcantara, A. R.; de la Casa, R. M.; Sinisterra, J. V.; Sanchez-Montero, J. M. *Journal of Molecular Catalysis B-Enzymatic* **2001**, *11* (4-6), 939-947.
  74. Berglund, P. *Biomolecular Engineering* **2001**, *18* (1), 13-22.
  75. Hirose, Y.; Kariya, K.; Sasaki, I.; Kurono, Y.; Ebiike, H.; Achiwa, K. *Tetrahedron Letters* **1992**, *33* (47), 7157-7160.
  76. Zuegg, J.; Honig, H.; Schrag, J. D.; Cygler, M. *Journal of Molecular Catalysis B-Enzymatic* **1997**, *3* (1-4), 83-98.
  77. Straathof, A. J. J.; Jongejan, J. A. *Enzyme and Microbial Technology, Elsevier* **1997**, *21*, 559-571.
  78. Erbedinger, M.; Mesiano, A. J.; Russell, A. J. *Biotechnology Progress* **2000**, *16* (6), 1129-1131.
  79. Lau, R. M.; van Rantwijk, F.; Seddon, K. R.; Sheldon, R. A. *Organic Letters* **2000**, *2* (26), 4189-4191.
  80. Schofer, S. H.; Kaftzik, N.; Wasserscheid, P.; Kragl, U. *Chemical Communications* **2001**, (5), 425-426.
  81. Yi, Y.; Shu, B.; Yan, S. *Food Chemistry* **2006**, *97* (2), 324-330.
  82. Ulbert, O.; Frater, T.; Belafi-Bako, K.; Gubicza, L. *Journal of Molecular Catalysis B-Enzymatic* **2004**, *31* (1-3), 39-45.
  83. Belafi-Bako, K.; Dormo, N.; Ulbert, O.; Gubicza, L. *Desalination* **2002**, *149* (1-3), 267-268.
  84. Gubicza, L.; Nemestothy, N.; Frater, T.; Belafi-Bako, K. *Green Chemistry* **2003**, *5* (2), 236-239.
  85. Contesini, F. J.; Carvalho, P. D. *Tetrahedron-Asymmetry* **2006**, *17* (14), 2069-2073.
  86. Lozano, P.; De Diego, T.; Carrie, D.; Vaultier, M.; Iborra, J. L. *Journal of Molecular Catalysis B-Enzymatic* **2003**, *21* (1-2), 9-13.



87. Nara, S. J.; Mohile, S. S.; Harjani, J. R.; Naik, P. U.; Salunkhe, M. M. *Journal of Molecular Catalysis B-Enzymatic* **2004**, 28 (1), 39-43.
88. Kamal, A.; Chouhan, G. *Tetrahedron Letters* **2004**, 45 (48), 8801-8805.
89. Nara, S. J.; Harjani, J. R.; Salunkhe, M. M. *Tetrahedron Letters* **2002**, 43 (16), 2979-2982.
90. Shah, S.; Gupta, M. N. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2007**, 17 (4), 921-924.
91. Sheldon, R. A.; Lau, R. M.; Sorgedraeger, M. J.; van Rantwijk, F.; Seddon, K. R. *Green Chemistry* **2002**, 4 (2), 147-151.
92. Rasalkar, M. S.; Potdar, M. K.; Salunkhe, M. M. *Journal of Molecular Catalysis B-Enzymatic* **2004**, 27 (4-6), 267-270.
93. Lou, W. Y.; Zong, M. H. *Chirality* **2006**, 18 (10), 814-821.
94. Mohile, S. S.; Potdar, M. K.; Harjani, J. R.; Nara, S. J.; Salunkhe, M. M. *Journal of Molecular Catalysis B-Enzymatic* **2004**, 30 (5-6), 185-188.
95. Lou, W. Y.; Zong, M. H.; Liu, Y. Y.; Wang, J. F. *Journal of Biotechnology* **2006**, 125 (1), 64-74.
96. Irimescu, R.; Kato, K. *Tetrahedron Letters* **2004**, 45 (3), 523-525.
97. Kim, M. J.; Choi, M. Y.; Lee, J. K.; Ahn, Y. *Journal of Molecular Catalysis B-Enzymatic* **2003**, 26 (3-6), 115-118.
98. Irimescu, R.; Kato, K. *Journal of Molecular Catalysis B-Enzymatic* **2004**, 30 (5-6), 189-194.
99. van Rantwijk, F.; Sheldon, R. A. *Chemical Reviews* **2007**, 107 (6), 2757-2785.
100. Cull, S. G.; Holbrey, J. D.; Vargas-Mora, V.; Seddon, K. R.; Lye, G. J. *Biotechnology and Bioengineering* **2000**, 69 (2), 227-233.
101. Howarth, J.; James, P.; Dai, J. F. *Tetrahedron Letters* **2001**, 42 (42), 7517-7519.

102. Lau, R. M.; Sorgedragar, M. J.; Carrea, G.; van Rantwijk, F.; Secundo, F.; Sheldon, R. A. *Green Chemistry* **2004**, 6 (9), 483-487.
103. van Rantwijk, F.; Lau, R. M.; Sheldon, R. A. *Trends in Biotechnology* **2003**, 21 (3), 131-138.
104. Summers, C. A.; Flowers, R. A. *Protein Science* **2000**, 9 (10), 2001-2008.
105. Park, S.; Kazlauskas, R. J. *Current Opinion in Biotechnology* **2003**, 14 (4), 432-437.
106. Eras, J.; Mendez, J. J.; Balcells, M.; Canela, R. *Journal of Organic Chemistry* **2002**, 67 (24), 8631-8634.
107. Ladner, W. E.; Whitesides, G. M. *Journal of the American Chemical Society* **1984**, 106 (23), 7250-7251.
108. Babali, B.; Aksoy, H. A.; Tuter, M.; Ustun, G. *Journal of the American Oil Chemists Society* **2001**, 78 (1), 53-56.
109. Clausen, I. G. *Journal of Molecular Catalysis B-Enzymatic* **1997**, 3 (1-4), 139-146.
110. Villeneuve, P.; Muderhwa, J. M.; Graille, J.; Haas, M. J. *Journal of Molecular Catalysis B-Enzymatic* **2000**, 9 (4-6), 113-148.
111. Cardenas, F.; Alvarez, E.; De Castro-Alvarez, M. S.; Sanchez-Montero, J. M.; Valmaseda, M.; Elson, S. W.; Sinisterra, J. V. *Journal of Molecular Catalysis B-Enzymatic* **2001**, 14 (4-6), 111-123.
112. Yang, Z.; Pan, W. B. *Enzyme and Microbial Technology* **2005**, 37 (1), 19-28.
113. de los Ríos, A. P.; Hernández-Fernández, F. J.; Martínez, F. A.; Rubio, M.; Villora, G. *Biocatalysis and Biotransformation* **2007**, 25 (2-4), 151-156.
114. Krieger, N.; Bhatnagar, T.; Baratti, J. C.; Baron, A. M.; de Lima, V. M.; Mitchell, D. *Food Technology and Biotechnology* **2004**, 42 (4), 279-286.

115. Kim, K. W.; Song, B.; Choi, M. Y.; Kim, M. J. *Organic Letters* **2001**, *3* (10), 1507-1509.
116. Xanthakis, E.; Zarevucka, M.; Saman, D.; Wimmerova, M.; Kolisis, F. N.; Wimmer, Z. *Tetrahedron-Asymmetry* **2006**, *17* (21), 2987-2992.
117. Mendez, J.; Eras, J.; Balcells, M.; Canela, R. *Synthetic Communications* **2006**, *36* (9), 1167-1175.

## **CAPÍTOL V.**

### **OXIDOREDUCTASES PRESENTS EN FONGS ENDÒFITS DE PLANTES DEL PREPIRINEU DE LLEIDA**

## 1. INTRODUCCIÓ

### 1.1. IMPORTÀNCIA DE LES OXIDOREDUCTASES

Com ja hem comentat anteriorment en el capítol IV, els biocatalitzadors, presenten avantatges enfront a altres catalitzadors convencionals. Els enzims catalitzen reaccions químiques específicament a tres nivells: quimio-, regio- i estereoselectivament, a més de treballar sota condicions suaus, el que permet desenvolupar síntesis asimètriques amb poc consum energètic i sense emprar catalitzadors metàl·lics. Aquests aspectes fan que siguin considerats catalitzadors respectuosos amb el medi ambient. Entre tots els compostos que són intermediaris químics en la síntesi asimètrica en química orgànica, els compostos hidroxi- i oxo- són importants per a les indústries farmacèutiques, agroquímiques i alimentàries<sup>1,2</sup>.

A la natura hi ha una gran varietat d'oxidoreductases capaces de catalitzar transformacions quirals. Aquestes formen part de les rutes metabòliques de molts microorganismes. Per a dur a terme aquestes reaccions, a part dels enzims, es necessiten coenzims com ferredoxines, àcid lipoic, NAD(H), NADP(H), flavines i citocroms. Els coenzims es diferencien entre ells en el seu potencial redox, en les seves constants i en el mode de regeneració. Els NAD(P)H són els coenzims més comuns<sup>3</sup>. Les oxidoreductases, segons la reacció redox que duen a terme, es poden classificar en tres categories: les oxigenases, entre aquestes hi ha les Baeyer-Villiger monooxigenases (BVMOs), les oxidases, i les deshidrogenases<sup>3,4</sup>.

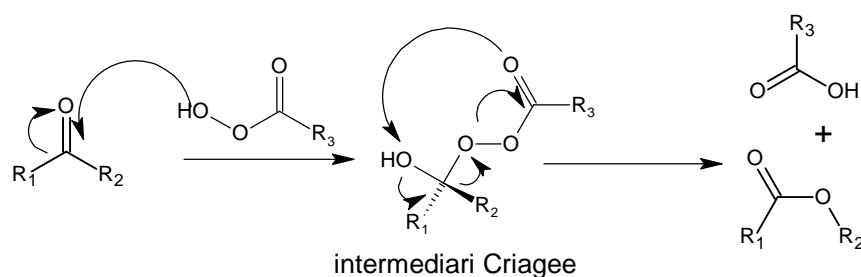
## 1.2. L'OXIDACIÓ BAEYER-VILLIGER

L'oxidació Baeyer-Villiger (B-V) consisteix en un trencament d'enllaços carboni-carboni veïns a un carbonil amb la inserció d'un àtom d'oxigen, el que la fa una reacció d'elevat valor en síntesi orgànica. A més, l'oxidació *Baeyer-Villiger* quiral de cetones cícliques permet un ràpid accés a lactones asimètriques, les quals són valuosos intermediaris en química orgànica<sup>5</sup>.

L'oxidació B-V asimètrica emprant química convencional només s'ha descrit recentment amb èxit<sup>6</sup>. No obstant, aquestes metodologies, les quals impliquen essencialment reaccions amb peròxid d'hidrogen com agent oxidant catalitzades per metalls de transició (Pt, Re, Ti i Zr)<sup>7</sup>, o bé organocatalitzadors<sup>8-10</sup>, mostren baixa versatilitat i sovint proporcionen productes amb només moderada puresa enantiomèrica<sup>11</sup>.

El mecanisme de reacció per aquesta transformació acceptat consta de dos processos i va ser proposat per Criegee<sup>12</sup> (**Figura 1**). El mecanisme consisteix en un primer atac nucleofílic per una espècie peroxo, com l'àcid *m*-cloroperoxibenzoic, l'àcid trifluoroperoxiacètic, l'àcid peroxiacètic o el peròxid d'hidrogen, al grup carbonil de la cetona, que resulta en la formació d'un intermedi quaternari, anomenat intermedi "Criegee".

Sobre aquest intermedi, al ser una espècie inestable, es du a terme una transposició, concretament es trenca aquest via expulsió d'un ió carboxilat i la migració d'un enllaç carboni amb la formació del corresponent èster o lactona<sup>13</sup>.



**Figura 1.** Mecanisme de la reacció d'oxidació Baeyer-Villiger amb peràcids.

La regioquímica de la inserció de l'oxigen, tant pels mètodes químics o enzimàtics, es pot predir normalment assumint que l'àtom de carboni més apte per suportar la càrrega positiva, el més substituït, migrarà preferencialment<sup>4</sup>

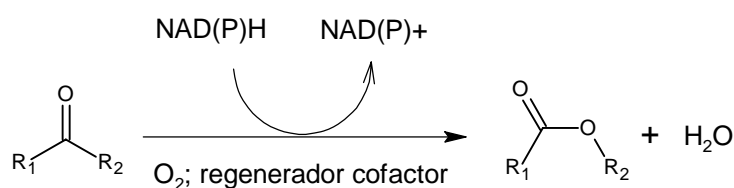
L'equivalència biocatalítica als peràcids són les monooxigenases B-V, les quals representen una alternativa mediambientalment més respectuosa per aquesta transformació<sup>5</sup>.

### 1.2.1. MONOOXIGENASES BAEYER-VILLIGER

Les monooxigenases Baeyer-Villiger (BVMOs) permeten la formació d'èsters o lactones enantiopures a partir de cetones racèmiques o proquirals. Aquestes s'han detectat en el metabolisme d'alguns microorganismes formant part d'una etapa d'oxidació Baeyer-Villiger<sup>14,15</sup>.

Mentre que l'acció metabòlica d'aquests enzims dintre la cèl·lula està restringida a un únic compost, aquestes entitats biocatalítiques sovint mostren una remarcable àmplia acceptació de compostos no naturals. Aquest fet, juntament amb l'alta enantioselectivitat que exhibeixen, les converteix en un poderós sistema catalític per a la síntesi quiral<sup>5</sup>.

Les limitacions més importants de les biotransformacions oxidatives són el requeriment de la regeneració del coenzim i la baixa estabilitat i activitats. Les BVMOs es poden classificar en dos grups, les de Tipus I que tenen com a cofactor el dinucleòtid adenina flavina (FAD) i utilitzen el NADPH com a font d'electrons i estan formades per subunitats idèntiques i les de Tipus II, que contenen el mononucleòtid flavina (FMN) com a cofactor i utilitzen el NADH com a subministrament d'electrons i estan formades per  $\alpha_2\beta$  trimers<sup>16,17</sup>. Totes les BVMOs incorporen un àtom d'oxigen molecular en el substrat essent l'altre àtom reduït a aigua (**Figura 2**). El NAD(P)H proporciona el potencial de reducció per al subministrament d'electrons al substrat i per a que es dugui a terme la reacció es necessita el continu reciclatge d'aquest cofactor.



**Figura 2.** Oxidació Baeyer-Villiger amb monooxigenases B-V.

Normalment els cofactors que es necessiten són productes directes del metabolisme primari dels microorganismes i aquest requeriment de cofactor és el que limita el desenvolupament de bioprocessos<sup>18</sup>. El mecanisme de reacció és similar al químic, ara el cofactor flavina juga el paper de nucleòfil, similar al peràcid<sup>2,4,19</sup>.

La BVMO més estudiada és la ciclohexanona monooxigenasa (CHMO) d'*Acinetobacter* sp. NCIMB 9871 (E.C.1.14.13.22)<sup>20</sup>. Aquesta pot transformar més de 100 substrats no-naturals mitjançant resolució cinètica i desimetrització amb alta enantioselectivitat. A més, s'ha expressat en diferents microorganismes



com *Saccharomyces cerevisiae*<sup>21,22</sup> i *Escherichia coli*<sup>23</sup> els quals presenten tant els avantatges dels enzims aïllats com els de les cèl·lules en creixement. Després d'aquesta, la més estudiada ha estat la ciclopentanona monooxigenasa (CPMO) de *Pseudomonas* sp. amb un comportament similar a la CHMO<sup>5</sup>. No obstant, a part d'aquestes, s'han descrit molts pocs nous biocatalitzadors, fent molt interessant la cerca de noves BVMOs d'origen microbià<sup>11</sup>. A més, de moment, la inversió de l'enantioselectivitat d'un enzim, amb un substrat molt conegut, no és possible i l'única opció per obtenir nous productes enantiomèricament purs és l'evolució directa i el *screening* per a trobar enzims alternatius<sup>5</sup>.

### 1.2.2. APLICACIONS DE LES MONOOXIGENASES BAEYER-VILLIGER

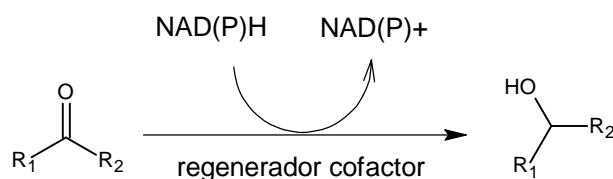
Les BVMOs, a part de la formació d'èsters o lactones a partir d'una cetona determinada i cèl·lules en creixement de microorganismes de soques salvatges<sup>24</sup> o bé recombinants<sup>25-27</sup>, poden dur a terme altres reaccions com *S*-oxidacions de tiols<sup>28,29</sup>, ditiocetals<sup>30</sup> i sulfits<sup>31,32</sup>, formació de N-òxids<sup>33</sup>, oxidació de bor<sup>34</sup>, oxidació de seleni<sup>35</sup> i, molt recentment, s'ha descrit la seva participació en l'epoxidació d'alquenilfosfonats<sup>36</sup>.

### 1.3. REDUCCIÓ DE CETONES

La reducció asimètrica de cetones quirals és una de les aproximacions més directes per a l'accés d'alcohols enantiomèricament purs. Procés que també es pot fer emprant diferents complexos metàl·lics quirals<sup>37-42</sup>. De totes maneres els biocatalitzadors, com ja hem comentat, són una alternativa més senzilla metodològicament i respectuosa amb el medi ambient.

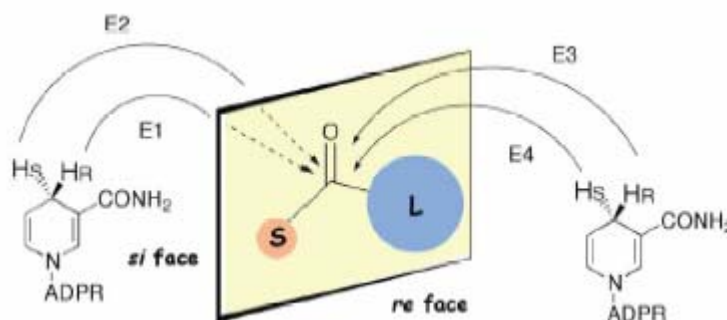
### 1.3.1. LES DESHIDROGENASES

Les deshidrogenases són enzims que catalitzen la reducció de grups carbonils i la reacció inversa. Aquestes, per dur a terme la seva activitat també necessiten del coenzim NAD(P)H, l'hidrur del qual es transferit al carboni carbonílic del substrat (**Figura 3**).



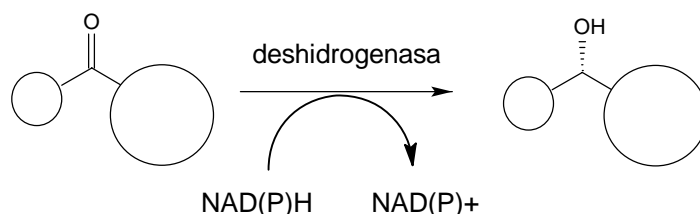
**Figura 3.** Reducció de cetones amb deshidrogenases.

Hi ha 4 models estereoquímics que expliquen la transferència de l'hidrur (H) a partir del coenzim (**Figura 4**). Segons el tipus d'enzim, E1, E2, E3 i E4, atacarà per una o altra cara del substrat i donarà els corresponents *R*-alcohols (E1 i E2) o *S*-alcohols (E3 i E4). En els enzims tipus E1 i E2 l'hidrur ataca per la cara *Se* (*si* face) per donar els *R*-alcohols i en els E3 i E4 per l'altra cara, la *Re* (*re* face), per donar els *S*-alcohols.



**Figura 4.** Estereoquímica de la transferència de l'hidrur del NAD(P)H al carboni del substrat). S= grup petit; L= grup voluminos<sup>14</sup>.

Els enzims tipus E1 i E3 transfereixen l'hidrur pro-(*R*) i els E2 i E4 el pro-(*S*)<sup>14</sup>. En la majoria dels casos, l'estereoquímica de la reacció es pot predir a partir d'un model senzill, la Regla de Prelog, **Figura 5**. L'aplicació d'aquesta Regla a les reduccions microbianes es va desenvolupar a partir d'estudis fets amb cèl·lules de *Curvularia falcata* i mostra que la deshidrogenasa aporta predominantment l'hidrur per la cara Re de la cetona proquiral, formant-se el *S*-alcohol. La majoria de les deshidrogenases comercials segueixen aquesta regla. L'alcohol deshidrogenasa de *Thermoanaerobium brockii* també segueix aquesta regla quan s'utilitzen cetones voluminoses, en canvi quan les cetones són petites mostra el comportament contrari formant el corresponent *R*-alcohol<sup>4</sup>. S'ha de recordar que la Regla de Prelog està basada en la preferència d'una conformació determinada, que afavoreix l'apropament de l'espècie reductora per una de les cares del carbonil. Per tant, quan més voluminos és un substituent major ha de ser aquesta preferència.



**Figura 5.** Regla Prelog per a la reducció asimètrica de cetones.

### **1.3.2. APLICACIONS DE LES DESHIDROGENASES**

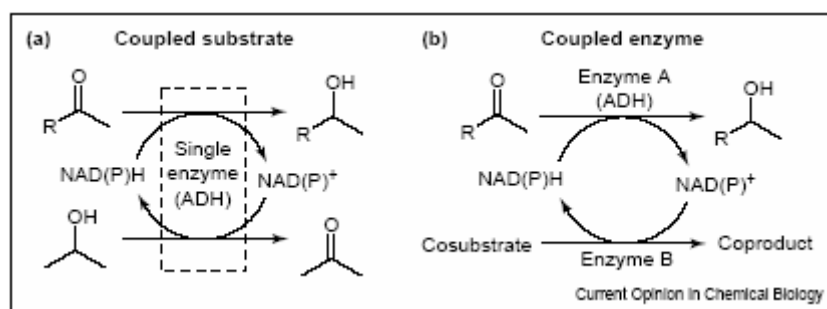
Les deshidrogenases s'estan utilitzant en la reducció asimètrica de cetones per a la producció d'alcohols quirals, els quals són importants intermediaris asimètrics per a l'obtenció de productes valuosos en síntesi orgànica. A més la reducció d'un grup carbonil proquiral, a diferència de les resolucions cinètiques de mescles racèmiques<sup>43</sup>, permet l'obtenció del corresponent alcohol quiral amb un rendiment teòric del 100%. La reducció biològica de grups carbonílics té importants aplicacions en la síntesi de diversos medicaments incloent el taxol (anticancerós)<sup>44</sup>, Montelukast (antiasmàtic)<sup>45</sup>, Zetia (inhibeix l'absorció del colesterol)<sup>46,47</sup>, Trimegestone (hormona mimètica)<sup>48</sup> i Trusopt (antiglaucoma)<sup>49</sup>, agroquímics i productes naturals<sup>14</sup>.

### **1.4. RECICLATGE DELS COFACTORS**

La utilització d'enzims aïllats o *resting-cells* en reaccions d'oxidoreducció necessita la regeneració dels cofactors, ja que el NAD(P)H és molt car per utilitzar-lo en quantitats estequiomètriques. La utilització de cèl·lules en creixement, com a font d'oxidoreductases, té l'avantatge de permetre una regeneració interna del cofactor<sup>50</sup>.

Per contra, l'ús d'enzims aïllats necessita de la regeneració d'aquests paral·lelament a la conversió del substrat al producte. Entre els diferents tipus de tècniques de regeneració dels cofactors la més utilitzada és l'enzimàtica. Aquesta es pot dur a terme per dos aproximacions diferents: acoblament d'enzims (*coupled enzyme*) o bé acoblament de substrats (*coupled substrate*), **Figura 6.**

La tècnica d'acoblament d'enzims (*coupled enzyme*) implica el sacrifici d'un cosubstrat (*cosubstrate*) el qual es convertit per un segon enzim (*enzyme B*) en la direcció redox oposada<sup>51</sup>. El sistema de reciclatge del NAD(P)H més conegut és el sistema glucosa 6-fosfat/glucosa 6-fosfat deshidrogenasa<sup>52</sup>.



**Figura 6.** Tipus de regeneradors de cofactors NAD(P)H<sup>53</sup>.

Una alternativa més econòmica és el sistema formiat/formiat deshidrogenasa, el qual s'ha dissenyat a partir de dos formiat deshidrogenases de *Pseudomonas* sp. 110 i *Saccharomyces cerevisiae*. Un altre sistema és el 2-propanol/alcohol deshidrogenasa de *Thermoanaerobium Brockii*<sup>16</sup>.

En l'altra aproximació, acoblament substrat-enzim (*coupled substrate*), només s'utilitza un enzim (*single enzyme*, ADH: alcohol deshidrogenasa), el que dur a terme la reacció d'oxidoreducció. El substrat que s'utilitza per dur a terme la reacció redox en l'altra direcció pot ser l'etanol, el 2-propanol (el més utilitzat), la glucosa o l'àcid fòrmic. En comparació amb l'altra tècnica és més poderosa, però degut a la competició entre el substrat, producte, cosubstrat i coproducte es presenta un equilibri termodinàmic, estant el màxim de conversió limitat a la termodinàmica del sistema<sup>51</sup>. Processos de separació del producte que es va

formant durant el desenvolupament de la reacció poden ajudar a modificar l'equilibri cap a la formació de producte<sup>54,55</sup>.

Altres alternatives per al reciclatge dels cofactors són la regeneració química<sup>56</sup>, electroquímica<sup>57</sup> i mètodes fotoquímics<sup>58,59</sup>.

## **1.5. AVANTATGES DE LES CÈL·LULES EN CREIXEMENT**

La utilització de cèl·lules en creixement presenta uns certs avantatges enfront l'ús d'enzims aïllats o *resting-cells*. Entre ells destacar:

- S'evita el laboriós procés d'aïllament i purificació de l'enzim, sovint complicat degut a la baixa estabilitat de l'enzim<sup>5</sup>.
- Tots els cofactors requerits pel biocatalitzador són reciclats per les cèl·lules evitant la construcció d'un sistema de regeneració artificial. Només amb l'addició de simple glucosa és suficient per dur a terme la reacció<sup>50</sup>.
- S'eviten problemes d'instabilitat de l'enzim degut a que es troben dintre el seu ambient natural.
- Són capaces d'acceptar substrats no-naturals.

## 1.6. INCONVENIENTS DE LES CÈL·LULES EN CREIXEMENT

No obstant, la utilització de cèl·lules en creixement pot presentar certs desavantatges:

- Es poden dur a terme reaccions paral·leles indesitjables degut a que el substrat o el producte format pot ser acceptat per altres enzims presents en la cèl·lula. Entre aquestes reaccions paral·leles hi ha la hidròlisi dels èsters o lactones, i processos metabòlics diversos sobre els alcohols que es formen. Per evitar aquest problema es poden seguir diferents estratègies. Una és el bloqueig dels enzims hidrolítics amb inhibidors hidrolasa selectius com el pirofosfat de tetraetil (TEPP<sup>60</sup>) o *p*-nitrofenilfosfat dietílic (paraoxon). Altres alternatives són el desenvolupament de soques mutants amb manca d'hidrolases o bé aplicació sobre cetones els productes de les quals no siguin substrat per als diferents sistemes enzimàtics de la cèl·lula<sup>60</sup>.
- Els excessos enantiomèrics (*ee*) poden ser baixos degut a la presència d'enzims amb enantiopreferència oposada. Estratègies per evitar aquest problema poden ser mitjançant l'enginyeria del procés com l'ús d'activadors i inhibidors específics de *R*- o *S*-reductases<sup>14</sup>, modificació de la temperatura<sup>61</sup> o altres paràmetres que afecten a l'estat fisiològic de les cèl·lules<sup>62</sup>, disminució de la concentració del substrat amb resines d'absorció<sup>63</sup> o sistemes bifàsics<sup>64</sup> o mitjançant recombinació genètica<sup>65</sup>.
- Les concentracions de substrat òptimes acostumen a ser baixes, degut a que aquest pot ser tòxic per les cèl·lules en creixement, implicant volums més grans de reacció o l'ús de sistemes bifàsics.

- La recuperació del producte de reacció és més complicada ja que s'ha de realitzar una separació del medi i les cèl·lules i una posterior extracció del producte.

Amb el desenvolupament de les tècniques recombinants és possible la creació d'un microorganisme per ser utilitzat en les biotransformacions com a cèl·lules en creixement que pugui competir amb els enzims aïllats. La sobreexpressió d'oxidoreductases i regeneració dels cofactors dels enzims porta a una suficient activitat específica d'aquestes essent per tant les reaccions paral·leles negligibles<sup>50</sup>.



## 2. OBJECTIUS

Els objectius que em vaig proposar en aquest capítol foren dos:

- Cerca de noves activitats oxidoreductases en microorganismes endòfits de diferents espècies vegetals recollides al Prepirineu de Lleida per a la transformació de cetones a èsters o lactones a través d'una oxidació Baeyer-Villiger o bé per a la transformació de cetones a alcohols asimètrics a través d'una reducció amb deshidrogenases.
- Estudi del comportament de les soques fúngiques amb activitat oxidoreductasa enfront diferents cetones i diones comercials lineals i cícliques.

### **3. RESULTATS I DISCUSSIÓ**

#### **3.1. CERCA DE NOVES OXIDOREDUCTASES FÚNGIQUES**

La tasca de triar microorganismes capaços de realitzar una biotransformació específica selectivament encara es basa en gran part en el *screening*, essent per tant, la cerca de noves oxidoreductases amb diferents activitats i especificitats una constant necessitat<sup>66</sup>.

##### **3.1.1. AÏLLAMENT DE FONGS ENDÒFITS D'ESPÈCIES VEGETALS**

Amb l'objectiu de trobar nous biocatalitzadors fúngics es van aïllar fongs endòfits de diverses espècies vegetals recollides al Montsec del Prepirineu de Lleida. Els fongs endòfits viuen en l'interior dels teixits de les plantes en simbiosi amb aquestes<sup>67</sup>. Pel seu aïllament es van col·locar diferents parts de cada mostra vegetal, rentades i desinfectades, en plaques de Petri amb medi PDA, medi que permet el creixement de floridures.

Després de la seva incubació, es van aïllar les diferents soques fúngiques que van créixer en el medi PDA fins al seu cultiu pur. En total es van aïllar 153 soques fúngiques diferents de les 41 plantes recol·lectades.

La **Taula 1** mostra les diferents espècies fúngiques que es van recol·lectar al Montsec, el nombre de soques fúngiques aïllades de cadascuna d'elles i el codi assignat a cada soca per tal de fer els estudis d'activitat oxidoreductora.

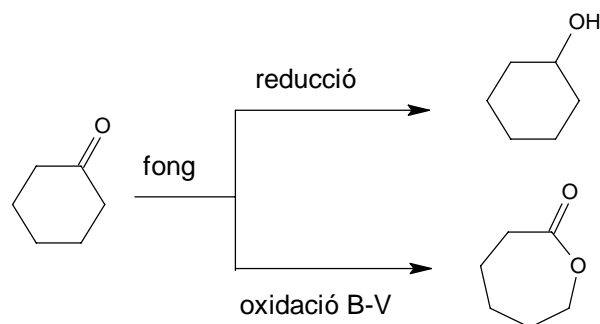
**Taula 1.** Nombre d'espècies fúngiques aïllades de cada espècie vegetal.

ESPÈCIE VEGETAL	N	Codi	ESPÈCIE VEGETAL	N	Codi
<i>Stellaria media</i> + <i>Veronica chamaedrys</i>	8	1A-1H	<i>Rubia peregrina</i>	5	22A-E
<i>Sanguisorba minor</i>	5	2A-2E	<i>Arbutus unedo</i>	3	23A-C
<i>Centaurea cf. solstitialis</i>	2	3A-3B	<i>Verbascum thapsus</i>	5	24A-E
<i>Santolina chamaecyparissias</i>	5	4A-4E	<i>Ononis minutissima</i>	8	25A-H
<i>Helianthemum nummularium</i>	7	5A-5G	<i>Salvia verbenaca</i>	3	26A-C
<i>Olea europaea</i>	10	6A-J	<i>Centaurea jacea</i>	5	27A-E
<i>Hypericum perforatum</i>	4	7A-D	<i>Buxus sempervirens</i>	5	28A-E
<i>Ononis spinosa</i>	5	8A-E	<i>Crataegus monogyna</i>	3	29A-C
<i>Rosa gr. canina</i>	1	9A	<i>Plantago sempervirens</i>	3	30A-C
<i>Foeniculum vulgare</i>	4	10A-D	<i>Thymus vulgaris</i>	4	31A-D
<i>Calendula arvensis</i>	5	11A-E	<i>Quercus coccifera</i>	4	32A-D
<i>Lavandula latifolia</i>	4	12A-D	<i>Euphorbia nicaeensis</i>	1	33A
<i>Asparagus acutifolius</i>	2	13A-B	<i>Rosmarinus officinalis</i>	2	34A-B
<i>Conyza canadensis</i>	2	14A-B	<i>Juglans regia</i>	6	35A-F
<i>Odontides sp.</i>	3	15A-C	<i>Pistacia terebinthus</i>	5	36A-E
<i>Chenopodium album</i>	4	16A-D	<i>Anagallis arvensis</i>	4	37A-D
<i>Centaurea montana</i>	1	17A	<i>Sedum album</i>	3	38A-C
<i>Achillea ageratum</i>	1	18A	<i>Chenopodium vulvaria</i>	3	39A-C
<i>Genista scorpius</i>	4	19A-D	<i>Anacyclus sp.</i>	3	40A-C
<i>Lithospermum fruticosum</i>	8	20A-H	<i>Pallenis spinosa</i>	2	41A-B
<i>Rosmarinus officinalis</i>	11	21A-K			

N: Nombre de soques aïllades; Codi: Codi d'identificació utilitzat per a cada soca fúngica

### 3.1.2. SCREENING D'ACTIVITAT OXIDOREDUCTASA

De cadascuna de les soques fúngiques aïllades es va realitzar un *screening* per tal de triar les que presentaven activitat oxidoreductasa. El *screening* també es va realitzar amb una soca fúngica de *Rhizopus oryzae* UDLTA 3.142, aïllada anteriorment pel nostre grup com a fong endòfit del fonoll, *Foeniculum vulgare*, la qual presenta activitat lipàsica<sup>68,69</sup>. Aquesta soca era la mateixa utilitzada en el Capítol IV, hidròlisi d'èsters d'halohidrina.



**Figura 7.** Productes de la reducció i oxidació de la ciclohexanona.

Cadascuna de les 154 soques es va inocular en un medi líquid sintètic el qual contenia 35 mg de ciclohexanona per 70 ml de medi<sup>11</sup>. Després de la seva incubació es va realitzar una extracció del medi amb diclorometà per tal d'analitzar la presència de ε-caprolactona, producte de l'oxidació de la ciclohexanona (**102**) o bé ciclohexanol, producte de la reducció de la ciclohexanona (**Figura 7**). L'anàlisi es va portar a terme per CG-FID en una columna capil·lar DB-Wax.

La **Taula 2** mostra les soques fúngiques que van presentar activitat oxidasa, *Baeyer-Villiger* o reductasa. De les 154 soques, 3 van oxidar la ciclohexanona i 23 van ser capaces de reduir-la.

**Taula 2.** Soques fúngiques amb activitat Baeyer-Villiger i activitat reductasa.

SOCA	Activitat <i>Baeyer-Villiger</i>	Activitat reductasa	SOCA	Activitat <i>Baeyer-Villiger</i>	Activitat reductasa
1D		+	28A		+
2E	+		29C		+
7J		+	29D		+
8A		+	35A		+
9C		+	37C		+
10B		+	37D		+
11B		+	37E		+
18C		+	39B		+
19D	+		40A		+
20D		+	41D		+
25B		+	43C		+
25C		+	42AA	+	
25E		+	<i>R. oryzae</i>		+

+: soques fúngiques amb activitat enzimàtica

Així doncs, una vegada escollides les soques fúngiques amb activitat oxidoreductasa, es va procedir a la quantificació de l'ε-caprolactona i del ciclohexanol formats. La metodologia que es va seguir va ser la mateixa que al *screening*, però aquesta vegada es va utilitzar octadecà com a patró intern per poder quantificar per CG-FID.

Les soques fúngiques a les quals se'ls havia detectat activitat oxidasa, 2E, 19D i 42A, encara que no es va observar ciclohexanona després de la incubació, només donaven la corresponent lactona amb un rendiment <0,5%, aspecte que portà a pensar que o bé el producte inicial o bé la lactona final havien estat metabolitzades pel fong cap a altres productes no detectats. Es van repetir les proves amb la meitat de concentració de cetona, 17,5 mg en 70 ml de medi, i el doble, 70 mg en 70 ml (1 mg/ml) de medi, per veure si la concentració podia

afectar a l'activitat del fong, però es va obtenir el mateix resultat, rendiment <0,5%.

Una de les possibles causes d'aquest rendiment tant baix podia ser, com ja s'ha comentat, la hidròlisi de la lactona. Per tant, amb el propòsit d'augmentar la quantitat d'ε-caprolactona evitant aquest possible procés d'hidròlisi es van repetir els estudis addicionant aquesta vegada al medi de cultiu 0,08 mM de pirofosfat de tetraetil (TEPP), el qual inhibeix hidrolases<sup>60</sup>. No obstant, la presència d'aquest inhibidor no va incrementar el rendiment d'ε-caprolactona.

Considerant els baixos rendiments obtinguts en la cerca de noves soques fúngiques amb activitat oxidasa Baeyer-Villiger, es va decidir continuar els estudis amb les 23 soques fúngiques que varen presentar activitat reductasa. Així doncs, es va procedir a la quantificació del ciclohexanol format en la biotransformació de la ciclohexanona per cadascuna de les soques fúngiques de la mateixa manera que s'havia fet per a la quantificació de la caprolactona. D'aquestes 23, dues, la soca de *R. oryzae* i la soca 29D, *Epicoccum nigrum* (UDLTA 3.242), van reduir la cetona al corresponent alcohol, el ciclohexanol, amb un rendiment >99%.

Andrade i col. van realitzar un *screening* de diferents soques fúngiques per a la biotransformació de l'acetofenona, l'1-feniletanona, i dues de les soques fúngiques que van reduir enantioselectivament aquesta cetona, al S-1-feniletanol, van ser també una soca de *E. nigrum* i una altra de *R. oryzae*<sup>70</sup>.

Carballeira i col. van realitzar un *screening* de diferents soques de bacteris, floridures, fongs i fongs marins per a la cerca de nous biocatalitzadors

microbians per a la reducció estereoselectiva de compostos carbonílics. El *screening* es va realitzar amb la ciclohexanona i cada microorganisme es va assajar en diferents condicions experimentals: com a cèl·lules en creixement, *resting-cells* i cèl·lules liofilitzades. D'aquest estudi van deduir que l'ús de cèl·lules liofilitzades no és una metodologia convenient per a la reducció de la ciclohexanona comparat amb les cèl·lules en creixement. Les *resting-cells* també van anar millor que les cèl·lules liofilitzades però els rendiments van ser inferiors comparats amb els de les cèl·lules en creixement. *Gongronella butleri*, *Diplogelasinospora grovesii* i *Schizosaccharomyces octosporus* van ser els que van presentar millor productivitat, tolerància a altes concentracions de cetona i absència de productes secundaris en la reducció de cicloalcanones<sup>71</sup>.

A continuació es va procedir a l'estudi del comportament d'aquestes dues soques fúngiques, *R. oryzae* i *E. nigrum*, en la biotransformació de diferents cetones lineals i cíclics proquirals.

## **3.2. COMPORTAMENT DE *R. oryzae* ENFRONT DIFERENTS CETONES COMERCIALS**

### **3.2.1. BIOTRANSFORMACIÓ DE CETONES LINEALS PER *R. oryzae***

La **Taula 3** mostra els resultats obtinguts en la biotransformació de diferents cetones lineals per les cèl·lules en creixement de la soca fúngica de *R. oryzae*.

La quantificació del corresponent alcohol format per a cada cetona es va fer per GC-FID, utilitzant octadecà com a patró intern, en una columna capil·lar polar DB-Wax. La configuració de l'alcohol es va determinar per GC-FID en una columna quirals CP Chirasil-DEX CB.

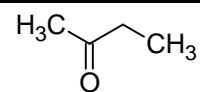
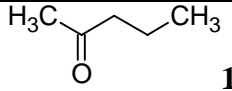
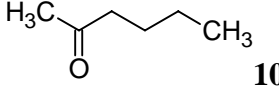
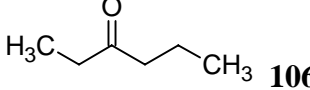
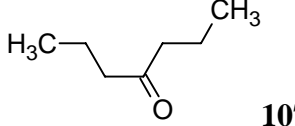
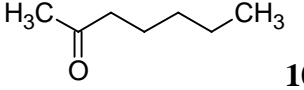
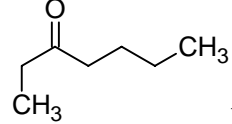
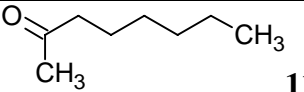
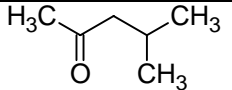
La majoria de les cetones, a excepció de la 2-pentanona (**104**) i 2-hexanona (**105**), van ser completament metabolitzades per les cèl·lules en creixement de *R. oryzae*. No obstant, no es va observar formació d'alcohol en la biotransformació de la 2-butanona (**103**), 2-heptanona (**108**) ni la 2-octanona (**110**) i per la 4-metil-2-pentanona (**111**) només hi va haver formació d'un 2% de 4-metil-2-pentanol.

El fong va transformar lleugerament la 2-pentanona (**104**) al 2-pentanol (**5**), 9% de rendiment, mostrant moderada enantioselectivitat,  $ee_S$  del 64%, i quedant encara un 61% de cetona sense transformar. *R. oryzae* va transformar també lleugerament part de la 2-hexanona (**105**) al 2-hexanol (**6**), 13% de rendiment, i en aquest cas va mostrar estereopreferència oposada obtenint-se més proporció de l'enantiòmer *R* amb un  $ee_R$  del 66%. El fong també va transformar lleugerament la 4-heptanona (**107**), amb la formació d'un 25% de 4-heptanol, compost aquiral, i va transformar la 3-hexanona (**106**) al 3-hexanol (**10**) en un 20%, amb enantioselectivitat no determinada ja que els dos enantiòmers de



l'alcohol i el seus corresponents derivats acetilats no es separaven en la columna quiral utilitzada.

**Taula 3.** Biotransformació de cetones lineals per *R. oryzae*.

CETONA		ALCOHOL	
Estructura química	%	%	Configuració
 <b>103</b>	nd	nd	-
 <b>104</b>	61%	9%	ee <sub>S</sub> :64%
 <b>105</b>	20%	13%	ee <sub>R</sub> :66%
 <b>106</b>	nd	32%	nr
 <b>107</b>	nd	25%	-
 <b>108</b>	nd	nd	-
 <b>109</b>	nd	20%	nr
 <b>110</b>	nd	nd	-
 <b>111</b>	nd	2%	nr

nd: no detectat/da; nr: no resolta.

A la literatura es poden trobar diferents estudis referents a la reducció enzimàtica de cetones alifàtiques. Així, *resting-cells* de *Geotrichum candidum* van reduir diferents cetones alifàtiques des de la 2-butanona fins la 2-

undecanona amb elevat rendiment, entre 73% i el 96%, i elevada enantioselectivitat amb formació en tots els casos de l'enantiòmer *S*. Al tractar-se de *resting-cells* es va necessitar l'addició del cofactor necessari per dur a terme la biotransformació, el NAD<sup>+</sup>, i un regenerador d'aquest cofactor, el 2-propanol<sup>72,73</sup>. L'alcohol deshidrogenasa de *Thermoanaerobium brockii* (TBADH) va mostrar un comportament similar a *R. oryzae* per la 2-pentanona, ja que aquesta la va reduir al seu corresponent *S*-alcohol amb un *ee* de 79%, però comportament oposat per la 2-hexanona ja que *T. brockii* la va reduir al *S*-2-hexanol<sup>74</sup>. Els enzims de les arrels de la planta *Daucus carota*, pastanaga, van reduir la 2-pentanona i la 2-hexanona al seu corresponent *S*-alcohol amb un rendiment del 50% i un *ee* de 82 i 90 respectivament<sup>75</sup>. El *S*-2-pentanol és un intermediari quiral clau en la síntesi de medicaments anti-alzheimer<sup>76</sup>. En la literatura no s'han trobat cap altres cèl·lules en creixement que redueixin la 2-hexanona preferentment cap al *R*-2-hexanol, no seguint *R. oryzae* la regla Prelog.

Encara que l'activitat biològica de les molècules va lligada a una de les seves formes òpticament pures, s'ha de tenir en compte que molts 2-alcanols estan presents en diversos sistemes naturals com a mesclades d'enantiòmers, i no com a enantiòmers purs, com per exemple en fruites com la banana, el fruit de la passió i en el panís. Aquests 2-alcanols són responsables de l'aroma i la proporció de cada enantiòmer depèn de la longitud de la cadena dels alcohols. Així per exemple, el 2-pentanol present al fruit de la passió té una proporció del 33% de l'enantiòmer *R* i un 67% del *S*<sup>77</sup>.


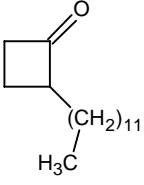
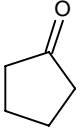
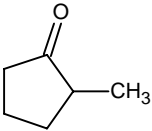
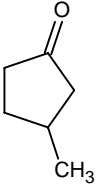
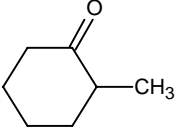
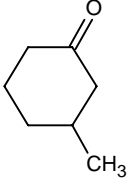
### 3.2.2. BIOTRANSFORMACIÓ DE CETONES CÍCLIQUES PER *R. oryzae*

La **Taula 4** mostra els resultats obtinguts de la biotransformació de diferents cetones cícliques comercials. La soca fúngica va metabolitzar completament la ciclobutanona (**112**) i part de la dodecilciclobutanona (**113**) però no es va poder detectar cap producte d'oxidoreducció d'aquestes.

El fong va metabolitzar completament la ciclopentanona (**114**), però va reduir lleugerament les ciclopentanones substituïdes al seu corresponent alcohol. Encara que el rendiment va ser baix, l'excés diastereoisomèric (*de*) va ser elevat. *R. oryzae* va reduir la 2-metilciclopentanona (**115**) al 2-metilciclopentanol en un 26% i amb un  $de_{trans}$  del 92% i va reduir la 3-metilciclopentanona (**116**) en un 20% amb un  $de_{trans} > 99\%$ , quedant en aquest cas la meitat de la ciclopentanona sense transformar.

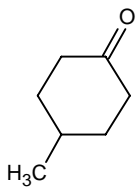
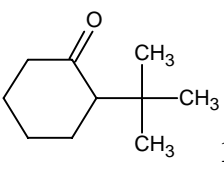
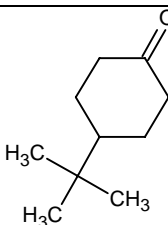
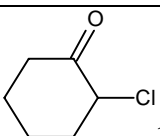
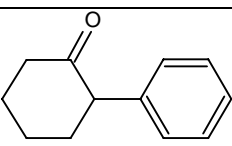
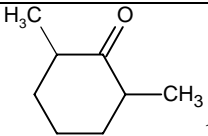
L'estereoselectivitat aconseguida amb la biotransformació de les metilciclopentanones per les cèl·lules en creixement de *R. oryzae* és major que l'obtinguda amb els mètodes químics tradicionals, reducció amb hidrur d'alumini de liti, borohidrur de sodi, sodi metàl·lic o metalls d'alquil en dissolvents orgànics, amb els quals s'obté un 90% de l'isòmer *trans* en el millor dels casos<sup>78,79</sup>.

**Taula 4.** Biotransformació de cetones cícliques per *R. oryzae*

CETONA		ALCOHOL	
Estructura química	% / Configuració	%	Configuració
 <b>112</b>	nd	nd	-
 <b>113</b>	49%	nd	-
 <b>114</b>	nd (<0.03)	nd	-
 <b>115</b>	4%	13%	$de_{trans} = 92\%$
 <b>116</b>	55%	18%	$de_{trans} > 99\%$
 <b>117</b>	nd	44%	$de:0$
 <b>118</b>	24% / $ee_s > 99\%$	81%	$de_{cis}: 77\%$

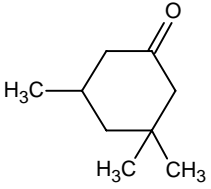
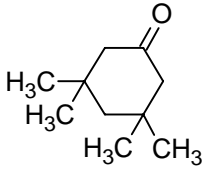
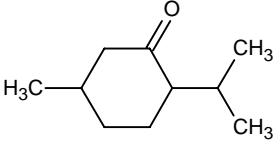
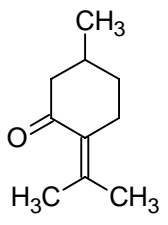
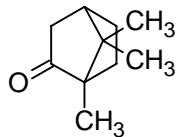
nd: no detectat/da

Taula 4 (cont.)

CETONA		ALCOHOL	
Estructura química	% / Configuració	%	Configuració
 <b>119</b>	21%	82%	<i>de<sub>cis</sub></i> :50%
 <b>120</b>	35%	nd	-
 <b>121</b>	nd	5%	-
 <b>122</b>	nd	70%	nd
 <b>123</b>	25%	75%	nr
 <b>124</b>	18% / [ <i>de<sub>cis</sub></i> : 80% (cetona inicial <i>de<sub>cis</sub></i> :50%)]	10%	nr

nd: no detectat/da; nr: no resolta

Taula 4 (cont.).

CETONA		ALCOHOL	
Estructura química	%	%	Configuració
 <p><b>125</b></p>	26%	8%	<i>de<sub>trans</sub></i> : 13%
 <p><b>126</b></p>	25%	13%	nr
 <p><b>127</b></p>	2%	25% ni	-
 <p><b>128</b></p>	10%	10% ni	-
 <p><b>129</b></p>	10%	nd	-

nd: no detectat/da; nr: no resolta; ni: no identificat.

Pel que fa a les ciclohexanones, les cèl·lules en creixement de *R. oryzae* van reduir moderadament les metilciclohexanones. La 2-metilciclohexanona (**117**) va ser reduïda en un 44% al corresponent 2-metilciclohexanol però no va mostrar estereoselectivitat. En canvi, *R. oryzae* va mostrar estereoselectivitat en la reducció de la 3-metilciclohexanona (**118**), la qual va ser reduïda al seu

corresponent 3-metilciclohexanol amb un rendiment del 81% i un  $de_{cis}$  del 77%. A més la cetona que va quedar sense transformar, un 24%, va presentar un  $ee_s > 99\%$ . La 4-metilciclohexanona (**119**) va ser també reduïda al 4-metilciclohexanol amb preferència pel diastereoisòmer *cis*,  $de_{cis} = 50\%$ , amb un rendiment del 82%. Totes les metilciclohexanones van ser transformades preferentment al seu corresponent *cis*-alcohol, configuració més inestable termodinàmicament per al 2 i 4-metilciclohexanol i la més estable per al 3-metilciclohexanol<sup>79</sup>. En aquest cas *R. oryzae* va presentar un comportament similar a les cèl·lules en creixement de *Glomerella cingulata*, les quals van reduir la 2 i 3-metilciclohexanona preferentment a l'isòmer *cis*, però va presentar un comportament oposat per la 4-metilciclohexanona ja que *G. cingulata* mostrarà preferència per l'isòmer *trans*<sup>80</sup>. Els fongs de la antracnòs, espècies de *Colletotrichum*, van mostrar també un comportament oposat a *R. oryzae* en la reducció de la 4-metilciclohexanona mostrant preferència per l'isòmer *trans*<sup>81</sup>.

La ciclohexanona amb un substituent *t*-butil en la posició 2 (**120**) va ser metabolitzada totalment i la ciclohexanona amb un grup *t*-butil en la posició 4 (**121**) va ser també metabolitzada quasi en la seva totalitat, encara que en aquest cas hi va haver la formació d'un 5% del corresponent alcohol.

La 2-clorohexanona (**122**) va ser transformada al corresponent 2-clorociclohexanol amb un rendiment del 70%, però no es va detectar estereoselectivitat. La 2-fenilciclohexanona (**123**) va ser també reduïda al seu corresponent alcohol en un 75%. En aquest cas no es va aconseguir determinar l'estereoselectivitat de la reacció.

Les ciclohexanones amb més d'un metil com a substituents, **124**, **125**, **126** van ser reduïdes lleugerament, al voltant del 10%, sense aconseguir determinar tampoc l'estereoselectivitat. La 2,6-dimetilciclohexanona va ser reduïda al seu corresponent 2,6-dimetilciclohexanol en un 10%. Encara que la seva estereoselectivitat està encara sense determinar, la 2,6-dimetilciclohexanona (**124**) sense biotransformar va passar d'un  $de_{cis}$  del 50% a un  $de_{cis}$  del 80% indicant que probablement el fong va reduir només la *trans*-2,6-dimetilciclohexanona, comportament que ja havia demostrat tenir *G. cingulata*, que va reduir la cetona *trans*-**124** i no va reduir la *cis*-**124**<sup>82</sup>.

La mentona (**127**) i la pulegona (**128**) van ser transformades lleugerament a productes que no varen poder ser identificats, però que no es tractaven del corresponent alcohol.

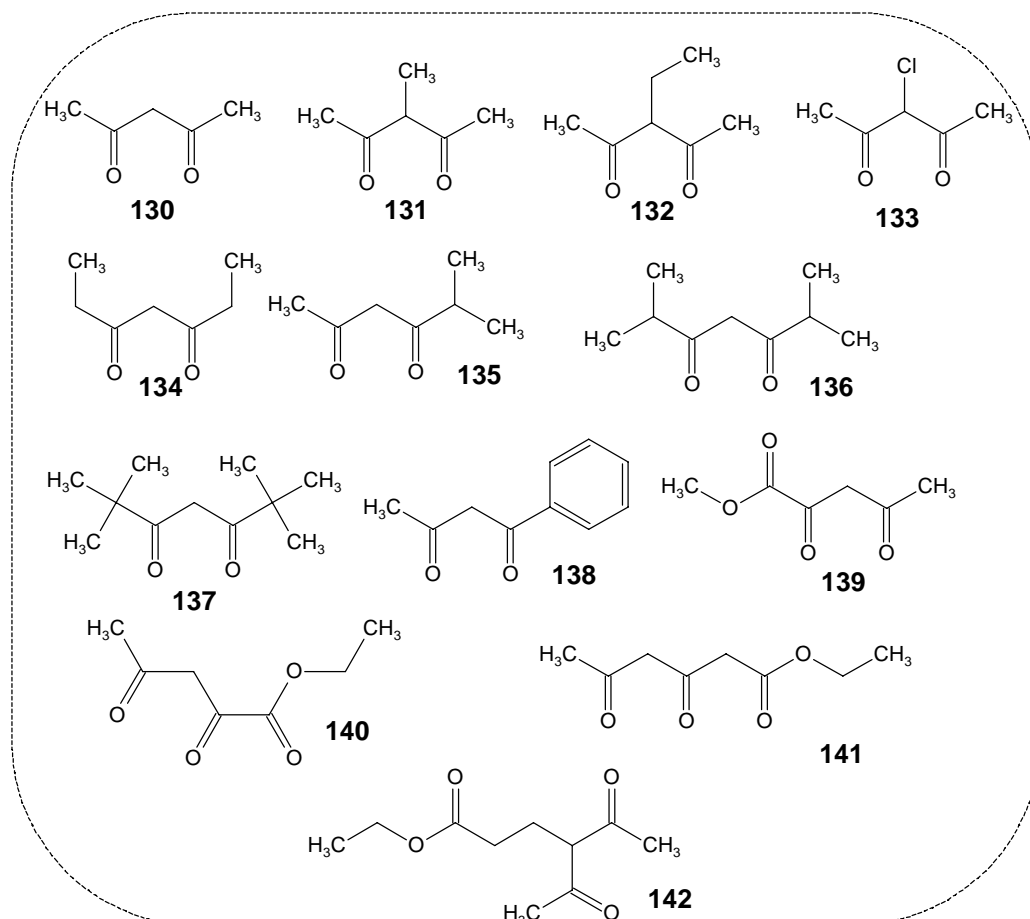
La càmfora (**129**) va ser metabolitzada en un alt percentatge pel fong sense la formació de cap producte definit.

### **3.2.3. BIOTRANSFORMACIÓ DE DIONES PER *R. oryzae***

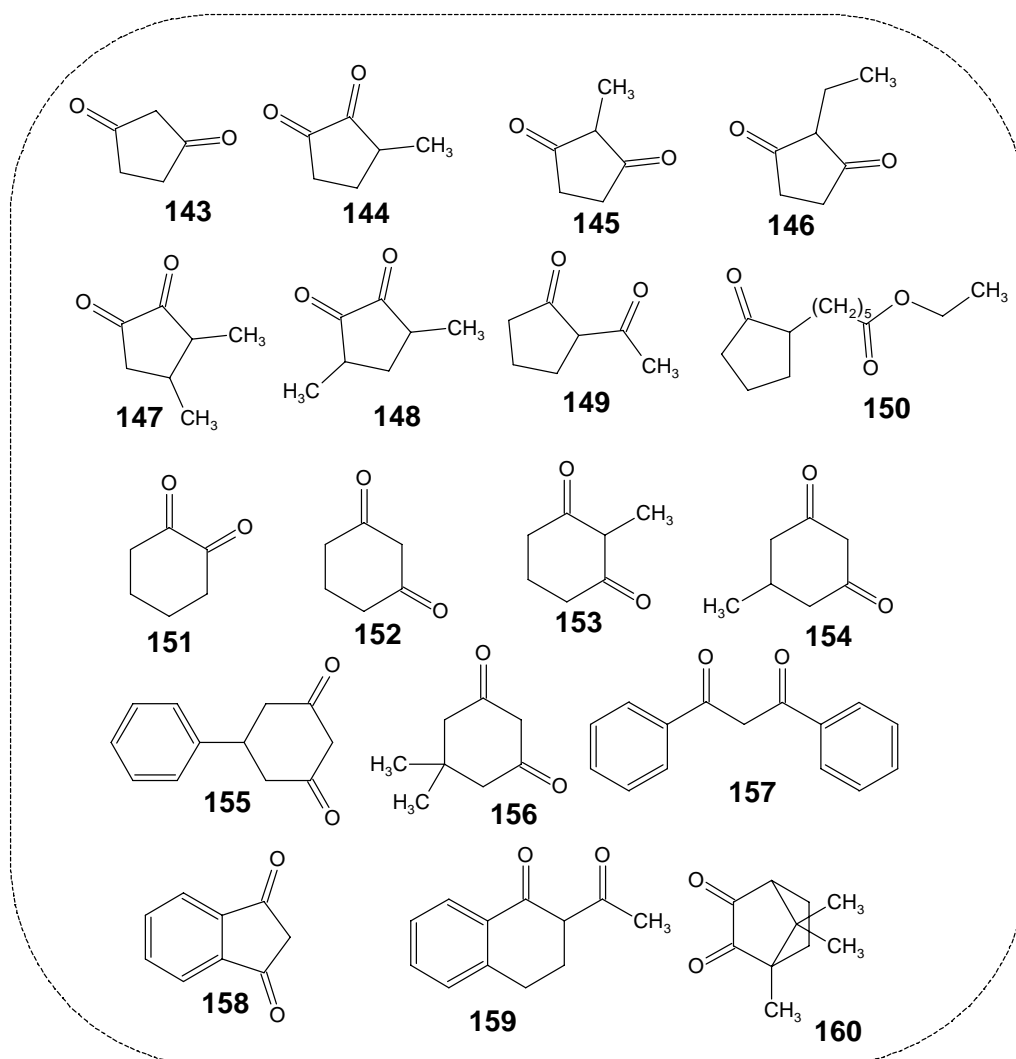
A continuació es va voler estudiar el comportament de les cèl·lules en creixement de *R. oryzae* davant diferents diones comercials. Les **figures 8 i 9** mostren les diferents diones lineals i cícliques estudiades. Totes les diones lineals estudiades van ser 1,3-diones i algunes d'elles contenen un grup èster. Les diones cícliques estudiades van ser totes d'anell de 5 o 6 carbonis diferentment substituïdes. El seguiment de la biotransformació es va realitzar per CG-MS i en els casos en els que es va detectar formació de producte i que no disposaven de patrons comercials dels corresponents diols ni hidroxiketones es va repetir la biotransformació sense el patró intern, l'octadecà, i es van



realitzar espectres de RMN de  $^1\text{H}$  i de FTIR i en alguns casos un DEPT i gCOSY de cada mostra per tal de fer una primera aproximació a l'estructura del producte format.



**Figura 8.** Diones lineals estudiades amb les cèl·lules en creixement de *R. oryzae*.



**Figura 9.** Diones cícliques estudiades amb les cèl·lules en creixement de *R. oryzae*.

Les cèl·lules en creixement de *R. oryzae* van metabolitzar totes les diones estudiades, però en pocs casos es va observar la formació de productes definits. Aquests casos corresponen a la 2,6-dimetil-3,5-heptandiona (**136**), l'1-benzoilacetona (**138**), l'1,2-ciclohexandiona (**151**), la 2-acetil-1-tetralona (**159**) i la camforquinona (**160**). En la majoria d'aquests casos no es disposava dels corresponents patrons dels diols ni hidroxicetones. No obstant, segons l'espectre

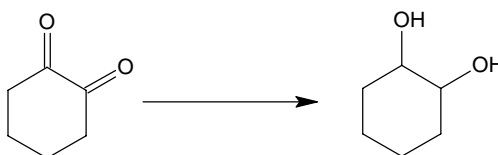
de masses, d'IR i de RMN de  $^1\text{H}$  i DEPT, sembla poder-se concloure que probablement per totes elles s'hagin format les corresponents hidroxiketones.

L'únic producte identificat totalment va ser el de la biotransformació de l'1,2-ciclohexandiona (**151**) a l'1,2-ciclohexandiol (**9**), ja que era l'únic del que disposàvem de patró comercial.

Tot seguit es procedeix a descriure breument les evidències que es tenen de cada un d'aquests productes de biotransformació de les corresponents dicetones indicades.

### 3.2.3.1. CAS DE LA 1,2-CICLOHEXANDIONA

Les cèl·lules en creixement de *R. oryzae* van transformar l'1,2-ciclohexandiona al seu corresponent 1,2-ciclohexandiol (**Figura 10**) amb un rendiment del 10% i un  $de_{trans}$  de 79%.



**Figura 10.** Biotransformació de l'1,2-ciclohexandiona per *R. oryzae*.

La reducció de l'1,2-ciclohexandiona amb microorganismes representa una alternativa a la reducció química la qual implica agents reductors químics, dissolvents com el toluè i altes temperatures<sup>83</sup>.

De totes maneres el nostre sistema no va aconseguir millorar els resultats que es varen obtenir amb *Proteus mirabilis*, aquest microorganisme va reduir també aquesta cetona al corresponent *trans*-diol de forma estereoselectiva amb un  $ee_S > 96\%$  i un rendiment del 87%<sup>84</sup>.

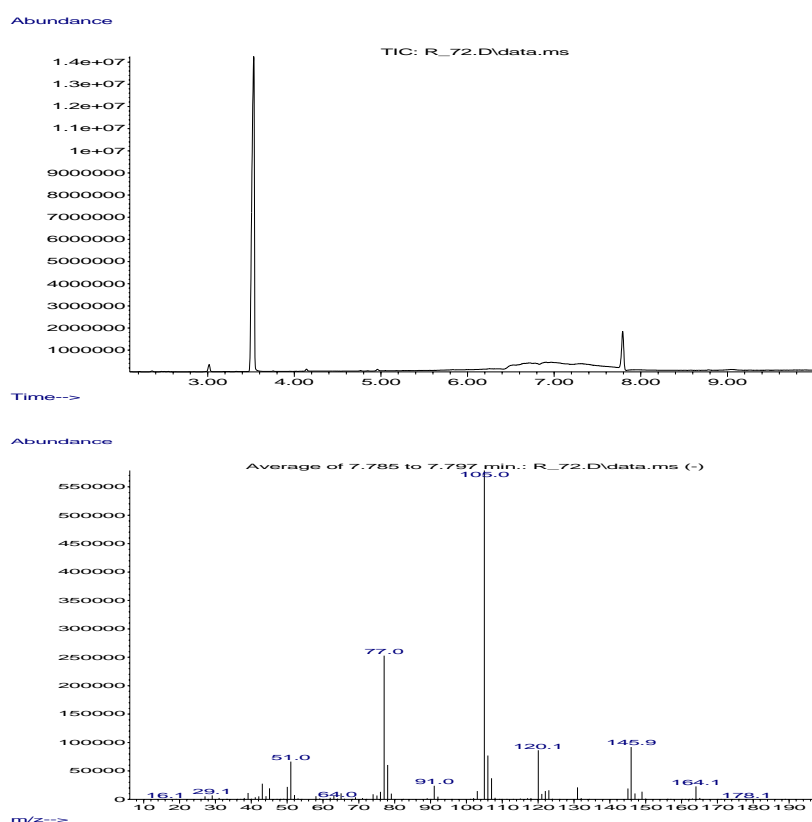
### 3.2.3.2. CAS DE LA BENZOILACETONA

El producte obtingut més probable de la biotransformació de la cetona **138** és la 3-hidroxi-1-fenil-1-pentandiona (**Figura 11**). La **Figura 12** mostra el cromatograma i l'espectre de masses del producte obtingut (TR de 7,79 min), on veiem un fragment a 164,1 uma, que correspon al PM de la hidroxicetona.



**Figura 11.** Biotransformació de la benzoil acetona per *R. oryzae*.

Si comparem les **figures 13 i 14**, corresponents als espectres de RMN de <sup>1</sup>H i de FTIR del blanc de la reacció (productes extrets del medi de cultiu on va créixer el fong sense l'addició de cap cetona) amb l'espectre de RMN de <sup>1</sup>H i FTIR, **figures 15 i 18**, quan es va addicionar la cetona **138**, es dedueix que el producte més probable és una de les hidroxicetones, concretament la 3-hidroxi-1-fenil-1-pentandiona. En l'espectre de FTIR (**Figura 18**) es veu un senyal corresponent a un grup hidroxil, senyal ample entre 3500-3100 cm<sup>-1</sup>. El senyal agut i intens corresponent al grup carbonil quedaria probablement, emmascarat pel senyal a 1677 cm<sup>-1</sup> dels productes d'extracció del medi de cultiu. L'experiment de correlació <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H realitzat, gCOSY (**Figura 16**), i l'experiment DEPT (**Figura 17**), on es veuen els carbonis protonats, també confirmen que el producte més probable és aquesta hidroxicetona.



**Figura 12.** Cromatograma i espectre de masses del producte de la biotransformació de la benzoilacetona per *R. oryzae*. El pic cromatogràfic de TR de 3,55 min. correspon al patró intern, l'octadecà.

Les 1,3-hidroxicetones quirals són valuosos intermediaris per a un ampli ventall d'aplicacions en la preparació de productes naturals<sup>85-87</sup>, com medicaments i feromones entre altres<sup>88</sup>. Aquesta hidroxicetona té una àmplia aplicació en la preparació de productes naturals com antibiòtics i feromones<sup>89</sup>. Carballeira i col. van aïllar una soca fúngica de *Diplogelatinospora grovesii* que va reduir la benzoilacetona a la corresponent (2*S*)-hidroxipropiofenona amb un rendiment moderat i un *ee* del 85%<sup>90</sup>.

Acquisition Time (sec)	1.9980	Date	Jul 18 2005	Date Stamp	Jul 18 2005	File Name	E:\AUTO_2005_07\18\ROBOT\BLANC_01		
Frequency (MHz)	400.09	Nucleus	<sup>1</sup> H	Number of Transients	8	Original Points Count	12791	Points Count	16394
Pulse Sequence	s2pul	Receiver Gain	30.00	Solvent	CHLOROFORM-d	Spectrum Offset (Hz)	23605210		
Sweep Width (Hz)	6402.05	Temperature (degree C)	29.000						

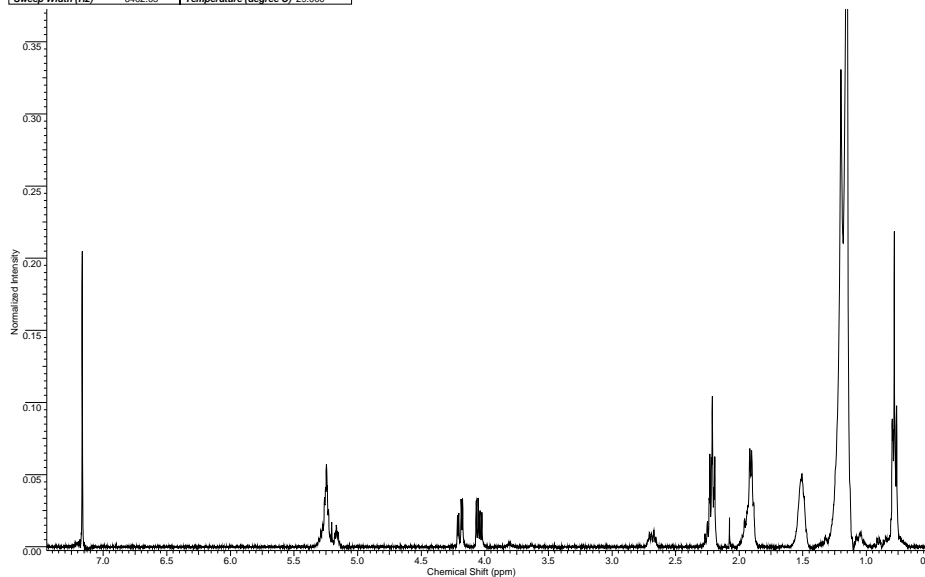


Figura 13. Espectre de RMN de <sup>1</sup>H del BLANC de reacció.

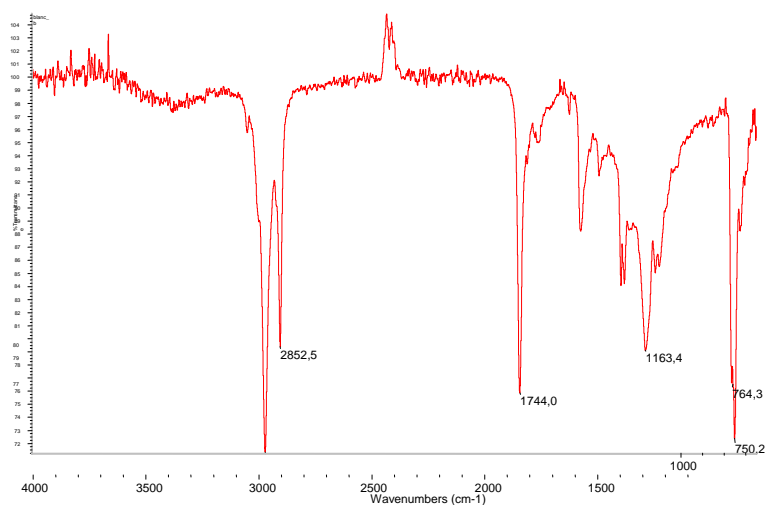
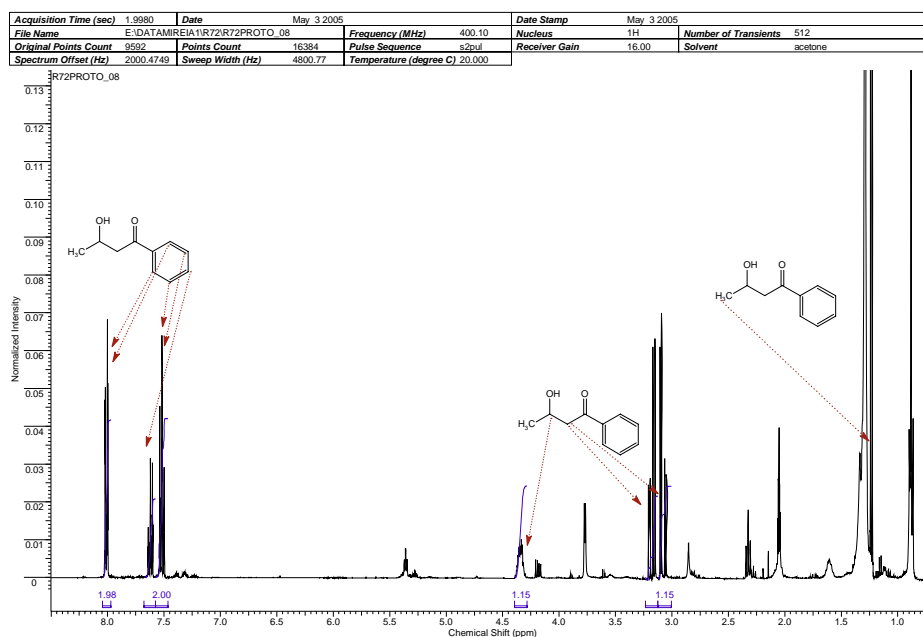
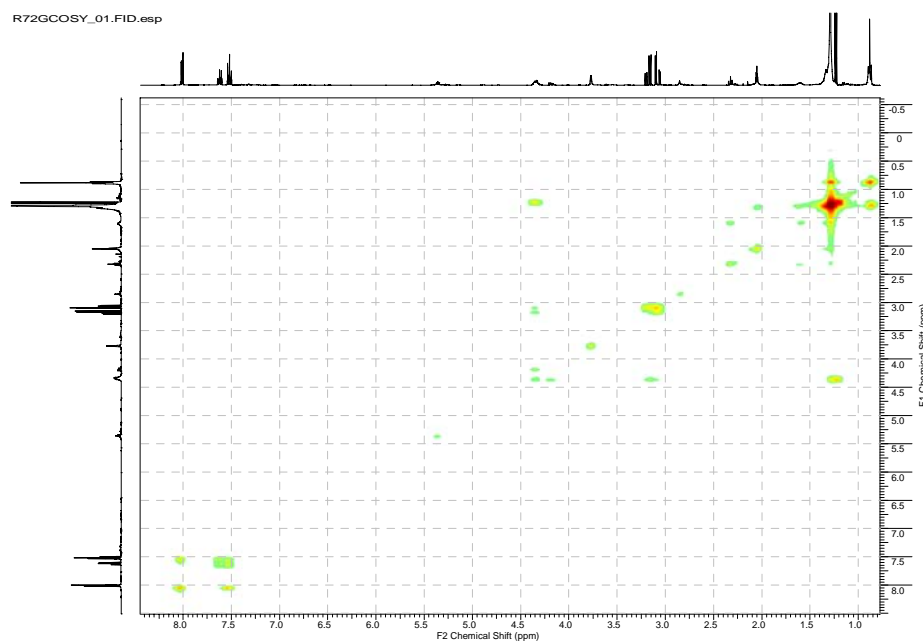


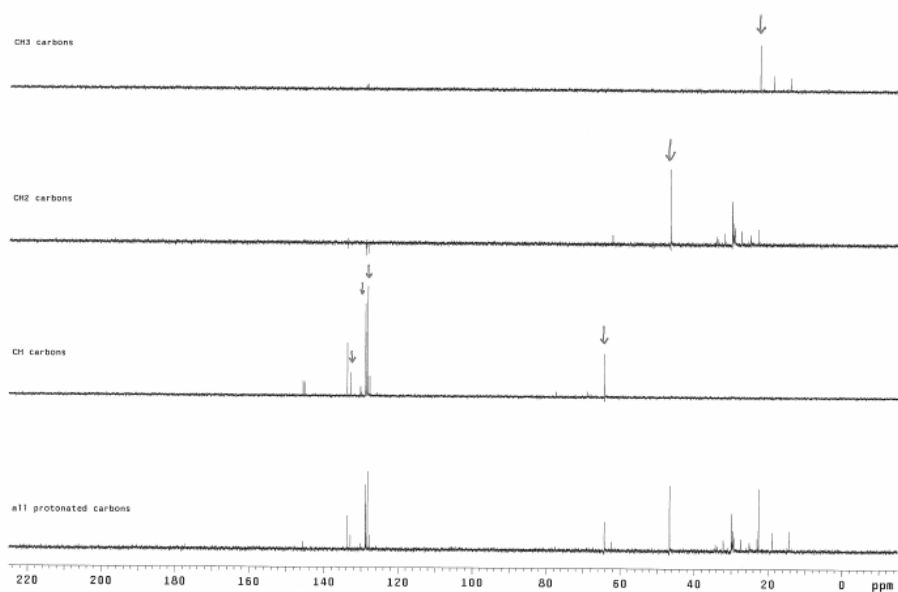
Figura 14. Espectre FTIR del BLANC de reacció.



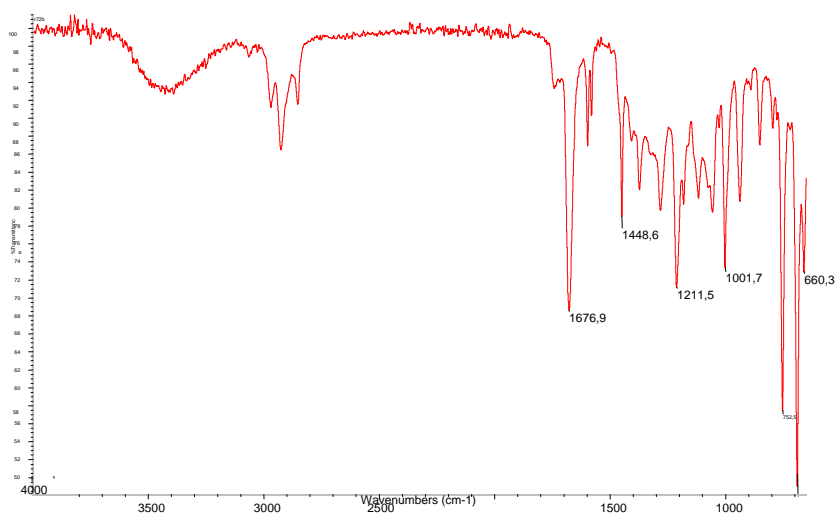
**Figura 15.** Espectre de RMN de  $^1\text{H}$  del producte de la biotransformació de la benzoiacetona per *R. oryzae*.



**Figura 16.** Espectre de RMN gCOSY de la biotransformació de la benzoiacetona per *R. oryzae*.



**Figura 17.** Espectre DEPT del producte de la biotransformació de la benzoiacetona per *R. oryzae*.

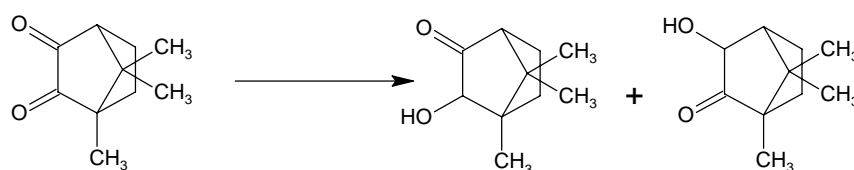


**Figura 18.** Espectre de FTIR del producte de la biotransformació de la benzoiacetona per *R. oryzae*.



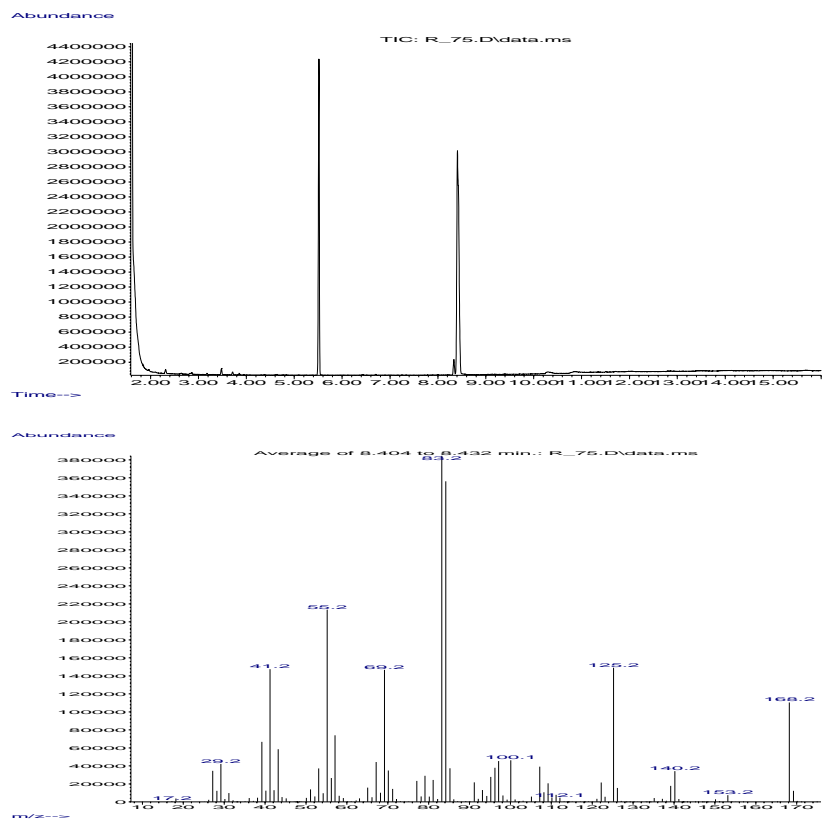
### 3.2.3.3. CAS DE LA CAMFORQUINONA

El producte obtingut més probable de la biotransformació de la camforquinona (**160**) per *R. oryzae* és una mescla de les dos possibles hidroxiketones, amb més proporció de la hidroxiketona amb el grup hidroxil en posició 3, resultat de la reducció del grup carbonílic més proper al grup metil (**Figura 19**).

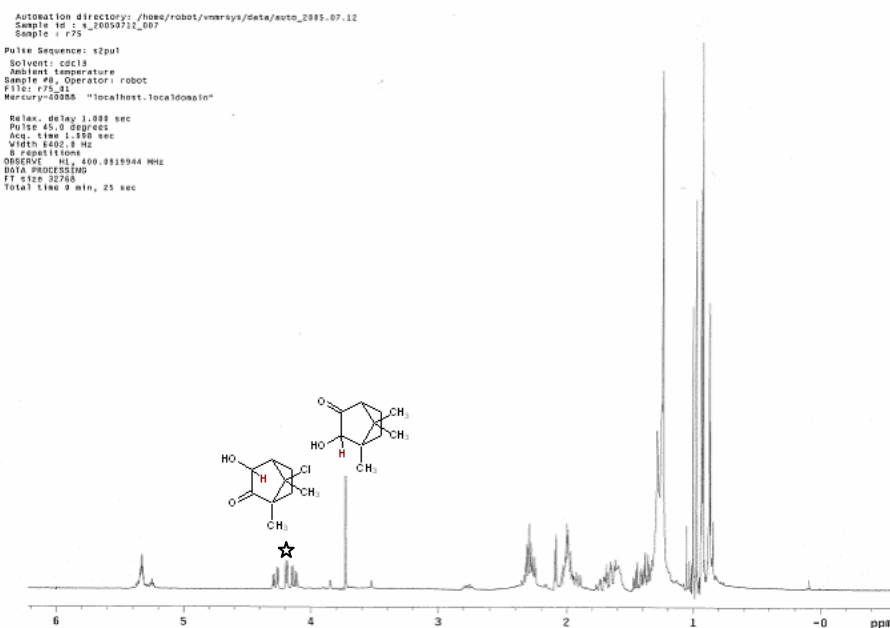


**Figura 19.** Biotransformació de la camforquinona per *R. oryzae*.

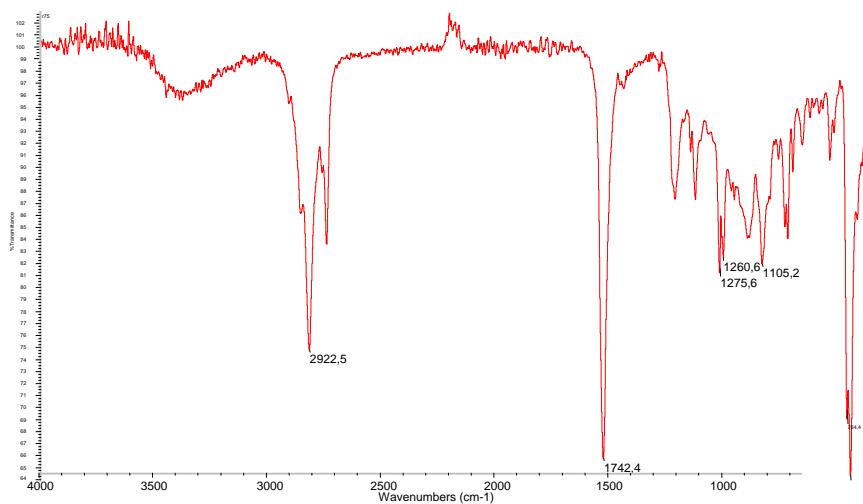
A la **Figura 20** podem veure el cromatograma i l'espectre de masses del producte obtingut, on veiem un fragment a 168,2 uma, que correspon al PM de la hidroxiketona en ambdós casos. Pel que fa a l'espectre de RMN de  $^1\text{H}$  (**Figura 21**) aquest també indica la presència de les dos hidroxiketones, i mostra quina de les dues hidroxiketones es troba en més alta proporció. Per últim l'espectre FTIR (**Figura 22**) mostra un senyal corresponent a un grup hidroxil, senyal ample i intens entre  $3500\text{-}3100\text{ cm}^{-1}$ . No obstant, el senyal agut i intens corresponent al grup carbonil quedaria probablement emmascarat pel senyal dels productes extrets de medi de reacció a  $1742\text{ cm}^{-1}$



**Figura 20.** Cromatograma i espectre de masses del producte de la biotransformació de la camforquinona per *R. oryzae*. El pic cromatogràfic de TR de 5,50 min. correspon al patró intern, l'octadecà.



**Figura 21.** Espectre de RMN de  $^1\text{H}$  de la biotransformació de la camforquinona per *R. oryzae*.



**Figura 22.** Espectre de FTIR de la biotransformació de la camforquinona per *R. oryzae*.

Les  $\alpha$ -hidroxicetones quirals són intermediaris importants per a la síntesi de productes naturals òpticament actius. Encara que s'han descrit varies reduccions biocatalítiques de cetones<sup>14</sup>, poques han estat descrites per a la reducció de la camforquinona amb biocatalitzadors, com les dutes a terme pel llevat del pà<sup>91-93</sup>, la biotransformació de la (+)-camforquinona per *Absidia orchidis* per l'obtenció del (-)-3*S*-exo-hidroxicamfor com a principal producte<sup>94</sup>, la biotransformació per part de *G. cingulata* per a l'obtenció del (-)-3*S*-exo-hidroxicamfor amb un 70% de rendiment, i la biotransformació de la (-)-camforquinona per *Aspergillus niger* per a l'obtenció de (+)-2*R*-endo-hidroxiopicamfor en un 80%<sup>95</sup>. La biotransformació de la camforquinona per cèl·lules vegetals de *Nicotiana tabacum* i *Catharanthus roseus* va a donar lloc al (-)-3*S*-exo-hidroxicamfor en un 66%<sup>96</sup>.

Recentment Utsukihara i col. han descrit la reducció d'algunes diones com la camforquinona i l'1,2-ciclohexandiona per vegetals com la pastanaga, patata i poma entre altres. Les reductases d'aquests vegetals han reduït aquestes diones a la corresponent hidroxicetona i diol amb rendiment moderat i també moderada estereoselectivitat<sup>97</sup>.

#### **3.2.3.4. CAS DE LA 2-ACETIL-1-TETRALONA**

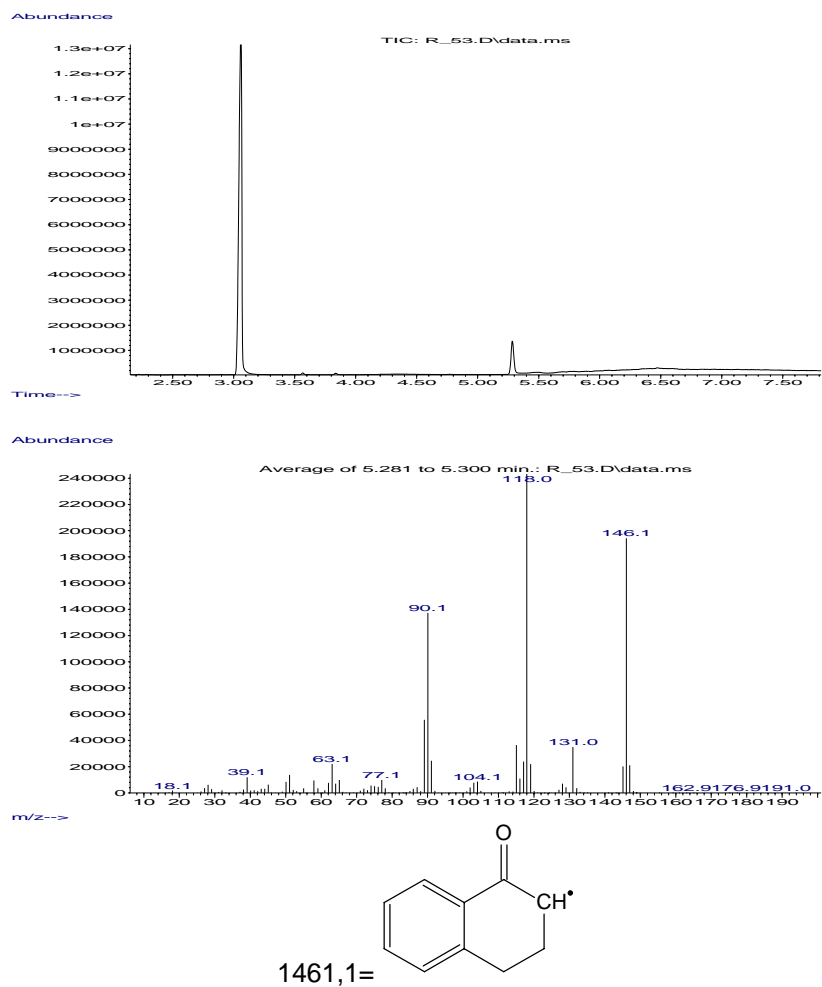
El producte obtingut més probable de la biotransformació de la cetona **159** és la corresponent hidroxicetona (**Figura 26**). La **Figura 27** mostra el cromatograma i l'espectre de masses del producte obtingut (TR de 3,10 min.). En aquest cas no ha aparegut el fragment corresponent al PM del producte, però el fragment a 146,1 una pot correspondre a un fragment d'aquesta hidroxicetona (**Figura 27**).



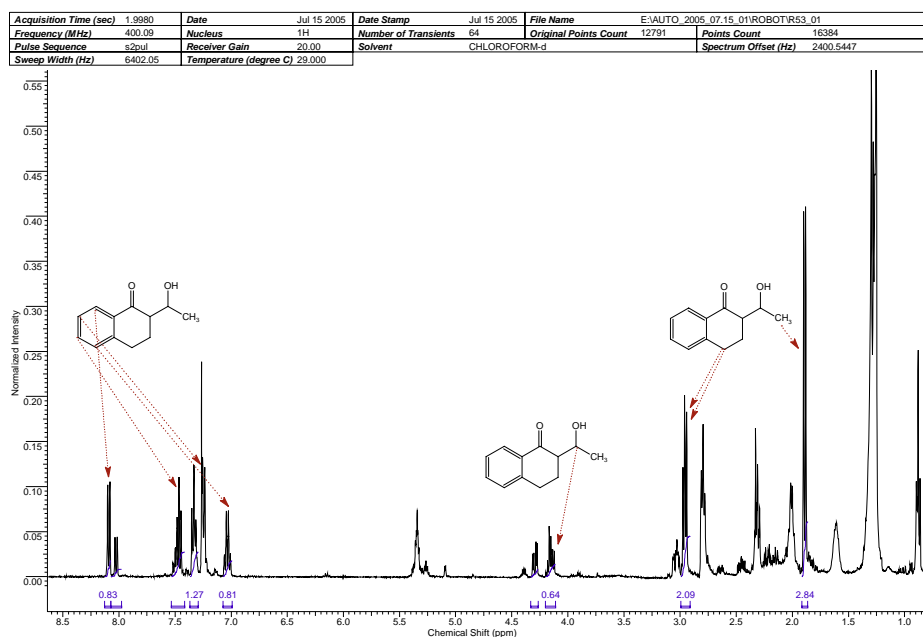
**Figura 26.** Biotransformació de la 2-acetil-1-tetralona per *R. oryzae*.

L'espectre de RMN de  $^1\text{H}$ , **Figura 28**, mostra els senyals característics d'aquesta hidroxicetona i l'espectre DEPT també mostra els carbonis protonats corresponents a la hidroxicetona, **Figura 29**. Finalment, l'espectre de FTIR (**Figura 30**) mostra un senyal corresponent a un grup hidroxil, senyal ample i intens entre  $3500\text{-}3100\text{ cm}^{-1}$ , en aquest cas també s'observa un senyal agut i intens corresponent al grup carbonil,  $1676\text{ cm}^{-1}$ .

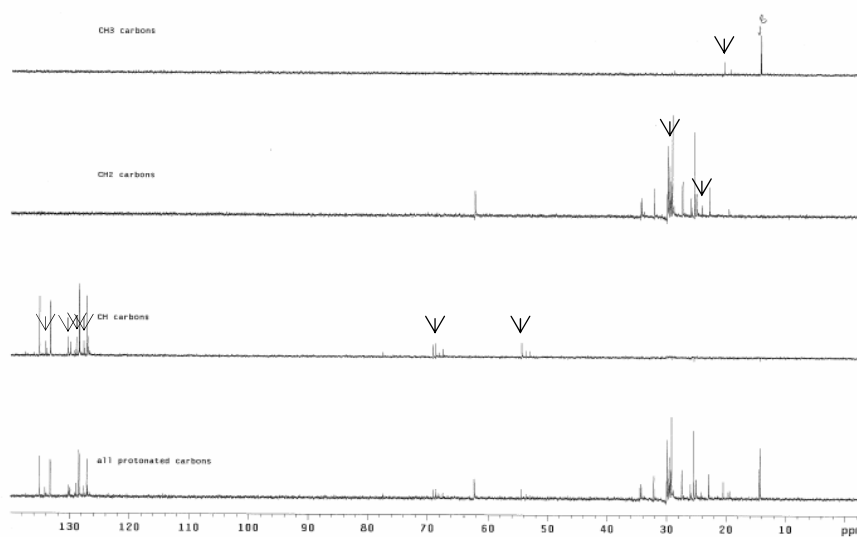
La tetralona és un intermediari útil per a la síntesi d'un medicament per al tractament d'arítmies ventriculars en la prevenció de morts cardíaques sobtades. La cerca de nous microorganismes per a la reducció asimètrica d'aquest tipus de cetona és necessària per tal de trobar nous sistemes més fàcils i econòmics per a la síntesi d'aquest medicament<sup>98</sup>.



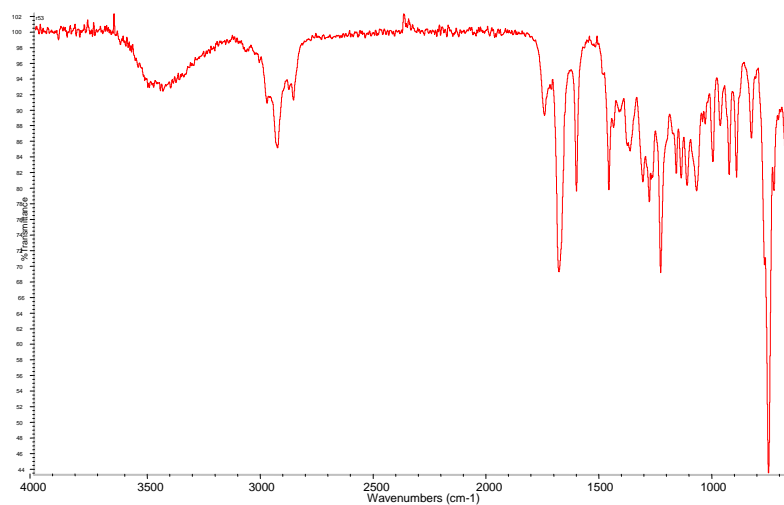
**Figura 27.** Cromatograma i espectre de masses del producte de la biotransformació de la 2-acetil-1-tetralona per *R. oryzae*. El pic cromatogràfic de TR de 3,10 min correspon al patró intern, l'octadecà.



**Figura 28.** Espectre de RMN de <sup>1</sup>H de la biotransformació de la 2-acetil-1-tetralona per *R. oryzae*.



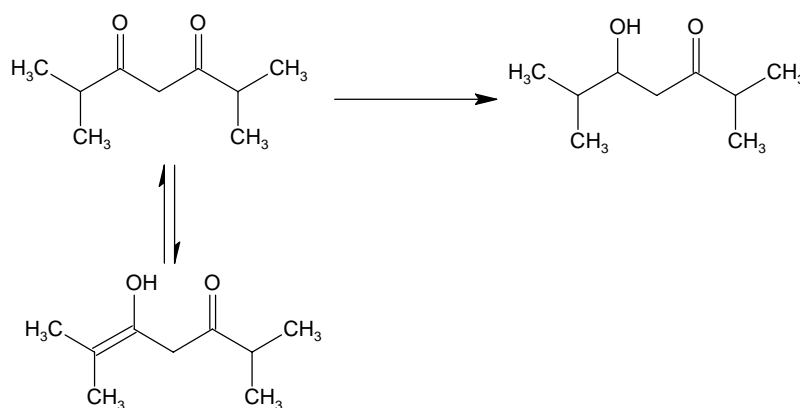
**Figura 29.** Espectre DEPT del producte de la biotransformació de 2-acetil-1-tetralona per *R. oryzae*.



**Figura 30.** Espectre de FTIR del producte de la biotransformació de la 2-acetil-1-tetralona per *R. oryzae*.

### 3.2.3.5. CAS DE LA 2,6-DIMETIL-3,5-HEPTANDIONA

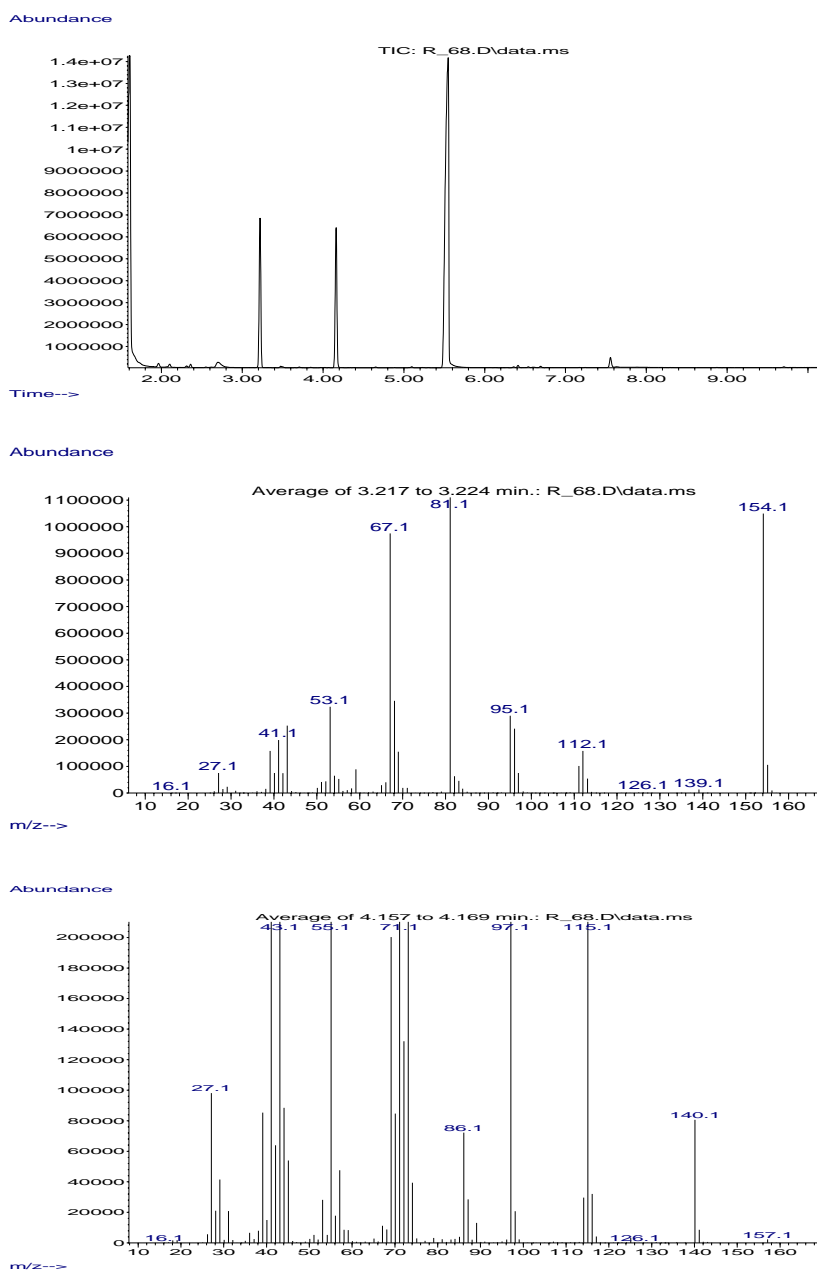
Un dels productes obtinguts més probables de la biotransformació de la cetona **136** és la corresponent hidroxiketona (**Figura 31**).



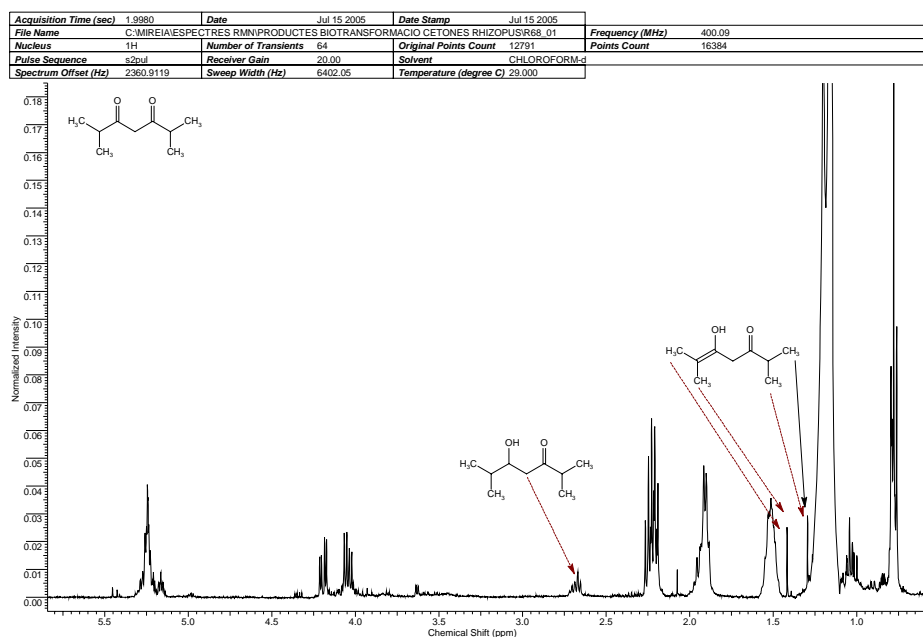
**Figura 31.** Biotransformació de la 2,6-dimetil-3,5-heptandiona per *R. oryzae*.



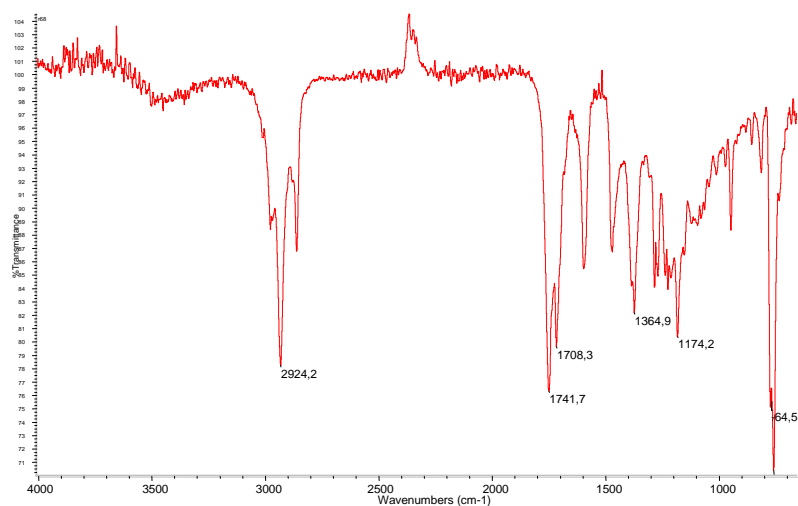
Aquest producte té un TR en la columna DB-Wax i en les condicions cromatogràfiques emprades de 4,18 min. En aquest cas hi va haver l'aparició d'un altre producte, probablement el 2,6-dimetil-5-hidroxi-3-oxo-5-heptè, amb un TR de 3,22 min, tautòmer de la diona. La **Figura 32** mostra el cromatograma i l'espectre de masses dels productes obtinguts. A l'espectre de RMN de  $^1\text{H}$ , **Figura 33**, es poden veure els senyals dels grups metil del 2,6-dimetil-5-hidroxi-3-oxo-5-heptè i el senyal del  $-\text{CH}_2-$  entre el grup oxo i el doble enllaç de la hidroxiketona insaturada. Finalment, l'espectre de FTIR (**Figura 34**) mostra un senyal corresponent a un grup hidroxil, senyal ample i intens entre  $3500\text{-}3100\text{ cm}^{-1}$ , un senyal agut i intens corresponent al grup carbonil,  $1708\text{ cm}^{-1}$  i dos senyals intensos,  $960$  i  $1600\text{ cm}^{-1}$ , que es poden assignar a l'alquè.



**Figura 32.** Espectre de masses dels productes de la biotransformació de la 2,6-dimetil-3,5-heptandiona per *R. oryzae*.



**Figura 33.** Espectre de RMN de <sup>1</sup>H de la biotransformació de la 2,6-dimetil-3,5-heptandiona amb *R. oryzae*.



**Figura 34.** Espectre FTIR de la biotransformació de la 2,6-dimetil-3,5-heptandiona amb *R. oryzae*.

Així doncs, la cerca de noves reductases amb diferents estereopreferències és molt interessant. Encara que el rendiment i estereoselectivitat de les cèl·lules en creixement de *R. oryzae* enfront diones resta encara per determinar, *R. oryzae* és un potencial biocatalitzador en la reducció de diones de forma estereoselectiva.

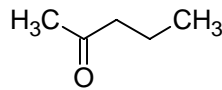
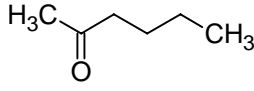
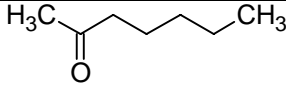
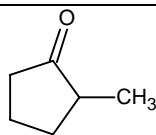
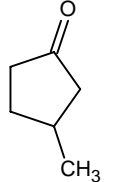
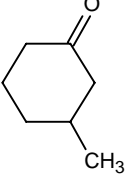
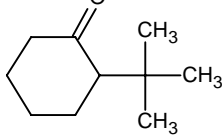
### **3.3. COMPORTAMENT D'*E. nigrum* ENFRONT DIFERENTS CETONES COMERCIALS**

La **Taula 5** mostra els resultats de les biotransformacions dutes a terme per les cèl·lules en creixement d'*E. nigrum*. Es van triar algunes de les cetones estudiades amb les cèl·lules en creixement de *R. oryzae* per veure el comportament d'aquesta soca fúngica davant d'aquestes cetones comercials.

Pel que fa a les cetones lineals estudiades, *E. nigrum*, encara que va metabolitzar amb major proporció les cetones **104** i **105**, va donar un rendiment similar del corresponent alcohol, en aquest cas del 7% i 20% respectivament. L'enantiopreferència va ser la mateixa, *S* pel 2-pentanol i *R* pel 2-hexanol. No obstant, l'*ee* d'aquests alcohols era una mica més baix pel *S*-2-pentanol, del 60% (*R. oryzae* 64%), i molt més baix pel *R*-2-hexanol, *ee* del 26% (*R. oryzae* 66%). La cetona **108** va ser metabolitzada completament sense formació de cap producte definit, a l'igual que *R. oryzae*. La 3-metilciclopentanona (**116**) va ser metabolitzada completament sense la formació tampoc de cap producte definit.

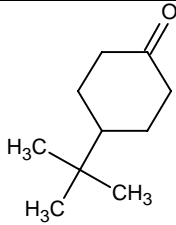
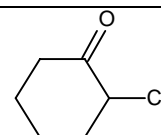
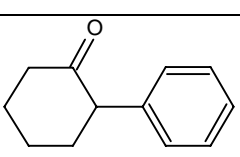
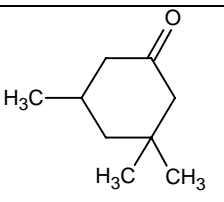
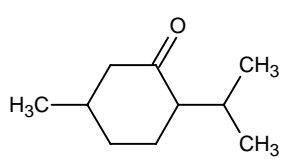
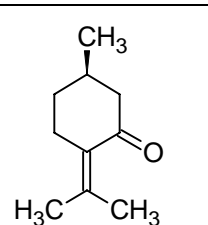
Pel que fa a la 3-metilciclohexanona (**118**), encara que hi va haver un 47% de formació de 3-metilciclohexanol, no es va detectar estereoselectivitat per part d'aquesta soca fúngica, cosa que amb *R. oryzae* es va aconseguir un 81% de rendiment amb un *de<sub>cis</sub>* del 77%.

**Taula 5.** Transformació de cetones comercials per *Epicoccum nigrum*

CETONA		ALCOHOL	
Estructura química	%	%	Configuració
 <b>104</b>	33	7	$ee_S=60\%$
 <b>105</b>	3	20	$ee_R=26\%$
 <b>108</b>	nd	nd	-
 <b>115</b>	77	nd	-
 <b>116</b>	nd	nd	-
 <b>118</b>	28	47	nd
 <b>120</b>	16	nd	-

nd: no detectat/da

Taula 5 (cont.)

CETONA		ALCOHOL	
Estructura química	%	%	Configuració
 <p><b>121</b></p>	52	7	nr
 <p><b>122</b></p>	nd	26	nd
 <p><b>123</b></p>	6	41	nr
 <p><b>125</b></p>	57	6	$de_{trans}=79\%$
 <p><b>127</b></p>	48	nd	-
 <p><b>128</b></p>	10	nd	-

nd: no detectat/da; nr: no resultat

Davant les dues *t*-butilciclohexanones estudiades, *E. nigrum* va presentar un comportament similar per la cetona amb el grup *t*-butil en posició 2 (**120**), és a dir, no hi va haver formació de cap producte i davant la que tenia el grup *t*-butil en posició 4 (**121**) hi va haver un baix percentatge de formació d'alcohol, a l'igual que amb *R. oryzae*, però aquesta vegada va quedar molta més cetona sense transformar.

Enfront la 2-clorociclohexanona (**122**) aquesta soca tampoc va mostrar estereoselectivitat i, encara que també hi va haver formació d'alcohol el rendiment va ser molt més baix, del 26% enfront del 70% que es va produir amb *R. oryzae*. Una comportament similar va presentar davant la cetona **123**, la qual va ser transformada en part al seu corresponent alcohol però ara amb un rendiment molt més inferior, del 41%, quan amb *R. oryzae* va ser del 75%, enantioselectivitat en ambdós casos encara per determinar.

Per la 3,3,5-trimetilciclohexanona (**125**) *E. nigrum* va mostrar el resultat més interessant, ja que en aquest cas hi va haver una petita formació d'alcohol, amb un rendiment del 6% i amb un *de<sub>trans</sub>* del 79%, quan amb *R. oryzae* el *de<sub>trans</sub>* només va ser del 13%.

La mentona (**127**) i la pulegona (**128**) van ser en part metabolitzades per la soca fúngica però sense la formació de cap producte definit.

Si comparem els resultats amb els de *R. oryzae* veiem que en general els rendiments i estereoselectivitats són similars o més baixos en el cas de la soca d'*E. nigrum*. Per exemple amb *R. oryzae* s'obté un *ee* més gran per al *R*-2-hexanol.

L'únic cas amb el que es va aconseguir millors resultats va ser amb la biotransformació de la 3,3,5-trimetilciclohexanona (**125**), que va ser reduïda lleugerament al seu corresponent alcohol amb un *de<sub>trans</sub>* del 79%. Ara bé, els baixos rendiments obtinguts i la no millora en la majoria dels casos estudiats respecte a *R. oryzae ens* va portar a no continuar l'estudi amb *E. nigrum*.



#### 4. CONCLUSIONS

En la cerca de noves oxidoreductases en fongs endòfits no es van trobar soques fúngiques amb una activitat monooxigenasa *Baeyer-Villiger* que es pogués considerar interessant. No obstant, si que es van trobar dues soques fúngiques amb activitat reductasa, una soca de *Rhizopus oryzae* aïllada del fonoll i una soca d'*Epicoccum nigrum* aïllada de *Crataegus monogyna*. Podria ser que aquestes soques si que presentessin activitat d'oxidació B-V, ara bé, com aquesta activitat requereix la forma reduïda del coenzim NAD(P)H, i en els microorganismes s'ha demostrat la presència de deshidrogenases, aquestes són capaces de reduir el substrat competint amb l'oxidació B-V.

Les cèl·lules en creixement de *R. oryzae* van ser capaces de reduir algunes cetones i diones comercials al seu corresponent alcohol i hidroxicetona. A més van poder reduir la 2-hexanona al *R*-2-hexanol, estereopreferència no trobada en la literatura per altres cèl·lules fúngiques en creixement. No obstant, el rendiment de les biotransformacions van ser baixos i les estereoselectivitats moderades segurament degut a la presència d'altres enzims amb enantiopreferència oposada i enzims que van metabolitzar ja bé les cetones o els productes procedents de l'oxidoreducció.

L'altra soca fúngica, *E. nigrum*, va presentar rendiments i estereoselectivitats similars o pitjors davant les diferents cetones estudiades, a excepció de la 3,3,5-trimetilciclohexanona, davant la qual va presentar millor estereoselectivitat que *R. oryzae*.

## **5. MATERIAL I MÈTODES**

### **5.1. MATERIAL**

El *corn steep liquor* (CSL) va ser subministrat per Aldrich. El NaSO<sub>4</sub>, el KCl i l'etanol absolut per Panreac. L'Agar i la glucosa per Prolabo. El MgSO<sub>4</sub> i el FeSO<sub>4</sub> van ser subministrats per Probus.

Totes les cetones, diones, 4-metil-2-pentanol (**6**), 1,2-ciclohexandiol (**9**), 3-hexanol (**10**), 3-metilciclopentanol (**12**), 2-metilciclopentanol (**13**), 3-metilciclohexanol (**14**), 2-*t*-butilciclohexanol (**15**), 4-*t*-butilciclohexanol (**16**), 4-metilciclohexanol (**17**), 2-clorociclohexanol (**18**), 3,3,5-trimetilciclohexanol (**19**), i 1,3-ciclohexandiol (**22**) van ser subministrats per Acros-Organics, Barcelona, España, a excepció de la 3,3,5-trimetilciclohexanona (**125**) i la 5,5-dimetil-1,3-ciclohexandiona (**156**) que van ser subministrades per Fluka Madrid, España. El 2-hexanol (**7**), *S*-2-hexanol (**S-7**), *trans*<sub>*S,S*</sub>-1,2-ciclohexandiol (***trans*<sub>*S,S*</sub>-9**), *trans*<sub>*R,R*</sub> 1,2-ciclohexandiol i el ***trans*<sub>*R,R*</sub>-9** van ser subministrats també per Fluka, Madrid, Espanya. El *cis*-1,2-ciclohexandiol (***cis*-9**) va ser subministrat per Sigma-Aldrich, Madrid, España. El 2-pentanol (**5**) i **S-5** va ser subministrat per Merck, Barcelona, España.

### **5.2. INSTRUMENTACIÓ**

#### **5.2.1. CROMATÒGRAFS DE GASOS**

Cromatògraf de gasos Trace 2000 series (ThermoQuest) GC amb detector FID-40x i software CROM-CRAD for Trace Windows ® 95/NT 4.0 Version 1.00.

Cromatògraf de gasos Hewlett Packard GC System HP 6890 amb detector FID-40x i software ChemStation Plus Rev. A.09.xx 2002.

### **5.2.2. CROMATÒGRAF DE GASOS ACOBLAT A ESPECTÒMETRE DE MASSES**

Cromatògraf de gasos Agilent 6890N acoblat a un detector selectiu de masses 5073 MSD amb una columna capil·lar DB-Wax. Equip controlat per la MSD ChemStation versió D.00.0038. Analitzador tipus quadripol, amb ionització per impacte electrònic (IE) amb un interval de masses de 2 a 800 uma. (unitats de massa atòmica).

### **5.2.3. ANÀLISI D'INFRAROIG AMB TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)**

Els anàlisis amb FTIR es van realitzar en un espectrofotòmetre Magna IR 560 de Nicolet. Software OMNIC 3.1 a. Amplada espectral 4000-400  $\text{cm}^{-1}$ .

### **5.3.3. RESSONÀNCIA MAGNÈTICA NUCLEAR**

L'equip de Ressonància Magnètica Nuclear utilitzat va ser un MERCURYplus AS400 MHz NMR Spectrometer Systems de VARIAN amb una sonda 400 AutoSwitchable 4 Nucleus Probe  $^1\text{H}/^{19}\text{F}/^{13}\text{C}/^{31}\text{P}$ ,  $^1\text{H}/^{19}\text{F}/\{^{15}\text{N}-^{31}\text{P}\}$  PFG, dels Serveis Científic-Tècnics de la Universitat de Lleida.

## **5.4. MEDOLOGIA**

### **5.4.1. AÏLLAMENT DE FONGS ENDÒFITS**

Es van recollir 41 mostres de diferents espècies vegetals del Montsec, Prepirineu de Lleida. Posteriorment, abans de 24 h de la seva recol·lecció, es van rentar les mostres vegetals amb aigua corrent i es van tallar 5 parts de 2-3 cm<sup>2</sup> aproximadament de cada mostra, incloent la flor, fruit, tija i fulla sempre que hi estiguessin presents. Les diferents parts vegetals es van desinfectar en una solució d'hipoclorit sòdic al 0,53% submergint durant 2 min. les diferents parts en la solució d'hipoclorit amb l'ajut d'una gassa estèril. Tot seguit, es van submergir les diferents mostres vegetals durant, 2 min., en una solució d'etanol del 70% i finalment es van esbaldir en aigua estèril. Les mostres es van deixar assecar en un paper de filtre estèril dins una cabina de flux laminar<sup>69</sup>. Una vegada seques es van col·locar en una placa de Petri amb medi PDA (200 ml d'extracte de patata, 20 g de glucosa, 15 g d'agar i 800 ml d'aigua destil·lada a un pH de 5,5±0,2)) i es van incubar a 25°C durant un màxim de dues setmanes. Els fongs que van créixer es van anar aïllant en plaques amb medi PDA fins a cultiu pur. Els fongs aïllats es van sembrar en tubs amb medi PDA inclinat i es van conservar en nevera.

### **5.4.2. SCREENING DE FONGS AMB ACTIVITAT OXIDOREDUCTASA**

Els diferents fongs aïllats, prèviament activats en plaques petri amb medi PDA, van ser inoculats en un matràs Erlenmeyer de 250 ml de capacitat amb 70 ml d'un medi de cultiu sintètic líquid format per 20 g/l *corn steep liquor*, 5 g/l glucosa, 2 g/l MgSO<sub>4</sub>, 0,02 g/l FeSO<sub>4</sub> amb un pH=5,5 ±0.2. Després de 72 hores de creixement a 25°C i 150 rpm en un agitador orbital es va addicionar al medi 0,35 ml d'una solució de 0,1 g de ciclohexanona/ml d'etanol i es va deixar incubant 24 h més<sup>99</sup>. Seguidament es va filtrar el medi de cultiu amb paper de

filtre i buit i es va rentar 3 vegades amb diclorometà. Del medi filtrat es va realitzar una extracció amb diclorometà, i la part del diclorometà es va assecar amb MgSO<sub>4</sub>, filtrar i evaporar a 40°C i 500 mmHg. Posteriorment les mostres foren analitzades per les diferents tècniques analítiques descrites en aquest capítol.

#### **5.4.3. IDENTIFICACIÓ DE LA SOCA *E. nigrum***

La identificació de la soca fúngica 29D, *Epicoccum nigrum*, va estar realitzada pel Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, Països Baixos.

#### **5.4.4. ESTUDI DE L'ACTIVITAT OXIDOREDUCTASA ENFRONT DEFERENTS CETONES COMERCIALS**

Les soques fúngiques que van presentar activitat oxidoreductasa es van fer créixer en el medi líquid sintètic i es va addicionar la cetona a estudiar en les mateixes condicions del *screening*. L'extracció dels productes de reacció va ser la mateixa que en el *screening* però aquesta vegada amb 50 ml de diclorometà el qual contenia 23 mg/ml d'octadecà com a patró intern.

#### **5.4.5. PREPARACIÓ DELS PATRONS DE LES CETONES I ALCOHOLS**

Es van realitzar patrons de diferent concentració per a cada cetona a estudiar i per al seu corresponent alcohol, en el cas que es va disposar d'aquest, amb octadecà com a patró intern i amb acetona com a dissolvent. Es va preparar una solució d'octadecà de 1 mg/ml, una solució de cada cetona de 1,5 mg/ml i una solució de l'alcohol corresponent de 1,5 mg/ml. A partir d'aquestes tres solucions es van preparar patrons de diferent concentració (**Taula 6**).

**Taula 6.** Volum (ml) emprat de cada solució d'octadecà, cetona i alcohol en acetona

<b>PATRÓ</b>	<b>Solució octadecà (ml)</b>	<b>Solució cetona (ml)</b>	<b>Solució alcohol (ml)</b>	<b>Acetona (ml)</b>
1	1	1	-	1
2	1	0,50	0,06	1,44
3	1	0,13	0,25	1,63
4	1	0,06	0,50	1,44
5	1	-	1	1

#### **5.4.6. CONDICIONS CROMATOGRÀFIQUES**

##### **5.4.6.1. ANÀLISI PER CG-FID AMB UNA COLUMNA DB-WAX**

Les anàlisis per CG-FID es van dur a terme en el cromatògraf de gasos Trace 2000 series (ThermoQuest) GC amb una columna capil·lar DB-Wax (polietilè glicol) de 30 m x 0,25 mm diàmetre, 0,25 µm de gruix de fase. Es va utilitzar heli (1 ml/min) com a gas transportador. Les condicions cromatogràfiques van ser:  $T_{injector} = 230^{\circ}\text{C}$ ,  $T_{detector} = 250^{\circ}\text{C}$ , split de 1:30. El programa de temperatures va dependre de la cetona a estudiar. Per les cetones **103** i **104** la temperatura inicial del forn va ser de 40°C i es va fer pujar amb rampa de 10°C/min fins a 110°C, seguit d'una rampa de 10°C/min fins 230°C i es va mantenir a aquesta temperatura durant 5 min. Per les cetones **105**, **108**, **115**, **116**, **118-123**, **125-128** la temperatura inicial va ser de 70°C i es va fer pujar amb rampa de 10°C/min fins a 230°C i es va mantenir durant 5 min. Per la cetona **124** la temperatura inicial va ser de 100°C i es va fer pujar amb rampa de 10°C/min fins a 230°C i es va mantenir durant 5 min. Per les cetones **106**, **107**, **109-114**, **117** i **129** la temperatura inicial va ser de 120°C i es va fer pujar amb rampa de 10°C/min fins a 230°C i es va mantenir durant 5 min.

**5.4.6.2. ANÀLISI PER CG-MS AMB UNA COLUMNA DB-WAX.**

Les anàlisis per GC-Masses es van dur a terme en el cromatògraf de gasos Agilent 6890N acoblat a un detector selectiu de masses 5073 MSD amb una columna capil·lar DB-Wax. Les condicions cromatogràfiques van ser:  $T_{\text{injector}} = 230^{\circ}\text{C}$ ,  $T_{\text{detector}} = 250^{\circ}\text{C}$ , split de 1:30 i una temperatura d'interfase de  $280^{\circ}\text{C}$ . Per les cetones **155**, **157** la temperatura inicial va ser de  $70^{\circ}\text{C}$  i es va fer pujar amb rampa de  $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$  fins a  $230^{\circ}\text{C}$  i es va mantenir durant 5 min. Per les cetones **130**, **132-136**, **139**, **140**, **143**, **144**, **146-154**, **160** la temperatura inicial va ser de  $120^{\circ}\text{C}$  i es va fer pujar amb rampa de  $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$  fins a  $230^{\circ}\text{C}$  i es va mantenir durant 5 min. Per les cetones **131** i **137** la temperatura inicial va ser de  $120$  i es va fer pujar amb rampa de  $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$  fins a  $170^{\circ}\text{C}$  i es va mantenir durant 0,30 min., seguit d'una rampa de  $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$  fins a  $180^{\circ}\text{C}$  i es va mantenir durant 0,5 min. seguit d'una rampa final de  $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$  fins a  $230^{\circ}\text{C}$  i es va mantenir durant 5 min. Per les cetones **138** i **158** la temperatura inicial va ser de  $150^{\circ}\text{C}$  i es va fer pujar amb rampa de  $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$  fins a  $230^{\circ}\text{C}$  es va mantenir durant 5 min. Per les cetones **142**, **145**, **156**, **159** la temperatura inicial va ser de  $160^{\circ}\text{C}$  i es va fer pujar amb rampa de  $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$  fins a  $230^{\circ}\text{C}$ . Finalment per la cetona **141** la temperatura inicial va ser de  $170^{\circ}\text{C}$  i es va fer pujar amb rampa de  $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$  fins a  $230^{\circ}\text{C}$ .

#### **5.4.6.3. ANÀLISI PER CG AMB UNA COLUMNA DE FASE QUIRAL**

Les anàlisis per CG-FID en la columna quirial es van dur a terme en el cromatògraf de gasos Hewlett Packard GC System HP 6890 amb una columna capil·lar quirial CP Chirasil-DEX CB de Varian ( $\beta$ -ciclodextrines modificades lligades a dimetilpolisiloxà) de 25 m x 0,25 mm diàmetre, 0,25  $\mu$ m gruix de fase. El gas transportador va ser hidrogen (80 cm/s). La temperatura del forn va ser isoterma i diferent depenent del compost a analitzar (Capítol I). La  $T_{\text{injector}} = 230$  °C,  $T_{\text{detector}} = 250$  °C. El factor de separació,  $\alpha$ , es va calcular segons la IUPAC<sup>100</sup>.



## 6. REFERÈNCIES BIBLIOGRÀFIQUES

1. Thomas, S. M.; DiCosimo, R.; Nagarajan, A. *Trends in Biotechnology* **2002**, *20* (6), 238-242.
2. Alphand, V.; Carrea, G.; Wohlgemuth, R.; Furstoss, R.; Woodley, J. M. *Trends in Biotechnology* **2003**, *21* (7), 318-323.
3. Hummel, W.; Kula, M. R. *European Journal of Biochemistry* **1989**, *184* (1), 1-13.
4. Faber, K. *Biotransformations in organic chemistry*; Springer-Verlag: Berlin, **1992**.
5. Mihovilovic, M. D.; Muller, B.; Schulze, A.; Stanetty, P.; Kayser, M. M. *European Journal of Organic Chemistry* **2003**, (12), 2243-2249.
6. Strukul, G. *Angewandte Chemie-International Edition* **1998**, *37* (9), 1199-1209.
7. Watanabe, A.; Uchida, T.; Ito, K.; Katsuki, T. *Tetrahedron Letters* **2002**, *43* (25), 4481-4485.
8. Murahashi, S. I.; Ono, S.; Imada, Y. *Angewandte Chemie-International Edition* **2002**, *41* (13), 2366-2368.
9. Mazzini, C.; Lebreton, J.; Furstoss, R. *Journal of Organic Chemistry* **1996**, *61*, 8-9.
10. Fukuda, O.; Sakaguchi, S.; Ishii, Y. *Tetrahedron Letters* **2001**, *42* (20), 3479-3481.
11. Alphand, V.; Furstoss, R. *Journal of Molecular Catalysis B:Enzymatic* **1999**, *9*, 209-217.
12. Criegge, R. *Justus Liebigs Annalen der Chemie* **1948**, *560* (127), 141.
13. Mihovilovic, M. D.; Müller, B.; Stanetty, P. *European Journal of Organic Chemistry* **2002**, 3711-3730.
14. Nakamura, K.; Yamanaka, R.; Matsuda, T.; Harada, T. *Tetrahedron:Asymmetry* **2003**, *14*, 2659-2681.

15. Townsend, C. A.; Christensen, S. B.; Davis, S. G. *Journal of the American Chemical Society* **1982**, *104* (22), 6154-6155.
16. Kamerbeek, N. M.; Janssen, D. B.; van Berkel, D. B. J.; Fraaije, M. W. *Adv. Synth. Catal.* **2003**, *345*, 667-678.
17. Willetts, A. *Trends in Biotechnology* **1997**, *15* (2), 55-62.
18. Burton, S. G. *Trends in Biotechnology* **2003**, *21* (12), 543-549.
19. Mazzini, C.; Lebreton, J.; Furstoss, R. *Journal of Organic Chemistry* **1996**, *61*, 8-9.
20. Donaldson, W. A.; Stepuszek, D. J. *American Chemical Society* **1992**, *57*, 1309-1313.
21. Stewart, J. D.; Reed, K. W.; Martinez, C. A.; Zhu, J.; Chen, G.; Kayser, M. M. *Journal of the American Chemical Society* **1998**, *120* (15), 3541-3548.
22. Kayser, M.; Chen, G.; Stewart, J. *New Tools in Synthesis* **1998**, *1*, 153-158.
23. Doig, S. D.; Simpson, H.; Alphand, V.; Furstoss, R.; Woodley, J. M. *Enzyme and Microbial Technology* **2003**, *32* (3-4), 347-355.
24. Alphand, V.; Mazzini, C.; Lebreton, J.; Furstoss, R. *Journal of Molecular Catalysis B:Enzymatic* **1998**, *5*, 219-221.
25. Gutierrez, M. C.; Alphand, V.; Furstoss, R. *Journal of Molecular Catalysis B:Enzymatic* **2003**, *21*, 231-238.
26. Simpson, H. D.; Alphand, V.; Furstoss, R. *Journal of Molecular Catalysis B:Enzymatic* **2001**, *16*, 101-108.
27. Kyte, B. G.; Rouviere, P.; Cheng, Q.; Stewart, J. D. *Journal of Organic Chemistry* **2004**, *69* (1), 12-17.
28. Colonna, S.; Gaggero, N.; Carrea, G.; Pasta, P. *Chemical Communications* **1997**, (5), 439-440.
29. Colonna, S.; Gaggero, N.; Carrea, G.; Pasta, P.; Alphand, V.; Furstoss, R. *Chirality* **2001**, *13* (1), 40-42.

30. Alphan, V.; Gaggero, N.; Colonna, S.; Pasta, P.; Furstoss, R. *Tetrahedron* **1997**, *53* (28), 9695-9706.
31. Colonna, S.; Gaggero, N.; Carrea, G.; Pasta, P. *Chemical Communications* **1998**, (3), 415-416.
32. Alphan, V.; Gaggero, N.; Colonna, S.; Furstoss, R. *Tetrahedron Letters* **1996**, *37* (34), 6117-6120.
33. Ottolina, G.; Bianchi, S.; Belloni, B.; Carrea, G.; Danieli, B. *Tetrahedron Letters* **1999**, *40* (48), 8483-8486.
34. Latham, J. A.; Walsh, C. *Journal of the Chemical Society-Chemical Communications* **1986**, (7), 527-528.
35. Latham, J. A.; Branchaud, B. P.; Chen, Y. C. J.; Walsh, C. *Journal of the Chemical Society-Chemical Communications* **1986**, (7), 528-530.
36. Colonna, S.; Gaggero, N.; Carrea, G.; Ottolina, G.; Pasta, P.; Zambianchi, F. *Tetrahedron Letters* **2002**, *43* (10), 1797-1799.
37. Ohkuma, T.; Utsumi, N.; Tsutsumi, K.; Murata, K.; Sandoval, C.; Noyori, R. *Journal of the American Chemical Society* **2006**, *128* (27), 8724-8725.
38. Liang, Y. X.; Wang, Z.; Ding, K. L. *Advanced Synthesis & Catalysis* **2006**, *348* (12-13), 1533-1538.
39. Reetz, M. T.; Li, X. G. *Journal of the American Chemical Society* **2006**, *128* (4), 1044-1045.
40. Matharu, D. S.; Morris, D. J.; Kawamoto, A. M.; Clarkson, G. J.; Wills, M. *Organic Letters* **2005**, *7* (24), 5489-5491.
41. Noyori, R.; Ohkuma, T. *Angewandte Chemie-International Edition* **2001**, *40* (1), 40-73.
42. Schmitzer, A. R.; Franceschi, S.; Perez, E.; Rico-Lattes, I.; Lattes, A.; Thion, L.; Erard, M.; Vidal, C. *Journal of the American Chemical Society* **2001**, *123* (25), 5956-5961.

43. Molinari, F.; Mantegazza, L.; Villa, R.; Aragozzini, F. *Journal of Fermentation and Bioengineering* **1998**, *86* (1), 62-64.
44. Patel, R. N.; Banerjee, A.; Howell, J. M.; Mcnamee, C. G.; Brozozowski, D.; Mirfakhrae, D.; Nanduri, V.; Thottathil, J. K.; Szarka, L. J. *Tetrahedron-Asymmetry* **1993**, *4* (9), 2069-2084.
45. Shafiee, A.; Motamedi, H.; King, A. *Applied Microbiology and Biotechnology* **1998**, *49* (6), 709-717.
46. Homann, M. J.; Previte, E. Stereoselective microbial reductio for the preparation of 1-(4-fluorophenyl)-3(R)-(3(S)-hydroxy-3-(4-fluorophenyl)propyl)-4(S)-(4-hydroxyphenyl)-2-azetidinone. U.S. Patent 6,133,001, **2000**.
47. Homann, M. J.; Previte, E. Stereoselective microbila reduction of 5-fluorophenyl-5-oxopentanoic acid and a phenyloxazolidinone condensation product thereof. U.S. patent 5,618,707, **1997**.
48. Crocq, V.; Masson, C.; Winter, J.; Richard, C.; Lemaitre, Q.; Lenay, J.; Vivat, M.; Buendia, J.; Prat, D. *Organic Process Research & Development* **1997**, *1* (1), 2-13.
49. Holt, R. A. *Chimica Oggi-Chemistry Today* **1996**, *14* (9), 17-20.
50. Goldberg, K.; Schroer, K.; Lutz, S.; Liese, A. *Applied Microbiology and Biotechnology* **2007**, *76* (2), 249-255.
51. Goldberg, K.; Schroer, K.; Lutz, S.; Liese, A. *Applied Microbiology and Biotechnology* **2007**, *76* (2), 237-248.
52. Abril, O.; Ryerson, C. C.; Walsh, C.; Whitesides, G. M. *Bioorganic Chemistry* **1989**, *17* (1), 41-52.
53. Kroutil, W.; Mang, H.; Edegger, K.; Faber, K. *Current Opinion in Chemical Biology* **2004**, *8* (2), 120-126.
54. Goldberg, K.; Edegger, K.; Kroutil, W.; Liese, A. *Biotechnology and Bioengineering* **2006**, *95* (1), 192-198.
55. Schroer, K.; Tacha, E.; Lutz, S. *Organic Process Research & Development* **2007**, *11* (5), 836-841.

56. Wagenknecht, P. S.; Penney, J. M.; Hembre, R. T. *Organometallics* **2003**, 22 (6), 1180-1182.
57. Somers, W. A. C.; vanHartingsveldt, W.; Stigter, E. C. A.; vanderLugt, J. P. *Trends in Biotechnology* **1997**, 15 (12), 495-500.
58. Nakamura, K.; Yamanaka, R. *Chemical Communications* **2002**, (16), 1782-1783.
59. Parkinson, B. A.; Weaver, P. F. *Nature* **1984**, 309 (5964), 148-149.
60. Alphand, V.; Archelas, A.; Furstoss, R. *Journal of Organic Chemistry* **1990**, 55 (1), 347-350.
61. Nakamura, K.; Kawai, Y.; Ohno, A. *Tetrahedron Letters* **1991**, 32 (25), 2927-2928.
62. Lorraine, K.; King, S.; Greasham, R.; Chartrain, M. *Enzyme and Microbial Technology* **1996**, 19 (4), 250-255.
63. DArrigo, P.; Fantoni, G. P.; Servi, S.; Strini, A. *Tetrahedron-Asymmetry* **1997**, 8 (14), 2375-2379.
64. Rotthaus, O.; Kruger, D.; Demuth, M.; Schaffner, K. *Tetrahedron* **1997**, 53 (3), 935-938.
65. Johanson, T.; Katz, M.; Gorwa-Grauslund, M. F. *Fems Yeast Research* **2005**, 5 (6-7), 513-525.
66. Homann, M. J.; Vail, R. B.; Previte, E.; Tamarez, M.; Morgan, B.; Dodds, D. R.; Zaks, A. *Tetrahedron* **2004**, 60 (3), 789-797.
67. Wilson, D. *Oikos* **1995**, 73 (2), 274-276.
68. Mendez, J. J.; Oromi, M.; Cervero, M.; Balcells, M.; Torres, M.; Canela, R. *Chirality* **2007**, 19 (1), 44-50.
69. Torres, M.; Dolcet, M. M.; Sala, N.; Canela, R. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2003**, 51 (11), 3328-3333.
70. Andrade, L. H.; Keppler, A. F.; Schoenlein-Crusius, I. H.; Porto, A. L. M.; Comasseto, J. V. *Journal of Molecular Catalysis B-Enzymatic* **2004**, 31 (4-6), 129-135.

71. Carballeira, J. D.; Valmaseda, M.; Alvarez, E.; Gago, J. V. S. *Enzyme and Microbial Technology* **2004**, *34* (6), 611-623.
72. Nakamura, K.; Matsuda, T. *Journal of Organic Chemistry* **1998**, *63* (24), 8957-8964.
73. Matsuda, T.; Nakajima, Y.; Harada, T.; Nakamura, K. *Tetrahedron-Asymmetry* **2002**, *13* (9), 971-974.
74. Keinan, E.; Hafeli, E. K.; Seth, K. K.; Lamed, R. *Journal of the American Chemical Society* **1986**, *108* (1), 162-169.
75. Yadav, J. S.; Nanda, S.; Reddy, P. T.; Rao, A. B. *Journal of Organic Chemistry* **2002**, *67* (11), 3900-3903.
76. Patel, R. N.; Banerjee, A.; Nanduri, V.; Goswami, A.; Comezoglu, F. T. *Journal of the American Oil Chemists Society* **2000**, *77* (10), 1015-1019.
77. Engel, K. H. Stereodifferentiation of chiral flavor and aroma compounds. In *Capillary gas chromatography in food control and research*, Wittkowski, R., Matissek, R., Eds.; Technomic Publishing Co. Inc.: **1993**; pp 149-175.
78. Umland, J. B.; Williams, B. W. *Journal of Organic Chemistry* **1956**, *21* (11), 1302-1304.
79. Rei, M. H. *Journal of Organic Chemistry* **1979**, *44* (15), 2760-2767.
80. Miyazawa, M.; Okamura, S.; Kameoka, H. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* **1996**, *65* (2), 171-175.
81. Miyazawa, M.; Okamura, S.; Yamaguchi, M.; Kameoka, H. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* **2000**, *75* (2), 143-146.
82. Miyazawa, M.; Okamura, S.; Kameoka, H. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* **1999**, *74* (5), 399-402.
83. Snyder, C. H. *Journal of Organic Chemistry* **1966**, *31* (12), 4220-&.
84. Boutoute, P.; Mousset, G.; Veschambre, H. *New Journal of Chemistry* **1998**, *22* (3), 247-251.

85. Hoffmann, R. W. *Angewandte Chemie-International Edition in English* **1987**, 26 (6), 489-503.
86. Evans, D. A.; Chapman, K. T.; Carreira, E. M. *Journal of the American Chemical Society* **1988**, 110 (11), 3560-3578.
87. Oishi, T.; Nakata, T. *Synthesis-Stuttgart* **1990**, (8), 635-645.
88. Fauve, A.; Veschambre, H. *Journal of Organic Chemistry* **1988**, 53, 5215-5219.
89. Ahmad, K.; Koul, S.; Taneja, S. C.; Singh, A. P.; Kapoor, M.; ul-Hassan, R.; Verma, V.; Qazi, G. N. *Tetrahedron-Asymmetry* **2004**, 15 (11), 1685-1692.
90. Carballeira, J. D.; Alvarez, E.; Campillo, M.; Pardo, L.; Sinisterra, J. V. *Tetrahedron-Asymmetry* **2004**, 15 (6), 951-962.
91. Rebolledo, F.; Roberts, S. M.; Willetts, A. J. *Biotechnology Letters* **1991**, 13 (4), 245-248.
92. Chenevert, R.; Thiboutot, S. *Chemistry Letters* **1988**, (7), 1191-1192.
93. Ohno, A.; Goto, T.; Nakai, J.; Oka, S. *Bulletin of the Chemical Society of Japan* **1981**, 54 (11), 3478-3481.
94. Pfrunder, B.; Tamm, C. *Helvetica Chimica Acta* **1969**, 52 (6), 1630-&.
95. Miyazawa, M.; Nobata, M.; Hyakumachi, M.; Kameoka, H. *Phytochemistry* **1995**, 39 (3), 569-573.
96. Utsukihara, T.; Chai, W.; Kato, N.; Nakamura, K.; Horiuchi, C. A. *Journal of Molecular Catalysis B-Enzymatic* **2004**, 31 (1-3), 19-24.
97. Utsukihara, T.; Watanabe, S.; Tomiyama, A.; Chai, W.; Horiuchi, C. A. *Journal of Molecular Catalysis B-Enzymatic* **2006**, 41 (3-4), 103-109.
98. Reddy, J.; Tschaen, D.; Shi, Y. J.; Pecore, V.; Katz, L.; Greasham, R.; Chartrain, M. *Journal of Fermentation and Bioengineering* **1996**, 81 (4), 304-309.

99. Alphand, V.; Furstoss, R. *Journal of Molecular Catalysis B-Enzymatic* **2000**, 9 (4-6), 209-217.
100. *IUPAC Compendium of Chemical terminology*; 2nd Edition ed.; **1997**.



## **CONCLUSIONS GENERALS**

## CONCLUSIONS GENERALS

Les conclusions sobre la posada apunt d'una metodologia d'anàlisi d'alcohols quirals per cromatografia de gasos en una columna quiral són les següents:

- S'ha desenvolupat una metodologia simple i eficient d'esterificació d'alcohols secundaris amb àcid acètic i iode com a catalitzador, amb quantitats equimolars o defecte d'alcohol. Aquest nou procediment representa un mètode d'acilació alternatiu als mètodes convencionals, més respectuós amb al medi ambient, amb l'ús d'un agent acilant barat, l'àcid acètic, sense la utilització de dissolvent, i amb una eficiència atòmica elevada.
- Contràriament, l'ús d'àcid trifluoroacètic com agent derivatitzant provoca una isomerització parcial dels enantiòmers purs.
- L'esterificació d'alcohols secundaris lineals, cíclics i d'alguns diols amb àcid acètic permet la separació dels seus estereoisòmers quan són analitzats per cromatografia de gasos en una columna quiral Chirasil-DEX, incrementant-ne el factor de separació ( $\alpha$ ) i reduint el temps d'anàlisi. Els millors factors de separació es van aconseguir amb els derivats acetilats del 2-pentanol,  $\alpha$  de 3,00, i els derivats acetilats del 2-hexanol,  $\alpha$  de 1,95.

---

Les conclusions sobre l'obtenció de precursors de lactones i alcohols asimètrics mitjançant un mètode quimio-enzimàtic, amb un primer pas de síntesi d'èsters  $\alpha$ -funcionalitzats seguit d'una hidròlisi estereoselectiva amb lipases, són les següents:

- S'ha desenvolupat un sistema de reacció per a la síntesi del palmitat d' $\alpha,\beta$ -bromoòctil que consisteix en l'esterificació-bromació de l'1,2-octandiòl amb l'àcid palmític i KBr en un LI, el [BMIM][PF<sub>6</sub>], amb un rendiment del 85% i en un sol pas. A més, hi ha més proporció del regioisòmer amb el grup brom en posició primària, un 70% respecte del que té el brom en posició secundària, essent aquest, un intermediari més útil per a la síntesi de compostos d'interès comercial. Pel que ens consta és el primer mètode d'esterificació-bromació en un sol pas amb LIs que s'ha descrit.
- L'extensió de la reacció d'esterificació-bromació a altres diòls permet la síntesi dels corresponents palmitats d' $\alpha,\beta$ -halohidrina per tots els 1,2-diòls estudiats i per l'1,3-butandiòl, amb rendiments entre el 40-60% i també amb més proporció del regioisòmer amb el brom en posició primària, entre el 65-73% respecte del que té el brom en posició secundària.
- La reacció d'esterificació-bromació amb altres àcids en lloc del palmític, també té lloc, encara que ara s'obté un rendiment del 48% per l'àcid decanoic i rendiments inferiors per als altres àcids estudiats. En tots els casos es segueix obtenint més proporció també del regioisòmer amb el brom en posició primària.

- L'extensió de l'esterificació-halogenació a altres fonts d'halogen només proporciona l'èster d'halohidrina quan la font d'halogen és el clor, KCl, amb rendiment també moderat, del 55%, i més proporció del regioisòmer amb el clor en posició primària, del 80% respecte del que té el brom en posició secundària.
- La RMN de  $^1\text{H}$  ens permet seguir l'evolució dels productes majoritaris (>10%) de les reaccions d'esterificació-halogenació, coneixent el percentatge entre ells i el grau de reacció dels reactius per a la formació dels diferents productes.
- La utilització d'un conjunt de LIs en la hidròlisi d'èsters d' $\alpha,\gamma$ -clorobutil amb diferents lipases no ha demostrat poder arribar a donar resultats equivalents als obtinguts en dissolvents convencionals. No obstant el LI [OMIM][BF<sub>4</sub>] va millorar de manera evident l'enantioselectivitat de Lipozyme, *A. flavus* UDLTA 3.241 i *Aspergillus* sp. enfront al laurat de 3-cloro-1-metilpropil ( $ee_R > 99\%$  per percentatges d'hidròlisi de 25, 14 i 17% respectivament).
- Contràriament, els LIs sí que van millorar l'estereoselectivitat en la hidròlisi dels palmitats d' $\alpha,\beta$ -cloroocil i  $\alpha,\beta$ -bromoocil amb diferents biocatalitzadors, en concret *A. flavus* UDLTA 3.241, *R. oryzae*, Lipozyme i Novozyme. En aquest cas, tant en dissolvents moleculars com en LIs, tots els biocatalitzadors van mostrar enantiopreferència oposada obtenint-se el *S*-1-halo-2-octanol.

- 
- El *S*-1-cloro-2-octanol es pot obtenir amb una primera hidròlisi regioselectiva dels palmitats d' $\alpha,\beta$ -clorooctil amb Lipozyme en *t*-butanol a 40°C durant 24 h seguit d'una hidròlisi enantioselectiva amb Novozyme en [BMIM][PF<sub>6</sub>] a 40°C durant 3 h.
  - Les millors condicions per a obtenir el *S*-1-bromo-2-octanol són una primera hidròlisi regioselectiva dels palmitats d' $\alpha,\beta$ -bromooctil amb Lipozyme en [OMIM][BF<sub>4</sub>] a 40°C durant 24 h seguit d'una hidròlisi enantioselectiva amb Novozyme en [BMIM][PF<sub>6</sub>] a 40°C durant 3 h.

Les conclusions sobre la utilització de cèl·lules en creixement de noves soques fúngiques com a font d'oxidoreductases per a l'obtenció de precursors de lactones i alcohols asimètrics són les següents:

- En la cerca de noves oxidoreductases en fongs endòfits de plantes recollides al Prepirineu de Lleida es van trobar dues soques fúngiques amb activitat reductasa, una soca de *Rhizopus oryzae* aïllada del fonoll i una soca d'*Epicoccum nigrum* aïllada de *Crataegus monogyna*.
- Les cèl·lules en creixement de *R. oryzae* van ser capaces de reduir algunes cetones i diones comercials al seu corresponent alcohol i hidroxicetona. A més van poder reduir la 2-hexanona al *R*-2-hexanol, estereopreferència no trobada en la literatura per altres cèl·lules fúngiques en creixement. No obstant, la presència d'altres enzims amb enantiopreferència oposada i altres tipus d'enzims van fer que el

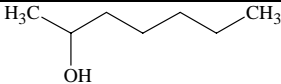
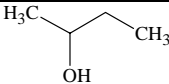
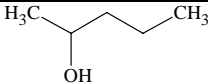
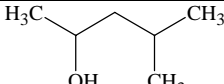
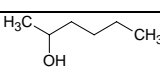
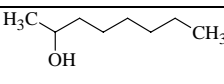
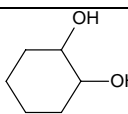
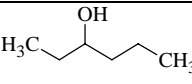
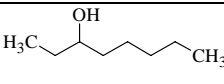
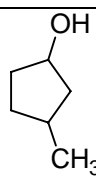
rendiment de les biotransformacions fossin baixos i les estereoselectivitats moderades.

- L'altra soca fúngica, *E. nigrum*, va presentar rendiments i estereoselectivitats similars o pitjors davant les diferents cetones estudiades, a excepció de la 3,3,5-trimetilciclohexanona, davant la qual va presentar millor estereoselectivitat que *R. oryzae*.

**ANNEX I.  
LLISTA DE COMPOSTOS**

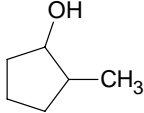
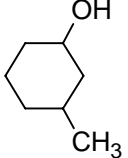
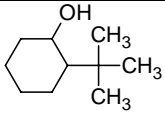
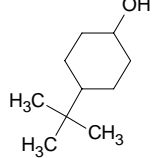
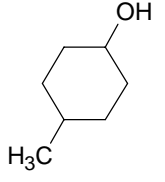
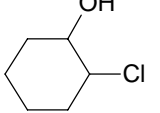
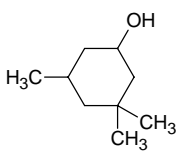
## ANNEX I. LLISTA DE COMPOSTOS

Taula 1. Estructura química i nom dels reactius i productes.

Número	ESTRUCTURA QUÍMICA	Nom
2 <sup>d</sup>		2-heptanol
4 <sup>d</sup>		2-butanol
5 <sup>d</sup>		2-pentanol
6 <sup>d</sup>		4-metil-2-hexanol
7 <sup>d</sup>		2-hexanol
8 <sup>d</sup>		2-octanol
9 <sup>d</sup>		1,2-ciclohexandioli
10 <sup>d</sup>		3-hexanol
11 <sup>d</sup>		3-octanol
12 <sup>d</sup>		3-metilciclopentanol



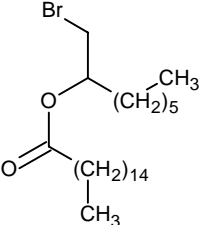
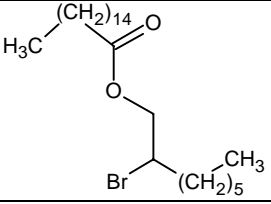
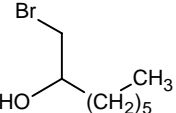
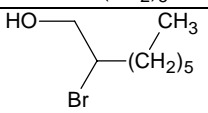
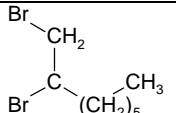
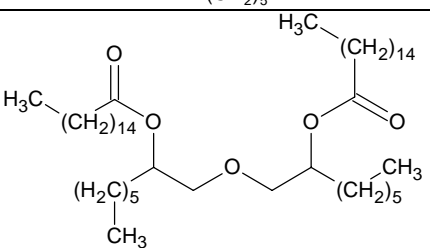
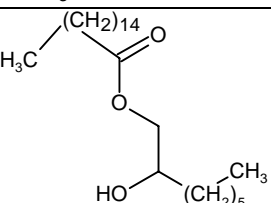
Taula 1 (cont.)

Número	ESTRUCTURA QUÍMICA	Nom
13 <sup>d</sup>		2-metilciclopentanol
14 <sup>d</sup>		3-metilciclohexanol
15 <sup>d</sup>		2- <i>t</i> -butilciclohexanol
16 <sup>d</sup>		4- <i>t</i> -butilciclohexanol
17 <sup>d</sup>		4-metilciclohexanol
18 <sup>d</sup>		2-clorociclohexanol
19 <sup>d</sup>		3,3,5-trimetilciclohexanol

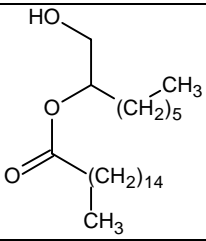
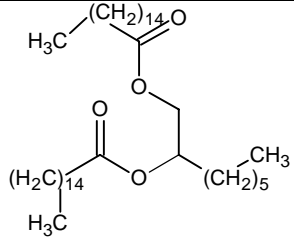
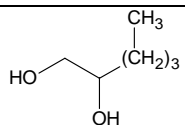
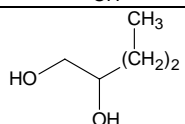
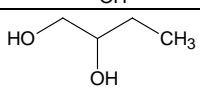
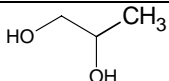
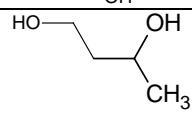
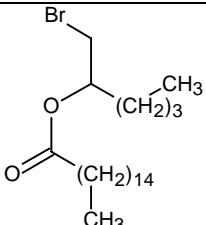
Taula 1 (cont.)

Número	ESTRUCTURA QUÍMICA	Nom
20 <sup>d</sup>		D/L-mentol
21 <sup>d</sup>		1,2-octandiol
22 <sup>d</sup>		1,3-ciclohexandiol
24 <sup>a</sup>		Palmitat d' 1-(clorometil)heptil
25 <sup>a</sup>		Palmitat de 2-clorooctil
26 <sup>a</sup>		1-clorooctan-2-ol
27 <sup>a</sup>		2-clorooctan-1-ol

Taula 1 (cont.)

Número	ESTRUCTURA QUÍMICA	Nom
28 <sup>a</sup>		Palmitat d'1-(bromometil)heptil
29 <sup>a</sup>		Palmitat de 2-bromooctil
30 <sup>a</sup>		1-bromooctan-2-ol
31 <sup>a</sup>		2-bromooctan-1-ol
32 <sup>b</sup>		1,2-dibromooctà
33 <sup>b</sup>		palmitat d'1-[[[2-(2- etoxioctil)]oximetil]heptil
34 <sup>a</sup>		Palmitat de 2-hidroxiocetil

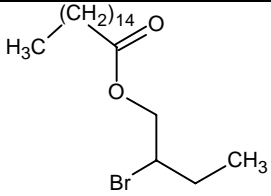
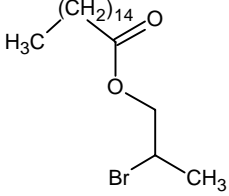
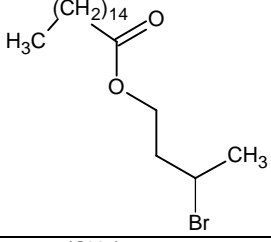
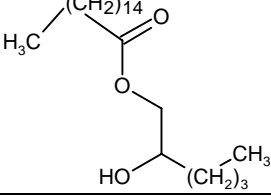
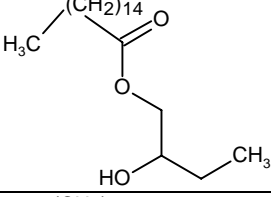
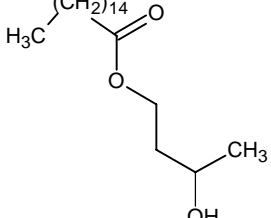
Taula 1 (cont.)

Número	ESTRUCTURA QUÍMICA	Nom
35 <sup>a</sup>		Palmitat d' 1-(hidroximetil)heptil
36 <sup>a</sup>		Palmitat de 2-etoxioetil
37 <sup>d</sup>		1,2-hexandiol
38 <sup>d</sup>		1,2-pentandiol
39 <sup>d</sup>		1,2-butandiol
40 <sup>d</sup>		1,2-propandiol
41 <sup>d</sup>		1,3-butandiol
42 <sup>a</sup>		Palmitat d' 1-(bromometil)pentil

Taula 1 (cont.)

Número	ESTRUCTURA QUÍMICA	Nom
43 <sup>a</sup>		Palmitat d'1-(bromometil)butil
44 <sup>a</sup>		Palmitat d'1-(bromometil)propil
45 <sup>a</sup>		Palmitat d'1-(bromometil)etil
46 <sup>a</sup>		Palmitat de 3-bromo-1-metilpropil
47 <sup>a</sup>		Palmitat de 2-bromohexil
48 <sup>a</sup>		Palmitat de 2-bromopentil

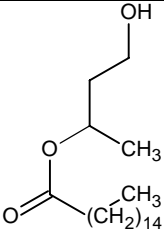
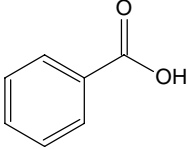
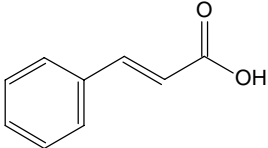
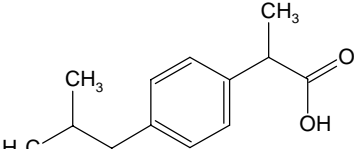
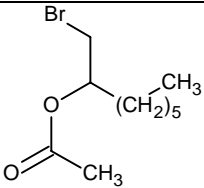
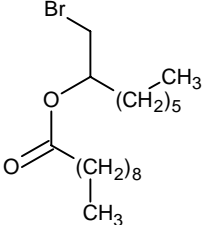
Taula 1 (cont.)

Número	ESTRUCTURA QUÍMICA	Nom
49 <sup>a</sup>		Palmitat de 2-bromobutil
50 <sup>a</sup>		Palmitat de 2-bromopropil
51 <sup>a</sup>		Palmitat de 3-bromobutil
52 <sup>c</sup>		Palmitat de 2-hidroxihexil
53 <sup>c</sup>		Palmitat de 2-hidroxibutil
54 <sup>c</sup>		Palmitat de 3-hidroxibutil

Taula 1 (cont.)

Número	ESTRUCTURA QUÍMICA	Nom
55 <sup>c</sup>		Palmitat de 2-etoxihexil
56 <sup>c</sup>		Palmitat de 2-etoxipentil
57 <sup>c</sup>		Palmitat de 2-etoxibutil
58 <sup>c</sup>		Palmitat de 2-etoxipropil
59 <sup>c</sup>		Palmitat de 3-etoxibutil
60 <sup>c</sup>		Palmitat d'1-(hidroximetil)propil

Taula 1 (cont.)

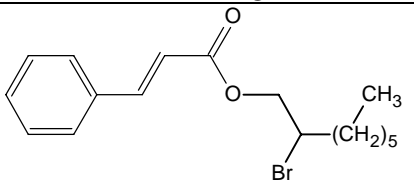
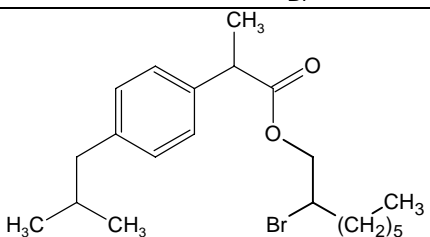
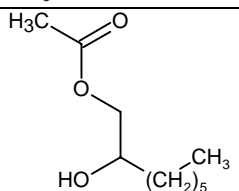
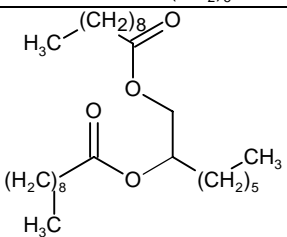
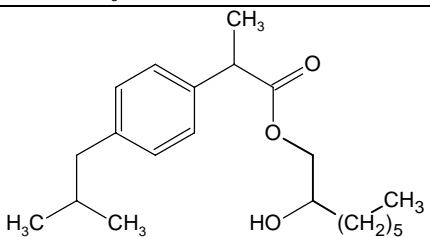
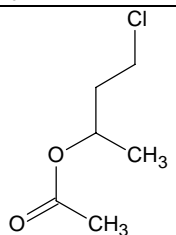
Número	ESTRUCTURA QUÍMICA	Nom
61 <sup>c</sup>		Palmitat de 3-hidroxi-1-metilpropil
63 <sup>d</sup>		Àcid benzoic
64 <sup>d</sup>		Àcid cinàmic o àcid (2E)-3-fenilacrílic
65 <sup>d</sup>		Ibuprofè o àcid 2-(4-isobutilfenil)propanoic
66 <sup>c</sup>		Acetat d'1-(bromometil)heptil
67 <sup>c</sup>		Decanoat d'1-(bromometil)heptil



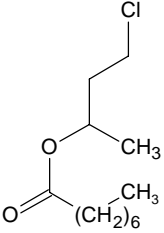
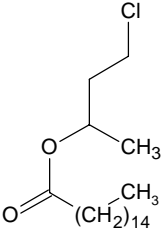
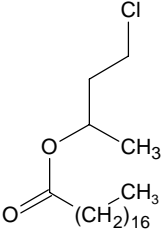
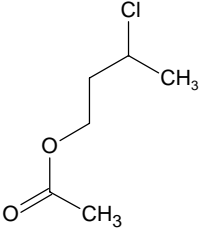
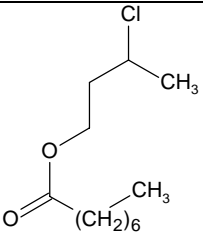
Taula 1 (cont.)

Número	ESTRUCTURA QUÍMICA	Nom
68 <sup>c</sup>		Benzoat d' 1-(bromometil)heptil
69 <sup>c</sup>		Cinamat d' 1-(bromometil)heptil
70 <sup>c</sup>		Ibuprofenat d' 1-(bromometil)heptil
71 <sup>c</sup>		Acetat de 2-bromoetil
72 <sup>b</sup>		Decanoat de 2-bromoetil

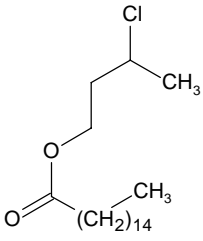
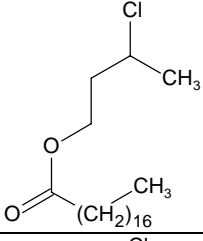
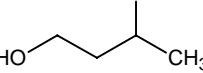
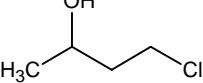
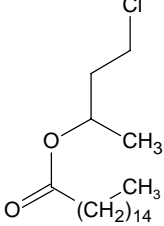
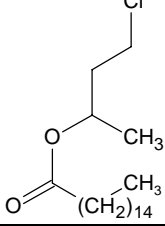
Taula 1 (cont.)

Número	ESTRUCTURA QUÍMICA	Nom
73 <sup>c</sup>		Cinamat de 2-bromooctil
74 <sup>c</sup>		Ibuprofenat de 2-bromooctil
75 <sup>c</sup>		Acetal de 2-etoxioctil
76 <sup>c</sup>		Decanoat de 2-etoxioctil
77 <sup>d</sup>		Ibuprofenat de 2-hidroxiocetil
81 <sup>a</sup>		Acetat de 3-cloro-1-metilpropil

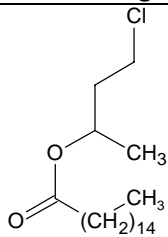
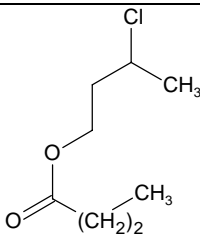
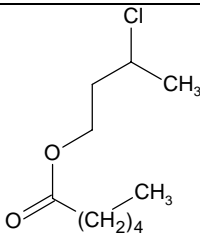
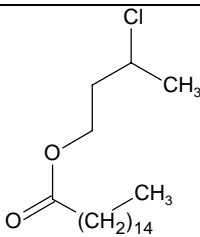
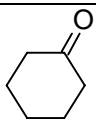
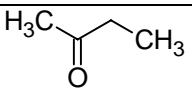
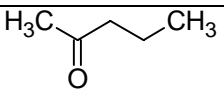
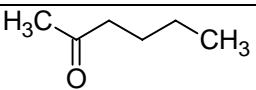
Taula 1 (cont.)

Número	ESTRUCTURA QUÍMICA	Nom
82 <sup>a</sup>		Caprilat de 3-cloro-1-metilpropil
83 <sup>a</sup>		Palmitat de 3-cloro-1-metilpropil
84 <sup>a</sup>		Esterat de 3-cloro-1-metilpropil
85 <sup>a</sup>		Acetat de 3-clorobutil
86 <sup>a</sup>		Caprilat de 3-clorobutil

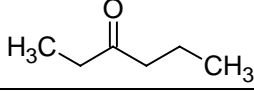
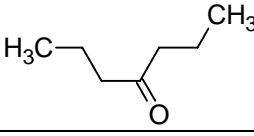
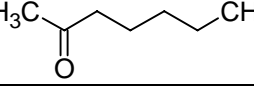
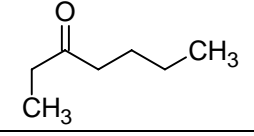
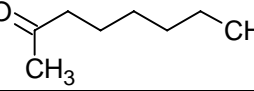
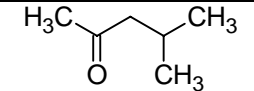
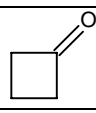
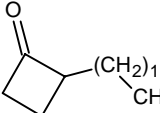
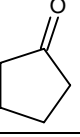
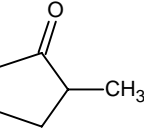
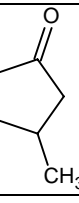
Taula 1 (cont.)

Número	ESTRUCTURA QUÍMICA	Nom
87 <sup>a</sup>		Palmitat de 3-clorobutil
88 <sup>a</sup>		Estearat de 3-clorobutil
91 <sup>a</sup>		3-clorobutanol
92 <sup>a</sup>		4-cloro-2-butanol
93 <sup>a</sup>		Butirat de 3-cloro-1-metilpropil
94 <sup>a</sup>		Caproat de 3-cloro-1-metilpropil

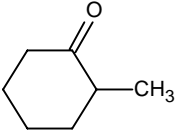
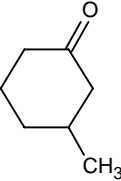
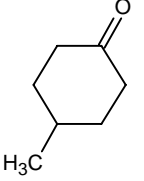
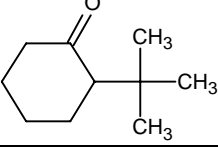
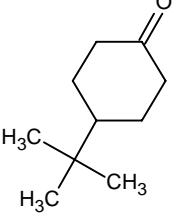
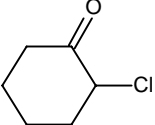
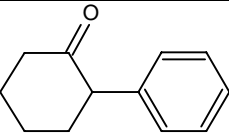
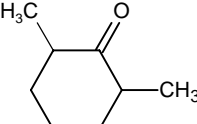
Taula 1 (cont.)

Número	ESTRUCTURA QUÍMICA	Nom
95 <sup>a</sup>		Laurat de 3-cloro-1-metilpropil
96 <sup>a</sup>		Butirat de 3-clorobutil
97 <sup>a</sup>		Caproat de 3-clorobutil
98 <sup>a</sup>		Laurat de 3-clorobutil
102 <sup>d</sup>		Ciclohexanona
103 <sup>d</sup>		2-butanona
104 <sup>d</sup>		2-pentanona
105 <sup>d</sup>		2-hexanona

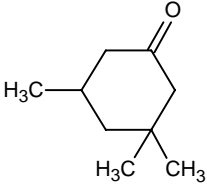
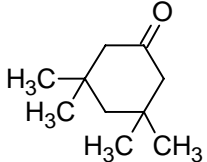
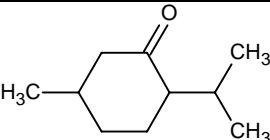
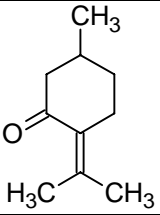
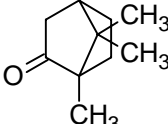
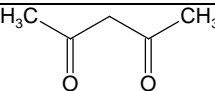
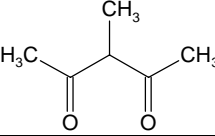
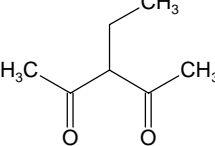
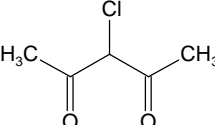
Taula 1 (cont.)

Número	ESTRUCTURA QUÍMICA	Nom
106 <sup>d</sup>		3-hexanona
107 <sup>d</sup>		4-heptanona
108 <sup>d</sup>		2-heptanona
109 <sup>d</sup>		3-heptanona
110 <sup>d</sup>		2-octanona
111 <sup>d</sup>		4-metil-2-pentanona
112 <sup>d</sup>		ciclobutanona
113 <sup>d</sup>		2-dodecilciclobutanona
114 <sup>d</sup>		ciclopentanona
115 <sup>d</sup>		2-metilciclopentanona
116 <sup>d</sup>		3-metilciclopentanona

Taula 1 (cont.)

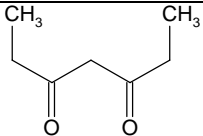
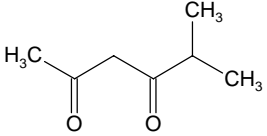
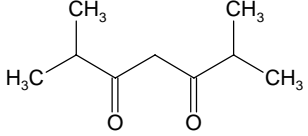
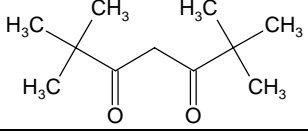
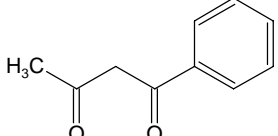
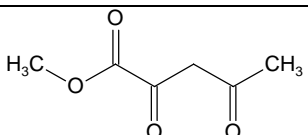
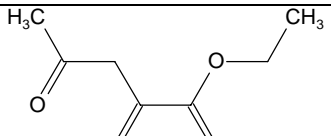
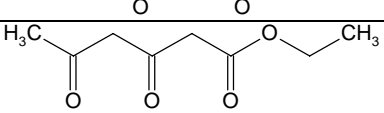
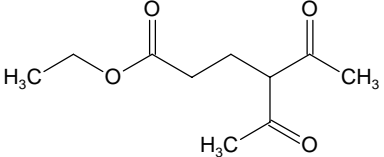
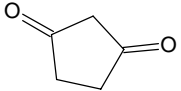
Número	ESTRUCTURA QUÍMICA	Nom
117 <sup>d</sup>		2-metilciclohexanona
118 <sup>d</sup>		3-metilciclohexanona
119 <sup>d</sup>		4-metilciclohexanona
120 <sup>d</sup>		2- <i>t</i> -butilciclohexanona
121 <sup>d</sup>		4- <i>t</i> -ciclohexanona
122 <sup>d</sup>		2-clorociclohexanona
123 <sup>d</sup>		2-fenilciclohexanona
124 <sup>d</sup>		2,6-dimetilciclohexanona

Taula 1 (cont.)

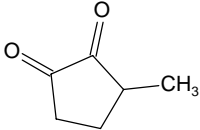
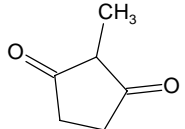
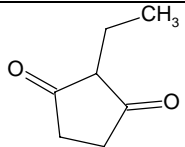
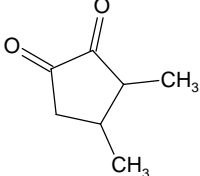
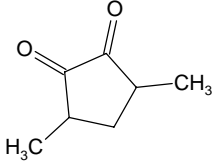
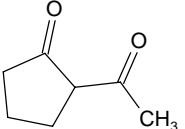
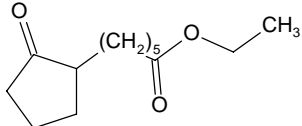
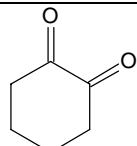
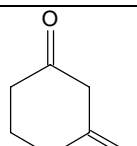
Número	ESTRUCTURA QUÍMICA	Nom
125 <sup>d</sup>		3,3,5-trimetilciclohexanona
126 <sup>d</sup>		3,3,5,5-tetrametilciclohexanona
127 <sup>d</sup>		mentona
128 <sup>d</sup>		pulegona
129 <sup>d</sup>		càmfora
130 <sup>d</sup>		2,4-pentandiona
131 <sup>d</sup>		3-metil-2,4-pentandiona
132 <sup>d</sup>		3-etil-2,4-pentandiona
133 <sup>d</sup>		3-cloro-2,4-pentandiona



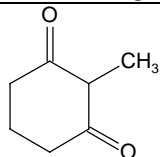
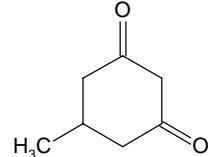
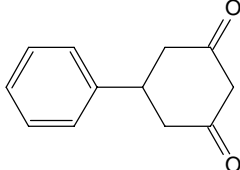
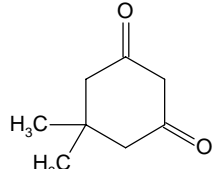
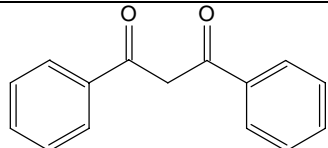
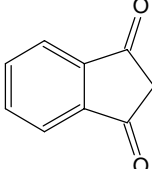
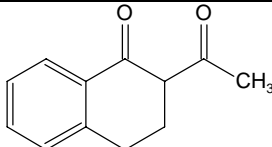
Taula 1 (cont.)

Número	ESTRUCTURA QUÍMICA	Nom
134 <sup>d</sup>		3,5-heptandiona
135 <sup>d</sup>		5-metil-2,4-hexandiona
136 <sup>d</sup>		2,6-dimetil-3,5-heptandiona
137 <sup>d</sup>		2,2,6,6-tetrametil-3,5-heptandiona
138 <sup>d</sup>		Benzoil acetona
139 <sup>d</sup>		2,4-dioxopentanoat de metil
140 <sup>d</sup>		2,4-dioxopentanoat d'etil
141 <sup>d</sup>		3,5-dioxohexanoat d'etil
142 <sup>d</sup>		4-acetil-5-oxohexanonat d'etil
143 <sup>d</sup>		1,3-ciclopentandiona

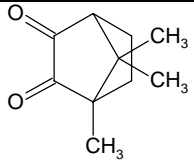
Taula 1 (cont.)

Número	ESTRUCTURA QUÍMICA	Nom
144 <sup>d</sup>		3-metil-1,2-ciclopentandiona
145 <sup>d</sup>		2-metil-1,3-ciclopentandiona
146 <sup>d</sup>		2-etil-1,3-ciclopentandiona
147 <sup>d</sup>		3,4-dimetil-1,2-ciclopentandiona
148 <sup>d</sup>		3,5-dimetil-1,2-ciclopentandiona
149 <sup>d</sup>		2-acetilciclopentanona
150 <sup>d</sup>		6-(2-oxociclopentil)hexanoat d'etil
151 <sup>d</sup>		1,2-ciclohexandiona
152 <sup>d</sup>		1,3-ciclohexandiona

Taula 1 (cont.)

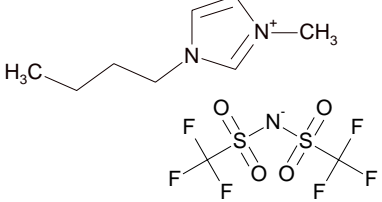
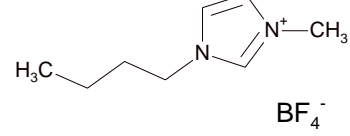
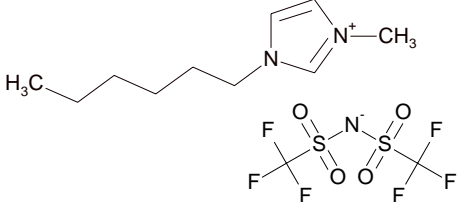
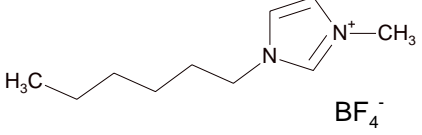
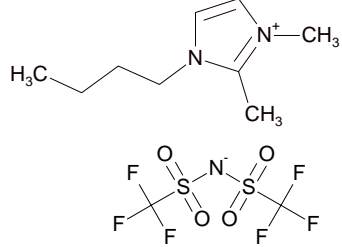
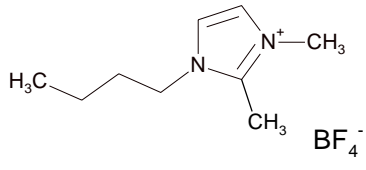
Número	ESTRUCTURA QUÍMICA	Nom
153 <sup>d</sup>		2-metil-1,3-ciclohexandiona
154 <sup>d</sup>		5-metil-1,3-ciclohexandiona
155 <sup>d</sup>		5-fenil-1,3-ciclohexandiona
156 <sup>d</sup>		5,5-dimetil-1,3-ciclohexandiona
157 <sup>d</sup>		1,3-difenil-1,3-propandiona
158 <sup>d</sup>		1,3-dioxindè
159 <sup>d</sup>		2-acetil-1-tetralona

Taula 1 (cont.)

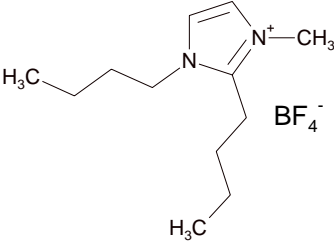
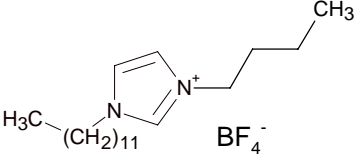
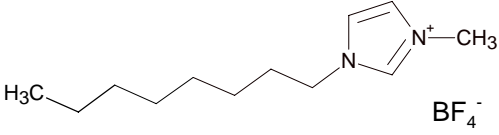
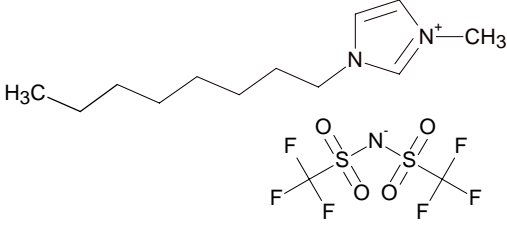
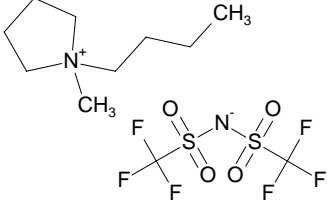
Número	ESTRUCTURA QUÍMICA	Nom
160 <sup>d</sup>	 The structure shows a bicyclic system with two carbonyl groups (C=O) and three methyl groups (CH <sub>3</sub> ) attached to the ring system.	camforquinona

- a: Caracterització del producte per RMN de  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  i HRMS (EI+)m/z  
b: Caracterització del producte per RMN de  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$   
c: Estructura proposada  
d: Producte comercial

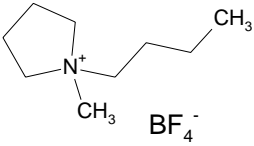
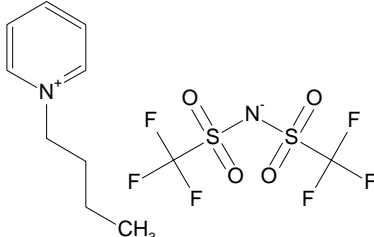
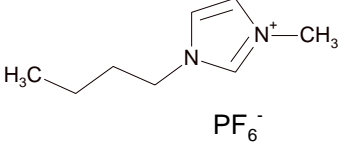
Taula 2. Estructura química i nom dels líquids iònics

ESTRUCTURA QUÍMICA	Nom
	<p style="text-align: center;"><b>[BMIM][N(Tf)<sub>2</sub>]</b></p> <p style="text-align: center;"><i>bis</i>-(trifluorometilsulfonyl)imidur d' 1-butil-3-metilimidazoli</p>
	<p style="text-align: center;"><b>[BMIM][BF<sub>4</sub>]</b></p> <p style="text-align: center;">tetrafluoroborat d' 1-butil-3-metilimidazoli</p>
	<p style="text-align: center;"><b>[HMIM][N(Tf)<sub>2</sub>]</b></p> <p style="text-align: center;"><i>bis</i>-(trifluorometilsulfonyl)imidur d' 1-hexil-3-metilimidazoli</p>
	<p style="text-align: center;"><b>[HMIM][BF<sub>4</sub>]</b></p> <p style="text-align: center;">tetrafluoroborat d' 1-hexil-3-metilimidazoli</p>
	<p style="text-align: center;"><b>[BM<sub>2</sub>IM][N(Tf)<sub>2</sub>]</b></p> <p style="text-align: center;"><i>bis</i>-(trifluorometilsulfonyl)imidur d' 1-butil-2,3-dimetilimidazoli</p>
	<p style="text-align: center;"><b>[BM<sub>2</sub>IM][BF<sub>4</sub>]</b></p> <p style="text-align: center;">tetrafluoroborat d' 1-butil-2,3-dimetilimidazoli</p>

Taula 2 (cont.)

ESTRUCTURA QUÍMICA	Nom
	<p><b>[B<sub>2</sub>IM][BF<sub>4</sub>]</b> tetrafluoroborat d' 1,2-dibutyl -3-metilimidazoli</p>
	<p><b>[BDIM][BF<sub>4</sub>]</b> tetrafluoroborat d' 1-butyl -3-dodecilimidazoli</p>
	<p><b>[OMIM][BF<sub>4</sub>]</b> tetrafluoroborat d' 3-octil-1-metilimidazoli</p>
	<p><b>[OMIM][N(Tf)<sub>2</sub>]</b> <i>bis</i>-(trifluorometilsulfonyl)imidur de 3-octil-1-metilimidazoli</p>
	<p><b>[BMPy][N(Tf)<sub>2</sub>]</b> <i>bis</i>-(trifluorometilsulfonyl)imidur d' 1-butyl-1-metilpirrolidini</p>

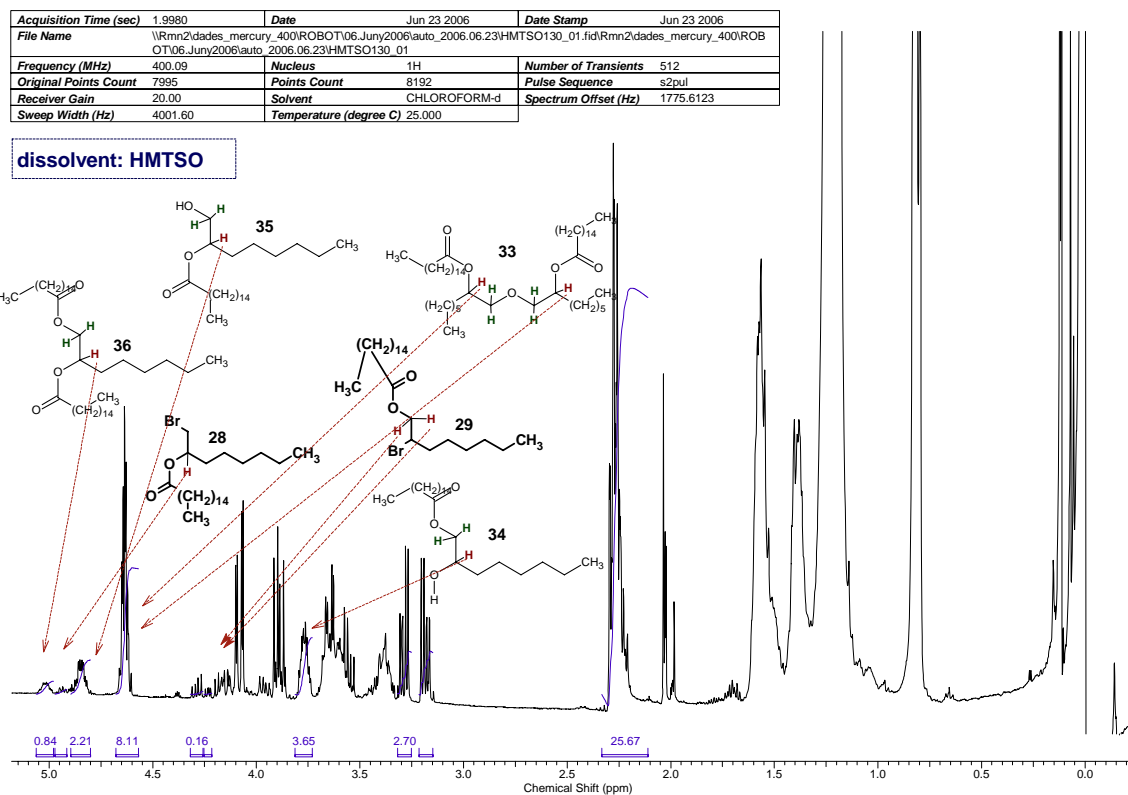
Taula 2 (cont.)

ESTRUCTURA QUÍMICA	Nom
	<p><b>[BMPy][BF<sub>4</sub>]</b> tetrafluoroborat d' 1-butil-1-metilpirrolidini</p>
	<p><b>[BPy][N(Tf)<sub>2</sub>]</b> <i>bis</i>-(trifluorometilsulfonil)imidur d' 1-butilpiridini</p>
	<p><b>[BMIM][PF<sub>6</sub>]</b> hexafluorofosfat d' 1-butil-3-metilimidazoli</p>

**ANNEX II.  
ESPECTRES DE RMN DE <sup>1</sup>H**



## ANNEX II.1. ESPECTRES DE RMN de $^1\text{H}$ DEL CAPÍTOL III



**Figura 1.** Espectre de RMN de  $^1\text{H}$  de la reacció de 1,2-octandiòl, l'àcid palmític, KBr,  $\text{I}_2$  en HMTSO.

Acquisition Time (sec)	1.9980	Date	Aug 28 2007	Date Stamp	Aug 28 2007
File Name	\\Rmn2\dades_mercury_400\MIREIA\acetonaKBr_01.fid\Rmn2\dades_mercury_400\MIREIA\acetonaKBr_01				
Frequency (MHz)	400.09	Nucleus	1H	Number of Transients	512
Original Points Count	7995	Points Count	8192	Pulse Sequence	s2pul
Receiver Gain	32.00	Solvent	CHLOROFORM-d		
Spectrum Offset (Hz)	1771.7047	Sweep Width (Hz)	4001.60	Temperature (degree C)	25.000

dissolvent: Acetona

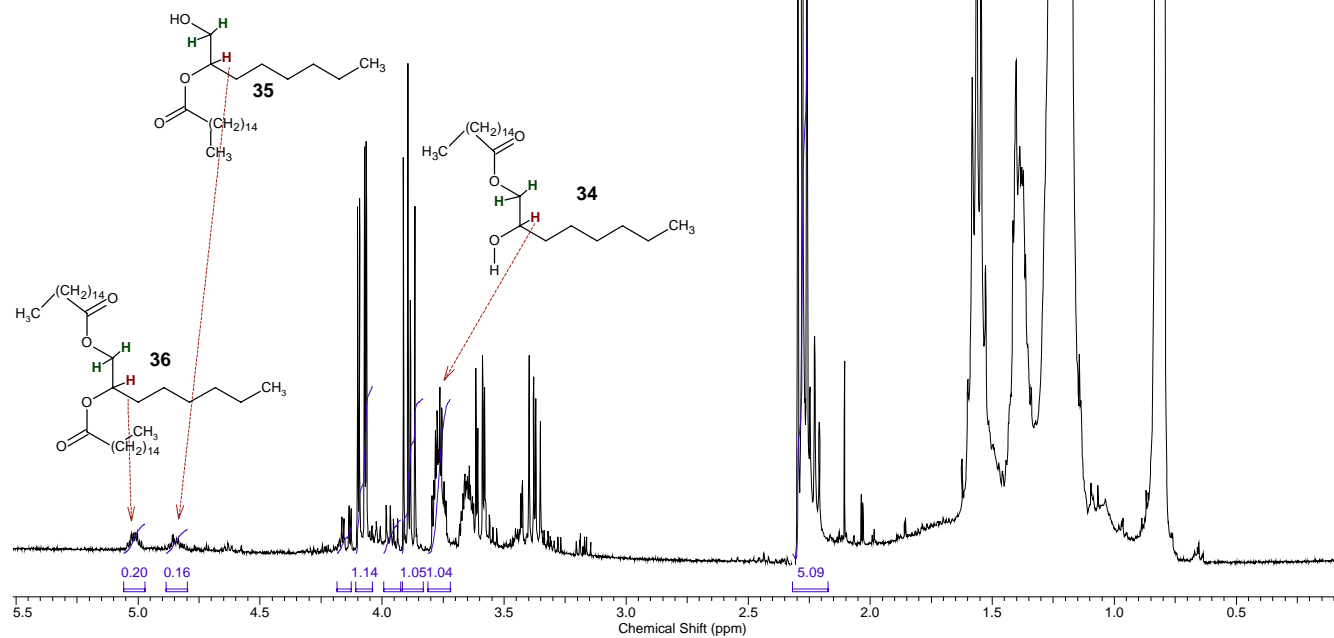


Figura 2. Espectre de RMN de <sup>1</sup>H de la reacció de l'1,2-octandiol, l'àcid palmític, KBr, I<sub>2</sub> en acetona.

Acquisition Time (sec)	1.9980	Date	Aug 28 2007	Date Stamp	Aug 28 2007
File Name	\\Rmn2\dades_mercury_400\MREIA\tbmekbr.fid\Rmn2\dades_mercury_400\MREIA\tbmekbr				
Frequency (MHz)	400.09	Nucleus	<sup>1</sup> H	Number of Transients	512
Original Points Count	7995	Points Count	8192	Pulse Sequence	s2pul
Receiver Gain	32.00	Solvent	CHLOROFORM-d		
Spectrum Offset (Hz)	1800.4095	Sweep Width (Hz)	4001.60	Temperature (degree C)	25.000

dissolvent: TBME

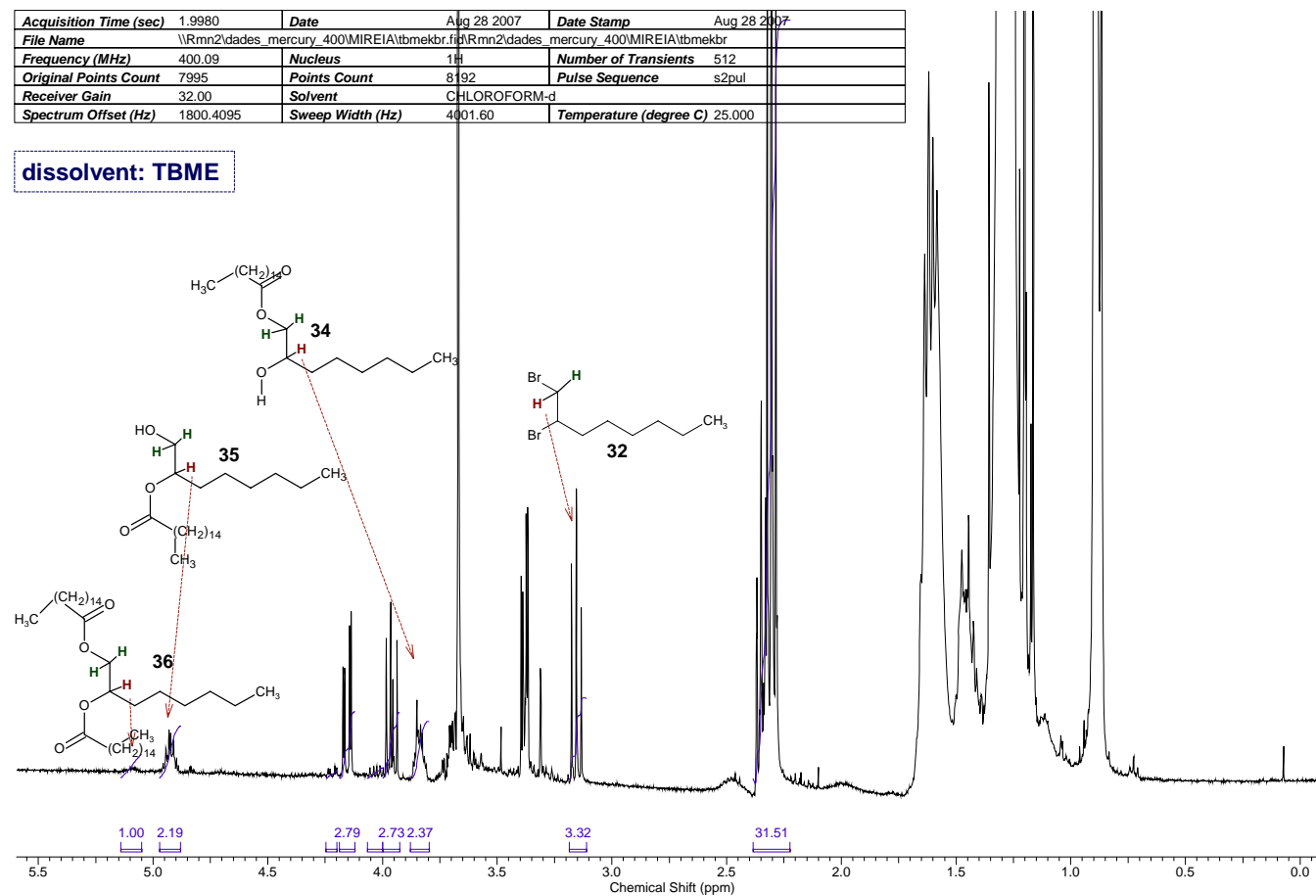
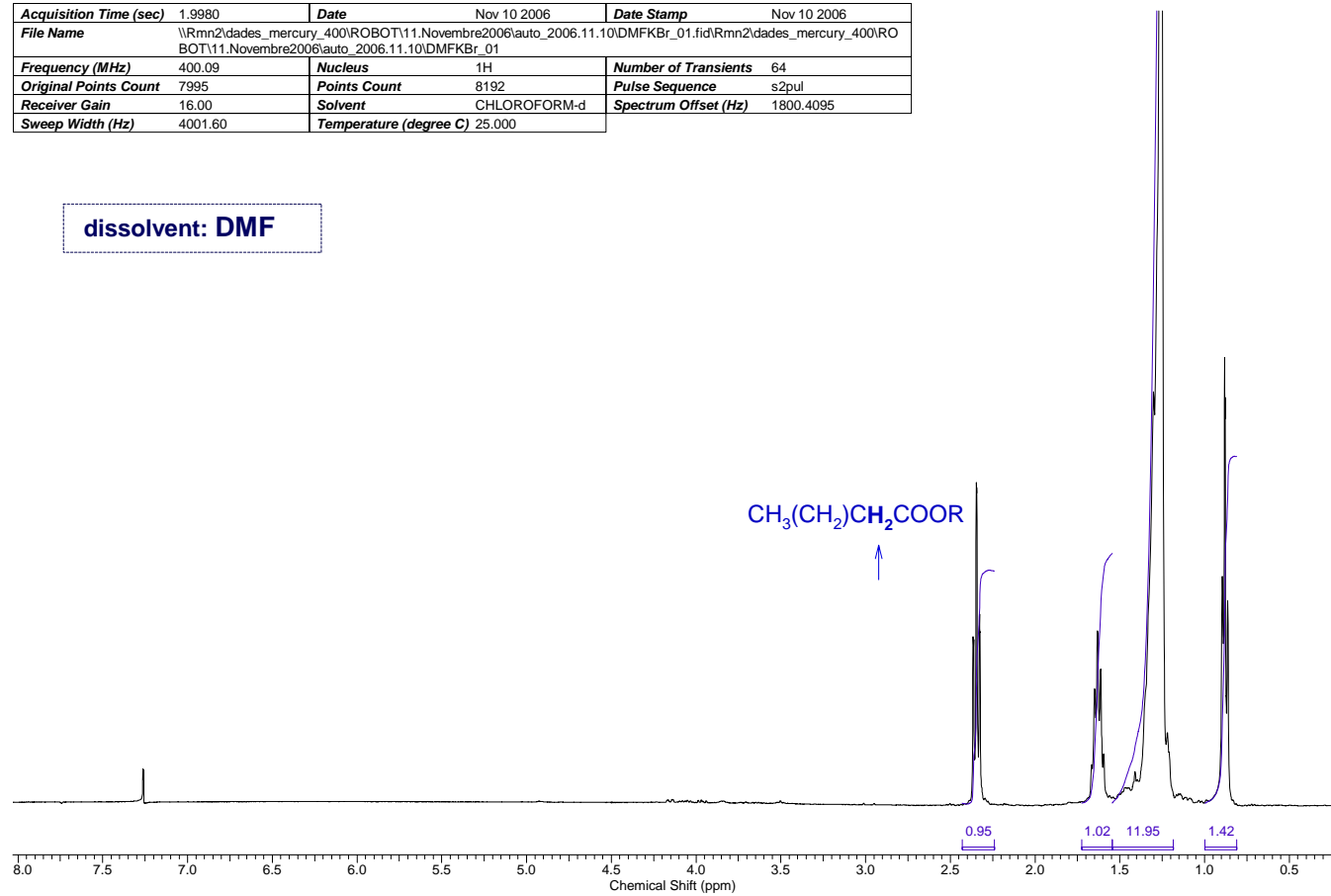


Figura 3. Espectre de RMN de <sup>1</sup>H de la reacció de l'1,2-octandiol, l'àcid palmític, KBr, I<sub>2</sub> en TBME.

Acquisition Time (sec)	1.9980	Date	Nov 10 2006	Date Stamp	Nov 10 2006
File Name	\\Rmn2\dades_mercury_400\ROBOT\11.Novembre2006\auto_2006.11.10\DMFKBr_01.fid\Rmn2\dades_mercury_400\ROBOT\11.Novembre2006\auto_2006.11.10\DMFKBr_01				
Frequency (MHz)	400.09	Nucleus	1H	Number of Transients	64
Original Points Count	7995	Points Count	8192	Pulse Sequence	s2pul
Receiver Gain	16.00	Solvent	CHLOROFORM-d	Spectrum Offset (Hz)	1800.4095
Sweep Width (Hz)	4001.60	Temperature (degree C)	25.000		

dissolvent: DMF



**Figura 4.** Espectre de RMN de <sup>1</sup>H de la reacció de l'1,2-octandiol, l'àcid palmític, KBr, I<sub>2</sub> en DMF.

Acquisition Time (sec)	1.9980	Date	Oct 30 2006	Date Stamp	Oct 30 2006
File Name	\\Rmn2\dades_mercury_400\ROBOT\10.Octubre2006\auto_2006.10.30_03\ACNKBr80_01.fid\Rmn2\dades_mercury_400\ROBOT\10.Octubre2006\auto_2006.10.30_03\ACNKBr80_01				
Frequency (MHz)	400.09	Nucleus	1H	Number of Transients	64
Original Points Count	7995	Points Count	8192	Pulse Sequence	s2pul
Receiver Gain	32.00	Solvent	CHLOROFORM-d	Spectrum Offset (Hz)	1800.4095
Sweep Width (Hz)	4001.60	Temperature (degree C)	25.000		

dissolvent: Acetonitril

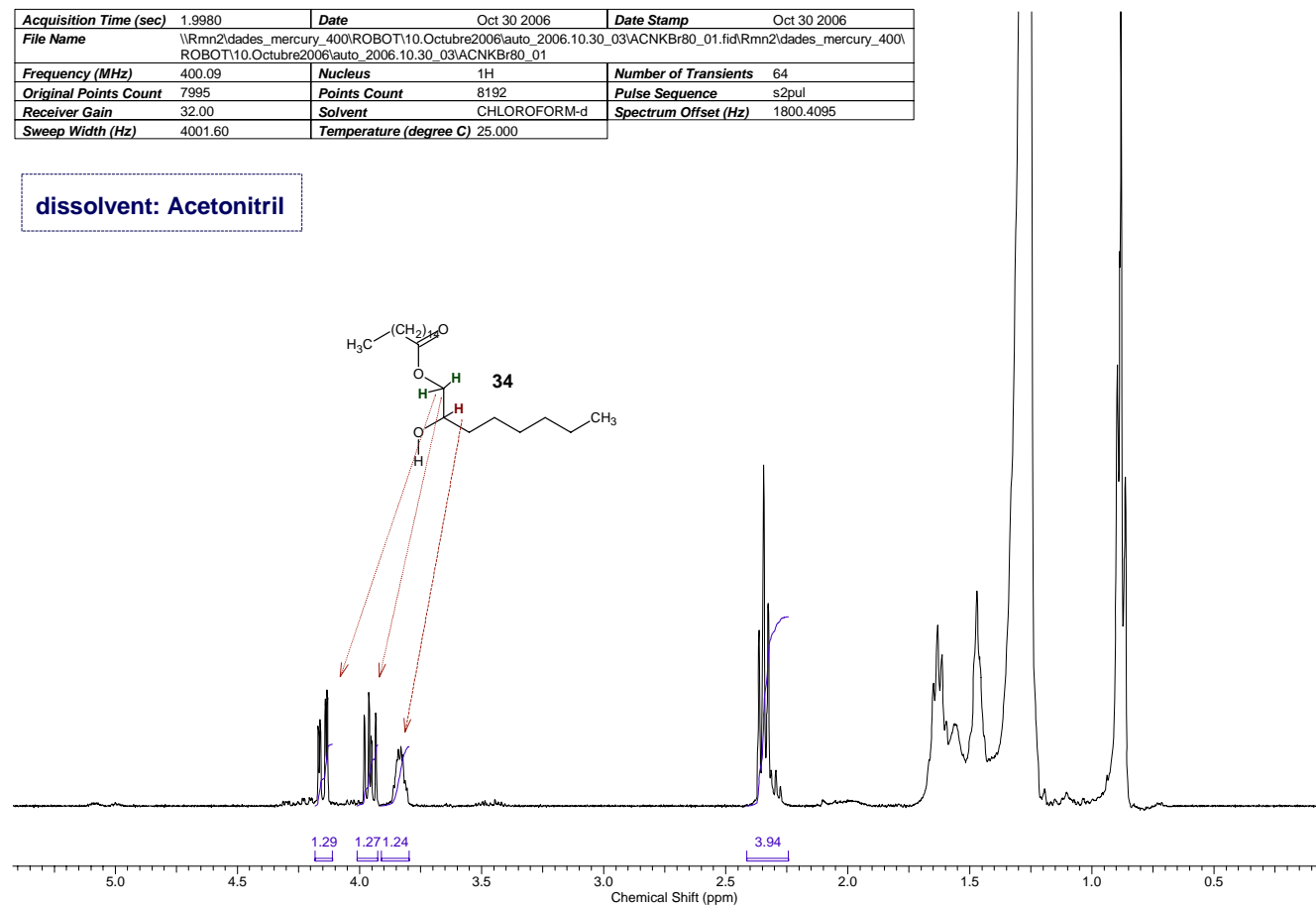
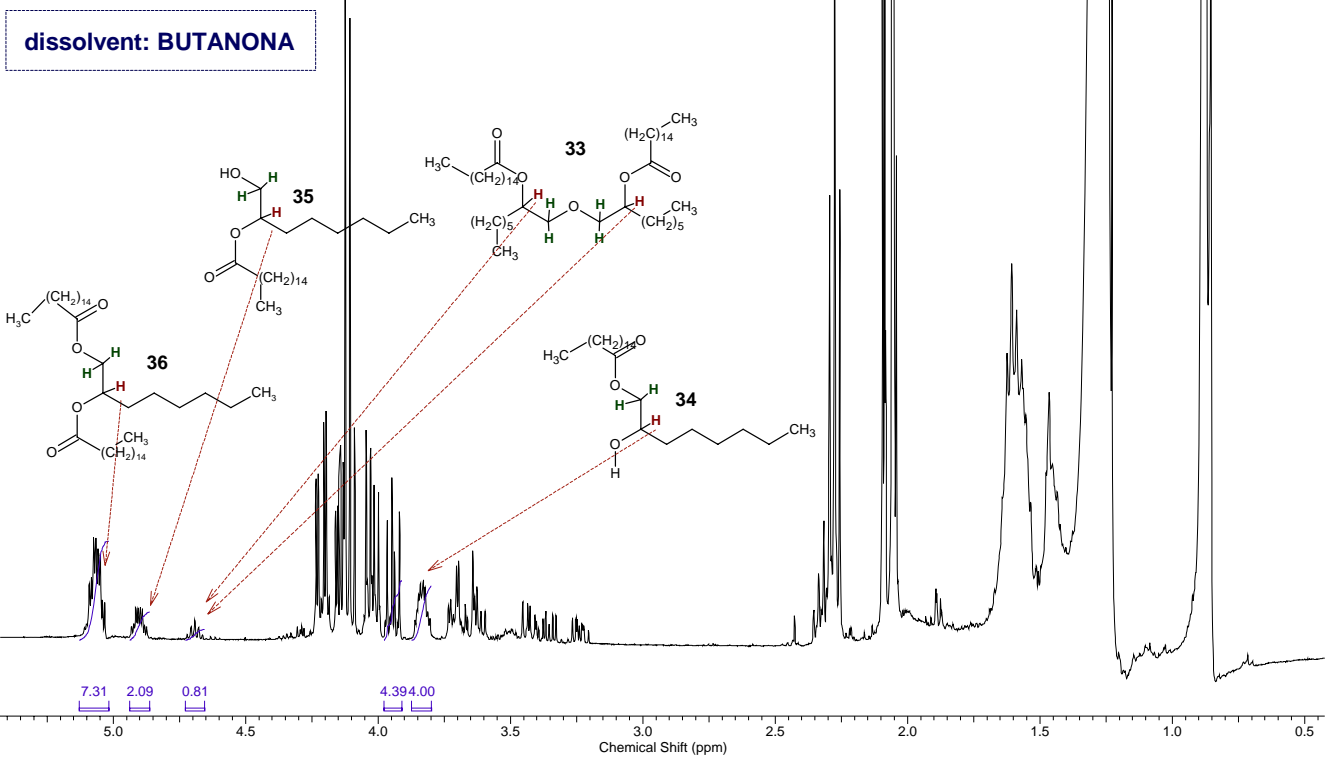


Figura 5. Espectre de RMN de  $^1\text{H}$  de la reacció de l'1,2-octandiòl, l'àcid palmític, KBr,  $\text{I}_2$  en acetonitril.

Acquisition Time (sec)	1.9980	Date	Jun 22 2006	Date Stamp	Jun 22 2006
File Name	\\Rmn2\dades_mercury_400\ROBOT06.Juny2006\auto_2006.06.21_01\butan100_01.fid\Rmn2\dades_mercury_400\ROB				
Frequency (MHz)	400.09	Nucleus	1H	Number of Transients	512
Original Points Count	7995	Points Count	8192	Pulse Sequence	s2pul
Receiver Gain	20.00	Solvent	CHLOROFORM-d	Spectrum Offset (Hz)	1800.4095
Sweep Width (Hz)	4001.60	Temperature (degree C)	25.000		



**Figura 6.** Espectre de RMN de  $^1\text{H}$  de la reacció de l'1,2-octandiòl, l'àcid palmític, KBr,  $\text{I}_2$  en butanona.

Acquisition Time (sec)	1.9980	Date	Jun 22 2006	Date Stamp	Jun 22 2006
File Name	\\Rmn2\dades_mercury_400\ROBOT\06.Juny2006\auto_2006.06.21_01\pentan100_01.fid\Rmn2\dades_mercury_400\ROBOT\06.Juny2006\auto_2006.06.21_01\pentan100_01				
Frequency (MHz)	400.09	Nucleus	<sup>1</sup> H	Number of Transients	512
Original Points Count	7995	Points Count	8192	Pulse Sequence	s2pul
Receiver Gain	12.00	Solvent	CHLOROFORM-d	Spectrum Offset (Hz)	1800.4095
Sweep Width (Hz)	4001.60	Temperature (degree C)	25.000		

dissolvent: PENTANONA

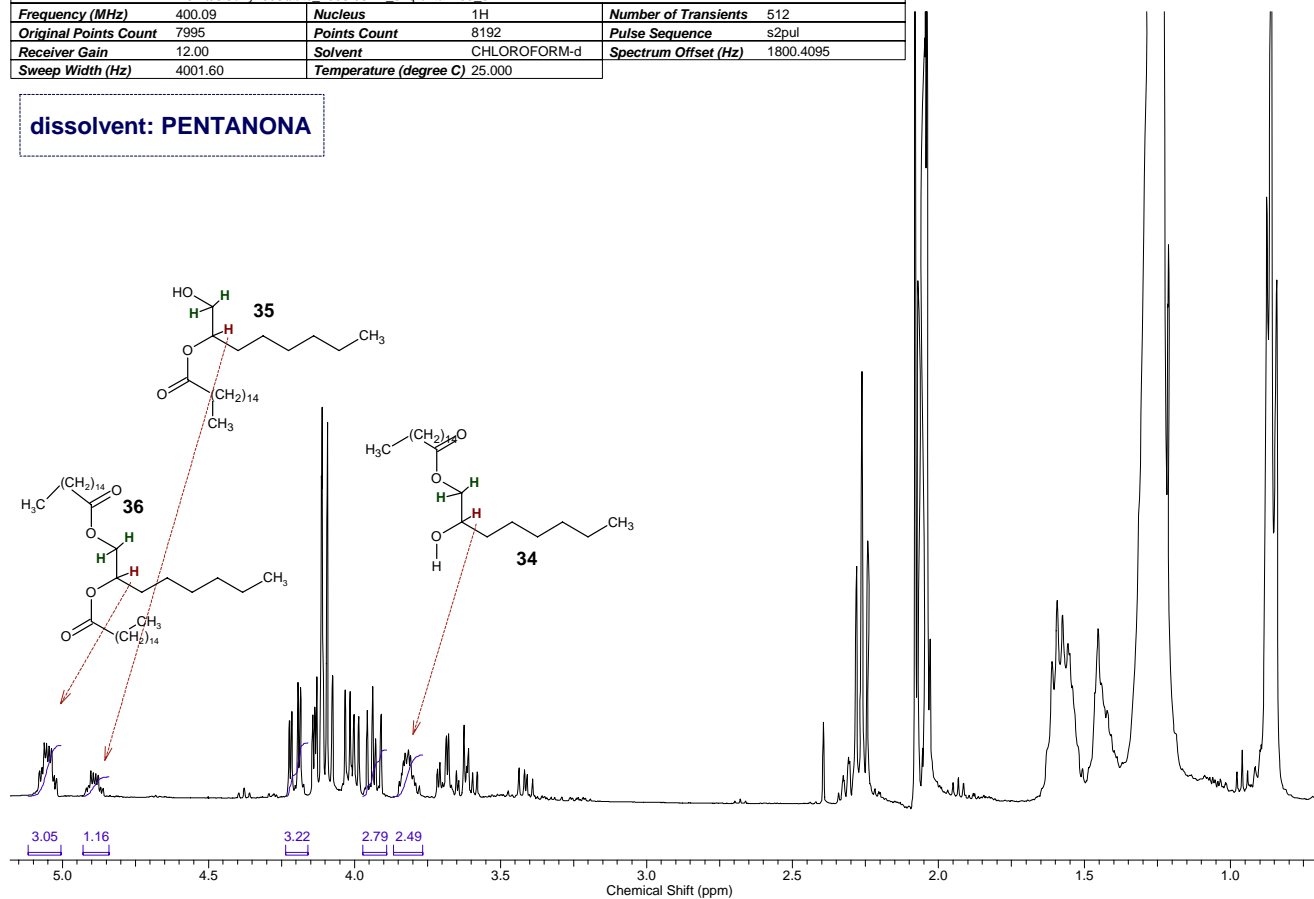


Figura 7. Espectre de RMN de <sup>1</sup>H de la reacció de l'1,2-octandiol, l'àcid palmític, KBr, I<sub>2</sub> en pentanona.

Acquisition Time (sec)	1.9980	Date	Sep 22 2006	Date Stamp	Sep 22 2006
File Name	\\Rmn2\dades_mercury_400\ROBOT\auto_2006.09.22_01\HEXAN130_01.fid\Rmn2\dades_mercury_400\ROBOT\auto_2006.09.22_01\HEXAN130_01				
Frequency (MHz)	400.09	Nucleus	<sup>1</sup> H	Number of Transients	64
Points Count	8192	Pulse Sequence	s2bul	Receiver Gain	36.00
Spectrum Offset (Hz)	1800.4095	Sweep Width (Hz)	4001.60	Temperature (degree C)	25.000
				Solvent	CHLOROFORM-d

dissolvent: Hexanona

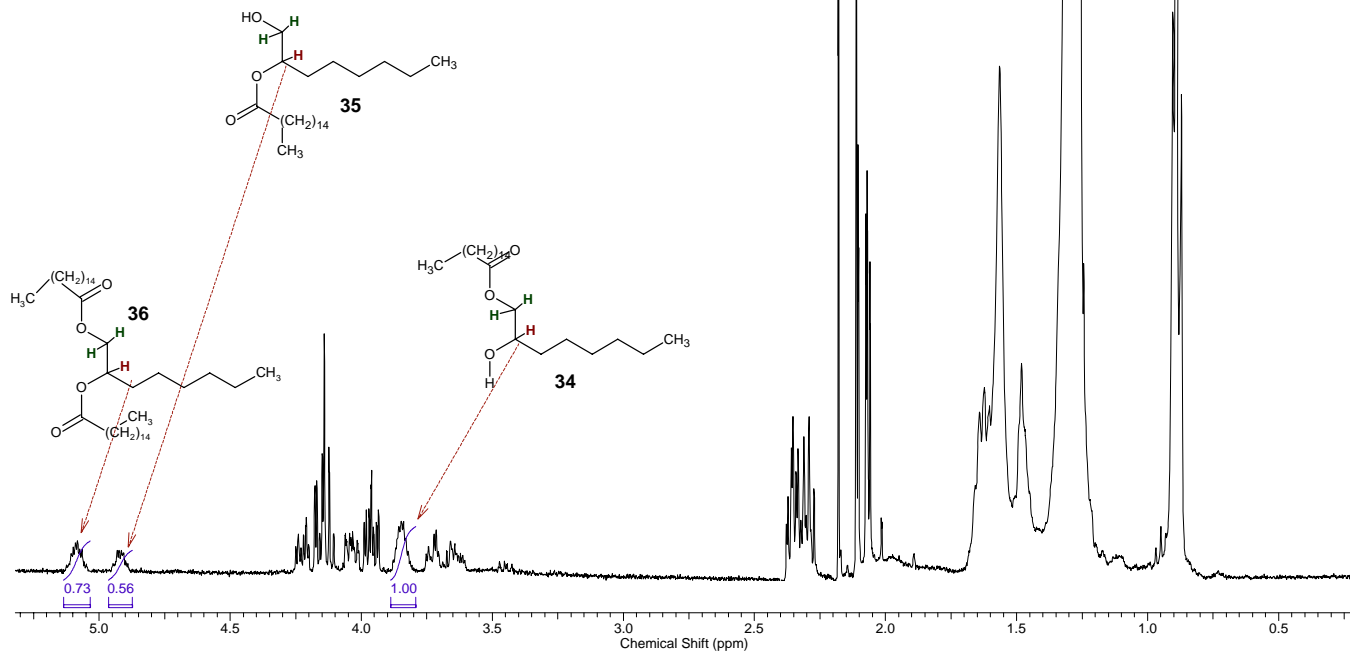


Figura 8. Espectre de RMN de <sup>1</sup>H de la reacció de l'1,2-octandiol, l'acid palmític, KBr, I<sub>2</sub> en hexanona.



Acquisition Time (sec)	1.9980	Date	Jun 19 2006	Date Stamp	Jun 19 2006
File Name	\\Rmn2\dades_mercury_400\ROBOT\06.Juny2006\auto_2006.06.19\hmdso4h1_01.fid\Rmn2\dades_mercury_400\ROBO T\06.Juny2006\auto_2006.06.19\hmdso4h1_01				
Frequency (MHz)	400.09	Nucleus	1H	Number of Transients	64
Original Points Count	12791	Points Count	16384	Pulse Sequence	s2pul
Receiver Gain	36.00	Solvent	CHLOROFORM-d	Spectrum Offset (Hz)	2374.9788
Sweep Width (Hz)	6402.05	Temperature (degree C)	25.000		

dissolvent: HMDSO

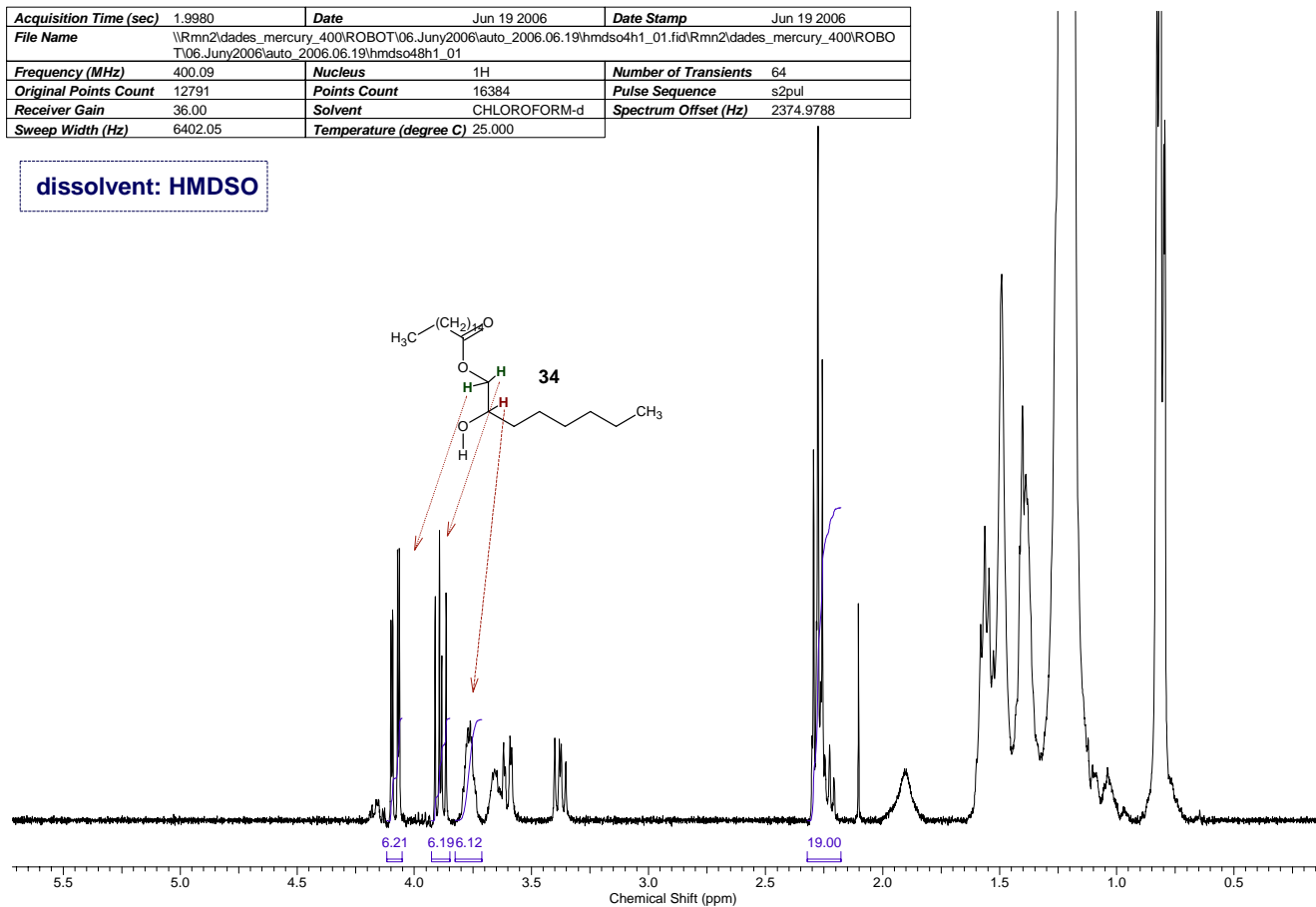


Figura 9. Espectre de RMN de <sup>1</sup>H de la reacció de l'1,2-octandiòl, l'àcid palmític, KBr, I<sub>2</sub> en HMDSO.

Acquisition Time (sec)	1.9980	Date	Jun 22 2006	Date Stamp	Jun 22 2006
File Name	\\Rmn2\dades_mercury_400\ROBOT\06.Juny2006\auto_2006.06.21_01\hds0120_01.fid\Rmn2\dades_mercury_400\ROBOT\06.Juny2006\auto_2006.06.21_01\hds0120_01				
Frequency (MHz)	400.09	Nucleus	1H	Number of Transients	512
Points Count	8192	Pulse Sequence	s2pul	Receiver Gain	16.00
Spectrum Offset (Hz)	1800.4095	Sweep Width (Hz)	4001.60	Temperature (degree C)	25.000
				Original Points	7995
				Solvent	CHLOROFORM-d

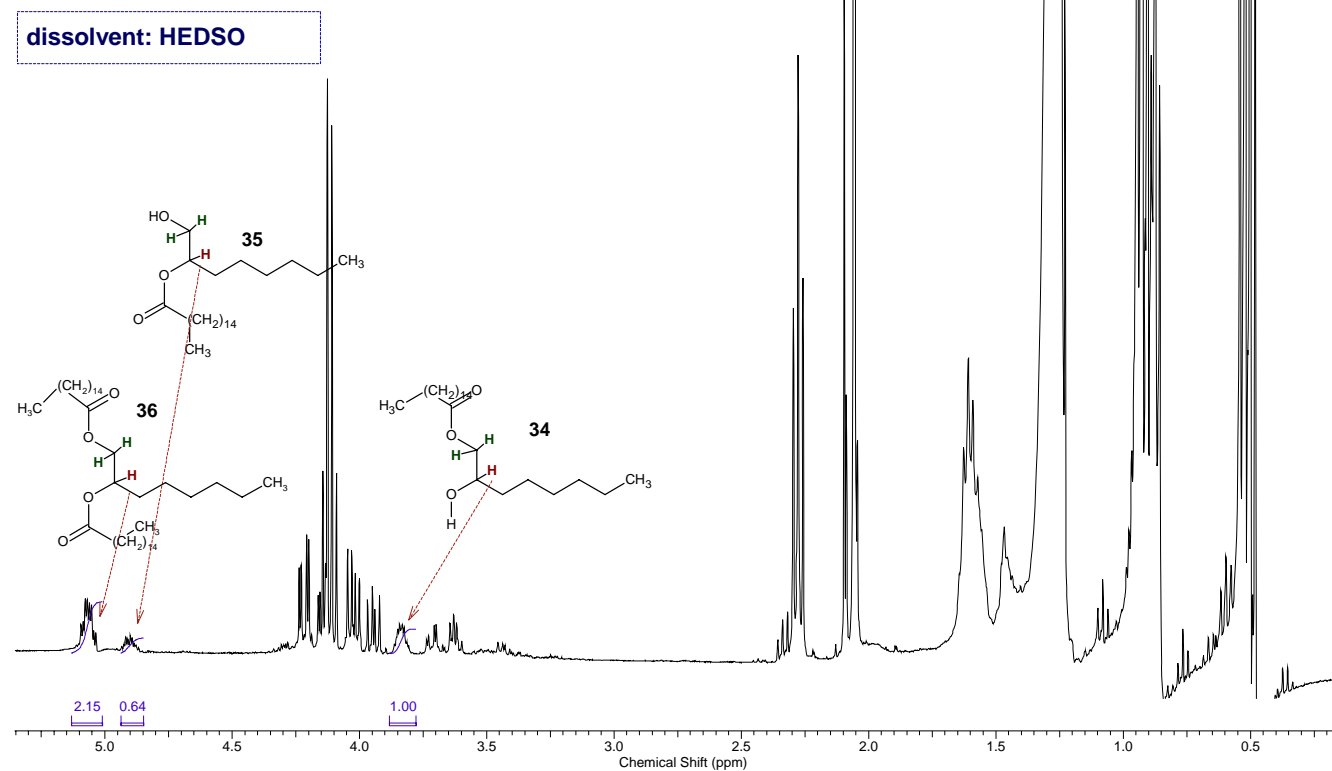


Figura 10. Espectre de RMN de  $^1\text{H}$  de la reacció de l'1,2-octandiòl, l'àcid palmític, KBr,  $\text{I}_2$  en HEDSO.

Acquisition Time (sec)	1.9980	Date	Jun 22 2006	Date Stamp	Jun 22 2006
File Name	\\Rmn2\dades_mercury_400\ROBOT\06.Juny2006\auto_2006.06.21_01\hpmtso150_01.fid\Rmn2\dades_mercury_400\ROBOT\06.Juny2006\auto_2006.06.21_01\hpmtso150_01				
Frequency (MHz)	400.09	Nucleus	1H	Number of Transients	512
Original Points Count	7995	Points Count	8192	Pulse Sequence	s2pul
Receiver Gain	20.00	Solvent	CHLOROFORM-d	Spectrum Offset (Hz)	1775.1239
Sweep Width (Hz)	4001.60	Temperature (degree C)	25.000		

dissolvent: HpMTSO

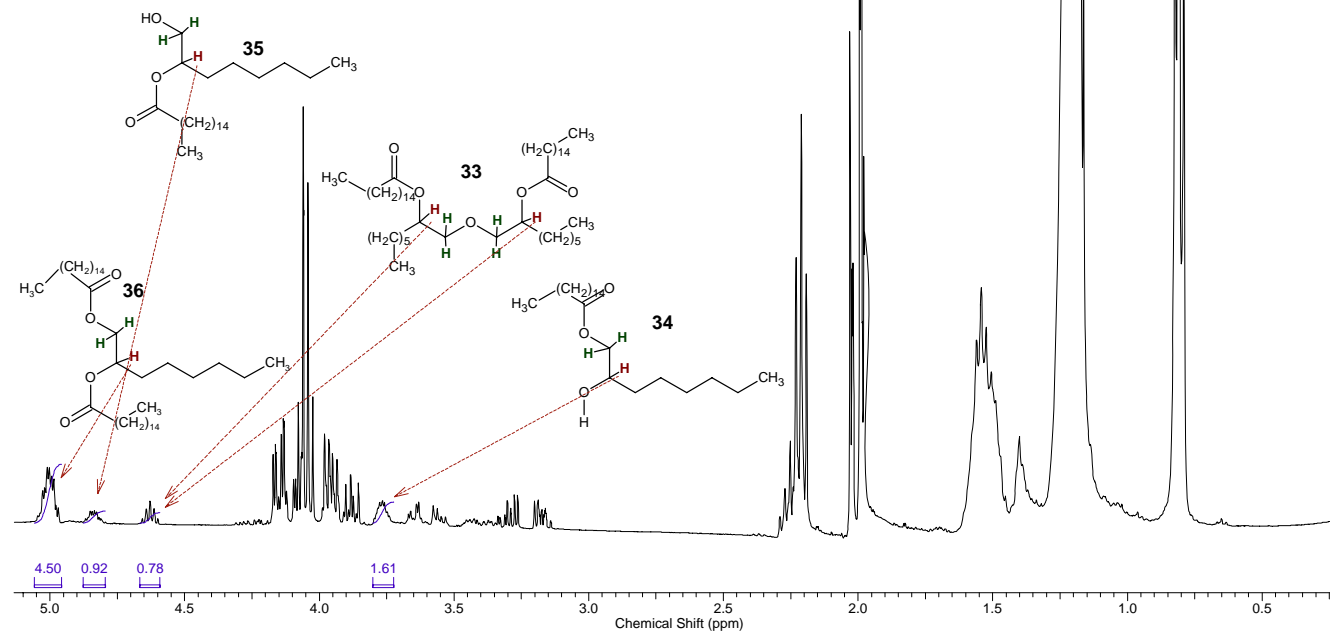


Figura 11. Espectre de RMN de  $^1\text{H}$  de la reacció de l'1,2-octandiòl, l'àcid palmític, KBr,  $\text{I}_2$  en HpMTSO.

Acquisition Time (sec)	1.9980	Date	Apr 26 2006	Date Stamp	Apr 26 2006
File Name	\\Rmn2\dades_mercury_400\ROBOT\04.Abril2006\auto_2006.04.26\hmimntf2kbr_01.fid\Rmn2\dades_mercury_400\ROBOT\04.Abril2006\auto_2006.04.26\hmimntf2kbr_01				
Frequency (MHz)	400.09	Nucleus	<sup>1</sup> H	Number of Transients	16
Original Points Count	12791	Points Count	16384	Pulse Sequence	s2pul
Receiver Gain	20.00	Solvent	CHLOROFORM-d	Spectrum Offset (Hz)	2400.5447
Sweep Width (Hz)	6402.05	Temperature (degree C)	25.000		

dissolvent: HMIM N(Tf)<sub>2</sub>

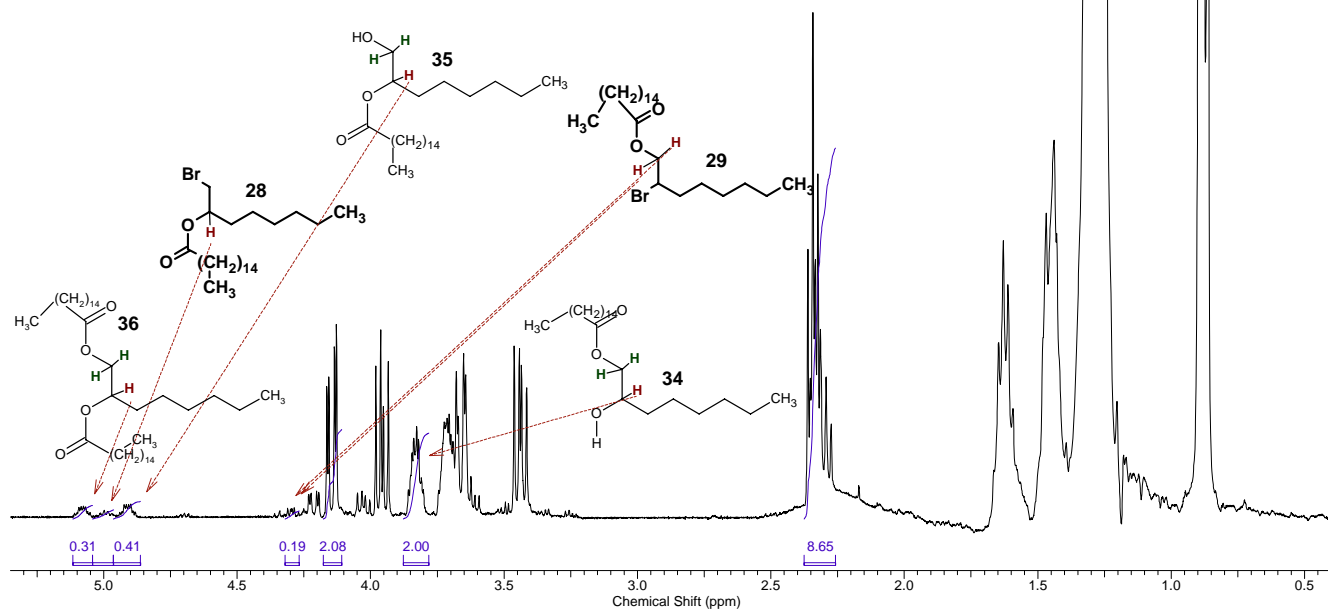


Figura 12. Espectre de RMN de <sup>1</sup>H de la reacció de l'1,2-octandiòl, l'àcid palmític, KBr, I<sub>2</sub> en [HMIM][N(Tf)<sub>2</sub>].

Acquisition Time (sec)	1.9980	Date	Apr 26 2006	Date Stamp	Apr 26 2006
File Name	\\Rmn2\dades_mercury_400\ROBOT\04.Abril2006\auto_2006.04.26\omimntf2akbr_01.fid\Rmn2\dades_mercury_400\ROBOT\04.Abril2006\auto_2006.04.26\omimntf2akbr_01				
Frequency (MHz)	400.09	Nucleus	1H	Number of Transients	8
Original Points Count	12791	Points Count	16384	Pulse Sequence	s2pul
Receiver Gain	20.00	Solvent	CHLOROFORM-d	Spectrum Offset (Hz)	2400.5447
Sweep Width (Hz)	6402.05	Temperature (degree C)	25.000		

dissolvent: OMIM N(Tf)<sub>2</sub>

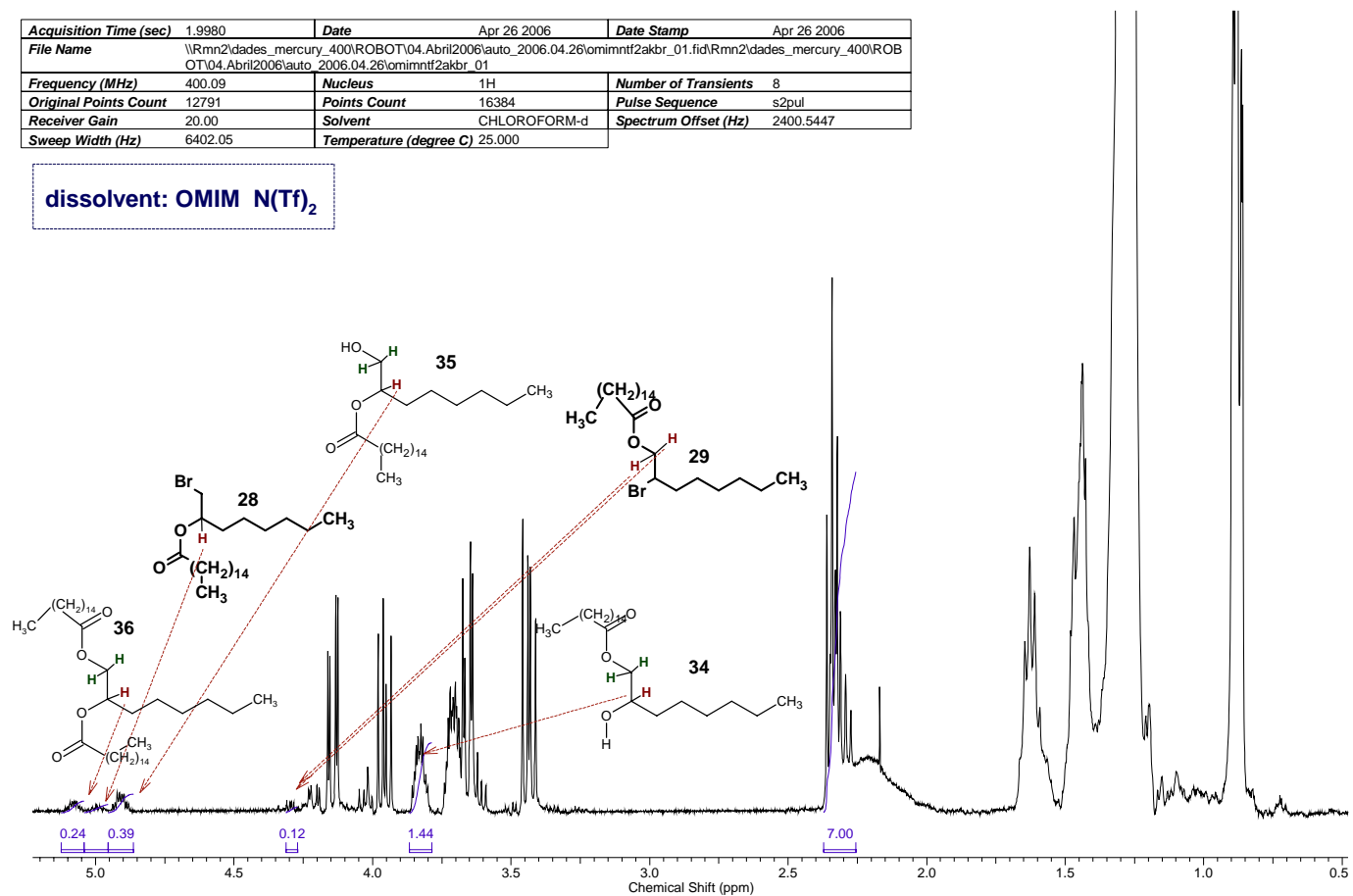
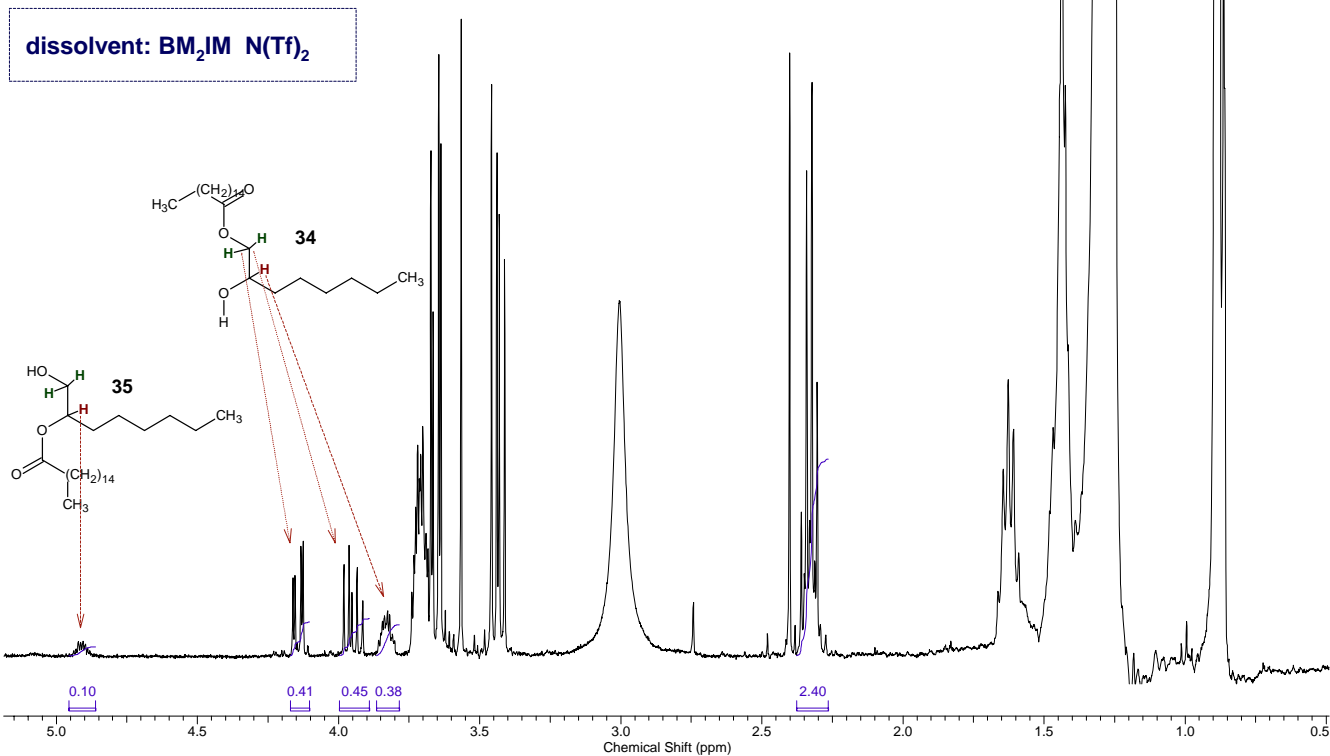


Figura 13. Espectre de RMN de <sup>1</sup>H de la reacció de l'1,2-octandiòl, l'àcid palmític, KBr, I<sub>2</sub> en [OMIM][N(Tf)<sub>2</sub>].

Acquisition Time (sec)	1.9980	Date	Apr 26 2006	Date Stamp	Apr 26 2006
File Name	\\Rmn2\dades_mercury_400\ROBOT\04.Abril2006\auto_2006.04.26\bm2imntf2kbr_01.fid\Rmn2\dades_mercury_400\ROBOT\04.Abril2006\auto_2006.04.26\bm2imntf2kbr_01				
Frequency (MHz)	400.09	Nucleus	1H	Number of Transients	8
Original Points Count	12791	Points Count	16384	Pulse Sequence	s2pul
Receiver Gain	20.00	Solvent	CHLOROFORM-d	Spectrum Offset (Hz)	2400.5447
Sweep Width (Hz)	6402.05	Temperature (degree C)	25.000		



**Figura 14.** Espectre de RMN de  $^1\text{H}$  de la reacció de l'1,2-octandiòl, l'àcid palmític,  $\text{KBr}$ ,  $\text{I}_2$  en  $[\text{BM}_2\text{IM}][\text{N(Tf)}_2]$

Acquisition Time (sec)	1.9980	Date	Apr 26 2006	Date Stamp	Apr 26 2006
File Name	\\Rmn2\dades_mercury_400\ROBOT\04.Abril2006\auto_2006.04.26_03\bpntf2akbr_01.fid\Rmn2\dades_mercury_400\ROBOT\04.Abril2006\auto_2006.04.26_03\bpntf2akbr_01				
Frequency (MHz)	400.09	Nucleus	1H	Number of Transients	8
Original Points Count	12791	Points Count	16384	Pulse Sequence	s2pul
Receiver Gain	20.00	Solvent	CHLOROFORM-d	Spectrum Offset (Hz)	2400.5447
Sweep Width (Hz)	6402.05	Temperature (degree C)	25.000		

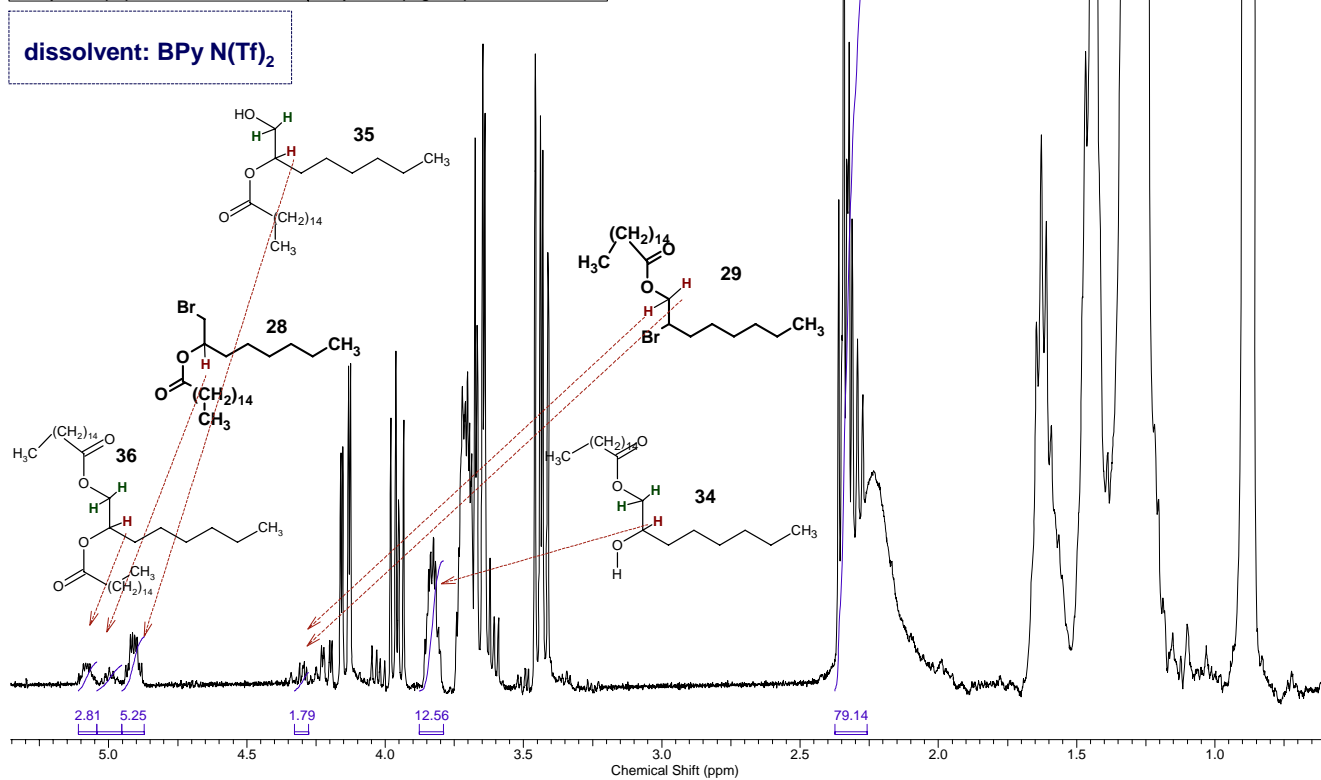


Figura 15. Espectre de RMN de <sup>1</sup>H de la reacció de l'1,2-octandiòl, l'àcid palmític, KBr, I<sub>2</sub> en [BPy][N(Tf)<sub>2</sub>].

Acquisition Time (sec)	1.9980	Date	Apr 26 2006	Date Stamp	Apr 26 2006
File Name	\\Rmn2\dades_mercury_400\ROBOT04.Abril2006\auto_2006.04.26\bmpyntf2bkbr_01.fid\Rmn2\dades_mercury_400\ROBOT04.Abril2006\auto_2006.04.26\bmpyntf2bkbr_01				
Frequency (MHz)	400.09	Nucleus	1H	Number of Transients	16
Original Points Count	12791	Points Count	16384	Pulse Sequence	s2pul
Receiver Gain	20.00	Solvent	CHLOROFORM-d	Spectrum Offset (Hz)	2400.5447
Sweep Width (Hz)	6402.05	Temperature (degree C)	25.000		

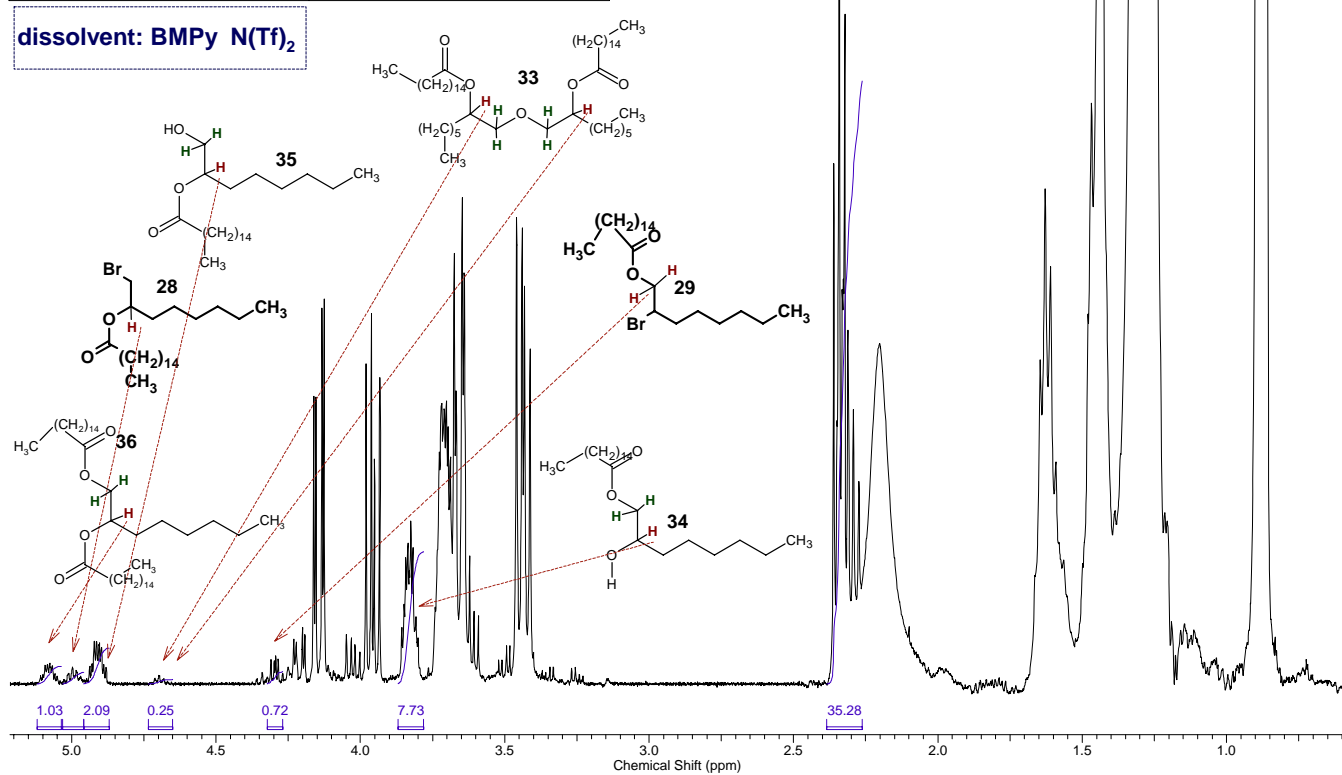


Figura 16. Espectre de RMN de <sup>1</sup>H de la reacció de 1',2-octandiòl, l'àcid palmític, KBr, I<sub>2</sub> en [BMPy][N(Tf)<sub>2</sub>].



Acquisition Time (sec)	1.9980	Date	Nov 24 2006	Date Stamp	Nov 24 2006
File Name	\\Rmn2\dades_mercury_400\ROBOT\11.Novembre2006\auto_2006.11.24_04\omimBF4Va_01.fid\Rmn2\dades_mercury_400\ROBOT\11.Novembre2006\auto_2006.11.24_04\omimBF4Va_01				
Frequency (MHz)	400.09	Nucleus	1H	Number of Transients	812
Original Points Count	7995	Points Count	8192	Pulse Sequence	zgpg30
Receiver Gain	38.00	Solvent	CHLOROFORM-d	Spectrum Offset (Hz)	1774.1471
Sweep Width (Hz)	4001.60	Temperature (degree C)	25.000		

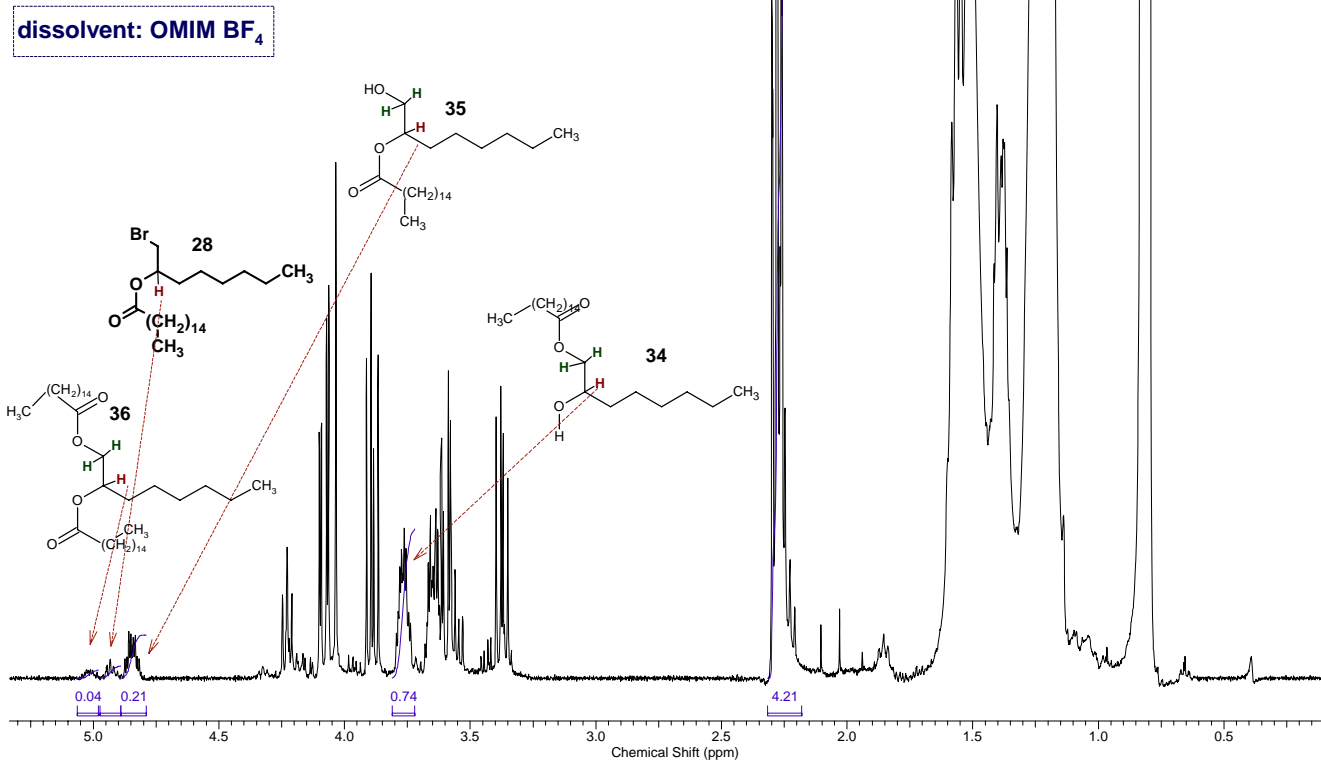


Figura 17. Espectre de RMN de <sup>1</sup>H de la reacció de l'1,2-octandiòl, l'àcid palmític, KBr, I<sub>2</sub> en [OMIM][BF<sub>4</sub>].

Acquisition Time (sec)	1.9980	Date	Nov 24 2006	Date Stamp	Nov 24 2006
File Name	\\Rmn2\dades_mercury_400\ROBOT\11.Novembre2006\auto_2006.11.24\bm2imBF4b_01.fid\Rmn2\dades_mercury_400\ROBOT\11.Novembre2006\auto_2006.11.24\bm2imBF4b_01				
Frequency (MHz)	400.09	Nucleus	1H	Number of Transients	512
Original Points Count	7995	Points Count	8192	Pulse Sequence	s2pul
Receiver Gain	38.00	Solvent	CHLOROFORM-d	Spectrum Offset (Hz)	1773.6587
Sweep Width (Hz)	4001.60	Temperature (degree C)	25.000		

dissolvent: BM<sub>2</sub>IM BF<sub>4</sub>

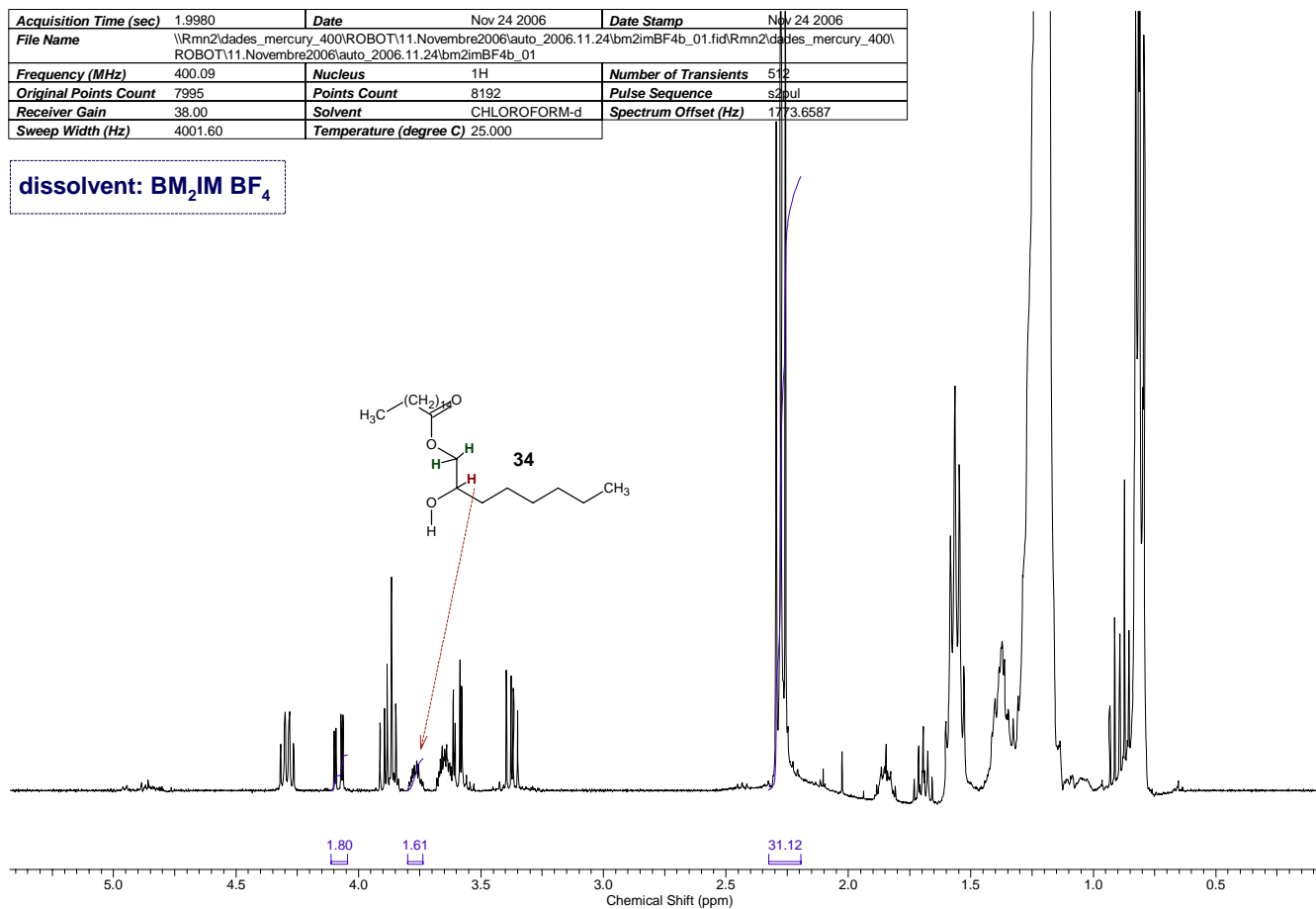


Figura 18. Espectre de RMN de <sup>1</sup>H de la reacció de l'1,2-octandiòl, l'àcid palmític, KBr, I<sub>2</sub> en [BM<sub>2</sub>IM][BF<sub>4</sub>].

Acquisition Time (sec)	1.9980	Date	Nov 24 2006	Date Stamp	Nov 24 2006
File Name	\\Rmn2\dades_mercury_400\ROBOT11.Novembre2006\auto_2006.11.24_04\bhimBF4a_01.fid\Rmn2\dades_mercury_400\ROBOT11.Novembre2006\auto_2006.11.24_04\bhimBF4a_01				
Frequency (MHz)	400.09	Nucleus	1H	Number of Transients	512
Original Points Count	7995	Points Count	8192	Pulse Sequence	s2pul
Receiver Gain	38.00	Solvent	CHLOROFORM-d	Spectrum Offset (Hz)	1774.1471
Sweep Width (Hz)	4001.60	Temperature (degree C)	25.000		

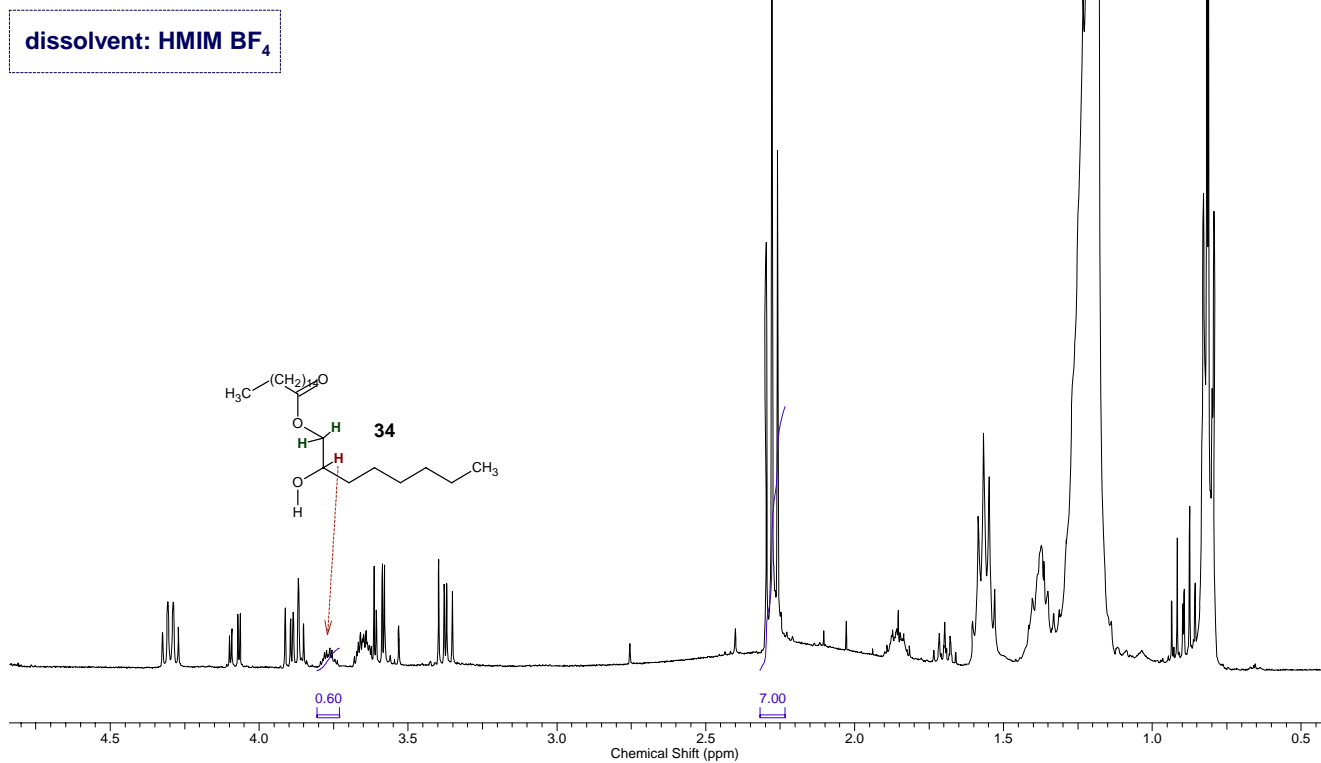


Figura 19. Espectre de RMN de <sup>1</sup>H de la reacció de l'1,2-octandiòl, l'àcid palmític, KBr, I<sub>2</sub> en [HMIM][BF<sub>4</sub>].

Acquisition Time (sec)	1.9980	Date	Nov 24 2006	Date Stamp	Nov 24 2006
File Name	\\Rmn2\dades_mercury_400\ROBOT11.Novembre2006\auto_2006.11.24_04\bdimBF4a_01.fid\Rmn2\dades_mercury_400\ROBOT11.Novembre2006\auto_2006.11.24_04\bdimBF4a_01				
Frequency (MHz)	400.09	Nucleus	1H	Number of Transients	512
Original Points Count	7995	Points Count	8192	Pulse Sequence	s2pu
Receiver Gain	38.00	Solvent	CHLOROFORM-d	Spectrum Offset (Hz)	1774.1471
Sweep Width (Hz)	4001.60	Temperature (degree C)	25.000		

dissolvent: BDIM BF<sub>4</sub>

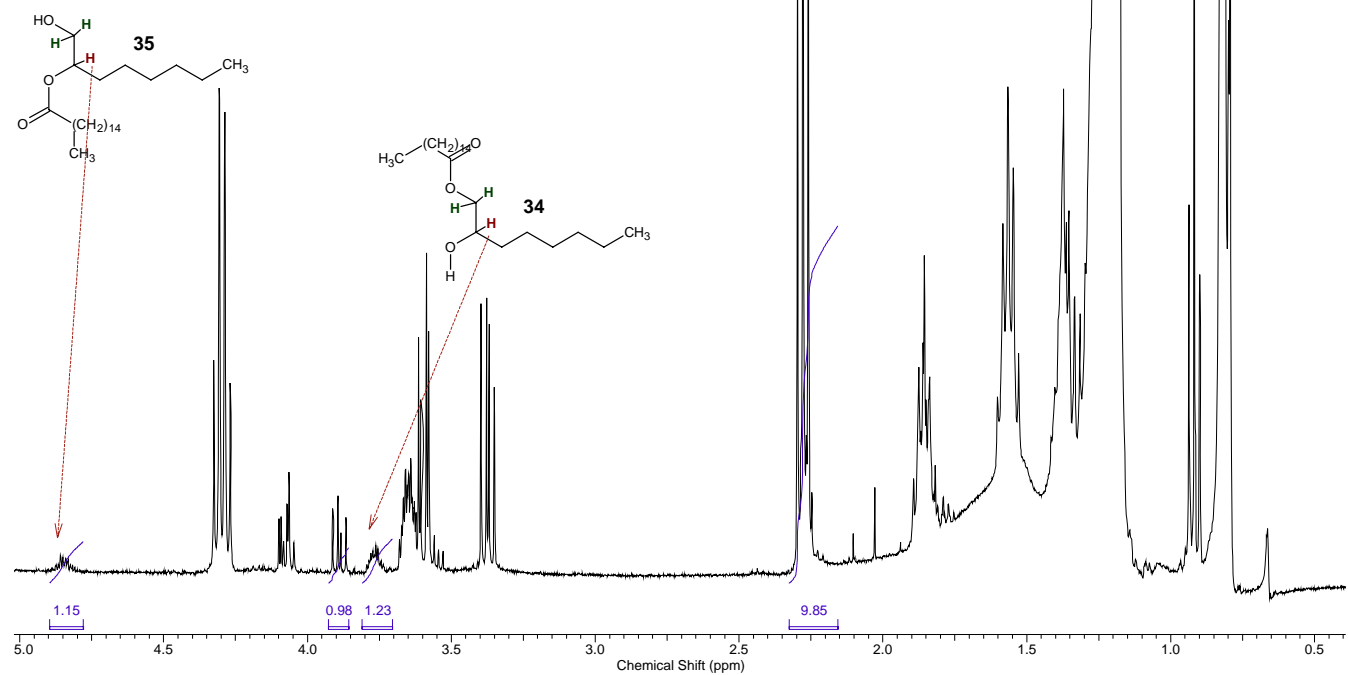
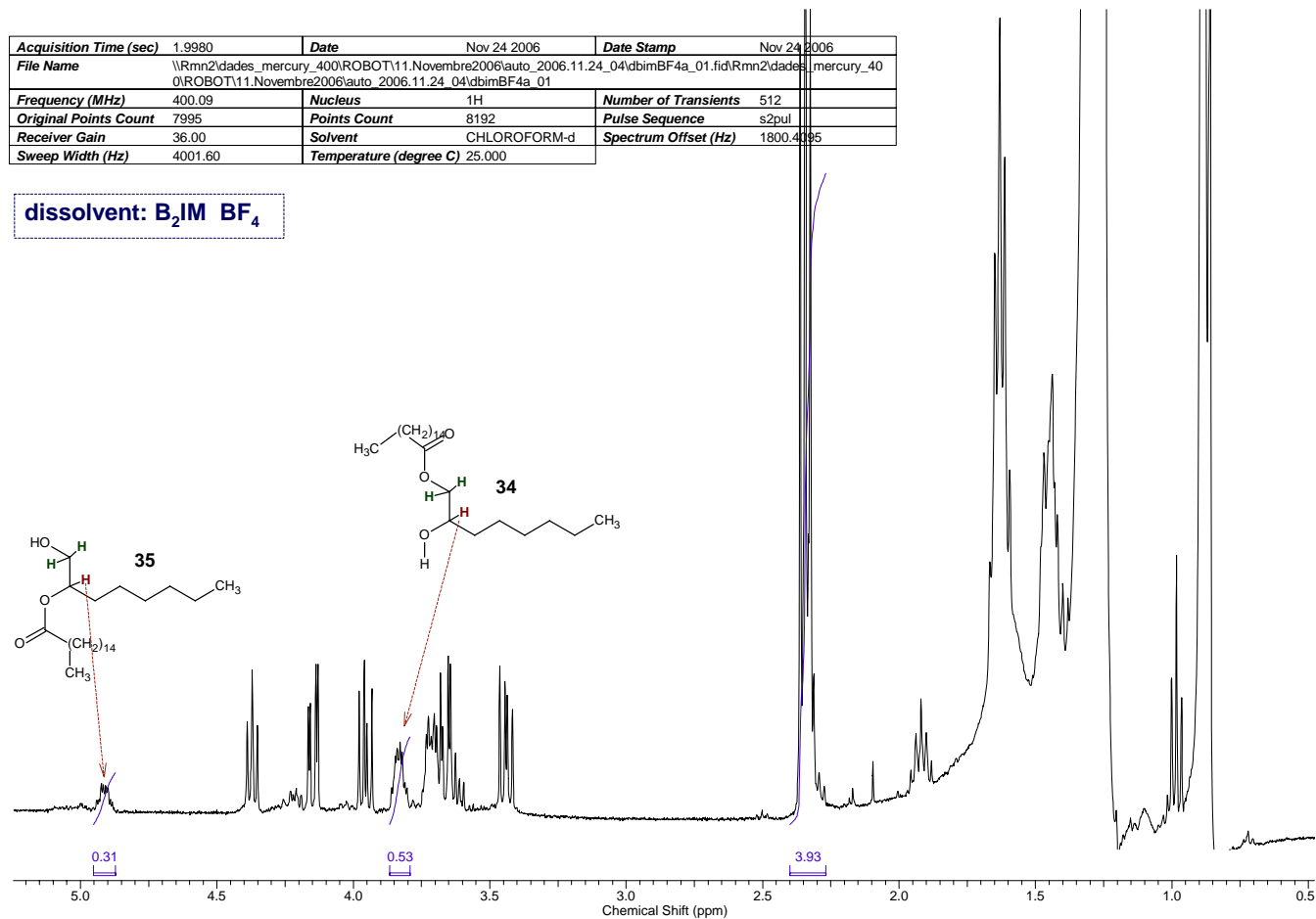


Figura 20. Espectre de RMN de <sup>1</sup>H de la reacció de l'1,2-octandiòl, l'àcid palmític, KBr, I<sub>2</sub> en [BDIM][BF<sub>4</sub>].

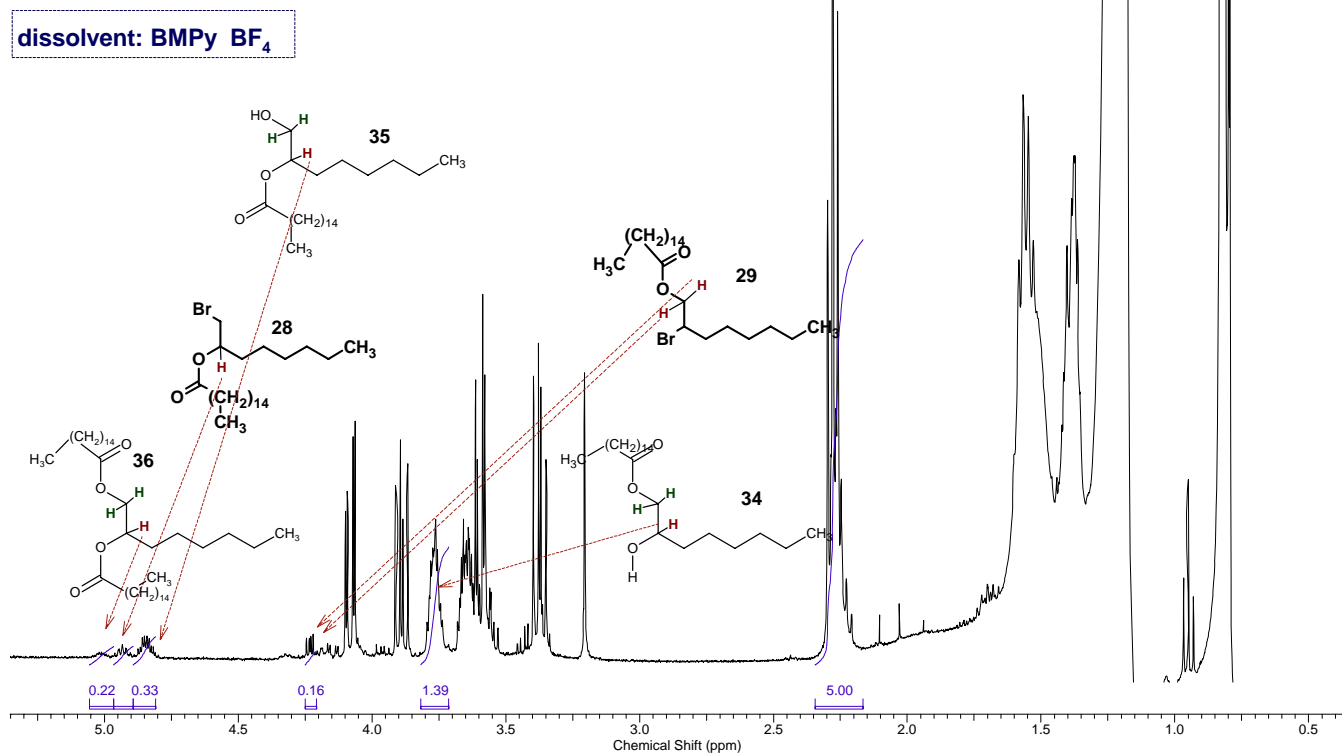
Acquisition Time (sec)	1.9980	Date	Nov 24 2006	Date Stamp	Nov 24 2006
File Name	\\Rmn2\dades_mercury_400\ROBOT\11.Novembre2006\auto_2006.11.24_04\dbimBF4a_01.fid\Rmn2\dades_mercury_400\ROBOT\11.Novembre2006\auto_2006.11.24_04\dbimBF4a_01				
Frequency (MHz)	400.09	Nucleus	<sup>1</sup> H	Number of Transients	512
Original Points Count	7995	Points Count	8192	Pulse Sequence	s2pul
Receiver Gain	36.00	Solvent	CHLOROFORM-d	Spectrum Offset (Hz)	1800.4395
Sweep Width (Hz)	4001.60	Temperature (degree C)	25.000		

dissolvent: B<sub>2</sub>IM BF<sub>4</sub>



**Figura 21.** Espectre de RMN de <sup>1</sup>H de la reacció de l'1,2-octandiòl, l'àcid palmític, KBr, I<sub>2</sub> en [B<sub>2</sub>IM][BF<sub>4</sub>].

Acquisition Time (sec)	1.9980	Date	Nov 24 2006	Date Stamp	Nov 24 2006
File Name	\\Rmn2\dades_mercury_400\ROBOT\11.Novembre2006\auto_2006.11.24_04\bmPyBF4a_01.fid\Rmn2\dades_mercury_400\ROBOT\11.Novembre2006\auto_2006.11.24_04\bmPyBF4a_01				
Frequency (MHz)	400.09	Nucleus	1H	Number of Transients	512
Original Points Count	7995	Points Count	8192	Pulse Sequence	s2pul
Receiver Gain	36.00	Solvent	CHLOROFORM-d	Spectrum Offset (Hz)	1774.1471
Sweep Width (Hz)	4001.60	Temperature (degree C)	25.000		



**Figura 22.** Espectre de RMN de <sup>1</sup>H de la reacció de l'1,2-octandiòl, l'àcid palmític, KBr, I<sub>2</sub> en [BMPy][BF<sub>4</sub>].

Acquisition Time (sec)	1.9980	Date	Aug 23 2007	Date Stamp	Aug 23 2007
File Name	C:\MIREIA\ESPECTRES RMN\08.Agos2007\auto_2007.08.23\1b_Ac_Aceti+1_2_octandiol_01			Frequency (MHz)	400.09
Nucleus	<sup>1</sup> H	Number of Transients	32	Original Points Count	7995
Pulse Sequence	s2pul	Receiver Gain	39.00	Solvent	CHLOROFORM-d
Spectrum Offset (Hz)	1800.4095	Sweep Width (Hz)	4001.60	Temperature (degree C)	25.000

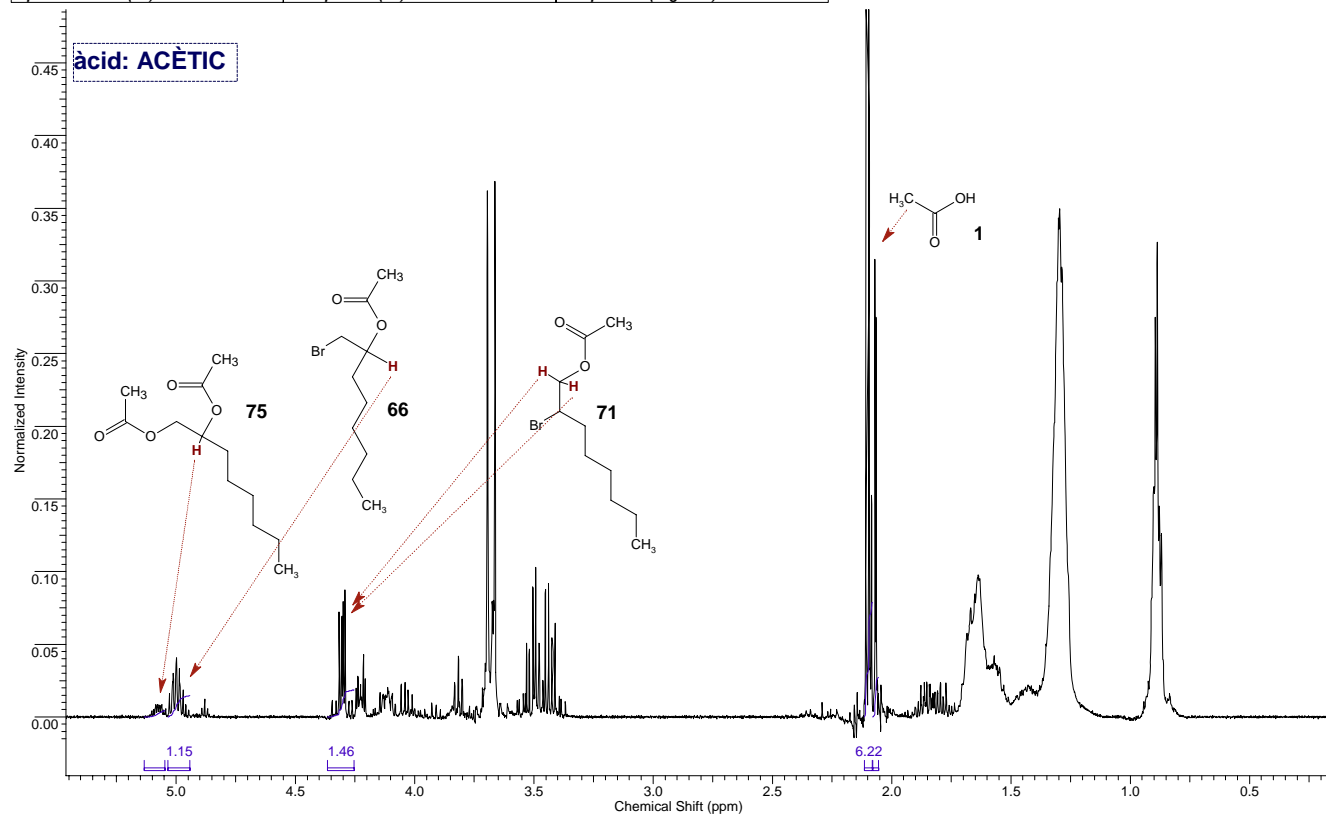
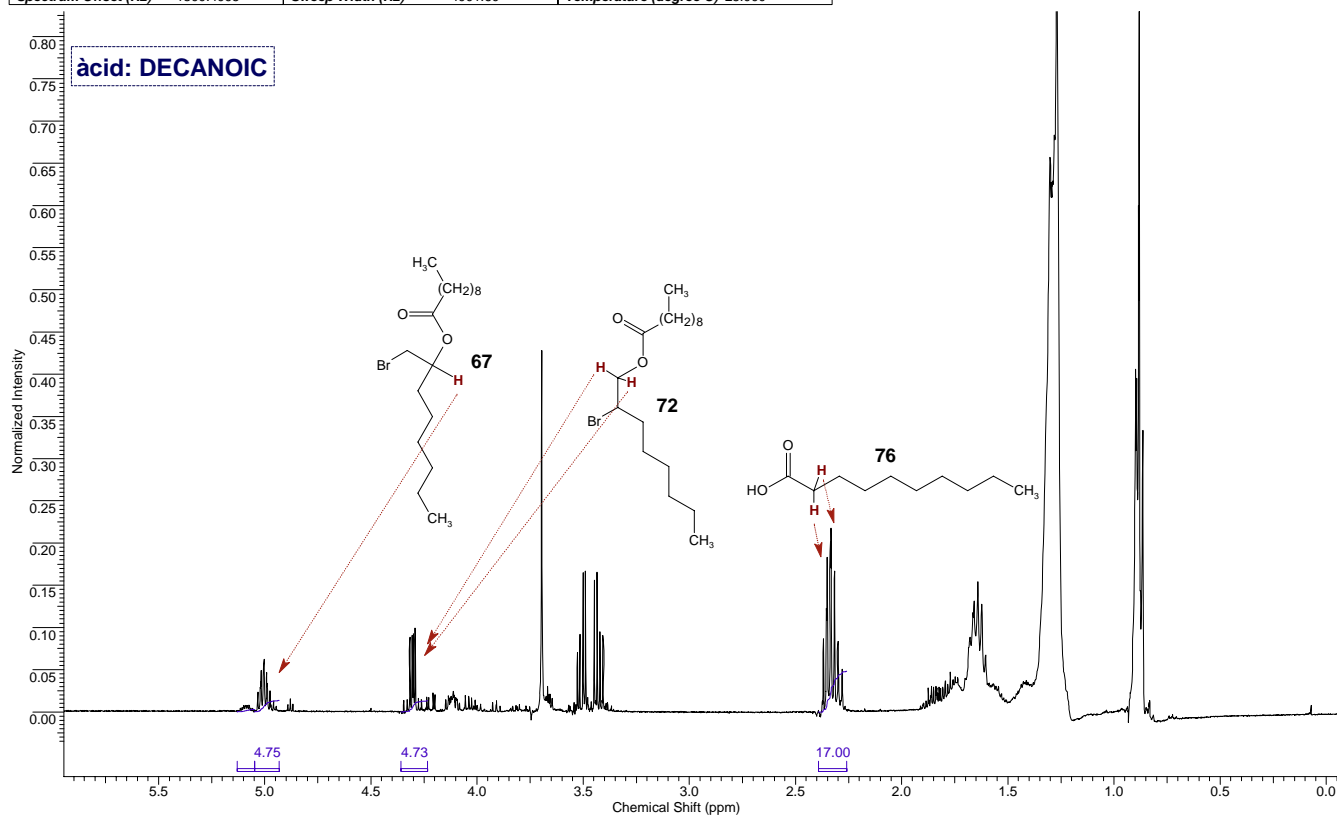


Figura 23. Espectre de RMN de <sup>1</sup>H de la reacció de l'1,2-octandiol, l'àcid acètic, KBr en [BMIM][PF<sub>6</sub>].

Acquisition Time (sec)	1.9980	Date	Aug 23 2007	Date Stamp	Aug 23 2007		
File Name	C:\MIREIA\ESPECTRES RMN08\Agost2007\auto_2007.08.23\3b_Ac_Decanoic+1_2_octandiol_01				Frequency (MHz)	400.09	
Nucleus	<sup>1</sup> H	Number of Transients	32	Original Points Count	7995	Points Count	8192
Pulse Sequence	s2pul	Receiver Gain	32.00	Solvent	CHLOROFORM-d		
Spectrum Offset (Hz)	1800.4095	Sweep Width (Hz)	4001.60	Temperature (degree C)	25.000		



**Figura 24.** Espectre de RMN de <sup>1</sup>H de la reacció de l'1,2-octandiol, l'àcid decanoic, KBr en [BMIM][PF<sub>6</sub>].



Acquisition Time (sec)	1.9980	Date	Aug 23 2007	Date Stamp	Aug 23 2007
File Name	C:\MIREIA\ESPECTRES RMN08.Agost2007\auto_2007.08.23\4a_Ac_Benzoic+1_2_octandiol_01			Frequency (MHz)	400.09
Nucleus	1H	Number of Transients	32	Original Points Count	7995
Pulse Sequence	s2pul	Receiver Gain	39.00	Solvent	CHLOROFORM-d
Spectrum Offset (Hz)	1771.2163	Sweep Width (Hz)	4001.60	Temperature (degree C)	25.000

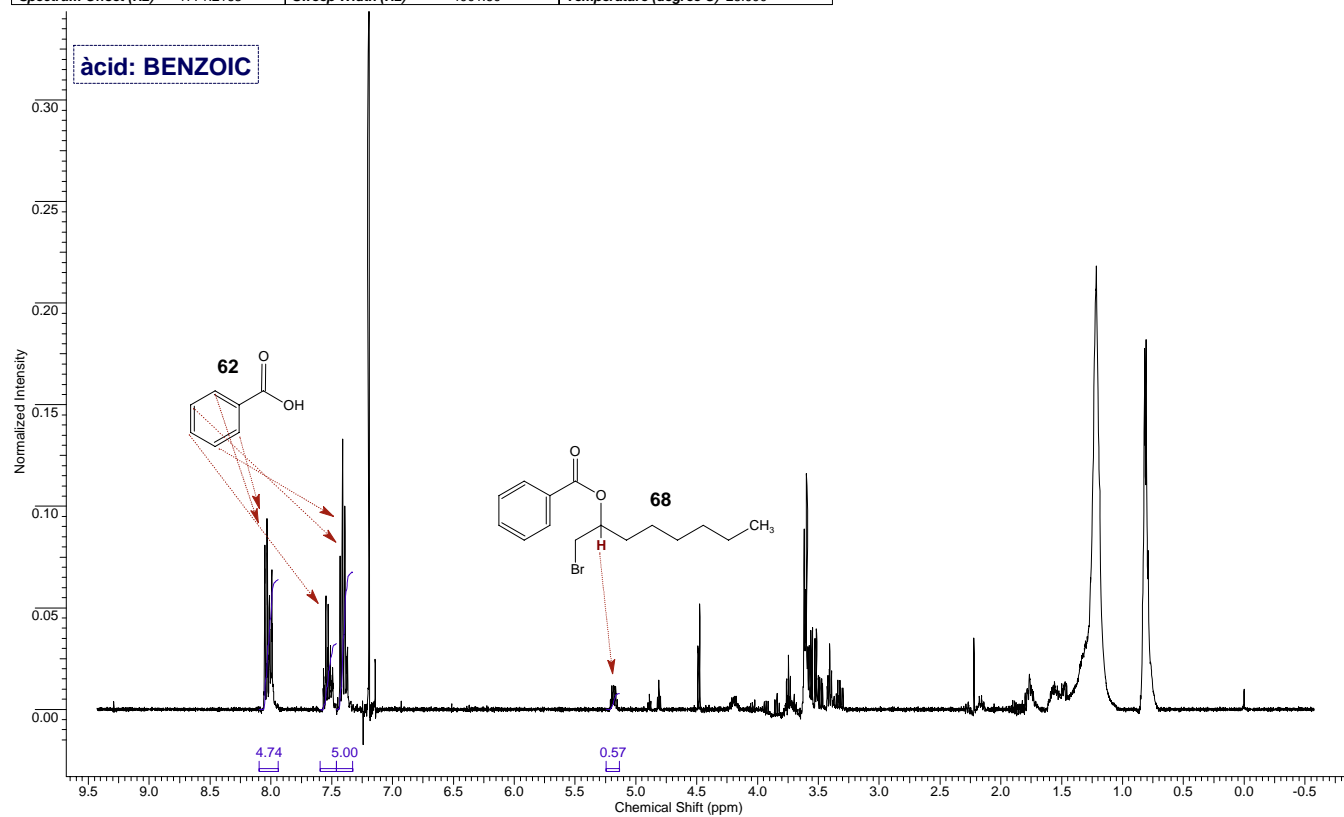


Figura 25. Espectre de RMN de <sup>1</sup>H de la reacció de l'1,2-octandiol, l'àcid benzoic, KBr en [BMIM][PF<sub>6</sub>].

Acquisition Time (sec)	1.9980	Date	Aug 23 2007	Date Stamp	Aug 23 2007		
File Name	C:\MIREIA\ESPECTRES RMN08\Agost2007\auto_2007.08.23\2b_Ac_Cinnamic+1_2_octandiol_01				Frequency (MHz)	400.09	
Nucleus	1H	Number of Transients	32	Original Points Count	7995	Points Count	65536
Pulse Sequence	s2pul	Receiver Gain	38.00	Solvent	CHLOROFORM-d		
Spectrum Offset (Hz)	1771.2163	Sweep Width (Hz)	4001.60	Temperature (degree C)	25.000		

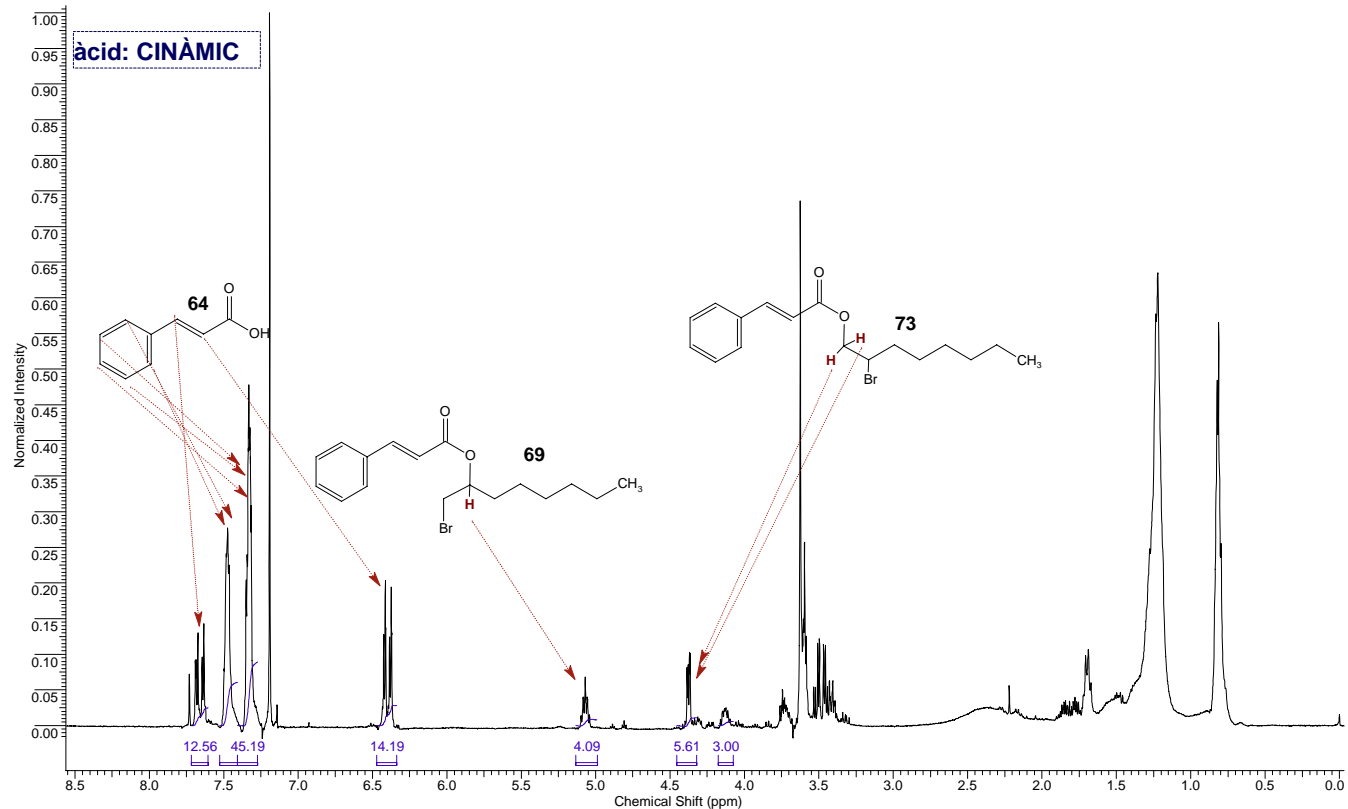


Figura 26. Espectre de RMN de  $^1\text{H}$  de la reacció de l'1,2-octandiol, l'àcid cinàmic, KBr en  $[\text{BMIM}][\text{PF}_6]$ .

Acquisition Time (sec)	1.9980	Date	Aug 22 2007	Date Stamp	Aug 22 2007
File Name	C:\MIREIA\ESPECTRES RMN08.Agost2007\auto_2007.08.22\6a_ibuprofen+1_2_octandiol_01			Frequency (MHz)	400.09
Nucleus	1H	Number of Transients	32	Original Points Count	7995
Pulse Sequence	s2pul	Receiver Gain	36.00	Solvent	CHLOROFORM-d
Spectrum Offset (Hz)	1800.4095	Sweep Width (Hz)	4001.60	Temperature (degree C)	25.000

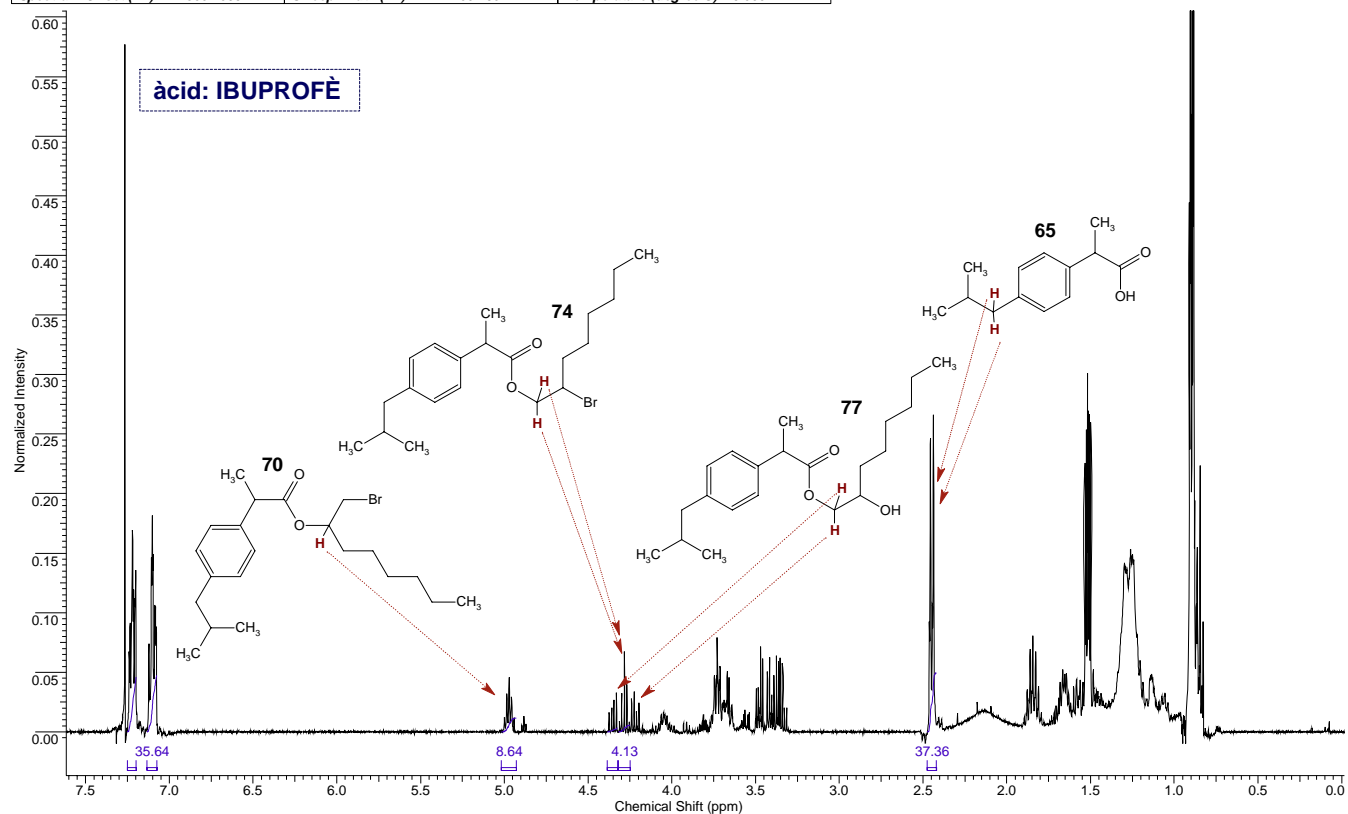
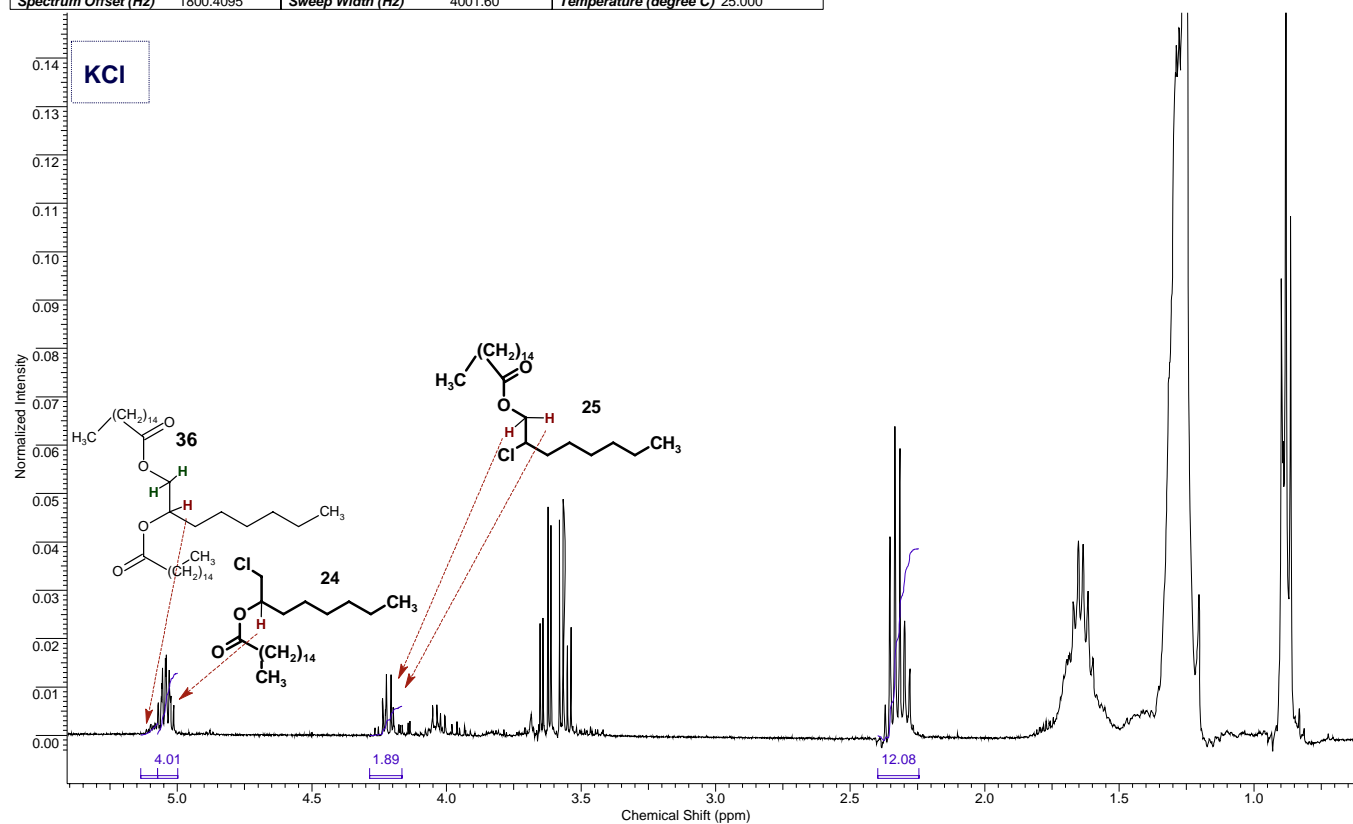


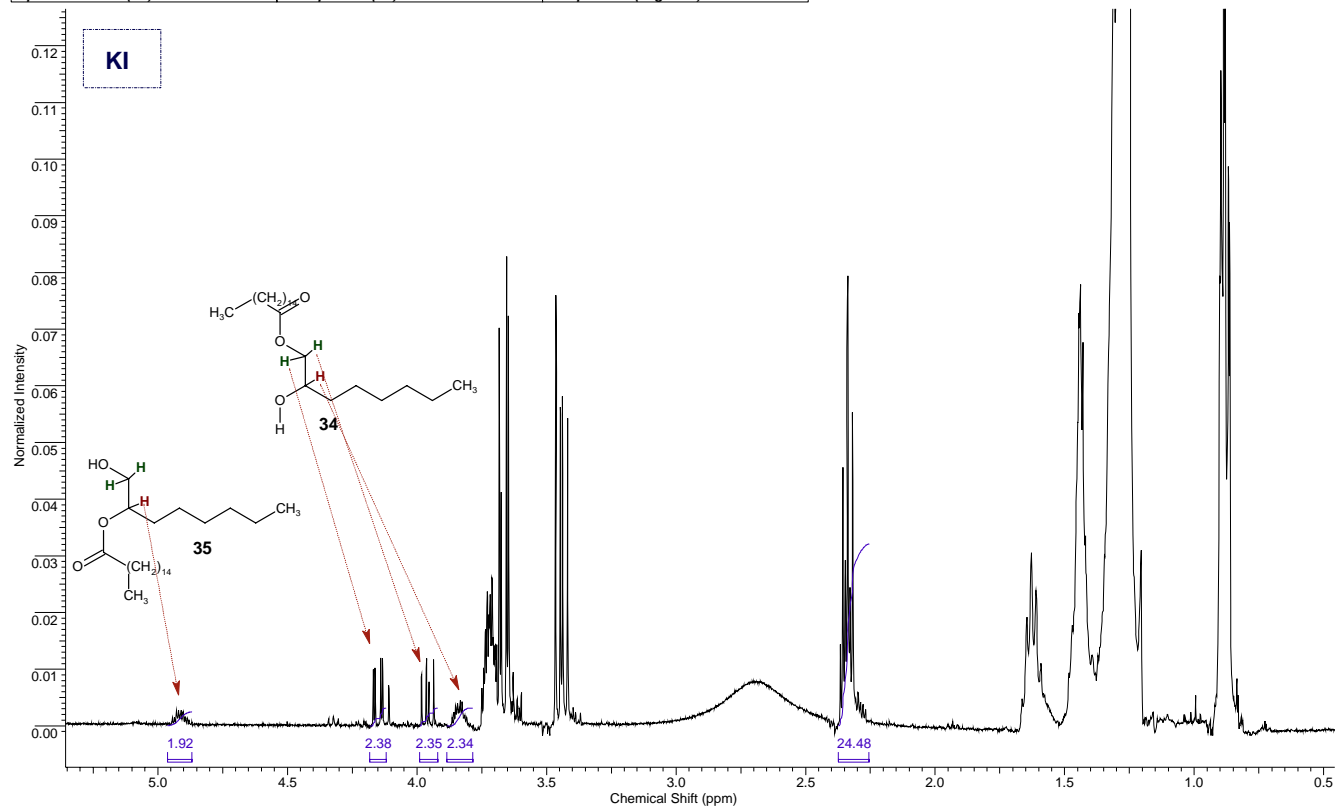
Figura 27. Espectre de RMN de <sup>1</sup>H de la reacció de l'1,2-octandiol, l'ibuprofè, KBr en [BMIM][PF<sub>6</sub>].

Acquisition Time (sec)	1.9980	Date	Aug 30 2007	Date Stamp	Aug 30 2007		
File Name	C:\MIREIA\ESPECTRES RMN08.Agost2007\auto_2007.08.30\Ac_palmitic+KCl_1_01				Frequency (MHz)	400.09	
Nucleus	1H	Number of Transients	32	Original Points Count	7995	Points Count	8192
Pulse Sequence	s2pul	Receiver Gain	30.00	Solvent	CHLOROFORM-d		
Spectrum Offset (Hz)	1800.4095	Sweep Width (Hz)	4001.60	Temperature (degree C)	25.000		



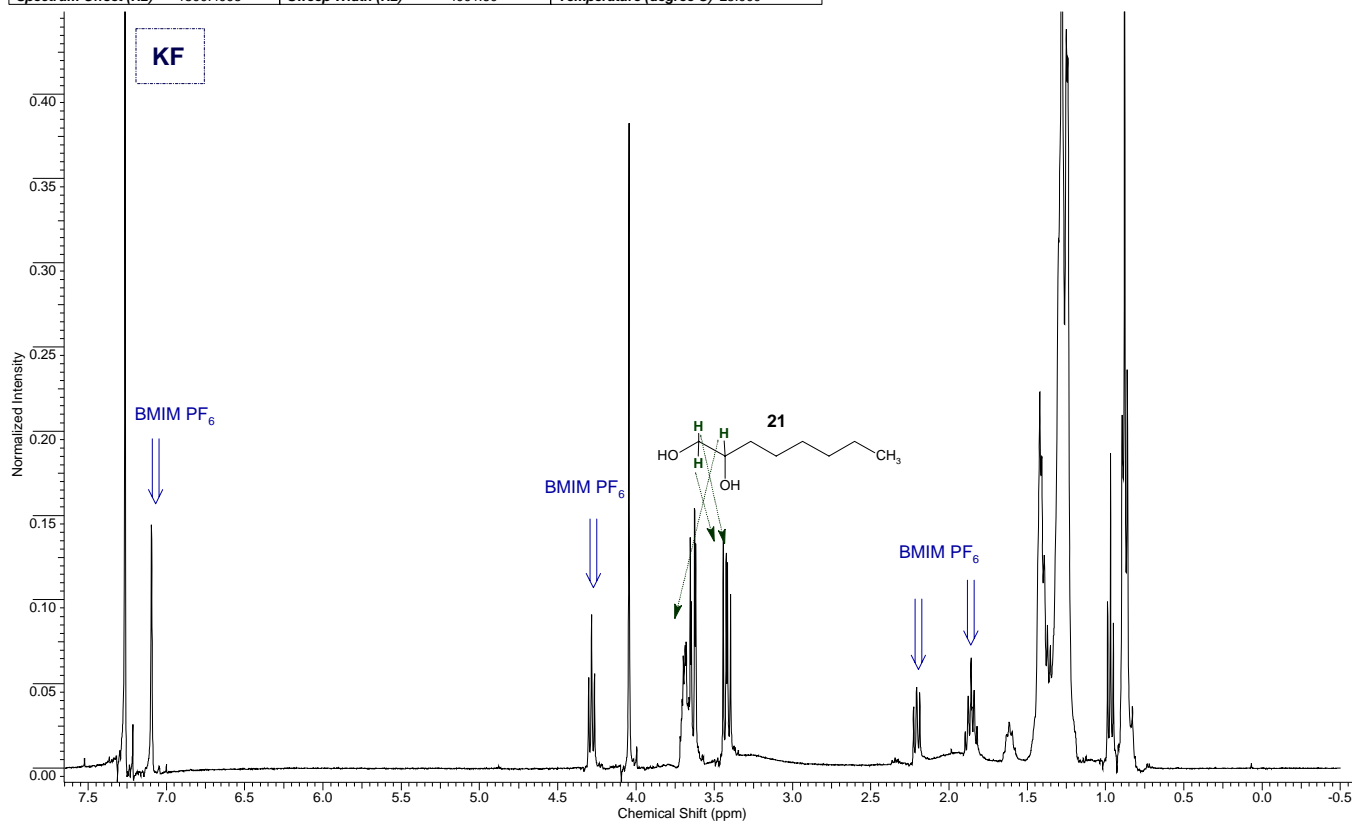
**Figura 28.** Espectre de RMN de 1H de la reacció de l'1,2-octanediol, l'àcid pamític, KCl en [BMIM][PF<sub>6</sub>].

Acquisition Time (sec)	1.9980	Date	Aug 31 2007	Date Stamp	Aug 31 2007		
File Name	C:\MIREIA\ESPECTRES RMN\08_Agost2007\auto_2007.08.31\Ac_Palmitic+KI_1_01				Frequency (MHz)	400.09	
Nucleus	<sup>1</sup> H	Number of Transients	32	Original Points Count	7995	Points Count	8192
Pulse Sequence	s2pul	Receiver Gain	30.00	Solvent	CHLOROFORM-d		
Spectrum Offset (Hz)	1800.4095	Sweep Width (Hz)	4001.60	Temperature (degree C)	25.000		



**Figura 29.** Espectre de RMN de <sup>1</sup>H de la reacció de l'1,2-octandiòl, l'àcid pamític, KI en [BMIM][PF<sub>6</sub>].

Acquisition Time (sec)	1.9980	Date	Aug 31 2007	Date Stamp	Aug 31 2007
File Name	C:\MIREIA\ESPECTRES RMN\08.Agost2007\auto_2007.08.31\Ac_Palmitic+KF_2_01			Frequency (MHz)	400.09
Nucleus	<sup>1</sup> H	Number of Transients	32	Original Points Count	7995
Pulse Sequence	s2pul	Receiver Gain	36.00	Solvent	CHLOROFORM-d
Spectrum Offset (Hz)	1800.4095	Sweep Width (Hz)	4001.60	Temperature (degree C)	25.000



**Figura 30.** Espectre de RMN de <sup>1</sup>H de la reacció de l'1,2-octanediol, l'àcid pamític, KF en [BMIM][PF<sub>6</sub>].

## ANNEX II.2.- ESPECTRES DE RMN DE $^1\text{H}$ DEL CAPÍTOL IV

Acquisition Time (sec)	1.9980	Date	Jun 2 2007	Date Stamp	Jun 2 2007
File Name	C:\MIREIA\ESPECTRES RMN\HIDROLISIS_Malg2007\auto_2007.06.01\CLE8LiptbA_04			Frequency (MHz)	400.09
Nucleus	$^1\text{H}$	Number of Transients	64	Original Points Count	7995
Pulse Sequence	s2pul	Solvent	CHLOROFORM-d	Spectrum Offset (Hz)	1800.4095
Sweep Width (Hz)	4001.60	Temperature (degree C)	25.000		

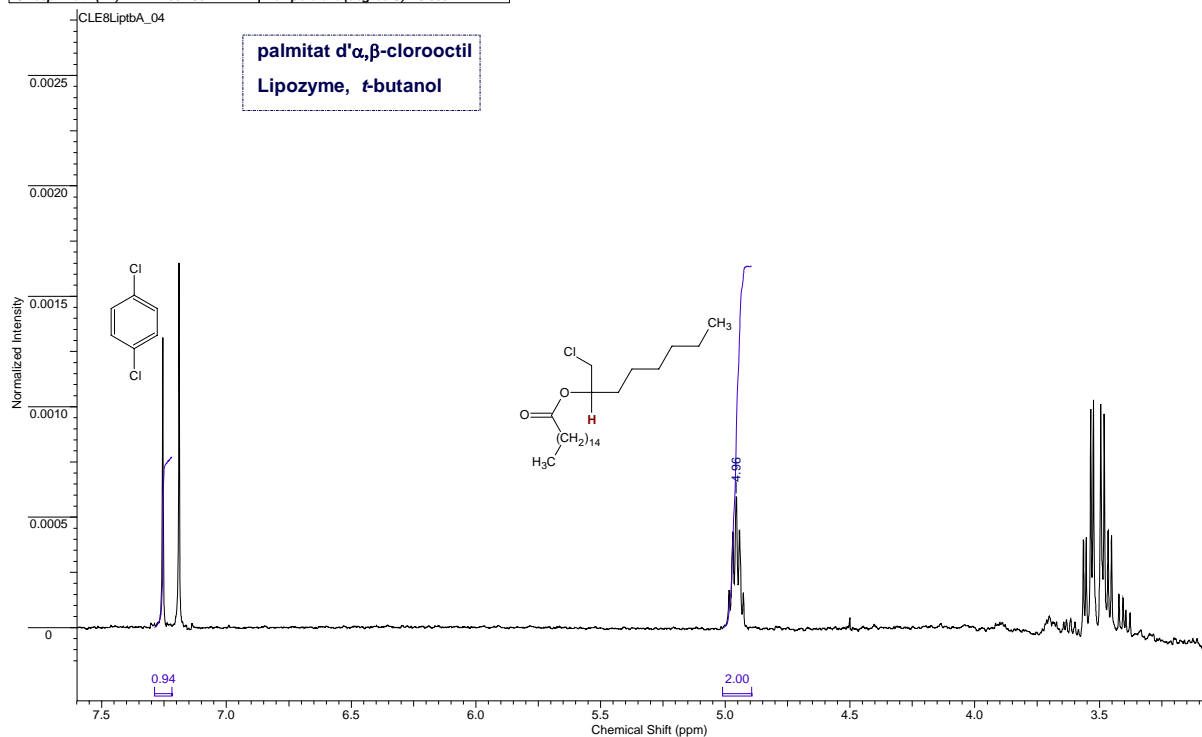
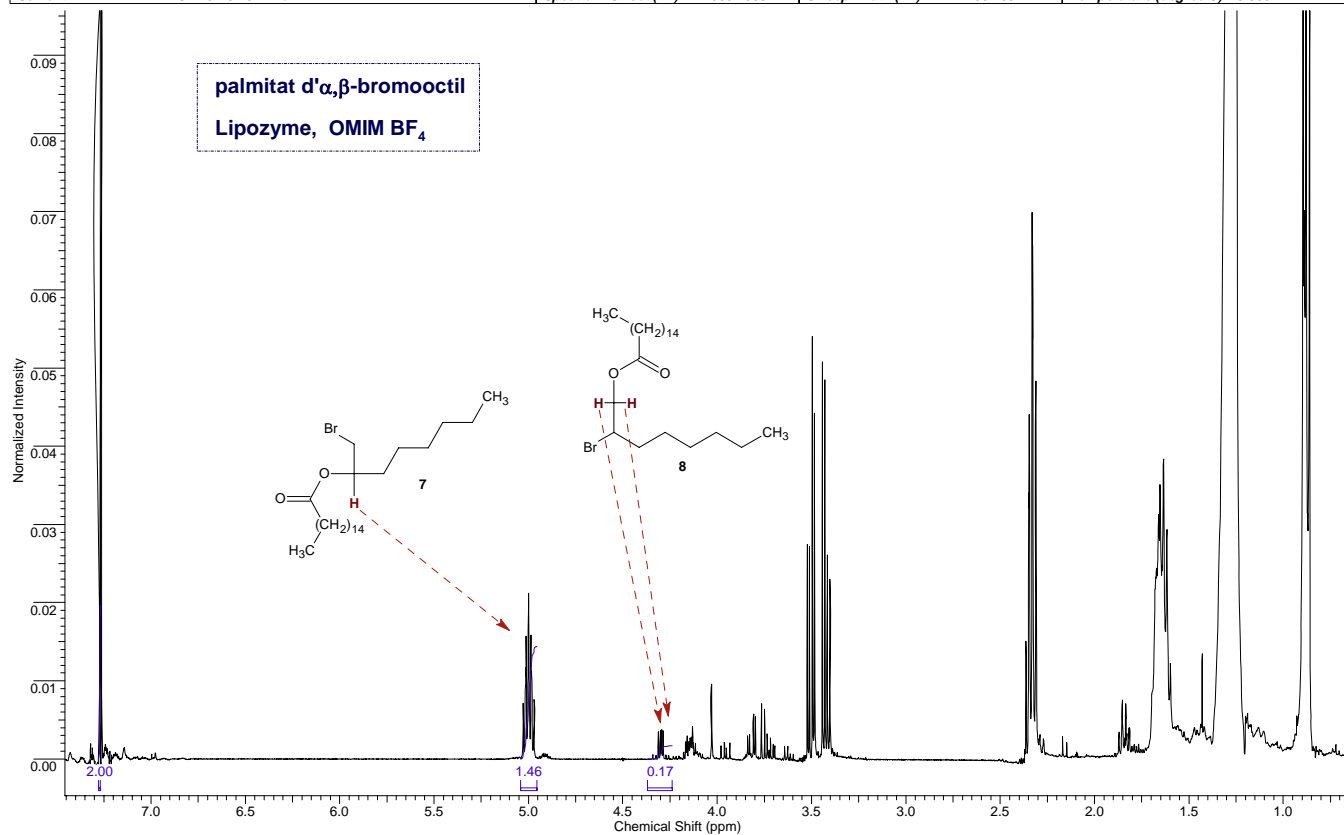


Figura 31. Hidròlisi del palmitat d' $\alpha,\beta$ -cloroocetil amb Lipozyme en *t*-butanol durant 24h.

Acquisition Time (sec)	1.9980	Date	May 25 2007	Date Stamp	May 25 2007	Frequency (MHz)	400.09	Nucleus	<sup>1</sup> H
File Name	C:\MIREIA\ESPECTRES RMN\HIDROLISIS_Maig2007\bre8ipb_omim_02			Points Count	8192	Pulse Sequence	s2pul	Receiver Gain	20.00
Number of Transients	64	Original Points Count	7995	Spectrum Offset (Hz)	1800.4095	Sweep Width (Hz)	4001.60	Temperature (degree C)	25.000
Solvent	CHLOROFORM-d								



**Figura 32.** Hidròlisi del palmitat d'α,β-bromoocetil amb Lipzyme en [OMIM][BF<sub>4</sub>] durant 3h.



Acquisition Time (sec)	1.9980	Date	Jun 25 2007	Date Stamp	Jun 25 2007
File Name	C:\MIREIA\ESPECTRES RMN\06.Juny2007\auto_2007.06.25\Cle8bmimPF6Ca3h_02			Frequency (MHz)	400.09
Nucleus	1H	Number of Transients	64	Original Points Count	7995
Pulse Sequence	s2pul	Receiver Gain	30.00	Solvent	CHLOROFORM-d
Spectrum Offset (Hz)	1770.7278	Sweep Width (Hz)	4001.60	Temperature (degree C)	25.000

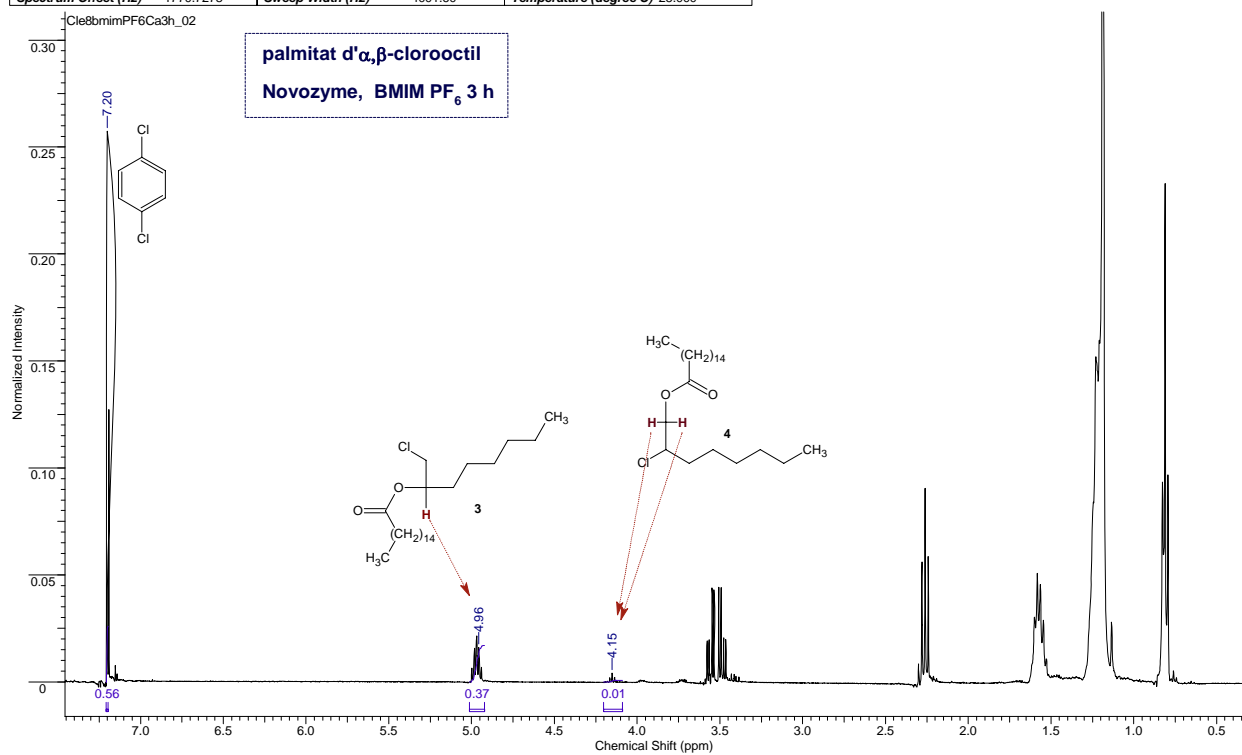


Figura 33. Hidròlisi del palmitat d' $\alpha,\beta$ -cloroocil amb Novozyme en [BMIM][PF<sub>6</sub>] durant 3h.

Acquisition Time (sec)	1.9980	Date	Jun 25 2007	Date Stamp	Jun 25 2007		
File Name	C:\MIREIA\ESPECTRES RMN\06.Juny2007\auto_2007.06.25\Bre8bmimPF6Ca3hA_01				Frequency (MHz)	400.09	
Nucleus	1H	Number of Transients	64	Original Points Count	7995	Points Count	8192
Pulse Sequence	s2pul	Receiver Gain	26.00	Solvent	CHLOROFORM-d		
Spectrum Offset (Hz)	1771.2163	Sweep Width (Hz)	4001.60	Temperature (degree C)	25.000		

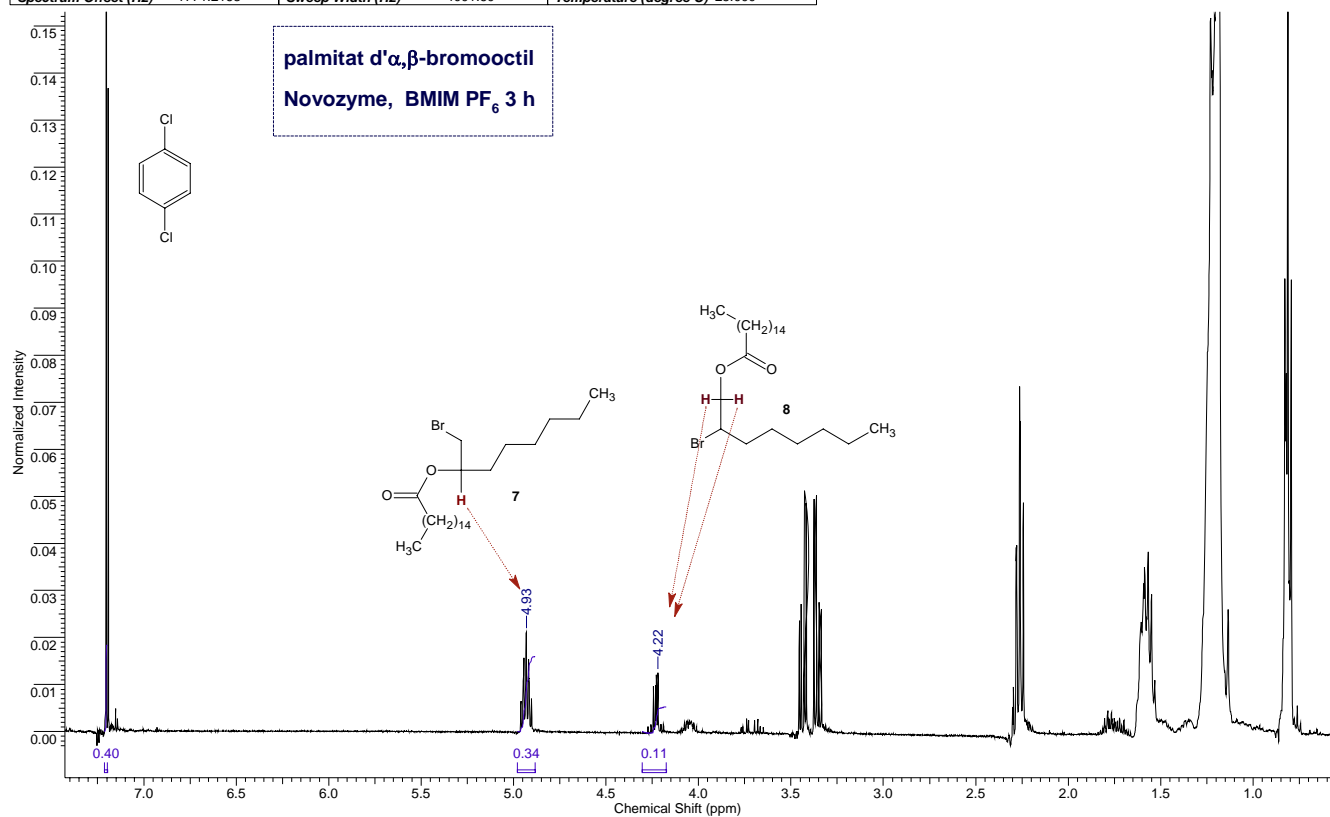


Figura 34. Hidròlisi del palmitat d'α,β-bromooctil amb Novozyme en [BMIM][PF<sub>6</sub>] durant 3h.

## FE D'ERRATES

❖ **Pàgina 43, línea 24**

- On diu “0,2 mmols”, ha de dir “2,0 mmols”

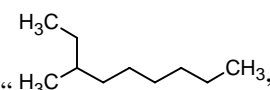
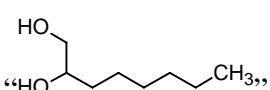
❖ **Pàgina 44-45**

On diu “Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidre (0,02 mmols)”, ha de dir “Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidre (0,2 mmols)”

❖ **Pàgina 69, línea 12**

- On diu “14,4 mols”, ha de dir “1,44 mols”

❖ **Pàgina 115, Figura 37, compost 21**

- On diu “”, ha de dir “”

❖ **Pàgina 294, línea 13**

- On diu “pentandiona”, ha de dir “pentanona”