



**Universitat de les
Illes Balears**

Facultat de Ciències

Memòria del Treball de Fi de Grau

Les operacions de reducció en la “Química Verda”.

Jaume Amengual Gayà

Grau de Química

Any acadèmic 2016-17

Treball tutelat per José Manuel Saá Rodríguez
Departament de Química

S'autoritza la Universitat a incloure aquest treball en el Repositori Institucional per a la seva consulta en accés obert i difusió en línia, amb finalitats exclusivament acadèmiques i d'investigació	Autor		Tutor	
	Sí	No	Sí	No
	X		X	

Paraules clau del treball:
Química Verda, redox, reducció, biocatàlisi.

Índex

1. Objectiu: Sostenibilitat.....	2
2. Introducció	3
2.1. Química Verda	3
2.1.1. Principis de la Química Verda.....	5
2.1.2. Factor E	10
3. Reaccions redox de reducció catalítiques.....	10
3.1. Hidrogenació catalítica.....	11
4. Reaccions redox de reducció biocatalítiques.....	14
4.1. Biocatàlisi reductora.....	16
4.2. Mecanisme d'acció.....	16
4.2.1. Fonts d'hidrogen per a la reducció	17
4.3. Preparació de biocatalitzadors.....	21
4.3.1. Selecció d'enzims de microorganismes cultivables	21
4.3.2. Selecció d'enzims que utilitzen metagenomes	22
4.3.3. Selecció d'enzims de microorganismes de la base de dades del genoma conegut	23
4.3.4. Mutació d'enzims	23
4.3.5. Enzim hipertermòfil com a biocatalitzador	24
4.4. Enginyeria de dissolvents.....	25
4.4.1. Dissolvent orgànic.....	25
4.4.2. Glicerol.....	25
4.4.3. CO ₂	26
4.4.4. Líquids iònics	26
4.5. Processos per a reduccions asimètriques biocatalítiques.....	27
4.5.1. Carboxilació i descarboxilació enzimàtica.....	27
4.5.2. Reducció de cetones i aldehids.....	28
4.5.3. Reducció d'alquens	29
4.5.4. Reducció de imines	29
5. Conclusions	29

1. Objectiu: Sostenibilitat

El terme sostenibilitat, encara que persuasiu i fàcil d'entendre, no és gens fàcil de definir de forma precisa perquè afecta a la societat en el seu conjunt i a més afecta a tot el planeta. En el terme sostenibilitat conflueixen l'activitat humana i l'activitat industrial, l'economia, l'ecologia, el medi ambient i la salut dels éssers vius.^[1] Els químics hem de jugar un paper clau a l'hora de dissenyar operacions de síntesis més sostenibles, és a dir, dissenyar una química més “verda”,^[2] donat que els governs reclamen accions concretes dels químics per aconseguir la “chemical substitution” és a dir el “the replacement or reduction of hazardous substances or processes ...”.^[3] Es per això que s'han llançat a tot el món una sèrie de programes de R+D amb el títol de **ciència de la sostenibilitat**.^[4] El principal objectiu d'aquests programes de R+D és la minimització de residus.^[5] És per això que les característiques més rellevants que qualificaran en el immediat futur una síntesi ideal són: l'economia d'àtoms aconseguida, el nombre de passos emprats (haurà de ser mínim), la generació de pocs residus, obtenir rendiments del 100% en els productes desitjats a través d'una separació senzilla i finalment que les operacions de síntesis siguin ambientalment acceptables.

Per facilitar la comprensió del present treball de TFG en un tema tan ampli, és convenient enfocar-ne una mica més l'objectiu. Així, cal dir en termes generals que les operacions de síntesis de composts orgànics es poden descriure de la següent manera:

- Operacions conduents a la formació d'enllaços carboni-carboni (C-C) i carboni-heteroàtom (C-X).
- Operacions d'ajust de l'estat d'oxidació dels diversos grups funcionals: operacions redox, tan siguin d'oxidació o de reducció.
- Operacions d'estereocontrol, terme que es comprèn com el control de l'estereoquímica relativa (dels elements estereogènics presents) i de la configuració absoluta.

La Química Orgànica disposa d'un poderós armament per a la realització d'aquestes operacions. Naturalment, en totes elles, en general, es produeixen subproductes indesitjables, i és responsabilitat de la societat en general i del químic orgànic en particular el reduir aquests rebuigs i programar la seva gestió mediambiental.^[6]

Una vegada emmarcat el terme general és necessari destacar que les operacions redox (anterior apartat b)) són particularment rellevants. Per una part, les operacions d'oxidació molt freqüentment utilitzen metalls i per tant la seva gestió mediambiental és complexa i difícil. Per altra banda, en les operacions de reducció s'utilitzen més freqüentment els reactius per a transferir dos àtoms d'hidrogen (per exemple, en la conversió d'un compost carbonílic en un alcohol, o d'una imina en una amina, etc). Són composts organometàl·lics molt complexos i molt pesats (la seva massa sol ser gran o molt gran, com és el cas del BH_4Na , AlLiH_4 , NCBH_3Na , $\text{H}_2/\text{Pd}(0)$, etc) i, per consegüentment la gestió de residus és molt rellevant. Dit en altres termes, el valor del rendiment E és excessivament gran.^[7] Així doncs, totes aquelles mesures que poden implementar-

¹JC Wandemberg Ph.D., “Sostenible por diseño”, Createspace Independent Publishing Platform. **2015**.

²I. Ojima, *Front. Chem.* **2017**, 5:52.

³J. Lohse, M. Wirts, A. Ahrens, K. Heitmann, S. Lundie, L. Lissner, A. Wagner, Directorate General Environment, Nuclear Safety and Civil Protection of the Commission of the European Communities. Contract No. B3-4305/2000/293861/MAR/E1.

⁴W.C. Clark, N.M. Dickson, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **2003**, 100, 8059

⁵J.H. Clark “*Green Separation Processes*”, Wiley-VCH Verlag GmbH&Co KGaA, Weinheim **2005**.

⁶J. Fuhrhop, G. Penzlin, “*Organic Synthesis*”, Verlag Chemie, Weinheim, **1983**.

⁷Sheldon, R. A.; Arends, I. W. C. E.; Hanefeld, U., “*Green Chemistry and Catalysis*”, Wiley-VCH Verlag & Co KGaA, Weinheim, **2007**.

se per a reduir el valor d'E i aconseguir així operacions redox de reducció mediambientalment acceptables, seran de gran utilitat.

Aleshores, **en el present TFG hem proposat examinar les operacions de reducció catalítiques o biocatalítiques que millor concordin amb els principis de la Química Verda ja que això hauria de conduir a aconseguir processos de síntesis més sostenibles.**

2. Introducció

2.1. Química Verda

La Química Verda, que també s'anomena Química Sostenible,^[7] és una àrea de la Química i Enginyeria Química centrada en el disseny de productes i processos que eliminin o minimitzen l'ús i generació de substàncies perilloses,^[8] reduint així l'impacte ambiental i els riscos per a la salut humana. A més, es centra en els enfocaments tecnològics per prevenir la contaminació i reduir el consum de recursos no renovables així com també, presenta un enfocament particular en la síntesi química, la química del procés i l'enginyeria química presentant aplicacions industrials i en menor mesura en les pràctiques del laboratori.

La Química Verda va lligada a la sostenibilitat, que persegueix com a objectiu satisfer les necessitats de la generació actual sense comprometre les necessitats de les generacions futures. Per tant, arribem a la conclusió de què **la sostenibilitat és la meta i la química verda és el mitjà per aconseguir-ho.**^[7,9]

A mitjans del segle XX (1960-1980), durant el període de ràpid desenvolupament de les produccions químiques industrials es va observar una escassa atenció de l'impacte sobre el medi ambient i la salut humana, així com un augment progressiu de les plantes químiques i la concentració d'elles en un mateix lloc. Probablement per això, els accidents químics produïts en la indústria han derivat en greus conseqüències com per exemple l'accident de Bhopal el 1984,^[10] en què 3000 persones van morir i més de 40 000 van resultar ferides degut a una fuga d'isocianat de metil en una fàbrica de pesticides.

Degut a aquests factors, els Estats Units va crear "the Office of Pollution Prevention and Toxics (OPPT)"^[11] formant part de l'estructura organitzativa de la "US Environmental Protection Agency (EPA)".^[12] La OPPT supervisa la producció i distribució de productes químics en els EUA per reduir al mínim els riscos per a la salut humana i el medi ambient i establir com a política nacional la prevenció de la contaminació i el control dels seus orígens.

Va ser a principis de 1990 quan es va nomenar per primera vegada el terme de Química Verda per Paul Anastas, funcionari de la "US Environmental Protection Agency (EPA)", l'oficina encarregada de la regulació de les substàncies químiques i dels processos químics en EEUU.

⁸ Breu definició de Green Chemistry per la American Chemical Society (<https://www.acs.org/content/acs/en/greenchemistry/what-is-green-chemistry/definition.html>) . Per a una definició de la Environmental Protection Agency, veure <https://www.epa.gov/greenchemistry> .

⁹ R. N. Patel, "Green biocatalysis", John Wiley & Sons, Inc, Hoboken, New Jersey, **2016**. P. T. Anastas, Tracy C. Williamson, "Green Chemistry. Frontiers in benign chemical syntheses and processes", Oxford University Press, New York, NY. **1999** . Fabrizio Cavani, Gabriele Centi, Siglinda Perathoner i Ferruccio Trifiro, "Sustainable Industrial Processes", Wiley-VCH, **2009**.

¹⁰ https://es.wikipedia.org/wiki/Desastre_de_Bhopal

¹¹ S. O. García, E. D. Ibáñez, P. O. Ibáñez "Desafíos tecnológicos de la nueva normativa sobre medio ambiente, Universidad de Oviedo **2007**.

¹² <https://www.epa.gov/>

A la Comunitat Europea també es va crear un reglament sobre els productes químics i el seu ús més segur, conegut com a **REACH (Register, Evaluation, And Authorization of Chemicals)**.^[13] El reglament REACH estableix una major responsabilitat a la indústria per a gestionar els riscos del productes químics, a més de proporcionar informació adient sobre la seva fabricació. També, el reglament REACH exigeix registrar tota la informació en una base de dades central gestionada per l'“European Chemicals Agency” (EACH) que va entrar en vigor el 2008.

L'objectiu de la Química Verda consisteix en promoure tecnologies químiques innovadores que redueixen o eliminen l'ús o generació de substàncies perilloses en el disseny, fabricació i ús de productes químics.

Recentment, en el 2015, es va produir un dels esdeveniments més importants i notables de la història de les Nacions Unides (UN) per tractar molts dels grans reptes que enfronta el nostre planeta aquest segle. Es van acordar 17 objectius de desenvolupament sostenible “**Sustainable Development Goals (SDGs)**”^[14] que presenten un profund canvi en l'enfocament mundial del desenvolupament durant els últims 15 anys. A més abracen una visió global del desenvolupament per a tothom, basada en el principi bàsic de Sostenibilitat i amb la responsabilitat compartida per a tots els països.

Els 17 objectius de desenvolupament sostenible són:

- a) Finalitzar la pobresa en totes les seves formes a tot arreu.
- b) Eradicar de la fam, aconseguir la seguretat alimentària i una millor nutrició i promoure l'agricultura sostenible.
- c) Assegurar vides sanes i promoure el benestar per a tots els públics.
- d) Assegurar una educació inclusiva i de qualitat per a tothom i promoure l'aprenentatge permanent.
- e) Aconseguir la igualtat de gènere i capacitar a totes les dones i les nenes.
- f) Assegurar l'accés a l'aigua i al sanejament per a tothom.
- g) Assegurar l'accés a una energia assequible, fiable, sostenible i moderna per a tothom.
- h) Promoure un creixement econòmic inclusiu i sostenible, l'ocupació i el treball decent per a tots.
- i) Construir infraestructures resistents, promoure la industrialització sostenible i fomentar la innovació.
- j) Reduir la desigualtat dins i entre països.
- k) Fer que les ciutats siguin inclusives, segures, resistents i sostenibles.
- l) Assegurar els patrons de consum i producció sostenibles.
- m) Prendre mesures urgents per combatre el canvi climàtic i els seus impactes.
- n) Conservar i utilitzar de manera sostenible els oceans, els mars i els recursos marins.
- o) Gestionar de forma sostenible els boscos, combatre la desertificació, aturar i revertir la degradació de la terra, aturar la pèrdua de biodiversitat.
- p) Promoure societats justes, pacífiques i inclusives.
- q) Revitalitzar l'associació mundial per al desenvolupament sostenible

Per tant, les ciències químiques han de jugar un paper clau en el desenvolupament dels processos, productes i mecanismes de control que preveuen els SDS, ja que han d'implicar una innovació aplicable i sostenible.

¹³ Reglament (CE) n° 1907/2006 del parlament europeu, <http://www.reachlegislation.com>

¹⁴ S. A. Matlin, G. Mehta, H. Hopf and A. Krief “*The role of chemistry in inventing a sustainable future*” *Nat. Chem.*, **2015**, *7*, 941-943. S. A. Matlin, G. Mehta, H. Hopf and A. Krief “*One-world chemistry and systems thinking*” *Nat. Chem.*, **2016**, *8*, 393-398.

Però, per fer-ho, haurà de sofrir reformes radicals que suposin un redisseny del camp, que abasti la imatge, els enfocaments i les pràctiques de la química, que afectarà l'educació, la recerca i els seus patrons de finançament, i el compromís amb altres disciplines, la indústria i la societat.^[15]

Paul Anastas i John Warner (*Green Chemistry: Theory and Practice*)^[16] varen ser els que proposaren els dotze principis de la química verda,^[17] dotze principis que comprenen instruccions per als químics, per implementar nous compostos químics, noves rutes de síntesi i noves tecnologies ambientalment benignes.

2.1.1. Principis de la Química Verda

Els dotze principis de la Química Verda es poden resumir de la següent manera:

- 1) **Prevenió:** “It is better to prevent waste than to treat or clean up waste after it is formed”.^[15,17]

El primer principi declara una obvietat: és millor prevenir la formació de residus en una reacció química que el tractament i l'eliminació d'aquests residus generats després de la seva formació. No és, ni més ni manco, que allò que diu: “és millor prevenir que curar”.

- 2) **Maximitzar mètodes sintètics, eficiència de l'àtom:** “synthetic methods should be designed to maximize the incorporation of all materials used in the process into the final product”.^[15] Aquest principi també s'anomena principi d'economia d'àtoms.^[18]

Aquest principi ens diu que s'ha d'aconseguir maximitzar la incorporació en el producte final de tots els àtoms presents en els reactius utilitzats. D'aquesta manera elimina la necessitat de reciclar subproductes no desitjables. L'economia d'àtoms, és un mètode d'expressar l'eficiència amb una reacció particular fent ús dels àtoms dels reactants, ja que els àtoms s'acoblen formant les molècules i aquestes formen el material o producte desitjat i per tant, segons aquest principi, és millor utilitzar tots els àtoms en el procés realitzat.^[19] Barry M. Trost, de la Universitat de Stanford, va publicar el concepte d'economia de l'àtom a la prestigiosa revista *Science* el 1991 i en el 1998 va obtenir el premi Green Chemistry Challenge pel seu treball. A més, va començar a canviar la manera en què els químics mesuren l'eficiència de les reaccions que dissenyen.

El producte desitjat pot ser molt complex i presentar una selectivitat (enantio-regio-, quimio- i diastereo-). L'economia d'àtoms és un càlcul simple que pot ser expressat com:

¹⁵ *Our Common Journey a Transition Toward Sustainability* National Academy of Sciences, Washington, **2003**. “*The Chemical Element. Chemistry's Contribution to Our Global Future*”, Ed. J. García-Martínes, E. Serrano-Torregrosa, Wiley-VCH Verlag & Co KGaA, Weinheim, **2011**.

¹⁶ Anastas, P.T. and Warner, J.C. “*Green Chemistry: Theory and Practice*”. Oxford University Press, Oxford, **1998**

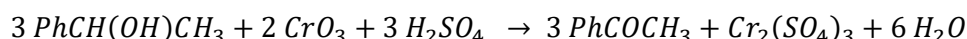
¹⁷ A. Dicks, A. Hent, “*Green Chemistry Metrics. A Guide to Determining and Evaluating Process Greenness*”, Springerbriefs, **2015**. Cann, M. C.; Connelly, M. E. “*Real World Cases in Green Chemistry*”, American Chemical Society: Washington, DC, **2000**. Ryan, M. A.; Tinnensand, M., Eds. “*Introduction to Green Chemistry*”, Washington, DC: American Chemical Society, 2002. Sanderson, K. “*Chemistry: It's not easy being green*”, *Nature*, **2011**, **469**, 7328: 18. Clark, J. H. “*Green chemistry: Challenges and opportunities*”. *Green Chemistry*, **1999**, 1-8.

¹⁸ Trost, B.M. *Science*, **1991**, **254**, 1171; Trost B. M. “*Atom Economy. A Challenge for Organic Synthesis*”. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, **34** (3), 259–281; Trost, B.M. *Acc. Chem. Res.* **2002**, **35**, 695.

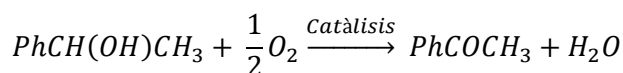
¹⁹ Sheldon R. A. “*Atom efficiency and catalysis in organic synthesis*”. *Pure and Applied Chemistry* **2000**, **72** (7), 1233–1246.

$$A. E. = \frac{\text{Pes de la formula (FW) de producte}}{\text{FW de tots els reactius}}$$

Els exemples següents mostren clarament que l'economia d'àtoms es pot millorar.



$$\text{Eficiència atòmica} = 360/860 = 42\%$$



$$\text{Eficiència atòmica} = 120/138 = 87\%$$

Esquema 1: Oxidació catalítica, eficiència atòmica, Principi 2.

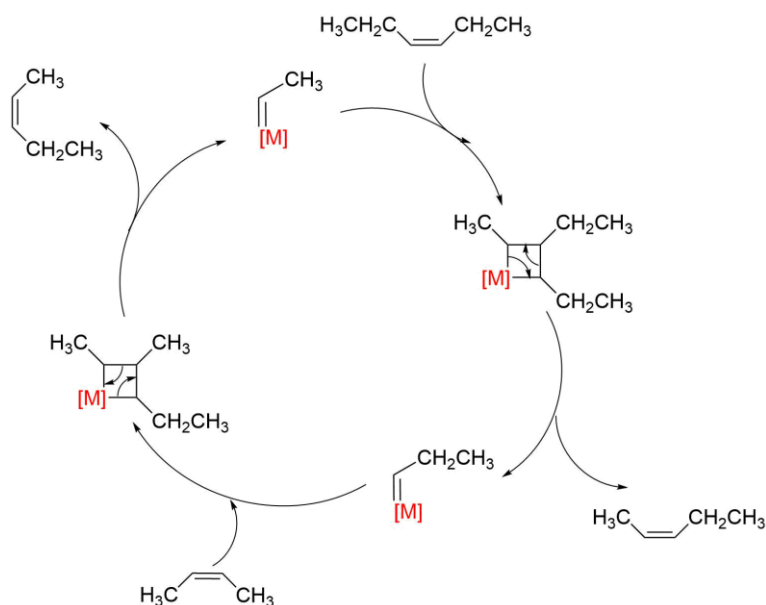
- 3) Síntesi química més segura:** “Wherever practicable, synthetic methodologies should be designed to use and generate substances that possess little or no toxicity to human health and the environment”.^[15]

Aquest principi es refereix a utilitzar metodologies sintètiques per a generar productes menys tòxics per a la salut humana i el medi ambient. D'aquesta manera la Química Verda té com a objectiu dissenyar síntesis més segures partint de reactius menys tòxics, obtenint productes també menys tòxics (existeixen cinc nivells de toxicitat, essent el nivell cinc, el menys tòxic el qual podem tolerar millor.^[20]) El principi es centra en com fem les molècules i els materials.^[21] Un exemple de la síntesi química més segura es va descobrir en el 2005. És un procés químic catalític anomenat metàtesis atorgant el premi Nobel de química a Y. Chauvin, R.H. Grubbs i R.R. Schorck que consisteix en rompre dobles enllaços i els àtoms de carboni formen grups d'àtoms que canvien de lloc amb l'ajuda de catalitzadors organometàl·lics,^[22] tal com es mostra a l'esquema 1. Ja que és un mètode catalític, és un dels millors mètodes que s'empren ja que permet el reciclatge del catalitzador per separació de fases i es forma el producte desitjat de les olefines, encara que la seva gestió mediambiental és difícil degut a la utilització d'organometàl·lics.

²⁰ OMS, Organització mundial de la salut, <http://www.who.int/es/>, http://www.who.int/ipcs/publications/pesticides_hazard_2009.pdf?ua=1

²¹ Rana, K.K. and Rana, S. “Fundamentals, Representative Applications and Future Perspectives of Green Chemistry: A Short Review”. *Open Access Library Journal*, **2014**, 1: e748.

²² http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/2005/press.html; <https://www.acs.org/content/acs/en/greenchemistry/what-is-green-chemistry/examples.html>



Esquema 2: Reacció de metàtesis, Principi 3.

- 4) **Disseny de productes més segurs:** “Chemical products should be designed to preserve efficacy of function while reducing toxicity”.^[15]

L’objectiu principal és dissenyar productes químics preservant les seves funcions, propietats i eficàcia, a la vegada que reduint al mínim la seva toxicitat per als humans i el medi ambient.

- 5) **Dissolvents més segurs i operacions auxiliars mínimes:** “The use of auxiliary substances (e.g. solvents, separation agents, etc.) should be made unnecessary wherever possible and innocuous when used”.^[15]

Aquest principi proposa que per a la creació de productes s’utilitzin dissolvents menys perillosos. A més, l’ús de substàncies auxiliars (dissolvents, agents de separació, etc) s’ha de fer innecessària sempre que sigui possible i innocu quan s’utilitza, encara que la majoria de les reaccions químiques es duen a terme en un dissolvent o una mescla d’ells.^[21,23]

- 6) **Disseny per a l’eficiència energètica:** “Energy requirements should be recognized for their environmental and economic impacts and should be minimized. Synthetic methods should be conducted at ambient temperature and pressure”.^[15]

L’objectiu d’aquest principi ens diu que la creació de productes i materials s’ha de fer d’una manera que els seus impactes ambientals i el consum energètic s’han de reduir al mínim. Els mètodes sintètics s’han de dur a terme a temperatura i a pressió ambient sempre que hi hagi aquesta possibilitat, ja que no sempre s’aconsegueix. Avui en dia, els mètodes tradicionals de generació d’energia (combustibles fòssils) contribueixen als problemes ambientals i juga un paper important en la determinació dels costos dels productes ja que una gran part es perd durant el procés.^[21,24]

²³ <https://www.acs.org/content/acs/en/greenchemistry/what-is-green-chemistry/principles/green-chemistry-principle--5.html>

²⁴ <https://www.acs.org/content/acs/en/greenchemistry/what-is-green-chemistry/principles/green-chemistry-principle--6.html>

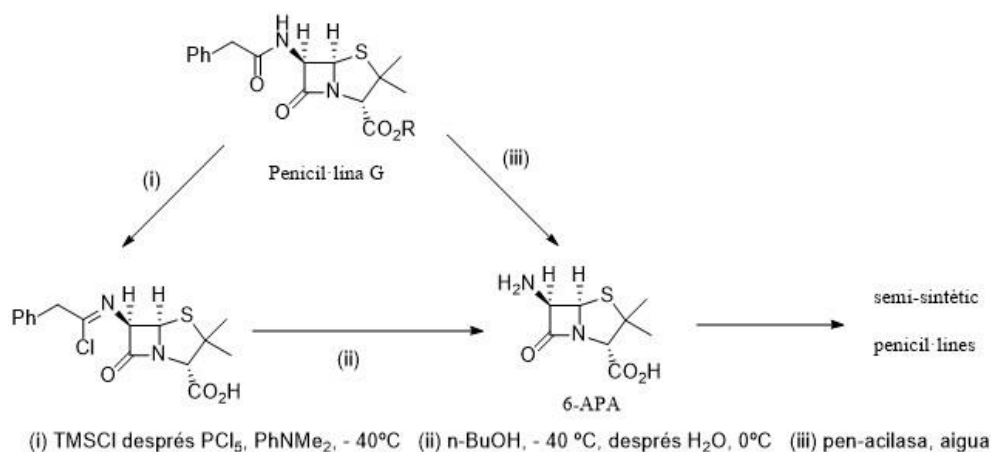
- 7) **Ús de matèries primes renovables:** “A raw material or feedstock should be renewable rather than depleting wherever technically and economically practicable”.^[15]

En lloc d'esgotar matèries primeres s'hauria de procurar la seva regeneració en el temps, és a dir les matèries primes han de ser renovables, sempre que sigui tècnica i econòmicament factible. En l'actualitat la majoria dels productes que utilitzem en la nostra vida quotidiana provenen de productes petroquímics. Per tant, aquest principi cerca de la millor forma canviar la dependència del petroli i fabricar productes a partir de materials renovables. Un exemple a destacar es el cas del biodièsel, on els investigadors tracten de trobar combustibles alternatius que puguin ser utilitzats per al transport.^[21,25]

- 8) **Reduir derivats:** “Reduce derivatives – Unnecessary derivatization (blocking group, protection/deprotection, temporary modification) should be avoided whenever possible”.^[15]

S'han d'evitar sempre que sigui possible derivatitzacions innecessàries (com per exemple, el bloqueig de grup, protecció/desprotecció, etc.). El seu objectiu principal es simplificar els processos químics i mirar d'emular als sistemes naturals per tal de dissenyar productes d'una manera més simplificada. Un bon exemple és l'ús d'enzims per evitar grups protectors i netejar processos de la síntesi industrial d'antibiòtics semi sintètics com l'ampicil·lina i l'amoxicil·lina.^[21,26]

Com s'observa en l'exemple que segueix, l'accés a 6-APA (àcid 6-amino penicil·lànic), intermedi clau en la síntesi de nombroses i variades penicil·lines semi sintètiques, la via sintètica (iii) evita l'ús de passos sintètics per la senzilla raó de què evita les etapes requerides per a la desprotecció de la resta amino.^[26]



Esquema 3: Síntesi del 6-APA, Principi 8.

- 9) **Catàlisis:** “Catalytic reagents (as selective as possible) are superior to stoichiometric reagents”.^[15,18]

²⁵ <https://www.acs.org/content/acs/en/greenchemistry/what-is-green-chemistry/principles/green-chemistry-principle--7.html>; Alonso, D.M., Bond, J.Q. and Dumesic, J.A. “Catalytic Conversion of Biomass to Biofuels”, *Green Chemistry*, **2010**, *12*, 1493-1513.

²⁶ https://www.acs.org/content/acs/en/greenchemistry/what-is-green-chemistry/principles/green-chemistry-principle--8.html#articleContent_headingtext

En un procés de síntesi química s'utilitzen catalitzadors per tal de reduir els requisits d'energia i aconseguir que les reaccions siguin més eficients. Encara que els catalitzadors requereixen generalment de petites quantitats i si realment el catalitzador és “verd”, l'ideal “verd” és que presenti poca toxicitat, a més de tenir una vida d'utilització prolongada i reutilitzable en el procés. A més, els catalitzadors han de ser tan selectius com sigui possible essent superiors als reactius estequiomètrics (per definició un catalitzador accelera una reacció química).

10) Disseny per a la degradació: “Chemical products should be designed so that at the end of their function they do not persist in the environment and break down into innocuous degradation products”.^[15]

Aquest principi cerca dissenyar productes químics de tal manera que una vegada han realitzat la seva funció prevista no persisteixen en el medi ambient i es descomponguin en productes de degradació innocuus. Encara que, actualment, la majoria dels productes químics no es degraden fàcilment provocant problemes ambientals massius, la Química Verda té com a objectiu el disseny de productes que al final de la seva utilització, es degraden en materials innocuus. Per exemple, la síntesi de polímers biodegradables guanyen una àmplia acceptació per els diversos beneficis ecològics,^[21,27] com per exemple en les poliolefines, en l'envasament i distribució d'aliments i altres matèries primeres ja que els polímers termoplàstics comercials són biològicament inerts i hidrofòbics i els ha fet imprescindibles per al comerç minorista modern.

11) Prevenció de la contaminació: “Analytical methodologies need to be further developed to allow for real-time, in-process monitoring and control prior to the formation of hazardous substances”.^[15]

Es necessita del desenvolupament de metodologies analítiques per permetre, en temps real, durant el procés de vigilància, el control de la formació de substàncies perilloses. D'aquesta manera, l'anàlisi durant el procés d'una planta química, pot detectar canvis de pressió, pH, temperatura, etc. Per tant, la química analítica contribueix directament en l'operació segura i eficient de plantes químiques de tot el món.^[21,28]

12) Prevenció d'accidents: “Substances and the form of a substance used in a chemical process should be chosen to minimize potential for chemical accidents, including releases, explosions, and fires”.^[15]

S'han d'elegir substàncies i les seves formes d'ús en un procés químic per tal de minimitzar el potencial d'accidents químics.^[21,29]

Així doncs, idealment, els principis de la Química Verda haurien de permetre als científics i als enginyers, protegir i beneficiar l'economia, la gent i el planeta mitjançant la recerca de processos innovadors i creatius per a reduir els residus, estalviar energia i descobrir substàncies menys perilloses, així com, l'ús de matèries primeres més sostenibles o renovables i el disseny o la disposició final del producte.

²⁷ https://www.acs.org/content/acs/en/greenchemistry/what-is-green-chemistry/principles/green-chemistry-principle--10.html#articleContent_headingtext; Scott, G. “Green” Polymers. *Polymer Degradation and Stability*, **2000**, *68*, 1-7.

²⁸ <https://www.acs.org/content/acs/en/greenchemistry/what-is-green-chemistry/principles/green-chemistry-principle--11.html>

²⁹ <https://www.acs.org/content/acs/en/greenchemistry/what-is-green-chemistry/principles/green-chemistry-principle--12.html>

Aleshores, la Química Verda ha estat àmpliament acceptada en els cercles industrials i acadèmics de tal manera que els processos a dur a terme, funcionin millor a escala comercial i també per l'enginyeria requerida per a l'aplicació del producte o utilització final.

Des de l'any 1991, la Química Verda ha obtingut grans progressos entre els descobriments i els avanços científics, tant per les innovacions industrials en nous productes i processos com pels beneficis per a la salut humana i el medi ambient, ja que s'han utilitzat tècniques similars per descobrir nous materials, catalitzadors, dissolvents, noves molècules i transformacions sintètiques. Aquests han demostrat ser de gran benefici per diversos de sectors de la indústria, com per exemple, en l'agricultura, l'energia, els productes químics, les pintures, etc. Encara que, els avenços més importants es troben en el futur pel disseny i el pensament de substàncies més econòmiques i menys tòxiques. Per tant, per assolir aquests objectius, la Química Verda necessita transformar aquesta evolució en una revolució amb canvis significatius.^[30]

2.1.2. Factor E

El factor E va ser desenvolupat per R. A. Sheldon. El factor E es un paràmetre clau de la Química Verda perquè permet la quantificació de l'eficiència dels processos i per tant de l'acceptabilitat mediambiental d'un determinat procés.^[31] Es defineix com la relació de massa total dels residus respecte de la massa del producte final obtingut en el procés. Un factor E alt significa més residus, és a dir, un major impacte ambiental negatiu. El factor E ideal és zero.

$$\text{Factor E} = \frac{\text{Massa total dels residus}}{\text{Massa del producte final}}$$

A la següent taula,^[9] s'observa que segueix clarament els processos de síntesis multietapa característics de la producció de fàrmacs essent preocupants per al seu alt valor d'E, i a la vegada aquells a on poden millorar-se significativament amb l'adequació dels principis de la Química Verda.

Segment de la indústria	Tonatge de producte ^{a)}	Kg de residus ^{b)} /kg de productes
Refinació de petroli	10 ⁶ - 10 ⁸	<0.1
Productes químics a granel	10 ⁴ - 10 ⁶	< 1 – 5
Productes químics fins	10 ² - 10 ⁴	5 -> 50
Productes farmacèutics	10 - 10 ³	25 -> 100

Taula 1: El factor E. a) Normalment representa un volum de producció anual d'un producte en un lloc (extrem inferior del rang) o mundial (extrem superior del rang). b) Definit com tot produït excepte el producte desitjat (incloent totes les sals inorgàniques, pèrdues de dissolvents, etc.)

3. Reaccions redox de reducció catalítiques

El títol de l'apartat conté una contradicció que necessita d'un aclariment previ. Per definició, un procés redox implica l'oxidació d'un component de la reacció a costa de la reducció d'un altre

³⁰ Lipshutz, B.H. "Green chemistry next: Moving from Evolutionary to Revolutionary". *Aldrichimica Acta* **2015**, Vol 48, NO. 1, 3-4.

³¹ Lapkin, Alexei and Constable, David, "Green Chemistry Metrics. Measuring and Monitoring Sustainable Processes", Wiley, **2008**. Sheldon, R. A. "The E Factor: Fifteen years on". *Green Chemistry*. **2007**, 9 (12): 1273.

component. Els químics orgànics, donat que tractem amb molècules orgàniques, anomenem operacions d'oxidació a aquelles en què el producte orgànic s'oxida (a causa de l'agent oxidant, que en aquesta operació es redueix) i anomenem operacions de reducció a aquelles en què el producte orgànic es redueix (donat que el reactiu reductor s'oxida). Per tant, com hem advertit a l'inici, i d'acord amb la definició anterior, l'objectiu d'aquest TFG és l'estudi de les reaccions dels processos redox que un químic orgànic denominaria de reducció.

En general, les operacions redox de reducció rellevants per a la síntesi orgànica són aquelles en què un determinat grup funcional d'una molècula orgànica adquireix dos hidrògens. Tan sols ens referim a aquest tipus d'operacions redox de reducció que impliquen la incorporació de dos àtoms d'hidrogen en la funció orgànica original, un enllaç C=X (una reacció semblant, al menys formalment, a la hidrogenació és per exemple la borilació d'un doble enllaç per acció d'un derivat de bor del tipus R_2B-BR_2 , conduint a un bis borà veïnal).

Per altra banda, en l'anàlisi que hem proposat dur a terme, únicament considerem operacions de reducció catalítiques, ja que, com s'ha dit, són aquestes reduccions les que presenten una eficiència atòmica (economia d'àtoms segons la definició de B.M. Trost) elevada. Deixarem de banda, per tant, les reaccions de reducció estequiomètriques ja que, pel mateix motiu, la seva eficiència atòmica és molt pobre.

Així doncs, a fi de distribuir el conjunt d'operacions redox de reducció en diferents grups i, d'aquesta manera, ordenar dades de forma comprensible i coherent, hem considerat oportú classificar les operacions catalítiques en:

- a) **Reaccions d'hidrogenació catalítiques**, és a dir, aquelles en què es transfereixen dos àtoms d'hidrogen als extrems d'un enllaç múltiple carboni-carboni (C-C), carboni-heteroàtom (C-X) o, fins i tot, heteroàtom-heteroàtom (X-Y). Incloem en aquest apartat també les reaccions d'hidrogenació catalítiques d'enllaços senzills carboni-carboni o carboni-heteroàtom, correctament denominades d'hidrogenòlisis.
- b) **Reaccions de transferència d'hidrur**, és a dir, aquelles en què, d'acord amb la nomenclatura Kekulé-Lewis, es transfereix un hidrur (H^-) i un catió metàl·lic (M^+) als extrems d'un enllaç múltiple carboni-carboni, carboni-heteroàtom o heteroàtom-heteroàtom. Introduïm en aquest apartat també les reaccions de ruptura d'enllaços senzills carboni-carboni o carboni-heteroàtom. Naturalment, és en la posterior etapa d'elaboració del cru de reacció quan s'incorpora el segon àtom d'hidrogen com H^+ , en substitució d' M^+ .
- c) **Reaccions de transferència de dos electrons**, generalment proporcionats per un metall en estat d'oxidació baix (en molts casos, en estat d'oxidació zero) a un grup funcional posseïdor d'un enllaç múltiple carboni-carboni, carboni-heteroàtom o heteroàtom-heteroàtom. Incloem en aquest apartat també les reaccions de ruptura d'enllaços senzills carboni-carboni o carboni-heteroàtom. Naturalment, és en etapes posteriors quan s'incorporen els dos àtoms d'hidrogen com H^+ .

3.1. Hidrogenació catalítica

La hidrogenació catalítica utilitza bàsicament l'hidrogen gas i catalitzadors metàl·lics heterogenis. Es considera el mètode de reducció catalític més important en la química orgànica sintètica tant a nivell de laboratori com a escala industrial. Sense cap dubte, l'hidrogen és l'agent reductor més net i els catalitzadors heterogenis poden ser utilitzats de forma continuada.

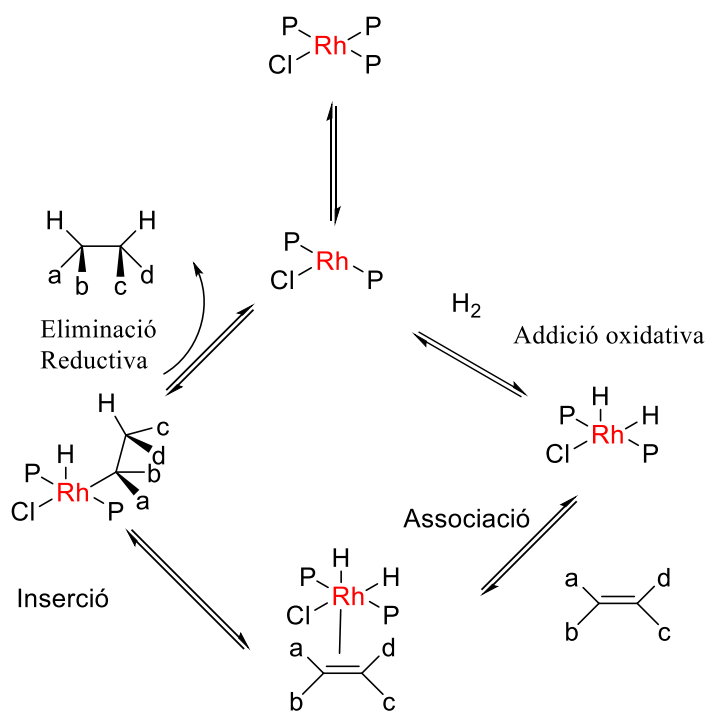
La hidrogenació catalítica presenta una sèrie d'avantatges que són:

- a) Molts de grups funcionals orgànics poden ser hidrogenats amb una alta selectivitat.

- b) En condicions relativament suaus a la fase líquida s'obtenen conversions elevades.
- c) Es pot triar el catalitzador més adequat per a cada grup funcional.
- d) L'escalat dels processos d'hidrogenació catalítica sol ser senzill ja que la tecnologia del procés està ben establerta.

La hidrogenació catalítica és de gran interès en la indústria de química fina, com les hidrogenacions estàndard d'olefines, cetones i aminacions reductores que solen utilitzar catalitzadors heterogenis.

Nombrosos complexes de Ruteni, Rodi i Iridi han estat optimitzats per a realitzar reduccions enantioselectives ja que els catalitzadors d'hidrogenació homogenis més eficaços són complexos que consisteixen en un ió metàl·lic central, un o més lligands (com per exemple el BINAP, DIPAMP i DIOP) i anions (quirals) que poden activar l'hidrogen molecular i afegir els dos àtoms d'hidrogen a un substrat acceptor. Un exemple a destacar, és la hidrogenació catalítica enantioselectiva d'alquens de Geoffrey Wilkinson (Premi Nobel el 1973) que utilitza complexos quirals de rodi (Rh(I)) solubles mitjançant una catàlisi homogènia asimètrica.^[7,32] Al següent esquema s'observa el cicle catalític de Wilkinson operatiu a la hidrogenació d'enllaços múltiples C-C.



Esquema 4: Cicle catalític de Wilkinson. Notar que els lligands fosfines (habitualment triarilfosfines) es mostren a l'esquema amb una P sense cap substitució.

El cicle catalític comença amb la dissociació d'un lligand P substituït. Llavors es produeix una addició oxidativa de dihidrogen que ocorre de manera *cis* i pot ser promogut per la substitució de més fosfines amb un complex ric de rodi (I). El complex de Rh (III) resultant és capaç de lligar un alquè (i per això un lligand fosfiné haurà de fugir). A continuació, es produeix la migració d'hidrur que forma el grup alquil, a través d'una operació que es denomina d'inserció perquè

³² Osborn, J. A.; Jardine, F. H.; Young, J. F.; Wilkinson, G. (1966). "The Preparation and Properties of Tris(triphenylphosphine)halogenorhodium(I) and Some Reactions Thereof Including Catalytic Homogeneous Hydrogenation of Olefins and Acetylenes and Their Derivatives" J. Chem. Soc., **1966**, 1711–1732. J.M Brown en *Comprehensive Asymmetric Catalysis* Vol. I, p. 122-176, Ed. E.N. Jacobsen, A. Pfaltz, H. Yamamoto, Springer Verlag, Berlin, **1999**.

l'enllaç Rh-H s'inserta (per a un químic orgànic una inserció és una addició syn periplanar). Per finalitzar el cicle, es produeix l'eliminació reductiva de l'alca, regenerant-se al mateix temps que el catalitzador de Rh(I) que es reintegra al cicle catalític.

La funció del lligand, apart d'influir en les propietats electròniques del metall, determina la geometria al voltant del nucli metàl·lic que, quan es tracta de lligands quirals, constitueix la base de les capacitats de promoure hidrogenacions enantioselectives.

Cal destacar també la reducció homogènia asimètrica utilitzant el BINAP com a lligand quiral (posseeix un eix estereogènic en lloc del típic centre estereogènic d'altres fosfines quirals) que fou descobert per Ryoji Noyori (premi Nobel de Química l'any 2001). La catàlisi asimètrica reductora descoberta per Noyori consisteix en la reducció de cetones proquirals a alcohols quirals, enantiomericament enriquits, emprant complexes quirals de ruteni (II) en quantitat subestequiomètrica. La figura 2 representa el lligand BINAP, mentre que l'esquema 5, mostra el cicle catalític de la reducció de β -ceto esters.^[7,33]

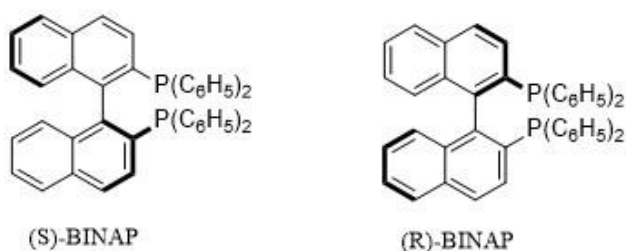
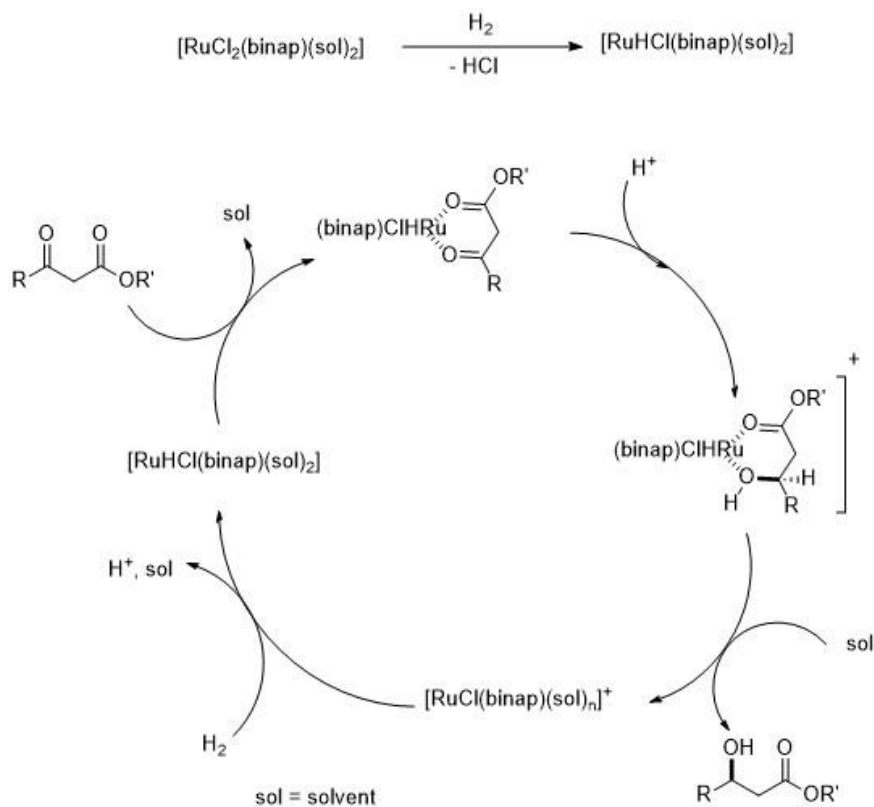


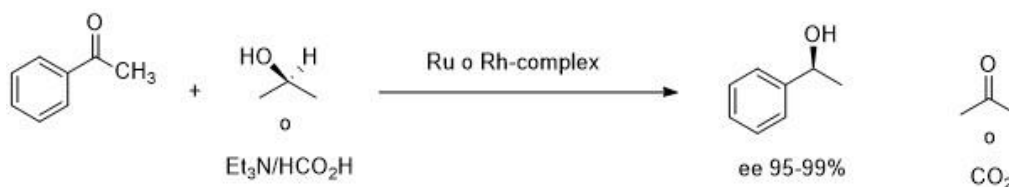
Figura 2: Lligand BINAP



Esquema 5: Mecanisme de (R)-BINAP-Ru catalitzada per la hidrogenació de β -ceto èsters.

³³ Noyori, R., «Asymmetric Catalysis: Science and Opportunities (Nobel Lecture)», *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2008-2022.

Així mateix, cal destacar les operacions d'hydrogenació catalítica descobertes per R. Noyori que en lloc d'emprar hidrogen com a reactiu, empren un alcohol com a transferidor d'hydrogen per a reduir una cetona proquiral en presència d'un catalitzador quiral de Ru(II).^[7,33] A continuació es mostra un exemple. Cal comentar que la naturalesa empra sistemàticament un alcohol com a transferidor d'hidrurs, com s'esmenterà més endavant.



Esquema 6: Reducció asimètrica de Noyori utilitzant un alcohol com a transferidor d'hydrogen.

Els complexos metàl·lics emprats habitualment per aquests processos solen ser els de la següent figura:

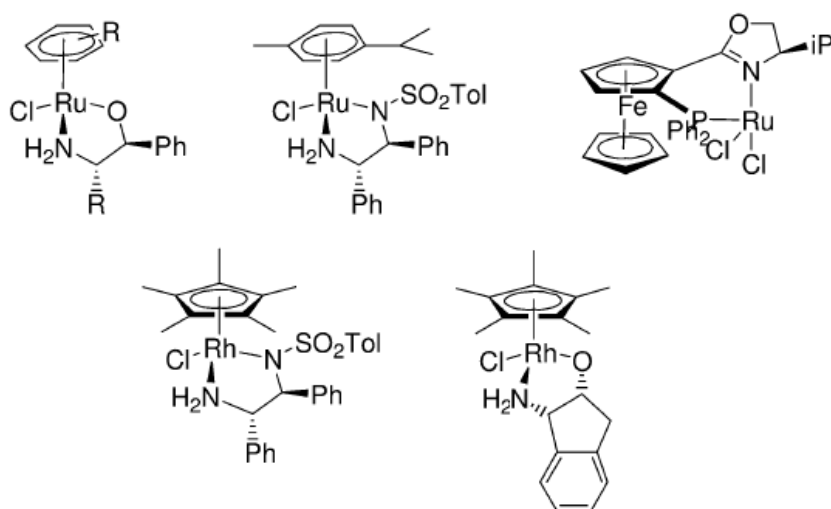


Figura 3: Complexes que s'utilitzen per a transferidors d'hydrogen.

A part de la catàlisi homogènia i heterogènia que com hem vist utilitza necessàriament espècies organometàl·liques per activar l'agent donador d'àtoms d'hydrogen (ja sigui hidrogen molecular o un altre donador). Volem destacar especialment els avanços de la biocatàlisi reductora per la senzilla raó de què es tracta d'emprar la metodologia que utilitza la naturalesa per fabricar productes químics complexos de la manera més neta, més verda possible.

4. Reaccions redox de reducció biocatalítiques

En l'actualitat la biocatàlisi és de gran interès i de gran importància en la Química Verda ja que és ambientalment benigne i pot catalitzar transformacions d'una altra manera difícil, a la vegada que pot eliminar diverses passes (en general tots aquells que imposa la necessitat de protegir i desprotegir altres grups funcionals presents) implicats en una síntesi química convencional. D'aquesta manera es redueixen els residus i els riscos, millorant el rendiment i reduint els costos.

Aleshores, la biocatàlisi ofereix nombrosos beneficis en comparació amb la catàlisi donat que:

- Les reaccions es realitzen en condicions suaus.

- El catalitzador és biocompatible, biodegradable i en molts casos es tracta de derivats de recursos renovables, i d'altres en la utilització d'enzims.
- No existeixen problemes d'escassetat ni de la contaminació del producte, ambdós associats amb l'ús de catalitzadors basats en metalls pesats.
- Es tracta de processos econòmics i altament selectius.
- Generalment les reaccions biocatalitzades donen lloc a una millor qualitat del producte i menys generació de residus.

En conclusió, els processos de biocatàlisi són més verds i sostenibles en comparació amb els processos químics clàssics.

En la següent taula,^[34] es valoren els processos biocatalítics en front de 10 dels 12 principis de la Química Verda.

Principis de la Química Verda	Biocatàlisi
Prevenió	Permet rutes més sostenibles amb residus significativament reduïts
Economia d'àtom	Activa més àtoms i escalona rutes econòmiques
Síntesi de química més segura	Toxicitat generalment baixa
Disseny de productes més segurs	No rellevant
Dissolvents més segurs i auxiliars	Normalment es realitza en dissolvents d'aigua o en dissolvents de classe 3
Disseny per a la eficiència energètica	Les condicions suaus són propícies per l'eficiència energètica
Ús de matèries primes renovables	Els enzims són renovables
Reduir derivats	La biocatàlisi evita la necessitat de protecció/desprotecció
Catàlisis	Els enzims són catalitzadors
Disseny per a la degradació	No són realment rellevants, però els enzims són biodegradables
Prevenió de la contaminació	Pot ser aplicable en processos biocatalítics
Prevenió d'accidents	Realitzat en condicions suaus i segurs

Taula 2: Biocatàlisis i els principis de la Química Verda. Els dissolvents de classe 3 es consideren menys tòxics i de menor risc per a la salut humana i, per tant, són preferents. Inclouen molts alcohols, èsters, èters i cetones inferiors.

A més, els processos biocatalítics es realitzen amb enzims aïllats o, fins i tot, amb cèl·lules senceres. En el cas d'emprar enzims aïllats, tenen l'avantatge de què els productes no presentaran subproductes derivats de l'activitat d'altres enzims presents en la cèl·lula. I pel cas de les cèl·lules senceres, es tracta de processos menys cars ja que evitem la separació i purificació de l'enzim.

Com que la biocatàlisi és més verda i més sostenible que la catàlisi metàl·lica, hem enfocat aquest treball cap a la biocatàlisi, sobretot en els processos de biocatàlisi reductora catalitzats per enzims que utilitzen els cofactors NADH i NADPH.^[35] És evident que tractant-se de coenzims catalitzats pels seus respectius enzims, aquests es reciclen mentre que els enzims són catalitzadors molt eficaços en terme de "TON (turnover number)" i "TOF (turnover frequency)"^[36] definint-se

³⁴ R. N. Patel, "Green biocatalysis", John Wiley & Sons, Inc, Hoboken, New Jersey, 2016.

³⁵ S.M. Roberts, W. Wiggins, G. Casy, "Preparative Biotransformations: Whole Cell and Isolated Enzymes in Organic Synthesis", University of Exeter, John Wiley & Sons, Exeter, UK, 1993.

³⁶ P.J. Walsh, M. C. Kozlowski, "Fundamentals of Asymmetric Catalysis", University Science Books, Sausalito, Ca., 2009.

com el màxim nombre de molècules d'un substrat que una molècula d'enzim pot convertir-se en producte (TON) i per unitat de temps (TOF), produint un mínim impacte ambiental.

4.1. Biocatàlisi reductora

Les reaccions de reducció (generalment asimètriques) biocatalítiques utilitzen un enzim (cetoreductases/ alcohol deshidrogenasa) i un coenzim (NADH o NADPH) per aconseguir la reducció de grups funcionals carbonílics com per exemple: cetones, cetones α,β -insaturats, aldehids. Són reaccions molt importants per la Química Verda ja que no requereixen d'àcids forts, bases i/o metalls nocius. A més, les reaccions es realitzen a temperatura ambient.

Així mateix, la reducció biocatalítica de cetones aquirals, proquirals generalment, dona lloc als corresponents alcohols quirals amb un rendiment químic i un excés enantiomèric proper al 100 %. Els mètodes químicament rarament arriben a resultats tan espectaculars.

4.2. Mecanisme d'acció

Les deshidrogenases són enzims que catalitzen la reducció de grups carbonils, com és el cas de cetones o aldehids d'origen natural, però també la reacció inversa, és a dir l'oxidació enantioselectiva d'alcohols com per exemple l'etanol, el glicerol, el lactat, etc. Això és possible perquè les reaccions són equilibris amb un valor de K pròxim a la unitat i, per tant, manipulables cap a una o altra direcció per efecte de les concentracions de reactius, d'acord amb la llei de Le Chatelier. Naturalment els químics sintètics s'han aprofitat d'aquesta capacitat per a reduir cetones d'origen sintètic de manera enantioselectiva.

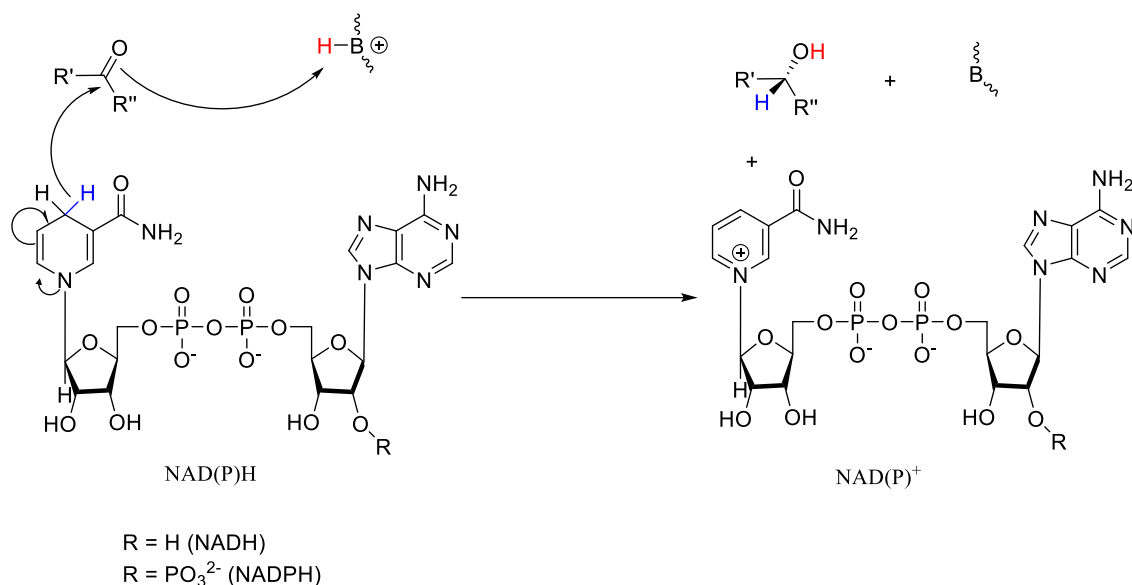
Des d'un punt de vista mecanístic, l'activitat catalítica necessita l'ús de coenzims tal com la nicotinamida adenina dinucleòtid (NADH), nicotinamida adenina dinucleòtid fosfat (NADPH), flavina dinucleòtid (FAD), etc, donat que són aquestes les espècies que transfereixen un dels àtoms d'hidrogen (com a hidrur) al substrat carbonílic. Particularment, el NADH i NADPH són els coenzims que transfereixen un hidrur al carboni del carbonil i d'un contrari com NAD^+ o NADP^+ . Així doncs, el mecanisme per a la reducció segueix una sèrie de passes o etapes:

- El coenzim NAD(P)H i el compost carbonil (substrat) s'uneixen al catalitzador (l'enzim) donant lloc a un complex ternari. En aquest complex el grup carbonil del substrat es troba activat per una xarxa d'enllaços d'hidrogen, o bé per un catió metàl·lic com Zn^{+2} (es el cas de la "horse liver alcohol dehidrogenase").^[7]
- El NAD(P)H transfereix un hidrur al grup carbonil del substrat (es redueix) mentre que el coenzim s'oxida a NAD(P)^+ .
- L'alcòxid es protona per un àcid carboxílic proper que pertany a l'enzim.
- El coenzim oxidat NAD(P)^+ i el producte es dissocien de l'enzim.

Ara bé, a un sistema enzimàtic hi ha d'haver un procés de reciclatge del NAD(P)^+ i per tant les següents etapes són també fonamentals:

- El reductor (un compost hidroxílic) i el coenzim oxidat NADP^+ es lliguen al catalitzador (enzim) donant lloc a un complex ternari.
- Un alcohol transfereix un hidrur al coenzim NAD(P)^+ que es redueix, mentre que l'alcohol s'oxida al corresponent compost carbonílic.
- El coenzim reduït, NAD(P)H , i el compost carbonílic, producte, es dissocien de l'enzim.

Mitjançant el següent esquema s'observa el mecanisme de reducció.



Esquema 7: Mecanisme de reducció de cetones utilitzant el coenzim NAD(P)H.

La utilització d’NADH i NADPH en els processos de producció industrial d’alcohols enantiomèricament purs és prohibitiva, donat que aquests coenzims són molt cars (es tracta de molècules molt complexes) i que, a priori, es necessitaria una quantitat estequiomètrica d’una font d’hidrur. Per resoldre aquest problema s’han plantejat diferents solucions dirigides a desenvolupar la reducció enantioselectiva de compostos carbonílics amb un màxim rendiment químic i estereoquímic.

4.2.1. Fonts d’hidrogen per a la reducció

Com s’ha dit anteriorment, els enzims com el cas de les deshidrogenases que catalitzen la reducció de grups carbonílics normalment requereixen d’un coenzim del qual un hidrur es transfereix al carboni del carbonil. El coenzim, que generalment sol ser el NADH o NADPH, és massa car com un reactiu d’un sol ús. Per tant, la forma oxidada dels coenzims hauria de ser transformada in situ a la forma reduïda, tal com fan els sistemes naturals. Així doncs, cal reciclar i reutilitzar la forma oxidada del coenzim. Per dur a terme aquesta reacció de reducció in situ, són necessàries fonts d’hidrogen adients. A tal fi s’han emprat alcohols, com l’etanol, el 2-propanol, sucres com la glucosa o glucosa-6-fosfat, l’àcid fòrmic i, fins i tot, el dihidrogen. També a nivell industrial, cal dir que es solen utilitzar fonts d’energia com l’elèctrica i la llum.

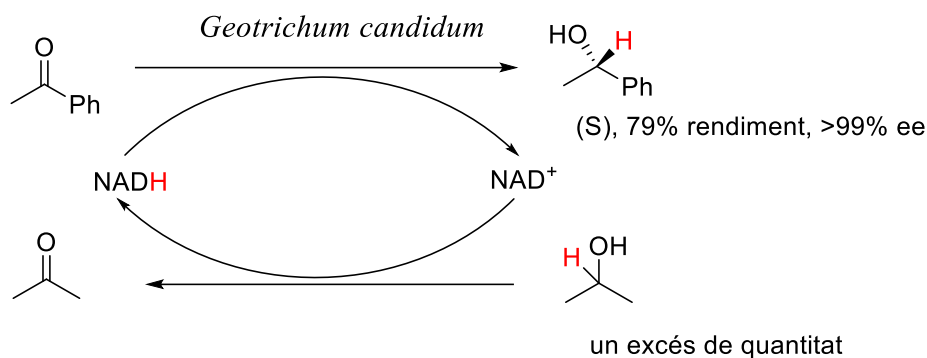
A continuació, s’expliquen d’una manera més detallada els exemples esmentats.

4.2.1.1. Alcohols

Majoritàriament s’han usat l’etanol i el 2-propanol per reciclar, in situ, el coenzim NAD(P)⁺ mitjançant la reducció catalitzada per l’alcohol deshidrogenasa, ja que aquest enzim catalitza tant la reducció com l’oxidació.^[7,37] En general, una quantitat en excés de font d’hidrogen s’utilitza per empènyer l’equilibri cap a la formació de productes (alcohols enantiomèricament purs).

³⁷ T. Matsuda, R. Yamanaka, K. Nakamura, "Recent progress in biocatalysis for asymmetric oxidation and reduction", *Tetrahedron: Asymmetry* **2009**, *20*, 513-517. P. T. Anastas, R. H. Crabtree, "Handbook of Green Chemistry", Vol. 1,2,3. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim **2009**.

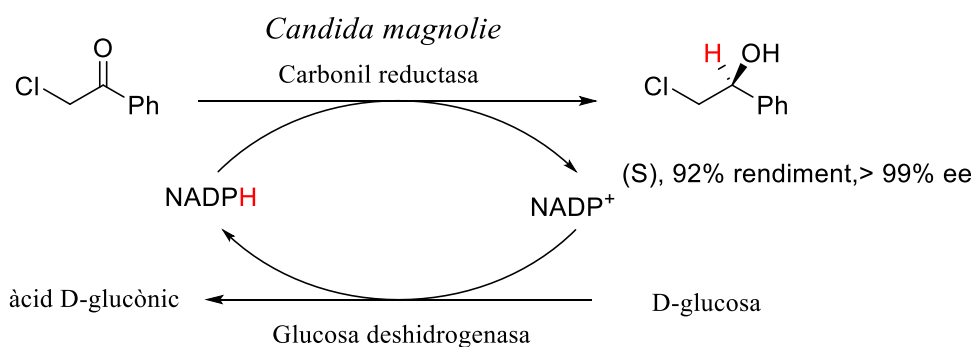
Un exemple interessant és l'ús d'alcohols secundaris en el qual tant l'enantioselectivitat, com el rendiment químic milloren mitjançant el reciclatge del coenzim utilitzant alcohols secundaris per a la reducció de cetones amb el microorganisme *Geotrichum candidum* que aporta el seu sistema enzimàtic. L'ús de cèl·lules seques com a biocatalitzador i l'addició del coenzim NAD(P)H i un excés d'alcohols secundaris com el 2-propanol o el ciclopentanol, va permetre augmentar l'enantioselectivitat i el rendiment químic del procés. D'aquesta manera el (*S*)-alcohol es va obtenir en més d'un 99 % d'excés enantiomèric (ee) amb un alt rendiment químic. Al següent esquema s'observa l'exemple esmentat.



Esquema 8: Reciclatge de l'NADH emprant alcohol com a font d'hidrogen per a la reducció.

4.2.1.2. Sucres

Els més utilitzats per facilitar el reciclatge dels enzims són la glucosa i la glucosa-6-fosfat. L'exemple a destacar és la reducció de cetones per la reductasa de l'organisme *Candida Magnoliae*,^[7,37] reducció que presenta una enantioselectivitat anti-Prelog (la regla d'en Prelog preveu la formació dels alcohols (*S*) en la reducció enzimàtiques de cetones proquirals $R_{\text{small}}\text{-CO-}R_{\text{large}}$). En aquest procés la glucosa i la glucosa deshidrogenasa s'han utilitzat per a regenerar in situ la forma reduïda del coenzim tal com es mostra a l'esquema 9.



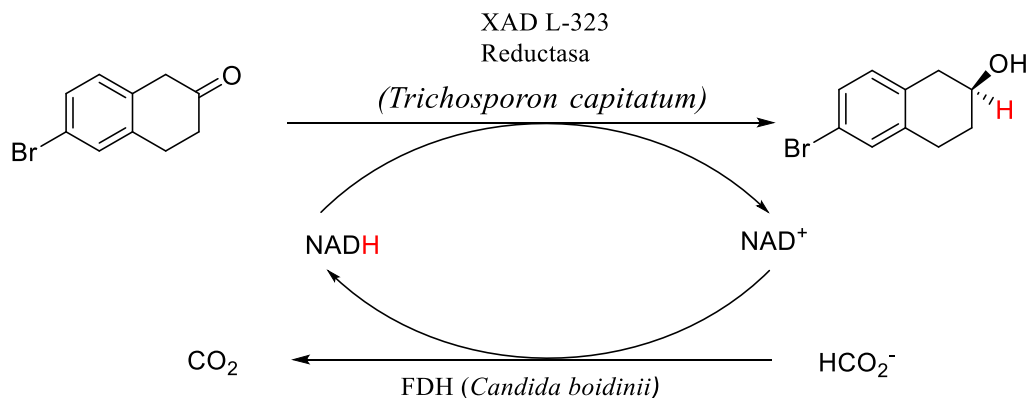
Esquema 9: Reciclatge de l'NADPH emprant la D-glucosa com a font d'hidrogen per a la reducció.

Així doncs, aquest sistema es pot dir que és un catalitzador enzimàtic eficaç per a la reducció enantioselectiva d'una gran diversitat de cetones, presentant una enantioselectivitat anti-Prelog i, a més, ha demostrat ser de gran utilitat en la indústria farmacèutica i agrícola.

4.2.1.3. Aminoàcids

El formiat és de gran utilitat en la reducció biocatalítica ja que es genera CO_2 per l'oxidació del formiat i s'allibera fàcilment del procés de reacció, desviant l'equilibri a la dreta. Un exemple a destacar, és el sistema de formiat deshidrogenasa (FDH)^[7,37] que es va aplicar a la reducció de la 6-bromotetralona a (*S*)-6-bromotetralol (un potencial precursor farmacèutic) amb la reductasa de

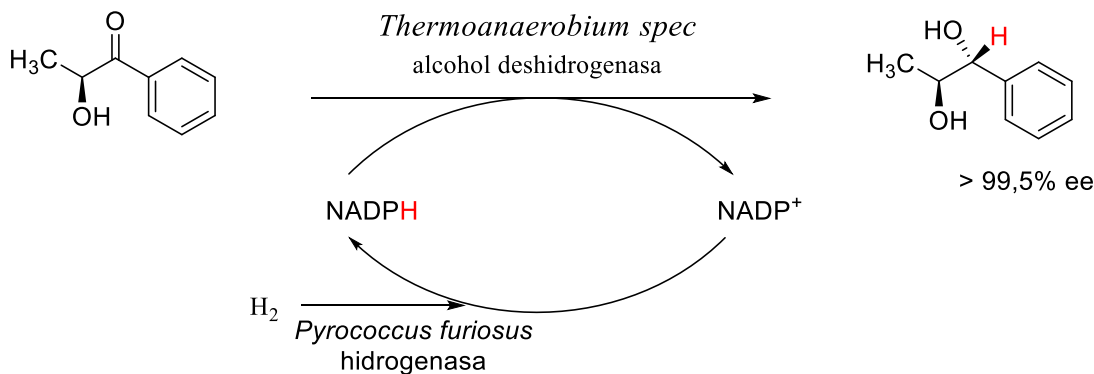
l'organisme *Trichosporon capitatum* dependent de NADH. A més, per poder tenir lloc la reacció es va utilitzar una resina sòlida (XAD L-323) que la seva funció és ajudar a formar el producte final tal com es mostra a l'esquema 10.



Esquema 10: Reducció de la 6-bromotetralona amb reductasa de *Trichosporon capitatum* utilitzant formiat com a font d'hidrogen.

4.2.1.4. Hidrogen molecular

L'hidrogen molecular s'ha utilitzat per al reciclatge de coenzims. Per exemple, una hidrogenasa soluble del cep hipertermofílic marí del *Pyrococcus furiosus* que s'ha utilitzat com un biocatalitzador en la producció i regeneració de NADPH amb hidrogen molecular.^[7,37] Així doncs, utilitzant l'NADPH i l'alcohol deshidrogenasa dependent utilitzant la subespècie de *Thermoanaerobium sp* del *Pyrococcus furiosus* en el sistema de regeneració d'NADPH in situ, el (S)-hidroxi-1-fenil-propanona es va reduir quantitativament al corresponent (1*R*, 2*S*)-diol obtingut més del 98 % d'excés enantiomèric (ee) i un TON (turnover number) (mols producte/ mols de cofactor NADP⁺ consumits). A l'esquema 11 es mostra l'exemple en particular.



Esquema 11: Reciclatge de l'NADPH usant l'hidrogen molecular.

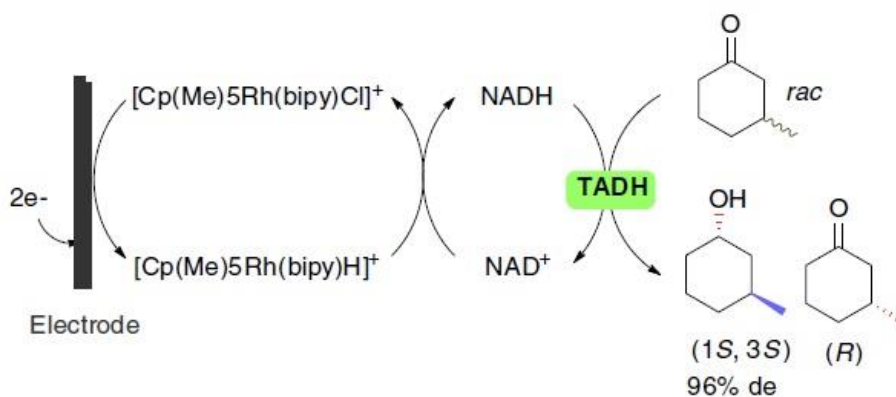
Cal destacar dos mètodes més per a regenerar el cofactor que s'utilitzen a nivell industrial. Consisteixen en la regeneració electroquímica i la regeneració de la llum impulsada, que necessiten energia.

4.2.1.5. Regeneració electroquímica

En els anys vuitanta es preveia que la generació electroquímica dels cofactors fos una tecnologia prometedora, sostenible i neta, ja que no requeriria d'un segon enzim i co-substrat. Però s'ha observat que presenta una baixa productivitat, estabilitat insuficient o dificultat per ampliar-se i

que necessita elevats potencials per a superar la reducció directa del coenzim, l'emissió d'elèctrodes, la dimerització del coenzim i fet que només l'enzim proper a l'elèctrode serà el productiu.^[7,37]

Encara que s'ha observat un mètode eficient per a la regeneració electroquímica d'NADH per a la reacció enzimàtica mitjançant organometàl·lics,^[37,38] en aquest cas es va emprar un complex de rodi per a la regeneració electroquímica d'NADH per a la reacció enzimàtica, operació que necessita emprar octà com a segona fase orgànica per evitar la inhibició del producte. D'aquesta manera, es va dur a terme la reducció de 3-metilciclohexanona amb l'alcohol per l'acció de la deshidrogenasa termofílica de *Thermus sp*, formant el (1*S*, 3*S*)-3-metilciclohexanol amb excés diastereòmer del 96% i una eficiència del 85 % com es mostra a l'esquema següent. Com es pot veure l'esquema es tracta d'una resolució cinètica (un dels enantiòmers d'una mescla racèmica de partida reacciona amb un reactiu quiral molt més ràpidament que l'altre enantiòmer donant lloc a un producte enantiò i diastereomericament enriquit i a l'enantiòmer del producte de partida que no ha reaccionat.^[39]



Esquema 12: Reciclatge de l'NADH mitjançant energia elèctrica i TADH. TADH: *Thermus sp.* Alcohol deshidrogenasa.

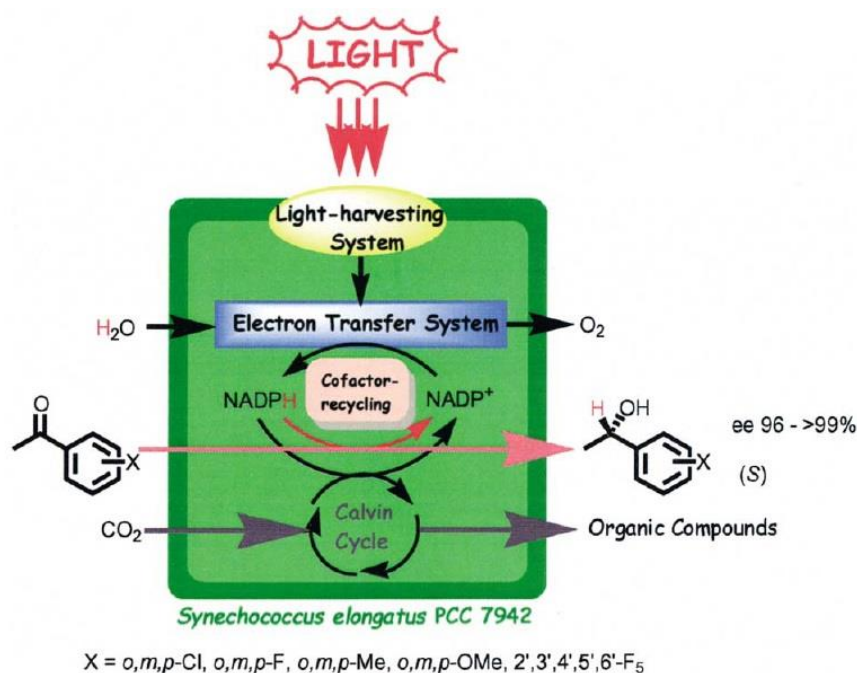
4.2.1.6. Llum com a font d'energia

S'han desenvolupat mètodes fotoquímics per proporcionar un sistema respectuós amb el medi ambient que utilitza la llum en forma d'energia per regenerar NAD(P)H,^[37] per exemple, en el cas de la utilització d'un cianobacteri, un biocatalitzador fotosintètic. Mitjançant el biocatalitzador, la reducció dels derivats d'acetofenona es va produir amb més efectivitat sota la il·luminació que a la foscor.^[40] D'aquesta manera, l'energia lluminosa captada pel cianobacteri es va convertir en energia química en forma d'NADPH a través d'un sistema de transferència d'electrons i, per tant, l'energia química (NADPH) es va utilitzar per reduir el substrat a l'alcohol quiral (96 – 99 % ee). En aquest cas, l'energia lluminosa, que generalment s'utilitza per reduir el CO₂ per sintetitzar els composts orgànics en el medi natural, es va utilitzar per reduir el substrat artificial. Mitjançant l'esquema 13 s'observa el procés realitzat.

³⁸ Höllrigl, V.; Otto, K.; Schmid, A. *Adv. Synth. Catal.* **2007**, *349*, 1337–1340.

³⁹ P.J. Walsh, M.C. Kozlowski "Fundamentals of Asymmetric Catalysis" . University Science Books, Saussalito, Ca. , **2009**.

⁴⁰ Nakamura, K.; Yamanaka, R. *Chem. Commun.* **2002**, 1782–1783. Nakamura, K.; Yamanaka, R. *Tetrahedron: Asymmetry* **2002**, *13*, 2529–2533.



Esquema 13: Reciclatge del NAD(P)H mitjançant l'energia lluminosa i el biocatalitzador fotosintètic.

S'ha observat que existeixen diferents mètodes per a poder dur a terme el reciclatge del coenzim, reduint principalment una cetona a alcohol presentant una configuració estereoquímica determinada i un elevat excés enantiomèric (ee).

A més, moltes d'aquestes reaccions necessiten d'un biocatalitzador preparat per a poder realitzar la reducció asimètrica en qüestió als quals existeixen diversos mètodes per a poder preparar el biocatalitzador adequat.

4.3. Preparació de biocatalitzadors

Pel fet que existeix una àmplia varietat de composts carbonils que es poden transformar en alcohols quirals enantiomericament enriquits de gran interès sintètic, ha estat necessària la recerca de nous biocatalitzadors que poden intervenir en aquesta transformació química d'una manera asimètrica.^[37] Existeixen diferents mètodes per trobar un únic enzim i útil, així com mutar enzims i immobilitzar-los. Es poden emprar enzims d'organismes cultivables i no cultivables i biocatalitzadors autòtrofs i heteròtrofs.^[34]

4.3.1. Selecció d'enzims de microorganismes cultivables

La selecció d'enzims expressats en microorganismes, que es troben en el medi ambient i cultivats al laboratori, té el mèrit de trobar nous enzims ja que el mètode no utilitza la informació de la seqüència dels enzims ja coneguts. A més, un enzim no es pot trobar si el microorganisme no es pot cultivar en les condicions adequades del laboratori, o el microorganisme no expressa l'enzim en determinades condicions de cultiu de laboratori.

Existeix un nou mètode de detecció utilitzant plaques multi-pou.^[34,37,41] En aquest mètode, cultius microbians d'aproximadament 300 microbis, demostra la utilitat en la reducció de cetones

⁴¹ Homann, M. J.; Vail, R. B.; Previte, E.; Tamarez, M.; Morgan, B.; Dodds, D. R.; Zaks, A. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 789–797.

que van ser introduïdes dins les plaques multi-pou, s'emmagatzema fins al seu ús a -80°C , i s'empren per identificar ràpidament els organismes específics capaços de produir alcohols quirals utilitzats com a intermedis per a diversos fàrmacs. A la següent figura s'observa un esquema del mètode.

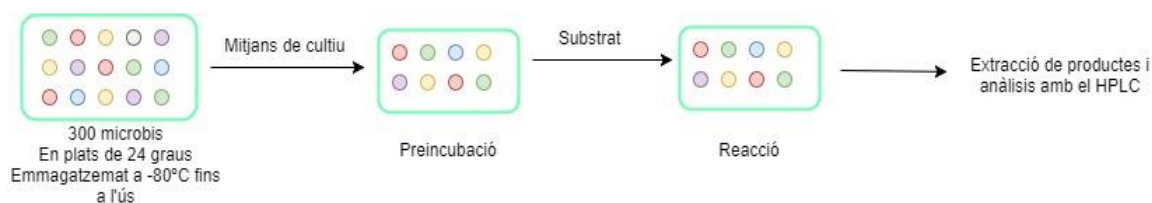
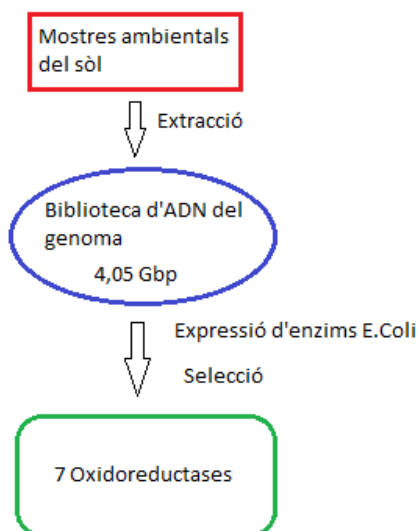


Figura 4: Selecció de biocatalitzadors a partir de microorganismes cultivables.

S'ha observat que durant la reducció de 60 cultius d'alquil aril cetones selectivament, proporcionen els enantiòmers (*R*) i (*S*) dels corresponents alcohols amb un 92-99% d'excés enantiomèric i amb un rendiment de fins a 95%.

4.3.2. Selecció d'enzims que utilitzen metagenomes

El metagenoma és una col·lecció d'ADN extret directament de mostres ambientals, el qual s'examina per trobar un enzim. Aquest procés de selecció ens permet localitzar enzims en organismes que no es poden cultivar fàcilment en el laboratori. A partir d'aquest mètode, es va aconseguir aïllar l'oxidoreductasa per a la formació de carbonils a partir de poliols de cadena curta.^[34,37,42] Com podem observar a la figura 5, es van construir biblioteques d'ADN metagenòmic a partir de tres mostres diferents (prada, camp de remolatxa sucraera i terres de cultiu). Aquestes biblioteques comprenen aproximadament 1.267.000 clons independents que van ser seleccionats per a la producció de carbonils de poliols de cadena curta (C2 a C4) com el 1,2-etanodiol, el 2,3-butanodiol i una mescla.



Substrats per la reducció:

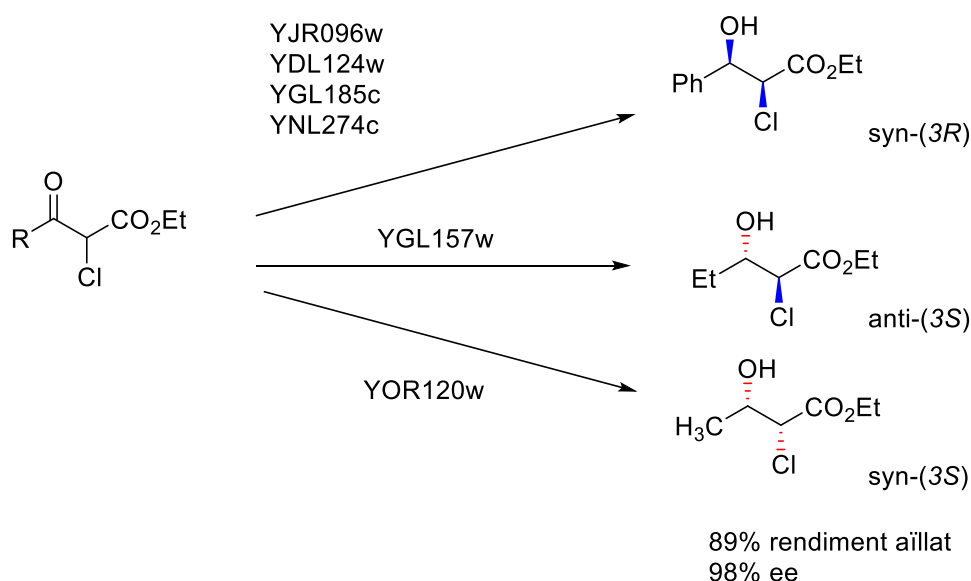
Dihidroxiacetona, Hidroxiacetona, Glicolaldehid, Diacetil

Figura 5: Selecció de biocatalitzadors emprant metagenomes de complexos microbians derivats de sòls.

⁴² Knietsch A, Waschkowitz T, Bowien S, Henne A, Daniel R. "Metagenomes of complex microbial consortia derived from different soils as sources for novel genes conferring formation of carbonyls from short-chain polyols on *Escherichia coli*". *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* **2003**; 5: 46–56.

4.3.3. Selecció d'enzims de microorganismes de la base de dades del genoma conegut

La selecció d'un enzim de la base de dades del genoma és útil per cercar un catalitzador per a una reacció desitjada.^[43] A l'esquema 14, s'observa un exemple que es tracta de la investigació de la reducció enantioselectiva i diastereoselectiva de l'etil 2-cloro-3-oxoalcanoats emprant una biblioteca de reductasa (en aquest cas, es coneixen 18 enzims putatius) del llevat de forner expressat en *Escherichia Coli*.^[44] D'aquesta manera, va ser possible produir dos dels quatre diastereòmers del 3-cloro-2-hidroxi èster amb altes pureses òptiques. Es va observar que quatre enzims (YJR096w, YDL124w, YGL185c i YNL274c) també van reduir el 2-cloro-3-fenilpropanoat al corresponent èster (3*R*)-hidroxi. El 2-cloro-3-oxopentanoat es va reduir selectivament amb YGL157w a l'èster anti-(3*S*)-hidroxi i el 2-clorobutanoat va ser reduït per YOR120w al producte syn-(3*S*).



Esquema 14: Selecció de la biblioteca de reductasa (18 enzims coneguts i putatius) del llevat de forner expressat en *E. coli* per a la reducció d'etil 2-cloro-3-oxoalcanoats.

4.3.4. Mutació d'enzims

La mutació d'enzims millora el rendiment. Es solen classificar les mutacions en dues categories:^[34,35]

- Mutació racional, que es defineix com la mutació puntual quan es produeix una alteració en un sol parell de bases.
- Mutació aleatòria, que es defineix com l'evolució dirigida (canvi d'aminoàcids a l'atzar amb l'objectiu de crear una gran biblioteca de proteïnes mutants seguida de la selecció de les proteïnes que posseeixen la propietat desitjada; els processos de la mutació aleatòria i

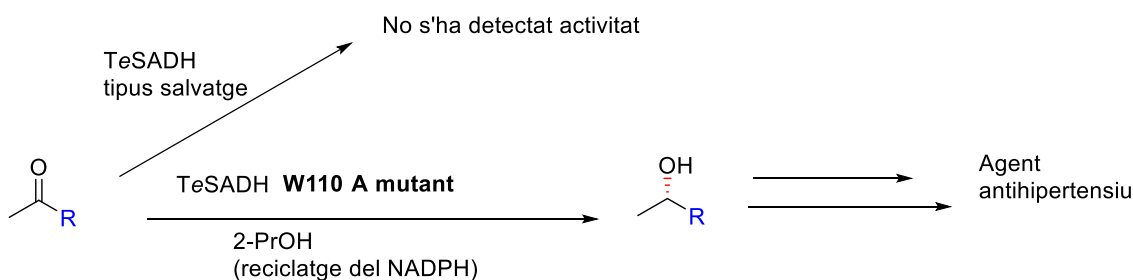
⁴³ Banerjee, A., Sharma, R., and Banerjee, U.C. "The nitrile-degrading enzymes: Current status and future prospects". *Applied Microbiology and Biotechnology*, **2002**, 60, 33–44. Kaluzna, I. A.; Feske, B. D.; Wittayanan, W.; Ghiviriga, I.; Stewart, J. D. *J. Org. Chem.* **2005**, 70, 342–345.

⁴⁴ El llevat de forner purificat per a operacions de reducció és comercial (baker yeast) a nombroses cases comercials de reactius químics i biològics. Per exemple, en la pàgina de Sigma Aldrich, s'observa que el Baker yeast (*S. Cerevisiae*) es ven a 91€ entre 200-300 unitats/mg sòlid.

la selecció es repeteixen moltes vegades com en l'evolució natural). Quan l'estructura de l'enzim no es coneix o no es pot preveure, només es pot realitzar una mutació aleatòria.

4.3.4.1. Mutació racional per augmentar l'especificitat de substrat

S'ha descrit un disseny racional en la modificació dels enzims per mutació puntual,^[34,37,45] com és el cas de l'alcohol deshidrogenasa (d'alcohols secundaris) de *Thermoanaerobacter ethanolicus* 39E (TeSADH), un enzim termostable i, a més, resistent als canvis de dissolvents. El TeSADH és capaç de reduir enantioselectivament cetones proquirals emprant el 2-propanol (isopropanol) com a transferidor final, el que permet reciclar l'autèntic reductor, el NADPH. Encara que el TeSADH no és actiu en l'oxidació de (*S*)-1-fenil-2-propanol, un precursor de grans fàrmacs que contenen grups d'alcohol secundaris, si és altament actiu sobre 2-butanol. S'ha aconseguit esbrinar el motiu estructural d'aquest comportament: el triptòfan-110 (W110) impedeix la complexació del (*S*)-1-fenil-2-propanol, però no interfereix amb la obligada complexació en el cas de l'oxidació de 2-butanol. Per tal d'evitar aquest impediment, el triptòfan-110 va ser substituït per alanina (A). D'aquesta manera, el mutant W110A, com s'observa en el següent esquema, s'utilitza per a l'oxidació de diferents alcohols secundaris com ara el (*S*)-1-fenil-2-propanol, o el (*S*)-4-fenil-2-butanol o, per tal d'obtenir el (*S*)-4-fenil-2-butanol per reducció de la corresponent benzilacetona amb rendiments > 99% ee.



R=

CH₂CH₂Ph (*S*), 99% con., > 99% ee

CH₂COPh (*3S*), 98% con., > 99% ee

CH₂Ph (*S*), 95% con., 37% ee

CHClCH₂Ph (*2S,3R*) 83% con., > 99% ee, 84% de

W110A: mutant de triptòfan-110 (W110) va ser reemplaçat per alanina (A)

TeSADH: *T. ethanolicus*, alcohol deshidrogenasa secundària

Esquema 15: Mutació racional de *Thermoanaerobacter ethanolicus* 39E alcohol deshidrogenasa secundària per augmentar l'especificitat del substrat.

4.3.5. Enzim hipertermòfil com a biocatalitzador

L'enzim termofílic és un important biocatalitzador degut a la termoestabilitat de l'enzim que és un paràmetre molt crític per avaluar un biocatalitzador. Un exemple a destacar, és la deshidrogenasa que presenta una alta resistència a la inactivació tèrmica. La reducció asimètrica de ceto-èsters i de cetones aromàtiques s'ha investigat per l'alcohol deshidrogenasa hipertermòfil

⁴⁵ Katz, M.; Frejd, T.; Hahn-Hägerdal, B.; Gorwa-Grauslund, M. F. *Biotechnol. Bioeng.* **2003**, *84*, 573–582. K. I. Zielgelmann-Fjeld, M. M. Musa, R. S. Phillips, J. G. Zeikus, C. Vieille. "A *Thermoanaerobacter ethanolicus* secondary alcohol dehydrogenase mutant derivative highly active and stereoselective on phenylacetone and benzylacetone". *Protein Eng. Des. Sel.* **2007**, *20*, 47-55.

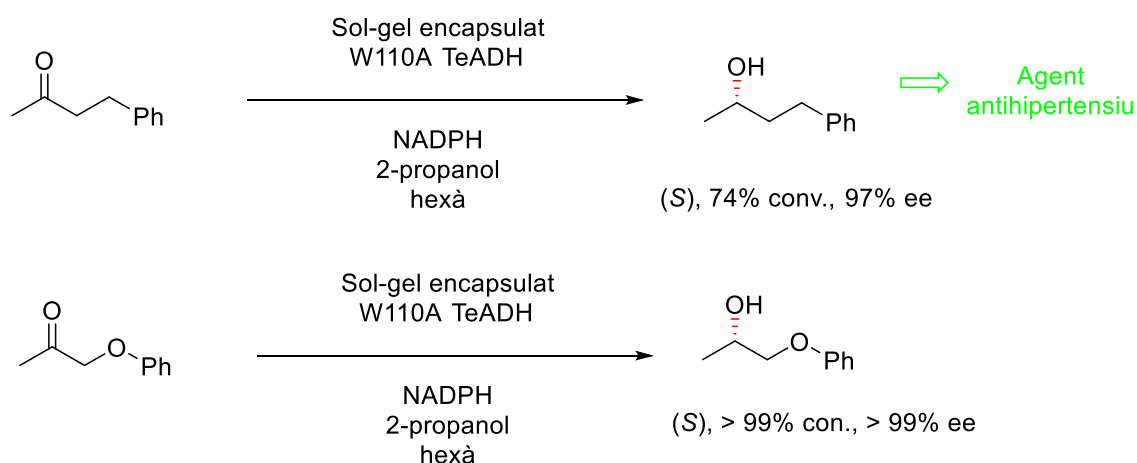
del grup “*Pyrococcus furiosus*” (PFADH) obtingut de E.Coli.^[37,37,46] L’augment de la temperatura de la reacció va elevar l’activitat enzimàtica, però afortunadament no va presentar cap efecte sobre l’enantioselectivitat. També es va observar que l’enzim presentava una alta tolerància als dissolvents orgànics com el dimetil sulfòxid (DMSO), l’iso-propanol, o el metil tert-butil èter. Aquesta és una característica important i útil per a la reducció de cetones amb una baixa solubilitat i tampons aquosos.

4.4. Enginyeria de dissolvents

Les oxidoreductases funcionen en dissolvents no aquosos, com el dissolvent orgànic, el CO₂ supercrític i els líquids iònics encara que la immobilització de l’enzim pot ser necessària per poder estabilitzar-ho. Per tant, en aquest apartat es mostren diferents exemples.

4.4.1. Dissolvent orgànic

Per a dur a terme la reacció catalitzada per oxidoreductases, s’han utilitzat dissolvents orgànics miscibles i immiscibles amb aigua. Un exemple a destacar, és l’alcohol deshidrogenasa^[34,37,47] (W110A mutant de *T. Ethanolicus*) que es va emprar per a la reducció asimètrica de 4-fenil-2-butanona a (S)-4-fenil-2-butanol en hexà com s’observa a l’esquema 16.



Esquema 16: Encapsulació del mutant W110A de *Thermoanaerobacter ethanolicus* alcohol deshidrogenasa en sol-gel per a la reducció asimètrica de cetones.

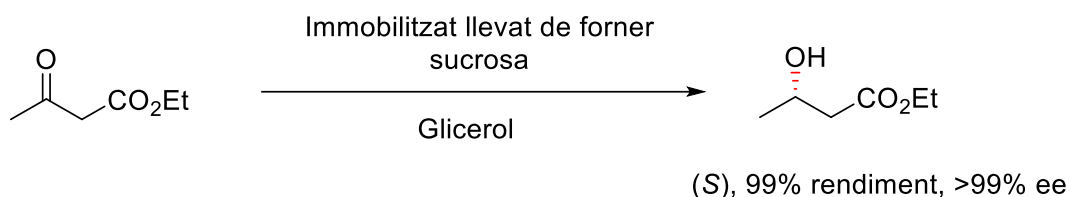
4.4.2. Glicerol

El glicerol també s'utilitza en la reducció, ja que és un líquid no tòxic, biodegradable i reciclable fabricat com a subproducte de transesterificació d'un triglicèrid en la producció de derivats d'àcids grassos naturals i bio-dièsel. A més, el seu ús, permet una fàcil separació del producte mitjançant una extracció amb èter dietílic. Es va utilitzar amb èxit el llevat de forner lliure i

⁴⁶ Zhu D, Malik HT, Hua L. “Asymmetric ketone reduction by a hyperthermophilic alcohol dehydrogenase. The substrate specificity, enantioselectivity and tolerance of organic solvents”. *Tetrahedron Asymmetry* **2006**; 17: 3010–3014.

⁴⁷ Musa MM, Ziegelmann-Fjeld KI, Vieille C, Zeikus JG, Phillips RS. “Xerogel-encapsulated W110A secondary alcohol dehydrogenase from *Thermoanaerobacter ethanolicus* performs asymmetric reduction of hydrophobic ketones in organic solvents”. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2007**, 46: 3091–3094.

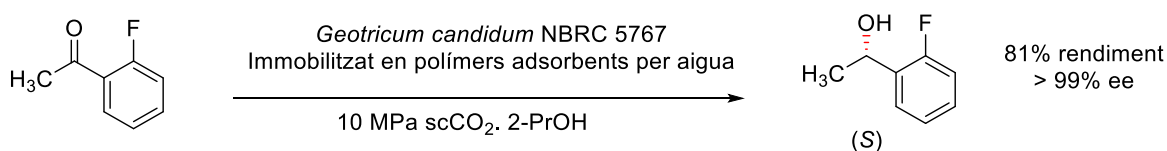
immobilitzat en la reducció asimètrica dels β -cetoèsters i cetones en glicerol.^[37,47] A més, les cèl·lules lliures presentaven menor activitat que les cèl·lules immobilitzades, mentre que l'enantioselectivitat era molt elevada (99 %) amb els dos catalitzadors. A l'esquema 17 s'observa l'exemple.



Esquema 17: Glicerol com a dissolvent per a la reducció d'una cetona pel llevat de forner.

4.4.3. CO₂

La concentració del CO₂ atmosfèric ha augmentat des de l'inici de la industrialització a causa de les activitats humanes com la desforestació i la combustió de combustibles fòssils.^[48] La síntesi orgànica necessita una gran quantitat de dissolvents orgànics i aquests s'haurien de minimitzar. Per tant, el CO₂ és un dissolvent que pot ser emprat per a la biocatàlisi en condicions de CO₂ supercrítics en lloc d'emprar els dissolvents orgànics, així com desenvolupar sistemes enzimàtics que utilitzin CO₂ supercrític, presentant condicions de pressió i temperatura superiors al seu punt crític comportant-se com "un híbrid entre un líquid i un gas" que es realitza mitjançant la cromatografia de fluids supercrítics.^[49] Per tant, és un exemple important per emprar CO₂ supercrític per a la reducció per alcohol deshidrogenasa, *G. Candidum* immobilitzat en 10 MPa. Es van observar altes activitats i excel·lents enantioselectivitats per a la reducció asimètrica de cetones aromàtiques i cícliques. Per exemple, la 2-fluoroacetofenona es va reduir a l'alcohol (S) al 81 % de rendiment amb un excés enantiomèric més alt que 99 % (Esquema 18).



Esquema 18: CO₂ supercrític com a dissolvent per a la reducció de cetona per *Geotrichum candidum*.

4.4.4. Líquids iònics

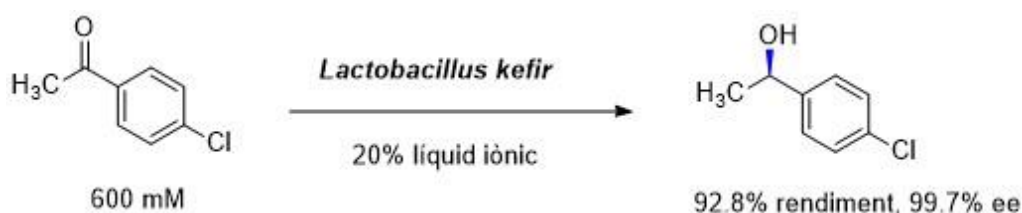
Els líquids iònics són dissolvents verds reciclables sense pressió de vapor que s'han utilitzat per a reduccions catalitzades per oxidoreductasa. Per exemple, l'esquema 19 mostra la reducció asimètrica de *G. Candidum* en líquid iònic hidrofòbic ([bmin]PF₆).^[50] Quan la cèl·lula va ser immobilitzada en un polímer que absorbeix l'aigua que contenia, la reacció es va dur a terme sense cap problema amb una excel·lent enantioselectivitat, mentre que la reacció sense immobilitzar, no es va produir. Un altre exemple, és la reducció de 4-cloroacetofenona per

⁴⁸ Canadell, J. G.; Le Quere, C.; Raupach, M. R.; Field, C. B.; Buitenhuis, E. T.; Ciais, P.; Conway, T. J.; Gillett, N. P.; Houghton, R. A.; Marland, G. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2007**, *104*, 18866–18870.

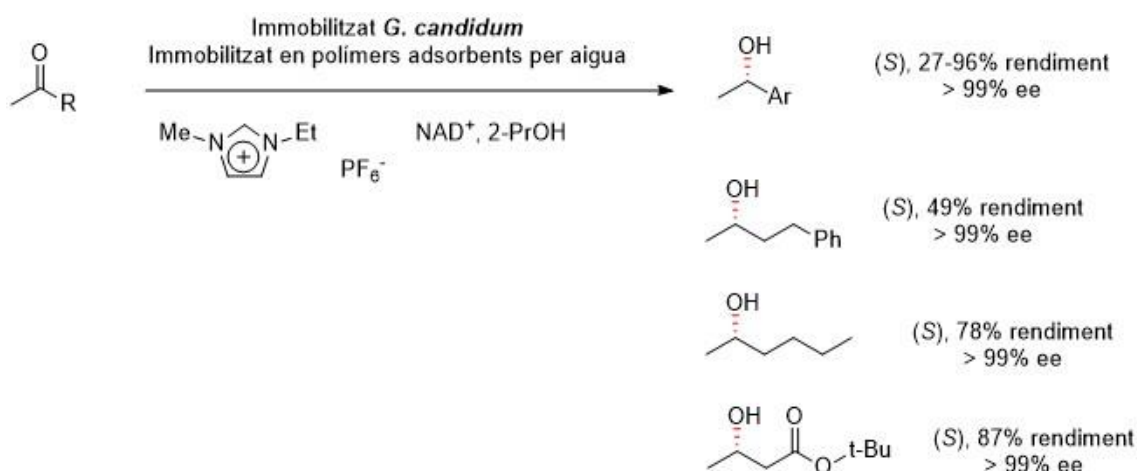
⁴⁹ Herrero, M.; Mendiola, J.A.; Cifuentes, A.; Ibáñez, E. Supercritical fluid extraction: Recent advances and applications. *J. Chromat. A.*, **2010**, *1217* (16), 2495-2511 .

⁵⁰ Matsuda, T.; Yamagishi, Y.; Koguchi, S.; Iwai, N.; Kitazume, T. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 4619–4622.

Lactobacillus kefir que permet disminuir la toxicitat del substrat cap als microbis.^[51] Es va addicionar un 20% de BMIM[Tf2N] permetent que la reducció es produís sense problemes, formant el (*R*)-alcohol amb un 92,8 % de rendiment i un 99,7 % d'excés enantiomèric tal com es mostra a l'esquema 20.



Esquema 19: Líquid iònic immiscible d'aigua com a co-dissolvent per a la reducció de cetona per *Lactobacillus kefir*.



Esquema 20: Líquid iònic com a dissolvent per a la reducció de cetona per *Geotrichum candidum* immobilitzat.

4.5. Processos per a reduccions asimètriques biocatalítiques

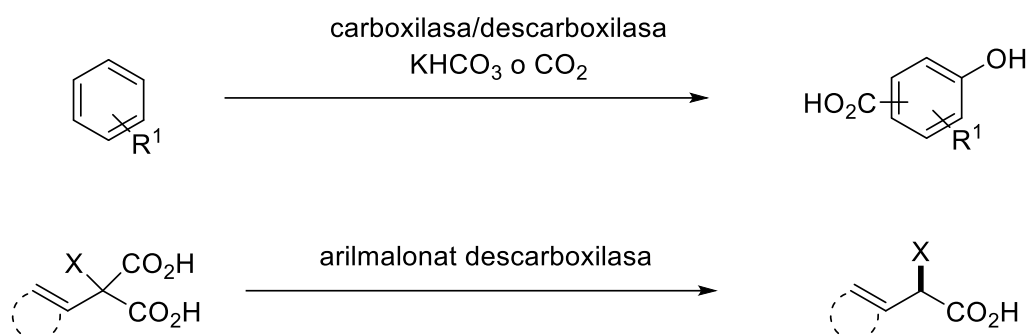
Avui en dia existeixen molts d'exemples de reduccions asimètriques de grups carbonils com cetones, eno-reductases que redueixen dobles enllaços carboni-carboni α,β -insaturats obtenint alcohols amb una alta enantioselectivitat i un alt rendiment. Aquestes reduccions mitjançant biocatàlisi són de gran interès tant a nivell industrial com en el laboratori, ja que per exemple existeixen fàrmacs de gran interès i processos industrials importants. A continuació, expliquem uns quants exemples destacats sobre les reduccions asimètriques de biocatàlisi.

4.5.1. Carboxilació i descarboxilació enzimàtica

La descarboxilació enzimàtica pot ser de gran utilitat per transformar àcids carboxílics aquirals en productes homoquirals més valuosos mitjançant la formació d'enllaços C-H o C-C de forma enantioselectiva. A més utilitzen unes condicions més benignes pel fet que empen cèl·lules senceres o enzims de carboxilasa/descarboxilasa. Per tant, empen una àmplia varietat de substrats

⁵¹ Pfruender, H.; Amidjojo, M.; Kragl, U.; Weuster-Botz, D. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2004**, *43*, 4529–4531.

en reaccions de carboxilació enzimàtiques com fenols, pirròls i indols.^[52] Al següent esquema, es mostra el procés de forma general.

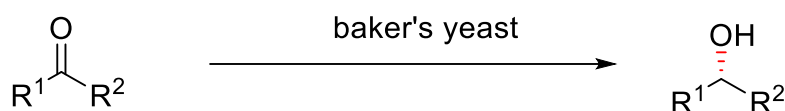


Esquema 21: Descarboxilació enzimàtica mitjançant l'arilmalonat descarboxilasa.

4.5.2. Reducció de cetones i aldehids

Aquest tipus de reducció, és el que hem estat comentant al llarg d'aquest treball, però volem donar-li importància perquè existeix un exemple molt important d'aquest tipus de reducció. Louis Pasteur va descobrir el procés de fermentació, utilitzant el baker's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*), llevat de forner.^[53]

El baker's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*), és el microorganisme més emprat per a la reducció asimètrica de cetones i aldehids. A més, quan es produeix, la reacció ens condueix a productes quirals, reduint-se per la fermentació del llevat de forner d'acord amb la regla Prelog formant el corresponent (*S*)-alcohol en pureses òptiques elevades, depenent del substituent que presentin, s'obindrà major o menor excés enantiomèric tal com es mostra a l'esquema 22.



Esquema 22: Reducció general de cetones mitjançant el baker's yeast.

A la taula 3, es recullen un parell d'exemples que s'utilitzen en la reducció de cetones mitjançant el baker's yeast.

R ¹	R ²	Configuració	e.e. (%)
Me	Et	S	67
Me	n-Bu	S	82
Me	Ph	S	89
CF ₃	CH ₂ -Br	S	>80
Me	(CH ₂) ₂ -CH=C(CH ₃) ₂	S	94
Me	ciclo-C ₆ H ₁₁	S	>95

Taula 3: Diferents composts orgànics presentant diferent excés enantiomèric i la mateixa configuració.

⁵² K. Faber, W.-D. Fessner, N. J. Turner, " *Science of Synthesis: Biocatalysis in Organic Synthesis Vol. 2*", Georg Thieme Verlag KG, Stuttgart-New York, **2015**.

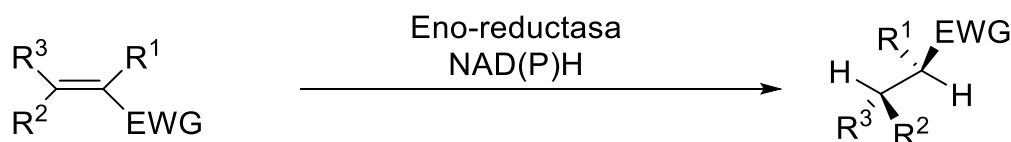
⁵³ K. Faber, " *Biotransformations in Organic Chemistry*", 6th edition, Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, **2011**.

Podem observar que tant poden ser cetones alifàtiques i aromàtiques així com cetones de cadena llarga com ara el n-propil-n-butilcetona i diverses cetones fenil voluminoses. També si un grup R presenta un metil i l'altre grup R' una cadena d'alquil llarga és acceptada.

A més, l'enantioselectivitat i la preferència estereoquímica per la cara *re* o la cara *si* del β -cetoèster, depèn de la grandària relativa de l'alcoxi i del substituent de la cetona, ja que dirigeix l'atac nucleofílic de l'hidrur que ocorre d'acord amb les regles CIP.

4.5.3. Reducció d'alquens

En la reducció d'alquens destaquem les eno-reductases que són flavoproteïnes que catalitzen la reducció asimètrica d'alquens amb l'ajuda d'un cofactor de nicotinamida (veure esquema següent). A més, presenta una àmplia varietat incloent composts carbonils α,β -insaturats, derivats d'àcid carboxílic i composts nitrosos. Una vegada duta a terme la reducció, es formen els corresponents productes saturats amb una elevada puresa enantiomèrica. S'han convertit en un procés molt important en la biocatàlisi per a la producció de productes farmacèutics enantiopurs, química fina i productes agroquímics. En aquests casos es crea un o dos centres estereogènics en un sol pas.^[53]

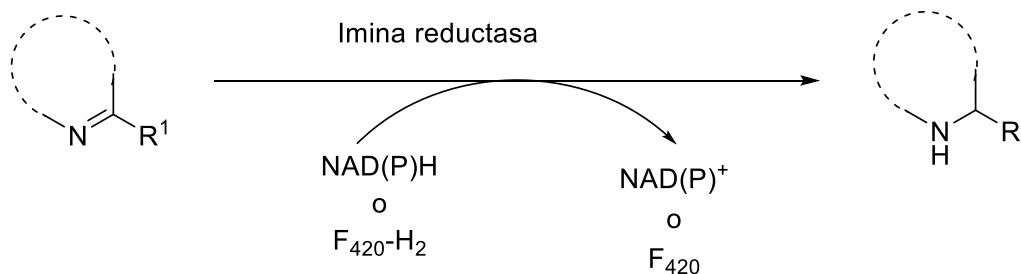


Esquema 23: Reducció de composts carbonils α,β -insaturats

Un exemple a destacar sobre les eno-reductases, és la capacitat reductora dels membres de la família "the old yellow enzyme (OYE)". Aquestes oxidoreductases dependents del coenzim NAD(P)H contenen mononucleòtids de flavina (FMN) que són catalitzadors de la reducció de dobles enllaços de cetones, cetones α,β -insaturats, aldehids, nitroalquens, àcids carboxílics i derivats.

4.5.4. Reducció d'imines

Les imines reductases catalitzen la reducció asimètrica d'imines a les corresponents amines quirals. A més, en general, els productes generats presenten enantioselectivitats elevades. És per això que aquest biocatalitzador és important en la síntesi asimètrica d'amines secundàries.^[53] A l'esquema 25 es mostra la reacció de reducció general d'imines.



Esquema 24: Reacció de reducció general d'imines.

5. Conclusions

Com s'ha comentat al llarg d'aquest treball, en l'actualitat, els termes de Sostenibilitat i de Química Verda són de gran importància en el món actual. Les exigències que ens traslladen als químics són: es pretén dissenyar operacions de síntesi més "verds", aconseguint disminuir els

residus perillosos, obtenint productes més purs, amb un alt rendiment, una alta enantioselectivitat i que compleixin els dotze principis de la Química Verda.

A més, cal recordar que recentment, s'han acordat 17 objectius de desenvolupament sostenible per tal de poder millorar les condicions de vida en el nostre planeta, així com, s'han de desenvolupar processos, productes i mecanismes de control que impliquin una innovació aplicable, sostenible i que siguin més benignes pel medi ambient. Per tant, la química i sobretot els químics orgànics, juguen un paper fonamental per poder complir els objectius esmentats.

Com a conclusió concreta, hem de dir que les reaccions catalítiques de reducció, són de gran importància, ja que ens ofereixen avantatges enfront els mètodes clàssics per a produir productes de "*química fina*". A més, és un exemple clau de la tecnologia verda, ja que presenta baixes quantitats de catalitzadors, en combinació amb l'hidrogen com a reductor. D'aquesta manera s'ha destacat la catàlisi reductora asimètrica de Rioji Noyori que aconsegueix la reducció de cetones proquirals als corresponents alcohols quirals enantiomèricament enriquits.

Hem destacat també la potencialitat de la biocatàlisi reductora asimètrica, la qual ens permet reduir una gran varietat de composts amb diferents enzims i biocatalitzadors, els quals empenen de forma majoritària els coenzims NADH i NADPH com a iniciadors i flavines (FMN i FAD) com a reductors finals. El seu rol és el de funcionar com a intermediaris en la reducció donat que una vegada s'han oxidat, sofreixen un procés de reducció per diferents fonts d'hidrogen per així tornar a formar els productes de partida NADH i NADPH. Hem mostrat diferents mètodes que empenen alcohols, sucres, aminoàcids i hidrogen molecular com a reductors. Així mateix cal destacar que a escala industrial les etapes de regeneració dels coenzims s'ha aconseguit per via electroquímica i, fins i tot, per via fotoquímica.

Cal remarcar que els mètodes catalítics, en general, ens permeten obtenir productes químics complexos amb una metodologia més amigable pel medi ambient. Per una altra banda, la biocatàlisi reductora és un mètode més "verd", ja que produeix substàncies tòxiques ni perilloses pel medi ambient. A més, mitjançant mètodes biocatalítics obtenim productes amb unes elevades pureses, uns alts rendiments i una enantioselectivitat elevada. Les metodologies més verdes empenen dissolvents mediambientalment més amigables: es pot utilitzar glicerol, CO₂ supercrític, líquids iònics o un dissolvent orgànic. Donat que els resultats (químics i estereoquímics) depenen del dissolvent la selecció del dissolvent més adient és un tema important.

A més, de mètodes biocatalítics per a la reducció enantioselectiva de compostos carbonílics, existeixen altres processos d'importància científica i industrial com són els processos de descarboxilació, d'alquilació enzimàtica tipus Fiedel-Crafts, processos de reducció d'imines a amines, així com la reducció d'alquens (formant part de sistemes carbonílics α,β -insaturats) mitjançant eno-reductases.

Per tant, cal concloure afirmant-hi que els avanços en biocatàlisi ens fan preveure que les seves aplicacions a l'àmbit industrial, seran encara, de més gran importància en el futur, donat que seran les més acceptables amb els criteris de sostenibilitat.