

PART TEÒRICA

---

### 3 DETERMINACIÓ DE LA PURESA ENANTIOMÈRICA

#### 3.1 INTRODUCCIÓ<sup>1</sup>

L'origen de la estereoquímica, o de la química en 3D, es remunta a principis del segle XIX quan es va descobrir que certes molècules eren capaces de provocar una rotació del pla de llum polaritzada que passava a través d'elles. Aquest fet va constituir el fenomen de l'activitat òptica.

Al 1860 Pasteur<sup>2</sup> va proposar que l'activitat òptica d'una substància era provocada per una asimetria en la seva estructura molecular (quiralitat) i va postular que les estructures de l'àcid (+)-tartàric, el qual desvia el pla de llum polaritzada cap a la dreta (dextrogir) i el (-)-tartàric, que provoca una rotació del pla de llum polaritzada cap a l'esquerra (levogir) havien d'estar relacionades com un objecte i la seva imatge en el mirall, els quals no es poden superposar. Cada una d'aquestes imatges en el mirall van ser anomenades enantiòmers (del grec *enantios* que vol dir oposat i *mer* que vol dir part). Però no va ser fins a les publicacions simultànies i independents de Van't Hoff<sup>3</sup> i Le Bel<sup>4</sup> l'any 1874 que es va trobar una explicació clara a aquests fets. En aquests treballs es va proposar l'estructura tetraèdrica de l'àtom de carboni ( $C_{abcd}$ ) la qual cosa explicava tots els casos de isomeria òptica coneguts fins aleshores. És doncs en aquest moment quan s'abandonen definitivament les formules planes i constitucionals per adoptar les estèriques, i els químics comencen a tenir consciència de la importància de la disposició dels àtoms en l'espai.

Passats 140 anys, aquesta situació ha canviat molt. Actualment un factor clau a l'hora de sintetitzar o analitzar nous compostos és l'estudi de la seva estereoisomeria. S'ha demostrat que la contaminació quiral pot pertorbar les propietats o el comportament farmacològic de molècules enantiomèriques (Figura 3-1), alterar el curs de determinades reaccions estereoespecífiques o fins i tot provocar que molècules aquirals presentin característiques quirals.

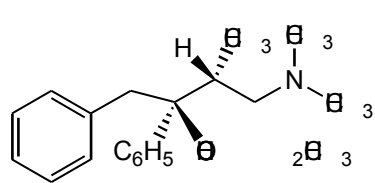
---

<sup>1</sup> Eliel, E. L.; Wilen, S. H. *Stereochemistry of Organic Compounds*, John Wiley and Sons, Inc.; New York, **1994**; Chapter 1, p. 2.

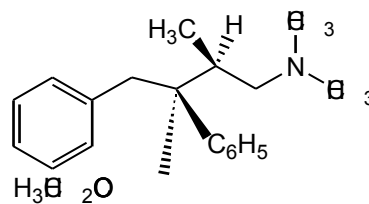
<sup>2</sup> a) Pasteur, L.; *Ann. Chim. Phys.* **1848**, 24, 442. b) Pasteur, L.; *Hebd. Seances Acad. Sci.* **1853**, 37, 162.

<sup>3</sup> Van't Hoff, J. H. *Arch. Neerl. Sci. Exactes Nat.* **1874**, 9, 445.

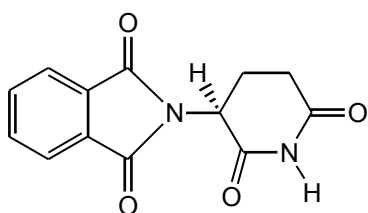
<sup>4</sup> Le Bel, J. A. *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1874**, 22, 337.



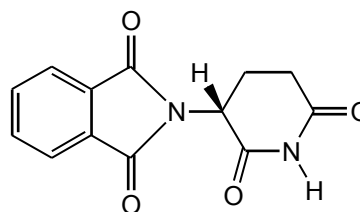
(2*S*,3*R*)-(+)-propoxifè, analgèsic



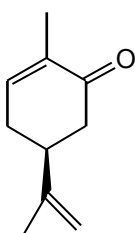
(2*R*,3*S*)-(-)-propoxifè, antitussiu



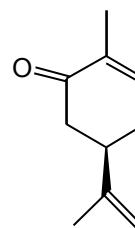
(*S*)-(-)-Talidomida, teratogen



(*R*)-(+)-Talidomida, no té activitat teratogènica



(*S*)-(+)-Carvona, aroma a cumí



(*R*)-(-)-Carvona, aroma a menta

**Figura 3-1:** Exemples del diferent comportament que presenten cada un dels enantiòmers d'un mateix producte.

Tots aquests motius, fan que hi hagi un gran interès tant en el món de la indústria química com farmacèutica per desenvolupar noves tècniques, així com millorar les ja existents, que permetin detectar o quantificar de manera precisa la puresa enantiomèrica.

Fins als anys 60, els mètodes més utilitzats per determinar la puresa enantiomèrica eren els mètodes òptics, concretament la mesura del poder rotatori. Això implicava mesurar la rotació òptica de la mostra en estudi utilitzant un polarímetre sota unes condicions definides de temperatura, concentració i solvent. Aquesta dada es comparava amb un valor de poder rotatori conegut, i mesurat sota les mateixes condicions, d'una de les formes enantiomèricament pures del compost. El valor

mesurat donava lloc a la puresa òptica. La disminució en l'ús de la mesura del poder rotatori com a mètode d'anàlisi per determinar la puresa enantiomèrica d'una mostra ha estat provocada per una sèrie d'inconvenients:

- en primer lloc, la puresa òptica i la puresa enantiomèrica poden no ser equivalents ja que s'ha demostrat que la rotació òptica no varia linealment amb la composició enantiomèrica.<sup>5</sup> Un exemple d'aquesta variació no lineal és el cas de l'àcid 2-metil-2-etilbutandioic.<sup>6</sup>

- en segon lloc, a la bibliografia apareixen un gran nombre de dades de poder rotatori incorrectes per a compostos considerats enantiomèricament purs i que en realitat no ho eren. Per exemple, recentment s'ha demostrat que l'enona (Figura 3-2) té un valor de rotació de  $[\alpha]_D^{20} = +34^\circ$  ( $c=1$ ,  $\text{CHCl}_3$ ),<sup>7</sup> mentre que el que hi havia publicat a la bibliografia per a aquest mateix enantiòmer era de  $[\alpha]_D^{20} = -115.4^\circ$  ( $c=0.2$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).<sup>8</sup>

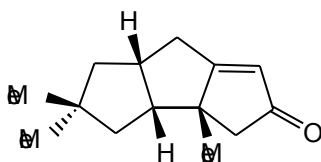


Figura 3-2

- en tercer lloc, l'ús de la mesura del poder rotatori per determinar la puresa enantiomèrica està lligada a la possibilitat que existeixi en la mostra analitzada alguna impuresa que presenti també activitat òptica. Aquesta contaminació és particularment important si la impuresa provoca una gran rotació del pla de llum polaritzada o bé si aquesta rotació és de signe oposat a la del substrat analitzat.

La necessitat de disposar de mètodes d'anàlisi més sensibles i fiables per tal de determinar la puresa enantiomèrica d'un compost ha fet que la Resonància Magnètica Nuclear (RMN)<sup>9</sup> sigui, actualment, una de les tècniques més emprades en

<sup>5</sup> Jurczak, J.; Zamojskii, A. *Tetrahedron* **1972**, *28*, 1505.

<sup>6</sup> Horeau, A.; Guette, J. P. *Tetrahedron* **1974**, *30*, 1923.

<sup>7</sup> Weinges, K.; Dietz, V.; Oeser, T.; Irugartinger, H. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1990**, *29*, 680.

<sup>8</sup> Demuth, M.; Ritterskamp, P.; Weigt, E.; Schaffner, K. *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 4149.

<sup>9</sup> Dawson, B. A.; Mattok, G.L. *Pharmeuropa* **1997**, *9*, 347.

aquest camp juntament amb la cromatografia de gasos (CG)<sup>10</sup> i de líquids (HPLC)<sup>11</sup> utilitzant columnes quirals, i l'electroforesi capil·lar.<sup>12</sup>

Una dada més al respecte és que, en les noves normes de publicació de la revista *Journal of Organic Chemistry* s'han incorporat com a mètodes estàndard per determinar la puresa enantiomèrica d'un compost, la RMN i la cromatografia.

### 3.2 LA RMN COM A MÈTODE D'ANÀLISI

La ressonància magnètica nuclear és una tècnica aquiral i per tant no permet distingir molècules enantiomèriques donat que les ressonàncies de dos nuclis enantiotòpics són isòcrones, és a dir, els espectres de RMN de soluts enantiomèrics són idèntics. Així doncs, la determinació de la puresa enantiomèrica mitjançant aquesta tècnica, implicarà l'ús d'un auxiliar quiral que converteixi la barreja enantiomèrica o la mescla enriquida en un dels enantiòmers en una barreja diastereomèrica. Els diastereòmers si que poden ser diferenciats per RMN, ja que els seus nuclis presenten diferents desplaçaments químics, o sigui, són anisòcrons.<sup>13</sup>

Aquesta idea va ser suggerida per primer cop en la bibliografia, l'any 1965, per Mislow i Raban.<sup>14</sup> Posteriorment, Pirkle<sup>15</sup> va confirmar aquest fet presentant un espectre de <sup>19</sup>F-RMN enregistrat utilitzant un solvent òpticament actiu, la (*R*)-*N*-feniletamina. En aquest espectre s'observaven dos senyals diferents, un per cada enantiòmer, pel singlet del fluor del (*RS*)-2,2,2-trifluoro-1-feniletanol.

Actualment, existeixen tres tipus d'auxiliars quirals:

- Agents de derivatització quiral o *Chiral Derivatizing Agents* (CDA)
- Reactius de desplaçament quiral o *Chiral Lanthanide Shift Reagents* (CLSR)
- Agents de solvatació quiral o *Chiral Solvating Agents* (CSA)

---

<sup>10</sup> a) Shuring, V.; Nowotny, A. P. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1990**, *29*, 939. b) Okamoto, Y.; Hatada, K. *J. Chromatogr.* **1987**, *389*, 95. c) Okamoto, Y.; Hatada, K. *J. Chromatogr.* **1986**, *363*, 173.

<sup>11</sup> a) Allenmark, S. G. *Chromatographic Enantioseparation: Methods and Applications*, Ellis Horwood, Chichester, **1988**. b) Pirkle, W. H.; Pochapsky, P. C. *Chem. Rev.* **1989**, *89*, 347.

<sup>12</sup> a) Chankvetadze, B.; Burjanadze, N.; Pintore, G.; Strickmann, D.; Bergenthal, D.; Blaschke, G. *Chirality* **1999**, *635*. b) Chankvetadze, B. *Capillary Electrophoresis in Chiral Analysis*. Chichester, UK: John Wiley & Sons, **1999**, p.555.

<sup>13</sup> Cram, D.J.; Mateos, J.L. *J. Am. Chem. Soc.* **1959**, *81*, 5150.

<sup>14</sup> Raban, M.; Mislow, K. *Tetrahedron Lett.* **1965**, 4249.

<sup>15</sup> a) Pirkle, W.H. *J. Am. Chem. Soc.* **1966**, *88*, 1837. b) Burlingame, T.G.; Pirkle, W.H. *Tetrahedron Lett.* **1967**, 4039.

Si els auxiliars emprats són efectius, la separació dels senyals, és a dir, la diferència de desplaçaments químics provocada serà gran i la integració de les bandes donarà una mesura directa de la puresa enantiomèrica de la barreja original. Cal remarcar que l'exactitud de la mesura dependrà també de l'aparell de RMN utilitzat i de la qualitat de l'espectre enregistrat.

### 3.2.1 Agents de derivatització quiral (CDA)

L'ús d'un agent de derivatització quiral requereix una reacció química prèvia entre el solut a analitzar i el reactiu de derivatització en forma homoquiral. Tant un com l'altre posseeixen centres quirals per tant el derivat format serà diastereomèric. Aquest fet permetrà determinar, directament de l'espectre de RMN, la puresa de la mescla enantiomèrica inicial. Els CDA permeten aconseguir diferències de desplaçament químic superiors a les que s'observarien amb un CSA, però també presenten una sèrie d'inconvenients que cal tenir en compte:

- l'agent de derivatització utilitzat ha de ser enantiopur. Petites quantitats d'impureses podrien provocar una disminució en la precisió alhora de determinar la puresa enantiomèrica ja que les serien inferiors a les reals.
- durant el procés de formació dels diastereoisòmers s'ha d'evitar la racemització o resolució cinètica i cal controlar que no quedi producte sense reaccionar (això és important, perquè pot ser que la velocitat de reacció d'un i altre enantiòmer amb el reactiu de derivatització sigui diferent).
- la purificació dels diastereoisòmers s'ha de dur a terme en condicions que excloguin un enriquiment selectiu d'un d'ells.

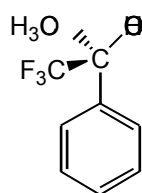
Els CDA per excel·lència són l'àcid de Mosher,<sup>16</sup> l'àcid O-metilmandèlic<sup>17</sup> (Figura 3-3) i els seus derivats clorats. Aquest dos compostos també són molt utilitzats per determinar la configuració absoluta de molècules quirals.<sup>18</sup>

---

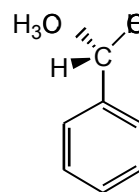
<sup>16</sup> a) Guerrier, L.; Royer, J.; Grierson, D. S.; Husson, H. P. *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 7754. b) Dale, J. A.; Dull, D. L.; Mosher, H. S. *J. Org. Chem.* **1969**, *34*, 2543. c) Dale, J. A.; Mosher, H. S. *J. Am. Chem. Soc.* **1968**, *90*, 3732.

<sup>17</sup> a) Jacobus, J.; Jones, T. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1970**, *92*, 4583. b) Jacobus, J.; Raban, M. *J. Chem. Educ.* **1969**, *46*, 351.

<sup>18</sup> Dale, J. A.; Mosher, H. S. *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, *95*, 512.



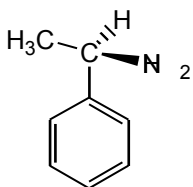
àcid (*R*)-(+)-*o*-metòxi-*o*-trifluorometilfenilacètic  
MTPA



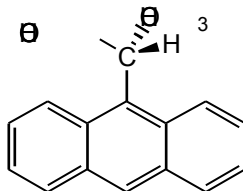
àcid (*R*)-(-)-*o*-metilmandèlic

**Figura 3-3**

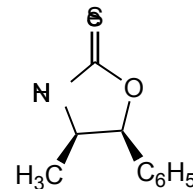
Hi ha, però, molts altres reactius de derivatització quiral d'ús comú. A la Figura 3-4 se'n mostren alguns exemples.



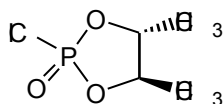
(*R*)-1-feniletilamina  
<81JOC2547>



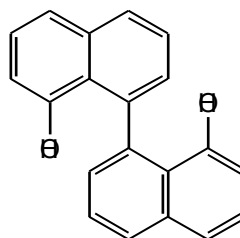
àcid (*R*)-9-antrilmetoxiacètic  
<96TA2165>



oxazolidine-2-selone  
<91JOC6733>



Reactiu d'Anderson-Shapiro  
<84JOC1304>



1,1-binaftalè-8,8'-diol  
<96TL4737>

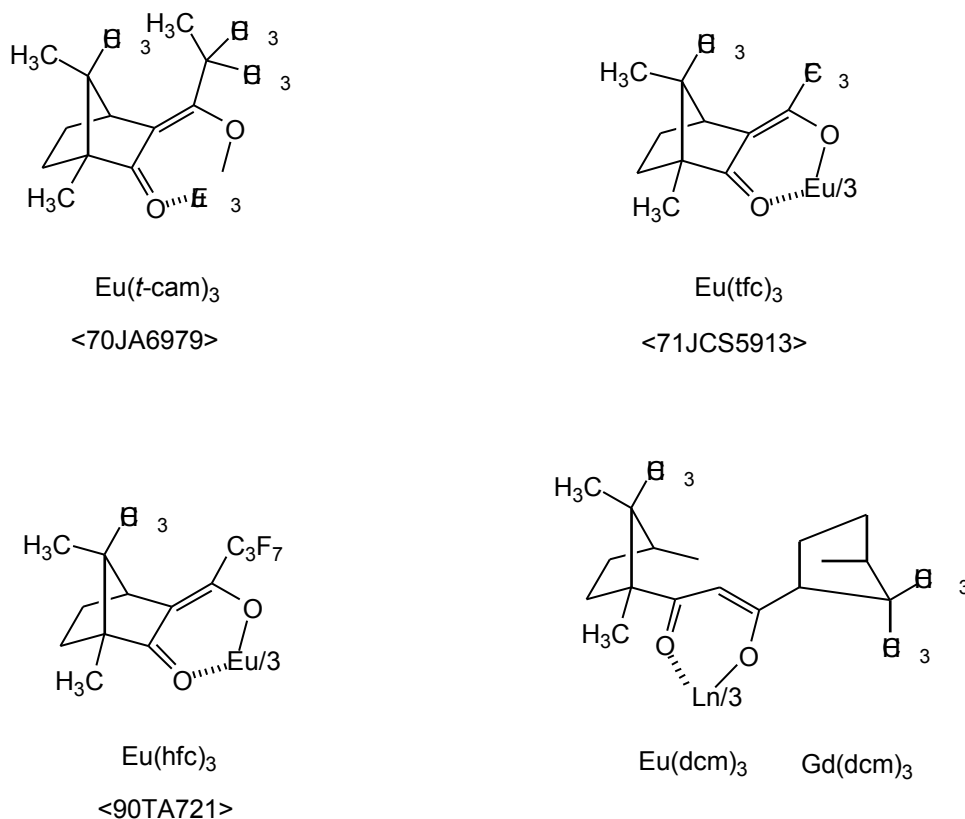
**Figura 3-4:** Alguns exemples d'agents de derivatització quiral.

La presència de nuclis de P, Se, F, etc. en l'estructura d'un CDA permet determinar la puresa enantiomèrica enregistrant espectres de  $^{19}\text{F}$ ,  $^{31}\text{P}$ ,  $^{77}\text{Se}$ , etc. En molts casos això representa un avantatge ja que s'obtenen espectres més senzills si es treballa amb desacoblament de  $^1\text{H}$ .

### 3.2.2 Reactius de desplaçament quiral (CLSR)

Els reactius de desplaçament quiral són compostos enantiomèricament purs formats per un centre metàl·lic lantànid hexacoordinat amb lligands orgànics que poden ser d'estructures molt variades.

Els CLSR més comuns són els que es presenten en la Figura 3-5.



**Figura 3-5:** Exemples de reactius de desplaçament quiral.

Quan el reactiu de desplaçament quiral es posa en contacte amb soluts orgànics enantiomèrics<sup>19</sup> que posseeixen centres bàsics en la seva estructura, el centre metàl·lic pobre en electrons del CLSR es coordina amb el centre ric en electrons del solut a analitzar, donant lloc a complexos diastereomèrics heptacoordinats. El complex format amb cada un dels enantiòmers és diferent, això provoca una diferenciació en el valor de la  $(\rho)$  la qual varia principalment en funció de la distància del nucli observat del substrat al nucli metàl·lic.

<sup>19</sup> Sullivan, G.R. *Top. Stereochem.* **1976**, *10*, 287.



Des que Whitesides<sup>20</sup> els va utilitzar per primera vegada, l'any 70, l'aplicació més important d'aquests compostos és la determinació de la puresa enantiomèrica mitjançant la RMN.<sup>21</sup> Es coneixen, però, altres utilitats dels CLSR algunes d'elles força interessants. Per exemple, els complexos lantànids s'utilitzen en diagnòsi mèdica per separar els senyals de RMN procedents de ions metàl·lics intracel·lulars i extracel·lulars.<sup>22</sup> També s'utilitzen força en el món de la catàlisi química.<sup>23</sup>

Els principals problemes que presenten els CLSR són la seva inestabilitat en aigua, tot i que ja s'estan desenvolupant nous reactius de desplaçament quiral solubles en aigua,<sup>24</sup> i el fet de ser poc útils a camps magnètic alts (>100 MHz) ja que donen senyals amples i no uniformes<sup>25</sup>.

### 3.2.3 Agents de solvatació quiral (CSA)<sup>26</sup>

Els agents de solvatació quiral (CSA) a l'igual que els reactius de desplaçament quiral (CLSR), formen complexos d'associació diastereomèrics de vida curta amb cada un dels enantiòmers de la mescla problema i per tant no precisen d'una reacció química prèvia. Cada complex dóna lloc als seus propis senyals en l'espectre de RMN, fet que permet quantificar els enantiòmers individualment amb una simple integració. La proporció relativa d'aquests en la mostra problema es veurà reflectida directament en les intensitats dels dos pics de ressonància. Si el solut és racèmic presentarà dos senyals d'igual intensitat, si és enriquit enantiomèricament es veuran dos pics de diferent intensitat i si el solut és enantiomèricament pur, l'espectre mostrarà un únic senyal.

Per a que hi hagi una bona complexació, i per tant una bona separació dels senyals, cal que tant el solut enantiomèric, com el CSA, disposin de grups funcionals

---

<sup>20</sup> Mc Creary, M. D.; Lewis, D. W.; Wenick, D. L.; Whitesides, G. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1974**, *8*, 1038.

<sup>21</sup> a) Parker, D. *Chem. Rev.* **1991**, *91*, 1441. b) Wenzel, T.J. *NMR Shift Reagents* CRC Press, Boca Raton, Florida, **1987**. c) Sullivan, G. R. *Top. Stereochem.* **1978**, *10*, 287.

<sup>22</sup> Miller, S. K.; Elgavish, G. A. *Biol. Magn. Reson.* **1992**, *11*, 159.

<sup>23</sup> a) Molander, G. A. *Chem. Rev.* **1992**, *92*, 29. b) De Grauw, C. F.; Peters, J. A.; Van Bekkm, H.; Huskens, J. *Synthesis* **1994**, 1007.

<sup>24</sup> a) Hulst, R.; Koen de Vries, N.; Feringa, B. L. *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 7453. b) Inamoto, A.; Ogasawa, K.; Omata, K.; Kabuto, K.; Sasaki, Y. *Org. Lett.* **2000**, *2*, 3543.

<sup>25</sup> Parker, D. *Chem. Rev.* **1991**, *91*, 1441.

<sup>26</sup> A) Pirkle, W.H.; Hoover, D.J. *Top. Stereochem.* **1982**, *13*, 263. b) Weisman, G. R. *Asymmetric Synthesis*, ed. J. D. Morrison, Academic press, New York, **1983**, vol. 1, chapter 8.

complementaris que permetin la interacció. Així trobem CSA tipus àcids, amines, alcohols, sulfòxids, ciclodextrines, èters corona, etc.

A l'hora de valorar l'actuació d'un agent de solvatació quirals cal tenir en compte, a més de la  $\Delta\delta$  aconseguida, una sèrie de característiques:

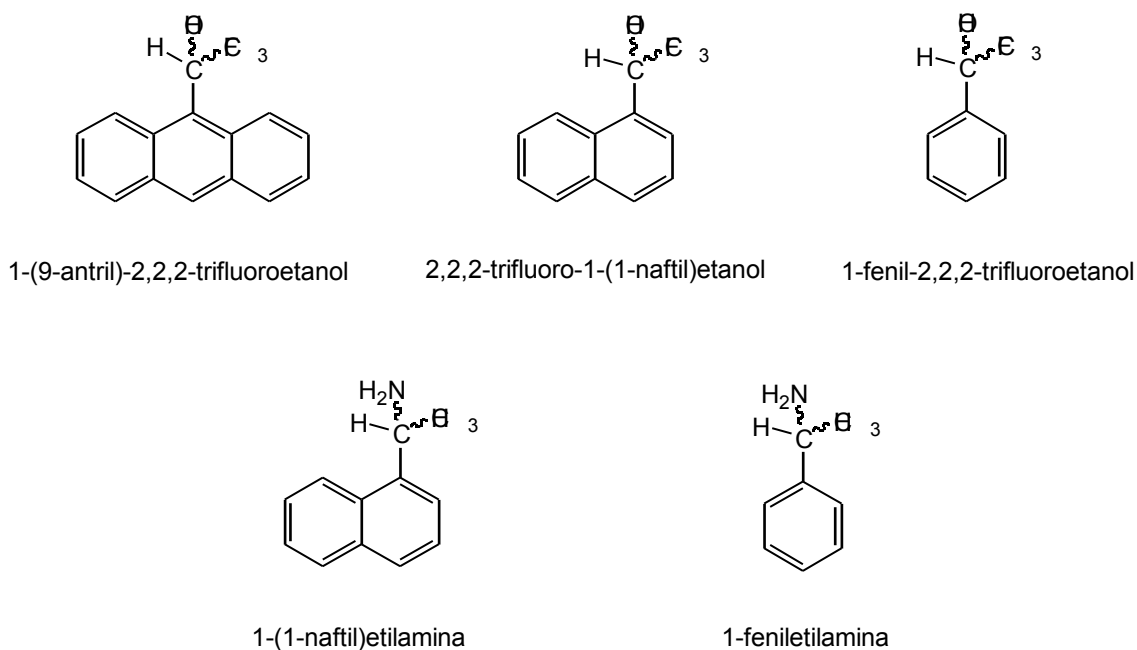
- els senyals de l'espectre de RMN del CSA no poden interferir en els senyals de la mostra enantiomèrica a analitzar.
- el CSA, tant en la forma lliure com en la complexada, ha de ser soluble en solvents orgànics comuns i no molt polars, com ara el cloroform deuterat. L'ús de solvents apolars evita que s'estableixi una competència entre el CSA i el propi solvent per interaccionar amb el solut quirals.
- ha de ser possible disposar almenys d'una de les formes enantiomèricament pures del CSA.

La determinació de la puresa enantiomèrica d'una mostra problema *via* CSA, és un mètode ràpid i simple de dur a terme. Aquests auxiliars quirals, no presenten problemes de resolució cinètica ni de racemització. Un altre factor important és que els agents de solvatació quirals no han de ser necessàriament enantiomèricament purs. Valors de puresa inferiors al 100% es tradueixen en una disminució de la no-equivalència ( $\Delta\delta$ ), però això no fa canviar el valor de les integrals dels senyals en l'espectre de RMN. Únicament en el cas d'un CSA racèmic la  $\Delta\delta = 0$ .

El principal inconvenient que presenta aquesta tècnica és que els valors de  $\Delta\delta$  tendeixen a ser petits (0-10 Hz per  $^1\text{H}$ -RMN a 100 MHz). Si es treballa, però, amb instruments de RMN de camp magnètic més alt (400 MHz, 500 MHz) aquest problema es minimitza.

Els CSA més àmpliament usats i amb els quals està basada aquesta tesi doctoral són els ariltrifluorocarbonils i les ariletamines (Figura 3-6) sintetitzats per Pirkle i col·laboradors.<sup>27</sup>

<sup>27</sup> a) Pirkle, W. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1966**, *88*, 1837. b) Burlingame, T. G.; Pirkle, W. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1966**, *88*, 4249.



**Figura 3-6:** Exemples d'agents de solvatació quiral.

Tots aquests CSA són assequibles comercialment en qualsevol de les dues formes enantiomèriques. Els trifluoroalcohols són relativament àcids i interaccionen fortament amb soluts que tinguin un o més d'un centre bàsic mitjançant enllaços d'hidrogen. Les amines, en canvi, presenten un grup bàsic i per tant s'usen per determinar la puresa enantiomèrica d'àcids orgànics<sup>28</sup> o altres soluts àcids.

Aquests agents de solvatació, a més de tenir grups funcionals adients per donar lloc a interaccions amb el solut a analitzar, contenen en la seva estructura un grup aromàtic que indueix una més gran diferenciació dels senyals degut a la seva anisotropia i a les interaccions *stacking*. La rigidesa també és un factor important en la diferenciació ja que implica una major estabilitat dels complexos formats. Així, els compostos que tenen el substituent 9-antril seran millors CSA que els que tenen 1-naftil o fenil degut a que l'efecte anisotròpic i l'impediment estèric provocat és més gran.

Més recentment s'han sintetitzat altres molècules capaces d'actuar com agents de solvatació quiral. A la Figura 3-7 se'n mostren alguns exemples.

<sup>28</sup> a) Bilz, A.; Stork, T.; Helmchen, G. *Tetrahedron: Asymmetry* **1997**, *8*, 3999. b) Fullwood, R.; Parker, D. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, **1994**, 57. c) Kuhn, M.; Buddrus, J. *Tetrahedron: Asymmetry* **1993**, *4*, 207. d) Aitken, R. A.; Gopal, J. *Tetrahedron: Asymmetry* **1990**, *1*, 517.

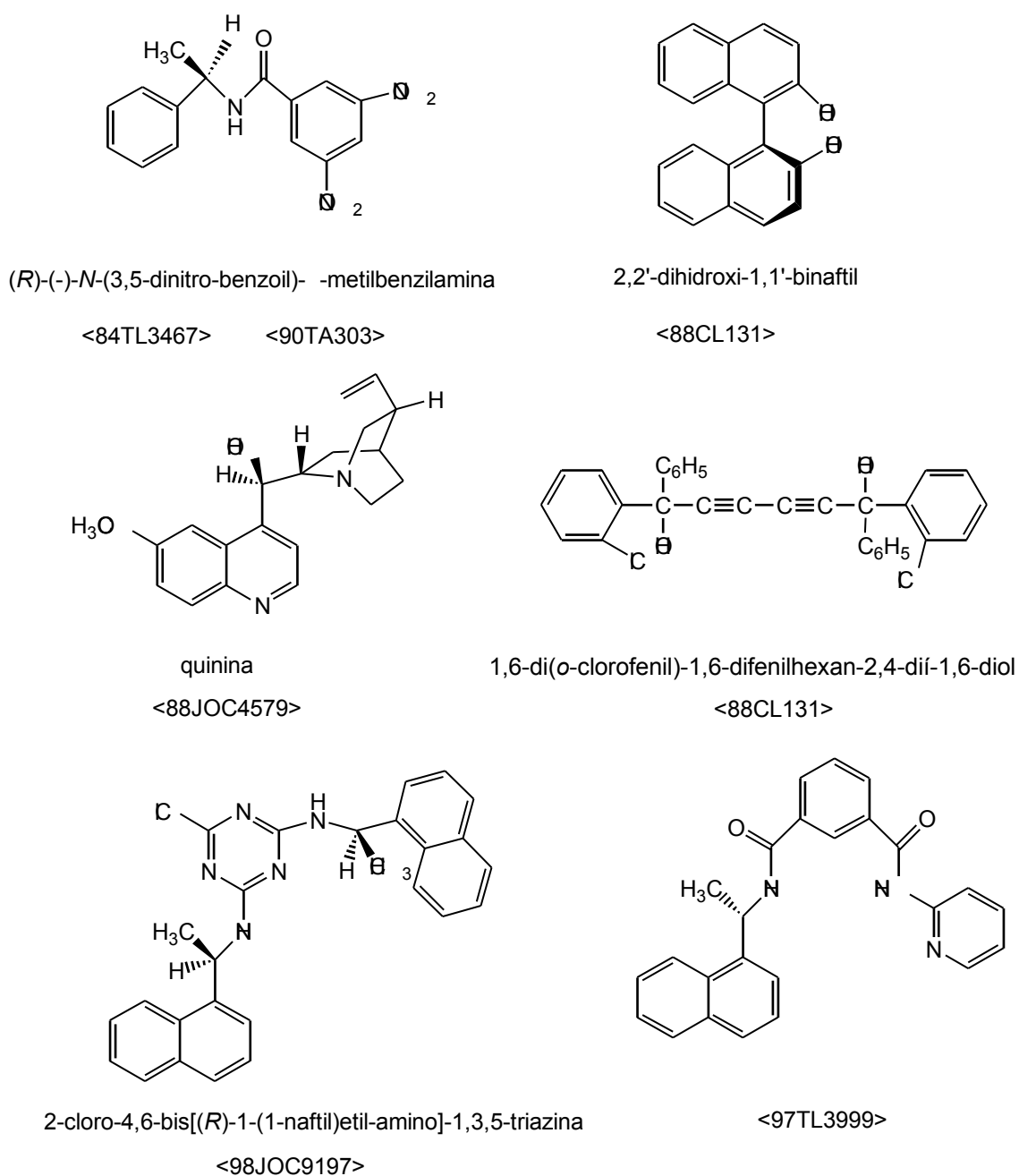
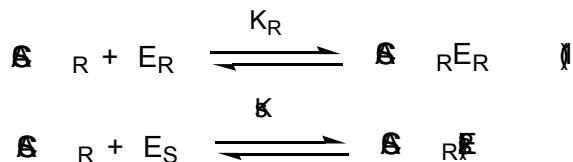


Figura 3-7: Altres exemples de CSA.

### 3.2.3.1 Principis sobre l'enantiodiferenciació en presència d'un CSA

L'estudi de l'equilibri que té lloc entre el CSA enantiomèricament pur ( $CSA_R$ ) i cada un dels enantiòmers del solut ( $E_R$ ,  $E_S$ ) durant el procés de solvatació, permet determinar les causes del desdoblament dels senyals de RMN d'aquests enantiòmers quan es troben en un entorn enantiopur. Considerant que els complexos diastereoisomèrics formats són binaris i que treballem en excés de CSA, fet que permet ignorar els

efectes d'interacció solut-solut, les equacions d'equilibri es poden expressar de la següent manera:



Quan l'equilibri és prou ràpid, respecte l'escala de temps de la RMN, en l'espectre s'observen dos senyals: un que correspondrà a la mitjana dels senyals de  $\text{E}_R$  i el complex  $\text{CSA}_R\text{E}_R$  i l'altre que correspondrà a la mitjana entre els senyals de  $\text{E}_S$  i el complex  $\text{CSA}_R\text{E}_S$ .

Els desplaçaments químics observats per a cada un d'aquests dos senyals venen descrits per les següents expressions:

$$\text{obs}_R = p_{\text{ER}} \nu_{\text{ER}} + (1-p_{\text{ER}}) \nu_{\text{CSAR ER}} \quad (3)$$

$$\text{obs}_S = p_{\text{ES}} \nu_{\text{ES}} + (1-p_{\text{ES}}) \nu_{\text{CSAR ES}} \quad (4)$$

on  $p_{\text{ER}}$  i  $p_{\text{ES}}$  són les poblacions relatives dels enantiòmers lliures  $\text{E}_R$  i  $\text{E}_S$  respectivament, les quals dependran del valor de les constants  $K_R$  i  $K_S$ .

El fet que els dos nuclis sense complexar siguin enantiomèrics  $\nu_{\text{ER}} = \nu_{\text{ES}}$ , fa que el valor de l'anisocronia observada s'expressi com:

$$\Delta\nu = \text{obs}_R - \text{obs}_S \quad (5)$$

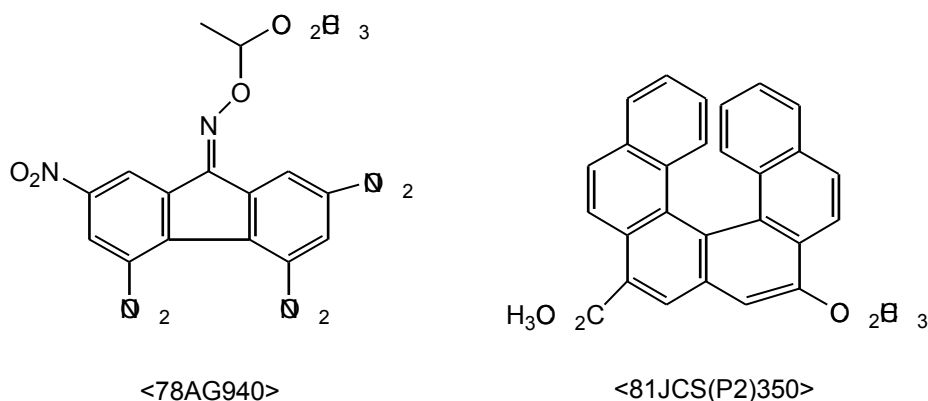
Si es té en compte que  $K_i = (1-p_i)/p_i$  (en excés de CSA) i es substitueix en (5) s'obté l'equació (6):

$$\Delta\nu = p_{\text{ER}}(\nu_{\text{ER}} + K_R \nu_{\text{CSAR ER}}) - p_{\text{ES}}(\nu_{\text{ES}} + K_S \nu_{\text{CSAR ES}}) \quad (6)$$

En aquesta expressió queden reflectides les causes de la diferenciació del desplaçament químic ( $\Delta\nu$ ). Una de les causes és deguda a l'anisocronia intrínseca ( $\nu_{\text{CSAi Ei}}$ ) de les associacions diastereomèriques formades, les quals donen lloc a espectres de RMN intrínsecament diferents. I l'altre ve provocada pel fet que  $K_R$  i  $K_S$  són diferents, és a dir, els dos complexos no presenten la mateixa estabilitat sinó que un és més estable que l'altre.

### 3.2.3.2 Model de solvatació CSA-solut

Com ja s'ha dit anteriorment, un punt clau en la utilització d'un CSA és la presència d'una funcionalitat complementària entre el solut i l'agent de solvatació que doni lloc a una interacció. En la majoria de casos la principal força que contribueix a la solvatació CSA-solut són els enllaços d'hidrogen. Tot i així, es coneixen altres tipus d'interaccions com per exemple la transferència de càrrega que trobem en molècules com les que es presenten a continuació (Figura 3-8):



**Figura 3-8**

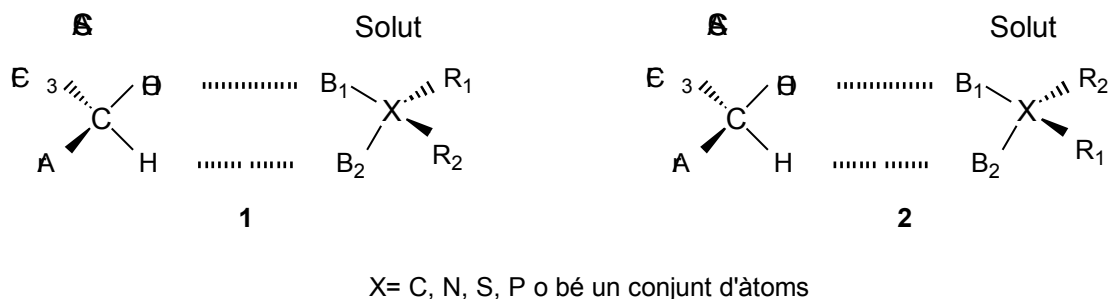
Cal destacar que l'estudi i desenvolupament d'un bon model de solvatació és molt important a l'hora de dur a terme una anàlisi configuracional correcta.

La determinació de la configuració absoluta d'un compost en enfrontar-lo a un CSA és senzilla, sempre i quan, existeixi en la bibliografia alguna dada referida al sentit i valor (camps més alts o camps més baixos) en que es desplaça la  $\alpha$  quan s'enfronta aquest agent de solvatació o un altre del mateix tipus (amb grups funcionals semblants) amb un dels enantiòmers purs del solut. Si no és així, és a dir, si el que es vol és determinar la configuració d'un compost desconegut, cal entendre bé el mecanisme i les interaccions que tenen lloc en el procés de solvatació per suggerir una distribució.

#### 3.2.3.2.1 Model de solvatació pels alcohols

W.H. Pirkle va estudiar les associacions entre compostos de la família dels trifluoroarilcarbinols amb soluts dibàsics, i va proposar un model de solvatació (Figura

3-9) basat en tres punts d'interacció que concorda amb el model proposat per les teories de reconeixement quirals.<sup>29</sup>



**Figura 3-9:** Model de solvatació pels alcohols.

Segons aquest model el solut enantiomèric ha de disposar de dos centres bàsics, B<sub>1</sub> i B<sub>2</sub>, capaços d'interaccionar amb el protó de l'alcohol i amb l'hidrogen metílic, respectivament, donant lloc a complexos d'associació diastereomèrics. El centre bàsic B<sub>2</sub> del solut pot estar constituït per electrons d'anells aromàtics o enllaços múltiples, o bé per parells d'electrons no compartits d'heteroàtoms.

Una tercera interacció que juga un paper important en la solvatació de compostos amb R<sub>1</sub> i R<sub>2</sub> aromàtics, provocant una major diferenciació en els senyals, és la interacció de tipus *stacking* entre el grup aril del CSA i el solut quirals. Aquesta interacció dependrà de l'estereoquímica de cada enantiòmer ja que el substituent aromàtic del CSA impartirà anisotropia sobre el nucli R<sub>1</sub> i R<sub>2</sub> que tingui més a prop. Així, en el complex **1**, serà el substituent R<sub>2</sub> el que patirà aquest efecte, observant-se un desplaçament de la seva cap a camps més alts. En canvi en l'altre complex (complex **2**) serà R<sub>1</sub> el que mostrarà aquest desplaçament.

### 3.2.3.2.2 Model de solvatació per a amines<sup>30</sup>

Tot i que el model de solvatació proposat per a les amines no està tant estudiat com el dels alcohols, es suposen dues possibles formes de solvatació segons quin sigui el grup funcional que presenti el solut a qui s'ha d'enfrontar l'amina. Així podem distingir entre:

- a) complexos de solvatació diastereomèrics quan el solut és un alcohol

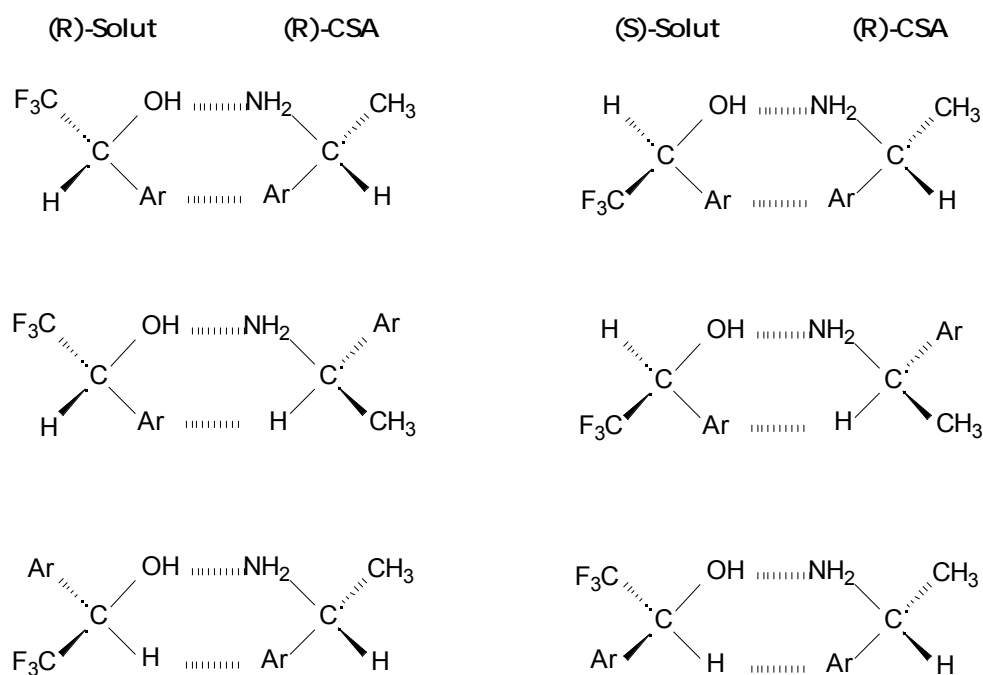
<sup>29</sup> a) Rzepa, H.S.; Webb, M.L.; Slawin, A.M.Z.; Williams, D.J. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1991**, 765. b) Pirkle, W.H.; Pochapsky, T.C. *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 5975. c) Dagleish, C.E. *J. Chem. Soc.* **1952**, 3940.

<sup>30</sup> Pirkle, W. H.; Hoover, D.J. *Topics in Stereochemistry* **1982**, 263.

- b) sals diastereomèriques quan el solut és un àcid<sup>31</sup> (en aquests cas, i prèvia precipitació, el CSA es converteix en agent de derivatització quiral)

a) Complexos de solvatació diastereomèrics

L'exemple més estudiat i sobre el qual s'ha proposat el model, és aquell en el qual s'enfronta un CSA, concretament la (*R*)-1-(1-naftil)etilamina i un alcohol del tipus trifluoroalquilcarbinol. Experimentalment s'han observat desplaçaments dels valors de  $d$  en diferents grups de la molècula fet que només s'entén postulant l'existència de tres complexos diastereomèrics diferents. Aquells que tinguin interaccions més fortes seran els que contribuiran més en la diferenciació ja que seran els que estaran més poblats.



**Figura 3-10:** Model de solvatació per a les amines.

En els tres casos, existeix una interacció per enllaç d'hidrogen entre el centre bàsic de l'amina i el centre àcid de l'alcohol. La diferència entre una i altre conformació rau, doncs, en la segona interacció.

<sup>31</sup> Aitken, R. A.; Gopal, J. A. *Tetrahedron: Asymmetry* **1990**, *1*, 517.



Cal esmentar també l'efecte anisotròpic que provoca el grup naftil de l'amina sobre algun dels substituents de l'alcohol, concretament el que tingui més a prop. Aquest varia en funció de les altres dues interaccions.

#### a) Sals diastereomèriques

Com ja s'ha dit abans, aquestes sals provenen de l'enfrontament d'un àcid quiral i una amina com a CSA. Tot i que no hi ha cap model proposat per a les sals, a la bibliografia<sup>32</sup> apareixen alguns exemples on s'ha descrit una relació entre la configuració i el sentit de la diferenciació dels senyals.

### 3.2.3.3 Paràmetres que influeixen en la diferenciació del desplaçament químic

A més a més de l'estructura del CSA i de la seva puresa enantiomèrica hi ha altres factors que poden influir en la no-equivalència dels desplaçaments químics.

Un d'ells, com ja s'ha dit anteriorment, és l'efecte del solvent. La utilització de dissolvents polars (dimetilsulfòxid o metanol) fa que s'estableixi un equilibri solvent-solut que pot entrar en competència amb l'equilibri CSA-solut i que per tant, pot provocar una reducció o fins i tot una eliminació de la  $\delta$ .<sup>33</sup>

Un altre paràmetre a considerar és la concentració. S'ha observat que en augmentar la concentració augmenta també l'anisocronia.<sup>34</sup> Així doncs, és molt important a l'hora de fer comparacions entre diferents CSA per tal de valorar-ne la seva efectivitat, treballar a concentracions iguals.

Finalment, cal controlar també la temperatura de treball. La seva disminució provoca un augment de la  $\delta$ .<sup>35</sup> Suposant que la geometria del complex és independent de la

---

<sup>32</sup> a) Mikolajczyk, M.; Omelanczuk, J.; Leitoff, M.; Drabowicz, J.; Ejchart, A.; Jurczak, J. *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, *100*, 7003. b) Mikolajczyk, M.; Para, M.; Ejchart, A.; Jurczak, J. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1970**, 654. c) Mikolajczyk, M.; Omelanczuk, J. *Tetrahedron Lett.* **1972**, 1539.

<sup>33</sup> a) Williams, T.; Pitcher, R. G.; Bommer, P.; Gutzwiller, J.; Uskokovic, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1969**, *91*, 1871. b) Jochims, J. C.; Taigel, G.; Seeliger, A. *Tetrahedron Lett.* **1967**, 1901.

<sup>34</sup> a) Fulwood, R.; Parker, D. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1994**, 57. b) Muñoz, A. *Tesi Doctoral*, Universitat Autònoma de Barcelona, **2000**.

<sup>35</sup> a) Anet, F. A. L.; Sweeting, L. M.; Whitney, T. A.; Cram, D. J. *Tetrahedron Lett.* **1968**, 2617. b) Pirkle, W. H.; Beare, S. D.; Muntz, R. L. *Tetrahedron Lett.* **1974**, 2295.

temperatura, la variació d'aquesta tindria implicacions termodinàmiques. És a dir, una disminució de temperatura es traduiria en un augment en les constants d'associació, així en l'espectre de RMN observariem més contribució de les espècies complexades  $[CSA_R E_R]$  i  $[CSA_R E_S]$ .

## 4 LA RMN COM A EINA D'ESTUDI DE LES ASSOCIACIONS MOLECULARS

Un bon enteniment de les interaccions que regeixen o provoquen el fenomen del reconeixement quiral és vital pel posterior desenvolupament de nous auxiliars quirals. Dissenyar una molècula quiral capaç de provocar una bona enantiodiferenciació implica conèixer les funcionalitats que donen lloc a interaccions claus, així com les disposicions en l'espai més afavorides, d'aquesta manera es podrà actuar sobre aquests punts intentant millorar les seves propietats. Així doncs, és important disposar de la màxima informació possible sobre el complex en estudi. En aquest capítol es presenten una sèrie de mètodes, basats en la RMN, que ens permetran aconseguir dades d'interès com: l'estequiometria del complex, la seva constant d'associació i ens donaran una orientació sobre la seva geometria.

### 4.1 DETERMINACIÓ DE L'ESTEQUIOMETRIA DEL COMPLEX: MÈTODE DE JOB

Qualsevol procés d'associació (CSA-solut, *host-guest*, etc.) es pot descriure segons la següent equació d'equilibri:



Equació 4-1

on S és el substrat o molècula de la qual s'observa alguna variació en una de les seves propietats físiques o químiques (el solut enantiomèric, el *host*, etc.), L és el lligand o espècie que provoca aquest canvi (CSA, *guest*, etc.) i *m* i *n* són els coeficients estequiomètrics, respectivament. És evident, que *m* i *n* poden presentar diferents valors, els més comuns són aquells que donen lloc a complexos SL, SL<sub>2</sub>, S<sub>2</sub>L. Per tant, és molt important determinar aquests coeficients per tal de conèixer una mica més el tipus d'associació que presenta el complex a estudiar. Per altre banda, aquesta dada és necessària per trobar posteriorment el valor de la constant d'associació.

Existeixen una gran varietat de tècniques<sup>1</sup> per determinar l'estequiometria d'un complex, però moltes d'elles requereixen disposar de la mostra en estat sòlid. Donat que a nosaltres ens interessa el complex en solució s'ha escollit la RMN i

<sup>1</sup>a) Andrews, L.J; Keefer, R.M J. *Am. Chem. Soc.* **1949**, 71, 3644. b) Higuchi, T.; Connors, K. A. *Advan. Anal. Chem. Instrum.* **1965**, 4, 117.

concretament el mètode de la variació continua, molt més conegut com a mètode Job,<sup>2</sup> per determinar el valor de  $m$  i  $n$ .

El mètode de Job és un mètode precís i fiable i es pot aplicar en sistemes de bescanvi ràpid sempre i quan les dades provinquin de mostres amb volums i concentracions totals constants. Aquest fet requereix una total solubilitat, en el dissolvent emprat, de les espècies implicades en el procés.

El procés experimental a seguir consisteix en preparar una sèrie de dissolucions que continguin el substrat (S) i el lligand (L) en diferents proporcions, però tenint en compte que el volum i el nombre total de mols ha de ser igual en cada mostra, de manera que totes elles tindran la mateixa concentració total ( $C_t$ ). A continuació, es fa una mesura, en cada dissolució preparada, d'alguna propietat del sistema que variï en formar-se el complex. Finalment aquesta propietat es relaciona amb els coeficients estequiomètrics.

Si es descriu el procés de complexació segons el següent equilibri:



$$K = \frac{[S_mL_n]}{[S]^m[L]^n}$$

#### Equació 4-2

es pot definir la relació de concentracions de les dues espècies implicades en l'associació com:

$$x_S = [S] / C_t \quad x_L = [L] / C_t$$

#### Equació 4-3

on:

$$C_t = [S] + [L]$$

$$[S] = [S] + m[S_mL_n]$$

$$[L] = [L] + n[S_mL_n]$$

#### Equació 4-4

El paràmetre experimental que s'ha seguit en el nostre cas, és el desplaçament químic ( $\delta$ ) dels senyals de protó de les molècules implicades, el qual és sensible al procés de

<sup>2</sup>a) Job, A. *Ann. Chim.* **1928**, 9, 113. b) Djedaini, F. *Pharm. Sci* **1990**, 79, 643. c) Connors, K. A. *Binding Constants*, John Wiley & Sons, Inc.; New York, **1987**; chapter 2, p. 24. d) Gil, V. M. S.; Oliveira, N.C. *J. Chem. Ed.* **1990**, 473.

complexació. El valor de observat ( $\rho_{\text{obs}}$ ) tant pel substrat com pel lligand estarà influenciat pel seu valor en la forma lliure i en la complexada, és a dir:

$$\rho_{\text{obs}}[\text{S}_t] = \rho_c[\text{S}_m\text{L}_n] + \rho_f[\text{S}]$$

$$\rho_{\text{obs}}[\text{L}_t] = \rho_c[\text{S}_m\text{L}_n] + \rho_f[\text{L}]$$

#### Equació 4-5

on  $\rho_c$  és el valor del desplaçament químic de la forma complexada i  $\rho_f$  el de la forma lliure;  $[\text{S}]$  i  $[\text{L}]$  representen les concentracions del substrat i del lligand lliures;  $[\text{S}]_t$  i  $[\text{L}]_t$  corresponen a les concentracions totals, i  $[\text{S}_m\text{L}_n]$  és la concentració del complex.

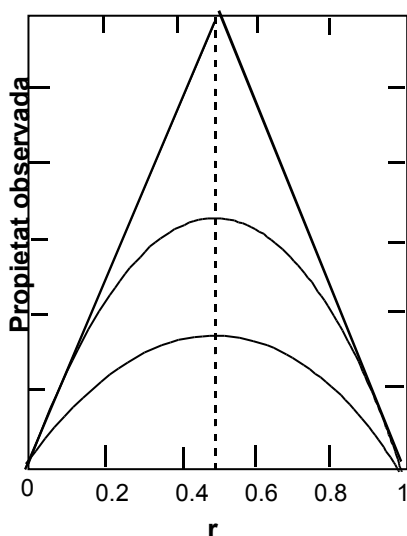
La representació gràfica de  $\rho_{\text{obs}}[\text{S}]_t$  vs.  $x_S$  o  $\rho_{\text{obs}}[\text{L}]_t$  respecte  $x_L$ , on  $\rho_{\text{obs}} = \rho_{\text{obs}} - \rho_f$ , dóna lloc a una corba parabòlica (veure Figura 4-1) el vèrtex de la qual indica

l'estequiometria del complex ( $x_{\text{màx}} = \frac{m}{m+n}$ ). Així, quan el complex és 1:1 (SL), el valor

de  $x_{\text{màx}}$  és 0.5.

Si la corba que s'obté no és simètrica, és a dir el vèrtex de la paràbola es troba desplaçat respecte el 0.5, voldrà dir que existeixen processos de complexació competitiu amb estequiometria 2:1 i/o 1:2.

La forma de la gràfica (Figura 4-1) depèn de dues variables, una és la propietat observada ( $\rho_{\text{obs}}$ ) i l'altre és la  $K$ . Per exemple, quan  $K = \infty$ , la corba és triangular però l'alçada del màxim depèn de  $\rho_{\text{obs}}$ .



**Figura 4-1:** Variació contínua de les corbes per un sistema hipotètic amb estequiometria 1:1.

Quan la concentració total del sistema no es manté constant, el mètode de Job no és pot aplicar. Per tant, cal recórrer a un altre mètode per determinar l'estequiometria del

complex. Aquest mètode, s'anomena mètode de la relació molar, i consisteix en representar gràficament la  $\delta_S$  versus la relació  $[L]/[S]$ . Per relacions  $[L]/[S]$  petites i sigui quin sigui el valor de la constant de formació del complex, el desplaçament químic de S varia molt a mesura que es va augmentant la concentració de L. Això passa perquè quan una de les dues espècies es troba en excés, l'equilibri es desplaça cap a la formació de complex i l'espècie que està en defecte es troba totalment complexada, de manera que varia molt l'entorn magnètic efectiu de l'espècie en excés. En el moment en que la variació del desplaçament químic de S disminueix fins a arribar a aturar-se vol dir que s'ha arribat a l'equilibri. Aquest moment és el que determina l'estequiometria del complex.

Per trobar aquest punt es tracen dues rectes tangents a la corba, una que descriu la pendent de la corba als inicis de la complexació i l'altre que descriu l'estat estacionari d'equilibri. El punt de convergència determina quantes molècules de L "veu" cada molècula de S, és a dir, l'estequiometria del complex.

## 4.2 DETERMINACIÓ DE LA CONSTANT D'ASSOCIACIÓ<sup>3</sup>

Es coneixen una gran varietat de mètodes que permeten determinar el valor de la constant d'associació (K) en sistemes de bescanvi ràpid en el temps d'escala de la RMN. Els més utilitzats són els mètodes gràfics, concretament: *Two-Step*,<sup>4</sup> *Gradient*,<sup>5</sup> i *Reciproca*<sup>6</sup> (Mètode de Benesi-Hildebrand). Tots tenen un punt en comú i és que són vàlids per sistemes on únicament es formi un complex i aquest tingui estequiometria 1:1. El mètode *Equimolar*<sup>7</sup> no s'utilitza tant però presenta una avantatge respecte als anteriors, en aquest cas si que es pot considerar l'existència de dos estequiometries de complexació diferents. Aquest ha estat el mètode utilitzat en aquest treball per tal de trobar la constant termodinàmica.

---

<sup>3</sup> a) Raber, D. J.; Hardee, L. E. *Org. Magn. Reson.* **1982**, *20*, 125. b) Connors, K. A. *Binding Constants*, John Wiley & Sons, Inc.; New York, **1987**; chapter 5, p. 189. c) Fielding, L. *Tetrahedron* **2000**, *56*, 6151.

<sup>4</sup> a) Johnston, Jr.; Shapiro, B. L.; Shapiro, M.J.; Proulx, T. W.; Godwin, A. D.; Pearce, H. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, *97*, 542. b) Inagaki, F.; Tasumi, M.; Miyazawa, T. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1975**, *48*, 1427.

<sup>5</sup> Hofer, O. *Top. Stereochem.* **1976**, *9*, 146.

<sup>6</sup> a) Benesi, H. A.; Hildebrand, J. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1949**, *71*, 2703. b) Armitage, I.; Dunsmore, G.; Hall, L.D.; Marshall, A. G. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1971**, 1281.

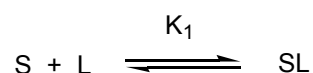
<sup>7</sup> a) Bouquant, J.; Chucho, J. *Tetrahedron Lett.* **1972**, 2337. b) Koy, C.; Michalik, M.; Döbler, C.; Oheme, G. *J. Prakt. Chem.* **1997**, 339, 660.

A part dels mètodes gràfics n'existeixen d'altres que també permeten obtenir el valor de K com són els d'ajust de corbes<sup>8</sup> i els experiments de difusió per gradients (PGSE).<sup>9</sup>

#### 4.2.1 Mètode equimolar

Aquest mètode està basat en la simplificació algebraica (Equació 4-6) que s'obté quan la concentració inicial de substrat i la de lligand són iguals ( $S_0 = L_0$ ).

Suposem l'existència d'un únic complex amb una relació estequiomètrica 1:1, llavors tenim:



el valor de la constant d'equilibri, assumint que  $[S]_0 = [L]_0$ , vindrà donat per:

$$K_1 = \frac{[SL]}{[S][L]} = \frac{[SL]}{([S]_0 - [SL])([S]_0 - [SL])}$$

#### Equació 4-6

Ara cal relacionar aquesta  $K_1$  amb el paràmetre que canvia en formar-se el complex, és a dir, el desplaçament químic. Aquesta variació es pot expressar com:

$$\delta_{obs} - \delta_f = ([SL] / [S]_0) \delta_c$$

#### Equació 4-7

Per tant, de la combinació de l'Equació 4-6 i de l'Equació 4-7 s'arriba al valor de  $K_1$  en funció del desplaçament químic.

$$K_1 = \frac{[S]_0 \frac{\delta}{\delta c}}{[S]_0 - [S]_0 \frac{\delta}{\delta c}}$$

#### Equació 4-8

<sup>8</sup> a) Wilcox, C. S.; Cowart, M. D. *Tetrahedron Lett.* **1986**, 27, 5563. b) Cowart, M.; Sucholeiki, I.; Bukownik, R. R.; Wilcox, C. S. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, 110, 6204. c) Kearney, P. C.; Mizoue, L. S.; Kumpf, R. A.; Forman, J. E.; McCurdy, A.; Dougherty, D. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 9907. d) Dodziuk, H.; Ejchart, A.; Lukin, O.; Vysotsky, M. *O. J. Org. Chem.* **1999**, 64, 1503.

<sup>9</sup> a) Frish, L.; Matthews, S. E.; Böhmer, V.; Cohen, Y. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **1999**, 669. b) Jayawickrama, D. A.; Larive, C. K. *Anal. Chem.* **1999**, 71, 2117. c) Chien, W. J.; Cheng, S. F.; Chang, D. K. *Anal. Biochem.* **1998**, 264, 211. d) Rymdén, R.; Carlfors, J.; Stilbs, P. *J. Incl. Phenom.* **1983**, 1, 159.

La derivada d'aquesta equació segons Bouquant i Chucho en funció de  $\delta$  la simplifica donant lloc a una nova expressió matemàtica (veure annex):

$$\delta = \delta_c - \sqrt{\frac{\delta c}{K_1}} \sqrt{\frac{\delta}{[S]_0}}$$

#### Equació 4-9

En representar gràficament  $\delta$  vs.  $(\delta/[S]_0)^{1/2}$  s'obté una recta amb ordenada de l'origen  $\delta_c$  i pendent  $(\delta c/K_1)^{1/2}$ , de la qual s'extraurà el valor de la constant d'associació ( $K_1$ ).

En aquest treball, la dada de  $\delta$  (diferència de la posició del senyal en absència i presència de L) s'ha trobat utilitzant el substrat en forma enantiomèricament pura, sempre que s'ha disposat d'algun dels enantiòmers aïllats, ja que l'ús del racemat pot donar lloc a interaccions entre els diferents complexos diastereoisomèrics presents en la solució.

El mètode equimolar és doncs, un mètode que permet obtenir valors de K de forma senzilla, però cal tenir en compte en tot moment que només es pot aplicar quan  $[S]_0 = [L]_0$ .

### 4.3 GEOMETRIA DEL COMPLEX

Una altra característica important en la formació d'un complex és l'estructura tridimensional que aquest adopta en solució. Un dels factors més importants a tenir en compte en aquest sentit és considerar les pròpies variacions de  $\delta$  que pateixen els nuclis afectats per aquesta complexació. Però, a més a més, per tal de tenir una mica més d'informació sobre aquest punt, és a dir, per tenir una idea de la seva geometria s'ha optat per recórrer una vegada més a la RMN, concretament als experiments NOE i ROE i a les seves variants bidimensionals NOESY i ROESY.

#### 4.3.1 NOE (Nuclear Overhauser Effect)

L'efecte NOE és una manifestació del relaxament creuat entre dos nuclis que es troben suficientment propers en l'espai (generalment  $< 5 \text{ \AA}$ ). Des que l'any 1955 Solomon<sup>10</sup> va publicar el primer article que feia referència a aquest experiment, l'ús del NOE per tal de resoldre problemes estructurals i conformacionals tant de molècules

<sup>10</sup>Solomon, I. *Phys. Rev.* **1955**, *99*, 559.



orgàniques com bioquímiques (pèptids, esteroids i polinucleòtids) ha augmentat moltíssim.<sup>11</sup>

El NOE representa el canvi d'intensitat que pateix un nucli quan les transicions d'un altre nucli proper són pertorbades per irradiació. Aquesta pertorbació es pot realitzar per saturació amb un camp de radiofreqüència dèbil. La saturació elimina les diferències de població entre les transicions del nucli saturat provocant així l'activació del mecanisme de relaxament dipolar creuat gràcies al qual el sistema recupera l'equilibri. Després de la pertorbació, tot el sistema intenta retornar a l'equilibri tèrmic mitjançant canvis de població de nuclis propers.

La variació d'intensitat del *spin* del nucli observat (I) en saturar l'*spin* d'un nucli proper en l'espai (S) es representa mitjançant l'Equació 4-10:

$$\text{NOE } I(S) = \frac{(I - I_0)}{I_0}$$

#### Equació 4-10

on I és la intensitat del nucli observat després de la saturació i I<sub>0</sub> representa la intensitat del nucli observat en absència de saturació, és a dir, en l'equilibri.

Quan el que es vol és mesurar efectes NOE petits, com és el cas dels NOE intermoleculars, cal evitar la presència de qualsevol espècie (oxigen, ions metàl·lics paramagnètics,...) que puguin donar lloc a altres tipus de mecanismes de relaxament dipol-dipol. Ja que aquests mecanismes competitius interferiran originant una pèrdua molt important de la magnetització que es transfereix via relaxament dipolar entre els *spins* que volem efectuar la mesura de NOE. Aquest fet pot provocar una disminució o fins i tot una anul·lació del NOE observat.

El NOE intermolecular és una eina molt útil per examinar les interaccions entre molècules en solució. Així, s'ha utilitzat per estudiar sistemes tipus *host-guest*,<sup>12</sup> sistemes on hi ha involucrat un reconeixement quirals<sup>13</sup> i en molts d'altres. Un requeriment important a l'hora de mesurar el NOE entre les diferents espècies que

<sup>11</sup>Neuhaus, D.; Williamson, M. P. *The Nuclear Overhauser Effect in Estructural and Conformational Analysis*, VCH Publishers; Inc.: New York, **1989**.

<sup>12</sup>Jaime, C.; Redondo, J.; Sánchez, F.; Virgili, A. *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 5227.

<sup>13</sup>a) Pochapsky, T. C.; Wang, A. P.; Stone, P. M. *J Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 11084. b) Pirkle, W.H.; Selness, S. R. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 3252. c) Moragas, M.; Cervelló, E.; Port, A.; Jaime, C.; Virgili, A.; Ancian, B. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 8689.

formen un complex és que cal que el complex sigui prou estable, és a dir, estigui prou poblat (factor termodinàmic). I un altre és, que existeixi la probabilitat de relaxament creuat entre els nuclis d'interès durant el temps de vida del complex, és a dir, que les dues molècules que formen el complex estiguin properes durant un temps suficient com perquè el mecanisme de relaxació intermolecular pugui actuar (factor cinètic).

#### 4.3.2 ROE (Rotating frame nuclear Overhauser Effect)

Aquest experiment també s'ha utilitzat molt per avaluar les interaccions intermoleculars i resulta especialment útil en compostos de grandària mitjana (tipus ciclodextrines) per les quals el NOE convencional és zero.

El ROE mesura el creixement per relaxació creuada via magnetització transversa durant un període de mescla ( $t_m$ ) i de *spin-lock* mentre que els experiments NOE ho mesuren *via* magnetització longitudinal. La dependència de la velocitat de relaxament creuat amb el temps de correlació  $\tau_c$  en aquest tipus d'experiment és diferent al de l'experiment NOE, i això fa que sigui quina sigui la grandària de la molècula l'efecte ROE observat sempre és positiu, mai s'anul·la.

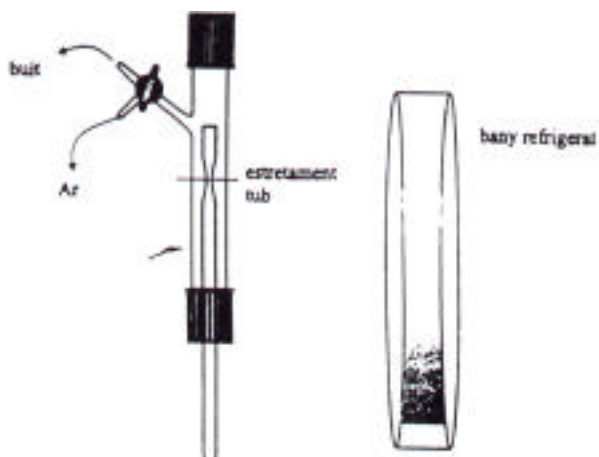
#### 4.3.3 Desgasat de mostres

Com ja s'ha dit anteriorment, en el cas de realitzar mesures d'efectes NOE petites, com és el cas dels NOE intermoleculars, és important eliminar l'oxigen present a les mostres per tal de suprimir la competència que s'estableix entre el relaxament creuat dipol-dipol intermolecular amb l'oxigen i el relaxament creuat que dona lloc a l'efecte NOE.

El procediment experimental pel desgasat de mostres es coneix amb el nom de cicle de congelació-liquació. Consisteix en congelar el líquid del tub de ressonància i retirar l'aire del tub mitjançant una bomba de buit fins a observar un bombolleig en la superfície del sòlid el qual indica l'eliminació de l'aire dissolt en el líquid juntament amb l'eliminació d'una petita part del dissolvent. Aquesta petita evaporació del solvent es pot compensar afegint una mica més de dissolvent del necessari. A continuació, acabat el bombolleig, s'introdueix argó al sistema fins a pressió atmosfèrica i es deixa descongelar la dissolució fins a temperatura ambient. Amb la solució líquida i a pressió atmosfèrica d'argó es torna a congelar la dissolució començant de nou el cicle. Aquest es repeteix 5 o 6 vegades fins al total desgasat de la mostra. Finalment, es tanca el tub de RMN mitjançant la soldadura del vidre per tal d'obtenir un desgasat permanent. Aquest últim pas, es pot facilitar si prèviament s'ha estrangulat el coll del

tub. El tancament es porta a terme en condicions de sobrepressió d'argó per tal d'evitar l'entrada d'aire. També és interessant aconseguir una soldadura simètrica per evitar problemes de rotació en el moment d'enregistrar els espectres.

El muntatge utilitzat per realitzar el procés de desgasat es mostra a la Figura 4-2:



**Figura 4-2:** Aparell utilitzat pel desgasat de mostres. El buit s'ha fet amb una bomba mecànica que dóna 0.8 mmHg de pressió. La mescla utilitzada en el bany de refrigeració ha estat neu carbònica-etanol.