



---

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**DETERMINACIÓN DEL EXCESO ENANTIOMÉRICO  
EMPLEANDO DICROÍSMO CIRCULAR VIBRACIONAL**

**TRABAJO MONOGRÁFICO DE ACTUALIZACIÓN**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
QUÍMICO DE ALIMENTOS**

**PRESENTA**

**JOSÉ IVÁN ALAMILLA ORTIZ**



**Ciudad Universitaria, CDMX.**

**2019**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## **JURADO ASIGNADO:**

**PRESIDENTE:** Profesora: Lucía Hernández Garciadiego.

**VOCAL:** Profesor: Adrián Vázquez Sánchez

**SECRETARIO:** Profesor: Mariano Sánchez Castellanos

**1er. SUPLENTE:** Profesor: Rafael Omar Arcos Ramos.

**2° SUPLENTE:** Profesora: Elizabeth Reyes López.

## **SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:**

**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA Y FÍSICA TEÓRICA, FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM.**

## **ASESOR DEL TEMA:**

**Mariano Sánchez Castellanos**

## **SUSTENTANTE:**

**José Iván Alamilla Ortiz.**

## Contenido.

### Capítulo 1.

#### Introducción.

1.1. Concepto de quiralidad.....	1
1.2. Enantiómeros en la naturaleza .....	3
1.3. Configuración absoluta y relativa .....	5
1.4. Técnicas espectroscópicas.....	5
1.5. Rotación óptica.....	5
1.6. Vibraciones moleculares .....	5
1.6.1. Espectroscopía infrarroja .....	6
1.7. Naturaleza de la luz polarizada .....	7
1.7.1. Interacción de la luz polarizada con la materia.....	8
1.7.2. Dicroísmo circular (CD) .....	9
1.8. Campo de la actividad vibracional óptica (VOA).....	10
1.8.1. Dicroísmo circular vibracional (VCD).....	10
1.8.2. Condiciones físicas para que ocurra el fenómeno de VCD.....	12
1.8.3. Cálculo de los espectros teóricos de VCD.....	13
1.8.4. Ventajas de usar VCD.....	14
1.8.5. Equipo de VCD.....	15
1.8.6. Condiciones experimentales.....	16

### Capítulo 2.

2.1. Determinación del exceso enantiomérico.....	17
2.2. Exceso enantiomérico (e.e.).....	18
<b>2.3. Evaluación comparativa entre VCD y rotación óptica para la determinación de la pureza enantiomérica.</b>	
2.3.1. Resumen.....	22
2.3.2. Introducción.....	22
2.3.3. Sección experimental.....	23
2.3.4. Resultados y discusión.....	23

**2.4. Determinación del e.e. en muestras de moléculas quirales usando espectroscopia VCD por transformada de Fourier (FT-VCD): monitoreo de una reacción de simulación en tiempo real.**

2.4.1. Resumen.....	30
2.4.2. Introducción.....	30
2.4.3. Sección experimental.....	30
2.4.4. Resultados y discusión.....	31
2.4.4.1 Disoluciones de un componente.....	31
2.4.4.2 Disoluciones de dos componentes.....	34
2.4.4.3. Construcción del modelo.....	35
2.4.4.4. Reacción de simulación I. ....	37
2.4.4.5. Reacción de simulación II.....	39

**2.5. Determinación del e.e. por FT-VCD-NIR: monitoreo de una reacción de simulación en tiempo real.**

2.5.1. Resumen.....	42
2.5.2. Introducción.....	42
2.5.3. Sección Experimental.....	42
2.5.3.1. Muestras.. ....	43
2.5.3.2. Disoluciones de un solo componente.....	43
2.5.3.3. Análisis de dos componentes.....	48
2.5.3.4. Reacción de simulación I.....	49
2.5.3.5. Reacción de simulación II.....	51
2.5.4. Resultados y discusión.....	52

**2.6. Monitoreo de la reacción de epimerización del 2,2-dimetil-1,3-dioxolano-4-metanol usando FT-VCD-NIR. Una reacción de pseudoracemización.**

2.6.1 Resumen.....	54
2.6.2. Introducción.....	54

2.6.3.	Sección experimental.....	55
2.6.4.	Resultados y discusión.....	56
2.6.4.1.	Curva de calibración.....	58
2.6.4.2.	Monitoreo de reacción.....	60
2.6.4.3.	La dependencia de los disolventes.....	60
<b>2.7.</b>	<b>VCD Inducido por Co (II) para mejorar la determinación rápida y sensible del e.e.</b>	
2.7.1.	Resumen.....	62
2.7.2.	Introducción.....	62
2.7.3.	Sección experimental.....	63
<b>2.8.</b>	<b>Monitoreo <i>in situ</i> del e.e. durante una reacción cinética catalítica.</b>	
2.8.1.	Resumen.....	66
2.8.2.	Introducción.....	66
2.8.3.	Sección experimental.....	67
2.8.4.	Resultados y discusión.....	68
<b>2.9.</b>	<b>VCD una metodología para la medición del e.e. en compuestos quirales en suspensión y el uso complementario de resonancia magnética nuclear y VCD en disolución: Caso particular del alcanfor.</b>	
2.9.1.	Resumen.....	71
2.9.2.	Introducción.....	71
2.9.3.	Sección experimental.....	72
2.9.3.1.	Espectros de IR y VCD.....	72
2.9.3.2.	VCD en disolución.....	72
2.9.3.3.	VCD en suspensión.....	73
2.9.4.	Experientos en disolución por VCD.....	73

2.9.4.1. Resultados en suspensión por VCD.....	74
2.9.5. Prueba para una muestra desconocida.....	75
<b>Conclusiones</b> .....	77
<b>Referencias</b> .....	79

## **Introducción:**

En la naturaleza existen miles de moléculas de suma importancia para la vida y desarrollo del ser humano, conocer la estructura de estas, su reactividad, saber cómo identificarlas y cuantificarlas, es trabajo de un químico.

Las moléculas tienen muchas categorías para facilitar su análisis, esta revisión se enfocará en moléculas orgánicas, por lo que les daremos una clasificación aún más específica, las agruparemos en: Especies quirales y especies no quirales.

Un científico llamado Eilhard Mitscherlich (1794-1863), observó una clase de isomería en los cristales de tartrato de sodio y amonio, según las condiciones de su experimento, obtendría una disolución con actividad óptica (dextrógira o levógira) y otra sin actividad óptica (mezcla racémica)<sup>1</sup>.

En 1848 el químico francés Louis Pasteur (1822-1895), escribió *“el manual de separación de enantiómeros de cristales de tartrato sódico amónico”*, observó los cristales formados a partir de las sales de tartrato y descubrió que el fenómeno que ocurría en los cristales de cuarzo, también ocurría en los de tartrato, es decir, que presentaban varias orientaciones y que esto no se observaba en sustancias ópticamente activas como la glucosa. A este fenómeno lo llamó disimetría molecular, sin embargo, nunca llegó a pensar en este fenómeno en términos de estructura molecular. Pensaba que la disimetría molecular era un orden en los átomos en geometrías conocidas, capaces de generar imágenes no superponibles, de manera que la asoció a la estructura macroscópica observada en los cristales<sup>1</sup>.

### **1.1. Concepto de quiralidad.**

El término quiral proviene de la palabra griega *Kheir*, cuya traducción al castellano es mano, en la actualidad usamos la palabra quiral para definir aquellos objetos que, como las manos, no son superponibles a su imagen especular. La utilización de la palabra quiralidad se la debemos a Lord Kelvin (1824-1907) que la introdujo en 1884<sup>1</sup>:

*“Llamo a cualquier figura, o grupo de puntos quirales, y digo que tiene quiralidad, si su imagen en un espejo plano, diseñado idealmente, no puede coincidir consigo mismo”.*

Un compuesto quiral es aquel que no es superponible con su imagen especular y, por ende, se entiende que un compuesto no quiral, es aquel cuya imagen especular si es superponible. La nomenclatura de estas moléculas depende de su centro quiral, y para ello se consideran las reglas de Cahn-Ingold-Prelog<sup>2</sup>.

Estas especies quirales se subdividen en más grupos para poder estudiarlas de manera minuciosa, estas categorías son:

- Estereoisómeros: Compuestos con la misma fórmula molecular, y misma secuencia de átomos enlazados, pero diferente arreglo espacial (Isómeros ópticos)<sup>3</sup>.
- Enantiómero: Es la imagen especular de una molécula quiral.
- Diastereoisómero: Molécula que difiere en al menos un centro quiral.
- Epímero: Molécula que difiere específicamente en un centro quiral y es un caso particular de diastereoisómeros.

Existen muchos ejemplos de moléculas quirales y no quirales, entre los que podemos mencionar, por ejemplo, al ácido láctico como molécula quiral y al ácido acetilsalicílico como una no quiral. A continuación, se presentan sus estructuras para notar la presencia o ausencia de carbonos quirales.

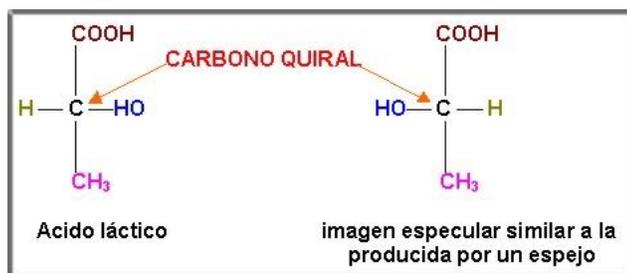


Figura 1.1: Quiralidad del ácido láctico.

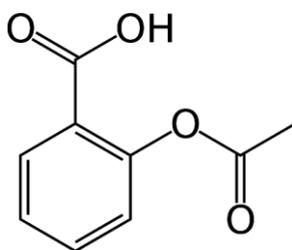


Figura 1.2. El ácido acetilsalicílico no presenta quiralidad. No existe la presencia de carbonos quirales.

## 1.2. Enantiómeros en la naturaleza.

Un ejemplo sobre la importancia de los enantiómeros a nivel alimenticio, es la molécula de limoneno, donde dependiendo de la configuración de su carbono quiral (si es R o S) tendremos una molécula con propiedades organolépticas diferentes, el enantiómero (R)-limoneno tiene un aroma a limón y su contraparte el (S)-limoneno tiene aroma a naranja<sup>4</sup>.

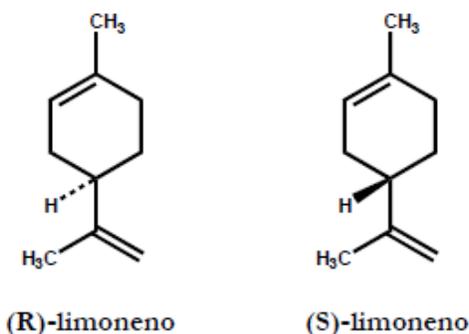


Figura 1.3: Enantiómeros de limoneno<sup>4</sup>.

Existen compuestos en los que un isómero óptico posee inocuidad y el otro tiene un poder altamente tóxico, tal es el caso de la talidomida, un fármaco que se usa como sedante y calmante de las náuseas, industrialmente se obtiene a partir de una mezcla racémica (una mezcla con estequiometría 1:1). El enantiómero (R)-talidomida es el estereoisómero que posee las propiedades sedantes que son de gran utilidad durante el embarazo, por otra parte, el enantiómero (S)-talidomida es altamente tóxico<sup>4</sup>.

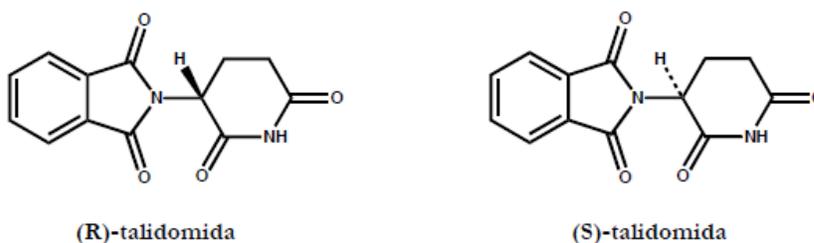


Figura 1.4: Enantiómeros de la talidomida<sup>4</sup>.

Notamos que es necesario conocer que compuesto quiral es el que estamos produciendo, es por ello que es imposible comercializar mezclas racémicas, a no ser que se haya demostrado que el compuesto que no es activo, no representa un daño a la salud del consumidor.

Para la determinación de ciertos compuestos, nos basamos en aquellas propiedades físicas y químicas que las diferencian del resto de moléculas, tales como el punto de fusión, el punto de ebullición, densidad, etc... El caso de los enantiómeros es particular ya que, por ser moléculas con el mismo número de átomos y mismo tipo de enlaces, sus propiedades físicas son idénticas, por ello surge la pregunta: ¿Cuál estoy caracterizando? La respuesta está en las propiedades ópticas de la molécula, hablamos específicamente de la capacidad que tienen estas moléculas de desviar el plano de la luz polarizada. Tomemos el caso de la alanina, un aminoácido no esencial para el ser humano, la alanina y su imagen especular se muestran a continuación.

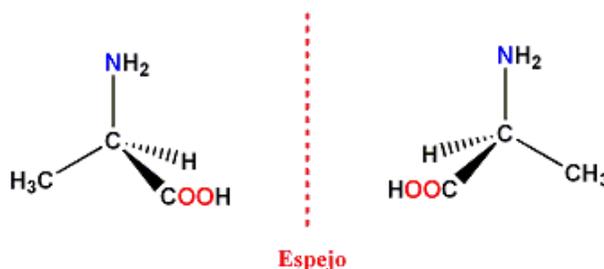


Figura 1.5: Enantiómeros de la alanina<sup>5</sup>.

Cuando la molécula de alanina sea sometida a la influencia de la luz polarizada, esta luz será desviada de manera distinta dependiendo de la configuración de su carbono quiral. Le damos el nombre de (S)-alanina o (R)-alanina, tomando en cuenta este carbono quiral.

Pasamos ahora a otro tipo de moléculas quirales de gran importancia a nivel biológico, estas se les conoce como epímeros, son un tipo especial de diasteroisómero. Como ejemplo de ellos, podemos mencionar a la D-glucosa y a la D-manosa, cuya diferencia radica en su carbono dos.

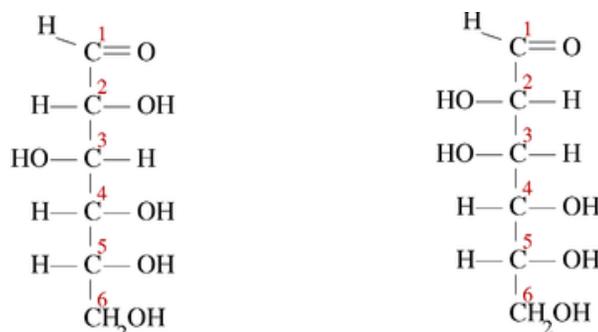


Figura 1.6: D-glucosa y D-manosa respectivamente.

### 1.3. Configuración relativa y absoluta.

La configuración absoluta de un centro quiral, es la disposición espacial de los cuatro átomos o grupos distintos rodeando ese centro quiral. Por otro lado, la configuración relativa es la relación determinada experimentalmente entre las configuraciones de dos moléculas, aún cuando no se conozcan sus configuraciones absolutas<sup>2</sup>.

### 1.4. Técnicas espectroscópicas.

La espectroscopía estudia la interacción entre la radiación y la materia, un espectro es la representación gráfica de la intensidad de la radiación electromagnética, emitida o absorbida por la muestra, en función de la longitud de onda o frecuencia de dicha radiación<sup>1</sup>.

Existen diversas técnicas que nos ayudan a conocer la estructura de una molécula, entre ellas podemos citar, por ejemplo, la resonancia magnética nuclear (NMR), otras tales como espectroscopía IR-UV y rayos X, pueden complementar el análisis.

**Tabla 1.1:** Regiones útiles en espectroscopía de compuestos orgánicos<sup>1</sup>.

$\lambda$ (cm <sup>-1</sup> )	Región	Técnica
10 <sup>-11</sup>	R-γ	Mossbauer
10 <sup>-8</sup>	R-X	Difracción
3X10 <sup>-5</sup>	UV	E. electrón
6X10 <sup>-5</sup>	Visible	E. electrón
10 <sup>-3</sup>	IR	E. vibración
10 <sup>-2</sup>	IR lejano	E. vibración
10 <sup>1</sup>	Microondas	E. rotación
1	Microondas	EPR
10	Radiofrecuencia	NMR

\*EPR: Espectroscopía de resonancia paramagnética electrónica.

### 1.5. Rotación óptica.

Consiste en medir la desviación que produce una disolución de una muestra quiral en la luz linealmente polarizada. Dependiendo del enantiómero, desviará la luz en cierta dirección, a la cuál se le asociará un signo: Positivo cuando es desviada hacia la derecha y negativo cuando es desviada hacia la izquierda<sup>5</sup>.

### 1.6. Vibraciones moleculares.

Si N átomos constituyen una molécula, hay 3N grados de libertad de movimiento, tres son de traslación y tres de rotación, los tres restantes son movimientos donde las distancias entre los

átomos cambian ya sea por un cambio de longitud entre los enlaces químicos y el ángulo entre ellos, su estudio se realiza con el modelo de un oscilador armónico clásico<sup>6</sup>.

Pueden distinguirse dos tipos básicos de vibraciones: las de tensión y las de flexión. Una vibración de tensión supone un cambio continuo en la distancia interatómica a lo largo del eje del enlace entre los átomos. Las vibraciones de flexión se caracterizan por un cambio en el ángulo entre dos enlaces y son de cuatro tipos: tijera, balanceo, aleteo y de torsión.

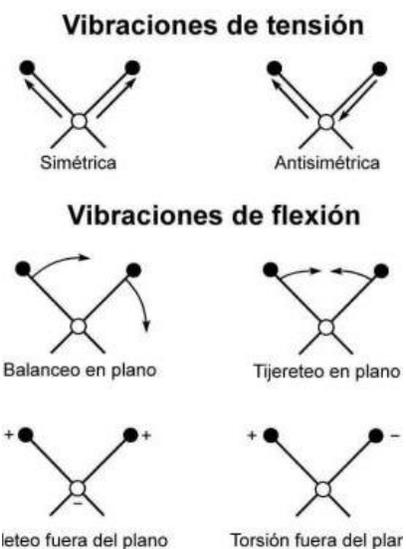


Figura 1.7: Diferentes tipos de vibraciones moleculares<sup>6</sup>.

### 1.6.1. Espectroscopía infrarroja.

Los espectros vibracionales presentan un mayor número de bandas que los espectros electrónicos, por lo que suelen ofrecer una mayor información estructural del sistema que se esté estudiando. En un espectro vibracional infrarrojo, puede asignarse cada frecuencia medida con un modo normal de vibración de la molécula, que es un movimiento armónico y en fase a todos los átomos alrededor de sus posiciones de equilibrio, todos con la misma frecuencia y diferentes amplitudes. Cualquier modo normal puede expresarse en función de coordenadas vibracionales, las cuales se definen en función de variaciones de distancias y ángulos de enlace. Cada modo normal es exclusivo de la molécula y linealmente independiente del resto de los modos, sin embargo, las frecuencias vibracionales pueden relacionarse de forma sencilla con la estructura molecular aplicando el concepto de frecuencia característica de grupo<sup>1</sup>.

### 1.7. Naturaleza de la luz polarizada.

La luz presenta una naturaleza dual de onda-partícula. Como onda electromagnética se describe por la variación sinusoidal en el tiempo y a lo largo de la dirección de propagación de un campo eléctrico (E). Asociada a esta, se describe la variación del campo magnético (B) en un plano perpendicular, esta onda puede ser descrita por su amplitud y por su frecuencia. El periodo de una onda es el tiempo mínimo necesario para que el campo y su derivada alcancen los mismos valores en un punto fijo en el espacio. La longitud de onda es la distancia lineal entre dos puntos equivalentes de ondas sucesivas, y equivale al producto entre la velocidad de propagación de la luz en el vacío y el periodo.

En la luz no polarizada, el vector oscila en todos los planos posibles que incluyen la dirección de propagación de la onda. Por el contrario, si se selecciona un único plano de oscilación, obtendremos una luz linealmente o planamente polarizada (LPL). Intuitivamente, se puede concebir otra clase de luz polarizada en la que el vector rota a lo largo de la dirección de propagación. Esta última se denomina circularmente polarizada (CPL) y existirán dos formas opuestas no superponibles de acuerdo con su sentido de giro, luz polarizada circularmente hacia la izquierda y hacia la derecha.

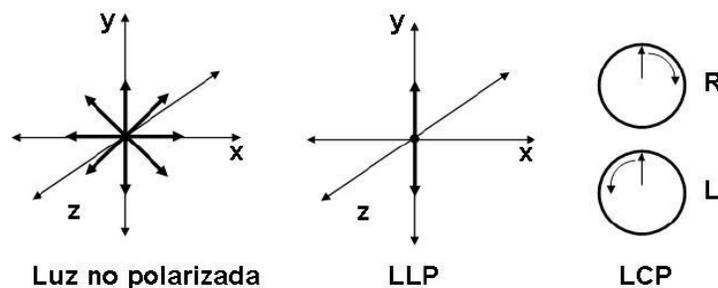


Figura 1.8: Naturaleza de la luz polarizada<sup>7</sup>.

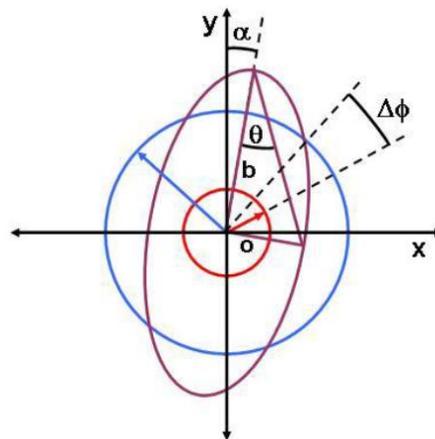
La luz linealmente polarizada resulta de la suma de dos haces de luz circularmente polarizada perpendiculares entre si y desfasados un cuarto de onda, así el módulo de E de un haz de LPL alcanzará el valor de la amplitud en el punto en que el otro se anule. Dependiendo de cuál sea el signo del desfase inicial (+1/4 onda o -1/4 de onda) obtendremos CPL en sentido derecho o izquierdo. Así, el vector E de la luz resultante procederá hacia el observador rotando como una hélice en sentido horario o anti horario<sup>7</sup>.

### 1.7.1. Interacción de la luz polarizada con la materia.

Al interactuar con la materia, la luz puede dar origen a los fenómenos de dispersión, absorción, difracción, reflexión o polarización. Para el caso de un haz de luz circularmente polarizada sobre un material asimétrico, cada uno de sus componentes podría sufrir un cambio de velocidad en ese medio como consecuencia de la interacción, la medida física de tal cambio de velocidad está dada por el índice de refracción.

Para el caso de la CPL surge un desfase que es consecuencia de tal cambio de velocidad, de modo que la luz resultante seguirá siendo LPL, pero su plano de oscilación se habrá inclinado un cierto ángulo respecto del plano de trabajo. Cabe mencionar que el modulo del vector no se altera, es decir, no existe cambio en la intensidad del haz al cabo de atravesar la muestra, en otras palabras, no se presenta absorción del haz de luz. La medida del ángulo para cada longitud de onda, se denomina espectro de dispersión óptica rotatoria (ORD).

Para el caso en el que el sistema asimétrico sea capaz de absorber diferencialmente cada componente de la luz circularmente polarizada, resultará en un haz de luz elípticamente polarizado. La consecuencia sobre el módulo del vector en el fenómeno de absorción diferencial resulta en que se modificará diferencialmente la magnitud del módulo del vector  $E$  sumando nuevamente ambas componentes de CPL resulta luz elípticamente polarizada (EPL). Aquí, el vector eléctrico evoluciona en el tiempo variando su módulo y posición, tal que se describe un eclipse.



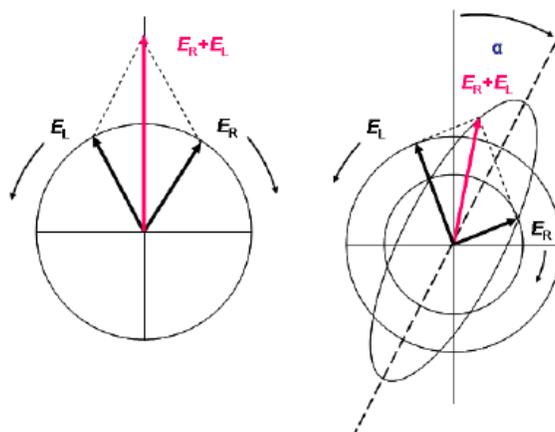
**Figura 1.9:** Representación frontal de la luz elípticamente polarizada<sup>7</sup>.

El fenómeno de absorción diferencial de luz circularmente polarizada se define como dicroísmo circular (CD).

Desde un punto de vista conceptual, es importante notar que existe una relación biunívoca entre los espectros de ORD y CD, esto, entre las magnitudes angulares. Ambos son manifestaciones diferentes de un mismo fenómeno físico, que es el de la interacción de la luz polarizada con la materia asimétrica. En ORD, esta interacción se evalúa a partir del cambio de velocidad (índice de refracción) de los haces de luz circularmente polarizada, mientras que, en dicroísmo circular, la detección consiste en evaluar el cambio de amplitud de estos haces<sup>7</sup>.

### 1.7.2. Dicroísmo circular (CD).

El dicroísmo circular es una técnica espectroscópica que utiliza dos haces circularmente polarizados y se define como la diferencia entre la absorción de luz polarizada circularmente hacia la derecha menos la absorción de luz polarizada circularmente hacia la izquierda. El campo eléctrico usado tiene una longitud constante, pero rota según la dirección de propagación, formando un tipo de hélice en el espacio. Dependiendo de la forma de la hélice podemos tener luz polarizada hacia la izquierda (levógira) o hacia la derecha (dextrógira).



**Figura 1.10:** Luz polarizada circularmente EL: Levógira ER: Dextrógira<sup>1</sup>.

En la figura 1.10 podemos apreciar ambos casos, la figura de la izquierda muestra los dos tipos de luz polarizada circularmente, a la izquierda y a la derecha, con igual magnitud, pero diferente dirección y que al sumarse generan un único vector en el plano, la figura de la derecha muestra el resultado de irradiar la luz polarizada circularmente sobre una muestra quiral que absorbe luz dextrógira, las magnitudes de ambos tipos de luz no son iguales, dando lugar a un vector resultante que ya no está en el eje, si no que gira en el plano formando una elipse<sup>1</sup>.

## **1.8. Campo de la actividad vibracional óptica (VOA).**

La actividad óptica vibracional es el área de la espectroscopía que resulta de la introducción de la actividad óptica del campo de la espectroscopia vibracional. Se define como la diferencia en la interacción de la radiación polarizada circularmente hacia la izquierda y hacia la derecha con una molécula en estado de transición vibracional.

Esta definición está permitida para una amplia variedad de espectroscopías. Sin embargo, las formas más importantes de actividad óptica vibracional están asociadas con la absorción en el infrarrojo, tal es el caso del dicroísmo circular vibracional (VCD)<sup>1, 9</sup>.

### **1.8.1. Dicroísmo circular vibracional (VCD).**

VCD puede ser vista como una extensión del CD, conocido como dicroísmo circular electrónico, de las regiones del ultravioleta y el visible del espectro electromagnético, a la región del infrarrojo. Es una de las técnicas más sencillas ya que presenta ciertas ventajas respecto a otras, se realiza en disolución y en suspensión como ocurre con la difracción de rayos X, no requiere una alta pureza enantiomérica, así como una excesiva purificación (siempre y cuando las impurezas no sean quirales). La principal dificultad para espectros de VCD radica en el hecho de que las bandas que son ópticamente activas, presentan muy baja intensidad, siendo diez mil a cien mil veces menos intensas que las del infrarrojo clásico, generando una gran demanda en los requerimientos ópticos y electrónicos de los instrumentos.

Fue descubierto cerca de la década de los setentas y ha florecido de manera independiente dentro de dos importantes campos de la espectroscopía para sondear la estructura y conformación de todas las clases de moléculas quirales<sup>5</sup>. Ha sido medido en toda la región del infrarrojo, para el caso de infrarrojo cercano (NIR) es medido aproximadamente a 14000–4000  $\text{cm}^{-1}$ , para infrarrojo medio (MIR) aproximadamente a 4000–400  $\text{cm}^{-1}$  y para el infrarrojo lejano aproximadamente a 400-10  $\text{cm}^{-1}$ . El rango de frecuencia del infrarrojo es de hasta 4000  $\text{cm}^{-1}$  y se compone principalmente de transiciones fundamentales, mientras que las frecuencias de transición más altas en el NIR están dominadas por bandas de transiciones armónicas y combinadas<sup>8</sup>

Típicamente las mediciones se realizan en disolución del analito de interés. Sin embargo, en varios casos VCD ha sido determinado en muestras gaseosas y sólidas. Se trata de una

metodología espectroscópica que emerge y gana terreno en la determinación de la configuración absoluta de las moléculas orgánicas aisladas de la naturaleza o derivadas de procedimientos de síntesis. Tiene como ventaja ser un método general en el que una medición ópticamente activa puede ser comparada con resultados calculados usando ecuaciones de mecánica cuántica en el estado basal de las moléculas, es un método que permite analizar la configuración absoluta sin recurrir a alguna regla u otra molécula<sup>9</sup>.

VCD está definido como la diferencia entre la absorbancia de la luz polarizada circularmente hacia la izquierda menos la de la derecha en moléculas que pasan por un estado de transición vibracional<sup>9</sup>.

Para que la medición de VCD sea diferente de cero, la molécula debe de ser quiral o bien, estar en un ambiente de moléculas quirales. La definición de VCD se ilustra en la ecuación 1, para una molécula que pasa de un estado de transición vibracional de cero a uno de estados electrónicos de una molécula<sup>9</sup>.

En general, podemos definir VCD para una transición entre cualquiera de dos subniveles vibraciones  $ev$  y  $ev'$  de un estado electrónico  $e$  como:

$$VCD = (\Delta A)_{ev',ev}^{\alpha} = (A_L)_{ev',ev}^{\alpha} - (A_R)_{ev',ev}^{\alpha} \quad (1)$$

**Ecuación 1:** Definición de VCD<sup>9</sup>.

Donde  $A_L$  es la absorbancia de la luz polarizada circularmente hacia la izquierda y  $A_R$  es la absorbancia de la luz polarizada circularmente hacia la derecha. El exponente  $\alpha$  refiere al modo o a los modos de vibración asociado con la transición vibracional. El sentido de la definición de VCD es la absorbancia de la luz polarizada circularmente hacia la izquierda menos la de la derecha, en conformidad con la definición de dicroísmo circular electrónico (CD). La intensidad de absorción del infrarrojo asociada con VCD, mejor definida como absorbancia vibracional (VA), está definida como el promedio de las intensidades de las absorbancias individuales para la luz polarizada circularmente hacia la izquierda y hacia la derecha<sup>9</sup>.

$$VA = (A)_{ev',ev}^{\alpha} = \frac{1}{2} [ (A_L)_{ev',ev}^{\alpha} + (A_R)_{ev',ev}^{\alpha} ] \quad (2)$$

**Ecuación 2:** Absorbancia vibracional<sup>9</sup>.

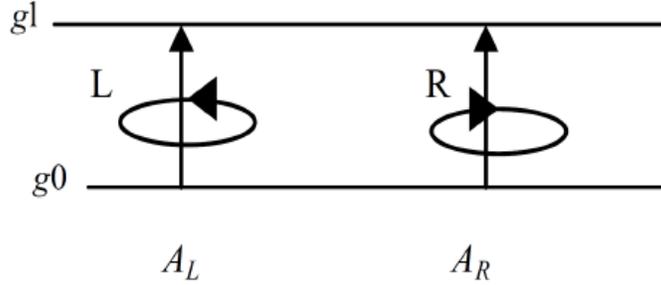


Figura 1.11.: Digrama nivel-energía para VCD<sup>9</sup>.

$$(\Delta A)^{\alpha}_{ev',ev} = (A_L)^{\alpha}_{ev',ev} - (A_R)^{\alpha}_{ev',ev} = (A_L)^{\alpha}_{g1,g0} - (A_R)^{\alpha}_{g1,g0} \quad (3)$$

Ecuación 3: Definición de VCD<sup>9</sup>.

El diagrama anterior de nivel-energía muestra la definición de VCD para una molécula que pasa de una transición cero al primer nivel vibracional del estado electrónico.

Estas definiciones de VCD y VA representan el total de intensidades asociadas con una transición vibracional dada experimentalmente, así como las bandas de los espectros que tienen una forma o distribución como una función de la frecuencia de radiación  $\nu$ , la cual es expresada como  $f_a(\nu)$  para cada transición vibracional<sup>9</sup>. Un espectro de VCD o VA medido experimentalmente, está, por lo tanto, relacionado a las cantidades definidas en las ecuaciones siguientes, por sumas en todas las transiciones vibracionales en el espectro como:

$$\Delta A(\nu) = \sum_a (\Delta A)^{\alpha}_{ev',ev} f'_a(\nu) \quad (4)$$

$$A(\nu) = \sum_a (A)^{\alpha}_{ev',ev} f'_a(\nu) \quad (5)$$

Ecuación 4 y 5: Suma de transiciones vibracionales<sup>9</sup>.

### 1.8.2. Condiciones físicas para que ocurra el fenómeno de VCD.

Para que pueda observarse el fenómeno de VCD, es preciso que se cumplan necesariamente dos condiciones: La molécula en cuestión deberá absorber luz, de modo que se define un momento eléctrico asociado a la transición vibracional, y la molécula debe ser asimétrica, de modo que exista además un momento magnético asociado a la transición. Esto último implica que se verifique en la transición un desplazamiento neto circular de cargas, de este modo podría visualizarse una transición ópticamente activa como un movimiento de cargas conforme a un

camino helicoidal, resultante de un desplazamiento lineal compuesto de un movimiento circular neto de cargas entre los orbitales fundamental y excitado. Dado que toda la hélice presenta un único sentido de giro (derecho o izquierdo), aquí reside la base que permite detectar transiciones ópticamente activas. A nivel molecular, el fenómeno podría representarse visualmente a partir de la asimetría de forma del orbital excitado respecto de la órbita fundamental.

Así entonces, no toda transición electrónica será ópticamente activa, pues si la molécula no presenta asimetría, el momento magnético será nulo. En otras palabras, que una molécula absorba energía electromagnética, no implica necesariamente que presente VCD<sup>9</sup>.

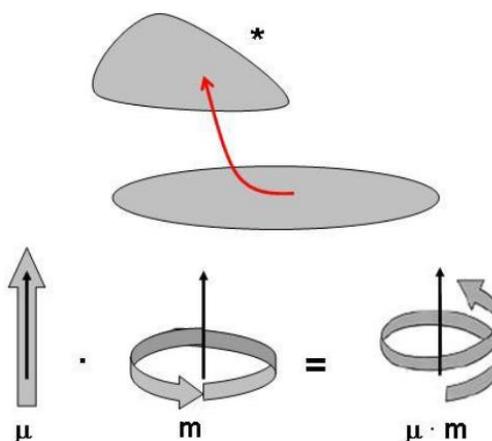


Figura 1.12: Condiciones necesarias para que ocurra el fenómeno de VCD<sup>1</sup>.

### 1.8.3. Cálculo de los espectros teóricos de VCD.

El cálculo de los espectros de VCD inicia con un análisis conformacional de la molécula, esto involucra la exploración completa de la energía de superficie de la misma, utilizando cálculos de mecánica molecular, obteniendo por este medio las energías relativas de los conformeros encontrados pertenecientes a varios mínimos locales en esta superficie.

Existe comercialmente una amplia variedad de programas para realizar estos cálculos, como lo es el programa Hyperchem de Hypercube Inc., MacroModel de Schrödinger Inc., Gaussian 03 de Gaussian Inc., etc...<sup>5</sup>

$$\begin{aligned} \text{CD} &\longrightarrow (10^{-7} - 10^{-9} \text{ m}) \\ \text{VCD} &\longrightarrow (10^{-4} - 10^{-6} \text{ m}) \end{aligned}$$

Figura 1.13: Diferencia de las longitudes de onda en el espectro electromagnético usadas por VCD y CD<sup>9</sup>.

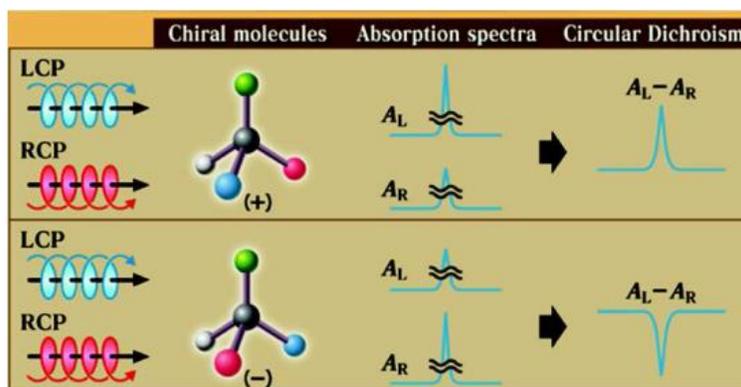


Figura 1.14. Representación de una banda en el espectro de VCD en moléculas enantioméricas.

La figura 1.14 muestra las diferencias entre el espectro de absorción en VCD de una molécula quiral (R o S) sometida a luz circularmente polarizada. Estas absorbancias se traducen en el espectro de VCD en una señal positiva o negativa de los picos dependiendo del tipo de molécula quiral que se esté analizando. Si la señal registrada es positiva, estamos frente a una molécula quiral con configuración R y si la señal registrada es negativa, estamos frente a una molécula quiral con configuración S.

#### 1.8.4. Ventajas de usar VCD.

Hasta ahora, se han mencionado características generales de la técnica y su uso en el análisis químico, ahora toca mencionar algunas de sus ventajas:

- 1.- Los espectros de VCD de un compuesto y su enantiómero son imágenes especulares.
- 2.- El número de bandas es alto por tratarse de vibraciones moleculares.
- 3.- Las intensidades de las señales del espectro suelen ser 10-100 veces mayor que la señal del ruido.
- 4.- No se requiere cristalización.
- 5.- Medición en disolución, aceites y sólidos.
- 6.- Hay limitaciones en la estructura.
- 7.- Los cálculos involucrados requieren únicamente del estado electrónico base.
- 8.- Se puede determinar la composición conformacional del compuesto en disolución.
- 9.- Monitoreo de reacciones en las que se encuentran involucrados compuestos quirales.
- 10.- Es una técnica aceptada para determinar la configuración absoluta de muchos compuestos orgánicos.

Las figuras 1.15, 1.16 y 1.17 muestran la instrumentación básica de VCD para la generación de sus espectros con uno o dos moduladores, estos moduladores varían la forma de onda de una señal para ser enviada hasta la celda donde se encuentre la muestra y posteriormente a un detector, esta información es procesada y se generan los espectros.

### 1.8.5. Equipo de VCD.

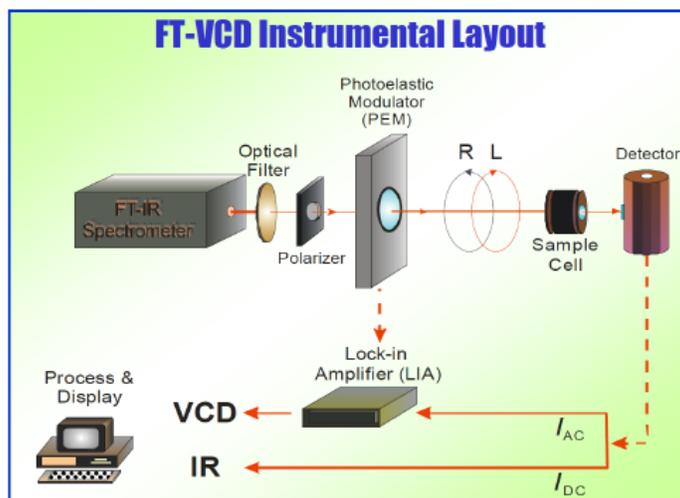
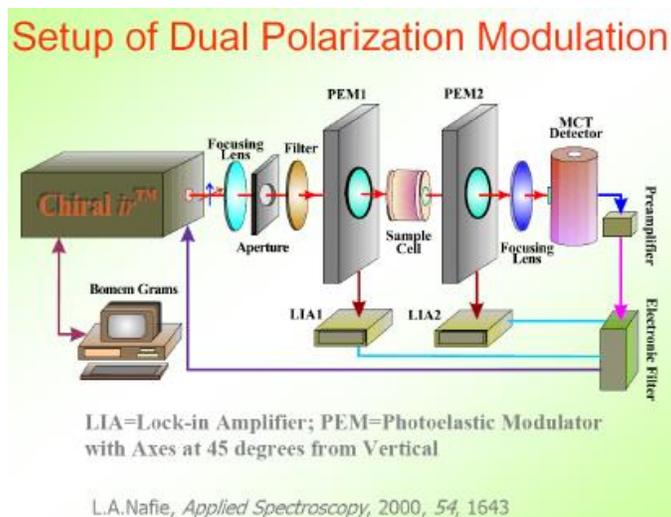


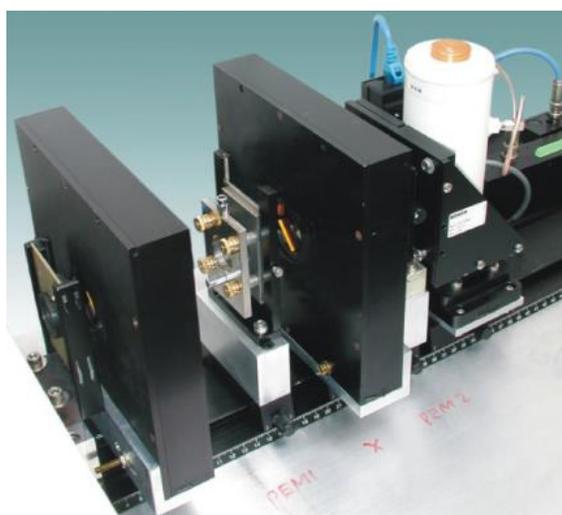
Figura 1.15. Instrumentación básica para la generación de espectros de VCD con un modulador<sup>9</sup>.

Algunas características generales del equipo de VCD se mencionan a continuación:

- 1.- Radiación IR por dos fuentes de carburo de silicio.
- 2.- Modulador fotoelástico con ZnSe.
- 3.- Celda de BaF<sub>2</sub> con 100 micrómetros de espesor y capacidad de 150 microlitros.
- 4.- Detector operado a 77 K por enfriamiento con nitrógeno líquido.
- 5.- Resolución de 4 cm<sup>-1</sup>.



**Figura 1.16.** Configuración del diagrama de polarización con dos moduladores<sup>9</sup>.



**Figura 1.17:** Representación gráfica de los moduladores fotoelásticos y la celda de la muestra.

#### 1.8.6. Condiciones experimentales.

Para llevar a cabo los experimentos en VCD se toman en cuenta algunas condiciones, por ejemplo:

- 1.- Disolventes deuterados.
- 2.- Tiempo de adquisición variable.
- 3.- Adquisición en bloques.
- 4.- Manipulación del espectro manual.
- 5.- Rango de operación de 800-2000  $\text{cm}^{-1}$ .
- 6.- Se requieren de 1-10 mg de muestra.
- 7.- Con diferentes detectores se pueden alcanzar los 10000  $\text{cm}^{-1}$ .

## Capítulo 2.

### 2.1. Determinación del exceso enantiomérico.

El uso de VCD en la determinación del e.e. deriva de la multiplicidad de bandas espectrales que pueden ser medidas simultáneamente en el espectro. Estas bandas no solo sirven como fuente de intensidad de VOA, también llevan a cabo una especificidad estructural de las moléculas quirales siendo medidas, incluso permitiendo la determinación simultánea del e.e en más de una muestra quiral. Por otro lado, la rotación óptica, por ejemplo, provee solo un dato por muestra sin importar el número de especies presentes.

La determinación del e.e. por VCD provee ventajas con una precisión razonable. Se usa el promedio de varias de las alturas de las bandas de VCD, porque la línea base en el espectro no es completamente cero. Utilizando las alturas de las bandas que dependen en la locación exacta de la línea base probablemente contribuirá a un incremento en los errores inherentes en la determinación del e.e.<sup>11</sup>.

La determinación del e.e. de mezclas complejas es un desafío para el químico analítico. La mayoría de las veces implica pasos de separación y purificación que pueden ser delicados, lentos y muy costosos. En las últimas décadas, ha surgido el enfoque quimiométrico, y hay evidencias en la literatura de que las técnicas matemáticas pueden ayudar a extraer información útil de sistemas espectroscópicos complejos. El éxito de la quimiometría hace que VCD sea una técnica muy prometedora para la determinación del e.e. mezclas complejas, esto en comparación con otros métodos que emplean la cromatografía quiral donde se requiere la extracción de muestras y la separación de enantiómeros, VCD proporciona un enfoque novedoso para la determinación del e.e. en función del tiempo en una mezcla de reacción que contiene moléculas quirales.

Este análisis es una de las aplicaciones básicas de VCD, estas bandas espectrales sirven no sólo como la fuente de la intensidad de VCD, sino que también llevan la especificidad estructural de la molécula quiral que se está midiendo, incluso permitiendo las determinaciones simultáneas del e.e. de más de una especie quiral en una muestra dada<sup>11</sup>.

## 2.2. Exceso enantiomérico (e.e.).

El e.e. se define como la cantidad de un enantiómero A, menos un enantiómero B (o viceversa) dividido entre la suma de ambos enantiómeros. La expresión matemática para el enantiómero A, por ejemplo, está dada por la siguiente ecuación:

$$e.e.(A) = \frac{N_A - N_B}{N_A + N_B} \times 100 \quad (6)$$

**Ecuación 6:** Cálculo del exceso enantiomérico para el enantiómero A<sup>10</sup>.

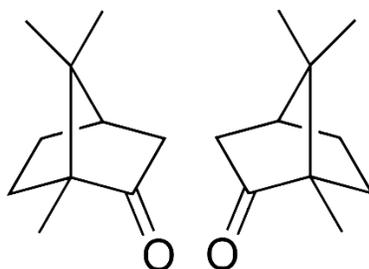
Donde  $N_A$  es el número de moles del enantiómero A y  $N_B$  es en número de moles del enantiómero B. La intensidad de las bandas del espectro de VCD del enantiómero A, es directamente y linealmente proporcional al e.e. del enantiómero A. Por ejemplo, el e.e. del enantiómero A para una muestra ópticamente pura del mismo, es del 100% y la intensidad de las bandas del espectro de VCD se muestran en un valor máximo, por otro lado, el valor de la mezcla racémica de ambos enantiómeros es de 0% y para una muestra ópticamente pura de enantiómero B, el valor es de -100%<sup>10</sup>.

En este trabajo, se realizó una revisión exhaustiva en publicaciones recientes del año 2001 a la fecha, acerca de la determinación del e.e. por VCD en diferentes muestras y bajo condiciones experimentales distintas. Se dará a conocer a lo largo de este estudio, la importancia de la técnica, su evolución a través de los años, su versatilidad, eficiencia y precisión y por supuesto, las expectativas a corto y largo plazo de este método espectroscópico cuantitativo y cualitativo.

Los artículos revisados se presentan en orden cronológico, notando la evolución de la técnica, pasando de ser una metodología sin aparente uso práctico, a su utilización en análisis de importancia a nivel estructural, monitoreo de reacciones, síntesis asimétrica, etc.... Se hace especial énfasis en la aplicación analítica de VCD para la determinación del e.e. y la repercusión de este en diversas áreas de la química.

Se han utilizado varias moléculas en la evolución de la técnica de VCD, sin embargo, en los artículos revisados, se hace hincapié en el uso del alcanfor como molécula pionera en el desarrollo de este análisis. El alcanfor es un terpenoide que puede presentarse en estado sólido o líquido, dependiendo el uso al que esté destinado. En la sección 2.9 se realiza la determinación del e.e en disolución y en suspensión para comparar los resultados de cada uno

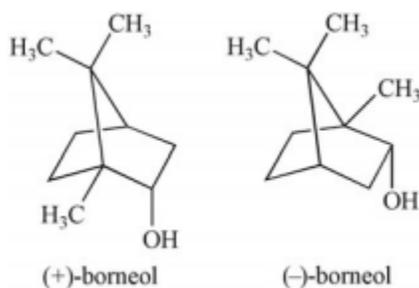
de estos análisis, esta molécula quiral es referenciada en diversos artículos en la determinación del e.e por medio de VCD. A continuación, se muestra su estructura.



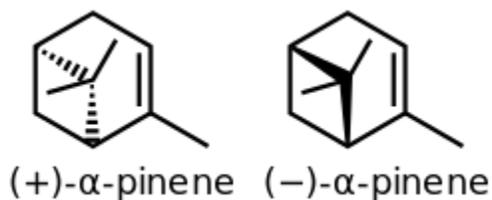
**Figura 2.2.1.:** Fórmulas estructurales del (R) y (S) alcanfor respectivamente.

La información recopilada en este trabajo recaba, entre otras cosas, las ventajas que ofrece VCD frente a otras técnicas analíticas para la determinación del e.e, muchas de ellas se mencionan en la sección 1.8.4.

A lo largo de este trabajo se demuestra la ventaja que tiene VCD en la determinación del e.e en diversas mezclas de moléculas quirales por ejemplo, frente a rotación óptica y NMR. En los análisis en los que se hizo uso de mezclas de moléculas quirales se utilizaron muestras de borneol,  $\alpha$ -pineno, mandelato de etilo, etc... algunas de estas estructuras se muestran a continuación.



**Figura 2.2.2.** Formulas estructurales de (R) y (S) borneol respectivamente.



**Figura 2.2.3.** Formulas estructurales de (R) y (S)  $\alpha$ -pineno respectivamente.

En las secciones 2.4 y 2.5 se hace uso de un método estadístico conocido como mínimos cuadrados parciales (PLS) para analizar los datos del e.e. y se lleva a cabo el análisis de todos

los espectros, con o sin tratamiento, los espectros sin tratamiento alguno se conocen como espectros crudos. Este tipo de espectros se caracterizan, por ejemplo, porque no se les realizan la sustracción del disolvente o la corrección de la línea base. El método PLS usa la información de la concentración durante el proceso de descomposición, y como resultado, el espectro contiene mayores concentraciones que son mejor ponderadas que aquellas con concentraciones bajas.

Las secciones 2.4 y 2.5 son particularmente interesantes ya que los autores utilizan prácticamente los mismos reactivos (Alcanfor, borneol y  $\alpha$ -pineno) y la misma metodología, la única y sustancial diferencia es que trabajan en regiones diferentes del espectro electromagnético. En la sección 2.4 trabajan en toda la región del infrarrojo haciendo uso de la espectroscopía por transformada de Fourier, por otro lado, en la sección 2.5, los autores solo trabajan en la región del infrarrojo cercano (NIR). La diferencia de los resultados obtenidos, se explica con más detalle en las secciones respectivas.

En la sección 2.6 se discute la reacción de epimerización del 2,2-dimetil-1,3-dioxolano-4-metanol en la región del NIR. Mediante el uso de VCD, se determina el e.e de los reactivos y productos en el transcurso de la reacción de epimerización y se analiza la influencia de distintos disolventes en la transformación de reactivos a productos. Se mencionan las características que cada disolvente presenta en el espectro de absorción y se analiza cual es el más apropiado y cual no dependiendo de la estructura del mismo. Así como en la sección 2.4 y 2.5, los autores también hacen uso del análisis PLS para el tratamiento de datos.

Esta revisión también proporciona información acerca de cómo poder mejorar la señal de VCD en los espectros mediante la implementación de un centro metálico, en la sección 2.7 se analiza la influencia del Co (II) en el estudio de  $\alpha$ -aminoácidos quirales y la determinación del e.e en disolución. Es muy interesante esta aplicación ya que estamos hablando de sistemas estereodinámicos de metal-molécula quiral que promueven una conformación enantiomérica sobre otra, esto resulta en una notable ventaja al momento de determinar cualquier molécula quiral. Se espera el uso de otros metales que formen complejos con las moléculas de interés y que de esta manera se pueda incrementar la señal de espectro de VCD, la información detallada la encontramos en la sección mencionada.

La medición del e.e por medio de VCD ha sido usada también en el monitoreo de las reacciones asimétricas asistidas por catalizadores, en la sección 2.8 se discute el monitoreo del e.e de un

epóxido en función de la conversión del reactivo limitante en cuestión, este tipo de análisis ofrecen información que puede ser utilizada para optimizar una reacción.

Como podemos ver, el desarrollo de este trabajo no solo se enfoca puramente en la determinación del e.e en una muestra, este estudio provee información acerca de la utilidad de la técnica, las ventajas que tiene sobre otras, su aplicación en distintas áreas, la practicidad del método, e inclusive las perspectivas a futuro de la implementación de la técnica en análisis de rutina.

A lo largo de esta revisión se profundiza en cada una de las aplicaciones y usos de esta metodología emergente.

## **2.3. Evaluación comparativa entre VCD y rotación óptica para la determinación de la pureza enantiomérica<sup>12</sup>.**

### **2.3.1. Resumen.**

Se utilizó VCD para determinar el e.e. y los resultados se compararon con los obtenidos mediante rotación óptica. La determinación del e.e. por rotación óptica fue más precisa que la realizada por VCD, sin embargo, en los casos en que la rotación óptica es muy pequeña, o diferentes muestras quirales están presentes en una mezcla, la determinación del e.e. por VCD proporciona ventajas con una precisión razonable<sup>12</sup>.

### **2.3.2. Introducción.**

Cuando la rotación óptica de los enantiómeros no se relaciona linealmente con sus concentraciones, esta no se puede utilizar para determinar el e.e. Las impurezas o el disolvente pueden tener un efecto sobre las medidas, introduciendo un error. Esta medición requiere longitudes de trayecto grandes, estos inconvenientes restringen la rotación óptica de la medición precisa del e.e.

Para reducir el error introducido en la medición del e.e., se eligieron muestras que tuvieran las siguientes condiciones: Su rotación óptica se relaciona linealmente con la concentración del enantiómero respectivo, la cantidad de impureza es insignificante y el e.e. en los tres grupos de muestras no es pequeño.

El grupo de muestras 1 son mezclas de (+)/(-)-alcanfor en proporciones variables que tienen varias bandas intensas de VCD en la región de medición. El grupo 2 son mezclas de (+)/(-)-mandelato de etilo con proporciones variables, que tienen un número menor de bandas de VCD en la región de medición. El grupo 3 son mezclas de (+)-alcanfor, (-)-alcanfor, (+)-borneol, y (-)-borneol con proporciones variables. Las intensidades de las bandas de VCD de un enantiómero se relacionan linealmente con su concentración, por lo tanto, el valor del e.e. de una muestra de (+)/(-)-enantiómero corresponde directamente a la intensidad de la banda.

El valor del e.e. de cada mezcla en cada grupo de muestras, se calcula como la relación de la intensidad de la banda VCD con la del enantiómero ópticamente puro y el resultado se compara

con los determinados de la preparación de la muestra por rotación óptica. Cuanto mejor sea el e.e. calculado, mayor será la precisión de la técnica<sup>12</sup>.

### **2.3.3. Sección Experimental.**

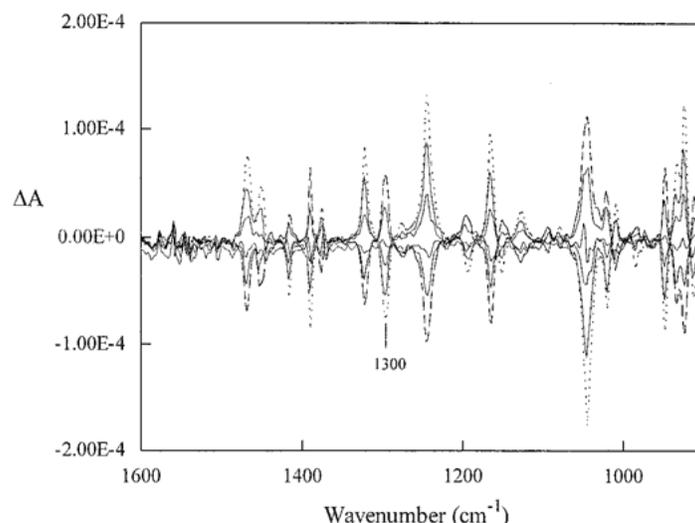
Se usaron muestras de (+)/(-)-alcanfor, (+)/(-)-mandelato de etilo disueltos en CCl<sub>4</sub>. Las muestras de (+)/(-)-mandelato de etilo fueron adquiridas de la compañía química Aldrich. El (+)/(-)-alcanfor fue obtenido de Eastman Organic Chemicals y el (+)/(-)-borneol fue adquirido de Fluka.

Las concentraciones de los grupos de muestras 1, 2 y 3 son 0.7, 0.1 y 0.6 M, respectivamente, se usó CCl<sub>4</sub> como disolvente. Las longitudes utilizadas para los grupos de muestras 1,2 y 3 fueron: 140, 200 y 210 nm respectivamente, se utilizó un espectrómetro comercial (BOMEM-BIOTOOLS, Canadá) para llevar a cabo las mediciones de VCD, las muestras se midieron en una celda con ventanas de BaF<sub>2</sub>. utilizando 0.5 ml de solución. Todos los espectros se obtuvieron a una resolución de 4 cm<sup>-1</sup> y una temperatura de 20°C, el tiempo de recopilación de datos fue de una hora. El espectro crudo de la muestra racémica de VCD se restó de los grupos de muestras 1 y 2 y el espectro crudo de VCD del disolvente se restó de los espectros del grupo de muestras 3.

Las rotaciones ópticas se midieron en un polariómetro AUTOPOL III (Rudolph Research, Nueva Jersey) a 20 °C. Las concentraciones utilizadas para las mediciones de rotación óptica son las mismas que las utilizadas para las mediciones de VCD, las muestras se midieron en una celda con una longitud de 5 mm y se necesitó aproximadamente 1.5 ml de disolución.

### **2.3.4. Resultados y discusión.**

Los espectros VCD del grupo de muestras 1 se muestran en la figura 2.3.1. varias bandas son lo suficientemente intensas como para ser utilizadas para evaluar el e.e., se consideraron tanto el área de banda como su altura. Para reducir el error, se seleccionaron nueve bandas y se promediaron los valores del e.e. calculados. Los valores del e.e. derivados de la preparación de muestras (e.e.<sub>0</sub>), la medición de VCD y la rotación óptica se muestran en la tabla 2.3.1.



**Figura 2.3.1.:** Espectros de VCD del grupo de muestras 1 a una concentración de  $0.7 \text{ M}^{12}$ .

**Tabla 2.3.1:** Comparación de los valores del e.e. del grupo de muestra 1 obtenidos por rotación óptica y VCD<sup>12</sup>.

A partir de VCD					
A partir de la preparación de la muestra	A partir de la rotación óptica (a)	Promedio de varias bandas		Bandas individuales	
		Área	Altura	Área (d)	Altura (e)
+100.00	+100.00	+100.00	+100.00	+100.00	+100.00
+64.04	+64.70	+65.92	+64.90	+68.89	+70.50
+30.07	+29.74	+30.58	+29.73	+32.58	+33.72
-4.89%	-5.17	-	-	-	-
-39.86%	-40.15	-38.88	-41.21	-40.84	-45.57
-74.82%	-74.82	-75.64	-79.56	-84.78	-89.38
$S_{EE}^b$	+ 0.18	+0.81	+1.18	+4.10	+5.16
Interseccion <sup>c</sup>	-100.19+-0.16	-100.08+-0.74	-104.05+-1.08	-107.45+-3.76	-113.06+-4.73
Pendiente	199.97+-0.25	200.66+-1.11	204.7+-1.62	212.26+-5.65	218.75+-7.12

<sup>b</sup>La desviación estándar  $S_{e.e.}$  en la gráfica de e.e. vs la fracción molar de (+)-alcanfor representa la desviación estándar en los valores de Y(e.e.).

<sup>c</sup>Para una correlación lineal, la intersección y la pendiente deberían ser -100 y +2.00, respectivamente. En la gráfica 2.3.2. se entiende que EP=e.e.

Los valores del e.e. calculados del área y la altura de la banda VCD están cerca uno del otro o tienen la misma tendencia que el que se determina a partir de la preparación de la muestra, indicando que el área o altura de la banda se puede utilizar como intensidad de banda.

El uso de áreas de banda conduce a errores más pequeños por lo que es preferible sobre el uso de alturas de banda. Los valores del e.e. obtenidos de una sola banda de VCD aleatoria se desviaron de e.e.<sub>0</sub> hasta un 10% cuando se usó el área, y un 15% cuando se usó la altura. Después de promediar más de nueve bandas, los valores de e.e. concordaron con e.e.<sub>0</sub> dentro

del 1%. Los valores del e.e. se obtuvieron de (a) la rotación óptica, (b) el área media de la banda de VCD (v), (c) la altura media de la banda de VCD, (d) el área de la banda a  $1300\text{ cm}^{-1}$ , (e) la altura de una sola banda a  $1300\text{ cm}^{-1}$ .

La figura 2.3.2. muestra la dependencia lineal del e.e. en la fracción molar de (+)-alcanfor obtenida por diferentes métodos. Estas líneas se desplazaron hacia arriba, las desviaciones estándar, las intersecciones y pendientes de las líneas se enumeran en la tabla 2.3.1. Aunque se observa una relación lineal entre el e.e. y la composición de la muestra en todos los casos, se revela la diferencia en la precisión de los diferentes métodos. La medición del e.e. de una sola banda introdujo más error que el de la media de varias bandas de VCD y los valores del e.e. obtenidos de la rotación óptica tienen el menor error en la medición.

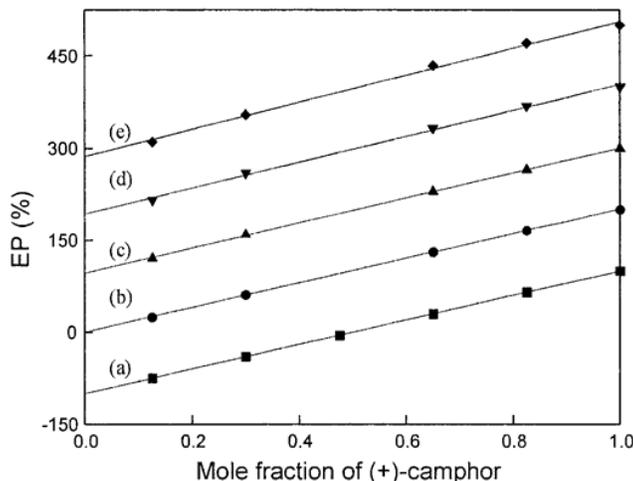
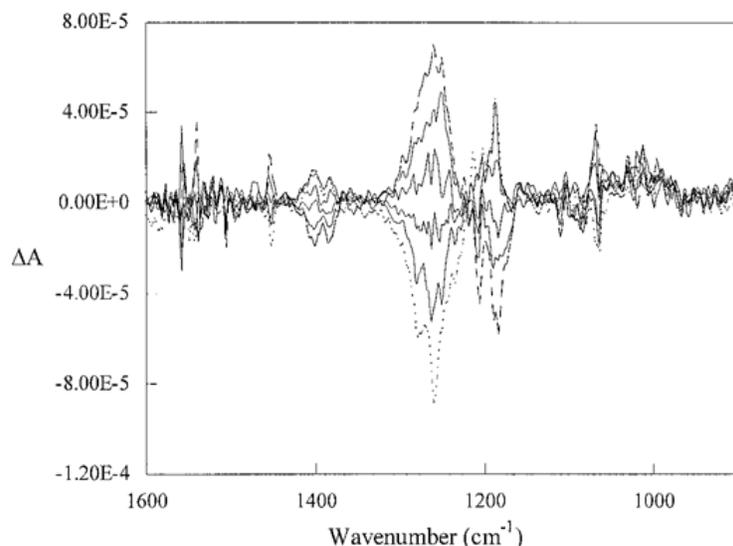


Figura 2.3.2. Relación lineal entre e.e. y fracción de molar de (+)-alcanfor<sup>12</sup>

La figura 2.3.3. muestra los espectros de VCD de mezclas de (+)/(-)-mandelato de etilo con proporciones variables. El mandelato de etilo tiene menos señales de VCD que alcanfor, el cálculo del e.e. se realizó únicamente en la banda de máxima intensidad de VCD. En este caso, la altura de la banda fue tomada como la intensidad de la banda, los valores del e.e. obtenidos de la preparación de muestras, la rotación óptica y la medición de VCD se enumeran en la tabla 2.3.2. Los valores del e.e. obtenidos de la rotación óptica y VCD están en concordancia con e.e.<sub>0</sub> dentro de 1.5 y 2.2%, respectivamente. La relación lineal entre el e.e. y la fracción molar de (-)-mandelato de etilo se muestra en la figura 2.3.4. La desviación estándar es mayor en VCD que la obtenida por la rotación óptica.



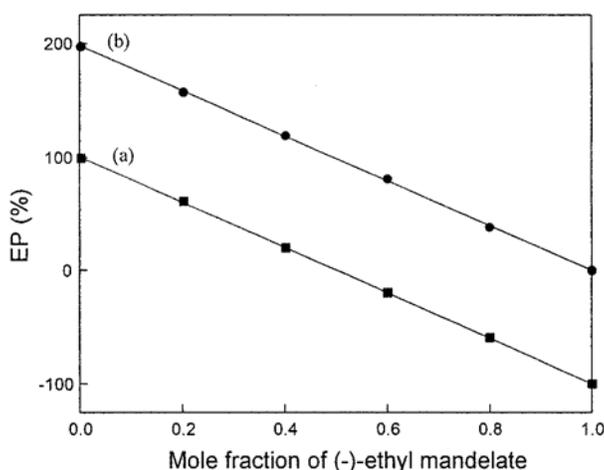
**Figura 2.3.3.** Espectros de VCD del grupo de muestras 2 a una concentración de 0.1 M<sup>12</sup>.

**Tabla 2.3.2.** Comparación del e.e. valores del grupo de muestras 2 obtenido de la rotación óptica y de VCD<sup>12</sup>.

Preparación de la muestra	Rotación óptica	VCD
+99.47	+99.47	+97.43
+59.58	+61.07	+57.42
+19.68	+20.00	+19.66
-20.21	-20.01	-18.95
-60.11	-59.72	-61.76
-100.00	-100.00	-100.00
S <sub>EE</sub> <sup>b</sup>	+0.59	+1.33
Intersección <sup>b</sup>	100.65±0.43	98.29±0.97
Pendiente <sup>c</sup>	-200.49± 0.71	-198.13±1.60

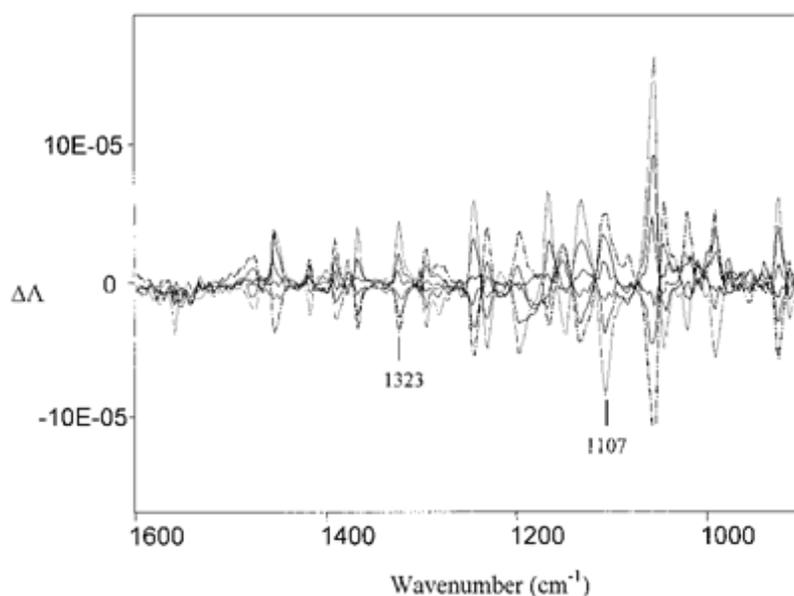
<sup>b</sup>La desviación estándar S<sub>e.e.</sub> en la gráfica del e.e. vs la fracción molar de mandelato de etilo representa la desviación estándar en los valores de Y (e.e.).

<sup>c</sup>Para una correlación lineal, la intersección y la pendiente deberían ser -100 y +2.0, respectivamente.



**Figura 2.3.4.** Relación lineal entre e.e. y la fracción molar de (-)-mandelato de etilo. Los valores del e.e. se obtienen de (a) la rotación óptica (m), (b) VCD (v); La línea (b) se desplazó hacia arriba desde (a). Los valores del e.e. deben ser +100 y -100%, respectivamente, en fracciones molares de 0.0 y 1.0 M para (-)-mandelato de etilo<sup>12</sup>.

El grupo de muestras 3 que contiene (+)-alcanfor, (-)-alcanfor, (+)-borneol, y (-)-borneol, imita la situación cuando se mezcla una muestra quiral con otra de estructura similar. La concentración de todas las mezclas es 0.6 M tanto para la rotación óptica como para las mediciones de VCD. Se eligieron las composiciones de muestra específica para mostrar la diferencia entre la rotación óptica y VCD, las composiciones de enantiómeros individuales de cada muestra fueron variadas, pero la fracción molar total de cada muestra fue 0.5. La figura 2.3.5. muestra los espectros de VCD de la mezcla de alcanfor/borneol con fracciones molares variables, algunas bandas de VCD de alcanfor se superponen con las de borneol. Sin embargo, la banda en  $1323\text{ cm}^{-1}$  se atribuye únicamente al alcanfor, al igual que la banda en  $1107\text{ cm}^{-1}$  a borneol, el e.e. de los dos componentes de la mezcla se puede determinar a partir de estas dos bandas. Las rotaciones ópticas para estas muestras de mezcla se enumeran en la tabla 2.3.3. podemos ver que estos valores medidos son cercanos a cero y no pueden ser utilizados para determinar el e.e. de cada compuesto.



**Figura 2.3.5.** Espectros de VCD del grupo de muestras 3 a una concentración de  $0.6\text{ M}^{12}$ .

Para el grupo de muestras 3, la rotación óptica neta es una suma de las rotaciones ópticas de los cuatro componentes de la mezcla. Es imposible saber la cantidad de cada compuesto o cada componente de un único conjunto de rotaciones ópticas, incluso si medimos la rotación óptica en diferentes longitudes de onda, por lo que el e.e. no se puede determinar a partir de ella. VCD muestra una ventaja distintiva para estos casos, la cantidad de cada compuesto en

la mezcla se puede determinar a partir de las curvas de calibración, como se muestra en la figura 2.3.6. y en la tabla 2.3.3. La fracción molar de alcanfor en la mezcla se determina como la relación de la intensidad de la banda de absorción en  $1323\text{ cm}^{-1}$  a la del alcanfor puro medido bajo las mismas condiciones experimentales, y la fracción molar de borneol en la mezcla se determina a partir de la banda de absorción a  $1107\text{ cm}^{-1}$ . Los valores del e.e. de alcanfor y borneol se determinan a partir de bandas de VCD en  $1323$  y  $1107\text{ cm}^{-1}$ , respectivamente. Las fracciones de alcanfor y borneol y el valor del e.e. de cada componente fue determinado a partir de las bandas de absorción y VCD, se enumeran en la tabla 2.3.3.

**Tabla 2.3.3.** Fracciones de alcanfor y borneol y el valor del e.e. de cada componente determinado a partir de las bandas de absorción y VCD<sup>12</sup>.

						EP <sup>a</sup>				
	Borneol		Alcanfor		Fración molar					
(+)	(-)	(+)	(-)	[ $\alpha$ ] D <sub>20</sub>	Borneol <sup>b</sup>	Alcanfor <sup>c</sup>	Muestra de borneol	Borneol VCD <sup>d</sup>	Muestra de alcanfor	Alcanfor VCD <sup>e</sup>
0.6	0.0	0.0	0.0	1.546	1	0	91.9	91.9	-	-
0.0	0.6	0.0	0.0	-1.682	1	0	-100	-100	-	-
0.0	0.0	0.6	0.0	1.900	0	1	-	-	99.7	99.7
0.0	0.0	0.0	0.6	1.906	0	1	-	-	-100	-100
0.3	0.0	0.0	0.3	-0.131	0.508	0.486	91.9	87.8	-100	-97.2
0.0	0.3	0.3	0.0	0.069	0.506	0.469	-100	-89.5	99.7	104.0
0.24	0.06	0.06	0.24	-0.097	0.502	0.469	53.5	59.9	-61.0	-68.8
0.18	0.12	0.12	0.18	-0.35	0.504	0.469	15.1	26.2	-22.2	-26.1
0.12	0.18	0.18	0.12	0.002	0.524	0.500	-23.2	-21.2	16.8	21.2
0.06	0.24	0.24	0.06	0.041	0.517	0.460	-61.6	-65.0	55.8	58.9
S <sub>EE</sub> <sup>f</sup>	-	-	-	-	-	-	+7.16	-	+4.90	
Intersección <sup>g</sup>	-	-	-	-	-	-	3.6+2.93	-	0.55+2.0	
Pendiente <sup>g</sup>	-	-	-	-	-	-	.97+0.04	-	1.03+-.03	

<sup>a</sup>Enantiómero puro (+) corresponde a +100.00% y un enantiómero puro (-) a -100.00%

<sup>b</sup>Deducido de la intensidad de las bandas de absorción a  $1107\text{ cm}^{-1}$

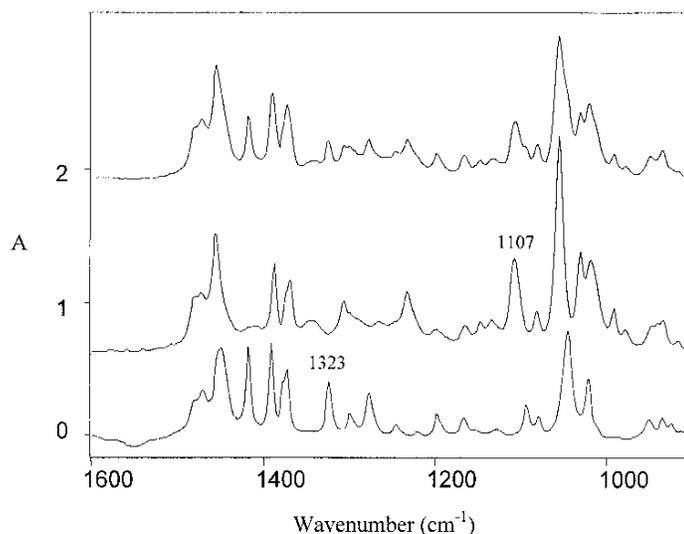
<sup>c</sup> Deducido de la intensidad de las bandas de absorción a  $13237\text{ cm}^{-1}$

<sup>d</sup>Obtenido de las bandas de VCD a  $1107\text{ cm}^{-1}$

<sup>e</sup>Obtenido de las bandas de VCD a  $1323\text{ cm}^{-1}$

<sup>f</sup>Desviación estándar en la gráfica de las últimas filas del e.e. de VCD vs e.e.<sub>0</sub> para la preparación de la muestra. Representa la desviación estándar en los valores de Y.

<sup>g</sup>Para una correlación ideal, la intersección y la pendiente debería de ser 0 y +1 respectivamente.



**Figura 2.3.6.** Espectros de absorción para el alcanfor puro (abajo), borneol (en medio), y la mezcla de alcanfor y borneol (arriba) en una fracción molar de 0.5<sup>12</sup>.

Podemos ver que los valores del e.e. determinados con VCD coinciden con los determinados a partir de la preparación de la muestra. Las desviaciones estándar para alcanfor y borneol son 7.16 y 4.9%, respectivamente. Estas desviaciones estándar representan estimaciones superiores porque los valores del e.e. se obtuvieron de las intensidades máximas de VCD de una sola banda. No se trató el área de banda como intensidad porque las líneas base y las bandas vecinas superpuestas hacen que sea difícil sin manipulaciones de datos adicionales. Para los puntos de inicio y para las bandas en todas las muestras que elegimos, se puede obtener una mayor precisión, promediando varias bandas como se hizo en el grupo de muestras 1. VCD muestra clara ventaja sobre el método de rotación óptica, el método detecta la existencia de diferentes componentes directamente, mientras que la rotación óptica no es capaz de hacerlo. Cuando varias muestras quirales diferentes contribuyen a la rotación óptica, el e.e. no se puede obtener directamente de la medición de rotación óptica. Por el contrario, la presencia de diferentes muestras quirales puede ser claramente identificadas de las mediciones de VCD y mediante el control de las bandas que se atribuyen a una muestra quiral dada, se pueden determinar los valores de e.e. de muestras individuales.

## **2.4. Determinación del e.e. en muestras de moléculas quirales usando espectroscopía VCD por transformada de Fourier (FT-VCD): monitoreo de una reacción de simulación en tiempo real<sup>11</sup>.**

### **2.4.1. Resumen:**

Se usaron celdas de flujo para cambiar la fracción molar y el e.e. de una muestra, al inyectar disoluciones preparadas de una fracción molar elegida con un e.e. preseleccionado dentro del sistema durante la medición. Se demostró el potencial de VCD para monitorear la composición y el e.e. de una reacción química de especies quirales usando una celda de flujo<sup>11</sup>.

### **2.4.2. Introducción:**

FT-VCD es útil para monitorear los cambios en el e.e. de moléculas quirales en tiempo real usando un muestreo de celdas de flujo, al igual para monitorear simultáneamente los cambios en la fracción composicional y e.e de una mezcla de dos moléculas quirales. Para  $\alpha$ -pineno, alcanfor, y borneol, la precisión del e.e. para una sola especie es aproximadamente 1% mientras que el e.e. en dos especies, es aproximadamente del 2%. El uso de las celdas de flujo está limitado a medidas de puntos espectrales únicos. FT-VCD y actividad óptica Raman (ROA) son actualmente las únicas técnicas en toda la actividad óptica donde regiones de espectros de longitud de onda múltiple, pueden ser medidos simultáneamente.

### **2.4.3. Sección experimental.**

Se uso una fuente dual de polarización modulada por un espectrómetro de VCD en un rango espectral de  $800-200\text{cm}^{-1}$ . Todos los espectros fueron medidos a una temperatura ambiente con una resolución de  $4\text{ cm}^{-1}$ , se usó un sistema de celda de flujo para la introducción de la muestra dentro del espectrómetro, incluyendo una bomba y una celda de flujo de  $\text{BaF}_2$  de  $100\text{ }\mu\text{m}$  de longitud. Para trasportar la muestra, se usaron tubos de teflón de un  $1/8$  de diámetro exterior y un  $1/16$  de diámetro interno, las muestras de (1R)-(+)- $\alpha$ -pineno, (1S)-(-)- $\alpha$ -pineno, (1S)-(-)-alcanfor, (1R)-(+)-alcanfor, [(1S)-endo]-(-)-borneol) al igual que el disolvente  $\text{CCl}_4$  fueron adquiridos de Sigma Aldrich sin una purificación adicional, la pureza de las moléculas quirales usadas tienen valores de e.e. en el rango de 98-99%, y por conveniencia de cálculos, se asumió que tienen una pureza óptica del 100%.

Las disoluciones fueron bombeadas dentro del sistema y el espectrómetro realizó mediciones continuas en bloques de 20 a 24 muestras, cada uno por un periodo de tiempo de 10 a 20 minutos. Para esto, se consideraron bloques de números pares e impares, los bloques pares fueron analizados en volúmenes de 0.5 a 3 ml por segundo, las disoluciones originales y las adicionales se mezclaron y fluyeron a través del sistema. El bloque número impar fue usado para medir los espectros de IR y VCD. En cada bloque, el 10% de las muestras fue usado para mediciones de IR y el otro 90% para las de VCD.

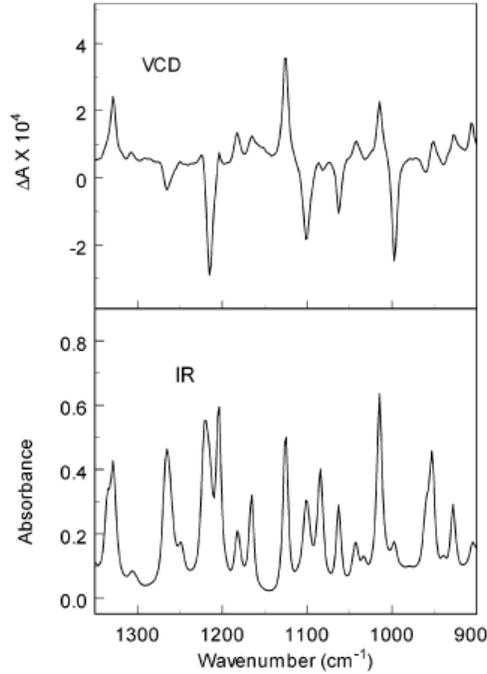
El análisis PLS fue llevado a cabo con el PLSplus/IQ module in Grams/32 AI (6.00), empleando un método de validación cruzada. Todos los espectros usados en el análisis PLS fueron de datos crudos, la precisión estadística de los modelos de calibración está descrita por el coeficiente de correlación ( $R^2$ ) y el error de la media cuadrática de la validación cruzada (RMSECV). El número óptimo de factores de PLS por cada componente fue determinado por medio de un cálculo predictivo del error residual de suma de cuadrados.

Para concentraciones de  $C_A$  y  $C_B$  de los enantiómeros A y B de una molécula quiral en disolución, la suma de  $C_A$  y  $C_B$  puede ser obtenida de las mediciones de IR, y la diferencia de  $C_A - C_B$  obtenida de las mediciones de VCD. Así, el e.e. puede ser obtenido por la combinación de las mediciones de IR y VCD.

#### **2.4.4. Resultados y discusión.**

##### **2.4.4.1. Disoluciones de un componente:**

El  $\alpha$ -pineno y el alcanfor fueron seleccionados para determinar la precisión de la técnica. La figura 2.4.1 muestra los espectros de IR y VCD de una disolución de (1R)-(+)- $\alpha$ -pineno a una concentración 3.146 M en  $CCl_4$ . Para la celda de flujo, la disolución original fue de 8 ml de (1R)-(+)- $\alpha$ -pineno a una concentración 3.146 M. Se hicieron adiciones de una disolución de (1S)-(-)- $\alpha$ -pineno 3.146 M en  $CCl_4$  en volúmenes de 0.5 ml (6 adiciones) y 1 ml (5 adiciones).

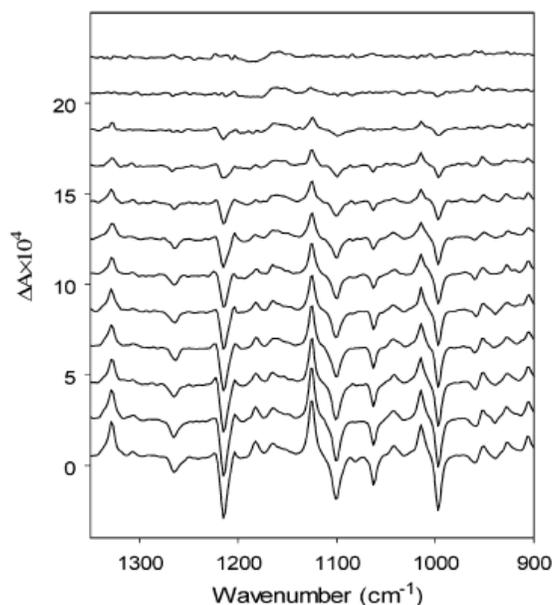


**Figura 2.4.1.:** Espectros de IR y VCD de (1R)-(+)- $\alpha$ -pineno a una concentración 3.14 M en disolución de  $\text{CCl}_4$ <sup>11</sup>

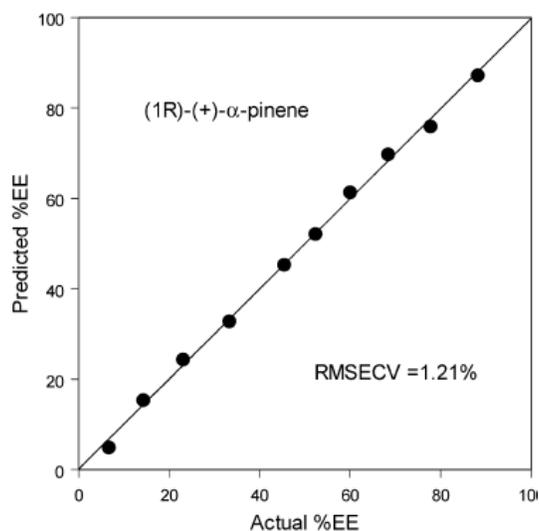
Cada bloque fue medido cada 10 minutos (1 min para IR y 9 min para VCD), los espectros de VCD de la celda de flujo se muestran en la figura 2.4.2, nótese que los espectros de IR no cambian y la disminución en el e.e. fue monitoreado por cambios en el espectro de VCD. Este espectro proporciona datos que fueron analizados por PLS para el rango de 900-1350  $\text{cm}^{-1}$ . Los resultados del análisis PLS para la celda de flujo se listan en la tabla 2.4.1. y la grafica se muestra en la figura 2.4.3.

**Tabla 2.4.1:** Resultados del análisis PLS del e.e. del  $\alpha$ -pineno en una celda de flujo<sup>11</sup>.

e.e. actual	e.e. predicho	Varianza (%)
88.24	87.19	1.05
77.78	75.89	1.89
68.42	69.74	-1.32
60.00	61.33	-1.33
52.38	52.16	0.22
45.45	45.32	0.13
33.33	32.82	0.51
23.08	24.39	-1.31
14.29	15.41	-1.12
6.67	4.92	1.75
RMSECV	1.21	-



**Figura 2.4.2:** Espectro de VCD de  $\alpha$ -pineno en una celda de flujo. De abajo a arriba, el e.e. de (1R)-(+)- $\alpha$ -pineno es: 100.00, 88.24, 77.78, 68.42, 60.00, 52.38, 45.45, 33.33, 23.08, 14.29, 6.67 y 0.00<sup>11</sup>.



**Figura 2.4.3:** Resultados del análisis PLS del e.e. para (1R)-(+)- $\alpha$ -pineno en una celda de flujo<sup>11</sup>.

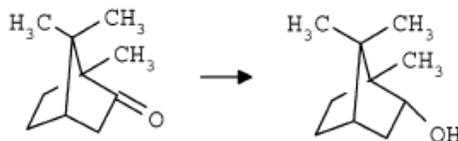
El segundo sistema de un componente fue el alcanfor, para esta celda de flujo, la disolución original fueron 10.0 ml de una disolución 1.0 M de (1S)-(-)-alcanfor en  $\text{CCl}_4$  con adiciones consecutivas: 2 de 0.5 ml, 7 de 1.0 ml, y una de 2.0 ml para los bloques de números pares, cada bloque fue medido en 20 minutos 2 min para IR y 18 min para VCD, la magnitud de las bandas de VCD en el alcanfor son un factor de aproximadamente 2 más pequeños que las del  $\alpha$ -pineno, por lo que los resultados del análisis PLS en esta celda de flujo se presentan en la tabla 2.4.2.

**Tabla 2.4.2:** Resultados del análisis PLS del e.e. del alcanfor en una celda de flujo<sup>11</sup>.

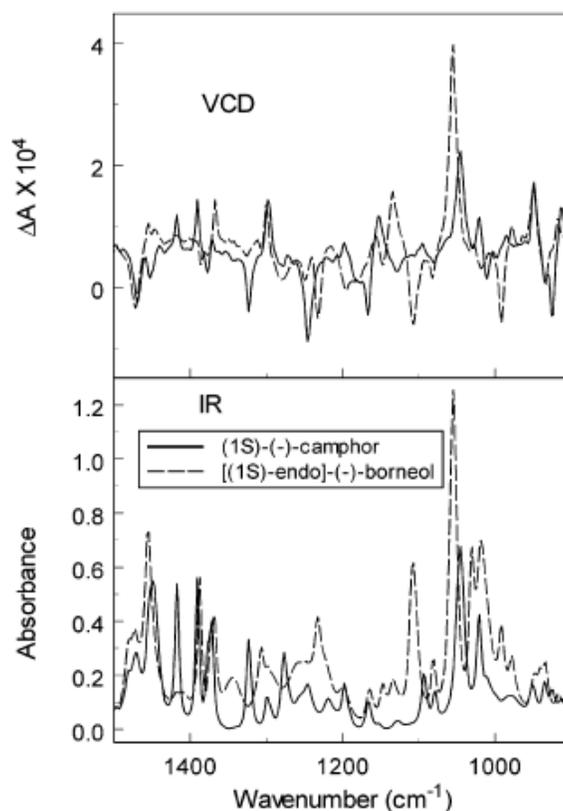
e.e. actual	e.e. predicho	Varianza (%)
90.48	89.54	0.94
81.82	82.09	-0.27
66.67	66.21	0.46
53.85	53.05	0.80
42.86	43.92	-1.06
33.33	34.04	-0.71
25.00	23.80	1.20
17.65	18.80	-1.15
11.11	11.95	-0.84
RMSECV	0.88	-

#### 2.4.4.2. Disoluciones de dos componentes.

La reducción de una cetona a un alcohol fue simulada en este estudio como se muestra en la figura 2.4.4. Se compararon los espectros de IR y VCD 1.0 M de (1S)-(-)-alcanfor y 1.0 M de [(1S)-endo]-(-)-borneol en CCl<sub>4</sub>. Para todas las disoluciones de dos componentes, las mediciones de VCD fueron establecidos en un tiempo de 20 min. (2 min para IR y 18 min para VCD).



**Figura 2.4.4:** Simulación de la reacción química del (1S)-(-)-alcanfor al [(1S)-endo]-(-)-borneol<sup>11</sup>.



**Figura 2.4.5.** Comparación de los espectros IR y VCD del (1S)-(-)-alcanfor y [(1S)-endo]-(-)-borneol, ambos a una concentración de 1.0 M en disolución de  $\text{CCl}_4$ <sup>11</sup>.

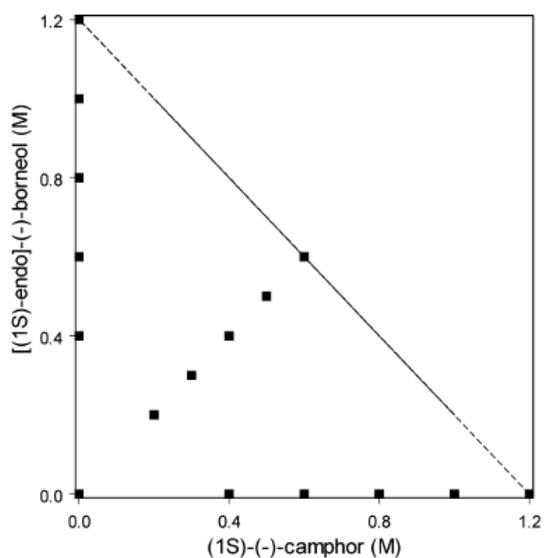
#### 2.4.4.3. Construcción del modelo.

Se prepararon 16 disoluciones en  $\text{CCl}_4$  con varias composiciones de (1S)-(-)-alcanfor y [(1S)-endo]-(-)-borneol), fueron analizadas por medio de la celda de flujo y comprendieron una curva de calibración para ambos, IR y VCD. Los detalles de la composición de las muestras de calibración se presentan en la tabla 2.4.3 y en la figura 2.4.6. Cuando la intensidad de absorción en una región del espectro es más grande que 1, solo la relación señal-ruido de VCD decaerá y en algunos casos el VCD en esa región no puede ser medido, así, la región de 1070-1035  $\text{cm}^{-1}$  no es usada para un análisis quimiométrico. La validación cruzada para IR y VCD son presentados en la tabla 2.4.3. Para el modelo de IR el número de factores óptimos fueron: 5 para el alcanfor y 4 para el borneol, los coeficientes de correlación fueron 0.9997 y 0.9996 respectivamente.

**Tabla 2.4.3:** Conjunto de datos de calibración de disolución de dos componentes y resultados de la validación cruzada de los modelos de PLS<sup>a, 11</sup>

Número de muestra	Alcanfor				Borneol			
	Valor actual	Predicción IR	Predicción VCD	e.e. predicho	Valor actual	Predicción modelo IR	Predicción VCD	e.e. predicho
1	0.0000	-0.0106	0.0100	-	0.0000	0.0072	0.0312	-
2	0.0000	0.0017	0.0041	-	0.4000	0.3815	0.3887	101.90
3	0.0000	-0.0041	0.0033	-	0.6000	0.5991	0.5990	99.98
4	0.0000	0.0000	0.0190	-	0.8000	0.8020	0.7809	97.36
5	0.0000	-0.0016	0.0036	-	1.0000	1.0090	0.9746	96.59
6	0.0000	0.0073	-0.0353	-	1.2000	1.1914	1.2122	101.74
7 <sup>b</sup>	0.2000	0.1950	0.2146	110.08	0.2000	0.2147	0.1812	84.42
8	0.3000	0.3031	0.2958	97.59	0.3000	0.3061	0.2921	95.43
9	0.4000	0.3999	0.3961	99.05	0.0000	-0.0003	0.0187	-
10	0.4000	0.4031	0.3874	96.11	0.4000	0.3984	0.3910	98.14
11	0.5000	0.5051	0.5175	102.47	0.5000	0.5059	0.5047	99.76
12	0.6000	0.6040	0.5873	97.23	0.0000	-0.0014	0.0260	-
13	0.6000	0.5870	0.5771	98.31	0.6000	0.5945	0.6236	104.89
14	0.8000	0.8071	0.7915	98.07	0.0000	-0.0014	0.0038	-
15	1.0000	1.0019	1.0135	101.15	0.0000	-0.0006	0.0011	-
16	1.2000	1.1870	1.2072	101.70	0.0000	-0.0005	-0.0338	-
RMSECV	-	0.0050	0.0126	2.33	-	0.0076	0.0158	2.97

<sup>a</sup>Las muestras 1, 6 y 16 estuvieron fuera del rango de la predicción del modelo PLS en la validación cruzada y no se usaron cálculos de RMSEC. <sup>b</sup>Valor fuera de la predicción del e.e.



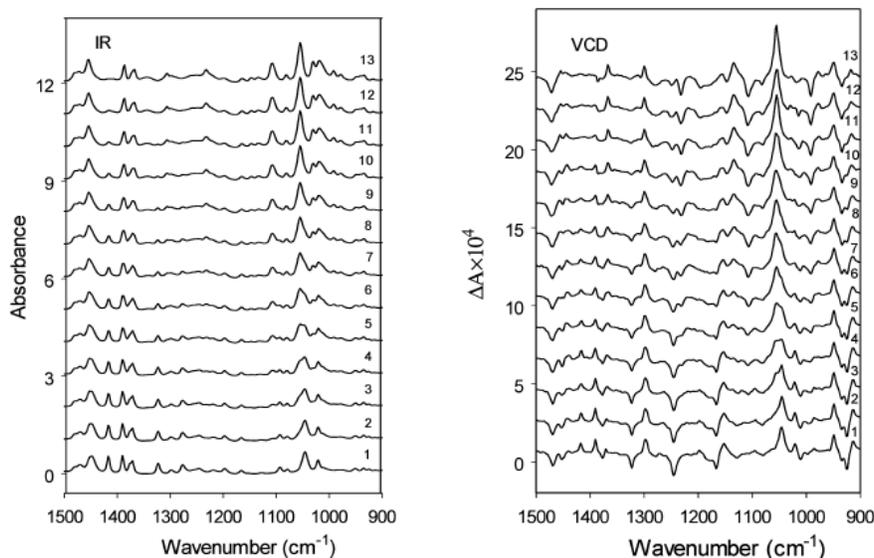
**Figura 2.4.6:** Concentración de [(1S)-endo]-(-)-borneol vs. la concentración de (1S)-(-)-alcanfor para las muestras de calibración.<sup>11</sup>

Se combinaron los resultados de los modelos de IR y de VCD, y se predijeron los valores del e.e. en la calibración de muestra. Los valores predichos del e.e. de la muestra 7 tienen muchos más errores que otras, esta muestra tiene la concentración más bajas de todas las muestras en la calibración, y dados estos errores se pueden considerar cuatro factores influyentes. En primer lugar, la absorbancia de los espectros de IR y VCD de la misma muestra no fue medida al mismo tiempo. Segundo, los valores del e.e. fueron calculados de una proporción de dos valores

predichos. Tercero, para concentraciones bajas, la proporción de la señal de ruido de un espectro de VCD empeora. Finalmente, errores aleatorios pueden ocurrir cuando la muestra 7 fue medida. Excluyéndola como un valor atípico, los errores de los cuadrados mínimos de la predicción fueron de 2.33% para el alcanfor y de 2.97% para el borneol.

#### 2.4.4.4. Reacción de simulación I.

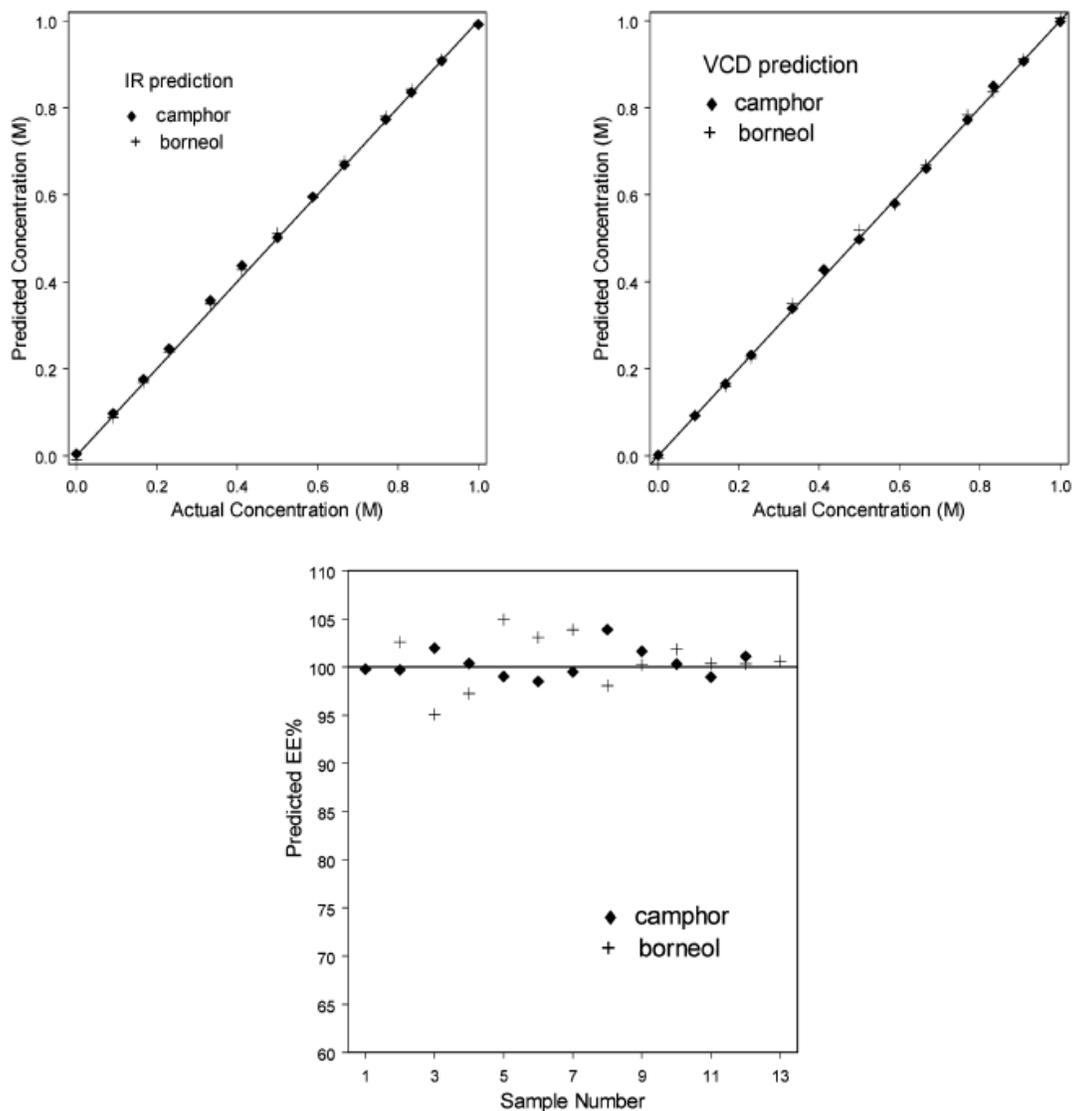
Se diseñaron dos celdas de flujo para simular la reacción química de (1S)-(-)-alcanfor a [(1S)-endo]-(-)-borneol en la cual la reacción procede de reactivos a productos al 100% de e.e. para ambas moléculas. Para el primer experimento, la disolución original fue de 10 ml, 1.0 M al 100% de e.e. de alcanfor en CCl<sub>4</sub> con adiciones consecutivas de volúmenes de 1.0, 1.0, 1.0, 2.0, 2.0 y 3.0 ml. Para la segunda celda de flujo de borneol 1M el mismo procedimiento fue ejecutado. La suma de las concentraciones de (1S)-(-)-alcanfor y [(1S)-endo]-(-)-borneol no cambiaron, el único cambio fue la fracción molar de (1S)-(-)-alcanfor y (1S)-endo(-)-borneol, porque ambos reactivos y productos son el 100% e.e. en el experimento, IR o VCD pueden ser usados para monitorear esta reacción separadamente. La figura 2.4.7 muestra la absorbancia de IR y los espectros de VCD para la celda de flujo, las concentraciones de los reactivos y de los productos durante la reacción fueron predichos por los modelos de PLS se presentan en la tabla 2.4.4 y la figura 2.4.8.



**Figura 2.4.7:** Espectros de IR y VCD para el experimento de simulación de la reacción química. La fracción molar de (1S)-(-)-alcanfor relativa a [(1S)-endo]-(-)-borneol del espectro descrito en la tabla 3: 100.00, 90.91, 83.33, 76.92, 66.67, 58.82, 50.00, 41.18, 33.33, 23.08, 16.67, 9.09 y 0.00%<sup>11</sup>

**Tabla 2.4.4:** Resultados del análisis PLS de alcanfor-borneol. Reacción de simulación experimento 1<sup>11</sup>.

Número de muestra	Alcanfor				Borneol			
	Valor actual (M)	IR predicho (M)	VCD predicho (M)	e.e. predicho	Valor actual (M)	IR predicho (M)	VCD predicho (M)	e.e. predicho
1	1.0000	0.9916	0.9978	100.63	0.0000	-0.0092	-0.0055	-
2	0.9091	0.9076	0.9063	99.86	0.0909	0.0873	0.0908	104.04
3	0.8333	0.8350	0.8496	101.75	0.1667	0.1647	0.1585	96.27
4	0.7692	0.7729	0.7720	99.89	0.2308	0.2328	0.2245	96.42
5	0.6667	0.6684	0.6621	98.77	0.3333	0.3414	0.3497	102.44
6	0.5882	0.5951	0.5794	97.35	0.4118	0.4177	0.4245	101.62
7	0.5000	0.5017	0.4975	99.15	0.5000	0.5002	0.5193	103.82
8	0.4118	0.4177	0.4277	102.41	0.5882	0.5939	0.5768	97.11
9	0.3333	0.3411	0.3387	99.30	0.6667	0.6775	0.6682	98.63
10	0.2308	0.2349	0.2315	98.57	0.7692	0.7799	0.7832	100.43
11	0.1667	0.1676	0.1649	98.44	0.8333	0.8423	0.8365	99.31
12	0.0909	0.0926	0.0919	99.29	0.9091	0.9118	0.9122	100.04
13	0.0000	0.0040	0.0013	-	1.0000	0.9914	1.0059	101.46
RMSEP		0.0046	0.0074	1.42	-	0.0070	0.0101	2.57



**Figura 2.4.8:** Resultados del análisis PLS de la reacción de simulación del alcanfor-borneol<sup>11</sup>.

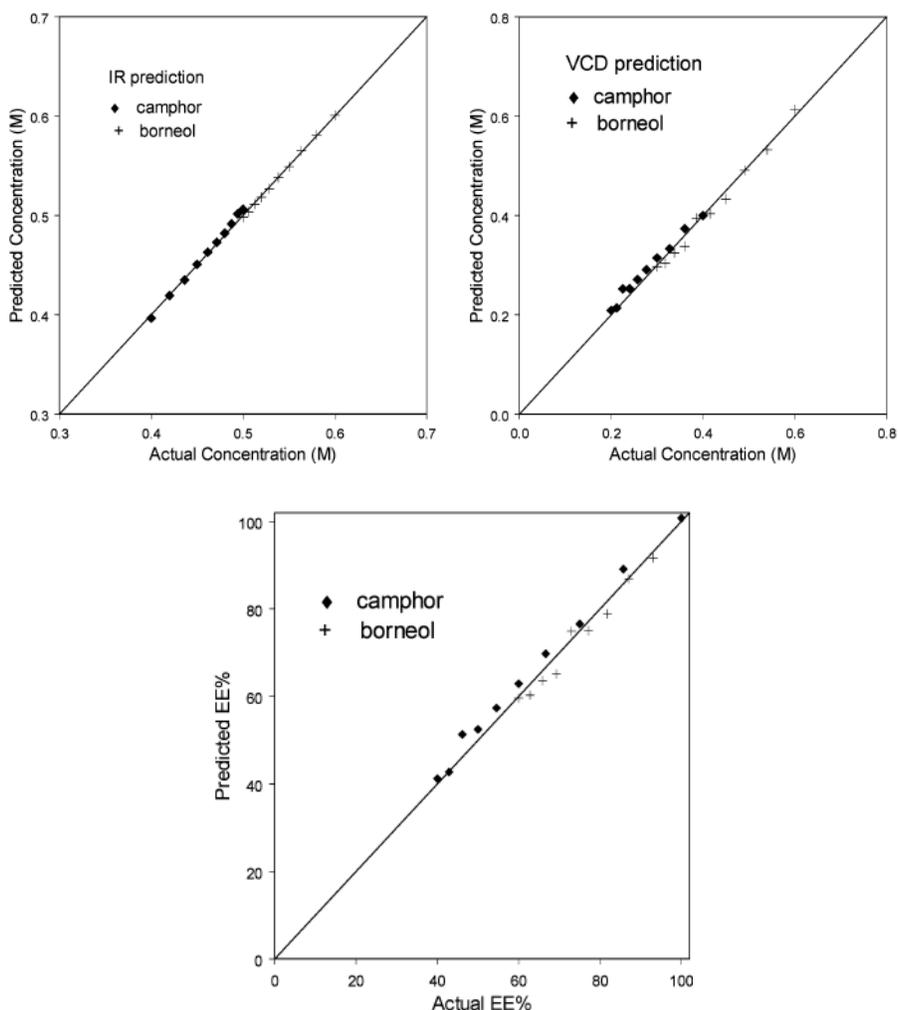
### 2.4.4.5. Reacción de simulación II.

El alcanfor y el borneol fueron mezclados a diferentes fracciones molares y diferentes e.e., estas mediciones se realizaron para determinar que la técnica puede ser usada para monitorear la conversión del reactivo a producto cuando ambas fracciones molares y el e.e. de ambas especies cambian con el tiempo. La disolución original fue de 9.0 ml 0.6 M al 100% e.e. de [(1S)-endo]-(-)-borneol y 0.4 M al 100% e.e. de (1S)-(-)-alcanfor disueltos en CCl<sub>4</sub>. Las adiciones fueron de 0.4 M al 0% e.e. de [(1S)-endo]-(-)-borneol y 0.6 M al 0.0% e.e. de (1S)-(-)-alcanfor en CCl<sub>4</sub>. El volumen agregado fue de 1.0 ml para cada inyección. En total, 10 muestras fueron preparadas y medidas por este método.

Las fracciones molares y el e.e. del alcanfor y borneol cambian. El IR solo puede ser usado para monitorear los cambios en la fracción molar y VCD para monitorear los cambios en el e.e. de ambas moléculas. Debido a la similitud del alcanfor y el borneol y el pequeño cambio de la fracción molar, los espectros de IR y VCD durante el experimento no cambian dramáticamente. Los resultados están listados en la tabla 2.4.5 y la figura 2.4.9.

**Tabla 2.4.5:** Resultados del análisis PSL de la reacción de simulación del alcanfor-borneol. Experimento 2<sup>11</sup>.

Número de muestra	IR		VCD		e.e.	
	Valor actual (M)	Valor predicho (M)	Valor actual (M)	Valor predicho (M)	Valor actual	Valor predicho
<b>Alcanfor</b>						
1	0.4000	0.3966	0.4000	0.3995	100.00	100.74
2	0.4200	0.4193	0.3600	0.3735	85.71	89.08
3	0.4364	0.4349	0.3273	0.3330	75.00	76.57
4	0.4500	0.4508	0.3000	0.3143	66.67	69.74
5	0.4615	0.4628	0.2769	0.2911	60.00	62.90
6	0.4714	0.4729	0.2571	0.2712	54.55	57.34
7	0.4800	0.4820	0.2400	0.2529	50.00	52.46
8	0.4875	0.4913	0.2250	0.2522	46.15	51.33
9	0.4941	0.5013	0.2118	0.2142	42.86	42.73
10	0.5000	0.5060	0.2000	0.2086	40.00	41.23
RMSEP	-	0.0026	-	0.0034	-	2.67
<b>Borneol</b>						
1	0.6000	0.6006	0.6000	0.6129	100.00	102.03
2	0.5800	0.5809	0.5400	0.5324	93.10	91.66
3	0.5636	0.5650	0.4909	0.4910	87.10	86.90
4	0.5500	0.5450	0.4500	0.4329	81.82	78.84
5	0.5385	0.5381	0.4154	0.4036	77.14	75.00
6	0.5286	0.5266	0.3857	0.3944	72.97	74.90
7	0.5200	0.5183	0.3600	0.3376	69.23	65.13
8	0.5125	0.5112	0.3375	0.3250	65.85	63.57
9	0.5059	0.5035	0.3176	0.3036	62.79	60.29
10	0.5000	0.4982	0.3000	0.2939	60.00	59.59
RMSEP	-	0.0015	-	0.0126	-	2.28



**Figura 2.4.9:** Resultados de los análisis de PLS de la reacción de simulación de alcanfor-borneol. Experimento 2<sup>11</sup>.

FT-VCD puede ser usado para monitorear simultáneamente el e.e. de múltiples moléculas quirales en función del tiempo. En el caso del monitoreo de e.e. de especies individuales, su ventaja radica en que cada punto en el espectro representa una medida independiente de e.e.

El e.e. muestra estar en el rango de 1-2% para las resoluciones espectrales escogidas, es decir  $4\text{ cm}^{-1}$ , esta precisión demuestra que puede ser incrementada a razón de 1% usando resoluciones bajas a los mismos tiempos de determinación de señales.

Los resultados sugieren que buenas precisiones pueden ser logradas con 1 min de medición de VCD con una resolución de 8 o  $16\text{ cm}^{-1}$ . En el caso del monitoreo simultaneo de e.e. de dos o más especies, FT-VCD tiene una ventaja distintiva sobre todos los espectros tradicionales individuales de monitoreo de puntos de quiralidad. Dando la distinción de espectros de IR y

VCD para diferentes especies químicas, PLS puede seguir la composición fraccional de múltiples especies presentes en una muestra usando espectroscopia FT-IR o FT-VCD. Mediciones de puntos individuales de actividad óptica, tal como la rotación óptica o CD en un punto de longitud de onda fijo, no puede competir con medidas múltiples de IR y VCD que son obtenidas usando métodos FT.

Para VCD, los casos más difíciles surgen cuando la molécula es grande y tiene varios estados conformacionales a temperatura ambiente y cuando la molécula se disuelve fácilmente en disolventes poco favorables para las mediciones de IR. Los estados de conformación múltiple para VCD tienden a tener oposición a espectros de VCD en algunas regiones del espectro y esto puede ocasionar una señal baja en la intensidad de VCD, la relación señal-ruido, y la precisión en los estudios del e.e.

## **2.5. Determinación del e.e. por FT-VCD-NIR: monitoreo de una reacción de simulación en tiempo real<sup>13</sup>.**

### **2.5.1. Resumen.**

Se usó FT-VCD-NIR acoplado a celdas de flujo para seguir los cambios en el e.e. en muestras quirales a través del tiempo. Para las moléculas estudiadas,  $\alpha$ -pineno, alcanfor y borneol, la exactitud en los cambios del e.e. para una sola especie fue aproximadamente del 2%, mientras que para el seguimiento simultáneo de los cambios del e.e. en dos especies, es aproximadamente del 3%. Estos hallazgos muestran la utilidad de FT-VCD-NIR para el monitoreo en tiempo real de la composición y el e.e. de las reacciones químicas que implican la síntesis de moléculas quirales<sup>13</sup>.

### **2.5.2. Introducción.**

El método de celda de flujo permitió cambiar la fracción molar y el e.e. de las mezclas de muestras inyectando disoluciones preparadas de fracción molar y de e.e. conocidos en el sistema durante las mediciones. La precisión alcanzada para la determinación del e.e. de dos especies, con cambios simultáneos en la fracción molar fue entre 2 y 3% para los tiempos de recolección de muestras, en el orden de 20 min por punto de datos a una resolución de 4  $\text{cm}^{-1}$ . Esto permitió simular el monitoreo del curso de las reacciones químicas de las especies quirales, así, podemos probar su efectividad sin eliminar la muestra del instrumento. Mover la celda entre las mediciones introduce una fuente de error y la variación de línea de base no está presente cuando la muestra se fija a lo largo del transcurso de muchas mediciones.

En comparación con el MIR, las mediciones en el NIR son más sensibles a los cambios ambientales, tales como la temperatura, la humedad, la posición de la muestra, etc. La forma de la banda, la posición y la intensidad de las bandas en la región NIR se ven más fuertemente afectadas por las interacciones moleculares que las observadas normalmente en la región de VCD-NIR. Se usó PLS para analizar los datos del e.e.<sup>13</sup>.

### **2.5.3. Sección experimental.**

Se utilizó un espectrómetro FT-VCD-NIR de doble polarización en el rango espectral 3800-10000  $\text{cm}^{-1}$ . Los espectros se determinaron a temperatura ambiente con una resolución de 16

cm<sup>-1</sup>. Se empleó un sistema de celdas de flujo para la introducción de muestras dentro del espectrómetro que incluía una bomba (laboratorios internacionales de cristal, Garfield, NJ), una celda de flujo de cuarzo Suprasil (Hellma, Plainview, NY) con una longitud de trayectoria de 10 mm y un depósito de 40 ml. Para el transporte de muestras, se utilizaron tubos de teflón con diámetro exterior de 1/8 pulg. y diámetro interior de 1/16 pulg.

### **2.5.3.1. Muestras.**

Se usaron muestras de (1R)-(+)- $\alpha$ -pineno, (1S)-(-)- $\alpha$ -pineno, (1S)-(-)-alcanfor, (1R)-(+)-alcanfor, [(1S)-endo]-(-)-borneol, [(1R)-endo]-(+)-borneol, y CCl<sub>4</sub>. Fueron adquiridos de Sigma Aldrich y usados sin purificación adicional. La disolución original se colocó en el depósito de la muestra y se bombeó al sistema de celdas de flujo, el espectrómetro se configuró para tiempos de medición de 30 min, se utilizó el 10% del tiempo para NIR y se utilizó el 90% del tiempo para VCD. Se inyectaron de 0.5 a 2 ml de una segunda disolución en el depósito de muestra, se generó una nueva disolución con una composición diferente y se midieron los espectros de absorbancia y VCD.

### **2.5.3.2. Disoluciones de un solo componente.**

Se seleccionaron dos moléculas quirales,  $\alpha$ -pineno y alcanfor, para probar la precisión de la técnica.  $\alpha$ -pineno, en la figura 2.5.1 se presentan los espectros de absorbancia NIR y VCD-NIR de 0.25 M de (1R) -(+)- $\alpha$ -pineno en CCl<sub>4</sub> en una celda de flujo de cuarzo de longitud de trayecto de 10 mm. La línea de base del espectro VCD-NIR está muy lejos de cero debido a la imperfección óptica de las ventanas de la celda y la sensibilidad del detector a diferentes estados de radiación linealmente polarizada. El espectro VCD-NIR de la muestra comparte una misma línea base con la celda de flujo vacía, el espectro real de la muestra se puede obtener eliminando el espectro de VCD de muestra sin procesar y el espectro de VCD de celda vacía. Para el experimento de celdas de flujo, la disolución original fue 12.0 ml de disolución 0.25 M de (1R)-(+)- $\alpha$ -pineno en CCl<sub>4</sub>. La disolución complemento era 0.25 M de (1S)-(-)- $\alpha$ -pineno en CCl<sub>4</sub>, con volúmenes consecutivos de 0.5 a 3.0 ml. Mediante la inyección de la disolución complemento en el depósito de muestra, podemos obtener muestras con la misma concentración total pero diferente e.e.

En la tabla 2.5.1, se identifican las 26 disoluciones de  $\alpha$ -pineno en  $\text{CCl}_4$  con diferentes valores de e.e. medidos en dos experimentos en días consecutivos. La magnitud de los espectros de VCD es normalmente de 4 a 5 órdenes más pequeñas que su intensidad de absorbancia correspondiente, por lo tanto, en comparación con la absorbancia NIR, encontramos que la línea base de VCD-NIR es aún más sensible a los cambios ambientales.

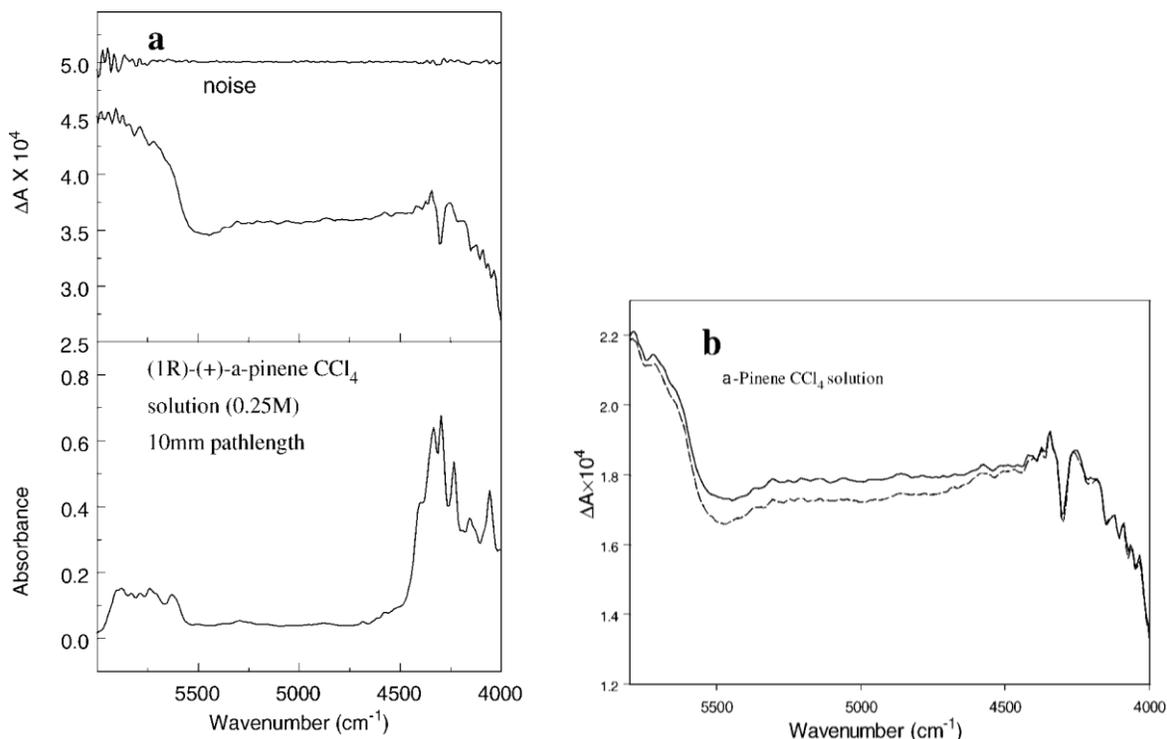


Figura 2.5.1. (a) Espectros de absorbancia NIR (Abajo) y VCD (Arriba) de 0.25 M (1R)-(+)- $\alpha$ -pineno en disolución de  $\text{CCl}_4$ . (b) Espectros VCD-NIR de 0.25 M (1R)-(+)- $\alpha$ -pineno  $\text{CCl}_4$  disolución medida en dos días diferentes.<sup>13</sup>

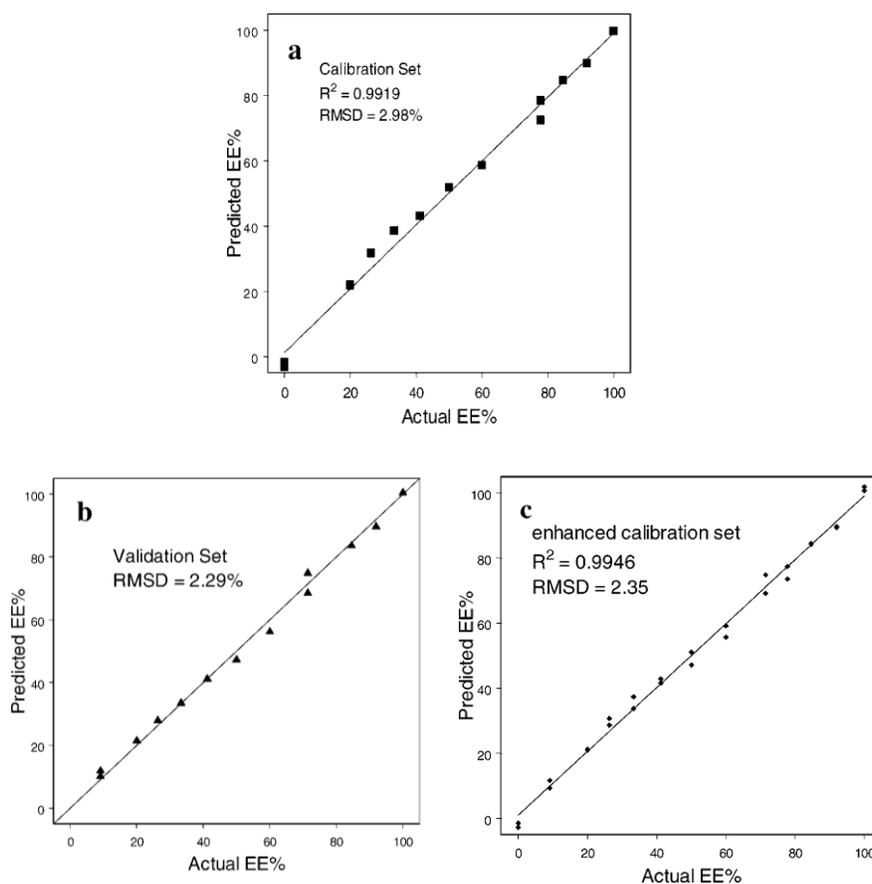
Tabla 2.5.1. Muestras de (1R)-(+)- $\alpha$ -pineno y su valor de referencia de laboratorio.<sup>13</sup>

Día 1		Día 2	
Número de muestra	e.e.	Número de muestra	e.e.
1	100.00	14	100.00
2	92.00	15	92.00
3	84.62	16	84.62
4	77.78	17	77.78
5	71.43	18	71.43
6	60.00	19	60.00
7	50.00	20	50.00
8	41.18	21	41.18
9	33.33	22	33.33
10	26.32	23	26.32
11	20.00	24	20.00
12	9.09	25	9.09
13	0.00	26	0.00

PLS requiere que todas las interferencias posibles en los espectros de la muestra deban

conocerse cualitativamente e incluirse en el modelo de regresión, los cambios de línea base en los espectros VCD-NIR deben considerarse como un factor en el análisis PLS.

Las 26 mediciones de los dos días se distribuyeron uniformemente en dos conjuntos de datos. La mitad de las muestras (1, 3, 4, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23 y 26) fueron seleccionadas para componer el conjunto de calibración y todas las demás del conjunto de validación. La región espectral utilizada para el análisis PLS fue 4000-5800  $\text{cm}^{-1}$ , los resultados de la validación cruzada del conjunto de calibración se presentan en la figura 2.5.2.

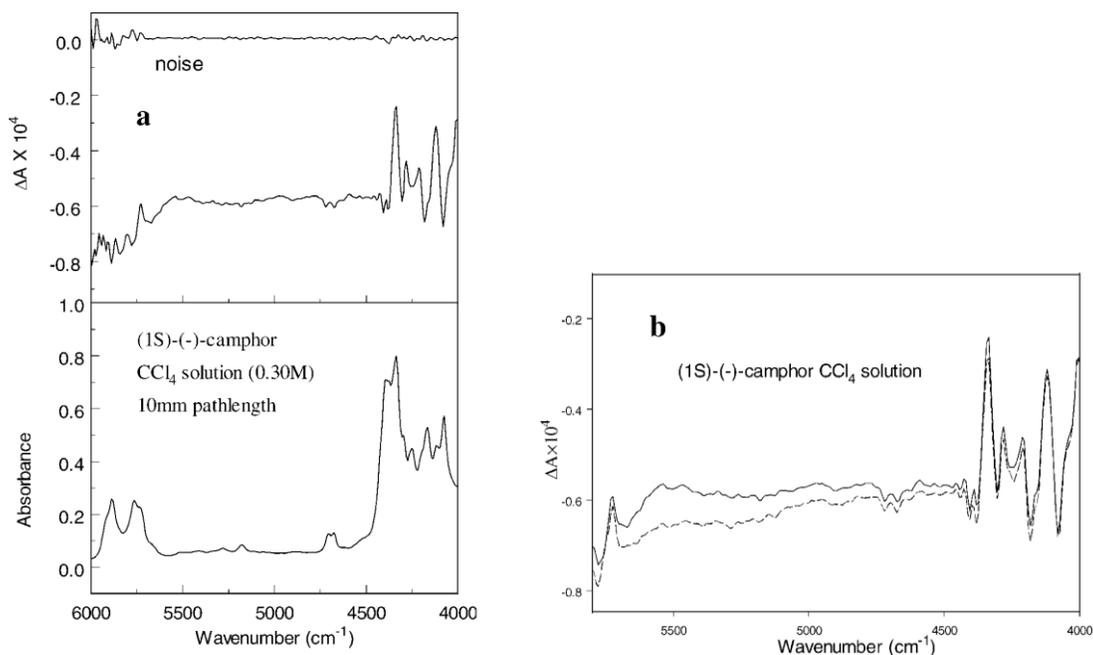


**Figura 2.5.2.** (a) Análisis PLS para el conjunto de calibración (resultado de la validación cruzada) para las mediciones de celdas de flujo  $\alpha$ -pineno. (b) Resultado de la predicción para el conjunto de validación de celdas de flujo  $\alpha$ -pineno mediante el modelo PLS. (c) Análisis PLS para el conjunto ampliado de calibración de celdas de flujo  $\alpha$ -pineno (resultado de la validación cruzada).<sup>13</sup>

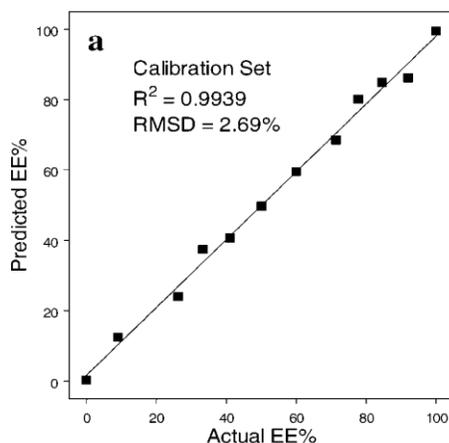
Los ejemplos en el conjunto de validación fueron pronosticados por PLS, los resultados se presentan en la figura 2.5.3. La validación nos permite mejorar el modelo PLS combinando el conjunto de validación y el de calibración en un nuevo conjunto de calibración más grande. Para el conjunto de calibración mejorado, el número de factores seguía siendo 3 y el  $R^2$  era 0,9946.

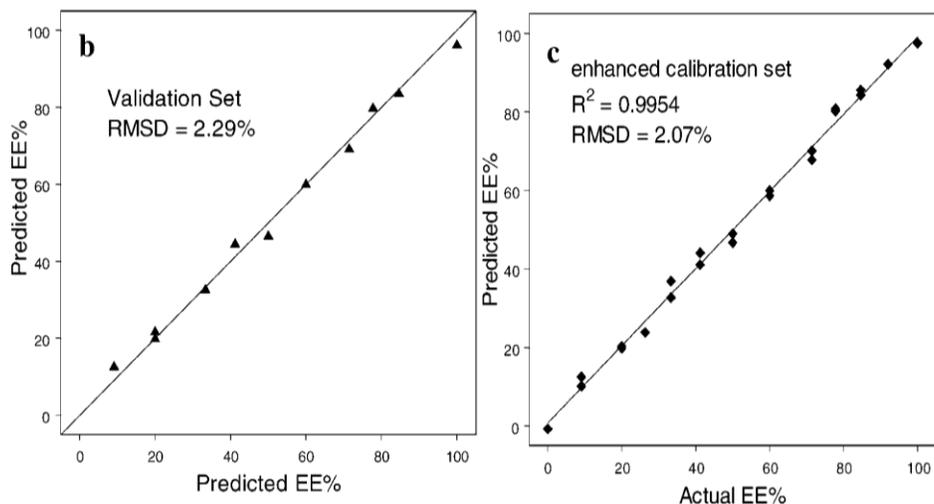
Los resultados de la validación cruzada para el conjunto de calibración mejorado se presentan en la figura 2.5.4.

En la figura 2.5.3. se presenta la disolución 0.3 M de (1S)-(-)-alcanfor en  $\text{CCl}_4$  en una celda con longitud de 10 mm. La disolución original eran 12 ml de disolución de (1S)-(-)-alcanfor, la disolución de complemento era 0.3 M de (1R)-(+)-alcanfor, con volúmenes consecutivos de 0.5 a 3 ml inyectando la disolución del complemento, se obtuvieron muestras con la misma concentración pero diferentes valores de e.e.. La tabla 2.5.2 muestra las 23 disoluciones de alcanfor medidas durante un período de dos días.



**Figura 2.5.3.** (a) Espectros de absorbancia NIR (abajo) y VCD (arriba) de 0.3 M (1S)-(-)-alcanfor en  $\text{CCl}_4$  a una longitud de trayecto de 10 mm. (b) Espectros VCD-NIR de 0.3 M (1S)-(-)-alcanfor en  $\text{CCl}_4$  medido en dos días diferentes <sup>13</sup>





**Figura 2.5.4.** (a) Análisis PLS para el conjunto de calibración (resultado de la validación cruzada) para las mediciones de celdas de flujo de alcanfor. (b) Resultado de la predicción para el conjunto de validación de celdas de flujo de alcanfor mediante el modelo PLS. (c) Análisis PLS para el conjunto ampliado de calibración de celdas de flujo de alcanfor (resultado de validación cruzada).<sup>13</sup>

**Tabla 2.5.2.** Muestras de (1S)-(-)-alcanfor y su valor de referencia en el laboratorio<sup>13</sup>.

Día 1		Día 2	
Número de muestra	e.e.	Número de muestra	e.e.
1	100.00	13	92.00
2	84.62	14	84.62
3	77.78	15	77.78
4	71.43	16	71.43
5	60.00	17	60.00
6	50.00	18	50.00
7	41.18	19	41.18
8	33.33	20	33.33
9	20.00	21	26.32
10	9.09	22	20.00
11	0.00	23	9.09
12	100.00	-	-

Las 23 muestras de los dos días se distribuyeron en un conjunto de calibración y un conjunto de validación. Doce de las muestras (1, 2, 4, 6, 8, 11, 13, 15, 17, 19, 21 y 23) fueron seleccionadas arbitrariamente para componer el conjunto de calibración y todas las demás muestras componen el conjunto de validación. La región espectral utilizada para el análisis PLS fue 4000- 5800  $\text{cm}^{-1}$ . El número óptimo de factores fue 2 y  $R^2$  fue de 0.9939. La predicción RMSECV de %EE fue del 2.69%.

Los ejemplos del conjunto de validación se predijeron por PLS, la predicción RMSEP del %EE fue del 2.29%, se construyó un modelo de PLS mejorado mediante el uso de todas las muestras como un conjunto de calibración. El número óptimo factores fue 2 y el  $R^2$  fue de 0.9954, la predicción RMSECV del EE% fue 2.07%.

### 2.5.3.3. Análisis de dos componentes.

Se analizaron mezclas de (1S)-(-)-alcanfor y [(1S)-endo]-(-)-borneol para simular una reacción química. En la figura 2.5.4. se presenta una comparación de la absorbancia NIR y los espectros de VCD de (1S)-(-)-alcanfor y [(1S)-endo]-(-)-borneol, la región espectral seleccionada para el análisis PLS fue de 4000–5500cm<sup>-1</sup>.

El conjunto de calibración se compone de 16 muestras en las que las concentraciones de (1S)-(-)-alcanfor y [(1S)-endo]-(-)-borneol variaron, en la figura 2.5.4. se muestra una gráfica de la concentración de borneol vs concentración de alcanfor para las muestras de calibración. Cuando una intensidad de absorción en una región espectral es mayor que 1, la relación señal-ruido para VCD disminuirá y en la mayoría de los casos evitará la medición de VCD en esa región. Para el modelo PLS de absorbancia NIR, el número óptimo de factores fue 5 para el alcanfor y 4 para el borneol, su R<sup>2</sup> fue 0.9998 y de 0.9999 respectivamente. El RMSECV de la predicción de la concentración fue de 0.0017 M para el alcanfor y 0.0012 M para el borneol. Para el modelo paralelo VCD-NIR en PLS, el número óptimo de factores fue 5 para el alcanfor y 3 para el borneol, su R<sup>2</sup> fue de 0.9959 y 0.9940 respectivamente. El RMSECV de la predicción de la concentración fue de 0.0076 M para el alcanfor y 0.0115 M para el borneol.

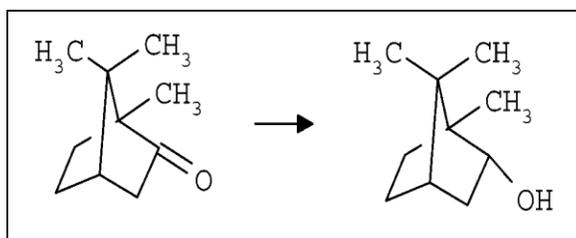


Figura 2.5.5. Simulación de la reacción química entre (1S)-(-)-alcanfor y [(1S)-endo]-(-)-borneol<sup>13</sup>

El e.e. predicho de cada muestra se calculó a partir de los resultados de los análisis de absorbancia y VCD. El RMSEP de la predicción del e.e. fue del 2.08% para el alcanfor y del 2.45% para el borneol. Se observaron cambios de línea base para los espectros VCD-NIR entre las mediciones de días diferentes, pero no para las mediciones tomadas en el mismo día. Se determinaron espectros de VCD de dos muestras conocidas en cada día del experimento y se añadieron al conjunto de calibración como muestras estándar externas. Los nuevos modelos PLS tenían un R<sup>2</sup> y un RMSECV similares en la concentración y la predicción del e.e. en comparación con el modelo PLS original, aunque el número óptimo de factores seleccionados podría cambiarse.

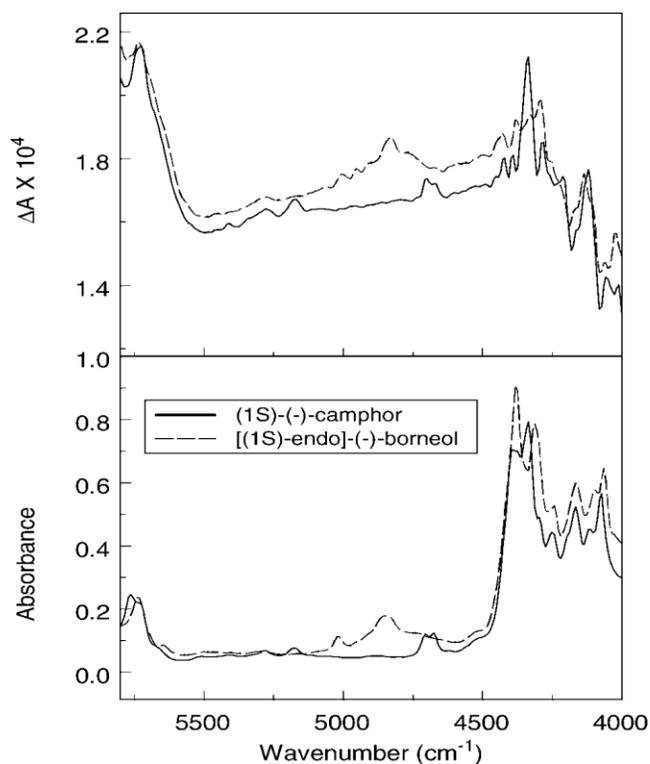
### 2.5.3.4. Reacción de simulación I.

Se diseñaron dos experimentos para simular una reacción química de (1S)-(-)-alcanfor a [(1S)-endo]-(-)-borneol. Para el primer experimento, la disolución original fue de 12 ml 0.3 M 100% e.e. de (1S)-(-)-alcanfor en CCl<sub>4</sub>. El complemento era 0.3 M 100% e.e. de [(1S)-endo]-(-)-borneol en CCl<sub>4</sub>, con volúmenes consecutivos, 4 adiciones de 1.0 ml y 4 de 2.0 ml, para el segundo experimento, la disolución original se ejecutó el mismo procedimiento. Los resultados de estos se combinaron para obtener un grupo de datos para imitar una reacción química de alcanfor a borneol, o viceversa. La suma de las concentraciones de (1S)-(-)-alcanfor y [(1S)-endo]-(-)-borneol no cambió, el único cambio fueron sus fracciones molares. Debido a que el e.e. del reactivo y del producto se mantuvo al 100% durante el experimento, los datos de VCD podrían utilizarse por separado para monitorear esta reacción simulada.

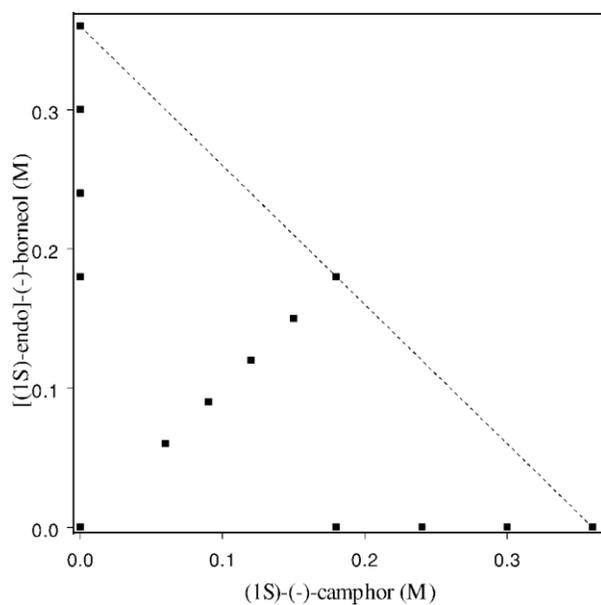
Las concentraciones del reactivo y del producto durante la reacción fueron predichas por los modelos PLS obtenidos anteriormente y se presentan en la tabla 2.5.3. Para el análisis de absorbancia NIR, el RMSEP fue de 0.0013 M para el alcanfor y 0.0017 M para el borneol. Para el análisis VCD-NIR, el RMSEP fue de 0.004 M para el alcanfor y 0.0049 M para el borneol. Los valores de e.e. del reactivo y del producto se calcularon utilizando las predicciones de absorbancia y VCD, los resultados se presentan en la tabla 2.5.3, el RMSEP de la predicción del e.e. fue del 2.28% para el alcanfor y del 2.35% para el borneol.

**Tabla 2.5.3.** Monitoreo de la simulación de una reacción por NIR y VCD.<sup>13</sup>

Número de muestra	Alcanfor				Borneol			
	Valor actual	Absorbancia predicha	VCD predicho e.e.	Predicho	Valor actual	Absorbancia predicha	VCD predicho e.e.	Predicho
1	0.3000	0.3001	0.3031	99.01	0.0000	0.0001	20.0174	—
2	0.2769	0.2777	0.2793	99.43	0.0231	0.0237	0.0241	101.66
3	0.2571	0.2586	0.2467	104.82	0.0439	0.0432	0.0445	103.07
4	0.2400	0.2420	0.2341	103.37	0.0600	0.0605	0.0598	98.83
5	0.2250	0.2270	0.2276	99.74	0.0750	0.0760	0.0746	98.20
6	0.2000	0.2021	0.2020	100.05	0.1000	0.1012	0.1054	104.17
7	0.1800	0.1821	0.1866	97.59	0.1200	0.1215	0.1206	99.23
8	0.1636	0.1656	0.1667	99.34	0.1364	0.1381	0.1377	99.72
9	0.1500	0.1520	0.1529	99.42	0.1500	0.1516	0.1507	99.38
10	0.1500	0.1512	0.1509	100.23	0.1500	0.1528	0.1518	99.38
11	0.1364	0.1372	0.1376	99.74	0.1637	0.1664	0.1626	97.74
12	0.1200	0.1204	0.1238	97.24	0.1800	0.1826	0.1811	99.18
13	0.1000	0.1003	0.0975	102.88	0.2000	0.2022	0.2134	105.55
14	0.0750	0.0753	0.0728	103.45	0.2250	0.2270	0.2225	98.00
15	0.0600	0.0600	0.0584	102.69	0.2400	0.2417	0.2483	102.73
16	0.0429	0.0428	0.0425	100.60	0.2571	0.2582	0.2600	100.71
17	0.0231	0.0228	0.0221	103.21	0.2769	0.2774	0.2808	101.23
18	0.0000	0.0000	20.0032	—	0.3000	0.2996	0.2909	97.08
RMSD	—	0.0013	0.0040	2.28	—	0.0017	0.0049	2.35



**Figura 2.5.6.** Espectros de absorbancia NIR (Abajo) y VCD (Arriba) de 0.3 M (1S)-(-)-camphor y 0.3 M [(1S)-endo]-(-)-borneol en  $\text{CCl}_4$ .<sup>13</sup>



**Figura 2.5.7.** Gráfica de la concentración de [(1S)-endo]-(-)-borneol vs la concentración de (1S)-(-)-camphor para las muestras de calibración que muestran el rango de concentraciones utilizadas en la calibración del análisis PLS.<sup>13</sup>

### 2.5.3.5. Reacción de simulación II.

Se prepararon 18 mezclas de alcanfor y borneol con diferentes fracciones molares y valores de e.e. Se realizaron mediciones para controlar la conversión de un reactivo a un producto tanto la fracción molar como el e.e.d de ambas especies cambiaban con el tiempo, se utilizaron disoluciones iniciales y de complemento. 0.6 M de [(1S)-endo]-(-) borneol al 100% e.e., 0.4 M de (1S)-(-)-alcanfor al 100% e.e., 0.4 M de [(1S)-endo]-(-)-borneol al 0.00% e.e. y 0.6 M de (1S)-(-)-alcanfor al 0.0 e.e., todas en CCl<sub>4</sub>. Las muestras se produjeron mediante la inyección de la disolución de complemento en la disolución original con volúmenes consecutivos de 4 adiciones de 1.0 ml y 4 de 2.0 ml. Tanto las fracciones molares como los valores de e.e. de los dos componentes cambiaron debido a la similitud estructural entre el alcanfor y el borneol y el pequeño cambio de la fracción molar, la absorbancia NIR y los espectros de VCD no cambiaron drásticamente. De acuerdo con el diseño experimental, el e.e. de alcanfor y borneol tendrá grandes cambios. Los resultados de predicción se enumeran en la tabla 2.5.4. La predicción RMSEP de e.e. fue del 2.21% para el alcanfor y del 1.94% para el borneol.

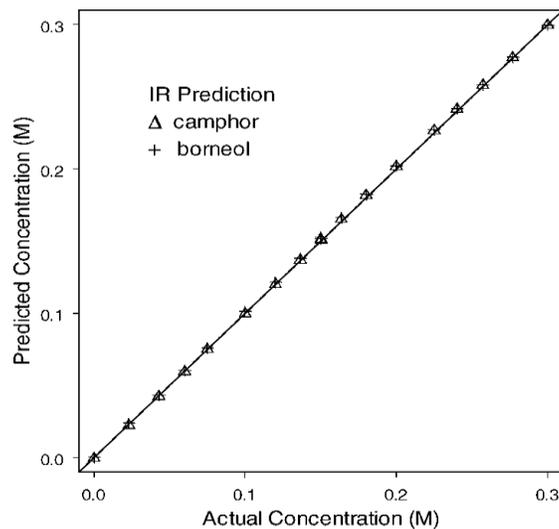
**Tabla 2.5.4.** Determinación del e.e. en mezclas de moléculas quirales por NIR y VCD<sup>13</sup>.

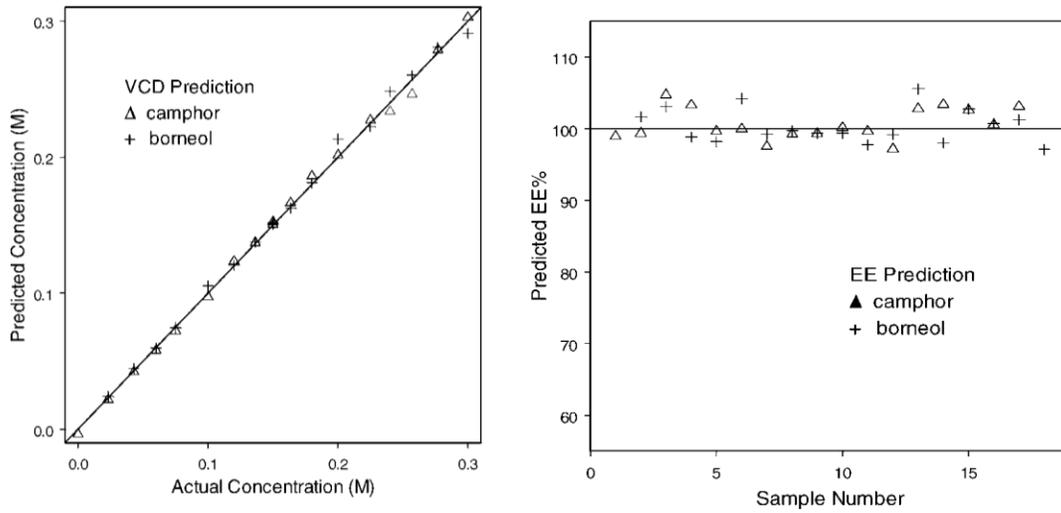
Número	Valor actual (M)	Valor predicho (M)	Valor actual (M)	Valor predicho (M)	Valor actual	Valor predicho
<b>Alcanfor</b>						
1	0.1800	0.1794	0.1800	0.1743	100.00	97.16
2	0.1754	0.1748	0.1662	0.1635	94.74	93.54
3	0.1714	0.1717	0.1543	0.1494	90.00	87.01
4	0.1680	0.1691	0.1440	0.1421	85.71	84.03
5	0.1650	0.1667	0.1350	0.1337	81.82	80.20
6	0.1600	0.1610	0.1200	0.1193	75.00	74.10
7	0.1560	0.1582	0.1080	0.1107	69.23	69.97
8	0.1527	0.1533	0.0982	0.0962	64.29	62.75
9	0.1500	0.1504	0.0900	0.0872	60.00	57.98
10	0.1500	0.1514	0.0900	0.0942	60.00	62.22
11	0.1473	0.1484	0.0818	0.0823	55.56	55.45
12	0.1440	0.1449	0.0720	0.0763	50.00	52.66
13	0.1400	0.1408	0.0600	0.0616	42.86	43.75
14	0.1350	0.1356	0.0450	0.0490	33.33	36.14
15	0.1320	0.1324	0.0360	0.0420	27.27	31.72
16	0.1286	0.1289	0.0257	0.0278	20.00	21.57
17	0.1246	0.1249	0.0138	0.0168	11.11	13.45
18	0.1200	0.1204	0.0000	0.0020	0.00	1.66
RMSE	—	0.0010	—	0.0034	—	2.21
<b>Borneol</b>						
1	0.1200	0.1190	0.1200	0.1248	100.00	104.87
2	0.1246	0.1233	0.1108	0.1086	88.89	88.08
3	0.1286	0.1276	0.1029	0.1065	80.00	83.46
4	0.1320	0.1313	0.0960	0.1020	72.73	77.68
5	0.1350	0.1346	0.0900	0.0900	66.67	66.86

6	0.1400	0.1400	0.0800	0.0791	57.14	56.50
7	0.1440	0.1442	0.0720	0.0706	50.00	48.96
8	0.1473	0.1479	0.0655	0.0678	44.44	45.84
9	0.1500	0.1514	0.0600	0.0614	40.00	40.55
10	0.1500	0.1509	0.0600	0.0612	40.00	40.56
11	0.1527	0.1536	0.0545	0.0560	35.71	36.46
12	0.1560	0.1569	0.0480	0.0427	30.77	27.21
13	0.1600	0.1610	0.0400	0.0363	25.00	22.55
14	0.1650	0.1659	0.0300	0.0314	18.18	18.93
15	0.1680	0.1688	0.0240	0.0236	14.29	13.98
16	0.1714	0.1721	0.0171	0.0151	10.00	8.77
17	0.1754	0.1759	0.0092	0.0106	5.26	6.03
18	0.1800	0.1804	0.0000	0.0016	0.00	0.89
RMSD	—	0.0008	—	0.0027	—	1.94

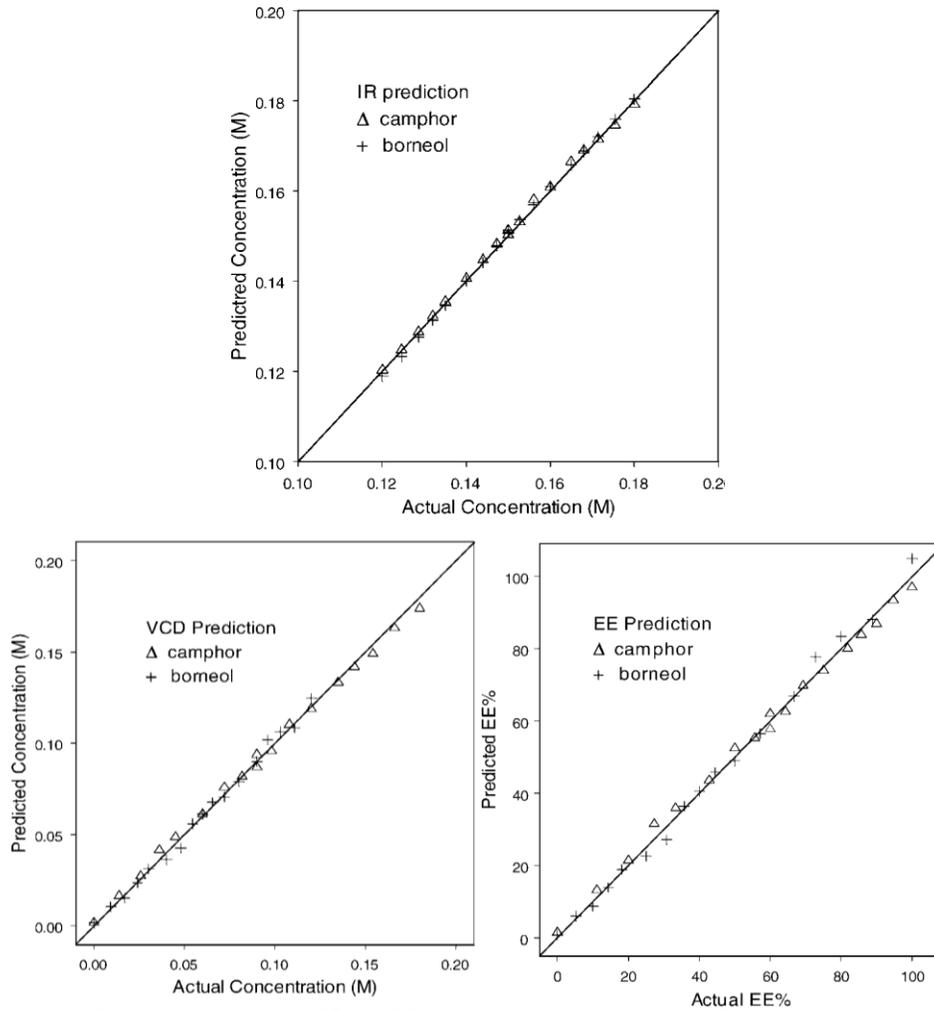
#### 2.5.4. Resultados y discusión.

Los beneficios de FT-VCD-MIR pueden ser extrapolados a la región NIR, en comparación con la región MIR, tanto NIR como VCD presentan bandas más amplias e incluso más solapadas con menos información estructural. La precisión obtenida con NIR y VCD para predecir el e.e. se muestra en el rango de 2-3% para una resolución espectral de  $16\text{ cm}^{-1}$ . Se usaron muestras de calibración adicionales para modelar y corregir los cambios de línea de base de VCD causados por cambios en el entorno. Las desventajas de este método son que se deben tomar más mediciones para las muestras de calibración adicionales y el modelo debe ser reconstruido cada vez que el entorno cambia.





**Figura 2.5.8.** Las concentraciones pronosticadas vs reales de alcanfor y borneol al 100 e.e. utilizando NIR y espectros de VCD y la predicción del e.e. derivado de estos espectros.<sup>13</sup>



**Figura 2.5.9.** Determinación por absorbancia NIR y VCD del e.e. de una mezcla de dos componentes de alcanfor y borneol, donde tanto la concentración como el e.e. de cada especie cambian en el transcurso del tiempo de las mediciones.<sup>13</sup>

## 2.6. Monitoreo de la reacción de epimerización del 2,2-dimetil-1,3-dioxolano-4-metanol usando FT-VCD-NIR. Una reacción de pseudoracemización<sup>14</sup>.

### 2.6.1. Resumen.

Se utilizó FT-VCD-NIR para monitorear la epimerización del 2,2-dimetil-1,3-dioxolano-4-metanol. (S-DDM). Los espectros muestran bandas claras en el rango de 4700– 5050  $\text{cm}^{-1}$  se obtuvieron los espectros de 10 muestras de referencia y fueron sometidos a un análisis PLS, los resultados se utilizaron para construir modelos predictivos para la determinación del e.e.

Se llevó a cabo una regresión lineal en tres conjuntos de diferentes espectros, que corresponden a la epimerización del S-DDM en tres disolventes diferentes: metilciclohexano (MCH), tetracloruro de carbono ( $\text{CCl}_4$ ) y tetrahidrofurano (THF), los efectos del disolvente en la epimerización del DDM, se discuten en términos de la estabilización relativa de la reacción intermedia de la reacción de epimerización. Los resultados destacan el potencial de VCD para el monitoreo de procesos *in situ* en tiempo real de la cinética de reacción de las moléculas quirales en solución<sup>14</sup>.

### 2.6.2. Introducción.

Una disolución monoenantiomérica de DDM se convertirá gradualmente en racémica bajo el tratamiento del ácido trifluoroacético, esta reacción se conoce como epimerización. El anillo de cinco miembros se rompe para formar un catión intermedio, más tarde, el intermedio se desprotonará y cerrará el anillo en cualquiera de las dos direcciones posibles: volver al reactivo o a un nuevo compuesto, debido a la estructura particular del DDM, el nuevo compuesto es el enantiómero del reactivo, el resultado neto de la migración es en realidad una reversión de la estereoquímica absoluta y la racemización

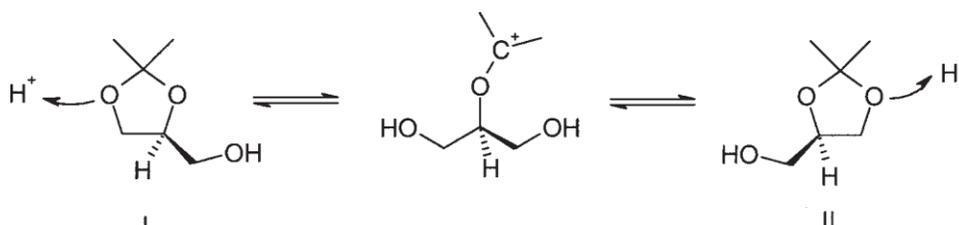


Figura 2.6.1. Epimerización del 2,2-dimetil-1,3-dioxolano-4-metanol<sup>14</sup>.

Este procedimiento simuló el progreso de una reacción química de un reactivo quiral a un producto quiral en el que la fracción del e.e. de ambas moléculas cambian con el tiempo, la precisión de la determinación del e.e. por VCD-NIR fue aproximadamente del 2% al 3%. Esto demuestra la posibilidad de que VCD-NIR se utilice para el monitoreo en tiempo real de la composición y el e.e. de las reacciones químicas que implican la síntesis de moléculas quirales.

La combinación de las espectroscopias de absorción de VCD y MID-IR proporcionan información simultánea de múltiples longitudes de onda para asegurar el conocimiento de la concentración y del e.e. de múltiples especies quirales. La región del NIR tiene ciertas ventajas y desventajas en relación con la del MID-IR, además del cambio de momento dipolo, la observación de bandas NIR requiere contribuciones anarmónicas de los modos vibracionales participantes. Esto significa que las transiciones son más débiles y, como resultado, las concentraciones deben ser más altas o las longitudes de trayecto deben ser más largas.

VCD-NIR con PLS, fue utilizado para seguir cuantitativamente la reacción de epimerización del DDM en tres disolventes diferentes. Se interpretó la absorbancia de los espectros de VCD de (S)-DDM, y se describió el desarrollo de modelos PLS para la determinación del e.e. del reactivo a partir de los espectros registrados. Se presentó las graficas del e.e. del reactivo en función del tiempo de reacción en diferentes disolventes y se discutió los efectos del disolvente<sup>14</sup>.

### **2.6.3. Sección Experimental.**

Se usó un espectrómetro FT-NIR ChiralIR (BioTools, Inc., Wauconda, IL) con un detector InGaAs para llevar a cabo las mediciones de absorbancia y VCD-NIR. El espectrómetro fue modificado para acomodar la modulación de doble polarización y equipado con un filtro óptico con un rango de transmisión de 3800–6200  $\text{cm}^{-1}$ . Muestras de (R)-(+)-2,2-dimetil-1,3-dioxolano-4-metanol, (S)-(-)-2,2-dimetil-1,3-dioxolano-4-metanol, ácido trifluoroacético, metilciclohexano (MCH), tolueno, cloroformo,  $\text{CCl}_4$ , y THF fueron adquiridos de Sigma Aldrich y utilizados sin una purificación adicional, 0.1 ml de (S)-(-)-2,2-dimetil-1,3-dioxolano-4-metanol se disolvió en 1.5 ml en una celda de cuarzo rectangular de longitud de trayecto de 5 mm. La reacción de la epimerización comenzó después de que se añadiera 0.0075 ml de ácido trifluoroacético, la absorbancia NIR y los espectros de VCD de las disoluciones de reacción se tomaron a intervalos de 1 hora o 30 minutos hasta el tiempo de reacción de 72 h, cada medición involucró 100

escaneos con un tiempo de medición de 1 min para los espectros NIR y 1000 escaneos de 10 min para los espectros VCD-NIR, a una resolución de  $32\text{ cm}^{-1}$ .

#### 2.6.4. Resultados y discusión.

Para obtener una medición de VCD con claridad suficiente, las intensidades máximas en el espectro correspondiente deben mantenerse por debajo de 1.0. La figura 2.6.2. muestra los espectros de absorbancia NIR de cinco disolventes de uso frecuente,  $\text{CCl}_4$ ,  $\text{CHCl}_3$ , MCH, THF y tolueno.  $\text{CCl}_4$  es el mejor disolvente para la región de NIR debido a que no hay átomos de hidrógeno presentes, muestra casi nula absorbancia en toda la región espectral. MCH, THF, y tolueno son disolventes pobres para la región de NIR y tienen más grupos de C-H.

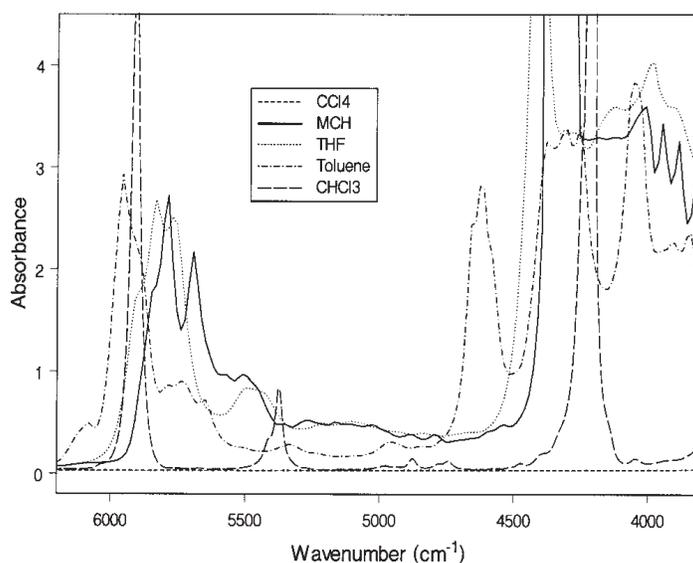
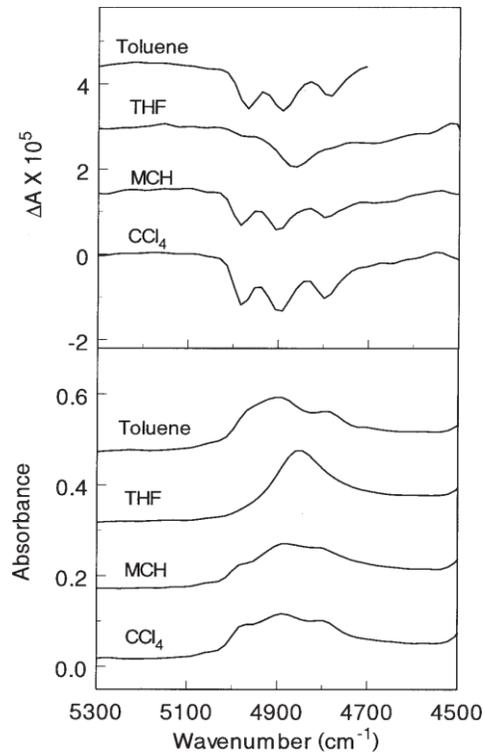


Figura 2.6.2. Espectro de absorbancia en el NIR de 5 disolventes<sup>14</sup>.

La figura 2.6.3 muestra la absorbancia NIR y los espectros de VCD de la disolución 0.5 M de (S)-DDM en  $\text{CCl}_4$ , MCH, THF y tolueno. Los espectros de VCD de (S)-DDM en tolueno solo se pueden medir hasta  $4700\text{ cm}^{-1}$  porque la región de frecuencia inferior está totalmente bloqueada por las fuertes bandas de combinación de C-H aromáticas del disolvente.

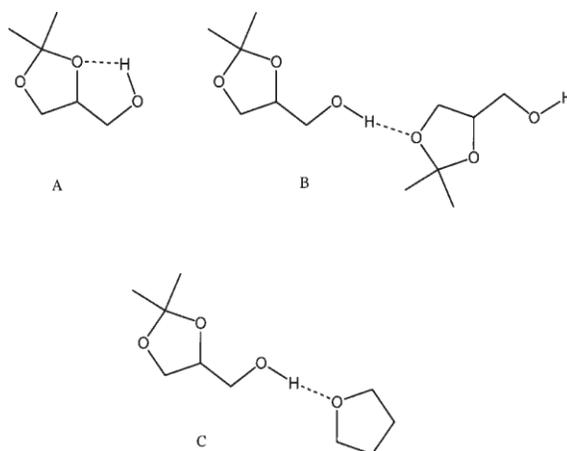


**Figura 2.6.3.** Absorbancia de NIR y espectros de VCD (ambos disolventes restados) de (S)-DDM en  $\text{CCl}_4$ , metilciclohexano, THF y tolueno (0.5 M, 1:15 en volumen, longitud de trayecto 1/4 5 mm)<sup>14</sup>.

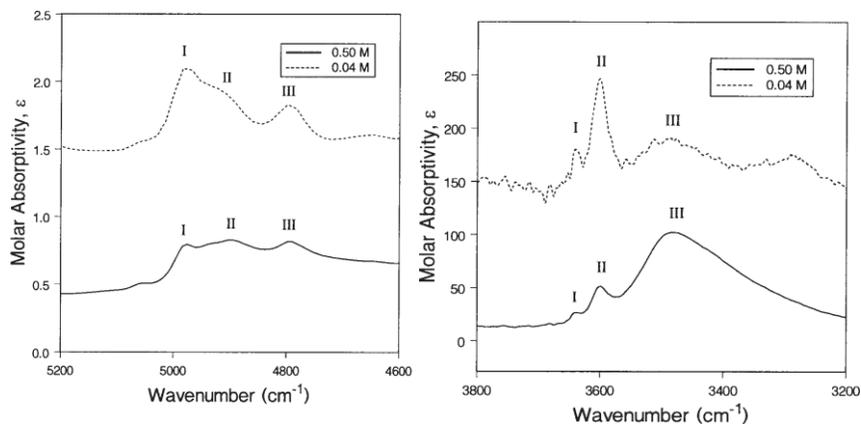
Los espectros de absorbancia VCD de DDM en  $\text{CCl}_4$ , MCH y tolueno tienen tres bandas anchas, la diferencia en la forma de la banda puede explicarse por la presencia de diferentes tipos de uniones de hidrógeno en las soluciones. Los tres picos principales en la región NIR de mayor a menor frecuencia en las disoluciones de  $\text{CCl}_4$ , MCH y tolueno corresponden a las bandas de combinación de OH libre, hidrógeno intramolecular enlazado, OH e hidrógeno intermolecular. En el mismo orden en que están presentes en la región de estiramiento fundamental, a menor concentración, la intensidad de la banda de mayor frecuencia aumenta y, al mismo tiempo, disminuye la intensidad de la banda de frecuencias más baja, lo que confirma aún más la asignación. En la disolución de THF, debido a la presencia del átomo de oxígeno en el disolvente, se produce y domina un tipo más de unión al hidrógeno, el enlace de hidrógeno intermolecular con disolvente-soluto. Por lo tanto, la única banda principal mostrada en la disolución THF debe corresponder a la unión de hidrógeno con disolvente-soluto, mientras que los otros tres tipos de unión de hidrógeno sólo pueden estar presentes como bandas muy pequeñas.

### 2.6.4.1. Curva de calibración.

Durante la epimerización, solo cambia la pureza óptica de DDM, por lo tanto, solo los espectros de VCD se pueden utilizar para rastrear la epimerización. Se construyeron tres conjuntos de espectros de calibración de VCD, uno por cada disolvente utilizado a partir de espectros de muestras de referencia. Las muestras de referencia deben incluir todos los componentes de la reacción e imitar la situación real de la misma. Aunque el ácido trifluoroacético por sí solo no tiene ningún rasgo espectral en la región del NIR, su interacción con otros componentes puede causar un cambio de línea base o incluso un cambio de posición de la banda en el espectro general de la reacción, por lo tanto, debe incluirse en las muestras de calibración. Se prepararon diez muestras de calibración, que contenían la misma cantidad de DDM pero diferentes purezas ópticas, mezclando los enantiómeros del disolvente, (R) y (S)-DDM, y finalmente el ácido trifluoroacético.



**Figura 2.6.4.** Unión de hidrógeno de DDM en disolución: (a) intramolecular; (b) de soluto a soluto intermolecular; (c) intermoleculares de disolvente a soluto con THF<sup>14</sup>.



**Figura 2.6.5.** Espectros de absorbancia de MID-IR y NIR de (S)-DDM en  $\text{CCl}_4$ . línea sólida: 0.5 M; línea rota: 0.04 M. (I: libre OH; II: hidrógeno intramolecular enlazado OH; III: hidrógeno intermolecular enlazado OH)<sup>14</sup>.

Los espectros de VCD de las muestras de calibración se midieron en las mismas condiciones que se utilizaron para el monitoreo de la reacción inmediatamente después de la adición de ácido trifluoroacético. Los valores de e.e. para (S)-DDM abarcan el rango del 0% al 100% en las 10 muestras de calibración, tal como se presenta en la tabla 2.6.1. Para estas muestras de calibración, la absorbancia en el NIR y los tiempos de medición VCD-NIR son 1 y 10 min, respectivamente, por lo tanto, hubo un retraso entre el comienzo de las reacciones y las mediciones espectrales, que fue de aproximadamente 30 s para mediciones de absorbancia NIR y 5 min para mediciones VCD-NIR.

En estos pequeños marcos de tiempo, era inevitable que se produciría una leve epimerización en las muestras de calibración originales. Los espectros medidos no pudieron reflejar los valores del e.e. exactos de las muestras de calibración, como se indica en la tabla 2.61. Sin embargo, debido a que la epimerización del DDM es una reacción lenta que generalmente tarda 16 h o más en completarse, el retraso relativamente corto entre el comienzo de las reacciones y las mediciones espectrales se ignoran.

Los modelos de calibración PLS se calcularon a partir de los conjuntos de calibración utilizando el software Gram PLSplus/IQ (Thermo Electron Corp.). El rango espectral utilizado en la calibración fue de 4700 -5300  $\text{cm}^{-1}$ . Esta gama abarca las bandas de combinación OH de DDM que siguen siendo accesibles en presencia de un fuerte disolvente de alto orden de disolventes y bandas de combinación. El método de análisis cuantitativo se comprobó mediante la validación cruzada, la tabla 2.6.1 muestra el e.e. de (S)-DDM determinado volumétricamente y la validación cruzada de VCD-NIR

**Tabla 2.6.1.** Detalles de las muestras de calibración en tres disolventes. El e.e. de (S)-DDM se determinó volumétricamente a partir del volumen de enantiómeros DDM utilizados para preparar la muestra y de análisis VCD-NIR mediante validación cruzada para las muestras de calibración 1 a 10.<sup>14</sup>

Muestra de calibración	e.e. de (S)-DDM determinado volumétricamente	e.e. de (S)-DDM determinado por VCD-NIR		
		Disolventes	En todos los disolventes	En todos los disolventes
		CCl <sub>4</sub>	Metilciclohexano	Tolueno
1	0	2.24	0.30	24.1
2	20	19.33	19.16	30.08
3	30	27.88	31.49	29.57
4	40	37.43	38.52	40.10
5	50	52.04	51.30	50.84
6	60	63.84	59.45	60.78
7	70	73.02	68.65	65.52
8	80	79.56	85.24	75.42
9	90	91.76	86.25	92.03
10	100	97.55	99.11	101.42

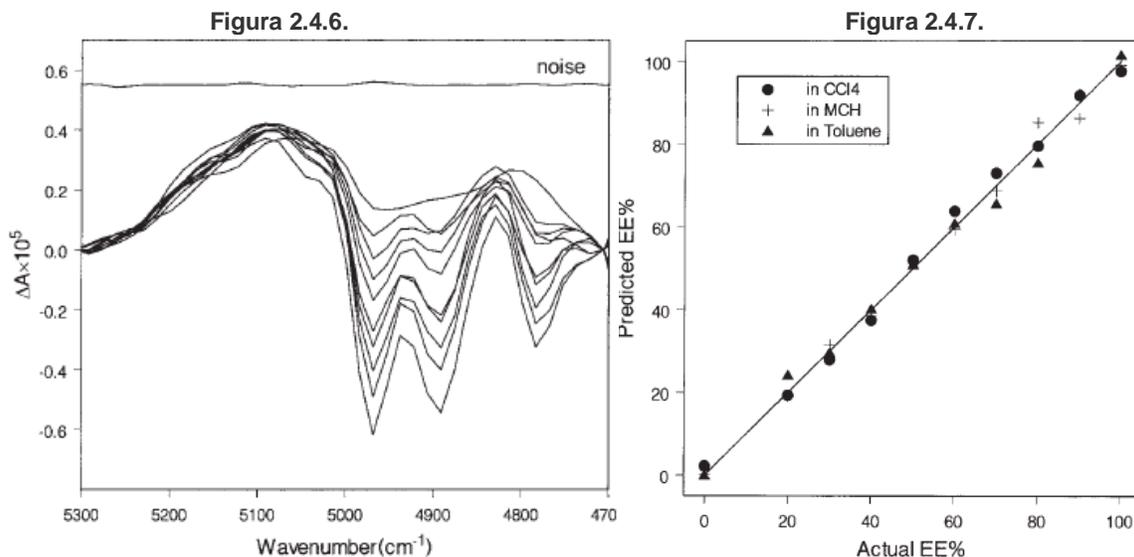
R <sup>2</sup>	N/A	0.9944	0.9964	0.9930
RMSECV	N/A	2.32	2.30	2.60

### 2.6.4.2. Monitoreo de reacción.

El modelo PLS se utilizó para predecir el e.e. de (S)-DDM de los espectros de VCD-NIR medidos durante la reacción, Las reacciones de epimerización de (S)-DDM comienzan con 100% e.e. y terminan en 0% e.e. Después de 16 h de tiempo de reacción, el progreso de la reacción fue de 26%, 38% y 100% en CCl<sub>4</sub>, tolueno y MCH, respectivamente. En este punto, la reacción de epimerización en MCH ya ha terminado. La reacción de la epimerización alcanzaría el punto de equilibrio en CCl<sub>4</sub> y tolueno después de aproximadamente 72 h de tiempo de reacción. La misma reacción se llevó a cabo en THF.

Se estima que los errores de las mediciones de calibración para la reacción con MCH, tolueno y CCl<sub>4</sub> como disolventes son aproximadamente 0.6%, 0.2% y 0.2%, respectivamente. Estos errores son mucho más pequeños que los valores RMSECV de los conjuntos de calibración correspondientes y por lo tanto se ignoran, para obtener resultados más precisos, los valores del e.e. más cercanos a los valores reales de las muestras de calibración se pueden obtener de la curva de calibración y se utiliza para reconstruir un modelo de calibración más preciso

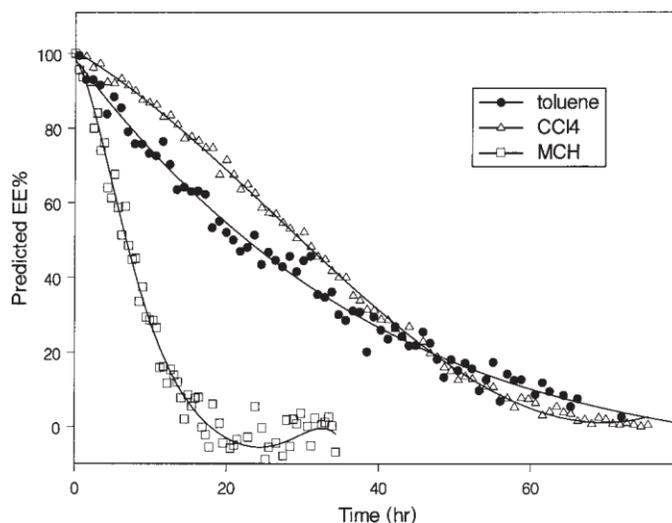
### 2.6.4.3. La dependencia de los disolventes.



**Figura 2.6.6.** Espectro VCD-NIR de las muestras de calibración en tolueno en el rango de 5300-4700  $\text{cm}^{-1}$

**Figura 2.6.7.** Gráfica de validación cruzada del e.e. para la epimerización del (S)-DDM<sup>14</sup>

La interacción soluto-solvente, incluye interacciones ácido-base, interacciones dipolares y fuerzas de dispersión, contribuyen significativamente a las propiedades de los solutos en disolución. En este caso, la interacción soluto-solvente desempeña un papel importante en la reacción de epimerización del DDM.



**Figura 2.6.8.** e.e. del (S)-DDM como una función del tiempo de reacción bajo del tratamiento de ácido trifluoroacético en tres diferentes disolventes.<sup>14</sup>

Durante la reacción, los protones producidos por el ácido trifluoroacético están disponibles para la unión a cualquier molécula con átomos de oxígeno o nitrógeno en la solución. La competencia entre un gran número de moléculas de disolvente (THF) y un número relativamente pequeño de moléculas de soluto (DDM) para iones de hidrógeno, favorece enormemente al disolvente. La posibilidad de formación del catión intermedio DDM, disminuirá drásticamente, en este caso, el THF ralentiza significativamente la epimerización mediante la reducción de los protones disponibles en el primer paso de la reacción. A diferencia del THF, debido a la ausencia de una fuerte competencia de moléculas disolventes para protones, la reacción de epimerización de DDM ocurre mucho más rápido en  $\text{CCl}_4$  y tolueno, e incluso más rápido en MCH. La diferencia de la velocidad de reacción en estos tres disolventes puede explicarse por la basicidad del disolvente.  $\text{CCl}_4$  y tolueno son disolventes más básicos que el MCH, esto sugiere que  $\text{CCl}_4$  y tolueno pueden estabilizar la cetona intermedia más que MCH. En otras palabras,  $\text{CCl}_4$  y tolueno pueden disolver los sustratos protonados y no protonados mejor que MCH, que prolonga la vida útil del intermediario y ralentiza la reacción.

## 2.7. VCD Inducido por Co (II) para mejorar la determinación rápida y sensible del e.e.<sup>16</sup>

### 2.7.1 Resumen.

El Co (II) indujo una gran mejoría a la señal VCD, mejoró su baja sensibilidad y abrió nuevas perspectivas en su análisis cuantitativo. Se usó un sistema estereodinámico, donde el analito determinó la quiralidad de la esfera de coordinación del Co (II). La magnitud de las señales de VCD encontradas en los complejos Co (II) reconocieron la quiralidad de  $\alpha$ -aminoácidos. Las señales gigantes inducidas por Co (II) ayudan a superar los límites de las aplicaciones analíticas de VCD, generalmente afectadas no sólo por intensidades de señal débiles, sino también por una desviación instrumental, que hacen que aplicaciones VCD sean difíciles de realizar. Se utilizaron  $\alpha$ -aminoácidos quirales como moléculas para el análisis<sup>16</sup>.

### 2.7.2. Introducción.

Se utilizó un complejo de metales estereodinámicos para demostrar la quiralidad de los analitos. Se hizo uso de un sistema de automontaje donde la quiralidad del aminoácido se incorpora en el complejo Co (II). Este complejo presenta un ligando no quiral, que es el Tris-(piridimetil) de amina (TPA). En ausencia de elementos quirales, los complejos basados en TPA existen como una mezcla dinámica de dos conformaciones enantioméricas. Cuando se introduce una perturbación quiral, ya sea con un centro estereogénico del TPA o con la adición de un ligado auxiliar quiral, se favorece una conformación enantiomérica sobre la otra, la quiralidad se incrusta en el complejo de Co (II) mediante la formación de un puente covalente dinámico entre el complejo y el analito quiral, a través de una imina reversible y la coordinación del ácido carboxílico con el centro metálico.

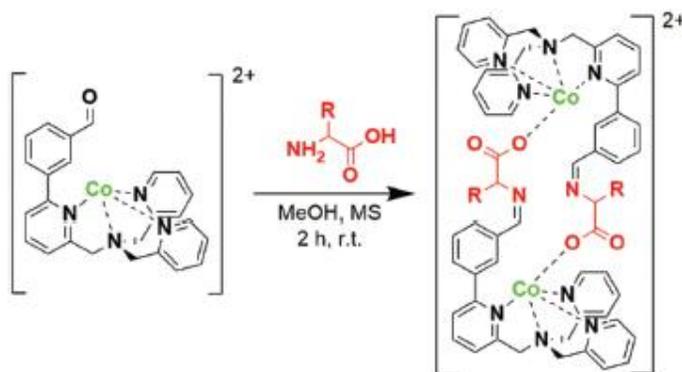


Figura 2.7.1. Esquema sintético para el autoensamblaje de los complejos AAA-Co.<sup>16</sup>

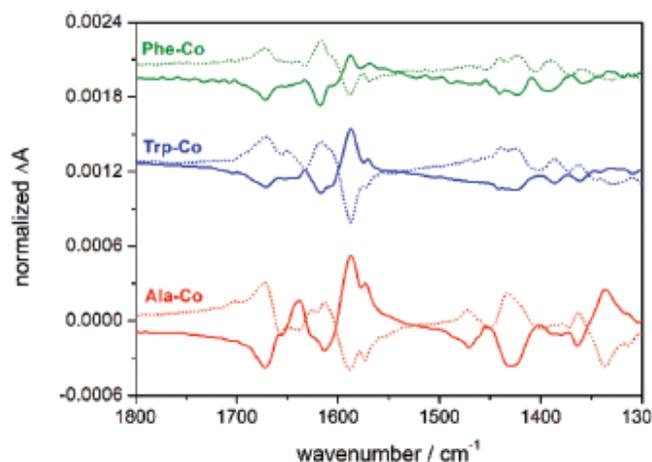
Recientemente se utilizaron sistemas de Co (II) trinucleados relacionados para un reconocimiento simple, sensible y rápido de la configuración absoluta de los aminoácidos a través de VCD. Gracias a las señales gigantes de VCD, se logró registrar espectros cuantitativos y concluyentes en pocos minutos y con pequeñas cantidades del analito, independientemente de la naturaleza de las cadenas de aminoácidos, solo los osciladores que están cerca del ion Co (II) pueden someterse a la amplificación de sus bandas.<sup>16</sup>

### **2.7.3. Sección experimental.**

Se tomó ventaja de las señales gigantes de VCD y del hecho de que los problemas de referencia que afectan a las mediciones, resultan irrelevantes. Se utilizó el complejo trinucleado, cuyo montaje requirió 12 horas de tiempo de reacción, buscando la mejor relación entre la facilidad de preparación y la mejora de la señal, se investigó el sistema dinuclear, que se obtiene fácilmente mezclando el complejo Co (II) y el aminoácido en estequiometría 1:1. Las señales de los sistemas dinucleares son menos intensas en comparación con las de las trinucleares, es decir, los factores de simetría del complejo quiral-analito son 2-3 veces más bajos que los de los dímeros trinucleares. Se prefirió utilizar los complejos dinucleares para evitar los inconvenientes de los sistemas trinucleares, a saber, el tiempo de reacción más largo y la mezcla de equilibrio más compleja. Este último es perjudicial cuando no se realiza ninguna purificación, ya que en el conjunto de los complejos trinucleares, diferentes especies que contienen Co (II) quiral pueden estar presentes en la mezcla de reacción, como el complejo dinuclear y algunos entre los iones libres de Co (II) y el aminoácido. Estas especies quirales de Co (II) pueden mostrar señales de VCD mejoradas, lo que haría que el análisis cuantitativo fuera más problemático. Después del conjunto de los complejos dinucleares, las únicas señales gigantes de VCD provienen del complejo quiral-analito, haciendo innecesarios los pasos de purificación. Esto hace que este uso particular de VCD sea único y no comparable con su contraparte electrónica.

El sistema fue monitoreado inicialmente cada 30 minutos, con el fin de evaluar el tiempo de reacción requerido para alcanzar valores constantes. Observamos que después de 1.5 h el espectro de ECD permanecía estable durante las siguientes 4 horas. Esta observación fue

confirmada con VCD y posteriormente todas las mediciones de VCD se realizaron en muestras obtenidas después de 2 horas de tiempo de reacción. Los espectros VCD son imágenes especulares para los complejos obtenidos con los enantiómeros de cada analito, confirmando así que la quiralidad general es inducida por la quiralidad del aminoácido.

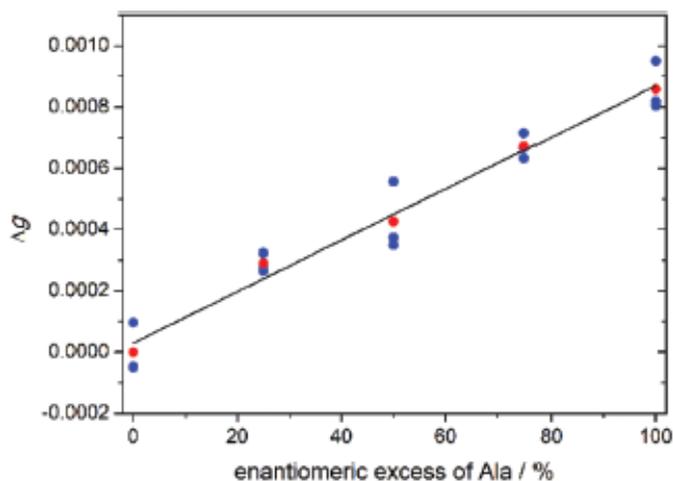


**Figura 2.7.2.** Los espectros de VCD se normalizaron en la banda más intensa de los espectros de infrarrojos correspondientes de L-ala coensamblados con un aminoácido 100% (gris), 75% (verde), 50% (rojo), y 25% (azul) de e.e. Los espectros se comparan para una mayor claridad.<sup>16</sup>

En el estudio de las mezclas, observamos que la intensidad de las bandas disminuye cuando se emplean aminoácidos con enantiopureza inferior, traduciéndose en intensidades menores. La buena relación señal-ruido incluso al 25% de e.e. todavía permite una medición fiable.

Un problema para las aplicaciones cuantitativas de VCD es la evolución basal que se produce durante las mediciones. El tiempo generalmente largo para lograr suficiente señal-ruido introduce un retraso considerable entre las adquisiciones de muestras, lo que da como resultado un desfase de referencia. El tiempo de adquisición de todas las mezclas se reduce a 20 minutos, gracias a las señales mejoradas. Las gráficas de  $\Delta G$  vs el e.e. revelaron relaciones lineales entre las composiciones enantioméricas de alanina y las intensidades de los factores de simetría de los espectros de VCD de ala-Co, también se observó una relación lineal en el caso del triptófano. La dependencia lineal entre  $\Delta G$  del complejo-analito y el e.e. de los aminoácidos quirales nos permite construir curvas de calibración que se pueden emplear para determinar el e.e. de una muestra con composición enantiomérica desconocida. Se propuso un ensayo de modelo de VCD de prueba para la determinación del e.e. para una clase seleccionada de moléculas quirales, explotando la mejora de señal de VCD inducida por Co (II) para el análisis cuantitativo. Proponemos utilizar un complejo estereodinámico de Co (II) que debería vincular

aún más un analito quiral. Como resultado de esta unión, las formas enantioméricas del complejo se convierte endiastereomérico. Cuando una mezcla del analito se mezcla con el Co (II)-complejo, las señales se cancelan, dejando una intensidad de VCD, directamente proporcional al e.e.



**Figura 2.7.3.** Gráfica de  $\Delta g$  (Puntos azules), definida como la diferencia entre  $g$  en  $1617\text{ cm}^{-1}$  y  $g$  en  $1587\text{ cm}^{-1}$ , registrado para la ala-Co vs el e.e. de la alanina. Los puntos rojos representan los valores medios de las tres replicas para cada e.e. La  $R^2$  tiene un valor de 0.9868.<sup>16</sup>

Esto nos permitió superar los principales problemas asociados a las mediciones de VCD (intensidades de señal débiles y distorsión basal), incluso con las muestras de bajo e.e. El método resalta la posibilidad de ampliar aún más la aplicación analítica de VCD a otras clases de moléculas quirales. Podemos aprovechar los enfoques dinámicos covalentes de la formación de cadenas de iminas y la coordinación del metal para diseñar nuevos complejos estereodinámicos de Co (II) que conducen a señales mejoradas, desarrollando así nuevos protocolos en el análisis cuantitativo de VCD.

## 2.8. Monitoreo *in situ* del e.e. durante una reacción cinética catalítica.

### 2.8.1. Resumen.

Se monitoreó *in situ* el e.e. durante las transformaciones catalíticas asimétricas por medio de FT-VCD-NIR y esto demostró ser una herramienta viable. Se empleó la resolución cinética hidrolítica cocatalizada por epóxidos racémicos como un estudio de caso, la metodología se desarrolló para monitorear el e.e. del epóxido en función de la conversión del reactivo limitante. Se compararon los resultados de los catalizadores monoméricos y oligoméricos para sondear la molecularidad del catalizador.<sup>15</sup>

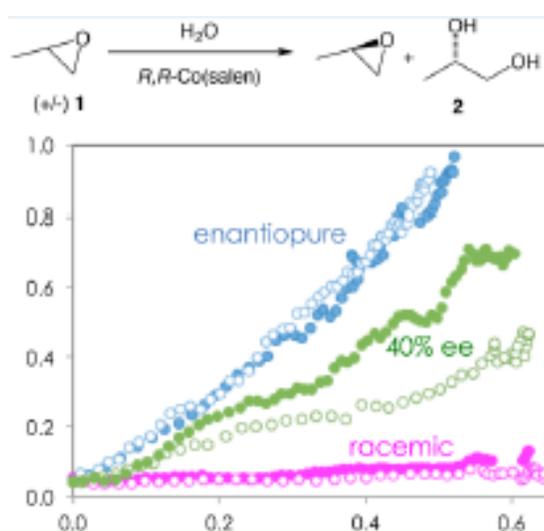


Figura 2.8.1. Variación del e.e. en función de la fracción de conversión del reactivo limitante.<sup>15</sup>

### 2.8.2. Introducción.

El monitoreo *in situ* del progreso de una reacción se ha convertido en una herramienta estándar en el análisis de las reacciones catalíticas. La capacidad de obtener un análisis rápido de los perfiles de concentración, condujo al desarrollo del análisis cinético del progreso de la reacción, por sus siglas en inglés RPKA. Esta información puede ser utilizada para desarrollar un mecanismo capaz de optimizar una reacción eficiente. Existen varios casos para el análisis del e.e. en función del tiempo, por ejemplo, el cambio temporal en el e.e es un indicio común de degradación un catalizador, donde el monitoreo *in situ* del e.e. podría servir como una alerta temprana y útil en el modelado de este comportamiento.

FT-VCD-NIR es una herramienta para el monitoreo temporal del e.e. Se eligió la resolución cinética hidrolítica cocatalizada de epóxidos recémicos debido a su importancia práctica y su mecanismo bien estudiado. La técnica monitorea tanto el e.e. como la conversión en el transcurso de esta reacción, logramos confirmar la información mecanicista sobre la especiación del catalizador para catalizadores monoméricos y oligoméricos.<sup>15</sup>

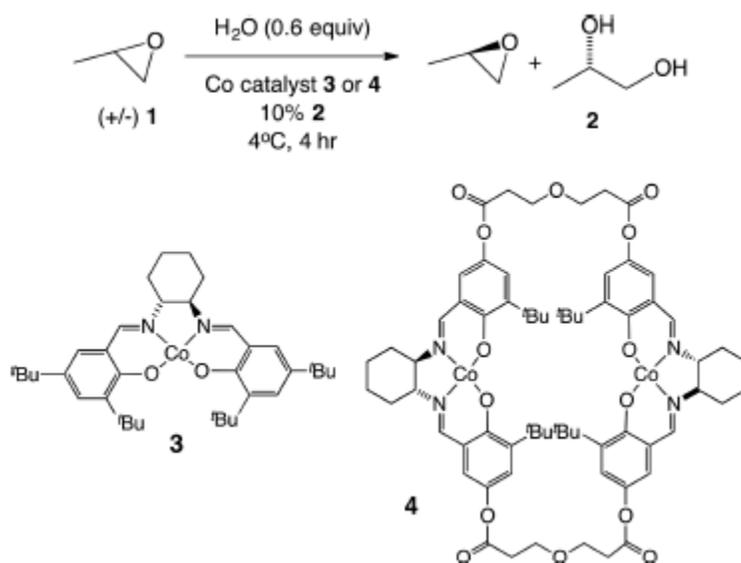


Figura 2.8.2 Resolución cinética catalítica del epóxido de propileno catalizado por los complejos<sup>15</sup>

Varios estudios utilizaron VCD para monitorear reacciones quirales y el %EE en un sistema dinámico. Nafie y compañeros de trabajo siguieron la pseudoracemización de 2,2-dimetil-1,1-3-dioxolano-4-metanol en una gama de disolventes por VCD-IR<sup>14</sup>

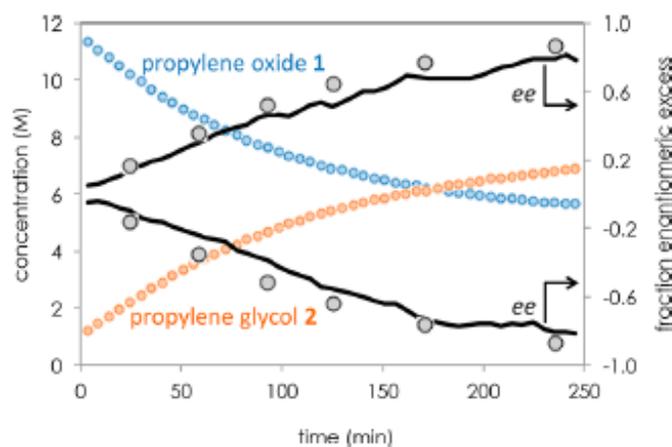
### 2.8.3. Sección experimental.

Las cargas del catalizador fueron elegidas para proporcionar curvas de progreso temporal similares para el catalizador monomérico 3 y el catalizador dimerico 4. Para catalizar la reacción se usó 0.1 equivalentes de propilenglicol, 0.6 equivalentes de H<sub>2</sub>O y 0.05 equivalentes de epóxido de carbonil para mejorar la señal de VCD de los datos de bajo nivel del e.e. al comienzo de la reacción. La reacción se lleva a cabo en un reactor de reciclaje de lotes en el que la solución de reacción circula a través de una celda montada en el espectrómetro VCD. La

recolección simultánea de espectros de IR y VCD fue posible utilizando el software ChiralIR-2X desarrollada por BioTools, Inc. los espectros fueron adquiridos y coagregados sobre bloques de 5 minutos de duración que optimiza el equilibrio entre resolución espectral y temporal. Estos datos se exportaron a MATLAB para su análisis. Los espectros de VCD e IR utilizan una descomposición de la resolución de la curva multivariante (MCR) que proporciona tendencias para los componentes de reacción individuales y el e.e. del óxido de propileno. Una vez validado el método, podrán llevarse a cabo otras reacciones en condiciones.

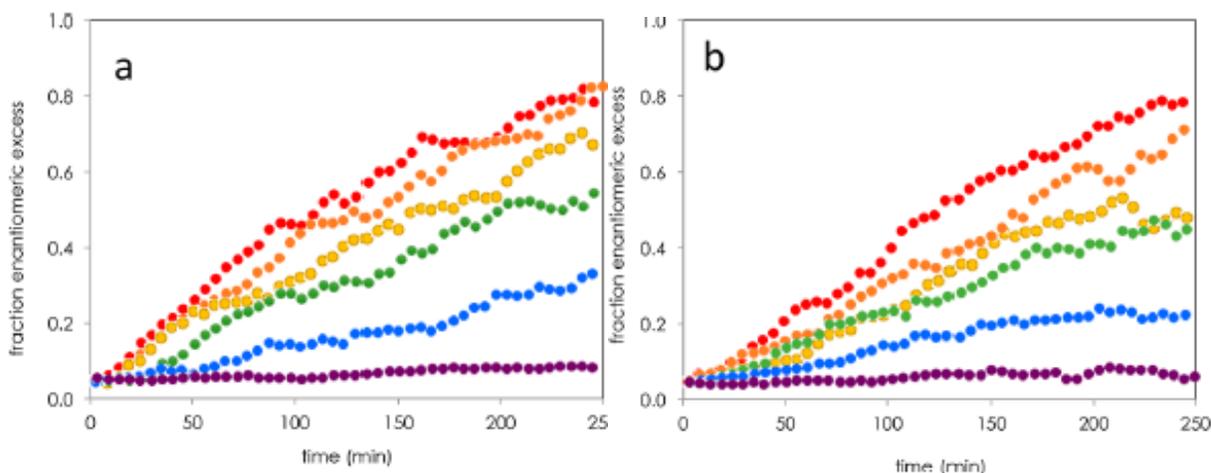
#### 2.8.4. Resultados y discusión.

La resolución cinética de la figura 2.8.2 fue monitoreada por FT-VCD-NIR utilizando tanto el catalizador monomérico **3** como el catalizador dimérico **4** en valores variables de e.e. La validación de la metodología para determinar el e.e. se muestra en la figura 2.8.3.



**Figura 2.8.3.** Perfiles temporales de la reacción del esquema 1 utilizando el catalizador **3**. Reactivo racémico **1** (símbolos azules) y producto **2** (símbolos naranjas) de espectros FT-IR de la reacción. e.e de **1** de VCD-IR (líneas negras) comparado con el e.e. de muestreo analítico de alícuotas (símbolos grises) utilizando (R, R)-**3** (arriba) y (S, S)-**3** (abajo), validando la técnica para la medición *in situ* en la reacción.<sup>15</sup>

La tasa de cambio del e.e. en el sustrato racémico **1** en la resolución cinética del esquema 1 disminuye con la disminución del catalizador, tanto para el catalizador monomérico **3** como para el catalizador dimérico **4**.

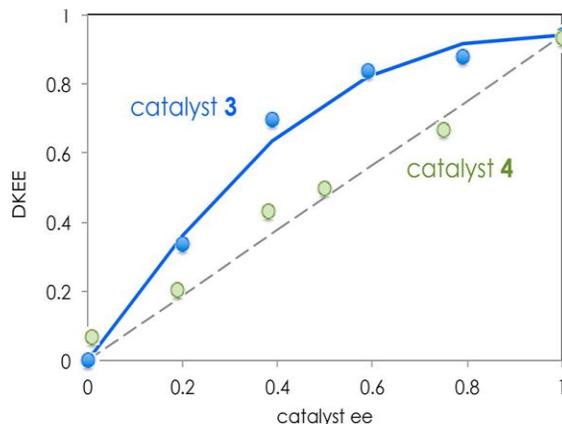


**Figura 2.8.4.** Exceso de fracción enantiomérica de las mediciones de VCD-IR para la reacción del esquema 1 llevada a cabo utilizando (a) (R,R)-3 y (b) (R,R)-4 a diferentes valores de e.e.: rojo=100% e.e.; Naranja: 79% e.e. , 75% e.e. ; Amarillo: 59% e.e. , 50% e.e. 4; Verde: 39% e.e., 38% e.e. ; Azul: 20% e.e, 19% e.e.; e Indigo: 0% , 1% e.e. <sup>15</sup>

$$DKEE = \frac{K_{mayor} - K_{menor}}{K_{mayor} + K_{menor}} = \frac{K_{rel} - 1}{K_{rel} + 1} \quad (7)$$

**Ecuación 7:** Mejora cinética enantiomérica diferencial. <sup>15</sup>

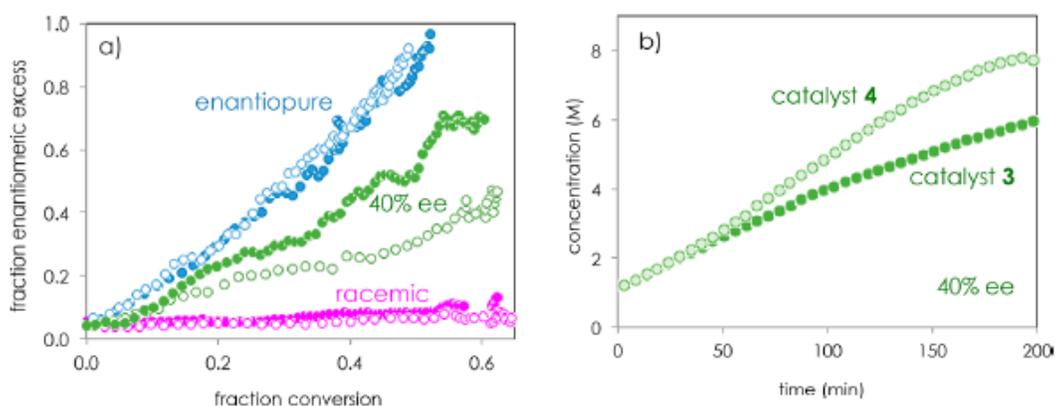
Se define una variable denominada: mejora cinética enantiomérica diferencial, DKEE. La relación entre DKEE y el e.e. ofrece un medio para analizar los efectos no lineales de la enantiopureza del catalizador en la resolución cinética en un tratamiento gráfico similar para la catálisis asimétrica. DKEE vs e.e. revelan las relaciones mostradas en la figura 2.8.5 donde el catalizador dimérico exhibe un comportamiento lineal en DKEE con respecto al e.e., como se muestra en el ajuste de los puntos a la línea discontinua.



**Figura 2.8.5.** DKEE trazada como una función del catalizador en la reacción de la figura 2.7.2 catalizada por 3 (azul) y 4 (verde). La línea discontinua muestra la relación lineal. La línea azul sólida es el ajuste al modelo Kagan ML<sub>2</sub> con K = 4 y g = 0.20

existe la posibilidad de que se formen las especies catalíticas homoquirales (MLRLR y MLSLS) y heteroquiral (MLRLS). El parámetro K representa la composición de equilibrio de estas especies. Mientras que la especie homoquiral <sup>15</sup>

En el caso de la reacción de la figura 2.8.1 catalizada por **3**, en lugar de considerar especies intermedias bimetálicas, el modelo describe el potencial de los estados de transición homoquirales o heteroquirales en lugar de especies estables. Esta diferencia entre los dos catalizadores también se manifiesta por las diferencias en la selectividad. Los datos de e.e. seleccionados para ambos catalizadores se trazan juntos como una función de conversión en la figura 2.8.6. a, mientras que la figura 2.8.6. b traza la formación del producto frente al tiempo para ambos catalizadores en 40% e.e. La figura 2.8.6. a revela que, si bien los catalizadores racémicos y de carbonil **3** y **4** muestran tendencias similares para el producto e.e. en función de la conversión, el caso muestra una divergencia entre los dos catalizadores.



**Figura 2.8.6.** a) Exceso de fracción enantiomérica trazada en función de la conversión del sustrato **1** en la reacción del esquema 1 catalizada por carbonil (símbolos azules), 40% e.e. (símbolos verdes) y racémica (símbolos magenta) **3** (●) y **4** (○); b) concentración del producto **2** en función del tiempo para catalizadores **3** y **4** en 40% e.e.<sup>15</sup>

## **2.9. VCD una metodología para la medición del e.e. en compuestos quirales en suspensión y el uso complementario de resonancia magnética nuclear (NMR) y VCD en disolución. Caso particular del alcanfor<sup>10</sup>.**

### **2.9.1. Resumen.**

Se determinó el e.e. por medio de VCD e IR en suspensiones quirales, se analizó el alcanfor en diferentes mezclas de sus enantiómeros y sus espectros fueron determinados. Se calcularon las regresiones lineales ( $\Delta$ absorbancia vs e.e.) para las bandas seleccionadas y las intensidades de VCD de una muestra desconocida fueron interpoladas en esas regresiones lineales obteniéndose el e.e. con un RMS de 2.4 (RMS es la medida de la amplitud porque toma en cuenta la señal y proporciona un valor que está directamente relacionado con la energía de la vibración). Para VCD en disolución, se realizó la regresión lineal de  $\Delta$ Absorbancia vs e.e. de las bandas seleccionadas, obteniéndose un valor de RMS de 1.1%.

Se usó el método de mínimos cuadrados para predecir el e.e., obteniéndose precisiones del 1% en el caso de una disolución de  $\alpha$ -pineno en  $\text{CCl}_4$ , y una precisión del 2% para dos muestras en disolución donde se simula la transformación de (S)-(-)-alcanfor a [(S)-endo]-(-)-borneol, usando VCD y VCD-NIR, obteniendo precisiones del 2% para especies individuales como el  $\alpha$ -pineno, alcanfor y borneol. Finalmente se obtuvo una precisión del 3% para dos especies como S-(-)-alcanfor y [(S)-endo]-(-)-borneol. Para efectuar el análisis en suspensión se hizo uso de pastillas de KBr o nujol. Se determinó el espectro de VCD en nujol con mezclas de diferentes proporciones de R/S de alcanfor sólido para calcular regresiones lineales con varias bandas de VCD y posteriormente interpolarlas a muestras desconocidas, obteniendo valores precisos del %EE. VCD podría abrir una puerta para su aplicación en el campo de la quiralidad de materiales sólidos. Se omite detallar la experimentación y los resultados obtenidos por NMR dado que no es tema del presente trabajo y nos enfocaremos únicamente en los resultados obtenidos por VCD en disolución y en suspensión.

### **2.9.2. Introducción.**

Existen compuestos insolubles en la mayoría de los disolventes orgánicos, y esto ocasiona, señales indeseables en el espectro generado. Por otro lado, hay enantiómeros que se

interconvierten (proceso de racemización) muy rápido en disolución y solo pueden ser aislados y estudiados en suspensión.

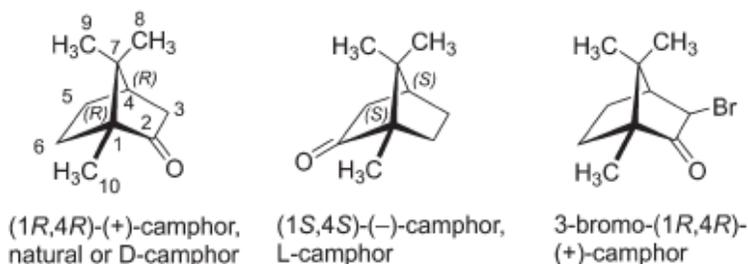


Figura 2.9.1: Ilustraciones de los dos enantiómeros del alcanfor y un derivado halogenado<sup>10</sup>.

### 2.9.3. Sección experimental.

Se usaron muestras comerciales de (1*R*)-(+)-alcanfor, (1*S*)-(-)-alcanfor y (+)-alcanfor. adquiridos de Sigma-Aldrich, al igual que el disolvente, en este caso se hizo uso de CCl<sub>4</sub>.

#### 2.9.3.1. Espectros de IR y VCD.

Se utilizó una balanza analítica Sartorius Entris, su desviación estándar es de 0.1 mg y su linealidad es de 0.2 mg. Los espectros de IR y VCD de las diferentes proporciones de enantiómero D y L de mezclas de alcanfor en disolución de CCl<sub>4</sub> (fase líquida) y nujol (suspensión) fueron determinadas a temperatura de laboratorio usando un espectrofotómetro JASCO FVS-4000 FTIR. Equipado con un detector MCT (2000-900 cm<sup>-1</sup>).

#### 2.9.3.2. VCD en disolución.

Estos experimentos fueron llevados a cabo en CCl<sub>4</sub> usando una celda de BaF<sub>2</sub>, una resolución de 4 cm<sup>-1</sup> y 2000 escaneos. Las mezclas siguientes de 20 mg de alcanfor (R, S o R+S) fueron disueltas en 100 µl de CCl<sub>4</sub>, 20 mg de R-(+)-alcanfor (correspondiente al 100% e.e.), 16 mg R + 4 mg S (60% e.e), 12 mg de R + 8 mg de S (20% e.e.). 20 mg de S-(-)-alcanfor (correspondiente al -100% e.e.), 16 mg de S + 4 mg de R (-60% e.e.), 12 mg de S + 8 mg de R (-20% e.e.) y 10 mg de R + 10 mg de S (0% e.e.).

La línea base fue corregida por sustracción del disolvente. Las señales de la solución cruda del espectro de VCD de dos enantiómeros puros y la diferencia de mezclas enantioméricas. Se

realizó un promedio del espectro de VCD corregido por el CCl<sub>4</sub> para dos enantiómeros puros, obteniendo la línea base de VCD. La línea base de VCD es una media suma, definida como:

$$\frac{\Delta A(R) + \Delta A(S)}{2} \quad (8)$$

**Ecuación 8:** Cálculo de la línea base de VCD.<sup>10</sup>

Esta línea base de VCD fue sustraída de todo el espectro de VCD corregido eliminando el CCl<sub>4</sub>. El espectro corregido de VCD de enantiómeros puros y la diferencia de mezclas enantioméricas dan una línea base corregida del espectro de VCD.

### **2.9.3.3. VCD en suspensión.**

Se prepararon diferentes suspensiones de 30 mg de alcanfor (R,S o R+S) en 50 µl de nujol., correspondiente a la siguientes mezclas, 30 mg de R-(+)-alcanfor (correspondiente al 100% e.e.), 24 mg de R + 6 mg de S (60% e.e.), 18 mg de R + 12 mg de S (20% e.e.) , 30 mg de S-(-)-alcanfor (correspondiente al -100% e.e.), 24 mg de S + 6 mg de R (-60% e.e.), 18 mg de S + 12 mg de R (-20% e.e.) y 15 mg de R + 15 mg de S (0% e.e.).

El espectro fue determinado usando un estándar líquido con BaF<sub>2</sub>. Para la corrección de la línea base se eliminaron las señales del nujol del espectro crudo de VCD de dos enantiómeros puros y de mezclas de enantiómeros. Se promedió el espectro de VCD ya corregido eliminando la señal del nujol de los enantiómeros puros obteniendo la línea base de VCD, esta línea base de fue sustraída del espectro de cada enantiómero puro y cada mezcla de enantiómero para la correspondiente línea base corregida del espectro de VCD.

### **2.9.4. Experimentos en disolución por VCD.**

El espectro de IR esperado para ambos enantiómeros son idénticos, mientras que el espectro de VCD es prácticamente una imagen especular del otro. Los valores de la zona cero obtenidos son muy pequeños e insignificantes, las pendientes son positivas o negativas dependiendo de la banda, la más sensible (la pendiente más grande) corresponde a la banda de 1046.2 cm<sup>-1</sup>.

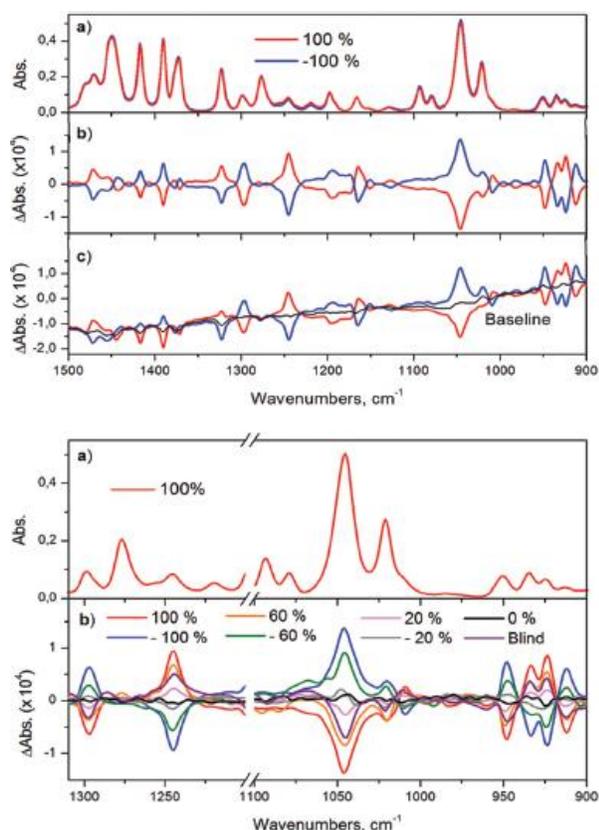
### 2.9.4.1. Resultados en suspensión por VCD.

La tabla 2.9.1 contiene los resultados de las regresiones lineales llevadas a cabo para tres bandas seleccionadas, 1244.8, 933.4, y 924.7  $\text{cm}^{-1}$ .

**Tabla 2.9.1:** Resultados de la interpolación del e.e. de muestras desconocidas para bandas seleccionadas de VCD en suspensión de nujol.<sup>10</sup>

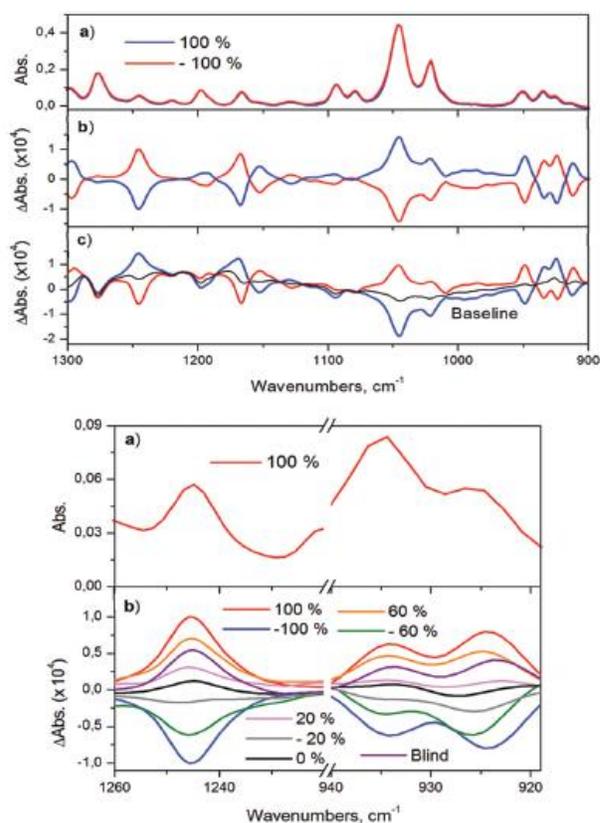
Banda ( $\text{cm}^{-1}$ )	Interpolación e.e.	e.e. actual	Varianza (%)
1244.8	48.0	48.5	0.5
933.4	45.7	-	2.8
924.7	50.4	-	-1.9
RMSE	2.4	-	-

**Figura 2.9.2.**<sup>10</sup>



**Figura 2.9.2:** (Arriba) experimentación IR (a) y VCD (b y c) espectro de R-alcanfor (100% e.e. en rojo) y S-alcanfor (-100% e.e. en azul) en  $\text{CCl}_4$ . El panel (b) muestra la línea base corregida del espectro de VCD y el panel (c) el espectro de VCD con la extracción de las señales del  $\text{CCl}_4$ . (abajo) espectro experimental de IR (a) R-alcanfor (en rojo) y la línea base experimental corregida del espectro de VCD (b) de los dos enantiómeros puros ópticamente activos (azul y rojo), dos mezclas de enantiómeros 60% e.e. (en naranja) y -60% e.e. (en verde), dos de 20% e.e. (rosa y gris), la mezcla racémica (negro) y la muestra problema (morado) en  $\text{CCl}_4$ .<sup>10</sup>

**Figura 2.9.3.**<sup>10</sup>



**Figura 2.9.3:** (Arriba) experimentación IR (a) y VCD (b y c) espectro de R-alcanfor (100% e.e. en rojo) y S-alcanfor (-100% e.e. en azul) en disolución de nujol. El panel (b) muestra la línea base corregida del espectro de VCD y el panel (c) el espectro de VCD con la extracción de las señales de la disolución de nujol. (abajo) espectro experimental de IR (a) R-alcanfor (en rojo) y la línea base experimental corregida del espectro de VCD (b) de los dos enantiómeros puros ópticamente activos (azul y rojo), dos mezclas de enantiómeros 60% e.e. (en naranja) y -60% e.e. (en verde), dos de 20% e.e. (rosa y gris), la mezcla racémica (negro) y la muestra problema (morado) en solución de nujol.<sup>10</sup>

**Tabla 2.9.1:** Regresión lineal obtenida por VCD en CCl<sub>4</sub>. Correspondiente a  $10^6 \Delta A = a + b\%EE$ .<sup>10</sup>

Banda (cm <sup>-1</sup> )	Intersección (a)	Pendiente (b)	R <sup>2</sup>
1296.9	-2.1	-60.62	0.994
1244.8	2.2	96.28	0.995
1046.2	1.2	-138.65	0.996
947.8	-2.5	-71.72	0.997
933.4	2.6	62.12	0.986
924.7	-0.3	82.50	0.993

**Tabla 2.9.2:** Regresión lineal obtenida por VCD en suspensión de nujol usando  $10^6 \Delta$ Absorbancia.<sup>10</sup>

Banda (cm <sup>-1</sup> )	Intersección (a)	Pendiente (b)	R <sup>2</sup>
1244.8	5.1	102.58	0.994
933.4	2.9	62.45	0.992
924.7	-3.9	83.23	0.990

### 2.9.5. Prueba para una muestra desconocida.

Se reportan los resultados obtenidos para una muestra desconocida simple. Para la muestra desconocida, también se omite la experimentación y los resultados por NMR.

- 750 mg de S- alcanfor y 260 mg de R-alcanfor con un total de 1010 mg de muestra, Alícuotas de la muestra fueron enviadas a NMR y a VCD.
- Se realizó la determinación de los espectros de IR y VCD de la muestra desconocida en CCl<sub>4</sub> y en suspensión, la diferencia de absorbancia de esta muestra con un e.e. desconocido fue interpolado usando las ecuaciones correspondientes de la regresión lineal llevada a cabo para cada banda. Obteniendo un valor promedio de e.e. de 48% con un rms de 2.4 para nujol, estos resultados sobre la interpolación de  $\Delta$ Absorbancia de muestras desconocidas y se presentan en la tabla 5 y 6.

Los resultados obtenidos de e.e. en nujol por interpolación son muy cercanos al valor real de e.e. de la muestra desconocida, que aquella obtenida en CCl<sub>4</sub>. Esto debido al hecho de que seis bandas han sido analizadas en solución y solo tres en nujol.

El análisis de e.e. en suspensión se puede llevar a cabo usando compuestos de referencia en VCD obteniendo resultados razonables. VCD muestra varias ventajas con respecto a otras técnicas analíticas, como la presencia de diferentes bandas vibracionales en el espectro, que permite la identificación de picos individuales en una mezcla de dos o más moléculas. Adicionalmente cada punto en una especie única del espectro de VCD representa un valor independiente del e.e.

**Tabla 2.9.3:** Resultados de la interpolación del e.e. de muestras desconocidas para bandas seleccionadas de VCD en CCl<sub>4</sub><sup>10</sup>

<b>Banda (cm<sup>-1</sup>)</b>	<b>Interpolación e.e.</b>	<b>e.e. actual</b>	<b>Varianza (%)</b>
1296.9	49.6	48.5	-1.1
1244.8	49.6	-	-1.1
1046.2	50.8	-	-2.3
947.8	51.7	-	-3.2
933.4	52.1	-	-3.6
924.7	50.3	-	-1.8
RMSE	1.1	-	-

## Conclusiones.

En esta revisión logramos notar la importancia que tiene la determinación del e.e. en moléculas quirales, este trabajo se enfocó en la determinación por VCD del e.e. en distintas muestras, bajo diferentes condiciones experimentales, y consiguiendo ver sus ventajas sobre otros métodos.

De lo anterior, y concluyendo en orden de aparición de los artículos, se menciona lo siguiente:

- VCD presentó una señal de ruido más baja en comparación con la técnica de rotación óptica al determinar el e.e. en tres grupos de muestras quirales, el método presentó una precisión razonable. Se observó que esta precisión se puede aumentar usando las áreas de banda del espectro en lugar de su altura, al igual que el uso de varias bandas en vez de una sola. VCD logró ventajas notables, ya que puede analizar mezclas de compuestos quirales, característica que no se puede lograr por medio de rotación óptica.
- FT-VCD acoplado a celdas de flujo experimentales para la determinación del e.e. en distintas muestras quirales en función del tiempo, presentó un nivel adecuado de precisión (de acuerdo al modelo PLS), al obtenerse parámetros de correlación lineal muy cercanos a la unidad, por ello, la simulación de monitoreo de la fracción molar y el e.e. de las especies analizadas, fue exitosa. Este método demostró ser útil para dar seguimiento a la cinética de mezclas de especies quirales, así como de especies individuales. El uso de FT-VCD resultó ventajoso al poder trabajar en toda la región del infrarrojo en comparación con trabajar solo en la región del NIR.
- Se presentaron problemas en la determinación del e.e. en la región del NIR ya que al trabajar en esa región del espectro se generan cambios de la línea base de los espectros registrados, lo cuál trajo consigo un problema al momento de obtener información de los mismos, sin embargo, este detalle fue solucionado al implementar el análisis PLS al tratamiento de datos. La técnica presentó una buena precisión, demostrando así, que la combinación de VCD-NIR con el análisis PLS tiene un gran potencial para el control de procesos en el monitoreo de síntesis y la fabricación de moléculas quirales.
- Se demostró la influencia de diversos disolventes en la epimerización del (S)-DDM por medio de VCD-NIR, estos disolventes presentaron una fuerte absorción en la región del NIR, sin embargo, este problema fue eliminado al elegir ventanas espectrales adecuadas para el análisis. Nuevamente se hizo uso del análisis PLS para obtener información de los espectros generados de las muestras en los diferentes disolventes. Se obtuvo una

buena correlación entre los valores generados y los previstos. PLS se usó para determinar el e.e. de (S)-DDM en las soluciones de reacción y por ende, se determinó la conversión de reactivo a producto en la reacción de empimerización. Este método demostró que puede aplicarse al estudio de la racemización de múltiples especies quirales y a casos donde las fracciones molares de varias especies quirales están cambiando con el tiempo.

- La señal del espectro de VCD logró presentar una mejora notable al implementar iones metálicos, en este caso el Co (II). Esto debido a las transiciones electrónicas bajas centradas en el metal, la interacción de acoplamiento entre el metal y transiciones vibracionales en el ligando, los aspectos geométricos de este acoplamiento, sus propiedades de simetría y finalmente, la distancia entre los osciladores y el centro metálico. Se espera que futuros cálculos en química cuántica ayuden a mejorar aún más el modelo.
- Se logró demostrar que VCD-IR proporciona un método práctico para monitorear el e.e. durante el transcurso de una transformación catalítica asimétrica.
- Se compararon los resultados del análisis de VCD en muestras en disolución y en suspensión, en ambos casos se lograron buenas precisiones, demostrando así la eficiencia de VCD para analizar muestras en diferentes fases. Se muestra así, que los estudios de VCD en suspensión presentan clara ventaja sobre otras técnicas en donde no se puede usar esta fase, tal es el caso de NMR.

VCD provee al analista de una precisión razonable durante los experimentos, al igual que una metodología alternativa y competitiva para la determinación del e.e. y otros parámetros como la configuración absoluta de una molécula. Se mostraron ventajas de la técnica y su impacto en áreas novedosas y prometedoras, como el análisis de sólidos, cinéticas de reacción, etc... Esta técnica es útil y eficaz para el análisis simultáneo de muestras, lo cual representa una ventaja sobre otras, ya que disminuirá los tiempos de análisis y obtención de información. VCD permitió en todos los casos lograr el objetivo con resultados óptimos y confiables, demostrando su potencial. En esta revisión se mostró la importancia de la detección de la quiralidad, al igual que el impacto de VCD como una metodología aún emergente.

## Referencias:

- 1.- Ortega, B. *Quiralidad en estructuras supramoleculares: Espectroscopías de Dicroísmo circular (ECD, VCD y ROA)*. Tesis doctoral. (2014). Universidad de Málaga, Málaga, España.
- 2.- Bruice, P., Y. *Química Orgánica*. (2007). E.U.A. Pearson. Quinta edición.
- 3.- Martínez, E., *Métodos fisicoquímicos en biotecnología*. (2013). Ciudad de México, México
- 4.- Cedrón, J. Methods for the assignment of the absolute configuration of an organic molecule, *Revista de Química PUCP*. (2005). 22 (1), 19-31.
- 5.- Torres, J. *Principios activos anticancerígenos y antiinflamatorios de Acacia Shaffneri*. Tesis doctoral. (2013). Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Pachuca de Soto, Hidalgo.
- 6.- Candelas, I., *Efecto del acabado en las propiedades ópticas de fibras textiles acrílicas*. Tesis doctoral. (2013). Instituto tecnológico de Aguascalientes. Aguascalientes, México.
- 7.- Córscico B., Falomir, L., Franchini, G., Scaglia, N. *Análisis estructural y funcional de macromoléculas*. (2013). La Plata, Argentina. Editorial de la universidad de la plata. Primera edición.
- 8.- Merten, C., Vibrational Optical Activity as probe for molecular interactions. *Physical Chemistry Chemical Physics*. (2017).19.18803-18812.
- 9.- Nafie, L., *Vibrational Optical Activity*. (2013). New York, USA. WILEY. Primera edición.
- 10.- Quesada, M., Virgil, A., Monteagudo, E., Claramunt, R., Avilés, J., López, J., Alkorta, J., and Elguero, E., A vibrational Circular Dichroism (VCD) methodology for the measurement of enantiomeric excess in chiral compounds in the solid phase and for the complementary use of NMR and VCD techniques in solution: the camphor case. *Analyst*, (2018). 14. 1406-1416.
- 11.- Changning, G., Rekha, D., Dukor, R., Cao, X., Freedman, T., and Nafie, L. Determination of enantiomeric excess of chiral molecules using Fourier transform. Vibrational Circular Dichroism spectroscopy: Simulation of real-time reaction monitoring. *Analytical Chemistry*. (2004).76 (23). 6956-6966.

- 12.- Chunxia, Z., and Prasad, P. Comparative Evaluation of Vibrational Circular Dichroism and Optical Rotation for Determination of Enantiomeric Purity. *Applied Spectroscopy*, (2001). 55 (7). 913-918.
- 13.- Changning, G., Rekha, D., Dukor, R., Cao, X., Freedman, T., and Nafie, L Enantiomeric Excess Determination by Fourier Transform Near-Infrared Vibrational Circular Dichroism Spectroscopy: Simulation of Real-Time Process Monitoring. *Applied Spectroscopy*. (2005), 59 (9). 1114-1124.
- 14.- Changning, G., Rekha, D., Mills, J., Dukor, R., Cao, X., Freedman, T., and Nafie, L. Fourier Transform Near-Infrared Vibrational Circular dichroism used for On-Line Monitoring the Epimerization of 2,2-Dimethyl-1,3-Dioxolane-4-Methanol: A Pseudo Racemization Reaction. *Chirality*. (2006),18 (10). 775-782.
- 15.- Blackmond, M., Mower, P., and Donna G. In-Situ Monitoring of Enantiomeric Excess During a Catalytic Kinetic Resolution. *ACS Catalysis*. (2017), 8 (7). 5977-5982.
- 16.- Arrico, L., Angelici, G., and Di Bari, L. Taking Advantage of Co (II) induced enhanced VCD for the fast and sensitive determination of enantiomeric excess. *Organic & Biomolecular Chemistry*. (2017). 15. 9800-9803.
- 17.- PAC, 1996, 68, 2193 *Basic terminology of stereochemistry* (IUPAC Recommendations 1996) on page 2207.