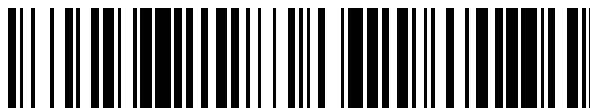


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 735 636**

21 Número de solicitud: 201830595

51 Int. Cl.:

C12P 7/18 (2006.01)

C07C 31/18 (2006.01)

C07C 235/08 (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación:

19.06.2018

43 Fecha de publicación de la solicitud:

19.12.2019

71 Solicitantes:

**UNIVERSIDAD DE MURCIA (100.0%)
Edificio Pleiades, 4ª planta, del Campus
Universitario de Espinardo
30100 MURCIA ES**

72 Inventor/es:

**LOZANO RODRÍGUEZ, Pedro;
ÁLVAREZ GONZÁLEZ, Elena;
BERNAL PALAZÓN, Juana María;
NIETO CERÓN, Susana;
GÓMEZ GARCÍA, Celia y
DONAIRE GONZÁLEZ, Antonio**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

54 Título: **Procedimiento de síntesis enzimática de monoésteres de compuestos polihidroxilados**

57 Resumen:

Procedimiento de síntesis enzimática de monoésteres de compuestos polihidroxilados.

La presente invención se refiere a un procedimiento de síntesis enzimática de monoésteres de compuestos polihidroxilados pudiéndose aislar y obtener con alto rendimiento el producto monoéster, sin mezclas de otros posibles ésteres como por ejemplo biésteres o triésteres. El procedimiento se lleva a cabo en medios libres de disolventes orgánicos.

ES 2 735 636 A1

DESCRIPCIÓN

Procedimiento de síntesis enzimática de monoésteres de compuestos polihidroxiados

5 La presente invención se refiere a un procedimiento de síntesis enzimática de monoésteres de compuestos polihidroxiados, pudiéndose aislar y obtener con alto rendimiento el producto monoéster, sin mezclas de otros posibles ésteres como por ejemplo biésteres o triésteres. El procedimiento se lleva a cabo en medios libres de disolventes orgánicos.

10 **Antecedentes de la invención**

Los ésteres de compuestos polihidroxiados (i.e. pantenol,) son productos bioactivos de aplicación muy extendida en las industrias cosmética y farmacéutica, siendo el triacetato de pantenilo el producto más comúnmente utilizado. Los ésteres se obtienen actualmente por
15 catálisis química o enzimática a partir de derivados de los ácidos carboxílicos (p. ej. cloruros de acilo, ésteres de vinilo, anhídrido acético, etc.), en medios de reacción basados en disolventes orgánicos.

Por ejemplo el triacetato de pantenilo se sintetiza por vía química, mediante, por ejemplo,
20 una mezcla de dimetil aminopiridina y ácido acético anhidro como catalizador, y empleando temperaturas de hasta 110°C, y sucesivas etapas de purificación, lo que supone un coste en su manufactura como se describe en la patente con número de publicación US6982346.

En otros casos, la reacción de acilación del pantenol por el anhídrido acético está catalizada
25 por ácidos fuertes, como el p-toluenosulfonilo como se describe en la patente con número de solicitud CN201611254844. En cualquier caso, estos procesos clásicos de síntesis orgánica son poco selectivos, ya que no permiten la obtención de los derivados mono- o diésteres, debido a que la extensión de la reacción de acilación ocurre sin control. Además, como consecuencia del empleo de ácidos o bases solubles como catalizadores, puede
30 generar la aparición de productos indeseados, habida cuenta del carácter exotérmico de las reacciones, y la poca selectividad de los catalizadores. Es por ello, por lo que es necesaria una etapa de purificación que incrementa los costes de producción, además de generar productos residuales que afectan negativamente a la sostenibilidad y/o carácter "verde" de los procesos de producción, tal como contemplan los principios de la Química Verde.

35 La catálisis enzimática es la estrategia de síntesis más selectiva para la síntesis de

productos químicos, siendo uno de los pilares en el desarrollo de la Química Verde y/o Química Sostenible.

5 La síntesis enzimática de monoésteres de pantenol mediante reacciones de transesterificación ha sido realizada utilizando como sustrato donador de acilo a diversos ésteres metílicos, p. ej. acrilato de metilo, metilacrilato de metilo, etc., y el pantenol, como se describe en la solicitud de patente WO2008053051. Además, la presencia de dos grupos hidroxilo primarios en el pantenol determina la obtención incontrolada de diésteres de pantenol como consecuencia de dos procesos catalíticos consecutivos sobre la misma
10 molécula de pantenol. El empleo de derivados de ácidos carboxílicos como donadores de acilo en las reacciones de transesterificación (p. ej. ésteres vinílicos, ésteres isopropenílicos, ésteres alquílicos, anhídridos, etc.), no solo supone un encarecimiento de los procesos frente al empleo de ácidos grasos libres, sino que también una pérdida considerable de sostenibilidad de los procesos, dado que dichos compuestos es necesario obtenerlos por
15 síntesis química a partir de los ácidos carboxílicos libres, lo que redundaría en un consumo de reactivos y disolventes.

En todos los casos descritos, la síntesis enzimática de monoésteres de compuestos hidroxilados mediante reacciones de transesterificación, se ha realizado en medios de
20 reacción que contenían disolventes orgánicos, generalmente apróticos (p.ej. acetonitrilo, tetrahidrofurano, acetona, etc.) con el fin de permitir la disolución de ambos sustratos, pantenol y los ésteres donadores de acilo, y así poder obtener un sistema líquido monofásico, donde poder verificarse las reacciones químicas.

25 Ambos sustratos, pantenol y ésteres de ácidos carboxílicos, presentan propiedades solventes claramente contrapuestas, ya que el carácter hidrofílico e higroscópico del pantenol contrasta con el carácter hidrofóbico e insoluble en agua de los ésteres de los donadores de acilo utilizados. Estas características determinan que sea necesario emplear disolventes orgánicos de polaridad intermedia para conseguir la solubilización de los
30 reactantes.

Además, tras la reacción catalítica, es necesario eliminar toda traza de disolvente orgánico empleado, así como de los productos secundarios de la reacción (p.ej. metanol, acetaldehído, etc.), para la recuperación y utilización del correspondiente monoéster de
35 pantenilo para la preparación de cualquier producto de consumo.

Por todo lo dicho sería muy interesante poder desarrollar un procedimiento de síntesis de monoésteres de compuestos hidroxilados mediante la esterificación directa entre un ácido carboxílico libre y un alcohol sin disolventes orgánicos y en presencia de agua y sin ser necesario el empleo de sustratos derivatizados/funcionalizados, con objeto de permitir la
5 preparación de medios de reacción monofásicos/homogéneos, así como la mejora en los rendimientos de los monoésteres obtenidos.

Descripción de la invención

10 La presente invención describe el procedimiento de síntesis enzimática selectiva de monoésteres de compuestos polihidroxilados, verificándose dicha síntesis mediante la esterificación directa entre los ácidos carboxílicos libres y el compuesto polihidroxilado, y sin el empleo de ningún tipo de derivatización y/o funcionalización química en ambas moléculas / sustratos, y sin emplear ningún tipo de disolvente orgánico volátil en el proceso.

15 La presente invención se refiere a un procedimiento de síntesis enzimática de monoésteres de compuestos polihidroxilados, que comprende las etapas de:

a) Formar una mezcla eutéctica monofásica mediante la mezcla y fusión por calentamiento, en presencia de agua de un ácido carboxílico de fórmula $R_1\text{-COOH}$ donde R_1 es un radical alifático de 10 a 25 átomos de carbono, el cual puede ser saturado o insaturado con un
20 compuesto polihidroxilado de fórmula $R_2\text{-OH}$ o $R_3\text{CONHR}_4\text{-OH}$ donde R_2 es un radical alifático de tres a 20 carbonos que contiene al menos dos grupos hidroxilos libres y puede estar sustituido en alguno de los C del radical alifático con un alquil($C_1\text{-}C_3$) lineal o ramificado;

25 y donde $R_3\text{CONHR}_4\text{-OH}$ contienen al menos dos grupos hidroxilos libres y donde R_3 y R_4 pueden ser iguales o diferentes y son un radical alifático de tres a 10 carbonos que puede estar sustituido en alguno de los C del radical alifático con un alquil($C_1\text{-}C_3$) lineal o ramificado;

b) adicionar una enzima hidrolítica (EC3.1) a la mezcla de la etapa a) a una temperatura
30 comprendida entre 30°C y 100°C para la formación del monoéster correspondiente y retirar el H_2O según se forma en la reacción.

En la presente invención en la etapa a) se mezclan ambos sustratos, con calentamiento con el fin de producir la fusión de todos los sustratos sólidos. Preferentemente la mezcla se
35 realiza con agitación continua, más preferentemente agitación mecánica, o magnética de manera que se genera una mezcla eutéctica líquida y monofásica. Dicha mezcla líquida

generada tras la fusión está libre de todo tipo de disolvente orgánico volátil, y se presenta como una única fase líquida homogénea, incolora y transparente, presentando un cierto carácter de gel, y que resulta estable a temperaturas comprendidas entre 20°C y 90 °C durante periodos de tiempo superiores a una semana.

5

En la presente invención, como sustratos donadores de acilo se emplean ácido grasos libres, de fórmula $R_1\text{-COOH}$. Preferentemente R_1 tiene entre 2 y 18 átomos de carbono, más preferentemente entre 10 y 18 átomos de carbono. Aun más preferentemente se selecciona entre: el ácido decanoico, ácido láurico, ácido mirístico, ácido palmítico, ácido palmitoleico, 10 ácido esteárico, ácido oleico, ácido linoleico o ácido linolénico, entre otros, utilizados sin ningún tipo de modificación y/o derivatización química sobre su grupo funcional carboxílico.

En la presente invención de manera preferente el compuesto polihidroxiado de fórmula $R_2\text{-OH}$ o $R_3\text{CONHR}_4\text{OH}$ se entiende que cubre sustancias que tienen al menos dos grupos 15 hidroxilo esterificables independientemente de cualquier grupo carboxílico que pueda estar en la misma molécula. Preferentemente el compuesto polihidroxiado de fórmula $R_2\text{-OH}$ o $R_3\text{CONHR}_4$ tiene tres, cuatro, cinco o seis grupos hidroxilos libres. Preferentemente R_2 es un radical alifático de cuatro a 10 carbonos que contiene cuatro, cinco o seis grupos hidroxilos libres.

20

Más preferentemente el compuesto polihidroxiado de fórmula $R_2\text{-OH}$ o $R_3\text{CONHR}_4\text{-OH}$ se selecciona entre pantenol, xilitol y sorbitol. De manera particular $R_3\text{CONHR}_4\text{-OH}$ es pantenol. El pantenol, tanto en su enantiomero D, como la mezcla racémica D,L, siendo utilizado sin ningún tipo de modificación química sobre sus grupos funcionales hidroxilo. De 25 manera particular $R_2\text{-OH}$ se selecciona entre xilitol y sorbitol.

En la presente invención, de manera preferente las enzimas hidrolíticas se seleccionan entre las esterasas (EC3.1.1.), las lipasas (EC3.1.1.3) y las proteasas (EC3.4.) Pueden estar bien en forma libre o inmovilizadas sobre soportes sólidos (p.ej. Lewatit, poliestireno, etc). Para la 30 presente invención, algunos ejemplos particularmente representativos son: lipasa A de *Candida antarctica* (CALA), lipasa B de *Candida antarctica* (CALB), lipasas de *Alkalygenes* sp., *Aspergillus* sp. *Mucor* sp., *Geotricum* sp., *Ricopus* sp., *Burkholderia* sp., *Candida* sp., *Candida* cilindracea, *Thermomices lanuginous*, *Mucor mihei*, *Rizomucor mihei*, *Pseudomonas fluorescens*, *Mucor javanicus*, o lipasas de panceras de porcino, tanto en su 35 forma libre, como inmovilizadas sobre soportes sólidos (p.ej. Lewatit, poliestireno, etc), algunas comercializadas bajo la marca Novozyme® 868, Novozyme® 525L, Novozyme®

435, Novozyme® 388, Lypozyme® RM, Novozyme® 871 y Lypozyme® TL. De manera particular la lipasa es Candida antarctica.

5 En la presente invención es especialmente deseable para utilizar la lipasa B de Candida antarctica (CALB) libre (Novozym® 525 L), o la lipasa B de Candida antarctica inmovilizada por adsorción sobre Lewatit WO nº 89/02916 (Novozym® 435).

10 El compuesto polihidroxiado y el ácido carboxílico están en cualquier relación molar, siendo preferible emplear una relación molar entre el ácido carboxílico y el compuesto polihidroxiado de 1:1 (mol:mol), siendo especialmente favorable emplear una relación molar entre el ácido carboxílico y el compuesto polihidroxiado de 1:2 (mol:mol).

15 Preferentemente la cantidad de agua en la etapa a) está comprendida entre el 0.1 y el 20% (peso/peso) respecto al contenido en peso del compuesto polihidroxiado siendo preferible una cantidad de agua comprendida entre el 0.1% y el 10% (peso/peso) del compuesto hidroxilado, y especialmente recomendable una cantidad de agua equivalente al 0.5% (peso/peso).

20 Preferentemente la etapa a) se lleva a cabo a una temperatura comprendida entre 60°C y 200°C. Preferentemente la etapa a) se realiza dentro de un reactor con agitación y capacidad para realizar vacío. En el reactor se mezclarán las cantidades correspondientes de ambos sustratos, ácido carboxílico y compuesto hidroxilado en la relación molar deseada, así como la cantidad de agua necesaria. El sistema se cerrará herméticamente y se le aplicará una presión de vacío de -1 bar, y se mantendrá en agitación (orbital, mecánica o magnéticamente) constante a una temperatura comprendida entre 60 °C y 200°C, siendo
25 preferible una temperatura entre 70 °C y 150 °C, siendo especialmente favorable una temperatura de 100 °C. La etapa a) se realiza preferentemente durante un tiempo comprendido entre 30 min y 24 h, siendo preferible un tiempo comprendido entre 1 y 2 horas.

30 Preferentemente, la etapa a) podrá calentarse con irradiación microondas a una potencia comprendida entre 300-900 wat. Preferentemente durante un tiempo comprendido entre 1-30 min, siendo preferible un calentamiento con microondas a una potencia de 600 wat durante 1-2 min.

35 La etapa b) se realiza de manera preferible una temperatura comprendida entre 40°C y 80

°C, y más favorablemente a 75 °C durante al menos una hora.

En la presente invención, y dado que en la reacción de esterificación catalizada por la enzima se libera agua como subproducto de la misma, preferentemente en la etapa b) la
5 retirada del agua se realiza mediante tamices moleculares higroscópicos, que actúan a modo de desecantes, con el fin de asegurar que el proceso se desarrolle en condiciones anhidras, y así favorecer la reacción de síntesis mejorando los rendimientos de producto obtenido.

10 De manera preferente en la etapa b) se adicionará una cantidad de agente desecante y/o tamiz molecular comprendida entre el 5 y el 50% (peso/peso) respecto al peso de la mezcla eutéctica de reacción, siendo preferible una cantidad de agente desecante comprendida entre el 10 y el 30%, y particularmente favorable la adición de un 15% (peso/peso) de agente desecante, respecto a la masa total de los sustratos.

15 Preferentemente la etapa b) donde está presente la cantidad de mezcla eutéctica de sustratos, junto al agente desecante y la enzima inmovilizada, debe ser mantenida en agitación mecánica o magnética (100-500 rpm), durante un tiempo comprendido entre 1 h y 72 h, siendo preferido un tiempo comprendido entre 6 h y 24 h.

20

Ejemplos

EJEMPLO DE REALIZACIÓN

25 Los siguientes ejemplos ilustran, pero no limitan, la presente invención.

Ejemplo 1. Ejemplo de síntesis enzimática de monodecanoato de pantenilo en ausencia de solvente

30 En tubo eppendorf® de 2 mL de capacidad, se adicionan 0.2 gramos de ácido decanoico, 0.5 g de pantenol y 0.05 gramos de agua, la mezcla resultante se calienta a 70°C hasta total fundición de los mismos. Posteriormente, se adicionan 0.08 gramos de agente desecante, molecular sieves MS 13-X (Sigma) y a mezcla se acondiciona a una temperatura de 45 °C durante 30 minutos.

35 Finalmente se adicionan 0.08 gramos de biocatalizador, Novozyme® 435 dando inicio a la reacción de síntesis, manteniendo el vial de reacción a 45 °C aplicando pulsos de

ultrasonidos de 45 segundos, con una amplitud de 70. Transcurrida una hora de reacción, la mezcla se filtra a través de una membrana de 0.45 micras para separar la fracción sólida, y la fracción líquida resultante se analiza por CG-FID. El rendimiento y la Selectividad del proceso de síntesis de Monodecanoato de pantenilo se determina, obteniéndose los siguientes resultados:

Rendimiento (%): 69.90

Selectividad (%): 92.40

10 Ejemplo 2. Ejemplo de síntesis enzimática de monolaurato de pantenilo en ausencia de solvente

En un matraz de 100 mL se adicionan 34 gramos de Pantenol, 17 gramos de ácido láurico y 0.2 gramos de agua, la mezcla resultante se calienta a 75°C hasta total fundición de los mismos. Posteriormente, se adicionan 3.5 g de agente desecante molecular sieves MS 13-X (Sigma) y a mezcla se acondiciona a una temperatura de 60°C durante 3 h. Finalmente se adicionan 3.5 g de biocatalizador, Novozyme® 435 dando inicio a la reacción de síntesis, manteniendo el matraz en agitación constante de 250 rpm y a una temperatura de 60°C. Transcurridas seis horas de reacción, la mezcla se filtra a través de una membrana de 0.45 micras para separar la fracción sólida, y la fracción líquida resultante se analiza por CG-FID. El rendimiento y la selectividad del proceso de síntesis de monolaurato de pantenilo se determina, obteniéndose los resultados siguientes:

Rendimiento (%): 80.93

Selectividad (%): 96.99

25 Ejemplo 3. Ejemplo de síntesis enzimática de monooleato de pantenilo en ausencia de solvente

30 En un vial de 4 mL se adicionan 0.4 gramos de Pantenol, 117 µL de ácido oleico y 0.02 gramos de agua, la mezcla resultante se mantiene bajo irradiación microondas a 600 wat durante 2 minutos.

Posteriormente, se adicionan 0.6 g de agente desecante molecular sieves MS 13-X (Sigma) y a mezcla se acondiciona a una temperatura de 60°C durante 15 minutos. Finalmente se adicionan 0.60 g de biocatalizador, Novozyme® 435 dando inicio a la reacción de síntesis,

manteniendo el vial a temperatura de 60°C pulsos de ultrasonidos de 45 segundos de duración. Transcurridas 2 horas de reacción, la mezcla se filtra a través de una membrana de 0.45 micras para separar la fracción sólida, y la fracción líquida resultante se analiza por CG-FID. El rendimiento y la selectividad del proceso de síntesis de monooleato de pantenilo se determina obteniéndose los resultados siguientes:

Rendimiento (%): 87.41

Selectividad (%): 99.49

10 Ejemplo 4. Ejemplo de síntesis enzimática de monopalmitato de pantenilo en ausencia de solvente

En un vial de 4 mL se adicionan 0.4 gramos de Pantenol, 0.170 gramos de ácido palmítico y 0.02 gramos de agua. La mezcla resultante se mantiene bajo irradiación microondas a 600 wat durante 2 minutos. Posteriormente, se adicionan 0.6 gramos de agente desecante MS-13X (Sigma) y se acondiciona a una temperatura de 60 °C durante 30 minutos. Finalmente se adicionan 0.02 gramos de biocatalizador, Novozyme® 435 dando inicio a la reacción de síntesis, manteniendo el matraz en agitación constante de 250 rpm y a una temperatura de 60 °C. Transcurridas seis horas de reacción, la mezcla se filtra a través de una membrana de 0.45 micras para separar la fracción sólida, y la fracción líquida resultante se analiza por CG-FID. El rendimiento y la Selectividad del proceso de síntesis de monopalmitato de pantenilo se determina obteniéndose los resultados siguientes:

Rendimiento (%): 85.93

25 Selectividad (%): 99.00

Ejemplo 5. Ejemplo de síntesis enzimática de monodecanoato de pantenilo en ausencia de solvente

30 En un matraz de 50 mL se adicionan 11.30 gramos de ácido decanoico, 13.50 gramos de Pantenol y 0.1 gramos de agua, la mezcla resultante se calienta a 70°C hasta total fundición de los mismos. Posteriormente se adicionan 2.30 gramos de agente desecante molecular sieves MS 13-X (Sigma) y a mezcla se acondiciona a una temperatura de 60 °C durante 2 h. Finalmente se adicionan 2.6 gramos de biocatalizador, Novozyme® 435 dando inicio a la reacción de síntesis. La reacción tiene lugar en un reactor cerrado herméticamente, con una presión de – 1 bar y se mantiene en agitación constante de 250 rpm y 60 °C. Transcurridas

seis horas de reacción, la mezcla se filtra a través de una membrana de 0.45 micras para separar la fracción sólida, y la fracción líquida resultante se analiza por CG-FID. El rendimiento y la selectividad del proceso de síntesis de monodecanoato de pantenilo se determina obteniéndose los siguientes resultados:

5

Rendimiento (%): 71.82

Selectividad (%): 96.10

10 Ejemplo 6. Ejemplo de síntesis enzimática de monomiristato de pantenilo en ausencia de solvente

En un vial de 4 mL se adicionan 0.42 gramos de Pantenol, 0.23 gramos de ácido mirístico y 0.01 gramos de agua. La mezcla resultante se calienta a 70°C hasta total fundición de los mismos. Posteriormente se adicionan 0.50 gramos de agente desecante (molecular sieves MS 13-X, Sigma) y a mezcla se acondiciona a una temperatura de 60 °C durante 30 minutos. Finalmente se adicionan 0.50 gramos de biocatalizador, Novozyme® 435 dando inicio a la reacción de síntesis. La reacción tiene lugar en un reactor cerrado herméticamente, con una presión de – 1 bar y se mantiene en agitación constante de 250 rpm y 60 °C. Transcurridas seis horas de reacción, la mezcla se filtra a través de una membrana de 0.45 micras para separar la fracción sólida, y la fracción líquida resultante se analiza por CG-FID. El rendimiento y la selectividad del proceso de síntesis de monomiristato de pantenilo se determina obteniéndose los siguientes resultados:

25 Rendimiento (%): 82.27

Selectividad (%): 93.90

Ejemplo 7. Ejemplo de síntesis enzimática de monooleato de pantenilo en ausencia de solvente

30

En un vial de 4 mL se adicionan 0.42 gramos de Pantenol, 0.71 mL de ácido oleico y 0.02 gramos de agua. La mezcla resultante se funde irradiando microondas a 400 wat, hasta total fundición de los mismos. A continuación se adicionan 0.80 gramos de agente desecante molecular sieves MS 13-X (Sigma) y la mezcla se acondiciona a 60 °C y 250 rpm durante 30 minutos. Finalmente, se adicionan 0.80 gramos de biocatalizador, Novozyme® 435 dando inicio a la reacción de síntesis. La reacción tiene lugar, en un reactor a temperatura

constante de 60 °C y 250 rpm. Transcurridas seis horas de reacción, la mezcla se filtra a través de una membrana de 0.45 micras para separar la fracción sólida, y la fracción líquida resultante se analiza por HPLC-DAD. El rendimiento y la selectividad del proceso de síntesis de monooleato de pantenilo se determina, obteniéndose los siguientes resultados:

5

Rendimiento (%): 60.43

Selectividad (%): 99.22

Ejemplo 8. Ejemplo de síntesis enzimática de monolaurato de xilitol en ausencia de solvente

10

En un matraz de 25 mL se adicionan 3 gramos de xilitol, 8 gramos de ácido láurico y 0.06 gramos de agua. La mezcla sólida resultante se calienta a 85 °C hasta total fundición de los sustratos. Posteriormente, se adicionan 0.6 g de agente desecante molecular sieves MS 13-X (Sigma) y a mezcla se acondiciona a una temperatura de 60 °C durante 12 h. Finalmente se adicionan 0.6 g de biocatalizador, Novozyme® 435 dando inicio a la reacción de síntesis, manteniendo el matraz en agitación constante de 250 rpm y a una temperatura de 60 °C. Transcurridas doce horas de reacción, la mezcla se filtra a través de una membrana de 0.45 micras para separar la fracción sólida (enzima y molecular sieves), y la fracción líquida resultante se analiza por HPLC-DAD. Los tiempos de retención de los sustratos y productos son:

15

Xilitol: 2.1 min; ácido láurico: 10.6 min; monolaurato de xilitol: 6.5 min; dilaurato de xilitol: 19.6 min

El rendimiento y la selectividad del proceso de síntesis de monolaurato de xilitol se determina obteniéndose los resultados siguientes:

20

Rendimiento (%): 90 %

Selectividad (%): 60 %

Ejemplo 9. Ejemplo de síntesis enzimática de monolaurato de sorbitol en ausencia de solvente

25

En un matraz de 25 mL se adicionan 3.7 gramos de sorbitol, 8 gramos de ácido láurico y 0.11 gramos de agua. La mezcla sólida resultante se calienta a 95 °C hasta total fundición de los sustratos. Posteriormente, se adicionan 0.74 g de agente desecante molecular sieves MS 13-X (Sigma) y a mezcla se acondiciona a una temperatura de 60 °C durante 12 h. Finalmente se adicionan 0.74 g de biocatalizador, Novozyme® 435 dando inicio a la

30

reacción de síntesis, manteniendo el matraz en agitación constante de 250 rpm y a una temperatura de 60 °C. Transcurridas doce horas de reacción, la mezcla se filtra a través de una membrana de 0.45 micras para separar la fracción sólida (enzima y molecular sieves), y la fracción líquida resultante se analiza por HPLC-DAD. Los tiempos de retención de los sustratos y productos son:

5

Sorbitol: 2.4 min ; ácido láurico: 10.6 min; monolaurato de sorbitol: 7.0: dilaurato de sorbitol: 20.2 min

El rendimiento y la selectividad del proceso de síntesis de monolaurato de sorbitol se determina obteniéndose los resultados siguientes:

10

Rendimiento (%): 60.4

Selectividad (%): 61.0

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento de síntesis enzimática de monoésteres de compuestos polihidroxiados, caracterizado porque las etapas de:
- 5 a) Formar una mezcla eutéctica monofásica mediante la mezcla y fusión por calentamiento, en presencia de agua de un ácido carboxílico de fórmula $R_1\text{-COOH}$ donde R_1 es un radical alifático de 10 a 25 átomos de carbono, el cual puede ser saturado o insaturado con un compuesto polihidroxiado de fórmula $R_2\text{-OH}$ o $R_3\text{CONHR}_4\text{-OH}$ donde R_2 es un radical alifático de tres a 20 carbonos que contiene al menos dos grupos
- 10 hidroxilos libres y puede estar sustituido en alguno de los C del radical alifático con un alquil($C_1\text{-}C_3$) lineal o ramificado;
- y donde $R_3\text{CONHR}_4\text{-OH}$ contienen al menos dos grupos hidroxilos libres y donde R_3 y R_4 pueden ser iguales o diferentes y son un radical alifático de tres a 10 carbonos que puede estar sustituido en alguno de los C del radical alifático con un alquil($C_1\text{-}C_3$) lineal o
- 15 ramificado;
- b) adicionar una enzima hidrolítica (EC3.1) a la mezcla de la etapa a) a una temperatura comprendida entre 30°C y 100°C para la formación del monoéster correspondiente y retirar el H_2O según se forma en la reacción.
- 20 2. Procedimiento de síntesis según la reivindicación 1 caracterizado porque la etapa a) se lleva a cabo a una temperatura comprendida entre 60°C y 200 °C.
3. Procedimiento de síntesis según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2 caracterizada porque la enzima hidrolítica (EC3.1.) se selecciona entre: esterasas
- 25 (EC3.1.1.), las lipasas (EC3.1.1.3.) y las proteasas (EC3.4.).
4. Procedimiento de síntesis según la reivindicación 3 caracterizado porque la lipasa es *Candida antártica*.
- 30 5. Procedimiento de síntesis según una cualquiera de las reivindicaciones 1-4 caracterizado porque el ácido carboxílico de fórmula $R_1\text{-COOH}$ se selecciona entre: ácido decanoico, ácido láurico, ácido mirístico, ácido palmítico, ácido palmitoleico, ácido esteárico, ácido oleico, ácido linoleico y ácido linolénico.
- 35 6. Procedimiento de síntesis según una cualquiera de las reivindicaciones 1-5 caracterizado porque el compuesto polihidroxiado de fórmula $R_2\text{-OH}$ se selecciona entre xilitol y sorbitol.
7. Procedimiento de síntesis según una cualquiera de las reivindicaciones 1-5 caracterizado

porque el compuesto polihidroxiado de fórmula R_3CONHR_4-OH es el pantenol.

5 8. Procedimiento de síntesis según una cualquiera de las reivindicaciones 1-7 caracterizado porque la retirada del H_2O según se forma en la etapa b) se realiza mediante tamices moleculares higroscópicos.

9. Procedimiento de síntesis según una cualquiera de las reivindicaciones 1-8 caracterizado porque la etapa a) se realiza en un reactor con agitación y capacidad para realizar vacío.

10 10. Procedimiento de síntesis según una cualquiera de las reivindicaciones 1-9 caracterizado porque la etapa a) se realiza durante un tiempo comprendido entre 1 hora y 2 horas.

15 11. Procedimiento de síntesis según una cualquiera de las reivindicaciones 1-10 caracterizado porque en la etapa a) la fusión se realiza mediante irradiación microondas a una potencia comprendida entre 300-900 wat, durante un tiempo comprendido entre 1-30 min.

20



- ②① N.º solicitud: 201830595
②② Fecha de presentación de la solicitud: 19.06.2018
③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤① Int. Cl.: Ver Hoja Adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	CN 103114108 A (UNIV CHANGZHOU) 22/05/2013, resumen en inglés en la base de datos ESPACENET (European Patent Office)	1-11
A	T DE DIEGO et al. Selective synthesis of panthenyl esters. Biocatalysis and Biotransformations, 2013, Vol. 31, Páginas 175-180. todo el documento	1-11
A	WO 2008/053051 A2 (D. HARING) 08/05/2008, resumen, reivindicaciones 1-7	1-11

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
26.11.2018

Examinador
M. P. Fernández Fernández

Página
1/2

CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD

C12P7/18 (2006.01)

C07C31/18 (2006.01)

C07C235/08 (2006.01)

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

C12P, C07C

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, ESPACENET, CAS