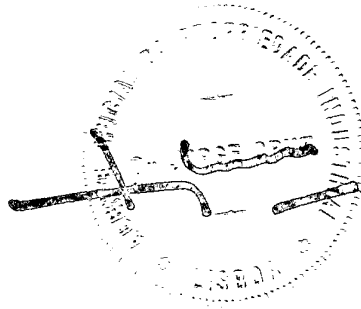


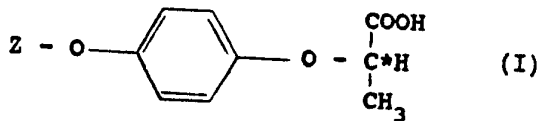
29.108



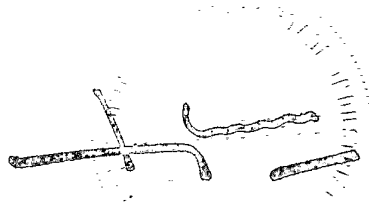
MEMÓRIA DESCRITIVA

Resumo

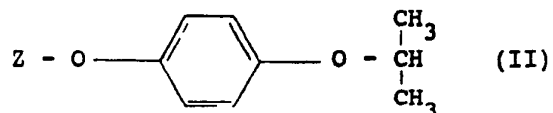
O enantiómero R de um composto de fórmula I:



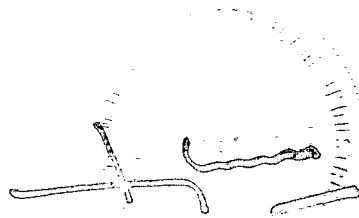
=====  
SHELL INTERNATIONALE RESEARCH MAATSCHAPPIJ e GIST-BROCADES NV  
"PROCESSO PARA A PREPARAÇÃO DE ACIDOS FENOXI-PROPANOICOS SUBS-  
TITUIDOS"



onde Z é uma porção orgânica cíclica facultativamente substituída e C\* representa um átomo de carbono ópticamente activo, pode ser preparado por fornecimento de um substrato de fórmula II



a uma cultura de um microorganismo capaz de oxidação do composto II no enantiómero R de I.



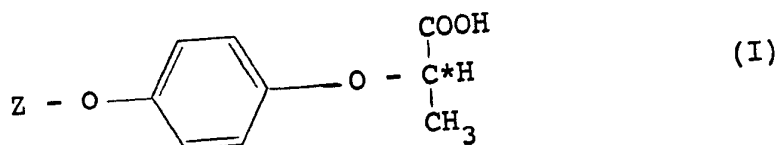
O presente invento diz respeito a um processo microbiano para a preparação de ácidos fenoxi propanóicos substituídos ópticamente activos, novos substratos para o processo microbiano e à preparação de tais substractos.

O invento é particularmente, mas não exclusivamente, dirigido à preparação de compostos herbicidas ópticamente activos de classe conhecida como herbicida "PPP" nos quais o ácido fenoxi propanóico é substituído na posição 4 por um grupo -O-Z onde Z é um grupo fenil opcionalmente substituído ou alternativamente um sistema em anel opcionalmente substituído tal como naftaleno, piridina, benzimidazol, benzoxazol, e benzotiazol. Tais compostos foi observado terem alta selectividade para sementes monocopiledóneos tal como aveia selvagem, painço e blackgrass. Exemplos de tais herbicidas são descritos num artigo escrito por H.J. Nestler na revista "Chemie de Pflanzenschutz und Schadlingsbekämpfungsmittel, Vol. 8, p. 2 a 25, publicada por Springer-Verlag, Berlin. Tais moléculas exibem quiralidade em C<sub>2</sub> da metade do ácido propanóico. Foi demonstrado que sómente um estereoisómero, o R-enantiómero, contribui para a actividade herbicida quando o herbicida é usado em aplicações pós-emergência.

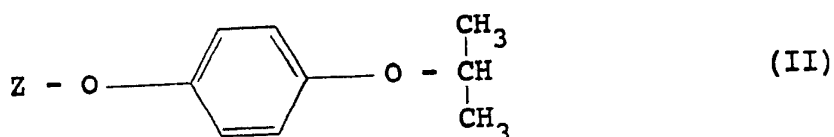
Há portanto uma necessidade para fornecer uma via preparativa para tais herbicidas numa forma enantioméricamente pura, especialmente para preparação do R-enantiómero. A provisão do R-enantiómero substancialmente puro permite o uso de uma quantidade decrescente de produto para produzir o mesmo efeito herbicida. No entanto, as vias préviamente propostas para este tipo de herbicida não foram inteiramente satisfatórios na produção do R-enantiómero desejado. Assim para as vias que confiam na condensação de uma hidroquinona monoalquilada com um composto que fornece o grupo Z, há dificuldades na preparação do material de partida e na racemização do centro ópticamente activo. Por outro lado as vias que confiam na introdução do grupo ópticamente activo na etapa final, envolvem a síntese inicial de um fenoxi-fenol antes da

condensação com um reagente tal como cloropropionato sob condições básicas. Isto de novo leva a racemização possível.

De acordo com o presente invento, fornecemos um processo, para a preparação de um composto de fórmula I, o qual está predominantemente presente como o R-enantiómero:



onde Z é uma metade orgânica ciclica opcionalmente substituída e C\* representa um átomo de carbono ópticamente activo, compreendendo o fornecimento de um substrato de fórmula II

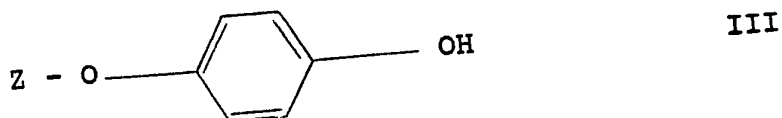


onde Z é como acima definido, a uma cultura de um microorganismo capaz de oxidação de um composto de fórmula II predominantemente no R-enantiómero de um composto de fórmula I, separando o composto de fórmula I do meio de cultura e convertendo opcionalmente o composto de fórmula I num ester ou seu sal. Preferivelmente o composto de fórmula I compreende pelo menos 70%, mais preferivelmente pelo menos 95%, em peso do R-enantiómero.

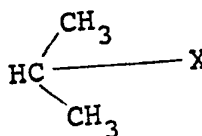


A metade Z pode ser apropriadamente um grupo carboxílico aromático substituído ou alifático. Tal grupo pode ser mono- ou policíclico. Grupos preferidos são grupos fenil e grupos piridil opcionalmente substituídos. Exemplos de tais grupos são fenil não substituído, fenil halogêneo substituído tal como 2,4-diclorofenil e piridil substituído tal como 5-trifluorometil-2-piridil opcionalmente substituído na posição 3 por um halogêneo, e.g. num átomo de cloro. Substratos preferidos para o processo do invento são 2-(4-fenoxifenoxi)propano, 2-[4-(2,4-diclorofenoxi)-fenoxi]propano e 2-[4-(5-trifluorometil-2-piridiloxi)-fenoxi]propano.

Como os substratos de fórmula II não são ópticamente activos, eles podem ser derivados por uma variedade de vias. Um processo para a preparação de compostos de fórmula II compreende a reacção de um composto de fórmula III

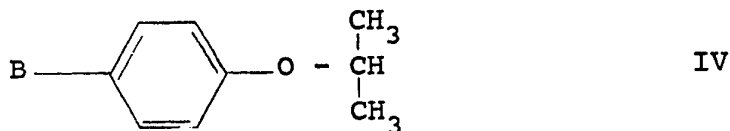


onde Z é um grupo como acima derivado com um composto de fórmula



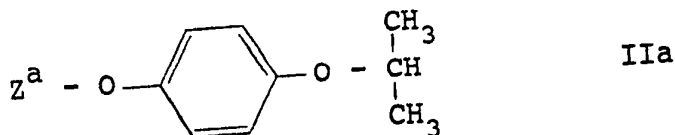
onde X é um grupo de libertação apropriado, tal como sulfonato. O fenoxi fenol de partida de fórmula III pode ser preparado por métodos sintéticos convencionais.

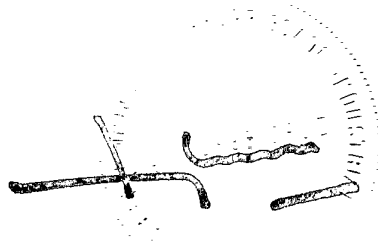
Alternativamente, e preferivelmente, os compostos de fórmula II são preparados por reacção de um composto de fórmula Z-A com um composto de fórmula IV



onde Z é um grupo como acima definido, um de A e B representa um grupo hidroxí e o outro de A e B representa um grupo de libertação como um átomo halogéneo.

Certos compostos de fórmula II são novos. Os novos compostos de fórmula II incluem compostos de fórmula IIa





na qual Z<sup>a</sup> representa um grupo fenil ou um grupo 5-trifluorometil-2-piridil opcionalmente substituído na posição 3 por um átomo halogéneo.

Os compostos de fórmula IIa constituem um aspecto adicional do presente invento.

O microorganismo empregado no processo do invento pode ser qualquer microorganismo o qual é capaz de oxidação do substrato II no R-enantiômero do composto I. Microorganismos apropriados incluem bactérias pertencente ao género Rhodococcus, Nocardia e Pseudomonas, incluindo culturas das espécies seguintes:

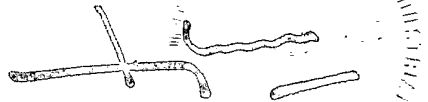
Rhodococcus rhodochrous (exemplos destas espécies são depositadas no NCIB sob os números de acesso 12566, 11273 e 11277);

Nocardia corallina (um exemplo desta espécie está depositado no ATCC sob o número de acesso 31338);

Rhodococcus erythropolis (um exemplo desta espécie está depositado no NCIB sob o número de acesso número 12574).

Variantes e mutantes destas bactérias, tal como as produzidas por luz ultravioleta ou por meios químicos podem também ser apropriados.

Os microorganismos preferidos são, Rhodococcus rhodochrous, especialmente os depositados sob o número NCIB de acesso 12566 e Rhodococcus erythropolis, especialmente o depositado sob o número NCIB de acesso 12574. Estes microorganismos têm as características seguintes:



Rhodococcus rhodochrous NCIB 12566

célula única, meio agar nutriente, pH 7,3, 25°C

- Forma : Pequenos cilindros
- Eixo : Linear
- Regularidade : Pleomorfo/Club/Ramificado

Colônia, meio nutriente agar, pH 7,3, 37°C

- Forma : Circular
- Elevação : Convexa
- Cor : Bege (Cor de rosa a 25°C)
- Opacidade : Opaco
- Superfície : Brilhante
- Orla : Completa

Rhodococcus erythropolis NCIB 12574 célula única, meio nutriente agar, pH 7,3, 30°C

- Forma : Cilindros fortes
- Regularidade : Pleomórfica
- Lados : Parelос/ligeiramente irregular

Colônia, meio nutriente agar, pH 7,3, 30°C

- Forma : Circular
- Elevação : Plana
- Textura : Rugosa
- Cor : Cor de rosa
- Opacidade : Opaca
- Orla : Recortada

O microorganismo seleccionado é preferivelmente cultivado antes da exposição ao substrato, por exemplo durante cerca de 0,5 a 10 dias, após o que as células

são suspensos num meio sal liquido, e o substrato a seguir sub-  
metido à acção das células.

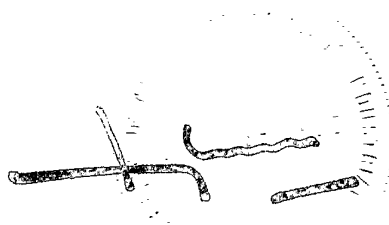
Após a cultura acima mencionada du-  
rante cerca de 0,5 a 10 dias as células podem ser isoladas a  
partir do meio de cultura antes de as suspender no meio liqui-  
do nutriente minimo. Para crescer os microorganismos usados  
para a oxidação, os meios de cultura ordinários contendo uma  
fonte de carbono assimilável (por exemplo glicose, lactato,  
hidrocarbonetos como tetradecano ((14), etc.), uma fonte de  
azoto (por exemplo sulfato de amónio, nitrato de amónio, clo-  
reto de amónio, etc.), com um agente para uma fonte nutriente  
orgânica (por exemplo extracto de fermento, extrato de malte,  
peptona, extracto de carne, etc.) e podemos usar uma fonte nu-  
triente inorgânica (por exemplo fosfato, magnésio, potássio,  
zinco, ferro e outros metais em quantidades minimas), opcio-  
nalmente juntamos um inductor (por exemplo dietoximetano) ao  
meio de cultura. Mantivemos uma temperatura entre 0 e 45°C e  
um pH entre 3,5 e 9 durante o crescimento dos microorganismos.  
Preferivelmente os microorganismos crescem a uma temperatura  
entre 20 e 37°C e a um pH entre 5 e 8.

As condições aeróbicas necessá-  
rias durante o crescimento dos microorganismos podem ser for-  
necidos de acordo com qualquer dos processos bem estabelecidos  
desde que o fornecimento de oxigénio seja suficiente para atin-  
gir as necessidades metabólicas dos microorganismos. Isto é  
mais conveniente conseguido por fornecimento de oxigénio gaso-  
so, preferivelmente na forma de ar.

Durante a conversão do composto II  
no composto I os microorganismos podem estar num estágio de  
crescimento usando um meio de cultura ordinário acima mencio-  
nado. Os microorganismos podem ser suplementados com um cosubs-  
trato.

No entanto, preferivelmente durante a conversão do composto II no composto I os microorganismos são mantidos num estágio substancialmente de não crescimento usando um meio de cultura mínimo. Como meio de cultura mínimo, podemos usar um meio de cultura ordinário contendo quando necessário uma fonte de carbono assimilável (por exemplo glicose, lactato, hidrocarbonetos com tetradecano (C<sub>14</sub>, etc.) uma fonte de azoto quando necessário (por exemplo sulfato de amónio, nitrato de amónio, cloreto de amónio, etc.), com um agente para uma fonte orgânica nutriente quando necessário (por exemplo extracto de fermento, extracto de malte, peptona, extracto de carne, etc.) e uma fonte nutriente orgânica quando necessário (por exemplo fosfato, magnésio, potássio, zinco, ferro e outros metais em quantidades mínimas). Os microorganismos podem ser mantidos no estágio de não crescimento por exemplo sob exclusão da fonte de carbono assimilável ou sob exclusão da fonte de azoto. Mantem-se durante esta etapa ou estágio, uma temperatura entre 0 e 45°C e um pH entre 3,5 e 9. Preferivelmente os microorganismos são mantidos a uma temperatura entre 20 e 37°C e pH entre 5 e 8. As condições aeróbicas necessárias durante esta etapa podem ser fornecidas de acordo com os processos acima mencionados, desde que o fornecimento de oxigénio seja suficiente para atingir as necessidades metabólicas dos microorganismos mas também para efectuar a oxidação desejada. O produto produzido pelos microorganismos como acima mencionado, pode ser recolhido e purificado de acordo com qualquer dos processos bem estabelecidos. Os compostos de fórmula I podem ser convertidos em ésteres ou sais por processos estabelecidos se o desejarmos.

O invento será agora adicionalmente descrito com referência aos exemplos seguintes.



## Métodos Analíticos

### Cromatografia Líquida de Alta Pressão (HPLC)

As análises dos produtos das incubações efectuadas por HPLC. As incubações foram acidificadas com ácido sulfúrico 5N e extraídas duas vezes com um volume igual de diclorometano. Juntamos a seguir os extractos do solvente e evaporamos à secura; os resíduos sólidos foram dissolvidos num volume apropriado de solvente HPLC e analisados por HPLC.

As condições para o HPLC foram as seguintes: uma coluna de fase inversa, Lichrosorb RP18, 10 micron, 125 x 4,9 mm foi usada com um anel de injeção de  $2 \times 10^{-2}$  ml numa válvula de injeção Rheodyne. O solvente usado foi 70-30 v/v de acetonitrilo -2% de ácido acético com um caudal de  $1 \text{ ml min}^{-1}$  e a detecção foi conseguida com um monitor ultravioleta fixa a  $280 \times 10^{-9} \text{ m}$ .

### HPLC Preparativo

Para purificar amostras para análises adicionais a HPLC analítica acima descrita foi usada sómente com uma modificação: o anel de injeção foi substituído por um anel  $2 \times 10^{-1}$  ml. Após injeções repetidas de  $2 \times 10^{-1}$  ml, as amostras foram recolhidas, juntas e evapora-das à secura.

### HPLC Chiral

Todas as amostras foram analisa - das para a composição enantiomérica como os seus esteres meti

lico. As soluções metanólicas das amostras (1-5 mg) foram transferidas para frascos tapados, sendo o metanol evaporado e juntamos 0,5 ml de reagente "Metil-8" (Pierce & Warriner) (dimetilformamida dimetilacetol (2 mEq/ml em piridina)). As amostras foram aquecidas a 60°C durante 10 min. após o que o solvente foi evaporado e as amostras foram a seguir dissolvidas em quantidades mínimas de solvente HPLC (0,1-0,5 ml).

A cromatografia foi efectuada numa coluna de D-fenilglicina imobilizada: coluna 250 x 4,9 mm (I.D.) contendo CHI-PGC-250A (D-3,5-dinitrobenzoilfenilglicina sílica ligada (5 m) (fornecida por Hichrom Ltd., Reading).

#### Polarimetria

As rotações ópticas foram determinadas usando um Polarímetro Perkin Elmer modelo 241 numa célula com faixa de luz de 0,1 m a

$$= 589 \times 10^{-9} \text{ m e mantido a } 20^\circ\text{C.}$$

#### Resonância Magnética Nuclear (<sup>1</sup>H-nmr)

Usamos clorofórmio deuterado como solvente para todas as amostras.

#### Espectrometria de massa (ms)

Todas as análises de massa espectral foram efectuadas usando ambos, a ionização química, com metano como o reagente gasoso, e ionização de impacto electrónico.

Meio de crescimento

Composição do meio dos sais de Amônio (ASM)

	<u>g/litro</u>
Cloreto de amônio	0,535
Dihidrogenofosfato de potássio	0,531
Hidrogenofosfato dissódico	0,866
Sulfato de Potássio	0,174
Sulfato de magnésio.7H <sub>2</sub> O	0,037
Cloreto de cálcio.2H <sub>2</sub> O	0,00733
Solução de quantidade mínima do elemento TK3	0,1 ml
Sulfato ferroso.7H <sub>2</sub> O (adicionado após autóclave)	0,0189
pH ajustado a 7,0	

Composição do meio fosfato (PSX)

	<u>g/litro</u>
Dihidrogenofosfato de potássio	8,92
Hidrogeno fosfato dissódico	2,84
Hidrogeno fosfato diamônio	1,0
Sulfato de amônio	0,2
Cloreto de potássio	0,2
Citrato trisódico	0,294
Sulfato de cálcio.2H <sub>2</sub> O	0,005

Sulfato de magnésio.7H <sub>2</sub> O	0,2
PS2 T/E	10,0

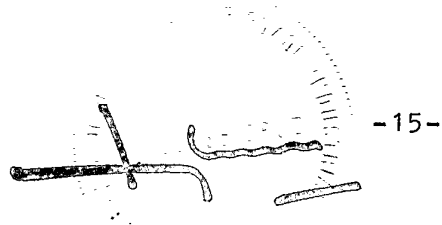
Solução de quantidade mínima do elemento TK3

ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,288g
MnSO <sub>4</sub> .4H <sub>2</sub> O	0,224g
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0,0618g
CnSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	0,1248g
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	0,0484g
CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	0,0476g
KI	0,083g
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> IN	1 ml

Dissolvido em 1 litro de água destilada.

PS2 T/E

(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .FeSO <sub>4</sub> .6H <sub>2</sub> O	0,25g
ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,05g
MnCl <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	0,03g
CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	0,015g
CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	0,015g
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0,005g
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O	0,0055g
KI	0,01 g



Dissolvido em 1 litro de água destilada.

#### EXEMPLO 1

##### Crescimento de Rhodococcus rhodochrous NCIB 12566

Rhodococcus rhodochrous NCIB 12566 cresceu em 100 ml de meio fosfato PSX acima descrito com n-heptano a partir de um buraco central durante 5 dias a 30°C num agitador. O meio resultante foi usado para inocular 1600 ml do meio PSX em 4 frascos de 2000 ml com n-heptano nos buracos centrais. Estes frascos foram incubados durante 5 dias a 30°C num agitador a 200 rpm. As células foram recolhidas por centrifugação e lavadas com um volume igual do meio ASM acima descrito. As células foram finalmente suspensas em ASM (200 ml) antes da adição de substrato.

#### EXEMPLO 2

##### Crescimento de Rhodococcus erythropolis NCIB 12574<sup>3</sup>

Rhodococcus erythropolis NCIB 12574 cresceu em 3 x 100 ml de meio fosfato PSX acima descrito com 0,5 ml de tetradecano durante quatro dias a 30°C num agitador. As células foram reunidas por centrifugação e sus-

pensas em 30 ml de meio ASM (peso seco  $10,3 \text{ mg ml}^{-1}$ ) antes da adição ao substrato.

### EXEMPLO 3

#### Preparação de ácido (R)-(+)-2-(4-fenoxifenoxi)propanóico

A uma suspensão de R. rhodochrous NCIB 12566 um meio ASM (200 ml) preparada como descrito no Exemplo 1, juntamos como substrato 2-(4-fenoxifenoxi)propano (100 mg) em dimetil formamida (1 ml).

A suspensão foi incubada durante 5 dias a  $30^{\circ}\text{C}$  num agitador a 200 rpm e a incubação foi acidificada com ácido sulfúrico 5N (5 ml) e extraída duas vezes com um volume igual de diclorometano. Os extractos foram secos sobre sulfato de sódio anidro e evaporados à secura. Os resíduos foram extraídos com  $4 \times 5 \text{ ml}$ . O solvente HPLC (70-30 acetonitrilo - 2% de ácido acético) e os extractos foram evaporados durante a noite com um caudal de azoto. Os resíduos foram de novo dissolvidos em solvente HPLC (1 ml) e purificados por preparação HPLC como acima descrito.

Os produtos foram analisados por  $^1\text{H-nmr}$ , ms, polarimetria e HPLC quiral como acima descrito. O produto principal foi provado ser ácido R-(+)-2-(4-fenoxifenoxi)propanóico (39% de rendimento;  $117 \text{ mg l}^{-1}$ ) enquanto o produto menor era 2-[4-hidroxifenoxifenoxi]propano (20% de rendimento;  $60 \text{ mg l}^{-1}$ ).

Ácido R-(+)-2-(4-fenoxifenoxi)propanóico originou espectro de massa com o íão pai a  $m/z = 259$  ( $m+1$ ) com um fragmento a  $m/z = 213$  correspondente ao íão des-carboxilado e um fragmento a  $m/z = 187$  correspondente ao 4-fenofenol protonado.

O espectro  $^1\text{H}$  nmr do componente principal ácido R-(+)-2-(4-fenoxifenoxi) propanóico apresentou:  $\delta\text{H}$  (360Mhz; solvente  $\text{CDCl}_3$ ; padrão  $\text{Me}_4\text{Si}$ )

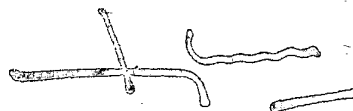
- 1,68 (3H, d,  $\text{CH}_3$ )
- 4,74 (1H, q, O-C-H)
- 6,9 (2H, d,  $\text{C}^{2,6}$ )
- 6,98 (4H, ABq,  $\text{C}^{2',3',5',6'}$ )
- 7,07 (1H, t,  $\text{C}^4$ )
- 7,32 (2H, q,  $\text{C}^{3,5}$ )

HPLC quiral do ester metílico do produto principal mostrou que o produto era mais do que 99% do R-enantiómero. A quiralidade foi confirmada por polarimetria a qual originou  $[\alpha]_D^{20} = + 26^\circ$  ( $C = 0,084$  em metanol).

#### EXEMPLO 4

Preparação de ácido (R)-(+)-2-[4-(2,4-diclorofenoxi)fenoxi]-propanóico

Repetimos o exemplo 3 usando como substracto 2-[4-(2,4-diclorofenoxi)fenoxi]-propano.



A análise dos produtos mostrou a presença do composto em epigrafe (3,4% de rendimento, 17 mg l<sup>-1</sup>) e 2-[4-hidroxi)-2,4-diclorofenoxi]fenoxi]propano.

Após purificação por HPLC preparativa o ácido R-(+)-2-[4-(2,4-dicloro-fenoxi)-fenoxi]propanóico foi metilado e o ester metílico usado para análise quiral e estrutural. A análise deste éster metílico por HPLC quiral mostrou que era essencialmente 100% de ester metílico de ácido R-2-[4-(2,4-diclorofenoxi)fenoxi]propanóico.

Este ester metílico foi a seguir submetido a análise por espectrometria de massa de ionização química; o efeito de duplo isótopo do cloro pode ser visto em vários iões. O m/z = 341 corresponde ao ião pai; m/z = 281 corresponde ao ião descarboxilado, o ião m/z = 255 corresponde ao ião diclorofenoxi fenol e o ião m/z = 196 corresponde ao fragmento ester metílico fenoxi propanoato.

O espectro <sup>1</sup>Hnmr do ester metílico do composto em epigrafe mostrou  
<sup>1</sup>H (360MHz; solvente CDCl<sub>3</sub>; padrão Me<sub>4</sub>Si)

- 1,62 (3H, d, CH<sub>3</sub>)
- 3,77 (3H, s, COOCH<sub>3</sub>)
- 4,72 (1H, q, O-CH)
- 6,8 (1H, d, C<sup>6</sup>)
- 6,88 (4H, ABq, C<sup>2'</sup>, 3', 5', 6')
- 7,15 (1H, dd, C<sup>5</sup>)
- 7,45 (1H, s, C<sup>3</sup>)

EXEMPLO 5Preparação de ácido R-(+)-2-[4-(5-trifluorometil-2-piridiloxi)fenoxi]propanóico

Repetimos o Exemplo 3 usando como substrato 2-[4-(5-trifluorometil-2-piridiloxi)fenoxi]propano. A incubação originou somente um produto. Este produto provou ser o ácido R-(+)-2-[4-(5-trifluorometil-2-piridiloxi)fenoxi]propanóico com elevado rendimento (57% de rendimento, 285 mg l<sup>-1</sup>). Após purificação e metilação, HPLC quiral mostrou a pureza enantiomérica deste produto como sendo aproximadamente 98%.

O espectro <sup>1</sup>Hnmr do composto em epigrafe mostrou

δH (360MHz; solvente CDCl<sub>3</sub>; padrão Me<sub>4</sub>Si)

- 1,68 (3H, d, CH<sub>3</sub>)
- 4,78 (1H, q, O-CH)
- 6,93 (1H, d, C<sup>3</sup>)
- 7,03 (4H, ABq, C<sup>2',3',5',6'</sup>)
- 7,88 (1H, dd, C<sup>4</sup>)
- 8,4 (1H, bv.s., C<sup>6</sup>)

EXEMPLO 6Preparação de ácido R-(+)-2-[4-(5-trifluorometil-2-piridilo-

xi)-fenoxi]propanóico

A uma suspensão de células de R. erythropolis NCIB 12574, preparada como descrito no Exemplo 2, juntamos 30 mg de 2-[4-(5-trifluorometil-2-piridiloxi)-fenoxi]propano. A incubação originou somente um produto, o qual provou ser o composto em epigrafe (35% de rendimento; 355 mg, l<sup>-1</sup>) o qual foi purificado e identificado como no Exemplo 5.

EXEMPLO 7

Preparação de 2-(4-fenoxifenoxi)propano

Juntamos hidreto de sódio (3,0 g; 0,125 mole) em porções a uma mistura agitada de 20 g (0,107 mole) de 4-fenoxifenol e 90 ml de N,N-dimetilformamida seca. Após ter parado a libertação de hidrogénio juntamos 17 g (0,123 mole) do metilsulfonato de 2-propanol e a agitação continuou a 50-60°C durante 3 horas.

Juntamos mais sulfonato (1 ml) e hidreto de sódio (0,3 g) e após agitação durante 1 hora a 70°C a mistura foi arrefecida e deitada em 0,9 litros de água fria.

O precipitado foi filtrado, lavado com água e cristalizado a partir de 120 ml de metanol quente (filtrado quente) para obtermos 19,91 g do composto puro em epigrafe.

$^1\text{H}$  nmr ( $\delta$ ,  $\text{CDCl}_3$ , 360 MHz,  $\text{Me}_4\text{Si}$ )

- 1,68 (6H, d,  $\text{CH}_3$ )
- 4,7 (1H, sept., O-C-H)
- 6,9 (2H, d,  $\text{C}^{2,6}$ )
- 6,98 (4H, ABq,  $\text{C}^{2',3',5',6'}$ )
- 7,10 (1H, t,  $\text{C}^4$ )
- 7,32 (2H, q,  $\text{C}^{3,5}$ )

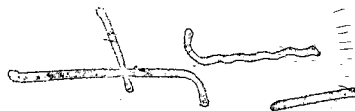
#### EXEMPLO 8

#### Preparação de 2-[4-(2,4-diclorofenoxi)fenoxi]propano

##### a) 2-[4-(2,4-diclorofenoxi)fenoxi]-propanol-1-

Numa solução de 34,1 g (0,1 mole) de (R,S)-metil-2-[4-(2,4-diclorofenoxi)fenoxi]propionato em 100 ml de éter seco foi adicionada gota a gota durante um período de 25 minutos a uma suspensão agitada e refluxante de 5 g (0,13 mole) de hidreto de alumínio e lítio em 100 ml de éter seco. A agitação continuou durante 10 minutos a 20°C e a seguir juntamos gota a gota 5 ml de água seguidos por 5 ml de 15% w/v de hidróxido de sódio e 15 ml de água. Após agitação durante meia hora o granulado foi filtrado, lavado com éter e o filtrado foi seco com sulfato de magnésio, filtrado e evaporado para obtermos 28,33 g do composto em epigrafe em bruto na forma de um óleo.

##### b) 1-(4-toluenosulfoniloxi)-2-[4-(2,4-diclorofenoxi)fenoxi]-propano



Uma mistura de 27,78 g (88,7 mmole) de 2-[4-(2,4-diclorofenoxy)fenoxi]propanol-1, 150 ml de piridina seca e 22,5 g (118 mmole) de cloreto de 4-tolueno sulfonil foi agitada durante 20 horas a 20°C.

A mistura foi deitada em meio litro de água fria e extraída com éter (2x). O extracto foi lavado com excesso de ácido clorídrico a 5%, água, bicarbonato de sódio 1M e água salgada respectivamente, seco com sulfato de magnésio anidro, filtrado e evaporado para obtermos 39,59 g de produto.

c) 2-[4-(2,4-diclorofenoxy)fenoxi]propano

Uma suspensão de 32 g (68,5 mmole) de 1-(4-tolueno sulfoniloxi)-2-[4-(2,4-diclorofenoxy)fenoxi]propano, 300 ml de éter seco e 4 gramas (105 mmole) de hidreto de alumínio e lítio foi agitada a 20°C durante 8 horas.

A seguir juntamos gota a gota 4 ml de água seguidos por 4 ml de 15% w/v de hidróxido de sódio e 16 ml de água com agitação intermitente. O granulado foi filtrado, lavado com éter e o filtrado foi seco com sulfato de magnésio, filtrado e evaporado para obtermos 19,78 g de óleo. Este foi cromatografado sobre 200 g de sílica gel com éter/hexano = 1/9 em fracções de 50 ml. Juntamos as fracções 6,7 e 8 e evaporamos à secura para obtermos 17,0 g do composto em epigrafe como um óleo móvel.

<sup>1</sup>H nmr ( $\delta$ , CDCl<sub>3</sub>, 360 MHz, Me<sub>4</sub>Si)

1,62 (6H, d, CH<sub>3</sub>)

4,72 (1H, sept, O-C-H)

6,8 (H, d, C<sup>6</sup>)

6,88 (4H, ABq, C<sup>2',3',5',6'</sup>)

7,15 (1H, dd, C<sup>5</sup>)

7,45 (1H, s, C<sup>3</sup>)

EXEMPLO 9Preparação de 2-[4-(5-trifluorometil-2-piridiloxi)fenoxi]7-propano

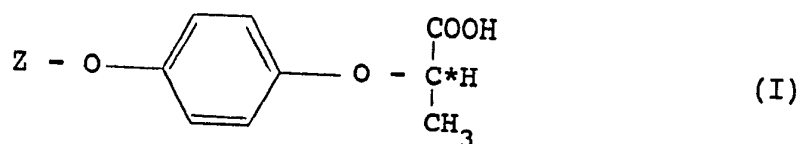
Juntamos hidreto de sódio (3,7 g; 0,154 mole) em porções a uma mistura agitada de N,N-dimetil-formamida seca (60 ml) e 4-isopropiloxifenol (26 g; 0,17 mole). Após a libertação de hidrogénio ter parado, juntamos 2-cloro-5-trifluorometilpiridina (28,75 g; 0,158 mole) e a agitação continuou durante 1,75 horas a 80-95°C. Juntamos mais hidreto de sódio (0,4 g). Após agitação durante 1,25 horas a 95°C a mistura foi arrefecida e deitada em água. A água foi extraída duas vezes com tolueno, os extractos lavados com hidrogeno carbonato de sódio 1M e água salgada, filtrados e evaporados num residuo oleoso castanho o qual foi purificado sobre silica gel com 1:9 éter/hexano como eluente para obtermos o composto em epigrafe (37,34 g)

<sup>1</sup>H nmr (δ, CDCl<sub>3</sub>, 360 Mhz, Me<sub>4</sub>Si)

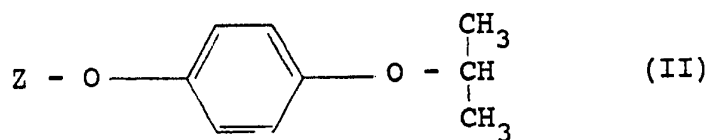
1,7 (6H, d, CH<sub>3</sub>)  
 4,78 (1H, sept, O-CH)  
 6,93 (1H, d, C<sup>3</sup>)  
 7,03 (4H, ABq, C<sup>2',3',5',6'</sup>)  
 7,88 (1H, dd, C<sup>4</sup>)  
 8,4 (1H, br.s., C<sup>6</sup>)

REIVINDICAÇÕES:

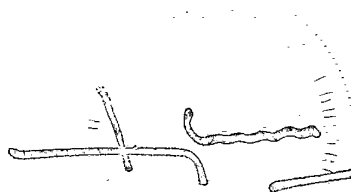
1a. - Processo para a preparação de um composto de fórmula I o qual está predominantemente presente como enantiómero R:



onde Z é uma porção orgânica cíclica facultativamente substituída e C\* representa um átomo de carbono ópticamente activo, caracterizado por compreender o fornecimento de um substrato de fórmula II



onde Z é como atrás definido, a uma cultura de um microorganismo capaz de oxidar um composto de fórmula II predominantemente no enantiómero N de um composto de fórmula I, a separação do



composto de fórmula I, a partir do meio de cultura e a conversão facultativa do composto de fórmula I num seu éster ou sal.

2ª. - Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por o composto de fórmula I compreender pelo menos 70% em peso do enantiómero R.

3ª. - Processo de acordo com a reivindicação 2, caracterizado por o composto de fórmula I compreender pelo menos 95% em peso do enantiómero R.

4ª. - Processo de acordo com a reivindicação 1, 2 ou 3, caracterizado por Z ser um grupo carboxílico aromático ou alifático facultativamente substituído ou um grupo heterocíclico.

5ª. - Processo de acordo com a reivindicação 4, caracterizado por Z representar um grupo fenilo, um grupo fenilo substituído com halogéneo, ou um grupo piridilo substituído.

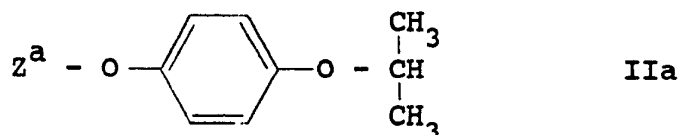
6ª. - Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1, a 5, caracterizado por o microorganismo ser uma bateria do genero Rhodococcus, Nocardia ou Pseudomonas.

7ª. - Processo de acordo com a reivindicação 6, caracterizado por o microorganismo ser seleccionado de entre Rhodococcus, rhodochrous, Nocardia corallina, e Rhodococcus erythropolis.

8a. - Processo de acordo com a reivindicação 7, caracterizado por o microorganismo ser Rhodococcus rhodochrous NCIB 12566 ou Rhodococcus erythropolis NCIB 9158 ou um seu variante ou mutante.

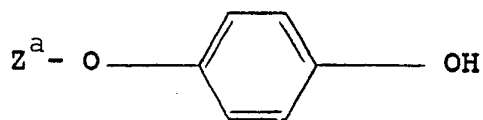
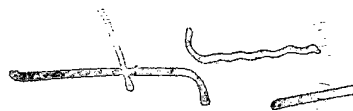
9a. - Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, caracterizado por o microorganismo ser cultivado antes da exposição ao substrato e, durante a exposição ao substrato, o microorganismo ser mantido num estágio de substancialmente nenhum crescimento sob condições aeróbicas.

10a. - Processo para a preparação de um composto de fórmula IIa



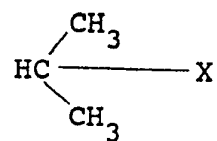
na qual  $\text{Z}^{\text{a}}$  representa um grupo fenilo ou um grupo 5-trifluorometil-2-piridilo facultativamente substituído na posição 3, por um átomo de halogênio, caracterizado por:

a) se fazer reagir um composto de fórmula IIIa:



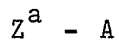
III a

em que  $\text{Z}^{\text{a}}$  é como atrás definido com um composto de fórmula

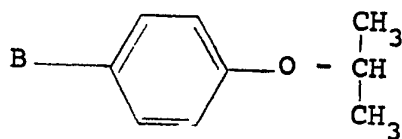


em que X é um grupo separável adequado, por exemplo sulfonato, ou

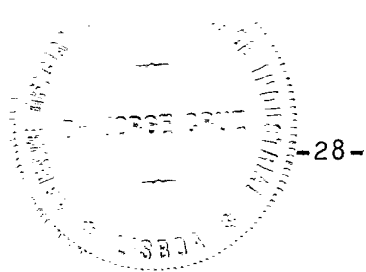
b) se fazer reagir um composto de fórmula



com um composto de fórmula IVa:



IV a



em que  $Z^a$  é como atrás definido, um de A e B representa um grupo hidroxil e o outro de A e B representa um grupo separável por exemplo um átomo de halogéneo.

Lisboa, 29 de Novembro de 1988

J. PEREIRA DA CRUZ  
Agente Oficial da Propriedade Industrial  
RUA VICTOR GORDON, 10-A, 1.º  
1200 LISBOA