

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 27/02/2020.

LAÍZA ARAUJO DE ALMEIDA

Síntese de álcoois secundários quirais via Resolução Cinética
Dinâmica quimioenzimática

Dissertação apresentada ao Instituto de Química,
Universidade Estadual Paulista, como parte dos
requisitos para obtenção do título de Mestre em
Química

Orientador: Prof. Dr. Humberto Márcio Santos Milagre

Araraquara

2019

FICHA CATALOGRÁFICA

A447s Almeida, Laíza Araujo de
Síntese de álcoois secundários quirais via resolução
cinética dinâmica quimioenzimática / Laíza Araujo de
Almeida. – Araraquara : [s.n.], 2019
122 f. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista,
Instituto de Química

Orientador: Humberto Márcio Santos Milagre

1. Biocatálise. 2. Catálise heterogênea. 3. Lipase.
4. Transesterificação. 5. Quiralidade. I. Título.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Síntese de álcoois secundários quirais via Resolução Cinética Dinâmica Quimioenzimática

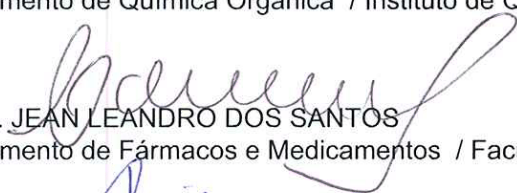
AUTORA: LAÍZA ARAUJO DE ALMEIDA

ORIENTADOR: HUMBERTO MÁRCIO SANTOS MILAGRE

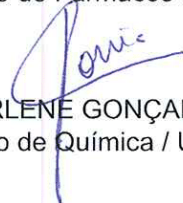
Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em QUÍMICA, pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. HUMBERTO MÁRCIO SANTOS MILAGRE
Departamento de Química Orgânica / Instituto de Química - UNESP - Araraquara



Prof. Dr. JEAN LEANDRO DOS SANTOS
Departamento de Fármacos e Medicamentos / Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP - Araraquara



Prof^a. Dr^a. ARLENE GONÇALVES CORREA
Departamento de Química / Universidade Federal de São Carlos - UFSCAR - São Carlos

Araraquara, 27 de fevereiro de 2019

DADOS CURRICULARES

Dados Pessoais

Nome: Laíza Araujo de Almeida

Nome em citações bibliográficas: Almeida, L.A.

Filiação: Perpétua Aparecida de Araujo Almeida
Claudinei Lopes de Almeida

Data de nascimento: 10 de fevereiro de 1993

Naturalidade: São José do Rio Preto/SP

Nacionalidade: Brasileira

Formação Acadêmica

- Curso de pós-graduação modalidade Mestrado em química, área de concentração: Química Orgânica, Título: “Síntese de álcoois secundários quirais via Resolução Cinética Dinâmica quimioenzimática” sob a orientação do Prof. Dr. Humberto Márcio Santos Milagre, no Instituto de Química - UNESP Araraquara, no período de 2017 a 2019 com bolsa da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).
- Graduada em Licenciatura em Química pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP) de 2012 a 2016, com período sanduíche na Universidade de Coimbra (UC – Coimbra, Portugal) pelo Programa de Licenciaturas Internacionais (PLI CAPES 2013/2015).

Formação complementar

- Curso de curta duração “Sistema de Produção Industrial” (Carga horária: 4h) na Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, 2013.
- Curso de curta duração “Química Verde” (Carga horária: 8h) na Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, 2013.
- Curso de curta duração “Química dos Fármacos” (Carga horária: 8h) na Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, 2012.
- Curso de curta duração “Tecnologia em Água de Reuso” (Carga horária: 8h) na Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, 2012.
- Curso de curta duração “Planejamento estratégico aplicado à área ambiental” (Carga horária: 8h) na Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, 2012.

Estágios e Bolsas Auxílio

- Bolsa de mestrado no período de 2017 a 2019, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).
- Estágio de Iniciação Científica “Preparação e Avaliação Biológica de Híbridos Curcumina-Cinamaldeído como Inibidores da Divisão Celular Bacteriana:

Cinamilidenoacetofenonas” sob orientação do Prof. Dr. Luis Octávio Regasini no Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas (IBILCE – UNESP), São José do Rio Preto, com bolsa da Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Estado de São Paulo (FAPESP) (Processo 16/06401-5), em 2016.

- Bolsa PLI (Programa de Licenciaturas Internacionais/CAPES) no período de 2013 a 2015, com graduação sanduíche na Universidade de Coimbra (Portugal) e realização de estágio laboratorial (“Síntese de Ligandos Pirrolidínicos para Aplicação em Alquilação Enantiosseletiva”) sob orientação da Prof. Dra. Maria Elisa Serra.

- Bolsa PIBID (Programa Institucional de Bolsas de Iniciação à Docência/CAPES) no período de 2012 a 2013 com projeto sob orientação da Profa. Dra. Lidia Maria de Almeida Plicas.

Trabalhos publicados e/ou submetidos a periódicos indexados

Polaquini, C.R.; Torrezan, G.S.; Santos, V.R.; Nazaré, A.C.; Campos, D.L.; **Almeida, L.A.**; Silva, I.C.; Ferreira, H.; Pavan, F.R.; Duque, C.; Regasini, L.O. Antibacterial and Antitubercular Activities of Cinnamylideneacetophenones. *Molecules* **2017**, *22*, 1685 (doi:[10.3390/molecules22101685](https://doi.org/10.3390/molecules22101685)).

Apresentação de Trabalhos em Congressos

ALMEIDA, L. A.; MILAGRE, H. M. S. Dynamic kinetic resolution of *rac*-1-Phenylethanol using lipase and a promising vanadium catalyst. 17th Brazilian Meeting on Organic Synthesis (17th BMOS), Salvador – BA, 2018.

POLAQUINI, C. R.; TORREZAN, G. S.; SANTOS, V. R.; NAZARE, A. C.; CAMPOS, D. L.; **ALMEIDA, L. A.**; PAVAN, F. R.; DUQUE, C.; REGASINI, L. O. Synthesis, antibacterial and antitubercularactivities of cinnamaldehyde derivatives. 2017.

POLAQUINI, C. R.; TORREZAN, G. S.; AYUSSO, G. M.; **ALMEIDA, L. A.**; SILVA, I. C.; PAVAN, F. R.; FERREIRA, H.; REGASINI, L. O. Design, Green Synthesis and Cytotoxicity of 30 Curcumin-Cinnamaldehyde Hybrids. 39ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Goiânia – GO, 2016.

TORREZAN, G. S.; **ALMEIDA, L. A.**; POLAQUINI, C. R.; SILVA, I. C.; FERREIRA, H.; PAVAN, F. R.; REGASINI, L. O. Design and Synthesis of Curcumin-Cinnamaldehyde Hybrids as Cytotoxic Agents Against Lung Cancer Cells. 8th Brazilian Symposium on Medicinal Chemistry (BrazMedChem), Armação dos Búzios – RJ, 2016.

ALMEIDA, L. A.; POLAQUINI, C. R.; TORREZAN, G. S.; REGASINI, L. O.; FERREIRA, H. Planejamento, Síntese e Atividade Antibacteriana de Curcuminóides contra *Enterococcus faecalis*. XXVIII Congresso de Iniciação Científica da UNESP (CIC), São José do Rio Preto - SP, 2016.

ROCHA, J. S.; **ALMEIDA, L. A.**; SILVA, J. G. As aulas de química e as escolhas profissionais no ensino médio. 2016. (Apresentação de Trabalho/Simpósio).

POLAQUINI, C. R.; SARDI, J. C. O.; TORREZAN, G. S.; **ALMEIDA, L. A.**; FREIRES, I. A.; LAZARINI, J. G.; ROSALEN, P. L.; REGASINI, L. O. Avaliação de diacetilcurcumina contra biofilme de *Staphylococcus aureus* resistente à metilicina e toxicidade em *Galleria mellonella* (Menção Honrosa: Melhor Apresentação Oral). VIII Simpósio de Microbiologia, São José do Rio Preto – SP, 2016.

ALMEIDA, L. A.; POLAQUINI, C. R.; TORREZAN, G. S.; MORAO, L. G.; FERREIRA, H.; REGASINI, L. O. Análogos assimétricos de curcumina como agentes antitumorais: Planejamento, síntese e citotoxicidade (Menção Honrosa: Melhor Painel). IV Simpósio Integrado da Graduação e Pós-Graduação em Química, São José do Rio Preto – SP, 2016.

SANTOS, M. B.; **ALMEIDA, L. A.**; SILVA, G. B.; REGASINI, L. O. Síntese Verde de Difenilpentanóides Simétricos. X Semana da Química Ambiental, São José do Rio Preto – SP, 2013.

Participação em eventos

17th Brazilian Meeting on Organic Synthesis (17th BMOS), Salvador, 2018.

Mulheres na Ciência: Educação sem Distinção por Gênero, Araraquara, 2017.

IV Simpósio Integrado da Graduação e Pós-Graduação em Química, São José do Rio Preto, 2016.

XXVIII Congresso de Iniciação Científica da UNESP, São José do Rio Preto, 2016.

III Encontro Nacional de Estudantes de Química, Aveiro – Portugal, 2015.

V Semana Cultural Brasileira, Coimbra – Portugal, 2015.

4th Portuguese Young Chemists Meeting, Coimbra – Portugal, 2014.

X Semana da Química Ambiental, São José do Rio Preto, 2013.

II Simpósio de Pós-Graduação em Química e I Simpósio Integrado da Graduação e Pós-Graduação, São José do Rio Preto, 2012.

IX Semana de Química Ambiental, São José do Rio Preto, 2012.

Organização de eventos

1ª Escola de Verão do Instituto de Química - UNESP Araraquara: Colaboradora do minicurso “*Biocatálise: fundamentos e imobilização de biocatalisadores*” (2018).

Pint of Science, Araraquara: Participação da Equipe de Apoio (2018 e 2017).

II Simpósio de Química Medicinal, São José do Rio Preto: Participação da Comissão Organizadora (2016).

*Para meus pais,
com muito amor*

Agradecimentos

Ao meu orientador, Prof. Dr. Humberto Márcio Santos Milagre, pelos ensinamentos, paciência, parceria e pela confiança depositada em mim ao longo desses dois anos.

Ao Instituto de Química e Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” pela oportunidade e infraestrutura para realização deste trabalho.

À CAPES pela bolsa concedida e manutenção do Portal de Periódicos.

Ao CNPq, FAPESP, CERSusChem e INCT-BioNat pelo auxílio financeiro ao grupo de pesquisa.

Aos amigos feitos no IQ e colegas de laboratório do Milagre Research Group por tornar a rotina de trabalho mais divertida. Em especial: Gabriel, Iris, João Lucas, Lilian, Maraylla e Noelle, pelas risadas, cafés e reuniões após o expediente.

À Profa. Dra. Cintia D. F. Milagre pelas contribuições nesse trabalho.

À Thayna, aluna de iniciação científica, pela parceria na etapa final desse projeto.

Aos técnicos e funcionários do IQ, Naira, Albertinho, Marquinhos, Rogério, Antonio Carlos e Nivaldo.

À toda minha família, em especial meus pais Claudinei e Perpétua, meu irmão Matheus e minha prima Marcela, pelo incentivo, compreensão nos momentos de ausência e por sempre acreditarem em mim.

Ao Tiago, pelo cuidado, carinho e ajuda, tornando esse período mais leve.

Aos meus amigos Letícia, João Carlos, Juliane, Josiane, Markus e Suzana por serem minha rede de apoio.

*não há
mais nada
que você possa temer
o sol e suas flores chegaram.*

Rupi Kaur – O que o sol faz com as flores

RESUMO

Álcoois secundários opticamente ativos são blocos construtores para diversos produtos farmacêuticos, agroquímicos e alimentícios. Apesar da quantidade de metodologias já descritas na literatura para sua obtenção, ainda é necessária a busca por metodologias sustentáveis e de maior custo-benefício. Neste contexto, esse trabalho visou o desenvolvimento de uma nova metodologia de resolução cinética dinâmica (RCD) quimioenzimática para a obtenção de álcoois secundários enantiomericamente puros. Para isso, estudou-se inicialmente a etapa de racemização avaliando o sulfato de vanadila hidratado (VOSO₄) como catalisador. O VOSO₄ se mostrou muito eficiente, racemizando o substrato modelo (S)-(-)-1-feniletanol em apenas 30 minutos ($ee_{(S)} = 1,0\%$; octano, 80 °C). Em seguida, as condições reacionais da racemização foram otimizadas variando solvente, temperatura e quantidade de catalisador, sendo estabelecido como condição ótima a reação em heptano a 50 °C ($ee_{(S)} = 4,6\%$). Além disso, por se tratar de um catalisador heterogêneo, foi avaliado também a reciclabilidade de VOSO₄ e este se mostrou extremamente ativo mesmo após 10 ciclos consecutivos de racemização. As reações de RCD foram então realizadas na condição reacional ótima, utilizando *rac*-1-feniletanol como substrato modelo, lipase de *Candida antarctica* B imobilizada (CAL-B) como catalisador enantiosseletivo, VOSO₄ como agente de racemização e avaliando-se diferentes doadores de acila. A reação realizada com decanoato de vinila foi a mais eficiente, resultando na formação do produto (*R*)-decanoato de 1-feniletila com 87% de conversão e $ee > 99\%$. Entretanto, na avaliação da reciclabilidade do sistema quimioenzimático heterogêneo, observou-se uma perda significativa da atividade catalítica já no segundo ciclo reacional. Por fim, na avaliação da aplicabilidade do protocolo de RCD desenvolvido para uma série de álcoois secundários, observou-se altas conversões (71 a >99%) e excelentes excessos enantioméricos (>99%) com álcoois aromáticos *para*-substituídos e heteroatomáticos como substratos, porém os substratos com substituintes na cadeia lateral não foram convertidos aos ésteres esperados. O protocolo de RCD desenvolvido neste trabalho apresenta-se como uma alternativa promissora para obtenção de *sec*-álcoois enantiomericamente puros, possuindo como principal vantagem o uso de catalisadores (VOSO₄ e CAL-B) ambientalmente amigáveis, disponíveis comercialmente e que, por serem heterogêneos, tornam o sistema operacional muito prático.

Palavras-chave: Biocatálise, lipase, catálise heterogênea, transesterificação, quiralidade

ABSTRACT

Optically active secondary alcohols are building blocks for several pharmaceutical, agrochemical and food products. Despite the number of methodologies already described to obtain these compounds, it is still necessary to search for more sustainable and cost-effective methodologies. In this context, this work aimed at the development of a new methodology of chemoenzymatic dynamic kinetic resolution (DKR) for the synthesis of enantiomerically pure secondary alcohols. For this, the racemization step was evaluated using hydrated vanadyl sulfate (VOSO_4) as heterogeneous catalyst, which was very efficient in the racemization of (*S*)-1-phenylethanol ($ee_{(S)} = 1.0\%$ only in 30 minutes, octane, 80°C). Then, reaction conditions of this racemization were optimized by varying solvent, temperature and amount of catalyst, and the reaction in heptane at 50°C ($ee_{(S)} = 4.6\%$) was selected as the optimum condition. Furthermore, the recycling of VOSO_4 was also evaluated and this catalyst remained extremely active even after 10 racemization cycles. Then, the DKR reactions were performed in the optimum reaction condition, using *rac*-1-phenylethanol as substrate, immobilized *Candida antarctica* lipase B (CAL-B) as enantioselective catalyst, VOSO_4 as racemization catalyst and evaluating different acyl donors. The reaction with vinyl decanoate was the most efficient, resulting in the product (*R*)-1-phenylethyl decanoate with 87% conversion and $ee > 99\%$. However, in the recycling of the heterogeneous chemoenzymatic system, there was a significant loss of catalytic activity already in the second cycle. Finally, in the evaluation of the applicability of the DKR protocol developed for secondary alcohols, high conversions (71 to up to 99%) and excellent enantiomeric excesses (up to 99%) were observed for *para*-substituted aromatic and heteroatomic *sec*-alcohols, however for *sec*-alcohols substituted in the side chain were not observed conversion into the expected esters. The DKR protocol developed in this work can be as a promising alternative for obtaining enantiomerically pure *sec*-alcohols, having as main advantage the use of eco-friendly and commercially available heterogeneous catalysts (VOSO_4 and CAL-B), which make the reaction operational system very easy.

Keywords: Biocatalysis, lipase, heterogeneous catalysis, transesterification, chirality

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Os 12 primeiros princípios da química verde	18
Figura 2. Resolução cinética (RC) de um racemato	24
Figura 3. Diagrama de energia para uma reação enantiosseletiva catalisada por enzima.	26
Figura 4. Regra de Kazlauskas para a resolução cinética de um álcool secundário quiral contendo um grupo volumoso (esfera G) e um grupo menos volumoso (esfera P)..	26
Figura 5. Representação esquemática da resolução cinética dinâmica (RCD)....	28
Figura 6. Cromatogramas de <i>rac</i> -1-feniletanol (5a) e (<i>S</i>)-(-)-1-feniletanol.....	38
Figura 7. Cromatogramas de <i>rac</i> -acetato de 1-feniletila (6a') e (<i>S</i>)-acetato de 1-feniletila.....	41
Figura 8. Cromatograma de <i>rac</i> -decanoato de 1-feniletila (6a).....	43
Figura 9. Estrutura pentahidratada para o íon VO ²⁺	45
Figura 10. Cromatogramas da racemização de (<i>S</i>)-1-feniletanol com VOSO ₄	46
Figura 11. Análise em CG-EM da reação de racemização de (<i>S</i>)-1-feniletanol catalisada por VOSO ₄	48
Figura 12. Sistema para realização da reação de racemização com VOSO ₄ assistida por ultrassom	52
Figura 13. Reciclagem de VOSO ₄ na racemização de (<i>S</i>)-1-feniletanol	53
Figura 14. Cromatogramas dos ciclos de racemização de (<i>S</i>)-1-feniletanol com VOSO ₄ reciclado	54
Figura 15. Estrutura tridimensional da lipase de <i>Candida antarctica B</i> (CAL-B) ..	55
Figura 16. Enantiopreferência da CAL-B de acordo com a regra de Kazlauskas.	56
Figura 17. Doadores de acila avaliados nas reações de RCD	57
Figura 18. Reciclagem de VOSO ₄ e CAL-B na RCD de <i>rac</i> -1-feniletanol	60
Figura 19. Cromatogramas dos ciclos de RCD de <i>rac</i> -1-feniletanol com VOSO ₄ e CAL-B reciclados	61
Figura 20. Reciclagem de VOSO ₄ na racemização de (S)- 5a (com adição de doador de acila)	62
Figura 21. Cromatogramas dos ciclos de racemização de (<i>S</i>)-1-feniletanol com VOSO ₄ reciclado, na presença de decanoato de vinila	62

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Vantagens e desvantagens da biocatálise.....	20
Tabela 2. Classificação das enzimas de acordo com a <i>Enzyme Commission</i>	22
Tabela 3. Estudo de $VOSO_4$ na racemização de (S)-1-feniletanol – Comparação com a literatura	46
Tabela 4. Valores de $\log P$ e pontos de ebulição dos solventes utilizados nessa etapa do trabalho	49
Tabela 5. Otimização da racemização de (S)-1-feniletanol com $VOSO_4$	50
Tabela 7. Resultados das reações de RCD com diferentes doadores de acila	58
Tabela 8. Resultados das reações de RCD dos álcoois secundários 5a-I	63
Tabela 9. Programação de temperatura para as colunas quirais A e B	70

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1. Processo biocatalítico para obtenção do intermediário da atorvastatina	22
Esquema 2. Resolução cinética (RC) de álcool ou amina catalisada por lipase ..	24
Esquema 3. Mecanismo da RC catalisada por lipase	25
Esquema 4. RCD de álcoois benzílicos utilizando catalisador de Shvo e lipase ..	29
Esquema 5. Catalisador de Shvo (1) e seus monômeros ativos 1a e 1b	29
Esquema 6. A resolução cinética dinâmica (RCD) de álcoois secundários quirais	30
Esquema 7. RCDs de álcoois secundários catalisadas por lipase e complexos de rutênio e irídio	31
Esquema 8. RCD de álcoois alílicos catalisada por complexo de oxovanádio livre (A) e imobilizado (B).....	32
Esquema 9. RCD de <i>rac</i> -1-feniletanol catalisada por Novozyme 435 e VOSO ₄ ..	33
Esquema 10. Representação esquemática da metodologia de RCD desenvolvida neste trabalho	35
Esquema 11. Fluxograma contendo a estratégia de trabalho para desenvolvimento deste projeto	36
Esquema 12. Síntese dos álcoois benzílicos 5a-i	37
Esquema 13. Síntese dos álcoois heterocíclicos 5j-l	39
Esquema 14. Esterificação de 1-feniletanol (5a) com anidrido acético	40
Esquema 15. Esterificação dos álcoois 5a-l com ácido decanóico	42
Esquema 16. Racemização de (<i>S</i>)-1-feniletanol com VOSO ₄	46
Esquema 17. Racemização de (<i>S</i>)-1-feniletanol com VOSO ₄ via catálise ácida..	47
Esquema 18. Esquema geral da racemização de (<i>S</i>)-1-feniletanol com VOSO ₄ .	49
Esquema 19. Racemização de (<i>S</i>)-1-feniletanol com VOSO ₄	53
Esquema 20. Mecanismo da etapa de formação do intermediário acil-enzima nas reações de RC utilizando éster vinílico como doador de acila	57
Esquema 21. Esquema geral da RCD quimioenzimática de 1-feniletanol utilizando VOSO ₄ e CAL-B.....	58
Esquema 22. RCD quimioenzimática de 1-feniletanol	60
Esquema 23. Racemização de (<i>S</i>)-1-feniletanol com VOSO ₄ na presença do doador de acila	61
Esquema 24. RCD dos álcoois secundários 5b-l	63

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

Ac – grupo acetila

ATR – reflexão total atenuada (*Attenuated total reflection*)

c – conversão

CAL-B – lipase de *Candida antarctica* B

CCD – cromatografia em camada delgada

CG-DIC – cromatografia gasosa acoplada ao detector de ionização em chama

CG-EM – cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas

DCC – *N,N'*-diciclohexilcarbodiimida

DMAP – 4-dimetilaminopiridina

DEPTQ – *Distorsionless Enhancement by Polarization Transfer with Retention of Quaternaries*

E – razão enantiomérica

EC – *enzyme commission*

ee – excesso enantiomérico

GDH – glicose desidrogenase

HHDH – halodrina desalogenase

IV – infravermelho

J – constante de acoplamento

KRED – cetorreductase

m/z – razão massa carga

NAD(P)H – nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato

ppm – partes por milhão

RC – resolução cinética

RCD – resolução cinética dinâmica

RMN de ¹³C – ressonância magnética nuclear de carbono 13

RMN de ¹H – ressonância magnética nuclear de hidrogênio

t.a. – temperatura ambiente

THF – tetrahidrofurano

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	17
1.1 Química Verde e Biocatálise.....	17
1.2 Lipases como biocatalisadores em resoluções de racematos	23
1.3 Resolução cinética dinâmica	28
1.4 Resolução quimioenzimática de álcoois	30
2. OBJETIVOS	34
2.1 Objetivo geral.....	34
2.2 Objetivos específicos	34
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
3.1 Estratégia de trabalho.....	35
3.2 Síntese dos substratos e padrões	36
3.2.1 Síntese dos álcoois benzílicos	36
3.2.2 Síntese dos heterocíclicos	38
3.2.3 Esterificação dos álcoois secundários.....	40
3.3 Estudo da etapa de racemização	44
3.3.1 Escolha do catalisador	44
3.3.2 Otimização das condições reacionais	48
3.3.3 Reciclagem do catalisador.....	52
3.4 Desenvolvimento do protocolo de resolução cinética dinâmica.....	54
3.4.1 Escolha da enzima	54
3.4.2 Avaliação de diferentes doadores de acila	56
3.4.3 Reciclagem do sistema quimioenzimático	59
3.4.4 Resolução cinética dinâmica de álcoois secundários.....	63
4. CONCLUSÕES	67
5. PARTE EXPERIMENTAL	69
5.1 Considerações Gerais	69
5.1.1 Métodos Cromatográficos	69
5.1.2 Espectroscopia no Infravermelho (IV).....	71

5.1.3	Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio e de Carbono (RMN de ^1H e ^{13}C).....	71
5.1.4	Reagentes e solventes	71
5.1.5	Outros.....	72
5.2	Procedimentos experimentais e caracterização estrutural dos compostos sintetizados:	72
5.2.1	Procedimento geral para síntese dos álcoois benzílicos racêmicos 5a-i	72
5.2.2	Procedimento geral para síntese dos álcoois racêmicos 5j-l – Reações de Grignard	75
5.2.3	Esterificação dos álcoois secundários: Síntese dos padrões racêmicos 6a' e 6a-l.....	77
5.2.4	Avaliação de VOSO_4 na racemização de (S)-1-feniletanol	81
5.2.5	Otimização da etapa de racemização com VOSO_4	81
5.2.6	Avaliação da reciclagem de VOSO_4 na racemização de (S)-1-feniletanol	81
5.2.7	Resolução cinética dinâmica quimioenzimática de <i>rac</i> -1-feniletanol.....	81
5.2.8	Avaliação da reciclagem de VOSO_4 e CAL-B na resolução cinética dinâmica quimioenzimática de <i>rac</i> -1-feniletanol.....	82
5.2.9	Resolução cinética dinâmica quimioenzimática de álcoois secundários.....	82
6.	REFERÊNCIAS	83
7.	APÊNDICE	90

1. INTRODUÇÃO

1.1 Química Verde e Biocatálise

Nas últimas décadas, as questões ambientais têm ganhado destaque no cenário global e, nesse contexto, surgiu uma forte necessidade de aprimorar os processos industriais. Com o crescente interesse para um desenvolvimento mais verde e sustentável, a indústria química passou a concentrar seus esforços no aumento das condições de segurança, qualidade e na minimização dos impactos ambientais de seus processos e produtos, buscando estratégias e tecnologias mais ambientalmente amigáveis sem perder a eficiência econômica. (SOLANO *et al.*, 2012).

A química verde, termo introduzido no início dos anos 90, visa a utilização eficiente de matéria-prima (preferencialmente de fontes renováveis), a eliminação de resíduos e a redução do uso de reagentes e solventes tóxicos e/ou perigosos nos processos e na aplicação dos produtos químicos (SHELDON; WOODLEY, 2018). Com a publicação dos 12 princípios básicos da química verde (Figura 1), por Anastas e Warner em 1998, o termo ganhou reconhecimento formal e passou a ser protagonista em diversos setores da indústria química.



Figura 1. Os 12 primeiros princípios da química verde
Fonte: Adaptado de Anastas e Warner (ANASTAS; WARNER, 1998)

Dentro dos princípios e métricas da química verde, a catálise é uma ferramenta versátil que propicia sistemas com menores requisitos de energia, maior seletividade, melhor economia de átomos e reduz a produção de resíduos (ERYTHROPEL *et al.*, 2018). Sua importância é evidente ao destacarmos que a maior causa de produção de resíduos, particularmente na manufatura de produtos químicos e fármacos, é o uso de reagentes em quantidades estequiométricas em síntese orgânica (SHELDON; WOODLEY, 2018).

Um catalisador é um componente utilizado em pequena quantidade – quando comparado com o substrato – que fornece um caminho diferente e mais rápido para uma reação química sem ser consumido no processo, podendo participar de vários ciclos reacionais consecutivos. Existem diversos tipos de catalisadores, como por exemplo, ácidos e bases, complexos organometálicos, compostos orgânicos, polímeros inorgânicos e enzimas, que podem atuar como catalisadores homogêneos (catalisador na mesma fase dos reagentes e produtos) ou heterogêneos (catalisador e substrato em fases diferentes) (ROTHENBERG, 2008a).

Os processos de síntese química que utilizam catalisadores homogêneos – especialmente complexos metálicos e organocatalisadores – fornecem altos rendimentos e geralmente são mais ativos e seletivos quando comparados com àqueles de catálise heterogênea. O grande impacto da catálise homogênea é na síntese de compostos enantiomericamente puros, uma necessidade das indústrias agroquímica, alimentícia e, principalmente, farmacêutica. (ROTHENBERG, 2008a; PORTER; RUSLI; OLLIS, 2016).

O desafio de tornar esses processos catalíticos mais sustentáveis está na dificuldade de separar, recuperar e reciclar o catalisador homogêneo que, na maioria dos casos, apresenta elevado custo e é proveniente de fontes não renováveis (SHELDON; WOODLEY, 2018). Além disso, diversas rotas sintéticas exigem condições reacionais extremas (altas temperaturas e pressão, por exemplo) e podem gerar produtos secundários indesejados (PORTER; RUSLI; OLLIS, 2016). Para superar essas desvantagens, há um enorme interesse no desenvolvimento de sistemas catalíticos alternativos com o foco em minimizar gastos energéticos e quantidade de catalisador, e melhorar seletividade e reciclabilidade dos processos.

Diante do contexto apresentado, a biocatálise – isto é, uso de um catalisador biológico (enzimas, micro-organismos e, em alguns poucos casos, ácidos nucleicos e anticorpos) – apresenta-se como uma alternativa atrativa para o desenvolvimento de metodologias de síntese orgânica mais sustentáveis e com maior custo-benefício, oferecendo vantagens significativas, como sumarizado na Tabela 1 (ERYTHROPEL *et al.*, 2018).

Tabela 1. Vantagens e desvantagens da biocatálise

Vantagens	Elevada seletividade (regio-, quimio- e estereosseletividades); Alta eficiência catalítica; Geralmente não apresenta toxicidade; Biocatalisador proveniente de fonte renovável; Possibilidade de reações de várias etapas em <i>one-pot</i> com regeneração de cofatores; Possibilidade de reuso do biocatalisador; Condições operacionais mais suaves; Ambientalmente amigável.
Desvantagens	Estabilidade do catalisador: o biocatalisador pode ser suscetível à inibição pelo substrato ou pelo produto; Pode ocorrer inativação a altas temperaturas, em condições extremas de pH, ou em solventes orgânicos; Elevado custo para isolar, produzir e/ou comercializar alguns tipos de biocatalisadores; Pode ocorrer a formação de subprodutos indesejáveis que dificultam a purificação do produto.

Fonte: Adaptado de Lin e Tao (LIN; TAO, 2017).

Nas últimas três décadas, houve um avanço extraordinário nas áreas de biologia molecular e engenharia de proteínas, o que viabilizou a descoberta e comercialização de diversas enzimas e a otimização de suas atividades, especificidade de substrato, seletividade e estabilidade, permitindo a aplicação de biocatalisadores em uma grande variedade de reações químicas. O impacto dessas áreas na resolução de problemas químicos da humanidade é significativo, rendendo inclusive o prêmio Nobel de Química de 2018. A láurea foi conferida aos cientistas George Smith, Gregory Winter e Frances Arnold, sendo esta última responsável por pesquisas com evolução dirigida de enzimas. Dessa maneira, a biocatálise passou a ser uma ferramenta eficiente para síntese orgânica e uma tecnologia economicamente viável para processos mais sustentáveis em escala industrial, particularmente os voltados para a obtenção de compostos enantiomericamente puros (SHELDON; PEREIRA, 2017).

Enzimas são macromoléculas de origem proteica responsáveis por catalisar reações químicas de modo rápido, seletivo e eficiente, sustentando processos vitais em qualquer organismo vivo. Esses biocatalisadores também são capazes de operar fora de sistemas biológicos e são utilizados em síntese orgânica, tanto na forma de enzimas isoladas (imobilizadas ou não) ou contidas em células (células íntegras ou extratos enzimáticos brutos) (BUCHHOLTZ; KASHE; BORNSCHEUER, 2012a).

Dentre as vantagens citadas anteriormente (Tabela 1), as enzimas apresentam características atraentes como biocompatibilidade e biodegradabilidade; utilizam majoritariamente meios reacionais aquosos; e, por serem compostas por aminoácidos, apresentam excelentes regio-, quimio- e estereosseletividades, podendo-se então evitar etapas de proteção e desproteção em rotas sintéticas e minimizar a geração de resíduos e consumo energético (FABER, 2011a; SHELDON; WOODLEY, 2018).

O uso de enzimas isoladas apresenta, geralmente, maior seletividade e facilidade na recuperação do produto ao final do processo. A depender da estabilidade da enzima, as condições reacionais podem ser variadas, permitindo o uso de solventes orgânicos e cossolventes, temperaturas relativamente altas e sistemas multifásicos. Entretanto, a utilização de enzimas isoladas apresenta em alguns casos desvantagens como: elevado custo de isolamento e purificação; necessidade de adição e regeneração de cofatores (em enzimas dependentes de cofatores); e impossibilidade de isolar algumas enzimas presentes em células (HOLLMANN; ARENDS; HOLTMANN, 2011).

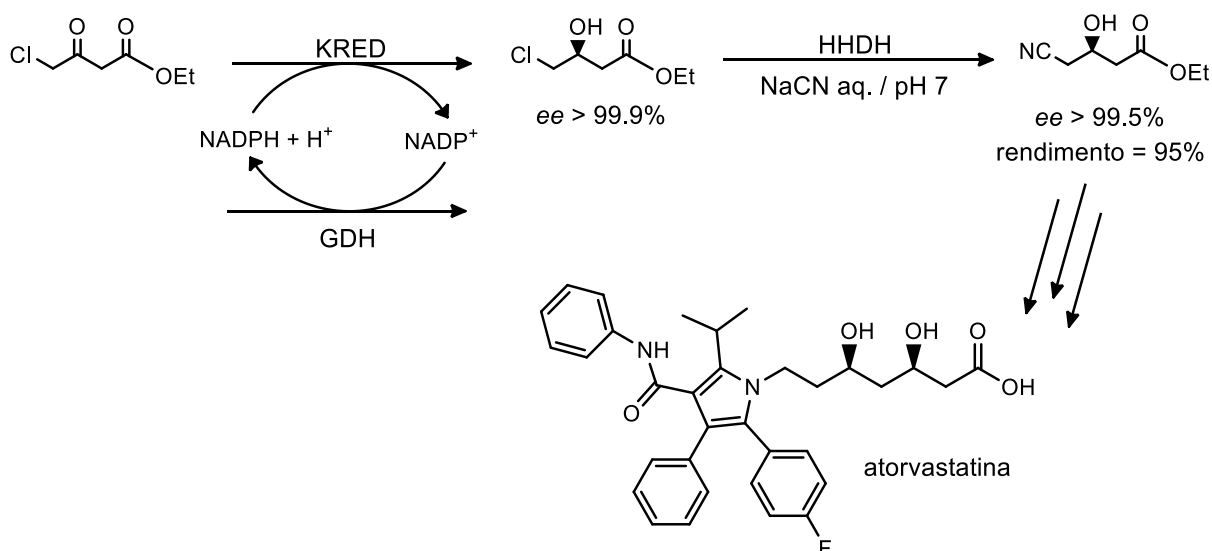
As enzimas são classificadas pela *Enzyme Commission* (EC), da União Internacional de Bioquímica e Biologia Molecular, de acordo com as reações que elas catalisam, sendo divididas em seis classes (Tabela 2). Devido à tolerância variável para substratos não naturais, as aplicações práticas em síntese orgânica não estão distribuídas uniformemente entre essas diferentes classes de enzimas (FABER, 2011a).

Tabela 2. Classificação das enzimas de acordo com a *Enzyme Commission*

Classe	Tipo de reação catalisada	Quantidade existente	
		Classificada	Disponível
Oxidoredutases (EC. 1)	Oxidação-redução: oxigenação de ligações C–H, C–C e C=C ou adição de átomos de hidrogênio	~700	~100
Transferases (EC. 2)	Transferências de grupos funcionais	~750	~100
Hidrolases (EC.3)	Formação de hidrólise de ésteres, amidas, lactonas, lactamas, epóxidos, anidridos e outros	~650	~180
Liases (EC. 4)	Adição-eliminação em ligações C=C, C=N e C=O	~300	~40
Isomerases (EC. 5)	Reações de isomerização: racemização, rearranjos e epimerização	~150	~6
Ligases (EC. 6)	Formação-clivagem de ligações C–C, C–O, C–N e C–S	~80	~5

Fonte: Adaptado de Faber (FABER, 2011a).

A aplicação de enzimas em escala industrial já é uma realidade. Como exemplo, é possível citar o interesse no uso de enzimas na redução assimétrica de cetonas para obtenção de álcoois quirais, compostos particularmente importantes na produção de ingredientes farmacêuticos ativos. A empresa Codexis, líder no ramo de engenharia de proteínas, desenvolveu um método biocatalítico para a síntese do intermediário quiral para a atorvastatina, fármaco utilizado para abaixar os níveis de colesterol no sangue (Esquema 1) (SHELDON; PEREIRA, 2017).

Esquema 1. Processo biocatalítico para obtenção do intermediário da atorvastatina

O processo envolvendo duas etapas e três enzimas consiste na redução assimétrica de uma α -clorocetona catalisada por cetorredutase (KRED; enzima NADPH-dependente da classe das oxidorredutases) para formação de uma cloridrina, em que o cofator é regenerado com a adição de glicose em uma reação catalisada por uma glicose desidrogenase (GDH; classe das oxidorredutases). Em seguida, a cloridrina é convertida a uma cianidrina pela ação de uma haloidrina desalogenase (HHDH; enzima da classe das liases), obtendo-se o intermediário quiral com excesso enantiomérico (ee) acima de 99.5% e rendimento global de 95%. Esse processo da Codexis foi comercializado em 2006, após uma série de mutações que aumentaram a atividade e estabilidade das enzimas, garantindo melhorias como diminuição da quantidade utilizada dos biocatalisadores e do tempo reacional, aumento do excesso enantiomérico e rendimento, e simplificação do *workup* das reações, tornando o protocolo mais sustentável e economicamente viável (SHELDON; PEREIRA, 2017).

1.2 Lipases como biocatalisadores em resoluções de racematos

As hidrolases (EC. 3) são o grupo de enzimas que catalisam a hidrólise de ligações covalentes, tendo a ação digestiva como função natural mais comum. Essa classe possui o maior número de enzimas disponíveis comercialmente, podendo ser aplicada em uma grande variedade de reações. Além disso, as hidrolases não necessitam de cofatores e várias delas são estáveis e ativas em solventes orgânicos, características que as tornam especialmente úteis para síntese orgânica (BORNSCHEUER; KAZLAUSKAS, 2006a).

Dentro da classe supracitada, as lipases (triacilglicerol hidrolases EC. 3.1.1.3) são enzimas amplamente encontradas na natureza e responsáveis pela hidrólise de triglicerídeos. As lipases também são capazes de catalisar outras reações orgânicas, tanto em meio aquoso como em meio orgânico e, devido à essa versatilidade, são os biocatalisadores mais amplamente utilizados na indústria e alvo de interesse em inúmeras pesquisas científicas (BUCHHOLTZ; KASHE; BORNSCHEUER, 2012b; SEDDIGI *et al.*, 2017).

O grande interesse na aplicação de lipases em síntese orgânica deve-se à disponibilidade comercial dessas enzimas, tanto na forma livre como imobilizada; o seu custo relativamente baixo; estabilidade em solventes orgânicos; não dependência de cofatores; e elevada enantiosseletividade. Em particular, a alta enantiosseletividade dessas enzimas permite seu uso em reações de resolução

cinética de uma ampla gama de substratos para formação de compostos enantiomericamente puros (CHEN *et al.*, 2018). Em uma resolução cinética (RC) ideal, um dos enantiômeros de uma mistura racêmica, na presença de um catalisador quiral, é convertido ao produto em uma velocidade maior, permitindo a separação do produto quiral e do enantiômero que não reagiu por técnicas tradicionais de purificação (Figura 2). (VERHO; BÄCKVALL, 2015; de MIRANDA; MIRANDA; de SOUZA, 2015; SEDDIGI *et al.*, 2017).

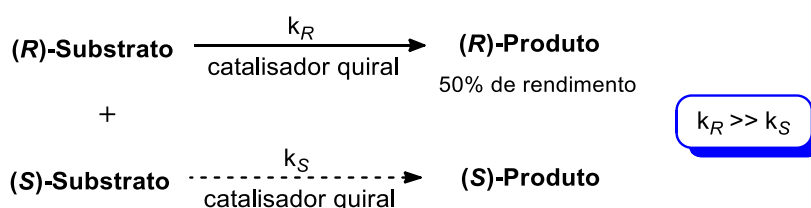
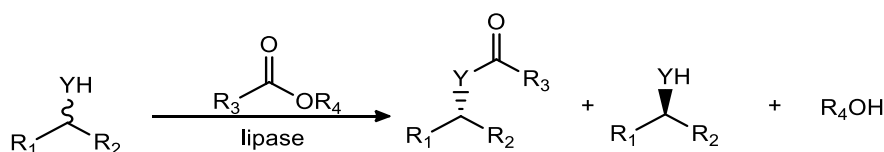


Figura 2. Resolução cinética (RC) de um racemato

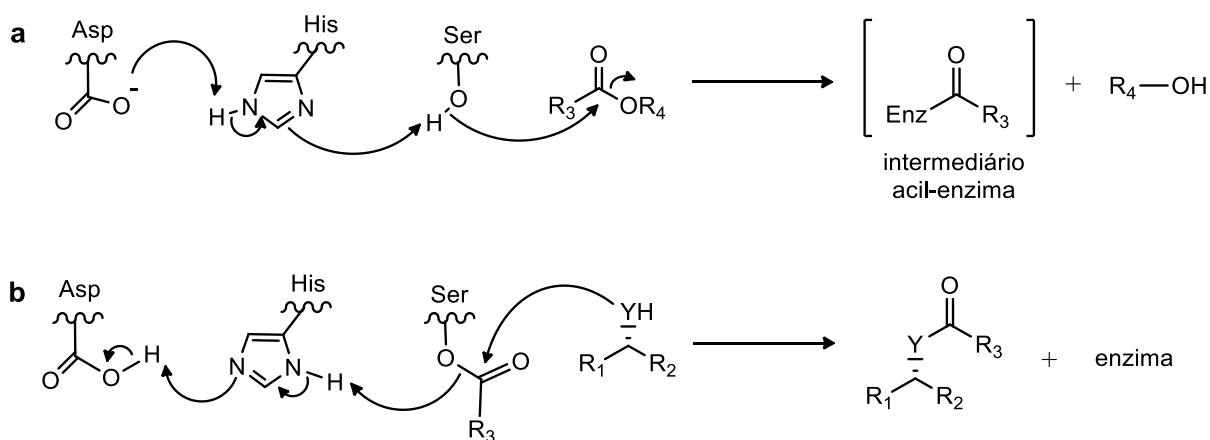
Em um protocolo clássico de RC, realizado em solvente orgânico, a lipase resolve o substrato racêmico por meio de uma reação estereosseletiva de esterificação entre um dos enantiômeros do substrato e um doador de acila (Esquema 2), sendo este o método mais utilizado para se obter álcoois e aminas enantiomericamente puras em escala industrial (VERHO; BÄCKVALL, 2015; de MIRANDA; MIRANDA; de SOUZA, 2015).

Esquema 2. Resolução cinética (RC) de álcool ou amina catalisada por lipase (Y = O, NH)



A reação ocorre no sítio catalítico da enzima em um mecanismo intermediado por uma tríade catalítica (aspartato (Asp), histidina (His) e serina (Ser)), onde os três resíduos de aminoácidos se arranjam para promover um ataque nucleofílico ao doador de acila, formando o intermediário acil-enzima. Esse intermediário, por sua vez, reage com outro nucleófilo – neste caso, um dos enantiômeros do substrato racêmico – ocorrendo uma transferência do grupo acila para formação do produto quiral (Esquema 3). (FABER, 2011c; de MIRANDA; MIRANDA; de SOUZA, 2015).

Esquema 3. Mecanismo da RC catalisada por lipase. **a.** Formação do intermediário acil-enzima
b. Transferência enantiosseletiva do grupo acila e regeneração da enzima (Y = O, NH)



Fonte: Adaptado de Faber (Faber, 2011c)

A enantiosseletividade do processo origina-se da diferença na energia de ativação para ambos os enantiômeros, fazendo com que um seja transformado mais rapidamente que o outro (Figura 3). Na resolução cinética catalisada pela enzima (**E**), formam-se os complexos enzima-substratos diastereoisoméricos com cada enantiômero do substrato racêmico ($[ES_{(R)}]$ e $[ES_{(S)}]$) e esses complexos possuirão diferentes valores de energia livre (ΔG^\ddagger) para seus respectivos estados de transição ($[ES_{(R)}]^\ddagger$ e $[ES_{(S)}]^\ddagger$). Essa diferença de energia livre ($\Delta\Delta G^\ddagger$) está relacionada diretamente com a enantiosseletividade da enzima, pois quanto maior o valor de $\Delta\Delta G^\ddagger$, maior será a diferença na velocidade de formação dos produtos provenientes dos enantiômeros-*(R)* ou -*(S)* (ALEDO; LOBO; VALLE, 2003).

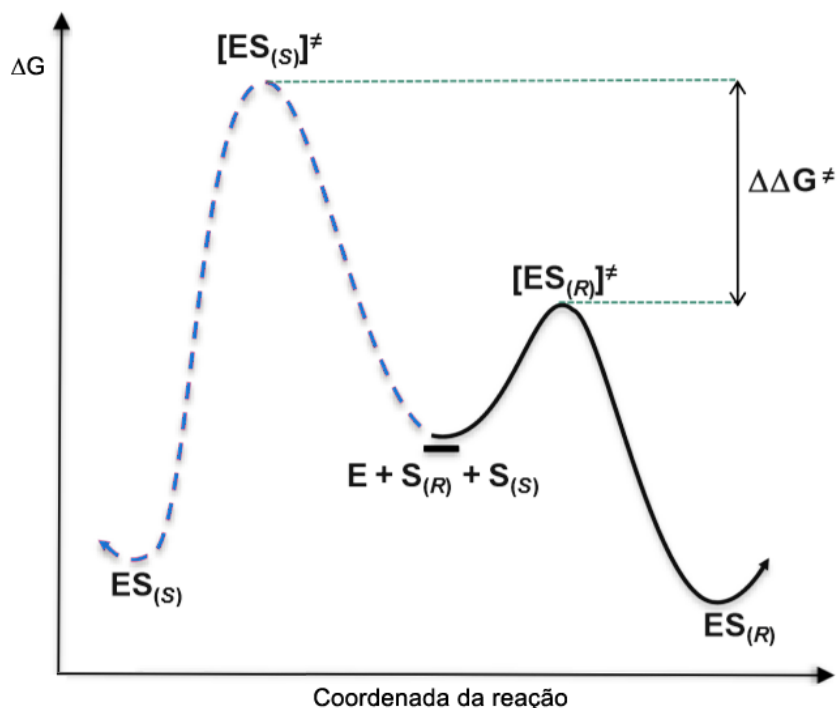


Figura 3. Diagrama de energia para uma reação enantiosseletiva catalisada por enzima. Legenda: E = enzima; S = substrato; ES = complexo enzima-substrato. **Fonte:** Adaptado de Silva (SILVA, 2011).

Na RC de álcoois secundários e aminas, a seletividade do processo deve-se à enantiopreferência das lipases em relação ao volume dos grupos ligados ao centro estereogênico do substrato, em um modelo conhecido como regra de Kazlauskas (KAZLAUSKAS *et al.*, 1991). Nessa regra, concebida empiricamente e sustentada pela elucidação da estrutura tridimensional de algumas lipases, o enantiômero mais reativo em reações de resolução cinética é aquele que melhor se acomoda no sítio catalítico dessas enzimas, o qual é composto por uma cavidade estericamente restrita, localizada mais no interior da enzima, e uma cavidade hidrofóbica maior localizada na entrada do sítio ativo (Figura 4). (BORNSCHEUER; KAZLAUSKAS, 2006a; de MIRANDA; MIRANDA; de SOUZA, 2015; SEDDIGI *et al.*, 2017).

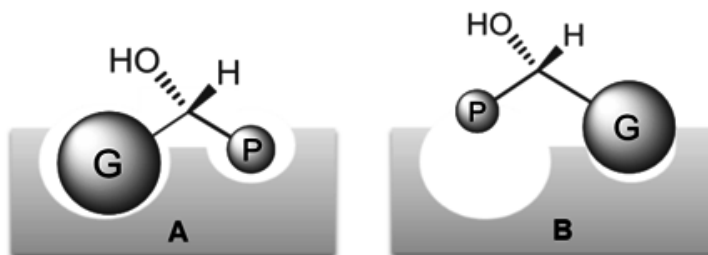


Figura 4. Regra de Kazlauskas para a resolução cinética de um álcool secundário quiral contendo um grupo volumoso (esfera G) e um grupo menos volumoso (esfera P). Na ilustração simplificada, o enantiômero mais reativo é o que melhor se encaixa nas cavidades do sítio ativo da lipase (A).

Fonte: Adaptado de Ghanema e Aboul-Enein (GHANEMA; ABOUL-ENEIN, 2004).

Um parâmetro importante que descreve numericamente a enantiosseletividade de uma reação de RC enzimática é a razão enantiomérica ou fator de seletividade (E). Cineticamente, valor de E é definido como uma razão entre constantes de velocidade para os dois enantiômeros, descrito pelos valores de k_{cat} (número de moléculas do substrato convertidas por unidade de tempo, por molécula de enzima) e K_M (constante de saturação do substrato), conforme mostrado na Equação 1 (GHANEM, 2007).

$$E = \frac{v_R}{v_S} = \frac{(k_{cat}/k_M)_R}{(k_{cat}/k_M)_S} \quad \text{Equação 1}$$

onde v_R = velocidade de reação com o enantiômero-(R)

Em 1982 Chen e colaboradores desenvolveram uma equação que permite calcular o valor de E utilizando dados experimentais. Essa equação é dependente da conversão (c), dos excessos enantioméricos do substrato (ee_s) e do produto (ee_p), conforme apresentado na Equação 2 (CHEN *et al*, 1982).

$$E = \frac{\ln[(1-c)(1-ee_s)]}{\ln[(1-c)(1+ee_s)]} = \frac{\ln[(1-c)(1+ee_p)]}{\ln[(1-c)(1-ee_p)]}$$

onde $c = ee_s / (ee_s + ee_p)$

A Equação 2 foi simplificada por Rakels e colaboradores substituindo o termo c pelos valores de ee_s e ee_p , obtendo a Equação 3 (RAKELS *et al*, 1993). Desta maneira, é possível calcular o valor de E medindo o excesso enantiomérico do produto formado e do substrato remanescente após a reação de RC, parâmetros que são facilmente determinados por meio de técnicas cromatográficas utilizando-se fase estacionária quiral.

$$E = \frac{\ln\left[\frac{1-ee_s}{1+(ee_s/ee_p)}\right]}{\ln\left[\frac{1+ee_s}{1+(ee_s/ee_p)}\right]}$$

Uma reação de RC com valor de $E < 15$ é considerada não-seletiva. Para uma RC ser considerada aceitável, os valores de E devem estar na faixa entre 15 e 30, e enquanto um valor acima de 20 é considerado satisfatório. Valores de $E > 200$ são difíceis de determinar, pois nesta faixa uma pequena variação no ee_s ou ee_p causa uma mudança significativa no valor numérico de E (FABER, 2011a).

1.3 Resolução cinética dinâmica

A resolução cinética possui como característica intrínseca a obtenção do enantiômero de interesse com um rendimento máximo de 50%. Com o objetivo de superar essa limitação, houve uma evolução desta metodologia para a resolução cinética dinâmica (RCD), onde se pode, em princípio, obter um rendimento quantitativo de um dos enantiômeros através da combinação da etapa de resolução da RC com uma racemização *in situ* do enantiômero menos reativo (Figura 5) (PELLISSIER, 2011).

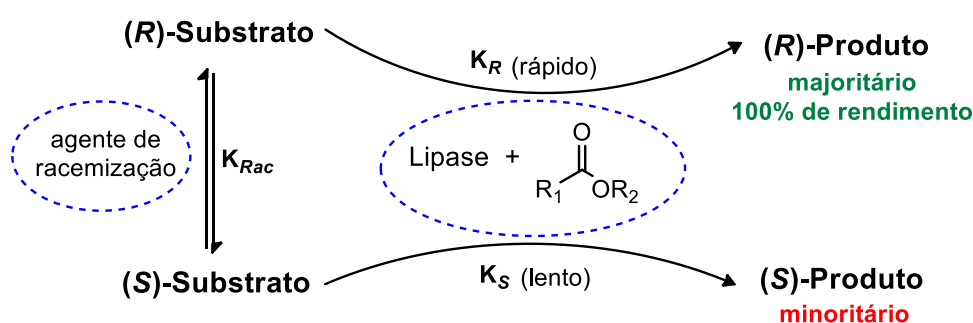


Figura 5. Representação esquemática da resolução cinética dinâmica (RCD)

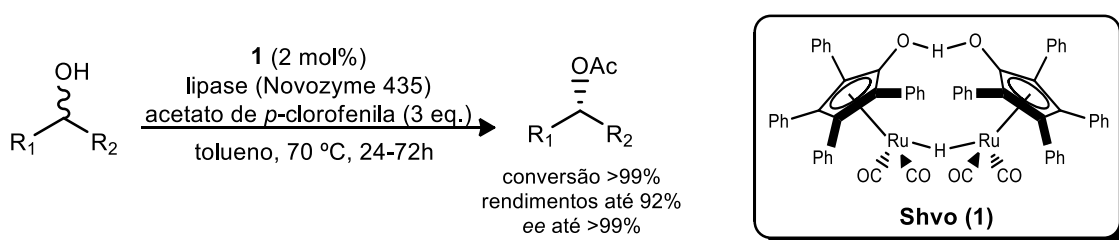
Um protocolo ideal de RCD necessita que a reação de resolução cinética apresente alta enantiosseletividade e seja irreversível ($k_R \gg k_S$), e que a velocidade da reação de racemização seja igual ou superior à velocidade da reação de resolução cinética ($k_{Rac} \geq k_R$). Além disso, os dois processos – resolução e racemização – devem ser compatíveis, ou seja, devem ocorrer nas mesmas condições reacionais e o produto quiral obtido não pode ser racemizado (PÀMIES; BÄCKVALL, 2003; VERHO; BÄCKVALL, 2015). Quando esses requisitos são alcançados, uma resolução cinética dinâmica pode fornecer o produto com rendimento máximo de 100% e com excesso enantiomérico superior àquele obtido através da resolução cinética convencional.

A racemização, etapa chave da RCD, consiste na formação de uma mistura racêmica a partir de um enantiômero puro, associado com perda total de atividade óptica. Diversas reações são capazes de promover a racemização de um enantiômero e, entre elas, podemos citar a racemização térmica, catalisada por base ou ácido, via reação redox e via radicais (EBBERS *et al*, 1997). O grande desafio é combinar a etapa de racemização com uma reação catalisada por enzima que, geralmente, opera sob condições reacionais brandas.

No desenvolvimento de metodologias de RCD destaca-se o uso de catalisadores de metais de transição como agentes de racemização, em uma

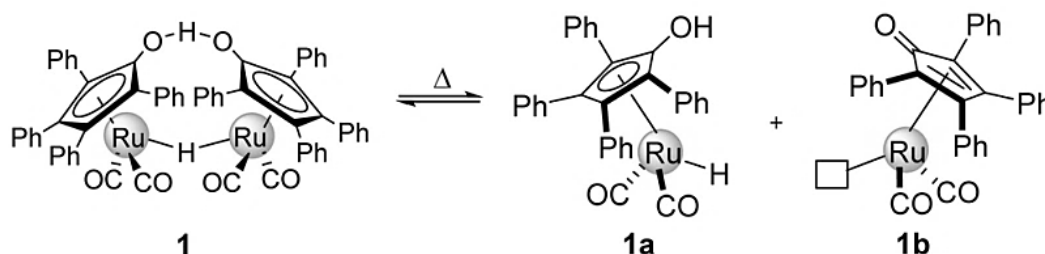
estratégia denominada resolução cinética dinâmica quimioenzimática. O primeiro protocolo prático de RCD, desenvolvido por Backvall e colaboradores utilizou um complexo dimérico de rutênio – conhecido como catalisador de Shvo (1) – combinado com a lipase imobilizada de *Candida antártica B* (CALB, Novozyme 435) para a resolução de 1-feniletanol e outros álcoois benzílicos (Esquema 4) (LARSSON; PERSSON; BÄCKVALL, 1997). Os excelentes resultados desse protocolo evidenciaram o potencial dos complexos metálicos como agentes de racemização em sistemas de RCD quimioenzimáticos.

Esquema 4. RCD de álcoois benzílicos utilizando catalisador de Shvo e lipase



O catalisador de Shvo, em temperaturas próximas a 70 °C, se desproporciona em duas espécies ativas, tornando possível a racemização do enantiômero menos reativo na resolução cinética via mecanismo de transferência de hidrogênio (Esquema 5). Entretanto, essa ativação térmica – fator limitante para sua combinação com um maior conjunto de lipases – e o elevado custo para sintetizar este catalisador exigiram a busca por novos agentes de racemização e por novas estratégias de otimização de protocolos de RCD, visando metodologias mais sustentáveis e economicamente viáveis (VAZ *et al.*, 2013; BANSODE; RATHOD, 2017).

Esquema 5. Catalisador de Shvo (1) e seus monômeros ativos 1a e 1b.



Fonte: Adaptado de Verho e Bäckvall (VERHO; BÄCKVALL, 2015)

Diante do seu potencial para a obtenção de compostos enantiomericamente puros com altos rendimentos, ocorreram avanços significativos na RCD com metalenzima nos últimos 20 anos, que foram desde otimização das condições reacionais e

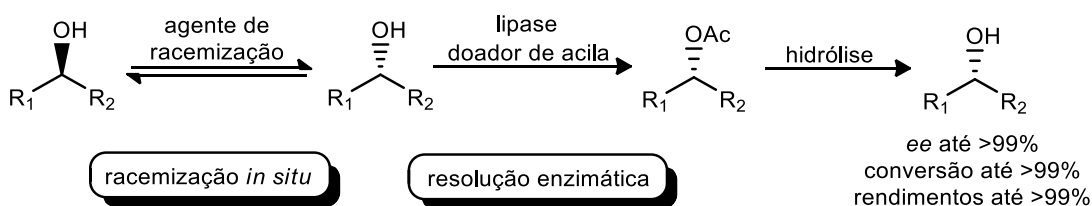
da estabilidade das lipases até o uso de catalisadores de metais menos tóxicos e mais abundantes na natureza (SEDDIGI *et al*, 2017). Na literatura, existem diversos protocolos de RCD de álcoois, acetatos alílicos e amins utilizando complexos metálicos de paládio, vanádio, ferro, alumínio e outros, que promovem a racemização via reações de rearranjo, formação de carbocátion e reações redox (ANH *et al*, 2008). Entretanto, grande parte desses protocolos não são economicamente eficientes para aplicação em escala industrial, o que justifica o contínuo interesse no desenvolvimento de novas metodologias de RCD.

1.4 Resolução quimioenzimática de álcoois

Álcoois secundários opticamente ativos são blocos construtores para produtos farmacêuticos, agroquímicos e alimentícios. Esses compostos podem ser obtidos a partir de suas cetonas correspondentes por meio de processos enantiosseletivos como hidrogenações catalíticas e biorreduções (VERZIIL *et al*, 2005). Entretanto, apesar da quantidade de metodologias já descritas na literatura para a obtenção de álcoois secundários enantiomericamente puros, há uma incessante busca por rotas sintéticas mais simples e econômicas, com maiores rendimentos e pureza óptica dos compostos de interesse e que estejam dentro dos princípios da química verde.

A resolução cinética dinâmica (RCD) apresenta-se como uma alternativa atrativa e eficiente para a obtenção de álcoois secundários enantiopuros. Nesta abordagem, os dois enantiômeros do álcool quiral (substrato) são equilibrados por uma reação de racemização com a remoção contínua de um dos enantiômeros por meio de uma acilação estereosseletiva catalisada por lipase. A hidrólise do éster opticamente ativo produzido na RCD dará o correspondente álcool secundário enantiopuro (Esquema 6) (VERZIIL *et al*, 2005).

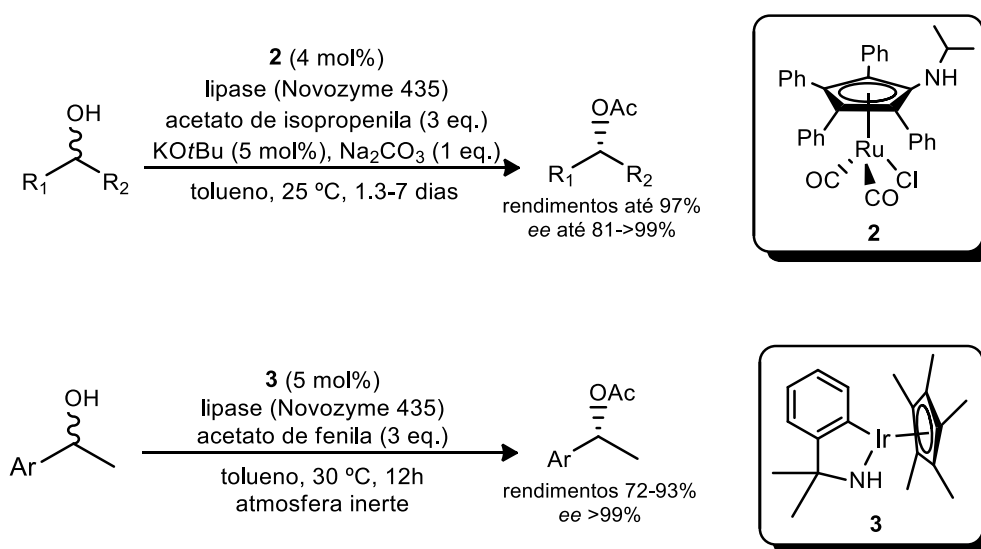
Esquema 6. A resolução cinética dinâmica (RCD) de álcoois secundários quirais



A combinação apropriada da lipase com um catalisador para a racemização é o desafio do desenvolvimento de um sistema de RCD eficiente. Grande parte das

metodologias descritas de RCD de álcoois secundários combinam um complexo metálico para catalisar a racemização com uma lipase disponível comercialmente (SHIMOMURA *et al*, 2015). Alguns exemplos de catalisadores metálicos que promovem a racemização de álcoois são os complexos de rutênio derivados do Shvo, que atuam via mecanismo redox após ativação térmica ou com adição de bases, e os complexos de irídio que conseguem operar em condições reacionais mais suaves (Esquema 7) (de MIRANDA; MIRANDA; de SOUZA, 2015).

Esquema 7. RCDs de álcoois secundários catalisadas por lipase e complexos de rutênio e irídio

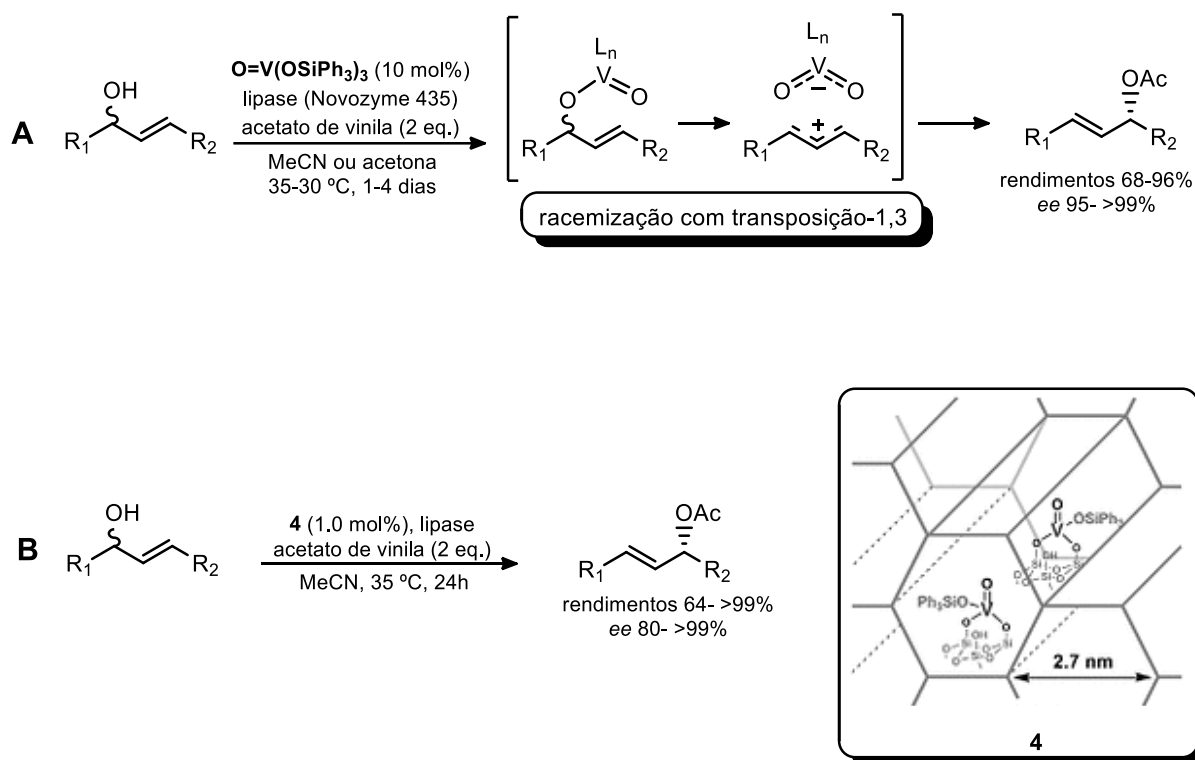


Os exemplos supracitados apresentam altos rendimentos e excelentes excessos enantioméricos, evidenciando o potencial da RCD quimioenzimática de álcoois secundários. Entretanto, em ambos os casos, os complexos metálicos utilizados são de elevado custo, os metais em questão não são abundantes na natureza e, por atuarem como catalisadores homogêneos, esses catalisadores não são reciclados ao final do processo de RCD. Por conta disso, diversas pesquisas focaram no desenvolvimento de protocolos de RCD quimioenzimáticos com catalisadores mais econômicos e de fácil acesso (VERHO; BÄCKVALL, 2015).

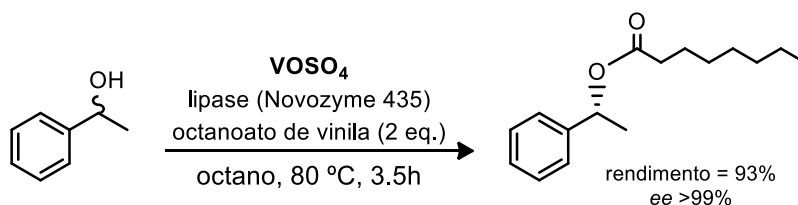
Na última década, foram publicados alguns protocolos de RCD de álcoois benzílicos e alílicos empregando catalisadores a base de vanádio como agentes de racemização. Em estudos de Akai e colaboradores, o complexo de oxovanádio(V) VO(OSiPh₃)₃ foi capaz de racemizar álcoois alílicos via transposição-1,3 da hidroxila sob condições reacionais brandas (Esquema 8A), sendo compatível com lipases de *Candida antártica B* (Novozyme 435), *Burkholderia cepacia* e *Pseudomonas*

fluorescens (AKAI *et al.*, 2010). Os pesquisadores também imobilizaram o complexo de oxovanádio(V) em sílica mesoporosa para transformá-lo em um catalisador heterogêneo, o que permitiu a sua reciclagem em mais de 6 ciclos reacionais (Esquema 8B) (EGI *et al.*, 2013).

Esquema 8. RCD de álcoois alílicos catalisada por complexo de oxovanádio livre (A) e imobilizado (B)



Em 2007, Wuyts e colaboradores reportaram o uso de sulfato de vanadila hidratado (VOSO_4) como catalisador heterogêneo na RCD de *rac*-1-feniletanol (Esquema 9). Esse composto, um sólido cristalino de baixo custo, baixa toxicidade e prontamente disponível comercialmente, foi capaz de racemizar o substrato em menos de duas horas, em um mecanismo via catálise ácida – formação de carbocátion (WUYTS *et al.*, 2007). Entretanto, apesar da excelente atividade e custo-benefício deste catalisador heterogêneo e da possibilidade de sua reciclagem, o sistema desenvolvido envolve altas temperaturas, fator limitante para sua aplicabilidade com lipases mais termossensíveis.

Esquema 9. RCD de *rac*-1-feniletanol catalisada por Novozyme 435 e VO_2SO_4 

Outros complexos a base de metais de fácil acesso foram utilizados como agentes de racemização em protocolos de RCD de álcoois secundários, como complexos de ferro (EL-SEPELGY *et al.*, 2016) e alumínio (BERKESSEL *et al.*, 2006). Além disso, alguns ácidos heterogêneos, como zeólitos, também foram reportados como catalisadores na racemização de álcoois em reações de resolução cinética dinâmica (ZHU *et al.*, 2007).

Diante do exposto, nota-se que apesar dos avanços na aplicação da RCD para a obtenção de álcoois enantiomericamente puros, ainda há uma grande necessidade de se desenvolver metodologias mais economicamente viáveis e com aplicabilidade para um maior escopo de substratos. Nesse contexto, esta dissertação propõe o desenvolvimento de um protocolo prático, econômico e ambientalmente amigável de resolução cinética dinâmica quimioenzimática para álcoois secundários quirais.

4. CONCLUSÕES

Na primeira etapa do trabalho foram sintetizados os substratos para as reações de resolução cinética dinâmica (RCD). Os álcoois secundários **5a-I** foram caracterizados a partir de espectrometria de massas, espectroscopia no infravermelho e ressonância magnética nuclear de ^1H e ^{13}C , e seus pares de enantiômeros foram separados por meio de métodos cromatográficos com colunas quirais. Foram sintetizados também os padrões racêmicos dos produtos esperados nas reações de RCD com esses substratos, os ésteres **6a'** e **6a-I**, para desenvolvimento de método de separação dos pares de enantiômeros e análise das reações de racemização e RCD.

Nos estudos da reação de racemização, o sulfato de vanadila hidratado (VOSO_4) apresentou-se como um excelente catalisador heterogêneo, racemizando o substrato modelo (S)-(-)-1-feniletanol em apenas 30 minutos ($ee_{(S)} = 1,0\%$; octano, $80\text{ }^\circ\text{C}$). Nessa etapa do trabalho, as condições reacionais da racemização com VOSO_4 foram otimizadas, sendo estabelecido como condição ótima a reação em heptano a $50\text{ }^\circ\text{C}$ ($ee_{(S)} = 4,6\%$), temperatura que permite o desenvolvimento de uma metodologia de RCD aplicável com lipases termossensíveis. Por se tratar de um catalisador heterogêneo, foi avaliada a reciclabilidade de VOSO_4 e este se mostrou extremamente ativo mesmo após 10 ciclos consecutivos de racemização.

No desenvolvimento do protocolo de RCD, as reações foram realizadas na condição reacional ótima, utilizando *rac*-1-feniletanol (**5a**) como substrato modelo, lipase de *Candida antarctica* B (CAL-B) imobilizada como agente quiral, VOSO_4 como agente de racemização e avaliando-se quatro doadores de acila: acetatos de vinila e etila, e decanoatos de vinila e etila. A reação de RCD realizada com decanoato de vinila como agente acilante foi a mais eficiente, resultando na formação do produto (*R*)-decanoato de 1-feniletila ((*R*)-**6a**) com 87% de conversão e excesso enantiomérico acima de 99%. Foi avaliada também a reciclabilidade do sistema quimioenzimático da RCD, porém observou-se uma perda significativa da atividade catalítica já no segundo ciclo reacional.

Por fim, avaliou-se a aplicabilidade do protocolo de RCD desenvolvido para uma série de álcoois secundários (**5b-I**). Observou-se altas conversões (71 a $>99\%$) e excelentes excessos enantioméricos ($>99\%$) para substratos aromáticos *para*-substituídos e heteroatomáticos (**5e-I**), porém os substratos com substituintes na

cadeia lateral (**5b-d**) não foram convertidos aos ésteres esperados. Isso evidencia que a CAL-B apresenta excelente aceitação a substratos possuem maior diferença entre os volumes dos grupos ligados ao centro estereogênico, sendo que um desses grupos deve ser muito pouco volumoso. Além disso, os ótimos resultados obtidos com os álcoois **5e-I** indicam que VOSO_4 é um agente de racemização eficiente para álcoois secundários, sendo muito ativo em condições reacionais relativamente brandas.

Neste trabalho, foi desenvolvido um protocolo prático e promissor de RCD para álcoois secundários, que possui como vantagens: o uso de solvente (heptano) e agente de racemização (VOSO_4) ambientalmente amigáveis, de custos relativamente baixos e prontamente disponíveis comercialmente; uso de temperatura relativamente baixa (50 °C) quando comparado com outros protocolos de RCD; e uso de um sistema quimioenzimático (VOSO_4 e CAL-B imobilizada) fácil de ser separado do meio reacional e com potencial para ser reutilizado. Dessa maneira, o trabalho realizado demonstra como a combinação da biocatálise com a catálise convencional pode fornecer alternativas sustentáveis, de maior custo-benefício e eficientes para a obtenção de álcoois secundários enantiomericamente puros.

5. PARTE EXPERIMENTAL

5.1 Considerações Gerais

5.1.1 Métodos Cromatográficos

A cromatografia em camada delgada (CCD) foi utilizada para monitoramento de algumas reações, empregando cromatoplasmas de alumínio (Macherey Nagel), sobre suporte de alumínio com filme de sílica gel 60 com indicador UV₂₅₄ e revelação com irradiação radiação UV de 264 nm e/ou verde de bromocresol.

As análises por Cromatografia Gasosa Acoplada a Detector de Ionização de Chama (CG-DIC) foram realizadas utilizando-se um cromatógrafo gasoso da marca Shimadzu – Modelo GC-2010 Plus equipado com injetor automático AOC-20i – acoplado a um detector de ionização de chama, pertencente ao Milagre Research Group (Instituto de Química – UNESP Araraquara). Para análises de rotina utilizou-se coluna capilar de sílica fundida Rtx[®]-5 (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm, 5% fenil e 95% dimetilpolisiloxano; marca Restek). O cromatógrafo operou com fluxo constante de gás H₂ de 1,22 mL min⁻¹, com temperaturas no injetor e detector de 260 °C e 280 °C, respectivamente. O volume de injeção das amostras foi de 1 µL na concentração de 0,5–1,0 mg mL⁻¹, no modo *split*. A programação de temperatura utilizada foi de 3 minutos a 80°C, seguida de rampa de aquecimento 80-280 °C a 30 °C min⁻¹ e mantido em 280 °C por 5 minutos, com tempo total de análise de 14,67 minutos.

Para determinação dos excessos enantioméricos (*ee*), as análises em CG-DIC foram realizadas com colunas de fases estacionárias quirais Hydrodex[®] β-3P (25 m x 0,25 mm x 0,25 µm; **Coluna A**) e Lipodex[®] E (25 m x 0,25 mm x 0,25 µm; **Coluna B**), da marca Macherey-Nagel. O cromatógrafo operou com fluxo constante de gás H₂ de 1,02 mL min⁻¹, com temperaturas no injetor e detector de 160 °C e 180 °C, respectivamente. O volume das injeções para ambas as colunas foi de 1 µL na concentração de 0,5–1,0 mg mL⁻¹, no modo *split*. As programações de temperatura estão descritas na Tabela 9.

Tabela 9. Programação de temperatura para as colunas quirais **A** e **B**

Método	Taxa de aquecimento (°C/min)	Temperatura (°C)	Tempo de espera (min)	Tempo total de análise (min)
A₁	-	100,00	3,00	36,50
	1,00	115,00	2,00	
	10,00	180,00	10,00	
A₂	-	110,00	3,00	59,50
	5,00	140,00	3,00	
	30,00	180,00	45,00	
B₁	-	155,00	5,00	30,50
	1,00	165,00	0,00	
	30,00	180,00	15,00	
B₂	-	110,00	3,00	59,50
	5,00	140,00	3,00	
	30,00	180,00	45,00	

As análises em Cromatografia Gasosa Acoplada ao Espectrômetro de Massas (CG-EM) foram realizadas junto ao Laboratório Multiusuário I de Análises Químicas do Instituto de Química – UNESP Araraquara, em cromatógrafo gasoso da marca Agilent – modelo 7890B, com coluna capilar de sílica fundida HP-5 MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 m, 5% fenil-metilsiloxano) – acoplado a um espectrômetro de massas Modelo 5977A, com fonte de ionização por elétrons com energia de ionização de 70 eV e operando na faixa de m/z 45-500. O cromatógrafo operou com fluxo constante de gás He de 1 mL min⁻¹, temperatura do injetor e da interface a 260 °C e 280 °C, respectivamente. As injeções das amostras foram de 1 µL na concentração de 0,5–1 mg mL⁻¹. A programação de temperatura utilizada foi de 3 minutos a 80°C, seguida de rampa de aquecimento 80-280°C a 30°C min⁻¹ e mantido em 280°C por 3 minutos.

5.1.2 Espectroscopia no Infravermelho (IV)

Os espectros de absorção na região do infravermelho foram obtidos no Laboratório Multiusuário I de Análises Químicas do Instituto de Química – UNESP Araraquara, em um espectrômetro da marca Bruker modelo Vertex 70 com transformada de Fourier, absorvendo na região 400 a 4000 cm^{-1} por meio de reflexão total atenuada em cristal diamante (ATR).

5.1.3 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio e de Carbono (RMN de ^1H e ^{13}C)

Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C foram registrados na Plataforma Instrumental de RMN do Instituto de Química UNESP Araraquara, em espectrômetro Bruker Fourier 600 (B_0 14,1 T) operando na frequência de 600,13 MHz para o núcleo de hidrogênio e 150,90 MHz para o núcleo de carbono. Os sinais de deslocamentos químicos (δ) foram registrados em ppm utilizando como padrão interno tetrametilsilano (TMS, $\delta = 0,00$) e padrão externo CDCl_3 ($\delta_{\text{H}} = 7,24$; $\delta_{\text{C}} = 77,23$). As constantes de acoplamento (J) foram medidas em Hertz (Hz) e os sinais foram caracterizados como: duplete (d), duplo duplete (dd), duplo duplo dublete (ddd), multiplete (m), quarteto (q), quinteto (qt), simpleto (s), simpleto largo (sl) e tripleto (t). As interpretações dos espectros de RMN de ^{13}C foram realizadas com auxílio da técnica DEPTQ (*Distorsionless Enhancement by Polarization Transfer with Retention of Quaternaries*, em inglês), sendo $\text{CH}_3/\text{CH} =$ sinal positivo (+), CH_2/C_0 (carbono quaternário) = sinal negativo (-).

5.1.4 Reagentes e solventes

As cetonas e aldeídos, o álcool 1-fenilpropanol, a solução de brometo de metilmagnésio (3 mol L^{-1} em éter dietílico), o sulfato de vanadila hidratado (VOSO_4), os decanoatos de vinila e etila, e o padrão quiral (S)-(-)-1-feniletanol foram obtidos junto à empresa Sigma-Aldrich®. O acetato de vinila foi adquirido junto à empresa Alfa Aesar®, enquanto que o borohidreto de sódio foi obtido comercialmente junto à Merck®. A lipase de *Candida antarctica B.* imobilizada em resina acrílica (CAL-B; ≥ 5000 U/g) foi obtida comercialmente junto à empresa Sigma-Aldrich®.

Os solventes metanol e etanol foram utilizados em grau HPLC, e octano, heptano e tolueno em grau PA, todos sem pré-tratamento. O tetrahidrofurano anidro foi previamente armazenado sobre peneira molecular 4Å ativada.

5.1.5 Outros

Os procedimentos experimentais em atmosfera inerte foram realizados em atmosfera de nitrogênio, com vidraria pré-seca em estufa a 100 °C por 12 horas e/ou soprador térmico e armazenada em dessecador para resfriamento. As temperaturas das reações são reportadas como temperaturas de banho. Os valores de conversão e excesso enantiomérico (*ee*) foram calculados pelas análises em CG-DIC segundo as equações abaixo:

$$(\%) \text{ conversão} = \frac{A_{\text{produto}}}{A_{\text{substrato}} + A_{\text{produto}}} \times 100 \quad (\%) \text{ ee} = \frac{A_{\text{maior}} - A_{\text{menor}}}{A_{\text{maior}} + A_{\text{menor}}} \times 100$$

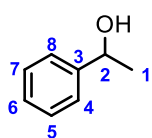
A = área do pico no cromatograma (CG-DIC)

**ee*: referente ao enantiômero com pico de maior área

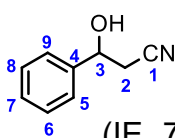
5.2 Procedimentos experimentais e caracterização estrutural dos compostos sintetizados:

5.2.1 Procedimento geral para síntese dos álcoois benzílicos racêmicos 5a-i

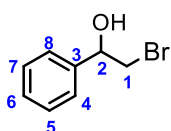
À 10 mmol de cada cetona precursora foram adicionados 20 mL de metanol grau HPLC e, posteriormente, o sistema foi mantido em banho de gelo (0–5°C) por 15 minutos. Em seguida, adicionou-se lentamente 11 mmol (1,1 eq.) de NaBH₄, mantendo os meios reacionais sob agitação magnética de 1 a 2 horas, com retorno gradual à temperatura ambiente. As reações foram monitoradas por CG-DIC e após o consumo total dos materiais de partida, adicionou-se lentamente 20 mL de água destilada e, após término do borbulhamento (liberação de H₂), os meios reacionais foram extraídos com acetato de etila (3 x 30 mL). As fases orgânicas foram combinadas e secas com Na₂SO₄ anidro, seguida de filtração e evaporação em rotaevaporador, obtendo-se os álcoois benzílicos **5a-i** com rendimentos entre 84 e 98%.



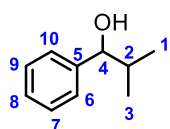
1-feniletanol (5a). **F.M.** C₈H₁₀O; **MM** 122,16 g mol⁻¹; líquido incolor; **Rendimento:** 95%; **CG-DIC:** t_R = 5,08 min (Rtx[®]-5); t_{R-(R)} = 20,21 min e t_{R-(S)} = 21,21 min (Hydrodex – Método A₁). **EM** (IE, 70 eV) *m/z* (abundância relativa %): 122 (35), 107 (100), 104 (39), 91 (8), 79 (84), 77 (59), 51 (24); **IV** (ν_{max}) (cm⁻¹): 3338, 2972, 1412, 1256, 1058, 845, 758, 605. **RMN de ¹H** (600,13 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 1,50 (d, *J* = 6,0 Hz, 3H, H₁), 4,90 (q, *J* = 6,4 Hz, 1H, H₂), 7,25–7,40 (m, 5H, H₄₋₈). **RMN de ¹³C** (150,03 MHz, DETPQ, CDCl₃) δ (ppm): 25,2 (CH₃, C₁), 70,5 (CH, C₂), 125,4 (CH, C₄ e C₈), 127,5 (CH, C₆), 128,5 (CH, C₅ e C₇), 145,8 (C₀, C₃).



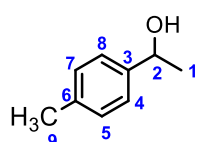
3-hidróxi-3-fenilpropanonitrila (5b). **F.M.** C₉H₉NO; **MM** 147,17 g mol⁻¹; óleo alaranjado; **Rendimento:** 86%. **CG-DIC:** t_R = 7,45 min (Rtx[®]-5); **EM** (IE, 70 eV) *m/z* (abundância relativa %): 147 (1), 129 (7), 107 (81), 105 (19), 91 (3), 79 (100), 77 (85), 63 (7), 51 (41); **IV** (ν_{max}) (cm⁻¹): 3428, 3064, 2252, 1494, 1453, 1057, 754. **RMN de ¹H** (600,13 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 2,77 (dd, *J* = 3,3 e 6,8 Hz, 2H, H₂), 5,05 (dd, *J* = 3,3 e 6,8 Hz, 1H, H₃), 7,33–7,46 (m, 5H, H₅₋₉). **RMN de ¹³C** (150,03 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 27,7 (CH₂, C₂), 70,2 (CH, C₃), 117,2 (CN, C₁), 125,5 (CH, C₅ e C₉), 128, (CH, C₇), 129,0 (CH, C₆ e C₈), 141,0 (C₀, C₄).



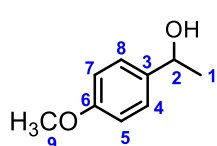
α-bromo-1-feniletanol (5c). **F.M.** C₈HBrO; **MM** 201,06 g mol⁻¹; óleo levemente amarelado; **Rendimento:** 90%. **CG-DIC:** t_R = 7,12 min (Rtx[®]-5). **EM** (IE, 70 eV) *m/z* (abundância relativa %): 200-202 (M+2) (8), 121 (3), 108 (14), 107 (100), 91 (11), 79 (60), 77 (39), 65 (4), 51 (12); **IV** (ν_{max}) (cm⁻¹): 3375, 3062, 2960, 1492, 1452, 1216, 1058, 954, 766. **RMN de ¹H** (600,13 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 3,55 (m, 1H, H₁), 3,65 (dd, *J* = 3,2 e 7,2 Hz, 1H, H₁), 4,92–4,95 (m, 1H, H₂), 7,33–7,39 (m, 5H, H₄₋₈). **RMN de ¹³C** (150,03 MHz, DETPQ, CDCl₃) δ (ppm): 40,3 (CH₂, C₁), 73,8 (CH, C₂), 126,0 (CH, C₄ e C₈), 128,5 (CH, C₆), 128,7 (CH, C₅ e C₇), 140,2 (C₀, C₃).



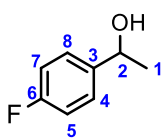
2-metil-1-fenilpropan-1-ol (5d). F.M. C₁₀H₁₄O; MM 150,22 g mol⁻¹; líquido levemente amarelado. **Rendimento:** 87%. **CG-DIC:** t_R = 6,23 min (Rtx[®]-5). **EM** (IE, 70 eV) *m/z* (abundância relativa %): 150 (8), 132 (3), 117 (16), 107 (100), 105 (10), 91 (5), 79 (45), 77 (22), 51 (4); **IV** (ν_{max}) (cm⁻¹): 3384, 3063, 2957, 1365, 1280, 1020, 760, 699. **RMN de ¹H** (600,13 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 0,80 (d, *J* = 6,9 Hz, 3H, H₁), 1,00 (d, *J* = 6,9 Hz, 3H, H₃), 1,93–1,99 (m, 1H, H₂), 4,35 (d, *J* = 6,9 Hz, 1H, H₄), 7,31–7,34 (m, 5H, H^{6–10}). **RMN de ¹³C** (150,03 MHz, DETPQ, CDCl₃) δ (ppm): 18,2 (CH₃, C₁), 19,0 (CH₃, C₃), 35,3 (CH, C₂), 80,1 (CH, C₄), 126,6 (CH, C₇ e C₉), 127,4 (CH, C₈), 128,2 (CH, C₆ e C₁₀), 143,6 (C₀, C₅).



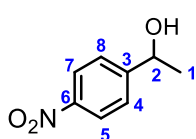
1-(4-metilfenil)-etanol (5e). F.M. C₉H₁₂O; MM 136,19 g mol⁻¹; líquido incolor. **Rendimento:** 93%. **CG-DIC:** t_R = 5,90 min (Rtx[®]-5). **EM** (IE, 70 eV) *m/z* (abundância relativa %): 136 (52), 121 (100), 117 (24), 115 (12), 103 (4), 93 (78), 91 (68), 77 (37), 65 (17), 51 (7); **IV** (ν_{max}) (cm⁻¹): 3343, 2971, 2924, 1614, 1341, 1089, 1008, 896, 815. **RMN de ¹H** (600,13 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 1,49 (d, *J* = 6,5 Hz, 3H, H₁), 2,34 (s, 3H, H₉), 4,87 (q, *J* = 6,4 Hz, 1H, H₂), 7,16 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H, H₅ e H₇), 7,26 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H, H₄ e H₈). **RMN de ¹³C** (150,90 MHz, DETPQ, CDCl₃) δ (ppm): 21,1 (CH₃, C₉), 25,1 (CH₃, C₁), 70,3 (CH, C₂), 125,5 (CH, C₄ e C₈), 129,2 (CH, C₅ e C₇), 137,2 (C₀, C₆), 142,9 (C₀, C₃).



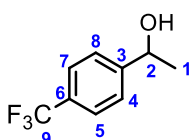
1-(4-metóxfenil)-etanol (5f). F.M. C₉H₁₂O₂; MM 152,19 g mol⁻¹; líquido incolor. **Rendimento:** 98%. **CG-DIC:** t_R = 6,87 min (Rtx[®]-5). **EM** (IE, 70 eV) *m/z* (abundância relativa %): 152 (29), 137 (100), 134 (66), 121 (15), 109 (43), 91 (32), 77 (28), 65 (16), 51 (7); **IV** (ν_{max}) (cm⁻¹): 3360, 2970, 2835, 1611, 1511, 1241, 1033, 895. **RMN de ¹H** (600,13 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 1,49 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H, H₁), 3,80 (s, 3H, H₉), 4,89 (q, *J* = 6,4 Hz, 1H, H₂), 6,88 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H, H₅ e H₇), 7,30 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H, H₄ e H₈). **RMN de ¹³C** (150,90 MHz, DETPQ, CDCl₃) δ (ppm): 25,0 (CH₃, C₁), 55,3 (CH₃, C₉), 70,0 (CH, C₂), 113,8 (CH, C₅ e C₇), 126,7 (CH, C₄ e C₈), 138,2 (C₀, C₃), 159,0 (C₀, C₆).



1-(4-fluorofenil)-etanol (5g). **F.M.** C₈H₉FO; **MM** 140,15 g mol⁻¹; líquido incolor. **Rendimento:** 84%. **CG-DIC:** t_R = 5,21 min (Rtx[®]-5). **EM** (IE, 70 eV) *m/z* (abundância relativa %): 140 (31), 126 (12), 125 (100), 123 (18), 109 (4), 97 (76), 95 (26), 77 (25), 62 (5), 51 (6); **IV** (ν_{max}) (cm⁻¹): 3331, 2973, 2930, 1893, 1604, 1219, 1107, 833. **RMN de ¹H** (600,13 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 1,50 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H, H₁), 4,92 (q, *J* = 6,3 Hz, 1H, H₂), 7,04–7,06 (m, 2H, H₅ e H₇), 7,34–7,3 (m, 2H, H₄ e H₈), **RMN de ¹³C** (150,90 MHz, DETPQ, CDCl₃) δ (ppm): 25,3 (CH₃, C₁), 69,8 (CH, C₂), 115,4 (CH, C₅ e C₇), 127,0 (CH, C₄ e C₈), 141,5 (C₀, C₃), 163,0 (C₀, C₆).



1-(4-nitrofenil)-etanol (5h). **F.M.** C₈H₉NO₃; **MM** 167,16 g mol⁻¹; líquido amarelado. **Rendimento:** 97%. **CG-DIC:** t_R = 8,03 min (Rtx[®]-5). **EM** (IE, 70 eV) *m/z* (abundância relativa %): 166 (3), 153 (15), 152 (10), 122 (22), 107 (64), 105 (28), 94 (30), 91 (12), 77 (58), 66 (9), 51 (17); **IV** (ν_{max}) (cm⁻¹): 3350, 2974, 2930, 1603, 1511, 1342, 1109, 853. **RMN de ¹H** (600,13 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 1,52 (d, *J* = 6,5 Hz, 3H, H₁), 5,03 (q, *J* = 6,2 Hz, 1H, H₂), 7,53 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H, H₄ e H₈), 8,19 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H, H₅ e H₇). **RMN de ¹³C** (150,90 MHz, DETPQ, CDCl₃) δ (ppm): 25,5 (CH₃, C₁), 69,5 (CH, C₂), 123,8 (CH, C₅ e C₇), 126,1 (CH, C₄ e C₈), 14,2 (C₀, C₆), 153,3 (C₀, C₃).

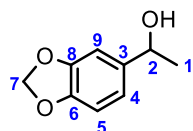


1-(4-trifluormetilfenil)-etanol (5i). **F.M.** C₉H₉F₃O; **MM** 190,16 g mol⁻¹; líquido incolor. **Rendimento:** 89%. **CG-DIC:** t_R = 5,03 min (Rtx[®]-5). **EM** (IE, 70 eV) *m/z* (abundância relativa %): 190 (11), 176 (11), 175 (100), 145 (19), 127 (70), 121 (6), 95 (5), 77 (8), 51 (163); **IV** (ν_{max}) (cm⁻¹): 3336, 2977, 2933, 1621, 1414, 1323, 1112, 1065, 838. **RMN de ¹H** (600,13 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 1,53 (d, *J* = 6,5 Hz, 3H, H₁), 4,98 (q, *J* = 6,4 Hz, 1H, H₂), 7,51 (d, *J* = 8,1 Hz, 2H, H₄ e H₈), 7,63 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H, H₅ e H₇). **RMN de ¹³C** (150,90 MHz, DETPQ, CDCl₃) δ (ppm): 25,4 (CH₃, C₁), 69,9 (CH, C₂), 125,5 (CH, C₅ e C₇), 125,7 (CH, C₄ e C₈), 129,7 (C₀, C₆), 149, (C₀, C₃).

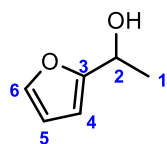
5.2.2 Procedimento geral para síntese dos álcoois racêmicos 5j-I – Reações de Grignard

À 5,5 mL de solução de brometo de metilmagnésio (15 mmol; solução 3 mol L⁻¹ em éter etílico) a 0 °C e mantida sob atmosfera inerte, adicionou-se uma solução do aldeído correspondente (solução 1 mol L⁻¹ em THF anidro; adição feita em atmosfera

inerte por transferência com cânula). As reações foram mantidas a 0 °C por 2 horas, sob atmosfera inerte, e após consumo total dos aldeídos (CCD, heptano/acetato de etila 6:4), as reações foram interrompidas com a adição de 30 mL de solução saturada de NH₄Cl. Os produtos brutos foram extraídos com acetato de etila (3 x 25 mL), as fases orgânicas secas com Na₂SO₄ e reduzidas em rotaevaporador, obtendo-se os álcoois **5j-l** com rendimentos entre 68 e 90%.

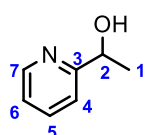


1-(3,4-metilenodioxifenil)-etanol (**5j**). **F.M.** C₉H₁₀O₃; **MM** 166,17 g mol⁻¹; óleo amarelado. **Rendimento:** 68%. **CG-DIC:** t_R = 7,38 min (Rtx[®]-5). **EM** (IE, 70 eV) *m/z* (abundância relativa %): 167 (13), 166 (90), 164 (3), 151 (9), 148 (33), 136 (3), 123 (57), 121 (18), 107 (3), 93 (100), 91 (17), 77 (10), 75 (21), 65 (51), 63 (17), 51 (6), 43 (20). **RMN de ¹H** (600,13 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 1,49 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H, H₁), 4,85 (q, *J* = 6,4 Hz, 1H, H₂), 5,97 (s, 2H, H₇), 6,84 (d, 1H, H₅), 6,85 (d, 1H, H₄), 6,92 (s, 1H, H₉). **RMN de ¹³C** (150,90 MHz, DETPQ, CDCl₃) δ (ppm): 25,2 (CH₃, C₁), 70,3 (CH, C₂), 101,1 (CH₂, C₇), 106,1 (CH, C₅), 108,1 (CH, C₉), 118,7 (CH, C₄), 140,0 (C₀, C₃).



1-(2-furanil)-etanol (**5k**). **F.M.** C₆H₈O₂; **MM** 112,13 g mol⁻¹; líquido amarelado. **Rendimento:** 90%. **CG-DIC:** t_R = 3,15 min (Rtx[®]-5). **EM** (IE, 70 eV) *m/z* (abundância relativa %): 113 (4), 112 (51), 111 (8), 97 (100), 95 (25), 84 (10), 69 (23), 65 (8), 55 (5). **RMN de ¹H** (600,13 MHz, CDCl₃)

δ (ppm): 1,55 (d, *J* = 6,6 Hz, 3H, H₁), 4,89 (q, *J* = 6,6 Hz, 1H, H₂), 6,23 (dd, 1H, H₄), 6,33 (dd, 1H, H₅), 7,37 (dd, 1H, H₆). **RMN de ¹³C** (150,90 MHz, DETPQ, CDCl₃) δ (ppm): 21,3 (CH₃, C₁), 63,7 (CH, C₂), 105,2 (CH, C₄), 110,2 (CH, C₅), 142,0 (CH, C₆), 154,2 (C₀, C₃).

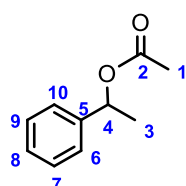


1-(2-piridinil)-etanol (**5l**). **F.M.** C₇H₉NO; **MM** 123,15 g mol⁻¹; líquido acastanhado. **Rendimento:** 78%. **CG-DIC:** t_R = 5,16 min (Rtx[®]-5) **EM** (IE, 70 eV) *m/z* (abundância relativa %): 122 (13), 108 (100), 106 (57), 104 (10), 93 (4), 79 (4), 77 (3), 52 (25), 50 (6), 45 (5). **RMN de ¹H** (600,13 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 1,51 (d, *J* = 6,5 Hz, 3H, H₁), 4,90 (q, *J* = 6,5 Hz, 1H, H₂), 7,20 (m, 1H, H₆), 7,28 (m, 1H, H₄), 7,69 (m, 1H, H₅), 8,53 (m, 1H, H₇). **RMN de ¹³C** (150,90 MHz, DETPQ, CDCl₃) δ (ppm): 24,2 (CH₃, C₁), 68,8 (CH, C₂), 119,8 (CH, C₆), 122,2 (CH, C₄), 136,8 (CH, C₅), 148,2 (CH, C₇), 163,3 (C₀, C₃).

5.2.3 Esterificação dos álcoois secundários: Síntese dos padrões racêmicos 6a' e 6a-l

i. Síntese de acetato de 1-feniletila (6a)

À 0,10 mmol (12 mg) de 4-metilaminopiridina (DMAP) foram adicionados 2,6 mmol (0,25 mL) de anidrido acético, 0,62 mmol (50 μ L) de piridina e 2,5 mL de CH₂Cl₂ anidro, mantendo o sistema sob atmosfera inerte, agitação magnética e em banho de gelo (0 °C), por 15 minutos. Em seguida, adicionou-se 0,45 mmol (50 mg) de 1-feniletanol (**5a**) dissolvidos em 2,5 mL de CH₂Cl₂ anidro e o meio reacional foi mantido a temperatura ambiente por 5 horas. A reação foi monitorada por CG-DIC e após a conversão completa do material de partida ao produto desejado, o meio reacional foi lavado com água destilada (3 x 7 mL). A fase orgânica foi recolhida, seca com MgSO₄ anidro, filtrada e rotaevaporada, obtendo-se acetato de 1-feniletila (**6a'**) com 81% de rendimento.



acetato de 1-feniletila (6a'). **F.M.** C₁₀H₁₂O₂; **MM** 164,20 g mol⁻¹; líquido incolor; **Rendimento:** 81%; **CG-DIC:** t_R = 6,11 min (Rtx[®]-5); t_{R-(S)} = 13,50 min e t_{R-(R)} = 17,80 min (Hydrodex – Método A₁). **RMN de ¹H** (600,13 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 1,54 (d, *J* = 6,6 Hz, 3H, H₃), 2,07 (s, 3H, H₁), 5,88 (q, *J* = 6,6 Hz, 1H, H₄), 7,35 (m, 5H, H₅₋₁₀). **RMN de ¹³C** (150,03 MHz, DETPQ, CDCl₃) δ (ppm): 21,4 (CH₃, C₁), 22,2 (CH₃, C₃), 72,3 (CH, C₄), 126,1 (CH, C₆ e C₁₀), 127,5 (CH, C₈), 128,5 (CH, C₇ e C₉), 141,7 (C₀, C₅), 170,3 (C₀, C₃).

ii. Síntese dos decanoatos 6a-l

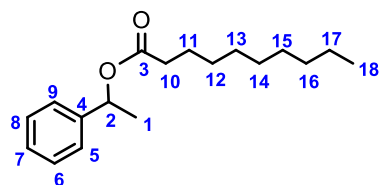
- Hidrólise de decanoato de etila: Síntese de ácido decanóico

À 10 mmol de decanoato de etila adicionou-se 30 mL de solução etanólica de KOH 0,50 mol L⁻¹. O sistema foi deixado sob refluxo (banho de aquecimento a 75 °C) por 12 horas. Após verificar o consumo total do material de partida (CCD; heptano/acetato de etila 9:1; relevador: verde de bromocresol), adicionou-se 20 mL de água destilada e o meio reacional foi extraído com acetato de etila (2 x 40 mL) para remoção de impurezas. Em seguida, a fase aquosa foi acidificada até pH 2 com solução de HCl 10 % e extraída com acetato de etila (3 x 40 mL). As fases orgânicas

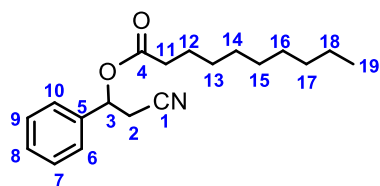
foram combinadas, lavada com água destilada (2 x 30 mL), seca com Na₂SO₄ anidro e reduzida em rotaevaporador, obtendo-se ácido decanóico com 78% de rendimento.

- Esterificação de ácido decanóico com 1-feniletanol

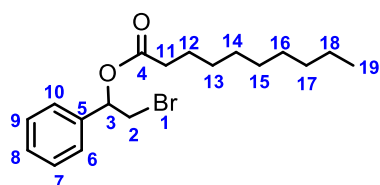
À 0,50 mmol (64 mg) de 4-metilaminopiridina (DMAP) e 0,55 mmol (118 mg) de *N,N'*-diciclohexilcarbodiimida (DCC) foram adicionados 2,50 mL de CH₂Cl₂ anidro, mantendo o sistema sob atmosfera inerte, agitação magnética e em banho de gelo (0 °C), por 15 minutos. Em seguida, adicionou-se em cada meio reacional uma solução contendo 0,50 mmol de ácido decanóico e 0,50 mmol dos álcoois **5a-I** dissolvidos em 2,5 mL de CH₂Cl₂ anidro. As reações foram mantidas em temperatura ambiente, por 6 horas. Após verificar o consumo total de ácido decanóico (CCD; heptano/acetato de etila 8:2; relevador: verde de bromocresol), as suspensões formadas (*N,N'*-diciclohexilurea) em cada reação foram filtradas e os filtrados foram lavados com água destilada (3 x 5 mL), solução de ácido acético 5% (3 x 5 mL) e água novamente (3 x 5 mL). Em seguida, as fases orgânicas foram secas com Na₂SO₄ anidro e reduzidas em rotaevaporador. Por fim, os produtos foram purificados por CCDP (heptano/acetato de etila 9:1), resultando nos decanoatos **6a-I** com rendimentos entre 52 e 75%.



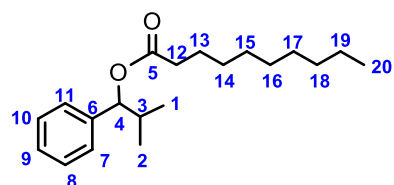
decanoato de 1-feniletila (6a). **F.M.** C₁₈H₂₈O₂; **MM** 276,41 g mol⁻¹; óleo incolor; **Rendimento:** 52%; **CG-DIC:** t_R = 10,22 min (Rtx[®]-5). **EM** (IE, 70 eV) *m/z* (abundância relativa %): 171 (5), 155 (6), 123 (11), 122 (100), 106 (13), 105 (84), 104 (68), 91 (3), 85 (5), 77 (11), 69 (3), 57 (6), 51 (4). **RMN de ¹H** (600,13 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 0,87 (t, *J* = 7,0 Hz, 3H, H₁₈), 1,23–1,30 (m, 16H, H₁₀₋₁₇), 1,53 (d, *J* = 6,6 Hz, 3H, H₁), 1,61 (qt, 2H, H₁₁), 2,32 (ddd, *J* = 2,0; 7,5 e 7,7 Hz, 2H, H₁₀), 5,89 (q, *J* = 6,6 Hz, 1H, H₂), 7,35 (m, 5H, H₅₋₁₀). **RMN de ¹³C** (150,03 MHz, DETPQ, CDCl₃) δ (ppm): 14,1 (CH₃, C₁₈), 22,3 (CH₃, C₁), 22,7 (CH₂, C₁₇), 25,0 (CH₂, C₁₁), 29,1 (CH₂, C₁₂), 29,2 (CH₂, C₁₃), 29,3 (CH₂, C₁₅), 29,5 (CH₂, C₁₄), 31,9 (CH₂, C₁₆), 34,6 (CH₂, C₁₀), 72,0 (CH, C₂), 126,1 (CH, C₅ e C₉), 127,8 (CH, C₇), 128,5 (CH, C₆ e C₈), 141,9 (C₀, C₄), 173,2 (C₀, C₃).



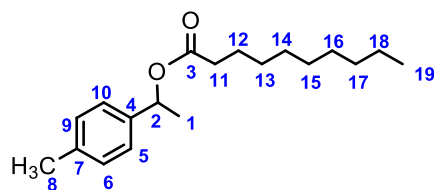
decanoato de 2-ciano-1-feniletila (6b). **F.M.** C₁₉H₂₇NO₂; **MM** 301,42 g mol⁻¹; óleo amarelo; **Rendimento:** 54%; **CG-DIC:** t_R = 10,67 min (Rtx[®]-5). **EM** (IE, 70 eV) *m/z* (abundância relativa %): 301 (7), 283 (2), 246 (2), 189 (4), 171 (16), 155 (100), 146 (25), 135 (12), 130 (76), 128 (17), 105 (28), 85 (20), 71 (28), 71 (28), 67 (4), 43 (18).



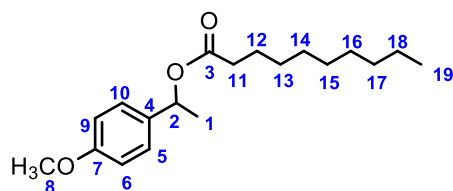
decanoato de 2-bromo-1-feniletila (6c). **F.M.** C₁₉H₂₇BrO₂; **MM** 355,31 g mol⁻¹; óleo incolor; **Rendimento:** 62%; **CG-DIC:** t_R = 10,68 min (Rtx[®]-5). **EM** (IE, 70 eV) *m/z* (abundância relativa %): 275 (10), 246 (2), 207 (2), 183 (10), 155 (68), 121 (11), 109 (14), 104 (100), 103 (55), 85 (13), 71 (18), 69 (5), 55 (15), 43 (12).



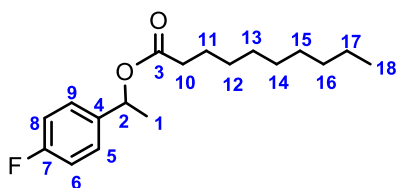
decanoato de 2-metil-1-fenilpropila (6d). **F.M.** C₂₀H₃₂O₂; **MM** 304,47 g mol⁻¹; óleo incolor; **Rendimento:** 74%; **CG-DIC:** t_R = 9,92 min (Rtx[®]-5). **EM** (IE, 70 eV) *m/z* (abundância relativa %): 304 (1), 262 (7), 261 (36), 156 (30), 155 (100), 150 (14), 133 (23), 117 (26), 95 (17), 91 (46), 85 (28), 81 (13), 71 (37), 69 (7), 57 (24), 43 (19).



decanoato de 1-(4-metilfenil)-etila (6e). **F.M.** C₁₉H₃₀O₂; **MM** 290,44 g mol⁻¹; óleo incolor; **Rendimento:** 56%; **CG-DIC:** t_R = 9,88 min (Rtx[®]-5). **EM** (IE, 70 eV) *m/z* (abundância relativa %): 290 (1), 253 (1), 207 (6), 155 (5), 137 (8), 136 (81), 120 (19), 119 (100), 117 (72), 105 (16), 91 (22), 77 (6), 57 (6).



decanoato de 1-(4-metoxifenil)-etila (6f). **F.M.** C₁₉H₃₀O₃; **MM** 306,44 g mol⁻¹; óleo amarelado; **Rendimento:** 66%; **CG-DIC:** t_R = 10,42 min (Rtx[®]-5). **EM** (IE, 70 eV) *m/z* (abundância relativa %): 306 (4), 281 (9), 252 (2), 207 (21), 191 (2), 155 (2), 152 (10), 136 (14), 135 (83), 134 (100), 119 (26), 105 (7), 91 (20), 77 (7), 65 (7), 51 (2).



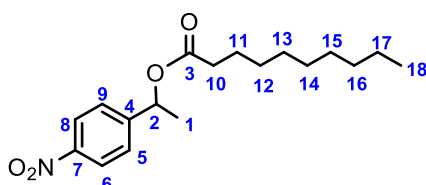
decanoato de 1-(4-fluorofenil)-etila (**6g**). **F.M.**

$C_{18}H_{27}FO_2$; **MM** 294,40 g mol⁻¹; óleo incolor;

Rendimento: 58%; **CG-DIC:** $t_R = 9,49$ min (Rtx[®]-5). **EM**

(IE, 70 eV) m/z (abundância relativa %): 281 (2), 252 (1), 207 (5), 171 (5), 155 (9), 140 (33), 124 (15), 122

(100), 103 (17), 95 (6), 71 (7), 57 (7), 43 (10).



decanoato de 1-(4-nitrofenil)-etila (**6h**). **F.M.**

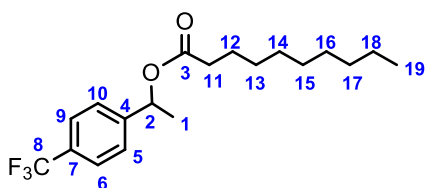
$C_{18}H_{27}NO_4$; **MM** 321,41 g mol⁻¹; óleo amarelado;

Rendimento: 65%; **CG-DIC:** $t_R = 11,32$ min (Rtx[®]-5).

EM (IE, 70 eV) m/z (abundância relativa %): 281 (10),

253 (3), 207 (23), 191 (3), 167 (13), 155 (78), 151

(100), 150 (64), 135 (18), 119 (23), 105 (7), 104 (23), 91 (17), 71 (21), 57 (17), 56 (3).



decanoato de 1-(4-trifluorofenil)-etila (**6i**). **F.M.**

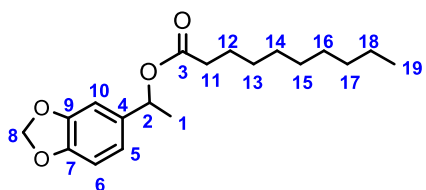
$C_{19}H_{27}F_3O_2$; **MM** 344,41 g mol⁻¹; óleo incolor;

Rendimento: 60%; **CG-DIC:** $t_R = 9,41$ min (Rtx[®]-5).

EM (IE, 70 eV) m/z (abundância relativa %): 191 (7),

190 (65), 189 (8), 174 (12), 173 (100), 172 (66), 155

(66), 145 (3), 133 (18), 127 (6), 111 (7), 95 (10), 85 (12), 71 (17), 57 (14).



decanoato de 1-(3,4-metilenodioxifenil)-etila (**6j**). **F.M.**

$C_{19}H_{28}O_4$; **MM** 320,20 g mol⁻¹; óleo amarelado;

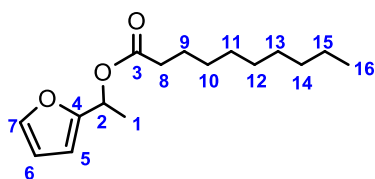
Rendimento: 75%; **CG-DIC:** $t_R = 10,86$ min (Rtx[®]-5).

EM (IE, 70 eV) m/z (abundância relativa %): 320 (6),

281 (41), 253 (14), 208 (19), 207 (94), 191 (11), 166

(43), 150 (12), 149 (55), 147 (42), 135 (20), 119 (12), 91 (16), 85 (2), 73 (26), 65 (5),

44 (100), 43 (7).



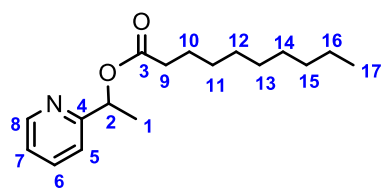
decanoato de 1-(2-furanil)-etila (**6k**). **F.M.** $C_{16}H_{26}O_3$; **MM**

266,38 g mol⁻¹; óleo amarelo; **Rendimento:** 68%; **CG-**

DIC: $t_R = 8,91$ min (Rtx[®]-5). **EM** (IE, 70 eV) m/z

(abundância relativa %): 266 (8), 207 (1), 155 (5), 113 (7),

112 (100), 96 (9), 95 (86), 94 (64), 81 (3), 67 (7), 66 (20), 65 (9), 55 (6), 43 (9).



decanoato de 1-(2-piridinil)-etila (**6I**). **F.M.** C₁₇H₂₇NO₂; **MM** 277,40 g mol⁻¹; óleo acastanhado; **Rendimento:** 68%; **CG-DIC:** t_R = 9,72 min (Rtx[®]-5). **EM** (IE, 70 eV) *m/z* (abundância relativa %): 248 (1), 206 (2), 192 (2), 178 (16), 165 (31), 123 (40), 122 (100), 107 (17), 106 (87), 93 (8), 78 (13), 71 (3), 55 (5), 43 (8).

5.2.4 Avaliação de VOSO₄ na racemização de (S)-1-feniletanol

À 0,25 mmol (30 mg) de (S)-1-feniletanol adicionou-se 10 mL de octano e o sistema foi colocado em banho de aquecimento a 80 °C. Em seguida, adicionou-se 50 mg de VOSO₄ e a reação foi monitorada em CG-DIC (coluna de fase quiral). Após 30 minutos, observou-se a racemização de (S)-1-feniletanol (ee = 1,0%) e o produto *rac*-1-feniletanol foi obtido com 78% de seletividade.

5.2.5 Otimização da etapa de racemização com VOSO₄

À 0,25 mmol (30 mg) de (S)-1-feniletanol adicionou-se 4,0 mL de solvente (octano, heptano ou tolueno) e os sistemas foram colocados em banho de aquecimento (80 °C ou 50 °C) ou sob irradiação de ultrassom. Em seguida, adicionou-se 50 mg ou 30 mg de VOSO₄ e as reações foram monitoradas em CG-DIC (coluna de fase quiral).

5.2.6 Avaliação da reciclagem de VOSO₄ na racemização de (S)-1-feniletanol

À 0,25 mmol (30 mg) de (S)-1-feniletanol adicionou-se 4,0 mL de heptano e a solução foi colocada em banho de aquecimento a 50 °C). Em seguida, adicionou-se 50 mg de VOSO₄ e a reação foi mantida sob agitação por 2 horas. Ao final de 2 horas reacionais, o catalisador (VOSO₄) foi filtrado, lavado com heptano (3 x 2 mL) e adicionado em uma nova reação de racemização (S)-1-feniletanol, nas mesmas condições reacionais descritas. O procedimento foi repetido por 10 ciclos consecutivos, sem interrupção.

5.2.7 Resolução cinética dinâmica quimioenzimática de *rac*-1-feniletanol

À 0,25 mmol (30 mg) de *rac*-1-feniletanol (**5a**) adicionou-se 4,0 mL de heptano e o sistema foi colocado em banho de aquecimento a 50 °C. Em seguida, adicionou-

se 0,50 mmol de doador de acila (acetato de vinila, acetato de etila, decanoato de vinila ou decanoato de etila), 20 mg de lipase de *Candida antarctica* B imobilizada em resina acrílica (CAL-B) e 50 mg de VOSO_4 , e as reações foram monitoradas em CG-DIC (coluna de fase quiral). Após máxima conversão e menor porcentagem de formação de subproduto, os produtos (*R*)-acetato de 1-feniletila e (*R*)-decanoato de 1-feniletila foram extraídos por filtração por gravidade.

5.2.8 Avaliação da reciclagem de VOSO_4 e CAL-B na resolução cinética dinâmica quimioenzimática de *rac*-1-feniletanol

À 0,25 mmol (30 mg) de *rac*-1-feniletanol (**5a**) adicionou-se 4,0 mL de heptano e solução foi colocada em banho de aquecimento a 50 °C. Em seguida, adicionou-se 0,50 mmol de decanoato de vinila, 20 mg de lipase de *Candida antarctica* B imobilizada em resina acrílica (CAL-B) e 50 mg de VOSO_4 , e a reação foi mantida por 2 horas. Ao final de 2 horas reacionais, os catalisadores (VOSO_4 e CAL-B) foram filtrados, lavados com heptano (3 x 2 mL) e adicionados em uma nova reação de resolução cinética dinâmica de *rac*-1-feniletanol, nas mesmas condições reacionais descritas. O procedimento foi repetido por 4 ciclos consecutivos, sem interrupção.

5.2.9 Resolução cinética dinâmica quimioenzimática de álcoois secundários

À 0,25 mmol de cada álcool (**5b-I**) adicionou-se 4,0 mL de heptano e essas soluções foram colocadas em banho de aquecimento a 50 °C. Em seguida, adicionou-se em cada meio reacional 0,50 mmol de decanoato de vinila, 20 mg de lipase de *Candida antarctica* B imobilizada em resina acrílica (CAL-B) e 50 mg de VOSO_4 . As reações foram monitoradas em CG-DIC (coluna de fase quiral) e após máxima conversão e menor porcentagem de formação de subproduto, os produtos (*R*)-decanoatos **6b-I** extraídos por filtração por gravidade.

6. REFERÊNCIAS

- AHN, Y.; KO, S.-B.; KIM, M.-J.; PARK, J. Racemization catalysts for the dynamic kinetic resolution of alcohols and amines. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 252, p. 647–658, 2008.
- AKAI, S.; HANADA, R.; FUJIWARA, N.; KITA, Y.; EGI, M. One-Pot Synthesis of Optically Active Allyl Esters via Lipase-Vanadium Combo Catalysis. **Organic Letters**, v. 12, p. 4900–4903, 2010.
- AKAI, S.; TANIMOTO, K.; KANAO, Y.; EGI, M.; YAMAMOTO, T.; KITA, Y. A Dynamic Kinetic Resolution of Allyl Alcohols by the Combined Use of Lipases and [VO(OSiPh₃)₃]. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 45, p. 2592–2595, 2006.
- AKAI, M.; ZHAO, F. Metal catalysts recycling and heterogeneous/homogeneous catalysis. **Catalysts**, v. 5, p. 868–870, 2015.
- ALEDO, J. C.; LOBO, C.; VALLE, A. E. Energy diagrams for enzyme-catalyzed reactions: Concepts and Misconcepts. **Biochemistry and Molecular Biology Education**, v. 31, p. 234–236, 2003.
- ANASTAS, P.; WARNER, J. C. **Green Chemistry: Theory and Practice**; Oxford University Press: Oxford, U.K., 1998.
- ANDERSON, E. M.; LARSSON, K. M.; KIRK, O. One Biocatalyst–Many Applications: The use of *Candida antarctica B* lipase in organic synthesis. **Biocatalysis and Biotransformation**, v. 16, p. 181–204, 1997.
- BANSODE, S. R.; RATHOD, V. K. An investigation of lipase catalysed sonochemical synthesis: A review. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 38, p. 503–529, 2017.
- BERKESSEL, A.; SEBASTIAN-IBARZ, M. L.; MÜLLER, T. N. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 45, p. 6567–6570, 2006.
- BORNSCHEUER, U. T.; KAZLAUSKAS, R. J. Introduction. *In: Hydrolases in Organic Synthesis. Regio- and Stereoselective Biotransformations*. 2^o ed. Wiley-VCH, p. 2, 2006a.

BORNSCHEUER, U. T.; KAZLAUSKAS, R. J. Lipases and Esterases. In: **Hydrolases in Organic Synthesis. Regio- and Stereoselective Biotransformations**. 2^o ed. Wiley-VCH, p. 72, 2006b.

BORNSCHEUER, U. T.; KAZLAUSKAS, R. J. Designing Enantioselective Reactions. *In: **Hydrolases in Organic Synthesis. Regio- and Stereoselective Biotransformations***. 2^o ed. Wiley-VCH, p. 9, 2006c.

BUCHHOLTZ, K.; KASHE, V.; BORNSCHEUER, U. T. Enzymes in Organic Chemistry. *In: **Biocatalysts and Enzyme Technology***. 2^o ed. Wiley-Blackwell, p. 2, 2012a.

BUCHHOLTZ, K.; KASHE, V.; BORNSCHEUER, U. T. Introduction to Enzyme Technology. *In: **Biocatalysts and Enzyme Technology***. 2^o ed. Wiley-Blackwell, p. 165, 2012b.

CAMP, J. E.; CRAIG, D. Reactivity of dearomatised furans synthesised via the decarboxylative Claisen rearrangement. **Tetrahedron Letters**, v. 50, p. 3503–3508, 2009.

CHEN, C.-S.; FUJIMOTO, Y.; GIRDAUKAS, G.; SIH, C. J. Quantitative Analyses of Biochemical Kinetic Resolutions of Enantiomers. **Journal of the American Chemical Society**, v. 105, n. 25, p. 7294–7299, 1982.

CHEN, H.; MENG, X.; XU, X.; LIU, W.; LI, S. The molecular basis for lipase stereoselectivity. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 102, p. 3487–3495, 2018.

CHENG, Y.; XU, G.; WU, J.; ZHANG, C.; YANG, L. Highly efficient dynamic kinetic resolution of secondary aromatic alcohols with low-cost and easily available acid resins as racemization catalysts. **Tetrahedron Letters**, v. 51, p. 2366–2369, 2010.

De MIRANDA, A. S.; MIRANDA, L. S. M.; de SOUZA, R. O. M. A. Lipases: Valuable catalysts for dynamic kinetic resolutions. **Biotechnology Advances**, v. 33, p. 372–393, 2015.

De MIRANDA, A. S.; SILVA, M. V. De M.; DIAS, F. C.; De SOUZA, S. P.; LEÃO, R. A. C.; De SOUZA, R. O. M. A. Continuous flow dynamic kinetic resolution of *rac*-1-

phenylethanol using a single packed-bed containing immobilized CAL-B lipase and VO_4 as racemization catalysts. **Reaction Chemistry & Engineering**, v. 2, p. 375–381, 2017.

DIESKAU, A. P.; BEGOUIN, J.-M.; PLIETKER, B. $\text{Bu}_4\text{N}[\text{Fe}(\text{CO})_3(\text{NO})]$ -Catalyzed Hydroxy-lylation of Aldehydes and Ketones. **European Journal of Organic Chemistry**, v. 27, p. 5291–5296, 2011.

EBBERS, E. J.; ARISANS, G. J. A.; HOUBIERS, J. P. M.; BRUGGINK, A.; ZWANENBURG, B. Controlled racemization of optically active organic compounds: Prospects for asymmetric transformation. **Tetrahedron**, v. 53, n. 28, 9417–9476, 1997.

EGI, M.; SUGIYAMA, K.; SANETO, M.; HANADA, R.; KATO, K.; AKAI, S. A Mesoporous-Silica-Immobilized Oxovanadium Cocatalyst for the Lipase-Catalyzed Dynamic Kinetic Resolution of Racemic Alcohols. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 52, p. 3654–3658, 2013.

EL-SEPELGY, O.; ALANDINI, N.; RUEPING, M. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 55, p. 13602–13605, 2016.

ERYTHROPEL, H. C.; ZIMMERMAN, J. B.; De WINTER, T. M.; PETITJEAN, L.; MELNIKOV, F.; LAM, C. H.; LOUNSBURY, A. W.; MELLOR, K. C.; JANKOVIĆ, N. Z.; TU, Q.; PINCUS, L. N.; FALINSKI, M. M.; SHI, W.; COISH, P.; PLATAAB, D. L.; ANASTAS, P. T. The Green ChemistREE: 20 years after taking root with the 12 principles. **Green Chemistry**, v. 20, p. 1929–1961, 2018.

FABER, K. **Biotransformations In Organic Chemistry**. 6^o ed. Berlin: Springer -Verlag Berlin Heidelberg, 2011a.

FABER, K. Biocatalytic Applications. *In*: **Biotransformations In Organic Chemistry**. 6^o ed. Berlin: Springer -Verlag Berlin Heidelberg, p. 31, 2011b.

FERREIRA-LEITÃO, V. S.; CAMMAROTA, M. C.; AGUIEIRAS, E. C. G.; De SÁ, L. R. V.; FERNANDEZ-LAFUENTE, R.; FREIRE, D. M. G. The Protagonism of Biocatalysis in Green Chemistry and Its Environmental Benefits. **Catalysts**, v. 7, n. 1, p. 9–43, 2017.

GHANEM, A.; ABOUL-ENEIN, H. Y. Lipase-mediated chiral resolution of racemates in organic solvents. **Tetrahedron: Asymmetry**, v. 15, p. 3331–3351, 2004.

GHANEM, A. Trends in lipase-catalyzed asymmetric access to enantiomerically pure/enriched compounds. **Tetrahedron**, v. 63, n. 8, p. 1721–1754, 2007.

HOLLMANN, F.; ARENDS, I. W. C. E.; HOLTSMANN, D. Enzymatic reductions for the chemist. **Green Chemistry**, v. 13, n. 9, p. 2217–2588, 2011.

HOANG, H. N.; MATSUDA, T. Expanding substrate scope of lipase-catalyzed transesterification by the utilization of liquid carbon dioxide. **Tetrahedron**, v. 72, p. 7229–7234, 2016.

HUANG, S.-H.; TSAI, S.-W. Kinetic resolution of (*R,S*)-ethyl 2-hydroxy-4-phenylbutyrate via lipase-catalyzed hydrolysis and transesterification in isooctane. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 28, p. 65–69, 2004.

KAMBLE, S.; MORE, S.; RODE, C. Highly selective direct azidation of alcohols over a heterogeneous povidone–phosphotungstic solid acid catalyst. **New Journal of Chemistry**, v. 40, p. 10240–10245, 2016.

KANTAM, M. L.; YADAV, J.; LAHA, S.; SRINIVAS, P.; SREEDHAR, B.; FIGUERAS, F. Asymmetric Hydrosilylation of Ketones Catalyzed by Magnetically Recoverable and Reusable Copper Ferrite Nanoparticles. **Journal of Organic Chemistry**, v. 74, p. 4608–4611, 2009.

KAZLAUSKAS, R. J.; WEISSFLOCH, A. N. E.; RAPPAPORT, A. T.; CUCCIA, L. A. A rule to predict which enantiomer of a secondary alcohol reacts faster in reactions catalyzed by cholesterol esterase, lipase from *Pseudomonas cepacia*, and lipase from *Candida rugosa*. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 56, p. 2656–2665, 1991.

KIM, J.; De CASTRO, K. A.; LIM, M.; RHEE, H. Reduction of aromatic and aliphatic keto esters using sodium borohydride/MeOH at room temperature: a thorough investigation. **Tetrahedron**, v. 66, p. 3995–4001, 2010.

LARSSON, A.L.E.; PERSSON, B.A.; BÄCKVALL, J.-E. Enzymatic resolution of alcohols coupled with ruthenium-catalyzed racemization of the substrate alcohol. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 36, p. 1211–1212, 1997.

LERIN, L. A.; LOSS, R. A.; REMONATTO, D.; ZENEVICZ, M.C.; BALEN, M.; NETTO, V. O.; NINOW, J. L.; TRENTIN, C. M.; OLIVEIRA, J. V.; De OLIVEIRA, D. A review on lipase-catalyzed reactions in ultrasound-assisted systems. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 37, p. 2381–2394, 2014.

LIMA, R. N.; PORTO, A. L. M. Biocatalytic aminolysis of ethyl (*S*)-mandelate by lipase from *Candida antarctica*. **Catalysis Communications**, v. 100, p. 157–163, 2017.

LIN, B.; TAO, Y. Whole-cell biocatalysts by design. **Microbial Cell Factories**, v. 16, p. 112, 2017.

MELAIS, N.; ARIBI-ZOUIOUECHE, L.; Riant, O. The effect of the migrating group structure on enantioselectivity in lipase-catalyzed kinetic resolution of 1-phenylethanol. **Comptes Rendus Chimie**, v. 19, p. 971–977, 2016.

OTTOSSON, J.; HULT, K. Influence of acyl chain length on the enantioselectivity of *Candida antarctica* lipase B and its thermodynamic components in kinetic resolution of *sec*-alcohols. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 11, p. 1025–1028, 2001.

PÀMIÉS, O.; BÄCKVALL, J.-E. Combination of enzymes and metal catalysts. A powerful approach in asymmetric catalysis. **Chemical Reviews**, v. 103, p. 3247–3262, 2003.

PELLISSIER, H. Organocatalyzed Dynamic Kinetic Resolution. **Tetrahedron**, v. 67, p. 3769–3802, 2011.

PORTER, J. L.; RUSLI, R. A.; OLLIS, D. L. Directed evolution of enzymes for industrial biocatalysis. **ChemBioChem**, v. 2601, p. 197203, 2016.

RAKELS, J. L. L.; STRAATHOF, A. J. J.; HEIJNEN, J. J. A simple method to determine the enantiomeric ratio in enantioselective biocatalysis. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 15, p. 1051–1056, 1993.

RAUF, A.; PARVEEN, H. Direct esterification of fatty acids with phenylalkanols by using dicyclohexylcarbodiimide. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 106, p. 97–100, 2004.

ROTHENBERG, G. **Catalysis: Concepts and Green Applications**. 1^o ed. WILEY-VCH, p. 12, 2008a.

SEDDIGI, Z. S.; MALIK, M. S.; AHMED, S. A.; BABALGHITH, A. O.; KAMAL, A. Lipases in asymmetric transformations: Recent advances in classical kinetic resolution and lipase–metal combinations for dynamic processes. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 348, p. 54–70, 2017.

SHELDON, R. A.; PEREIRA, P. C. Biocatalysis engineering: the big picture. **Chemical Society Reviews**, v. 46, p. 2678–2691, 2017.

SHELDON, R. A.; WOODLEY, J. M. Role of Biocatalysis in Sustainable Chemistry. **Chemical Reviews**, v. 118, p. 801–838, 2018.

SHIMOMURA, K.-C.; HARAMI, H.; MATSUBARA, Y.; TOSHIKI NOKAMI, T.; KATADA, N.; ITOHA, T. Lipase-mediated dynamic kinetic resolution (DKR) of secondary alcohols in the presence of zeolite using an ionic liquid solvent system. **Catalysis Today**, v. 255, p. 41–48, 2015.

SILVA, T. B. da. **Resolução cinética enzimática de álcoois e amins quirais contendo boro e biorredução de cetonas contendo boro**. Orientador: Leandro Helgueira de Andrade. 2011, 199 f. Tese (Doutorado em Química Orgânica) – Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

SOLANO, D. M.; HOYOS, P.; HERNÁIZ, M. J.; ALCÁNTARA, A. R.; SÁNCHEZ-MONTERO, J. M. Industrial biotransformations in the synthesis of building blocks leading to enantiopure drugs. **Bioresource Technology**, v. 115, p. 196–207, 2012.

TAKIZAWA, S.; GRÖGER, H.; SASAI, H. Vanadium in Asymmetric Synthesis: Emerging Concepts in Catalyst Design and Applications. **Chemistry: A European Journal**, v. 21, p. 8992–8997, 2015.

TRACEY, A. S.; CRANS, D. C. **Vanadium compounds: Biochemistry; chemistry, and therapeutic application**, 1 ed., ACS Symposium Series, 1998.

VAZ, B. G.; MILAGRE, C. D. F.; EBERLIN, M. N.; MILAGRE, H. M. S. Shvo's catalyst in chemoenzymatic dynamic kinetic resolution of amines – inner or outer sphere mechanism? **Organic & Biomolecular Chemistry**, v. 11, p. 6695–6698, 2013.

VERHO, O.; BÄCKVALL, J.-E. Chemoenzymatic Dynamic Kinetic Resolution: A Powerful Tool for the Preparation of Enantiomerically Pure Alcohols and Amines. **Journal of the American Chemical Society**, v. 137, p. 3996–4009, 2015.

VERZIJL, G. K. M.; DE VRIES, J. G.; BROXTERMAN, Q. B. Removal of the acyl donor residue allows the use of simple alkyl esters as acyl donors for the dynamic kinetic resolution of secondary alcohols. **Tetrahedron: Asymmetry**, v.16, n. 9, p. 1603–1610, 2005.

WU, J.-P.; MENG, X.; WANG, L.; XU, G.; YANG, L.-R. Highly efficient dynamic kinetic resolution of secondary aromatic alcohols at low temperature using a low-cost sulfonated sepiolite as racemization catalyst. **Tetrahedron Letters**, v. 55, p. 5129–5132, 2014.

WUYTS, S.; WAHLEN, J.; JACOBS, P. A.; De VOS, D. E. Heterogeneous vanadium catalysts for racemization and chemoenzymatic dynamic kinetic resolution of benzylic alcohols. **Green Chemistry**, v. 9, p. 1104–1108, 2007.

XU, G. WANG, L.; CHEN, Y.; CHENG, Y.; WU, J.-P.; YANG, L. Highly efficient dynamic kinetic resolution of secondary aromatic alcohols using a low-cost solid super acid as a racemization catalyst. **Tetrahedron Letters**, v. 54, p. 5026–5030, 2013.

XUE, Y.-P.; ZENG, H.; JIN, X.-L.; LIU, Z.-Q.; ZHENG, Y.G. Enantioselective cascade bio-catalysis for deracemization of 2-hydroxy acids using a three-enzyme system. **Microbial Cell Factories**, v. 15, p. 162–171, 2016.

ZHU, Y.; FOW, K.-L.; CHUAH, G.-K.; JAENICKE, S., **Chemistry: A European Journal**, v. 13, p. 541–547, 2007.