

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta tese será disponibilizado somente a partir de 15/06/2024.

LAÍZA ARAUJO DE ALMEIDA

Resolução cinética dinâmica quimioenzimática de álcoois:

Estratégias de otimização e escalonamento

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

Orientador: Prof. Dr. Humberto Márcio Santos Milagre

Araraquara

2023

A447r Almeida, Laíza Araujo de
Resolução cinética dinâmica quimioenzimática de álcoois :
estratégias de otimização e escalonamento / Laíza Araujo de
Almeida. -- Araraquara, 2023
171 f. : il., tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Instituto de Química, Araraquara
Orientador: Humberto Márcio Santos Milagre

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

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do
Instituto de Química, Araraquara. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA

Diante da forte demanda por processos catalíticos mais sustentáveis e economicamente viáveis para a produção de compostos opticamente ativos, este trabalho pode ser um referencial para estudos de desenvolvimento de metodologias de resolução de álcoois quirais catalisadas por enzima e catalisador químico, uma vez que demonstra o potencial de estratégias práticas de otimização dessas metodologias.

POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH

Due the great demand for more sustainable and economically feasible catalytic processes for the production of optically active compounds, this work can be a reference for studies on the development of methodologies for chiral alcohols resolutions catalyzed by enzyme and chemical catalyst, since it demonstrates the potential of practical strategies for optimizing these methodologies.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: Resolução cinética dinâmica quimioenzimática de álcoois: Estratégias de otimização e escalonamento

AUTORA: LAÍZA ARAUJO DE ALMEIDA

ORIENTADOR: HUMBERTO MÁRCIO SANTOS MILAGRE

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

 Documento assinado digitalmente
HUMBERTO MARCIO SANTOS MILAGRE
Data: 18/12/2023 08:45:42-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. HUMBERTO MÁRCIO SANTOS MILAGRE (Participação Virtual)
Departamento de Bioquímica e Química Orgânica / Instituto de Química - UNESP - Araraquara

Profa. Dra. ROSSIMIRIAM PEREIRA DE FREITAS (Participação Virtual)
Departamento de Química / Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG - Belo Horizonte

Prof. Dr. MARCOS CARLOS DE MATTOS (Participação Virtual)
Departamento de Química Orgânica e Inorgânica / Universidade Federal do Ceará - UFC - Fortaleza

Prof. Dr. ROCHEL MONTERO LAGO (Participação Virtual)
Instituto de Ciências Exatas, Departamento de Química / Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG

Dra JULIANA LADEIRA VIDAL (Participação Virtual)
Universidade Memorial (MUN), Canadá

Araraquara, 15 de dezembro de 2023

DADOS CURRICULARES

IDENTIFICAÇÃO

Nome: Laíza Araujo de Almeida

Nome em citações bibliográficas: De Almeida, L.A.; Almeida, L. A.

ENDEREÇO PROFISSIONAL

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (Unesp), Instituto de Química de Araraquara, Departamento de Bioquímica e Química Orgânica.

Rua Professor Francisco Degni, 55, Jardim Quitandinha – CEP 14800060

Araraquara, SP – Brasil

FORMAÇÃO ACADÊMICA/TITULAÇÃO

2019 – 2023

Doutorado em Química, área de concentração: Química Orgânica.

Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Química de Araraquara, Brasil.

Título: “Resolução cinética dinâmica quimioenzimática de álcoois: Estratégias de otimização e escalonamento” sob a orientação do Prof. Dr. Humberto Márcio Santos Milagre, com bolsa da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

2017 – 2019

Mestrado em Química, área de concentração: Química Orgânica.

Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Química de Araraquara, Brasil.

Título: “Síntese de álcoois secundários quirais via Resolução Cinética Dinâmica quimioenzimática” sob a orientação do Prof. Dr. Humberto Márcio Santos Milagre, com bolsa da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

2012 – 2016

Licenciatura em Química.

Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas (Ibilce), Câmpus de São José do Rio Preto, Brasil, com período sanduíche na Universidade de Coimbra (UC – Coimbra, Portugal) pelo Programa de Licenciaturas Internacionais (PLI CAPES 2013/2015).

FORMAÇÃO COMPLEMENTAR

2020 – 2020

Comunicação e Escrita Científica. (Carga horária: 4h).

American Chemical Society, Estados Unidos.

2019 – 2019

Process Chemistry in the Pharmaceutical Industry. (Carga horária: 8h).

Universidade Federal de São Carlos, UFSCAR, Brasil.

2016 – 2016

Formação de Ledores para o ENEM 2016. (Carga horária: 12h).
Fundação Cesgranrio, CESGRANRIO, Brasil.

2016 – 2016

Sistema de Produção Industrial. (Carga horária: 4h).
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Brasil.

2013 – 2013

Química Verde. (Carga horária: 8h).
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Brasil.

2013 – 2013

Química dos Fármacos. (Carga horária: 8h).
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Brasil.

2012 – 2012

Tecnologia em Água de Reuso. (Carga horária: 8h).
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Brasil.

2012 – 2012

Planejamento estratégico aplicado à área ambiental. (Carga horária: 8h).
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Brasil.

PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA

Artigos completos publicados em periódicos

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**, v. 22, n. 10, p. 1685, 2017. (doi:10.3390/molecules22101685).

De Almeida, L.A.; Marcondes, T.H.; Milagre, C.D.F.; Milagre, H.M.S. *Lipase-oxovanadium heterogeneous catalysis system: a robust protocol for the dynamic kinetic resolution of sec-alcohols*. **ChemCatChem**, v. 12, n. 10, p. 2849-2858, 2020 (doi: 10.1002/cctc.202000292).

Artigos submetidos para publicação:

De Almeida, L. A.; Ganéo Neto, L.; Milagre, C.D.F.; Milagre, H.M.S. *Enzymatic kinetic resolution of tertiary benzyl bicyclic alcohols: studies of the reaction conditions for a more efficient protocol*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, Manuscript Number: JBCHS-2023-0400.

Trabalhos publicados em anais de eventos científicos:

Almeida, L. A.; Marcondes, T.H.; Milagre, H.M.S. *Dynamic kinetic resolution chemoenzymatic of aromatic sec-alcohols by using a heterogeneous vanadium racemization catalyst and lipase*. 42^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química: Eixos Mobilizadores em Química. Joinville – SC, 2019.

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*. 39^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Goiânia – GO, 2016.

Apresentação de trabalhos e/ou palestra:

Sá, A.L.K.; **De Almeida, L. A.**; Milagre, H.M.S. *Resolução cinética dinâmica mediada por lipase de Burkholderia cepacia*. 1^a Fase do XXXV Congresso de Iniciação Científica da UNESP, Araraquara – SP, 2023.

De Souza, P. F.; **De Almeida, L. A.**; Milagre, C.D.F.; Milagre, H.M.S. *Continuous-flow kinetic resolution of bicyclic tertiary alcohol using lipase as catalyst*. 18th Brazilian Meeting on Organic Synthesis (18th BMOS), Tiradentes – MG, 2022.

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.

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*. 1^a Fase do XXVIII Congresso de Iniciação Científica da UNESP (CIC), São José do Rio Preto - SP, 2016.

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 meticilina 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 Painele). IV Simpósio Integrado da Graduação e Pós-Graduação em Química, São José do Rio Preto – SP, 2016.

PARTICIPAÇÃO EM EVENTOS CIENTÍFICOS

Congresso de Iniciação Científica da Unesp, Araraquara. 2023, 2022 e 2020 (Avaliadora).

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

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

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

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

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

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. Unesp, São José do Rio Preto, 2013.

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

ORIENTAÇÕES

Coorientadora na Monografia da aula Ana Lua Kitagawa Sá (Bacharelado – Química), intitulado “*Resolução cinética mediada por lipase de Burkholderia cepacia*”. Período da supervisão: 06/2023 a 11/2023.

Coorientadora na Monografia da aula Ingrid Christovam Mugnaini (Bacharelado – Química), intitulado “*Síntese Enantiosseletiva da Sertralina: Estudo e proposta de nova rota quimioenzimática*”. Período da supervisão: 03/2020 a 12/2020.

Coorientadora na Monografia da aula Thayna Henriques Marcondes (Bacharelado – Química), intitulado “*Resolução cinética dinâmica de álcoois secundários: Estudo de protocolo prático utilizando lipase e complexo de vanádio*”. Período da supervisão: 04/2019 a 12/2019.

*Para Helena,
Aquele que ilumina meus dias.*

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof. Dr. Humberto Márcio Santos Milagre, pela grande parceria e confiança ao longo desses anos, além de todo suporte em períodos desafiadores.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de financiamento 001. Agradeço à CAPES pela bolsa concedida e pela manutenção do Portal de Periódicos.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo apoio financeiro para a realização deste trabalho (Processo nº 2019/15230-8).

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo auxílio financeiro ao nosso grupo de pesquisa.

À Profa. Dra. Cintia D. F. Milagre pelo apoio e conselhos.

Ao IQ Unesp Araraquara pela oportunidade e infraestrutura. Em especial, aos funcionários do IQ que auxiliaram na realização deste trabalho.

À empresa SpinChem AB pelo fornecimento dos reatores de leito rotativo utilizados neste trabalho e, em especial, ao seu Diretor de Operações (COO) Me. Erik Löfgren pela sua disponibilidade e contribuições científicas durante esta parceria.

Aos grandes amigos feitos no IQ e aos colegas de laboratório do Milagre Lab. Em especial: João Lucas, Iris, Laerte, Camila, Shirley, Thaís, Pedro, Letícia e Isabela, por tornar a rotina de trabalho mais divertida.

Aos meus amigos Letícia, Suzana, João Carlos e Camila, por se manterem presentes mesmo nos momentos de ausência física.

À toda minha família, em especial meu pai Claudinei, meu irmão Matheus e minha cunhada Carol, por não medirem esforços para viabilizar minha dedicação a este trabalho.

À minha mãe Perpétua, que sempre foi minha maior companheira, mas nos últimos três anos tem sido meu braço direito.

À minha prima Marcela, pelo afeto durante a pandemia e por ser minha escuta ativa.

À minha rede de apoio após a maternidade, em especial Paula e Gaby, por cuidarem com tanto amor do meu bem mais precioso durante minha atuação neste trabalho.

Ao Tiago, que caminha ao meu lado mesmo nos momentos mais difíceis.

À minha tão amada filha, minha Helena, que chegou para dar um propósito maior a tudo. Tudo é mais vivo com você, *pituca*.

*“Coragem é a raiz da mudança,
e somos quimicamente programados para mudar”*

Bonnie Garmus – Uma Questão de Química

RESUMO

Álcoois secundários e terciários opticamente ativos estão presentes como subunidades estruturais de diversos produtos farmacêuticos, agroquímicos e alimentícios. Na busca por metodologias mais sustentáveis e de maior custo-benefício para a obtenção de álcoois enantiopuros, a resolução cinética dinâmica (RCD) quimioenzimática se destaca como uma alternativa atrativa ao combinar a resolução enzimática de álcoois racêmicos com uma racemização química *in situ*, podendo chegar em compostos enantiomericamente puros em rendimentos quantitativos.

Nesse trabalho, estudou-se a otimização da RCD de álcoois benzílicos secundários catalisada por lipase B de *Candida antarctica* (CAL-B) e por sulfato de vanadila hidratado (VOSO_4) através da compartimentalização desses catalisadores sólidos, avaliando-se pela primeira vez sua reciclabilidade. O desempenho do sistema catalítico heterogêneo CAL-B/ VOSO_4 foi melhorado com o emprego de um tubo de Teflon® adaptado para compartimentar VOSO_4 , resultando em conversões entre 94–87% ao produto (*R*)-decanoato de 1-feniletila (*ee* >99%) por 8 ciclos consecutivos de RCD de *rac*-1-feniletanol. Avaliou-se também a aplicação de reatores de leito rotativo (RBR), comercializados pela empresa SpinChem AB, para a compartimentalização de ambos os catalisadores. Após otimizações com protótipos fornecidos pela SpinChem, o protocolo de RCD foi escalonado utilizando um RBR comercial de aço inoxidável, com CAL-B e VOSO_4 distribuídos separadamente em cada compartimento do reator para minimizar sua incompatibilidade mútua, alcançando altos valores de conversão (85–90%), excesso enantiomérico (91–99%) e seletividade (89–98%) para a RCD de álcoois benzílicos secundários análogos à *rac*-1-feniletanol. Os experimentos em larga escala reproduziram os ótimos resultados de reciclo de CAL-B/ VOSO_4 , produzindo 5.70 g de (*R*)-decanoato de 1-feniletila (*ee* = 98%) após 5 ciclos de RCD de *rac*-1-feniletanol (2 horas para cada ciclo). Além disso, a aplicação de RBR SpinChem® tornou mais prática a remoção e reutilização dos catalisadores heterogêneos, evitando etapas de filtração.

Esse trabalho também estudou a otimização da resolução cinética (RC) enzimática de álcool terciário, classe de compostos desafiadora devido à sua reatividade e impedimento estérico. Os estudos foram conduzidos utilizando a lipase A de *Candida antarctica* (CAL-A) como biocatalisador da RC e, após otimização das condições reacionais, foi possível alcançar altas conversões (44–45%) e excelente *ee*

(96–99%) em apenas 4 ou 5 horas reacionais, sendo esses os melhores resultados reportados até o momento para RC dos álcoois terciários 1-metil-2,3-di-hidro-1*H*-inden-1-ol e 1-metil-1,2,3,4-tetrahidronaftalen-1-ol, em termos de tempo de reação, conversão e enantiosseletividade. Visando o desenvolvimento de metodologia inédita de RCD de álcoois terciários catalisada por CAL-A/VOSO₄, a racemização de (*S*)-1-metil-1,2,3,4-tetrahidronaftalen-1-ol catalisada pelo complexo de oxovanádio foi avaliada pela primeira vez. Devido à reatividade dos álcoois terciários na racemização ácida promovida por VOSO₄ e à estabilidade e reatividade dos produtos da etapa de resolução, não foi possível alcançar um protocolo eficiente de RCD para os álcoois terciários estudados.

Palavras-chave: Resolução cinética, álcoois quirais, lipase, catálise heterogênea, racemização ácida.

ABSTRACT

Optically active secondary and tertiary alcohols are present as structural subunits of several pharmaceutical, agrochemical and food products. In the search for more sustainable and more cost-effective methodologies for obtaining enantiopure alcohols, chemoenzymatic dynamic kinetic resolution (DKR) stands out as an attractive alternative by combining an enzymatic resolution step of racemic alcohols with an *in situ* chemical racemization, which can produce enantiomerically pure compounds in quantitative yields.

This work studied the optimization of the DKR of secondary benzyl alcohols catalyzed by *Candida antarctica* lipase B (CAL-B) and hydrated vanadyl sulfate (VOSO₄) through the compartmentalization of these solid catalysts, evaluating for the first time their recyclability. The performance of the CAL-B/VOSO₄ heterogeneous catalytic system was improved with the application of an adapted Teflon® tube to compartmentalize VOSO₄, resulting in conversions between 94–87% into the product (*R*)-1-phenylethyl decanoate (ee >99 %) for 8 consecutive DKR cycles of *rac*-1-phenylethanol. The application of rotating bed reactors (RBR) of the company SpinChem AB was also evaluated for the catalyst's compartmentalization. After optimizations with prototypes provided by SpinChem, the DKR protocol was scaled up using a commercial stainless steel RBR, with CAL-B and VOSO₄ separately distributed in each reactor compartment to minimize their mutual incompatibility, achieving high values of conversion (85–90%), enantiomeric excess (91–99%) and selectivity (89–98%) for secondary benzyl alcohols analogs of *rac*-1-phenylethanol. Large-scale experiments reproduced the excellent recycling results of CAL-B/VOSO₄, producing 5.70 g of (*R*)-1-phenylethyl decanoate (ee = 98%) after 5 DKR cycles of *rac*-1-phenylethanol (2 hours for each cycle). Furthermore, the application of RBR SpinChem® turned more practical the removal and reuse of the heterogeneous catalysts, avoiding filtration steps.

This work also studied the optimization of the enzymatic kinetic resolution (KR) of tertiary alcohol, a challenging type of compounds due to their reactivity and steric hindrance. The studies were conducted using *Candida antarctica* lipase A (CAL-A) as a biocatalyst and after optimizing the reaction conditions it was possible to achieve high conversions (44–45%) and excellent ee (96–99%) in only 4 or 5 reaction hours, being these the best results reported so far for the KR of the tertiary alcohols 1-methyl-

2,3-dihydro-1*H*-inden-1-ol and 1-methyl-1,2,3,4-tetrahydronaphthalen-1-ol in terms of reaction rate, conversion and enantioselectivity. Aiming to develop an unprecedented DKR for tertiary alcohols catalyzed by CAL-A/VOSO₄, the racemization of (S)-1-methyl-1,2,3,4-tetrahydronaphthalen-1-ol catalyzed by the oxovanadium complex was evaluated for the first time. Due to the reactivity of the tertiary alcohols for the acid-racemization promoted by VOSO₄ and the stability and reactivity of the products of the KR step, it was not possible to achieve an efficient DKR protocol for the selected tertiary alcohols.

Keywords: Kinetic resolution, chiral alcohols, lipase, heterogeneous catalysis, acid racemization.

APRESENTAÇÃO GERAL DA TESE

A presente tese é constituída por três partes, sendo a primeira uma introdução geral seguida de dois capítulos de trabalho experimental.

A *Introdução Geral* aborda os métodos para obtenção de compostos enantiomericamente puros, com destaque para a resolução cinética de álcoois racêmicos.

O primeiro capítulo (*Capítulo 1 – Resolução cinética dinâmica de álcoois secundários benzílicos: Otimização do sistema catalítico e escalonamento*) descreve a otimização de uma metodologia de resolução cinética dinâmica de álcoois secundários benzílicos catalisada por uma enzima (lipase) e um complexo de oxovanádio (VOSO_4), onde a otimização foi alcançada através da compartimentalização acessível de VOSO_4 . Descreve também o escalonamento do protocolo utilizando reatores de leito rotativo para a compartimentalização de ambos os catalisadores (lipase/ VOSO_4).

O segundo capítulo (*Capítulo 2 – Resolução cinética dinâmica de álcoois terciários benzílicos: Desafios para a aplicação inédita de lipase/ VOSO_4*) descreve os esforços para a extensão da metodologia de resolução cinética dinâmica catalisada por lipase/ VOSO_4 para resolver misturas racêmicas de álcoois terciários benzílicos.

Os capítulos 1 e 2 estão organizados nos seguintes itens: “Introdução”, “Resultados e Discussão”, “Conclusões” e “Parte Experimental”.

As “Conclusões gerais”, as “Referências” e o “Apêndice” encontram-se no final da tese.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Pares de enantiômeros da carvona e do linalol e seus diferentes aromas.	27
Figura 2. Par de enantiômeros do fármaco talidomida e seus diferentes efeitos biológicos.	28
Figura 3. Tipos de promiscuidade enzimática.	35
Figura 4. As ligações de hidrogênio essenciais entre a cavidade oxianion e o intermediário tetraédrico formado no sítio ativo da lipase.	36
Figura 5. Aproximação dos enantiômeros de 1-feniletanol ao bolsão enantiosseletivo do sítio ativo de lipases. a) Enantiômero <i>R</i> favorecido. b) Enantiômero <i>S</i> desfavorecido.	37
Figura 6. Reator de leito rotativo SpinChem® (<i>rotating bed reactor</i> , RBR).	52
Figura 7. Componentes do reator de leito rotativo SpinChem® (<i>rotating bed reactor</i> , RBR).	52
Figura 8. Representação do fluxo gerado com o SpinChem® RBR.	53
Figura 9. Recipiente de vidro encamisado da SpinChem AB com defletores em formato de flor.	54
Figura 10. Reciclo de CAL-B na RC de 1-feniletanol (<i>rac-1a</i>).	57
Figura 11. Reciclo de VOSO ₄ na racemização de (<i>S</i>)-(-)-1-feniletanol ((<i>S</i>)- 1a).	58
Figura 12. Estrutura molecular do politetrafluoroetileno (PTFE).	60
Figura 13. Tubo de Teflon® adaptado para confinar os catalisadores heterogêneos. a) Tubo perfurado e rosca de Teflon. b) Tubo adaptado e conectado a um septo 14/20.	60
Figura 14. Configuração da RCD quimioenzimática com compartimentalização. a) Tubo de Teflon® contendo VOSO ₄ (cristais azuis). b) Reação de RCD: tubo com VOSO ₄ imerso na solução contendo reagentes e CAL-B imobilizada.	62
Figura 15. Reciclo de CAL-B e VOSO ₄ na RCD de <i>rac</i> -1-feniletanol (<i>rac-1a</i>) com compartimentalização.	64
Figura 16. Aumento de escala da RCD quimioenzimática de <i>rac</i> -1-feniletanol (<i>rac-1a</i>) com compartimentalização.	65
Figura 17. Protótipo de reator de leito rotativo SpinChem® (RBR) com barra magnética.	67
Figura 18. Reciclo de CAL-B e VOSO ₄ na RCD de <i>rac</i> -1-feniletanol (<i>rac-1a</i>) com compartimentalização em protótipo RBR SpinChem®.	70
Figura 19. RBR S2 SpinChem® carregado com CAL-B e VOSO ₄ (a) e dentro do recipiente de vidro para a reação de RCD (b).	71
Figura 20. Saída dos catalisadores do RBR S2 SpinChem® a 200 rpm (após 1 hora de reação).	72
Figura 21. RBR S2 SpinChem® completamente preenchido com CAL-B, VOSO ₄ e microesferas de vidro.	74

Figura 22. Reciclo de CAL-B e VOSO ₄ na RCD em larga escala de <i>rac</i> -1-feniletanol (<i>rac</i> -1a) com compartimentalização em RBR S2 SpinChem®.	76
Figura 23. Os dois enantiômeros do linalol.....	90
Figura 24. a) Compostos biologicamente ativos contendo álcool terciário quiral. b) Ácido 2-(S)-hidroxi-2-metilbutírico como bloco construtor.	91
Figura 25. Estratégia comum para obtenção de álcoois terciários quirais através da adição seletiva de nucleófilos a cetonas pró-quirais.	92
Figura 26. Estruturas tridimensionais das enzimas (a) esterase de <i>P. fluorescens</i> (cavidade GX); (b) esterase de <i>B. subtilis</i> (cavidade GGG(A)X) e (c) CAL-A (cavidade Y).....	96
Figura 27. Cromatogramas obtidos antes e após o isolamento dos enantiômeros da RC de <i>rac</i> -10a via cromatografia em coluna, com sílica gel como fase estacionária.	107
Figura 28. Monitoramento do excesso enantiomérico (ee) do álcool remanescente (S)-10a durante a RCD de <i>rac</i> -10a catalisada por CAL-B/VOSO ₄	112

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Comparação dos resultados da RCD quimioenzimática de <i>rac</i> -1-feniletanol (<i>rac</i> -1a) com e sem compartimentalização dos catalisadores.....	61
Tabela 2. RCD quimioenzimática de álcoois benzílicos secundários com compartimentalização dos catalisadores.....	63
Tabela 3. Aumento de escala da RCD quimioenzimática de <i>rac</i> -1-feniletanol (<i>rac</i> -1a) com compartimentalização.....	65
Tabela 4. Comparação dos resultados da RCD quimioenzimática de <i>rac</i> -1-feniletanol (<i>rac</i> -1a) com tubo de Teflon e com protótipo RBR.	67
Tabela 5. RCD quimioenzimática de álcoois benzílicos secundários com compartimentalização dos catalisadores em protótipo RBR magnético.....	68
Tabela 6. RCD em larga escala de <i>rac</i> -1-feniletanol (<i>rac</i> -1a) com RBR S2 SpinChem®: Influência da velocidade de rotação.....	72
Tabela 7. RCD em larga escala de álcoois benzílicos secundários com RBR S2 SpinChem®.....	75
Tabela 8. RC de 1-metil-1,2,3,4-tetrahidronaftalen-1-ol (<i>rac</i> -10a) com diferentes doadores de acila.....	103
Tabela 9. Triagem de solvente para a RC de 1-metil-1,2,3,4-tetrahidronaftalen-1-ol (<i>rac</i> -10a).....	104
Tabela 10. RC de 1-metil-1,2,3,4-tetrahidronaftalen-1-ol (<i>rac</i> -10a) com 2:1 w/w de CAL-A.....	105
Tabela 11. RC em larga escala de 1-metil-2,3-di-hidro-1 <i>H</i> -inden-1-ol (<i>rac</i> -9a) e 1-metil-1,2,3,4-tetrahidronaftalen-1-ol (<i>rac</i> -10a).....	106
Tabela 12. Racemização de (S)-1-metil-1,2,3,4-tetrahidronaftalen-1-ol ((S)-10a) catalisada por VOSO ₄	108
Tabela 13. Diferentes condições reacionais testadas na RCD de <i>rac</i> -10a catalisada por CAL-A/VOSO ₄	111

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1. Diferentes métodos para obtenção de compostos enantiomericamente puros.	29
Esquema 2. Diferenças e limitações de métodos enantiosseletivos partindo de racematos: comparação entre desracemização, resolução cinética (RC) e resolução cinética dinâmica (RCD).	32
Esquema 3. Resolução cinética (RC) catalítica e seu diagrama de energia livre.	33
Esquema 4. Enantiocomplementaridade das reações enantiosseletivas de transesterificação e hidrólise catalisadas por lipase.	34
Esquema 5. Mecanismo da resolução cinética de <i>rac</i> -1-feniletanol via transesterificação catalisada por CAL-B.	38
Esquema 6. Exemplo de aplicação industrial da resolução cinética enzimática: Aclação seletiva do (1 <i>R</i> ,3 <i>S</i>)-4-ciclopenteno-1,3-diol catalisada por lipase.	40
Esquema 7. Resolução cinética dinâmica (RCD).	42
Esquema 8. Resolução cinética dinâmica quimioenzimática de <i>rac</i> -1-feniletanol e derivados utilizando catalisador de Shvo e lipase.	43
Esquema 9. Racemização de álcool secundário via catálise ácida.	44
Esquema 10. RCD quimioenzimática de álcoois benzílicos catalisada por CAL-B/VOSO ₄	45
Esquema 11. Mecanismo da racemização de (<i>S</i>)-1-feniletanol catalisada por VOSO ₄	46
Esquema 12. RCD quimioenzimática de α-hidróxi-cetona em sistema compartimentalizado.	49
Esquema 13. RCD de 1-feniletanol catalisada por CAL-B/VOSO ₄ em sistema compartimentalizado.	49
Esquema 14. RCD de 1-feniletanol catalisada por CAL-B/VOSO ₄ em regime de fluxo contínuo.	50
Esquema 15. Álcoois benzílicos secundários avaliados neste trabalho e seus ésteres.	56
Esquema 16. RCD em larga escala de <i>rac</i> -1-feniletanol (<i>rac</i> -1 <i>a</i>) com butirato de vinila como doador de acila e com RBR S2 SpinChem®.	77
Esquema 17. RC de álcoois terciários propargílicos através de hidrólise enantiosseletiva mediada pela lipase de <i>Candida cylindracea</i>	94
Esquema 18. RC de álcoois terciários benzílicos cíclicos (a) e propargílicos (b) através de transesterificação enantiosseletiva mediada pela enzima CAL-A imobilizada.	94
Esquema 19. RC de álcoois terciários propargílicos através de hidrólise enantiosseletiva mediada pelas enzimas Esterase BS2 selvagem e mutantes.	97
Esquema 20. Racemização de (<i>S</i>)-álcoois propargílicos catalisada por resina ácida.	98

Esquema 21. Racemização de (S)-1-metil-1,2,3,4-tetrahidronaftalen-1-ol ((S)- 10a) catalisada por O=V(OSiPh ₃) ₃ imobilizada.	99
Esquema 22. Primeira RCD de álcool terciário.	99
Esquema 23. Síntese dos álcoois 1-metil-2,3-di-hidro-1 <i>H</i> -inden-1-ol (<i>rac</i> - 9a) e 1-metil-1,2,3,4-tetrahidronaftalen-1-ol (<i>rac</i> - 10a).	101
Esquema 24. Síntese dos ésteres racêmicos.	102
Esquema 25. RC de 1-metil-2,3-di-hidro-1 <i>H</i> -inden-1-ol (<i>rac</i> - 9a) nas condições reacionais ótimas.	105
Esquema 26. RCD de 1-metil-1,2,3,4-tetrahidronaftalen-1-ol (<i>rac</i> - 10a) catalisada por CAL-A/VOSO ₄	109
Esquema 27. Reação entre VOSO ₄ e o éster (<i>R</i>)- 10c	110
Esquema 28. RCD de 1-metil-2,3-di-hidro-1 <i>H</i> -inden-1-ol (<i>rac</i> - 9a) catalisada por CAL-A/VOSO ₄	113

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Ac – grupo acetila

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

Asp – ácido aspártico

c – conversão

CAL-A – lipase A de *Candida antarctica*

CAL-B – lipase B de *Candida antarctica*

CRL – lipase de *Candida rugosa*

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

DIPE – éter di-isopropílico

DMAP – 4-dimetilaminopiridina

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

E – razão enantiomérica

EC – do inglês *Enzyme Commission*

ee_p – excesso enantiomérico do produto

ee_s – excesso enantiomérico do substrato

Et – grupo etila

FDA – do inglês *Food and Drug Administration*

His – histidina

IV – infravermelho

J – constante de acoplamento

m/z – razão massa carga

NC-IUBMB – Comissão de Nomenclatura da União Internacional de Bioquímica e Biologia Molecular (do inglês *Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology*)

Nu – nucleófilo

PP – polipropileno

ppm – partes por milhão

PTPE – politetrafluoretileno

rac – racêmico

RC – resolução cinética

RCD – resolução cinética dinâmica

R_f – fator de retenção em cromatografia em camada fina

RBR – do inglês *rotating bed reactor*

RMN de ¹³C – ressonância magnética nuclear de carbono 13

RMN de ¹H – ressonância magnética nuclear de hidrogênio

rpm – rotações por minuto

Sel. – seletividade da racemização ácida

Ser – serina

STR – do inglês *stirred tank reactor*

t.a. – temperatura ambiente

TFT – trifluorotolueno

THF – tetrahidrofurano

t_R – tempo de retenção

v/v – razão volume/volume

w/w – razão massa massa, do inglês *weight per weight*

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	27
1.1 Moléculas quirais e sua obtenção enantiosseletiva	27
1.2 Resolução cinética catalisada por lipases	32
2. CAPÍTULO 1 – Resolução cinética dinâmica de álcoois secundários benzílicos: Otimização do sistema catalítico e escalonamento.....	42
2.1 Introdução.....	42
2.1.1 Resolução cinética dinâmica quimioenzimática de álcoois secundários	42
2.1.2 Compartimentalização de catalisadores	46
2.1.3 Reatores de leito rotativo SpinChem® para sistemas sólido-líquido	51
2.2 Objetivos.....	54
2.3 Resultados e Discussão	54
2.3.1 Estratégia de trabalho.....	55
2.3.2 Obtenção dos padrões racêmicos	55
2.3.3 Reciclabilidade de CAL-B e VOSO ₄ em etapas separadas	56
2.3.4 Desenvolvimento e reciclabilidade do sistema compartimentalizado	59
2.3.5 Escalonamento da metodologia com reator de leito rotativo	66
2.4 Conclusões	78
2.5 Parte Experimental	79
2.5.1 Reagentes e Materiais	79
2.5.2 Métodos Cromatográficos.....	79
2.5.3 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio e de Carbono (RMN de ¹ H e ¹³ C).....	81
2.5.4 Polarimetria.....	81
2.5.5 Procedimentos experimentais e caracterização estrutural.....	81
2.5.5.1 Reciclo de CAL-B na resolução cinética de <i>rac</i> -1-feniletanol.....	81
2.5.5.2 Reciclo de VOSO ₄ na racemização de (<i>S</i>)-1-feniletanol	82
2.5.5.3 Adaptação do sistema de compartimentalização com tubo de Teflon®.....	82
2.5.5.4 Procedimento geral da resolução cinética dinâmica catalisada por CAL-B/VOSO ₄ com compartimentalização em tubo de Teflon®	82
2.5.5.5 Procedimento geral da resolução cinética dinâmica catalisada com compartimentalização de CAL-B/VOSO ₄ em protótipo magnético de reator de leito rotativo.....	83

2.5.5.6 Procedimento geral da resolução cinética dinâmica em larga escala com compartimentalização de CAL-B/VOSO ₄ em reator de leito rotativo	86
2.5.5.7 Procedimento geral para determinação dos excessos enantioméricos.....	88
3. CAPÍTULO 2 – Resolução cinética dinâmica de álcoois terciários benzílicos: Desafios para a aplicação inédita de lipase/VOSO₄	90
3.1 Introdução.....	90
3.1.1 Álcoois terciários quirais: relevância e métodos de obtenção.....	90
3.1.2 Resolução enzimática de álcoois terciários	92
3.1.3 Resolução cinética dinâmica de álcoois terciários	98
3.2 Objetivos.....	100
3.3 Resultados e Discussão	100
3.3.1 Estratégia de trabalho.....	100
3.3.2 Síntese de substratos e padrões racêmicos	101
3.3.3 Otimização da resolução cinética de álcool terciário	102
3.3.4 Estudos da racemização de álcool terciário catalisada por VOSO ₄	107
3.3.5 Combinação das etapas de resolução e racemização	109
3.4 Conclusões	114
3.5 Parte Experimental	115
3.5.1 Reagentes e Materiais	115
3.5.2 Métodos Cromatográficos.....	115
3.5.3 Espectrometria no Infravermelho (IV)	116
3.5.5 Polarimetria.....	117
3.5.6 Procedimentos experimentais e caracterização estrutural.....	117
3.5.6.1 Síntese dos álcoois terciários racêmicos.....	117
3.5.6.2 Síntese dos ésteres terciários racêmicos.....	118
3.5.6.3 Procedimento geral da resolução cinética catalisada por CAL-A: reação em larga escala	120
3.5.6.4 Procedimento geral da racemização catalisada por VOSO ₄	121
3.5.6.5 Procedimento geral da resolução cinética dinâmica catalisada por CAL-A/VOSO ₄	121
4. CONCLUSÕES GERAIS.....	122
5. REFERÊNCIAS	123
6. APÊNDICE	135
6.1 Espectros e cromatogramas dos compostos referentes ao Capítulo 1	135

6.1.1	Espectros de RMN de ^1H e ^{13}C dos (<i>R</i>)-produtos das reações de RCD.....	135
6.1.2	Cromatogramas de CG-DIC quiral dos (<i>R</i>)-produtos das reações de RCD após hidrólise.....	153
6.2	Espectros e cromatogramas dos compostos referentes ao Capítulo 2.....	157
6.2.1	Espectros de CG-EM, IV e RMN de ^1H e ^{13}C dos álcoois terciários racêmicos e seus ésteres.....	157
6.2.2	Cromatogramas de CG-DIC quiral dos enantiômeros obtidos após reações de RC 167	
6.2.3	Identificação dos subprodutos nas reações de resolução	171

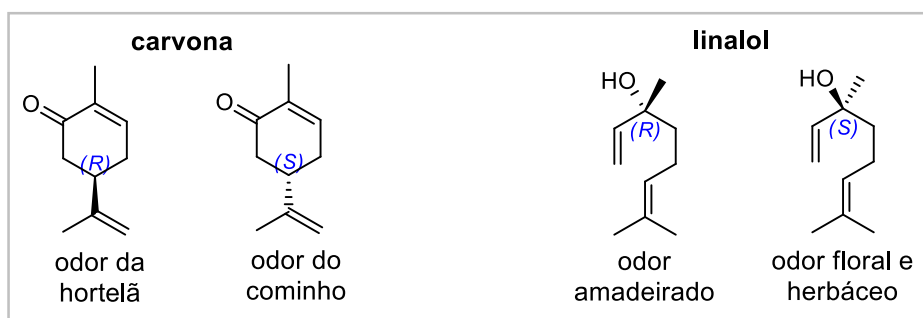
Introdução geral

1. INTRODUÇÃO GERAL

1.1 Moléculas quirais e sua obtenção enantiosseletiva

A quiralidade, propriedade geométrica existente em moléculas que não se sobrepõem às suas imagens especulares, está fortemente entrelaçada à vida, estando presente em diversas biomoléculas, como proteínas e ácidos nucleicos. Dessa forma, processos biológicos são inerentemente quirais, com uma extraordinária especificidade nas propriedades e respostas fisiológicas (STYMIEST et al., 2008). Por exemplo, devido ao reconhecimento quiral nos receptores olfativos humanos, pares de enantiômeros de alguns produtos naturais, como os terpenóides carvona e linalol, possuem perfis de aromas distintos: o enantiômero *R* da carvona é percebido com aroma característico da hortelã verde, enquanto o enantiômero *S* possui aroma de cominho; para o linalol, seu enantiômero *R* tem aroma amadeirado e floral, enquanto o enantiômero *S* é descrito como adocicado, cítrico e herbáceo (**Figura 1**) (BRANDT; SALERNO; FUCHTER, 2017; SILVA et al., 2017).

Figura 1. Pares de enantiômeros da carvona e do linalol e seus diferentes aromas

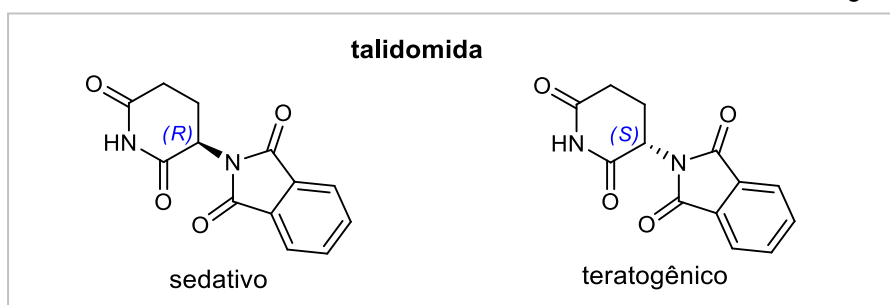


Fonte: elaborada pela autora (2023).

Diante da notável relação entre o arranjo tridimensional das moléculas quirais e suas respectivas respostas em sistemas biológicos, a quiralidade e seus conceitos têm um impacto importante na ciência e na indústria, havendo um crescente interesse na obtenção de apenas um dos enantiômeros de compostos quirais para aplicação em produtos de diferentes segmentos, como pesticidas, fragrâncias, nutrientes e fármacos (PELUSO; CHANKVETADZE, 2022). Na indústria farmacêutica, por exemplo, os fármacos quirais representam cerca de 50% do mercado, sendo cada vez maior o desenvolvimento destes na sua forma enantiopura, uma vez que enantiômeros puros podem apresentar maior potência ou segurança quando comparados com racematos (PINTO; FERNANDES; TIRITAN, 2020).

Um exemplo clássico que ilustra a importância do isolamento e estudo da ação de enantiômeros durante o desenvolvimento de novos medicamentos é o caso da talidomida, fármaco de ação hipnótico-sedativa lançado nos anos de 1950 na forma de racemato, mas posteriormente descobriu-se que apenas o enantiômero *R* possui as propriedades sedativas desejadas, enquanto seu enantiômero *S* causa defeitos congênitos fetais (**Figura 2**) (PELUSO; CHANKVETADZE, 2022). As trágicas consequências da má administração de talidomida nos anos de 1960, somadas aos avanços da síntese estereosseletiva no século 20, impulsionaram a criação de normas mais exigentes em relação ao uso de fármacos quirais pelas agências reguladoras, como o FDA (*Food and Drug Administration*) (BLASER, 2013; AGRANAT; WAINSCHEIN; ZUSMAN, 2012)

Figura 2. Par de enantiômeros do fármaco talidomida e seus diferentes efeitos biológicos.



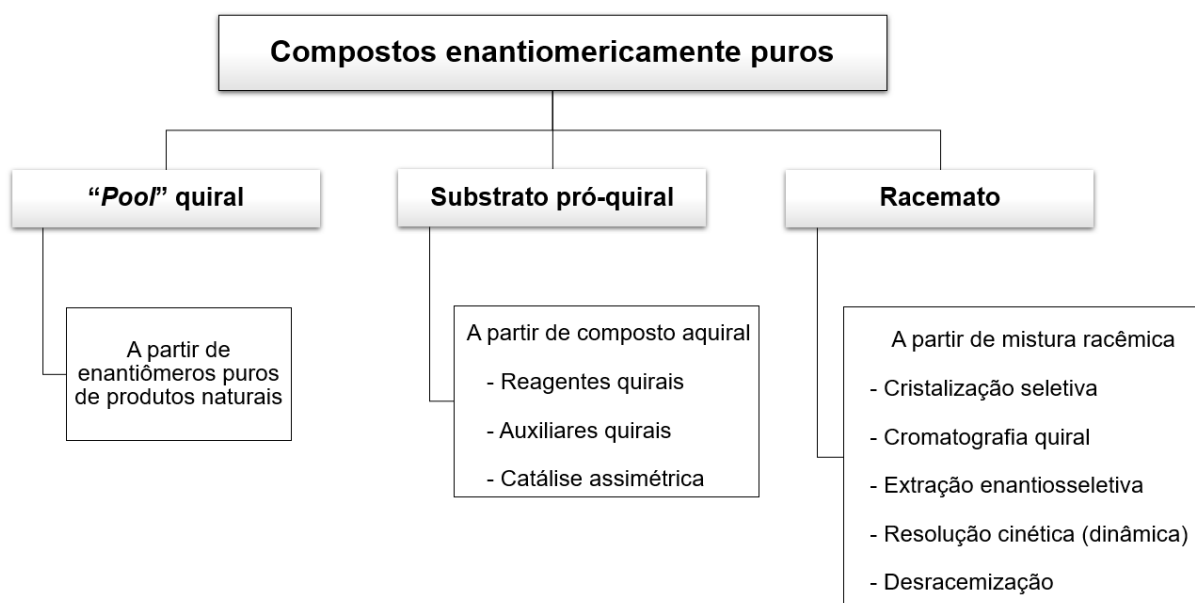
Fonte: elaborada pela autora (2023).

Compostos quirais também são extensamente aplicados na indústria agroquímica. Estima-se que 30% dos princípios ativos utilizados em agroquímicos modernos contêm centros estereogênicos, sendo esses produtos comercializados majoritariamente como racematos (JESCHKE, 2018). A aplicação de pesticidas quirais durante o manejo de pragas e a consequente presença desses compostos no meio ambiente como “poluentes quirais” são motivo de preocupação para cientistas, uma vez que seus enantiômeros podem apresentar diferentes propriedades no ambiente biótico, exibindo efeitos toxicológicos e comportamento ambiental (distribuição, ocorrência e (bio)degradação) distintos (ARENAS et al., 2021; BASHEER, 2018; MUSARURWA; TAVENGWA, 2020).

A evidente relevância econômica e científica de moléculas quirais estimulou o desenvolvimento de diversas estratégias para acessar enantiômeros puros. Os métodos para a obtenção enantiosseletiva de compostos quirais podem ser divididos em três abordagens principais, que diferem em relação ao material de partida

utilizado. São eles: “*pool*” quiral (a partir de enantiômeros puros de produtos naturais); substrato pró-quiral (a partir de um composto aquiral); e resolução/separação de racematos (a partir da mistura equimolar de pares de enantiômeros) (**Esquema 1**) (ANDRUSHKO; ANDRUSHKO, 2013; ROUF; TANEJA, 2014).

Esquema 1. Diferentes métodos para obtenção de compostos enantiomericamente puros.



Fonte: Adaptado de Andrushko & Andrushko (ANDRUSHKO; ANDRUSHKO, 2013).

A abordagem de “*pool*” quiral consiste no preparo de moléculas opticamente ativas a partir de produtos naturais enantiomericamente puros e prontamente disponíveis comercialmente, como aminoácidos e carboidratos. A molécula alvo é obtida após reações entre o material de partida enantiopuro e reagentes aquirais, sendo que a quiralidade do precursor natural é mantida no produto final (ROUF; TANEJA, 2014). O número limitado de materiais de partida disponíveis e a falta de disponibilidade natural de ambos os enantiômeros são fatores que restringem a aplicação da abordagem de “*pool*” quiral. Dessa maneira, a síntese de compostos opticamente ativos a partir de substratos pró-quirais por meio de metodologias de síntese estereosseletiva apresenta-se como uma alternativa eficiente (ANDRUSHKO; ANDRUSHKO, 2013; SCHUUR et al., 2011).

Na síntese partindo de substrato pró-quiral, ou síntese assimétrica, a geração de um ou mais centros estereogênicos é induzida pelo uso de reagentes, auxiliares ou catalisadores quirais (ANDRUSHKO; ANDRUSHKO, 2013). Em especial, as metodologias de catálise assimétrica podem apresentar vantagens em relação às reações estequiométricas, uma vez que a aplicação eficiente de catalisadores quirais

– sejam sintéticos ou biológicos, e/ou homogêneos ou heterogêneos – propicia altos rendimentos e enantiosseletividades, diminui etapas de proteção e desproteção e reduz também a produção de resíduos (ERYTHROPEL et al., 2018). Apesar do avanço crescente na busca de metodologias de síntese assimétrica de maior custo-benefício, a obtenção de moléculas opticamente ativas a partir de seus racematos ainda se apresenta como uma das principais estratégias aplicadas em escala industrial.

Na resolução de racematos, o par de enantiômeros é separado após sua diferenciação na presença de um agente ou ambiente quiral, e isso pode ser alcançado através de cinco estratégias diferentes:

- I) *cristalização seletiva*, que pode ser realizada utilizando um composto opticamente ativo (agente de resolução) que se liga aos enantiômeros do racemato para formar uma mistura diastereoisomérica, sendo esta facilmente separada por cristalização devido à diferença na solubilidade (*cristalização diastereosseletiva*); ou via cristalização direta, em casos onde as moléculas quirais cristalizam como um conglomerado, possibilitando um crescimento estereoespecífico de cada isômero em dois cristalizadores diferentes da solução (*cristalização preferencial*) (ANDRUSHKO; ANDRUSHKO, 2013; DUNN et al., 2019);
- II) *cromatografia quiral*, com a utilização de fases estacionárias quirais que promovem interações intermoleculares seletivas com o par de enantiômeros de racematos, formando complexos diastereoméricos transitórios que permitem a retenção diferencial e separação dos enantiômeros (TARAFDER; MILLER, 2021);
- III) *extração enantiosseletiva*, que combina os conceitos de reconhecimento enantiomérico e extração por solvente em uma única técnica, aplicando um seletor quiral ao processo de extração, o qual forma complexos de diferentes estabilidades com cada enantiômero através de interações intermoleculares, possibilitando a separação enantiomérica (LORENZ; SEIDEL-MORGENSTERN, 2014; QUINTAS et al., 2022);
- IV) *resolução cinética*, que consiste na conversão de um dos enantiômeros de um racemato em um produto enantiopuro em uma velocidade de reação maior na presença de um reagente ou catalisador quiral (ROUF; TANEJA, 2014; VERHO; BÄCKVALL, 2015).

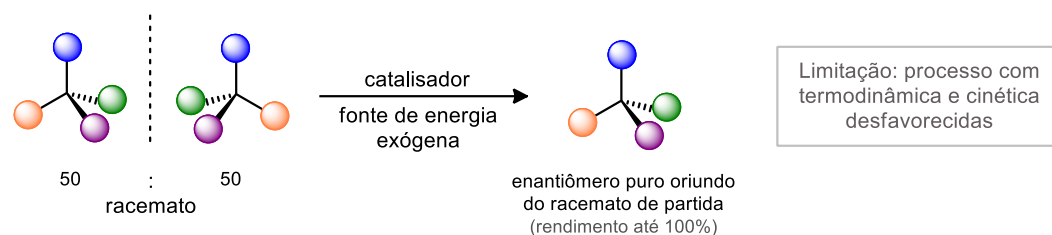
- V) *desracemização*, abordagem que converte diretamente o racemato em seu único enantiômero, onde o produto enantiopuro é, portanto, estruturalmente idêntico ao material de partida (HUANG et al., 2023).

Por se tratarem de métodos de separação de enantiômeros – e não a síntese destes – as estratégias de resolução de racematos estão limitadas a um rendimento máximo de 50%, com exceção à desracemização, que possibilita obter um único enantiômero de um racemato em rendimento quantitativo (HUANG et al., 2023). Embora a desracemização seja uma estratégia potencialmente eficiente em termos de rendimento e economia atômica, é necessário o fornecimento seletivo de energia e um design reacional refinado para superar as restrições termodinâmicas e cinéticas inerentes à desracemização (HUANG et al., 2023; ZHANG; HU, 2021). No caso das resoluções cinéticas (RCs), é possível combinar a etapa de resolução com uma racemização *in situ* do enantiômero menos reativo, em um processo chamado de *resolução cinética dinâmica* (RCD), o qual permite alcançar um rendimento quantitativo de apenas um dos enantiômeros (PELLISSIER, 2011).

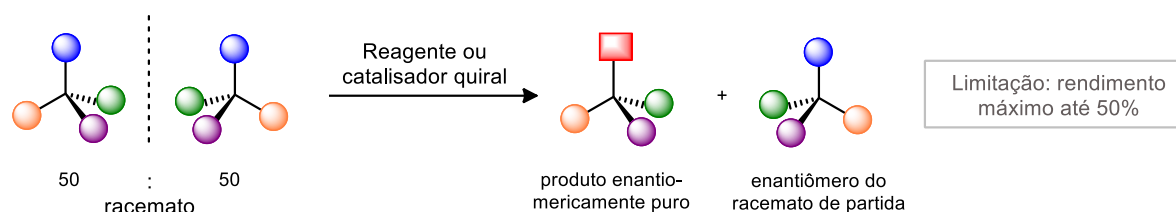
O **Esquema 2** ilustra as diferenças entre os métodos de desracemização, resolução cinética (RC) e resolução cinética dinâmica (RCD), sendo estes dois últimos o tema central desta tese.

Esquema 2. Diferenças e limitações de métodos enantiosseletivos partindo de racematos: comparação entre desracemização, resolução cinética (RC) e resolução cinética dinâmica (RCD).

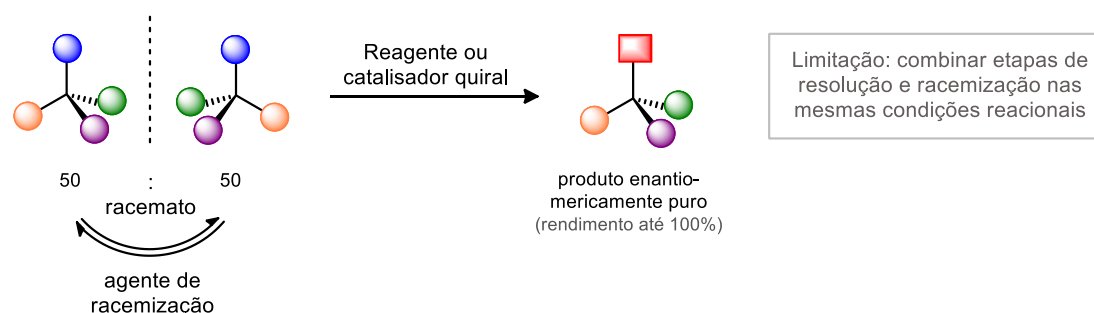
a) Desracemização



b) Resolução cinética (RC)



c) Resolução cinética dinâmica (RCD)



Fonte: Adaptado de Huang e coautores (HUANG et al., 2023).

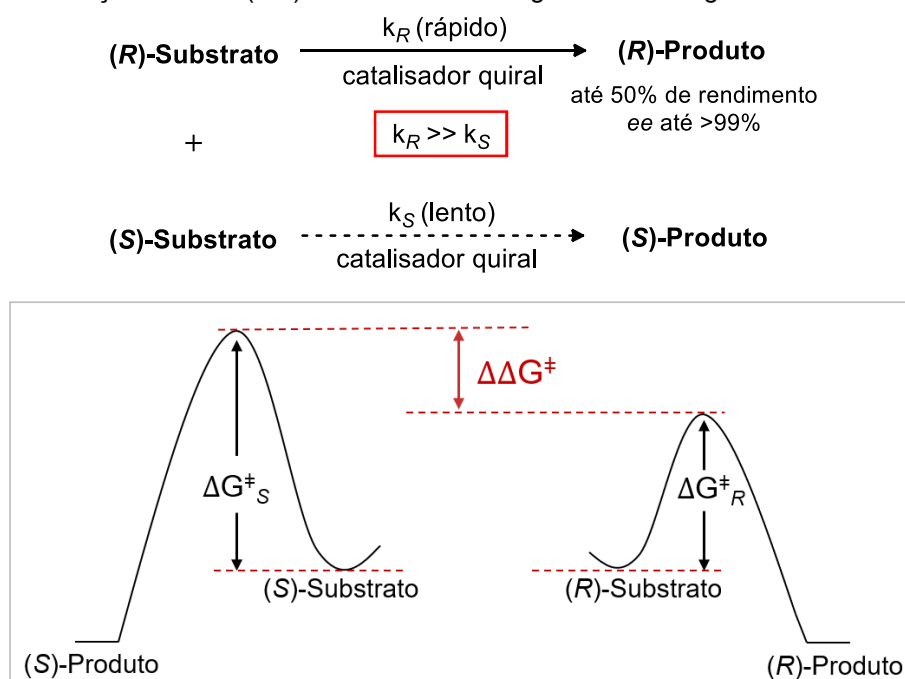
1.2 Resolução cinética catalisada por lipases

Como descrito anteriormente, em uma reação de resolução cinética (RC), um dos enantiômeros do racemato, na presença de um reagente ou catalisador quiral, é convertido à um produto opticamente ativo em uma velocidade de reação maior, permitindo a separação do produto quiral formado e do enantiômero menos reativo por técnicas tradicionais de purificação (SEDDIGI et al., 2017; VERHO; BÄCKVALL, 2015).

Os métodos catalíticos de RC são os mais utilizados e, para serem eficientes, o catalisador quiral deve apresentar maior complementaridade estrutural com um dos enantiômeros do racemato, gerando uma diferença na velocidade relativa de reação (k_{rel}) para esses enantiômeros. Na RC catalítica, a k_{rel} é ditada pela magnitude da diferença de energia livre ($\Delta\Delta G^\ddagger$) entre os estados de transição diastereoisoméricos

formados entre cada enantiômero e o catalisador quiral, pois quanto maior o valor de $\Delta\Delta G^\ddagger$, maior será a diferença na velocidade de formação dos produtos provenientes de cada enantiômero e, assim, maior será a seletividade do processo. Dessa maneira, pode-se obter ao fim da reação de RC uma mistura equimolar de produto e substrato opticamente puros e com configuração absoluta oposta e, portanto, um rendimento máximo de 50% (**Esquema 3**) (DE MIRANDA; MIRANDA; DE SOUZA, 2015; KEITH; LARROW; JACOBSEN, 2001).

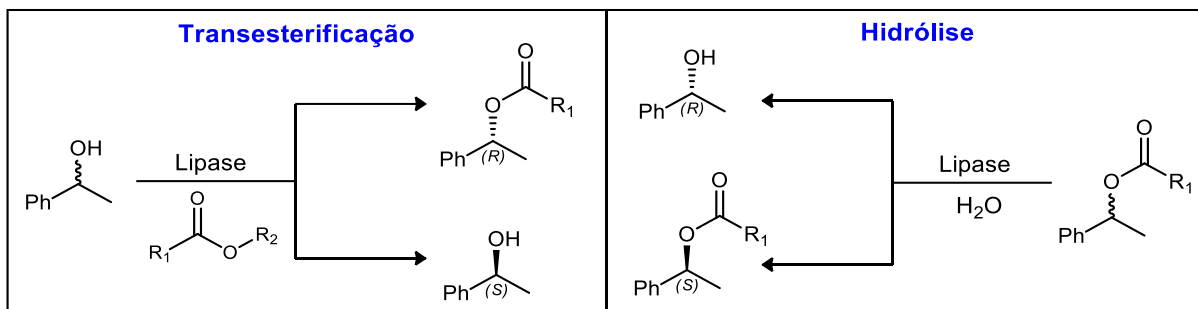
Esquema 3. Resolução cinética (RC) catalítica e seu diagrama de energia livre.



Fonte: Adaptado de Keith e coautores (KEITH; LARROW; JACOBSEN, 2001).

As enzimas da classe das hidrolases – em especial, as lipases – são as mais aplicadas como biocatalisadores em protocolos de RC de álcoois secundários e aminas, promovendo reações enantiosseletivas de acilação ou a hidrólise de seus ésteres ou amidas correspondentes (SEDDIGI et al., 2017). No **Esquema 4** estas metodologias são ilustradas utilizando como substrato o *rac*-1-feniletanol para a transesterificação e o seu éster correspondente para a hidrólise.

Esquema 4. Enantiocomplementaridade das reações enantiosseletivas de transesterificação e hidrólise catalisadas por lipase.



Fonte: elaborado pela autora (2023).

As enzimas, biomoléculas compostas majoritariamente por uma cadeia de L- α -aminoácidos e responsáveis por catalisar reações químicas em todos os seres vivos, são classificadas pela Comissão de Nomenclatura da União Internacional de Bioquímica e Biologia Molecular (NC-IUBMB) de acordo com as reações que catalisam naturalmente, e são divididas em 7 classes: oxidoredutases (1), transferases (2), hidrolases (3), liases (4), isomerases (5), ligases (6) e translocases (7). Essas classes são divididas em subclasses e estas, por sua vez, em sub-subclasses (MCDONALD; TIPTON, 2023; WINKLER; SCHRITTWIESER; KROUTIL, 2021).

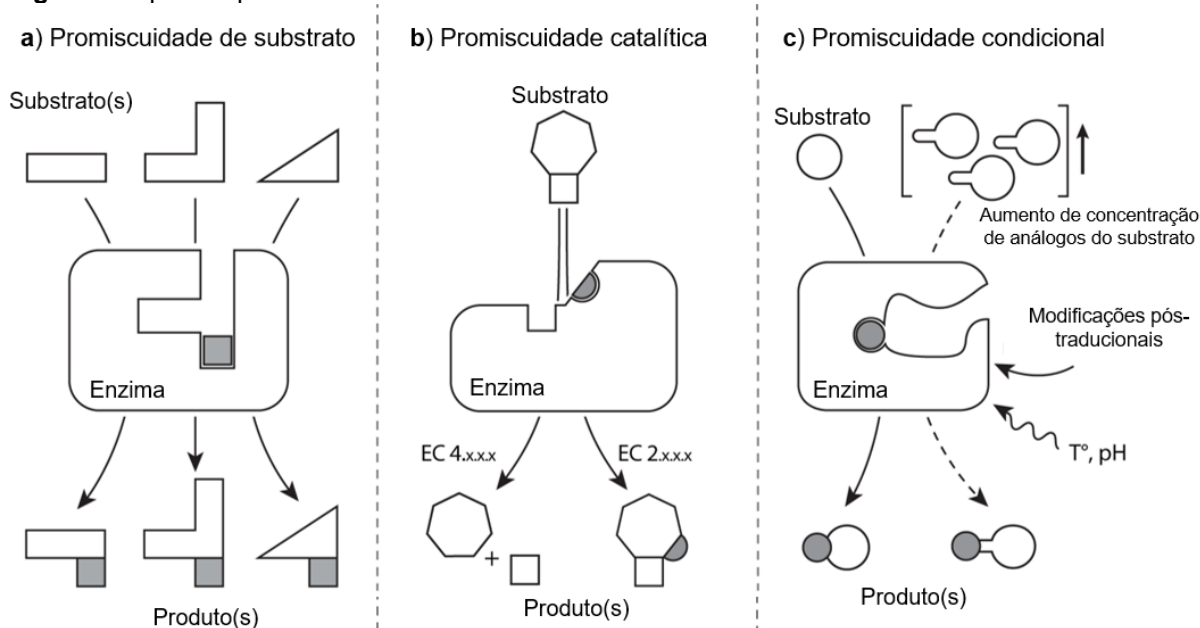
Nas últimas décadas, o notável avanço nas áreas de biologia molecular e engenharia de proteínas possibilitou a aplicação de enzimas fora de seus sistemas biológicos naturais, atuando como biocatalisadores em síntese orgânica, especialmente em métodos de obtenção enantiosseletiva de intermediários quirais (BELL et al., 2021; WU et al., 2021). Atualmente, o uso de enzimas em escala industrial é uma estratégia economicamente viável e que fornece vantagens importantes do ponto de vista da Química Verde, como: o fato de serem catalisadores de fonte renovável; possuem, de maneira geral, alta eficiência catalítica e seletividade; não apresentam toxicidade significativa; operam sob condições reacionais brandas; e, quando imobilizadas, podem ser reutilizadas (SHELDON; PEREIRA, 2017; WINKLER; SCHRITTWIESER; KROUTIL, 2021).

As lipases (triacilglicerol hidrolases) são classificadas pela NC-IUBMB com o número EC 3.1.1.3, onde cada dígito representa uma classificação progressivamente mais específica. Dessa forma, lipases (EC 3.1.1.3) são hidrolases (3) que catalisam a hidrólise de ligações de ésteres (3.1) carboxílicos (3.1.1) e têm como reação natural a hidrólise de triglicerídeos (3.1.1.3), produzindo ácidos graxos e glicerol. Fora de seu

ambiente natural, as lipases são capazes de catalisar reações de uma vasta gama estrutural de substratos, podendo ser aplicadas em reações de esterificação, condensação aldólica, adição de Michael, aminólise, entre outras, sendo esta uma característica importante denominada promiscuidade enzimática (BORNSCHEUER; KAZLAUSKAS, 2005; SALIHU; ALAM, 2015).

A promiscuidade enzimática pode ser classificada em 3 categorias (**Figura 3**): (a) promiscuidade de substrato, que é a habilidade de uma enzima realizar a mesma reação catalítica em um conjunto diversificado de substratos; (b) promiscuidade catalítica, que é a habilidade de uma enzima catalisar uma reação química “mecanicamente” diferente da sua reação nativa; e (c) promiscuidade condicional, que é a capacidade de uma enzima alterar sua atividade catalítica em resposta a mudanças nas condições ambientais, como por exemplo, devido a um aumento na concentração de análogos de substrato com menor afinidade pela enzima (PIEDRAFITA; KELLER; RALSER, 2015; SINGLA; BHARDWAJ, 2020).

Figura 3. Tipos de promiscuidade enzimática.



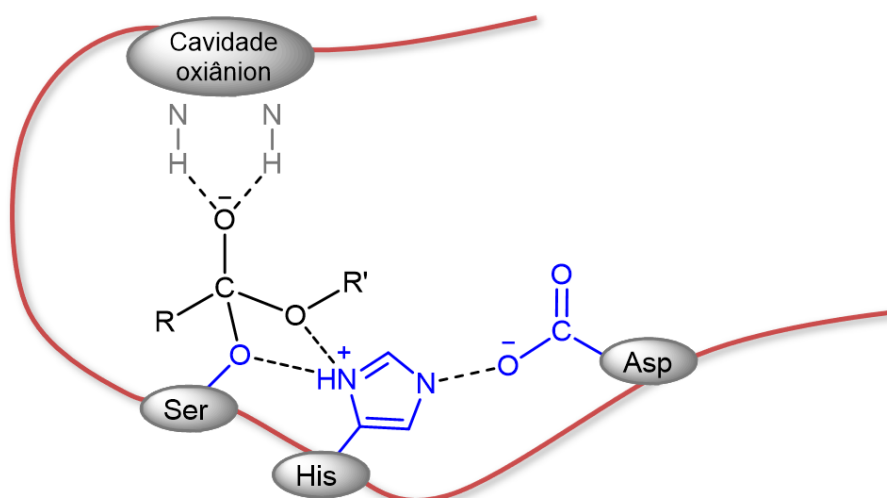
Fonte: Adaptado de Piedrafita e coautores (PIEDRAFITA; KELLER; RALSER, 2015).

As lipases possuem os três tipos de promiscuidade e, devido à essa característica, têm sido amplamente utilizadas na produção de biocombustíveis, compostos orgânicos sintéticos, detergentes, cosméticos, produtos farmacêuticos enantiopuros, e alimentos (SALIHU; ALAM, 2015). Além da sua promiscuidade, o grande interesse na utilização de lipases em síntese orgânica deve-se à sua

estabilidade e atividade em solventes orgânicos, ao fato de não dependerem de cofatores, à sua disponibilidade comercial e a sua alta enantiosseletividade. Diversas lipases estão disponíveis comercialmente tanto na forma livre como imobilizada e possuem um custo relativamente baixo quando comparado com outras enzimas.

Em particular, a alta enantiosseletividade das lipases é uma característica importante para sua aplicação como catalisadores em reações de RC. A enantiosseletividade dessas enzimas deve-se ao seu sítio ativo, o qual é formado por uma tríade catalítica composta por ácido aspártico (Asp) ou glutâmico (Glu), histidina (His) e serina (Ser). Além da tríade catalítica, o sítio ativo é formado por uma cavidade oxianion, que ajuda a estabilizar o intermediário tetraédrico formado com o substrato através de ligações de hidrogênio (**Figura 4**), e um bolsão estereosseletivo responsável pela enantiosseletividade destas enzimas (CHEN et al., 2018; PARK et al., 2016).

Figura 4. As ligações de hidrogênio essenciais entre a cavidade oxianion e o intermediário tetraédrico formado no sítio ativo da lipase.



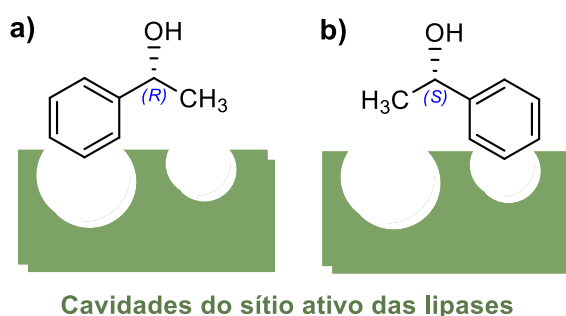
Fonte: Adaptado de Chen e coautores (CHEN et al., 2018).

Dependendo dos aminoácidos envolvidos nessa região, as lipases são classificadas em três classes, de acordo com seu tipo de cavidade oxianion: lipases do tipo GX, GGG(A)X ou Y. No tipo GX, a cavidade oxianion é composta pela ligação N-H da cadeia principal de um resíduo volumoso (X), seguido por uma glicina (G). As lipases do tipo GGG(A)X possuem um sítio ativo mais amplo com uma cavidade contendo três glicinas – ou duas glicinas e uma alanina – seguido por um resíduo volumoso X, com participação ativa da terceira glicina dessa sequência. A cavidade

do tipo Y é formada pela cadeia lateral de resíduo volumoso, principalmente tirosina ou aspartato (ALBAYATI et al., 2020).

Os bolsões estereosseletivos das lipases são distintos para cada enzima, mas de uma forma geral, existem como uma cavidade hidrofóbica maior, localizada na entrada do sítio ativo, e uma cavidade menor (ou média). Utilizando os enantiômeros do 1-feniletanol como exemplo, a **Figura 5** representa as interações destes enantiômeros com as cavidades do bolsão estereosseletivo de uma lipase.

Figura 5. Aproximação dos enantiômeros de 1-feniletanol ao bolsão enantiosseletivo do sítio ativo de lipases. **a)** Enantiômero *R* favorecido. **b)** Enantiômero *S* desfavorecido.



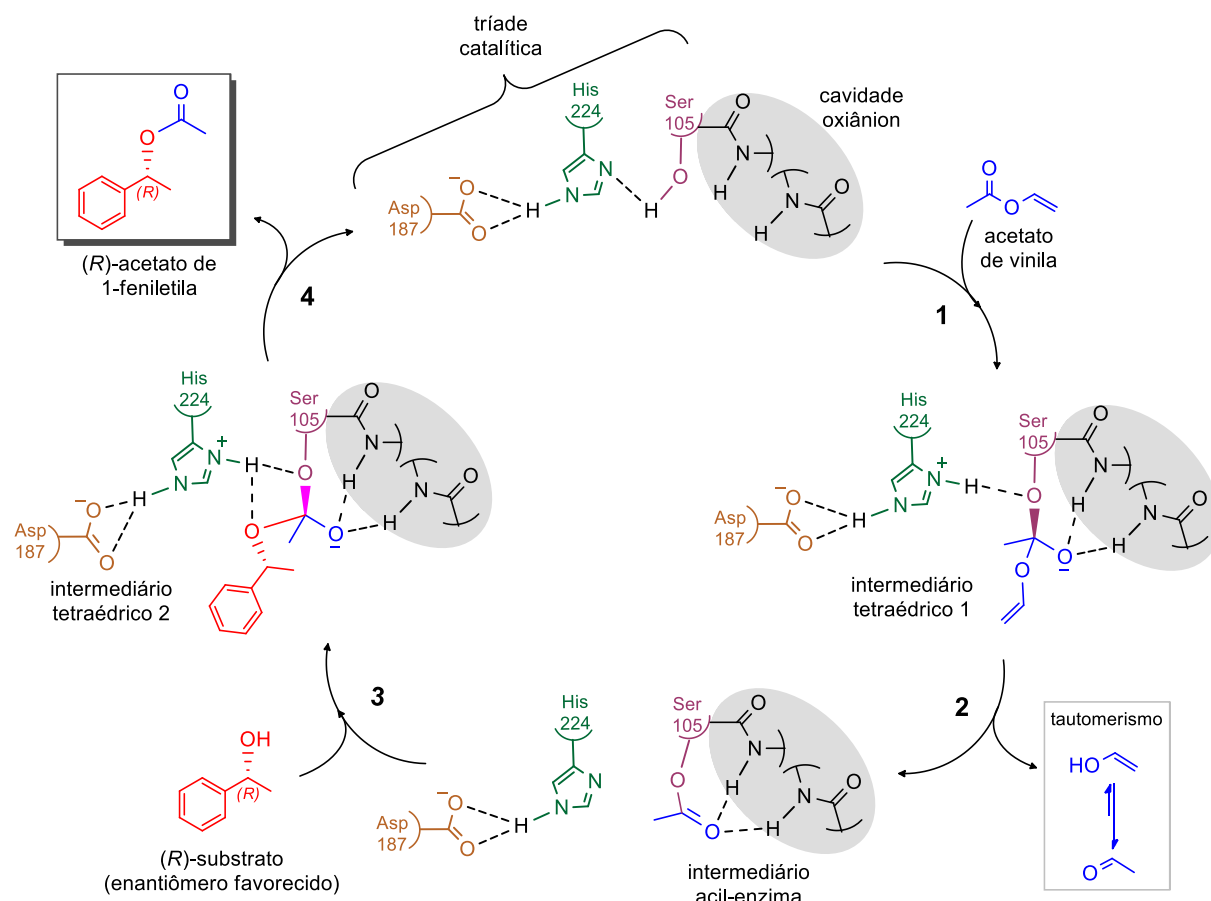
Fonte: elaborada pela autora (2023).

Na **Figura 5**, o (*R*)-1-feniletanol está representado com a hidroxila projetada para trás do plano e, dessa forma, o substituinte mais volumoso está orientado para a esquerda (anel benzênico) e o de tamanho menor (metila) está à direita, enquanto o seu enantiômero *S* apresenta a disposição espacial contrária. Como resultado, o (*R*)-1-feniletanol se encaixa com maior eficiência nas cavidades do sítio ativo da enzima (**Figura 5a**) e, por isso, a formação do produto a partir deste enantiômero será mais favorecida durante uma resolução cinética (BORNSCHEUER; KAZLAUSKAS, 2005). Para álcoois secundários, o enantiômero favorecido nas reações de RC catalisadas por lipases pode ser previsto por uma regra elaborada empiricamente e conhecida como *Regra de Kazlauskas*: a configuração favorecida é a que, ao orientar a hidroxila para trás do plano, o grupo maior está à esquerda e o grupo de tamanho médio (ou menor) está orientado à direita (KAZLAUSKAS et al., 1991).

Nesse contexto, os protocolos de RC via transesterificação e hidrólise catalisadas por lipases ocorrem no sítio catalítico dessas enzimas, em um mecanismo intermediado pela tríade catalítica e pela cavidade oxiânion, e com a enantiosseletividade mediada pelo bolsão estereosseletivo. O **Esquema 5** ilustra o mecanismo da reação de transesterificação do 1-feniletanol e acetato de vinila

catalisada pela lipase B de *Candida antarctica* (CAL-B), enzima que possui a tríade catalítica Asp187-His224-Ser105.

Esquema 5. Mecanismo da resolução cinética de *rac*-1-feniletanol via transesterificação catalisada por CAL-B.



Fonte: Adaptado de Santos (SANTOS, 2019).

Na etapa 1 do **Esquema 5**, o acetato de vinila se liga ao sítio ativo da enzima através de um ataque nucleofílico do oxigênio da cadeia lateral da Ser-105, formando o intermediário tetraédrico 1 estabilizado pela cavidade oxiânion. Na etapa 2, a carboxila do intermediário tetraédrico é restaurada, gerando assim o intermediário acil-enzima e liberando o álcool vinílico. Na etapa 3, o intermediário acil-enzima sofre um ataque nucleofílico do (*R*)-1-feniletanol (enantiômero favorecido, de acordo com a Regra de Kazlauskas), que resulta na formação do intermediário tetraédrico 2. Na etapa 4, a carboxila é restaurada liberando a cadeia lateral da Ser-105, que abstrai o próton da His-224 e restaura o catalisador, enquanto o éster (*R*)-acetato de 1-feniletila formado é liberado do sítio ativo.

O uso de ésteres vinílicos como doadores de grupo acila é uma estratégia comum para tornar a reação de transesterificação irreversível, pois o álcool liberado na etapa de formação do intermediário acil-enzima é um enol que, por tautomerismo, é imediatamente convertido na sua forma ceto (**Esquema 5**, etapa 2) (HANEFELD, 2003). Dessa maneira, não há nucleófilo para competir com o substrato na etapa de formação do intermediário tetraédrico 2 (**Esquema 5**, etapa 3).

Em uma RC catalisada por lipase com formação irreversível do produto quiral, os valores de excesso enantiomérico do produto (ee_p) e do substrato (ee_s) – determinados experimentalmente – podem ser usados para estimar a enantiosseletividade do processo por meio do cálculo da razão enantiomérica E (DE MIRANDA; MIRANDA; DE SOUZA, 2015). O valor de E é, por definição, a razão entre constantes de velocidade da reação de resolução para os dois enantiômeros e seu cálculo foi simplificado através da equação desenvolvida por Rakels e colaboradores (Equação 1) (RAKELS; STRAATHOF; HEIJNEN, 1993).

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

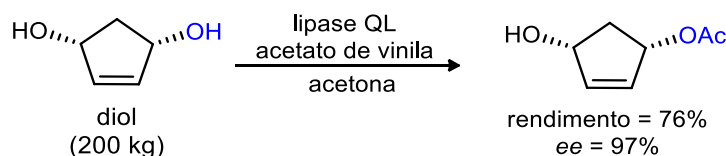
Equação 1

Uma RC com razão enantiomérica igual a 1 ($E = 1$) não apresenta enantiosseletividade, ou seja, o catalisador quiral não consegue diferenciar os enantiômeros presentes no racemato e a velocidade da reação é a mesma para ambos os enantiômeros. Valores de E entre 15 e 30 são considerados aceitáveis, enquanto RCs com $E \geq 100$ ocorrem quando o catalisador quiral discrimina eficientemente os enantiômeros do racemato, alcançando conversão próxima ou igual de 50% do racemato à um produto enantiopuro ($ee_p > 99\%$) e o enantiômero remanescente do substrato racêmico também apresenta elevada pureza óptica ($ee_s > 99\%$). Valores de E acima de 200 são comumente expressos como $E > 200$, pois nesta faixa uma pequena variação no ee_s ou ee_p causa uma mudança significativa no valor numérico de E (DE MIRANDA; MIRANDA; DE SOUZA, 2015; FABER, 2004).

Álcoois secundários racêmicos são frequentemente resolvidos em protocolos de RC catalisada por lipases não só pela importância dessa classe de compostos quirais, mas também pela maior enantiosseletividade das lipases para álcoois secundários quando comparada para álcoois primários e terciários (CHEN; RIBEIRO

DE SOUZA, 2019). Um exemplo de RC de álcool secundário catalisada por lipase em escala industrial é o processo da Rhodia Chimie SAS (Patente US20080039635A1) para a acilação seletiva de síntons quirais do tipo ciclopenteno diol, os quais são particularmente utilizados como precursores de compostos da classe dos prostanóides (WU et al., 2021). Os prostanóides são moléculas derivadas de ácidos graxos com 20 carbonos que têm função mediadora e reguladora em diversos sistemas do organismo humano, como processos inflamatórios e de vasodilatação. Na RC otimizada pela Rhodia, a lipase bacteriana de *Alcaligenes* sp. (lipase QL) foi capaz de catalisar a mono-acilação do (1*R*,3*S*)-4-ciclopenteno-1,3-diol em uma escala de 200 kg do material de partida, produzindo o produto acilado com 76% de rendimento e 97% de excesso enantiomérico (ee) (**Esquema 6**) (WU et al., 2021).

Esquema 6. Exemplo de aplicação industrial da resolução cinética enzimática: Acilação seletiva do (1*R*,3*S*)-4-ciclopenteno-1,3-diol catalisada por lipase.



Fonte: Adaptado de Wu e coautores (WU et al., 2021).

4. CONCLUSÕES GERAIS

Esta tese apresentou o desenvolvimento de metodologia de resolução cinética dinâmica de álcoois quirais utilizando um sistema catalítico quimioenzimático heterogêneo, prontamente disponível comercialmente e de baixa toxicidade (lipase/VOSO₄). Os estudos se concentraram na otimização das condições reacionais, visando alcançar um protocolo prático e passível de escalonamento e reutilização do sistema catalítico.

No Capítulo 1, apresentamos a otimização da resolução cinética dinâmica de álcoois benzílicos secundários catalisada por lipase B de *Candida antarctica* e VOSO₄, aplicando estratégias de compartimentalização dos catalisadores sólidos para minimizar sua incompatibilidade mútua. Foram estudados dois sistemas de compartimentalização: um caseiro, com tubo de Teflon® adaptado; e outro comercial, com reatores de leito rotativo da empresa SpinChem AB. Em ambos os sistemas, a separação física entre enzima e catalisador químico melhorou a reciclabilidade de lipase/VOSO₄ no processo dinâmico de resolução de álcoois secundários, além de facilitar o processamento (remoção, lavagem e reutilização dos catalisadores) e dispensar etapa de filtração/centrifugação). As reações em larga escala com reator de leito rotativo SpinChem® evidenciaram o potencial de escalonamento do protocolo, reproduzindo os altos valores de conversão, seletividade e excesso enantiomérico obtidos na escala inicial.

No Capítulo 2, estudamos a extensão da metodologia com o sistema catalítico lipase/VOSO₄ para a resolução cinética dinâmica de álcoois benzílicos terciários, classe de compostos desafiadora frente à métodos de síntese enantiosseletiva. Realizamos a otimização da resolução enzimática de dois álcoois benzílicos terciários utilizando a lipase A de *Candida antarctica* como biocatalisador e, após mudança de solvente e doador de acila, foi possível alcançar valores de conversão e de excesso enantiomérico muito próximos ao máximo esperado em protocolos de resolução de racematos. A racemização de álcool terciário catalisada por VOSO₄ foi avaliada pela primeira vez, visando a combinação deste catalisador químico com a enzima. Entretanto, ao contrário do desafio de incompatibilidade dos catalisadores, superado no Capítulo 1, o Capítulo 2 detalhou os obstáculos existentes devido a reatividade dos álcoois terciários avaliados e seus ésteres correspondentes.

5. REFERÊNCIAS

AGRANAT, I., WAINSCHEIN, S.; ZUSMAN, E. The predicated demise of racemic new molecular entities is an exaggeration. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 11, p. 972–973, Nov. 2012.

AKAI, S. *et al.* A dynamic kinetic resolution of allyl alcohols by the combined use of lipases and [VO(OSiPh₃)₃]. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 45, n. 16, p. 2592–2595, Apr. 2006.

AKAI, S. *et al.* One-pot synthesis of optically active allyl esters via lipase-vanadium combo catalysis. **Organic Letters**, v. 12, n. 21, p. 4900–4903, Oct. 2010.

ALBAYATI, S. H. *et al.* Main Structural Targets for Engineering Lipase. **Catalysts**, v. 10, n. 7, p. 1–34, July 2020.

ALDER, C. M. *et al.* Updating and further expanding GSK's solvent sustainability guide. **Green Chemistry**, v. 18, n. 13, p. 3879–3890, Apr. 2016.

ANDRUSHKO, V.; ANDRUSHKO, N. Principles, Concepts and Strategies of Stereoselective Synthesis. *In*: ANDRUSHKO, V.; ANDRUSHKO, N. **Stereoselective Synthesis of Drugs and Natural Products, 2 Volume Set**. 1st ed. Karlsruhe: John Wiley & Sons, Inc., 2013, v. 1, chap. 1, p. 03–44.

APROTOSOAIE, A. C. *et al.* Linalool: A review on a key odorant molecule with valuable biological properties. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 29, n. 4, p. 193–219, July 2014.

ARENAS, M. *et al.* An overview of analytical methods for enantiomeric determination of chiral pollutants in environmental samples and biota. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 143, p. 116370, Oct. 2021.

BASHEER, A. A. Chemical chiral pollution: Impact on the society and science and need of the regulations in the 21st century. **Chirality**, v. 30, n. 4, p. 402–406, Apr. 2018.

BEDNARSKI, M. D. *et al.* Membrane-enclosed enzymic catalysis (MEEC): a useful, practical new method for the manipulation of enzymes in organic synthesis. **Journal of the American Chemical Society**, v. 109, n. 4, p. 1283–1285, Feb. 1987.

- BELL, E. L. *et al.* Biocatalysis. **Nature Reviews Methods Primers**, v. 1, n. 1, p. 1–21, June 2021.
- BHAT, V. *et al.* Advances in Stereoconvergent Catalysis from 2005 to 2015: Transition-Metal-Mediated Stereoablative Reactions, Dynamic Kinetic Resolutions, and Dynamic Kinetic Asymmetric Transformations. **Chemical Reviews**, v. 117, n. 5, p. 4528–4561, Feb. 2017.
- BLASER, H. U. Chirality and its implications for the pharmaceutical industry. **Rendiconti Lincei**, v. 24, n. 3, p. 213–216, Set. 2013.
- BORNSCHEUER, U. T.; KAZLAUSKAS, R. J. **Hydrolases in Organic Synthesis: Regio- and Stereoselective Biotransformations**. 2nd edition. Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2006, 368 p.
- BOYCE, G. R. *et al.* Arylboronic Acid-Catalyzed Racemization of Secondary and Tertiary Alcohols. **Journal of Organic Chemistry**, v. 87, n. 19, p. 13367–13374, Sep. 2022.
- BRANDT, J. R.; SALERNO, F.; FUCHTER, M. J. The added value of small-molecule chirality in technological applications. **Nature Reviews Chemistry**, v. 1, June 2017.
- CAMP, J. E.; CRAIG, D. Reactivity of dearomatised furans synthesised via the decarboxylative Claisen rearrangement. **Tetrahedron Letters**, v. 50, n. 26, p. 3503–3508, July 2009.
- CHEN, B. S.; RIBEIRO DE SOUZA, F. Z. Enzymatic synthesis of enantiopure alcohols: current state and perspectives. **RSC Advances**, v. 9, n. 4, p. 2102–2115, Jan. 2019.
- CHEN, H. *et al.* The molecular basis for lipase stereoselectivity. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 102, n. 8, p. 3487–3495, Apr. 2018.
- CHEN, Y.; LIU, W.; YANG, X. Recent Advances in Kinetic Resolution of Tertiary Alcohols. **Chinese Journal of Organic Chemistry**, v. 42, n. 3, p. 679–697, 2022.
- CLAYDEN, J. *et al.* N to C aryl migration in lithiated carbamates: α -arylation of benzylic alcohols. **Journal of the American Chemical Society**, v. 131, n. 10, p. 3410–3411, Mar. 2009.

- DAVIS, A. R.; LIU, C.; DIACONESCU, P. L. The art of compartment design for synthetic catalysts. **Inorganic Chemistry Frontiers**, v. 10, n. 5, p. 1402–1410, Feb. 2023.
- DE ALMEIDA, L. *et al.* Lipase-oxovanadium heterogeneous catalysis system: a robust protocol for the dynamic kinetic resolution of sec-alcohols. **ChemCatChem**, v. 12, n. 10, p. 2849–2858, Mar. 2020.
- DE ALMEIDA, L. A. **Síntese de álcoois secundários quirais via Resolução Cinética Dinâmica quimioenzimática**. 2020. Dissertação (Mestrado em Química). Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2019.
- DE MIRANDA, A. S. *et al.* Continuous flow dynamic kinetic resolution of rac-1-phenylethanol using a single packed-bed containing immobilized CAL-B lipase and VOSO₄ as racemization catalysts. **Reaction Chemistry and Engineering**, v. 2, n. 3, p. 375–381, Feb. 2017.
- 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, n. 5, p. 372–393, Oct. 2015.
- DEBECKER, D. P. *et al.* Hybrid chemoenzymatic heterogeneous catalysts. **Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry**, v. 28, p. 100437, Apr. 2021.
- DHANUMALAYAN, E.; JOSHI, G. M. Performance properties and applications of polytetrafluoroethylene (PTFE)—a review. **Advanced Composites and Hybrid Materials**, v. 1, n. 2, p. 247–268, Feb. 2018.
- DING, B. *et al.* Recent Advances in Catalytic Nonenzymatic Kinetic Resolution of Tertiary Alcohols. **Synthesis (Germany)**, v. 54, n. 7, p. 1721–1732, Jan. 2022.
- DOMÍNGUEZ DE MARÍA, P. *et al.* Biotechnological applications of *Candida antarctica* lipase A: State-of-the-art. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 37, n. 1–6, p. 36–46, Dec. 2005.
- DUNN, A. S. *et al.* Resolution Control in a Continuous Preferential Crystallization Process. **Organic Process Research and Development**, v. 23, n. 9, p. 2031–2041, Sep. 2019.

EBBERS, E. J. *et al.* Controlled racemization of optically active organic compounds: Prospects for asymmetric transformation. **Tetrahedron**, v. 53, n. 28, p. 9417–9476, July 1997.

EGI, M. *et al.* A mesoporous-silica-immobilized oxovanadium cocatalyst for the lipase-catalyzed dynamic kinetic resolution of racemic alcohols. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 52, n. 13, p. 3654–3658, Mar. 2013.

EL HAGE, R. *et al.* Kinetic study of the dissolution of vanadyl sulfate and vanadium pentoxide in sulfuric acid aqueous solution. **Chemical Engineering Science**, v. 199, p. 123–136, May 2019.

ERYTHROPEL, H. C. *et al.* The Green ChemisTREE: 20 years after taking root with the 12 principles. **Green Chemistry**, v. 20, n. 9, p. 1929–1961, Apr. 2018.

FABER, K. **Biotransformations in Organic Chemistry**: A Textbook. 5th. ed. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2004. 466 p.

FECHTER, M. H. *et al.* Stereoselective biocatalytic synthesis of (S)-2-hydroxy-2-methylbutyric acid via substrate engineering by using “thio-disguised” precursors and oxynitrilase catalysis. **Chemistry - A European Journal**, v. 13, n. 12, p. 3369–3376, Abr. 2007.

FILLAT, A. *et al.* Kinetic resolution of esters from secondary and tertiary benzylic propargylic alcohols by an improved esterase-variant from *Bacillus sp.* BP-7. **Catalysis Today**, v. 255, p. 16–20, Oct. 2015.

GÖRBE, T.; LIHAMMAR, R.; BÄCKVALL, J. E. Heterogeneous Acid-Catalyzed Racemization of Tertiary Alcohols. **Chemistry - A European Journal**, v. 24, n. 1, p. 77–80, Jan. 2018.

HANEFELD, U. Reagents for (Ir)reversible Enzymatic Acylations. **ChemInform**, v. 34, n. 43, p. 2405–2415, June 2003.

HARI KRISHNA, S.; PERSSON, M.; BORNSCHEUER, U. T. Enantioselective transesterification of a tertiary alcohol by lipase A from *Candida antarctica*. **Tetrahedron Asymmetry**, v. 13, n. 24, p. 2693–2696, Dec. 2002.

- HEINZE, B. *et al.* Highly enantioselective kinetic resolution of two tertiary alcohols using mutants of an esterase from *Bacillus subtilis*. **Protein Engineering, Design and Selection**, v. 20, n. 3, p. 125–131, Jan. 2007.
- HENKE, E.; PLEISS, J.; BORNSCHEUER, U. T. Activity of Lipases and Esterases towards Tertiary Alcohols: Insights into Structure–Function Relationships. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 41, n. 17, p. 3211–3213, Set. 2002.
- HOUGHTEN, R. A. General method for the rapid solid-phase synthesis of large numbers of peptides: Specificity of antigen-antibody interaction at the level of individual amino acids. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 82, n. 15, p. 5131–5135, Aug. 1985.
- HU, X.; YIP, A. C. K. Heterogeneous Catalysis: Enabling a Sustainable Future. **Frontiers in Catalysis**, v. 1, p. 1–3, Mar. 2021.
- HUANG, M. *et al.* Catalytic Deracemization Reactions. **Journal of the American Chemical Society**, v. 145, n. 20, p. 10917–10929, May 2023.
- JESCHKE, P. Current status of chirality in agrochemicals. **Pest Management Science**, v. 74, n. 11, p. 2389–2404, Apr. 2018.
- JOLLY, B. J. *et al.* A generalized kinetic model for compartmentalization of organometallic catalysis. **Chemical Science**, v. 13, n. 4, p. 1101–1110, Jan. 2022.
- KAZLAUSKAS, R. J. *et al.* 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*. **Journal of Organic Chemistry**, v. 56, n. 8, p. 2656–2665, Abr. 1991.
- KEITH, J. M.; LARROW, J. F.; JACOBSEN, E. N. Practical Considerations in Kinetic Resolution Reactions. **Advanced Synthesis & Catalysis**, v. 343, n. 1, p. 5–26, Jan. 2001.
- KOURIST, R. *et al.* Hydrolase-catalyzed stereoselective preparation of protected α,α -dialkyl- α -hydroxycarboxylic acids. **Tetrahedron Asymmetry**, v. 19, n. 15, p. 1839–1843, Aug. 2008.

- KOURIST, R.; BORNSCHEUER, U. T. Biocatalytic synthesis of optically active tertiary alcohols. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 91, n. 3, p. 505–517, Aug. 2011.
- KOURIST, R.; DOMÍNGUEZ DE MARÍA, P.; BORNSCHEUER, U. T. Enzymatic Synthesis of Optically Active Tertiary Alcohols: Expanding the Biocatalysis Toolbox. **ChemBioChem**, v. 9, n. 4, p. 491–498, Mar. 2008.
- KOURIST, R.; GONZÁLEZ-SABÍN, J. Compartmentalization in Biocatalysis. *In*: DE GONZALO, G.; LAVANDERA, I. **Biocatalysis for Practitioners: Techniques, Reactions and Applications**. 1st ed. Weinheim: WILEY-VCH GmbH, 2021. v. 1, chap. 4, p. 89–112.
- KÜHN, F. *et al.* Dynamic kinetic resolution of a tertiary alcohol. **Chemical Communications**, v. 56, n. 19, p. 2885–2888, Jan. 2020.
- 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 in English)**, v. 36, n. 11, p. 1211–1212, June 1997.
- LETIZIA, C. S. *et al.* Fragrance material review on linalool. **Food and Chemical Toxicology**, v. 41, n. 7, p. 943–964, July 2003.
- LEUSER, H. *et al.* Highly enantioselective preparation of tertiary alcohols and amines by copper-mediated diastereoselective allylic SN2' substitutions. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 44, n. 29, p. 4627–4631, July 2005.
- LIU, Y. L.; LIN, X. T. Recent Advances in Catalytic Asymmetric Synthesis of Tertiary Alcohols via Nucleophilic Addition to Ketones. **Advanced Synthesis and Catalysis**, v. 361, n. 5, p. 876–918, Sep. 2019.
- LÖFGREN, J. *et al.* Transesterification of a Tertiary Alcohol by Engineered *Candida antarctica* Lipase A. **ChemBioChem**, v. 20, n. 11, p. 1438–1443, June 2019.
- LORENZ, H.; SEIDEL-MORGENSTERN, A. Processes to separate enantiomers. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 53, n. 5, p. 1218–1250, Jan. 2014.

- LU, J.; DIMROTH, J.; WECK, M. Compartmentalization of Incompatible Catalytic Transformations for Tandem Catalysis. **Journal of the American Chemical Society**, v. 137, n. 40, p. 12984–12989, Oct. 2015.
- MADDAH, H. A. Polypropylene as a Promising Plastic: A Review. **American Journal of Polymer Science**, v. 6, n. 1, p. 1–11, Jan. 2016.
- MAGOSSO, M. **Investigation of the SpinChem® rotating bed reactor: internally and externally mass transfer limited reactions**. 2016. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Processos Químicos e Industriais). Escola de Engenharia, Universidade de Pádua, Pádua, Itália, 2015.
- MCDONALD, A. G.; TIPTON, K. F. Enzyme nomenclature and classification: the state of the art. **FEBS Journal**, v. 290, n. 9, p. 2214–2231, May 2023.
- 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, n. 8, p. 971–977, Aug. 2016.
- MÜLLER, M. Enzymatic Synthesis of Tertiary Alcohols. **ChemBioEng Reviews**, v. 1, n. 1, p. 14–26, Fev. 2014.
- MUSARURWA, H.; TAVENGWA, N. T. Green aspects during synthesis, application and chromatographic analysis of chiral pesticides. **Trends in Environmental Analytical Chemistry**, v. 27, p. e00093, Sep. 2020.
- GANÉO NETO, L.; MILAGRE, C. D. F.; MILAGRE, H. M. S. Enantioselective transesterification of a propargyl tertiary alcohol by *Candida antarctica* lipase A: A reaction medium engineering approach. **Results in Chemistry**, v. 5, Jan. 2023.
- NGUYEN, G. S. *et al.* An enzymatic toolbox for the kinetic resolution of 2-(Pyridin-x-yl)but-3-yn-2-ols and tertiary cyanohydrins. **European Journal of Organic Chemistry**, n. 14, p. 2753–2758, Apr. 2010.
- NODA, H.; KUMAGAI, N.; SHIBASAKI, M. Catalytic Asymmetric Synthesis of α -Trifluoromethylated Carbinols: A Case Study of Tertiary Propargylic Alcohols. **Asian Journal of Organic Chemistry**, v. 7, n. 4, p. 599–612, Apr. 2018.

- O'HAGAN, D.; ZAIDI, N. A. The resolution of tertiary α -acetylene- acetate esters by the lipase from candida cylindracea. **Tetrahedron: Asymmetry**, v. 5, n. 6, p. 1111–1118, June 1994.
- ÖDMAN, P.; WESSJOHANN, L. A.; BORNSCHEUER, U. T. Chemoenzymatic Dynamic Kinetic Resolution of Acyloins. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 70, n. 23, p. 9551–9555, Nov. 2005.
- ORTIZ, C. *et al.* Novozym 435: The “perfect” lipase immobilized biocatalyst? **Catalysis Science and Technology**, v. 9, n. 10, p. 2380–2420, Apr. 2019.
- 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, n. 4–6, p. 1025–1028, Jan. 2001.
- ÖZDEMIRHAN, D. Optically active tertiary alcohols by biocatalysis. **Synthetic Communications**, v. 47, n. 7, p. 629–645, Feb. 2017.
- ÖZDEMIRHAN, D.; SEZER, S.; SÖNMEZ, Y. Enzyme-catalyzed resolution of aromatic ring fused cyclic tertiary alcohols. **Tetrahedron Asymmetry**, v. 19, n. 23, p. 2717–2720, Dez. 2008.
- PÀMIES, O.; BÄCKVALL, J. E. Combination of enzymes and metal catalysts. A powerful approach in asymmetric catalysis. **Chemical Reviews**, v. 103, n. 8, p. 3247–3261, Aug. 2003.
- PAN, T. *et al.* Spatial compartmentalization of metal nanoparticles within metal-organic frameworks for tandem reaction. **Nano Research**, v. 15, n. 2, p. 1178–1182, Aug. 2022.
- PARK, A. *et al.* Structural and experimental evidence for the enantiomeric recognition toward a bulky sec-alcohol by *Candida antarctica* lipase B. **ACS Catalysis**, v. 6, n. 11, p. 7458–7465, Nov. 2016.
- PARVULESCU, A. *et al.* Heterogeneous catalysts for racemization and dynamic kinetic resolution of amines and secondary alcohols. **Topics in Catalysis**, v. 53, n. 13–14, p. 931–941, May 2010.

- PATIL, S. A.; PATIL, R.; PATIL, S. A. Recent developments in biological activities of indanones. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 138, p. 182–198, Sep. 2017.
- PELLISSIER, H. Recent developments in dynamic kinetic resolution. **Tetrahedron**, v. 67, n. 21, p. 3769–3802, May 2011.
- PELUSO, P.; CHANKVETADZE, B. Recognition in the Domain of Molecular Chirality: From Noncovalent Interactions to Separation of Enantiomers. **Chemical Reviews**, v. 122, n. 16, p. 13235–13400, Aug. 2022.
- PIEDRAFITA, G.; KELLER, M. A.; RALSER, M. The impact of non-enzymatic reactions and enzyme promiscuity on cellular metabolism during (Oxidative) stress conditions. **Biomolecules**, v. 5, n. 3, p. 2101–2122, Sep. 2015.
- PINTO, M. M. M.; FERNANDES, C.; TIRITAN, M. E. Chiral separations in preparative scale: A medicinal chemistry point of view. **Molecules**, v. 25, n. 8, p. 1–16, Apr. 2020.
- PITHANI, S. *et al.* Using Spinchem Rotating Bed Reactor Technology for Immobilized Enzymatic Reactions: A Case Study. **Organic Process Research and Development**, v. 23, n. 9, p. 1926–1931, Sep. 2019.
- QUINTAS, P. Y. *et al.* State-of-the-art extraction and separation of enantiomers through the application of alternative solvents. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 157, Dec. 2022.
- RAE, P. J.; DATTELBAUM, D. M. The properties of poly(tetrafluoroethylene) (PTFE) in compression. **Polymer**, v. 45, n. 22, p. 7615–7625, Oct. 2004.
- 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, n. 12, p. 1051–1056, Dec. 1993.
- ROUF, A.; TANEJA, S. C. Synthesis of Single-enantiomer Bioactive Molecules: A Brief Overview. **Chirality**, v. 26, n. 2, p. 63–78, Fev. 2014.
- SALIHU, A.; ALAM, M. Z. Solvent tolerant lipases: A review. **Process Biochemistry**, v. 50, n. 1, p. 86–96, Jan. 2015.

- SANTOS, N. C. F. DOS. **Síntese biocatalítica do (R)-2-hidróxi-4-fenilbutanoato de etila**. 2019. Dissertação (Mestrado em Química). Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2019.
- SATO, H.; HUMMEL, W.; GRÖGER, H. Cooperative Catalysis of Noncompatible Catalysts through Compartmentalization: Wacker Oxidation and Enzymatic Reduction in a One-Pot Process in Aqueous Media. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 54, n. 15, p. 4488–4492, Feb. 2015.
- SCHUUR, B. *et al.* Chiral separation by enantioselective liquid-liquid extraction. **Organic and Biomolecular Chemistry**, v. 9, n. 1, p. 36–51, Jan. 2011.
- SEDDIGI, Z. S. *et al.* 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, Oct. 2017.
- SHELDON, R. A.; PEREIRA, P. C. Biocatalysis engineering: The big picture. **Chemical Society Reviews**, v. 46, n. 10, p. 2678–2691, May 2017.
- SHENG, K. *et al.* Research progress in pharmacological activities and structure-activity relationships of tetralone scaffolds as pharmacophore and fluorescent skeleton. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 227, p. 113964, Jan. 2022.
- SILVA, L. L. *et al.* S-(+)-and R-(-)-linalool: a comparison of the in vitro anti-Aeromonas hydrophila activity and anesthetic properties in fish. **An Acad Bras Cienc**, v. 89, n. 1, p. 203–212, Mar. 2017.
- SINGLA, P.; BHARDWAJ, R. D. Enzyme promiscuity—A light on the “darker” side of enzyme specificity. **Biocatalysis and Biotransformation**, v. 38, n. 2, p. 81–92, Sep. 2020.
- SPERATI, C. A.; STARKWEATHER, H. W. Fluorine-containing polymers. II. Polytetrafluoroethylene. *In*: FERRY, J. D. *et al.*, **Advances in Polymer Science: Fortschritte Der Hochpolymeren-Forschung**, 1st ed. Berlin: Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 1961, v. 2/4, chap. 1, p. 465–495.
- SPERL, J. M. *et al.* Reaction Design for the Compartmented Combination of Heterogeneous and Enzyme Catalysis. **ACS Catalysis**, v. 6, n. 10, p. 6329–6334, Oct. 2016.

- STRADOMSKA, D. *et al.* New type of basket stationary bed reactor for heterogeneous biocatalysis. **Chemical Engineering and Processing - Process Intensification**, v. 194, n. October, p. 109590, Dez. 2023.
- STYMIEST, J. L. *et al.* Enantiodivergent conversion of chiral secondary alcohols into tertiary alcohols. **Nature**, v. 456, n. 7223, p. 778–783, Dez. 2008.
- SUGIYAMA, K. *et al.* Spatial effects of oxovanadium-immobilized mesoporous silica on racemization of alcohols and application in lipase-catalyzed dynamic kinetic resolution. **Catalysis Science and Technology**, v. 6, n. 13, p. 5023–5030, July 2016.
- SZYMAŃSKA, K. *et al.* A novel hierarchically structured siliceous packing to boost the performance of rotating bed enzymatic reactors. **Chemical Engineering Journal**, v. 315, p. 18–24, May 2017.
- TAN, L. *et al.* Practical enantioselective synthesis of a COX-2 specific inhibitor. **Tetrahedron**, v. 58, n. 37, p. 7403–7410, Set. 2002.
- TARAFDER, A.; MILLER, L. Chiral chromatography method screening strategies: Past, present and future. **Journal of Chromatography A**, v. 1638, Feb. 2021.
- VAZ, B. G. *et al.* Shvo's catalyst in chemoenzymatic dynamic kinetic resolution of amines-inner or outer sphere mechanism? **Organic and Biomolecular Chemistry**, v. 11, n. 39, p. 6695–6698, Oct. 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, n. 12, p. 3996–4009, Apr. 2015.
- WINKLER, C. K.; SCHRITTWIESER, J. H.; KROUTIL, W. Power of Biocatalysis for Organic Synthesis. **ACS Central Science**, v. 7, n. 1, p. 55–71, Jan. 2021.
- WU, S. *et al.* Biocatalysis: Enzymatic Synthesis for Industrial Applications. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 60, n. 1, p. 88–119, Jan. 2021.
- WUYTS, S. *et al.* Acid zeolites as alcohol racemization catalysts: Screening and application in biphasic dynamic kinetic resolution. **Chemistry - A European Journal**, v. 11, n. 1, p. 386–397, Dec. 2004.

WUYTS, S. *et al.* Heterogeneous vanadium catalysts for racemization and chemoenzymatic dynamic kinetic resolution of benzylic alcohols. **Green Chemistry**, v. 9, n. 10, p. 1104–1108, June 2007.

ZHANG, W.; MA, S. Palladium/H⁺-cocatalyzed kinetic resolution of tertiary propargylic alcohols. **Chemical Communications**, v. 54, n. 47, p. 6064–6067, June 2018.

ZHANG, Z.; HU, X. Visible-Light-Driven Catalytic Deracemization of Secondary Alcohols. **Angewandte Chemie**, v. 133, n. 42, p. 23015–23020, Oct. 2021.