

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo será disponibilizado somente a partir de 04/09/2018.

LUNA SCHLITTLER DOS SANTOS

Sínteses quimioenzimáticas de moléculas bioativas: uma abordagem à química verde

Tese apresentada ao Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Química.

Orientadora: Profa. Dra. Cíntia Duarte de Freitas Milagre
Coorientador: Prof. Dr. Humberto Márcio Milagre

Araraquara
2017

FICHA CATALOGRÁFICA

S237s Santos, Luna Schlittler dos
Sínteses quimioenzimáticas de moléculas bioativas : uma
abordagem à química verde / Luna Schlittler dos Santos. –
Araraquara : [s.n.], 2017
203 f. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto
de Química
Orientador: Cintia Duarte de Freitas Milagre
Coorientador: Humberto Márcio Milagre

1. Biocatálise. 2. Síntese assimétrica. 3. *Saccharomyces
cerevisiae*. 4. Compostos heterocíclicos. 5. Química verde.
I. Título.

LUNA SCHLITTLER DOS SANTOS

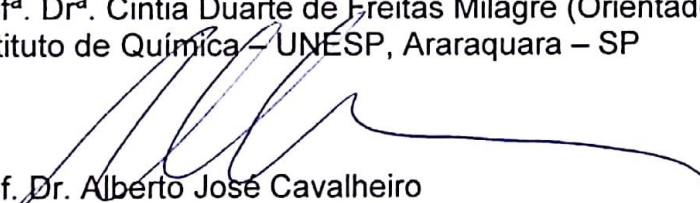
Tese apresentada ao Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Química.

Araraquara, 04 de setembro de 2017.

BANCA EXAMINADORA



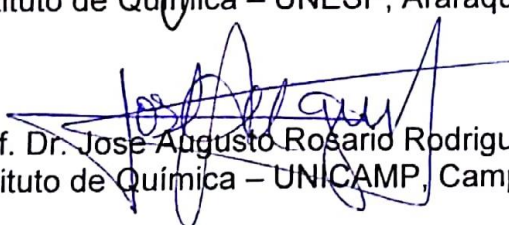
Prof^{fa}. Dr^a. Cintia Duarte de Freitas Milagre (Orientador)
Instituto de Química – UNESP, Araraquara – SP



Prof. Dr. Alberto José Cavaleiro
Instituto de Química – UNESP, Araraquara – SP



Prof. Dr. Ian Castro Gamboa
Instituto de Química – UNESP, Araraquara – SP



Prof. Dr. José Augusto Rosario Rodrigues
Instituto de Química – UNICAMP, Campinas – SP



Prof. Dr. Alvaro Takeo Omori
Centro de Ciências Naturais e Humanas – UFABC, Santo André – SP

Dados Pessoais

Nome: Luna Schlittler dos Santos

Nome em citações bibliográficas: Santos, L. S.

Filiação: Reginaldo Bezerra dos Santos

Cristiane Tenan Schlittler dos Santos

Data de nascimento: 17 de outubro de 1988

Naturalidade: Descalvado/SP

Nacionalidade: Brasileira

Formação Acadêmica

- Graduada no curso de Bacharel em Química pela Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) no período de 2007 a 2011.

- Mestre em química orgânica, área de concentração: Síntese Orgânica, Título: “*Estudos sobre síntese de novos fotossensibilizadores a partir de produtos naturais porfirinóides*” sob a orientação da Prof. Dr. Kleber Thiago de Oliveira, na Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), São Carlos, no período de 2011 a 2013 com bolsa do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

- Curso de pós-graduação modalidade Doutorado em química, área de concentração: Química Orgânica, Título: “*Sínteses quimioenzimáticas de moléculas bioativas – uma abordagem à Química Verde*” sob a orientação da Profa. Dra. Cíntia Duarte de Freitas Milagre, no Instituto de Química, UNESP, Araraquara, no período de 2013 a 2017 com bolsa do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Estágios e Bolsas auxílio

- Estágio de Iniciação Científica “Síntese e Estudo das Propriedades Físico-Químicas do Biodiesel do Óleo da Nogueira-de-Iguape (*Aleurites moluccana* (L.) Wild)” sob a orientação do Prof. Dr. Reginaldo Bezerra dos Santos no Departamento de Química na Universidade Federal do Espírito Santo, no período de 2008 a 2009 com bolsa financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)

- Estágio de Iniciação Científica “Estudo da Variação do Ponto de Ebulição Médio de Diferentes Biodiesel por Análise Termogravimétrica” sob a orientação do Prof. Dr. Reginaldo Bezerra dos Santos no Departamento de Química na Universidade Federal do Espírito Santo, no período de 2009 a 2010 com bolsa financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES).

- Bolsa de mestrado no período de 2011 a 2013, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

- Programa de Estágio Docente na disciplina Química Orgânica sob a orientação da Profa. Dra. Isabele Rodrigues Nascimento no Instituto de Química, UNESP, Araraquara, no período de 2014 a 2015.

- Programa de Estágio Docente na disciplina Química Orgânica Experimental sob a orientação da Profa. Dra. Lourdes Campaner dos Santos no Instituto de Química, UNESP, Araraquara, 2015.

Livros e Capítulos

SANTOS, L. S.; MILAGRE, H. M. S.; MILAGRE, C. D. F. Catálise enzimática em reações multicomponentes. In: Ivaldo Itabaiana Jr e Rodrigo O. M. A. de Souza. (Org.). Biocatálise e Biotransformação - Fundamentos e Aplicações. 1ed. Rio de Janeiro: Revolução eBook, 2016, v. 1, p. 1-36.

MILAGRE, C. D. F.; **SANTOS, L. S.**; MORAES, M. I.; CRUZ, R. S. Biocatálise: estratégias para obtenção de substâncias bioativas. In: Lourdes Campaner dos Santos; Maysa Furlan; Marcelo Rodrigues de Amorim. (Org.). Produtos naturais bioativos. 1ed. São Paulo: Cultura Acadêmica, 2016, v. 1, p. 197-228.

Apresentação de Trabalhos em Congressos

SANTOS, L. S.; MILAGRE, H. M. S.; MILAGRE, C. D. F. Chemo- and enantioselective bioreduction of α,β -unsaturated ketoesters. II Simposio Latinoamericano de Biocatálisis y Biotransformaciones/ V Encuentro Regional de Biocatálisis y Biotransformaciones, 2016, Montevideu.

SANTOS, L. S.; OLIVEIRA, K. O.; MILAGRE, H. M. S.; MILAGRE, C. D. F. One-Pot multicomponent synthesis of 4-thiazolidinones. BIOTRANS 2015, 2015, Viena.

SANTOS, L. S.; OLIVEIRA, K. O.; MILAGRE, C. D. F. One-pot three component synthesis of 4-thiazolidinone catalyzed by immobilized yeasts. VII Workshop on Biocatalysts and Biotransformations and 6º Encuentro Regional de Biocatálisis y Biotransformaciones, 2014, Búzios.

SANTOS, L. S.; SANTOS, T. C.; BROCKSOM, T. J.; OLIVEIRA, K. T. A synthetic approach to bacteriochlorin derivatives using natural chlorophyll a pigment. 14th Brazilian Meeting on Organic Synthesis, 2011, Brasília.

SANTOS, L. S.; Santos R.B; Lacerda Jr V.; Greco, S. J.; SILVA, R.; Castro, E. V. R. Estudo da Variação do Ponto de Ebulição Médio de Diferentes Biodiesel por Análise Termogravimétrica. 4º Congresso da Rede Brasileira de Tecnologia de Biodiesel, 2010, Belo Horizonte.

Santos R. B.; Lacerda Jr V.; BRUM, M. C.; **SANTOS, L. S.**; Greco, S. J.; SILVA, R.; Castro, E. V. R. Biodiesel metílico de dendê, soja, canola e babaçu. Estudo da estabilidade térmica por análise termogravimétrica. 4º Congresso da Rede Brasileira de Tecnologia de Biodiesel, 2010, Belo Horizonte.

BRUM, M. C.; Santos R. B.; Lacerda Jr V.; SILVA, R.; **SANTOS, L. S.**; Greco, S. J.; Castro, E. V. R. Preparação e caracterização de biodiesel metílico. Estudo de estabilidade térmica por análise termogravimétrica. 33ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2010, Águas de Lindóia.

CARNEIRO, G. F.; BRUM, M. C.; **SANTOS, L. S.**; SILVA, R.; Venâncio, T.; FREITAS, J.; Santos R.B.; Lacerda Jr V.; Castro, E. V. R. Low and high field NMR study of monguba (*Pachira aquatica* Aubl.) oil. 12th NUCLEAR MAGNETIC RESONANCE USERS MEETING / 3rd IBEROAMERICAN NMR MEETING, 2009, Angra dos Reis.

SANTOS, L. S.; BRUM, M. C.; Santos R.B.; Lacerda Jr V.; SILVA, R.; Castro, E. V. R.; Greco, S. J.; TOZETTO, L. Biodiesel de Nogueira-de-Iguape (*Aleurites moluccana* L. Wild.). Síntese e Estudo das Propriedades Físico-Químicas. III Congresso da Rede Brasileira de Tecnologia de BIODIESEL, 2009, Brasília.

BRUM, M. C.; **SANTOS, L. S.**; Santos R.B.; Lacerda Jr V.; SILVA, R.; Castro, E. V. R.; Greco, S. J. Biodiesel de Munguba. Síntese, Caracterização e Avaliação da Presença de Ácidos Graxos Ciclopropenoídicos. III Congresso da Rede Brasileira de Tecnologia de BIODIESEL, 2009, Brasília.

SANTOS, L. S.; BRUM, M. C.; Santos R. B.; Lacerda Jr V.; Castro, E. V. R.; Greco, S. J.; TOZETTO, L. Síntese e Estudo das Propriedades Físico-Químicas do Biodiesel do Óleo da Nogueira-de-Iguape (*Aleurites moluccana* L. Wild.). 32ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2009, Fortaleza.

BRUM, M. C.; **SANTOS, L. S.**; Santos R. B.; Lacerda Jr V.; Greco, S. J.; Castro, E. V. R. Biodiesel da Munguba (*Pachira aquatica* Aubl.). Síntese e Avaliação da Presença de Ácidos Graxos Ciclopropenoídicos. 32ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2009.

SANTOS, L. S.; BRUM, M. C.; Santos R. B.; Lacerda Jr V.; SILVA, R.; Castro, E. V. R.; Greco, S. J.; TOZETTO, L. Síntese e Estudo das Propriedades Físico-Químicas do Biodiesel do Óleo da Nogueira-de-Iguape (*Aleurites moluccana* L. Wild.). II Encontro Capixaba de Química, 2009, Vitória.

BRUM, M. C.; **SANTOS, L. S.**; Santos R.B.; Lacerda Jr V.; SILVA, R.; Castro, E. V. R.; Greco, S. J.; TOZETTO, L. Biodiesel da Munguba (*Pachira aquatica* Aubl.). Síntese e Avaliação da Presença de Ácidos Graxos Ciclopropenoídicos. II Encontro Capixaba de Química, 2009, Vitória.

CARNEIRO, G. F.; BRUM, M. C.; **SANTOS, L. S.**; SILVA, R.; FREITAS, J.; Santos R. B.; Lacerda Jr V.; Castro, E. V. R. Estudo do óleo da monguba (*Pachira aquatica* Aubl.) por RMN de baixo e alto campo. II Encontro Capixaba de Química, 2009, Vitória.

Participação em Eventos

II Simposio Latinoamericano de Biocatálisis y Biotransformaciones/ V Encuentro Regional de Biocatálisis y Biotransformaciones. 2016.

1º Workshop de Inovação e Empreendedorismo do Instituto de Química - Unesp. 2016.

Mulheres na Ciência 2016: o Gênero na Pós-Graduação. 2016.

Workshop "Inovações em análise de Enantiômeros". 2016.

12th BIOTRANS. 2015.

VII Workshop on Biocatalysis and Biotransformations/ I Simposio Latinoamericano de Biocatálisis y Biotransformaciones. 2014.

IV Escola Superior em Síntese Orgânica (IV ESSO). 2012.

14^o Brazilian Meeting on Organic Synthesis (BMOS). 2011.

33^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. 2010.

IV Congresso da Rede Brasileira de Tecnologia de Biodiesel. 2010.

XX Jornada de Iniciação Científica - UFES. 2010.

32^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. 2009.

49^a Congresso Brasileiro de Química. 2009.

II Encontro Capixaba de Química. 2009.

III Congresso da Rede Brasileira de Tecnologia de Biodiesel. 2009.

XIX Jornada de Iniciação Científica - UFES. 2009.

I Encontro Capixaba de Química. 2008.

Coorientação concluída

Veridiana de Sá Gomes. Coleção de culturas microbianas: manutenção e prospecção enzimática de ene-redutases. 2014. Iniciação Científica. (Graduando em Farmácia e Bioquímica) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho.

*Para Felipe
com muito amor*

Agradecimentos

Agradeço à minha família, pai, mãe, irmão e Felipe, por sempre estar ao meu lado apesar da distância e pelo apoio a cada nova decisão tomada. Obrigada por todo o amor, carinho e dedicação.

À Profa. Dra. Cintia Milagre, pela orientação, incentivo, paciência, confiança, compreensão e amizade ao longo destes 4 anos.

Ao Prof. Dr. Humberto M. S. Milagre, pela colaboração neste trabalho, pela coorientação, incentivo, confiança e pelas provocações que tanto contribuíram para a minha formação.

Às grandes e verdadeiras amizades aqui construídas. Bruno, Karina, Mariana, Carol, Larissa e Taís, muito obrigada!

Aos amigos e colegas de laboratório, pelo companheirismo e por tornar o dia-dia mais alegre. Em especial ao Bruno e a Karina que me receberam tão bem e me ensinaram tanto.

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

À Profa. Dra. Anita J. Marsaioli pelas análises de GC-FID quiral. Ao Matheus Bofinger por toda a ajuda durante a realização das análises.

À Profa. Dra. Lourdes C. dos Santos e Profa. Dra. Isabele Nascimento pelas análises de HPLC-PDA-CD. Também à Dra. Juliana Rodrigues, ao Dr. Marcos Donizete P. Pereira e a Camila pelo auxílio com o equipamento.

Ao Prof. Dr. André L. M. Porto, pelas análises de GC-MS.

Ao CNPq pela bolsa concedida (Processo 142498/2013-0) e pelo auxílio financeiro para o desenvolvimento deste trabalho.

Agradeço a todos que estiveram comigo durante todo esse tempo e que hoje comemoram esta vitória comigo, obrigada a todos.

RESUMO

O emprego da Biocatálise utilizando enzimas isoladas ou células íntegras fornece alternativas eficientes e potencialmente quimio-, regio- e estereosseletivas para a transformação de uma ampla variedade de compostos orgânicos. Neste trabalho aplicamos a Biocatálise na síntese quimioenzimática de derivados de α -metil- β -hidroxiéster utilizando a levedura *Saccharomyces cerevisiae* na redução de α -metileno- β -cetoésteres e também na síntese de 4-tiazolidinonas através de uma reação multicomponente *one-pot* combinada com o uso de biocatalisadores. Dessa forma esta tese é composta de três capítulos, sendo o primeiro uma introdução geral seguida de dois capítulos de trabalho experimental, resultados e discussão.

Os α -metil- β -hidroxiésteres são compostos importantes para a síntese orgânica assimétrica, onde são aplicados como blocos construtores para a síntese de diversos compostos. Nesse contexto, existe um grande interesse na busca por métodos convenientes e seletivos para sua síntese. Dentre as estratégias mais estudadas, a redução assimétrica de α -metileno- β -cetoésteres tem sido a via mais investigada. Neste trabalho, a rota sintética proposta para a obtenção dos substratos α -metileno- β -cetoéster consistiu na obtenção dos α -metileno- β -hidroxiésteres através da reação de Morita-Baylis-Hillman (rendimentos de 64 a 96%), seguida por uma reação de oxidação utilizando o ácido 2-iodoxibenzóico (IBX) (rendimentos de 88 a 95%). Os substratos α -metileno- β -cetoésteres foram submetidos a reação de redução utilizando a levedura *Saccharomyces cerevisiae*. Os α -metil- β -hidroxiésteres foram obtidos com conversões de 66 a 99%, diastereosseletividade de até 91:9 e excessos enantioméricos maiores que 99% para todos os diastereoisômeros. De maneira geral, podemos concluir que a levedura *S. cerevisiae* foi capaz de reduzir os α -metileno- β -cetoésteres à α -metil- β -hidroxiésteres com alta diastereo- e enantiosseletividade.

As 4-tiazolidinonas são um importante núcleo heterocíclico presente em diversos compostos biologicamente e farmacologicamente ativos. Portanto, há um grande interesse no desenvolvimento de metodologias adequadas para sintetizá-lo. A eficiência das reações multicomponentes combinadas com os aspectos sustentáveis da Biocatálise foram empregadas na síntese desta classe de compostos. Uma coleção de células microbianas, enzimas isoladas e a albumina de soro bovino foram triados para atividades catalíticas nesta reação. A influência do solvente, a relação estequiométrica dos substratos e os substituintes no anel aromático dos aldeídos também foram avaliados. Em relação à proporção estequiométrica de substratos os melhores resultados foram observados quando se utilizou uma proporção de 1: 1: 3 de aldeído:

amina: ácido carboxílico. A relação entre o substituinte do anel aromático dos aldeídos e a taxa de reação não ficou clara já que as conversões variam com os diferentes biocatalisadores testados. De maneira geral as 4-tiazolidinonas foram obtidas com rendimentos bons a moderados (52 a 69%), sob condições de reação suaves.

Palavras-chave: Biorredução, Adutos de Morita-Baylis-Hillman, *Saccharomyces cerevisiae*, Reações Multicomponentes, 4-Tiazolidinonas.

ABSTRACT

The application of biocatalysis using isolated enzymes and entire cells is a powerful tool to transform a wide range of organic compounds in chemo-, regio- and stereoselective mode. In this work, we applied the biocatalysis in the chemical enzymatic synthesis of α -methyl- β -hydroxy ester using *Saccharomyces cerevisiae* by the reduction of α -methylene- β -keto ester and 4-thiazolidinones by a one-pot multicomponent reaction combined biocatalysts. This work is composed by a general introduction followed by two chapters of experimental work, results and discussion.

The α -methyl- β -hydroxy ester is an important compound for asymmetric organic synthesis, where they are applied as building blocks to the synthesis of several compounds. This synthesis is getting attention following appropriate methodologies and high selectivity. In the most studied strategies, the asymmetric reduction of α -methylene- β -keto ester in the chemical or enzymatic path are one of the most investigated approaches. The synthesis route to the formation of α -methylene- β -keto ester was the conversion of α -methylene- β -hydroxy ester by Morita-Baylis-Hillman reaction (yields of 64 to 96%), followed by an oxidation reaction using IBX (yields of 88 to 95%). The α -methylene- β -keto ester substrates were exposed as a reactant to the reduction reaction applying *Saccharomyces cerevisiae*. The product α -methyl- β -hydroxy ester were produced with 66 to 99% of conversion, the diastereoselectivity of 91:9 and enantiomeric excess higher than 99% to all diastereoisomers. Concluding, the *S. cerevisiae* could reduce the α -methylene- β -keto ester to α -methyl- β -hydroxy ester with high diastereo- and enantioselectivity.

The 4-thiazolidinones are an important heterocyclic scaffolds present in many biologically and pharmacologically active compounds. Therefore, the development of a proper methodology to synthesize this compound is an actual concern. The efficiency of multicomponent reactions combined with the sustainable feature of biocatalysis were employed in the synthesis of these compounds. A collection of microbial cells, isolated enzymes and bovine serum albumin were screened for catalytic activities. The solvent influence, stoichiometric relations between substrates and the aromatic ring substitutes in the aldehydes were evaluated either. The stoichiometric relation were the greater in the proportion of 1 : 1 : 3 aldehyde : amine : carboxylic acid. The relation between the aldehyde aromatic ring substitutes and the reaction rate was not clear, since the conversions vary with the tested biocatalysts.

Summarizing, the 4-thiazolidinones were obtained with good and moderate yields (52 to 69%), under mild reaction conditions.

Keywords: Bioreduction, Morita-Baylis-Hillman adducts, *Saccharomyces cerevisiae*, Multicomponent reactions, 4-Thiazolidinones.

Apresentação geral da tese

A presente tese é composta de três capítulos, sendo o primeiro uma introdução geral seguida de dois capítulos de trabalho experimental, resultados e discussão.

A introdução geral da tese procura dar uma perspectiva sobre a potencialidades do uso da Biocatálise em síntese orgânica, relevando, sobretudo, as vantagens apresentadas em relação aos catalisadores químicos e o uso dos biocatalisadores nas formas de células íntegras e enzimas isoladas.

O segundo capítulo refere-se à síntese quimioenzimática de derivados de α -metil- β -hidroxiéster utilizando a levedura *Saccharomyces cerevisiae* na redução de α -metileno- β -cetoésteres.

O terceiro capítulo aborda a síntese de 4-tiazolidinonas através de uma reação multicomponente *one-pot* combinada com o uso de biocatalisadores.

Os capítulos 2 e 3 estão organizados nos seguintes itens: “Resumo”, “Introdução”, “Resultados e Discussão” e “Conclusões”. As “Conclusões gerais”, a “Parte Experimental”, as “Referências Bibliográficas” e os “Anexos” encontram-se no final da tese.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Classes de reações biocatalíticas mais aplicadas em escala industrial.	31
Figura 2. Exemplos representativos de compostos quirais obtidos através de reduções enantioespecíficas de ligações duplas C=C catalisadas por ERs (células íntegras e enzimas isoladas).	39
Figura 3. Reatividade dos α -metileno- β -hidroxiésteres frente a diferentes enzimas.	53
Figura 4. Conformação preferencial que leva ao produto <i>anti</i> .	65
Figura 5. Numeração dos hidrogênios dos α -metil- β -hidroxiésteres 13a - 13d.	65
Figura 6. Numeração dos hidrogênios dos α -metil- β -cetoésteres 12a – 12d.	67
Figura 7. Biorredução dos α -metileno- β -cetoésteres.	71
Figura 8. Estudo cinético da redução de 9a mediada por <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .	73
Figura 9. Estudo cinético da redução de 9b mediada por <i>Saccharomyces cerevisiae</i> e variação do excesso enantiomérico do α -metil- β -cetoéster 12b.	74
Figura 10. Estudo cinético da redução de 9c mediada por <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .	76
Figura 11. Estudo cinético da redução de 9d mediada por <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .	77
Figura 12. Representação do modelo para predição da diastereosseletividade mediada por <i>S. cerevisiae</i> .	79
Figura 13. Reação <i>one-pot</i> multicomponente.	88
Figura 14. Cromatograma do padrão <i>rac</i> -13a.	111
Figura 15. Cromatograma do padrão <i>rac</i> -13b.	112
Figura 16. Cromatograma do padrão <i>rac</i> -13c.	112
Figura 17. Cromatograma do padrão <i>rac</i> -13d.	113
Figura 18. Cromatograma do produto da reação de biorredução 13a.	117
Figura 19. Cromatograma do produto da reação de biorredução 13c.	117
Figura 20. Cromatograma do produto da reação de biorredução 13d.	118

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Vantagens e desvantagens da Biocatálise em comparação com a catálise química.	25
Tabela 2. Produção industrial de produtos farmacêuticos e produtos químicos finos utilizando biocatalisadores.	27
Tabela 3. Sínteses de produtos químicos finos por meio de biorreduções catalisadas por células íntegras.	37
Tabela 4. Adutos de Morita-Baylis-Hillman sintetizados.	49
Tabela 5. Reação de MBH do <i>p</i> -nitrobenzaldeído e acrilato de metila (bio)catalisada.	51
Tabela 6. Reação de MBH biocatalisada.	53
Tabela 7. Nova metodologia para a preparação dos α -metileno- β -acetoxiésteres 6a - d.	57
Tabela 8. Condições reacionais testadas para a obtenção do α -metileno- β -acetoxiéster 6b.	59
Tabela 9. Condições reacionais testadas na resolução cinética do α -metileno- β -hidroxiéster 3a.	60
Tabela 10. Oxidação dos α -metileno- β -hidroxiésteres com IBX.	63
Tabela 11. Preparação dos α -metil- β -hidroxiésteres racêmicos.	64
Tabela 12. Preparação dos α -metil- β -cetoésteres racêmicos (12a - 12c).	66
Tabela 13. Preparação dos α -metil- β -cetoésteres racêmicos (12a - 12d).	67
Tabela 14. Triagem enzimática de cetorredutases para os α -metileno- β -cetoésteres 9a – 9d.	69
Tabela 15. Resumo dos resultados obtidos nas reações de biorredução dos α -metileno- β -cetoésteres (9a – 9d).	71
Tabela 16. Resultados obtidos na reação de biorredução do α -metileno- β -cetoéster 9a.	73
Tabela 17. Resultados obtidos na reação de biorredução do α -metileno- β -cetoéster 9b.	74
Tabela 18. Resultados obtidos na reação de biorredução do α -metileno- β -cetoéster 9c.	75
Tabela 19. Resultados obtidos na reação de biorredução do α -metileno- β -cetoéster 9d.	77
Tabela 20. Otimização do solvente na síntese de 4-tiazolidinonas.	92
Tabela 21. Síntese multicomponente de 4-tiazolidinonas com diferentes biocatalisadores.	93

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1. Reações de biorredução de diferentes grupos funcionais.	31
Esquema 2. Classificação das oxidoredutases.	32
Esquema 3. Reações de redução catalisadas pelas desidrogenases.	33
Esquema 4. Redução do <i>n</i> -pentanal utilizando <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .	33
Esquema 5. Reduções de ligações C=O catalisadas por ADHs.	34
Esquema 6. Mecanismo simplificado proposto para a redução de ligação C=O por enzimas ADH.	36
Esquema 7. Exemplo de aplicação industrial de cetorredutases.	36
Esquema 8. Reduções de ligações C=C catalisadas por ERs.	38
Esquema 9. Reação de Morita-Baylis-Hillman.	40
Esquema 10. Diferentes perspectivas sobre a estrutura dos adutos de MBH.	41
Esquema 11. Aplicação dos adutos de MBH na síntese de produtos naturais.	42
Esquema 12. Estratégias atuais para a obtenção dos adutos de MBH quirais.	42
Esquema 13. Rotas sintéticas A e B para a obtenção de derivados dos adutos de MBH.	45
Esquema 14. Mecanismo inicialmente proposto para a reação de MBH.	46
Esquema 15. Proposta mecanística baseada nos estudos de McQuade e Aggarwal.	47
Esquema 16. Reação de Morita-Baylis-Hillman.	48
Esquema 17. Reação de MBH biocatalisada pela BSA.	50
Esquema 18. Mecanismo proposto para catálise proteica da reação de MBH.	50
Esquema 19. Reação de MBH catalisada por BioH esterase de <i>Escherichia coli</i> .	51
Esquema 20. Reação de MBH otimizada.	52
Esquema 21. Representação esquemática simplificada para as reações de oxidação, redução e hidrólise dos α -metileno- β -hidroxiésteres 3a e 3c.	54
Esquema 22. Triagem dos micro-organismos para diferentes atividades enzimáticas.	55
Esquema 23. Preparação do α -metileno- β -acetoxiésteres 6c.	56
Esquema 24. Mecanismo proposto para a formação do α -metileno- β -acetoxiésteres 6c.	56
Esquema 25. Reação de isomerização dos α -metileno- β -acetoxiésteres.	56
Esquema 26. Mecanismo proposto para a formação do α -metileno- α -acetoxiéster 7.	57
Esquema 27. Mecanismo proposto para a formação do α -metileno- α -acetoxiéster 7b.	58
Esquema 28. Resolução cinética dos α -metileno- β -hidroxiésteres racêmicos.	59
Esquema 29. Resolução cinética do 1-feniletanol utilizando a lipase BCL.	60

Esquema 30. Preparação dos α -metileno- β -cetoésteres.	61
Esquema 31. Síntese do ácido 2-iodoxibenzóico (IBX).	61
Esquema 32. Mecanismo proposto para oxidação de álcoois com IBX.	62
Esquema 33. Síntese do α -metileno- β -cetoéster 9c.	62
Esquema 34. Preparação dos α -metil- β -hidroxiésteres racêmicos.	64
Esquema 35. Biorredução dos α -metileno- β -cetoésteres 9a - 9d.	68
Esquema 36. Mecanismo simplificado proposto para a redução de ligação C=C por enzimas enoato redutases.	78
Esquema 37. Representação da racemização do centro estereogênico dos α -metil- β -cetoésteres.	78
Esquema 38. Mecanismo proposto para a seletividade na redução dos α -metileno- β -cetoésteres (9a – 9d) pela levedura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .	81
Esquema 39. Núcleos tiazol (I), tiazolidina (II), 4-tiazolidinonas (III).	85
Esquema 40. Atividade biológica das 4-tiazolidinonas.	86
Esquema 41. Mecanismo proposto para a síntese das 4-tiazolidinonas.	87
Esquema 42. Metodologia proposta para a síntese de 4-tiazolidinonas.	90
Esquema 43. Síntese multicomponente de 4-tiazolidinonas.	91
Esquema 44. Proposta de mecanismo para a biocatálise na síntese das 4-tiazolidinonas.	94
Esquema 45. Isômeros geométricos das 2,3-di-substituídas-4-tiazolidinonas.	95

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ADH - Álcool desidrogenases

AINEs - Anti-inflamatórios não-esteroides

BCL - Lipase de *Burkholderia cepacia*

BSA - Albumina de soro bovino (*bovine serum albumin*)

CAL-B - *Candida Antarctica* do tipo B

CCD - Cromatografia em camada delgada

CD - Dicroísmo circular (*circular dichroism*)

CE - Extrato celular (*cell extract*)

CEIS - Centro de Estudos de Insetos Sociais

CR - Carbonil redutases

DABCO - 1,4-diazabicyclo[2.2.2]octano

DCC - N,N-dicicloexilcarbodiimida

DMAP - 4-dimetilaminopiridina

DMSO - Dimetilssulfóxido

DSC - Cromatografia em sílica seca (*dry silicon chromatography*)

EC - *Enzyme Commission*

ER - Enoato redutases

FDA - *Food and Drug Administration*

FMN - Mononucleotídeo de flavina

GC-FID - Cromatografia gasosa acoplada a detector de ionização em chama (*gas chromatography with flame ionization detector*)

HBTU - hexafluorofosfato de O-(benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametilurônico

HPLC - Cromatografia líquida de alta eficiência (*high performance liquid chromatography*)

IBA - Ácido 2-iodosobenzóico

IBX - Ácido 2-iodoxibenzóico

IV - Infravermelho

KRED - Cetorredutase

m/z - Relação massa/carga

MBH - Morita-Baylis-Hillman

MCR - Reações multicomponentes (*multicomponent reactions*)

MS - Espectrometria de massas (*mass spectrometry*)

NADH/NAD⁺ - Nicotinamida adenina dinucleotídeo

NADPH/NADP⁺ - Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato

OYE - *Old Yellow Enzyme*

Pd/C - Paládio suportado em carvão ativado

PDA - Detector de arranjo de fotodiodos (*photodiode array detector*)

PEG - Polietilenoglicol

PF - Ponto de fusão

ppm - Partes por milhão

REACH - *Registration, Evaluation, Authorization and Restriction of Chemicals*

RMN de ¹³C - Ressonância magnética nuclear de carbono 13

RMN de ¹H - Ressonância magnética nuclear de hidrogênio

t.a. - Temperatura ambiente

TMS - Tetrametilsilano

WLC - Células inteiras liofilizadas (*whole lyophilized cells*)

SUMÁRIO

Capítulo 1.	Introdução geral	23
Capítulo 2.	Sínteses quimioenzimáticas de derivados de β -hidroxiéster	30
2.1	RESUMO	30
2.2	INTRODUÇÃO	31
2.2.1	Reduções Biocatalíticas	31
2.2.2	Reduções enzimáticas de ligações C=O	34
2.2.3	Reduções enzimáticas de ligações C=C	38
2.2.4	A Reação de Morita-Baylis-Hillman - Considerações gerais	40
2.3	OBJETIVOS	44
2.3.1	Objetivo geral	44
2.3.2	Objetivos específicos	44
2.4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
2.4.1	Planejamento sintético	45
2.4.2	Síntese organocatalítica dos α -metileno- β -hidroxiéster	45
2.4.3	Síntese biocatalítica dos α -metileno- β -hidroxiéster	50
2.4.4	Triagem dos micro-organismos para diferentes atividades enzimáticas	53
2.4.5	Preparação dos α -metileno- β -acetoxiésteres – Rota A	55
2.4.6	Resolução Cinética dos α -metileno- β -acetoxiésteres	59
2.4.7	Preparação dos α -metileno- β -cetoésteres – Rota B	60
2.4.8	Preparação dos α -metil- β -hidroxiésteres racêmicos (13a – 13d)	64
2.4.9	Preparação dos α -metil- β -cetoésteres racêmicos (12a - 12d)	66
2.4.10	Triagem enzimática para detecção de cetorredutases (<i>kREDy-to-go plate assay</i> - Prozomix)	67
2.4.11	Biorredução dos α -metileno- β -cetoésteres	70
2.5	CONCLUSÕES	82
Capítulo 3.	Síntese multicomponente <i>one-pot</i> de 4-tiazolidinonas	84

3.1	RESUMO	84
3.2	INTRODUÇÃO	85
3.3	OBJETIVOS	90
3.3.1	Objetivo geral	90
3.3.2	Objetivos específicos	90
3.4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	91
3.5	CONCLUSÕES	96
4.	CONCLUSÕES GERAIS	98
5.	PARTE EXPERIMENTAL	100
5.1	Considerações gerais	100
5.2	Procedimento experimental e dados espectroscópicos dos compostos sintetizados	104
5.2.1	Procedimento geral para síntese dos adutos de MBH	104
5.2.2	Procedimento geral para a síntese dos compostos acetilados (6a – 6d)	106
5.2.3	Procedimento geral para a síntese do ácido 2-iodoxi-benzóico (IBX)	108
5.2.4	Procedimento geral para a síntese dos α -metileno- β -cetoésteres (9a – 9d)	109
5.2.5	Procedimento geral para obtenção de α -metil- β -hidroxiésteres	110
5.2.6	Procedimento geral para obtenção de α -metil- β -cetoésteres	113
5.2.7	Triagem enzimática para detecção de cetorredutases (<i>kREDy-to-go plate assay</i> – Prozomix)	115
5.2.8	Procedimento geral para a biorredução dos α -metileno- β -cetoésteres	115
5.2.9	Procedimento geral para a síntese das 2,3-diaril-4-tiazolidinonas (18a-18c)	118
6.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	121
7.	ANEXOS	127
7.1	Lista de Espectros	127

CAPÍTULO 1

Introdução geral

Capítulo 1. Introdução geral

“The art to make ‘impossible’ reactions work by using the most powerful catalysts on earth – enzymes – is known as BIOCATALYSIS.”

Professor Kurt Faber

Biocatalysis is the chemical process through which enzymes or other biological catalysts perform reactions between organic components.

Nature

Ao longo da história da humanidade os micro-organismos apresentaram uma enorme importância social e econômica. A aplicação de micro-organismos e enzimas microbianas para a preparação e conservação de alimentos e bebidas tem uma longa história (REETZ, 2013; SHELDON; PEREIRA, 2017).

Os seres humanos têm utilizado enzimas há milhares de anos em fermentações para produzir ou conservar alimentos, tais como queijo, vinho, vinagre e cerveja. Os sumérios e os babilônios utilizavam micro-organismos na fermentação de cerveja antes de 6000 a.C., referências à fabricação de vinhos podem ser encontradas no Livro de Gênesis e os egípcios usavam leveduras para fazer pão (SHELDON; PEREIRA, 2017; WANDREY; LIESE; KIHUMBU, 2000).

Os exemplos mais antigos do uso intencional de micro-organismos para conversões desejadas em escala industrial datam de 1815 e 1880, para a produção de ácido acético a partir de etanol e de ácido láctico (enantiopuro), respectivamente (WANDREY; LIESE; KIHUMBU, 2000).

Os micro-organismos são atualmente utilizados para a produção de diversos compostos químicos complexos: na produção de metabólitos primários como ácidos orgânicos, aminoácidos, nucleotídeos e vitaminas e metabólitos secundários como antibióticos, perfumes, corantes e pigmentos. A utilização de micro-organismos atualmente é especialmente atrativa para a produção de compostos enantiomericamente puros (CHIN-JOE, 2002).

O interesse pela síntese de compostos opticamente puros é cada vez mais frequente nas indústrias farmacêuticas, de química fina e alimentícias onde a importância da relação entre atividade biológica e estereoisomerismo destes compostos já está bem estabelecida. Contudo, apesar dos constantes progressos em síntese assimétrica, a obtenção de compostos

enantiomericamente puros ainda é, certamente, um dos desafios mais importantes para a síntese orgânica e, por consequência, para a indústria atualmente (CUNHA et al., 2015).

Na última década, o regulamento REACH (*Registration, Evaluation, Authorization and Restriction of Chemicals*), que tem como objetivo melhorar a proteção da saúde humana e do ambiente frente aos riscos que podem resultar dos produtos químicos tóxicos, e as restrições ambientais aprovadas pelos EUA, Japão e União Europeia, resultaram em um grande debate na indústria de produtos químicos finos sobre o seu futuro. De forma geral, o aumento das condições de segurança, qualidade e a minimização dos impactos ambientais nos processos industriais, apontaram a necessidade de um desenvolvimento mais sustentável e economicamente atraente para a síntese de compostos enantiomericamente puros (SOLANO et al., 2012).

A Química Verde, que visa minimizar os riscos ambientais dos processos químicos e seus produtos, pode ser definida como o desenho, desenvolvimento e implementação de produtos químicos e processos para reduzir ou eliminar o uso ou geração de substâncias nocivas à saúde humana e ao ambiente. Desde a sua introdução por Anastas, este princípio inspirou os pesquisadores a repensar criticamente a química, em relação ao seu potencial impacto causado ao meio ambiente. Em especial, os 12 Princípios da Química Verde têm sido fonte de inspiração e servem de orientação para este processo. A Biocatálise é amplamente considerada como uma das tecnologias-chave para o sucesso da implementação da Química Verde pois cumpre vários dos 12 princípios e é considerada como sendo química verde *per se*. Desta forma, a Química Verde, vem mudando paradigmas na pesquisa e desenvolvimento das indústrias. (McELROY et al., 2015; NI; HOLTMANN; HOLLMANN, 2014; SHELDON, 2012, 2016, 2017; SHELDON; PEREIRA, 2017).

Diante do contexto apresentado, nas últimas décadas, observou-se um crescente interesse no emprego de biocatalisadores (enzimas e/ou micro-organismos) em sínteses orgânicas tanto no meio acadêmico como no setor industrial.

Os processos de síntese química tradicionais usualmente fornecem altos rendimentos, no entanto, eles podem não ser amigáveis com o meio ambiente e muitas vezes estão associados à produção de subprodutos indesejados, levando a uma redução de eficiência e aumentando os custos do processo. Em comparação com a catálise química clássica, a Biocatálise oferece algumas vantagens únicas, Tabela 1, e se apresenta como uma alternativa eficiente e ambientalmente amigável em relação a síntese química tradicional (LIN; TAO, 2017).

Tabela 1. Vantagens e desvantagens da Biocatálise em comparação com a catálise química.

Vantagens	- Potencial seletividade (regio-, quimio-, e estereosseletividade). - Alta eficiência catalítica. - Reações de várias etapas <i>one-pot</i> com regeneração dos cofatores (células íntegras). - Reuso às vezes é possível. - 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. - A membrana celular pode atuar como uma barreira de transporte de massa. - Pode ocorrer a formação de subprodutos indesejáveis que dificultam a purificação do produto.

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

A principal vantagem apresentada pelos biocatalisadores é a sua alta seletividade. A alta seletividade de um catalisador, regio-, quimio- e estereosseletividade, é uma característica desejável na área de síntese orgânica, especialmente na síntese de moléculas complexas com diferentes grupos funcionais, e proporciona benefícios como o reduzido ou inexistente uso de grupos de proteção, minimizando reações secundárias de proteção e desproteção. Diversos exemplos mostram a capacidade dos biocatalisadores para promover reações difíceis ou impossíveis pelas vias sintéticas clássicas (HOLLMANN; ARENDS; HOLTMANN, 2011).

As enzimas também são consideradas catalisadores eficientes do ponto de vista energético, pois operam a temperaturas e pressões brandas. Geralmente, o meio reacional é a água e o pH do meio situa-se numa faixa moderada, oferecendo condições reacionais desejadas. Adicionalmente, os biocatalisadores são catalisadores provenientes de fontes naturais e, portanto, causam um impacto ambiental menor comparados aos catalisadores sintéticos, os quais são, por muitas vezes, obtidos através de vias sintéticas complexas e poluentes (BOMMARIUS; RIEBEL, 2004). Além disso a maioria dos sistemas quimio-catalíticos empregam metais, e a sustentabilidade da oferta em termos de reservas e potenciais impactos geopolíticos precisam ser considerados. Atualmente já existem elementos definidos como críticos em relação ao alto risco de escassez de suprimento (em termos de abundância e/ou questões geopolíticas). Elementos como rutênio, ródio, platina e ouro correm risco de esgotamento dentro dos próximos 5-50 anos, enquanto elementos como paládio, níquel e cobre correm risco de esgotamento dentro dos próximos 50-100 anos (McELROY et al., 2015).

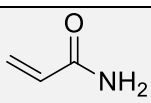
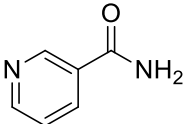
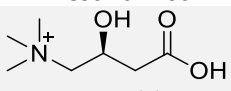
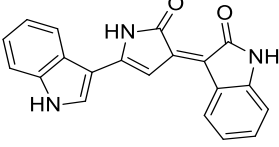
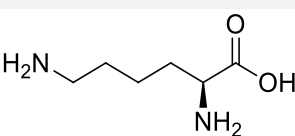
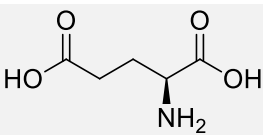
Os biocatalisadores podem ser utilizados de diferentes formas, como células íntegras, imobilizadas ou não, extratos enzimáticos brutos, ou ainda como enzimas puras, imobilizadas ou não. Os micro-organismos e enzimas utilizados podem ser selvagens ou modificados

geneticamente. Quando os biocatalisadores são utilizados na forma de células íntegras fornecem algumas vantagens únicas sobre o uso de extratos enzimáticos brutos, e de enzimas puras. Inicialmente, o uso de células íntegras é a forma mais econômica de uso dos biocatalisadores, especialmente quando há necessidade de cofatores, já que as células íntegras fornecem os cofatores necessários para as biotransformações e simplificam sua regeneração, geralmente tornando desnecessária a adição externa de cofatores, o que simplifica o procedimento e reduz os custos (WACHTMEISTER; ROTHER, 2016). O fornecimento e regeneração dos cofatores permite que os biocatalisadores na forma de células íntegras sejam aplicados com sucesso em reações em cascata, que abrangem múltiplas reações consecutivas (LADKAU; SCHMID; BÜHLER, 2014).

As células íntegras ainda fornecem o ambiente mais conhecido para as enzimas. A presença da membrana celular protege e ajuda na estabilização das enzimas, evitando alterações conformacionais na estrutura tridimensional proteica (CARVALHO, 2017; LIN; TAO, 2017; WACHTMEISTER; ROTHER, 2016).

Nas últimas décadas, muitos processos biocatalíticos utilizando células íntegras foram implementados para produzir uma grande variedade de produtos em grandes indústrias (Tabela 2) (CARVALHO, 2017).

Tabela 2. Produção industrial de produtos farmacêuticos e produtos químicos finos utilizando biocatalisadores.

Composto	Micro-organismo	Produção (ton/ano)	Empresa
 Acrilamida	<i>Rhodococcus rhodochrous J1</i>	30.000	Mitsubishi Rayon
 Nicotinamida	<i>Rhodococcus rhodochrous J1</i>	6.000	Lonza
 L-Carnitina	<i>Agrobacterium/Rhizobium HK1349</i>	180	Lonza
 Violaceina	<i>Iodobacter sp.</i>	-	Swissaustral
Vitamina B12	<i>Paracoccus denitrificans</i> <i>Propionibacterium shermanii</i>	35	Sanofi-Aventis, Hebei Huarong Pharmaceutical, NCPC Victor e Hebei Yuxing Bio-Engineering
 L-Lisina	<i>Corynebacterium glutamicum</i>	1,9 milhões	Ajinomoto
 L-Glutamato	<i>Corynebacterium glutamicum</i>	2,9 milhões	Ajinomoto

Fonte: Adaptado de Carvalho (CARVALHO, 2017)

A utilização de células íntegras como biocatalisadores apresenta importantes vantagens em relação às enzimas isoladas, porém também apresenta algumas desvantagens.

Reações biocatalisadas utilizando células íntegras podem apresentar, muitas vezes, um maior número de produtos secundários, já que outros sistemas enzimáticos presentes na célula podem catalisar reações indesejáveis no substrato ou ainda nos produtos da reação. O uso de solventes orgânicos ainda pode ser uma limitação, visto que estes podem danificar a membrana celular e desta forma inativar o sistema catalítico. A toxicidade do substrato para a célula e a capacidade de penetração do substrato na célula podem ser obstáculos à utilização de células íntegras como biocatalisadores. Outro fator a ser considerado é a recuperação do produto final, que pode ser complexa.

As enzimas isoladas apresentam como principais vantagens uma maior seletividade, facilidade na recuperação do produto ao final da reação e a possibilidade de usar cossolventes, sistema multifásicos ou mesmo, solventes orgânicos dependendo da estabilidade da enzima.

Contudo, a utilização de enzimas isoladas apresenta como desvantagens o elevado custo de produção, a baixa estabilidade de algumas enzimas e a necessidade de adição e regeneração dos cofatores (em enzimas dependentes de cofatores). Além disso, não são todos os catalisadores enzimáticos presentes nas células que podem ser isolados, existem alguns que não resistem aos processos de isolamento e purificação (BOMMARIUS; RIEBEL, 2004; HOLLMANN; ARENDS; HOLTMANN, 2011).

Como foi apresentado, os biocatalisadores na forma de células íntegras, ou na forma de enzimas isoladas apresentam vantagens e desvantagens, assim a escolha do biocatalisador deve ser analisada caso a caso.

Conclusões gerais

4. CONCLUSÕES GERAIS

No desenvolvimento deste trabalho, foi possível efetuar biorreduções enzimáticas quimio- e enantiosseletivas em α -metileno- β -cetoésteres e demonstrar as potencialidades da catálise enzimática na síntese dos derivados de 2,3-diaril-4-tiazolidinonas. Ambos substratos apresentam potencial interesse em síntese orgânica assimétrica.

No Capítulo 2, apresentamos a obtenção dos α -metil- β -hidroxiésteres com alta diastereo- e enantiosseletividades através de uma redução biocatalítica utilizando a levedura *Saccharomyces cerevisiae*. Os resultados apontados neste capítulo confirmaram as potencialidades da aplicação da Biocatálise e da levedura *Saccharomyces cerevisiae* na síntese dos α -metil- β -hidroxiésteres.

No Capítulo 3, mostramos que os derivados de 2,3-diaril-4-tiazolidinonas podem ser sintetizados com bons rendimentos empregando a eficiência das reações multicomponentes combinadas com os aspectos sustentáveis da Biocatálise. Os resultados apresentados neste capítulo evidenciaram as potencialidades da catálise enzimática na síntese dos derivados de 2,3-diaril-4-tiazolidinonas e podem contribuir para o desenvolvimento de novas metodologias sintéticas mais sustentáveis para a preparação dessa classe de compostos.

De maneira geral, demonstramos com este trabalho que o emprego da Biocatálise utilizando enzimas isoladas ou células íntegras é capaz de fornecer alternativas eficientes e potencialmente quimio- e estereosseletivas para a transformação de uma ampla variedade de compostos orgânicos.

Referências Bibliográficas

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVIM, H. G. O.; SILVA JÚNIOR, E. N. da; NETO, B. A. D. What do we know about multicomponent reactions? Mechanisms and trends for the Biginelli, Hantzsch, Mannich, Passerini and Ugi MCRs. **RSC Advances**, v. 4, n. 97, p. 54282–54299, 2014.
- AMARANTE, G. W. et al. Dualistic nature of the mechanism of the Morita-Baylis-Hillman reaction probed by electrospray ionization mass spectrometry. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 74, n. 8, p. 3031–3037, 2009.
- ARENDS, I. W. C. E.; SHELDON, R. A.; HANEFELD, U. Catalytic reductions. In: _____. **Green chemistry and catalysis**. Weinheim: Wiley-VCH, 2007. p. 91–132.
- BARONE, V. et al. Intramolecular C-H-O interaction between lactam oxygen and N-alkyl protons. **Journal of Molecular Graphics and Modelling**, v. 19, n. 3/4, p. 318–324, 2001.
- BASAVAIHA, D.; VEERARAGHAVAIHA, G. The Baylis-Hillman reaction: a novel concept for creativity in chemistry. **Chemical Society Reviews**, v. 41, p. 68–78, 2012.
- BIGGS-HOUCK, J. E.; YOUNAI, A.; SHAW, J. T. Recent advances in multicomponent reactions for diversity-oriented synthesis. **Current Opinion in Chemical Biology**, v. 14, n. 3, p. 371–382, 2010.
- BOECKMAN, R. K.; SHAO, P.; MULLINS, J. J. The Dess-Martin periodinane: 1,1,1-triacetoxy-1,1-dihydro-1,2-benziodoxol-3(1H)-one. **Organic Syntheses**, v. 10, p. 141–152, 2003.
- BOLOGNESE, A. et al. Thiazolidin-4-one formation. Mechanistic and synthetic aspects of the reaction of imines and mercaptoacetic acid under microwave and conventional heating. **Organic & Biomolecular Chemistry**, v. 2, p. 2809–2813, 2004.
- BOMMARIUS, A. S.; RIEBEL, B. R. Introduction to biocatalysis. In: _____. **Biocatalysis: fundamentals and applications**. Weinheim: Wiley-VCH, 2004. p. 1–18.
- BROWN, F. C. 4-Thiazolidinones. **Chemical Reviews**, v. 61, p. 463–521, 1961.
- BUQUE, E. M. et al. Immobilization affects the rate and enantioselectivity of 3-oxo ester reduction by baker's yeast. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 31, n. 5, p. 656–664, 2002.
- CARVALHO, C. C. C. R. de. Whole cell biocatalysts: essential workers from nature to the industry. **Microbial Biotechnology**, v. 10, n. 2, p. 250–263, 2017.
- CELANESE CORPORATION (New York). A. B. BAYLIS; M. E. D. HILLMAN. **Verfahren zur Herstellung von Acrylverbindungen**. DE 19712155113, 5 Nov. 1971, 10 Mai 1972.
- CELANESE CORPORATION (New York). A. B. BAYLIS; M. E. D. HILLMAN. **Reaction of acrylic type compounds with aldehydes and certain ketones**. US 3743669 A, 6 Nov. 1970, 3 July 1973.
- CHAVES, M. R. B.; MORAN, P. J. S.; RODRIGUES, J. A. R. Regio- and enantioselective bioreduction of methyleneketoesters using both polymeric resin and cellulose matrix. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 98, p. 73–77, 2013.
- CHIN-JOE, I. **Process development of enantioselective 3-oxo ester reduction by Baker's yeast**. 2002. 136 p. Thesis (Doctoral) - Delft University of Technology, Delft, 2002.
- CIRILLI, R. et al. Semipreparative HPLC enantioseparation, chiroptical properties, and absolute configuration of two novel cyclooxygenase-2 inhibitors. **Chirality**, v. 22, p. 56–62, 2010.

- CLOSOSKI, G. C. et al. Regio- and enantioselective reduction of methyleneketoesters mediated by *Saccharomyces cerevisiae*. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 48, n. 3–4, p. 70–76, 2007.
- COELHO, F.; ALMEIDA, W. P. Reação de Baylis-Hillman: uma estratégia para a preparação de intermediários multifuncionalizados para síntese orgânica. **Química Nova**, v. 23, n. 1, p. 98–101, 2000.
- COELHO, F. et al. Ultrasound in Baylis-Hillman reactions with aliphatic and aromatic aldehydes: scope and limitations. **Tetrahedron**, v. 58, n. 37, p. 7437–7447, 2002.
- CUNHA, R. L. O. R. et al. Biocatalysis for desymmetrization and resolution of stereocenters beyond the reactive center: how far is far enough? **Biotechnology Advances**, v. 33, n. 5, p. 614–623, 2015.
- de GRAAFF, C.; RUIJTER, E.; ORRU, R. V. A. Recent developments in asymmetric multicomponent reactions. **Chemical Society Reviews**, v. 41, n. 10, p. 3969–4009, 2012.
- De MUNARI, S. et al. Hypervalent iodine oxidants: structure and kinetics of the reactive intermediates in the oxidation of alcohols and 1,2-diols by o-iodoxybenzoic acid (IBX) and Dess-Martin periodinane. A comparative 1H-NMR study. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 61, n. 26, p. 9272–9279, 1996.
- DEOL, B. S.; RIDLEY, D. D.; SIMPSON, G. W. Asymmetric reduction of carbonyl compounds by yeast. II* Preparation of optically active a- and b-hydroxy carboxylic acid derivatives. **Australian Journal of Chemistry**, v. 11, n. 29, p. 2459–2467, 1976.
- DÖMLING, A.; UGI, I. Multicomponent reactions with isocyanides. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 39, p. 3168–3210, 2000.
- DREWES, S. E.; ROOS, G. H. P. Synthetic potential of the tertiary-amine-catalysed reaction of activated vinyl carbanions with aldehydes. **Tetrahedron**, v. 44, n. 15, p. 4653–4670, 1988.
- DREWES, S. E. et al. Facile diastereoselective synthesis of 2,6-dialkyl-5-methylene-1,3-dioxan-4-ones via a-activated vinyl esters. **Chemische Berichte**, v. 123, p. 1447–1448, 1990.
- EL AZAB, I. H.; ABDEL-HAFEZ, S. H. One-pot three-component microwave-assisted synthesis of novel thiazolidinone derivatives containing thieno[d]pyrimidine-4-one moiety as potential antimicrobial agents. **Russian Journal of Bioorganic Chemistry**, v. 41, n. 3, p. 315–323, 2015.
- FABER, K. **Biotransformations in organic chemistry**. 4th ed. Berlin: Springer-Verlag, 2000.
- FORT, Y.; BERTHE, M. C.; CAUBERE, P. The “Baylis-Hillman reaction” mechanism and applications revisited. **Tetrahedron**, v. 48, n. 31, p. 6371–6384, 1992.
- FRIGERIO, M.; SANTAGOSTINO, M. A mild oxidizing reagent for alcohols and 1,2-diols: o-iodoxybenzoic acid (IBX) in DMSO. **Tetrahedron Letters**, v. 35, n. 43, p. 8019–8022, 1994.
- FRIGERIO, M. et al. Oxidation of alcohols with o-iodoxybenzoic acid (IBX) in DMSO: a new insight into an old hypervalent iodine reagent. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 60, n. 22, p. 7272–7276, 1995.
- GOFFEAU, A. et al. Life with 6000 genes. **Science**, v. 274, n. 5287, p. 546, 563–7, 1996.
- GUPTA, R. Recent advances in chemistry of condensed 4-thiazolidinones. **Journal of Heterocyclic Chemistry**, v. 53, n. 6, p. 1687–1696, 2016.
- HE, L. et al. Chiral bifunctional n-heterocyclic carbenes: synthesis and application in the aza-Morita-Baylis-Hillman reaction. **Synthesis**, n. 17, p. 2825–2829, 2008.
- HILL, J. S.; ISAACS, N. S. Mechanism of a-substitution reactions of acrylic derivatives. **Journal of Physical Organic Chemistry**, v. 3, n. 5, p. 285–288, 1990.
- HOFFMANN, H. M. R.; RABE, J. Preparation of 2-(1-hydroxyalkyl)acrylic esters; simple three-step synthesis of mikanecic acid. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 22, n. 10, p. 795–796, 1983.

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

HOLMES, C. P. et al. Strategies for combinatorial organic synthesis: solution and polymer-supported synthesis of 4-thiazolidinones and 4-metathiazanones derived from amino acids. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 60, n. 22, p. 7328–7333, 1995.

HU, J. et al. Synthesis and biological evaluation of novel thiazolidinone derivatives as potential anti-inflammatory agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 64, p. 292–301, 2013.

HULME, C.; GORE, V. “Multi-component reactions: emerging chemistry in drug discovery” “from xylocain to crivivan”. **Current Medicinal Chemistry**, v. 10, p. 51–80, 2003.

ISENEGGER, P. G.; BÄCHLE, F.; PFALTZ, A. Asymmetric Morita-Baylis-Hillman reaction: catalyst development and mechanistic insights based on mass spectrometric back-reaction screening. **Chemistry - A European Journal**, v. 22, n. 49, p. 17595–17599, 2016.

JIANG, L.; YU, H. WEI. An example of enzymatic promiscuity: the Baylis-Hillman reaction catalyzed by a biotin esterase (BioH) from *Escherichia coli*. **Biotechnology Letters**, v. 36, n. 1, p. 99–103, 2014.

KALAITZAKIS, D. et al. Highly stereoselective reductions of α -alkyl-1,3-diketones and α -alkyl- β -keto esters catalyzed by isolated NADPH-dependent ketoreductases. **Organic Letters**, v. 7, n. 22, p. 4799–4801, 2005.

KAWAI, Y. et al. Asymmetric reduction of β -keto esters with an enzyme from Baker's yeast. **Bulletin of the Chemical Society of Japan**, v. 67, p. 524–528, 1994.

LADKAU, N.; SCHMID, A.; BÜHLER, B. The microbial cell-functional unit for energy dependent multistep biocatalysis. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 30, p. 178–189, 2014.

LIESE, A.; SEELBACH, K.; WANDREY, C. (Ed.). **Industrial biotransformations**. 2nd ed. Weinheim: Wiley-VCH, 2006.

LIMA-JUNIOR, C. G.; VASCONCELLOS, M. L. A A. Morita-Baylis-Hillman adducts: biological activities and potentialities to the discovery of new cheaper drugs. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 20, n. 13, p. 3954–3971, 2012.

LIN, B.; TAO, Y. Whole-cell biocatalysts by design. **Microbial Cell Factories**, v. 16, p. 1–12, 2017.

MASON, P. H.; EM, N. D. Some mechanistic and synthetic aspects of the DABCO catalysed rearrangement of allylic esters. **Tetrahedron**, v. 50, n. 41, p. 12001–12008, 1994.

MATEUS, C. R.; ALMEIDA, P.; COELHO, F. Diastereoselective heterogeneous catalytic hydrogenation of Baylis-Hillman adducts. **Tetrahedron Letters**, v. 41, p. 2533–2536, 2000.

McELROY, C. R. et al. Towards a holistic approach to metrics for the 21st century pharmaceutical industry. **Green Chemistry**, v. 17, n. 5, p. 3111–3121, 2015.

MILAGRE, C. D. F. et al. Screening and reaction engineering for the bioreduction of ethyl benzoylacetate and its analogues. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 56, p. 55–60, 2009.

MORE, J. D.; FINNEY, N. S. A simple and advantageous protocol for the oxidation of alcohols with *o*-iodoxybenzoic acid (IBX). **Organic Letters**, v. 4, n. 17, p. 3001–3003, 2002.

MORI, K. Synthesis of optically active pheromones. **Tetrahedron**, v. 45, n. 1, p. 3233–3298, 1989.

MORITA, K.; SUZUKI, Z.; HIROSE, H. A tertiary phosphine-catalyzed reaction of acrylic compounds with aldehydes. **Bulletin of the Chemical Society of Japan**, v. 41, p. 2815, 1968.

NESTL, B. M. et al. New generation of biocatalysts for organic synthesis. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 53, n. 12, p. 3070–3095, 2014.

- NI, Y.; HOLTSMANN, D.; HOLLMANN, F. How green is biocatalysis? To calculate is to know. **ChemCatChem**, v. 6, n. 4, p. 930–943, 2014.
- PAULA, B. R. S. de et al. Enantiodivergence in the reduction of α -methyl and α -halomethyl enones by microorganisms. **Tetrahedron Asymmetry**, v. 24, n. 17, p. 973–981, 2013.
- PEREIRA, R. D. S. The use of Baker's yeast in the generation of asymmetric centers to produce chiral drugs and other compounds. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 18, n. 1, p. 25–64, 1998.
- PRASAD, D.; PREETAM, A.; NATH, M. DBSA catalyzed, one-pot three-component "on water" green protocol for the synthesis of 2,3-disubstituted 4-thiazolidinones. **RSC Advances**, v. 2, n. 7, p. 3133–3140, 2012.
- PRATAP, U. R. et al. *Saccharomyces cerevisiae* catalyzed one-pot three component synthesis of 2,3-diaryl-4-thiazolidinones. **Tetrahedron Letters**, v. 52, n. 14, p. 1689–1691, 2011.
- PRICE, K. E. et al. Baylis-Hillman mechanism: a new interpretation in aprotic solvents. **Organic Letters**, v. 7, n. 1, p. 147–150, 2005.
- RAMÓN, D. J.; YUS, M. Asymmetric multicomponent reactions (AMCRs): the new frontier. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 44, n. 11, p. 1602–1634, 2005.
- RAWAL, R. K. et al. An expeditious synthesis of thiazolidinones and metathiazanones. **Journal of Chemical Research**, v. 76, n. 5, p. 368–369, 2004.
- REETZ, M. T. Biocatalysis in organic chemistry and biotechnology: past, present, and future. **Journal of the American Chemical Society**, v. 135, n. 34, p. 12480–12496, 2013.
- REETZ, M. T.; MONDIÈRE, R.; CARBALLEIRA, J. D. Enzyme promiscuity: first protein-catalyzed Morita-Baylis-Hillman reaction. **Tetrahedron Letters**, v. 48, n. 10, p. 1679–1681, 2007.
- ROBIETTE, R.; AGGARWAL, V. K.; HARVEY, J. N. Mechanism of the Morita-Baylis-Hillman reaction: a computational investigation. **Journal of the American Chemical Society**, v. 129, n. 50, p. 15513–15525, 2007.
- RODRÍGUEZ, S.; KAYSER, M.; STEWART, J. D. Improving the stereoselectivity of Bakers' yeast reductions by genetic engineering. **Organic Letters**, v. 1, n. 8, p. 1153–1155, 1999.
- RODRÍGUEZ, S.; KAYSER, M. M.; STEWART, J. D. Highly stereoselective reagents for β -keto ester reductions by genetic engineering of Baker's yeast. **Journal of the American Chemical Society**, v. 123, n. 8, p. 1547–1555, 2001.
- RODRÍGUEZ, S. et al. Asymmetric synthesis of β -hydroxy esters and α -alkyl- β -hydroxy esters by recombinant *Escherichia coli* expressing enzymes from Baker's yeast. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 65, n. 8, p. 2586–2587, 2000.
- SALIAN, V.; NARAYANA, B.; SAROJINI, B. N-(4-Nitrophenyl)-2-{2-[3-(4-chlorophenyl)-5-[4-(propan-2-yl)phenyl]-4,5-dihydro-1H-pyrazol-1-yl]-4-oxo-4,5-dihydro-1,3-thiazol-5-yl}acetamide. **Molbank**, v. 2017, n. 2, p. M943, 2017. doi:10.3390/M943.
- SANTOS, M. S.; COELHO, F. Oxidizing Morita-Baylis-Hillman adducts towards vicinal tricarbonyl compounds. **RSC Advances**, v. 2, n. 8, p. 3237–3241, 2012.
- SHELDON, R. A. Fundamentals of green chemistry: efficiency in reaction design. **Chemical Society Reviews**, v. 41, n. 4, p. 1437–1451, 2012.
- SHELDON, R. A. Green chemistry, catalysis and valorization of waste biomass. **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical**, v. 422, p. 3–12, 2016.
- SHELDON, R. A. The E factor 25 years on: the rise of green chemistry and sustainability. **Green Chemistry**, v. 19, n. 1, p. 18–43, 2017.

- SHELDON, R. A.; PEREIRA, P. C. Biocatalysis engineering: the big picture. **Chemical Society Reviews**, v. 46, n. 10, p. 2678–2691, 2017.
- SOLANO, D. M. et al. Industrial biotransformations in the synthesis of building blocks leading to enantiopure drugs. **Bioresource Technology**, v. 115, p. 196–207, 2012.
- SOUZA, R. O. M. A. de et al. Kinetic resolution of rac-1-phenylethanol with immobilized lipases: a critical comparison of microwave and conventional heating protocols. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 74, p. 6157–6162, 2009.
- SRIVASTAVA, T.; HAQ, W.; KATTI, S. B. Carbodiimide mediated synthesis of 4-thiazolidinones by one-pot three-component condensation. **Tetrahedron**, v. 58, p. 7619–7624, 2002.
- STUERMER, R. et al. Asymmetric bioreduction of activated C=C bonds using enoate reductases from the old yellow enzyme family. **Current Opinion in Chemical Biology**, v. 11, n. 2, p. 203–213, 2007.
- SYAMALA, M. Recent progress in three-component reactions. An update. **Organic Preparations and Procedures International**, v. 41, p. 1–68, 2009.
- TRIPATHI, A. C. et al. 4-Thiazolidinones: the advances continue. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 72, p. 52–77, 2014.
- UNSAL-TAN, O. et al. Molecular modeling, synthesis and screening of some new 4-thiazolidinone derivatives with promising selective COX-2 inhibitory activity. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 57, p. 59–64, 2012.
- van der HEIJDEN, G.; RUIJTER, E.; ORRU, R. V. A. Efficiency, diversity, and complexity with multicomponent reactions. **Synlett**, v. 24, n. 6, p. 666–685, 2013.
- VERMA, A.; SARAF, S. K. 4-Thiazolidinone - A biologically active scaffold. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 43, n. 5, p. 897–905, 2008.
- VIGORITA, M. G. et al. Ir and pmr spectra of 2-aryl-4-thiazolidinones. III. Stereochemical analysis of 2-aryl-3-(2-pyridyl)-4-thiazolidinones. **Journal of Heterocyclic Chemistry**, v. 16, n. 6, p. 1257–1261, 1979.
- WACHTMEISTER, J.; ROTHER, D. Recent advances in whole cell biocatalysis techniques bridging from investigative to industrial scale. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 42, p. 169–177, 2016.
- WANDREY, C.; LIESE, A.; KIHUMBU, D. Industrial biocatalysis: past, present, and future. **Organic Process Research & Development**, v. 4, n. 4, p. 286–290, 2000.
- WEI, Y.; SHI, M. Recent advances in organocatalytic asymmetric Morita-Baylis-Hillman/aza-Morita-Baylis-Hillman reactions. **Chemical Reviews**, v. 113, p. 6659–6690, 2013.
- WINKLER, C. K. et al. Asymmetric bioreduction of activated alkenes to industrially relevant optically active compounds. **Journal of Biotechnology**, v. 162, n. 4, p. 381–389, 2012.
- WOLFSON, A.; DLUGY, C.; TAVOR, D. Baker's yeast catalyzed asymmetric reduction of prochiral ketones in different reaction mediums. **Organic Communications**, v. 6, n. 1, p. 1–11, 2013.
- YANG, J. W. et al. Metal-free, organocatalytic asymmetric transfer hydrogenation of α,β -unsaturated aldehydes. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 44, n. 1, p. 108–110, 2005.
- ZHDANKIN, V. V.; STANG, P. J. Chemistry of polyvalent iodine. **Chemical Reviews**, v. 108, n. 12, p. 5299–5358, 2008.
- ZHENG, H. et al. Trypsin-catalyzed one-pot multicomponent synthesis of 4-thiazolidinones. **Catalysis Letters**, v. 143, n. 3, p. 298–301, 2013.