

GABRIEL OLIVEIRA JANUÁRIO

Epoxidações assimétricas quimioenzimáticas: uma nova rota para a síntese de β -amino- α -hidroxiácidos quirais

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

Orientador: Prof. Dr. Humberto Márcio Santos Milagre

Araraquara

2019

FICHA CATALOGRÁFICA

J33e	Januário, Gabriel Oliveira Epoxidações assimétricas quimioenzimáticas: uma nova rota para a síntese de β-amino-α-hidroxiácidos quirais / Gabriel Oliveira Januário. – Araraquara : [s.n], 2019 59 f. : il. Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química Orientador: Humberto Márcio Santos Milagre 1. Lipase. 2. Biocatálise. 3. Prolina. 4. Síntese assimétrica. 5. Oxidação. I. Título.
------	---

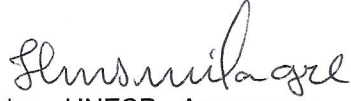
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

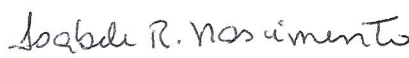
TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: "Epoxidações assimétricas quimioenzimáticas: uma nova rota para a síntese de -amino--hidroxiácidos quirais"

AUTOR: GABRIEL OLIVEIRA JANUÁRIO

ORIENTADOR: HUMBERTO MÁRCIO SANTOS MILAGRE

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

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

Profª. Drª. ISABELE RODRIGUES NASCIMENTO 
Departamento de Química Orgânica / Instituto de Química - UNESP - Araraquara

Prof. Dr. RAFAEL MAFRA DE PAULA DIAS 
Departamento de Química, Biotecnologia e Engenharia de Bioprocessos / Universidade Federal de São João del-Rei - UFSJ - Ouro Branco

Araraquara, 05 de agosto de 2019

DADOS CURRICULARES

IDENTIFICAÇÃO

Nome: Gabriel Oliveira Januário

Nome em citações bibliográficas: JANUÁRIO, G. O.

FORMAÇÃO ACADÊMICA

- Pós-graduação (*stricto sensu*), Mestrado em Química, área de concentração: Química Orgânica, Título: “Epoxidações assimétricas quimioenzimáticas: uma nova rota para a síntese de β -amino- α -hidroxiácidos quirais” sob orientação do Prof. Dr. Humberto Márcio Santos Milagre, no Instituto de Química de Araraquara (IQAr – UNESP), Araraquara/SP, Brasil, 2018-2019.

- Graduação em Bacharel em Química pelo Instituto de Química de Araraquara (IQAr – UNESP), Araraquara/SP, Brasil, 2014-2017.

FORMAÇÃO COMPLEMENTAR

- Minicurso “Química Sustentável: Aplicações no meio acadêmico e industrial”, promovido pelo Centro de Excelência para Pesquisa em Química Sustentável (CERSusChem) e realizado na Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), São Carlos/SP, Brasil, 05 de outubro de 2017, 8 horas.

PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA

Trabalhos publicados em anais de eventos científicos

- **JANUÁRIO, G. O.**; SANTOS, N. C. F.; MILAGRE, H. M. S.; Enzymatic kinetic resolution of benzylic alcohols performed in continuous flow bioreactor, painel, 17th Brazilian Meeting on Organic Synthesis, Salvador/BA, 21 - 24 de outubro de 2018.

- MILAGRE, H. M. S.; **JANUÁRIO, G. O.**; Continuous Flow Enzymatic Kinetic Resolution of Benzylic Alcohols: Development of a Low Cost Homemade Bioreactor, painel, 41ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Foz do Iguaçu/PR, Brasil, 21 - 24 de maio de 2018.

- **JANUÁRIO, G. O.**; MILAGRE, H. M. S.; Resolução cinética enzimática de aminas benzílicas catalisada por lipase, painel, XXIX Congresso de Iniciação Científica da UNESP, Araraquara/SP, Brasil, 2017.

Apresentação de trabalho e/ou palestra

- **JANUÁRIO, G. O.**; SANTOS, N. C. F.; MILAGRE, H. M. S.; Enzymatic kinetic resolution of benzylic alcohols performe in continuous flow bioreactor, painel, 17th Brazilian Meeting on Organic Synthesis, Salvador/BA, 21 - 24 de outubro de 2018.

- **JANUÁRIO, G. O.**; MILAGRE, H. M. S.; Resolução cinética enzimática de aminas benzílicas catalisada por lipase, painel, XXIX Congresso de Iniciação Científica da UNESP, Araraquara/SP, Brasil, 2017.

Estágios e Bolsas Auxílio

- Bolsa de mestrado no período de 26/02/2018 a 31/08/2019, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Processo: 132201/2018-6

- Estágio à docência na disciplina de Química Orgânica Experimental para o curso de graduação em Química (BQ/BQT) realizado no 2º semestre de 2018 sob supervisão do Prof. Dr. Humberto Márcio Santos Milagre no Instituto de Química de Araraquara (IQAr – UNESP), Araraquara/SP, Brasil, 2018.

Participação em eventos

- 17th BMOS – Brazilian Meeting on Organic Synthesis
- 1ª Escola de Verão do Instituto de Química de Araraquara
- XXIX Congresso de Iniciação Científica da UNESP

Organização de eventos

- Integrante da equipe de apoio ao festival internacional de divulgação científica Pint of Science, Araraquara, 15 - 17 de maio de 2017 e 14 - 16 de maio de 2018, 30 horas.

Minicursos ministrados

- Integrante da equipe de organização e realização do minicurso “Biocatálise: fundamentos e imobilização de biocatalisadores” na 1ª Escola de Verão do Instituto de Química de Araraquara (IQAr – UNESP), Araraquara/SP, Brasil, 26 de fevereiro a 02 de março de 2018, 20 horas.

A meus pais, minha irmã, Manu, Mel e Meg.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Humberto Márcio Santos Milagre pela orientação, paciência, incentivo e ensinamentos durante todos esses anos.

Ao CNPq pelo auxílio financeiro, essencial para a realização deste trabalho.

Ao Instituto de Química e à Universidade Estadual Paulista pela infraestrutura concedida, indispensável à minha formação e à realização deste trabalho.

À Profa. Dra. Cíntia Duarte de Freitas Milagre pelo incentivo e pelos ensinamentos.

A todos os integrantes do Milagre Research Group pela amizade e pela convivência diária.

Aos funcionários do Instituto de Química, em especial ao Albertinho, Naira, Lucinéia, Rafa, Márcia, Rogério e Márcio por toda a ajuda.

À FAPESP, ao CNPq, ao INCT-BioNat e ao CerSusChem pelo apoio financeiro para manutenção do grupo de pesquisa.

À CAPES pela manutenção do Portal de Periódicos.

A meus pais, Fátima e Fernando, e à minha irmã Letícia pelo amor incondicional por toda a vida.

À Manuella pelo amor, pela amizade, pelo carinho e pelo apoio que me fazem tão feliz.

A Meire e Carlos por tantos momentos de descontração e pelas experiências maravilhosas.

*O homem que não tem vida interior é escravo do
que o cerca.*

Henri-Frédéric Amiel

RESUMO

A grande relevância dos β -amino- α -hidroxiácidos quirais na Síntese Orgânica é estabelecida pela presença destes compostos na estrutura de fármacos de importância primária para a sociedade. Como principais exemplos, podem-se citar os medicamentos envolvendo taxanos, uma classe de diterpenos largamente utilizada como agentes antineoplásicos para tratamento de diversos tipos de câncer. Visando a proposição de uma rota sintética eficiente e estereosseletiva para esses blocos construtores, as reações de epoxidação de alcenos (reação de Prilezhaev) como o *trans*-cinamato de etila e derivados foram escolhidas como alternativa. Na primeira etapa do trabalho, testamos duas metodologias, uma química e outra biocatalítica, para o *trans*-cinamato de metila. Enquanto a primeira metodologia resultou em conversão completa ao epóxido em 5 horas, o sistema biocatalítico apresentou uma cinética bastante lenta e com formação de produtos laterais. Para a segunda etapa, a execução da rota sintética racêmica partindo do ácido *trans*-cinâmico foi realizada em quatro etapas: i) esterificação do ácido *trans*-cinâmico **3** para a *trans*-cinamato de etila **4**, ii) epoxidação de **4** para o 3-fenil-1-glicidato de etila **5**, iii) abertura do epóxido e síntese da oxazolina utilizando benzonitrila, resultando no 3,4-difenil-4-oxazolina-2-carboxilato de etila **6** e, por fim, iv) abertura de **6** em meio ácido para obtenção do 3-fenil-2-hidroxi-3-benzamido propianato de etila **7**. A caracterização completa dos produtos de cada etapa foi realizada. Na parte final, dois métodos de epoxidação biocatalítica assimétrica foram triados utilizando o *trans*-cinamato de etila como substrato modelo. Utilizamos um sistema com lipase, UHP e *N*-benzil-L-prolinato da etila em diclorometano e também em acetonitrila. A conversão ao epóxido, mesmo após 72 horas, não foi observada. A razão mais provável para o resultado observado foi a ineficiência do derivado de L-prolina em atuar como fonte de peroxiácidos para a reação de Prilezhaev, que pode ter ocorrido por impedimentos estéricos causados pela cadeia lateral do éster deste composto.

Palavras-chave: Epoxidação. Lipase. Estereosseletividade.

ABSTRACT

Chiral β -amino- α -hydroxyacids have a great relevance in the field of Organic Synthesis, primarily because of their role as building blocks for the production of anticancer drugs. The most remarkable example figures in formulations containing taxane derivatives, a class of diterpenes used as antineoplastic drugs for the treatment of solid tumors. In this work, we aim for an efficient and stereoselective synthetic route for chiral β -amino- α -hydroxyacids and we chose the epoxidation of alkenes (Prilezhaev reaction), such as *trans*-ethyl cinnamate and its derivatives, as an alternative. In the first part, we tested two epoxidation methodologies for *trans*-methyl cinnamate: a chemical one, that gave us to total conversion in 5 hours of reaction, and a biocatalytic one, that we observed only 2% conversion in 72 hours, with the formation of byproducts. For the second part, we completely executed the synthetic route with four steps, starting from *trans*-cinnamic acid: i) esterification of *trans*-cinnamic acid **3** to *trans*-ethyl cinnamate **4**, ii) epoxidation of **4** to ethyl 3-phenyl-1-glicidate **5**, iii) epoxide opening with benzonitrile to yield the oxazoline **6** and iv) oxazoline opening in acid media to reach the β -amino- α -hydroxyester **7**. The products of each step were successfully characterized. In the final part, two chiral biocatalytic epoxidation methods were tested utilizing *trans*-ethyl cinnamate as model substrate. We used a chemoenzymatic system consisting of a lipase, UHP and *N*-benzyl-L-proline ethyl ester, in dichloromethane or acetonitrile, but no conversion was observed in 72 hours. The reason for these results might have been an inefficiency of the proline ester to act as a peroxyacid source, which could be explained by steric effects occurring in the active site of the enzyme.

Keywords: Epoxidation. Lipase. Stereoselectivity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estruturas para o a) paclitaxel (Taxol®), b) docetaxel (Taxotere®), c) cabazitaxel (Jevtana®) e d) a 10-DAB.

Figura 2 – a) Epoxidação promovida por um catalisador VANOL-borato (Gupta et al., 2019) b) Uso de nitrilase para obtenção de um derivado β -amino- α -hidroxiácido (Wilding, et al., 2015).

Figura 3 – Mecanismo para a epoxidação de alcenos relatada por Prilezhaev.

Figura 4 – Sistema de epoxidação enantiosseletiva desenvolvido por Sharpless e Katsuki.

Figura 5 – a) Epoxidação assimétrica utilizando complexo metálico de manganês na presença de óxido de grafeno (Miao et al., 2017). b) Epoxidação assimétrica utilizando um peptídeo como catalisador (Davis et al., 2014).

Figura 6 – a) Estrutura tridimensional da lipase B de *Candida antarctica* (Fonte: PDB, 4K6G). b) Reação natural das lipases.

Figura 7 – Condensação aldólica catalisada por lipase pancreática de porco (PPL) (Xie et al., 2013).

Figura 8 – Sistema para epoxidação de alcenos catalisada por lipase.

Figura 9 – Mecanismo de formação do peroxiácido no sítio ativo da lipase.

Figura 10 – Sistema utilizado por Sarma e colaboradores para epoxidação enantiosseletiva de alcenos.

Figura 11 – Estratégia de trabalho adotada.

Figura 12 – Rota racêmica desenvolvida para caracterização dos padrões.

Figura 13 – Reação de epoxidação do *trans*-cinamato de metila utilizando mCPBA.

Figura 14 – Cromatograma obtido após 5 horas da epoxidação do cinamato de metila **1** com mCPBA.

Figura 15 – Reação de epoxidação do *trans*-cinamato de metila utilizando lipase.

Figura 16 – Cromatograma obtido após 72h decorridas da reação de epoxidação biocatalítica de **1**.

Figura 17 – Cromatograma comparativo dos métodos de epoxidação triados para o *trans*-cinamato de metila. Em preto, a Figura 13, e em rosa, a Figura 15.

Figura 18 – Esterificação do ácido *trans*-cinâmico.

Figura 19 – Cromatograma para a esterificação do ácido *trans*-cinâmico.

Figura 20 – Reação de epoxidação do *trans*-cinamato de etila.

Figura 21 – Cromatograma para a epoxidação do *trans*-cinamato de etila.

Figura 22 – Reação para síntese da oxazolina **6**.

Figura 23 – Mecanismo para a síntese da oxazolina **6** com BF₃.Et₂O e benzonitrila.

Figura 24 – Cromatograma para a síntese da oxazolina **6**.

Figura 25 – Reação de síntese do β -amino- α -hidroxiéster **7**.

Figura 26 – Mecanismo para a síntese do β -amino- α -hidroxiéster **7**.

Figura 27 – Cromatograma obtido após extração da reação de abertura da oxazolina **6**.

Figura 28 – Epoxidação assimétrica de **4**: método 1.

Figura 29 – Epoxidação assimétrica de **4**: método 2.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Aplicações industriais de biocatalisadores.

LISTA DE ESPECTROS

Espectro E1 – Espectro de massas do 3-fenil-1-glicidato de metila **2**.

Espectro E2 – Espectro de RMN de ^1H para o *trans*-cinamato de etila **4** (CDCl_3 , 300 MHz).

Espectro E3 – Espectro de RMN de ^{13}C para o *trans*-cinamato de etila **4** (CDCl_3 , 300 MHz).

Espectro E4 – Espectro de massas para o *trans*-cinamato de etila **4**.

Espectro E5 – Espectro de infravermelho para o *trans*-cinamato de etila **4**.

Espectro E6 – Espectro de RMN de ^1H para o *trans*-3-fenil-1-glicidato de etila **5** (CDCl_3 , 300 MHz).

Espectro E7 – Espectro de RMN de ^{13}C para o *trans*-3-fenil-1-glicidato de etila **5** (CDCl_3 , 300 MHz).

Espectro E8 – Espectro de massas para o *trans*-3-fenil-1-glicidato de etila **5**.

Espectro E9 – Espectro de infravermelho para o *trans*-3-fenil-1-glicidato de etila **5**.

Espectro E10 – Espectro de RMN de ^1H para o 3,4-difenil-4-oxazolina-2-carboxilato de etila **6** (CDCl_3 , 300 MHz).

Espectro E11 – Espectro de RMN de ^{13}C para o 3,4-difenil-4-oxazolina-2-carboxilato de etila **6** (CDCl_3 , 300 MHz).

Espectro E12 – Espectro de massas para o 3,4-difenil-4-oxazolina-2-carboxilato de etila **6**.

Espectro E13 – Espectro de infravermelho para o 3,4-difenil-4-oxazolina-2-carboxilato de etila **6**.

Espectro E14 – Espectro de massas para 3-fenil-2-hidroxi-3-benzamido propionato de etila **7**.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

10-DAB – 10-deacetilbacatina

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

AcOEt – Acetato de Etila

CCD – Cromatografia em Camada Delgada

CCDP – Cromatografia em Camada Delgada Preparativa

CG-DIC – Cromatografia gasosa acoplada a detector de ionização em chama

CG-EM – Cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas

CH₃CN – Acetonitrila

DBU - 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno

DMSO - Dimetilsulfóxido

ee – excesso enantiomérico

IV – Infravermelho

J – Constante de acoplamento

m/z – Razão massa carga

mCBA – Ácido *meta*-clorobenzóico

mCPBA – Ácido *meta*-cloroperbenzóico

N435 – Lipase B de *Candida antarctica* imobilizada em resina acrílica

OTf – grupo Triflato

PhCN – Benzonitrila

PPL – Lipase pancreática de porco

RMN de ¹H – Ressonância magnética nuclear de hidrogênio

RMN de ¹³C – Ressonância magnética nuclear de carbono

THF - Tetraidrofurano

t_R – Tempo de retenção

UHP – Complexo de ureia-peróxido de hidrogênio

SUMÁRIO

1	Introdução	17
1.1	Reações de epoxidação	19
1.2	Biocatálise	21
1.3	Lipases	23
2	Objetivo	27
3	Parte experimental	28
3.1	Cromatografia em camada delgada (CCD).....	28
3.2	Cromatografia em camada delgada preparativa (CCDP)	28
3.3	Cromatografia gasosa acoplada a detector de ionização em chama (CG-DIC) 28	
3.4	Cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas (CG-EM).....	29
3.5	Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio e de Carbono (RMN de ^1H e ^{13}C)	29
3.6	Espectroscopia na região do infravermelho	30
3.7	Triagem de metodologias de epoxidação	30
3.7.1	Síntese do 3-fenil-1-glicidato de metila (2)	30
3.7.2	Epoxidação do <i>trans</i> -cinamato de metila (1) utilizando lipase e UHP em acetato de etila	30
3.8	Síntese e caracterização dos padrões racêmicos	31
3.8.1	Síntese do <i>trans</i> -cinamato de etila (4).....	31
3.8.2	Síntese do 3-fenil-1-glicidato de etila (5)	31
3.8.3	Síntese da 3,4-difenil-4-oxazolina-2-carboxilato de etila (6).....	32
3.8.4	Síntese do 3-fenil-2-hidroxi-3-benzamido propionato de etila (7)	33
3.9	Epoxidações biocatalíticas assimétricas.....	33
3.9.1	Método 1	33
3.9.2	Método 2	34
4	Discussão e resultados	35

4.1 Estratégia de trabalho.....	35
4.2 Triagem de metodologias de epoxidação	36
4.3 Síntese e caracterização dos padrões racêmicos	39
4.4 Triagem de metodologias de epoxidação assimétrica	44
5 Conclusão	46
6 Referências.....	47
7 Anexo.....	53

1 Introdução

Uma classe de compostos quirais de grande interesse para a Síntese Orgânica é a dos β -amino- α -hidroxiácidos, pois são blocos construtores presentes em diversos fármacos, como o paclitaxel, docetaxel e cabazitaxel (**Figura 1**), importantes agentes antineoplásicos, nos quais constituem a cadeia lateral, como destacado. O paclitaxel foi primeiramente isolado das folhas e cascas de *Taxus brevifolia* em 1969 e teve, nas duas décadas subsequentes, atividade citotóxica comprovada para diversos tipos de tumores, como os de pulmão, ovário, mama e próstata, gerando interesse em pesquisas mais aprofundadas (Cragg, 1998; Sun *et al.*, 2018; Yared e Tkaczuk, 2012).

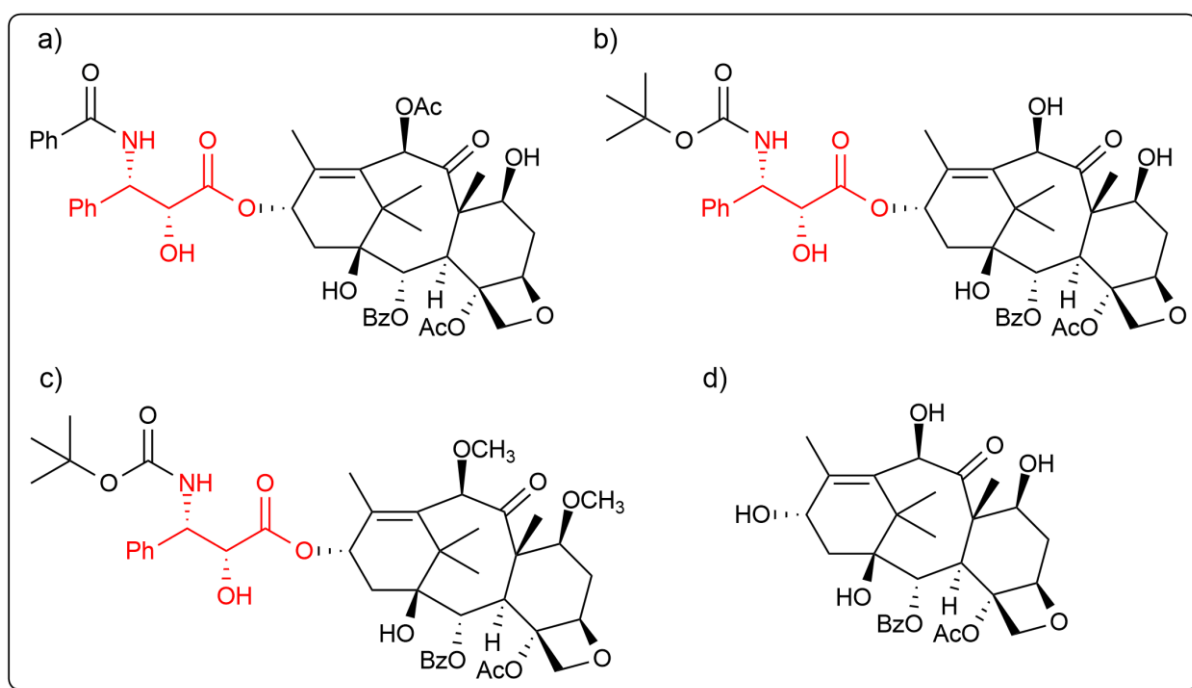


Figura 1. Estruturas para o **a)** paclitaxel (Taxol®), **b)** docetaxel (Taxotere®), **c)** cabazitaxel (Jevtana®) e **d)** a 10-DAB.

As fontes naturais, no entanto, oferecem apenas cerca de 50 mg de paclitaxel por kg de planta e o crescimento bastante lento dessa espécie tornou inviável a produção deste fármaco exclusivamente pelo isolamento. Dessa maneira, o desenvolvimento de uma rota sintética foi tido como alternativa. Uma metodologia que ganhou destaque foi uma semi-síntese através do acoplamento da cadeia lateral, um β -amino- α -hidroxiácido, à 10-deacetilbacatina (10-DAB, **Figura 1d**). Este núcleo multicíclico pode ser isolado em quantidades de 1g por kg das folhas das plantas, as quais possuem rápida regeneração, e a cadeia lateral, portanto, tornou-se alvo de

várias propostas sintéticas para ser acoplada à 10-DAB (Forró e Fülöp, 2010; Ha *et al.*, 1998; Rodrigues *et al.*, 2005; Wilding *et al.*, 2015; Zhou e Mei, 2003). Além disso, os grupos farmacofóricos destes taxanos, já descritos em 1999, incluem a cadeia lateral e o substituinte benzoato do anel de 8 membros (Ojima, *et al.*, 1999), o que tornou ainda mais interessante a síntese através deste acoplamento, pois novos derivados poderiam ser estudados.

Entre as metodologias propostas para a síntese de β -amino- α -hidroxiácidos quirais existem rotas químicas (Denis *et al.*, 1986; Er e Coskun, 2009; Gupta *et al.*, 2019; Ha *et al.*, 1998; Hidasová *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 1994; Zhou e Mei, 2003) e quimioenzimáticas (Forró *et al.*, 2015; Forró e Fülöp, 2010; Milagre, 2005; Rodrigues *et al.*, 2005; Wilding *et al.*, 2015). Como exemplificado na **Figura 2a**, uma rota química é proposta por Gupta e colaboradores. O catalisador de VANOL-borato (catalisador A) utilizado é responsável por interagir com a carbonila do aldeído de maneira a permitir que o ataque nucleofílico do composto diazo ocorra apenas por uma das faces. Após a liberação do substituinte N_2 na forma de gás nitrogênio, uma adição intramolecular produz epóxidos com excesso enantiomérico (ee) entre 37 e 97%. Com a estereoquímica definida, é possível produzir o β -amino- α -hidroxiácido quiral a partir da abertura do epóxido (Gupta *et al.*, 2019).

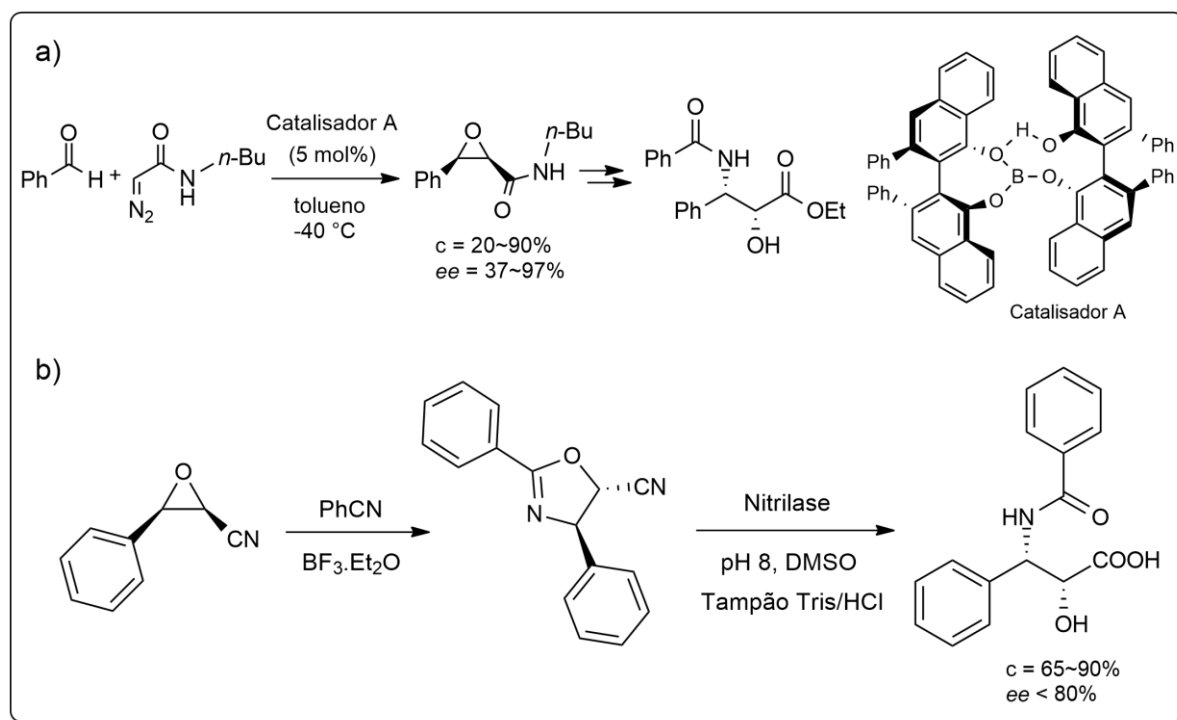


Figura 2. a) Epoxidação promovida por um catalisador VANOL-borato (Gupta *et al.*, 2019) **b)** Uso de nitrilase para obtenção de um derivado β -amino- α -hidroxiácido (Wilding, *et al.*, 2015).

Já na **Figura 2b**, Wilding e colaboradores propõem a obtenção da oxazolina mostrada a partir de um epóxido quiral. Após esta etapa, a abertura da oxazolina pode ser realizada simultaneamente à hidrólise do substituinte nitrila por uma enzima nitrilase, obtendo-se diretamente o β -amino- α -hidroxiácido com ee de até 80% (Wilding *et al.*, 2015).

Observando-se as metodologias supracitadas, o uso de epóxidos quirais como intermediários para a obtenção de β -amino- α -hidroxiácidos quirais é interessante, pois podem ser formados de maneira enantiosseletiva e sua abertura pode ser feita preservando o excesso enantiomérico até o produto final.

1.1 Reações de epoxidação

A primeira reação de epoxidação relatada envolveu uso de peroxiácidos na presença de alcenos e foi desenvolvida por Prilezhaev (Prilezhaev, 1909). Esta reação ocorre espontaneamente através de um mecanismo concertado (**Figura 3**), em que o alcano é responsável por um ataque nucleofílico ao oxigênio destacado em vermelho (Mello *et al.*, 2012), proporcionando a formação do epóxido após passagem pelo estado de transição mostrado. Esta reação ocorre de maneira estereoespecífica: alcenos *E* geram epóxidos *trans* e alcenos *Z* geram epóxidos *cis*.

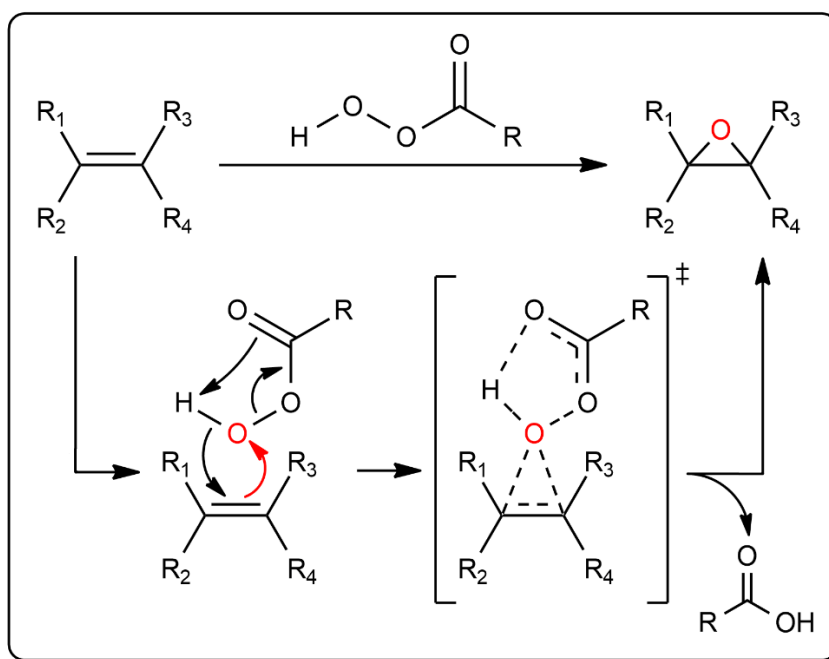


Figura 3. Mecanismo para a epoxidação de alcenos relatada por Prilezhaev.

No fim da década de 70 e início da década de 80, o trabalho de Sharpless e Katsuki trouxe as primeiras epoxidações enantiosseletivas (**Figura 4**), para álcoois alílicos, utilizando o ambiente quiral fornecido pela combinação entre isopropóxido de titânio(IV), hidroperóxido de *t*-butila e D-(+)-dietil-tartarato ou L-(-)-dietil-tartarato, dependendo da estereoquímica desejada (Katsuki e Sharpless, 1980).

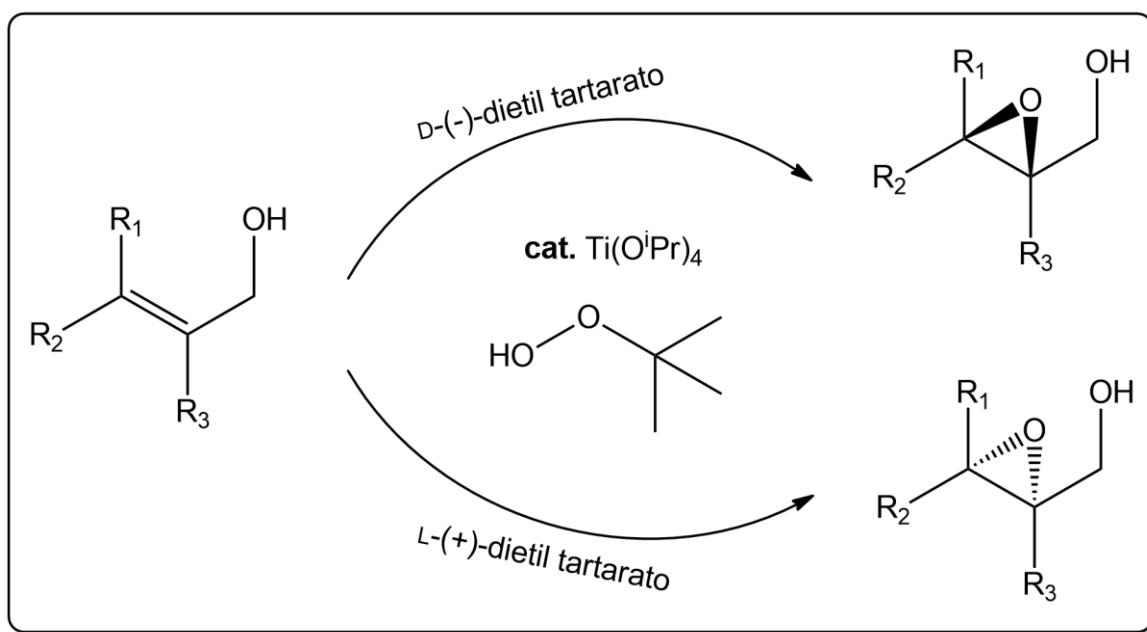


Figura 4. Sistema de epoxidação enantiosseletiva desenvolvido por Sharpless e Katsuki.

Desde então, diversos sistemas para epoxidação enantiosseletiva foram desenvolvidos, tanto utilizando a catálise metálica (Bhor *et al.*, 2005; Colladon *et al.*, 2007; Miao *et al.*, 2017; Ottenbacher *et al.*, 2012; Prasetyanto e Khan, 2010; Srour *et al.*, 2013) quanto a organocatálise (Akagawa e Kudo, 2011; Candu, *et al.*, 2018; Davis *et al.*, 2014; Jensen *et al.*, 2012; Shirakawa e Marouka, 2013; Wong e Shi, 2008). Na **Figura 5a**, um catalisador organometálico com centro de manganês é utilizado em conjunto com óxido de grafeno para epoxidação de ésteres α,β -insaturados, obtendo-se excesso enantiomérico de 84%. Já na **Figura 5b**, um peptídeo atua como organocatalisador para promover a epoxidação de cetonas α,β -insaturadas na presença de peróxido de hidrogênio, atingindo excesso enantioméricos de até 98%.

Tendo em vista a aplicabilidade dos epóxidos às rotas assimétricas em geral, é importante observar que as metodologias de síntese ainda possuem grande presença de reagentes, catalisadores e auxiliares quirais de elevado custo, com a predominância de complexos metálicos, e que em muitos casos não podem ser recuperados (Dinca *et al.*, 2016; Garcia-Bosch *et al.*, 2008; Gómez *et al.*, 2007; Miao

et al., 2018; Nie *et al.*, 2013; Pielichowski e Kowalski, 2010), fazendo com que processos de baixo custo e ambientalmente mais amigáveis sejam bem-vindos. Levando em conta o contexto atual que envolve a Química Verde, a biocatálise se revela uma excelente ferramenta para tornar essas etapas mais sustentáveis sem perda da estereosseletividade.

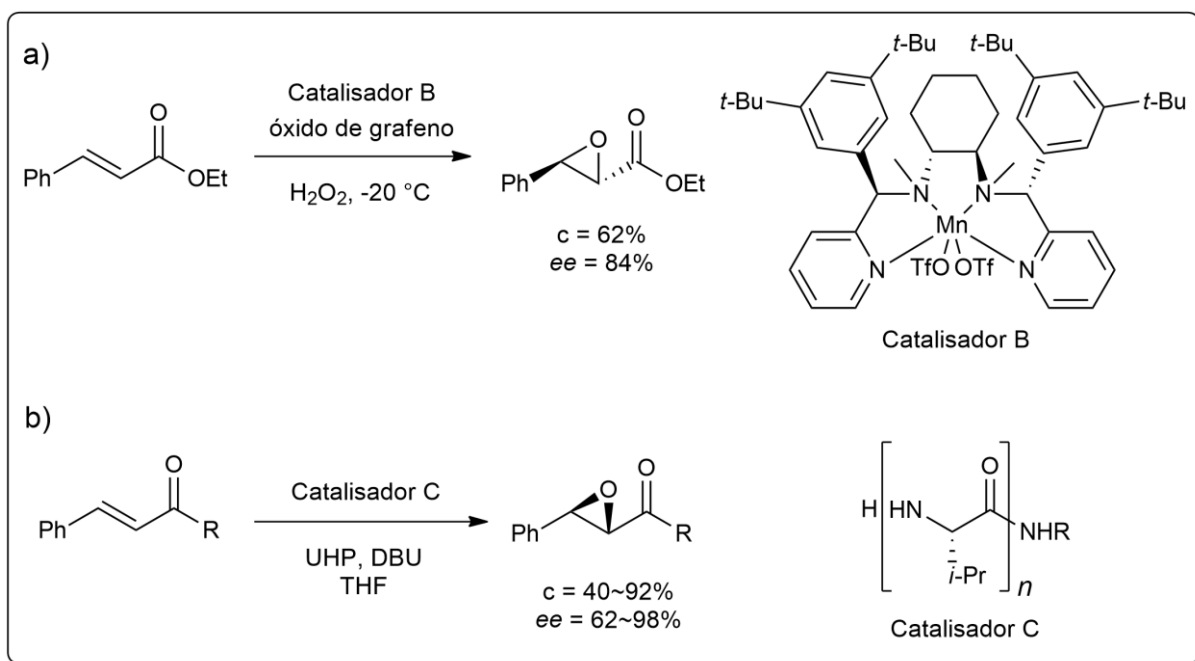


Figura 5. a) Epoxidação assimétrica utilizando complexo metálico de manganês na presença de óxido de grafeno (Miao *et al.*, 2017). **b)** Epoxidação assimétrica utilizando um peptídeo como catalisador (Davis *et al.*, 2014).

1.2 Biocatálise

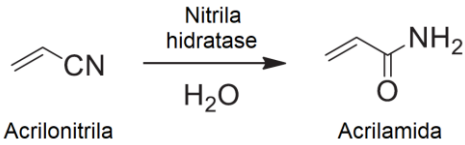
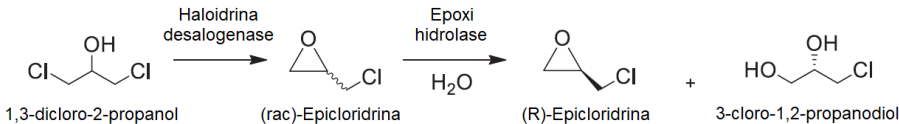
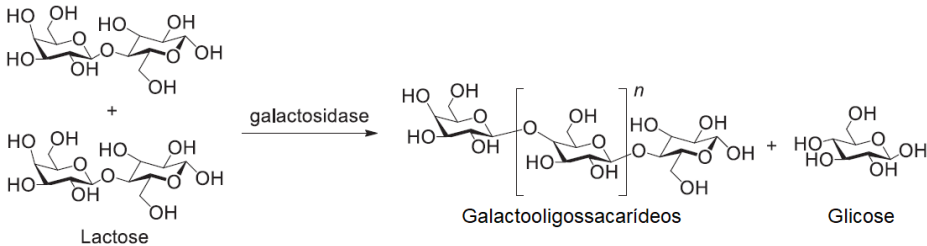
A biocatálise é o processo pelo qual transformações orgânicas ocorrem com o auxílio de catalisadores biológicos, que se configuram geralmente como enzimas ou células íntegras. Apesar de praticada pelos seres humanos há séculos na produção de alimentos e bebidas, os biocatalisadores só passaram a ser utilizados em síntese orgânica no início da década de 80 (Pereira e Sheldon, 2017).

Uma característica marcante da biocatálise se encontra na excelente quimio, regio e enantiosseletividade dos catalisadores utilizados, o que os torna eficientes em processos complexos como a resolução de misturas racêmicas. Além disso, os biocatalisadores são biodegradáveis e de fontes renováveis, sua grande vantagem frente os catalisadores metálicos, e geralmente promovem reações em condições mais brandas, atendendo portanto a vários dos Princípios da Química Verde (Anastas

e Warner, 1998; Faber, 2011; Ferreira-Leitão *et al.*, 2017; Gonçalves e Marsaioli, 2013; Ringborg e Woodley, 2016; Woodley e Sheldon, 2018).

Devido a essas características, a aplicação industrial de processos biocatalíticos vem crescendo gradualmente e de forma bastante diversa, abrangendo as áreas de química fina e pesada nos segmentos farmacêutico, alimentício e cosmético (Thálen *et al.*, 2009; Rodriguez-Colinas *et al.*, 2011; Seo *et al.*, 2012; Cui *et al.*, 2014; Choi *et al.*, 2015; Ouyang e Jin, 2015). Na **Tabela 1** são mostrados três exemplos: i) a síntese da acrilamida, utilizada para confecção de polímeros, ii) a produção de (*R*)-epicloridrina, aplicada à síntese de diversos polímeros e também como bloco construtor para fármacos, e iii) o uso de galactosidases para produção de prebióticos, como os galactooligossacarídeos.

Tabela 1. Aplicações industriais de biocatalisadores.

Processo	Referência
 Acrilonitrila $\xrightarrow[\text{H}_2\text{O}]{\text{Nitrila hidratase}}$ Acrilamida	Cui <i>et al.</i> , 2014
 1,3-dicloro-2-propanol $\xrightarrow{\text{Haloidrina desalogenase}}$ (rac)-Epicloridrina $\xrightarrow[\text{H}_2\text{O}]{\text{Epoxi hidrolase}}$ (R)-Epicloridrina + 3-cloro-1,2-propanodiol	Jin e Ouyang, 2015
 Lactose $\xrightarrow{\text{galactosidase}}$ Galactooligossacarídeos + Glicose	Rodriguez-Colinas <i>et al.</i> , 2011

Dentre as seis classes de enzimas existentes, a das hidrolases é a mais utilizada nos processos já implementados, com destaque para as lipases.

1.3 Lipases

As enzimas triacilglicerol hidrolases (**Figura 6a**), também denominadas de lipases (EC 3.1.1.3) (Webb, 1992), são naturalmente encontradas em animais, vegetais e microorganismos, sendo responsáveis por catalisar a hidrólise de acilgliceróis, como mostra a **Figura 6b**.

Entre as principais vantagens das lipases, podem-se citar a resistência a solventes orgânicos, mais desejáveis para o uso sintético, a disponibilidade e baixo custo destas enzimas, visto que são produzidas por microorganismos e a independência de cofatores (Bornscheuer e Kazlauskas, 2006; Pavan *et al.*, 2016).

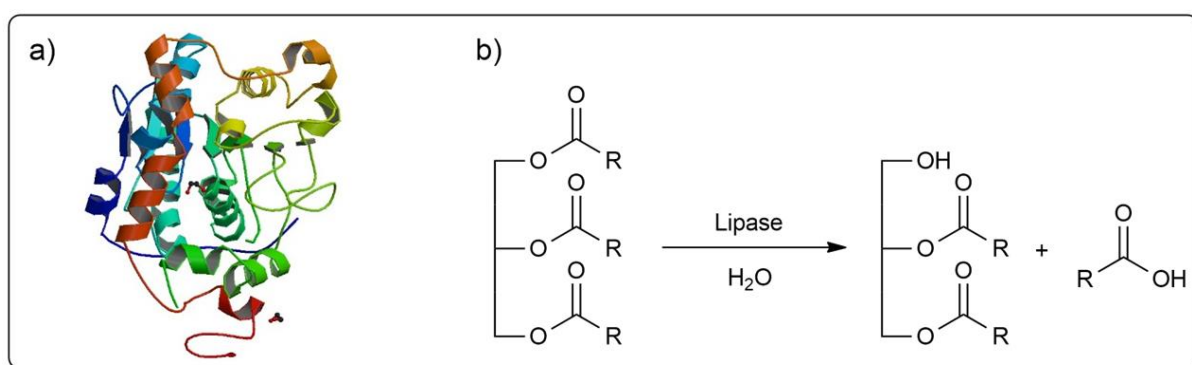


Figura 6. a) Estrutura tridimensional da lipase B de *Candida antarctica* (Fonte: PDB, 4K6G). **b)** Reação natural das lipases.

Uma propriedade ainda mais interessante das lipases se caracteriza na *promiscuidade enzimática*. Este termo refere-se à habilidade de uma enzima em mostrar atividade inesperada i) em alguma condição reacional, ii) em relação a algum substrato ou iii) para um tipo de reação (Dwivedee *et al.*, 2018). Dentre as reações catalisadas por lipases já reportadas (**Figura 7**) encontram-se condensações aldólicas (Xie *et al.*, 2013) adições de Michael (Zhou *et al.*, 2014), reações de Baylis-Hillman (Reetz *et al.*, 2007), Canizzaro (Arora *et al.*, 2014), Mannich (Wu *et al.*, 2016), condensações de Knoevenagel (Ding *et al.*, 2015) e também oxidações, como as epoxidações (Ankudey *et al.*, 2006; Méndez-Sánchez *et al.*, 2014; Törnvall *et al.*, 2007; Zhang *et al.*, 2017).

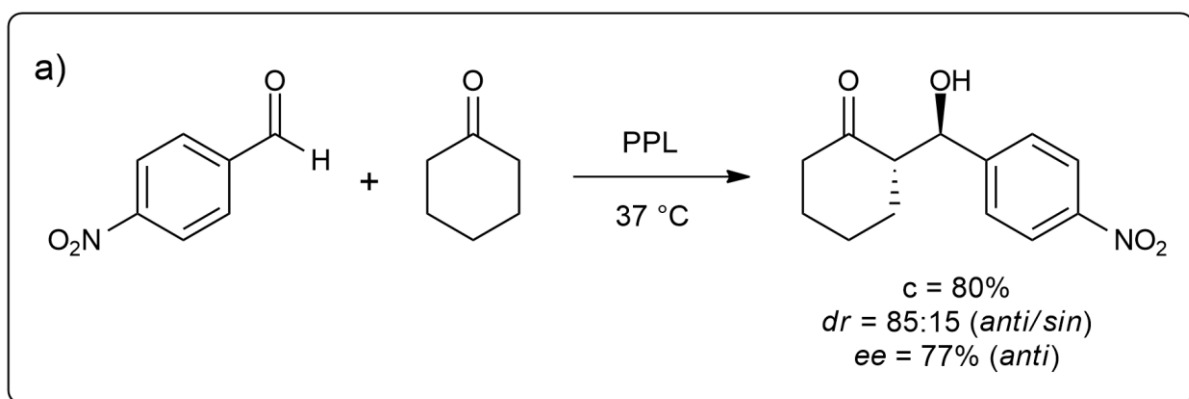


Figura 7. Condensação aldólica catalisada por lipase pancreática de porco (PPL) (Xie *et al.*, 2013).

Björkling e colaboradores publicaram o primeiro estudo sobre epoxidações de alcenos catalisadas por lipases em 1990 (Björkling *et al.*, 1990), no qual chamavam atenção para a habilidade destas enzimas em realizar tal reação em condições brandas e com quantidades catalíticas de ácidos carboxílicos presentes no meio. A **Figura 8** mostra o modo de ação destas enzimas: o peroxiácido é formado *in situ* quando peróxido de hidrogênio e ácido carboxílico estão na presença de lipases, liberando água como subproduto. Quando a reação de Prilezhaev ocorre, o ácido carboxílico é restaurado no meio e pode participar novamente do ciclo catalítico da enzima.

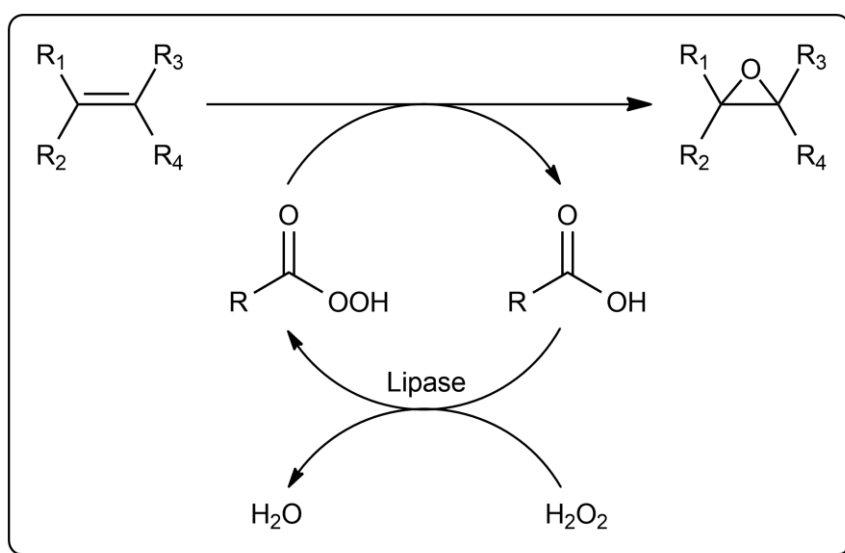


Figura 8. Sistema para epoxidação de alcenos catalisada por lipase.

Desde a década de 90, muitos estudos relacionando o uso de lipases à geração de epóxidos foram publicados (Kotleswska *et al.*, 2011; Skouridou *et al.*, 2003; Zhou *et*

al., 2017), mas o escopo reacional ainda se encontra limitado, visto que alcenos menos nucleofílicos não são eficientes na reação de Prilezhaev.

O mecanismo de ação das lipases para formação do perácido já foi descrito em função da tríade catalítica (aspartato, histidina e serina) presente nestas enzimas, como demonstrado na **Figura 9**. Após ativação do resíduo de serina através da abstração do hidrogênio pelo resíduo de histidina, ocorre um ataque nucleofílico da serina ao ácido carboxílico presente no meio, formando um intermediário quaternário **I**. A restituição da ligação C=O faz com que a hidroxila atue como grupo abandonador, abstraindo o hidrogênio da histidina e formando o intermediário acil-enzima **II** na terceira etapa. Em seguida, a histidina age novamente como base para ativar o peróxido de hidrogênio, possibilitando um ataque nucleofílico deste ao intermediário acil-enzima, formando um segundo intermediário quaternário **III**. Por fim, a nova restituição da ligação C=O da carbonila faz com que o oxigênio do resíduo de serina abraça o hidrogênio da histidina e o peroxiácido é formado, retornando o sítio catalítico ao estado original (Tang *et al.*, 2016). É importante destacar que o mesmo mecanismo também ocorre na presença de ésteres ao invés de ácidos carboxílicos, liberando neste caso uma molécula do álcool correspondente à cadeia lateral do éster.

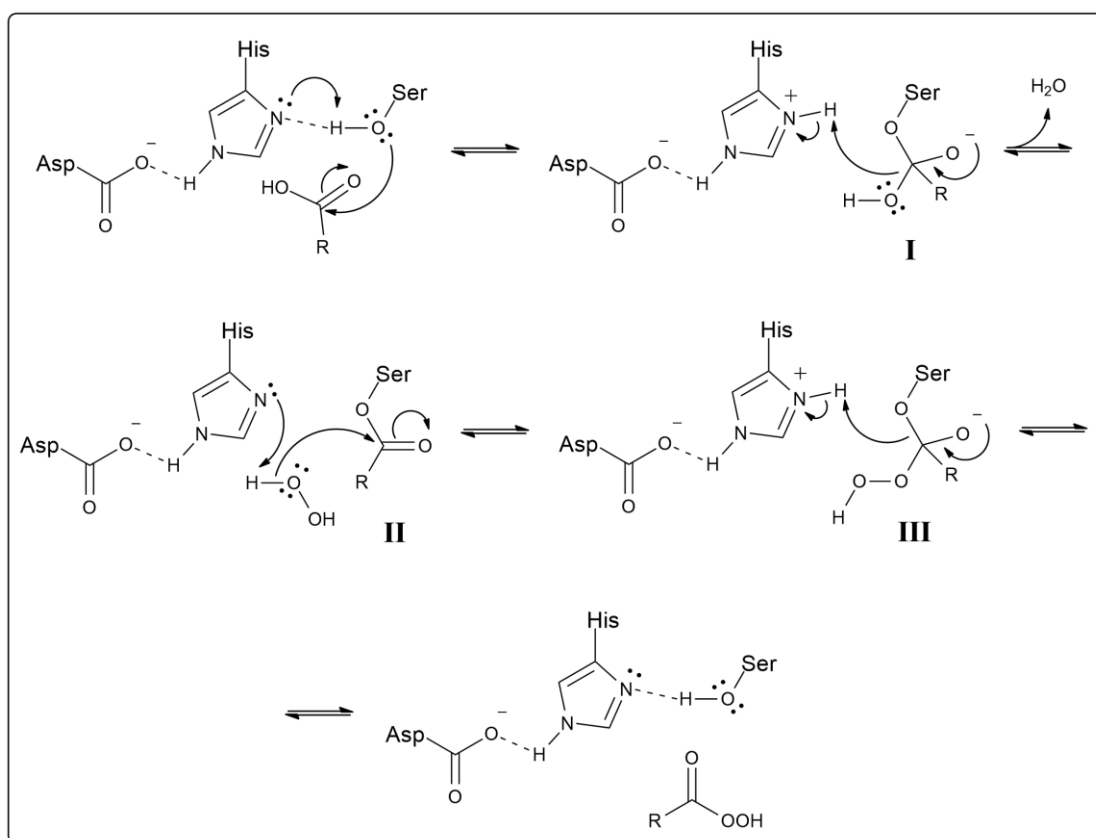


Figura 9. Mecanismo de formação do peroxiácido no sítio ativo da lipase.

Um trabalho a ser destacado é o de Sarma e colaboradores. Como representado na **Figura 10**, uma epoxidação assimétrica de alcenos foi realizada utilizando uma lipase e um derivado do aminoácido L-prolina, que atua como uma fonte de peroxiácidos e ao mesmo tempo fornece um ambiente quiral, alcançando ee de 60-80% (Sarma *et al.*, 2007).

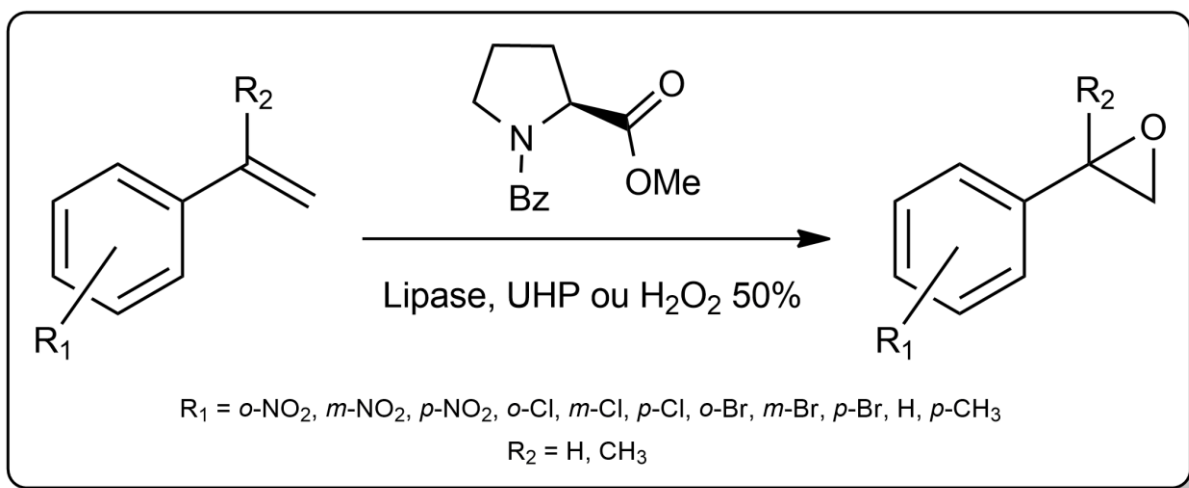


Figura 10. Sistema utilizado por Sarma e colaboradores para epoxidação enantiosseletiva de alcenos.

O escopo de substratos do trabalho, no entanto, não abrange a epoxidação de ésteres α,β -insaturados, que podem ser utilizados como materiais de partida para a síntese de β -amino- α -hidroxiácidos quirais.

Considerando a importância do paclitaxel e seus derivados, o extenso uso de epóxidos como intermediários sintéticos para a produção de β -amino- α -hidroxiácidos quirais e o potencial de aplicação do sistema desenvolvido por Sarma e colaboradores para realização de epoxidações assimétricas, um estudo para extensão do escopo de substratos é sugerido, mirando uma rota sintética mais ambientalmente amigável para a obtenção da cadeia lateral do Taxol®.

2 Objetivo

Desenvolver uma rota sintética para obtenção de β -amino- α -hidroxiácidos quirais e estudar as propriedades da etapa de epoxidação assimétrica desta rota, proposta utilizando lipases e um catalisador derivado do aminoácido L-prolina. Dessa maneira, com a união da biocatálise à organocatálise, pretende-se fornecer uma rota eficiente e estereosseletiva para a obtenção desses compostos.

3 Parte experimental

Os seguintes reagentes foram utilizados, sem necessidade de purificação: acetato de etila (grau PA, Merck), acetato de etila (grau HPLC, VWR), ácido *meta*-cloroperbenzoico (mCPBA $\geq 77\%$, Sigma-Aldrich), ácido sulfúrico (grau PA, Synth), ácido *trans*-cinâmico ($\geq 99\%$, Aldrich), benzonitrila anidra ($\geq 99\%$, Sigma-Aldrich), bicarbonato de sódio (grau PA, NUCLEAR), bissulfito de sódio (grau PA, Synth), cinamato de metila ($\geq 99\%$, Sigma-Aldrich), etanol (grau HPLC, NEON), eterato de trifluoreto de boro (BF₃.Et₂O para síntese, Sigma-Aldrich), diclorometano (grau PA, Merck), heptano (grau PA, NEON), *N*-benzil-*L*-prolinato de etila (97%, Sigma-Aldrich), sulfato de magnésio (PA, Vetec) e complexo de ureia-peróxido de hidrogênio (UHP 97%, Sigma-Aldrich).

A lipase utilizada foi a NOVOZYM® 435 (Lipase B de *Candida antarctica*, NOVOZYM, 5000 U/g).

3.1 Cromatografia em camada delgada (CCD)

As análises em CCD foram realizadas para monitoramento de algumas reações e como parte da avaliação da pureza dos produtos obtidos. Foram empregadas cromatoplasacas de alumínio (Macherey Nagel) com filme de sílica gel 60 com indicador UV₂₅₄ e revelação com irradiação UV de 264 nm, além de reveladores químicos verde de bromocresol, anisaldeído e iodo (Leonard *et al.*, 2013).

3.2 Cromatografia em camada delgada preparativa (CCDP)

As purificações por CCDP tiveram as placas preparadas com sílica gel Kiesegel DF Riedel-deHaën com 0,75 mm de espessura sobre placa de vidro (20 x 20 cm).

3.3 Cromatografia gasosa acoplada a detector de ionização em chama (CG-DIC)

As análises em CG-DIC foram realizadas em cromatógrafo gasoso SHIMADZU GC-2010 Plus, utilizando duas diferentes colunas: RTX-5 (fase normal) e HYDRODEX β -3P (fase quiral). O injetor utilizado foi do tipo *Split* em razão 1:100 e o gás de arraste foi hidrogênio a 1,22 mL min⁻¹.

A coluna RTX-5 possui as dimensões de 30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m. O método utilizado foi: temperatura inicial 80 °C (mantida por 3 minutos), velocidade de

aquecimento 30 °C/min, temperatura final 280 °C (mantida por 3 minutos). As temperaturas do injetor e do detector foram de 260 °C e 280 °C, respectivamente, e as injeções foram de 1,0 µL na concentração de 0,25 a 1,5 mg mL⁻¹.

A coluna HYDRODEX β-3P possui as dimensões de 25 m x 0,25 mm x 0,25 µm. O método utilizado foi: temperatura inicial 100 °C, velocidade de aquecimento 3 °C/min, temperatura final 180 °C (mantida por 10 minutos). As temperaturas do injetor e do detector foram de 180 °C e as injeções foram de 1,0 µL na concentração de 0,25 a 1,5 mg mL⁻¹.

3.4 Cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas (CG-EM)

As análises por CG-EM foram feitas em cromatógrafo gasoso 7890B acoplado a espectrômetro de massas 5977A da marca Agilent, com fonte de ionização por elétrons a 70 eV. A coluna utilizada foi a HP-5MS com o seguinte método: temperatura inicial 80 °C (mantida por 3 minutos), velocidade de aquecimento de 30 °C/min até temperatura final de 280 °C (mantida por 3 minutos). As temperaturas do injetor e da linha de transferência foram de 260 °C e 280 °C, respectivamente, utilizando-se hélio como gás de arraste a uma vazão de 1,22 mL min⁻¹. As injeções foram feitas com volume de 1 µL em concentração próxima a 0,5 mg mL⁻¹, no modo *Split* em razão 1:100. As análises foram realizadas no Instituto de Química de Araraquara (IQAr/UNESP).

3.5 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio e de Carbono (RMN de ¹H e ¹³C)

Os espectros de RMN de ¹H e ¹³C foram registrados no espectrômetro Bruker Fourier 300 (B₀ 7,05 T) na frequência de 300,19 MHz para o núcleo de hidrogênio e 75,5 MHz para o núcleo de carbono. As análises de RMN foram realizadas no Instituto de Química de Araraquara (IQAr/UNESP).

Os sinais de deslocamentos químicos (δ) de hidrogênio e de carbono foram registrados em ppm.

As constantes de acoplamento (J) foram medidas em Hertz (Hz) e os sinais foram caracterizados como: duplete (d), tripleto (t) e multiplete (m).

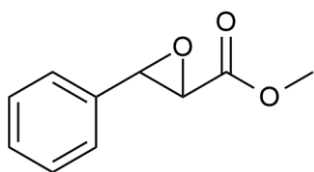
3.6 Espectroscopia na região do infravermelho

Os espectros de absorção na região do infravermelho foram registrados em um espectrômetro Bruker modelo Vertex 70 com transformada de Fourier, absorvendo na região 400 a 4000 cm^{-1} por meio de reflexão total atenuada em cristal diamante (ATR). As análises foram realizadas no Instituto de Química de Araraquara (IQAr/UNESP).

3.7 Triagem de metodologias de epoxidação

3.7.1 Síntese do 3-fenil-1-glicidato de metila (2)

Em um balão de 25 mL foram adicionados 100,2 mg de *trans*-cinamato de metila **1** (0,62 mmol). Utilizando provetas, adicionaram-se 3,50 mL de CH_2Cl_2 e 3,50 mL de solução saturada de NaHCO_3 . Com a mistura sob agitação, 279,7 mg de ácido *meta*-cloroperbenzóico (mCPBA) $\geq 77\%$ (1,6 mmol) foram adicionados. O meio reacional foi colocado sob refluxo a 40 °C. Após 5 horas de reação, cessou-se o refluxo. Após o resfriamento, adicionaram-se 5,00 mL de CH_2Cl_2 ao meio reacional e lavou-se a fase orgânica três vezes com 5,00 mL de solução saturada de NaHCO_3 e três vezes com 5,00 mL de solução 10% de bissulfito de sódio (NaHSO_3), alternadamente. A fase orgânica foi seca com MgSO_4 , filtrada e rotaevaporou-se o solvente para obter-se 100,7 mg de um óleo amarelado viscoso com 91% de rendimento bruto (Adaptado de Moyna *et al.*, 1996).



3-fenil-1-glicidato de metila (**2**). **FM**: $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_3$. **MM**: 178,18 g mol^{-1} ; óleo amarelo claro; CG-DIC: $t_R = 7,54$ min (RTX-5), $t_R = 21,44$ min e 21,70 min (HYDRODEX); **EM**: (IE, 70 eV) m/z (abundância relativa %): 178 (2), 162 (7), 147 (4), 131 (13), 121 (100), 103 (7), 91 (37), 77 (14).

3.7.2 Epoxidação do *trans*-cinamato de metila (**1**) utilizando lipase e UHP em acetato de etila

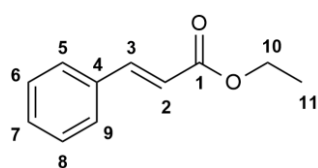
Em um balão de 10 mL foram adicionados 163,6 mg de *trans*-cinamato de metila **1** (1,0 mmol). Utilizando uma proveta, 1,50 mL de acetato de etila foram adicionados e, com a mistura sob agitação, adicionaram-se 50,8 mg da lipase NOVOZYM® 435 (N435). Por fim, adicionaram-se 109,3 mg de UHP (1,2 mmol) e a temperatura foi mantida a 30 °C. Após 72 horas, a mistura reacional foi filtrada para separação da

lipase e do UHP e o filtrado foi lavado com duas porções de 5,00 mL de água destilada. Secou-se a fase orgânica com MgSO_4 e o solvente foi rotaevaporado, recuperando-se 81,9 mg de uma mistura de produtos (Adaptado de Ankudey *et al.*, 2006).

3.8 Síntese e caracterização dos padrões racêmicos

3.8.1 Síntese do *trans*-cinamato de etila (4)

1,0 g de ácido *trans*-cinâmico (3) (6,7 mmol) foi adicionado a um balão de fundo redondo de 100 mL. Utilizando uma proveta, 30,0 mL de etanol grau HPLC foram adicionados (514 mmol). Com o meio reacional sob agitação, adicionaram-se 620 μL de ácido sulfúrico concentrado (11,6 mmol) e a reação foi colocada sob refluxo (78 °C). Após 4 horas, o sistema foi resfriado para que o etanol presente no meio fosse rotaevaporado. O resíduo foi solubilizado em 60,0 mL de acetato de etila. Lavou-se esta fase orgânica três vezes com 20,0 mL de solução saturada de NaHCO_3 e duas vezes com 20,0 mL de água destilada. A fase orgânica foi seca com MgSO_4 , filtrada e o solvente rotaevaporado para obter-se um óleo levemente amarelado com rendimento bruto de 95% (1,12 g) (Pathiranage *et al.*, 2018).

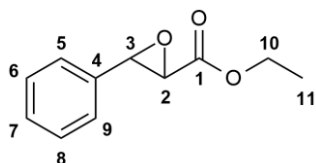


trans-cinamato de etila (4). **FM:** $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{O}_2$. **MM:** 176,21 g mol^{-1} ; óleo amarelo claro; CG-DIC: $t_R = 7,61$ min (RTX-5), $t_R = 21,58$ min (HYDRODEX); **EM:** (IE, 70 eV) m/z (abundância relativa %): 176 (47), 148 (25), 147 (23), 131 (100), 103 (59), 91 (5), 77 (34). **IV** – (ν max) (cm^{-1}) 3061, 2981, 1706, 1638, 1164. **RMN de ^1H** – (300,19 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 1,36 (t, $J = 7,1$ Hz, 3H, H11), 4,28 (q, $J = 7,1$ Hz, 2H, H10), 6,46 (d, $J = 16,0$ Hz, 1H, H3), 7,37-7,60 (m, 5H, H5-H9), 7,70 (d, $J = 16,0$ Hz, 1H, H2); **RMN de ^{13}C** – (75,5 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 14,3 (CH_3 , C11), 60,5 (CH_2 , C10), 118,3 (CH, C3), 128,1 (CH, C5 e C9), 128,8 (CH, C6 e C8), 130,2 (CH, C7), 134,5 (C_0 , C4), 144,6 (CH, C2) e 167,0 (C_0 , C1).

3.8.2 Síntese do 3-fenil-1-glicidato de etila (5)

Em um balão de 50 mL foram adicionados 246,2 mg de *trans*-cinamato de etila (4) (1,4 mmol). Utilizando provetas, adicionaram-se 7,50 mL de CH_2Cl_2 e 7,50 mL de solução saturada de NaHCO_3 e o meio foi colocado sob agitação. Adicionaram-se

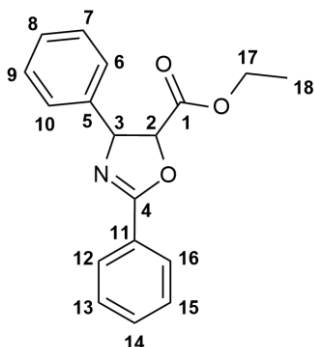
633,3 mg de mCPBA $\geq 77\%$ (3,7 mmol). O meio reacional foi refluxado por 5 horas a 40 °C. Após o resfriamento do sistema, adicionaram-se 5,00 mL de CH₂Cl₂ ao meio reacional e lavou-se a fase orgânica três vezes com 5,00 mL de solução saturada de NaHCO₃ e três vezes com 5,00 mL de solução 10% de bissulfito de sódio (NaHSO₃), alternadamente. Secou-se a fase orgânica com MgSO₄, filtrou-se e rotaevaporou-se o solvente, obtendo-se óleo amarelado com rendimento bruto de 92% (297,2 mg) (Adaptado de Moyna *et al.*, 1996).



3-fenil-1-glicidato de etila (**5**). **FM**: C₁₁H₁₂O₃. **MM**: 192,21 g mol⁻¹; óleo amarelo claro; CG-DIC: t_R = 7,83 min (RTX-5), t_R = 23,38 min e 23,60 min (HYDRODEX); **EM**: (IE, 70 eV) *m/z* (abundância relativa %): 192 (4), 176 (4), 148 (25), 135 (100), 131 (12), 118 (23), 107 (74), 91 (62), 77 (25). **IV** – (ν max) (cm⁻¹) 3067, 2982, 1740, 1288, 1197. **RMN de ¹H** – (300,19 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 1,34 (t, *J* = 7,1 Hz, 3H, H11), 3,52 (d, *J* = 1,7 Hz, 1H, H3), 4,10 (d, *J* = 1,7 Hz, 1H, H2), 4,20-4,46 (m, 2H, H10), 7,30-7,42 (m, 5H, H5-H9); **RMN de ¹³C** – (75,5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 14,1 (CH₃, C11), 56,8 (CH, C3), 57,9 (CH, C2), 61,8 (CH₂, C10), 125,8 (CH, C7) 128,7 (CH, C6 e C8), 129,9 (CH, C5 e C9), 134,5 (CH, C4), 168,2 (C₀, C1).

3.8.3 Síntese da 3,4-difenil-4-oxazolina-2-carboxilato de etila (**6**)

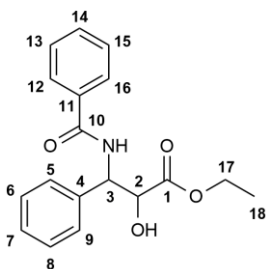
80,0 mg de 3-etil-1-fenilglicidato (**5**) (0,42 mmol) foram adicionados a um balão de fundo redondo de duas bocas de 25 mL sob atmosfera de N₂. Utilizando seringas, 1,80 mL de benzonitrila anidra e 300 μL de BF₃.Et₂O (2,43 mmol) foram adicionados lentamente ao meio sob agitação. A reação foi deixada sob agitação a temperatura ambiente. Para a extração, adicionaram-se 10 mL de acetato de etila ao meio reacional e foram feitas três lavagens com 10 mL de solução saturada de NaHCO₃. A fase orgânica foi seca com MgSO₄, filtrada e rotaevaporada, resultando em um óleo marrom viscoso com rendimento bruto de 73% (89,9 mg) (Milagre, 2005).



3,4-difenil-4-oxazolina-2-carboxilato de etila (**6**). **FM**: $C_{18}H_{17}NO_3$. **MM**: $192,21 \text{ g mol}^{-1}$; óleo marrom; CG-DIC: $t_R = 10,81$ min (RTX-5); **EM**: (IE, 70 eV) m/z (abundância relativa %): 222 (100), 193 (76), 165 (17), 119 (13), 105 (33), 91 (26), 77 (14). **IV** – (v max) (cm^{-1}) 3032, 2980, 2350, 1739, 1661, 1456, 1374, 1192. **RMN de 1H** – (300,19 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 1,36 (t, $J = 7,6$ Hz, 3H, H18), 4,23-4,44 (m, 2H, H17), 4,91 (d, $J = 9,7$ Hz, 1H, H3), 5,45 (d, $J = 9,7$ Hz, 1H, H2), 7,30-7,60 (m, 10H, H6-H10 e H12-H16); **RMN de ^{13}C** – (75,5 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 14,2 (CH_3 , C18), 61,9 (CH_2 , C17), 73,5 (CH , C3), 74,7 (CH , C2), 126,5-137,0 (CH , C6-C10, C12-C16 e C_0 , C5) 141,2 (C_0 , C11), 164,1 (C_0 , C4), 170,2 (C_0 , C1).

3.8.4 Síntese do 3-fenil-2-hidroxi-3-benzamido propionato de etila (7)

A um balão de 25 mL adicionaram-se 73,4 mg de **6** (0,25 mmol) e 5,00 mL de solução de HCl 0,5 M, deixando-se sob agitação por 1,5 h. Então adicionou-se solução saturada de $NaHCO_3$ até pH = 9 e a reação foi deixada sob agitação por mais 16 h. O meio reacional foi extraído com três porções de 15,0 mL de acetato de etila. As fases orgânicas foram unidas, secas com $MgSO_4$ e rotaevaporadas para obtenção de um óleo marrom com sólido branco cuja massa total era de 31,3 mg (Milagre, 2005).



3-fenil-2-hidroxi-3-benzamido propianato de etila (**7**). **FM**: $C_{18}H_{19}NO_4$. **MM**: $313,35 \text{ g mol}^{-1}$; sólido branco; CG-DIC: $t_R = 11,94$ min (RTX-5); **EM**: (IE, 70 eV) m/z (abundância relativa %): 281 (6), 222 (13), 210 (40), 207 (14), 193 (7), 105 (100), 91 (5), 77 (24).

3.9 Epoxidações biocatalíticas assimétricas

3.9.1 Método 1

A um balão de 25 mL adicionaram-se 178,4 mg de *trans*-cinamato de etila **4** (1,01 mmol), 1,50 mL de acetonitrila, 62 μL de *N*-benzil-L-prolinato de etila (0,28 mmol) e 105,8 mg de UHP (1,12 mmol). Com o conteúdo sob agitação, a reação foi iniciada

com a adição de 50,0 mg de lipase NOVOZYM® 435. Após 72 horas de reação, filtrou-se o meio reacional, 10,0 mL de acetato de etila foram adicionados e lavou-se a fase orgânica uma vez com 10,0 mL de solução saturada de NaHCO₃ e duas vezes com 10,0 mL de água destilada. Secou-se a fase orgânica com MgSO₄, filtrou-se e rotaevaporou-se o solvente para obter-se massa de 151,3 mg de **4** (Adaptado de Méndez-Sánchez *et al.*, 2014).

3.9.2 Método 2

A um balão de 25 mL adicionaram-se 206,4 mg de *trans*-cinamato de etila **4** (1,17 mmol), 5,00 mL de CH₂Cl₂, 25 µL de *N*-benzil-L-prolinato de etila (0,11 mmol) e 1,0503 g de UHP (11,2 mmol). Com o conteúdo sob agitação, a reação foi iniciada com a adição de 21,0 mg de lipase NOVOZYM® 435. Após 72 horas de reação, filtrou-se o meio reacional, lavou-se a fase orgânica uma vez com 5,00 mL de solução saturada de NaHCO₃ e duas vezes com 5,00 mL de água destilada. Secou-se a fase orgânica com MgSO₄, filtrou-se e rotaevaporou-se o solvente para obter-se massa de 172,8 mg de **4** (Adaptado de Sarma *et al.*, 2007).

4 Discussão e resultados

4.1 Estratégia de trabalho

O desenvolvimento do projeto foi realizado de acordo com fluxograma presente na **Figura 11**.

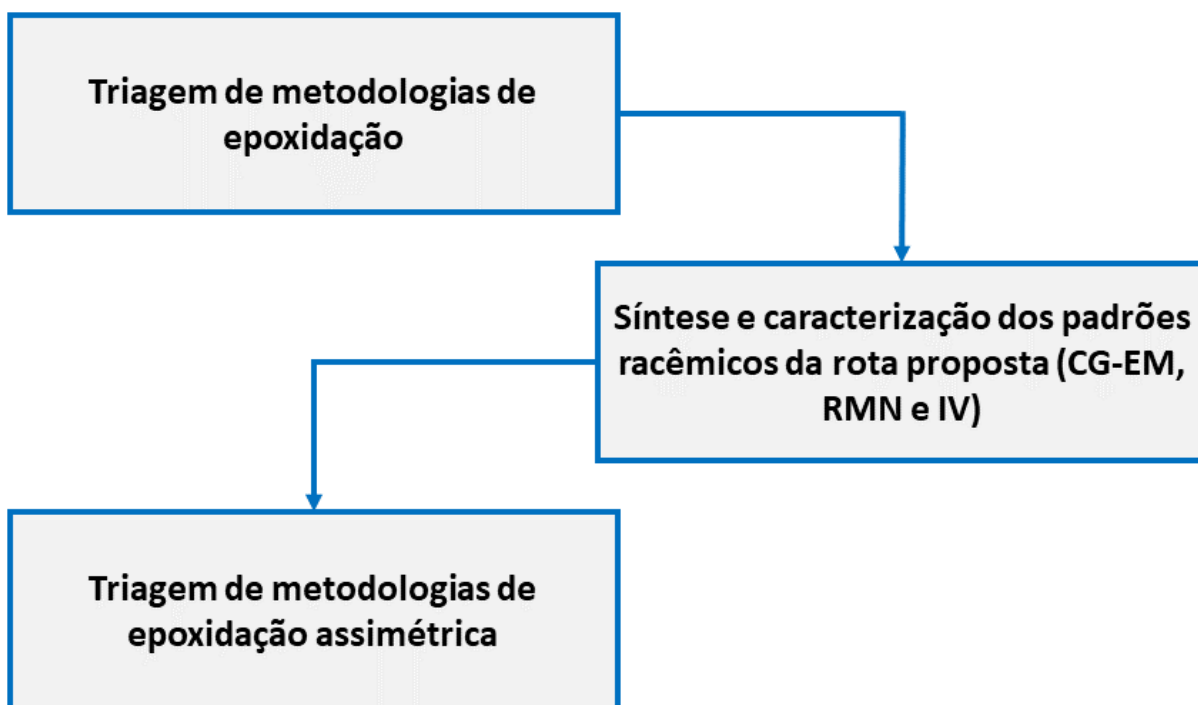


Figura 11. Estratégia de trabalho adotada.

A rota sintética proposta e desenvolvida neste trabalho é apresentada na **Figura 12**. Partindo do ácido *trans*-cinâmico (**3**), uma esterificação é realizada para obtenção do *trans*-cinamato de etila (**4**). Em seguida, uma reação de epoxidação permite a obtenção do *trans*-3-fenil-1-glicidato de etila (**5**). Esta segunda etapa da rota possui duas variantes: um método químico clássico para caracterização do padrão racêmico do epóxido e um método quimioenzimático assimétrico a ser estudado para alcançar o estereoisômero desejado. Prosseguindo, a terceira etapa da rota consiste na transformação do epóxido **5** na 3,4-difenil-4-oxazolina-2-carboxilato de etila (**6**). Por fim, na quarta e última etapa, o 3-fenil-2-hidroxi-3-benzamido propianato de etila (**7**), um β -amino- α -hidroxiéster, é obtido pela abertura de **6**.

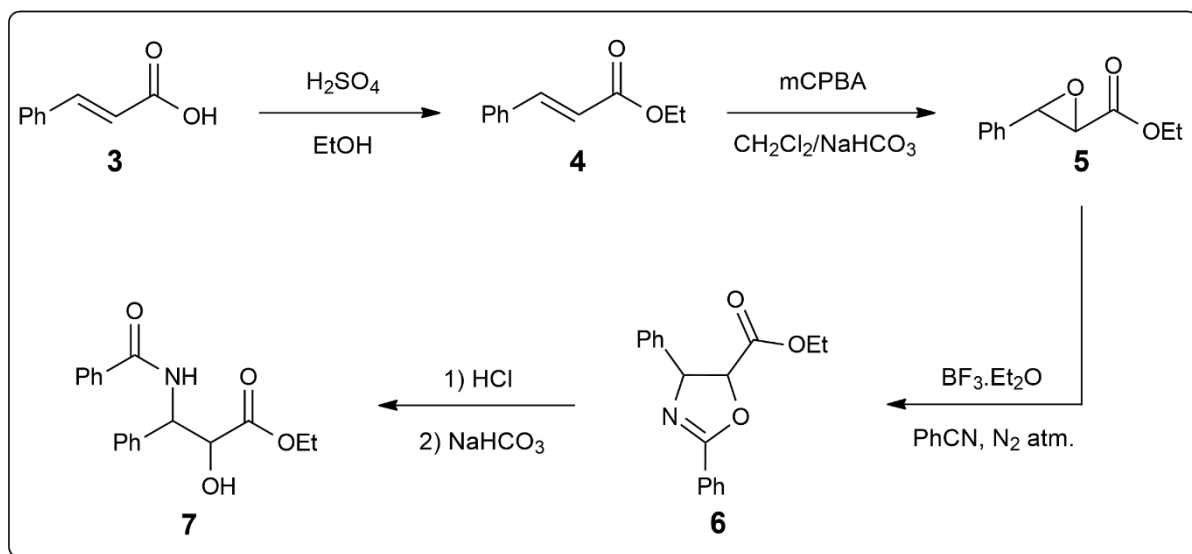


Figura 12. Rota racêmica desenvolvida para caracterização dos padrões.

4.2 Triagem de metodologias de epoxidação

Nesta primeira parte do estudo duas metodologias de epoxidação foram avaliadas utilizando como substrato modelo o *trans*-cinamato de metila (**1**). O primeiro experimento realizado envolveu o uso de ácido *meta*-cloroperbenzoico (mCPBA), uma metodologia química, em um meio bifásico contendo CH₂Cl₂ e solução saturada de bicarbonato de sódio (**Figura 13**).

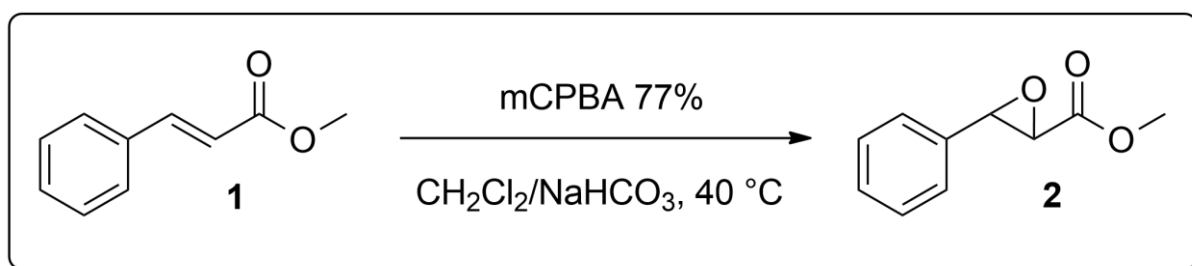


Figura 13. Reação de epoxidação do *trans*-cinamato de metila utilizando mCPBA.

Como reportado na literatura (Moyna *et al.*, 1996), os ésteres derivados do ácido cinâmico, como **1**, podem apresentar formação de subprodutos pela abertura do epóxido quando submetidos a metodologias que envolvam apenas o uso de um solvente orgânico. Isso ocorre porque estes epóxidos são sensíveis à presença de ácidos como o ácido *meta*-clorobenzoico (mCBA) formado após a epoxidação, fazendo-se necessário o uso da solução de bicarbonato para sua imediata neutralização.

Decorridas 5 horas de reação, a análise via cromatografia gasosa acoplada a detector de ionização em chama (CG-DIC) mostrou total conversão para um produto majoritário (**Figura 14**).

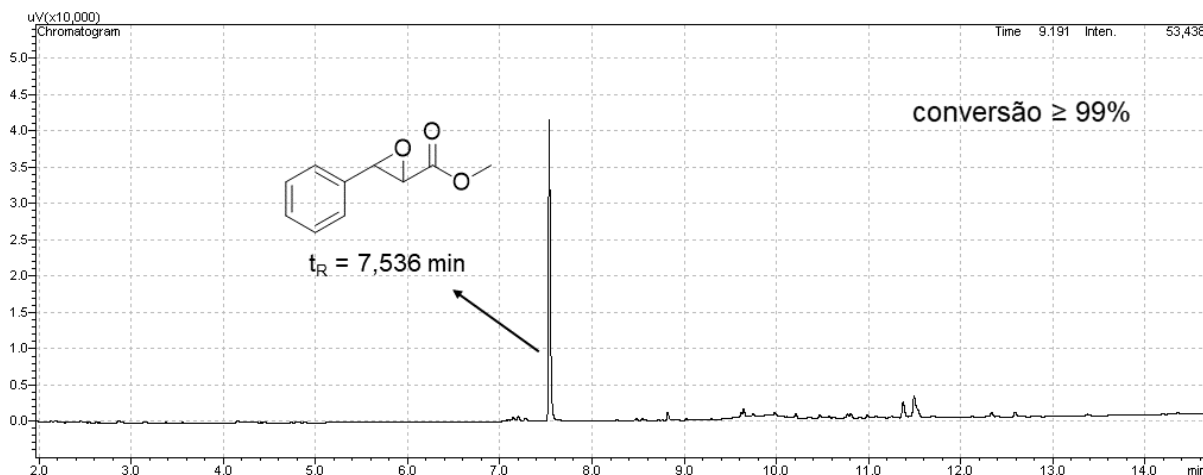


Figura 14. Cromatograma obtido após 5 horas da epoxidação do cinamato de metila **1** com mCPBA.

A caracterização do produto por cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas (CG-EM) confirmou a estrutura do composto 3-fenil-1-glicidato de metila (**2**) (**Espectro E1**), obtendo-se sucesso na primeira metodologia estudada.

O método de epoxidação biocatalítico (Ankudey *et al.*, 2006) envolveu o uso da lipase B de *Candida antarctica* imobilizada em resina acrílica (N435), um biocatalisador disponível comercialmente. A reação procedeu em meio de acetato de etila na presença de um complexo de ureia-peróxido de hidrogênio (UHP) como agente oxidante (**Figura 15**).

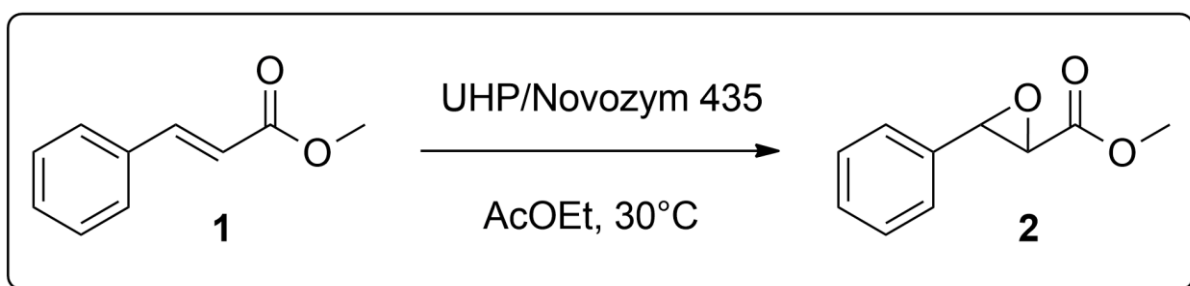


Figura 15. Reação de epoxidação do *trans*-cinamato de metila utilizando lipase.

A escolha do agente oxidante para esta metodologia foi feita considerando a fácil manipulação do UHP, um sólido estável, e a segurança proporcionada pela complexação do peróxido com a ureia. Na estrutura deste complexo, diversas combinações de ligações de hidrogênio são possíveis, o que o torna menos suscetível

a reações de degradação, por exemplo (Dobado *et al.*, 1998). Já a escolha do acetato de etila como solvente foi feita com base em dois fatores: i) a lipase utilizada possui boa resistência neste meio e ii) por se tratar de um éster, o acetato de etila pode atuar também como fonte de peroxiácidos no sítio catalítico da enzima, possuindo dupla finalidade.

A reação foi monitorada por CG-DIC e, ao fim de 72 horas, obteve-se o cromatograma apresentado na **Figura 16**, em que uma conversão de apenas 2% foi observada com a geração de três produtos.

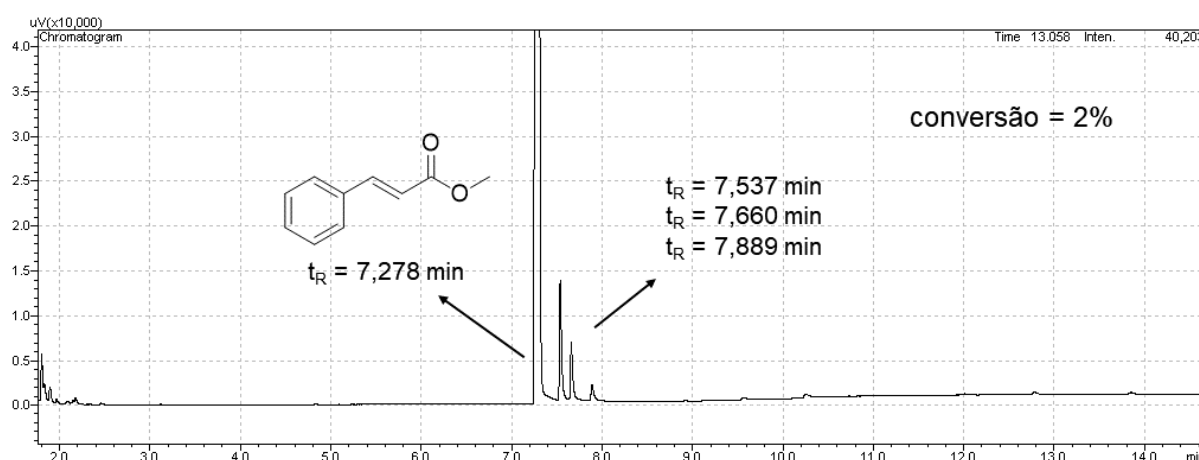


Figura 16. Cromatograma obtido após 72h decorridas da reação de epoxidação biocatalítica de **1**.

Na **Figura 17** uma superposição ampliada das **Figuras 14** e **16** mostra a formação do epóxido e de dois subprodutos não identificados.

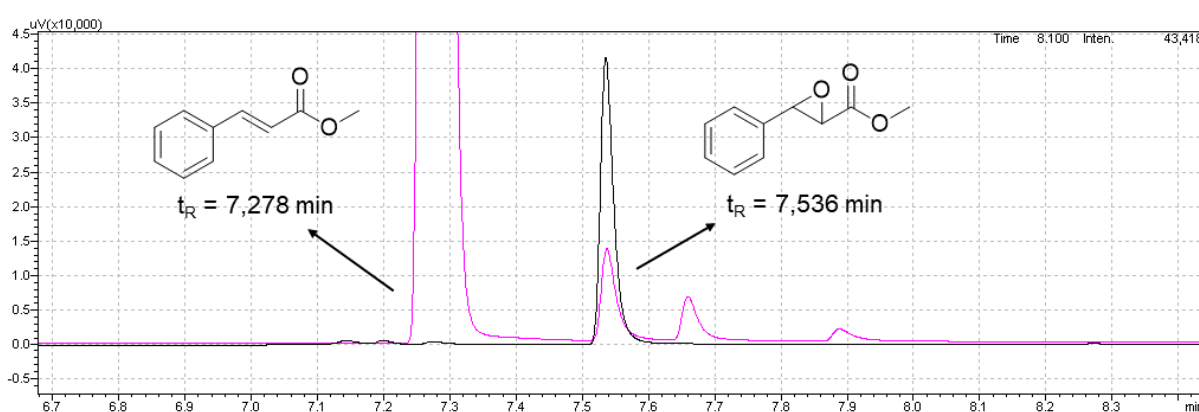


Figura 17. Cromatograma comparativo dos métodos de epoxidação triados para o *trans*-cinamato de metila. Em preto, a **Figura 14**, e em rosa, a **Figura 16**.

Ankudey e colaboradores (Ankudey *et al.*, 2006) obtiveram conversão de 82% em 5 horas de reação utilizando esta metodologia para o fenilcicloexeno, um alceno que não possui um grupo retirador de elétrons como o *trans*-cinamato de metila e,

portanto, é mais nucleofílico. O método de epoxidação biocatalítico conseguiu produzir o epóxido **2**, mas com uma cinética muito lenta e produzindo subprodutos em razoável concentração. Algumas otimizações propostas para a otimização são o aumento da temperatura, que pode auxiliar a cinética do ataque nucleofílico do *trans*-cinamato de metila e levar a maiores conversões, e o uso de peróxido de hidrogênio 50%, que, como reportado por Andukey e colaboradores, tende a apresentar maiores conversões do que o UHP.

Ao final desta primeira parte do estudo das reações de epoxidação, realizamos um replanejamento do projeto e optamos por seguir para uma rota sintética em que a cadeia lateral do éster utilizado seria etílica, já que possuíamos toda a base de dados para caracterização dos intermediários sintéticos.

4.3 Síntese e caracterização dos padrões racêmicos

Iniciando a rota sintética do β -amino- α -hidroxiéster **7**, utilizou-se o ácido *trans*-cinâmico **1** como material da partida para uma esterificação, como apresentado na **Figura 18** (Pathiranage, 2018).

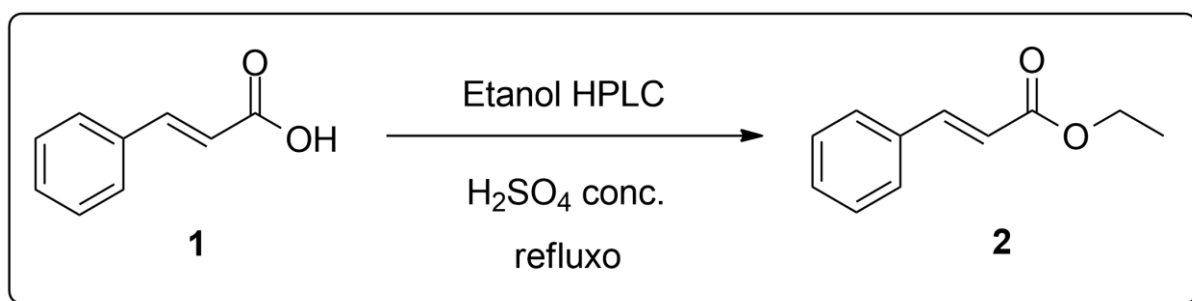


Figura 18. Esterificação do ácido *trans*-cinâmico.

A reação foi monitorada via CCD (heptano/acetato de etila 60:40; revelador verde de bromocresol) e verificou-se total consumo de **1** após decorridas 2 horas de reação. A análise do produto por CG-DIC após a extração resultou no cromatograma da **Figura 19**.

O produto foi totalmente caracterizado por RMN de ^1H e ^{13}C , CG-EM e IV, como demonstrado nos **Espectros E2 a E5**. Observou-se pico íon molecular com razão massa carga (m/z) 176, além de m/z 91 e 77 para o espectro de massas, bandas de absorção em 1706 e 1638 cm^{-1} (estiramentos $\text{C}=\text{O}$ e $\text{C}=\text{C}$) no espectro de IV e o espectro de RMN de ^1H confirmou a configuração *trans* com valores de $J = 16,0$ Hz para os dupletos dos hidrogênios da ligação $\text{C}=\text{C}$ (Pathiranage *et al.*, 2018).

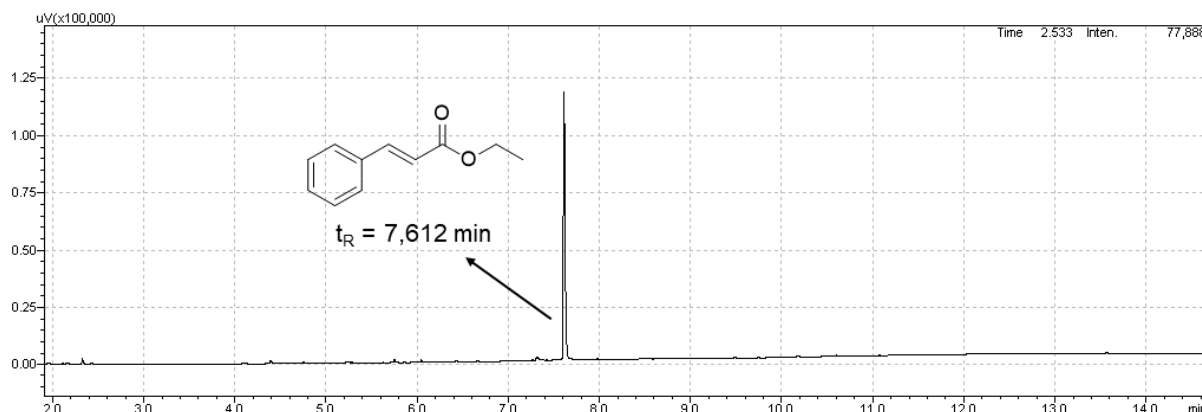


Figura 19. Cromatograma para a esterificação do ácido *trans*-cinâmico.

Na segunda etapa da rota sintética, a epoxidação do *trans*-cinamato de etila **4** foi realizada utilizando a mesma metodologia empregada para o *trans*-cinamato de metila **1** (**Figura 20**).

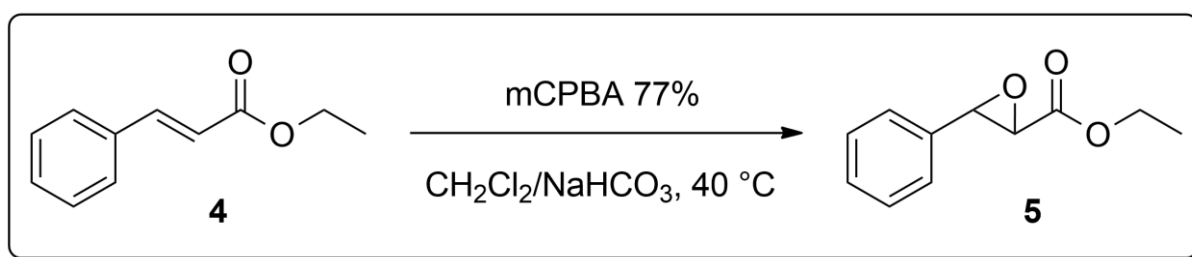


Figura 20. Reação de epoxidação do *trans*-cinamato de etila.

A reação foi monitorada por CG-DIC e apresentou o mesmo resultado obtido anteriormente com conversão $\geq 99\%$, como observado na **Figura 21**.

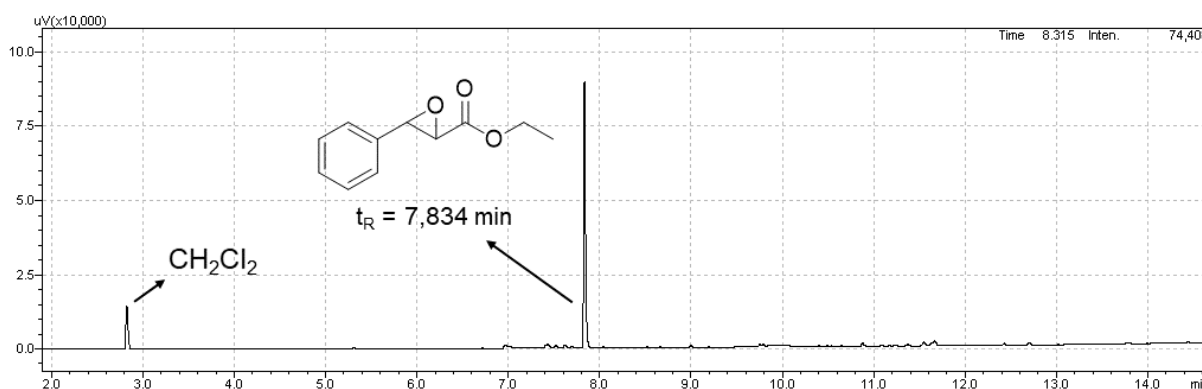


Figura 21. Cromatograma para a epoxidação do *trans*-cinamato de etila.

O produto foi obtido como um óleo viscoso e com algumas impurezas. Após purificação em placa preparativa, foi possível realizar a caracterização completa por RMN de ^1H e ^{13}C , CG-EM e IV, como demonstrado nos **Espectros E6 a E9**. O espectro de massas apresentou pico íon molecular de m/z 192, além de m/z 91 e 77,

observaram-se bandas de absorção em 1740 e 1288 cm^{-1} (estiramento C=O e C-O) no espectro de IV e o espectro de RMN de ^1H apresentou valor de $J = 1,7$ Hz para os dupletos referentes aos hidrogênios do anel epóxido. Visto que o *cis*-3-fenil-1-glicidato de etila apresenta $J = 4,8$ Hz, pode-se afirmar que apenas os enantiômeros *trans* foram formados (Moyna *et al.*, 1996).

Para a terceira etapa da rota proposta, foi realizada a síntese da oxazolina **6** a partir do 3-fenil-1-glicidato de etila **5**. Como mostrado na **Figura 22**, a reação foi realizada em meio de benzonitrila anidra, sob atmosfera inerte de nitrogênio a temperatura ambiente.

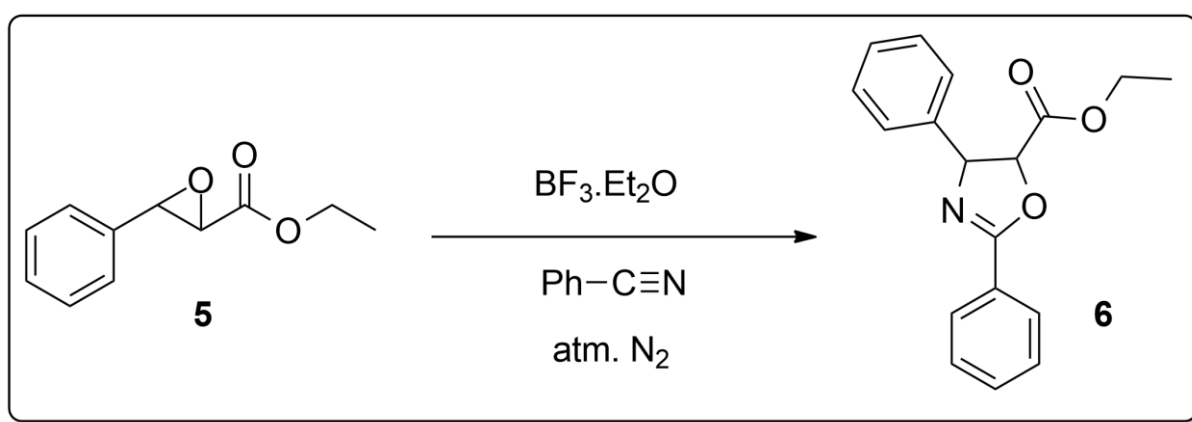


Figura 22. Reação para síntese da oxazolina **6**.

A atmosfera inerte utilizada é necessária para garantir que o eterato de trifluoreto de boro ($\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$) não seja degradado, visto que o mesmo reage rapidamente com a umidade do ar para formar ácidos bórico e fluorobórico. Como apresentado na **Figura 23**, o $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ é o agente regioseletivo desta reação.

Ao atuar como ácido de Lewis, que facilita a abertura do epóxido, o $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ incita o ataque nucleofílico da benzonitrila ao carbono β ao éster, que ocorre através de um mecanismo $\text{S}_{\text{N}}2$. A formação da oxazolina se estabelece quando o oxigênio realiza um ataque nucleofílico ao carbono *sp* ligado ao nitrogênio, que é possível graças ao giro da ligação entre os carbonos α e β ao éster. Segundo as regras de Baldwin para fechamento de anéis, este último ataque é favorecido, visto que se encaixa no modelo 5-*endo-dig* (Baldwin, 1976).

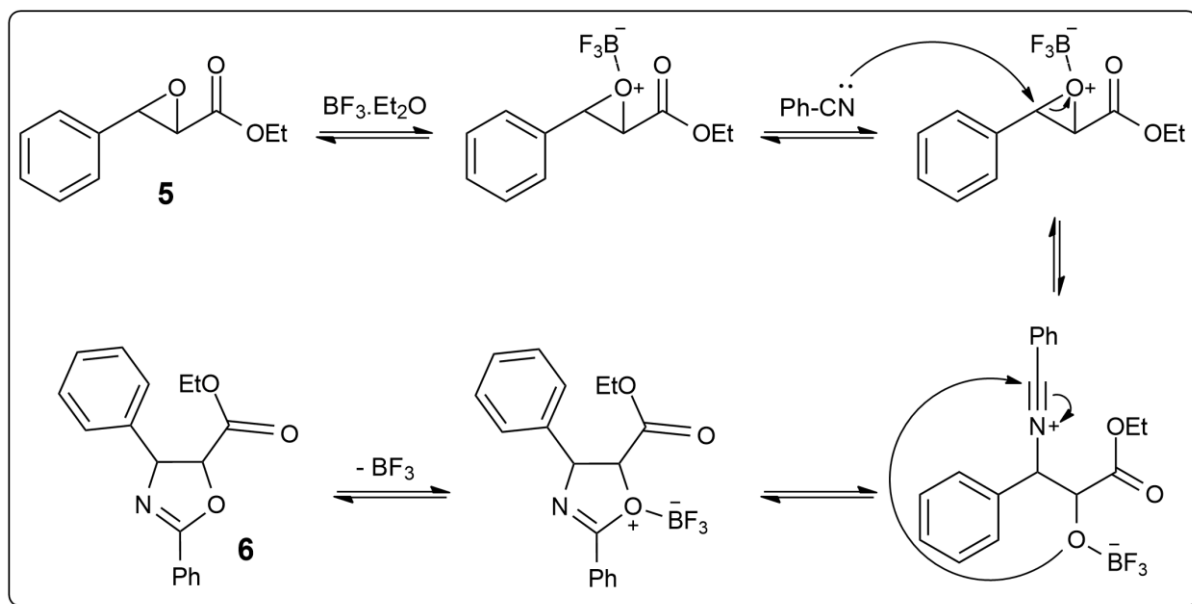


Figura 23. Mecanismo para a síntese da oxazolina **6** com $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ e benzonitrila.

A **Figura 24** mostra o cromatograma da análise via CG-DIC após 3 horas de reação, em que se observa completa conversão de **5** a **6**.

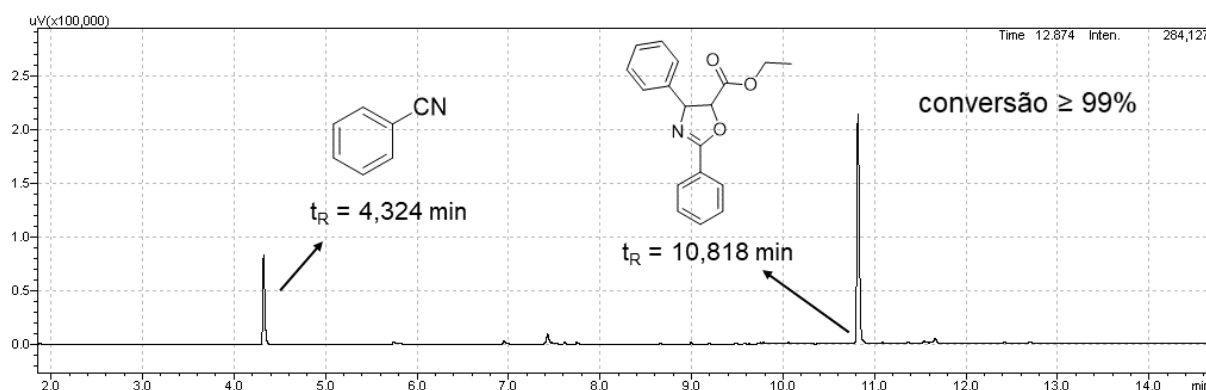


Figura 24. Cromatograma para a síntese da oxazolina **6**.

O produto foi purificado em placa preparativa para ser totalmente caracterizado por RMN de ^1H e ^{13}C , CG-EM e IV, como demonstrado nos **Espectros E10 a E13**. Os picos identificados possuíam m/z 222, 193, 91 e 77 no espectro de massas e as bandas de absorção em 2350 , 1374 e 1192 cm^{-1} apontaram a presença de estiramentos $\text{C}=\text{N}$, $\text{C}-\text{N}$ e $\text{C}-\text{O}$, respectivamente. Para o espectro de RMN de ^1H , observou-se constante de acoplamento $J = 9,7\text{ Hz}$ para os dupletos dos hidrogênios H2 e H3, o que indica a presença exclusiva da oxazolina *sin* (Legters *et al.*, 1992).

Como última etapa da rota, foi realizada a abertura da oxazolina **6**. Como mostrado na **Figura 25**, **6** foi adicionado em solução de ácido clorídrico $0,5\text{ M}$ por $1,5$ horas e depois deixado em solução $\text{pH} = 9,0$ por 16 horas.

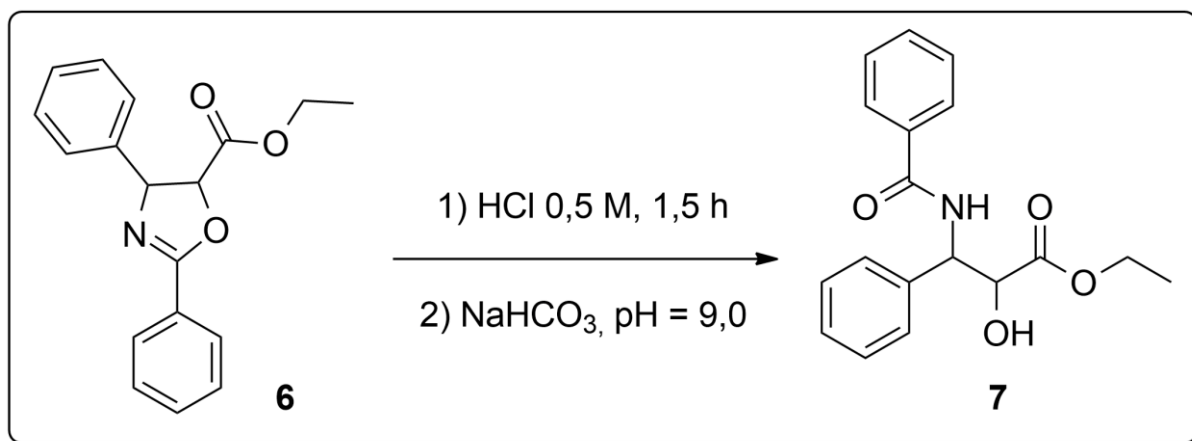


Figura 25. Reação de síntese do β -amino- α -hidroxiéster **7**.

No mecanismo dessa reação, destacado na **Figura 26**, a protonação do nitrogênio presente no anel da oxazolina possibilita o ataque da molécula de água ao carbono α ao éster, resultando na produção de **7**.

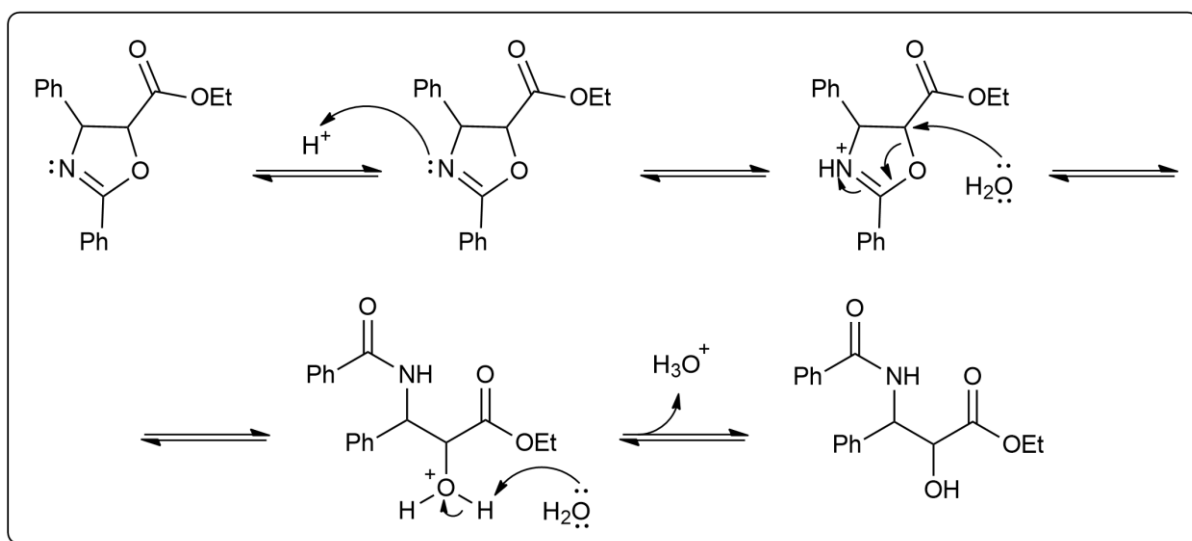


Figura 26. Mecanismo para a síntese do β -amino- α -hidroxiéster **7**.

Após a extração da reação, observou-se conversão para dois produtos, como mostra o cromatograma da **Figura 27**. Não foi realizada purificação de **7** e o composto foi caracterizado por CG-EM (**Espectro E14**), observando-se padrão de fragmentação que condiz com a estrutura desejada.

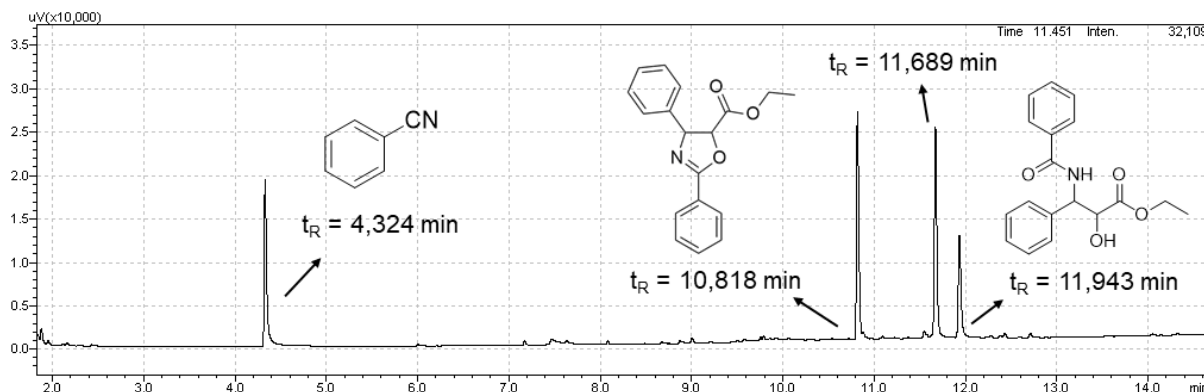


Figura 27. Cromatograma obtido após extração da reação de abertura da oxazolina **6**.

4.4 Triagem de metodologias de epoxidação assimétrica

Para as reações de epoxidação assimétrica, duas metodologias foram triadas. A primeira (Méndez-Sánchez *et al.*, 2014) foi realizada em acetonitrila a 30° C (**Figura 28**).

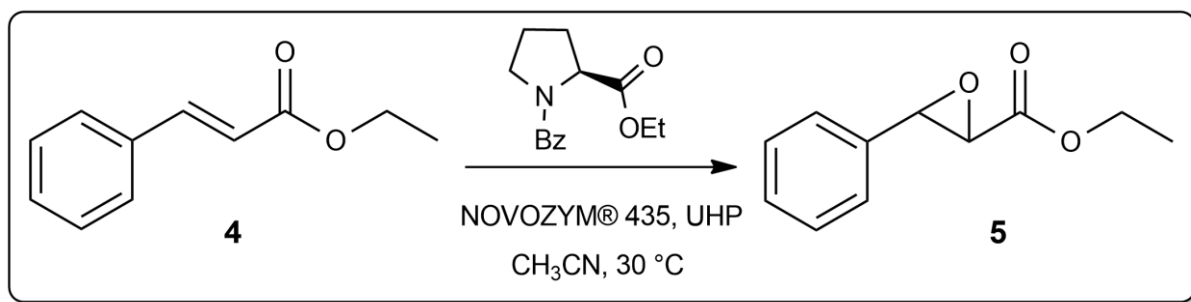


Figura 28. Epoxidação assimétrica de **4**: método 1.

O monitoramento da reação foi feito via CG-DIC em intervalos de 24 horas, mas não se observou qualquer conversão do material de partida, interrompendo-se o experimento após 72 horas.

Para a segunda metodologia (**Figura 29**), substituiu-se a acetonitrila por diclorometano.

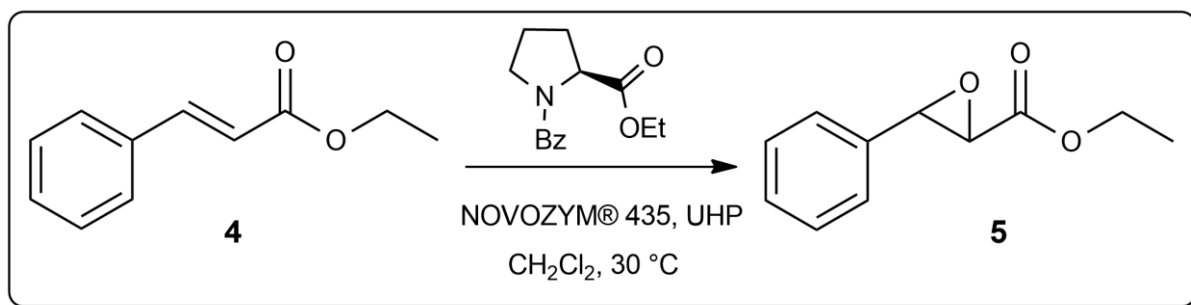


Figura 29. Epoxidação assimétrica de **4**: método 2.

O monitoramento, feito por CG-DIC, também não resultou em qualquer conversão do material de partida e a reação foi interrompida decorridas 72 horas.

Considerando que a metodologia de epoxidação biocatalítica racêmica triada inicialmente contava com a mesma lipase, o mesmo agente oxidante e mesma temperatura, são duas as possibilidades: i) o *N*-benzil-L-prolinato de etila não teve sucesso na geração de peroxiácidos com a ajuda da lipase ou ii) a reação de Prilezhaev não ocorreu. Dada a similaridade dos derivados de L-prolina utilizados, descarta-se i).

Consultando a literatura, Sarma e colaboradores restringiram os resultados de epoxidação reportados a derivados do estireno e alguns alcenos cíclicos (Sarma *et al.*, 2007), mais nucleofílicos do que o *trans*-cinamato de etila utilizado. Por isso, o peroxiácido derivado do *N*-benzil-L-prolinato de etila pode ter sido formado, mas a reação de Prilezhaev que se segue não ocorreu, estabelecendo conversão nula.

Como possíveis soluções para este sistema, sugerem-se: i) um estudo do efeito da temperatura na conversão, que pode auxiliar o ataque nucleofílico do *trans*-cinamato de etila ao peroxiácido formado, e ii) triagem de outras lipases a fim de verificar se ocorrem mudanças na cinética reacional.

5 Conclusão

Na primeira parte deste trabalho, dois métodos de epoxidação para o *trans*-cinamato de metila foram triados: um químico e outro biocatalítico. Enquanto a metodologia química retornou excelentes resultados com conversão total em 5 horas, o método biocatalítico mostrou a formação do epóxido com cinética bastante lenta e formação de produtos laterais.

Na segunda parte do trabalho, atingimos o objetivo de execução da rota sintética de β -amino- α -hidroxiésteres racêmicos. Partindo do ácido *trans*-cinâmico, quatro etapas foram necessárias: uma primeira esterificação para o *trans*-cinamato de etila, a epoxidação para o *trans*-3-fenil-1-glicidato de etila, a abertura do epóxido para síntese da oxazolina com benzonitrila e, por fim, a abertura desta oxazolina em meio ácido, encerrando a rota. Os produtos foram caracterizados por RMN de ^1H , ^{13}C , CG-EM e IV.

Na parte final, dois métodos de epoxidação biocatalítica assimétrica foram triados utilizando o *trans*-cinamato de etila como substrato modelo. Ambas as condições se utilizavam de um sistema com lipase, UHP e *N*-benzil-L-prolinato de etila, em diclorometano ou acetonitrila, e falharam na conversão ao epóxido mesmo após 72 horas de reação. Atribuiu-se este insucesso à nucleofilicidade reduzida do substrato quando comparado àqueles reportados na literatura. Como solução para esta metodologia, sugere-se um estudo do efeito da temperatura no sistema proposto para avaliar se uma temperatura maior possibilita a ocorrência da reação de Prilezhaev.

6 Referências

- AKAGAWA, K.; KUDO, K. Asymmetric Epoxidation of α - β -Unsaturated Aldehydes in Aqueous Media Catalyzed by Resin-Supported Peptide-Containing Unnatural Amino Acids. **Adv. Synth. Catal.**, v. 353, p. 843-847, 2011.
- ANASTAS, P. T.; WARNER, J. C. **Green Chemistry: Theory and Practice**, Oxford University Press: New York, 1998.
- ANKUDEY, E. G. *et al.* Lipase-mediated epoxidation utilizing urea-hydrogen peroxide in ethyl acetate. **Green Chemistry**, v. 8, p. 923-926, 2006.
- ARORA, B. *et al.* Lipase catalyzed Cannizzaro-type reaction with substituted benzaldehydes in water. **Tetrahedron Letters**, v. 55, p. 3920-3922, 2014.
- BALDWIN, J. E. Rules for ring closure. **J. Chem. Soc., Chem. Commun.**, 18, 734-746.
- BHOR, S. *et al.* Synthesis of a New Chiral N,N,N-Tridentate Pyridinebisimidazoline Ligand Library and Its Application in Ru-Catalyzed Asymmetric Epoxidation **Org. Lett.**, v. 16, p. 3393-3396, 2005.
- BJÖRKLING, *et al.* Lipase-mediated Formation of Peroxycarboxylic Acids used in Catalytic Epoxidation of Alkenes. **J. Chem. Soc., Chem. Commun.**, v. 0, p. 1301-1303, 1990.
- BORSCHUEER, U. T. KAZLAUSKAS, R. J. **Hydrolases in Organic Synthesis**, 2^a ed. Weinheim: Wiley-VCH, 2006.
- CANDU, N. *et al.* Levulinate-intercalated LDH: A potential heterogeneous organocatalyst for the green epoxidation of α,β -unsaturated esters. **Catalysis Today**, v. 306, p. 154-165, 2018.
- CHOI, *et al.* Industrial applications of enzyme biocatalysis: Current status and future aspects. **Biotechnology Advances**, v. 33, p. 1443-1454, 2015.
- COLLADON, *et al.* Towards a Greener Epoxidation Method: Use of Water-Surfactant Media and Catalyst Recycling in the Platinum-Catalyzed Asymmetric Epoxidation of Terminal Alkenes with Hydrogen Peroxide. **Adv. Synth. Catal.**, v. 349, p. 797-801, 2007.
- CRAGG, G. M. Paclitaxel (Taxol®): A Success Story With Valuable Lessons for Natural Product Drug Discovery and Development. **Med Res Rev**, v. 5, p. 315-331, 1998.

CUI, Y. *et al.* Improvement of stability of nitrile hydratase via protein fragment swapping. **Biochemical e Biophysical Research Communications**, v. 450, p. 401-408, 2014.

DAVIS, R. L. *et al.* Asymmetric Organocatalytic Epoxidations: Reactions, Scope, Mechanisms, and Applications. **Angew. Chem. Int. Ed.**, v. 53, p. 7406-7426, 2014.

DENIS, J-N. *et al.* An Efficient, Enantioselective Synthesis of the Taxol Side Chain. **J. Org. Chem.**, v. 51, p. 46-50, 1986.

DINCA, A. S. *et al.* A new chiral dimanganese(III) complex: synthesis, crystal structure, spectroscopic, magnetic, and catalytic properties. **RSC Adv.**, v. 6, p. 86569-86574, 2016.

DING, Y. *et al.* Knoevenagel condensation of aromatic aldehydes with active methylene compounds catalyzed by lipoprotein lipase. **Catalysis Communications**, v. 64, p. 101-104, 2015.

DOBADO, J. A. *et al.* Theoretical Study on the Urea-Hydrogen Peroxide 1:1 Complexes. **J. Phys. Chem. A.**, v. 4, p. 778-784.

DWIVEDEE, B. P. *et al.* Promiscuity of Lipase-Catalyzed Reactions for Organic Synthesis: A Recent Update. **ChemistrySelect**, v. 3, p. 2441-2466, 2018.

ER, M.; COSKUN, N. *cis*-(-)-Menthyl phenylglycidates in the asymmetric synthesis of taxol side chain. **ARKIVOC**, v. 7, p. 153-160, 2009.

FABER, K. **Biotransformations in Organic Chemistry**. 6^a ed. Berlin: Springer, 2011.

FERREIRA-LEITAO, V. S. *et al.* The Protagonism of Biocatalysis in Green Chemistry and Its Environmental Benefits. **Catalysts**, v. 7, p. 1-34, 2017.

FORRÓ, E.; FÜLÖP, F. A new enzymatic strategy for the preparation of (2*R*,3*S*)-3-phenylisoserine: a key intermediate for the Taxol side chain. **Tetrahedron: Asymmetry**, v. 21, p. 637-639, 2010.

FORRÓ, E. *et al.* Novel chemo-enzymatic route to a key intermediate for the taxol side-chain through enantioselective O-acylation. Unexpected acyl migration. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 116, p. 101-105, 2015.

GARCIA-BOSCH, I. *et al.* Efficient and Selective Peracetic Acid Epoxidation Catalyzed by a Robust Manganese Catalyst. **Org. Lett.**, v. 10, p. 2095-2098, 2008.

GÓMEZ, L. *et al.* Chiral manganese complexes with pinene appended tetradentate ligands as stereoselective epoxidation catalysts. **Dalton Trans.**, p. 5539-5545, 2007.

GONÇALVES, C. D. C. S.; MARSAIOLI, A. J. Fatos e tendências da Biocatálise. **Quim. Nova**, v. 36, p. 1587-1590, 2013.

GUPTA, A. K. *et al.* Catalytic Asymmetric Epoxidation of Aldehydes with Two VANOL-Derived Chiral Borate Catalysts. **Angew. Chem. Int. Ed.**, v. 58, p. 3361-3367, 2019.

HA, H-J. *et al.* Practical Synthesis of Taxol Side Chain. **Bioorg. Med. Chem. Lett.**, v. 8, p. 1619-1622, 1998.

HIDASOVÁ, D. *et al.* Diastereoselective Radical Couplings Enable the Asymmetric Synthesis of *anti*- β -Amino- α -hydroxy Carboxylic Acid Derivatives. **Eur. J. Org. Chem.**, v. 2018, p. 5222-5230, 2018.

JENSEN, K. L. *et al.* The Diarylprolinol Silyl Ether System: A General Organocatalyst. **Accounts of Chemical Research**, v. 45, p. 248-264, 2012.

KATSUKI, T. SHARPLESS, K. B. The First Practical Method for Asymmetric Epoxidation. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 102, p. 5976-5978, 1980.

KOTLEWSKA, A. J. *et al.* Epoxidation and Bayer-Villiger oxidation using hydrogen peroxide and a lipase dissolved in ionic liquids. **Green Chemistry**, v. 13, p. 2154-2160, 2011.

LEGTERS, J. *et al.* Synthesis of β -amino α -hydroxy carboxylic esters from oxiranecarboxylic esters. **Recl. Trav. Chim. Pays-Bas**, v. 111, p. 69-74, 1992.

LEONARD, J. *et al.* **Advanced Practical Organic Chemistry**. 3^a ed. Boca Raton: CRC Press, 2013.

LYAKIN, O. Y. *et al.* Asymmetric Epoxidations with H₂O₂ on Fe and Mn Aminopyridine Catalysts: Probing the Nature of Active Species by Combined Electron Paramagnetic Resonance and Enantioselectivity Study. **ACS Catal.**, v. 2, p. 1196-1202, 2012.

MELLO, R. *et al.* Epoxidation of Olefins with a Silica-Supported Peracid. **J. Org. Chem.**, v. 77, p. 6409-6413, 2012.

MÉNDEZ-SANCHÉZ, D. *et al.* Chemoenzymatic epoxidation of alkenes based on peracid formation by a *Rhizomucor miehei* lipase-catalyzed perhydrolysis reaction. **Tetrahedron**, v. 70, p. 1144-1148, 2014.

MIAO, C. *et al.* Bioinspired Manganese Complexes and Graphene Oxide Synergistically Catalyzed Asymmetric Epoxidation of Olefins with Aqueous Hydrogen Peroxide. **Adv. Synth. Catal.**, v. 359, p. 476-484, 2017.

MILAGRE, H. M. S. **Síntese Biocatalítica de beta-Amino-alfa-hidroxiácidos. Aplicação na Síntese de Heterociclos Quirais**. 2005. Instituto de Química, UNICAMP, Campinas, SP.

MOYNA, G. *et al.* An Improved Procedure for the Epoxidation of Methyl Cinnamate Derivatives and Production of Acid Sensitive Epoxides. **Synth. Commun.**, v. 26, p. 2235-2239, 1996.

NIE, R. *et al.* A sandwich N-doped graphene/Co₃O₄ hybrid: an efficient catalyst for selective oxidation of olefins and alcohols. **J. Mater. Chem. A**, v. 1, p. 9037-9045, 2013.

OJIMA, I. *et al.* A common pharmacophore for cytotoxic natural products that stabilize microtubules. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v. 96, p. 4256-4261, 1999.

OTTENBACHER, R. V. *et al.* Non-Heme Manganese Complexes Catalyzed Asymmetric Epoxidation of Olefins by Peracetic Acid and Hydrogen Peroxide. **Adv. Synth. Catal.**, v. 353, p. 885-889, 2011.

OUYANG, X-K.; JIN, H-X. Enzymatic approaches to the preparation of chiral epichlorohydrin. **RSC Adv.**, v. 113, p. 92988-92994, 2015.

PATHIRANAGE, A. L. *et al.* Esterification, Purification and Identification of Cinnamic Acid Esters. **Journal of Laboratory Chemical Education**, v. 6, p. 156-158, 2018.

PAVAN, P. *et al.* Lipases: An overview of its current challenges and prospectives in the revolution of biocatalysis. **Biocatalysis and Agricultural Technology**, v. 7, p. 257-270, 2016.

PEREIRA, P. C.; SHELDON, R. A. Biocatalysis engineering: the big picture. **Chem. Soc. Rev.**, v. 46, p. 2678-2691, 2017.

PIELICHOWSKI, J.; KOWALSKI, G. Novel Polyaniline Supported Cobalt Catalyzed Aerobic Oxidation of Unsaturated Organic Compounds. **Mol. Cryst. Liq. Cryst.**, v. 522, p. 105-111, 2010.

PRASETYANTO, E. A.; KHAN, N. H. Asymmetric Epoxidation of α,β -Unsaturated Ketones over Heterogenized Chiral Proline Diamide Complex Catalyst in the Solvent-Free Condition. **Top Catal.**, v. 53, p. 1381-1386, 2010.

PRILEZHAEV, N. Oxydation ungesättigter Verbindungen mittels organischer Superoxyde. **Ber.**, v. 42, p. 4811-4815, 1909.

REETZ, M. T. *et al.* Enzyme promiscuity: first protein-catalyzed Morita–Baylis–Hillman reaction. **Tetrahedron Letters**, v. 48, p. 1679-1681, 2007.

RINGBORG, R. H.; WOODLEY, J. M. The application of reaction engineering to biocatalysis. **Reaction Chemistry & Engineering**, v. 1, p. 10-22, 2016.

RODRIGUES, J. A. R. *et al.* A highly enantioselective chemoenzymatic synthesis of *syn*-3-amino-2-hydroxy esters: key intermediates for taxol side chain and phenylnorstatine. **Tetrahedron: Asymmetry**, v. 16, p. 3099-3106, 2005.

RODRIGUEZ-COLINAS, B. *et al.* Production of Galacto-oligosaccharides by the β -Galactosidase from *Kluyveromyces lactis*: comparative analysis of permeabilized cells versus soluble enzyme. **J. Agric. Food. Chem.**, v. 59, p. 10477-10484, 2011.

SARMA, K. *et al.* A novel method for the synthesis of chiral epoxides from styrene derivatives using chiral acids in presence of *Pseudomonas lipase* G6 [PSL G6] and hydrogen peroxide. **Tetrahedron**, v. 63, p. 8735-8741, 2007.

SEO, D.-H. *et al.* High-yield enzymatic bioconversion of hydroquinone to α -arbutin, a powerful skin lightening agent, by amylosucrase. **Appl Microbiol Biotechnol**, v. 94, p. 1189-1197, 2012.

SHIRAKAWA, S.; MAROUKA, K. Recent Developments in Asymmetric Phase-Transfer Reactions. **Angew. Chem. Int. Ed.**, v. 52, p. 4312-4348, 2013.

SKOURIDOU, V. *et al.* Lipase-mediated epoxidation of α -pinene. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 21, p. 67-69, 2003.

SROUR, H. *et al.* Metal-catalyzed asymmetric sulfoxidation, epoxidation and hydroxylation by hydrogen peroxide. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 257, p. 3030-3050, 2013.

SUN, B. *et al.* Current taxane formulations and emerging cabazitaxel delivery systems. **Nano Res.**, v. 11, p. 5193-5218, 2018.

TANG, Q. *et al.* Lipase-Driven Epoxidation Is A Two-Stage Synergistic Process. **ChemistrySelect**, v. 4, p. 836-839, 2016.

THÁLEN, L. K. *et al.* A Chemoenzymatic Approach to Enantiomerically Pure Amines Using Dynamic Kinetic Resolution: Application to the Synthesis of Norsertraline. **Chem. Eur. J.**, v. 15, p. 3403-3410, 2009.

TÖRNVALL, U. *et al.* Stability of immobilized *Candida antarctica* lipase B during chemo-enzymatic epoxidation of fatty acids. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 40, p. 447-451, 2007.

WANG, Z-M. *et al.* Large-Scale and Highly Enantioselective Synthesis of the Taxol C-13 Side Chain through Asymmetric Dihydroxylation. **J. Org. Chem.**, v. 59, p. 5104-5105, 1994.

WEBB, E. C. **Enzyme Nomenclature 1992. Recommendations of the Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology on the Nomenclature and Classification of Enzymes.** San Diego, California: Academic Press, 1992.

WILDING, B. *et al.* An investigation of nitrile transforming enzymes in the chemo-enzymatic synthesis of the taxol sidechain. **Organic & Biomolecular Chemistry**, v. 13, p. 7803-7812, 2015.

WONG, O. A.; SHI, Y. Organocatalytic Oxidation. Asymmetric Epoxidation of Olefins Catalyzed by Chiral Ketones and Iminium Salts. **Chem. Rev.**, v. 108, p. 3958-3987, 2008.

WOODLEY, J. M.; SHELDON, R. A. Role of Biocatalysis in Sustainable Chemistry. **Chemical Reviews**, Special Issue: Sustainable Chemistry, 2017.

WU, L. L. *et al.* Biocatalytic asymmetric Mannich reaction of ketimines using wheat germ lipase. **Catal. Sci. Technol.**, v. 6, p. 3963-3970, 2016.

XIE, Z-B. *et al.* Lipase-Catalyzed Stereoselective Cross-Aldol Reaction Promoted by Water. **ChemCatChem**, v. 5, p. 1935-1940, 2013.

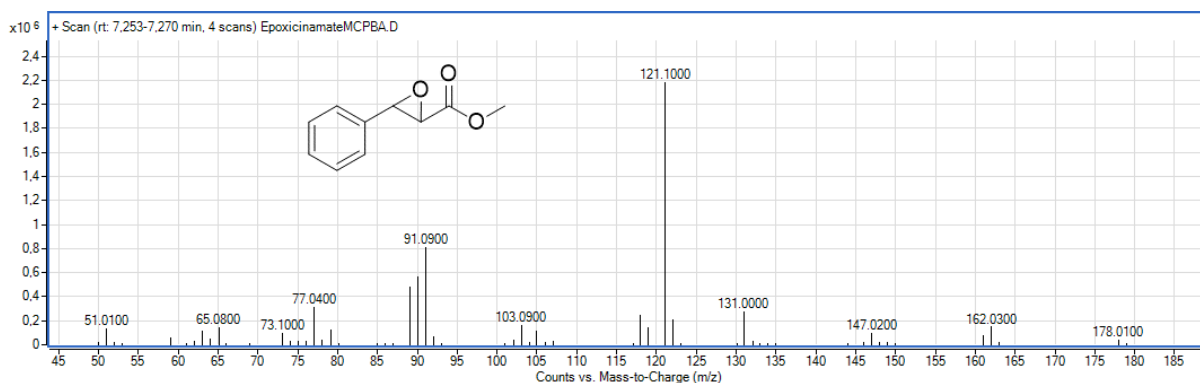
YARED, J. A.; TKACZUK, K. H. R. Update on taxane development: new analogs and new formulations. **Drug Design, Development and Therapy**, v. 6, p. 371-384, 2012.

ZHANG, X. *et al.* Chemo-enzymatic epoxidation of *Sapindus mukurossi* fatty acids catalyzed with *Candida* sp. 99–125 lipase in a solvent-free system. **Industrial Crops and Products**, v. 98, p. 10-18, 2017.

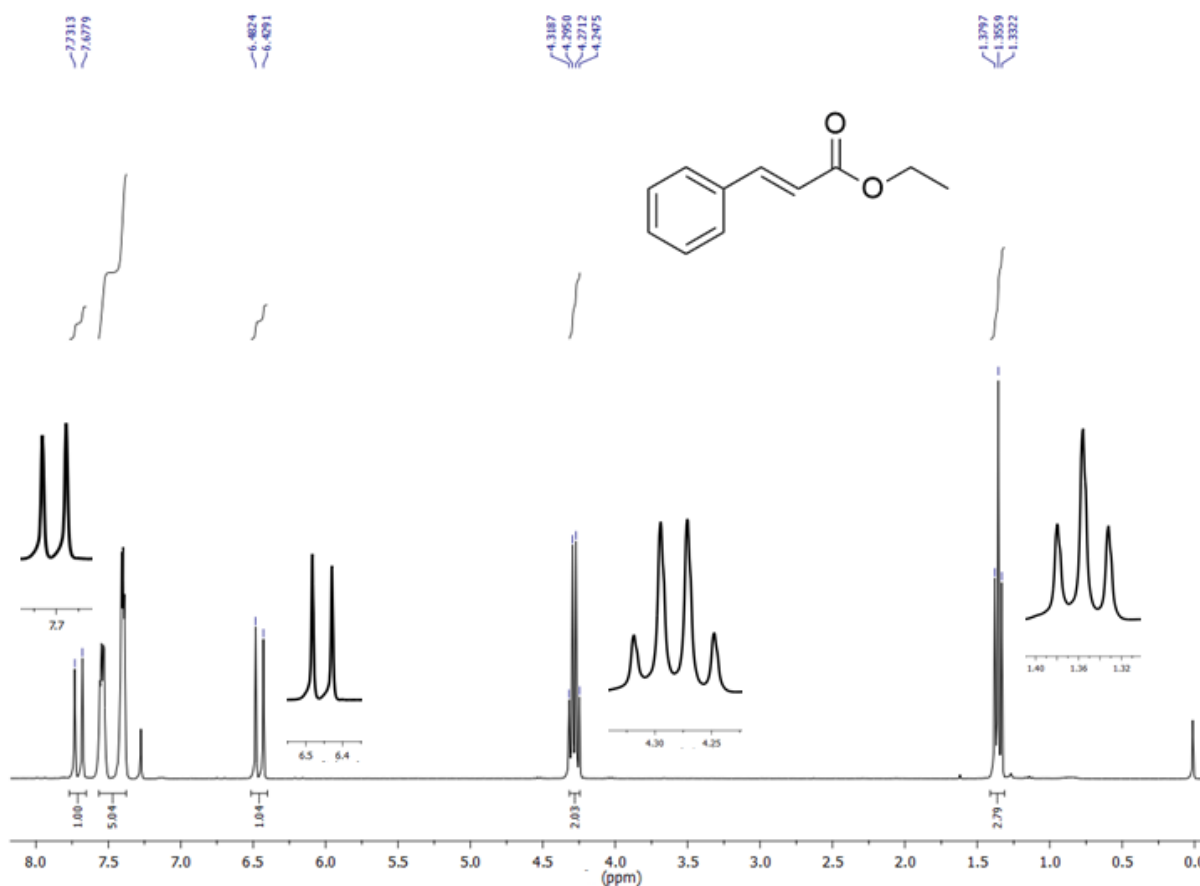
ZHOU, Z.; MEI, X. A Practical and Stereoselective Synthesis of Taxol Side Chain. **Synthetic Communications**, v. 33, p. 723-728, 2003.

ZHOU, P. *et al.* Chemoenzymatic epoxidation of alkenes with *Candida antarctica* lipase B and hydrogen peroxide in deep eutectic solvents. **RSC Adv.**, v. 7, p. 12518-12523, 2017.

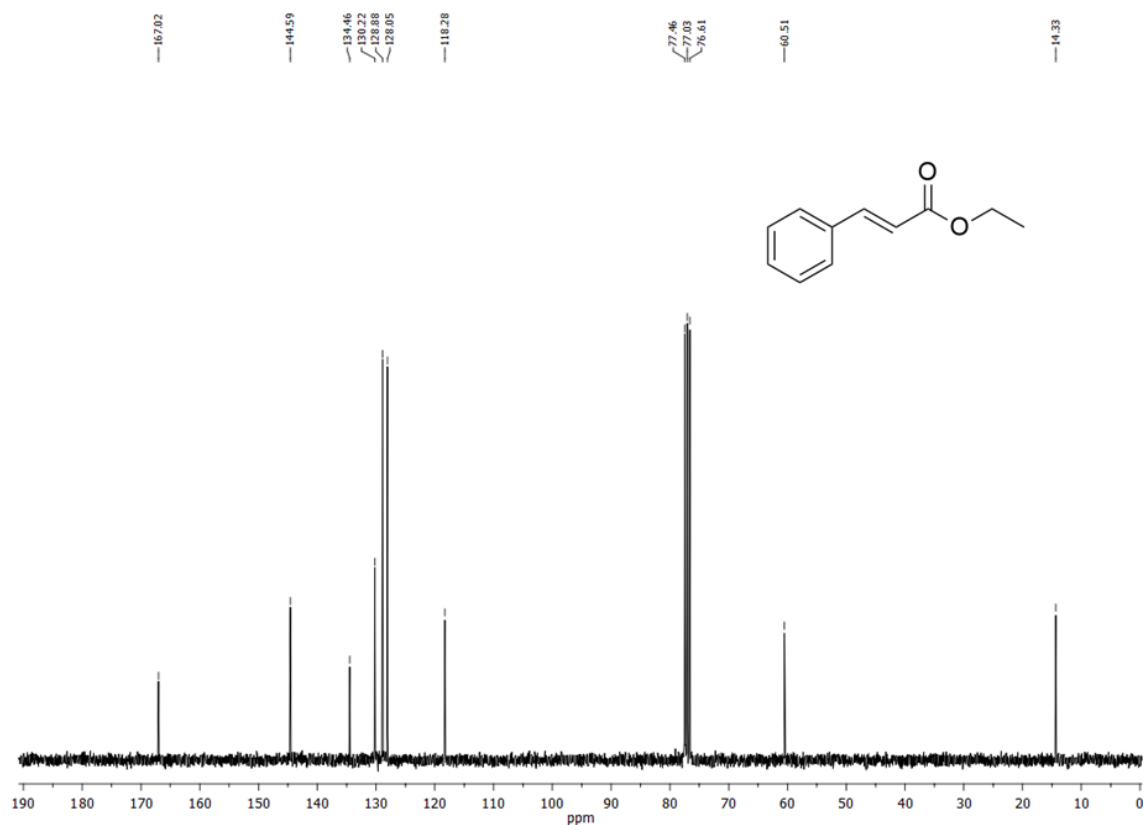
7 Anexo



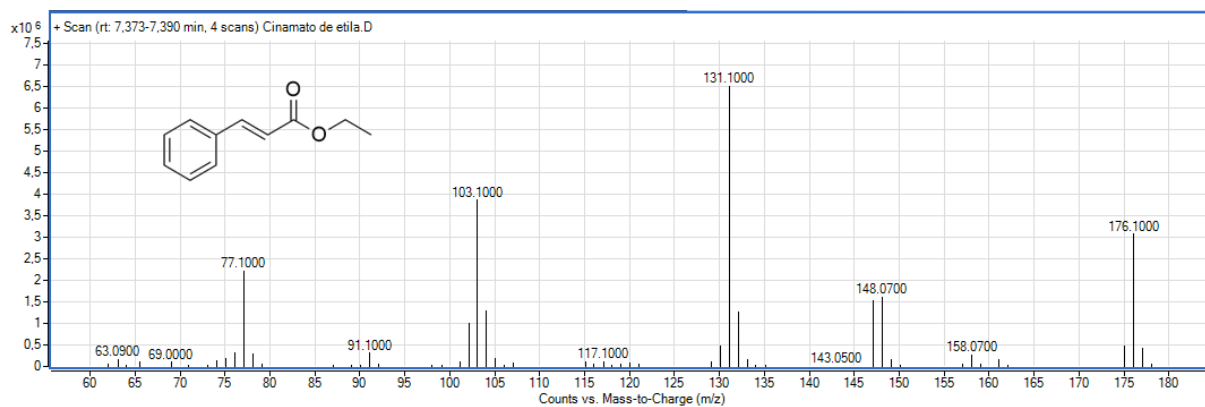
Espectro E1. Espectro de massas do 3-fenil-1-glicidato de metila **2**.



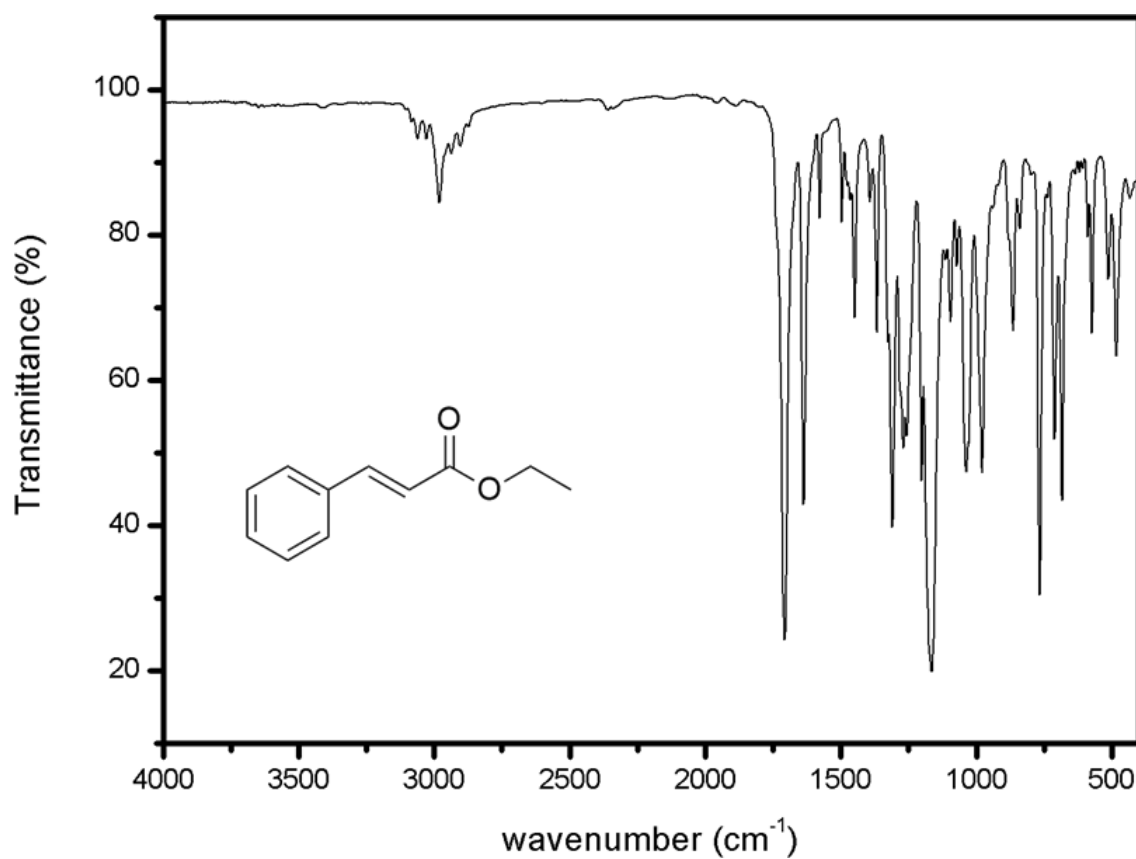
Espectro E2. Espectro de RMN de ¹H para o *trans*-cinamato de etila **4** (CDCl₃, 300 MHz).



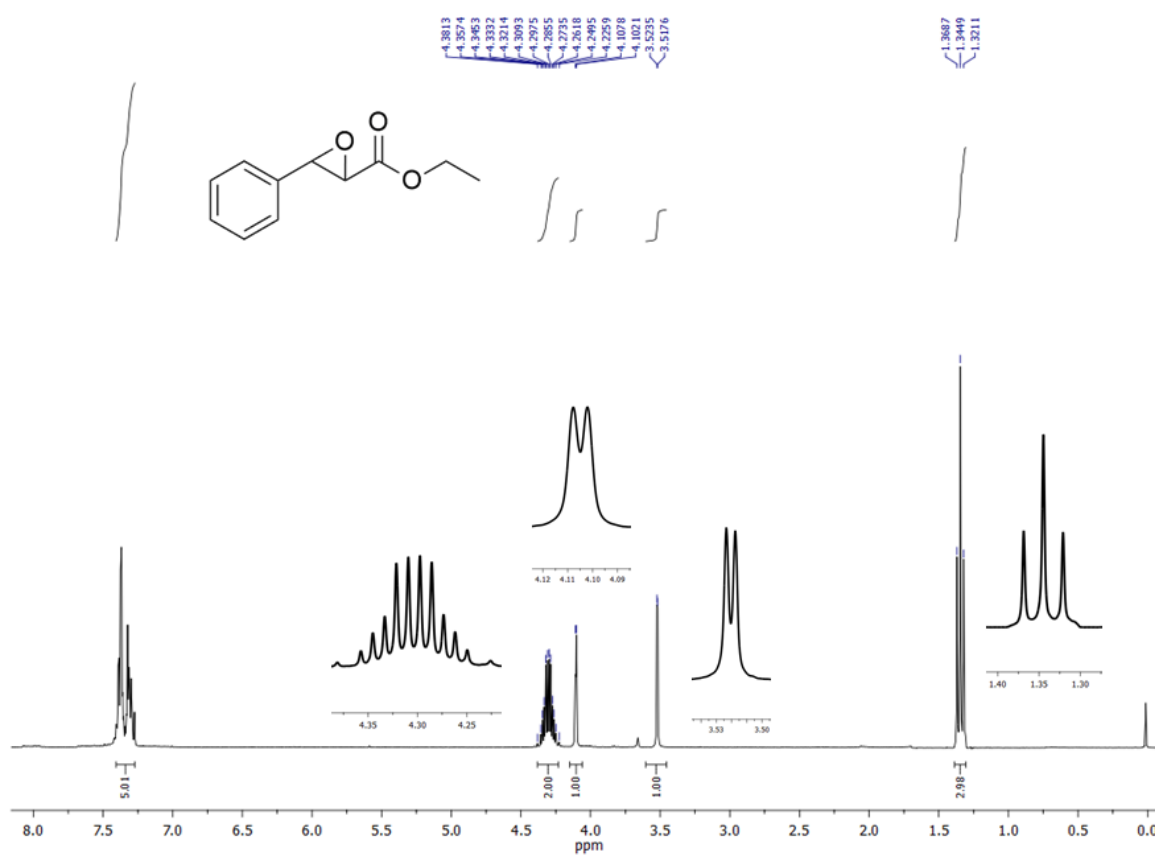
Espectro E3. Espectro de RMN de ¹³C para o *trans*-cinamato de etila **4** (CDCl₃, 300 MHz).



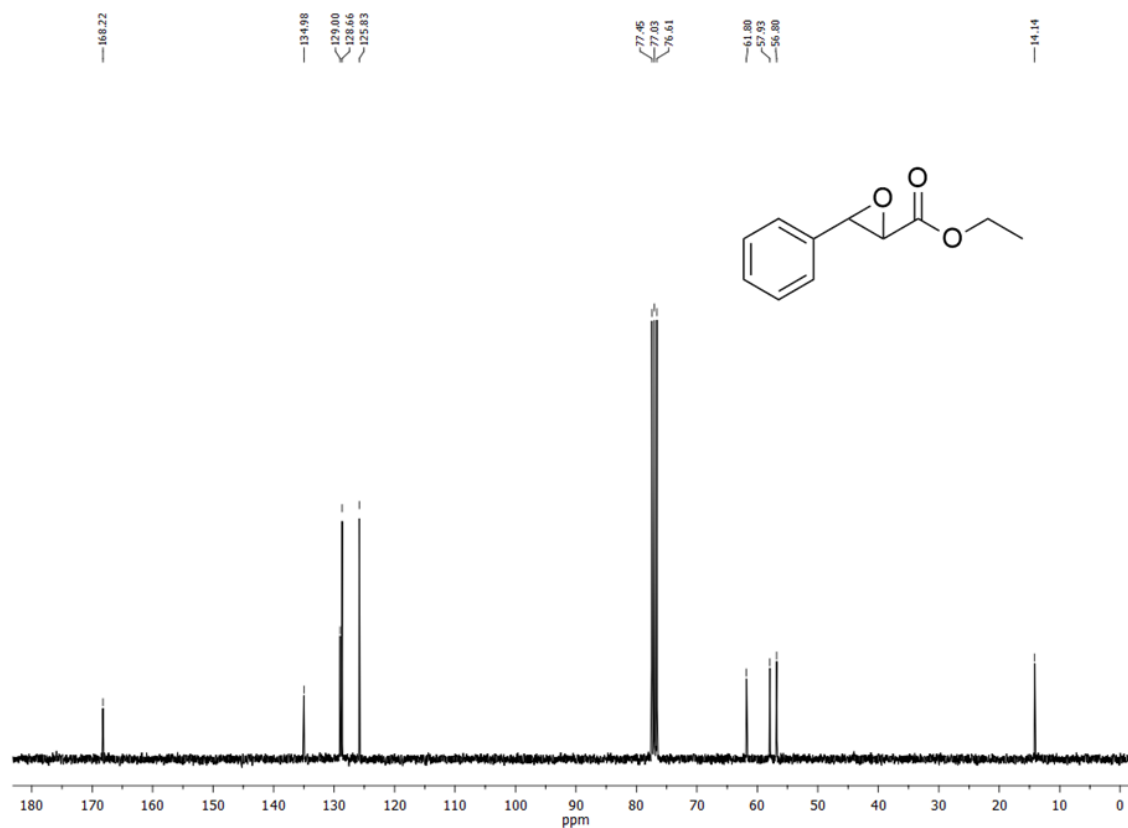
Espectro E4. Espectro de massas para o *trans*-cinamato de etila **4**.



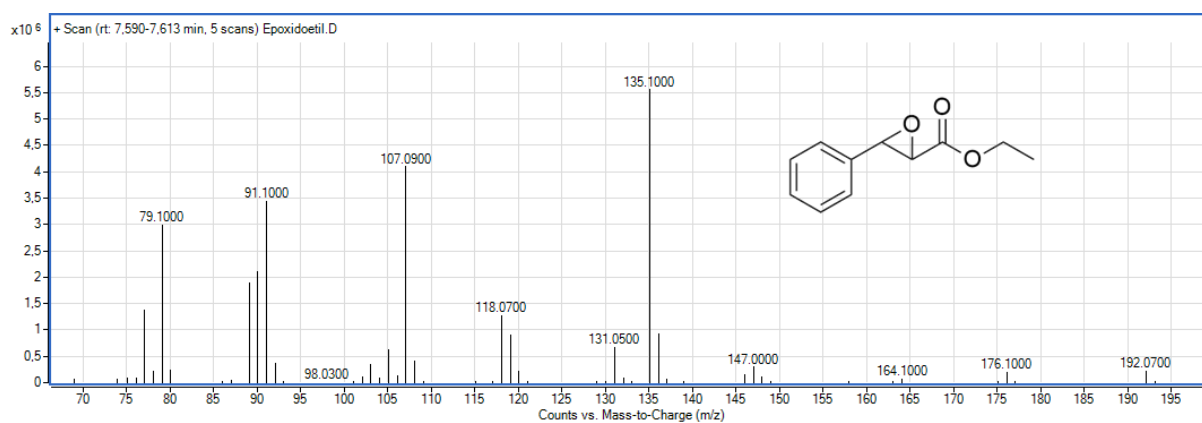
Espectro E5. Espectro de infravermelho para o *trans*-cinamato de etila **4**.



Espectro E6. Espectro de RMN de ^1H para o *trans*-3-fenil-1-glicidato de etila **5** (CDCl_3 , 300 MHz).



Espectro E7. Espectro de RMN de ¹³C para o *trans*-3-fenil-1-glicidato de etila **5** (CDCl₃, 300 MHz).



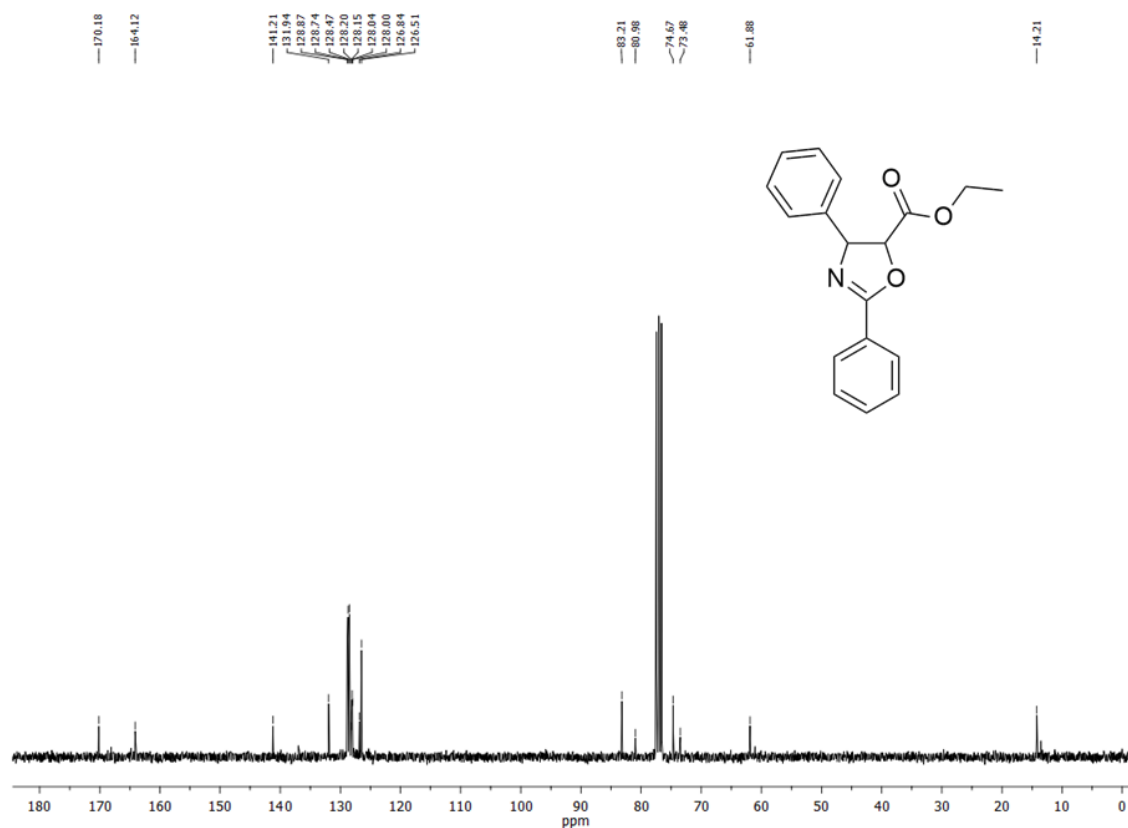
Espectro E8. Espectro de massas para o *trans*-3-fenil-1-glicidato de etila **5**.

Chemical structure: CCOC(=O)C1=NC(=O)C2=CC=CC=C2C1=CC=CC=C2

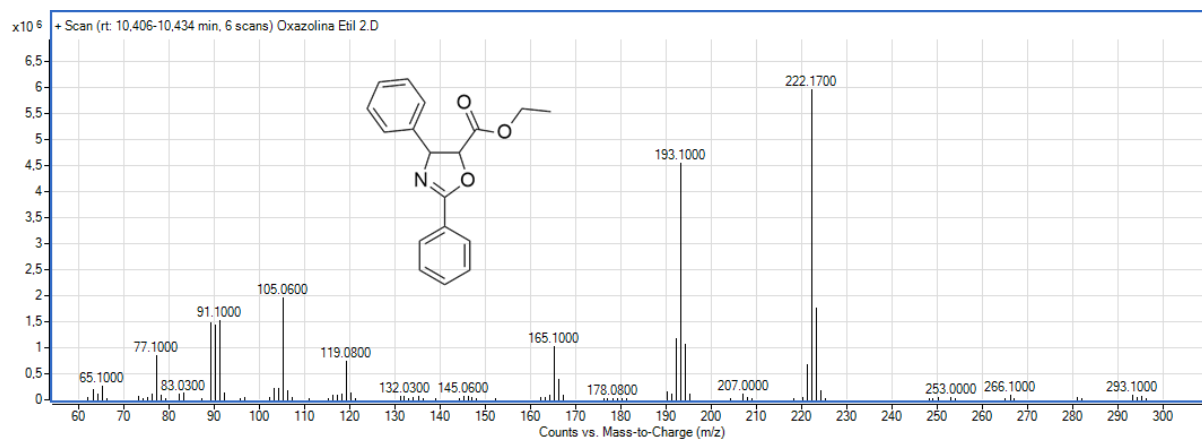
¹H NMR spectrum (CDCl₃) data:

Chemical Shift (ppm)	Integration
7.2 - 7.6	5.45
5.5	1.00
4.9	0.99
3.1 - 3.8	2.06
1.4	3.95
0.8	1.40

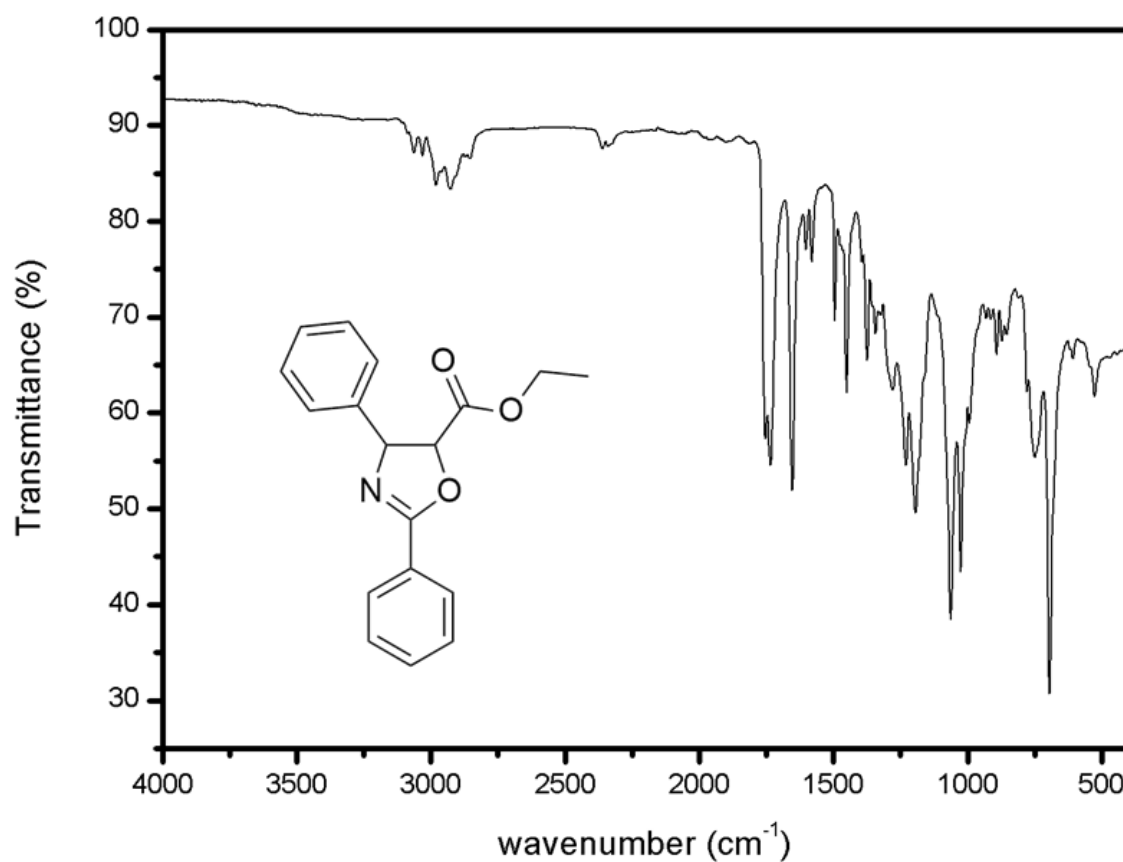
Espectro E10. Espectro de RMN de ^1H para o 3,4-difenil-4-oxazolina-2-carboxilato de etila **6** (CDCl_3 , 300 MHz).



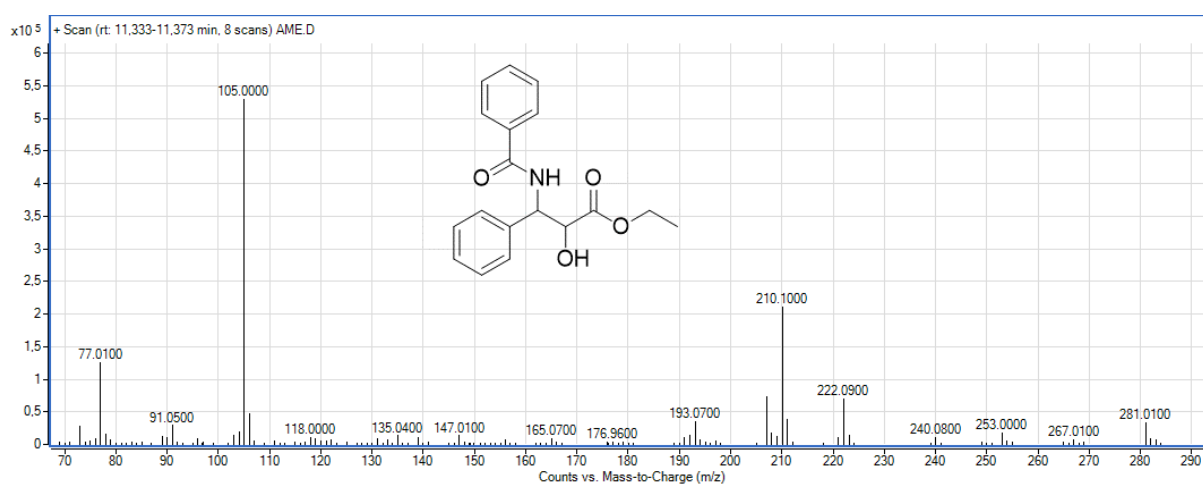
Espectro E11. Espectro de RMN de ^{13}C para o 3,4-difenil-4-oxazolina-2-carboxilato de etila **6** (CDCl_3 , 300 MHz).



Espectro E12. Espectro de massas para o 3,4-difenil-4-oxazolina-2-carboxilato de etila **6**.



Espectro E13. Espectro de infravermelho para o 3,4-difenil-4-oxazolina-2-carboxilato de etila **6**.



Espectro E14. Espectro de massas para 3-fenil-2-hidroxi-3-benzamido propionato de etila **7**.