

LAÍZA ARAUJO DE ALMEIDA

Resolução cinética dinâmica quimioenzimática de álcoois:

Estratégias de otimização e escalonamento

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

Orientador: Prof. Dr. Humberto Márcio Santos Milagre

Araraquara

2023

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

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

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

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

Essa ficha não pode ser modificada.

IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA

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

POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH

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

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

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

AUTORA: LAÍZA ARAUJO DE ALMEIDA

ORIENTADOR: HUMBERTO MÁRCIO SANTOS MILAGRE

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

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

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

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

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

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

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

Araraquara, 15 de dezembro de 2023

DADOS CURRICULARES

IDENTIFICAÇÃO

Nome: Laíza Araujo de Almeida

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

ENDEREÇO PROFISSIONAL

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

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

Araraquara, SP – Brasil

FORMAÇÃO ACADÊMICA/TITULAÇÃO

2019 – 2023

Doutorado em Química, área de concentração: Química Orgânica.

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

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

2017 – 2019

Mestrado em Química, área de concentração: Química Orgânica.

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

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

2012 – 2016

Licenciatura em Química.

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

FORMAÇÃO COMPLEMENTAR

2020 – 2020

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

American Chemical Society, Estados Unidos.

2019 – 2019

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

Universidade Federal de São Carlos, UFSCAR, Brasil.

2016 – 2016

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

2016 – 2016

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

2013 – 2013

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

2013 – 2013

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

2012 – 2012

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

2012 – 2012

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

PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA

Artigos completos publicados em periódicos

Polaquini, C.R.; Torrezan, G.S.; Santos, V.R.; Nazaré, A.C.; Campos, D.L.; **Almeida, L.A.**; Silva, I.C.; Ferreira, H.; Pavan, F.R.; Duque, C.; Regasini, L.O. *Antibacterial and Antitubercular Activities of Cinnamylideneacetophenones*. **Molecules**, v. 22, n. 10, p. 1685, 2017. (doi:10.3390/molecules22101685).

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

Artigos submetidos para publicação:

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

Trabalhos publicados em anais de eventos científicos:

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

Polaquini, C. R.; Torrezan, G. S.; Ayusso, G. M.; **Almeida, L. A.**; Silva, I. C.; Pavan, F. R.; Ferreira, H.; Regasini, L. O. *Design, Green Synthesis and Cytotoxicity of 30 Curcumin-Cinnamaldehyde Hybrids*. 39^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Goiânia – GO, 2016.

Apresentação de trabalhos e/ou palestra:

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

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

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

Torrezan, G. S.; **Almeida, L. A.**; Polaquini, C. R.; Silva, I. C.; Ferreira, H.; Pavan, F. R.; Regasini, L. O. *Design and Synthesis of Curcumin-Cinnamaldehyde Hybrids as Cytotoxic Agents Against Lung Cancer Cells*. 8th Brazilian Symposium on Medicinal Chemistry (BrazMedChem), Armação dos Búzios – RJ, 2016.

Almeida, L. A.; Polaquini, C. R.; Torrezan, G. S.; Regasini, L. O.; Ferreira, H. *Planejamento, Síntese e Atividade Antibacteriana de Curcuminóides contra Enterococcus faecalis*. 1^a Fase do XXVIII Congresso de Iniciação Científica da UNESP (CIC), São José do Rio Preto - SP, 2016.

Polaquini, C. R.; Sardi, J. C. O.; Torrezan, G. S.; **Almeida, L. A.**; Freires, I. A.; Lazarini, J. G.; Rosalen, P. L.; Regasini, L. O. *Avaliação de diacetilcurcumina contra biofilme de Staphylococcus aureus resistente à meticilina e toxicidade em Galleria mellonella* (Menção Honrosa: Melhor Apresentação Oral). VIII Simpósio de Microbiologia, São José do Rio Preto – SP, 2016.

Almeida, L. A.; Polaquini, C. R.; Torrezan, G. S.; Morao, L. G.; Ferreira, H.; Regasini, L. O. *Análogos assimétricos de curcumina como agentes antitumorais: Planejamento, síntese e citotoxicidade* (Menção Honrosa: Melhor Painele). IV Simpósio Integrado da Graduação e Pós-Graduação em Química, São José do Rio Preto – SP, 2016.

PARTICIPAÇÃO EM EVENTOS CIENTÍFICOS

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

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

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

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

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

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

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

V Semana Cultural Brasileira. Coimbra, Portugal, 2015.

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

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

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

ORIENTAÇÕES

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

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

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

*Para Helena,
Aquele que ilumina meus dias.*

AGRADECIMENTOS

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Bonnie Garmus – Uma Questão de Química

RESUMO

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

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

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

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

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

ABSTRACT

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

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

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

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

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

APRESENTAÇÃO GERAL DA TESE

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

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

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

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

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

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

LISTA DE FIGURAS

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

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

LISTA DE TABELAS

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

LISTA DE ESQUEMAS

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

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

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Ac – grupo acetila

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

Asp – ácido aspártico

c – conversão

CAL-A – lipase A de *Candida antarctica*

CAL-B – lipase B de *Candida antarctica*

CRL – lipase de *Candida rugosa*

CCD – cromatografia em camada delgada

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

CG-EM – cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas

DIPE – éter di-isopropílico

DMAP – 4-dimetilaminopiridina

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

E – razão enantiomérica

EC – do inglês *Enzyme Commission*

ee_p – excesso enantiomérico do produto

ee_s – excesso enantiomérico do substrato

Et – grupo etila

FDA – do inglês *Food and Drug Administration*

His – histidina

IV – infravermelho

J – constante de acoplamento

m/z – razão massa carga

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

Nu – nucleófilo

PP – polipropileno

ppm – partes por milhão

PTPE – politetrafluoretileno

rac – racêmico

RC – resolução cinética

RCD – resolução cinética dinâmica

R_f – fator de retenção em cromatografia em camada fina

RBR – do inglês *rotating bed reactor*

RMN de ¹³C – ressonância magnética nuclear de carbono 13

RMN de ¹H – ressonância magnética nuclear de hidrogênio

rpm – rotações por minuto

Sel. – seletividade da racemização ácida

Ser – serina

STR – do inglês *stirred tank reactor*

t.a. – temperatura ambiente

TFT – trifluorotolueno

THF – tetrahidrofurano

t_R – tempo de retenção

v/v – razão volume/volume

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

SUMÁRIO

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

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

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

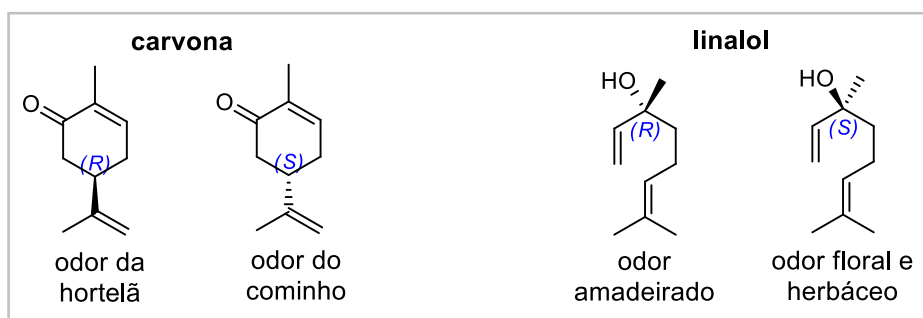
Introdução geral

1. INTRODUÇÃO GERAL

1.1 Moléculas quirais e sua obtenção enantiosseletiva

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

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

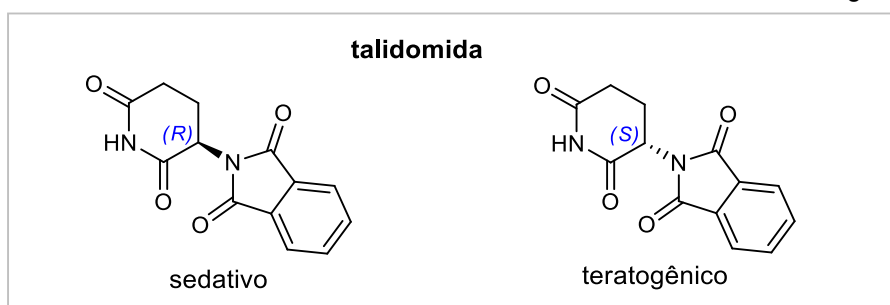


Fonte: elaborada pela autora (2023).

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

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

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



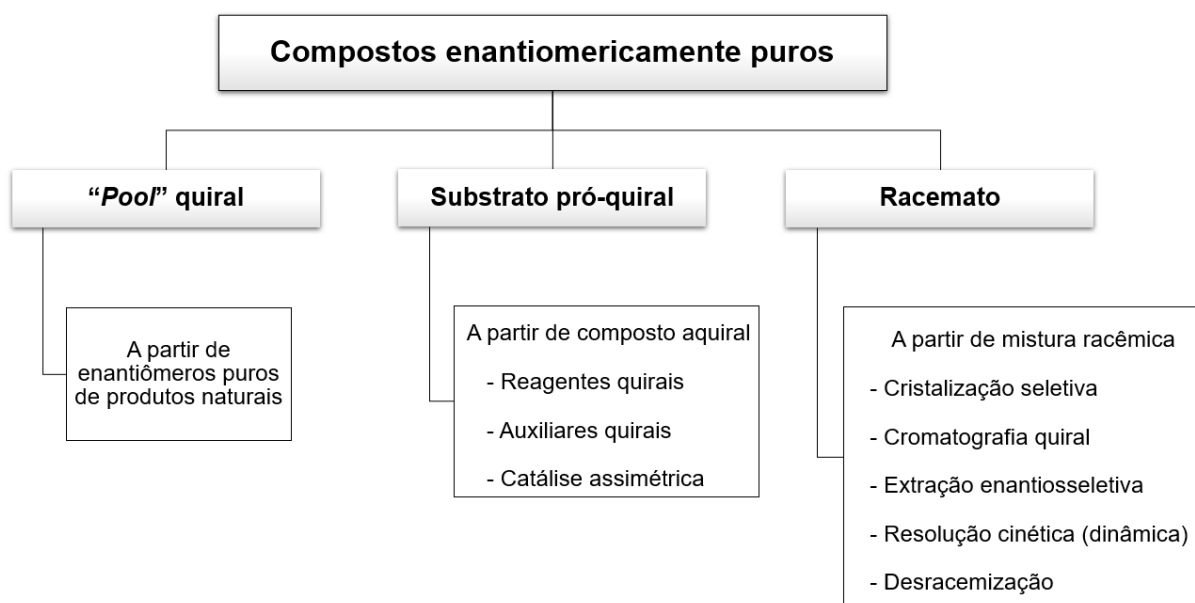
Fonte: elaborada pela autora (2023).

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

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

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

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



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

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

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

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

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

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

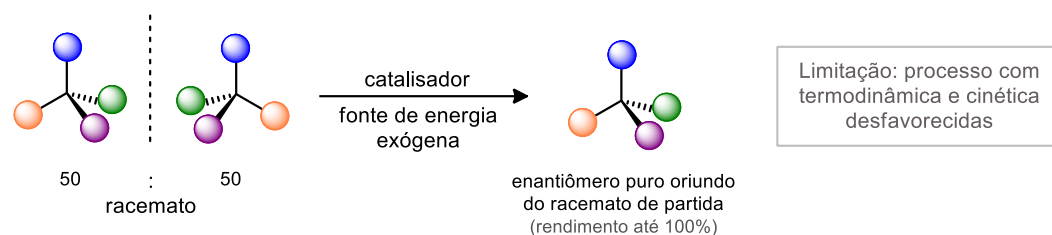
- V) *desracemização*, abordagem que converte diretamente o racemato em seu único enantiômero, onde o produto enantiopuro é, portanto, estruturalmente idêntico ao material de partida (HUANG et al., 2023).

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

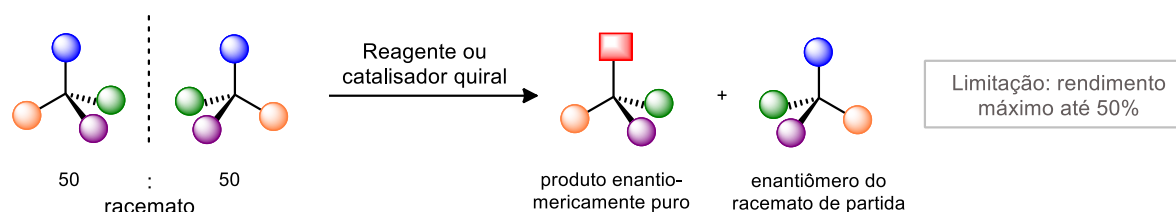
O **Esquema 2** ilustra as diferenças entre os métodos de desracemização, resolução cinética (RC) e resolução cinética dinâmica (RCD), sendo estes dois últimos o tema central desta tese.

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

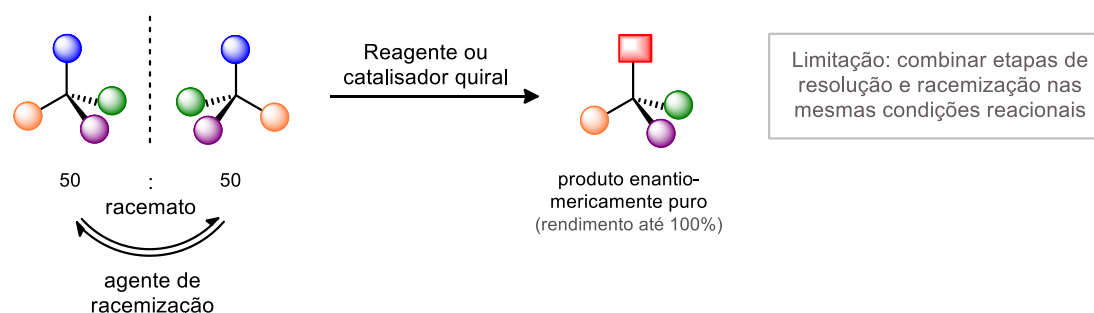
a) Desracemização



b) Resolução cinética (RC)



c) Resolução cinética dinâmica (RCD)



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

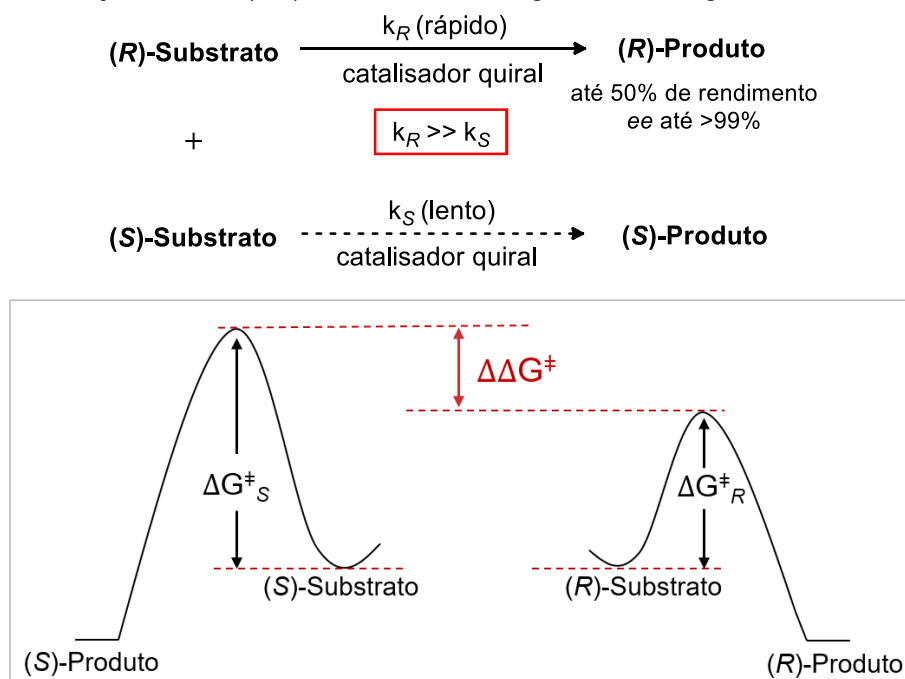
1.2 Resolução cinética catalisada por lipases

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

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

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

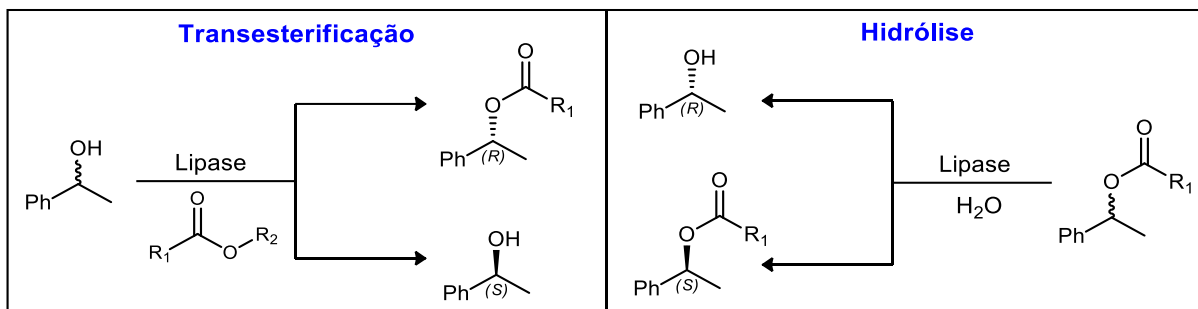
Esquema 3. Resolução cinética (RC) catalítica e seu diagrama de energia livre.



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

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

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



Fonte: elaborado pela autora (2023).

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

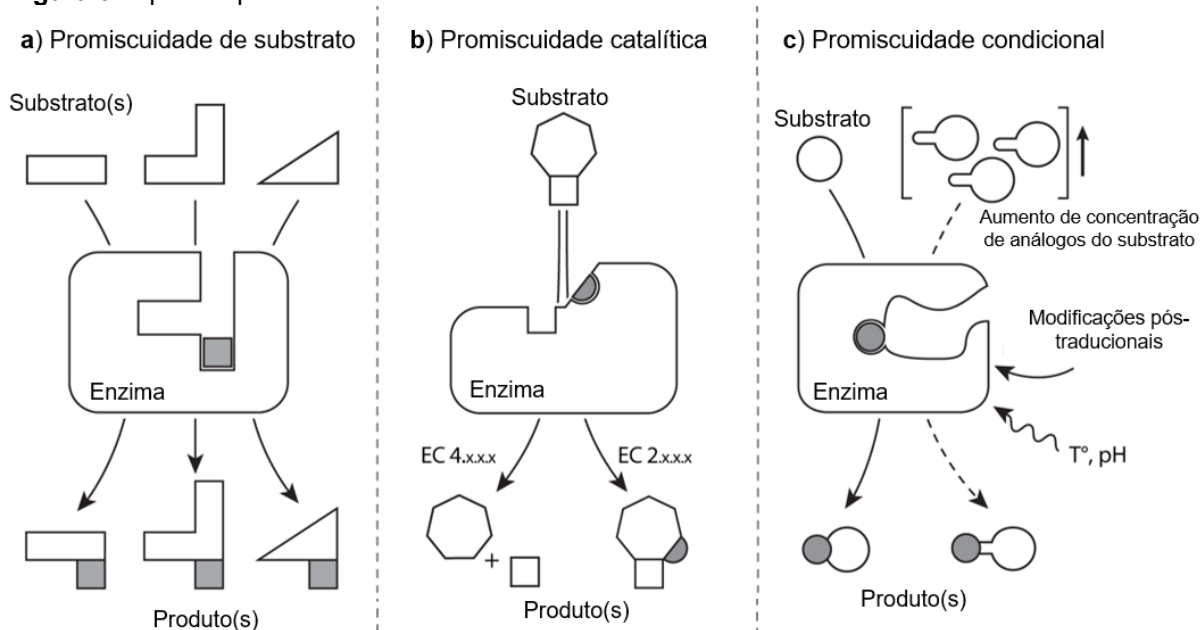
Nas últimas décadas, o notável avanço nas áreas de biologia molecular e engenharia de proteínas possibilitou a aplicação de enzimas fora de seus sistemas biológicos naturais, atuando como biocatalisadores em síntese orgânica, especialmente em métodos de obtenção enantiosseletiva de intermediários quirais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

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

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

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

Figura 3. Tipos de promiscuidade enzimática.



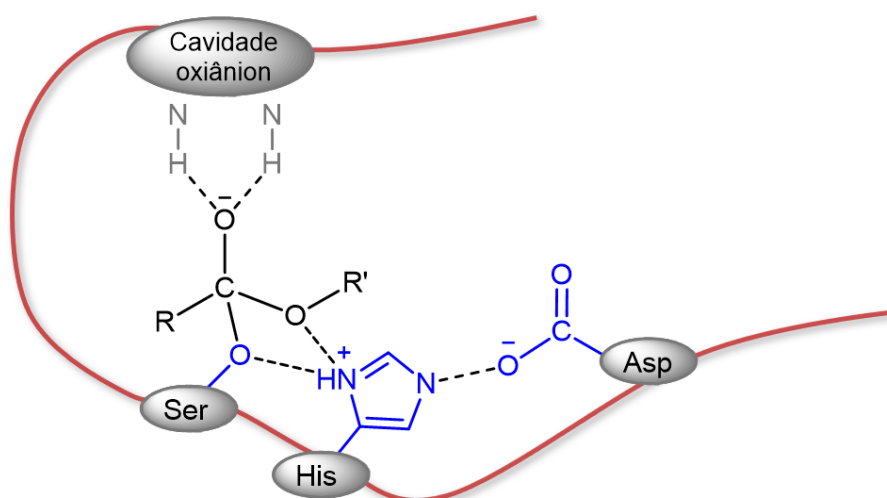
Fonte: Adaptado de Piedrafita e coautores (PIEDRAFITA; KELLER; RALSER, 2015).

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

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

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

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



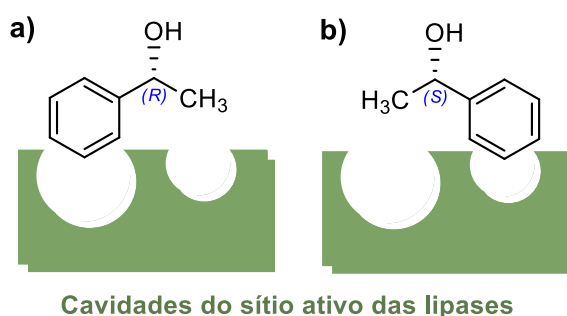
Fonte: Adaptado de Chen e coautores (CHEN et al., 2018).

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

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

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

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



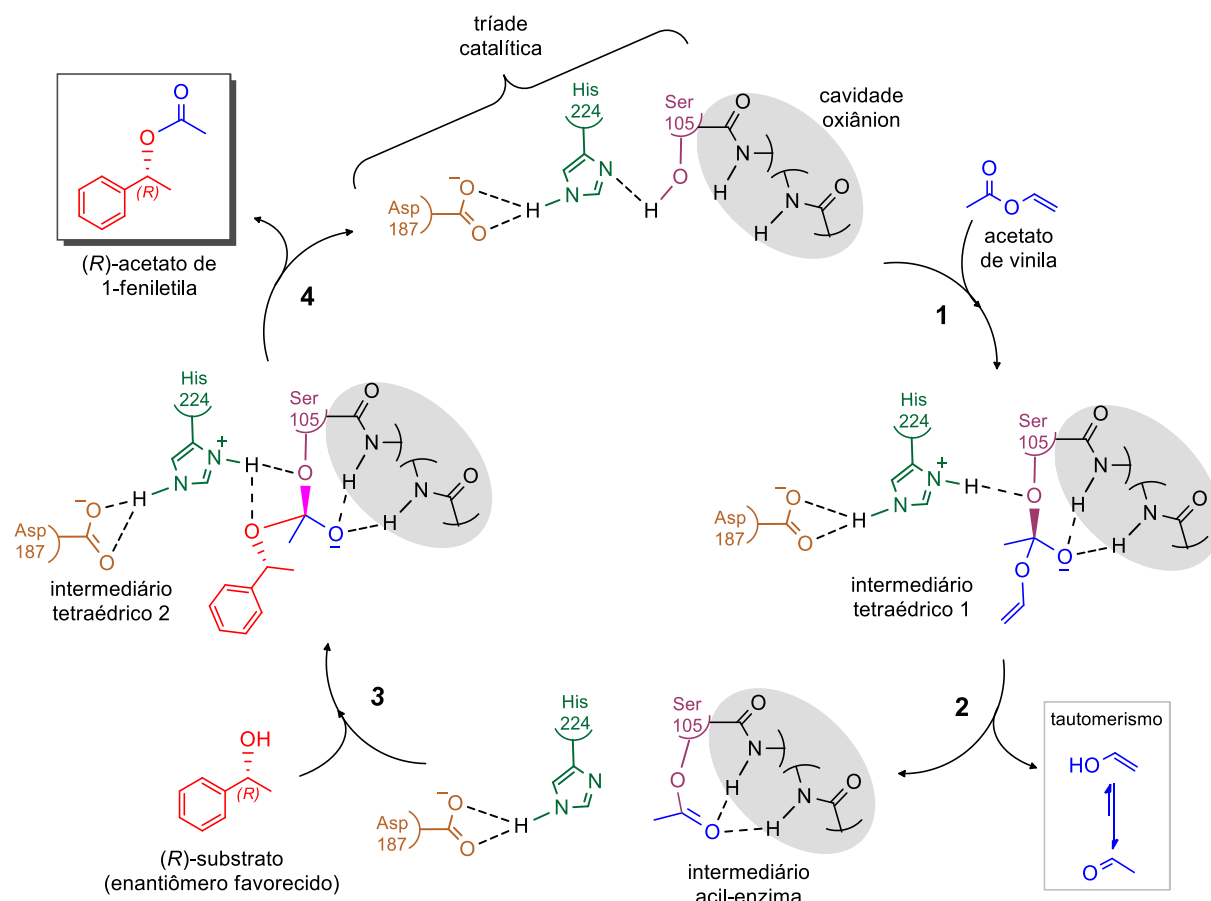
Fonte: elaborada pela autora (2023).

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

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

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

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



Fonte: Adaptado de Santos (SANTOS, 2019).

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

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

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

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

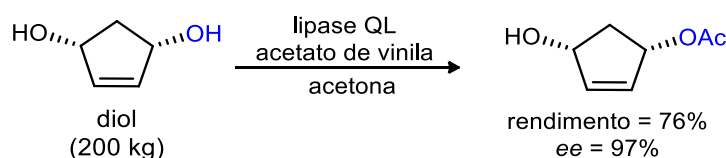
Equação 1

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

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

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

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



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

Capítulo Um

Resolução cinética dinâmica de álcoois secundários benzílicos:
Otimização do sistema catalítico e escalonamento

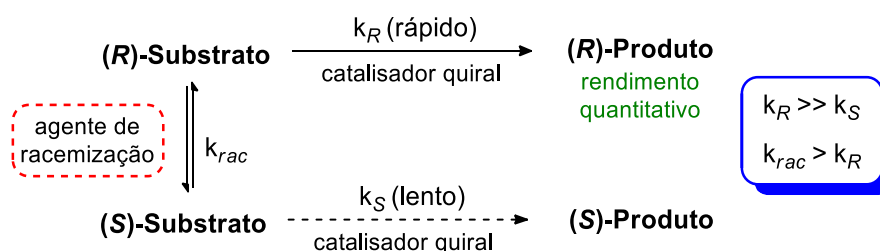
2. CAPÍTULO 1 – Resolução cinética dinâmica de álcoois secundários benzílicos: Otimização do sistema catalítico e escalonamento

2.1 Introdução

2.1.1 Resolução cinética dinâmica quimioenzimática de álcoois secundários

Com o avanço do desenvolvimento de outros métodos biocatalíticos e devido a sua limitação de rendimento máximo de 50%, a resolução cinética (RC) precisou passar por uma evolução para se manter como uma alternativa atrativa para a obtenção de compostos opticamente ativos. Essa evolução foi alcançada ao combinar a RC enzimática com uma racemização *in situ* do substrato, em um processo *one-pot* intitulado *resolução cinética dinâmica* (RCD) (PELLISSIER, 2011). Os processos de RCD envolvem uma racemização reversível ocorrendo em simultâneo com uma reação seletiva de um enantiômero com o catalisador quiral (**Esquema 7**) (BHAT et al., 2017).

Esquema 7. Resolução cinética dinâmica (RCD).



Fonte: elaborado pela autora (2023).

Um protocolo de RCD necessita que os dois processos – resolução e racemização – sejam compatíveis nas mesmas condições reacionais e que o produto quiral obtido não reaja com o agente de racemização. Além disso, para se alcançar um rendimento quantitativo, a reação de resolução deve apresentar alta enantiosseletividade e ser irreversível ($k_R \gg k_S$), e a velocidade da reação de racemização deve igual ou superior à velocidade da reação de resolução cinética ($k_{rac} \geq k_R$) (PÀMIES; BÄCKVALL, 2003; VERHO; BÄCKVALL, 2015).

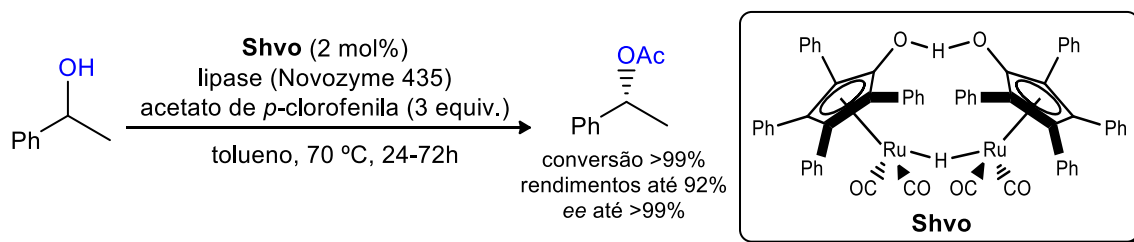
Uma reação de racemização consiste na conversão de um enantiômero puro na sua mistura racêmica correspondente, levando à perda total de atividade óptica, e pode ocorrer através de diversas reações, entre elas: (i) racemização térmica; (ii) catalisada por base ou ácido, (iii) via reação redox e (iv) via radicais (EBBERS et al.,

1997). A combinação de uma reação de racemização com uma RC enzimática – que opera geralmente sob condições reacionais brandas – é desafiadora, pois o agente de racemização empregado deve ser ativo nas mesmas condições reacionais da RC e não pode inibir ou desativar a enzima.

Para compostos com centro estereogênico menos propensos à racemização espontânea, se faz necessário o uso de catalisador químico para a interconversão do enantiômero remanescente na etapa de resolução, em uma abordagem conhecida como *resolução cinética dinâmica quimioenzimática* (PARVULESCU et al., 2010). Os catalisadores de metais de transição, por exemplo, são os agentes de racemização mais comuns em metodologias de RCD de álcoois secundários e aminas primárias.

O primeiro protocolo bem sucedido de RCD quimioenzimática, publicado por Bäckvall e colaboradores em 1997, utilizou um complexo dimérico de rutênio conhecido como catalisador de Shvo para racemizar 1-feniletanol e outros álcoois secundários benzílicos através de reações reversíveis de transferência de hidrogênio (**Esquema 8**) (LARSSON; PERSSON; BÄCKVALL, 1997). A etapa de racemização via mecanismo redox foi compatível com a resolução via transesterificação enantiosseletiva catalisada pela lipase B de *Candida antarctica* imobilizada (CAL-B, nome comercial: Novozyme 435).

Esquema 8. Resolução cinética dinâmica quimioenzimática de *rac*-1-feniletanol e derivados utilizando catalisador de Shvo e lipase.



Fonte: Adaptado de Larsson e coautores (LARSSON; PERSSON; BÄCKVALL, 1997).

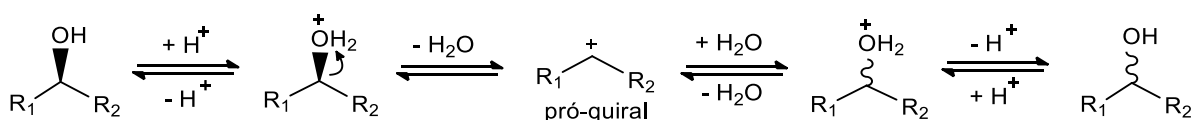
Os excelentes resultados do protocolo apresentado no **Esquema 8** evidenciaram o potencial dos complexos metálicos como agentes de racemização em sistemas de RCD e, como consequência, diversos derivados do catalisador de Shvo foram desenvolvidos. Entretanto, boa parte desses catalisadores necessitam de ativação térmica ou via adição de bases, fator que limita sua combinação com outros tipos de lipases (VAZ et al., 2013). Além disso, os catalisadores derivados do Shvo

apresentam elevado custo de produção e, por atuarem como catalisadores homogêneos, não são recuperados ao final dos processos de RCD.

Nas últimas duas décadas, ocorreram avanços significativos na RCD quimioenzimática, como aplicação de técnicas genéticas (engenharia de proteínas) ou físico-químicas (imobilização enzimática) para aumento de estabilidade, seletividade e atividade das enzimas, e o desenvolvimento de novos catalisadores químicos para catalisar a racemização sob condições reacionais adequadas (SEDDIGI et al., 2017). Nesse contexto, a combinação de enzimas com catalisadores heterogêneos é uma das estratégias mais promissoras para o desenvolvimento de rotas catalíticas enantiosseletivas como a RCD, pois une as vantagens individuais de cada componente catalítico, como a robustez e facilidade de reutilização dos catalisadores heterogêneos e a excelente enantiosseletividade das enzimas (DEBECKER et al., 2021). Além disso, a catálise heterogênea está envolvida atualmente em mais de 80% da produção de todos os produtos químicos no mundo, dado que evidencia sua relevância (HU; YIP, 2021; PAN et al., 2022).

Os catalisadores ácidos são um exemplo importante de catalisadores heterogêneos para a racemização de álcoois (PARVULESCU et al., 2010). Esse grupo de compostos promove a racemização de álcoois através de protonação e formação de carbocátion, seguida de adição não-estereosseletiva de uma molécula de água (**Esquema 9**). Nesta abordagem, podemos citar o uso de resinas ácidas (ÖDMAN; WESSJOHANN; BORNSCHEUER, 2005), zeólitas (WUYTS et al., 2004) e catalisadores a base de vanádio (AKAI et al., 2006) como agentes de racemização heterogêneos na RCD de álcoois secundários.

Esquema 9. Racemização de álcool secundário via catálise ácida.

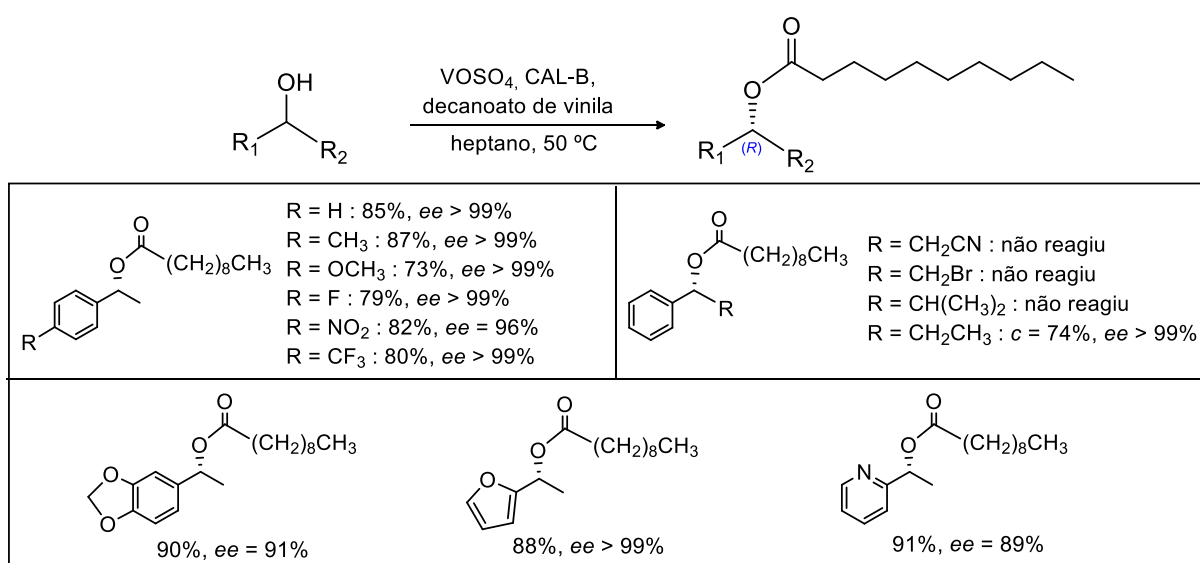


Fonte: Adaptado de Wuyts e coautores (WUYTS et al., 2004).

Motivado pelos trabalhos com catalisadores ácidos heterogêneos como agentes de racemização em protocolos de RCD, nosso grupo de pesquisa vem utilizando o sulfato de vanadila hidratado (VOSO_4) para a racemização de álcoois benzílicos derivados do 1-feniletanol combinado com a enzima CAL-B imobilizada (DE ALMEIDA, 2019). O VOSO_4 é um sólido cristalino prontamente disponível

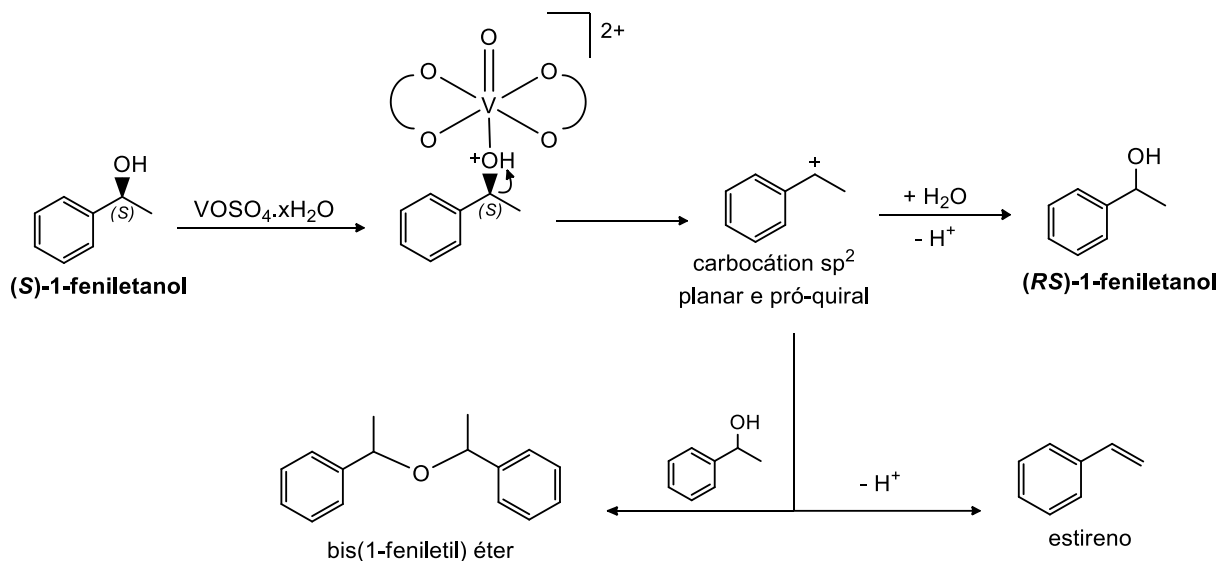
comercialmente, de custo relativamente baixo quando comparado com outros complexos de metais de transição (cerca de R\$30/g – valor da empresa Merck, consultado em dezembro de 2023), apresenta baixa toxicidade e é insolúvel em solvente orgânico. Após otimização das condições reacionais, o sistema heterogêneo CAL-B/VOSO₄ foi capaz de promover a transesterificação enantiosseletiva e racemização de 1-feniletanol e seus derivados com conversões entre 73 e 91% e ee até >99% (**Esquema 10**) (DE ALMEIDA, 2019).

Esquema 10. RCD quimioenzimática de álcoois benzílicos catalisada por CAL-B/VOSO₄.



Fonte: Adaptado de Almeida (DE ALMEIDA, 2019).

A racemização ácida catalisada por VOSO₄ se inicia pela coordenação do complexo de oxovanádio à hidroxila de álcoois, seguido de eliminação desta hidroxila para formação de carbocátion como intermediário. A adição subsequente de uma molécula água ao carbocátion ocorre sem estereosseletividade, levando à formação de ambos os enantiômeros do álcool de partida (WUYTS et al., 2007). Entretanto, o carbocátion também pode reagir com outra molécula de álcool ou sofrer desprotonação, conforme ilustrado no **Esquema 11**, levando à formação de éter ou alceno como subprodutos. A eficiência da racemização depende da estabilidade do carbocátion formado e, para álcoois secundários benzílicos, a presença de anéis aromáticos ricos em densidade eletrônica favorece a racemização (DE ALMEIDA, 2019).

Esquema 11. Mecanismo da racemização de (S)-1-feniletanol catalisada por VOSO₄.

Fonte: elaborado pela autora (2023).

O protocolo desenvolvido para a RCD de álcoois secundários possui como vantagens o uso de solvente orgânico (heptano) e agente de racemização (VOSO₄) ambientalmente amigáveis, reagentes de custos relativamente baixos e disponíveis comercialmente; uso de temperatura relativamente baixa (50 °C) quando comparado com outros protocolos de RCD utilizando catalisadores metálicos; e uso de um sistema quimioenzimático heterogêneo (VOSO₄ e CAL-B imobilizada), o que facilita o *work-up* reacional e possibilita estudos de reciclabilidade (DE ALMEIDA, 2019).

Os trabalhos precursores de RCD catalisada por lipase e VOSO₄ mencionaram uma incompatibilidade entre os catalisadores químico e enzimático (AKAI et al., 2010; WUYTS et al., 2007), algo também observado pelo nosso grupo de pesquisa nos estudos preliminares de reciclabilidade do sistema heterogêneo CALB-/VOSO₄, onde a atividade catalítica foi diminuída pelo contato físico prolongado entre esses catalisadores (DE ALMEIDA, 2019). Essa limitação da metodologia pode ser superada por meio de otimização do sistema reacional através, por exemplo, de estratégias de compartimentalização dos catalisadores.

2.1.2 Compartimentalização de catalisadores

O conceito de compartimentalização é oriundo da Natureza, uma vez que as células – os blocos de construção da vida – são divididas em regiões contendo microambientes com diferentes valores de pH, concentrações de sal, hidrofóbicos ou ambientes hidrofílicos, permitindo a ocorrência simultânea de reações distintas e

específicas sem interferência (KOURIST; GONZÁLEZ-SABÍN, 2021; LU; DIMROTH; WECK, 2015). A Natureza é capaz de realizar reações sequenciais ou em simultâneo combinando transformações que poderiam ser incompatíveis, mas que são viabilizadas através de um controle equilibrado da difusão de reagentes e produtos dentro e fora desses compartimentos, retendo intermediários reativos ou tóxicos, aumentando a concentração local de substratos e/ou suprimindo reações concorrentes ou inibitórias. (JOLLY et al., 2022; LU; DIMROTH; WECK, 2015).

Conduzir reações químicas consecutivas em *one-pot* de maneira análoga aos sistemas biológicos é uma tarefa complexa e, ao mesmo tempo, almejada pela indústria química. Do ponto de vista industrial, processos catalíticos em *one-pot* são vantajosos em termos de sustentabilidade e viabilidade econômica, pois evitam etapas que consomem tempo e geram resíduos, como purificação e isolamento de intermediários, além de economizarem unidades operacionais (SPERL et al., 2016).

Inspirados nos elegantes compartimentos biológicos da Natureza, químicos e engenheiros desenvolveram estratégias de compartimentalização para superar as barreiras encontradas na combinação de processos multicatalíticos, como sistemas bifásicos, imobilização e encapsulamento dos catalisadores, e separação espacial por química de fluxo (KOURIST; GONZÁLEZ-SABÍN, 2021; LU; DIMROTH; WECK, 2015). Em contraste à essas elaboradas estratégias, o conceito de compartimentalização de catalisadores em sistemas não-biológicos foi aplicado inicialmente nos anos 1980 em abordagens práticas de confinamento com membranas comerciais de diálise (BEDNARSKI et al., 1987; HOUGHTEN, 1985).

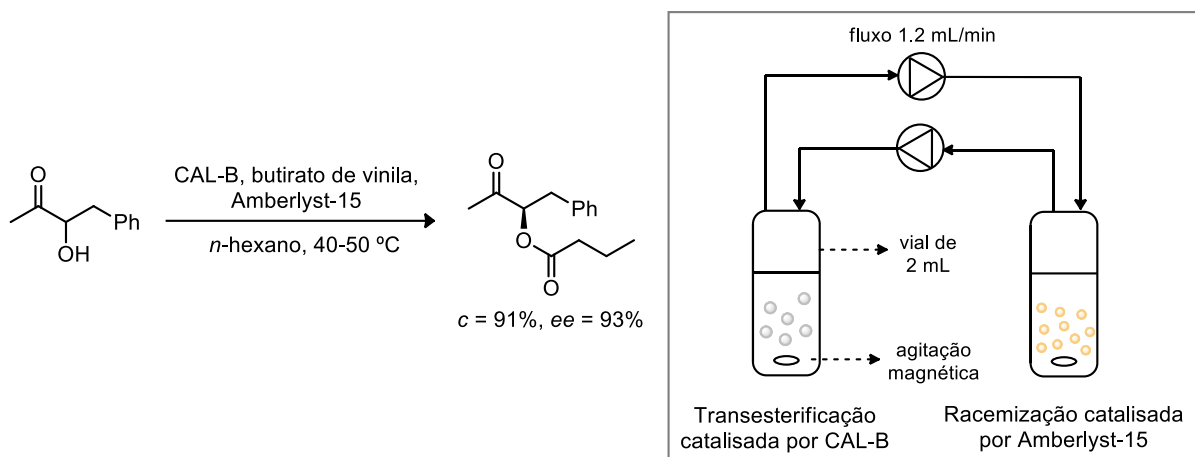
De maneira geral, a compartimentalização de catalisadores envolve a organização ou segregação de catalisadores em estruturas físicas distintas (compartimentos), visando melhorar a eficiência e seletividade das reações químicas, além de facilitar a recuperação e reutilização desses catalisadores. Compartimentos podem ser definidos como qualquer estrutura responsável por confinar componentes de uma reação química em ambientes adequados, permitindo o estudo da reatividade nesses ambientes (DAVIS; LIU; DIACONESCU, 2023).

A escolha do compartimento não necessita seguir requisitos químicos rigorosos, uma vez que a função principal dessa estrutura física é limitar o acesso de reagentes e/ou produtos ao sítio ativo do catalisador confinado. Entretanto, alguns aspectos precisam ser levados em consideração para um design adequado de um sistema compartimentalizado, como: reatividade do material no meio reacional de

interesse; tamanho dos poros do compartimento; disposição adequada dos reagentes; e difusão dos reagentes e produtos entre os compartimentos (DAVIS; LIU; DIACONESCU, 2023).

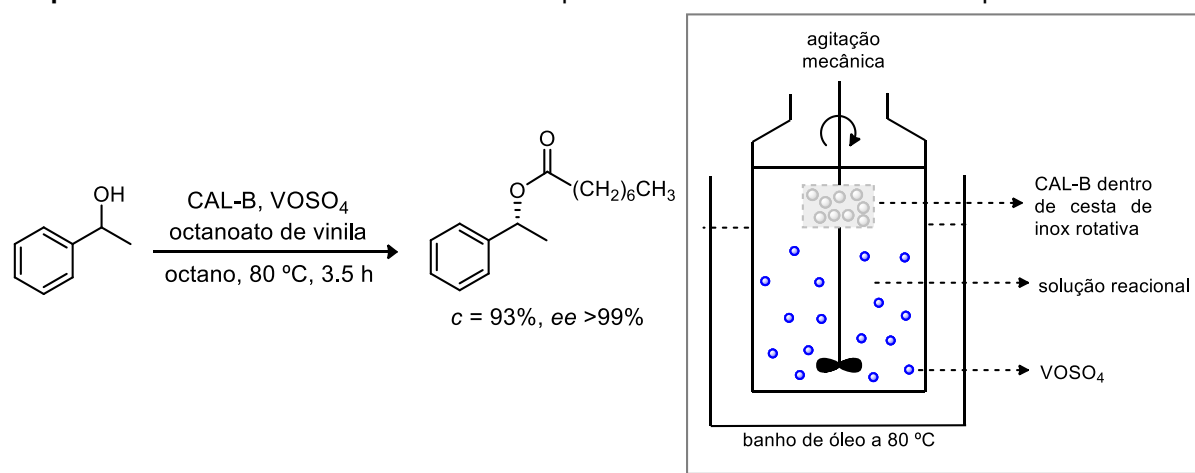
A combinação de catalisadores químicos, especialmente metálicos, e biocatalisadores em um único recipiente é uma abordagem atrativa para o desenvolvimento de rotas sintéticas sustentáveis para a obtenção de compostos enantiomericamente puros (SATO; HUMMEL; GRÖGER, 2015). Entretanto, tal combinação é desafiadora, já que muitas enzimas são desativadas por componentes da via química e, portanto, as etapas enzimática e química não são compatíveis (SATO; HUMMEL; GRÖGER, 2015; SPERL et al., 2016). Nesse sentido, a compartimentalização de sistemas quimioenzimáticos é uma alternativa para superar a incompatibilidade entre os catalisadores, problema frequentemente observado, por exemplo, durante o desenvolvimento de metodologias de resolução cinética dinâmica (RCD) catalisadas por lipases e catalisadores químicos.

Em 2005, o grupo do Prof. Bornscheuer estudou a combinação de uma esterificação enantiosseletiva de α -hidróxi-cetonas catalisada por CAL-B imobilizada com uma racemização ácida catalisada por resinas de troca iônica contendo ácido sulfônico (nome comercial: Amberlyst®). Após observarem uma desativação da enzima causada pela resina ácida, os pesquisadores realizaram a separação espacial dos catalisadores através de dois compartimentos (vials de 2 mL) conectados por uma bomba peristáltica (**Esquema 12**). Nessa configuração – um compartimento para a transesterificação enzimática e outro para a racemização via catálise ácida – as etapas ocorreram em simultâneo, alcançando uma conversão de 91% ao (S)-produto (*ee* = 93%) (ÖDMAN; WESSJOHANN; BORNSCHEUER, 2005).

Esquema 12. RCD quimioenzimática de α -hidróxi-cetona em sistema compartimentalizado.

Fonte: Adaptado de Ödman e coautores (ÖDMAN; WESSJOHANN; BORNSCHEUER, 2005).

O problema de incompatibilidade também foi observado na combinação de CAL-B com VOSO_4 , outro catalisador heterogêneo ácido. Em 2007, Wuyts e colaboradores otimizaram a RCD quimioenzimática de 1-feniletanol catalisada por CAL-B/ VOSO_4 através do confinamento da enzima imobilizada em uma cesta porosa de inox, a qual foi suspensa em um reator de vidro de 100 mL contendo os cristais de VOSO_4 e a solução reacional (**Esquema 13**). Com o sistema compartimentalizado, foi possível alcançar 93% de rendimento ao (*R*)-produto ($ee > 99\%$) (WUYTS et al., 2007).

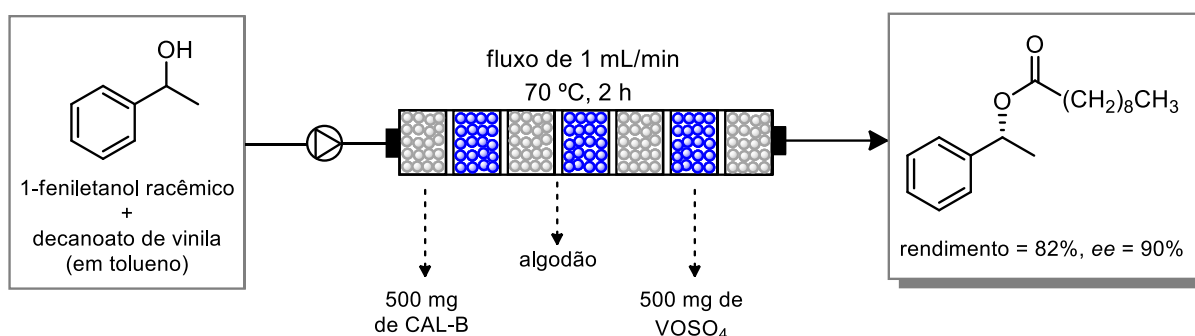
Esquema 13. RCD de 1-feniletanol catalisada por CAL-B/ VOSO_4 em sistema compartimentalizado.

Fonte: Adaptado de Wuyts e coautores (WUYTS et al., 2007).

A incompatibilidade das etapas de transesterificação catalisada por CAL-B e racemização catalisada por VOSO_4 também foi reportada em 2017 pelo grupo de pesquisa do Prof. De Souza (DE MIRANDA et al., 2017). Para superar essa limitação, os pesquisadores realizaram a RCD de 1-feniletanol sob condições de fluxo contínuo

utilizando uma coluna de vidro como reator. O reator foi empacotado alternadamente com quatro camadas de CAL-B imobilizada e três camadas de VOSO_4 , com cada camada de catalisadores estando separada fisicamente por uma fina camada de algodão (**Esquema 14**). Com essa configuração, a RCD quimioenzimática de 1-feniletanol resultou na produção de 2.718 g (82% de rendimento) do (*R*)-produto (*ee* = 90%) em 2 horas (DE MIRANDA et al., 2017).

Esquema 14. RCD de 1-feniletanol catalisada por CAL-B/ VOSO_4 em regime de fluxo contínuo.



Fonte: Adaptado de Miranda e coautores (DE MIRANDA et al., 2017).

As otimizações alcançadas com a compartimentalização de CAL-B/ VOSO_4 para a RCD de 1-feniletanol evidenciaram o potencial desse sistema catalítico quimioenzimático para o desenvolvimento de metodologias enantiosseletivas sustentáveis e de maior custo-benefício. Nosso grupo de pesquisa avaliou, pela primeira vez, o escopo do protocolo de RCD catalisado por CAL-B/ VOSO_4 para outros álcoois benzílicos secundários, conforme ilustrado no **Esquema 10** no Tópico 2.1.1 (DE ALMEIDA, 2019). A reciclabilidade de CAL-B e VOSO_4 também foi analisada realizando reações consecutivas de RCD de 1-feniletanol, com recuperação dos catalisadores heterogêneos por filtração simples e lavagem com heptano ao final de cada ciclo. Nesse estudo preliminar, observou-se uma significativa perda de atividade catalítica ao longo de 4 ciclos consecutivos de RCD, com a conversão ao (*R*)-produto (*ee* >99%) caindo de 80% no primeiro ciclo para 54% já no segundo ciclo (DE ALMEIDA, 2019).

Diante dos resultados promissores de compartimentalização de CAL-B e VOSO_4 mencionados anteriormente (DE MIRANDA et al., 2017; WUYTS et al., 2007), este capítulo descreve nossos esforços em otimizar a reciclabilidade do sistema heterogêneo CAL-B/ VOSO_4 por meio de aperfeiçoamento do sistema reacional via compartimentalização dos catalisadores, e também o escalonamento da metodologia

com a utilização de reator de leito rotativo comercial para confinamento dos catalisadores heterogêneos.

2.1.3 Reatores de leito rotativo SpinChem® para sistemas sólido-líquido

Para uma aplicação eficiente de catalisadores heterogêneos em larga escala, é preciso atenção não só à atividade catalítica e condições reacionais, mas também ao desenvolvimento adequado do reator. Um reator para sistemas sólido-líquido deve viabilizar a melhor transferência de massa e calor possível, além de proteger o componente sólido de forças mecânicas que causam trituração e deformações (PITHANI et al., 2019; STRADOMSKA et al., 2023).

No caso específico de enzimas imobilizadas, existem alguns desafios a serem superados para seu uso em escala industrial como catalisadores heterogêneos, como estabilidade operacional a longo prazo, recuperação, reutilização e custo. Os avanços recentes em novas técnicas de imobilização enzimática, juntamente com a otimização das condições reacionais e a engenharia de reatores, têm facilitado o enfrentamento dos desafios citados anteriormente para a aplicação de enzimas em larga escala (PITHANI et al., 2019). Por exemplo, modificações nos convencionais reatores de tanque com agitação (*stirred tank reactor*, STR) para minimizar o atrito mecânico causado pelo agitador do STR podem garantir maior reprodutibilidade e reciclabilidade dos processos envolvendo enzimas imobilizadas.

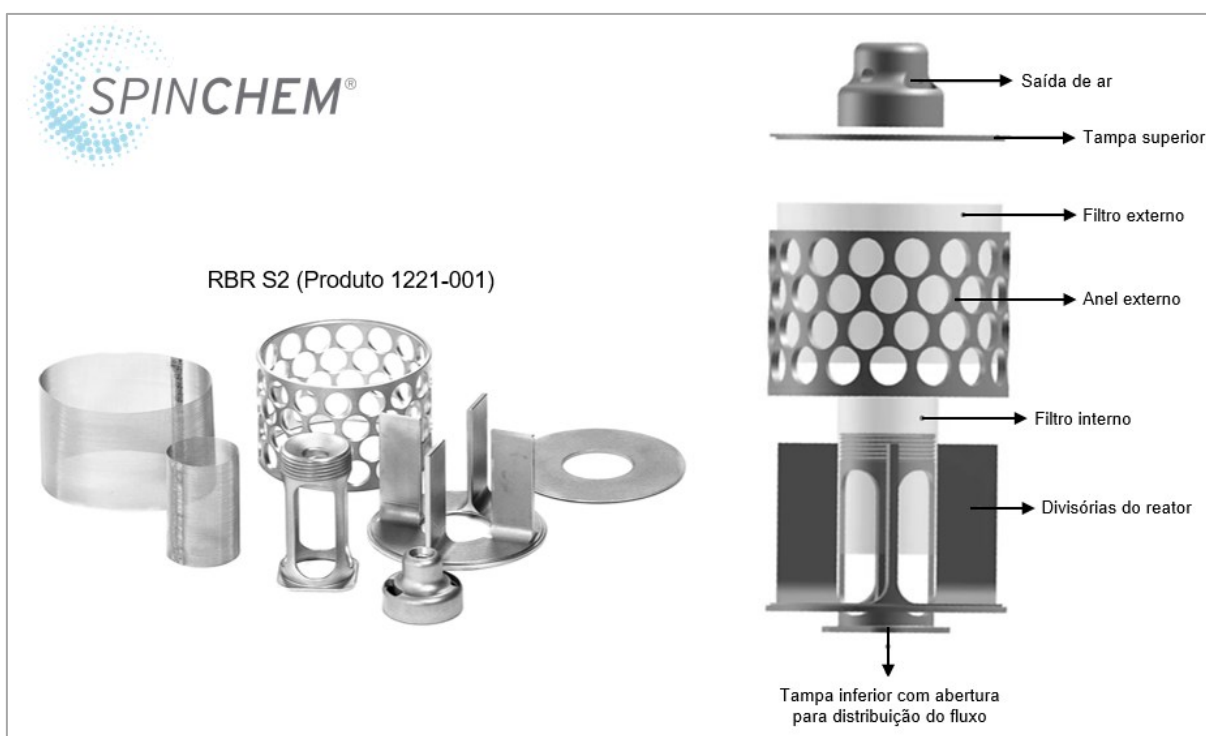
Uma das modificações mais recentes dos STR convencionais são os reatores de leito rotativo SpinChem® (*rotating bed reactor*, RBR), comercializados pela empresa sueca SpinChem AB (STRADOMSKA et al., 2023). O RBR é um reator inovativo composto por uma célula cilíndrica de quatro compartimentos (**Figuras 6 e 7**), concebido especialmente para reações heterogêneas do tipo sólido-líquido.

Figura 6. Reator de leito rotativo SpinChem® (*rotating bed reactor*, RBR).



Fonte: SpinChem AB (www.spinchem.com, Acesso em: 03/11/2023).

Figura 7. Componentes do reator de leito rotativo SpinChem® (*rotating bed reactor*, RBR).

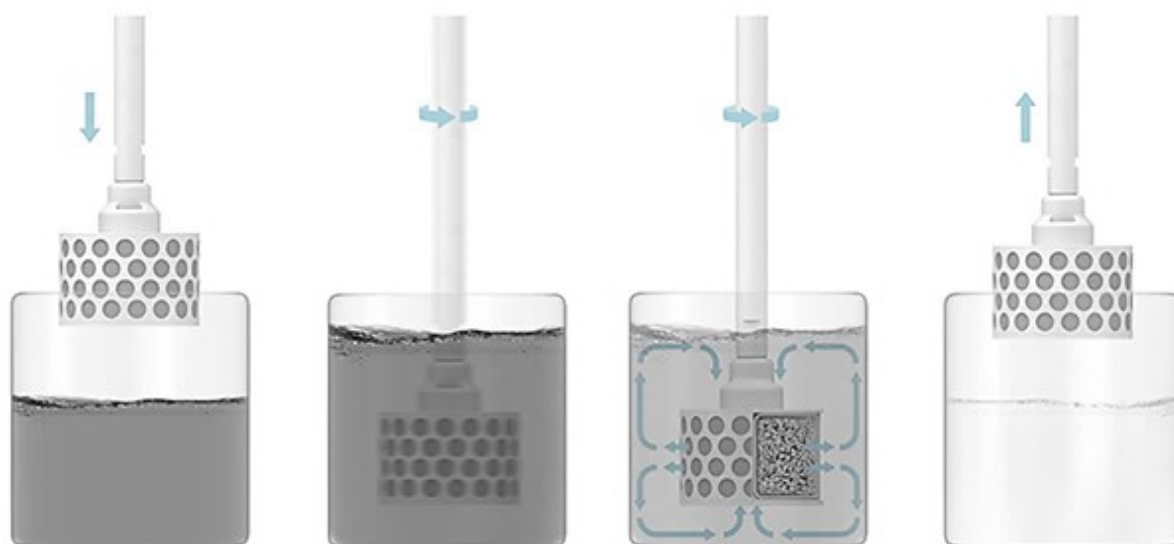


Fonte: Adaptado de SpinChem AB (www.spinchem.com, Acesso em: 03/11/2023) e Magosso (MAGOSSO, 2015).

Ao ser preenchido com reagentes ou catalisadores heterogêneos e conectado na extremidade do eixo de um agitador mecânico, seu design permite a agitação simultânea dos reagentes líquidos através do leito contendo os componentes sólidos (STRADOMSKA et al., 2023; SZYMAŃSKA et al., 2017).

À medida que o RBR gira, forças centrífugas empurram a solução reacional através dos filtros da célula cilíndrica. Simultaneamente, novas porções da solução são atraídas para dentro da célula, tanto pela parte superior quanto pela parte inferior, permitindo que cada parcela de líquido faça múltiplas passagens pelo leito rotativo (**Figura 8**) (MAGOSSO, 2015; PITHANI et al., 2019). Dessa forma, o RBR proporciona uma transferência de massa mais eficiente, possibilitando alcançar um processo mais rápido, com rendimentos mais elevados e com menor consumo de reagentes. Além disso, o RBR foi projetado para proteger a fase sólida das forças mecânicas durante a agitação do sistema, aumentando sua vida útil ao evitar a desintegração das partículas do sólido, mesmo em altas velocidades, e facilitando sua remoção e reutilização ao evitar etapas de centrifugação e filtração (PITHANI et al., 2019).

Figura 8. Representação do fluxo gerado com o SpinChem® RBR.



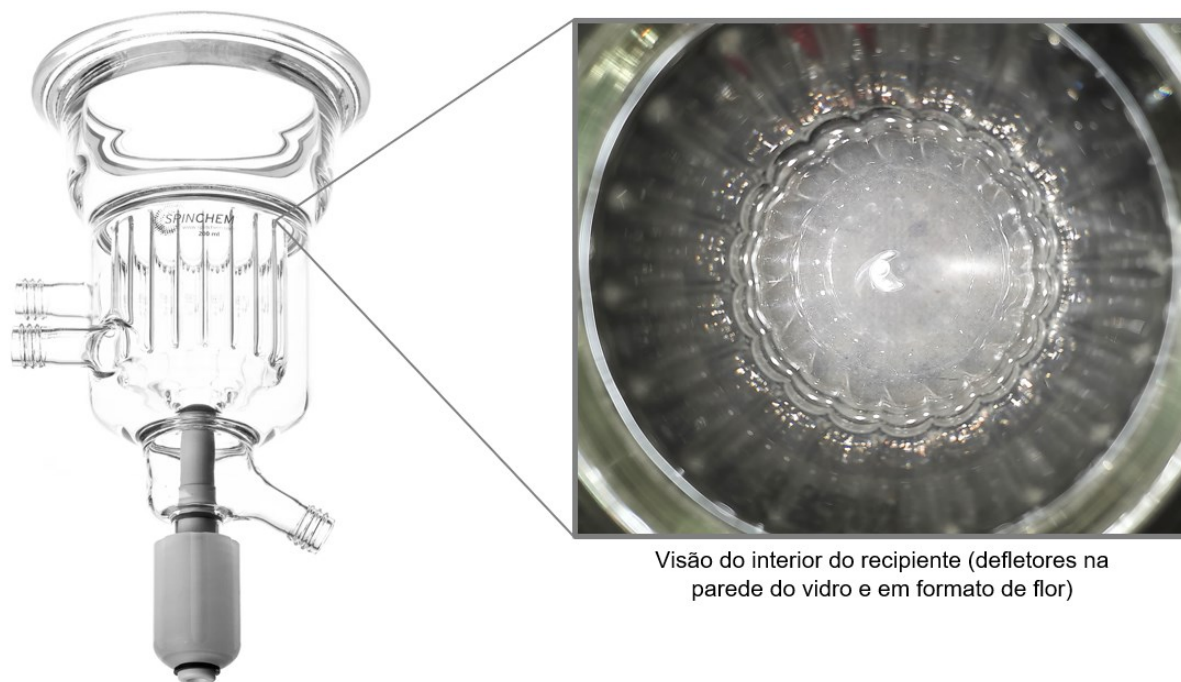
Fonte: SpinChem AB (www.spinchem.com/technology/, Acesso em: 03/11/2023).

A escolha do recipiente contendo o meio reacional para aplicação dos SpinChem® RBRs fica a critério do usuário, porém sua geometria e a existência ou não de defletores podem afetar a hidrodinâmica do sistema (MAGOSSO, 2015). Defletores são dispositivos, como uma placa, parede ou tela, feitos para desviar ou regular o fluxo ou passagem de fluidos, luz ou som. Em reatores para processos do tipo sólido-líquido, os defletores quebram o padrão de fluxo circulante, evitando a formação de vórtices e melhorando a agitação do sistema.

Além dos RBRs, a empresa SpinChem AB também fornece recipientes encamisados de vidro borossilicato com defletores em formato de flor na sua parte

interna, conforme ilustrado na **Figura 9**. Esses defletores não ocupam o mesmo espaço que os tradicionais defletores de lâmina plana de reatores do tipo STR, o que minimiza o volume necessário de solução reacional e maximiza a transferência de massa entre a fase líquida e a fase sólida.

Figura 9. Recipiente de vidro encamisado da SpinChem AB com defletores em formato de flor.



Visão do interior do recipiente (defletores na parede do vidro e em formato de flor)

Fonte: Adaptado de SpinChem AB (www.spinchem.com/application/the-importance-of-baffles-in-a-reactor-vessels/, Acesso em: 06/11/2023).

2.2 Objetivos

Este trabalho teve como objetivo o desenvolvimento de um sistema reacional compartimentalizado prático e escalonável para a resolução cinética dinâmica (RCD) quimioenzimática de álcoois benzílicos secundários, utilizando tubo de Teflon® e reator de leito rotativo SpinChem® para confinar os catalisadores heterogêneos CAL-B imobilizada e $\text{VO}(\text{SO}_4)_2$, visando alcançar uma metodologia de maior custo-benefício para a obtenção de compostos enantiomericamente puros.

2.3 Resultados e Discussão

Os resultados do Capítulo 1, discutidos ao longo deste Tópico 2.3, foram parcialmente publicados na forma de artigo completo no periódico *ChemCatChem* (Chemistry Europe, Wiley-VCH).

DE ALMEIDA, L.; MARCONDES, T. H.; MILAGRE, C. D. F.; MILAGRE, H. M. S. Lipase-oxovanadium heterogeneous catalysis system: a robust protocol for the dynamic kinetic resolution of sec-alcohols. **ChemCatChem**, v. 12, n. 10, p. 2849–2858, 2020. <https://doi.org/10.1002/cctc.202000292>.

2.3.1 Estratégia de trabalho

Para atingir os objetivos descritos no Tópico 2.2, a seguinte estratégia de trabalho foi adotada:

- (i) avaliação, separadamente, da reciclabilidade de CAL-B na resolução de 1-feniletanol e de VOSO_4 na racemização de (S)-1-feniletanol;
- (ii) concepção e aplicação de compartimento prático para separar fisicamente CAL-B e VOSO_4 ;
- (iii) avaliação da reciclabilidade de CAL-B/ VOSO_4 com o sistema compartimentalizado na RCD de 1-feniletanol;
- (iv) aplicação do sistema compartimentalizado na RCD de outros álcoois benzílicos secundários;
- (v) aumento de escala da RCD de 1-feniletanol com o sistema compartimentalizado, para análise da robustez do sistema;
- (vi) aperfeiçoamento da compartimentalização em larga escala com a utilização de reator de leito rotativo comercial para confinamento de CAL-B e VOSO_4 .

2.3.2 Obtenção dos padrões racêmicos

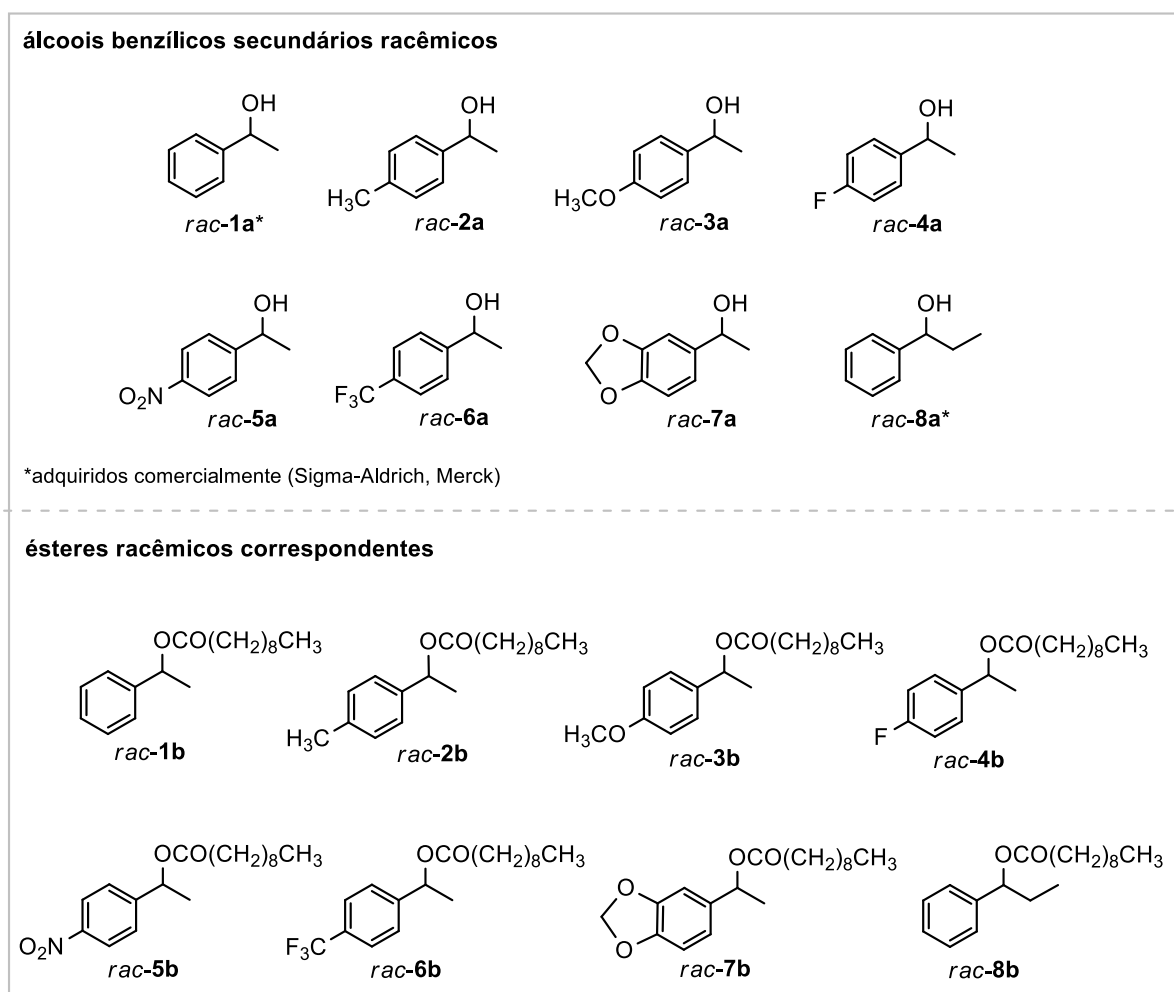
Os álcoois benzílicos secundários utilizados neste trabalho como substratos racêmicos nas reações de RCD foram sintetizados previamente pela autora durante seu mestrado, via redução de suas respectivas cetonas com NaBH_4 ou de seus respectivos aldeídos com reagente de Grignard (DE ALMEIDA, 2019). Para monitoramento das reações e cálculos de conversão e excesso enantiomérico, foram desenvolvidos métodos cromatográficos em CG-DIC com fase estacionária quiral (Coluna Chirasil®-DEX-CP, Agilent) para separação dos pares de enantiômeros dos álcoois racêmicos **1a–8a**.

Os ésteres esperados como produtos das reações de RCD foram também sintetizados previamente pela autora durante seu mestrado, através de esterificação

química de ácido decanóico em presença de *N,N'*-diciclohexilcarbodiimida (DCC) e 4-dimetilaminopridina (DMAP) (DE ALMEIDA, 2019), para obtenção de padrões racêmicos para as análises em CG-DIC.

O **Esquema 15** ilustra as estruturas dos álcoois benzílicos secundários utilizados neste trabalho e seus respectivos ésteres (produtos esperados nas reações de RCD).

Esquema 15. Álcoois benzílicos secundários avaliados neste trabalho e seus ésteres.



Fonte: elaborado pela autora (2023).

2.3.3 Reciclabilidade de CAL-B e VOSO₄ em etapas separadas

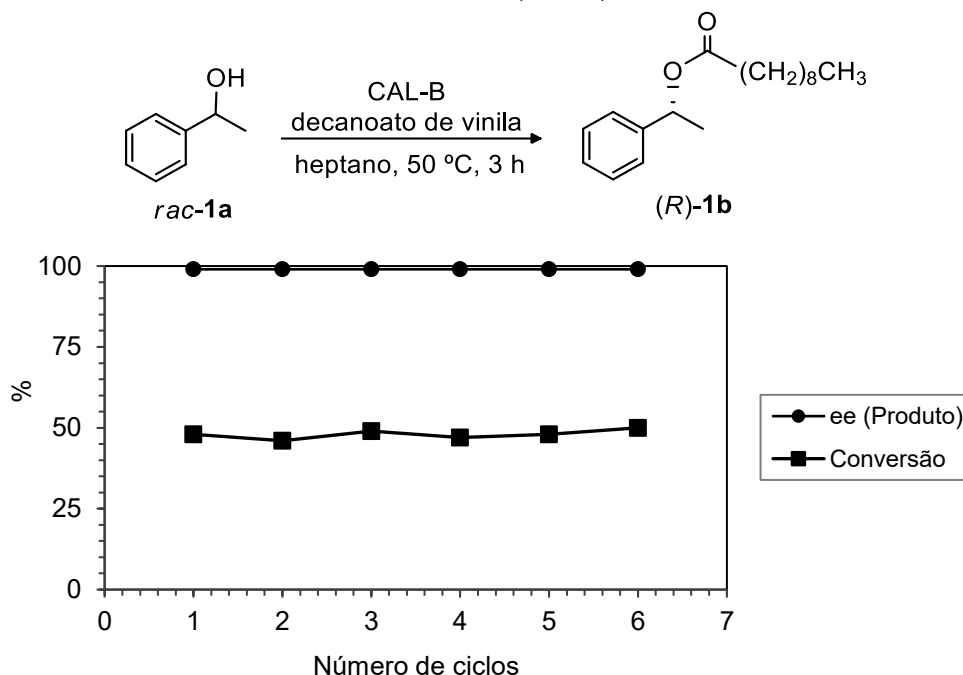
Com os resultados promissores obtidos e publicados pela autora em sua dissertação de mestrado (DE ALMEIDA, 2019), decidiu-se por dar continuidade ao trabalho seguindo as condições reacionais otimizadas para a RCD de álcoois secundários (heptano como solvente, 50 °C, decanoato de vinila como doador de

acila, CAL-B imobilizada como biocatalisador para a transesterificação e VOSO_4 como catalisador ácido para a racemização.

Após observação de perda da atividade catalítica no estudo preliminar de reciclabilidade dos catalisadores heterogêneos (DE ALMEIDA, 2019), o trabalho iniciou-se avaliando separadamente a reciclabilidade de CAL-B e VOSO_4 com o objetivo de confirmar a ocorrência de incompatibilidade mútua ao combinar os catalisadores durante a RCD quimioenzimática.

Inicialmente, foi realizado o reciclo de CAL-B na resolução cinética (RC) de 1-feniletanol (*rac*-**1a**) na ausência de VOSO_4 , recuperando a enzima imobilizada por filtração simples e reutilizando-a, após lavagem com heptano, em novos ciclos reacionais de RC. Como resultado, a lipase se manteve altamente ativa e enantiosseletiva na transesterificação de *rac*-**1a** ao produto (*R*)-decanoato de 1-feniletila ((*R*)-**1b**) por 6 ciclos reacionais, sendo capaz de atingir os valores máximos de conversão e excesso enantiomérico esperados para protocolos de RC (conversões entre 46 e 50% ao produto (*R*)-**1b**, ee > 99%) (**Figura 10**).

Figura 10. Reciclo de CAL-B na RC de 1-feniletanol (*rac*-**1a**).



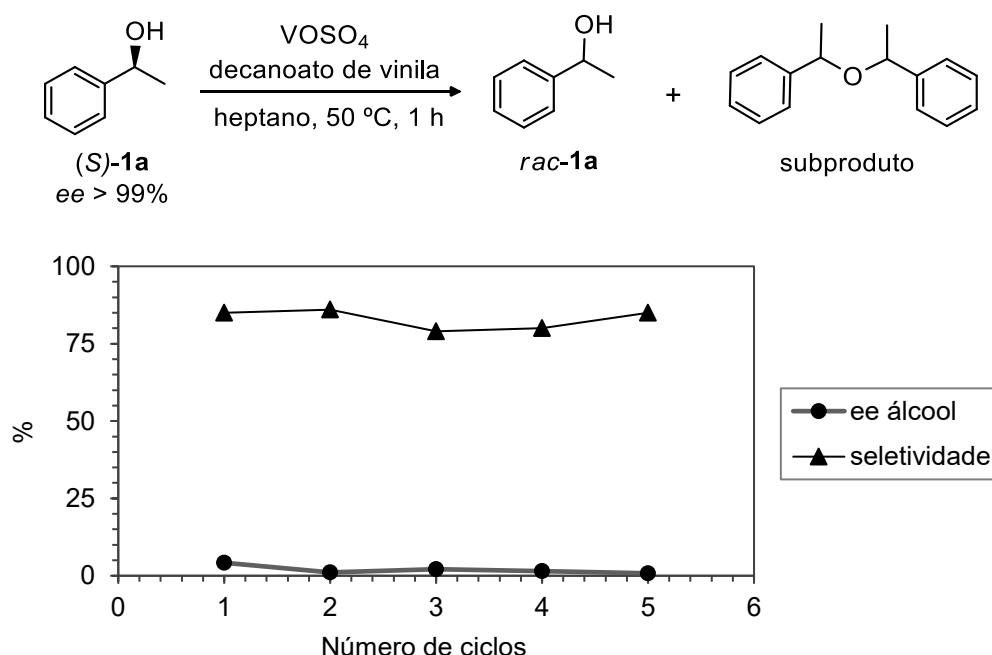
Fonte: Adaptado de De Almeida e coautores (DE ALMEIDA et al., 2020).

Legenda: ■ conversão; ● ee do produto (*R*)-**1b** ao final de cada ciclo. Condições reacionais: *rac*-**1a** (0.25 mmol), decanoato de vinila (0.50 mmol, 2 equivalentes), heptano (4 mL), CAL-B (20 mg), 50 °C, agitação magnética, 3 horas de cada ciclo reacional. Conversão por CG-DIC com *n*-tetradecano (0.050 mmol mL⁻¹) como padrão interno e ee determinado por CG-DIC com fase estacionária quiral.

Em seguida, a reciclabilidade de VOSO_4 na racemização de (*S*)-**1a** foi avaliada com adição de decanoato de vinila em cada ciclo reacional, com o objetivo de verificar possível desativação do catalisador químico com a presença do éster vinílico. Para esse experimento, utilizou-se o enantiômero (*S*)-(-)-1-feniletanol ((*S*)-**1a**, *ee* >99%) adquirido comercialmente junto a empresa Merck (Sigma-Aldrich®).

Nos trabalhos de RCD de álcoois catalisada por CAL-B/ VOSO_4 mencionados anteriormente (DE MIRANDA et al., 2017; WUYTS et al., 2007), ésteres vinílicos de cadeia lateral menor, como aceto de vinila e acetato de isopropenila, causaram inibição da racemização catalisada pelo complexo de oxovanádio a 70–80 °C. Entretanto, tal inibição não foi observada na reciclabilidade de VOSO_4 na presença de decanoato de vinila, uma vez que o catalisador químico permaneceu altamente ativo na racemização de (*S*)-**1a** a 50 °C, mesmo com a adição do doador de acila ao meio reacional, com os valores de *ee* de (*S*)-**1a** muito próximos de zero nos cinco ciclos de racemização (*ee* entre 4.2 e 0.8%) (**Figura 11**).

Figura 11. Reciclo de VOSO_4 na racemização de (*S*)-(-)-1-feniletanol ((*S*)-**1a**).



Fonte: Adaptado de De Almeida e coautores (DE ALMEIDA et al., 2020).

Legenda: ● *ee* do álcool (*S*)-**1a** ao final de cada ciclo; ▲ seletividade. Condições reacionais: (*S*)-**1a** (0.25 mmol), decanoato de vinila (0.50 mmol, 2 equivalentes), heptano (4 mL), $\text{VOSO}_4 \cdot \text{XH}_2\text{O}$ (50 mg), 50 °C, agitação magnética, 1 hora de cada ciclo reacional. Excesso enantiomérico determinado por CG-DIC com fase estacionária quiral. Seletividade determinada por CG-DIC com a equação $\text{Sel}(\%) = [(A_S)/(A_S + A_{\text{subP}})] \times 100$, onde A_S e A_{subP} são as áreas relativas dos picos de substrato e subproduto, respectivamente, nos cromatogramas.

Conforme esperado em racemizações ácidas de álcoois e observado no trabalho prévio da autora em sua dissertação de mestrado (DE ALMEIDA, 2019), a racemização de (S)-**1a** catalisada por VOSO_4 levou à formação de éter como subproduto. Dessa forma, além do monitoramento dos valores de ee, calculou-se também a seletividade do processo de racemização em relação à porcentagem de formação de subproduto (Figura 11, série “seletividade”). Não foi observado formação de produto de eliminação (alceno) nas reações com VOSO_4 .

Os resultados apresentados nas **Figuras 10 e 11** mostram que CAL-B e VOSO_4 são estáveis e permanecem ativos durante vários ciclos reacionais de suas respectivas reações de transesterificação e racemização ácida. Quando os catalisadores químico e enzimático estão em contato direto no mesmo recipiente durante os ciclos de RCD, ocorre perda gradual de atividade catalítica devido à sua incompatibilidade mútua.

2.3.4 Desenvolvimento e reciclabilidade do sistema compartimentalizado

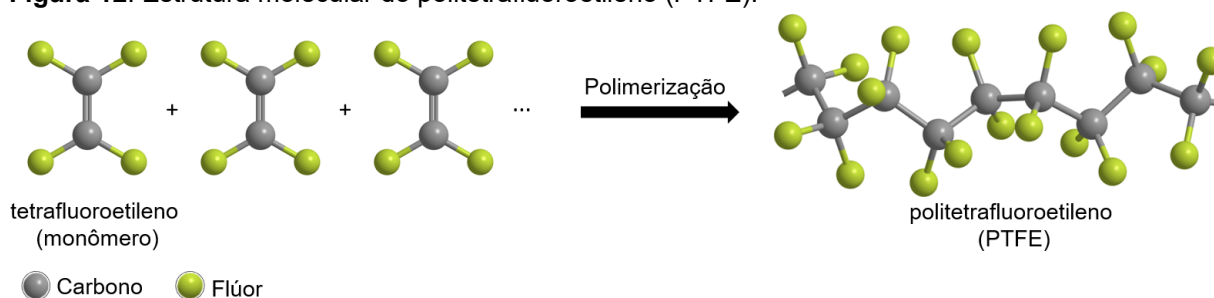
Para superar a incompatibilidade entre a enzima imobilizada e o catalisador químico durante longos períodos de contato físico, utilizou-se uma estratégia simples de compartimentalização através do confinamento CAL-B ou VOSO_4 . A escolha de um sistema prático para a separação física dos catalisadores foi inspirada pelo trabalho de Wuyts e colaboradores, que utilizaram uma cesta porosa de inox para confinar CAL-B (**Esquema 13**, Tópico 2.1.2) (WUYTS et al., 2007). Apesar do excelente resultado alcançado neste trabalho com a compartimentalização, não foi reportado estudos de reciclabilidade do sistema compartimentalizado.

Nesse contexto, considerou-se que um tubo de material inerte nas condições reacionais da RCD, preenchido com um dos catalisadores heterogêneos e contendo microfuros para difusão dos reagentes, poderia ser uma alternativa prática para minimizar a incompatibilidade entre os catalisadores químico e enzimático e permitir seu reuso. Dessa forma, os estudos de compartimentalização foram iniciados com um tubo de Teflon® (politetrafluoroetileno, PTFE), utilizado em equipamentos de cromatografia líquida de alta eficiência.

O PTFE é um fluoropolímero sintético de fórmula molecular $[(\text{CF}_2-\text{CF}_2)_n]$ (**Figura 12**), prontamente disponível comercialmente e comumente aplicado como revestimento antiaderente, em recipientes e tubulações para produtos químicos reativos e corrosivos e na fabricação de pequenas peças de alta performance

(DHANUMALAYAN; JOSHI, 2018). Entre suas propriedades mais notáveis estão seu alto ponto de fusão (327 °C) e sua alta estabilidade térmica, insolubilidade em todos os solventes comuns e sua extrema resistência ao ataque de materiais altamente corrosivos (RAE; DATTELBAUM, 2004; SPERATI; STARKWEATHER, 1961). A inércia química quase universal do PTFE deve-se à força da ligação carbono-flúor e à maneira que os átomos de flúor protegem a cadeia carbônica dos efeitos de ataques químicos (SPERATI; STARKWEATHER, 1961).

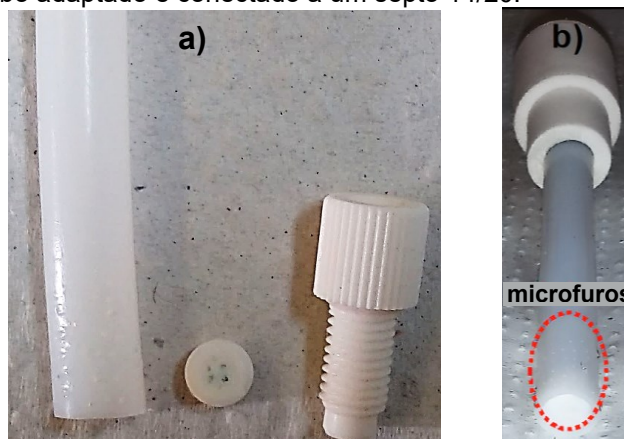
Figura 12. Estrutura molecular do politetrafluoroetileno (PTFE).



Fonte: Adaptado de Dhanumalayan & Joshi (DHANUMALAYAN; JOSHI, 2018).

Nesse trabalho, um tubo de Teflon® (PTFE) de 7 cm de altura e 0.5 cm de diâmetro interno foi adaptado perfurando-o a 1.5 cm de uma extremidade com uma agulha de aço inoxidável, para assim ser preenchido com um dos catalisadores heterogêneos da RCD quimioenzimática e ser imerso na solução reacional (**Figura 13**). A extremidade contendo os microfuros foi fechada com uma rosca macho de Teflon® tipo 1/4-28, utilizada em sistemas microfluídicos e, em seguida, o tubo adaptado foi conectado a um septo de borracha de junta 14/20 para posterior imersão na solução reacional.

Figura 13. Tubo de Teflon® adaptado para confinar os catalisadores heterogêneos. **a)** Tubo perfurado e rosca de Teflon. **b)** Tubo adaptado e conectado a um septo 14/20.

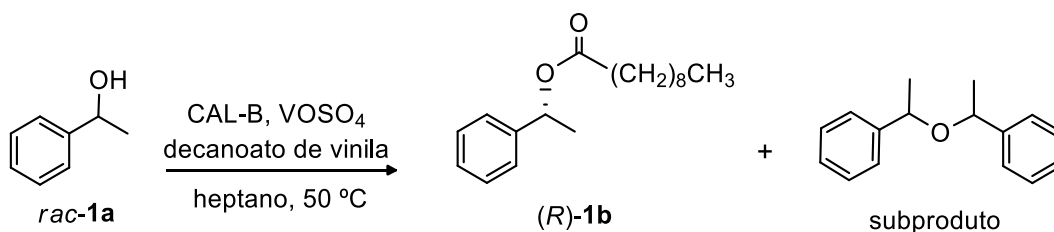


Fonte: Adaptado de De Almeida e coautores (DE ALMEIDA et al., 2020).

O tubo de Teflon® perfurado foi então utilizado como compartimento para os catalisadores heterogêneos da RCD quimioenzimática de 1-feniletanol (*rac*-**1a**). No teste de eficiência da compartimentalização, utilizou-se as condições reacionais otimizadas pelo nosso grupo de pesquisa para a RCD de álcoois benzílicos secundários (DE ALMEIDA, 2019) e avaliou-se o confinamento tanto de CAL-B quanto de VOSO₄.

Os resultados para a RCD de *rac*-**1a** com e sem compartimentalização estão apresentados na **Tabela 1**, sendo possível comparar os valores de conversão (*c*) ao éster (*R*)-decanoato de 1-feniletila ((*R*)-**1b**), excesso enantiomérico deste produto (*ee*_P), enantiosseletividade da RCD (razão enantiomérica *E*) e seletividade da racemização em relação à formação de subproduto (*Sel.*) nas diferentes configurações do sistema reacional.

Tabela 1. Comparação dos resultados da RCD quimioenzimática de *rac*-1-feniletanol (*rac*-**1a**) com e sem compartimentalização dos catalisadores.



Entrada		Tempo (h)	<i>c</i> (%) ^[a]	<i>ee</i> _P (%) ^[b]	<i>Sel</i> (%) ^[a]	<i>E</i>
1	sem tubo	2	82	>99	92	>200
2	CAL-B dentro do tubo	2	20	>99	>99	>200
3	VOSO ₄ dentro do tubo	1	91	>99	98	>200

Fonte: Adaptado de De Almeida e coautores (DE ALMEIDA et al., 2020).

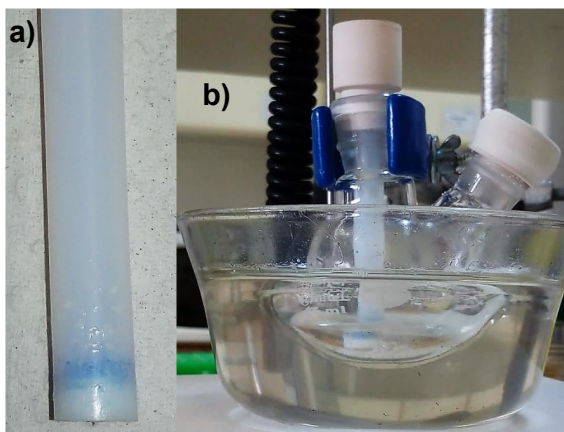
Condições reacionais: (*rac*)-**1a** (0.25 mmol), decanoato de vinila (0.50 mmol, 2 equivalentes), heptano (4 mL), CAL-B (20 mg), VOSO₄.XH₂O (50 mg), 50 °C, agitação magnética. Entradas 2 e 3: Catalisadores adicionados dentro do tubo de Teflon® adaptado, o qual foi imerso na solução contendo o substrato e o doador de acila. ^[a]Determinado por CG-DIC com *n*-tetradecano (0.050 mmol mL⁻¹) como padrão interno. Seletividade determinada por CG-DIC com a equação $Sel(\%) = [(A_S)/(A_S + A_{subP})] \times 100$, onde *A*_S e *A*_{subP} são as áreas relativas dos picos de substrato e subproduto, respectivamente, nos cromatogramas. ^[b]Determinado por CG-DIC com fase estacionária quiral.

No teste com CAL-B dentro do tubo adaptado, houve apenas 20% de conversão de *rac*-**1a** ao produto (*R*)-**1b** (*ee* >99%) sem formação de subproduto, o que pode estar relacionado à uma má transferência de massa dos reagentes (álcool e doador de acila) para o interior do tubo contendo a enzima imobilizada (Tabela 1,

entrada 2). No segundo teste, o catalisador de vanádio foi colocado dentro do tubo e o produto (*R*)-**1b** foi obtido com 91% de conversão, 98% de seletividade e *ee* > 99% em apenas 1 h (Tabela 1, entrada 3), tornando o protocolo ainda mais eficiente quando comparado com o resultado sem compartimentalização (Tabela 1, entrada 1). Portanto, esses resultados comprovaram a importância da separação física dos catalisadores heterogêneos na reação de RCD.

Com o VOSO_4 confinado dentro do tubo de Teflon® (**Figura 14**), avaliou-se a extensão e aplicabilidade desse sistema de compartimentação performando a RCD para os álcoois benzílicos que exibiram as menores conversões e seletividades nos experimentos anteriormente realizados pelo nosso grupo de pesquisa (DE ALMEIDA, 2019). As reações com compartimentalização resultaram em maiores seletividades (**Tabela 2**), semelhantes ao observado para o substrato *rac*-**1a**, mantendo os altos valores de conversão.

Figura 14. Configuração da RCD quimioenzimática com compartimentalização. a) Tubo de Teflon® contendo VOSO_4 (cristais azuis). b) Reação de RCD: tubo com VOSO_4 imerso na solução contendo reagentes e CAL-B imobilizada.



Fonte: Adaptado de De Almeida e coautores (DE ALMEIDA et al., 2020).

Tabela 2. RCD quimioenzimática de álcoois benzílicos secundários com compartimentalização dos catalisadores.

álcoois benzílicos $\xrightarrow[\text{heptano, 50 } ^\circ\text{C}]{\text{CAL-B, VOSO}_4, \text{decanoato de vinila}}$ (R)-ésteres

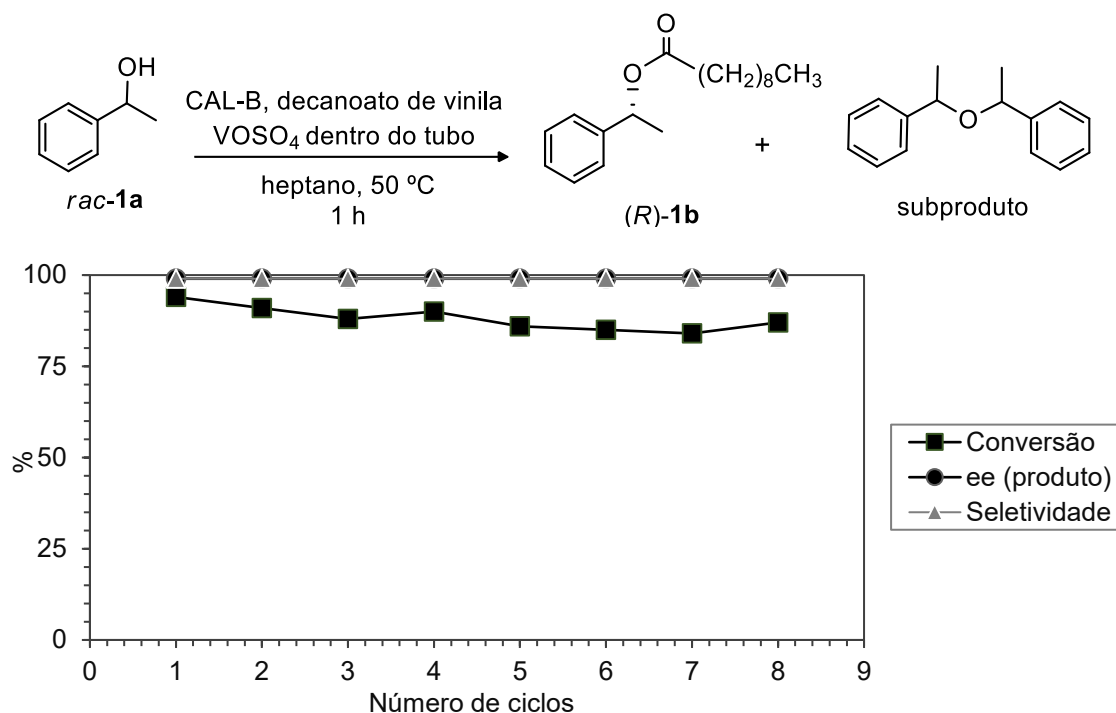
Substrato	Tempo (h)	Compert.	c (%) ^[a]	ee _P . (%) ^[b]	Se _I . (%) ^[a]	E
 rac-3a	0.5	sem	83	>99 ^{b)}	87	>200
		com	88	>99 ^{b)}	92	>200
 rac-6a	2	sem	78	>99	90	>200
		com	80	>99	96	>200
 rac-8a	2	sem	80	>99	76	>200
		com	90	>99	98	>200

Fonte: Adaptado de De Almeida e coautores (DE ALMEIDA et al., 2020).

Condições reacionais: Álcool racêmico (0.25 mmol), decanoato de vinila (0.50 mmol, 2 equivalentes), heptano (4 mL), CAL-B (20 mg), VOSO₄.XH₂O (50 mg), 50 °C, agitação magnética. Compart. = compartimentalização.^[a]Determinado por CG-DIC. Seletividade determinada pela equação $Se_I(\%) = [(A_S)/(A_S + A_{\text{subP}})] \times 100$, onde A_S e A_{subP} são as áreas relativas dos picos de substrato e subproduto, respectivamente, nos cromatogramas. ^[b]Determinado por CG-DIC com fase estacionária quiral.

Após otimização do sistema compartimentalizado para a RCD quimioenzimática, foi avaliado a reciclabilidade de VOSO₄ e CAL-B com a separação física desses catalisadores. Para reuso dos catalisadores, o tubo contendo VOSO₄ foi retirado ao final de cada ciclo reacional, lavado três vezes com heptano e então adicionado em outro balão de fundo redondo contendo nova carga de solvente e reagentes. A CAL-B imobilizada foi recuperada por filtração simples e lavada três vezes com heptano antes de sua reutilização.

Conforme mostrado na **Figura 15**, o sistema catalítico CAL-B/VOSO₄ permaneceu ativo durante oito ciclos de RCD de 1-feniletanol (*rac-1a*), ocorrendo ligeira diminuição na conversão, de 94% no primeiro ciclo para 87% no oitavo ciclo. Durante o reciclo, não observamos saída do catalisador de oxovanádio de dentro do compartimento.

Figura 15. Reciclo de CAL-B e VOSO₄ na RCD de *rac*-1-feniletanol (*rac*-1a) com compartimentalização.

Fonte: Adaptado de De Almeida e coautores (DE ALMEIDA et al., 2020).

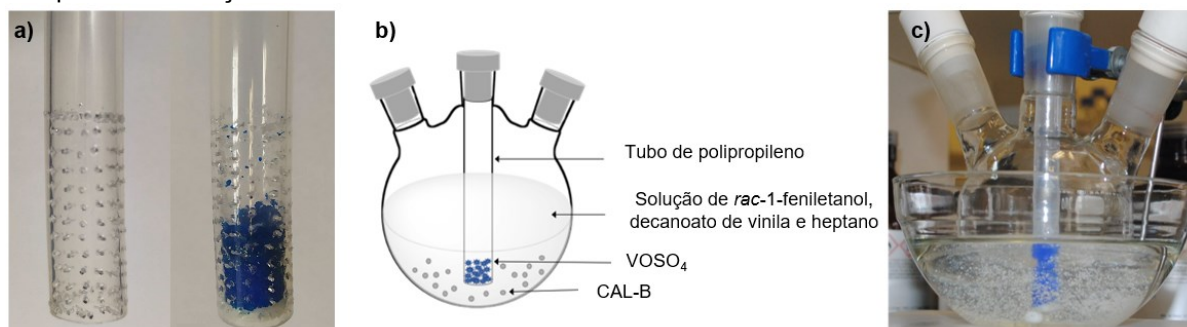
Legenda: ■ conversão; ● ee do éster (*R*)-1b ao final de cada ciclo; ▲ seletividade. Condições reacionais: *rac*-1a (0.25 mmol), decanoato de vinila (0.50 mmol, 2 equivalentes), heptano (4 mL), CAL-B (20 mg) e VOSO₄.XH₂O dentro do tubo de Teflon® (50 mg), 50 °C, agitação magnética, 1 hora de cada ciclo reacional. Conversão por CG-DIC com *n*-tetradecano (0.050 mmol mL⁻¹) como padrão interno e ee determinado por CG-DIC com fase estacionária quiral. Seletividade determinada por CG-DIC com a equação $Sel(\%) = [(A_S)/(A_S + A_{subP})] \times 100$, onde A_S e A_{subP} são as áreas relativas dos picos de substrato e subproduto, respectivamente, nos cromatogramas.

Os resultados da **Figura 15** mostram que a estratégia prática aplicada neste trabalho para a compartimentalização dos catalisadores melhoraram a reciclabilidade do sistema CAL-B/VOSO₄, pois ambos os catalisadores mantiveram o seu desempenho durante 8 ciclos ($c = 94\text{--}87\%$, ee de (*R*)-1b = 99%), bem como sua alta seletividade (sem formação de subprodutos), confirmando que é possível superar problemas de incompatibilidade entre lipase e catalisador químico deste protocolo de RCD utilizando apenas um tubo caseiro e de baixo custo para separação física dos mesmos. Além disso, a estratégia de compartimentação aqui adotada facilitou a remoção e recuperação de VOSO₄ do sistema reacional.

A robustez da RCD quimioenzimática compartimentalizada foi avaliada aumentando em 20 vezes a escala do protocolo e, para isso, utilizando um tubo de polipropileno para confinar VOSO₄, conforme ilustrado na **Figura 16**. O tubo de polipropileno (PP) foi selecionado devido à indisponibilidade de um tubo de Teflon® (PTPE) nas dimensões necessárias para o experimento em maior escala. Além disso,

o PP também é um material polimérico como o PTPE, produzido a partir da polimerização do propileno, e possui características importantes, como boa resistência química e térmica e custo relativamente mais baixo quando comparado ao PTPE (MADDAH, 2016).

Figura 16. Aumento de escala da RCD quimioenzimática de *rac*-1-feniletanol (*rac*-1a) com compartimentalização.



Fonte: Adaptado de De Almeida e coautores (DE ALMEIDA et al., 2020).

Legenda: a) Tubo de polipropileno com microfuros e preenchido com VOSO₄. b) Representação esquemática da RCD em larga escala. c) Imagem real do experimento em larga escala.

Ao comparar o resultado da RCD em larga escala com os resultados obtidos anteriormente com tubo de Teflon® (**Tabela 3**), nota-se que não houve diferenças significativas ao aumentar a escala do protocolo e alterar o material polimérico do tubo para compartimentalização, sendo possível manter os altos valores de conversão, seletividade e excesso enantiomérico da RCD de *rac*-1a.

Tabela 3. Aumento de escala da RCD quimioenzimática de *rac*-1-feniletanol (*rac*-1a) com compartimentalização.

$ \begin{array}{c} \text{OH} \\ \\ \text{C}_6\text{H}_5\text{CH} \\ \text{rac-1a} \end{array} \xrightarrow[\text{heptano, 50 } ^\circ\text{C, 1 h}]{\text{CAL-B, VOSO}_4, \text{ decanoato de vinila}} \begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{C}(\text{CH}_3)(\text{C}_6\text{H}_5) \\ \text{(R)-1b} \end{array} + \text{subproduto} $						
Entrada	Quantidade de substrato (mmol)	Tempo (h)	c (%) ^[a]	ee _P (%) ^[b]	Sel (%) ^[a]	E
1	0.25	1	91	>99	98	>200
2 ^[c]	5.00	2	88	>99	98	>200

Fonte: Adaptado de De Almeida e coautores (DE ALMEIDA et al., 2020).

^[a]Determinado por CG-DIC com *n*-tetradecano (0.050 mmol mL⁻¹) como padrão interno. Seletividade determinada por CG-DIC com a equação $\text{Sel}(\%) = [(A_S)/(A_S + A_{\text{subP}})] \times 100$, onde A_S e A_{subP} são as áreas relativas dos picos de substrato e subproduto, respectivamente, nos cromatogramas.

^[b]Determinado por CG-DIC com fase estacionária quiral. ^[c]Condições reacionais: *rac*-1a (5.00 mmol, 0.61 g), decanoato de vinila (10.0 mmol, 2 equivalentes, 1.98 g), heptano (80 mL), CAL-B (0.40 g), VOSO₄.XH₂O dentro do tubo de polipropileno (1.00 g), 50 °C, agitação magnética.

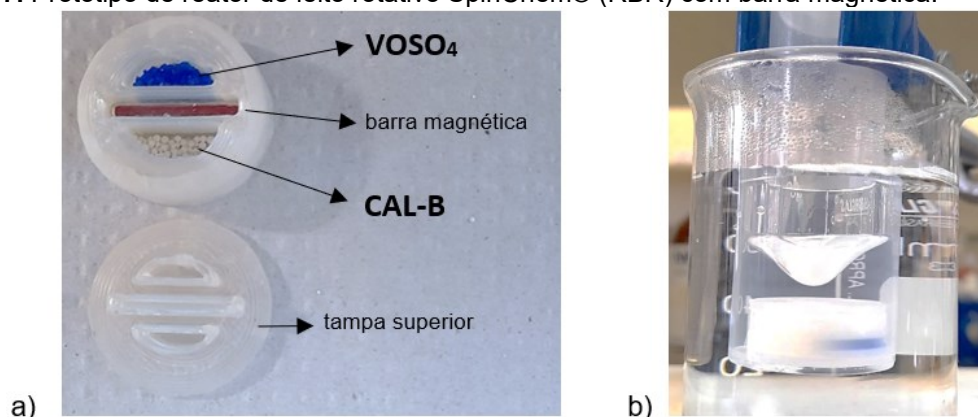
2.3.5 Escalonamento da metodologia com reator de leito rotativo

Sabendo que a eficiência de processos catalíticos heterogêneos depende não só da atividade dos catalisadores, mas também da eficiência do reator utilizado, esse trabalho avaliou a aplicação de reator de leito rotativo SpinChem® (SpinChem® *rotating bed reactor*, RBR), para compartimentalizar CAL-B e VOSO₄ em reações de RCD em larga escala. A colaboração entre nosso grupo de pesquisa e a empresa SpinChem AB surgiu do nosso interesse em estudar um sistema de compartimentalização comercial e propício para processos em diferentes escalas, além do interesse da empresa sueca em expandir a aplicabilidade de seu produto (RBR) para sistemas multicatalíticos.

Nos estudos com tubo de Teflon® como compartimento para o sistema quimioenzimático, observou-se que o empacotamento de CAL-B imobilizada dentro do tubo caseiro prejudicou a transferência de massa do substrato para o sítio ativo da enzima através do compartimento, diminuindo significativamente a conversão nessa configuração de compartimentalização (Tabela 1, entrada 2, Tópico 2.3.4). Ao confinar VOSO₄ no tubo de Teflon®, deixando assim a enzima imobilizada dispersa na solução reacional, a conversão da RCD de *rac*-**1a** ao produto (*R*)-**1b** aumentou de 82% para 91% (Tabela 1, entrada 3, Tópico 2.3.4).

O design do RBR SpinChem®, composto por quatro compartimentos na célula cilíndrica, permite o confinamento de ambos os catalisadores heterogêneos no mesmo reator. Considerando que os resultados da RCD poderiam ser influenciados pela compartimentalização de ambos os catalisadores, optou-se por iniciar a extensão do sistema compartimentalizado com tubo caseiro para o sistema utilizando reator de leito rotativo na escala anteriormente trabalhada (0.25 mmol de álcool, 4 mL de solvente) para, em seguida, realizar os testes em larga escala.

Os testes iniciais em menor escala foram realizados utilizando protótipos de reatores de leito rotativo doados pela empresa SpinChem AB. Os protótipos, fabricados em poliamida e contendo dois compartimentos separados por uma barra magnética, possuem um material e um design diferente do RBR disponível comercialmente, mas são úteis para triagem de condições reacionais em escala de 1–10 mL. Dessa forma, os protótipos foram preenchidos com CAL-B e VOSO₄ para aplicação na RCD de álcoois benzílicos nas condições ótimas definidas pelo nosso grupo (**Figura 17**).

Figura 17. Protótipo de reator de leito rotativo SpinChem® (RBR) com barra magnética.

Fonte: elaborado pela autora (2022).

Legenda: a) Protótipo preenchido com 20 mg de CAL-B e 50 mg de VOSO₄ para a reação de RCD de 1-feniletanol (*rac*-1a). b) Imagem do experimento de RCD com o protótipo sob agitação magnética.

A reação de RCD de *rac*-1a com confinamento de CAL-B e VOSO₄ no protótipo RBR magnético SpinChem® resultou em valores de conversão, excesso enantiomérico e seletividade similares aos obtidos com o confinamento de VOSO₄ em tubo de Teflon® (**Tabela 4**), indicando que o conceito dos reatores de leito rotativo é aplicável para a compartimentalização de CAL-B/VOSO₄.

Tabela 4. Comparação dos resultados da RCD quimioenzimática de *rac*-1-feniletanol (*rac*-1a) com tubo de Teflon e com protótipo RBR.

Entrada		Tempo (h)	c (%) ^[a]	ee _P (%) ^[b]	SeI (%) ^[a]	E
1	sem compartimentalização	2	82	>99	92	>200
2	VOSO ₄ dentro do tubo de Teflon® perfurado	1	91	>99	98	>200
3	CAL-B e VOSO ₄ dentro do protótipo RBR	2.5	85	>99	>99	>200

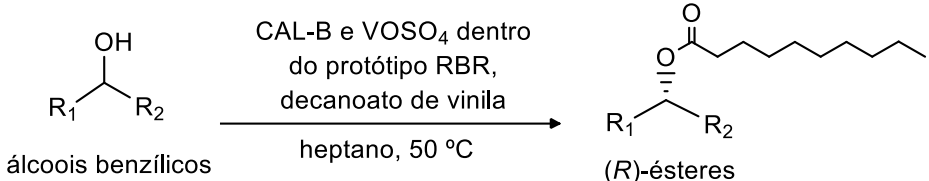
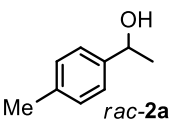
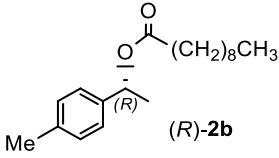
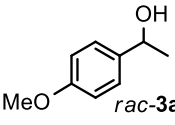
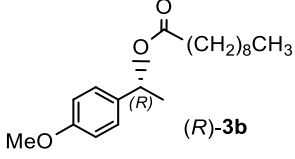
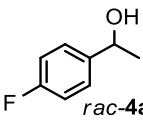
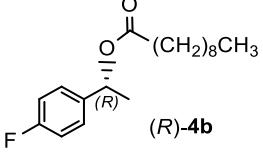
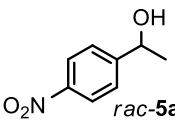
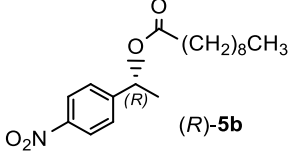
Fonte: elaborada pela autora (2022).

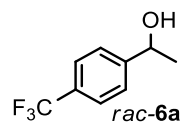
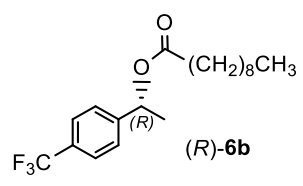
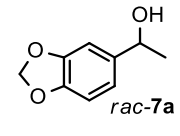
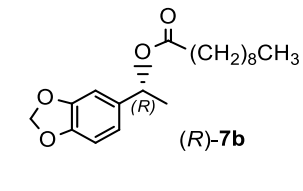
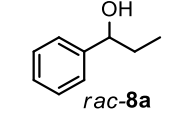
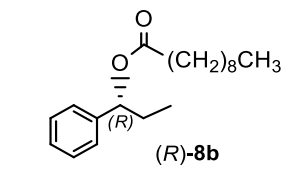
Condições reacionais: *rac*-1a (0.25 mmol), decanoato de vinila (0.50 mmol, 2 equivalentes), heptano (4 mL), CAL-B (20 mg), VOSO₄.XH₂O (50 mg), 50 °C, agitação magnética convencional ou agitação magnética executada pelo protótipo RBR. Entrada 2: VOSO₄ dentro do tubo de Teflon® adaptado. Entrada 3: CAL-B e VOSO₄ dentro do protótipo RBR contendo barra magnética. ^[a]Determinado por CG-DIC. Seletividade determinada por CG-DIC com a equação $SeI(\%) = [(A_S)/(A_S + A_{subP})] \times 100$, onde A_S e A_{subP} são as áreas relativas dos picos de substrato e subproduto, respectivamente, nos cromatogramas. ^[b]Determinado por CG-DIC com fase estacionária quiral.

O aumento no tempo de reação observado no experimento com o protótipo RBR (Tabela 4, entrada 3) pode estar relacionado à diminuição da eficiência da transferência de massa do substrato para o sítio ativo da enzima imobilizada, algo esperado para esse sistema com CAL-B compactada no interior do reator. Entretanto, o aumento da praticidade para remoção e reutilização do sistema catalítico quimioenzimático CAL-B/VOSO₄ justifica o uso do reator de leito rotativo.

O aumento no tempo reacional utilizando o protótipo RBR magnético também foi observado para a RCD de outros álcoois benzílicos (**Tabela 5**), mas todas as reações com o protótipo tiveram um aumento na seletividade, com menor ou nenhuma formação de subprodutos – alkenos e éteres – esperados da etapa de racemização ácida catalisada por VOSO₄.

Tabela 5. RCD quimioenzimática de álcoois benzílicos secundários com compartimentalização dos catalisadores em protótipo RBR magnético.

 álcoois benzílicos heptano, 50 °C (R)-ésteres						
Substrato	Tempo (h)	Produto	c (%) ^[a]	ee _p (%) ^[a]	E	Sel. (%) ^[a]
 <i>rac</i>-2a	2	 (R)-2b	92	>99	>200	98
 <i>rac</i>-3a	1.5	 (R)-3b	88	>99	>200	>99
 <i>rac</i>-4a	2.5	 (R)-4b	92	75	91	98
 <i>rac</i>-5a	4	 (R)-5b	78	>99	>200	>99

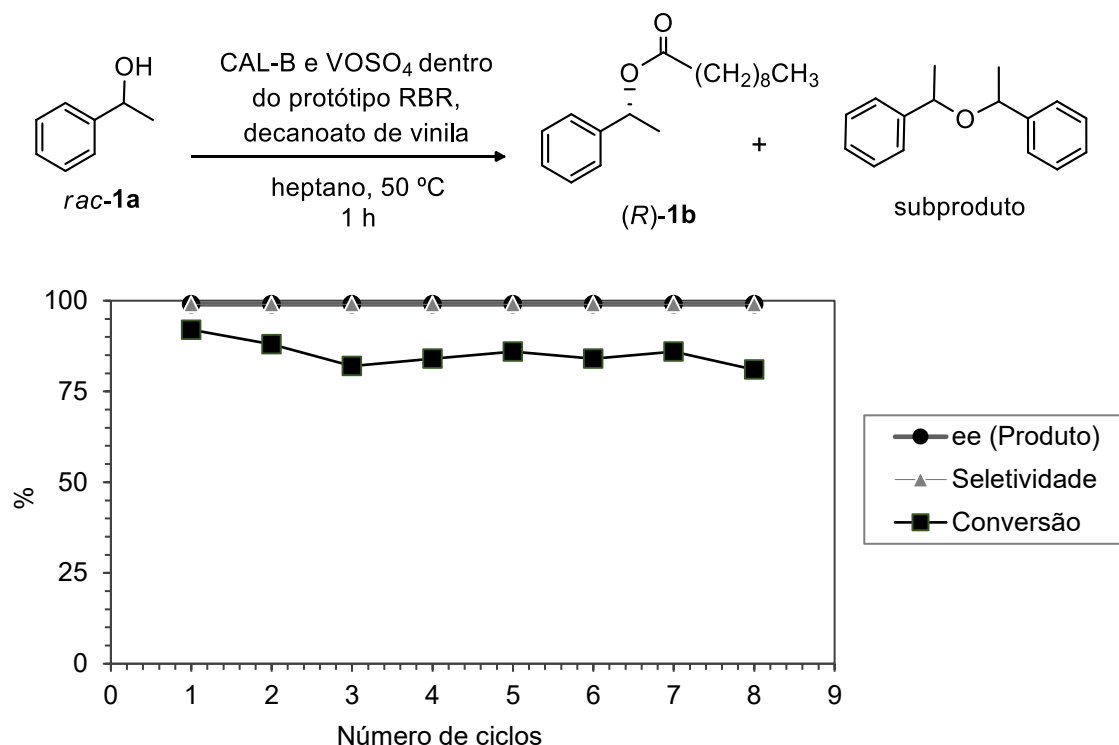
	4		82	96	195	95
	2		91	91	110	82
	4		72	>99	>200	90

Fonte: elaborada pela autora (2023).

Condições reacionais: *rac*-álcool (0.25 mmol), decanoato de vinila (0.50 mmol, 2 equivalentes), heptano (4 mL), CAL-B (20 mg) e VOSO₄.XH₂O (50 mg) dentro do protótipo RBR, 50 °C, agitação magnética executada pelo protótipo. ^[a]Determinado por CG-DIC.

Estudou-se também o reciclo dos catalisadores utilizando o protótipo RBR magnético. Nesta análise, o mesmo reator contendo 20 mg de CAL-B e 50 mg de VOSO₄ foi capaz de catalisar a RCD do *rac*-1-feniletanol (*rac*-1a) por 8 ciclos consecutivos, com conversões de 92% a 81% e ee do produto (*R*)-1b acima de 99% em todos os ciclos, sem formação de subprodutos (**Figura 18**). Os resultados de reciclo com o reator rotativo foram muito próximos dos obtidos com a compartimentalização com tubo de Teflon® (Figura 13, Tópico 2.3.4), com a vantagem de o reator facilitar a remoção e recuperação de ambos os catalisadores (CAL-B e VOSO₄) do sistema reacional.

Figura 18. Reciclo de CAL-B e VOSO₄ na RCD de *rac*-1-feniletanol (*rac*-1a) com compartimentalização em protótipo RBR SpinChem®.



Fonte: elaborado pela autora (2023).

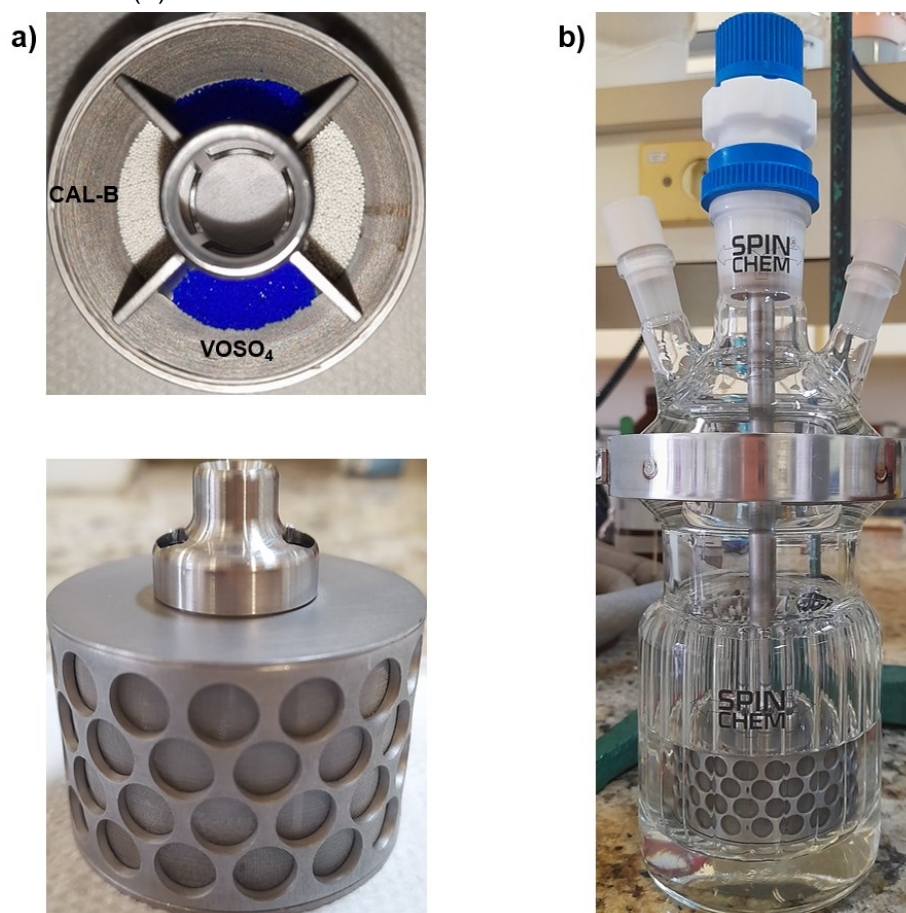
Legenda: ■ conversão; ● ee do éster (R)-1b ao final de cada ciclo; ▲ seletividade. Condições reacionais: *rac*-1a (0.25 mmol), decanoato de vinila (0.50 mmol, 2 equivalentes), heptano (4 mL), VOSO₄.XH₂O dentro do tubo de Teflon® (50 mg), CAL-B (20 mg), 50 °C, agitação magnética, 1 hora de cada ciclo reacional. Conversão por CG-DIC com *n*-tetradecano (0.050 mmol mL⁻¹) como padrão interno e ee determinado por CG-DIC com fase estacionária quiral. Seletividade determinada por CG-DIC com a equação $Se/(%) = [(A_S)/(A_S + A_{subP})] \times 100$, onde A_S e A_{subP} são as áreas relativas dos picos de substrato e subproduto, respectivamente, nos cromatogramas.

Ao final de cada ciclo de RCD, o protótipo magnético foi removido da solução reacional, aberto para lavagem dos catalisadores com heptano (3 x 2 mL), e em seguida fechado e adicionado em um tubo reacional contendo uma nova solução de substrato, doador de acila e solvente. Nenhuma degradação do protótipo ou saída dos catalisadores sólidos de dentro do reator foram observadas visualmente durante a análise de reciclo.

Os excelentes resultados obtidos com o protótipo RBR magnético evidenciaram o potencial dos reatores de leito rotativo SpinChem® para a compartimentalização de CAL-B e VOSO₄ e serviram como base para o escalonamento da metodologia com reator comercial, de capacidade entre 100 e 500 mL. Para essa etapa, utilizou-se o reator SpinChem® modelo RBR S2 e um recipiente customizado de 200 mL com defletores em formato de flor, ambos fornecidos pela empresa sueca.

O RBR S2 SpinChem® foi preenchido com 1.00 g de VOSO_4 e 0.40 g de CAL-B para reações de RCD com 5.00 mmol de substrato, 10.0 mmol de doador de acila e 80.0 mL de solvente. Assim como nos experimentos com o protótipo magnético com dois compartimentos, os catalisadores foram colocados separadamente em cada compartimento do RBR S2 para evitar seu contato físico e, assim, minimizar sua incompatibilidade mútua (**Figura 19**). Após preenchido, o reator foi fechado e conectado a um eixo de um agitador mecânico.

Figura 19. RBR S2 SpinChem® carregado com CAL-B e VOSO_4 (a) e dentro do recipiente de vidro para a reação de RCD (b).



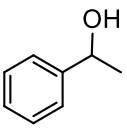
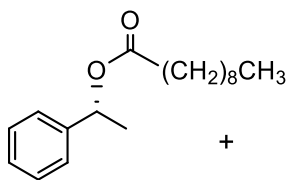
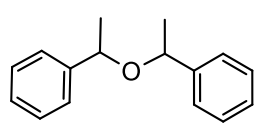
Fonte: elaborado pela autora (2023).

Inicialmente, foi avaliada a influência da velocidade de rotação na RCD de *rac-1a*. Devido ao design do reator e do recipiente de vidro borossilicato com defletores, a agitação da solução e o transporte de massa são maximizados. A princípio, ao aumentar a velocidade de rotação, é possível aumentar a velocidade da reação sem risco de degradação da fase sólida, que está protegida dentro do reator.

Segundo o fabricante, o RBR S2 pode ser agitado em uma velocidade máxima de 500 rpm. Considerando o limite de 280 rpm do agitador mecânico utilizado nesses

experimentos, definiu-se três velocidades para estudo – 200, 100 e 50 rpm – e os resultados estão apresentados na **Tabela 6**.

Tabela 6. RCD em larga escala de *rac*-1-feniletanol (*rac*-**1a**) com RBR S2 SpinChem®: Influência da velocidade de rotação.

 <i>rac</i>-1a decanoato de vinila CAL-B e VOSO₄ no RBR S2 → heptano, 50 °C  (<i>R</i>)-1b +  subproduto						
Entrada	Velocidade de rotação (rpm)	Tempo (h)	<i>c</i> (%) ^[a]	<i>ee</i> _P (%) ^[b]	<i>SeI</i> (%) ^[a]	<i>E</i>
1	200	1	90	97	92	>200
2	100	1	91	99	94	>200
3	50	2	94	>99	96	>200

Fonte: elaborada pela autora (2023).

Condições reacionais: *rac*-**1a** (5.00 mmol), decanoato de vinila (10.0 mmol, 2 equivalentes), heptano (80.0 mL), CAL-B (0.40 g) e VOSO₄.XH₂O (1.00 g) dentro do RBR S2, 50 °C, agitação mecânica executada pelo RBR. ^[a]Determinado por CG-DIC. Seletividade determinada por CG-DIC com a equação $SeI(\%) = [(A_S)/(A_S + A_{subP})] \times 100$, onde *A_S* e *A_{subP}* são as áreas relativas dos picos de substrato e subproduto, respectivamente, nos cromatogramas. ^[b]Determinado por CG-DIC com fase estacionária quiral.

Nas reações a 200 e 100 rpm, observamos a saída dos catalisadores de dentro do reator, devido à trituração de suas partículas sólidas (**Figura 20**), o que pode ter causado a ligeira diminuição no excesso enantiomérico e na seletividade no experimento a 200 rpm (Tabela 6, entrada 1).

Figura 20. Saída dos catalisadores do RBR S2 SpinChem® a 200 rpm (após 1 hora de reação).



Fonte: elaborado pela autora (2023).

A enzima CAL-B utilizada neste trabalho, conhecida comercialmente como Novozyme 435, é imobilizada via adsorção à uma resina acrílica macroporosa, resultando na formação de partículas esféricas com diâmetro na faixa de 300–900 μm (ORTIZ et al., 2019). Já o sulfato de vanadila hidratado (VOSO_4) é comercializado na forma de grânulos cristalinos que apresentam duas faixas distintas de tamanho de partícula (de 5 a 350 μm e de 350 μm a 4000 μm) (EL HAGE et al., 2019). Como os filtros dos reatores rotativos SpinChem® possuem um tamanho de poro de 104 μm , era esperado que apenas algumas pequenas partículas de VOSO_4 poderiam passar através do filtro. Entretanto, como não foi observado saída de VOSO_4 de dentro do reator no experimento a 50 rpm, é possível que, nos experimentos a 200 e 100 rpm, os catalisadores se movimentaram muito rapidamente no interior do RBR S2, ocasionando trituração e diminuição do tamanho das partículas sólidas em uma faixa abaixo de 104 μm , permitindo a saída de ambos os catalisadores de dentro do reator.

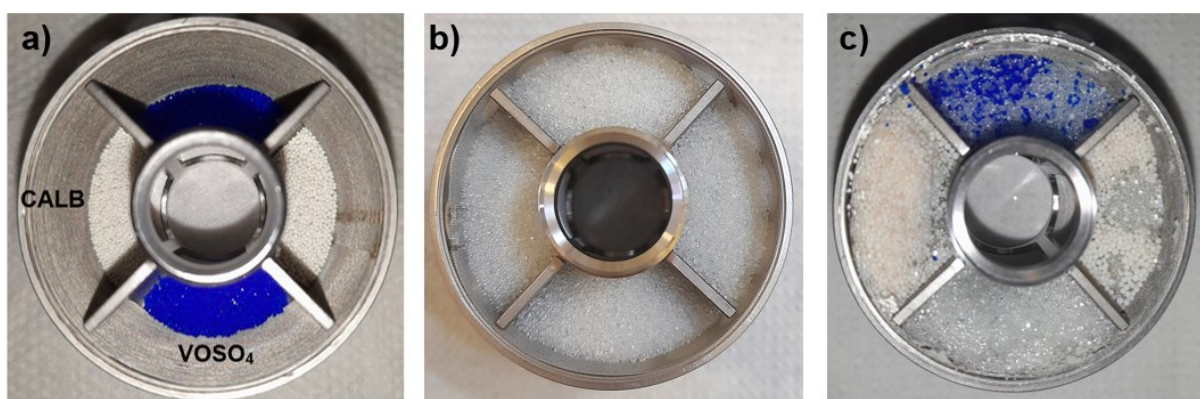
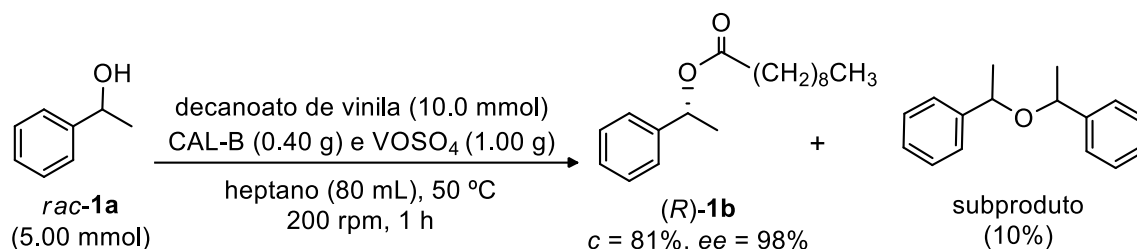
Vale ressaltar que a quantidade de CAL-B e VOSO_4 utilizada nos experimentos em larga escala preencheu cerca de 1/3 da capacidade do reator, deixando um espaço para essa movimentação dos catalisadores dentro da célula cilíndrica. A saída dos catalisadores não foi observada nos experimentos iniciais com o protótipo RBR magnético, já que esse reator possui filtro com tamanho de poro menor (44 μm) e uma menor altura, sendo que esta última característica possibilitou o total preenchimento do reator com as quantidades definidas dos catalisadores químico e enzimático.

Os resultados obtidos na avaliação da influência da velocidade de rotação vão em contraste ao esperado para sistemas utilizando a tecnologia SpinChem®, onde o design do reator e do recipiente com defletores favorece o aumento do rendimento com o aumento da velocidade de rotação. Diante disso, testou-se o uso do RBR S2 totalmente preenchido para minimizar o efeito das forças mecânicas nos catalisadores dentro da célula.

Para não alterar as condições reacionais já bem estabelecidas para a RCD catalisada por CAL-B/ VOSO_4 , manteve-se as quantidades dos catalisadores heterogêneos (1.00 g de VOSO_4 e 0.40 g de CAL-B) e o preenchimento total do RBR S2 foi alcançado adicionando microesferas de vidro – material inerte, comumente aplicado como enchimento (“*filler*”). Com o reator completamente carregado, foi realizada a RCD de *rac-1a* a 200 rpm e, em apenas 1 hora de reação, observou-se novamente saída dos catalisadores (e das microesferas de vidro) do interior do reator

(Figura 21). Portanto, definimos o valor de 50 rpm como velocidade ótima para a RCD catalisada por CAL-B/VOSO₄ dentro do RBR S2.

Figura 21. RBR S2 SpinChem® completamente preenchido com CAL-B, VOSO₄ e microesferas de vidro.

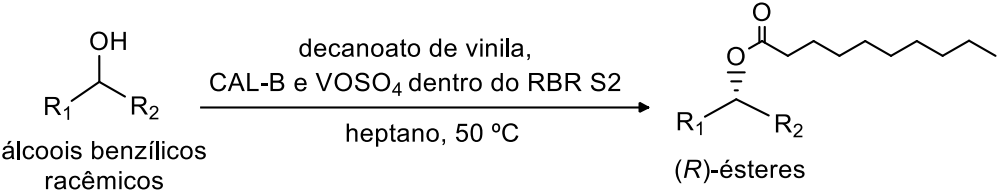
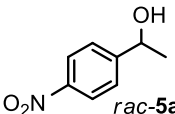
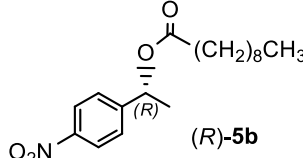
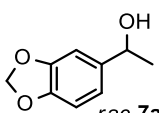
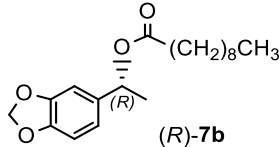
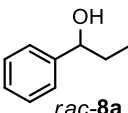
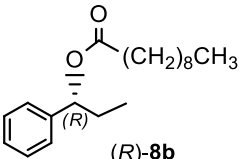


Fonte: elaborado pela autora (2023).

Legenda: a) antes da adição de *filler*. b) adição de 35 g de *filler*. c) reator após 1 hora de reação a 200 rpm.

Para avaliar a extensão e aplicabilidade do RBR SpinChem® em reações de RCD quimioenzimática em meio orgânico, esse sistema de compartimentalização de CAL-B e VOSO₄ também foi utilizado na RCD dos álcoois racêmicos que resultaram nas menores conversões e seletividades nos experimentos com o protótipo RBR magnético (substratos **5**, **7** e **8**, Tabela 5, páginas 68 e 69). As reações em larga escala com o RBR S2 a 50 rpm exibiram uma pequena melhora nas conversões para os substratos **5** e **8** e na seletividade para o substrato **7**, indicando que o escalonamento com o reator comercial foi satisfatório (Tabela 7).

Tabela 7. RCD em larga escala de álcoois benzílicos secundários com RBR S2 SpinChem®

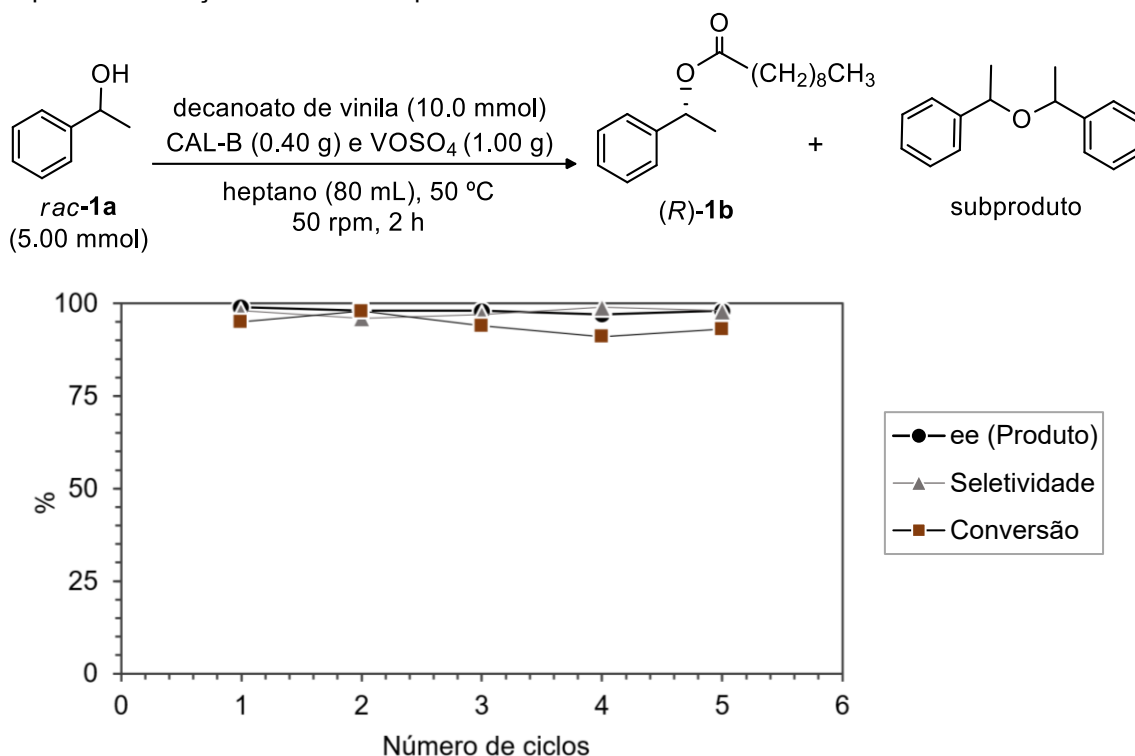
						
Substrato	Tempo (h)	Produto	c (%) ^[a]	ee _P (%) ^[b]	E	Sel. (%) ^[a]
 <i>rac</i> - 5a	2	 <i>(R)</i> - 5b	86	96	194	98
 <i>rac</i> - 7a	1	 <i>(R)</i> - 7b	90	91	110	89
 <i>rac</i> - 8a	4	 <i>(R)</i> - 8b	85	>99	>200	97

Fonte: elaborada pela autora (2023).

Condições reacionais: Álcool racêmico (5.00 mmol), decanoato de vinila (10.0 mmol, 2 equivalentes), heptano (80.0 mL), CAL-B (0.40 g) e VOSO₄.XH₂O (1.00 g) dentro do RBR S2, 50 °C, agitação mecânica a 50 rpm, executada pelo RBR. ^[a]Determinado por CG-DIC. Seletividade determinada por CG-DIC com a equação $Sel(\%) = [(A_S)/(A_S + A_{subP})] \times 100$, onde A_S e A_{subP} são as áreas relativas dos picos de substrato e subproduto, respectivamente, nos cromatogramas. ^[b]Determinado por CG-DIC com fase estacionária quiral.

Por fim, o reciclo dos catalisadores compartimentalizados no RBR S2 foi avaliado e o sistema quimioenzimático permaneceu ativo por 5 ciclos de RCD de *rac*-**1a**, com conversões de 95% a 93% ao produto *(R)*-**1b** (ee = 99%) (**Figura 22**). Apesar da formação de traços de subproduto (4–2%), as conversões obtidas com o reator em aço inoxidável foram maiores quando comparadas com o reciclo com o protótipo magnético em poliamida. No estudo do reciclo em larga escala, não foi visualmente observada saída dos catalisadores sólidos de dentro do reator ou degradação dos mesmos.

Figura 22. Reciclo de CAL-B e VOSO₄ na RCD em larga escala de *rac*-1-feniletanol (*rac*-1a) com compartimentalização em RBR S2 SpinChem®.



Fonte: elaborado pela autora (2023).

Legenda: ■ conversão; ● ee do éster (R)-1b ao final de cada ciclo; ▲ seletividade. Condições reacionais: *rac*-1a (5.00 mmol), decanoato de vinila (10.0 mmol, 2 equivalentes), heptano (80.0 mL), CAL-B (0.40 g) e VOSO₄.XH₂O (1.00 g) dentro do RBR S2, 50 °C, agitação mecânica a 50 rpm, executada pelo RBR, 2 horas de cada ciclo reacional. Conversão, seletividade e ee determinados por CG-DIC. Seletividade calculada pela equação $SeI(\%) = [(A_S)/(A_S + A_{subP})] \times 100$, onde A_S e A_{subP} são as áreas relativas dos picos de substrato e subproduto, respectivamente, nos cromatogramas.

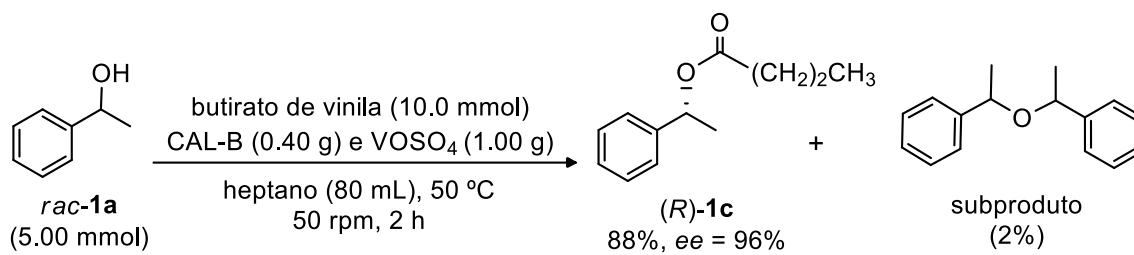
Como esperado, o uso de reator de leito rotativo para compartimentalização simplificou o processo de reciclo de CAL-B e VOSO₄, proporcionando um *workup* mais eficiente da reação de RCD. Ao final de cada ciclo de RCD, o reator foi removido do meio reacional e lavado com heptano (3 x 10 mL), e a solução reacional foi removida do recipiente de 200 mL e concentrada a pressão reduzida. Em seguida, o recipiente de vidro de 200 mL foi lavado com acetato de etila (2 x 10 mL) e carregado com nova solução reacional contendo substrato, doador de acila e heptano. Por fim, o RBR S2 contendo os catalisadores foi adicionado à solução reacional para um novo ciclo de RCD.

Após 5 ciclos consecutivos de RCD e purificação do produto via cromatografia flash, foi possível obter 5.70 g do produto (R)-decanoato de 1-feniletila (rendimento = 82%, ee = 98%). Esse éster enantiomericamente enriquecido pode ser facilmente

hidrolisado para obtenção do (*R*)-1-feniletanol. A substituição do decanoato de vinila por um doador de acila mais volátil pode fornecer um protocolo de RCD quimioenzimático ideal, composto por sistema catalítico heterogêneo, não tóxico e reutilizável e com isolamento de produto enantiopuro apenas por evaporação de reagentes e solvente, sem a necessidade de filtração e técnicas de cromatografia.

Para prova de conceito, um teste com butirato de vinila como doador de acila na RCD de *rac*-**1a** foi realizado em larga escala. Nesse experimento, o álcool *rac*-**1a** foi totalmente convertido ao produto (*R*)-butirato de 1-feniletila ((*R*)-**1c**) e, após concentração da solução reacional a pressão reduzida, obteve-se um rendimento de 88% e *ee* de (*R*)-**1c** de 96%, sem a necessidade de purificação (**Esquema 16**).

Esquema 16. RCD em larga escala de *rac*-1-feniletanol (*rac*-**1a**) com butirato de vinila como doador de acila e com RBR S2 SpinChem®.



Fonte: elaborado pela autora (2023).

Diante da disponibilidade comercial de reatores de leito rotativo SpinChem® de diferentes volumes, com capacidades para recipientes de 100 mL até centenas de metros cúbicos de líquido, os resultados obtidos nesse trabalho, a princípio, ser reproduzidos em maiores escalas.

2.4 Conclusões

Neste capítulo, descrevemos nossos esforços para minimizar a incompatibilidade entre a enzima CAL-B e o complexo de oxovanádio VOSO_4 ao serem combinados para atuarem como catalisadores, respectivamente, da transesterificação enantiosseletiva e racemização de álcoois benzílicos secundários em processos de resolução cinética dinâmica (RCD). A incompatibilidade foi superada ao aplicar um sistema prático e caseiro de compartimentalização dos catalisadores, confinando VOSO_4 dentro de um tubo de Teflon® contendo microfuros. Com esse sistema, a reciclabilidade de CAL-B/ VOSO_4 foi aumentada, permitindo a realização de 8 ciclos de RCD de *rac*-1-feniletanol com conversões entre 94–87% ao produto (*R*)-decanoato de 1-feniletila (*ee* >99%, sem formação de subproduto).

Avaliou-se também a compartimentalização de ambos os catalisadores utilizando reatores de leito rotativo (RBR) comerciais fornecidos pela empresa SpinChem AB, visando explorar o potencial industrial do protocolo de RCD compartimentalizado. Os protótipos de reatores magnéticos de poliamida, preenchidos com CAL-B e VOSO_4 , proporcionaram maiores conversões e seletividades na RCD de uma série de álcoois benzílicos secundários, quando comparados aos resultados sem compartimentalização. A reciclabilidade de CAL-B/ VOSO_4 se manteve alta com a aplicação do protótipo RBR, sendo possível alcançar 8 ciclos consecutivos de RCD de *rac*-1-feniletanol com conversões de 92% a 81% ao (*R*)-decanoato de 1-feniletila (*ee* >99% em todos os ciclos; 1 hora para cada ciclo).

Por fim, o sistema foi eficientemente escalonado utilizando RBR S2 SpinChem® de aço inoxidável, com CAL-B e VOSO_4 distribuídos separadamente em cada compartimento do reator. Após definição da velocidade de rotação ótima, os experimentos em larga escala alcançaram altos valores de conversão, *ee* e seletividade para a RCD de *rac*-1-feniletanol e três outros substratos, e também resultaram em uma ótima reciclabilidade de CAL-B/ VOSO_4 , com a produção de 5.70 g de (*R*)-decanoato de 1-feniletanila (*ee* = 98%) após 5 ciclos de RCD de *rac*-1-feniletanol (2 horas para cada ciclo).

Do nosso conhecimento, este foi o primeiro trabalho a avaliar o reciclo de CAL-B/ VOSO_4 na RCD de álcoois secundários aplicando a separação física dos catalisadores.

2.5 Parte Experimental

2.5.1 Reagentes e Materiais

Os álcoois racêmicos 1-feniletanol e 1-fenilpropanol, o sulfato de vanadila hidratado (VOSO_4), os doadores de acila decanoato de vinila e butirato de vinila, o padrão quiral (S)-(-)-1-feniletanol e a lipase B de *Candida antarctica* imobilizada (CAL-B; Novozyme 435; ≥ 5000 U/g, recombinante, expressa em *Aspergillus niger* e adsorvida em resina acrílica macroporosa) foram obtidos comercialmente junto à empresa Merck (Sigma-Aldrich®). Todos os solventes e reagentes adquiridos comercialmente foram utilizados sem pré-tratamento.

O reator de leito rotativo (RBR S2) SpinChem® em aço inoxidável e seu respectivo recipiente de vidro borossilicato com defletores, foram doados pela empresa SpinChem AB para este estudo. O RBR S2 (altura 30 mm, diâmetro 45 mm, porosidade 104 μm , para recipientes de 100–500 mL) foi conectado à um eixo (comprimento 38 cm, diâmetro 10 mm) e, posteriormente, à um agitador mecânico suspenso (Fisatom modelo 713DS, bivolt, digital, com dois eixos de acionamento: um entre 120 e 5000 rpm e outro entre 10 e 280 rpm). O recipiente de vidro borossilicato encamisado e com defletores em formato de flor no seu interior foi customizado pela empresa SpinChem AB para aplicação neste trabalho, possuindo fundo chato sem dreno inferior (V2, 200 mL, altura total 140 mm, diâmetro DN100, com duas saídas GL 32 e tampa de vidro borossilicato 3 bocas – junta esmerilhada central 29/32 e juntas laterais 14/20).

Os protótipos magnéticos de RBR em poliamida (altura 08 mm, diâmetro 15 mm, porosidade 44 μm , para recipientes de 5–100 mL) e seu respectivo tubo de polipropileno foram confeccionados pela empresa SpinChem AB e doados para a realização deste trabalho.

2.5.2 Métodos Cromatográficos

As análises por Cromatografia Gasosa Acoplada a Detector de Ionização de Chama (CG-DIC) foram realizadas em um cromatógrafo gasoso da marca Shimadzu, modelo GC-2010 Plus equipado com injetor automático AOC-20i, acoplado a um detector de ionização de chama, pertencente ao Milagre Lab (Instituto de Química – UNESP Araraquara). Para determinação de valores de conversão e seletividade,

utilizou-se as colunas capilares de sílica fundida HP-5-ms (30 m x 0.25 mm x 0.25 µm, (5%-fenil)-metilpolisiloxano; J&W, Agilent) e Rtx-5 (30 m x 0.25 mm x 0.25 µm, (5%-fenil)-dimetilpolisiloxano; Restek), operando com fluxo constante de gás H₂ de 1,22 mL min⁻¹, com temperaturas no injetor e detector de 260 °C e 280 °C, respectivamente. O volume de injeção das amostras foi de 1 µL na concentração de 0.5–1.0 mg mL⁻¹, no modo *split*. A programação de temperatura utilizada foi de 3 minutos a 80 °C, seguida de rampa de aquecimento 80–280 °C a 30 °C min⁻¹ e mantido em 280 °C por 5 minutos, com tempo total de análise de 14,67 minutos.

Para determinação dos excessos enantioméricos (*ee*), as análises em CG-DIC foram realizadas com coluna de fase estacionária quiral CP-Chirasil-DEX CB (25 m x 0.25 mm x 0.25 µm; ciclodextrina ligada a dimetilpolisiloxano; J&W, Agilent), operando com fluxo constante de gás H₂ de 1.02 mL min⁻¹, com temperaturas no injetor e detector de 160 °C e 180 °C, respectivamente. O volume das injeções foi de 1 µL na concentração de 0.5–1.0 mg mL⁻¹, no modo *split*. A programação de temperatura utilizada foi de 2 minutos a 110 °C, seguida de rampa de aquecimento a 1 °C min⁻¹ até 120 °C, mantido em 120 °C por 2 minutos, seguida de nova rampa de aquecimento a 30 °C min⁻¹ até 180 °C, e mantido em 180 °C por 7 minutos, com tempo total de análise de 23.00 minutos.

Os valores de conversão e *ee* foram calculados pelas análises em CG-DIC segundo as equações abaixo:

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

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

mg mL⁻¹. A programação de temperatura utilizada foi de 3 minutos a 80°C, seguida de rampa de aquecimento 80-280°C a 30°C min⁻¹ e mantido em 280°C por 3 minutos.

A cromatografia flash em coluna, utilizada para purificar os produtos das reações, foi realizada com sílica gel 230–400 mesh (Merck Milipore) como fase estacionária (heptano:acetato de etila 95:5, detecção por UV).

2.5.3 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 na Plataforma Instrumental de RMN do Instituto de Química UNESP Araraquara, em espectrômetro Bruker Fourier 600 (B₀ 14,1 T) operando na frequência de 600.13 MHz para o núcleo de hidrogênio e 150.90 MHz para o núcleo de carbono. Os sinais de deslocamentos químicos (δ) foram registrados em ppm utilizando como padrão interno tetrametilsilano (TMS, δ = 0,00) e padrão externo CDCl₃ (δ_H = 7,24; δ_C = 77,23). As constantes de acoplamento (J) foram medidas em Hertz (Hz) e os sinais foram caracterizados como: duplete (d), duplo duplete (dd), duplo-duplo-duplete (ddd), multiplete (m), quarteto (q), quinteto (qt), simpleto (s), simpleto largo (sl), se (sexteto), tripleto (t) e triplo duplete (td). As interpretações de alguns espectros de RMN de ¹³C foram realizadas com auxílio da técnica DEPTQ (*Distorsionless Enhancement by Polarization Transfer with Retention of Quaternaries*, em inglês), sendo CH₃/CH = sinal positivo (+), CH₂/C₀ (carbono quaternário) = sinal negativo (-).

2.5.4 Polarimetria

As rotações ópticas dos enantiômeros foram adquiridas a partir de soluções em CHCl₃ a 20–25 °C em polarímetro (341 LC, PerkinElmer) com lâmpada de sódio (589 nm) e uma célula de quartzo de 1.00 dm.

2.5.5 Procedimentos experimentais e caracterização estrutural

2.5.5.1 Reciclo de CAL-B na resolução cinética de *rac*-1-feniletanol

À 0.25 mmol (30.5 mg) de *rac*-1-feniletanol adicionou-se 4.0 mL de heptano, 0.50 mmol (112 μ L) de decanoato de vinila e 20 mg de CAL-B imobilizada. A suspensão resultante foi agitada por 3 horas, a 50 °C, usando uma barra magnética.

Em seguida, o biocatalisador (CAL-B) foi removido do meio reacional por filtração simples, lavado com heptano (3 x 2 mL) e reutilizado em um novo ciclo de resolução cinética de *rac*-1-feniletanol, seguindo as mesmas condições reacionais descritas. O procedimento foi repetido por 6 ciclos.

2.5.5.2 Reciclo de VOSO_4 na racemização de (S)-1-feniletanol

À 0.25 mmol (30.5 mg) de (S)-1-feniletanol adicionou-se 4.0 mL de heptano, 0.50 mmol (112 μL) de decanoato de vinila e 50 mg de $\text{VOSO}_4 \cdot \text{XH}_2\text{O}$. A suspensão resultante foi agitada por 1 hora, a 50 °C, usando uma barra magnética. Em seguida, o catalisador (VOSO_4) foi removido do meio reacional por filtração simples, lavado com heptano (3 x 2 mL) e reutilizado em um novo ciclo de racemização de (S)-1-feniletanol, seguindo as mesmas condições reacionais descritas. O procedimento foi repetido por 5 ciclos.

2.5.5.3 Adaptação do sistema de compartimentalização com tubo de Teflon®

Um tubo de Teflon® (altura 70 mm, diâmetro interno 5 mm) foi perfurado a 15 mm de uma de suas extremidades usando uma agulha de aço inoxidável (tamanho 25). A extremidade contendo os microfuros foi fechada com uma rosca macho de Teflon® tipo 1/4-28, utilizada em sistemas microfluídico. A rosca também foi perfurada com agulha de aço inoxidável (tamanho 25). O tubo de Teflon® adaptado foi então lavado com heptano (3 x 5 mL) e seco antes de seu uso. Para aplicação em reações de resolução cinética dinâmica, o tubo foi preenchido com VOSO_4 e conectado a um septo de borracha de junta 14/20 para posterior imersão na solução reacional.

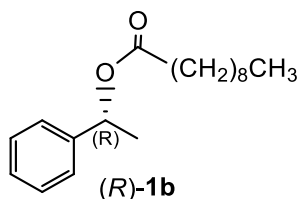
2.5.5.4 Procedimento geral da resolução cinética dinâmica catalisada por CAL-B/ VOSO_4 com compartimentalização em tubo de Teflon®

À um balão 25 mL de fundo redondo e duas bocas, adicionou-se 20 mg CAL-B e 4.0 mL de heptano. Um tubo de Teflon contendo com 50 mg de $\text{VOSO}_4 \cdot \text{XH}_2\text{O}$ foi adicionado no balão reacional encaixando-o em um septo de junta 14/20. O balão foi fechado com o septo conectado ao tubo e, então, adicionou-se 0.25 mmol de álcool racêmico e 0.50 mmol (99.1 mg) de decanoato de vinila à esse sistema reacional (adição com seringa de vidro). A suspensão resultante foi agitada a 50 °C usando uma barra magnética. Após atingir máxima conversão ao produto (*R*)-decanoato e menor

formação de subproduto (monitoramento por CG–DIC, coluna Rtx-5), o tubo contendo VOSO_4 foi removido e a CAL-B foi recuperada por filtração simples. Para as análises de reciclo, os catalisadores foram removidos do balão reacional, lavados com heptano (3 x 2 mL, VOSO_4 foi lavado dentro do tubo de Teflon) e reutilizados em novos ciclos reacionais, sob as mesmas condições descritas. O procedimento foi repetido por 8 ciclos consecutivos com o substrato *rac*-1-feniletanol.

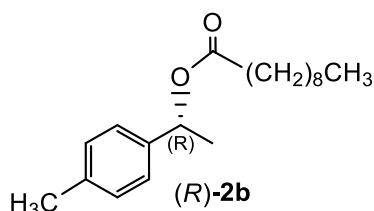
2.5.5.5 Procedimento geral da resolução cinética dinâmica catalisada com compartimentalização de CAL-B/ VOSO_4 em protótipo magnético de reator de leito rotativo

À um tubo reacional de polipropileno, adicionou-se 4.0 mL de heptano, 0.25 mmol de álcool racêmico e 0.50 mmol (112 μL) de decanoato de vinila. Em seguida, um protótipo magnético RBR carregado com 20 mg de CAL-B e 50 mg de $\text{VOSO}_4 \cdot \text{XH}_2\text{O}$ foi adicionado à solução (catalisadores distribuídos separadamente em cada compartimento do protótipo). O sistema foi agitado vigorosamente a 50 °C pelo próprio reator contendo barra magnética em seu interior. Após atingir máxima conversão ao produto (*R*)-decanoato e menor formação de subproduto (monitoramento por CG–DIC, coluna Rtx-5), o protótipo contendo os catalisadores foi removido do meio reacional e lavado com heptano (2 x 2 mL) e acetato de etila (1 x 2 mL). As soluções reacionais e as soluções de lavagem foram combinadas e concentradas a pressão reduzida. Após purificação via CCD em escala preparativa, obteve-se os (*R*)-decanoatos (cromatoplasas de sílica gel 20 x 20 cm, heptano:acetato de etila 95:5 (v/v); detecção por UV). Para as análises de reciclo, o protótipo contendo os catalisadores foi reutilizado em novos ciclos reacionais após a lavagem com heptano e acetato de etila. O procedimento foi repetido por 8 ciclos consecutivos com o substrato *rac*-1-feniletanol.



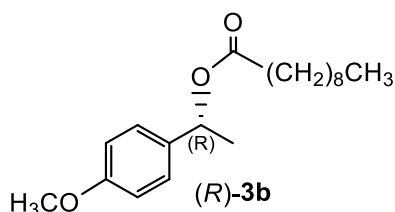
(R)-decanoato de-1-feniletila ((R)-1b), 76%, $C_{18}H_{28}O_2$; **MM** 276.41 g mol⁻¹;

óleo amarelo. $[\alpha]_D^{25} = +30.2$ (c 0.12, $CHCl_3$). **¹H-RMN** (600 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 7.35 (m, 5H), 5.89 (q, $J = 6.6$ Hz, 1H), 2.32 (ddd, $J = 2.0$; 7.5 e 7.7 Hz, 2H), 1.61 (qt, 2H), 1.53 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H), 1.23–1.30 (m, 12H), 0.87 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H). **¹³C-RMN** (150 MHz, DETPQ, $CDCl_3$) δ (ppm): 173.2 ($C=O$, (-)), 141.9 ($C=O$, (-)), 128.5 (CH, 2C), 127.8 (CH), 126.1 (CH, 2C), 72.0 (CH), 34.6 (CH_2), 31.9 (CH_2 , (-)), 29.5 (CH_2 , (-)), 29.3 (CH_2 , (-)), 29.2 (CH_2 , (-)), 29.1 (CH_2 , (-)), 25.0 (CH_2 , (-)), 22.7 (CH_2 , (-)), 22.3 (CH_3), 14.1 (CH_3). **CG-DIC**: $t_R = 10.22$ min (Rtx-5); $t_{R(-S)} = 31.75$ min e $t_{R(-R)} = 32.03$ min (CP-Chirasil-DEX CB). $R_f = 0.57$ (CCD heptano: acetato 95:5 (v/v)).



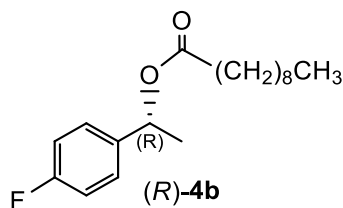
(R)-decanoato de-1-(4-metilfenil)-etila ((R)-2b), 81%, $C_{19}H_{30}O_2$; **MM**

290.44 g mol⁻¹; óleo incolor. $[\alpha]_D^{21} = +44.7$ (c 0.12, $CHCl_3$). **¹H-RMN** (600 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 7.27 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 7.18 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 5.89 (q, $J = 6.5$ Hz, 1H), 2.36 (s, 3H), 2.33 (ddd, $J = 2.3$; 7.4 e 7.5 Hz, 2H), 1.63 (qt, 2H), 1.54 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H), 1.27–1.33 (m, 12H), 0.90 (t, $J = 6.8$ Hz, 3H). **¹³C-RMN** (150 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 173.2, 140.1, 138.9, 137.5, 129.5 (2C), 126.1 (2C), 71.9, 34.7, 31.9, 29.4, 29.3, 29.1, 25.0, 22.7, 22.1, 21.1, 14.1. **CG-DIC**: $t_R = 9.88$ min (Rtx-5). $R_f = 0.60$ (CCD heptano:acetato 95:5 (v/v)).



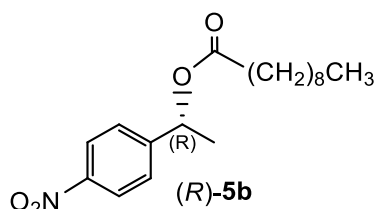
(R)-decanoato de-1-(4-metóxfenil)-etila ((R)-3b), 56%, $C_{19}H_{30}O_3$; **MM**

306.44 g mol⁻¹; óleo amarelo. $[\alpha]_D^{21} = +28.2$ (c 0.12, $CHCl_3$). **¹H-RMN** (600 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 7.31 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 6.90 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 5.88 (q, $J = 6.5$ Hz, 1H), 3.82 (s, 3H), 2.31 (ddd, $J = 2.5$; 7.4 e 7.5 Hz, 2H), 1.62 (qt, 2H), 1.54 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H), 1.27–1.33 (m, 12H), 0.90 (t, $J = 6.8$ Hz, 3H). **¹³C-RMN** (150 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 173.2, 159.2, 134.0 (2C), 127.6 (2C), 113.8, 71.7, 55.3, 34.7, 31.9, 29.4, 29.3, 29.2, 29.1, 25.0, 22.7, 22.0, 14.1. **CG-DIC**: $t_R = 10.42$ min (Rtx-5). $R_f = 0.49$ (CCD heptano:acetato 95:5 (v/v)).



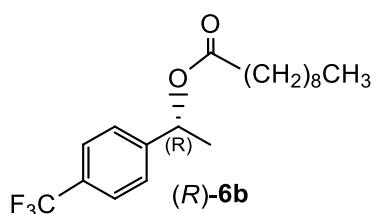
(R)-decanoato de-1-(4-fluorofenil)-etila ((*R*)-**4b**), 85%, C₁₈H₂₇FO₂; **MM**

294.40 g mol⁻¹; óleo incolor. $[\alpha]_D^{20} = +49.0$ (c 0.12, CHCl₃). **¹H-RMN** (600 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.32 (m, 2H), 7.02 (m, 2H), 5.86 (q, *J* = 6.8 Hz, 1H), 2.30 (ddd, *J* = 2.6; 7.5 and 7.7 Hz, 2H), 1.59 (qt, 2H), 1.51 (d, *J* = 6.6 Hz, 3H), 1.22–1.30 (m, 12H), 0.88 (t, *J* = 6.9 Hz, 3H). **¹³C-RMN** (150 MHz, DEPTQ, CDCl₃) δ (ppm): 173.1 (C=O, (-)), 163.1 (C=O, (-)), 134.7 (C_o, (-)), 127.9 (CH, 2C), 115.3 (CH, 2C), 71.3 (CH), 34.6 (CH₂, (-)), 31.9 (CH₂, (-)), 29.4 (CH₂, (-)), 29.2 (CH₂, (-)), 29.1 (CH₂, (-)), 28.9 (CH₂, (-)), 25.0 (CH₂, (-)), 22.7 (CH₂, (-)), 22.2 (CH₃), 14.1 (CH₃). **CG-DIC**: t_R = 9.49 min (Rtx-5). R_f = 0.54 (CCD heptano:acetato 95:5 (v/v)).



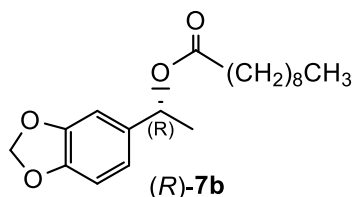
(R)-decanoato de-1-(4-nitrofenil)-etila ((*R*)-**5b**), 54%, C₁₈H₂₇NO₄; **MM**

321.41 g mol⁻¹; óleo amarelo. $[\alpha]_D^{20} = +57.5$ (c 0.12, CHCl₃). **¹H-RMN** (600 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8.23 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 7.52 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 5.95 (q, *J* = 6.8 Hz, 1H), 2.37 (ddd, *J* = 3.2; 7.6 e 7.7 Hz, 2H), 1.65 (qt, 2H), 1.57 (d, *J* = 6.6 Hz, 3H), 1.22–1.30 (m, 12H), 0.90 (t, *J* = 6.9 Hz, 3H). **¹³C-RMN** (150 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 172.9, 149.2, 147.5, 126.8 (2C), 123.9 (2C), 71.0, 34.4, 31.8, 29.4, 29.2, 29.1, 24.9, 22.6, 22.4, 22.3, 14.1. **CG-DIC**: t_R = 11.32 min (Rtx-5). R_f = 0.43 (CCD heptano: acetato 95:5 (v/v)).



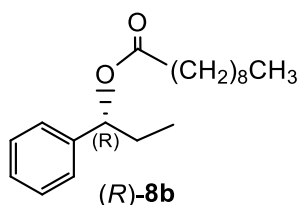
(R)-decanoato de-1-[4-(trifluorometil)fenil]-etila ((*R*)-**6b**), 79%,

C₁₉H₂₇F₃O₂; **MM** 344.41 g mol⁻¹; óleo incolor. $[\alpha]_D^{20} = +39.2$ (c 0.12, CHCl₃). **¹H-RMN** (600 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.62 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 7.47 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 5.93 (q, *J* = 6.6 Hz, 1H), 2.36 (ddd, *J* = 2.5; 7.4 e 7.5 Hz, 2H), 1.64 (qt, 2H), 1.56 (d, *J* = 6.6 Hz, 3H), 1.27–1.33 (m, 12H), 0.90 (t, *J* = 6.8 Hz, 3H). **¹³C-RMN** (150 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 173.0, 145.9, 126.3 (2C), 125.5, 125.5, 71.7, 34.5, 31.8, 29.4, 29.2, 29.1, 24.9, 22.7, 22.4, 22.3, 14.1. **CG-DIC**: t_R = 9.41 min (Rtx-5). R_f = 0.54 (CCD heptano: acetato 95:5 (v/v)).



(R)-decanoato de-1-(1,3-benzodioxol-5-il)etila ((*R*)-**7b**), 72%, C₁₉H₂₈O₄;

MM 320.20 g mol⁻¹; óleo amarelo. $[\alpha]_D^{20} = +36.0$ (c 0.12, CHCl₃). **¹H-RMN** (600 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 6.87 (d, *J* = 1.6 Hz, 1H), 6.78 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 5.87 (s, 2H), 5.82 (q, *J* = 6.6 Hz, 1H), 2.32 (ddd, *J* = 2.0; 7.4 e 7.6 Hz, 2H), 1.62–1.70 (m, 2H), 1.51 (d, *J* = 6.5 Hz, 3H), 1.25–1.33 (m, 12H), 0.90 (t, *J* = 6.9 Hz, 3H). **¹³C-RMN** (150 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 173.1, 147.7, 147.1, 141.2, 135.8, 119.8, 108.1, 106.7, 101.1, 71.9, 34.6, 31.9, 29.4, 29.3, 29.1, 25.0, 22.7, 22.2, 14.1. **CG-DIC**: *t_R* = 10.86 min (Rtx-5). *R_f* = 0.46 (CCD heptano: acetato 95:5 (v/v)).



(R)-decanoato de-1-fenilpropila ((*R*)-**8b**), 65%, C₁₉H₃₀O₂; **MM** 290.44 g mol⁻¹;

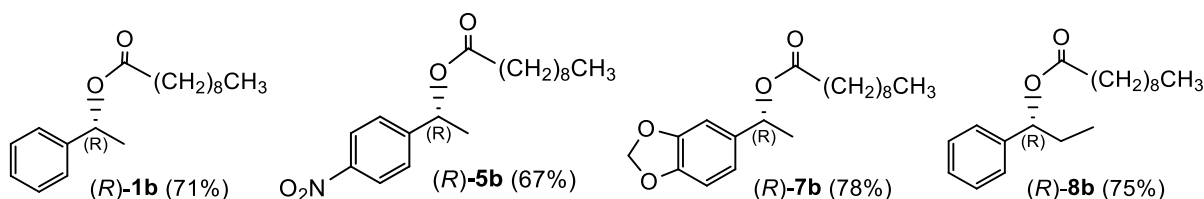
óleo amarelo. $[\alpha]_D^{21} = +34.5$ (c 0.12, CHCl₃). **¹H-RMN** (600 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.29–7.36 (m, 5H), 5.70 (t, *J* = 6.8 Hz, 1H), 2.35 (ddd, *J* = 3.2; 7.3 e 7.6 Hz, 2H), 1.80–1.87 (m, 2H), 1.67–1.62 (m, 2H), 1.23–1.36 (m, 12H), 0.89–0.92 (m, 6H). **¹³C-RMN** (150 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 173.2, 140.8, 128.3 (2C), 127.5, 126.5 (2C), 77.0, 34.6, 31.9, 29.7, 29.4, 29.3, 29.1, 29.0, 25.0, 22.7, 14.1, 9.9. **CG-DIC**: *t_R* = 9.78 min (Rtx-5). *R_f* = 0.57 (CCD heptano: acetato 95:5 (v/v)).

2.5.5.6 Procedimento geral da resolução cinética dinâmica em larga escala com compartimentalização de CAL-B/VOSO₄ em reator de leito rotativo

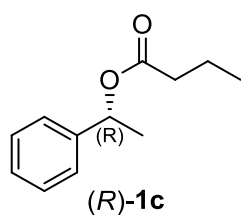
À um frasco de vidro borossilicato de 200 mL sob banho de aquecimento a 50 °C, adicionou-se 80 mL de heptano, 5.00 mmol de álcool racêmico e 10.0 mmol (2.24 mL) de decanoato de vinila. Em seguida, um reator de aço inoxidável (RBR S2) conectado preenchido com 0.40 g de CAL-B e 1.00 g de VOSO₄·XH₂O foi adicionado à solução (catalisadores distribuídos separadamente em cada compartimento do reator). O sistema foi colocado sob agitação mecânica a 50 rpm promovida pelo reator conectado a um eixo de um agitador mecânico suspenso. Após atingir máxima conversão ao produto (*R*)-decanoato e menor formação de subproduto (monitoramento por CG–DIC, coluna HP-5-ms), o reator contendo os catalisadores foi removido do meio reacional e lavado com heptano (3 x 10 mL). As soluções reacionais e as soluções de lavagem foram combinadas e concentradas a pressão reduzida. Para as análises de reciclo, o frasco de vidro de 200 mL foi lavado com acetato de

etila (2 x 10 mL) e carregado com nova solução reacional contendo substrato, doador de acila e heptano, além do RBR previamente lavado e contendo os catalisadores. Este procedimento foi repetido por 5 ciclos consecutivos com o substrato *rac*-1-feniletanol.

Após purificação via cromatografia flash em coluna (sílica gel 230–400 mesh, Merck Milipore; coluna de vidro de diâmetro interno 50 mm; heptano:acetato de etila 90:10 (v/v); detecção por UV), obteve-se os (*R*)-decanoatos ilustrados abaixo, nos respectivos rendimentos (%):



Este procedimento também foi realizado utilizando butirato de vinila como doador de acila nas mesmas condições descritas: 80 mL de heptano, 5.00 mmol de *rac*-1-feniletanol (605 μ L) e 10.0 mmol (1.27 mL) de butirato de vinila, a 50 °C. Após atingir máxima conversão ao produto (*R*)-butirato de 1-feniletila ((*R*)-**1c**) e menor formação de subproduto (monitoramento por CG–DIC, coluna HP-5-ms), o reator contendo os catalisadores foi removido do meio reacional e lavado com heptano (3 x 10 mL). As soluções reacionais e as soluções de lavagem foram combinadas e concentradas a pressão reduzida, fornecendo o produto (*R*)-**1c** com 88% de rendimento (0.84 g) e 96% de *ee*.



(*R*)-butirato de-1-feniletila ((*R*)-**1c**), 88%, $C_{12}H_{16}O_2$; **MM** 192.25 g mol⁻¹; óleo amarelo. **¹H-RMN** (600 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 7.36–7.27 (m, 5H), 5.90 (q, J = 6.6 Hz, 1H), 2.31 (td, J = 2.1 e 7.4 Hz, 2H), 1.66 (se, J = 7.4 Hz, 2H), 1.53 (d, J = 6.6 Hz, 3H), 0.93 (t, J = 7.4 Hz, 3H). **¹³C-RMN** (150 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 173.3, 141.9, 128.5 (2C), 127.8, 126.1 (2C), 72.0, 36.5, 22.3, 18.5, 13.6. **CG-DIC**: t_R = 6.78 min (HP-5-ms).

2.5.5.7 Procedimento geral para determinação dos excessos enantioméricos

Os valores de excesso enantiomérico (ee) foram determinados por análises em CG–DIC, utilizando coluna quiral CP-Chirasil-DEX CB (J&W Agilent). Para as reações com *rac*-1-feniletanol (*rac*-**1a**) como substrato, o valor de ee do produto (*R*)-decanoato de 1-feniletila ((*R*)-**1b**) foi determinado diretamente comparando a área relativa do pico para este enantiômero com as áreas relativas dos picos do par de enantiômeros do seu padrão racêmico (*rac*-**1b**), previamente sintetizado pelo nosso grupo de pesquisa. Devido à baixa eficiência na separação quiral dos demais decanoatos racêmicos (ésteres sintetizados previamente por via química a partir dos álcoois racêmicos **2–8**) na coluna quiral CP-Chirasil-DEX CB, os valores ee dos (*R*)-enantiômeros desses compostos, produzidos nas reações de resolução cinética dinâmica, foram determinados indiretamente após sua hidrólise com solução etanólica de hidróxido de lítio 1 M, seguida de comparação da área relativa do pico para o respectivo (*R*)-álcool resultante com as áreas relativas dos picos do par de enantiômeros dos álcoois racêmico (*rac*-**2–8**), previamente sintetizados pelo nosso grupo de pesquisa.

Os cromatogramas obtidos nessas análises encontram-se em Apêndice (Figuras A19–A26).

Capítulo Dois

Resolução cinética dinâmica de álcoois terciários benzílicos:
Desafios para a aplicação inédita de lipase/VOSO₄

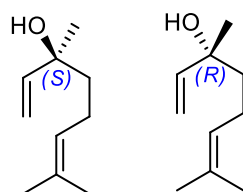
3. CAPÍTULO 2 – Resolução cinética dinâmica de álcoois terciários benzílicos: Desafios para a aplicação inédita de lipase/VOSO₄

3.1 Introdução

3.1.1 Álcoois terciários quirais: relevância e métodos de obtenção

Os álcoois terciários quirais são subunidades estruturais presentes em blocos construtores de interesse das indústrias farmacêutica, alimentícia e de química fina (LIU; LIN, 2019; MÜLLER, 2014). Além disso, estão presentes em muitos produtos naturais, como por exemplo em óleos essenciais de plantas aromáticas. O linalol (3,7-dimetil-1,6-octandien-3-ol, **Figura 23**), mencionado anteriormente no Tópico 1.1 (página 27), pode ser encontrado nos óleos essenciais de pau rosa (*Aniba rosaeodora*), de lavanda (*Lavandula officinalis*) e manjerição (*Ocimum basilicum*), e é um dos principais ingredientes de fragrâncias e aromatizantes em perfumes, sabões, detergentes, sendo usado também em técnicas de lupulagem de cervejas (APROTOSOAIIE et al., 2014; LETIZIA et al., 2003). Na indústria, o linalol é utilizado como intermediário sintético na produção das vitaminas E e A e o consumo mundial desse monoterpeno acíclico quiral excede 1.000 toneladas/ano, o que evidencia sua relevância econômica (APROTOSOAIIE et al., 2014; LETIZIA et al., 2003).

Figura 23. Os dois enantiômeros do linalol.

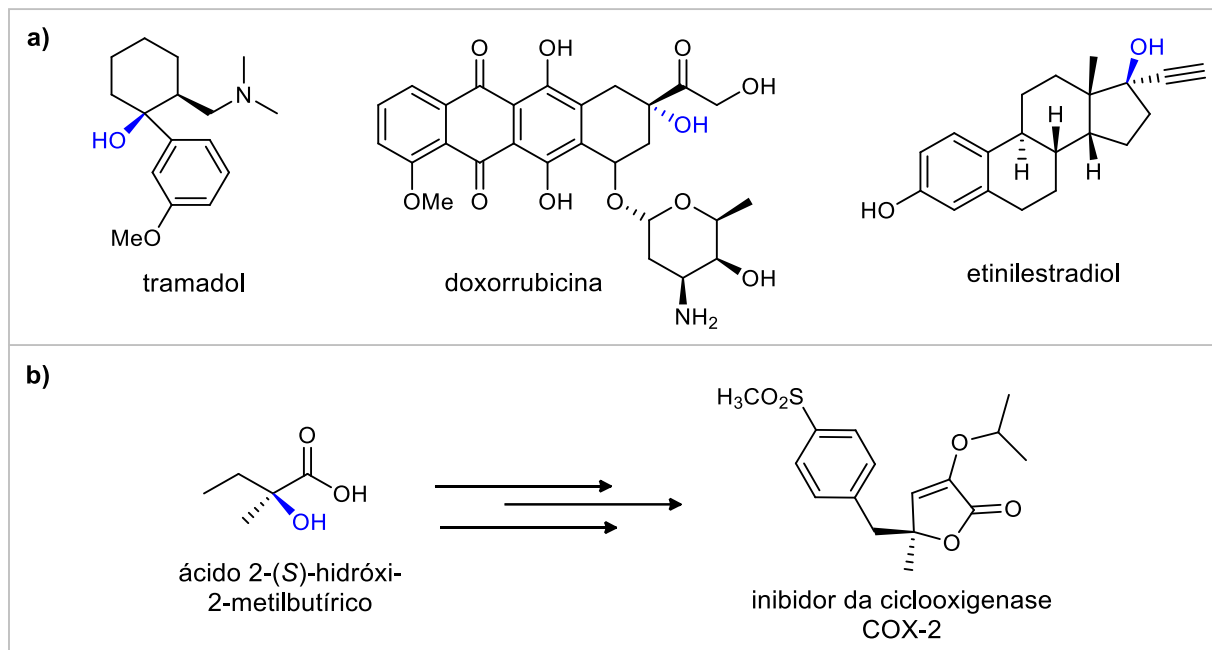


Fonte: elaborada pela autora (2023).

Álcoois terciários quirais são componentes estruturais de diversos outros compostos biologicamente ativos, entre eles: tramadol (analgésico), doxorrubicina (agente antitumoral) e etinilestradiol (estrogênio) (**Figura 24a**) (MÜLLER, 2014). Devido à sua natureza estericamente impedida, os álcoois terciários quirais são frequentemente utilizados como ligantes ou auxiliares quirais em síntese assimétrica, além de atuarem como blocos construtores para síntese de compostos de interesse comercial. Por exemplo, o ácido 2-(S)-hidroxi-2-metilbutírico é utilizado como

precursor na síntese do inibidor da ciclooxygenase COX-2 (**Figura 24b**) (FECHTER et al., 2007; TAN et al., 2002).

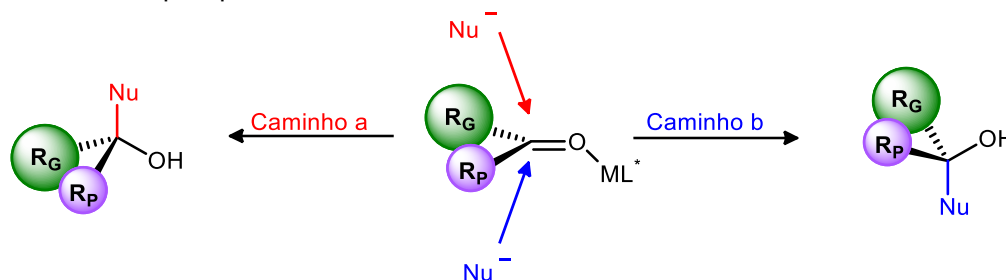
Figura 24. a) Compostos biologicamente ativos contendo álcool terciário quiral. b) Ácido 2-(S)-hidróxi-2-metilbutírico como bloco construtor.



Fonte: elaborada pela autora (2023).

Diante da sua importância sintética e biológica, há uma grande demanda por metodologias de síntese enantiosseletiva para os álcoois terciários e os desafios para se alcançar este objetivo são significativos. Ao contrário dos álcoois secundários, os álcoois terciários quirais não podem ser sintetizados através de uma redução assimétrica. Os seus métodos de síntese mais comuns são baseados na formação de uma ligação carbono-carbono através de uma adição nucleofílica a cetonas pró-quirais, geralmente utilizando um reagente organometálico contendo ligantes quirais (**Figura 25**, caminhos a e b). Entretanto, esses processos geralmente não são muito eficientes devido à baixa reatividade de cetonas, quando comparadas com aldeídos, o que implica o uso de nucleófilos fortes e/ou ativadores (CHEN; LIU; YANG, 2022). Além disso, a discriminação enantiofacial é dificultada quando os dois substituintes ligados a carbonila ($-R_G$ e $-R_P$, figura 5) são estericamente e eletronicamente semelhantes (LIU; LIN, 2019; STYMIEST et al., 2008).

Figura 25. Estratégia comum para obtenção de álcoois terciários quirais através da adição seletiva de nucleófilos a cetonas pró-quirais.



Fonte: Adaptado de Stymiest e colaboradores (STYMIEST et al., 2008). Legenda: Nu⁻ = nucleófilo; ML⁺ = reagente organometálico quiral; R_G = substituinte grande; R_P = substituinte pequeno.

Existem outras metodologias para obtenção dessa classe de compostos, como conversão enantiodivergente de álcoois secundários quirais (STYMIEST et al., 2008), α -arilação de álcoois benzílicos (CLAYDEN et al., 2009), substituições nucleofílicas alílicas (LEUSER et al., 2005), abertura assimétrica de epóxidos (NODA; KUMAGAI; SHIBASAKI, 2018) e resolução cinética química (ZHANG; MA, 2018) e enzimática (HARI KRISHNA; PERSSON; BORNSCHEUER, 2002b; KOURIST; DOMÍNGUEZ DE MARÍA; BORNSCHEUER, 2008). Apesar da existência de diferentes metodologias de síntese enantiosseletiva de álcoois terciários quirais, não existe até o presente momento um protocolo que alcance excelentes excessos enantioméricos e que seja de bom custo-benefício para aplicações em larga escala.

Vinculada à necessidade de se desenvolver novas metodologias, há uma forte demanda por processos químicos mais sustentáveis e ambientalmente amigáveis e, nesse sentido, a resolução cinética enzimática de álcoois terciários pode atender metas de sustentabilidade em termos de seletividade, economia de energia e maior eficiência atômica (KOURIST; DOMÍNGUEZ DE MARÍA; BORNSCHEUER, 2008). Entretanto, enquanto a resolução de álcoois secundários é bem estabelecida, sendo inclusive um dos métodos mais utilizados pela indústria de química fina e farmacêutica para obtenção de compostos enantiomericamente puros, a resolução de álcoois terciários ainda é uma área muito incipiente, em especial a resolução enzimática.

3.1.2 Resolução enzimática de álcoois terciários

Uma alternativa atrativa para preparar álcoois terciários opticamente ativos é partir de seus racematos prontamente disponíveis via metodologias de resolução cinética (RC) catalítica. O grande obstáculo na aplicação da RC para álcoois terciários

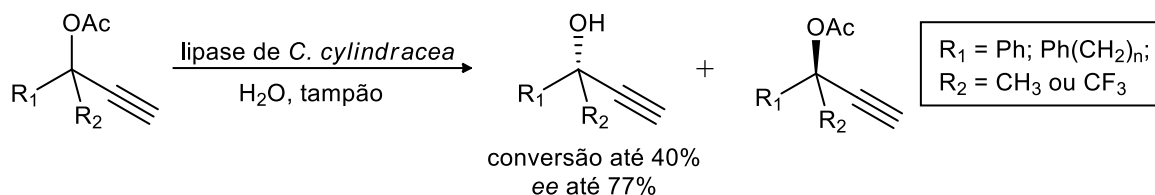
é encontrar um catalisador quiral que reconheça de maneira eficiente e seletiva os três substituintes da posição α de álcoois terciários. Além disso, a ocorrência de reações paralelas, como desidratação e eliminação, limita o desenvolvimento de métodos de RC para essa classe de compostos (CHEN; LIU; YANG, 2022).

Os recentes métodos de RC para álcoois terciários envolvem, majoritariamente, catalisadores químicos e substratos funcionalizados, como ilustrado nos recentes artigos de revisão de Chen e colaboradores (CHEN; LIU; YANG, 2022) e Ding e colaboradores (DING et al., 2022). Apesar dos avanços significativos, a RC direta da hidroxila do centro quaternário, sem substituintes reativos adjacentes, ainda é um desafio. Nesse contexto, o uso de enzimas como catalisadores em protocolos de RC pode ser uma opção promissora para superar essa dificuldade, já que essas biomoléculas possuem alta quimio-, régio- e enantiosseletividades em condições reacionais brandas (BELL et al., 2021).

As enzimas da classe das hidrolases (EC 3) são frequentemente aplicadas em protocolos de RC de álcoois secundários e aminas via acilação enantiosseletiva ou hidrólise de seus ésteres ou amidas correspondentes. Entretanto, devido à dificuldade em acomodar álcoois terciários estericamente impedidos no sítio ativo das hidrolases, existem poucos exemplos da RC enzimática para esses compostos, sendo que a maioria dos trabalhos publicados se baseiam na RC de álcoois terciários propargílicos (FILLAT et al., 2015; HARI KRISHNA; PERSSON; BORNSCHEUER, 2002b; HEINZE et al., 2007; HENKE; PLEISS; BORNSCHEUER, 2002; KOURIST et al., 2008; KOURIST; BORNSCHEUER, 2011; LÖFGREN et al., 2019; NGUYEN et al., 2010).

Em 1994, O'Hagan e Zaidi exploraram a resolução de álcoois terciários propargílicos através da hidrólise enantiosseletiva de seus ésteres correspondentes catalisada pela lipase de *Candida cylindracea*, alcançando conversões de 40% e ee de até 77% (**Esquema 17**) (O'HAGAN; ZAIDI, 1994). Na busca por melhores resultados com outras lipases, o grupo do Prof. Bornscheuer realizou, em 2002, uma triagem utilizando 25 lipases disponíveis comercialmente e as enzimas lipase A de *Candida antarctica* (CAL-A) e lipase de *Candida rugosa* (CRL) apresentaram um bom desempenho para a resolução através da hidrólise enantiosseletiva de ésteres de álcoois terciários (HENKE; PLEISS; BORNSCHEUER, 2002).

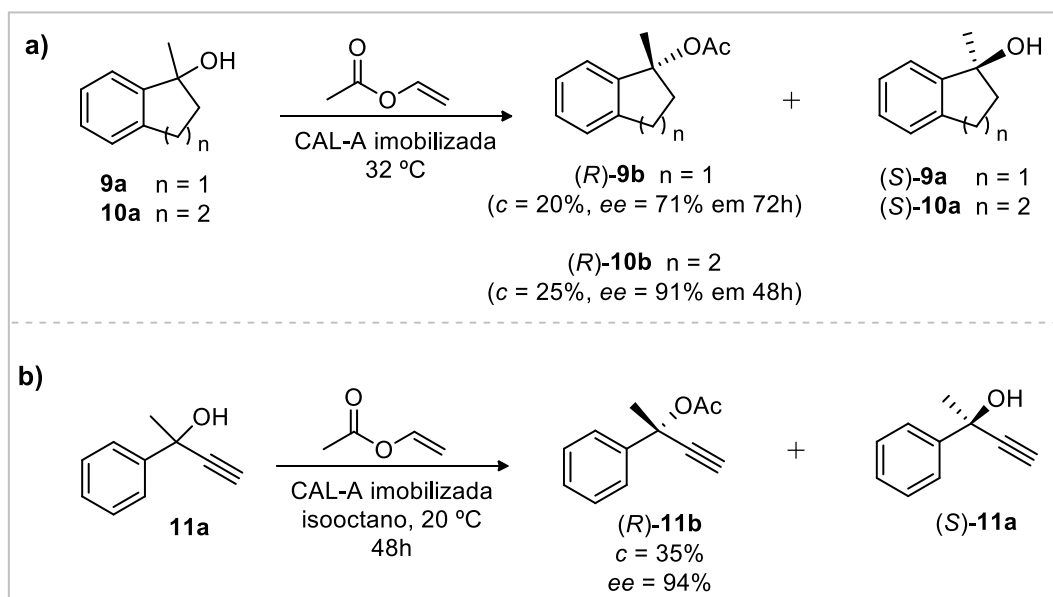
Esquema 17. RC de álcoois terciários propargílicos através de hidrólise enantiosseletiva mediada pela lipase de *Candida cylindracea*.



Fonte: Adaptado de O'Hagan & Zaidi (O'HAGAN; ZAIDI, 1994). Legenda: Ac = grupo acila.

Além da hidrólise enantiosseletiva, a enzima CAL-A – quando imobilizada – apresentou bons resultados para a transesterificação enantiosseletiva de álcoois benzílicos cíclicos (ÖZDEMIRHAN; SEZER; SÖNMEZ, 2008) e álcoois propargílicos (KRISHNA; PERSSON; BORNSCHEUER, 2002) na presença de acetato de vinila como doador de acila (**Esquema 18**).

Esquema 18. RC de álcoois terciários benzílicos cíclicos (**a**) e propargílicos (**b**) através de transesterificação enantiosseletiva mediada pela enzima CAL-A imobilizada.



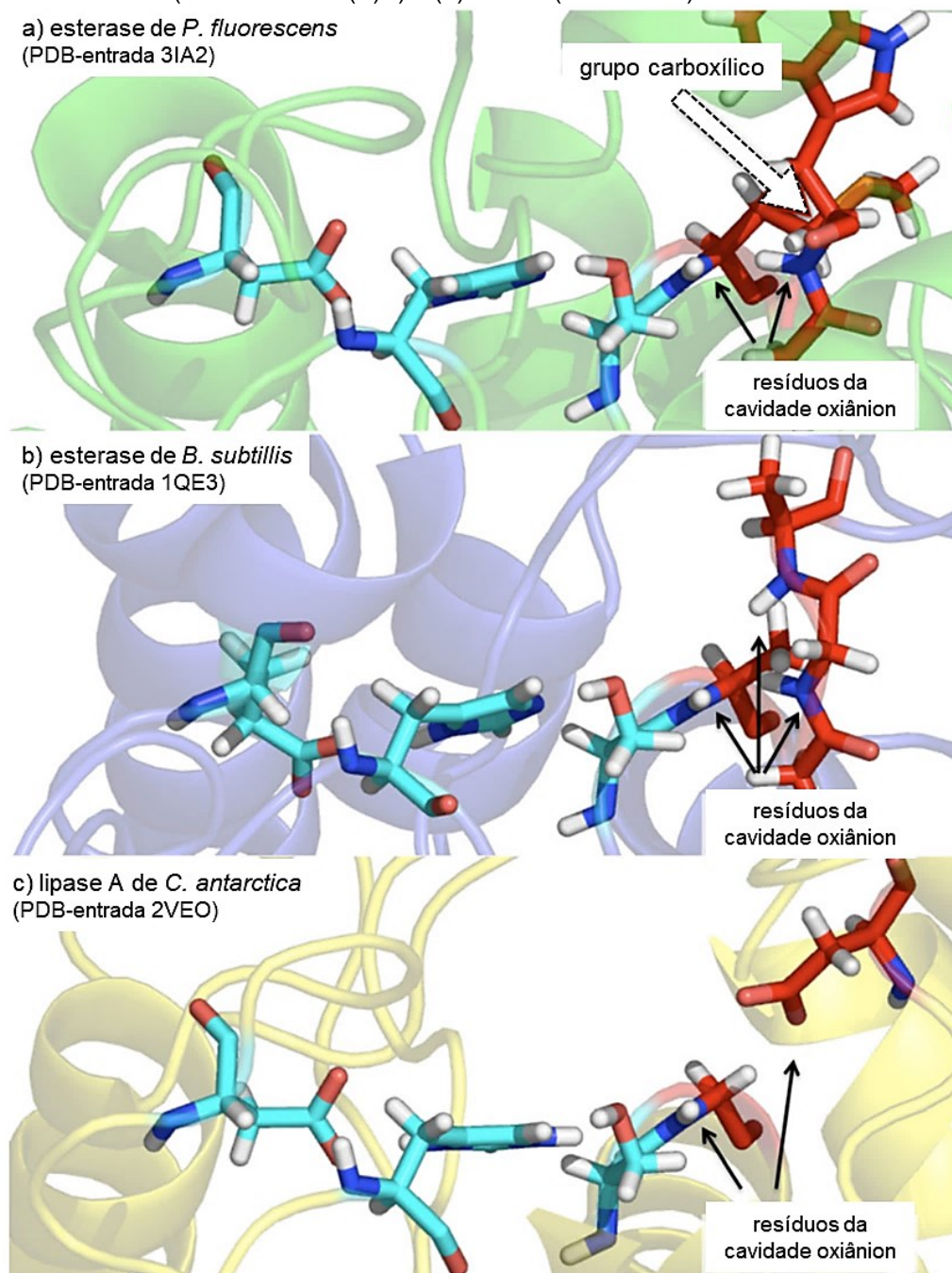
Fonte: Adaptado de Özdemirhan e coautores (ÖZDEMIRHAN; SEZER; SÖNMEZ, 2008) e Krishna e coautores (KRISHNA; PERSSON; BORNSCHEUER, 2002).

Devido ao número reduzido de hidrolases ativas, foi realizado um estudo da relação estrutura-função e pôde ser observado que a atividade destas enzimas frente a álcoois terciários está associada ao tipo de cavidade oxiânion das hidrolases (HENKE; PLEISS; BORNSCHEUER, 2002). Essa característica estrutural desempenha um papel decisivo para a atividade e reconhecimento quiral de lipases e esterases frente a álcoois terciários, pois na estabilização do intermediário tetraédrico

durante a resolução enzimática, o átomo de oxigênio do grupo carboxílico do intermediário é fixado através de ligações de hidrogênio com os resíduos de aminoácidos da cavidade oxiânion, como descrito anteriormente no Tópico 1.2 (páginas 36 e 37) (KOURIST; DE MARIA; BORNSCHUER, 2008).

Na maioria das lipases e esterases, uma glicina altamente conservada seguida de um resíduo hidrofóbico volumoso (denominado de X) está presente nesta região (cavidade oxiânion tipo GX), como no caso da esterase de *Pseudomonas fluorescens* (**Figura 26a**). O grupo carboxílico do esqueleto peptídico desta porção está direcionado para a hidroxila do intermediário tetraédrico (seta branca na Figura 24a), impedindo a ligação de álcoois terciários. Na **Figura 26b** está representado o sítio ativo da esterase de *Bacillus subtilis* com cavidade oxiânion do tipo GGG(A)X, caracterizada por ser uma cavidade mais ampla capaz de aceitar a entrada de álcoois terciários (DOMÍNGUEZ DE MARÍA et al., 2005). Entretanto, uma das enzimas naturais mais ativas para álcoois secundários é a CAL-A, que possui um resíduo de ácido aspártico responsável pela estabilização do intermediário tetraédrico na sua cavidade do oxiânion, sendo classificada como do tipo Y (**Figura 26c**) (KOURIST; BORNSCHUER, 2011).

Figura 26. Estruturas tridimensionais das enzimas (a) esterase de *P. fluorescens* (cavidade GX); (b) esterase de *B. subtilis* (cavidade GGG(A)X) e (c) CAL-A (cavidade Y).

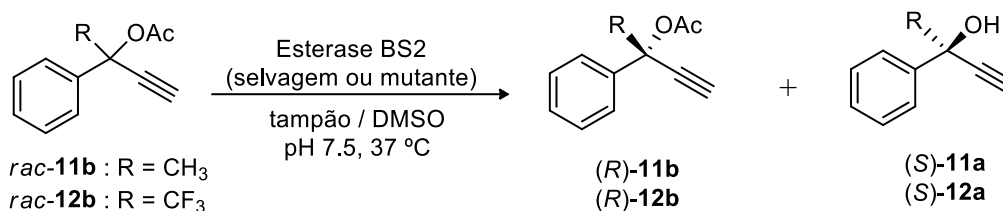


Fonte: Adaptado Kourist & Bornscheuer (KOURIST; BORNSCHEUER, 2011).

Diante da limitação do tipo de cavidade oxiânion de lipases e esterases, diversos estudos utilizaram a engenharia de proteínas para melhorar as propriedades catalíticas dessas enzimas frente aos álcoois terciários. Por exemplo, o grupo do Prof. Bornscheuer realizou o design racional para a esterase BS2 de *Bacillus subtilis*, que indicou que a glicina na posição 105 desta enzima era o resíduo chave para sua enantiosseletividade (**Esquema 19**) (HENKE; PLEISS; BORNSCHEUER, 2002). A

substituição desta glicina por uma alanina aumentou significativamente a enantiosseletividade desta enzima mutante (Gly105Ala) na RC de álcoois terciários propargílicos, quando comparada com a enzima selvagem (enzima natural) (HEINZE et al., 2007).

Esquema 19. RC de álcoois terciários propargílicos através de hidrólise enantiosseletiva mediada pelas enzimas Esterase BS2 selvagem e mutantes.



Esterase BS2	Substrato	Conversão (%)	ee _p (%)
Selvagem	11b	48	52
Selvagem	12b	33	93
Gly105Ala	11b	50	89
Gly105Ala	12b	58	96

Fonte: Adaptado de Heinze e coautores (HEINZE et al., 2007).

Como evidenciado nos exemplos anteriores, as hidrolases com cavidades do tipo GGG(A)X e Y possuem boa atividade na RC de álcoois terciários, porém os estudos se concentraram na hidrólise enantiosseletiva de seus ésteres correspondentes, e esses trabalhos mencionam a ocorrência de auto-hidrólise dos ésteres terciários formados como fator limitante. Além disso, as reações de hidrólise ocorrem em meio aquoso ou em sistema bifásico, o que dificulta a sua aplicação simultaneamente a sistemas de racemização química de álcoois, comumente estudados em solventes orgânicos.

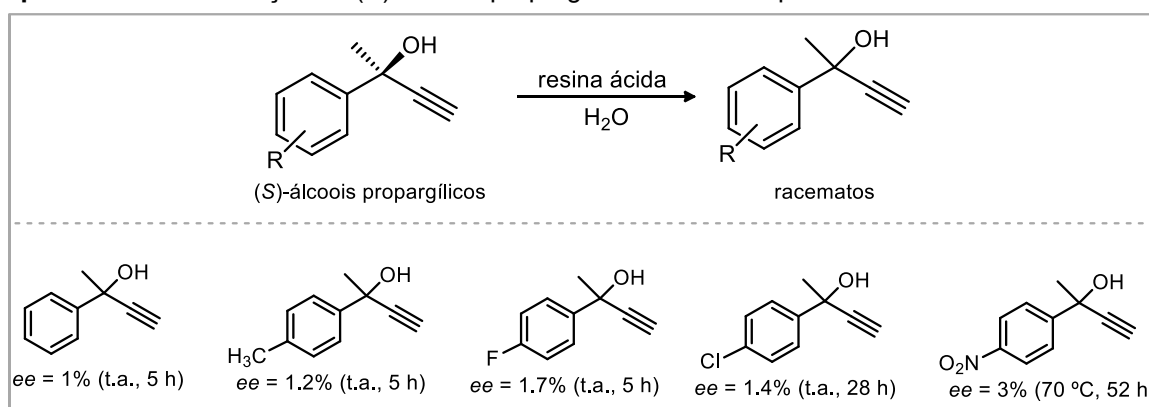
A RC em meio orgânico via transesterificação pode facilitar o isolamento dos produtos da resolução e a combinação da etapa enzimática com uma etapa de racemização química. Nos exemplos de RC via transesterificação (HARI KRISHNA; PERSSON; BORNSCHEUER, 2002; KÜHN et al., 2020; NETO; MILAGRE; MILAGRE, 2023; ÖZDEMIRHAN, 2017), a enzima CAL-A apresentou maior atividade e enantiosseletividade frente aos álcoois terciários, especialmente quando imobilizada, e é o biocatalisador mais promissor para aplicação em resoluções de álcoois terciários em solvente orgânico.

3.1.3 Resolução cinética dinâmica de álcoois terciários

O desenvolvimento de metodologias de resolução cinética dinâmica (RCD) de álcoois terciários quirais ainda é um grande desafio, visto que a única maneira de racemizar essa classe de compostos parece ser a clivagem da ligação C–O, que pode conseguida através de catálise ácida com formação de carbocátion, o que limita a busca por novos agentes de racemização compatíveis com a reação de resolução enzimática (GÖRBE; LIHAMMAR; BÄCKVALL, 2018).

Em 2018, o grupo do Prof. Bäckvall reportou pela primeira vez a racemização de álcoois terciários via catálise ácida (GÖRBE; LIHAMMAR; BÄCKVALL, 2018). Neste estudo, foram utilizadas resinas ácidas como catalisadores na racemização de (S)-álcoois propargílicos em meio aquoso (**Esquema 20**), evidenciando o potencial deste tipo de racemização para álcoois terciários. Entretanto, a reação em meio aquoso impossibilita sua combinação com reações de transesterificação enantiosseletiva catalisada por lipase, que ocorre em solvente orgânico.

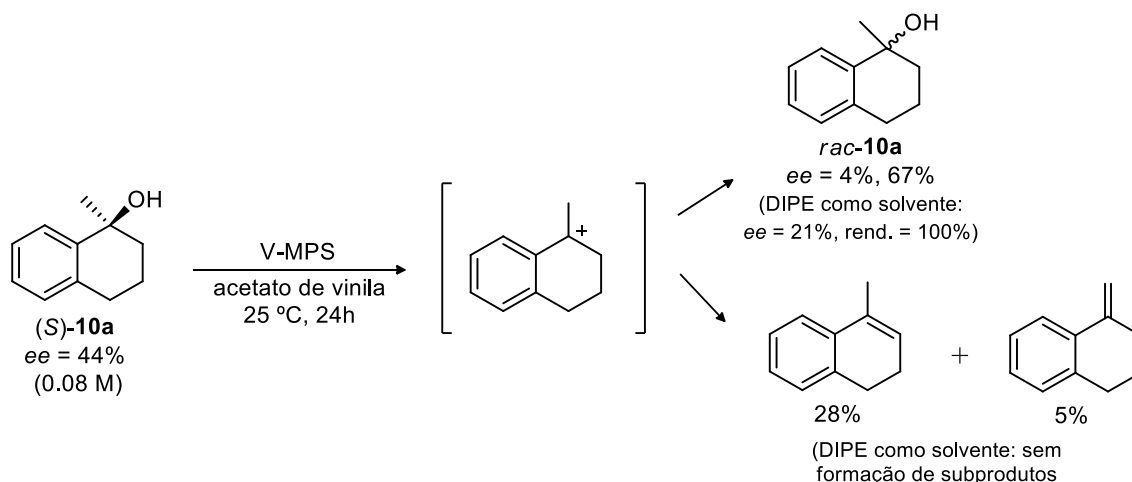
Esquema 20. Racemização de (S)-álcoois propargílicos catalisada por resina ácida.



Fonte: Adaptado de Görbe e coautores (GÖRBE; LIHAMMAR; BÄCKVALL, 2018).

Em estudo mais recente, o grupo do Prof. Akai avaliou o potencial do complexo de oxovanádio $O=V(OSiPh_3)_3$ na racemização do (S)-1-metil-1,2,3,4-tetrahidronaftalen-1-ol ((S)-**10a**) (KÜHN et al., 2020). Este catalisador atua pelo mesmo mecanismo de $VOSO_4$ e foi explorado em trabalhos anteriores na RCD de álcoois secundários (AKAI et al., 2006, 2010; EGI et al., 2013; SUGIYAMA et al., 2016), e ao ser aplicado imobilizado (V-MPS) na racemização de (S)-**10a** foi possível alcançar resultados moderados após avaliação de diferentes solventes orgânicos e supressão de formação de subprodutos (**Esquema 21**).

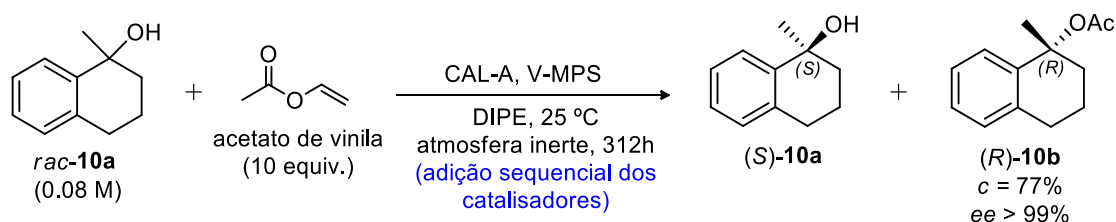
Esquema 21. Racemização de (S)-1-metil-1,2,3,4-tetrahidronaftalen-1-ol ((S)-**10a**) catalisada por $\text{O}=\text{V}(\text{OSiPh}_3)_3$ imobilizada.



Fonte: Adaptado de Kühn e coautores (KÜHN et al., 2020).

Diante deste resultado promissor, o grupo reportou neste mesmo trabalho a primeira – e até o presente momento, única – metodologia de RCD de álcool terciário. Ao utilizar $\text{O}=\text{V}(\text{OSiPh}_3)_3$ imobilizado em sílica mesoporosa (V-MPS) como agente de racemização, CAL-A imobilizada (adquirida comercialmente) como biocatalisador, acetato de vinila como doador de acila, e éter di-isopropílico (DIPE) como solvente, obteve-se o produto (*R*)-**10b** com 77% de rendimento e ee acima de 99% (**Esquema 22**) (KÜHN et al., 2020). Apesar de ser um trabalho pioneiro, a conversão acima de 50% só foi alcançada após 13 dias de reação com adições sequenciais de novas porções dos catalisadores (CAL-A e V-MPS). Nesse contexto, ainda é necessário maiores esforços no desenvolvimento de um protocolo robusto de RCD de álcool terciário.

Esquema 22. Primeira RCD de álcool terciário.



Fonte: Adaptado de Kühn e coautores (KÜHN et al., 2020).

3.2 Objetivos

Esse trabalho objetivou a otimização da resolução cinética (RC) de álcoois benzílicos terciários catalisada pela enzima imobilizada CAL-A, bem como o estudo inédito da racemização dessa classe de compostos catalisada por complexo de vanádio (VOSO_4). Ainda dentro dos objetivos, esse trabalho também visou a combinação dos catalisadores químico e enzimático para o desenvolvimento de um processo de resolução cinética dinâmica (RCD) robusto e de maior custo-benefício para álcoois terciários.

3.3 Resultados e Discussão

3.3.1 Estratégia de trabalho

Para atingir os objetivos delineados no Tópico 3.2, a seguinte estratégia de trabalho foi adotada:

- (i) Síntese dos substratos e dos ésteres racêmicos esperados nas reações de resolução, para serem utilizados como padrões em análises de CG-DIC;
- (ii) Desenvolvimento de métodos cromatográficos para separação dos pares de enantiômeros dos compostos racêmicos, para posterior monitoramento das reações e cálculos de excessos enantioméricos;
- (iii) Estudo da reação de resolução cinética (RC) utilizando a enzima imobilizada CAL-A, avaliando as condições reacionais (solvente, doador de acila e quantidade de enzima);
- (iv) Avaliação de VOSO_4 na racemização de álcool terciário nas condições ótimas definidas na etapa (iii);
- (v) Desenvolvimento do protocolo de resolução cinética dinâmica (RCD) combinando as reações de RC e racemização nas condições ótimas definidas.

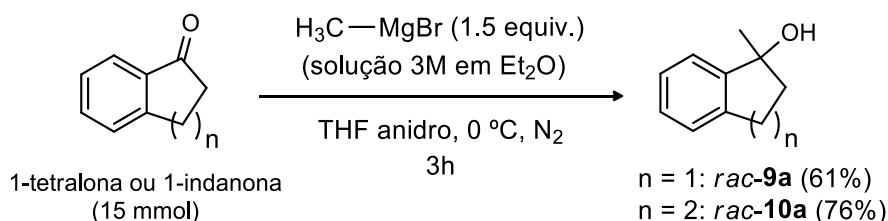
3.3.2 Síntese de substratos e padrões racêmicos

As primeiras etapas de execução desse trabalho consistiram na síntese dos álcoois benzílicos terciários racêmicos para serem utilizados como substrato nas reações de RC e RCD. Foram selecionados como substratos os álcoois 1-metil-2,3-di-hidro-1*H*-inden-1-ol (*rac*-**9a**) e 1-metil-1,2,3,4-tetrahidronaftalen-1-ol (*rac*-**10a**), derivados das cetonas α -tetralona e α -indanona, devido à demanda por mais estudos da RC enzimática dessa classe de compostos.

A busca por métodos eficientes para obter álcoois terciários opticamente ativos derivados de α -tetralona e α -indanona é de grande importância, uma vez que essas subunidades estruturais estão presentes em compostos com um amplo espectro de atividades biológicas, sendo muito relevantes nas indústrias química e farmacêutica (PATIL; PATIL; PATIL, 2017; SHENG et al., 2022). Até o presente momento, existem apenas dois trabalhos de RC enzimática dos álcoois **9a** e **10a**, ambos via transesterificação com acetato de vinila como doador de acila e CAL-A como biocatalisador (KÜHN et al., 2020; ÖZDEMIRHAN; SEZER; SÖNMEZ, 2008).

Os álcoois racêmicos **9a** e **10a** foram sintetizados a partir de suas cetonas correspondentes via reação de Grignard em tetrahidrofurano (THF) seguindo metodologia adaptada de Camp e Craig (**Esquema 23**) (CAMP; CRAIG, 2009). Em seguida, os compostos foram purificados, caracterizados por CG-EM, IV e RMN (^1H e ^{13}C) e analisados em CG-DIC com fase estacionária quiral para desenvolvimento de método de separação dos seus pares de enantiômeros, para posterior monitoramento e cálculo de conversão, seletividade e ee das reações de RC, racemização e RCD. Os espectros e cromatogramas referentes à caracterização desses compostos encontram-se em Apêndice (Figuras A27–A34 e A47–A48).

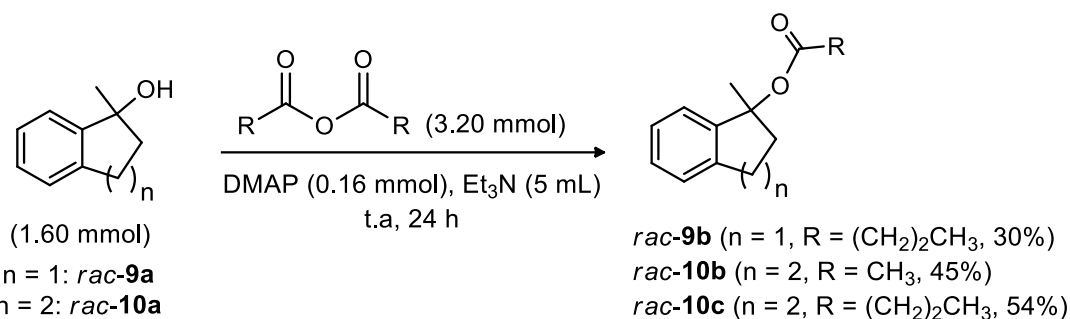
Esquema 23. Síntese dos álcoois 1-metil-2,3-di-hidro-1*H*-inden-1-ol (*rac*-**9a**) e 1-metil-1,2,3,4-tetrahidronaftalen-1-ol (*rac*-**10a**).



Fonte: elaborado pela autora (2022).

Em seguida, realizou-se a esterificação por via química dos compostos *rac-9a* e *rac-10a* para obtenção dos padrões racêmicos dos produtos esperados nas reações de RC e RCD. As reações foram realizadas utilizando DMAP como catalisador, anidrido acético ou anidrido butírico, e trietilamina como solvente (**Esquema 24**). Assim como para os álcoois, os ésteres racêmicos foram purificados, caracterizados por CG-EM, IV e RMN (^1H e ^{13}C) e analisados em CG-DIC com fase estacionária quiral para desenvolvimento de método de separação dos seus pares de enantiômeros. Os espectros e cromatogramas referentes à caracterização dos ésteres encontram-se em Apêndice (Figuras A35–A46 e A49–A51).

Esquema 24. Síntese dos ésteres racêmicos.



Fonte: elaborado pela autora (2022).

3.3.3 Otimização da resolução cinética de álcool terciário

Com os substratos e padrões racêmicos sintetizados e caracterizados, iniciou-se o estudo da etapa de resolução cinética (RC) de álcool terciário catalisada pela enzima CAL-A, visando alcançadas melhores conversões e enantiosseletividade. Inicialmente, foram avaliados diferentes doadores de acila para a RC de *rac-10a*, partindo das condições reacionais que proporcionaram o melhor resultado reportado para a RC desse substrato (KÜHN et al., 2020) (**Tabela 8**).

Tabela 8. RC de 1-metil-1,2,3,4-tetrahidronaftalen-1-ol (*rac*-**10a**) com diferentes doadores de acila.

$\text{rac-10a} \xrightarrow[\text{DIPE, 30 } ^\circ\text{C}]{\text{CAL-A, R}'\text{-C(=O)OR}''} \text{(S)-10a} + \text{(R)-10b}$

$\text{(R)-10b: R' = CH}_3$
 $\text{(R)-10c: R' = (CH}_2)_2\text{CH}_3$
 $\text{(R)-10d: R' = CF}_3$

Entrada	Doador de acila	Tempo (h)	Produto	c (%) ^[a]	ee _P (%) ^[b]	E
1	Acetato de vinila	48	(<i>R</i>)- 10b	19	>99	>200
2	Acetato de isopropenila	48	(<i>R</i>)- 10b	8	>99	>200
3	Acetato de etila	24	(<i>R</i>)- 10b	nr	-	-
4	Butirato de vinila	24	(<i>R</i>)- 10c	43	>99	>200
5	Trifluoroacetato de etila	24	(<i>R</i>)- 10d	nr	-	-

Fonte: elaborada pela autora (2022).

Condições reacionais: *rac*-**10a** (0.16 mmol, 26 mg), doador de acila (1.60 mmol, 10 equivalentes), éter di-isopropílico (DIPE, 2 mL), CAL-A (1:1 w/w razão enzima/substrato); 30 °C, agitação magnética.

^[a]Determinado por CG-DIC com *n*-tetradecano (0.025 mmol mL⁻¹) como padrão interno. ^[b]Determinado por CG-DIC com fase estacionária quiral. nr = nenhuma reação observada.

A mudança do acetato de vinila para outros acetatos levou a uma diminuição na taxa de conversão e até perda total de atividade (Tabela 8, entradas 1–3 e entrada 5). No entanto, ao utilizar butirato de vinila, foi observado a RC de *rac*-**10a** com 43% de conversão ao produto (*R*)-butirato de 1-metil-1,2,3,4-tetrahidronaftalen-1-ila ((*R*)-**10c**, ee >99%) (Tabela 8, entrada 4), indicando que ésteres vinílicos com cadeia alifática maior são mais eficientes como doador de acila, o que condiz com resultados anteriores para a RC de álcoois secundários catalisado por lipase (DE ALMEIDA et al., 2020; MELAIS; ARIBI-ZOUIQUECHE; RIAANT, 2016; OTTOSSON; HULT, 2001).

Na reação com butirato de vinila, observou-se a formação de 3% do alceno 4-metil-1,2-di-hidronaftaleno como produto da reação lateral de eliminação, devido à reatividade do *rac*-**10a** e estabilidade de ésteres terciários como (*R*)-**10c**. Özdemirhan e coautores (ÖZDEMIRHAN; SEZER; SÖNMEZ, 2008) reportaram que os ésteres terciários resultantes da RC de *rac*-**9a** e *rac*-**10a** com acetato de vinila como doador de acila, se decompõem facilmente em temperaturas acima de 32 °C. Kühn et al. (KÜHN et al., 2020) também observaram a decomposição do álcool terciário *rac*-**9a** em seus produtos de eliminação. Com o objetivo de suprimir essa reação lateral e melhorar o tempo reacional da RC enzimática, foram avaliados outros parâmetros de reação usando butirato de vinila como doador de acila.

Na triagem de solvente (**Tabela 9**), o heptano apresentou resultados semelhantes ao éter di-isopropílico (DIPE) em termos de conversão, com pequeno aumento na formação de alceno como subproduto (Tabela 9, entrada 2), enquanto o isoctano levou à conversão máxima esperada para a RC e baixa formação de subproduto (Tabela 9, entrada 3). Comparados ao DIPE, esses dois solventes apolares são mais ambientalmente amigáveis, principalmente em termos de emissão de compostos orgânicos voláteis e reatividade/estabilidade, de acordo com o Guia de Seleção de Solventes elaborado pela companhia farmacêutica GSK (*GlaxoSmithKline*) (ALDER et al., 2016). Os solventes polares acetonitrila e trifluorotolueno (TFT) (Tabela 9, entradas 4 e 5) inibiram a atividade enzimática. Portanto, heptano e isoctano foram selecionados como solventes para os experimentos seguintes.

Tabela 9. Triagem de solvente para a RC de 1-metil-1,2,3,4-tetrahidronaftalen-1-ol (*rac*-**10a**).

rac-**10a** $\xrightarrow[\text{solvente orgânico, 30 °C, 24 h}]{\text{CAL-A (1:1 w/w), butirato de vinila (10 equiv)}}$ (S)-**10a** + (R)-**10c** + subproduto

R' = (CH₂)₂CH₃

Entrada	Solvente	c (%) ^[a]	ee _P (%) ^[b]	ee _S (%) ^[b]	E	Subproduto
1	DIPE	43	>99	75	>200	3
2	Heptano	41	>99	70	>200	6
3	Isoctano	49	97	95	>200	3
4	Acetonitrila	nr	-	-	-	-
5	TFT	nr	-	-	-	-

Fonte: elaborada pela autora (2022).

Condições reacionais: *rac*-**10a** (0.16 mmol, 26 mg), butirato de vinila (1.60 mmol, 10 equivalentes), solvente orgânico (2 mL), CAL-A (1:1 w/w razão enzima/substrato); 30 °C, agitação magnética, 24 horas. ^[a]Determinado por CG-DIC com *n*-tetradecano (0.025 mmol mL⁻¹) como padrão interno.

^[b]Determinado por CG-DIC com fase estacionária quiral. nr = nenhuma reação observada.

Ao aumentar a razão enzima/substrato para 2:1 w/w, houve uma melhora de cerca de 5 vezes no tempo reacional da RC de *rac*-**10a** (**Tabela 10**), diminuindo o tempo de reação de 24 para 4 ou 5 horas e mantendo as conversões e seletividades. O aumento da proporção enzima/substrato para 3:1 w/w não aumentou as velocidades de reação.

Tabela 10. RC de 1-metil-1,2,3,4-tetrahidronaftalen-1-ol (*rac*-**10a**) com 2:1 w/w de CAL-A.

rac-**10a** $\xrightarrow[\text{solvente orgânico, 30 °C}]{\text{CAL-A (2:1 w/w), butirato de vinila (10 equiv)}}$ (*S*)-**10a** + (*R*)-**10b** + subproduto
R' = (CH₂)₂CH₃

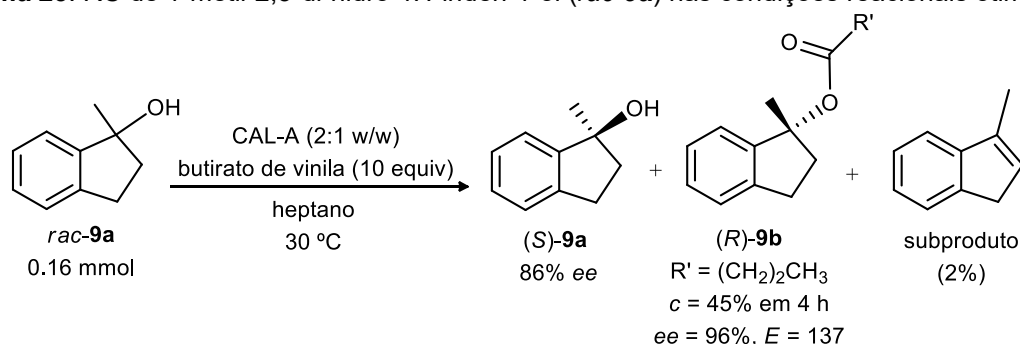
Entrada	Solvente	Tempo (h)	c (%) ^[a]	ee _P (%) ^[b]	ee _S (%) ^[b]	E	Subproduto
1	Heptano	5	43	>99	75	>200	3
2	Isoctano	4	41	>99	70	>200	6

Fonte: elaborada pela autora (2022).

Condições reacionais: *rac*-**10a** (0.16 mmol, 26 mg), butirato de vinila (1.60 mmol, 10 equivalentes), solvente orgânico (2 mL), CAL-A (2:1 w/w razão enzima/substrato); 30 °C, agitação magnética.

^[a]Determinado por CG-DIC com *n*-tetradecano (0.025 mmol mL⁻¹) como padrão interno. ^[b]Determinado por CG-DIC com fase estacionária quiral.

O estudo das condições reacionais resultou em uma RC otimizada de *rac*-**10a**, utilizando butirato de vinila como doador de acila, heptano ou isoctano como solvente a 30 °C, e proporção enzima/substrato de 2:1 w/w. O protocolo otimizado foi estendido ao substrato com anel de cinco membros 1-metil-2,3-di-hidro-1*H*-inden-1-ol (*rac*-**9a**), resultando na conversão do álcool racêmico ao produto opticamente ativo (*R*)-butirato de 1-metil-2,3-di-hidro-1*H*-inden-1-ila ((*R*)-**9b**) com 45% de conversão e 96% de *ee* em apenas 4 h (**Esquema 25**).

Esquema 25. RC de 1-metil-2,3-di-hidro-1*H*-inden-1-ol (*rac*-**9a**) nas condições reacionais ótimas.

Fonte: elaborado pela autora (2023).

Do nosso conhecimento, os resultados obtidos para a RC de *rac*-**9a** e *rac*-**10a** são os melhores reportados até o momento para a resolução enzimática de álcoois terciários em relação a tempo de reação, conversão e enantiosseletividade, destacando a otimização alcançada usando butirato de vinila como doador de acila.

A RC em larga escala de ambos os álcoois terciários foi realizada com um aumento de 5 vezes na quantidade de substrato (0.16 para 0.80 mmol) e utilizando heptano como solvente (**Tabela 11**). Esses experimentos reproduziram os resultados obtidos na escala anterior e demonstraram que o protocolo é promissor para o escalonamento e isolamento dos compostos opticamente ativos (*(S)*-**9-10a**, (*(R)*-**9b** e (*(R)*-**10c**. Entretanto, a já mencionada reatividade desses álcoois terciários e seus ésteres correspondentes dificultou o isolamento dos enantiômeros via cromatografia em coluna.

Tabela 11. RC em larga escala de 1-metil-2,3-di-hidro-1*H*-inden-1-ol (*rac*-**9a**) e 1-metil-1,2,3,4-tetrahidronaftalen-1-ol (*rac*-**10a**).

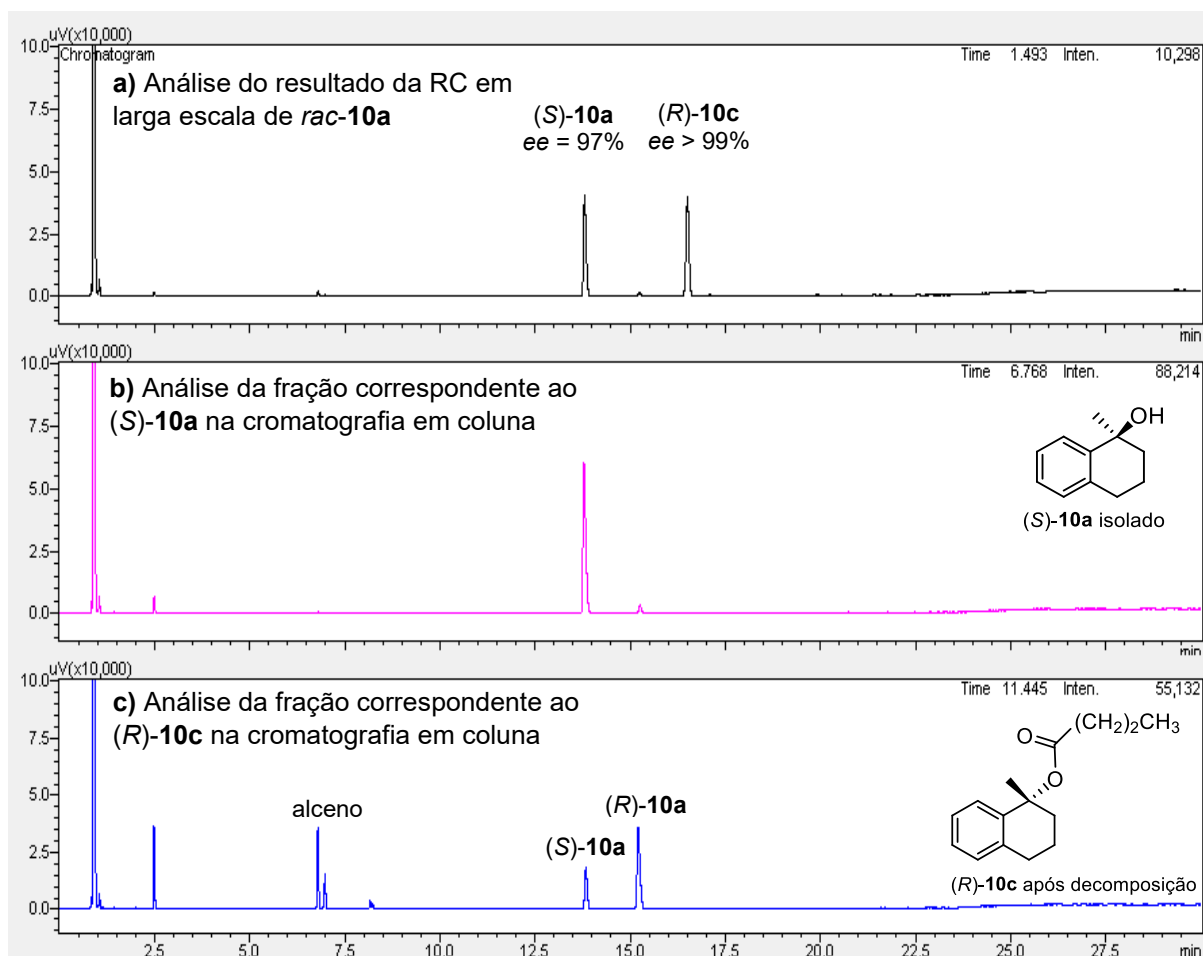
álcoois terciários 9a: $n = 1$ 10a: $n = 2$ CAL-A (2:1 w/w) butirato de vinila (10 equiv) heptano 30 °C (<i>S</i>)-9a: $n = 1$ (<i>S</i>)-10a: $n = 2$ (<i>R</i>)-9b: $n = 1$ (<i>R</i>)-10c: $n = 2$ $R' = (CH_2)_2CH_3$ subprodutos							
Entrada	Substrato	Tempo (h)	<i>c</i> (%) ^[a]	<i>ee_P</i> (%) ^[b]	<i>ee_S</i> (%) ^[b]	<i>E</i>	Subproduto
1	<i>rac</i> - 9a	4	44	96	80	121	3
2	<i>rac</i> - 10a	5	45	>99	97	>200	1

Fonte: elaborada pela autora (2022).

Condições reacionais: *rac*-**9a** ou *rac*-**10a** (0.80 mmol), butirato de vinila (8.00 mmol, 10 equivalentes), heptano (10 mL), CAL-A (2:1 w/w razão enzima/substrato); 30 °C, agitação magnética. ^[a]Determinado por CG-DIC com *n*-tetradecano (0.025 mmol mL⁻¹) como padrão interno. ^[b]Determinado por CG-DIC com fase estacionária quiral.

No isolamento via cromatografia em coluna dos enantiômeros produzidos na RC em larga escala, observou-se que os ésteres (*(R)*-**9b** e (*(R)*-**10c** foram facilmente decompostos em seus respectivos álcoois terciários e alcenos ao entrarem em contato com a sílica gel (fase estacionária), como ilustra a **Figura 27**. Tal decomposição pode ter ocorrido devido à acidez dos grupos silanóis (Si-OH) da sílica gel e à labilidade já mencionada dos ésteres derivados dos álcoois terciários **9a** e **10a**. Para superar esse problema, alumina neutra foi utilizada como fase estacionária, o que permitiu o isolamento dos enantiômeros (*(S)*-**9a**, (*(S)*-**10a** e (*(R)*-**10c**. Entretanto, mesmo com a troca de material adsorvente, não foi possível isolar o produto (*(R)*-**9b**.

Figura 27. Cromatogramas obtidos antes e após o isolamento dos enantiômeros da RC de *rac*-**10a** via cromatografia em coluna, com sílica gel como fase estacionária.



Fonte: elaborada pela autora (2022).

Condições: CG-DIC com fase estacionária quiral (Coluna CP-Chirasil-DEX CB). Álcool **10a**: $t_{R-(S)} = 13.76$ min e $t_{R-(R)} = 15.16$ min. Éster **10c**: $t_{R-(R)} = 16.14$ min e $t_{R-(S)} = 16.73$ min.

3.3.4 Estudos da racemização de álcool terciário catalisada por VOSO_4

Após estabelecer as condições ótimas para a RC catalisada por lipase, foi realizado o estudo da etapa de racemização de álcool terciário catalisada por VOSO_4 . Considerando os excelentes resultados obtidos com este complexo de vanádio na racemização ácida de álcoois benzílicos secundários, conforme detalhado no Capítulo 1 desta tese, imaginou-se que este catalisador poderia ser eficiente na racemização de álcoois terciários opticamente ativos.

A racemização de (S)-1-metil-1,2,3,4-tetrahidronaftalen-1-ol ((S)-**10a**) só foi estudada recentemente, por Kühn e colaboradores (KÜHN et al., 2020), utilizando o catalisador $\text{O}=\text{V}(\text{OSiPh}_3)_3$ imobilizado em sílica mesoporosa (V-MPS). Na reação com éter di-isopropílico (DIPE) como solvente, o V-MPS foi capaz de racemizar moderadamente (S)-**10a**, resultando na queda do *ee* deste enantiômero de 44% para

21% sem formação de subprodutos. Visando alcançar melhores resultados com um catalisador de oxovanádio heterogêneo prontamente disponível comercialmente, os estudos da racemização foram realizados com o álcool (S)-**10a** (ee = 97%), enantiômero obtido com alta pureza óptica na RC enzimática de *rac*-**10a** (Tópico 3.3.3).

Inicialmente, três quantidades de VOSO₄ foram testadas na racemização de (S)-**10a** (5, 10 e 20 mg de catalisador), utilizando as condições reacionais otimizadas na etapa de RC enzimática (**Tabela 12**). Devido à incompatibilidade de VOSO₄ com lipases por longos períodos de contato (DE ALMEIDA et al., 2020; WUYTS et al., 2007), avaliou-se também o sistema de compartimentalização com tubo de Teflon® aplicado anteriormente na RCD de álcoois secundários (Capítulo 1).

Tabela 12. Racemização de (S)-1-metil-1,2,3,4-tetrahidronaftalen-1-ol ((S)-**10a**) catalisada por VOSO₄.

(S)-**10a** $\xrightarrow[\text{solvente orgânico, 30 °C}]{\text{VOSO}_4, \text{butirato de vinila (10 equiv)}} \text{rac-10a} +$

Entrada	Solvente	VOSO ₄ (mg)	Compar.	Tempo (h)	ee _{Álcool} (%) ^[a]	Subproduto (%) ^[a]
1	Heptano	5	sem	2	<1	66
2	Heptano	10	com ^[b]	2	33	23
3	Heptano	20	com ^[b]	2	70	<1
4	Isoctano	10	sem	1	11	30
5	Isoctano	20	com ^[b]	3	80	<1

Fonte: elaborada pela autora (2022).

Condições reacionais: (S)-**10a** (0.08 mmol, ee = 97%), butirato de vinila (0.80 mmol, 10 equivalentes), heptano ou isooctano (1.0 mL), VOSO₄·XH₂O; 30 °C, agitação magnética. Compar. = compartimentalização. ^[a]Determinado por CG-DIC com fase estacionária quiral. ^[b]VOSO₄ dentro de tubo de Teflon®.

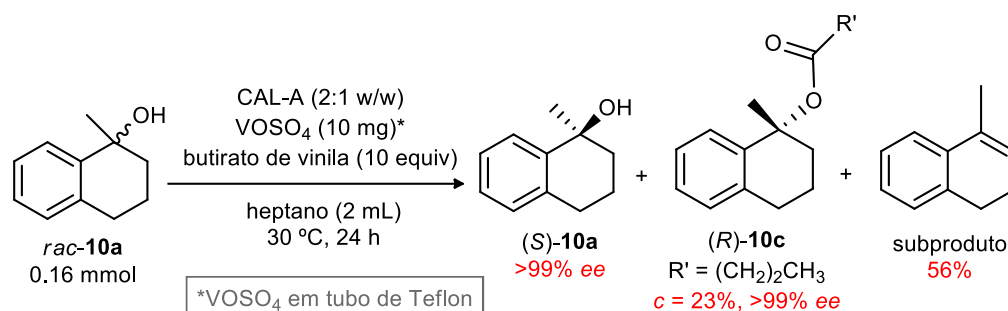
Uma rápida racemização foi alcançada a 30 °C em heptano e isooctano como solventes, mas também foi observada alta formação do alceno como produto de eliminação (Tabela 12, entradas 1 e 4), indicando a alta reatividade de VOSO₄ na racemização via catálise ácida. Essa reação lateral era esperada na racemização ácida, pois o carbocátion terciário formado durante o processo é um intermediário altamente reativo, podendo levar a caminhos indesejáveis como formação de alcenos e rearranjo (BOYCE et al., 2022).

As reações com compartimentalização de VOSO_4 (Tabela 12, entradas 2, 3 e 5) levaram à uma diminuição na velocidade da racemização devido à consequente diminuição na eficiência de transferência de massa do álcool terciário em solução para a superfície do catalisador sólido compactado dentro do tubo de Teflon®. Contudo, a reação lateral de eliminação (formação de alceno) também foi tornou-se mais lenta. Uma racemização mais lenta, neste caso, pode ser uma vantagem para a combinação desta etapa com a RC enzimática catalisada por CAL-A, que atinge seus valores máximos de conversão entre 4 e 5 horas de reação.

3.3.5 Combinação das etapas de resolução e racemização

As condições reacionais da RC enzimática e da racemização catalisada por vanádio foram combinadas, pela primeira vez na literatura, para o desenvolvimento da RCD dos álcoois terciários *rac*-**9a** e *rac*-**10a**. Para isso, o estudo desta etapa do trabalho se iniciou com o substrato *rac*-**10a**, partindo das condições ótimas definidas para a RC catalisada por CAL-A (Tópico 3.3.3) e do sistema de racemização com VOSO_4 que levou à menor formação de subproduto (Tópico 3.3.4). O resultado do experimento inicial de RCD de *rac*-**10a** está ilustrado no **Esquema 26**.

Esquema 26. RCD de 1-metil-1,2,3,4-tetrahidronaftalen-1-ol (*rac*-**10a**) catalisada por CAL-A/ VOSO_4 .

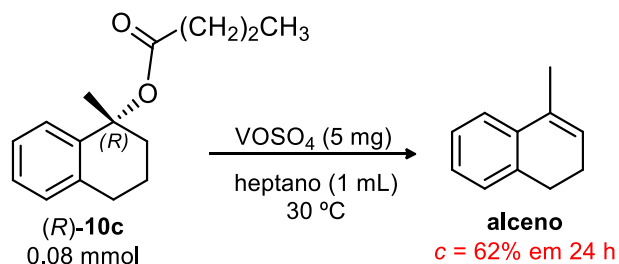


Fonte: elaborado pela autora (2022).

Nas condições reacionais apresentadas no Esquema 26, obteve-se apenas 23% de conversão de *rac*-**10a** ao produto (*R*)-**10c** (ee > 99%), em 24 horas. A conversão obtida foi menor do que a alcançada na RC enzimática (45% em 5 horas reacionais), com uma formação ainda maior de subproduto (56%) quando comparada com a observada na etapa de racemização. Para melhor compreender esse resultado, realizou-se uma reação “branco” entre VOSO_4 e o éster (*R*)-**10c** (**Esquema 27**), que

mostrou que o catalisador de vanádio reage com o (*R*)-**10c** para formar o produto de eliminação observado nas reações com o álcool terciário *rac*-**10a**.

Esquema 27. Reação entre VOSO_4 e o éster (*R*)-**10c**.



Fonte: elaborado pela autora (2023).

Conversão determinada diretamente por análise em CG-DIC.

Um dos requisitos para um processo de RCD eficiente é que o agente de racemização não reaja com o produto opticamente ativo formado na etapa de resolução. Dessa forma, para minimizar a reação paralela entre VOSO_4 e o éster **10c**, concentramos nossos esforços em avaliar diferentes sistemas reacionais para a RCD, como variação da quantidade de complexo de oxovanádio, uso de peneira molecular para diminuir o grau de hidratação da reação e adição sequencial dos catalisadores. A **Tabela 13** apresenta os resultados desses experimentos.

Tabela 13. Diferentes condições reacionais testadas na RCD de *rac*-**10a** catalisada por CAL-A/VOSO₄.

$\text{rac-10a (0.16 mmol)} \xrightarrow[\text{heptano (2 mL), 30 } ^\circ\text{C}]{\text{CAL-A, VOSO}_4, \text{butirato de vinila (10 equiv)}} \text{(S)-10a} + \text{(R)-10c} + \text{subproduto}$

$\text{R}' = (\text{CH}_2)_2\text{CH}_3$

Entrada	VOSO ₄ (mg)	Sistema reacional	Tempo (h)	c (%) ^[a]	ee _p (%) ^[a]	ee _s (%) ^[b]	Subprod. (%) ^[a]
1 ^[c]	5	Sem compart. ^[c]	16	10	>99	12	-
2	50	VOSO ₄ em tubo de Teflon	2	16	>99	21	37
3 ^[d]	10	20 mg de peneira molecular	7	57	>99	>99	5
4	10	VOSO ₄ em tubo de Teflon	7	44	>99	>99	9
5	25	VOSO ₄ em tubo de Teflon + 10 mg de peneira molecular	20	55	>99	>99	13
6 ^[e]	10	Adição de VOSO ₄ após 5 h	5	47	>99	>99	13
7 ^[f]	10	VOSO ₄ em tubo de Teflon + adição sequencial de CAL-A	8	49	>99	>99	8
8 ^[g]	10	Adição sequencial de VOSO ₄	6	53	>99	>99	6
9 ^[h]	20	Tubo de Teflon	6	33	>99	56	23

Fonte: elaborada pela autora (2023).

Condições reacionais: *rac*-**10a** (0.16 mmol, 26 mg); doador de acila (1.60 mmol, 10 equivalentes), heptano (2 mL); CAL-A (2:1 w/w razão enzima/substrato); VOSO₄·XH₂O; 30 °C, agitação magnética. Compart. = compartimentalização. ^[a]Determinado por CG-DIC. ^[b]Determinado por CG-DIC com fase estacionária quiral. ^[c]DIPE como solvente. ^[d]Adição de 20 mg de peneira molecular 4Å ao meio reacional. ^[e]RC enzimática por 5 horas, seguida de adição de 10 mg VOSO₄ ao meio reacional. ^[f]Adição sequencial de 26 mg de CAL-A a cada 2 horas reacionais, totalizando uma proporção 3:1 w/w de enzima. ^[g]4:1 w/w de razão enzima/substrato (104 mg de CAL-A) e adição sequencial de 2 mg VOSO₄ a cada 1 hora de reação, totalizando 10 mg de catalisador. ^[h]Isotano com solvente.

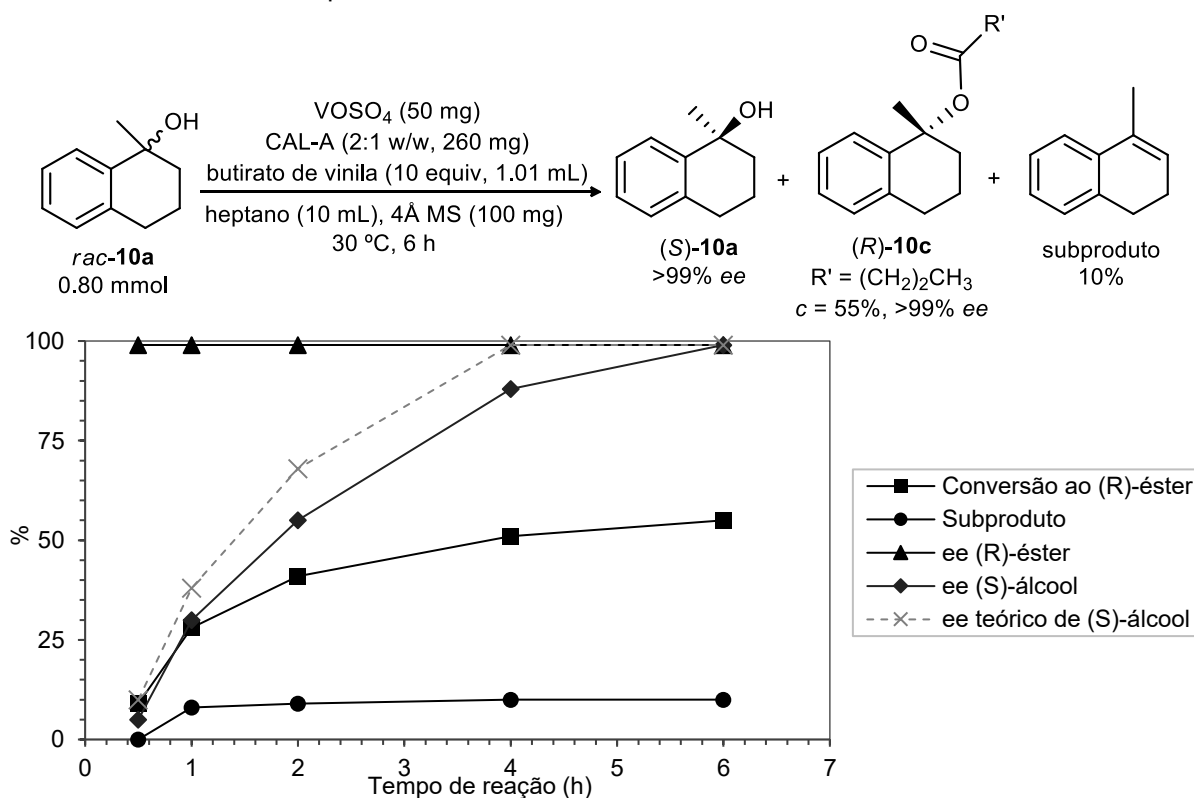
Em todos os experimentos realizados (Tabela 13), as reações foram interrompidas ao se atingir os maiores valores de conversão ao produto (*R*)-éster e as menores porcentagens de alceno (subproduto). Durante o monitoramento dessas reações por CG-DIC, verificou-se que prolongar os tempos reacionais favorecia o aumento da formação do produto de eliminação. Dentre as diversas condições reacionais testadas para a RCD de *rac*-**10a** catalisada por CAL-A/VOSO₄, o melhor resultado foi obtido com a adição de peneira molecular ao sistema, alcançado a

conversão de 57% ao produto (*R*)-**10c** (ee > 99%) e apenas 5% de formação de subproduto em 7 horas (Tabela 13, entrada 3).

Analisando a Tabela 13, nota-se que das 9 condições reacionais testadas, 6 alcançaram valores de conversão próximos de 50% ao (*R*)-éster e ee acima de 99% para o álcool (*S*)-**10a** (Tabela 13, entradas 3–8), sugerindo que o processo dinâmico desejado com a combinação da RC enzimática e da racemização ácida não foi atingido devido à uma possível perda de atividade catalítica de VOSO₄. Embora a literatura tenha mencionado a incompatibilidade entre VOSO₄ e lipases (AKAI et al., 2006; WUYTS et al., 2007), a CAL-A permaneceu ativa e enantiosseletiva nos experimentos testados e apresentados na Tabela 13.

Para confirmar a desativação de VOSO₄, realizamos uma RCD em larga escala de *rac*-**10a** sob as condições reacionais que proporcionaram o melhor resultado na triagem anterior (Tabela 13, entrada 3), para então monitorar o excesso enantiomérico do (*S*)-álcool durante a reação e verificar a atividade de VOSO₄ para a racemização deste enantiômero (**Figura 28**).

Figura 28. Monitoramento do excesso enantiomérico (ee) do álcool remanescente (*S*)-**10a** durante a RCD de *rac*-**10a** catalisada por CAL-B/VOSO₄.



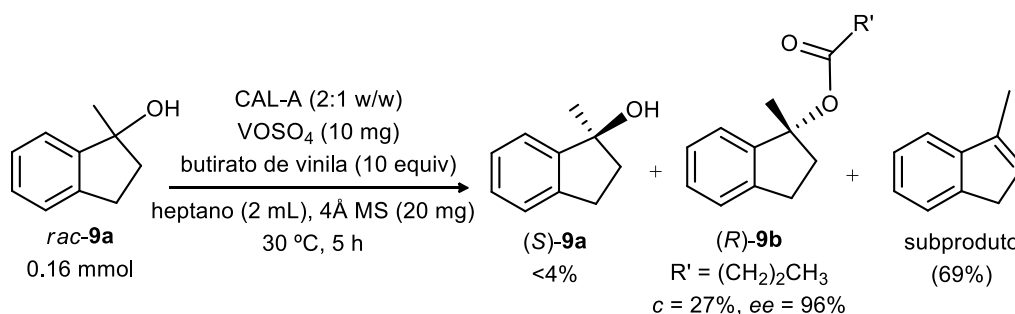
Fonte: elaborada pela autora (2023).

Legenda: (■ Conversão da RCD ao (*R*)-**10c**; ▲ ee de (*R*)-**10c**; ● Subproduto (alceno); ◆ ee do álcool remanescente (*S*)-**10a**; × ee teórico do álcool (*S*)-**1a**. Monitoramento por CG-DIC com fase estacionária quiral.

Durante o experimento ilustrado na Figura 26, os valores de *ee* do (*S*)-**10a** remanescente estavam ligeiramente abaixo dos valores de *ee* teóricos esperados para uma RC convencional (sem a etapa de racemização) nas primeiras horas de RCD, indicando que a racemização catalisada por VOSO₄ estava ocorrendo. Entretanto, devido à uma diferença significativa nas velocidades de reação da etapa enzimática e da etapa química, após 4 horas reacionais o valor *ee* de (*S*)-**10a** atingiu seu máximo (>99%) e a conversão ao (*R*)-éster (*ee* >99%) não excedeu o valor de 55% devido à desativação de VOSO₄ para a etapa de racemização. Após 6 h, uma adição de nova carga de VOSO₄ (50 mg) resultou em uma pequena taxa de racemização do (*S*)-álcool (o valor de *ee* caiu de 99% para 73% em 30 minutos após a adição), mas também levou à uma diminuição na conversão ao (*R*)-éster (de 55% para 48%) e aumentou a formação do alceno (de 10% para 18%), como resultado da reação paralela entre o catalisador de vanádio e o produto da reação de resolução (*R*)-**10c**.

Por fim, realizou-se um teste da RCD catalisada por CAL-A/VOSO₄ com o substrato *rac*-**9a**. Até o presente momento, não há relato na literatura de estudos de RCD com este álcool benzílico terciário. Como resultado, obteve-se apenas 27% de conversão ao éster (*R*)-**9b** (*ee* = 96%) com formação majoritária do alceno correspondente à reação lateral de eliminação.

Esquema 28. RCD de 1-metil-2,3-di-hidro-1*H*-inden-1-ol (*rac*-**9a**) catalisada por CAL-A/VOSO₄.



Fonte: elaborado pela autora (2023).

Os resultados de RCD descritos neste tópico evidenciam o desafio no desenvolvimento de metodologias de RCD para álcoois terciários. Em contraste ao problema de incompatibilidade dos catalisadores químico e enzimático superado nos estudos apresentados no Capítulo 1, o presente Capítulo 2 detalhou os esforços para superar o problema da reatividade dos álcoois terciários avaliados e seus respectivos ésteres.

3.4 Conclusões

Neste capítulo, descrevemos o desenvolvimento de uma resolução cinética (RC) enzimática eficiente para dois álcoois benzílicos bicíclicos terciários, derivados de α -tetralona e α -indalona. Após otimização das condições reacionais, com a avaliação de diferentes doadores de acila, solventes e quantidade de enzima CAL-A, foi possível alcançar uma RC ideal para os álcoois estudados, com conversões para os seus respectivos (*R*)-ésteres de 44–45% e excesso enantiomérico de 96–99% em apenas 4 ou 5 horas. Até o presente momento, estes são os melhores resultados relatados para a RC enzimática de álcoois benzílicos terciários em relação a tempo reacional, conversão e enantiosseletividade. A resolução enzimática otimizada neste trabalho, partindo de reagentes e biocatalisador prontamente disponíveis e sob condições reacionais brandas, é uma estratégia para obtenção direta de álcoois terciários enantiomericamente puros, podendo contribuir para superar os desafios na síntese assimétrica desta classe de compostos.

Além disso, investigamos pela primeira vez a racemização de álcool terciário catalisada por VOSO_4 . Embora o complexo de oxovanádio tenha racemizado o álcool em apenas 1 ou 2 horas reacionais (ee de 97% para 11% ou menos), observou-se que a alta reatividade deste catalisador e do álcool terciário durante a racemização ácida ocasionou a formação de alceno como subproduto, proveniente da reação lateral de eliminação sofrida pelo carbocátion terciário. Além disso, durante os esforços para a combinação eficiente da etapa de RC catalisada por CAL-A e da etapa de racemização catalisada por VOSO_4 , verificou-se que o catalisador de oxovanádio também reage com o produto da reação de resolução, inviabilizando o desenvolvimento do protocolo de resolução cinética dinâmica (RCD) para álcoois terciários.

Embora a conversão máxima alcançada tenha sido de 57% para reações RCD de álcool terciário, o tempo de reação (7 horas) foi quase 45 vezes mais rápido que a única RCD reportada até o momento para esse substrato. Acreditamos que nossos estudos de racemização e RCD com VOSO_4 contribuirão para a busca por métodos enantiosseletivos mais diretos e econômicos de álcoois benzílicos terciários quirais.

3.5 Parte Experimental

3.5.1 Reagentes e Materiais

A cetona 1-tetralona (97%) foi obtido junto à empresa Oakwood. O acetato de vinila foi adquirido junto à empresa Alfa Aesar®. A 1-Indanona (>99%), o sulfato de vanadila hidratado ($\text{VOSO}_4 \cdot \text{XH}_2\text{O}$, 97%), solução de brometo de metilmagnésio (3.0 M em éter dietílico), os demais doadores de acila e a lipase A de *Candida antarctica* (CAL-A, recombinante e expressa em *Aspergillus oryzae*, ≥ 500 U/g, adsorvida em Immobead-150) foram adquiridos junto à Merck (Sigma-Aldrich®). Todos os solventes e reagentes adquiridos comercialmente foram utilizados sem pré-tratamento.

3.5.2 Métodos Cromatográficos

As análises por Cromatografia Gasosa Acoplada a Detector de Ionização de Chama (CG-DIC) foram realizadas em um cromatógrafo gasoso da marca Shimadzu, modelo GC-2010 Plus equipado com injetor automático AOC-20i, acoplado a um detector de ionização de chama, pertencente ao Milagre Lab (Instituto de Química – UNESP Araraquara). Para determinação de valores de conversão, utilizou-se coluna capilar de sílica fundida HP-5-ms (30 m x 0.25 mm x 0.25 μm , (5%-fenil)-metilpolisiloxano; J&W, Agilent), operando com fluxo constante de gás H_2 de 1.22 mL min^{-1} , com temperaturas no injetor e detector de 260 °C e 280 °C, respectivamente. O volume de injeção das amostras foi de 1 μL na concentração de 0.5–1.0 mg mL^{-1} , no modo *split*. A programação de temperatura utilizada foi de 3 minutos a 80 °C, seguida de rampa de aquecimento 80–280 °C a 30 °C min^{-1} e mantido em 280 °C por 5 minutos, com tempo total de análise de 14.67 minutos.

Para determinação dos excessos enantioméricos (ee), as análises em CG-DIC foram realizadas com coluna de fase estacionária quiral CP-Chirasil-DEX CB (25 m x 0.25 mm x 0.25 μm ; ciclodextrina ligada a dimetilpolisiloxano; J&W, Agilent), operando com fluxo constante de gás H_2 de 1.02 mL min^{-1} , com temperaturas no injetor e detector de 160 °C e 180 °C, respectivamente. O volume das injeções foi de 1 μL na concentração de 0.5–1.0 mg mL^{-1} , no modo *split*. A programação de temperatura utilizada foi de: 3 minutos a 100 °C, seguida de rampa de aquecimento a 5 °C min^{-1} até 140 °C, mantido em 140 °C por 5 minutos, seguida de nova rampa de aquecimento

a 10 °C min⁻¹ até 180 °C, e mantido em 180 °C por 15 minutos, com tempo total de análise de 31.00 minutos.

Os valores de conversão e *ee* foram calculados pelas análises em CG-DIC segundo as equações abaixo:

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

As análises em Cromatografia Gasosa Acoplada ao Espectrômetro de Massas (CG-EM) foram realizadas junto ao Laboratório Multiusuário I de Análises Químicas do Instituto de Química – UNESP Araraquara, em cromatógrafo gasoso da marca Agilent – modelo 7890B, com coluna capilar de sílica fundida HP-5-ms (30 m x 0,25 mm x 0,25 m, 5% fenil-metilsiloxano) – acoplado a um espectrômetro de massas Modelo 5977A, com fonte de ionização por elétrons com energia de ionização de 70 eV e operando na faixa de *m/z* 45-500. O cromatógrafo operou com fluxo constante de gás He de 1 mL min⁻¹, temperatura do injetor e da interface a 260 °C e 280 °C, respectivamente. As injeções das amostras foram de 1 µL na concentração de 0.5–1 mg mL⁻¹. A programação de temperatura utilizada foi de 3 minutos a 80 °C, seguida de rampa de aquecimento 80–280 °C a 30 °C min⁻¹ e mantido em 280 °C por 3 minutos.

A cromatografia em coluna flash, utilizada para purificar os compostos obtidos neste capítulo, foi realizada com óxido de alumínio neutro (70–230 Mesh ASTM como fase estacionária.

3.5.3 Espectrometria no Infravermelho (IV)

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

3.5.4 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 na Plataforma Instrumental de RMN do Instituto de Química UNESP Araraquara, em espectrômetro AVANCE III HD 600 (Bruker; B₀ 14.1 T) operando na frequência de 600.13 MHz para o núcleo de

hidrogênio e 150.90 MHz para o núcleo de carbono, ou em espectrômetro Fourier 300 (Bruker; B₀ 7.1 T) operando na frequência de 300.19 MHz para o núcleo de hidrogênio e 75.48 MHz para o núcleo de carbono. Os sinais de deslocamentos químicos (δ) foram registrados em ppm utilizando como padrão interno tetrametilsilano (TMS, δ = 0.00) e padrão externo CDCl₃ (δ_H = 7.24; δ_C = 77.23). As constantes de acoplamento (J) foram medidas em Hertz (Hz) e as multiplicidades dos sinais são indicadas pelas letras: duplete (d), duplo duplete (dd), duplo-duplo-duplete (ddd), duplo-duplo-duplo-duplete (dddd), duplo tripleto (dt), multiplete (m), simpleto (s), simpleto largo (sl) e tripleto (t), triplo duplete (td).

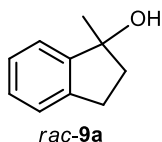
3.5.5 Polarimetria

As rotações ópticas dos enantiômeros foram adquiridas a partir de soluções em CHCl₃ a 25–26 °C em polarímetro (341 LC, PerkinElmer) com lâmpada de sódio (589 nm) e uma célula de quartzo de 1.00 dm.

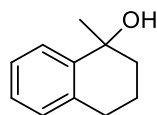
3.5.6 Procedimentos experimentais e caracterização estrutural

3.5.6.1 Síntese dos álcoois terciários racêmicos

Em um balão de 50 mL de fundo redondo com duas bocas, uma solução de brometo de metilmagnésio (8.25 mL; 3 M em éter etílico; 22.5 mmol) foi mantida sob agitação magnética a 0 °C e atmosfera inerte (N₂). Adicionou-se a esse balão reacional uma solução da cetona correspondente (1-tetralona ou 1-indanona; 1 M em THF anidro; 15 mmol; adição gota a gota em atmosfera inerte, com o auxílio de cânula). A solução resultante foi mantida sob agitação magnética a 0 °C por 3 horas e monitorada por CCD (heptano:acetato de etila 6:4 e revelador de anisalaldeído sulfúrico) até completo consumo da cetona de partida. Em seguida, a reação foi interrompida com a adição de 45 mL de solução saturada de cloreto de amônio (NH₄Cl). Os produtos foram extraídos acetato de etila (3 x 30 mL), as fases orgânicas secas com Na₂SO₄ e concentradas a pressão reduzida. Os produtos brutos foram purificados via recristalização ou cromatografia flash em coluna, resultando nos álcoois racêmicos **9a** e **10a**.

*rac-9a*

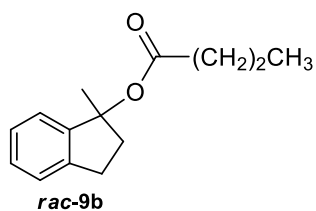
1-Metil-2,3-di-hidro-1H-inden-1-ol (*rac-9a*), 1.36 g (61%); $C_{10}H_{12}O$; **MM** 148.20 g mol⁻¹; óleo amarelo, purificado via cromatografia flash (heptano:acetato de etila 90:10). **¹H RMN** (600 MHz, $CDCl_3$): δ 7.37–7.35 (m, 1H), 7.24 (m, 3H), 3.05–3.00 (m, 1H), 2.86–2.81 (m, 1H), 2.20 (dddd, $J = 2.5, 5.5, 8.6$ e 13.5 Hz, 2H), 1.76 (sl, 1H), 1.57 (s, 3H). **¹³C NMR** (150 MHz, $CDCl_3$): δ 148.3, 142.7, 128.2, 126.9, 125.0, 122.2, 81.3, 42.4, 29.4, 27.3. **EM** (EI, 70 eV) m/z (abundância relativa %): 148 (2), 133 (100), 129 (7), 115 (14), 105 (14), 91 (11), 77 (11), 63 (5), 55 (7), 51 (7), 43 (7). **IV** ν_{max} (neat, cm⁻¹): 3384, 3022, 1737, 1460, 1203, 1082, 758. **CG-DIC Quiral**: $t_{R-(S)} = 8.93$ min e $t_{R-(R)} = 9.20$ min (Coluna: CP-Chirasil-DEX CB).

*rac-10a*

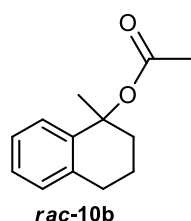
1-Metil-1,2,3,4-tetrahidronaftalen-1-ol (*rac-10a*), 1.86 g (76%); $C_{11}H_{14}O$; **MM** 162.23 g mol⁻¹; sólido branco, purificado via recristalização com heptano gelado. **¹H RMN** (300 MHz, $CDCl_3$): δ 7.61 (dd, $J = 1.8$ e 7.4 Hz, 1H), 7.20 (ddd, $J = 1.7, 7.3$ e 14.5 Hz, 2H), 7.11–7.08 (m, 1H), 2.90–2.72 (m, 2H), 1.99–1.83 (m, 4H), 1.81 (s, 1H), 1.58 (s, 3H). **¹³C RMN** (75 MHz, $CDCl_3$): δ 142.8, 136.3, 128.8, 127.1, 126.4, 126.3, 70.6, 39.8, 30.7, 29.9, 20.4. **EM** (EI, 70 eV) m/z (abundância relativa %): 162 (1), 148 (12), 147 (100), 144 (29), 129 (49), 119 (22), 115 (12), 105 (3), 91 (38), 77 (5), 65 (4), 51 (3), 43 (5). **IV** ν_{max} (neat, cm⁻¹): 3309, 2933, 1487, 1437, 1365, 1102, 930, 761. **CG-DIC Quiral**: $t_{R-(S)} = 13.76$ min e $t_{R-(R)} = 15.16$ min (Coluna: CP-Chirasil-DEX CB).

3.5.6.2 Síntese dos ésteres terciários racêmicos

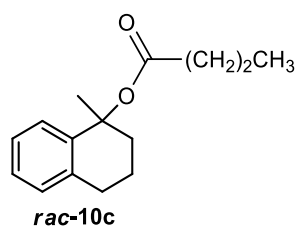
Em um balão de 25 mL de fundo redondo com duas bocas, 4-dimetilaminopiridina (DMAP, 0.16 mmol, 24 mg) foi dissolvida em trietilamina (Et_3N , 5 mL) a temperatura ambiente. Uma solução contendo o álcool racêmico **9a** ou **10a** e o anidrido correspondente (anidrido acético ou butírico, 3.20 mmol) foi então adicionada ao balão reacional. A solução resultante foi mantida sob agitação magnética a temperatura ambiente por 24 horas. Em seguida, o meio reacional foi diluído com 5.0 mL de heptano e lavado com solução 5% de ácido clorídrico (7 mL), solução saturada de bicarbonato de sódio (7 mL) e salmoura (7 mL). A fase orgânica foi seca com Na_2SO_4 e concentrada a pressão reduzida. Os produtos brutos foram purificados com cromatografia flash em coluna, resultando nos ésteres racêmicos **9b**, **10b** e **10c**.



Butirato de 1-Metil-2,3-di-hidro-1H-inden-1-ila (rac-9b), 0.104 g (30%); $C_{14}H_{18}O_2$; **MM** 218.29 g mol⁻¹; óleo amarelo. **¹H RMN** (600 MHz, $CDCl_3$): δ 7.44–7.42 (m, 1H), 7.26–7.22 (m, 3H), 3.08–3.03 (m, 1H), 2.88–2.83 (m, 1H), 2.56–2.52 (m, 1H), 2.39 (ddd, J = 5.4, 8.3 e 13.7 Hz, 1H), 2.21 (td, J = 2.2 e 7.3 Hz, 2H), 1.77 (s, 3H), 1.65–1.56 (m, 2H), 0.90 (t, J = 7.4 Hz, 3H). **¹³C RMN** (150 MHz, $CDCl_3$): δ 173.3, 145.5, 143.3, 128.7, 126.7, 124.9, 124.1, 89.8, 39.7, 37.4, 30.2, 25.2, 18.7, 13.8. **EM** (EI, 70 eV) m/z (abundância relativa %): 147 (1), 131 (95), 130 (100), 115 (28), 115 (12), 103 (4), 91 (19), 89 (3), 77 (6), 71 (7), 65 (5), 60 (4), 51 (4), 43 (15), 41 (6). **IV** ν_{max} (neat, cm⁻¹): 2936, 1741 (C=O), 1490, 1367, 1242, 757, 730. **CG-DIC Quiral**: $t_{R-(R)}$ = 11.08 min e $t_{R-(S)}$ = 11.22 min (Coluna: CP-Chirasil-DEX CB).



Acetato de 1-Metil-1,2,3,4-tetrahidronaftalen-1-ila (rac-10b), 0.165 g (45%); $C_{13}H_{16}O_2$; **MM** 204.26 g mol⁻¹; óleo amarelo. **¹H RMN** (600 MHz, $CDCl_3$): δ 7.38 (dd, J = 1.5 e 7.6 Hz, 1H), 7.21–7.13 (m, 2H), 7.08–7.06 (m, 1H), 2.91–2.85 (m, 1H), 2.74 (dt, J = 4.9 e 16.3 Hz, 1H), 2.55 (td, J = 3.4 e 12.3 Hz, 1H), 2.14–2.10 (m, 1H), 1.99 (s, 3H), 1.98–1.93 (m, 1H), 1.80–1.77 (m, 1H), 1.74 (s, 3H). **¹³C RMN** (150 MHz, $CDCl_3$): δ 170.0, 140.3, 136.6, 128.8, 127.1, 126.1, 125.9, 81.5, 77.2, 77.0, 76.8, 34.5, 29.5, 29.4, 22.6, 20.7. **EM** (EI, 70 eV) m/z (abundância relativa %): 162 (7), 147 (28), 145 (59), 144 (100), 129 (100), 128 (50), 119 (4), 115 (24), 103 (4), 91 (16), 77 (6), 64 (6), 43 (11). **IV** ν_{max} (neat, cm⁻¹): 2935, 1731 (C=O), 1441, 1368, 1243, 759. **CG-DIC Quiral**: $t_{R-(R)}$ = 10.33 min e $t_{R-(S)}$ = 10.86 min (Coluna: CP-Chirasil-DEX CB).



Butirato de 1-Metil-1,2,3,4-tetrahidronaftalen-1-ila (rac-10c), 0.200 g (54%); $C_{15}H_{20}O_2$; **MM** 232.32 g mol⁻¹; óleo amarelo. **¹H RMN** (600 MHz, $CDCl_3$): δ 7.40 (dd, J = 2.0 e 7.2 Hz, 1H), 7.21–7.16 (m, 2H), 7.10 (d, J = 7.0 Hz, 1H), 2.91 (ddd, J = 5.4, 10.3 e 16.0 Hz, 1H), 2.77 (dt, J = 16.5 e 4.9 Hz, 1H), 2.57 (td, J = 3.7 e 8.4 Hz, 1H), 2.30–2.21 (m, 2H), 2.17–2.13 (m, 1H), 2.03–1.96 (m, 1H), 1.84–1.78 (m, 1H), 1.76 (s, 3H), 1.66–1.61 (m, 2H), 0.95 (t, J = 7.4 Hz, 3H). **¹³C RMN** (150 MHz, $CDCl_3$): δ 172.6, 140.5, 136.5, 128.7, 127.1, 126.1, 125.9, 81.2, 77.2, 77.0, 76.8, 37.5, 34.5, 29.6, 29.5, 20.9, 18.5, 13.7. **EM** (EI, 70 eV) m/z (abundância relativa %): 216 (3), 187 (1), 173 (4), 147 (6), 146 (51), 145 (97), 131 (20), 129 (100), 128 (83), 102 (14), 91 (3), 78 (6), 77 (16), 71 (98), 60 (9), 51 (24), 43 (71). **IV** ν_{max} (neat, cm⁻¹): 2935, 2873, 1731 (C=O), 1442, 1372, 1254, 1185, 1097, 758. **CG-DIC Quiral**: $t_{R-(R)}$ = 16.14 min e $t_{R-(S)}$ = 16.73 min (Coluna: CP-Chirasil-DEX CB).

3.5.6.3 Procedimento geral da resolução cinética catalisada por CAL-A: reação em larga escala

À um balão 25 mL de fundo redondo e duas bocas, adicionou-se *rac*-**9a** ou *rac*-**10a** (0.80 mmol) e butirato de vinila (8.0 mmol, 10 equivalentes). Após completa solubilização dos álcoois, adicionou-se ao balão reacional 10 mL de heptano e 2:1 w/w de CAL-A (razão massa/massa enzima:substrato). A suspensão resultante foi mantida sob agitação magnética a 30 °C e as reações foram monitoradas por CG–DIC. Após atingir máxima conversão aos ésteres opticamente ativos e menor formação de subprodutos, a enzima CAL-A foi removida do meio reacional por filtração simples, lavada com acetato de etila (2 x 5 mL) e as soluções foram concentradas a pressão reduzida. Os resíduos obtidos foram purificados por cromatografia flash em coluna (heptano:acetato de etila 95:5 (v/v)) para fornecer os enantiômeros isolados (*S*)-**9a**, (*S*)-**10a**, (*R*)-**9b** e (*R*)-**10c**. Este procedimento foi repetido usando acetato de vinila como doador de acila, para fornecer o enantiômero (*R*)-**10b**.

(S)-(+)-1-Metil-2,3-di-hidro-1H-inden-1-ol ((S)-9a): sólido amarelo, 50.2 mg (48%), 80% ee, $[\alpha]_D^{26} = +9.7$ (c 1.0, CHCl₃; lit. $[\alpha]_D^{26} = +7.9$, c 1.0, CHCl₃, 45% ee (ÖZDEMIRHAN; SEZER; SÖNMEZ, 2008)): CG–DIC Quiral; Chiral GC–FID: $t_{R-(S)} = 8.93$ min (pico de área maior), $t_{R-(R)} = 9.20$ min (Coluna: CP-Chirasil-DEX CB).

(S)-(+)-1-Metil-1,2,3,4-tetrahidronaftalen-1-ol ((S)-10a): sólido amarelo, 66.4 mg (51%), 97% ee, $[\alpha]_D^{26} = +20.8$ (c 0.77, CHCl₃; lit.: $[\alpha]_D^{26} = +7.2$, c 1.0, CHCl₃, 38% ee (ÖZDEMIRHAN; SEZER; SÖNMEZ, 2008)). CG–DIC Quiral: $t_{R-(S)} = 13.76$ min (pico de área maior), $t_{R-(R)} = 15.16$ min (Coluna: CP-Chirasil-DEX CB).

(R)-(-)-Acetato de 1-metil-1,2,3,4-tetrahidronaftalen-1-ila ((R)-10b): óleo amarelo, 10.6 mg (13%), >99% ee, $[\alpha]_D^{25} = -12.5$ (c 0.8, CHCl₃; lit.: $[\alpha]_D^{26} = -14.3$, c 0.6, CHCl₃, 99% ee (ÖZDEMIRHAN; SEZER; SÖNMEZ, 2008)). CG–DIC Quiral: $t_{R-(R)} = 10.33$ min (pico de área maior), $t_{R-(S)} = 10.86$ min (Coluna: CP-Chirasil-DEX CB).

(R)-(-)-Butirato de 1-metil-1,2,3,4-tetrahidronaftalen-1-ila ((R)-10c): óleo amarelo, 60.3 mg (37%), >99% ee, $[\alpha]_D^{26} = -25.2$ (c 1.8, CHCl₃). CG–DIC Quiral: $t_{R-(R)} = 16.14$ min (pico de área maior), $t_{R-(S)} = 16.73$ min (Coluna: CP-Chirasil-DEX CB).

(R)-Butirato de 1-metil-2,3-di-hidro-1H-inden-1-ila ((R)-9b): óleo amarelo, 96% ee. CG–DIC Quiral: $t_{R-(R)} = 11.08$ min (pico de área maior), $t_{R-(S)} = 11.22$ min (Coluna: CP-Chirasil-DEX CB). Após purificação e concentração a pressão reduzida, o éster se decompôs em produtos não identificados,

impossibilitando a determinação da sua rotação óptica. A configuração *R* foi atribuída via CG–DIC comparando os tempos de retenção do éster racêmico **9b** com o tempo de retenção do enantiômero (*S*)-**9b** sintetizado quimicamente (esterificação do álcool (*S*)-**9a** (80% ee), seguindo procedimento descrito no Tópico 3.5.6.2; éster (*S*)-**9b** obtido com 73% ee). Os cromatogramas dessa análise encontram-se em Apêndice (Figura A52, página 170).

3.5.6.4 Procedimento geral da racemização catalisada por VOSO_4

À um balão 25 mL de fundo redondo e duas bocas, adicionou-se (*S*)-**10a** (97% ee, 0.08 mmol, 13 mg) e butirato de vinila (0.80 mmol, 10 equivalentes). Após completa solubilização do álcool, adicionou-se ao balão reacional 1 mL de heptano ou isoctano e $\text{VOSO}_4 \cdot \text{XH}_2\text{O}$ (5, 10 ou 20 mg). A suspensão resultante foi mantida sob agitação magnética a 30 °C e as reações foram monitoradas por CG–DIC. Após atingir o menor valor de ee para (*S*)-**10a** e a menor formação de subprodutos, o catalisador de vanádio foi removido do meio reacional por filtração simples, lavado com acetato de etila (2 x 1 mL) e a solução reacional foi concentrada a pressão reduzida. Este procedimento foi repetido utilizando tubo de Teflon® para confinar VOSO_4 .

3.5.6.5 Procedimento geral da resolução cinética dinâmica catalisada por CAL-A/ VOSO_4

À um balão 25 mL de fundo redondo e duas bocas, adicionou-se *rac*-**10a** (0.16 mmol, 26 mg) e butirato de vinila (1.60 mmol, 10 equivalentes). Após completa solubilização dos álcoois, adicionou-se ao balão reacional 2 mL de heptano ou isoctano, 2:1 w/w de CAL-A (razão massa/massa enzima:substrato) e $\text{VOSO}_4 \cdot \text{XH}_2\text{O}$ (10, 20, 25 ou 50 mg; com ou sem compartimentalização). A suspensão resultante foi mantida sob agitação magnética a 30 °C e as reações foram monitoradas por CG–DIC. Após atingir máxima conversão ao éster opticamente ativo (*R*)-**10c** e menor formação de subprodutos, os catalisadores foram removidos por filtração simples, lavados com heptano (3 x 2 mL) e a solução foi concentrada a pressão reduzida. Este procedimento foi repetido com as seguintes modificações: (i) usando heptano anidro como solvente; (ii) adicionando 20 mg peneira molecular 4Å previamente ativada (3 horas a 300 °C); e (iii) adicionando os catalisadores sequencialmente.

4. CONCLUSÕES GERAIS

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

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

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

5. REFERÊNCIAS

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

- DAVIS, A. R.; LIU, C.; DIACONESCU, P. L. The art of compartment design for synthetic catalysts. **Inorganic Chemistry Frontiers**, v. 10, n. 5, p. 1402–1410, Feb. 2023.
- DE ALMEIDA, L. *et al.* Lipase-oxovanadium heterogeneous catalysis system: a robust protocol for the dynamic kinetic resolution of sec-alcohols. **ChemCatChem**, v. 12, n. 10, p. 2849–2858, Mar. 2020.
- DE ALMEIDA, L. A. **Síntese de álcoois secundários quirais via Resolução Cinética Dinâmica quimioenzimática**. 2020. Dissertação (Mestrado em Química). Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2019.
- DE MIRANDA, A. S. *et al.* Continuous flow dynamic kinetic resolution of rac-1-phenylethanol using a single packed-bed containing immobilized CAL-B lipase and VOSO₄ as racemization catalysts. **Reaction Chemistry and Engineering**, v. 2, n. 3, p. 375–381, Feb. 2017.
- DE MIRANDA, A. S.; MIRANDA, L. S. M.; DE SOUZA, R. O. M. A. Lipases: Valuable catalysts for dynamic kinetic resolutions. **Biotechnology Advances**, v. 33, n. 5, p. 372–393, Oct. 2015.
- DEBECKER, D. P. *et al.* Hybrid chemoenzymatic heterogeneous catalysts. **Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry**, v. 28, p. 100437, Apr. 2021.
- DHANUMALAYAN, E.; JOSHI, G. M. Performance properties and applications of polytetrafluoroethylene (PTFE)—a review. **Advanced Composites and Hybrid Materials**, v. 1, n. 2, p. 247–268, Feb. 2018.
- DING, B. *et al.* Recent Advances in Catalytic Nonenzymatic Kinetic Resolution of Tertiary Alcohols. **Synthesis (Germany)**, v. 54, n. 7, p. 1721–1732, Jan. 2022.
- DOMÍNGUEZ DE MARÍA, P. *et al.* Biotechnological applications of *Candida antarctica* lipase A: State-of-the-art. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 37, n. 1–6, p. 36–46, Dec. 2005.
- DUNN, A. S. *et al.* Resolution Control in a Continuous Preferential Crystallization Process. **Organic Process Research and Development**, v. 23, n. 9, p. 2031–2041, Sep. 2019.

- EBBERS, E. J. *et al.* Controlled racemization of optically active organic compounds: Prospects for asymmetric transformation. **Tetrahedron**, v. 53, n. 28, p. 9417–9476, July 1997.
- EGI, M. *et al.* A mesoporous-silica-immobilized oxovanadium cocatalyst for the lipase-catalyzed dynamic kinetic resolution of racemic alcohols. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 52, n. 13, p. 3654–3658, Mar. 2013.
- EL HAGE, R. *et al.* Kinetic study of the dissolution of vanadyl sulfate and vanadium pentoxide in sulfuric acid aqueous solution. **Chemical Engineering Science**, v. 199, p. 123–136, May 2019.
- ERYTHROPEL, H. C. *et al.* The Green ChemisTREE: 20 years after taking root with the 12 principles. **Green Chemistry**, v. 20, n. 9, p. 1929–1961, Apr. 2018.
- FABER, K. **Biotransformations in Organic Chemistry**: A Textbook. 5th. ed. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2004. 466 p.
- FECHTER, M. H. *et al.* Stereoselective biocatalytic synthesis of (S)-2-hydroxy-2-methylbutyric acid via substrate engineering by using “thio-disguised” precursors and oxynitrilase catalysis. **Chemistry - A European Journal**, v. 13, n. 12, p. 3369–3376, Abr. 2007.
- FILLAT, A. *et al.* Kinetic resolution of esters from secondary and tertiary benzylic propargylic alcohols by an improved esterase-variant from *Bacillus sp.* BP-7. **Catalysis Today**, v. 255, p. 16–20, Oct. 2015.
- GÖRBE, T.; LIHAMMAR, R.; BÄCKVALL, J. E. Heterogeneous Acid-Catalyzed Racemization of Tertiary Alcohols. **Chemistry - A European Journal**, v. 24, n. 1, p. 77–80, Jan. 2018.
- HANEFELD, U. Reagents for (Ir)reversible Enzymatic Acylations. **ChemInform**, v. 34, n. 43, p. 2405–2415, June 2003.
- HARI KRISHNA, S.; PERSSON, M.; BORNSCHEUER, U. T. Enantioselective transesterification of a tertiary alcohol by lipase A from *Candida antarctica*. **Tetrahedron Asymmetry**, v. 13, n. 24, p. 2693–2696, Dec. 2002.

HEINZE, B. *et al.* Highly enantioselective kinetic resolution of two tertiary alcohols using mutants of an esterase from *Bacillus subtilis*. **Protein Engineering, Design and Selection**, v. 20, n. 3, p. 125–131, Jan. 2007.

HENKE, E.; PLEISS, J.; BORNSCHEUER, U. T. Activity of Lipases and Esterases towards Tertiary Alcohols: Insights into Structure–Function Relationships. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 41, n. 17, p. 3211–3213, Set. 2002.

HOUGHTEN, R. A. General method for the rapid solid-phase synthesis of large numbers of peptides: Specificity of antigen-antibody interaction at the level of individual amino acids. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 82, n. 15, p. 5131–5135, Aug. 1985.

HU, X.; YIP, A. C. K. Heterogeneous Catalysis: Enabling a Sustainable Future. **Frontiers in Catalysis**, v. 1, p. 1–3, Mar. 2021.

HUANG, M. *et al.* Catalytic Deracemization Reactions. **Journal of the American Chemical Society**, v. 145, n. 20, p. 10917–10929, May 2023.

JESCHKE, P. Current status of chirality in agrochemicals. **Pest Management Science**, v. 74, n. 11, p. 2389–2404, Apr. 2018.

JOLLY, B. J. *et al.* A generalized kinetic model for compartmentalization of organometallic catalysis. **Chemical Science**, v. 13, n. 4, p. 1101–1110, Jan. 2022.

KAZLAUSKAS, R. J. *et al.* A Rule To Predict Which Enantiomer of a Secondary Alcohol Reacts Faster in Reactions Catalyzed by Cholesterol Esterase, Lipase from *Pseudomonas cepacia*, and Lipase from *Candida rugosa*. **Journal of Organic Chemistry**, v. 56, n. 8, p. 2656–2665, Abr. 1991.

KEITH, J. M.; LARROW, J. F.; JACOBSEN, E. N. Practical Considerations in Kinetic Resolution Reactions. **Advanced Synthesis & Catalysis**, v. 343, n. 1, p. 5–26, Jan. 2001.

KOURIST, R. *et al.* Hydrolase-catalyzed stereoselective preparation of protected α,α -dialkyl- α -hydroxycarboxylic acids. **Tetrahedron Asymmetry**, v. 19, n. 15, p. 1839–1843, Aug. 2008.

KOURIST, R.; BORNSCHEUER, U. T. Biocatalytic synthesis of optically active tertiary alcohols. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 91, n. 3, p. 505–517, Aug. 2011.

KOURIST, R.; DOMÍNGUEZ DE MARÍA, P.; BORNSCHEUER, U. T. Enzymatic Synthesis of Optically Active Tertiary Alcohols: Expanding the Biocatalysis Toolbox. **ChemBioChem**, v. 9, n. 4, p. 491–498, Mar. 2008.

KOURIST, R.; GONZÁLEZ-SABÍN, J. Compartmentalization in Biocatalysis. *In*: DE GONZALO, G.; LAVANDERA, I. **Biocatalysis for Practitioners: Techniques, Reactions and Applications**. 1st ed. Weinheim: WILEY-VCH GmbH, 2021. v. 1, chap. 4, p. 89–112.

KÜHN, F. *et al.* Dynamic kinetic resolution of a tertiary alcohol. **Chemical Communications**, v. 56, n. 19, p. 2885–2888, Jan. 2020.

LARSSON, A. L. E.; PERSSON, B. A.; BÄCKVALL, J. E. Enzymatic Resolution of Alcohols Coupled with Ruthenium-Catalyzed Racemization of the Substrate Alcohol. **Angewandte Chemie (International Edition in English)**, v. 36, n. 11, p. 1211–1212, June 1997.

LETIZIA, C. S. *et al.* Fragrance material review on linalool. **Food and Chemical Toxicology**, v. 41, n. 7, p. 943–964, July 2003.

LEUSER, H. *et al.* Highly enantioselective preparation of tertiary alcohols and amines by copper-mediated diastereoselective allylic SN2' substitutions. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 44, n. 29, p. 4627–4631, July 2005.

LIU, Y. L.; LIN, X. T. Recent Advances in Catalytic Asymmetric Synthesis of Tertiary Alcohols via Nucleophilic Addition to Ketones. **Advanced Synthesis and Catalysis**, v. 361, n. 5, p. 876–918, Sep. 2019.

LÖFGREN, J. *et al.* Transesterification of a Tertiary Alcohol by Engineered *Candida antarctica* Lipase A. **ChemBioChem**, v. 20, n. 11, p. 1438–1443, June 2019.

LORENZ, H.; SEIDEL-MORGENSTERN, A. Processes to separate enantiomers. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 53, n. 5, p. 1218–1250, Jan. 2014.

- LU, J.; DIMROTH, J.; WECK, M. Compartmentalization of Incompatible Catalytic Transformations for Tandem Catalysis. **Journal of the American Chemical Society**, v. 137, n. 40, p. 12984–12989, Oct. 2015.
- MADDAH, H. A. Polypropylene as a Promising Plastic: A Review. **American Journal of Polymer Science**, v. 6, n. 1, p. 1–11, Jan. 2016.
- MAGOSSO, M. **Investigation of the SpinChem® rotating bed reactor: internally and externally mass transfer limited reactions**. 2016. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Processos Químicos e Industriais). Escola de Engenharia, Universidade de Pádua, Pádua, Itália, 2015.
- MCDONALD, A. G.; TIPTON, K. F. Enzyme nomenclature and classification: the state of the art. **FEBS Journal**, v. 290, n. 9, p. 2214–2231, May 2023.
- MELAIS, N.; ARIBI-ZOUIOUECHE, L.; Riant, O. The effect of the migrating group structure on enantioselectivity in lipase-catalyzed kinetic resolution of 1-phenylethanol. **Comptes Rendus Chimie**, v. 19, n. 8, p. 971–977, Aug. 2016.
- MÜLLER, M. Enzymatic Synthesis of Tertiary Alcohols. **ChemBioEng Reviews**, v. 1, n. 1, p. 14–26, Fev. 2014.
- MUSARURWA, H.; TAVENGWA, N. T. Green aspects during synthesis, application and chromatographic analysis of chiral pesticides. **Trends in Environmental Analytical Chemistry**, v. 27, p. e00093, Sep. 2020.
- GANÉO NETO, L.; MILAGRE, C. D. F.; MILAGRE, H. M. S. Enantioselective transesterification of a propargyl tertiary alcohol by *Candida antarctica* lipase A: A reaction medium engineering approach. **Results in Chemistry**, v. 5, Jan. 2023.
- NGUYEN, G. S. *et al.* An enzymatic toolbox for the kinetic resolution of 2-(Pyridin-x-yl)but-3-yn-2-ols and tertiary cyanohydrins. **European Journal of Organic Chemistry**, n. 14, p. 2753–2758, Apr. 2010.
- NODA, H.; KUMAGAI, N.; SHIBASAKI, M. Catalytic Asymmetric Synthesis of α -Trifluoromethylated Carbinols: A Case Study of Tertiary Propargylic Alcohols. **Asian Journal of Organic Chemistry**, v. 7, n. 4, p. 599–612, Apr. 2018.

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

- PATIL, S. A.; PATIL, R.; PATIL, S. A. Recent developments in biological activities of indanones. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 138, p. 182–198, Sep. 2017.
- PELLISSIER, H. Recent developments in dynamic kinetic resolution. **Tetrahedron**, v. 67, n. 21, p. 3769–3802, May 2011.
- PELUSO, P.; CHANKVETADZE, B. Recognition in the Domain of Molecular Chirality: From Noncovalent Interactions to Separation of Enantiomers. **Chemical Reviews**, v. 122, n. 16, p. 13235–13400, Aug. 2022.
- PIEDRAFITA, G.; KELLER, M. A.; RALSER, M. The impact of non-enzymatic reactions and enzyme promiscuity on cellular metabolism during (Oxidative) stress conditions. **Biomolecules**, v. 5, n. 3, p. 2101–2122, Sep. 2015.
- PINTO, M. M. M.; FERNANDES, C.; TIRITAN, M. E. Chiral separations in preparative scale: A medicinal chemistry point of view. **Molecules**, v. 25, n. 8, p. 1–16, Apr. 2020.
- PITHANI, S. *et al.* Using Spinchem Rotating Bed Reactor Technology for Immobilized Enzymatic Reactions: A Case Study. **Organic Process Research and Development**, v. 23, n. 9, p. 1926–1931, Sep. 2019.
- QUINTAS, P. Y. *et al.* State-of-the-art extraction and separation of enantiomers through the application of alternative solvents. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 157, Dec. 2022.
- RAE, P. J.; DATTELBAUM, D. M. The properties of poly(tetrafluoroethylene) (PTFE) in compression. **Polymer**, v. 45, n. 22, p. 7615–7625, Oct. 2004.
- RAKELS, J. L. L.; STRAATHOF, A. J. J.; HEIJNEN, J. J. A simple method to determine the enantiomeric ratio in enantioselective biocatalysis. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 15, n. 12, p. 1051–1056, Dec. 1993.
- ROUF, A.; TANEJA, S. C. Synthesis of Single-enantiomer Bioactive Molecules: A Brief Overview. **Chirality**, v. 26, n. 2, p. 63–78, Fev. 2014.
- SALIHU, A.; ALAM, M. Z. Solvent tolerant lipases: A review. **Process Biochemistry**, v. 50, n. 1, p. 86–96, Jan. 2015.

- SANTOS, N. C. F. DOS. **Síntese biocatalítica do (R)-2-hidróxi-4-fenilbutanoato de etila**. 2019. Dissertação (Mestrado em Química). Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2019.
- SATO, H.; HUMMEL, W.; GRÖGER, H. Cooperative Catalysis of Noncompatible Catalysts through Compartmentalization: Wacker Oxidation and Enzymatic Reduction in a One-Pot Process in Aqueous Media. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 54, n. 15, p. 4488–4492, Feb. 2015.
- SCHUUR, B. *et al.* Chiral separation by enantioselective liquid-liquid extraction. **Organic and Biomolecular Chemistry**, v. 9, n. 1, p. 36–51, Jan. 2011.
- SEDDIGI, Z. S. *et al.* Lipases in asymmetric transformations: Recent advances in classical kinetic resolution and lipase–metal combinations for dynamic processes. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 348, p. 54–70, Oct. 2017.
- SHELDON, R. A.; PEREIRA, P. C. Biocatalysis engineering: The big picture. **Chemical Society Reviews**, v. 46, n. 10, p. 2678–2691, May 2017.
- SHENG, K. *et al.* Research progress in pharmacological activities and structure-activity relationships of tetralone scaffolds as pharmacophore and fluorescent skeleton. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 227, p. 113964, Jan. 2022.
- SILVA, L. L. *et al.* S-(+)-and R-(-)-linalool: a comparison of the in vitro anti-Aeromonas hydrophila activity and anesthetic properties in fish. **An Acad Bras Cienc**, v. 89, n. 1, p. 203–212, Mar. 2017.
- SINGLA, P.; BHARDWAJ, R. D. Enzyme promiscuity—A light on the “darker” side of enzyme specificity. **Biocatalysis and Biotransformation**, v. 38, n. 2, p. 81–92, Sep. 2020.
- SPERATI, C. A.; STARKWEATHER, H. W. Fluorine-containing polymers. II. Polytetrafluoroethylene. *In*: FERRY, J. D. *et al.*, **Advances in Polymer Science: Fortschritte Der Hochpolymeren-Forschung**, 1st ed. Berlin: Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 1961, v. 2/4, chap. 1, p. 465–495.
- SPERL, J. M. *et al.* Reaction Design for the Compartmented Combination of Heterogeneous and Enzyme Catalysis. **ACS Catalysis**, v. 6, n. 10, p. 6329–6334, Oct. 2016.

- STRADOMSKA, D. *et al.* New type of basket stationary bed reactor for heterogeneous biocatalysis. **Chemical Engineering and Processing - Process Intensification**, v. 194, n. October, p. 109590, Dez. 2023.
- STYMIEST, J. L. *et al.* Enantiodivergent conversion of chiral secondary alcohols into tertiary alcohols. **Nature**, v. 456, n. 7223, p. 778–783, Dez. 2008.
- SUGIYAMA, K. *et al.* Spatial effects of oxovanadium-immobilized mesoporous silica on racemization of alcohols and application in lipase-catalyzed dynamic kinetic resolution. **Catalysis Science and Technology**, v. 6, n. 13, p. 5023–5030, July 2016.
- SZYMAŃSKA, K. *et al.* A novel hierarchically structured siliceous packing to boost the performance of rotating bed enzymatic reactors. **Chemical Engineering Journal**, v. 315, p. 18–24, May 2017.
- TAN, L. *et al.* Practical enantioselective synthesis of a COX-2 specific inhibitor. **Tetrahedron**, v. 58, n. 37, p. 7403–7410, Set. 2002.
- TARAFDER, A.; MILLER, L. Chiral chromatography method screening strategies: Past, present and future. **Journal of Chromatography A**, v. 1638, Feb. 2021.
- VAZ, B. G. *et al.* Shvo's catalyst in chemoenzymatic dynamic kinetic resolution of amines-inner or outer sphere mechanism? **Organic and Biomolecular Chemistry**, v. 11, n. 39, p. 6695–6698, Oct. 2013.
- VERHO, O.; BÄCKVALL, J. E. Chemoenzymatic dynamic kinetic resolution: A powerful tool for the preparation of enantiomerically pure alcohols and amines. **Journal of the American Chemical Society**, v. 137, n. 12, p. 3996–4009, Apr. 2015.
- WINKLER, C. K.; SCHRITTWIESER, J. H.; KROUTIL, W. Power of Biocatalysis for Organic Synthesis. **ACS Central Science**, v. 7, n. 1, p. 55–71, Jan. 2021.
- WU, S. *et al.* Biocatalysis: Enzymatic Synthesis for Industrial Applications. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 60, n. 1, p. 88–119, Jan. 2021.
- WUYTS, S. *et al.* Acid zeolites as alcohol racemization catalysts: Screening and application in biphasic dynamic kinetic resolution. **Chemistry - A European Journal**, v. 11, n. 1, p. 386–397, Dec. 2004.

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

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

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

6. APÊNDICE

6.1 Espectros e cromatogramas dos compostos referentes ao Capítulo 1

6.1.1 Espectros de RMN de ^1H e ^{13}C dos (*R*)-produtos das reações de RCD

Figura A1. Espectro de RMN de ^1H (600.13 MHz, CDCl_3) de (*R*)-decanoato de 1-feniletila (**1b**).

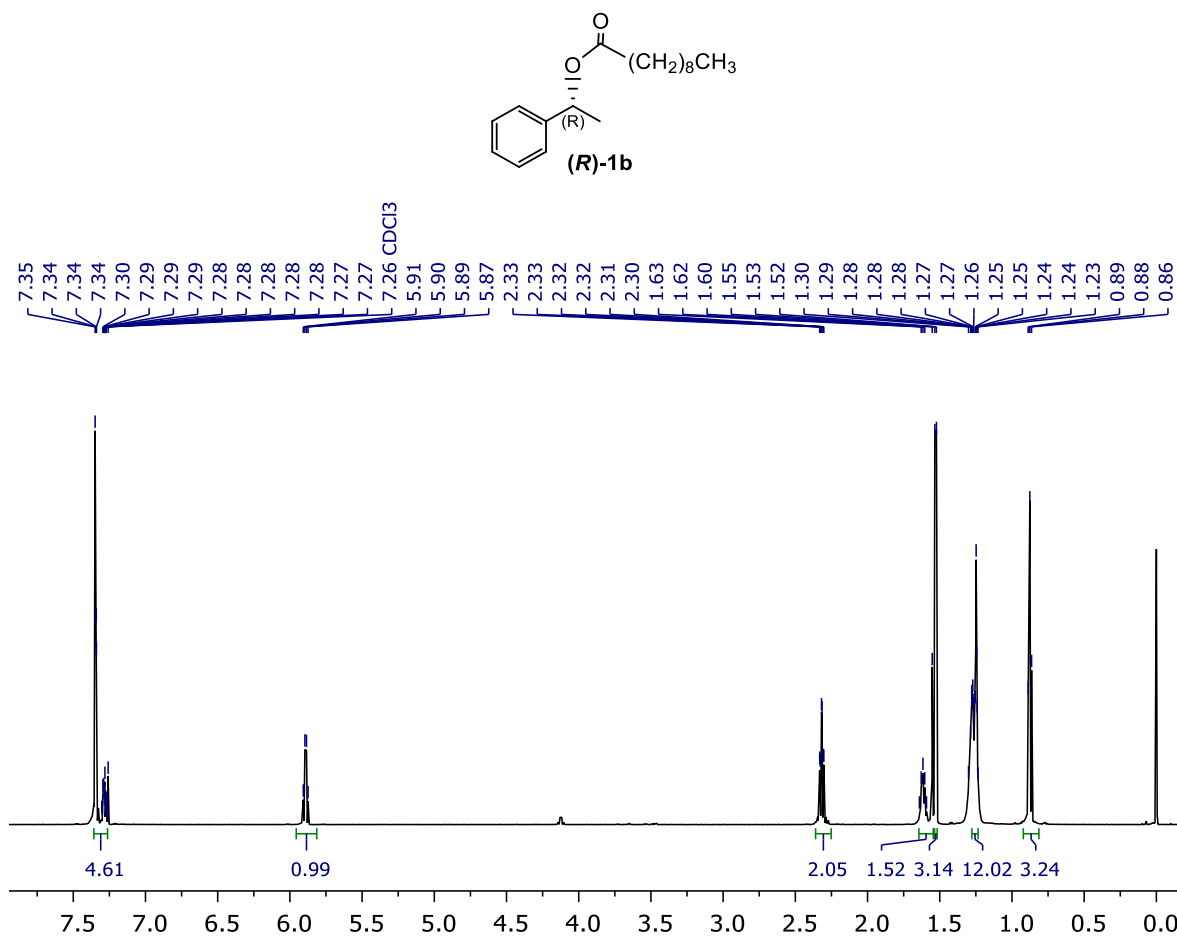


Figura A2. Espectro de RMN de ^{13}C (150.90 MHz, DEPTQ, CDCl_3) de (*R*)-decanoato de 1-feniletila (**1b**).

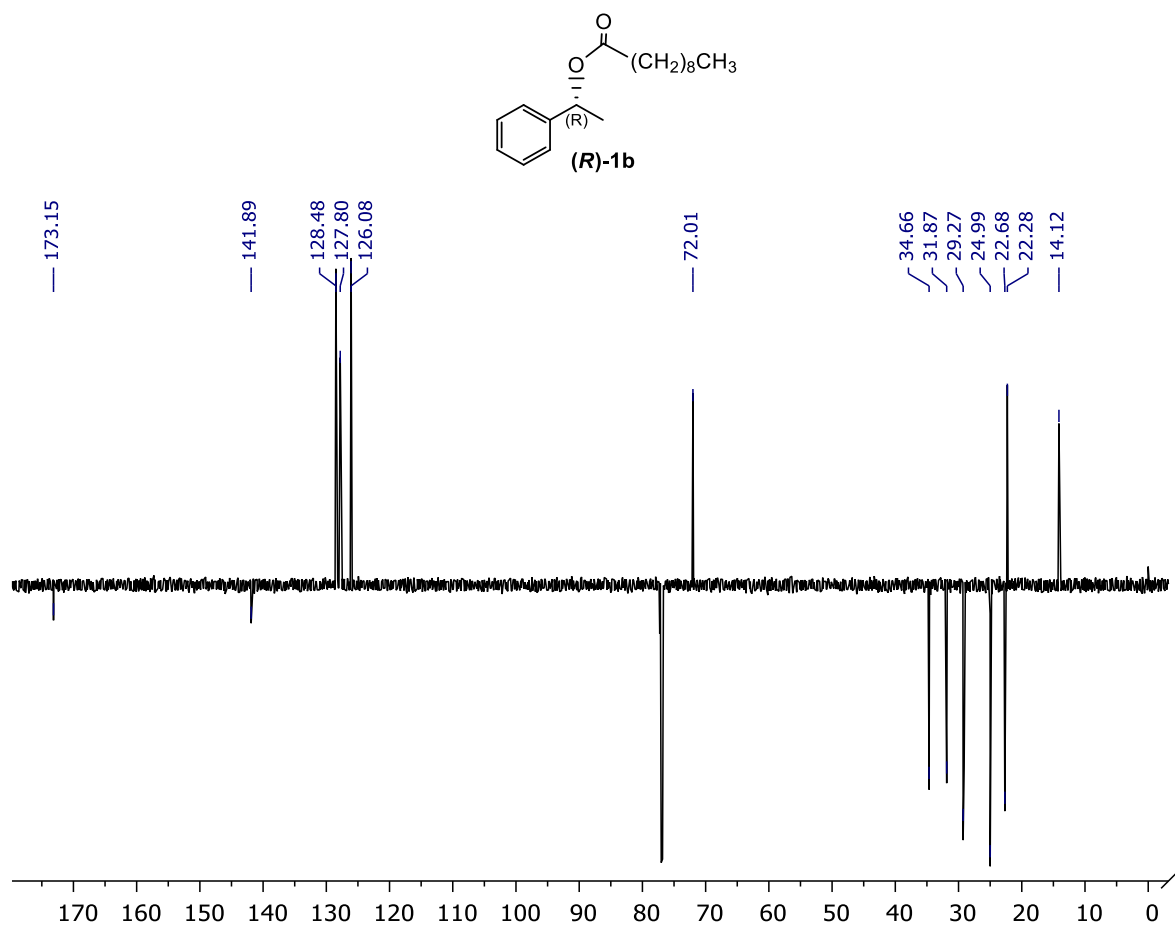


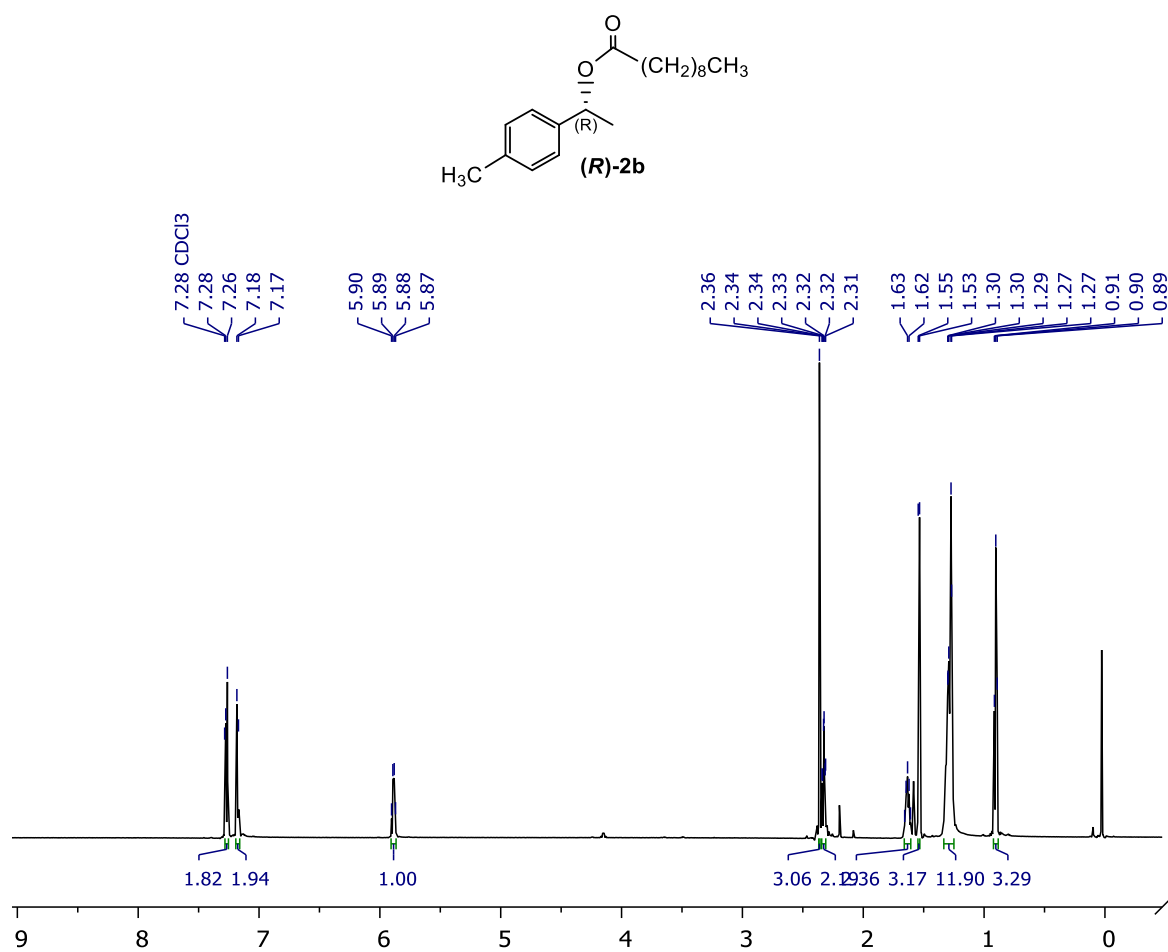
Figura A3. Espectro de RMN de ^1H (600.13 MHz, CDCl_3) de (*R*)-decanoato de 1-(4-metilfenil)-etila (**2b**).

Figura A4. Espectro de RMN de ^{13}C (150.90 MHz, CDCl_3) de (*R*)-decanoato de 1-(4-metilfenil)-etila (**2b**).

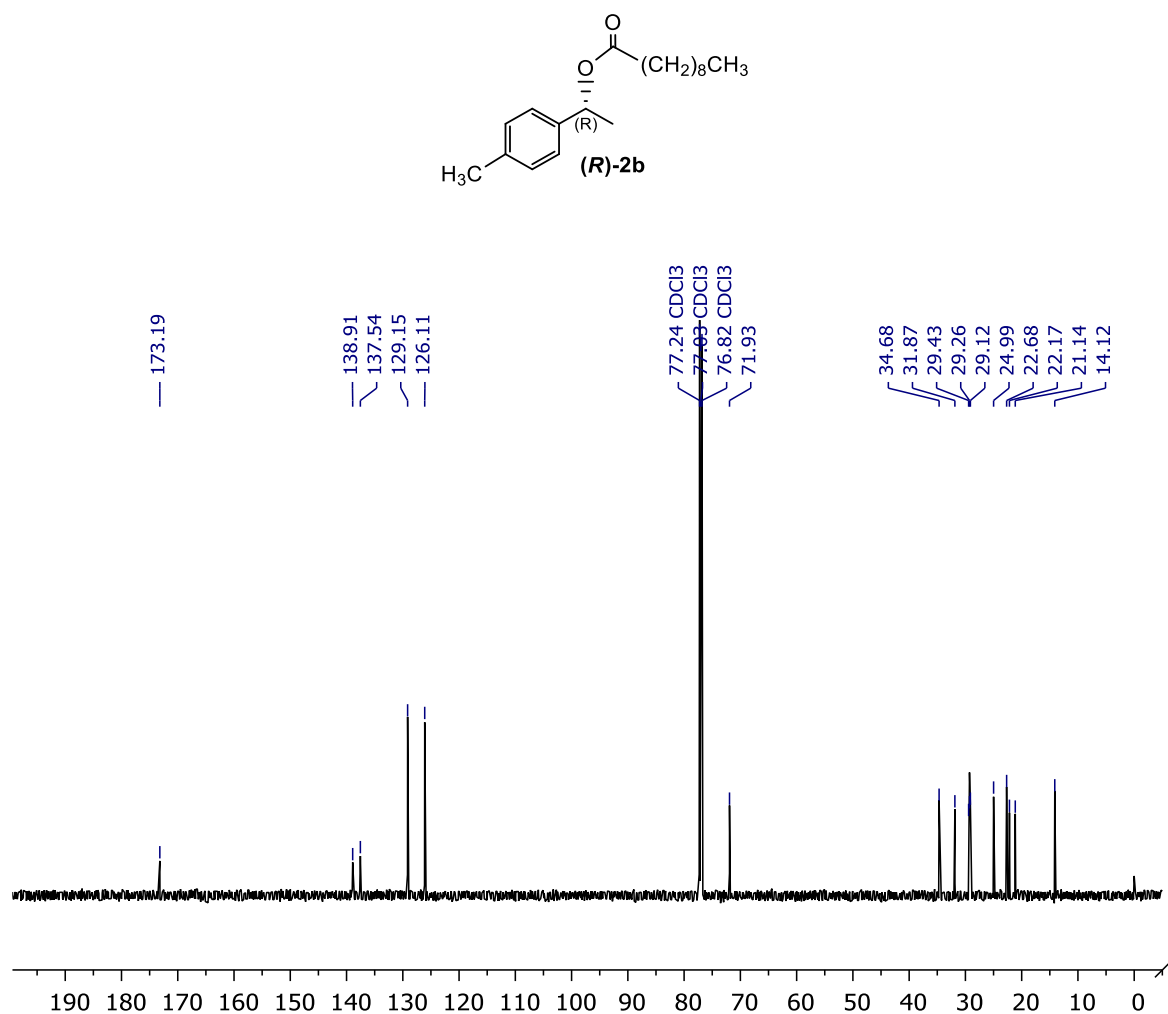


Figura A5. Espectro de RMN de ^1H (600.13 MHz, CDCl_3) de (*R*)-decanoato de 1-(4-metóxfenil)-etila (**3b**).

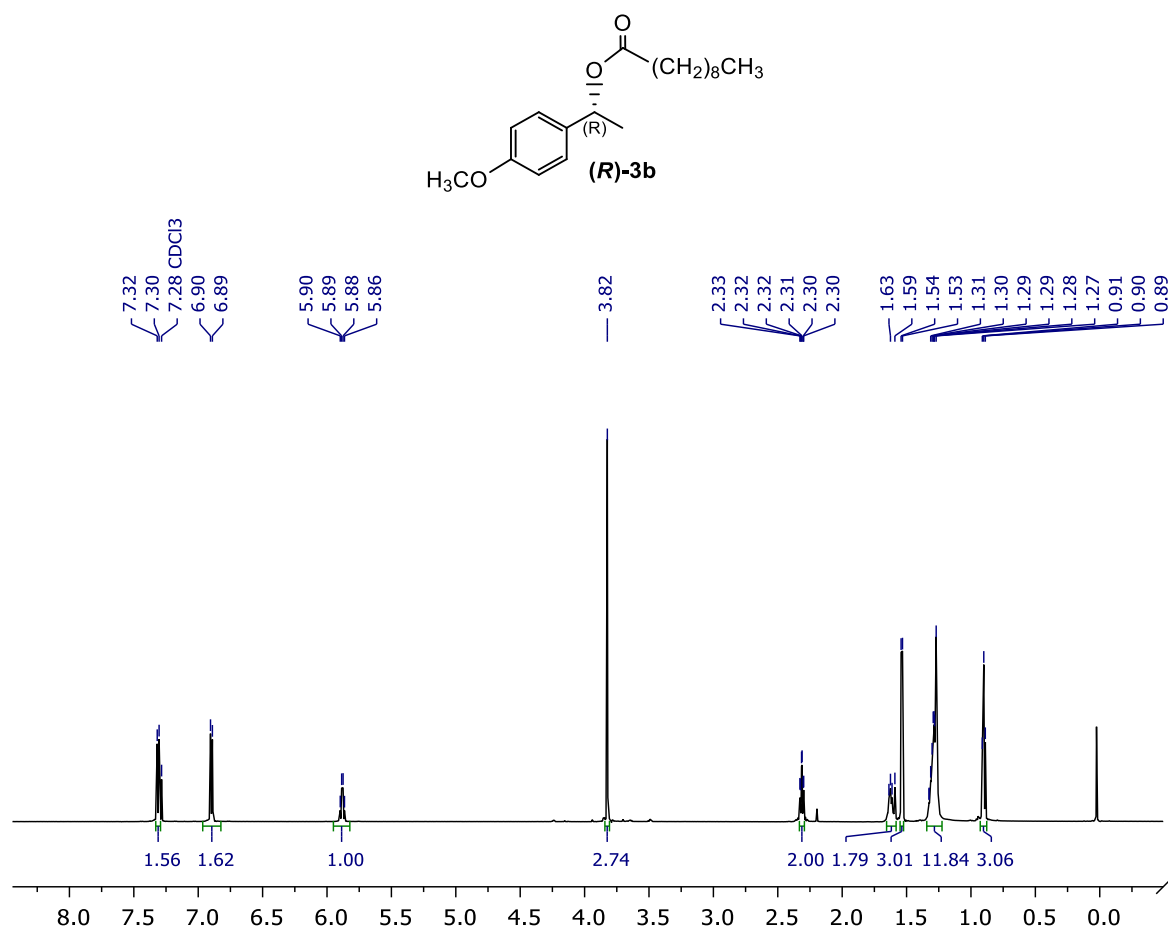


Figura A6. Espectro de RMN de ^{13}C (150.90 MHz, CDCl_3) de (*R*)-decanoato de 1-(4-metóxfenil)-etila (**3b**).

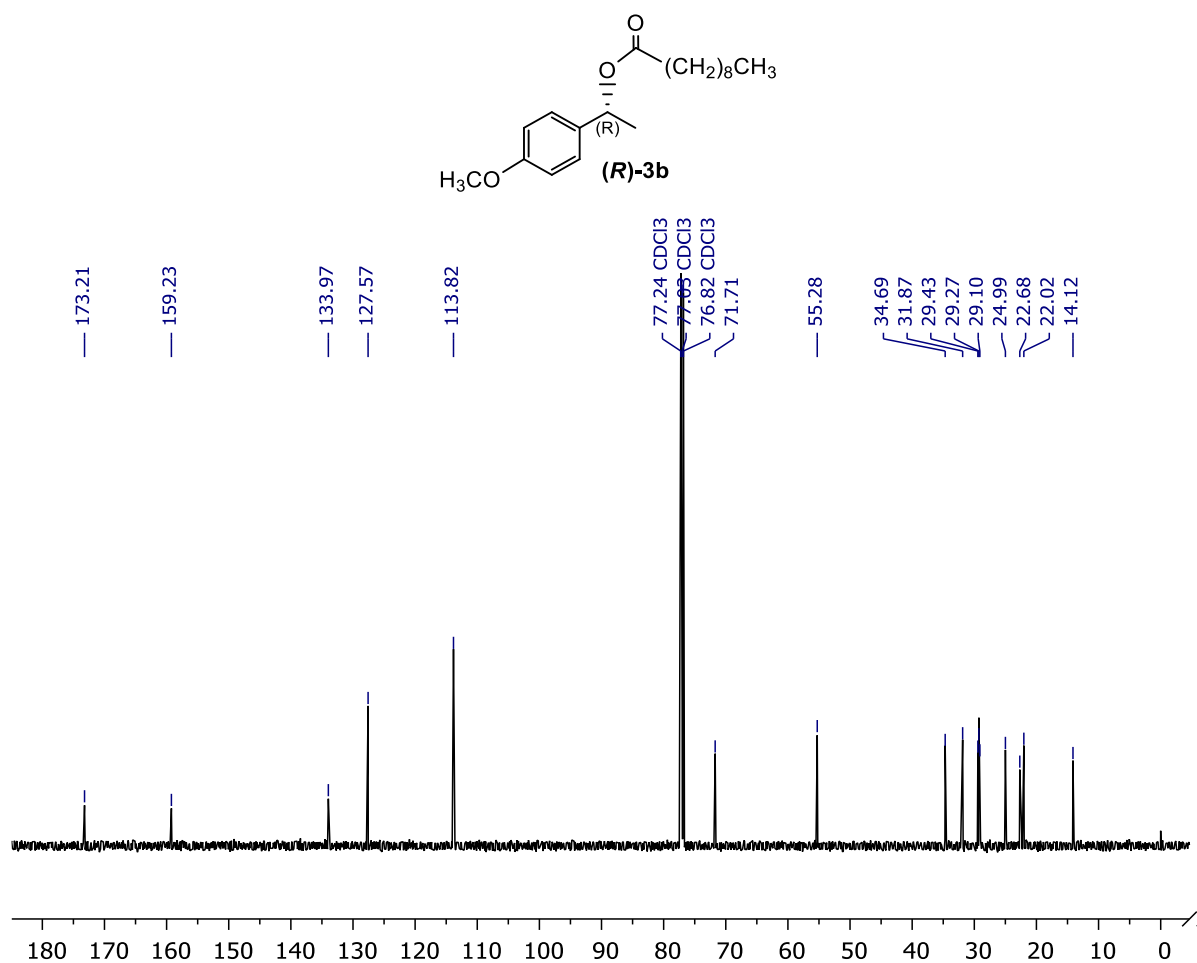


Figura A7. Espectro de RMN de ^1H (600.13 MHz, CDCl_3) de (*R*)-decanoato de 1-(4-fluorofenil)-etila (**4b**).

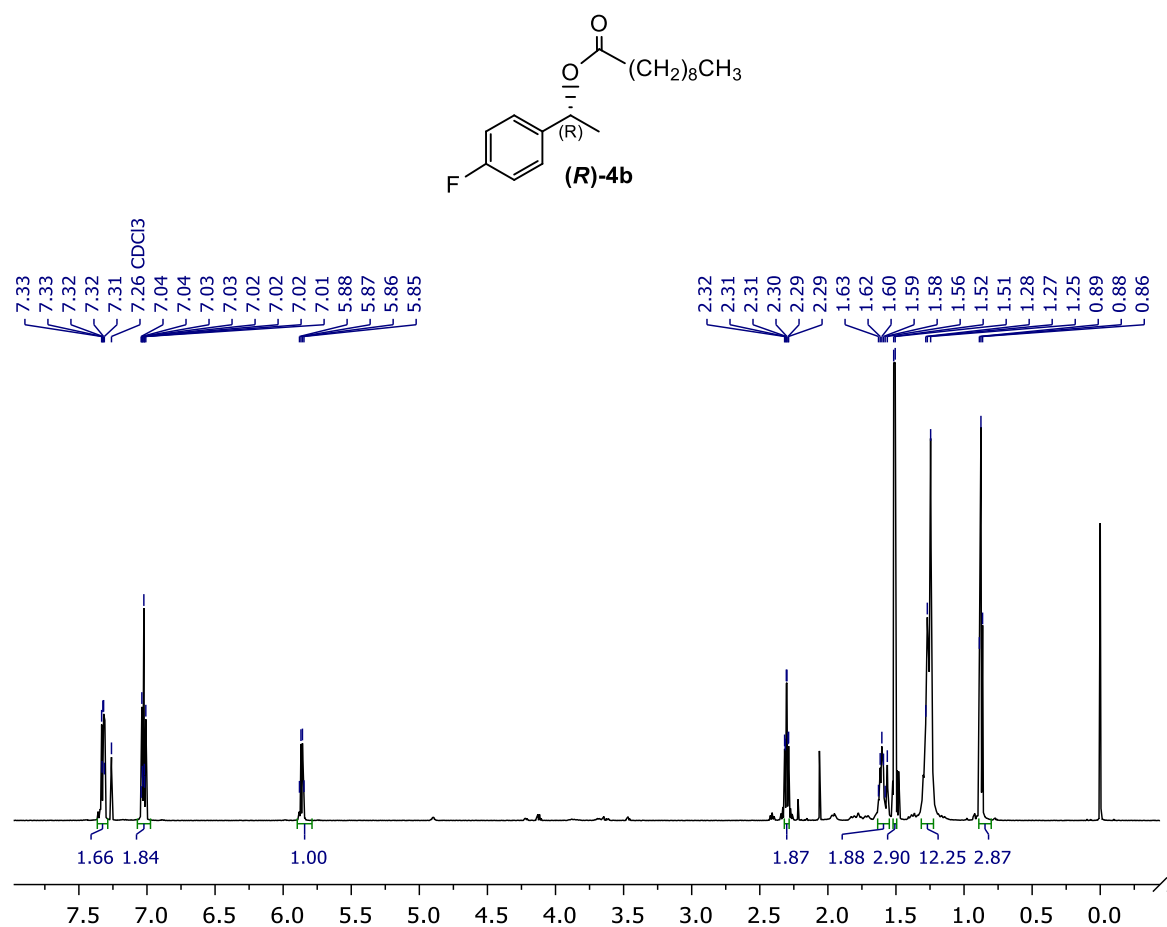


Figura A8. Espectro de RMN de ^{13}C (150.90 MHz, DEPTQ, CDCl_3) de (*R*)-decanoato de 1-(4-fluorofenil)-etila (**4b**).

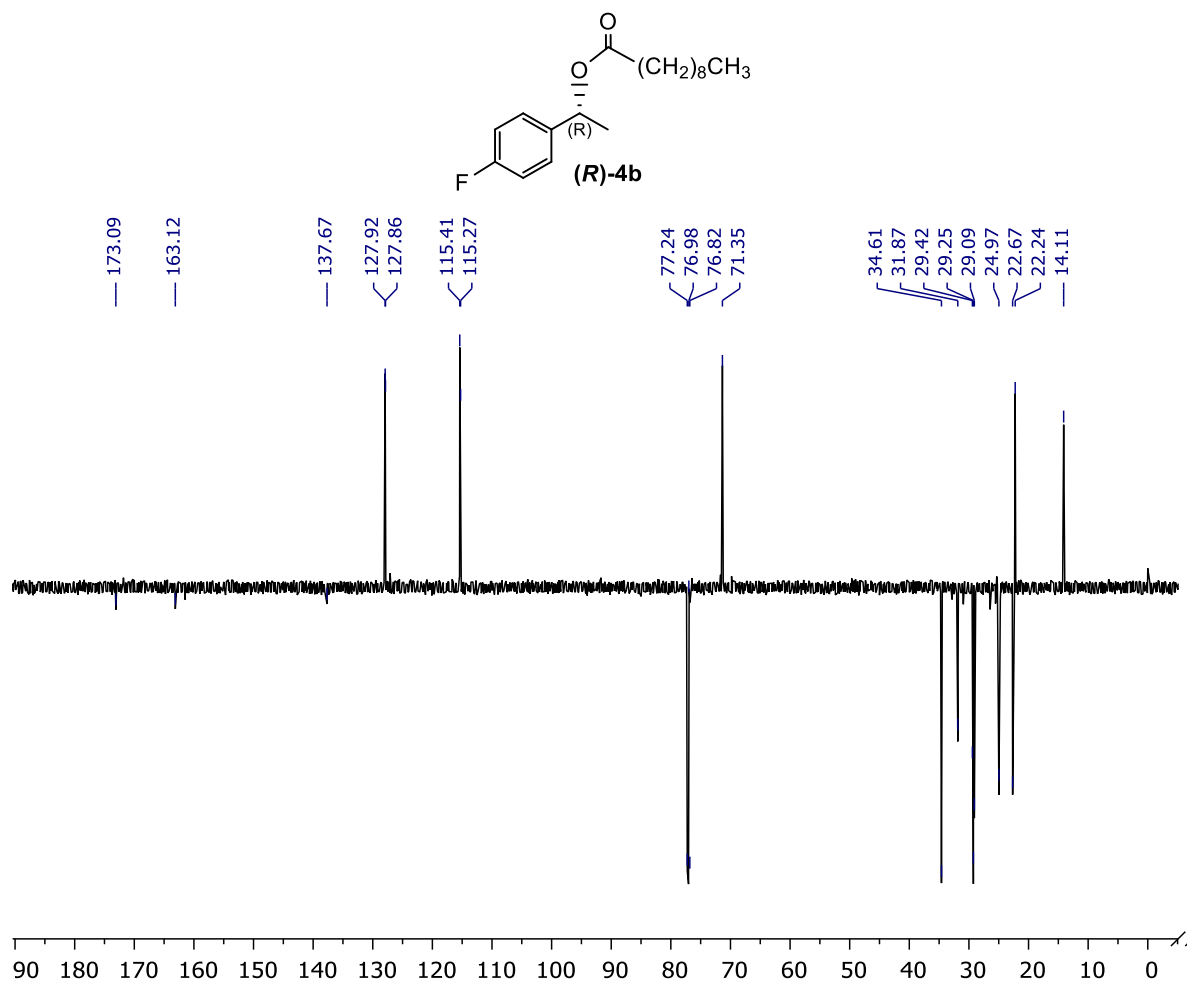


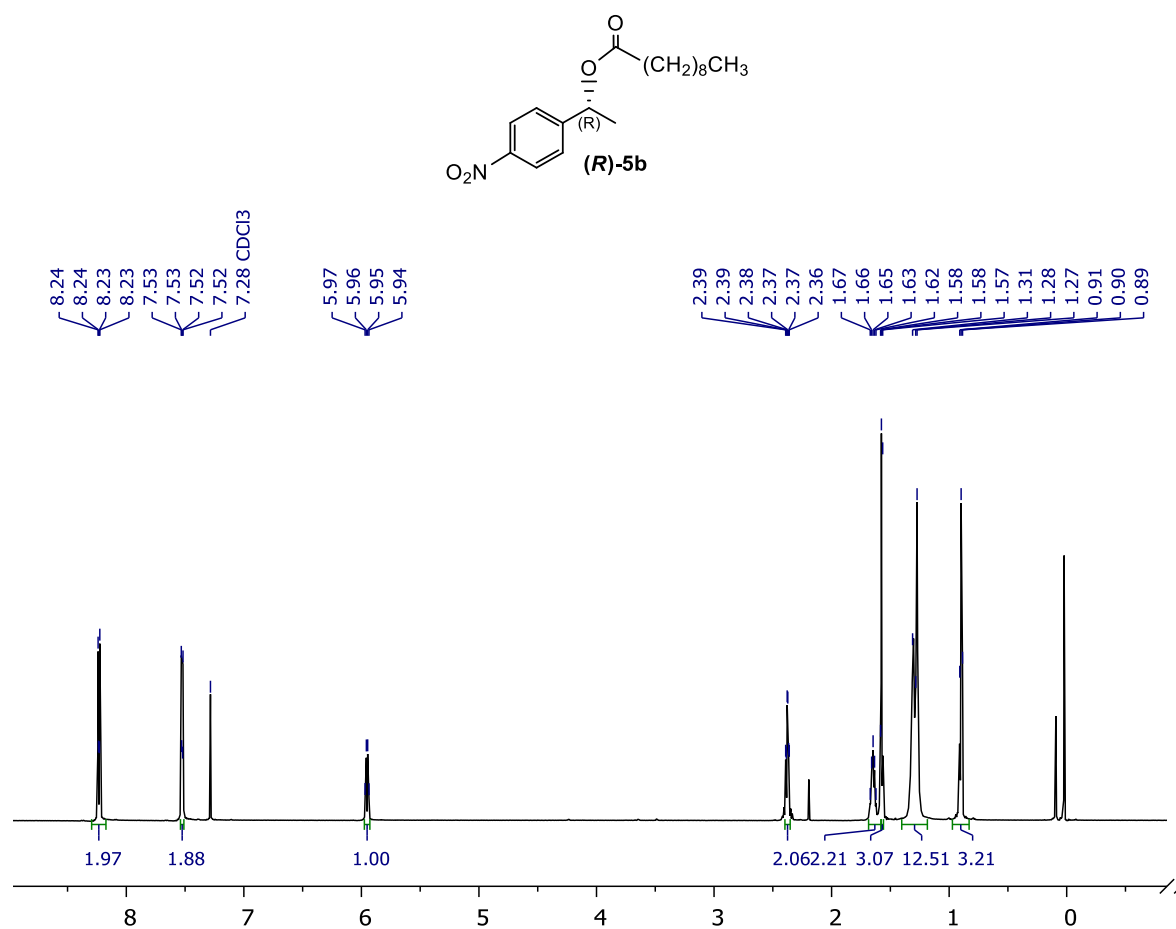
Figura A9. Espectro de RMN de ^1H (600.13 MHz, CDCl_3) de (*R*)-decanoato de 1-(4-nitrofenil)-etila (**5b**).

Figura A10. Espectro de RMN de ^{13}C (150.90 MHz, CDCl_3) de (*R*)-decanoato de 1-(4-nitrofenil)-etila (**5b**).

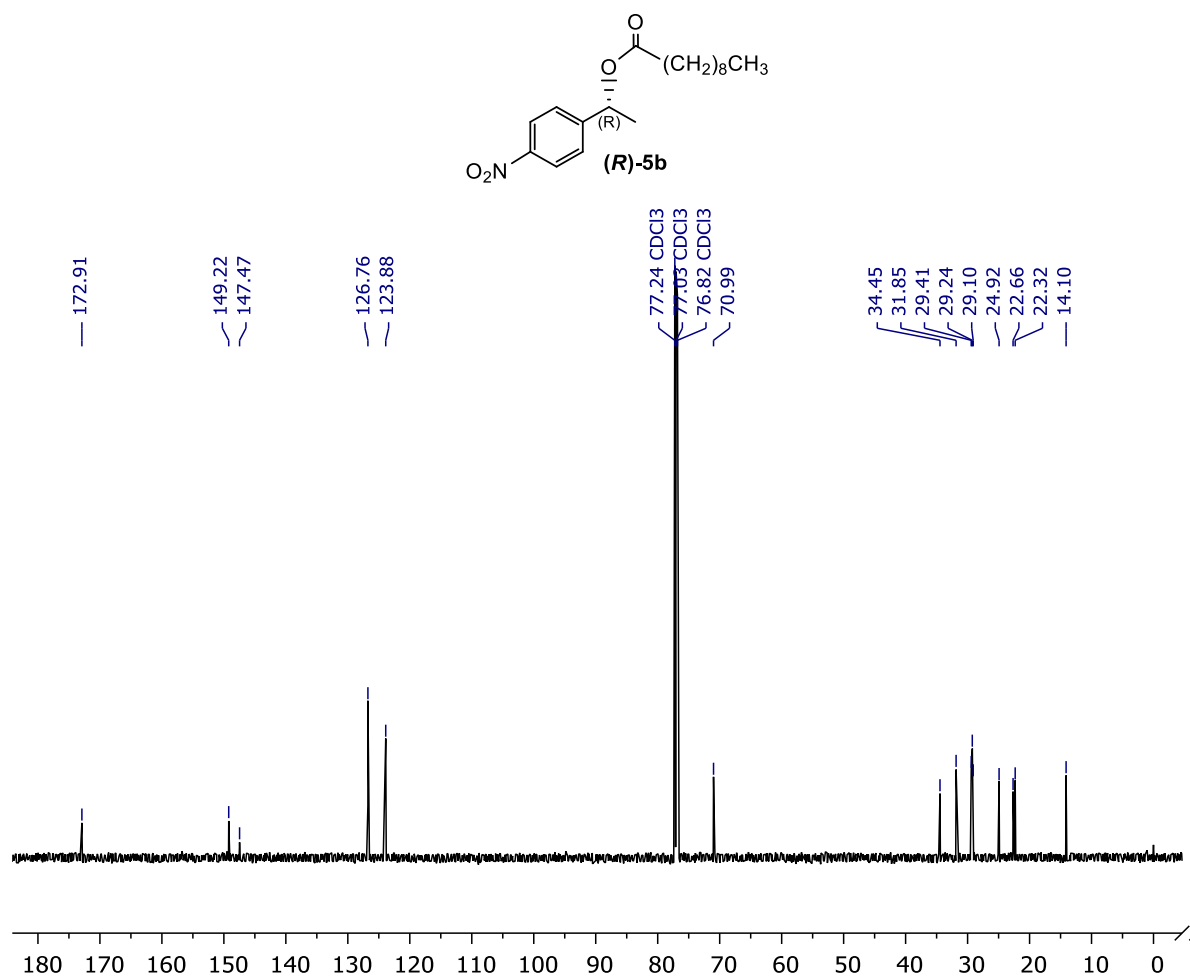


Figura A11. Espectro de RMN de ^1H (600.13 MHz, CDCl_3) de (*R*)-decanoato de 1-[4-(trifluorometil)fenil]-etila (**6b**).

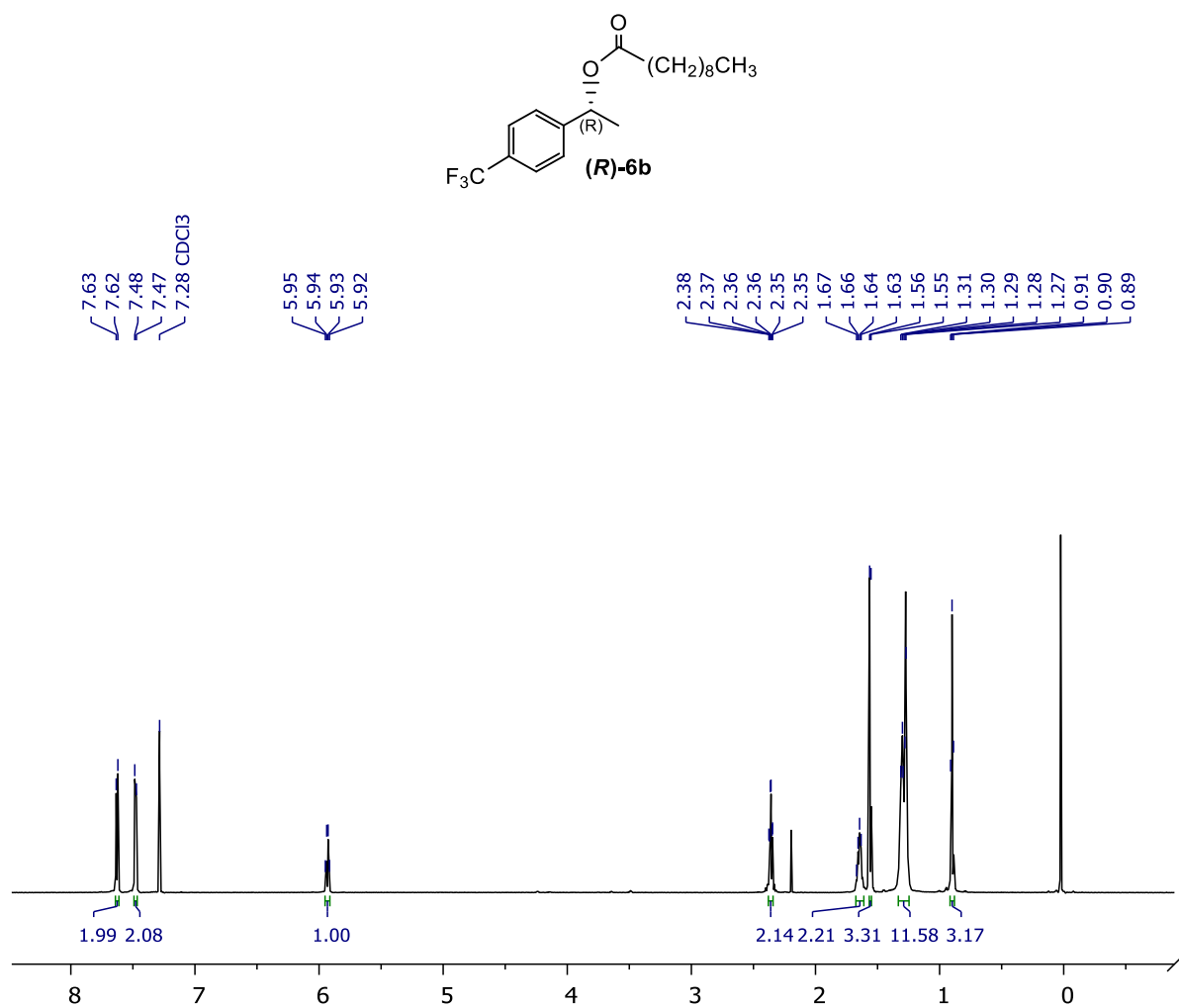


Figura A12. Espectro de RMN de ^{13}C (150.90 MHz, CDCl_3) de (*R*)-decanoato de 1-[4-(trifluorometil)fenil]-etila (**6b**).

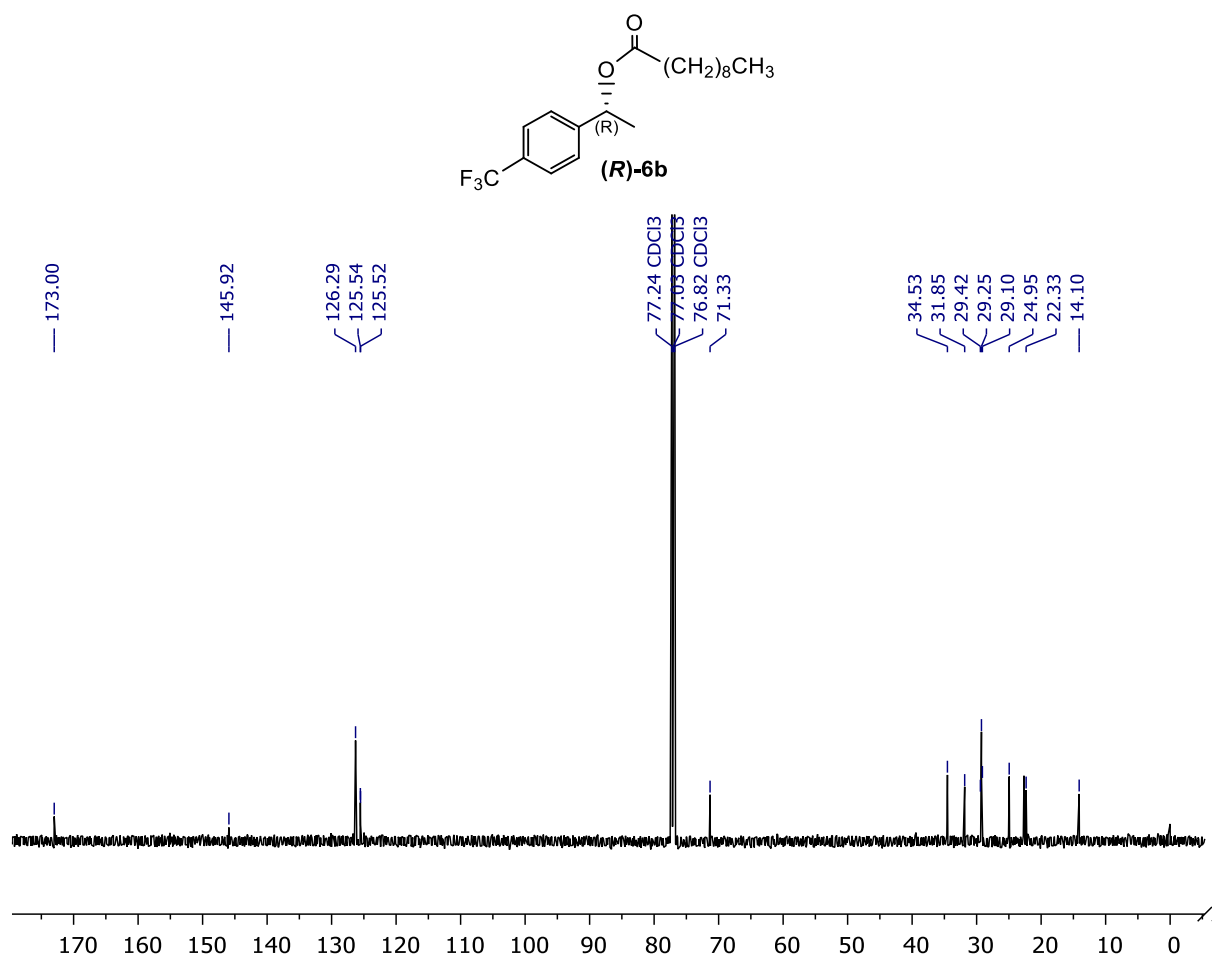


Figura A13. Espectro de RMN de ^1H (600.13 MHz, CDCl_3) de (*R*)-decanoato de 1-(1,3-benzodioxol-5-il)etila (**7b**).

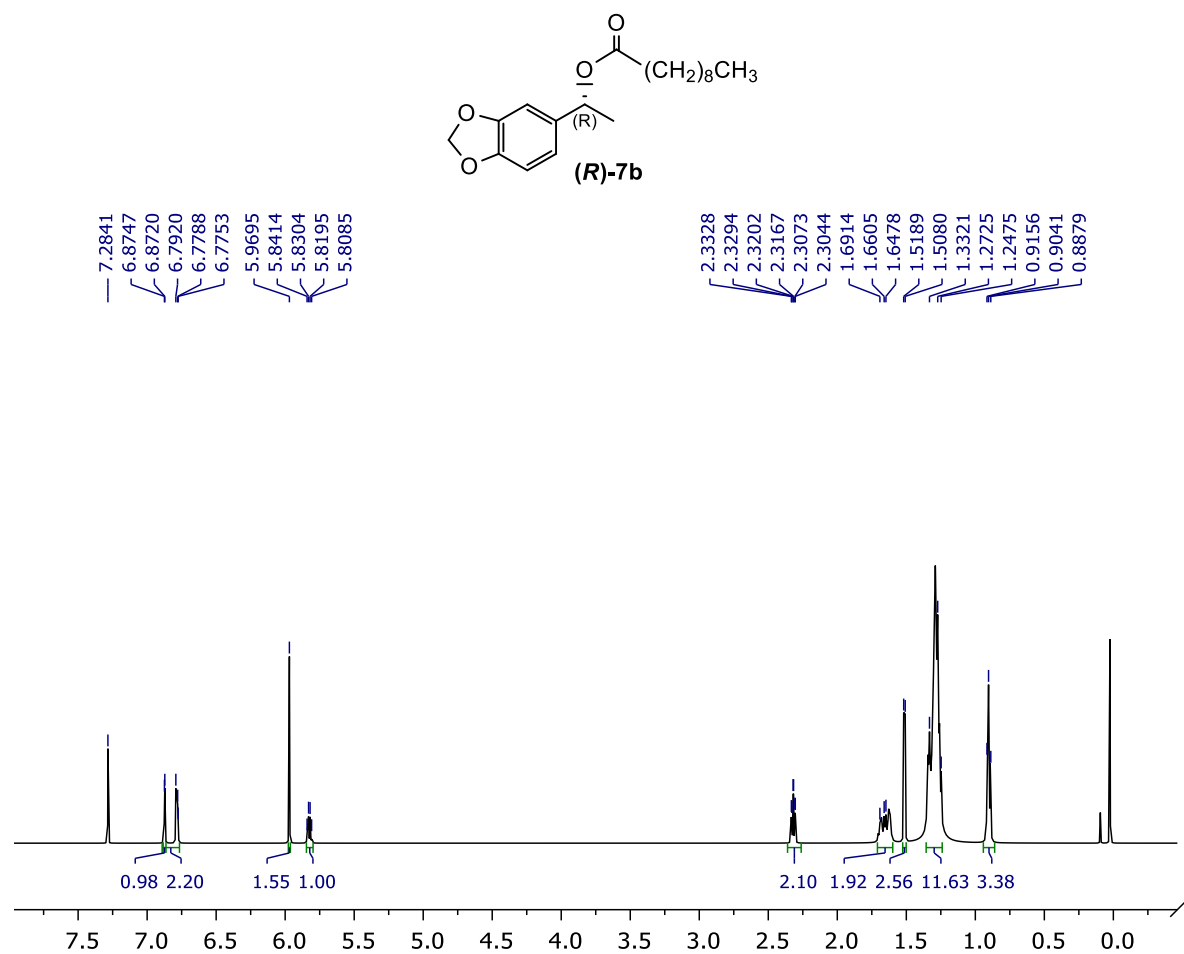


Figura A14. Espectro de RMN de ^{13}C (150.90 MHz, CDCl_3) de (*R*)-decanoato de 1-(1,3-benzodioxol-5-il)etila (**7b**).

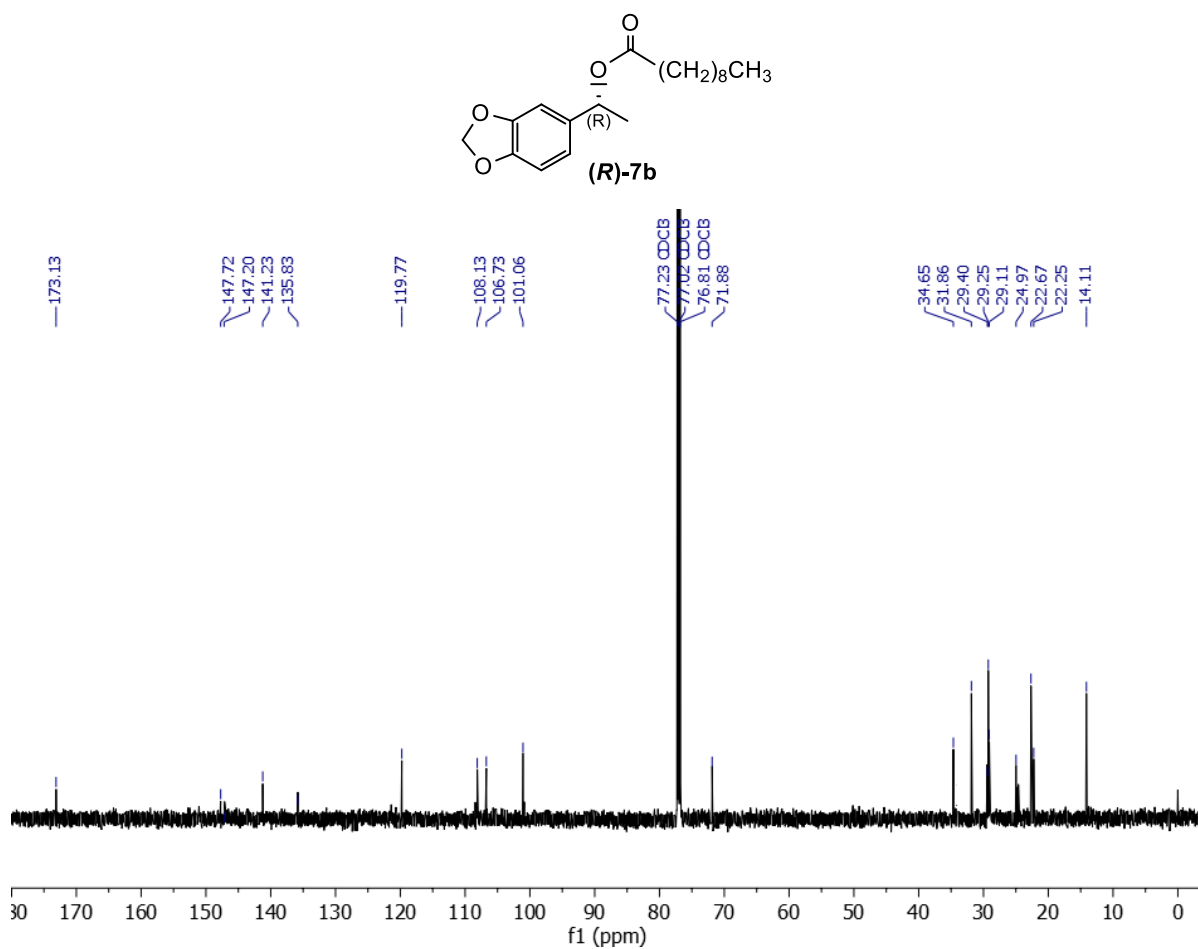


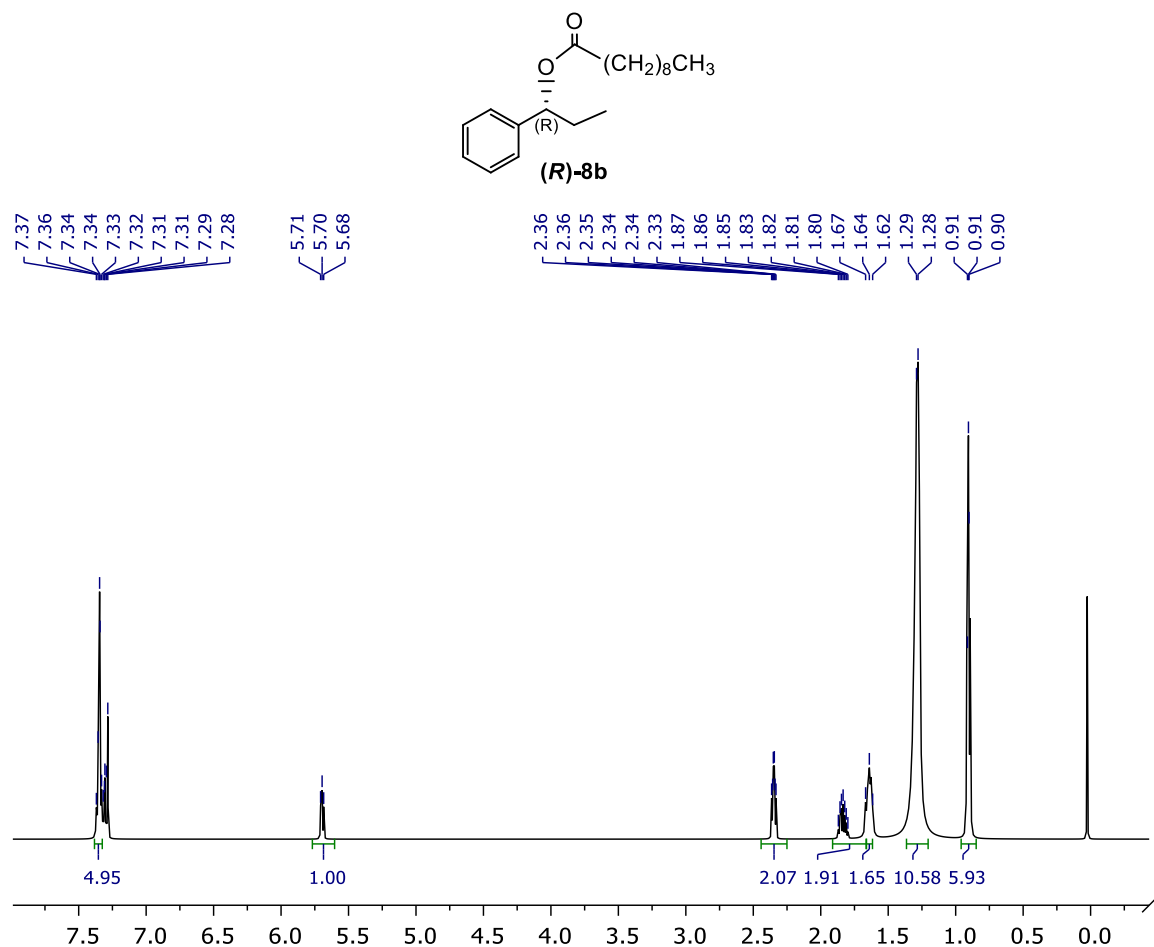
Figura A15. Espectro de RMN de ^1H (600.13 MHz, CDCl_3) de (*R*)-decanoato de 1-fenilpropila (**8b**).

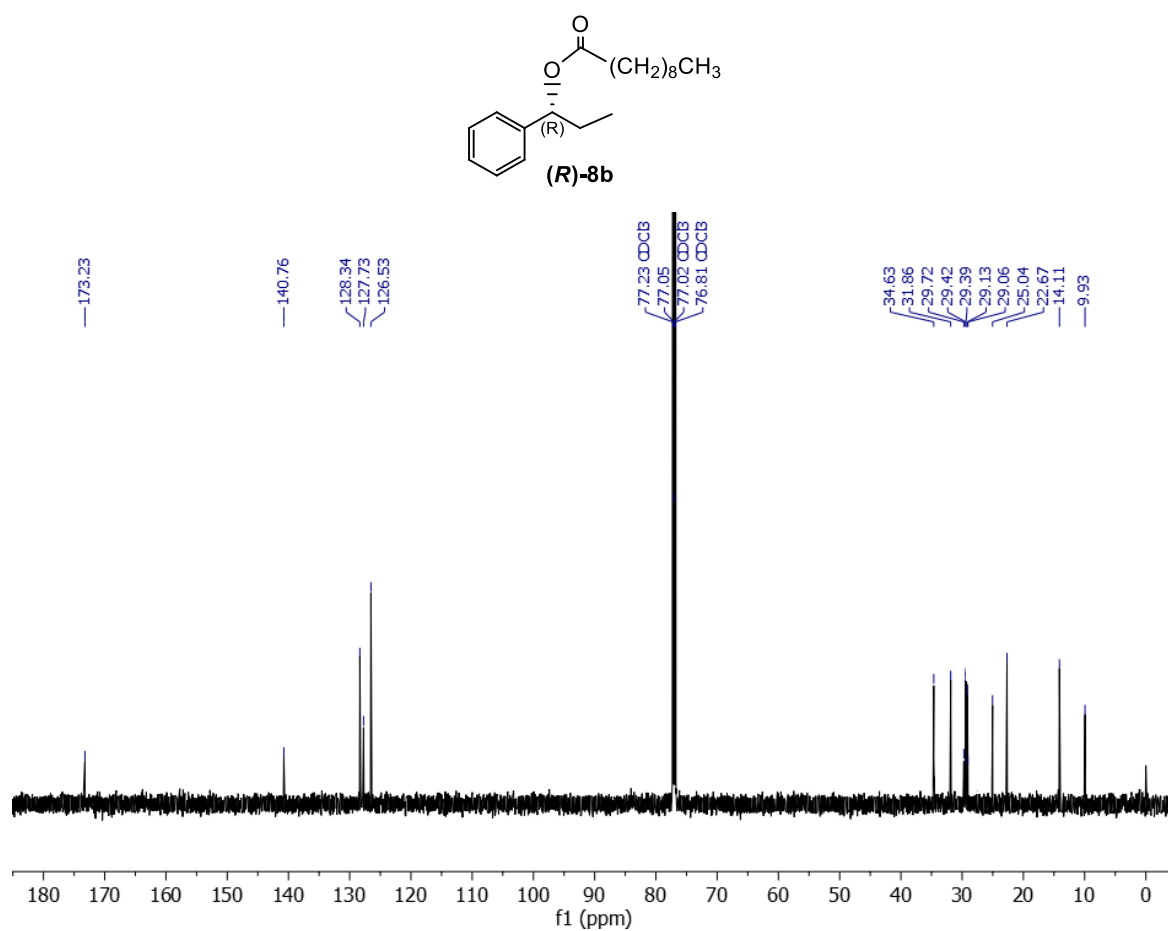
Figura A16. Espectro de RMN de ^{13}C (150.90 MHz, CDCl_3) de (*R*)-decanoato de 1-fenilpropila (**8b**).

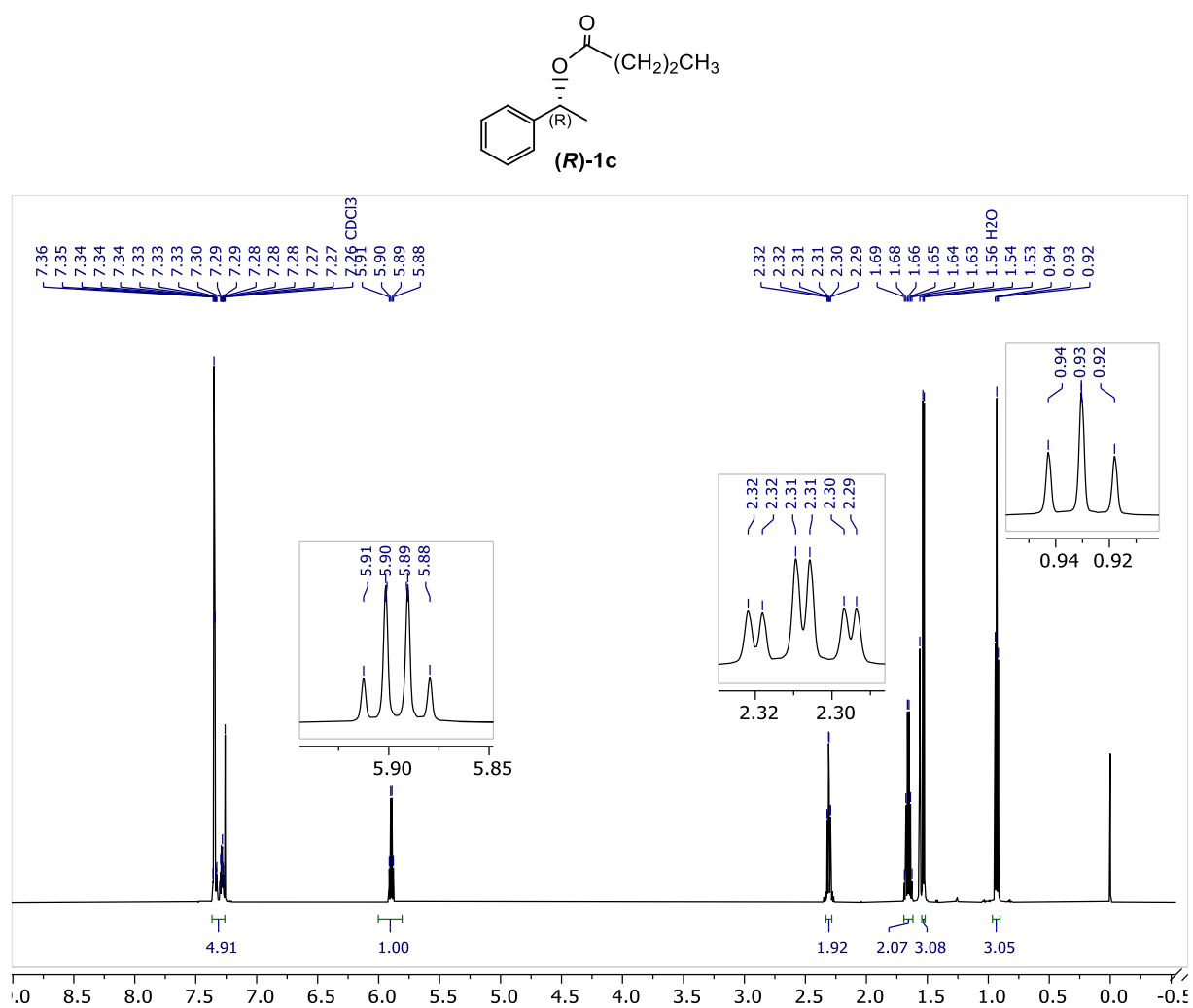
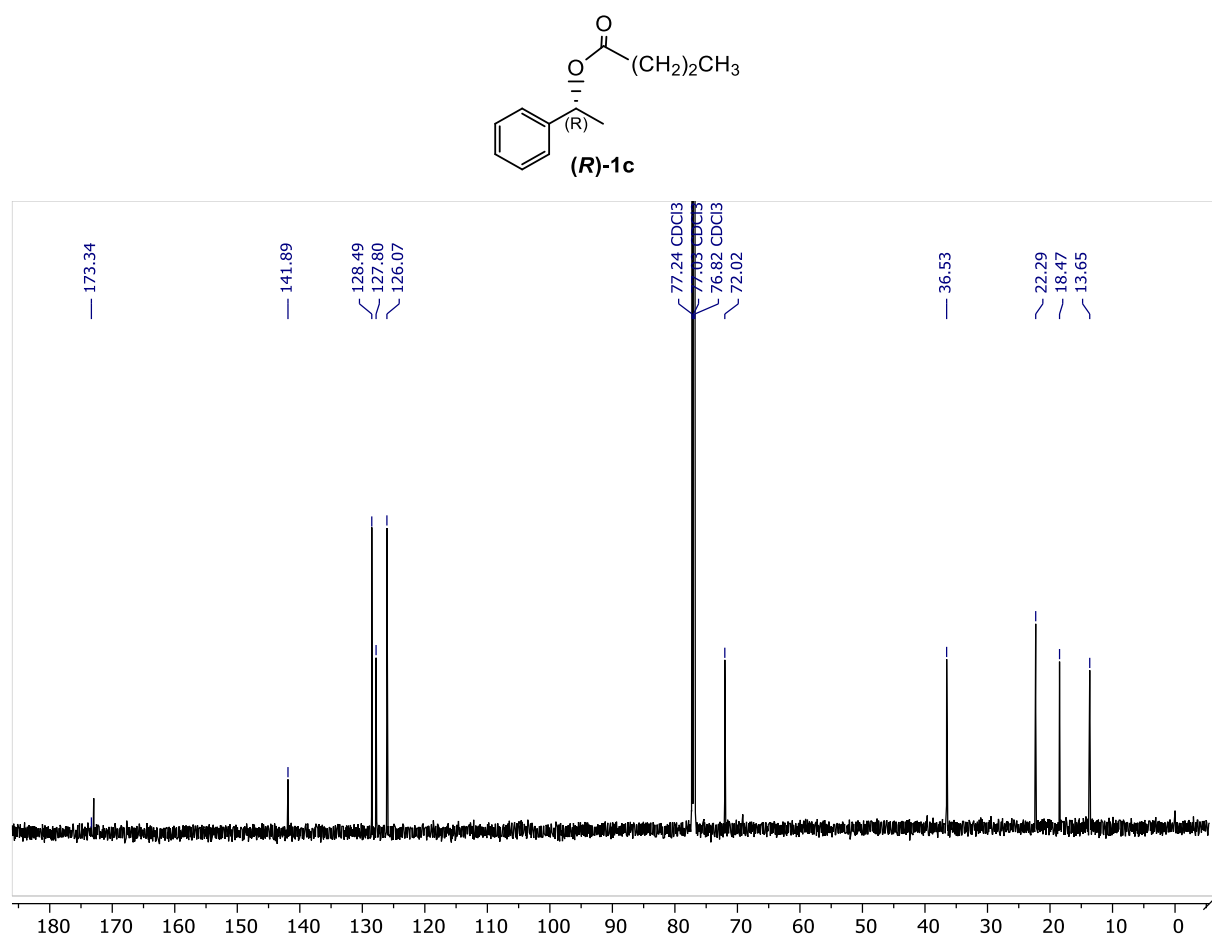
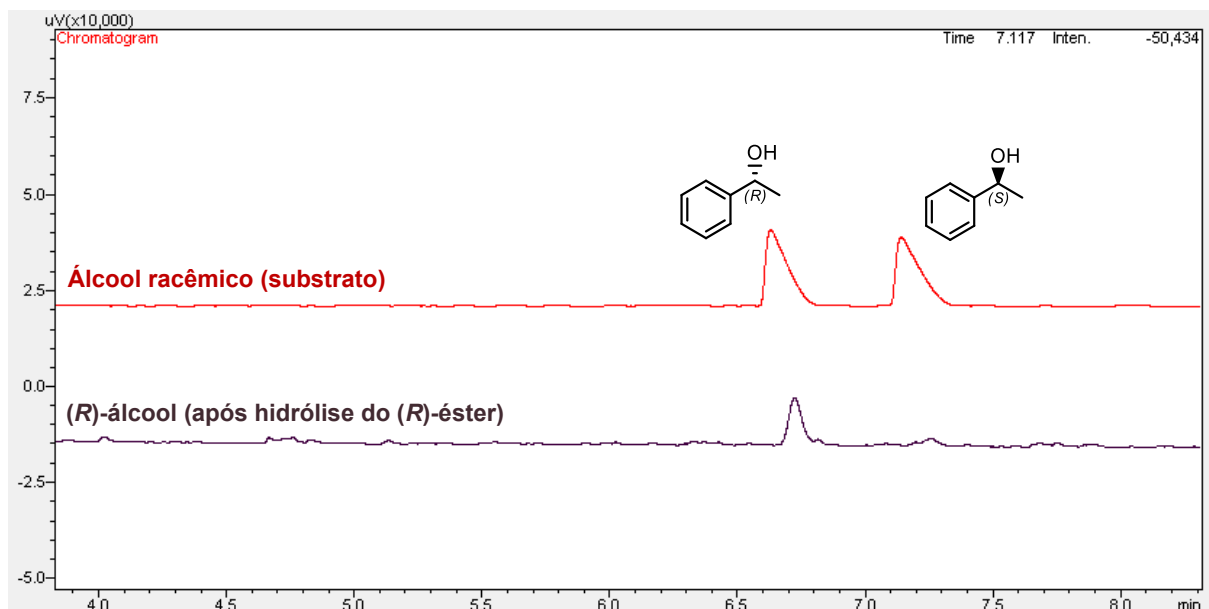
Figura A17. Espectro de RMN de ^1H (600.13 MHz, CDCl_3) de (*R*)-butirato de 1-feniletila (**1c**).

Figura A18. Espectro de RMN de ^{13}C (150.90 MHz, CDCl_3) de (*R*)-butirato de 1-feniletila (**1c**).

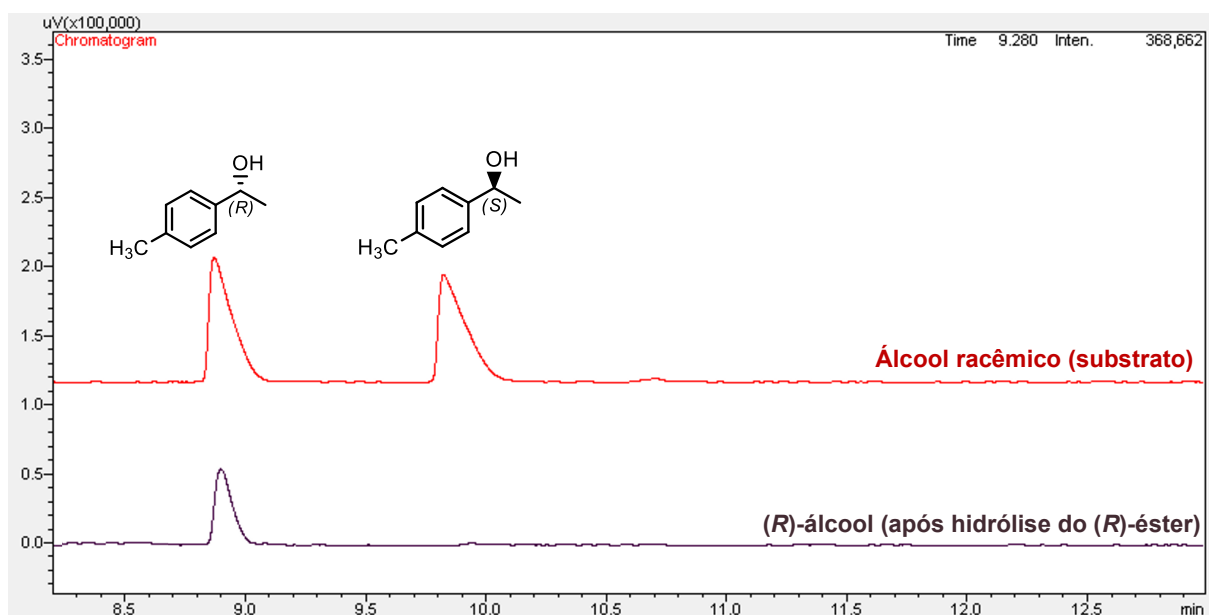
6.1.2 Cromatogramas de CG-DIC quiral dos (*R*)-produtos das reações de RCD após hidrólise

Figura A19. Comparação dos cromatogramas de *rac*-1-feniletanol (*rac*-1a) e (*R*)-1a (obtido após hidrólise do éster (*R*)-1b, ee = 98%).



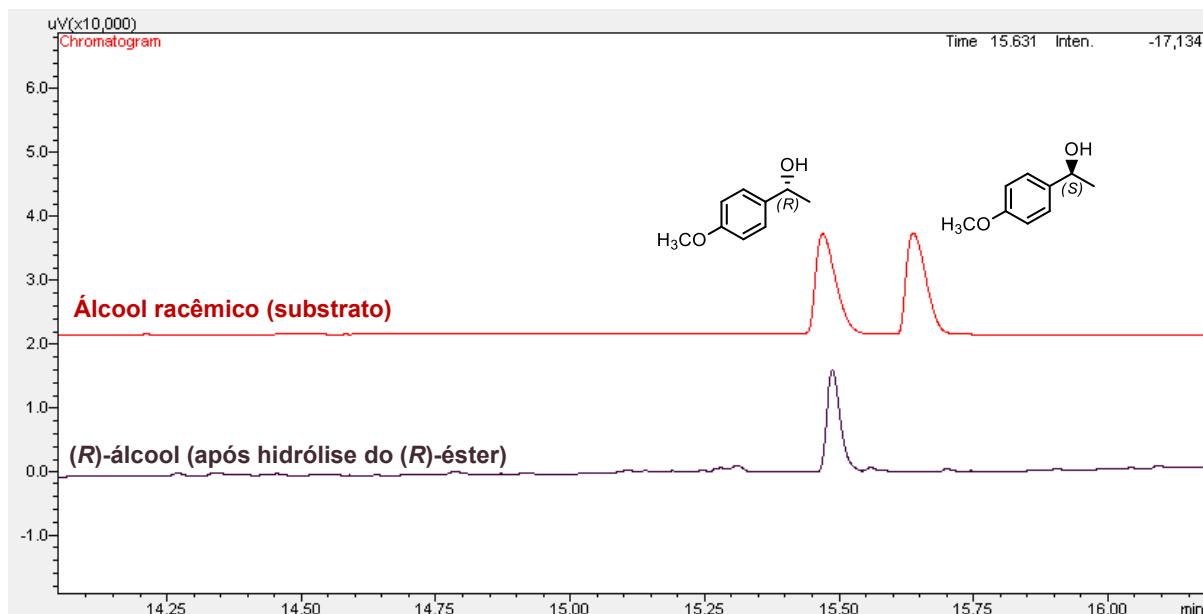
Legenda: CG-DIC com coluna quiral CP-Chirasil-DEX CB, $t_{R-(R)} = 6.75$ min e $t_{R-(S)} = 7.33$ min.

Figura A20. Comparação dos cromatogramas de *rac*-1-(4-metilfenil)-etanol (*rac*-2a) e (*R*)-2a (obtido após hidrólise do éster (*R*)-2b, ee > 99%).



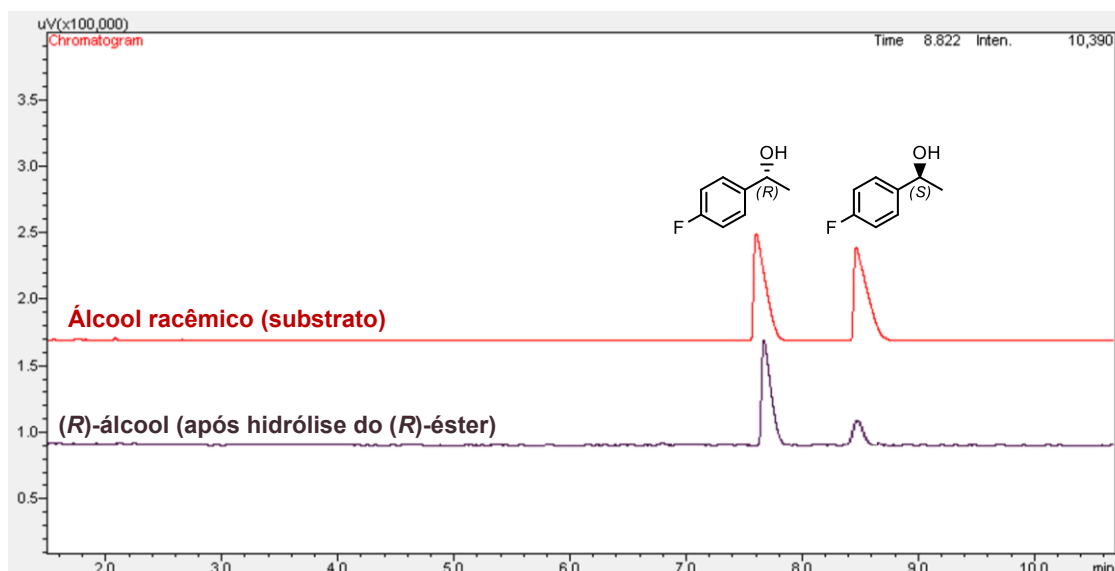
Legenda: CG-DIC com coluna quiral CP-Chirasil-DEX CB, $t_{R-(R)} = 8.92$ min e $t_{R-(S)} = 9.95$ min, ee > 99%.

Figura A21. Comparação dos cromatogramas de *rac*-1-(4-metóxfenil)etanol (*rac*-**3a**) e (*R*)-**3a** (obtido após hidrólise de (*R*)-**3b**, ee > 99%).



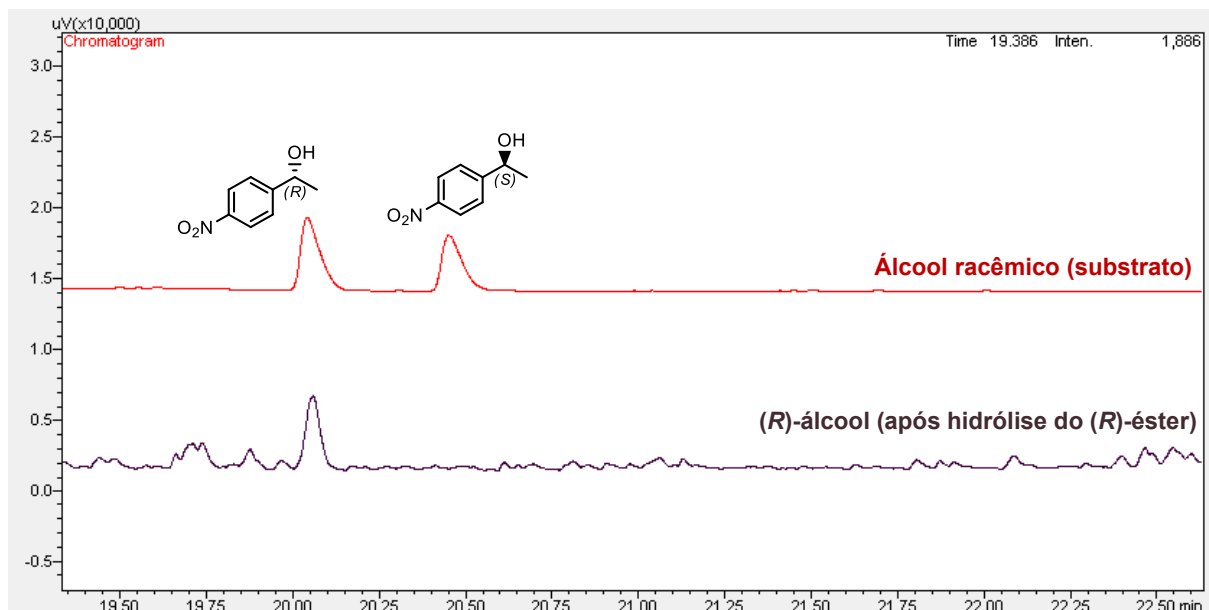
Legenda: CG-DIC com coluna quiral (CP-Chirasil DEX CB), $t_{R-(R)} = 15.45$ min e $t_{R-(S)} = 15.68$ min.

Figura A22. Comparação dos cromatogramas de *rac*-1-(4-fluorofenil)etanol (*rac*-**4a**) e (*R*)-**4a** (obtido após hidrólise de (*R*)-**4b**, ee = 75%).



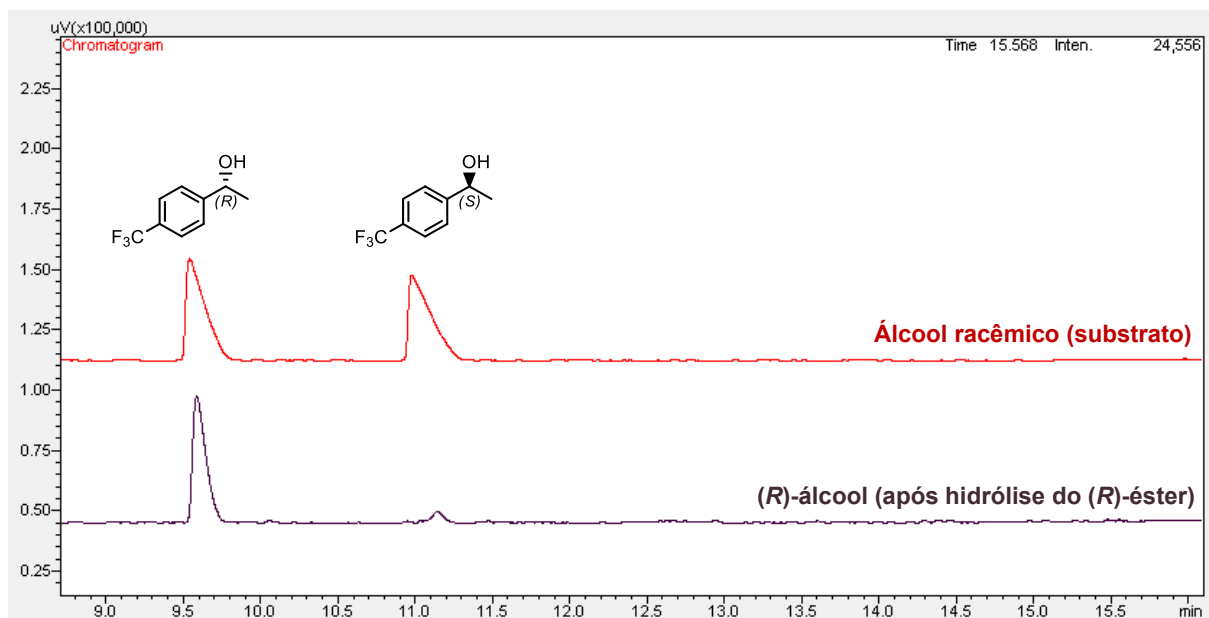
Legenda: CG-DIC com coluna quiral (CP-Chirasil DEX CB), $t_{R-(R)} = 7.78$ min e $t_{R-(S)} = 8.61$ min.

Figura A23. Comparação dos cromatogramas de *rac*-1-(4-nitrofenil)etanol (*rac*-5a) e (*R*)-5a (obtido após hidrólise de (*R*)-5b, ee >99%).



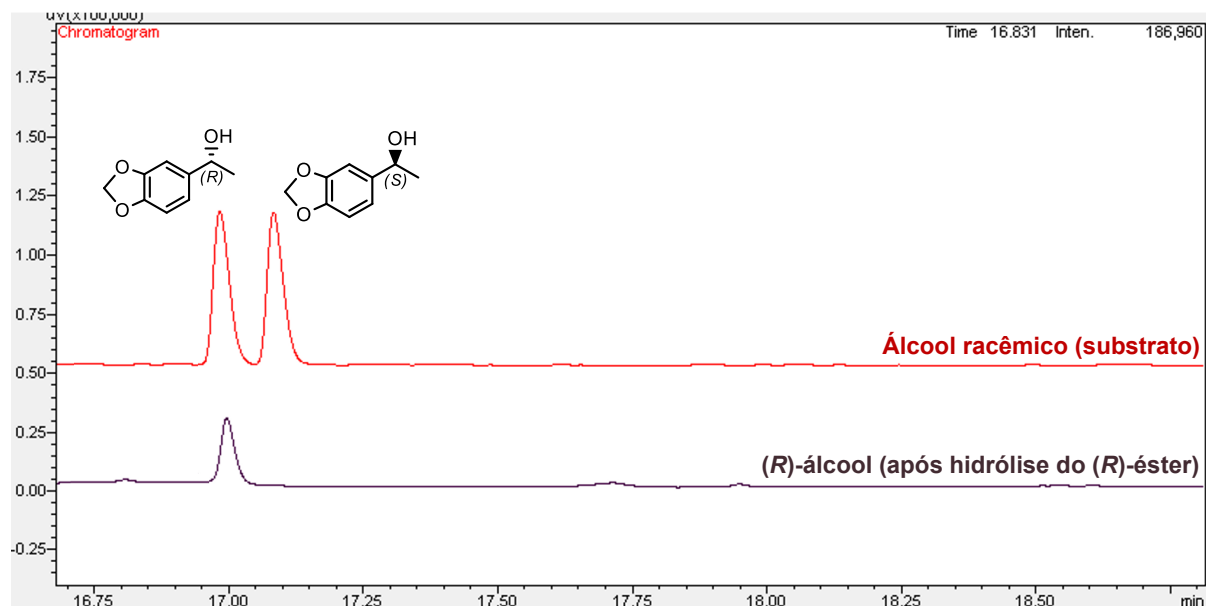
Legenda: CG-DIC com coluna quiral (CP-Chirasil DEX CB), $t_{R-(R)} = 20.06$ min e $t_{R-(S)} = 20.48$ min.

Figura A24. Comparação dos cromatogramas de *rac*-1-[4-(trifluorometil)fenil]etanol (*rac*-6a) e (*R*)-6a (obtido após hidrólise de (*R*)-6b, ee = 96%).



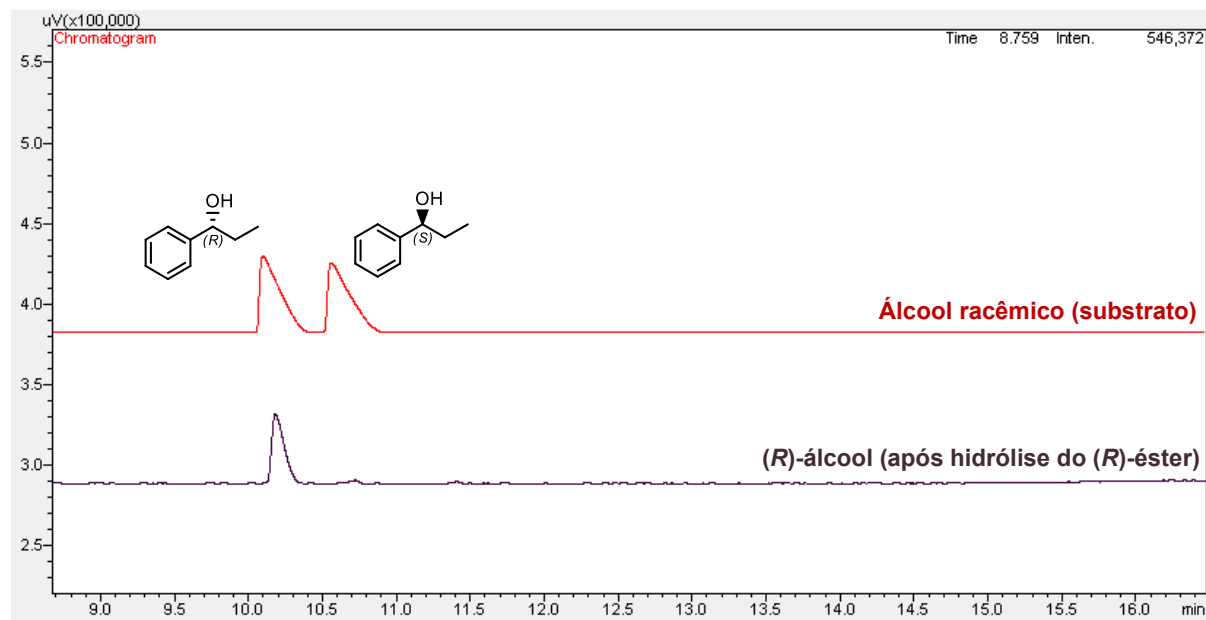
Legenda: CG-DIC com coluna quiral (CP-Chirasil DEX CB), $t_{R-(R)} = 9.67$ min e $t_{R-(S)} = 11.19$ min.

Figura A25. Comparação dos cromatogramas de *rac*-1-(1,3-benzodioxol-5-il)etanol (*rac*-7a) e (*R*)-7a (obtido após hidrólise de (*R*)-7b, ee >99%).



Legenda: CG-DIC com coluna quiral (CP-Chirasil DEX CB), $t_{R-(R)} = 16.98$ min e $t_{R-(S)} = 17.05$ min.

Figura A26. Comparação dos cromatogramas de *rac*-1-fenilpropanol (*rac*-8a) e (*R*)-8a (obtido após hidrólise de (*R*)-8b, ee = 98%).



Legenda: CG-DIC com coluna quiral (CP-Chirasil DEX CB), $t_{R-(R)} = 10.23$ min e $t_{R-(S)} = 10.67$ min.

6.2 Espectros e cromatogramas dos compostos referentes ao Capítulo 2

6.2.1 Espectros de CG-EM, IV e RMN de ^1H e ^{13}C dos álcoois terciários racêmicos e seus ésteres

Figura A27. Espectro de massas (IE, 70 eV) de 1-Metil-2,3-dihidro-1H-inden-1-ol (*rac-9a*).

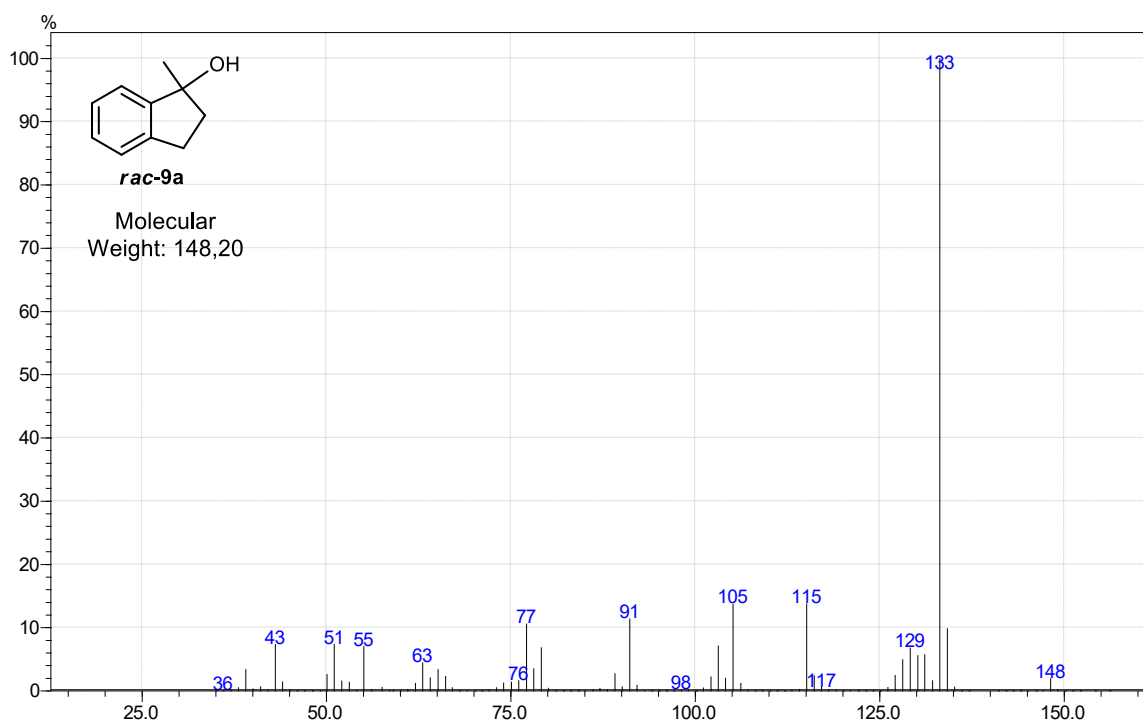


Figura A28. Espectro no IV (ATR) de 1-Metil-2,3-di-hidro-1H-inden-1-ol (*rac-9a*).

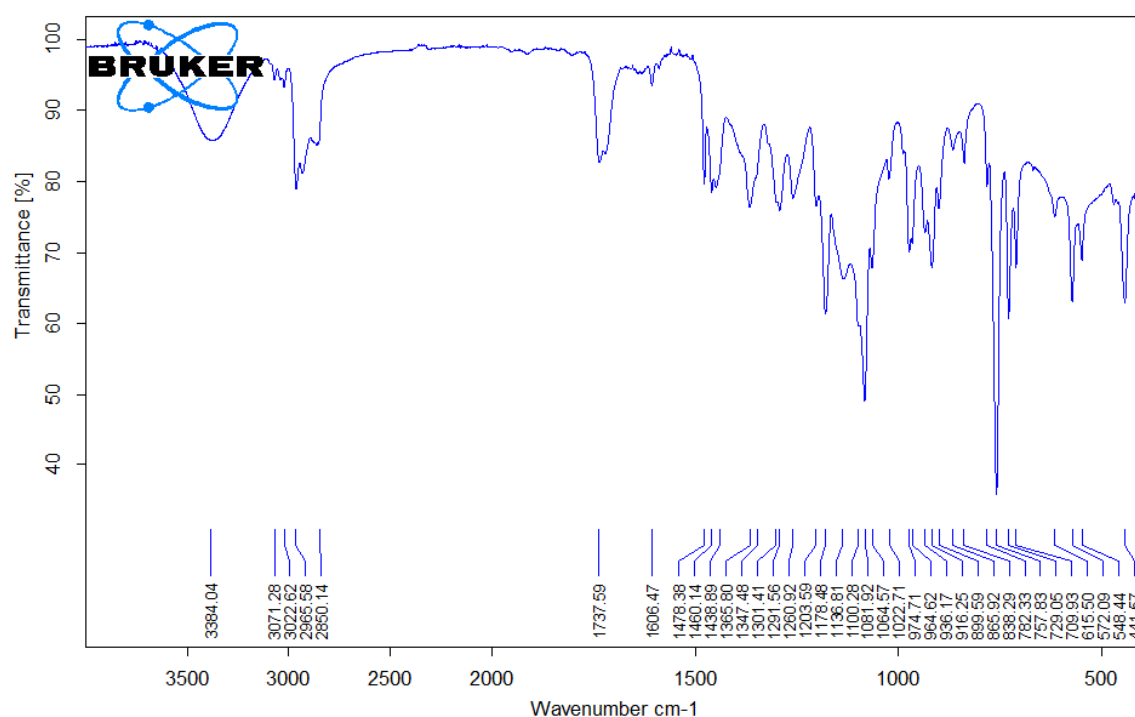


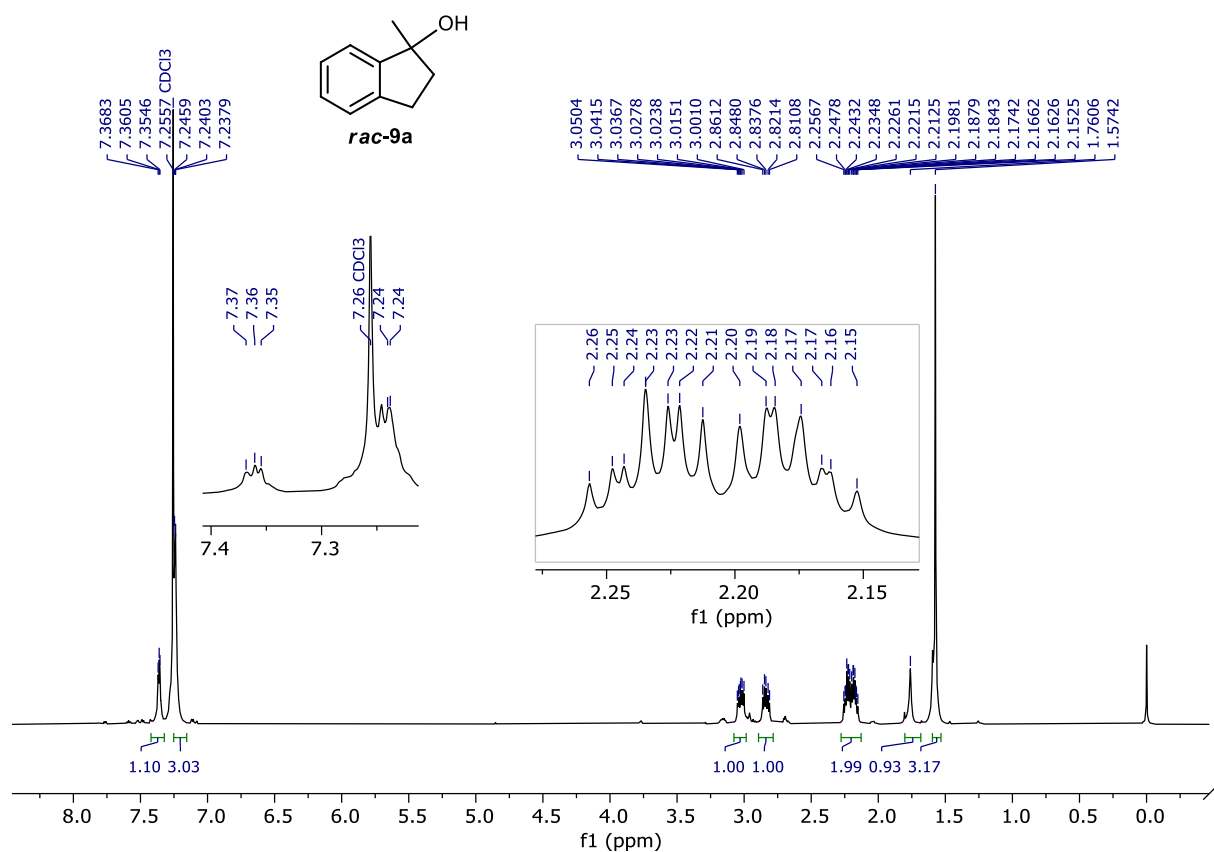
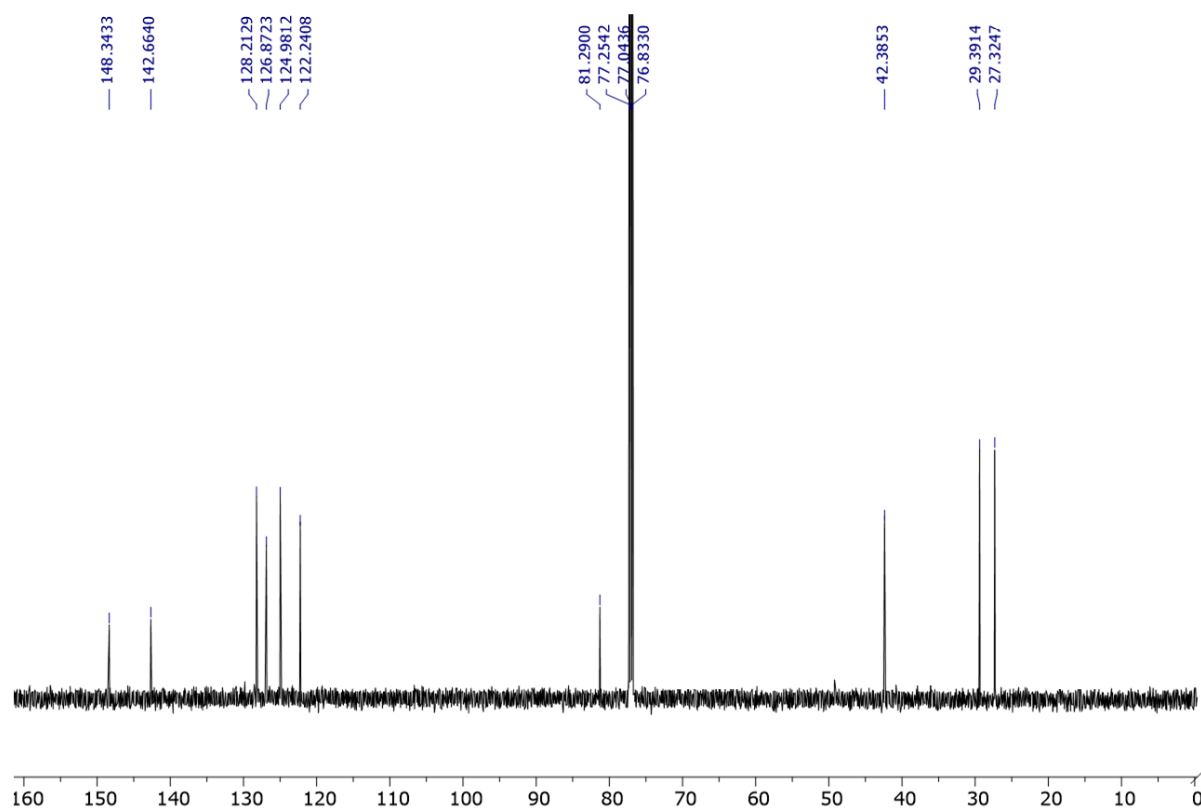
Figura A29. Espectro de RMN de ^1H (600 MHz, CDCl_3) de 1-Metil-2,3-di-hidro-1H-inden-1-ol (*rac*-9a).**Figura A30.** Espectro de RMN de ^{13}C (150 MHz, CDCl_3) de 1-Metil-2,3-di-hidro-1H-inden-1-ol (*rac*-9a).

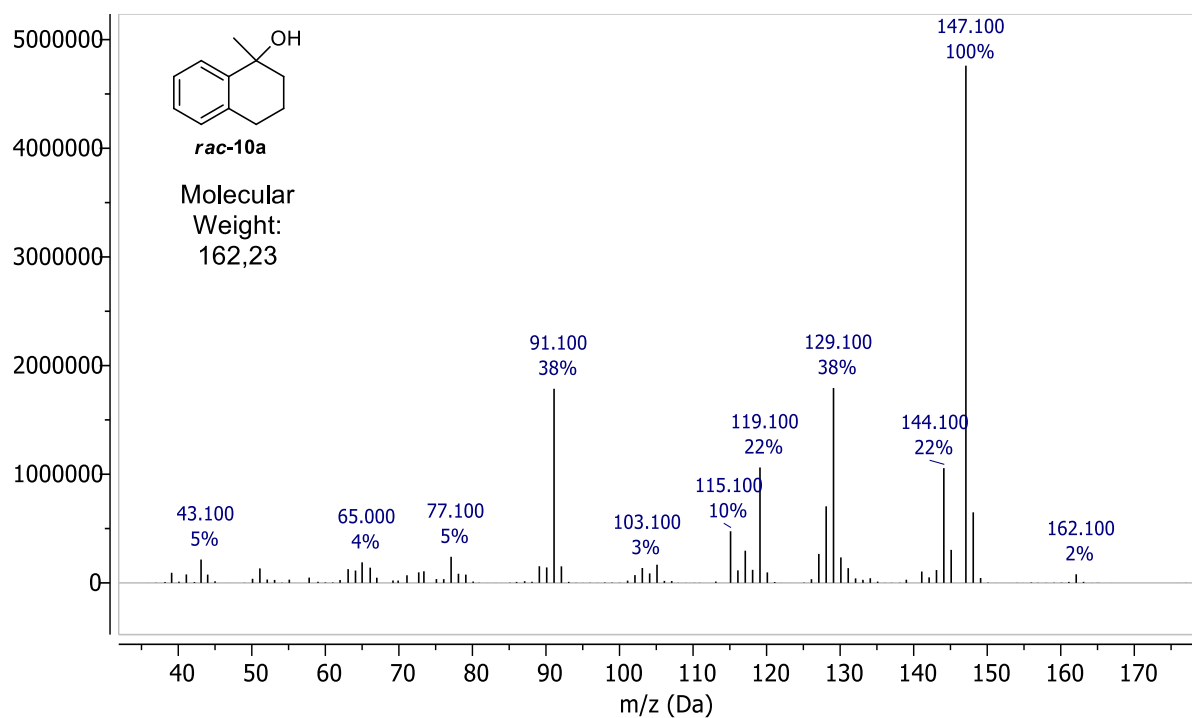
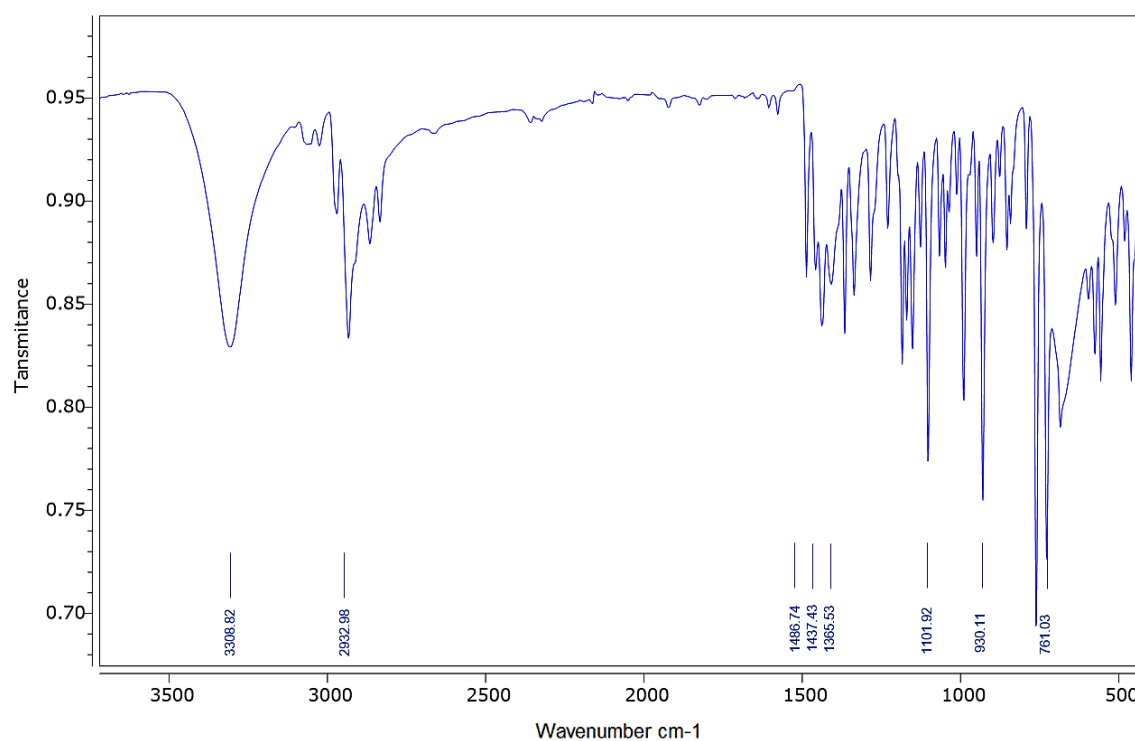
Figura A31. Espectro de massas (IE, 70 eV) de 1-Metil-1,2,3,4-tetrahidronaftalen-1-ol (*rac-10a*)**Figura A32.** Espectro no IV (ATR) de 1-Metil-1,2,3,4-tetrahidronaftalen-1-ol (*rac-10a*)

Figura A33. Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) de 1-Metil-1,2,3,4-tetrahidronaftalen-1-ol (*rac*-10a)

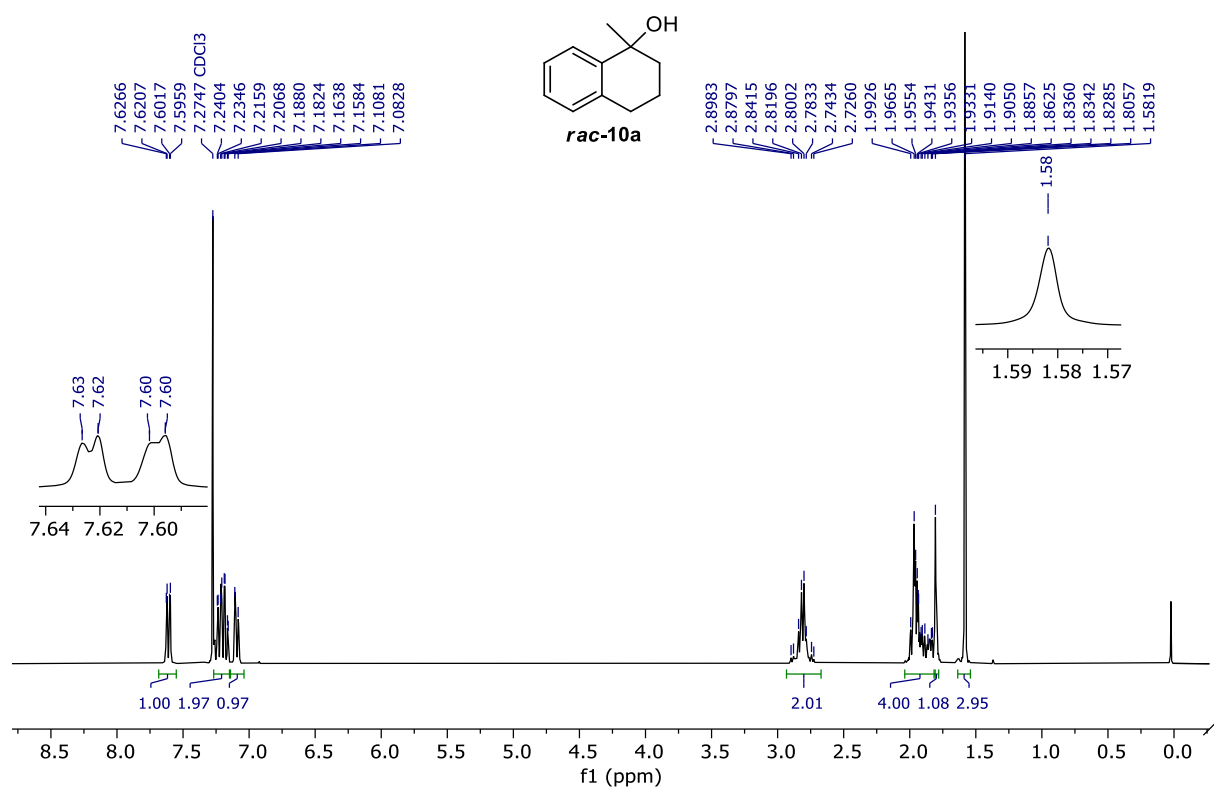


Figura A34. Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) de 1-Metil-1,2,3,4-tetrahidronaftalen-1-ol (*rac*-10a)

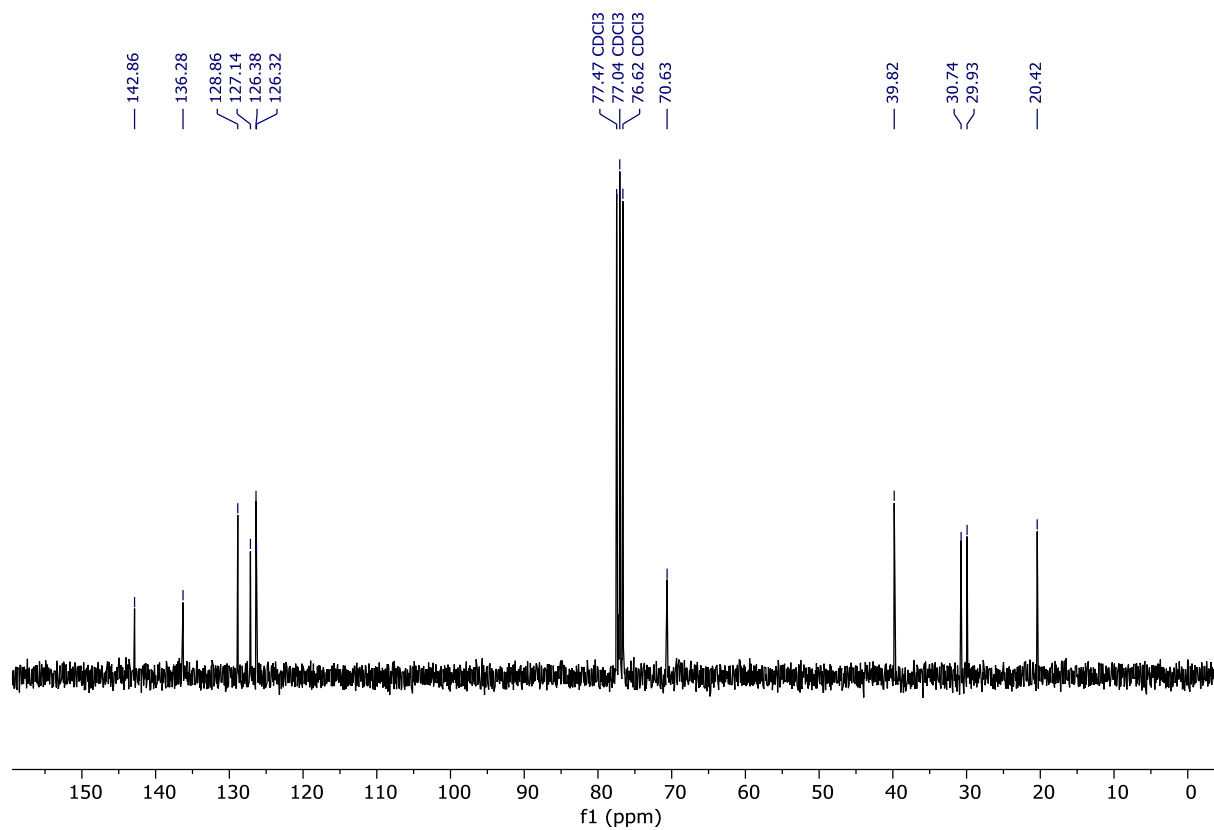


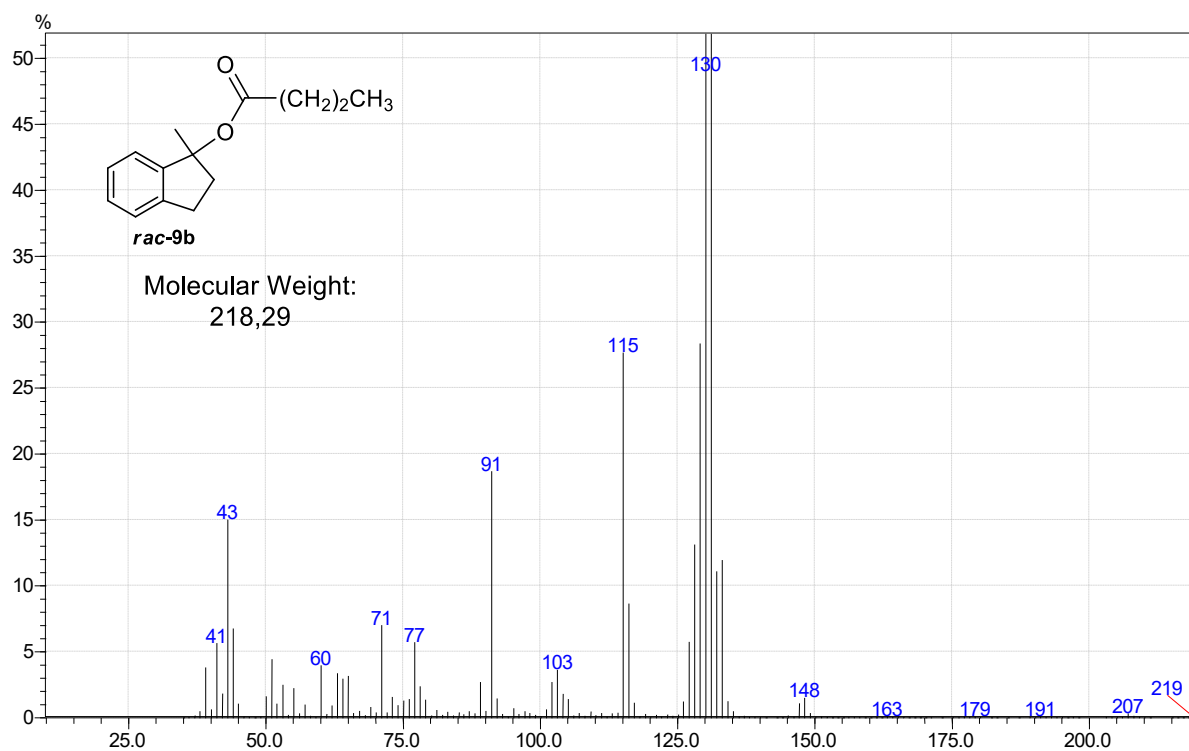
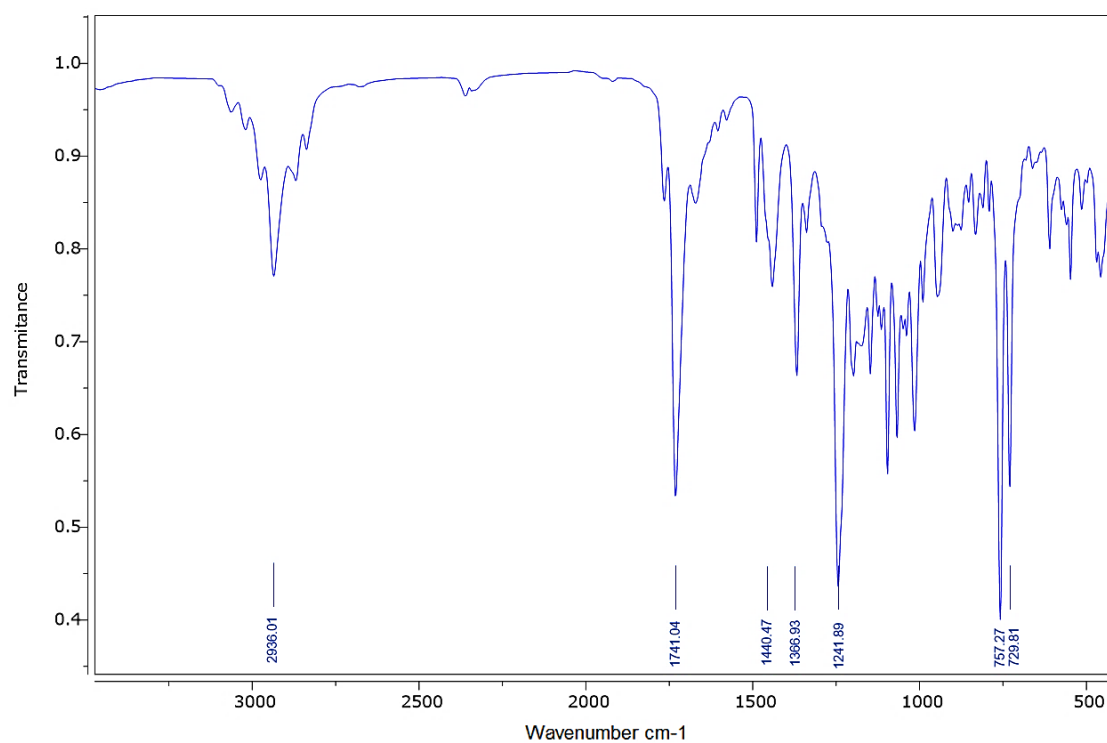
Figura A35. Espectro de massas (IE, 70 eV) de Butirato de 1-Metil-2,3-di-hidro-1H-inden-1-ila (*rac-9b*).**Figura A36.** Espectro no IV (ATR) de Butirato de 1-Metil-2,3-dihidro-1H-inden-1-ila (*rac-9b*).

Figura A37. Espectro de RMN de ^1H (600 MHz, CDCl_3) de Butirato de 1-Metil-2,3-di-hidro-1H-inden-1-ila (*rac-9b*).

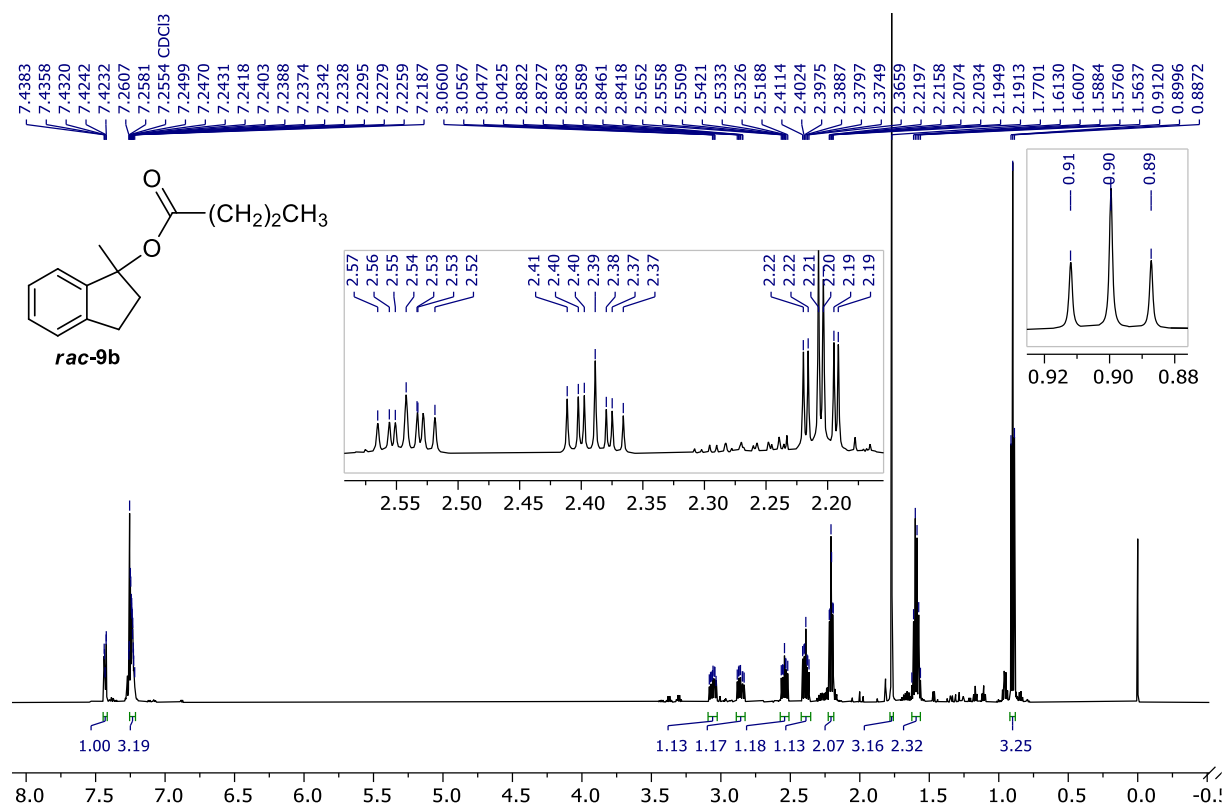


Figura A38. Espectro de RMN de ^{13}C (150 MHz, CDCl_3) de butirato de 1-Metil-2,3-di-hidro-1H-inden-1-ila (*rac-9b*).

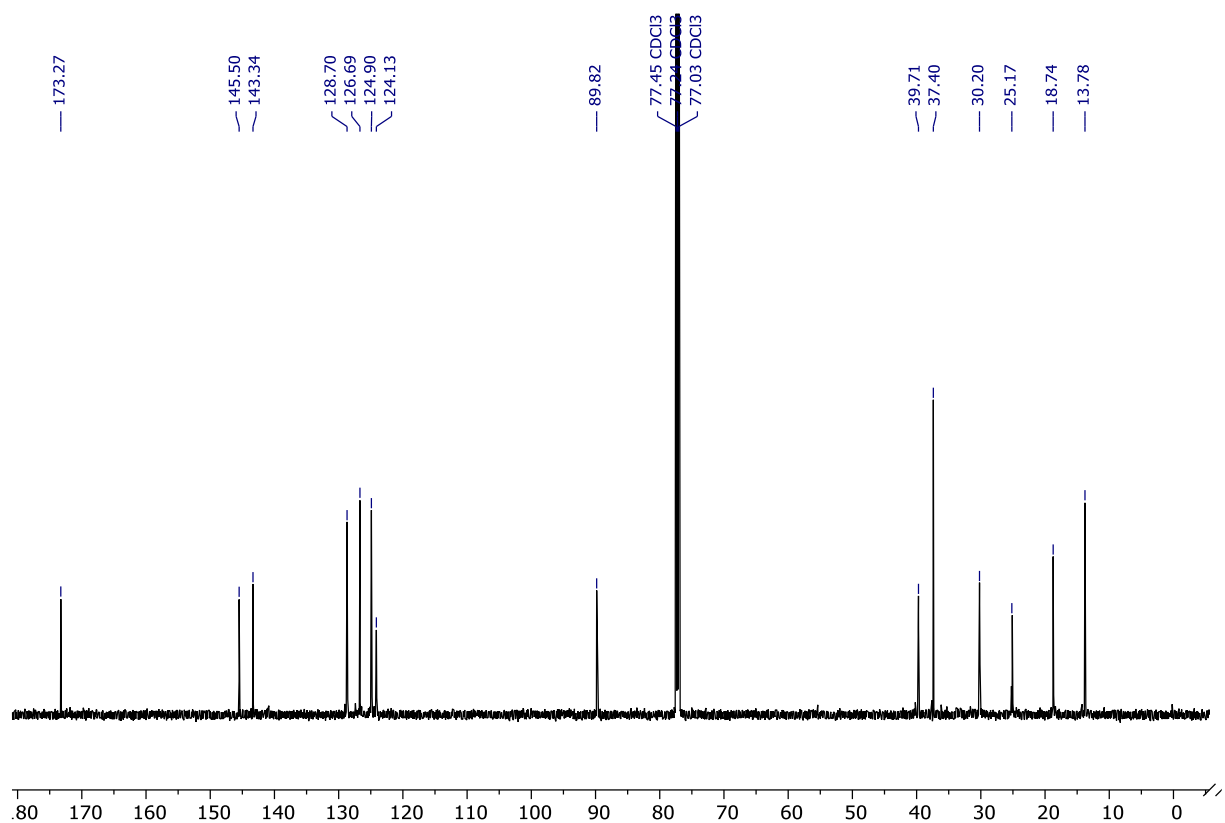


Figura A39. Espectro de massas (IE, 70 eV) de Acetato de 1-Metil-1,2,3,4-tetrahidronaftalen-1-ila (*rac*-10b).

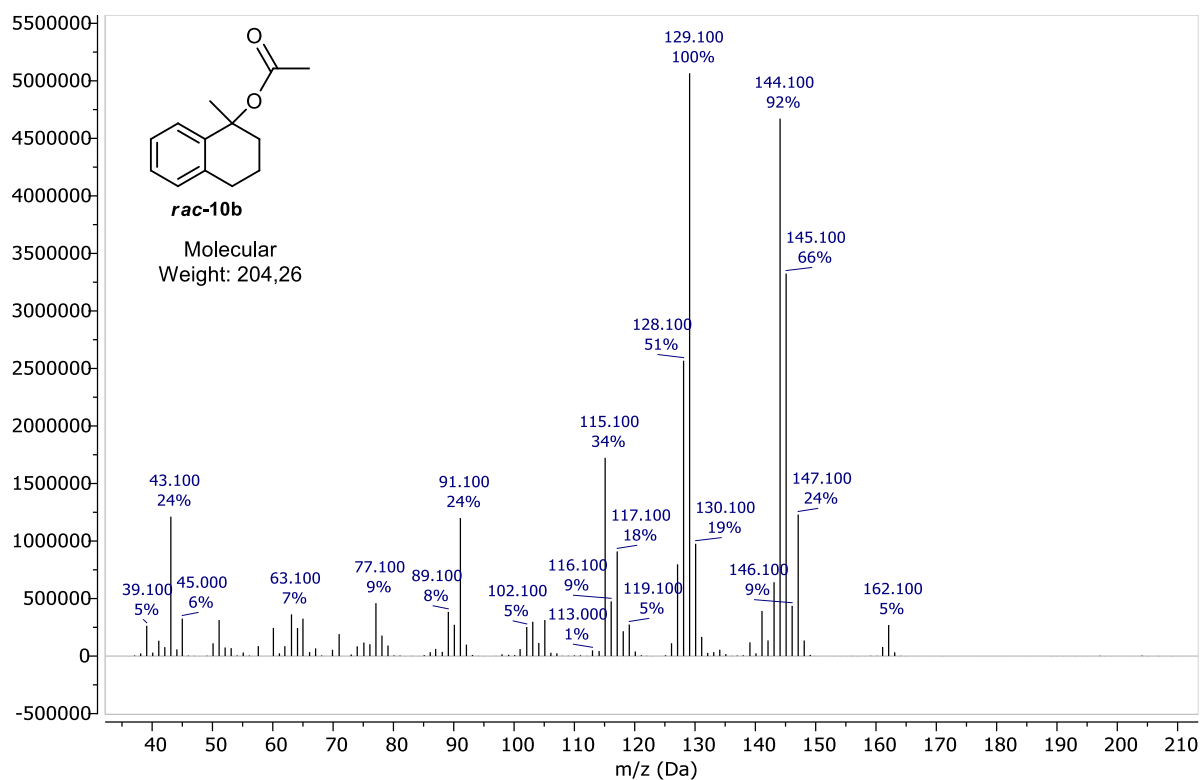


Figura A40. Espectro no IV (ATR) de Acetato de 1-Metil-1,2,3,4-tetrahidronaftalen-1-ila (*rac*-10b).

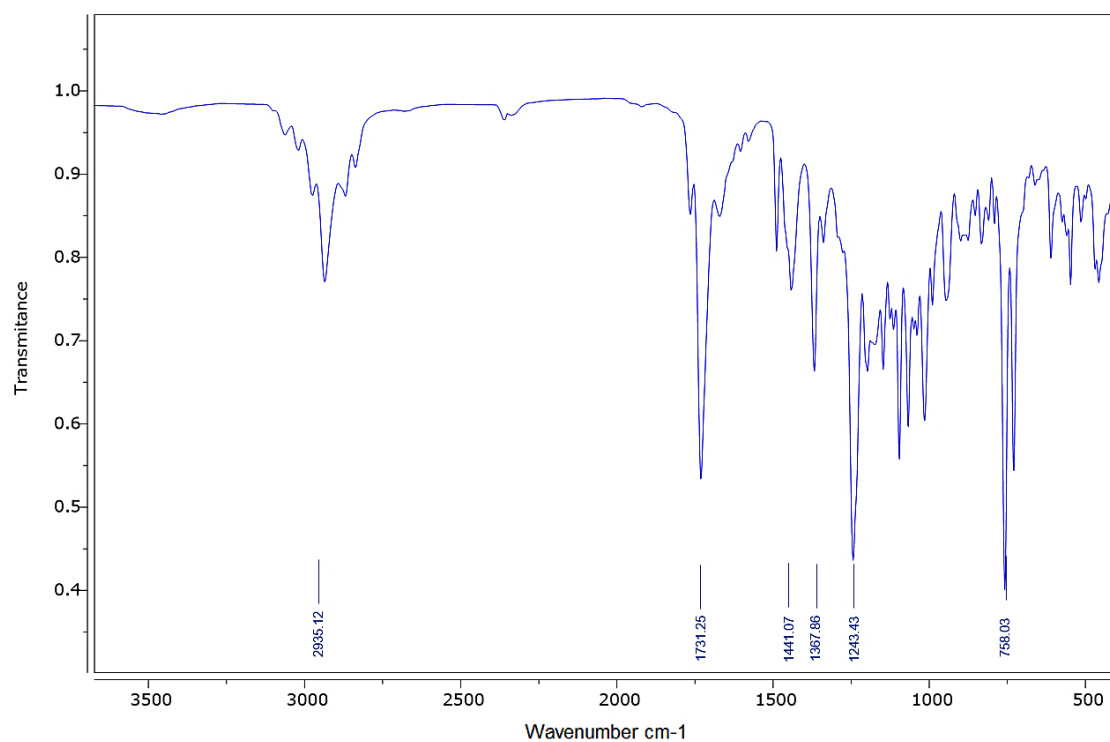


Figura A41. Espectro de RMN de ^1H (600 MHz, CDCl_3) de Acetato de 1-Metil-1,2,3,4-tetrahidronaftalen-1-ila (*rac*-10b).

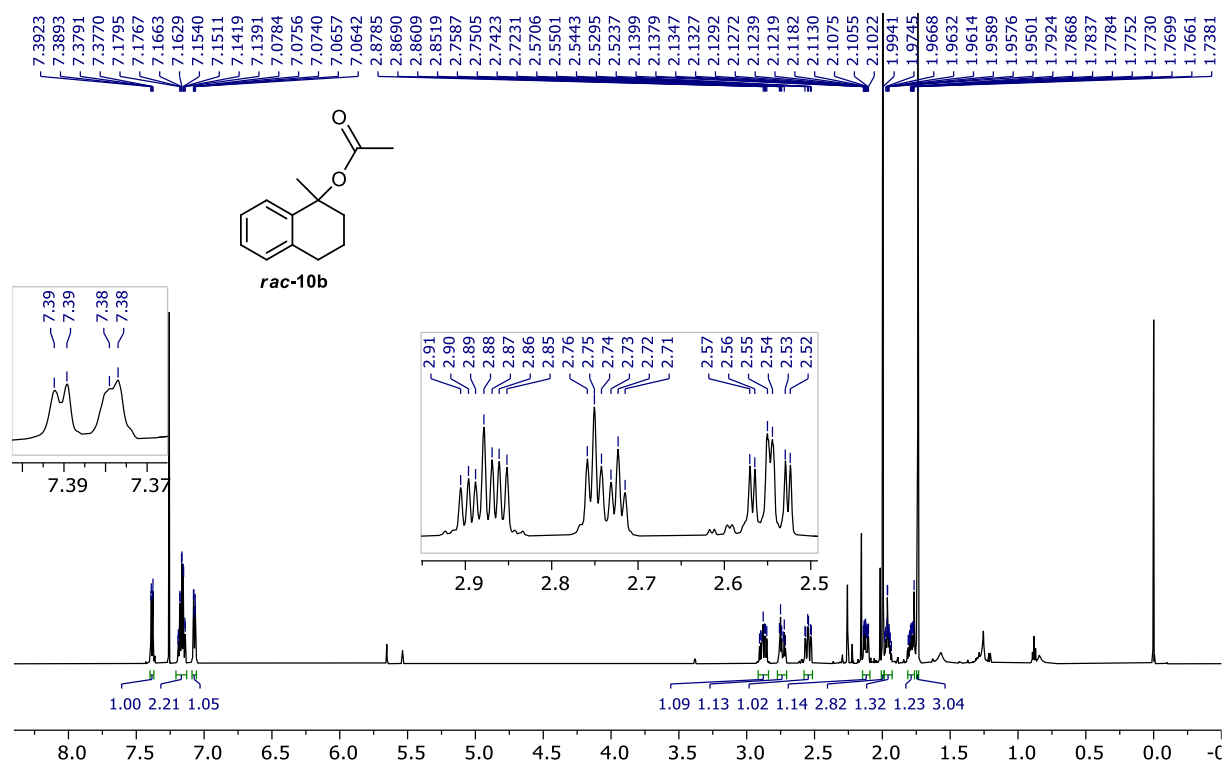


Figura A42. Espectro de RMN de ^{13}C (150 MHz, CDCl_3) de Acetato de 1-Metil-1,2,3,4-tetrahidronaftalen-1-ila (*rac*-10b).

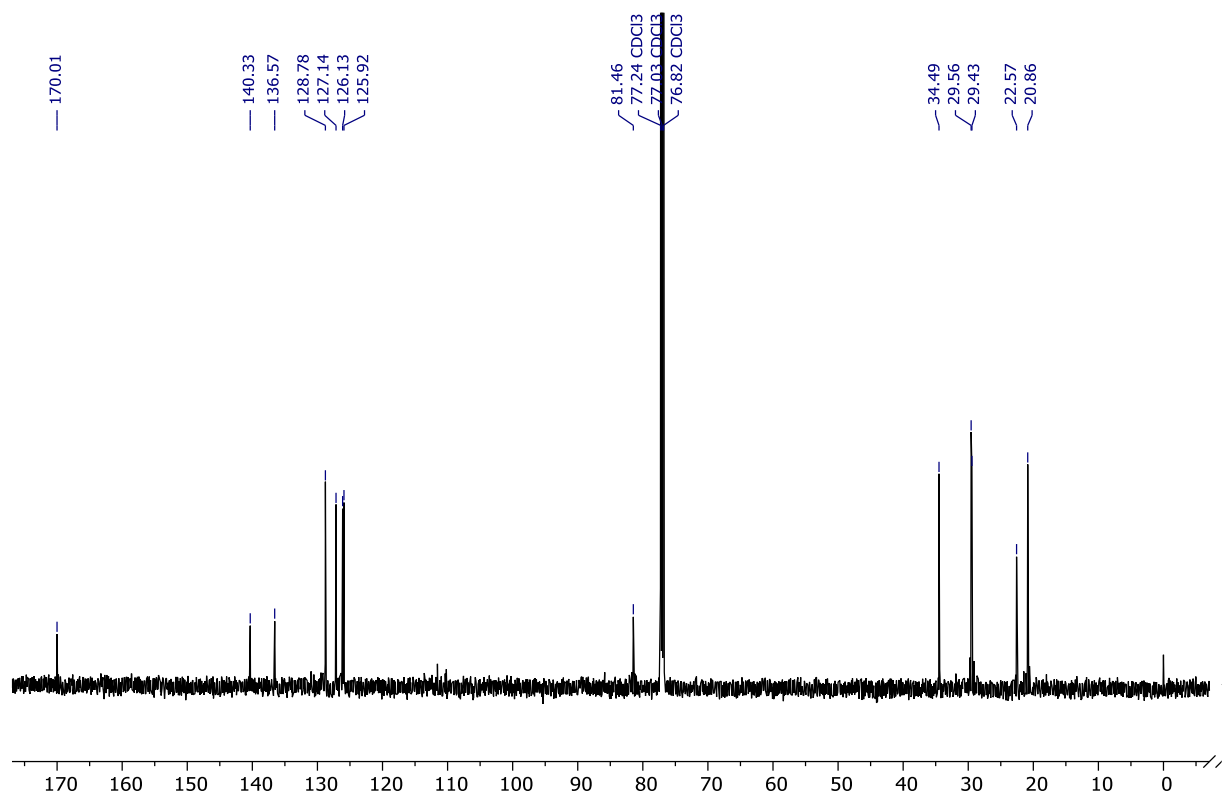


Figura A43. Espectro de massas (IE, 70 eV) de Butirato de 1-Metil-1,2,3,4-tetrahidronaftalen-1-ila (*rac*-10c).

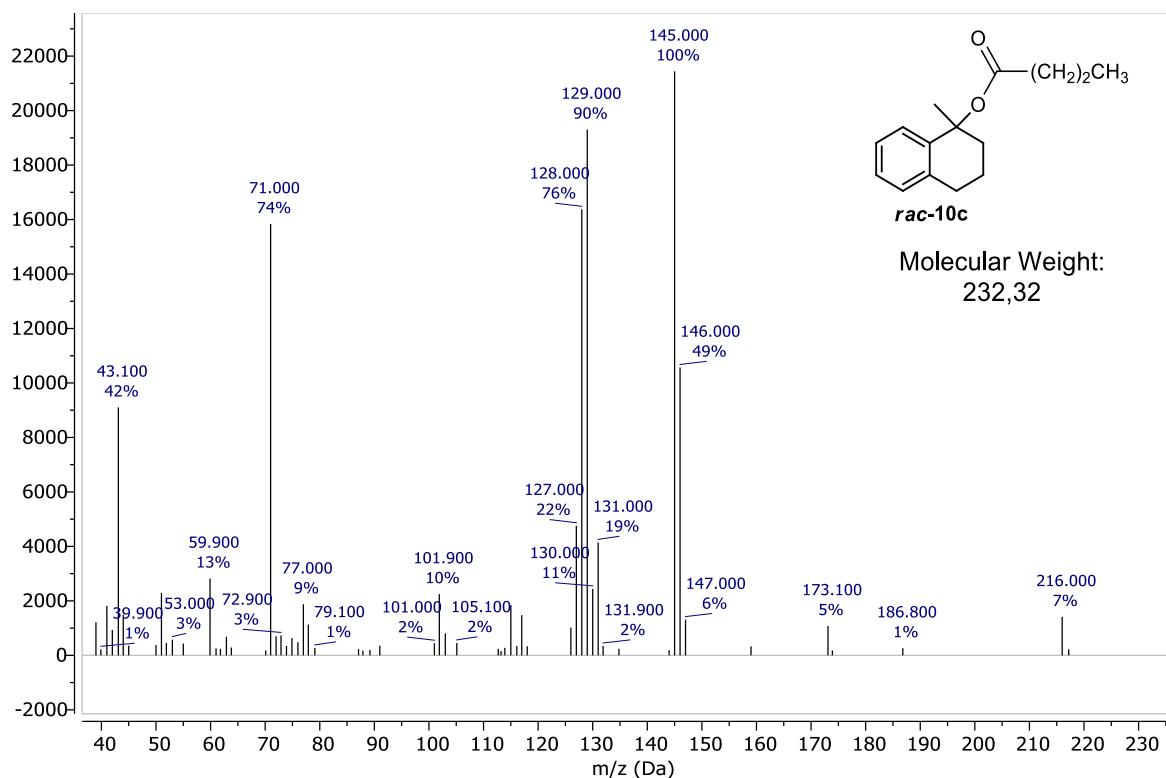


Figura A44. Espectro no IV (ATR) de Butirato de 1-Metil-1,2,3,4-tetrahidronaftalen-1-ila (*rac*-10c).

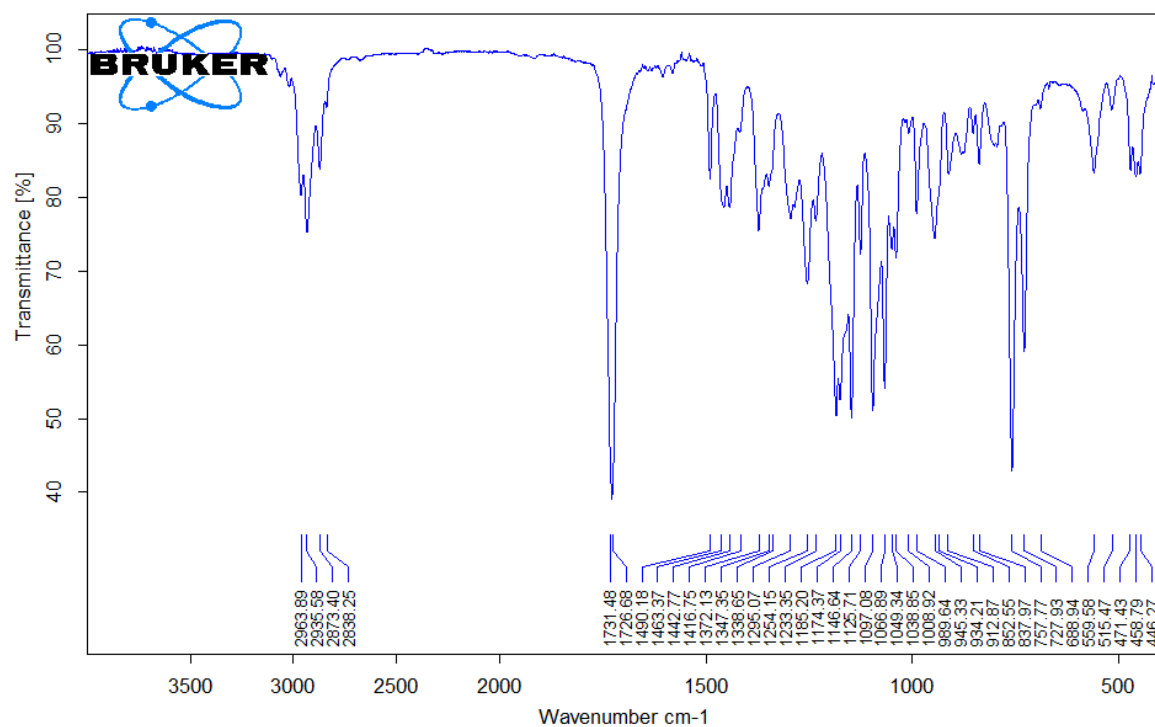


Figura A45. Espectro de RMN de ^1H (600 MHz, CDCl_3) de butirato de 1-Metil-1,2,3,4-tetrahidronaftalen-1-ila (*rac*-10c).

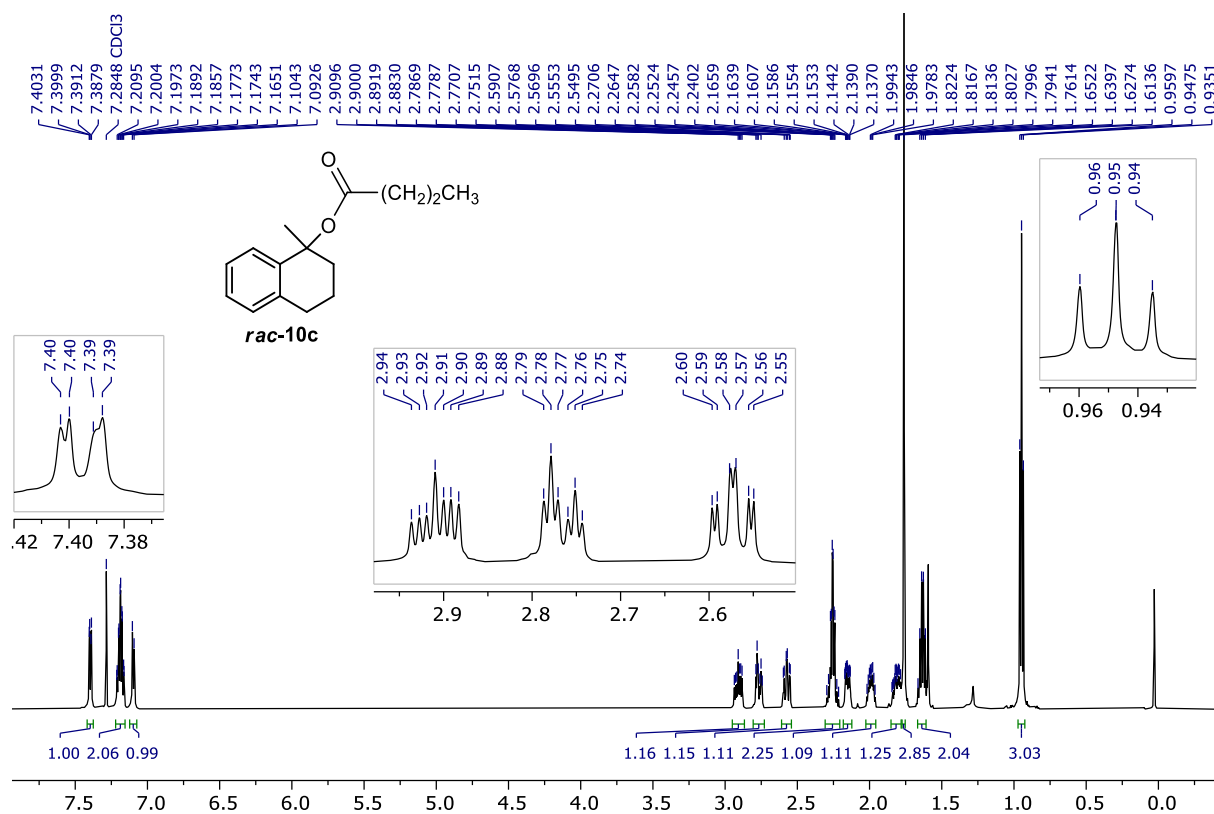
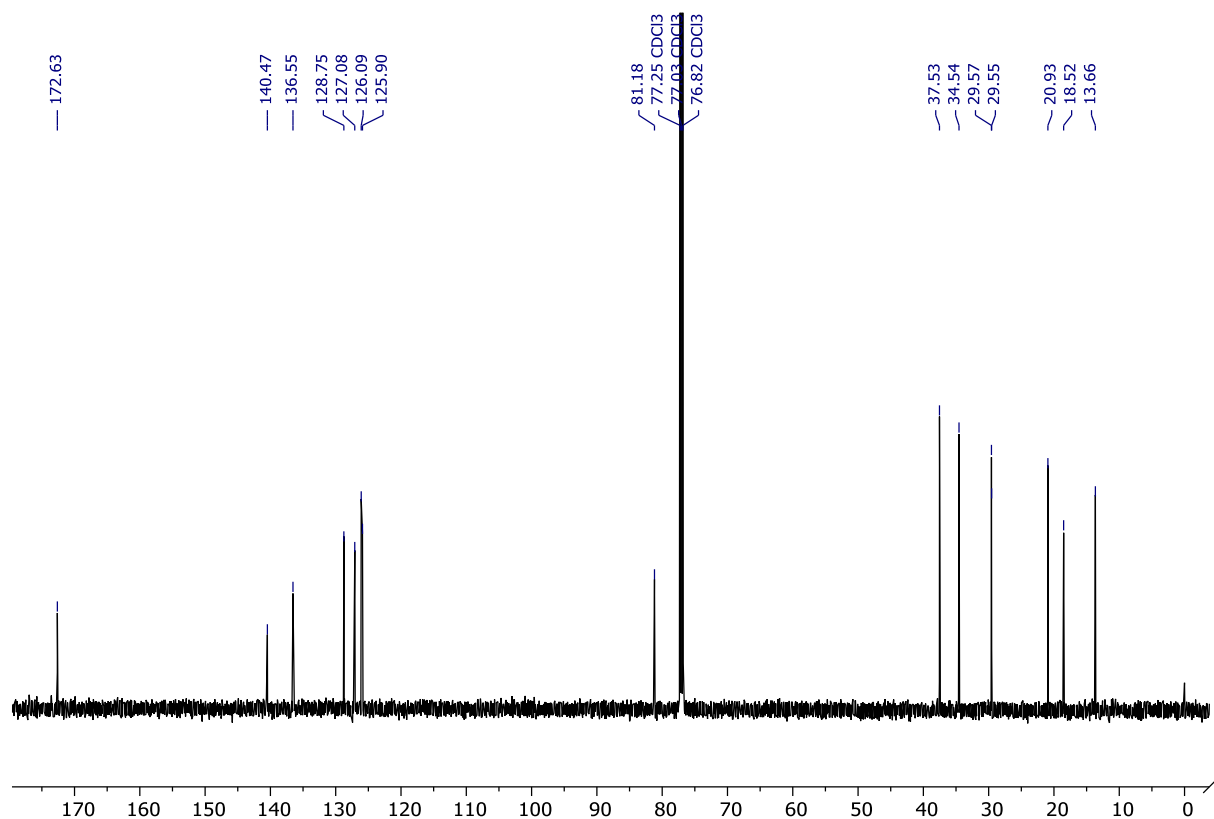
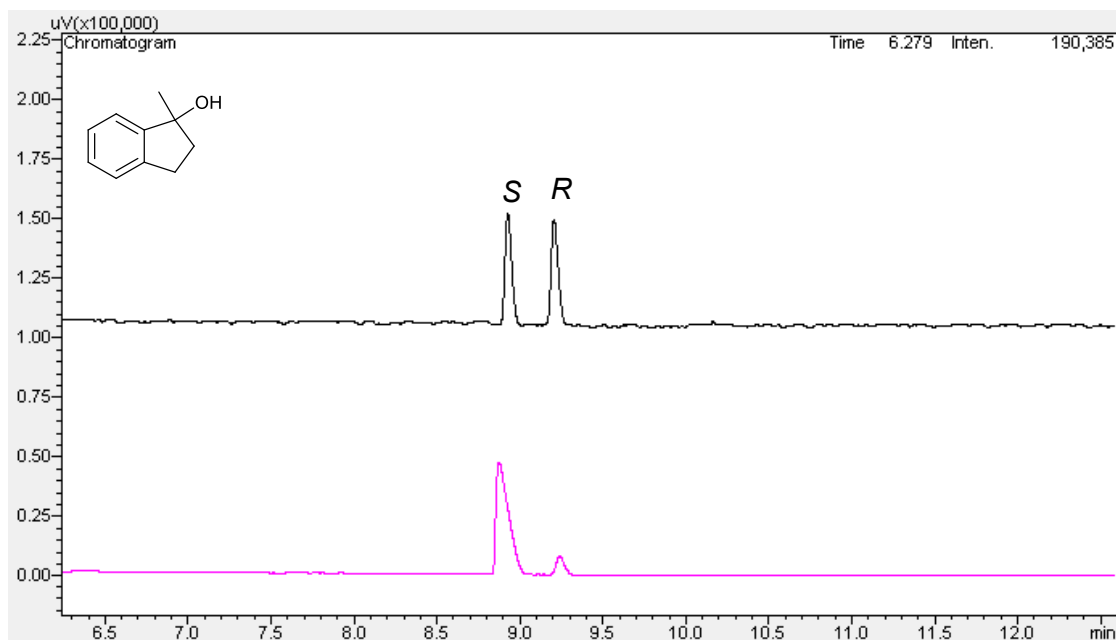


Figura A46. Espectro de RMN de ^{13}C (150 MHz, CDCl_3) de Butirato de 1-Metil-1,2,3,4-tetrahidronaftalen-1-ila (*rac*-10c).



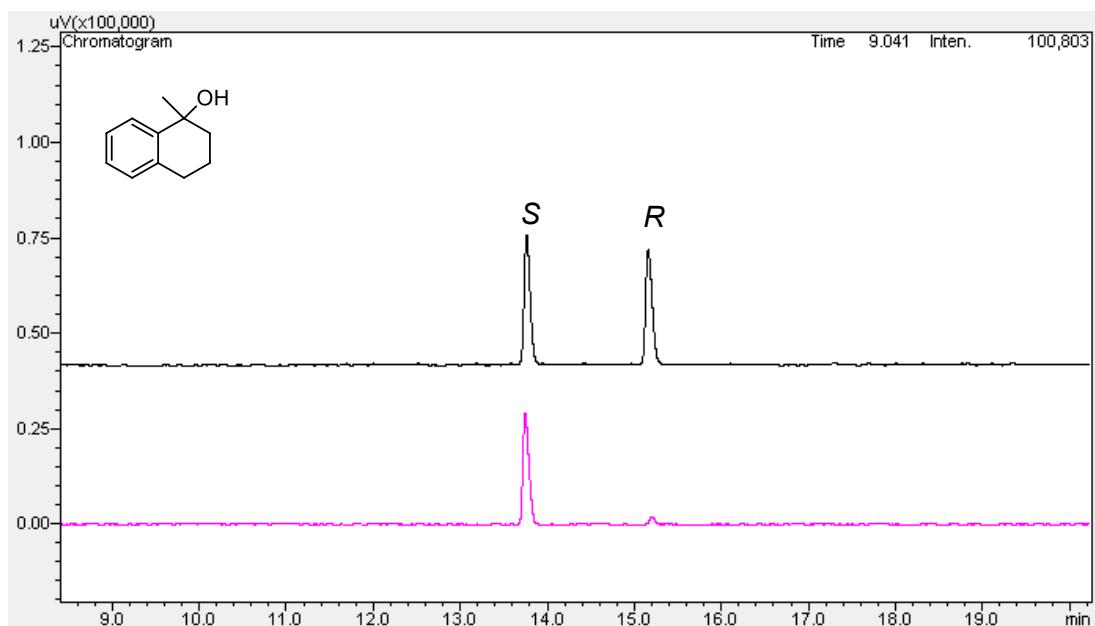
6.2.2 Cromatogramas de CG-DIC quiral dos enantiômeros obtidos após reações de RC

Figura A47. Comparação dos cromatogramas de 1-Metil-2,3-di-hidro-1H-inden-1-ol (*rac*-**9a**), e (*S*)-**9a** (*ee* = 80%) obtido na reação de RC com butirato de vinila.



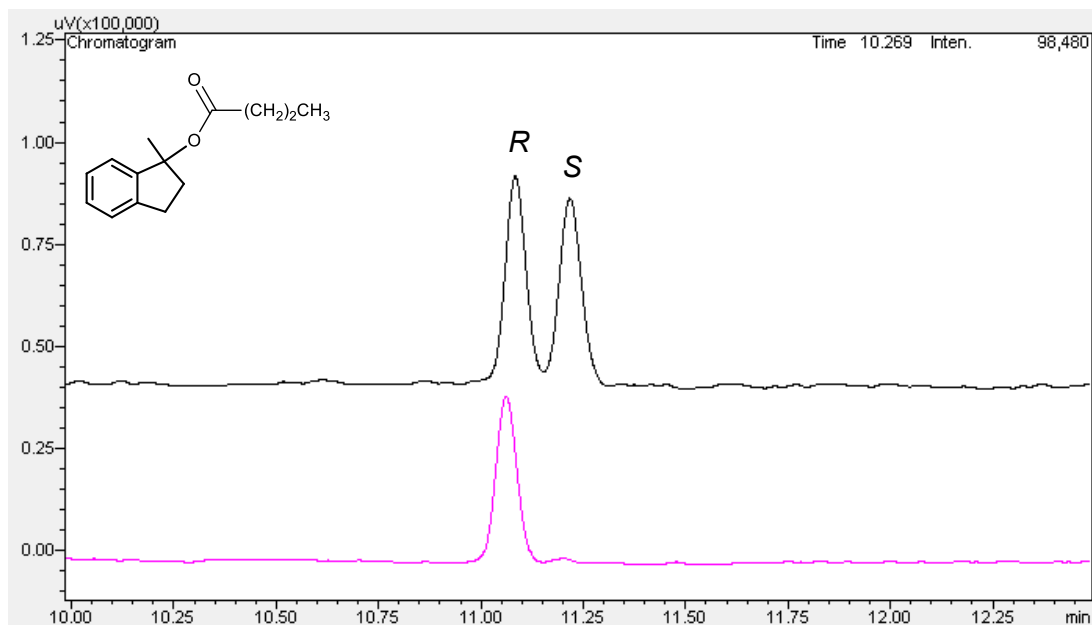
Legenda: CG-DIC com coluna quiral (CP-Chirasil DEX CB), $t_{R-(S)} = 8.93$ min e $t_{R-(R)} = 9.20$ min.

Figura A48. Comparação dos cromatogramas de 1-Metil-1,2,3,4-tetrahidronaftalen-1-ol (*rac*-**10a**) e (*S*)-**10a** (*ee* = 97%) obtido na reação de RC com butirato de vinila.



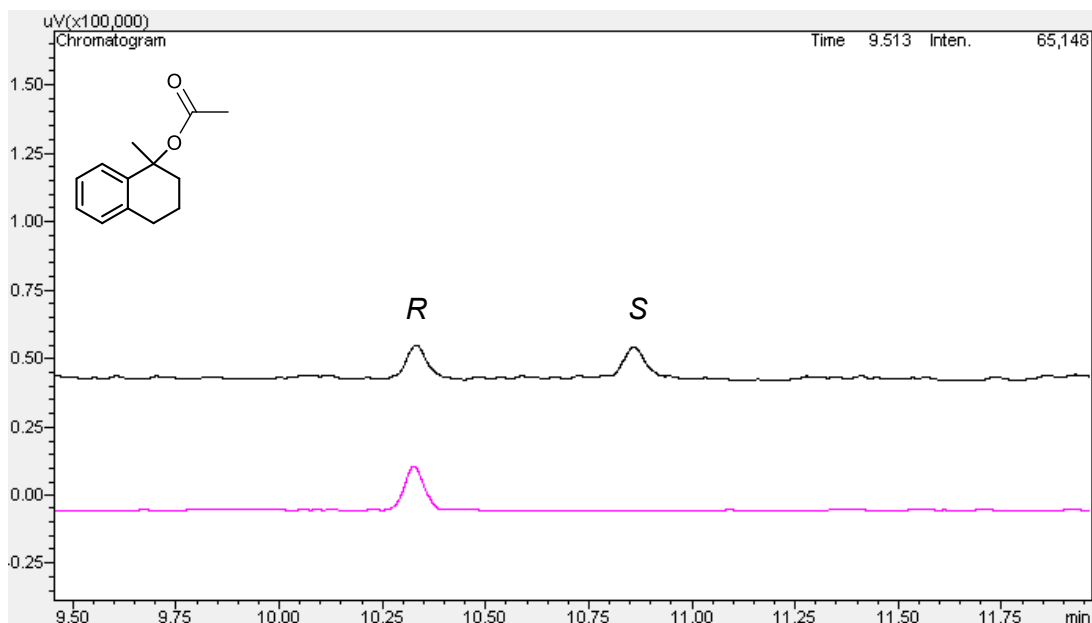
Legenda: CG-DIC com coluna quiral (CP-Chirasil DEX CB) $t_{R-(S)} = 13.76$ min e $t_{R-(R)} = 15.16$ min.

Figura A49. Comparação dos cromatogramas de butirato de 1-Metil-2,3-di-hidro-1H-inden-1-ila (*rac*-**9b**) e (*R*)-**9b** (ee = 96%) obtido na reação de RC com butirato de vinila.



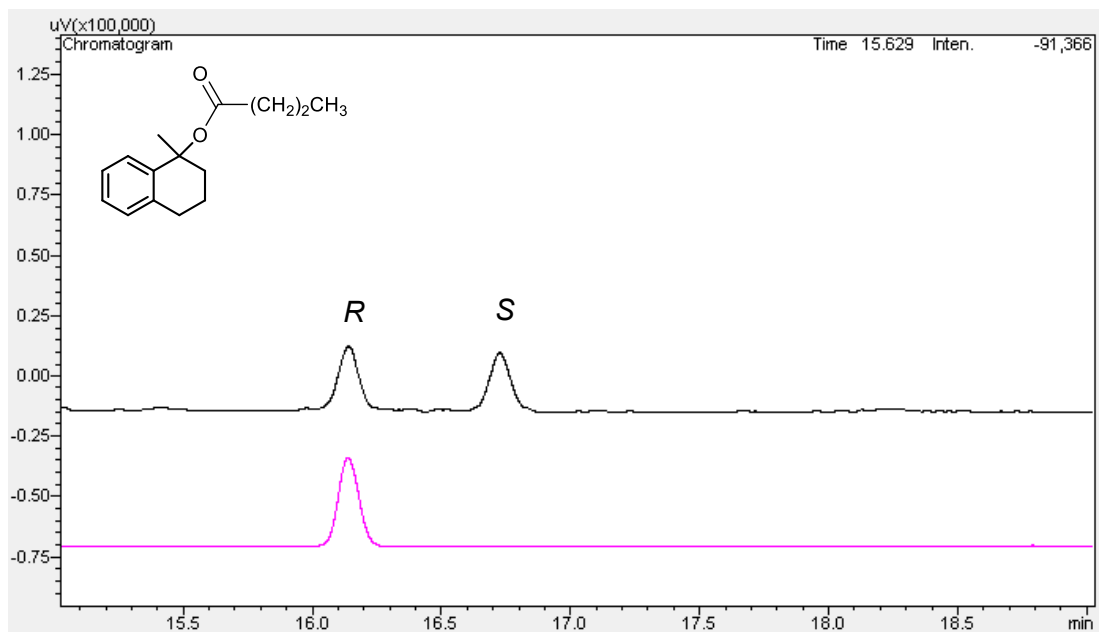
Legenda: CG-DIC com coluna quiral (CP-Chirasil DEX CB), $t_{R-(R)} = 11.08$ min e $t_{R-(S)} = 11.22$ min.

Figura A50. Comparação dos cromatogramas de acetato de 1-metil-1,2,3,4-tetrahidronaftalen-1-ila (*rac*-**10b**) e (*R*)-**10b** (ee > 99%) obtido na reação de RC com acetato de vinila.



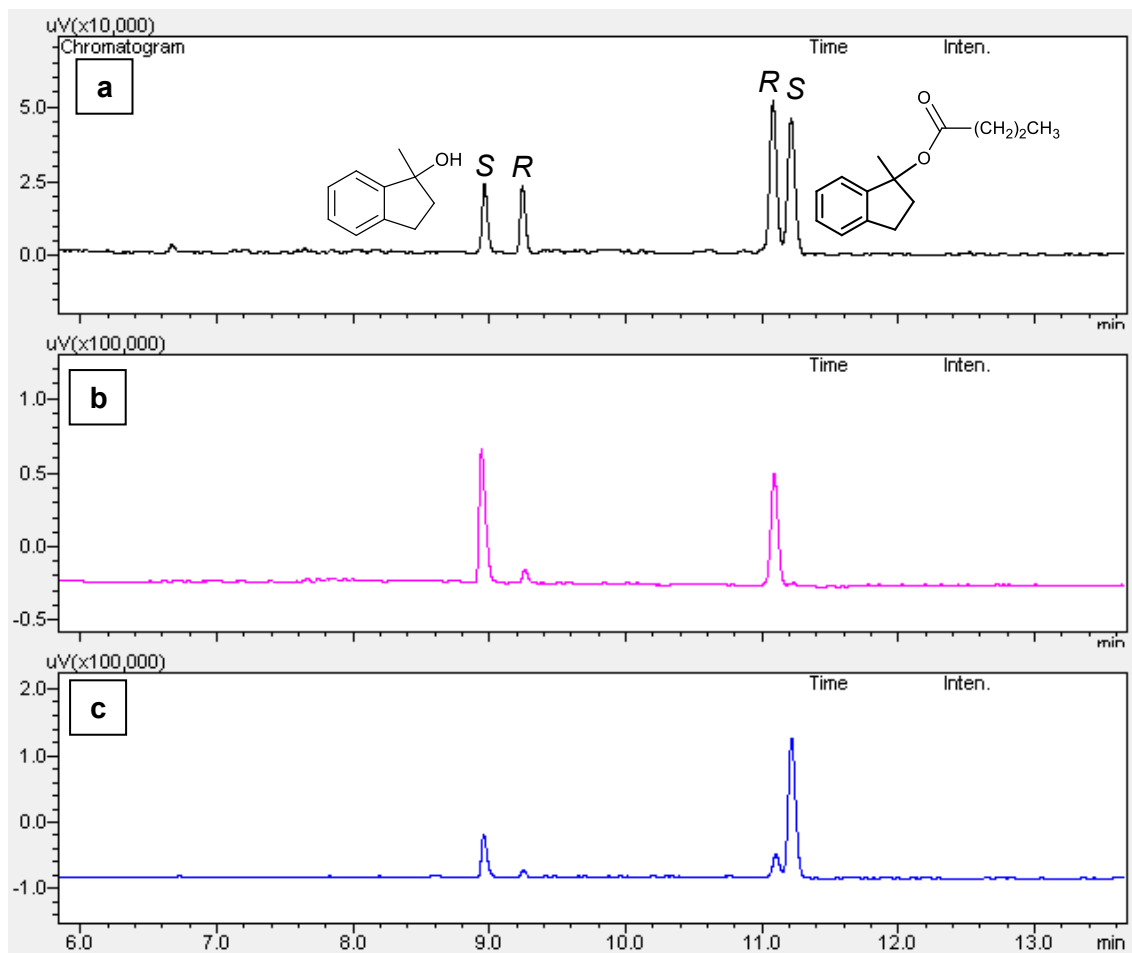
Legenda: CG-DIC com coluna quiral (CP-Chirasil DEX CB), $t_{R-(R)} = 10.33$ min e $t_{R-(S)} = 10.86$ min.

Figura A51. Comparação dos cromatogramas de butirato de 1-metil-1,2,3,4-tetrahidronaftalen-1-ila (*rac*-**10c**) e (*R*)-**10c** (*ee* > 99%) obtido na reação de RC com butirato de vinila.



Legenda: CG-DIC com coluna quiral (CP-Chirasil DEX CB), $t_{R-(R)} = 16.14$ min e $t_{R-(S)} = 16.73$ min.

Figura A52. Atribuição da configuração *R* para o éster **9b** obtido na reação de RC de *rac*-**9a** com butirato de vinila: Comparação dos cromatogramas.



Legenda: CG-DIC com coluna quiral (CP-Chirasil DEX CB). (a) mistura de *rac*-**9a** e *rac*-**9b** (compostos sintetizados por via química); (b) resultado da RC enzimática de *rac*-**9a** (44% de conversão ao (*R*)-**9b**, 96% ee; (*S*)-**9a** isolado com 80% ee); e (c) resultado da esterificação por via química de (*S*)-**9a** (68% de conversão ao éster (*S*)-**9b**, 73% ee).

6.2.3 Identificação dos subprodutos nas reações de resolução

A formação dos alcenos foi observada nas reações de RC e RCD de álcoois terciários. Tais subprodutos foram identificados via CG-EM.

Figura A53. Espectro de massas (IE, 70 eV) de 4-metil-1,2-dihidronaftaleno.

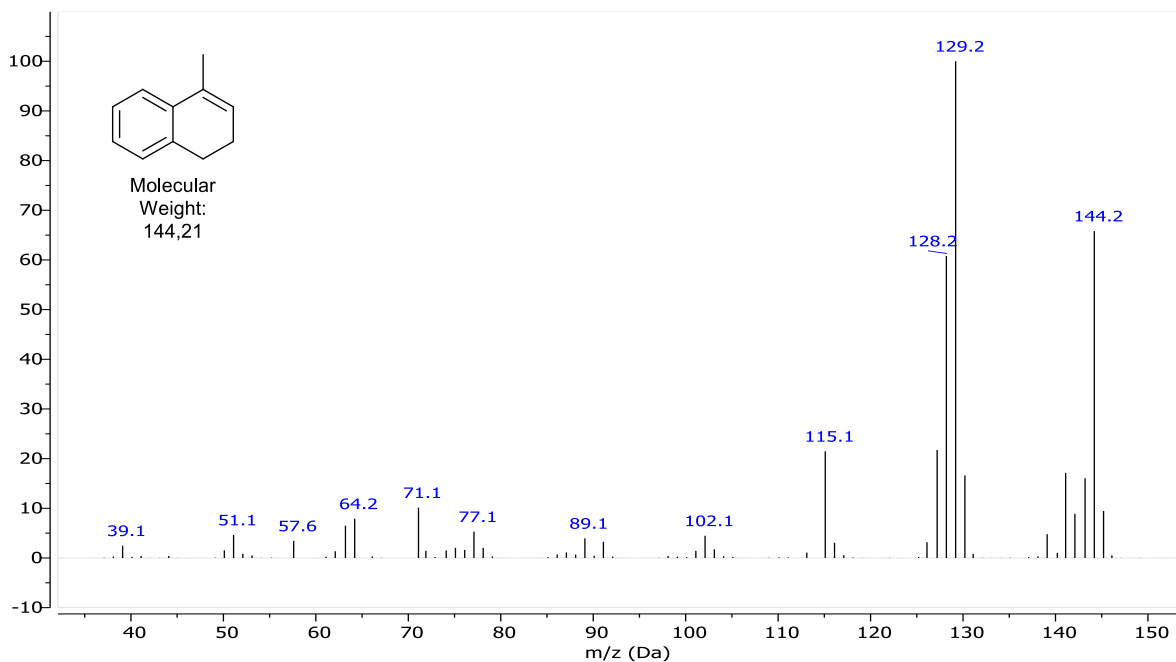


Figura A54. Espectro de massas (IE, 70 eV) de 3-metil-1H-indeno.

