



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

ANA CAROLINE LUSTOSA DE MELO CARVALHO

**SÍNTESE QUIMIOENZIMÁTICA DA (*R*)-MEXILETINA, UM FÁRMACO
ANTIARRÍTMICO, E ANÁLOGOS**

FORTALEZA

2017

ANA CAROLINE LUSTOSA DE MELO CARVALHO

SÍNTESE QUIMIOENZIMÁTICA DA (R)-MEXILETINA, UM FÁRMACO
ANTIARRÍTMICO, E ANÁLOGOS

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Química. Área de concentração: Química Orgânica.

Orientador: Prof. Dr. Marcos Carlos de Mattos.

Co-orientadora: Profa. Dra. Davila Zampieri

FORTALEZA

2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- C321s Carvalho, Ana Caroline Lustosa de Melo.
Síntese quimioenzimática da (R)- Mexiletina, um fármaco antiarrítmico, e análogos / Ana Caroline Lustosa de Melo Carvalho. – 2017.
178 f. : il. color.
- Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Programa de Pós-Graduação em Química, Fortaleza, 2017.
Orientação: Prof. Dr. Marcos Carlos de Matos.
Coorientação: Profa. Dra. Davila Zampieri.
1. Biocatálise. 2. Fármaco antiarrítmico. 3. Resolução cinética enzimática. I. Título.

CDD 540

ANA CAROLINE LUSTOSA DE MELO CARVALHO

SÍNTESE QUIMIOENZIMÁTICA DA (R)-MEXILETINA, UM FÁRMACO
ANTIARRÍTMICO, E ANÁLOGOS

Tese apresentada ao Programa de Pós
Graduação em Química da Universidade
Federal do Ceará, como parte dos requisitos
para obtenção do título de Doutor em Química.
Área de concentração: Química Orgânica.

Orientador: Prof. Dr. Marcos Carlos de Mattos.

Co-orientadora: Profa. Dra. Davila Zampieri

Aprovada em: 04/12/2017

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Marcos Carlos de Mattos (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profa. Dra. Maria da Conceição Ferreira de Oliveira
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profa. Dra. Luciana Rocha Barros Gonçalves
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Jefferson Luiz Princival
Universidade Federal do Pernambuco (UFPE)

Profa. Dra. Ângelica Maria Lucchese
Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS)

A Deus, a minha mãe Umbelina e as
minhas irmãs Ana Érica e Ana
Maria.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter sido meu guia e meu apoio diante das dificuldades que encontrei para realização desse trabalho.

Ao meu orientador Professor Marcos Carlos de Mattos, que foi um pai nessa jornada, pela paciência e por ter compartilhado todo seu conhecimento que com certeza levo na minha vida profissional e pessoal.

A minha mãe que mesmo distante sempre apoiou minhas decisões, e por ser minha incentivadora e acreditar que um dia eu conseguiria.

As minhas irmãs por sempre acreditarem em mim, por compreender e entender a minha ausência no seu cotidiano.

Ao Lucas por todo amor e cumplicidade, por sempre me incentivar e fazer meus dias mais felizes.

As Professoras Dávila Zampieri e Maria da Conceição pela contribuição no desenvolvimento desse trabalho.

A laboratório GPBio- Departamento de Engenharia Química pela contribuição no desenvolvimento desse trabalho.

A família LABS, a todos tenho muito que agradecer: Aquino, Onassis Tati, Thiago, Leandro, Diana, Maria, Paulo, Reinaldo, Letícia e em especial Danielly e Bruna por fazerem meus dias mais felizes e por sempre me incentivarem com suas palavras e pela companhia durante essa batalha.

Ao Diego pela força.

Aos amigos que conquistei na UFC Patrícia, Bruno, Paula, Juliana.

Ao IFMA por incentivar a finalização do trabalho e em especial a Patrícia, Cláudia, Jéssica, Keila e Glaúcio.

Aos agentes administrativos, Lana, Célia, Orlando pelos auxílios e burocráticos.

Aos órgãos financiadores CNPq, CAPES, FUNCAP. Em particular à CAPES e ao CNPq pelas bolsas de pesquisa a mim concedidas, proporcionando maior tempo de dedicação à pesquisa.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Química, obrigada por contribuírem para minha formação.

A todos aqueles que colaboraram direta ou indiretamente para a realização desse trabalho.

“A essência do conhecimento
consiste em aplicá-lo, uma vez possuído”

Confúcio

RESUMO

A (*R*)-Mexiletina, um fármaco antiarrítmico, e análogos, foram sintetizados seguindo rotas quimioenzimáticas. O *rac*-acetato de 1-(2,6-dimetilfenoxi)propano-2-ila (*rac*-**4a**) foi utilizado como substrato “modelo” na resolução cinética enzimática (RCE), utilizando lipase, *via* reação de hidrólise. Após uma triagem, foram selecionadas a *Candida antarctica* B, CAL-B, imobilizada em resina acrílica (Novozym 435[®]), a *Thermomyces lanuginosus* imobilizada em immobead-150 (TLL) e Amano lipase AK de *Pseudomonas fluorescens*, as quais levaram a valores de conversão de 50%, valores de excesso enantiomérico do álcool e do acetilado > 99% e enantiosseletividade (*E*) > 200. Paralelamente, a RCE foi realizada *via* acetilação do *rac*- 1-(2,6-dimetilfenóxi)propan-2-ol (*rac*-**3a**) mediada pelas lipases Novozym 435[®], TLL e Amano lipase AK de *P. fluorescens*, em solvente orgânico. Na presença da TLL, tanto em tolueno, como em THF, o acetilado e o álcool remanescente foram obtidos com excesso enantiomérico > 90% e valores de conversão próximos a 50%. Os resultados mais promissores foram obtidos na RCE de *rac*-**4a** *via* reação de hidrólise, sendo esta a reação utilizada para estender o estudo da RCE aos análogos *rac*-**4b-d** [**b**: acetato de 1-(2,4-dimetilfenoxi)propano-2-ila; **c**: acetato de 1-(*o*-toliloxi)propano-2-ila; **d**: acetato de 1-(naftalen-1-iloxi)propano-2-ila], modificando alguns parâmetros como: temperatura, solvente e tempo reacional. Os (*S*)-acetatos remanescentes possuem a configuração desejada para serem utilizados como intermediários na obtenção dos análogos da (*R*)-Mexiletina. Para a RCE de *rac*-**4b**, em 24 h, a Amano lipase AK de *P. fluorescens* foi a mais eficiente tanto na presença de acetonitrila como co-solvente [(*S*)-acetato: 98% *ee*], quanto na ausência de co-solvente [(*S*)-acetato: > 99% *ee*]. Para o substrato *rac*-**4c**, em 24 h, as melhores condições para se obter (*S*)-**4c** incluiu a utilização da TLL na ausência de co-solventes [(*S*)-acetato: > 99% *ee*]. Para o substrato *rac*-**4d**, tanto a TLL como a Amano lipase AK de *P. fluorescens*, na presença de acetonitrila como co-solvente, em 48 h, levaram ao (*S*)-acetato **4d** com *ee* > 99%. Todas as configurações absolutas dos análogos foram determinadas pelo método de Mosher e comprovaram que as RCE seguiram a regra de Kazlauskas. Em seguida, os (*S*)-acetatos **4a-d** foram hidrolisados, levando aos correspondentes (*S*)-álcoois **3a-d**, com rendimentos de 58 a 70%. Os (*S*)-álcoois **3a-d** foram convertidos nas (*R*)-azidas **5a-d** com rendimentos entre 60 e 84%. Finalmente, as (*R*)-azidas **5a-d** foram transformadas nas (*R*)-aminas, (*R*)-**6a** [(*R*)-Mexiletina] e análogos (*R*)-**6b-d** com rendimentos entre 65 e 95%. Os rendimentos globais variaram entre 13 e 36%.

Palavras-chave: Biocatálise. Fármaco antiarrítmico. Resolução Cinética Enzimática.

ABSTRACT

(*R*)-Mexiletine, an antiarrhythmic drug, and the analogues were synthesized following chemoenzymatic routes. *Rac*-1-(2,6-dimethylphenoxy)propane-2-yl acetate (*rac*-**4a**) was used as the "template" substrate in the enzymatic kinetic resolution (EKR), using lipase, via hydrolysis reaction. After a screening, *Candida antarctica* B, CAL-B, immobilized on acrylic resin (Novozym 435[®]), *Thermomyces lanuginosus* immobilized on imobead-150 (TLL) and Amano lipase AK from *Pseudomonas fluorescens* were selected, which led to values of 50% conversion, enantiomeric excess values of alcohol and remaining acetate > 99% and enantioselectivity (E) > 200. At the same time, EKR was performed via acetylation of *rac*-1-(2,6-dimethylphenoxy)propan-2-ol (*rac*-**3a**) mediated by Novozym 435[®], TLL and Amano lipase AK lipase from *P. fluorescens* in organic solvent. In the presence of TLL in both toluene and THF, the acetate and the remaining alcohol were obtained with enantiomeric excess > 90% and conversion values close to 50%. The most promising results were obtained in the EKR of *rac*-**4a** via the hydrolysis reaction, which was the reaction used to extend the EKR study to *rac*-**4b-d** [b: 1-(2,4-dimethylphenoxy)propane-2-yl acetate; c: 1-(*o*-tolylxy)propane-2-yl acetate; d: 1-(naphthalen-1-yloxy)propane-2-yl acetate, modifying some parameters such as: temperature, solvent and reaction time. The remaining (*S*)-acetates have the desired configuration to be used as intermediates in the preparation of the (*R*)-Mexiletine analogues. For EKR of *rac*-**4b**, in 24 h, *P. fluorescens* Amano lipase AK was most efficient both in the presence of acetonitrile as co-solvent [(*S*)-acetate: 98% *ee*] and in the absence of co-solvent [(*S*)-acetate: > 99% *ee*]. For the substrate *rac*-**4c**, in 24 h, the best conditions to obtain (*S*)-**4c** included the use of TLL in the absence of co-solvents [(*S*)-acetate: > 99% *ee*]. For the substrate *rac*-**4d**, both TLL and Amano lipase AK from *P. fluorescens*, in the presence of acetonitrile as co-solvent, in 48 h, afforded (*S*)-acetate **4d** in *ee* > 99%. All absolute configurations of the analogues were determined by Mosher's method and proved that the EKRs followed the Kazlauskas' rule. Thereafter, the (*S*)-acetates **4a-d** were hydrolyzed, leading to corresponding (*S*)-alcohols **3a-d**, in yields of 58 to 70%. The (*S*)-alcohols **3a-d** were converted to the (*R*)-azides **5a-d** in yields between 60 and 84%. Finally, (*R*)-azides **5a-d** were transformed into (*R*)-amines, **6a** [(*R*)-Mexiletine] and (*R*)-**6b-d** analogues in yields between 65 and 95%. Overall yields varied between 13 and 36%.

Keywords: Biocatalysis. Antiarrhythmic drug. Enzymatic Kinetic Resolution.

LISTA DE FIGURAS

| | | |
|------------|--|----|
| Figura 1- | Estrutura química de alguns fármacos comercializados na forma enantiomericamente pura | 23 |
| Figura 2- | Estruturas químicas de fármacos quirais, Januvia, Crestor, Lipitor, sintetizados via biocatálise..... | 23 |
| Figura 3- | Estruturas químicas dos fármacos empregados no tratamento de arritmias | 26 |
| Figura 4- | Estrutura química do fármaco antiarrítmico Mexiletina..... | 26 |
| Figura 5- | Estrutura química do catalisador de Co III empregado na síntese da (R)-Mexiletina descrita por Sadhukhan (2017)..... | 32 |
| Figura 6- | Produtos naturais que possuem núcleo cromano-4-ol | 46 |
| Figura 7- | Modelo empírico da regra de Kazlauskas, (a) representação dos bolsões hidrofóbicos (b) conexão favorável e desfavorável enzima e álcool secundário. | 59 |
| Figura 8- | Modelo empírico de Kazlauskas para reações de acetilação de alcoóis secundários e hidrólise dos correspondentes ésteres, na presença de lipases ... | 59 |
| Figura 9- | Análogos intermediários da (R)-Mexiletina | 76 |
| Figura 10- | Reagente de derivatização quiral utilizado para determinação da configuração absoluta de 3b, 3c, 3d..... | 79 |
| Figura 11- | Espectros de RMN 1H dos ésteres de Mosher de 3b (i), 3c (ii), 3d (iii)..... | 82 |
| Figura 12- | Modelos para determinação de configuração absoluta de álcoois secundários | 85 |
| Figura 13- | Modelo de Mosher para os compostos 3b, 3c, 3d e os valores dos deslocamentos encontrados nos espectros RMN 1 H dos ésteres de Mosher... | 86 |

LISTA DE GRÁFICOS

| | | |
|------------|---|----|
| Gráfico 1- | Resultados da resolução cinética enzimática via acetilação do <i>rac</i> -3a utilizando a Lipase Amano Ak de <i>P. fluorescens</i> | 61 |
| Gráfico 2- | Resultados da resolução cinética enzimática via acetilação do <i>rac</i> -3a utilizando a Lipase <i>T. lanuginosus</i> imobilizada em imobead-150 | 63 |
| Gráfico 3- | Resultados da resolução cinética enzimática via acetilação do <i>rac</i> -3a utilizando a Lipase <i>Candida antarctica</i> do tipo B (CAL-B) | 66 |

LISTA DE ESQUEMAS

| | | |
|-------------|---|----|
| Esquema 1- | Síntese da (<i>R</i>)-mexiletina e (<i>S</i>)-mexiletina descritas por Aav e colaboradores (1999)..... | 27 |
| Esquema 2- | Resolução da mexiletina <i>via</i> resolução cinética dinâmica dupla descrita por Xia, 2014. | 28 |
| Esquema 3- | Resolução cinética dupla do álcool e amina precursores da mexiletina descrita por Xia, 2014. | 28 |
| Esquema 4- | Resolução da mexiletina <i>via</i> reação de acilação na presença de CAL-B, descrita por Gonzalez-Sabin, 2002. | 29 |
| Esquema 5- | Síntese do cloridrato (<i>R</i>)- mexiletina, descrita por Franchini, 1994. | 29 |
| Esquema 6- | Síntese do (<i>R</i>)-Mexiletina e derivados..... | 30 |
| Esquema 7- | Síntese da (<i>R</i>)- mexiletina e (<i>S</i>)- mexiletina utilizando auxiliar quiral..... | 31 |
| Esquema 8- | Síntese da (<i>R</i>)-mexiletina descrita por Sasikumar e colaboradores | 32 |
| Esquema 9- | Resolução cinética hidrolítica do epóxido (1) intermediário da síntese da (<i>R</i>)-Mexiletina | 33 |
| Esquema 10- | Síntese da (<i>R</i>)-mexiletina e (<i>S</i>)-mexiletina descritas por Bredikhina e colaboradores. | 34 |
| Esquema 11- | Síntese da (<i>R</i>)-mexiletina descrita por Viswanadh. | 35 |
| Esquema 12- | Síntese do cloridrato da mexiletina e análogos descritos por Roselli e colaboradores. | 35 |
| Esquema 13- | Resolução cinética do 1-feniletanol utilizando lipase de <i>Burkholderia cepaccia</i> imobilizada..... | 36 |
| Esquema 14- | Resolução cinética enzimática de 1-feniletanol utilizando lipase de <i>Burkholderia cepacia</i> imobilizada (Ph-OMMs) | 37 |
| Esquema 15- | Resolução cinética de ésteres acrílicos de álcool secundários empregando lipase Amano AK..... | 37 |
| Esquema 16- | Síntese do (<i>S</i>)-ranolazina empregando lipase de <i>Candida antarctica</i> CLEA...38 | |
| Esquema 17- | Síntese da (<i>R</i>)-ranolazina utilizando lipase CAL-B..... | 39 |
| Esquema 18- | Síntese quimioenzimática do (<i>R</i>)-mesilato de rasagilina. | 40 |
| Esquema 19- | Síntese quimioenzimática de um éter análogo ao mesilato de rasagilina, o 3-(4-aza-3-indaniloxi)-1-propino | 41 |
| Esquema 20- | Síntese quimioenzimática de uma naftoquinona com atividade antitumoral..... | 42 |

| | |
|---|----|
| Esquema 21- Resolução cinética enzimática de álcoois secundários alifáticos <i>via</i> acetilação, utilizando CAL-B..... | 42 |
| Esquema 22- Resolução cinética enzimática do álcool <i>rac</i> -2 empregando lipase Novozym 435 [®] | 43 |
| Esquema 23- Resolução enzimática do álcool organofluorado (\pm)-2,2,2-trifluoro-1-feniletanol e análogos | 44 |
| Esquema 24- Resolução cinética do álcool secundário (RS)-2-bromo-1-feniletanol empregando lipase <i>Burkholderia cepacia</i> imobilizada em nanopartículas supermagnéticas (Fe ₃ O ₄) em diferentes metodologias | 45 |
| Esquema 25- Resolução cinética dos estereoisômeros <i>trans</i> e <i>cis</i> 2-iodociclo-hexanol | 46 |
| Esquema 26 - Resolução cinética do cromano-4-ol e análogos..... | 47 |
| Esquema 27- Acoplamento de Suzuki com álcoois iodofeniletanol quirais..... | 47 |
| Esquema 28- Álcoois secundários <i>-o</i> , <i>-m</i> , <i>-p</i> iodofeniletanol | 48 |
| Esquema 29- Resolução cinética enzimática de álcoois propargílicos, descrita por Raminelli. | 48 |
| Esquema 30- Resolução cinética enzimática de álcoois alílicos | 48 |
| Esquema 31- Resolução cinética enzimática de álcoois alílicos cíclicos | 50 |
| Esquema 32- Rota sintética empregada na preparação do fármaco (<i>R</i>)-Mexiletina e análogos. | 53 |
| Esquema 33- Reação de formação dos intermediários 2a-c | 54 |
| Esquema 34- Reação de redução da carbonila de 2a-d..... | 55 |
| Esquema 35- Reação de acetilação dos compostos <i>rac</i> -3a-b..... | 55 |
| Esquema 36- Reação de hidrólise enzimática dos ésteres do <i>rac</i> -4a na presença de lipases . | 57 |
| Esquema 37- Reação de acetilação enzimática utilizando <i>rac</i> -3a, em meio orgânico | 60 |
| Esquema 38- Reação de esterificação de Mosher através da dupla derivatização com 3b, 3c e 3d utilizando os reagentes de derivatização quiral (<i>R</i>)-MTPA-Cl e (<i>S</i>)-MTPA-Cl..... | 80 |
| Esquema 39- Reação de hidrólise dos (<i>S</i>)-acetatos 4a-d, em meio básico | 87 |
| Esquema 40- Reação de formação dos intermediários (<i>R</i>)-5a-d..... | 88 |
| Esquema 41- Reação de formação da (<i>R</i>)-Mexiletina e análogos (<i>R</i>)-6b-d..... | 88 |

LISTA DE TABELAS

| | | |
|------------|--|----|
| Tabela 1- | Rendimentos obtidos na formação dos intermediários 2a-d..... | 54 |
| Tabela 2- | Rendimentos dos intermediários 3a-d..... | 55 |
| Tabela 3- | Rendimentos da reação de acetilação de 4a-d..... | 56 |
| Tabela 4- | Triagem de lipases <i>via</i> reação de hidrólise de <i>rac</i> -4..... | 56 |
| Tabela 5- | Resultados obtidos da reação de hidrólise do éster <i>rac</i> -4a | 57 |
| Tabela 6- | Resultados da resolução cinética <i>via</i> acetilação de <i>rac</i> -3a utilizando lipase de <i>Thermomyces lanuginosus</i> imobilizada em immovead-150, relação massa-massa do catalisador:substrato (1:1) em tolueno | 63 |
| Tabela 7- | Resultados da resolução cinética <i>via</i> acetilação do <i>rac</i> -3a utilizando lipase de <i>Thermomyces lanuginosus</i> imobilizada em immovead-150, em hexano..... | 64 |
| Tabela 8- | Resultados da resolução cinética <i>via</i> acetilação do <i>rac</i> -3a, com relação enzima:substrato (1:1), utilizando lipase de <i>Thermomyces lanuginosus</i> imobilizada em immovead-150, em hexano | 65 |
| Tabela 9- | Resultados da resolução cinética <i>via</i> acetilação de <i>rac</i> -3a utilizando a lipase de <i>Candida antarctica</i> do tipo B (CAL-B), em hexano | 66 |
| Tabela 10- | Resultados da resolução cinética <i>via</i> acetilação de <i>rac</i> -3a, usando a relação enzima:substrato (1:1) e utilizando a lipase de <i>Candida antarctica</i> do tipo B (CAL-B), em hexano. | 67 |
| Tabela 11- | Resultados do reuso da <i>Thermomyces lanuginosus</i> imobilizada em immovead 150..... | 68 |
| Tabela 12- | Resultados da resolução cinética <i>via</i> hidrólise de <i>rac</i> -4a, usando a relação enzima:substrato (2:1) e utilizando a lipase de <i>Thermomyces lanuginosus</i> imobilizada em imobed 150 , em co-solvente acetonitrila, variando a temperatura. | 70 |
| Tabela 13- | Resultados da resolução cinética <i>via</i> hidrólise de <i>rac</i> -4a, usando a relação enzima:substrato (2:1) e utilizando a lipase de <i>Thermomyces lanuginosus</i> imobilizada em imobed 150 , na presença e ausência de co-solventes..... | 70 |
| Tabela 14- | Resultados da resolução cinética de <i>rac</i> -4a, <i>via</i> hidrólise, usando a relação enzima:substrato (2:1) e utilizando a lipase de <i>Candida antarctica</i> (CAL-B) , em co-solvente acetonitrila, variando a temperatura. | 71 |

| | | |
|------------|--|----|
| Tabela 15- | Resultados da resolução cinética de <i>rac</i> -4a, via hidrólise, usando a relação enzima:substrato (2:1) e utilizando a lipase de <i>Candida antarctica</i> (CAL-B), na ausência e presença de co-solventes. | 72 |
| Tabela 16- | Resultados da resolução cinética de <i>rac</i> -4a, via hidrólise, usando a relação enzima:substrato (2:1) e utilizando Amano lipase AK de <i>P. fluorescens</i> em co-solvente acetonitrila, variando a temperatura. | 73 |
| Tabela 17- | Resultados da resolução cinética de <i>rac</i> -4a, via hidrólise, usando a relação enzima:substrato (2:1) e utilizando a Amano lipase AK de <i>P. fluorescens</i> , na ausência e presença de co-solventes. | 73 |
| Tabela 18- | Resultados da resolução cinética de <i>rac</i> -4a, via hidrólise, usando a relação enzima:substrato (2:1), 24 horas de reação em 30 °C e utilizando lipase <i>Termomyces lanuginosus</i> imobilizada em nanopartículas de ferro, na ausência e presença de co-solventes. | 74 |
| Tabela 19- | Resultados das resoluções cinéticas enzimáticas de <i>rac</i> -4b, 4c e 4d, via hidrólise, mediada por lipase de <i>Termomyces lanuginosus</i> imobilizada em immobed 150. | 76 |
| Tabela 20- | Resultados das resoluções cinéticas enzimáticas de <i>rac</i> -4b, 4c e 4d, via hidrólise, mediada por Amano lipase AK de <i>P. fluorescens</i> | 77 |
| Tabela 21- | Resultados da resolução cinética enzimática de <i>rac</i> -4d, via hidrólise, utilizando acetonitrila como co-solvente, em 48 horas. | 77 |
| Tabela 22- | Valores de deslocamentos químicos de RMN de ¹ H para os diastereoisômeros de Mosher e magnitude de medidas de $\Delta\delta^{RS}$ | 85 |
| Tabela 23- | Condições utilizadas nas resoluções cinéticas enzimáticas de <i>rac</i> -4a-d. | 87 |
| Tabela 24- | Rendimento dos intermediários (<i>S</i>)-3a-d. | 87 |
| Tabela 25- | Rendimento dos intermediários azidas (<i>R</i>)-5a-d. | 88 |
| Tabela 26- | Rendimento da (<i>R</i>)-Mexiletina (6a) e análogos (6b-d). | 88 |

LISTA DE EQUAÇÕES

| | | |
|------------|---|----|
| Equação 1- | Equação empregada no cálculo de excesso enantiomérico..... | 96 |
| Equação 2- | Equação empregada no cálculo de conversão para reações de resolução cinética enzimática. | 97 |
| Equação 3- | Equação empregada no cálculo da enantiosseletividade | 97 |

LISTA DE ABREVIATURAS

| | |
|----------------------|---|
| <i>c</i> | Conversão |
| CAL-B | Lipase de <i>Candida antarctica</i> tipo B |
| CCD | Cromatografia em Camada Delgada |
| CENAUREM | Centro Nordestino de Aplicação e Uso da Ressonância Magnética Nuclear |
| CG | Cromatografia Gasosa |
| CLAE | Cromatografia Líquida de Alta Eficiência |
| 4-DMAP | Dimetilaminopiridina |
| <i>e.e.</i> | Excesso enantiomérico |
| <i>e.e.alcool</i> | Excesso enantiomérico do álcool |
| <i>ed</i> | Excesso diastereoisômerico |
| <i>e.e.acetilado</i> | Excesso enantiomérico do acetilado |
| E | Enantiosseletividade |
| DIC | Detector de Ionização de Chama |
| Lipozyme RM IM | Lipozyme de <i>Rhizomucor miehei</i> imobilizada em resina aniônica |
| MHz | Megahertz |
| pH | Potencial Hidrogeniônico |
| <i>rac</i> | Racêmico |
| ¹³ C RMN | Ressonância Magnética Nuclear de ¹³ C |
| ¹ H RMN | Ressonância Magnética Nuclear de ¹ H |
| rpm | Rotação por minuto |
| THF | Tetraidrofurano |
| RCE | Resolução cinética Enzimática |
| RDQ | Reagente de derivatização quiral |
| Log P | Constante de partição do 1-octanol |
| TBME | Éter <i>terc</i> - butil metílico |
| DDKR | Resolução cinética dinâmica dupla |
| THPMA | Ácido (<i>R</i>)-mandeléico protegido com tetra-hidropirano |
| AcOEt | Acetato de etila |
| Ac | Acila |
| <i>o</i> - | Orto |
| <i>m</i> - | Meta |

| | |
|------------|---------------------------|
| <i>p</i> - | Para |
| Ph | Fenila |
| IPA | Álcool isopropílico |
| DMF | Dimetilformamida |
| DCM | Diclorometano |
| MsCl | Cloreto de mesila |
| DCC | Diciclo-hexilcarbodiimida |

SUMÁRIO

| | | |
|-------|---|----|
| 1 | INTRODUÇÃO..... | 22 |
| 2 | OBJETIVOS | 24 |
| 2.1 | Objetivo geral..... | 24 |
| 2.2 | Objetivos específicos..... | 24 |
| 3 | REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 25 |
| 3.1 | Arritmias cardíacas | 25 |
| 3.2 | Sínteses da Mexiletina | 27 |
| 3.3 | Álcoois secundários na síntese quimioenzimática..... | 35 |
| 4 | RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 52 |
| 4.1 | Síntese da Mexiletina e análogos | 52 |
| 4.2 | Obtenção dos intermediários 2a-d | 53 |
| 4.3 | Redução química da carbonila | 55 |
| 4.4 | Reação de acetilação dos álcoois rac-3a-d | 55 |
| 4.5 | Triagem de lipases utilizando a reação de hidrólise dos ésteres <i>rac</i> -4a | 56 |
| 4.6 | Resolução cinética <i>via</i> reação de acetilação do <i>rac</i> -3a utilizando lipases, em meio orgânico. | 60 |
| 4.6.1 | <i>Resolução cinética enzimática do rac-3a utilizando a Amano lipase AK de P.fluorescens</i> | 60 |
| 4.6.2 | <i>Resolução cinética enzimática de rac-3a utilizando a lipase de Thermomyces lanuginosus imobilizada em imobead-150.</i> | 62 |
| 4.6.3 | <i>Resolução cinética enzimática do rac-3a utilizando a Lipase de Candida antarctica do tipo B (CAL-B).</i> | 65 |
| 4.6.4 | <i>Estudo do reuso utilizando lipase de Thermomyces lanuginosus imobilizada em imobead-150, em tolueno</i> | 68 |
| 4.6.5 | <i>Reações de hidrólise via resolução cinética enzimática utilizando outros solventes orgânicos</i> | 69 |

| | | |
|--------------|--|-----------|
| 4.6.5.1 | <i>Resolução cinética enzimática de rac-4a, via hidrólise, utilizando lipase de Termomyces lanuginosus imobilizada em imobed 150.</i> | 69 |
| 4.6.5.1.1 | Acetonitrila como co-solvente, variando a temperatura | 69 |
| 4.6.5.1.2 | Estudo do efeito de co-solventes na resolução cinética de rac-4a empregando lipase de <i>Termomyces lanuginosus</i> imobilizada em imobed 150. | 70 |
| 4.6.5.2 | <i>Resolução cinética enzimática de rac-4a, via hidrólise, utilizando lipase de Candida antarctica do tipo B -CAL-B (Novozym 435).</i> | 71 |
| 4.6.5.2.1 | Acetonitrila como co-solvente, variando a temperatura | 71 |
| 4.6.5.2.2 | Estudo do efeito de co-solventes na resolução cinética de rac-4a empregando lipase de <i>Candida antarctica</i> do tipo B -CAL-B (Novozym 435). | 72 |
| 4.6.5.3 | <i>Resolução cinética enzimática de rac-4a, via hidrólise, utilizando Amano lipase AK da P. fluorescens.</i> | 72 |
| 4.6.5.3.1 | Acetonitrila como co-solvente, variando a temperatura | 72 |
| 4.6.5.3.2 | Estudo do efeito de co-solventes na resolução cinética de rac-4a empregando Amano lipase AK de <i>P. fluorescens</i> | 73 |
| 4.6.5.4 | <i>Resolução cinética enzimática de rac-4a, via hidrólise, utilizando lipase de Termomyces lanuginosus imobilizada em nanopartículas de ferro.</i> | 74 |
| 4.6.5.5 | <i>Resolução cinética de rac-4b, rac-4c e rac-4d, via hidrólise, mediada por lipases para obtenção dos intermediários quirais que levam aos análogos da (R)-Mexiletina</i> | 76 |
| 4.7 | Determinação das configurações absolutas de 3b, 3c, 3d. | 78 |
| 4.8 | Reação de hidrólise dos (S)-acetatos 4a-d. | 86 |
| 4.9 | Obtenção dos intermediários (R)-5a-d. | 87 |
| 4.10 | Obtenção da (R)-Mexiletina (6a) e análogos (R)-6b-d | 88 |
| 5 | PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL | 90 |
| 5.1 | Métodos espectrométricos | 90 |
| 5.1.1 | Espectroscopia na região do infravermelho | 90 |
| 5.1.2 | Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear | 90 |
| 5.2 | Métodos Físicos | 90 |

| | | |
|--------|---|-----|
| 5.2.1 | <i>Rotação óptica</i> | 90 |
| 5.3 | Métodos cromatográficos..... | 91 |
| 5.3.1 | <i>Cromatografia em camada delgada</i> | 91 |
| 5.3.2 | <i>Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e Cromatografia gases (CG)</i> | 91 |
| 5.4 | Solventes e reagentes | 91 |
| 5.4.1. | <i>Solventes empregados</i> | 91 |
| 5.4.2 | <i>Reagentes empregados</i> | 91 |
| 5.5 | Biocatalisadores utilizados..... | 92 |
| 5.6 | Tratamento dos solventes utilizados nas reações de biocatálise..... | 93 |
| 5.7 | Preparação dos intermediários da (<i>R</i>)-Mexiletina e análogos..... | 93 |
| 5.7.1 | <i>Síntese das cetonas 2a-d</i> | 93 |
| 5.7.2 | <i>Síntese dos álcoois rac-3a-d</i> | 93 |
| 5.7.3 | <i>Síntese dos acetatos rac-4a-d</i> | 94 |
| 5.7.4. | <i>Hidrólise dos (S)-acetatos 4a-d</i> | 94 |
| 5.7.5 | <i>Síntese das azidas (R)-5a-d</i> | 94 |
| 5.7.6 | <i>Síntese da (R)-mexiletina 6a e análogos (R)-6b-d</i> | 94 |
| 5.7.7 | <i>Preparação dos ésteres de Mosher para determinação da configuração absoluta dos álcoois 3b-d</i> | 95 |
| 5.8 | Procedimento geral para as resoluções cinéticas enzimáticas | 95 |
| 5.9 | Cálculo do excesso enantiomérico, conversão e enantiosseletividade..... | 96 |
| 5.10 | Dados físicos e espectrométricos..... | 97 |
| 5.11 | Condições de análise | 102 |
| 6 | CONCLUSÕES..... | 104 |
| | REFERÊNCIAS..... | 106 |
| | ANEXOS..... | 112 |

1 INTRODUÇÃO

O uso de enzimas como catalisadores na síntese química é desejável nos processos industriais, pois elas competem ou mesmo superam os catalisadores químicos. Uma das principais vantagens no uso de enzimas é que são degradadas no meio ambiente e, portanto, ecologicamente corretas. Além disso, apresentam-se como quimio-, regio- e enantiosseletivas e atuam em condições reacionais brandas (FABER, 2004; BON *et al.*, 2008).

O desenvolvimento da engenharia genética aplicada na modificação de enzimas é responsável pelo crescente uso da biocatálise na síntese orgânica. Nos últimos anos, o número de trabalhos envolvendo a utilização de enzimas em síntese orgânica aumentou consideravelmente. Cabe ressaltar que enzimas como lipases, acilases, epoxidases, nitrilases, dentre outras, vem sendo isoladas e disponibilizadas comercialmente (TAO; ZHAO; RAN, 2007; PATEL, 2011).

Dentre as enzimas que podem ser utilizadas em processos biocatalíticos as hidrolases ocupam uma posição de destaque, especificamente as lipases (E.C.3.1.1.3) que são responsáveis por 44% das aplicações industriais. As lipases oferecem vantagens específicas como a fácil manipulação, alta estabilidade em solventes orgânicos e o fato de não necessitarem de cofatores, além de serem ativas frente a uma ampla gama de substratos (FABER, 2004; BON *et al.*, 2008).

As enzimas são utilizadas em cerca de 2/3 da produção de substâncias orgânicas quirais em grande escala (ZHANG *et al.*, 2014). Nesse contexto, a síntese assimétrica para obtenção de substâncias quirais continua a ser um importante campo da química orgânica, particularmente para a produção de fármacos e os correspondentes ingredientes farmacêuticos ativos (APIs) (CARVALHO *et al.*, 2015).

Atualmente, vários fármacos são comercializados na forma enantiomericamente pura, pois possuem maior atividade em relação à sua forma racêmica (**Figura 1**). É possível destacar alguns fármacos quirais que são obtidos *via* biocatálise, tais como: Januvia, Crestor e Lipitor (**Figura 2**) (CIRIMINNA; PAGLIARO, 2013).

Figura 1- Estrutura química de alguns fármacos comercializados na forma enantiomericamente pura

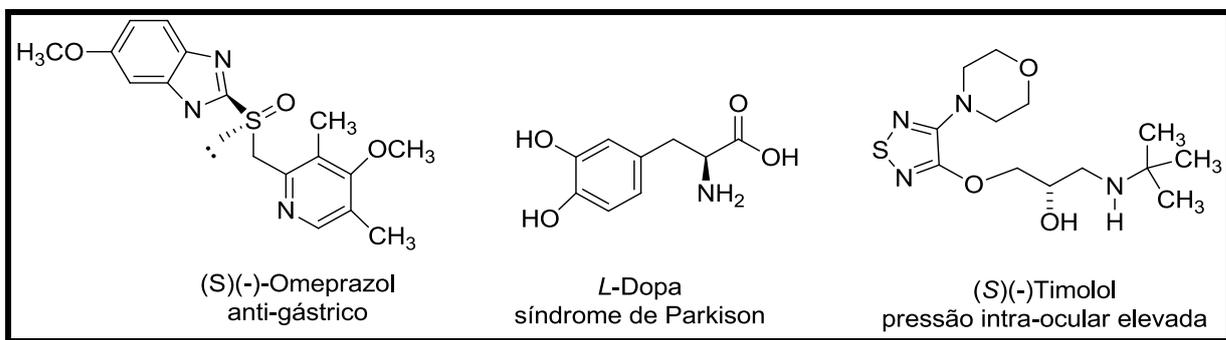
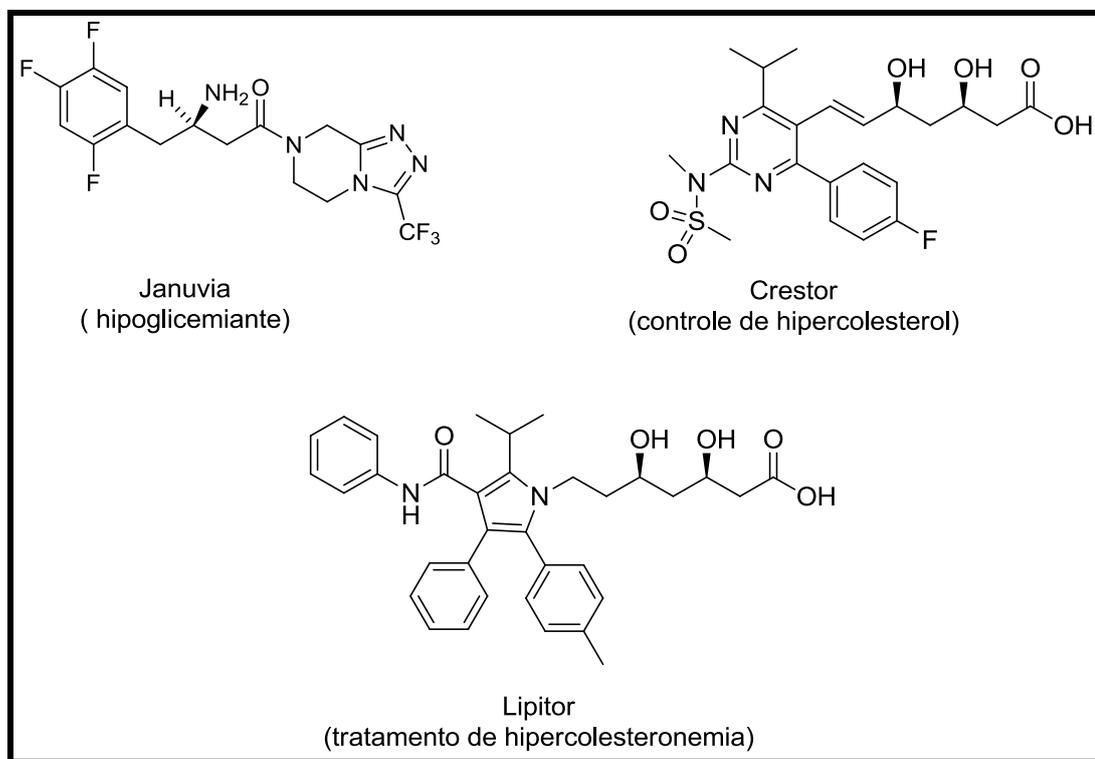


Figura 2- Estruturas químicas de fármacos quirais, Januvia, Crestor, Lipitor, sintetizados via biocatálise



Diante do exposto, nos propusemos a sintetizar a (*R*)-Mexiletina, um fármaco antiarrítmico, e alguns análogos na forma enantiomericamente pura ou enantiomericamente enriquecida. Cabe ressaltar que a biocatálise foi empregada como metodologia chave para a obtenção das moléculas quirais na presença de lipases como biocatalisadores.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

- Desenvolver uma metodologia quimioenzimática e simples para a resolução cinética enzimática de álcoois do tipo 1-fenóxi-2-propanois e dos seus respectivos acetatos, empregando lipases como biocatalisadores.

2.2 Objetivos específicos

- Realizar a síntese quimioenzimática do fármaco antiarrítmico (*R*)-Mexiletina e análogos.
- Verificar a influência de variáveis que afetam a resolução cinética enzimática, tais como:
 - Lipase empregada
 - Tipo de solvente orgânico
 - Temperatura reacional
 - Tempo de reação
 - Proporção enzima/substrato

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Arritmias cardíacas

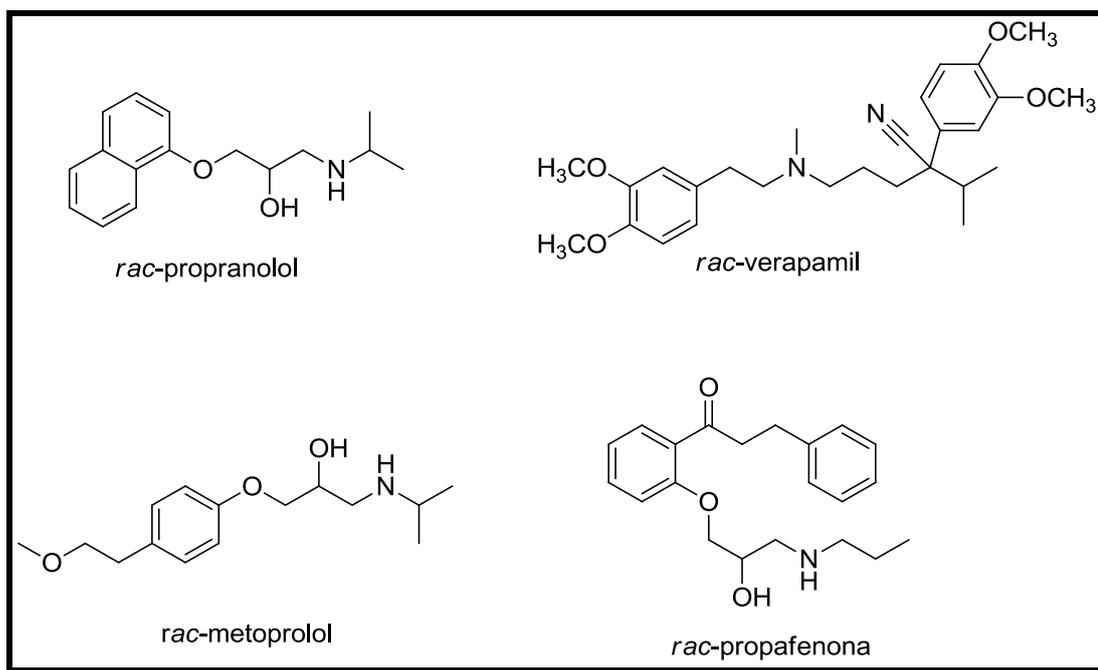
Arritmias cardíacas é o termo utilizado para designar uma anormalidade na sequência ou nos impulsos elétricos durante o ritmo cardíaco. Esse tipo de doença é frequente na população, em geral, e mais comum em pacientes com problemas cardíacos (Carocci *et al.*, 2010; SCANAVACCA, 2012). Algumas arritmias podem não causar danos, mas pesquisas indicam que em torno de 25% da mortalidade é causada por arritmias, sendo que os principais sintomas são palpitações cardíacas, batimento cardíaco lento e irregular, sensação de pausa dos batimentos cardíacos, dor no peito, tonturas, fraqueza e dificuldade ao respirar (Monteforte *et al.*, 2012; Roselli *et al.*, 2016).

Os primeiros estudos sobre o diagnóstico de arritmias ocorreram por volta de 1920, por Thomas Lewis, contribuindo para elucidação dos mecanismos de funcionamento do ritmo cardíaco (GIFFONI; TORRES, 2010). Para o tratamento desse tipo de doença faz-se o uso de medicamentos com o objetivo de suprimir, prevenir ou reverter arritmias cardíacas. As arritmias são classificadas em bradiarritmia e taquiarritmia, que ocorre quando há uma diminuição e aumento dos batimentos cardíacos, respectivamente (RANG; DALE; RITTER; 2001).

Existe uma classificação dos fármacos antiarrítmicos que foi proposto em termos de seus efeitos eletrofisiológicos por Vaughan Williams, em 1970. São quatro classes: a classe I está representada pelos fármacos que atuam bloqueando os canais de sódio presente na membrana plasmática das células musculares, a classe II está representada pelos fármacos antagonistas receptores β -adrenérgicos, a classe III pelos fármacos que prolongam o potencial de ação cardíaca e a classe IV representada pelos fármacos antagonistas de cálcio (RANG; DALE; RITTER, 2001).

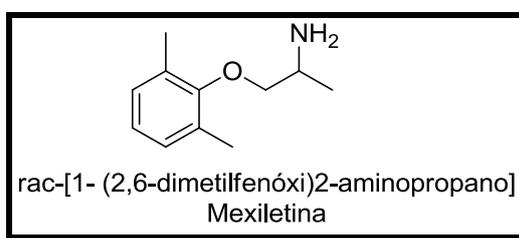
Desde a descoberta das arritmias cardíacas e até meados dos anos 1950 o tratamento terapêutico era feito, principalmente, por digitálicos e quinidina. Atualmente, existe uma vasta quantidade de medicamentos para o tratamento de arritmias, com destaque para: propranolol, verapamil, metoprolol e propafenona (**Figura 3**) (GIFFONI; TORRES, 2010), (Ortiz *et al.*, 2017).

Figura 3-Estruturas químicas dos fármacos empregados no tratamento de arritmias



Para o tratamento de arritmias destaca-se também a mexiletina (**Figura 4**), que tem como principal mecanismo de ação o bloqueio dos canais de sódio, ou seja, pertence à classe I, segundo a classificação de Vaughan Williams. A mexiletina também tem atividade ao combate da alodinia e síndrome miotônicas. Este fármaco se caracteriza como uma classe importante de β -amino aril éter e atualmente é comercializado na forma de racemato com o nome de Mexitil, sendo o enantiômero (*R*) mais potente que o enantiômero (*S*) (Sasikumar *et al.* 2009).

Figura 4- Estrutura química do fármaco antiarrítmico Mexiletina

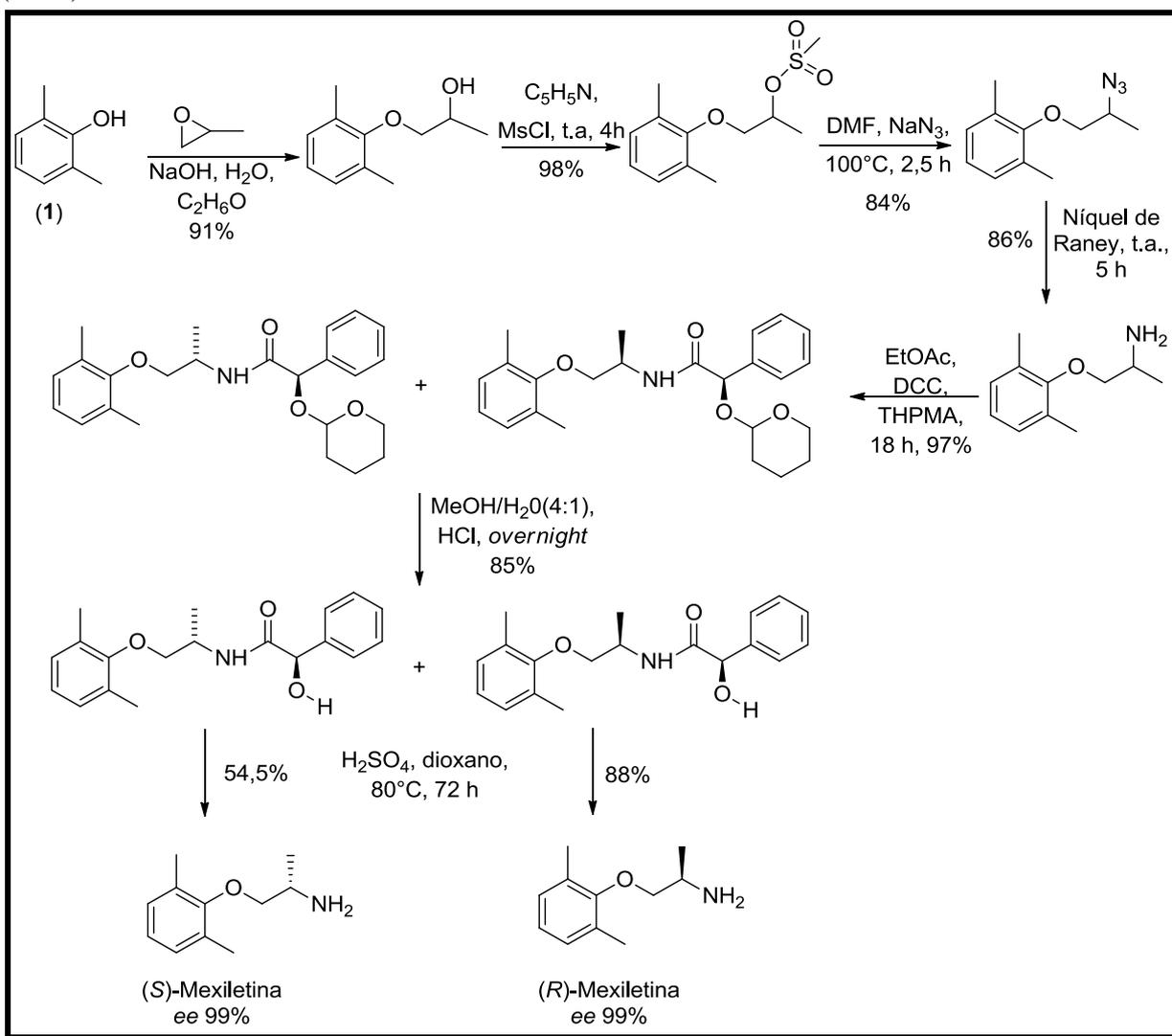


Fazendo uma busca na literatura sobre a síntese do fármaco Mexiletina, foi possível encontrar métodos de preparação química e quimioenzimática utilizando lipase. A ferramenta de pesquisa utilizada foi à base de dados “*Scifinder*” e “*Science direct*” utilizando as palavras-chave síntese Mexiletina e (*R*)-Mexiletina. Foram encontradas um total de 55 sínteses e selecionadas as sínteses que utilizaram como material de partida o 2,6-dimetilfenol, bem como catalisadores químicos e biocatalisadores.

3.2 Sínteses da Mexiletina

Em 1999, Aav e colaboradores prepararam os enantiômeros (*R*)-mexiletina e (*S*)-mexiletina, com 99% *e.e.* a partir do 2,6-dimetilfenol (**1**) utilizando um agente de derivatização quiral, o THPMA [ácido (2*R*)-hidroxifenilacético ou ácido (*R*)-mandélico protegido com tetra-hidropirano (THP)] (**Esquema 1**).

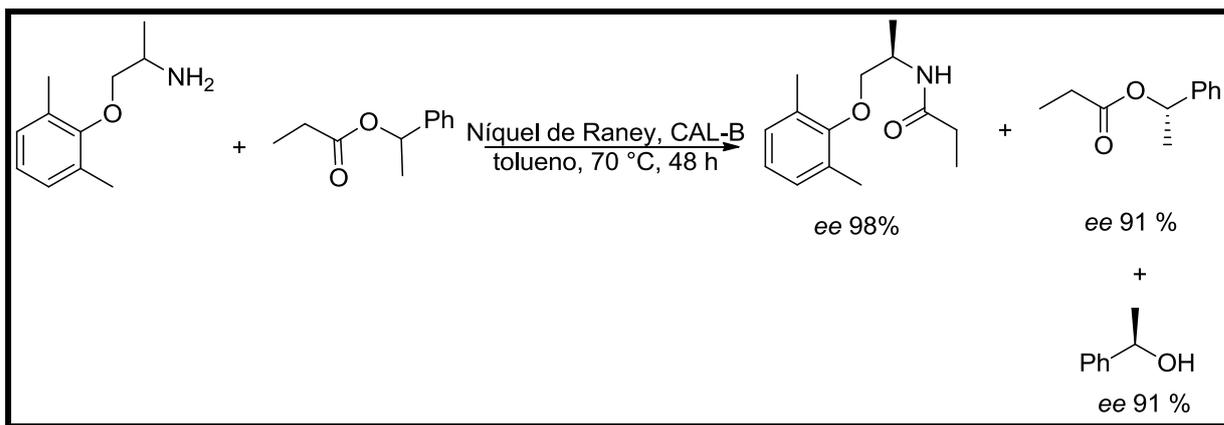
Esquema 1- Síntese da (*R*)-mexiletina e (*S*)-mexiletina descritas por Aav e colaboradores (1999).



Xia e colaboradores, em 2014, relataram o uso da resolução cinética dinâmica dupla (DDKR), utilizando um éster racêmico como doador de acila na resolução da amina. Tanto a resolução cinética dinâmica da amina quanto a resolução cinética do éster ocorrem simultaneamente em uma estratégia de cocatálise *via* biocatálise e catalisador metálico.

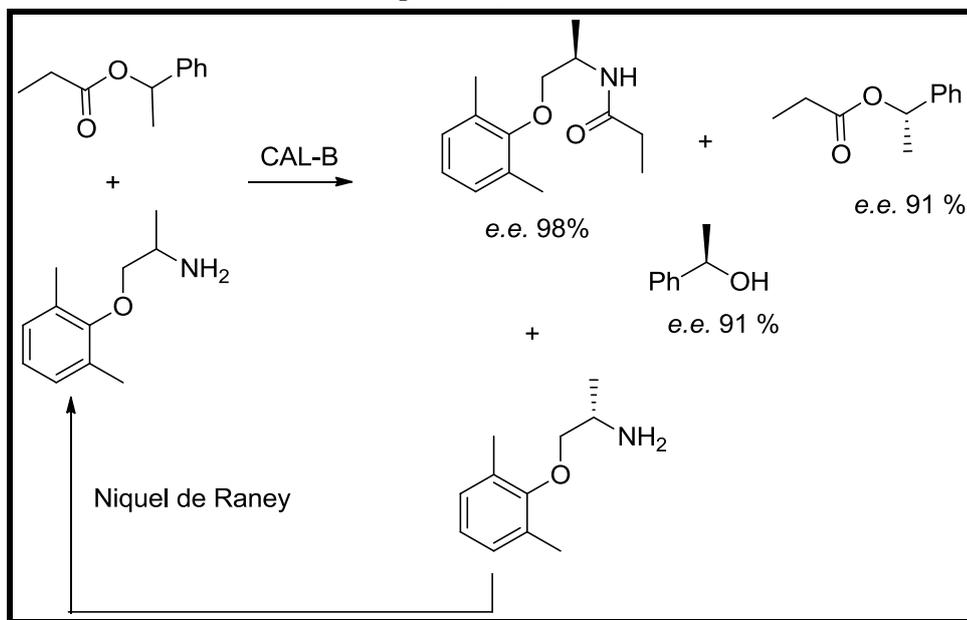
Os autores empregaram a lipase de *Candida antarctica* B (CAL-B) e níquel de Raney para resolver a mexiletina racêmica, com a obtenção de uma amida da mexiletina com pureza enantiomérica de 98%, um álcool com pureza de 91% e um éster com excesso enantiomérico de 91 %, em um processo simultâneo (**Esquema 2**).

Esquema 2-Resolução da mexiletina *via* resolução cinética dinâmica dupla descrita por Xia, 2014.



O processo de resolução cinética dinâmica pode ser mais claramente visualizado no **Esquema 3**.

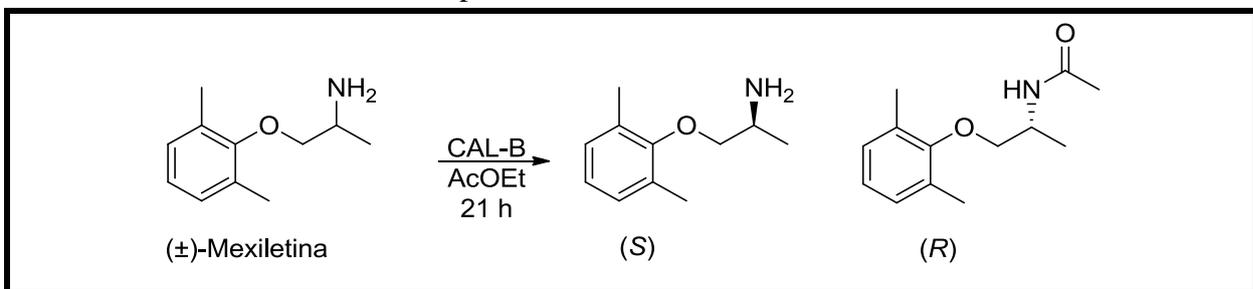
Esquema 3- Resolução cinética dupla do álcool e amina precursores da mexiletina descrita por Xia, 2014.



Gonzalez-Sabin e colaboradores, em 2002, resolveram a mexiletina *via* reação de acilação utilizando lipase CAL-B e acetato de etila como doador de acila e solvente da reação,

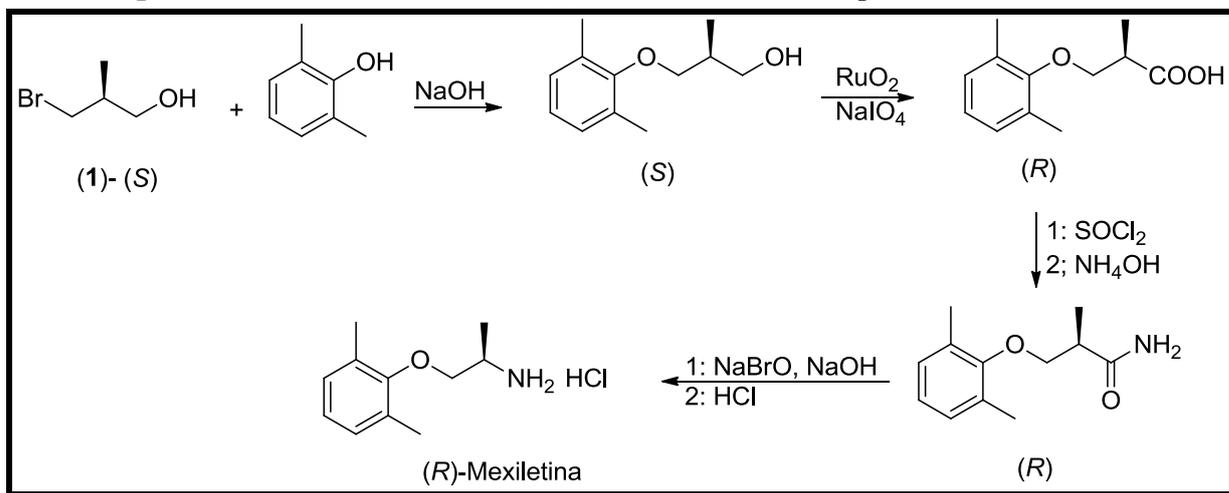
obtendo *e.e.* de substrato 99% e *e.e.* de produto de 92%, com conversão de 52% (**Esquema 4**).

Esquema 4- Resolução da mexiletina *via* reação de acilação na presença de CAL-B, descrita por Gonzalez-Sabin, 2002.



Em 1994, Franchini e colaboradores realizaram o estudo da síntese da mexiletina e determinaram sua configuração absoluta por técnicas de raio-X e RMN. O reagente de partida foi o (*S*)-3-bromo-2-metil-propan-1-ol (**1**) juntamente com 2,6-dimetil-fenol, fazendo o uso do catalisador de dióxido de rutênio, com obtenção da (*R*)-mexiletina em forma de cloridrato, cuja configuração absoluta foi determinada por técnica de raio-X. Concomitantemente, para efeito de comparação, os autores realizaram a resolução da *rac*-mexiletina por cristalização fracionada com (*L*)-tartarato de dibenzoíla (**Esquema 5**).

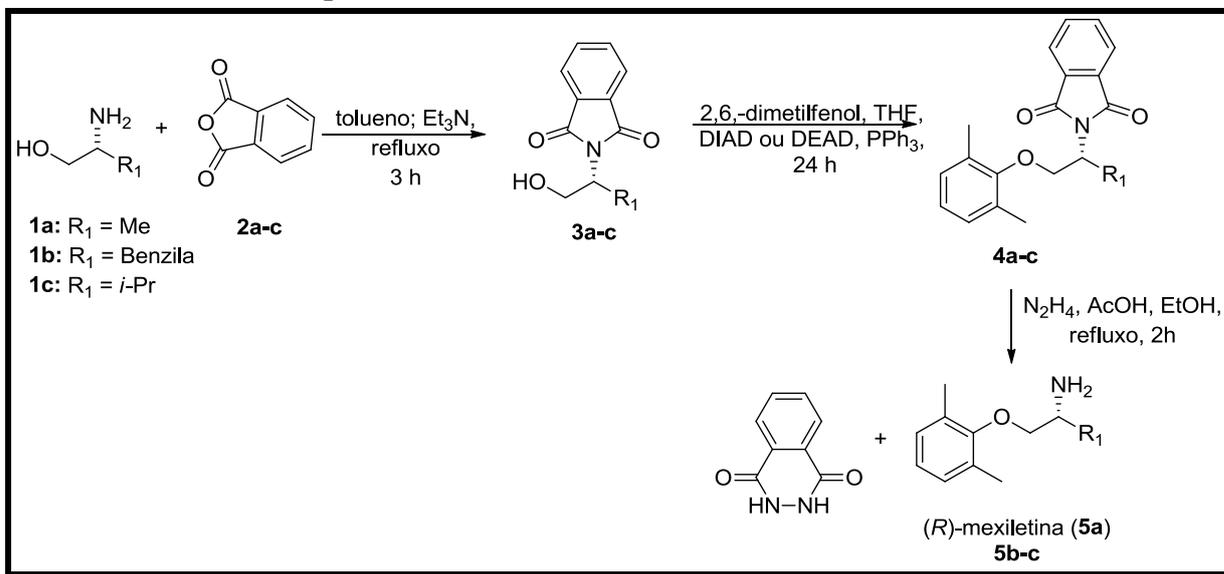
Esquema 5- Síntese do cloridrato (*R*)- mexiletina, descrita por Franchini, 1994.



Carocci e colaboradores, em 2000, relataram a síntese da mexiletina, tendo como reagente de partida o α -amino-álcool (**1a**). Inicialmente, foi realizada uma proteção do grupo amino, utilizando anidrido ftálico, e em seguida o derivado ftalamido (**3a**) foi submetido a reação de Mitsunobu com 2,6-dimetilfenol na presença de DIAD ou DEAD e trifetilfosfina, obtendo o aril-éter (**4a**). Finalmente, após uma reação de desproteção do grupo amino, foi

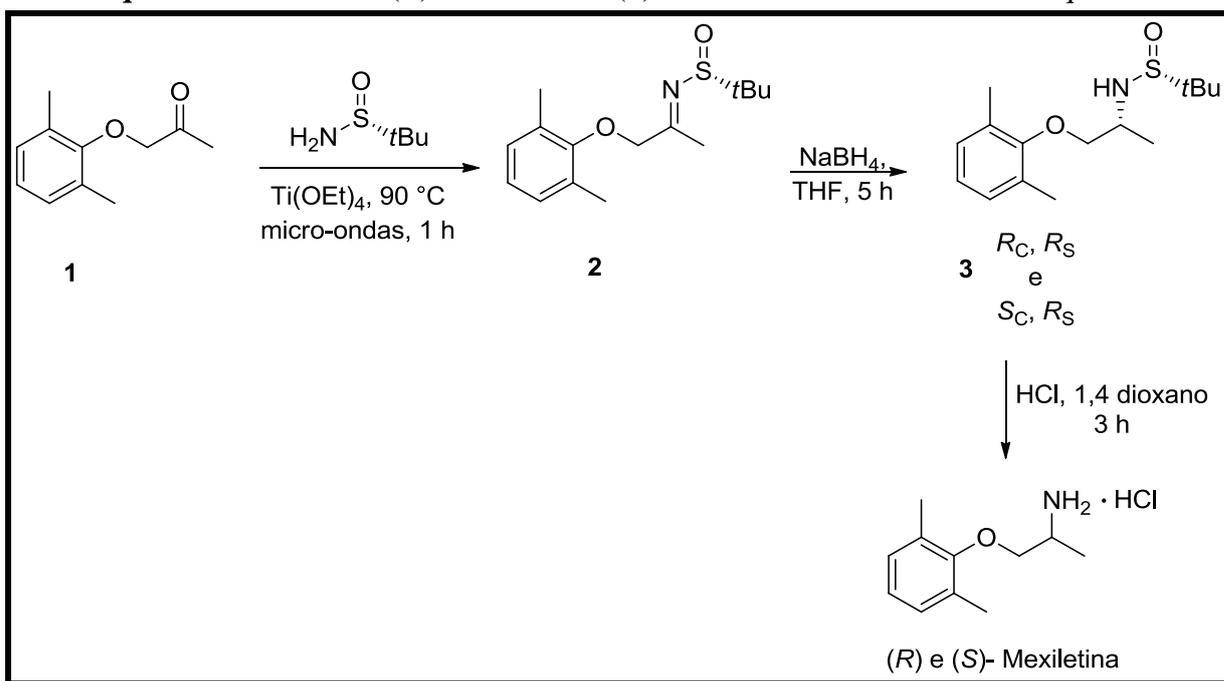
obtido o fármaco (*R*)-mexiletina com *e.e.* de 98%. O estudo foi expandido para análogos da mexiletina (**Esquema 6**).

Esquema 6-Síntese do (*R*)-Mexiletina e derivados



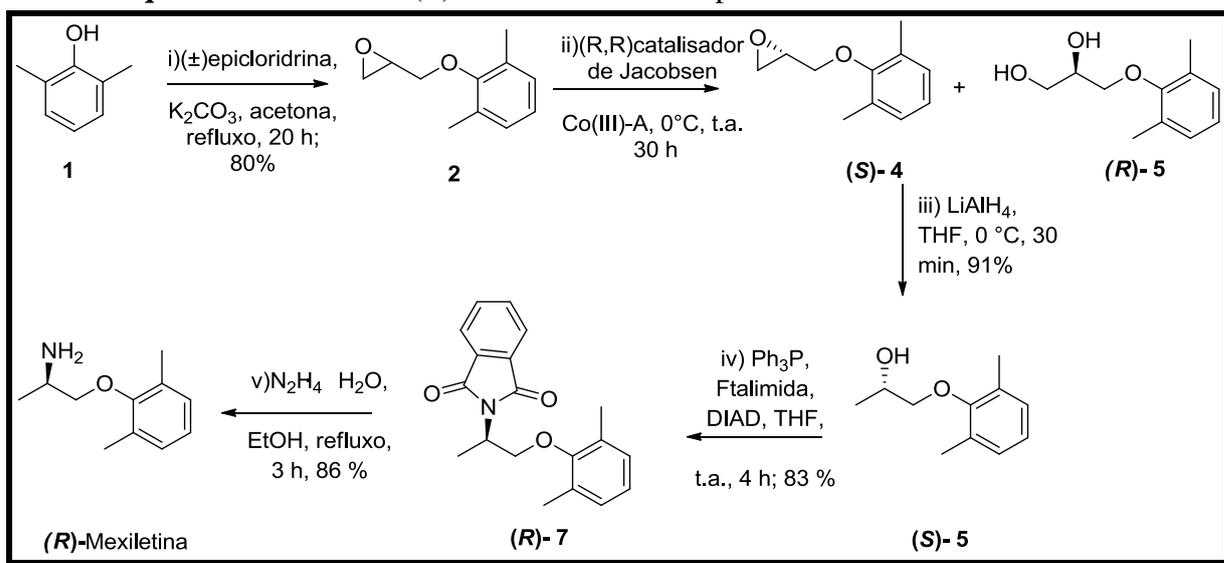
A utilização de auxiliares quirais também é bastante eficaz na obtenção de produtos enantiomericamente puros. Ryan e seus colaboradores, em 2015, sintetizaram os enantiômeros (*R*) e (*S*) da mexiletina, utilizando um auxiliar quiral. Neste estudo, os pesquisadores empregaram como auxiliar quiral o (*R*)-*terc*-butanossulfonamida e como material de partida a α -ariloxi-cetona (**1**), com obtenção do intermediário quiral (**2**). Em seguida, o intermediário (**2**) foi submetido à reação de redução, sendo analisados vários agentes redutores, com destaque para o boro-hidreto de sódio que levou a obtenção dos diastereoisômeros (*R_C* e *R_S*) e (*S_C* e *R_S*) (**3**) na proporção de 4:1, respectivamente, sendo que *C* (subscrito) refere-se ao centro estereogênico no carbono e *S* (subscrito) refere-se ao centro estereogênico no enxofre. Finalmente, após o tratamento de (**3**) com HCl em dioxano para desproteção do grupo amino, foi possível obter tanto a (*R*)-mexiletina como a (*S*)-mexiletina, com excesso enantiomérico de 99% (**Esquema 7**).

Esquema 7- Síntese da (*R*)- mexiletina e (*S*)- mexiletina utilizando auxiliar quiral



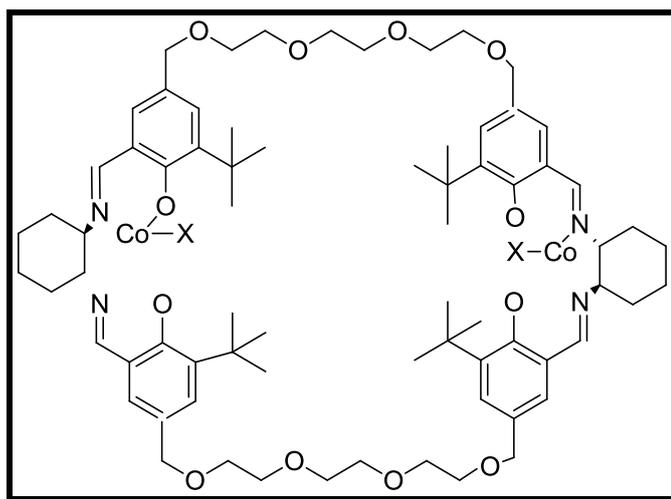
Sasikumar e colaboradores, em 2009, descreveram a síntese da (*R*)-Mexiletina na forma enantiomericamente pura, tendo como etapa chave da introdução da quiralidade, o uso do catalisador quiral de Jacobsen. Os autores sintetizaram o epóxido (**2**) a partir do 2,6-dimetilfenol (**1**) e da (\pm)-epicloridrina, na presença de carbonato de potássio e acetona como solvente. Em seguida, o produto (**2**) foi resolvido utilizando catalisador de Jacobsen Co^{III} , gerando (*S*)-**4** e o diol (*R*)-**5**. Subsequentemente, a abertura do epóxido (*S*)-**4** foi realizada com hidreto de alumínio e lítio em THF anidro, a 0°C , com obtenção do álcool secundário (*S*)-**5**. Este último, foi transformado, após duas etapas, no fármaco (*R*)- mexiletina (**Esquema 8**).

Esquema 8- Síntese da (*R*)-mexiletina descrita por Sasikumar e colaboradores

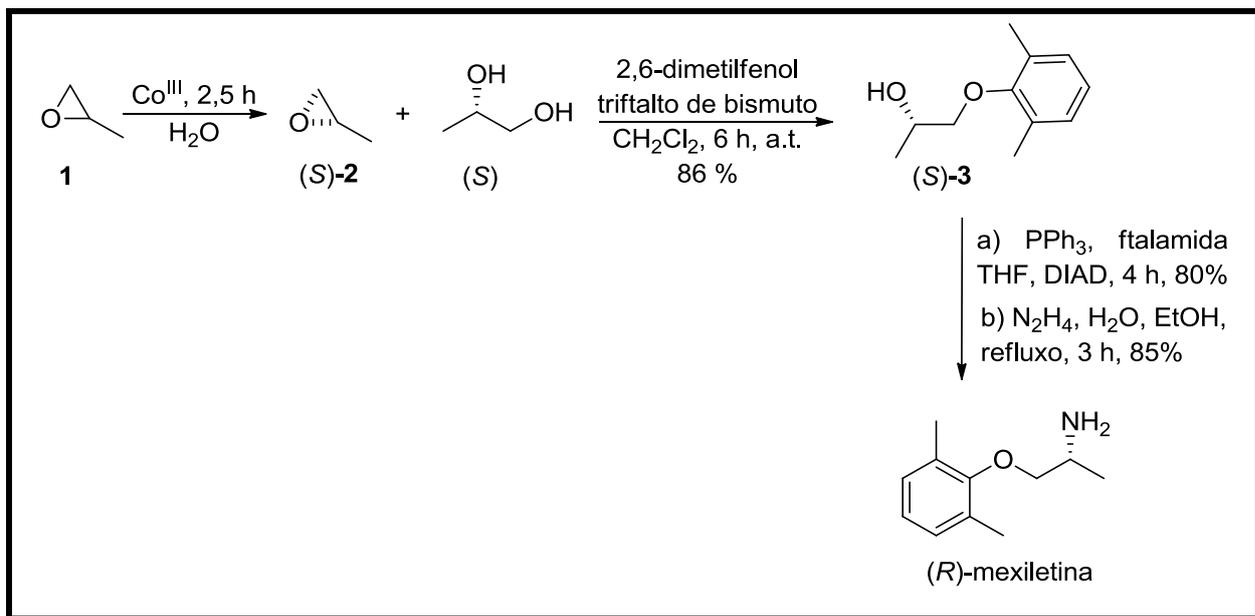


Sadhukhan e colaboradores, em 2012, relataram a resolução cinética hidrolítica do epóxido (**1**), utilizando um catalisador macrocíclico de Co^{III} (**Figura 5**), obtendo o (*S*)-óxido propeno (**2**) com *e.e.* >99%. Em seguida, este último reagiu com o 2,6-dimetilfenol com a obtenção de (*S*)-**3**. Após duas etapas foi obtida a (*R*)-mexiletina (**Esquema 9**).

Figura 5- Estrutura química do catalisador de Co^{III} empregado na síntese da (*R*)-Mexiletina descrita por Sadhukhan (2017)

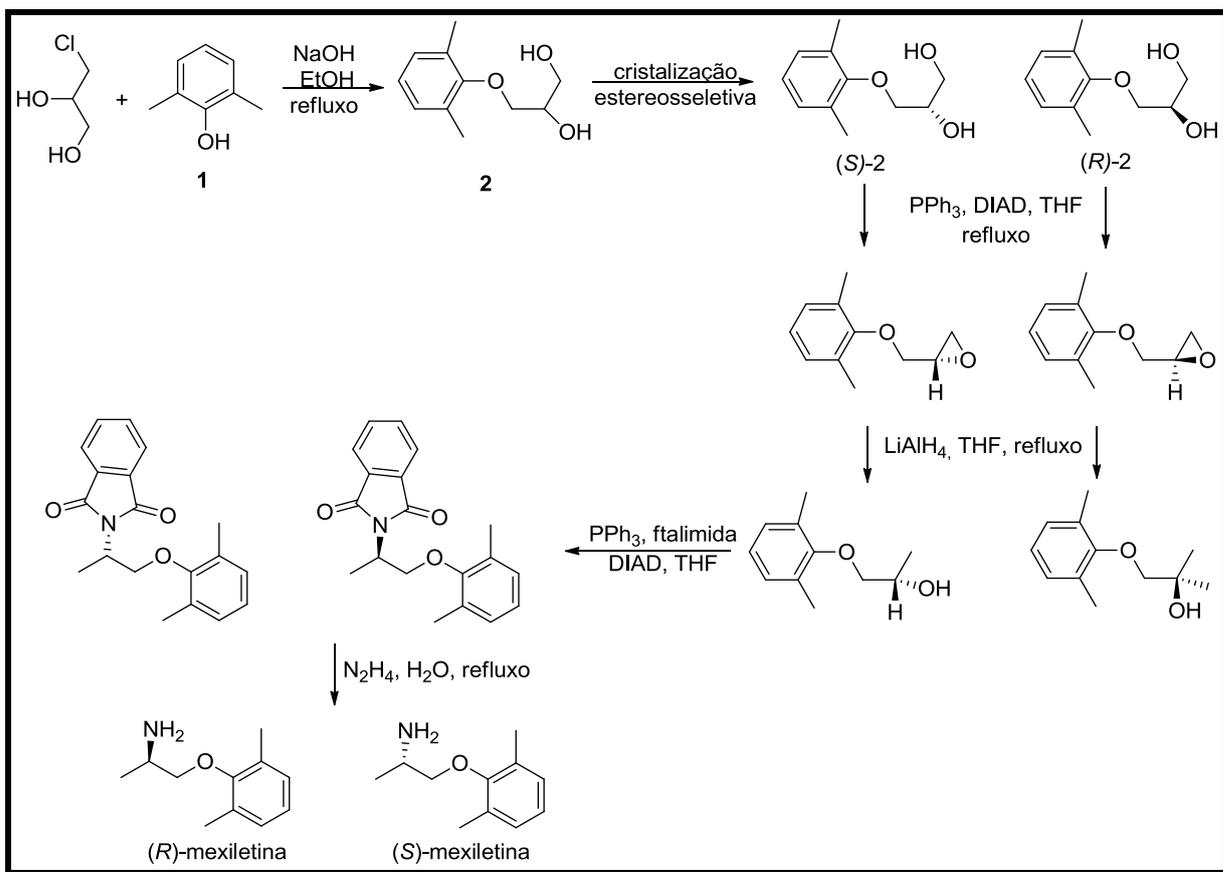


Esquema 9- Resolução cinética hidrolítica do epóxido (1) intermediário da síntese da (*R*)-Mexiletina



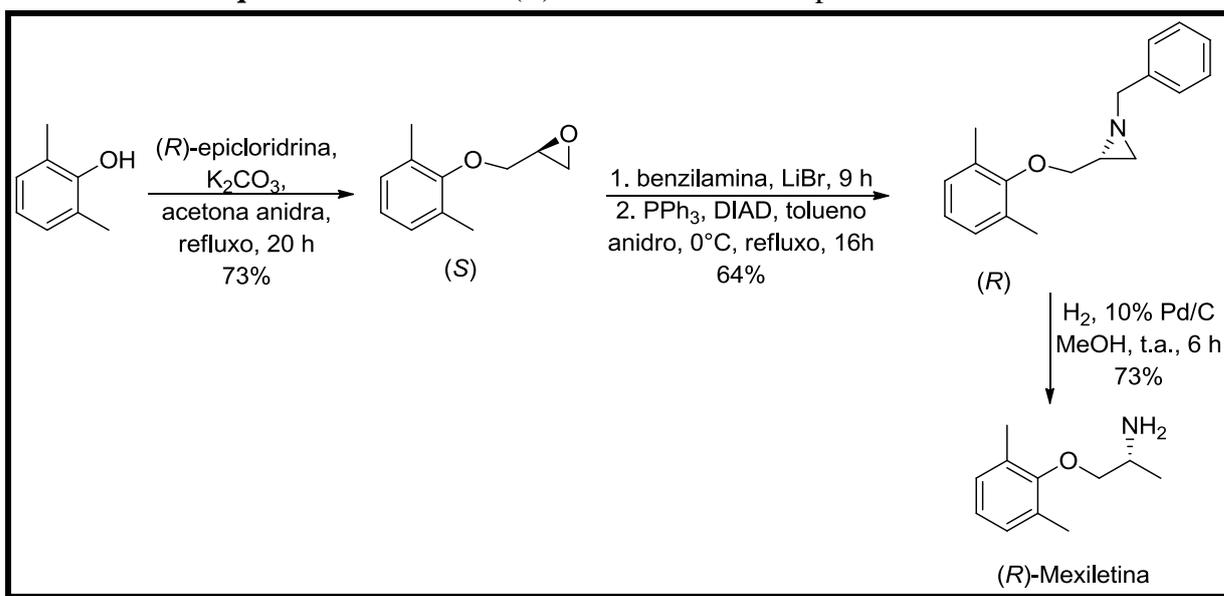
A síntese de Sasikumar e colaboradores (2009) serviu de base para estudos realizados por Bredikhina *et al.*, (2015) na produção de ambos (*R*)-mexiletina e (*S*)-mexiletina. A síntese teve como material de partida o 2,6-dimetilfenol (**1**) e a utilização de técnicas de cristalização estereosseletiva *via* resolução direta espontânea por “arrastamento” de *rac*-2, com a obtenção de (*S*)-2 e de (*R*)-2. A partir destes intermediários quirais pode-se obter tanto a (*R*)- quanto a (*S*)-mexiletina (**Esquema 10**).

Esquema 10-Síntese da (*R*)-mexiletina e (*S*)-mexiletina descritas por Bredikhina e colaboradores.



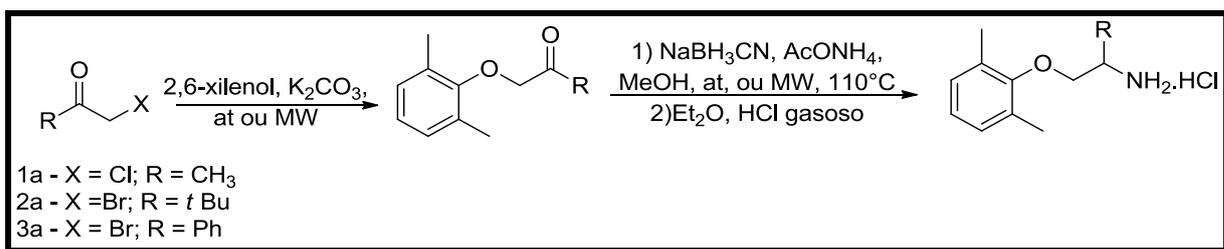
Relatos recentes destacam a preparação da (*R*)-mexiletina fazendo uso somente de etapas químicas durante a síntese, tendo como reagente de inserção de pureza enantiomérica a (*R*)-epicloridrina (**Esquema 11**) (Viswanadh *et al.*, 2015).

Esquema 11-Síntese da (*R*)-mexiletina descrita por Viswanadh.



Roselli e colaboradores, em 2016, realizaram a síntese química da mexiletina racêmica obtendo o fármaco na forma de sal e alguns análogos. A síntese se processou em duas etapas tanto em condições tradicionais, como assistida por micro-ondas. A primeira etapa se constitui em uma reação de Williamson com a obtenção da aril alquil cetona. Em seguida, foi realizada uma aminação redutiva obtendo as correspondentes aminas que foram tratadas com ácido clorídrico gasoso para a obtenção do referido fármaco e análogos na forma de cloridrato (**Esquema 12**).

Esquema 12- Síntese do cloridrato da mexiletina e análogos descritos por Roselli e colaboradores.



A presente revisão bibliográfica evidencia que existem poucos relatos da síntese da Mexiletina via biocatálise.

3.3 Álcoois secundários na síntese quimioenzimática.

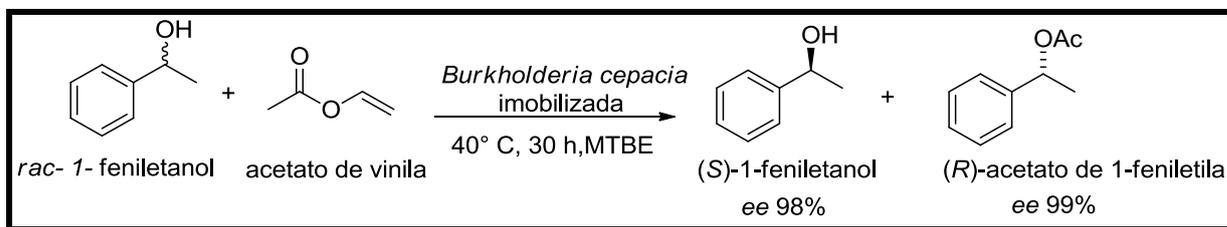
Os substratos racêmicos avaliados neste trabalho são álcoois secundários ou seus correspondentes acetatos. Portanto, decidimos apresentar uma revisão bibliográfica sobre a

resolução cinética de álcoois secundários e acetatos na presença de lipases. As bases de dados utilizadas foram “Scinfinder” e “Science direct” cobrindo o período de 2005-2017, fazendo uma seleção de dados que contenha álcoois secundários que são precursores ou intermediários de fármacos, bem como de produtos naturais com algum tipo de atividade.

Os álcoois secundários ou seus acetatos enantiomericamente puros são “blocos de construção” na síntese de diversos produtos de alto valor agregado e são frequentemente usados como excelentes alvos na resolução cinética enzimática, com aplicações na indústria farmacêutica, agroquímica e produtos alimentares.

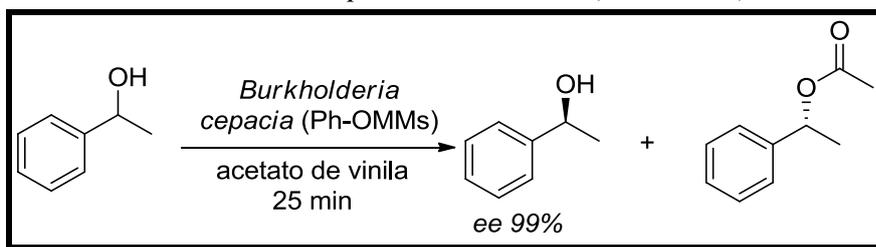
More *et al.*, em 2015, relataram a resolução cinética enzimática do 1- feniletanol, que é utilizado como conservante oftálmico e inibidor de absorção do colesterol no intestino, empregando lipase de *Burkholderia cepacia* imobilizada em uma matriz polimérica biodegradável, na presença de TBME como solvente, com 30 horas de reação a 40 ° C, utilizando como doador de acila o acetato de vinila. Em tais condições, foi obtida uma conversão de 50 % e excesso enantiomérico do substrato de 98% e do produto de 99% (**Esquema 13**).

Esquema 13- Resolução cinética do 1-feniletanol utilizando lipase de *Burkholderia cepacia* imobilizada



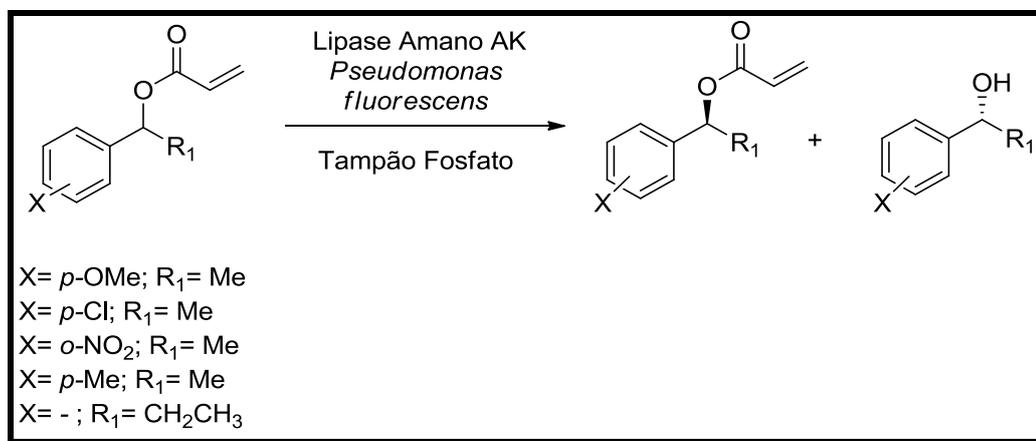
A resolução cinética do álcool secundário 1-feniletanol também foi investigada por Zheng *et al.*, em 2017, que descreveram a esterificação do álcool, utilizando como doador de acila o acetato de vinila e como biocatalisador a lipase de *Burkholderia cepacia* imobilizada em sílica mesoporosa ordenada funcionalizada com grupo fenila ((Ph-OMMs). Foi obtida uma conversão de 50 % e excesso enantiomérico do substrato de 99% em apenas 25 minutos, resultado excelente quando comparado com a mesma enzima na sua forma livre que teve 50 % de conversão e excesso enantiomérico de substrato de 95% em 27 horas de reação. Cabe ressaltar que a enzima utilizada teve seu reuso em 50 ciclos mantendo constante seus valores de conversão e *e.e.* (**Esquema 14**).

Esquema 14- Resolução cinética enzimática de 1-feniletanol utilizando lipase de *Burkholderia cepacia* imobilizada (Ph-OMMs)



Os ésteres acrílicos de álcoois secundários são utilizados como precursores na síntese de lactonas α , β -insaturadas com atividade antimicrobianas e antifúngicas. Tal classe de ésteres foi submetida à resolução cinética, *via* hidrólise, na presença da lipase Amano AK (*Pseudomonas fluorescens*). Ao final de 30 horas, para o substrato sem substituintes no anel aromático, foi obtida uma conversão de 50 %, com excesso enantiomérico do (S)- éster acrílico de 87% e excesso enantiomérico do (R)- álcool de 90 %. O estudo foi expandido para outros ésteres acrílicos de álcoois secundários com substituintes (BORA; BEZ; ANAL, 2011) (**Esquema 15**).

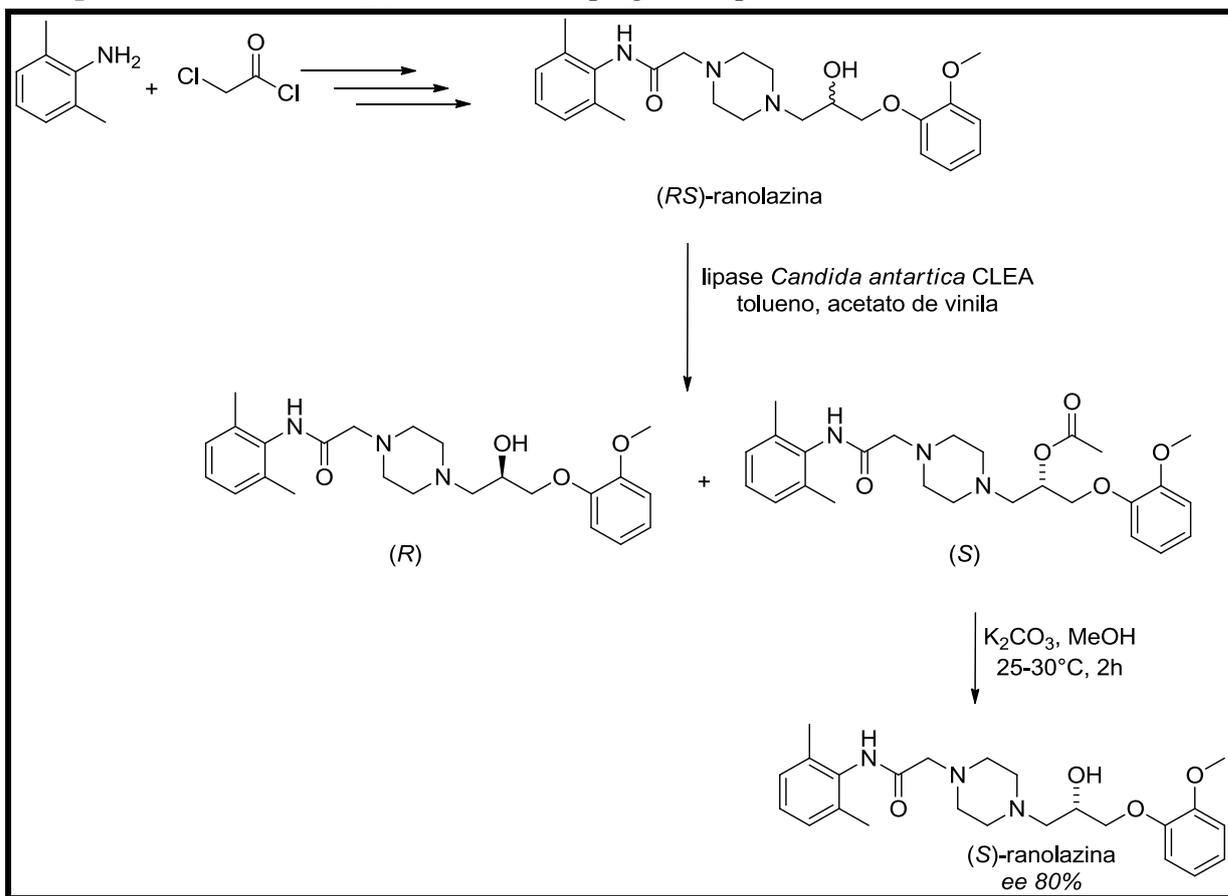
Esquema 15- Resolução cinética de ésteres acrílicos de álcool secundários empregando lipase Amano AK



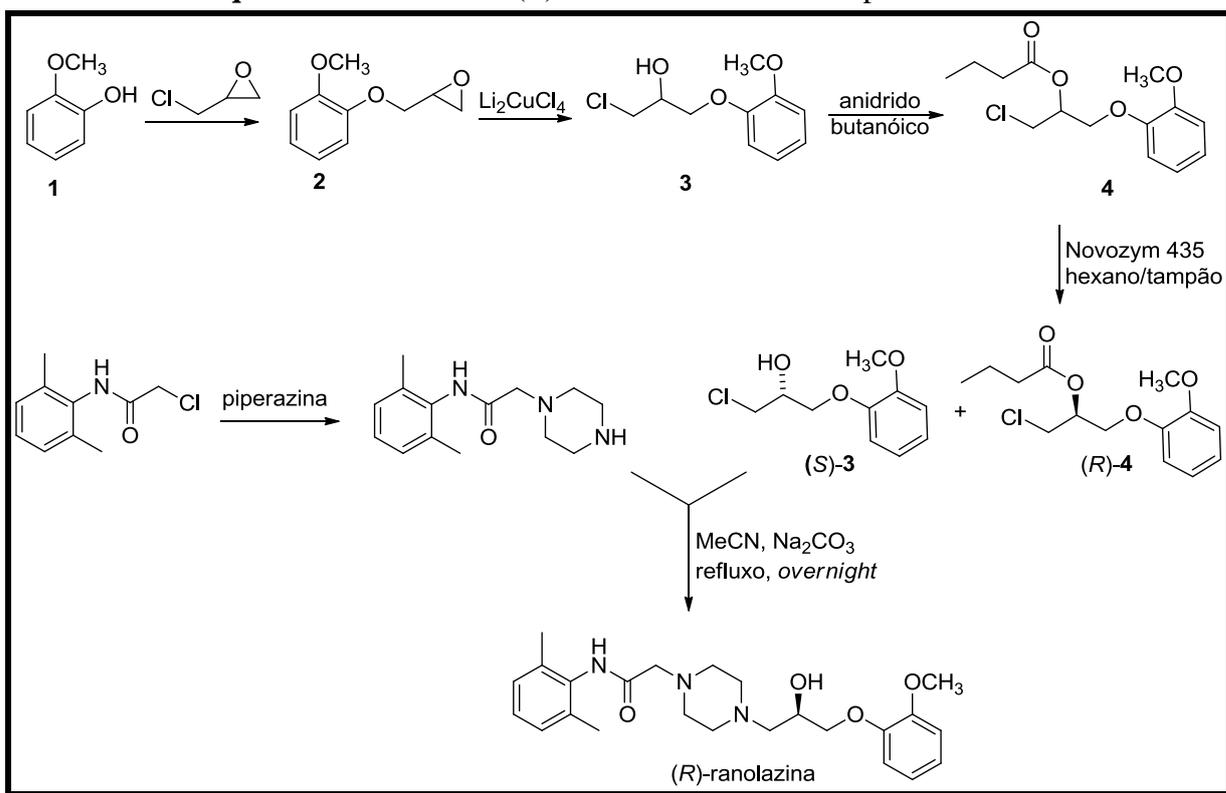
A relevância dos álcoois secundários enantiomericamente puros ou enriquecidos, como intermediários na síntese de substâncias bioativas, pode ser evidenciada pelos inúmeros relatos na literatura referente à sua obtenção e aplicação na obtenção de fármacos. É possível citar o trabalho realizado por Sawant *et al.*, em 2016, referente a síntese da (S)-ranolazina, um anti-anginal utilizado no tratamento de bradicardia e arritmias ventriculares. A ranolazina na forma racêmica foi submetida à resolução cinética *via* acetilação, empregando como biocatalisador a lipase de *Candida antarctica* CLEA (agregado enzimático por ligações cruzadas), acetato de vinila como doador de acila e éter dietílico como solvente a uma

temperatura de 30 °C. Após este tempo, foi obtida uma conversão de 48% e valores de excesso enantiomérico de 90% para o (*R*)-álcool e 98% para o (*S*)-acetato. A obtenção da (*S*)-ranolazina, com 80% de excesso enantiomérico, foi completada com a hidrólise do respectivo acetato (**Esquema 16**).

Esquema 16- Síntese do (*S*)-ranolazina empregando lipase de *Candida antarctica* CLEA

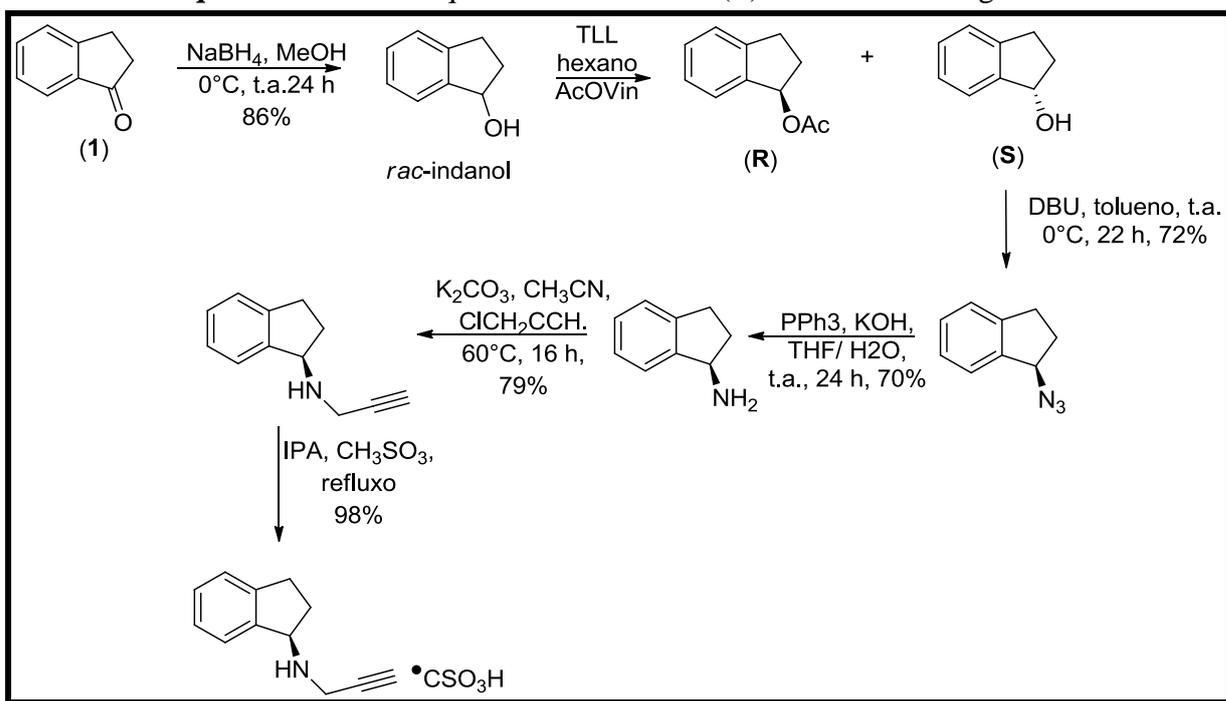


Um outro relato da síntese da (*R*)-ranolazina, refere-se à utilização da lipase de *Candida antarctica* CAL-B (Novozym 435). A primeira etapa constituiu na reação entre o 2-metóxi-fenol e a epiclorigrina. Em seguida, ocorreu à abertura regioespecífica do epóxido (**2**) na presença de Li_2CuCl_4 , levando a clorigrina (**3**). Posteriormente, foi realizada a esterificação de (**3**) com anidrido butanóico para obtenção do éster (**4**). Este último foi submetido à resolução cinética enzimática *via* hidrólise, usando lipase CAL-B (Novozym 435), em tampão, na presença de hexano, com a obtenção de uma enantiosseletividade >200. Finalmente, o fármaco (*R*)-ranolazina foi obtido a partir da reação entre (*S*)-**3** e a 2-(1-piperazinil)-1-(2,6-xilidina)-1-etanona (**Esquema 17**) (Moen *et al.*, 2005).

Esquema 17- Síntese da (*R*)-ranolazina utilizando lipase CAL-B

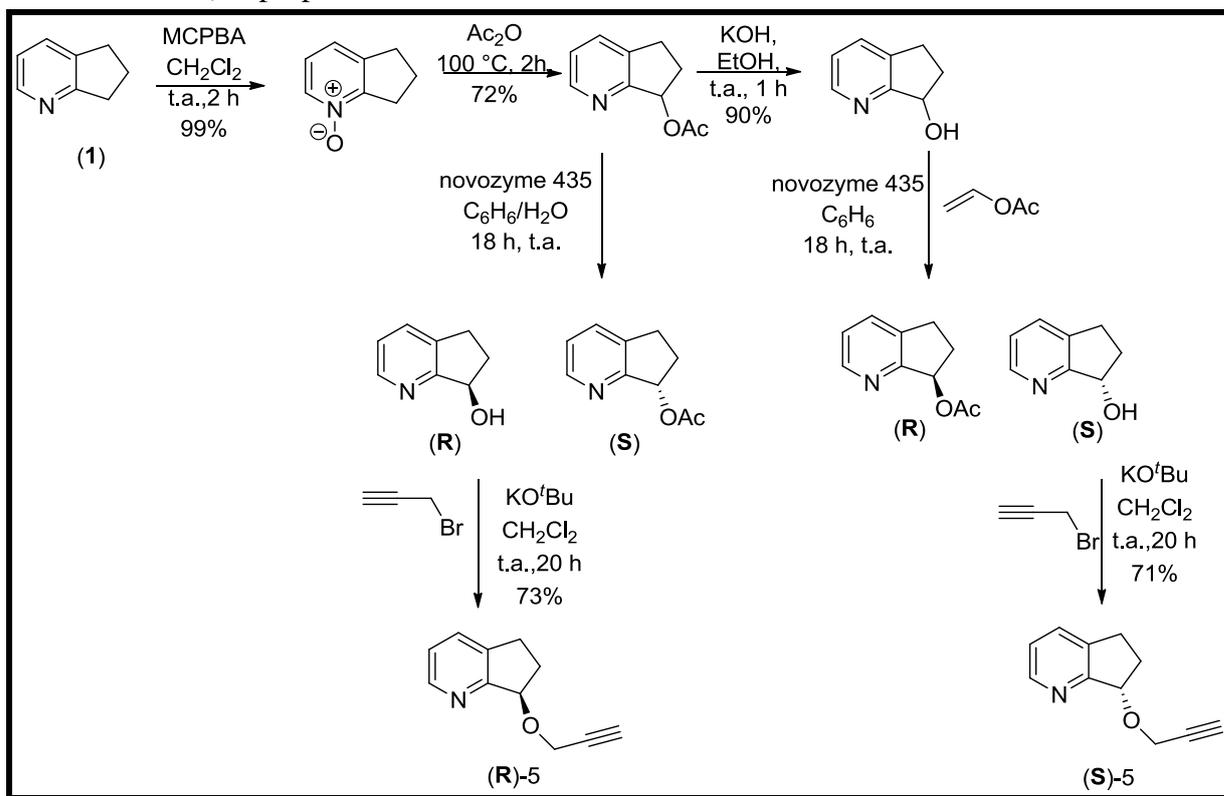
Um outro exemplo interessante, refere-se à obtenção do álcool secundário (*S*)-indanol que foi utilizado na síntese de um medicamento que combate ao mal de Parkinson, o Mesilato de Rasagilina. A síntese teve como etapa inicial a redução da indanona (**1**), com obtenção do *rac*-indanol. Este último foi submetido à resolução cinética *via* acetilação, usando a lipase de *Thermomyces lanuginosus* (TLL) imobilizada em imobead-150, em hexano, por 15 min a 35 °C. Em tais condições, foram obtidos o (*R*)-acetato de indanila e o (*S*)-indanol com *e.e.* > 99%, com *c* 50% e *E* > 200. Posteriormente, a síntese seguiu a partir do (*S*)-indanol com vários passos sintéticos até a produção do referido fármaco (**Esquema 18**) (Fonseca *et al.*, 2015).

Esquema 18- Síntese quimioenzimática do (*R*)-mesilato de rasagilina.

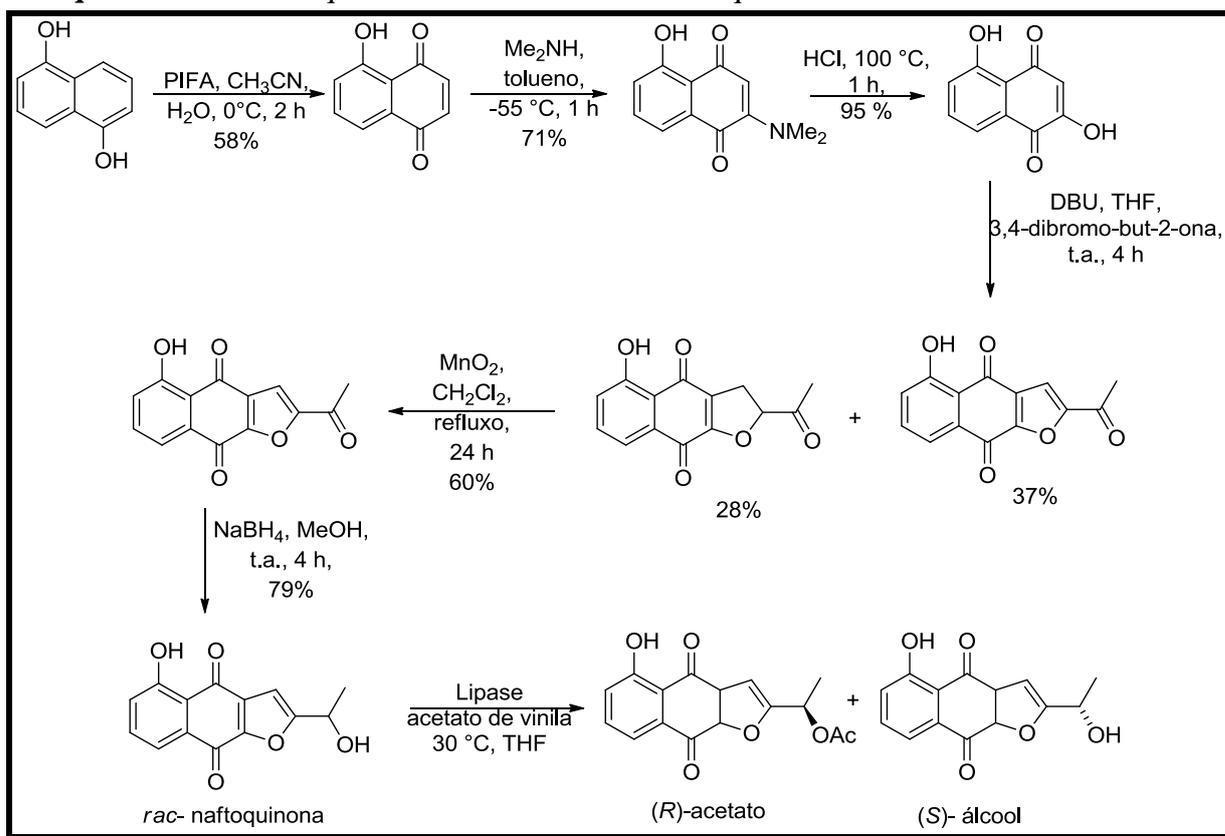


Um análogo do mesilato de rasagilina, o éter 7-(1-pirindanil) propargil (**5**) foi preparado a partir dos enantiômeros do indanol, resolvido na presença de lipase. Os pesquisadores utilizaram a lipase Novozym 435 para realizar a resolução por duas vias: acetilação do *rac*-indanol e hidrólise do *rac*-acetato de indanila. A acetilação foi realizada na presença de benzeno como solvente, por 18 horas, à temperatura ambiente e acetato de vinila como doador de acila. Em tais condições, foram obtidos o álcool com *e.e.* de 94% e o acetato com *e.e.* de 98% e conversão de 49%. A resolução cinética *via* hidrólise levou, coincidentemente, ao álcool com *e.e.* de 98% e ao acetato com *e.e.* de 94% e conversão de 49%. Nas duas *vias* enzimáticas as reações respeitaram a regra Kazlauskas. Finalmente, a síntese prosseguiu por etapas sintéticas com a obtenção do análogo do mesilato de rasagilina nas duas configurações (*R*) e (*S*) (**Esquema 19**) (Sousa *et al.*, 2015).

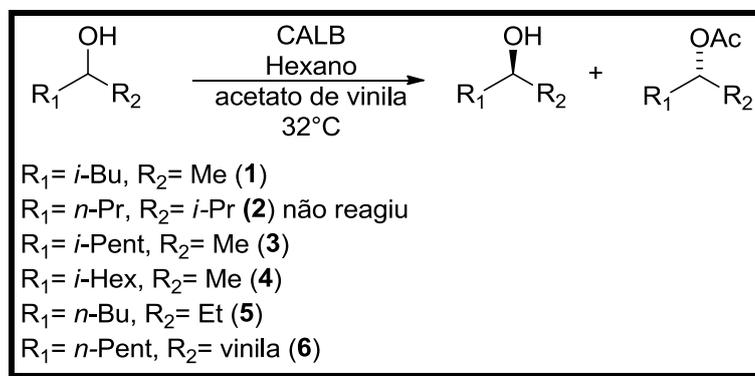
Esquema 19- Síntese quimioenzimática de um éter análogo ao mesilato de rasagilina, o 3-(4-aza-3-indaniloxi)-1-propino



A síntese quimioenzimática de uma naftoquinona (isolada da *Tabebuia impetiginosa*) com atividade antitumoral, teve como etapa chave a resolução cinética enzimática de seu racemato, na presença de lipases. A *rac*-naftoquinona foi preparada por várias etapas químicas e em seguida foi realizada a resolução cinética enzimática, *via* reação de acetilação, com destaque para as lipases *Pseudomonas cepacia* (3 horas de reação) e *Candida antarctica* B (2 horas de reação). Como solvente foi utilizado THF, com obtenção 99 % *e.e.* da (*S*)-naftoquinona e *e.e.* de 99% do (*R*)-acetilado e conversão de 50 % (**Esquema 20**) (ARAÚJO *et al.*; 2009).

Esquema 20- Síntese quimioenzimática de uma naftoquinona com atividade antitumoral.

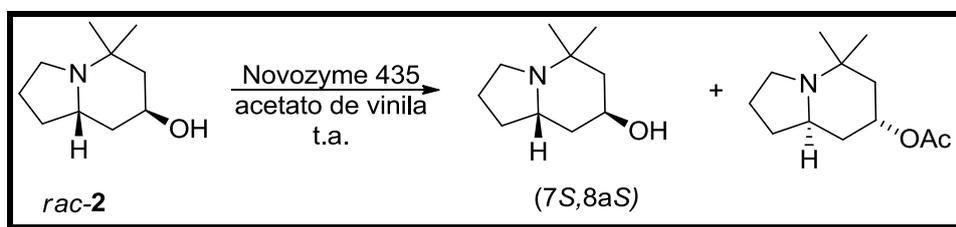
Ferreira e colaboradores, em 2012, investigaram a resolução cinética enzimática de álcoois secundários alifáticos, utilizando como biocatalisador a lipase de *Candida antarctica* (CAL-B), obtendo valores de excesso enantiomérico dos produtos acetilados > 99 % e conversão entre 30-50%. As configurações dos substratos remanescentes e dos correspondentes acetatos (produtos) obedeceram a regra de Kazlauskas (**Esquema 21**).

Esquema 21- Resolução cinética enzimática de álcoois secundários alifáticos *via* acetilação, utilizando CAL-B

Biciclos contendo octa-hidroindolizina como subestruturas estão presentes em substâncias naturais e não-naturais. Zhang e colaboradores, em 2017, relataram a resolução cinética, *via* acetilação, do álcool (\pm)-octaidro-5,5-dimetilindolizin-7-ol (*rac*-2).

A resolução cinética enzimática de *rac*-2 está representada no **Esquema 22**. Os melhores resultados foram obtidos em 16 horas de reação, com conversão de 44 %, utilizando lipase de *Candida antarctica* (Novozym 435[®]) e como doador de acila o acetato de vinila, à temperatura ambiente, resultando no álcool (7*S*,8*aS*)-octa-hidro-5,5-dimetilindolizin-7-ol com *e.e.* >98 % (**Esquema 22**).

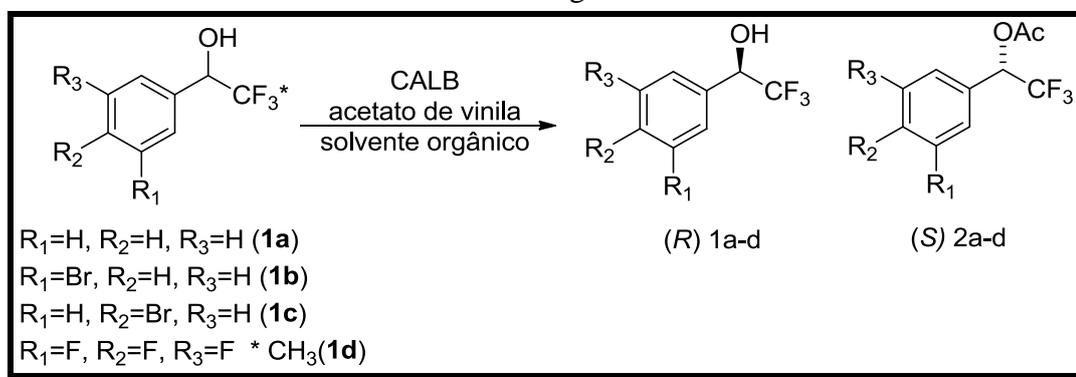
Esquema 22- Resolução cinética enzimática do álcool *rac*-2 empregando lipase Novozym 435[®]



Álcoois organofluorados são precursores de fármacos usados no tratamento da depressão, esquizofrenia e distúrbios bipolar. As resoluções cinéticas enzimáticas do álcool organofluorado (\pm)-2,2,2-trifluoro-1-feniletanol e alguns análogos, utilizando lipase CAL-B, foram realizadas utilizando aquecimento convencional (32 ou 45 °C) ou aquecimento por radiação de micro-ondas (45 °C). A resolução cinética do álcool **1a** (**Esquema 23**) por aquecimento convencional em agitação orbital (32 °C), em tolueno, levou a uma conversão de 49% e a um excelente *e.e.* do produto acetilado de > 99%, e *e.e.* do substrato de 62% ($E > 200$), porém em um tempo reacional longo de 168 horas. Em aquecimento convencional (banho de óleo), em tolueno, a 45 °C, a conversão foi de 20%, em 48 h de reação, levando ao produto com *e.e.* > 99. Em aquecimento por micro-ondas (45 °C, 200W) e com 5 h de reação, a conversão foi de apenas de 5 %, com manutenção do excesso enantiomérico do produto (*S*)-**2a** de 99%. O estudo foi ampliado para álcoois organofluorados com substituintes no anel aromático (**1b-d**). A resolução cinética do álcool **1b**, utilizando aquecimento convencional em agitação orbital (32 °C), levou ao produto acetilado com 82% de excesso enantiomérico ($E=19$) e uma conversão de 51% em 144 h de reação. Quando a reação foi realizada com aquecimento por micro-ondas, o produto foi obtido com excesso enantiomérico de 78% ($E=12$), uma conversão de 42% em 14 h de reação, praticamente, um décimo do tempo gasto na reação com aquecimento convencional. Na resolução cinética do álcool **1c**, sob aquecimento convencional, o acetato foi obtido com excesso enantiomérico > 99%, uma conversão de 49%

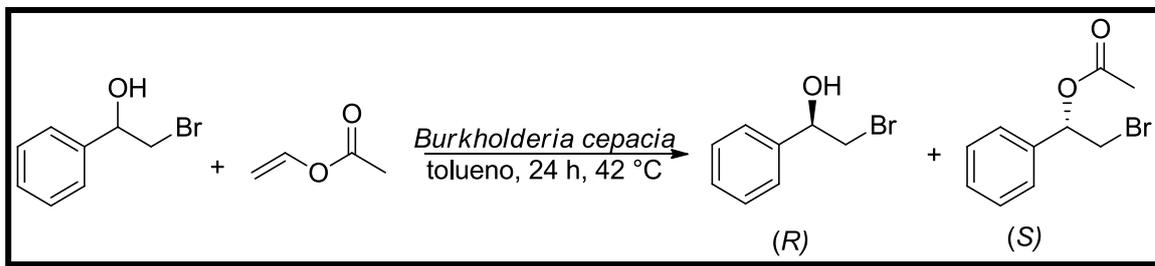
em 48 h de reação. Já, sob aquecimento de micro-ondas, o produto foi obtido com excesso enantiomérico de 98% ($E > 200$), conversão de 49%, em 14 h de reação. Finalmente, a resolução do álcool **1d**, sob aquecimento convencional, levou ao produto acetilado com excesso enantiomérico $> 99\%$, uma conversão de 50%, em 2 h, enquanto que sob aquecimento por micro-ondas o acetato foi obtido com excesso enantiomérico $> 99\%$, conversão de 50%, em apenas 30 minutos de reação (**Esquema 23**). Em todos os casos, a resolução cinética foi mais rápida sob aquecimento por micro-ondas (RIBEIRO; RAMINELLI; PORTO, 2013).

Esquema 23-Resolução enzimática do álcool organofluorado (\pm)-2,2,2-trifluoro-1-feniletanol e análogos



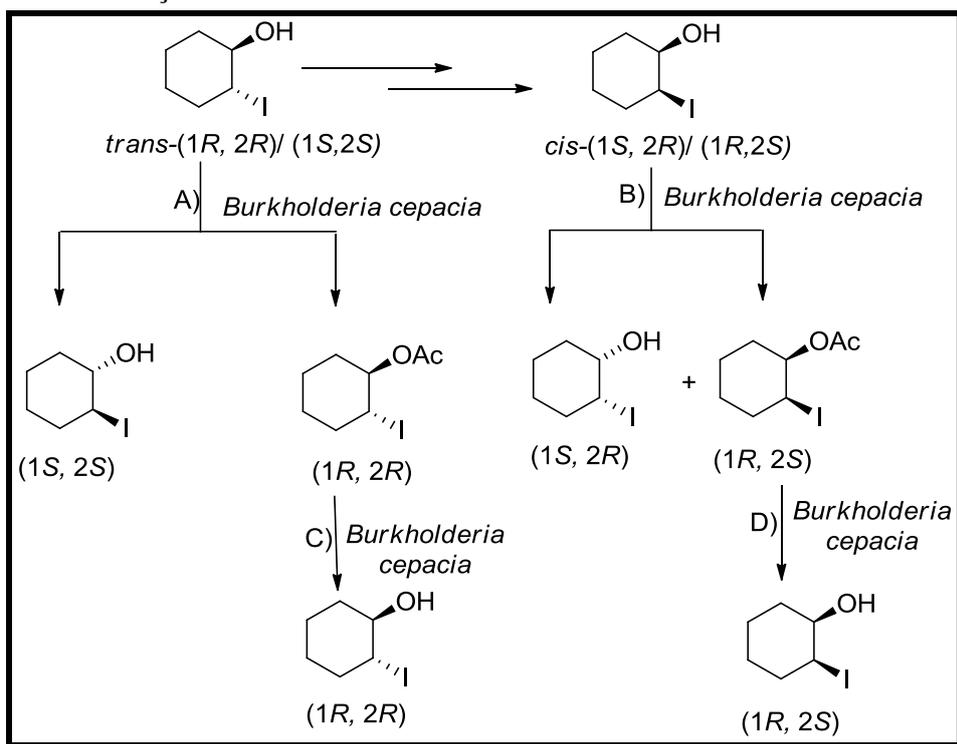
O álcool secundário (*R,S*)-2-bromo-1-feniletanol, precursor de fármacos para tratamentos de distúrbios psiquiátricos como depressão, ansiedade e alcoolismo, foi resolvido com lipase de *Burkholderia cepacia* imobilizada em nanopartículas supermagnéticas (Fe_3O_4) por diferentes metodologias (adsorção, quimissorção com carboxibenzaldeído e quimissorção com glutaraldeído). Os melhores resultados foram obtidos com a referida lipase imobilizada na presença de glutaraldeído (reticulação), com conversão de 34%, e *e.e.* do produto $>99\%$, *e.e.* do substrato 51%, em solvente tolueno, 42 °C, 24 horas de reação e acetato de vinila como doador de acila (**Esquema 24**) (ANDRADE *et al.*, 2010).

Esquema 24- Resolução cinética do álcool secundário (*RS*)-2-bromo-1-feniletanol empregando lipase *Burkholderia cepacia* imobilizada em nanopartículas supermagnéticas (Fe_3O_4) em diferentes metodologias

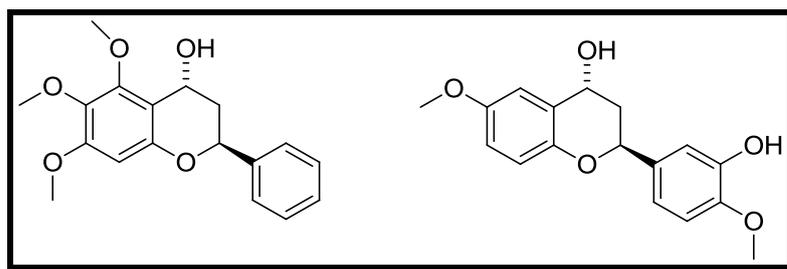


Kolodiazhna e colaboradores, em 2012, realizaram a resolução cinética dos estereoisômeros *cis* e *trans* do 2-iodociclo-hexanol. Este álcool é utilizado na síntese de compostos bioativos, precursores de prostaglandinas e leucotrienos. O substrato de partida *trans*-2-iodociclo-hexanol racêmico foi obtido a partir do óxido de cicloexeno, por tratamento com iodeto de lítio. O isômero *trans* foi resolvido utilizando lipase de *Burkholderia cepacia* imobilizada em diatomita, utilizando acetato de vinila como doador de acila, com obtenção de conversão de 50 %, resultando no (1*S*,2*S*)-álcool e (1*R*,2*R*)-acetato (**A**). Em seguida, o acetato foi submetido a uma hidrólise enzimática com a mesma lipase, resultando no álcool (1*R*,2*R*) com *e.e.* >98 % (**C**).

O isômero *cis*-(1*S*, 2*R*)/(1*R*, 2*S*) foi obtido após a oxidação de Swern do *trans*-racêmico levando a uma cetona, a qual, subsequentemente, foi submetida a uma redução com boro hidreto de sódio. Em seguida, foi realizada a resolução cinética do *cis*-(1*S*,2*R*)/(1*R*,2*S*) (**B**), via acetilação com acetato de vinila na presença de lipase de *Burkholderia cepacia*, levando ao álcool e ao respectivo acetato com *e.e.* de 98 e 99%, respectivamente e enantiosseletividade $E > 100$. Posteriormente, o acetato foi submetido à hidrólise enzimática em tampão fosfato em pH 7,2 com obtenção do álcool (1*R*, 2*S*) com *e.e.* e *e.d.* (aproximadamente) de 99% (**D**) (**Esquema 25**).

Esquema 25-Resolução cinética dos estereoisômeros *trans* e *cis* 2-iodociclo-hexanol

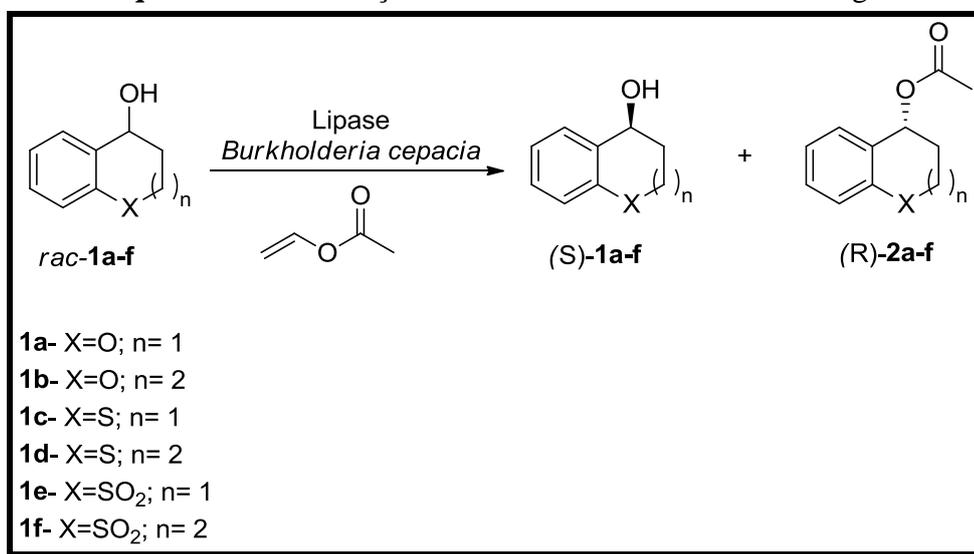
Kucher e colaboradores, em 2014, realizaram a resolução cinética do cromano-4-ol e análogos. A estrutura deste álcool está presente em muitos produtos naturais com atividade antioxidante e que ajudam a prevenir o câncer. Dentre estes compostos podem ser destacados os produtos naturais extraído das plantas *B. zenkeri* e *T. yannanensis* (**Figura 6**).

Figura 6-Produtos naturais que possuem núcleo cromano-4-ol

As resoluções cinéticas do cromano-4-ol e análogos (**Esquema 26**) foram realizadas utilizando TBME como solvente e acetato de vinila como doador de acila à temperatura ambiente. Na resolução cinética foram obtidos os (*S*)-álcoois e os (*R*)-acetatos remanescentes. Cabe ressaltar que os (*R*)-acetatos remanescentes foram hidrolisados na presença de K_2CO_3 /metanol, levando aos (*R*)-álcoois. O composto **1a**, após 14 horas, teve 50 % de conversão e *e.e.* de 94 % para o (*S*)-álcool e 95 % de *e.e.* para o (*R*)-álcool. Para o substrato **1b**, um heterocíclico maior, os *e.e.* foram > 99% para ambos os enantiômeros.

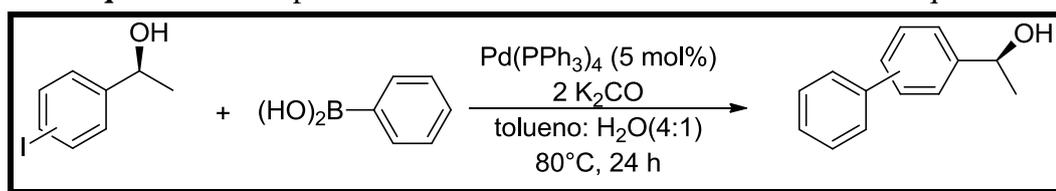
Diante dos resultados preliminares, o estudo foi expandido para os *tio* análogos (**1c**) e (**1d**) e seus correspondentes dióxidos (**1e-f**). Com o substrato **1c** foram obtidos valores de *e.e.* de 95% para ambos enantiômeros, enquanto para o **1d** obteve-se uma conversão de apenas 2%, nas mesmas condições utilizadas para os substratos anteriores (proporção substrato: enzima 1:10, 23 °C). Com isso, foram alteradas as condições como relação substrato: enzima 1:3 e temperatura de 40 °C. Decorrido 50 horas de reação, foi obtida uma conversão de 50 %, e *e.e.* de 85% para ambos enantiômeros. Para os compostos **1e** e **1f** foram utilizadas condições mais drásticas, 50 °C e quatro dias reacionais, resultando em uma conversão de 50 %, para ambos, e para **1e**, valores de *e.e.* $\geq 94\%$ e para **1f** *e.e.* $\geq 90\%$ (**Esquema 26**).

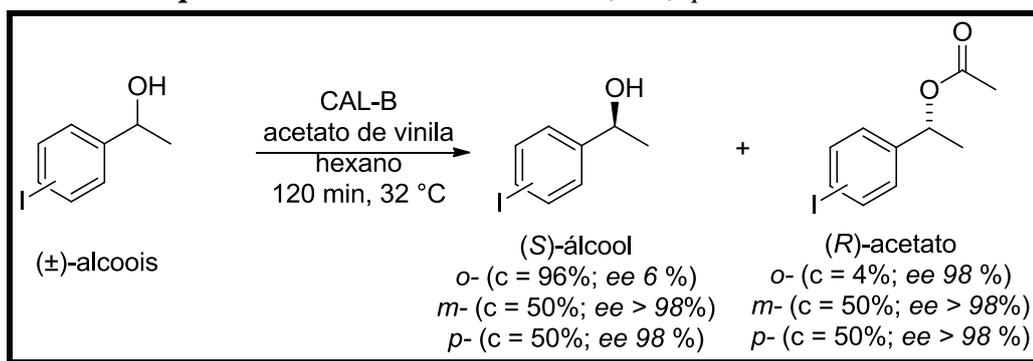
Esquema 26 - Resolução cinética do cromano-4-ol e análogos



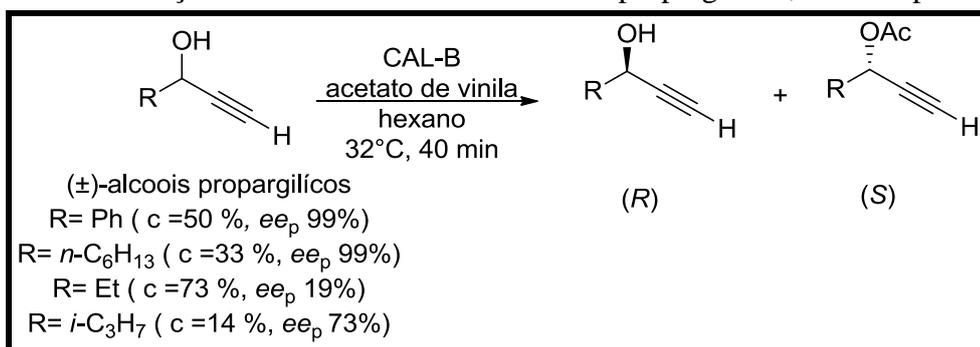
Rocha e colaboradores, em 2010, resolveram álcoois secundários *-o*-, *-m*- e *-p*-iodofeniletanol que são “blocos de construção” de compostos bifenílicos *via* acoplamento de Suzuki (**Esquema 27**), utilizando lipase CAL-B, em hexano, a 32 °C e acetato de vinila, por 120 minutos (**Esquema 28**).

Esquema 27-Acoplamento de Suzuki com álcoois iodofeniletanol quirais

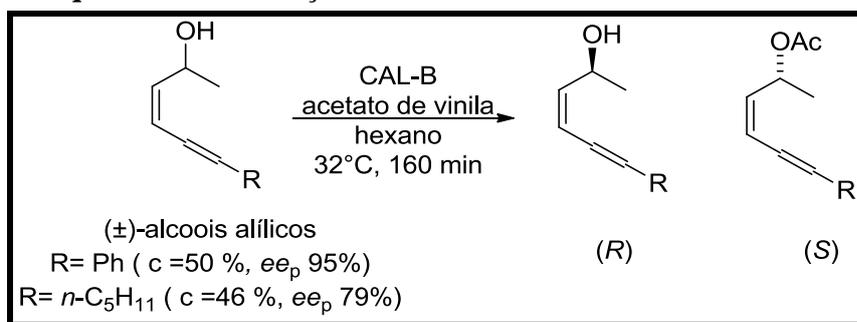


Esquema 28-Álcoois secundários *-o*, *-m*, *-p* iodofeniletanol

A lipase CAL-B também se mostrou bastante eficaz na resolução de álcoois alílicos e propargílicos que são “blocos de construção” versáteis na síntese de compostos naturais e moléculas bioativas. Os resultados mostraram que os álcoois propargílicos reagiram em condições favoráveis, utilizando hexano como solvente e acetato de vinila como doador de acila, a uma temperatura de 32 °C, por 40 min (**Esquema 29**) (Raminelli *et al.*,2004).

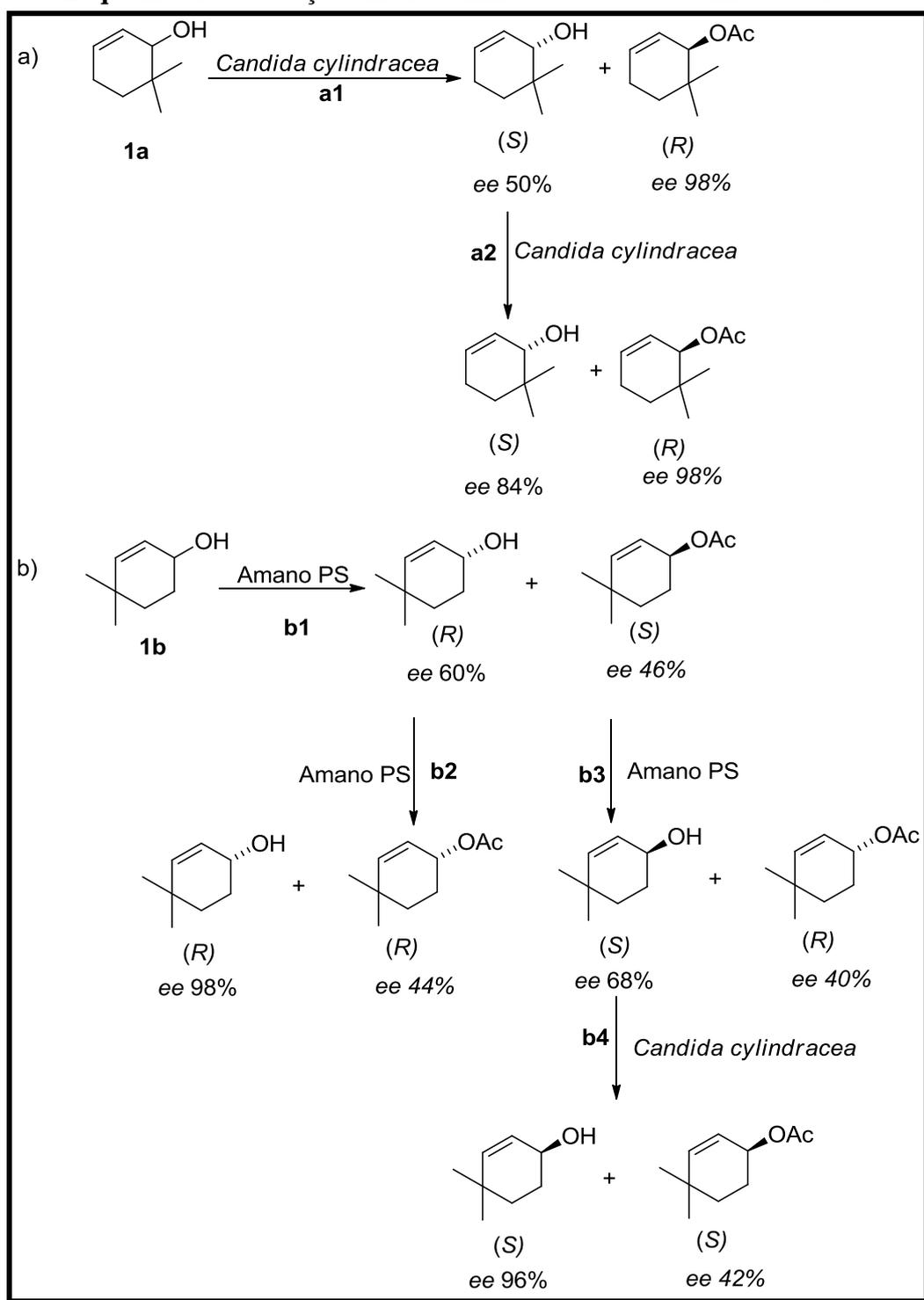
Esquema 29- Resolução cinética enzimática de álcoois propargílicos, descrita por Raminelli.

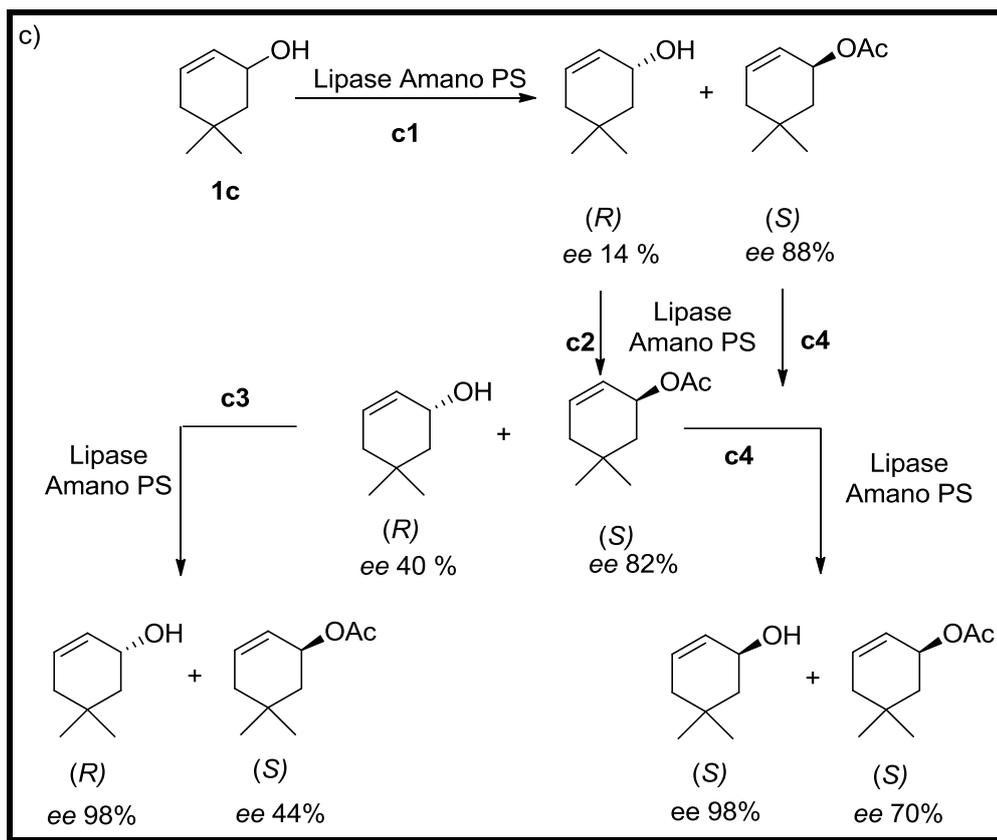
O estudo foi expandido para dois álcoois alílicos utilizando as mesmas condições, porém os melhores resultados foram obtidos com tempo de reação de 160 min (**Esquema 30**).

Esquema 30- Resolução cinética enzimática de álcoois alílicos

Winska e colaboradores, em 2010, relataram a resolução cinética enzimática de álcoois alílicos cíclicos, 6,6-dimetilcicloex-2-en-1-ol (**1a**), 4,4-dimetilcicloex-2-en-1-ol (**1b**) e 5,5-dimetilex-2-en1-ol (**1c**). O 6,6-dimetilcicloex-2-en-1-ol foi resolvido *via* acetilação, utilizando acetato de vinila como doador de acila, na presença da lipase *Candida cylindracea*, em 24 horas. Foram obtidos (*R*)-acetato com *e.e.* > 99% e *e.e.* de 50% para o (*S*)-álcool (**Esquema 31a, etapa a1**). O álcool remanescente foi novamente resolvido nas mesmas condições anteriores com obtenção do (*R*)-acetato *e.e.* 98% e (*S*)-álcool *e.e.* 84% (**Esquema 31a, etapa a2**). O álcool alílico 4,4-dimetilcicloex-2-en-1-ol foi resolvido *via* acetilação em hexano, utilizando acetato de vinila como doador de acila, por quatro dias utilizando lipase Amano PS, resultando no (*S*)-acetato com *e.e.* 46% e (*R*)-álcool com 60% *e.e.* (**Esquema 31b, etapa b1**). Em seguida o álcool remanescente foi resolvido nas mesmas condições anteriores durante seis dias, obtendo o (*R*)-acetato e (*R*)-álcool com *e.e.* 44% e 98%, respectivamente (**b2**). O acetato remanescente da primeira reação enzimática (**b1**) foi hidrolisado em tampão fosfato, utilizando lipase Amano PS durante cinco dias, obtendo como produtos reacionais (*S*)-álcool com *e.e.* 68% e (*R*)-acetato com 40% *e.e.* (**Esquema 31b, etapa b3**). Posteriormente, o álcool obtido na etapa (**b3**) foi ressubmetido a uma nova resolução enzimática com lipase *Candida cylindracea* durante cinco dias, tendo como produtos (*S*)-álcool com *e.e.* 96% e (*S*)-acetato com 42% *e.e.* (**Esquema 31b, etapa b4**). Com o álcool 5,5-dimetilex-2-en1-ol foi realizada uma acetilação durante 12 dias com lipases Amano PS, obtendo um *e.e.* de (*R*)-álcool de 14% e *e.e.* 88% de (*S*)-acetato (**Esquema 31c, etapa c1**). O álcool remanescente foi resolvido em sucessivas esterificações, durante seis dias, obtendo *e.e.* 40% (*R*)- álcool, 82 % *e.e.* de (*S*)-acetato (**Esquema 31c, etapa c2**). Novamente, o álcool remanescente foi resolvido nas mesmas condições anteriores, obtendo *e.e.* 98% (*R*)-álcool, e *e.e.* 44% (*S*)-acetato (**Esquema 31c, etapa c3**). Ainda foi realizada a hidrólise dos (*S*)-acetatos obtidos na etapa **c1** e **c2** para obtenção do (*S*)-álcool *e.e.* 98% (**Esquema 31c, c4**).

Esquema 31- Resolução cinética enzimática de álcoois alíficos cíclicos





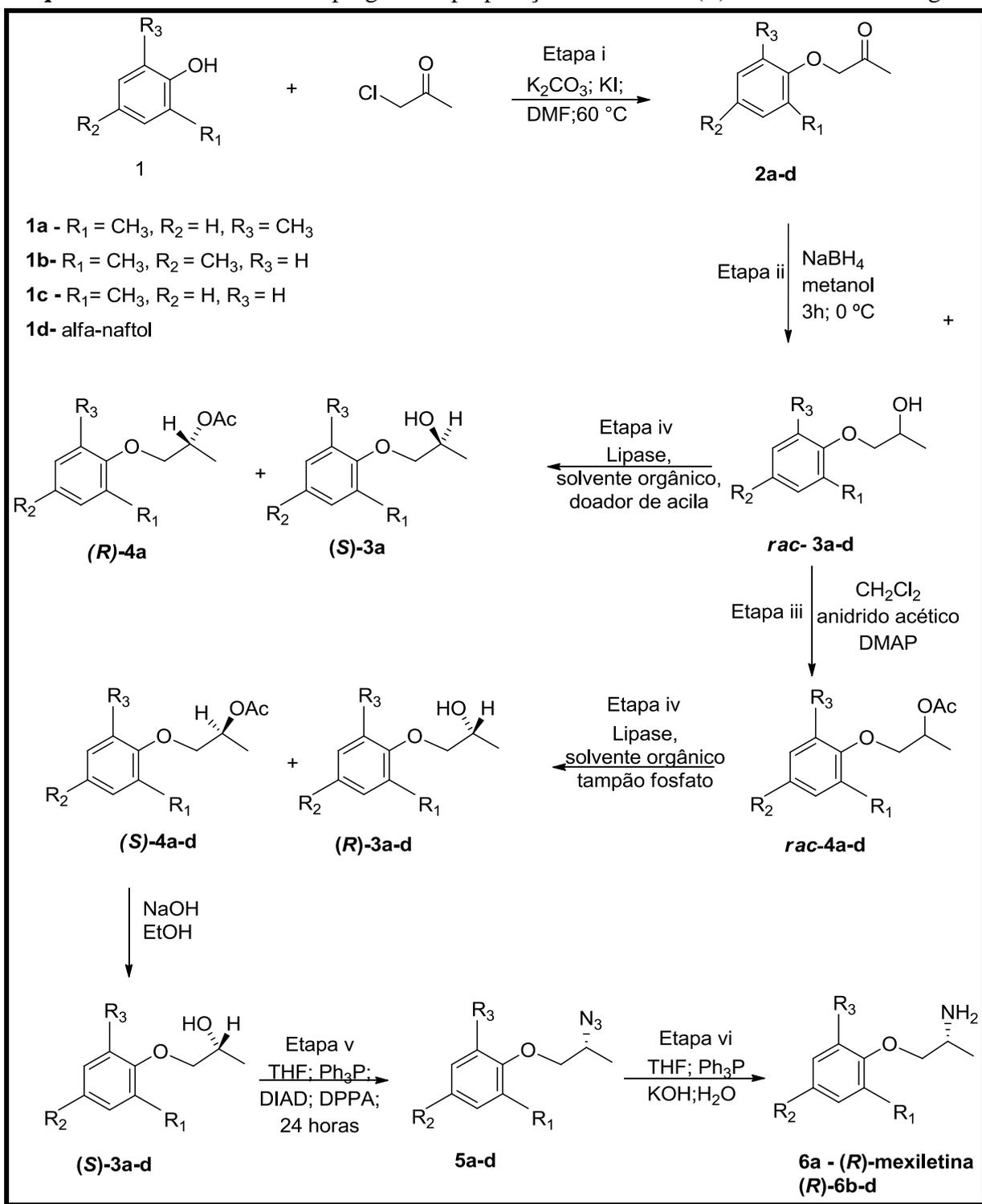
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Síntese da Mexiletina e análogos

A síntese da (*R*)- Mexiletina, um fármaco antiarrítmico, utilizando lipase não está tão bem documentada na literatura (Xia *et al.*, 2014) e (Gonzalez-Sabin *et al.*, 2002). Cabe ressaltar que as reações enzimáticas utilizando lipases são atrativas, pois são de fácil manipulação e de grande disponibilidade comercial.

O trabalho propõe a síntese do fármaco (*R*)-Mexiletina e análogos, utilizando a resolução cinética enzimática dos acetatos **4a-d** na presença de lipase como etapa chave do processo. A rota proposta está representada no, **Esquema 32**, pág. 54p. 58, possui as seguintes etapas:

- i) Reação do tipo S_N2 entre um fenol e a α -cloroacetona, levando aos intermediários **2a-d**;
- ii) Redução de **2a-d** com boroidreto de sódio ($NaBH_4$) levando aos álcoois racêmicos **rac-3a-d**;
- iii) Acetilação dos álcoois racêmicos (**3a-d**) levando aos acetatos racêmicos (**4a-d**);
- iv) Resolução cinética enzimática dos acetatos **rac-4a-d**, na presença de lipases *via* reação de hidrólise (triagem) e *via* reação de acetilação do álcool **rac-3a**;
- v) Reação de inversão de configuração (reação de Mitsunobu) dos (*S*)-álcoois **3a-d**, levando a formação dos azidos intermediários **5a-d**.
- vi) Reação com Ph_3P , em meio básico, levando ao fármaco (*R*)-Mexiletina **6a** e aos análogos **6b-d**, na forma enantiomericamente pura.

Esquema 32-Rota sintética empregada na preparação do fármaco (*R*)-Mexiletina e análogos

4.2 Obtenção dos intermediários 2a-d

Inicialmente, foi realizada uma reação entre 2,6-dimetilfenol (**1a**) e a α -cloroacetona, seguindo o protocolo previamente relatado na literatura (HURD; PERLETZ,1946).

No protocolo original, os autores prepararam dois meios reacionais: (i) o primeiro contendo α -cloroacetona e o iodeto de potássio e acetona anidra, deixando reagir por 12 horas; (ii) e o segundo com fenol, carbonato de potássio e acetona anidra, deixando reagir por 15 minutos em refluxo. Posteriormente, o primeiro meio reacional foi adicionado gota a gota, bem lentamente, à segunda mistura reacional. Após 15 horas de reação foi obtido o produto **2a**, com rendimento de 92%.

Surpreendentemente, quando se repetiu o procedimento supracitado, obteve-se o produto **2a** com rendimento de 25 %. Objetivando aumentar o rendimento de **2a**, foram realizadas algumas modificações no procedimento original. A primeira modificação consistiu na troca do solvente para dimetilformamida (DMF). Neste caso, o intermediário **2a** foi obtido com um rendimento superior (40 %). Uma nova tentativa de aperfeiçoar a reação foi realizada alterando a temperatura para 60°C, deixando reagir por 24 horas. Desta forma obteve-se um rendimento de 82 % (**Esquema 33**).

Esse protocolo foi utilizado nas reações dos análogos **1b-d** para obtenção dos correspondentes intermediários **2b-d**. Os resultados encontram-se sumariados na **Tabela 1**.

Esquema 33-Reação de formação dos intermediários **2a-c**

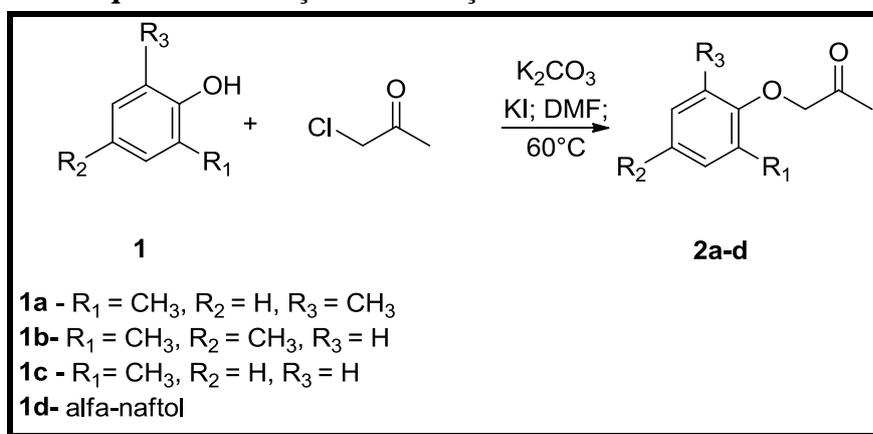


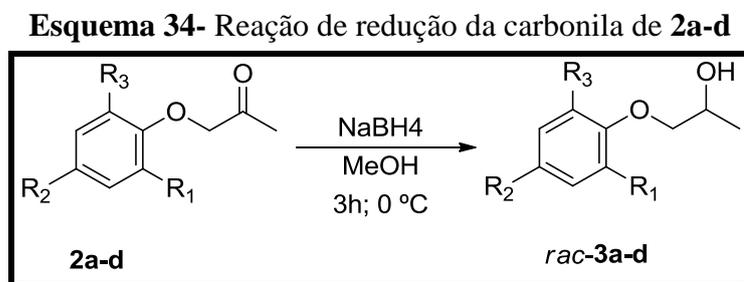
Tabela 1- Rendimentos obtidos na formação dos intermediários **2a-d**

| Entrada | Produto | Rendimento (%) |
|---------|-----------|----------------|
| 1 | 2a | 82 |
| 2 | 2b | 77 |
| 3 | 2c | 60 |
| 4 | 2d | 75 |

É possível verificar que os substratos **1a-b** e **1d** levaram a rendimentos semelhantes (82-77%) e superiores em relação ao substrato **1c** (60%). Todos foram obtidos em rendimentos bons e excelentes.

4.3 Redução química da carbonila

Posteriormente, os intermediários **2a-d** foram submetidos à redução *via* química utilizando boroidreto de sódio em metanol (**Esquema 34**), (VIEIRA, *et al.*, 2010)



Desta forma, foram obtidos os álcoois racêmicos **3a-d** em bons rendimentos (98-88%). Os resultados encontram-se sumariados na **Tabela 2**.

Tabela 2- Rendimentos dos intermediários **3a-d**

| Entrada | Produto | Rendimento (%) |
|---------|---------------|----------------|
| 1 | rac-3a | 90 |
| 2 | rac-3b | 88 |
| 3 | rac-3c | 98 |
| 4 | rac-3d | 92 |

4.4 Reação de acetilação dos álcoois rac-3a-d

Para realização da etapa enzimática *via* resolução cinética, primeiramente é necessário encontrar uma lipase ideal, e a maneira mais prática é realizar a triagem das lipases *via* reação de hidrólise enzimática. Para realizar as reações de hidrólise foi necessário preparar, *via* química, os correspondentes ésteres.

Na reação de acetilação por *via* química foi empregada a 4-dimetilaminopiridina (DMAP) como catalisador, e anidrido acético, em diclorometano (**Esquema 35**). Essa reação foi realizada com os substratos **3a-d**, levando aos correspondentes ésteres em bons rendimentos (88-92%). Os resultados encontram-se sumariados na **Tabela 3**.

Esquema 35- Reação de acetilação dos compostos **rac-3a-b**

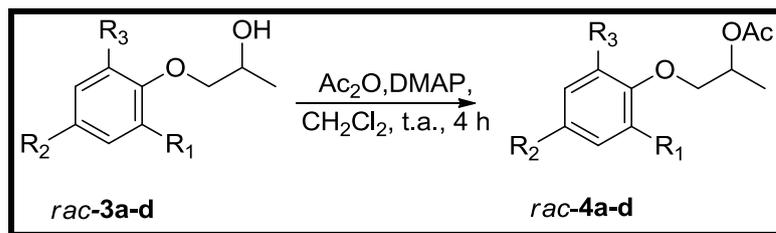


Tabela 3-Rendimentos da reação de acetilação de **4a-d**

| Entrada | Produto | Rendimento (%) |
|---------|---------------|----------------|
| 1 | rac-4a | 92 |
| 2 | rac-4b | 90 |
| 3 | rac-4c | 88 |
| 4 | rac-4d | 91 |

4.5 Triagem de lipases utilizando a reação de hidrólise dos ésteres **rac-4a**

Inicialmente, foi realizada uma triagem de lipases utilizando a técnica de resolução cinética, *via* hidrólise, do substrato **rac-4a**, que foi escolhido como substrato padrão. As lipases avaliadas estão listadas na **Tabela 4**.

Tabela 4- Triagem de lipases *via* reação de hidrólise de **rac-4**

| Lipase | Origem |
|-----------------|---|
| Amano lipase G | <i>Penicillium camemberti</i> |
| Amano lipase AK | <i>Pseudomonas fluorescens</i> |
| Amano PS | <i>Burkholderia cepacia</i> ^a |
| TLL | <i>Thermomyces lanuginosus</i> ^b |
| Novozym 435 | <i>Candida antarctica</i> tipo B (CAL-B) ^c |
| CRL | <i>Candida rugosa</i> |
| Lipase Amano PS | <i>Burkholderia cepacia</i> , |
| Lipozyme RM IM | <i>Rhizomucor miehei</i> ^d |
| TLL | <i>Thermomyces lanuginosus</i> ^e |
| TLL | <i>Thermomyces lanuginosus</i> ^f |

^aimobilizada com terra diatomácea

^bimobilizada em imobead-150

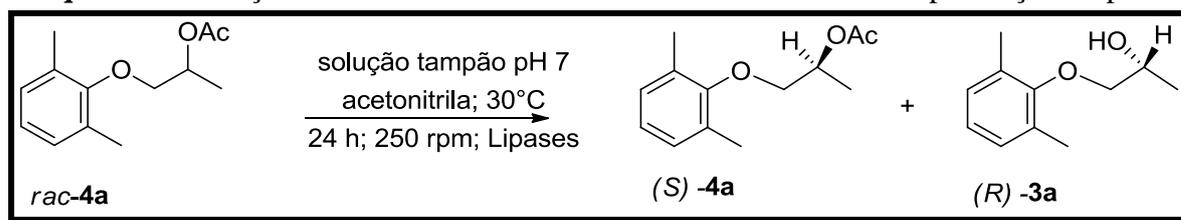
^cimobilizada em resina acrílica

^dimobilizada em resina aniônica

^eimobilizada em nanopartículas superparamagnéticas de óxido de ferro (SPMN) funcionalizada por 3-amino propiltriétoxisilano (APTES)

^fimobilizada em nanopartículas superparamagnéticas de óxido de ferro (SPMN) funcionalizada por polietilenimina ramificada (PEI)

Diante destas lipases foram realizadas as reações de hidrólise do substrato **rac-4a**, em tampão fosfato (pH 7) e acetonitrila como co-solvente na proporção 4:1 (v/v), por 24 horas, a uma temperatura de 30°C (**Esquema 36**). Vale ressaltar que a lipase *Thermomyces lanuginosus*^{e, f}, foi preparada pelo grupo GPBio (Grupo de Pesquisa e Desenvolvimento de processos Biotecnológicos) do Departamento de Engenharia Química da UFC, utilizando o método de co-precipitação e funcionalizada com 3-amino propiltriétoxisilano (APTES) e polietilenimina ramificada (PEI), ambas por troca iônica (SPMN-ION APTES) (SPMN-ION PEI) e por ligação covalente (SPMN-COV APTES) (SPMN-COV PEI). As substâncias obtidas na resolução cinética de **rac-4a** foram analisadas por cromatografia gasosa acoplada ao detector de ionização de chama (CG-DIC). Os resultados encontram-se apresentados na **Tabela 5**.

Esquema 36-Reação de hidrólise enzimática dos ésteres do *rac-4a* na presença de lipases**Tabela 5**-Resultados obtidos da reação de hidrólise do éster *rac-4a*

| Entrada | Lipase | <i>e.e.</i> -acetilado (%) ^a | <i>e.e.</i> -álcool (%) ^a | <i>c</i> (%) ^b | <i>E</i> ^c |
|---------|--|---|--------------------------------------|---------------------------|-----------------------|
| 1 | Amano G de <i>P. camemberti</i> | 1 | 29 | 3 | 2 |
| 2 | Amano AK de <i>P. fluorescens</i> | >99 | >99 | 50 | >200 |
| 3 | <i>T. lanuginosus</i> imobilizada em imobead-150 | >99 | >99 | 50 | >200 |
| 4 | <i>T. lanuginosus</i> imobilizada em SPMN-ION APTES | 18 | >99 | 15 | 237 |
| 5 | <i>T. lanuginosus</i> imobilizada em SPMN-ION BPEI | 50 | >99 | 34 | 328 |
| 6 | <i>T. lanuginosus</i> imobilizada em SPMN-COV APTES | 5 | >99 | 17 | 13 |
| 7 | <i>T. lanuginosus</i> imobilizada em SPMN-COV BPEI | 20 | >99 | 17 | >200 |
| 8 | <i>C. antarctica</i> B imobilizada em resina acrílica | >99 | 98 | 50 | >200 |
| 9 | <i>C. rugosa</i> | 23 | 57 | 28 | 5 |
| 10 | Lipozyme RM IM de <i>R. miehei</i> imobilizada em resina aniônica. | 95 | 86 | 52 | 49 |
| 11 | Amano PS de <i>B. cepaccia</i> | 90 | 86 | 51 | 41 |
| 12 | Amano PS de <i>B. cepaccia</i> imobilizada em terra diatomácea | ≥ 99 | 93 | 51 | 135 |

^a Determinado por CG-DIC, ^b Conversão, $c = e.e._s / (e.e._s + e.e._p)$, ^c Razão enantiomérica, $E = \ln[1 - c(1 + e.e._p)] / \ln[1 - c(1 - e.e._p)]$.

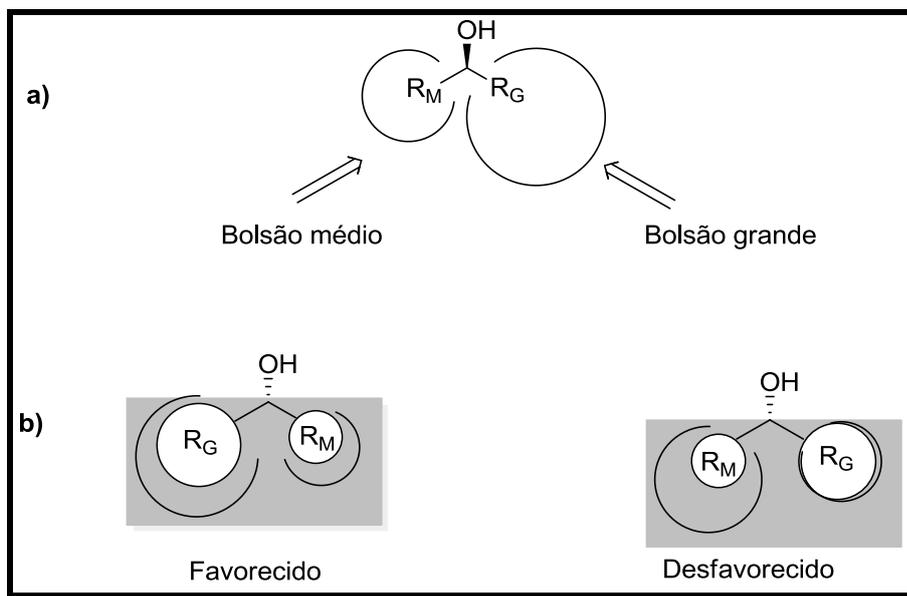
Através da análise dos resultados apresentados na **Tabela 5**, é possível verificar que as enzimas mais efetivas na hidrólise do *rac-4a* foram a Amano lipase AK de *P. fluorescens*, lipase de *T. lanuginosus* imobilizada em imobead-150 e a lipase da *C. antarctica* do tipo B imobilizada em resina acrílica (Novozym 435), pois apresentaram resultados satisfatórios com valores de conversão de 50%, valores de excesso enantiomérico do acetilado e álcool maior que 99% e valores de enantiosseletividade maiores que 200 (**Entrada 2, 3, 8**). Destaca-se também as enzimas derivadas da lipase de *T. lanuginosus* imobilizada com nanopartículas de óxido de ferro apresentando bons valores de excesso enantiomérico para o álcool > 99% (**Entrada 4, 5, 6, 7**).

Os resultados também demonstraram o cumprimento da regra empírica de Kazlauskas. A referida regra preconiza que nas reações de hidrólise, utilizando lipases, o álcool será de configuração *R* e o acetilado remanescente será a de configuração *S* (KAZLAUSKAS *et al.*, 1991). A configuração do composto **3a** foi verificada pelo método da polarimetria, cujo valor de rotação óptica específica para (*R*)-**3a** foi de $[\alpha]_D^{20} = +1,46$ (c 8,0; CHCl₃) *e.e.* > 99%, enquanto que o valor fornecido pela literatura é de $[\alpha]_D^{25} = + 0,9$ (c 5; CHCl₃) *e.e.* > 99% (Carocci *et al.*, 2000) e (*S*)-**4a** acetato de $[\alpha]_D^{20} = -10,8$ (c 8,0; CHCl₃) *e.e.* > 99%, para este composto, não existe dados de rotação específica na literatura.

A regra de Kazlauskas se baseia na análise do sítio ativo enzimático, bem como no volume dos substituintes presentes na estrutura de um álcool secundário. Desta forma, para reações com álcoois secundários mediada por lipase, é possível prever qual o enantiômero será favorecido cineticamente, em função dos tamanhos dos grupos substituintes e da acomodação destes no sítio ativo da enzima. O sítio ativo enzimático foi denominado de “bolsão hidrofóbico”, sendo dividido em uma porção grande de maior prioridade, e em uma porção média de menor prioridade *S* (KAZLAUSKAS *et al.*, 1991).

Associando o grupo mais volumoso do álcool ao bolsão grande da enzima e o grupo menos volumoso do álcool ao bolsão médio da enzima, alcança-se um estado de conexão favorável. Caso contrário, a conexão será dita desfavorável (**Figura 7**) (GOTOR-FERNADEZ; BRIEAV; GOTOR, 2006).

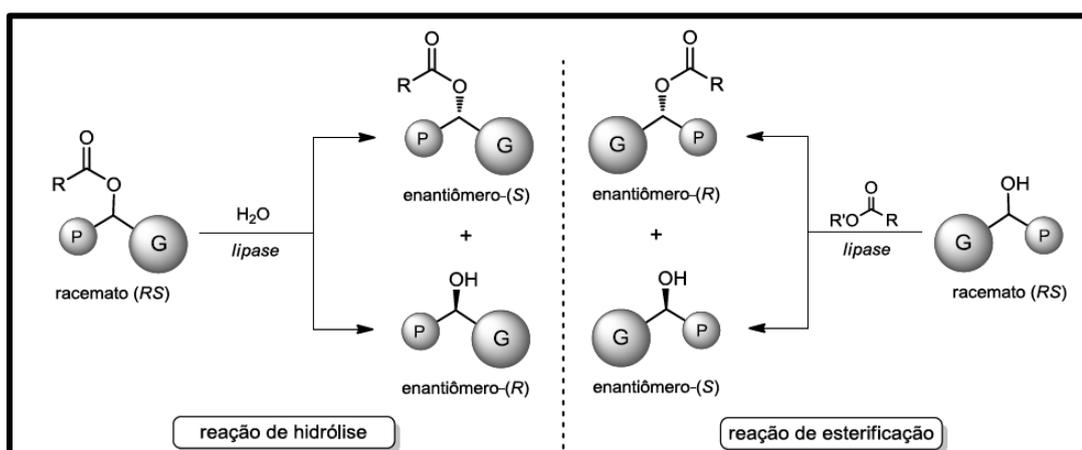
Figura 7-Modelo empírico da regra de Kazlauskas, (a) representação dos bolsões hidrofóbicos (b) conexão favorável e desfavorável enzima e álcool secundário.



Fonte: Adaptado GOTOR-FERNANDEZ; BRIEAV; GOTOR, 2006.

Desta forma, os resultados das resoluções cinéticas de álcoois secundários, na presença de lipase, podem ser previstos pela regra empírica de Kazlauskas, de acordo com a ilustração na **Figura 8**.

Figura 8-Modelo empírico de Kazlauskas para reações de acetilação de alcoóis secundários e hidrólise dos correspondentes ésteres, na presença de lipases



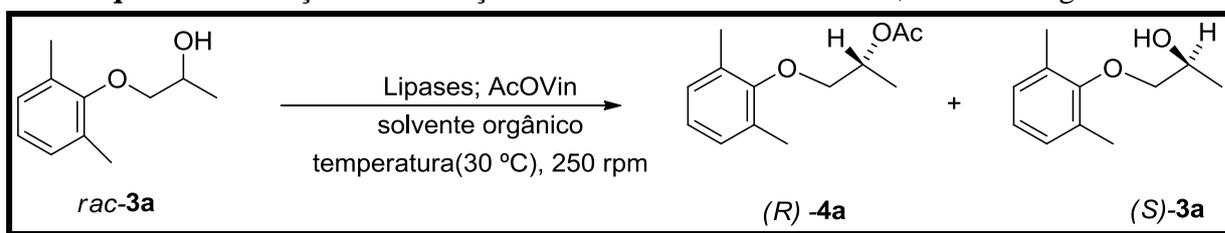
Fonte: GOTOR-FERNANDEZ; BRIEAV; GOTOR, 2006.

4.6 Resolução cinética *via* reação de acetilação do *rac*-3a utilizando lipases, em meio orgânico.

Após a triagem de lipases *via* reação de hidrólise, foi possível selecionar três enzimas promissoras, a saber: Amano lipase AK de *P. fluorescens*, lipase de *T. lanuginosus* imobilizada em immovead-150 e a lipase de *C. antarctica* do tipo B, imobilizada em resina acrílica (Novozym 435).

Em seguida, a atenção foi voltada para a resolução cinética *via* reação de acetilação do álcool *rac*-3a, em solvente orgânico. Este tipo de reação permite variar o solvente orgânico, objetivando diminuir o tempo da resolução cinética para que se atinja a conversão máxima de 50 %; (Esquema 37).

Esquema 37-Reação de acetilação enzimática utilizando *rac*-3a, em meio orgânico



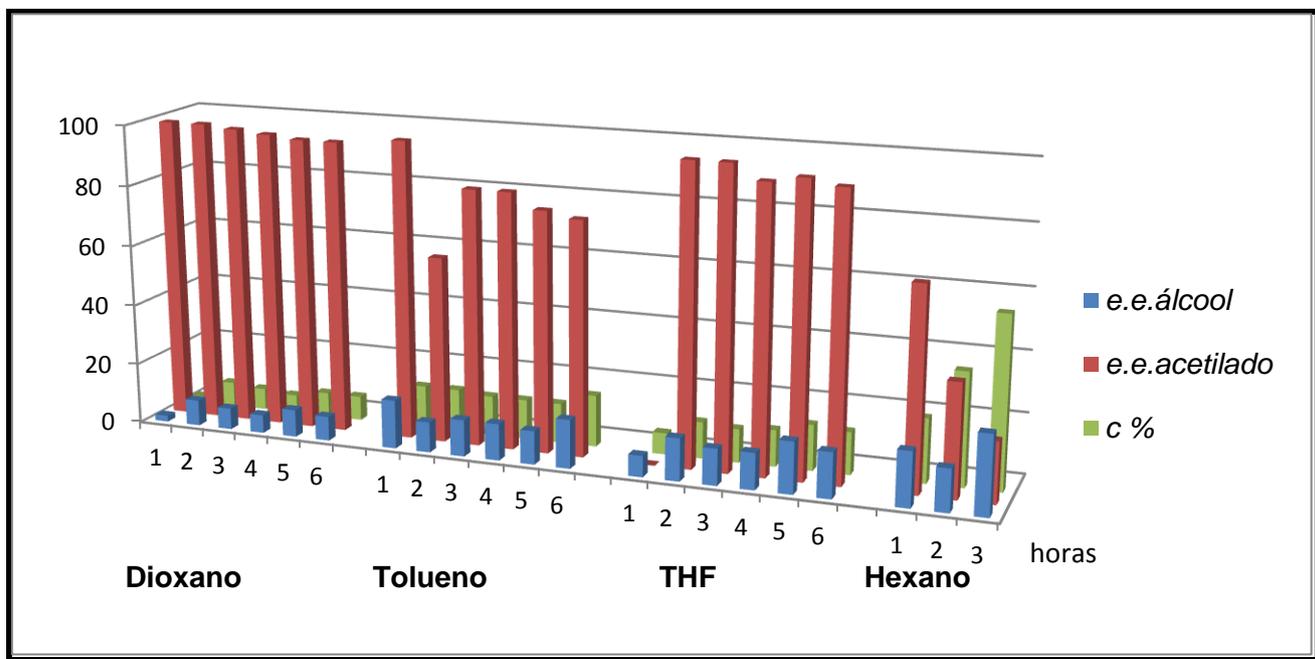
As reações foram realizadas na presença de acetato de vinila como doador de acila, a uma temperatura de 30 °C, variando o solvente orgânico. De acordo com literatura (Fonseca *et al.*, 2015) a mudança do solvente orgânico, pode influenciar no aumento da reatividade enzimática, bem como na sua seletividade. Além, disso o tempo reacional foi variado para proporcionar uma resolução cinética ideal (conversão máxima de 50%). Foram avaliados como solventes dioxano, tolueno, THF e hexano. Em seguida, detalharemos o estudo de resolução cinética de *rac*-3a, *via* reação de acetilação, em cada um destes solventes e na presença das lipases mais promissoras Amano lipase AK de *P. fluorescens*, lipase de *T. lanuginosus* imobilizada em immovead-150 e a lipase de *C. antarctica* do tipo B, imobilizada em resina acrílica (Novozym 435).

4.6.1 Resolução cinética enzimática do *rac*-3a utilizando a Amano lipase AK de *P. fluorescens*

A resolução cinética foi realizada usando uma proporção 2:1 (massa–massa) da enzima em relação ao substrato, em temperatura de 30°C, com acetato de vinila como doador de acila e com solventes dioxano, tolueno, THF e hexano, em 250 rpm. A reação foi

monitorada, retirando alíquotas de 1 em 1 hora, realizando análise dos valores de conversão. Os resultados estão sumariados no **Gráfico 1**.

Gráfico 1- Resultados da resolução cinética enzimática via acetilação do *rac-3a* utilizando a Lipase Amano Ak de *P. fluorescens*.



^a Determinado por CG-DIC, ^b Conversão, $c = e.e._s / (e.e._s + e.e._p)$, ^c Razão enantiomérica, $E = \ln[1 - c(1 + e.e._p)] / \ln[1 - c(1 - e.e._p)]$.

De acordo com os resultados do **Gráfico 1**, observou-se que a enzima possui uma baixa atividade na presença do solvente dioxano, com baixos valores de conversão durante o período de 6 horas (c 8 %), ocorrendo uma ligeira diminuição da enantiosseletividade com o decorrer do tempo reacional, E 203 na primeira hora reacional e E 53 em 6 horas de reação.

O tolueno foi menos eficiente em relação ao dioxano, o que pode ser comprovado pela baixa seletividade enzimática, com valores de enantiosseletividade variando de 116 na primeira hora reacional e E 9 em 6 horas de reação. Já a atividade enzimática (c 17%, em 6 horas de reação) foi ligeiramente superior quando comparado à obtida em dioxano.

Através dos resultados do **Gráfico 1**, quando se utilizou solvente THF é possível observar que na primeira hora da reação a seletividade foi alta (E 214), porém a conversão foi baixa (7%). Na segunda hora de reação ocorreu um aumento na conversão (12%), porém um ligeiro decréscimo no valor de excesso enantiomérico do acetilado ($e.e$ 98 %). Com decorrer do tempo a conversão não sofreu alterações significativas, enquanto que os valores de enantiosseletividade (E) decaíram drasticamente a partir da quarta hora de reação (31-32).

A resolução cinética enzimática realizada em hexano demonstrou no período de 3 horas que o valor da conversão ultrapassou 50%, portanto não foi necessário realizar a reação em tempos maiores **Gráfico 1**. Com isso, é possível concluir que a atividade enzimática é alta em hexano, porém a seletividade é baixa com E variando de 6-2.

Após análise dos dados apresentados no **Gráfico 1** é possível constatar que a resolução cinética do *rac-3a*, via reação de acetilação, na presença da Amano lipase AK da *P. fluorescens*, não foi eficiente em nenhum dos solventes utilizados.

A configuração dos centros estereogênicos em reações de acetilação *via* enzimática (lipases) dos produtos obedeceram à regra empírica de Kazlauskas (Kazlauskas; *et al.*, 1991). A referida regra preconiza que nas reações de acilação o álcool remanescente é de configuração *S* e o produto acetilado é de configuração *R*.

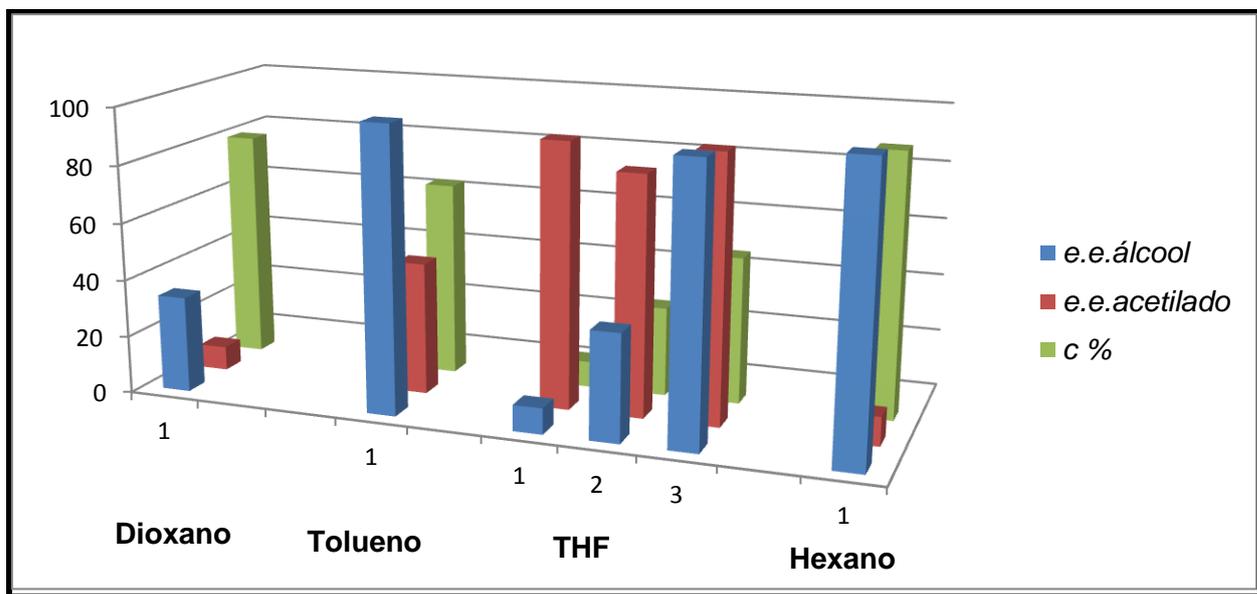
Desta forma, a atenção voltou-se para o estudo da resolução cinética, *via* acetilação do álcool *rac-3a*, na presença da lipase de *T. lanuginosus* imobilizada em imobead 150.

4.6.2 Resolução cinética enzimática de *rac-3a* utilizando a lipase de *Thermomyces lanuginosus* imobilizada em imobead-150.

A resolução foi realizada em dioxano, tolueno, THF e hexano usando uma proporção 2:1 (massa–massa) relação enzima:substrato. A reação foi monitorada na temperatura de 30 °C, retirando alíquotas de 1 em 1 hora.

Na primeira hora de reação em solvente dioxano, a conversão alcançou um valor de 80% **Gráfico 2**. Portanto, a reação foi acompanhada em tempos menores, mantendo constantes as demais condições. Com 30 minutos de reação o que se observou foi um valor de conversão de 45%, e uma enantioseletividade (E) igual a 4. Nesse caso, tanto o valor de excesso enantiomérico do álcool, quanto do acetilado não foram satisfatórios (39% e 48%), respectivamente.

Gráfico 2-Resultados da resolução cinética enzimática via acetilação do *rac-3a* utilizando a Lipase *T. lanuginosus* imobilizada em imobead-150



Posteriormente, a resolução cinética foi realizada em tolueno, na primeira hora de reação o valor da conversão alcançou 68 % **Gráfico 2**. Com isso, realizou-se a resolução cinética em um tempo de 15 minutos, mantendo as outras condições inalteradas. Ainda assim, o valor de conversão foi de 59 % e, portanto diminui-se a quantidade de enzima para uma proporção enzima/substrato de (1:1). Primeiramente, foi observado o comportamento reacional em 15 minutos, com valor de conversão de 14 % (**Tabela 6, entrada 1**). A partir deste resultado, analisou-se a reação em tempo de 30 minutos, obtendo um valor de conversão de 56 %. Os resultados estão sumariados na **Tabela 6, entrada 2**.

Tabela 6- Resultados da resolução cinética *via* acetilação de *rac-3a* utilizando lipase de *Thermomyces lanuginosus* imobilizada em imobead-150, relação massa-massa do catalisador:substrato (1:1) em tolueno

| Entrada | Tempo (minutos) | <i>e.e.</i> álcool (%) ^a | <i>e.e.</i> acetilado (%) ^a | <i>c</i> (%) ^b | <i>E</i> ^c |
|----------------|-----------------|-------------------------------------|--|---------------------------|-----------------------|
| 1 | 15 minutos | 13 | 79 | 14 | 10 |
| 2 | 30 minutos | ≥ 99 | 75 | 56 | 36 |
| 3 ^d | 15 minutos | 94 | 95 | 50 | 139 |

^a Determinado por CG-DIC, ^b Conversão, $c = e.e._s / (e.e._s + e.e._p)$, ^c Razão enantiomérica, $E = \ln[1 - c(1 + e.e._p)] / \ln[1 - c(1 - e.e._p)]$, ^d Relação enzima; substrato (0,5:1)

Ainda com o propósito de alcançar uma conversão de 50% em solvente tolueno, buscou-se observar como seria o comportamento enzimático, diminuindo, novamente, a

proporção, (massa-massa), da relação enzima:substrato para (0,5:1), em temperatura de 30 °C, em tempo reacional de 15 minutos.

Neste caso, a conversão alcançou um valor de 50%, com valor de excesso enantiomérico do álcool de 94% e do correspondente acetilado de 95% e com uma enantiosseletividade (E) de 139.

Na resolução cinética em solvente THF foi possível verificar que em 3 horas de reação, o valor de conversão já se encontrava em 51 %, com altos valores de excesso enantiomérico do álcool remanescente (95%) do produto acetilado (92%) **Gráfico 2**, e enantiosseletividade 89.

Finalmente, a resolução cinética foi realizada em hexano, os resultados mostraram que com tempo reacional de 1 hora a reação se processou de forma muito rápida, com conversão de 91% **Gráfico 2**.

Diante deste resultado em solvente hexano, realizou-se a resolução cinética em 30 minutos, mantendo as outras condições inalteradas. Os resultados demonstraram que mesmo com 30 minutos de reação, a conversão ultrapassou 50 % (**Tabela 7, entrada 2**), e com o tempo menor de 10 minutos a conversão ultrapassava, com valor de 84% (**Tabela 7, entrada 1**)

Tabela 7-Resultados da resolução cinética *via* acetilação do *rac*-3a utilizando lipase de *Thermomyces lanuginosus* imobilizada em imobead-150, em hexano

| Entrada | Tempo (minutos) | <i>e.e.</i> álcool (%)^a | <i>e.e.</i> acetilado (%)^a | <i>c</i> (%)^b | E^c |
|----------------|------------------------|---|--|---------------------------------|----------------------|
| 1 | 10 | 76 | 14 | 84 | 2,5 |
| 2 | 30 | 99 | 15 | 86 | 5,0 |

^a Determinado por CG-DIC, ^b Conversão, $c = e.e._s / (e.e._s + e.e._p)$, ^c Razão enantiomérica, $E = \ln[1 - c(1 + e.e._p)] / \ln[1 - c(1 - e.e._p)]$.

Portanto, diminui-se a relação enzima:substrato para 1:1, mantendo inalteradas as outras condições. Observou-se que com 20 minutos de reação o valor de conversão chegou a 56 %, com baixos valores de excesso enantiomérico do álcool (57%) e do correspondente acetilado (45%), com enantiosseletividade (E) de 4,5. Tais resultados demonstram que a lipase de *T. lanuginosus* não apresentou seletividade em hexano (**Tabela 8**).

Tabela 8-Resultados da resolução cinética *via* acetilação do *rac-3a*, com relação enzima:substrato (1:1), utilizando lipase de *Thermomyces lanuginosus* imobilizada em immovead-150, em hexano

| Tempo (minutos) | <i>e.e.</i> álcool (%) ^a | <i>e.e.</i> acetilado (%) ^a | <i>c</i> (%) ^b | <i>E</i> ^c |
|--------------------|--|---|---------------------------|-----------------------|
| 10 | 43 | 65 | 39 | 7 |
| 20 | 57 | 45 | 56 | 4,5 |

^a Determinado por CG-DIC, ^b Conversão, $c = e.e._s / (e.e._s + e.e._p)$, ^c Razão enantiomérica, $E = \ln[1 - c(1 + e.e._p)] / \ln[1 - c(1 - e.e._p)]$.

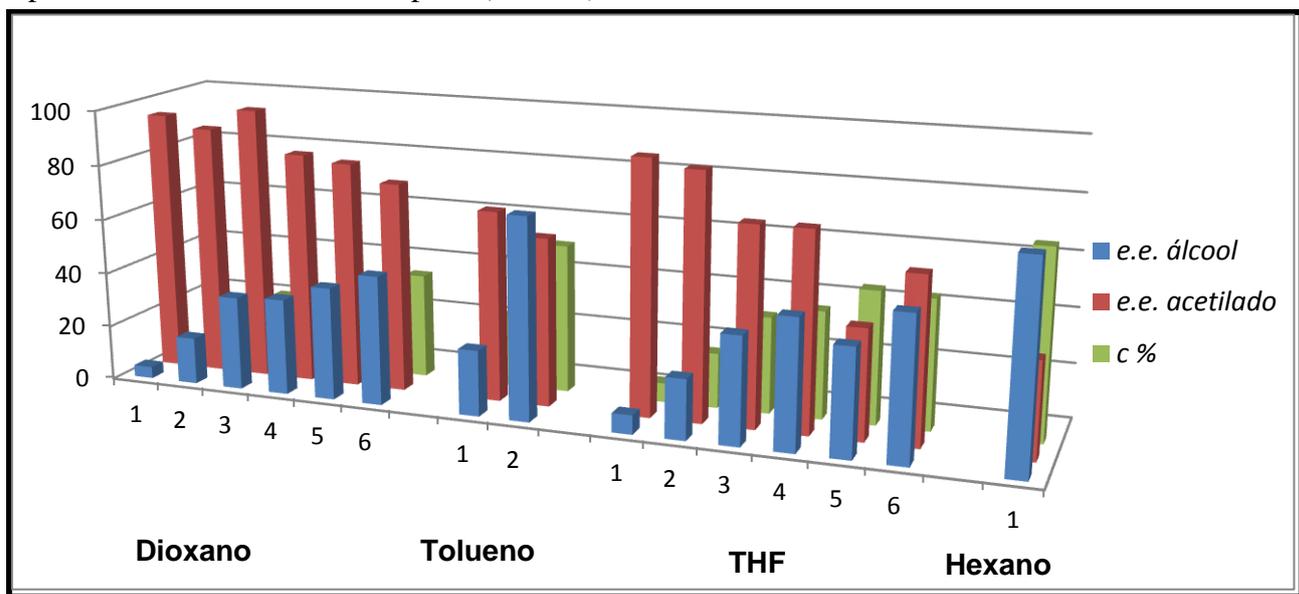
As configurações dos centros estereogênicos obedeceram à regra empírica de Kazlauskas (KAZLAUSKAS; *et al.*, 1991), com o álcool remanescente de configuração *S* e o produto acetilado de configuração *R*. A configuração do composto (*S*)-**3a** foi verificada pelo método da polarimetria, cujo valor de rotação óptica específica foi de $[\alpha]_D^{20} = -1,3$ (c 5; CHCl₃) *e.e.* > 94%, enquanto que o valor fornecido pela literatura é de $[\alpha]_D^{25} = -1,1$ (c 5; CHCl₃) *e.e.* 98% (Sasikumar *et al.*, 2009) e (*R*)-**4a** acetato de $[\alpha]_D^{20} = +2,0$ (c 5; CHCl₃) *e.e.* > 95% (não existe relatos na literatura).

4.6.3 Resolução cinética enzimática do *rac-3a* utilizando a Lipase de *Candida antarctica* do tipo B (CAL-B).

A resolução cinética enzimática com a Lipase *Candida antarctica* do tipo B (CAL-B) foi realizada nos solvente dioxano, tolueno, THF e hexano, usando uma proporção 2:1 (massa–massa) da enzima em relação ao substrato. A reação foi realizada a 30 °C, sendo analisada de 1 em 1 hora.

Diante dos resultados obtidos, é possível verificar que com o aumento do tempo reacional em solvente dioxano, a conversão tem um progressivo aumento, porém com o decréscimo da seletividade (E 41-12). A exceção ficou por conta do resultado obtido na terceira hora de reação em que o excesso enantiomérico do produto acetilado foi > 99% (**Gráfico 3**).

Gráfico 3-Resultados da resolução cinética enzimática via acetilação do **rac-3a** utilizando a Lipase *Candida antarctica* do tipo B (CAL-B)



^a Determinado por CG-DIC, ^b Conversão, $c = e.e._s / (e.e._s + e.e._p)$, ^c Razão enantiomérica, $E = \ln[1 - c(1 + e.e._p)] / \ln[1 - c(1 - e.e._p)]$.

Em solvente tolueno durante duas horas de reação a conversão alcançou valor próximo de 50 %, motivo pelo qual a reação não foi processada por mais tempo. Os valores de enantiosseletividade (E 7-9), bem como os valores de excessos enantiomérico do álcool remanescente e do produto acetilado foram baixos (61-54) respectivamente (**Gráfico 3**).

Já para o solvente THF, observa-se que a conversão aumentou progressivamente com o tempo de reação, porém com moderados ou baixos valores de excesso enantiomérico de acetilado e álcool (**Gráfico 3**). Cabe ressaltar que a seletividade enzimática diminuiu com decorrer do tempo (E 26-7).

Os resultados demonstraram que com 1 hora a conversão alcançou 68 % (**Gráfico 3**) e com isso, realizou-se a análise da reação em tempos reacionais menores (10 minutos, 20 minutos e 30 minutos). Os resultados encontram-se sumariados na **Tabela 9**.

Tabela 9-Resultados da resolução cinética via acetilação de **rac-3a** utilizando a lipase de *Candida antarctica* do tipo B (CAL-B), em hexano

| Tempo (minutos) | e.e. álcool (%) ^a | e.e. acetilado (%) ^a | c (%) ^b | E ^c |
|-----------------|------------------------------|---------------------------------|--------------------|----------------|
| 10 | 45 | 30 | 60 | 3 |
| 20 | 58 | 30 | 66 | 4 |
| 30 | 72 | 35 | 67 | 4 |

^a Determinado por CG-DIC, ^b Conversão, $c = e.e._s / (e.e._s + e.e._p)$, ^c Razão enantiomérica, $E = \ln[1 - c(1 + e.e._p)] / \ln[1 - c(1 - e.e._p)]$.

A **Tabela 9** revela que com a diminuição do tempo reacional o valor de conversão ainda ultrapassa 50%, portanto, resolveu-se mudar a relação enzima:substrato para 1:1, mantendo inalteradas as demais condições. Os resultados encontram-se sumariados na **Tabela 10**.

Tabela 10-Resultados da resolução cinética *via* acetilação de *rac*-3a, usando a relação enzima:substrato (1:1) e utilizando a lipase de *Candida antarctica* do tipo B (CAL-B), em hexano.

| Entrada | Tempo (minutos) | <i>e.e.</i> álcool (%) ^a | <i>e.e.</i> acetilado (%) ^a | <i>c</i> (%) ^b | <i>E</i> ^c |
|---------|-----------------|-------------------------------------|--|---------------------------|-----------------------|
| 1 | 10 | 23 | 82 | 22 | 13 |
| 2 | 30 | 40 | 56 | 47 | 6 |
| 3 | 40 | 62 | 38 | 51 | 3 |

^a Determinado por CG-DIC, ^b Conversão, $c = e.e._s / (e.e._s + e.e._p)$, ^c Razão enantiomérica, $E = \ln[1 - c(1 + e.e._p)] / \ln[1 - c(1 - e.e._p)]$.

Os resultados da **Tabela 10** revelam que quando se modificou a relação enzima:substrato, a velocidade da reação foi mais lenta, com a conversão atingindo 51% em 40 minutos (**Tabela 10 entrada 3**). Porém, deve ser destacado que a seletividade da reação foi baixa (*E* 3-13).

Dentre os parâmetros para análise da eficiência do solvente em uma RC mediada por lipase, destaca-se o log *P* (constante de partição 1-octanol-água) que é uma medida quantitativa da medida da polaridade de um solvente. Em geral, a atividade enzimática em reações catalisadas por lipase aumenta com o aumento dos valores de log *P* dos solventes. Solventes polares tendem a retirar parte da água que constitui a camada de hidratação essencial da superfície da lipase, causando a inativação da enzima. Por outro lado, solventes apolares preservam a fase micro aquosa ao redor da lipase, retendo a atividade enzimática (Gogois, *et al.*, 2008).

Diante do exposto e com os valores de log *P* dos solventes utilizados, hexano (log *P* 3,7); tolueno (log *P* 2,7); THF (log *P* 0,4) e dioxano (log *P* -0,27) (Riva; Carrea, 2008), pode se concluir que os resultados de RCE, na presença de lipases, realizadas em hexano, tolueno e THF, seguiram o esperado. Desta forma, a lipase de *Thermomyces lanuginosus* apresentou maior atividade em hexano, levando a altos valores de conversão em baixos tempos reacionais, porém com baixa seletividade. A atividade enzimática foi menor em tolueno e em THF, permitindo uma maior seletividade.

O log *P* é apenas um dos parâmetros importantes para analisar a influência do solvente na atividade e seletividade enzimática. As alterações na especificidade, como quimiosseletividade e enantiosseletividade das enzimas estão relacionadas a uma série de

fatores, interdependentes ou não, como por exemplo, com o arranjo do substrato e com os diferentes níveis de interação entre o microambiente e a enzima (Costa; Amorim, 1999).

4.6.4 Estudo do reuso utilizando lipase de *Thermomyces lanuginosus* imobilizada em imobead-150, em tolueno

O resultado mais promissor obtido na resolução cinética de **rac-3a**, via acetilação, foi na presença de *T. lanuginosus* imobilizada em imobead-150, em tolueno, utilizando uma proporção, (massa-massa), enzima:substrato de 0,5:1, temperatura de 30 °C, em tempo reacional de 15 minutos. Neste caso, a conversão alcançou um valor de 50%, com valor de excesso enantiomérico do álcool de 94% e do correspondente acetilado de 95% e com uma enantiosseletividade (E) de 139 (**Tabela 11, entrada 3**).

A utilização de enzimas imobilizadas apresenta como principal vantagem a possibilidade de reutilização. Portanto, foram avaliados os ciclos de reutilização da enzima *Thermomyces lanuginosus* imobilizada em imobead-150, em tolueno, relação enzima:substrato (0,5:1), a 30°C.

Os estudos de reutilização da referida enzima foram realizados para investigar a estabilidade da enzima após sucessivos ciclos de uso. A **Tabela 11** apresenta os resultados de conversão, valores de excesso enantiomérico do álcool remanescente e do produto acetilado e enantiosseletividade (E), em quatro ciclos reacionais.

Tabela 11-Resultados do reuso da *Thermomyces lanuginosus* imobilizada em imobead 150.

| Entrada | Ciclo | <i>e.e.</i> álcool (%) ^a | <i>e.e.</i> acetilado (%) ^a | <i>c</i> (%) ^b | <i>E</i> ^c |
|---------|-------|-------------------------------------|--|---------------------------|-----------------------|
| 1 | 1 | 94 | 95 | 50 | 139 |
| 2 | 2 | 40 | 84 | 32 | 17 |
| 3 | 3 | 30 | 90 | 25 | 25 |
| 4 | 4 | 16 | 91 | 15 | 25 |

^a Determinado por CG-DIC.

^b Conversão, $c = e.e._s / (e.e._s + e.e._p)$.

^c Razão enantiomérica, $E = \ln[1 - c(1 + e.e._p)] / \ln[1 - c(1 - e.e._p)]$.

Com os resultados apresentados, é possível verificar que a lipase *T. lanuginosus* imobilizada em imobead-150 não manteve sua atividade e enantiosseletividade no segundo ciclo, com gradual diminuição da conversão até o quarto ciclo reacional (**Tabela 11, entrada 4**). Foi observado que no segundo ciclo, as esferas contendo a enzima imobilizada iniciam um processo de “esfarelamento”. A diminuição da atividade a partir do segundo ciclo pode ser explicada por um possível processo de lixiviação da enzima. A diminuição da atividade foi

acompanhada por uma diminuição da seletividade, com valores mais baixos da enantiosseletividade (E).

4.6.5 Reações de hidrólise via resolução cinética enzimática utilizando outros solventes orgânicos

Os resultados de resolução cinética do álcool **rac-3a**, via reação de acetilação, não foram tão promissores quando comparados com a resolução cinética do correspondente acetato **rac-4a**, via hidrólise, em que foram obtidos o remanescente (*S*)-acetato **4a** e o produto (*R*)-álcool **3a** com valores de *e.e.* > 99%, conversão de 50% e E > 200, na presença das lipases Amano AK de *P. fluorescens* e da lipase de *T. lanuginosus* imobilizada em imobead-150, **Tabela 5** (p. 58), bem como na presença de *C. antarctica* B imobilizada em resina acrílica (Novozym 435) em que o (*S*)-acetato foi obtido com valor de *e.e.* > 99% e o (*R*)-álcool com *e.e.* de 98%, conversão de 50% e E > 200, **Tabela 5** (p. 58). Tais resultados foram obtidos em meio de tampão fosfato (pH 7) na presença de acetonitrila como co-solvente na proporção de 4:1 (v/v). Portanto, decidimos voltar nossa atenção a um estudo mais detalhado do processo hidrolítico, variando o co-solvente, temperatura e tempo reacional, na presença das lipases que se destacaram como a *Thermomyces lanuginosus* imobilizada em imobead-150, *Candida antarctica* do tipo B (Novozym 435) e Amano lipase AK de *P. fluorescens*.

O estudo foi expandido para lipases *Thermomyces lanuginosus* imobilizadas em nanopartículas de ferro preparadas no Departamento de Engenharia Química da UFC (GPBio).

4.6.5.1 Resolução cinética enzimática de rac-4a, via hidrólise, utilizando lipase de Thermomyces lanuginosus imobilizada em imobead 150.

4.6.5.1. 1 Acetonitrila como co-solvente, variando a temperatura

Inicialmente, a resolução cinética de **rac-4a** foi realizada na presença do co-solvente acetonitrila, tampão fosfato pH 7, por 24 horas, a uma temperatura de 30 °C usando uma proporção 2:1 (massa–massa) enzima:substrato, levando a resultados satisfatórios com excessos enantioméricos de substrato e produto maior que 99% e uma conversão de 50 % como apresentado na **Tabela 5** (p. 58).

Portanto, decidimos verificar como seria a variação do tempo da resolução cinética enzimática de **rac-4a** com o aumento da temperatura para 35 °C, 40 °C e 45 °C, mantendo a mesma relação enzima:substrato (2:1) e demais condições. Os dados encontram-se sumariados na **Tabela 12**.

Tabela 12- Resultados da resolução cinética via hidrólise de *rac-4a*, usando a relação enzima:substrato (2:1) e utilizando a lipase de *Termomyces lanuginosus* imobilizada em imobed 150, em co-solvente acetonitrila, variando a temperatura.

| Entrada | Temperatura | Tempo (horas) | <i>e.e.</i> álcool (%) ^a | <i>e.e.</i> acetilado (%) ^a | <i>c</i> (%) ^b | <i>E</i> ^c |
|---------|-------------|---------------|-------------------------------------|--|---------------------------|-----------------------|
| 1 | 35 °C | 20 | >99 | >99 | 50 | 1057 |
| 2 | 40 °C | 16 | >99 | >99 | 50 | 1057 |
| 3 | 45 °C | 6 | >99 | 69 | 41 | 413 |
| 4 | 45 °C | 12 | >99 | >99 | 50 | 1057 |

^a Determinado por CG-DIC, ^b Conversão, $c = e.e._s / (e.e._s + e.e._p)$, ^c Razão enantiomérica, $E = \ln[1 - c(1 + e.e._p)] / \ln[1 - c(1 - e.e._p)]$.

Os resultados demonstraram que com o aumento da temperatura (35 °C e 40 °C)

Tabela 12, entradas 1 e 2, a atividade e seletividade da enzima se mantiveram em tempos reacionais menores. A temperatura de 45 °C a análise ocorreu em tempos de 6 horas e 12 horas, e observou-se que em 6 horas de reação a conversão atingiu um valor de 41%, com excesso enantiomérico do substrato (acetilado) de 69 % e do produto (*R*)-álcool > 99%. Em 12 horas de reação se obtém 50 % de conversão e uma excelente enantiosseletividade ($E > 200$) e excessos enantioméricos >99 para o substrato e para o produto. Portanto, o aumento da temperatura de 30 °C para 45 °C promoveu uma diminuição no tempo de resolução cinética de *rac-4a* de 24 h para 12 h. Ainda assim, decidimos estudar o efeito do co-solvente na resolução de *rac-4a* a uma temperatura de 30 °C.

4.6.5.1.2 Estudo do efeito de co-solventes na resolução cinética de *rac-4a* empregando lipase de *Termomyces lanuginosus* imobilizada em imobed 150.

Subsequentemente, além de acetonitrila, a resolução foi realizada em outros co-solventes como álcool isopropílico, TBME, THF e éter etílico, mantendo as demais condições, utilizadas inicialmente, (tampão fosfato pH 7, enzima:substrato (2:1), 24 horas, 30 °C) **Tabela 13**. Cabe ressaltar que a resolução cinética de *rac-4a* foi realizada, também, na ausência de co-solventes.

Tabela 13- Resultados da resolução cinética *via* hidrólise de *rac-4a*, usando a relação enzima:substrato (2:1) e utilizando a lipase de *Termomyces lanuginosus* imobilizada em imobed 150, na presença e ausência de co-solventes.

| Entrada | Co-solvente | <i>e.e.</i> álcool (%) ^a | <i>e.e.</i> acetilado (%) ^a | <i>c</i> (%) ^b | <i>E</i> ^c |
|---------|--------------|-------------------------------------|--|---------------------------|-----------------------|
| 1 | IPA | >99 | >99 | 50 | 1057 |
| 2 | TBME | >99 | 95 | 49 | 747 |
| 3 | THF | >99 | 87 | 47 | 570 |
| 4 | Éter etílico | >99 | >99 | 50 | 1057 |
| 5 | - | >99 | >99 | 50 | 1057 |

^a Determinado por CG-DIC, ^b Conversão, $c = e.e._s/(e.e._s+e.e._p)$, ^c Razão enantiomérica, $E = \ln[1-c(1+e.e._p)]/\ln[1-c(1-e.e._p)]$.

Os resultados obtidos foram satisfatórios para IPA e éter etílico como co-solventes e ligeiramente inferiores com THF e TBME, em que os valores de conversão foram abaixo de 50%, e o excesso enantiomérico do acetilado foi de 87% e 95%, respectivamente (**Tabela 13, entrada 2 e 3**). Contudo, o resultado que se destaca é o fato da resolução cinética de **rac-4a** ser efetiva na ausência de co-solventes, **Tabela 13, entrada 5**.

4.6.5.2 Resolução cinética enzimática de *rac-4a*, via hidrólise, utilizando lipase de *Candida antarctica* do tipo B -CAL-B (Novozym 435).

4.6.5.2.1 Acetonitrila como co-solvente, variando a temperatura

Como descrito na **Tabela 5** (p. 58), na triagem enzimática a lipase *Candida antarctica* do tipo B (CAL-B), também, apresentou resultados promissores com excessos enantiomérico do (*S*)-acetilado maior que 99% e do (*R*)-álcool de 98%, com conversão de 50%, utilizando acetonitrila como co-solvente. Neste caso, mantivemos as condições iniciais (tampão fosfato pH 7, 24 horas, relação enzima:substrato2:1) e realizamos a resolução cinética de **rac-4a** em temperaturas maiores que 30 °C (35 °C, 40 °C e 45 °C) **Tabela 14**.

Tabela 14-Resultados da resolução cinética de *rac-4a*, via hidrólise, usando a relação enzima:substrato (2:1) e utilizando a lipase de *Candida antarctica* (CAL-B), em co-solvente acetonitrila, variando a temperatura.

| Entrada | Temperatura | <i>e.e.</i> álcool (%) ^a | <i>e.e.</i> acetilado (%) ^a | <i>c</i> (%) ^b | <i>E</i> ^c |
|---------|-------------|-------------------------------------|--|---------------------------|-----------------------|
| 1 | 35 °C | >99 | 72 | 42 | 431 |
| 2 | 40 °C | >99 | 57 | 37 | 354 |
| 3 | 45 °C | >99 | 65 | 40 | 391 |

^a Determinado por CG-DIC, ^b Conversão, $c = e.e._s/(e.e._s+e.e._p)$, ^c Razão enantiomérica, $E = \ln[1-c(1+e.e._p)]/\ln[1-c(1-e.e._p)]$.

Os resultados demonstraram que o aumento da temperatura diminuiu os valores de conversão para valores menores que 50 %, porém destaca-se que a razão enantiomérica se manteve maior que 200 em todas as temperaturas (**Tabela 14, entrada 3**).

4.6.5.2.2 Estudo do efeito de co-solventes na resolução cinética de *rac*-4a empregando lipase de *Candida antarctica* do tipo B -CAL-B (Novozym 435).

A resolução cinética enzimática de *rac*-4a foi avaliada utilizando a lipase *Candida antarctica* CAL-B sem a presença de co-solventes e na presença de outros co-solventes, além da acetonitrila, mantendo as condições iniciais (30°C, 24 horas, tampão fosfato pH 7, enzima:substrato 2:1) **Tabela 15**.

Na presença do co-solvente álcool isopropílico, os resultados foram idênticos aos obtidos na presença de acetonitrila, com uma conversão de 50 % e excessos enantiomérico > 99% (**Tabela 15, entrada 1**). Os demais co-solventes (TBME, éter etílico e THF) levaram a uma conversão abaixo de 50%, porém, o excesso enantiomérico do produto se manteve maior que 99% e a enantiosseletividade foi maior que 200 (**Tabela 15, entradas 2, 3 e 4**). Cabe ressaltar que na ausência de co-solvente, a reação foi mais lenta com uma conversão de 36%, porém com alta enantiosseletividade ($E > 200$), **Tabela 15, entrada 5**.

Tabela 15-Resultados da resolução cinética de *rac*-4a, via hidrólise, usando a relação enzima:substrato (2:1) e utilizando a lipase de *Candida antarctica* (CAL-B), na ausência e presença de co-solventes.

| Entrada | Co-solvente | <i>e.e.</i> álcool (%) ^a | <i>e.e.</i> acetilado (%) ^a | <i>c</i> (%) ^b | <i>E</i> ^c |
|---------|--------------|-------------------------------------|--|---------------------------|-----------------------|
| 1 | IPA | >99 | >99 | 50 | 1057 |
| 2 | TBME | >99 | 92 | 48 | 659 |
| 3 | Éter etílico | >99 | 71 | 42 | 424 |
| 4 | THF | >99 | 88 | 47 | 584 |
| 5 | Sem | >99 | 55 | 36 | 347 |

^a Determinado por CG-DIC, ^b Conversão, $c = e.e._s / (e.e._s + e.e._p)$, ^c Razão enantiomérica, $E = \ln[1 - c(1 + e.e._p)] / \ln[1 - c(1 - e.e._p)]$.

4.6.5.3 Resolução cinética enzimática de *rac*-4a, via hidrólise, utilizando Amano lipase AK da *P. fluorescens*

4.6.5.3.1 Acetonitrila como co-solvente, variando a temperatura

A lipase Amano Ak de *P. fluorescens*, também, foi ativa e seletiva na resolução cinética de *rac*-4a na presença da acetonitrila como co-solvente. Inicialmente, a reação foi realizada a 30 °C (**Tabela 5**, p. 58). As reações de hidrólise foram realizadas a temperaturas mais altas (35 °C, 40 °C e 45 °C) para verificar se ocorria uma diminuição no tempo reacional (**Tabela 16**).

Tabela 16- Resultados da resolução cinética de *rac*-4a, via hidrólise, usando a relação enzima:substrato (2:1) e utilizando Amano lipase AK de *P. fluorescens* em co-solvente acetonitrila, variando a temperatura.

| Entrada | Temperatura | Tempo (horas) | <i>e.e.</i> -álcool (%) ^a | <i>e.e.</i> -acetilado (%) ^a | <i>c</i> (%) ^b | <i>E</i> ^c |
|---------|-------------|---------------|--------------------------------------|---|---------------------------|-----------------------|
| 1 | 35 °C | 20 h | >99 | >99 | 50 | 1057 |
| 2 | 40 °C | 16 h | >99 | >99 | 50 | 1057 |
| 3 | 45 °C | 6 h | >99 | >99 | 50 | 1057 |
| | | 12 h | >99 | >99 | 50 | 1057 |

^a Determinado por CG-DIC, ^b Conversão, $c = e.e._s / (e.e._s + e.e._p)$, ^c Razão enantiomérica, $E = \ln[1 - c(1 + e.e._p)] / \ln[1 - c(1 - e.e._p)]$.

O aumento de temperatura levou a um decréscimo no tempo reacional. Quando a reação foi realizada a 45 °C foi necessário apenas 6 h de reação para se alcançar uma conversão de 50% e valores de excesso enantiomérico de substrato e produto > 99%.

4.6.5.3.2 Estudo do efeito de co-solventes na resolução cinética de *rac*-4a empregando *Amano lipase AK de P. fluorescens*

Em seguida, utilizando a *Amano lipase AK da P. fluorescens*, foi realizado um estudo da influência de alguns co-solventes para comparar com o co-solvente acetonitrila utilizado na triagem de lipases (**Tabela 5**, p. 58). Foram avaliados como co-solventes o álcool isopropílico, THF, TBME e éter etílico. Em paralelo, foi realizado o experimento sem co-solvente, mantendo as mesmas condições iniciais (30 °C, tampão fosfato pH 7, enzima:substrato 2:1) **Tabela 17**.

Tabela 17- Resultados da resolução cinética de *rac*-4a, via hidrólise, usando a relação enzima:substrato (2:1) e utilizando a Amano lipase AK de *P. fluorescens*, na ausência e presença de co-solventes.

| Entrada | Co-solvente | <i>e.e.</i> -álcool (%) ^a | <i>e.e.</i> -acetilado (%) ^a | <i>c</i> (%) ^b | <i>E</i> ^c |
|---------|--------------|--------------------------------------|---|---------------------------|-----------------------|
| 1 | IPA | 98 | >99 | 50 | 525 |
| 2 | TBME | >99 | 35 | 26,1 | 280 |
| 3 | THF | >99 | 84 | 46 | 531 |
| 4 | Éter etílico | >99 | 5 | 5 | 208 |
| 5 | - | >99 | 96 | 49 | 789 |

^a Determinado por CG-DIC, ^b Conversão, $c = e.e._s / (e.e._s + e.e._p)$, ^c Razão enantiomérica, $E = \ln[1 - c(1 + e.e._p)] / \ln[1 - c(1 - e.e._p)]$.

Através da análise dos resultados sumariados na **Tabela 25, entrada 2, 3, 4**, pode-se concluir que os co-solventes TBME, THF, éter etílico não mantiveram a atividade da enzima, levando a valores de conversão abaixo de 50%.

Os resultados também demonstraram que a reação ocorre de forma satisfatória na presença de IPA como co-solvente (**Tabela 17, entrada 1**). Cabe ressaltar que na ausência de

co-solventes, a resolução cinética de **rac-4a** ocorre satisfatoriamente, com conversão de 49%, e valores de excesso enantiomérico > 99% e 96% de álcool e acetilado, respectivamente (**Tabela 17, entrada 5**).

4.6.5.4. Resolução cinética enzimática de *rac-4a*, via hidrólise, utilizando lipase de *Termomyces lanuginosus* imobilizada em nanopartículas de ferro.

Inicialmente, as reações de resolução cinética de **rac-4a**, mediada por vários preparados de lipase de *T. lanuginosus*, imobilizadas em nanopartículas de ferro, foram realizadas utilizando acetonitrila como co-solvente, a 30 °C. Foram obtidos valores de conversão abaixo de 50 %, porém o álcool foi obtido com *e.e.* > 99% (**Tabela 5, p. 58**).

Como em 24 h de reação os valores de conversão não atingiram 50%, decidimos realizar as reações em temperatura de 40 °C por 24 h. Os resultados demonstraram que com o aumento da temperatura todas as enzimas tiveram perda da sua atividade (não houve formação de produto), ressalta-se que apesar dos resultados não serem propícios, é possível concluir que o suporte utilizado na imobilização é eficaz, uma vez que o mesmo funcionou em uma temperatura inferior.

Como a lipase *Termomyces lanuginosus* imobilizada em nanopartículas de ferro, foi produzida em laboratório, a triagem de co-solvente foi realizada posteriormente, utilizando álcool isopropílico, THF, éter etílico e sem a presença do co-solvente, mantendo a mesma temperatura 30 °C e tempo racional 24 horas e em tampão fosfato pH 7, para avaliação da atividade da enzima e comparação com a enzima imobilizada comercialmente. Os resultados estão sumariados na **Tabela 18**.

Tabela 18- Resultados da resolução cinética de *rac-4a*, via hidrólise, usando a relação enzima:substrato (2:1), 24 horas de reação em 30 °C e utilizando lipase *Termomyces lanuginosus* imobilizada em nanopartículas de ferro, na ausência e presença de co-solventes.

| Entrada | Lipase <i>Termomyces lanuginosus</i> | Co-solvente | <i>e.e.</i> álcool (%) ^a | <i>e.e.</i> acetilado (%) ^a | <i>c</i> (%) ^b | <i>E</i> ^c |
|---------|---|--------------|-------------------------------------|--|---------------------------|-----------------------|
| 1 | | THF | - | - | - | - |
| 2 | imobilizada em | IPA | - | - | - | - |
| 3 | SPMN-ION | Éter etílico | >99 | 18 | 16 | 238 |
| 4 | APTES | - | >99 | 3 | 3 | 205 |
| 5 | | THF | >99 | >99 | 50 | 1057 |
| 6 | imobilizada em | IPA | >99 | 12 | 11 | 223 |
| 7 | SPMN-ION BPEI | Éter etílico | >99 | >99 | 50 | 1057 |
| 8 | | - | >99 | 6 | 6 | 211 |
| 9 | | THF | - | - | - | - |

| | | | | | | |
|----|----------------|--------------|-----|----|----|-----|
| 10 | imobilizada em | IPA | 68 | 14 | 17 | 6 |
| 11 | SPMN-COV BPEI | Éter etílico | >99 | 50 | 34 | 327 |
| 12 | | - | - | - | - | - |
| 13 | imobilizada em | THF | - | - | - | - |
| 14 | SPMN-COV | IPA | - | - | - | - |
| 15 | APTES | Éter etílico | >99 | 11 | 10 | 221 |
| 16 | | - | - | - | - | - |

^a Determinado por CG-DIC, ^b Conversão, $c = e.e.s/(e.e.s+e.e.p)$, ^c Razão enantiomérica, $E = \ln[1-c(1+e.e.p)]/\ln[1-c(1-e.e.p)]$.

Para as lipases de *T. lanuginosus* imobilizadas em nanopartículas foi possível verificar a necessidade do uso de um co-solvente, pois sem a presença de um co-solvente ou a reação de hidrólise não ocorre ou a conversão é muito baixa (**Tabela 18, entradas 4, 8, 12 e 16**). A *T. lanuginosus* imobilizada em nanopartículas de ferro (SPMN-ION APTES) não apresentou atividade na presença dos co-solventes THF e IPA (**Tabela 18, entradas 1 e 2**) e na presença de éter etílico (**Tabela 18, entrada 3**) teve um comportamento semelhante quando a resolução cinética foi realizada na presença de acetonitrila (**Tabela 5, p.57**), com conversão de 16% e excesso enantiomérico do (*R*)-álcool > 99%. Para a *T. lanuginosus* imobilizada em nanopartículas de ferro (SPMN-ION BPEI), dois co-solventes se mostraram eficientes, o THF (**Tabela 18, entrada 5**) e o éter etílico (**Tabela 18, entrada 7**), com conversão de 50% e valores de excesso enantiomérico > 99%, tanto para o (*S*)-acetato remanescente quanto para o produto (*R*)-álcool, sendo superior aos resultados obtidos na presença de acetonitrila, com conversão de 34%, excesso enantiomérico do (*R*)-álcool > 99% e do (*S*)-acetato remanescente de 50% (**Tabela 5, p. 58**). Para a *T. lanuginosus* imobilizada em nanopartículas de ferro (SPMN-COV BPEI), o co-solvente mais eficiente foi o éter etílico (**Tabela 18, entrada 11**), com uma conversão de 34% e excesso enantiomérico do produto (*R*)-álcool > 99%, superior ao valor de conversão obtido em acetonitrila (**Tabela 5, p. 58**), que foi de apenas 17%, com manutenção da alta enantiosseletividade do produto (*R*)-álcool ($e.e. > 99\%$). Para a *T. lanuginosus* imobilizada em nanopartículas de ferro (SPMN-COV APTES), o melhor co-solvente foi a acetonitrila (**Tabela 5, p. 58**), com conversão de 17% e excesso enantiomérico do (*R*)-álcool > 99%, enquanto que na presença de THF e IPA (**Tabela 18, entradas 13 e 14**) a reação de hidrólise não ocorreu e na presença de éter etílico a conversão foi de apenas 11% com a manutenção da alta enantiosseletividade do produto (*R*)-álcool ($e.e. > 99\%$).

Após um estudo mais detalhado da resolução cinética de **rac-4a**, via hidrólise, foi possível estabelecer as melhores condições reacionais para a obtenção do (*S*)-acetato **4a** e do (*R*)-álcool **3a**. Tais condições reacionais foram utilizadas na resolução cinética dos acetatos

rac-4b, *rac-4c* e *rac-4d* para obtenção dos intermediários quirais que levam aos análogos da (*R*)-Mexiletina.

4.6.5.5 Resolução cinética de *rac-4b*, *rac-4c* e *rac-4d*, via hidrólise, mediada por lipases para obtenção dos intermediários quirais que levam aos análogos da (*R*)-Mexiletina

Os estudos preliminares foram determinantes na escolha das lipases a serem utilizadas nas reações com os intermediários que levam aos análogos da (*R*)-mexiletina (*rac-4b*, *4c* e *4d*) (**Figura 9**). Para uniformizar as condições reacionais, decidimos utilizar parâmetros comuns às lipases que mediarão a resolução de *rac-4a*, levando a resultados ideais de uma resolução cinética que correspondem a uma conversão de 50%, excesso enantiomérico de substrato e produto > 99% e uma enantiosseletividade (*E*) > 200. Portanto, selecionamos a acetonitrila como co-solvente e comparamos com as reações realizadas na ausência de um co-solvente. A temperatura utilizada foi de 30 °C e o tempo reacional de 24 horas. Em tais condições, as lipases que se destacaram foram a *Termomyces lanuginosus* imobilizada em immobed 150 e a Amano lipase AK de *P. fluorescens*. Os resultados obtidos estão sumariados nas **Tabelas 19 e 20**, respectivamente.

Figura 9- Análogos intermediários da (*R*)-Mexiletina

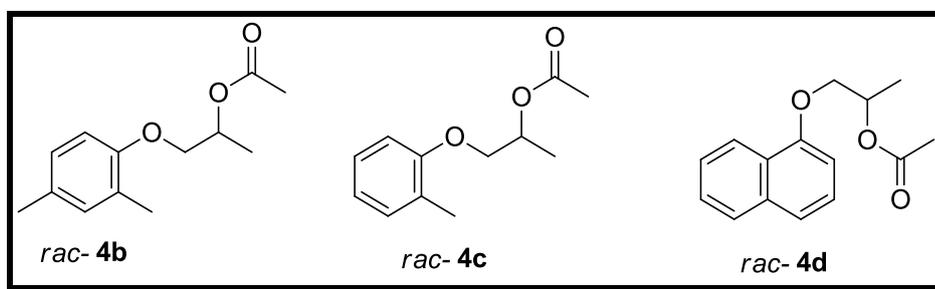


Tabela 19- Resultados das resoluções cinéticas enzimáticas de *rac-4b*, *4c* e *4d*, via hidrólise, mediada por lipase de *Termomyces lanuginosus* imobilizada em immobed 150.

| Entrada | | Acetonitrila | | | | Entrada | Sem-cosolvente | | | |
|-----------|---------------|-------------------------------------|--|---------------------------|-----------------------|-----------|-------------------------------------|--|---------------------------|-----------------------|
| | | <i>e.e.</i> álcool (%) ^a | <i>e.e.</i> acetilado (%) ^a | <i>c</i> (%) ^b | <i>E</i> ^c | | <i>e.e.</i> álcool (%) ^a | <i>e.e.</i> acetilado (%) ^a | <i>c</i> (%) ^b | <i>E</i> ^c |
| 1a | <i>rac-4b</i> | 99 | 89 | 47 | 600 | 1b | 38 | 98 | 72 | 9 |
| 2a | <i>rac-4c</i> | 98 | 92 | 48 | 327 | 2b | 94 | 94 | 50 | 115 |
| 3a | <i>rac-4d</i> | 99 | 43 | 30 | 304 | 3b | 45 | 2 | 4,2 | 3 |

^a Determinado por CG-DIC, ^b Conversão, $c = e.e._s / (e.e._s + e.e._p)$, ^c Razão enantiomérica, $E = \ln[1 - c(1 + e.e._p)] / \ln[1 - c(1 - e.e._p)]$.

Tabela 20- Resultados das resoluções cinéticas enzimáticas de *rac-4b*, *4c* e *4d*, via hidrólise, mediada por Amano lipase AK de *P. fluorescens*.

| Entrada | | Acetonitrila | | | | Entrada | | Sem-cosolvente | | | |
|-----------|----------------------|-------------------------------------|--|---------------------------|-----------------------|-----------|----|-------------------------------------|--|---------------------------|-----------------------|
| | | <i>e.e.</i> álcool (%) ^a | <i>e.e.</i> acetilado (%) ^a | <i>c</i> (%) ^b | <i>E</i> ^c | | | <i>e.e.</i> álcool (%) ^a | <i>e.e.</i> acetilado (%) ^a | <i>c</i> (%) ^b | <i>E</i> ^c |
| 1a | <i>rac-4b</i> | 98 | 98 | 50 | 474 | 1b | 90 | 99 | 52 | 99 | |
| 2a | <i>rac-4c</i> | 92 | 87 | 49 | 68 | 2b | 75 | 99 | 57 | 36 | |
| 3a | <i>rac-4d</i> | 99 | 43 | 30 | 304 | 3b | 69 | 12 | 15 | 6 | |

^a Determinado por CG-DIC, ^b Conversão, $c = e.e._s / (e.e._s + e.e._p)$, ^c Razão enantiomérica, $E = \ln[1 - c(1 + e.e._p)] / \ln[1 - c(1 - e.e._p)]$.

Os enantiômeros com a configuração desejada para serem utilizados como intermediários na obtenção dos análogos da (*R*)-Mexiletina são os (*S*)-acetatos remanescentes. Portanto, as melhores condições serão aquelas que levarem aos (*S*)-acetatos com os maiores valores de excesso enantiomérico e conversão (máximo de 50%). Para resolução cinética de *rac-4b*, a Amano lipase AK de *P. fluorescens* foi mais eficiente tanto na presença de acetonitrila como co-solvente, quanto na ausência de co-solvente (**Tabela 20, entradas 1a e 1b**). Para o substrato *rac-4c*, as melhores condições para se obter (*S*)-**4c** com alto valor de excesso enantiomérico e conversão inclui a utilização da lipase de *T. lanuginosus* imobilizada em immobed 150 na ausência de co-solventes (**Tabela 19, entrada 2b**).

Com o substrato *rac-4d* os resultados não foram promissores nem com a lipase de *T. lanuginosus* imobilizada em immobed 150 e nem com a Amano lipase AK de *P. fluorescens*, apresentando baixos valores de conversão e de enantiosseletividade (**Tabela 19 e 20, entradas 3a, 3b**).

Diante de tais resultados, decidimos aumentar o tempo reacional para 48 horas, para verificar se a conversão se aproximava de 50%. Neste caso, as reações foram analisadas somente na presença de acetonitrila como co-solvente **Tabela 21**.

Tabela 21- Resultados da resolução cinética enzimática de *rac-4d*, via hidrólise, utilizando acetonitrila como co-solvente, em 48 horas.

| | Lipase <i>Termomyces lanuginosus</i> imobilizada em immobed 150. | | | | Amano lipase AK de <i>P. fluorescens</i> | | | |
|----------------------|--|--|---------------------------|-----------------------|--|--|---------------------------|-----------------------|
| | <i>e.e.</i> álcool (%) ^a | <i>e.e.</i> acetilado (%) ^a | <i>c</i> (%) ^b | <i>E</i> ^c | <i>e.e.</i> álcool (%) ^a | <i>e.e.</i> acetilado (%) ^a | <i>c</i> (%) ^b | <i>E</i> ^c |
| <i>rac-4d</i> | 84 | 99 | 54 | 59 | 95 | 99 | 51 | 204 |

^a Determinado por CG-DIC, ^b Conversão, $c = e.e._s / (e.e._s + e.e._p)$, ^c Razão enantiomérica, $E = \ln[1 - c(1 + e.e._p)] / \ln[1 - c(1 - e.e._p)]$.

O aumento no tempo reacional mostrou-se bastante eficiente quando comparado com os resultados anteriores (24 h), pois aumentou os valores de conversão. Porém, deve ser

destacado que a Amano lipase AK de *P. fluorescens* apresentou um excesso enantiomérico do (*S*)-acetato > 99% e uma enantiosseletividade > 200 (**Tabela 21**).

4.7 Determinação das configurações absolutas de **3b**, **3c**, **3d**.

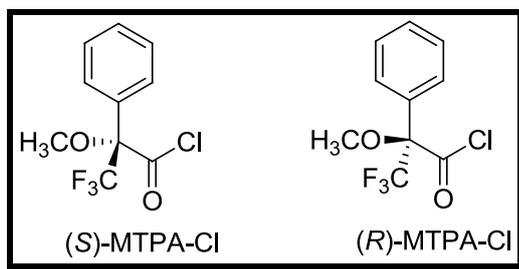
Após a realização da etapa enzimática para obtenção dos intermediários quirais (*S*)-acetatos **4b-d** que levam aos análogos da (*R*)- Mexiletina, foram realizadas as determinações das configurações absolutas dos álcoois **3b**, **3c**, **3d**, pois a literatura não dispõe dos dados de rotação óptica específica dos referidos álcoois e nem dos correspondentes (*S*)-acetatos **4b-d**. Portanto, utilizamos o método de Mosher para comprovar se as resoluções cinéticas dos acetatos racêmicos **4b-d** seguiram a regra empírica de Kazlauskas.

A determinação da configuração absoluta tem ganhado relevância devido à grande quantidade de produtos naturais opticamente ativos que vem sendo descobertos (LING YI & PENG 2013). Os métodos utilizados para a determinação da configuração absoluta incluem a RMN, a Cristalografia de Raios-X, o Dicroísmo Circular (eletrônico e vibracional), a Dispersão Óptica Rotatória, a Rotação Óptica Específica e a Atividade Óptica Vibracional Raman.

O método de RMN ou técnica de Mosher, desenvolvido por Mislow, Dale, Mosher e Trost, é atraente devido à disponibilidade geral de espectrometros de RMN, pequena quantidade de amostra necessária e o fato das amostras serem recuperáveis. Porém, este método requer funções orgânicas específicas como ácido carboxílico, amina e álcool, necessários para reagir com o reagente de Mosher (Seco *et al.* 1995).

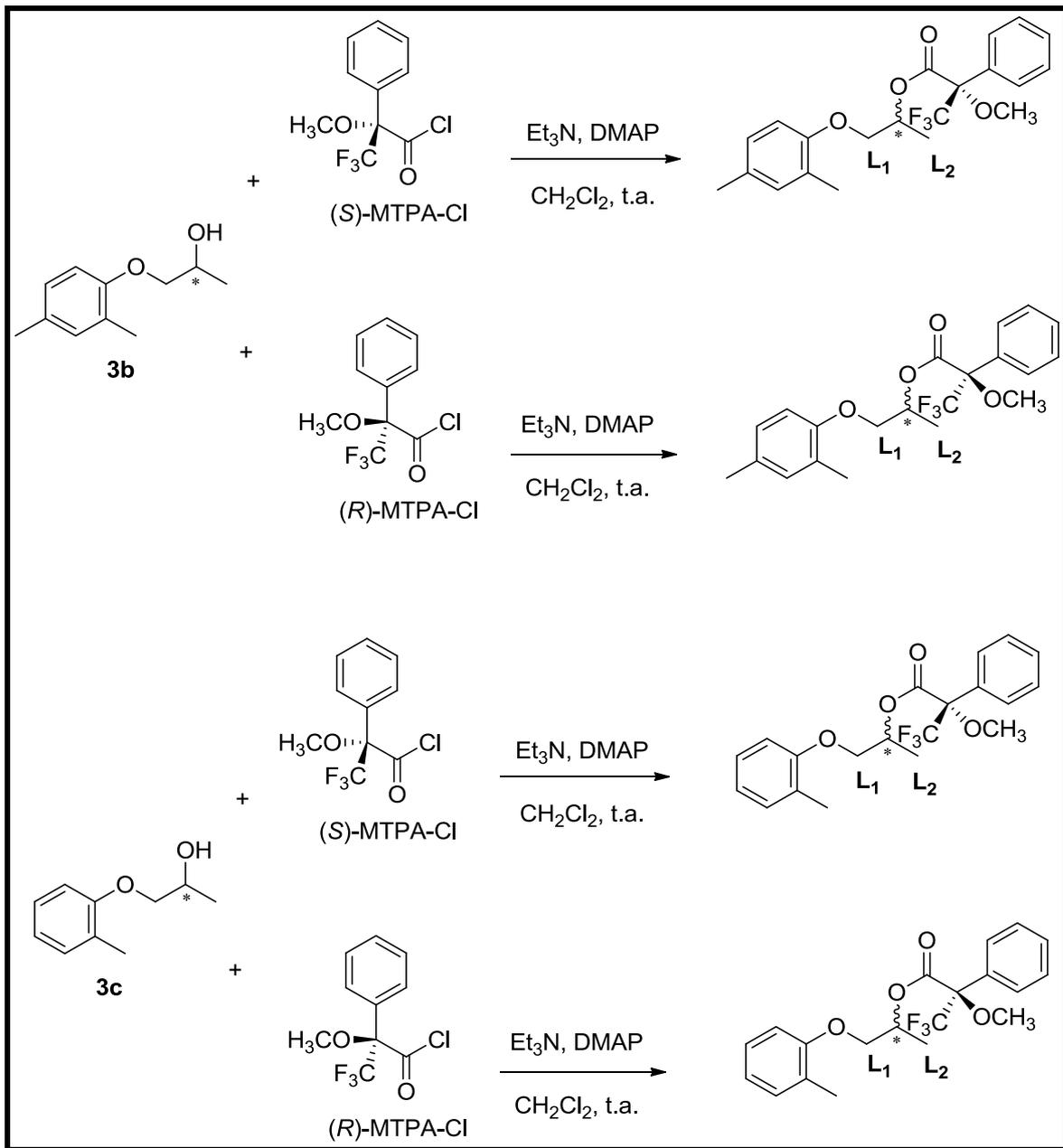
Para a determinação da configuração absoluta dos intermediários **3b**, **3c** e **3d**, empregou-se a técnica de Mosher baseada na dupla derivatização, utilizando como reagente de derivatização quiral (RDQ), o (*R*)-MTPA-Cl e o (*S*)-MTPA-Cl, cloreto de α -metóxi- α -trifluorometil-2-fenilpropanoila (**Figura 10**). A técnica consiste na esterificação de um álcool de configuração desconhecida com os dois enantiômeros (*R*) e (*S*) do reagente de derivatização quiral (Seco, Quiñoá, Riguera, 2000).

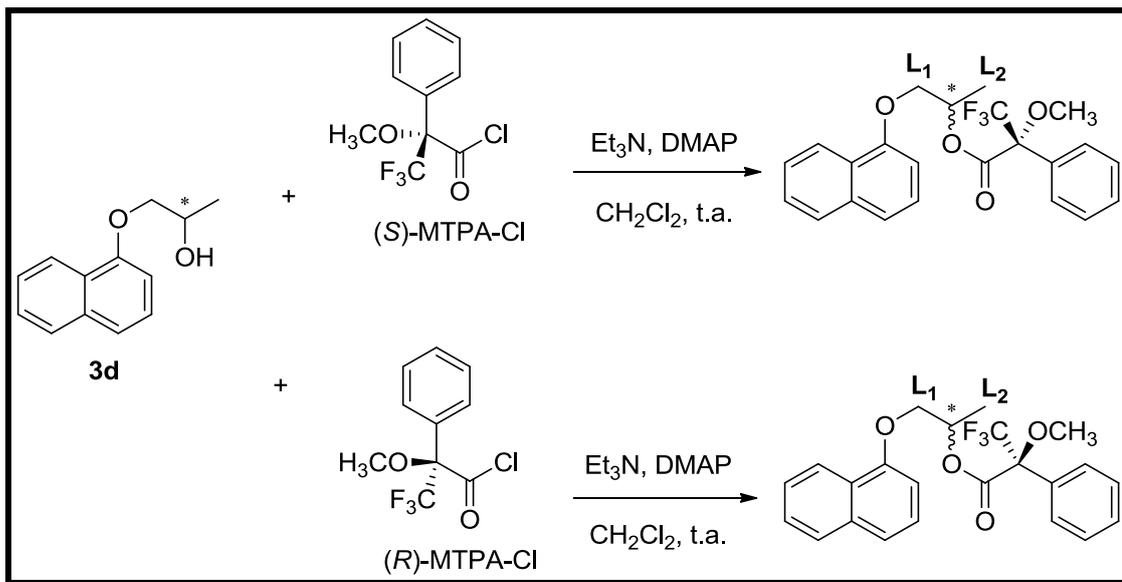
Figura 10-Reagente de derivatização quiral utilizado para determinação da configuração absoluta de 3b, 3c, 3d



Este método está baseado na comparação dos espectros de RMN de ¹H entre os dois derivados do substrato, que são obtidos pela reação com os dois enantiômeros de um reagente de derivação quiral (RDQ). Assim, os dois derivados que possuem uma relação diastereoisomérica, apresentam diferentes deslocamentos químicos para hidrogênio que estão ao redor do carbono assimétrico (L_1/L_2), que é calculada pela diferença dos deslocamentos químicos entre o derivado *R* e o derivado *S* (MISHRA & SURYAPRA, 2017) (**Esquema 38**).

Esquema 38- Reação de esterificação de Mosher através da dupla derivatização com 3b, 3c e 3d utilizando os reagentes de derivatização quiral (*R*)-MTPA-Cl e (*S*)-MTPA-Cl



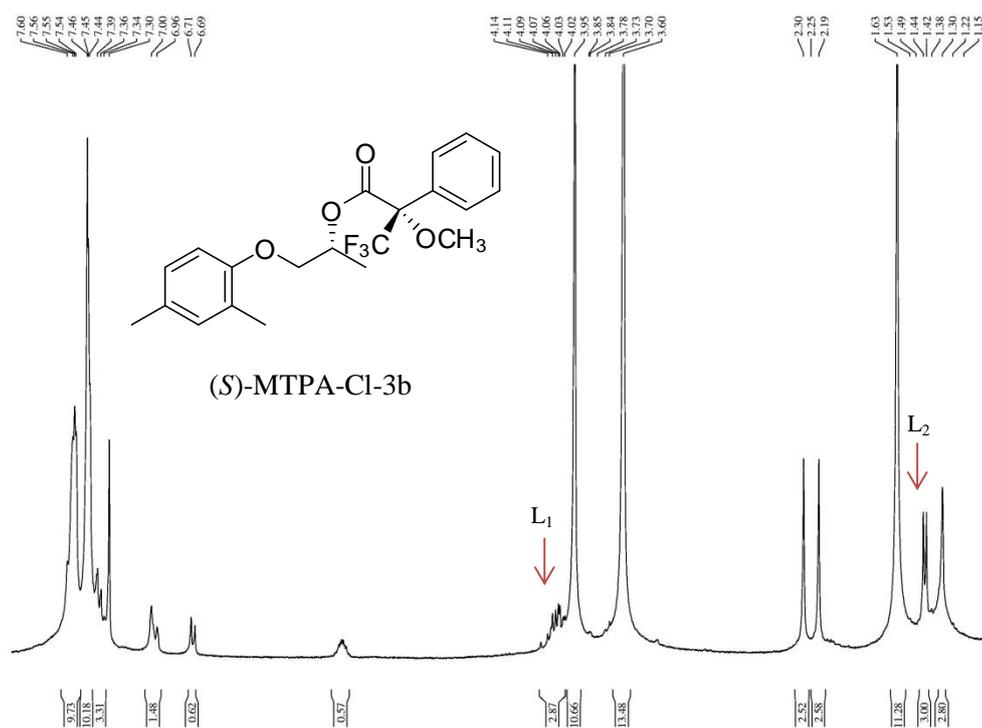
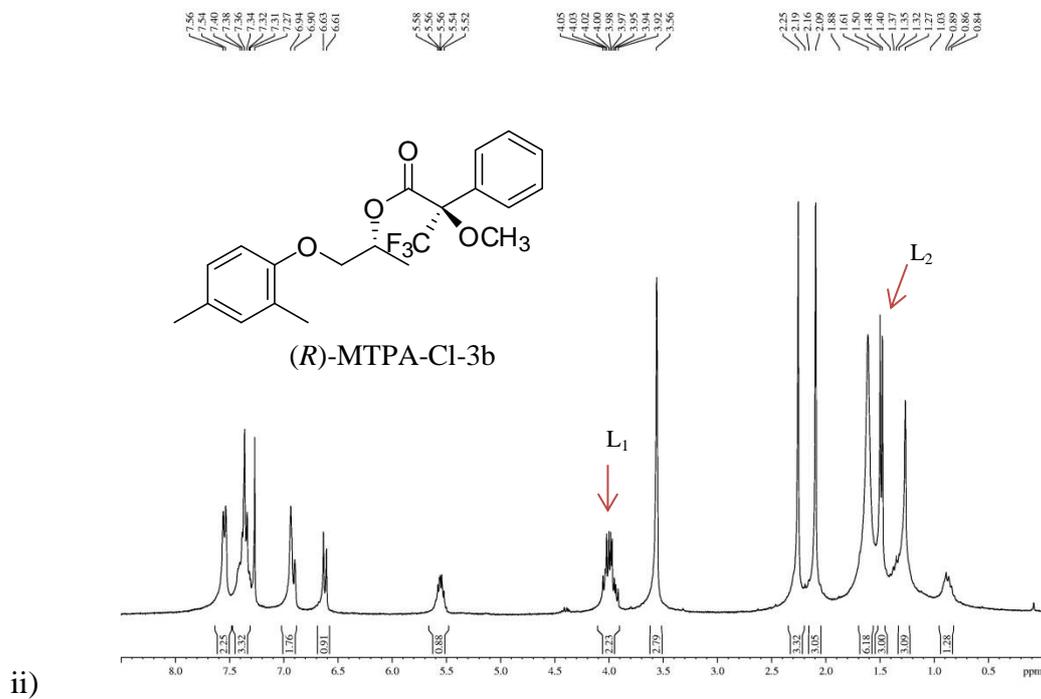


Estas reações foram realizadas partindo de uma pequena quantidade do álcool enantiomericamente puro (5 mg), levando aos produtos com bons rendimentos de 70%, 65% e 60 %, respectivamente para **3b**, **3c** e **3d**.

Após a preparação dos dois ésteres originados do respectivo álcool quiral, foram obtidos os espectros de RMN ¹H e comparados os valores de deslocamento químico dos substituintes L₁ e L₂ (L₁= hidrogênios metilênicos pertencentes ao carbono ligado ao átomo de oxigênio e L₂= hidrogênios metílicos) que estão ligados ao centro estereogênico que se pretende determinar a configuração absoluta. Foi utilizada a equação $\Delta\delta^{RS} = \delta^R - \delta^S$ que representa a diferença entre os deslocamentos. Os dados de RMN ¹H estão resumidos na **Figura 11, Tabela 22**.

Figura 11- Espectros de RMN 1H dos esteres de Mosher de 3b (i), 3c (ii), 3d (iii).

i) Diastereoisômero de Mosher com auxiliar (*R*)-MTPA-Cl- 3b e (*S*)-MTPA-Cl- 3b



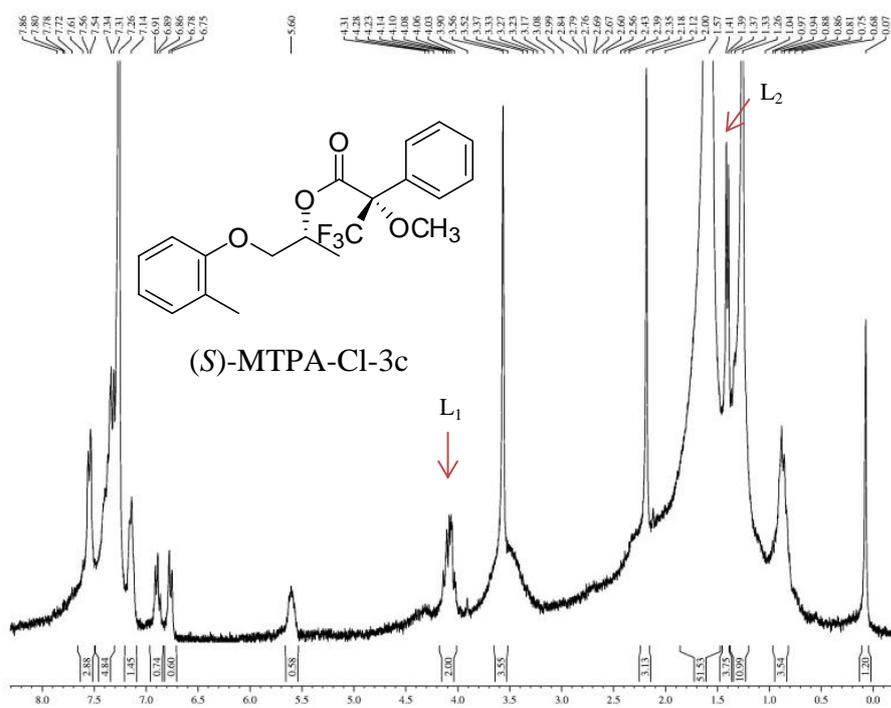
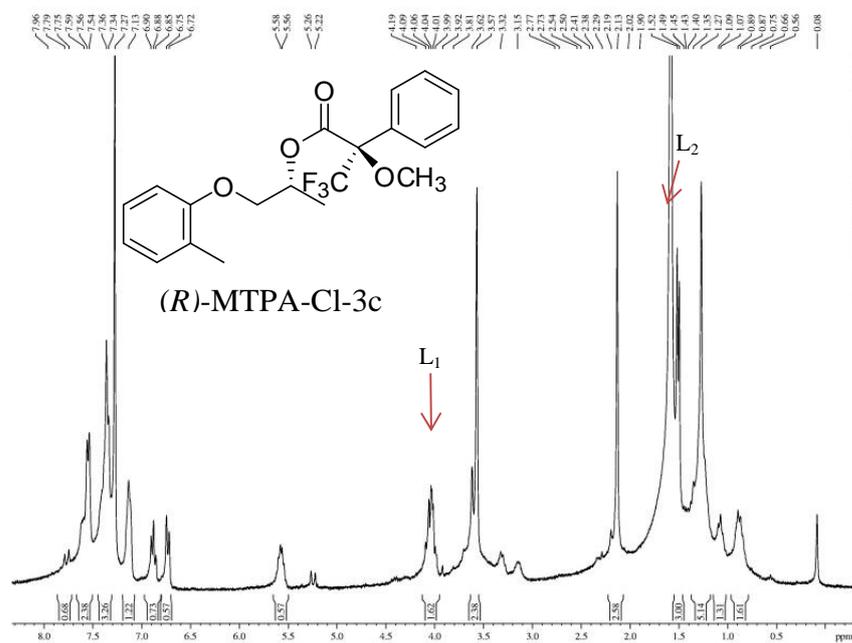
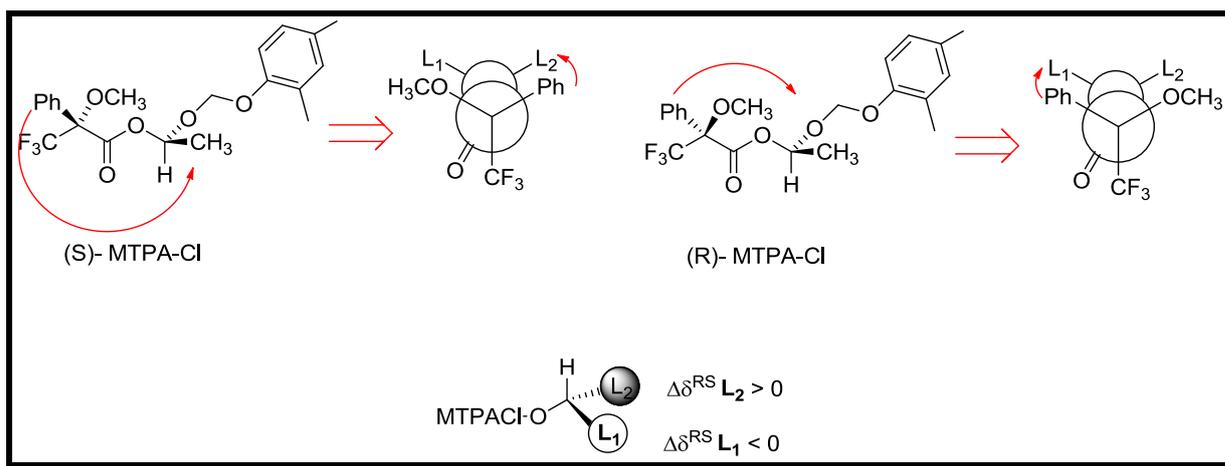
iii) Diastereoisômero de Mosher com auxiliar (*R*)-MTPA-Cl-3c e (*S*)-MTPA-Cl-3c

Tabela 22- Valores de deslocamentos químicos de RMN de ^1H para os diastereoisômeros de Mosher e magnitude de medidas de $\Delta\delta^{\text{RS}}$ para os grupos L_1 e L_2

| δ_{H} | | | $\Delta\delta^{\text{RS}}$ |
|--|--|------------------------------|----------------------------|
| Diastereoisômero de Mosher (<i>R</i>)-MTPA-Cl | Diastereoisômero de Mosher (<i>S</i>)-MTPA-Cl | | |
| 3b | $L_1 = 3,98$ $L_2 = 1,49$ | $L_1 = 4,02$ $L_2 = 1,43$ | -0,04 0,06 |
| 3c | $L_1 = 4,04$ $L_2 = 1,44$ | $L_1 = 4,08$ $L_2 = 1,40$ | -0,04 0,04 |
| 3d | $L_1 = 4,20$ $L_2 = 1,56$ | $L_1 = 4,32$ $L_2 = 1,48$ | -0,12 0,08 |

Na **Tabela 22** observamos que no diastereoisômero de Mosher (*R*) de todos os compostos (**3b**, **3c**, **3d**) os hidrogênios metilênicos (L_1) estão blindados enquanto no diastereoisômero de Mosher (*S*) a blindagem ocorreu nos hidrogênicos metílicos (L_2). Desta forma, de acordo com o modelo desenvolvido ao longo do tempo, se a diferença entre os deslocamentos for menor que zero para L_1 e maior que zero para L_2 estaria de acordo com o modelo demonstrado na **Figura 12**.

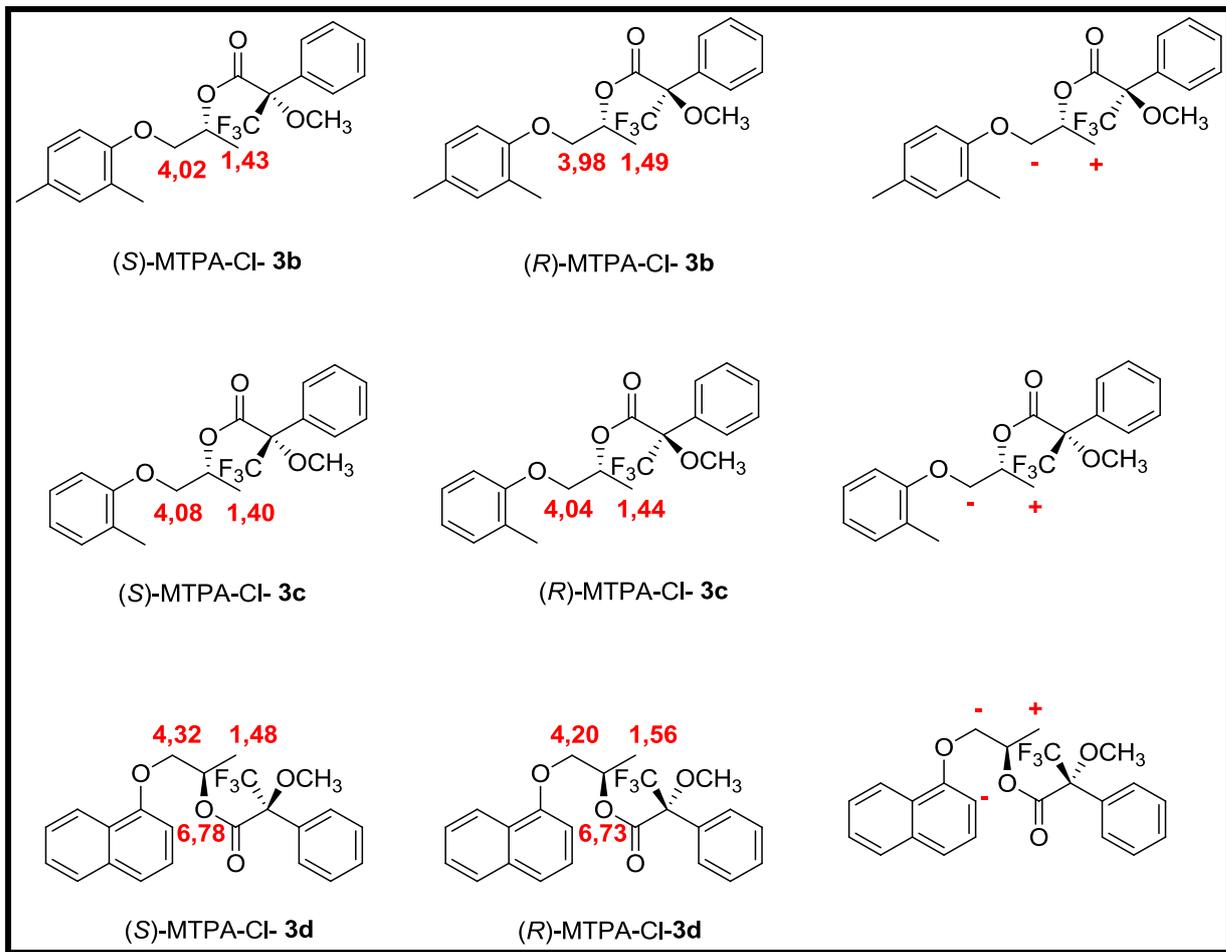
Figura 12- Modelos para determinação de configuração absoluta de álcoois secundários



Fonte: SECO; QUIÑOÁ; RIGUERA, 2004

Fazendo análise dos modelos e comparando com os dados da **Tabela 22**, sugerimos que o carbono estereogênico do álcool **3b**, **3c**, **3d** tem configuração *R*, dessa forma concluímos que na reação de hidrólise enzimática todas seguem a regra de Kazlauskas (**Figura 13**).

Figura 13- Modelo de Mosher para os compostos 3b, 3c, 3d e os valores dos deslocamentos encontrados nos espectros RMN 1 H dos ésteres de Mosher.

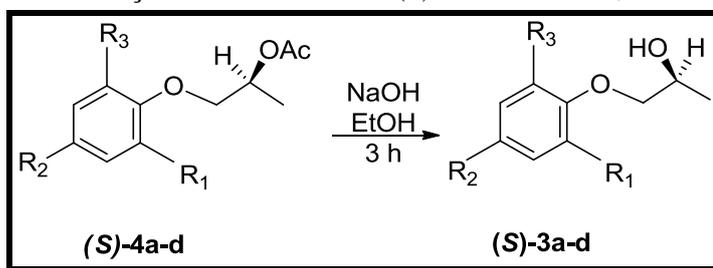


4.8 Reação de hidrólise dos (S)-acetatos 4a-d

Após determinar que estamos obtendo os (R)-álcoois nas resoluções cinéticas de *rac*-4b-d (Tabela 23), podemos inferir que os substratos remanescentes são os (S)-acetatos 4b-d. Os (S)-acetatos 4a-d foram submetidos à reação de hidrólise em meio básico (NaOH) para obtenção dos (S)-álcoois 3a-d, Esquema 39. As reações foram realizadas em 3 horas, com obtenção dos respectivos (S)-álcoois em bons rendimentos. Os resultados estão sumariados na Tabela 24.

Tabela 23- Condições utilizadas nas resoluções cinéticas enzimáticas de **rac-4a-d**

| Substrato | Lipase | Condições reacionais |
|-----------|---|---|
| 4a | <i>Termomyces lanuginosus</i> imobilizada em immobed 150 | Acetonitrila, tampão pH 7, 24 horas, 30 °C |
| 4b | Amano lipase <i>P. fluorescens</i> | Acetonitrila, tampão pH 7, 24 horas, 30 °C |
| 4c | <i>Termomyces lanuginosus</i> imobilizada em immobed 150 | Sem co-solvente, tampão pH 7, 24 horas, 30 °C |
| 4d | Amano lipase <i>P. fluorescens</i> | Acetonitrila, tampão pH 7, 48 horas, 30 °C |

Esquema 39- Reação de hidrólise dos (*S*)-acetatos **4a-d**, em meio básico**Tabela 24-** Rendimento dos intermediários (*S*)-**3a-d**

| Entrada | Produto | Rendimento (%) |
|---------|-------------------------|----------------|
| 1 | (<i>S</i>)- 3a | 70 |
| 2 | (<i>S</i>)- 3b | 63 |
| 3 | (<i>S</i>)- 3c | 60 |
| 4 | (<i>S</i>)- 3d | 58 |

4.9 Obtenção dos intermediários (*R*)-**5a-d**

Os álcoois (*S*)-**3a-d** foram transformados nas azidas (*R*)-**5a-d**, na presença de DPPA, DBU, em tolueno, seguindo o protocolo descrito na literatura (Fernandez, *et al.* 2007). No protocolo original, os autores prepararam uma solução do substrato em tolueno seco, sob atmosfera inerte. Em seguida, adicionaram DPPA, e deixaram reagir, a 0 °C, por 10 minutos. Após esse tempo, adicionaram DBU e a mistura reacional foi agitada por 20 horas, à temperatura ambiente. Surpreendentemente, após a repetição do procedimento supracitado não houve formação das azidas esperadas. Desta forma, buscou-se na literatura um protocolo diferente (Zuccarello, *et al.*, 1998). Neste protocolo, prepara-se uma solução contendo o substrato, juntamente com DIAD e Ph₃P, em THF seco. A mistura reacional é agitada por 15 minutos, em banho de gelo. Em seguida, adiciona-se DPPA, e a mistura reacional é agitada por 24 horas. Quando se realizou este último procedimento (**Esquema 40**), foi possível obter

os produtos esperados em bons rendimentos (60-84%). Os resultados encontram-se sumariados na **Tabela 25**.

Esquema 40- Reação de formação dos intermediários (*R*)-5a-d

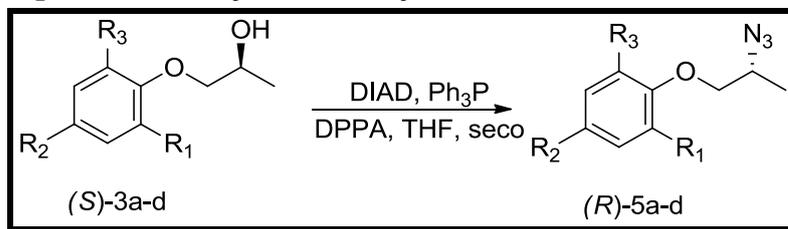


Tabela 25- Rendimento dos intermediários azidas (*R*)-5a-d

| Entrada | Produto | Rendimento (%) |
|---------|-----------------|----------------|
| 1 | (<i>R</i>)-5a | 84 |
| 2 | (<i>R</i>)-5b | 72 |
| 3 | (<i>R</i>)-5c | 60 |
| 4 | (<i>R</i>)-5d | 70 |

4.10 Obtenção da (*R*)-Mexiletina (6a) e análogos (*R*)-6b-d

As reações para obtenção da (*R*)-Mexiletina e análogos foram realizadas na presença de PPh₃, em meio básico e THF, seguindo o protocolo da literatura (Hanessian, *et al.* 2002). Neste caso, o substrato é dissolvido em THF e água, e em seguida adiciona-se a PPh₃. Posteriormente, adiciona-se a base, deixando reagir por 24 horas (**Esquema 41**). Finalmente, os produtos desejados foram obtidos com rendimentos que variaram entre 65 e 95% e rendimento global de síntese entre 13 e 36%, **Tabela 26**.

Esquema 41- Reação de formação da (*R*)-Mexiletina e análogos (*R*)-6b-d

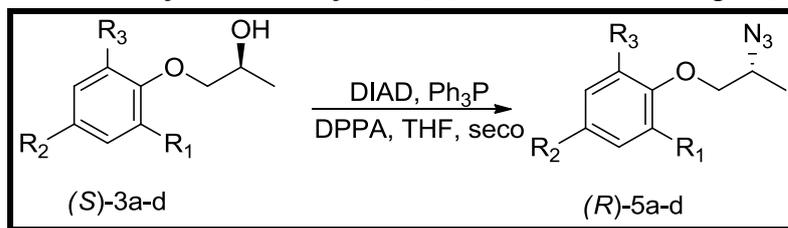


Tabela 26- Rendimento da (*R*)-Mexiletina (6a) e análogos (6b-d)

| Entrada | Produto | Rendimento (%) | Rendimento global (%) |
|---------|-----------------|----------------|-----------------------|
| 1 | (<i>R</i>)-6a | 90 | 36 |
| 2 | (<i>R</i>)-6b | 65 | 19 |
| 3 | (<i>R</i>)-6c | 70 | 13 |
| 4 | (<i>R</i>)-6d | 95 | 24 |

A síntese do fármaco (*R*)-Mexiletina e análogos envolveu sete etapas, sendo uma das etapas a resolução cinética enzimática *via* hidrólise. O rendimento global da síntese da (*R*)-Mexiletina, agente antiarrítmico, foi bom (36 %), menor quando comparado com o da literatura, em que se resolveu a *rac*-Mexiletina, utilizando CAL-B, com rendimento isolado de 81 a 92 % (Gonzalez-Sabin *et al.*, 2002). Na literatura, como mencionado anteriormente, existem dados sobre a síntese da (*R*)-Mexiletina empregando catalisadores químicos, dessa forma a contribuição da síntese realizada neste trabalho associa-se ao uso de uma metodologia mais limpa, biodegradável e por sintetizar análogos que possam posteriormente serem testados em atividade antiarrítmica.

5 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

5.1 Métodos espectrométricos

5.1.1 Espectroscopia na região do infravermelho

Para a obtenção dos espectros de absorção na região do infravermelho (IV), foi empregado espectrômetro Perkin Elmer, modelo FT-IR Spectrum 100, utilizando a técnica UATR (Universal Attenuated Total Reflectance Accessory) do Laboratório de Espectrometria de Massas do Nordeste (LEMANOR), da Universidade Federal do Ceará (UFC)

5.1.2 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

Os espectros de RMN ^1H e ^{13}C foram obtidos no Centro Nordestino de Aplicação e Uso da Ressonância Magnética Nuclear da Universidade Federal do Ceará (CENAUREMN/UFC), utilizando-se espectrômetro Bruker, modelo Avance DPX- 300, que opera na frequência de 300 e 75 MHz para hidrogênio e carbono, respectivamente.

Os solventes utilizados nas dissoluções das amostras para obtenção dos espectros foram metanol (CD_3OD) ou clorofórmio (CDCl_3) deuterados, comercializados pelas companhias ACROS, Cambridge Isotope Laboratories, Merck ou Aldrich. Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em partes por milhão (ppm) e referenciados, no caso dos espectros de hidrogênio, pelos picos dos hidrogênios pertencentes às moléculas residuais não deuteradas dos solventes deuterados utilizados: metanol (δ_{H} 3,31) e clorofórmio (δ_{H} 7,24). Nos espectros de carbono-13, os deslocamentos químicos foram referenciados pelos picos centrais dos carbonos-13 dos solventes: metanol (δ_{C} 49,17) e clorofórmio (δ_{C} 77,13).

5.2 Métodos Físicos

5.2.1 Rotação óptica

As análises de rotações ópticas foram realizadas no Laboratório de espectrometria de massas do nordeste (LEMANOR), em um polarímetro modelo Jasco P-2000, equipado com lâmpada de sódio (Na), λ 589nm. As amostras foram diluídas em CHCl_3 e os experimentos foram realizados a 25 °C.

5.3. Métodos cromatográficos

5.3.1 Cromatografia em camada delgada

A análise cromatográfica em camada delgada (CCD) foi feita sobre cromatofolhas de alumínio cobertas com gel de sílica 60 230 mesh – VETEC. Os eluentes utilizados foram: hexano, diclorometano, acetato de etila, clorofórmio puros ou combinados em proporções crescentes de polaridade. A revelação das substâncias foi realizada através de exposição à luz ultravioleta no comprimento de onda 254 nm, bem como por imersão em solução de vanilina (C₈H₈O₃) e ácido perclórico (HClO₄) em EtOH (C₂H₆O), seguida de aquecimento (100 °C) por aproximadamente 3 minutos. As aminas foram reveladas em ninidrina.

5.3.2 Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e Cromatografia gasosa (CG)

Os acompanhamentos das reações de hidrólise na resolução cinética enzimática dos compostos *rac-3b* e *rac-3d* foram realizados em um cromatógrafo líquido de alta eficiência Shimadzu LC-20AT, utilizando coluna quiral IA ou coluna quiral AS-H de dimensões 150 x 4,6 mm e detector UV-VIS Shimadzu SPD-M20A. Nas análises foram utilizadas mistura binária de hexano e isopropanol- HEX: IPA de grau CLAE. Os compostos *rac-3a* e *rac-3c* foram analisados em um cromatógrafo gasoso da marca Shimadzu, modelo CG 2010, com um detector DIC, um auto-injetor da marca Shimadzu de modelo AOC-20i, utilizando-se de uma coluna quiral com fase estacionária CP-ciclodextrina com um comprimento de 25 m, diâmetro interno de 0,25 mm, diâmetro externo de 0,39 mm e 0,25 µm da espessura de filme. A fase móvel utilizada foi o gás nitrogênio.

5.4 Solventes e reagentes

5.4.1. Solventes empregados

Álcool metílico, hexano, acetato de etila, diclorometano e dimetilformamida, todos de procedência Synth. O tolueno e o éter dietílico da marca Vetec. A acetonitrila, álcool isopropílico e hexano, grau CLAE da marca TEDIA. O THF de procedência Sigma-Aldrich.

5.4.2 Reagentes empregados

Os seguintes reagentes, com suas respectivas procedências, foram:

- Boroidreto de sódio (NaBH_4), de procedência Sigma-Aldrich.
- Sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4), de procedência Vetec.
- Anidrido acético ($\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_3$), de procedência Dinâmica.
- Dimetilaminopiridina – DMAP ($\text{C}_7\text{H}_{10}\text{N}_2$), de procedência Sigma-Aldrich.
- Acetato de vinila ($\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_2$), de procedência Sigma-Aldrich.
- Carbonato de potássio (K_2CO_3), de procedência Vetec.
- Hidreto de cálcio (CaH_2), de procedência Merck.
- Benzofenona ($\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{O}$), de procedência Sigma-Aldrich.
- Difenil-fosforil-azida – DPPA ($\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{ON}_3\text{P}$), de procedência Sigma-Aldrich.
- Dietilazodicarboxilato (DIAD), de procedência Sigma-Aldrich.
- Trifenilfosfina (PPh_3), de procedência Sigma-Aldrich.
- Hidróxido de potássio (KOH), de procedência Vetec.
- Paládio, de procedência Sigma-Aldrich.

5.5. Biocatalisadores utilizados

Os biocatalisadores empregados, com suas respectivas procedências foram:

- Amano lipase G de *Penicillium camemberti* de procedência Sigma-Aldrich.
- Amano lipase AK de *Pseudomonas fluorescens* de procedência Sigma-Aldrich.
- Lipase Amano PS de *Burkholderia cepacia* de procedência Sigma-Aldrich.
- Lipase Amano PS de *Burkholderia cepacia* imobilizada em terra diatomácea de procedência Sigma-Aldrich.
- Lipase de *Thermomyces lanuginosus* imobilizada em imobead-150 de procedência Sigma-Aldrich.
- Lipase de *Candida antarctica* B imobilizada em resina acrílica -CAL-B (Novozym 435) de procedência Novozyme.
- Lipase de *Candida rugosa* de procedência Sigma-Aldrich.
- Lipozyme RM IM de *Rhizomucor miehei* imobilizada em resina aniônica de procedência Novo Nordisk.
- Lipase *Thermomyces lanuginosus* imobilizada em nanopartículas supermagnéticas em ferro (Fe_3O_4) e revestidas 3-aminopropiltriétoxissilano (APTES) ou polietilenimina ramificada (BPEI) produzida pelo grupo de pesquisa GPBio (Grupo de Pesquisa e Desenvolvimento de processos Biotecnológicos) do Departamento de Engenharia Química da UFC.

5.6 Tratamento dos solventes utilizados nas reações de biocatálise

Os solventes hexano, acetonitrila e tolueno foram tratados com a adição de hidreto de cálcio, em refluxo, empregando nitrogênio como gás de purga (LI; LIMBERAKIS; PFLUM, 2007, p. 7).

Os solventes THF e dioxano foram tratados com a adição de sódio metálico na presença de benzofenona, em refluxo, utilizando o nitrogênio como gás de purga. O tratamento teve seu término com o aparecimento de uma coloração azul escura (LI; LIMBERAKIS; PFLUM, 2007, p. 6).

5.7 Preparação dos intermediários da (*R*)-Mexiletina e análogos

5.7.1 Síntese das cetonas *2a-d*

Em um balão de 50 mL, dissolveu-se 0,02 mmol (3,8 mg) de iodeto de potássio em 10,9 mmol (878 μ L) de α -cloroacetona, deixando reagir por 4 horas. Em seguida, a mistura reacional foi adicionada gota à gota a um balão de 125 mL contendo 16,4 mmol de **1a-d**, 15 mmol de carbonato de potássio em dimetilformamida. A reação foi mantida em agitação por 24 horas, a 60 °C. Em seguida, adicionou-se 50 mL de água destilada e extraiu-se o produto com éter dietílico, (3 x 40 mL), sendo a fase orgânica combinada e lavada com solução de NaOH (2 mol/L). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro. Após filtração, evaporou-se o éter etílico à pressão reduzida. O produto bruto foi purificado em uma coluna cromatográfica, empregando gel de sílica como fase estacionária, e como fase móvel a mistura hexano:acetato de etila 20% para os produtos **2a**, **2b**, **2d** (rendimento 82 %, 77 %, 75 %, respectivamente) , e hexano:clorofórmio 80% para o produto **2c** (rendimento 60 %).

5.7.2 Síntese dos álcoois *rac-3a-d*

Em um balão de 125 mL, dissolveu-se 4,5 mmol de **2a-d** em metanol com obtenção de uma solução 0,1 mol/L. Em seguida, a mistura reacional foi resfriada em banho de gelo e adicionou-se, lentamente, 9,0 mmol de boridreto de sódio. A reação foi agitada por 3 horas e após este tempo, evaporou-se o metanol à pressão reduzida. Adicionou-se água destilada e extraiu-se o produto com acetato de etila (4x30 mL), sendo a fase orgânica tratada com sulfato de sódio anidro. Após a filtração, evaporou-se o acetato de etila à pressão reduzida. Em seguida, os produtos foram purificados em coluna cromatográfica, empregando gel de sílica como fase estacionária. Como fase móvel empregou-se a mistura hexano:acetato

de etila 20% para os produtos **3a**, **3b**, **3d** (rendimento 90 %, 88 %, 92 %), e hexano: acetato de etila 10% para o produto **3c** (rendimento 98 %).

5.7.3 Síntese dos acetatos *rac*-**4a-d**.

Em um balão de 125 mL, dissolveu-se 1,7 mmol de *rac*-**3a-d** em diclorometano com concentração 0,1 mol/L. Em seguida, adicionou-se 0,5 mmol (62,2 mg) de DMAP. Posteriormente, adicionou-se 8,4 mmol (831,1 µL) de anidrido acético. A reação foi processada por 4 horas, e em seguida, evaporou-se o solvente, e purificou-se o produto utilizando uma coluna cromatográfica com gel de sílica, tendo como fase móvel a mistura hexano:acetato de etila 20% para os produtos **4a**, **4b**, **4d** (rendimento 92 %, 90 %, 91 %), e hexano: acetato de etila 10% para o produto **4c** (rendimento 88 %).

5.7.4. Hidrólise dos (*S*)-acetatos **4a-d**

Em um balão de 125 mL, adicionou-se 0,5 mmol de (*S*)-**4a-d** em 5 mL de solução de NaOH (0,1 mol/L), em etanol. A mistura reacional foi agitada por 3 horas. Posteriormente, foi realizada uma extração com acetato de etila. Em seguida, evaporou-se o solvente à pressão reduzida e o produto reacional, (*S*)-**3a-d** (rendimentos 70 %, 63 %, 60 %, 58 % respectivamente), foi purificado utilizando uma coluna cromatográfica com gel de sílica e como fase móvel 20% hexano:acetato de etila.

5.7.5 Síntese das azidas (*R*)-**5a-d**

Em um balão de 125 mL, adicionou-se 0,27 mmol de (*S*)-**3a-d** em 5 mL de THF seco, 1,37 mmol (270 µL) DIAD e 0,58 mmol (152 µL) de trifetilfosfina (Ph₃P). A mistura reacional foi agitada em banho de gelo por 15 minutos. Depois de decorrido este tempo foi adicionado a reação 0,70 mmol (150 µL) de DPPA. A reação foi processada por 24 horas à temperatura ambiente. Em seguida, evaporou-se o solvente a pressão reduzida e o produto reacional foi purificado utilizando uma coluna cromatográfica com gel de sílica e o eluente a mistura hexano:acetato de etila 5% para os produtos **5a**, **5b** (rendimentos 84 %, 72 %) e hexano: acetato de etila 10% para o produto **5c**, **5d** (rendimento 60 %, 70%).

5.7.6 Síntese da (*R*)-mexiletina **6a** e análogos (*R*)-**6b-d**

Em um balão de 50 mL adicionou-se 0,15 mmol de substrato (*R*)-**5a-d** em uma mistura de solventes THF/água (75:25), seguido da adição de 0,06 mmol (43,3 mg) de PPh₃ e 0,05 mmol (8,4 mg) de KOH. A reação foi processada por 24 horas e depois de decorrido este

tempo, evaporou-se o solvente e a mistura reacional foi acidificada com solução de HCl (25 %) até o valor de pH 2 e a fase aquosa foi extraída com éter etílico (3 X 20 mL). Em seguida, a fase aquosa foi tratada com uma solução de NaOH (25%) até atingir o pH 4 e, novamente foi realizada uma extração com éter etílico (3 X 20 mL). Os extratos orgânicos foram lavados com água (1 X 25 mL) e seca com Na₂SO₄. Após a filtração, o solvente foi evaporado à pressão reduzida, resultando nos produtos (*R*)-**6a-d**, com rendimentos 90 %, 65 %, 70 %, 95 %, respectivamente.

5.7.7 Preparação dos ésteres de Mosher para determinação da configuração absoluta dos álcoois 3b-d

Em um balão de 10 mL adicionou-se 0,2 mmol de **3b-d**, juntamente com 1,2 mmol (45 µL) de trietilamina e 0,1 mmol de dimetilaminopiridina. Em seguida, o balão foi vedado com um septo e realizou-se vácuo seguido de purga com nitrogênio. Posteriormente, adicionou-se 2,7 mL de CH₂Cl₂, previamente seco e 0,05 mmol (3 µL) de (*S*)-MTPA-Cl. A reação foi processada por 24 horas em seguida o solvente foi evaporado e o produto foi purificado em coluna cromatográfica utilizando como eluente o clorofórmio (100%). O mesmo procedimento foi realizado com o reagente de derivatização quiral (*R*)-MTPA-Cl.

5.8. Procedimento geral para as resoluções cinéticas enzimáticas

5.8.1 Resolução cinética enzimática dos rac- 4a-d, via reação de hidrólise, mediada por lipase

Em um erlenmeyer de 5 mL, dissolveu-se 0,1 mmol *rac-4a-d* em 0,34 mL de acetonitrila ou na ausência de co-solvente, 1,36 mL de tampão fosfato (PO₄²⁻) 0,1 mol/L, pH 7, seguido da adição de 60 mg de lipase. A reação foi processada a 30 °C, a 250 rpm por 24 horas. Após este período, os produtos foram extraídos com acetato de etila (3 x 1,0 mL) e as fases orgânicas foram combinadas e secas com sulfato de sódio anidro. Após filtração, o solvente foi evaporado à pressão reduzida e os produtos brutos foram purificados por cromatografia “flash” em gel de sílica, utilizando 20% Hex: AcOEt como eluente. Após este procedimento, foram obtidos os (*R*)-álcoois **3a-d** e os remanescentes (*S*)-acetatos **4a-d**, cujos excessos enantioméricos foram determinados por CG-DIC e CLAE utilizando coluna quiral.

5.8.2 Resolução cinética enzimática do álcool *rac-3a* via reação de acetilação

Em um erlenmeyer de 5 mL, adicionou-se 30 mg (0,1mmol) de *rac-3a* e 60 mg de lipase. Em seguida, o erlenmeyer foi vedado com um septo e realizou-se vácuo seguido de purga com nitrogênio. Posteriormente, adicionou-se 2,2 mL de solvente, previamente seco e 1,1 mmol (103 μ L) de acetato de vinila. A reação foi realizada sob agitação de 250 rpm, variando a relação enzima substrato e o tempo reacional. Os solventes empregados foram: dioxano, hexano, THF e tolueno.

5.8.3 Reuso da enzima *Termomyces lanuginosus* imobilizada em *immobead 150*

Em um erlenmeyerde 5 mL, adicionou-se 30 mg (0,1mmol) do álcool *rac-3a* e 7,5 mg de lipase. Em seguida, o erlenmeyer foi vedado com um septo e realizou-se vácuo seguido de purga com nitrogênio. Posteriormente, adicionou-se 2,2 mL de tolueno, previamente seco e 1,1 mmol (103 μ L) de acetato de vinila. Em seguida a reação foi processada por 15 minutos e, posteriormente, filtrou-se a vácuo a enzima e lavou-se com hexano. A enzima permaneceu no funil, até sua secagem completa, para ser reutilizada no segundo ciclo, nas condições descritas inicialmente.

5.9 Cálculo do excesso enantiomérico, conversão e enantiosseletividade

Os cálculos dos excessos enantioméricos de substrato e produto nas resoluções cinéticas, via hidrólise, dos acetatos *rac- 4a-d* e na resolução cinética de *rac-3a*, via acetilação, foram realizados através das análises dos cromatogramas obtidos por CG-DIC ou CLAE, de acordo com a **Equação 1**.

$$e. e. (\%) = \frac{\text{área do enantiômero majoritário} - \text{áreas do enantiômero minoritário}}{\text{dxárea do enantiômero majoritário} + \text{áreas do enantiômero minoritário}} \times 100 \%$$

Equação 1-Equação empregada no cálculo de excesso enantiomérico.

As conversões nas reações de resolução cinética enzimática foram calculadas através da equação abaixo.

$$c(\%) = \frac{e.e.s}{e.e.s + e.e.p} \times 100\%$$

Equação 2- Equação empregada no cálculo de conversão para reações de resolução cinética enzimática.

Os resultados de enantiosseletividade (E) foram calculados através da **equação 3**.

$$E = \frac{\ln[1 - c(1 + e.e.p)]}{\ln[1 - c(1 - e.e.p)]}$$

Equação 3-Equação empregada no cálculo da enantiosseletividade

5.10 Dados físicos e espectrométricos

1- (2,6-dimetilfenóxi)-propan-2-ona (2a): Óleo (20% AcOEt/ Hexano) R_f 0,54. IR ν_{max} (cm^{-1}): 2922, 1719, 1475, 1190 e 768 cm^{-1} . 1H RMN ($CDCl_3$, 300 MHz): δ (ppm) 2,25 (s, 3H); 2,36 (s, 6H); 4,35 (s, 2H); 6,96 (dd, J 3 Hz, 9 Hz, 1H); 7,03(d, J 3 Hz, 2H). ^{13}C -BB RMN (75 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 16,41(2CH₃); 26,78 (CH₃); 76,77 (CH₂); 124,66 (CH); 129,24 (2CH); 130,73 (2C); 155,16 (C); 205,68 (C).

1-(2,4-dimetilfenóxi) propan-2-ona (2b): Óleo amarelo (20% AcOEt/ Hexano) R_f 0,55. IR: $\nu_{máx}$ cm^{-1} 2922, 1720, 1432, 1176 e 800 cm^{-1} . 1H RMN ($CDCl_3$, 300 MHz): δ (ppm) 2,27 (s, 3H); 2,28 (s, 3H); 2,31 (s, 3H); 4,48 (s, 2H); 6,55 (d, J 6 Hz, 1H); 6,95 (m, 2H). ^{13}C - BB RMN (75 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 16,37(CH₃); 20,61 (CH₃); 26,85 (CH₃); 73,68 (CH₂); 111,01 (CH); 126,81 (C); 127,25 (CH); 130,86 (C); 132,11 (CH); 154,03 (C); 206,93 (C).

1-(2-metilfenóxi)- propan-2-ona (2c): Óleo amarelo (10% Hexano: clorofórmio) R_f 0,5. IR : $\nu_{máx}$ 2919, 1729, 1190 e 768 cm^{-1} . 1H RMN ($CDCl_3$, 300 MHz): δ (ppm) 2,32(s, 3H); 2,33 (s, 3H); 4,53 (s, 2H); 6,68 (d, J 9 Hz 1H); 6,92 (t, J 6 Hz, 15 Hz 1H); 7,17 (m, 2H). ^{13}C -BB RMN (75 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 16,43 (CH₃); 26,88 (CH₃); 73,39 (CH₂); 111,03 (CH); 121,63 (CH); 127,14 (CH); 131,30(C); 156,11 (C); 206,64 (C).

1-(naftalen-1-iloxi)propan-2-ona(2d): Óleo marrom R_f (20% AcOEt: Hexano): 0,6. IR : $\nu_{máx}$ 3054, 1396, 1717, 1106, 768 cm^{-1} . 1H RMN ($CDCl_3$, 300 MHz): δ (ppm) 2,41(s, 3H); 4,71 (s, 2H); 6,89 (d, J 6 Hz, 1H); 7,36 (t, J 9 Hz 18 Hz, 1H); 7,48 (s, 1H); 7,53 (m, 2H); 7,84(m, 1H); 8,34 (m, 1H). ^{13}C -BB RMN (75 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 27,04 (CH₃); 73,5 (CH₂); 105,08 (CH); 121,65 (CH); 122,05 (CH) 125,62 (C); 125,83 (2CH); 126,93 (CH); 127,91 (CH); 134,87 (C); 153,0 (C); 206,32 (C).

(R)-1-(2,6-dimetilfenóxi)propan-2-ol (3a): Óleo amarelo R_f (20% AcOEt/ Hexano): 0,36. IR: $\nu_{\text{máx}}$ 3420, 2968, 1102, 766 cm^{-1} . ^1H RMN (CDCl_3 , 300 MHz): δ (ppm) 1,26 (d, 3H); 2,27 (s, 6H); 3,73 (dd, *J* 6 Hz, 3Hz, 1H); 3,64 (dd, *J* 3 Hz, 6Hz, 1H); 4,21 (m, 1H); 7,00 (d, *J* 6 Hz, 2H); 6,92 (dd, *J* 6 Hz, 3 Hz, 1H). ^{13}C -BB RMN (75 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 16,52(CH₃); 18,81 (CH₃); 67,33 (CH); 77,18 (CH₂); 124,28 (CH); 129,18 (CH); 130,97 (C); 155,41 (C). $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +1.46$ (c 8.0, CHCl_3) para *e.e.* > 99%, literatura $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +0.9$ (c 5.5, CHCl_3) 98% (Carocci, *et al.* 2000).

(R)-1-(2,4-dimetilfenóxi)propan-2-ol (3b): Óleo amarelo R_f (20% Hexano/AcOEt): 0,43. IR: $\nu_{\text{máx}}$ 3381, 2921, 1224, 1133, 801 cm^{-1} . ^1H RMN (CDCl_3 , 300 MHz): δ (ppm) 1,31 (d, *J* 3 Hz, 3H); 2,27 (s, 3H); 2,23 (s, 3H); 3,93 (dd, *J* 3 Hz, 3 Hz, 1H), 3,78 (dd, *J* 3 Hz, 3 Hz 1H); 4,21 (m, 1H); 6,73 (d, *J* 6Hz, 1H); 6,96 (m, 2H). ^{13}C -BB RMN (75 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 16,35(CH₃); 20,63 (CH₃); 19,00 (CH₃); 66,70 (CH); 73,79 (CH₂); 111,63 (CH); 126,72 (C); 127,23 (CH); 130,30 (C); 131,82 (CH); 154, 71 (C). $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +30.5$ (c 5.0, CH_2Cl_2) para *e.e.* 98%, sem relatos na literatura

(R)-1-(2-metilfenóxi)propan-2-ol (3c): Óleo amarelo R_f (10%Hexano: clorofórmio) 0,4. IR : $\nu_{\text{máx}}$ 3381, 2926, 1494, 1244, 749 cm^{-1} . ^1H RMN (CDCl_3 , 300 MHz): δ (ppm) 1,31(d, *J* 6 Hz, 3H); 2,26 (s, 3H); 3,81 (dd,*J* 3 Hz, *J* 6 Hz, 1H); 3,96 (dd, *J* 3 Hz, *J* 6Hz 1H); 4,22 (m, 1H); 6,82 (t, *J* 9Hz, 3 Hz, 1H); 6,89 (t, *J* 9 Hz, 15 Hz, 1H); 7,16 (m, 2H). ^{13}C -BB RMN (75 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 16,40 (CH₃); 19,06 (CH₃); 66,69 (CH); 73,56 (CH₂); 111,53 (CH); 121,08 (CH); 126,98(C); 127,07 (CH); 131,01 (CH); 156,82 (C) . $\alpha]_{\text{D}}^{20} = - 9.8$ (c 5.0, CH_2Cl_2) para *e.e.* 94%, sem relatos na literatura

(R)-(naftalen-1-iloxi)propan-2-ol (3d): Sólido branco p.f. 62,8-64,5°C R_f (20% AcOEt: Hexano): 0,4. IR : $\nu_{\text{máx}}$ 3393, 2927, 1270, 1102, 770 cm^{-1} . ^1H RMN (CDCl_3 , 300 MHz): δ (ppm) 1,41 (d, *J* 6Hz, 3H); 4,06 (m, 2H); 4,36 (m, 1H); 6,82 (d, *J* 9 Hz, 2H); 7,40 (t, 9 Hz, 18 Hz, 1H); 7,53 (m, 2H); 7,86 (m, 1H); 8,32 (m, 1H). ^{13}C -BB RMN (75 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 19,24 (CH₃); 66,56 (CH); 73,60 (CH₂); 105,19 (CH); 120,82 (CH); 121,88 (CH) 125,43 (CH); 125,69 (C); 125,95 (CH); 126,58 (C); 127,70 (CH); 134,87 (C); 154,37 (C). $\alpha]_{\text{D}}^{20} = +16.0$ (c 5.0, CH_2Cl_2) para *e.e.* 95%, sem relatos na literatura

(S)-acetato de 1-(2,6-dimetilfenóxi)propan-2-ila (4a): Óleo amarelo R_f (20%: Hexano: clorofórmio) 0,6 .IR : $\nu_{\text{máx}}$ 2919, 1741, 1240, 770 cm^{-1} . ^1H RMN (CDCl_3 , 300 MHz): δ (ppm) 1,41 (d, *J* 6 Hz, 3H); 2,11 (s, 3H); 2,33 (s, Hz, 6H); 3,82 (d, *J* 6 Hz, 2H); 5,26(m, 1H); 7,01(

d, J 6 Hz, 2H); 6,93 (dd, J 3Hz e 6 Hz, 1H) ^{13}C -BB RMN (75 MHz, CDCl_3): δ (ppm); 16,24 (CH_3); 16,73 (2CH_3); 21,36 (CH_3); 69,86 (CH); 73,85 (CH_2); 124,14 (CH); 129,03 (2CH); 130,90 (2C); 155,42 (C); 170,7 (C). $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -10.8$ (c 8, CHCl_3) para *e.e.* > 99%, sem relatos na literatura.

(S)-acetato de 1-(2,4-dimetilfenóxi)propan-2-ila (4b): Sólido Branco Pf. 40-41,7°C R_f (20%Hexane: AcOEt):0,65 IR : $\nu_{\text{máx}}$ 2923, 1737, 1222, 802 cm^{-1} . ^1H RMN (CDCl_3 , 300 MHz): δ (ppm) 1,36 (d, J 3 Hz, 3H); 2,08 (s, 3H); 2,20(s, 3H); 2.27(s, 3H); 3,97 (m, 2H); 5,31 (m, 1H); 6,70 (d, J 6 Hz, 1H); 6,95(m, 2H). ^{13}C -BB-RMN (75 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 16,20 (CH_3); 16,93 (CH_3); 20,62 (CH_3); 21,40 (CH_3); 69,16 (CH); 70,60 (CH_2); 111,46(CH); 126,28 (C); 127,11 (CH); 130,17 (C); 131,75 (CH); 154,80(C); 170,76 (C). $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -38.8$ (c 8, CH_2Cl_2) para *e.e.* 98%, sem relatos na literatura.

(S)- acetato de 1-(o-toliloxi)propan-2-ila (4c): Óleo amarelo Pf. 88,2- 89 °C R_f (10%Hexane: AcOEt):0,5. IR : $\nu_{\text{máx}}$ 2927, 1738, 1231, 713 cm^{-1} . ^1H RMN (CDCl_3 , 300 MHz): δ (ppm) 1,40 (d, J 6 Hz, 3H); 2,09 (s, 3H); 2,24 (s, 3H); 4.01 (m, 2H); 5,32 (m, 1H_4); 6,81 (d, J 6 Hz, 1H); 6,89 (t, J 6 Hz, 15 Hz, 1H); 7,16 (m, 2H). ^{13}C -BB RMN (75 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 16,23 (CH_3); 16,88 (CH_3); 21,33(CH_3); 69,14 (CH); 70,29 (CH_2) 111,32 (CH); 120,94 (CH); 126,93 (CH); 127,18 (C); 130,90 (CH); 156,84 (C); 170,83 (C). $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -19.42$ (c 5, CHCl_3) para *e.e.* 94%, sem relatos na literatura.

(S)-acetato de 1-(naftalen-1-iloxi)propan-2-ila (4d): Sólido amarelo pf. 55,8-56,9 °C R_f (20%Hexano: AcOEt):0,5. IR : $\nu_{\text{máx}}$ 2982, 1734, 1230, 769 cm^{-1} . ^1H RMN (CDCl_3 , 300 MHz): δ (ppm) 1,48 (d, J 6Hz, 3H); 2,11 (s, 3H); 4,19 (m, 2H); 5,47 (m, H); 6,76 (d, J 9 Hz, 1H); 7,40 (m, 1H); 7,47 (m, 1H); 7,51 (m, 2H); 7,82 (m, 1H); 8,27 (m, 1H). ^{13}C -BB RMN (75 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 17,11 (CH_3); 21,50 (CH_3); 69,07 (CH); 70,66 (CH_2); 105,09 (CH); 120,95 (CH); 122,25 (CH); 125,58 (CH); 125,95 (C); 125,99 (CH); 126,73 (CH); 127,70 (CH); 134,81 (C); 154,62 (C); 170,90 (C). $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -26.73$ (c 9, CHCl_3) para *e.e.* 99%, sem relatos na literatura.

(R)-2-(2-azidopropoxi)-2,6-dimetilbenzeno (5a): Óleo incolor R_f (5% Hexano /AcOEt): 0,6 . IR : $\nu_{\text{máx}}$ 2013, 2925, 1200, 769 cm^{-1} . ^1H RMN (CDCl_3 , 300 MHz): δ (ppm) 1,38 (d, J 6 Hz, 3H); 2,32 (s, 6H); 3,88 (m, 1H); 3,77(m, 2H); 7,03 (d, J 6 Hz, 2H); 6,94 (dd, 6Hz, 3 Hz, 1H); ^{13}C -BB RMN (75 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 16,32 (CH_3); 16,27 (2CH_3); 57,41 (CH); 75,24

(CH₂); 124,35 (CH); 131,0 (2C); 129,16 (2CH); 155,31 (C). $[\alpha]_D^{20} = -0.6$ (c 8, CHCl₃) para *e.e.* > 99%, sem relatos na literatura.

(R)-2-(2-azidopropoxi)-2,4-dimetilbenzeno (5b): Óleo amarelo R_f (5% Hexano/AcOEt): 0,4. IR : $\nu_{\text{máx}}$ 2925, 2104, 1255, 751 cm⁻¹. ¹H RMN (CDCl₃, 300 MHz): δ (ppm) 1,29 (d, *J* 3 Hz, 3H); 2,27 (s, 3H); 2,30(s, 3H); 3,89(m, 1H); 3,94 (m, 1H); 4,0 (m, 1H); 6,71 (d, *J* 6 Hz, 1H); 6,96(s, 1H); 7,0(d, *J* 6 Hz, 1H). ¹³C-BB RMN (75 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 16,37 (CH₃); 16,44 (CH₃); 20,63 (CH₃); 56,89 (CH); 71,97 (CH₂); 111,07 (CH); 126,97(C); 127,12 (CH); 130,38 (C); 131,92 (CH); 154,59 (C). $[\alpha]_D^{20} = -5.0$ (c 5, CHCl₃) para *e.e.* 98% sem relatos na literatura.

(R)-2-(2-azidoproxi)-2-metilbenzeno (5c): Óleo amarelo R_f (10% Hexano /AcOEt):0,5 IR : $\nu_{\text{máx}}$ 2013, 2928, 1240, 749 cm⁻¹. ¹H RMN (CDCl₃, 300 MHz): δ (ppm) 1,37 (d, *J* 6 Hz, 3H); 2,29 (s, 3H); 3,91(m, 1H); 4.01 (m, 2H); 6,81(d, *J* 9 Hz, 1H); 6,90 (t, *J* 9Hz, 15 Hz., 1H); 7,17 (m, 1H₈, 1H₆). ¹³C -BB RMN (75 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 16,42 (2CH₃); 56,83 (CH); 71,71(CH₂); 110,95 (CH); 121,14 (CH); 126,95 (CH); 127,20 (C); 131,06 (CH); 156,63 (C). $[\alpha]_D^{20} = -9.0$ (c 5, CHCl₃) para *e.e.* 94%, sem relatos na literatura.

(R)-1-(2-azidopropoxy)naphthalene (5d): Óleo amarelo R_f (10% Hexano /AcOEt):0,5 IR : $\nu_{\text{máx}}$ 2104, 1268, 1580, 770 cm⁻¹. ¹H RMN (CDCl₃, 300 MHz): δ (ppm) 1,44 (d, *J* 6 Hz, 3H); 4,06 (m, 1H); 3,16 (m, 1H); 6,80 (d, *J* 9 Hz, 1H); 7,39 (t, *J* 6Hz, 15 Hz, 1H); 7,52 (m, 3H); 7,82 (m, 1H); 8,32 (m, 1H). ¹³C-BB RMN(75 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 16,52 (CH₃); 56,83 (CH); 71,90 (CH₂); 104,88 (CH); 121,13(CH); 122,21(CH); 125,64 (CH); 125,72 (C); 125,83 (CH); 126,73 (CH); 127,65 (CH); 134,76 (C); 154,28 (C). $[\alpha]_D^{20} = -27.66$ (c 10, CHCl₃) para *e.e.* 98%, sem relatos na literatura.

(R)-1-(2,6-dimethylphenoxy)propan-2-amine (6a): Óleo incolor R_f (95% DCM /IPA):0,5 IR : $\nu_{\text{máx}}$ 3388, 2992, 1437, 721 cm⁻¹. ¹H RMN (CDCl₃, 300 MHz): δ (ppm) 1,18 (d, *J* 6 Hz, 3H); 2,29 (s, 6H); 3,38(m, 1H); 3,55 (t, *J* 6 Hz, 1H); 3,65 (m, 1H); 6,92 (m, 1H); 7,00 (m, 2H). ¹³C-BB RMN(75 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 16,51 (2CH₃); 19,89 (CH₃); 47,53 (CH); 78,34 (CH₂); 124,04 (CH); 129,0(2CH); 132,16 (C); 151,30 (C). $[\alpha]_D^{20} = -2.0$ (c 8, CHCl₃) para *e.e.* > 99%. Lit $[\alpha]_D^{20} = -2.1$ (c 3, CHCl₃) para *e.e.* 98% (Carocci, *et al.* 2000).

(R)-1-(2,4-dimethylphenoxy)propan-2-amine (6b): Óleo incolor R_f (95% DCM:IPA):0,5. IR : $\nu_{\text{máx}}$ 3300, 2922, 1503, 722. ¹H RMN (CDCl₃, 300 MHz): δ (ppm) 1,19 (d, *J* 6 Hz, 3H); 2,22 (s, 3H); 2,27(s, 3H); 3,35(m, 1H); 3,67 (t, *J* 6 Hz, 1H); 3,86 (dd, *J* 6 Hz, 3Hz, 1H); 6,71

(d, J 9 Hz, 1H); 6,94(m, 2H)¹³C-BB RMN(75 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 16,28 (CH₃); 19,99 (CH₃); 20,57 (CH₃); 46,72 (CH); 74,91 (CH₂); 111,37(CH); 126,67(CH); 127,11 (C); 129,85 (C); 131,68 (CH); 154,98 (C). $[\alpha]_D^{20} = -6.8$ (c 8, CHCl₃) para *e.e.* 98%, sem relatos na literatura.

(R)-1-(2-methylphenoxy)propan-2-amine (6c): Óleo incolor R_f (95% DCM:IPA):0,5. IR : $\nu_{\text{máx}}$ 3392, 2928, 1243, 750 cm⁻¹. ¹H RMN (CDCl₃, 300 MHz): δ (ppm) 1,40 (d, J 6 Hz, 3H); 2,26 (s, 3H); 3,59(m, 1H); 4,02 (m, 2H); 6,72 (d, J 9 Hz, 1H); 6,87 (t, J 9 Hz, 15 Hz, 1H); 7,08 (m, 2H); ¹³C-BB RMN(75 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 15,51 (CH₃); 16,66 (CH₃); 47,84 (CH); 68,59 (CH₂); 111,41 (CH); 120,52 (CH); 126,96 (CH); 127,45 (C); 131,09 (CH); 154,98 (C); 156,04 (C). $[\alpha]_D^{20} = +11.2$ (c 10, CHCl₃) para *e.e.* 94%, sem relatos na literatura.

(R)-1-(naphthalen-1-yloxy)propan-2-amine (6d): Óleo incolor R_f (95 % DCM/IPA):0,5. IR : $\nu_{\text{máx}}$ 3323, 2925, 1099, 771 cm⁻¹. ¹H RMN (CDCl₃, 300 MHz): δ (ppm) 1,50 (d, J 6 Hz, 3H); 3,78 (m, 1H); 4,15(dd, J 6 Hz 9 Hz, 1H); 4,25 (dd, J 6 Hz 9 Hz, 1H); 6,79 (d, J 6 Hz, 1H); 7,32 (d, J 9 Hz, 1H); 7,43 (m, 3H); 7,73 (m, 1H); 8,25 (m, 1H); ¹³C-BB RMN(75 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 15,24 (CH₃); 47,18 (CH); 68,80 (CH₂); 105,25 (CH); 121,50 (CH); 121,59 (CH); 125,25 (CH); 125,48 (CH); 125,61 (CH); 126,59 (CH); 127,51 (C), 134,59 (C), 153,53 (C). $[\alpha]_D^{20} = +51.7$ (c 10, CHCl₃) para *e.e.* 98%, sem relatos na literatura.

Éster de Mosher: Propanoato de (R)-[(R)-1-(2,4-dimetilfenóxi)-2-propan-2-il]-3,3,3-trifluoro-2-metóxi-2-fenila. (Reação com (R)-MTPA-Cl)

¹H RMN (CDCl₃, 300 MHz): δ (ppm) 1,49 (d, J 6Hz, 3H); 2,09 (s, 3H); 2,25 (s, 3H); 3,56 (s, 3H); 3,98 (m, 2H); 5,56 (m, 1H); 6,62 (d, J 6 Hz, 1H); 6,93(d, J 12 Hz, 2H); , 7,34(m, 4H); 7,55 (d, J 6 Hz, 2H).

Éster de Mosher: Propanoato de (S)-[(R)-1-(2,4-dimetilfenóxi)-2-propan-2-il]-3,3,3-trifluoro-2-metóxi-2-fenila. (Reação com (S)-MTPA-Cl)

¹H RMN (CDCl₃, 300 MHz): δ (ppm) 1,43 (d, J 6Hz, 3H); 2,30 (s, 3H); 2,19 (s, 3H); 3,60 (s, 3H); 4,02 (m, 2H); 5,23 (m, 1H); 6,70 (d, J 6 Hz, 1H); 6,97 (d, J 12 Hz, 2H); , 7,45(m, 3H); 7,55 (d, J 6 Hz, 2H).

Éster de Mosher: Propanoato de (R)-[(R)-1-(2-metilfenóxi)-2-propan-2-il]-3,3,3-trifluoro-2-metóxi-2-fenila. (Reação com (R)-MTPA-Cl)

^1H RMN (CDCl_3 , 300 MHz): δ (ppm) 1,44 (d, J 6Hz, 3H); 2,13 (s, 3H); 3,57 (s, 3H); 4,04 (m, 2H); 5,57 (m, 1H); 6,74 (d, J 9 Hz, 1H); 6,88(t, J 15 Hz, J 9 Hz 2H); 7,32(m, 5H); 7,57 (d, J 9 Hz, 2H).

Éster de Mosher: Propanoato de (S)-[(R)-1-(2-metilfenóxi)-2-propan-2-il]-3,3,3-trifluoro-2-metóxi-2-fenila. (Reação com (S)-MTPA-Cl)

^1H RMN (CDCl_3 , 300 MHz): δ (ppm) 1,38 (d, J 6Hz, 3H); 2,18 (s, 3H); 3,56 (s, 3H); 4,02 (m, 2H); 5,60 (m, 1H); 6,76 (d, J 9 Hz, 1H); 6,89 (t, J 15 Hz, J 9 Hz, 1H); 7,14 (s, 1 H); 7,31(m, 4H); 7,56 (d, J 6 Hz, 2H).

Éster de Mosher: Propanoato de (R)-[(R)-(1-naftalen-1-iloxi)-2-propan-2-il]-3,3,3-trifluoro-2-metóxi-2-fenila. (Reação com (R)-MTPA-Cl)

^1H RMN (CDCl_3 , 300 MHz): δ (ppm) 1,56 (d, J 6Hz, 3H); 3,56 (s, 3H); 4,21 (m, 2H); 5,75 (m, 1H); 6,73 (d, J 6 Hz, 1H); 7,22 (m, 2H); 7,36 (d, J 6 Hz 2H); 7,46 (m, 3H), 7,54 (d, J 9 Hz 2H); 7,79 (d, J 9 Hz 1H), 8,14 (d, J 9 Hz, 1 H).

Éster de Mosher: Propanoato de (S)-[(R)-(1-naftalen-1-iloxi)-2-propan-2-il]-3,3,3-trifluoro-2-metóxi-2-fenila. (Reação com (S)-MTPA-Cl)

^1H RMN (CDCl_3 , 300 MHz): δ (ppm) 1,36 (d, J 6Hz, 3H); 3,60 (s, 3H); 4,32 (m, 2H); 5,79 (m, 1H); 6,78 (d, J 6 Hz, 1H); 7,22 (m, 2H); 7,34 (m, 3H); 7,43 (m, 2H), 7,57 (d, J 9 Hz 2H); 7,82 (d, J 9 Hz 1H), 8,23 (d, J 9 Hz, 1 H).

5.11 Condições de análise

| Composto | Cromatógrafo | Coluna | Temperatura | Tempo de retenção |
|---------------|--------------|-----------------------------|-------------------|----------------------------|
| <i>rac-3a</i> | | CP-chirasil-dex | 100 °C; | 0,5 (R)-3a -62,3 min/ (S)- |
| <i>rac-4a</i> | | (25 m x 0.25 mm | °C/min. 130 °C | 3a- 62,8 min; (R)-4a - |
| | CG/DIC | x 0.25 μm , 0.5) | (15 min.); | 5 73,6 min/ (S)- 4a- 71,0 |
| | | | °C/min. 140 °C (5 | min |
| | | | min.) | |
| <i>rac-3b</i> | | IA - 0,3 mL/min | | (R)-3b -22,2 min/ (S)- |
| <i>rac-4b</i> | CLAE | Hex:IPA (98:2), | 35 °C | 3a- 25,3 min; (R)-4b - |
| | | 254nm | | 7,1 min/ (S)- 4b- |
| | | | | 8,4min |

| | | | | |
|---------------|--------|------------------------------------|---|---|
| <i>rac-3c</i> | | CP-chirasil-dex | 120 °C; 1 °C/min. | (R)-3c -14,8 min/ (S)- |
| <i>rac-4c</i> | CG/DIC | (25 m x 0.25 mm x 0.25 µm, 0.5) | 135 °C (5 min.); 0,5 °C/min. 150 °C (5 min.). | 3c - 14,6 min; (R)-4a - 17,1 min/ (S)- 4a - 18,0 min |
| <i>rac-3d</i> | | AS-H - 0,3 | - | (R)-3d -29,3 min/ (S)- |
| <i>rac-4d</i> | CLAE | mL/min Hex:IPA (98:2) 254nm | | 3d - 33,3 min; (R)-4d - 13,5 min/ (S)- 4d - 12,0 min |

6 CONCLUSÕES

As sínteses quimioenzimáticas do fármaco antiarrítmico (*R*)-Mexiletina e de três análogos quirais com configuração (*R*) foram eficientemente realizadas com rendimentos globais que variaram entre 13 e 36%. A etapa chave em cada uma das sínteses envolveu a resolução cinética dos acetatos racêmicos **4a-d** mediada por lipases, levando aos produtos (*R*)-álcoois **3a-d** e aos (*S*)-acetatos **4a-d** remanescentes, com altos valores de conversão (50%) e de enantiosseletividade (*E* entre 115 e > 200). As lipases mais eficientes na resolução cinética do acetato *rac*-**4a**, via reação de hidrólise, foram a lipase de *T. lanuginosus* imobilizada em imobead 150, Amano lipase de *P. fluorencens* e *C. antarctica* CAL-B (Novozym 435).

Na resolução cinética do álcool *rac*-**3a**, via reação de acetilação, a lipase de *T. lanuginosus* imobilizada em imobead 150 foi a mais eficiente, na presença de tolueno como solvente, com uma relação enzima/substrato (0,5:1), a 30 °C e em 15 minutos de reação, levando ao produto (*R*)-acetato **4a** e ao substrato remanescente (*S*)-álcool **3a** com 95% e 94% de excesso enantiomérico, respectivamente, com uma conversão de 50% e enantiosseletividade (*E*) de 139. O estudo do reuso da referida lipase em tolueno mostrou que ocorre lixiviação da enzima, já no segundo ciclo reacional, levando a diminuição da atividade e seletividade. É possível concluir que a resolução cinética via reação de hidrólise foi mais eficiente em relação ao processo realizado via reação de acetilação.

A resolução cinética do acetato *rac*-**4a**, via reação de hidrólise, foi eficiente na presença da lipase de *T. lanuginosus* imobilizada em imobead 150, Amano lipase de *P. fluorencens* e *C. antarctica* CAL-B (Novozym 435). Com tais enzimas, e utilizando um meio de tampão fosfato (pH 7,0), acetonitrila (4:1 v/v), proporção enzima:substrato (2:1, m/m), a uma temperatura de 30 °C, em 24 h de reação, foram obtidos o (*R*)-álcool **3a** e o (*S*)-acetato **4a** remanescente com valores de excesso enantiomérico >99%, conversão de 50% e enantiosseletividade (*E*) > 200.

Para o éster *rac*-**4b**, a resolução cinética foi eficaz na presença da Amano lipase de *P. fluorencens*, em 24 horas de reação, a 30 °C, relação enzima:substrato (2:1), em um meio de tampão fosfato (pH 7,0):acetonitrila (4:1 v/v), com obtenção do o (*R*)-álcool **3b** e o (*S*)-acetato **4b** remanescente com valores de excesso enantiomérico de 98% , conversão de 50% e enantiosseletividade (*E*) > 200.

Para o substrato *rac*-**4c** a resolução cinética foi promissora com a lipase *T. lanuginosus* imobilizada em imobead 150, em tampão fosfato (pH 7,0) sem co-solvente, a 30°C e 24 horas de reação, relação enzima:substrato (2:1), com obtenção do o (*R*)-álcool **3c** e

o remanescente (*S*)-acetato **4c** com valores de excesso enantiomérico de 94% , conversão de 50% e enantiosseletividade (E) de 115.

Para o acetilado *rac*-**4d** a reação enzimática foi eficaz em Amano AK lipase de *P. fluorencens*, utilizando um meio de tampão fosfato (pH 7,0), acetonitrila (4:1 v/v), proporção enzima:substrato (2:1, m/m), a uma temperatura de 30 °C, em 48 h de reação, com obtenção do (*R*)-álcool **3d** (*e.e.* 95%) e do remanescente (*S*)-acetato **4d** (*e.e.* > 99%), conversão de 50% e enantiosseletividade (E) > 200.

A resolução cinética, *via* hidrólise, do *rac*-**4a** foi realizada com a lipase *T. lanuginosus* imobilizada em nanopartículas de ferro. Neste caso, a resolução cinética foi eficiente na presença da referida lipase imobilizada em nanopartículas de ferro (SPMN-ION BPEI), em um meio de tampão fosfato (pH 7,0):THF ou éter etílico (4:1 v/v), proporção enzima:substrato (2:1, m/m), a uma temperatura de 30 °C, em 24 h de reação, com obtenção do (*R*)-álcool **3a** e do (*S*)-acetato **4a** remanescente com valores de excesso enantiomérico > 99%, conversão de 50% e enantiosseletividade (E) > 200.

Os valores de rotação óptica específica para os álcoois **3b-d** obtidos nas resoluções cinéticas dos respectivos acetatos racêmicos *rac*-**4b-d**, *via* reação de hidrólise, mediada por lipases, não estão descritos na literatura. Portanto, através do método de Mosher por dupla derivatização, foi possível concluir que nas resoluções cinéticas foram obtidos os (*R*)-álcoois **3b-d** e os remanescentes (*S*)-acetatos **4b-d**, como previsto pela regra de Kazlauskas.

As sínteses prosseguiram a partir dos intermediários (*S*)-acetatos **4a-d**, os quais foram hidrolisados aos correspondentes (*S*)-álcoois **3a-d**, com rendimentos entre moderados e bons (58 a 70%). Na etapa seguinte, os (*S*)-álcoois **3a-d** foram submetidos a uma reação que envolveu inversão da configuração, levando às azidas (*R*)-**5a-d**, com rendimentos que variaram entre 60 e 84%. Finalmente, na última etapa, as azidas (*R*)-**5a-d** foram convertidas nas correspondentes aminas (*R*)-**6a-d**, em rendimentos que variaram entre 65% e 95%. Particularmente, nesta etapa, a (*R*)-Mexiletina **6a** foi obtida com rendimento de 90%.

REFERÊNCIAS

- AAV, R.; PARVE, O.; PEHK, T.; CLAEISSON, A.; MARTIN, I. Preparation of highly enantiopure stereoisomers of 1-(2,6-dimethylphenoxy)-2 aminopropane (mexiletine). **Tetrahedron: Asymmetry**, v.10, p. 3033–3038, 1999.
- ANDRADE, L. H.; REBELO, L. P.; NETTO, C. G. C. M.; TOMA, H. E. Kinetic resolution of a drug precursor by *Burkholderia cepacia* lipase immobilized by different methodologies on superparamagnetic nanoparticles. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 66, p. 55-62, 2010.
- ARAUJO, D. M. F.; VIEIRA, G. A. B.; MATTOS, M. C.; LEMOS, T. L. G.; OLIVEIRA, M. C. F.; MELO, V. M. M.; GONZALO, G.; GOTOR-FERNÁNDEZ, V.; GOTOR, V. Chemoenzymatic preparation of a biologically active naphthoquinone from *Tabebuia impetiginosa* using lipases or alcohol dehydrogenases. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 61, p. 279-283, 2009.
- BARREIRO, L. M, DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Utilização da configuração absoluta de álcoois. **Química Nova**, v. 28, p. 1061-1065, 2005.
- BON, E. P. S.; FERRARA, M. A.; CORVO, M. L.; VERMELHO, A. B.; PAIVA, C. L. A.;ALENCASTRO, R. B.; COELHO, R. R. R. **Enzimas em biotecnologia: produção, aplicações e mercado**. 1. ed., Rio de Janeiro: Interciência, 2008, 505 p.
- BORA, P. P.; BEZ, G.; ANAL, J. M. H. First example of hydrolytic kinetic resolution of acrylate of secondary alcohols by lipase Amano AK. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 72, p. 270-275, 2011.
- BREDIKHINA, Z. A.; KURENKOV, A. V.; KRIVOLAPOV, D. B.; Bredikhin, A. A. Stereoselective crystallization of 3-(2,6-dimethylphenoxy)propane-1,2-diol: preparation of the single-enantiomer drug mexiletine. **Tetrahedron: Asymmetry**, v. 26 p. 577–583, 2015.
- CAROCCI, A.; CATALANO, A.; BRUNO, C.; LENTINI, G.; FRANCHINI, C.; BELLIS, M.; DE LUCA, A.; CAMERINO, D. C. Synthesis and in vitro sodium channel blocking activity evaluation of novel homochiral mexiletine analogs. **Chirality**, v. 22, p. 299-307, 2010.
- CAROCCI, A.; CATALANO, A.; CORBO, F.; DURANTI, A.; AMOROSO, R.; FRANCHINI, C.; LENTINI, G.; TORTORELLA, V. Stereospecific synthesis of mexiletine and related compounds: Mitsunobu versus Williamson reaction. **Tetrahedron: Asymmetry**, v. 11, p. 3619-3634, 2000.
- CAROCCI, A.; CATALANO, A.;FRANCHINI, C.; LENTINI, G.; LOIODICE F.; TORTORELLA, V. Facile Entry to (-)-(R)- and (+)-(S)-Mexiletine. **Chirality**, v. 12, p. 103-106, 2000.

CARVALHO, A. C. L. M.; FONSECA, T. S.; MATTOS, M. C.; OLIVEIRA, M. C. F.; LEMOS, T. L. G.; MOLINARI, F.; ROMANO, D.; SERRA, I. Recent Advances in Lipase-Mediated Preparation of Pharmaceuticals and Their Intermediates. **International Journal Of Molecular Sciences**, v. 16, p. 29682-29716, 2015.

CATALANO, A.; Luciani, R.; Carocci, A.; Cortesi, D.; Pozzi, C.; Borsari, C.; Ferrari, S.; Mangani, S. X-ray crystal structures of *Enterococcus faecalis* . . thymidylate synthase with folate binding site inhibitors. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 123, p. 549-664, 2016.

CATALANO, A. BUDRIESI, R.; BRUNO, C.; DI MOLA, A.; DEFRENZA, I.; CAVALLUZZI, M. M.; MICUCCI, M.; CAROCCI, A.; FRANCHINI, C.; LENTINI, G. Searching for new antiarrhythmic agents: Evaluation of meta-hydroxymexiletine enantiomers. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 65, p. 511-516, 2013.

CIRIMINNA, R.;PAGLIARO, M. Green Chemistry in the Fine Chemicals and Pharmaceutical Industries. **Organic. Process Research & Development**, v.17, p. 1479-1484, 2013.

COSTA, V. E. U.; AMORIM, H. L. N. O emprego de lipases como agentes de resolução cinética de enantiômeros em síntese orgânica: aspectos gerais sobre a influência do solvente. **Química Nova**, v.22, p. 863-873, 1999.

FABER, K. **Biotransformations in Organic Chemistry**, 4^a ed.; Editora Springer-Verlag, Berlin, 2004.

FERNANDÉZ, R.; ROS, A; MAGRIZ, A.; DIETRICH, H.; LASSALETTA, J. M. Enantioselective synthesis of cis- α -substituted cycloalkanols and trans cycloalkyl amines thereof. **Tetrahedron: asymmetric**. v. 63, p. 6755–6763, 2007.

FERREIRA, H. V.; ROCHA, L. C.; SEVERINO, R. P.; PORTO, A. L. M. Syntheses of Enantiopure Aliphatic Secondary Alcohols and Acetates by Bioresolution with Lipase B from *Candida antarctica* . **Molecules**, v. 17, p. 8955-8967, 2012.

FONSECA, T. S.; SILVA, M. R.; OLIVEIRA, M. C. F.; LEMOS, T. L. G.; MARQUES, R. A.; MATTOS, M. C. Chemoenzymatic synthesis of rasagiline mesylate using lipases. **Applied Catalysis A: General**, v. 492, p. 76-82, 2015.

FRANCHINI, C.; CELLUCCI, C.; CORBO, F.; LENTINI, G.; SCILIMATI, A.; TORTORELLA, V.; STASI, F. Stereospecific Synthesis and absolute configuration of Mexiletine. **CHIRALITY**, v. 6, p. 590-595, 1994.

GIFFONI, R. T.; TORRES, R. M. Breve historia da eletrocardiografia. **Revista de Medicina**, v. 20, p. 263-270, 2010.

GOGOIS, S.; PATHAK, M. G.; DUTTA, A.; DUTTA, N. N. Porcine pancreas lipase catalyzed synthesis of lauryl laurate in organic solvent media: a Kinect study. **Journal of Biochemistry an Biophysis**, v. 45, p. 192-97, 2008.

GONZALEZ-SABIN, J.; GOTOR, V.; REBOLLEDO, F. CAL-B-catalyzed resolution of some pharmacologically interesting β -substituted isopropylamines. **Tetrahedron: Asymmetry**, v. 13, p. 1315-1320, 2002.

GOTOR-FERNANDEZ, V.; BRIEVA, R.; GOTOR, V. Lipases: Useful biocatalysts for the preparation of pharmaceuticals. **Journal of Molecular Catalysis B: enzymatic**. v. 40, p. 111-120, 2006.

HANESSIAN, S.; MARGARITA, R.; HALL, A.; JOHNSTONE, S.; TREMBLAY, M.; PARLANTI, L. Total synthesis and structural confirmation of marine natural product dysynosin A: a novel inhibitor of trombim and factor VIIa. **Journal American Chemical Society**. v. 45, p. 13342-43, 2002.

HURD, C. D.; PERLETZ, P. Aryloxyacetones. **Journal of the American Chemical Society**. v.68, p. 38-40, 1946.

KAZLAUSKAS, R. J.; WEISSFLOCH, A. N. E.; RAPPAPORT, A. T.; CUCCIA, L. A. A Rule to Predict Which Enantiomer of a Secondary Alcohol Reacts Faster in Reactions Catalyzed by Cholesterol Esterase, Lipase from *Pseudomonas cepacia*, and Lipase from *Candida rugosa*. **Journal. Organic. Chemistry**. v. 56, p. 2656–2665, 1991

KOLODIAZHNA, O. O.; KOLODIAZHNA, A. O.; KOLODIAZHNYI, O. I. Enzymatic resolution of stereoisomers of 2-iodocyclohexanol. **Russian Chemical Bulletin, International Edition**, v. 61, p. 2175-2177, 2012.

KUCHER, O. V.; KOLODYAZHNAYA, A. O.; SMOLLI, O. B.; BOIKO, A. I.; KUBYSHKIN, V. S.; MYKHAILIUK, P. K.; TOLMACHEV, A. A. Enzymatic resolution of chroman-4-ol and its core analogues with Burkholderia cepacia lipase. **Tetrahedron: Asymmetry**, v. 25, p. 563-567, 2014.

LI, J. J.; LIMBERAKIS, C.; PFLUM, D. A. **Modern Organic Synthesis in the Laboratory: a collection of standard experimental procedures**.3. ed.; New York: Oxford University Press, Inc, 2007. 198 p.

LING-YI, K.; PENG, W. Determination of the absolute configuration of natural products. **Chinese Journal of Natural Medicines**, v.11, p. 0193-0198, 2013.

MISHRA, S. K.; SURYAPRAKASH, N. Assignment of the absolute configuration of hydroxy acids using ^1H NMR spectroscopy: a simple and rapid approach. **Tetrahedron: Asymmetry**, v. 28, p. 250-256, 2017.

MOEN, A. R.; KARSTAD, R.; ANTHONSEN, T. Chemo-enzymatic synthesis of both enantiomers of the anti-anginal drug ranolazine. **Biocatalysis and Biotransformation**, v. 23, p. 45-51, 2005.

MONTEFORTE, N.; NAPOLITANO, C.; PRIORI, S. G. Genetics and Arrhythmias: Diagnostic and Prognostic Applications. **Revista Española de Cardiología (english Edition)**, v. 65, p. 278-286, 2012.

MORE, G. V.; BADGUJAR, K. C.; BHANAGE, B. M. Kinetic resolution of secondary alcohols with *Burkholderia cepacia* lipase immobilized on a biodegradable ternary blend polymer matrix as a highly efficient and heterogeneous recyclable biocatalyst. **Royal Society Chemistry Advances**, v. 5, n. 6, p. 4592-4598, 2015.

ORTIZ, E. M.; AGUDELO, J. F.; VELÁSQUEZ, J.; ARÉVALO, E. F. Arritmias en la paciente embarazada. **Revista Colombiana de Cardiología**, v. 24, p. 388-393, 2017.

PATEL, R. N. Biocalysis: synthesis of key intermediate for development of pharmaceuticals. **ACS Catalysis**, v.1, p. 1056-74, 2011.

RAMINELLI, C.; COMASSETO, J. V.; ANDRADE, L. H.; PORTO, A. L. M. Kinetic resolution of propargylic and allylic alcohols by *Candida antarctica* lipase (Novozyme 435). **Tetrahedron: Asymmetry**, v. 15, p. 3117-3122, 2004.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M. **Farmacología**. 4^aed., Guanabara koogan, 2001.

RIBEIRO, S. S.; RAMINELLI, C.; PORTO, A. L. M. Enzymatic resolution by CALB of organofluorine compounds under conventional condition and microwave irradiation. **Journal of Fluorine Chemistry**, v. 154, p. 53-59, 2013.

RIVA, S.; CARREA, G.; **Organic Synthesis with enzymes in non-aqueous media**. Editora Wiley, 2008.

ROCHA, L. C.; ROSSET, I. G.; LUIZ, R. F.; RAMINELLI, C.; PORTO, A. L. M. Kinetic resolution of iodophenylethanol by *Candida antarctica* lipase and their application for the synthesis of chiral biphenyl compounds. **Tetrahedron: Asymmetry**, v. 21, p. 926-929, 2010.

ROSELLI, M.; CAROCCIA,.; BUDRIESI, R.; MICUCCI, M.; TOMA, M.; CESARE MANNELLI, L.; LOVECE, A.; CATALANO, A.; CAVALLUZI, M. M.; BRUNI, C.; PALMA, A.; CONTINOM, M.; PERRONE, M. G.; COLABUFO, N. A.; CHIARINI, A.; FRANCHINI, C.; GHELARDINI, C.; HABTEMARIAM, S.; LENTINI, G. Synthesis, antiarrhythmic activity, and toxicological evaluation of mexiletine analogues. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 121, p. 300-307, 2016.

RYAN, D. A.; OKOLOTOWICZ, K. J.; MERCOLA, M.; CASHMAN, J. R. Stereoselective synthesis of mexiletine and structural analogs with chiral tertbutanesulfinamide. **Tetrahedron Letters**, v. 56, p. 4195-4199, 2015.

SCANAVACCA, M. New Perspectives in the Treatment of Cardiac Arrhythmias and Their Application in Brazil. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, v.6, p. 1071-1074, 2012.

SADHUKHAN, A.; KHAN, N. H.; ROY, T.; KURESHY, R. I.; ABDI, S. H. R.; BAJAJ, H. C. Asymmetric Hydrolytic Kinetic Resolution with Recyclable Macrocyclic Co^{III}-Salen Complexes: A Practical Strategy in the Preparation of (R)-Mexiletine and (S) Propranolol. **Chemistry - A European Journal**, v. 18, p. 5256-5260, 2012.

SASIKUMAR, M.; NIKALJE, M. D.; MUTHUKRISHNAN, M. A convenient synthesis of enantiomerically pure (R)-mexiletine using hydrolytic kinetic resolution method. **Tetrahedron: Asymmetry**, v. 20, p. 2814-2817, 2009.

SAWANT, G.; GHOSH, S.; BANESH, S.; BHAUMIK, J.; BANERJEE, C. In silico approach towards lipase mediated chemoenzymatic synthesis of (S)-ranolazine, as an anti-anginal drug. **Royal Society Chemistry Advances**, v. 6, p. 49150-49157, 2016.

SECO, J. M.; LATYPOV, S.; RIGUERA, R. Determination of the absolute configuration of alcohols by low temperature ¹H NMR of ary(metoxy)acetates. **Tetrahedron: Asymmetry**, v. 6, p. 107-110, 1995.

SECO, J. M.; QUIÑOÁ, E.; RIGUERA, R. The assignment of absolute configurations by NMR of arylmethoxyacetate derivatives: is this methodology being correctly used? **Tetrahedron: Asymmetry**, v. 11, p. 2781-2791, 2000.

SECO, J. M.; QUIÑOÁ, E.; RIGUERA, R. The Assignment of Absolute Configuration by NMR. **Chemical Reviews**, v. 104, p. 17-117, 2004.

SOUSA, C. A. D.; SAMPAIO-DAIS, I. E.; RIZZO-AGUIAR, F.; GARCIA-MERA, X.; RODRÍGUEZ-BORGES, J. E. Enantiopure synthesis of 7-(1-pyrindanyl)propargyl ethers as rasagiline analogues via chemical or enzymatic resolution of 1-pyrindan-7-ol. **Royal Society Chemistry Advances**, v. 5, p. 104509-104515, 2015.

TAO, J.; ZHAO, L.; RAN, N. Recent Advances in Developing Chemoenzymatic Processes for Active Pharmaceutical Ingredients, **Organic Process Research & Development**, v.11, p. 259-267, 2007.

VIEIRA, G. A. B.; ARAUJO, D. M. F.; LEMOS, T. L. G.; MATTOS, M. C.; OLIVEIRA, M. C. F.; MELO, V. M. M.; GONZALO, G.; GOTOR-FERNÁNDEZ, V.; GOTOR, V. *Candida tropicalis* CE017: a new brazilian enzymatic source for the bioreduction of aromatic prochiral ketones. *Journal Brazilian Chemistry Society*, v. 21, p. 1509-16, 2010.

VISWANADH, N.; VELAYUDHAN, R.; JAMBU, S.; SASIKUMAR, M.; MUTHUKRISHNAN, M. Chiral aziridine ring opening: facile synthesis of (R)-mexiletine and (R)-phenoxybenzamine hydrochloride. **Tetrahedron Letters**, v. 56, p. 5269-5271, 2015.

WINSKA, K.; GRUDNIEWSKA, A.; CHOJNACKA, A.; BIAŁOŃSKA, A.; WAWRZEŃCZYK, C. Enzymatic resolution of racemic secondary cyclic allylic alcohols. **Tetrahedron: Asymmetry**, v. 21, p. 670-678, 2010.

XIA, B.; CHENG, G.; LIN, X.; WU, Q. Dynamic Double Kinetic Resolution of Amines and Alcohols under the Cocatalysis of Raney Nickel/Candida antarctica Lipase B: From Concept to Application. **European Journal of Organic Chemistry**, v. 2014, p. 2917-2923, 2014.

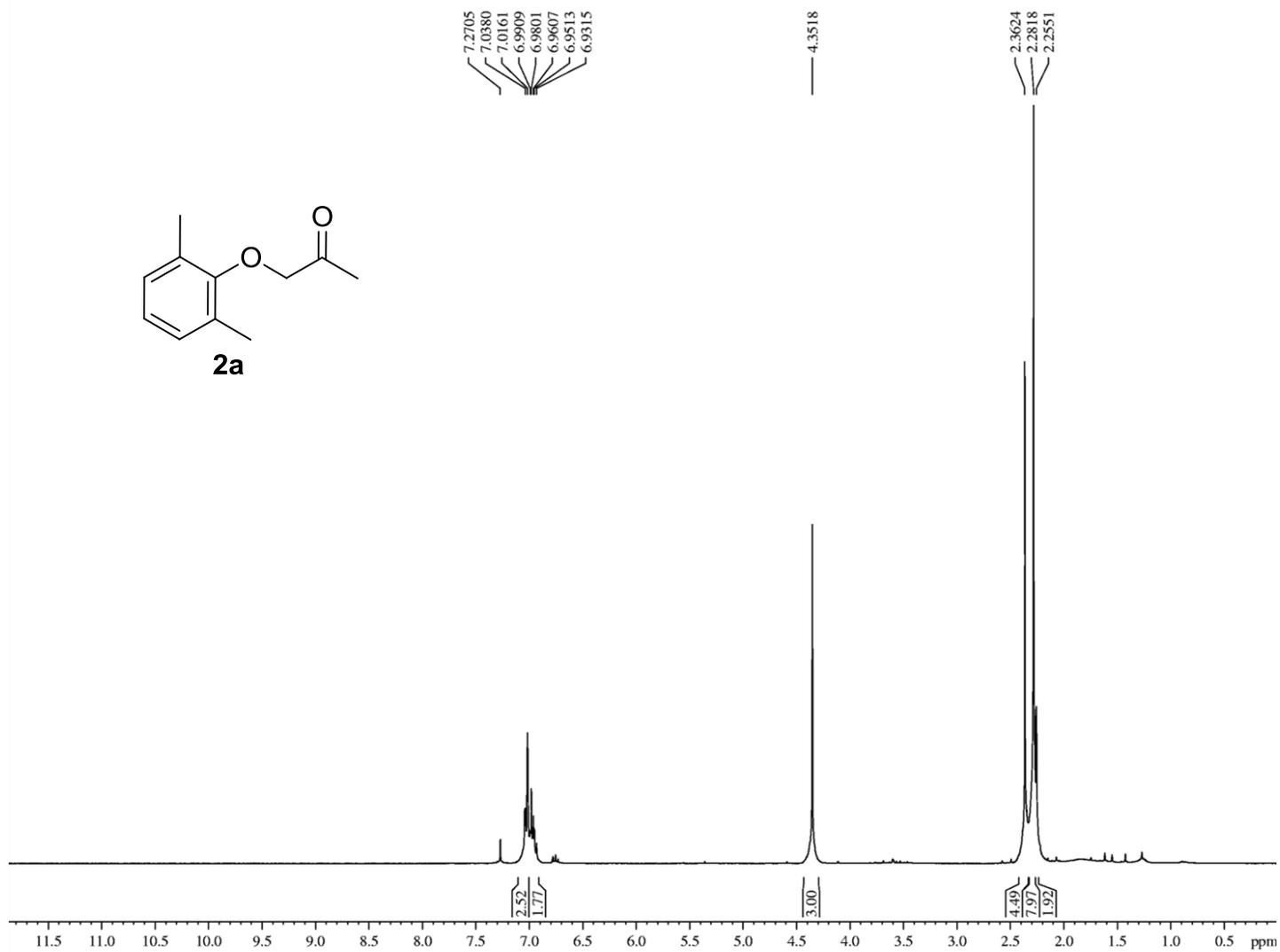
ZHANG, J.; KOLLURI, R.; ALVAREZ, S. G.; IRVING, M. M.; SINGH, R.; DUNCTON, M. A. J. Enantioselective synthesis of an octahydroindolizine (indolizidine) alcohol using an enzymatic resolution. **Organic Biomolecular Chemistry**, v. 15, p.2953-2961, 2017.

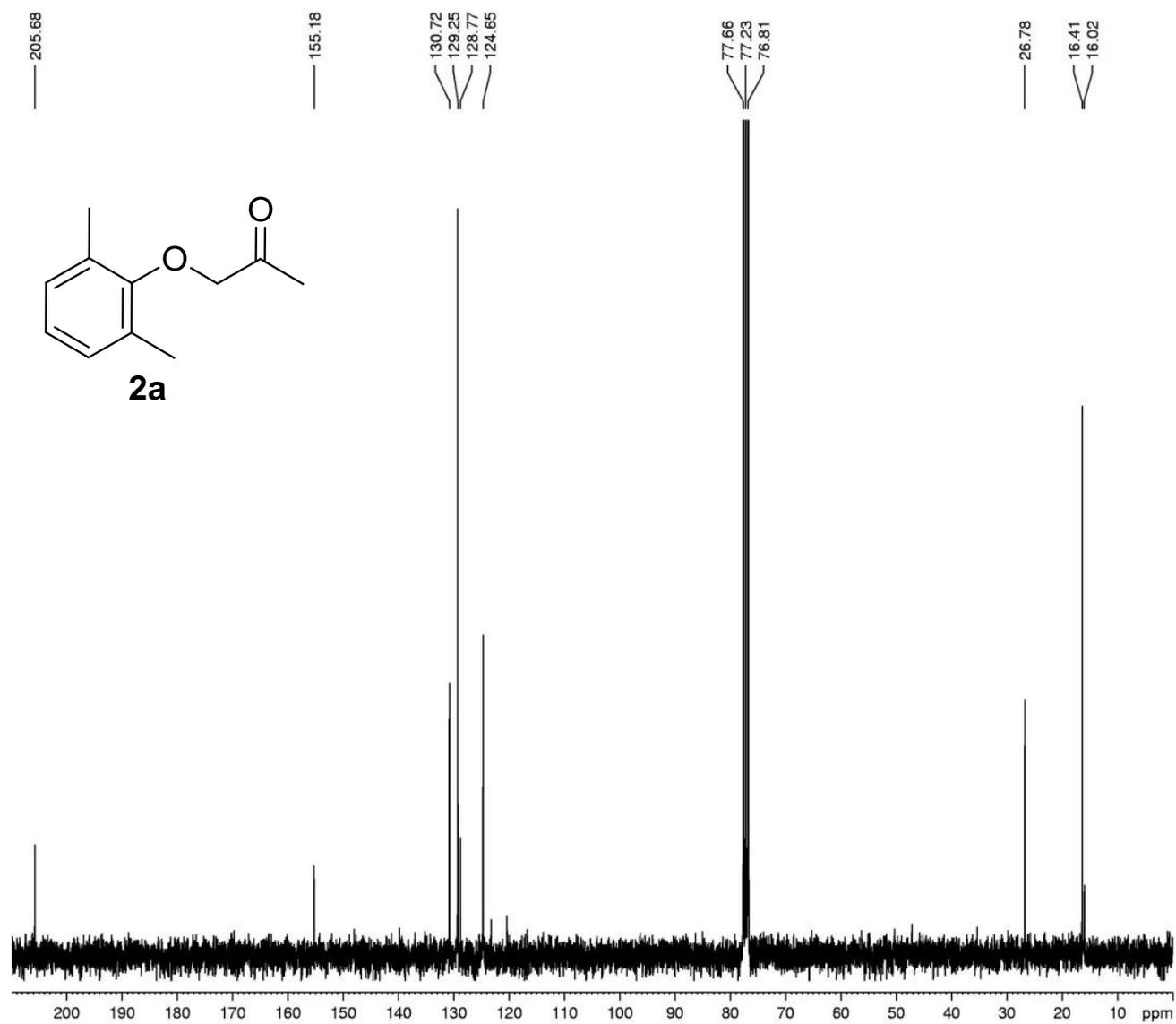
ZHANG, Y.; SCHAUFELBERGER, F.; SAKULSOMBAT, M.; LIU, C.; RAMSTROM, O. Asymmetric synthesis of 1,3-oxathiolan-5-one derivatives through dynamic covalent kinetic resolution. **Tetrahedron**, v.10, p. 3826-31, 2014.

ZHENG, M.; XIANG, X.; WANG, S.; SHI, J.; DENG, Q.; HUANG, F.; CONG, R. Lipase immobilized in ordered mesoporous silica: A powerful biocatalyst for ultrafast kinetic resolution of racemic secondary alcohols. **Process Biochemistry**, v. 53, p.102-108, 2017.

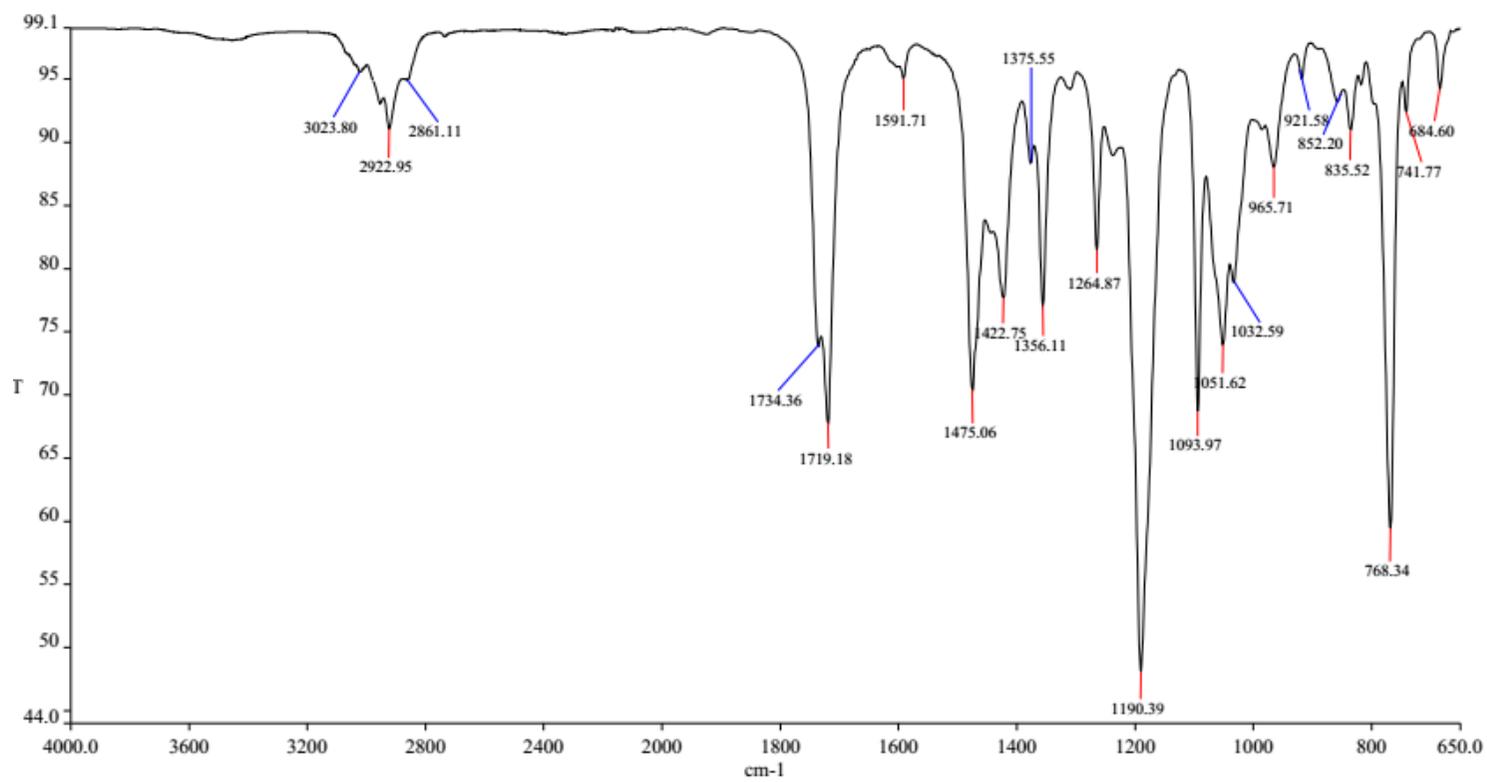
ZUCCARELLO, G.; BOUZIDE, A.; KVARNSTRO, I.; NIKLASSON, G.; SVENSSON, S. C. T.; BRISANDER, M.; DANILESSON, H.; NILLROTH, U.; KARLE, A.; HALLBERG, A.; CLASSON, B.; SAMUELSSON, B. HIV-1 Protease inhibitors based on acyclic carbohydrate. **Journal Organic Chemistry**, v. 63, p. 4898-4906, 1998.

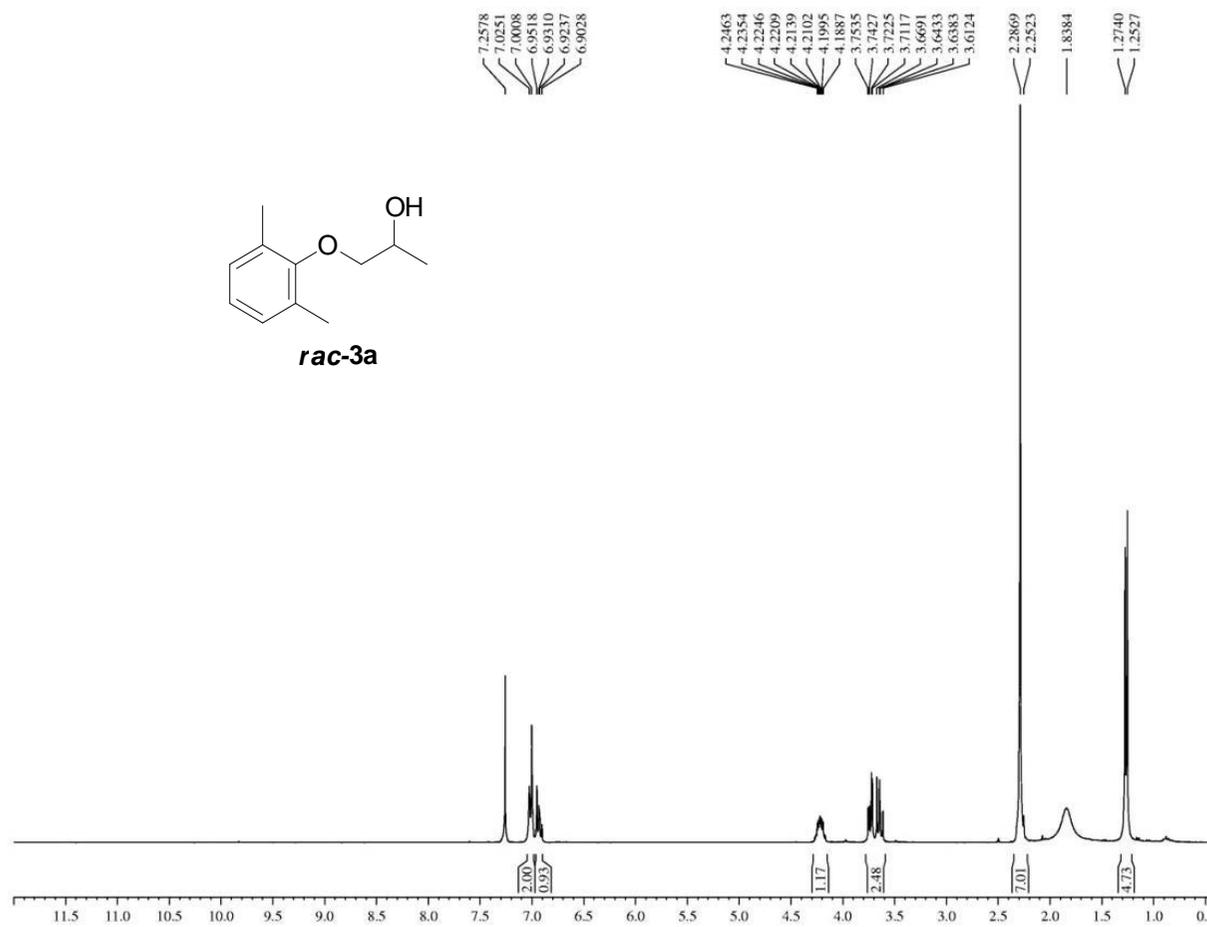
ANEXOS
RMN ^1H de **2a** (300 MHz, CDCl_3)

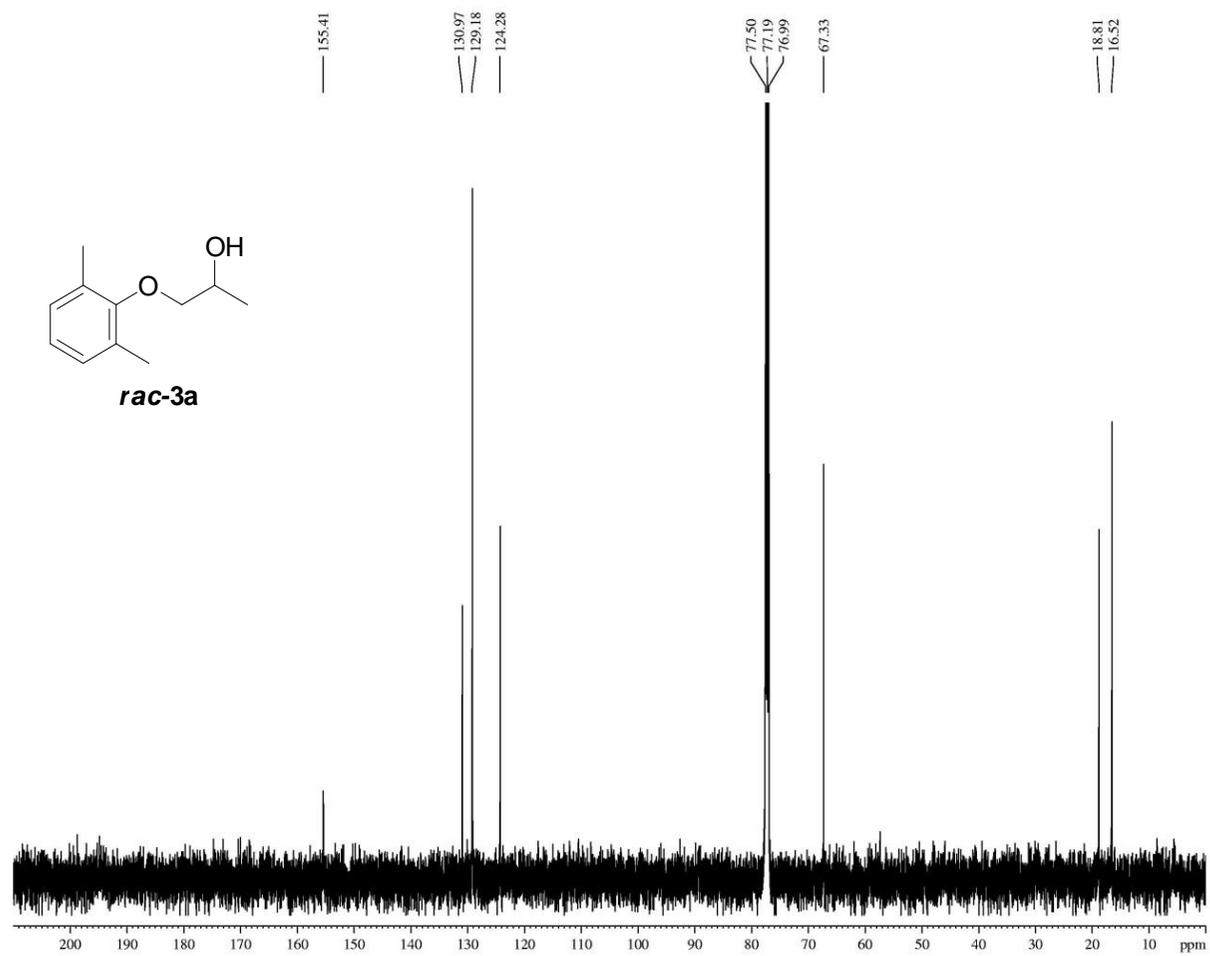


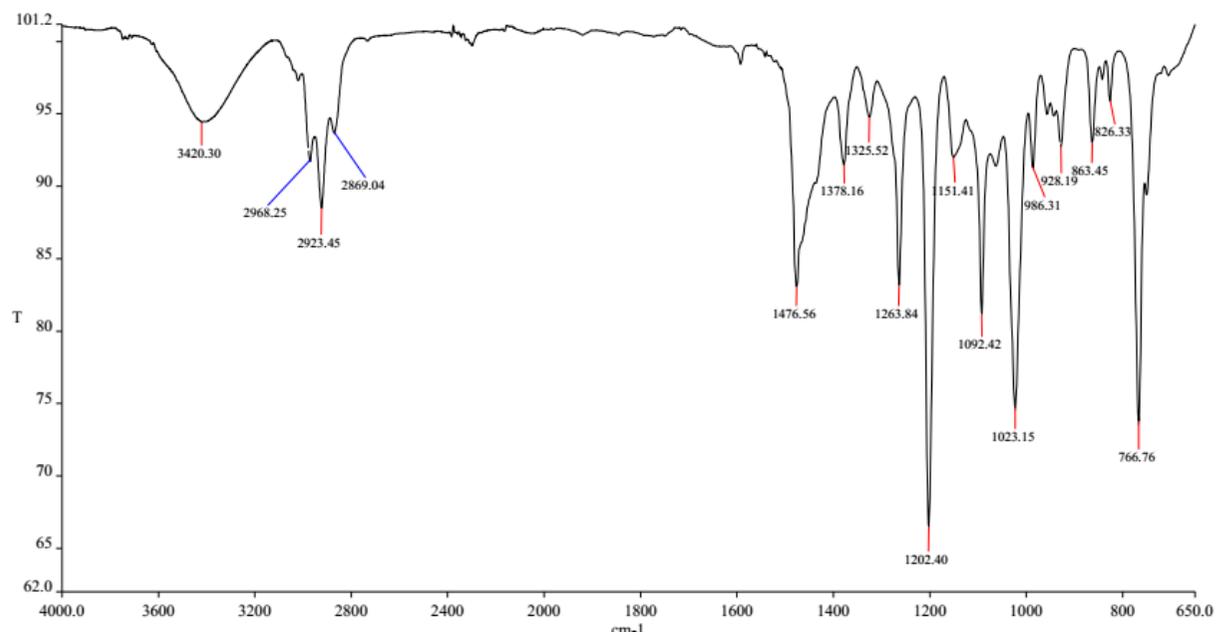
RMN ^{13}C de **2a** (75 MHz, CDCl_3)

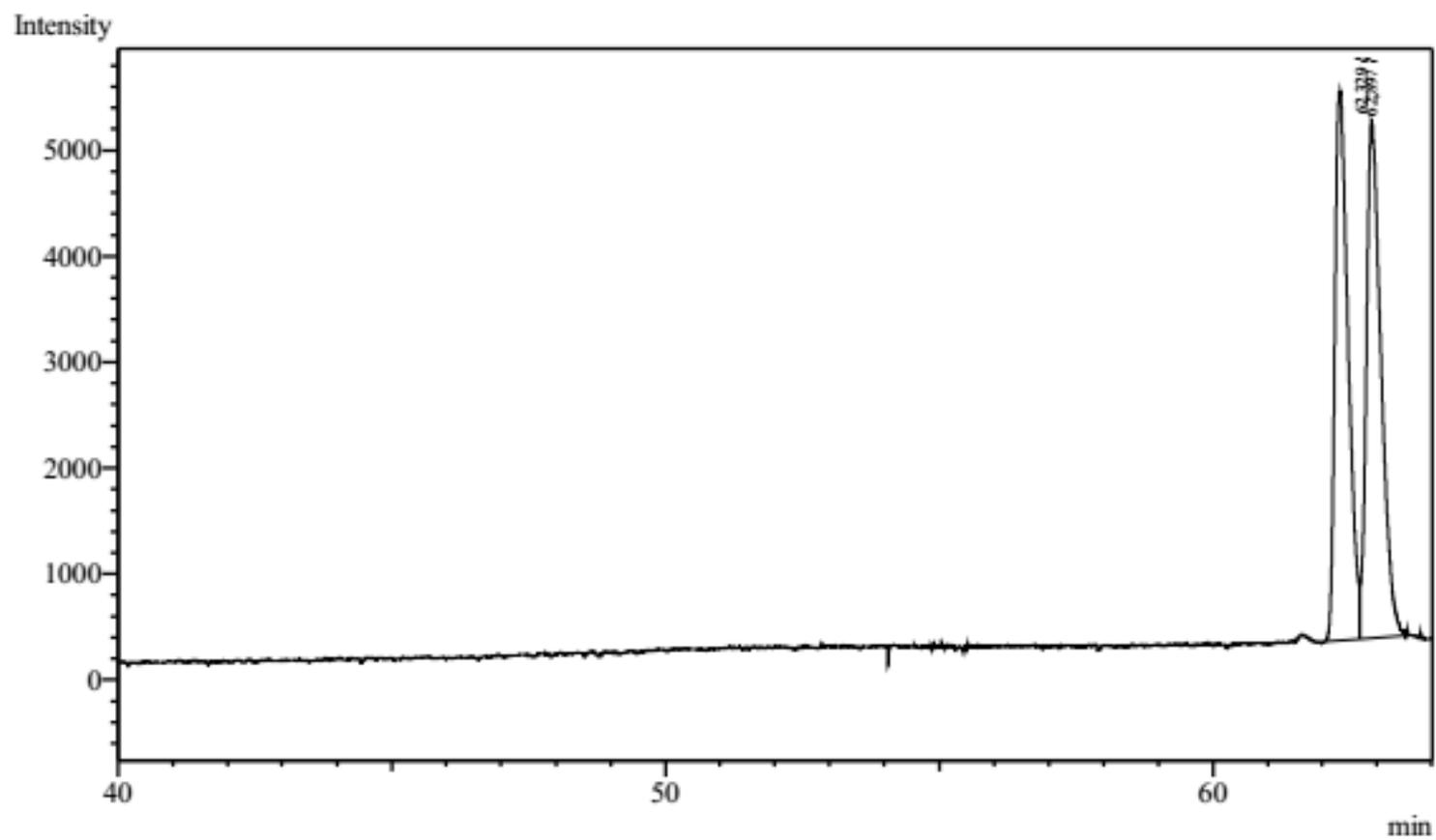
Espectro Infravermelho 2a

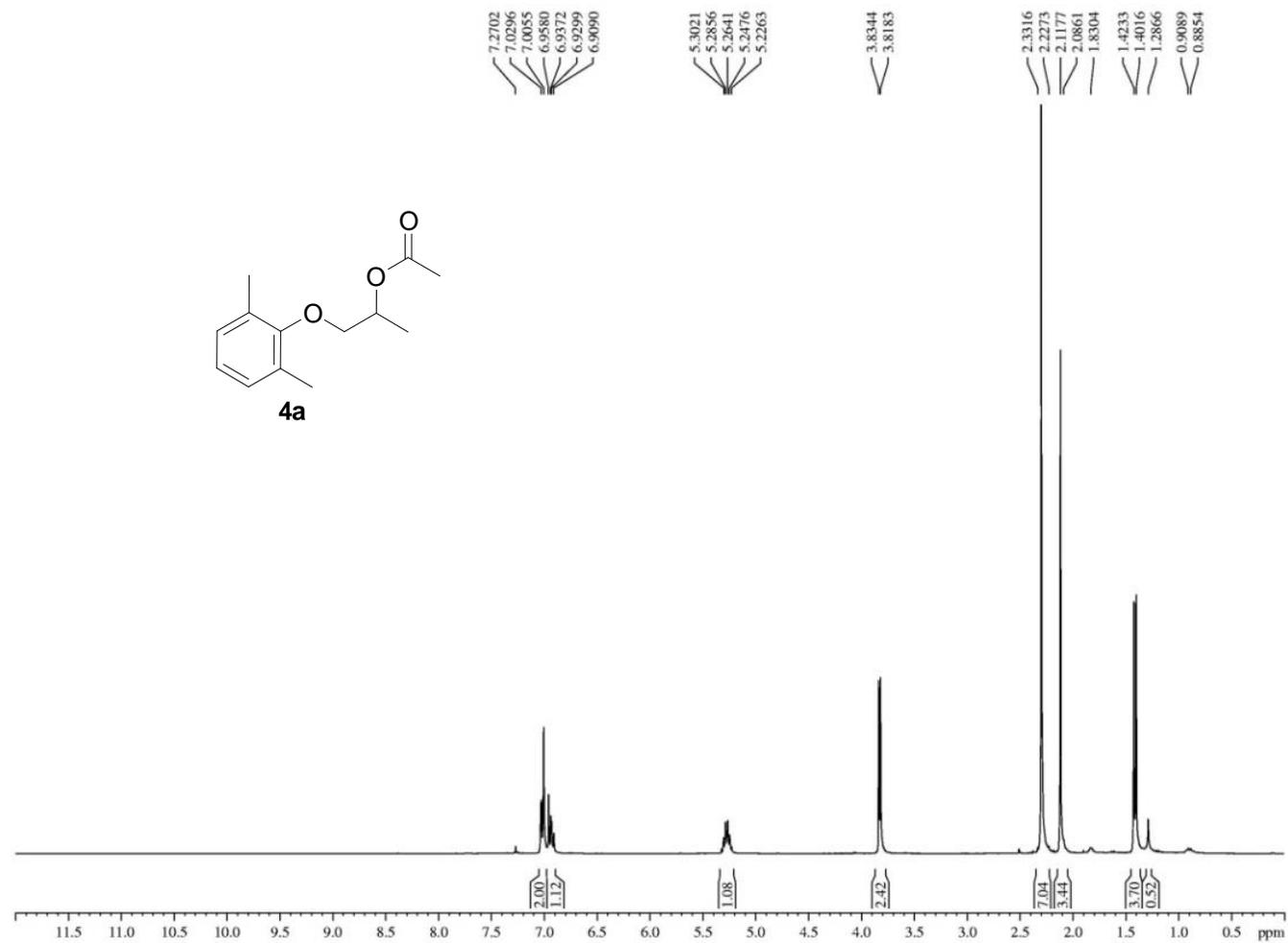


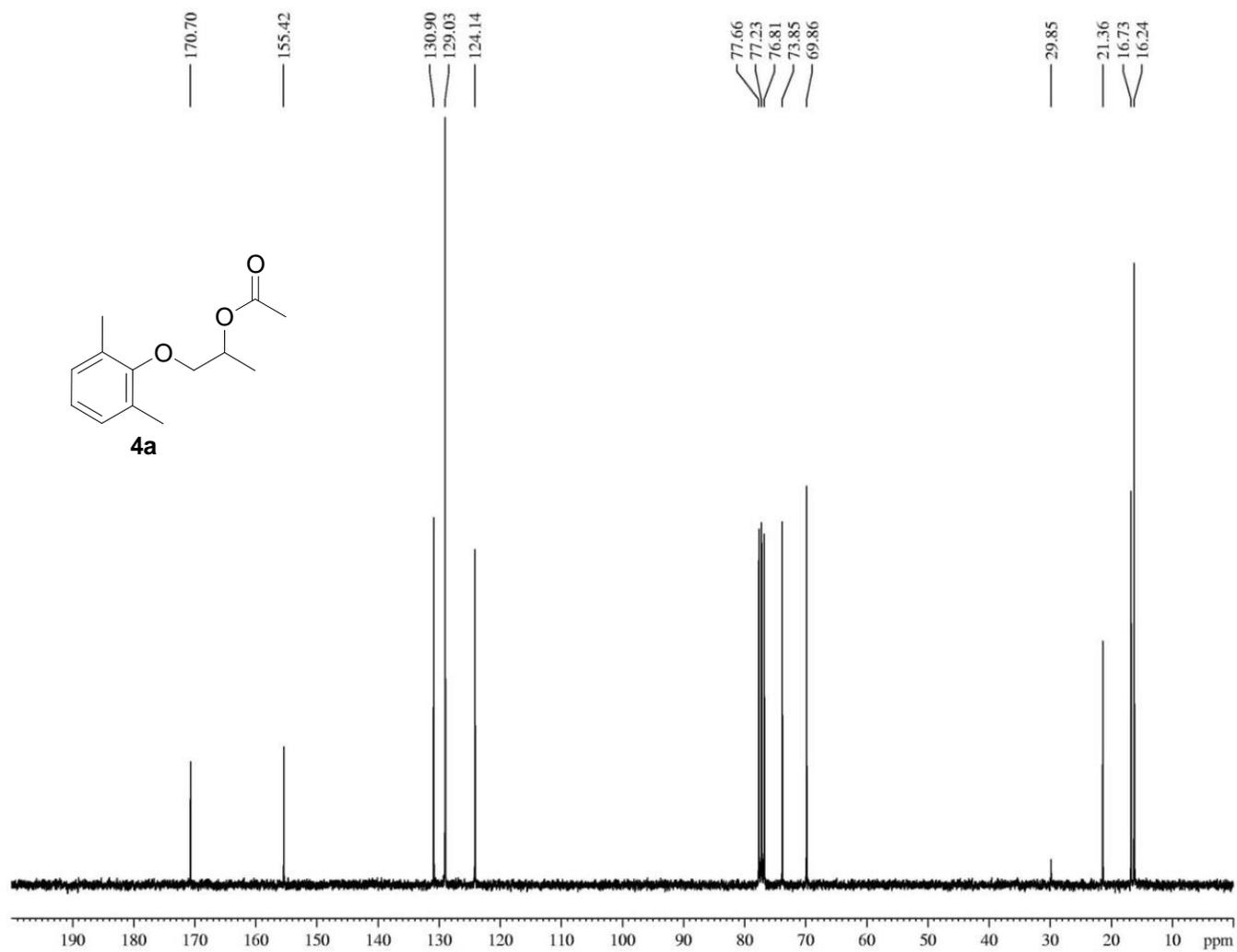
RMN ^1H de *rac-3a* (300 MHz, CDCl_3)

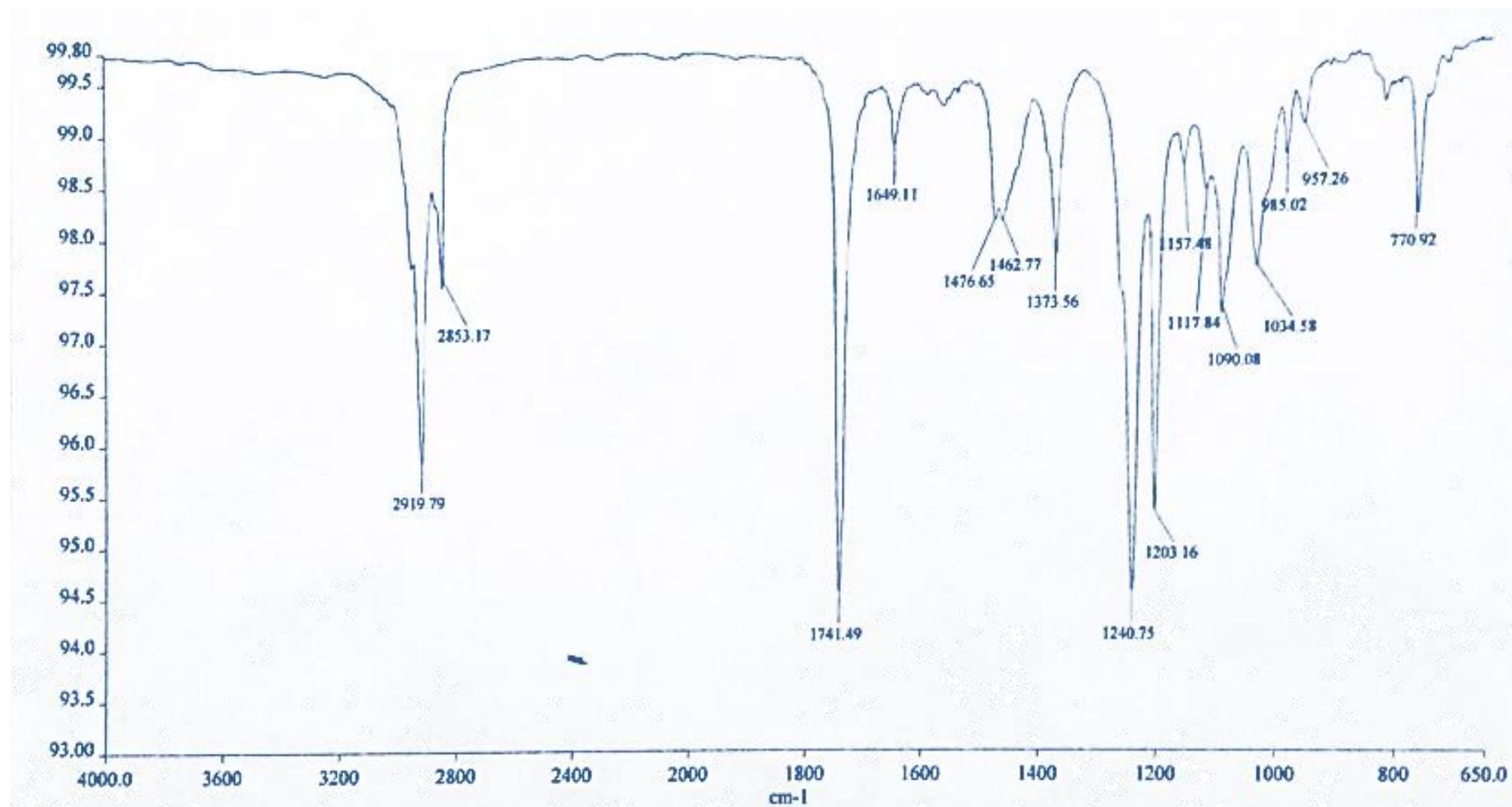
RMN ^{13}C de *rac*-**3a** (75 MHz, CDCl_3)

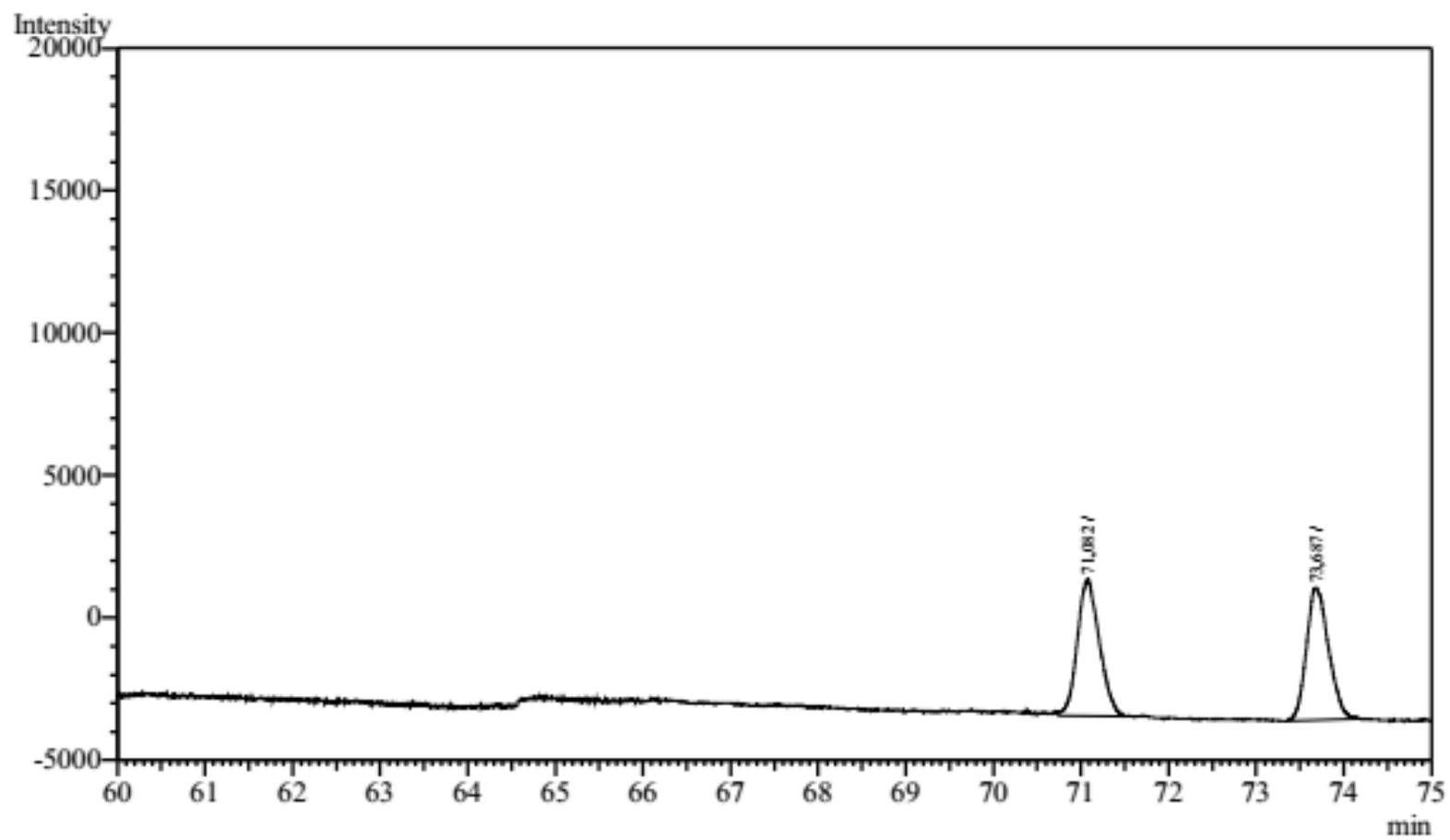
Espectro Infravermelho *rac-3a*

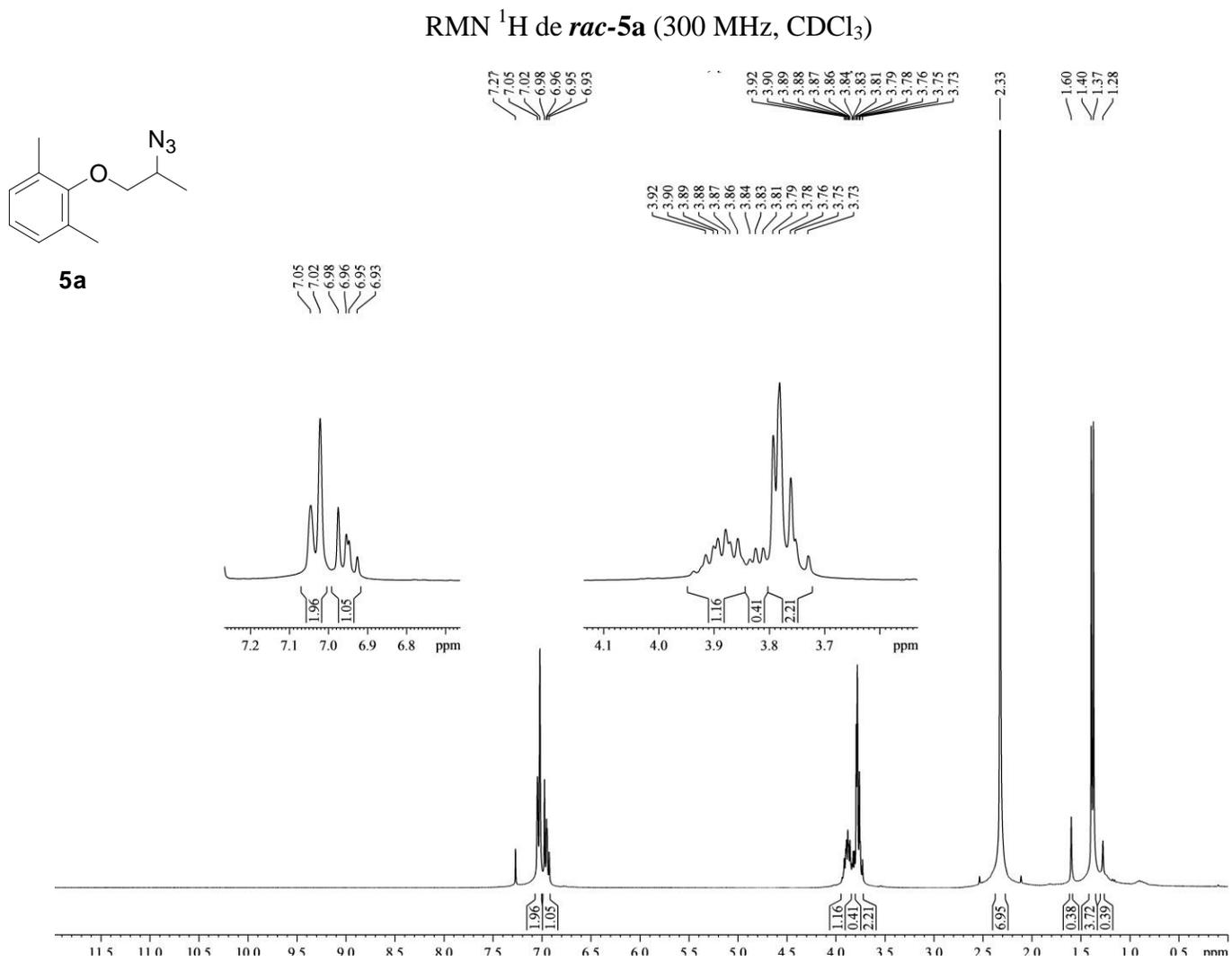
Cronograma obtido por CG do *rac-3a*

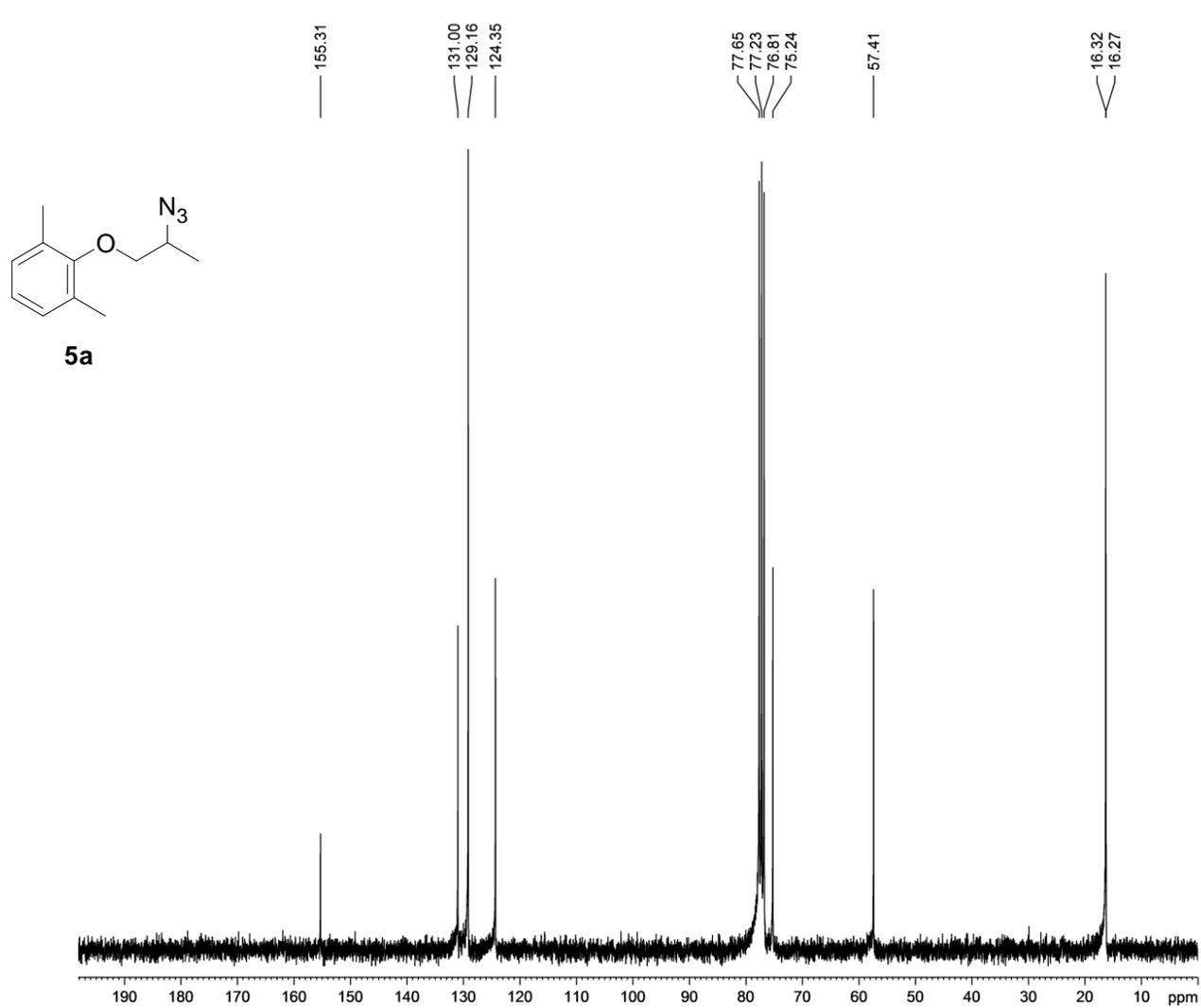
RMN ^1H de *rac*-**4a** (300 MHz, CDCl_3)

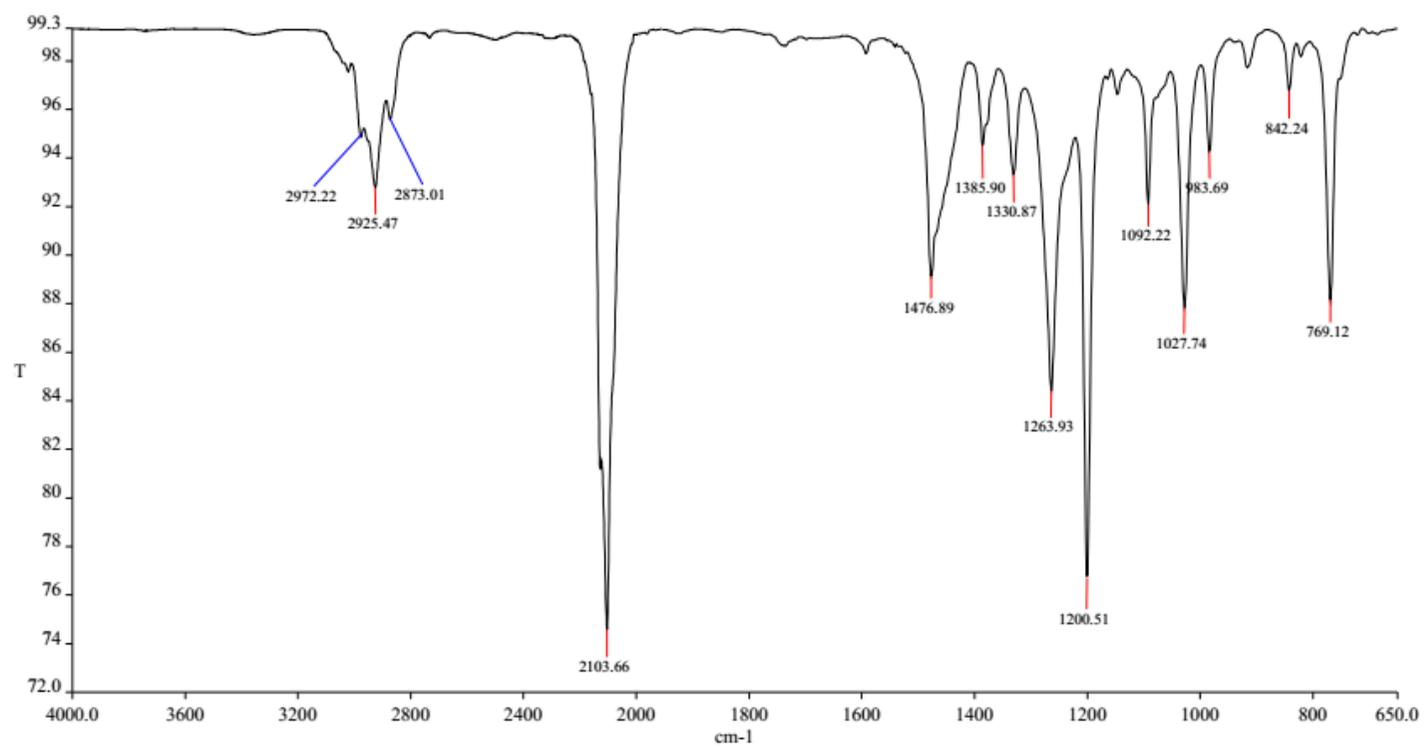
RMN ^{13}C de *rac*-**4a** (75 MHz, CDCl_3)

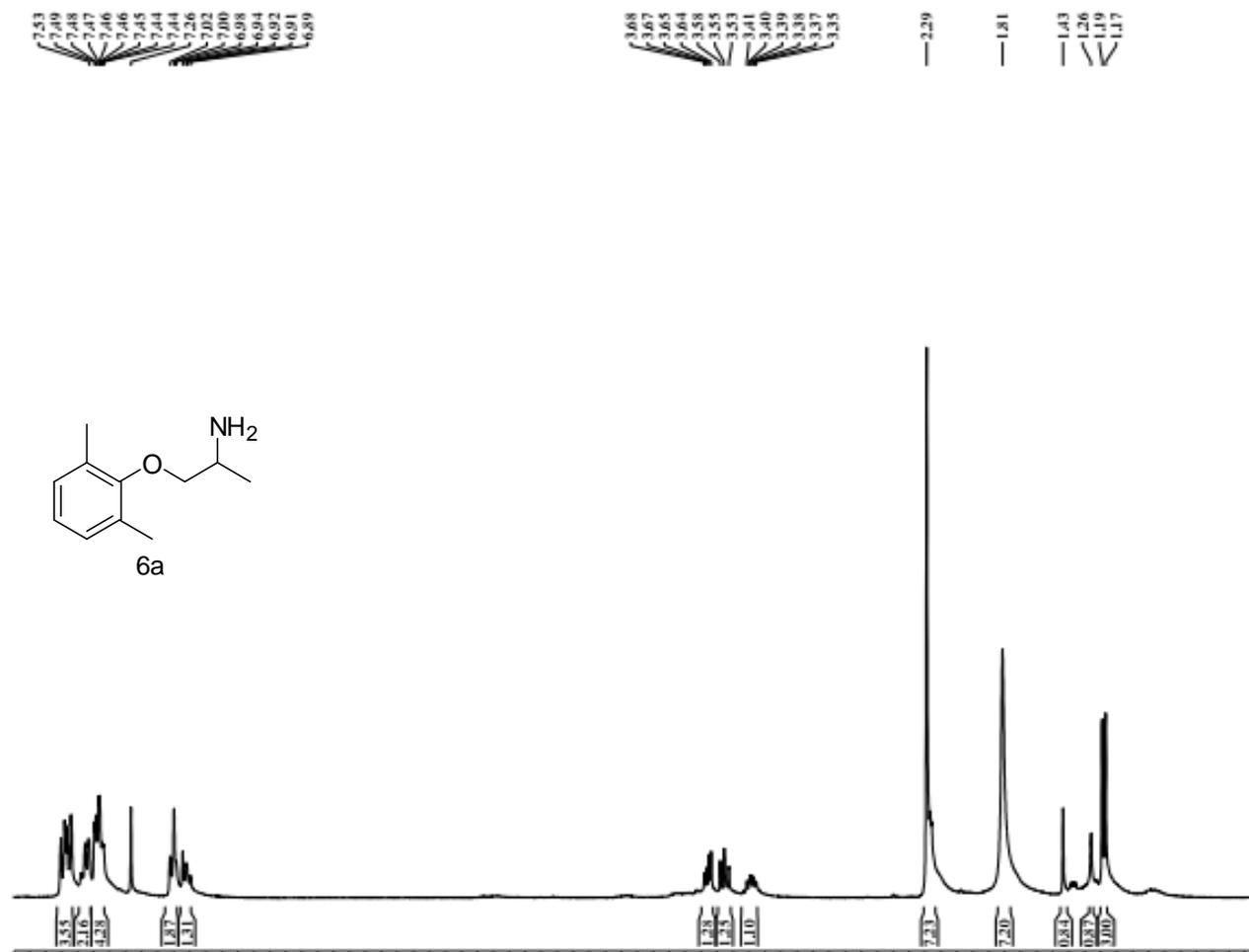
Espectro Infravermelho *rac-4a*

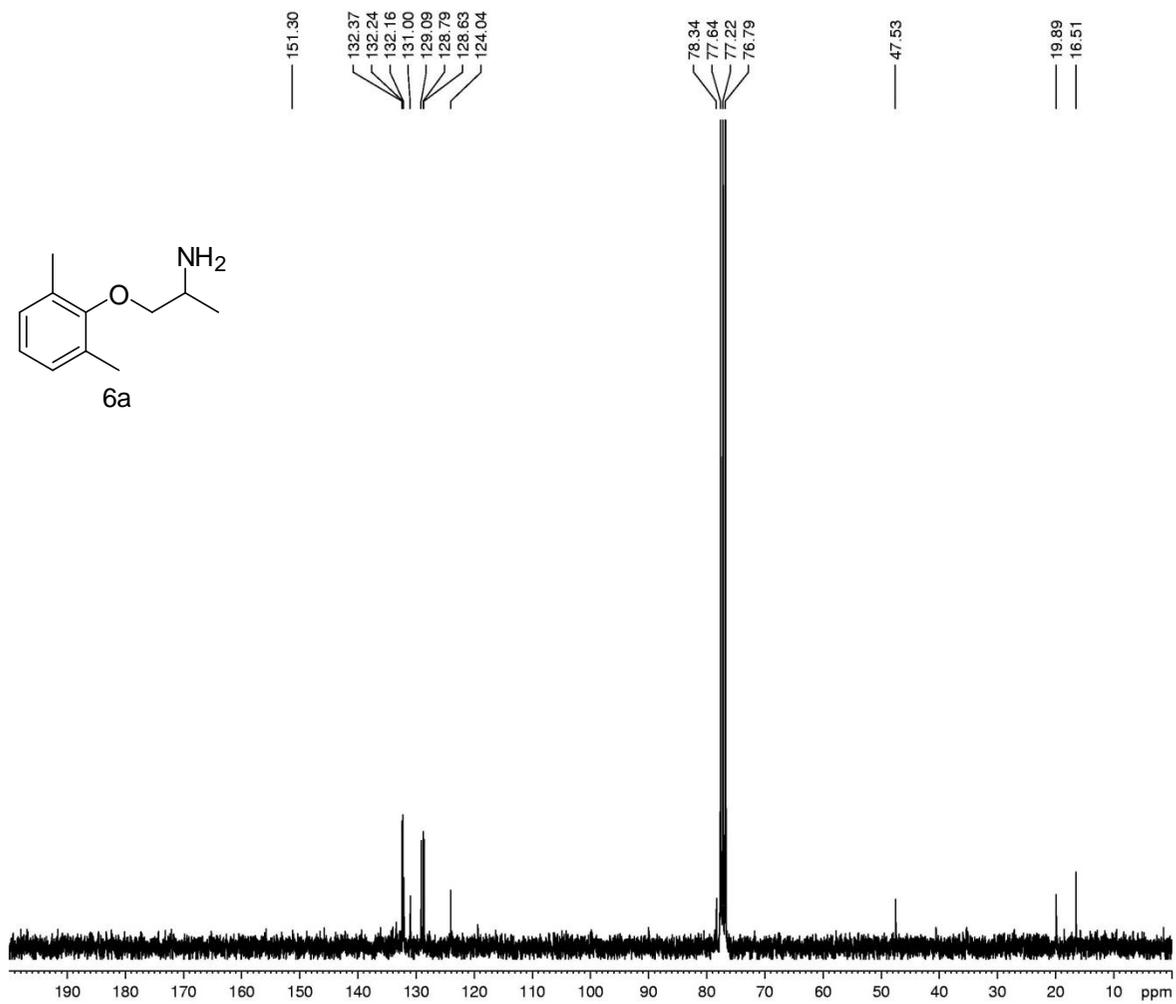
Cronograma obtido por CG do *rac-4a*

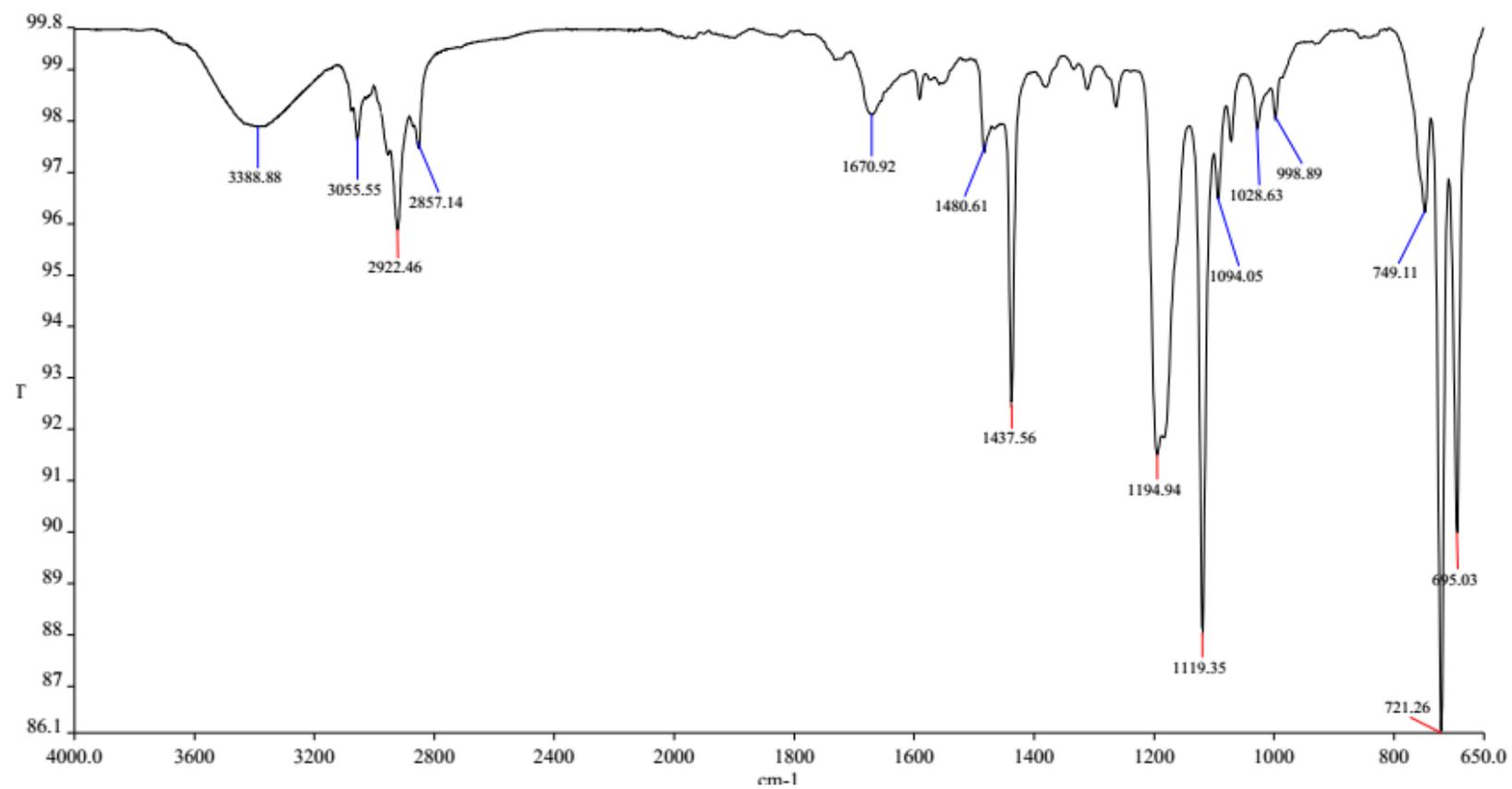


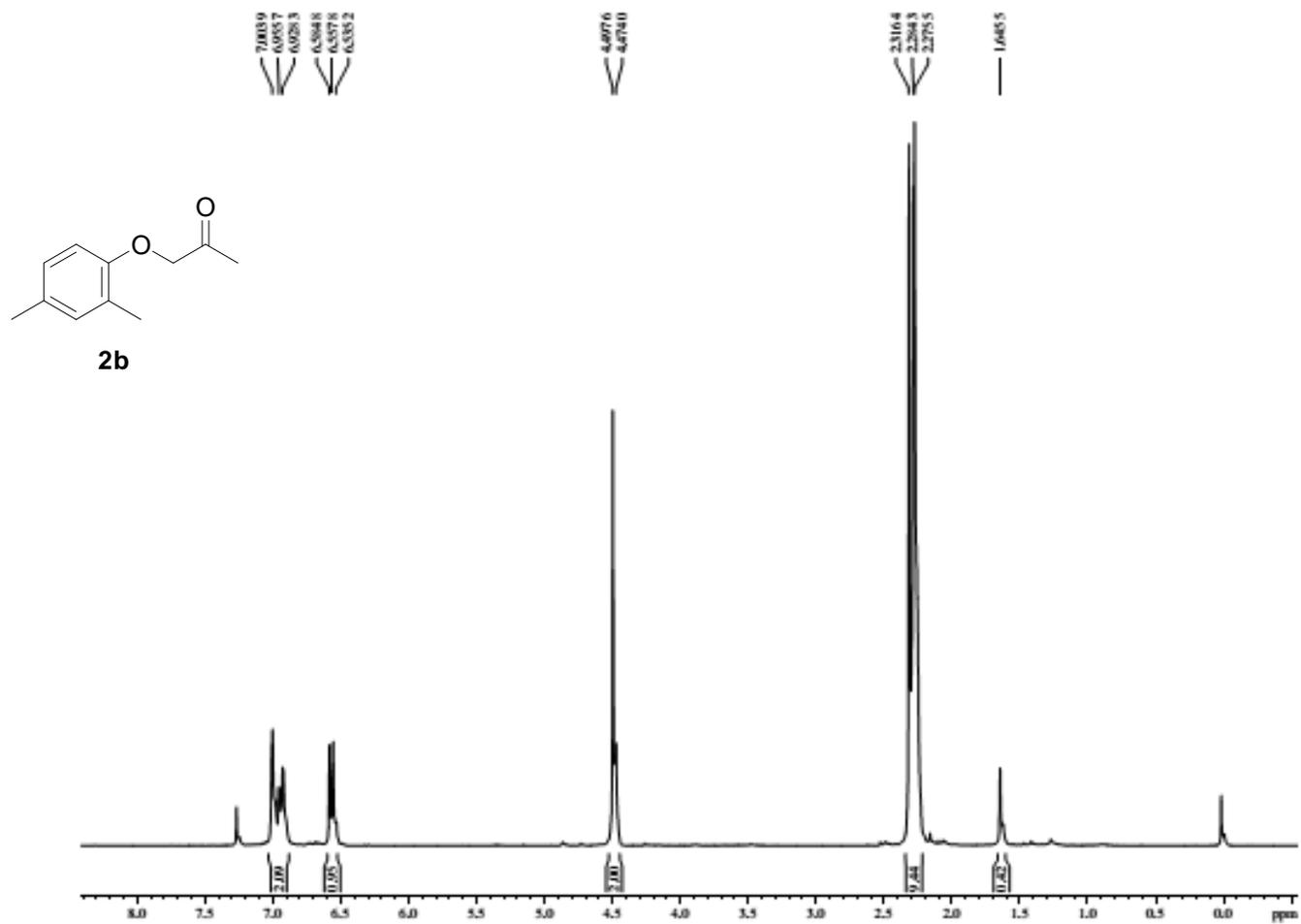
RMN ^{13}C de *rac*-**5a** (75 MHz, CDCl_3)

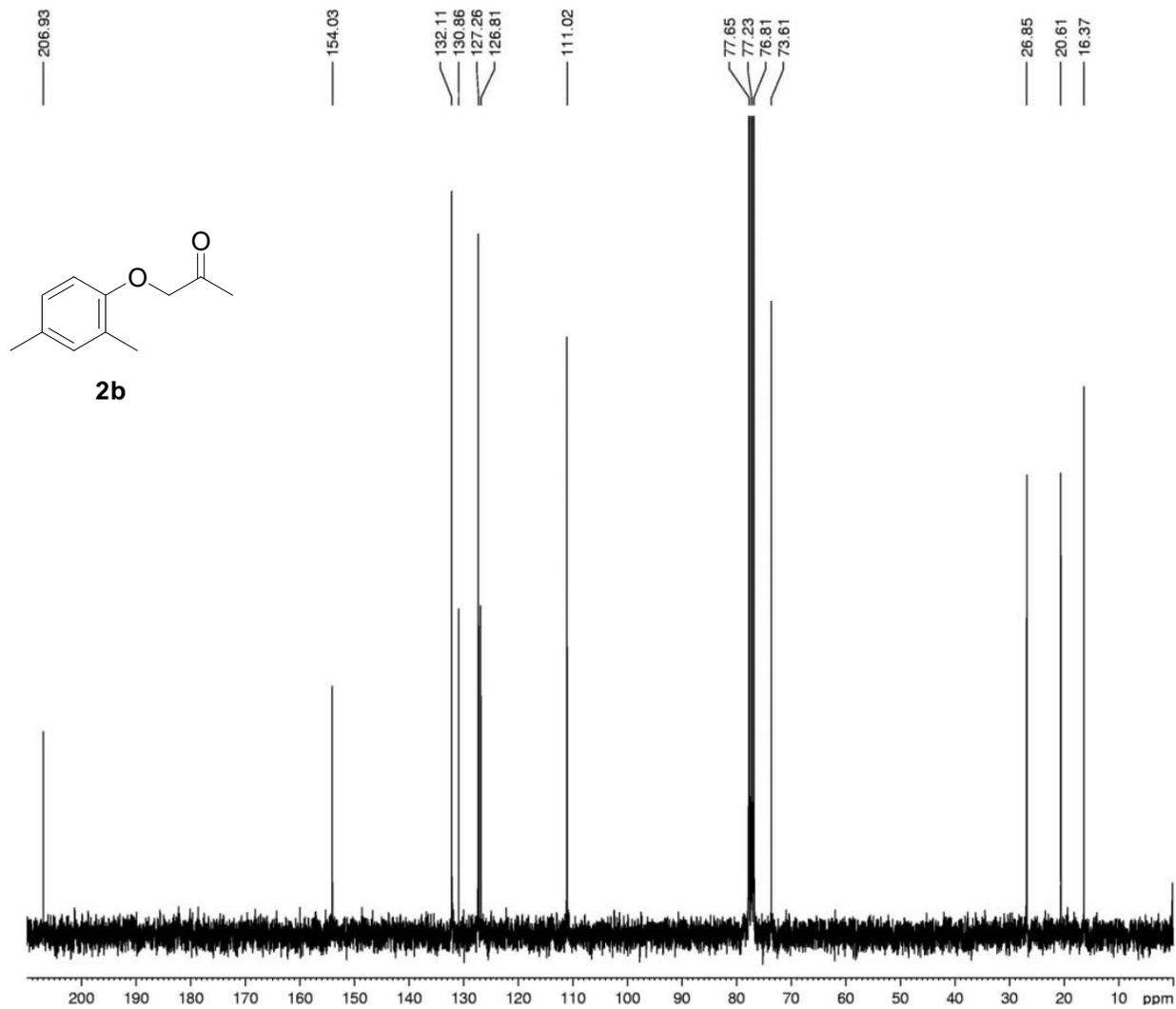
Espectro Infravermelho *rac-5a*

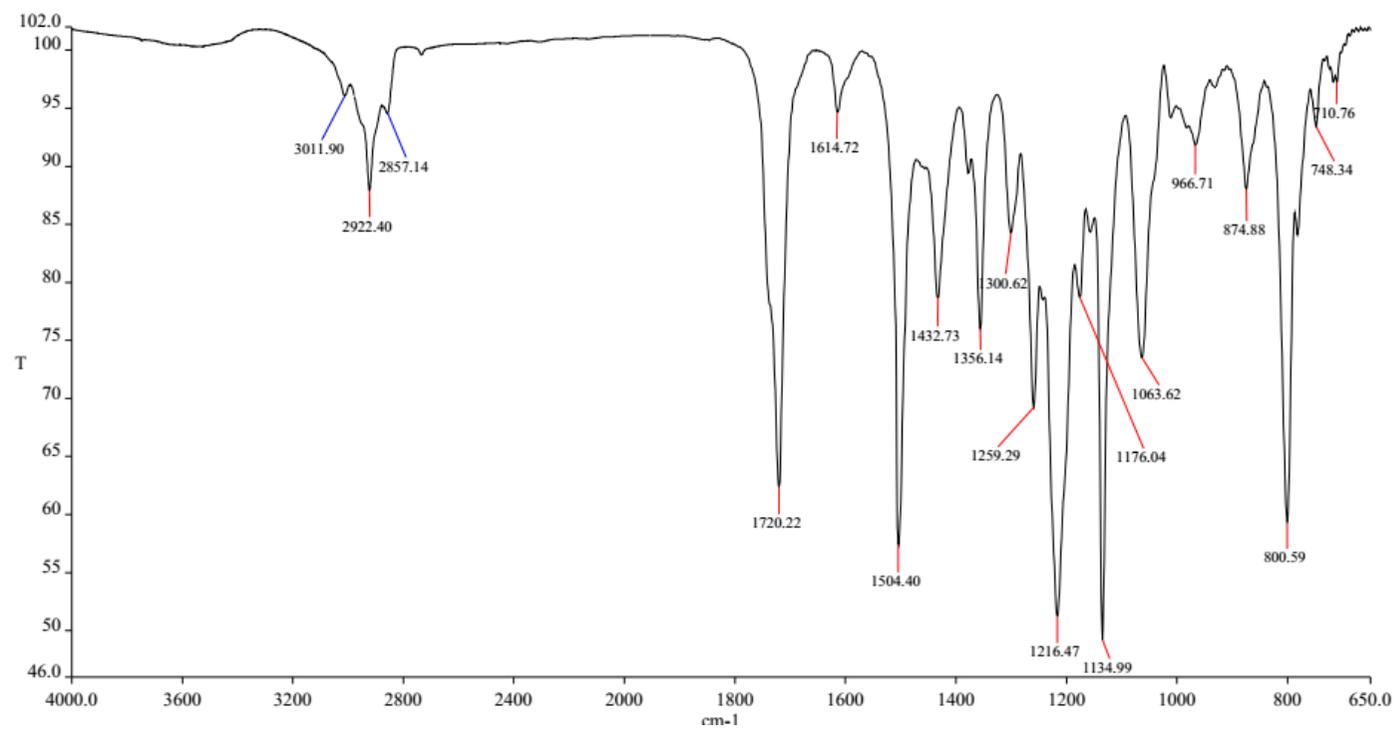
RMN ^1H de *rac*-**6a** (300 MHz CDCl_3)

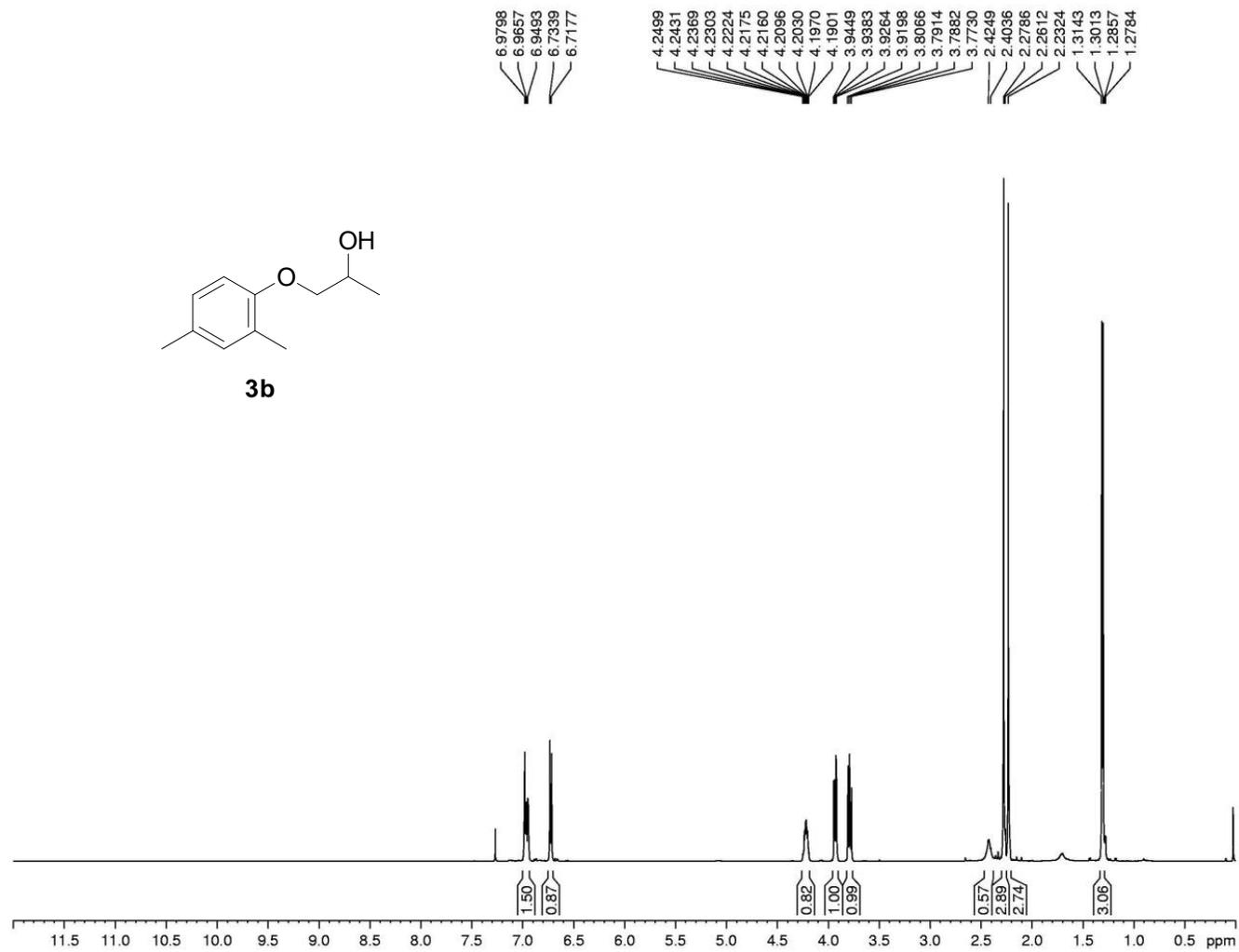
RMN ^{13}C de *rac*-6a (75 MHz, CDCl_3)

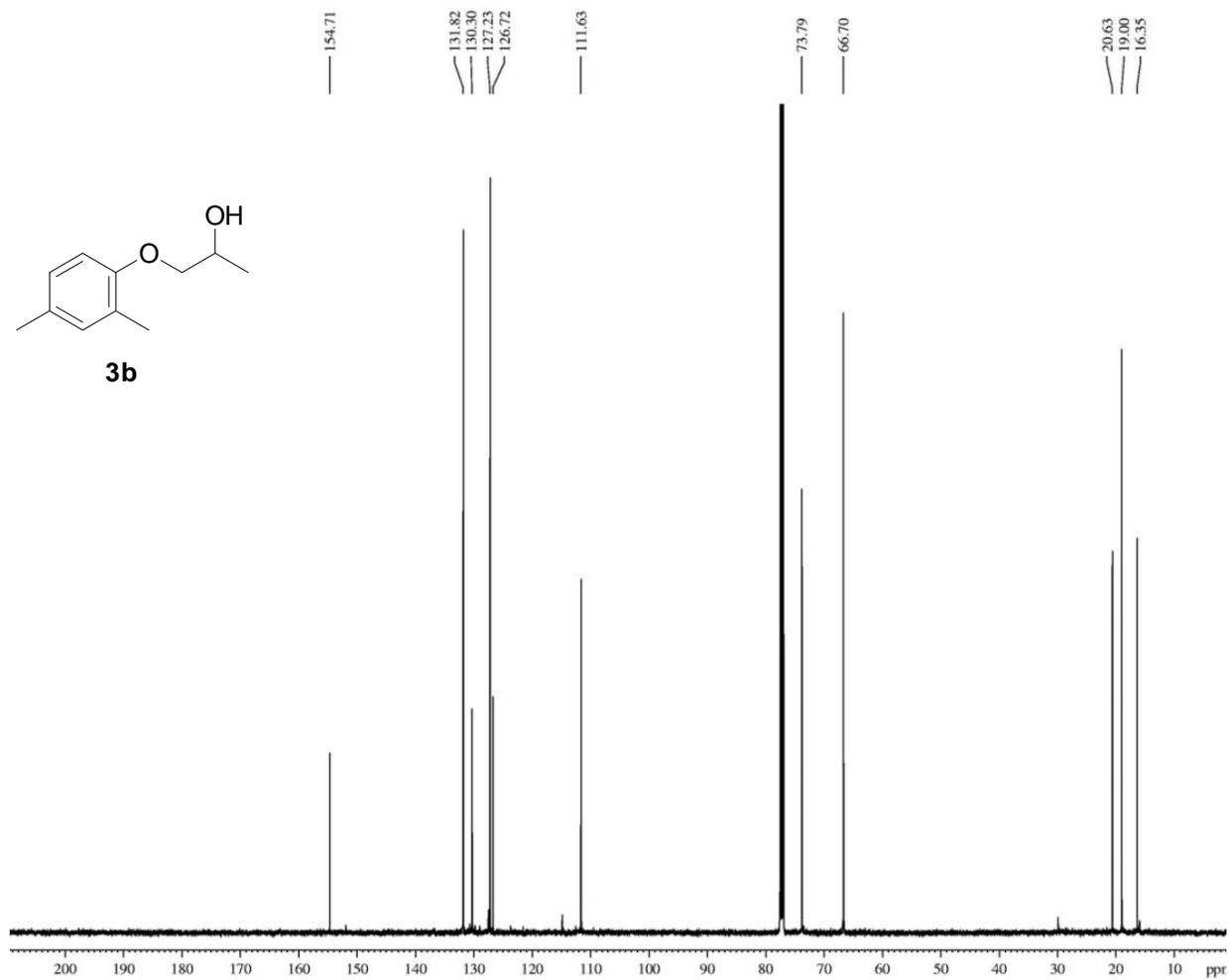
Espectro infravermelho **6a**

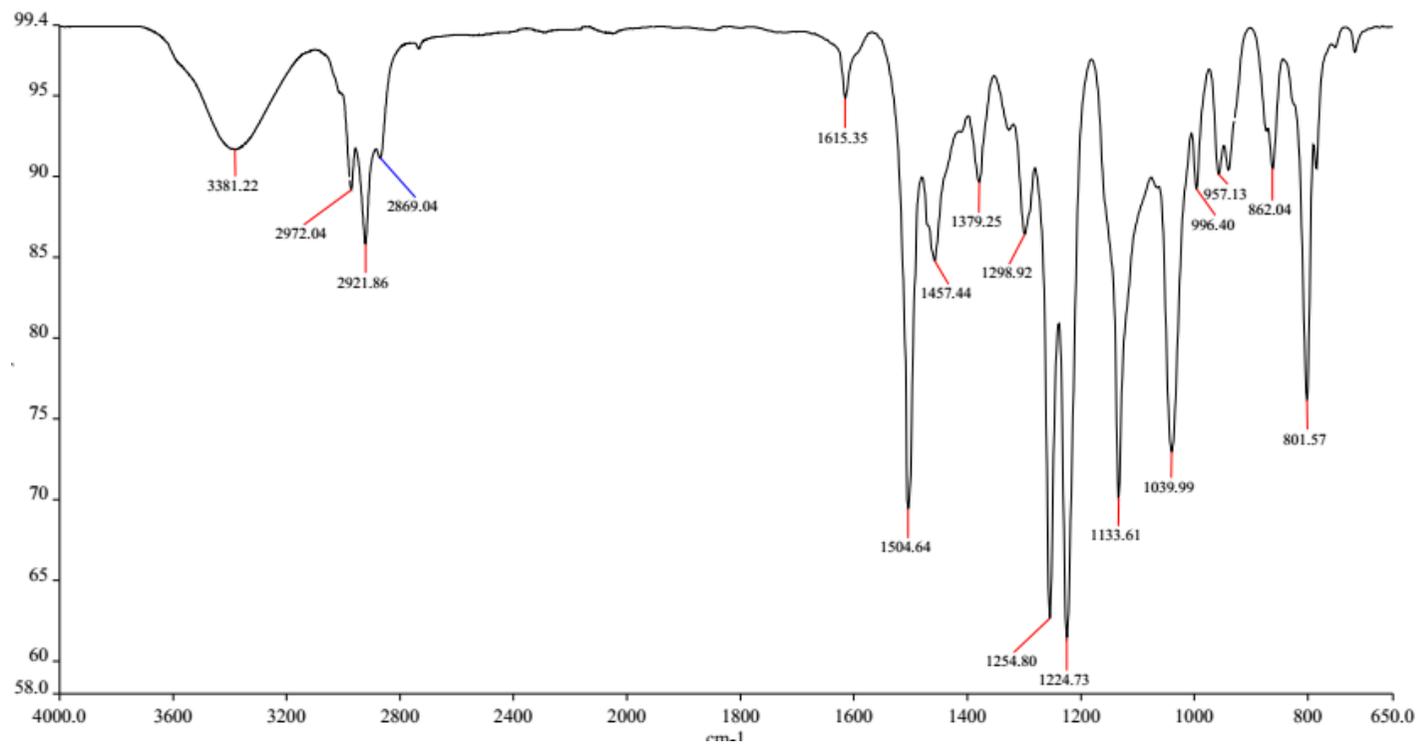
RMN ^1H de **2b** (300 MHz, CDCl_3)

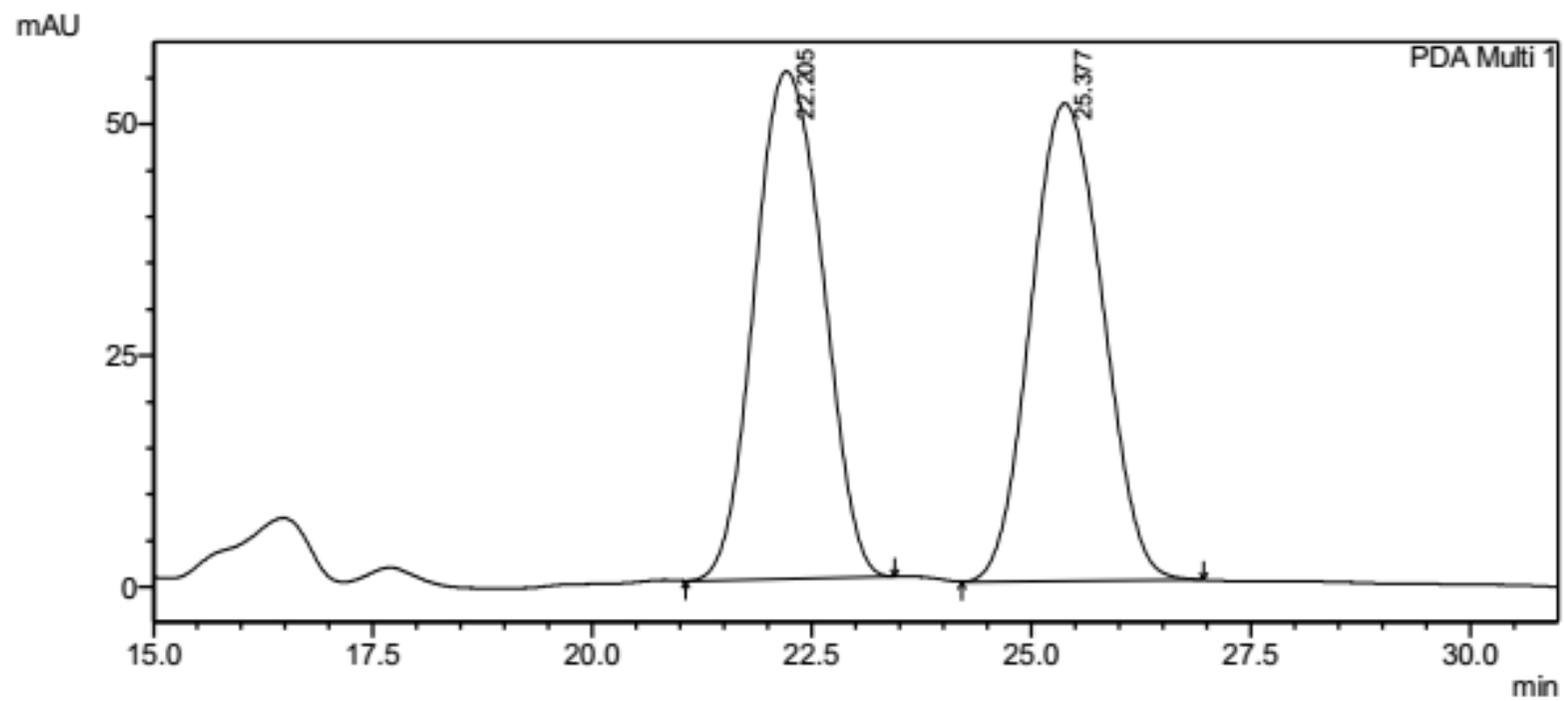
RMN ^{13}C de **2b** (75 MHz, CDCl_3)

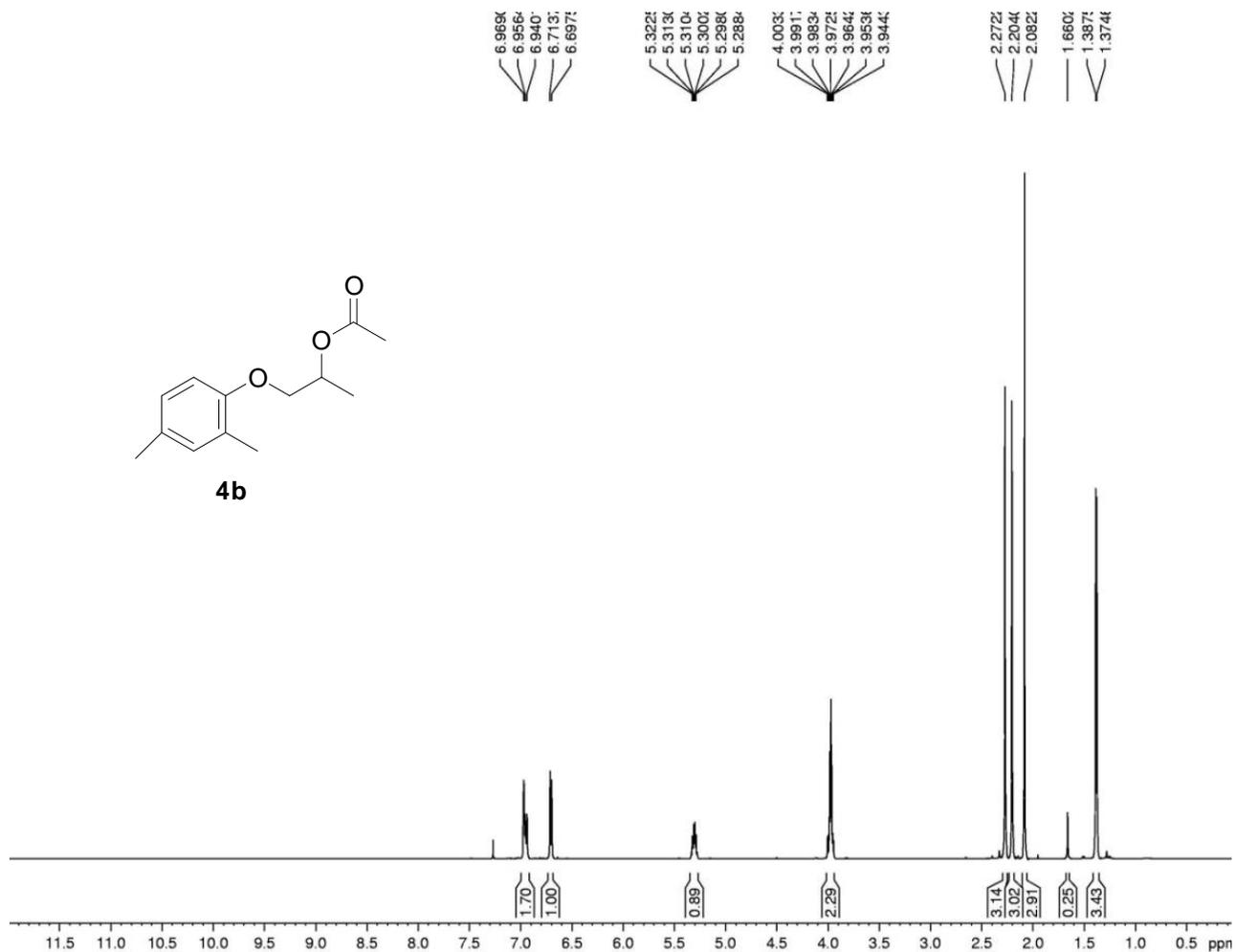
Espectro infravermelho **2b**

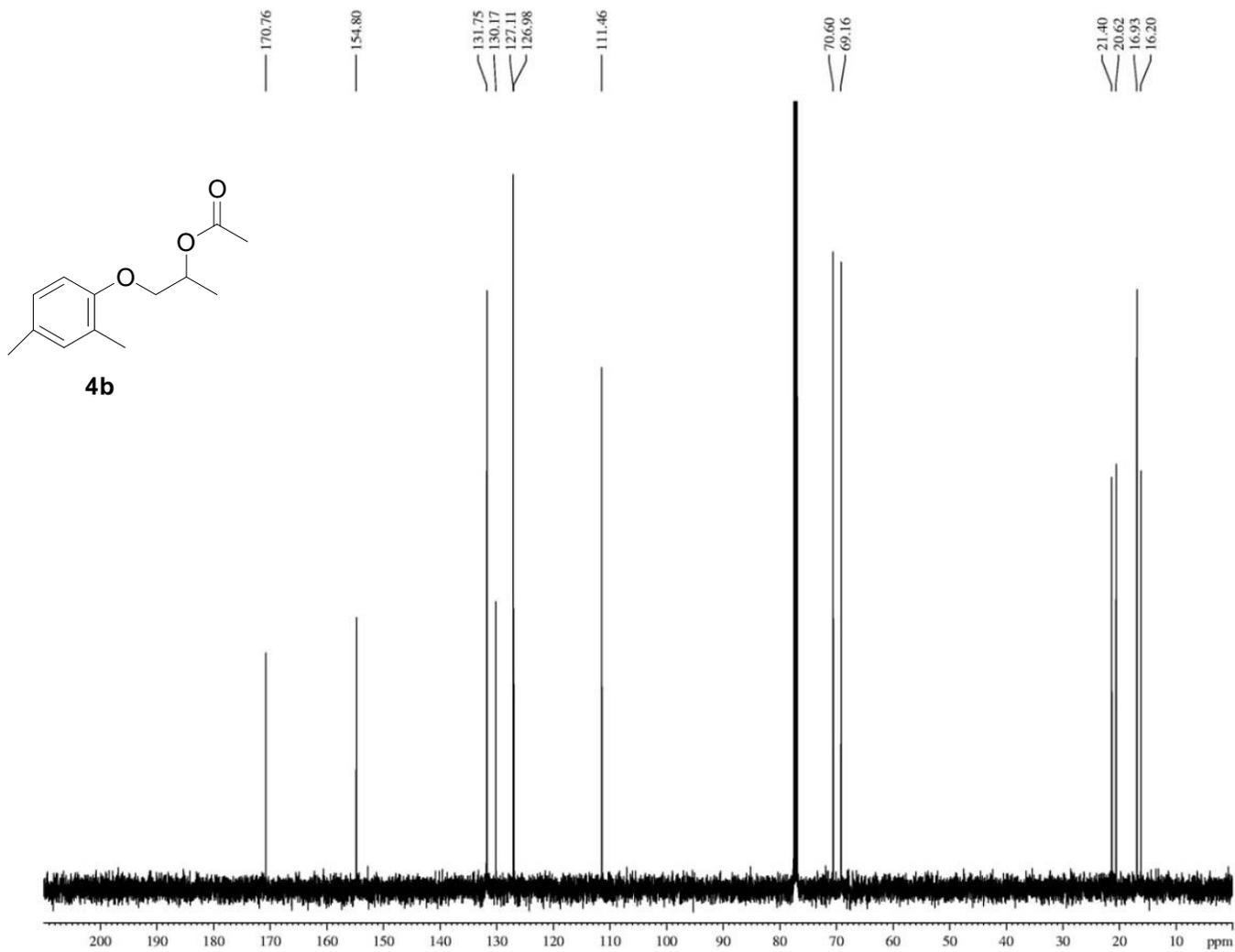
RMN ^1H de *rac*-**3b** (300 MHz, CDCl_3)

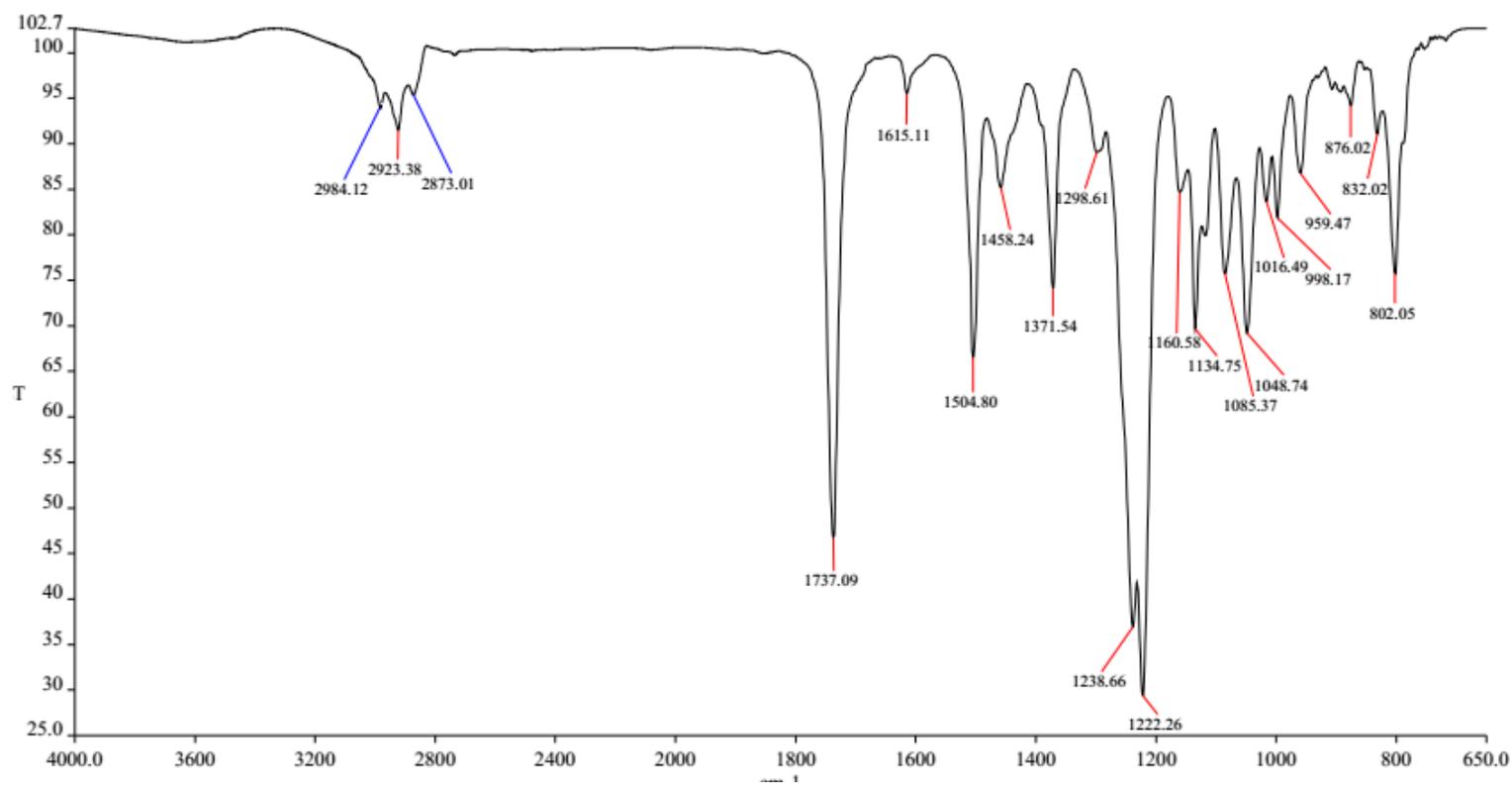
RMN ^{13}C de *rac*-**3b** (75 MHz, CDCl_3)

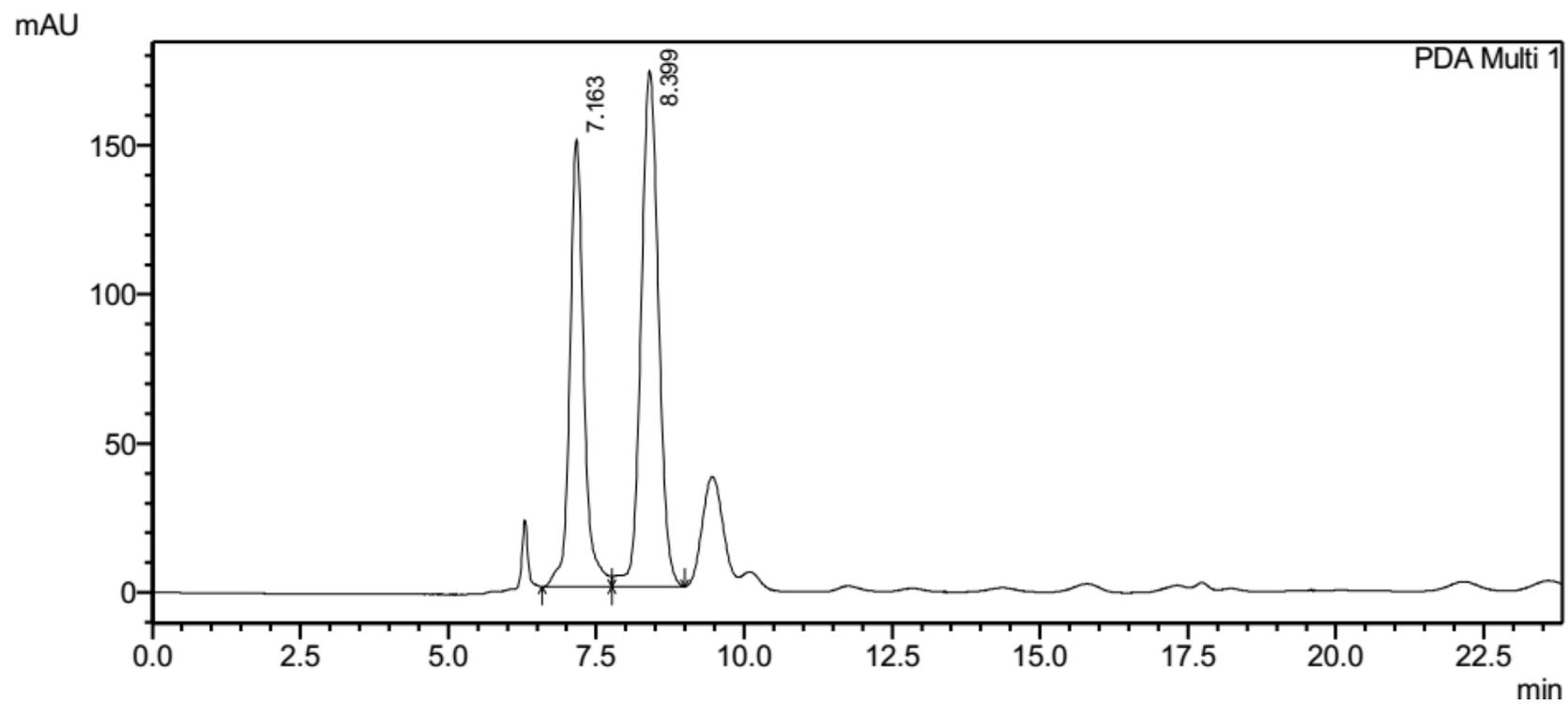
Espectro infravermelho **3b**

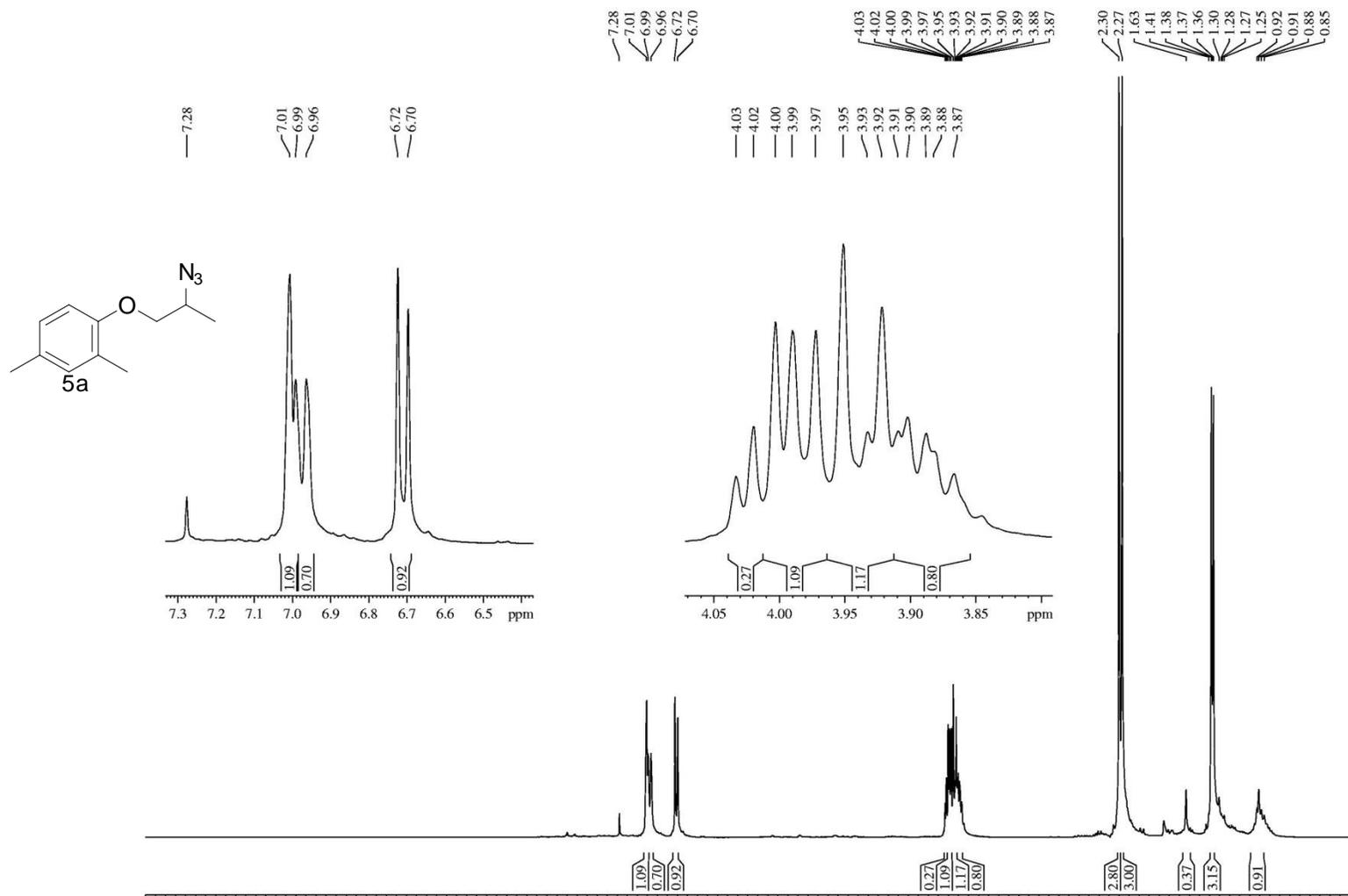
Cromatograma obtido por CLAE do *rac-3b*.

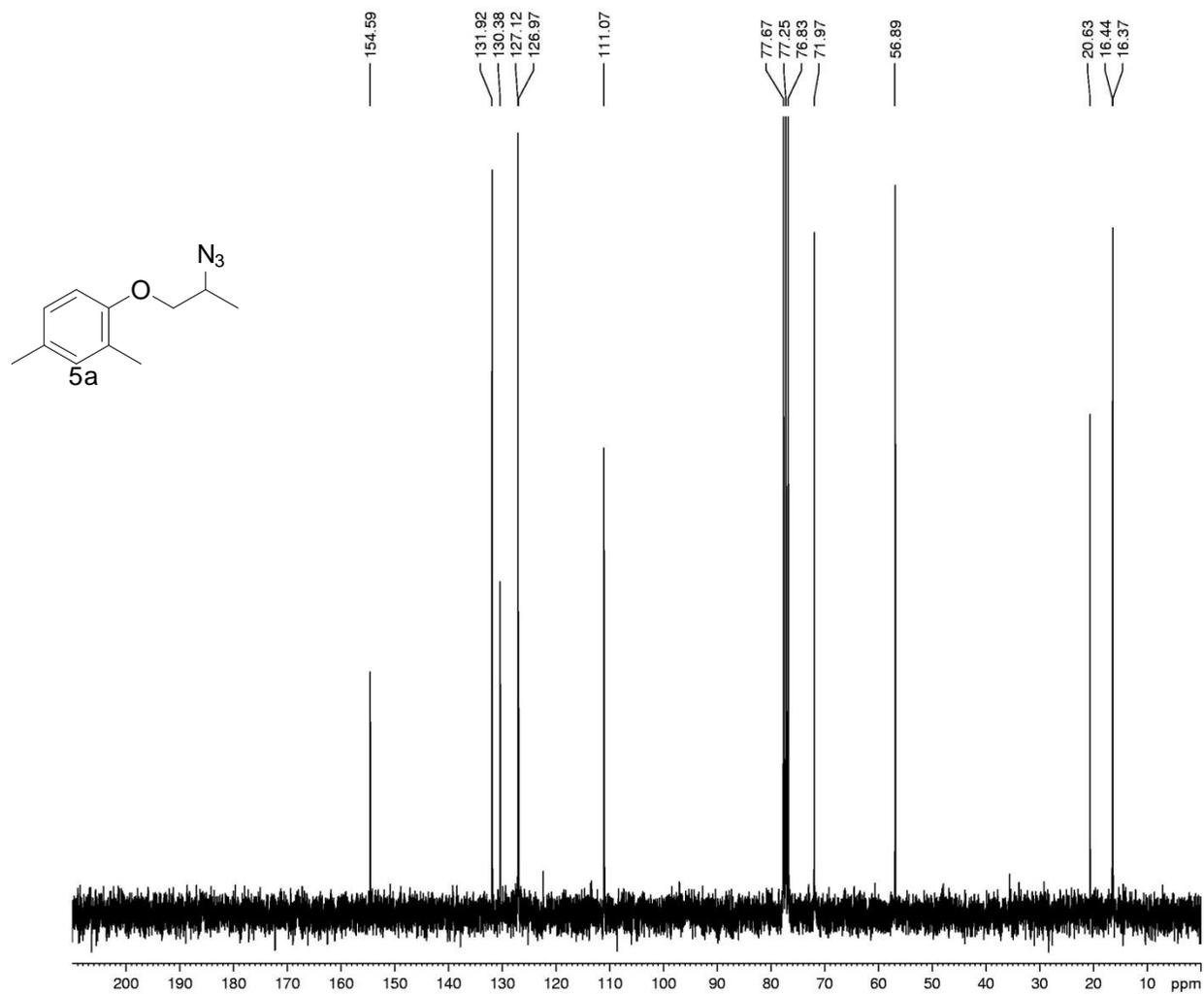
RMN ^1H de *rac*-**4b** (300 MHz, CDCl_3)

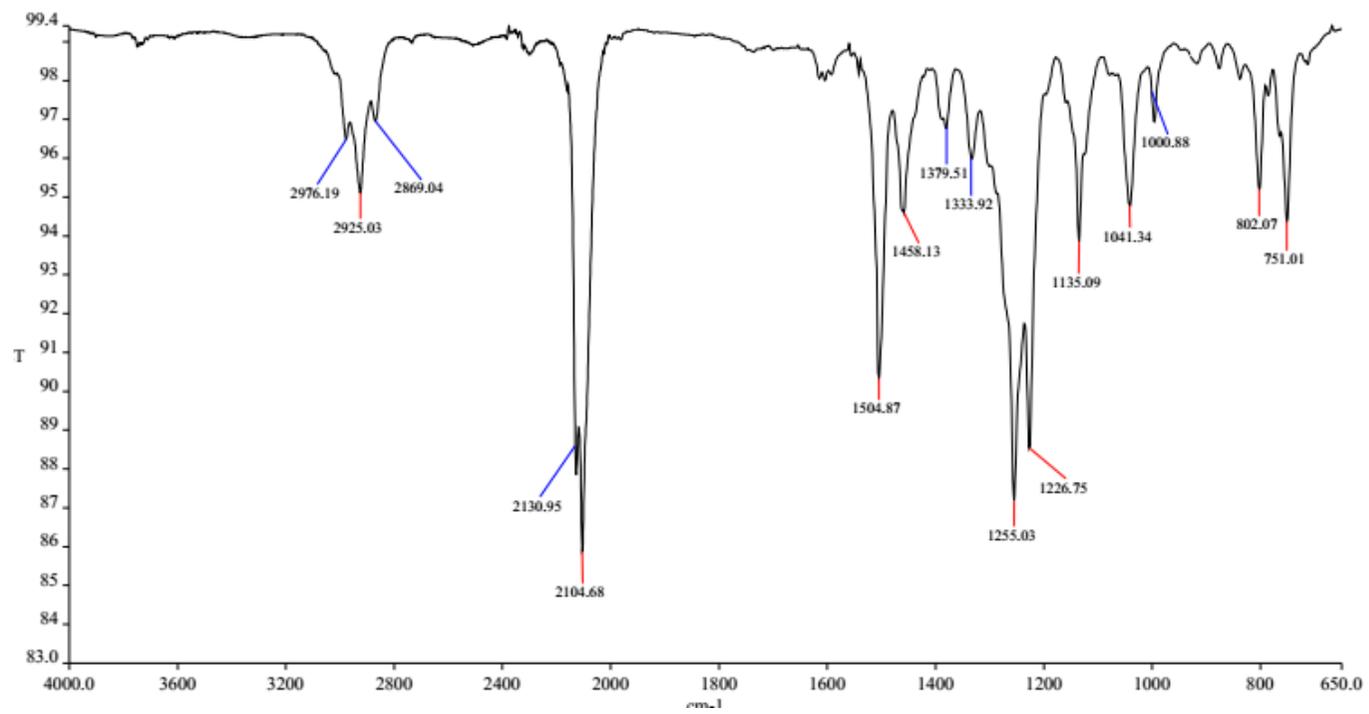
RMN ^{13}C de *rac*-**4b** (75 MHz, CDCl_3)

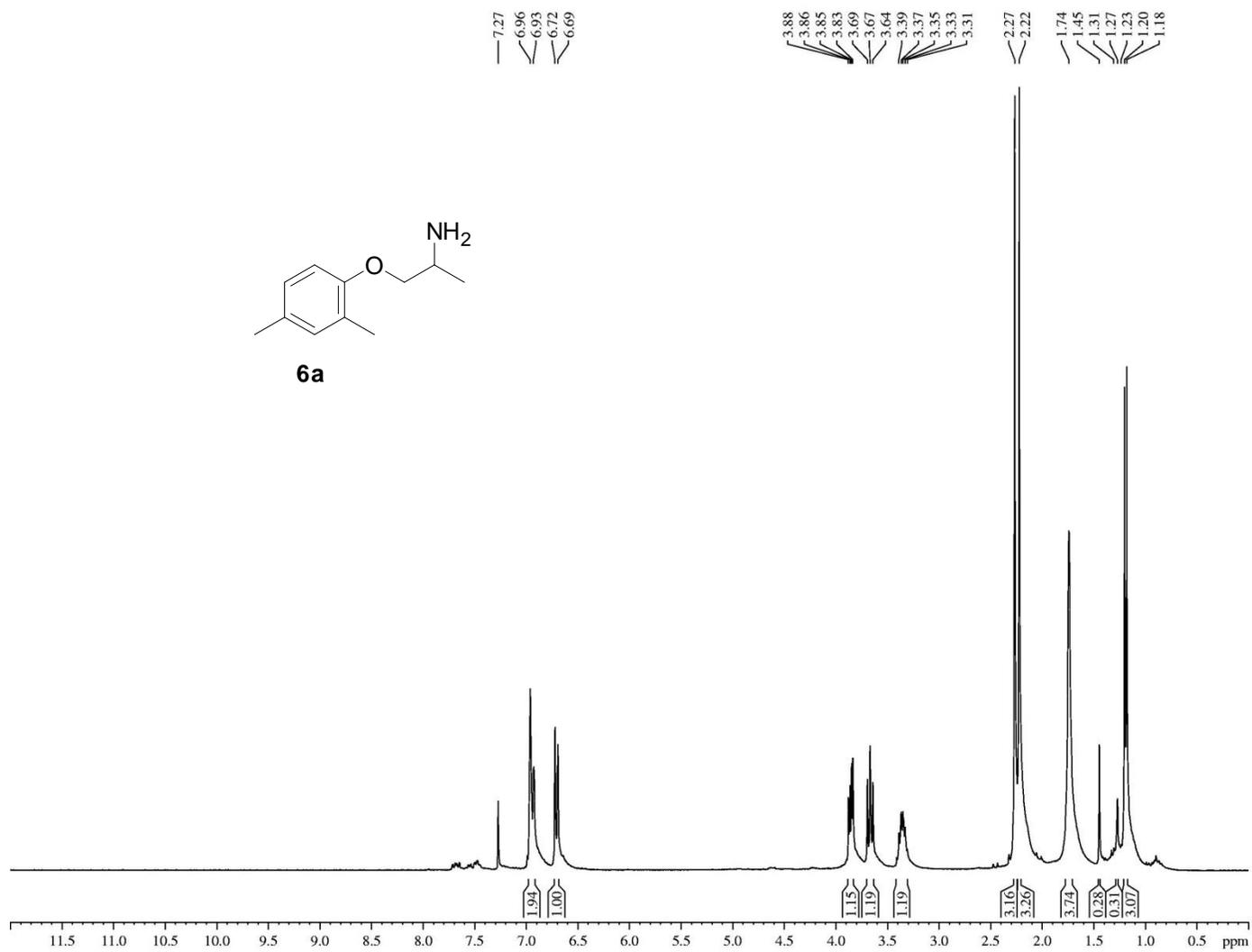
Espectro infravermelho **4b**

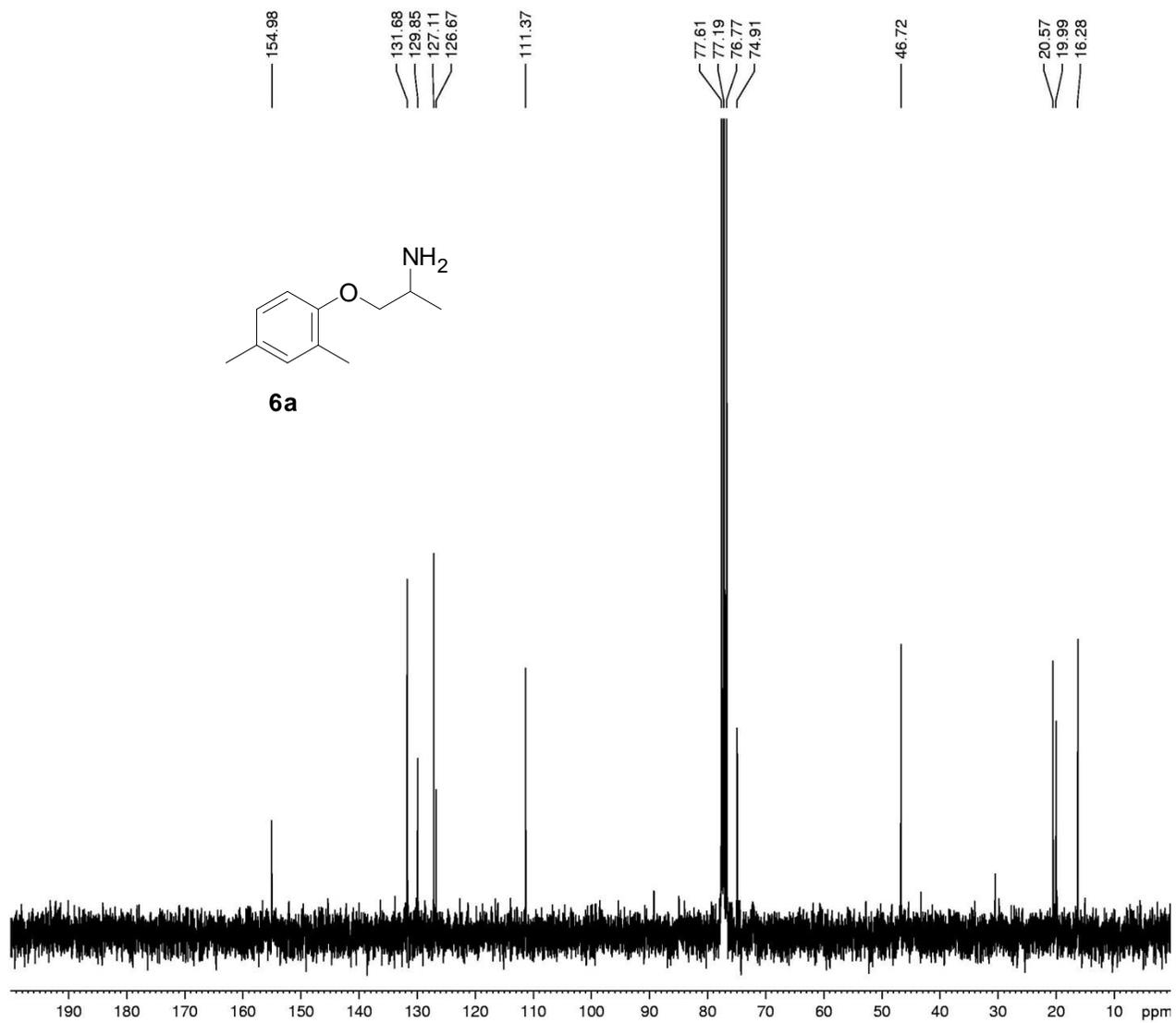
Cromatograma obtido por CLAE do *rac*- 4b

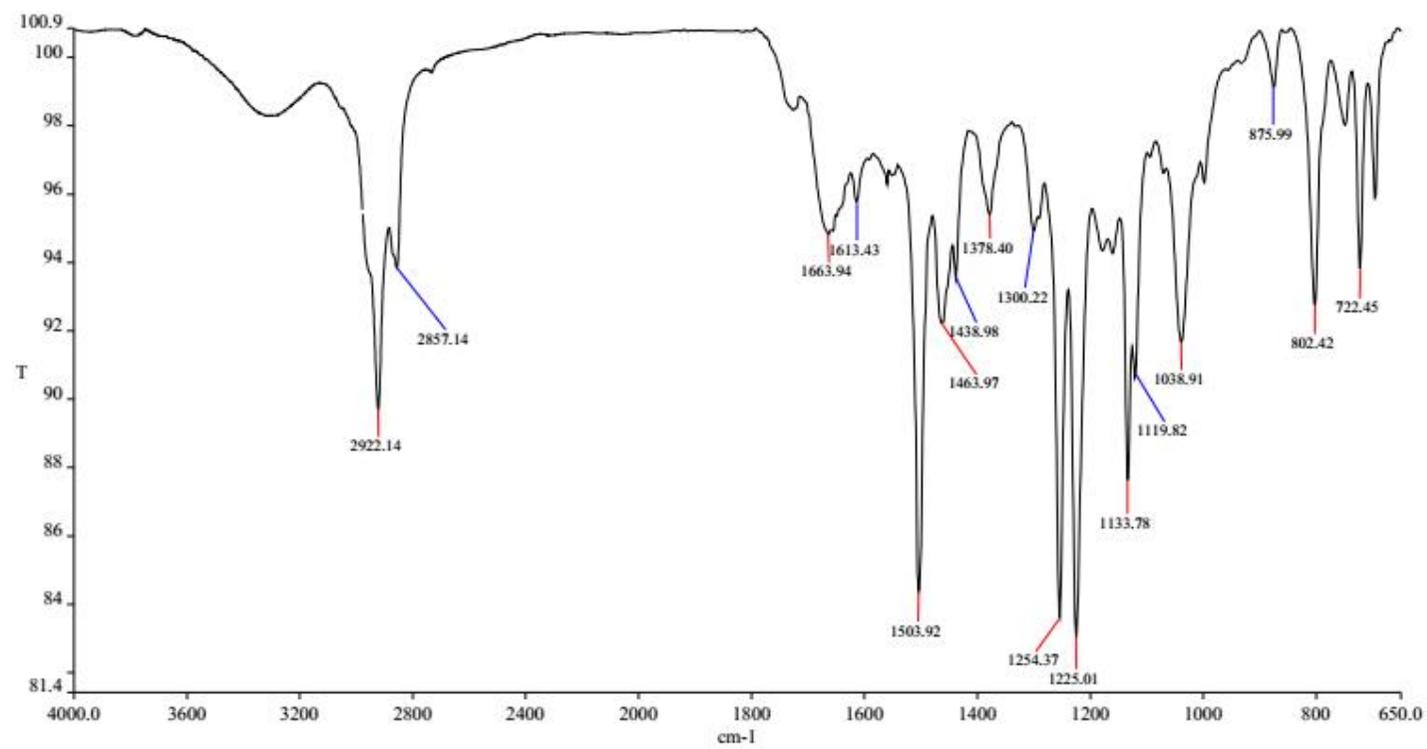
RMN ^1H de *rac*-**5b** (300 MHz, CDCl_3)

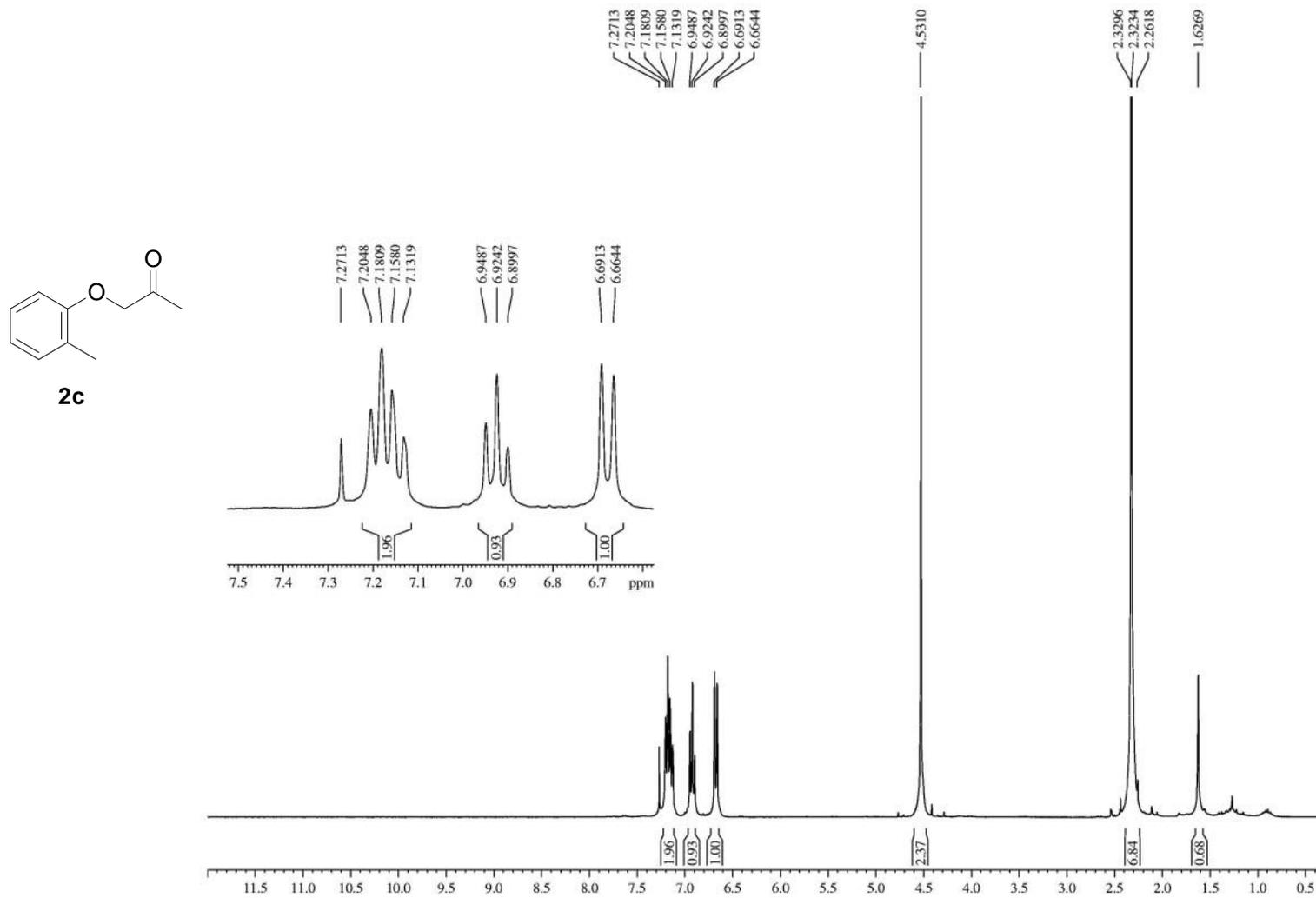
RMN ^{13}C de *rac*-**5b** (75 MHz, CDCl_3)

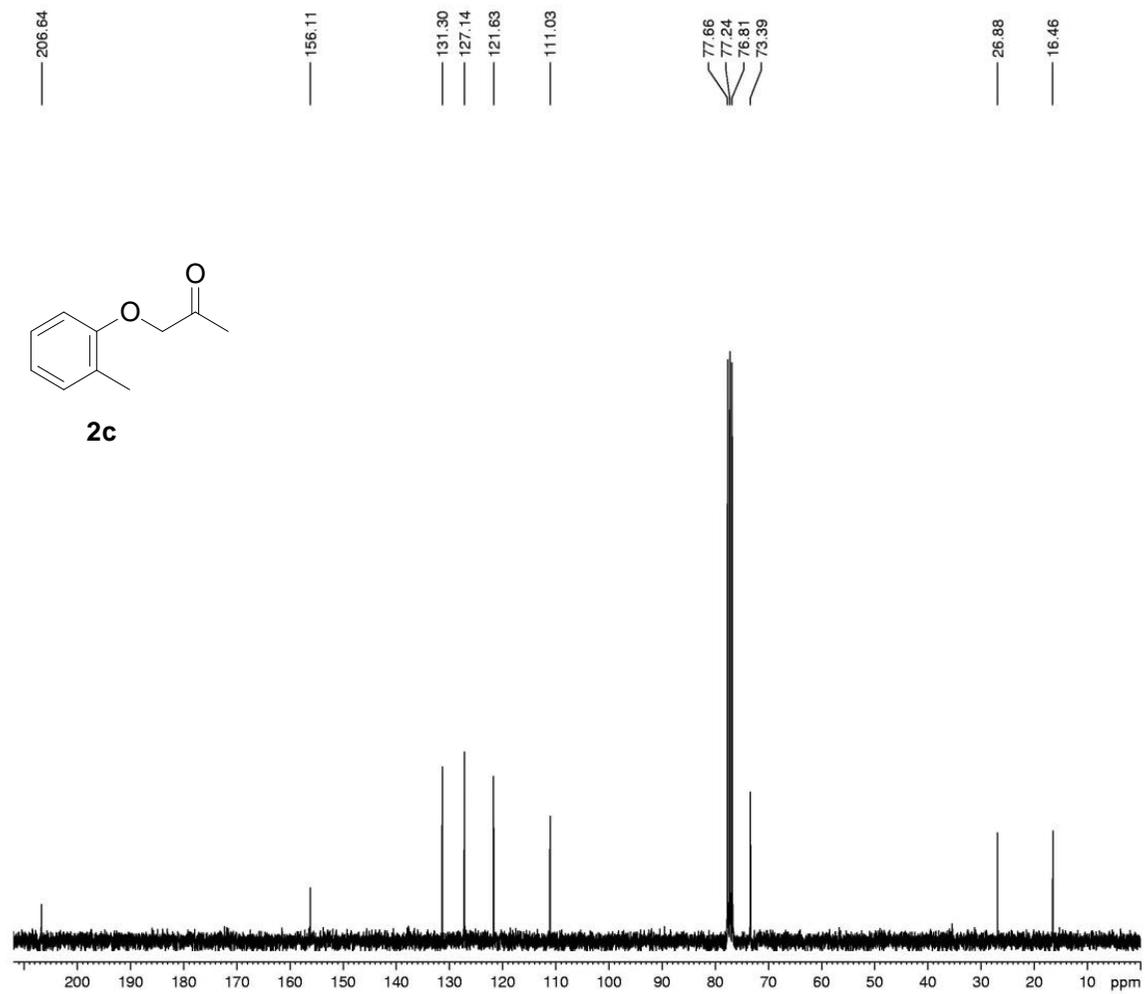
Espectro infravermelho **5b**

RMN ^1H de *rac*-**6b** (300 MHz, CDCl_3)

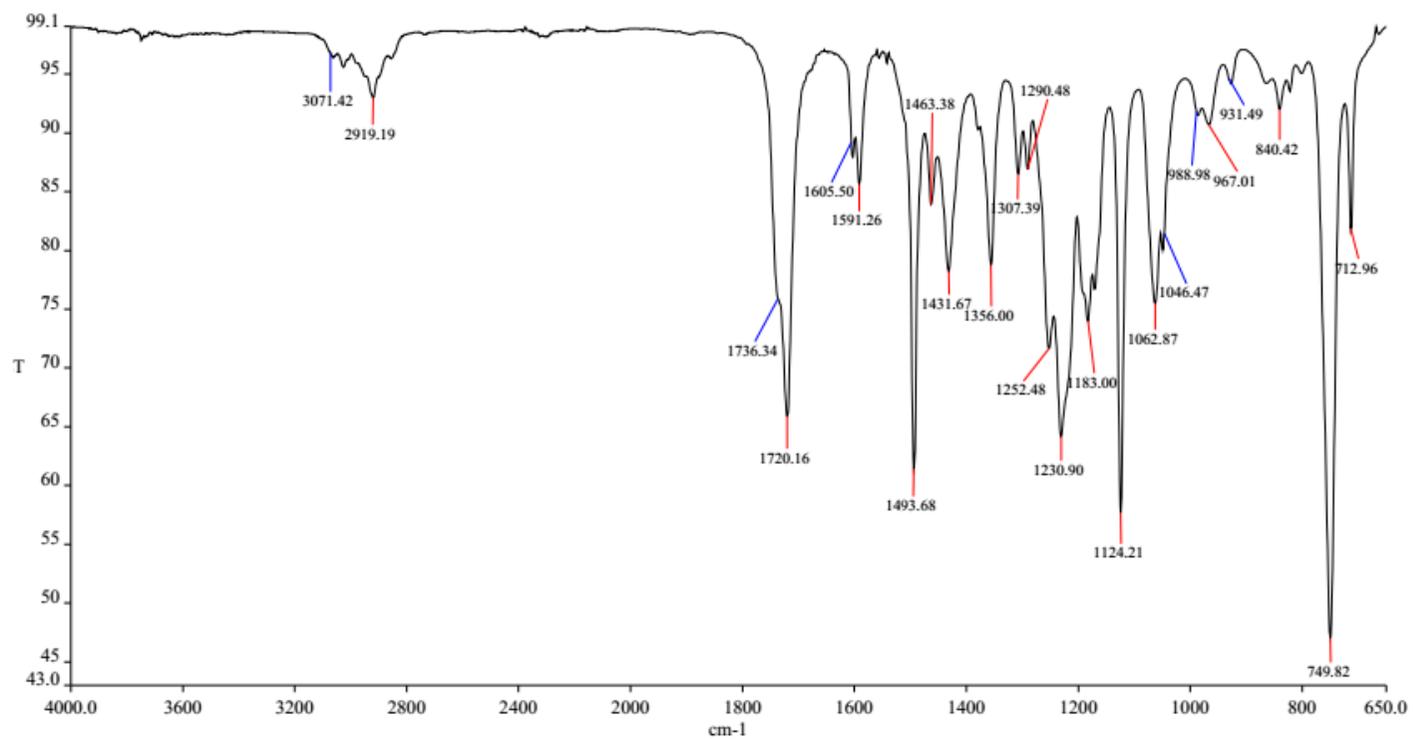
RMN ^{13}C de *rac*-**6b** (75 MHz, CDCl_3)

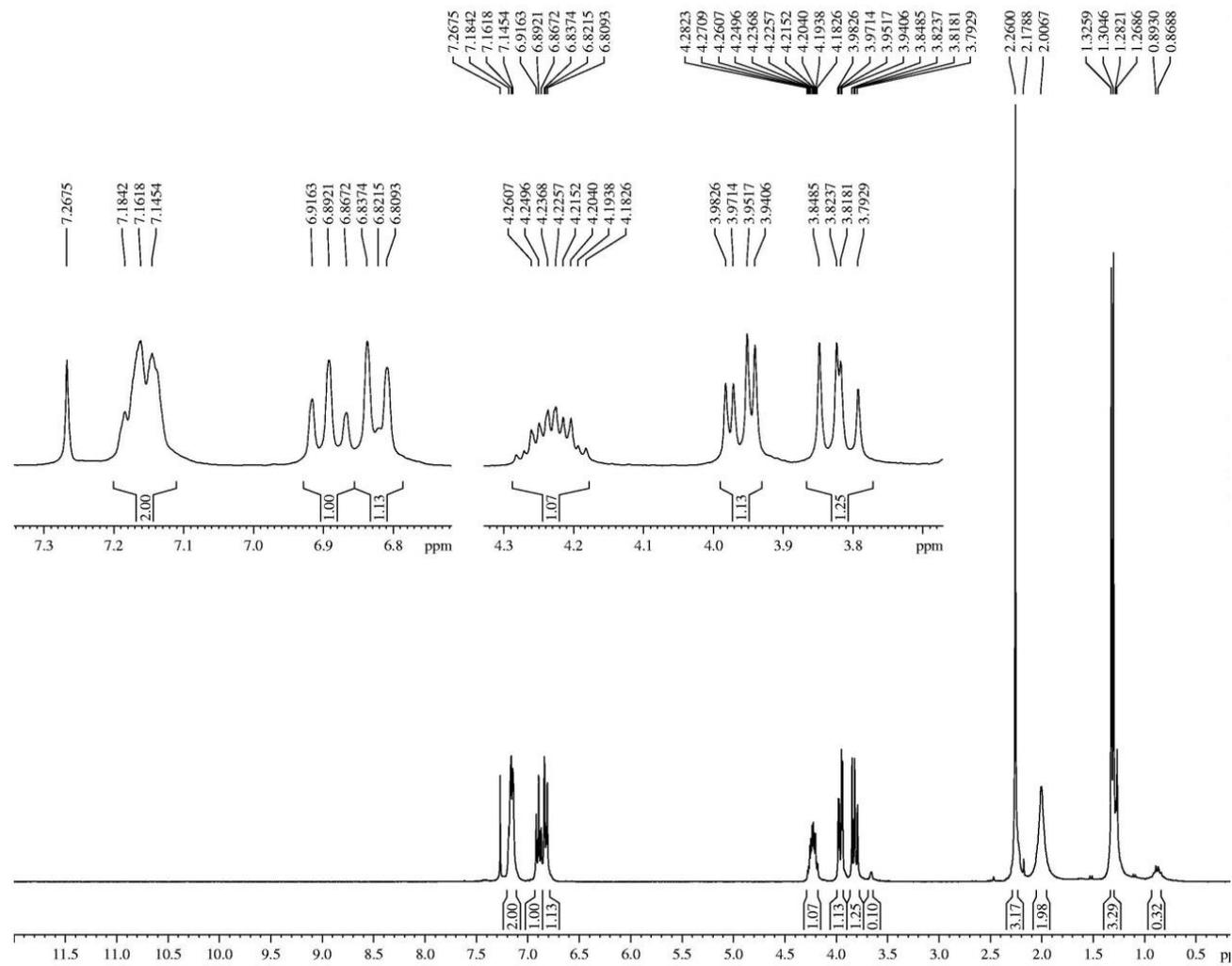
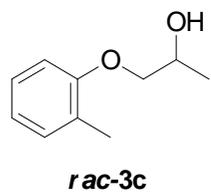
Espectro infravermelho **6b**

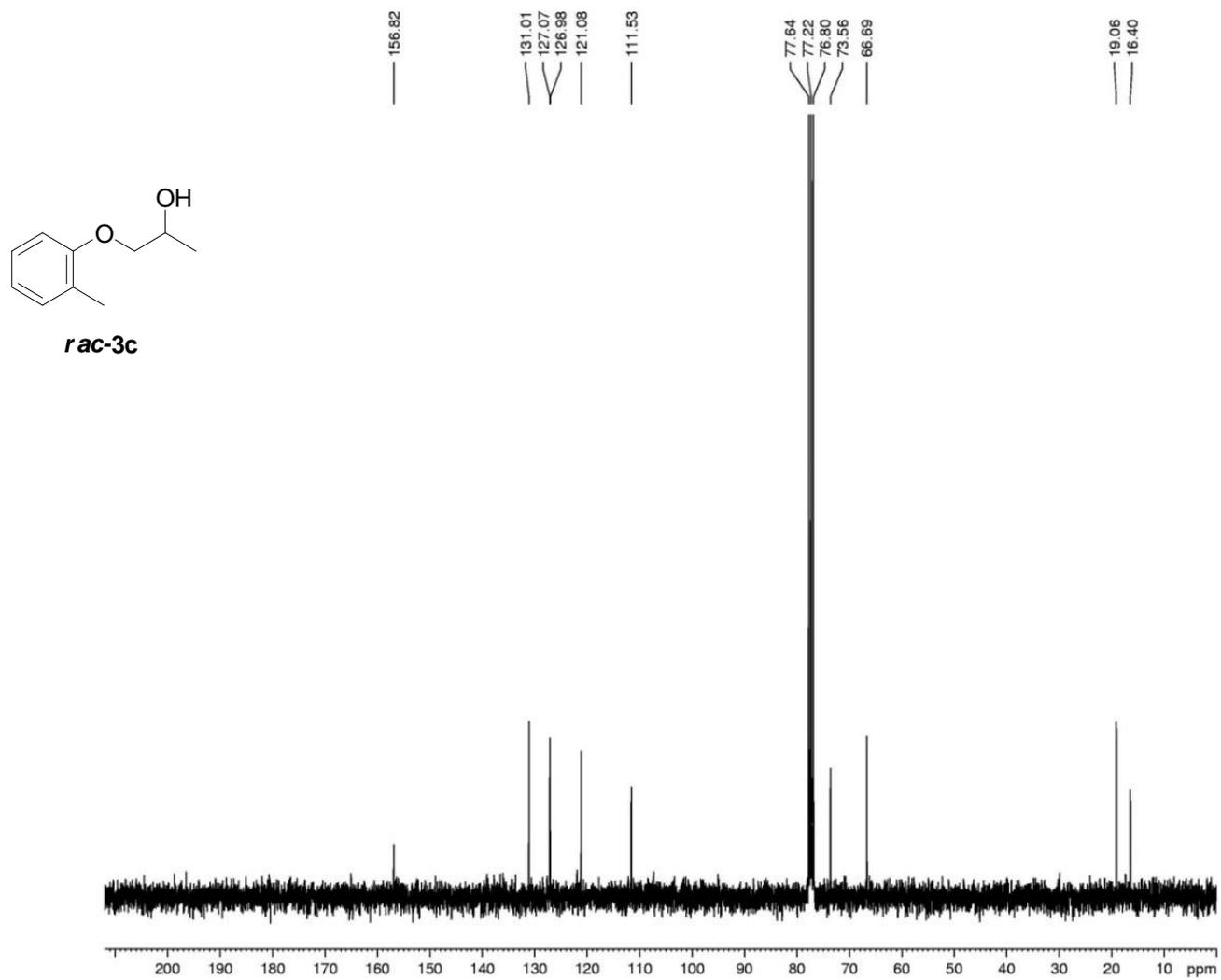
RMN ^1H de **2c** (300 MHz, CDCl_3)

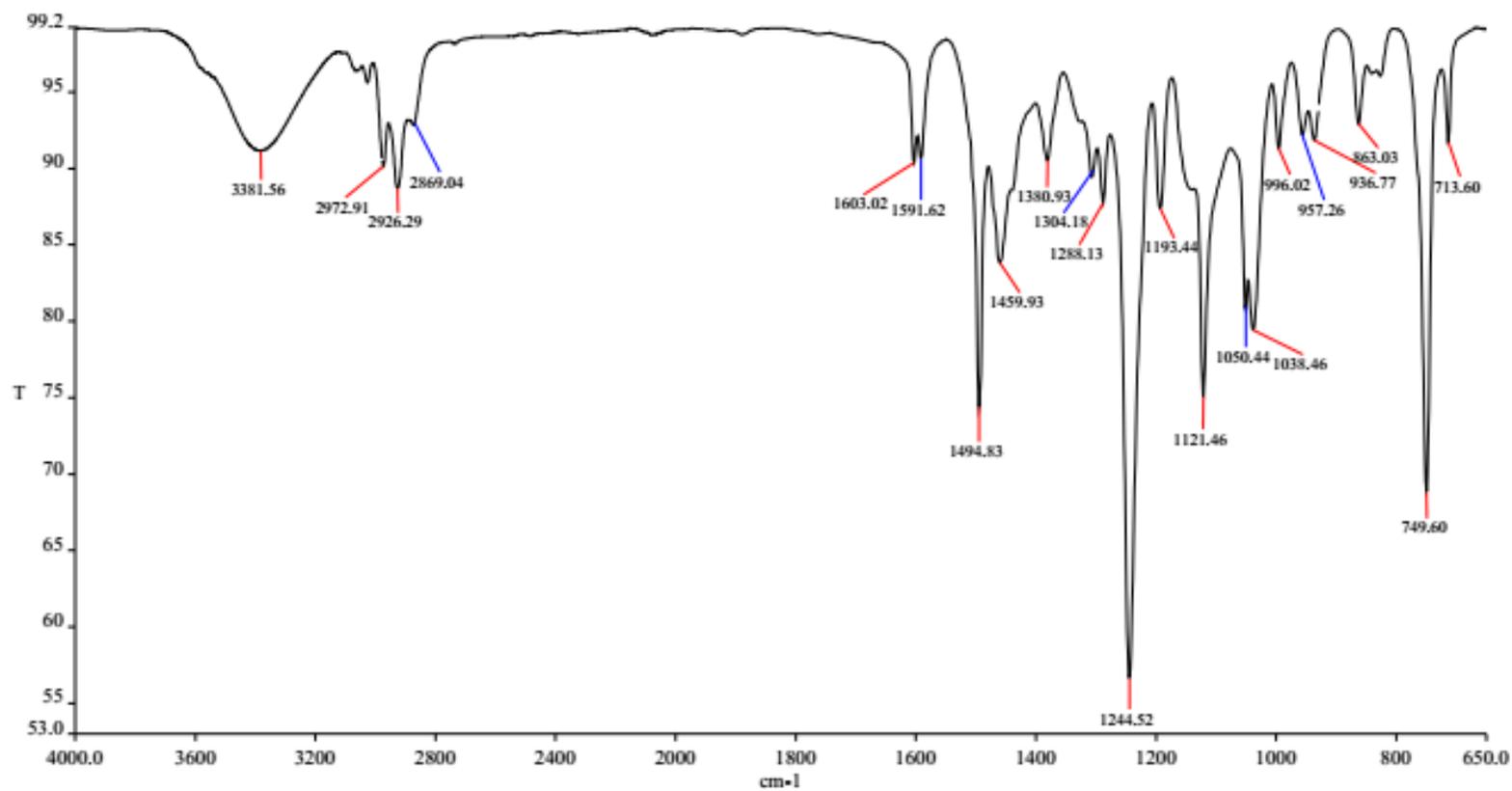
RMN ^{13}C de **2c** (75 MHz, CDCl_3)

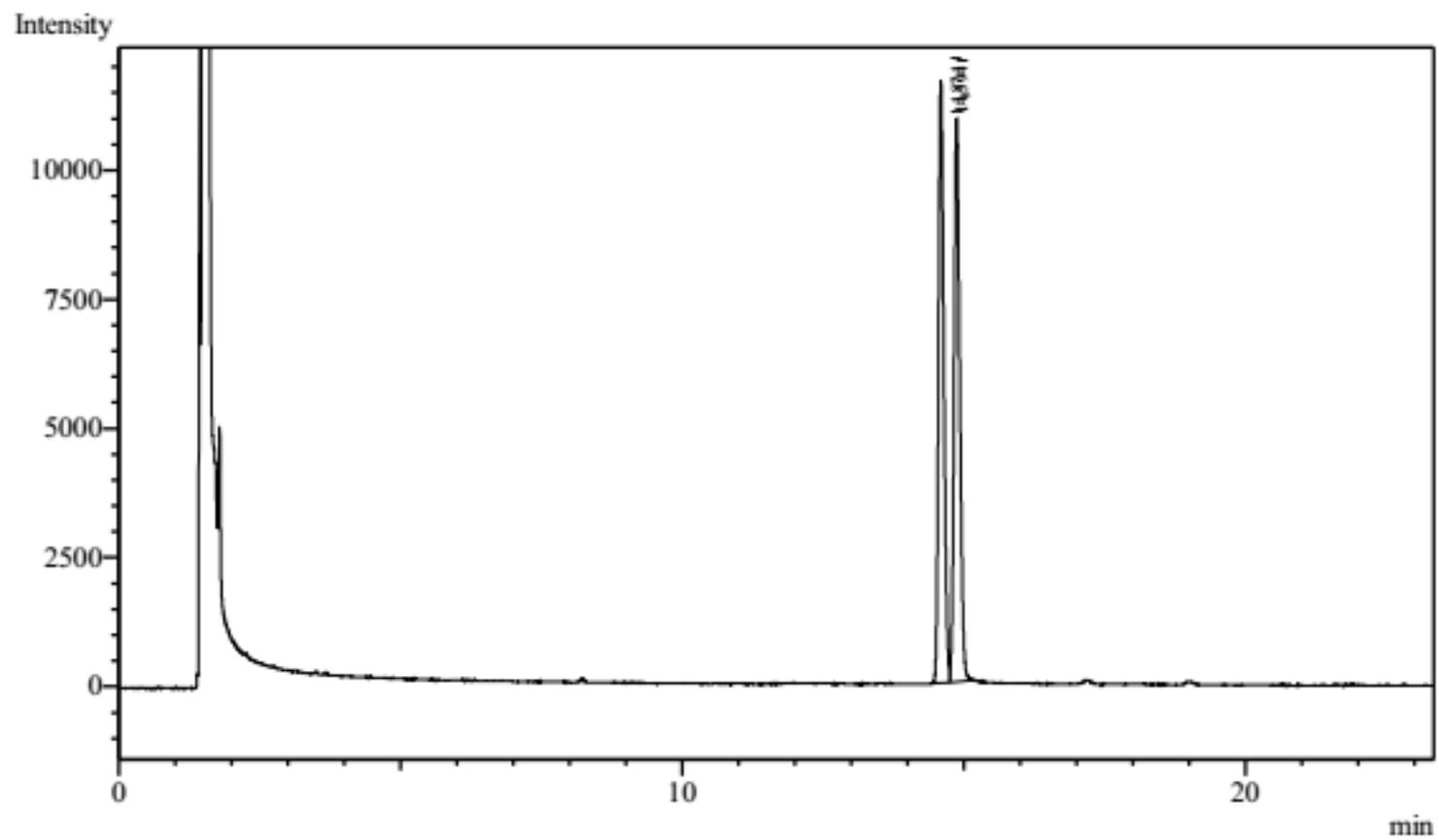
Espectro infravermelho 2c

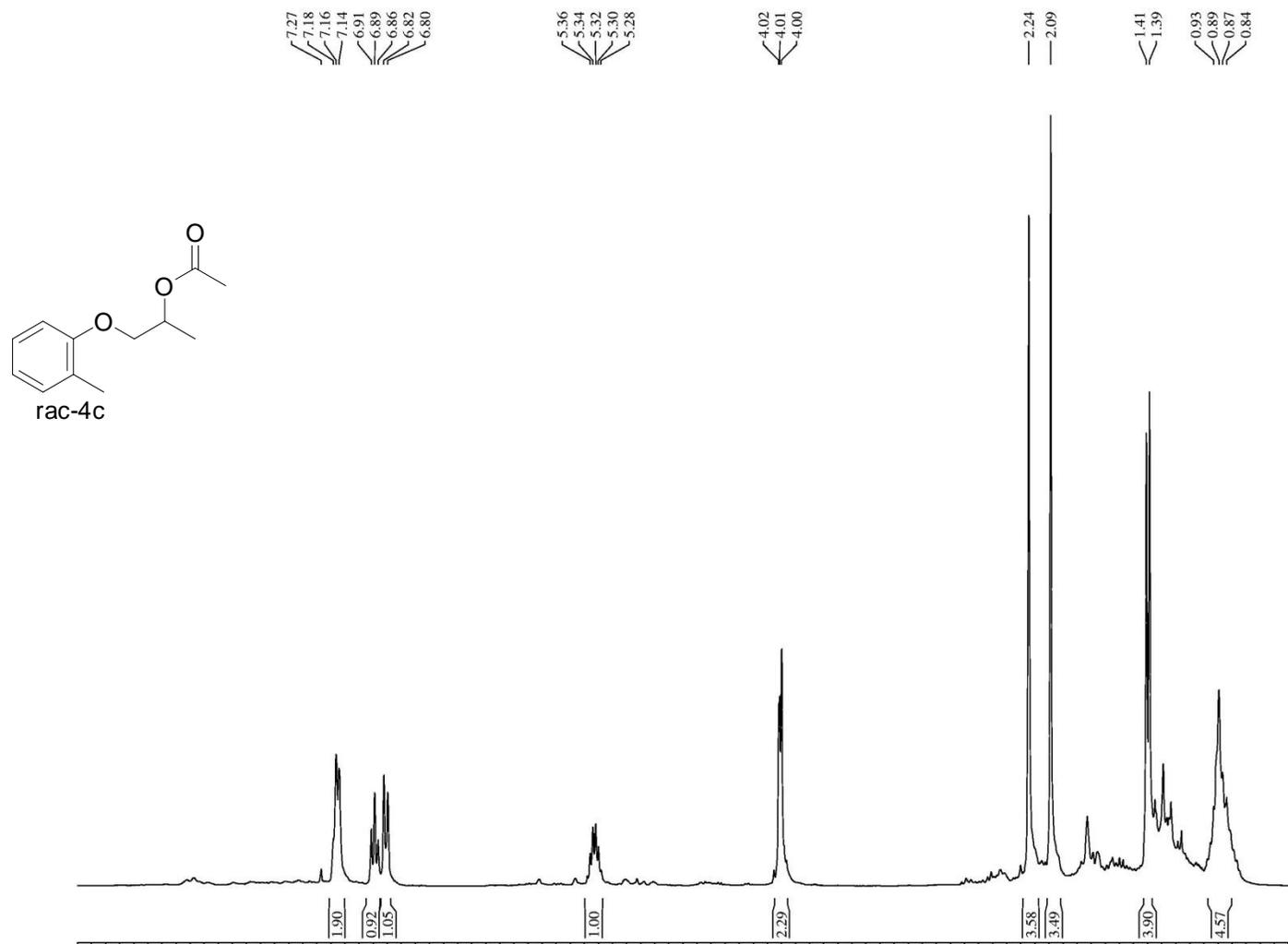


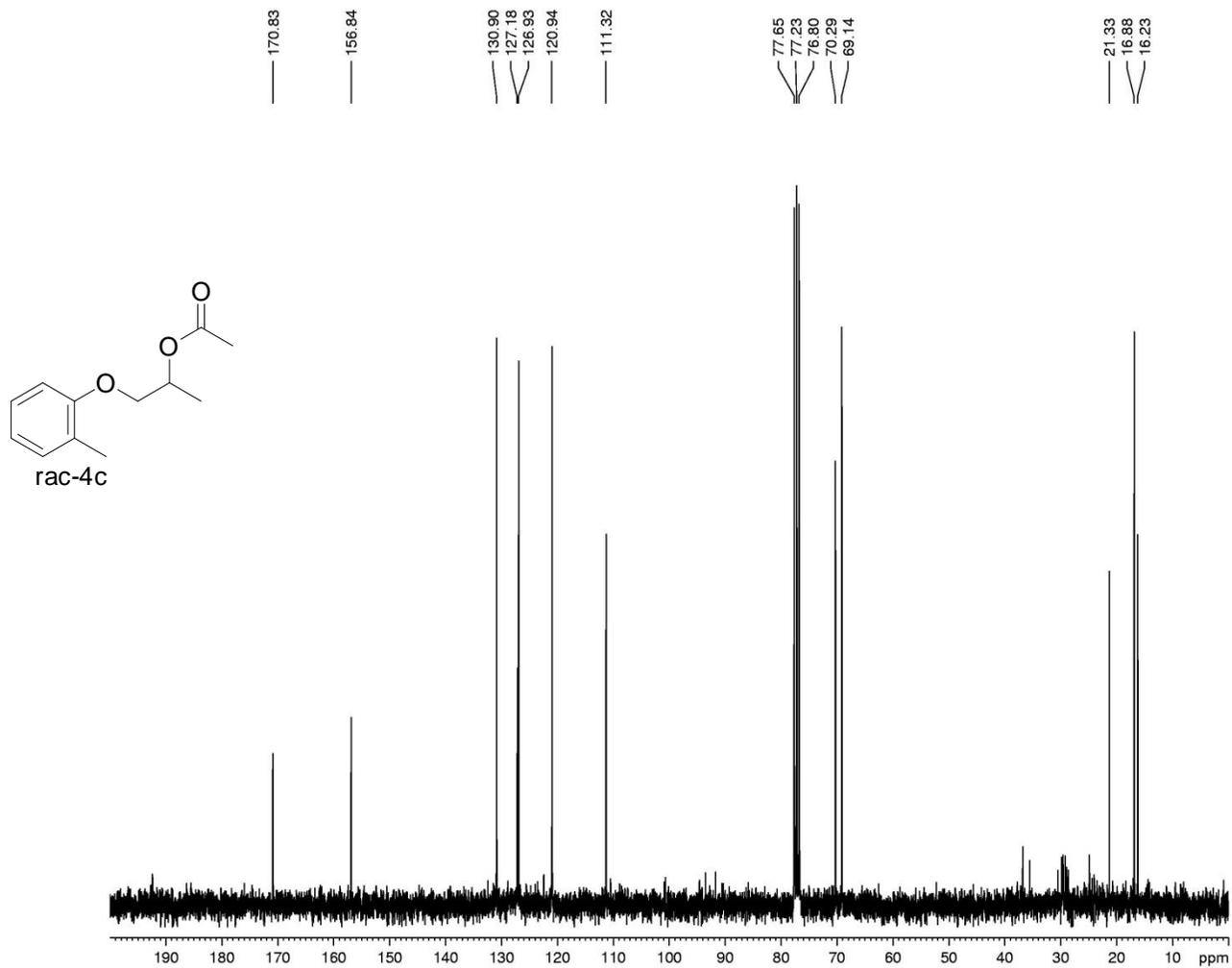
RMN ^1H de *rac*-**3c** (300 MHz, CDCl_3)

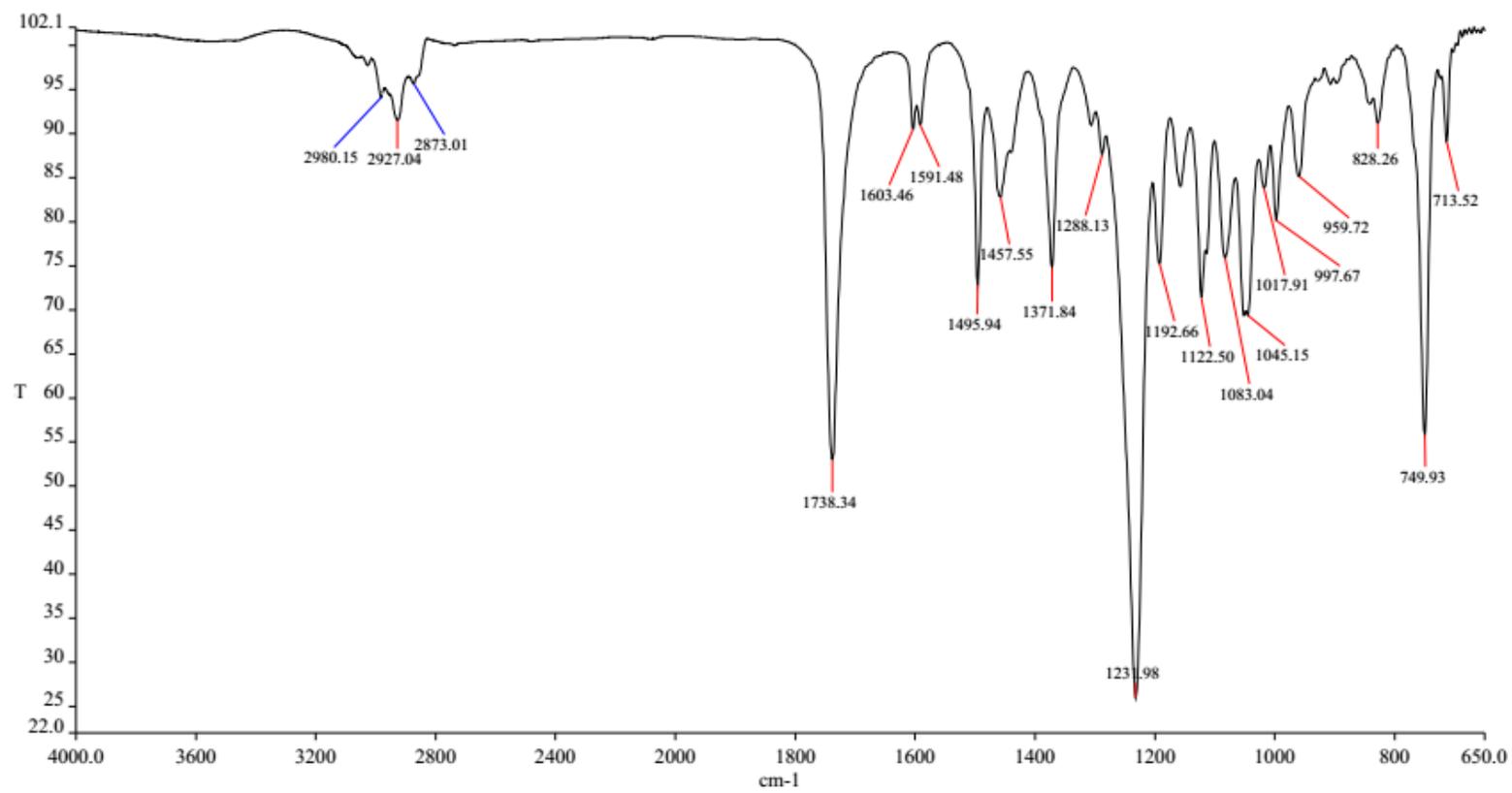
RMN ^{13}C de **rac-3c** (75 MHz, CDCl_3)

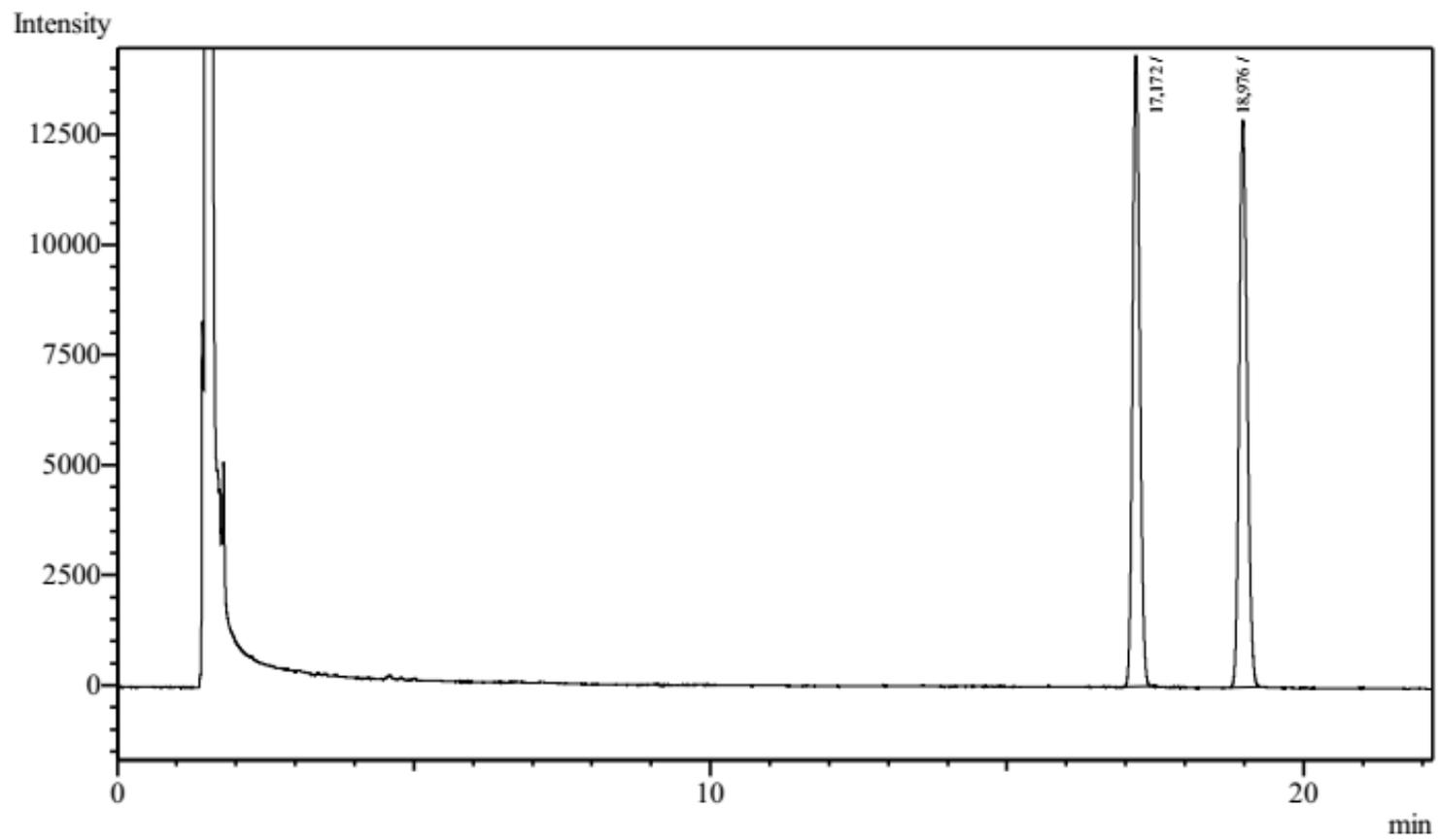
Espectro infravermelho *rac-3c*

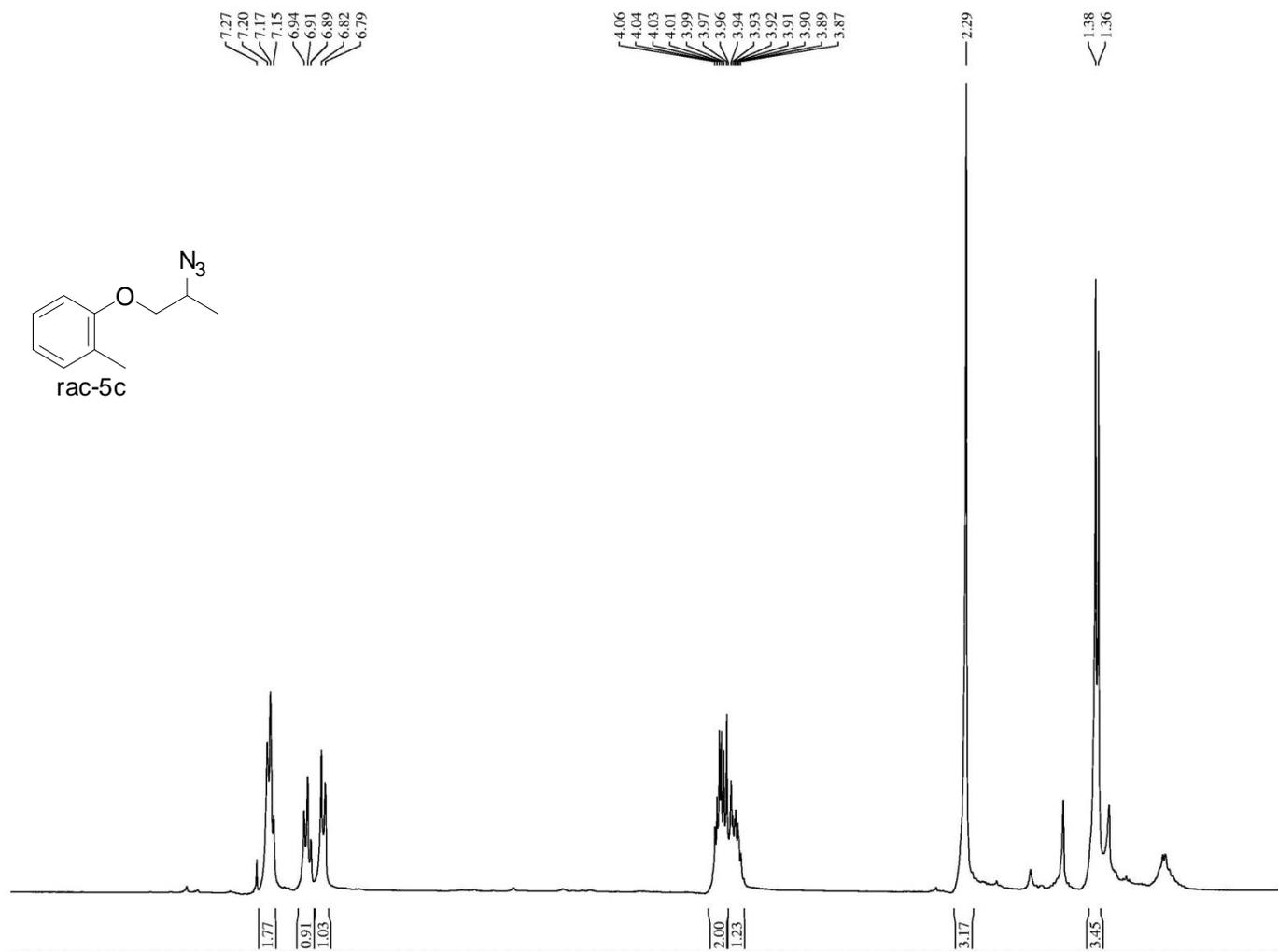
Cromatograma obtido por CG do *rac-3c*

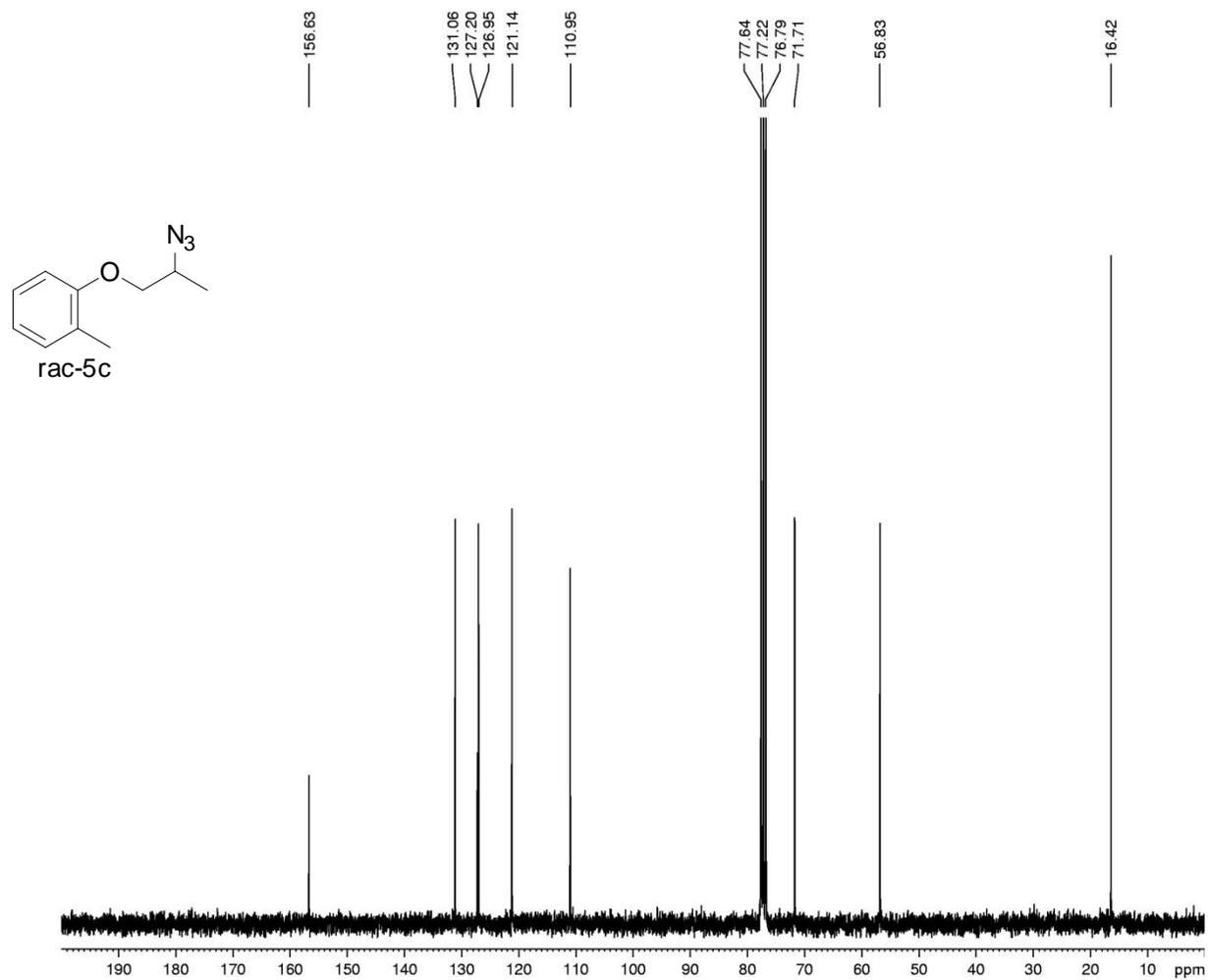
RMN¹ H de **rac-4c** (300 MHz, CDCl₃)

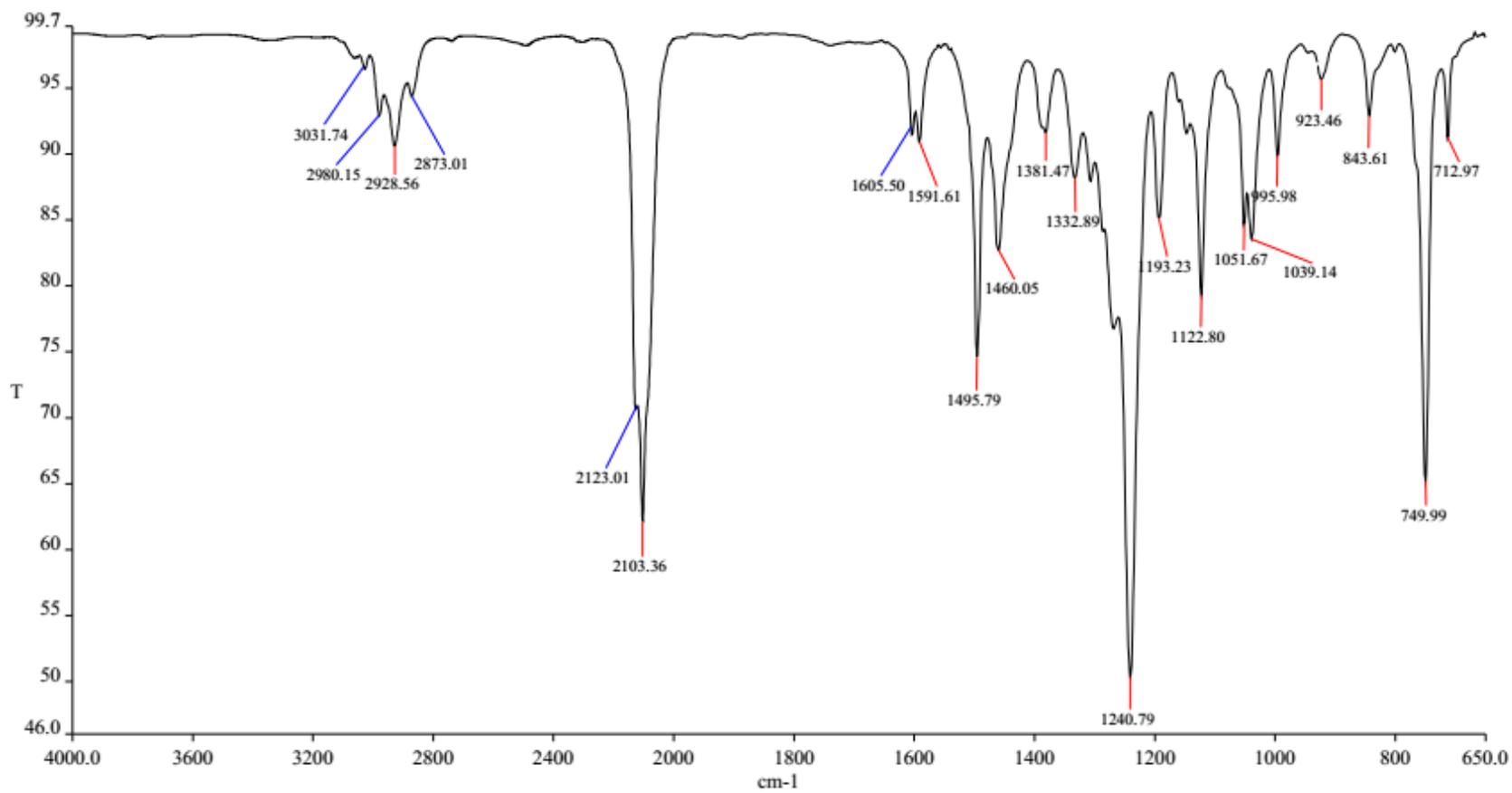
RMN ^{13}C de **rac-4c** (75 MHz, CDCl_3)

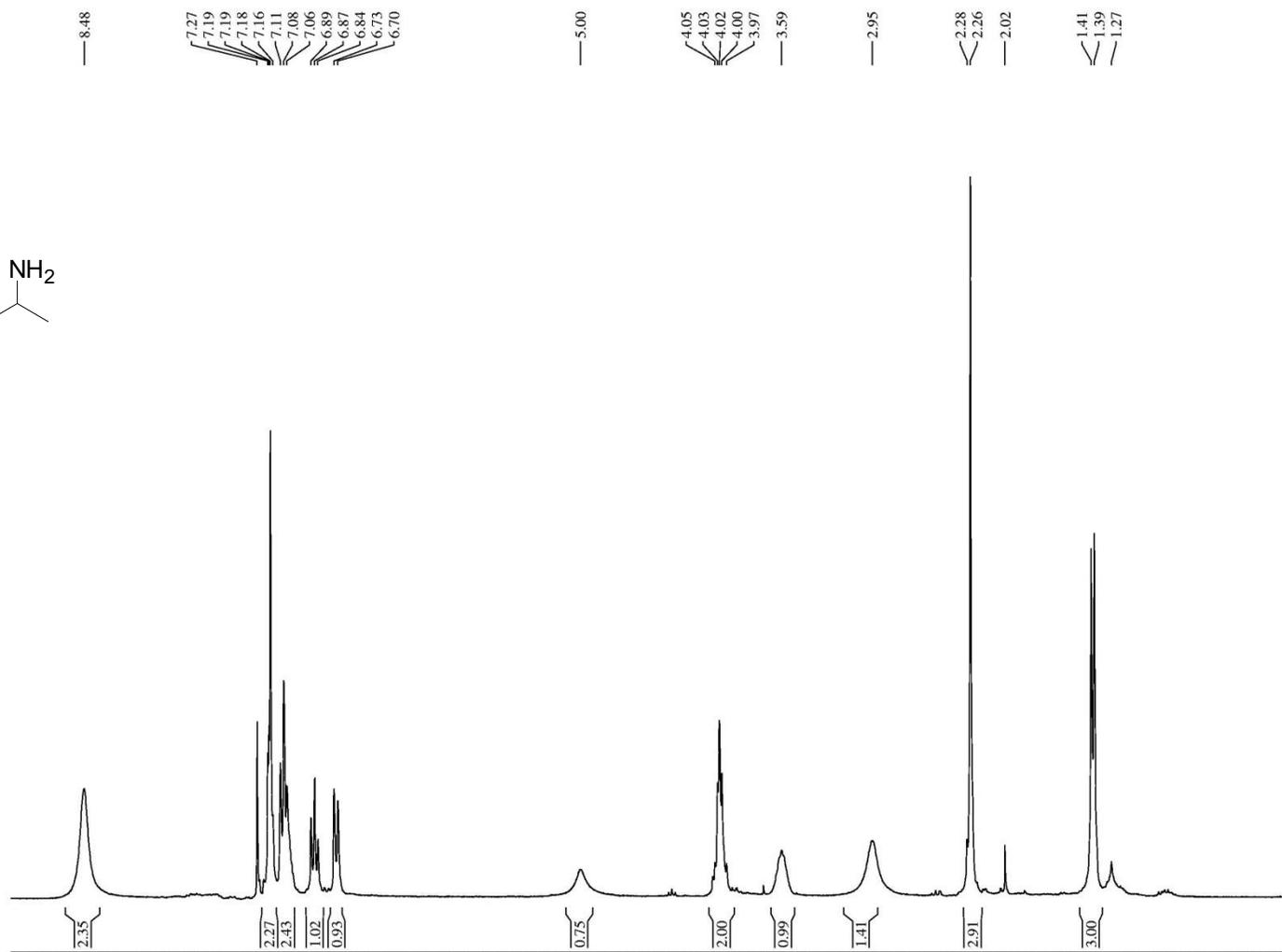
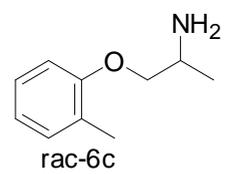
Espectro infravermelho **4c**

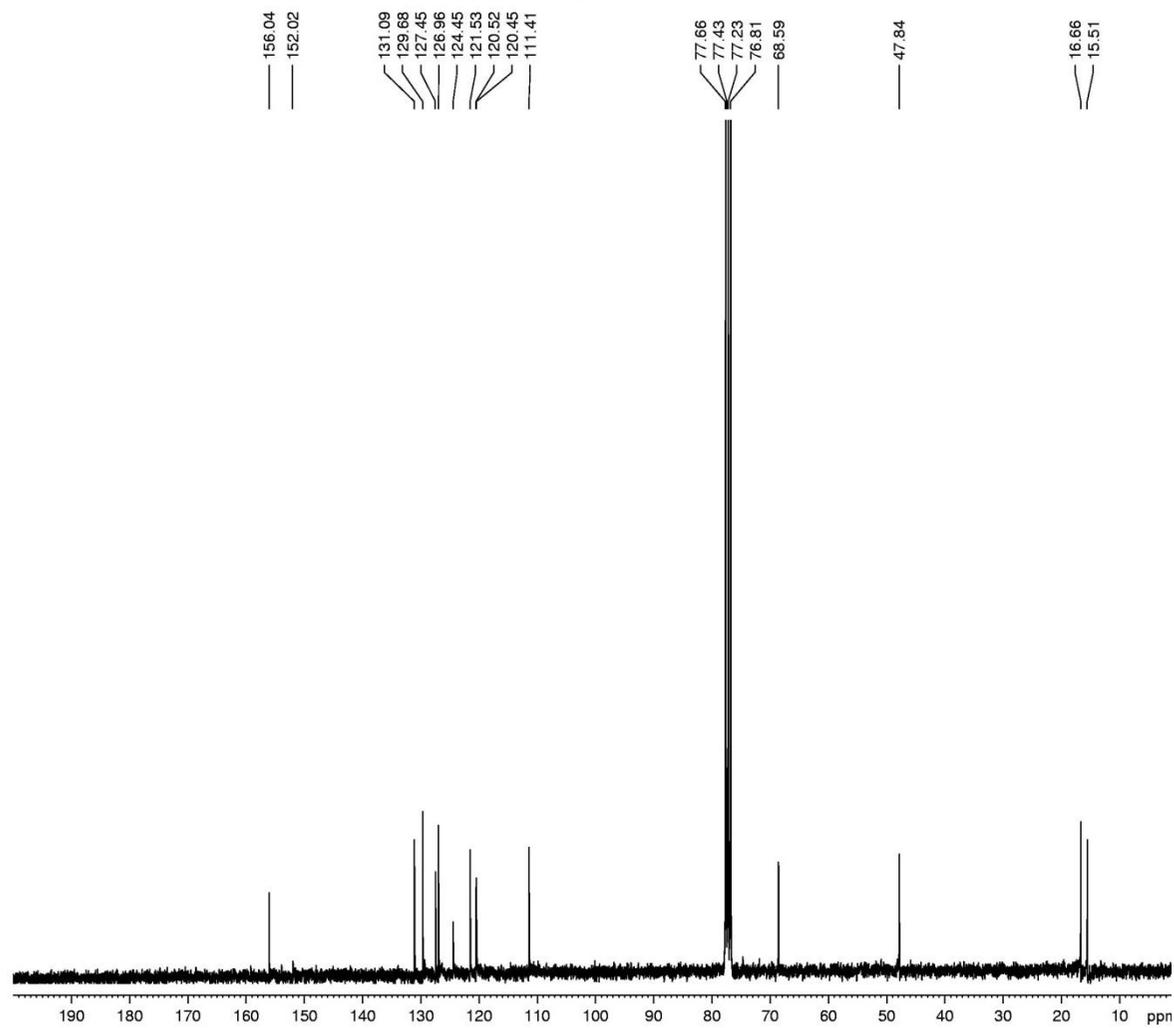
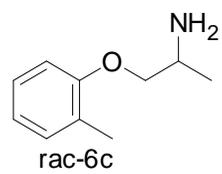
Cromatograma obtido por CG *rac-4c*

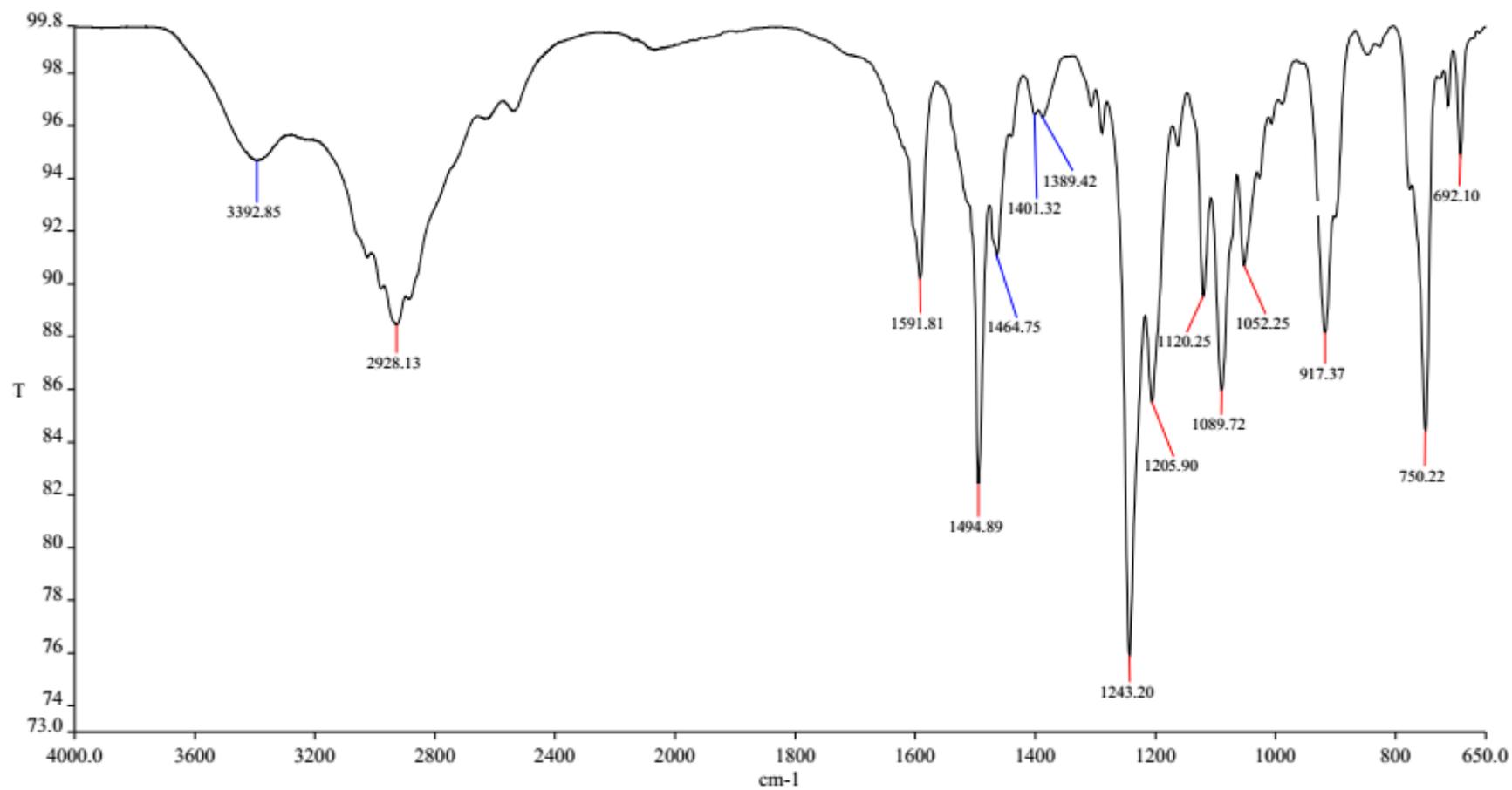
RMN ^1H de **rac-5** (300 MHz, CDCl_3)

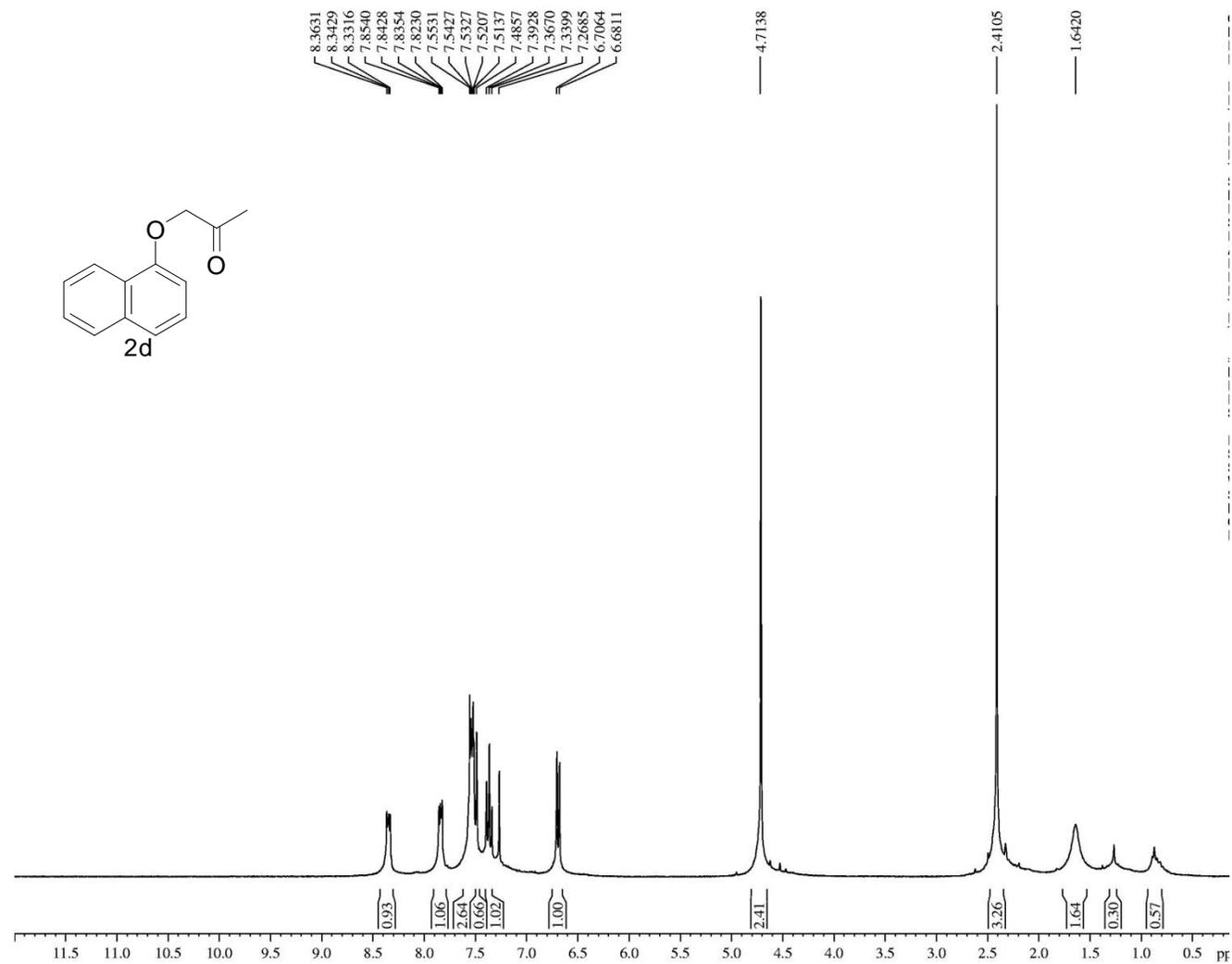
RMN ^{13}C de **rac-5c** (75 MHz, CDCl_3)

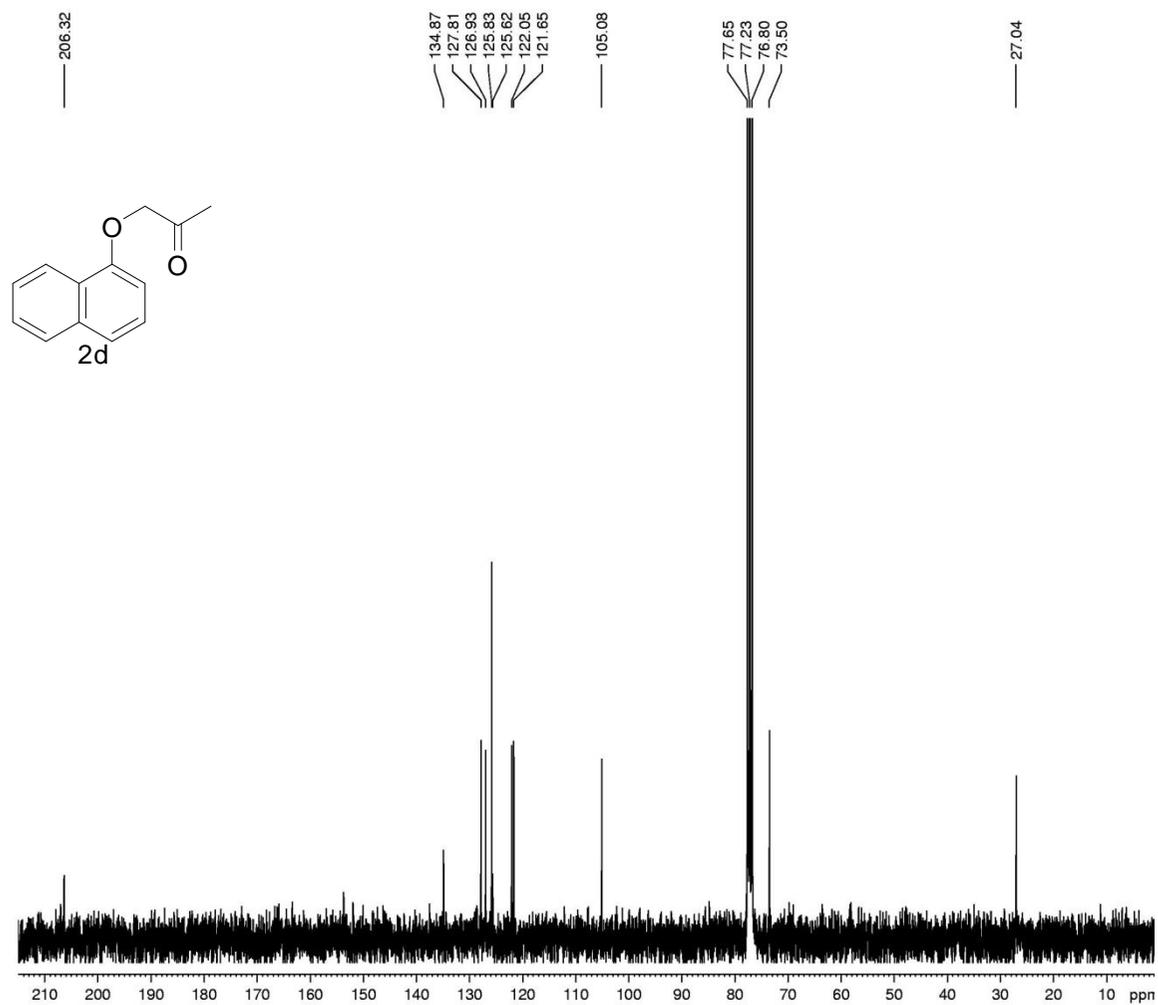
Espectro infravermelho **5c**

RMN ^1H de **rac-6c** (300 MHz, CDCl_3)

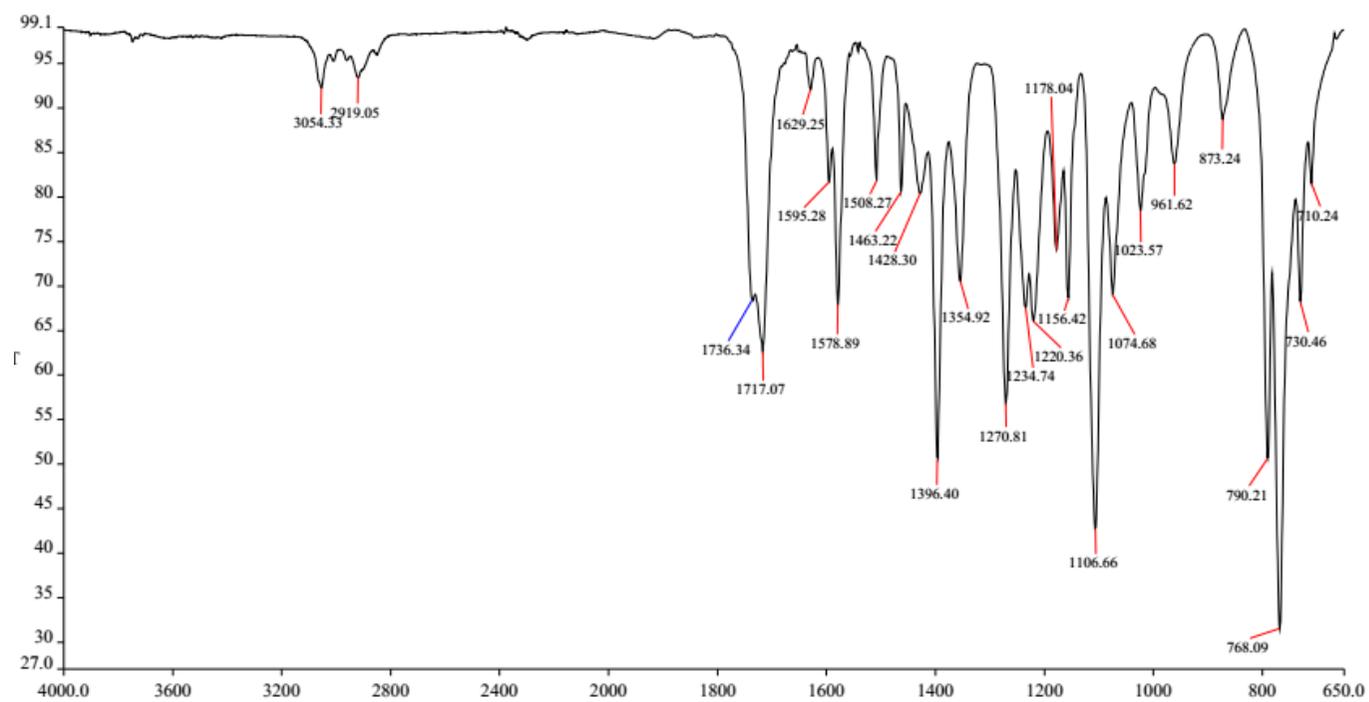
RMN ^{13}C de **rac-6c** (75 MHz, CDCl_3)

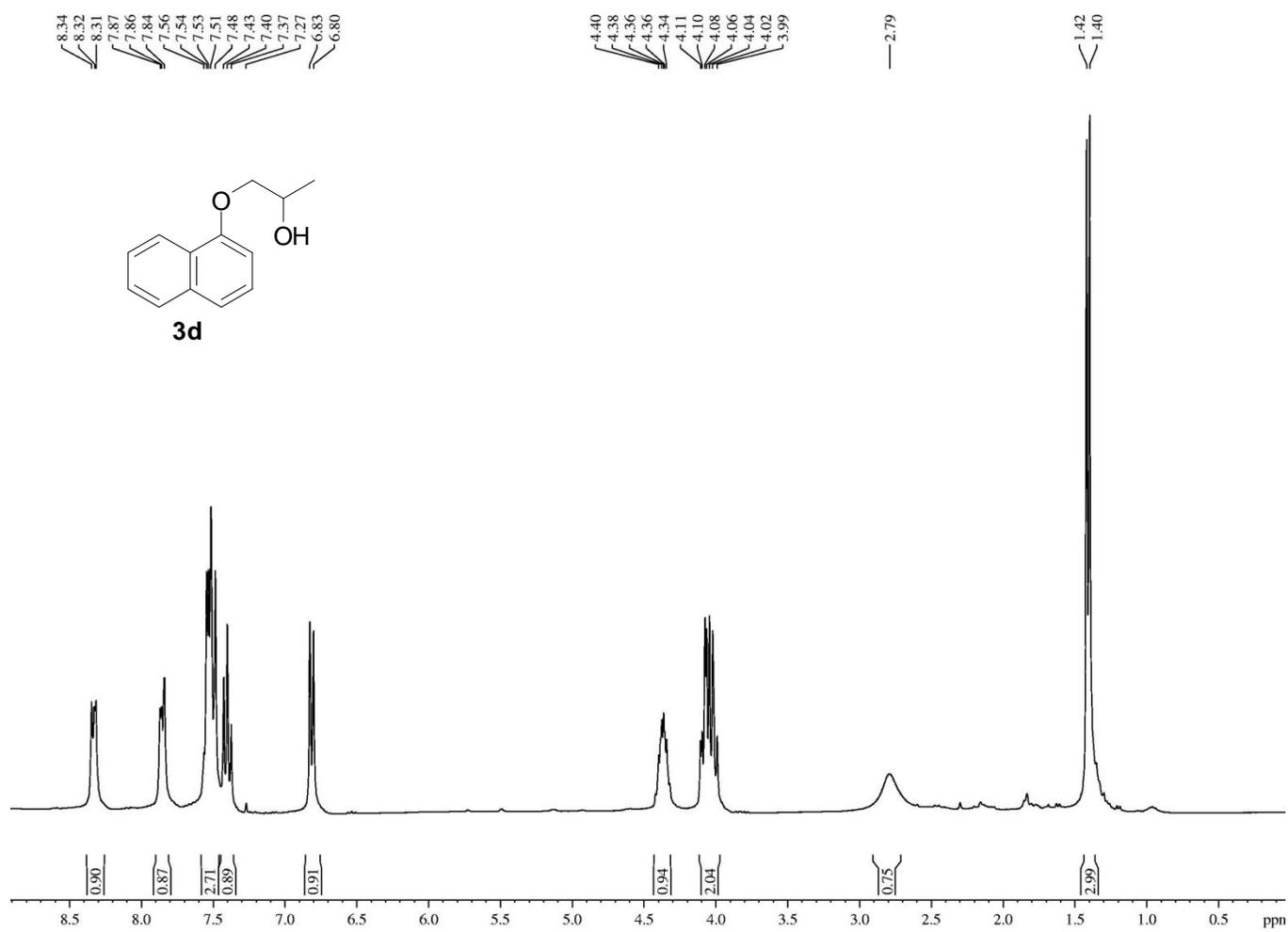
Espectro infravermelho **6c**

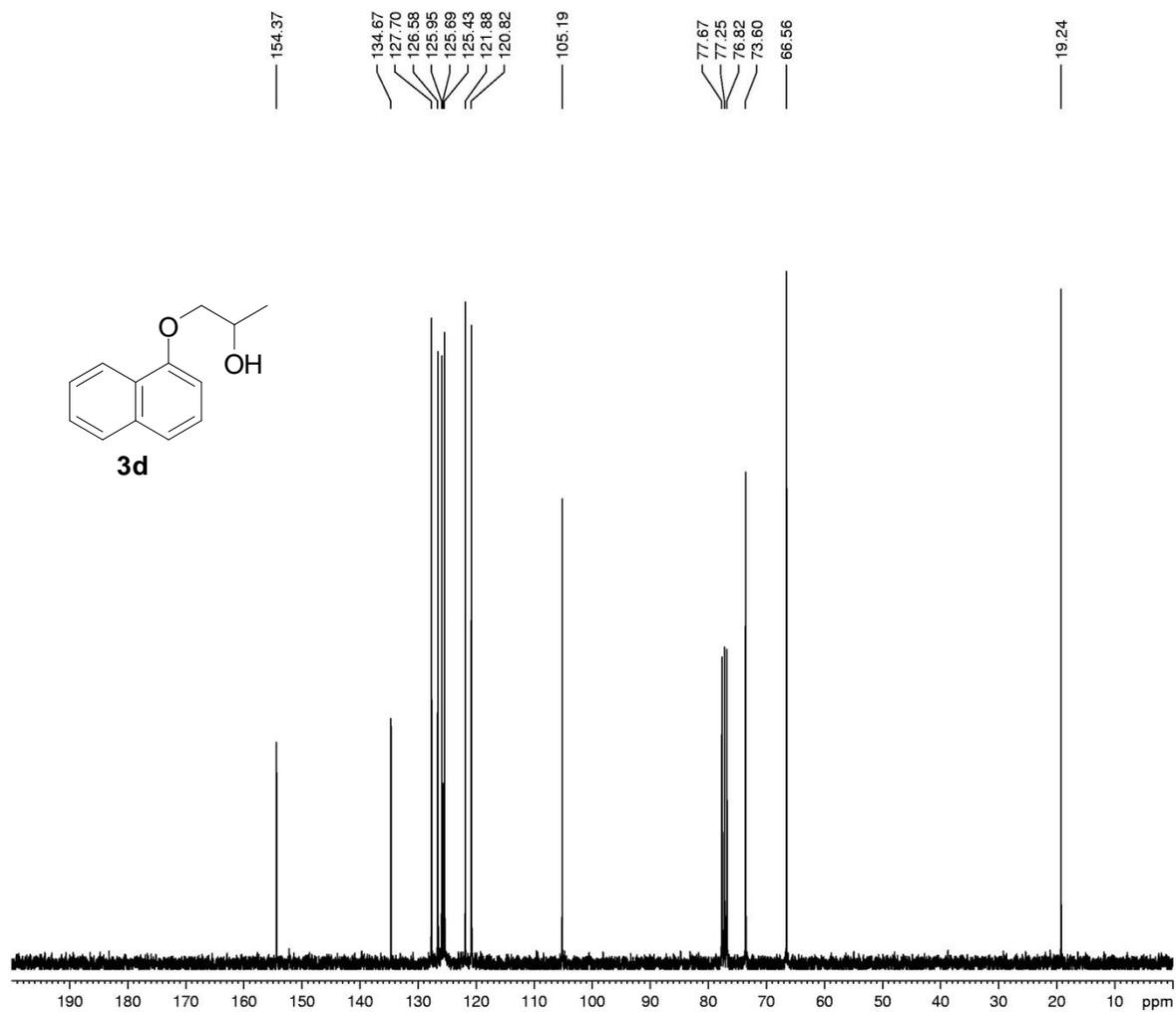
RMN ^1H de **2d** (300 MHz, CDCl_3)

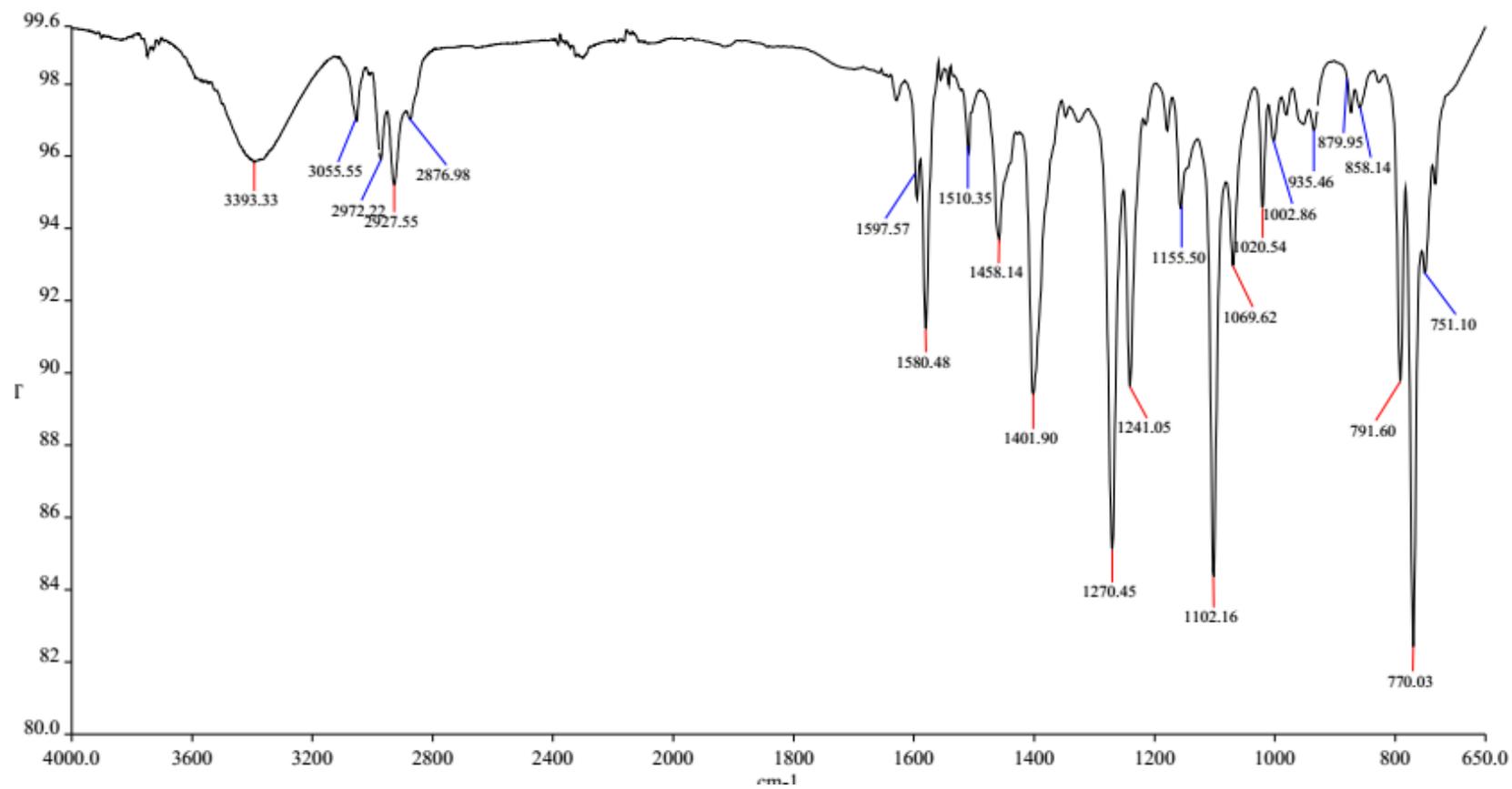
RMN ^{13}C de **2d** (75 MHz, CDCl_3)

Espectro infravermelho 2d

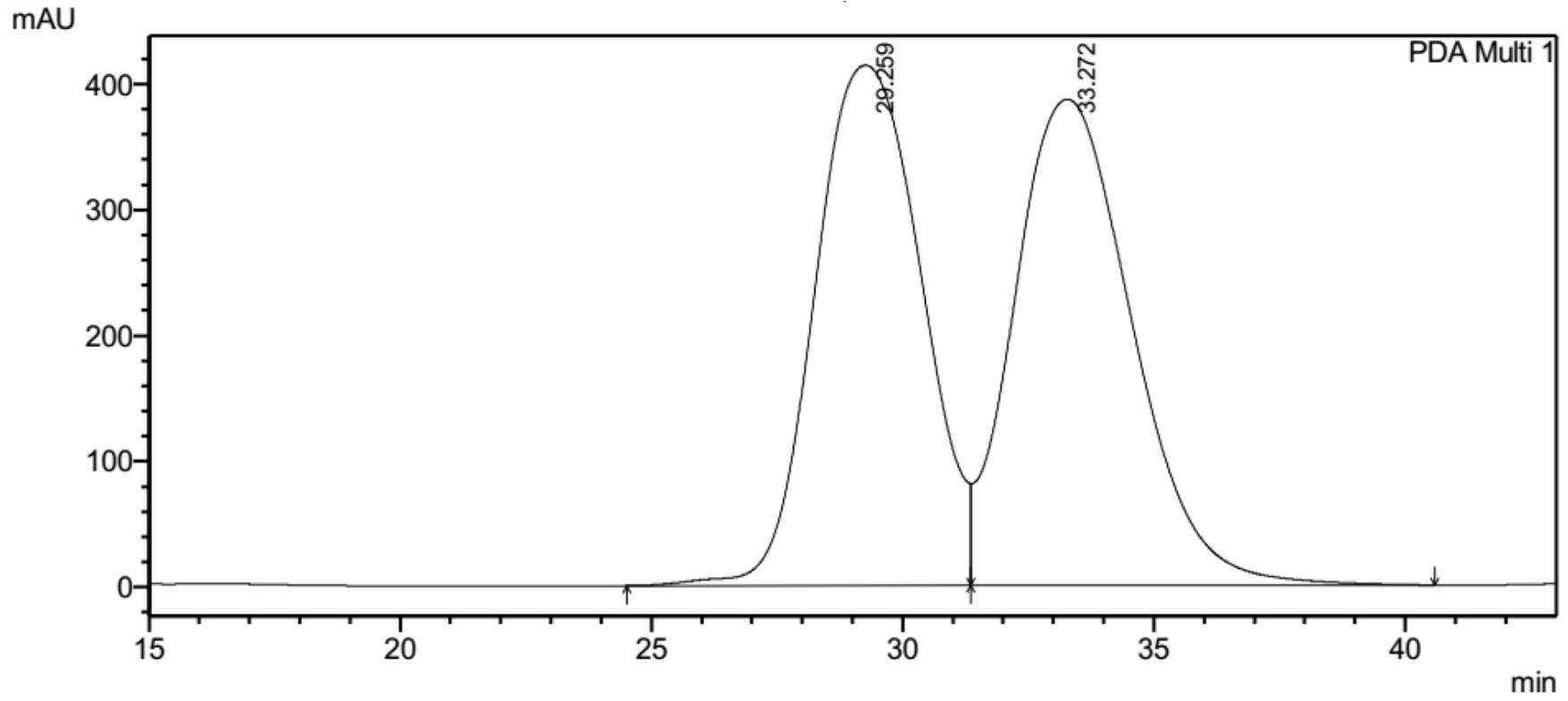


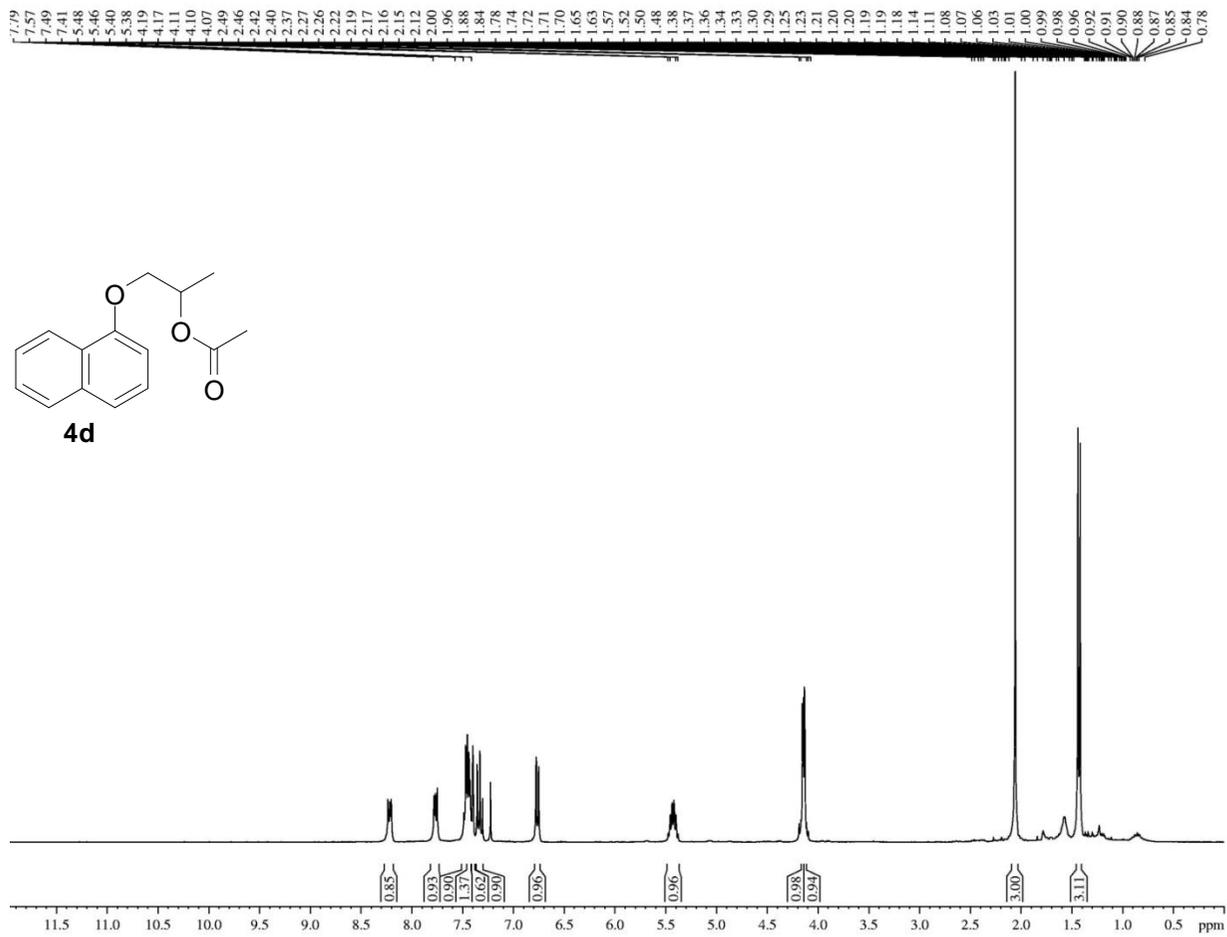
RMN ^1H de *rac*-**3d** (300 MHz, CDCl_3)

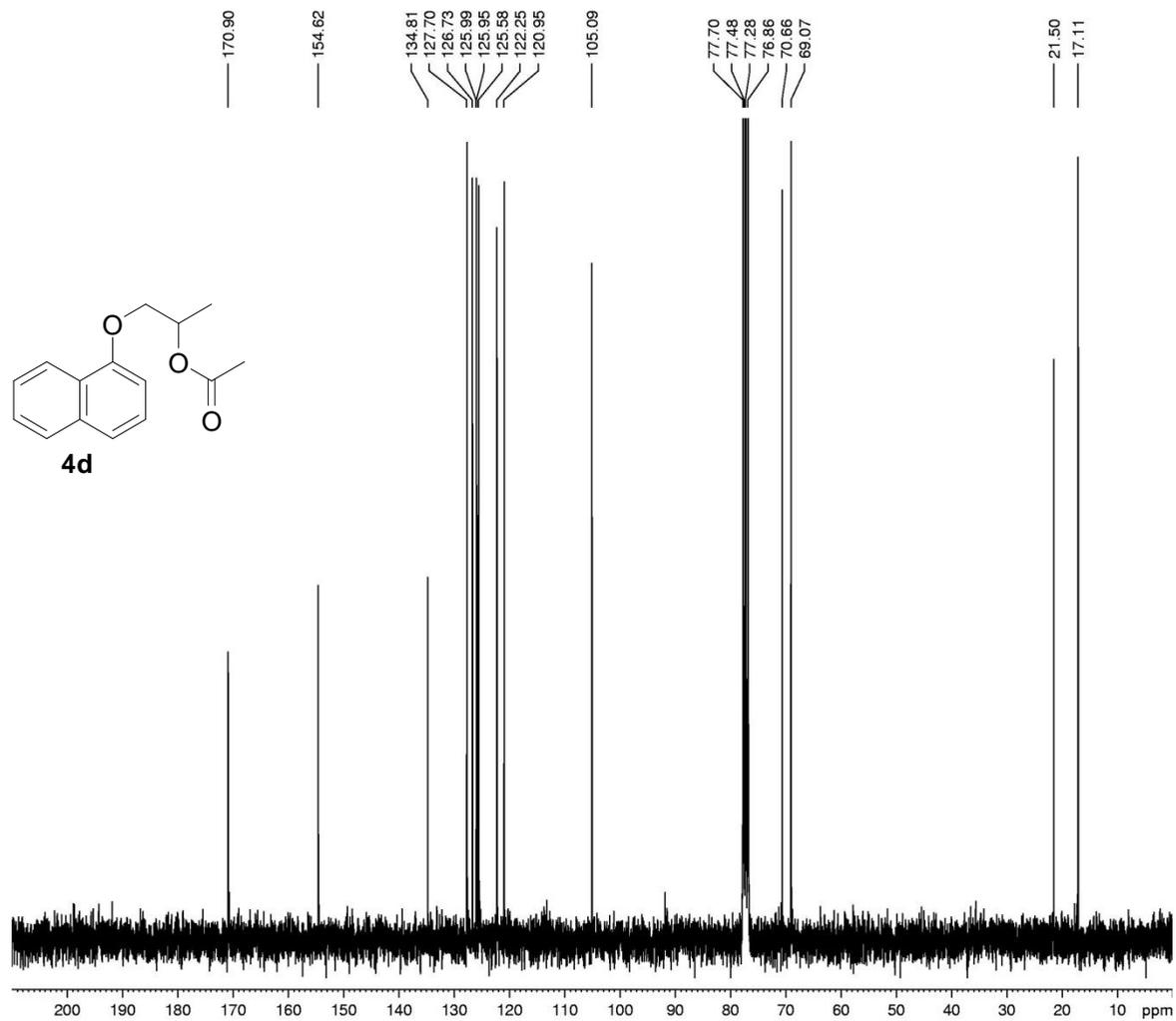
RMN ^{13}C de *rac*-**3d** (75 MHz, CDCl_3)

Espectro infravermelho *rac-3d*

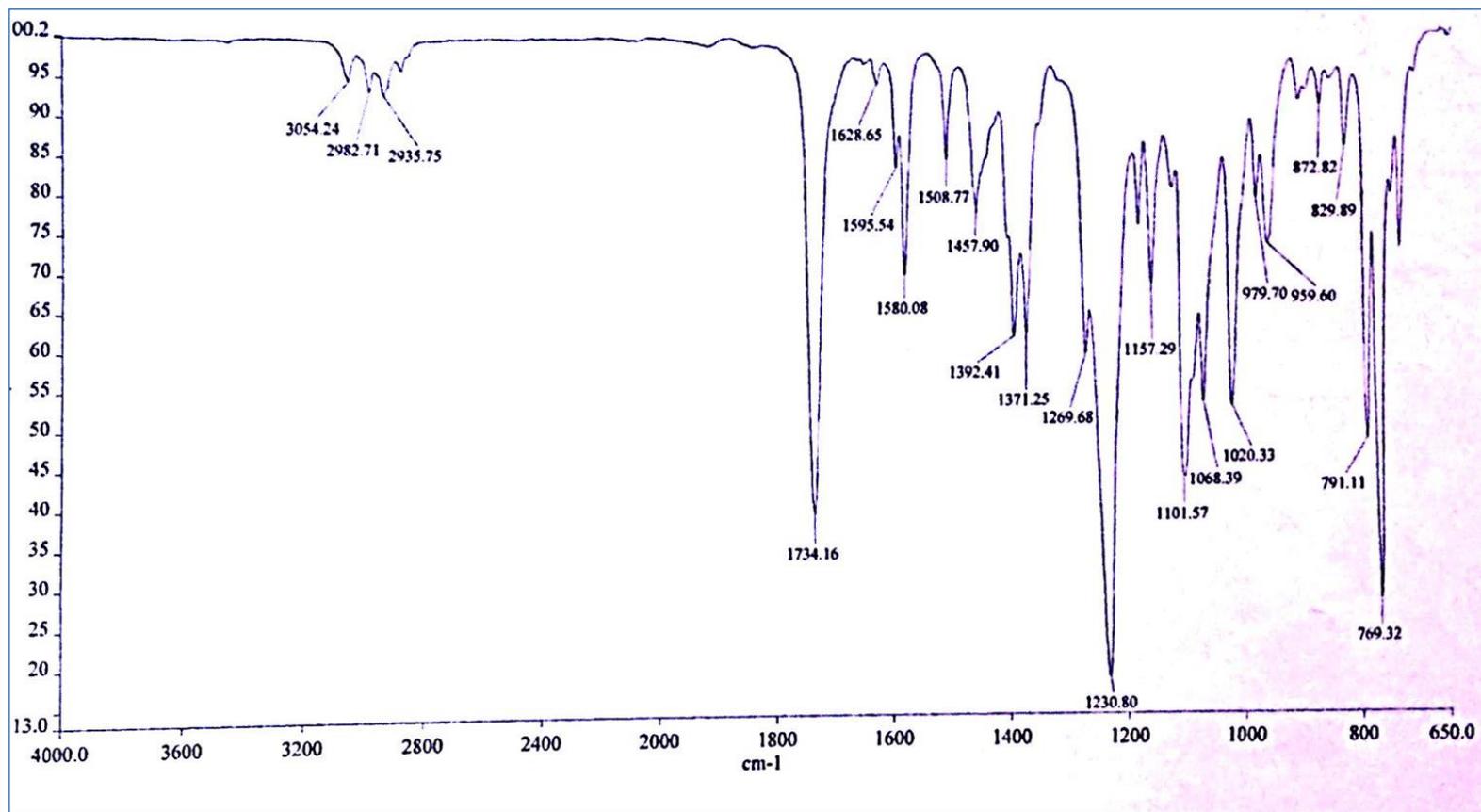
Cromatograma obtido por CLAE *rac-3d*



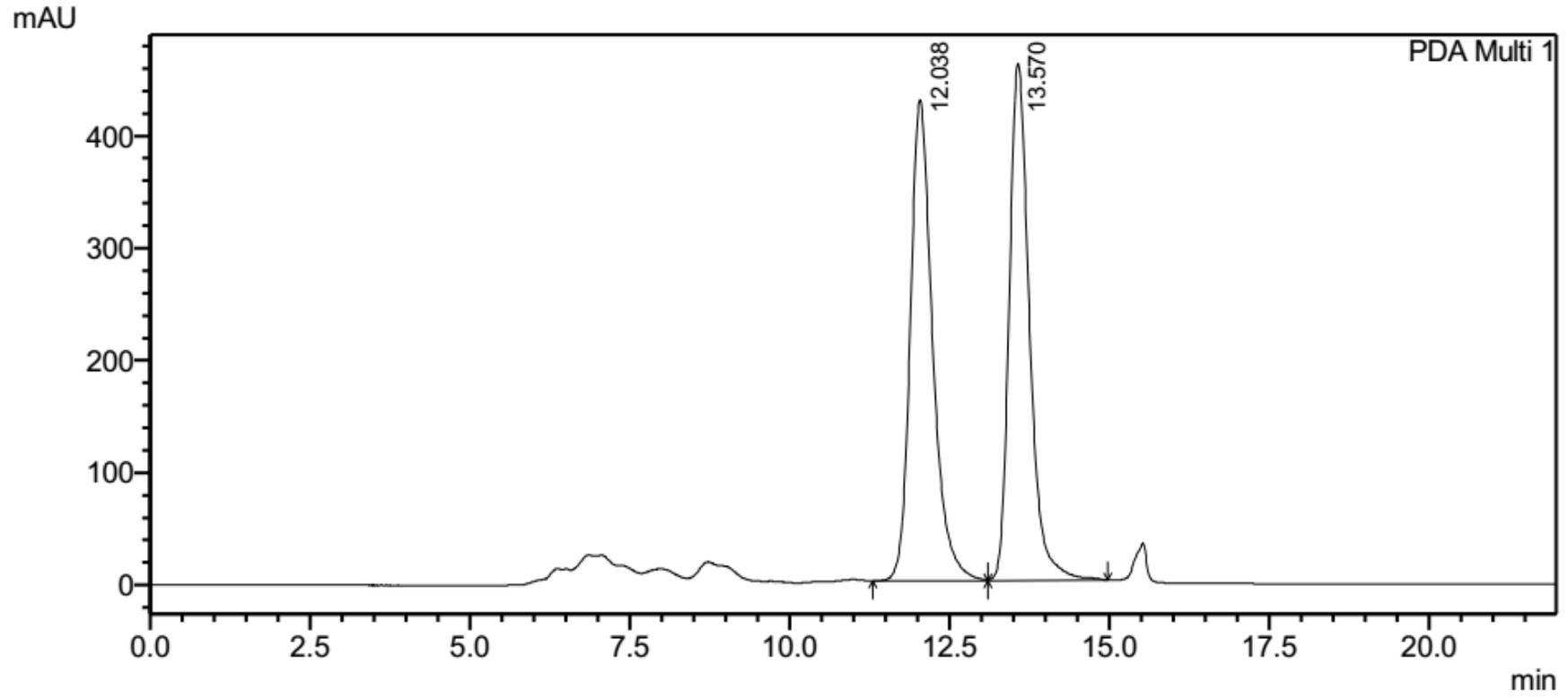
RMN¹ H de *rac-4d* (300 MHz, CDCl₃)

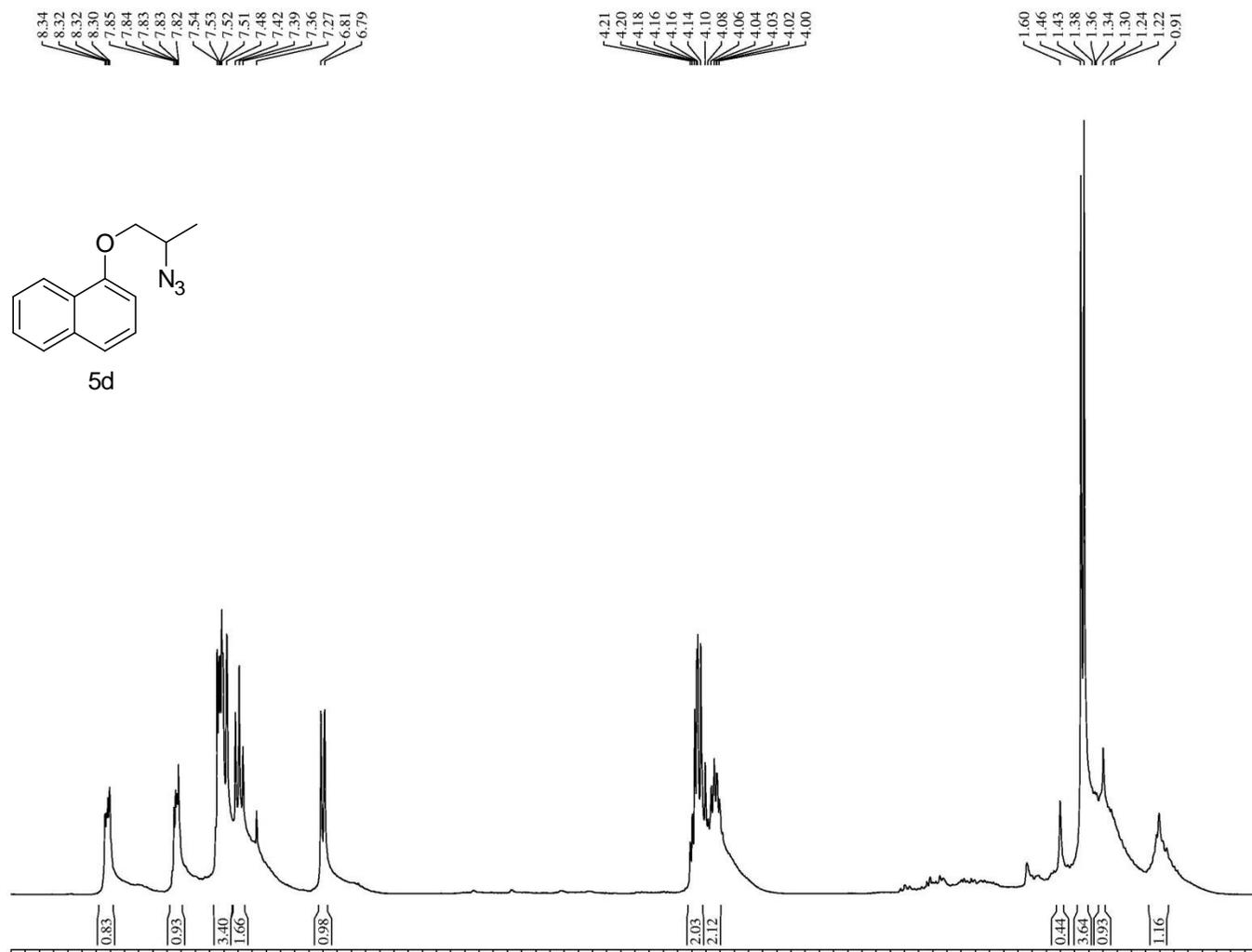
RMN ^{13}C de *rac*-**4d** (75 MHz, CDCl_3)

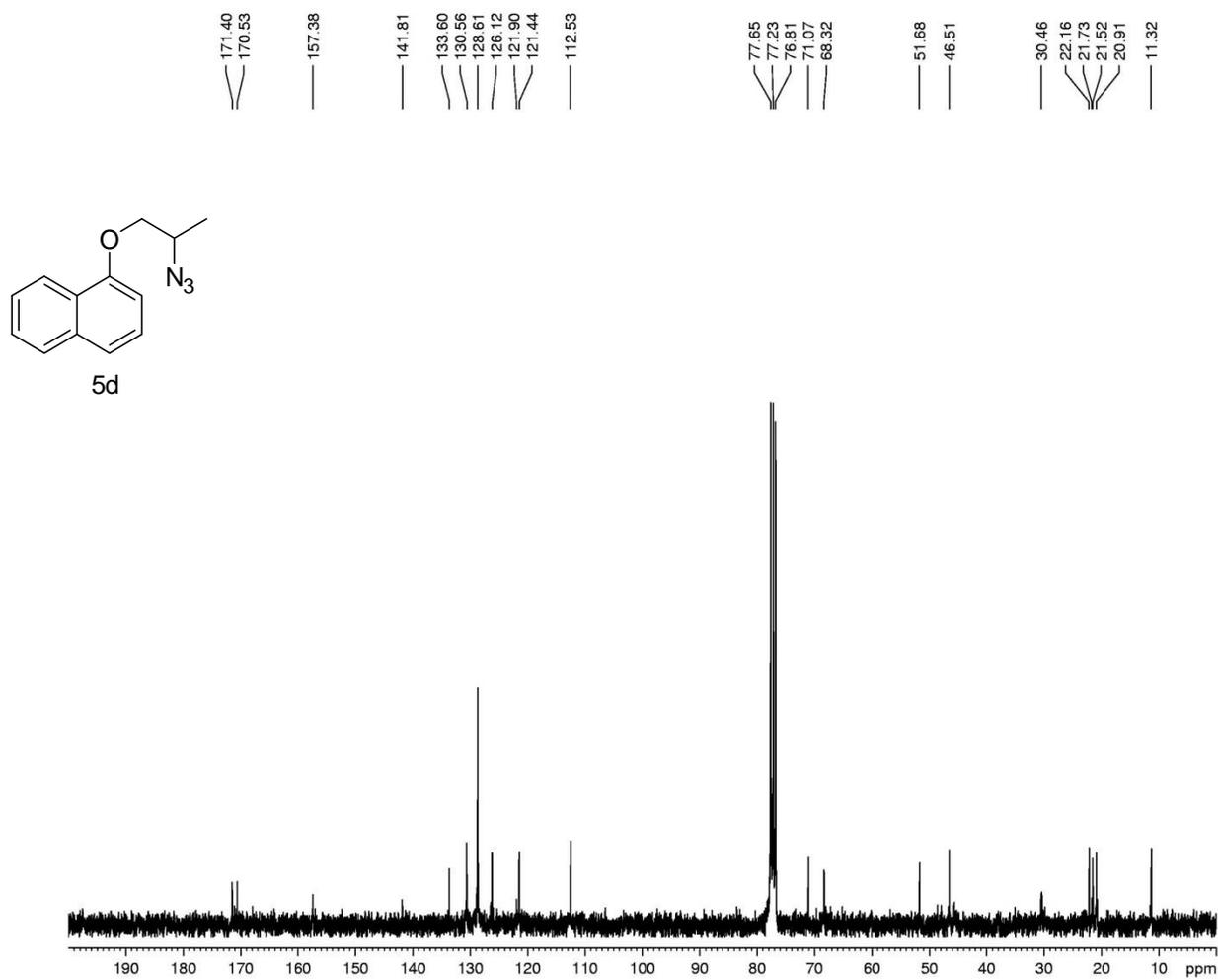
Espectro infravermelho 4d



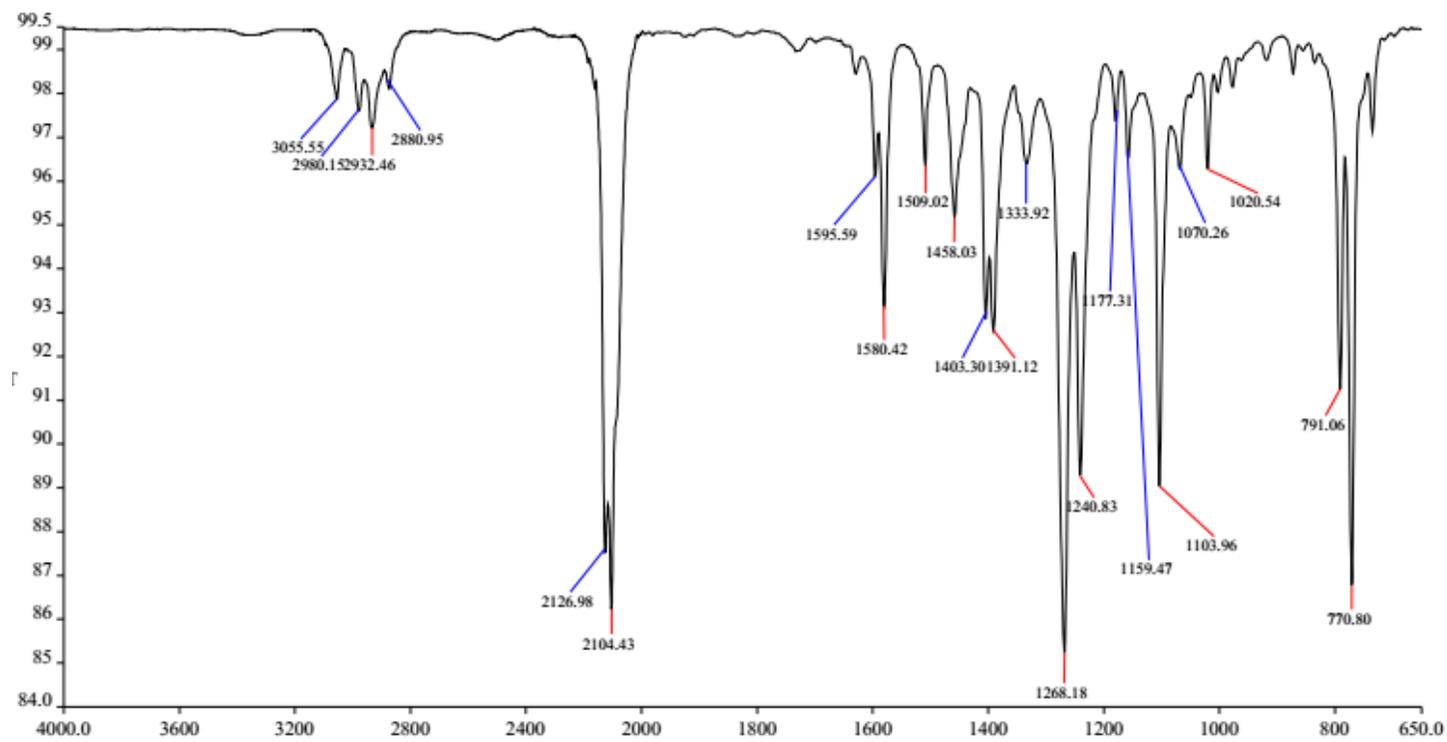
Cromatograma obtido por CLAE do *rac-4d*

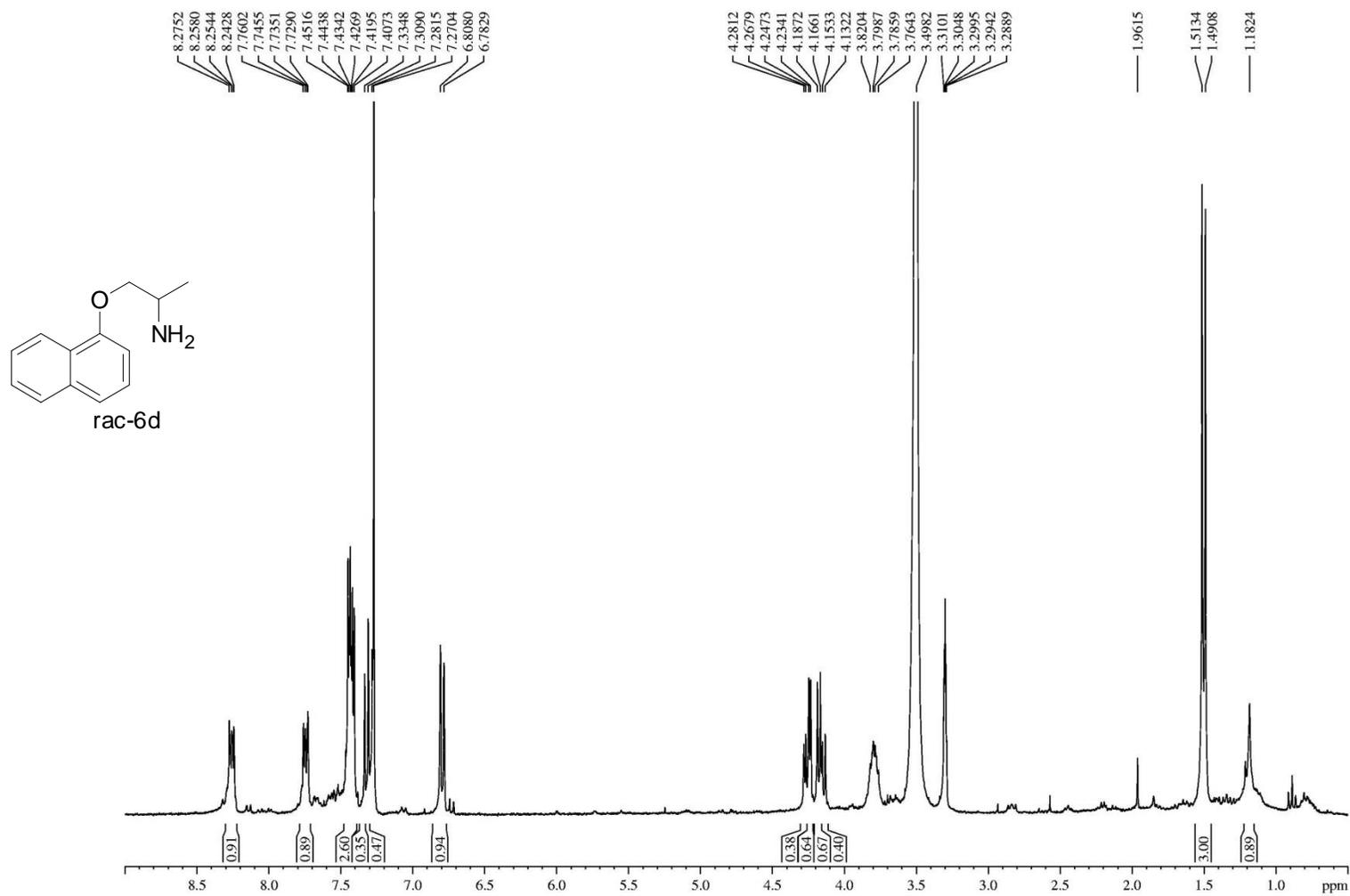


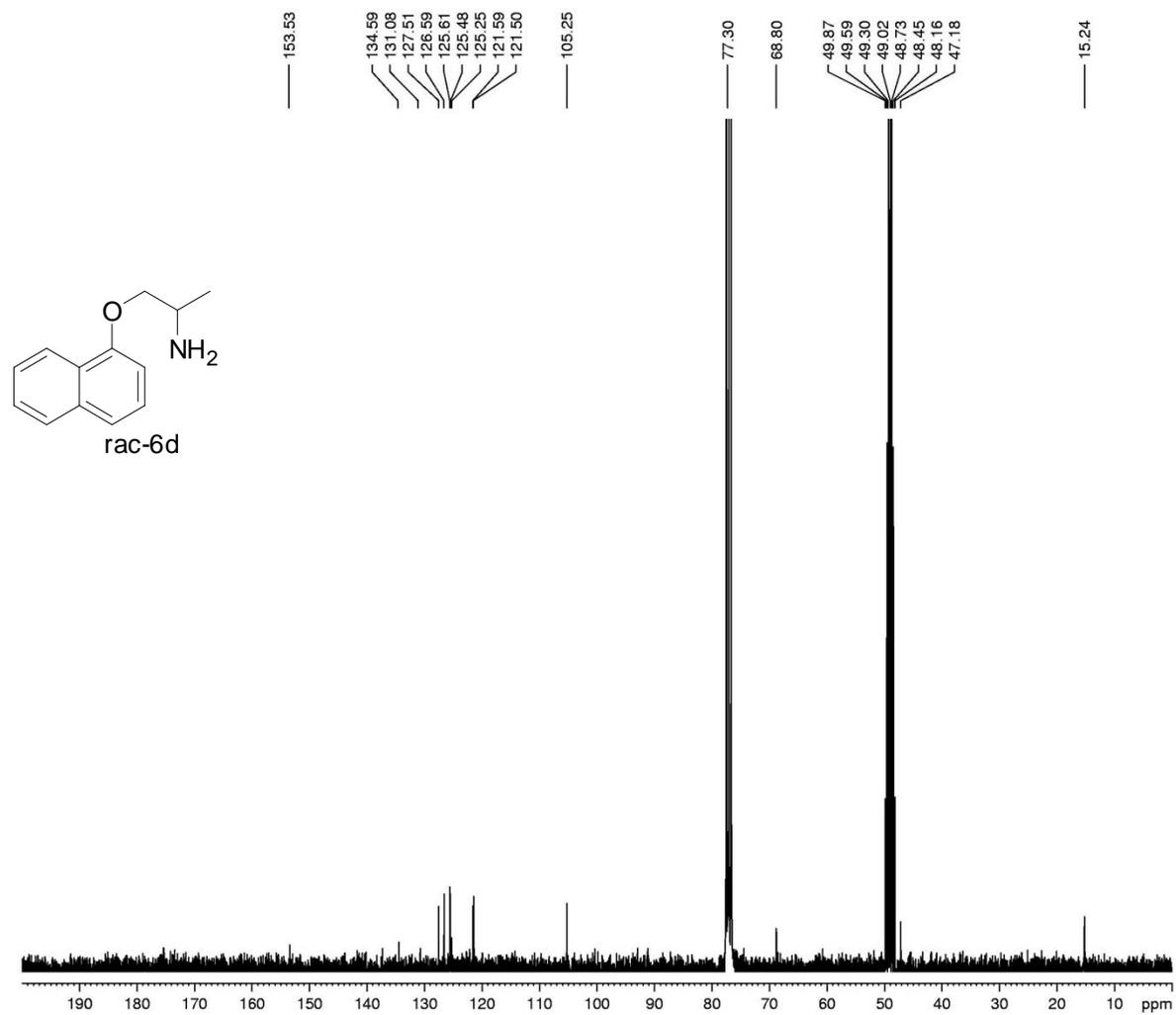
RMN ^1H de *rac*-**5d** (300 MHz, CDCl_3)

RMN ^{13}C de *rac*-**5d** (75 MHz, CDCl_3)

Espectro infravermelho 5d



RMN ^1H de *rac*-6d (75 MHz, CDCl_3)

RMN ^{13}C de *rac*-6d (75 MHz, CDCl_3)

Espectro infravermelho **6d**