



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

ARTUR RAMON TOMÉ OLIVEIRA

**SÍNTESE QUIMIOENZIMÁTICA DOS INTERMEDIÁRIOS DO APREMILAST VIA
CARBAMATAÇÃO, UTILIZANDO LIPASES**

FORTALEZA

2020

ARTUR RAMON TOMÉ OLIVEIRA

SÍNTESE QUIMIOENZIMÁTICA DOS INTERMEDIÁRIOS DO APREMILAST VIA
CARBAMATAÇÃO, UTILIZANDO LIPASES

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Química. Área de concentração: Química Orgânica.

Orientador: Prof. Dr. Marcos Carlos de Mattos.

Coorientador: Prof. Dr. Marcos Reinaldo da Silva.

FORTALEZA

2020

ARTUR RAMON TOMÉ OLIVEIRA

SÍNTESE QUIMIOENZIMÁTICA DOS INTERMEDIÁRIOS DO APREMILAST VIA
CARBAMATAÇÃO, UTILIZANDO LIPASES

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Química. Área de concentração: Química Orgânica.

Aprovada em: ___/___/_____.

BANCA EXAMINADORA

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

Prof. Dr. Jair Mafezoli
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Thiago de Sousa Fonseca
Instituto Federal do Ceará (IFCE)

Prof. Dr. Marcos Reinaldo da Silva
Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN)

Dedico este trabalho à minha família e
aos meus amigos.

AGRADECIMENTOS

Inicialmente, agradeço a Deus por estar sempre comigo e me dar forças em todas as vezes que precisei.

A meus pais, Nazarethe e Orlindo, que me ensinaram a ser o homem que sou hoje, dando total apoio na busca de melhoria na minha formação docente e sempre oraram por mim, me mantendo seguro.

A meus irmãos, Victória e Bruno, que são meus parceiros de vida e me ajudam a refletir meu modo de agir e pensar.

Ao meu orientador, professor Marcos, por toda paciência que teve comigo durante esses dois anos, por todos os ensinamentos sobre a pesquisa. Também agradeço por todas as conversas e aulas que tive com o senhor, me mostrando como ser mais caprichoso com meus trabalhos e a minha pesquisa, me orientando não somente na pesquisa, mas na vida.

Ao meu co-orientador, professor Reinaldo, por toda paciência do mundo que teve comigo, por todas as vezes que me chamou a atenção, eu sei que precisava focar mais. Obrigado por todas as vezes que parou seus afazeres para me ajudar na minha pesquisa. Você contribuiu muito em minha vida, me inspirando a ser um melhor pesquisador e professor.

A minha melhor amiga Kimberly, por todas as vezes que esteve comigo quando precisei de ajuda, por todas as vezes que me serviu de colo para chorar, por todas as vezes que precisei de alguém para conversar. Sou grato porque me chamou a atenção para melhorar meu trabalho e mostrar mais eficiência. Obrigado por ser minha melhor amiga.

Ao professor Furtado, que me incentivou a estudar para ingressar no mestrado e apresentou-me o mundo da pesquisa e fez uma carta de recomendação falando sobre mim para meu atual orientador.

A professora Conceição por me ensinar procedimentos experimentais e por liderar o LABS com firmeza e motivando os alunos a serem pessoas mais capacitadas.

Ao meu *squad*, Gabriella e Paulo, por todas as conversas alegres e momentos de entretenimento que tivemos, sejam em bares ou na casa dos outros, foram momentos únicos.

A minha grandíssima amiga Bruna, por todos os momentos de aprendizado que pude ter. Por todas as vezes que me ensinou como devo me portar dentro de um laboratório, mesmo que não escutasse. Sou grato, também, por todas as amostras de RMN que fez para mim, com toda a paciência que sempre teve.

Ao meu amigo Gledson, por me mostrar como estou certo ou errado em diversos

momentos, me fazendo refletir sobre atitudes dentro do laboratório e, também, contribuindo com a minha atividade docente.

Ao meu amigo Emerson, por parar seu tempo e me ensinar técnicas laboratoriais no início do mestrado.

Ao meu amigo e colega de apartamento Jonatas, por todas as vezes que chegava cansado do trabalho e me ajudava com a fazeres domésticos, quando estava doente e quando precisava espairar dos momentos de pressão.

A minha grande amiga Diana, por contribuir no modo de arrumar e limpeza dos meus utensílios do laboratório e, também, por todas as amostras de RMN que fez para mim.

Aos demais colegas de laboratório Fábio, Naara, Sabrina, Stephani, Tell, Gabriele, Aquino, Daniel, Milton, Yana, Lucas e Dalila e a professora Fátima.

Ao Ricardo Douglas, por realizar experimentos que contribuíram para a pesquisa.

Aos alunos da EEEP Alan Pino Tabosa, Gisele, Aryane, Adriana e Ediney que me ajudaram com procedimentos técnicos na pesquisa.

A todos os amigos dos LABPOL, LBPN, LAFIPLAM e LABFITO que sempre me ajudaram com empréstimos de reagentes e solventes.

A minha professora de história do ensino médio, Lúcia Siebra, por me mostrar como um professor deve amar o que faz.

A todos os meus amigos que me incentivaram a ingressar e continuar no mestrado.

A todos os funcionários da limpeza do departamento, em especial a Raquel e seu Gil, por serem pessoas que nos ensinam a ser humilde.

A todos os professores e funcionários do departamento de Química.

A CAPES pelo financiamento da pesquisa.

“Estamos todos conectados, uns aos outros biologicamente, a Terra quimicamente e ao resto do universo atômicamente.” (Neil deGrasse Tyson).

RESUMO

O apremilast, comercializado como OTZELA[®], é um fármaco oral, utilizado no tratamento da psoríase e da artrite psoriática, atuando como um anti-inflamatório. É um fármaco recente, que foi aprovado pela FDA (*Food Drug Administration*) em 2014. O referido fármaco possui apenas um centro estereogênico e é comercializado na forma enantiomericamente pura, já que o (*S*)-enantiômero é mais ativo que o (*R*)-enantiômero. Neste trabalho descrevemos os resultados preliminares referentes à síntese quimioenzimática de intermediários do apremilast na presença de lipases, sendo a etapa chave, a obtenção da amina (*S*)-2-(3-etoxi-4-metoxifenil)-1-metilssulfonil-2-etilamina, (*S*)-**36**. Esse intermediário pode ser obtido através da resolução cinética da amina *rac*-**36**, via reação de carbamatação, catalisada por lipases. A amina *rac*-**36** foi preparada, com 70% de rendimento, via duas etapas sequenciais *one-pot*, que consistiu na reação da 3-etoxi-4-metoxibenzonitrila **38** com o (metilssulfonil)metanídeo (carbânion formado entre a dimetilssulfona e *n*-butil-lítio), com a obtenção da enamina 1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-(metilssulfonil)etenamina **39**, seguido de tratamento com NaBH₄, em ácido acético glacial. O carbamato de 1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-(metilssulfonil)etilalila *rac*-**49** foi preparado a partir da amina *rac*-**34** via reação de carbamatação com cloroformato de alila, na presença de trietilamina, com rendimento de 89%. Ambos, a amina *rac*-**34** e o correspondente carbamato *rac*-**49** foram analisados por CLAE, utilizando coluna quiral, e condições adequadas para a separação de seus correspondentes enantiômeros. A primeira abordagem a ser estudada foi o comportamento de lipases em diferentes solventes a 40 °C por 72 h na resolução cinética da amina *rac*-**36**, via reação de carbamatação. Destacaram-se os solventes que apresentaram baixos valores de constante dielétrica: THF, TBME, hexano, cicloexano e tolueno, sendo que o melhor resultado foi obtido em hexano, na presença de CAL-B, com conversão de 14% e enantiosseletividade (*E*) >200. Além da CAL-B, a lipase de *Candida rugosa* e CAL-A mostram-se promissoras na resolução cinética de *rac*-**36**. Em paralelo, o anidrido comercial 3-nitroftálico **50** foi eficientemente transformado no anidrido-3-aminoftálico **51**, em rendimento quantitativo. Este último, foi submetido a uma reação de acetilação para a obtenção do anidrido 3-acetilaminoftálico **37**, um dos intermediários do apremilast, porém com rendimento de apenas 25%.

Palavras-chave: Carbamatação. Apremilast. Resolução cinética enzimática. Lipases.

ABSTRACT

The apremilast, marketed as OTZELA[®], is a oral drug, used in psoriasis and psoriatic arthritis psoriatic, acting as a anti-inflammatory. Is a recent drug, which was approved for FDA (*Food Drug Administration*) in 2014. The drug referred have a only stereogenic center and is commercialized in enantiomerically pure form, since what the (*S*)-enantiomer is more active which the (*R*)-enantiomer. In this work we describe the preliminary results referred the chemoenzymatic synthesis of apremilast intermediates in lipases presence, being the key-step, the obtaining of amine (*S*-2)-1-(3-ethoxy-4-methoxyphenyl)-1-methylsulfonyl-2-ethylamine, (*S*)-**36**. That intermediate can be obtained through kinetic resolution of amine *rac*-**36**, via carbamation reaction using lipases. The amine *rac*-**36** was prepared, as 70% yield, via two sequential steps *one-pot*, which consisted in 3-ethoxy-4-methoxybenzotrile, **38**, reaction with (methylsulfonyl)methanide (formed carbanion among the dimethylsulfone and *n*-butyllithium), with obtaining of the enamine 1-(3-ethoxy-4-methoxyphenyl)-2-(methylsulfonyl)ethenamine **39**, treatment followed with NaBH₄, in glacial acetic acid. The 1-(3-ethoxy-4-methoxyfenyl)-2-(mehtylsulfonyl)ethyl)alyl carbamate, *rac*-**49**, was prepared starting of amine *rac*-**34** via carbamation reaction with allyl chloroformate, in triethylamine presence, 89% yield. Both, the amine *rac*-**34** and the carbamate *rac*-**49** corresponding was analyzed by CLAE, using a chiral column, and ideal conditions for the enantiomers separation. The first approach to be studied was the lipase behavior in several solvents in 40 °C for 72 h for kinetic resolution of amine *rac*-**36**, via carbamation reaction. Highlighted the solvents which show low value of dielectric constant: THF, TBME, hexane, cyclohexane and toluene, since which the best result was obtained in hexane, in CAL-B presence, as 14% conversion and >200 enantioselectivity (E). Also of CAL-B, the *Candida rugosa* lipase and CAL-A are promising in kinetic resolution of *rac*-36. In parallel, the commercial anhydride 3-nitrophthalic anhydride **50**, was effectively transforming in 3-aminophthalic, **51**, qualitative yield. The latter was subjected to an acetylation reaction to obtain 3-acetylaminophthalic anhydride **37**, one of apremilast's intermediates, but with a yield of only 25%.

Keywords: Carbamation. Apremilast. Enzyme kinetic resolution. Lipases.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	- Fórmulas estruturais do (<i>S</i>)-ibuprofeno (1) e do (<i>S,S</i>)-(+)-etambutol (2)..	23
Figura 2	- Estrutura química do apremilast, (<i>S</i>)- 34	32

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1	- Reações que podem ser catalisadas por lipases.....	21
Esquema 2	- Interação da tríade catalítica com o substrato em uma resolução cinética enzimática de um álcool secundário, <i>via</i> reação de acilação.....	22
Esquema 3	- Síntese quimioenzimática do (<i>S</i>)-pindolol realizado por Lima <i>et al.</i> (2017).....	24
Esquema 4	- Síntese quimioenzimática do luliconazol, <i>via</i> resolução cinética do <i>rac-8</i> , por meio de reação de hidrólise, na presença da lipase Novozym [®] 435.....	25
Esquema 5	- Síntese quimioenzimática do mesilato de rasagilina, <i>via</i> resolução cinética do <i>rac-11</i> , por meio de reação de acetilação em meio orgânico, na presença da lipase de <i>T. lanuginosus</i>	26
Esquema 6	- Resolução cinética enzimática da feniletanamina <i>rac-13</i> , Sanfilippo, Paternò e Patti (2018).....	27
Esquema 7	- Resolução cinética enzimática de <i>rac-15</i> na obtenção do labetalol (<i>R,R</i>)- 17 ou (<i>S,R</i>)- 18 , por Sanfilippo, Paternò e Patti (2018).....	28
Esquema 8	- Resolução cinética do indolina-2-carboxilato de metila, <i>rac-19</i> , octaidro- <i>1H</i> -indol-2-carboxilato de metila, <i>rac-20</i> e octaidro- <i>1H</i> -indol-2-carboxilato de benzila, <i>rac-21</i> , em meio orgânico.....	29
Esquema 9	- Resolução cinética da amina secundária, <i>rac-26</i> em meio orgânico.....	30
Esquema 10	- Resolução cinética da amina secundária, <i>rac-27</i> , com trietilamina, em meio orgânico.....	30
Esquema 11	- Resolução cinética dos derivados da tetraidro- β -carbolina, <i>rac-27</i> , <i>rac-30</i> e <i>rac-31</i> , em meio orgânico.....	31
Esquema 12	- Síntese do apremilast (<i>S</i>)- 34 , realizada pela Celgene Corporation.....	32
Esquema 13	- Síntese do apremilast (<i>S</i>)- 34 realizada por Ruchelman e	

	Connolly (2015).....	33
Esquema 14	- Rota de síntese do apremilast (<i>S</i>)- 34 realizada por Ruchelman <i>et al.</i> (2015) utilizando a nitrila 38	34
Esquema 15	- Rota de síntese do apremilast (<i>S</i>)- 34 realizada por Gao, Lv e Zhang (2017).....	35
Esquema 16	- Resolução cinética dinâmica da amina <i>rac</i> - 36 via resolução cinética dinâmica desenvolvida por Doubsky <i>et al.</i> (2016).....	36
Esquema 17	- Biorredução das cetonas 46a e 46b realizada por Gazic e Stavber (2017).....	37
Esquema 18	- Proposta de obtenção do apremilast (<i>S</i>)- 34 utilizando lipases, <i>via</i> reação de carbamatação.....	38
Esquema 19	- Obtenção da enamina 39 e cetossulfona 46b	41
Esquema 20	- Proposta mecanística para formação da cetossulfona 46b	42
Esquema 21	- Obtenção da amina <i>rac</i> - 36	43
Esquema 22	- Obtenção do carbamato <i>rac</i> - 49	43
Esquema 23	- Resolução cinética da amina <i>rac</i> - 36 , <i>via</i> reação de carbamatação, catalisada por lipase.....	44
Esquema 24	- Obtenção do anidrido 3-aminoftálico, anidrido 51	50
Esquema 25	- Obtenção do anidrido 3-acetilaminoftálico, anidrido 37	50

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1	- Publicações com resoluções de alcoóis e aminas, de 2015 até o momento (2020).....	27
-----------	---	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	- Estudo da influência da lipase e do solvente na resolução cinética da amina <i>rac-36</i> , via carbamatação.....	45
Tabela 2	- Constantes dielétricas dos solventes utilizados na resolução cinética de <i>rac-36</i>	46
Tabela 3	- Estudo da influência da temperatura na resolução cinética da amina <i>rac-36</i> , via carbamatação a 50 °C.....	48
Tabela 4	- Estudo da influência da temperatura na resolução cinética da amina <i>rac-36</i> , via carbamatação a 30 e 35 °C.....	49
Tabela 5	- Reagentes e solventes utilizados, com sua marca e grau de pureza.....	54

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AcOVin	Acetato de vinila
AcOH	Ácido acético
ADH	<i>Amylose tris-(3,5-dimethylphenylcarbamate)</i>
AMPc	Monofosfato cíclico de adenosina
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CCD	Cromatografia de camada delgada
CE	Classe enzimática
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
CPME	Ciclopentil metil éter
FDA	<i>Food & Drug Administration</i>
IM	<i>Immobilized</i>
LPP	Lipase de pâncreas de porco
MeOH	Metanol
MeCN	Acetonitrila
PDE	Fosfodiesterase
RM	<i>Rhizomucor miehei</i>
R _f	Fator de retenção
<i>rac</i>	Racêmico
rpm	Rotações por minuto
THF	Tetraidrofurano
TBME	<i>Terc</i> -butil metil éter
YA	Lipase de <i>Candida rugosa</i>

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	20
1.1	Biocatálise: o uso de lipases	20
<i>1.1.1</i>	<i>A utilização de lipases na síntese de fármacos</i>	22
1.2	Resolução cinética enzimática de compostos nitrogenados	25
1.3	Abordagem geral sobre o apremilast	30
<i>1.3.1</i>	<i>Estratégias sintéticas convencionais na síntese do apremilast</i>	31
<i>1.3.2</i>	<i>Estratégias sintéticas alternativas do apremilast</i>	35
2	OBJETIVOS	40
2.1	Objetivo geral	40
2.2	Objetivos específicos	40
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
3.1	Obtenção da 2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenil)]-1-metilssulfonil-2-etilamina, rac-36	41
3.2	Obtenção do carbamato de [1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-(metilssulfonil)etil]alila, rac-49	43
3.3	Obtenção do carbamato de [1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-(metilssulfonil)etil]alila, 49, via resolução cinética usando lipases em meio orgânico	43
<i>3.3.1</i>	<i>Resultados da resolução cinética da amina rac-36, via carbamatação em meio orgânico</i>	44
<i>3.3.2</i>	<i>Estudo da influência da temperatura na atividade e seletividade enzimática</i>	47
3.4	Obtenção do anidrido 3-aminoftálico, anidrido 51	49
3.5	Obtenção do anidrido 3-acetilaminoftálico, anidrido 37	50
4	PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS	51
4.1	Instrumentos	51
<i>4.1.1</i>	<i>Ressonância Magnética Nuclear (RMN)</i>	51
<i>4.1.2</i>	<i>Ponto de Fusão</i>	51
<i>4.1.3</i>	<i>Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)</i>	52
4.2	Cromatografia líquida de adsorção	52
4.3	Solventes e reagentes	53

4.3.2	<i>Secagem dos solventes</i>	54
4.4	Biocatalisadores	54
4.5	Síntese da 2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenil)]-1-metilssulfonil-2-etilamina, rac-36	54
4.6	Síntese do carbamato de [1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-(metilssulfonil)etil]alila, rac-49	55
4.7	Procedimento geral para a resolução cinética enzimática da amina rac-36, via carbamatação	56
4.8	Síntese do anidrido 3-aminoftálico, anidrido 51	56
4.9	Síntese do anidrido 3-acetilaminoftálico, anidrido 37	56
5	CONCLUSÕES	58
	REFERÊNCIAS	60
	ANEXO A – CÁLCULO DO EXCESSO ENANTIOMÉRICO, CONVERSÃO E ENANTIOSSELETIVIDADE	65
	ANEXO B – DADOS ESPECTROSCÓPICOS DA 1-(3-ETOXI-4-METOXIFENIL)-2-(METILSSULFONIL) ETENAMINA, ENAMINA 39	66
	ANEXO C – DADOS ESPECTROSCÓPICOS DA 1-(3-ETOXI-4-METOXI-FENIL)-2-(METILSSULFONIL) ETANONA, CETOSSULFONA-46B	68
	ANEXO D – DADOS ESPECTROSCÓPICOS DA 2-[1-(3-ETOXI-4-METOXIFENIL)]-1-METANOSULFONIL-2-ETIL AMINA, AMINA RAC-36	70
	ANEXO E – DADOS ESPECTROSCÓPICOS DO CARBAMATO DE [1-(3-ETOXI-4-METOXIFENIL)-2-(METILSSULFONIL)ETIL] ALILA, RAC-49	72
	ANEXO F – DADOS ESPECTROSCÓPICOS DO ANIDRIDRO 3-AMINOFTÁLICO, ANIDRIDO 51	74
	ANEXO G – DADOS ESPECTROSCÓPICOS DO 3-ACETILAMINOFTÁLICO, ANIDRIDO 37	76
	ANEXO H – CROMATOGRAMA OBTIDO POR CLAE DA 2-[1-(3-ETOXI-4-METOXIFENIL)]-1-METANOSULFONIL- 2 -ETIL AMINA, AMINA RAC-36	78

ANEXO I – CROMATROGRAMA OBTIDO POR CLAE DO CARBAMATO DE [1-(3-ETOXI-4-METOXIFENIL)-2-(METILSSULFONIL)ETIL]ALILA, RAC-49.....	79
ANEXO J – CROMATROGRAMA OBTIDO POR CLAE DA RESOLUÇÃO CINÉTICA DA 2-[1-(3-ETOXI-4-METOXIFENIL)]-1-METANOSULFONIL-2-ETILAMINA, AMINA RAC-36, EM HEXANO A 40 °C POR 72 H.....	80
ANEXO K – CROMATROGRAMA OBTIDO POR CLAE DA RESOLUÇÃO CINÉTICA DA 2-[1-(3-ETOXI-4-METOXIFENIL)]-1-METANOSULFONIL-2-ETILAMINA, AMINA RAC-36, EM TBME A 50 °C POR 72 H.....	81
ANEXO L – CROMATROGRAMA OBTIDO POR CLAE DA RESOLUÇÃO CINÉTICA DA 2-[1-(3-ETOXI-4-METOXIFENIL)]-1-METANOSULFONIL-2-ETILAMINA, AMINA RAC-36, EM TBME A 35 °C POR 72 H.....	82

1 INTRODUÇÃO

1.1 Biocatálise: o uso de lipases

Diante da busca de métodos alternativos que visam diminuir impactos ambientais, os processos sintéticos chamados de *verde* vêm surgindo como alternativa para diversos segmentos na indústria. A biocatálise e a biotransformação se tornaram ferramentas bastante atraentes para processos tecnológicos que empregam a síntese orgânica, uma vez que fazem uso de enzimas isoladas ou células íntegras para promover modificações específicas em um substrato (FABER, 2011).

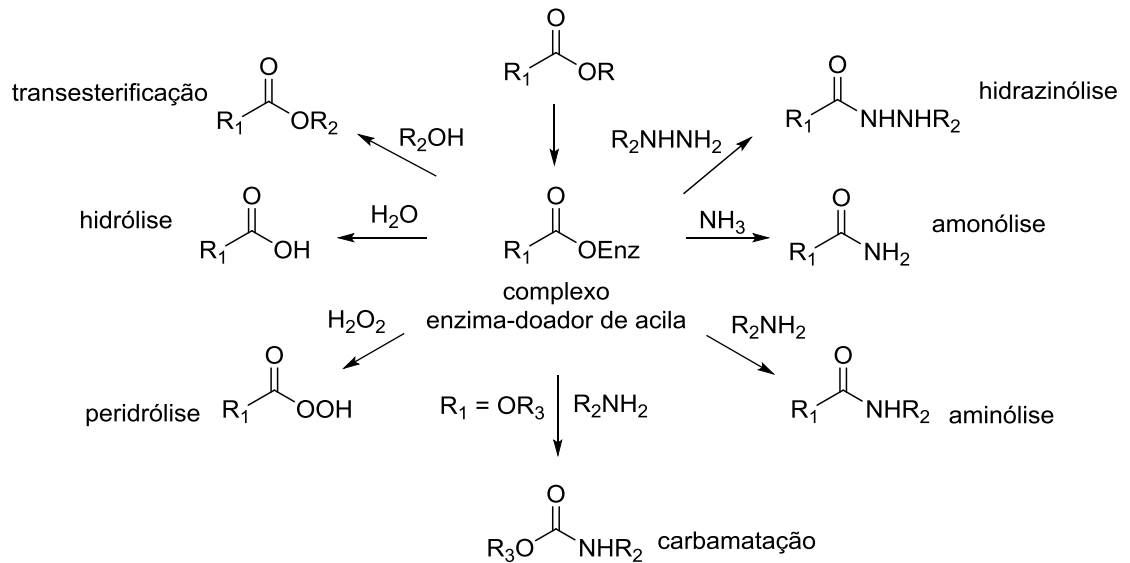
O termo biocatálise abrange os processos em que um catalisador ambientalmente compatível (enzima) é utilizado para a conversão de um substrato (composto orgânico) em um produto de interesse. Essa conversão é realizada em condições reacionais brandas, utilizando água, na maioria das vezes, como solvente (SILVERMAN, 2000).

Uma das grandes vantagens de fazer o uso de enzimas em reações biocatalíticas refere-se as condições reacionais brandas, como temperaturas entre 20 e 40° C, em soluções com pH em torno de 5 a 8, fato que proporciona uma diminuição em problemas reacionais de decomposição, racemização, eliminação e isomerização. Além disso, os biocatalisadores, comparados com os catalisadores químicos a base de metais, são mais vantajosos, porque são ambientalmente aceitáveis, uma vez que são completamente biodegradáveis (FABER, 2004).

As lipases (CE 3.1.1.3) são enzimas da família das hidrolases, amplamente utilizadas em métodos sintéticos *verdes* de substâncias enantiomericamente puras de interesse na indústria farmacêutica (CARVALHO *et al.*, 2015), alimentícia e em química fina (MATHPATI e BHANAGE, 2018). As vantagens no uso das lipases incluem a alta especificidade (regio-, quimio- e enantiosseletividade) (SANFILIPPO, PATERNÒ e PATTI, 2018), e o fato de não necessitarem da adição de cofatores no meio reacional (FONSECA, 2020). Na indústria farmacêutica, a maior aplicação do uso de lipases é como biocatalisador para resolução cinética enzimática de racematos visando a obtenção de intermediários quirais de fármacos (MATHPATI e BHANAGE, 2018) (CARVALHO *et al.*, 2015).

As lipases apresentam tolerância a solventes orgânicos e aceitam uma ampla gama de substratos catalisando diversos tipos de reações, como exemplificado no **Esquema 1**.

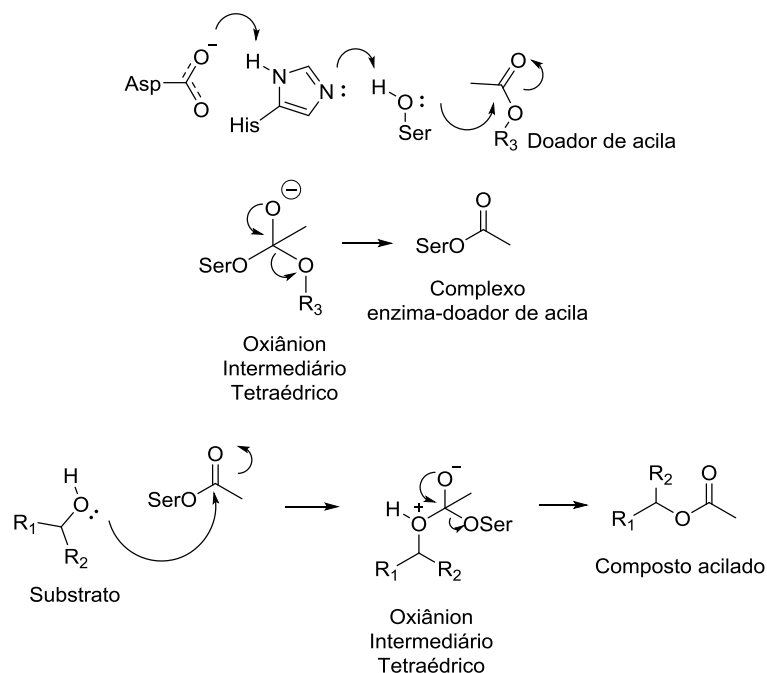
Esquema 1- Reações que podem ser catalisadas por lipases.



Fonte: Gotor-Fernández, Brieva e Gotor (2011, com adaptações)

A catálise enzimática ocorre devido a interação do substrato com os resíduos de aminoácidos presentes no sítio ativo da enzima. No **Esquema 2** é representada a interação entre a enzima e substrato com a participação dos resíduos de aminoácidos aspartato (Asp) ou glutamato (Glu), histidina (His) e serina (Ser). Estes resíduos de aminoácidos constituem a tríade catalítica responsável pela atividade catalítica de uma lipase. Como exemplo, é possível citar uma resolução cinética de um álcool secundário, *via* reação de acilação (BANDEIRA *et al.*, 2017).

Esquema 2. Interação da tríade catalítica com o substrato em uma resolução cinética enzimática de um álcool secundário, *via* reação de acilação.



Fonte: Faber (2011, com adaptações)

Inicialmente, os resíduos aspartato, histidina e serina são ativados via ligação de hidrogênio, propiciando um ataque nucleofílico do resíduo de aminoácido serina ao doador de acila, com formação de um intermediário enzima-doador de acila. Subsequentemente, ocorre o ataque nucleofílico do substrato (no caso do **Esquema 2**, um álcool primário, porém pode ser uma amina primária ou secundária) ao complexo enzima-doador de acila, com formação de um segundo intermediário tetraédrico, o complexo enzima-substrato. Esse último libera um resíduo de serina e gera como produto o substrato acilado. O resíduo de serina liberado regenera a histidina e o aspartato, permitindo a continuidade do ciclo catalítico da enzima.

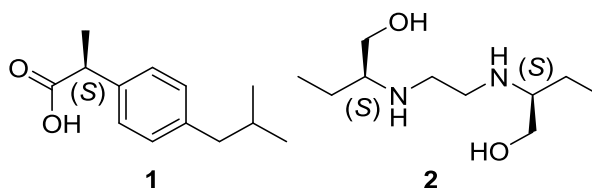
1.1.1 A utilização de lipases na síntese de fármacos

Uma parte do mercado farmacêutico está voltada para o estudo dos constituintes farmacêuticos ativos, enantiomericamente puros, designados, em inglês, pela sigla APIs (Active Pharmaceuticals Ingredients). Tal iniciativa se deve ao fato de que alguns enantiômeros possuem atividades biológicas e toxicológicas distintas, pois agem de forma diferente no sistema biológico em que é inserido. Desta forma, esses apresentam propriedades

farmacocinéticas divergentes, tais como, absorção, distribuição, biotransformação e excreção (PATEL, 2018).

Por exemplo, o anti-inflamatório (*S*)-ibuprofeno **1** é ativo (eutômero), enquanto o (*R*)-ibuprofeno é inativo (distômero). O (*S,S*)-(+)-etambutol **2** é utilizado no tratamento da tuberculose, enquanto que o (*R,R*)-(-)-etambutol causa cegueira, **Figura 1**.

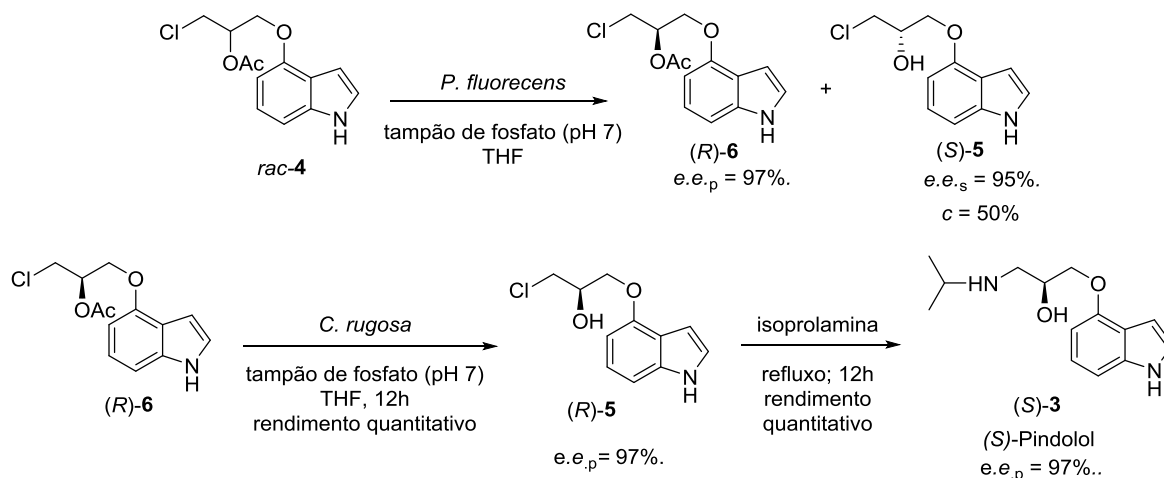
Figura 1. Fórmulas estruturais do (*S*)-ibuprofeno (**1**) e do (*S,S*)-(+)-etambutol (**2**)



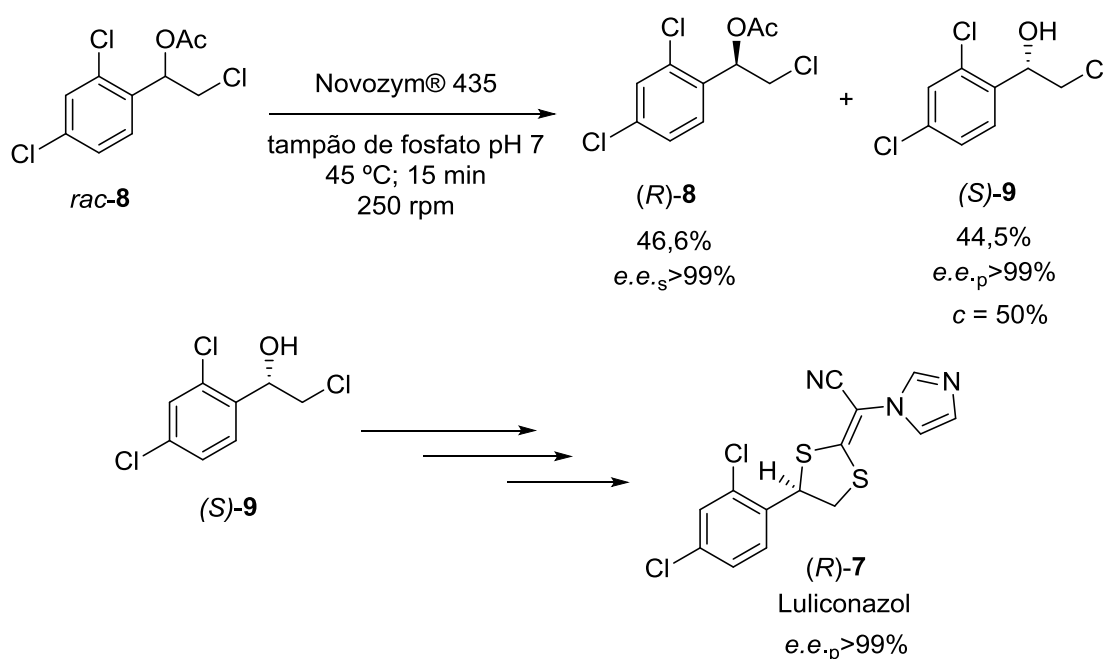
Fonte: Elaborada pelo autor

A maioria dos fármacos é produzida por meio de várias etapas reacionais, variando, em média, de 5 a 15 passos (GRÖGER, 2018). Geralmente, a etapa-chave é a formação do centro estereogênico na molécula alvo ou no intermediário com a configuração desejada, objetivando produzir o fármaco na sua forma enantiomericamente pura.

A maior vantagem de empregar enzimas em uma resolução cinética é que, na maioria das vezes, a enzima interage somente com um enantiômero, portanto, com alta enantiosseletividade. Como exemplo, é possível citar o relato de Lima e colaboradores (2017), referente à síntese do (*S*)-pindolol, (*S*)-**3**, um fármaco utilizado como β -bloqueador, empregando duas lipases na rota sintética. Na primeira etapa, realizou-se a resolução cinética do acetilado *rac*-**4**, **Esquema 3**, na presença da lipase de *Pseudomonas fluorescens*, com obtenção da cloridrina (*S*)-**5** e do acetato remanescente (*R*)-**6**, com altos valores de excesso enantiomérico, respectivamente 95 e 97%. Na segunda etapa, foi utilizada a lipase de *Candida rugosa* para hidrolisar o acetato (*R*)-**6**, levando à cloridrina (*R*)-**5** com excesso enantiomérico de 97%. Essa última foi submetida a uma reação com isopropilamina, levando a formação do (*S*)-pindolol com rendimento quantitativo.

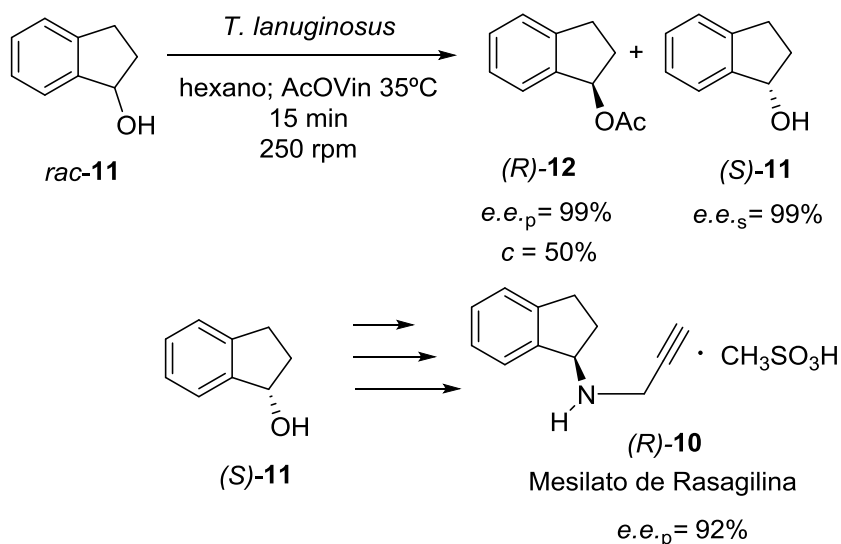
Esquema 3 – Síntese quimioenzimática do (*S*)-pindolol realizado por Lima *et al.*(2017)

Outro exemplo, refere-se à síntese quimioenzimática do luliconazol, (*R*)-7, **Esquema 4**, um potente antifúngico, cuja etapa chave da reação foi a resolução cinética do acetato *rac*-8, via reação de hidrólise, utilizando a lipase Novozym[®] 435. Nesse caso, foram obtidos ambos, a **cloridrina**, (*S*)-9, com rendimento de 44,5% e o acetato remanescente, (*R*)-8, com rendimento de 46,6%, ambos os enantiômeros com valores de excesso enantiomérico > 99%. Após alguns passos reacionais, a cloridrina (*S*)-9 foi convertida no luliconazol, (*R*)-7, com excesso enantiomérico > 99%, Fonseca *et al.* (2018).

Esquema 4. Síntese quimioenzimática do luliconazol *via* resolução cinética do *rac*-8, por meio de reação de hidrólise, na presença da lipase Novozym[®] 435

Estes mesmos autores, Fonseca *et al.* (2015), relataram em outro artigo, a síntese quimioenzimática do fármaco mesilato de rasagilina (*R*)-**10**, **Esquema 5**. Este fármaco é utilizado para o tratamento, nos estágios iniciais, do mal de Parkinson. A etapa chave da síntese foi a resolução cinética do álcool *rac*-**11**, em meio orgânico, na presença da lipase de *Thermomyces lanuginosus*. Foram produzidos o indanol (*S*)-**11** e o acetato de indanila (*R*)-**12**, ambos com excesso enantiomérico > 99%. Partindo do (*S*)-indanol e após alguns passos reacionais, foi possível obter o mesilato de rasagilina (*R*)-**10** com excesso enantiomérico de 92%.

Esquema 5. Síntese quimioenzimática do mesilato de rasagilina, *via* resolução cinética do *rac*-**11**, por meio de reação de acetilação em meio orgânico, na presença da lipase de *T. lanuginosus*.



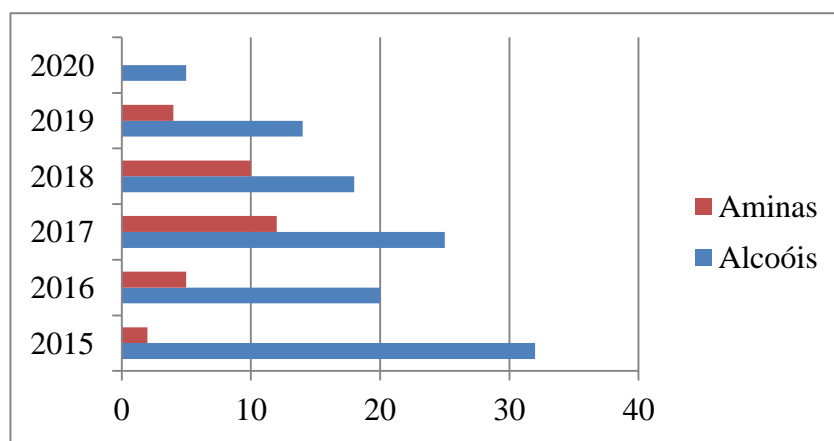
1.2 Resolução cinética enzimática de compostos nitrogenados

As aminas quirais têm alto valor na síntese de fármacos e na indústria agroquímica, porém, a maioria dos processos de obtenção de aminas na forma enantiomericamente pura depende de cristalizações com ácidos quirais ou síntese assimétrica utilizando catalisadores quirais metálicos (OLAH *et al.*, 2016).

Na literatura são encontrados diversos trabalhos com alcoóis secundários intermediários de fármacos resolvidos cineticamente, *via* acilação ou hidrólise, com o auxílio de lipases (**Gráfico 1**). No entanto, o número de pesquisas que buscam a resolução cinética enzimática de aminas racêmicas utilizando lipases é limitado. Nos últimos anos, a maioria dos

artigos relatam resoluções com fluxo contínuo, resolução cinética dinâmica ou utilizando metais na catálise, como nanopartículas de paládio. O **Gráfico 1** mostra um comparativo do número de trabalhos publicados, de 2015 até o momento, relacionando a resolução cinética de aminas e alcoóis.

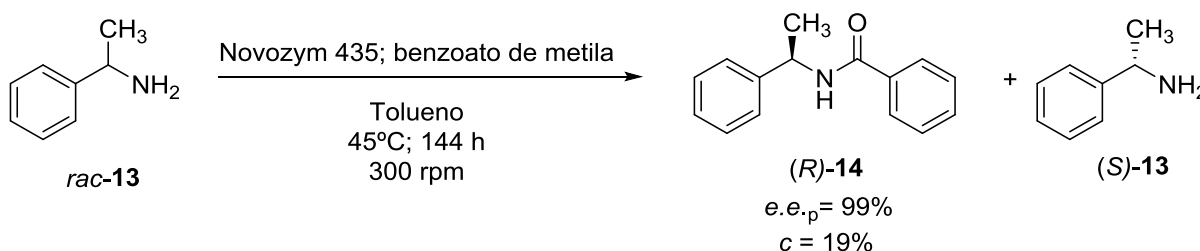
Gráfico 1. Publicações com resoluções de alcoóis e aminas, de 2015 até o maio/2020.



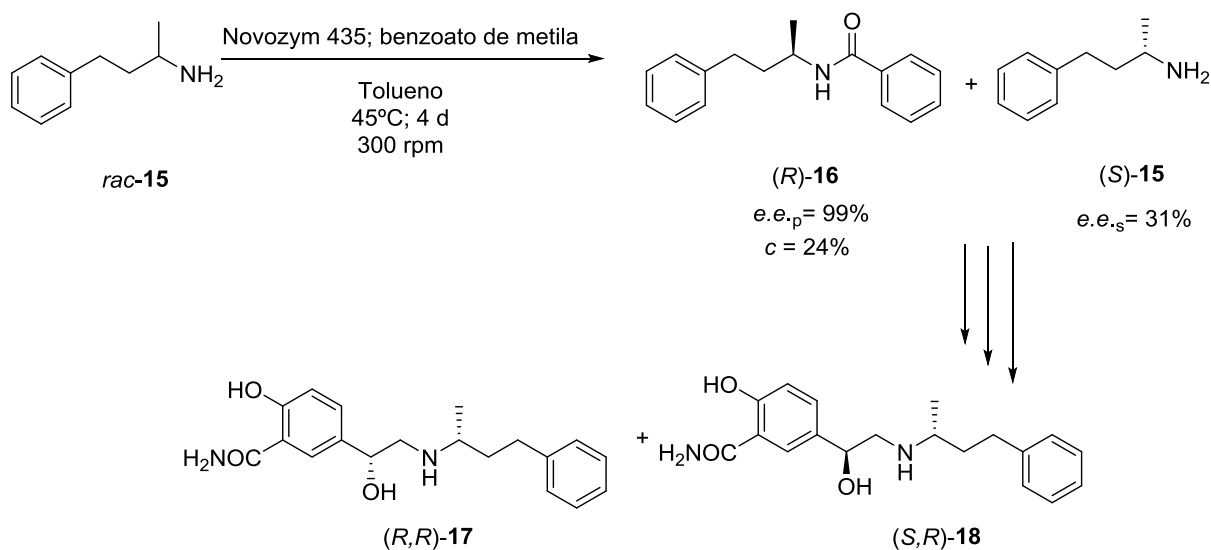
Fonte: *Scifinder*, utilizando as palavras-chaves: “*resolution*”, “*lipase*” e “*alcohol*” para os alcoóis. Para as aminas utilizaram-se as seguintes, “*resolution*”, “*lipase*” e “*amine*”.

Sanfilippo, Paternò e Patti (2018) relataram a resolução cinética enzimática da feniletanamina, *rac*-**13** (**Esquema 6**), com conversão de 19% e enantiosseletividade acima de 200. Em seguida, os autores realizaram a resolução cinética da 4-fenilbutan-2-amina *rac*-**15** (**Esquema 7**), como uma das etapas para a produção labetalol (*R,R*)-**17** ou (*S,R*)-**18**, via benzilação, utilizando a *Candida antarctica* (Novozym 435®), benzoato de metila como doador de acila e tolueno como solvente.

Esquema 6. Resolução cinética enzimática da feniletanamina *rac*-**13**, Sanfilippo, Paternò e Patti (2018).

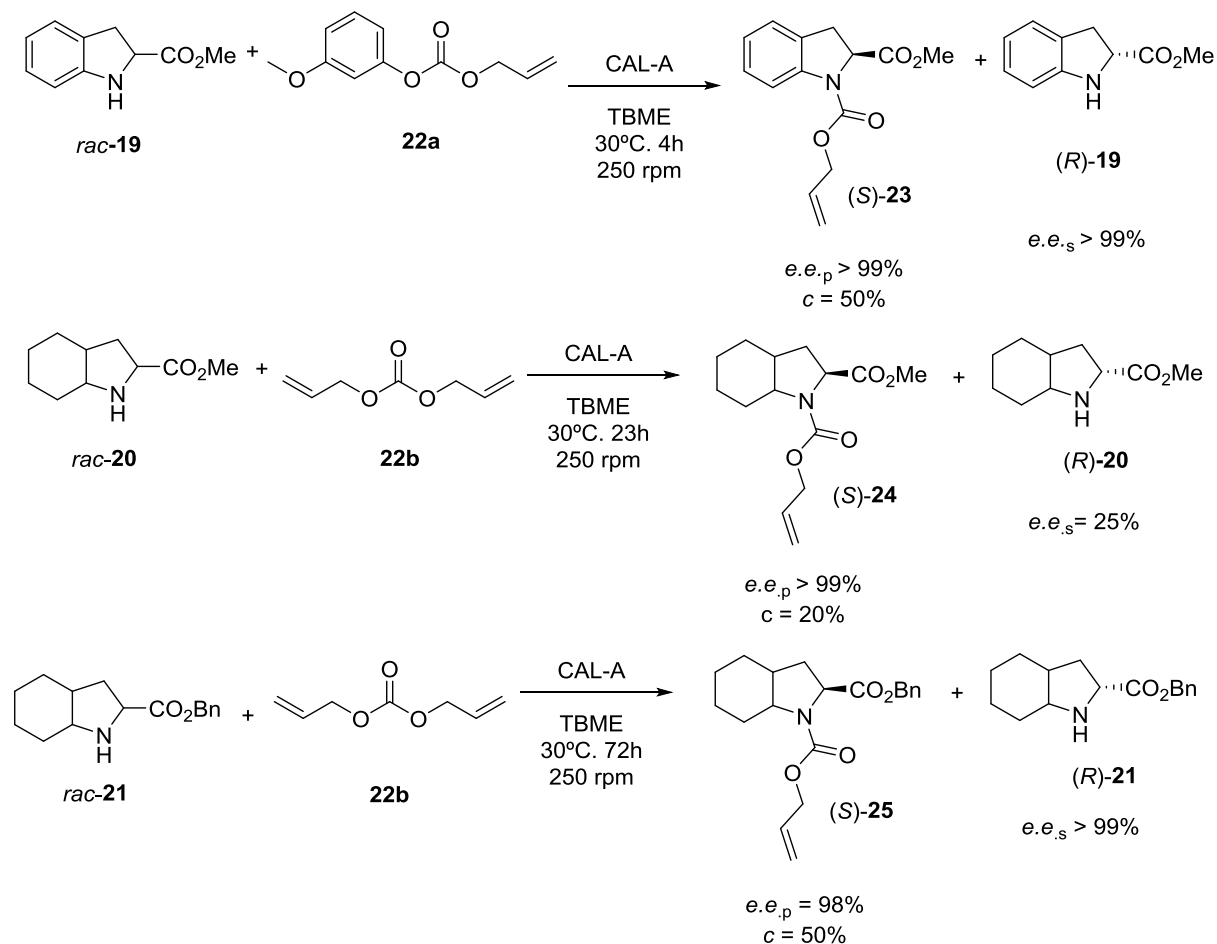


Esquema 7. Resolução cinética enzimática de *rac*-**15** na obtenção do labetalol (*R,R*)-**17** ou (*S,R*)-**18**, por Sanfilippo, Paternò e Patti (2018).



Alatorre-Santamaría *et al.* (2008) estudaram o comportamento das lipases na resolução cinética enzimática de aminas secundárias, *via* carbamatação. Foram avaliadas as seguintes aminas: i) indolina-2-carboxilato de metila, *rac*-**19**, ii) octaidro-1*H*-indol-2-carboxilato de metila, *rac*-**20** e iii) octaidro-1*H*-indol-2-carboxilato de benzila, *rac*-**21**, **Esquema 8**, utilizando o carbonato de 3-metoxifenilalila, **22a**, e o carbonato de dialila, **22b**, como doadores de acila e como lipase a *Candida antarctica* do tipo A, CAL-A. Foram obtidos os (*S*)-carbamatos com conversões que variaram entre 20% e 50%, valores de enantiosseletividade acima de 200 e tempos de reação que variaram entre 4 e 72 h.

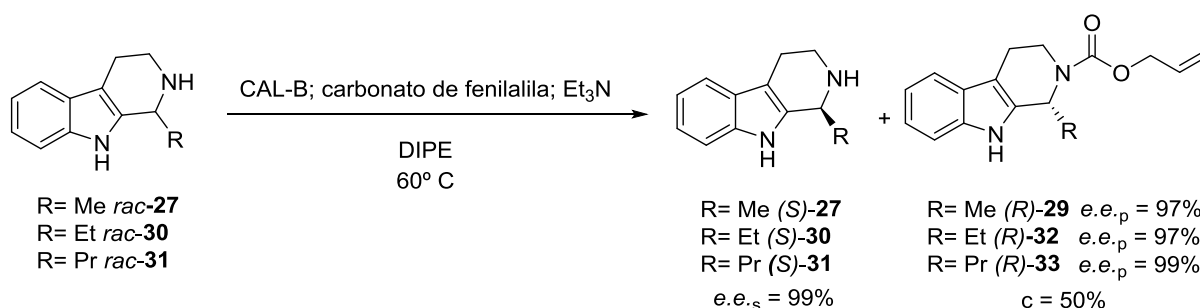
Esquema 8. Resolução cinética do indolina-2-carboxilato de metila, *rac*-**19**, octaidro-1*H*-indol-2-carboxilato de metila, *rac*-**20** e octaidro-1*H*-indol-2-carboxilato de benzila, *rac*-**21**, em meio orgânico.



Kovács *et al.* (2017) realizaram um estudo das resoluções cinéticas enzimáticas de derivados da tetraidro- β -carbolina, na presença de lipases, utilizando duas amins secundárias, *rac*-**26** (**Esquema 9**) e *rac*-**27** (**Esquema 10**). A resolução cinética da amina *rac*-**26** ocorreu na presença de YA (lipase de *Candida rugosa*) como biocatalisador, carbonato de fenilalila como doador de acila, em tolueno anidro, levando a conversão de 50%, valores de excesso enantiomérico de 98% para o carbamato e para a amina remanescente e enantiosseletividade acima de 200. Cabe ressaltar que para alcançar os valores ideais, as resoluções ocorreram em um longo período reacional (72 h).

elencadas três desvantagens em relação as resoluções cinéticas: (i) longo tempo reacional, que variam de um a sete dias; (ii) alta temperatura e (iii) a necessidade de se utilizar trietilamina como aditivo no meio reacional.

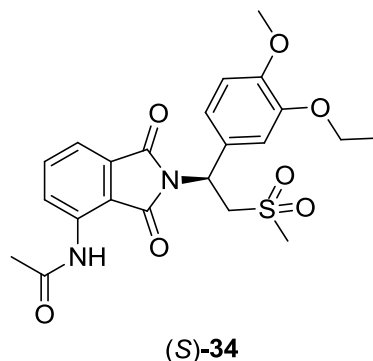
Esquema 11. Resolução cinética dos derivados da tetraidro- β -carbolina, *rac*-**27**, *rac*-**30** e *rac*-**31**, em meio orgânico.



1.3 Abordagem geral sobre o apremilast

Os fármacos produzidos para o tratamento da psoríase se apresentam com o propósito de atuar como sinalizador de células inflamatórias (PAPP *et al.*, 2012). A fosfodiesterase 4 (PDE 4) é uma enzima intracelular que age no controle dos níveis do monofosfato cíclico de adenosina (AMPc), degradando o AMPc e aumentando os níveis de células inflamatórias (HORVAT e VARDJAN, 2019 e BISSONNETTE *et al.*, 2016).

O apremilast [(*S*)-*N*-{2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-metilssulfoniletil]-1,3-dioxo-2,3-di-hidro-1*H*-isoindol-4-il}acetamida] (*S*)-**34**, **Figura 2**, foi relatado pela primeira vez em 2009 pela Celgene Corporation por Hon-Wah Man e colaboradores (MAN *et al.*, 2009), sendo aprovado pela *Food & Drug Administration* (FDA) no ano de 2014 (RUCHELMAN, 2015). A aprovação do referido fármaco foi realizada no Brasil pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) em 2018 (ANVISA, 2018). O apremilast é comercializado como OTZELA®, um fármaco oral, especificamente utilizado para inibir a PDE 4, uma enzima associada ao desenvolvimento da psoríase e da artrite psoriática, atuando como um anti-inflamatório (PAPP, 2012). Na literatura já foram relatadas sínteses convencionais do apremilast (**Item 1.3.1.**), utilizando reagentes convencionais ou catalisadores quirais e sínteses utilizando cetorreductases e resolução cinética dinâmica utilizando lipases (**Item 1.3.2.**).

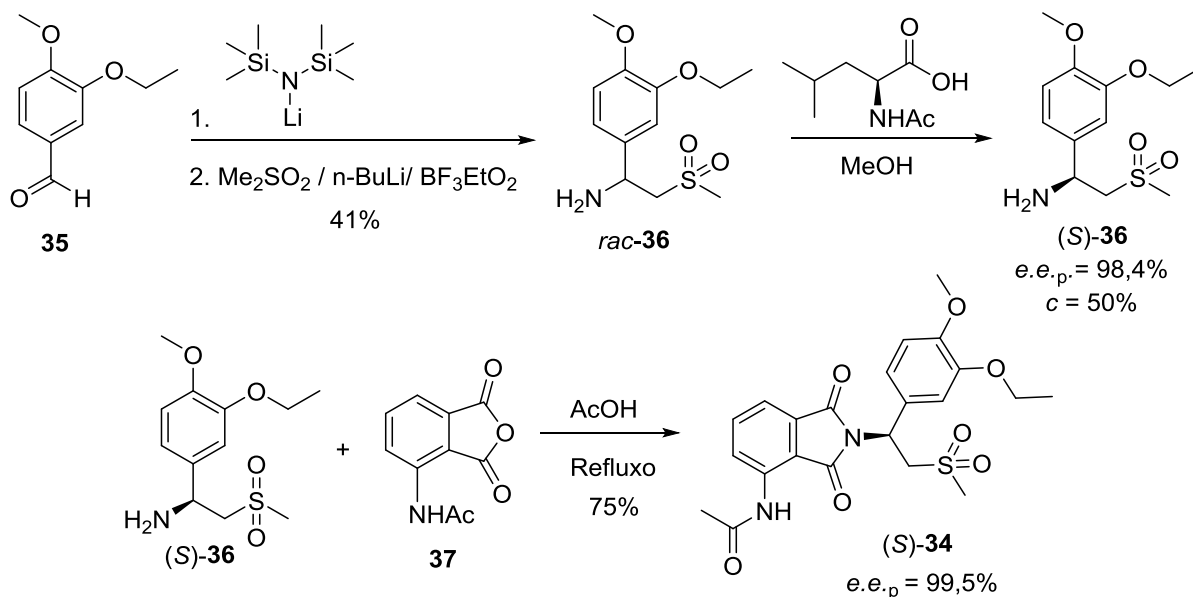
Figura 2. Estrutura química do apremilast, (S)-**34**

Fonte: MAN *et al.*, 2009

1.3.1 Estratégias sintéticas convencionais na síntese do apremilast

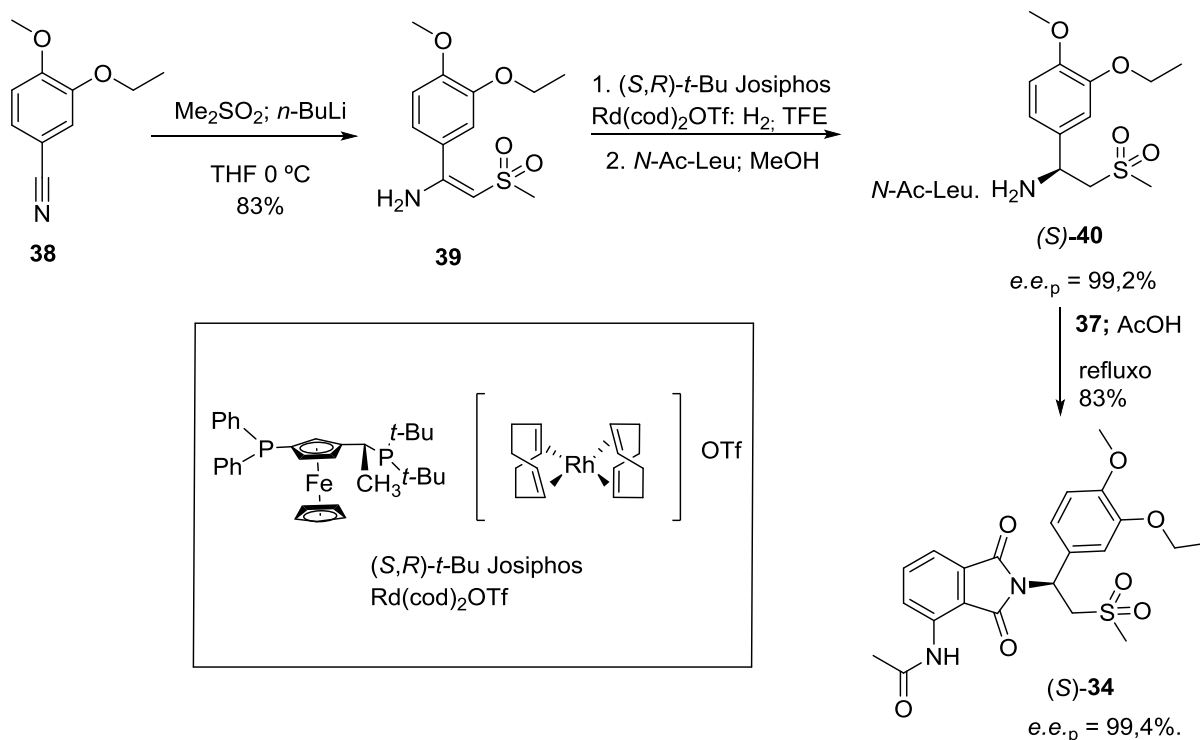
A síntese total do apremilast, **Esquema 12**, realizada pela Celgene Corporation, se inicia com a reação entre o *bis*(trimetilsilil)amida de lítio e o 3-etoxi-4-metoxibenzaldeído, **35**, seguido da adição da dimetilssulfona e *n*-butil-lítio em trifluoroboroeterato, com a obtenção da 2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenil)]-1-metilssulfonil-2-etilamina, *rac*-**36**. Em seguida, foi realizada uma resolução cinética da amina *rac*-**36**, *via* reação ácido-base, utilizando um derivado do aminoácido L-leucina, com a obtenção da amina quiral, (S)-**36**, com excesso enantiomérico de 98,4%. Finalmente, a amina (S)-**36** foi submetida a uma reação com o anidrido 3-acetilaminoftálico, **37**, sob refluxo, para formar o apremilast, (S)-**34**, com excesso enantiomérico de 99,5%.

Esquema 12. Síntese do apremilast (*S*)-**34**, realizada pela Celgene Corporation.



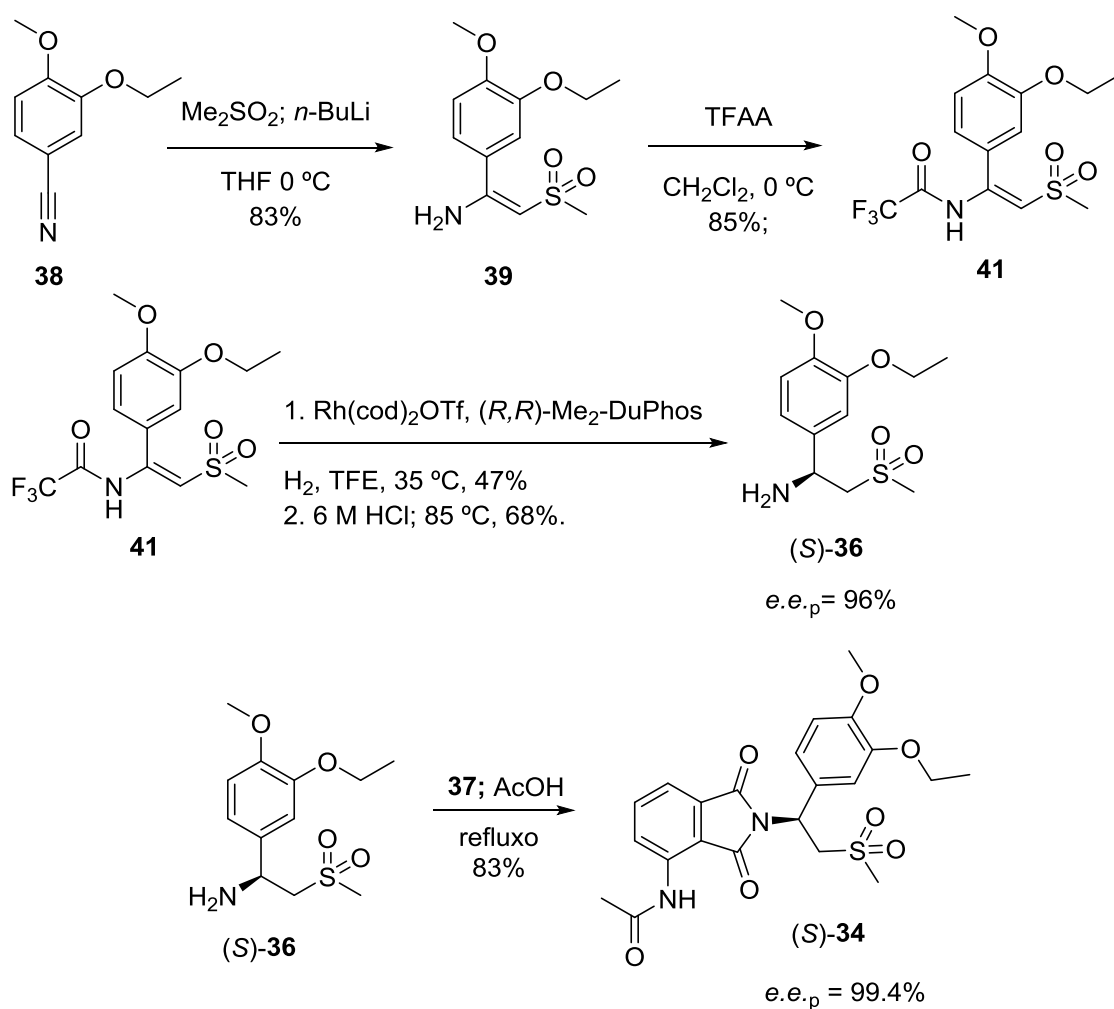
Em 2015, Ruchelman e Connolly relataram a síntese do apremilast a partir da reação entre a 3-etoxi-4-metoxi benzonitrila, **38**, e o intermediário (metilssulfonil)metanídeo (carbânion formado entre a dimetilssulfona e *n*-butil-lítio), com a obtenção da 1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-(metilssulfonil)eten-1-amina, **39**, **Esquema 13**. Posteriormente, esta última foi submetida a uma hidrogenação assimétrica, na presença do (*S*-1)-[(*Rp*)-2-(difenilfosfina)ferrocenil]etil-di-*t*-butilfosfina, triflato de *bis*(1,5-ciclooctadieno)ródio(I) e hidrogênio, seguido de tratamento com acetato de L-leucina, produzindo a substância (*S*)-**40**. Finalmente, (*S*)-**40** foi submetida a uma reação com o anidrido 3-amidofáltico, **37**, sob refluxo, para formar o apremilast (*S*)-**34** com excesso enantiomérico de 99,4%.

Esquema 13. Síntese do apremilast (*S*)-**34** realizada por Ruchelman e Connolly (2015).



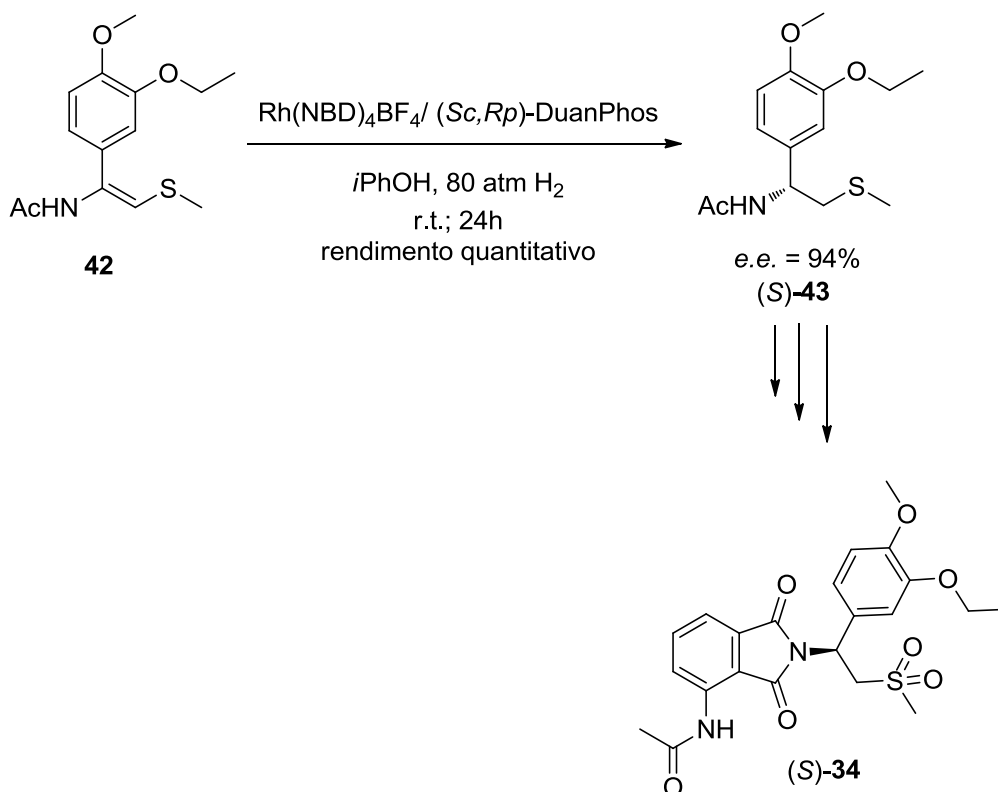
Posteriormente os mesmos autores (2015) relataram a síntese do apremilast, a partir da reação entre nitrila **38** e o (metilssulfonil)metanídeo, com a obtenção da enamina **39**, **Esquema 14**. Em seguida, esta última foi submetida a uma reação com o anidrido trifluoroacético (TFAA), com a obtenção do *N*-(1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-(metilssulfonil)-vinil)-2,2,2-trifluoroacetamida, acetamida **41**. Este último composto **41** foi submetido a uma hidrogenação assimétrica, na presença do (*S*)-1-[(*Rp*)-2-(difenilfosfino)ferrocenil]etil-di-*terc*-butilfosfina, triflato de *bis*(1,5-ciclooctadieno)ródio(I) e hidrogênio, seguido de tratamento com um derivado do aminoácido L-leucina, com obtenção da amina (*S*)-**36**. Por fim, a amina (*S*)-**36** foi submetida a uma reação com o anidrido **37**, sob refluxo, para formar o apremilast (*S*)-**34** com excesso enantiomérico de 99,4%.

Esquema 14. Rota de síntese do apremilast (*S*)-**34** realizada por Ruchelman *et al.* (2015) utilizando a nitrila **38**.



Gao, Lv e Zhang (2017) realizaram a redução assimétrica do composto **42**, utilizando um catalisador metálico derivado do ródio, em isopropanol, obtendo o sulfeto **43** com excesso enantiomérico de 94%, **Esquema 15**.

Esquema 15. Rota de síntese do apremilast (*S*)-**34** realizada por Gao, Lv e Zhang (2017)

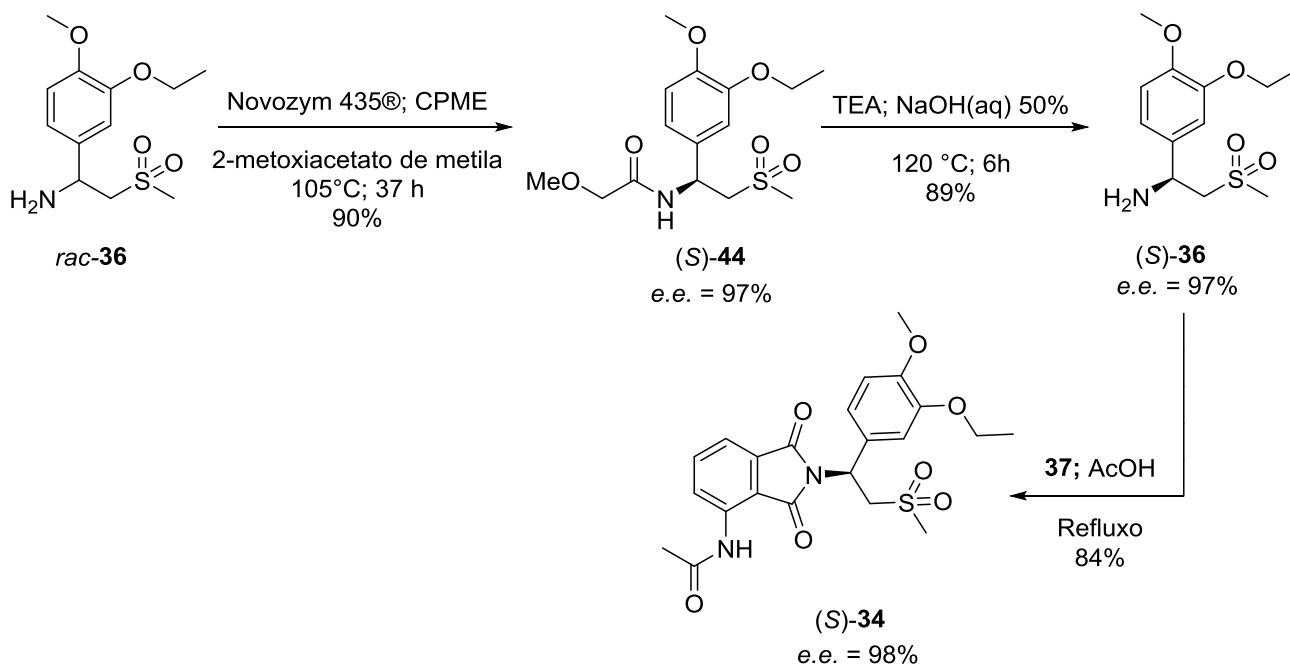


1.3.2 Estratégias sintéticas alternativas do apremilast

Na literatura foram relatadas mais duas metodologias para síntese do apremilast, (*S*)-**34**, porém, utilizando enzimas como catalisadoras a fim de se obter um intermediário na forma enantiomericamente pura ou enriquecida.

Doubsky *et al.* (2016) tiveram como foco principal de seu trabalho a resolução cinética dinâmica da (*S*)-*N*-(1-(3-etóxi-4-metoxifenil)-2-(metilsulfonil)-etil)-2-metoxiacetamida, (*S*)-**44**, utilizando o catalisador de Shvo's como agente de racemização e a lipase Novozym 435®. Neste procedimento foram testados doadores de acila, porém o que mostrou melhor resultado na resolução aplicada foi o 2-metoxiacetato de metila que contribuiu para 97% de excesso enantiomérico do produto. Ao obter a amida (*S*)-**44**, foi realizada uma reação de hidrólise básica utilizando hidróxido de sódio e trietanolamina (TEA), obtendo a amina (*S*)-**36** com o excesso enantiomérico de 97%. Terminando com a síntese do apremilast, (*S*)-**34**, com 97% de excesso enantiomérico, **Esquema 16**.

Esquema 16. Resolução cinética dinâmica da amina *rac*-**36** via resolução cinética dinâmica desenvolvida por Doubsky *et al.* (2016).

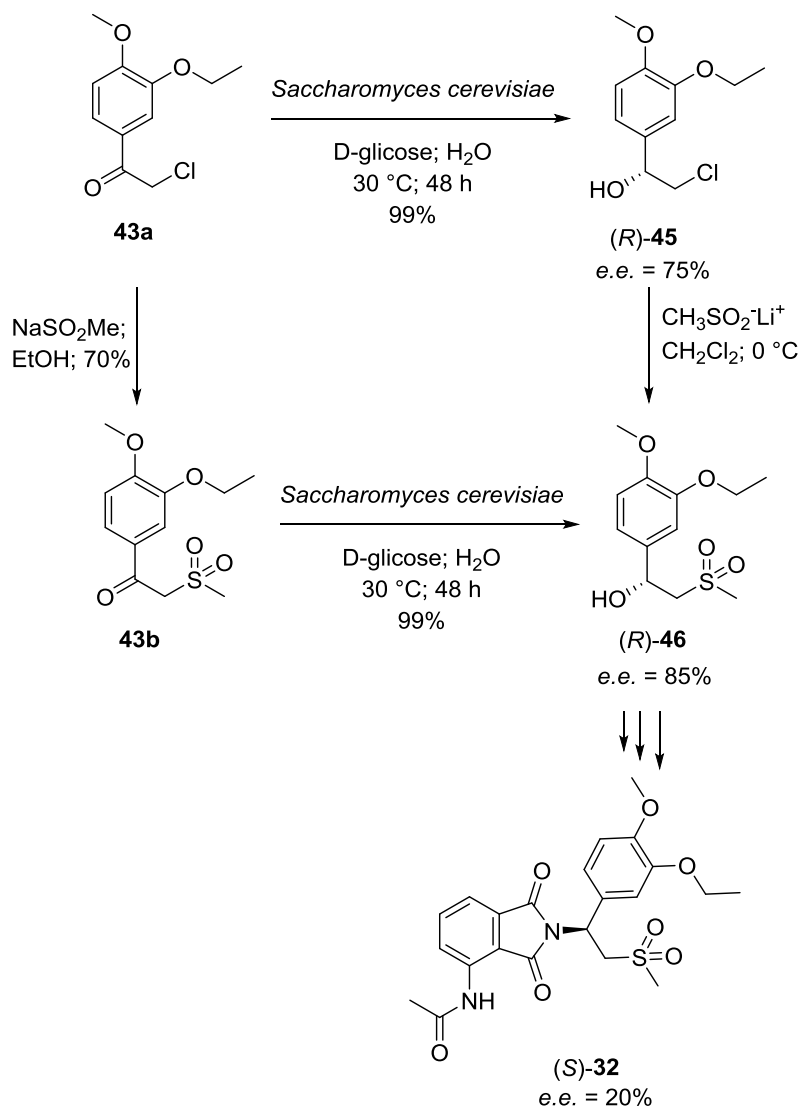


Além de serem utilizadas lipases para a realização de obtenção e centros estereogênicos com configurações definidas, foram realizados testes com cetorredutases, as quais tem a função de reduzir cetonas pró-quirais para alcoóis em configurações específicas.

A metodologia de biorredução de cetonas pró-quirais foi aplicada por Gazic e Stavber (2017), que utilizaram as cetonas: 2-cloro-1-(3-etoxi-4-metoxifenil)etanona, **46a**, e 1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-(metilsulfonil)etanona), **46b**, utilizando a levedura de pão (*Saccharomyces cerevisiae*) e D-glucose, em água, a 30 °C por 48 h, como ilustrado no **Esquema 17**.

A cetona **46a** foi submetida a uma biorredução na presença da *Saccharomyces cerevisiae* e D-glucose, em água, a 30 °C por 48 h, resultando no (*R*)-2 -cloro-1-(3-etoxi-4-metoxifenil)etanol, (*R*)-**47**, com rendimento de 99% e excesso enantiomérico de 75%. A cetona **46a** foi transformada na cetona **46b** com metanosulfonato de sódio em etanol, sob refluxo. Em seguida, a cetona **46b** também foi submetida a uma biorredução na presença *Saccharomyces cerevisiae* e D-glucose, em água, a 30 °C por 48 h, com obtenção do (*R*)-1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-(metilsulfonil)etanol, (*R*)-**48**, com conversão de 75% e excesso enantiomérico de 85%. A partir de (*R*)-**48**, o apremilast foi obtido com excesso enantiomérico de apenas 20%, **Esquema 17**.

Esquema 17. Biorredução das cetonas **46a** e **46b** realizada por Gazic e Stavber (2017).



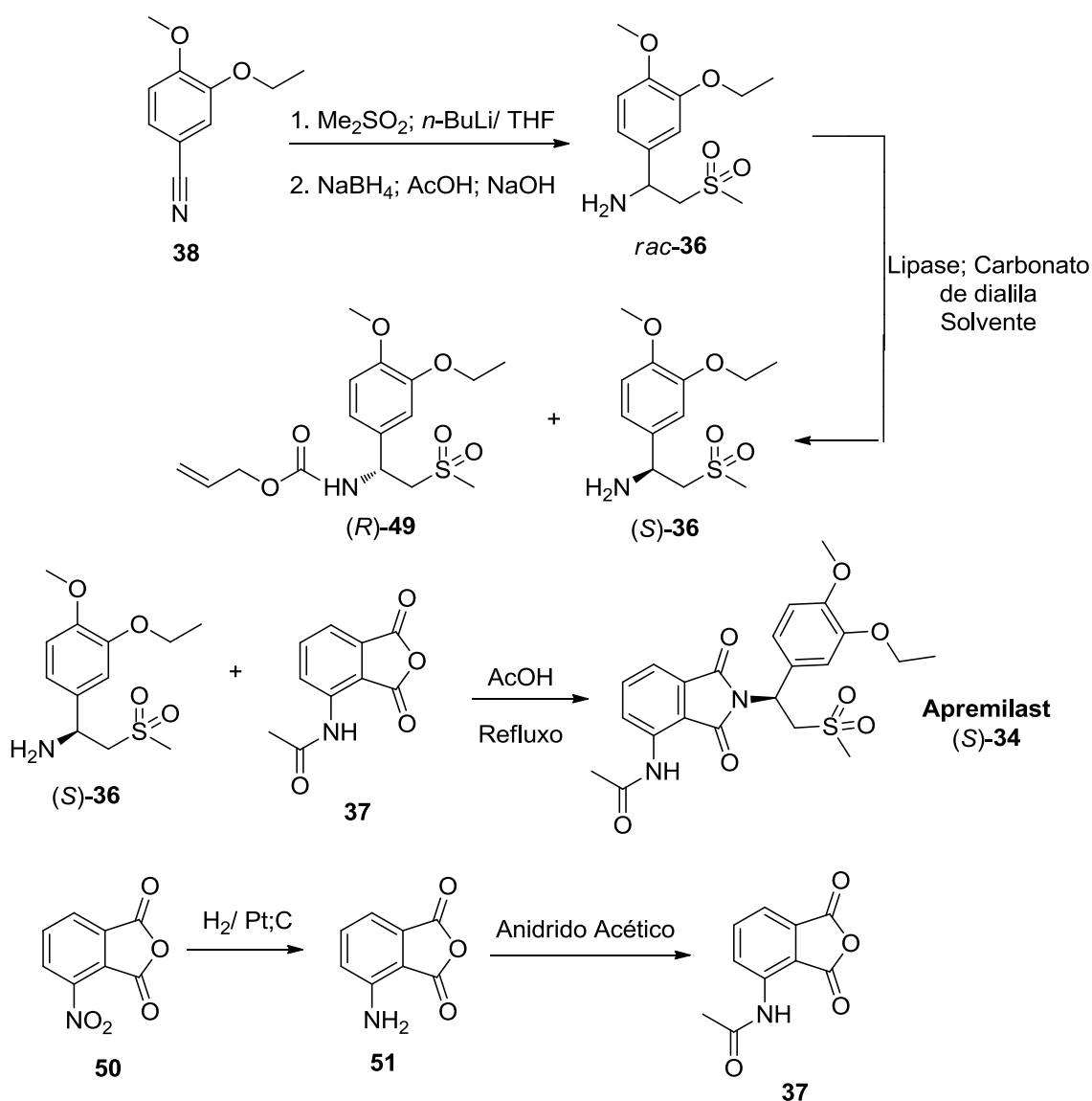
Pode-se notar que nos processos alternativos (biocatalíticos), o apremilast foi obtido na forma enantiomericamente enriquecida. No processo de resolução cinética dinâmica desenvolvido por Doubsky *et al.*, o apremilast foi obtido com excesso enantiomérico de 98%, **Esquema 16**, sendo necessário utilizar alta temperatura (105 °C). Por outro lado, a utilização de *Saccharomyces cerevisiae* na biorredução de cetonas intermediárias, levou a produção do apremilast com excesso enantiomérico de apenas 20%, **Esquema 17**.

Cabe ressaltar que os relatos sobre os dois métodos alternativos descritos para a síntese do apremilast referem-se a duas patentes. Devido à escassez de publicações referentes a métodos biocatalíticos aplicados na síntese do apremilast, aliado as vantagens (biocatalisador degradável, condições reacionais mais brandas e alta estereosseletividade de enzimas) que tais métodos agregam a um processo sintético, decidimos propor e estudar uma

rota sintética para a produção do apremilast, cuja etapa principal consiste na resolução cinética da amina *rac*-**36**, via reação de carbamatação, catalisada por uma lipase.

A proposta para obtenção do fármaco na sua forma enantiomericamente pura utilizando lipases, pode ser detalhada no **Esquema 18**.

Esquema 18. Proposta de obtenção do apremilast (*S*)-**34** utilizando lipases, *via* reação de carbamatação



Inicialmente, será realizada a síntese da amina *rac*-**36** a partir da reação entre a nitrila comercial **38**, dimetilssulfona (Me_2SO_2) e *n*-butil lítio em THF anidro. Em seguida, adiciona-se boroidreto de sódio (NaBH_4) e ácido acético glacial, finalizando com a

neutralização do ácido com uma solução de hidróxido de sódio. Com esse procedimento será possível obter a amina racêmica *rac*-**36**.

Subsequentemente, a amina racêmica *rac*-**36** deverá ser resolvida, via reação de carbamatação catalisada por uma lipase. Portanto, será necessária realizar a triagem de lipases livres e imobilizadas com a amina *rac*-**36**, utilizando carbonato de dialila com agente de carbamatação, em um solvente orgânico anidro a fim de obter o carbamato de [1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-(metilssulfonil)etil]alila. Caso a resolução cinética siga a regra de Kazlauskas (1991), será obtido o carbamato (*R*)-**49**, e a amina remanescente (*S*)-**36**.

O reagente comercial anidrido 3-nitroftálico **50** será submetido a redução do grupo nitro com hidrogenação catalítica em acetato de etila anidro para obtenção do anidrido 3-aminoftálico **51**. Posteriormente, o anidrido **51** será submetido a uma reação de acetilação com anidrido acético para obtenção do anidrido **37**.

A síntese do apremilast, (*S*)-**34**, será realizada a partir da amina quiral, (*S*)-**36** e o anidrido **37**, sob refluxo em ácido acético glacial.

Analisando a rota sintética proposta, sugerimos uma metodologia “verde” utilizando catalisadores biodegradáveis, que poderá resultar em uma eficiente síntese do fármaco apremilast e seus intermediários com promissores resultados de conversão e excessos enantioméricos.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

- Estudar a rota sintética proposta no **esquema 18** para a síntese quimioenzimática do fármaco apremilast na presença de lipases, *via* reação de carbamatação.

2.2 Objetivos específicos

- Estudar a resolução cinética enzimática da amina *rac*-**36**, *via* reação de carbamatação catalisada por lipases.
- Obter os intermediários para a síntese do apremilast, a amina (*S*)-**36** e o carbamato (*R*)-**49**, respectivamente, com altos valores de excesso enantiomérico e conversão;
- Otimizar as condições reacionais, tais como: tempo reacional, temperatura, meio reacional e proporção biocatalisador/substrato (massa/massa).

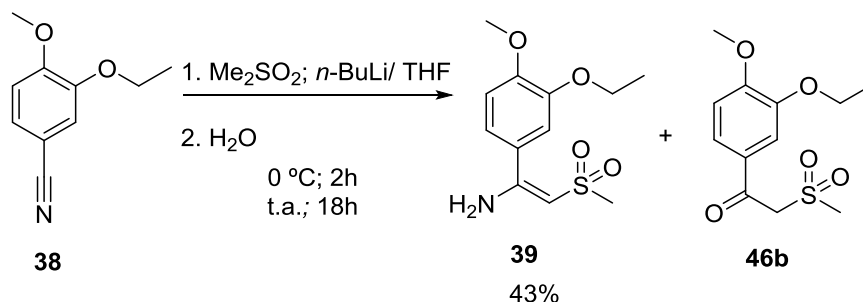
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Obtenção da 2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenil)]-1-metilssulfonil-2-etilamina, *rac*-36.

Inicialmente, a síntese da amina *rac*-36 foi realizada conforme o **Esquema 19**, mas com a tentativa de isolamento da enamina **39**, **Esquema 19**, formada na primeira etapa. Dessa forma, foi realizado o procedimento relatado por Ruchelman *et al.* (2016), como ilustrado no **Esquema 13**. Conforme este procedimento, a nitrila **38** foi submetida à reação com o (metilssulfonil)metanídeo (carbânion formado entre a dimetilssulfona e *n*-butil-lítio) em THF anidro, utilizando a proporção nitrila:*n*-BuLi:Me₂SO₂ de 1:1,8:2, por 2 h, a 0 °C, e em seguida por 18 h à temperatura ambiente. Após esse tempo, a reação foi finalizada com a adição de água, levando a formação de um precipitado amarelo, o qual foi filtrado a vácuo. As análises do referido sólido por RMN de ¹H e ¹³C (**Anexo B**, p. 66), comprovaram a formação da enamina **39** com rendimento de apenas 43%, menor do que o obtido pelos os autores (83%). A água mãe obtida na filtração a vácuo foi analisada por CCD e verificou-se a presença de duas substâncias com *R_f*'s próximos, a enamina **39** como composto majoritário e um subproduto.

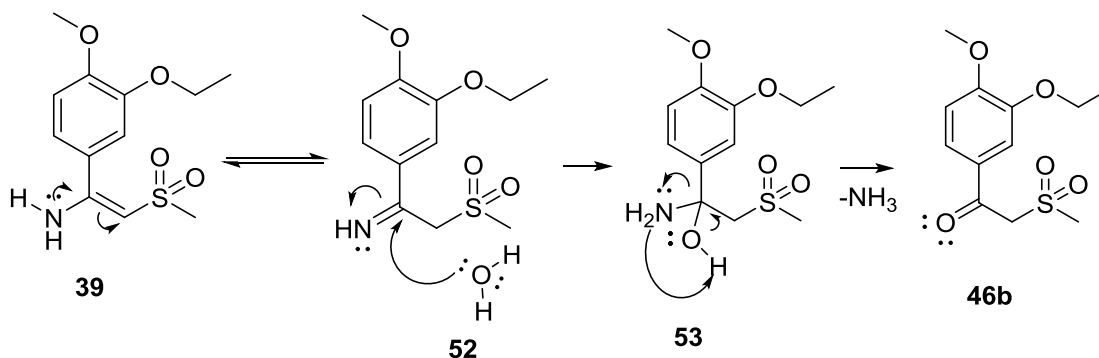
Após o isolamento do referido subproduto e das análises por RMN de ¹H e ¹³C (**Anexo C**, p. 68), foi possível verificar que se tratava da cetossulfona **46b**, **Esquema 20**.

Esquema 19. Obtenção da enamina **39** e cetossulfona **46b**



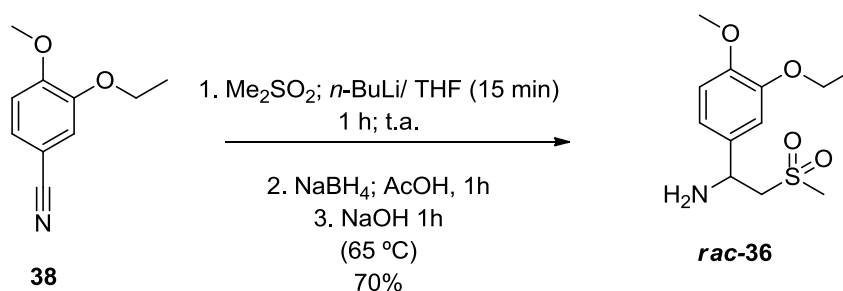
A formação da cetossulfona **46b** foi sugerida a partir da hidrólise da imina **52**, **Esquema 20**. Neste caso, ocorre um equilíbrio entre a enamina **39** e a imina **52**, 1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-(metilsulfonil)etan-1-imina. Esta última, provavelmente, sofre um ataque nucleofílico da água, a qual foi adicionada no sistema reacional para o término da reação, levando à formação do intermediário 1-amino-1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-(metilsulfonil)etanol, o amino-álcool **53**, o qual se transforma na cetossulfona **46b** com a perda de uma molécula de amônia.

Esquema 20. Proposta mecanística para formação da cetossulfona **46b**



Uma busca na literatura revelou o procedimento em que a amina *rac*-**36** poderia ser diretamente obtida a partir da enamina **39** formada *in situ* no meio reacional, Saindane e Ge (2010). Segundo estes autores, a adição de borohidreto de sódio ao meio reacional leva a formação da amina *rac*-**36**, sem a necessidade de isolar a enamina **39**. Portanto, decidimos realizar o procedimento descrito por Saindane e Ge (2010) com modificações nos tempos reacionais das etapas. Dessa forma, verificamos que o carbânion da dimetilssulfona necessitava de apenas 15 min para ser formado. Em seguida, a nitrila **38** foi adicionada ao meio reacional para reagir com o carbânion da dimetilssulfona por 1 h, com a formação *in situ* da enamina **39**. Após este período, a adição de borohidreto de sódio, em ácido acético glacial, com agitação do sistema reacional por 1 h, seguido da neutralização do meio com uma solução de hidróxido de sódio, sob refluxo por mais 1 h, permitiu a transformação da enamina **39** na amina *rac*-**36**, com rendimento de 70%, **Esquema 21**. A amina *rac*-**36** foi isolada e em seguida caracterizada por RMN de ^1H e ^{13}C (**Anexo D**, p. 70).

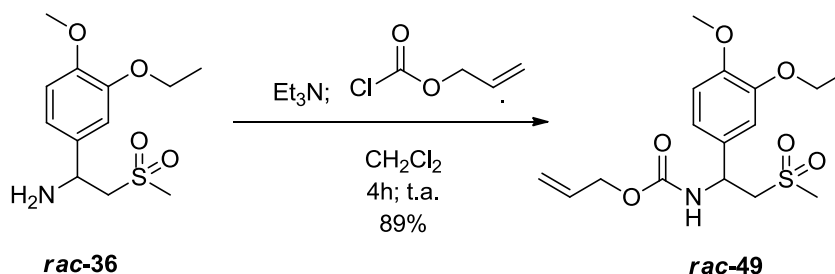
Esquema 21. Obtenção da amina *rac*-**36**



3.2 Obtenção do carbamato de [1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-(metilssulfonil)etil]alila, *rac*-49

Após obter a amina *rac*-36, voltamos a nossa atenção para a obtenção do carbamato *rac*-49, segundo procedimento descrito por Gellerman *et al.* (2010). Desta forma, a amina *rac*-36 foi submetida a uma reação com cloroformato de alila, na presença de trietilamina, em diclorometano anidro, por 4 h, à temperatura ambiente. Após este período, foi obtido o carbamato *rac*-49 com 89% de rendimento, o qual foi caracterizado por RMN de ^1H e ^{13}C (Anexo E, p. 72), Esquema 22.

Esquema 22. Obtenção do carbamato *rac*-49



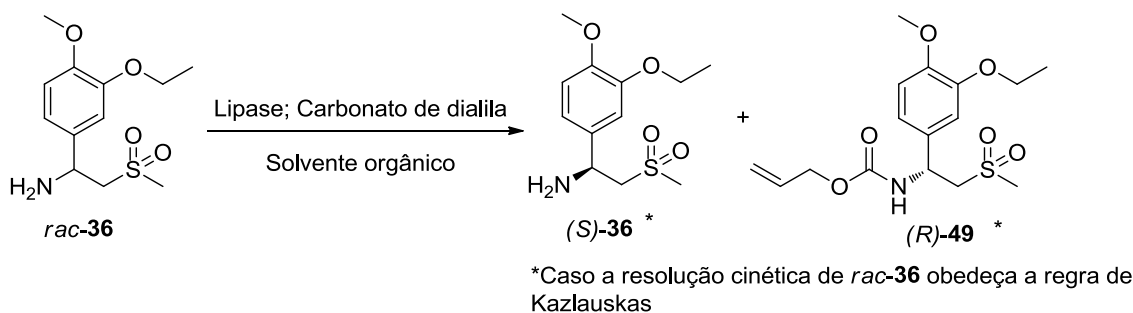
3.3 Obtenção do carbamato de [1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-(metilssulfonil)etil]alila, 49, via resolução cinética usando lipases em meio orgânico.

Finalmente, ao sintetizar a amina *rac*-36 e o correspondente carbamato de alila *rac*-49, foi possível desenvolver um método de separação de seus correspondentes enantiômeros por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), Item 4.1.3, utilizado a coluna quiral AD-H. Desta forma, partiu-se para a triagem de lipases na resolução cinética da amina *rac*-36, via carbamatação, em meio orgânico (Esquema 23). As lipases comerciais utilizadas na triagem foram: Amano lipase de *Pseudomonas fluorescens* imobilizada em imobead 150, Amano lipase de *Pseudomonas fluorescens* imobilizada em imobead 150 sol gel AK em pumice, Amano lipase de *Pseudomonas fluorescens* imobilizada em sol gel AK, Lipozyme RM IM, Amano lipase PS-IM imobilizada em terra diatomácea, lipase de *Thermomyces lanuginosus* imobilizada em imobead 150 (TLL), lipase de *Candida antarctica* do tipo B imobilizada em resina acrílica (CAL-B), lipase de *Candida rugosa*, Amano lipase *Burkholderia cepacia*, lipase de *Rhizopus niveus*, Amano lipase G de *Penicillium camemberti*, Amano lipase M de *Mucor javanicus*, lipase de *Aspergillus niger*,

lipase de pâncreas de porco (LPP), Amano lipase de *Pseudomonas fluorescens* e lipase de *Candida antarctica* do tipo A imobilizada em imobead 150 (CAL-A).

As reações de carbamatação da amina *rac*-**36** foram realizadas, segundo procedimento descrito por Alatorre-Santamaría *et al.* (2008), utilizando solventes orgânicos anidros, carbonato de dialila como agente de carbamatação, agitação de 250 rpm, a 40 °C por 72 h. As proporções de substrato/lipase foram de 1:2 (massa/massa), substrato/carbonato 1:10 (mol/mol) e a quantidade de solvente para uma concentração de 0,1 M. Os resultados, após analisados por CLAE, foram calculados com as equações apresentadas no anexo (**Anexo A, p. 65**). A polarimetria das moléculas quirais não foi realizada devido a esses valores não estarem reportados.

Esquema 23. Resolução cinética da amina *rac*-**36**, via reação de carbamatação, catalisada por lipase.



3.3.1 Resultados da resolução cinética da amina *rac*-**36**, via carbamatação em meio orgânico.

Inicialmente, foram realizados estudos sobre o comportamento das lipases na resolução cinética da amina *rac*-**36**, na presença de vários solventes orgânicos, a 40 °C por 72 h. Na **Tabela 1**, encontram-se os resultados obtidos na resolução cinética de *rac*-**36** nos seguintes solventes: TBME, hexano, tolueno, MeCN, heptano, THF e cicloexano. Cabe ressaltar que foram listadas somente as lipases que apresentaram valores de conversão igual ou maior que 1%.

Tabela 1. Estudo da influência da lipase e do solvente na resolução cinética da amina *rac*-**36**, via carbamatação.

Entrada	Lipase	Solvente	<i>e.e.</i> (s) (%)	<i>e.e.</i> (p) (%)	<i>c</i> (%)	E
1	CAL-B	TBME	13	> 99	12	>200
2		hexano	17	> 99	14	>200
3		tolueno	13	> 99	12	>200
4		MeCN	10	68	13	6
5		heptano	5	36	11	2
6		THF	12	> 99	11	>200
7		cicloexano	14	> 99	12	>200
8	<i>Candida rugosa</i>	TBME	4,3	> 99	4,1	>200
9		hexano	14	> 99	12	>200
10		THF	4	38	9	2
11		cicloexano	3	> 99	3	>200
12	CAL-A	hexano	5	> 99	5	>200
13		tolueno	6	> 99	6	>200
14		heptano	5	41	8	2
15		cicloexano	11	> 99	10	>200
16	Lipozyme	TBME	3,0	> 99	5,5	>200
17		cicloexano	2	> 99	1	>200
18	TLL	TBME	6	87	6	15
19		hexano	6	> 99	6	>200
20		cicloexano	3	> 99	3	>200
21	PSL in sol-gel ak ^a	tolueno	5	> 99	5	>200
22		heptano	7	74	8	7
23	PSL sol gel AK em pumice ^b	TBME	5,7	> 99	5,5	>200
24	MJL ^c	cicloexano	1	> 99	1	>200

^a Amano lipase de *Pseudomonas fluorescens* in sol-gel ak

^b Amano lipase de *Pseudomonas fluorescens* imobilizada em imobead 150 sol gel AK em pumice

^c Amano Lipase M de *Mucor javanicus*

Fonte: O próprio autor

Observou-se que as lipases listadas no **Item 3.3** mostraram comportamentos diversos em diferentes solventes, porém, com a obtenção de valores medianos de conversão. Os resultados que se mostraram promissores (**Tabela 1**) foram a da CAL-B em TBME (**Tabela 1 - Entrada 1**), hexano (**Tabela 1 - Entrada 2**), tolueno (**Tabela 1 - Entrada 3**), THF (**Tabela 1 - Entrada 6**) e cicloexano (**Tabela 1 - Entrada 7**), *Candida rugosa* em hexano (**Tabela 1 - Entrada 9**) e CAL-A em cicloexano (**Tabela 1 - Entrada 15**).

Observou-se, também, que a CAL-B foi a lipase que apresentou maior atividade em todos os solventes avaliados na resolução cinética enzimática de *rac-36*, não apresentando seletividade somente em MeCN e heptano (**Tabela 1, Entradas 4 e 5**).

A polaridade de um solvente pode influenciar no comportamento de uma lipase na resolução cinética de um racemato (NAKAMURA, KINOSHITA e OHNO, 1995) (FONSECA *et al.*, 2015) (GALVÃO *et al.*, 2018). É possível observar que a maioria das lipases foi ativa em pelo menos um solvente orgânico apolar, destacando-se a CAL-B em hexano (**Tabela 1, Entrada 2**), com conversão de 14% e enantiosseletividade maior que 200 (**Anexo J, p. 80**). A seletividade de uma lipase pode estar ligada à constante dielétrica do solvente orgânico, sendo, geralmente, inversamente proporcional a enantiosseletividade de uma enzima (FONSECA *et al.*, 2015). Este fato decorre devido a um relaxamento na conformação da enzima, fazendo com que o haja interação favorável com os dois enantiômeros simultaneamente, ocasionando baixa seletividade. A atividade enzimática também pode ser influenciada em solventes hidrofílicos, os quais removem a camada de água do sítio ativo (NAKAMURA, KINOSHITA e OHNO, 1995) (PUTTA, 2018). A **Tabela 2** apresenta os valores das constantes dielétricas dos solventes utilizados na resolução cinética de *rac-36*.

Tabela 2. Constantes dielétricas dos solventes utilizados na resolução cinética de *rac-36*

Solvente	Constante dieletrica (ϵ)
TBME	2,60
hexano	1,89
tolueno	2,40
MeCN	39,00
heptano	1,90
THF	7,60
cicloexano	2,02

Fonte: O próprio autor

Como podemos observar, de uma forma geral, as lipases apresentaram atividade e seletividade em solventes que apresentam valores mais baixos de constante dielétrica, com exceção da CAL-B em THF, **tabela 1, entrada 6**.

Um fator que pode corroborar para uma melhor atividade enzimática em solventes, como o hexano, em comparação aos solventes de maior constante dielétrica, é a sua hidrofobia, visto que solventes hidrofílicos podem diminuir a atividade catalítica da enzima ao interagir com a água do sítio ativo, alterando a conformação da lipase (FONSECA, 2015). Dessa forma, é possível destacar os resultados de atividade e seletividade enzimática nos seguintes sistemas reacionais: CAL-B em hexano (**Tabela 1, Entrada 2**), tolueno (**Tabela 1, Entrada 3**) e ciclohexano (**Tabela 1, Entrada 7**), *Candida rugosa* em hexano (**Tabela 1, Entrada 9**) e CAL-A em ciclohexano (**Tabela 1, Entrada 15**).

O estudo de resolução cinética da amina *rac-36*, iniciou-se utilizando uma temperatura de 40 °C. Portanto, decidimos avaliar a influência da temperatura na seletividade e atividade das lipases que se mostraram promissoras em resolver a amina **36**.

3.3.2 Estudo da influência da temperatura na atividade e seletividade enzimática

A temperatura é um fator importante em uma resolução cinética, e, por isso decidimos variar esse parâmetro para verificar a influência na efetividade das lipases que se mostraram promissoras na resolução da amina *rac-36* (**3.3.1**).

Os demais parâmetros, tais como proporções de enzima:substrato e substrato:carbonato, tempo reacional, agitação e concentração do substrato não foram alterados. Foram realizados testes nas seguintes temperaturas: 30, 35 e 50 °C. A **Tabela 3** mostra o resultado das resoluções cinéticas de *rac-36* a 50 °C em TBME.

Tabela 3. Resolução cinética da amina *rac-36*, via carbamatação a 50 °C

Entrada	Lipase	Temperatura (°C)	<i>e.e. s</i> (%)	<i>e.e. p</i> (%)	<i>c</i> (%)	<i>E</i>
1	CAL-B	50	62	67	48	9
2	<i>Candida rugosa</i>	50	7	99	6	>200

3	PSL sol gel AK em pumice ^a	50	0	-	0	-
4	Lipozyme RM IM	50	17	99	14	>200

^a Amano lipase de *Pseudomonas fluorescens* imobilizada em imobead 150 sol gel AK em pumice

Fonte: O próprio autor

Ao analisar os resultados apresentados na **Tabela 3**, podemos verificar que com o aumento da temperatura, a CAL-B proporcionou uma conversão quase ideal (48%), porém com baixa seletividade (E= 9) (**Tabela 3 - Entrada 1**). Ocorreu um ligeiro aumento na conversão promovido pela lipase de *Candida rugosa* (**Tabela 3 - Entrada 2**) de 4,1% a 40°C para 6% a 50 °C. Com a Lipozyme RM IM (**Tabela 3 - Entrada 4**) o aumento da temperatura levou a um aumento de quase o triplo, de 5,5% (40 °C) para 14% (50 °C), **Anexo K, p. 81**, ambas mantendo a seletividade da lipase. Entretanto a PSL sol gel AK em pumice perdeu sua atividade com o aumento da temperatura, provavelmente, devido a desnaturação da lipase (**Tabela 3 - Entrada 3**).

Ao analisar cada lipase utilizada na resolução cinética de *rac-36* a 50 °C, verificamos que a CAL-B (**Tabela 3 - Entrada 1**) sofreu alterações na sua atividade e seletividade. O aumento da temperatura deve ter alterado a conformação da enzima, proporcionando uma interação muito semelhante com os dois enantiômeros da amina *rac-36*, culminando em um baixo valor de enantioseletividade.

Como a CAL-B apresentou um resultado promissor de conversão, foram realizados mais dois testes na alteração da temperatura, um a 30 °C e outro a 35 °C. Os resultados encontram-se apresentados na **Tabela 4**.

Tabela 4. Resolução cinética da amina *rac-36*, via carbamatação a 30 e 35 °C

Entrada	Lipase	Temperatura	<i>e.e. s</i> (%)	<i>e.e. p</i> (%)	<i>c</i> (%)	<i>E</i>
1	CAL-B	30 °C	6	99	5	>200
2	CAL-B	35 °C	15	99	13	>200

Fonte: O próprio autor

A 30 °C a conversão foi de apenas 5% (**tabela 4, entrada 1**), mas a 35 °C, a conversão (13%) foi próxima à obtida a 40 °C (12%) (**tabela 4, entrada 2 e tabela 1, entrada 1, respectivamente**), **anexo L, p. 82**. Ao analisar o comportamento da CAL-B nas

diversas temperaturas, notou-se que os resultados mais promissores de conversão e seletividade foram obtidos a 35 °C ou 40 °C, na presença de TBME como solvente orgânico.

Geralmente, as lipases são mais efetivas à temperatura ambiente, porém não existe uma regra geral e a eficiência dependerá da origem da lipase, da estrutura do substrato e do produto, bem como da natureza química do solvente orgânico utilizado.

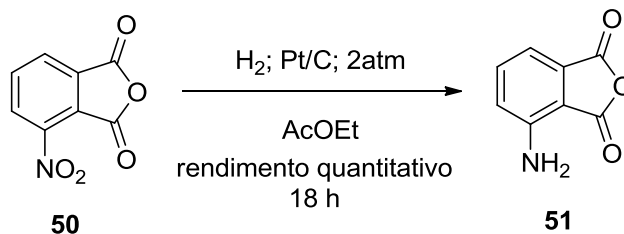
Este trabalho apresentou resultados preliminares na resolução cinética da amina *rac*-**36**, considerada etapa chave na síntese quimioenzimática do fármaco apremilast. Contudo, é possível vislumbrar a necessidade da realização de novos experimentos com outros solventes, além do TBME, na busca de uma resolução cinética ideal de **36**, com conversão máxima de 50% e enantiosseletividade (E) > 200.

Em paralelo, foram realizados esforços para a obtenção do anidrido **37**, utilizado em uma das etapas de obtenção do apremilast, a partir do anidrido comercial **50**.

3.4 Obtenção do anidrido 3-aminoftálico, anidrido **51**

Inicialmente, utilizou-se a metodologia relatada por Lohbeck e Miller (2016) para síntese do **anidrido 51**. Neste caso, devido a uma questão de disponibilidade, foi alterado somente o catalisador metálico, utilizando platina/C ao invés de paládio (10% Pd/C). O anidrido comercial 3-nitroftálico, **anidrido 50**, foi submetido a uma reação de redução, via hidrogenação catalítica do grupo nitro, para formação da correspondente amina, em acetato de etila por 18 h. Nessas condições, foi obtido um sólido amarelo com rendimento quantitativo, o qual foi analisado por RMN de ^1H e ^{13}C e caracterizado como anidrido 3-aminoftálico, **Anexo F, p.74, 51 (Esquema 24)**.

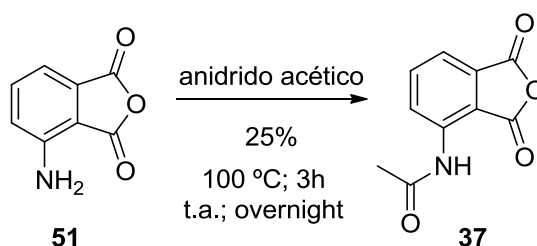
Esquema 24. Obtenção do anidrido 3-aminoftálico, **anidrido 51**.



3.5 Obtenção do anidrido 3-acetilaminoftálico, anidrido 37.

Com a obtenção do anidrido 3-aminoftálico, **anidrido 51**, partiu-se para a reação de acetilação de **51**, Liu (2012). O produto foi obtido com um rendimento de 25%, analisado e caracterizado por RMN de ^1H e ^{13}C , como o anidrido 3-amidofáltico (**Anexo G, p.76**), **anidrido 37**, **Esquema 25**.

Esquema 25. Obtenção do anidrido 3-acetilaminoftálico, **anidrido 37**



A primeira etapa de transformação do anidrido comercial **50** no correspondente aminoftálico **51**, foi realizada eficientemente, com rendimento quantitativo, porém a etapa de acetilação de **51**, resultou no anidrido de interesse **37** com um rendimento baixo de apenas 25%, que pode ser provocado por alguns fatores como pouco tempo reacional em refluxo, influência da temperatura ou quantidade de anidrido acético no sistema. Portanto, essa é uma etapa que ainda requer ajustes no protocolo, objetivando um significativo aumento no rendimento da reação de acetilação.

Com os resultados obtidos e apresentados nesta dissertação fica evidente que a síntese quimioenzimática de um fármaco, como o apremilast, por uma metodologia alternativa é um grande desafio e requer um período de investigação que nem sempre coincide com o prazo limitado para a conclusão de uma dissertação de mestrado. Ainda assim, foram obtidos resultados promissores na resolução cinética enzimática da amina *rac*-**36**, considerada uma etapa chave na obtenção do apremilast. De forma complementar, a primeira etapa de transformação do anidrido comercial **50** no **51** foi realizada de forma ideal com rendimento quantitativo, restando o desafio de ajustar o protocolo na última etapa que consiste na reação de acetilação de **51** para obtenção do anidrido de interesse **37**, com rendimento aceitável sinteticamente. Portanto, com os resultados preliminares e promissores obtidos e apresentados nesta dissertação, acreditamos que a nossa proposta de síntese quimioenzimática do apremilast explicitada no **Esquema 18** tem grandes chances de se tornar exitosa.

4 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

4.1 Instrumentos

4.1.1 Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os espectros de RMN ^1H e RMN ^{13}C unidimensionais foram obtidos em espectrômetro Bruker, modelo Avance DRX-300, pertencente ao Centro Nordestino de Aplicação e Uso da Ressonância Magnética Nuclear da Universidade Federal do Ceará (CENAUREMN-UFC), operando na frequência do hidrogênio a 300 MHz, e na frequência do carbono a 75 MHz, respectivamente. O solvente utilizado na dissolução das amostras para obtenção dos espectros foi o clorofórmio deuterado (CDCl_3).

Para os deslocamentos químicos (δ) foi utilizada a unidade “parte por milhão” (ppm) e referenciados nos espectros de RMN ^1H , através dos sinais de hidrogênios pertencentes às moléculas residuais não deuteradas do solvente deuterado utilizado: clorofórmio (δ 7,27). Nos espectros de carbono ^{13}C , os deslocamentos químicos (δ) foram referenciados pelos sinais dos carbonos ^{13}C do solvente: clorofórmio (δ 77,23).

A multiplicidade dos sinais de absorção dos prótons nos espectros de RMN ^1H foi indicada seguindo a forma: s (simpleto), d (duplete), t (tripleto), q (quarteto), dd (duplete de duplete) e m (multiplete).

O padrão de hidrogenação dos carbonos em RMN ^{13}C foi determinado através do emprego da técnica DEPT (*Distortionless Enhancement by Polarization Transfer*) com ângulo de nutação (θ) de 135° , CH e CH_3 com amplitude em oposição aos CH_2 , e foi descrito conforme a convenção: C (carbono não hidrogenado), CH (carbono metínico), CH_2 (carbono metilênico) e CH_3 (carbono metílico). Os carbonos não hidrogenados foram caracterizados pela subtração do espectro DEPT 135° do espectro BBD/ ^1H (*Broad Band Decoupled*).

4.1.2 Ponto de Fusão

Os valores de ponto de fusão dos intermediários do apremilat (S)-**34** foram determinados no equipamento de Microquímica modelo APF-301, a uma taxa de aquecimento de $2^\circ\text{C}/\text{min}$ e não foram corrigidos.

4.1.3 Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

As análises dos enantiômeros da amina *rac*-**36** e do carbamato *rac*-**49** foram realizadas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) em equipamento constituído de diferentes módulos integrados. Uma bomba ternária Shimadzu LC-20AD, um detector Uv/vis Shimadzu SPD-20A e um forno CTO-20A. Foi utilizada uma coluna quiral de fase normal Chiralcel[®] AD-H (4,6 x 150 mm, 5µm). A fase móvel empregada de modo isocrático foi hexano:IPA:dietilamina (95:5,0:0,1) com grau de pureza UV-HPLC, no total de 78 min em um fluxo de 1,0 mL/ min, a cada injeção de 20 µL de amostra. A temperatura do forno foi mantida em 30 °C, utilizando o comprimento de 232 nm para a análise das amostras. Os solventes foram filtrados através de membranas de nylon com poros de 0,45µm (Phenomenex). Além disso, as amostras foram filtradas num sistema manual através de membranas de teflon com poros de 0,45µm (Waters). Os tempos de retenção foram: **enantiômero 1-amina-36** 30.33 min; **enantiômero 2-amina-36** 36.35 min (**anexo H. p.78**); **enantiômero 1-carbamato-49** 48. 83 min; **enantiômero 2-carbamato-49** 62.73 min. (**anexo I. p.79**).

4.2 Cromatografia líquida de adsorção

Para realizar as análises cromatográficas de adsorção em colunas foi utilizada como fase estacionária gel de sílica 60 (φ mm 0,063-0,200)- BIO-GRADE[®]. Os comprimentos e diâmetros das colunas variaram de acordo com as quantidades das amostras a serem purificadas e com as quantidades de adsorventes usados.

As análises cromatográficas em camada delgada (CCD) foram realizadas sobre cromatofolhas de alumínio cobertas com gel de sílica 60 F254- MERCK[®] (espessura de 0,2 mm). As cromatofolhas foram submetidas à radiação ultravioleta (UV) em dois comprimentos de onda (254nm - 365nm), emitidas por lâmpada modelo UVSL – 25 da MINERAL LIGHT[®].

Os solventes utilizados para eluição das amostras nas colunas e placas cromatográficas foram: hexano e acetato de etila, puros ou em misturas binárias numa ordem crescente de polaridade. Os solventes eram de qualidade P.A.

Os extratos e as frações obtidas foram concentrados sob pressão reduzida em rotoevaporador Büchi Waterbath B- 480 com sistema de refrigeração circulatório, mantendo-se a temperatura do banho em torno de 50 °C.

4.3 Solventes e reagentes

Os reagentes e solventes utilizados no desenvolvimento deste trabalho estão listados na **Tabela 5**:

Tabela 5. Reagentes e solventes utilizados, com sua marca e grau de pureza

Reagente / Solvente	Marca	Pureza
THF CLAE	Fisher Chemical	99%
Hexano	BIO-GRADE	99%
Acetato de etila	BIO-GRADE	≥99%
Diclorometano	BIO-GRADE	99,9%
Isopropanol CLAE	TEDIA	99,8%
Dietilamina	SIGMA-ALDRICH	99,5%
<i>tert</i>-butilmetil éter	SIGMA-ALDRICH	99,8%
Hidreto de Cálcio	SIGMA-ALDRICH	95%
Benzofenona	SIGMA-ALDRICH	99%
Dimetilssulfona	SIGMA-ALDRICH	98%
3-etoxi-4-metoxibenzonitrila	Ark Pharm	98%
Cloroformato de alila	SIGMA-ALDRICH	97%
Carbonato de dialila	SIGMA-ALDRICH	99%
<i>n</i>- Butil-Lítio 2.5 M em hexano	SIGMA-ALDRICH	-
Ácido Acético	Neon	99,8%
Boroidreto de Sódio	SIGMA-ALDRICH	96%
Hidróxido de Sódio	Synth	99%
Ácido clorídrico	Dinâmica	37%
Trietilamina	SIGMA-ALDRICH	≥99%
Acetonitrila	Tedia	99,9%
Ciclo-hexano	SIGMA-ALDRICH	99,5%
Heptano	SIGMA-ALDRICH	99%
Tolueno	Synth	99,5%
Anidrido acético	Dinâmica	99%
Anidrido 3-nitroftálico	SIGMA-ALDRICH	98%

Pt/C (10% Pt/C)	Riedel-de Haën	-
-----------------	----------------	---

Fonte: O próprio autor

4.3.1 Secagem dos solventes

Os solventes utilizados nos processos biocatalíticos foram tratados com a adição de hidreto de cálcio, em refluxo, empregando nitrogênio como gás de purga (ARMAREGO, 2000). O THF foi pré-tratado com hidreto de cálcio, em refluxo, seguido de adição de sódio metálico, na presença de benzofenona, sob refluxo, utilizando nitrogênio como gás de purga. O tratamento teve seu término com o aparecimento de uma coloração azul escura (ARMAREGO, 2000).

4.4 Biocatalisadores

Lipases imobilizadas: A Amano lipase de *Pseudomonas fluorescens* imobilizada em imobead 150, Amano lipase de *Pseudomonas fluorescens* imobilizada em imobead 150 sol gel AK em pumice, Amano lipase de *Pseudomonas fluorescens* imobilizada em sol gel AK, Lipozyme RM IM, Amano lipase PS-IM imobilizada em terra diatomácea, *Thermomyces lanuginosus* imobilizada em imobead 150, lipase de *Candida antarctica* do tipo B imobilizada em resina acrílica (Novozym® 435) e *Candida antarctica* do tipo A imobilizada em Imobead 150 foram adquiridos da Sigma®.

Lipases livres: A lipase de *Candida rugosa*, Amano lipase *Burkholdeira cepacia*, lipase de *Rhizopus niveus*, Amano lipase G de *Penicillium camemberti*, Amano lipase M de *Mucor javanicus*, lipase de *Aspergillus niger*, lipase de pâncreas de porco (PPL) e Amano lipase de *Pseudomonas fluorescens*, foram adquiridos da Sigma®.

4.5 Síntese da 2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenil)]-1-metilssulfonil-2-etilamina, rac-36.

Em um balão de fundo redondo de 25 mL, sob atmosfera de nitrogênio, foram adicionados 115 mg (1,22 mmol) de dimetilssulfona e 0,720 mL de THF anidro. Em seguida, o sistema foi agitado e resfriado a uma temperatura entre 0° a 5 °C. Após o resfriamento da solução, foram adicionados, sob agitação, 0,200 mL (1,08 mmol) de *n*-butil-lítio e e após 15 minutos foi inserida no meio reacional 124 mg de nitrila **38** (0,67 mmol) em 0,310 mL de

THF anidro. A mistura reacional permaneceu em agitação durante 1 h, a uma faixa de temperatura que variou entre 0° e 5 °C. Posteriormente, retirou-se o banho de gelo e a mistura reacional foi agitada, a temperatura ambiente, por 1 h. Após este tempo, o sistema reacional foi resfriado a uma faixa de temperatura que variou entre 0° e 10 °C, seguido da adição de 46 mg (1,20 mmol) de NaBH₄, 0,100 mL de THF anidro e 0,530 mL de ácido acético glacial. O sistema reacional permaneceu sob agitação durante 1 h e, subsequentemente, utilizando um funil de adição equalizado, foram adicionados, gota a gota, 4 mL de uma solução de hidróxido de sódio 5 M. A mistura reacional foi agitada por 45 min, a uma faixa de temperatura que variou entre a 0° e 10 °C. Após este período, o sistema foi aquecido a 60 °C e permaneceu sob agitação durante 1 h. Em seguida, foram adicionados 5 mL de ácido clorídrico 10%, seguido de extração com 20 mL de acetato de etila. Subsequentemente, foram adicionados 8 mL de hidróxido de sódio 5 M na fase aquosa, elevando o pH para 12, e 20 mL de uma solução saturada de NaCl. Na sequência, foi realizada uma extração com acetato de etila (3x30mL). A fase orgânica foi tratada com Na₂SO₄ anidro, filtrada e concentrada sob pressão reduzida, com a obtenção de 128 mg (70% de rendimento) de um sólido branco, o qual foi caracterizado por RMN de ¹H e ¹³C como a amina *rac*-**36**, p.f. = 113 °C; R_f (IPA/AcOEt 50%) = 0.5.

4.6 Síntese do carbamato de [1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-(metilssulfonil)etil]alila, *rac*-**49**.

Em um balão de fundo redondo de 15mL foram adicionados 50 mg (0,18 mmol) da amina *rac*-**36** e 0,02 mL (0,20 mmol) de trietilamina. Posteriormente, o sistema foi resfriado a 0 °C e, sob atmosfera de nitrogênio, foram adicionados 0,977 mL de diclorometano. Subsequentemente, foram adicionados, gota a gota, 0,017 mL (0,13 mmol) de cloroformato de alila em 0,203 mL de diclorometano anidro. Em seguida, a mistura reacional foi agitada, a temperatura ambiente, por 4 h. Após este tempo de reação, adicionou-se 6 mL de ácido clorídrico 1 M, seguido de extração com acetato de etila (3 x 20 mL). A fase orgânica foi tratada com Na₂SO₄ anidro, filtrada e concentrada sob pressão reduzida. Finalmente, foram obtidos 57 mg (89% de rendimento) de um sólido branco, o qual foi analisado por RMN de ¹H e ¹³C e caracterizado como sendo o carbamato *rac*-**49**, p.f. = 108 °C; R_f (hexano/AcOEt 50%) = 0,4.

4.7 Procedimento geral para a resolução cinética enzimática da amina *rac*-**36**, via carbamatação.

Em um *vial* foram adicionados 10 mg (0,03 mmol) da amina *rac*-**36** e 0,366 mL de solvente anidro, 20 mg de lipase e 0,043 mL de carbonato de dialila (lipase/*rac*-**36**/carbonato de dialila 2:1:10; m:m:m). O *vial* foi submetido a agitação orbital a variações de temperatura de 30 °C a 50 °C durante 72 h a 250 rpm. Após este tempo, o sistema reacional foi analisado por CCD e para os casos em que ocorreram a formação do **carbamato 49**, foram realizadas extrações com AcOEt (3 x 0,5 mL). Em seguida, os solventes foram evaporados à pressão reduzida e cada amostra foi analisada *via* CLAE para obtenção da conversão (*c*), dos valores de excesso enantiomérico do substrato remanescente (*e.e._s*) e do produto (*e.e._p*), bem como da razão enantiomérica (*E*).

4.8 Síntese do anidrido 3-aminoftálico, anidrido **51**

Adicionou-se 60,0 mg (0,30 mmol) de Pt/C (10% Pt/C) em um tubo *schlenk*, e 10,0 mL de acetado de etila. Logo após, 150 mg de anidrido 3-nitroftálico, **anidrido 50**, (0,77 mmol) foram adicionados à mistura reacional, sob agitação magnética. Inicialmente, manteve-se a reação a uma temperatura média de 80 °C e agitação magnética por 15 h. Após esse período, a temperatura foi elevada para 100 °C durante 3 h em atmosfera de H₂ a 2 atm. Após esse período, filtrou-se o meio reacional e evaporou-se o acetado de etila à pressão reduzida, obtendo-se um sólido de coloração amarelo, identificado como anidrido 3-aminoftálico **51** (125,5 mg, rendimento quantitativo) com R_f (hexano:AcOEt (1:1) = 0,60 e p.f. 185-187 °C).

4.9 Síntese do anidrido 3-acetilaminoftálico, anidrido **37**

Adicionou-se 232 mg (1,42 mmol) de anidrido 3-aminoftálico, **anidrido 51**, em um balão de 5 mL e 1,3 mL (13,5 mmol) de anidrido acético. Posteriormente, a mistura foi aquecida a 140 °C. O sistema reacional foi agitado por 3 h e logo após permaneceu à temperatura ambiente *overnight* (12 h), seguido de 3 h entre 0 °C a 10 °C. Em seguida, evaporou-se o anidrido acético à pressão reduzida e o sólido formado foi lavado com TBME a frio, filtrado e seco a temperatura ambiente. A realização deste protocolo levou a obtenção de

um sólido cinza identificado como anidrido 3-acetilaminoftálico **37** (73 mg, 25%) com R_f (hexano:AcOEt (1:1) = 0,70 e p.f. 180-182 °C.

5 CONCLUSÕES

A primeira etapa da proposta sintética para a síntese quimioenzimática do apremilast é referente à obtenção da amina *rac*-**36**. Após um detalhado estudo, concluímos que a referida amina pode ser obtida *one-pot* via a formação *in situ* da enamina **39**, como intermediário, a qual não teve que ser isolada. Este protocolo proporcionou a obtenção da amina *rac*-**36** com um rendimento de 70%. A etapa chave da síntese quimioenzimática do apremilast, proposta neste trabalho, consiste na resolução cinética da amina *rac*-**36**, via reação de carbamatação, na presença de lipases. Nesta etapa, algumas lipases como a CAL-B, *Candida rugosa* e CAL-A se mostraram promissoras, levando ao carbamato quiral **49** com excesso enantiomérico > 99%, porém com valores máximos de conversão na faixa entre 11 e 14%. Essa etapa requer um estudo mais detalhado para encontrar um solvente orgânico adequado que não interfira na atividade da lipase e que, ao mesmo tempo, garanta uma boa seletividade no processo de resolução dos enantiômeros da amina **36**. Ainda assim, foi possível verificar que os solventes TBME, hexano, tolueno e cicloexano, de uma forma geral, foram promissores como meio reacional da resolução da amina **36**. A temperatura foi um dos parâmetros avaliados e podemos concluir que valores acima de 40 °C, levaram a lipase mais promissora, CAL-B, na resolução de *rac*-**36** a perder sua atividade, por um processo de desnaturação, ou diminuição na seletividade, por um processo de flexibilização da conformação enzimática no sítio ativo.

Uma das etapas desenvolvidas em paralelo foi a obtenção do anidrido-3-amidofáltico **37** a partir do anidrido comercial 3-nitroftálico **50**. Nessa etapa, desenvolvemos um protocolo eficiente para a transformação de **50** no correspondente anidro-3-aminofáltico **51**, obtido com rendimento quantitativo. Essa etapa foi otimizada com a utilização do catalisador Pt/C ao invés de Pd/C, constante no relato do protocolo original, em atmosfera de hidrogênio a 2 atm.

A execução deste projeto culminou na obtenção de alguns intermediários importantes para a obtenção do apremilast, como a amina *rac*-**36**, a sua forma quiral [(*S*)-**36**, caso a resolução tenha seguido a regra de Kazlauskas] e o carbamato quiral **49** [(*R*)-**49**, caso a resolução tenha seguido a regra de Kazlauskas], bem como o anidrido 3-acetilaminofáltico **37**. Ainda assim, este é um projeto que necessita de estudos adicionais que permitam aumentar a conversão na resolução cinética da amina **36**, bem como um aumento no rendimento do

anidrido **37**. Desta forma, a etapa que envolve a reação entre a amina (*S*)-**36** com o anidrido **37** deverá levar ao apremilast com altos valores de excesso enantiomérico e rendimento.

REFERÊNCIAS

- ALATORRE-SANTAMARÍA, S.; RODRIGUEZ-MATA, M.; GOTOR-FERNÁNDEZ, V.; MATTOS, M. C.; SAYAGO, F. J.; JIMÉNEZ, A. I.; CATIVIOLA, C.; GOTOR, V. Efficient access to enantiomerically pure cyclic alpha-amino esters through a lipase-catalyzed kinetic resolution. **Tetrahedron, asymmetry**, [s. l.], v. 19, n. 14, p. 1714–1719, jan. 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tetasy.2008.06.010>. Acesso em: 14 abr. 2020.
- ANVISA. **Registro aprovados novos medicamentos para psoríase**. 2018. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/noticias//asset_publisher/FXrpx9qY7FbU/content/aprova-dn-vos-medicamentos-para-psorise/219201/pop_up?inheritRedirect=false. Acesso em: 12 maio. 2020.
- ARMAREGO, W. L. F.; PERIN, D. D. **Purification of Laboratory Chemicals**. 4. ed., Oxford: Butterworth Heinemann, 2000. 529 p.
- BANDEIRA, P. T.; THOMAS, J. C.; OLIVEIRA, A. R. M.; PIOVAN, L. Lipase-mediated kinetic resolution: An introductory approach to practical biocatalysis. **Journal of Chemical Education**, [s. l.], v. 94, n. 6, p. 800-805, maio 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.6b00606>. Acesso em: 14 abr. 2020.
- BISSONNETTE, R.; PARISER, D. M.; WASEL, N. R.; GONÇALVES, J.; DAY, R. M.; CHEN, R.; SEBASTIAN, M. Apremilast, an oral phosphodiesterase-4 inhibitor, in the treatment of palmoplantar psoriasis: Results of a pooled analysis from phase II PSOR-005 and phase III Efficacy and Safety Trial Evaluating the Effects of Apremilast in Psoriasis (ESTEEM) clinical trials in patients with moderate to severe psoriasis. **Journal of the American Academy of Dermatology**, [s. l.] v. 75, n. 1, p. 99–105, jul. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2016.02.1164>. Acesso em: 03 abr. 2020.
- CARVALHO, A. C. L. M.; FONSECA, T. D. S.; MATTOS, M. C.; OLIVEIRA, M. D. 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**. [s. l.] v. 16, p. 29682-29716, nov. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms161226191>. Acesso em: 29 mar. 2020.
- CONNOLLY, T. J.; ECKERT, J.; FRANK, A. J.; RAJENDIRAN, C.; REDDY, N. R.; RUCHELMAN, A.; VENKATESWARALU, J. **Processes for the preparation of (S)-1-(3-ethoxy-4-methoxyphenyl)-2-methanesulfonylethylamine**. Depositante: Celgene Corp. n. US2013217918A1. Depósito: 20 fev. 2013. Concessão: 22 ago. 2013.
- CONNOLLY, T. J.; LEONG, W. W.; RUCHELMAN, A. L. **Asymmetric synthetic processes for the preparation of aminosulfone compounds**. Depositante: CONNOLLY, T. J.; LEONG, W. W.; RUCHELMAN, A. L.; CELGENE, C. n. US2013217919A1. Depósito: 02 fev. 2013. Concessão: 8 ago. 2013.
- CONNOLLY, T. J.; RUCHELMAN, A. L.; YONG, K. H. Y.; ZHANG, C. **Processes for the preparation of isoindole compounds and isotopologues thereof**. Depositante: Celgene Corp. n. US2014081032A1. Depósito: 13 set. 2013. Concessão: 20 mar. 2014.

DOUBSKY, J.; KLVANA, R.; LEHNERT, P.; RICHTER, J. **A process for preparing the key intermediate of apremilast, using enzymatic resolution of the racemic amines.**

Depositante: ZENTIVA, K. S. n. WO2016192694 A1. Depósito: 06 jun. 2016. Concessão: 08 dez. 2016.

FONSECA, T. S.; LIMA, L. D.; OLIVEIRA, M. C. F.; LEMOS, T. L. G.; ZAMPIERI, D.; MOLINARI, F.; MATTOS, M. C. Chemoenzymatic Synthesis of Luliconazole Mediated by Lipases. **European Journal of Organic Chemistry**, [s. l.], v. n. 18, p. 2110–2116, mar. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ejoc.201800250>. Acesso em: 03 fev. 2020.

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**, [s. l.], v. 492, n. 1, p. 76–82, fev. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.apcata.2014.12.015>. Acesso em: 04 jan. 2020.

FONSECA, T. D.; VEGA, K. V.; SILVA, M. R.; OLIVEIRA, M. C. F.; LEMOS, T. L. G.; CONTENTE, M. L.; MOLINARI, F.; CESPUGLI, M.; FORTUNA, S.; GARDOSI, L.; MATTOS, M. C. Lipase mediated enzymatic kinetic resolution of phenylethyl halohydrins acetates : A case of study and rationalization. **Molecular Catalysis**, [s. l.], v. 485, n. p. 110819, fev. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.mcat.2020.110819>. Acesso em: 04 jan. 2020.

GALVÃO, W.S.; PINHEIRO, B.B.; GOLÇALVES, L.R.B.; MATTOS, M. C.; FONSECA, T. S.; REGIS, T.; ZAMPIERI, D.; SANTOS, J. C. S.; COSTA, L. S.; CORREA, M. A.; BOHN, F.; FECHINE, P. B. A. Novel nanohybrid biocatalyst: application in the kinetic resolution of secondary alcohols. **Journal of Materials Science**, [s. l.], v. 53, n., p. 14121–14137, jun. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10853-018-2641-5>. Acesso em: 04 jan. 2020.

GAO, W.; LV, H.; ZHANG, X.; Rh/DuanPhos-Catalyzed Asymmetric Hydrogenation of β -Acetylamino Vinylsulfides: An Approach to Chiral β -Acetylamino Sulfides. **Organic Letters**. [s. l.] v. 19, n 11, p. 2877–2880, maio 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.orglett.7b01115>. Acesso em: 04 fev. 2020.

GAZIC, S. I.; STAVBER, G. **A synthetic pathway towards apremilast.** Depositante: Lek pharmaceuticals. n. WO2017046319A1. Depósito: 16 nov. 2016. Concessão: 23 mar. 2017.

GELLERMAN, G.; SHITRIT, S.; SHALIT, T.; GANOT, O.; ALBECK, A. Phenols-useful templates for the synthesis of bi-functional orthogonally protected dendron building blocks *via* solid phase Mitsunobu reaction. **Tetrahedron**. [s. l.], v. 66, n. 4, p. 878–886, jan. 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tet.2009.11.106>. Acesso em: 10 jan. 2020.

GOTOR, V. Non-Conventional Hydrolase Chemistry: Amide and Carbamate Bond Formation Catalyzed By Lipases. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**. [s. l.], v. 7, p. 2189–2197, out. 1999. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0968-0896\(99\)00150-9](https://doi.org/10.1016/S0968-0896(99)00150-9). Acesso em: 10 jan. 2020.

GOTOR-FERNÁNDEZ, V.; BRIEVA, R.; GOTOR, V.; Lipases: Useful biocatalysts for the preparation of pharmaceuticals, **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, [s. l.], v. 40,

n. 3-4, p. 111-120, jun. 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2006.02.010>. Acesso em: 03 maio 2020.

GRÖGER, H. Enzyme catalysis in the synthesis of pharmaceuticals. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 26, n. 7, p. 1239–1240, abr. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2018.03.026>. Acesso em: 07 maio 2020.

HORVAT, A.; VARDJAN, N. Astroglial cAMP signalling in space and time. **Neuroscience Letters**, [s. l.], v. 689, n. p. 5–10, jan. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2018.06.025>. Acesso em: 27 jan. 2020.

KAZLAUSKAS, R. 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*. **The Journal of Organic Chemistry**, [s. l.], v. 56, n. 8, p. 2656–2665, abr. 1991. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/jo00008a016>. Acesso em: 27 jan. 2020.

KOVÁCS, B.; MAGYESI, R.; FORRÓ, E.; FÜLÖP, F. Efficient lipase-catalysed route for the kinetic resolution of salsolidine and its β -carboline analogue. **Tetrahedron: Asymmetry**, [s. l.], v. 28, n. 12, 1829–1833, dez. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tetasy.2017.10.019>. Acesso em: 01 maio 2020.

KOVÁCS, B.; FORRÓ, E.; FÜLÖP, F. *Candida antarctica* lipase B catalysed kinetic resolution of 1,2,3,4-tetrahydro- β -carbolines: Substrate specificity. **Tetrahedron**, [s. l.], v. 74, n. 48, 6873–6877, nov. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tet.2018.10.034>. Acesso em: 01 maio 2020.

LIMA, G. V.; SILVA, M. R.; FONSECA, T. S.; LIMA, L. B.; OLIVEIRA, M. C. F.; LEMOS, T. L. G.; ZAMPIERI, D.; SANTOS, J. C. S.; RIOS, N. S.; GONÇALVES, L. R. B.; MOLINARI, F.; MATTOS, M. C. Chemoenzymatic synthesis of (*S*)-Pindolol using lipases. **Applied Catalysis A: General**, [s. l.] v. 546, n. p. 7–14, mai. 2017. Disponível: <https://doi.org/10.1016/j.apcata.2017.08.003>. Acesso em: 04 jan. 2020.

LIU, J. F. **Preparation of substituted isoindoline-1,3-dione derivatives as aprelilast analogues**. Depositante: Concert Pharmaceuticals, Inc. n. KR 2012071261. Deposito: 22 dez. 2010 .Concessão: 2 jul. 2012.

LOHBECK, J.; MILLER A. K.; Practical synthesis of a phthalimide-based Cereblon ligand to enable PROTAC development, **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, [s. l.] v. 26, n.21, p. 5260–5262, mai. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2016.09.048>. Acesso em: 04 mar. 2020.

MAN, H. W.; SCHAFFER, P.; WONG, L. M.; PATTERSON, R. T.; CORRAL, L. G.; RAYMON, H.; BLEASE, K.; LEISTEN, J.; SHIRLEY, M. A.; TANG, Y.; BABUSIS, D. M.; CHEN, R.; STIRLING, D.; MULLER G. W. Discovery of (*S*)-N-{2-[1-(3-Ethoxy-4-methoxyphenyl)-2-methanesulfonyl]ethyl}-1,3-dioxo-2,3-dihydro-1H-isoindol-4-yl}acetamide (Apremilast), a Potent and Orally Active Phosphodiesterase 4 and Tumor Necrosis Factor- α Inhibitor. **Journal of Medicinal Chemistry**. [s. l.] v. 52, n. 6, p. 1522–1524, mar. 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/jm900210d>. Acesso em: 27 fev. 2020.

MATHPATI, A. C.; BHANAGE, B. M. Prediction of enantioselectivity of lipase catalyzed kinetic resolution using umbrella sampling. **Journal of Biotechnology**, [s. l.] v. 283, n. p. 70–80, jun. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2018.07.024>. Acesso em: 14 fev. 2020.

NAKAMURA, K.; KINOSHITA, M.; OHNO, A. Structure of solvent affects enantioselectivity of lipase-catalyzed transesterification. **Tetrahedron**, [s. l.] v. 51, p. n. 32, p. 8799-8808, ago. 1995. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0040-4020\(95\)00470-S](https://doi.org/10.1016/0040-4020(95)00470-S). Acesso em: 15 abr. 2020.

NOTHLING, M. D.; GANESAN, A.; CONDIC-JURKIC, K.; PRESSLY, E.; DAVALOS, A.; GOTRIK, M. R. G.; XIAO, Z.; KHOSHDEL, E.; HAWKER, C. J. H.; O'MARA, M. L.; COOTE, M. L.; CONNALL, L. A Simple Design of an Enzyme-Inspired Supported Catalyst Based on a Catalytic Triad. **Chem**, [s. l.], v. 2, n. 5, p. 732–745, maio 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chempr.2017.04.004>. Acesso em: 11 abr. 2020.

OLAH, M.; BOROS, Z.; HORNYÁNSZKY, G.; POPPE, L. Isopropyl 2-ethoxyacetate—an efficient acylating agent for lipase-catalyzed kinetic resolution of amines in batch and continuous-flow modes. **Tetrahedron**, [s. l.], v. 72, n. 46, p. 7249-7255, nov. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tet.2015.12.046>. Acesso em: 13 mar. 2020.

PAPP, K.; CATHER, J. C.; ROSOPH, L.; SOFEN H.; LANGLEY R. G.; MATHESON, R. T.; HU C.; DAY R. M. Efficacy of apremilast in the treatment of moderate to severe psoriasis: A randomised controlled trial. **The Lancet**, [s. l.] v. 380, n. 9843, p. 738–746, ago. 2012. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)60642-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)60642-4). Acesso em: 13 mar. 2020.

PATEL, R. N. Biocatalysis for synthesis of pharmaceuticals. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 26, n. 7, p. 1252-1274, abr. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2017.05.023>. Acesso em: 13 mar. 2020.

PUTTA, S.; REDDY, A. M.; SHEELU, G.; REDDY, B. V. S.; KUMARAGURU, T. Preparation of (1R,4S)-4-hydroxycyclopent-2-en-1-yl acetate *via* Novozym-435® catalyzed desymmetrization of *cis*-3,5-Diacetoxy-1-cyclopentene. **Tetrahedron**, [s. l.], v. 74, n. 46, p. 6673-6679, nov. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tet.2018.09.052>. Acesso em: 08 abr. 2020.

RUCHELMAN, A. L.; CONNOLLY, T. J. Enantioselective synthesis of the apremilast aminosulfone using catalytic asymmetric hydrogenation. **Tetrahedron Asymmetry**, [s. l.], v. 26, n. 10–11, p. 553–559, maio 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tetasy.2015.03.010>. Acesso em: 02 jan. 2020.

SAINDANE, T. M.; GE, C. **Processes for the preparation of aminosulfone compounds**. Depositante: CELGENE, C. n. WO2010030345A2. Depósito: 09 set. 2009. Concessão: 10 mar. 2010.

SANFILIPPO, C.; PATERNO, A. A.; PATTI, A. Resolution of racemic amines *via* lipase-catalyzed benzoylation: Chemoenzymatic synthesis of the pharmacologically active isomers

of labetalol. **Molecular Catalysis**. [s. l.], v. 449, n. p. 79–84, out. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.mcat.2018.02.017>. Acesso em: 05 maio 2020.

TRUPPO, M. D. Biocatalysis in the Pharmaceutical Industry: The Need for Speed. **ACS Medicinal Chemistry Letters**. [s. l.], v. 8, n. 5, p. 476–480, abr. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acsmchemlett.7b00114>. Acesso em: 02 jan. 2020.

YUAN, X.; KANG, S.; ZHANG, P.; XU, W.; TANG, K. Experiment and simulation on kinetic resolution of (*R,S*)-2-chloromandelic acid by enzymatic transesterification. **Biotechnology Progress**. [s. l.] v. 35, n. 4, p. 2815, abr. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/btpr.2815>. Acesso em: 25 jan. 2020.

ZHONG, W.; ZHANG, M.; LI, X.; ZHANG, Y.; WANG, Z.; ZHENG, J. Enantioselective Resolution of (*R,S*)-2-Phenoxy-Propionic Acid Methyl Ester by Covalent Immobilized Lipase from *Aspergillus oryzae*. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, [s.l.] v. 190, n, p. 1049–1059, out. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12010-019-03145-4>. Acesso em: 02 fev. 2020.

ANEXO A – CÁLCULO DO EXCESSO ENANTIOMÉRICO, CONVERSÃO E ENANTIOSSELETIVIDADE

A quantificação da eficiência na resolução cinética enzimática foi avaliada utilizando as áreas dos picos de acordo com o tempo de retenção de cada enantiômero. Sendo expressa em excesso enantiomérico do substrato ($e.e.s$ - 1) e produto ($e.e.p$ - 2), nas seguintes equações:

$$e.e.s = \frac{A-B}{A+B} \times 100 \quad (1)$$

$$e.e.p = \frac{A-B}{A+B} \times 100 \quad (2)$$

No qual A representa o enantiômero majoritário e B representa o enantiômero minoritário representado pelas áreas dos picos cromatográficos.

A conversão (c) é calculada com a seguinte equação (3):

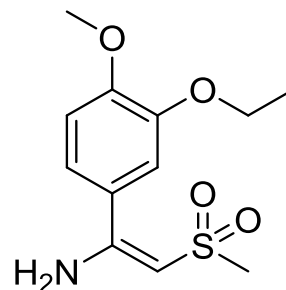
$$c = \frac{e.e.s}{e.e.s + e.e.p} \times 100 \quad (3)$$

A enantiosseletividade (E) é expressa na seguinte equação (4):

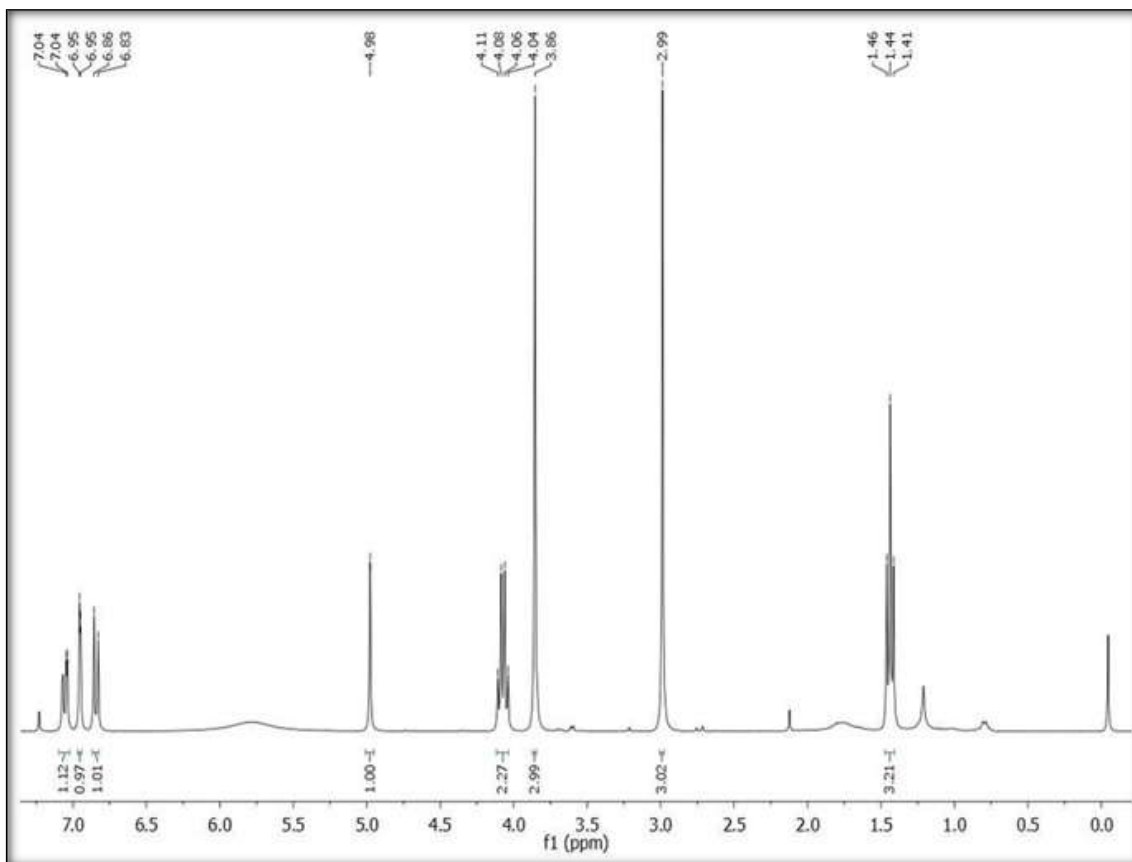
$$E = \frac{\ln[1-c(1+e.e.p)]}{\ln[1-c(1-e.e.p)]} \quad (4)$$

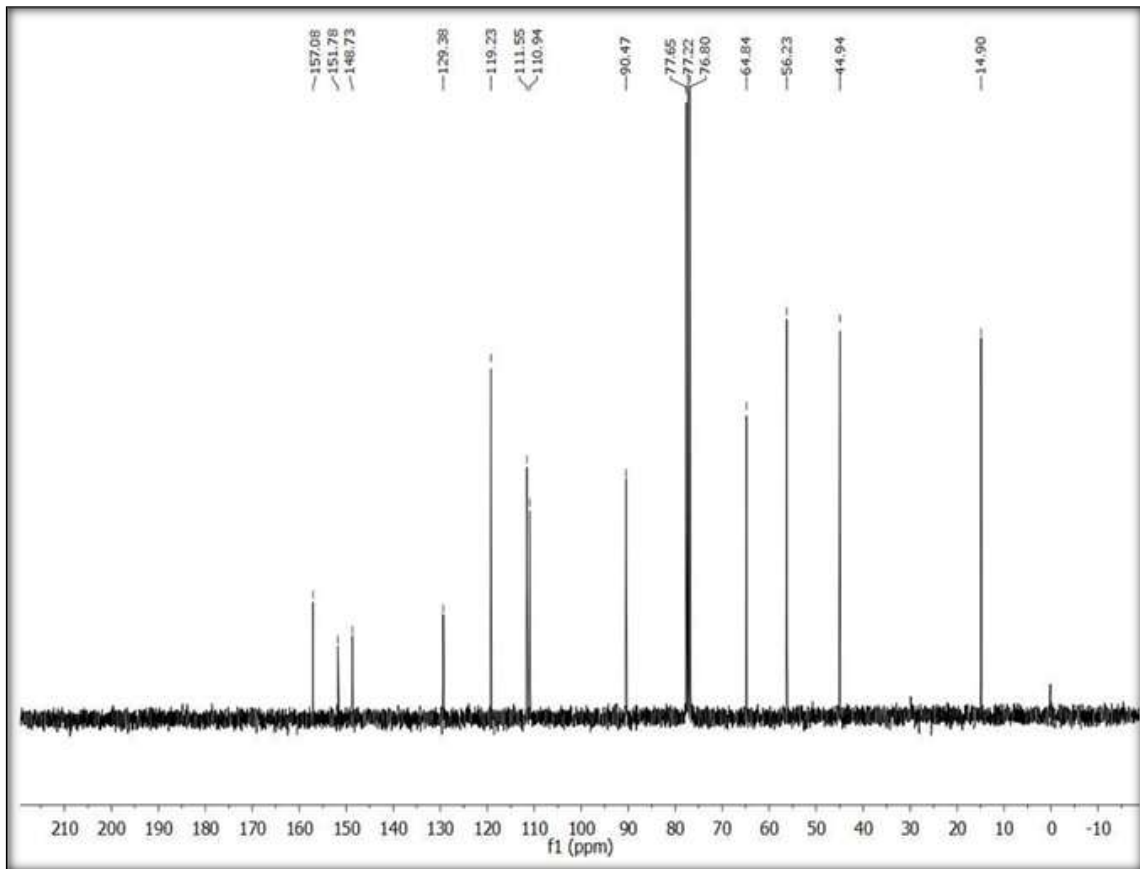
ANEXO B. DADOS ESPECTROSCÓPICOS DA 1-(3-ETOXI-4-METOXIFENIL)-2-(METILSSULFONIL)ETENAMINA, ENAMINA 39

Sólido amarelo, R_f (hexane/AcOEt 1:1): 0,50, p.f.: 127 – 128 °C. **RMN ^1H (CDCl_3 , 300MHz):** δ (ppm) 1,41-1,46 (t, $J=9$ Hz, 3H); 2,99 (s, 3H); 3,86 (s, 3H); 4,04-4,11 (q, $J=6$ Hz, 2H); 4,98 (s, 1H); 6,83-6,86 (d, $J=6$ Hz, 1H); 6,95 (s, 1H); 7,04 (d, $J=6$ Hz, 1H). **RMN ^{13}C -BB (CDCl_3 , 75 MHz):** δ (ppm) 14,90; 44,94; 56,23; 64,84; 90,47; 110,94; 111,55; 119,23; 129,83; 148,73; 151,78; 157,08.



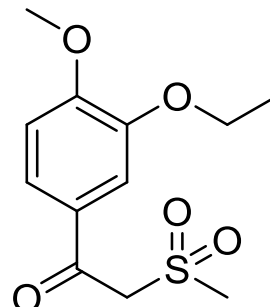
RMN ^1H (CDCl_3 , 300MHz)



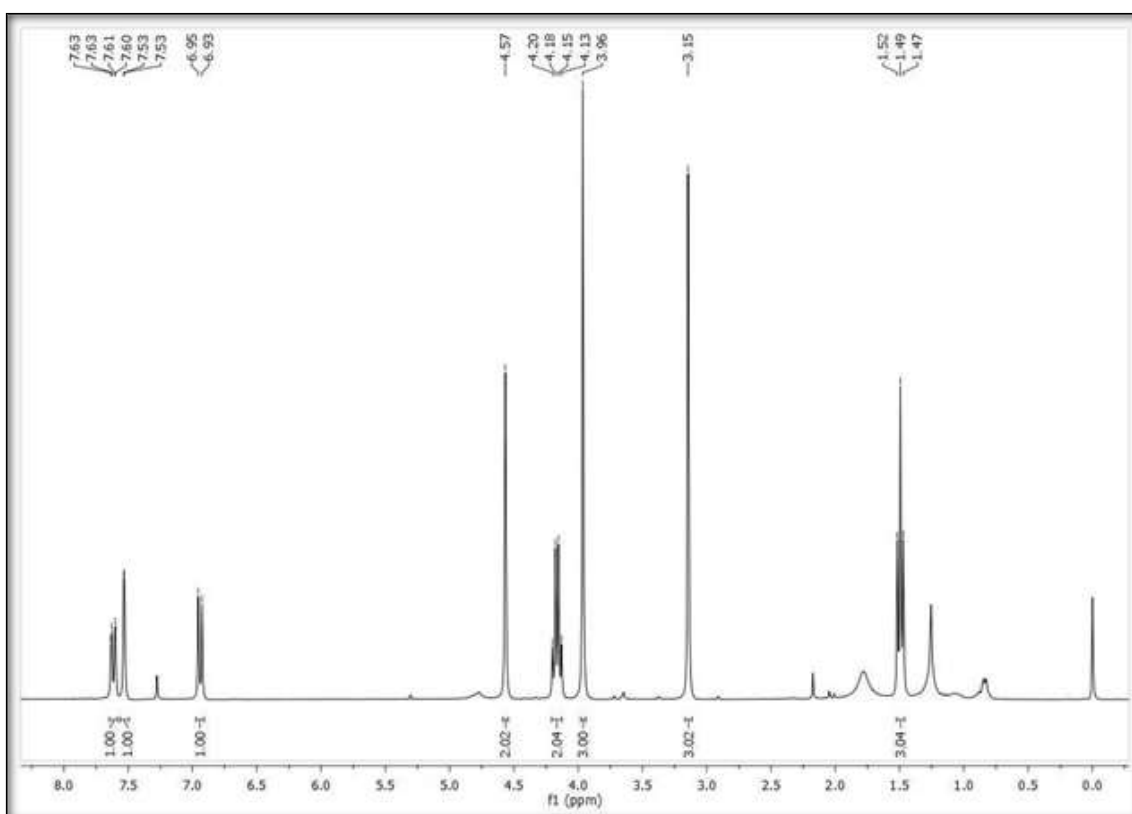
RMN ^{13}C -BB (CDCl_3 , 75 MHz)

ANEXO C – DADOS ESPECTROSCÓPICOS DA 1-(3-ETOXI-4-METOXI-FENIL)-2-(METILSSULFONIL)-ETANONA, CETOSSULFONA-46B

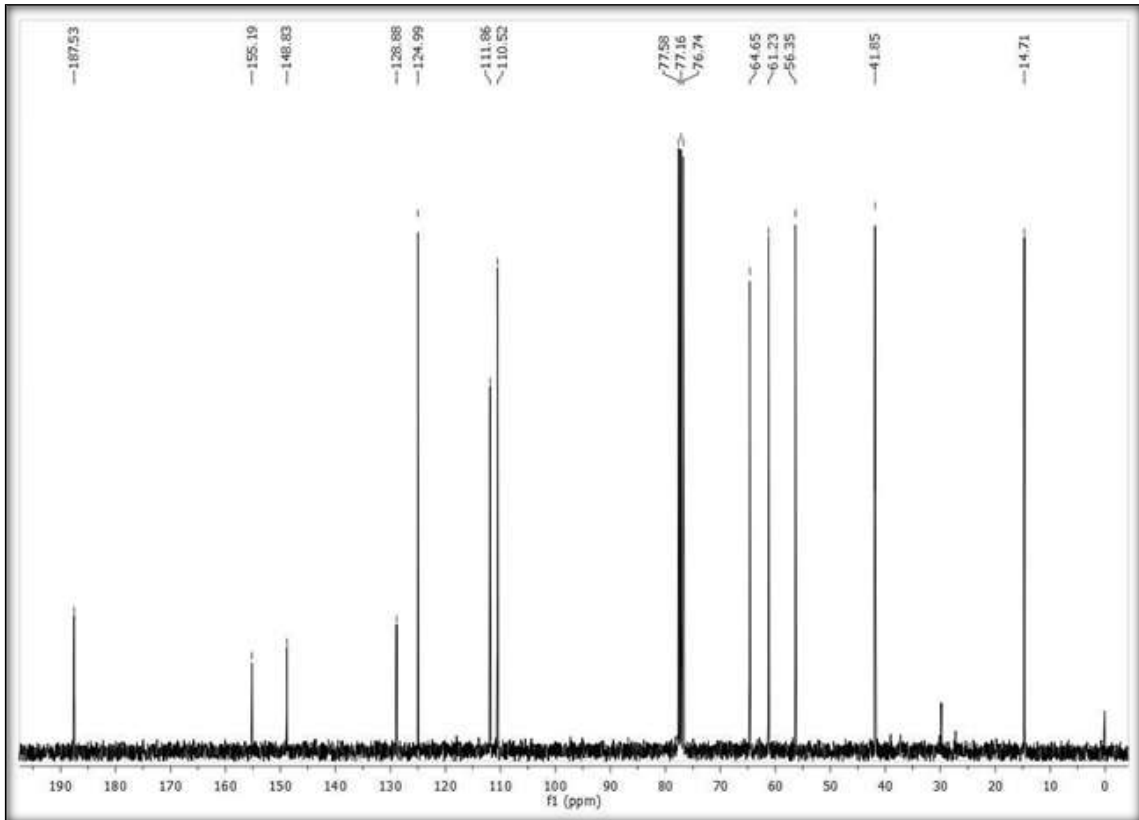
Sólido branco, R_f (hexano/AcOEt, 1:1): 0,47, p.f.: 144-145 °C, **RMN ^1H (CDCl_3 , 300MHz):** δ (ppm) 1,47-1,53 (t, $J= 6$ Hz, 3H); 3,15 (s, 3H); 3,96 (s, 3H); 4,13-4,20 (q, $J= 6$ Hz, 2H); 4,57 (s, 1H); 6,93-6,95 (d, $J= 6$ Hz, 3H); 7,53-7,63 (m, 3H). **RMN ^{13}C -BB (CDCl_3 , 75 MHz):** δ (ppm) 14,71; 41,85; 56,35; 61,23; 64,62; 110,52; 111,96; 124,99; 128,88 (Cc); 149,83; 155,19, 187,53



RMN ^1H (CDCl_3 , 300MHz)

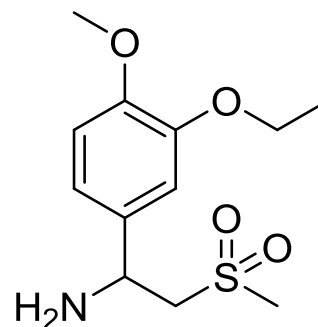


RMN ^{13}C -BB (CDCl_3 , 75 MHz):

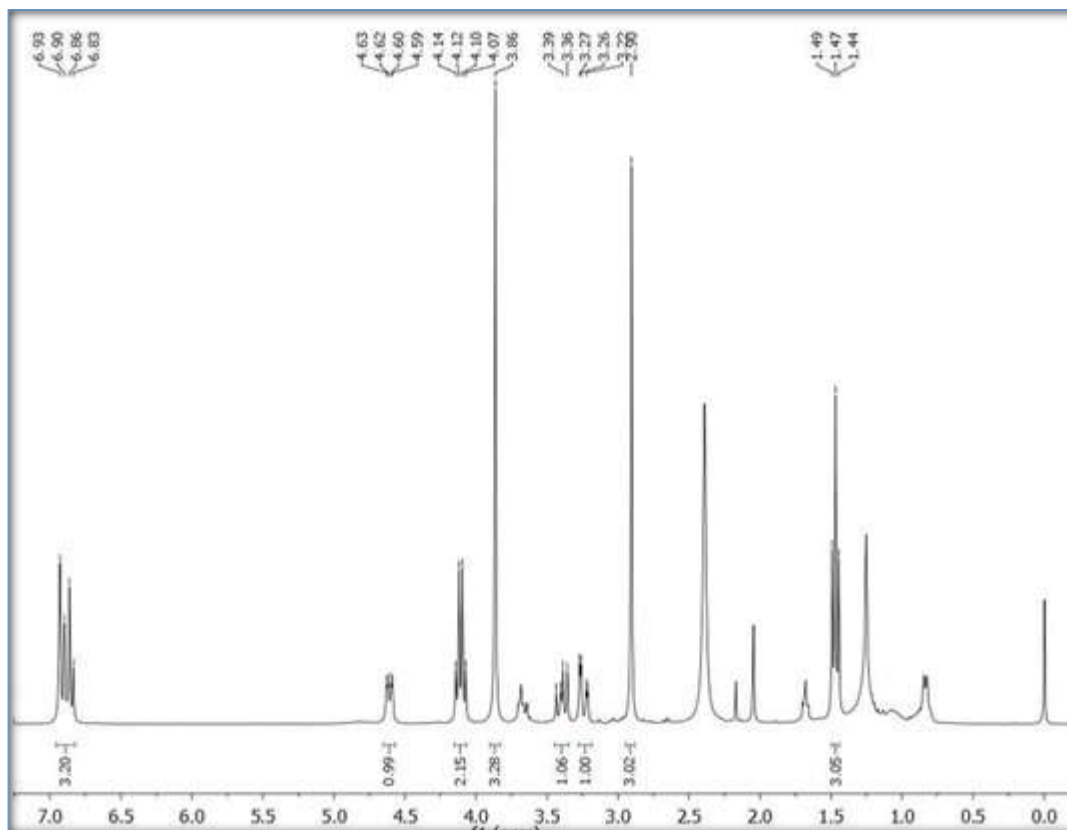


ANEXO D – DADOS ESPECTROSCÓPICOS DA 2-[1-(3-ETOXI-4-METOXIFENIL)]-1-METANOSULFONIL-2-ETILAMINA, AMINA RAC-36

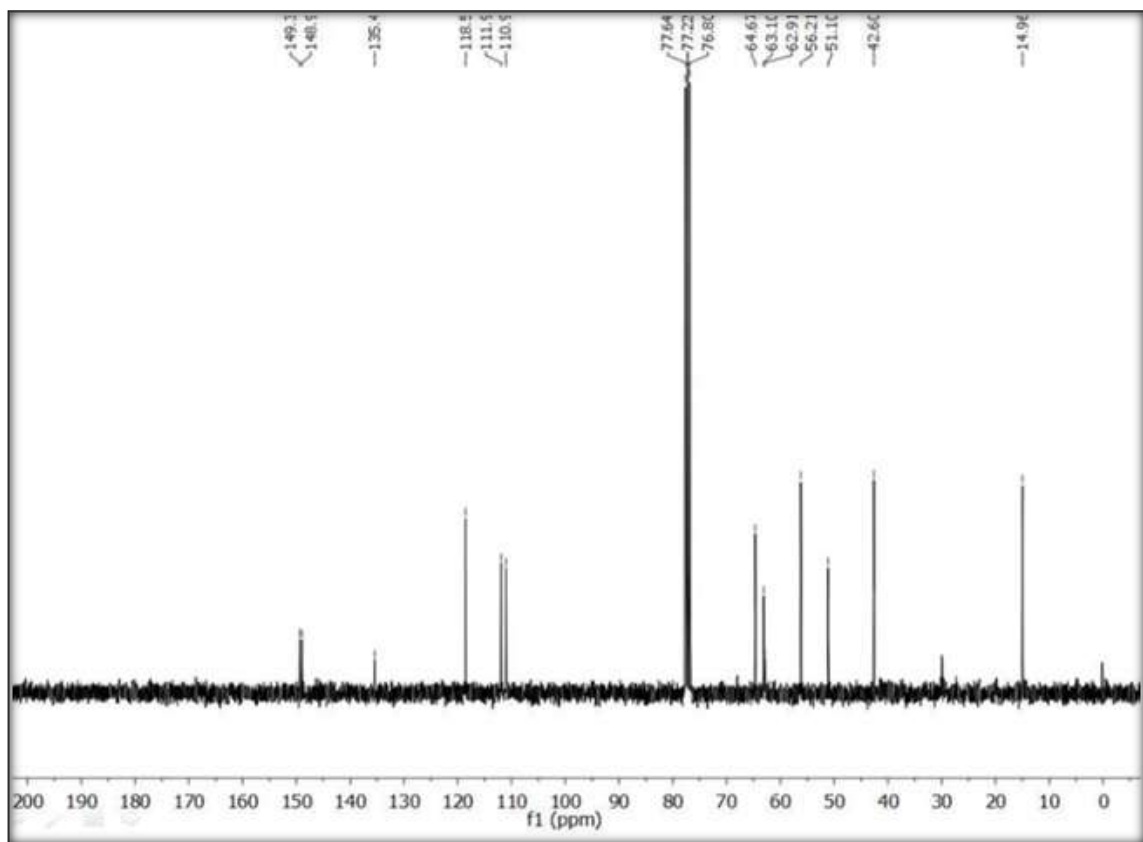
Sólido branco, R_f (IPA/AcOEt 1:1): 0,50, p.f: 113,8 - 114 °C, **RMN ^1H (CDCl_3 , 300MHz):** δ (ppm) 4,59-4,63 (dd, $J= 12$ Hz e $J= 6$ Hz, 1H); 6,83-6,93 (m, 3H); 4,07-4,14 (q, $J= 3$ Hz, 2H); 3,86 (s, 3H); 2,90 (s, 3H); 1,44-1,49 (t, $J= 6$ Hz, 3H); 3,22-3,27 (dd, $J= 12$ Hz e $J= 6$ Hz, 1H); 3,36-3,37 (q, $J= 3$ Hz, 1H). **RMN ^{13}C -BB (CDCl_3 , 75 MHz):** δ (ppm) 14,96; 42,60; 56,21; 64,67; 63,10; 148,96; 149,96; 51,10; 110,98; 111,91; 118, 52; 135,42.



RMN ^1H (CDCl_3 , 300MHz):

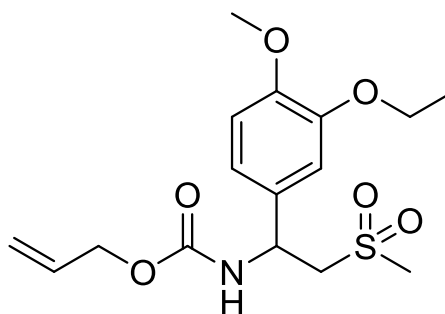


RMN ^{13}C -BB (CDCl_3 , 75 MHz):

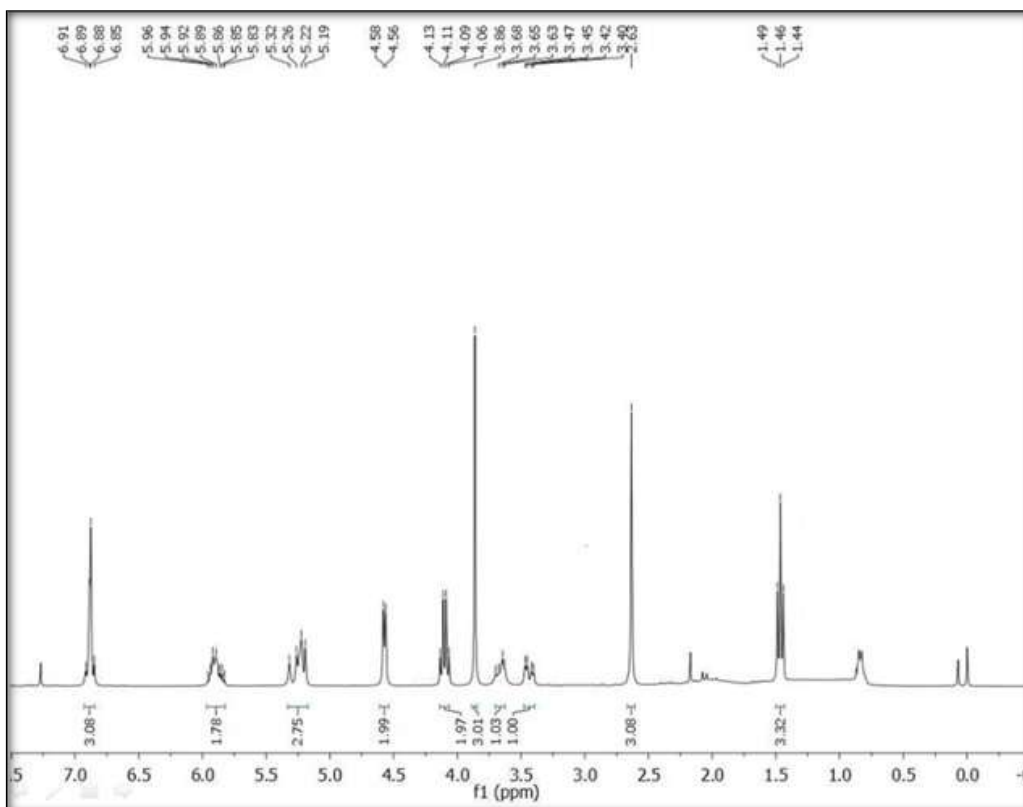


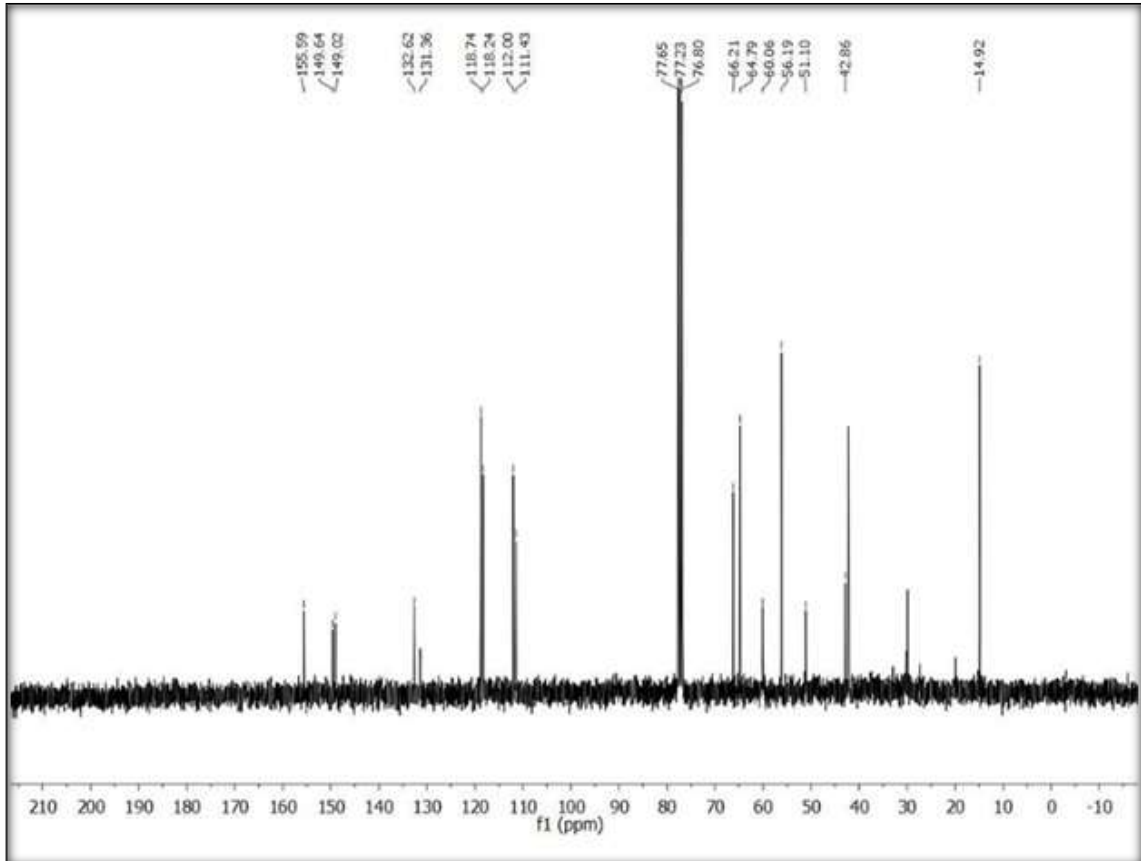
ANEXO E – DADOS ESPECTROSCÓPICOS DO CARBAMATO DE [1-(3-ETOXI-4-METOXIFENIL)-2-(METILSSULFONIL)ETIL]ALILA, RAC-49

Sólido branco, R_f (hexano/AcOEt 1:1): 0,4, p.f. 107 – 108 °C, **RMN ^1H (CDCl_3 , 300MHz):** δ (ppm) 5,19-5,32 (m, 3H); 3,40 – 3,47 (dd, $J= 15$ Hz, $J= 6$ Hz, 1H); 3,63-3,68 (q, $J= 6$ Hz, 1H); 5,83-5,86 (m, 3H); 4,56-4,58 (d, $J= 6$ Hz, 2H); 2,63 (s, 3H); 3,86 (s, 3H); 4,06-4,13 (q, $J= 6$ Hz, 2H); 1,44-1,49 (t, $J= 6$ Hz, 3H); 6,85-6,91 (m, 3H). **RMN ^{13}C -BB (CDCl_3 , 75 MHz):** δ (ppm) 155,59; 64,79; 132,62; 118,08; 51,10; 66,21; 42,86; 137,36; 118,74; 112,00; 149,04; 149,64 , 111,43; 56,10, 60,06; 14,92.



RMN ^1H (CDCl_3 , 300MHz)

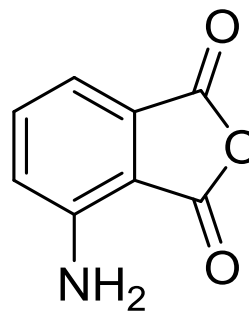


RMN ^{13}C -BB (CDCl_3 , 75 MHz)

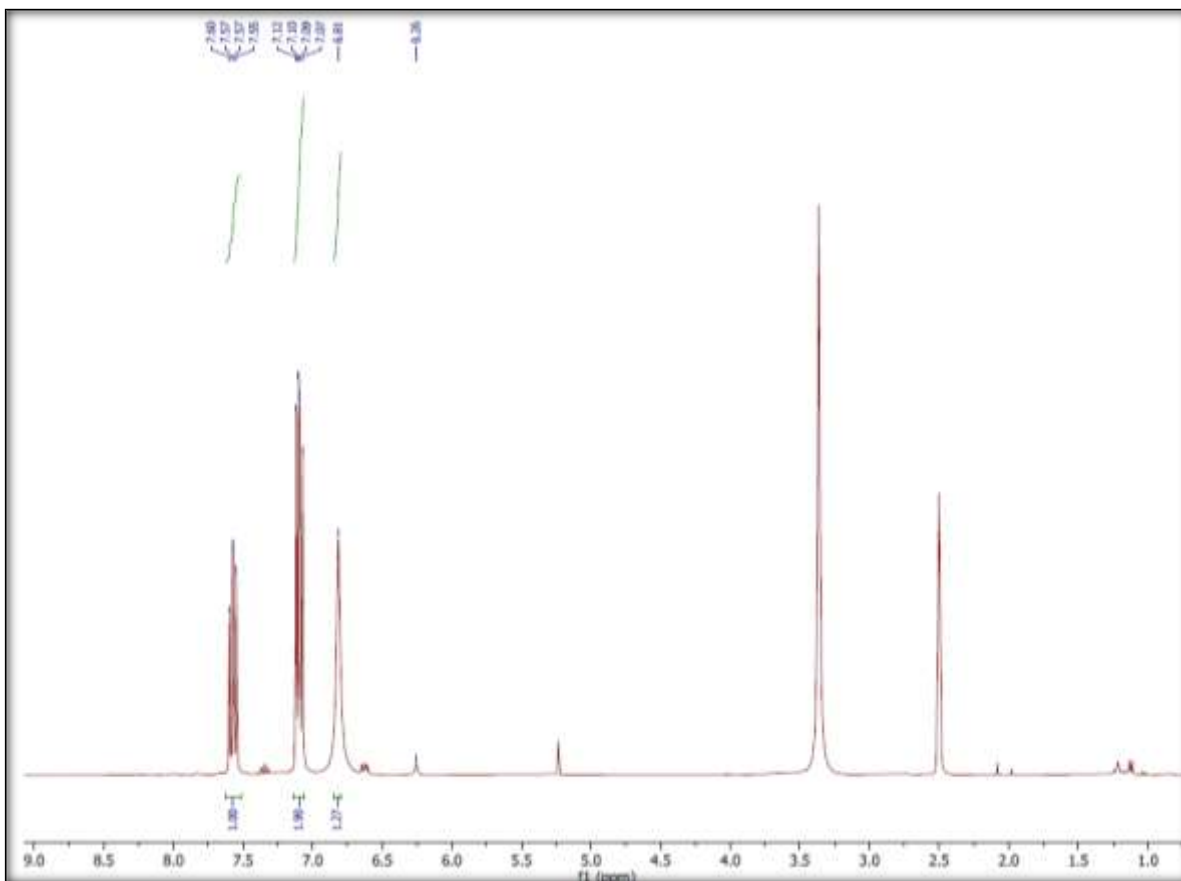
**ANEXO F – DADOS ESPECTROSCÓPICOS DO ANIDRIDO 3-AMINOFTÁLICO,
ANIDRIDO 51**

Sólido amarelo, R_f (hexano/AcOEt 1:1): 0,6 p.f.

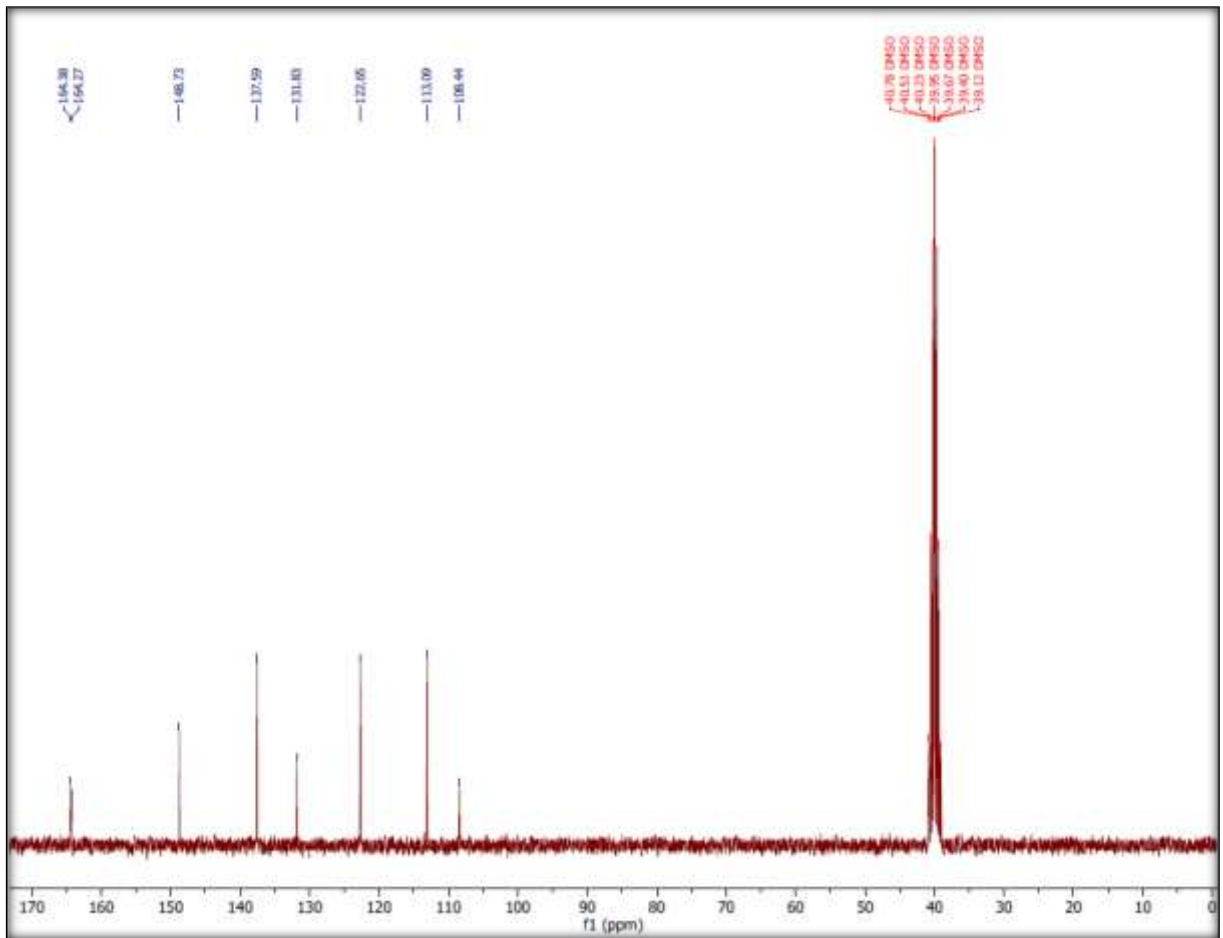
185 – 187 °C, **RMN ^1H (DMSO, 300MHz):** δ (ppm) 7,55-7,60 (m, 1H); 7,07-7,12 (dd, $J=9$ Hz e $J=6$ Hz, 1H); 6,26 (s, 1H). **RMN ^{13}C -BB (DMSO, 75 MHz):** δ (ppm) 108,44; 113,09; 122,65; 131,83; 137,59; 148,73; 164,27; 164,38.



RMN ^1H (DMSO, 300MHz):

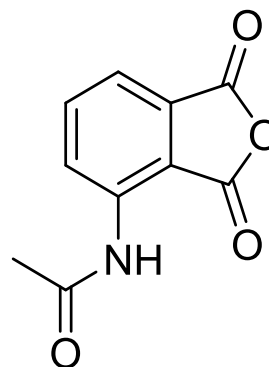


RMN ^{13}C -BB (DMSO, 75 MHz):

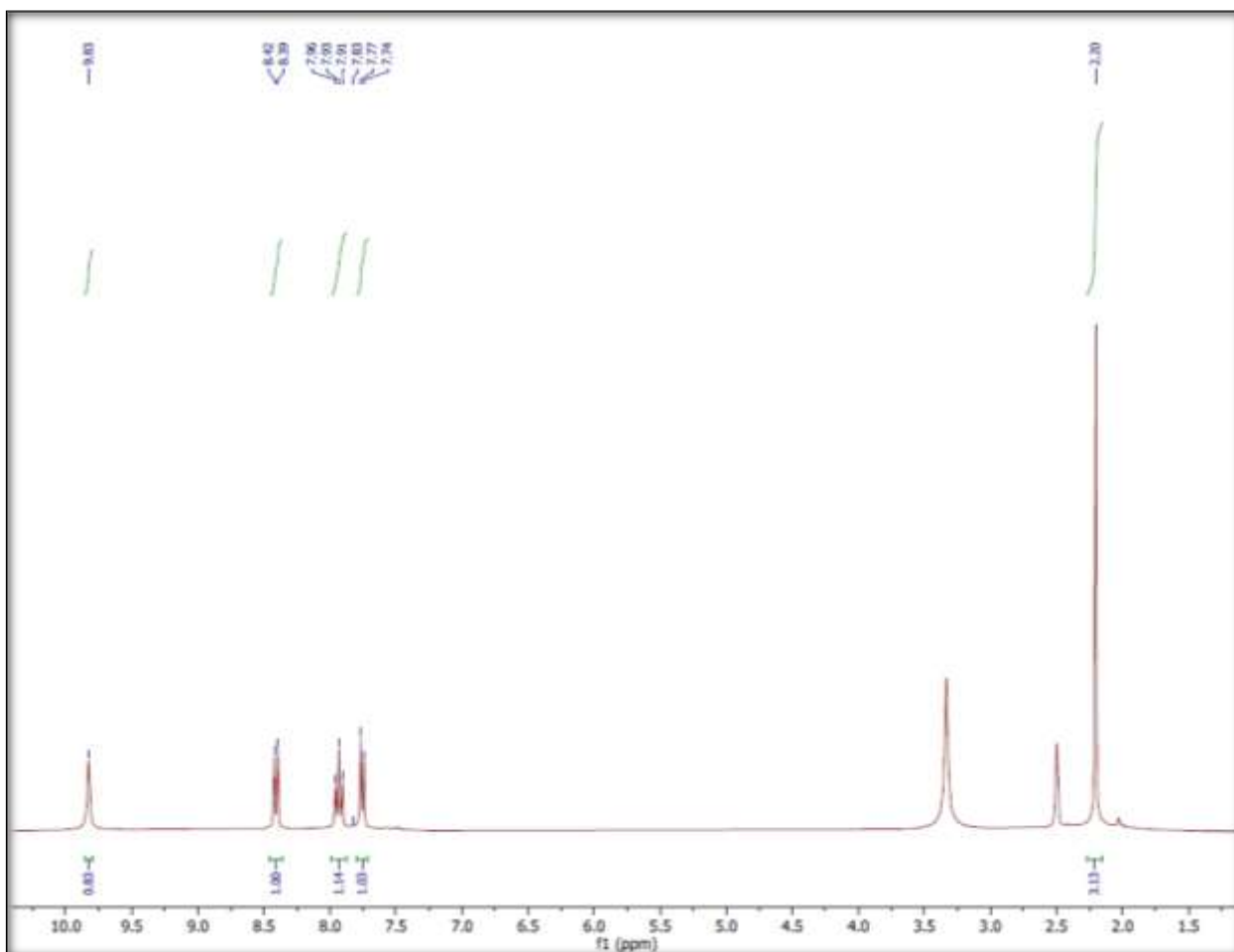


ANEXO G – DADOS ESPECTROSCÓPICOS DO 3-ACETILAMINOFTÁLICO, ANIDRIDO 37

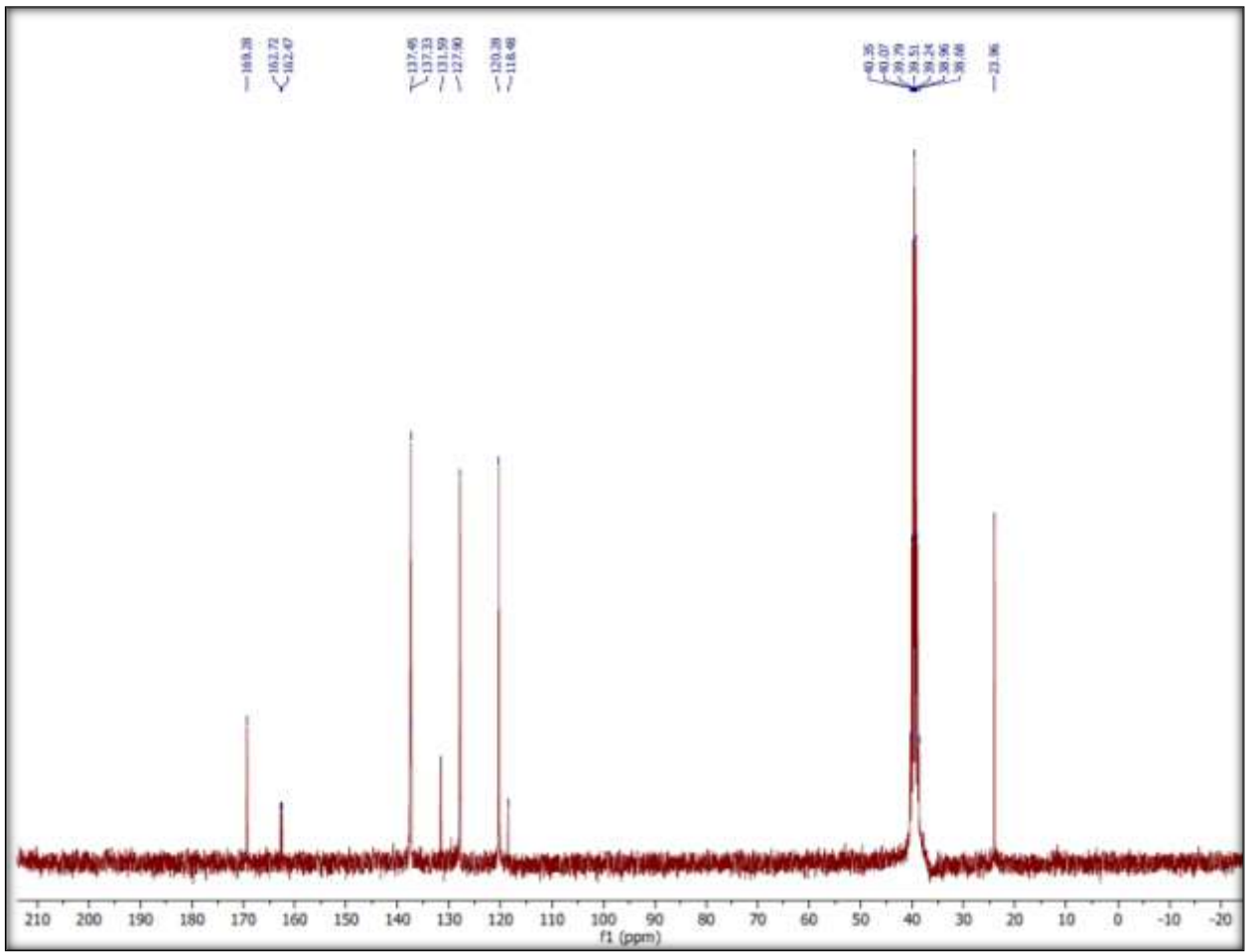
Sólido cinza, R_f (hexano/AcOEt 1:1): 0,7 p.f.
 180 – 182 °C, **RMN ^1H (DMSO, 300MHz):** δ (ppm) 2,20 (s, 3H); 7,74-7,77 (d, $J= 9$ Hz,1H); 7,91-7,96 (t, $J= 6$ Hz,1H), 8,39-8,42 (d, $J= 6$ Hz, 1H), 9,83 (s, 1H). **RMN ^{13}C -BB (DMSO, 75 MHz):** δ (ppm) 23,96; 118,48;120,28; 127,90; 131,59; 137,33; 137,45; 162,47; 162,72; 169,28.



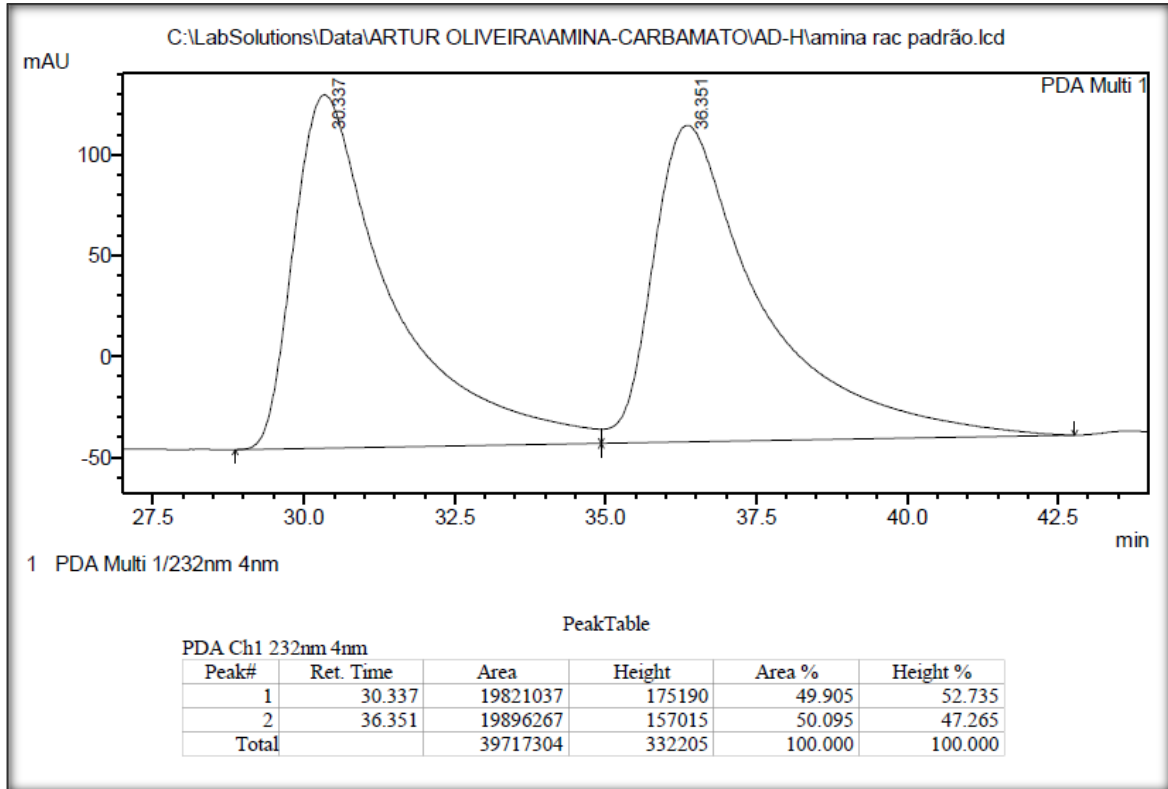
RMN ^1H (DMSO, 300MHz):



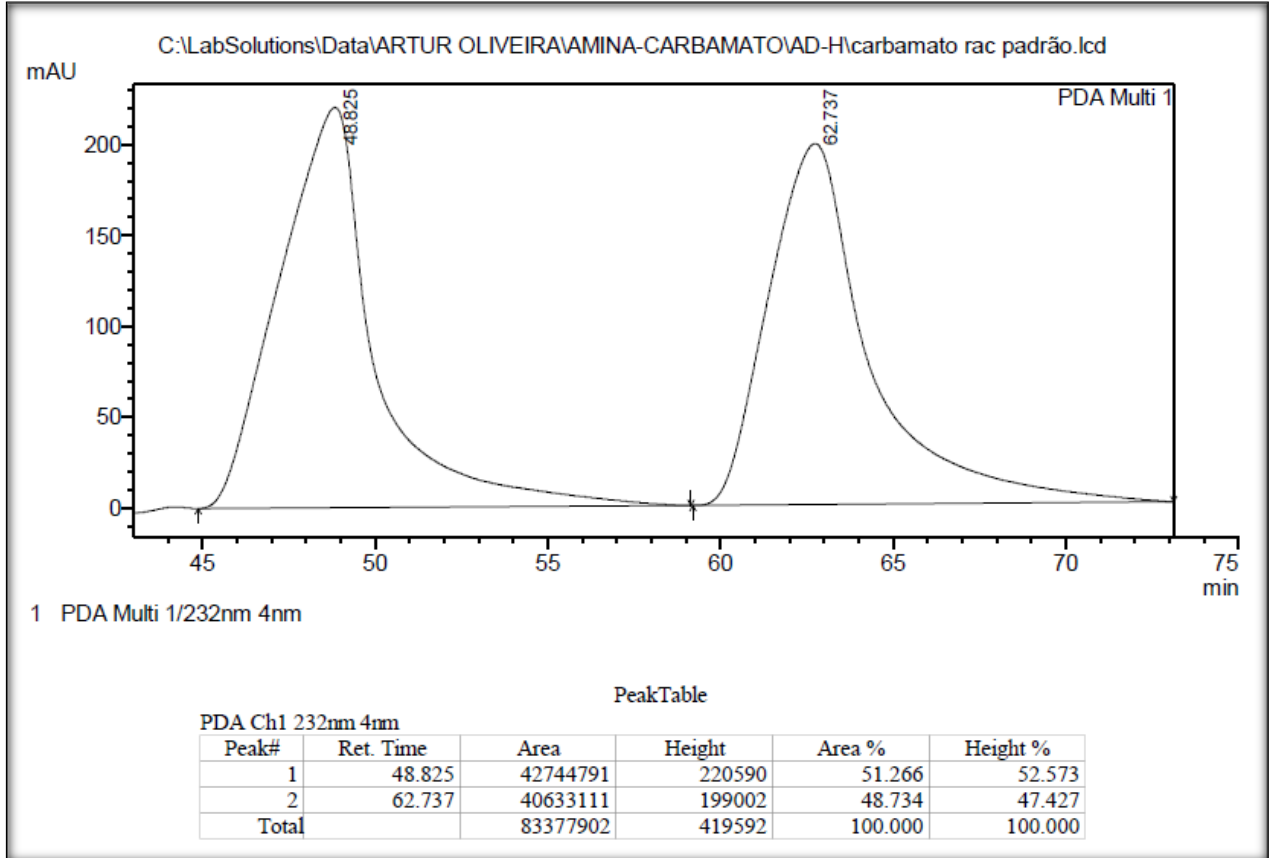
^{13}C -BB (DMSO, 75 MHz):



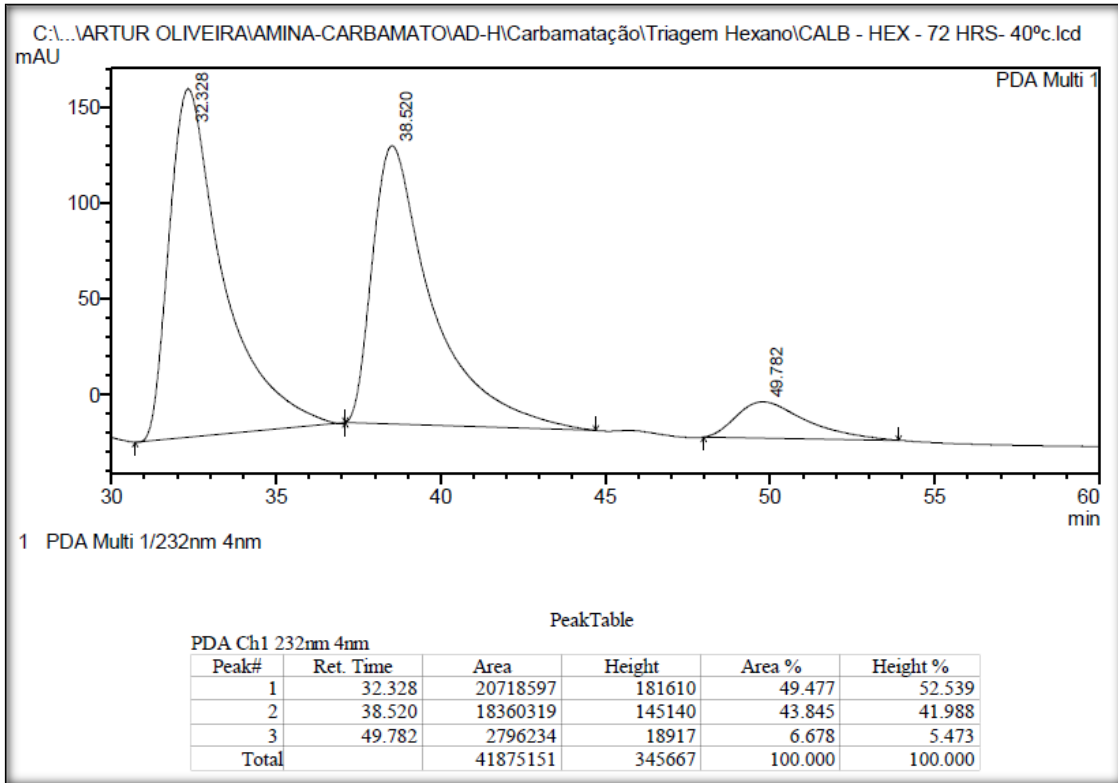
ANEXO H – CROMATOGRAMA OBTIDO POR CLAE DA 2-[1-(3-ETOXI-4-METOXIFENIL)]-1-METANOSULFONIL-2-ETILAMINA, AMINA RAC-36



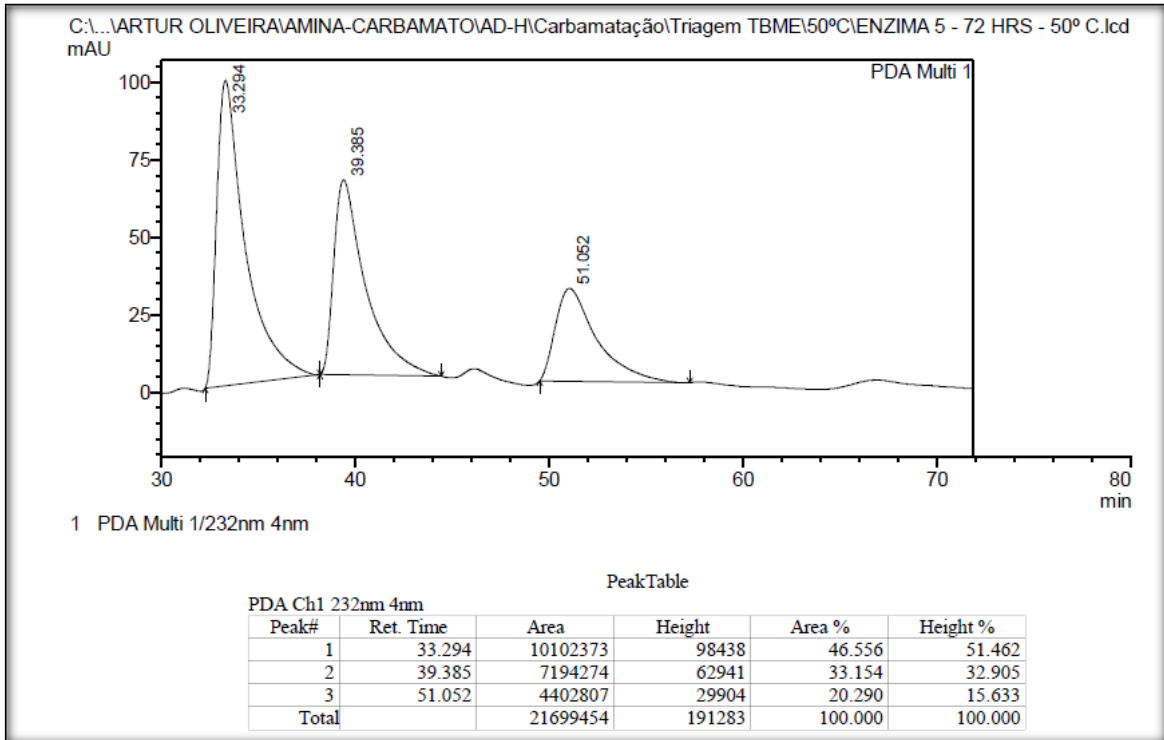
ANEXO I – CROMATOGRAMA OBTIDO POR CLAE DO CARBAMATO DE [1-(3-ETOXI-4-METOXIFENIL)-2-(METILSSULFONIL)ETIL]ALILA, RAC-49



**ANEXO J – CROMATOGRAMA OBTIDO POR CLAE DA RESOLUÇÃO
CINÉTICA DA 2-[1-(3-ETOXI-4-METOXIFENIL)]-1-METANOSULFONIL-2-
ETILAMINA, AMINA RAC-36, EM HEXANO A 40 °C POR 72 H**



**ANEXO K – CROMATOGRAMA OBTIDO POR CLAE DA RESOLUÇÃO
CINÉTICA DA 2-[1-(3-ETOXI-4-METOXIFENIL)]-1-METANOSULFONIL-2-
ETILAMINA, AMINA RAC-36, EM TBME A 50 °C POR 72 H**



**ANEXO L – CROMATOGRAMA OBTIDO POR CLAE DA RESOLUÇÃO
CINÉTICA DA 2-[1-(3-ETOXI-4-METOXIFENIL)]-1-METANOSULFONIL-2-
ETILAMINA, AMINA RAC-36, EM TBME A 35 °C POR 72 H**

