



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÂNICA E INORGÂNICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

GABRIELLA DE CASTRO LIMA

**SÍNTESE E ESTUDO *IN SÍLICO* DE ANÁLOGOS DA PROPAFENONA E
RESOLUÇÃO CINÉTICA ENZIMÁTICA DO ACETATO DE 1-[4-AMINO-2-(3-
FENILPROPANOIL)FENOXI]-3-CLOROPROPAN-2-ILA, CATALISADA POR
LIPASES**

FORTALEZA

2021

GABRIELLA DE CASTRO LIMA

SÍNTESE E ESTUDO IN SÍLICO DE ANÁLOGOS DA PROPAFENONA E RESOLUÇÃO
CINÉTICA ENZIMÁTICA DO ACETATO DE 1-[4-AMINO-2-(3-
FENILPROPANOIL)FENOXI]-3-CLOROPROPAN-2-ILA, CATALISADA POR 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.

Orientador: Prof. Dr. Marcos Carlos de Mattos

FORTALEZA

2021

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

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

- L698s Lima, Gabriella de Castro.
Síntese e estudo in silico de análogos da propafenona e resolução cinética enzimática do acetato de 1-[4-amino-2-(3-fenilpropanoil)fenoxi]-3- cloropropan-2-ila, catalisada por lipases / Gabriella de Castro Lima. – 2021.
102 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Programa de Pós-Graduação em Química, Fortaleza, 2021.
Orientação: Prof. Dr. Marcos Carlos de Mattos.
1. análogos da propafenona. 2. resolução cinética enzimática. 3. lipases. 4. estudo in silico.
5. docking molecular . I. Título.

CDD 540

GABRIELLA DE CASTRO LIMA

SÍNTESE E ESTUDO IN SÍLICO DE ANÁLOGOS DA PROPAFENONA E RESOLUÇÃO
CINÉTICA ENZIMÁTICA DO ACETATO DE 1-[4-AMINO-2-(3-
FENILPROPANOIL)FENOXI]-3-CLOROPROPAN-2-ILA, CATALISADA POR 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: 28/06/2021.

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. João Alison de Moraes Silveira
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Aos meus pais, Everton e Leidinha.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço aos meus pais por me proporcionarem todo o suporte, tempo e paciência para que esta etapa fosse concluída. A eles devo tudo.

Agradeço aos meus avós por sempre mostrarem que acreditam em mim.

Aos meus tios e tias por mostrarem disponibilidade a ajudar quando necessário.

Aos meus primos pelo orgulho e inspiração que sentem por mim.

Aos meus amigos formados fora do ambiente acadêmico por estarem comigo desde sempre.

Aos amigos que a vida acadêmica me proporcionou por compartilhar comigo as experiências que serviram de exemplos para que eu continuasse em frente.

Aos meus amigos de laboratório (LABS) por todas as conversas, ajudas, paciência e ensinamentos obtidos durante esses anos de mestrado.

À minha IC, Stephani Lima, por ser meu braço direito, por toda a parceria, por todo conhecimento compartilhado e por todas as vezes que conseguiu deixar o trabalho leve divertindo o ambiente com seu carisma. A você eu desejo um futuro brilhante.

Aos meus amigos e “professores” de laboratório, Bruna Rocha e Francisco de Aquino, por me ensinarem tanto durante minha pesquisa. Sem vocês, não seria possível concluir.

Ao meu orientador Marcos Carlos de Mattos por todo o ensinamento, paciência, compreensão, disponibilidade e bondade.

Ao corpo docente e equipe da UFC, em especial do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica que contribuíram com este trabalho direta ou indiretamente.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

A todos que de alguma forma me ajudaram a não desistir.

RESUMO

A preparação de análogos de um determinado fármaco é uma das estratégias para reduzir seus efeitos colaterais e, possivelmente, descobrir novas atividades biológicas. Neste trabalho, relatamos a síntese de quatro análogos da propafenona, um fármaco utilizado para o tratamento de arritmias. As modificações foram realizadas com a inserção de um grupo amino no anel benzênico fenólico em C-5 e a introdução de alquilaminas na cadeia lateral, tais como propilamina, isopropilamina, dietilamina e dibutilamina levando aos análogos *rac-5a* (50%), *rac-5b* (60%), *rac-5c* (70%) e *rac-5d* (40%), respectivamente. Estudo *in silico* revelaram que todos os análogos possuem uma boa biodisponibilidade oral, além de estarem em concordância com a “regra do 5” de Lipinski. Estudo de *docking* molecular revelou que o análogo *rac-5c* apresentou afinidades superiores à propafenona em relação aos receptores adrenérgicos beta 1 e beta 2, bem como aos canais de sódio. Em paralelo, foi desenvolvido um protocolo para a resolução cinética enzimática de um intermediário chave e comum aos análogos *rac-5a-5d*, o acetato de 1-[4-amino-2-(3-fenilpropanoil)fenoxi]-3-cloropropan-2-ila (*rac-7*), via reação de hidrólise, catalisada por lipases. Após um estudo detalhado dos parâmetros reacionais, *rac-7* pode ser resolvido em uma solução 0,1 M de 80% de tampão fosfato (pH 7) e 20% de tolueno, a 40 °C por 30 h, com uma razão enzima/substrato (m/m) de 1:1, na presença da lipase de *Thermomyces lanuginous* imobilizada em immobead-150 (TLL), levando à cloroidrina quiral (**5**) 1-(5-amino-2-(3-cloro-2-hidroxiopoxi)fenil)-3-fenilpropan-1-ona com excesso enantiomérico > 99% e o substrato remanescente quiral (**7**) acetato de 1-[4-amino-2-(3-fenilpropanoil)fenoxi]-3-cloropropan-2-ila com excesso enantiomérico de 98%, conversão de 50% e E > 200.

Palavras-chave: análogos da propafenona; resolução cinética enzimática; lipases; estudo *in silico*; *docking* molecular.

ABSTRACT

The preparation of analogs of a specific drug is one of the strategies to reduce its side effects and, possibly, discover new biological activities. In this work, we report the synthesis of four analogs of propafenone, a drug used to treat arrhythmias. The modifications were carried out with the insertion of an amino group in the C-5 phenolic benzene ring and the introduction of alkylamines in the side chain, such as propylamine, isopropylamine, diethylamine and dibutylamine leading to the analogs *rac-5a* (50%), *rac-5b* (60%), *rac-5c* (70%) and *rac-5d* (40%), respectively. *In silico* studies revealed that all analogs have a good oral bioavailability, in addition to being in agreement with Lipinski's "rule of 5". A molecular docking study revealed that the *rac-5c* analog showed higher affinities than propafenone in relation to beta 1 and beta 2 adrenergic receptors, as well as sodium channels. In parallel, a protocol was developed for the enzymatic kinetic resolution of a key intermediate common to the *rac-5a-5d* analogs, 1-[4-amino-2-(3-phenylpropanoyl)phenoxy]-3-chloropropan-2-yl acetate (*rac-7*), via hydrolysis reaction, catalyzed by lipases. After a detailed study of the reaction parameters, *rac-7* can be resolved in a 0.1 M solution of 80% phosphate buffer (pH 7) and 20% toluene, at 40 °C for 30 h, with a ratio enzyme/substrate (m/m) of 1:1, in the presence of the *Thermomyces lanuginous* lipase immobilized on immovead-150 (TLL), leading to chiral chlorohydrin (**5**) 1-(5-amino-2-(3-chloro-2-hydroxypropoxy)phenyl)-3-phenylpropan-1-one with enantiomeric excess > 99% and the remaining chiral substrate (**7**) 1-[4-amino-2-(3-phenylpropanoyl)phenoxy]-3-chloropropan-2-yl acetate with 98% enantiomeric excess, 50% conversion and E > 200.

Keywords: propafenone analogs; enzymatic kinetic resolution; lipases; in silico study; molecular docking

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Mecanismo de reação de hidrólise de um éster catalisada por lipase.	16
Figura 2 – Representação dos bolsões hidrofóbicos no sítio ativo de uma lipase, de tamanhos diferentes, e a interação favorável (A) e desfavorável (B) com os enantiômeros de um álcool secundário racêmico.	18
Figura 3 – Estrutura da propafenona.	20
Figura 4 – Análogos da propafenona capazes de inibir o crescimento do <i>Plasmodium falciparum</i> cultivado.	23
Figura 5 – Estrutura química dos compostos sintetizados por Chiba <i>et. al.</i> (1997).	24
Figura 6 – Análogos da propafenona com atividade antiproliferativa para seis linhas celulares tumorais.	25
Figura 7 – Redução de íons férricos e ferrosos na presença de boroidreto de sódio (NaBH_4).	31
Figura 8 – Processo de redução do grupo nitro através da transferência de elétrons das nanopartículas de ferro.	32
Figura 9 – Proposta de mecanismo para redução do grupo nitro na molécula <i>rac-5</i>	33
Figura 10 – Análogos <i>rac-5b</i> , <i>rac-5c</i> e <i>rac-5d</i>	34
Figura 11 – Parâmetros para que a molécula tenha boa biodisponibilidade oral (região rosa). “LIPO”: lipofilicidade; “SIZE”: tamanho; “POLAR”: polaridade; “INSOLU”: insolubilidade; “INSATU”: insaturação e “FLEX”: flexibilidade. Gráfico gerado pelo SwissADME.	43
Figura 12 – Representação bidimensional/tridimensional de resíduos de interação entre o ligante propafenona e o alvo BETA1 adrenérgico. A 1: Sítio ativo do receptor BETA1 adrenérgico interagindo com a propafenona. A 2: interações intermoleculares entre propafenona e BETA1 adrenérgico.	49
Figura 13 – Representação bidimensional/tridimensional de resíduos de interação entre o ligante <i>rac-5a</i> e o alvo BETA1 adrenérgico. B1: Sítio ativo do receptor BETA1 adrenérgico interagindo com <i>rac-5a</i> . B2: interações intermoleculares entre <i>rac-5a</i> e BETA1 adrenérgico.	50
Figura 14 – Representação da interação π - π “T-shaped”.	51

Figura 15 – Representação bidimensional/tridimensional de resíduos de interação entre o ligante <i>rac-5b</i> e o alvo BETA1 adrenérgico. C1: Sítio ativo do receptor BETA1 adrenérgico interagindo com <i>rac-5b</i> . C2: interações intermoleculares entre <i>rac-5b</i> e BETA1 adrenérgico.	51
Figura 16 – Representação bidimensional/tridimensional de resíduos de interação entre o ligante <i>rac-5c</i> e o alvo BETA1 adrenérgico. D1: Sítio ativo do receptor BETA1 adrenérgico interagindo com <i>rac-5c</i> . D2: interações intermoleculares entre <i>rac-5c</i> e BETA1 adrenérgico.	52
Figura 17 – Representação da interação π - π stacking.	52
Figura 18 – Representação bidimensional/tridimensional de resíduos de interação entre o ligante <i>rac-5d</i> e o alvo BETA1 adrenérgico. E1: Sítio ativo do receptor BETA1 adrenérgico interagindo com <i>rac-5d</i> . E2: interações intermoleculares entre <i>rac-5d</i> e BETA1 adrenérgico.	53
Figura 19 – Representação bidimensional/tridimensional de resíduos de interação entre o ligante propafenona e o alvo BETA2 adrenérgico. A1: Sítio ativo do receptor BETA2 adrenérgico interagindo com a propafenona. A2: interações intermoleculares entre a propafenona e BETA2 adrenérgico.	53
Figura 20 – Representação bidimensional/tridimensional de resíduos de interação entre o ligante <i>rac-5a</i> e o alvo BETA2 adrenérgico. B1: Sítio ativo do receptor BETA2 adrenérgico interagindo com <i>rac-5a</i> . B2: interações intermoleculares entre <i>rac-5a</i> e BETA2 adrenérgico.	54
Figura 21 – Representação bidimensional/tridimensional de resíduos de interação entre o ligante <i>rac-5b</i> e o alvo BETA2 adrenérgico. C1: Sítio ativo do receptor BETA2 adrenérgico interagindo com <i>rac-5b</i> . C2: interações intermoleculares entre <i>rac-5b</i> e BETA2 adrenérgico.	55
Figura 22 – Representação bidimensional/tridimensional de resíduos de interação entre o ligante <i>rac-5c</i> e o alvo BETA2 adrenérgico. D1: Sítio ativo do receptor BETA2 adrenérgico interagindo com <i>rac-5c</i> . D2: interações intermoleculares entre <i>rac-5c</i> e BETA2 adrenérgico.	56
Figura 23 – Representação bidimensional/tridimensional de resíduos de interação entre o ligante <i>rac-5d</i> e o alvo BETA2 adrenérgico. E1: Sítio ativo do receptor BETA2 adrenérgico interagindo com <i>rac-5d</i> . E2: interações intermoleculares entre <i>rac-5d</i> e BETA2 adrenérgico.	56

Figura 24 – Representação bidimensional/tridimensional de resíduos de interação entre o ligante propafenona, e o alvo de canal de sódio. A1: Sítio ativo do canal de sódio interagindo com a propafenona. A2: interações intermoleculares entre propafenona e canal de sódio.	57
Figura 25 – Representação bidimensional/tridimensional de resíduos de interação entre o ligante rac-5a e o alvo de canal de sódio. B1: Sítio ativo do canal de sódio interagindo com rac-5a. B2: interações intermoleculares entre rac-5a e canal de sódio.	58
Figura 26 – Representação bidimensional/tridimensional de resíduos de interação entre o ligante rac-5b e o alvo de canal de sódio. C1: Sítio ativo do canal de sódio interagindo com rac-5b. C2: interações intermoleculares entre rac-5b e canal de sódio.	58
Figura 27 – Representação bidimensional/tridimensional de resíduos de interação entre o ligante rac-5c e o alvo de canal de sódio. D1: Sítio ativo do canal de sódio interagindo com rac-5c. D2: interações intermoleculares entre rac-5c e canal de sódio.	59
Figura 28 – Representação bidimensional/tridimensional de resíduos de interação entre o ligante rac-5d e o alvo de canal de sódio. E1: Sítio ativo do canal de sódio interagindo com rac-5d. E2: interações intermoleculares entre rac-5d e canal de sódio.	59

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 – Síntese quimioenzimática do fármaco (<i>R</i>)-luliconazol.	19
Esquema 2 – Síntese quimioenzimática do (<i>S</i>)-pindolol.....	19
Esquema 3 – Resolução cinética do intermediário do fármaco (<i>S</i>)-moprolol.....	20
Esquema 4 – Síntese da propafenona.....	21
Esquema 5 – Metabólitos principais da propafenona	22
Esquema 6 – Síntese quimioenzimática dos intermediários quirais de derivados da propafenona e análogos da propafenona racêmicos	26
Esquema 7 – Reação de nitração da 1-(2-hidroxifenil)-3-fenilpropan-1-ona	28
Esquema 8 – Obtenção dos compostos <i>rac-3</i> , <i>rac-4</i> e <i>rac-6</i>	29
Esquema 9 – Tentativa de obtenção do análogo da propafenona nitrada no carbono-5 do anel benzênico fenólico	30
Esquema 10 – Reação de redução para a formação do <i>rac-5</i> e <i>rac-7</i>	31
Esquema 11 – Obtenção do análogo da propafenona aminado no carbono-5 (<i>rac-5a</i>).	34
Esquema 12 – Resolução cinética do éster <i>rac-7</i> , via reação de hidrólise: triagem de lipases..	35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Classificação das enzimas segundo a IUBMB EC.	15
Tabela 2 – Resultados da triagem de lipases na resolução cinética de <i>rac-7</i> , via reação de hidrólise.	36
Tabela 3 – Efeito da temperatura na resolução cinética de <i>rac-7</i> , via reação de hidrólise, na presença da lipase TLL.	38
Tabela 4 – Resultados da reação de resolução cinética enzimática de <i>rac-7</i> , por via hidrolítica, em diferentes cossolventes	39
Tabela 5 – Efeito do tempo reacional na resolução cinética de <i>rac-7</i> , na presença de tolueno como cossolvente	41
Tabela 6 – Efeito da proporção enzima:substrato (m/m) na resolução cinética de <i>rac-7</i> . ..	41
Tabela 7 – Resultados obtidos no SwissADME de propriedades físico-químicas da propafenona e análogos	44
Tabela 8 – Resultados obtidos no SwissADME do comportamento farmacocinético da propafenona e análogos mediante a padrões de absorção, interação com p-GP e inibição de enzimas presentes no citocromo P-450 da propafenona e análogos.	45
Tabela 9 – Afinidade em kcal/mol entre propafenona e análogos com os alvos β_1 e β_2 adrenérgicos e canal de sódio.	48

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<i>c</i>	Conversão
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CENAUREM	Centro Nordestino de Aplicação e Uso da Ressonância Magnética Nuclear
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
Conc.	Concentrado
DMAP	Dimetilaminopiridina
E	Enantiosseletividade
<i>e.e.</i>	Excesso enantiomérico
<i>e.e.s</i>	Excesso enantiomérico do substrato
<i>e.e.p</i>	Excesso enantiomérico do produto
eqv.	Equivalente
h	Hora(s)
M	Molar
MHz	Mega hertz
min	Minuto(s)
m/m	Massa/massa
p.f.	Ponto de fusão
P-gP	glicoproteína - P de membrana
pH	Potencial Hidrogeniônico
PPL	Lipase de pâncreas de porco
<i>rac</i>	Racêmico
Rf	Fator de retenção
RMN ¹³ C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13
RMN ¹ H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
rpm	Rotação por min
TLL	<i>Thermomyces lanuginous</i> imobilizada em immobead-150
UFC	Universidade Federal do Ceará
μ	Micro

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
1.1	Biocatálise, fármacos e quiralidade	14
1.2	Propafenona e metabolismo de ação	20
1.3	Síntese de análogos como estratégia na obtenção de novas atividades biológicas	22
2	OBJETIVOS	27
2.1	Objetivo Geral	27
2.2	Objetivos Específicos	27
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
3.1	Síntese dos compostos nitrados 1 e 2	28
3.2	Obtenção dos compostos racêmicos <i>rac-3</i>, <i>rac-4</i> e <i>rac-6</i>	28
3.3	Tentativa de obtenção do análogo da propafenona nitrada racêmica (8)	30
3.4	Obtenção dos compostos aminados <i>rac-5</i> (cloroidrina aminada) e <i>rac-7</i> (acetato da cloroidrina aminada)	30
3.5	Síntese de análogos da propafenona aminada (<i>rac-5a-rac-5d</i>)	33
3.6	Resolução cinética do acetato de 1-[4-amino-2-(3-fenilpropanoil)fenoxi]-3-cloropropan-2-ila (<i>rac-7</i>), via reação de hidrólise, na presença de lipases	35
3.7	Efeito da temperatura	37
3.8	Efeito do cossolvente	39
3.9	Efeito da razão enzima:substrato (m/m)	41
3.10	Estudos in silico	42
3.10.1	<i>ADME</i>	42
3.10.2	<i>Docking molecular</i>	47
4	PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	60
4.1	Instrumentos	60
4.2	Solventes e reagentes	60
4.2.1	<i>Solventes empregados</i>	60
4.2.2	<i>Reagentes empregados</i>	60
4.3	Lipases utilizadas	61
4.4	Adsorventes utilizados	61
4.5	Procedimento experimental para a preparação dos padrões (1, 2, <i>rac-3</i>, <i>rac-</i>	61

	4, <i>rac</i> -5, <i>rac</i> -6, <i>rac</i> -7, 8, <i>rac</i> -5a, <i>rac</i> -5b, <i>rac</i> -5c e <i>rac</i> -5d)	
4.5.1	<i>Síntese do 1-(2-hidroxi-5-nitrofenil)-3-fenilpropan-1-ona (1) e 1-(2-hidroxi-3-nitrofenil)-3-fenilpropan-1-ona (2)</i>	62
4.5.2	<i>Síntese do 1-(5-nitro-2-(oxiran-2-ilmetoxi)fenil)-3-fenilpropan-1-ona (rac-3) e 1-(2-(3-cloro-2-hidroxipropoxi)-5-nitrofenil)-3-fenilpropan-1-ona (rac-4)</i>	62
4.5.3	<i>Síntese do acetato de 1-cloro-3-(4-nitro-2-(3-fenilpropanoil)fenoxi)propan-2-ila (rac-6)</i>	63
4.5.4	<i>Síntese do 1-(5-amino-2-(3-cloro-2-hidroxipropoxi)fenil)-3-fenilpropan-1-ona (rac-5) e acetato de 1-cloro-3-(4-nitro-2-(3-fenilpropanoil)fenoxi)propan-2-ila (rac-7)</i>	63
4.5.5	<i>Síntese do análogo da propafenona aminado em C-5 racêmico: 1-(5-amino-2-(2-hidroxi-3-(propilamino)propoxi)fenil)-3-fenilpropan-1-ona (rac-5a)</i>	63
4.5.6	<i>Síntese do análogo da propafenona aminado em C-5 racêmico: 1-(5-amino-2-(2-hidroxi-3-(isopropilamino)propoxi)fenil)-3-fenilpropan-1-ona (rac-5b)</i>	64
4.5.7	<i>Síntese do análogo da propafenona aminado em C-5 racêmico: 1-(5-amino-2-(3-(dietilamino)-2-hidroxipropoxi)fenil)-3-fenilpropan-1-ona (rac-5c)</i>	64
4.5.8	<i>Síntese do análogo da propafenona aminado em C-5 racêmico: 1-(5-amino-2-(3-(butil(pentil)amino)-2-hidroxipropoxi)fenil)-3-fenilpropan-1-ona (rac-5d)</i> ...	65
4.5.9	<i>Procedimento geral da resolução cinética enzimática do rac-acetato de 5-(4-amino-2-(3-fenilpropanoil)fenoxi)-4-(clorometil)pentan-2-ona (rac-7), via reação de hidrólise, empregando lipases comerciais.</i>	65
4.5.10	<i>Síntese do produto contendo a propilamina ligada diretamente ao anel benzênico nitrado: (1-(5-nitro-2-(propilamino)fenil)-3-fenilpropan-1-ona (8)</i> ...	65
4.6	Docking molecular	66
5	CONCLUSÕES.....	67
	REFERÊNCIAS	68
	ANEXO A – DADOS ESPECTROSCÓPICOS	78
	ANEXO B- CROMATOGRAMAS OBTIDOS POR CLAE	101

1 INTRODUÇÃO

1.1 Biocatálise, fármacos e quiralidade

Neste projeto, ainda que tenhamos preparado análogos racêmicos da propafenona, utilizamos a resolução cinética enzimática como estratégia para preparar um intermediário quiral chave para obtenção de análogos quirais do referido fármaco. Portanto, iniciaremos a introdução com um tópico referente ao uso de enzimas como catalisadores em reações químicas, uma área conhecida como biocatálise.

A biocatálise pode ser definida como o processo de conversão química de um substrato em um produto, utilizando um catalisador biológico (LANGE, *et. al.* 2017), que pode ser uma enzima isolada ou uma enzima presente em células íntegras de microrganismos.

Do ponto de vista sustentável, a biocatálise contribui em vários setores da ciência e tecnologia, incluindo sua aplicação em diferentes tipos de indústrias. A utilização da biocatálise na indústria farmacêutica tem ganhado destaque pela demanda da síntese de compostos opticamente puros, onde a importância da quiralidade relacionada à atividade e/ou propriedade destes compostos já está bem estabelecida (HOYOS, 2014). Além disso, a biocatálise está presente no uso de enzimas como biomarcadores de doenças, no desenvolvimento e fabricação de pró-fármacos e na bioconversão visando produtos farmacêuticos, entre outros. (WOHLGEMUTH, 2021).

A versatilidade da biocatálise reside no fato dos biocatalisadores realizarem diferentes tipos de reações, apresentarem alta seletividade e especificidade (WOHLGEMUTH, 2021), levando a dispensar etapas de ativação ou proteção de grupos funcionais, não agredirem o meio ambiente, pois, são biodegradáveis, além de atuarem em condições amenas (temperatura < 100 °C, pressão ambiente e pH próximo a neutralidade), requerendo baixas quantidades de energia. (KIM, 2007).

Por definição, as enzimas são biopolímeros de proteínas formadas pela combinação de 20 aminoácidos naturais que determinam sua atividade biológica, sendo que, essas diversas combinações de aminoácidos proporcionam a existência de uma infinidade de enzimas com diferentes funções biológicas, estruturas e propriedades diversificadas, justificando a ampla utilização desses biocatalisadores (ABEDI, *et. al.*, 2011).

A União Internacional de Bioquímica e Biologia Molecular, Comissão de Enzimas (IUBMB EC) classificou as enzimas, que catalisam reações químicas específicas, em seis grupos apresentados na **tabela 1** (FABER, 2004; LAU; GROSSE, 2013).

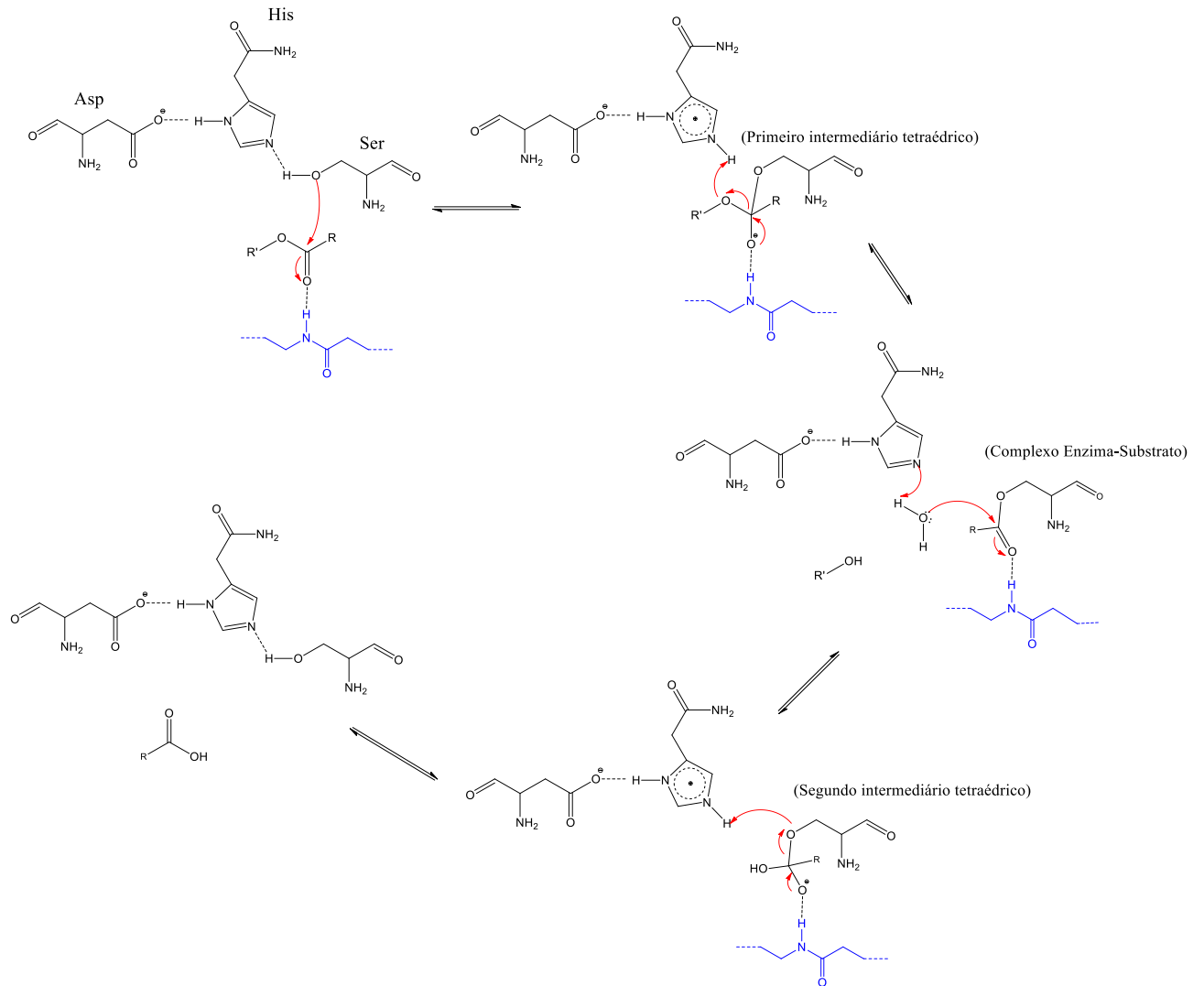
Tabela 1. Classificação das enzimas segundo a IUBMB EC.

Grupo	Classe	Tipo de reação catalisada	Subclasses
EC 1	Oxidoredutases	oxigenação das ligações C-H, C-C, C = C ou remoção geral ou adição de átomos de hidrogênio equivalentes	Oxigenases, oxidases, desidrogenases, redutases
EC 2	Transferases	transferência de grupos funcionais: aldeídico, cetônico, acila, fosforila, amina ou metila.	Transaldolases, transcetolases
EC 3	Hidrolases	hidrólise de ésteres, amidas, lactonas, lactamas, epóxidos, nitrilas, anidridos, glicosídeos etc.	Esterases, lipases, peptidases, fosfatases
EC 4	Liases	remoção ou adição nas ligações C = C, C = N, C = O.	Descarboxilases, fosfatases
EC 5	Isomerases	racemização e epimerização	Racemases, epimerases
EC 6	Ligases	formação - clivagem de ligações C-O, C-S, C-N, C-C que requerem clivagem de ATP.	Sintetases

Dentre as enzimas de interesse em biocatálise, destacam-se as lipases (SHELDON, 2012), que são do tipo serina-hidrolases, altamente eficientes em meios aquosos e em solventes orgânicos, além de possuírem notável estabilidade em temperatura e pH extremos (TAN *et. al.*, 2018), bem como de não necessitarem de cofatores (KIM, 2007). Estas enzimas são capazes de promover reações de acilação e hidrólise, com notável aplicação na resolução cinética de álcoois, ácidos, ésteres e amidas (GHASEMI, 2011; SANFILIPPO; PATERNÒ; PATTI, 2018).

A interação da tríade catalítica de uma lipase é de extrema importância para a realização da reação desejada e é composta pelos resíduos de aminoácidos aspartato (Asp) ou glutamato (Glu), serina (Ser), envolvida na catálise covalente, e histidina (His), que ativa a serina para realizar o ataque nucleofílico ao substrato (WANG; XU; YU, 2021). O mecanismo da reação de hidrólise de um éster mediada por uma lipase está representada na **figura 1**.

Figura 1. Mecanismo de reação de hidrólise de um éster catalisada por lipase.



Inicialmente, ocorre uma ativação da hidroxila da serina através de uma ligação de hidrogênio com o anel amidazólico da histidina. Como consequência, a serina libera um próton que é aceito no anel, a qual tem sua carga estabilizada pela interação com o resíduo de aspartato. Concomitantemente, ocorre o ataque nucleofílico da serina ao carbono da carbonila do éster, levando a obtenção do primeiro intermediário tetraédrico. Esse intermediário é estabilizado pela interação com os grupos amida dos resíduos de aminoácidos da cavidade do oxianion. O referido intermediário sofre uma transformação com o restabelecimento da carbonila, seguido da quebra da ligação C-O, liberando o álcool como primeiro produto ($R'OH$) e formando o complexo enzima-substrato. Em seguida, ocorre a formação do segundo intermediário tetraédrico devido a remoção de um próton da água pela histidina com concomitante ataque nucleofílico ao complexo enzima-substrato. Finalmente, com o restabelecimento da carbonila,

ocorre a formação do segundo produto, um ácido carboxílico (RCO_2H), e a restauração da tríade catalítica (CASAS-GODOY, *et. al.*, 2018; FABER, 2004).

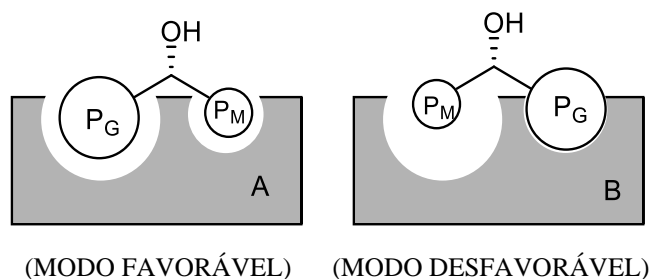
As lipases são de grande importância na indústria alimentícia de modificação de gorduras, na indústria energética na produção de lubrificantes e biodiesel (AGHAEI; YASINIAN; TAGHIZADEH, 2021), em aplicações médicas como na produção de novos medicamentos (SHARMA; KANWAR, 2014) e na indústria farmacêutica, na síntese de fármacos ou seus intermediários enantiomericamente puros por meio da resolução cinética de racematos (CARVALHO, *et. al.*, 2015; GÉRARD, *et. al.*, 2017).

A resolução cinética enzimática é um dos métodos utilizados para a obtenção de compostos enantiomericamente puros ou enriquecidos. Tal metodologia consiste na transformação de apenas um dos enantiômeros de um racemato, catalisada por uma enzima. Tal fato é possível devido a grande diferença de velocidade de reação entre os enantiômeros de um racemato, sendo que, em uma resolução cinética ideal, um deles é rapidamente convertido no produto, enquanto o outro permanece intacto. A razão entre as constantes de velocidades para os enantiômeros é denominada de proporção enantiomérica (E), no qual, valores superiores a 100 são considerados bons e acima de 200, ideais, pois, permitem que tanto o material de partida residual quanto o produto sejam obtidos com alta pureza óptica, levando a uma conversão máxima de 50% do enantiômero desejado (GOSWAMI; STEWART, 2015).

Para a resolução cinética de álcoois secundários e análogos, catalisada por lipases, existe uma regra empírica, conhecida por regra de Kazlauskas, a qual racionaliza a diferença de velocidades de reação dos enantiômeros de um racemato. Tal racionalização leva em consideração a diferença de volume entre os substituintes ligados ao centro estereogênico do substrato (um de tamanho médio e outro de tamanho grande), bem como o tamanho das duas cavidades ou bolsões hidrofóbicos, também de tamanhos diferentes, no sítio ativo da lipase (QAYED, *et. al.*, 2015).

Segundo Kazlauskas e colaboradores (1991), na resolução cinética de álcoois secundários, catalisada por lipases, ocorre enantiopreferência pelo (*R*)-enantiômero. A representação na **figura 2**, mostra que a enantiopreferência ocorre devido a um encaixe perfeito de um dos enantiômeros nos bolsões hidrofóbicos (modo favorável), enquanto o outro enantiômero não terá uma interação perfeita (modo desfavorável).

Figura 2. Representação dos bolsões hidrofóbicos no sítio ativo de uma lipase, de tamanhos diferentes, e a interação favorável (A) e desfavorável (B) com os enantiômeros de um álcool secundário racêmico.



Portanto, na resolução cinética de um éster racêmico, derivado de um álcool secundário, via reação de hidrólise, na presença de uma lipase, o (*R*)-éster será hidrolisado preferencialmente e o (*S*)-éster permanecerá intacto. Por outro lado, em uma reação de acilação de um álcool secundário racêmico, o (*R*)-álcool será convertido no correspondente éster, enquanto o (*S*)-álcool permanecerá intacto.

Na indústria farmacêutica, a quiralidade do princípio ativo está relacionada com o efeito do medicamento ao ser absorvido no organismo. Tendo em vista que o fármaco é o princípio ativo responsável pelo efeito terapêutico, muitas vezes, a atividade biológica relacionada à potência, toxicidade, absorção e metabolismo exercida pelo fármaco depende da sua pureza enantiomérica, pois, a interação dos enantiômeros com ambientes quirais como, enzimas e proteínas, tem relação com o efeito biológico esperado, podendo resultar na total supressão da atividade ou no aparecimento de um efeito biológico indesejado no organismo (RIBEIRO; CASTRO; TIRITAN, 2012).

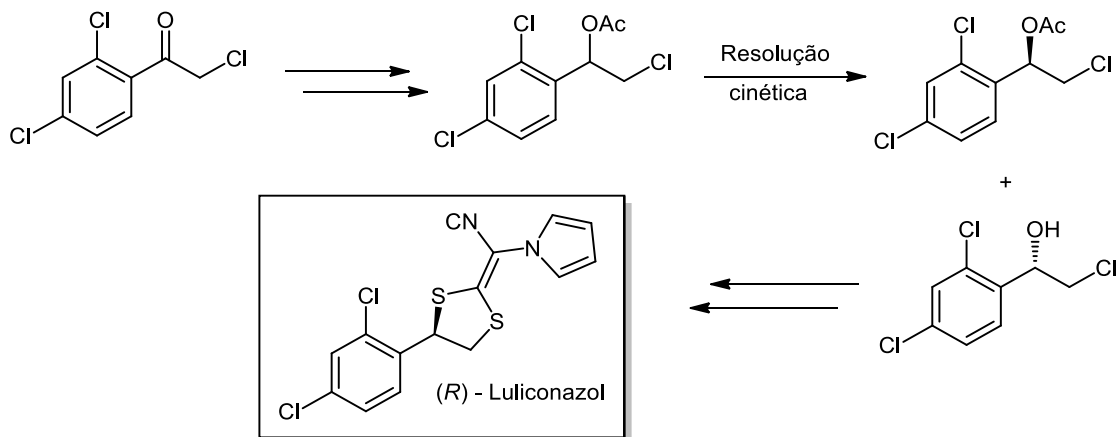
Agências como a FDA (*Food and Drug Administration*), responsáveis por decidir se um produto será comercializado na forma de racemato ou enantiopuro (FOOD & DRUG ADMINISTRATION, 1992), tem feito com que a atenção voltada para a síntese de apenas um enantiômero a partir de intermediários quirais tenha grande relevância.

Em relação ao uso da biocatálise na síntese de fármacos, além das enzimas serem altamente enantiosseletivas e regioseletivas, as condições de reação podem evitar problemas de isomerização, racemização, epimerização e rearranjo, podendo também tornar os processos biocatalíticos economicamente eficientes (PATEL, 2001).

Fonseca e colaboradores (2018), realizaram a síntese quimioenzimática do fármaco (*R*)-luliconazol (**Esquema 1**), usado para o tratamento da *tinea pedis*, popularmente conhecida como pé de atleta, além do tratamento de candidíase e pitiríase. Na etapa chave da síntese do referido fármaco, foi realizada a resolução cinética de uma cloridrina acetilada, catalisada pela

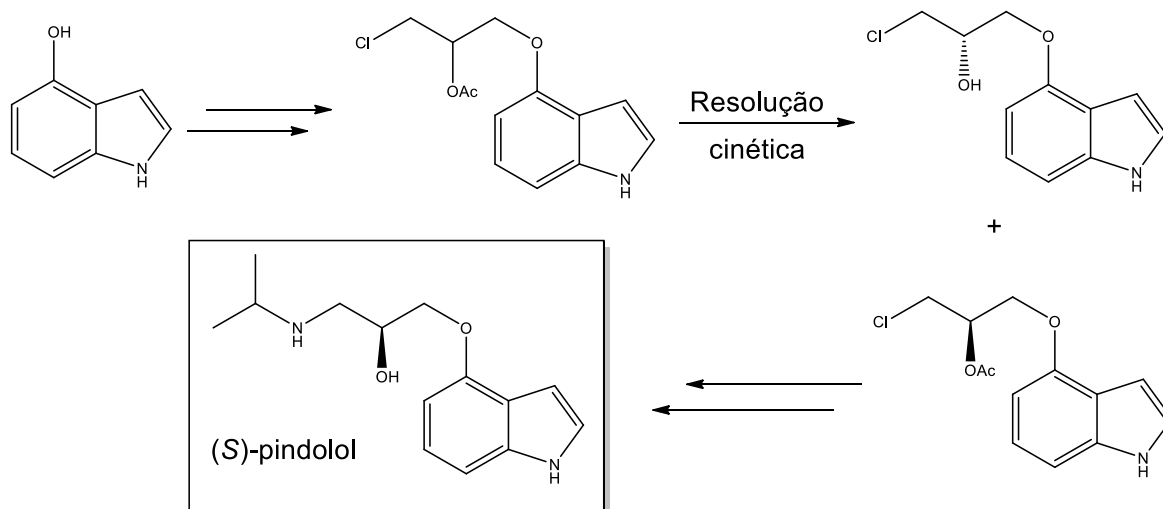
lipase CAL-B (Novozym 435[®]), via hidrólise, em tempo reacional de 15 min, a 45 °C, em tampão fosfato pH 7, com obtenção de valores de e.e >99%, c = 50% e E >200.

Esquema 1. Síntese quimioenzimática do fármaco (*R*)-luliconazol



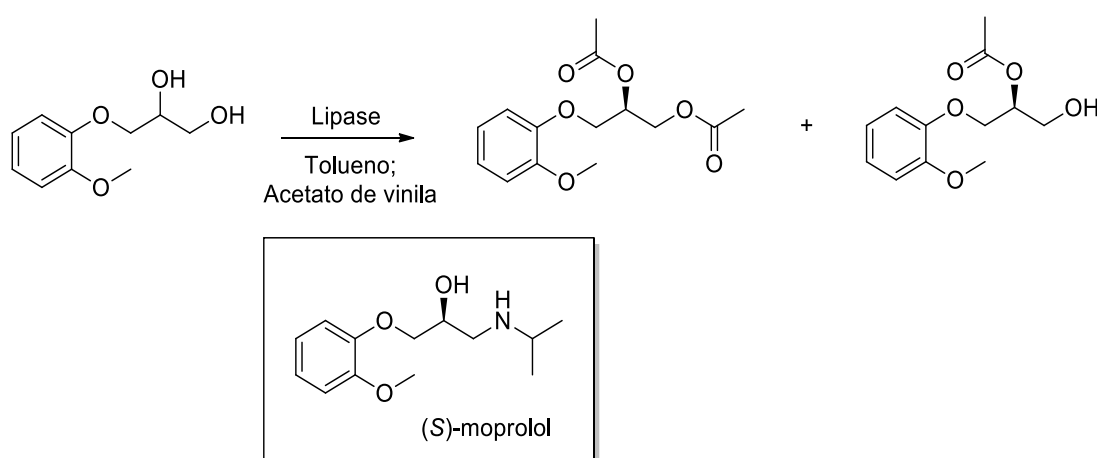
Outro exemplo elegante da síntese de um fármaco enantiomericamente enriquecido foi relatado por Lima e colaboradores (2017). Trata-se da síntese quimioenzimática do β -bloqueador, (*S*)-pindolol, (**Esquema 2**). O estudo incluiu a preparação de intermediários quirais via resolução cinética mediada pela lipase de *Pseudomonas fluorescens* via processo hidrolítico. A síntese se mostrou eficiente nas condições reacionais de temperatura a 40 °C, por 25 h, em tampão fosfato pH 7 e THF como co-solvente, com obtenção de valores de e.e >97% e E >200.

Esquema 2. Síntese quimioenzimática do (*S*)-pindolol.



Ghosh e colaboradores resolveram enzimaticamente um intermediário do moprolool, um fármaco β -bloqueador, usado para tratar hipertensão e certas arritmias, sendo o (*S*)-enantiômero mais potente que o (*R*)-enantiômero. O **esquema 3** representa a resolução cinética do intermediário do fármaco (*S*)-moprolool. Dentre as lipases utilizadas no estudo, destacou-se a lipase de *Aspergillus niger*, utilizando tolueno como solvente orgânico, em uma temperatura de reação de 30 °C, por 18 h. Essas condições levaram à obtenção de $c > 49\%$ com alto excesso enantiomérico e acilação regioseletiva com estereosseletividade dupla. Em seguida, o intermediário enantiopuro foi usado para a síntese de (*S*)-moprolool (GHOSH *et. al.* 2016).

Esquema 3. Resolução cinética do intermediário do fármaco (*S*)-moprolool.

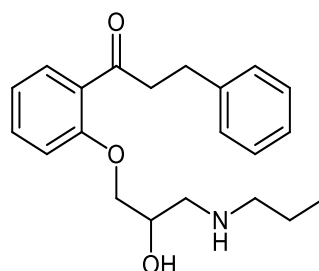


1.2 Propafenona e metabolismo de ação

Um dos objetivos deste projeto foi preparar análogos do fármaco propafenona. Assim sendo, apresentamos uma breve explanação sobre o referido fármaco.

A propafenona ou 1-(2-(2-hidroxi-3-(propilamino)propoxi)fenil)-3-fenilpropan-1-ona (**figura 3**), comercializada como RITMONORM[®], foi sintetizada na Alemanha em 1970, pertence à classe 1C de fármacos antiarrítmicos, sendo utilizada no tratamento de arritmias supraventriculares e ventriculares bloqueando os canais de sódio e, menos intensamente, os canais de cálcio (BARBEY,1991).

Figura 3. Estrutura da propafenona



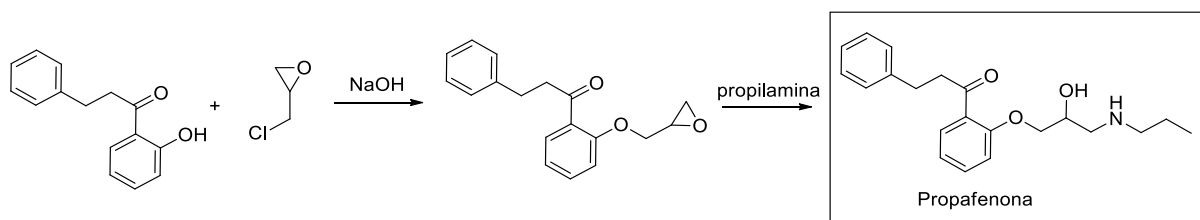
Este fármaco é comercializado na sua forma racêmica, pois, ambos os enantiômeros possuem a mesma atividade no que se refere ao bloqueio dos canais, porém, estudos demonstraram que, após a administração oral da propafenona racêmica em humanos, o (*R*)-enantiômero é eliminado mais rápido, tendo como consequência uma concentração mais alta do (*S*)-enantiômero no plasma, tornando-o 100 vezes mais ativo (KROEMER *et. al.* 1994; DE GAITANI *et. al.*, 1998).

Além disso, a propafenona possui efeito antiadrenérgico por bloqueio de β -receptores não seletivos por conta de seu (*S*)-enantiômero (BURNETT *et. al.*, 1988; BARBEY, 1991). Isso sugere ações inotrópica e cronotrópica negativas, principalmente se a dose terapêutica for acima da prevista. Os efeitos adversos decorrentes do uso da propafenona podem ser, dor no peito, batimento cardíaco rápido/lento/irregular, falta de ar, vertigem/tontura/desmaio, entre outros (ANVISA, 2015).

Devido essa diferença na atividade dos enantiômeros, o ideal seria que a propafenona fosse administrada em sua forma enantiomericamente pura, de acordo com a necessidade do paciente, ou seja, em casos que os β -bloqueadores não são indicados, a (*R*)-propafenona seria recomendada.

Uma das rotas sintéticas da propafenona relatadas na literatura, representada no **esquema 4**, foi estudada por Petrik e Sachse (1971), e consiste em uma reação da 2'-hidroxi-3-fenilpropiofenona com a epiclorigrina em meio alcalino seguido de uma reação com a propilamina, resultando na propafenona com rendimento de cerca de 66%.

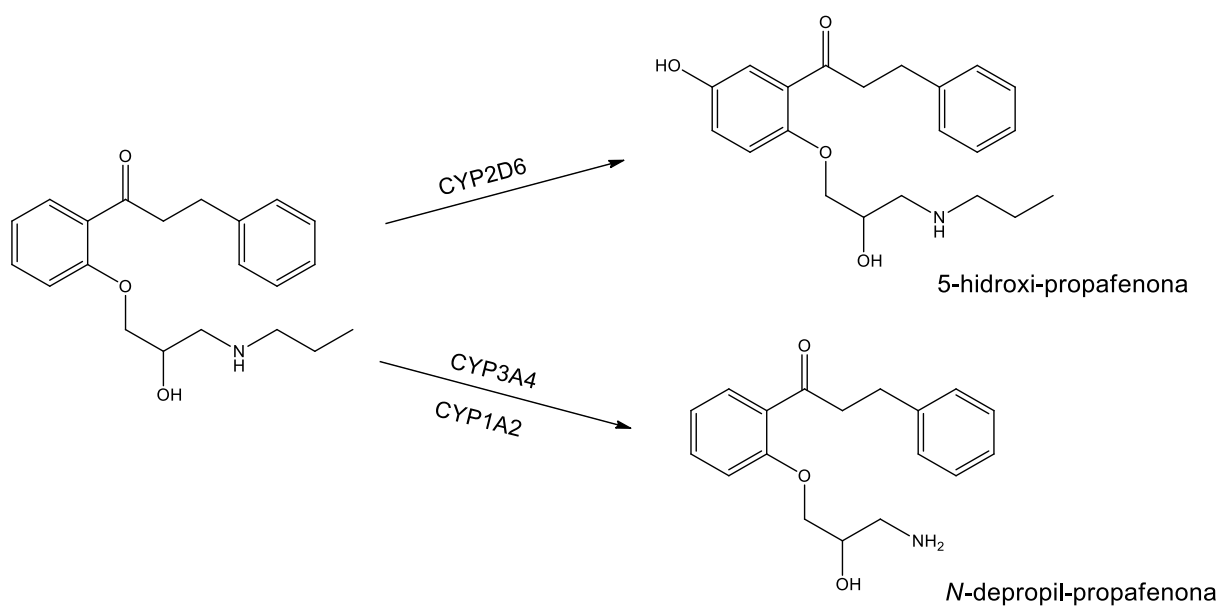
Esquema 4. Síntese da propafenona



A propafenona é rapidamente absorvida e distribuída nos pulmões, fígado e tecidos do coração e apresenta alta lipofilicidade (HII; DUFF; BURGESS, 1991), portanto, não é suficientemente eliminada pelos rins sendo necessário a síntese de metabólitos mais polares, que são então excretados na urina. Menos de 1% da propafenona é excretada inalterada na urina (HARRON; BROGDEN, 1987) e em humanos, a propafenona é metabolizada rápida e extensivamente, em dois metabólitos principais, a 5-hidroxi-propafenona (5-OHP), formada

pela ação da CYP2D6, e a *N*-depropilpropafenona, formada pela ação da CYP3A4 e da CYP1A2, respectivamente (**Esquema 5**) (LOWES *et. al.*, 2011). Porém, Uehara *et. al.* (2019) relataram que as biotransformações regioseletivas podem mudar em frações de tecido de diferentes espécies, pois, em ratos e camundongos, o sítio ativo do CYP2D6 mediaram principalmente a 4'-hidroxilação.

Esquema 5. Metabólitos principais da propafenona



O principal metabólito formado, 5-OHP, tem um perfil eletrofisiológico semelhante ao do composto original em metabolizadores extensivos (CHEN *et. al.*, 2000), porém, como sua concentração plasmática é cerca de um quinto do fármaco original, não se pode afirmar se sua função terapêutica é eficaz (HARRON; BROGDEN, 1987).

1.3 Síntese de análogos como estratégia na obtenção de novas atividades biológicas

A preparação de análogos de um determinado fármaco é uma das estratégias para reduzir seus efeitos colaterais e, possivelmente, descobrir novas atividades biológicas. A síntese de análogos de fármacos consiste na transformação química de moléculas conhecidas e tem o objetivo de aumentar a potência e diminuir a toxicidade, podendo também garantir um melhor perfil farmacocinético e farmacodinâmico (WERMUTH, 2004).

Tendo em vista que o metabolismo é um importante papel na eliminação e atividade de fármacos no organismo, seu impedimento ou aumento podem ser investigados com a intenção de se obter fármacos com melhores perfis farmacológicos (PEREIRA, 2007). Pode

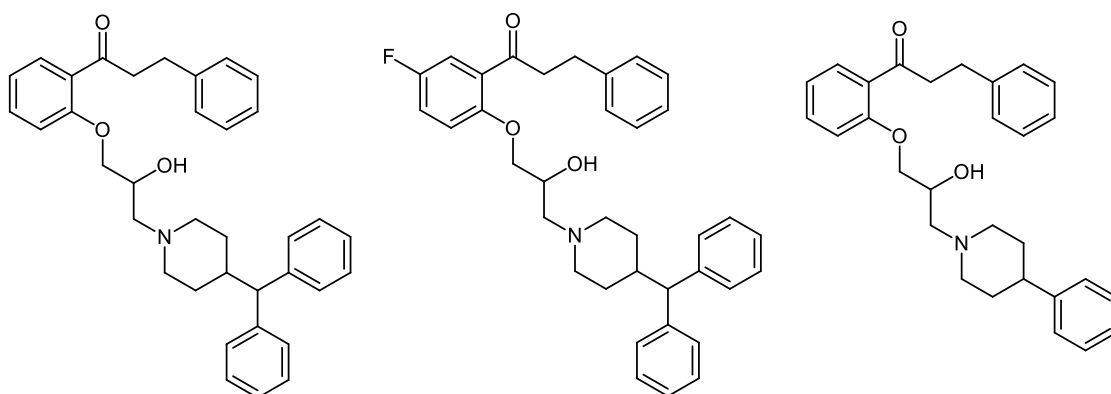
haver alteração no metabolismo incorporando grupos funcionais estáveis em sítios metabolicamente vulneráveis e/ou pode-se melhorar a estabilidade metabólica reduzindo a lipofilicidade da estrutura, removendo ou diminuindo grupos lipofílicos ou introduzindo grupos funcionais mais polares (NASSAR; KAMEL; CLARIMONT, 2004).

A lipofilicidade relaciona-se com a absorção, distribuição, potência e eliminação de um fármaco e é definida pelo coeficiente de partição, portanto, maiores valores de coeficiente de partição, maior afinidade pela fase orgânica. Em contrapartida ao que foi dito anteriormente, fármacos lipofílicos têm uma maior taxa de permeabilidade pelas biomembranas hidrofóbicas, apresentando melhor perfil de biodisponibilidade. Portanto, deve haver um equilíbrio entre hidrofiliicidade/hidrofobicidade para alcançar uma melhor permeabilidade que está correlacionada com a atividade biológica, mantendo um valor do logaritmo do coeficiente de partição (log P) moderado, normalmente entre 0 e 3 (KIMURA, 2009).

Alguns estudos como o de Lowes e colaboradores (2011) comprovaram que a síntese de análogos da propafenona podem apresentar atividades biológicas diferentes do fármaco original. Os análogos, representados na **figura 4**, resultaram em baixa citotoxicidade em quatro linhas de células de mamíferos (BJ, Hep G2, Raji e HEK 293), porém, apresentaram a capacidade de inibir o crescimento do *Plasmodium falciparum* cultivado, portanto, com alto potencial para serem empregados como agentes antimalárico.

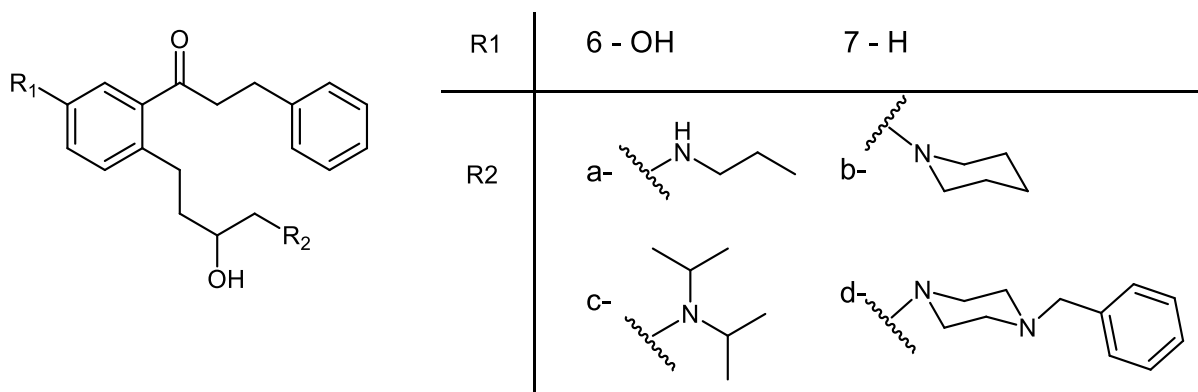
Os autores afirmaram que os substituintes no anel aromático e os substituintes volumosos adicionados na cadeia lateral da amina levaram à redução da atividade nos canais iônicos direcionados pelo composto original contribuindo com o índice terapêutico significativo em relação a ambas as cepas de *P. falciparum* avaliadas. Além disso, a presença do flúor no local onde ocorre hidroxilação aumentou a depuração da molécula em células humanas (LOWES *et. al.*, 2011).

Figura 4. Análogos da propafenona capazes de inibir o crescimento do *Plasmodium falciparum* cultivado



Outros pesquisadores demonstraram que a propafenona e análogos foram responsáveis pela inibição da glicoproteína - P de membrana (P-gP), cuja função é o transporte de efluxo de fármacos e xenobióticos, um fato importante, pois, a P-gP foi descoberta em células tumorais multirresistentes a diferentes agentes quimioterápicos (PAJEVA; WIESE, 1998). Chiba *et. al.* sintetizaram uma série de derivados da propafenona e análogos da 5-hidroxi-propafenona, apresentados na **figura 5**, e a atividade quimiossensibilizante foi testada a fim de verificar se os metabólitos potenciais do citocromo - P450 retêm atividade moduladora de MDR (resistência a múltiplas drogas). Os autores concluíram que os derivados da 5-hidroxi-propafenona (6a-d) se encaixam perfeitamente na correlação de lipofilicidade e log P, mas, mostraram atividade mais baixa do que os compostos derivados da propafenona (7a-d), confirmando que assim como na atividade antiarrítmica, a hidroxilação na posição 5 do anel aromático central não influencia notavelmente a atividade inibitória de P-gP (CHIBA *et. al.* 1997).

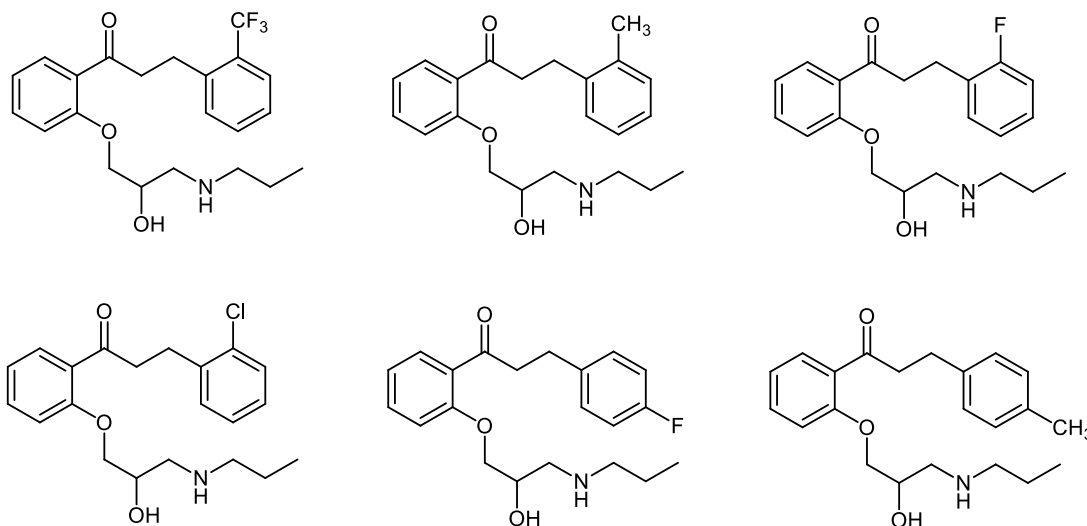
Figura 5. Estrutura química dos compostos sintetizados por Chiba *et. al.* (1997)



Ivković e colaboradores (2013), sintetizaram seis análogos da propafenona modificando a porção benzílica com a introdução dos substituintes trifluorometila, flúor, cloro ou metila na posição *orto* ou *para*, como pode ser visto na **figura 6**. Foram avaliadas atividades citotóxicas em seis linhas de células tumorais humanas; carcinoma cervical humano (células HeLa), melanoma humano (Fem-X), câncer de próstata humano (PC-3), câncer de mama humano (MCF-7), humano carcinoma do cólon (células LS174) e leucemia mielóide crônica humana (células K562). A relação entre as estruturas químicas dos compostos sintetizados e suas atividades citotóxicas foram também avaliadas por estudos 2D-QSAR e 3D-QSAR que expressaram bons resultados prevendo a ação antiproliferativa para todas as seis linhas celulares

em todos os compostos, obtendo-se resultados mais susceptíveis para as células HeLa, Fem-X e K562.

Figura 6. Análogos da propafenona com atividade antiproliferativa para seis linhas celulares tumorais

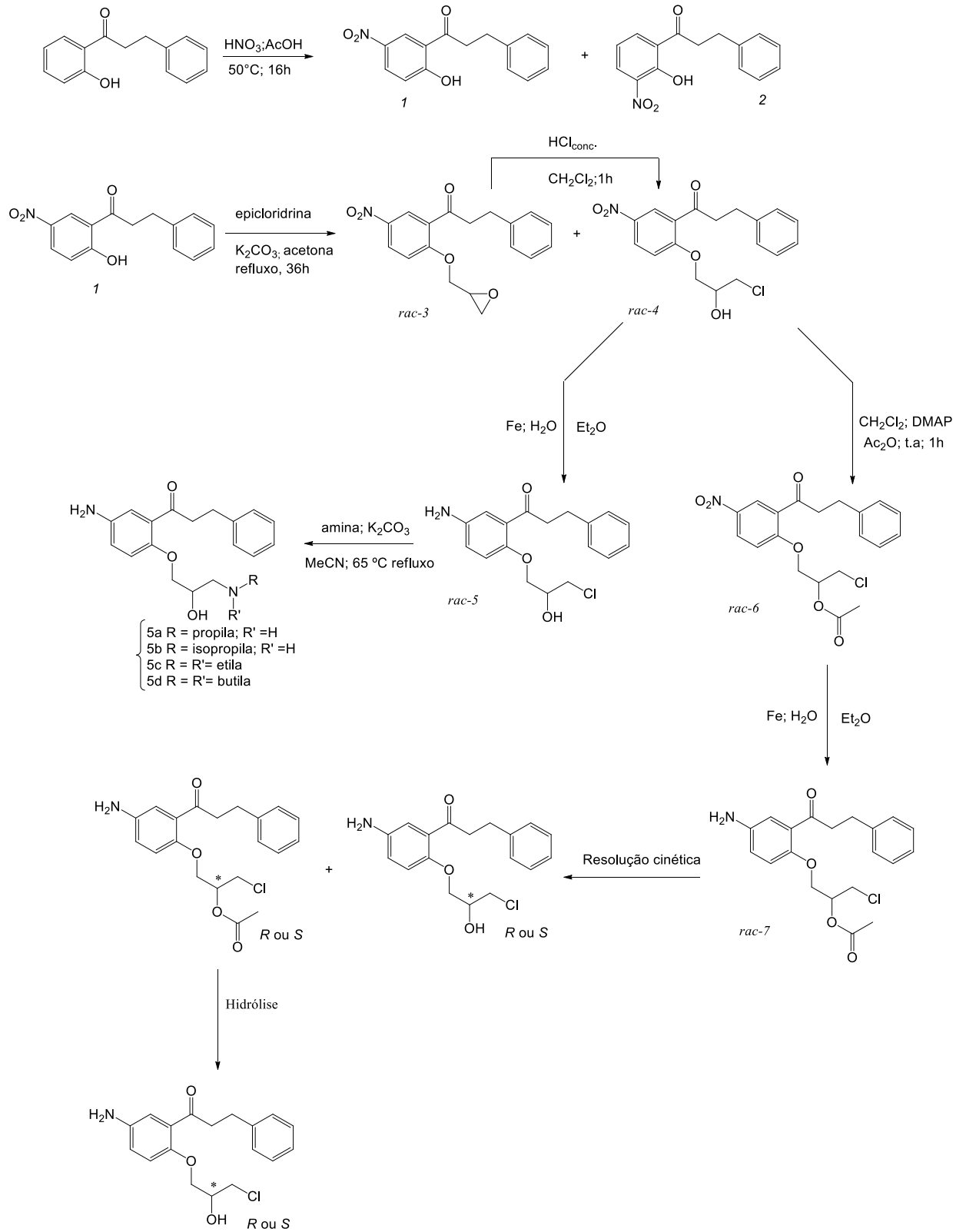


Com base no exposto, as modificações propostas neste trabalho incluem dois elementos-chave: modificar a propafenona na posição referente à hidroxila no anel aromático do metabólito (posição 5 do anel benzênico fenólico), inserindo um grupo amino e modificar a cadeia alifática ligada à estrutura da amina.

Apresentamos uma proposta para a síntese química e quimioenzimática dos análogos da propafenona. Segundo a rota sintética apresentada no **esquema 6**, a primeira etapa consiste na nitração do substrato de partida comercial 1-(2-hidroxifenil)-3-fenilpropan-1-ona, na posição 5 do anel benzênico fenólico. Este último (**1**) reage com a epiclorigrina para formar o correspondente epóxido (*rac-3*) que, em seguida, é aberto na presença de HCl para formar a haloidrina (*rac-4*), a qual é submetida a dois tipos de reações distintas: (i) reação de acetilação, levando a *rac-6*; (ii) redução do grupo nitro para obtenção de *rac-5*. Cabe ressaltar que o composto *rac-6* também é submetido a reação de redução do grupo nitro, levando a *rac-7*, o qual será utilizado na etapa de resolução cinética, mediada por uma lipase, via reação de hidrólise.

Para a preparação dos análogos da propafenona, serão realizadas reações com a cloridrina aminada (*rac-5*), utilizando diferentes alquilaminas. Cabe ressaltar que os análogos aminados da propafenona serão obtidos na forma racêmica e o intermediário resolvido poderá ser utilizado para a obtenção dos análogos na forma enantiomericamente pura ou enriquecida.

Esquema 6. Síntese quimioenzimática de um intermediário quiral para preparação de análogos quirais da propafenona e síntese de análogos da propafenona racêmicos



2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

- Realizar as sínteses de quatro análogos do fármaco propafenona aminados na posição 5 referente ao anel benzênico fenólico do referido fármaco e, concomitantemente, realizar um estudo *in silico* com o intuito de averiguar se os análogos atendem aos parâmetros das propriedades de absorção, distribuição, metabolismo e excreção (ADME) e um *docking* molecular a fim de analisar a afinidade de ligação e as interações entre resíduos dos alvos β_1 , β_2 adrenérgicos e canais de sódio. Em paralelo, objetiva-se a resolução cinética do intermediário acetato de 1-[4-amino-2-(3-fenilpropanoil)fenoxi]-3-cloropropan-2-ila, catalisada por lipases.

2.2 Objetivos Específicos

- Investigar rotas eficientes para a produção dos análogos da propafenona;
- Inserir um grupo amino na posição 5 referente ao anel benzênico fenólico da propafenona;
- Modificar a cadeia alifática ligada à estrutura da amina da propafenona;
- Otimizar as condições da resolução enzimática do acetato de 1-[4-amino-2-(3-fenilpropanoil)fenoxi]-3-cloropropan-2-ila, tais como: tempo, temperatura, meio reacional (influência de cossolventes) e razão enzima/substrato (m/m);
- Caracterizar todas as moléculas sintetizadas usando os métodos espectrométricos de ^{13}C e ^1H ;

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

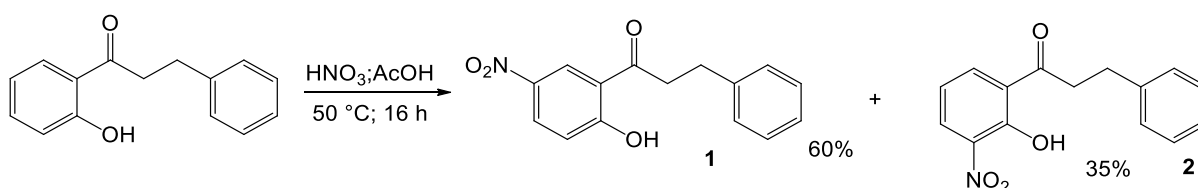
3.1 Síntese dos compostos nitrados 1 e 2

Inicialmente, foi realizada a nitração do substrato de partida comercial 1-(2-hidroxifenil)-3-fenilpropan-1-ona (**esquema 7**), utilizando ácido nítrico concentrado em ácido sulfúrico a 0 °C. Porém, observou-se por cromatografia de camada delgada a formação de vários subprodutos. Decidiu-se realizar o estudo da concentração de ácido nítrico, mas, mesmo após diversas diluições, o resultado se repetiu.

Optou-se, então, pela mudança de metodologia, utilizando ácido nítrico 65 % em ácido acético a 0 °C (BOUYSSOU, *et. al.* 2010). No entanto, em tais condições, não houve formação de produtos. Com o aumento da temperatura para 30 °C (PANTELEON *et. al.*, 2003), após 16 h, ocorreu a formação de dois produtos nitrados, um contendo o grupo nitro no carbono 5 do anel benzênico fenólico (**1**) e outro contendo o grupo nitro no carbono 3 (**2**), com rendimentos de 30% e 12%, respectivamente

Como o objetivo de aumentar o rendimento, a reação representada no **esquema 7**, foi realizada a 45-50 °C, permanecendo por 16 h (PALADINI, A. C.; MEDINA, J.H., 1998). Neste caso, observou-se um rendimento de 60% para o produto nitrado **1** e 35% para o produto nitrado **2**. O controle da temperatura foi crucial, pois ocorreu a formação de vários subprodutos a partir de 60 °C e conseqüente diminuição do rendimento do produto nitrado **1**, substrato chave na etapa seguinte.

Esquema 7. Reação de nitração da 1-(2-hidroxifenil)-3-fenilpropan-1-ona



Os grupos substituintes no anel aromático fenólico possibilitam a formação desses dois isômeros, visto que a carbonila é um grupo desativante e *meta*-dirigente, enquanto a hidroxila atua como ativante, sendo *orto-para* dirigente.

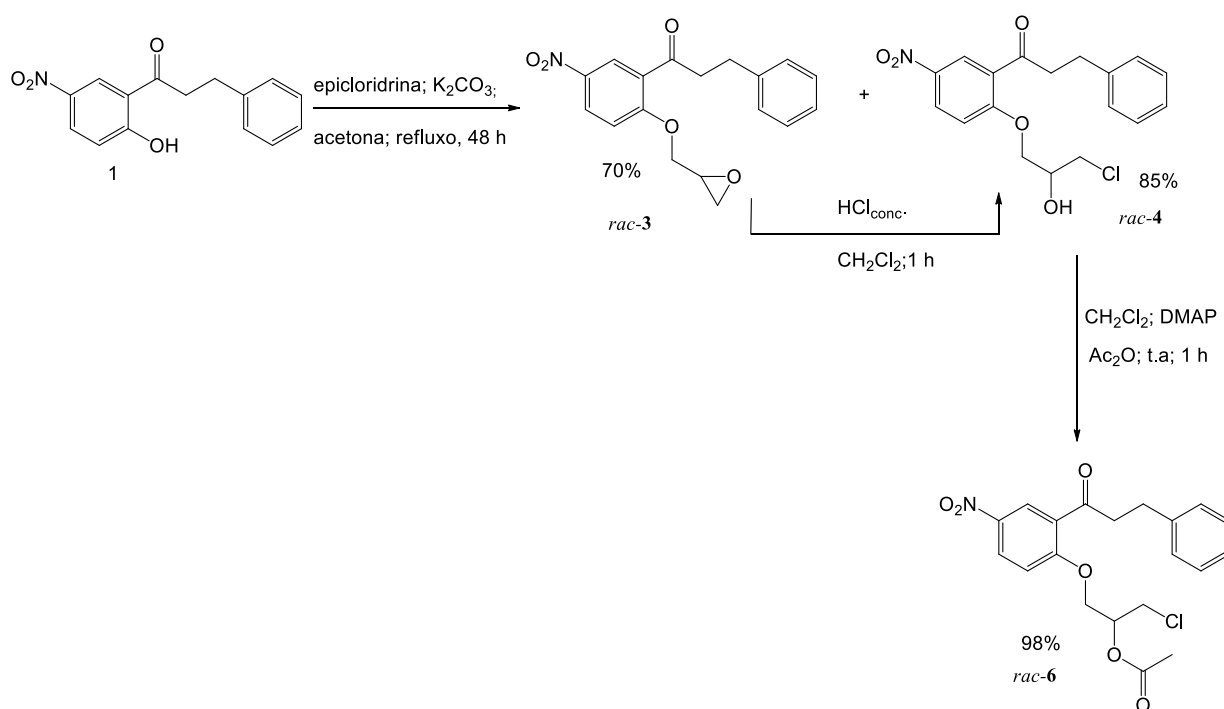
3.2 Obtenção dos compostos racêmicos *rac*-3, *rac*-4 e *rac*-6.

As etapas seguintes consistiram na formação dos compostos racêmicos *rac*-3 (epóxido), *rac*-4 (cloridrina) e *rac*-6 (cloridrina acetilada), **esquema 8**.

Na primeira tentativa de se obter o epóxido *rac-3*, realizou-se uma reação de substituição nucleofílica entre o composto nitrado **1** e a epícloridrina, na presença de NaOH pulverizado, sob refluxo por 18 h (LOWES *et. al.*, 2011). Nestas condições, a reação não levou a resultados satisfatórios, pois observou-se a degradação do substrato. Sendo assim, decidiu-se trocar NaOH por K₂CO₃ e manter a reação sob refluxo (56 °C), na presença de acetona, com agitação da mistura reacional por 18 h, levando a obtenção do epóxido *rac-3* com rendimento de 46%. Com o intuito de aumentar o rendimento, elevou-se o tempo reacional para 36 h, mantendo-se as proporções dos reagentes. Sob estas condições, obteve-se um rendimento de 60% de *rac-3*, com concomitante formação da cloridrina *rac-4* como produto minoritário, com 23% de rendimento. Devido a este resultado promissor, decidiu-se prolongar o tempo reacional da referida reação para 48 h, o que resultou em um rendimento de 70% de *rac-3* e 25% de *rac-4*, em 48 h, fixando esse tempo reacional como o ideal. Contudo, como o composto desejado é a cloridrina (*rac-4*), o epóxido racêmico (*rac-3*) foi convertido em *rac-4*, na presença de HCl concentrado, com rendimento global de 85%.

Finalmente, *rac-4* foi acetilado na presença de anidrido acético, DMAP e CH₂Cl₂, com agitação da mistura reacional por 1 h, à temperatura ambiente, levando a *rac-6* com rendimento de 98%.

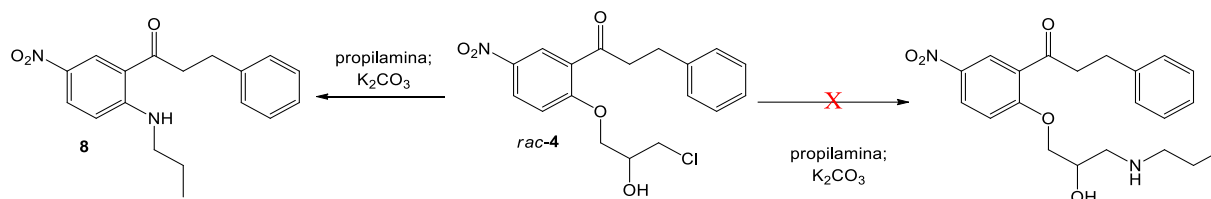
Esquema 8. Obtenção dos compostos *rac-3*, *rac-4* e *rac-6*



3.3 Tentativa de obtenção do análogo da propafenona nitrada racêmica (8)

Inicialmente, foi realizada a tentativa de obter o análogo racêmico da propafenona nitrada no carbono-5 do anel benzênico fenólico a partir de *rac-4*, utilizando propilamina e K_2CO_3 , como representado no **Esquema 9**. A reação foi acompanhada por cromatografia de camada delgada e notou-se a formação de um produto, cuja caracterização demonstrou não ser o análogo desejado, com 35% de rendimento.

Esquema 9. Tentativa de obtenção do análogo da propafenona nitrada no carbono-5 do anel benzênico fenólico



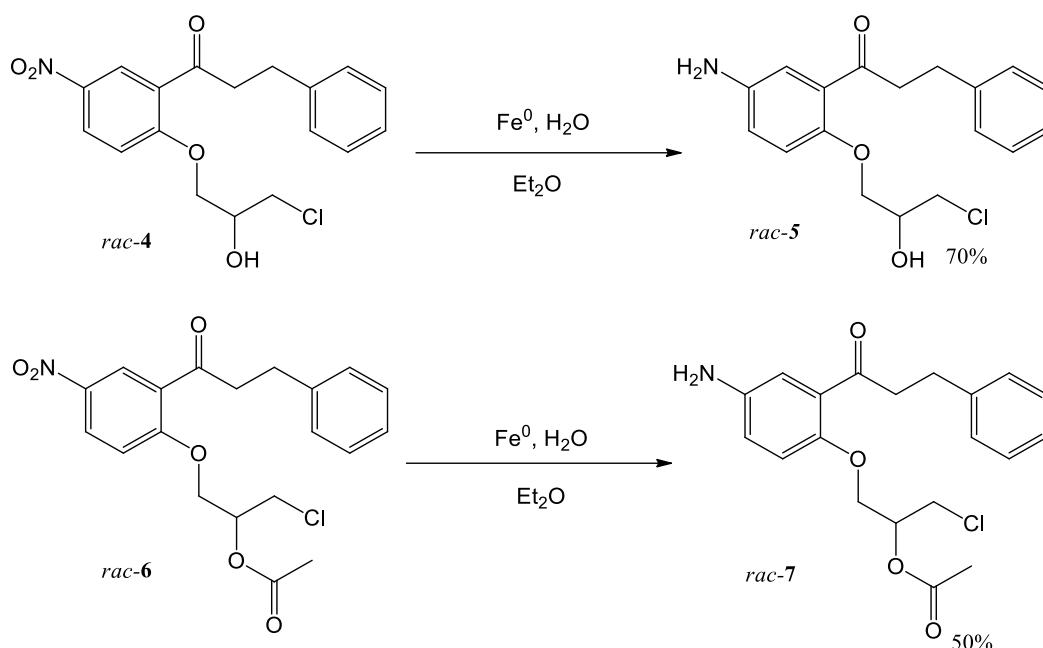
Após a caracterização do produto, foi evidenciado que ocorreu uma substituição nucleofílica aromática no carbono-2, orientada pelo grupo nitro, o qual é considerado um bom grupo retirador de elétrons, levando ao composto **8** (**esquema 9**).

Ainda que tenham sido realizados diversos testes variando proporção de reagentes, tempo reacional e temperatura, o único produto a ser formado, continuou sendo o de substituição nucleofílica aromática, o 1-(5-nitro-2-(propilamino)fenil)-3-fenilpropan-1-ona (**8**).

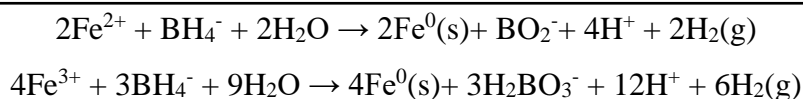
Diante deste resultado, propôs-se a redução do grupo nitro do composto *rac-4*, na intenção de obter a correspondente cloridrina aminada no carbono-5. Neste caso, a presença do grupo amino no carbono-5, um doador de elétrons, elimina a possibilidade de uma substituição nucleofílica aromática no carbono-2. Portanto, desenvolveu-se um protocolo para a preparação da haloidrina aminada no carbono-5 (*rac-5*) (item 3.4), sendo que esta última reagiu com diferentes aminas para síntese dos análogos da propafenona (item 3.5).

3.4 Obtenção dos compostos aminados *rac-5* (cloridrina aminada) e *rac-7* (acetato da cloridrina aminada)

A etapa de redução do grupo nitro tanto em *rac-4*, como em *rac-6* (**esquema 10**) foi realizada na presença de nanopartículas de Fe^0 (DEY *et. al.* 2012).

Esquema 10. Reação de redução para a formação do *rac-5* e *rac-7*

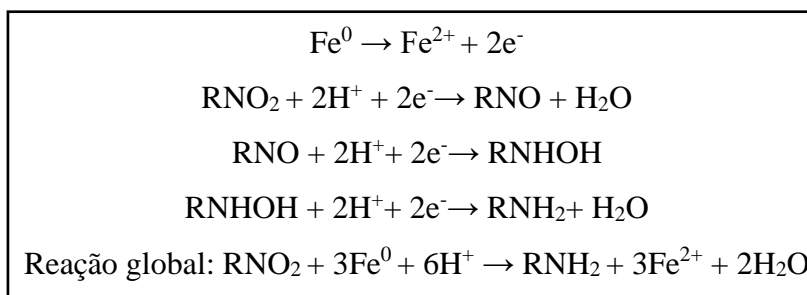
Entre os métodos existentes para a obtenção das nanopartículas, um dos mais utilizados é a redução de íons férricos (Fe^{3+}) ou ferrosos (Fe^{2+}) com boroidreto de sódio (NaBH_4), em solução aquosa (SUN *et. al.*, 2006). Na **figura 7** encontram-se representadas as equações das reações que ocorrem na formação das nanopartículas de ferro, na presença de boroidreto de sódio.

Figura 7. Redução de íons férricos e ferrosos na presença de boroidreto de sódio (NaBH_4).

Para esta reação, as partículas foram formadas adicionando-se NaBH_4 à solução de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. Em seguida, as nanopartículas foram transferidas para um frasco de *Schlenk* contendo o correspondente substrato nitrado, dissolvido em éter etílico. A fim de evitar a rápida oxidação do ferro metálico Fe^0 ao íon ferroso (Fe^{2+}), a reação foi realizada sob atmosfera inerte de nitrogênio.

O processo de redução ocorre na superfície das nanopartículas que atuam como doadoras de elétrons ao grupo nitro, envolvendo a transferência de seis elétrons do ferro metálico para o substrato nitrado. O processo completo é a soma de reações que ocorrem desde a oxidação do metal até a redução do nitro (**Figura 8**) (SOEIRA, 2007).

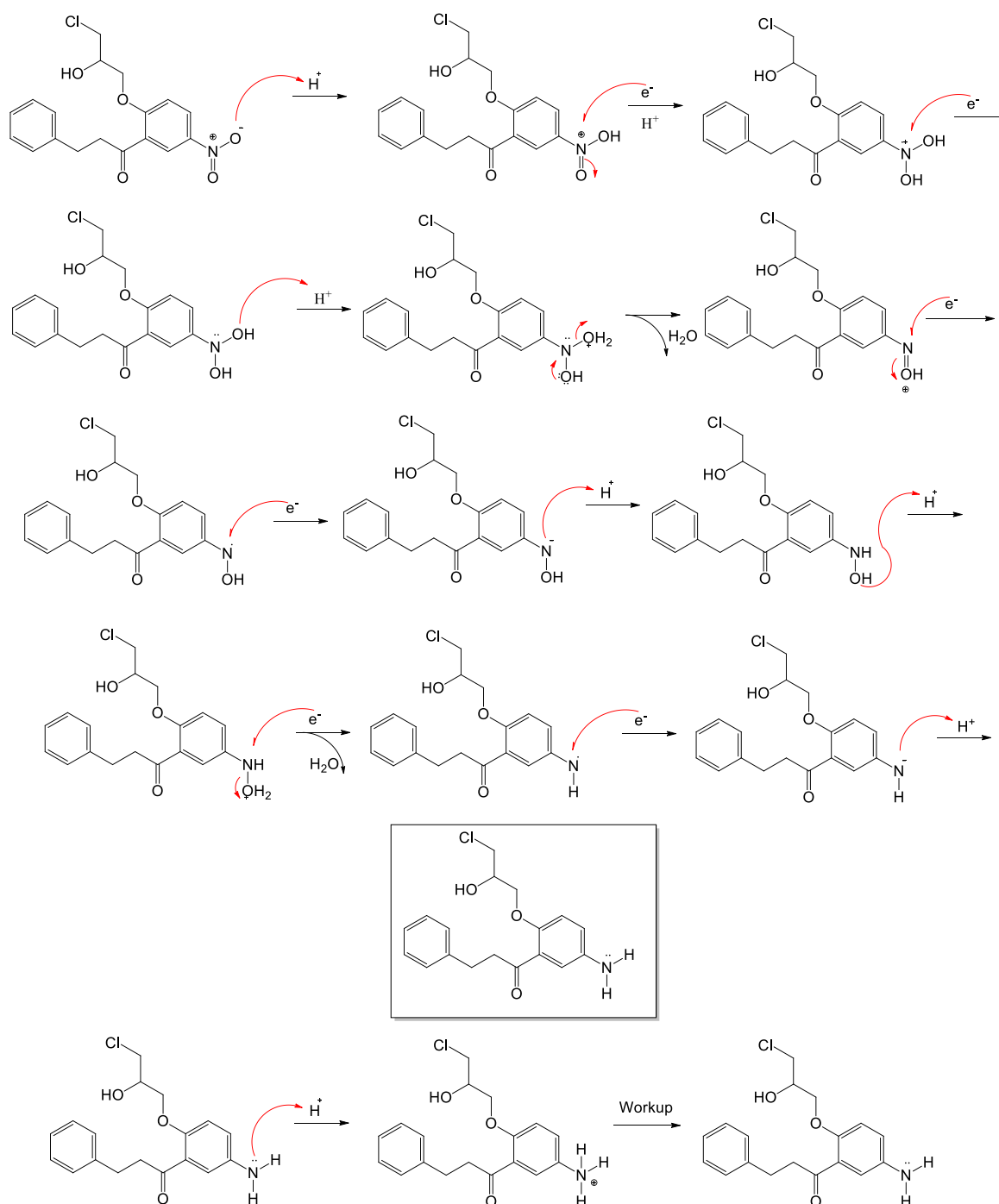
Figura 8. Processo de redução do grupo nitro através da transferência de elétrons das nanopartículas de ferro.



Observou-se que esta reação deve ocorrer em atmosfera inerte e que o pH do meio influencia diretamente na eficiência do processo. Devido ao consumo de H^+ , deve-se ajustar o pH para levemente ácido (pH 6), para que a reação aconteça e para evitar a dissolução das partículas de ferro no meio reacional, pois, notou-se que isso ocorre quando o pH é muito ácido (pH 0-4). Deve-se ter atenção também ao final da reação, pois, como pode ser visto no mecanismo proposto representado na **figura 9**, a amina formada poderá capturar prótons ainda existentes no meio, portando, no “workup” da reação, o pH precisa ser ajustado para levemente básico (pH 8) garantindo a formação do produto desejado.

Por fim, os compostos aminados no carbono-5, *rac-5* e *rac-7* foram obtidos com rendimentos de 70 e 50%, respectivamente. Em seguida, estes intermediários aminados foram analisados por CLAE em colunas quirais a fim de se obter as melhores condições na separação dos seus respectivos enantiômeros, servindo como padrão para as análises realizadas dos produtos advindos da resolução cinética enzimática de *rac-7*.

A próxima etapa consistiu no estudo da resolução cinética do acetato da cloridrina aminada no carbono-5 (*rac-7*), via reação de hidrólise, na presença de lipases (item 3.6).

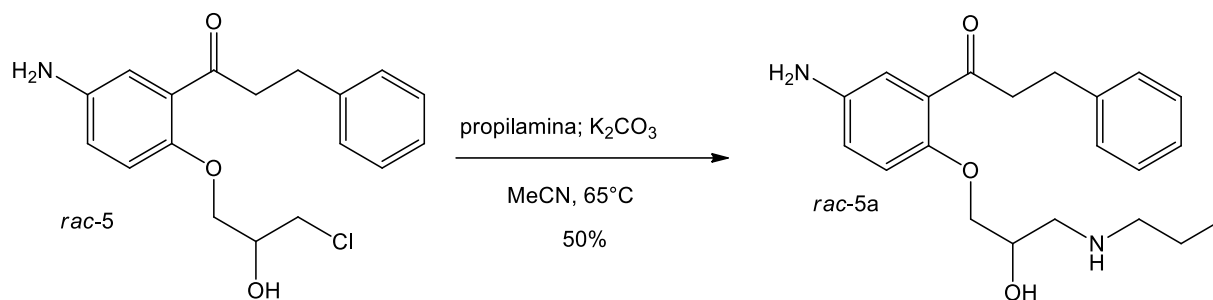
Figura 9. Proposta de mecanismo para redução do grupo nitro na molécula *rac-5*

3.5 Síntese de análogos da propafenona aminada (*rac-5a-rac-5d*)

Os análogos foram sintetizados a partir da cloridrina aminada, *rac-5*, utilizando o mesmo protocolo inicial, porém, diferentes aminas como reagente, alterando temperatura e tempo reacional, quando necessário, para otimizar o rendimento em cada síntese.

Para o análogo *rac-5a*, utilizou-se propilamina e K_2CO_3 , em MeCN, por um tempo de 8 h, a uma temperatura de 65 °C (**esquema 11**). Após esse período, o análogo foi obtido com rendimento de 50%.

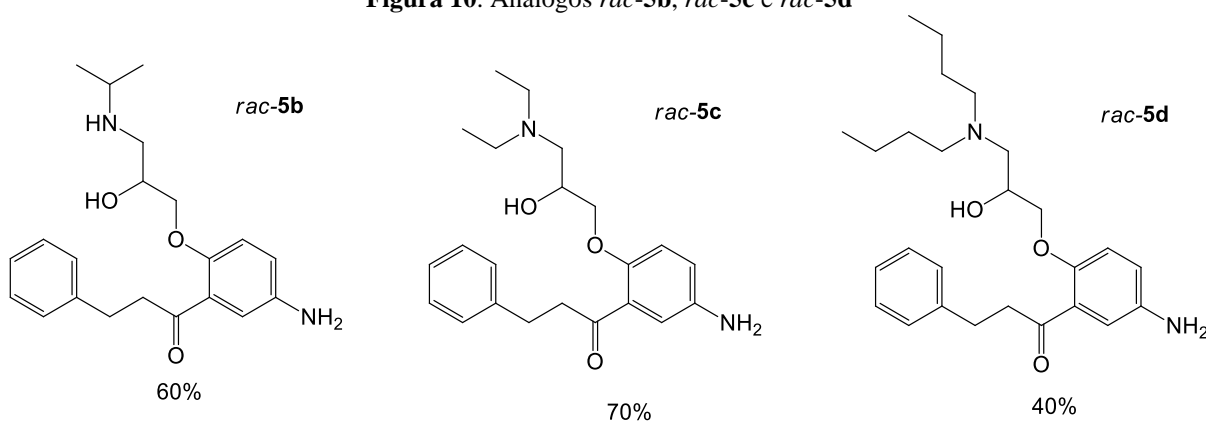
Esquema 11. Obtenção do análogo da propafenona aminado no carbono-5 (*rac-5a*)



Os análogos *rac-5b* e *rac-5c* apresentados na **figura 10**, foram sintetizados utilizando o protocolo apresentado no **esquema 11**, na presença de isopropilamina e dietilamina, respectivamente. As sínteses foram completadas após 8 h e 6 h, com rendimentos de 60% para o análogo *rac-5b* e 70% para o análogo *rac-5c*.

Para o análogo *rac-5d*, também presente na **figura 10**, inicialmente, foram utilizadas as mesmas condições apresentadas no **esquema 11**, na presença de dibutilamina, no entanto, não ocorreu reação. Optou-se por aumentar a temperatura para 80 °C e após 24 h, o referido análogo foi obtido com 40% de rendimento.

Figura 10. Análogos *rac-5b*, *rac-5c* e *rac-5d*



Para a purificação dos análogos da propafenona *rac-5a-rac-5d* optou-se pelo método comumente utilizado de cromatografia em coluna utilizando gel de sílica como fase estacionária. Objetivando escolher a melhor fase móvel para a purificação ideal, notou-se que a introdução da porção amina nos análogos sintetizados proporcionou um aumento da

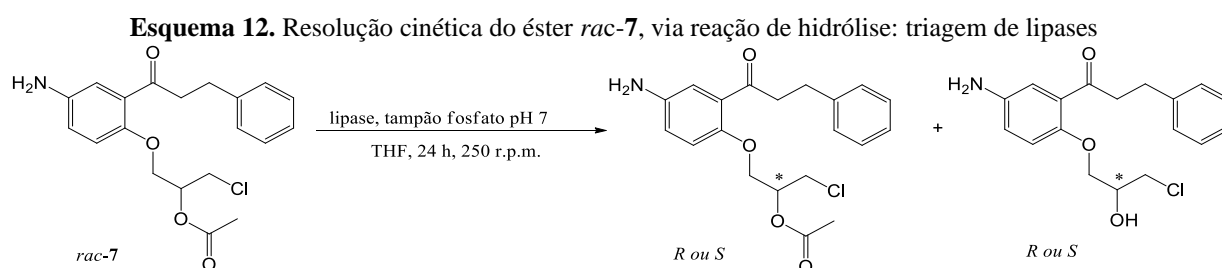
polaridade, resultando em uma maior interação entre a molécula a ser purificada e a fase estacionária escolhida. O gel de sílica é a fase estacionária mais frequentemente usada na cromatografia de adsorção, possuindo propriedades polares e fracamente ácidas e retendo com maior intensidade compostos básicos e polares. Com isso, as combinações com as fases móveis podem ser feitas utilizando sistemas de solventes em misturas binárias ou ternárias, considerando a possibilidade de um solvente atuar como um receptor ou doador de prótons ou mesmo promover uma forte interação dipolo-dipolo. A basicidade da fase móvel pode ser obtida pela adição de amônia, dietilamina, trietilamina ou trietanolamina (FLIEGER, 2000).

Diante do exposto, para a purificação dos análogos *rac-5a*, *rac-5b* e *rac-5c*, utilizou-se uma fase móvel com a adição de trietilamina na mistura contendo clorofórmio e isopropanol nas proporções de 70:30:0,6 (clorofórmio:isopropanol:trietilamina). Para o *rac-5d* não foi necessário a adição de trietilamina à fase móvel, sendo utilizado apenas acetato de etila. Neste caso, o produto é menos polar devido a presença da cadeia carbônica (dibutilamina) ser relativamente maior em relação aos demais.

3.6 Resolução cinética do acetato de 1-[4-amino-2-(3-fenilpropanoil)fenoxi]-3-cloropropan-2-ila (*rac-7*), via reação de hidrólise, na presença de lipases

Cabe ressaltar que a halodrina quiral 1-[5-amino-2-(3-cloro-2-hidroxi-propoxi)fenil]-3-fenilpropan-1-ona é um intermediário comum para a preparação de análogos quirais da propafenona. O referido intermediário quiral pode ser obtido via resolução cinética do acetato *rac-7*, via reação de hidrólise, catalisada por lipases.

Inicialmente, realizou-se uma triagem de lipases, objetivando encontrar uma enzima ativa e enantiosseletiva. Para a resolução cinética do éster *rac-7*, via hidrólise (**Esquema 12**), foram avaliadas treze lipases comerciais, livres ou imobilizadas. De acordo com o protocolo desenvolvido em nosso grupo de pesquisa (FONSECA *et. al.* 2015; VIEIRA *et. al.* 2017), as reações foram realizadas em tampão fosfato 0,1M (pH 7), utilizando 20% de THF como co-solvente, por um período de 24 h, a 40 °C. Os resultados encontram-se sumariados na **Tabela 2**.



Dentre as treze enzimas avaliadas, três lipases livres foram ativas: *Candida rugosa* (**entrada 2**), *Burkholderia cepacia* (**entrada 3**) e *Pseudomonas fluorescens* (**entrada 8**). Além das lipases livres, quatro lipases imobilizadas foram ativas, *Candida antarctica* B imobilizada em resina acrílica (**entrada 1**), *Pseudomonas fluorescens* imobilizada em imobead 150 (**entrada 9**), *Pseudomonas fluorescens* imobilizada em Sol-Gel-AK (**entrada 11**) e a *Thermomyces lanuginous* imobilizada em imobead-150 (**entrada 13**).

Por outro lado, as lipases de *Rhizopus niveus* (**entrada 4**), *Penicillium camemberti* (**entrada 5**), *Mucor javanicus* (**entrada 6**), pâncreas de porco (PPL) (**entrada 7**), *Pseudomonas fluorescens* imobilizada em Sol-Gel-AK em pedra-pomes (**entrada 10**) e *Lipozyme* RM IM (**entrada 12**) mostram-se inativas frente ao acetato *rac-7*, nas condições reacionais utilizadas.

Tabela 2. Resultados da triagem de lipases na resolução cinética de *rac-7*, via reação de hidrólise

Entrada	Lipase	e.e.s(%) ^a	e.e.p(%) ^a	c(%) ^b	E ^c
1	<i>Candida antarctica</i> B imobilizada em resina acrílica	49	92	35	39,07
2	<i>Candida rugosa</i>	73	8	90	2,09
3	<i>Burkholderia cepacia</i>	51	71	42	9,66
4	<i>Rhizopus niveus</i>	-	-	-	-
5	<i>Penicillium camemberti</i>	-	-	-	-
6	<i>Mucor javanicus</i>	-	-	-	-
7	Lipase de pâncreas de porco (PPL)	-	-	-	-
8	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	82	87	49	34,93
9	<i>Pseudomonas fluorescens</i> imobilizada em imobead-150	16	95	14	44,57
10	<i>Pseudomonas fluorescens</i> imobilizada em Sol-Gel-AK em pedra-pomes	-	-	-	-
11	<i>Pseudomonas fluorescens</i> imobilizada em Sol-Gel-AK	8	95	8	39,73
12	<i>Lipozyme</i> RM IM	-	-	-	-
13	<i>Thermomyces lanuginous</i> imobilizada em imobead-150 (TLL)	80	96	45	106,7

a: Determinado por CLAE

b: Conversão, c (%) = $e.e.$ álcool/($e.e.$ álcool + $e.e.$ acetilado) x 100

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

Em uma resolução cinética, o valor de conversão revela a magnitude da atividade de uma enzima. Desta forma, a conversão máxima a ser alcançada é de 50% em produto, restando 50% do substrato intacto. Já a enantiosseletividade da enzima é mensurada pelos

valores da razão enantiomérica (E). Portanto, quanto mais seletiva for a enzima, maior será o valor de E (BORNSCHEUER, U.T.; KAZLAUSKAS, R.J, 1999).

As lipases de *Candida antarctica* B, *Burkholdeira cepacia* e *Pseudomonas fluorescens* (**entradas 1, 3 e 8**, respectivamente) proporcionaram valores de conversão que variaram de 35% a 49% e $e.e._p > 70\%$, porém, com baixos valores de enantiosseletividade (E). Cabe ressaltar que a enzima mais ativa foi a lipase de *Candida rugosa*, levando a uma conversão de 90% (**entrada 2**). Dentre as enzimas mais ativas, a que proporcionou um maior valor de proporção enantiomérica (E) foi a lipase de *Thermomyces lanuginous* imobilizada em imbead-150 (TLL) (**entrada 13**) com $E = 106,7$; conversão 45%; $e.e._p = 96\%$ e $e.e._s = 80\%$. Esta lipase foi selecionada para a avaliação de parâmetros que influenciam uma resolução cinética (itens 3.7 a 3.9).

3.7 Efeito da temperatura na resolução cinética de *rac*-7

Sabe-se que a temperatura é um parâmetro a ser investigado em uma resolução cinética enzimática, pois, influencia tanto na atividade quanto na seletividade da enzima (DABKOWSKA; SZEWCZYK, 2009), sendo o efeito descrito por dois parâmetros, a energia de ativação definida por Arrhenius, que interfere na velocidade em que cada enantiômero reagirá e a estabilidade térmica da enzima (PETERSON *et. al.*, 2007; SHULER; KARGI, 2002). A atividade catalítica acontece no sítio ativo da enzima e depende da estrutura tridimensional, pois, necessita do encaixe ideal na união enzima-substrato. Essa estrutura mantém sua forma através de interações de hidrogênio e de van der Waals entres os resíduos de aminoácidos.

A taxa de catálise enzimática, geralmente, é diretamente proporcional à temperatura até que seja alcançado o ponto máximo que se inicia a desnaturação da enzima e a taxa de reação comece a diminuir (TRASAR-CEPEDA *et al.*, 2007). Em resumo, o aumento da temperatura faz com que os substratos/reagentes adquiram energia e acelerem a velocidade de reação. Por outro lado, um aumento na temperatura do meio reacional pode ser responsável por romper as interações intermoleculares, modificando a configuração espacial e levando a desnaturação da enzima (BAILEY; OLLIS, 1977; TRASAR-CEPEDA *et al.*, 2007).

Portanto, com o objetivo de encontrar a temperatura reacional ideal, fez-se o estudo do comportamento da lipase TLL nas temperaturas 30, 40, 45 e 50 °C, utilizando tampão fosfato 0,1M (pH 7), mantendo o cossolvente THF e com a razão enzima:substrato de 2:1 em diferentes tempos reacionais. Os resultados obtidos estão apresentados na **Tabela 3**.

Tendo em vista que os resultados, até então, foram obtidos utilizando uma temperatura de 40 °C por 24 h, optou-se por verificar se ocorreriam mudanças favoráveis com

tempos reacionais maiores. As reações foram realizadas por 30 e 36 h e os valores de excesso enantiomérico, conversão e enantiosseletividade foram comparados com os obtidos em 24 h (**Tabela 3, entradas 3 a 5**).

Notou-se que o aumento no tempo reacional não proporcionou mudanças significativas e, portanto, não interferiu na resolução cinética de *rac-7* a 40 °C.

Tabela 3. Efeito da temperatura na resolução cinética de *rac-7*, via hidrólise, na presença da lipase TLL

Entrada	Temperatura	Tempo (h)	e.e.s(%) ^a	e.e.p(%) ^a	c(%) ^b	E ^c
1	30 °C	24	74	95	44	88,2
2		30	77	95	45	91,1
3	40 °C	24	80	96	45	106,7
4		30	75	96	44	110,9
5		36	75	95	44	88,2
6	45 °C	12	16	97	14	89,8
7		24	27	99	21	>200
8	50 °C	12	10	94	9	34,3
9		24	20	94	18	39,3

a: Determinado por CLAE

b: Conversão, c (%) = $e.e.$ álcool / ($e.e.$ álcool + $e.e.$ acetilado) x 100

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

Sabendo-se que o aumento da temperatura pode influenciar na seletividade da enzima (DABKOWSKA; SZEWCZYK, 2009), optou-se, então, por realizar testes nas temperaturas de 45 e 50 °C avaliando o comportamento nos tempos de 12 e 24 h. A 45 °C, no período de 24 h (**entrada 7**), houve um aumento na seletividade atingindo um valor de $E > 200$, mas, a conversão foi apenas de 21%. Nota-se, que mesmo com o aumento do tempo de 12 para 24 h, os resultados ainda não foram satisfatórios. A 50 °C, nos dois tempos reacionais avaliados, a enzima apresentou uma conversão de 9% (**entrada 8**) e 18% (**entrada 9**), sendo esses, valores menores em comparação aos obtidos a 45 °C, além de, valores baixos de enantiosseletividade, indicando um possível grau de desnaturação da enzima. Rodrigues *et. al.* (2008), na síntese de biodiesel, utilizando a enzima *Thermomyces lanuginous*, em diferentes temperaturas, observaram que entre 20 e 40 °C, não ocorreram diferenças significativas nos resultados e que em temperaturas acima de 50 °C ocorreu a inativação da enzima (RODRIGUES *et. al.*, 2008).

Visto que o aumento da temperatura não levou a resultados mais promissores, decidiu-se avaliar a resolução cinética de *rac-7* a uma temperatura inferior (30 °C), nos tempos reacionais de 24 e 30 h (**entradas 1 e 2**). Em comparação com os resultados obtidos a 40 °C

(**entradas 3 e 4**), é possível verificar que a uma temperatura mais baixa (30 °C) os valores de razão enantiomérica (E) foram inferiores, confirmando que 40 °C é a temperatura ideal para a resolução cinética de *rac-7*, na presença da lipase de *Thermomyces lanuginous* imobilizada em immobead-150 (TLL).

3.8 Efeito do cossolvente na resolução cinética de *rac-7*

A presença de uma pequena proporção de um solvente orgânico no meio aquoso pode influenciar na estrutura e na atividade da enzima, alterando a seletividade em uma resolução cinética enzimática (KLIBANOV, 2001; OVERBEEKE, 2000). As enzimas apresentam diferentes atividades catalíticas e seletividade a substratos, estabilidade e características cinéticas em diferentes solventes (FAN, *et al.*, 2017) e não existe uma regra geral para relacionar um solvente orgânico com as atividade e seletividade enzimática. Porém, as propriedades físico-químicas, tais como coeficiente de partição octanol-água (log P) (WANG, *et al.*, 2016; LI, *et al.*, 2013); constante dielétrica (ϵ) (KITAMOTO, *et al.*, 2015); tamanho das moléculas do solvente e energia de solvatação linear (LSER) (LEE, 1995; CHATZIKONSTANTINO, 2017) são as mais estudadas em possíveis tentativas de justificar a ocorrência de enantiosseletividade enzimática, na presença de solvente orgânico.

Portanto, com o objetivo de investigar a influência de cossolventes na resolução cinética de *rac-7*, foram realizadas reações em 80% de tampão fosfato pH 7 e 20% de cossolvente (0,1M) (listados na **Tabela 4**), por 24 h a 40 °C, na presença da lipase TLL. Adicionalmente, foi realizada uma reação em meio totalmente aquoso, tampão fosfato pH 7 (**entrada 9**).

Tabela 4. Resultados da reação de resolução cinética enzimática de *rac-7*, por via hidrolítica, em diferentes cossolventes

Entrada	ϵ	Log P	Cossolvente	ee(s)% ^a	ee(p)% ^a	c(%) ^b	E ^c
1	37,5	-0,33	MeCN	72	92	44	49,0
2	20,7	-0,23	Acetona	81	99	45	>200
3	18	0,39	IPA	67	82	45	20,2
4	7,5	0,49	THF	80	96	45	106,7
5	9,1	1,5	Diclorometano	72	98	42	>200
6	2,4	2,5	Tolueno	94	98	49	>200
7	1,8	3,5	Hexano	52	96	35	135,1
8	1,9	4,0	Heptano	83	95	47	98,0
9	-	-	Nenhum	89	95	48	127,1

a: Determinado por CLAE | b: Conversão, c (%) = e.e. álcool/(e.e. álcool + e.e. acetilado) x 100

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

É sabido que a água é o ambiente mais confortável para a enzima, pois, mantém sua conformação (REZAEI; JENAB; TEMELLI, 2007). No entanto, na reação de hidrólise de *rac-7*, a ausência de um cossolvente não levou ao maior valor de razão enantiomérica ($E = 127,1$), embora a conversão tenha sido de 48%, (**entrada 9, tabela 4**).

Dentre os cossolventes utilizados, em relação a razão enantiomérica (E), três se destacaram: acetona (**entrada 2, tabela 4**), diclorometano (**entrada 5, tabela 4**) e tolueno (**entrada 6, tabela 4**), todos levando a valores de $E > 200$. Os solventes acetonitrila (**entrada 1, tabela 4**), isopropanol (IPA) (**entrada 3, tabela 4**) e heptano (**entrada 8, tabela 4**) apresentaram valores de razão enantiomérica ($E < 100$).

A polaridade do solvente influencia tanto na atividade enzimática (KAMAL, *et. al.*, 2013; ZHU, *et. al.*, 2012; FONSECA *et al.*, 2015) quanto na enantiosseletividade ao alterar a rigidez da conformação da enzima, uma vez que as interações eletrostáticas não-covalentes entre os resíduos de aminoácidos são consideravelmente dependentes da polaridade do meio reacional (SALIHU; ALAM, 2015; FITZPATRICK, 1991; KLIBANOV, 1991)

Para os cossolventes que possuem $\log P < 0$, os valores de enantiosseletividade foram distintos. Em acetonitrila a enzima não se mostrou seletiva ($E = 49$) (**entrada 1, tabela 4**), mas, em acetona, o comportamento foi ideal ($E > 200$) (**entrada 2, tabela 4**). Observando os solventes que possuem $\log P$ entre 0 e 1, um comportamento distinto também foi observado. Em IPA, a enantiosseletividade foi muito baixa ($E = 20$) (**entrada 3, tabela 4**); em THF, foram obtidos valores maiores ($E = 106,7$) (**entrada 4, tabela 4**), porém, ainda abaixo do ideal.

Toukoniitty *et. al.* (2003) afirmaram que solventes com alta constante dielétrica aumentam a flexibilidade da proteína, diminuindo a enantiosseletividade, pois, a cavidade menor do sítio ativo estará mais relaxada permitindo melhor interação com os dois enantiômeros. O aumento na flexibilidade da lipase pode ter ocorrido na presença dos cossolventes acetonitrila ($\epsilon = 37,5$) e IPA ($\epsilon = 18$), porém, este efeito não foi observado utilizando acetona ($\epsilon = 20,7$).

Entre os cossolventes com $\log P > 1$, e com menores valores de constante dielétrica, a enzima foi altamente seletiva apenas em diclorometano e tolueno ($E > 200$ para ambos) (**entradas 5 e 6, tabela 4**). Pode-se constatar que o tolueno manteve um equilíbrio entre suas propriedades físico-químicas, pois, foi um cossolvente excelente em comparação aos demais, levando a $E > 200$; conversão 49%; $e.e.(p) = 98\%$ e $e.e.(s) = 94\%$ (**entrada 6, tabela 4**), portanto, foi o cossolvente escolhido para ser utilizado na investigação de outros parâmetros que influenciam na resolução cinética de *rac-7*.

Após a escolha do cossolvente, investigou-se a influência do tempo reacional. A **tabela 5** apresenta os resultados obtidos nos tempos de 24, 26, 28 e 30 h. Pode-se notar que nos períodos de 24 a 28 h (**entradas 1, 2 e 3, tabela 5**), os valores de $e.e.(p)$, $e.e.(s)$ e conversão são consideravelmente próximos. Por fim, em 30 h de reação obteve-se uma resolução cinética, praticamente, ideal de *rac-7*, com $E > 200$; conversão 50%; $e.e.(p) = 98\%$ e $e.e.(s) = 98\%$.

Tabela 5. Efeito do tempo reacional na resolução cinética de *rac-7*, na presença de tolueno como cossolvente

Entrada	Temperatura	Tempo (h)	e.e.s(%) ^a	e.e.p(%) ^a	c(%) ^b	E ^c
1	40°C	24	94	98	49	>200
2		26	93	98	48	>200
3		28	96	98	49	>200
4		30	98	98	50	>200

a: Determinado por CLAE

b: Conversão, $c (\%) = e.e. \text{ álcool} / (e.e. \text{ álcool} + e.e. \text{ acetilado}) \times 100$

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

3.9 Efeito da razão enzima:substrato (m/m) na resolução cinética de *rac-7*

Para finalizar, decidiu-se avaliar as quantidades relativas da enzima na reação, para determinar a melhor proporção enzima/substrato (m/m). Foram analisadas as proporções enzima:substrato de 0,5:1; 1:1; 2:1 e 3:1. Os resultados estão apresentados na **tabela 6**. As reações foram realizadas a 40 °C, por 30 h, utilizando tolueno como cossolvente e tampão fosfato (pH 7).

Tabela 6. Efeito da proporção enzima:substrato (m/m) na resolução cinética de *rac-7*.

Entrada	Proporção Enz:Subs	e.e.s(%) ^a	e.e.p(%) ^a	c(%) ^b	E ^c
1	0,5:1	74	96	43	124,0
2	1:1	98	> 99	50	>200
3	2:1	98	98	50	>200
4	3:1	91	97	48	>200

a: Determinado por CLAE

b: Conversão, $c (\%) = e.e. \text{ álcool} / (e.e. \text{ álcool} + e.e. \text{ acetilado}) \times 100$

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

Na menor razão, 0,5:1 (**entrada 1**), em 30 h de reação, a quantidade de enzima não foi o suficiente para que o substrato fosse convertido em 50%, apresentando apenas conversão de 43%. Na razão de 3:1 (**entrada 4**), a conversão não atingiu 50%, porém, foram mantidos

bons valores de excesso enantiomérico tanto para o produto como para o substrato remanescente e enantiosseletividade > 200.

Nas razões 1:1 (**entrada 2**) e 2:1 (**entrada 3**), os resultados foram, praticamente, os mesmos ($E > 200$ e conversão 50%). Portanto, a proporção ideal (enzima:substrato) para realizar a resolução cinética de *rac-7* foi de 1:1.

Sendo assim, os parâmetros, lipase, temperatura, tempo, cossolvente e razão enzima:substrato foram avaliados e definidos. Para a resolução cinética do acetato *rac-7*, via hidrólise, utilizando a lipase de *Thermomyces lanuginous* imobilizada em immobead-150 (TLL), as condições reacionais ideais foram a utilização de uma solução 0,1 M de 80% de tampão fosfato (pH 7) e 20% de tolueno, a 40 °C por 30 h, com uma razão enzima/substrato (m/m) de 1:1.

3.10 Estudos *in silico*

Foi realizado um estudo *in silico* de todos os análogos racêmicos sintetizados, *rac-5a-d*, em comparação com o fármaco propafenona com o intuito de averiguar se possuem propriedades que atendam aos parâmetros de absorção, distribuição, metabolismo e excreção (ADME), além da realização do *docking* molecular a fim de analisar a afinidade de ligação e as interações entre resíduos dos alvos β_1 , β_2 adrenérgicos e canais de sódio com os referidos análogos.

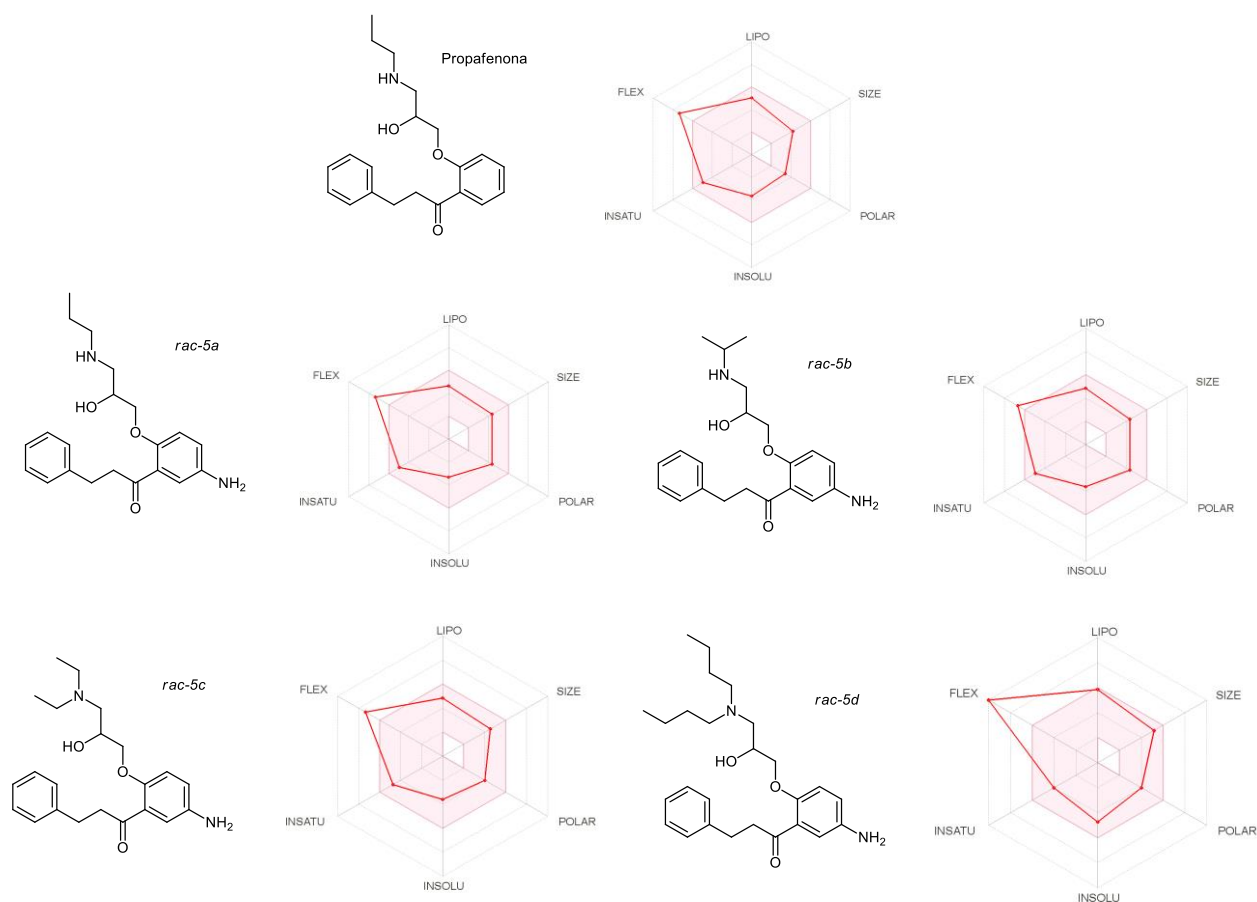
3.10.1 ADME

Na intenção de estudar se uma possível molécula pode servir como um novo fármaco, se faz necessário analisar o perfil farmacocinético dos novos compostos, garantindo que será eficaz ao atender às propriedades de ADME (PIRES; BLUNDELL; ASCHER, 2015).

Para verificar se os análogos *rac-5a-d* possuem propriedades que se relacionam com parâmetros ADME, em comparação ao fármaco propafenona, o estudo *in silico* foi realizado utilizando o *software* livre do programa SwissADME (<http://www.swissadme.ch>) na intenção de avaliar os parâmetros físico-químicos que possam interferir na farmacocinética, análise da absorção gastrointestinal e permeabilidade na barreira hematoencefálica, além da análise da possível interação entre a molécula e a p-glicoproteína e com as enzimas hepáticas do citocromo P-450, levando em consideração as enzimas responsáveis pelo metabolismo da propafenona. Os resultados obtidos estão sumariados nas **tabelas 7 e 8**, bem como na **figura 11**.

A indústria farmacêutica dá preferência por fármacos que possam ser administrados via oral por ser mais seguro e econômico (LEESON; SPRINGTHORPE, 2007). A **figura 11**, gerada no programa SwissADME, apresenta os gráficos dos parâmetros avaliados para que a molécula tenha boa biodisponibilidade oral.

Figura 11. Parâmetros para que a molécula tenha boa biodisponibilidade oral (região rosa). “LIPO”: lipofilicidade; “SIZE”: tamanho; “POLAR”: polaridade; “INSOLU”: insolubilidade; “INSATU”: insaturação e “FLEX”: flexibilidade. Gráfico gerado pelo SwissADME.



Observa-se que nos gráficos dos análogos *rac-5a*, *rac-5b* e *rac-5c*, os pontos plotados estão, praticamente, dentro da faixa rosa que é considerada a ideal. Cabe ressaltar que a propafenona é administrada via oral e todos os gráficos se mostraram bem semelhantes. Desta forma, podemos considerar que os análogos da propafenona apresentam excelentes condições para uma boa biodisponibilidade, se administrados via oral. Apenas o parâmetro de flexibilidade apresentou pontos fora da área do radar, incluindo a propafenona e principalmente para o análogo *rac-5d*, o qual apresenta uma maior cadeia carbônica quando comparado aos demais.

De acordo com os resultados obtidos e presentes na **tabela 7**, todos os análogos se mostraram de acordo com a “regra do 5” de Lipinski. Essa regra avalia quatro parâmetros físico-químicos e os valores determinados devem ser múltiplos de cinco. O log P deve ser maior ou igual a 5, a massa molar menor ou igual a 500. Além disso, devem apresentar receptores de ligação de hidrogênio menor ou igual a 10 e doadores de ligação de hidrogênio menor ou igual a 5, sendo permitido que haja o descumprimento de apenas um ou nenhum parâmetro avaliado. A não violação desta regra nos permite prever se a molécula pode ser farmacologicamente ativa quando administrada por via oral em humanos (LIPINSKI *et. al.* 2001).

Tabela 7. Resultados obtidos no SwissADME de propriedades físico-químicas da propafenona e análogos

Moléculas	Propriedades físico-químicas			
	Receptores de H	Doadores de H	Massa (g/mol)	Log P _{o/w}
Propafenona	4	2	341,4	3,42
<i>rac-5a</i>	4	3	356,4	2,72
<i>rac-5b</i>	4	3	356,4	2,97
<i>rac-5c</i>	4	2	370,5	3,04
<i>rac-5d</i>	4	2	426,6	4,42

Notou-se que em comparação com a propafenona, a presença do grupo amino no anel aromático para a formação do análogo *rac-5a*, reduziu a lipofilicidade. Esta última aumenta com o aumento do número de átomos de carbono presentes na amina inserida na cadeia lateral para os demais análogos. Para todos os análogos, a quantidade de receptores de hidrogênio é a mesma e a diferença está na quantidade de doadores de hidrogênio nos análogos *rac-5a* e *rac-5b*.

A importância das propriedades físico-químicas é proporcional à farmacocinética. É necessário que os compostos satisfaçam exigências mínimas para apresentarem bons perfis farmacológicos (LAMATTINA; GOLAN, 2009). A absorção que consiste na etapa em que o fármaco entra direta ou indiretamente no plasma e depende de importantes fatores como, lipofilicidade (log P) e solubilidade aquosa, pois, fármacos devem ser solúveis para se dissolver nos fluidos corporais e atravessar as membranas celulares (GONÇALVES, *et. al.*, 2016). É necessário que o fármaco seja solúvel no meio gastrointestinal, podendo limitar a forma que o fármaco poderá ser administrado, seja na forma sólida ou líquida (PADWAL; BROCKS;

SHARMA, 2010) sendo essa, uma condição bastante importante e determinante para a biodisponibilidade de um fármaco (GOLAN, 2016).

Em relação à massa molecular, quanto maior a massa, mais difícil será para o fármaco transpor a membrana (LAMATTINA; GOLAN, 2009). As ligações de hidrogênio contribuem para que a molécula seja solúvel em água, porém, o aumento dessas interações pode impedir a passagem pelas membranas celulares do meio hidrofílico para o meio hidrofóbico representado pela bicamada de fosfolipídeos.

Além das propriedades físico-químicas, foram analisadas as interações dos análogos com as proteínas e com as enzimas hepáticas, principalmente as isoformas da enzima citocromo P-450 que participam do metabolismo e excreção da propafenona, além da capacidade de absorção no trato gastrointestinal e barreira hematoencefálica. Todos os resultados estão sumariados na **tabela 8**.

Tabela 8. Resultados obtidos no SwissADME referente ao comportamento farmacocinético da propafenona e análogos mediante a padrões de absorção, interação com p-GP e inibição de enzimas presentes no citocromo P-450

Molécula	Farmacocinética					
	AGI	BHE	p-GP	CYP2D6	CYP3A4	CYP1A2
Propafenona	Alto	sim	sim	sim	sim	sim
rac-5a	Alto	não	sim	sim	sim	não
rac-5b	Alto	não	sim	sim	sim	não
rac-5c	Alto	sim	sim	sim	sim	não
rac-5d	Alto	não	sim	sim	sim	não

AGI – Absorção gastrointestinal | BHE – Permeia a barreira hematoencefálica | p-GP – Associação com a p-glicoproteína | CYP – Isoformas da enzima citocromo P-450

O metabolismo dos fármacos é definido por um conjunto de reações catalisadas pelas isoformas da enzima citocromo P450 e a taxa de metabolismo é um dos parâmetros farmacocinéticos mais importantes que controlam a ação do fármaco. Interferências nas funções de indução ou inibição das enzimas do citocromo P450 podem afetar significativamente o metabolismo de um medicamento e, portanto, alterar os efeitos terapêuticos observados. (RODEIRO *et. al.*, 2008; WILLIAMS, 2008; HISAKA *et. al.*, 2010; YU; TWEEDIE, 2013)

A indução enzimática comumente resulta de um aumento na produção enzimática após a administração de um fármaco ou outra substância exógena (WILLIAMS, 2008) levando a um aumento na metabolização com redução do próprio fármaco indutor ou de outros fármacos administrados concomitantemente (DENG, *et. al.*, 2013; CORRIE; HARDMAN, 2014).

O contrário acontece na inibição de uma enzima, pois, reduz o metabolismo de fármacos metabolizados por ela, podendo alterar a biodisponibilidade aumentando a concentração plasmática do fármaco, prolonga o tempo de excreção, além de aumentar a possibilidade de causar toxicidade do fármaco no organismo (DJUV; NILSEN, 2012; YU; TWEEDIE, 2013). Vale ressaltar que o fármaco pode atuar como substrato e inibidor da enzima, ou seja, podem inibir competitivamente uma enzima agindo como um substrato no sítio ativo da enzima ou ocupando reversivelmente o sítio ativo ou a eliminando a atividade enzimática fazendo com que uma nova enzima deve ser sintetizada para que a função normal seja restabelecida (HARA; ROCHA, 1998; WILLIAMS, 2008; KATO, 2019).

É sabido que, no metabolismo da propafenona, as enzimas que iniciam as transformações da molécula são; CYP2D6 na formação da 5-hidroxi-propafenona; CYP3A4 e CYP1A2 na formação da *N*-depropilpropafenona (LOWES *et. al.*, 2011), além de causar a inibição dessas enzimas, como visto na **tabela 8**. Portanto, foi avaliado se as alterações na molécula da propafenona interferem na inibição dessas enzimas.

Observou-se que todos os análogos inibem as enzimas CYP2D6 e CYP3A4. Diante disso, podemos supor que, nos análogos, o grupo amino presente no carbono 5 do anel fenólico não alterou a capacidade de inibir a enzima CYP2D6 e o aumento do número de átomos de carbono presentes na amina inserida na cadeia lateral não impediu a inibição da CYP3A4, porém, tais alterações causaram nos análogos a incapacidade de inibir a enzima CYP1A2, diferenciando assim, o metabolismo dos análogos em comparação à propafenona.

A glicoproteína – P tem a função de transportar os substratos para fora das células protegendo o organismo de substâncias que podem ser prejudiciais (NANAYAKKARA *et. al.*, 2018; DAVIS *et. al.*, 2003). Moléculas que inibem a P-gp podem causar interferência nos índices de absorção, biodisponibilidade e permeabilidade do fármaco na barreira hematoencefálica (BHE) (ALQAHTANI, 2017; LI, *et. al.*, 2007; LAM, *et. al.*, 2001), além de, reduzir os índices de resistência a múltiplos fármacos (MDR) (EVERTS, 2009; ALLER; CHANG, 2009; AMIN, 2013).

Outras análises importantes, como a permeabilidade da barreira hematoencefálica e a absorção gastrointestinal, referem-se à capacidade de a molécula ser absorvida. A importância da capacidade dos compostos serem absorvidos pelo trato gastrointestinal está

diretamente relacionada com a possibilidade do fármaco ser administrado via oral. A permeabilidade da barreira hematoencefálica é uma propriedade fundamental para os fármacos que atuam no sistema nervoso central (SNC), no entanto, também tem a função de proteger o cérebro de substâncias indesejadas (BORGES, 2018; GOODMAN, 2012). A importância desse índice se refere à permeabilidade do composto para ultrapassar tal barreira, pois, há uma preocupação em encontrar fármacos que não atuam no SNC com o intuito de minimizar possíveis efeitos colaterais e de toxicidade, como, sonolência, tontura, perda parcial da visão, entre outros, ou melhorar a atividade de medicamentos que devem atuar no cérebro, (HARDJONO, *et. al.*, 2018).

Pelos resultados obtidos, os análogos possuem comportamentos farmacocinéticos próximos ao do fármaco propafenona. Todas as moléculas avaliadas apresentam absorção gastrointestinal e inibem a glicoproteína – P, porém, apenas o análogo *rac-5c* é capaz de ultrapassar a barreira hematoencefálica. Vale ressaltar que os estudos *in silico* são importantes, mas devem ser considerados outros parâmetros, principalmente, a atividade biológica e a toxicidade do composto para classificar se a molécula pode ou não atuar como um bom fármaco.

3.10.2 Docking molecular

O método de *docking* molecular é uma ferramenta importante para avaliar a interação de compostos que podem ser potenciais fármacos com receptores biológicos por meio de métodos computacionais. Com tal ferramenta é possível investigar qual a melhor conformação e orientação dos ligantes com a molécula de estudo, estimando e classificando as afinidades de ligação presentes na formação do complexo com menor energia (PINZI; RASTELLI, 2019).

Foi realizado o estudo de *docking* molecular para prever a interação da propafenona e dos análogos sintetizados *rac-5a*, *rac-5b*, *rac-5c* e *rac-5d* com diferentes receptores biológicos. Os alvos de estudos foram de receptor adrenérgico beta 1 (PDB: 7BTS) (XU *et. al.*, 2020), receptor adrenérgico beta 2 (PDB: 3NY9) (WACKER, *et. al.*, 2010) e canal de sódio I217C (PDB: 6MVX) (GAMAL EL-DIN, *et. al.*, 2018) de organismo *homo sapiens*.

Os canais iônicos são proteínas de membrana que conectam as faces intra e extracelular transportando íons passivamente. O fluxo de íons é importante para a contração muscular, transmissão de impulsos nervosos, controle da pressão osmótica, entre outras funções, e pode ser seletivamente transportado através do poro da membrana (capazes de abrir e fechar o caminho de permeação), denominando canais de sódio, potássio, cálcio ou cloro, ou

quando ocorre algum estímulo (ligantes, estímulos mecânicos, pH, nucleotídeos cíclicos, dependentes de voltagem etc.) que regula o processo (HUANG, JAN, 2014; HILLE, 2001).

Os receptores adrenérgicos, no geral, participam de processos fisiológicos como contração do músculo liso, funcionamento cardíaco e metabolismo energético. Especificamente, os receptores adrenérgicos β_1 têm relação com o aumento da força de contração do músculo cardíaco e a atividade cardíaca (ROHRER, 1998) e os receptores adrenérgicos β_2 causam relaxamento do músculo liso, resultando em broncodilatação e vasodilatação (FITZGERALD, 2007).

A **tabela 9** apresenta dados que demonstram a afinidade dos ligantes (propafenona e análogos) com os alvos β_1 e β_2 adrenérgicos e canal de sódio através da energia mínima obtida em kcal/mol que ocorre nas interações entre ligante e os resíduos mais próximos.

Tabela 9. Afinidade em kcal/mol entre propafenona e análogos com os alvos β_1 e β_2 adrenérgicos e canal de sódio

Alvos/ligantes	Propafenona	<i>rac-5a</i>	<i>rac-5b</i>	<i>rac-5c</i>	<i>rac-5d</i>
BETA1 adrenérgico	-6,4	-8,1	-8,7	-8,5	-7,6
BETA2 adrenérgico	-7,1	-6,4	-6,5	-7,2	-6,3
CANAL de SÓDIO	-7,0	-6,7	-6,7	-7,6	-6,7

De acordo com os dados obtidos (**tabela 9**), a afinidade do fármaco propafenona com o alvo beta 1 adrenérgico apresentou uma energia de -6,4 kcal/mol, enquanto os valores atingidos pelos análogos *rac-5a*, *rac-5b*, *rac-5c* e *rac-5d*, foram -8,1, -8,7, -8,5 e -7,6 kcal/mol, respectivamente. Sabendo-se que quanto menor a energia livre de ligação mais favorecida é a interação, pode-se considerar que as modificações feitas para as sínteses dos análogos foram significativas na interação com o alvo beta 1 adrenérgico, pois os valores de energia foram consideravelmente menores em relação ao obtido com a propafenona.

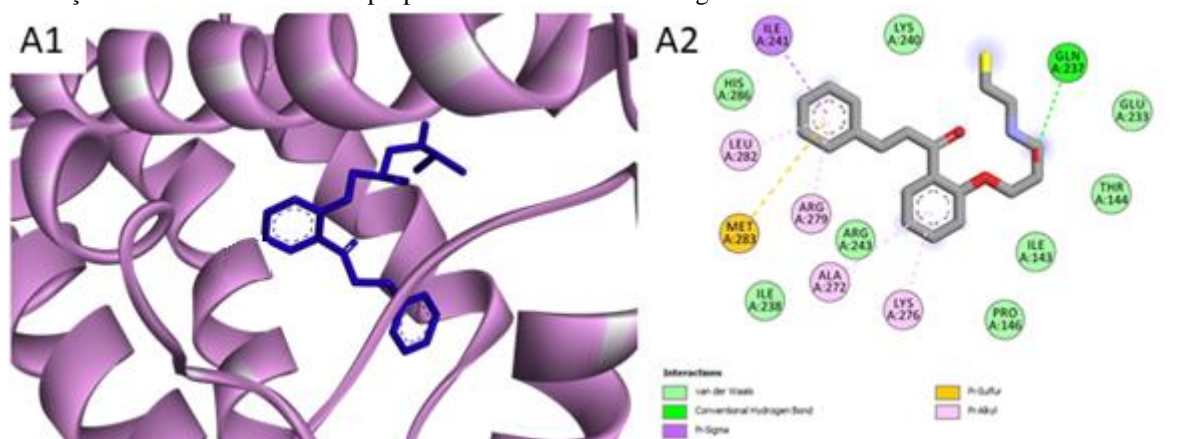
Em contrapartida, analisando os alvos beta 2 adrenérgico e canal de sódio, a afinidade com a propafenona levou a valores de -7,1 e -7,0 kcal/mol, respectivamente, e os análogos *rac-5a*, *rac-5b* e *rac-5d* apresentaram valores menos negativos, entre -6,3 e -6,7 kcal/mol, nos permitindo concluir que para esses alvos, as interações com esses análogos não foram suficientes para superar as interações com o fármaco propafenona. Porém, o análogo *rac-5c* mostrou novamente resultados promissores, pois, foi o único a superar a afinidade da propafenona obtendo energias mais negativas no complexo com os dois alvos.

Analisando de forma geral, apesar da maior afinidade do análogo *rac-5b* com o receptor beta 1, o análogo *rac-5c* mostrou ser a molécula mais promissora, pois, apresentou, praticamente, as menores energias de ligação com os receptores estudados dentre todos os análogos sintetizados formando complexos com energias de ligação de -8,5 e -7,2 kcal/mol para os receptores beta 1 e beta 2, respectivamente, e -7,6 kcal/mol com o receptor dos canais de sódio. Vale ressaltar que todos os valores obtidos por esse análogo foram menores que os obtidos pelo fármaco propafenona.

É sabido que a formação de um complexo proteína-ligante depende da grande afinidade e especificidade de ligação do ligante com a proteína. A afinidade e especificidade são resultados de interações intermoleculares como, forças de van der Waals, interações hidrofóbicas, π - π , interações iônicas, ligações de hidrogênio e ligações covalentes (GURYANOV, FIORUCCI, TENNIKOVA, 2016). A representação bidimensional/tridimensional de resíduos de interação entre os ligantes (propafenona, *rac-5a*, *rac-5b*, *rac-5c* e *rac-5d*) e os alvos β 1 adrenérgico, β 2 adrenérgico e canal de sódio, estão representados nas **figuras 12 a 26**.

Conforme a **figura 12**, a propafenona interage com os resíduos de aminoácidos do receptor beta1 através de interação hidrofóbica do tipo π -alquila e de van der Waals em sua maioria. Além dessas interações, também ocorrem interações π -sigma e π -enxofre entre um dos anéis benzênicos do ligante e os resíduos de isoleucina (ILE A:241) e de metionina (MET A:283), respectivamente, e ligação de hidrogênio com o resíduo de glutamina (GLN A:237) com a porção da molécula onde está presente a hidroxila.

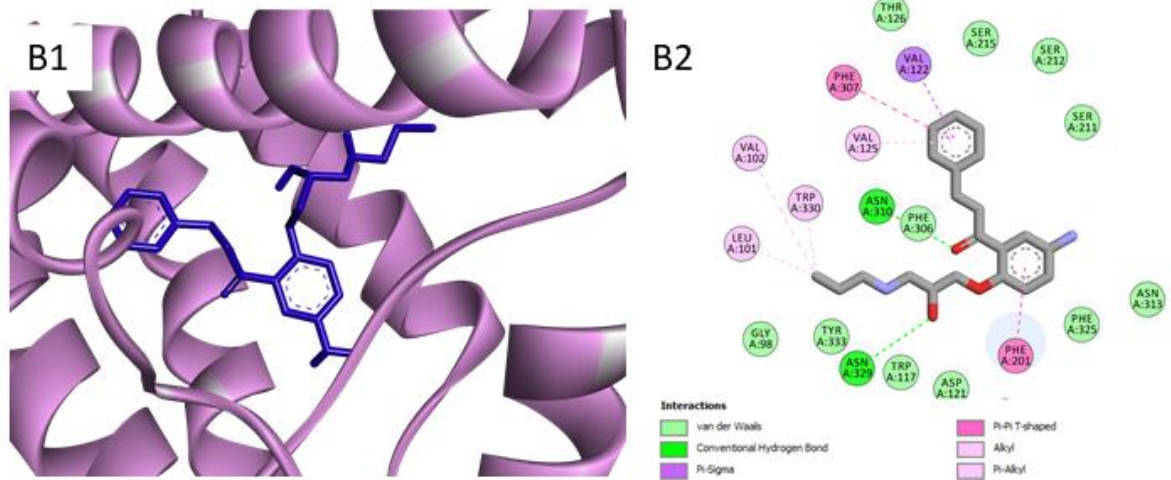
Figura 12. Representação bidimensional/tridimensional de resíduos de interação entre o ligante propafenona e o alvo BETA1 adrenérgico. A 1: Sítio ativo do receptor BETA1 adrenérgico interagindo com a propafenona. A 2: interações intermoleculares entre propafenona e BETA1 adrenérgico.



Entre as interações presentes no complexo enzima- *rac-5a* referente ao alvo beta1, como apresentado na **figura 13**, destaca-se as ligações de hidrogênio dos resíduos de asparagina

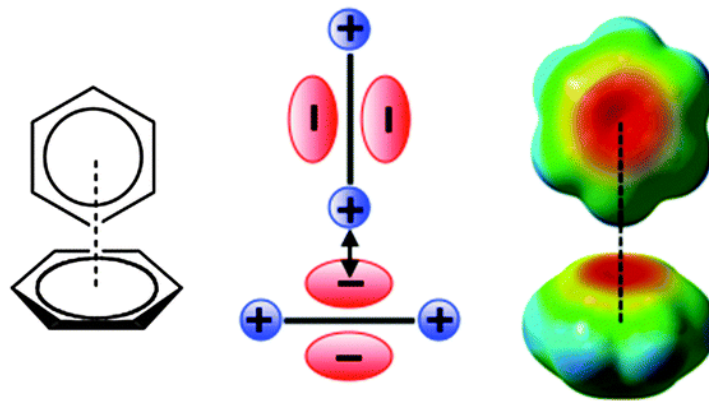
(ASN A:310 e ASN A:329) com o átomo de oxigênio da carbonila e com a hidroxila presente na molécula. As ligações de hidrogênio possuem maior força dentre as interações não covalentes, portanto, a nível intramolecular, são responsáveis pela manutenção da estabilidade de conformações bioativas de macromoléculas (DUNN, 2010).

Figura 13. Representação bidimensional/tridimensional de resíduos de interação entre o ligante *rac-5a* e o alvo BETA1 adrenérgico. B1: Sítio ativo do receptor BETA1 adrenérgico interagindo com *rac-5a*. B2: interações intermoleculares entre *rac-5a* e BETA1 adrenérgico.



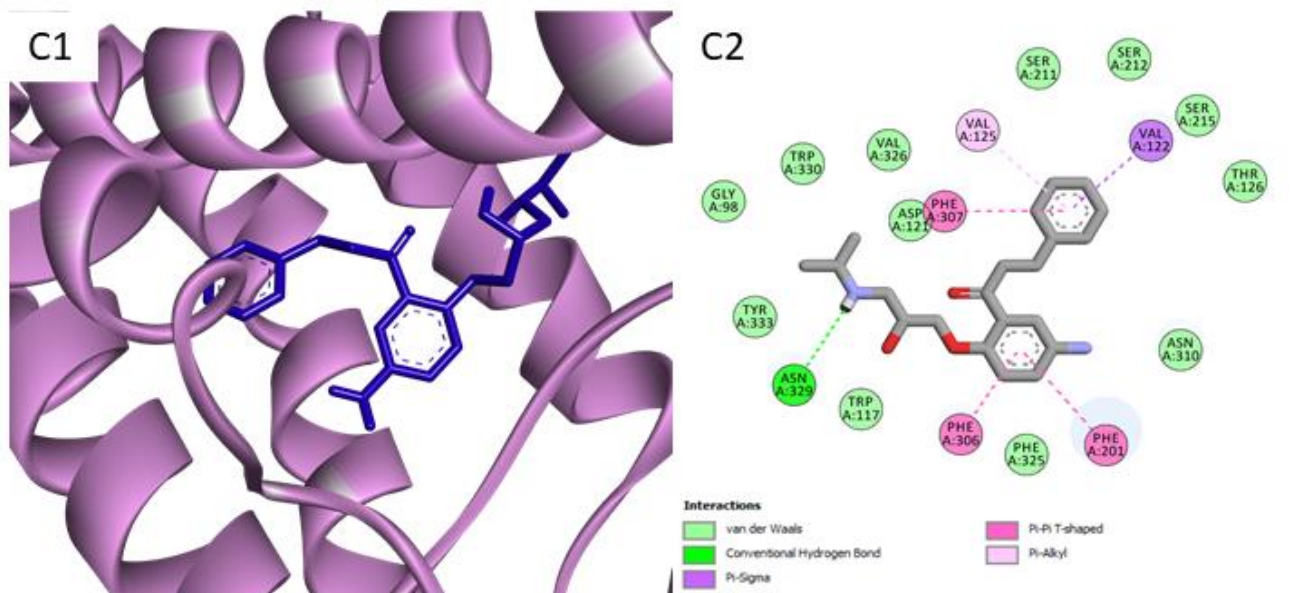
Estão presentes também interações π -sigma e π - π “T-shaped” (**figura 14**) com os dois anéis benzênicos tanto no complexo com o análogo *rac-5a* quanto com o análogo *rac-5b* (**figura 15**). Os anéis benzênicos, embora não possuam um dipolo permanente, existe um quadrupolo forte considerando que acima e abaixo do anel se formam dois polos que se cancelam, mas que contribuem de forma eletrostática e favorável em todas as orientações, mas especialmente na interação em T devido à melhor orientação entre os quadrupolos (GUIMARÃES, 2012). O *rac-5b* também interage com o beta1 via ligação de hidrogênio entre o resíduo de asparagina (ASN A:329) e a porção amino da molécula.

Figura 14. Representação da interação π - π “T-shaped”



Fonte: MATTHEWS; WELTON; HUNT, 2014

Figura 15. Representação bidimensional/tridimensional de resíduos de interação entre o ligante *rac-5b* e o alvo BETA1 adrenérgico. C1: Sítio ativo do receptor BETA1 adrenérgico interagindo com *rac-5b*. C2: interações intermoleculares entre *rac-5b* e BETA1 adrenérgico.



Ligações de hidrogênio entre o resíduo de fenilalanina (PHE A:201) e a carbonila e entre o resíduo de aspartato (ASP A:200) e a hidroxila da molécula são interações que ocorrem no complexo entre o alvo Beta1 e o análogo *rac-5c*, como é possível observar na **figura 16**. Interações do tipo π -ânion (ASP A:121) e π - π stacking (**figura 17**) com dois resíduos de fenilalanina (PHE A:201 e PHE A:325) também estão presentes. Além da grande relevância nas interações de ligações de hidrogênio, a interação π - π stacking é de alta relevância biológica. Trata-se de uma interação entre dois anéis aromáticos, os quais posicionam suas densidades eletrônicas π paralelas ao plano e estabilizam conformações estruturais com a agregação de cadeias laterais de proteínas, tendo em vista a recorrente presença de anéis aromáticos na estrutura química de fármacos em geral (DOUGHERTY, 2007).

Figura 16. Representação bidimensional/tridimensional de resíduos de interação entre o ligante *rac-5c* e o alvo BETA1 adrenérgico. D1: Sítio ativo do receptor BETA1 adrenérgico interagindo com *rac-5c*. D2: interações intermoleculares entre *rac-5c* e BETA1 adrenérgico.

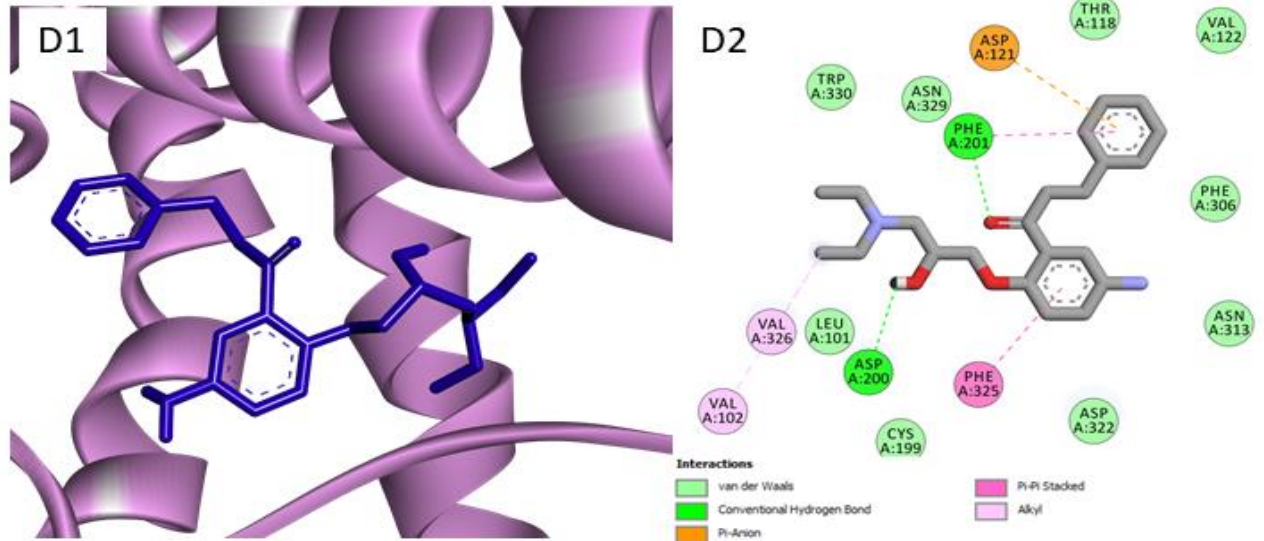
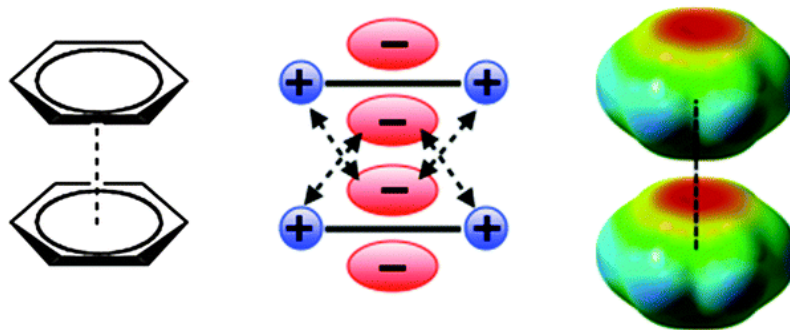


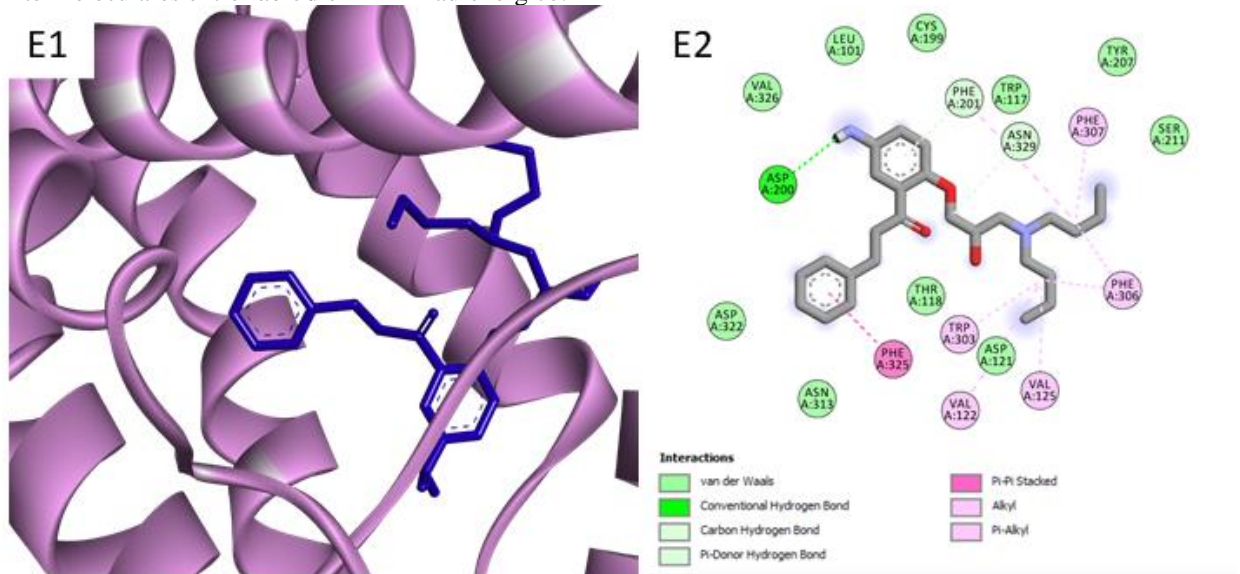
Figura 17. Representação da interação π - π stacking.



Fonte: MATTHEWS; WELTON; HUNT, 2014

Por fim, as interações que acontecem no complexo entre o alvo beta1 adrenérgico e o análogo *rac-5d* estão presentes na **figura 18**. Possivelmente, devido ao maior número de átomos de carbono presentes na amina inserida na cadeia lateral, ocorre mais interações alquila (sigma-sigma). No entanto, cabe destacar a interação π - π stacking que ocorre entre um dos anéis benzênicos do análogo *rac-5d* e o resíduo de fenilalanina (PHE A:325), bem como a ligação de hidrogênio com o resíduo de aspartato (ASP A:200) e o grupo amino do anel benzênico fenólico do referido análogo.

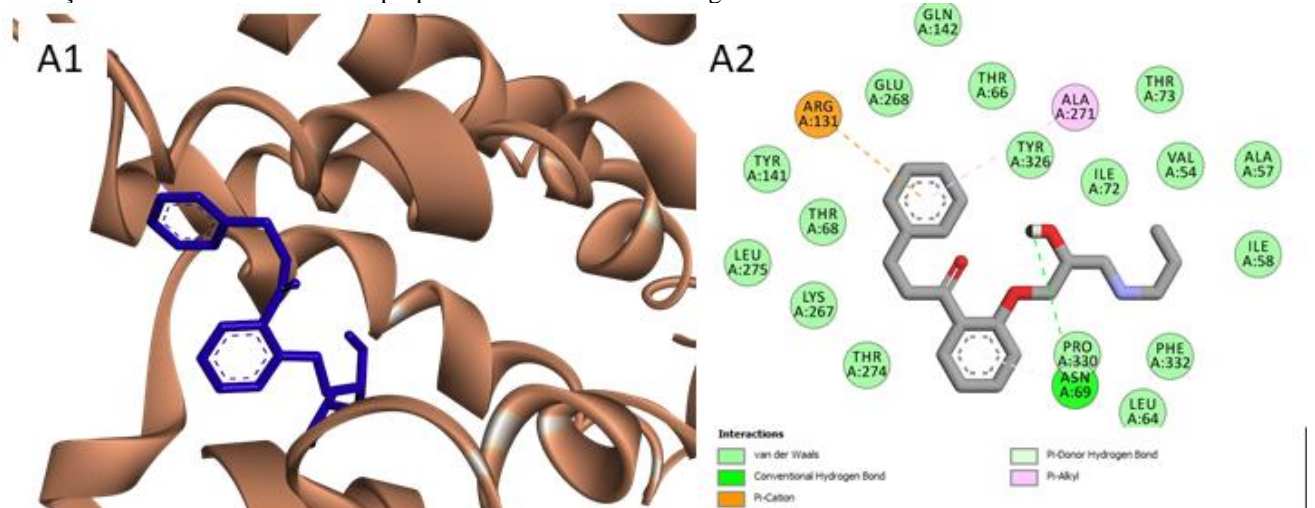
Figura 18. Representação bidimensional/tridimensional de resíduos de interação entre o ligante *rac-5d* e o alvo BETA1 adrenérgico. E1: Sítio ativo do receptor BETA1 adrenérgico interagindo com *rac-5d*. E2: interações intermoleculares entre *rac-5d* e BETA1 adrenérgico.



Ao contrário da propafenona, as interações dos análogos sintetizados com o alvo beta2 adrenérgico levaram a valores de energias maiores em comparação às obtidas com o alvo beta1 adrenérgico, como observado na **tabela 9**. As **figuras 19-23** representam as interações da propafenona e dos análogos *rac-5a-d* com o alvo beta2 adrenérgico.

A **figura 19** apresenta as interações com a propafenona. Nota-se que o complexo apresenta interações de van der Waals em maior quantidade e três diferentes interações, do tipo π -alquila com o resíduo alanina (ALA A:271), ligação de hidrogênio com o resíduo asparagina (ASN A:69) e uma interação π -cátion com o resíduo arginina (ARG A:131).

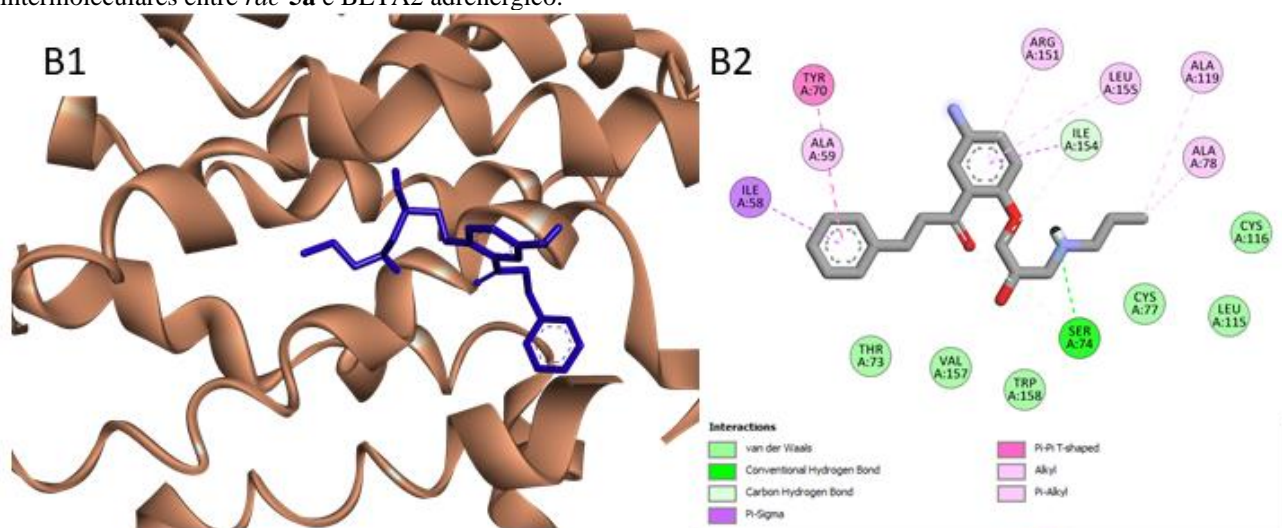
Figura 19. Representação bidimensional/tridimensional de resíduos de interação entre o ligante propafenona e o alvo BETA2 adrenérgico. A1: Sítio ativo do receptor BETA2 adrenérgico interagindo com a propafenona. A2: interações intermoleculares entre a propafenona e BETA2 adrenérgico



A interação π -cátion envolve espécies catiônicas com compostos aromáticos, determinadas por força eletrostática. São da mesma intensidade de ligações hidrogênio (MA, 1997), recorrente em sistemas biológicos. No entanto, encontra-se uma grande dificuldade em enfatizar a contribuição singular por envolver também forças de **van der Waals** e efeitos de polarização, mas estudos demonstraram que a presença de efeitos indutivos nesse tipo de interação desempenha um papel importante (DOUGHERTY, 2012). Destaca-se um maior potencial se o ligante, com um sistema rico em elétrons π agir como receptor da interação π -cátion de resíduos como arginina (Arg) e lisina (Lys) ou histidina (His) protonadas (CABALEIRO-LAGO; RODRÍGUEZ-OTERO; PEÑA-GALLEGO, 2011).

As interações mais frequentes no complexo beta2 adrenérgico e o ligante *rac-5a* (**figura 20**) são interações do tipo alquila, π -alquila e de van der Waals, seguida de ligação de hidrogênio com o resíduo serina (SER A:74) e interações do tipo π - π “T-shaped” e π -sigma com os resíduos tirosina (TYR A:70) e isoleucina (ILE A:58), respectivamente.

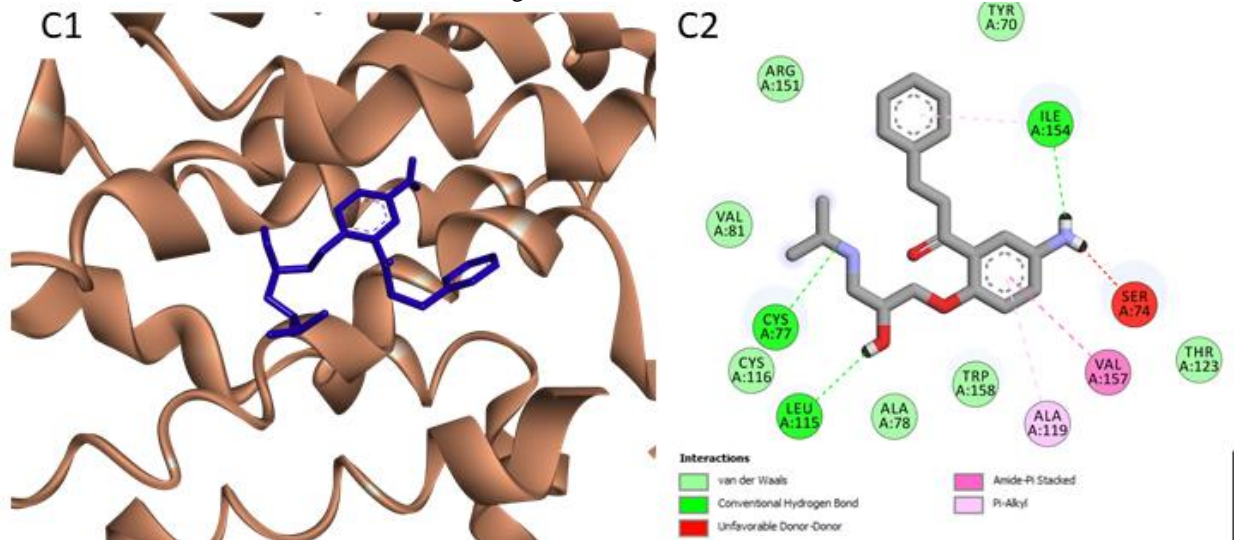
Figura 20. Representação bidimensional/tridimensional de resíduos de interação entre o ligante *rac-5a* e o alvo BETA2 adrenérgico. B1: Sítio ativo do receptor BETA2 adrenérgico interagindo com *rac-5a*. B2: interações intermoleculares entre *rac-5a* e BETA2 adrenérgico.



A representação das interações do complexo formado com o análogo *rac-5b*, como mostra a **figura 21**, envolvem ligações de hidrogênio, em maior destaque, nas porções da molécula onde estão presentes a hidroxila, o grupo amino ligado ao anel benzênico e o grupo propilamino ligado na cadeia carbônica lateral, bem como interações π -alquila e do tipo amida- π -stacking. Cabe ressaltar que a interação entre o grupo amino ligado ao anel aromático e o resíduo serina (SER A:74) ocorreu de forma não-favorável, possivelmente por causa das distorções que ocorrem na molécula, ao propor o complexo, como formação de ângulos e/ou

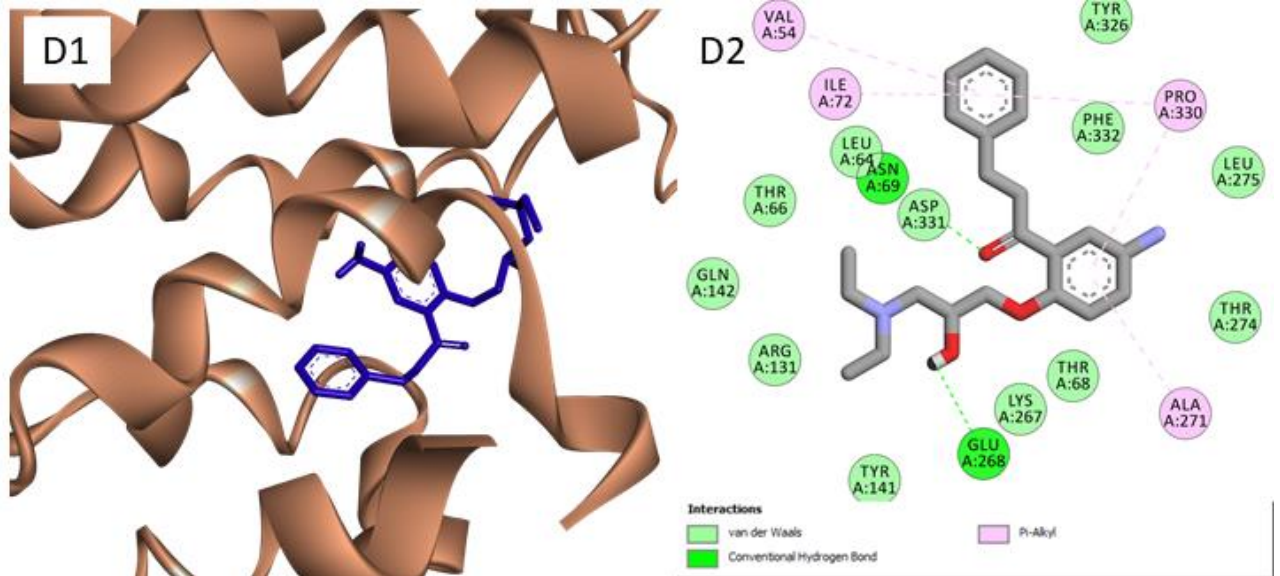
comprimentos de ligações desfavoráveis que podem levar a repulsões eletrostáticas e estéricas (CARVALHO, *et. al.*, 2003; IRANNEJAD, *et. al.*, 2020)

Figura 21. Representação bidimensional/tridimensional de resíduos de interação entre o ligante *rac-5b* e o alvo BETA2 adrenérgico. C1: Sítio ativo do receptor BETA2 adrenérgico interagindo com *rac-5b*. C2: interações intermoleculares entre *rac-5b* e BETA2 adrenérgico.



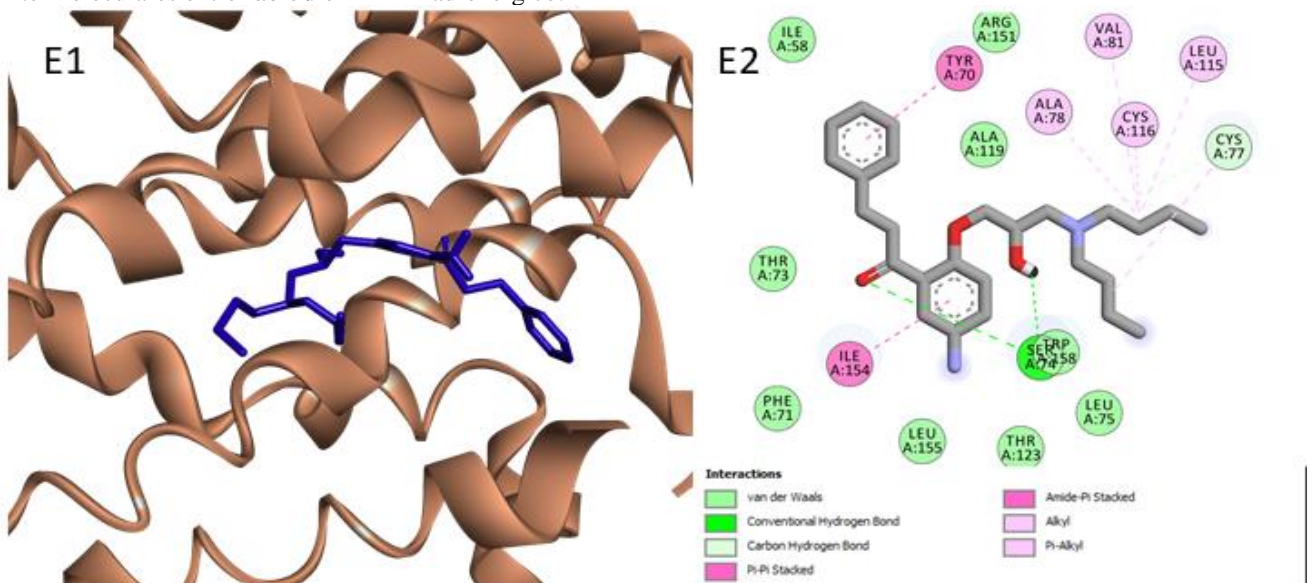
No complexo formado utilizando o ligante *rac-5c* (figura 22), ocorrem um número considerável de interações, porém, apenas de três tipos. Além da presença de interações π -alquila e de van der Waals, destacam-se, novamente, as ligações de hidrogênio realizadas entre a carbonila e a hidroxila do referido análogo, semelhante às observadas no complexo com o alvo beta1 adrenérgico. Porém, nesse caso, as ligações de hidrogênio envolvem os resíduos asparagina (ASN A: 69) e glutamato (GLU A:268), respectivamente.

Figura 22. Representação bidimensional/tridimensional de resíduos de interação entre o ligante *rac-5c* e o alvo BETA2 adrenérgico. D1: Sítio ativo do receptor BETA2 adrenérgico interagindo com *rac-5c*. D2: interações intermoleculares entre *rac-5c* e BETA2 adrenérgico.



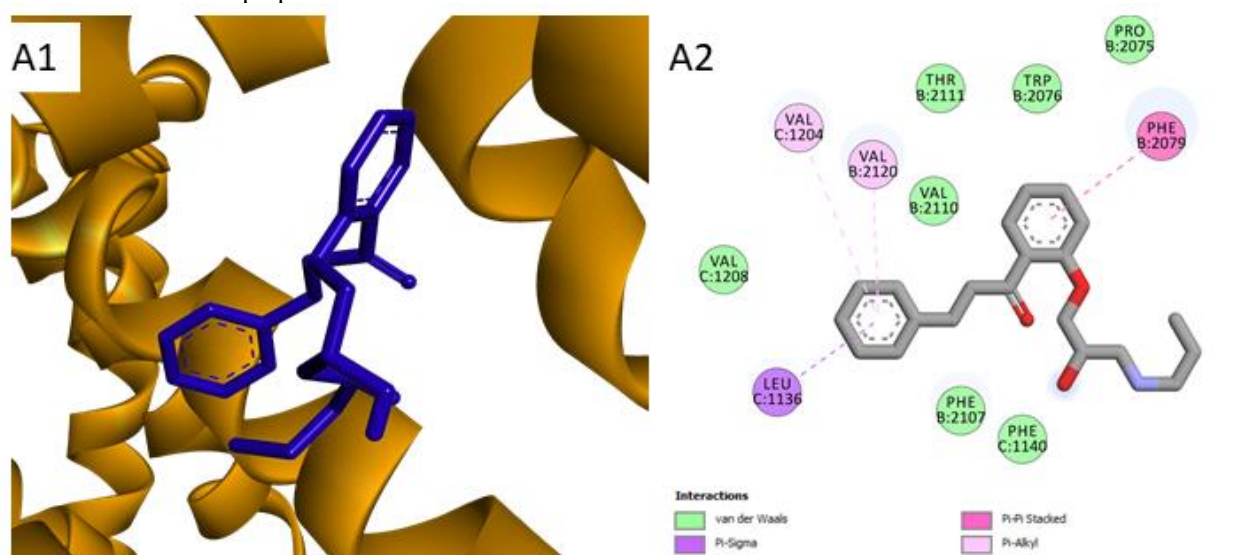
Na série de moléculas avaliadas com o alvo beta2 adrenérgico, de acordo com os valores apresentados na **tabela 9**, o análogo *rac-5d* apresentou a energia de ligação menos favorável. Como mostra a **figura 23**, a interação alquila (sigma-sigma), π -alquila, π - π stacking, e do tipo amida- π stacking estão presentes na formação desse complexo enzima-ligante. Além disso, o resíduo serina (SER A: 74) forma uma ligação de hidrogênio com o referido análogo.

Figura 23. Representação bidimensional/tridimensional de resíduos de interação entre o ligante *rac-5d* e o alvo BETA2 adrenérgico. E1: Sítio ativo do receptor BETA2 adrenérgico interagindo com *rac-5d*. E2: interações intermoleculares entre *rac-5d* e BETA2 adrenérgico.



As **figuras 24 a 28** apresentam as interações que ocorrem nos complexos enzima-ligante entre a proteína do canal de sódio com a propafenona e análogos. Em relação as interações com o fármaco propafenona e o canal de sódio, quatro tipos de interações podem ser observados na **figura 24**. Além de interações de van der Waals, vemos interações π -sigma e π - π stacking com os resíduos leucina (LEU C:1136) e fenilalanina (PHE B:2079), respectivamente, e por fim, π -alquila com dois resíduos de valina (VAL B:2120 e VAL C:1204).

Figura 24. Representação bidimensional/tridimensional de resíduos de interação entre o ligante propafenona, e o alvo de canal de sódio. A1: Sítio ativo do canal de sódio interagindo com a propafenona. A2: interações intermoleculares entre propafenona e canal de sódio.



Na formação dos complexos entre o canal de sódio e os análogos *rac-5a* (**figura 25**) e *rac-5b* (**figura 26**), notou-se que as interações que ocorreram foram do mesmo tipo. Observou-se interações de van der Waals, π -sigma, π - π stacking, π -alquila e ligações de hidrogênio. As ligações de hidrogênio ocorreram entre o grupo amino do anel aromático fenólico e o resíduo treonina (THR B:2111) no análogo *rac-5a* e com o resíduo fenilalanina (PHE D:2107) no análogo *rac-5b*.

Figura 25. Representação bidimensional/tridimensional de resíduos de interação entre o ligante *rac-5a* e o alvo de canal de sódio. B1: Sítio ativo do canal de sódio interagindo com *rac-5a*. B2: interações intermoleculares entre *rac-5a* e canal de sódio.

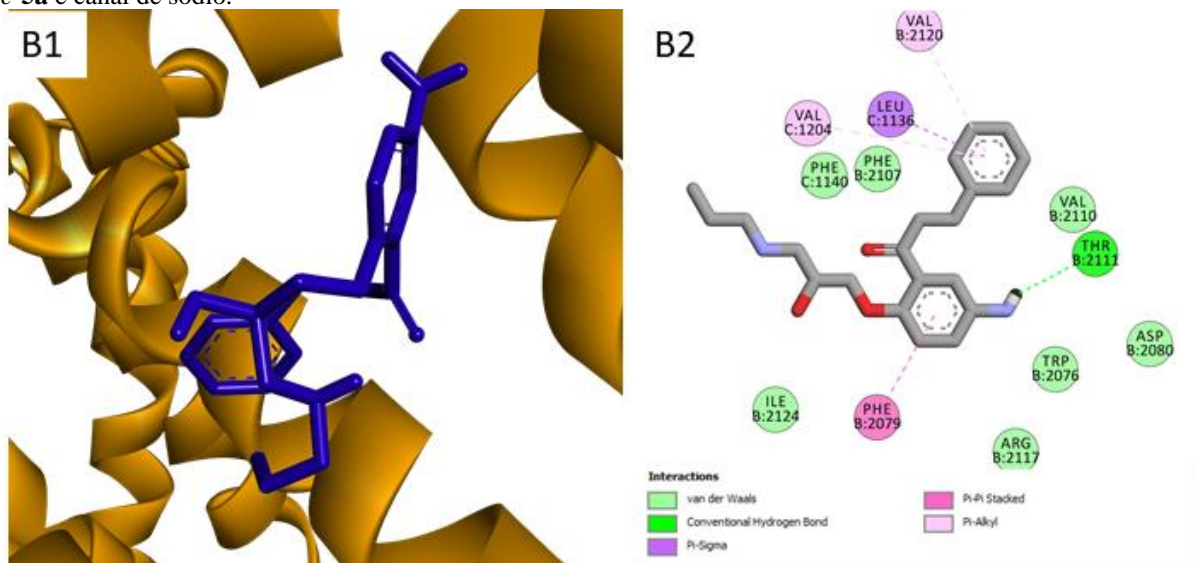
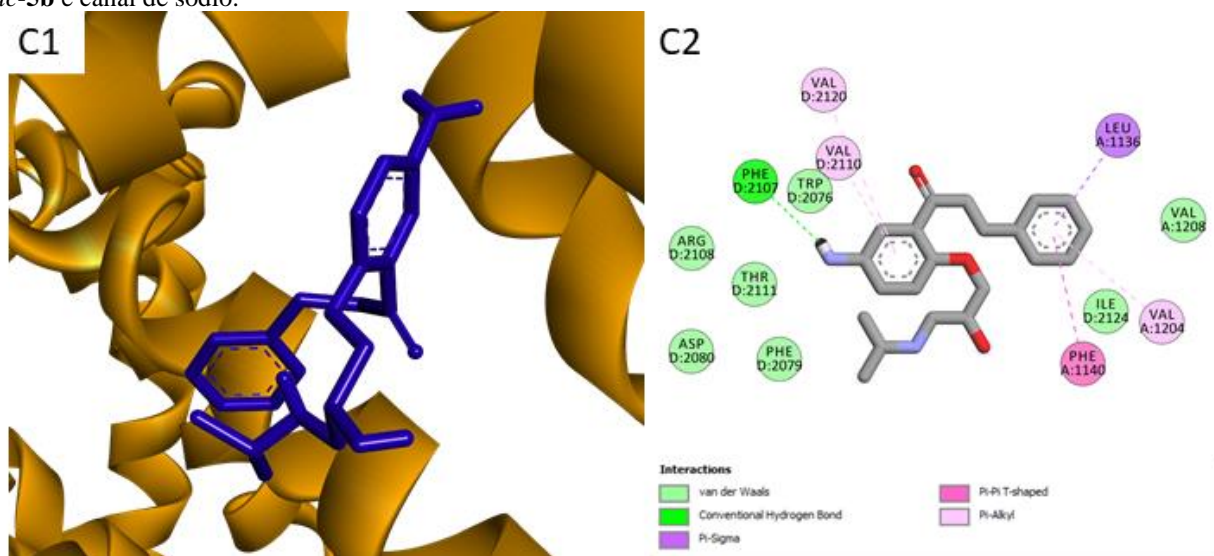
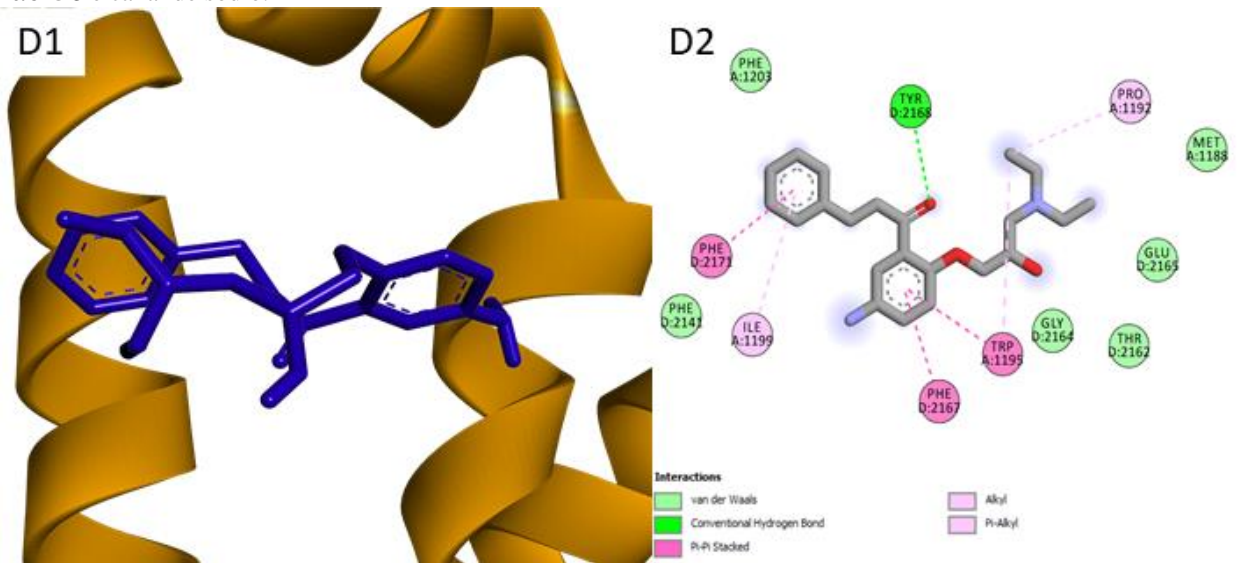


Figura 26. Representação bidimensional/tridimensional de resíduos de interação entre o ligante *rac-5b* e o alvo de canal de sódio. C1: Sítio ativo do canal de sódio interagindo com *rac-5b*. C2: interações intermoleculares entre *rac-5b* e canal de sódio.



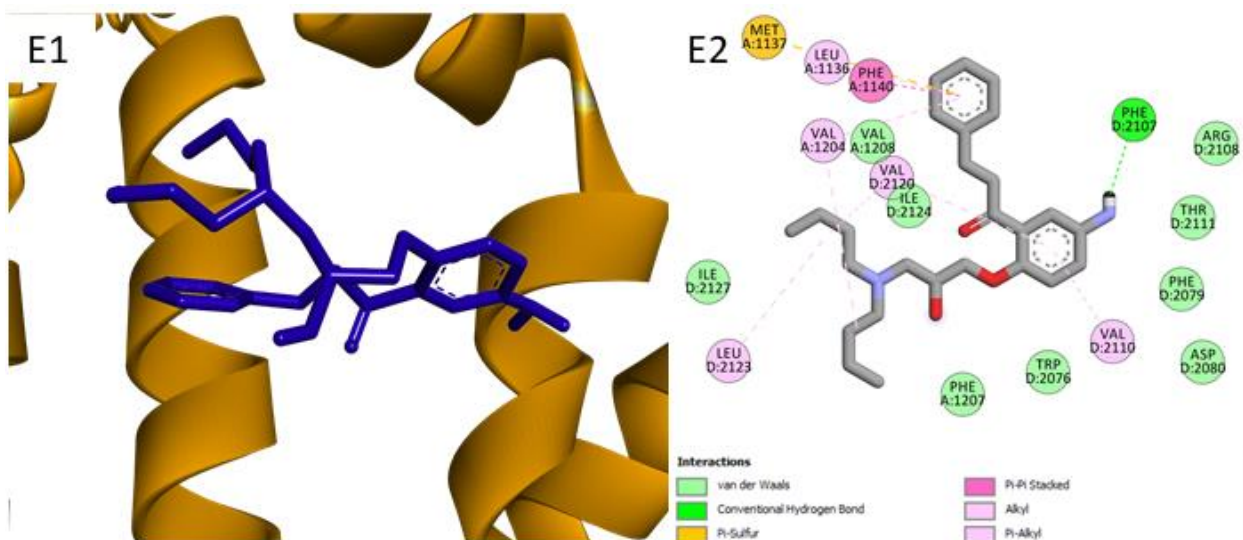
Divergindo dos demais análogos, no complexo com o análogo *rac-5c* (figura 27), a ligação de hidrogênio ocorre com a carbonila e o resíduo tirosina (TYR D:2168). As demais envolveram os anéis benzênicos e interações π - π stacking, alquila e π -alquila.

Figura 27. Representação bidimensional/tridimensional de resíduos de interação entre o ligante *rac-5c* e o alvo de canal de sódio. D1: Sítio ativo do canal de sódio interagindo com *rac-5c*. D2: interações intermoleculares entre *rac-5c* e canal de sódio.



Por fim, a **figura 28** exibe as interações entre o canal de sódio e o análogo *rac-5d*. No complexo, o resíduo de fenilalanina (PHE D:2107) interage com o grupo amino ligado ao anel aromático fenólico com uma ligação de hidrogênio. Observa-se também, interações de van der Waals, π -enxôfre, π - π stacking, π -alquila e alquila.

Figura 28. Representação bidimensional/tridimensional de resíduos de interação entre o ligante *rac-5d* e o alvo de canal de sódio. E1: Sítio ativo do canal de sódio interagindo com *rac-5d*. E2: interações intermoleculares entre *rac-5d* e canal de sódio.



4 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

4.1 Instrumentos

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

Os acompanhamentos das reações de hidrólise na resolução cinética enzimática foram realizados em um cromatógrafo líquido de alta eficiência Shimadzu LC-20AT e detector UV-VIS Shimadzu SPD-M20A, com colunas quirais Chiralpak[®]AS-H de dimensões 150 x 4,6 mm e Chiralpak[®]OD-H de dimensões 150 x 4,6 mm, ambas comercializadas pela Daicel. Foi utilizado como fase móvel uma mistura binária de hexano e isopropanol (IPA) na proporção de 70:30, respectivamente, em modo isocrático.

- *rac*-1-(5-amino-2-(3-cloro-2-hidroxi-propoxi)fenil)-3-fenilpropan-1-ona (*rac*-5) teve os seguintes tempos de retenção 1º enantiômero: 7,02 min.; 2º enantiômero: 9,46 min (coluna Chiralpak[®]AS-H).
- *rac*-acetato de 1-(4-amino-2-(3-fenilpropanoil)fenoxi)-3-cloropropan-2-ila (*rac*-7) teve os seguintes tempos de retenção 1º enantiômero: 10,44 min.; 2º enantiômero: 12,58 min (coluna Chiralpak[®]OD-H).

Os pontos de fusão não corrigidos das substâncias foram determinados em um aparelho da marca Microquímica de modelo MQAPF-301.

As reações com agitação foram realizadas em um *shaker* de bancada com uma incubação refrigerada da marca Analítica de modelo SI-300R.

4.2 Solventes e reagentes

4.2.1 Solventes empregados

Acetato de etila, acetona, clorofórmio, diclorometano, éter etílico, tolueno, hexano e isopropanol, todos P.A., de procedência Synth. O hexano e isopropanol grau CLAE, foram da marca BIOGRADE. O THF foi de procedência Sigma-aldrich.

4.2.2 Reagentes empregados

Boro-hidreto de sódio, trietilamina e 2-hidroxi-3-fenilpropan-1-ona de procedência Sigma-Aldrich. Epicloridrina de procedência Fluka Analytical. Ácido clorídrico, sulfato de sódio anidro e ácido nítrico de procedência Vetec[®]. Anidrido acético, ácido acético glacial e o

carbonato de potássio, de procedência Dinâmica®. 4-Dimetilaminopiridina (DMAP), de procedência ACROS ORGANICS.

4.3 Lipases utilizadas

Amano lipase G de *Penicillium camemberti* (50.0 U/g), lipase de *Thermomyces lanuginous* imobilizada em imobead-150 (250.0 U/g), Amano lipase PS de *Burkholderia cepacia* (≥ 500 U/g), Amano lipase M de *Mucor javanicus* ($\geq 10,000$ U/g), lipase de *Candida rugosa* (1.4 U/g), lipase de *Rhizopus niveus* (≥ 1.5 U/mg), lipase de pâncreas de porco (46.0 U/g), lipase de *Candida antarctica* imobilizada em resina acrílica (7,300.0 U/g), Amano lipase AK de *Pseudomonas fluorescens* (22,100.0 U/g), Amano lipase de *Pseudomonas fluorescens* imobilizada em imobead-150 (≥ 600 U/g), Amano lipase de *Pseudomonas fluorescens* imobilizada em Sol-Gel-AK (≥ 30 U/g) e Amano lipase de *Pseudomonas fluorescens* imobilizada em Sol-Gel-AK em pedra-pomes (≥ 8.0 U/g), todas comerciais de procedência Sigma Aldrich.

Lipozyme RM-IM de *Rhizomucor miehei* (150.0 U/g), imobilizada em resina aniônica de procedência Novo Nordisk.

4.4 Adsorventes utilizados

As cromatografias em coluna vertical foram efetuadas utilizando sílica gel 60-230 mesh, comercial, de procedência Vetec®. Nas análises por cromatografia em camada delgada (CCD), foi empregado gel de sílica *flash* 60G (5-40 μ m) comercial, provenientes da marca Sigma Chemical Co® com camada de 250 μ m de espessura e dimensões de 10 x 5 cm.

Após eluição das substâncias nas cromato placas, procedeu-se com a revelação através de pulverização com solução de ninidrina 0,25% em água ou solução de vanilina (5 g) e ácido perclórico (0,75 mol/L, 100 ml) em 100 mL de etanol, seguido de aquecimento a 100 °C com pistola aquecedora da marca Dekel® modelo DK1060, por aproximadamente 1 min.

4.5 Procedimento experimental para a preparação das substâncias 1, 2, *rac*-3, *rac*-4, *rac*-5, *rac*-6, *rac*-7, 8, *rac*-5a, *rac*-5b, *rac*-5c e *rac*-5d

4.5.1 Síntese do 1-(2-hidroxi-5-nitrofenil)-3-fenilpropan-1-ona (**1**) e 1-(2-hidroxi-3-nitrofenil)-3-fenilpropan-1-ona (**2**)

Em um balão de 15 mL, contendo uma solução de 1-(2-hidroxifenil)-3-fenilpropan-1-ona (226 mg, 1 mmol), em ácido acético glacial (860 μ L), foram adicionados 67 μ L de ácido nítrico 65%. A mistura foi agitada à temperatura ambiente por 40 min e a 45-50 °C por 16 h. Após esse período, foram adicionados 3 mL de água destilada e realizada uma extração da fase aquosa com AcOEt (3 x 20 mL). A fase orgânica foi secada com Na₂SO₄ anidro, filtrada e o solvente foi evaporado à pressão reduzida. Os produtos obtidos foram purificados utilizando uma coluna cromatográfica com gel de sílica *flash* como fase estacionária e hexano/AcOEt 5% como fase móvel. O produto **1** foi obtido com 60% de rendimento como um sólido branco, R_f = 0,57 (hexano/AcOEt 5%). O produto **2** foi obtido como um sólido marrom claro com 35% de rendimento com R_f = 0,25 (hexano/AcOEt 5%).

4.5.2 Síntese do 1-(5-nitro-2-(oxiran-2-ilmetoxi)fenil)-3-fenilpropan-1-ona (*rac*-**3**) e 1-(2-(3-cloro-2-hidroxi-propoxi)-5-nitrofenil)-3-fenilpropan-1-ona (*rac*-**4**)

Dissolveu-se 1 mmol (271 mg) do composto nitrado **1** em 1 mL de acetona, seguido da adição de 30 eqv. (2,8 g) de epícloridrina racêmica e 1,2 eqv. (165,6 mg) de K₂CO₃ pulverizado. A mistura foi mantida por 48 h sob refluxo e, em seguida, foi concentrada sob pressão reduzida, obtendo-se um óleo amarelo que foi dissolvido em CH₂Cl₂ e lavado com água destilada. A fase orgânica foi secada com Na₂SO₄ anidro, filtrada e o solvente foi evaporado à pressão reduzida. O óleo amarelo foi purificado utilizando uma coluna cromatográfica com gel de sílica *flash* como fase estacionária e 100% CH₂Cl₂ como fase móvel, obtendo-se o *rac*-**3** como um sólido branco, com 70% de rendimento e R_f = 0,5, em 100% CH₂Cl₂ e o *rac*-**4** como um sólido branco, com 25% de rendimento e R_f = 0,2, em 100% CH₂Cl₂.

O *rac*-**3** foi convertido a *rac*-**4** dissolvendo-se 363 mg (1 mmol) do *rac*-**3** em 1 mL de diclorometano, à temperatura ambiente, e adicionando HCl_{conc.} (0,3 mL), gota a gota, sob agitação, até a completa dissolução do substrato. A reação foi acompanhada por CCD e após 1 h foram adicionados 5 mL de água destilada. As fases foram separadas e a fase aquosa foi extraída com CH₂Cl₂. As fases orgânicas foram reunidas e secadas com Na₂SO₄ anidro, seguido de filtração e evaporação do solvente à pressão reduzida. Foi obtido um óleo transparente que foi purificado em coluna cromatográfica com gel de sílica *flash* como fase estacionária e hexano/AcOEt 40% como fase móvel, com obtenção de *rac*-**4** com 85% de rendimento e com R_f = 0,75 em hexano/AcOEt 40%.

4.5.3 Síntese do acetato de 1-cloro-3-(4-nitro-2-(3-fenilpropanoil)fenoxi)propan-2-ila (*rac-6*)

Foram adicionados em 5 mL de CH₂Cl₂, 3 mmol (306mg) de anidrido acético, 1 mmol (112 mg) de 4-dimetilaminopiridina (DMAP) e 1 mmol (363 mg) de *rac-4*. A mistura foi agitada, à temperatura ambiente, durante 1 h. Após este tempo reacional, foram adicionados 5 mL de água destilada, seguida de uma extração com diclorometano (3 x 10 mL). A fase orgânica foi secada com Na₂SO₄ anidro, filtrada e o solvente foi evaporado à pressão reduzida. O produto bruto foi purificado em coluna cromatográfica com gel de sílica *flash* como fase estacionária e hexano/AcOEt 40% como fase móvel, com obtenção de *rac-6* como um sólido branco com 98% de rendimento e R_f = 0,7 em hexano/AcOEt 40%.

4.5.4 Síntese do 1-(5-amino-2-(3-cloro-2-hidroxipropoxi)fenil)-3-fenilpropan-1-ona (*rac-5*) e acetato de 1-cloro-3-(4-nitro-2-(3-fenilpropanoil)fenoxi)propan-2-ila (*rac-7*)

Dissolveu-se em 100 mL de água destilada, 5,7 mmol (1,6 g) de FeSO₄·7H₂O e 1 mmol (200 mg) de ácido cítrico. Após a solução ficar sob agitação durante 2-3 min, foram adicionados 5 mmol (200 mg) de NaBH₄ e as nanopartículas de ferro (Fe⁰) foram filtradas. Posteriormente, em um frasco de *Schlenk*, dissolveu-se 0,3 mmol do substrato (*rac-4* ou *rac-6*) em 10 mL de éter etílico, sob atmosfera de nitrogênio, seguido da adição das nanopartículas de ferro (600 nm). A reação foi realizada em pH 6 por um período de 24 h. Após esse tempo, foram adicionados gota a gota, uma solução saturada de K₂CO₃ até o meio reacional atingir pH 8, seguido de extração da fase aquosa com AcOEt (4 x 30 mL). Em seguida, a fase orgânica foi secada com Na₂SO₄ anidro, filtrada e o solvente foi evaporado à pressão reduzida. Purificou-se os produtos em coluna cromatográfica com gel de sílica *flash* como fase estacionária. Utilizou-se para o *rac-5* (sólido marrom, R_f = 0,4, em hexano/AcOEt 1:1) uma fase móvel com hexano/AcOEt 1:1) obtendo um rendimento de 70%. Para o *rac-7* (óleo marrom, R_f = 0,5 em hexano/AcOEt 40%), utilizou-se como fase móvel hexano/AcOEt 40%, obtendo um rendimento de 50%.

4.5.5 Síntese do análogo da propafenona aminado em C-5 racêmico: 1-(5-amino-2-(2-hidroxi-3-(propilamino)propoxi)fenil)-3-fenilpropan-1-ona (*rac-5a*)

Adicionaram-se 35 mg (0,1 mmol) de *rac-5* em 1mL de acetonitrila, seguida da adição de 320 µL (37eqv.) de propilamina e 14,5 mg (0,1 mmol) de carbonato de potássio. A reação foi processada a 65 °C, com agitação magnética, por 8 h. Após este período, deixou-se a reação atingir a temperatura ambiente e em seguida, removeu-se a acetonitrila e o excesso de

propilamina sob pressão reduzida. O produto bruto foi dissolvido em 3 mL de diclorometano e lavado com água (3 x 3 mL). A fase orgânica foi secada com Na₂SO₄ anidro, filtrada e o solvente foi evaporado à pressão reduzida. Foi obtido um óleo amarelo, o qual foi purificado em coluna cromatográfica com gel de sílica *flash*, utilizando clorofórmio:isopropanol:triethylamina (70:30:0,6) como eluente. Após o processo de purificação foi obtido um sólido amarelo, com 50% de rendimento, com fator de retenção de 0,4 em clorofórmio:isopropanol:triethylamina (70:30:0,6).

4.5.6 Síntese do análogo da propafenona aminado em C-5 racêmico: 1-(5-amino-2-(2-hidroxi-3-(isopropilamino)propoxi)fenil)-3-fenilpropan-1-ona (rac-5b)

Adicionaram-se 40 mg (0,12 mmol) de *rac-5* em 1 mL de acetonitrila, seguida da adição de 364 µL (37eqv.) de isopropilamina e 16,6 mg (0,12 mmol) de carbonato de potássio. A reação foi processada a 65 °C, com agitação magnética, por 8 h. Após este período, deixou-se a reação atingir a temperatura ambiente e em seguida, removeu-se a acetonitrila e o excesso de isopropilamina sob pressão reduzida. O produto bruto foi dissolvido em 3 mL de acetato de etila e lavado com água (3 x 3 mL). A fase orgânica foi secada com Na₂SO₄ anidro, filtrada e o solvente foi evaporado à pressão reduzida. Foi obtido um óleo amarelo, o qual foi purificado em coluna cromatográfica com gel de sílica *flash*, utilizando clorofórmio:isopropanol:triethylamina (70:30:0,6) como eluente. Após o processo de purificação, foram obtidos um sólido amarelo com 60% de rendimento, com fator de retenção de 0,4 em clorofórmio:isopropanol:triethylamina (70:30:0,6).

4.5.7 Síntese do análogo da propafenona aminado em C-5 racêmico: 1-(5-amino-2-(3-dietilamino)-2-hidroxipropoxi)fenil)-3-fenilpropan-1-ona (rac-5c)

Adicionaram-se 52 mg (0,15 mmol) de *rac-5* em 1 mL de acetonitrila, seguida da adição de 603 µL (37eqv.) de dietilamina e 21,5 mg (0,15 mmol) de carbonato de potássio. A reação foi processada a 65 °C, com agitação magnética, por 6 h. Após este período, deixou-se a reação atingir a temperatura ambiente e em seguida, removeu-se a acetonitrila e o excesso de dietilamina sob pressão reduzida. O produto bruto foi dissolvido em 3 mL de acetato de etila e lavado com água (3 x 3 mL). A fase orgânica foi secada com Na₂SO₄ anidro, filtrada e o solvente foi evaporado à pressão reduzida. O produto bruto foi purificado em coluna cromatográfica com gel de sílica *flash*, utilizando clorofórmio:isopropanol:triethylamina (70:30:0,6) como eluente. Após o processo de purificação, foi obtido um óleo marrom com 70%

de rendimento, com fator de retenção de 0,3 em clorofórmio:isopropanol:triethylamina (70:30:0,6).

4.5.8 Síntese do análogo da propafenona aminado em C-5 racêmico: 1-(5-amino-2-(3-(butil(pentil)amino)-2-hidroxiopropoxi)fenil)-3-fenilpropan-1-ona (rac-5d)

Adicionaram-se 36 mg (0,1 mmol) de *rac-5* em 1 mL de acetonitrila, seguida da adição de 674 μL (37eqv.) de dibutilamina e 15 mg (0,1 mmol) de carbonato de potássio. A reação foi processada a 80 °C, com agitação magnética, por 24 h. Após este período, deixou-se a reação atingir a temperatura ambiente e em seguida, removeu-se a acetonitrila e o excesso de dibutilamina sob pressão reduzida. O produto bruto foi dissolvido em 3 mL de acetato de etila e lavado com água (3 x 3 mL). A fase orgânica foi secada com Na_2SO_4 anidro, filtrada e o solvente foi evaporado à pressão reduzida. Foi obtido um óleo marrom, o qual foi purificado em coluna cromatográfica com gel de sílica *flash*, utilizando 100% acetato de etila como eluente. Após o processo de purificação, foi obtido um óleo amarelo com 35% de rendimento, com fator de retenção de 0,3 em acetato de etila.

4.5.9 Procedimento geral da resolução cinética enzimática do rac-acetato de 5-(4-amino-2-(3-fenilpropanoil)fenoxi)-4-(clorometil)pentan-2-ona (rac-7), via reação de hidrólise, empregando lipases comerciais.

Em um *Erlenmeyer* de 10 mL, dissolveram-se 10 mg do éster *rac-7* em 53 μL de tolueno, seguida da adição de 213 μL de tampão fosfato, 0,1M, pH 7 e 10 mg da lipase, [proporção enzima: substrato (m:m) de 1:1]. A reação foi processada a 40 °C durante 30 h, com agitação orbital de 250 rpm. Posteriormente, o produto foi extraído com acetato de etila (3 x 1 mL), sendo a fase orgânica tratada com sulfato de sódio anidro. Após filtração, evaporou-se o solvente sob pressão reduzida. Em seguida, purificou-se o produto em coluna cromatográfica, empregando gel de sílica *flash* como fase estacionária e como eluente uma mistura ternária de clorofórmio, acetato de etila e hexano na proporção de 50:40:10, respectivamente. Finalmente, a halodrina formada e o acetato remanescente quirais foram analisados via CLAE utilizando colunas quirais para a determinação dos valores de excesso enantiomérico e de conversão.

4.5.10 Síntese do produto contendo a propilamina ligada diretamente ao anel benzênico nitrado: (1-(5-nitro-2-(propilamino)fenil)-3-fenilpropan-1-ona (8)

Adicionaram-se 40 mg (0,1 mmol) de *rac-4* em 1 mL de acetonitrila, seguida da adição de 320 μL (37eqv.) de propilamina e 14,5 mg (0,1 mmol) de carbonato de potássio. A

reação foi processada a 65 °C, com agitação magnética, por 8 h. Após este período, deixou-se a reação atingir a temperatura ambiente e em seguida, removeu-se a acetonitrila e o excesso de propilamina sob pressão reduzida. O produto bruto foi dissolvido em 3 mL de diclorometano e lavado com água (3 x 3 mL). A fase orgânica foi secada com Na₂SO₄ anidro, filtrada e o solvente foi evaporado à pressão reduzida. Foi obtido um óleo amarelo, o qual foi purificado em coluna cromatográfica com gel de sílica *flash*, utilizando CH₂Cl₂ como eluente. Após o processo de purificação, foram obtidos 12 mg de um sólido amarelo, com 35% de rendimento, com fator de retenção de 0,75 em 100% CH₂Cl₂.

4.6 Docking molecular

As estruturas da propafenona e seus análogos *rac-5a*, *rac-5b*, *rac-5c* e *rac-5d* foram modeladas tridimensionalmente no software Avogadro 1.1.2 (HANWELL *et al.*, 2012) e otimizada geometricamente utilizando o método Teoria Funcional da Densidade (DFT) com funcional de correlação B3LYP e base 6-31G(d) presentes no software GAMESS (BARCA *et al.*, 2020).

As estruturas proteicas (alvos) de receptor adrenérgico beta1 (PDB: 7BTS), receptor adrenérgico beta2 (PDB: 3NY9) e canal de sódio I217C (PDB: 6MVX) de organismo *homo sapiens* foram obtidas no Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/>). Todas as estruturas foram definidas pela técnica de difração de raios-X e com resolução entre 1.20 – 2.90 Å. As posições dos encaixes do *docking molecular* foram baseadas no ligante nativo das macromoléculas e sua confirmação realizada com o uso do Web Server Computed Atlas of Surface Topography of proteins - CASTp (<http://sts.bioe.uic.edu/castp/calculation.html>).

Para as simulações de *docking molecular* foram utilizados o AutoDock tools (ADT) v4.2 para preparação dos ligantes e alvos (MORRIS *et al.*, 2009) e AutoDock Vina 1.1.2 para execução dos cálculos (TROTT; OLSON, 2010). A afinidade de ligação e as interações entre resíduos foram usados para determinar melhores interações moleculares. Os resultados foram visualizados usando ADT e Discovery Studio v4.5.

5 CONCLUSÕES

Neste projeto foram eficientemente sintetizados quatro análogos do fármaco propafenona, contendo um grupo amino em C-5 do anel benzênico fenólico e modificações na porção aminada da cadeia alifática com rendimentos que variaram entre 40 e 70%, além da resolução cinética enzimática do intermediário chave, comum aos quatro análogos da propafenona, o acetato de 1-[4-amino-2-(3-fenilpropanoil)fenoxi]-3-cloropropan-2-ila, *rac-7*.

A rota sintética para a produção de cada análogo da propafenona foi aperfeiçoada e consistiu em cinco etapas comuns.

A etapa de resolução cinética do acetato *rac-7* realizada via reação de hidrólise, se mostrou eficiente após a análise dos parâmetros de tempo, temperatura, solvente e razão enzima:substrato. Foram obtidos os valores de $E > 200$; conversão 50%; $e.e_{(p)} > 99\%$ e $e.e_{(s)} = 98\%$. As condições de reação foram definidas com o uso de uma solução 0,1M de 80% de tampão fosfato (pH 7) e 20% de tolueno, a 40 °C por 30 h, utilizando a lipase de *Thermomyces lanuginous* imobilizada em imobead-150 (TLL) com uma razão enzima/substrato (m/m) de 1:1.

O estudo *in silico* mostrou que todos os análogos estão de acordo com a “regra do 5” de Lipinski e inibem as enzimas CYP2D6 e CYP3A4, porém, não inibem a enzima CYP1A2. Apresentam absorção gastrointestinal e inibem a glicoproteína – P, porém, apenas o análogo *rac-5c* é capaz de ultrapassar a barreira hematoencefálica. Na análise do *docking molecular*, no geral, o análogo *rac-5c* mostrou ser a molécula mais promissora como um candidato a novo protótipo antiarrítmico, pois, apresentou, praticamente, as menores energias de ligação com os todos os receptores estudados dentre todos os análogos sintetizados formando complexos com energias de ligação de -8,5 e -7,2 kcal/mol para os receptores beta 1 e beta 2 adrenérgicos, respectivamente, e -7,6 kcal/mol com o receptor dos canais de sódio.

REFERÊNCIAS

ABEDI, D.; ZHANG, L.; PYNE, M.; CHOU, C. Enzyme Biocatalysis. **Comprehensive Biotechnology**. v. 1, p 15-24, 2011.

AGHAEI, H.; YASINIAN, A.; TAGHIZADEH, A. Covalent immobilization of lipase from *Candida rugosa* on epoxy-activated cloisite 30B as a new heterofunctional carrier and its application in the synthesis of banana flavor and production of biodiesel. **International Journal of Biological Macromolecules**. v. 178, p. 569-579, 2021.

ALLER, S. G.; CHANG, G. Structure of P-glycoprotein reveals a molecular basis for poly-specific drug binding. **Science**, v. 323(5922), p. 1718-1722, 2009

ALQAHTANI, S. In silico ADME-Tox modeling: progress and prospects. **Expert opinion on drug metabolism & toxicology**, v.13, n. 11, p. 1147-1158, 2017

AMIN, L. P-glycoprotein inhibition for optimal drug delivery. **Drug Targets Insights**. v. 7, p. 27-34, 2013.

ANVISA- **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Cloridrato de Propafenona, RITMONORM®. Responsável técnico, Ana Paula Antunes Azevedo – CRF-RJ nº 6572. Abbott Laboratórios do Brasil Ltda, 2015. Bula de remédio.

BAILEY, J. E.; OLLIS, D. F. **Biochemical engineering fundamentals**. New York: McGraw-Hill, 1977. 753 p.

BARBEY, J.T. Clinical pharmacology and beta-blocking efficacy of propafenone. **Journal of cardiovascular pharmacology**. v. 17, p.41–43, 1991.

BARCA, G.M.J.; BERTONI, C.; CARRINGTON, L.; DATTA, D.; DE SILVA, N.; DEUSTUA, J.E.; FEDOROV, D.G.; GOUR, J.R.; GUNINA, A.O.; GUIDEZ, E.; HARVILLE, T.; IRLE, S.; IVANIC, J.; KOWALSKI, K.; LEANG, S.S.; LI, H.; LI, W.; LUTZ, J.J.; MAGOULAS, I.; MATO, J.; MIRONOV, V.; NAKATA, H.; PHAM, B.Q.; PIECUCH, P.; POOLE, D.; PRUITT, S.R.; RENDELL, A.P.; ROSKOP, L.B.; RUEDENBERG, K.; SATTASATHUCHANA, T.; SCHMIDT, M.W.; SHEN, J.; SLIPCHENKO, L.; SOSONKINA, M.; SUNDRIYAL, V.; TIWARI, A.; GALVEZ VALLEJO, J.L.; WESTHEIMER, B.; WŁOCH, M.; XU, P.; ZAHARIEV, F.; GORDON, M.S.; Recent developments in the general atomic and molecular electronic structure system. **The Journal of Chemical Physics**. v. 152(15), 2020.

BORGES, N. H. P. B. **Análise in silico das propriedades farmacológicas e toxicológicas dos organosselênios e ensaios in vitro de atividades antibacteriana e moduladora da resistência a drogas em *Staphylococcus aureus***. 2018. Tese (Doutorado em Produtos Naturais Sintéticos Bioativos), Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2018.

BORNSCHEUER, U.T.; KAZLAUSKAS, R.J.; Hydrolases in organic synthesis. **Weinheim: Wiley-VCH**; 1999.

BURNETT, D.; GAL, J.; ZAHNISER, N.; NIES, A. Propafenone interacts stereoselectively with beta-1-adrenergic and beta-2-adrenergic Receptors. **Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics**. p. 615–619, 1988.

CABALEIRO-LAGO, E. M.; RODRÍGUEZ-OTERO, J.; & PEÑA-GALLEGO, Á. Effect of microhydration on the guanidinium···benzene interaction. **The Journal of Chemical Physics**. v. 135(21), 2011.

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

CARVALHO, I.; PUPO, M. T.; BORGES, Á. D. L.; BERNARDES, L. S. C.; Introdução a modelagem molecular de fármacos no curso experimental de química farmacêutica. **Química Nova**. v. 26 (3), p. 428-438, 2003.

CASAS-GODOY, L.; GASTEAZORO, F.; DUQUESNE, S.; BORDES, F.; MARTY, A.; SANDOVAL, G.; Lipases: Uma Visão Geral: Métodos e Protocolos. **Lipases and Phospholipases**. p. 3-38, 2018.

CHEN, X.; ZHONG, D.; BLUME, H. Stereoselective pharmacokinetics of propafenone and its major metabolites in healthy Chinese volunteers. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**. V. 10, p. 11-16, 2000.

CHIBA, P.; TELL, B.; JAGER, W.; RICHTER, E.; HITZLER, M.; ECKER, G. Studies on propafenone-type modulators of multidrug-resistance IV: synthesis and pharmacological activity of 5-hydroxy and 5-benzyloxy derivatives. **Archiv der Pharmazie**. v. 330, p. 343-347, 1997.

CORRIE, K.; HARDMAN, J. G. Mechanisms of drug interactions: pharmacodynamics and pharmacokinetics. **Anaesthesia & Intensive Care Medicine**, v. 15, n. 7, p. 305-308, 2014.

DABKOWSKA, K.; SZEWCZYK, K. W. Influence of temperature on the activity and enantioselectivity of *Burkholderia cepacian* lipase in the kinetic resolution of mandelic acid enantiomers. **Biochemical Engineering Journal**. v. 46, p. 147–153, 2009.

DAVIS, A. M.; TEAGUE, S. J.; KLEYWEGT, G. J. Application and limitation of x-ray crystallographic data in structure-based ligand and drug design. **Angewandte Chemie**, v. 42 (24), p. 2718-2736, 2003.

DE GAITANI, C. M., LANCHOTE, V. L., & BONATO, P. S. Enantioselective analysis of propafenone in plasma using a polysaccharide based chiral stationary phase under reversed phase conditions. **Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications**. v. 708(1-2), p. 177–183, 1998.

DENG, Y.; WANG, L.; YANG, Y.; SUN, W.; XIE, R.; LIU, X.; & WANG, Q.; In Vitro Inhibition and Induction of Human Liver Cytochrome P450 Enzymes by Gentiopicroside: Potent Effect on CYP2A6. **Drug Metabolism and Pharmacokinetics**, v. 28(4), p. 339–344, 2013.

DEY, R.; MUKHERJEE, N.; AHAMMED, S.; RANU, B. C. Highly selective reduction of nitroarenes by iron (0) nanoparticles in water. **Chemical Communications**. v.48, p.7982–7984, 2012.

DJUV, A.; NILSEN, O. G. Aloe Vera Juice: IC₅₀ and Dual Mechanistic Inhibition of CYP3A4 and CYP2D6. **Phytotherapy Research**, v. 26, p. 445- 451, 2012.

DOUGHERTY, D. A. Cation- π interactions involving aromatic amino acids. The Journal of nutrition. **American Society for Nutrition**, v. 137 (6), p. 1504–1508, 2007.

DOUGHERTY, D. A. The cation- π interaction. Accounts of chemical research, **ACS Publications**, v. 46 (4), p. 885–893, 2012.

DUNN, M.F. **Protein–Ligand Interactions: General Description**. In: Encyclopedia of Life Sciences (Ed.), 2010

EVERTS, S. A cell's vacuum cleaner. **Chemical & Engineering News**, v. 87 (13), p. 10, 2009.

FABER, K. **Biotransformations in organic chemistry**, 5.ed. Berlin: Springer-Verlag, p. 454, 2004.

FAN, Y.; KE, C.; SU, F.; LI, K.; YAN, Y. Various types of Lipases immobilized on dendrimerfunctionalized magnetic nanocomposite and application in biodiesel preparation. **Energy & Fuels**, [s.l.], v. 31, n. 3-4, p. 4372-4381, 2017.

FASOLI, E.; FERRER, A.; BARLETTA, G.L. Hydrogen/deuterium exchange study of subtilisin Carlsberg during prolonged exposure to organic solvents. **Biotechnology and Bioengineering**. v. 102, p. 1025–1032, 2009.

FITZGERALD, P. A. Adrenal medulla & paraganglia. In: GARDNER, D. G.; SHOBACK, D. **Greenspan's Basic & Clinical Endocrinology**. San Francisco: The McGraw-Hill Companies, p. 429-432, 2007.

FITZPATRICK, P. A.; KLIBANOV, A. M. How can the solvent affect enzyme enantioselectivity? **Journal of the American Chemical Society**, v. 113, p. 3166- 3171, 1991. 58

FLIEGER, J.; ALKALOIDS | Thin-Layer (Planar) Chromatography. **Encyclopedia of Separation Science**. p. 1956–1973, 2000.

FOOD & DRUG ADMINISTRATION: FDA's statement for the development of new stereoisomeric drugs. **Chirality**, v.4, p. 338-340, 1992.

FONSECA, TDS; SILVA, MRD; DE OLIVEIRA, MDCF; LEMOS, TLGD; MARQUES, RDA; DE MATTOS, MC. Chemoenzymatic synthesis of rasagiline mesylate using lipases. **Applied Catalysis A**. v.492. p.76–82, 2015.

- GAMAL EL-DIN, T.M.; LENAËUS, M.J.; ZHENG, N.; CATTERALL, W.A.; Fenestrations control resting-state block of a voltage-gated sodium channel. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 115 (51), p. 13111-13116, 2018.
- GÉRARD, D., GUÉROULT, M., CASAS-GODOY, L., CONDORET, J.-S., ANDRÉ, I., MARTY, A., & DUQUESNE, S. Efficient resolution of profen ethyl ester racemates by engineered *Yarrowia lipolytica* Lip2p lipase. **Tetrahedron: Asymmetry**, v. 28(3), p. 433–441, 2017.
- GHASEMI, Y.; RASOUL-AMINI, S.; KAZEMI, A.; ZARRINI, G.; MOROWVAT, M. H.; KARGAR, M., Isolation and characterization of some moderately halophilic bacteria with lipase activity. **Microbiology**, v.80, n.4, p. 483-487, 2011.
- GHOSH, S.; BHAUMIK, J.; BANOTH, I.; BANESH, S.; BANERJEE, UC.; Chemoenzymatic route for the synthesis of (*S*)-moprolol, a potential β -blocker. **Chirality**, v 28. p 313-318, 2016
- GOLAN, D. E. **Princípios de farmacologia: a base fisiopatológica da farmacoterapia**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2015.
- GOODMAN & GILMAN: **As Bases Farmacológicas da Terapêutica**. 12ª edição. Rio de Janeiro, McGraw-Hill, 2012, 2112 p.
- GOSWAMI, A.; STEWART, J. D.; **Organic Synthesis Using Biocatalysis**. p. 1-38, 2015.
- GOTOR-FERNÁNDEZ, V.; BRIEVA, R.; GOTOR, V.; Lipases: Useful biocatalysts for the preparation of pharmaceuticals. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**. v. 40, p. 111-120, 2006
- GUIMARÃES, C. R. W. As Múltiplas Contribuições para a Complexação Proteína-Ligante: Consequências em Drug Design. **Revista Virtual de Química**. v. 4 (4), p. 348-364, 2012.
- GURYANOV, I; FIORUCCI, S; TENNIKOVA, T. Receptor-ligand interactions: Advanced biomedical applications. **Materials Science and Engineering C**. v. 68, p. 890–903, 2016.
- HANWELL M. D.; CURTIS, D. E.; LONIE, D. C.; VANDERMEERSCH, T.; ZUREK, E.; AND HUTCHISON, G. R.; “Avogadro: An advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform”. **Journal of Cheminformatics**. 2012.
- HARA, C.; ROCHA, F.L. Interações medicamentosas: antidepressivos novos e o sistema citocromo P450. **Jornal Brasileiro de Psiquiatria**. v. 47(1), p. 9-18, 1998.
- HARDJONO, S.; SISWANDONO, S.; ANDAYANI, R. Evaluation of N-benzoylthiourea derivatives as possible analgesic agents by predicting their physicochemical and pharmacokinetic properties, toxicity, and analgesic activity. **Journal of Biotechnology**. v. 22, p. 76, 2018.
- HARRON, D. W. G.; BROGDEN, R. N. Propafenone: A Review of its Pharmacodynamic and Pharmacokinetic Properties, and Therapeutic Use in the Treatment of Arrhythmias. **Drugs**. v. 34(6), p. 617–647, 1987.

HII, J.T.; DUFF, H.J.; BURGESS, E.D.; Clinical pharmacokinetics of propafenone. **Clin Pharmacokinet.** v. 21(1) p. 1-10, 1991.

HILLE, B.; Ionic selectivity, saturation, and block in sodium channels. A four-barrier model. **The Journal of General Physiology.** v. 66, p. 535–560, 1975.

HILLE B. **Ion Channels of Excitable Membranes**, Third Edition, Sinauer Associates, INC. Sunderland, Massachusetts, USA. 2001.

HISAKA, A.; OHNO, Y.; YAMAMOTO, T.; SUZUKI, H. Prediction of pharmacokinetic drug–drug interaction caused by changes in cytochrome P450 activity using in vivo information. **Pharmacology & Therapeutics**, v.125, p. 230-248, 2010.

HOYOS, P.; PACE, V.; HERNAIZ, M. J.; ALCANTARA, A. R. Biocatalysis in the pharmaceutical industry. A greener future. **Current Green Chemistry**, v. 1, n. 2, p. 155-181, 2014.

HUANG W, LIU M, ZHU L, LIU S, LUO H., MA L. Functional expression of chloride channels and their roles in the cell cycle and cell proliferation in highly differentiated nasopharyngeal carcinoma cells. **Physiological Reports.** v. 2 (9), 2014.

IRANNEJAD, H.; EMAMI, S.; MIRZAEI, H.; HASHEMI, S. M.; Data on molecular docking of tautomers and enantiomers of ATTAF-1 and ATTAF-2 selectivity to the human/fungal lanosterol-14 α -demethylase. **Journal Data in Brief.** v. 31, 2020.

IVKOVIC, B. M.; NIKOLIC, K.; ILIC, B. B.; ZIZAK, Z. S.; NOVAKOVIC, R. B.; CUDINA, O. A.; VLADIMIROV, S. M. Phenylpropiophenone derivatives as potential anticancer agents: Synthesis, biological evaluation and quantitative structure–activity relationship study. **European Journal of Medicinal Chemistry.** v.63, p. 239 – 255, 2013.

KAMAL, M.Z.; YEDAVALLI, P.; DESHMUKH, M.V.; RAO, N.M. Lipase in aqueous-polar organic solvents: Activity, structure, and stability. **Protein Science.**, v. 22, p. 904–915, 2013.

KATO, H.; Computational prediction of cytochrome P450 inhibition and induction. **Drug Metabolism and Pharmacokinetics.** v. 35 (1), p. 30-44, 2019.

KAZLAUSKAS, R. J.; WEISSFLOCH, A. N. E.; RAPPAPORT, A. T.; CUCCIA, L. A. C. A Rule to predict which enantiomer of a secondary alcohol reacts faster in reactions catalyzed by cholesterol esterase, lipase from *Pseudomonas cepacia*, and lipase from *Candida rugosa*. **Journal of Organic Chemistry.** v. 56, p. 2656 – 2665, 1991.

KIM, P. Y.; POLLARD, D. J.; WOODLEY, J. M.; Substrate Supply for Effective Biocatalysis. **Biotechnology Progress.** v. 23, p.74-82, 2007.

KIMURA T. Analysis of factors governing drug absorption and their improvement. **Yakugaku Zasshi.** v. 129(8), p. 911-923, 2009.

KITAMOTO, Y., KURUMA, Y., SUZUKI, K., & HATTORI, T. Effect of Solvent Polarity on Enantioselectivity in *Candida Antarctica* Lipase B Catalyzed Kinetic Resolution of

Primary and Secondary Alcohols. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 80(1), p. 521-527, 2015.

KLIBANOV, A.M.; Improving enzymes by using them in organic solvents. **Nature**, v. 409, p. 241–246, 2001.

KLIBANOV, A. M. Enzymatic catalysis in anhydrous organic solvents. **Trends in Biochemical Sciences**, v. 14, p. 141-144, 1989.

KROEMER, H. K.; FROMM, M. F.; BÜHL, K.; TEREFE, H.; BLASCHKE, G.; EICHELBAUM, M. An enantiomer-enantiomer interaction of (S)- and (R)-propafenona modifies the effect of racemic drug therapy. **Circulation**, v. 89, p. 2396-2400, 1994.

LAMATTINA; GOLAN. Farmacocinética. **In: GOLAN, D. E. Princípios de farmacologia: a base fisiopatológica da farmacoterapia**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009.

LAM, F. C.; LIU, R.; LU, P.; SHAPIRO, A. B.; RENOIR, J. M.; SHAROM, F. J.; REINER, P. B. beta-Amyloide efflux mediated by p-glycoprotein. **Journal of Neurochemistry**. v. 76(4), p. 1121-1128, 2001

LANGE, L., PARMAR, V., & MEYER, A. Biocatalysis. **Encyclopedia of Sustainable Technologies**. p. 663–673, 2017.

LAU, P. C. K.; GROSSE, S. The fundamentals and fun of biocatalysis. **Marine Enzymes for Biocatalysis**. P. 17–69, 2013.

LEE, S.B. Linear free energy relationship of nonaqueous biocatalysis: analysis of solvent effects on enzyme enantioselectivity. **Journal of Fermentation and Bioengineering**. v. 80, p. 141 – 147, 1995.

LEESON, P. D.; SPRINGTHORPE, B. The influence of drug like concepts on decision making in medicinal chemistry. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 6 (11), p. 881-890, 2007

LEO, A.; HANSCH, C.; ELKINS, D.; LAW, A. H.; BEHAVIOR, B. N.; Partition coefficients and their uses. **Chemical Reviews**. v. 71 (6), p. 525–616, 1971.

LI, W. X.; LI, L.; EKSTEROWICZ, J.; LING, X. B.; CARDOZO, M. Significance analysis and multiple pharmacophore models for differentiating pglycoprotein substrates. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 47, n. 6, p. 2429-2438, 2007.

LI, X.; XU, L.; WANG, G.; ZHANG, H.; YAN, Y.; Conformation studies on Burkholderia cenocepacia lipase via resolution of racemic 1-phenylethanol in non-aqueous medium and its process optimization. **Process Biochemistry**. v. 48, p. 1905 – 1913, 2013.

LIPINSKI, C. A.; LOMBARDO, F.; DOMINY, B. W.; FEENEY, P. J.; Experimental and computational approaches to estimate solubility an permeability in drug discovery and development settings. **Advanced Drug Delivery Reviews**. v. 46, p. 3-26, 2001.

LOWES, D.J.; GUIGUEMDE, W. A.; CONNELLY, W. C.; ZHU, F.; SIGAL, M. S.; CLARK, J. A.; LEMOFF, A. S.; DERISI, J. L.; WILSON, E. B.; GUY, R. K. Optimization of

Propafenone Analogues as Antimalarial Leads. **Journal of Medicinal Chemistry**. v. 54, p. 7477–7485, 2011

MA, J. C.; DOUGHERTY, D. A. The Cation– π Interaction. **Chemical Reviews**. v. 97(5), p. 1303–1324, 1997.

MATTHEWS, R. P.; WELTON, T.; HUNT, P. A.; Competitive π interactions and hydrogen bonding within imidazolium ionic liquids. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 16(7), p. 3238 – 3253, 2014.

NANAYAKKARA, A. K., FOLLIT, C. A. CHEN, G., WILLIAMS, N. S., VOGEL, PIA D., WISE, J. G. Targeted inhibitors of P-glycoprotein increase chemotherapeutic-induced mortality of multidrug resistant tumor cells. **Scientific reports**, v.8, n. 1 p. 967-975, 2018.

NASSAR, A. F.; KAMEL, A. M.; CLARIMONT, C.; Improving the decision-making process in the structural modification of drug candidates: enhancing metabolic stability. **Drug Discovery Today**. v. 9, p. 1020-1028, 2004

OVERBEEKE, P. L. A., JONGEJAN, J. A., & HEIJNEN, J. J.; Solvent effect on lipase enantioselectivity. Evidence for the presence of two thermodynamic states. **Biotechnology and Bioengineering**. v. 70(3), p. 278–290, 2000.

PADWAL, R.; BROCKS, D.; SHARMA, A. M. A systematic review of drug absorption following bariatric surgery and its theoretical implications. **Obesity Reviews**, v. 11(1), p. 41–50, 2010.

PAJEVA, I.K.; WIESE, M.; A comparative molecular field analysis of propafenone-type modulators of cancer multidrug resistance. **Quantitative structure-activity relationship**. v. 17, p. 301-312, 1998.

PALADINI, A. C.; MEDINA, J. H.; **Use of halo and/or nitro-substituted flavonoids as anxyolitics**. Titular: University of Strathclyde. wo 98/44920. Depósito: 25 mar. 1998. Concessão: 15 oct. 1998.

PANTELEON, V.; MARAKOS, P.; POULI, N.; MIKROS, E.; ANDREADOU, I. Synthesis, conformational analysis and free radical scavenging activity of some new spiropranoquinolinones. **Chemical & Pharmaceutical bulletin**, v. 51(5), p. 522–529, 2003.

PATEL, R. N.; Biocatalytic synthesis of intermediates for the synthesis of chiral drug substances. **Current Opinion in Biotechnology**. v. 12(6), p. 587-604, 2001.

PEREIRA, D. G. Importância do metabolismo no planejamento de fármacos. **Química Nova**, v. 30(1), p. 171-177, 2007.

PETERSON, M. E.; DANIEL, R. M.; DANSON, M. J.; EISENTHAL, R. The dependence of enzyme activity on temperature: determination and validation of parameters. **Biochemical Journal**, v. 402(2), p. 331–337, 2007.

PETRIK, W.; SACHSE, R. (Helopharm) Verfahren zur Herstellung neuer, therapeutisch wertvoller Derivate des 2'-Hydroxy-3-phenyl-propiofenons und deren Salze. DE 2001431; **Chemical abstracts**, 75, 151538f, 1971.

PINZI, L.; RASTELLI, G. Molecular Docking: Shifting Paradigms in Drug Discovery. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20 (18), p. 4331, 2019.

PIRES D.E.; BLUNDELL T.L.; ASCHER D.B.; pkCSM: Predicting Small-Molecule Pharmacokinetic and Toxicity Properties Using Graph-Based Signatures. **Journal of Medicinal Chemistry**. v. 58(9), p. 4066 – 4072, 2015.

QAYED, W. S.; ABORAIA, A. S.; ABDEL-RAHMAN, H. M.; YOUSSEF, A.F. Lipases-catalyzed enantioselective kinetic resolution of alcohols. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v.7, p.311-322, 2015.

REZAEI, K.; JENAB, E.; TEMELLI, F. Effects of water on enzyme performance with an emphasis on the reactions in supercritical fluids. **Critical Reviews in Biotechnology**., v. 27, p. 183–195, 2007

RIBEIRO, A.R.; CASTRO, P.M.; TIRITAN, M.E. Chiral pharmaceuticals in the environment. **Environmental Chemistry Letters**, v. 10, p. 239-253, 2012.

RODEIRO, I.; DONATO, M. T.; LAHOZ, A.; GONZALEZ-LAVAUT, J. A.; LAGUNA, A.; CASTELL, J. V.; DELGADO, R.; GÓMEZ-LECHÓN, M. J. Modulation of P450 enzymes by Cuban natural products rich in polyphenolic compounds in rat hepatocytes. **Chemico-Biological Interactions**, v. 172, p.1-10, 2008a.

RODRIGUES, R. C.; VOLPATO, G.; AYUB, M. A. Z.; & WADA, K. Lipase-catalyzed ethanolysis of soybean oil in a solvent-free system using central composite design and response surface methodology. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**. v. 83(6), p. 849–854, 2008.

SALIHU, A.; ALAM, M. Z. Solvent tolerant lipases: A review. **Process Biochemistry**, v. 50(1), p. 86–96, 2015

SANFILIPPO, C.; PATERNÒ, A.A.; PATTI, A. Resolution of racemic amines via lipase-catalyzed benzylation: Chemoenzymatic synthesis of the pharmacologically active isomers of labetalol. **Molecular Catalysis**, v. 449, p. 79–84, 2018.

SHARMA, S.; KANWAR, S. S. Organic Solvent Tolerant Lipases and Applications. **The Scientific World Journal**, v. 2014, p. 1–15, 2014.

SHELDON, R. A. Fundamentals of green chemistry: efficiency in reaction design. **Chemical Society Reviews**, v. 41, n. 4, p. 1437-1451, 2012.

SHULER, M. L.; KARGI, F. **Bioprocess engineering: Basic concepts**. 2 ed. New Jersey: Prentice Hall, 553 p., 2002.

SOEIRA, L. S.; **Estudo da degradação do p-nitrofenol por ferro de valência zero: avaliação de processos redutivos e oxidativos.** 2007. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) - Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

SOLANO, D. M.; HOYOS, P.; HERNÁIZ, M. J.; ALCÁNTARA, A. R.; SÁNCHEZMONTERO, J. M.; Industrial biotransformations in the synthesis of building blocks leading to enantiopure drugs. **Bioresource Technology**, v. 115, p. 196-207, 2012.

SUN, Y.-P., LI, X., CAO, J., ZHANG, W., & WANG, H. P. Characterization of zero-valent iron nanoparticles. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 120, p. 47–56, 2006.

TAN, J.S.; ABBASILIASI, S.; ARIFF, A.B.; NG, H.S.; BAKAR, M.H.A.; CHOW, Y.H.; Extractive purification of recombinant thermostable lipase from fermentation broth of *Escherichia coli* using an aqueous polyethylene glycol impregnated resin system. **3 Biotech**. v. 8, p. 288-294, 2018.

TOUKONIITTY, E.; MÄKI-ARVELA, P.; KUUSISTO, J.; NIEMINEN, V.; PÄIVÄRINTA, J.; HOTOKKA, M.; SALMI, T.; MURZIN, D. Solvent effects in enantioselective hydrogenation of 1-phenyl-1,2-propanedione. **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical**, v. 192, p. 135–151, 2003.

TRASAR-CEPEDA, C.; GIL-SOTRESB, F.; LEIRO'S, M.C. Thermodynamic parameters of enzymes in grassland soils from Galicia, NW Spain. **Soil Biology & Biochemistry**. v. 39, p. 311–319, 2007.

TROTT, O.; OLSON, A.J. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. **Journal of Computational Chemistry**. v. 31(2), p. 455-461, 2010.

UEHARA, S.; MURAYAMA, N.; YAMAZAKI, H.; SUEMIZU, H.; Regioselective hydroxylation of an antiarrhythmic drug, propafenone, mediated by rat liver cytochrome P450 2D2 differs from that catalyzed by human P450 2D6. **Xenobiotica**. v. 49(11). p.1–9, 2019.

VIEIRA, G. L.; 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.; LUCIANA ROCHA BARROS GONÇALVES, L. R. B.; MOLINARI, F.; MATTOS, M. C. Chemoenzymatic synthesis of (S)-Pindolol using lipases. **Applied Catalysis A, General**, v. 546, p. 7–14, 2017.

WACKER, D.; FENALTI, G.; BROWN, M.A.; KATRITCH, V.; ABAGYAN, R.; CHEREZOV, V.; STEVENS, R.C.; Conserved mode of binding of inverse agonists and antagonists of the human β 2 adrenergic receptor revealed by X-ray crystallography. **Journal of the American Chemical Society**, v. 132 (33), p. 11443-11445, 2010.

WANG, S.; XU, Y.; YU, X. A phenylalanine dynamic switch controls the interfacial activation of *Rhizopus chinensis* lipase. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 173, p. 1-12, 2021.

WANG, S.; MENG, X.; ZHOU, H.; LIU, Y.; SECUNDO, F.; LIU, Y.; Enzyme stability and activity in non-aqueous reaction systems: a mini review. **Catalysts**. v. 6(2), 2016.

WANG, Z. "Béchamp Reduction". **Comprehensive Organic Name Reactions and Reagents**. p. 284-287, 2010.

WATERHOUSE, A.; BERTONI, M.; BIENERT, S.; STUDER, G.; TAURIELLO, G.; GUMIENNY, R.; HEER, F.T.; DE BEER, T.A.P.; REMPFER, C.; BORDOLI, L.; LEPORE, R.; SCHWEDE, T. SWISS-MODEL: homology modelling of protein structures and complexes. **Nucleic Acids Research**. 46(W1), W296-W303, 2018.

WERMUTH, C.; Selective Optimization of Side Activities: Another Way for Drug Discovery. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 6, p. 1303-1400, 2004.

WILLIAMS, J.; Enzyme inhibition and induction. **Anaesthesia & Intensive Care Medicine**. v. 9 (4)4, p. 165-166, 2008.

WOHLGEMUTH, R; Biocatalysis – Key enabling tools from biocatalytic one-step and multi-step reactions to biocatalytic total synthesis. **New BIOTECHNOLOGY**, v. 60, p. 113-123, 2021.

XU, X.; KAINDL, J.; CLARK, M. J.; HÜBNER, H.; HIRATA, K.; SUNAHARA, R. K.; PETER GMEINER, P.; KOBILKA, B. K.; LIU, X. Binding pathway determines norepinephrine selectivity for the human β 1AR over β 2AR. **Cell Research**. v. 0, p. 1–11, 2020

YU, H.; TWEEDIE, D. A Perspective on the Contribution of Metabolites to Drug-Drug Interaction Potential: The Need to Consider Both Circulating Levels and Inhibition Potency. **Drug Metabolism and Disposition**, v. 41, p. 536-540, 2013.

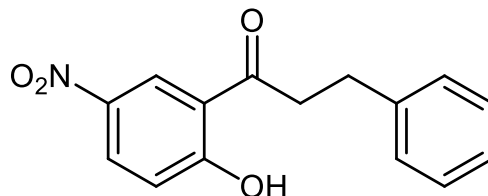
ZHU, L., YANG, W., MENG, YY, XIAO, X., GUO, Y., PU, X., & LI, M. Effects of Organic Solvent and Crystal Water on γ -Chymotrypsin in Acetonitrile Media: Observations from Molecular Dynamics Simulation and DFT Calculation. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 116 (10), p. 3292–3304. 2012.

ANEXO A – DADOS ESPECTROSCÓPICOS

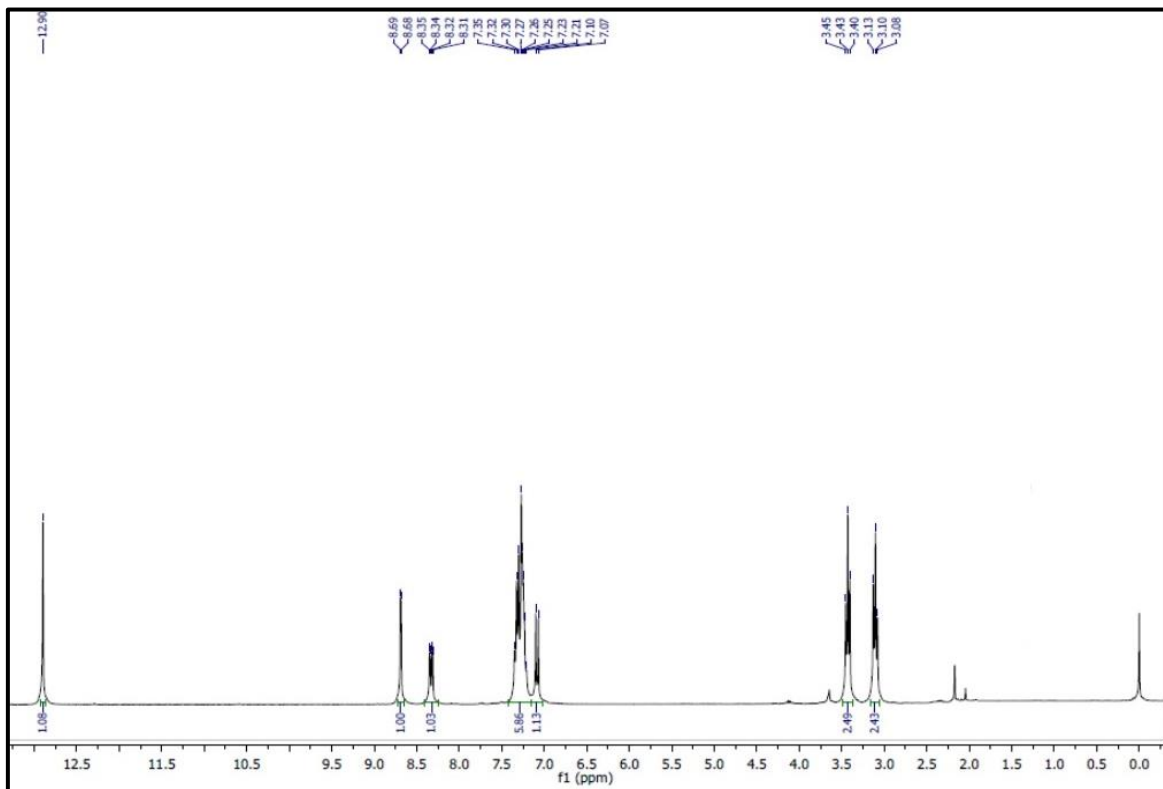
ANEXO A1

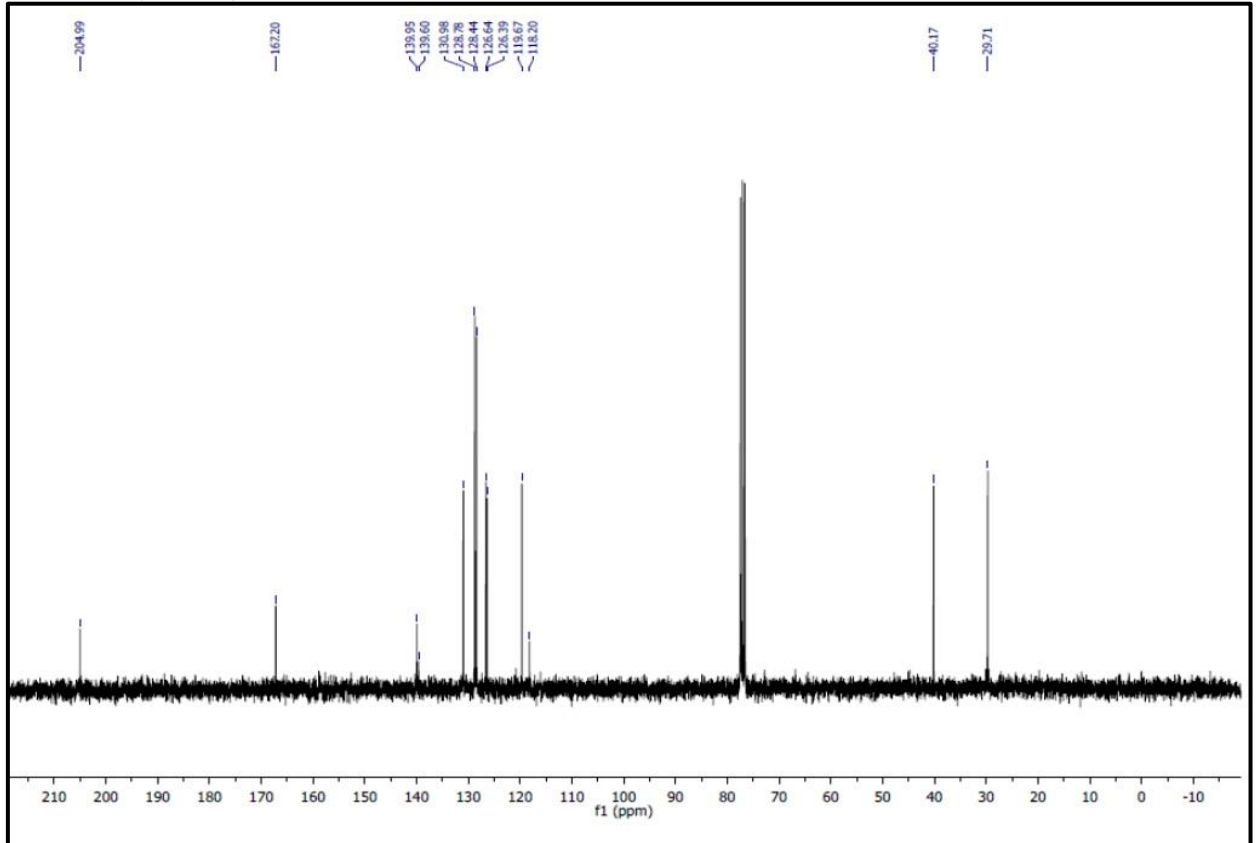
DADOS ESPECTROSCÓPICOS DO 1- (2-hidroxi-5-nitrofenil) -3-fenilpropan-1-ona (1)

RMN ¹H (CDCl₃, 300MHz) δ (ppm) 3.10 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 3.43 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 7.08 (d, J = 9.2 Hz, 1H), 7.43 – 7.15 (m, 5H), 8.33 (dd, J = 9.2, 2.4 Hz, 1H), 8.69 (d, J = 2.4 Hz, 1H), δ 12.90 (s, 1H). **RMN ¹³C (CDCl₃):** δ (ppm) 29.71 (CH₂), 40.17 (CH₂), 118.20 (C), 119.67 (CH), 126.39 (CH), 126.64 (CH), 128.44 (CH), 128.78 (CH), 130.98 (CH), 139.60 (C), 139.95 (C), 167.20 (C), 204.99 (C).



RMN ¹H (CDCl₃, 300MHz)

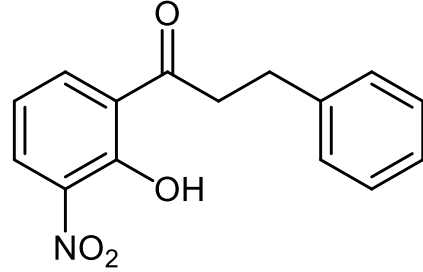


RMN¹³C (CDCl₃)

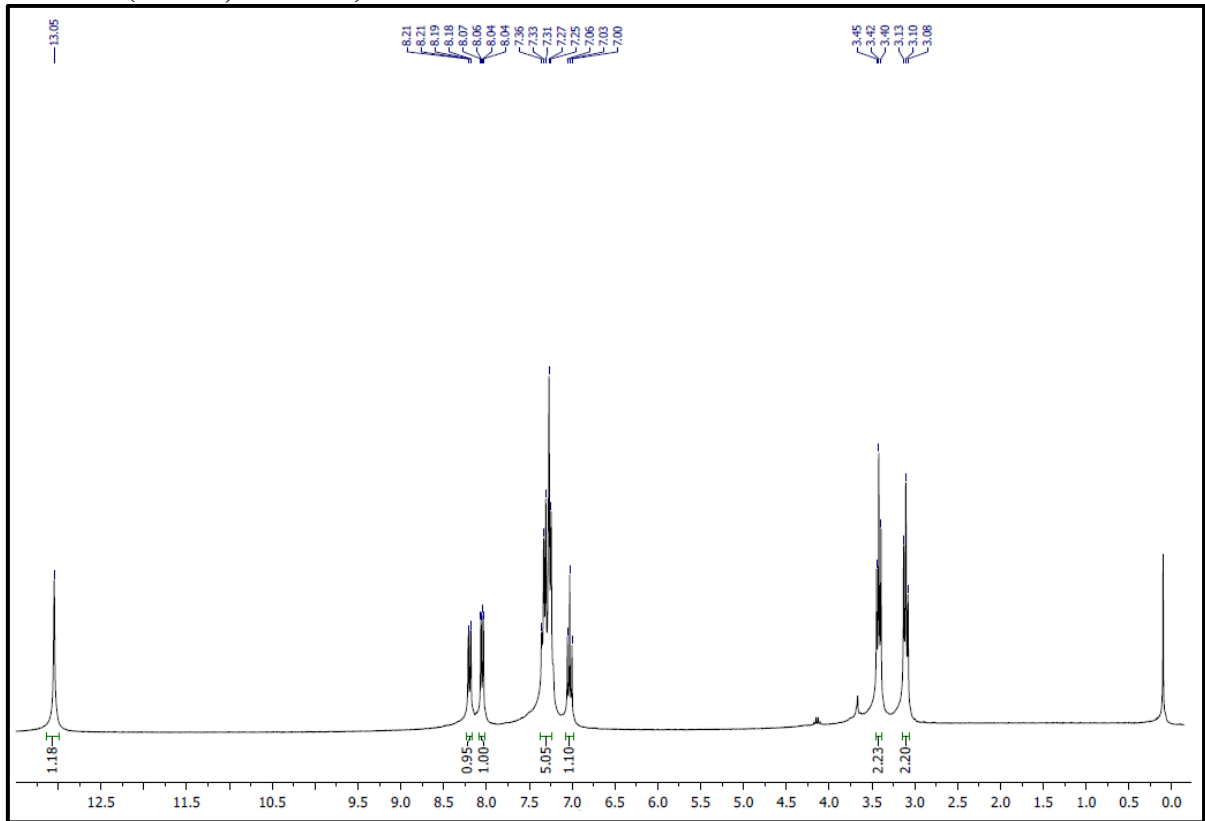
ANEXO A2

DADOS ESPECTROSCÓPICOS DO 1- (2-hidroxi-3-nitrofenil) -3-fenilpropan-1-ona (2)

RMN ^1H (CDCl_3 , 300MHz) δ (ppm) 3.10 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H), 3.42 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H), 7.03 (t, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.39 – 7.21 (m, 5H), 8.05 (dd, $J = 7.9$, 1.3 Hz, 1H), 8.20 (dd, $J = 8.1$, 1.3 Hz, 1H), 13.05 (s, 1H).



RMN ^1H (CDCl_3 , 300MHz)

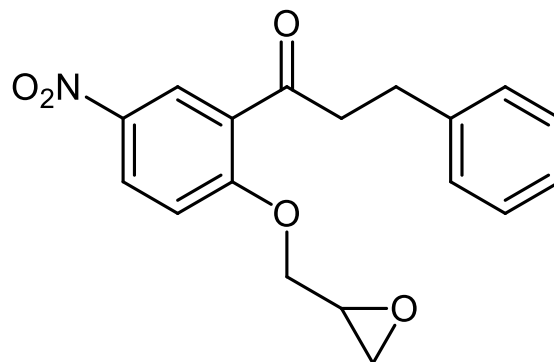


ANEXO A3

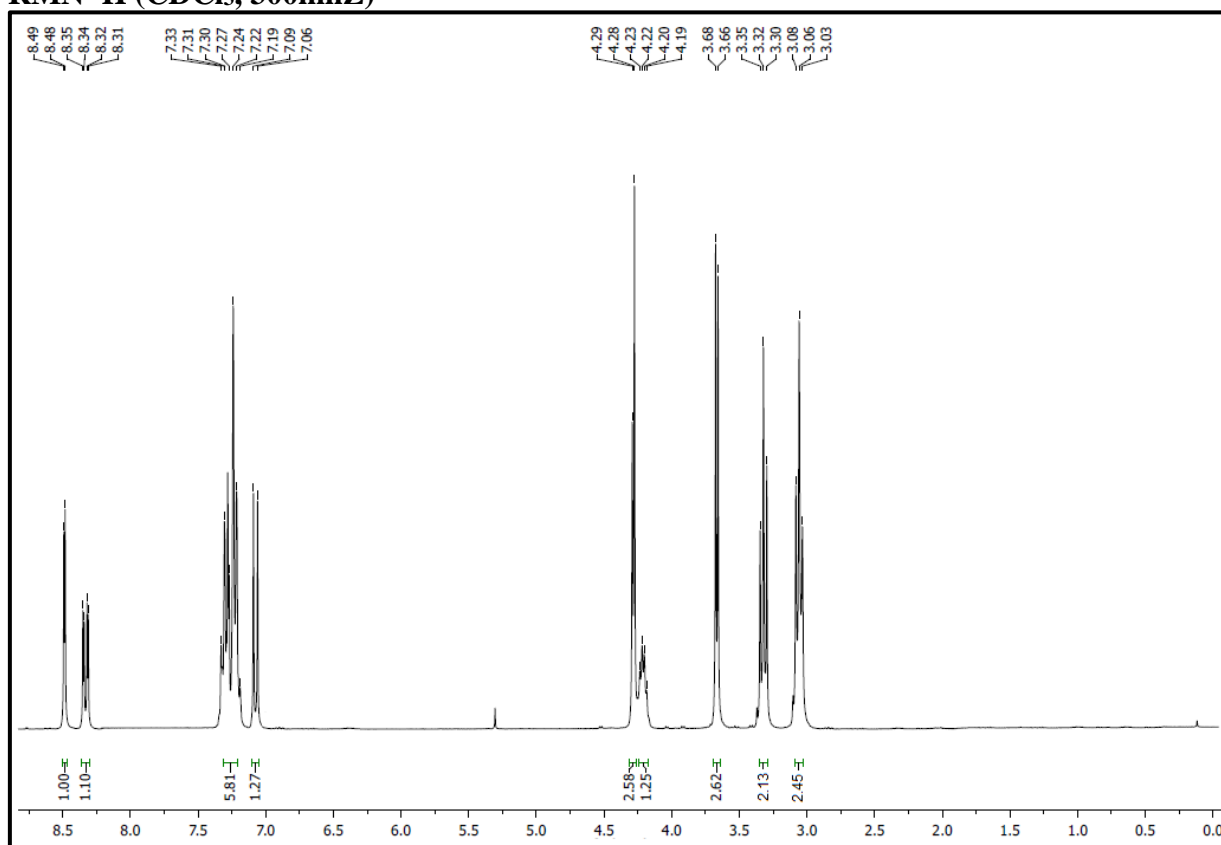
DADOS ESPECTROSCÓPICOS DO 1- (5-nitro-2- (oxiran-2-ilmetoxi) fenil) -3-fenilpropan-1-ona (*rac*-3)

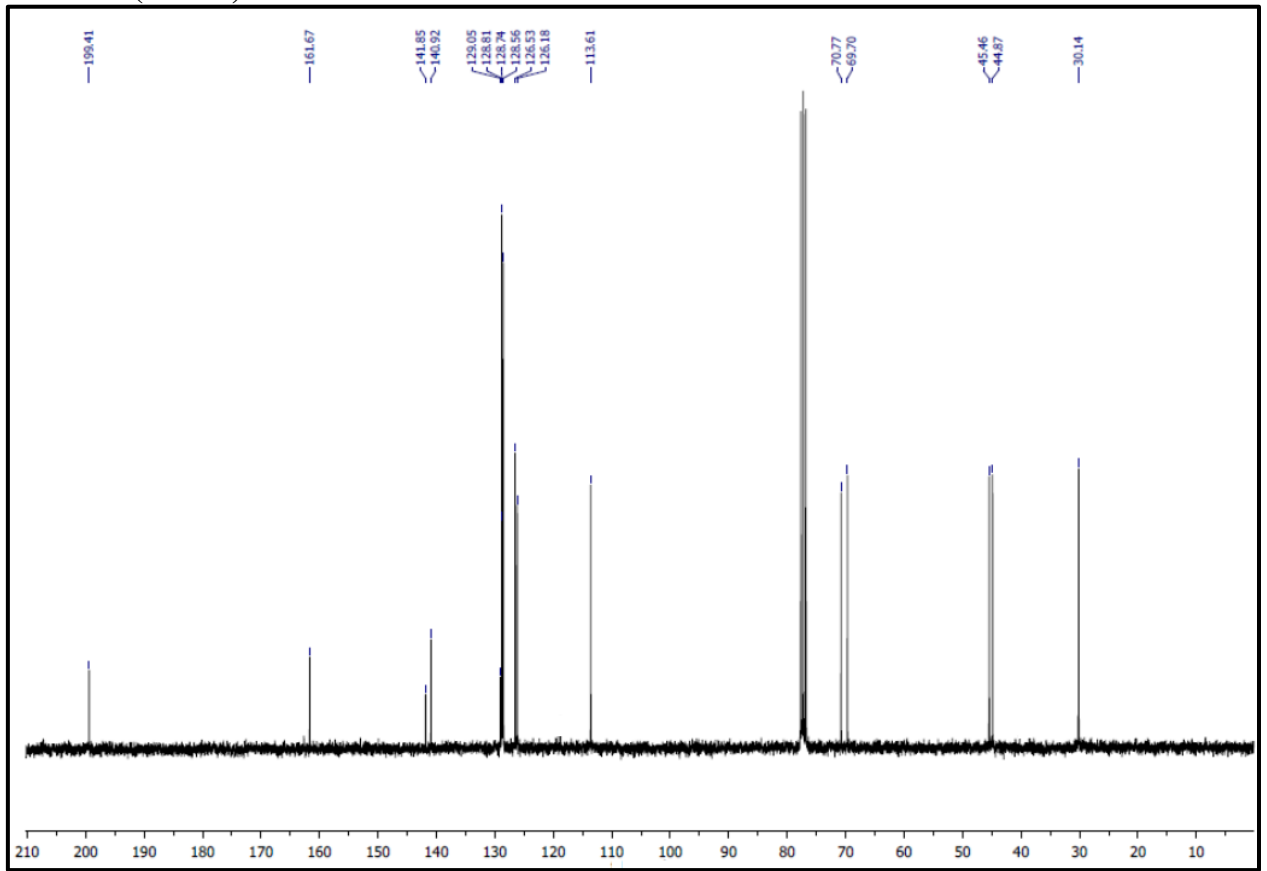
RMN ¹H (CDCl₃, 300MHz) δ (ppm) 3.06 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H), 3.32 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H), 3.67 (d, *J* = 5.4 Hz, 2H), 4.21 (dd, *J* = 9.8, 4.9 Hz, 1H), 4.28 (d, *J* = 4.7 Hz, 2H), 7.08 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 7.28 (dt, *J* = 16.3, 7.4 Hz, 5H), 8.33 (dd, *J* = 9.1, 2.8 Hz, 1H), 8.49 (d, *J* = 2.8 Hz, 1H).

RMN¹³C (CDCl₃): δ (ppm) 30.14 (CH₂), 44.87 (CH₂), 45.46 (CH₂), 69.70 (CH), 70.77 (CH₂), 113.61 (CH), 126.18 (CH), 126.53 (CH), 128.56 (CH), 128.74 (2CH), 128.81 (2CH), 129.05 (CH), 140.92 (C), 141.85 (C), 161.67 (C), 199.41 (C).



RMN ¹H (CDCl₃, 300MHz)



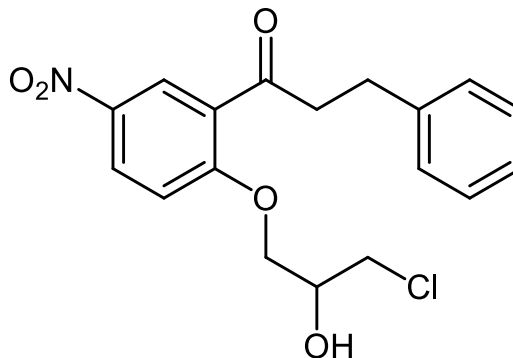
RMN¹³C (CDCl₃)

ANEXO A4

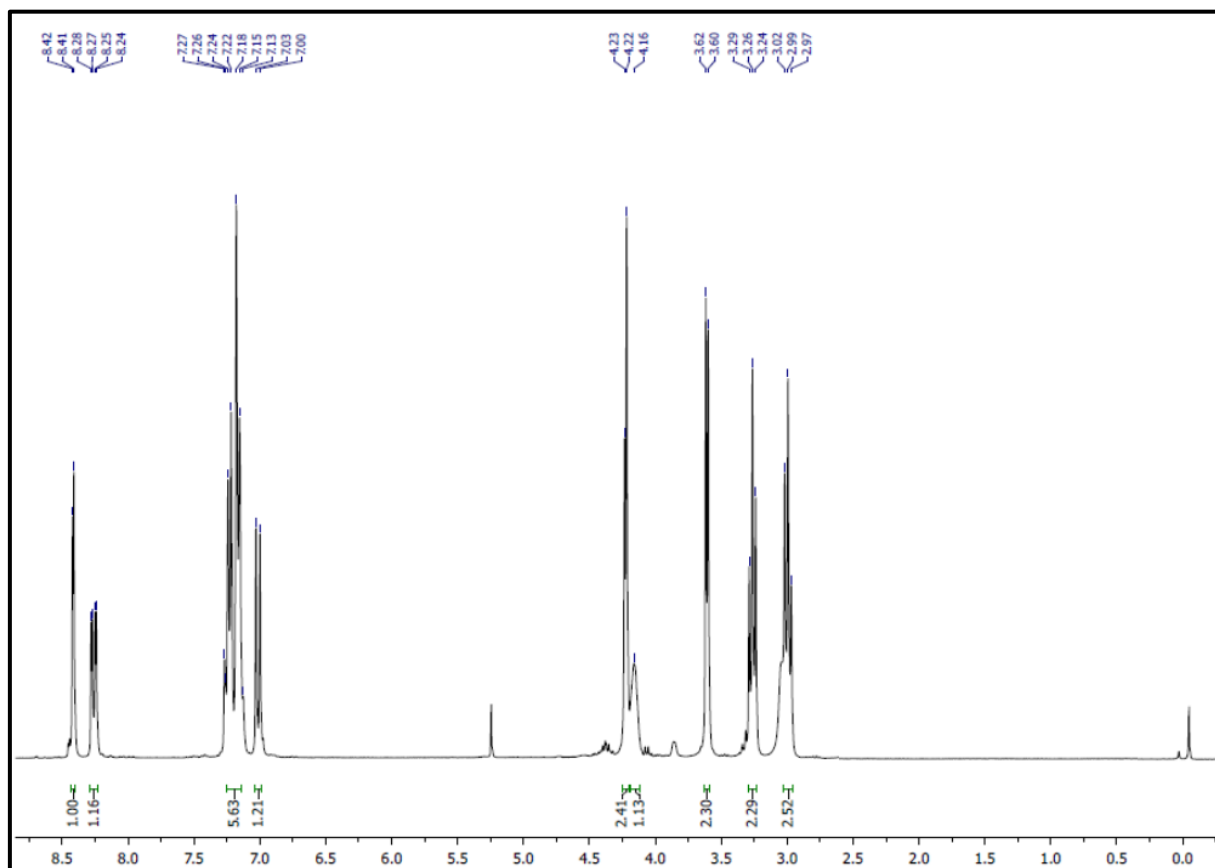
DADOS ESPECTROSCÓPICOS DO 1-(2-(3-cloro-2-hidroxipropoxi)-5-nitrofenil)-3-fenilpropan-1-ona (*rac*-4)

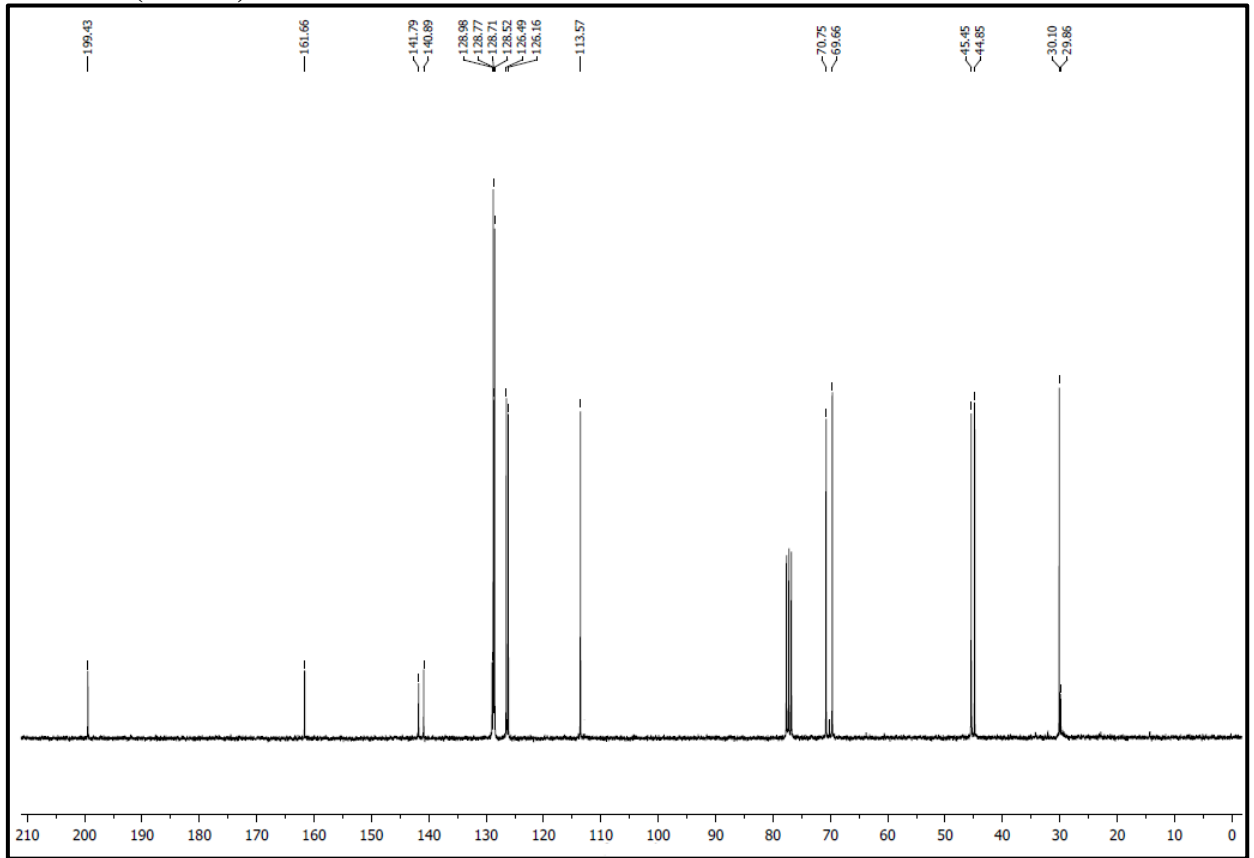
RMN ¹H (CDCl₃, 300MHz) δ (ppm) 2.99 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H), 3.26 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H), 3.61 (d, *J* = 5.2 Hz, 2H), 4.16 (s, 1H), 4.23 (d, *J* = 4.9 Hz, 2H), 7.01 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 7.17-7.27 (m, 5H), 8.26 (dd, *J* = 9.1, 2.8 Hz, 1H), 8.42 (d, *J* = 2.8 Hz, 1H).

RMN¹³C (CDCl₃): δ (ppm) 29.86 (CH₂), 30.10 (CH₂), 44.85 (CH₂), 45.45 (CH₂), 69.66 (CH), 70.75 (CH₂), 113.57 (CH), 126.16 (CH), 126.49 (C), 128.52 (CH), 128.71 (2CH), 128.77 (2CH), 128.98 (CH), 140.89 (C), 141.79 (C), 161.66 (C), 199.43 (C).



RMN ¹H (CDCl₃, 300MHz)

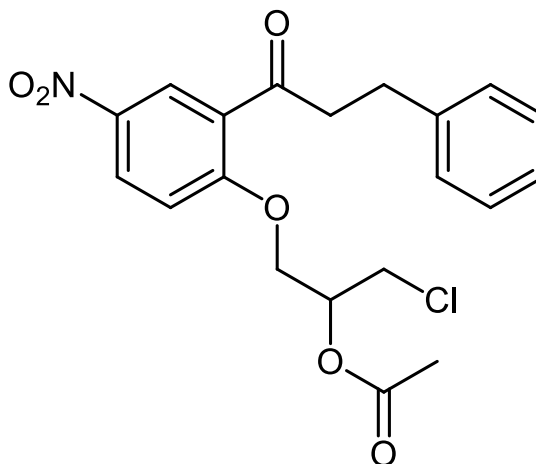
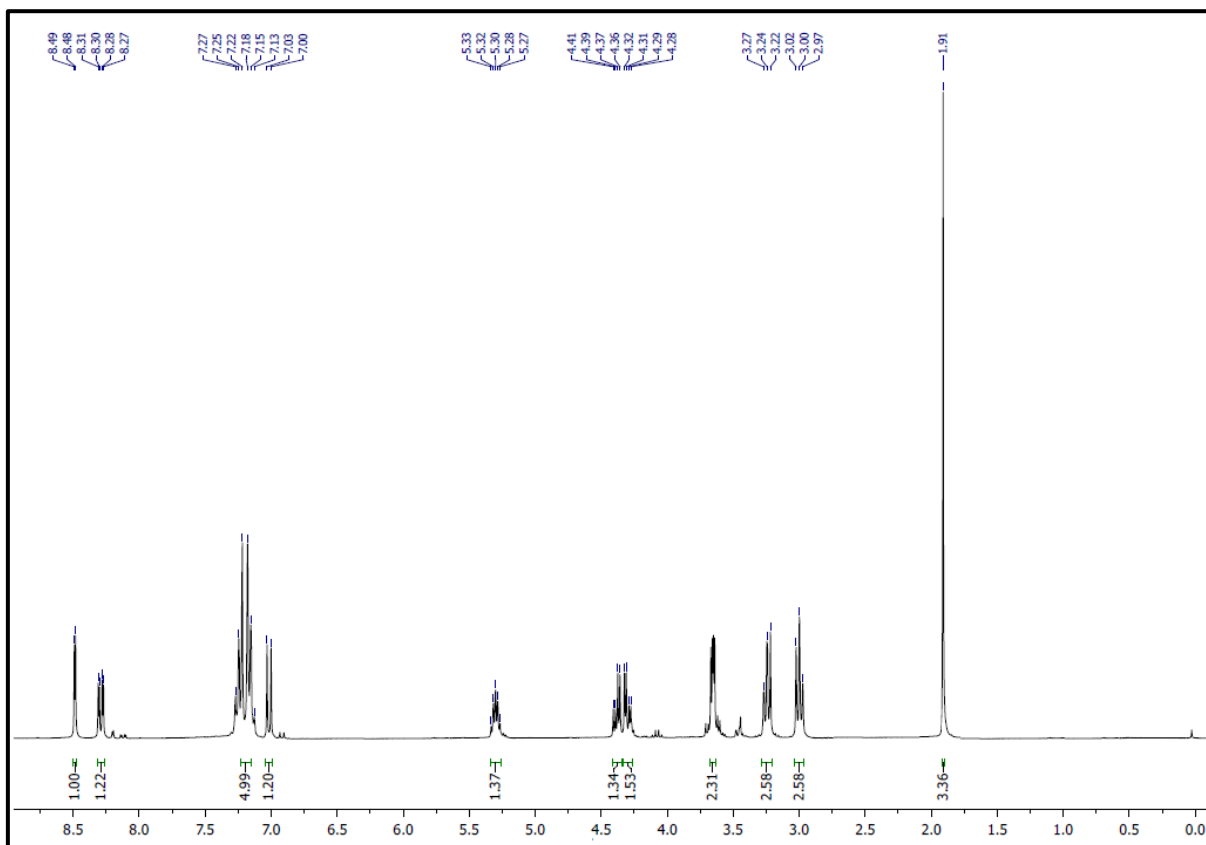


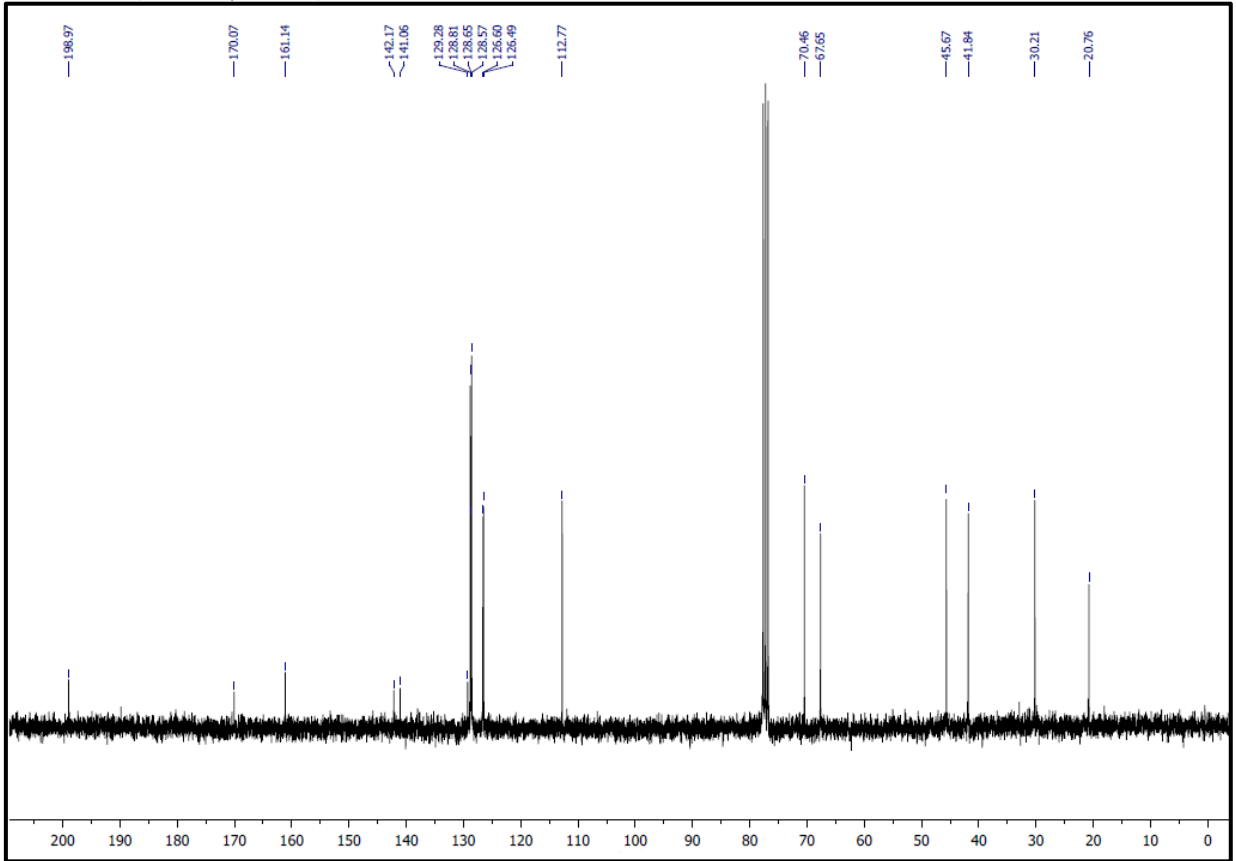
RMN¹³C (CDCl₃):

ANEXO A5

DADOS ESPECTROSCÓPICOS DO acetato de 1-cloro-3-(4-nitro-2-(3-fenilpropanoil)fenoxi)propan-2-ila (*rac*-6)

RMN ¹H (CDCl₃, 300mhZ) δ (ppm) 1.91 (s, 3H), 3.00 (t, 2H), 3.24 (t, 2H), 3.65 (dd, J = 5.5, 3.2 Hz, 2H), 4.30 (dd, J = 10.3, 4.2 Hz, 1H), 4.38 (dd, J = 10.3, 5.0 Hz, 1H), 5.34 – 5.26 (m, 1H), 7.02 (d, J = 9.2 Hz, 1H), 7.28 – 7.12 (m, 5H), 8.29 (dd, J = 9.1, 2.9 Hz, 1H), 8.49 (d, J = 2.9 Hz, 1H). **RMN¹³C (CDCl₃, 75Hz):** δ (ppm) 20.76 (CH₃), 30.21 (CH), 41.84 (CH₂), 45.67 (CH₂), 67.65 (CH₂), 70.46 (CH₂), 112.77 (CH), 126.49 (CH), 126.60 (CH), 128.57 (CH), 128.65 (2CH), 128.81 (2CH), 129.28 (CH), 141.06 (C), 142.17 (C), 161.14 (C), 170.07 (C), 198.97 (C),

**RMN ¹H (CDCl₃, 300mhZ)**

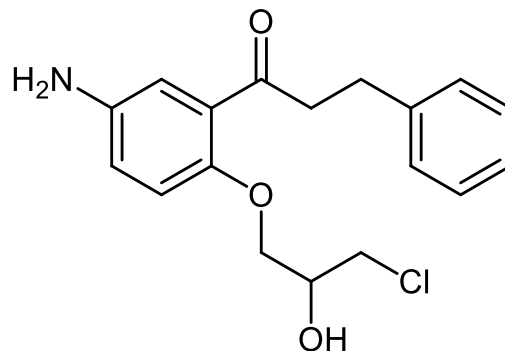
RMN¹³C (CDCl₃, 75Hz)

ANEXO A6

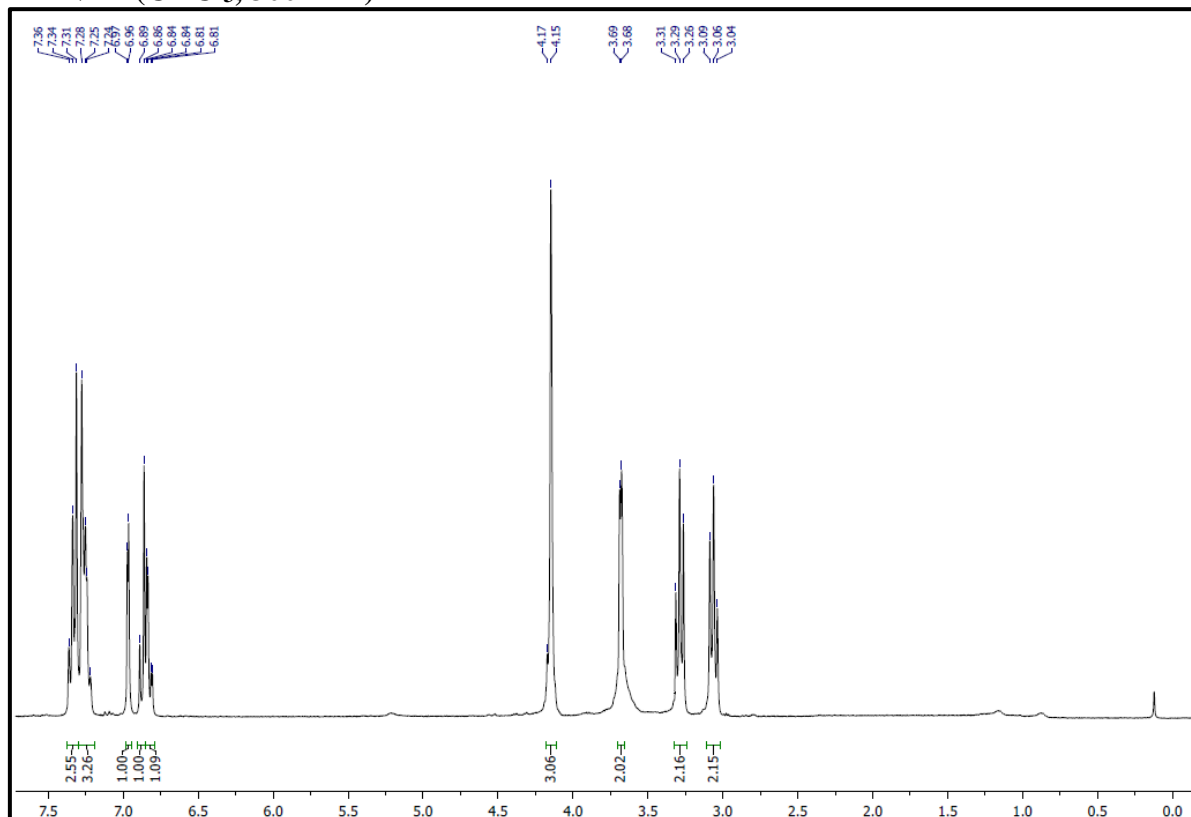
DADOS ESPECTROSCÓPICOS DO 1- (5-amino-2- (3-cloro-2-hidroxi-propoxi) fenil) -3-fenilpropan-1-ona (rac-5)

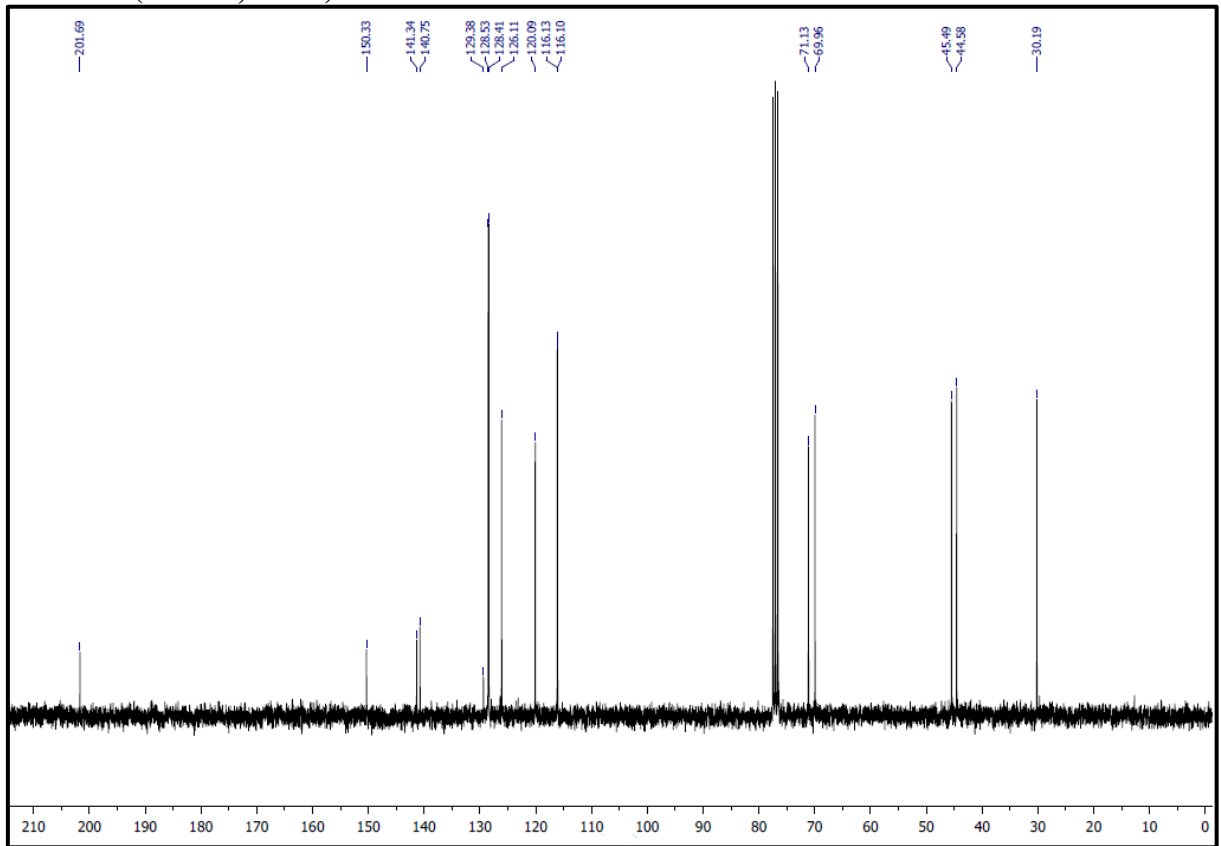
RMN ¹H (CDCl₃, 300MHz) δ (ppm) 3.06 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H), 3.29 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H), 3.68 (d, *J* = 3.8 Hz, 2H), 4.16 (d, *J* = 6.9 Hz, 3H), 6.82 (dd, *J* = 8.9, 2.4 Hz, 1H), 6.88 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 6.97 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H), (dd, *J* = 10.2, 7.2 Hz, 3H), 7.38 – 7.30 (m, 2H), 7.25

RMN¹³C (CDCl₃, 75Hz): δ (ppm) 30.19 (CH₂), 44.58 (CH₂), 45.49 (CH₂), 69.96 (CH), 71.13 (CH₂), 116.10 (CH), 116.13 (CH), 120.09 (CH), 126.11 (C), 128.41, (2CH), 128.53 (2CH), 129.38 (CH), 140.75 (C), 141.34 (C), 150.33 (C), 201.69 (C),



RMN ¹H (CDCl₃, 300MHz)



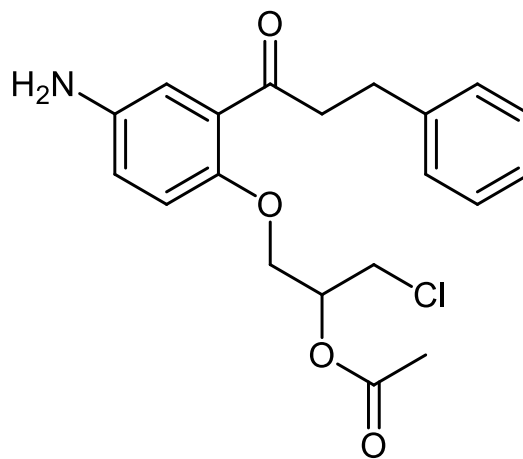
RMN¹³C (CDCl₃, 75Hz):

ANEXO A7

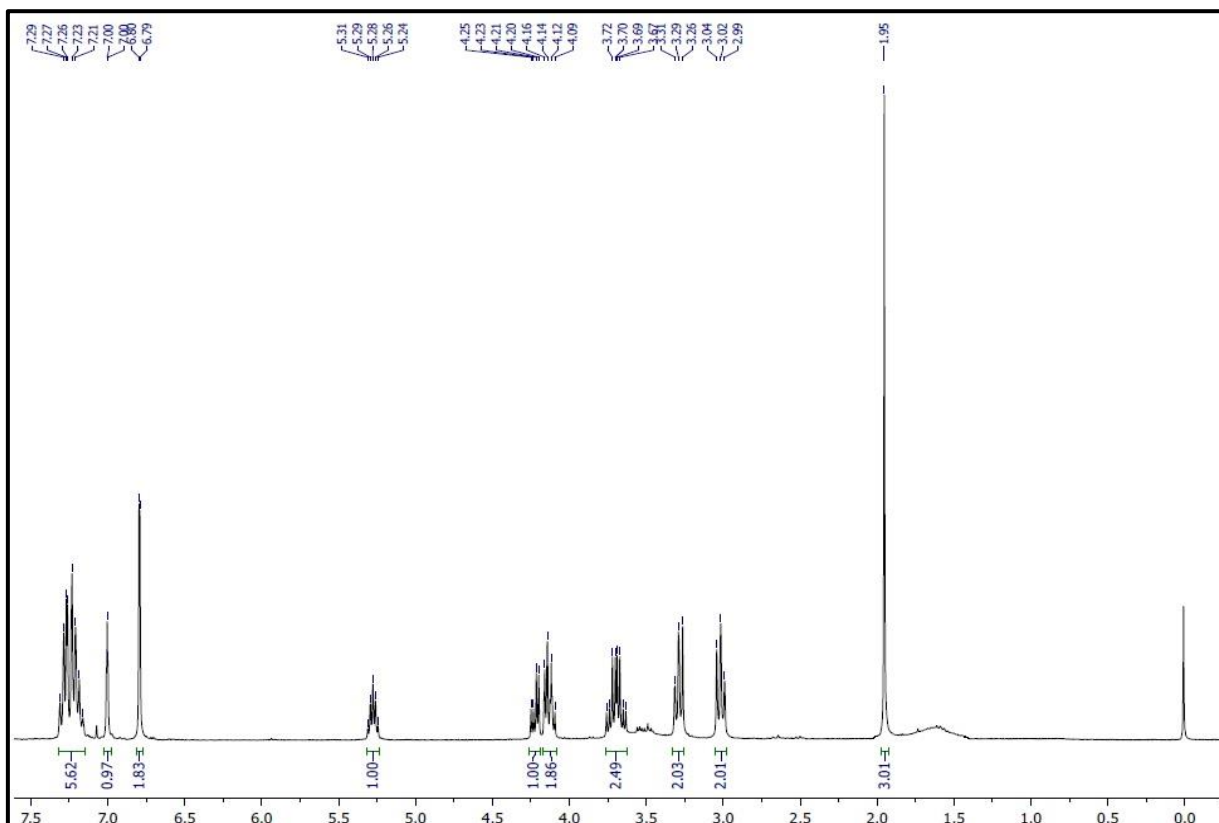
DADOS ESPECTROSCÓPICOS DO acetato de 1-(4-amino-2-(3-fenilpropanoil) fenoxi)-3-cloropropan-2-ila (*rac*-7)

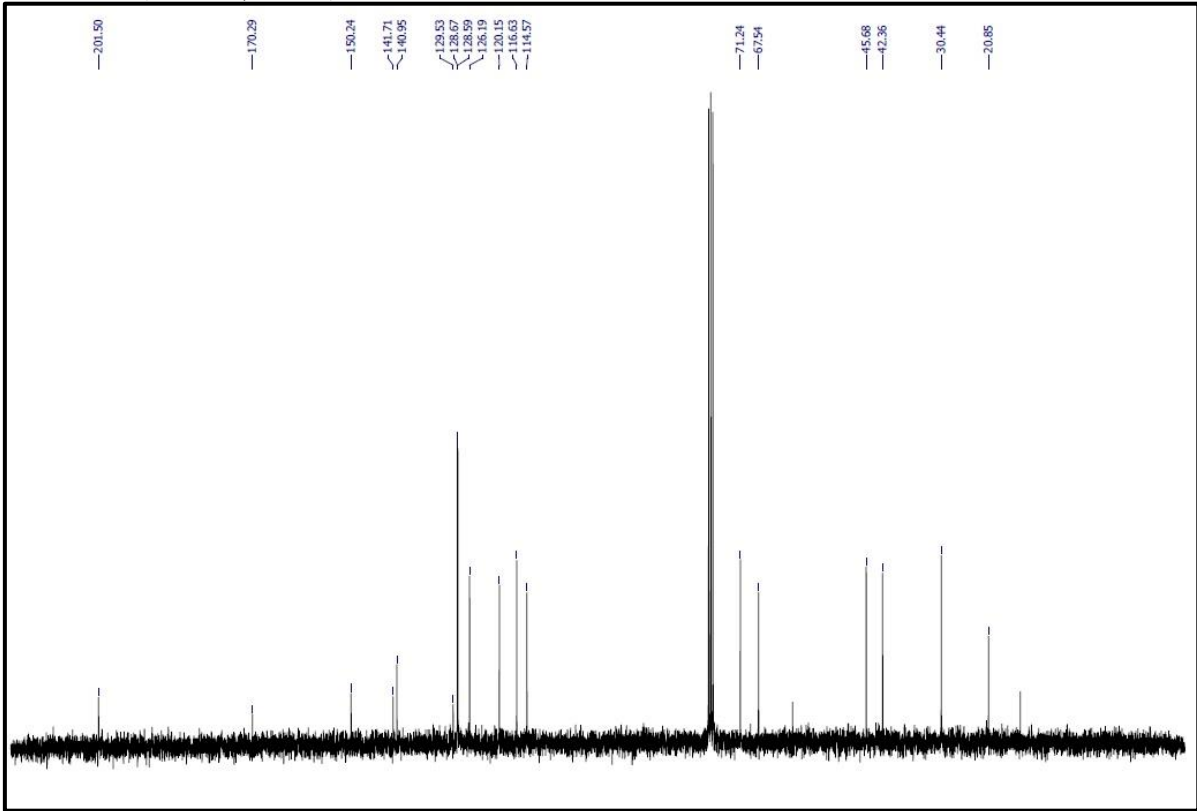
RMN ¹H (CDCl₃, 300MHz) δ (ppm) 1.95 (s, 1H), 3.02 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H), 3.29 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H), 3.70 (qd, *J* = 11.6, 5.5 Hz, 2H), 4.13 (dd, *J* = 13.5, 6.2 Hz, 1H), 4.22 (dd, *J* = 10.3, 4.8 Hz, 1H), 5.32 – 5.23 (m, 1H), 6.79 (d, *J* = 1.6 Hz, 2H), 7.00 (d, *J* = 1.6 Hz, 1H), 7.32 – 7.15 (m, 5H).

RMN¹³C (CDCl₃, 75Hz): δ (ppm) 20.85 (CH₃), 30.44 (CH₂), 42.36 (CH₂), 45.68 (CH₂), 67.54 (CH₂), 71.24 (CH), 114.57 (CH), 116.63 (CH), 120.15 (CH), 126.19 (C), 128.59 (CH), 128.67 (2CH), 129.53 (2CH), 140.95 (C), 141.71 (C), 150.24 (C), 170.29 (C), 201.50 (C).



RMN ¹H (CDCl₃, 300MHz)



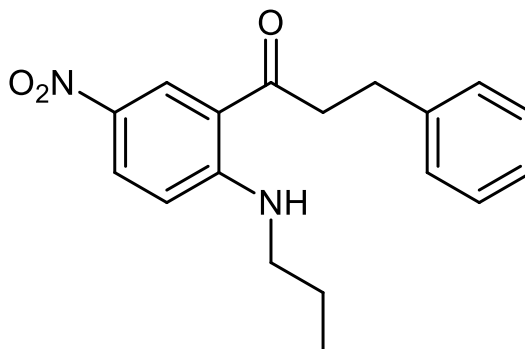
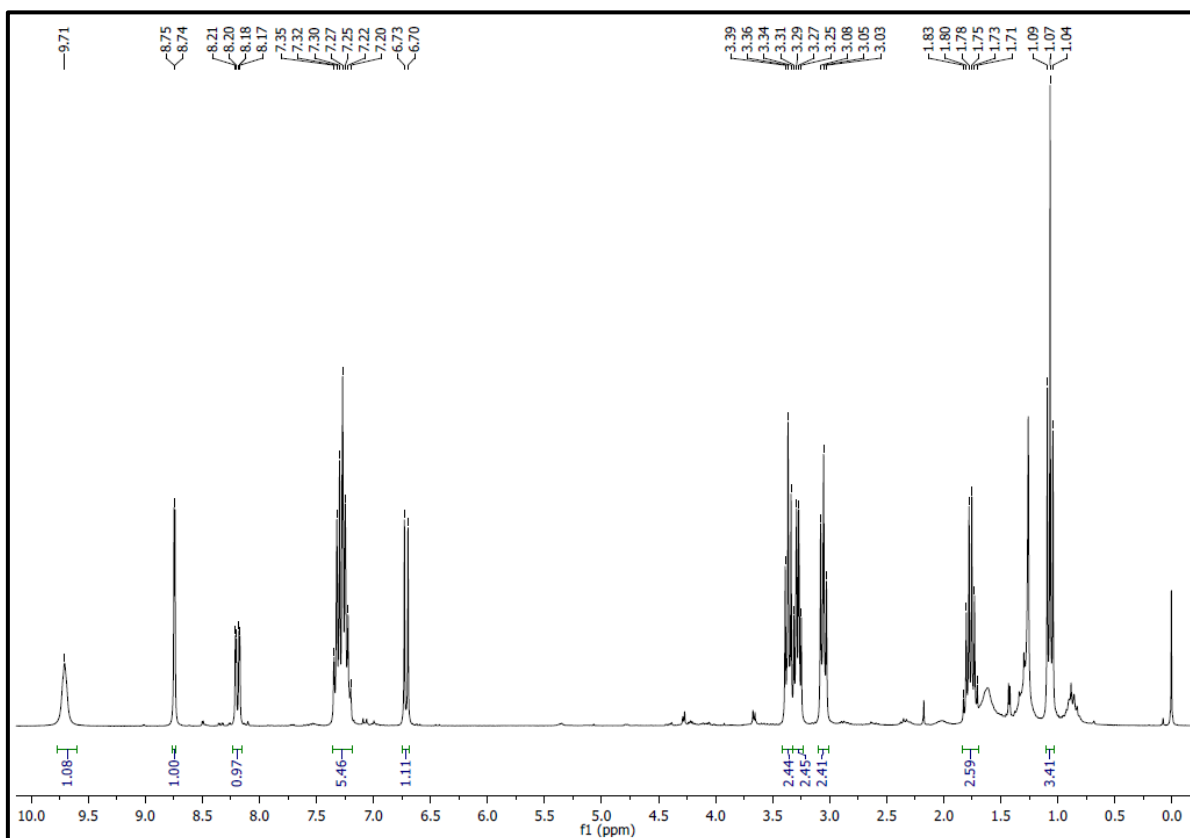
RMN¹³C (CDCl₃, 75Hz)

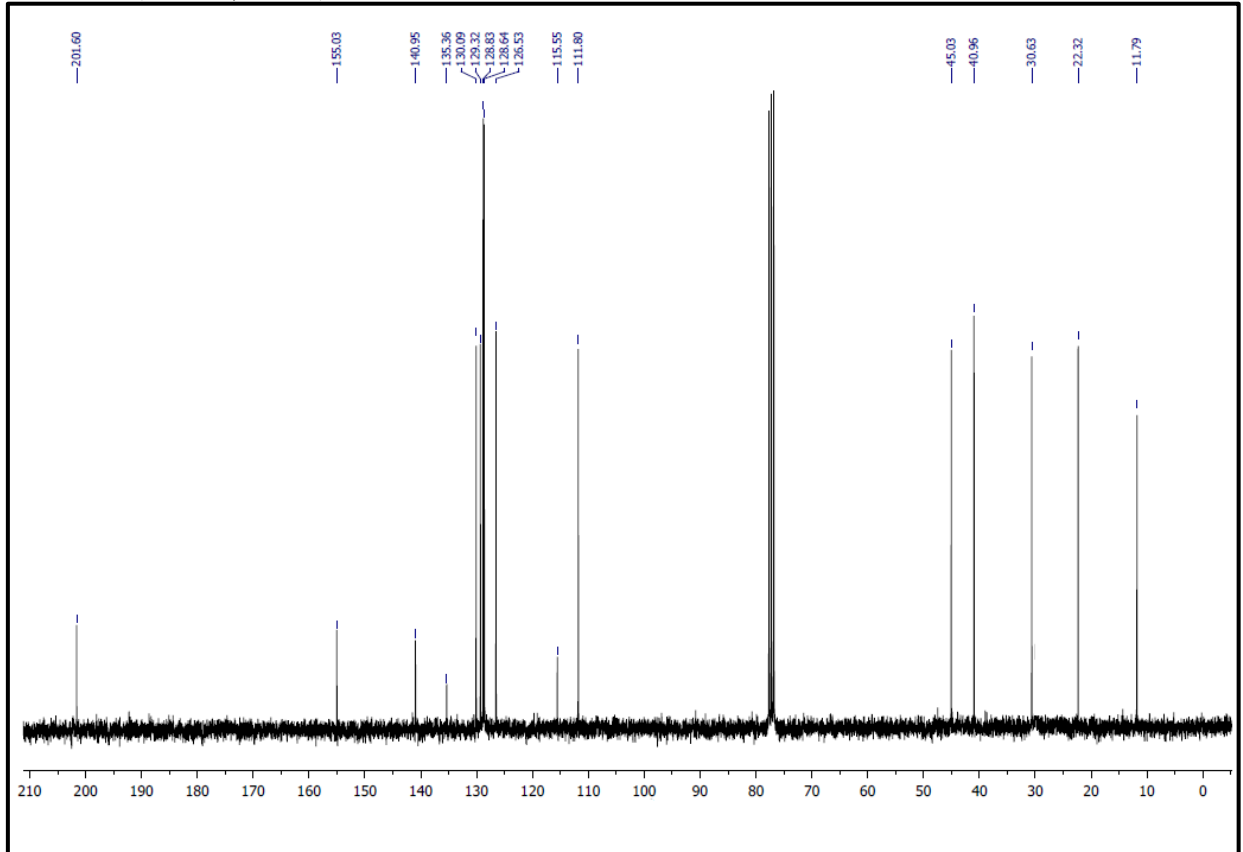
ANEXO A8

DADOS ESPECTROSCÓPICOS DO (1-(5-nitro-2-(propilamino)fenil)-3-fenilpropan-1-ona (8)

RMN ^1H (CDCl_3 , 300MHz) δ (ppm) 1.07 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H), 1.84 – 1.69 (m, 2H), 3.05 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H), 3.28 (dd, $J = 12.4, 6.9$ Hz, 2H), 3.36 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H), 6.71 (d, $J = 9.5$ Hz, 1H), 7.36 – 7.19 (m, 5H), 8.19 (dd, $J = 9.5, 2.4$ Hz, 1H), 8.74 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H), 9.71 (s, 1H).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75Hz): δ (ppm) 11.79 (CH_3), 22.32 (CH_2), 30.63 (CH_2), 40.96 (CH_2), 45.03 (CH_2), 111.80 (CH), 115.55 (C), 126.53 (CH), 128.64 (CH), 128.83 (2CH), 129.32 (2CH), 130.09 (CH), 135.36 (C), 140.95 (C), 155.03 (C), 201.60 (C).

**RMN ^1H (CDCl_3 , 300MHz)**

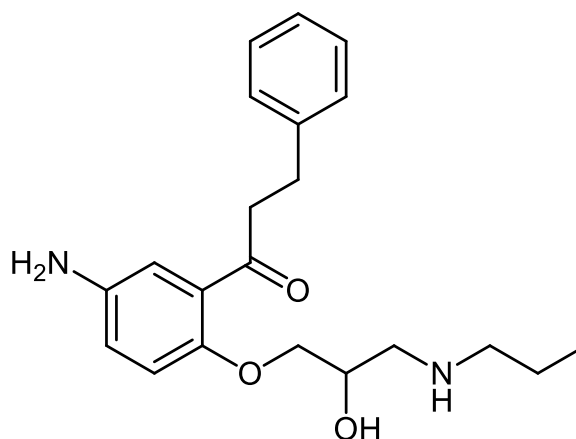
RMN¹³C (CDCl₃, 75Hz)

ANEXO A9

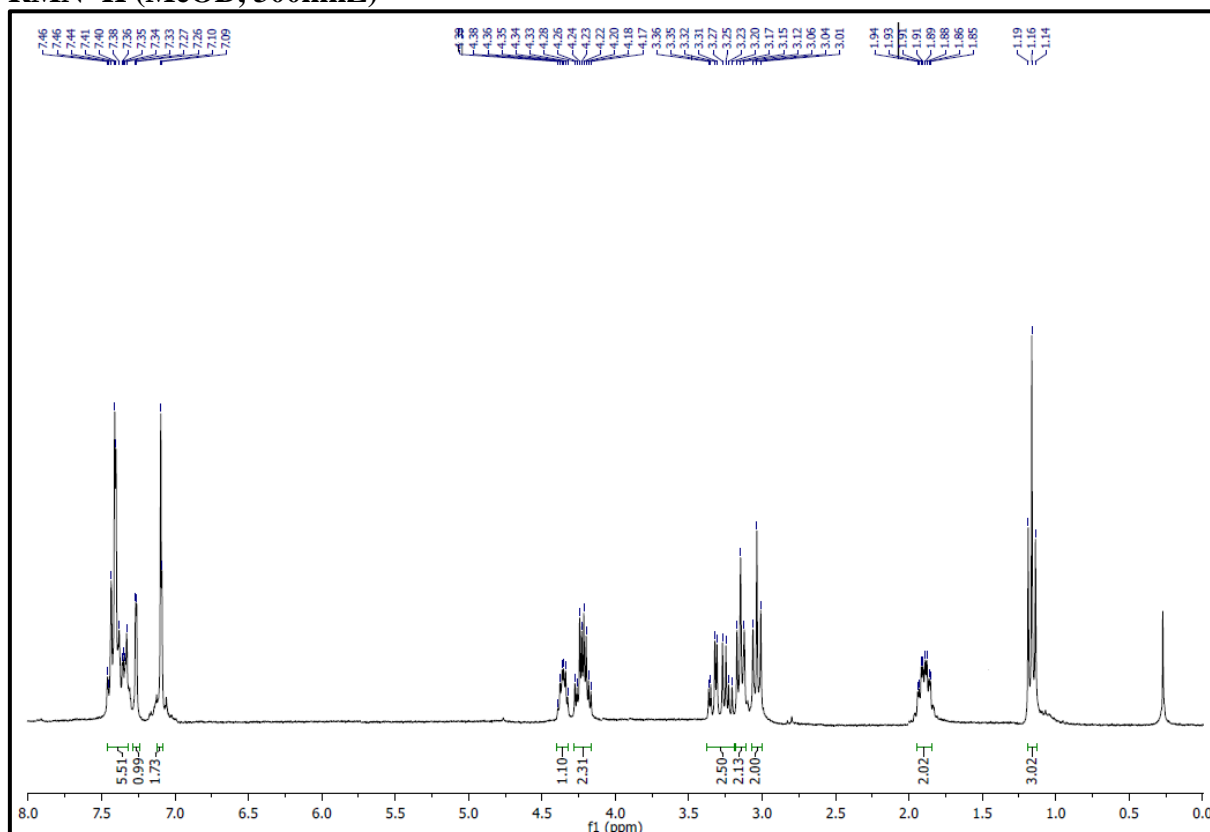
DADOS ESPECTROSCÓPICOS DO 1-(5-amino-2-(2-hidroxi-3-(propilamino)proxi)fenil)-3-fenilpropan-1-ona (*rac*-5a)

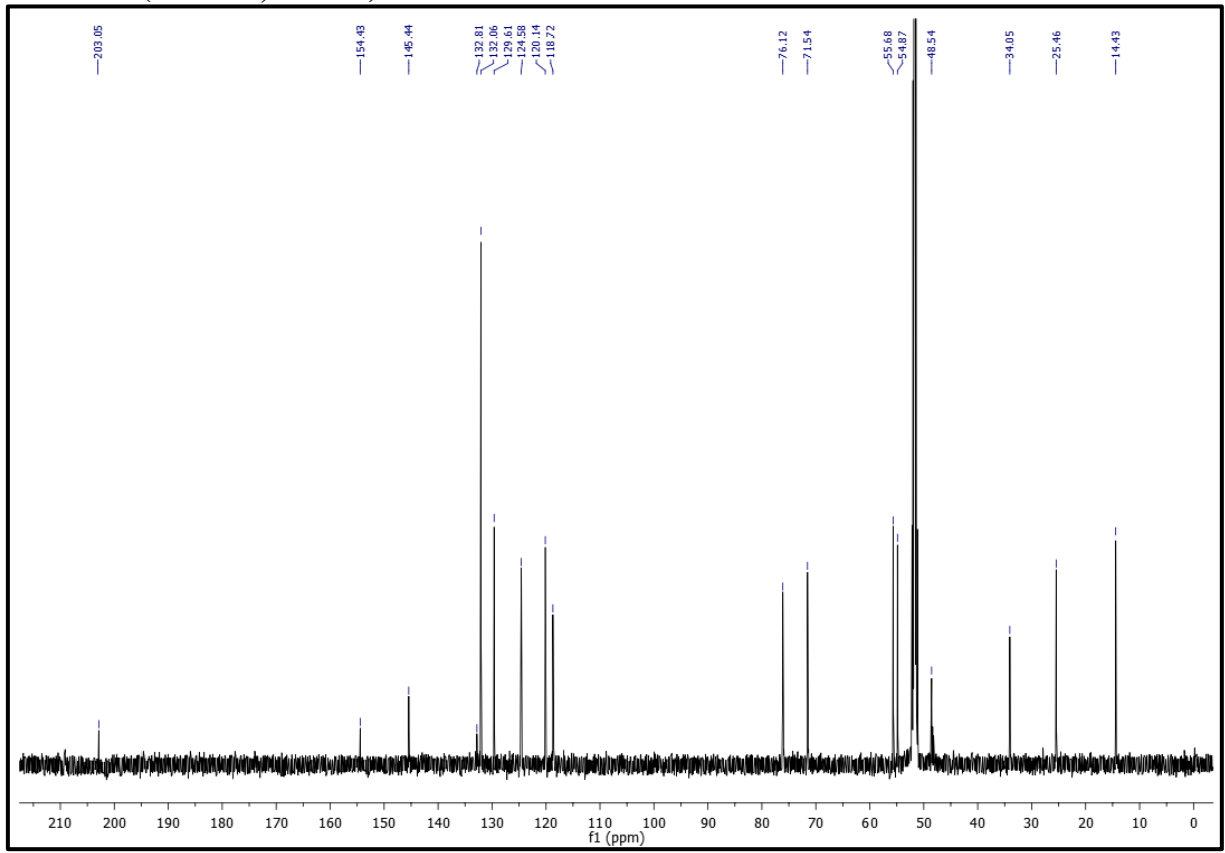
RMN ¹H (MeOD, 300MHz) δ (ppm) 1.16 (t, J = 7.4 Hz, 3H), 1.90 (ddd, J = 15.6, 7.5, 2.7 Hz, 2H), 3.04 (t, J = 8.0 Hz, 2H), 3.15 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 3.29 (ddd, J = 19.6, 12.6, 5.6 Hz, 2H), 4.22 (qd, J = 9.8, 4.5 Hz, 2H), 4.36 (td, J = 8.7, 4.3 Hz, 1H), 7.09 (d, J = 2.2 Hz, 2H), 7.27 (d, J = 1.4 Hz, 1H), δ 7.46 – 7.32 (m, 5H).

¹³C NMR (75 MHz, MeOD) δ 14.43 (CH₃), 25.46 (CH₂), 34.05 (CH₂), 48.54 (CH₂), 54.87 (CH₂), 55.68 (CH₂), 71.54 (CH), 76.12 (CH₂), 118.72 (CH), 120.14 (CH), 124.58 (C), 129.61 (CH), 132.06 (2CH), 132.81 (C), 145.44 (C), 154.43 (C), 203.05 (C).



RMN ¹H (MeOD, 300MHz)

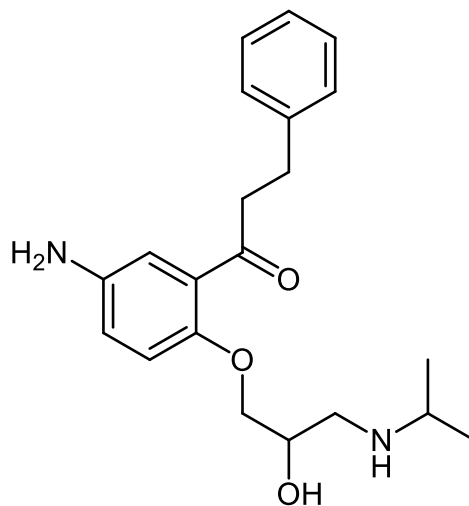


RMN ^{13}C (75 MHz, MeOD)

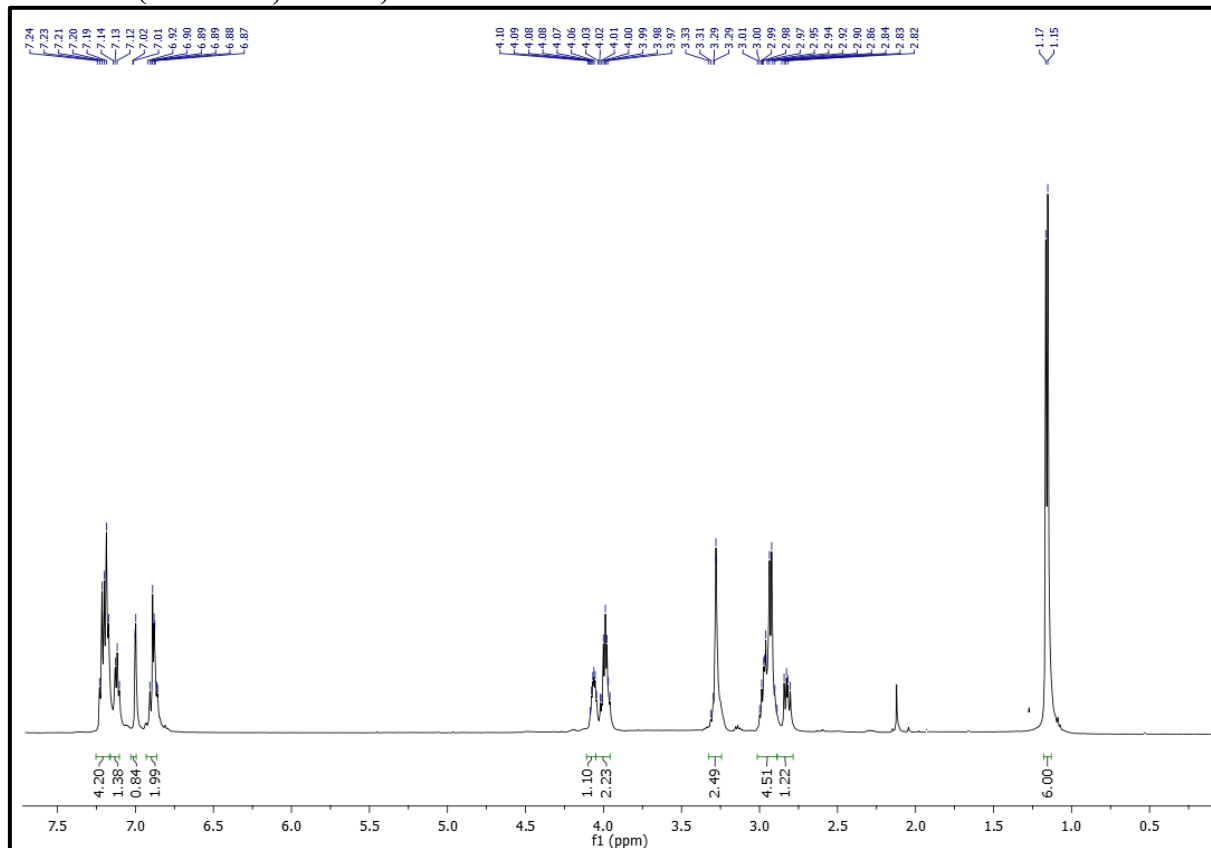
ANEXO A10

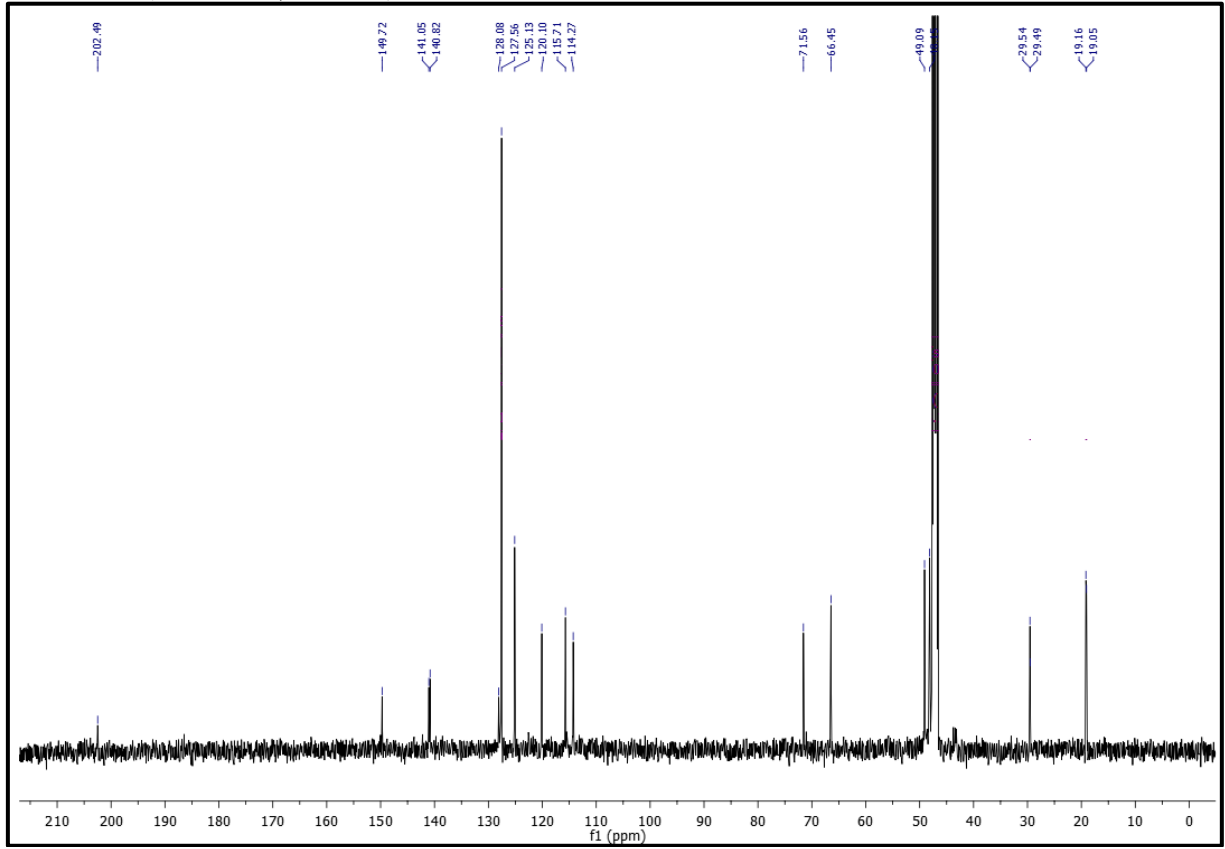
DADOS ESPECTROSCÓPICOS DO 1-(5-amino-2-(2-hidroxi-3-(isopropilamino)propoxi)fenil)-3-fenilpropan-1-ona (*rac*-5b)

^1H NMR (500 MHz, MeOD) δ 1.16 (d, $J = 6.4$ Hz, 6H), 2.84 (dd, $J = 12.2, 7.6$ Hz, 1H), 3.02 – 2.89 (m, 5H), 3.30 (t, $J = 5.2$ Hz, 2H), 4.04 – 3.97 (m, 1H), 4.08 (dt, $J = 8.3, 4.5$ Hz, 1H), 6.92 – 6.86 (m, 2H), 7.01 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 7.16 – 7.10 (m, 1H), 7.21 (dt, $J = 14.1, 7.3$ Hz, 4H).
 ^{13}C NMR (126 MHz, MeOD) δ 19.05 (CH₃), 19.16 (CH₃), 29.49 (CH₂), 29.54 (CH₂), 48.15 (CH₂), 49.09 (CH), 66.45 (CH), 71.56 (CH₂), 114.27 (CH), 115.71 (CH), 120.10 (CH), 125.13 (C), 127.56 (4CH), 128.08 (CH), 140.82 (C), 141.05 (C), 149.72 (C), 202.49 (C),



^1H RMN (500 MHz, MeOD)

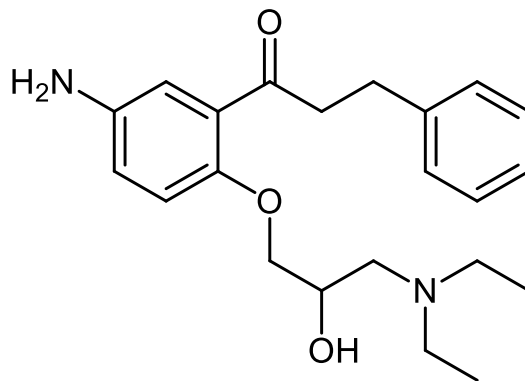


^{13}C RMN (126 MHz, MeOD)

ANEXO A11

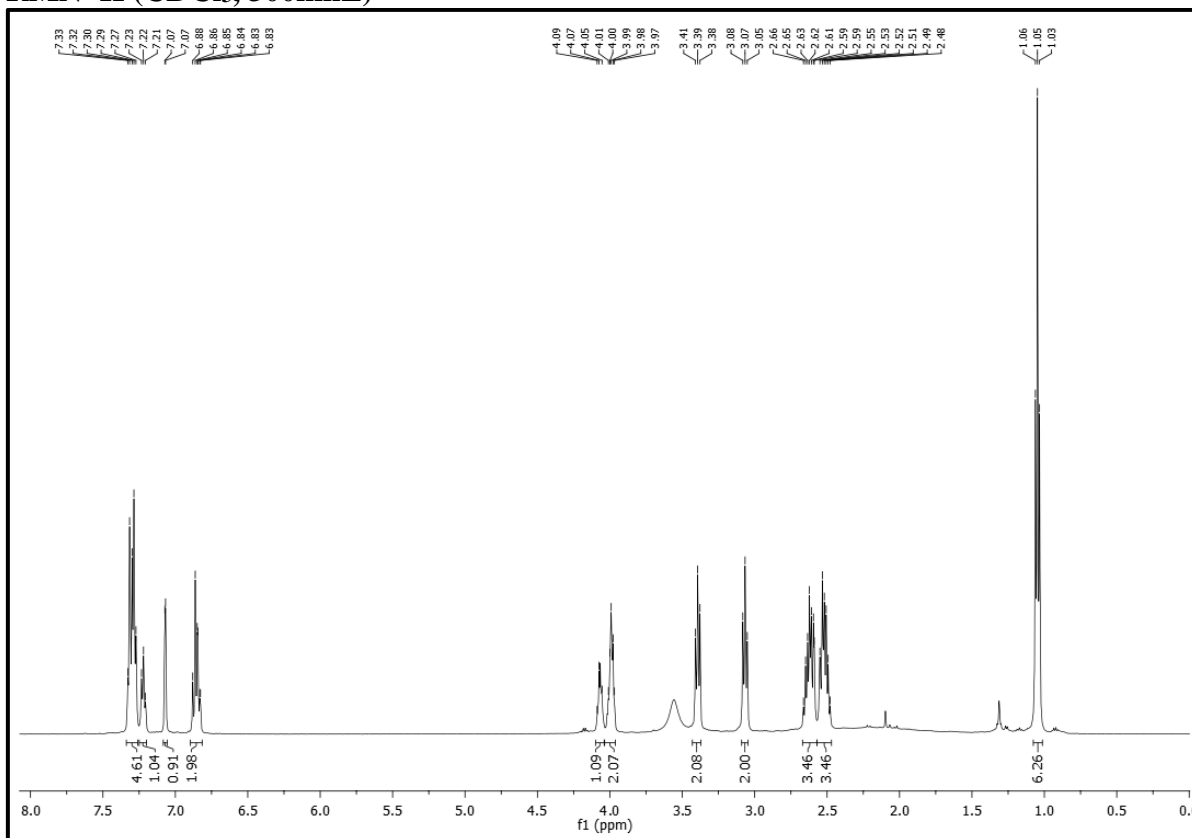
DADOS ESPECTROSCÓPICOS DO 1-(5-amino-2-(3-(dietilamino)-2-hidroxi)fenil)-3-fenilpropan-1-ona (*rac*-5c)

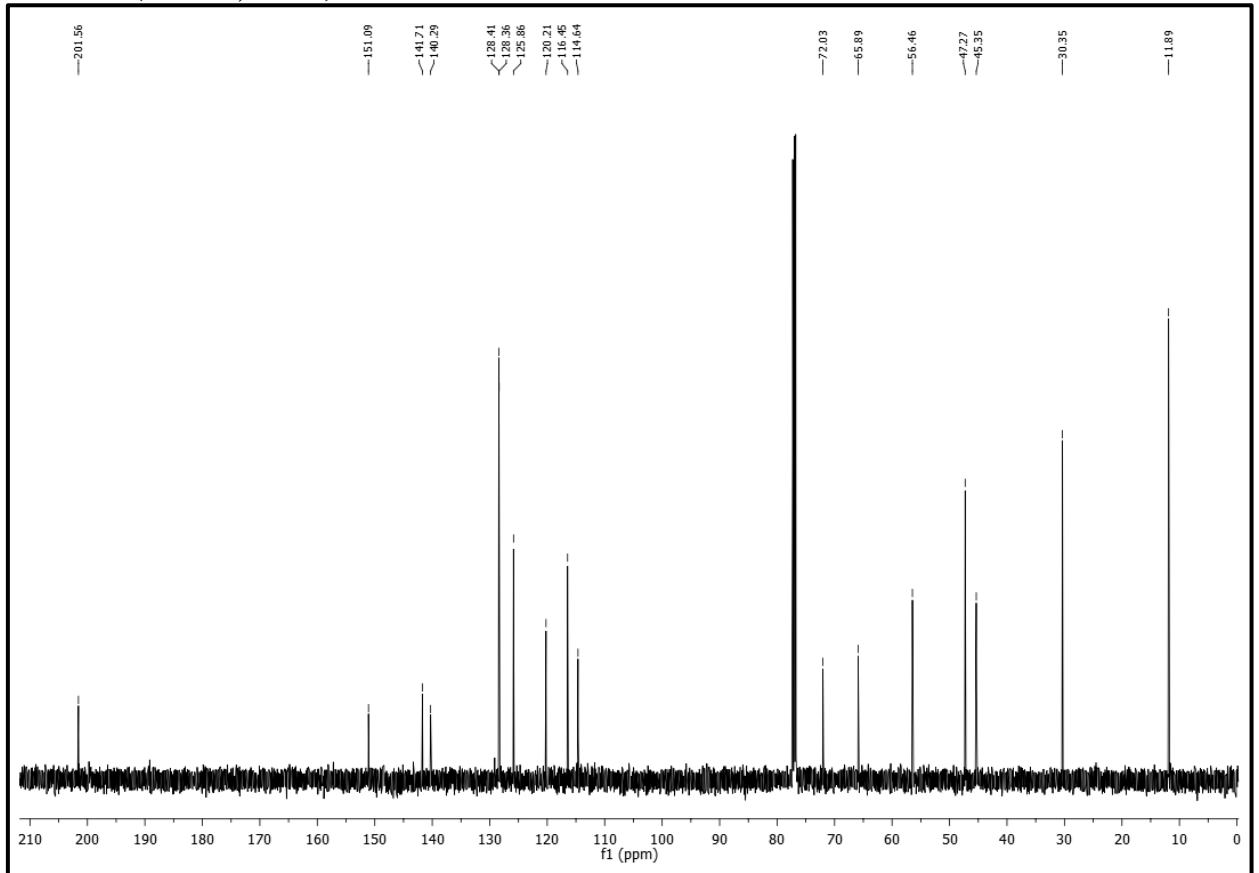
RMN ¹H (CDCl₃, 500MHz) δ (ppm) 1.05 (t, J = 7.1 Hz, 6H), 2.51 (dt, J = 13.8, 7.7 Hz, 3H), 2.62 (ddd, J = 16.7, 12.0, 5.0 Hz, 3H), 3.07 (t, J = 7.7 Hz, 2H), 3.39 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 3.41 – 3.37 (m, 2H), 4.07 (t, J = 8.5 Hz, 1H), 6.85 (dt, J = 8.7, 5.6 Hz, 2H), 7.07 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 7.22 (t, J = 6.9 Hz, 1H), 7.30 (dt, J = 13.2, 6.4 Hz, 4H).



RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 11.89 (2CH₃), 30.35 (CH₂), 45.35 (CH₂), 47.27 (2CH₂), 56.46 (CH₂), 65.89 (CH), 72.03 (CH₂), 114.64 (CH), 116.45 (CH), 120.21 (CH), 125.86 (CH), 128.36 (2CH), 128.41 (2CH), 140.29 (C), 141.71 (C), 151.09 (C), 201.56 (C).

RMN ¹H (CDCl₃, 300MHz)



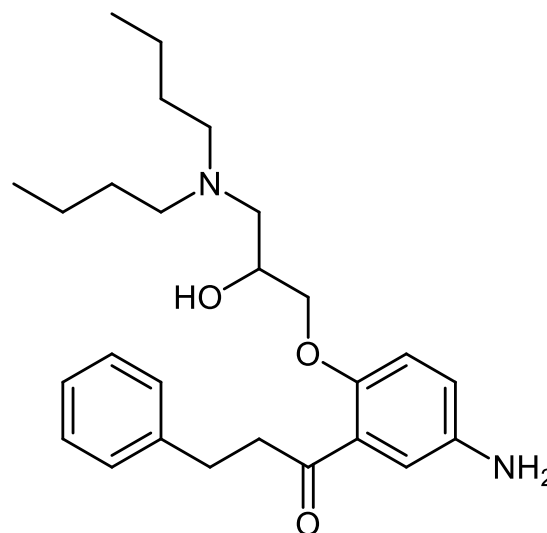
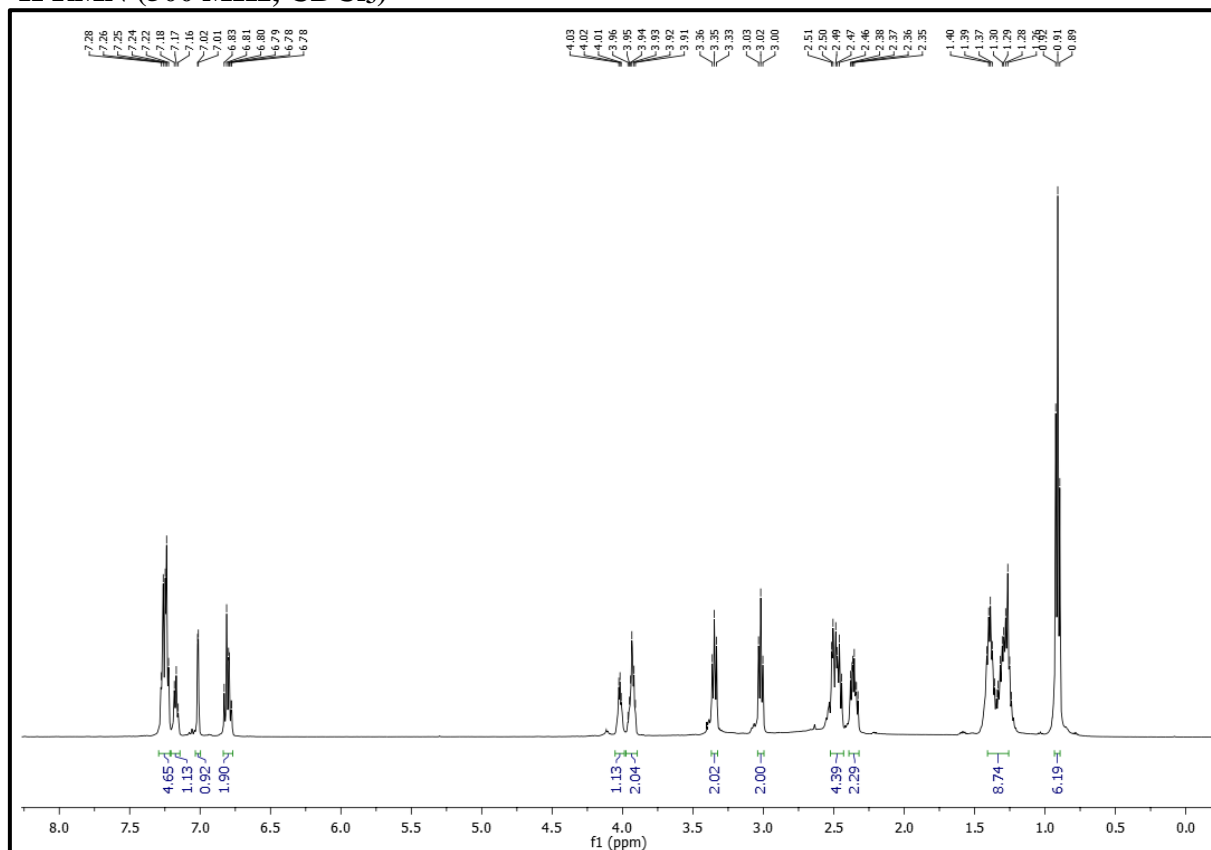
RMN¹³C (CDCl₃, 75Hz)

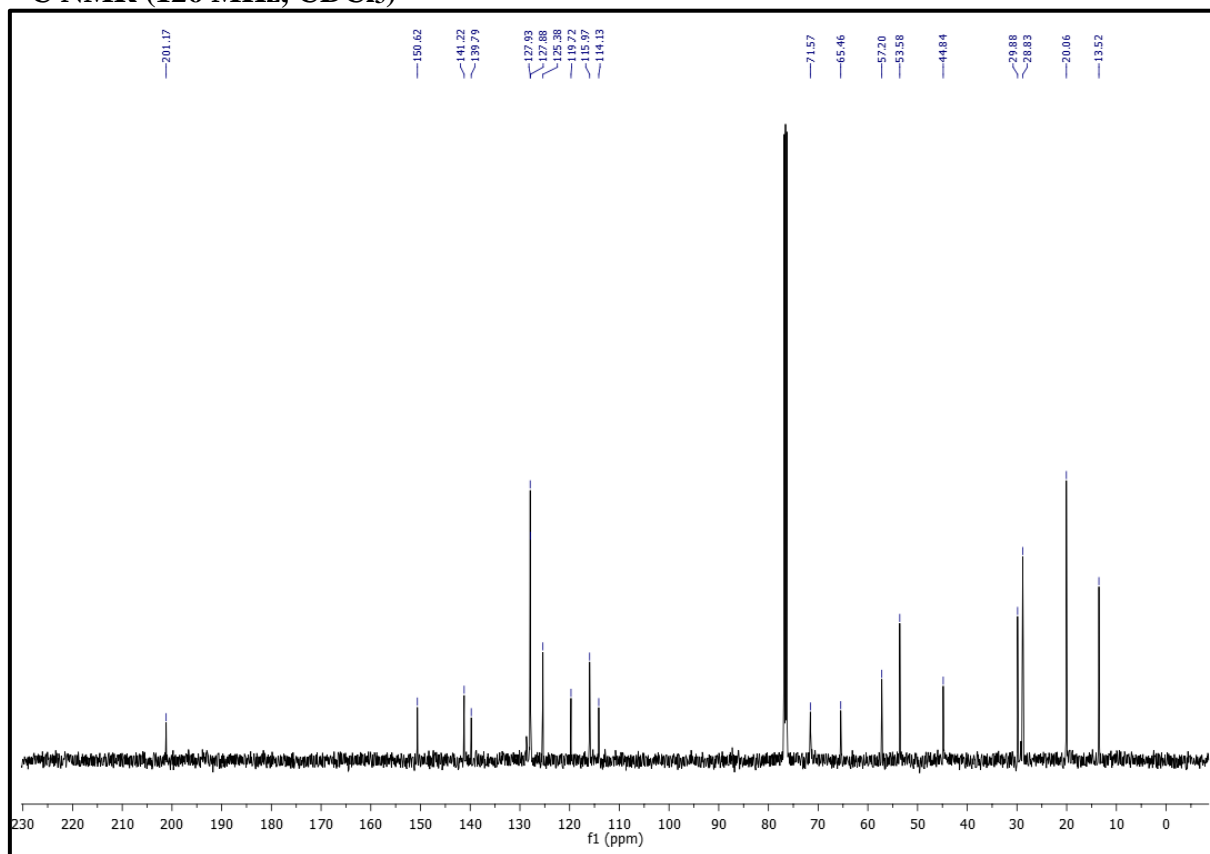
ANEXO A12

DADOS ESPECTROSCÓPICOS DO 1-(5-amino-2-(3-(butil(pentil)amino)-2-hidroxiopropoxi)fenil)-3-fenilpropan-1-ona (*rac*-5d)

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 0.91 (t, $J = 7.2$ Hz, 6H), 1.43 – 1.22 (m, 8H), 2.39 – 2.32 (m, 2H), 2.52 – 2.43 (m, 4H), 3.02 (t, $J = 7.7$ Hz, 2H), 3.35 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H), 3.97 – 3.90 (m, 2H), 4.05 – 3.99 (m, 1H), 6.80 (dt, $J = 8.7, 5.7$ Hz, 2H), 7.02 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H), 7.17 (t, $J = 6.9$ Hz, 1H), 7.29 – 7.22 (m, 4H).

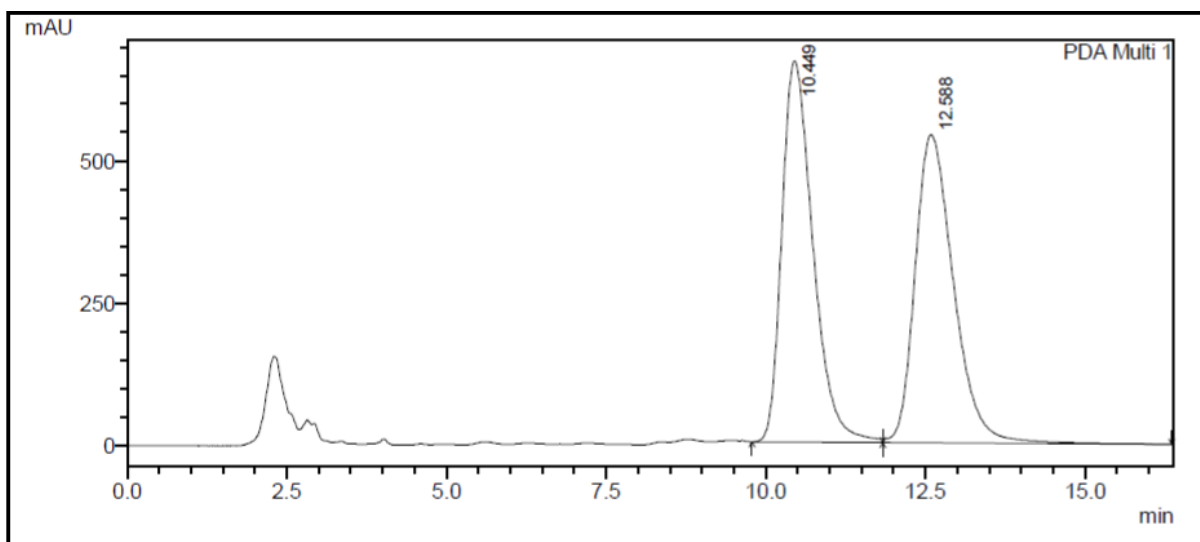
^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ 13.52 (2 CH_3), 20.06 (2 CH_2), 28.83 (2 CH_2), 29.88 (CH_2), 44.86 (CH_2), 53.58 (2 CH_2), 57.20 (CH_2), 65.46 (CH), 71.57 (CH_2), 114.13 (CH), 115.97 (CH), 119.72 (CH), 125.38 (CH), 127.88 (2 CH), 127.93 (2 CH), 139.79 (C), 141.22 (C), 150.62 (C), 201.17 (C).

 ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3)

^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3)

ANEXO B - CROMATOGRAMAS OBTIDOS POR CLAE

Cromatograma obtido por CLAE do acetato de 1-(4-amino-2-(3-fenilpropanoil) fenoxi)-3-cloropropan-2-ila (*rac-7*)



Cromatograma obtido por CLAE do 1-(5-amino-2-(3-cloro-2-hidroxipropoxi) fenil)-3-fenilpropan-1-ona (*rac-5*)

