



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

**DANIEL MORAIS VIEIRA CRUZ**

**RESOLUÇÃO CINÉTICA DO *RAC*-2-CLORO-1-(2,4-DICLOROFENIL)ETANOL  
UTILIZANDO CAL-A E ESTUDO DE RACEMIZAÇÃO DO CORRESPONDENTE  
*(R)*-ENANTIÔMERO**

**FORTALEZA**

**2025**

DANIEL MORAIS VIEIRA CRUZ

RESOLUÇÃO CINÉTICA DO *RAC*-2-CLORO-1-(2,4-DICLOROFENIL) ETANOL  
UTILIZANDO CAL-A E ESTUDO DE RACEMIZAÇÃO DO CORRESPONDENTE  
(*R*)-ENANTIÔMERO

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

Orientador: Prof. Dr. Marcos Carlos de Mattos.  
Coorientador: Prof. Dr. Thiago de Sousa  
Fonseca

FORTALEZA

2025

DANIEL MORAIS VIEIRA CRUZ

RESOLUÇÃO CINÉTICA DO *RAC*-2-CLORO-1-(2,4-DICLOROFENIL) ETANOL  
UTILIZANDO CAL-A E ESTUDO DE RACEMIZAÇÃO DO CORRESPONDENTE  
(*R*)-ENANTIÔMERO

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

Aprovada em: 20/03/2025.

BANCA EXAMINADORA

---

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

---

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

---

Prof. Dr. José Cleiton Sousa dos Santos  
Universidade da Integração Internacional  
da Lusofonia Afro-Brasileira (Unilab)

---

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

A Deus.

Ao meu pai e à minha mãe, Luiz Carlos e  
Carmem.

## AGRADECIMENTOS

A Deus pela resiliência, saúde e paciência para superar todas as adversidades.

A minha família, por todas as apoio, orações e torcida para chegar neste ponto.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Marcos Carlos de Mattos, pela fé, orientação e ensinamentos que contribuíram para evoluir como pesquisador e como pessoa, sempre com seu trato gentil e educativo de ensinar, além de fortalecer o espírito de seus alunos com suas palavras.

Ao meu coorientador, Prof. Dr. Thiago de Sousa Fonseca, pelos valiosos conselhos e ensinamentos, tanto pessoais quanto sobre química, que contribuíram para a minha formação.

Aos membros da banca examinadora, Prof. Dr. José Cleiton Sousa dos Santos e Prof. Dr. Marcos Reinaldo da Silva, pelo tempo, críticas e sugestões apresentadas que contribuíram para minha formação.

Aos colegas do Laboratório de Biotecnologia e Síntese Orgânica (**LABS**), Ana Gabrielle, Aléxia, Bruna, Carlos Filho, Erlando, Gabriella, Gledson, Jonatas, Yana Letícia, e Kayran, pelo apoio, gentilezas e sugestões que fizeram esses dois anos serem mais enriquecedores e agradáveis.

À minha namorada, Ana Caroline Sousa Santos, por ter sido um dos meus pilares mais importantes durante o mestrado, com todo o apoio, incentivo e motivação constante para seguir em frente nos piores momentos.

Aos meus amigos Anna Negreiros, Iago, Elisson, Gabriel, Nicholas e Ribeiro, pelo acolhimento nos momentos de tristezas e as celebrações nos momentos de alegrias, tornando essa jornada mais especial.

À CAPES, CNPq e FUNCAP pelo suporte financeiro que possibilitou a realização deste trabalho.

*"I'm still standing better than I ever did.*

*Looking like a true survivor, feeling like a little  
kid." (Elton John, *I'm Still Standing*, 1983).*

## RESUMO

A Resolução Cinética Dinâmica (**RCD**) é uma técnica que permite a conversão de até 100% de um racemato em um único enantiômero. Esse processo combina a ação de lipases com catalisadores organometálicos de racemização, sendo amplamente utilizado para a síntese de intermediários quirais de alto valor agregado, especialmente na indústria farmacêutica. Um exemplo é o (*S*)-2-cloro-1-(2,4-diclorofenil)etanol (**S-3**), intermediário-chave na síntese quimioenzimática do Luliconazol (**R-1**), princípio ativo de pomadas antifúngicas utilizadas no tratamento de micoses. Neste trabalho, propõe-se uma nova rota sintética para a obtenção de **R-1** a partir da **RCD** do racemato *rac-3*, o qual foi obtido pela redução da 2-cloro-1-(2,4-diclorofenil)etanona (**2**). Em seguida, realizou-se a resolução cinética enzimática de *rac-3* via acetilação, catalisada pela lipase do tipo A de *Candida antarctica*, imobilizada em Immobead 150, recombinada com *Aspergillus oryzae* (**CAL-A**), utilizando acetonitrila como solvente e acetato de vinila como doador de acila. Após 48-72 horas de reação, obteve-se **S-3** com excesso enantiomérico do substrato (*e.e.*) superior a 99%. Posteriormente, **S-3** foi submetido a testes de racemização utilizando como catalisadores o catalisador de Shvo (**cat-10**), o clorocarbonil(1,2,3,4,5-pentametilciclopentadienil)rutênio (II) (**cat-11**), o clorocarbonil(1-,2,3,4,5-pentametilciclopentadienil)rutênio (II) (**cat-12**) e o sulfato de vanadila (**cat-43**). Os estudos de racemização foram realizados em atmosfera inerte de nitrogênio (N<sub>2</sub>) e em tolueno como solvente. O **cat-10** foi testado na ausência e na presença de *t*-BuOK, sob temperatura de 70 °C. Na presença de *t*-BuOK, observou-se um decréscimo de 23% no *e.e.* após 72 horas, enquanto na ausência da base, a redução foi menos significativa. O **cat-11**, ativado na presença de *t*-BuOK, apresentou um decréscimo de 10% no *e.e.* em apenas 10 minutos. O **cat-12**, também ativado por *t*-BuOK, mostrou um decaimento de apenas 4% no *e.e.* após 1 h. O **cat-43** não demonstrou nenhuma atividade na racemização do **S-3** nas temperaturas de 40-75 °C e nos solventes heptano, tolueno, cicloexano e acetonitrila. Esses resultados sugerem que, embora os catalisadores tenham exibido atividade de racemização, os decréscimos no *e.e.* não foram próximos de zero. Portanto, é necessária a otimização das condições reacionais, como temperatura, proporção de catalisador e tempo de reação, para melhorar a eficiência do processo de racemização.

**Palavras-chave:** resolução cinética dinâmica; luliconazol; lipases.

## ABSTRACT

Dynamic Kinetic Resolution (**DKR**) is a technique that allows the conversion of up to 100% of a racemate into an optically pure enantiomer. This process combines the action of lipases with organometallic racemization catalysts and is widely used for the synthesis of high-value chiral intermediates, especially in the pharmaceutical industry. An example is (*S*)-2-chloro-1-(2,4-dichlorophenyl)ethanol (**S-3**), a key intermediate in the chemoenzymatic synthesis of Luliconazole (**R-1**), the active ingredient in antifungal ointments used to treat fungal infections. In this work, a new synthetic route for obtaining **R-1** from the DKR of the racemate *rac-3* is proposed. Initially, 2-chloro-1-(2,4-dichlorophenyl)ethanone (**2**) was reduced with sodium borohydride to generate *rac-3*. Subsequently, the enzymatic kinetic resolution of *rac-3* was carried out via acetylation, catalyzed by *Candida antarctica* lipase type A immobilized on Immobead 150, recombinantly expressed in *Aspergillus oryzae* (**CAL-A**), using acetonitrile as the solvent and vinyl acetate as the acyl donor. After 48-72 hours of reaction, **S-3** was obtained with an enantiomeric excess (*e.e.*) greater than 99%. Subsequently, **S-3** was subjected to racemization tests using the Shvo catalyst (**cat-10**), chlorocarbonyl(1,2,3,4,5-pentamethylcyclopentadienyl)ruthenium(II) (**cat-11**), chlorocarbonyl(1,2,3,4,5-pentamethylcyclopentadienyl)ruthenium(II) (**cat-12**), and vanadyl sulfate (**cat-43**). The racemization studies were conducted under an inert nitrogen (N<sub>2</sub>) atmosphere and in toluene as the solvent. **Cat-10** was tested in the absence and presence of *t*-BuOK at 70 °C. In the presence of *t*-BuOK, a 23% decrease in *e.e.* was observed after 72 hours, while in the absence of the base, the reduction was less significant. **Cat-11**, activated in the presence of *t*-BuOK, showed a 10% decrease in *e.e.* in just 10 minutes. **Cat-12**, also activated by *t*-BuOK, exhibited a decay of only 4% in *e.e.* after 1 hour. **Cat-43** did not demonstrate any activity in the racemization of (*S*)-3 at temperatures of 40-75 °C and in solvents such as heptane, toluene, cyclohexane, and acetonitrile. These results suggest that, although the catalysts exhibited racemization activity, the decreases in enantiomeric excess were not close to zero. Therefore, optimization of reaction conditions, such as temperature, catalyst ratio, and reaction time, is necessary to improve the efficiency of the racemization process.

**Keywords:** dynamic kinetic resolution; luliconazole; lipases.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1	- Representação geral de uma <b>RCE</b> .....	16
Figura 2	- Síntese químioenzimática do Luliconazol, desenvolvida por Fonseca et al. 2018.....	17
Figura 3	- Representação geral de uma <b>RCD</b> .....	18
Figura 4	- Fármacos aprovados pela <b>FDA</b> entre 2018 e 2022.....	21
Figura 5	- Representação da resolução cinética catalisada por lipase.....	22
Figura 6	- Diagrama de energia livre de Gibbs ilustrando a enantiosseletividade de lipases frente a um álcool secundário.....	23
Figura 7	- Representação da <b>RCD</b> por catálise combinada lipase e agente de racemização.....	24
Figura 8	- Métodos de racemização quimio-catalíticos para álcoois secundários.....	25
Figura 9	- Princípio da Racemização de Álcoois Catalisada por Metais de Transição....	26
Figura 10	- Agentes de racemização a base de rutênio com mecanismo via transferência de hidrogênio.....	26
Figura 11	- Ciclo catalítico da transferência de hidrogênio catalisada por <b>cat-10</b> .....	27
Figura 12	- <b>RCD</b> do <b>rac-7</b> desenvolvida por Persson e colaboradores (1999).....	28
Figura 13	- Esquema de racemização do <b>S-13</b> utilizando <b>cat-11</b> .....	29
Figura 14	- Mecanismo proposto do <b>cat-11</b> na racemização do <b>S-13</b> .....	30
Figura 15	- <b>RCD</b> do <b>rac-13</b> desenvolvida por Martín-Matute e colaboradores.....	31
Figura 16	- Síntese do fármaco ( <i>R</i> )-Bufuralol, via <b>RCD</b> do <b>rac-34</b> .....	32
Figura 17	- Síntese dos enantiômeros ( <i>R</i> )-duloxetina, via <b>RCD</b> do <b>rac-39</b> .....	33
Figura 18	- Esquema de racemização do <b>S-13</b> utilizando <b>cat-12</b> .....	33
Figura 19	- Mecanismo proposto por Choi e colaboradores., 2002 do <b>cat-12</b> na racemização do <b>S-13</b> .....	34
Figura 20	- Mecanismo proposto por Choi et al., 2004 do <b>cat-12</b> na racemização do <b>S-13</b> .....	35

Figura 21 - <b>RCD</b> do <i>rac-13</i> desenvolvida por Choi e colaboradores (2004).....	35
Figura 22 - Racemização de álcoois secundários <i>via</i> formação de carbocátion (AL = ácido de Lewis).....	36
Figura 23 - Mecanismo de racemização de <b>S-13</b> com <b>cat-43</b> via catálise ácida.....	37
Figura 24 - Procedimento de racemização e <b>RCD</b> desenvolvidos por Wyuts e colaboradores (2007).....	38
Figura 25 - <b>RCD</b> de <i>rac-13</i> segundo a metodologia desenvolvida por De Almeida e colaboradores (2020).....	39
Figura 26 - <b>RCD</b> do <i>rac-49</i> desenvolvida por Min e colaboradores (2024).....	39
Figura 27 - Fórmula estrutural do <b>R-1</b> .....	40
Figura 28 - Biossíntese do ergosterol inibida pela coordenação do N3 do imidazol com o Ferro Heme <b>CYP51</b> .....	40
Figura 29 - Rota de síntese simplificada de <b>R-4</b> .....	42
Figura 30 - Esquema da redução da cetona <b>2</b> .....	44
Figura 31 - Esquema da redução da cetona <b>12</b> .....	45
Figura 32 - Esquema da síntese geral dos acetatos <i>rac-4</i> e <i>rac-14</i> .....	45
Figura 33 - Esquema da síntese do <i>rac-54</i> .....	46
Figura 34 - Esquema reacional da síntese do <b>S-13</b> por <b>RCE</b> <i>via</i> acetilação catalisada pela lipase <b>CAL-B</b> .....	46
Figura 35 - Esquema de síntese de <b>R-3</b> .....	47
Figura 36 - Esquema da <b>RCE</b> de <i>rac-3</i> .....	48
Figura 37 - Gráfico da relação entre a <i>c</i> (%) e o log(P) de diferentes solventes orgânicos na <b>RCE</b> de <i>rac-3</i> .....	49
Figura 38 - Gráfico da relação entre os valores de Enantiosseletividade da <b>RCE</b> de <i>rac-3</i> .....	50
Figura 39 - Esquemas de reações de racemização de <b>R-3</b> com o catalisador de shvo.....	51
Figura 40 - Estrutura do intermediário Ru-alcóxido ( <b>cat-11b</b> ).....	53
Figura 41 - Mudança de coloração da solução durante a ativação do <b>cat-11</b> .....	53

Figura 42 - Esquema da reação de racemização de <b>S-13</b> com o <b>cat-12</b> .....	54
Figura 43 - Esquema reacional para a racemização de <b>R-3</b> com o <b>cat-11</b> . Os valores apresentados referem-se ao tempo de 30 minutos.....	55
Figura 44 - Esquema reacional para a racemização de <b>R-3</b> com o <b>cat-12</b> .....	56
Figura 45 - Esquema da reação de racemização do <b>R-3</b> com <b>cat-43</b> .....	57

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	- <b>RCD</b> de halodrinas catalisadas pelo <b>cat-10</b> .....	28
Tabela 2	- <b>RCD</b> de halodrinas catalisadas pelo <b>cat-11</b> .....	31
Tabela 3	- Valores de <i>e.e.</i> ao decorrer do tempo das reações de racemização de <b>R-3</b> ....	52

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<i>c</i>	Conversão
CAL-A	lipase do tipo de <i>Candida antarctica</i> A imobilizada em Immobead 150, recombinada com <i>Aspergillus oryzae</i>
CENAUREM/UFC	Centro Nordestino de Aplicação e Uso da Ressonância Magnética Nuclear da Universidade Federal do Ceará
CG-DIC	Cromatógrafo gasoso com Detector por Ionização de Chama
CIR	Coordenada Intrínseca de Reação
DMAP	<i>N,N</i> -dimetilaminopiridina
<i>E</i>	Enantiosseletividade
<i>e.e.</i>	Excesso enantiomérico
<i>e.e.</i> <sub>(s)</sub>	Excesso enantiomérico do substrato
<i>e.e.</i> <sub>(p)</sub>	Excesso enantiomérico do produto
ET	Estado de transição
Et <sub>3</sub> N	Trietilamina
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
h	Hora
LANL2DZ	<i>Los Alamos National Laboratory 2-double-z</i>
M06-2X	<i>Minnesota Functionals, 06 family</i>
MTBE	Metil-terc-butil éter
PE	Ponto de ebulição
pH	Potencial Hidrogeniônico
PF	Ponto de fusão
RCD	Resolução cinética dinâmica
RCE	Resolução cinética enzimática
SPE	Superfície de energia potencial
TFD	Teoria do funcional da densidade
THF	Tetraidrofurano

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO .....	16
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	20
2.1	A importância da quiralidade .....	20
2.2	Resolução cinética enzimática (RCE) catalisada por lipases e sua limitação .....	22
2.3	Resolução Cinética Dinâmica (RCD) por catálise dupla lipase-metal.....	25
2.3.1	Definição de RCD .....	25
2.3.2	Mecanismos de racemização e aplicações em RCD.....	26
2.3.2.1	RCD via transferência de hidrogênio .....	27
2.3.2.2	RCD via intermediário carbocátion .....	38
2.4	Luliconazol ( <i>R</i> -1) e síntese quimioenzimática.....	42
3	OBJETIVOS .....	46
3.1	Objetivo geral .....	46
3.2	Objetivo específico .....	46
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	47
4.1	Obtenção da halodrina <i>rac</i> -2-cloro-1-(2,4-diclorofenil)etanol ( <i>rac</i> -3) .....	47
4.2	Obtenção do <i>rac</i> -1-feniletanol ( <i>rac</i> -13) .....	47
4.3	Procedimento geral para síntese do <i>rac</i> -acetato de 2-cloro-1-(2,4-diclorofenil)etila ( <i>rac</i> -4) e do <i>rac</i> -acetato de 1-feniletila ( <i>rac</i> -11) .....	48
4.4	Síntese do epóxido <i>rac</i> -2-(2,4-diclorofenil)oxirano ( <i>rac</i> -54) .....	48
4.5	Síntese do <i>S</i> -13 via acetilação catalisada pela lipase imobilizada em resina acrílica expressa em <i>Aspergillus niger</i> (CAL-B) .....	49
4.6	Síntese do <i>R</i> -2-cloro-1-(2,4-dicloro-fenil)etanol ( <i>R</i> -3) via acetilação catalisada pela lipase de <i>Candida antarctica</i> imobilizada em Immobead 150 recombinada com <i>Aspergillus Oryzae</i> (CAL-A) .....	50
4.7	Estudo da influência dos solventes e dos doadores de acila na RCE via acetilação do <i>rac</i> -3.....	50
4.8	Reações de Racemização.....	54
4.8.1	Reação de racemização do <i>R</i> -3 com o catalisador de <i>Shvo</i> ( <i>cat</i> -10).....	54

4.8.2	<i>Reação de racemização do (S)-1-feniletanol (S-13) com Clorocarbonil(1,2,3,4,5-pentametilciclopentadienil)rutênio (II) (cat-11)</i> .....	55
4.8.3	<i>Reação de racemização do S-13 com Clorocarbonil(1-isopropilamino-2,3,4,5-pentametilciclopentadienil)rutênio (II) (cat-12)</i> .....	57
4.8.4	<i>Reação de racemização do (R)-2-cloro-1-(2,4-diclorofenil)etanol (R-3) com Clorocarbonil(1,2,3,4,5-pentametilciclopentadienil)rutênio (II) (cat-11)</i> .....	58
4.8.5	<i>Reação de racemização do (R)-2-cloro-1-(2,4-diclorofenil)etanol (R-3) com Clorocarbonil(1-isopropilamino-2,3,4,5-pentametilciclopentadienil)rutênio (II) (cat-12)</i> .....	59
4.8.6	<i>Reação de racemização do (R)-3 com sulfato de vanadila (cat-43)</i> .....	60
4.9	<b>Hidrólise enzimática (S)-acetato de 2-cloro-1-(2,4-diclorofenil)etila (S-4)</b> ..	62
5	<b>CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS</b> .....	63
6	<b>PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS</b> .....	65
6.1	<b>Instrumentos</b> .....	65
6.2	<b>Solventes, reagentes e catalisadores</b> .....	66
6.2.1	<i>Solventes</i> .....	66
6.2.2	<i>Reagentes</i> .....	66
6.2.3	<i>Catalisadores</i> .....	66
6.3	<b>Secagem de solventes</b> .....	66
6.4	<b>Adsorventes e reveladores</b> .....	67
6.4.1	<i>Adsorventes</i> .....	67
6.4.2	<i>Reveladores</i> .....	67
6.5	<b>Síntese das substâncias utilizadas</b> .....	67
6.5.1	<i>Síntese da halodrina rac-2-cloro-1-(2,4-diclorofenil)etanol (rac-3)</i> .....	67
6.5.2	<i>Síntese do rac-álcool rac-1-feniletanol (rac-13)</i> .....	67
6.5.3	<i>Procedimento geral para síntese do rac-acetato de 2-cloro-1-(2,4-diclorofenil)etila (rac-4) e do rac-acetato de 1-feniletila (rac-11)</i> .....	68
6.5.4	<i>Síntese do epóxido rac-2-(2,4-diclorofenil)oxirano (rac-54)</i> .....	68
6.5.5	<i>Síntese do rac-1-feniletanol (S-13) via acetilação catalisada pela lipase imobilizada em resina acrílica expressa em Aspergillus niger (CAL-B)</i> .....	69

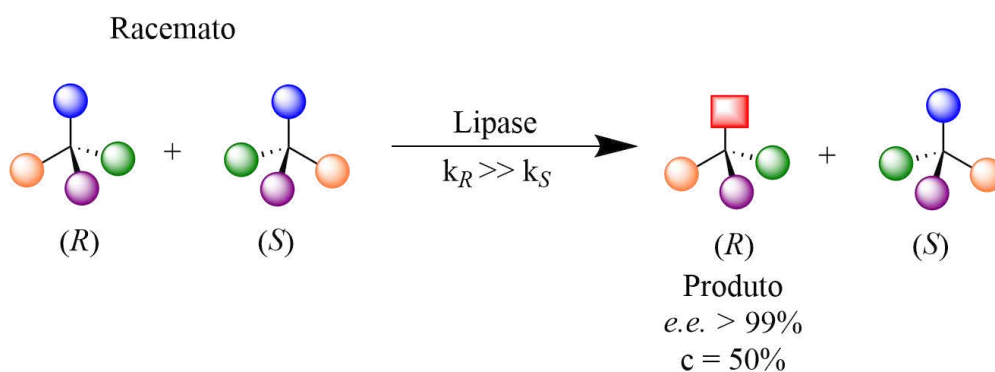
6.5.6	<i>Síntese do R-2-cloro-1-(2,4-dicloro-fenil)etanol (R-3) via acetilação catalisada pela lipase de Candida antarctica imobilizada em Immobead 150 recombinada com Aspergillus Oryzae (CAL-A)</i> .....	69
6.6	<b>Procedimento geral para a resolução cinética enzimática do rac-2-cloro-1-(2,4-dicloro-fenil)etanol (rac-3) via acetilação catalisada pela lipase de Candida antarctica imobilizada em Immobead 150 recombinada com Aspergillus Oryzae (CAL-A)</b> .....	70
6.7	<b>Reações de racemização</b> .....	70
6.7.1	<i>Reação de racemização do R-3 com o catalisador de Shvo (cat-10)</i> .....	70
6.7.2	<i>Reação de racemização do R-3 com o catalisador de Shvo (cat-10) na presença de terc-butóxido de potássio</i> .....	70
6.7.3	<i>Reação de racemização do S-13 com Clorocarbonil(1,2,3,4,5-pentametilciclopentadienil)rutênio (II) (cat-11)</i> .....	71
6.7.4	<i>Reação de racemização do S-13 com Clorodicarbonil(1-isopropilamino-2,3,4,5-tetrafenilciclopentadienil)rutênio(II) (cat-12)</i> .....	71
6.7.5	<i>Reação de racemização do (R)-2-cloro-1-(2,4-diclorofenil)etanol (R-3) com Clorocarbonil(1,2,3,4,5-pentametilciclopentadienil)rutênio (II) (cat-11)</i> .....	71
6.7.6	<i>Reação de racemização do (R)-2-cloro-1-(2,4-diclorofenil)etanol (R-3) com Clorodicarbonil(1-isopropilamino-2,3,4,5-tetrafenilciclopentadienil)rutênio(II) (cat-12)</i> .....	71
6.7.7	<i>Reação de racemização do (R)-2-cloro-1-(2,4-diclorofenil)etanol (R-3) com Sulfato de vanadila (cat-43)</i> .....	72
6.8	<b>Hidrólise enzimática (S)-acetato de 2-cloro-1-(2,4-diclorofenil)etila (S-4) ..</b>	72
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	73
	<b>APÊNDICE A – ESPECTROS DE <sup>1</sup>H E <sup>13</sup>C RESSONÂNCIA</b> .....	76
	<b>APÊNDICE B – CROMATOGRAMAS DAS RESOLUÇÕES CINÉTICAS E DAS RACEMIZAÇÕES</b> .....	84

## 1 INTRODUÇÃO

A quiralidade é fundamental no desenvolvimento de fármacos, pois enantiômeros de um mesmo composto podem interagir de maneiras diferentes com alvos biológicos, resultando em variações significativas na atividade farmacológica e toxicidade (Tamam; Shin, 2023). Devido a isso, agências reguladoras como a *Food and Drug Administration (FDA)* têm regulamentado rigorosamente o desenvolvimento de fármacos quirais, visando maior seletividade e segurança. Dessa forma, a demanda por enantiômeros puros tem favorecido o desenvolvimento de métodos de obtenção de intermediários quirais de alta pureza, como a Resolução Cinética Enzimática (**RCE**), para atender às exigências regulatórias e garantir a qualidade dos medicamentos (Naim et al., 2024; Senkuttuvan et al., 2024).

A **RCE** é uma abordagem eficaz na preparação de produtos com elevada enantiopureza e baseia-se na diferença entre as velocidades de reação de cada enantiômero na presença de um biocatalisador, sendo as lipases amplamente empregadas nesse processo. A catálise realizada pelas lipases ocorre de forma seletiva, permitindo a conversão de apenas um dos enantiômeros (**Figura 1**). No entanto, essa vantagem também é uma limitação natural da **RCE** que impõe uma conversão máxima de 50% (O'connell et al., 2024).

**Figura 1** - Representação geral de uma **RCE**.

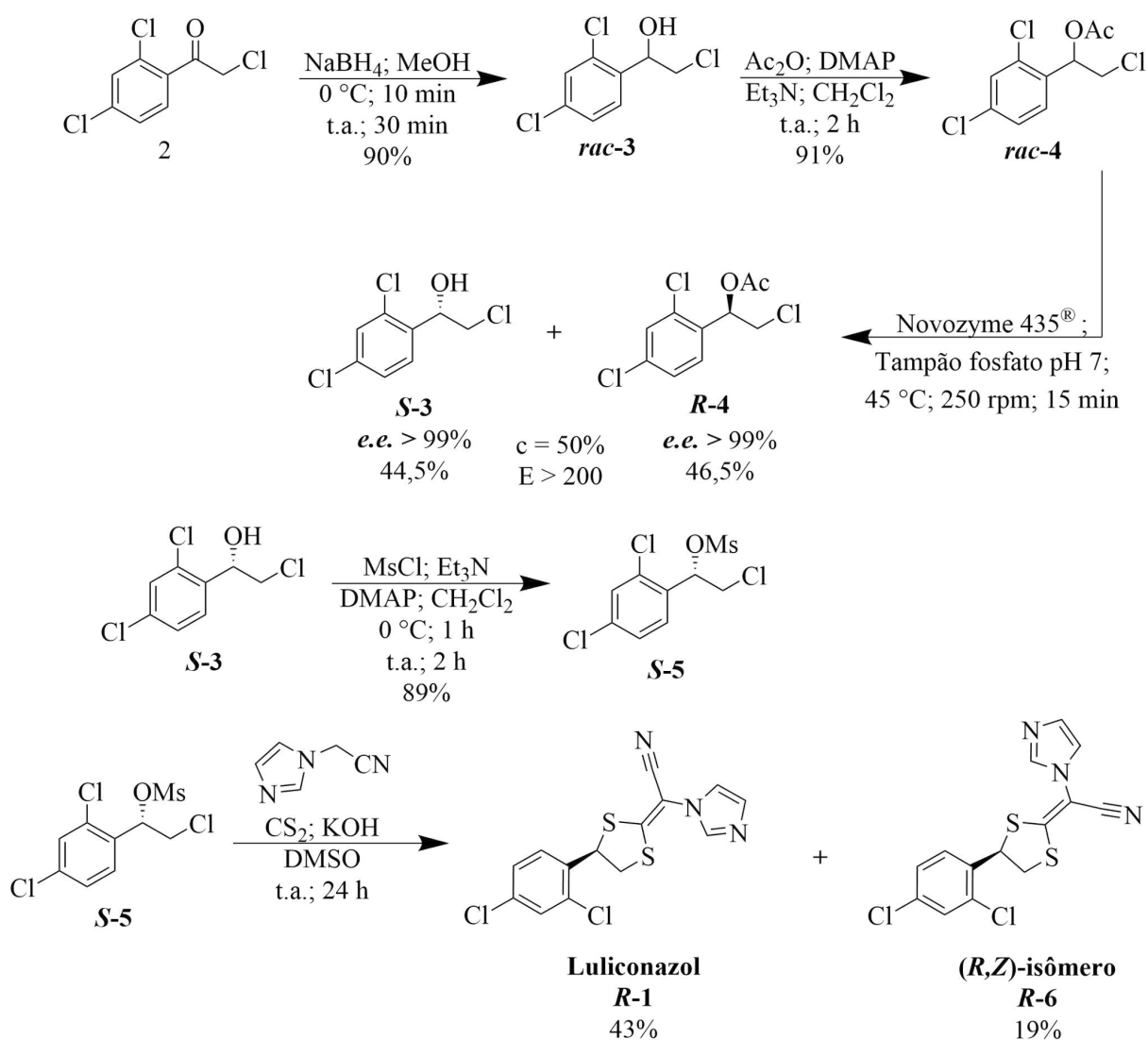


Fonte: Adaptado de De Almeida et al., 2024.

Um exemplo da utilização da RCE catalisada por lipases que demonstrou alta eficiência e enantiosseletividade está na produção do fármaco quiral é o Luliconazol (**R-1**) (Fonseca et al., 2018), um antifúngico azólico disponível comercialmente com configuração absoluta (*R*) que apresenta atividade potente contra um amplo espectro de dermatófitos (Kaur, M. et al., 2020).

O **R-1** foi previamente sintetizado com sucesso por meio de **RCE** catalisada por lipases, demonstrando alta enantiosseletividade e eficiência. A rota sintética começa com a redução da 2-cloro-1-(2,4-diclorofenil)etanona (**2**) a *rac*-2-cloro-1-(2,4-diclorofenil)etanol (*rac*-**3**). Em seguida, *rac*-**3** é acetilado para formar o éster racêmico *rac*-acetato de 2-cloro-1-(2,4-diclorofenil)etila (*rac*-**4**). Na etapa chave da rota, *rac*-**4** é submetido à hidrólise enantiosseletiva catalisada pela Novozym 435® em tampão fosfato (pH 7), com agitação a 250 rpm por 15 minutos, resultando no intermediário-chave **S-3** e no éster remanescente **R-4**. Então, a haloidrina **S-3** convertida em (*S*)-2-cloro-1-(2,4-diclorofenil)-2-metanosulfonato (**S-5**) e é subsequentemente convertido no **R-1** (**Figura 2**) (Fonseca et al., 2018).

**Figura 2** - Síntese químioenzimática do Luliconazol, desenvolvida por Fonseca et al., 2018.

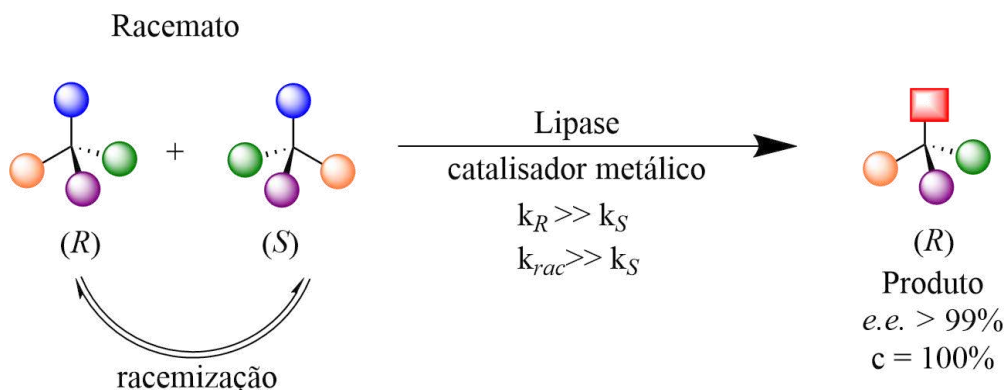


Fonte: Adaptado de Fonseca et al., 2018.

No entanto, a **RCE** impõe uma limitação intrínseca de conversão máxima de 50%, uma vez que apenas um dos enantiômeros do **rac-4** é convertido no intermediário-chave **S-3**. Para superar essa limitação, a Resolução Cinética Dinâmica (**RCD**) por catálise dupla enzima-metal surge como uma abordagem promissora, uma vez que possibilita o aumento na eficiência de obtenção de compostos quirais por meio da combinação de lipases e catalisadores de racemização, habilitando conversões superiores a 50% (Ferraccioli, 2021).

A RCD por catálise dupla enzima-metal combina a resolução enantiosseletiva, catalisada por lipases, com a racemização simultânea, mediada por um catalisador metálico. Esse processo converte continuamente o enantiômero de reação mais lenta em sua forma reativa, permitindo uma conversão teórica de 100%, **Figura 3**, (Thejashree et al., 2022).

**Figura 3** - Representação geral de uma **RCD**.



Fonte: Adaptado de De Almeida et al., 2024.

A implementação eficiente da **RCD**, no entanto, exige a otimização de vários parâmetros. Primeiramente, é essencial garantir que a resolução cinética, catalisada pela lipase, apresente altíssima enantiosseletividade. Além disso, a velocidade de racemização deve superar a velocidade de reação do enantiômero mais lento, assegurando que este seja continuamente convertido em sua forma reativa. Outro requisito é a compatibilidade entre o catalisador de racemização metálico e a lipase, de modo que o primeiro não interfira na atividade enzimática ou reaja com o produto da reação (De Almeida et al., 2024).

Diversos catalisadores de racemização têm sido explorados em sistemas de **RCD**, incluindo complexos metálicos baseados em rutênio, irídio, paládio e vanádio. Esses catalisadores são escolhidos com base em sua capacidade de promover a racemização rápida e seletiva, sem interferir na atividade das lipases ou na estabilidade do produto final (Ferraccioli, 2021).

Neste contexto, este trabalho tem como objetivo explorar a aplicação da **RCD** por catálise dupla enzima-metal na síntese do **R-1**, avaliando a eficiência de diferentes catalisadores de racemização e condições reacionais. A combinação de lipases com catalisadores metálicos poderá ser investigada visando otimizar a conversão e o excesso enantiomérico do produto, além de garantir a compatibilidade entre os catalisadores e a estabilidade do processo.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

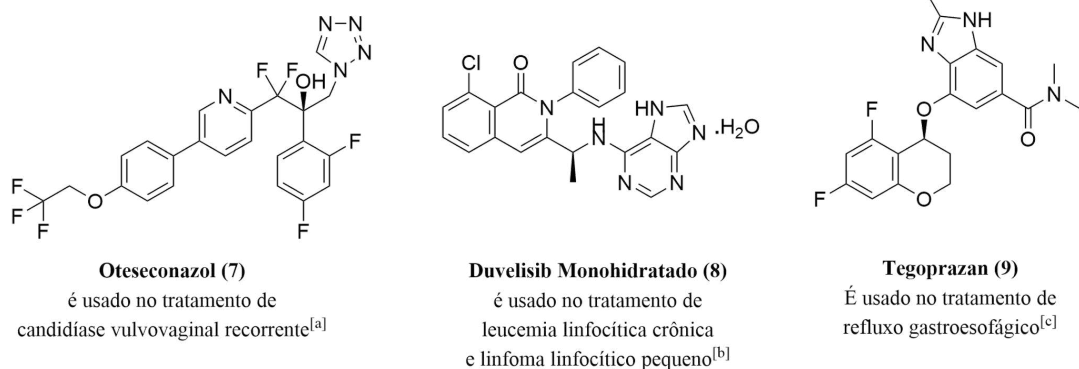
### 2.1 A importância da quiralidade

A quiralidade molecular é de grande importância, especialmente na indústria farmacêutica. Embora enantiômeros de fármacos possuam propriedades físico-químicas idênticas, eles frequentemente exibem diferenças marcantes em suas propriedades farmacodinâmicas, farmacocinéticas e toxicológicas. Por exemplo, um enantiômero pode ser terapêutico, enquanto o outro pode ser inativo ou até tóxico. (Abram et al., 2019).

A estereoquímica dos compostos quirais é crucial no desenvolvimento de medicamentos, pois influencia em processos como absorção, distribuição, metabolismo, excreção e o mecanismo de ação molecular. Esse efeito ocorre por meio do reconhecimento molecular quiral, que permite a interação específica entre enantiômeros e biomoléculas quirais. Devido a essa especificidade, os medicamentos enantiomericamente puros oferecem vantagens significativas, como maior potência e segurança, em comparação com as misturas racêmicas (Ceramella et al., 2022; Pinto, Fernandes, Tiritan, 2020).

Devido às vantagens mencionadas, os medicamentos enantiomericamente puros representam uma parcela significativa do mercado de produtos quirais, com um valor estimado em US\$ 71,40 bilhões em 2023 (Kings Research, 2023). A **FDA**, agência reguladora americana, aprovou, entre 2002 e 2022, cerca de 291 novos fármacos baseados em enantiômeros únicos, o que corresponde a 58% do total de fármacos aprovados nesse período. Nesse contexto, fármacos como o Oteseconazole (**7**), o Duvelisib monohidratado (**8**) e o Tegoprazan (**9**) (**Figura 4**) destacam-se como exemplos representativos de moléculas quirais desenvolvidas e aprovadas nesse intervalo temporal (Senkuttuvan et al., 2024).

**Figura 4** - Fármacos aprovados pela **FDA** entre 2018 e 2022



[A] (Hoy, 2022) [B] (Rodrigues; Sagrillo; Fraga, 2019) [C] (Takahashi; Take, 2017)  
Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2025.

Diante desse cenário, métodos para a obtenção de enantiômeros opticamente puros estão em alta demanda e tornam-se cada vez mais essenciais. No entanto, a síntese de enantiômeros únicos representa um desafio significativo para os químicos, uma vez que métodos tradicionais de síntese frequentemente produzem misturas racêmicas, nas quais ambos os enantiômeros respondem à maioria dos processos químicos e físicos de forma idêntica (Nitai Arbell; Bauer; Paz, 2021).

Uma abordagem promissora para superar esse desafio é a biocatálise, que utiliza enzimas como biocatalisadores para a síntese orgânica. Essa técnica tem evoluído consideravelmente com o auxílio de ferramentas de biologia molecular, engenharia de proteínas e bioinformática, que permitem adaptar as propriedades dos biocatalisadores, como atividade, seletividade, termoestabilidade e tolerância a solventes. A evolução direcionada de enzimas tem sido particularmente eficaz nesse processo, possibilitando a criação de biocatalisadores altamente especializados (Sun et al., 2018; Zawodny, Montgomery, 2022).

Dentre as enzimas amplamente utilizadas na biocatálise, as lipases se destacam por sua versatilidade e eficiência em processos de resolução cinética enzimática em solventes orgânicos. Essas enzimas são capazes de catalisar reações enantiosseletivas, permitindo a obtenção de enantiômeros opticamente puros a partir de misturas racêmicas (Jiang; Fang, 2020). A seguir, serão discutidos os princípios da resolução cinética enzimática catalisada por lipases.

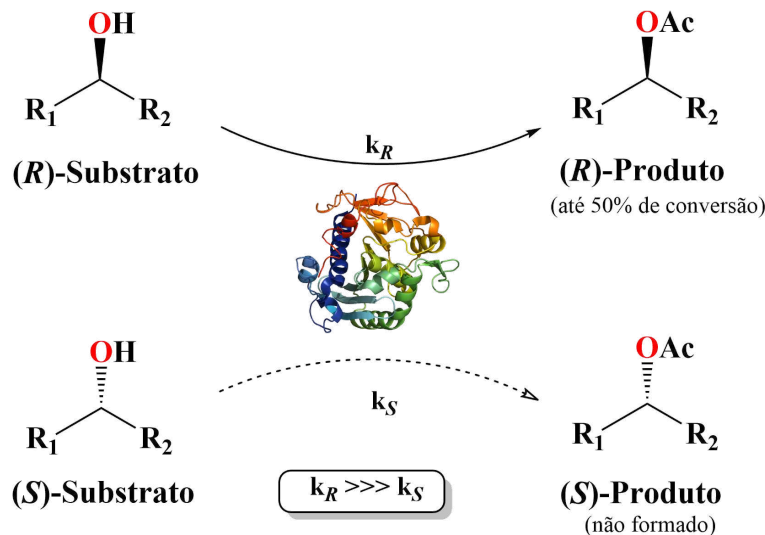
## 2.2 Resolução cinética enzimática (RCE) catalisada por lipases e sua limitação

A resolução cinética enzimática (**RCE**) catalisada por lipase é muito utilizada na síntese de compostos enantiomericamente puros. As lipases se destacam por serem acessíveis economicamente, não requerem cofatores e aceitam uma ampla gama de substratos, exibindo alta estereo-, regio- e quimiosseletividades. Além disso, elas operam sob condições amenas como temperatura e pressão ambientes e, também, são eficientes em solventes orgânicos, dispensando substratos solúveis em água (Todd, 2014).

O processo de **RCE** se baseia na diferença das constantes de velocidades das reações de conversão dos enantiômeros presentes em uma mistura racêmica para sintetizar compostos enantiomericamente puros. Como mostra a **Figura 5**, um exemplo hipotético de catálise de um álcool secundário, a lipase catalisa a reação do enantiômero (*R*)-substrato, convertendo-o mais rapidamente no (*R*)-produto com retenção de configuração, enquanto o

outro enantiômero permanece inalterado, limitando o processo a uma conversão de no máximo 50% (Zhang; Zheng; Zhu, 2024).

**Figura 5** - Representação da resolução cinética catalisada por lipase.

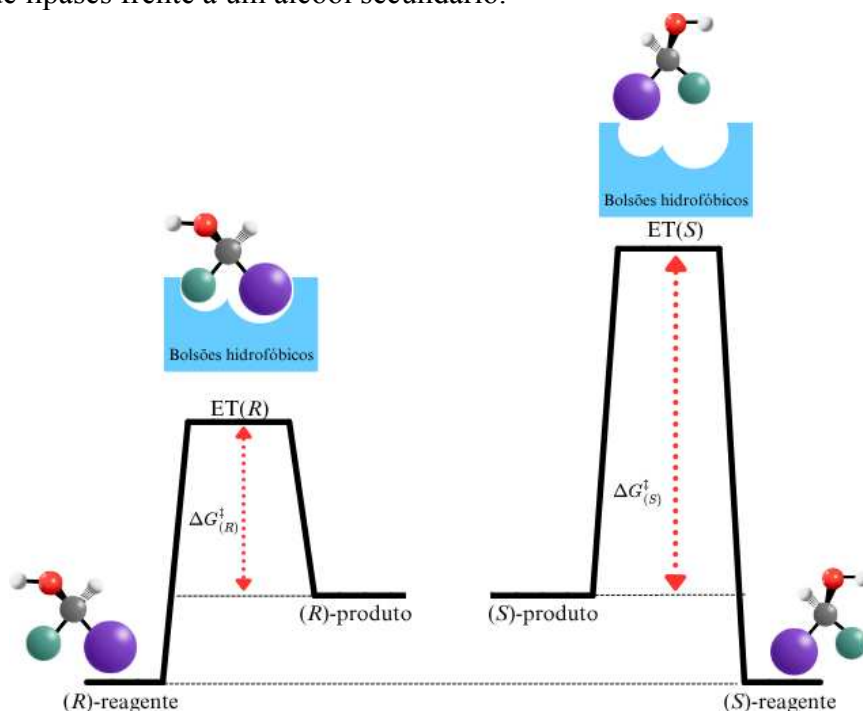


Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2025.

O reconhecimento quiral de lipases foi estudado por Kazlauskas e colaboradores (1991) que testaram diversos acetatos em processos de **RCE** e observaram que as lipases apresentavam preferência pela formação de (*R*)-álcoois em vez de (*S*)-álcoois. Com base nesses resultados, Kazlauskas propôs uma regra empírica que auxilia, até os dias atuais, na predição de qual enantiômero será preferencialmente convertido, sendo aplicada tanto em reações em que o substrato é um acetato, quanto um álcool. Essa regra descreve que o sítio ativo das lipases possui dois bolsões hidrofóbicos de tamanhos distintos: um bolsão maior, que acomoda o substituinte mais volumoso do álcool secundário, e um bolsão médio, que recebe o substituinte de tamanho intermediário (Davi, 2022, p. 27; Melais, Aribi-Zouioueche, Riant, 2016; Min et al., 2014; Kazlauskas et al., 1991).

Esse arranjo do sítio ativo permite que a lipase discrimine um dos enantiômeros do álcool secundário, permitindo que o enantiômero de encaixe ideal apresente menor energia no estado de transição ( $\Delta G^\ddagger$ ), facilitando a reação. Enquanto o outro enantiômero não é acomodado de forma efetiva, resultando em uma barreira energética maior, e, conseqüentemente, em uma conversão mais lenta (**Figura 6**). Essa diferença no encaixe é responsável pela enantiosseletividade das lipases, garantindo a conversão preferencial de um dos enantiômeros até no máximo 50% (Ferrario et al., 2015; Maldonado et al., 2021).

**Figura 6** - Diagrama de energia livre de Gibbs ilustrando a enantiosseletividade de lipases frente a um álcool secundário.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2025.

Na prática, uma lipase catalisa a reação de forma preferencial com um dos enantiômeros. Essa seletividade resulta em um produto e um substrato enantiomericamente puros, que podem ser separados por cromatografia ou recristalização (Mitchell; Krieger, 2022).

Entretanto, como a conversão é no máximo de 50%, um dos enantiômeros é descartado por não corresponder à configuração devida para síntese do fármaco. Para superar essa barreira, métodos como a Resolução Cinética Dinâmica (**RCD**) por combinação de lipases com catalisadores de racemização à base de metais têm sido desenvolvidos e permitem a conversão de ambos os enantiômeros em um único produto opticamente puro com conversões teóricas de até 100% (Pellissier, 2022).

## 2.3 Resolução Cinética Dinâmica (RCD) por catálise dupla lipase-metal

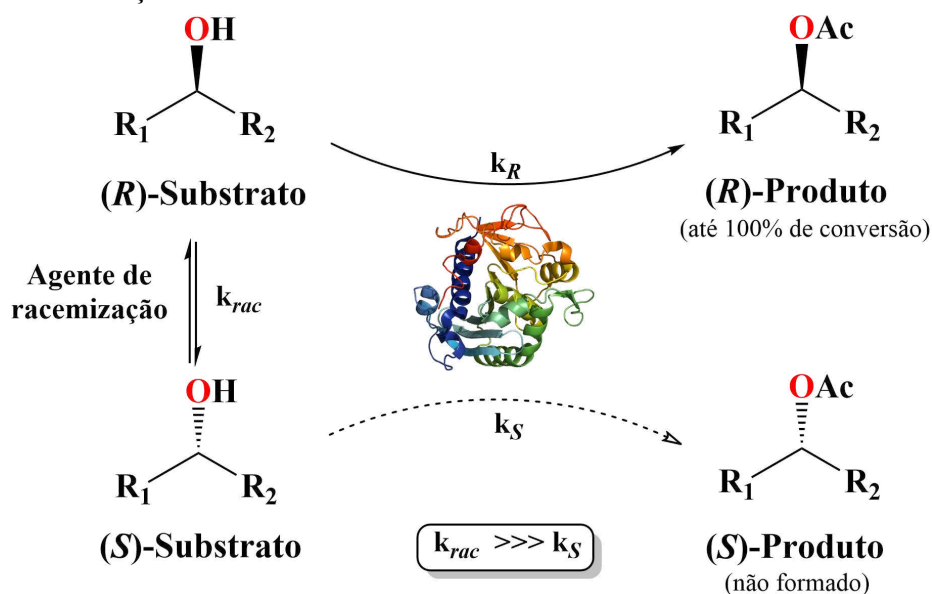
### 2.3.1 Definição de RCD

A Resolução Cinética Dinâmica (**RCD**) por catálise dupla lipase-metal é uma técnica que combina, no mesmo sistema reacional, uma **RCE** catalisada por lipase com uma racemização do enantiômero remanescente, catalisada por um composto à base de metal. Nesse processo, a lipase converte preferencialmente um dos enantiômeros em produto,

enquanto o catalisador de racemização converte o enantiômero remanescente de volta à forma racêmica, permitindo que a lipase atue novamente. Esse ciclo contínuo resulta na conversão total da mistura racêmica em um único enantiômero opticamente puro, com conversões de até 100% (Yang, Deng, Renata, 2022; Ruggieri et al., 2018).

No entanto, a construção de um sistema de **RCD** eficiente exige que a constante de velocidade de racemização ( $k_{rac}$ ) seja muito maior do que a constante de velocidade da reação catalisada pela enzima do enantiômero de reação lenta (De Almeida et al., 2020). Para ilustrar essa exigência, considere o exemplo de **RCE** apresentado no **item 2.2**. Nesse processo, a lipase catalisa a reação de acetilação do (*R*)-substrato, cuja constante de velocidade  $k_{(R)}$  é muito maior que a constante de velocidade  $k_{(S)}$ , limitando a conversão a 50%. Com a adição de um catalisador de racemização, se a constante de velocidade  $k_{rac}$  for maior que  $k_{(S)}$ , o enantiômero (*S*)-substrato é continuamente convertido de volta à forma racêmica, permitindo que a lipase atue repetidamente e alcance conversões de até 100% (**Figura 7**).

**Figura 7** - Representação da **RCD** por catálise combinada lipase e agente de racemização.



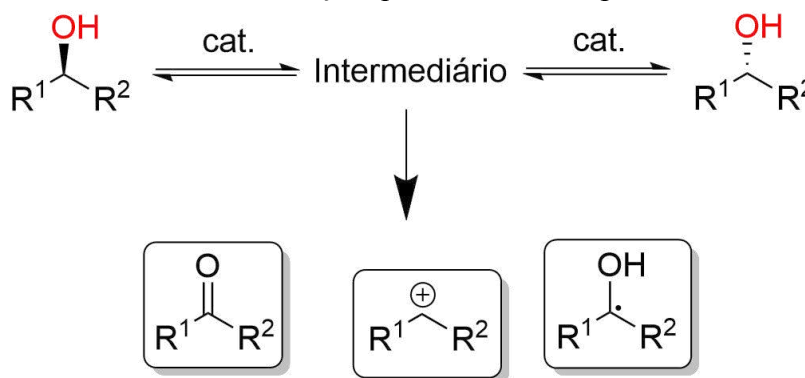
Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2025.

### 2.3.2 Mecanismos de racemização e aplicações em RCD

A catálise de racemização para álcoois secundário por metais de transição pode ocorrer por três vias quimio-catalíticas (**Figura 8**), sendo a primeira *via* por transferência de hidrogênio (redox), a segunda *via* consta na formação de um intermediário carbocátion e, por

fim, a terceira *via* consiste em formar intermediários radicalares. Esses mecanismos podem ser generalizados como a modificação do carbono tetraédrico com hibridização  $sp^3$  em um intermediário com geometria quadrada planar de hibridização  $sp^2$ . Quando o carbono retorna à hibridização  $sp^3$ , ocorre a racemização, resultando na formação de uma mistura racêmica (Hoyos et al., 2012; Musa, 2019; Zhang, Zheng, Zhu, 2024).

**Figura 8** - Métodos de racemização quimio-catalíticos para álcoois secundários.



Fonte: Adaptado de Zhang; Zheng; Zhu, 2024.

A racemização de álcoois secundários pode ocorrer por diferentes mecanismos, sendo os mais comuns os processos redox e *via* formação de carbocátion. Os métodos redox, mediados por complexos metálicos como os de rutênio, destacam-se pelo repertório, eficiência e compatibilidade com sistemas enzimáticos, enquanto a racemização via carbocátion, catalisada por ácidos de Lewis ou Brønsted, oferece uma alternativa viável para substratos que formam intermediários estáveis. Embora outras abordagens, como a racemização radicalar, também sejam exploradas na literatura, os métodos redox e via carbocátion têm sido os mais amplamente aplicados devido à sua versatilidade e facilidade de controle (Kawanishi et al., 2019; Thejashree et al., 2022; Zhang, Zheng, Zhu, 2024).

Esses mecanismos não apenas permitem a interconversão eficiente de enantiômeros, mas também abrem caminho para aplicações práticas da **RCD** em diferentes contextos. No caso de álcoois secundários, que não possuem aplicação direta na síntese de fármacos, a **RCD** tem sido utilizada para estudos de otimização de processos e desenvolvimento de metodologias. Por outro lado, quando aplicada a álcoois secundários com relevância farmacêutica, a **RCD** torna-se uma ferramenta poderosa para a produção de enantiômeros biologicamente ativos, como no caso de fármacos quirais amplamente utilizados (Hoyos et al., 2016). A seguir, serão discutidos os mecanismos de racemização e suas aplicações em **RCD**, destacando sua importância tanto na química fundamental quanto

na síntese de compostos de interesse farmacêutico.

### 2.3.2.1 RCD via transferência de hidrogênio

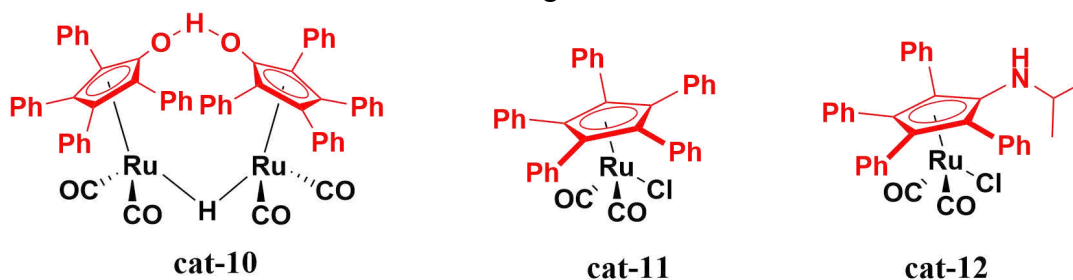
A racemização de álcoois secundários por complexos de metais de transição geralmente ocorre por meio de reações reversíveis de transferência de hidrogênio. O processo inicia-se com a desidrogenação do álcool pelo complexo metálico, gerando uma cetona e uma espécie de hidreto metálico. A re-adição subsequente do hidreto metálico à cetona proquiral resulta na formação do álcool racêmico (**Figura 9**) (Warner; Bäckvall, 2013). Esse mecanismo é fundamental para a eficiência dos catalisadores de racemização de transição na racemização de álcoois secundários.



A maioria dos catalisadores de racemização adequados para **RCD** de álcoois secundários são complexos baseados em rutênio, embora complexos de ródio, irídio, alumínio e vanádio também são relatados na literatura (Ferraccioli, 2021).

Os complexos de ciclopentadienilrutênio (**cat 10-12**), ilustrados na **Figura 10**, são amplamente empregados como catalisadores de racemização devido ao ciclopentadienil ser um ligante muito volumoso, impedindo a inibição enzimática (Wang et al., 2024). Neste tópico, os **cat 10-12** serão discutidos aspectos sobre mecanismos de racemização e aplicações em **RCD**.

**Figura 10** - Agentes de racemização a base de rutênio com mecanismo via transferência de hidrogênio.

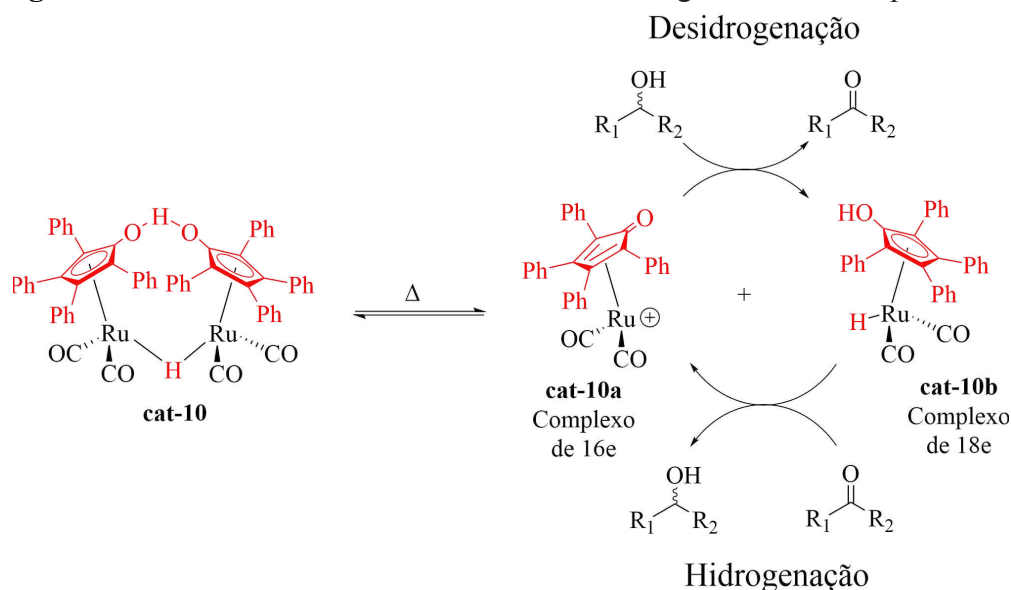


Fonte: Adaptado de De Miranda; Miranda; Souza, 2015.

O catalisador Shvo (**cat-10**) é um dos complexos mais ativos para reações de transferência de hidrogênio. Seu ciclo catalítico é iniciado quando **cat-10** se dissocia a 70 °C em dois complexos distintos: o **cat-10a**, um complexo de 16 elétrons responsável pela desidrogenação, e o **cat-10b**, um complexo de hidreto de 18 elétrons que atua na hidrogenação (Badazhkova et al., 2023).

Em um estudo computacional utilizando a Teoria do Funcional de Densidade (TFD), observou-se que o mecanismo de transferência de hidrogênio por esfera externa (no qual o metal e o álcool interage por meio dos ligantes, sem coordenação direta ao centro metálico) é mais favorável do que o mecanismo de esfera interna, em que o álcool secundário se coordena diretamente ao metal. Como consequência, a presença de cetona correspondente ao álcool pode ser detectada como subproduto da reação. Esse mecanismo é ilustrado na **Figura 11**, que detalha as etapas de dissociação e as interações envolvidas na transferência de hidrogênio (Conley et al., 2010).

**Figura 11** - Ciclo catalítico da transferência de hidrogênio catalisada por **cat-10**

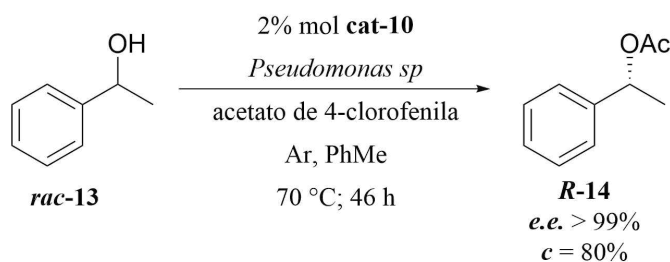


Fonte: Adaptado de Badazhkova et al., 2023.

O **cat-10** foi aplicado na **RCD** do *rac*-1-feniletanol (**rac-13**) em um procedimento desenvolvido por Persson e colaboradores (1999). Nesse estudo, utilizou-se a lipase de *Pseudomonas sp.* em tolueno, sob atmosfera de argônio, a 70 °C. Como doador de acila, foi empregado o acetato de 4-clorofenila, escolhido devido ao fato de que acetatos de alcenos geram grupos carbonila no meio reacional, os quais interferem na atividade dos catalisadores de racemização. Após 46 horas de reação, obteve-se o acetato de 1-feniletila (**R-14**) com uma

conversão (*c*) de 80% e um excesso enantiomérico do produto (*e.e.<sub>p</sub>*) >99% (**Figura 12**). No entanto, uma limitação observada foi a dificuldade de separação do doador de acila do produto final (Persson et al., 1999).

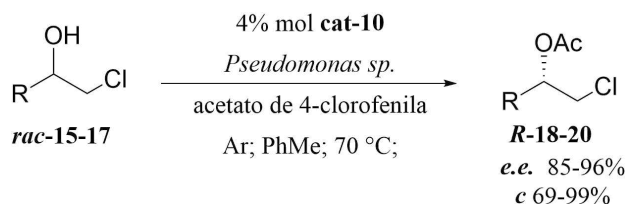
**Figura 12 - RCD do *rac*-7 desenvolvida por Persson e colaboradores (1999).**



Fonte: Adaptado de Persson et al., 1999.

Ampliando o escopo de substratos, o **cat-10** foi aplicado na **RCD** de diversas halodrinhas, conforme apresentado na **Tabela 1**. Nesse estudo, utilizou-se a lipase de *Pseudomonas sp.* em tolueno, sob atmosfera de argônio, a 70 °C, com o acetato de 4-clorofenila. Os resultados mostraram *e.e.<sub>p</sub>* entre 85% e 96% e *c* entre 69% a 99%. A análise dos substratos revelou que a introdução de um substituinte metóxila na posição *para* (***rac*-16**) da porção fenil (**entrada 2**) teve um efeito negativo na eficiência do processo. Por outro lado, a presença de um substituinte fluoro na mesma posição (***rac*-17**) (**entrada 3**) demonstrou um efeito significativamente positivo, provavelmente devido à racemização mais rápida desse substrato (Pàmies; Jan-E. Bäckvall, 2002).

**Tabela 1 - RCD de halodrinhas catalisadas pelo **cat-10**.**

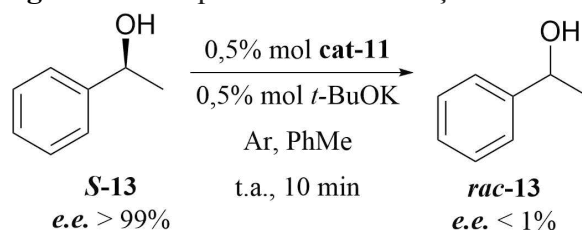


Entrada	Composto	R	t(h)	<i>c</i> (%)	<i>e.e.<sub>p</sub></i> (%)	cetona (%)
1	<i>rac</i> -15	Ph	48	85	95	3
2	<i>rac</i> -16	4-OMeC <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	72	69	96	1
3	<i>rac</i> -17	4-FC <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	72	>99	93	<1

Fonte: Adaptado de Pàmies; Jan-E. Bäckvall, 2002

No entanto, a necessidade de ativação do catalisador **cat-10** a 70 °C representa uma desvantagem, uma vez que a lipase utilizada no processo precisaria ser termoestável para suportar essa condição. Para superar essa limitação, Gábor Csajnyik e colaboradores (2004) sintetizaram o Clorodicarbonil(1,2,3,4,5-pentafenilciclopentadienil)rutênio(II) (**cat-11**), um catalisador que opera eficientemente em temperatura ambiente, pois é ativado pela base forte *t*-butóxido de potássio (***t*-BuOK**) que apresenta compatibilidade com lipases. O grupo de pesquisa do professor Bäckvall estudou detalhadamente o mecanismo de racemização do **cat-11** utilizando o (*S*)-1-feniletanol (***S*-13**) como substrato (**Figura 13**) (Gábor Csajnyik, Krisztián Bogár, Jan-E. Bäckvall, 2004).

**Figura 13** - Esquema de racemização do ***S*-13** utilizando **cat-11**.

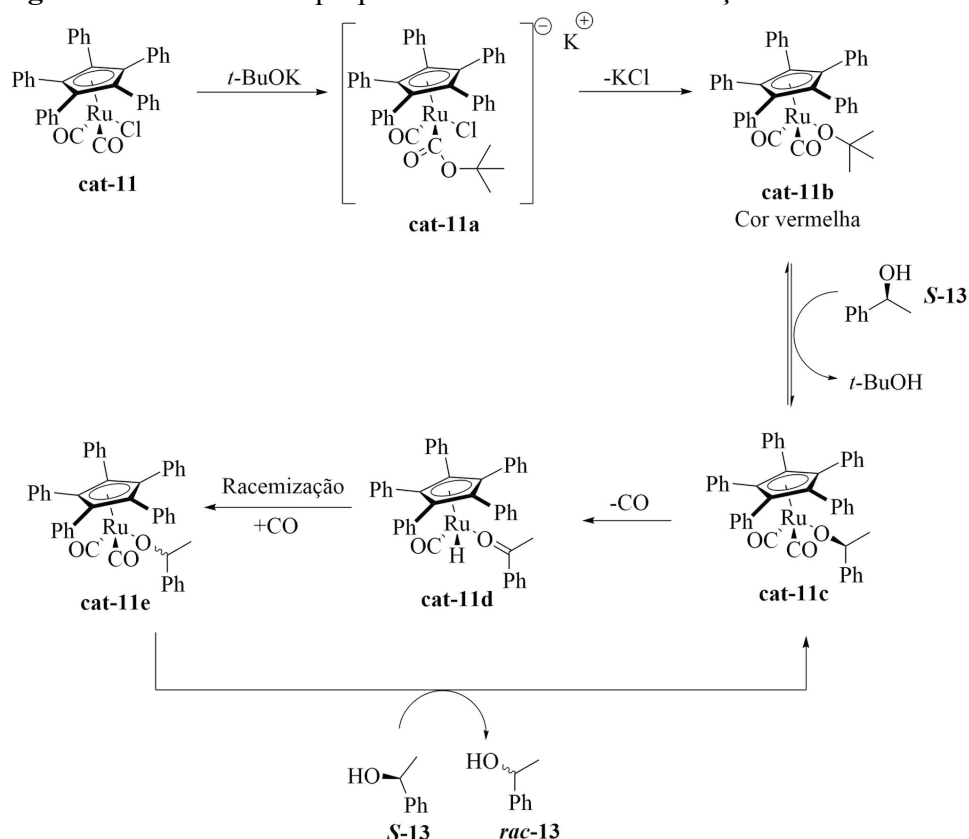


Fonte: Adaptado de Gábor Csajnyik; Krisztián Bogár; Jan-E. Bäckvall, 2004

O mecanismo de racemização catalisado pelo **cat-11** foi investigado tanto experimentalmente quanto por meio de estudos de TFD. Verificou-se que a transferência de hidrogênio é iniciada pela adição do ***t*-BuOK**, que acessa a esfera de coordenação do catalisador por meio de um mecanismo assistido por um ligante CO. Essa etapa resulta na eliminação do íon cloreto na forma de KCl e na formação do complexo **cat-11b** (**Figura 14**), cuja formação é evidenciada por uma mudança característica na coloração da solução do amarelo para o vermelho (Nyhlén, Privalov, Bäckvall, 2009).

Posteriormente, o substrato ***S*-13** é adicionado ao sistema, coordenando-se ao centro de rutênio com a assistência de um ligante CO e formando o complexo **cat-11c**, enquanto o *t*-butóxido é eliminado na forma de *t*-butanol. Com a remoção de um ligante CO e a concomitante abstração do hidreto  $\alpha$  em relação ao grupo alcóxido, forma-se o intermediário **cat-11d**. A readição de CO e o retorno do hidrogênio ao substrato resultam na racemização do álcool. O ciclo catalítico continua com a troca do ***rac*-13** por uma nova molécula de ***S*-13**, mantendo a atividade do catalisador. Esse mecanismo está detalhado na **Figura 14** (Gustafson et al., 2020). Como o substrato permanece constantemente coordenado ao centro metálico, o mecanismo ocorre predominantemente por esfera interna. (Martín-Matute et al., 2005).

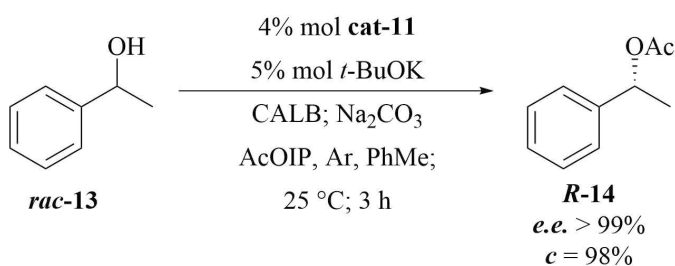
**Figura 14** - Mecanismo proposto do **cat-11** na racemização do **S-13**.



Fonte: Adaptado de Gustafson et al., 2020.

O agente de racemização **cat-11** foi aplicado na **RCD** do **rac-13** por Martín-Matute e colaboradores (2004). Nesse estudo, utilizou-se a lipase do tipo B de *Candida antarctica* (**CAL-B**), na presença de ***t*-BuOK** e carbonato de sódio (**Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>**), com acetato de isopropenila (**AcOIP**) como doador de grupo acila. Após 3 horas de reação, obteve-se uma *c* de 98% e um *e.e.<sub>p</sub>* superior a 99% para o acetato **S-13** (**Figura 15**). Embora o doador de acila utilizado fosse um acetato de alceno, que poderia interferir no processo, a presença do **Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>** mostrou-se eficiente em neutralizar esse efeito, garantindo a alta eficiência da reação (Martín-Matute et al., 2004).

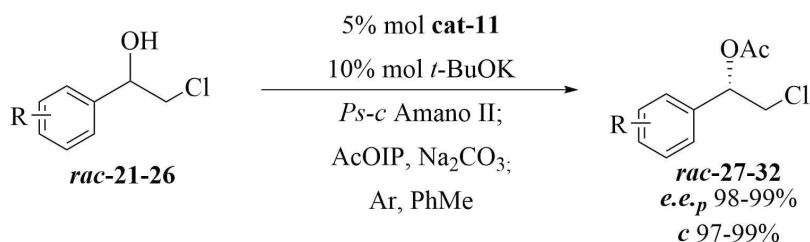
**Figura 15** - **RCD** do **rac-13** desenvolvida por Martín-Matute e colaboradores.



Fonte: Adaptado de Martín-Matute et al., 2004.

Em 2008, Träff e colaboradores estudaram a **RCD** de diversas halodrinas utilizando o **cat-11** como agente de racemização. Neste estudo, foi utilizado 5% mol do **cat-11** e 10% mol de ***t*-BuOK**, o biocatalisador usado foi a lipase de *Pseudomonas cepacia* (***Ps-c Amano II***) em tolueno anidro e o AcOIP como doador de acila, além de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. No entanto, observou-se que a temperatura ideal variou conforme a natureza do substrato. Os substratos com o anel aromático fortemente desativado (**entradas 4-6, tabela 2**) necessitam de uma temperatura de 60 °C ou maior para que ocorra uma **RCD** eficiente (Träff et al., 2008).

**Tabela 2 - RCD de halodrinas catalisadas pelo cat-11.**



Entrada	Composto	R	Tempo (h)	c(%)	e.e. <sub>p</sub> (%)
1 <sup>a</sup>	<i>rac-21</i>	H	24	>99	>99
2 <sup>a</sup>	<i>rac-22</i>	4-OMe	22	>99	>99
3 <sup>a</sup>	<i>rac-23</i>	4-Cl	22	97	>99
4 <sup>b</sup>	<i>rac-24</i>	4-CF <sub>3</sub>	48	>99	98
5 <sup>b</sup>	<i>rac-25</i>	3-F-4-Br	26	>99	98
6 <sup>c</sup>	<i>rac-26</i>	3,3-CF <sub>3</sub> ,CF <sub>3</sub>	24	>99	98

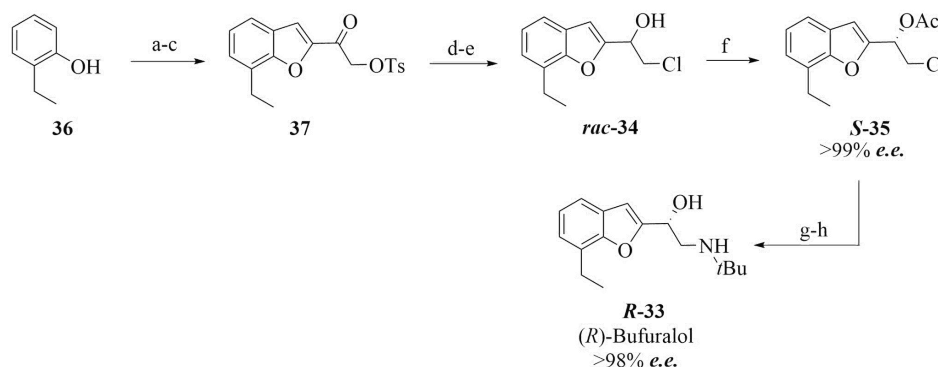
a. Temperatura ambiente; b. T = 60 °C; c. T = 80 °C.

Fonte: Adaptado de Träff e colaboradores, 2008.

Nesse contexto de influência da temperatura sobre o processo de **RCD**, destacam-se dois trabalhos de síntese de fármacos quirais distintos. O primeiro é a síntese total do (*R*)-Bufuralol (***R-33***), um agente bloqueador não seletivo dos receptores β-adrenérgicos de potência comparável ao propranolol e um marcador amplamente utilizado para avaliar a atividade hepática da enzima CYP2D6. Johnston, Bogár E Bäckvall (2010) relataram a síntese total de ***R-33***, empregando como etapa chave a **RCD** da halodrina *rac-34*. Para isso, a halodrina racêmica *rac-34* foi submetida a uma **RCD** utilizando a lipase *Ps-c*

“Amano” II em combinação com o **cat-11** e AcOIP como doador de acila, realizada em tolueno a 40 °C com 2% mol do catalisador **cat-11** e de *t*-BuOK, resultou em conversão completa após 24 horas. O acetato **S-35** foi isolado com um rendimento de 96% e *e.e.*<sub>p</sub> > 99% (**Figura 16**) (Johnston, Bogár E Bäckvall, 2010).

**Figura 16** - Síntese do fármaco (*R*)-Bufuralol, via RCD do *rac*-34.

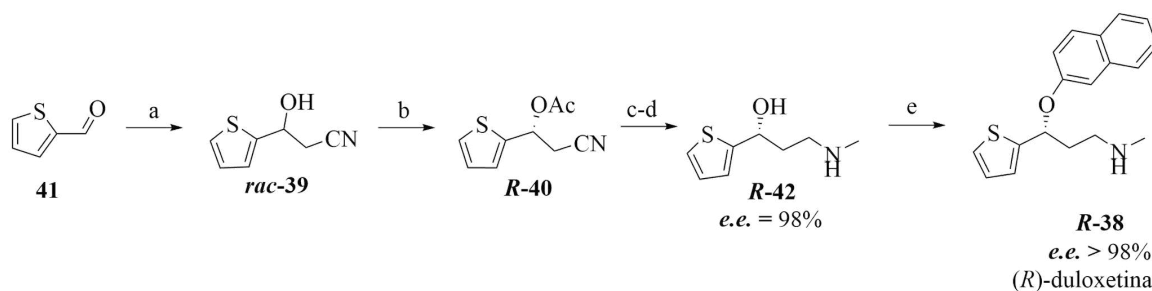


(a) HCHO, Et<sub>3</sub>N, MgCl<sub>2</sub>, MeCN, refluxo por 5 h; t.a. por 12 h, 77%; (b) ClCH<sub>2</sub>COCH<sub>3</sub>, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, MeCN, refluxo por 5 h, 80%; (c) reagente de Koser, MeCN, 60 °C, 1 h, 78%; (d) MgCl<sub>2</sub>, MeCN, refluxo, 1 h, 94%; (e) NaBH<sub>4</sub>, MeOH, rt, 94%; (f) **cat-11**, *t*-BuOK, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, *Ps-c* “Amano” II, AcOIP, PhMe, 40 °C, 24 h, 96%; (g) LiOH·H<sub>2</sub>O, EtOH, t.a., 20 min, 93%; (h) *t*BuNH<sub>2</sub>, refluxo, 30 h, 83%.

Fonte: Adaptado de Johnston, Bogár e Bäckvall (2010)

O segundo é um relato na literatura e refere-se a uma rota sintética para a (*R*)-duloxetina (**R-38**) descritas por Träff e colaboradores (2011) demonstrada na **figura 17**. Nesse estudo, a RCD do substrato *rac*-**39** foi eficiente a 50 °C, devido à presença de substituintes altamente eletronegativos. Sob essas condições, a RCD atingiu uma conversão de 93% do **R-40** em 25 horas com um rendimento de 87% e *e.e.*<sub>p</sub> de 98%.

**Figura 17** - Síntese dos enantiômeros (*R*)-duloxetina, via RCD do *rac*-39.

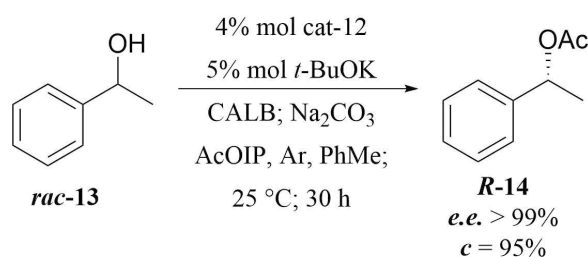


(a) MeCN, LDA, THF, -78 °C, 18 h, 91%; (b) cat-11, CALB, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, PhMe, *t*-BuOK, 50 °C por 25 h, 87%; (c) BH<sub>3</sub>SMe<sub>3</sub>, THF, 80 °C por 30 min, ClCOEt, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/NaHCO<sub>3</sub>, t.a. por 1 h, 67%; (d) LiAlH<sub>4</sub>, THF, refluxo por 14 h (87%); (e) NaH, 1-fluornaftaleno, DMSO anidro, 50 °C por 1,5 h, 80%.

Fonte: Adaptado de Träff, Lihammar E Bäckvall (2011).

Em 2002, Choi e colaboradores desenvolveram a síntese do complexo Clorodicarbonil(1-isopropilamino-2,3,4,5-tetrafenilciclopentadienil)rutênio(II) (**cat-12**). Esse catalisador possui atividade em temperatura ambiente, quando ativado pela base forte ***t*-BuOK**. O mecanismo de racemização desse catalisador foi estudado utilizando o **S-13** em tolueno na presença de ***t*-BuOK**, a racemização foi concluída em 30 min (**Figura 18**).

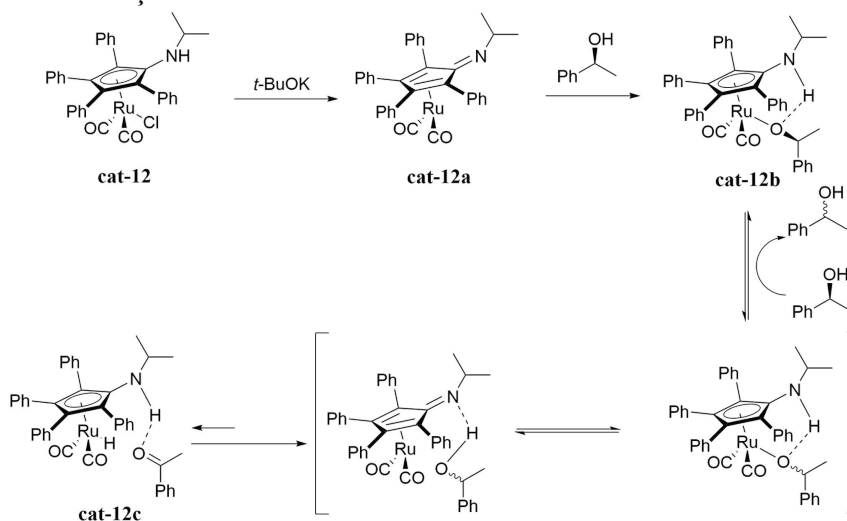
**Figura 18** - Esquema de racemização do **S-13** utilizando **cat-12**.



Fonte: Adaptado de Choi e colaboradores (2002).

O mecanismo proposto é iniciado quando o ***t*-BuOK** desprotona a amina, levando à formação de uma imina e à quebra da aromaticidade do ligante ciclopentadienil, resultando no intermediário **cat-12a** (**Figura 19**). No entanto, permanece incerto o destino do par de elétrons em excesso e o número exato de pares de elétrons doados ao rutênio pelo ligante. Em seguida, ocorre a coordenação do álcool ao rutênio, concomitante com a abstração do próton da hidroxila pela imina e a restituição da aromaticidade do ligante, para, então ocorrer a racemização via intermediário **cat-12c** (**Figura 19**) (Choi et al., 2002).

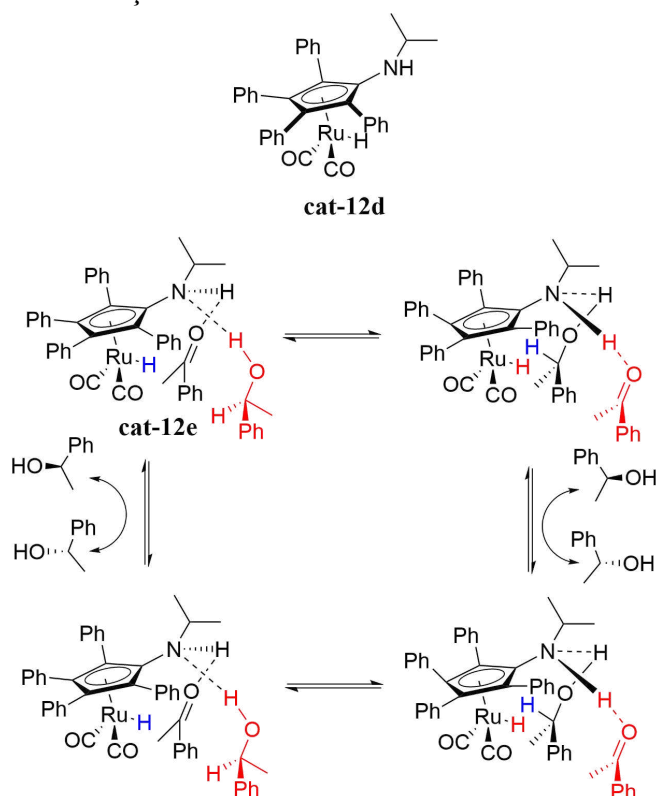
**Figura 19** - Mecanismo proposto por Choi e colaboradores., 2002 do **cat-12** na racemização do **S-13**.



Fonte: Adaptado de Choi e colaboradores., 2002.

Em 2004, Choi e colaboradores identificaram, por meio de RMN  $^1\text{H}$ , a formação do complexo **cat-12d** durante a racemização do **S-13**. Esse complexo contém um hidreto ligado ao rutênio e foi considerado essencial para o processo de racemização. Além disso, foi proposta uma espécie intermediária envolvendo **cat-12e**, um álcool e uma cetona, conforme ilustrado na **Figura 20**. No intermediário proposto, o álcool doa um próton ao nitrogênio e um hidreto ao rutênio de **cat-12e**, facilitando a hidrogenação da cetona fora da esfera de coordenação do metal (**Figura 20**), como a cetona está perto do catalisador devido a ligação de hidrogênio, foi observado uma pequena quantidade como subproduto (Choi et al., 2004).

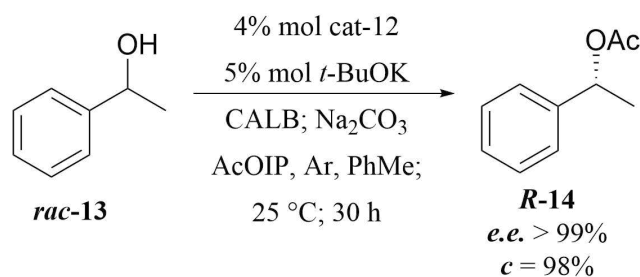
**Figura 20** - Mecanismo proposto por Choi et al., 2004 do **cat-12** na racemização do **S-13**.



Fonte: Adaptado de Choi et al., 2004.

Entretanto, quando o **cat-12** foi aplicado na **RCD** do **rac-13**, utilizando a melhor proporção de catalisador e base em relação ao substrato, 4% de **cat-12** e 5% de ***t*-BuOK** em tolueno seco com a lipase **CALB** e **AcOIP** como doador de acila, o tempo de reação foi de 30 h e resultou em uma conversão de **95%** e ***e.e.*<sub>p</sub>** superior a 99% (**Figura 21**). Sendo mais lento que o **cat-11** nesta reação, o qual demorou 3 h para alcançar a ***c*** de 98% e ***e.e.*<sub>p</sub>** superior a 99%.

**Figura 21** - **RCD** do **rac-13** desenvolvida por Choi e colaboradores (2004).



Fonte: Adaptado de Choi et al., 2004.

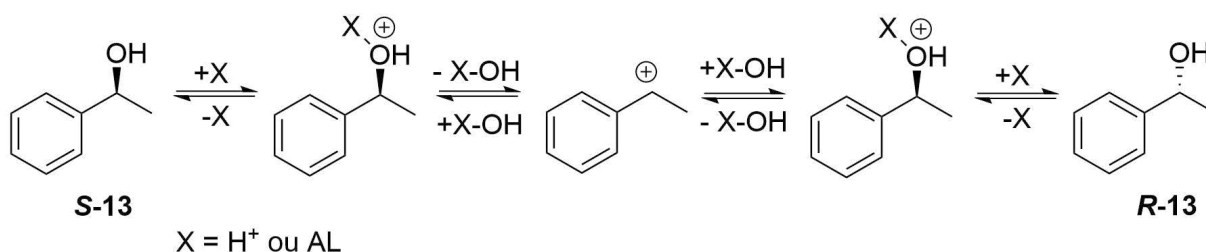
Em resumo, os catalisadores de rutênio **cat-10-12** representam avanços significativos na racemização de diversos tipos de álcoois secundários por transferência de hidrogênio. Sua eficiência ajustável, que pode ser otimizada por meio do controle de parâmetros como a temperatura (Träff, Lihammar E Bäckvall, 2011), e sua compatibilidade com sistemas enzimáticos, graças à presença de ligantes volumosos que evitam a inativação da lipase, consolidaram seu papel como ferramentas valiosas em sínteses orgânicas, especialmente na produção de compostos quirais (Wang et al., 2024).

No entanto, os complexos metálicos utilizados nesses processos possuem custo elevado, são baseados em metais não abundantes na natureza e, por atuarem como catalisadores homogêneos, não podem ser facilmente recuperados ou reciclados ao final da reação. Diante dessas limitações, diversas pesquisas têm se concentrado no desenvolvimento de protocolos de **RCD** que empregam catalisadores mais econômicos e de fácil acesso (De Almeida, 2019; Ferraccioli, 2021).

### 2.3.2.2 RCD via intermediário carbocátion

A racemização *via* intermediário carbocátion representa uma abordagem distinta, na qual a interconversão de enantiômeros ocorre através da cisão heterolítica da ligação C-O do álcool secundário catalisada por ácidos de Brønsted (como resinas ácidas ou ácidos heterogêneos) ou de Lewis (como sais de vanádio), que promovem a geração do carbocátion a partir do álcool secundário como demonstrado na **Figura 22** (Zhang; Zheng; Zhu, 2024).

**Figura 22** - Racemização de álcoois secundários *via* formação de carbocátion (AL = ácido de Lewis).



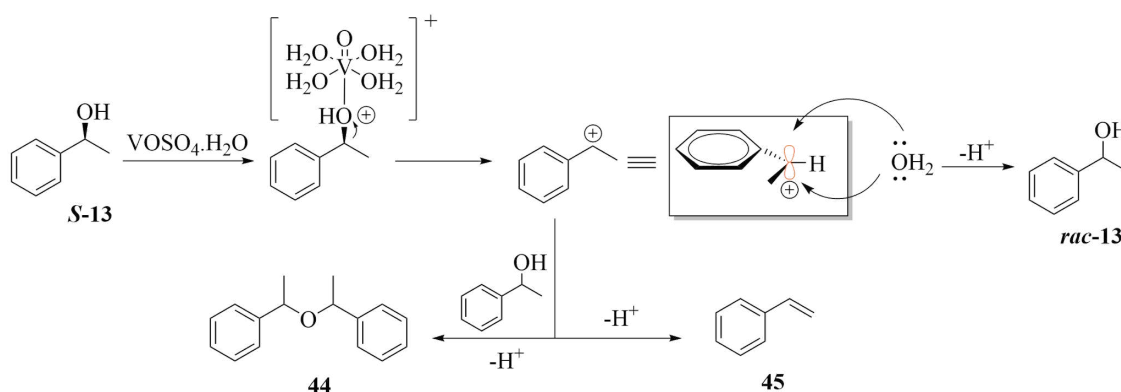
Fonte: Adaptado de Zhang; Zheng; Zhu, 2024.

O sulfato de vanadila hidratado de composição  $\text{VOSO}_4 \cdot \text{XH}_2\text{O}$  (**cat-43**) é um sal de vanádio hidratado comercialmente disponível que tem se destacado como agente de racemização na **RCD** de álcoois benzílicos secundários por proporcionar grande custo-benefício, sendo um catalisador heterogêneo, de baixo custo, baixa toxicidade (Pessoa,

Etcheverry, Gambino, 2015), dispensa o uso de bases fortes que poderiam inativar o biocatalisador, não necessita de atmosfera inerte e solvente anidro (De Miranda et al., 2017).

O mecanismo de racemização do **cat-43** consiste em uma reação do tipo adição-eliminação *via* catálise ácida para formar um carbocátion, o qual é estabilizado por ressonância pelo anel. O íon  $VO^{2+}$  (encontrado na forma do complexo  $[VO(H_2O)_4]^{2+}$ ) possui grande afinidade com compostos oxigenados (Krakowiak, Lundberg, Persson, 2012), podendo se coordenar com a hidroxila de álcoois secundários, levando, posteriormente, a eliminação da hidroxila para a formação do carbocátion proquiral, o qual sofre um ataque nucleofílico de uma molécula de água para a formação, após desprotonação, do álcool racêmico. Entretanto, durante o processo, pode ocorrer a formação de dois subprodutos: o bis( $\alpha$ -metilbenzil)éter (**44**), resultante de uma reação de substituição, e o estireno (**45**), proveniente de uma reação de eliminação (**Figura 23**) (De Almeida, 2019).

**Figura 23** - Mecanismo de racemização de **S-13** com **cat-43** via catálise ácida.

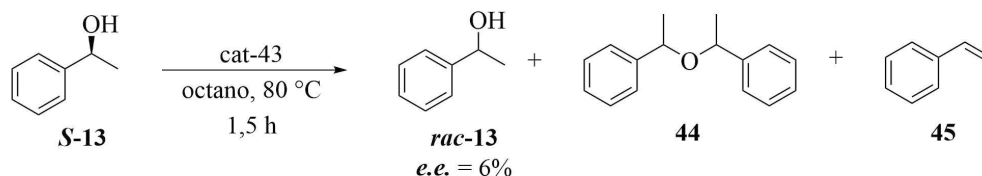


Fonte: Adaptado de De Miranda, 2019.

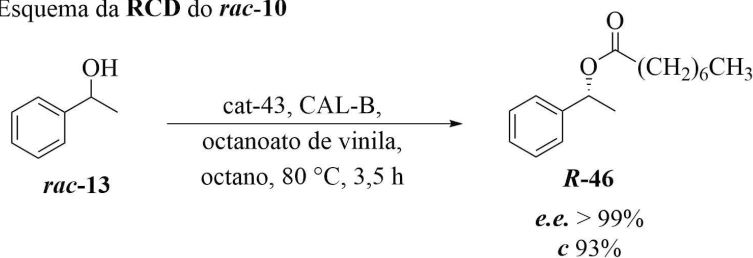
Em 2007, Wyuts e colaboradores testaram o **cat-43** na racemização do **S-13**. Nesse estudo, a racemização do **rac-13** foi realizada a 80 °C em octano, sendo necessárias 1,5 h para atingir um *e.e.* de 6% e uma *c* de 95% (**Figura 24a**), com a formação dos subprodutos **44** e **45**. Além disso, a **RCD** do **rac-13** foi conduzida a 80 °C em octano, utilizando a lipase **CAL-B** e octanoato de vinila. Após 3,5 horas de reação, obteve octanoato de 1-feniletila (**R-46**) uma conversão de 93% e um excesso enantiomérico do produto *e.e.*, superior a 99% (**Figura 24b**) (Wyuts et al., 2017). Entretanto, apesar do excelente resultado do **cat-43**, o sistema envolve altas temperaturas, fator limitante para lipases mais termossensíveis.

**Figura 24** - Procedimento de racemização e **RCD** desenvolvidos por Wyuts e colaboradores (2007).

a) Esquema de racemização do **S-10**



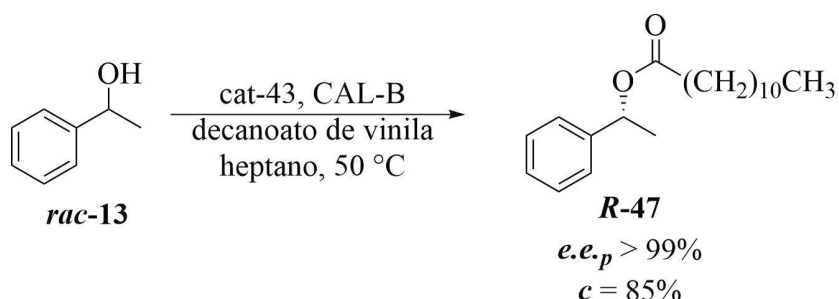
b) Esquema da **RCD** do **rac-10**



Fonte: Adaptado de Wyuts et al., 2007.

Em 2020, De Almeida e colaboradores desenvolveram uma metodologia de **RCD** para o **rac-13**, utilizando o **cat-43** associado à lipase **CAL-B** em heptano a 50 °C, com decanoato de vinila como doador de acila. Essa metodologia resultou na formação do decanoato de 1-feniletila (**R-47**) com uma conversão de 85% e um *e.e.<sub>p</sub>* superior a 99% em 2 h (**Figura 25**). O método foi testado com sucesso para outros álcoois secundários benzílicos, demonstrando sua eficácia nesses casos. No entanto, quando aplicado a álcoois secundários benzílicos contendo substituintes volumosos na porção alifática da cadeia, como bromidrinas ou cianidrinas, a metodologia mostrou-se ineficaz devido a **CAL-B** não possuir bolsões adequados para comportar esses substituintes (De Almeida et al., 2020). Essa limitação sugere que a adaptação do método, para lipases com bolsões do sítio ativo mais volumosos, pode ser uma estratégia viável para ampliar a aplicabilidade da **RCD** a substratos mais complexos.

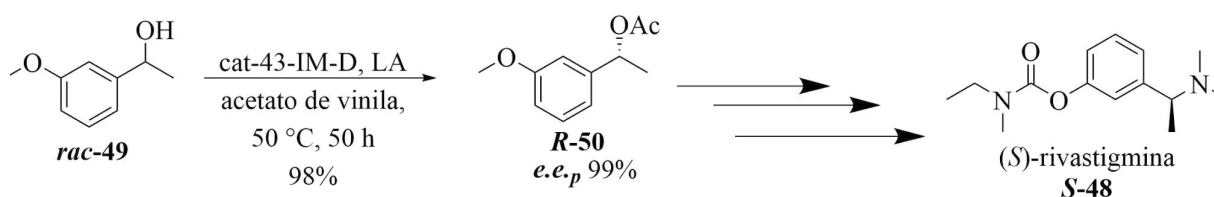
**Figura 25 - RCD de *rac*-13** segundo a metodologia desenvolvida por De Almeida e colaboradores (2020).



Fonte: Adaptado de De Almeida et al., 2020.

A (*S*)-rivastigmina (**S-48**), um dos principais fármacos utilizados no tratamento da doença de Alzheimer, pode ser obtida a partir de (*R*)-1-(3-metoxifenil)etanol (**R-49**), um intermediário chave em sua síntese formal. Em 2024, Min e colaboradores demonstraram a viabilidade industrial desse processo ao aplicar a **RCD** do *rac*-49 para a obtenção do (*R*)-acetato 1-(3-metoxifenil)etila (**R-50**), que pode ser subsequentemente hidrolisado para gerar o intermediário desejado. A reação foi conduzida em heptano a 50 °C por 50 horas, utilizando o catalisador **cat-43** imobilizado em diatomita (**cat-43-IM-D**) e a lipase de *Aspergillus niger* imobilizada em resina LXTE-1001 (**LA**) como biocatalisador, com acetato de vinila como doador de acila. O processo alcançou um rendimento de 98% com *e.e.*<sub>p</sub> de 99%, evidenciando sua eficiência e viabilidade em escala industrial (**Figura 26**) (Min et al., 2024).

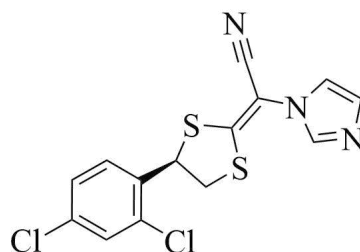
**Figura 26 - RCD do *rac*-49** desenvolvida por Min e colaboradores (2024).



Fonte: Adaptado de Min e colaboradores (2024).

## 2.4 Luliconazol (**R-1**) e síntese quimioenzimática

**Figura 27** – Fórmula estrutural do **R-1**.



Luliconazol  
**R-1**

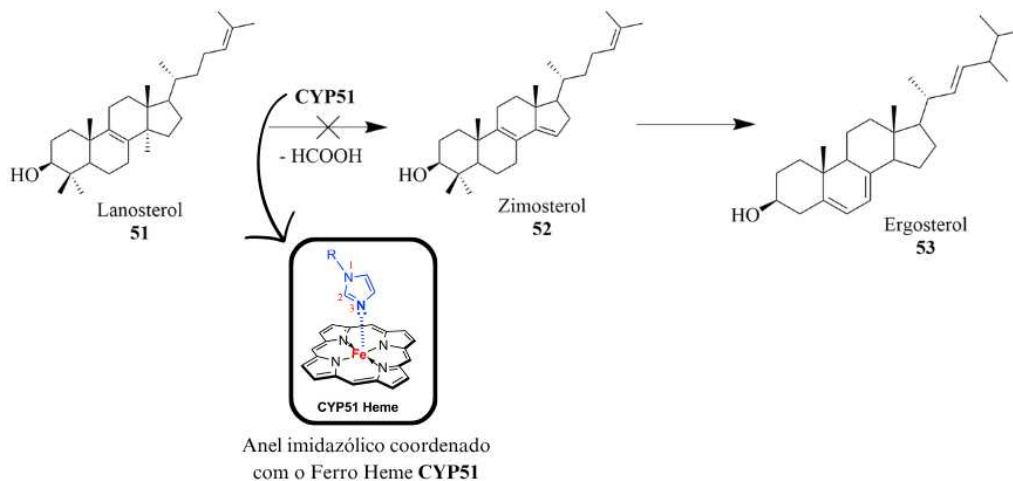
Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2025.

O luliconazol (**R-1**) (**Figura 27**) foi desenvolvido em 2005 pela *Nihon Nohyaku Co LTD* (Osaka, Japão) e foi aprovado em 2015 pela *FDA*. Comercializado como princípio ativo da pomada Luzu<sup>®</sup>, o **R-1** é um fármaco quiral pertence à classe dos antifúngicos imidazólicos, que é caracterizado por um anel heterocíclico contendo dois átomos de nitrogênio em posições adjacentes, e é aplicado no tratamento de micoses superficiais causadas por dermatófitos, como o *Trichophyton rubrum* e o *Epidermophyton floccosum*, agentes patogênicos responsáveis por infecções cutâneas, como *tineas pedis*, *cruris* e *corporis*, demonstrando maior eficácia que outros antifúngicos tópicos (Ricardo; Lipner, 2020) (Dos Santos Porto et al., 2021).

O **R-1** atua como um inibidor seletivo da enzima esterol 14 $\alpha$ -desmetilase (**CYP51**) fúngica. Esse mecanismo ocorre por meio da coordenação do átomo de nitrogênio **N3** do anel imidazólico com o íon ferro do grupo heme da enzima CYP51, atuando como o sexto ligante axial. Além dessa interação, estudos de *docking molecular* demonstrou que outros grupos da molécula de **R-1** estabelecem interações de Van der Waals e de caráter hidrofóbico com a enzima, aumentando a afinidade e a estabilidade do complexo enzima-inibidor (Shokri et al., 2018).

A **CYP51** desempenha um papel crucial na biossíntese do ergosterol, o principal esteróide das membranas celulares dos fungos. Essa enzima catalisa a desmetilação do lanosterol no carbono 14, por meio de três oxidações sucessivas, resultando na liberação de ácido fórmico. Ao inibir a **CYP51**, o **R-1** impede a formação do ergosterol (**Figura 28**), comprometendo a integridade da membrana celular fúngica e levando à morte do microrganismo (Emami; Tavangar; Keighobadi, 2017).

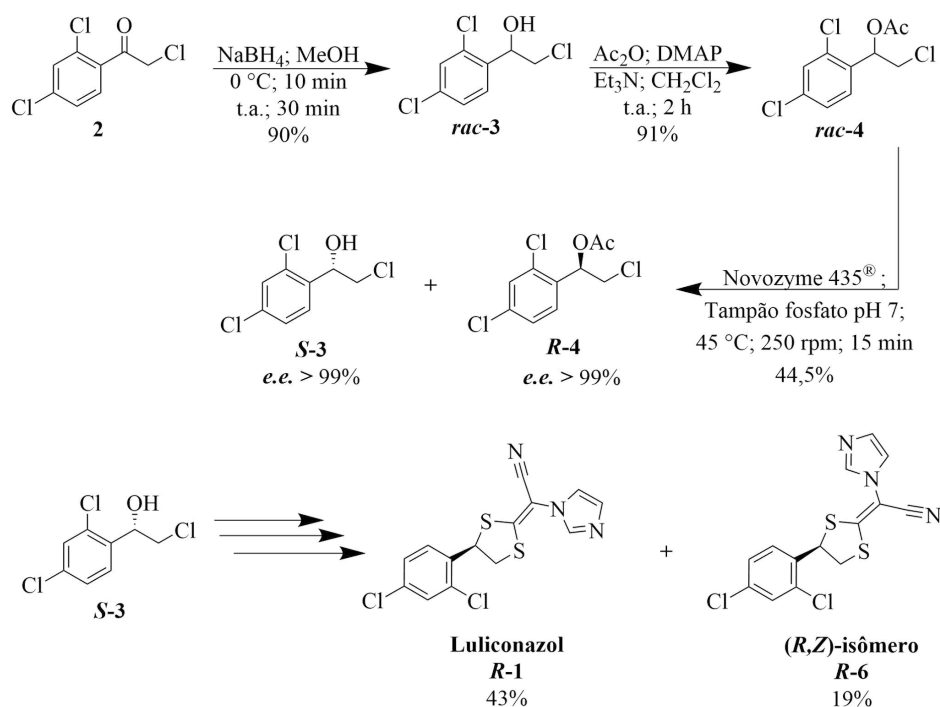
**Figura 28** - Biossíntese do ergosterol inibida pela coordenação do N3 do imidazol com o Ferro Heme CYP51.



Fonte: Adaptado de Emami, Tavangar, Keighobadi, 2017.

A necessidade da configuração absoluta (*R*) para que o **R-1** exerça atividade antifúngica motivou o desenvolvimento de rotas sintéticas enantiosseletivas, incluindo a **RCE** catalisada por lipases *via* hidrólise. Essa rota foi proposta por Fonseca e colaboradores (2018), que iniciaram o processo com a redução da halocetona 2-cloro-1-(2,4-diclorofenil)etanona (**2**) à haloidrina racêmica *rac*-2-cloro-1-(2,4-diclorofenil)etanol (**rac-3**). Em seguida, o **rac-3** foi acetilado, gerando o *rac*-acetato de 2-cloro-1-(2,4-diclorofenil)etila (**rac-4**), que serviu como substrato para a hidrólise enzimática. A hidrólise catalisada pela lipase Novozym 435® foi realizada a 45 °C por 15 minutos em tampão fosfato (pH 7), resultando na obtenção do intermediário-chave **S-3** com *e.e.*<sub>p</sub> superior a 99% e na conversão máxima de 50% (**Figura 29**). No entanto, o substrato remanescente **R-4**, não foi aproveitado e foi descartado após a purificação (Fonseca et al., 2018).

**Figura 29** - Rota de síntese simplificada de **R-4**.



Fonte: Adaptado de Fonseca et al., 2018.

Para otimizar o rendimento da síntese do **R-1** e superar a limitação natural da **RCE**. Este trabalho propõe a **RCD** *via* acetilação do **rac-3** como uma estratégia promissora para a obtenção do acetato **S-4** enantiopuro. No entanto, como o intermediário-chave para a síntese do **R-1** é a halodrina **S-3**, torna-se necessária a hidrólise do acetato **S-4** utilizando a metodologia desenvolvida por Fonseca e colaboradores (2018). Essa estratégia integra a **RCD** com a hidrólise enzimática, não apenas permite aumentar o rendimento global do processo, mas também garante a obtenção do enantiômero desejado com alto *e.e.* (Fonseca et al., 2018).

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo geral

Estudar a racemização do *R*-2-cloro-1-(2,4-diclorofenil)etanol (***R*-3**) catalisadores de racemização a base de metal.

#### 3.2 Objetivos específicos

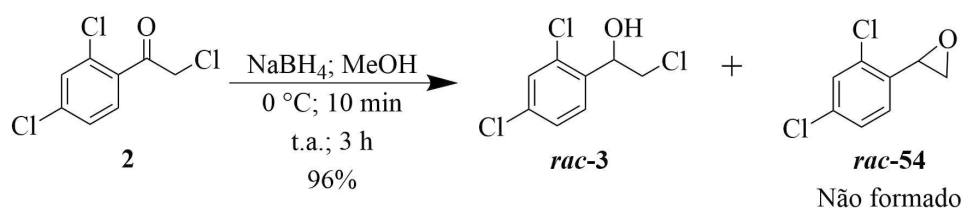
- Estudar a atividade da **CAL-A** variando parâmetros como polaridades e constante dielétrica dos solventes orgânicos e doadores de acila;
- Estudar a reação de racemização do ***R*-3** utilizando como catalisadores o catalisador de Shvo (**cat-10**), Clorodicarbonil(1,2,3,4,5-pentafenilciclopentadienil)rutênio(II) (**cat-11**), Clorodicarbonil(1-isopropilamino-2,3,4,5-tetrafenilciclopentadienil)rutênio(II) (**cat-12**) e com o sulfato de vanadila hidratado (**cat-43**);
- Sintetizar o (*S*)-1-feniletanol ***S*-13** e testar qualitativamente os **cat-11** e **cat-12**;
- Estudar a atividade da lipase na condição determinada pelo catalisador de racemização de melhor atividade;
- Hidrolisar enzimaticamente o (*S*)-acetato de 2-cloro-1-(2,4-diclorofenil)etila (***S*-4**).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Obtenção da haloidrina *rac*-2-cloro-1-(2,4-diclorofenil)etanol (*rac*-3)

A obtenção do *rac*-3 foi empregado como agente redutor o NaBH<sub>4</sub> na relação de 0,5 mmol de NaBH<sub>4</sub> para 1 mmol de substrato **2** (Figura 30). Nesta proporção, não foi observada a formação do epóxido *rac*-2-(2,4-diclorofenil)oxirano (*rac*-54), o qual seria um subproduto possível devido à presença do cloro na posição β-cetona, o qual atua como um bom grupo abandonador. Após 40 min, foi observado o desaparecimento do substrato por cromatografia em camada delgada (CCD). Em seguida, a reação foi tratada e purificada (seção 6.5.1) obtendo um rendimento de 96%.

Figura 30 - Esquema da redução da cetona **2**.

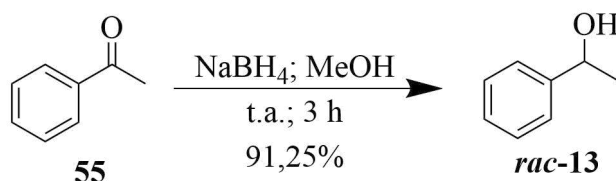


Fonte: elaborado pelo próprio autor, 2025.

### 4.2 Obtenção do *rac*-1-feniletanol (*rac*-13)

Inicialmente, foi necessário sintetizar o *rac*-13 para desenvolver um método de análise por cromatografia gasosa com detector de ionização de chama (CG-DIC) com uma coluna quiral para separar os enantiômeros, visando acompanhar sua resolução cinética enzimática (RCE) e a atividade de racemização dos catalisadores **cat-11** e **cat-12** com o enantiômero **S-13**. Para isso, a feniletanona (**55**) foi reduzida adaptando a metodologia desenvolvida por Barros-Filho e colaboradores (2010) (BARROS-FILHO et al., 2010). O procedimento consistiu em dissolver **55** em metanol em um balão de 250 mL (Figura 31). Em seguida, a solução foi resfriada a 0 °C e adicionou-se lentamente 629,5 mg (16,64 mmol) de boridreto de sódio. A reação foi agitada à temperatura ambiente e, após 3 h, verificou-se por meio de CCD que o substrato foi totalmente consumido. Por fim, a reação foi tratada e purificada (seção 6.5.2) obtendo um rendimento de 91,25% do *rac*-13.

**Figura 31** - Esquema da redução da cetona **12**.

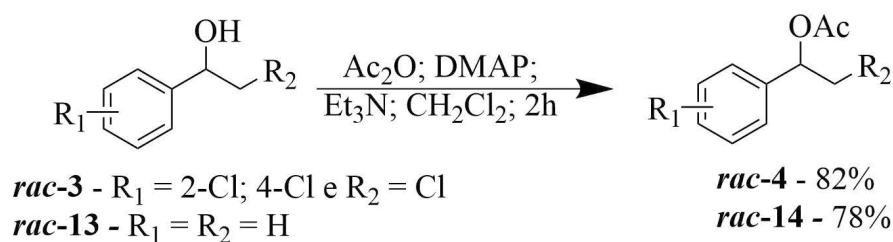


Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2025.

### 4.3 Procedimento geral para síntese do *rac*-acetato de 2-cloro-1-(2,4-diclorofenil)etila (*rac-4*) e do *rac*-acetato de 1-feniletila (*rac-14*)

As sínteses dos acetatos *rac-4* e *rac-14* (Figura 32) foram realizadas com a finalidade de desenvolver um método de análise por **CG-DIC** com uma coluna quiral para separar os enantiômeros, visando acompanhar suas **RCE**, baseadas na metodologia de Fonseca (2017). Em um balão de 10 mL, *rac-3* foi dissolvido em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Em seguida, DMAP, 1  $\text{Et}_3\text{N}$  e  $\text{Ac}_2\text{O}$  foram adicionados. Após 2 horas de reação, verificou-se por meio de **CCD** que o substrato foi totalmente consumido. Então a reação foi tratada e purificada (seção 6.5.3), obtendo *rac-4* (rendimento de 82%) e *rac-11* (rendimento de 78%).

**Figura 32** - Esquema da síntese geral dos acetatos *rac-4* e *rac-14*.

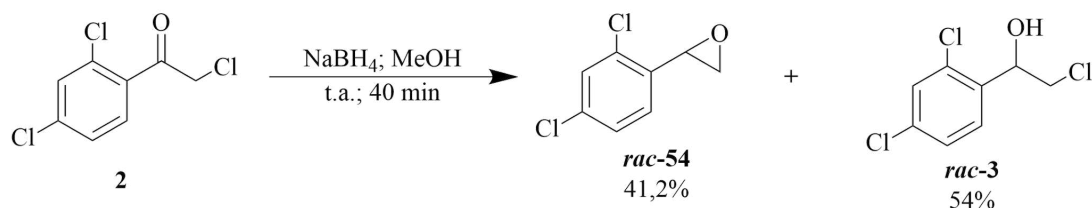


Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2025.

### 4.4 Síntese do epóxido *rac-2*-(2,4-diclorofenil)oxirano (*rac-54*)

A síntese do epóxido *rac-54* teve como objetivo desenvolver um método analítico utilizando **CG-FID** com uma coluna quiral para separar os enantiômeros, para acompanhar a racemização do enantiômero **R-3**. O procedimento foi iniciado com a adição de **2**, em metanol. Em seguida foi adicionado,  $\text{NaBH}_4$  a temperatura ambiente (Figura 33). Após 40 minutos de reação, observou-se por **CCD** a formação do *rac-54* e de *rac-3* e o consumo completo de **2**. Então a reação foi tratada e purificada, levando a um rendimento de 41,2% e 54% para o *rac-54* e o *rac-3* respectivamente.

**Figura 33** - Esquema da síntese do *rac-54*.

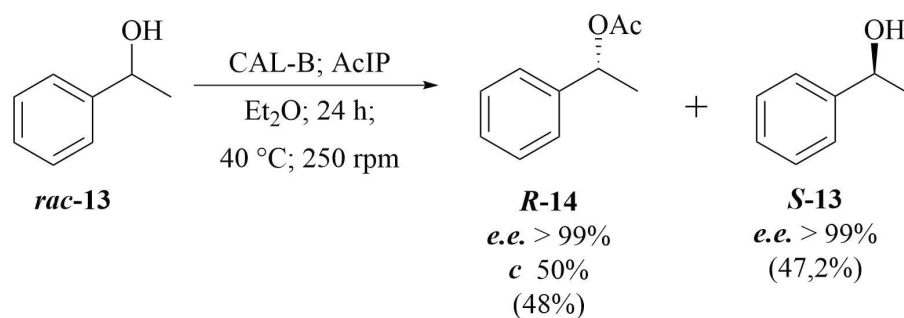


Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2025.

#### 4.5 Síntese do *S-13* via acetilação catalisada pela lipase imobilizada em resina acrílica expressa em *Aspergillus niger* (CAL-B)

A RCE seguiu a metodologia desenvolvida por Melais e colaboradores (MELAIS et al., 2016). A reação foi conduzida utilizando a lipase CAL-B como biocatalisador, em um sistema vedado e saturado com N<sub>2</sub>, com éter etílico seco e AcOIP como doador de acila. A reação foi mantida sob agitação orbital a 40 °C por 24 horas (**Figura 34**), condições que favoreceram a seletividade e a eficiência do processo.

**Figura 34** - Esquema reacional da síntese do *S-13* por RCE via acetilação catalisada pela lipase CAL-B.



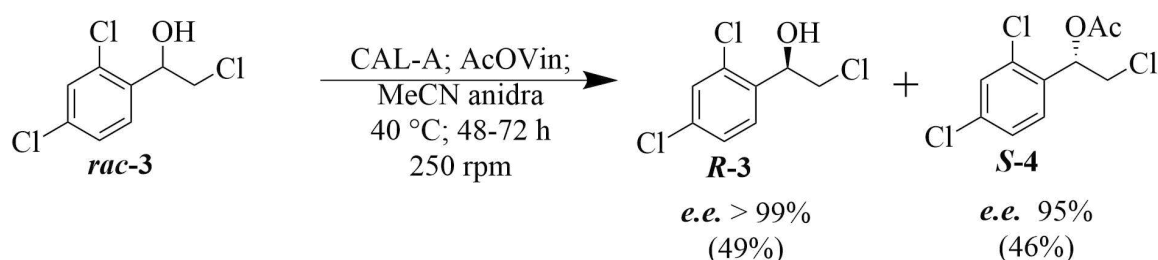
Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2025.

Após a extração e a evaporação do solvente, o produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna, utilizando gel de sílica e uma mistura de hexano e acetato de etila como fase móvel. A purificação resultou na obtenção do produto *S-13* com rendimento de 47,6% e *e.e.* superior a 99%, indicando a eficácia da metodologia empregada.

#### 4.6 Síntese do *R*-2-cloro-1-(2,4-dicloro-fenil)etanol (*R*-3) via acetilação catalisada pela lipase de *Candida antarctica* imobilizada em Immobead 150 recombinada com *Aspergillus Oryzae* (CAL-A)

Adaptando a metodologia desenvolvida por Cruz (2022), a resolução cinética enzimática de *rac*-3 (Figura 35) foi realizada utilizando a lipase CAL-A como biocatalisador, em um sistema vedado e saturado com nitrogênio (N<sub>2</sub>) para garantir uma atmosfera inerte. A reação foi conduzida em acetonitrila previamente seco, com acetato de vinila como doador de acila, e mantida sob agitação orbital a 40 °C por 48-72 horas ao invés de 30 h como foi relatado por Cruz (2022).

Figura 35 - Esquema de síntese de *R*-3.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2025.

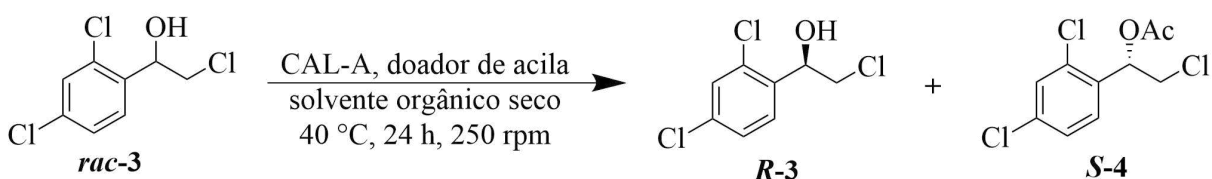
Após a extração dos compostos orgânicos com acetato de etila e evaporação do solvente, o produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna, utilizando gel de sílica como fase estacionária e uma mistura de hexano e clorofórmio (9:1) como fase móvel. O produto purificado, *R*-3, foi obtido com um rendimento de 49% (196,18 mg) e um *e.e.* superior a 99%. Embora a lipase CAL-A tenha mostrado alta enantiosseletividade, observou-se uma perda significativa de sua atividade ao longo do tempo.

#### 4.7 Estudo da influência dos solventes e dos doadores de acila na RCE via acetilação do *rac*-3

A RCE de *rac*-3 (Figura 36) foi realizada utilizando a Lipase do tipo A de *Candida antarctica* imobilizada em Immobead 150, recombinada com *Aspergillus oryzae* CAL-A como biocatalisador, em um sistema vedado e saturado com N<sub>2</sub> para garantir uma atmosfera inerte. A CAL-A foi escolhida para este procedimento devido à alta termoestabilidade e resistência aos solventes orgânicos, bem como, ao fato de estar no estado imobilizado, o que confere a possibilidade de um estudo de reuso (Monteiro *et al.*, 2021).

O processo foi conduzido em diferentes solventes orgânicos (acetonitrila, ciclo-hexano, heptano, hexano, metil *terc*-butil éter (**MTBE**), tetrahydrofurano (**THF**) e tolueno) e com dois doadores de acila (acetato de isopropenila (**AcOIP**) e acetato de vinila (**AcOVin**), visando avaliar a influência desses parâmetros na seletividade e eficiência da reação (**Figura 36**). A reação foi mantida sob agitação orbital a 40 °C por 24 horas, seguida de tratamento do produto bruto. O produto bruto foi dissolvido em acetato de etila, grau CLAE, e analisado por **CG-DIC** para determinação do *e.e.*<sub>s</sub> e do *e.e.*<sub>p</sub>.

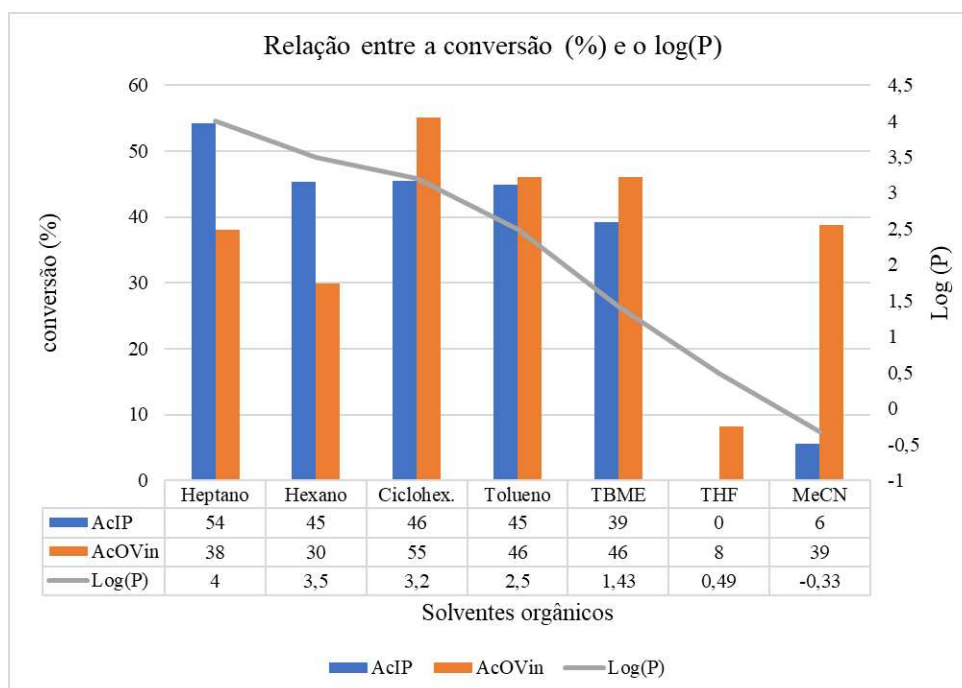
**Figura 36** - Esquema da RCE de *rac*-3.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2025.

Os resultados da RCE de *rac*-3 utilizando a lipase **CAL-A** em diferentes solventes e doadores de acila estão ilustrados nos **figuras 37 e 38**. A **figura 37** é o gráfico que correlaciona a conversão das reações com o log(P) dos solventes. Observa-se que, quando o **AcOIP** foi utilizado como doador de acila, a conversão máxima foi alcançada em heptano (54%), que apresenta o maior valor de log(P). Para os demais solventes, a conversão diminuiu progressivamente com a redução do log(P), exceto no caso do tetrahydrofurano (THF), onde a conversão foi nula. Por outro lado, quando o **AcOVin** foi empregado, a conversão máxima ocorreu em ciclohexano, seguida de um decréscimo gradual nos demais solventes. O menor valor de conversão foi observado em THF (8%), enquanto o hexano, apesar de apresentar o segundo maior log(P) (3,5), resultou na segunda menor conversão entre os solventes testados.

**Figura 37** - Gráfico da relação entre a  $c$  (%) e o  $\log(P)$  de diferentes solventes orgânicos na RCE de *rac-3*.

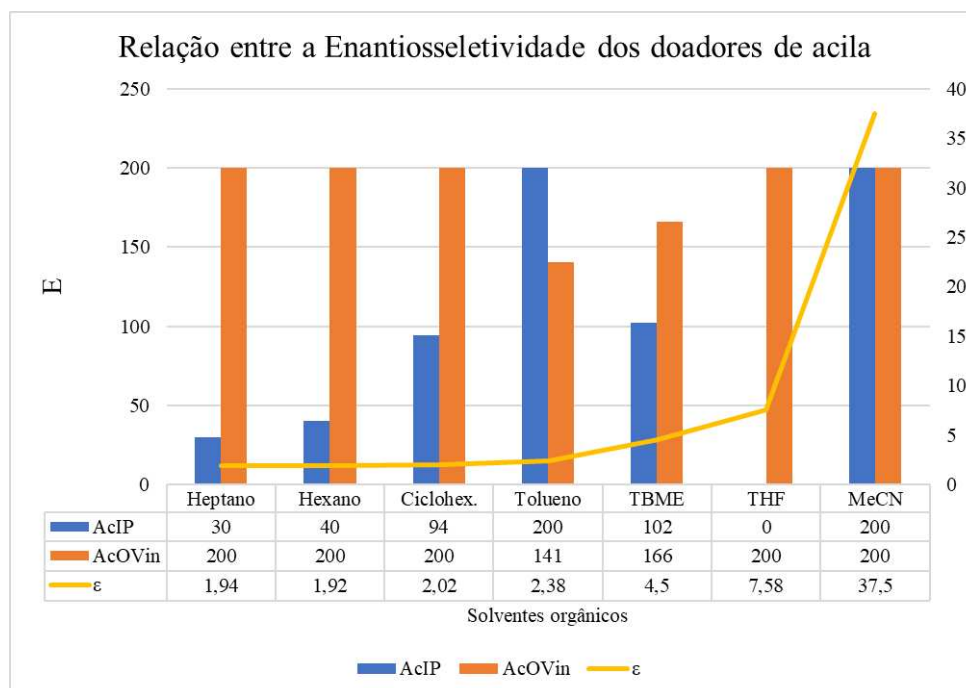


Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2025.

Alguns autores correlacionam a enantiosseletividade ( $E$ ) de lipases com as constantes dielétricas ( $\epsilon$ ) dos solventes orgânicos. Sob essa perspectiva, a  $E$  de cada reação foi analisada em função da constante dielétrica ( $\epsilon$ ) dos solventes utilizados (**Figura 38**) (Chatzikonstantinou et al., 2017). Nos solventes orgânicos com baixa constante dielétrica ( $\epsilon < 2,4$ ), como heptano, hexano, cicloexano e tolueno, observou-se um aumento progressivo na  $E$  ao utilizar o **AcOIP** como doador de acila, atingindo o valor máximo em tolueno. Por outro lado, em **MTBE**, houve uma redução significativa na enantiosseletividade, enquanto em **THF** a atividade enzimática foi inexistente. No entanto, em acetonitrila, a  $E$  retornou ao valor máximo, superior a 200.

Quando o **AcOVin** foi empregado como doador de acila, a  $E$  aumentou progressivamente em função da  $\epsilon$  dos solventes, seguindo a ordem: tolueno, **MTBE** e **THF**, sendo que este último apresentou o valor máximo de  $E$ , superior a 200. Nos demais solventes, a enantiosseletividade manteve-se consistentemente acima de 200, independentemente da constante dielétrica.

**Figura 38** - Gráfico da relação entre os valores de Enantiosseletividade da RCE de *rac-3*



Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2025.

Esses resultados sugerem que a enantiosseletividade e a atividade da lipase CAL-A são influenciadas não apenas pelo  $\log(P)$  ou  $\epsilon$ , mas também pela natureza do doador de acila e pela conformação da enzima, modulada pelo solvente orgânico. Alterações conformacionais da lipase podem impactar sua atividade, afetando a receptividade aos doadores de acila e, conseqüentemente, a eficiência da reação. A ausência de uma correlação direta entre os parâmetros analisados reforça a complexidade das interações solvente-enzima e ressalta a necessidade de considerar múltiplos fatores, como a compatibilidade entre solvente, doador de acila e estrutura enzimática, na otimização de reações enzimáticas (Zieniuk; Fabiszewska; Białecka-Florjańczyk, 2019).

Visando aprofundar o entendimento dessas interações, um estudo *in silico* está sendo realizado em parceria com o professor Dr. Aluísio Marques Fonseca da UNILAB. Essa colaboração tem como objetivo investigar a influência dos solventes e dos doadores de acila na conformação e na atividade da lipase CAL-A, utilizando simulações computacionais de dinâmica molecular e cálculo de energia MM-GBSA. Os resultados desse estudo poderão fornecer mais informações sobre o mecanismo de ação da enzima e contribuir para a otimização racional das condições reacionais.

## 4.8 Reação de Racemização

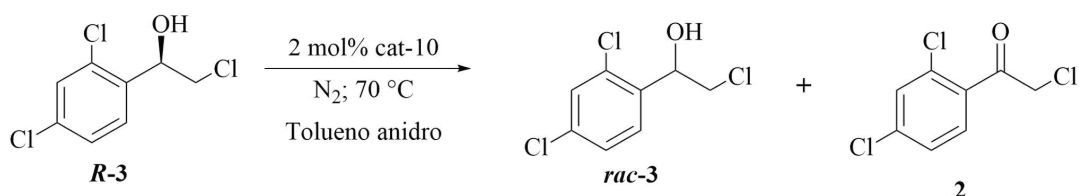
De posse da halodrina (**R-3**), foi possível iniciar as reações de racemização com os catalisadores à base de metal. Foram testados quatro catalisadores o catalisador de Shvo (**cat-10**), o clorocarbonil(1,2,3,4,5-pentametilciclopentadienil)rutênio (II) (**cat-11**), o clorocarbonil(1-,2,3,4,5-pentametilciclopentadienil)rutênio (II) (**cat-12**) e o sulfato de vanadila (**cat-43**).

### 4.8.1 Reação de racemização do **R-3** com o catalisador de Shvo (**cat-10**)

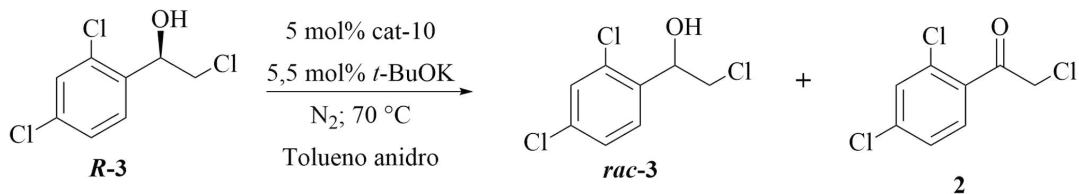
Duas metodologias foram selecionadas para avaliar a racemização utilizando o catalisador de Shvo. A primeira consistiu em uma adaptação do protocolo estabelecido por Pàmies e Bäckvall (2002). Embora o estudo original não tenha relatado testes de racemização, apenas a **RCD** de  $\beta$ -halodrinas, empregou-se a mesma proporção de **cat-10** (2% mol) descrita no trabalho. A reação foi conduzida em tolueno seco, sob atmosfera de  $N_2$ , e mantida a 70 °C (**Figura 39a**) (Pàmies; Bäckvall, 2002). Alíquotas foram coletadas e analisadas nos tempos de 0, 2, 6 e 24 horas, e os resultados estão apresentados na **Tabela 3**.

**Figura 39** - Esquemas de reações de racemização de **R-3** com o catalisador de Shvo.

(a) Reação de racemização de **R-3** na ausência de ***t*-BuOK**



(b) Reação de racemização de **R-3** na presença de ***t*-BuOK**



Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2025.

A segunda metodologia baseou-se no estudo de Haak e colaboradores (2008), que investigou a racemização de  $\beta$ -halodrinas utilizando **cat-10** na presença de ***t*-BuOK**. Para isso, foram utilizados 5% mol de **cat-10** e 5,5% mol de ***t*-BuOK** em tolueno seco, sob atmosfera de  $N_2$ , e a 70 °C (**Figura 39b**) (Haak et al., 2008). Alíquotas foram coletadas e

analisadas nos tempos de 0, 2, 6, 24, 48 e 72 horas, e os resultados estão apresentados na **Tabela 3**.

**Tabela 3** – Valores de *e.e.* ao decorrer do tempo das reações de racemização de **R-3**.

Entrada	Tempo (h)	<i>e.e.</i> (%) <sup>[a],[b]</sup>	<i>e.e.</i> (%) <sup>[a],[c]</sup>
1	0	>99	>99
2	2	99,3	98,8
3	6	94	97
4	24	92	83
5	48	-	78
6	72	-	76

Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2025.

<sup>[a]</sup>Determinado por GC; <sup>[b]</sup>sem *t*-ButOK; <sup>[c]</sup>com *t*-ButOK.

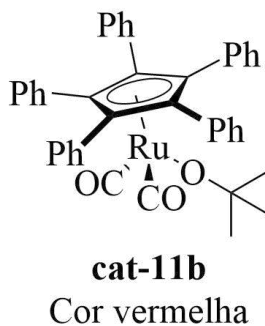
Observou-se que a reação na ausência de ***t*-BuOK** apresentou uma cinética mais lenta, reduzindo apenas 7% do *e.e.* de **R-3** após 24 horas de reação, com formação do subproduto **2**. Em contraste, a reação na presença da base exibiu cinética mais rápida em comparação à ausência de base, embora, para os padrões de **RCD**, ainda seja considerada lenta. Após 24 horas, o *e.e.* de **R-3** foi reduzido em 16%, e a reação foi interrompida após 72 horas com redução de 26% de *e.e.*. Sugere-se que a racemização de **R-3** na presença de base possa ser otimizada pelo aumento da temperatura da reação para 80 °C com base no trabalho de Haak e colaboradores (2008).

#### 4.8.2 Reação de racemização do *S*-1-feniletanol (*S*-13) com Clorocarbonil(1,2,3,4,5-pentametilciclopentadienil)rutênio (II) (cat-11)

Em busca de um catalisador de racemização que não exigisse temperaturas elevadas para exibir atividade, testamos o **cat-11**, o qual requer apenas a presença de ***t*-BuOK** para sua ativação. Inicialmente, realizou-se um teste com a metodologia reportada por Traf e colaboradores (2008) para verificar a funcionalidade do **cat-11**. Para isso, adicionou-se uma solução de ***t*-BuOK** (10% mol) em THF (0,1 M) a um frasco Schlenk de 10 mL. O THF foi removido sob pressão reduzida, e a atmosfera foi saturada com argônio. Em seguida, adicionou-se o **cat-11** (5% mol) e adicionou-se tolueno para dissolver ambos, aguardando-se

6 minutos. Após esse período, a solução permaneceu amarelada, sem indícios da formação do intermediário Ru-alcóxido (**cat-11b**) (**Figura 40**).

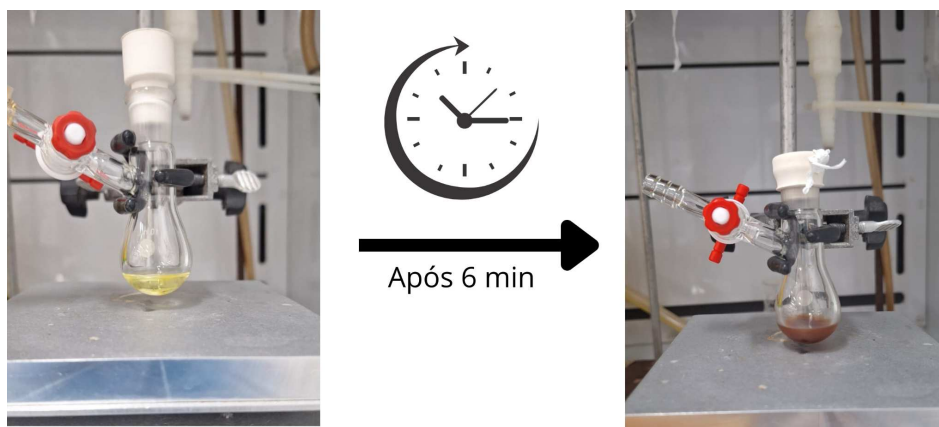
**Figura 40** - Estrutura do intermediário Ru-alcóxido (**cat-11b**).



Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2025.

Posteriormente, adicionou-se ***t*-BuOK** sólido diretamente à solução, resultando em uma mudança imediata para uma coloração vermelha. Após 6 minutos, a solução adquiriu uma coloração marrom (**Figura 41**) e foi adicionado **S-13**, observou-se que a solução adquiriu um aspecto de suspensão, que foi perdido após a reação ser exposta ao ar atmosférico formando uma solução escura com um corpo de fundo preto. Uma alíquota foi coletada após 10 min e analisada por **CG-DIC**. Foi observada a racemização completa de **S-13**, com o aparecimento da cetona **6** como subproduto.

**Figura 41** - Mudança de coloração da solução durante a ativação do **cat-11**.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2025.

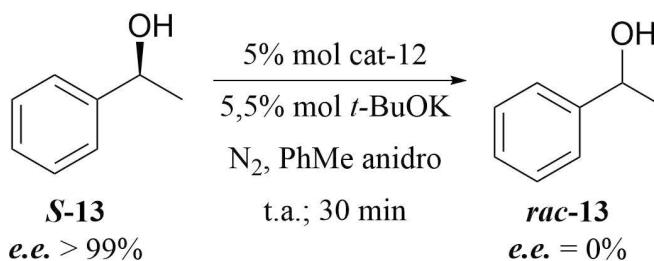
Visando um sistema mais econômico, a racemização de **S-13** foi também avaliada sob atmosfera de  $N_2$ . Empregou-se a mesma metodologia descrita anteriormente, com a

adição direta de ***t*-BuOK** sólido à solução. Após 6 minutos, observou-se uma mudança de coloração da solução, de amarelado para marrom, indicando a formação do intermediário Ru-alcóxido, ao adicionar **S-13**, a solução adquiriu um aspecto de suspensão, que também foi perdido após a reação ser exposta ao ar atmosférico, formando uma solução escura com um corpo de fundo preto. Após 10 minutos, a análise por **CG-DIC** confirmou a racemização completa do substrato.

#### 4.8.3 Reação de racemização do **S-13** com Clorocarbonil(1-isopropilamino-2,3,4,5-pentametilciclopentadienil)rutênio (II) (**cat-12**)

Para verificar a funcionalidade do **cat-12**, realizou-se um teste baseado na metodologia descrita por Haak e colaboradores (2008), os quais utilizaram esse catalisador sob atmosfera de N<sub>2</sub>. Em um frasco Schlenk, adicionou-se **cat-12** (5% mol) e ***t*-BuOK** (5,5% mol) dissolvidos em tolueno seco, sob atmosfera de N<sub>2</sub>, seguindo a ordem descrita (**Figura 42**) (Haak et al., 2008).

**Figura 42** - Esquema da reação de racemização de **S-13** com o **cat-12**.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2025.

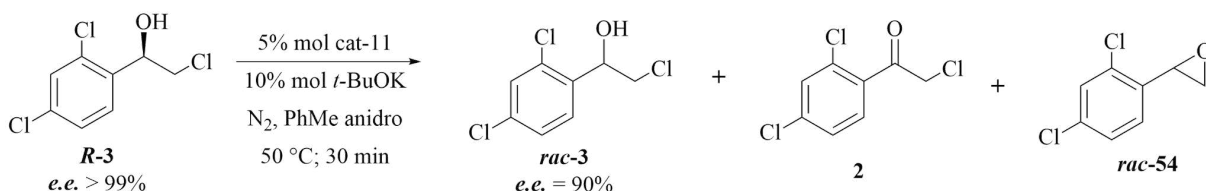
Após 5 minutos, observou-se uma mudança na coloração da solução, de amarelo para alaranjado, indicando a ativação do catalisador. Em seguida, adicionou-se o substrato **S-13**. Após 30 minutos, a análise realizada por CG-DIC confirmou a racemização completa do substrato.

#### 4.8.4 Reação de racemização do (**R**)-2-cloro-1-(2,4-diclorofenil)etanol (**R-3**) com Clorocarbonil(1,2,3,4,5-pentametilciclopentadienil)rutênio (II) (**cat-11**)

A reação de racemização de **R-3** foi conduzida em um frasco Schlenk, dissolvendo-se **cat-11** (5 mol%) em tolueno e adicionando ***t*-BuOK** (10% mol) sob atmosfera

de N<sub>2</sub>, variando entre temperatura ambiente e 50 °C. Após seis minutos, a solução adquiriu uma coloração marrom, indicando a ativação do catalisador, e o substrato **R-3** foi adicionado (**Figura 43**).

**Figura 43** - Esquema reacional para a racemização de **R-3** com o **cat-11** à 50 °C.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2025.

Para monitorar o progresso da reação, alíquotas foram coletadas em diferentes intervalos de tempo. Em algumas reações, as alíquotas foram retiradas após 10 e 30 minutos, depois de cinco minutos observado uma mudança na coloração da solução, tornando-se transparente e escura. Após essa mudança, não houve alterações significativas nos resultados de racemização. As amostras foram analisadas por **CG-DIC**, e os valores de *e.e.* foram calculados a partir das áreas dos picos no cromatograma.

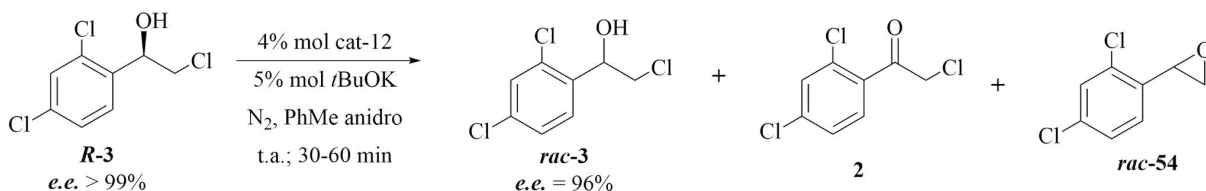
A reação conduzida à temperatura ambiente resultou em um decréscimo de 5% no *e.e.* após 10 minutos. Por outro lado, a reação realizada a 50 °C apresentou um decréscimo de 10% no *e.e.* no mesmo intervalo de tempo. Esses resultados sugerem que o aumento da temperatura pode ser uma estratégia viável para melhorar a eficiência da racemização, uma vez que Traff e colaboradores (2008) relataram a obtenção de **RCD** ideais em temperaturas entre 60 e 80 °C, utilizando uma enzima termoestável, com substratos com grupos fortemente desativantes.

Com objetivo de elucidar os efeitos dos substituintes no mecanismo de reação, o estudo do mecanismo está sendo realizado, em parceria com o grupo de Bioinorgânica da UFC, por Teoria do Funcional da Densidade (**TFD**), em que o funcional utilizado será o M06-2X (Zhao; Truhlar, 2008) e os conjuntos de base LANL2DZ (Wadt; Hay, 1985) para o **cat-11** e 6-31+G(d,p) (Lu; Chen, 2011) para o substrato **R-3**, cálculos de estado de transição (**ET**) e coordenada intrínseca de reação (**CIR**) estão sendo realizados, de modo que uma frequência negativa no cálculo de **ET** indicará um estado de transição e, para confirmar, o **CIR** deverá indicar os reagentes e produtos desejados. Ademais, cálculos de frequências serão realizados para obter informações termoquímicas e, dessa maneira, construir a superfície de energia potencial (**SEP**) para analisar as barreiras de energia.

#### 4.8.5 Reação de racemização do (R)-2-cloro-1-(2,4-diclorofenil)etanol (**R-3**) com Clorocarbonil(1-isopropilamino-2,3,4,5-pentametilciclopentadienil)rutênio (II) (**cat-12**)

A reação de racemização de **R-3** foi conduzida em um frasco Schlenk, dissolvendo-se **cat-12** (4% mol) em tolueno e adicionando *t*-BuOK (5% mol) sob atmosfera de N<sub>2</sub>, na temperatura ambiente. Após seis minutos, a solução adquiriu uma coloração laranja, indicando a ativação do catalisador, e o substrato **R-3** foi adicionado (**Figura 44**).

**Figura 44** - Esquema reacional para a racemização de **R-3** com o **cat-12**.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2025.

A reação foi monitorada por **CG-DIC** com alíquotas sendo retiradas nos tempos de 30 e 60 min. Notou-se que o *e.e.* caiu para aproximadamente 96% em todos os tempos. Outros testes serão realizados alterando a temperatura ou a porcentagem de catalisador e base adicionados.

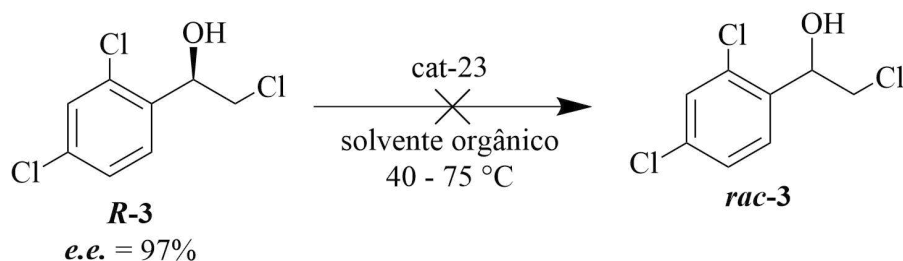
#### 4.8.6 Reação de racemização do (**R-3**) com sulfato de vanadila (**cat-43**)

Em vista de ampliar as opções de catalisadores de racemização, também foi utilizado o sulfato de vanadila (**cat-43**) na racemização do **R-3**. O **cat-43** tem se destacado na resolução cinética dinâmica de álcoois benzílicos secundários proporcionando grande custo-benefício, além de ser um catalisador heterogêneo, de baixo custo, baixa toxicidade, dispensa o uso de bases fortes que poderiam inativar o biocatalisador (Miranda et al., 2017), não necessita de atmosfera inerte e nem de secagem de solvente.

A metodologia desenvolvida por De Almeida e colaboradores (2020) foi adaptada para o substrato **R-3**. Dessa metodologia, foi utilizado a relação de massa de substrato e catalisador e empregamos solventes orgânicos apolares com alto ponto de ebulição (**PE**), como heptano (98 °C) e tolueno (110,6 °C) (De Almeida, p. 49, 2019). Além desses, foram incluídos mais dois solventes: ciclohexano (80,7 °C) (Dong et al., 2016), pelos motivos já

mencionados, e acetonitrila (81 °C), que apresentou excelente desempenho na RCE. As reações foram realizadas sob agitação orbital em diferentes temperaturas, na faixa de 40 a 75 °C (Figura 45).

**Figura 45** – Esquema da reação de racemização do **R-3** com **cat-43**.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2025.

Depois da determinação dos solventes, iniciaram-se os testes para avaliar o efeito da temperatura sobre a de racemização do **R-3** (*e.e.* = 97). A temperatura inicial foi definida em 40 °C para cada um dos solventes, e após 24 h, as alíquotas foram analisadas por CG-DIC e por comparação das áreas obtidas observou-se que o excesso enantiomérico de **R-3** não sofreu alteração. Diante desses resultados, decidiu-se aumentar a temperatura para 60 °C e, posteriormente, para 75 °C e em ambas as temperaturas o excesso enantiomérico de **R-3** não sofreu alteração.

Esses resultados podem ser explicados pelo efeito indutivo retirador dos átomos de cloro, tanto na posição alifática quanto no anel aromático, que desestabilizam o carbocátion intermediário. No substrato **R-3**, o cloro está próximo à hidroxila, intensificando esse efeito indutivo e dificultando a formação do carbocátion. Além disso, a presença de cloro no anel aromático contribui para a desativação do anel, aumentando ainda mais a desestabilização do carbocátion (Clayden; Greeves; Warren, 2017). Wuyts e colaboradores (2007) demonstraram que o efeito do cloro alifático é mais pronunciado, observando que a racemização de substratos com cloro na posição  $\gamma$  ocorreu 18 vezes mais lentamente. Eles também relataram que a racemização do (*S*)-1-(4-bromofenil)etanol foi 3,5 vezes mais lenta que a do **S-13**, evidenciando o impacto dos substituintes no anel (Wuyts et al., 2007). A combinação desses efeitos eleva a barreira energética para a formação do carbocátion, dificultando significativamente a reação de racemização.

Com objetivo de elucidar os efeitos dos substituintes no mecanismo de reação, O estudo do mecanismo será realizado por TFD em parceria com o Grupo de Química Teórica

(GQT) da UFC, em que o funcional utilizado será o M06-2X (Zhao; Truhlar, 2008) e os conjuntos de base LANL2DZ (Wadt; Hay, 1985) para o **cat-43** e 6-31+G(d,p) (Lu; Chen, 2011) para os substratos **R-3** e o **S-13**, cálculos de **ET** e **CIR** estão sendo realizados, de modo que uma frequência negativa no cálculo de **ET** indicará um estado de transição e, para confirmar, o **CIR** deverá indicar os reagentes e produtos desejados. Ademais, cálculos de frequências serão realizados para obter informações termoquímicas e, dessa maneira, construir a **SEP** para analisar as barreiras de energia.

#### ***4.9 Hidrólise enzimática (S)-acetato de 2-cloro-1-(2,4-diclorofenil)etila (S-4)***

O produto da resolução cinética catalisada pela lipase **CAL-A**, via acetilação, foi o composto **S-4**. Fonseca e colaboradores (2018) realizaram a hidrólise do composto **S-4** para obter a haloidrina correspondente **S-3**, que é o intermediário chave na síntese do fármaco **R-1**. A hidrólise do acetato **S-4** (97% *e.e.*), catalisada pela lipase Novozym 435, resultou na haloidrina **S-3** com *e.e.* superior a 99%, indicando um aumento de 2% no *e.e.* do intermediário chave. Além disso, a configuração absoluta do produto da reação de acetilação foi confirmada.

## 5 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Este trabalho demonstrou que a enantiosseletividade e a atividade da lipase **CAL-A** são influenciadas não apenas pela polaridade do solvente ( $\log(P)$ ) e a constante dielétrica ( $\epsilon$ ), mas também pela natureza do doador de acila e pela conformação da enzima. A conversão máxima com acetato de isopropenila (**AcOIP**) foi alcançada em heptano (54%), enquanto com acetato de vinila (**AcOVin**), a maior conversão ocorreu em cicloexano. A enantiosseletividade ( $E$ ) variou significativamente entre os solventes, com valores máximos em tolueno e acetonitrila, para **AcOIP**, e heptano, hexano, cicloexano, **THF** e acetonitrila, para o **AcOVin**. A ausência de uma correlação direta entre  $\log(P)$ ,  $\epsilon$ , atividade da lipase e  $E$  reforça a complexidade das interações solvente-enzima.

Alterações conformacionais da lipase, induzidas pelo solvente, podem impactar sua atividade e receptividade aos doadores de acila. Para aprofundar o entendimento dessas interações, um estudo *in silico* está em andamento em parceria com o professor Dr. Aluísio Marques Fonseca da UNILAB, utilizando simulações de dinâmica molecular e cálculos de energia MM-GBSA. Esses resultados poderão fornecer informações valiosas para a otimização racional de reações enzimáticas, contribuindo para a síntese eficiente de intermediários quirais de interesse farmacêutico.

Observou-se que a capacidade de racemização do **cat-10** é influenciada pela presença do ***t*-BuOK**. Na ausência de ***t*-BuOK**, **cat-10** apresentou cinética de racemização mais lenta, reduzindo apenas 7% no *e.e.* de **R-3** após 24 horas, com formação do subproduto **2**. Em contraste, na presença de ***t*-BuOK**, a cinética foi mais rápida, com redução de 16% no *e.e.* após 24 horas e 26% após 72 horas. No entanto, a reação ainda é considerada lenta para os padrões de RCD. Sugere-se que a racemização de **R-3** possa ser otimizada pelo aumento da temperatura para 80 °C, visando melhorar a eficiência do processo.

A partir dos resultados apresentados na racemização do **R-3** utilizando **cat-11**, pode-se concluir que a temperatura desempenha um papel significativo na eficiência da racemização, uma vez que o aumento de 50 °C em relação à temperatura ambiente resultou em um decréscimo duas vezes maior no *e.e.* no mesmo intervalo de tempo. O aumento para temperaturas mais elevadas (60-80 °C) pode ser o caminho para alcançar condições ideais de racemização, especialmente quando enzimas termoestáveis e substratos com grupos fortemente desativantes são utilizados.

O **cat-12** demonstrou atividade de racemização do **R-3** a temperatura ambiente, mas o *e.e.* de **R-3** permaneceu praticamente inalterado, caindo para aproximadamente 96% em todos os tempos analisados (30 e 60 min). Testes adicionais serão realizados para investigar o efeito de variações na temperatura e na concentração de catalisador e base.

O **cat-43** foi aplicado na racemização de **R-3** (*e.e.* = 97%), e observou-se que, em temperaturas de 40 °C, 60 °C e 75 °C, o excesso enantiomérico não apresentou alterações significativas após 24 horas de reação, conforme análise por CG-DIC. Esses resultados indicam que, nas condições testadas, a temperatura não foi um fator determinante para promover a racemização do substrato **R-3**. Portanto, conclui-se que o **cat-43** não é adequado para a racemização de  $\beta$ -haloidrinas ou espécies com grupos fortemente desativantes no anel aromático.

Além disso, o estudo do mecanismo de reação por meio da Teoria do Funcional da Densidade (TFD) dos **cat-11** e **cat-43**, em parceria com o grupo de Bioinorganica e o Grupo de Química Teórica respectivamente, utilizando o funcional M06-2X e conjuntos de base específicos, está em andamento para elucidar os efeitos dos cloros na molécula de R-3 no processo. A análise de estados de transição (ET) e coordenadas intrínsecas de reação (CIR) permitirá identificar intermediários e confirmar a formação dos produtos desejados. Adicionalmente, os cálculos de frequência e a construção da superfície de energia potencial (SEP) fornecerão informações termoquímicas que permitirão avaliar as barreiras energéticas envolvidas no mecanismo. Essas abordagens teóricas, em conjunto com os dados experimentais, contribuirão para um entendimento mais profundo do processo de racemização e para a otimização das condições reacionais.

## 6 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

### 6.1 Instrumentos

O Espectrômetro Bruker® modelo Avance DRX-500 foi utilizado na obtenção dos espectros de RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C e foi operado na frequência de 500 MHz para o hidrogênio e 125 MHz para o carbono. O equipamento foi cedido pelo Centro Nordestino de Aplicação e Uso da Ressonância Magnética Nuclear da Universidade Federal do Ceará (CENAUREMN/UFC).

Os excessos enantioméricos das resoluções cinéticas enzimáticas foram monitorados por um cromatógrafo gasoso (CG) da marca Shimadzu® de modelo GC-2010 com um detector por ionização de chama (DIC) com um auto-injetor da marca Shimadzu® de modelo AOC-20i acoplado. A fase móvel utilizada foi o gás nitrogênio e a fase estacionária utilizada foi a coluna quiral CP-ChiraSil-DEX CB com comprimento de 25 m, diâmetro interno de 0,25 mm e 0,25 µm da espessura de filme da marca HexiS®. As condições de análise e tempo de retenção dos compostos utilizados foram:

- a) A análise da feniletanona (**55**), *rac*-1-feniletanol (*rac*-**13**) e do *rac*-acetato de 1-feniletila (*rac*-**11**) foi programada com temperatura inicial de 120 °C (5 min); 0,6 °C/min a 200 °C (5 min). Os tempos de retenção foram de: 6,40 min para **S-13**; 6,07 min para **R-13**; 5,14 min para **R-14**; 4,77 min para **S-14** e de 3,61 min para **55**.
- b) A análise da 2-cloro-1-(2,4-diclorofenil)etanona (**2**), 2-cloro-1-(2,4-diclorofenil)etanol (*rac*-**3**) e do acetato de 2-cloro-1-(2,4-diclorofenil)etila (*rac*-**4**) foi programada com temperatura inicial de 120 °C (5 min); 0,5 °C/min a 150 °C (10 min); 3,0 °C/min a 160 °C (5 min); 5,0 °C/min a 200 °C (10 min). Os tempos de retenção foram de: 73,6 min para **R-3**; 70,7 min para **S-3**; 53,0 min para **R-4**; 52,16 min para **S-4**; 39,8 min para **2**; 18,11 min para **S-54** e 16,9 min para **R-54**.

A confirmação do enantiômero **S-13** foi realizada por comparação com o padrão comercial. Já a confirmação do **S-3** foi realizada por comparação pela hidrólise enzimática desenvolvida por Fonseca, 2018.

Os pontos de fusão não corrigidos das substâncias foram determinados em um aparelho da marca Microquímica® de modelo MQAPF-302.

As reações com agitação orbital foram realizadas em uma incubadora shaker da marca Solab.

## 6.2 Solventes, reagentes e catalisadores

### 6.2.1 Solventes

Os solventes acetona, acetato de etila, acetato de etila grau CLAE, clorofórmio, diclorometano, etanol absoluto, hexano, metanol e tetraidrofurano (THF) grau CLAE são da marca BIO-GRADE®. Os solventes ciclo-hexano, heptano e metil-*terc*-butil éter (MTBE) são da marca Sigma-Aldrich®. Os solventes acetonitrila grau CLAE e tolueno são, respectivamente, da marca J.T.BAKER® e VETEC®.

### 6.2.2 Reagentes

2-cloro-1-(2,4-diclorofenil)etanona, (*S*)-1-feniletanol, AcOIP, acetato de vinila, boroidreto de sódio, hidreto de cálcio, *N,N*-dimetilaminopiridina (DMAP), sódio metálico, *terc*-butóxido de potássio e trietilamina são da marca Sigma-Aldrich®. O anidrido acético e o hidróxido de potássio são da marca Dinâmica.

### 6.2.3 Catalisadores

Os biocatalisadores lipase do tipo A de *Candida antarctica* imobilizada em Immobead 150, recombinada com *Aspergillus oryzae* e lipase imobilizada em resina acrílica expressa em *Aspergillus niger* são da marca Sigma-Aldrich®.

Os catalisadores de racemização 1-Hidroxitetrafenil-ciclopentadienil(tetrafenil-2,4-ciclopentadien-1-ona)- $\mu$ -hidrotetracarbonil de irutênio(II) (catalisador de Shvo), clorodicarbonil(1,2,3,4,5-pentametil-ciclopentadienil)rutênio (II), clorodicarbonil(1-isopropilamino-2,3,4,5-pentametil-ciclopentadienil)rutênio (II) e Sulfato de vanadila são da marca Sigma-Aldrich®.

## 6.3 Secagem de solventes

Os solventes acetonitrila, ciclo-hexano, heptano, hexano e tolueno foram tratados com hidreto de cálcio sob refluxo e atmosfera inerte de N<sub>2</sub> durante 30 min e em seguida foram separados da suspensão por meio de destilação simples (Armarego E Perrin, 2002).

O solvente tetraidrofurano (THF) foi tratado previamente com hidreto de cálcio sob refluxo por 30 min, seguido de destilação simples para separar o solvente da suspensão. Depois disso o solvente tratado foi adicionado a uma mistura de sódio metálico e benzofenona, e colocado sob refluxo, o qual foi finalizado quando o solvente adquiriu a cor azul escura (Armarego e Perrin, 2002). A secagem do *terc*-butil metil éter (MTBE) seguiu a

metodologia anterior, devido a solubilidade em água deste solvente ser maior que a do **THF** (Taynar E Francis, 2017) (Siqueira et al., 2014).

## 6.4 Adsorventes e reveladores

### 6.4.1 Adsorventes

As cromatografias em coluna vertical foram efetuadas utilizando sílica gel 60-230 mesh, comercial, da marca Vetec®. Nas análises por CCD foram empregadas cromatoplasmas de sílica gel 60 G 5-40 µm comercial, sobre poliéster T-6145 98 provenientes da marca Sigma Chemical Co® com camada de 250 µm de espessura e dimensões de 10 x 5 cm.

### 6.4.2 Reveladores

Após eluição das substâncias nas cromatoplasmas, as mesmas foram reveladas através de pulverização com solução de vanilina (5 g) e ácido perclórico (0,75 mol/L, 100 mL) em etanol (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>O, 100 mL), seguida de aquecimento a 100 °C com pistola aquecedora da marca Dekel® modelo DK1060, por aproximadamente 1 min.

## 6.5 Síntese das substâncias utilizadas

### 6.5.1 Síntese da haloidrina *rac*-2-cloro-1-(2,4-diclorofenil)etanol (*rac*-3)

Em um balão de 250 mL, 1 g (4,47 mmol) de 2-cloro-1-(2,4-diclorofenil)etanol (**2**) foi dissolvido em 40 mL de metanol e em seguida adicionou-se 85,11 mg (2,23 mmol) de boridreto de sódio à 0 °C e a reação prosseguiu, nesta temperatura, sob agitação por 10 min. Após este tempo, a reação prosseguiu a temperatura ambiente por 30 min. Logo após, o metanol foi evaporado à pressão reduzida e foi adicionado 10 mL de HCl 1 M e o produto foi extraído com AcOEt (4 x 60 mL). A fase orgânica foi tratada com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro, seguido de filtração e evaporação do solvente sob pressão reduzida. Por fim, o produto bruto foi purificado em coluna cromatográfica usando como fase estacionária gel de sílica e como fase móvel hexano e clorofórmio 1:1. Após esse procedimento, foram obtidos 0,971 g da *rac*-**3** (96% de rendimento) como um sólido branco com p.f. = 45-49 °C Lit p.f. = 47-49 °C (Fonseca et al., 2018) e R<sub>f</sub> (1:1 Hex:CHCl<sub>3</sub>) = 0,37.

### 6.5.2 Síntese do *rac*-álcool *rac*-1-feniletanol (*rac*-13)

A metodologia de redução da feniletanona (**55**) foi adaptada do trabalho

desenvolvido por Barros-Filho e colaboradores (BARROS-FILHO et al., 2010). Em um balão de 100 mL, foi adicionado 500 mg (4,16 mmol) de **55** em 40 mL de metanol. Em seguida, a solução foi resfriada a 0 °C e adicionou-se lentamente 629,5 g (16,64 mmol) de boroidreto de sódio. A reação foi agitada à temperatura ambiente durante 3 h e o solvente foi evaporado sob pressão reduzida e foi adicionado 5 mL de água destilada e o produto foi extraído com EtOAc (3 × 50 mL). A fase orgânica foi tratada com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro, seguido de filtração e evaporação do solvente sob pressão reduzida. Por fim, o produto bruto foi purificado em coluna cromatográfica usando como fase estacionária gel de sílica e como fase móvel hexano e acetato de etila 9:1. Após esse procedimento, foram obtidos 459,77 mg do **rac-13** (91,25% de rendimento) como um líquido translúcido R<sub>f</sub> (9:1 Hex:AcOEt) = 0,525.

### **6.5.3 Procedimento geral para síntese do rac-acetato de 2-cloro-1-(2,4-diclorofenil)etila (rac-4) e do rac-acetato de 1-feniletila (rac-11)**

Em um balão de 10 mL, 50 mg (0,188 mmol) de **rac-3** foi dissolvido em 2 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Em seguida, 11,48 mg (0,094 mmol) de DMAP, 13,09 µL de Et<sub>3</sub>N (0,094 mmol) e 53,31 µL de Ac<sub>2</sub>O (0,564 mmol) foram adicionados. Após 2 horas de reação, 1 mL de água destilada foi adicionado e a fase aquosa foi extraída com CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 5 mL). As frações orgânicas foram combinadas, tratadas com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro, seguido por filtração e evaporação do solvente sob pressão reduzida. O produto bruto foi então purificado em uma coluna cromatográfica usando sílica gel como fase estacionária e hexano e clorofórmio 1:1 como fase móvel. Com este procedimento, os seguintes produtos foram obtidos: 48,26 mg de **rac-4** (rendimento de 82%) como um óleo incolor com R<sub>f</sub> (7:3 Hex:CHCl<sub>3</sub>) = 0,55 e 1,06 g de **rac-11** (rendimento de 78%) como um óleo amarelado com R<sub>f</sub> (Hex:CHCl<sub>3</sub>, 1:1) = 0,57.

### **6.5.4 Síntese do epóxido rac-2-(2,4-diclorofenil)oxirano (rac-54)**

Em um balão de 10 mL, foi dissolvido 50 mg (0,244 mmol) de **2** em 2 mL metanol. Em seguida adicionou-se 33,89 mg (0,896 mmol) de boroidreto de sódio e a reação prosseguiu, nesta temperatura, sob agitação por 40 min. Após este tempo, o metanol foi evaporado à pressão reduzida e foi adicionado 0,5 mL de HCl 1 M e o produto foi extraído com AcOEt (4 x 5 mL). A fase orgânica foi tratada com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro, seguido de filtração e evaporação do solvente sob pressão reduzida. Por fim, o produto bruto foi purificado em coluna cromatográfica usando como fase estacionária gel de sílica e como fase móvel hexano e clorofórmio 1:1. Após esse procedimento, foram obtidos 19 mg da **rac-54** (41,2% de

rendimento) como um óleo amarelo e  $R_f$  (7:3 Hex:CHCl<sub>3</sub>) = 0,46.

#### ***6.5.5 Síntese do rac-1-feniletanol (S-13) via acetilação catalisada pela lipase imobilizada em resina acrílica expressa em Aspergillus niger (CAL-B)***

Essa resolução seguiu a metodologia desenvolvida por Melais e colaboradores (MELAIS et al., 2016). Em um erlenmeyer de 10 mL, adicionou-se 50 mg (0,41 mmol) de **rac-13** e 100 mg da lipase CAL-B. O sistema foi vedado, evacuado e saturado com N<sub>2</sub>, seguido da adição de 2,05 mL de éter etílico previamente seco e 135,23 µL (1,23 mmol) de AcOIP. A reação foi mantida sob agitação orbital a 40 °C por 24 horas. Após o término da reação, os compostos orgânicos foram extraídos do meio reacional com acetato de etila (3 x 20 mL), e o solvente foi evaporado sob pressão reduzida. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna, utilizando gel de sílica como fase estacionária e uma mistura de hexano e acetato de etila (9:1) como fase móvel. Após a purificação, obteve-se 23,8 mg de **(S)-10** (47,6% de rendimento) com *e.e.* superior a 99%. O produto foi obtido como um óleo amarelado, com  $R_f$  (7:3 Hex:CHCl<sub>3</sub>) = 0,525.

#### ***6.5.6 Síntese do R-2-cloro-1-(2,4-dicloro-fenil)etanol (R-3) via acetilação catalisada pela lipase de Candida antarctica imobilizada em Immobead 150 recombinada com Aspergillus Oryzae (CAL-A)***

Em um erlenmeyer de 5 mL, foi adicionado 0,4 g (1,77 mmol) do **rac-3** e 0,8 g da CAL-A. O sistema foi vedado, evacuado e saturado com N<sub>2</sub> para garantir uma atmosfera inerte. Em seguida, adicionou-se 18 mL (0,1 mol L<sup>-1</sup>) de solvente orgânico previamente seco e 1,6 mL (18 mmol) de acetato de vinila à mistura. A reação prosseguiu por 48-72 horas a 40 °C sob agitação orbital. Após o término da reação, os compostos orgânicos foram extraídos do meio reacional com acetato de etila (3 x 20 mL), e o solvente foi evaporado sob pressão reduzida. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna, utilizando gel de sílica como fase estacionária e uma mistura de hexano e clorofórmio (1:1) como fase móvel. Após a purificação, obteve-se 196,18 mg de **R-3** (49% de rendimento) com *e.e.* superior a 99%. O produto foi obtido como um sólido branco, com  $R_f$  (1:1 Hex:CHCl<sub>3</sub>) = 0,37.

## 6.6 Procedimento geral para a resolução cinética enzimática do *rac-2-cloro-1-(2,4-dicloro-fenil)etanol (rac-3)* via acetilação catalisada pela lipase de *Candida antarctica* imobilizada em ImmoBead 150 recombinada com *Aspergillus Oryzae* (CAL-A)

Em um erlenmeyer de 5 mL, foi adicionado 10 mg (0,044 mmol) do *rac-3* e 20 mg da CAL-A. O sistema foi vedado, evacuado e saturado com N<sub>2</sub> para garantir uma atmosfera inerte. Em seguida, adicionou-se de 443,46 µL (0,1 mol L<sup>-1</sup>) de solvente orgânico previamente seco e 10 eq. (0,440 mmol) de doador de acila à mistura. A reação prosseguiu por 24 horas a 40 °C sob agitação orbital. Ao término desse tempo, os compostos orgânicos foram extraídos do meio reacional com AcOEt (3 x 1 mL) e o solvente foi evaporado a pressão reduzida. O produto bruto da reação foi dissolvido em 1 mL de AcOEt grau CLAE e foi analisado por CG-DIC para o cálculo de excesso enantiomérico do *e.e.<sub>s</sub>* e do *e.e.<sub>p</sub>* do substrato remanescente e do produto.

Os solventes orgânicos empregados, separadamente, foram: acetonitrila, ciclo-hexano, heptano, hexano, *terc*-butil metil éter, tetraidrofurano e tolueno. Os doadores de acila empregados, separadamente, foram: AcOIP e acetato de vinila.

## 6.7 Reações de racemização

### 6.7.1 Reação de racemização do *R-3* com o catalisador de Shvo (*cat-10*)

Em um tubo Schlenk de 25 mL previamente flambado, foi dissolvido 4,7 mg do catalisador de Shvo (*cat-10*) em 0,55 mL de tolueno seco, a 70 °C, sob fluxo contínuo de N<sub>2</sub>. Em seguida, adicionou-se 50 mg de *R-3* e vedou-se o Schlenck com um septo. A reação foi processada com agitação magnética por 24 h. Foram retiradas alíquotas da reação nos tempos de 0, 2, 6 e 24 h, cada alíquota foi diluída em até 1 mL e analisadas por CG-DIC.

### 6.7.2 Reação de racemização do *R-3* com o catalisador de Shvo (*cat-10*) na presença de *terc*-butóxido de potássio

Em um tubo Schlenk de 25 mL previamente flambado, foram adicionados 7,6 mg do *cat-1* e 1,4 mg da base *terc*-butóxido de potássio em 3,55 mL de tolueno seco, a 70 °C, sob fluxo contínuo de N<sub>2</sub>. Em seguida, adicionou-se 53 mg de *R-3* e a reação procedeu por 72 h sob agitação magnética. As alíquotas da reação foram retiradas nos tempos de 2, 4, 6, 24, 48 e 72 h e a análise foi realizada por CG-DIC.

**6.7.3 Reação de racemização do S-13 com Clorocarbonil(1,2,3,4,5-pentametilciclopentadienil)rutênio (II) (cat-11)**

Em um tubo Schlenk de 10 mL previamente flambado, foram adicionados 7,83 mg (0,012 mmol) do **cat-11** em 500 uL de tolueno seco, a temperatura ambiente, sob fluxo contínuo de N<sub>2</sub> ou Ar, em seguida adicionou-se 2,76 mg (0,024 mmol) da base *terc*-butóxido de potássio. Após seis minutos, adicionou-se 30 mg de **S-13**, o tubo Schlenk foi vedado e a reação procedeu por 10 min sob agitação magnética. A alíquota da reação foi retirada ao término da reação, o *e.e.* foi calculado por CG-DIC.

**6.7.4 Reação de racemização do S-13 com Clorodicarbonil(1-isopropilamino-2,3,4,5-tetrafenilciclopentadienil)rutênio(II) (cat-12)**

Em um tubo Schlenk de 10 mL previamente flambado, foram adicionados 6,08 mg (0,01 mmol) do **cat-3** em 786 uL de tolueno seco, a temperatura ambiente, sob fluxo contínuo de N<sub>2</sub>, em seguida adicionou-se 1,43 mg (0,013 mmol) da base *terc*-butóxido de potássio. Após seis minutos, adicionou-se 30 mg de **S-13**, o tubo Schlenk foi vedado e a reação procedeu por 30 min sob agitação magnética. A alíquota da reação foi retirada ao término da reação, o *e.e.* foi calculado por CG-DIC.

**6.7.5 Reação de racemização do (R)-2-cloro-1-(2,4-diclorofenil)etanol (R-3) com Clorocarbonil(1,2,3,4,5-pentametilciclopentadienil)rutênio (II) (cat-11)**

Em um tubo Schlenk de 10 mL previamente flambado, foram adicionados 7,83 mg (0,00887 mmol) do **cat-11** em 500 uL de tolueno seco, a temperatura ambiente, sob fluxo contínuo de N<sub>2</sub>, em seguida adicionou-se 1,99 mg (0,018 mmol) da base *terc*-butóxido de potássio. Após seis minutos, adicionou-se 40 mg (0,177 mmol) de **R-3**, o tubo Schlenk foi vedado e a reação procedeu por 2 h sob agitação magnética. A alíquota da reação foi retirada ao término da reação, o *e.e.* foi calculado por CG-DIC.

**6.7.6 Reação de racemização do (R)-2-cloro-1-(2,4-diclorofenil)etanol (R-3) com Clorodicarbonil(1-isopropilamino-2,3,4,5-tetrafenilciclopentadienil)rutênio(II) (cat-12)**

Em um tubo Schlenk de 10 mL previamente flambado, foram adicionados 4,40 mg (0,00710 mmol) do **cat-12** em 567 uL de tolueno seco, a temperatura ambiente, sob fluxo contínuo de N<sub>2</sub>, em seguida adicionou-se 1,03 mg (0,009 mmol) da base *terc*-butóxido de potássio. Após seis minutos, adicionou-se 40 mg (0,177 mmol) de **R-3**, o tubo Schlenk foi

vedado e a reação procedeu por 5 min sob agitação magnética. A alíquota da reação foi retirada ao término da reação, o *e.e.* foi calculado por CG-DIC.

#### **6.7.7 Reação de racemização do (R)-2-cloro-1-(2,4-diclorofenil)etanol (R-3) com Sulfato de vanadila (cat-43)**

Em um erlenmeyer de 5 mL, foi dissolvido 5 mg do substrato, 352  $\mu$ L de solvente (heptano, hexano, tolueno ou acetonitrila) e 8,20 mg de sulfato de vanadila ( $\text{VOSO}_4 \cdot \text{XH}_2\text{O}$ , **cat-43**). Em seguida, a reação foi processada em um agitador orbital variando a temperatura (40, 50, 60 ou 75  $^\circ\text{C}$ ). Após 24 h, foram retiradas alíquotas de 50  $\mu$ L que foram diluídas a 1 mL e analisadas por CG-DIC.

#### **6.8 Hidrólise enzimática (S)-acetato de 2-cloro-1-(2,4-diclorofenil)etila (S-4)**

A hidrólise enzimática de **S-4** foi realizada utilizando a lipase Novozym 435<sup>®</sup> seguindo a proporção enzima:substrato de 0,5:1 (m:m) em tampão fosfato de potássio dibásico e monobásico (0,1 mM, pH 7) . A reação ocorreu em uma mesa agitadora à 45  $^\circ\text{C}$  por 24 h. Após esse tempo, o meio reacional foi extraído com AcOEt (3 x 5 mL). As fases orgânicas foram reunidas e tratadas com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro, seguido de filtração e evaporação à pressão reduzida. Posteriormente, diluiu-se 1 mg do produto bruto em 1 ml de AcOEt grau CLAE e analisou-se a amostra em CG-DIC.

## REFERÊNCIAS

- ABRAM, M.; JAKUBIEC, M.; KAMIŃSKI, K. Chirality as an Important Factor for the Development of New Antiepileptic Drugs. **ChemMedChem**, [s. l.], v. 14, n. 20, p. 1744–1761, 2 out. 20.
- ALMEIDA, L. A. de. **Síntese de álcoois secundários quirais via resolução cinética dinâmica quimioenzimática**. 2019. 123 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Araraquara, 2019.
- ALMEIDA, L. A. de; LOFGREN, E.; MILAGRE, C. D. F.; MILAGRE, H. M. S. Recyclable and Scalable Chemoenzymatic Dynamic Kinetic Resolution of Secondary Alcohols Using Rotating Bed Reactors for Catalyst Compartmentalization. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, [s. l.], v. 63, n. 25, p. 11009–11017, 12 jun. 2024.
- ALMEIDA, L. A.; MARCONDES, T. H.; MILAGRE, C. D. F.; MILAGRE, H. M. S. Lipase-oxovanadium heterogeneous catalysis system: a robust protocol for the dynamic kinetic resolution of *sec*-alcohols. **ChemCatChem**, [s. l.], v. 12, n. 10, p. 2849–2858, 2 abr. 2020.
- BADAZHKOVA, V. D.; SAVELA, R.; WARNA, J.; MURZIN, D. Y.; LEINO, R. Reaction kinetics of the Shvo-catalyzed dehydrogenation of 1-phenyl-1,3-propanediol-derived lignin model compound. **Molecular Catalysis**, [s. l.], v. 553, p. 113780–113780, 18 dez. 2023.
- BARROS-FILHO, B. A.; NUNES, F. M.; DE OLIVEIRA, M. C. F.; LEMOS T. L. G.; DE MATTOS, M. C.; DE GONZALO, G.; GOTOR-FERNANDEZ, V.; GOTOR, V. Biorreduction of prochiral ketones by growing cells of *Lasiodiplodia theobromae*: Discovery of a versatile biocatalyst for asymmetric synthesis. **Journal of molecular catalysis. B, Enzymatic**, [s. l.], v. 65, n. 1-4, p. 37–40, 1 ago. 2010.
- CHATZIKONSTANTINO, A. V.; NORRA, GIANNIS-FLORJAN; STAMATIS, H. VOUSAS, E. Prediction of solvent effect on enzyme enantioselectivity. **Fluid Phase Equilibria**, [s. l.], v. 450, p. 126–132, 28 jul. 2017.
- CERAMELLA, J.; IACOPETTA, D.; FRANCHINI, A.; DE LUCA, M.; SATURNINO, C.; ANDREU I.; SINICROPI, M. S.; CATALANO, A. A Look at the Importance of Chirality in Drug Activity: Some Significant Examples. **Applied Sciences**, [s. l.], v. 12, n. 21, p. 10909, 1 jan. 2022.
- CHOI, J. H.; KIM, Y. H.; NAM, S. H.; SHIN, S. T.; KIM, M. J.; PARK, J. Aminocyclopentadienyl Ruthenium Chloride: Catalytic Racemization and Dynamic Kinetic Resolution of Alcohols at Ambient Temperature. **Angewandte Chemie**, [s. l.], v. 41, n. 13, p. 2373–2376, 1 jul. 2002.
- CHOI, J. H.; CHOI, Y. K.; KIM, Y. H.; PARK, E. S.; KIM, E. J.; KIM, M. J.; PARK, J. Aminocyclopentadienyl Ruthenium Complexes as Racemization Catalysts for Dynamic Kinetic Resolution of Secondary Alcohols at Ambient Temperature. **J. Org. Chem.**, [s. l.], v. 69, n. 6, p. 1972–1977, 14 fev. 2004.
- CLAYDEN, J.; GREEVES, N.; WARREN, S. **Organic chemistry**. Johanneshov: Mtm, 2017.

CONLEY, B. L.; PENNINGTON-BOGGIO, M. K.; BOZ, E.; WILLIAMS, T. J. Discovery, Applications, and Catalytic Mechanisms of Shvo's Catalyst. **Chem. Rev.**, [s. l.], v. 110, n. 4, p. 2294–2312, 22 jan. 2010.

CRUZ, D. M. V. **Resolução cinética do *rac*-2-cloro-1-(2,4-diclorofenil) etanol via acetilação, catalisada por lipases.** 2022. 61 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Química) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2022.

DAVI, Dalila Maria Barbosa. **Emprego de lipases na resolução cinética do *rac*-1-[tris(isopropil)silil]penta-1,4-diin-3-ol, um importante intermediário para síntese de alquinil carbinóis lipídios.** 2022. 57 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2022.

DONG, T.; KNOSHAUG, E. P.; PIENKOS, P. T.; LAURENS L. M. L. Lipid recovery from wet oleaginous microbial biomass for biofuel production: A critical review. **Applied Energy**, [s. l.], v. 177, p. 879–895, set. 2016.

EMAMI, S.; TAVANGAR, P.; KEIGHOBADI, M. An overview of azoles targeting sterol 14 $\alpha$ -demethylase for antileishmanial therapy. **European Journal of Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 135, p. 241–259, jul. 2017.

FARID, C.; MARYLINE, A, V. Alternative Solvents for Natural Products Extraction. [s. l.] **Springer**, 2014.

FERRACCIOLI, R. Progress on the Stereoselective Synthesis of Chiral Molecules Based on Metal-Catalyzed Dynamic Kinetic Resolution of Alcohols with Lipases. **Symmetry**, [s. l.], v. 13, n. 9, p. 1744, 19 set. 2021.

FERRARIO, V.; EBERT, C.; NITTI, P.; PITACCO, G.; GARDOSSI, L. Modelling and Predicting Enzyme Enantioselectivity: the Aid of Computational Methods for the Rational use of Lipase B from *Candida antarctica*. **Current Biotechnology**, [s. l.], v. 4, n. 2, p. 87–99, 28 jun. 2015.

FONSECA, T. S.; LIMA, L. D.; DE OLIVEIRA, M. C. F.; DE LEMOS, T. L. G.; ZAMPIERI, D.; MOLINARI, F.; DE MATTOS, M. C. et al. Chemoenzymatic Synthesis of Luliconazole Mediated by Lipases. **European Journal of Organic Chemistry**, [s. l.], v. 2018, n. 18, p. 2110–2116, 11 may. 2018.

GÁBOR CSJERNYIK; KRISZTIÁN BOGÁR; JAN-E. BÄCKVALL. New efficient ruthenium catalysts for racemization of alcohols at room temperature. **Tetrahedron Letters**, [s. l.], v. 45, n. 36, p. 6799–6802, 1 ago. 2004.

GUSTAFSON, K. P. J.; GUÐMUNDSSON, A.; BAJNÓCZI, E. G.; YUAN, N.; ZOU, X.; PERSSON, I.; JAN-E. BÄCKVALL. In Situ Structural Determination of a Homogeneous Ruthenium Racemization Catalyst and Its Activated Intermediates Using X-Ray Absorption Spectroscopy. **Wiley Online Library**, [s. l.], v. 26, n. 15, p. 3411–3419, 24 jan. 2020.

HOY, S. M. Oteseconazole: First Approval. **Drugs**, 17 jun. 2022.

HOYOS, P.; PACE V.; HERÁIZ, M. J.; ALCÁNTARA, A. R. Dynamic Kinetic Resolution via Hydrolase–Metal Combo Catalysis. In: N. PATEL, R. (Ed.). **Green Biocatalysis**, [s. l.], John Wiley & Sons, Inc, 2016. p. 373–396.

HOYOS, P.; PACE, V.; ALCÁNTARA, A. R. Dynamic Kinetic Resolution via Hydrolase-Metal Combo Catalysis in Stereoselective Synthesis of Bioactive Compounds. **Advanced Synthesis & Catalysis**, [s. l.], v. 354, n. 14-15, p. 2585–2611, 8 out. 2012.

I'M STILL standing. Intérprete: Elton John. Compositores: Elton John, Bernie Taupin. *In: Too Low for Zero*. [S. l.]: Rocket Records, 1983. 1 faixa (3 min 03 s). Disponível em: <https://www.youtube.com/watch?v=ZHwVBirQD2s>. Acesso em: 12 out. 2024.

JIANG, W.; FANG, B. Synthesizing Chiral Drug Intermediates by Biocatalysis. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, [s. l.], v. 192, n. 1, p. 146–179, 22 abr. 2020.

JOHNSTON, E. V.; BOGÁR, K.; BÄCKVALL, JAN-E. Enantioselective Synthesis of (*R*)-Bufuralol via Dynamic Kinetic Resolution in the Key Step. **Journal of Organic Chemistry**, [s. l.], v. 75, n. 13, p. 4596–4599, 4 jun. 2010.

KAUR, M.; GUPTA, A.; MAHAJAN, R.; GILL, M. Efficacy, Safety, and Cost Evaluation of the Topical Luliconazole Therapy versus Topical Clotrimazole Therapy in Patients with Localized Dermatophytosis in a Tertiary Care Hospital: An Observational Study. **International Journal of Applied and Basic Medical Research**, [s. l.], v. 10, n. 4, p. 260–264, 2020.

KAZLAUSKAS, R. J.; WEISSFLOCH, A. N. E.; RAPPAPORT, A. T.; CUCCIA, L. A. A rule to predict which enantiomer of a secondary alcohol reacts faster in reactions catalyzed by cholesterol esterase, lipase from *Pseudomonas cepacia*, and lipase from *Candida rugosa*. **The Journal of Organic Chemistry**, [s. l.], v. 56, n. 8, p. 2656–2665, abr. 1991.

KAWANISHI, S.; OKI, S.; KUNDU, D.; AKAI, S.; Lipase/Oxovanadium Co-Catalyzed Dynamic Kinetic Resolution of Propargyl Alcohols: Competition between Racemization and Rearrangement. **Organic Letters**, [s. l.], v. 21, n. 9, p. 2978–2982, 15 mar. 2019.

LU, T.; CHEN, F. Multiwfn: A multifunctional wavefunction analyzer. **J. Comput. Chem.**, [s. l.], v. 33, n. 5, p. 580–592, 8 dez. 2011.

MALDONADO, M. R.; ALNOCH R. C.; MARQUES, J.; ALVES, L.; ANDRETTA, A. T.; PILAR, D.; MALTEMPI, E.; MITCHELL, D. A.; KRIEGER, N Key mutation sites for improvement of the enantioselectivity of lipases through protein engineering. **Biochemical Engineering Journal**, [s. l.], v. 172, p. 108047–108047, 1 ago. 2021.

MANGAS-SÁNCHEZ, J.; RODRÍGUEZ-MATA, M.; BUSTO, E.; GOTOR-FERNÁNDEZ, V. Chemoenzymatic Synthesis of Rivastigmine Based on Lipase-Catalyzed Processes. **The Journal of Organic Chemistry**, [s. l.], v. 74, n. 15, p. 5304–5310, 25 jun. 2009.

MARTÍN-MATUTE, B.; EDIN, M.; BOGÁR, JAN-E. BÄCKVALL Highly Compatible Metal and Enzyme Catalysts for Efficient Dynamic Kinetic Resolution of Alcohols at Ambient Temperature. **Angewandte Chemie International Edition**, [s. l.], v. 43, n. 47, p. 6535–6539, 1 dez. 2004.

MARTÍN-MATUTE, B.; EDIN, M.; BOGÁR, K.; KAYNAK, F. B.; JAN-E. BÄCKVALL. Combined Ruthenium(II) and Lipase Catalysis for Efficient Dynamic Kinetic Resolution of Secondary Alcohols. Insight into the Racemization Mechanism. **Journal of the American Chemical Society**, [s. l.], v. 127, n. 24, p. 8817–8825, 27 maio 2005.

MCVICKER, R. U.; O'BOYLE, N. M. Chirality of New Drug Approvals (2013–2022): Trends and Perspectives. **Journal of Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 67, n. 4, 12 fev. 2024.

MELAIS, N.; ARIBI-ZOUIOUECHE, L.; Riant, O. The effect of the migrating group structure on enantioselectivity in lipase-catalyzed kinetic resolution of 1-phenylethanol. **Comptes Rendus Chimie**, [s. l.], v. 19, n. 8, p. 971–977, 1 ago. 2016.

MIN, B.; PARK, J.; SIM, Y. K.; JUNG, S.; KIM S. H. Hydrogen-Bonding-Driven Enantioselective Resolution against the Kazlauskas Rule To Afford  $\gamma$ -Amino Alcohols by *Candida rugosa* Lipase. **ChemBioChem**, [s. l.], v. 16, n. 1, p. 77–82, 4 dez. 2014.

MIN, L.; GAO, X.; CHEN, J.; FU, Y.; MENG, F.; LIU, J.; ZHANG, Y. A dynamic kinetic resolution catalyzed by immobilized lipase coupled with a novel grinding immobilized oxovanadium: Kinetic model and performance. **Biochemical Engineering Journal**, [s. l.], v. 208, p. 109344, ago. 2024.

MIRANDA, A. S. de; MIRANDA, L. S. M.; SOUZA, R. O. M. A. Lipases: Valuable catalysts for dynamic kinetic resolutions. **Biotechnology Advances**, [s. l.], v. 33, n. 5, p. 372–393, 1 set. 2015.

MIRANDA, A. S. de; SILVA, M. V. DE M.; DIAS, F. C.; DE SOUZA, S. P.; LEÃO, R. A. C.; DE SOUZA, R. O. M. A. Continuous flow dynamic kinetic resolution of *rac*-1-phenylethanol using a single packed-bed containing immobilized CAL-B lipase and VOSO<sub>4</sub> as racemization catalysts. **Reaction Chemistry & Engineering**, [s. l.], v. 2, p. 375–381, 2017.

MITCHELL, D. A.; KRIEGER, N. Kinetics of lipase-catalyzed kinetic resolutions of racemic compounds: Reparameterization in terms of specificity constants. **Biochemical Engineering Journal**, [s. l.], v. 181, p. 108397, abr. 2022.

MONTEIRO, R. R. C.; VIRGEN-ORTIZ, J. J.; BERENQUER-MURCIA, A.; DA ROCHA, T. N. DOS SANTOS, J. C. S.; ALCÁNTARA, A. R.; FERNANDEZ-LAFUENTE, R. Biotechnological relevance of the lipase A from *Candida antarctica*. **Catalysis Today**, [s. l.], v. 362, p. 141–154, fev. 2021.

NITAI ARBELL; BAUER, K.; PAZ, Y. Kinetic Resolution of Racemic Mixtures via Enantioselective Photocatalysis. **ACS Applied Materials & Interfaces**, [s. l.], v. 13, n. 33, p. 39781–39790, 11 ago. 2021.

NYHLÉN, J.; PRIVALOV, T.; BÄCKVALL, JAN-E. Racemization of Alcohols Catalyzed by [RuCl(CO)<sub>2</sub>( $\eta^5$ -pentaphenylcyclopentadienyl)]—Mechanistic Insights from Theoretical Modeling. **Chemistry – A European Journal**, [s. l.], v. 15, n. 21, p. 5220–5229, 8 maio 2009.

O'CONNELL, A.; BARRY, A.; BURKE, A. J.; HUTTON, A. E.; BELL, E. L.; GREEN, A. P.; O'REILLY, E. Biocatalysis: landmark discoveries and applications in chemical synthesis. **Chemical Society reviews**, [s. l.], v. 53, p. 2828–2850, 1 jan. 2024.

PELLISSIER, H. Organocatalytic Dynamic Kinetic Resolution: An Update. **European Journal of Organic Chemistry**, [s. l.], v. 2022, n. 7, 17 fev. 2022.

PERSSON, B. A.; LARSSON, A. L. E.; RAY, M. L.; BÄCKVALL, JAN-E. Ruthenium- and Enzyme-Catalyzed Dynamic Kinetic Resolution of Secondary Alcohols. **J. Am. Chem. Soc.**, [s. l.], v. 121, p. 1645–1650, 13 fev. 1999.

PINTO, M. M. M.; FERNANDES, C.; TIRITAN, M. E. Chiral Separations in Preparative Scale: A Medicinal Chemistry Point of View. **Molecules**, [s. l.], v. 25, n. 8, p. 1931, 21 abr. 2020.

PORTO, D. D. S.; BAJERSKI, L.; MALESUIK, M. D.; PAIM, C. S. A Review of Characteristics, Properties, Application of Nanocarriers and Analytical Methods of Luliconazole. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, [s. l.], v. 52, n. 8, p. 1–8, 19 maio 2021.

RICARDO, J. W.; LIPNER, S. R. Safety of current therapies for onychomycosis. **Expert Opinion on Drug Safety**, [s. l.], v. 19, n. 11, p. 1395–1408, 12 out. 2020.

RODRIGUES, D. A.; SAGRILLO, F. S.; FRAGA, C. A. M. Duvelisib: A 2018 Novel FDA-Approved Small Molecule Inhibiting Phosphoinositide 3-Kinases. **Pharmaceuticals**, [s. l.], v. 12, n. 2, p. 69, 6 maio 2019.

RUGGIERI, F. VAN LANGEN, L. M. LOGAN, D. T. WALSE, B. BERGLUND, P. Transaminase-Catalyzed Racemization with Potential for Dynamic Kinetic Resolutions. **ChemCatChem**, [s. l.], v. 10, n. 21, p. 5012–5018, 11 set. 2018.

SENKUTTUVAN, N. KOMARASAMY, B. KRISHNAMOORTHY, R. SARKAR, S. DHANASEKARAN, S. ANAIKUTTI, P. The significance of chirality in contemporary drug discovery-a mini review. **RSC Advances**, v. 14, n. 45, p. 33429–33448, 22 out. 2024.

SHOKRI, A. ABASTABAR, M. KEIGHOBADI, M. EMANI, S. FAKHAR, M. TESHNIZI, S. H. MAKIMURA, K. REZAEI-MATEHKOLAEI, A. MIRZAEI, H. Promising antileishmanial activity of novel imidazole antifungal drug luliconazole against *Leishmania major*: In vitro and in silico studies. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, [s. l.], v. 14, p. 260–265, set. 2018.

SUN, H. ZHANG, H. ANG, E. L. ZHAO, H. Biocatalysis for the synthesis of pharmaceuticals and pharmaceutical intermediates. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 26, n. 7, p. 1275–1284, 1 abr. 2018.

TAKAHASHI, N.; TAKE, Y. Tegoprazan, a Novel Potassium-Competitive Acid Blocker to Control Gastric Acid Secretion and Motility. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, [s. l.], v. 364, n. 2, p. 275–286, 27 nov. 2017.

TAMATAM, R.; SHIN, D. Asymmetric Synthesis of US-FDA Approved Drugs over Five Years (2016–2020): A Recapitulation of Chirality. **Pharmaceuticals**, [s. l.], v. 16, n. 3, p. 339, 1 mar. 2023.

THEJASHREE, G. L. DORIS, E. GRAVEL, E. NAMBOOTHIRI, i. n. n. Kinetic and Dynamic Kinetic Resolution by Dual Catalysis. **European Journal of Organic Chemistry**, [s. l.], v. 2022, n. 44, 18 out. 2022.

TODD, M. H. **Separation of Enantiomers**. [s. l.] John Wiley & Sons, 2014.

TRÄFF, A.; BOGÁR, K.; WARNER, M. C.; BÄCKVALL, JAN-E. Highly Efficient Route for Enantioselective Preparation of Chlorohydrins via Dynamic Kinetic Resolution. **Organic Letters**, [s. l.], v. 10, n. 21, p. 4807–4810, 26 set. 2008.

TRÄFF, A.; LIHAMMAR, R.; BÄCKVALL, JAN-E. A Chemoenzymatic Dynamic Kinetic Resolution Approach to Enantiomerically Pure (*R*)- and (*S*)-Duloxetine. **The Journal of Organic Chemistry**, [s. l.], v. 76, n. 10, p. 3917–3921, 18 abr. 2011.

VERHO, O.; BÄCKVALL, JAN-E. Chemoenzymatic Dynamic Kinetic Resolution: A Powerful Tool for the Preparation of Enantiomerically Pure Alcohols and Amines. **Journal of the American Chemical Society**, [s. l.], v. 137, n. 12, p. 3996–4009, 19 mar. 2015.

WADT, W. R.; HAY, P. J. Ab initio effective core potentials for molecular calculations. Potentials for main group elements Na to Bi. **The Journal of Chemical Physics**, [s. l.], v. 82, n. 1, p. 284–298, jan. 1985.

WANG, K.; WANG, W.; LOU, D.; ZHANG, J.; CHI, C.; BÄCKVALL, JAN-E.; SHENG, X.; ZHU, C. Overcoming the Limitations of Transition-Metal Catalysis in the Chemoenzymatic Dynamic Kinetic Resolution (DKR) of Atropisomeric Bisnaphthols. **ACS Central Science**, [s. l.], v. 10, n. 11, p. 2099–2110, 5 nov. 2024.

WARNER, M. C.; BÄCKVALL, JAN-E.; CASEY, C. P. Shvo's Catalyst in Hydrogen Transfer Reactions. In: IKARIYA, T.; SHIBASAKI, M. (Eds.). **Bifunctional Molecular Catalysis**. [s. l.] Springer Berlin, Heidelberg, 2011. p. 212.

WARNER, M. C.; BÄCKVALL, JAN-E. Mechanistic Aspects on Cyclopentadienylruthenium Complexes in Catalytic Racemization of Alcohols. **Accounts of Chemical Research**, [s. l.], v. 46, n. 11, p. 2545–2555, 30 maio 2013.

W.L.F. ARMAREGO. **Purification of Laboratory Chemicals**. [s. l.] Elsevier, 2003.

WUYTS, S.; WAHLEN, J.; JACOBS, P. A.; DE VOS D. E.; Heterogeneous vanadium catalysts for racemization and chemoenzymatic dynamic kinetic resolution of benzylic alcohols. **Green Chemistry**, [s. l.], v. 9, n. 10, p. 1104–1018, 16 jul. 2007.

YANG, L.-C.; DENG, H.; RENATA, H. Recent Progress and Developments in Chemoenzymatic and Biocatalytic Dynamic Kinetic Resolution. **Organic Process Research & Development**, [s. l.], v. 26, n. 7, p. 1925–1943, 9 fev. 2022.

ZHANG, J.; ZHENG, Z.; ZHU, C. Stereochemical editing: Catalytic racemization of secondary alcohols and amines. **Chinese Chemical Letters**, [s. l.], v. 35, n. 5, p. 109160, 2024.

ZHAO, Y.; TRUHLAR, D. G.; The M06 suite of density functionals for main group thermochemistry, thermochemical kinetics, noncovalent interactions, excited states, and transition elements: two new functionals and systematic testing of four M06-class functionals and 12 other functionals. **Theor Chem Account**, [s. l.], 120, 215–241, 2008.

ZAWODNY, W.; MONTGOMERY, S. L. Evolving New Chemistry: Biocatalysis for the Synthesis of Amine-Containing Pharmaceuticals. **Catalysts**, [s. l.], v. 12, n. 6, p. 595, 30 maio 2022.

ZIENIUK, B.; FABISZEWSKA, A.; BIAŁECKA-FLORJAŃCZYK, E. Screening of solvents for favoring hydrolytic activity of *Candida antarctica* Lipase B. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, [s. l.], v. 43, n. 4, p. 605–613, 16 nov. 2019.

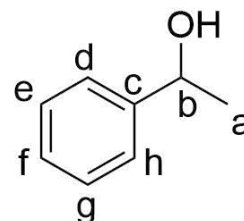
## APÊNDICE A – Espectros de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ ressonância

### Espectros de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ do *rac*-1-feniletanol (*rac*-13):

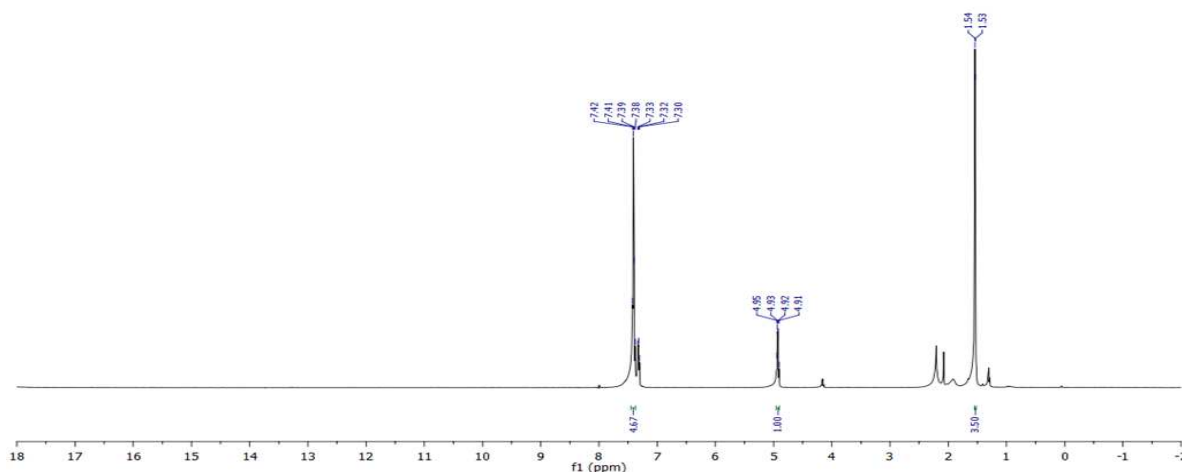
$^1\text{H}$ -NMR of *rac*-13 ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)

$^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  (ppm) 1.53-1.54 (m,  $3\text{H}_a$ ); 4,91-4,95 (m,  $1\text{H}_b$ ); 7.32-7.33 (m,  $3\text{H}_{\text{efg}}$ ); 7.39-7.41 (m,  $2\text{H}_{\text{dh}}$ ).

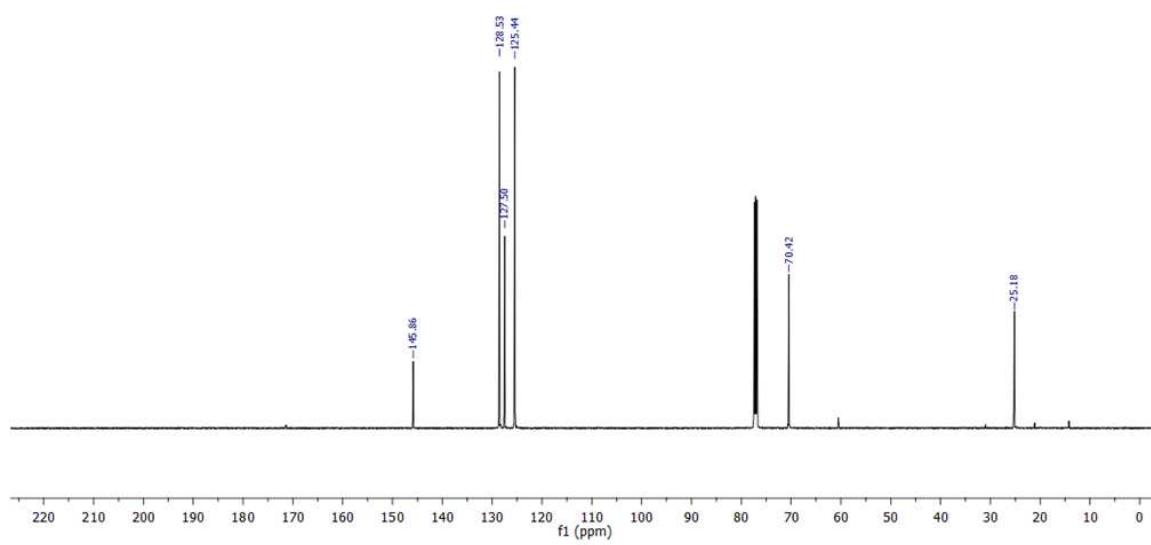
$^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  (ppm) 25,18 ( $\text{C}_a$ ); 70,42 ( $\text{C}_b$ ); 125,44 ( $2\text{C}_{\text{dh}}$ ); 127,5 ( $\text{C}_f$ ); 128,53 ( $2\text{C}_{\text{eg}}$ ); 145,86 ( $\text{C}_c$ ).



**Figura 1** - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) do *rac*-13



**Figura 2** - Espectro de  $^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz) do *rac*-13

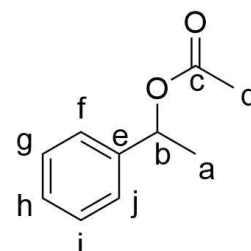


**Espectros de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  do *rac*-acetato de 1-feniletila (*rac*-14):**

**$^1\text{H}$ -NMR of *rac*-14 ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)**

$^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  (ppm) 1.58-1.59 (m,  $3\text{H}_a$ ); 2.12 (s,  $3\text{H}_d$ );  
5.91-5.94 (m,  $1\text{H}_b$ ); 7.34 (m,  $3\text{H}_{ghi}$ ); 7.40 (m,  $2\text{H}_{fj}$ ).

$^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  (ppm) 21,40 ( $\text{C}_d$ ); 22,25 ( $\text{C}_a$ ); 72,37 ( $\text{C}_b$ );  
126,13 ( $2\text{C}_{fj}$ ); 127,91 ( $\text{C}_h$ ); 128,54 ( $2\text{C}_{gi}$ ); 141,71 ( $\text{C}_e$ ); 170,42 ( $\text{C}_c$ ).



**Figura 3** - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) do *rac*-14

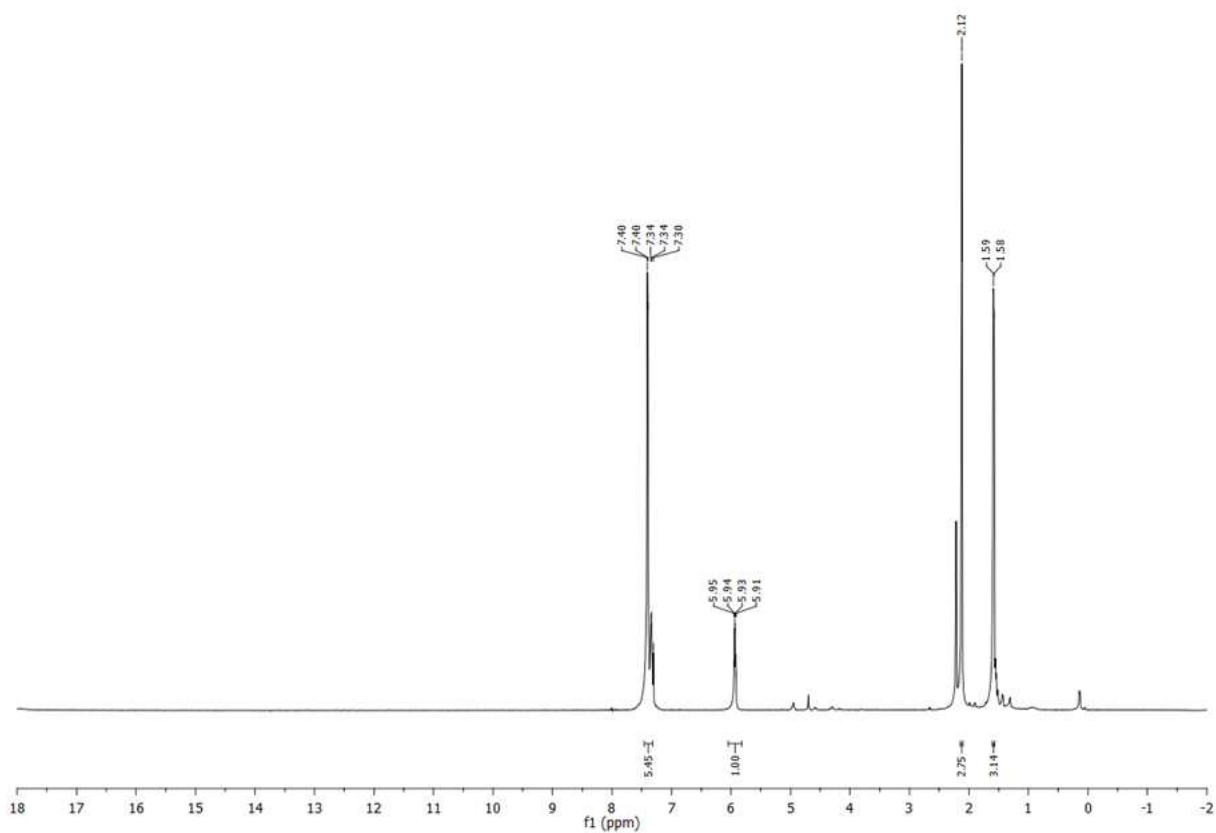
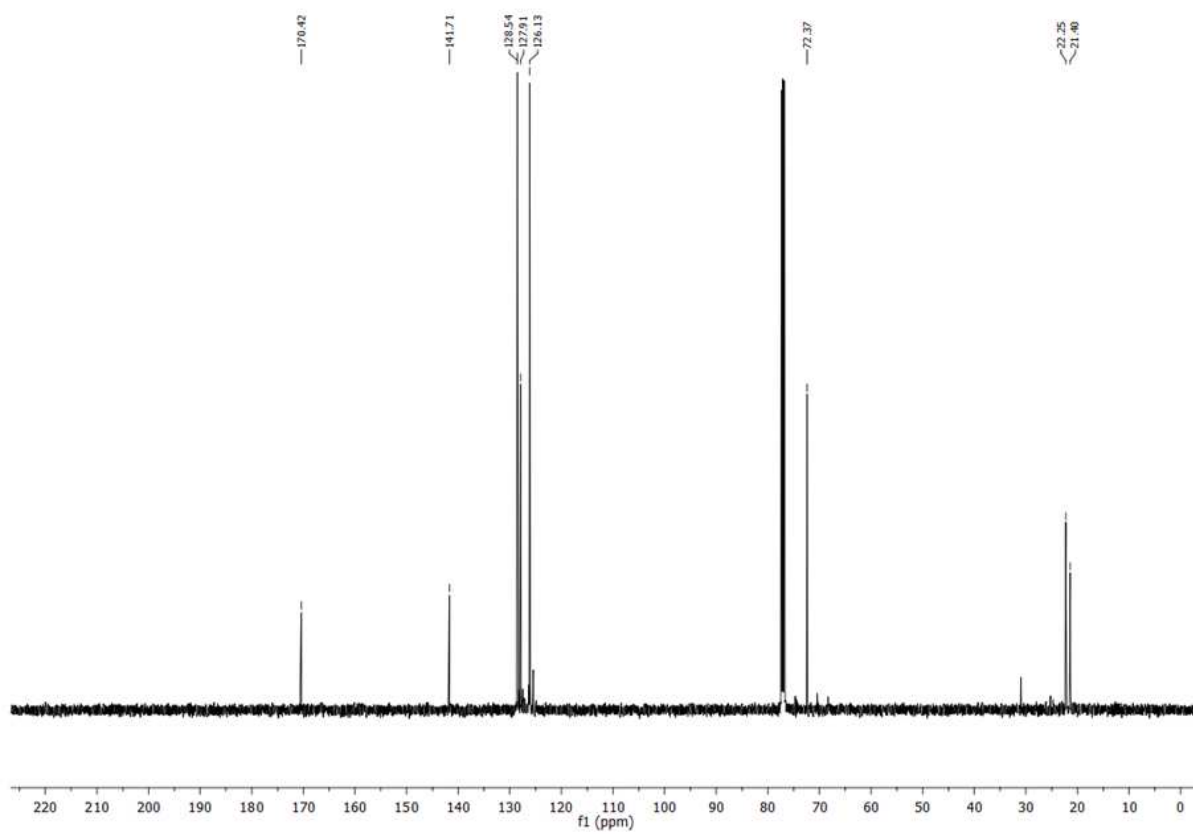


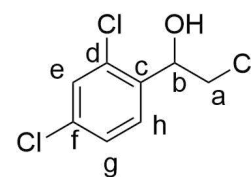
Figura 4 - Espectro de  $^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz) do *rac*-14



**Espectros de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  ressonância do *rac*-2-cloro-1-(2,4-diclorofenil)etanol (*rac*-3):**

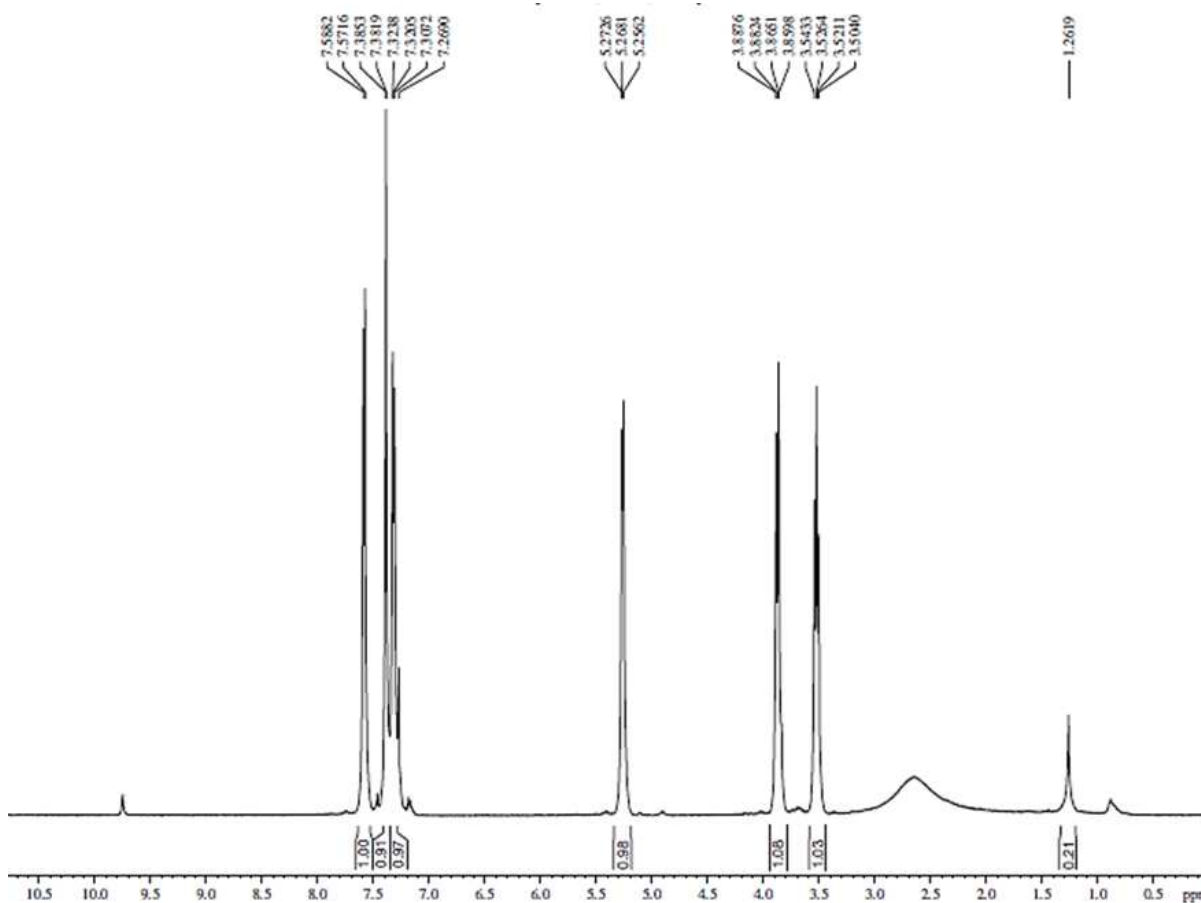
**$^1\text{H}$ -NMR of *rac*-3 ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)**

$^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  (ppm) 2,5 (OH); 3,50-3,54 (dd,  $J= 11,8$  Hz e 5,0 Hz,  $1\text{H}_a$ ); 3,85-3,88 (dd,  $J= 8,3$  Hz e 2,0 Hz,  $1\text{H}_a$ ); 5,22-5,27 (dd,  $J= 6,0$  Hz e 2,7 Hz,  $1\text{H}_b$ ); 7,26-7,32 (dd,  $J= 10,1$  Hz e 2,3 Hz,  $1\text{H}_g$ ); 7,38 (d,  $J= 1,8$  Hz,  $1\text{H}_e$ ); 7,57-7,58 (d,  $J= 8,0$  Hz,  $1\text{H}_h$ ).

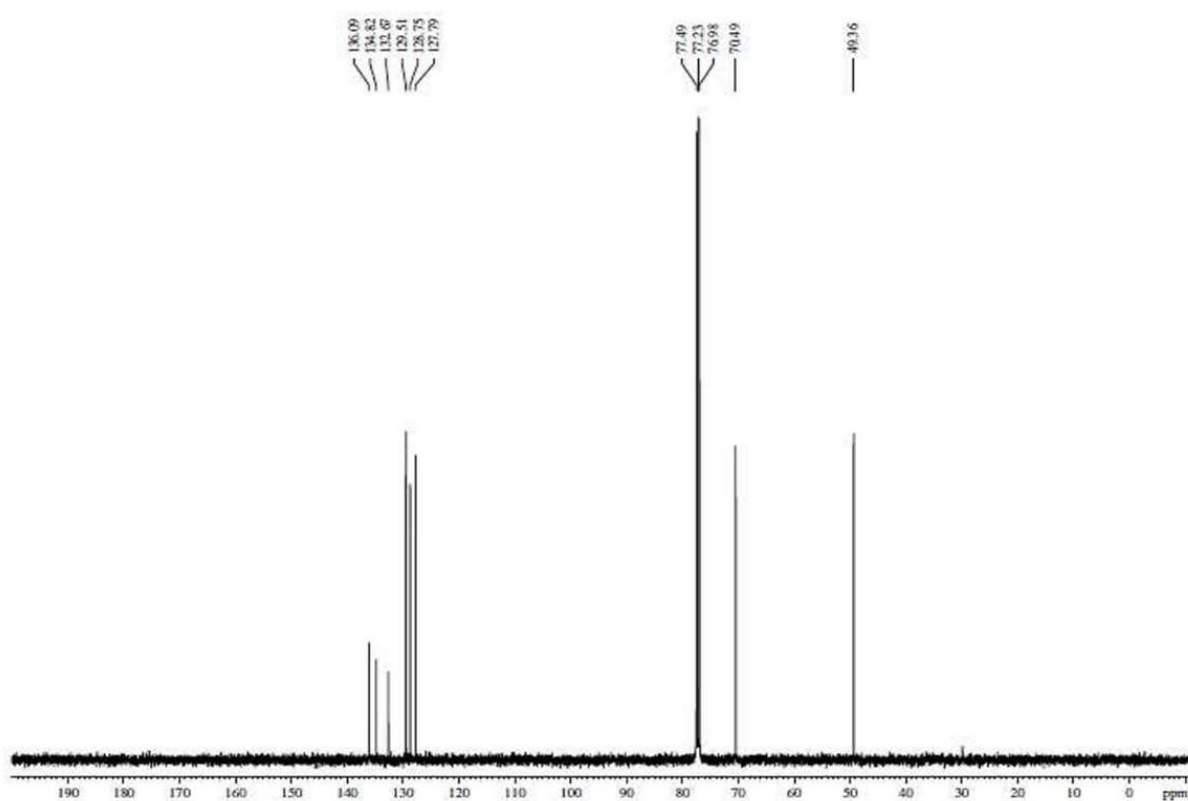


$^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  (ppm) 49,4 (Ca); 70,5 (Cb); 127,8 (Ce); 128,7 (Cg); 129,5 (Ch); 132,7 (Cf); 134,8 (Cd); 136,1 (Cc).

**Figura 5** – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto *rac*-3



**Figura 6** - Espectro de  $^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz) do *rac*-3



Espectros de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  ressonância do *rac*-acetato de 2-cloro-1-(2,4-diclorofenil)etila  
(*rac*-4)

$^1\text{H}$ -NMR of *rac*-4 ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)

$^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  (ppm) 2,17 (s,  $3\text{H}_d$ ); 3,69-3,76 (dd,  $J= 11,8$  Hz e  $4,9$  Hz,  $1\text{H}_a$ ); 3,81-3,87 (dd,  $J= 11,8$  Hz e  $8,1$  Hz,  $1\text{H}_a$ ); 6,29-6,33 (dd,  $J= 10,6$  Hz e  $3,7$  Hz,  $1\text{H}_b$ ); 7,26-7,30 (dd,  $J= 10,5$  Hz e  $2,1$  Hz,  $1\text{H}_i$ ); 7,37-7,41 (d,  $J= 8,4$  Hz,  $1\text{H}_j$ ); 7,40 (d,  $J= 1,9$  Hz,  $1\text{H}_g$ ).

$^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  (ppm) 21,0 ( $\text{C}_d$ ); 45,2 ( $\text{C}_a$ ); 71,4 ( $\text{C}_b$ ); 127,7 ( $\text{C}_g$ ); 128,9 ( $\text{C}_i$ ); 129,8 ( $\text{C}_j$ ); 133,2 ( $\text{C}_h$ ); 133,7 ( $\text{C}_f$ ); 135,3 ( $\text{C}_e$ ); 169,6 ( $\text{C}_c$ ).

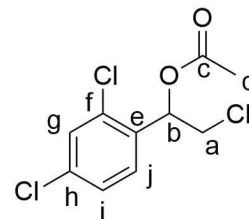
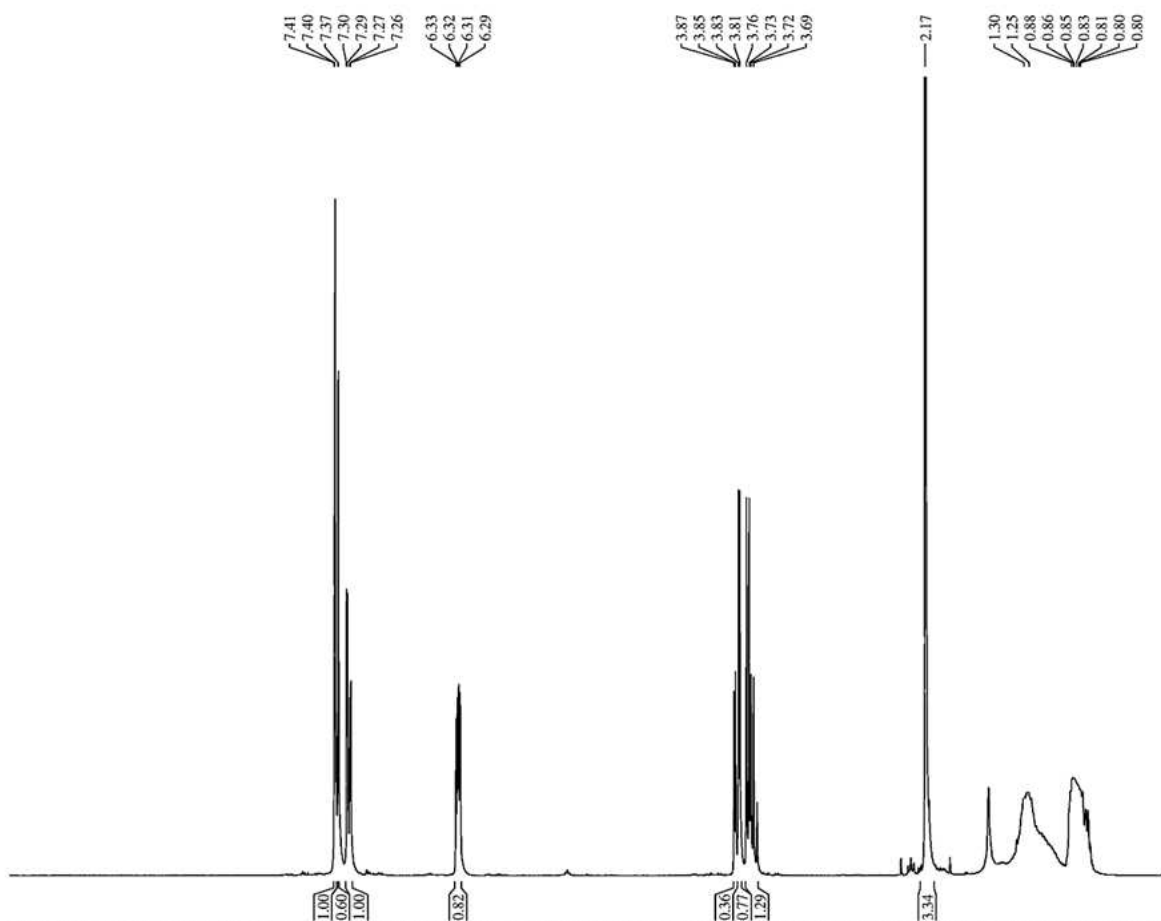
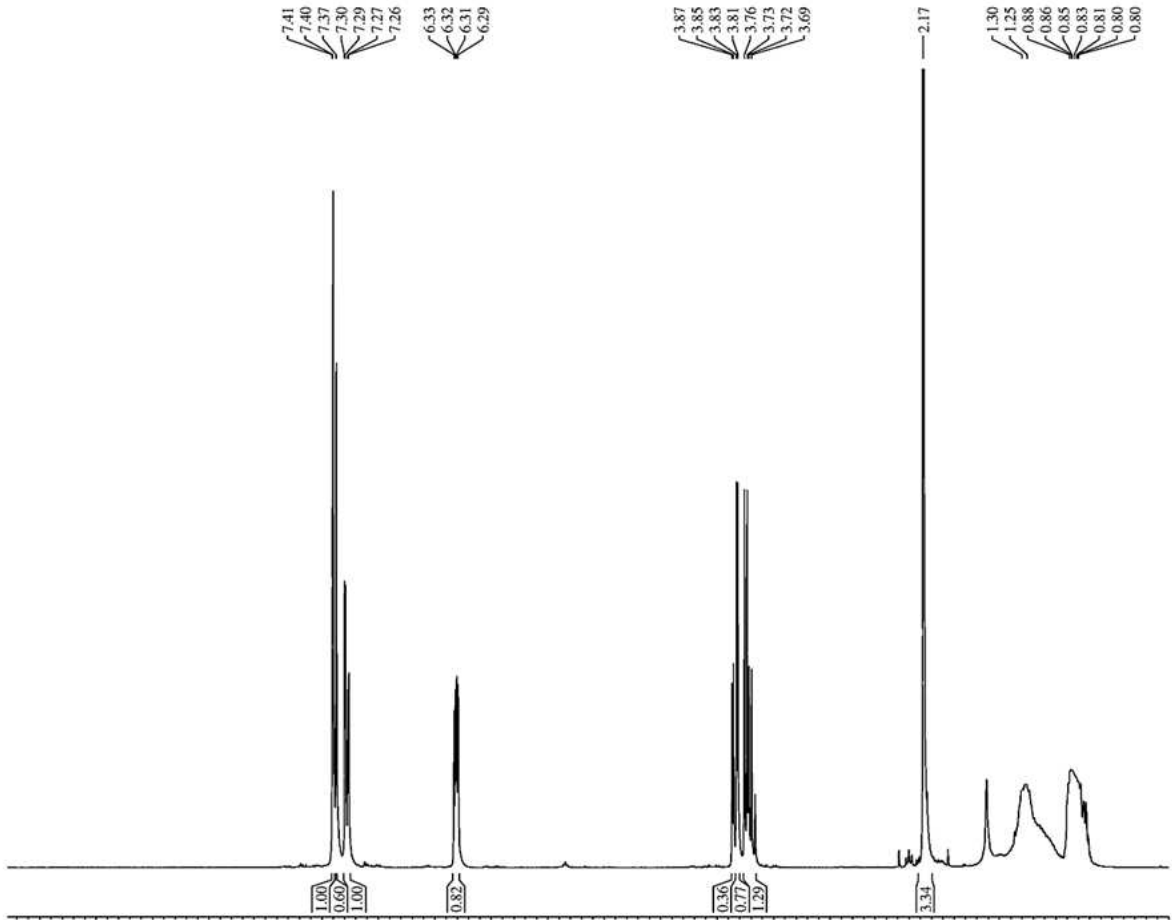


Figura 7 - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) do *rac*-4

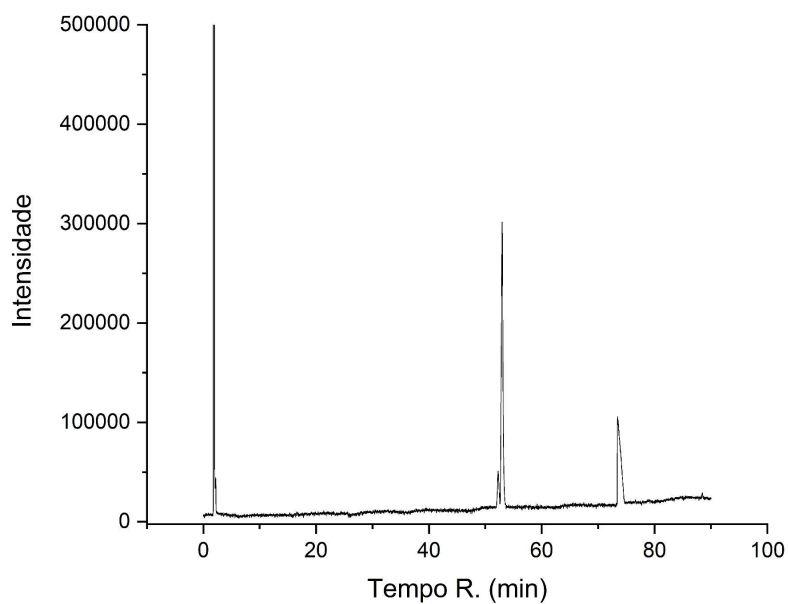


**Figura 8** - Espectro de  $^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz) do *rac-4*

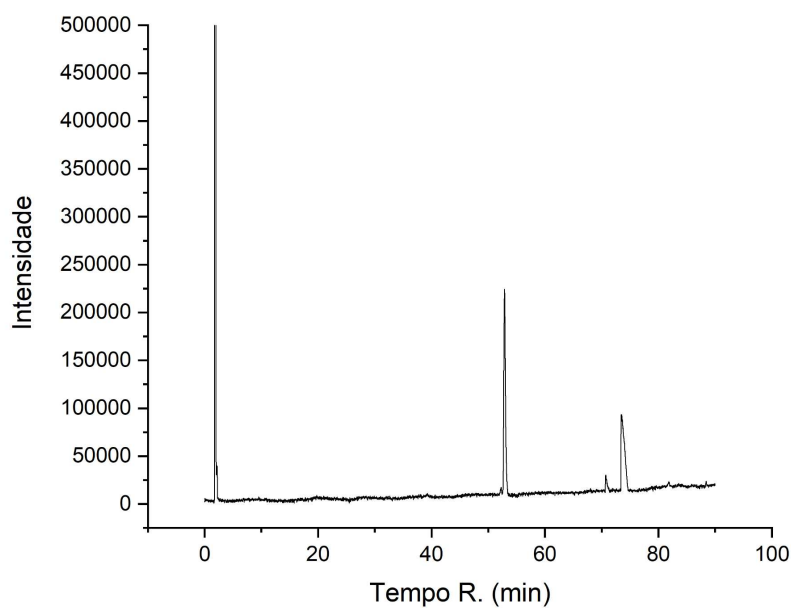


## APÊNDICE B - Cromatogramas das Resoluções Cinéticas e das racemizações

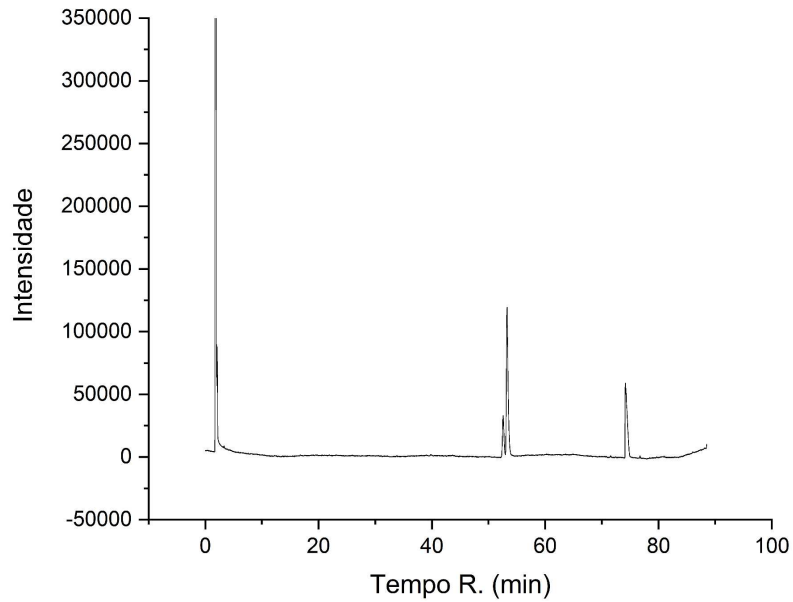
**Figura 1** - Cromatogramas da RCE catalisada pela CAL-A em cicloexano usando o AcOVin por 24 h à 40 °C



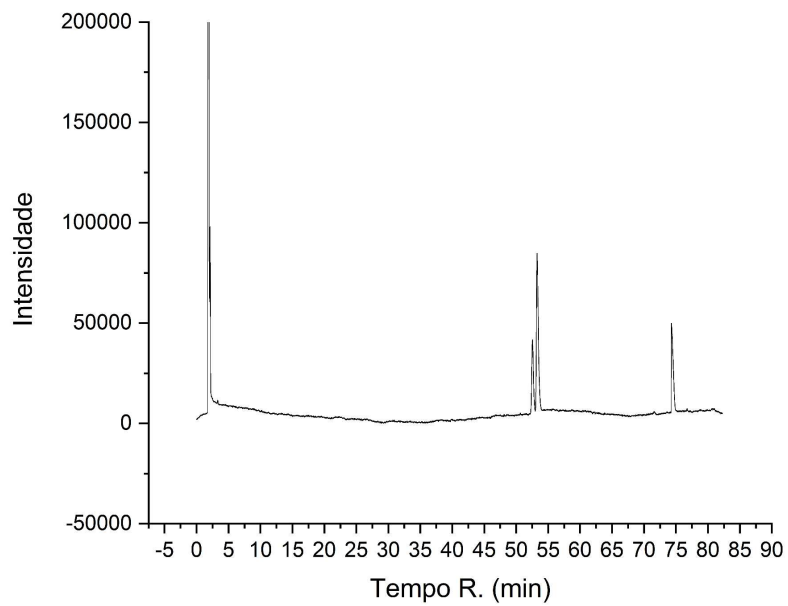
**Figura 2** - Cromatograma da RCE catalisada pela CAL-A em MTBE usando o AcOVin por 24 h à 40 °C



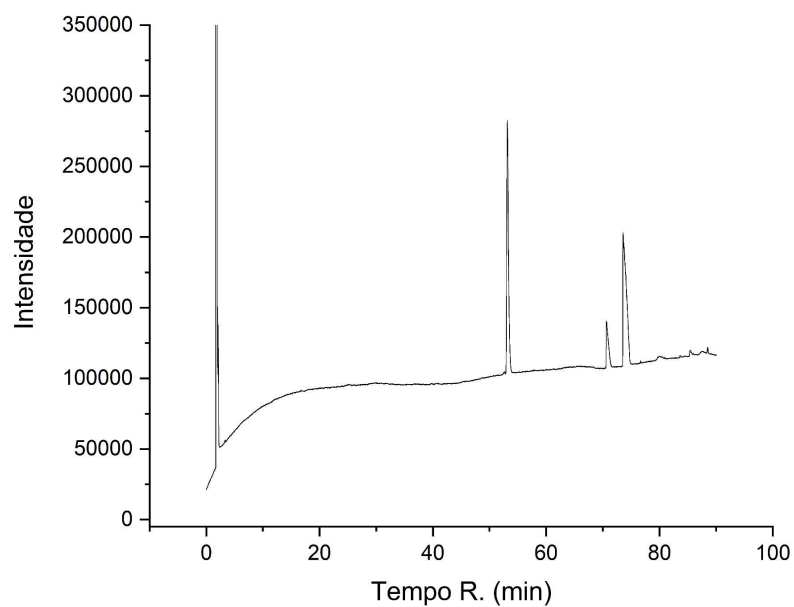
**Figura 3** - Cromatograma da RCE catalisada pela CAL-A em heptano usando o AcOVin por 24 h à 40 °C



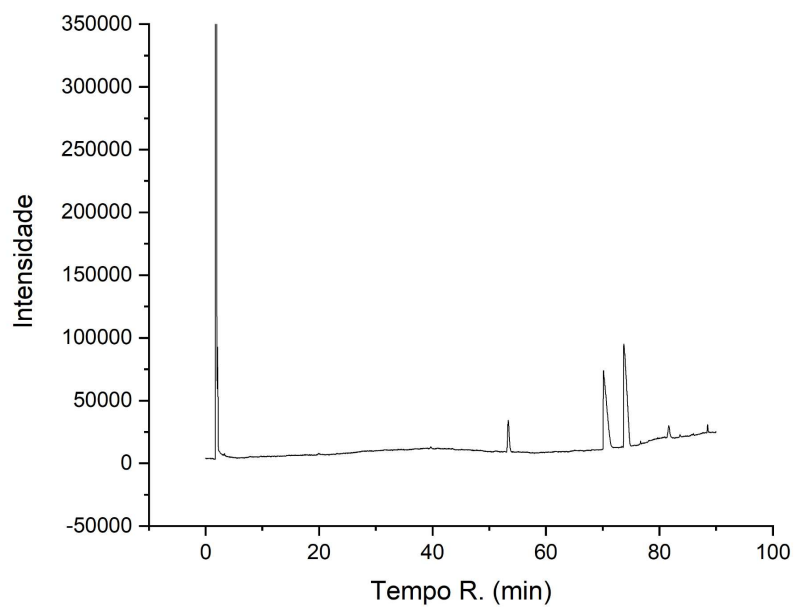
**Figura 4** - Cromatograma da RCE catalisada pela CAL-A em hexano usando o AcOVin por 24 h à 40 °C



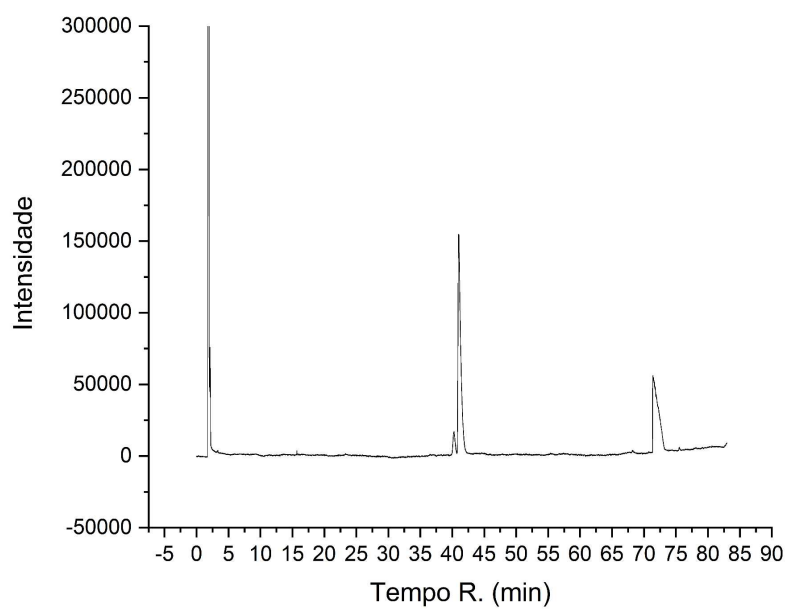
**Figura 5** - Cromatograma da RCE catalisada pela CAL-A em acetonitrila usando o AcOVin por 24 h à 40 °C



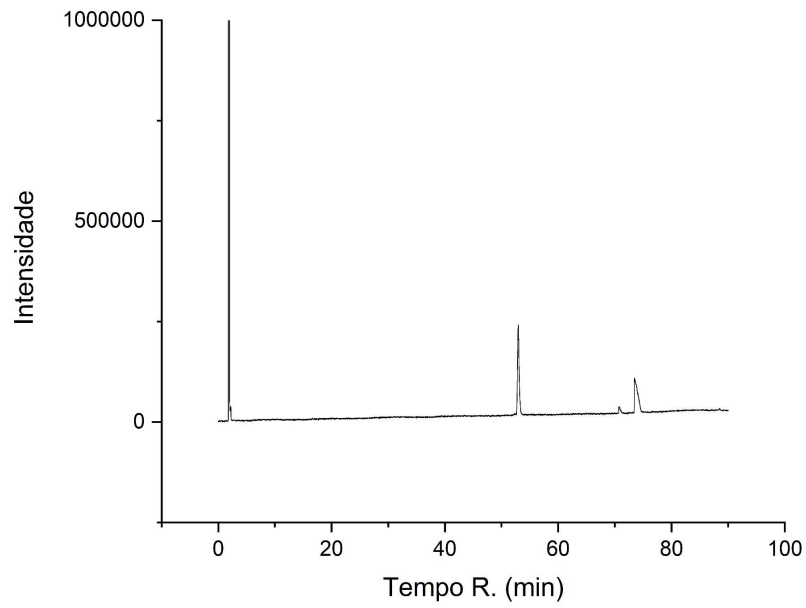
**Figura 6** - Cromatograma da RCE catalisada pela CAL-A em THF usando o AcOVin por 24 h à 40 °C



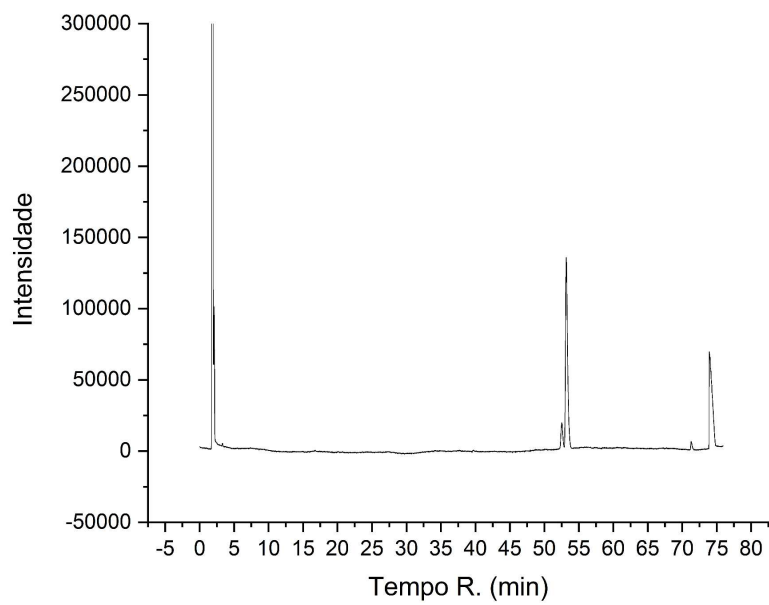
**Figura 7 - Cromatograma da RCE catalisada pela CAL-A em tolueno usando o AcOVin por 24 h à 40 °C**



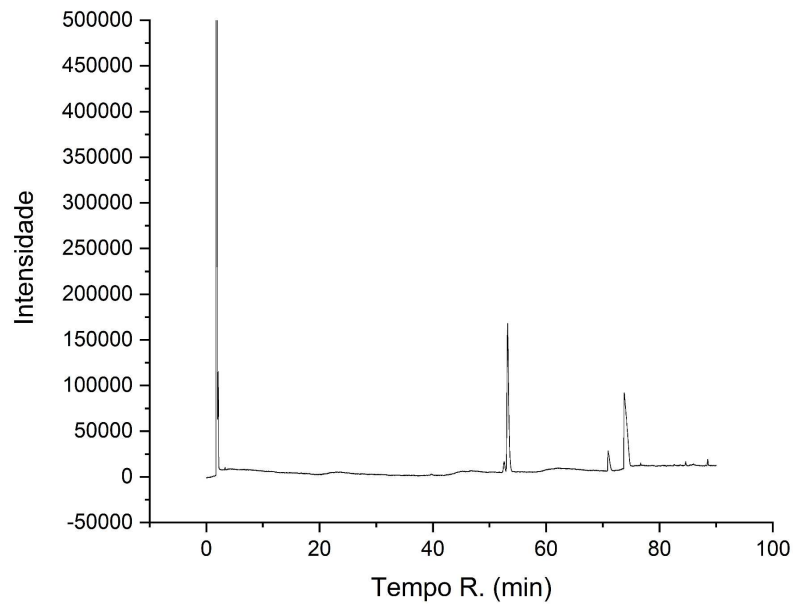
**Figura 8 - Cromatograma da RCE catalisada pela CAL-A em cicloexano usando o AcOIP por 24 h à 40 °C**



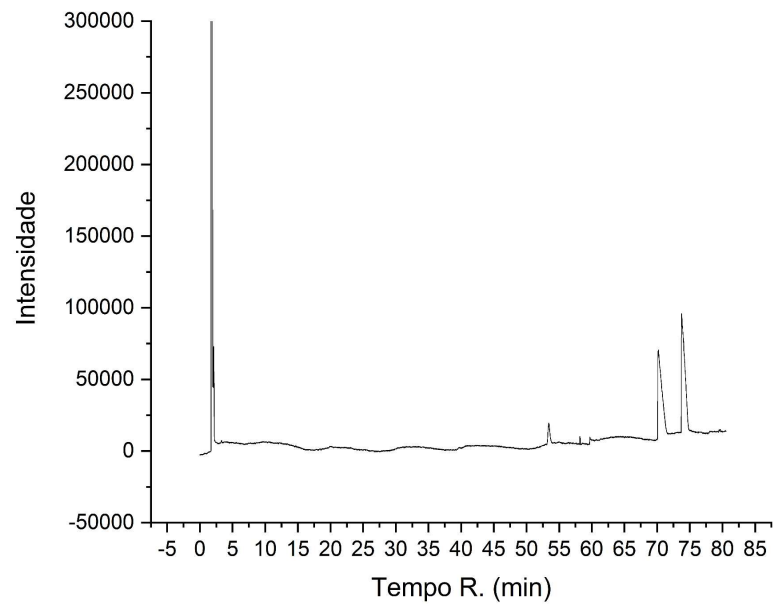
**Figura 9** - Cromatograma da RCE catalisada pela CAL-A em heptano usando o AcOIP por 24 h à 40 °C



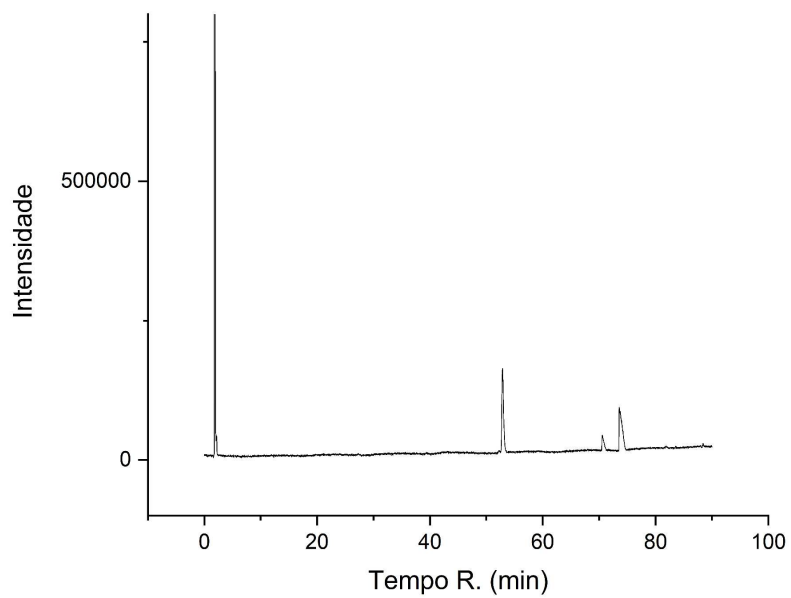
**Figura 10** - Cromatograma da RCE catalisada pela CAL-A em hexano usando o AcOIP por 24 h à 40 °C



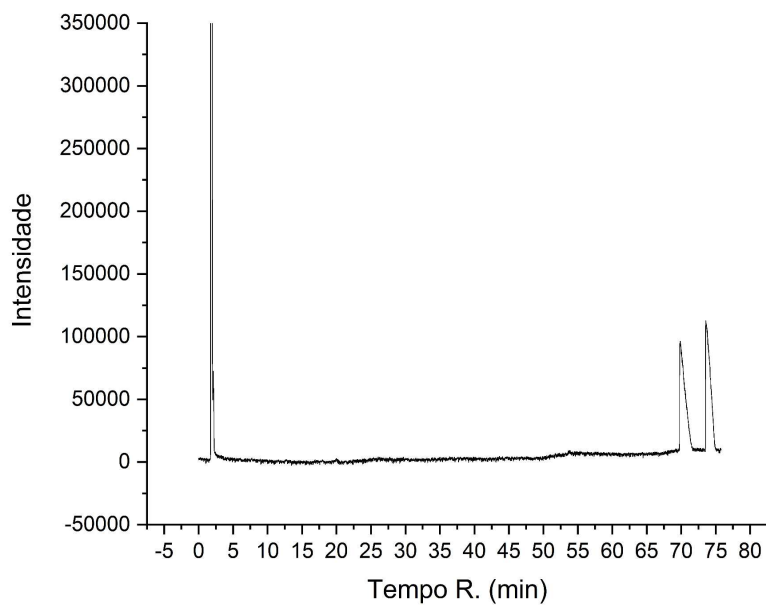
**Figura 11** - Cromatograma da RCE catalisada pela CAL-A em acetonitrila usando o AcOIP por 24 h à 40 °C



**Figura 12** - Cromatograma da RCE catalisada pela CAL-A em MTBE usando o AcOIP por 24 h à 40 °C



**Figura 13** - Cromatograma da RCE catalisada pela CAL-A em THF usando o AcOIP por 24 h à 40 °C



**Figura 14** - Cromatograma da RCE catalisada pela CAL-A em tolueno usando o AcOIP por 24 h à 40 °C

