

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

JULIANA CHRISTINA THOMAS

**APLICAÇÃO DO SISTEMA DE FLUXO CONTÍNUO EM REAÇÕES DE RESOLUÇÃO
CINÉTICA ENZIMÁTICA: OBTENÇÃO DE ÁLCOOIS SECUNDÁRIOS OPTICAMENTE
ATIVOS EMPREGANDO A LIPASE B DE *Candida antarctica***

**CURITIBA
2015**

JULIANA CHRISTINA THOMAS

**APLICAÇÃO DO SISTEMA DE FLUXO CONTÍNUO EM REAÇÕES DE RESOLUÇÃO
CINÉTICA ENZIMÁTICA: OBTENÇÃO DE ÁLCOOIS SECUNDÁRIOS OPTICAMENTE
ATIVOS EMPREGANDO A LIPASE B DE *Candida antarctica***

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

Orientador: Prof. Dr. Leandro Piovan

CURITIBA
2015

T454a

Thomas, Juliana Christina

Aplicação do sistema de fluxo contínuo em reações de resolução cinética enzimática : obtenção de álcoois secundários opticamente ativos empregando a lipase B de *Candida antarctica*/ Juliana Christina Thomas. – Curitiba, 2015.

121 f. : il. color. ; 30 cm.

Dissertação - Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Exatas, Programa de Pós-graduação em Química, 2015.

Orientador: Leandro Piovan .

Bibliografia: p. 70-80.

1. Cinética de enzimas. 2. Catálise. 3. Álcoois. 4. Compostos aromáticos. 5. Lipase. I. Universidade Federal do Paraná. II. Piovan, Leandro. III. Título.

CDD: 572.744

TERMO DE APROVAÇÃO

**APLICAÇÃO DO SISTEMA DE FLUXO-CONTÍNUO EM REAÇÕES DE RESOLUÇÃO
CINÉTICA ENZIMÁTICA: OBTENÇÃO DE ÁLCOOIS SECUNDÁRIOS OPTICAMENTE
ATIVOS EMPREGANDO A LIPASE B DE *CANDIDA ANTARCTICA***

por

JULIANA CHRISTINA THOMAS

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre no Programa de Pós-Graduação em Química,
pela Comissão Examinadora composta por:

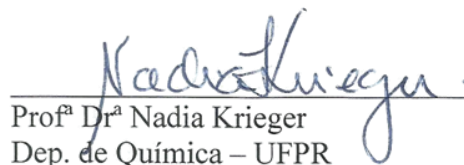
Orientador:



Prof. Dr. Leandro Piovan
Dep. de Química – UFPR



Prof^a Dr^a Regina Aparecida Correia Gonçalves
Dep. de Farmácia – UEM



Prof^a Dr^a Nadia Krieger
Dep. de Química – UFPR

Curitiba, 27 de março de 2015.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Leandro Piovan pela orientação, aprendizado e paciência dedicados a mim nesses dois anos e ao Prof. Dr. Alfredo Ricardo Marques de Oliveira pela valiosa oportunidade de aprendizado e toda a ajuda a mim dedicada para que pudéssemos realizar este trabalho.

À Prof. Dra. Nadia Krieger e à Prof. Dra. Regina Aparecida Correia Gonçalves pela participação na banca avaliadora, e ao Prof. Dr. Francisco de Assis Marques e à Prof. Dra. Beatriz Helena Lameiro de Noronha Sales Maia pelas contribuições na banca de qualificação.

Ao Prof. Dr. Paulo Henrique Gorgatti Zarbin pela infra-estrutura cedida e aos alunos de doutorado Diogo Montes Vidal, Daiane Szczerbowski e Emir Bolzani Saad pelo auxílio com os equipamentos.

À aluna de iniciação científica Martha Daniela Burich pela parceria e ajuda indispensável para a conclusão desse trabalho.

Aos professores responsáveis pela minha formação, pois desempenharam um papel importantíssimo em minha vida acadêmica.

À minha família pelo incentivo, apoio e amor incondicional dedicados. À minha mãe Sara, que merece um agradecimento mais do que especial por tudo que tem feito por mim durante toda a minha vida. Ao meu pai Vilmar pelos ensinamentos, incentivo e por estar ao meu lado em mais essa etapa.

À minha segunda família, LaSQuE, com a qual eu convivi diariamente durante esses dois anos e foi de fundamental importância para minha vida pessoal e profissional. À Pamela, parceira desde o começo dessa nossa jornada, ao Fabiano, um grande amigo que considerarei para sempre, à Allen, umas das pessoas mais queridas que já conheci, à Mara, a mãezona do laboratório, à Mariana, nossa baixinha espaçosa, à Martha, companheira para todas as horas (inclusive feriados e finais de semana), ao Felipe, o churrasqueiro do grupo, ao Thiago, parceiro do noturno, ao Murilo, que considero sendo o terceiro professor do nosso grupo, ao Kelvin, nosso amigo separatista, ao Cleverson, nosso menino de ouro, ao Piovan, não só na posição de orientador e sim como amigo, ao Alfredo, pelos valiosos conselhos e ensinamentos, e a todos com os quais eu tive e/ou terei oportunidade de conviver dentro desse laboratório.

Ao Valmir, por estar ao meu lado nesse momento importante da minha vida e pela ajuda acadêmica que me foi dada.

Aos amigos com os quais tive a oportunidade de conviver, seja durante nossas incontáveis xícaras de café, encontros nos corredores ou convivência durante as disciplinas cursadas.

Ao Departamento de Química pela infra-estrutura cedida. À UFPR, CAPES, CNPQ e Fundação Araucária pelo apoio financeiro.

Ao hialotécnico Paulo Andrade por atender prontamente a todas as vezes que foi solicitado.

A todos que, direta ou indiretamente, me ajudaram na confecção desse trabalho, pois, como dito por Isaac Newton, *“se eu enxerguei mais longe, foi porque me apoiei sobre os ombros de gigantes”*.

*“Se fosse fácil achar o caminho das pedras,
Tantas pedras no caminho não seria ruim.”*

Humberto Gessinger – Outras Frequências

RESUMO

A utilização de sistemas de fluxo contínuo em reações orgânicas oferece diversas vantagens, tais como reprodutibilidade, menores tempos de reação e rápido aquecimento. Devido a isso, esse tipo de sistema tem sido muito empregado em catálise incluindo, recentemente, a catálise enzimática. Portanto, devido à grande ascensão de sistemas de fluxo contínuo em biocatálise, a utilização desses sistemas na obtenção de compostos enantiopuros torna-se interessante, bem como a comparação com o sistema de batelada. Neste trabalho foi realizada a reação de resolução cinética enzimática (RCE) de álcoois benzílicos mediada pela enzima CAL-B, visando diminuir o tempo de reação observado em trabalho anterior, utilizando o sistema de batelada. Para isso, inicialmente avaliou-se a influência das condições reacionais, tais como solvente, temperatura e doador acila. Após a otimização das condições reacionais os álcoois foram submetidos à reação de RCE em batelada, sendo que foram necessários tempos de reação variando entre 1 e 9 horas para alcançar a conversão esperada dos álcoois **1-4**. Com a utilização do sistema de fluxo contínuo, os tempos de reação foram reduzidos para 2 a 40 minutos. Todos os compostos foram obtidos com altos excessos enantioméricos (>99%) e todas as reações apresentaram razão enantiomérica >200.

A aplicação de sistemas de fluxo contínuo se mostrou promissora para obtenção de álcoois enantiomericamente puros via reações de resolução cinética enzimática, visto que uma diminuição significativa no tempo de reação e um grande aumento da produtividade foram alcançados quando comparado ao sistema de batelada.

Palavras-chave: resolução cinética enzimática, álcoois benzílicos, sistemas de fluxo contínuo, lipase

ABSTRACT

The use of continuous-flow systems in organic reactions offers several advantages, such as reproducibility, lower reaction time and fast heating. Therefore, these systems have been employed in catalysis including, recently, enzymatic catalysis. Because of the great rise of continuous-flow systems in biocatalysis, the utilization of these systems in the achievement of enantiopure compounds becomes interesting, as well as the comparison between continuous-flow and batch systems. This research presents the enzymatic kinetic resolution (EKR) of benzylic alcohols mediated by CAL-B, aiming to reduce the reaction time that was observed in previous work, which employed batch system. It was valued the influence of reaction conditions, such as solvent, temperature and acyl donor. After the optimization, alcohols were submitted to batch EKR and the reactions of alcohols **1-4** have taken 1 to 9 hours to achieve the expected conversion rate. Using continuous-flow system, reaction time was reduced to 2 to 40 minutes in the reaction of alcohols **1-4**. All compounds were obtained with high enantiomeric excesses (>99%) and all reactions showed enantiomeric ratio >200.

The application of continuous-flow systems was promising for achievement of enantiopure alcohols by enzymatic kinetic resolution, whereas, reaction time decreased significantly and a great increase of productivity was reached in comparison to batch systems.

Key-words: enzymatic kinetic resolution, benzylic alcohols, continuous-flow systems, lipases

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação de compostos que possuem geometria constitucional de função (A) e geometria espacial geométrica (B).....	17
Figura 2. Fluxograma representativo dos tipos de isomeria e algumas das suas subdivisões.....	17
Figura 3. Representação de um par enantiomérico.....	18
Figura 4. Isômeros do fármaco talidomida	19
Figura 5. Representação das estruturas primária, secundária, terciária e quaternária de enzimas	23
Figura 6. Representação esquemática da dobra padrão de α/β -hidrolases.....	25
Figura 7. Representação do sítio catalítico da lipase A de <i>Candida antarctica</i> (CAL-A) ..	25
Figura 8. Diagrama de energia para uma reação enantiosseletiva catalisada por enzimas	27
Figura 9. Diferentes nucleófilos aplicáveis às reações mediadas por lipases	28
Figura 10. Mecanismo chave-fechadura proposto por Fisher.....	28
Figura 11. Modelo encaixe induzido proposto por Koshland	29
Figura 12. Representação da regra dos três pontos proposta por Ogston	29
Figura 13. Representação do modelo proposto por Prelog	30
Figura 14. Representação da regra de Kazlauskas, onde G refere-se ao substituinte de tamanho grande e M refere-se ao substituinte de tamanho médio.....	30
Figura 15. Comparação entre a atividade inicial relativa e temperatura para a lipase CAL-B.....	32
Figura 16. Princípios da química sustentável contemplados pelos sistemas de fluxo contínuo.....	33
Figura 17. Compostos utilizados como doadores acila na reação de resolução cinética enzimática	43
Figura 18. Representação do encaixe do composto 1 no sítio ativo enzimático segundo modelo proposto por Kazlauskas.....	47
Figura 19. Meio reacional no início (A) e ao final (B) da reação de resolução cinética enzimática do 1-fenilpentanol	48
Figura 20. Concentração do substrato x tempo da reação na resolução cinética enzimática do álcool 1 em fluxo contínuo.....	51
Figura 21. Comparação entre os valores de produtividade nas reações em batelada e em fluxo contínuo	56
Figura 22. Relação entre os tempos de reação de RCE em batelada e em fluxo contínuo dos álcoois 1-4, considerando-se a mesma quantidade de substrato	57

Figura 23. Sistema de fluxo contínuo utilizado no trabalho (A), sistema de injeção (B) e coluna cromatográfica preenchida com o biocatalisador (C)67

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1. Síntese do composto XV utilizando a oxazolidinona XI como auxiliar quiral.....	21
Esquema 2. Reação de ciclização de Nazarov do composto (<i>E</i>)- XVI utilizando o complexo metálico XVII como catalisador quiral	22
Esquema 3. Síntese do composto XVIII a partir do <i>L</i> -(+)-tartarato de dietila (XVI)	22
Esquema 4. Hidrólise de triacilgliceróis mediada por lipases	24
Esquema 5. Representação do mecanismo de transesterificação mediada por lipases..	26
Esquema 6. Resolução cinética enzimática de derivados do <i>trans</i> -2-(feniltio)ciclohexanol mediada por CAL-B	32
Esquema 7. Resolução cinética dinâmica de álcoois secundários mediada por CAL-B e o complexo organometálico XXIV	33
Esquema 8. Resolução cinética enzimática de álcoois secundários em batelada (A) e em fluxo contínuo (B).....	34
Esquema 9. Reação de esterificação do composto XXVI com ácido palmítico (XXVII) em sistemas de fluxo contínuo.....	35
Esquema 10. Reação de resolução cinética enzimática do 1-feniletanol e derivados via reação de transesterificação enantiosseletiva mediada por CAL-B.....	37
Esquema 11. Síntese dos álcoois 1-3 via redução da acetofenona correspondente com NaBH ₄ em MeOH.....	39
Esquema 12. Síntese dos ésteres 1a-5a via acetilação com anidrido acético e DMAP ...	40
Esquema 13. Reagentes empregados como doadores de acila na reação de resolução cinética enzimática e o enol produzido como subproduto	44
Esquema 14. Representação do mecanismo de acilação de um álcool empregando um anidrido (A) e um éster (B).....	45
Esquema 15. Reação de resolução cinética enzimática do álcool 1 em fluxo contínuo mediada pela enzima CAL-B	52

LISTA DE TABELAS E QUADROS

Tabela 1. Compostos biologicamente ativos com atividades distintas para cada estereoisômero	19
Tabela 2. Reação de resolução cinética enzimática dos álcoois 1-5 mediada por CAL-B a 35 °C em batelada	38
Tabela 3. Resolução cinética enzimática do 1-fenilpentanol (5) mediada pela enzima CAL-B em diferentes solventes.....	41
Tabela 4. Resolução cinética enzimática do 1-fenilpentanol (5) mediada pela enzima CAL-B utilizando diferentes doadores acila.....	43
Tabela 5. Resolução cinética enzimática dos álcoois 1-5 em batelada mediada por CAL-B em hexano a 50 °C e utilizando acetato de vinila como doador acila	46
Tabela 6. Comparação do tempo de reação dos álcoois 1-5 a 35 °C e a 50 °C.....	49
Tabela 7. Resolução cinética enzimática do 1-feniletanol (1) mediada pela enzima CAL-B em fluxo contínuo utilizando diferentes concentrações e fluxo de 1 mL min ⁻¹	50
Tabela 8. Otimização da vazão na reação de resolução cinética enzimática do 1-feniletanol (1) mediada pela enzima CAL-B em diferentes concentrações.....	51
Tabela 9. Resolução cinética enzimática dos álcoois 1-5 mediada por CAL-B em sistema de fluxo contínuo	53
Tabela 10. Valores de produtividade enzimática para os sistemas de batelada e fluxo contínuo.....	55
Quadro 1. Classificação da enzima de acordo com o tipo de reação catalisada	24
Quadro 2. Exemplos de lipases disponíveis comercialmente	31

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ΔG	Energia livre de Gibbs
δ	Deslocamento químico
Ac	Acetila
ACN	Acetonitrila
Asp	Aspartato
Bn	Benzila
But	Butila
c	Conversão
CAL-A	Lipase A de <i>Candida antarctica</i>
CAL-B	Lipase B de <i>Candida antarctica</i>
CCD	Cromatografia em camada delgada
CG	Cromatografia em fase gasosa
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
cm	Centímetro
d	Dupleto
Da	Dalton
DCM	Diclorometano
dd	Duplo dupleto
DMAP	<i>N,N</i> -Dimetilaminopiridina
DNA	Ácido desoxirribonucleico
<i>E</i>	Razão enantiomérica
EC	<i>Enzyme Commission</i>
ee	Excesso enantiomérico
EM	Espectrometria de massas
Enz	Enzima
Et	Etila
eV	Elétron-volt
FID	<i>Flame Ionization Detector</i>
His	Histidina
Hz	Hertz
IV	Infravermelho
IUBMB	<i>International Union of Biochemistry and Molecular Biology</i>
<i>J</i>	Constante de acoplamento
log	Logaritmo
Me	Metila

MtBE	Éter metil <i>terc</i> -butílico
NADH	Dinucleotídeo de Nicotinamida e Adenina
nm	Nanômetro
Nu	Nucleófilo
<i>p</i>	<i>para</i>
Ph	Fenila
ppm	Partes por milhão
Prop	Propila
q	Quarteto
<i>r</i>	Produtividade
<i>rac</i>	Racemato
RCD	Resolução Cinética Dinâmica
RCE	Resolução Cinética Enzimática
RMN	Ressonância magnética nuclear
RNA	Ácido ribonucleico
s	Simpleto
Ser	Serina
t	Tripleto
t.a.	Temperatura ambiente
<i>t</i> -Bu	<i>terc</i> -butila
TMS	Tetrametilsilano
t_R	Tempo de retenção
UV	Ultra-violeta

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	17
1.1. ISOMERIA	17
1.1.1. Quiralidade	18
1.1.2. A importância da quiralidade	19
1.1.3. Métodos de obtenção de compostos enantiomericamente puros	21
1.1.3.1. Reações estereosseletivas	21
1.1.3.2. Chiral pools	22
1.1.3.3. Resolução de racematos	22
1.2. ENZIMAS	23
1.2.1. Classificação	23
1.2.2. Lipases	24
1.2.2.1. Mecanismo de ação de lipases	25
1.2.2.2. Previsão da enantiosseletividade	28
1.2.2.3. Utilização de lipases em síntese orgânica	31
1.2.2.3.1. Utilização da enzima CAL-B na resolução de álcoois secundários	32
1.2.2.3.2. Reações de resolução cinética enzimática em sistemas de fluxo contínuo	33
2. OBJETIVOS	36
2.1. OBJETIVO GERAL	36
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	36
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
3.1. ESCOLHA DOS SUBSTRATOS	37
3.2. SÍNTESE DOS COMPOSTOS DE INTERESSE	39
3.2.1. Síntese dos álcoois 1-3	39
3.2.2. Obtenção dos álcoois 4 e 5	39
3.2.3. Síntese dos ésteres 1a-5a	39
3.3. REAÇÕES DE RESOLUÇÃO CINÉTICA ENZIMÁTICA	40
3.3.1. Investigação do efeito do solvente na resolução cinética enzimática do 1-fenilpentanol (5)	40
3.3.2. Investigação do efeito do doador acila na resolução cinética enzimática do 1-fenilpentanol (5)	42
3.3.3. Resolução cinética enzimática dos álcoois 1-5 mediada por CAL-B em batelada ..	45
3.3.4. Reações de resolução cinética enzimática em sistemas de fluxo contínuo	49
3.3.4.1. Estudo da concentração na resolução cinética enzimática do álcool 1	49
3.3.4.2. Reação de resolução cinética enzimática do álcool 1 em escala preparativa	52
3.3.4.3. Reação de resolução cinética enzimática dos álcoois 1-5	52

3.3.5. Comparação entre os sistemas de batelada e de fluxo contínuo	55
4. CONCLUSÃO	58
5. MATERIAIS E MÉTODOS	59
5.1. OBTENÇÃO DOS COMPOSTOS DE INTERESSE	60
5.1.1. Obtenção dos álcoois 1-3	60
5.1.2. Obtenção dos álcoois 4 e 5	62
5.1.3. Obtenção dos ésteres 1a-5a	62
5.2. REAÇÕES DE RESOLUÇÃO CINÉTICA ENZIMÁTICA (RCE)	64
5.2.1. Acompanhamento da reação de resolução cinética enzimática	64
5.2.2. Avaliação do efeito do solvente na resolução cinética enzimática do 1-fenilpentanol	65
5.2.3. Avaliação do efeito do doador acila na resolução cinética enzimática do 1-fenilpentanol	66
5.2.4. Reação de resolução cinética enzimática dos álcoois 1-5 em batelada	66
5.2.5. Reações de resolução cinética enzimática em sistema de fluxo contínuo	66
5.2.5.1. Estudo da concentração na resolução cinética enzimática do álcool 1	67
5.2.5.2. Reação de resolução cinética enzimática dos álcoois 1-5	68
5.2.5.2.1. Determinação dos valores de $[\alpha]_D$	68
5.3. DETERMINAÇÃO DOS PARÂMETROS DE ENANTIOSELETIVIDADE DAS REAÇÕES DE RESOLUÇÃO CINÉTICA ENZIMÁTICA	68
5.4. DETERMINAÇÃO DA PRODUTIVIDADE	69
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	70
ANEXOS	81

1. INTRODUÇÃO

1.1. ISOMERIA

Isômeros são moléculas que têm a mesma composição atômica, mas diferentes fórmulas lineares (Figura 1– A) ou fórmulas stereoquímicas (Figura 1 – B), e ainda diferentes propriedades físicas e químicas.¹

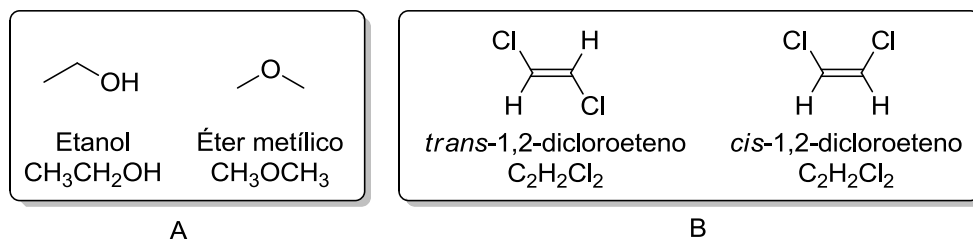


Figura 1. Representação de compostos que possuem geometria constitucional de função (A) e geometria espacial geométrica (B)

Compostos que se diferenciam apenas na conexão dos átomos em sua cadeia são ditos isômeros constitucionais e são representados por fórmulas moleculares distintas.² Compostos que se diferenciam pelo arranjo espacial dos átomos são denominados estereoisômeros e eles não apresentam nenhuma diferença na conectividade ou na multiplicidade das ligações entre os isômeros (Figura 2).³

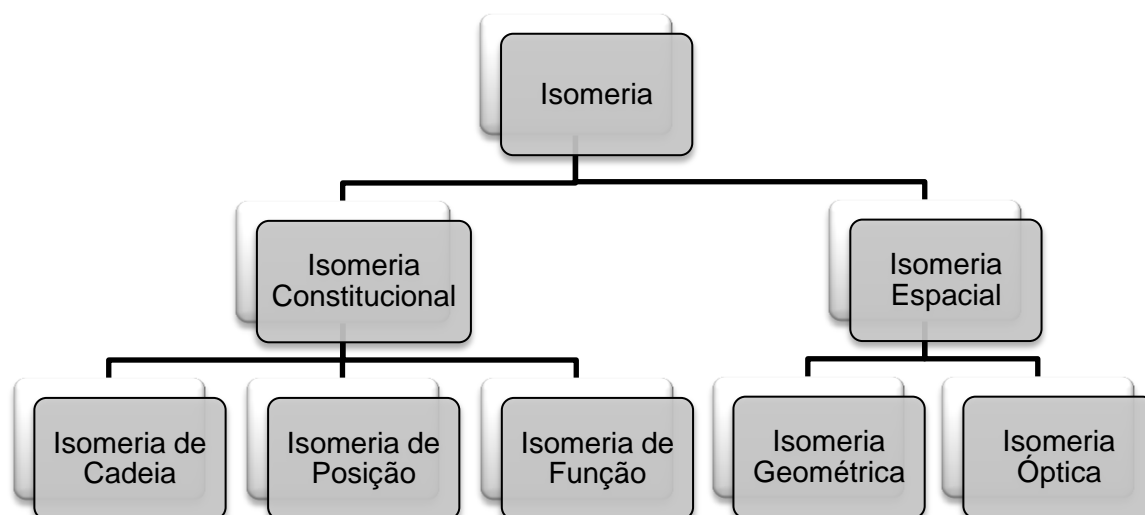


Figura 2. Fluxograma representativo dos tipos de isomeria e algumas das suas subdivisões

Neste trabalho uma maior atenção será dada aos compostos que apresentam isomeria óptica, sendo que, para a existência deste tipo de isomeria é necessário que o composto seja quiral.⁴

1.1.1. Quiralidade

A propriedade de não superponibilidade de um objeto e sua imagem no espelho é chamada quiralidade. Se uma molécula e sua imagem especular não são superponíveis, a mesma é dita quiral⁴ e essas moléculas são caracterizadas pela ausência de elementos de simetria.^{5,6}

Essas moléculas não superponíveis podem existir de duas maneiras: enantiômeros e diastereoisômeros. Estereoisômeros que não são imagens especulares uns dos outros são chamados diastereoisômeros, os quais são caracterizados por possuir propriedades físicas diferentes e por algumas diferenças no comportamento químico frente a reagentes quirais e aquirais.⁷

Quando um objeto e sua imagem especular não são superponíveis, os mesmos são chamados de par enantiomérico e são ditos enantiômeros um do outro (Figura 3). Os enantiômeros isoladamente têm propriedades idênticas (propriedades físicas e espectroscópicas e reatividade química frente a agentes aquirais) em ambientes aquirais, exceto uma propriedade física específica, chamada de rotação do plano da luz polarizada. Os dois enantiômeros rotacionam a luz de maneira igual, ou seja, mesmo módulo e sentido, mas em direções opostas. Essa propriedade é chamada atividade óptica.⁶ Entretanto, enantiômeros possuem propriedades diferentes em ambientes quirais, pois a interação de uma mistura de enantiômeros com uma molécula opticamente ativa resulta na formação de um par de diastereoisômeros, tendo propriedades físicas diferentes.⁸

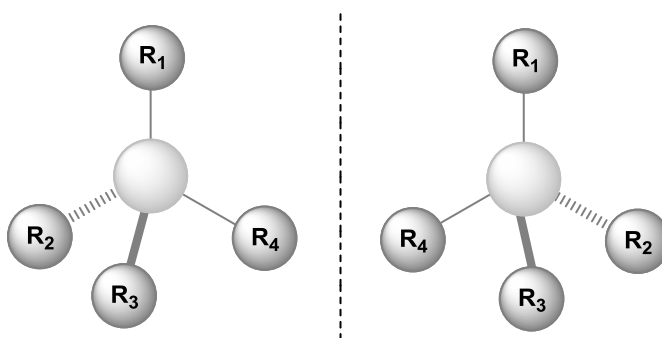


Figura 3. Representação de um par enantiomérico

1.1.2. A importância da quiralidade

A maioria das macromoléculas biológicas de sistemas vivos ocorre na natureza em somente uma forma enantiomérica. Um composto quiral biologicamente ativo interage com seu receptor de modo a haver um reconhecimento espacial, podendo os enantiômeros serem discriminados pelo receptor de diferentes maneiras.^{9, 10}

Exemplos de biomoléculas quirais são as enzimas e receptores, portanto, os dois enantiômeros de um fármaco, por exemplo, podem ser absorvidos, metabolizados ou degradados de diferentes maneiras, o que levaria a diferentes tipos de atividade frente a estas biomoléculas.¹⁰

Um exemplo clássico da ação diferenciada de enantiômeros é o fármaco talidomida (Figura 4). Em 1961, o desastre ocorrido em função da comercialização deste fármaco na forma de racemato, mostrou os perigos do desconhecimento da ação dos enantiômeros isoladamente, pois não era conhecido que o isômero (*R*) da talidomida (**I**) tem propriedades sedativas e hipnóticas, enquanto que o isômero (*S*) possui propriedades teratogênicas, causando o nascimento de crianças com má formação dos membros superiores e inferiores, além dos natimortos.¹¹

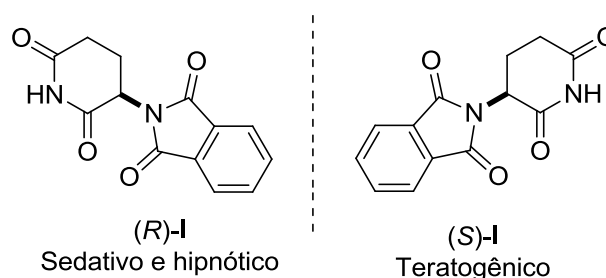
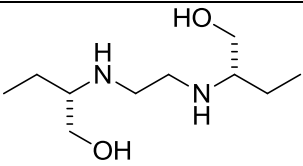
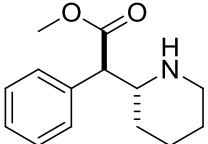
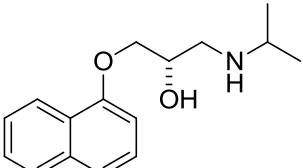
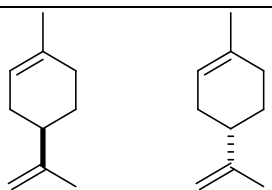
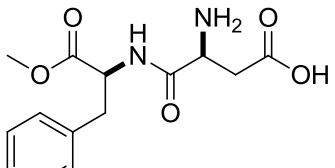
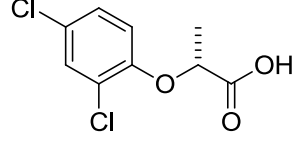
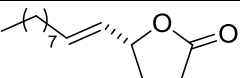


Figura 4. Isômeros do fármaco talidomida¹¹

Dentre compostos biologicamente ativos que também podem apresentar atividades distintas para cada estereoisômero, destacam-se, além dos fármacos quirais, aditivos alimentares, agroquímicos e feromônios (Tabela 1).

Tabela 1. Compostos biologicamente ativos com atividades distintas para cada estereoisômero^{10, 12, 13}

Composto	Aplicação	Atividade
<p>(S)-(II) Penicilamina</p>	Fármaco	O enantiômero (<i>S</i>) é utilizado no tratamento da artrite e o enantiômero (<i>R</i>) é tóxico

 <p>(<i>S,S</i>)-(III) Etambutol</p>	Fármaco	O estereoisômero (<i>S,S</i>) é utilizado no tratamento da tuberculose e o enantiômero (<i>R,R</i>) pode causar cegueira
 <p>(<i>R,R</i>)-(IV) Ritalina</p>	Fármaco	O estereoisômero (<i>R,R</i>) é utilizado para tratar déficit de atenção e o estereoisômero (<i>S,S</i>) é ministrado como antidepressivo
 <p>(<i>S</i>)-(V) Propanolol</p>	Fármaco	O enantiômero (<i>S</i>) é utilizado como anti-hipertensivo e é 98 vezes mais ativo que o enantiômero (<i>R</i>)
 <p>(<i>R</i>)-VI (<i>S</i>)-VI Limoneno</p>	Flavorizante	O enantiômero (<i>R</i>) possui sabor de laranja e o enantiômero (<i>S</i>) possui sabor de limão
 <p>(<i>S,S</i>)-VII Aspartame</p>	Aditivo alimentar	O diastereoisômero (<i>S,S</i>) possui sabor doce e o diastereoisômero (<i>S,R</i>) possui sabor amargo
 <p>(<i>R</i>)-VIII Dicloroprope</p>	Agroquímico	O enantiômero (<i>R</i>) é empregado como herbicida, enquanto que o enantiômero (<i>S</i>) é inativo
 <p>(<i>R</i>)-IX Japonilura</p>	Feromônio	O enantiômero (<i>R</i>) é o feromônio de atração sexual de besouros da espécie <i>Popillia japonica</i> , enquanto que o enantiômero (<i>S</i>) é inativo

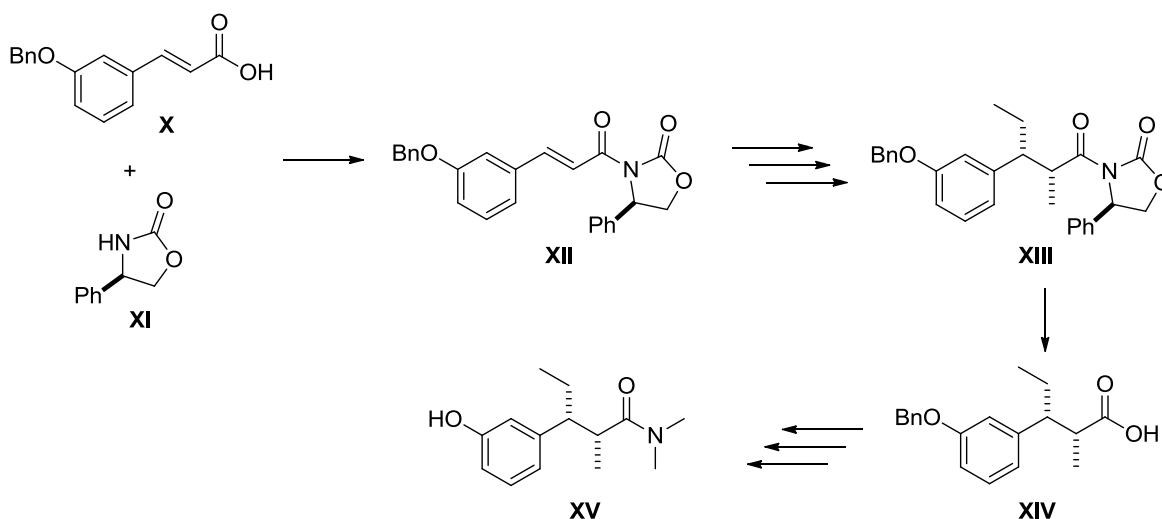
1.1.3. Métodos de obtenção de compostos enantiomericamente puros

Existem três abordagens sintéticas principais envolvendo a síntese de compostos enantiomericamente puros, sendo elas as reações estereosseletivas, transformações sintéticas de produtos naturais (*chiral pools*) e a resolução de racematos.¹⁴

1.1.3.1. Reações estereosseletivas

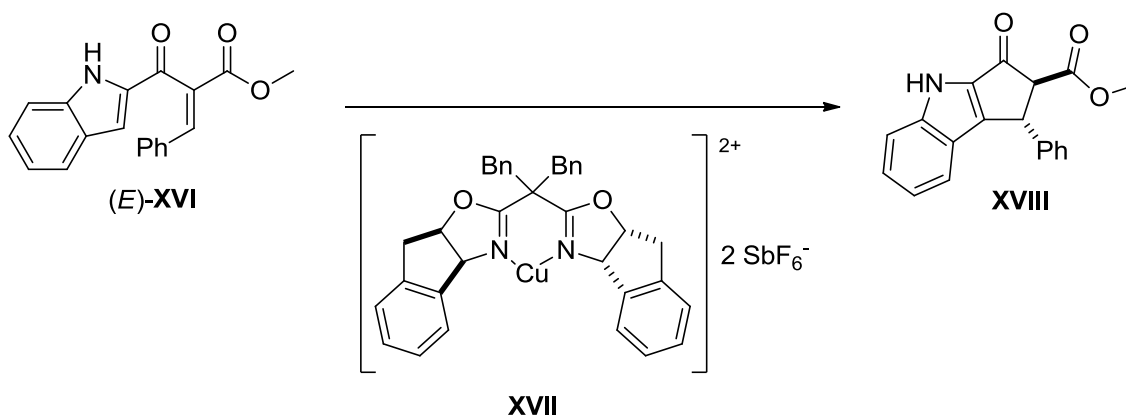
Reações estereosseletivas envolvem um reagente enantiopuro em quantidades estequiométricas (auxiliares) ou catalíticas.¹⁴ Apesar de fornecerem o mesmo resultado, auxiliares quirais transferem a quiralidade para o produto atuando como reagentes, enquanto que os catalisadores não transferem átomos ao produto, ou seja, não são incorporados.¹⁵

Exemplos de auxiliares quirais são as oxazolidinonas de Evans, como em trabalho de Zhang e colaboradores,¹⁶ onde a (*R*)-4-fenil-2-oxazolidinona (**XI**) foi utilizada como auxiliar quiral de modo a levar a síntese do tapentadol (**XV**) após algumas transformações sintéticas (Esquema 1).



Esquema 1. Síntese do composto **XV** utilizando a oxazolidinona **XI** como auxiliar quiral

Um exemplo da utilização de catalisadores quirais é o trabalho de Raja e colaboradores,¹⁷ onde foi realizada a reação de ciclização de Nazarov utilizando catálise metálica e foram alcançados altos excessos diastereoisoméricos (Esquema 2).

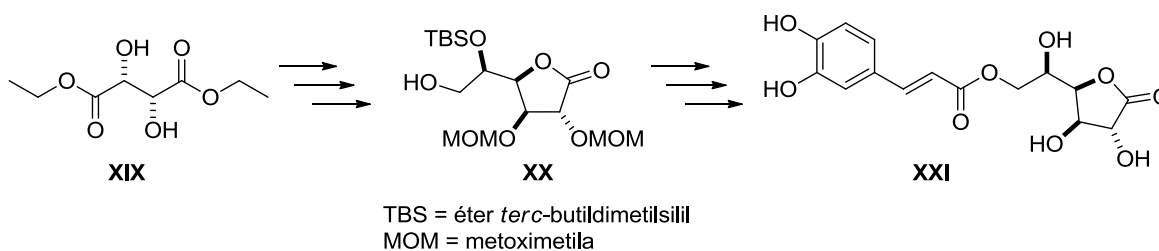


Esquema 2. Reação de ciclização de Nazarov do composto (E)-**XVI** utilizando o complexo metálico **XVII** como catalisador quiral

1.1.3.2. Chiral pools

A transformação de produtos naturais (*chiral pools*) foi por muitas décadas a única forma de síntese enantiosseletiva, em função da grande disponibilidade e baixo custo desses produtos.¹⁸ Para este tipo de estratégia de síntese enantiosseletiva normalmente são utilizados produtos naturais altamente disponíveis, tais como aminoácidos, ácido tartárico e láctico, terpenos, carboidratos e alcaloides.¹⁰

Recentemente, Yadav e colaboradores¹⁹ propuseram uma rota sintética com 12 etapas para o composto vittarilida-A (**XXI**) utilizando tartarato de dietila (**XIX**) como precursor da lactona **XX**, a qual levou a síntese do composto **XXI** (Esquema 3).



Esquema 3. Síntese do composto **XXI** a partir do L-(+)-tartarato de dietila (**XVI**)

1.1.3.3. Resolução de racematos

Para a resolução de racematos podem ser utilizadas diferentes estratégias, sendo que esta resolução pode ser via cromatografia, utilizando-se cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com fase estacionária quiral em escala preparativa;^{20, 21, 22} via cristalização, através da formação de sais diastereoisoméricos entre os enantiômeros do racemato e o agente quiral empregado,^{23, 24, 25} ou via resolução cinética.^{26, 27, 28}

O termo resolução²⁹ refere-se à separação total ou parcial dos componentes de um racemato, e o termo cinética,³⁰ neste caso, refere-se às velocidades de reação distintas de cada estereoisômero com o agente quiral empregado. Se para esta resolução for utilizado um catalisador de origem biológica (geralmente enzimas), o processo é denominado resolução cinética enzimática (RCE) ou resolução biocatalítica.³¹

1.2. ENZIMAS

Enzimas são macromoléculas constituídas de L-aminoácidos ligados covalentemente em uma sequência definida, com massa molecular variando entre cerca de 5 a até mais de 1.000 kDa.³²

Com exceção de um pequeno grupo de moléculas de RNA, todas as enzimas são proteínas e sua atividade catalítica depende da integridade de sua conformação proteica. Se uma enzima é desnaturada ou dissociada em suas subunidades, a atividade catalítica é perdida.³³

Refere-se à sequência de aminoácidos de uma proteína como sua sequência primária, o arranjo tridimensional da cadeia é chamado de estrutura secundária, a estrutura terciária inclui o arranjo de todos os átomos, incluindo as cadeias laterais dos aminoácidos e a estrutura quaternária descreve a agregação de várias moléculas de proteínas, formando oligômeros (Figura 5).^{33, 34}

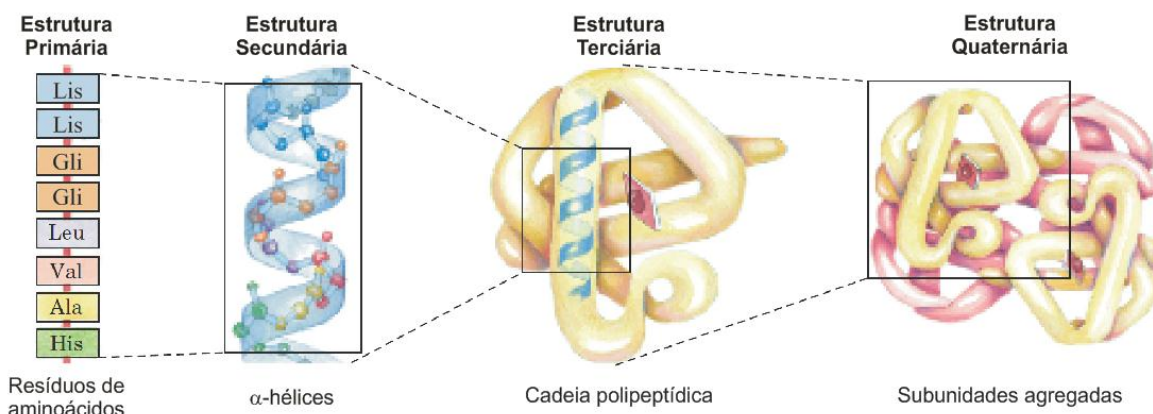


Figura 5. Representação das estruturas primária, secundária, terciária e quaternária de enzimas

Fonte: adaptado da referência 33

1.2.1. Classificação

As enzimas são classificadas em seis grandes classes de acordo com a reação que catalisam *in natura* (Quadro 1).³⁴ A nomenclatura é definida pela União Internacional de Bioquímica e Biologia Molecular (*IUBMB – International Union of Biochemistry and*

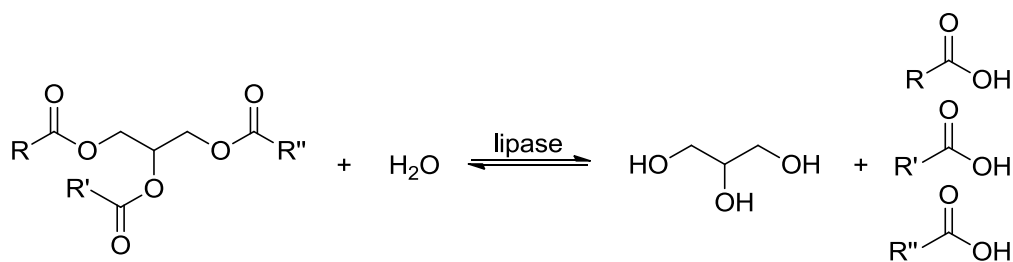
Molecular Biology) e utiliza a abreviação EC (*Enzyme Commission*) seguida de até quatro dígitos referentes à classe e subclasse da qual a enzima pertence.³⁵

Quadro 1. Classificação da enzima de acordo com o tipo de reação catalisada³⁴

Classes de enzimas	Algumas Subclasses	Reações catalisadas
Oxidorrredutases (EC 1)	Hidrogenases, oxidases, peroxidases	Oxidação e redução: ligações C-H, C-C, C=C, C=O
Transferases (EC 2)	Transaldolases Transcetolase	Transferência de grupos: aldeídico, cetônico, acila, açúcar, fosforila ou metila
Hidrolases (EC 3)	Esterases, lipases, peptidases celulases, amilases	Hidrólise e síntese de ésteres, amidas, epóxidos, nitrilas e anidridos, hidrólise de carboidratos
Liasas (EC 4)	Descarboxilases cetoacidoliasas	Adição e eliminação de pequenas moléculas a ligações C=C, C=N, C=O
Isomerases (EC 5)	Racemases epimerases, mutases	Isomerizações tais como racemização, epimerização
Ligases (EC 6)	DNA-ligases, NAD ⁺ sintetases	Síntese e clivagem de ligações C-O, C-S, C-N, C-C

1.2.2. Lipases

As lipases são classificadas pela comissão de nomeação de enzimas através do número EC 3.1.1.3, indicando que elas pertencem a grande classe das hidrolases (EC 3) atuando em ligações éster (EC 3.1), mais especificamente de ésteres carboxílicos (EC 3.1.1) de triacilgliceróis (EC 3.1.1.3).³⁶ Em seu ambiente natural, possuem a função de catalisar a hidrólise de triacilgliceróis aos ácidos graxos correspondentes e glicerol, ou a síntese de triacilgliceróis a partir de ácidos graxos e glicerol, dependendo da quantidade de água existente no meio (Esquema 4).³⁴



Esquema 4. Hidrólise de triacilgliceróis mediada por lipases

A estrutura 3D das lipases apresenta uma dobra padrão de α/β -hidrolases, com uma ordem definida de α -hélices e fitas β (Figura 6).³⁷ A maioria das lipases contém um

segmento helicoidal chamado de tampa hidrofóbica ou *lid*, que cobre o sítio ativo quando a enzima está em sua conformação fechada, ou não cataliticamente ativa. Na presença de um substrato hidrofóbico, a lipase pode sofrer uma mudança conformacional, a *lid* abre e a atividade enzimática é aumentada. A esse fenômeno dá-se o nome de ativação interfacial.³⁸

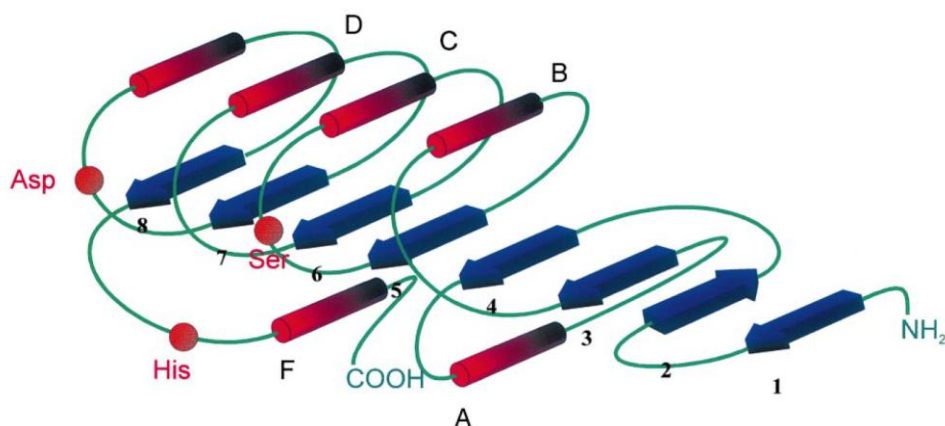


Figura 6. Representação esquemática da dobra padrão de α/β -hidrolases³⁷

1.2.2.1. Mecanismo de ação de lipases

A região da enzima onde ocorre a catálise, geralmente uma reentrância na superfície da molécula, é conhecida como sítio catalítico (Figura 7). O sítio catalítico das lipases é composto por uma tríade de resíduos de aminoácidos: serina (resíduo nucleofílico), histidina e um resíduo carboxílico de ácido aspártico ou glutâmico, semelhante à observada em serino-proteases.³⁹

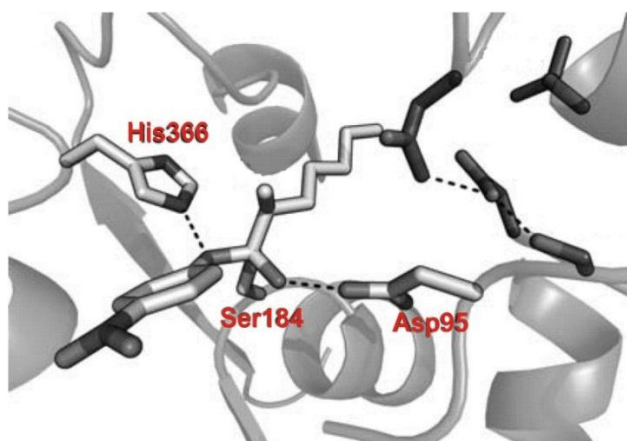
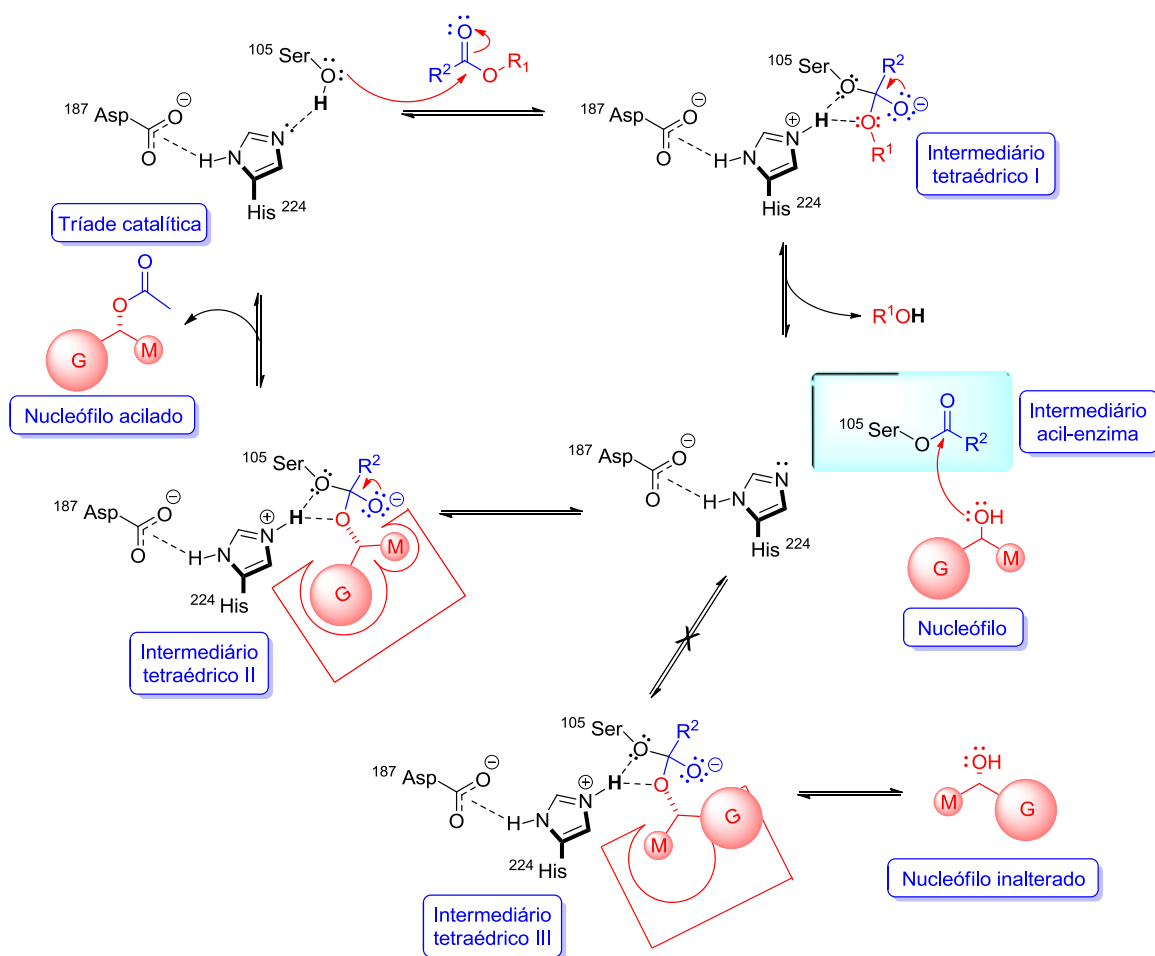


Figura 7. Representação do sítio catalítico da lipase A de *Candida antarctica* (CAL-A)⁴⁰

Esses resíduos de aminoácidos no sítio catalítico estão dispostos tridimensionalmente de tal maneira que, por meio de interações ácido-base, ocorre uma diminuição do pK_a da serina tornando-a mais nucleofílica.⁴¹

Considerando-se uma RCE de um álcool secundário via reação de transesterificação, o mecanismo dá-se primeiramente por meio de um ataque nucleofílico da serina à carboxila do composto doador acila, levando à formação do intermediário acil-enzima. O intermediário acil-enzima sofre o ataque nucleofílico do álcool presente no meio reacional, podendo levar aos intermediários tetraédricos II e III, que são estabilizados de forma distinta pelos outros resíduos de aminoácidos presentes no sítio catalítico, levando a formação de um produto acilado preferencial (Esquema 5).



Esquema 5. Representação do mecanismo de transesterificação mediada por lipases^{41, 34}

As enzimas catalisam essa reação através da diminuição da energia de ativação, como em qualquer outra reação catalisada, porém, de forma estereosseletiva. Em uma resolução cinética enzimática ideal, os enantiômeros A e B de um racemato interagem de maneira distinta com a estrutura quiral da enzima (Enz). Dessa forma, os complexos diastereoisoméricos enzima-substrato, formados a partir da interação de cada enantiômero

com a enzima, possuem diferentes valores de energia livre de Gibbs (ΔG) para seus respectivos estados de transição $[\text{EnzA}]^\ddagger$ e $[\text{EnzB}]^\ddagger$ (Figura 8). Como resultado observa-se uma diferença na energia de ativação ($\Delta\Delta G^\ddagger$) entre as reações de A e B com a enzima. Assim, se, por exemplo, o enantiômero B for melhor reconhecido pela enzima, o complexo diastereoisomérico EnzB levará ao estado de transição com menor energia, e B será transformado em Q mais rapidamente que o enantiômero A, que levaria ao produto P.³⁴ Se o processo biocatalítico for eficiente, espera-se que o valor de $\Delta\Delta G^\ddagger$ seja suficientemente grande ($\Delta\Delta G^\ddagger \geq 18,83 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$) para que somente um enantiômero seja transformado no produto desejado, assim a conversão ideal será de 50% e compostos envolvidos serão obtidos com elevada pureza óptica ($ee > 99\%$).⁴²

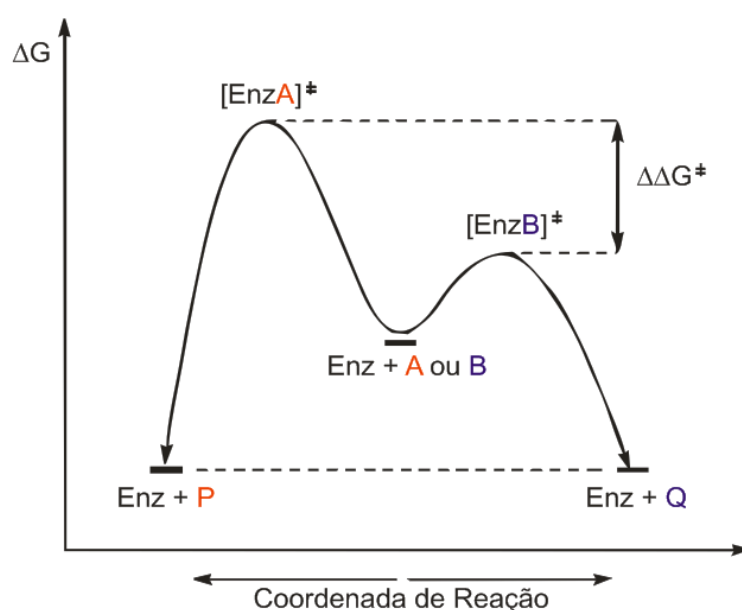


Figura 8. Diagrama de energia para uma reação enantiosseletiva catalisada por enzimas³⁴

Uma vez formado o complexo diastereoisomérico entre a enzima e o substrato, este pode sofrer o ataque de um nucleófilo presente no meio reacional. No caso das lipases, essas espécies nucleofílicas podem ser a água, a amônia, uma amina, uma hidrazina, o peróxido de hidrogênio ou um álcool (Figura 9).

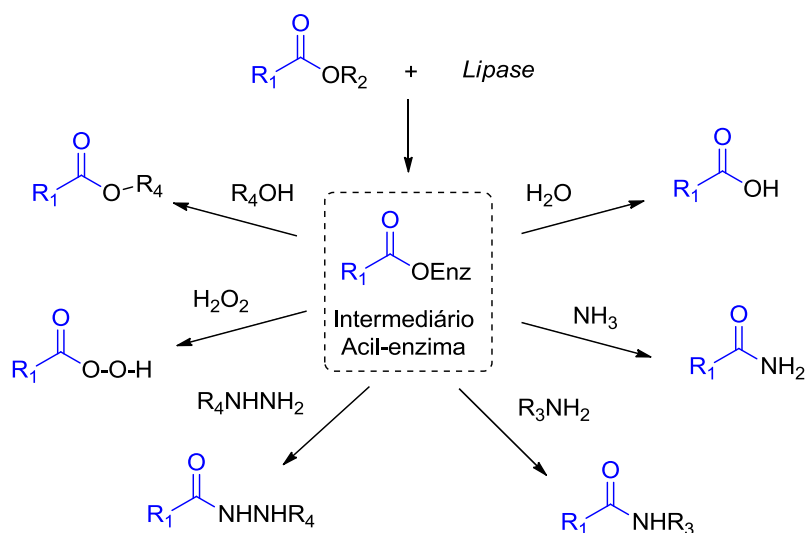


Figura 9. Diferentes nucleófilos aplicáveis às reações mediadas por lipases³⁴

1.2.2.2. Previsão da enantiosseletividade

Devido à quiralidade dos aminoácidos constituintes da estrutura molecular, as enzimas são catalisadores quirais e, como consequência, a quiralidade presente no substrato pode ser reconhecida pelo biocatalisador.

Várias teorias vêm sendo desenvolvidas a fim de explicar o mecanismo de ação enzimática, bem como sua enantiosseletividade, destacando-se o mecanismo proposto por Fisher em 1894, conhecido como “chave-fechadura” (Figura 10). Mesmo tendo sido aceito durante décadas, hoje este mecanismo não é mais utilizado, pois assumia que a estrutura tridimensional da enzima era completamente rígida.⁴³

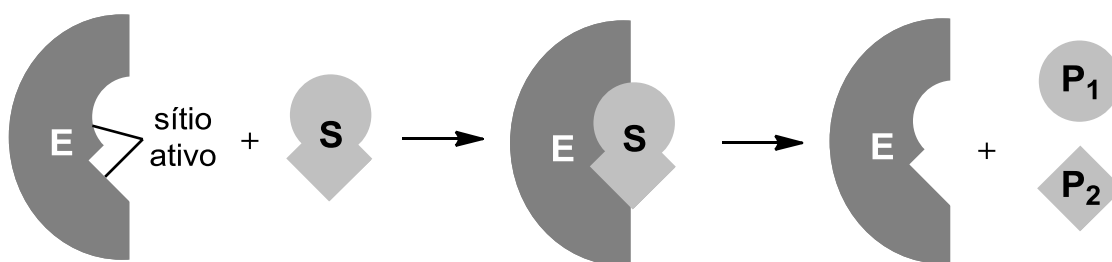


Figura 10. Mecanismo chave-fechadura proposto por Fisher

Fonte: adaptado da referência 44

Outro mecanismo foi proposto por Koshland em 1960, sugerindo que há a indução de uma mudança conformacional na enzima causada pela interação com o substrato, conformação esta responsável pelo processo catalítico (Figura 11).⁴⁵

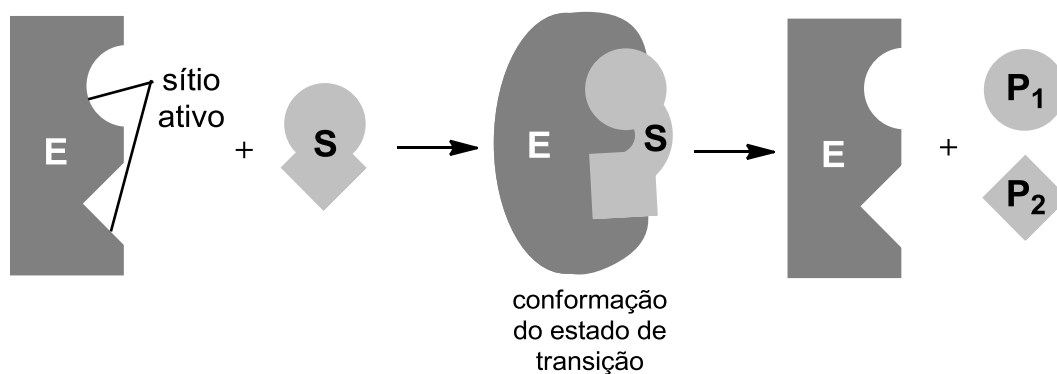


Figura 11. Modelo encaixe induzido proposto por Koshland

Fonte: adaptado da referência 44

Mais recentemente, em 1986 Dewar propôs a teoria da dessolvatação, comparando reações enzimáticas às reações que ocorrem em fase gasosa, baseado no fato de que, quando um substrato entra no sítio ativo da enzima, as moléculas de água ali presentes são substituídas. A teoria de Dewar foi expandida por Warshel e colaboradores em 1989, por um modelo conhecido como “solvatação substituição”, sugerindo que a água seria substituída por outro meio, fornecido pelo sítio ativo, causando uma substituição na solvatação.³⁴

Proposta por Ogston em 1948, a teoria chamada “regra dos três pontos” tenta explicar a enantiosseletividade de enzimas, sugerindo que a configuração correta do enantiômero que forma o complexo enzima/substrato é definida por três pontos de interação diferentes (A', A'' e A''') no sítio catalítico da enzima (Figura 12).⁴⁶

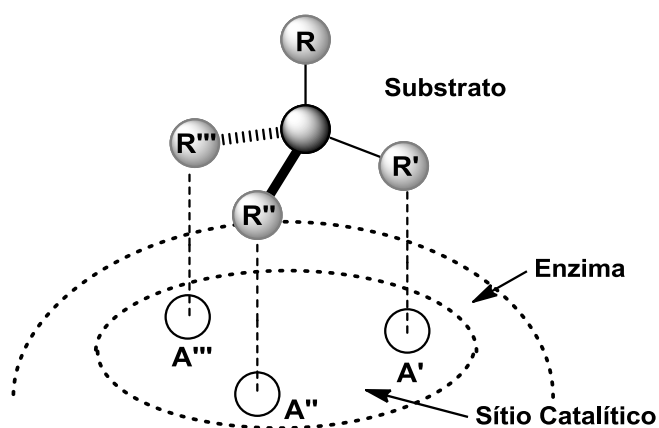


Figura 12. Representação da regra dos três pontos proposta por Ogston

Em 1964, Prelog⁴⁷ propôs um modelo para prever a enantiosseletividade em reações mediadas por oxido-redutases, o qual é baseado no tamanho dos substituintes ligados a carbonila, dando origem a um produto reduzido preferencial (Figura 13).

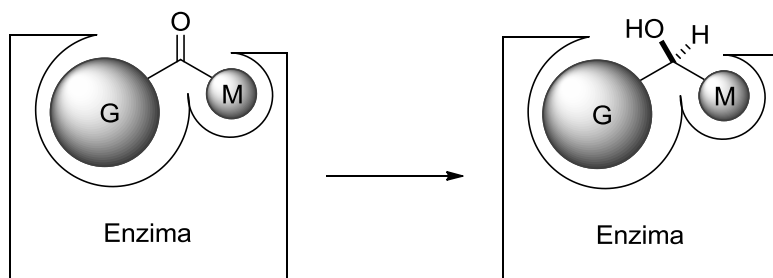


Figura 13. Representação do modelo proposto por Prelog

Baseado no modelo de Prelog, Kazlauskas e colaboradores⁴⁸ propuseram um modelo para a seletividade de lipases, o qual ficou conhecido como a regra de Kazlauskas. Essa regra também é baseada no tamanho dos substituintes ligados ao estereocentro, propondo que substratos que possuem substituintes com uma diferença significativa no tamanho sejam mais facilmente resolvidos do que substratos com substituintes com tamanho similar, e o enantiômero que possui o encaixe mais favorável no sítio ativo da enzima (Figura 14 – I) seria transformado mais rapidamente do que aquele que não o possui (Figura 14 – II).

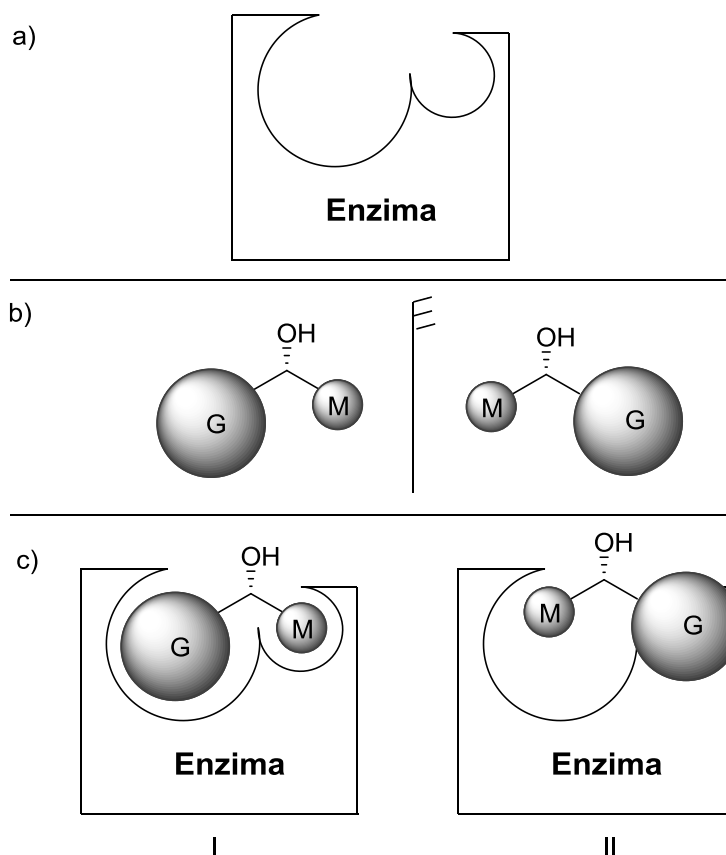


Figura 14. Representação da regra de Kazlauskas, onde G refere-se ao substituinte de tamanho grande e M refere-se ao substituinte de tamanho médio

A regra proposta por Kazlauskas foi testada em três enzimas (colesterol esterase, lipases de *Pseudomonas cepacia* e *Candida rugosa*) e esta foi extrapolada para as demais hidrolases, de modo a ser considerada um modelo de sítio ativo e substratos que seguem a regra de Kazlauskas são ditos como ideais.

1.2.2.3. Utilização de lipases em síntese orgânica

Além das funções metabólicas, as lipases possuem um papel importante em biotecnologia, principalmente na indústria do óleo e de alimentos, e em síntese orgânica, na preparação de compostos enantiomericamente enriquecidos.⁴⁹

A aplicação destacada das lipases em síntese orgânica se deve a alguns fatores: o principal é que as lipases não necessitam de cofatores para exercerem sua atividade e desta maneira podem ser empregadas como um reagente (no caso das oxirredutases, por exemplo, é necessária a adição de cofatores); elas normalmente apresentam uma alta quimiosseletividade, regioseletividade e estereosseletividade; muitas lipases estão disponíveis comercialmente (Quadro 2) ou podem ser facilmente obtidas em grandes quantidades de microrganismos, como fungos, leveduras e bactérias; a estrutura cristalina de muitas lipases já foi resolvida, facilitando consideravelmente o desenvolvimento de estratégias de design racional.⁵⁰

Quadro 2. Exemplos de lipases disponíveis comercialmente.⁵¹

Origem	Organismo produtor da lipase	Aplicações Biotecnológicas
Fungo	<i>Candida rugosa</i>	Síntese orgânica
	<i>Candida antarctica</i> A/B	Síntese orgânica
	<i>Thermomyces lanuginosus</i>	Aditivo de detergentes
	<i>Rhizomucor miehei</i>	Processamento de alimentos
Bactéria	<i>Burkholderia cepacia</i>	Síntese orgânica
	<i>Pseudomonas alcaligenes</i>	Aditivo de detergentes
	<i>Pseudomonas mendocina</i>	Aditivo de detergentes
	<i>Chromobacterium viscosum</i>	Síntese orgânica

Em síntese orgânica, lipases são muito utilizadas nas reações de RCE de álcoois, ésteres e aminas, principalmente devido a grande possibilidade de nucleófilos que podem ser utilizados em reações mediadas por essas enzimas (Figura 9).

Dentre as lipases utilizadas em síntese orgânica, destaca-se o uso da lipase B de *Candida antarctica* (CAL-B), principalmente na resolução de álcoois.^{52, 53, 54}

A lipase CAL-B é comercializada pela Novozymes® com o código 435, sendo produzida por fermentação submersa de um microrganismo *Aspergillus* modificado

geneticamente, e adsorvida em uma resina macroporosa de poli-metacrilato de metila (Lewatit VPOC 1600).^{55, 56}

Esta lipase apresenta termoestabilidade, sendo que sua atividade máxima encontra-se entre 70 e 80 °C (Figura 15).⁵⁷

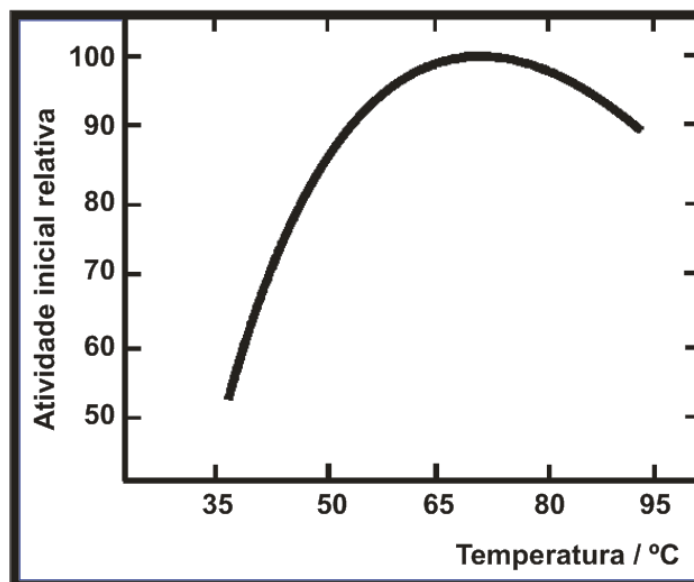
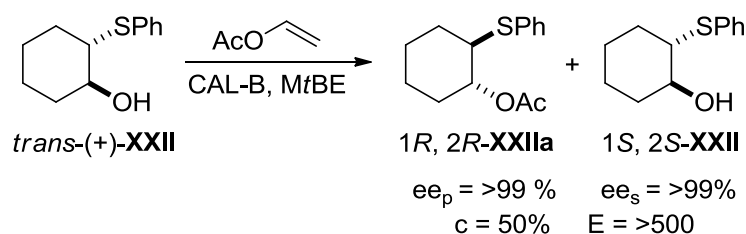


Figura 15. Comparação entre a atividade inicial relativa e temperatura para a lipase CAL-B⁵⁷

1.2.2.3.1. Utilização da enzima CAL-B na resolução de álcoois secundários

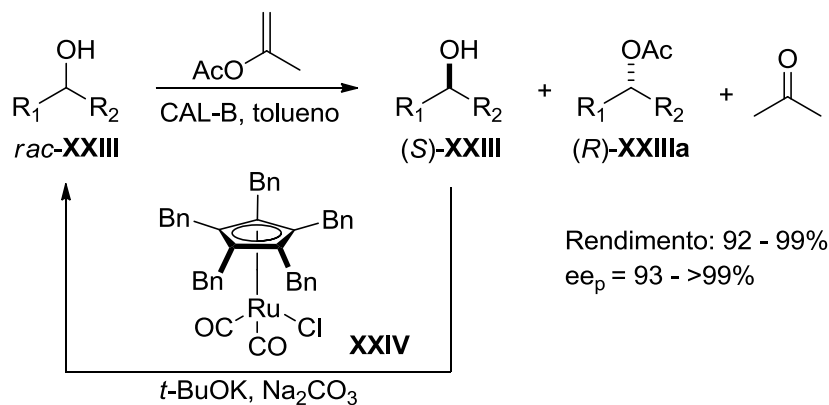
Chimni e colaboradores⁵⁸ publicaram a síntese de derivados do *trans*-2-(feniltio)cicloexanol (Esquema 6), sendo escolhida, após uma triagem com várias lipases, a enzima CAL-B para a resolução destes álcoois. Após a otimização das condições reacionais foi escolhido éter metil *terc*-butílico (MtBE) como solvente e acetato de vinila como doador acila, obtendo-se todos os derivados com excessos enantioméricos maiores que 99%.



Esquema 6. Resolução cinética enzimática de derivados do *trans*-2-(feniltio)ciclohexanol mediada por CAL-B

A enzima CAL-B também foi utilizada por Pääviö e colaboradores⁵⁹ na resolução cinética dinâmica (RCD) de álcoois secundários, utilizando acetato de isopropenila e o

complexo organometálico **XXIV** (Esquema 7) para a racemização do enantiômero que não reage na reação enzimática, obtendo os produtos acilados com altos excessos enantioméricos e rendimentos acima de 92%.



Esquema 7. Resolução cinética dinâmica de álcoois secundários mediada por CAL-B e o complexo organometálico **XXIV**.

R_1 = Arila ou Benzila, R_2 = Alquila

1.2.2.3.2. Reações de resolução cinética enzimática em sistemas de fluxo contínuo

Em reações sob fluxo contínuo os reagentes fluem pelos reatores e as reações ocorrem de maneira contínua, sendo que o tempo de reação é determinado pelo fluxo e volume interno do reator.⁶⁰

A utilização de sistemas de fluxo contínuo oferece diversas vantagens, tais como reprodutibilidade, menores tempos de reação e rápido aquecimento.^{61, 62} Devido a isso, esse tipo de sistema têm sido muito empregado em catálise,^{63, 64} sendo que, recentemente, alcançou a catálise enzimática.

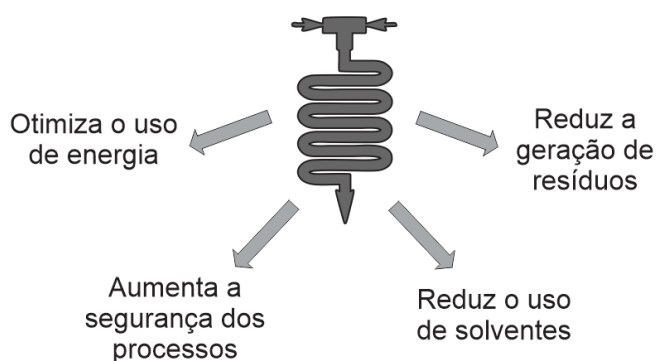
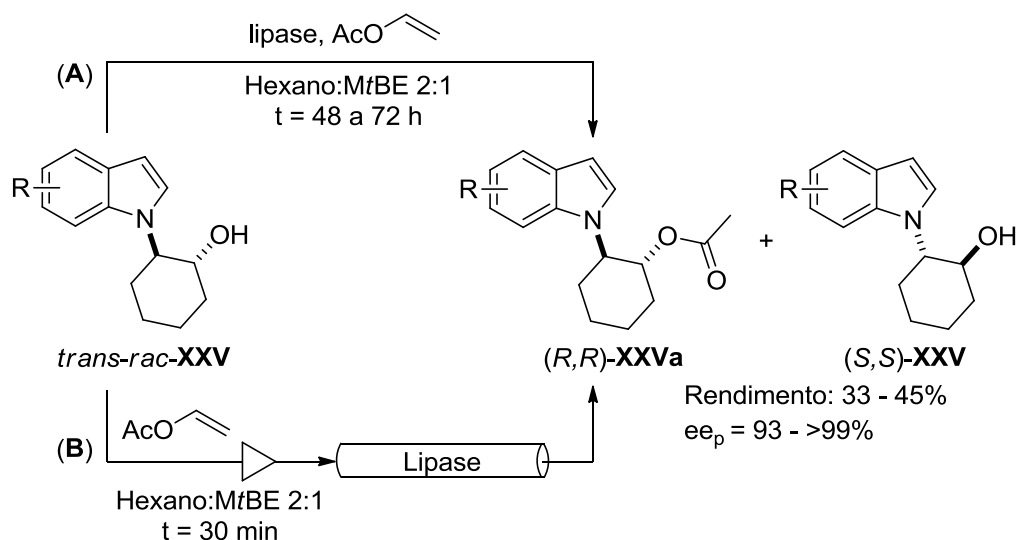


Figura 16. Princípios da química sustentável contemplados pelos sistemas de fluxo contínuo⁶⁰

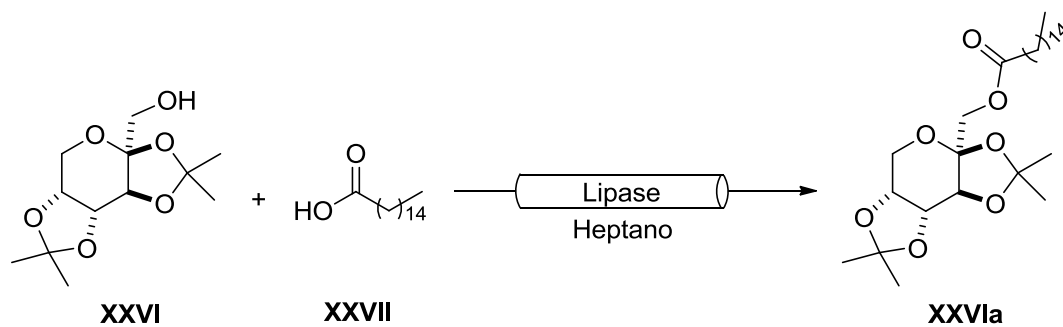
Em biocatálise, as vantagens apresentadas pelos sistemas de fluxo contínuo podem ser a não degradação do suporte da enzima, e principalmente a retirada do produto do meio reacional, pois sabe-se que este poderia causar a inibição da enzima.⁶⁰

Como exemplo da utilização de sistemas de fluxo contínuo em biocatálise, tem-se o trabalho publicado por Falus e colaboradores,⁶⁵ onde álcoois secundários foram submetidos a reações de RCE mediada por várias enzimas, tanto em sistemas de batelada **(A)** quanto em sistemas de fluxo contínuo **(B)** (Esquema 8). Os autores estudaram a influência da temperatura na produtividade e seletividade enzimática, encontrando vários biocatalisadores termoestáveis, obtendo alta enantiosseletividade preferencialmente em temperaturas mais altas (50-70 °C). Após a otimização das condições, a enzima CAL-B foi utilizada para a produção dos álcoois e respectivos acetatos em escala preparativa utilizando o sistema de fluxo contínuo.



Esquema 8. Resolução cinética enzimática de álcoois secundários em batelada **(A)** e em fluxo contínuo **(B)**

O uso de sistemas de fluxo contínuo também foi empregado por Sutili e colaboradores⁶⁶ na esterificação de derivados de frutose estericamente impedidos (Esquema 9). Uma grande desvantagem nesse tipo de reação, quando esta é realizada em batelada, é o tempo de reação necessário para alcançar rendimentos satisfatórios, sendo que, com a utilização do sistema em fluxo contínuo, os autores conseguiram altas conversões em tempos menores do que em batelada (24 h em batelada e 5 min em fluxo contínuo).



Esquema 9. Reação de esterificação do composto **XXVI** com ácido palmítico (**XXVII**) em sistemas de fluxo contínuo

Desta forma, devido à grande ascensão de sistemas de fluxo contínuo em biocatálise e poucos relatos existentes sobre a resolução cinética enzimática de álcoois benzílicos nesse tipo desse sistema, vislumbra-se uma oportunidade de utilização de sistemas de fluxo contínuo na resolução de álcoois secundários benzílicos, comparando o tempo de reação e os parâmetros de seletividade com aqueles obtidos em batelada de modo a verificar a eficiência do sistema.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Realizar um estudo comparativo entre os sistemas de fluxo contínuo e batelada visando estabelecer as melhores condições para a resolução cinética enzimática de álcoois benzílicos empregando a lipase B de *Candida antarctica* imobilizada.

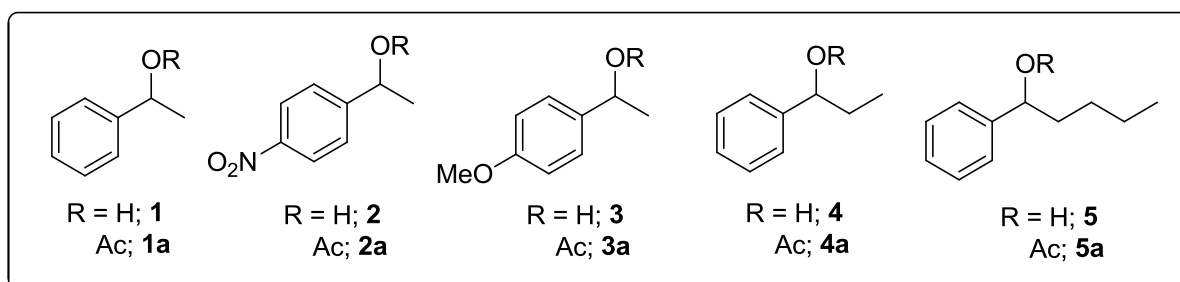
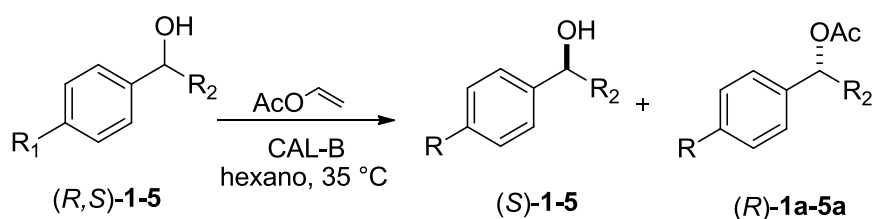
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Otimizar os parâmetros reacionais, tais como solvente, temperatura e doador acila, de modo a diminuir o tempo de reação;
- Investigar o efeito de grupos doadores e retiradores de elétrons no anel aromático em reações de resolução cinética enzimática;
- Investigar o efeito do tamanho do grupo ligado ao estereocentro em reações de resolução cinética enzimática;
- Otimização dos parâmetros operacionais para a realização de reações de resolução cinética enzimática em sistemas de fluxo contínuo;
- Comparar o tempo de reação em fluxo contínuo e em batelada.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. ESCOLHA DOS SUBSTRATOS

Em um trabalho realizado recentemente por Costa,⁶⁷ a lipase B de *Candida antarctica* (CAL-B), comercialmente disponível sob o nome Novozymes 435, foi empregada, juntamente com enzimas oriundas da técnica de prospecção metagenômica, na resolução do 1-feniletanol (**1**) e derivados via reação de transesterificação empregando acetato de vinila em hexano (Esquema 10).



Esquema 10. Reação de resolução cinética enzimática do 1-feniletanol e derivados via reação de transesterificação enantiosseletiva mediada por CAL-B.

Os resultados obtidos demonstraram a alta seletividade da enzima CAL-B frente a esses substratos, resultando em excessos enantioméricos maiores que 99% para todos os álcoois, no entanto, foi necessário um tempo de reação alto para atingir a conversão ideal, conforme o aumento da cadeia carbônica ligada ao estereocentro (Tabela 2).

Tabela 2. Reação de resolução cinética enzimática dos álcoois 1-5 mediada por CAL-B a 35 °C em batelada⁶⁷

$$\begin{array}{c}
 \text{R}_1\text{CH(OH)R}_2 \\
 \text{(R,S)-1-5}
 \end{array}
 \xrightarrow[\text{hexano, 35 }^\circ\text{C}]{\text{AcO-CH=CH}_2, \text{ CAL-B}}
 \begin{array}{c}
 \text{R}_1\text{CH(OAc)R}_2 \\
 \text{(R)-1a-5a}
 \end{array}
 +
 \begin{array}{c}
 \text{R}_1\text{CH(OH)R}_2 \\
 \text{(S)-1-5}
 \end{array}$$

Entrada	Álcool	Tempo / h	c / %	ee / %		E
				(S)-álcool	(R)-éster	
1		2	50	>99	>99	>200
2		36	50	>99	>99	>200
3		24	50	>99	>99	>200
4		36	50	>99	>99	>200
5		216	43	75	>99	>200

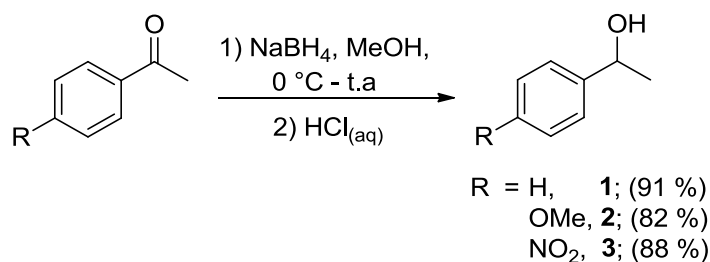
Naquele trabalho, o efeito de grupos doadores e retiradores de elétrons no anel aromático foi investigado, bem como o comportamento da enzima frente a álcoois estericamente impedidos. A avaliação da performance enzimática frente a álcoois estericamente impedidos é interessante devido ao fato de que eles, por apresentarem grupos maiores ligados ao estereocentro, podem ter o acesso dificultado ao sítio ativo enzimático.

Como as condições reacionais não foram otimizadas para a RCE destes álcoois e, visto que, o tempo de reação foi muito longo em alguns casos, configura-se uma oportunidade de estudo da RCE destes substratos.

3.2. SÍNTESE DOS COMPOSTOS DE INTERESSE

3.2.1. Síntese dos álcoois 1-3

Os álcoois **1-3** foram sintetizados via redução da acetofenona correspondente utilizando NaBH_4 em metanol (Esquema 11).⁶⁸



Esquema 11. Síntese dos álcoois **1-3** via redução da acetofenona correspondente com NaBH_4 em MeOH

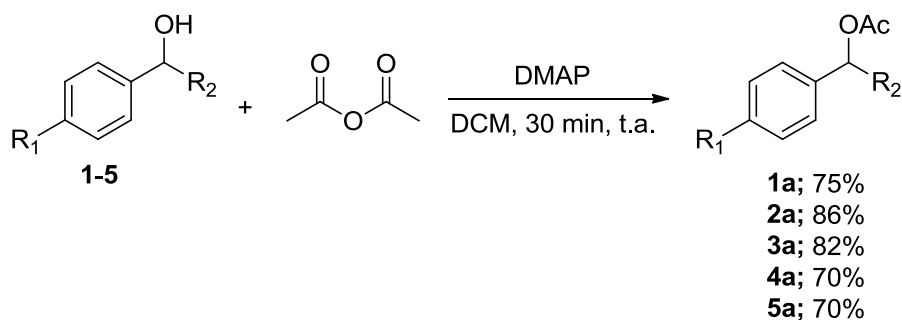
Os produtos foram obtidos na forma de líquidos translúcidos incolores (**1** e **2**) ou amarelo (**3**) e a caracterização dos compostos está de acordo com dados encontrados na literatura.^{69, 70, 71}

3.2.2. Obtenção dos álcoois 4 e 5

Os álcoois **4** e **5** estavam disponíveis no laboratório e foram submetidos à caracterização espectrométrica a fim de que a pureza fosse confirmada e apresentaram dados de acordo com a literatura.^{72, 73, 74,75}

3.2.3. Síntese dos ésteres 1a-5a

A síntese dos ésteres **1a-5a** foi realizada para a utilização destes compostos como padrões cromatográficos no acompanhamento das reações de transesterificação dos álcoois. As reações de síntese dos ésteres de interesse foram realizadas a partir dos respectivos álcoois racêmicos, utilizando anidrido acético como agente acilante, *N,N*-dimetilaminopiridina (DMAP) como catalisador e diclorometano (DCM) como solvente (Esquema 12).



Esquema 12. Síntese dos ésteres **1a-5a** via acetilação com anidrido acético e DMAP

Os produtos foram obtidos na forma de líquidos incolores a amarelados, com exceção do composto **3a** que foi obtido na forma de um sólido amarelo. A caracterização dos compostos está de acordo com dados encontrados na literatura.^{76, 77, 78, 79, 80}

3.3. REAÇÕES DE RESOLUÇÃO CINÉTICA ENZIMÁTICA

Para todas as reações de resolução cinética enzimática (RCE) dois parâmetros foram assumidos: o primeiro foi que para que fossem calculados os parâmetros de enantiosseletividade a conversão mínima deveria ser maior que 5% e o segundo foi que, para o sistema de batelada, o tempo máximo de reação seria de 96 horas nas reações de otimização e 216 horas nas reações de RCE. Os parâmetros conversão e pureza enantiomérica foram determinados a partir das áreas observadas para cada composto nos cromatogramas e aplicação das equações apropriadas.*

Para a otimização das condições reacionais, o álcool **5** foi selecionado por ser o mais impedido estericamente, conseqüentemente, a reação de RCE poderia necessitar de tempo maior, tal qual observado no trabalho de Costa,⁶⁷ onde foram necessárias 216 horas para alcançar 43% de conversão ao éster correspondente.

As condições reacionais foram otimizadas utilizando o sistema em batelada, em vials de 4 mL com tampa e rosca, sendo utilizado 0,1 mmol de substrato, 0,4 mmol de acilante, 2 mL de solvente, 20 mg de CAL-B e mantendo o meio reacional sob agitação magnética.

3.3.1. Investigação do efeito do solvente na resolução cinética enzimática do 1-fenilpentanol (**5**)

Já é conhecido que as condições reacionais (solvente, temperatura, pH, agente acilante) podem apresentar um efeito significativo na seletividade de reações catalisadas

* Equações 1 e 2 descritas na parte experimental deste documento

por enzimas.⁸¹ Também é de fundamental importância que o substrato seja solúvel no solvente utilizado, de modo a facilitar a interação enzima-substrato.

Considerando que a estabilidade de lipases em solventes orgânicos é um parâmetro importante para possíveis aplicações industriais, o efeito do solvente orgânico na reação de acilação do 1-fenilpentanol (**5**) foi avaliado. Para tanto, foram utilizados cinco solventes, sendo acetonitrila (log P = - 0,3), éter metil *tert*-butílico - MfBE (log P = 0,9), tolueno (log P = 2,7), hexano (log P = 3,6) e heptano (log P = 4,0), foi utilizado acetato de vinila e a temperatura foi mantida a 35 °C.

Nas condições reacionais testadas, a reação mediada pela enzima CAL-B apresentou valores de conversão menores do que 5%, então, como estratégia para aumentar estes valores, optou-se por aumentar a temperatura, pois sabe-se que um acréscimo de 10 °C pode duplicar a velocidade de uma reação,⁸² sendo adotada a temperatura de 50 °C para as reações seguintes.

Os resultados obtidos para a acetilação do 1-fenilpentanol (**5**) em batelada a 50 °C estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Resolução cinética enzimática do 1-fenilpentanol (**5**) mediada pela enzima CAL-B em diferentes solventes

(R,S)-**5** $\xrightarrow[\text{solvente, 50 °C}]{\text{AcO-CH=CH}_2, \text{ CAL-B}}$ (R)-**5a** + (S)-**5**

Entrada	Solvente	Tempo (h)	c (%) ^a	ee(%) ^b		E ^c
				(S)-álcool	(R)-éster	
1	Heptano	96	8	6	>99	>200
2	Hexano	96	10	15	>99	>200
3	Tolueno	96	5	7	>99	>200
4	MfBE	96	<5	nd*	nd*	nd*
5	ACN	96	<5	nd*	nd*	nd*

Condições reacionais: 0,1 mmol de substrato, 0,4 mmol de acetato de vinila, 2 mL de hexano e 20 mg de CAL-B. ^a conversão: determinada por comparação das áreas observadas no cromatograma; ^b excesso enantiomérico: $(R - S) / (R + S) \times 100$; ^c razão enantiomérica: $E = \ln \{ [ee_p (1 - ee_s)] / (ee_p + ee_s) \} / \ln \{ [ee_p (1 + ee_s)] / (ee_p + ee_s) \}$; * não determinado devido à baixa conversão; MfBE = éter metil *tert*-butílico; ACN = acetonitrila

A reação de acilação do 1-fenilpentanol (**5**) em hexano apresentou 10% de conversão, excesso enantiomérico do éster (R) >99% e excesso enantiomérico do álcool

(S) que não reagiu de 15%, justificado em função da baixa conversão, resultando em uma razão enantiomérica >200 (Tabela 3 – entrada 2). Quando a reação foi realizada em heptano, os valores de conversão e excesso enantiomérico do substrato tiveram um leve decréscimo (8% e 6%, respectivamente), no entanto, o excesso enantiomérico do produto manteve-se em >99%, resultando em uma razão enantiomérica também >200 (Tabela 3 – entrada 1). Quando foi utilizado tolueno como solvente, observou-se um decréscimo ainda maior nos valores de conversão e excesso enantiomérico do álcool (S) (5% e 7%, respectivamente), mantendo-se o excesso do éster (R) (>99%) (Tabela 3 – entrada 3). As reações em MIBE e em ACN (Tabela 3 – entradas 4 e 5) apresentaram valores de conversão menores do que 5%, portanto, os parâmetros de enantiosseletividade não foram calculados.

Os resultados obtidos demonstraram uma evidente relação entre a hidrofobicidade do solvente e a atividade enzimática, visto que as reações em solventes mais hidrofóbicos, ou seja, aqueles que possuem maior log P (hexano e heptano), apresentaram maiores valores de conversão. Tal fato já era esperado, visto que o valor de log P de solventes pode ser correlacionado com a atividade e estabilidade de enzimas,⁸³ pois sabe-se que solventes mais hidrofóbicos têm uma menor capacidade de retirar a água de hidratação da enzima, deixando-a em sua forma cataliticamente ativa. Por outro lado, solventes com menor hidrofobicidade podem retirar a água da enzima, podendo resultar na alteração do arranjo estrutural da enzima, havendo uma diminuição da atividade enzimática, ou ainda, desnaturando-a.^{84, 85, 86}

Uma vez que a enzima CAL-B apresentou melhor atividade quando utilizado hexano como solvente, optou-se por utilizar este solvente nas etapas posteriores do trabalho.

Apesar da otimização do solvente para a reação de RCE do álcool **5**, ainda foi necessário um tempo de reação relativamente alto para atingir valores de conversão considerados satisfatórios, sendo necessária a otimização de outras condições reacionais.

3.3.2. Investigação do efeito do doador acila na resolução cinética enzimática do 1-fenilpentanol (**5**)

Considerando-se que o primeiro intermediário acil-enzima do mecanismo enzimático (Esquema 5) é formado entre a enzima e o composto carbonilado (no caso de reações de acetilação, o doador acila), é de fundamental importância a investigação desse parâmetro reacional.

Foram testados 5 compostos na reação de acilação do 1-fenilpentanol, sendo três anidridos e dois ésteres (Figura 17), mantendo as condições reacionais otimizadas anteriormente, ou seja, hexano como solvente e temperatura de 50 °C. Os resultados estão expressos na Tabela 4.

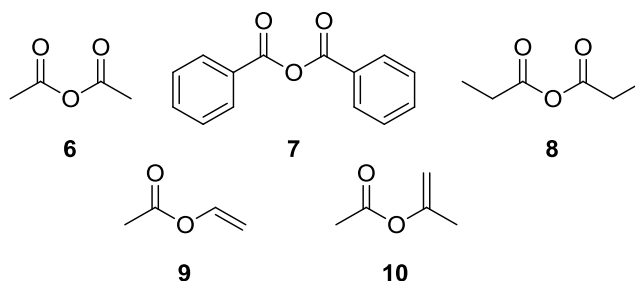


Figura 17. Compostos utilizados como doadores acila na reação de resolução cinética enzimática

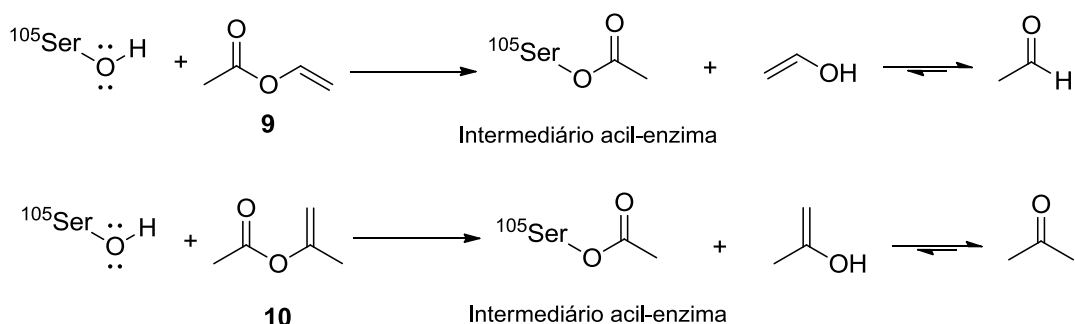
Tabela 4. Resolução cinética enzimática do 1-fenilpentanol (**5**) mediada pela enzima CAL-B utilizando diferentes doadores acila

Entrada	Doador acila	Tempo / h	c ^a / %	ee ^b / %		E ^c
				(S)-álcool	(R)-éster	
1		96	80	0	0	1
2		96	24	0	0	1
3		96	71	0	0	1
4		96	10	15	>99	>200
5		96	11	15	>99	>200

Condições reacionais: 0,1 mmol de substrato, 0,4 mmol de doador acila, 2 mL de hexano e 20 mg de CAL-B. ^a conversão: determinada por comparação das áreas observadas no cromatograma; ^b excesso enantiomérico: $(R - S) / (R + S) \times 100$; ^c razão enantiomérica: $E = \ln \{ [ee_p (1 - ee_s)] / (ee_p + ee_s) \} / \ln \{ [ee_p (1 + ee_s)] / (ee_p + ee_s) \}$

Quando acetato de vinila (**9**) e acetato de isopropenila (**10**) foram utilizados como agentes acilantes, os valores de conversão (10% e 11%, respectivamente) e excessos enantioméricos (15% para o substrato e >99% para o produto) mantiveram-se similares (Tabela 4 – entradas 4 e 5). Ao utilizar os anidridos **6**, **7** e **8**, os valores de conversão foram altos (80%, 24% e 71%, respectivamente), no entanto, o produto foi obtido na sua forma racêmica (excesso enantiomérico do substrato e produto de 0%) (Tabela 4 – entradas 1, 2 e 3).

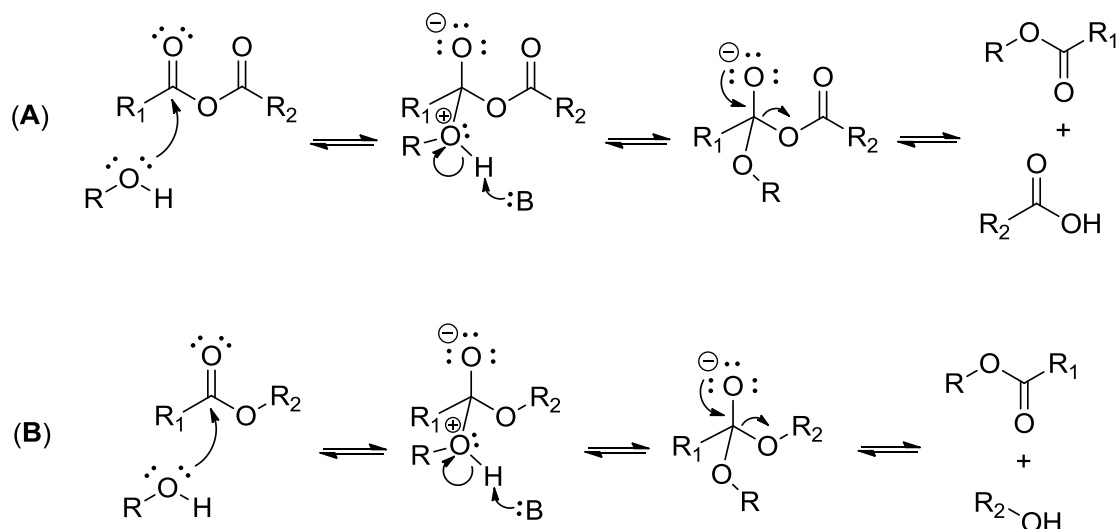
A similaridade entre os resultados observados para os acilantes **9** e **10** pode ser explicada devido ao fato de que, após a formação do intermediário acil-enzima, são liberados enóis, os quais tautomerizam para sua forma carbonilada (Esquema 13). A reação empregando acetato de vinila (**4**) libera para o meio o acetaldeído, cujo ponto de ebulição (20 °C) está abaixo da temperatura do meio reacional. Assim, ao ser formado o acetaldeído evapora do meio reacional deslocando o equilíbrio para a formação do intermediário acil-enzima. O mesmo ocorre com a acetona, forma tautomérica do subproduto da reação com o acetato de isopropenila, que apresenta ponto de ebulição (56 °C) próximo à temperatura do meio reacional, podendo também levar ao deslocamento do equilíbrio.



Esquema 13. Reagentes empregados como doadores de acila na reação de resolução cinética enzimática e o enol produzido como subproduto

A formação do produto da reação de RCE na forma de racemato quando foram utilizados os compostos **6-8** deve-se ao fato de que os anidridos empregados reagiram com o substrato sem a participação da enzima, não havendo reconhecimento quiral. A reação controle também demonstrou a conversão do álcool nos ésteres correspondentes.

Tal fato era esperado, visto que anidridos possuem uma maior reatividade do que ésteres em reações de transesterificação, pois, após a formação do intermediário tetraédrico, oriundo do ataque nucleofílico do álcool, há a eliminação de molécula de ácido carboxílico (Esquema 14 – A), enquanto que na reação com um éster, há a eliminação de uma molécula de álcool (Esquema 14 – B) e sabe-se que a ordem de reatividade é inversamente proporcional a basicidade do grupo abandonador.⁸⁷



Esquema 14. Representação do mecanismo de acilação de um álcool empregando um anidrido (A) e um éster (B)

Em função dos resultados obtidos, optou-se por utilizar o acetato de vinila como doador acila nos experimentos posteriores.

3.3.3. Resolução cinética enzimática dos álcoois **1-5** mediada por CAL-B em batelada

Após a otimização das condições reacionais, os álcoois **1-5** foram submetidos a reação de RCE mediada pela enzima CAL-B, utilizando hexano como solvente a 50 °C e acetato de vinila como doador acila. Os resultados obtidos estão descritos na Tabela 5, sendo que o tempo de reação está descrito como aquele em que a conversão está mais próxima da ideal (50%).

Tabela 5. Resolução cinética enzimática dos álcoois **1-5** em batelada mediada por CAL-B em hexano a 50 °C e utilizando acetato de vinila como doador acila

$$\text{R}_1\text{-CH(OH)-R}_2 \xrightarrow[\text{hexano, 50 }^\circ\text{C}]{\text{AcO-CH=CH}_2, \text{ CAL-B}} \text{R}_1\text{-CH(OAc)-R}_2 + \text{R}_1\text{-CH(OH)-R}_2$$

$(R,S)\text{-1-5} \quad \quad \quad (R)\text{-1a-5a} \quad \quad \quad (S)\text{-1-5}$

Entrada	Álcool	Tempo / h	c ^a / %	ee ^b / %		E ^c
				(S)-álcool	(R)-éster	
1		1	50	>99	>99	>200
2		6	50	>99 ^d	>99	>200
3		3	50	>99	>99	>200
4		9	50	>99 ^d	>99	>200
5		216	20	28	>99	>200

Condições reacionais: 0,1 mmol de substrato, 0,4 mmol de acetato de vinila, 2 mL de hexano e 20 mg de CAL-B. ^a conversão: determinada por comparação das áreas observadas no cromatograma; ^b excesso enantiomérico: $(R - S) / (R + S) \times 100$; ^c razão enantiomérica: $E = \ln \{ [ee_p (1 - ee_s)] / (ee_p + ee_s) \} / \ln \{ [ee_p (1 + ee_s)] / (ee_p + ee_s) \}$; ^d Determinado indiretamente via derivatização do álcool ao propionato correspondente

A RCE do álcool **1** alcançou a conversão ideal com apenas uma hora de reação, apresentando altos valores de excesso enantiomérico tanto para o substrato quanto para o produto (>99% em ambos os casos) (Tabela 5 – entrada 1). Deve-se ressaltar que o 1-feniletanol é considerado um substrato modelo para as reações de RCE, visto que sua estrutura apresenta grande diferença de tamanho entre os grupos ligados ao centro de quiralidade (Figura 18), portanto, a alta enantiosseletividade da enzima CAL-B frente esse substrato já era esperada e está de acordo com relatos encontrados na literatura.⁵³

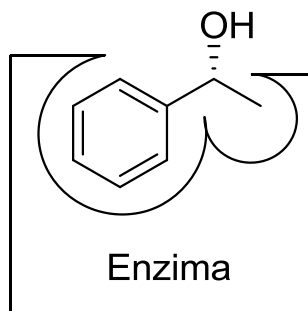


Figura 18. Representação do encaixe do composto **1** no sítio ativo enzimático segundo modelo proposto por Kazlauskas

Para o álcool **2**, o qual apresenta um grupo doador de densidade eletrônica na posição *para*, foi necessário um tempo maior (6 horas) para atingir a conversão esperada quando comparado ao álcool **1**, apresentando valores de excesso enantiomérico maiores que 99% para substrato e produto (Tabela 5 – entrada 2). A alta seletividade da enzima CAL-B frente a esse substrato já foi descrita na literatura.^{90,91}

A reação de RCE do álcool **3**, o qual apresenta um grupo retirador de densidade eletrônica na posição *para*, alcançou a conversão esperada com 3 horas de reação, com excesso enantiomérico do substrato maior que 99%, tal como o excesso enantiomérico do produto (Tabela 5 – entrada 3). A alta seletividade da reação já era esperada devido a relatos encontrados na literatura,^{91, 67} no entanto, foi necessário um tempo de reação muito menor, justificável em função da otimização prévia das condições reacionais.

Para a reação de RCE do álcool **4**, foi necessário um tempo um pouco maior para alcançar 50% de conversão quando comparado com o 1-feniletanol. Isto deve-se ao fato de que o álcool **4** apresenta um grupo etila ligado ao centro de quiralidade, sendo um pouco mais volumoso que o álcool **1**, que possui um grupo metila, podendo dificultar o acesso deste nucleófilo ao sítio ativo da enzima. Apesar do maior tempo de reação quando comparado ao 1-feniletanol, os valores de excesso enantiomérico foram altos (>99% para substrato e produto) e a razão enantiomérica foi maior que 200. Os resultados encontrados para a RCE do álcool **4** foram melhores do que relatos existentes na literatura, onde foi alcançado 45% de conversão, com excesso enantiomérico do produto de 94%.⁸⁹

Na reação de RCE do álcool **5**, mesmo após 216 horas de reação a conversão ideal não foi alcançada, permanecendo em 20%, apresentando excesso enantiomérico do produto maior que 99% e excesso enantiomérico do substrato de 28%, justificado devido à baixa conversão. Dentre os álcoois estudados, o álcool **5** é o que possui o maior impedimento estérico, visto que apresenta um grupo butila ligado ao centro de quiralidade, o que poderia dificultar o acesso ao sítio ativo enzimático.

Apesar da baixa conversão observada na reação empregando o álcool **5**, existem relatos na literatura de que essa reação não ocorreu mesmo após 10 dias quando utilizado éter isopropílico como solvente.⁹²

Deve-se ressaltar que, nas reações realizadas em batelada, o meio reacional foi mantido sob agitação magnética e, devido ao atrito da barra magnética com o suporte da enzima, foi observado que com o passar do tempo o mesmo começava a desintegrar o que pode ter levado a um lixiviação da enzima durante o decorrer da reação (Figura 19), que, por sua vez, pode ter causado perda da atividade. Assim, a baixa taxa de conversão poderia estar relacionada tanto às características estruturais da molécula do álcool, quanto à degradação do suporte onde a CAL-B estava imobilizada.

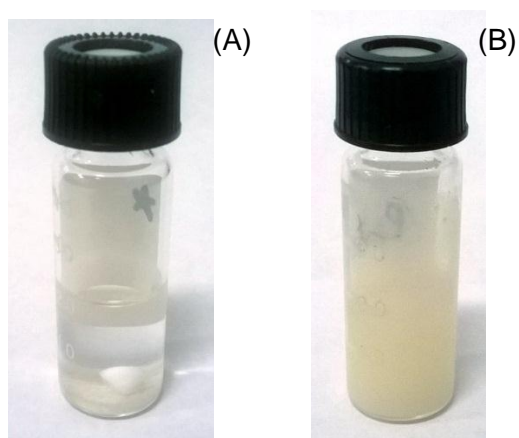
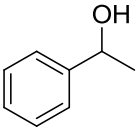
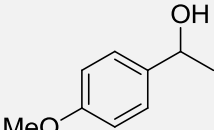
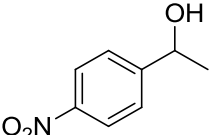
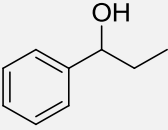
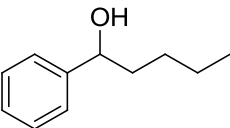


Figura 19. Meio reacional no início (A) e ao final (B) da reação de resolução cinética enzimática do 1-fenilpentanol

Os resultados obtidos na reação de RCE dos álcoois **1-4** demonstraram um decréscimo no tempo de reação quando comparados aos resultados anteriores⁶⁷ (Tabela 6), no entanto, ainda foram necessárias algumas horas de reação para alcançar a conversão ideal. Portanto, para diminuir ainda mais o tempo de reação, as reações de RCE dos álcoois **1-5** foram realizadas também no sistema de fluxo contínuo.

Tabela 6. Comparação do tempo de reação dos álcoois **1-5** a 35 °C⁶⁷ e a 50 °C

Entrada	Álcool	Tempo _{50 °C} / Tempo _{35 °C} /	
		h	h
1		1	2
2		6	36
3		3	24
4		9	36
5		216 ^a	216 ^b

^a 20% de conversão do álcool **5** ao éster **5a**; ^b 43% de conversão do álcool **5** ao éster **5a**

3.3.4. Reações de resolução cinética enzimática em sistemas de fluxo contínuo

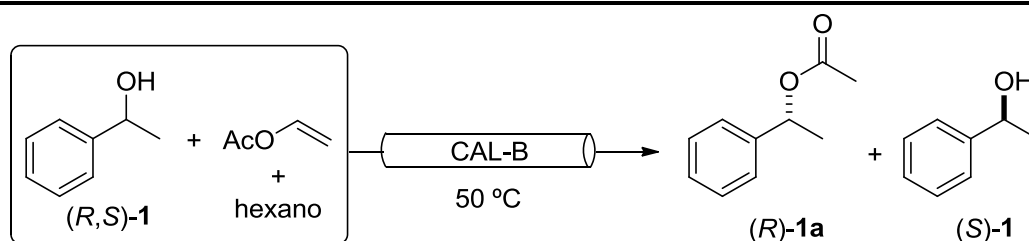
3.3.4.1. Estudo da concentração na resolução cinética enzimática do álcool **1**

A concentração escolhida para a realização das reações de RCE no sistema de fluxo contínuo foi de 0,1 mmol mL⁻¹, por estar próxima da concentração utilizada em sistemas de batelada, no entanto, um estudo de concentração também foi realizado para o álcool **1**.

Neste estudo, foi analisada a capacidade da enzima CAL-B em resolver maiores quantidades de substrato, mantendo o fluxo de 1 mL min⁻¹, o qual foi otimizado para a menor concentração. Foram testadas as concentrações de 0,1 mmol mL⁻¹, 0,2 mmol mL⁻¹, 0,5 mmol mL⁻¹, 1 mmol mL⁻¹ e 1,5 mmol mL⁻¹.

Os resultados obtidos na RCE do álcool **1** em diferentes concentrações e fluxo de 1 mL min⁻¹ estão dispostos na Tabela 7.

Tabela 7. Resolução cinética enzimática do 1-feniletanol (**1**) mediada pela enzima CAL-B em fluxo contínuo utilizando diferentes concentrações e fluxo de 1 mL min⁻¹



Entrada	Concentração / mmol mL ⁻¹	c ^a / %	ee ^b / %		E ^c
			(S)-álcool	(R)-éster	
1	0,1	50	>99	>99	>200
2	0,2	47	79	>99	>200
3	0,5	30	55	>99	>200
4	1	20	41	>99	>200

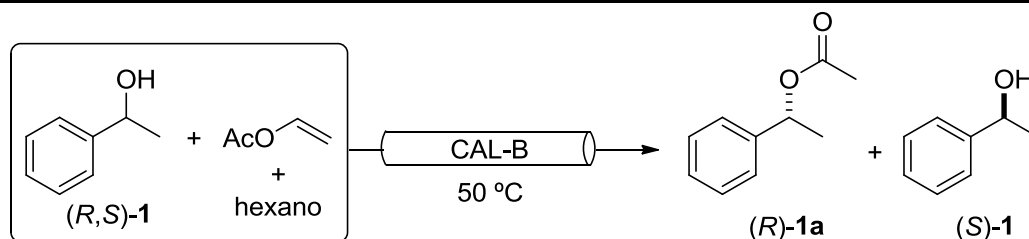
Condições reacionais: 4 equivalentes de acetato de vinila em relação a quantidade de substrato, 2 mL de hexano e fluxo de 1 mL min⁻¹. ^a conversão: determinada por comparação das áreas observadas no cromatograma; ^b excesso enantiomérico: $(R - S) / (R + S) \times 100$; ^c razão enantiomérica: $E = \ln \{ [ee_p (1 - ee_s)] / (ee_p + ee_s) \} / \ln \{ [ee_p (1 + ee_s)] / (ee_p + ee_s) \}$

Os resultados obtidos demonstraram que o aumento da concentração do substrato levou a uma diminuição na conversão, possivelmente devido à saturação da enzima, sendo que a passagem de substrato pela coluna sem “contato” com a enzima pode ter ocorrido e assim, a conversão foi afetada.

Devido aos resultados observados, um estudo foi realizado para encontrar a vazão ótima para cada concentração. Os resultados obtidos estão dispostos na Tabela 8, sendo que o fluxo apresentado é aquele em que foi alcançada a conversão ideal (50%).

Quando a concentração foi aumentada para 1,5 mmol mL⁻¹, a reação não alcançou a conversão ideal mesmo quando o menor fluxo foi utilizado. Portanto, quando concentrações maiores que 1 mmol mL⁻¹ são utilizadas, um maior número de ciclos seria necessário.

Tabela 8. Otimização da vazão na reação de resolução cinética enzimática do 1-feniletanol (**1**) mediada pela enzima CAL-B em diferentes concentrações



Entrada	Concentração / mmol mL ⁻¹	Fluxo / mL min ⁻¹	c ^a / %	ee ^b / %		E ^c
				(S)-álcool	(R)-éster	
1	0,1	1	50	>99	>99	>200
2	0,2	0,5	50	>99	>99	>200
3	0,5	0,3	50	>99	>99	>200
4	1	0,1	50	>99	>99	>200

Condições reacionais: 4 equivalentes de acetato de vinila em relação a quantidade de substrato e 5 mL de hexano. ^a conversão: determinada por comparação das áreas observadas no cromatograma; ^b excesso enantiomérico: $(R - S) / (R + S) \times 100$; ^c razão enantiomérica: $E = \ln \{ [ee_p (1 - ee_s)] / (ee_p + ee_s) \} / \ln \{ [ee_p (1 + ee_s)] / (ee_p + ee_s) \}$

Os resultados obtidos apresentaram uma relação exponencial entre a concentração da solução e a vazão utilizada (Figura 20), indicando que um tempo de contato maior com a enzima é necessário quando aumenta-se a concentração do álcool.

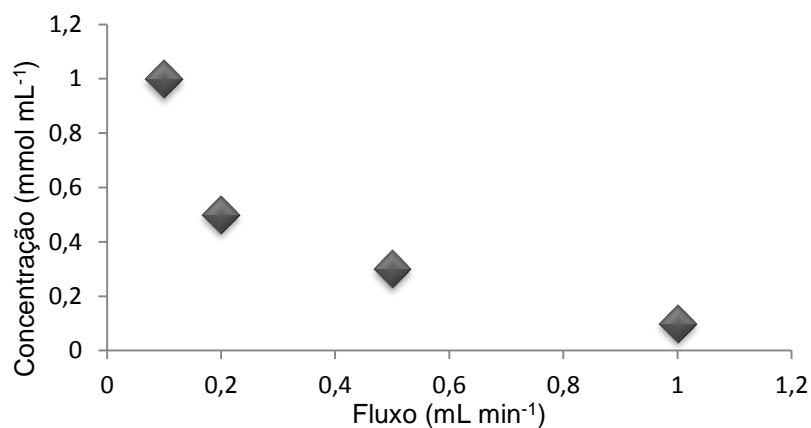
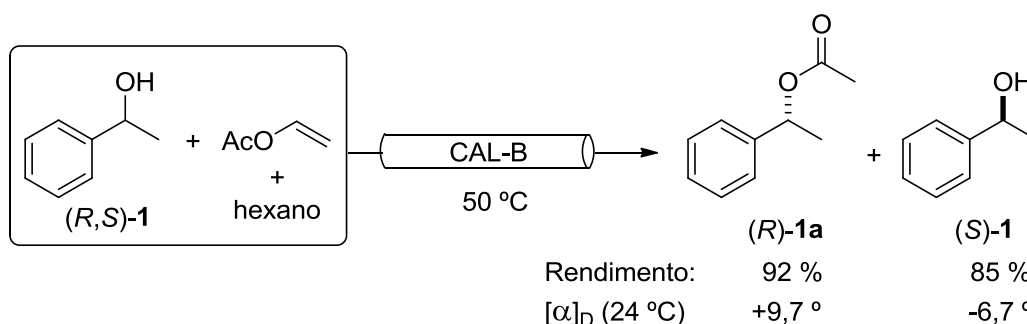


Figura 20. Concentração do substrato x tempo da reação na resolução cinética enzimática do álcool **1** em fluxo contínuo

3.3.4.2. Reação de resolução cinética enzimática do álcool **1** em escala preparativa

Uma vez otimizada a vazão para a RCE do álcool **1** na concentração de 1 mmol mL⁻¹, foi realizada uma reação em escala preparativa, utilizando 5 mL de solução nesta concentração (Esquema 15), visando isolar o produto obtido, bem como o material de partida remanescente, para determinar o rendimento da reação e o valor de rotação óptica dos compostos $[\alpha]_D$.



Esquema 15. Reação de resolução cinética enzimática do álcool **1** em fluxo contínuo mediada pela enzima CAL-B

Após a eluição completa da solução pela coluna, os compostos foram separados via cromatografia em coluna, as frações contendo cada composto foram combinadas, o solvente evaporado sob pressão reduzida e pode-se determinar o rendimento, o qual foi de 85% para o composto (S)-**1** e 92% para o composto (R)-**1a**. Os valores de $[\alpha]_D$ foram de -6,7 ° para o composto (S)-**1** e +9,7 ° para o composto (R)-**1a**, comprovando a configuração absoluta dos compostos, de acordo com dados da literatura.^{93, 94}

3.3.4.3. Reação de resolução cinética enzimática dos álcoois **1-5**

Para a realização das reações de RCE em fluxo contínuo, os álcoois **1-5** foram solubilizados em hexano, juntamente com o acetato de vinila e esta solução foi eluída através de uma coluna cromatográfica preenchida com a enzima CAL-B com o fluxo adequado para cada substrato.

A velocidade da vazão foi otimizada para cada composto, variando entre 0,1 mL min⁻¹ e 1 mL min⁻¹, de modo a alcançar o valor mais próximo da conversão ideal (50%) no menor número de ciclos.

Os resultados obtidos para a reação de RCE dos álcoois **1 a 5** em fluxo contínuo estão demonstrados na Tabela 9.

Tabela 9. Resolução cinética enzimática dos álcoois **1-5** mediada por CAL-B em sistema de fluxo contínuo

Reaction scheme: $(R,S)\text{-1-5} + \text{AcO-CH=CH}_2 \xrightarrow[\text{50 } ^\circ\text{C}]{\text{CAL-B}} (R)\text{-1a-5a} + (S)\text{-1-5}$

Entrada	Álcool	Fluxo / mL min ⁻¹	t / min	Ciclos	c ^a / %	ee ^b / %		E ^c
						(S)- álcool	(R)- éster	
1		1	5	1	50	>99	>99	>200
2		0,5	10	1	50	>99 ^d	>99	>200
3		0,7	7	1	50	>99	>99	>200
4		0,1	100	2	50	>99 ^d	>99	>200
5		0,1 ^e	250	5	<5	nd*	nd*	nd*

Condições reacionais concentração de 0,1 mmol mL⁻¹ de substrato, 4 equivalentes de acetato de vinila e 5 mL de hexano. ^a conversão: determinada por comparação das áreas observadas no cromatograma; ^b excesso enantiomérico: $(R - S) / (R + S) \times 100$; ^c razão enantiomérica: $E = \ln \{ [ee_p (1 - ee_s)] / (ee_p + ee_s) \} / \ln \{ [ee_p (1 + ee_s)] / (ee_p + ee_s) \}$; ^d Determinado indiretamente via derivatização do álcool ao propionato correspondente; ^e Reação realizada a 60 °C; * não determinado devido à baixa conversão

A reação de RCE do álcool **1** alcançou 50% de conversão quando a vazão de 1 mL min⁻¹ foi utilizada (Tabela 9 – entrada 1), sendo que a enantiosseletividade apresentada foi semelhante à observada no sistema de batelada (excesso enantiomérico >99%, para substrato e produto, e $E >200$). Existem relatos na literatura a respeito da

reação de RCE do álcool **1** em sistemas de fluxo contínuo e, apesar da diferença nas condições reacionais, alta enantiosseletividade também é observada.^{95, 96, 97, 98}

Quando o álcool **2** foi submetido a reação de RCE, foi necessária uma menor vazão para que a conversão ideal (50%) fosse alcançada. Tal fato é condizente com os resultados observados em sistemas de batelada, pois a enzima CAL-B necessitou de um maior tempo de reação para a conversão deste álcool. Os parâmetros de enantiosseletividade não foram alterados em relação aos observados nas reações em batelada. Não foram encontrados dados na literatura, nas bases literárias consultadas, para a RCE deste álcool em fluxo contínuo.

Para o álcool **3** também foi necessária uma menor vazão quando comparado ao 1-feniletanol (**1**) para alcançar 50% de conversão, o que também justificado em função do maior tempo necessário para a enzima CAL-B converter este álcool no éster correspondente. Não houve mudanças na enantiosseletividade quando comparado ao sistema em batelada. A literatura não apresenta dados para a RCE deste álcool em sistema de fluxo contínuo, nas bases literárias consultadas.

Quando o composto **4** foi submetido a reação de RCE, mesmo com a menor vazão a reação não alcançou a conversão desejada. Em função disso, a solução foi eluída novamente pela coluna cromatográfica com a vazão de 0,1 mL min⁻¹, sendo que ao final de 2 ciclos alcançou-se 50% de conversão, mantendo-se os parâmetros de enantiosseletividade. Não são encontrados dados na literatura, nas bases literárias consultadas, para a RCE deste álcool em fluxo contínuo.

Para o álcool **5**, não foi observada conversão mesmo utilizando a menor vazão, portanto, a reação foi repetida na temperatura de 60 °C, de modo a favorecer um aumento na velocidade de reação. Mesmo utilizando-se a menor vazão, baixa conversão foi observada, portanto, a solução foi eluída novamente pela coluna, sendo retiradas alíquotas após o fim de cada ciclo. No final de 5 ciclos a reação não alcançou conversão maior do que 5%, portanto, os parâmetros de seletividade não foram calculados.

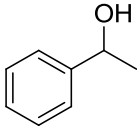
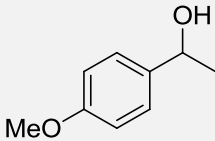
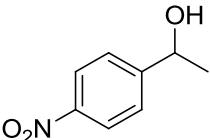
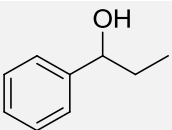
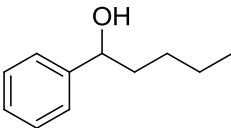
Considerando-se que, na reação em batelada, o álcool **5** apresentou 20% de conversão em um tempo de 216 horas, o resultado observado na reação em fluxo contínuo é aceitável, visto que o álcool **5** é o que possui maior impedimento estérico, dificultando o encaixe no sítio ativo enzimático. Também não foram encontrados dados na literatura, nas bases literárias consultadas, para a RCE deste álcool em fluxo contínuo.

3.3.5. Comparação entre os sistemas de batelada e de fluxo contínuo

Para a comparação entre os sistemas de batelada e de fluxo contínuo, o parâmetro produtividade (r) foi calculado.* A produtividade é o parâmetro que mede o quanto de produto pode ser formado em 1 minuto de reação utilizando-se 1 g de enzima.⁹⁸

Quando os valores de produtividade para as reações em fluxo contínuo e batelada são comparados (Tabela 10), observa-se uma diferença significativa de valores, o que demonstra a eficiência do sistema de fluxo contínuo, apesar de uma maior quantidade de enzima ter sido utilizada. Deve-se ressaltar também que, em todos os experimentos realizados no sistema de fluxo contínuo, a enzima foi reutilizada, resultando em 40 experimentos, sendo que, ao final não foi apresentada diminuição da atividade enzimática, a qual foi conferida via uma reação teste com o álcool 1.

Tabela 10. Valores de produtividade enzimática para os sistemas de batelada e fluxo contínuo

Entrada	Álcool	r_{fluxo} / $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$	r_{batelada} / $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$
1		250,0	41,7
2		125,0	6,9
3		175,0	13,9
4		12,5	4,6
5		<1	nd*

* não determinado devido à baixa conversão

* Equações 3A e 3B descritas na parte experimental deste documento

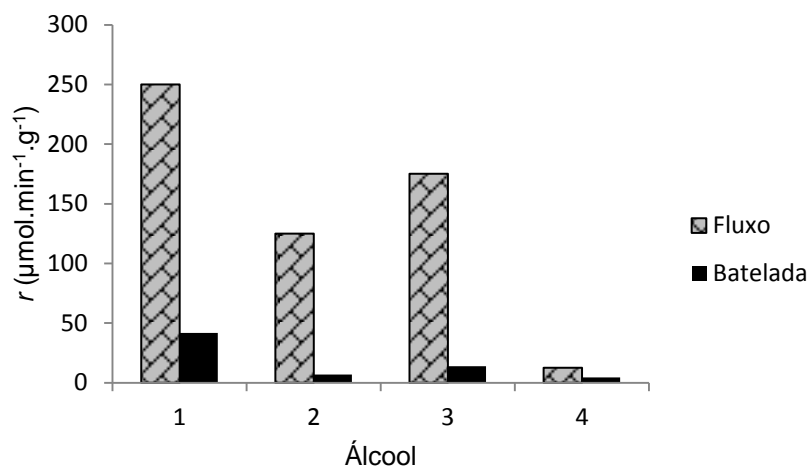


Figura 21. Comparação entre os valores de produtividade nas reações em batelada e em fluxo contínuo

O uso do sistema de fluxo contínuo proporcionou uma maior velocidade de reação para os álcoois estudados quando comparado com sistemas de batelada (com exceção do álcool 5 que apresentou baixo valor de conversão), considerando-se a mesma quantidade de substrato para os dois sistemas (Figura 22), possivelmente devido a maior interação entre o substrato e a enzima, sendo que já é conhecido que uma das maiores vantagens desse tipo de sistema é que, para alcançar a conversão esperada, um menor tempo de reação é requerido quando comparado aos sistemas de batelada.^{61, 62}

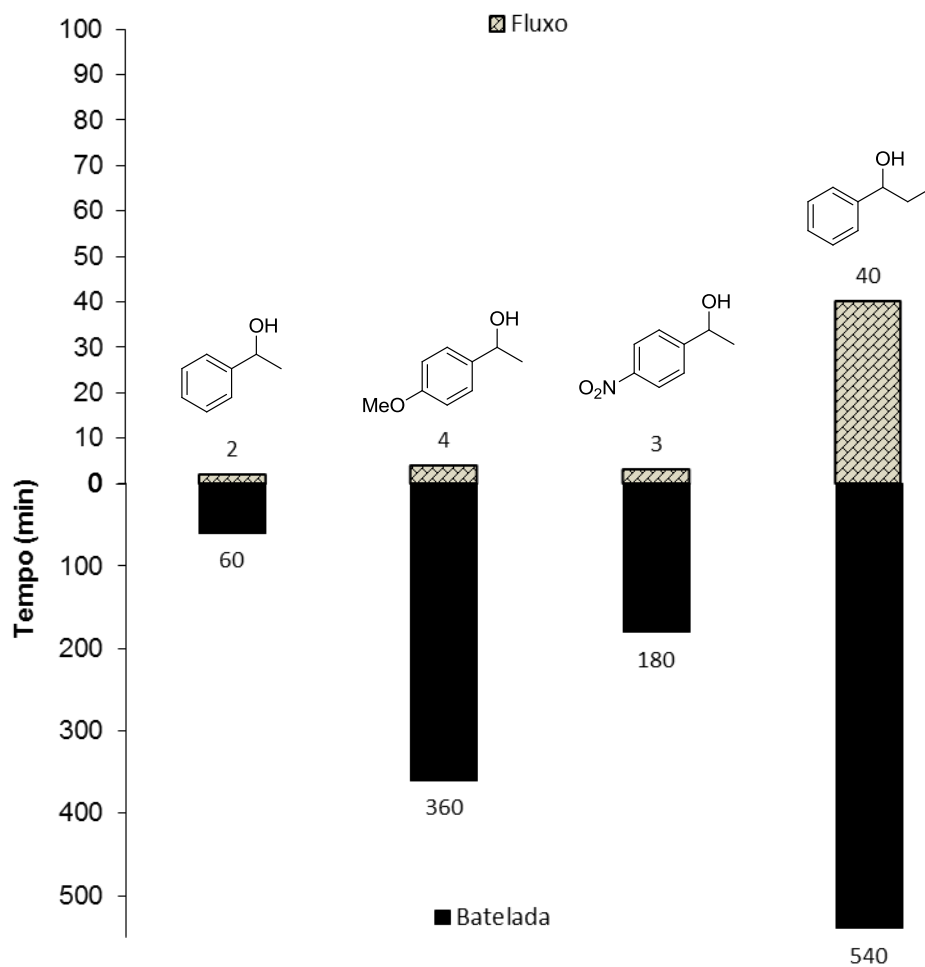


Figura 22. Relação entre os tempos de reação de RCE em batelada e em fluxo contínuo dos álcoois 1-4, considerando-se a mesma quantidade de substrato

Quando se compara os tempos de reação necessários para alcançar os parâmetros ideais em uma reação de RCE percebemos o quão eficaz é a utilização de sistemas deste tipo, sendo uma oportunidade de aplicação também para outras classes de compostos e reações.

4. CONCLUSÃO

Conclui-se que a utilização de sistemas de fluxo contínuo é promissora para reações de resolução cinética enzimática, visto que, há uma diminuição significativa no tempo de reação e um grande aumento da produtividade quando comparado a sistemas de batelada.

Nas bases literárias consultadas, não há relatos a respeito da resolução cinética enzimática dos álcoois **2-5** no sistema de fluxo contínuo e a reação do álcool **1** nesse sistema apresentou seletividade semelhante à relatada na literatura.

O aumento da cadeia carbônica ligada ao centro de quiralidade dos álcoois testados levou a uma diminuição nos valores de conversão, evidenciando uma maior dificuldade de acomodação do substrato no sítio ativo enzimático. No entanto, os parâmetros de seletividade foram mantidos.

Com a otimização das condições reacionais, as reações mediadas pela enzima CAL-B apresentaram valores de conversão, excesso enantiomérico e razão enantiomérica semelhantes aos observados em trabalho anterior,⁶⁷ no entanto, com menor tempo de reação, evidenciando a influência da temperatura na velocidade de reação.

Após a determinação da vazão ideal para os álcoois **1-4** nas reações de RCE, os compostos foram obtidos com alta razão enantiomérica. A tendência observada nos sistemas de batelada foi mantida no sistema de fluxo contínuo, quando consideramos a velocidade de cada reação.

A baixa conversão do álcool **5** no sistema de fluxo contínuo é aceitável, visto que, no sistema de batelada mesmo após 216 h de reação a conversão observada foi de somente 20%.

5. MATERIAIS E MÉTODOS

Os espectros de ressonância magnética nuclear (RMN) foram obtidos em um espectrômetro Bruker DPX200 operando em 200 MHz para o núcleo de hidrogênio e 50 MHz para carbono. Os deslocamentos (δ) nos espectros de RMN de ^1H foram expressos em relação ao tetrametilsilano ($\delta_{\text{TMS}} = 0,00$) e os deslocamentos (δ) nos espectros de RMN de ^{13}C foram expressos em relação ao tetrametilsilano ($\delta_{\text{TMS}} = 0,0$) ou ao clorofórmio ($\delta_{\text{CDCl}_3} = 77,2$). Dados de RMN de ^1H foram relatados como se segue: deslocamento químico em ppm (δ), multiplicidade (s = simpleto, d = duplete, dd = duplo duplete, t = tripleto, q = quarteto, m = multiplete) e constante de acoplamento (Hz). Dados de RMN de ^{13}C foram relatados como se segue: deslocamento químico em ppm (δ).

Os espectros no infravermelho foram obtidos em um espectrômetro BOMEM MB100, em pastilha de brometo de potássio (KBr) na região do infravermelho médio e foram relatados como se segue: número de onda (cm^{-1}).

Os espectros de massas foram obtidos em um CG-EM Shimadzu QP- 5050A com coluna capilar DB-5 com detecção via espectrometria de massas, ionização por impacto de elétrons (70 eV), injetor do modo split a 250 °C com programa de temperatura de 50 °C iniciais por 1 minuto, taxa de aquecimento de 7 °C min^{-1} até 250 °C por 10 minutos com fluxo de hélio de 1 mL min^{-1} .

As análises via cromatografias em camada delgada (CCD) foram realizadas em placas de vidro, utilizando-se sílica gel 60G (F 254) da Vetec®. As eluições foram feitas em solventes orgânicos puros ou combinados. As revelações das placas foram obtidas por irradiação com lâmpada ultravioleta em 254/366 nm, iodo ressublimado e revelador de vanilina sulfúrica e aquecimento.

As purificações via cromatografia em coluna foram realizadas em coluna de vidro, preenchida com sílica flash 60* (220-440 mesh) da Sigma-Aldrich®. O diâmetro interno e a altura das colunas variaram de acordo com a quantidade de material a ser purificado. As eluições foram realizadas em solventes orgânicos combinados e as frações coletadas foram evaporadas sob pressão reduzida, em evaporador rotativo.

Para o acompanhamento das reações via cromatografia em fase líquida foi utilizado um cromatógrafo Shimadzu LC-6AD com detector UV-Vis em 215 e 257 nm e Coluna Phenomenex-Lux de fase estacionária de Cellulose-1 3 μm , com dimensões 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro, utilizando um volume de injeção de 10 μL em fase móvel adequada para a separação de cada composto.

Para o acompanhamento das reações via cromatografia em fase gasosa foi utilizado um cromatógrafo Shimadzu GC-17A com detector por ionização em chama (FID) e coluna capilar quiral Chirasil – Dex CB de fase estacionária de β - ciclodextrina, com

dimensões 25 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro, utilizando um volume de injeção de 2 µL com razão split de 1:20. A temperatura do injetor foi de 220 °C e do detector 220 °C. Foi utilizada a programação de temperatura adequada para a separação de cada composto.

Para a determinação da rotação óptica específica foi utilizado um equipamento modelo Jasco P2000 com cela contendo 1 cm de caminho óptico, utilizando hexano como solvente.

Nas reações foram utilizados os seguintes reagentes: acetofenona (Vetec®), *p*-metoxiacetofenona (Sigma-Aldrich®), *p*-nitroacetofenona (Sigma-Aldrich®), borohidreto de sódio (Nuclear®), 1-fenilpropanol, 1-fenilpentanol, acetato de vinila (Sigma-Aldrich®), acetato de isopropenila (Sigma-Aldrich®), anidrido acético (Biotec®), anidrido benzóico (Neon®), anidrido propiônico (Sigma-Aldrich®) e dimetilaminopiridina (DMAP) (Sigma-Aldrich®). Os solventes utilizados nas reações foram: diclorometano (DCM), éter metil *tert*-butílico (MtBE), tolueno, hexano, heptano e acetonitrila (ACN). Todos os reagentes foram purificados de acordo com metodologias descritas na literatura.⁹⁹

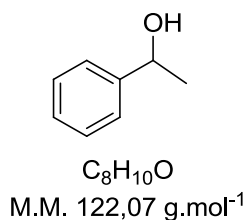
Para as reações de RCE foi utilizada a enzima CAL-B suportada em resina acrílica (Novozyme® 435), a qual foi obtida comercialmente.

5.1. OBTENÇÃO DOS COMPOSTOS DE INTERESSE

5.1.1. Obtenção dos álcoois **1-3**

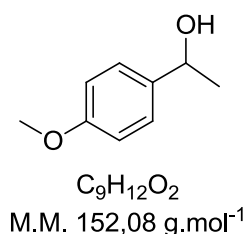
Os álcoois **1-3** foram sintetizados a partir da redução da acetofenona correspondente com NaBH₄.⁶⁸

Em um balão de 25 mL foi adicionada a acetofenona (1,20 g (**A1**), 1,50 g (**A2**), 1,65 g (**A3**), 10 mmol) e 10 mL de metanol. O meio reacional foi resfriado a 0 °C com o auxílio de um banho de gelo e foi adicionado NaBH₄ (0,41 g, 11 mmol) em pequenas porções. Após a adição do redutor, o meio reacional foi deixado a temperatura ambiente e o progresso da reação foi acompanhado via CCD. Após o consumo do material de partida, o solvente foi evaporado sob pressão reduzida, foi adicionado HCl em solução até pH 6 e o meio reacional foi extraído com DCM, seco com MgSO₄ e o solvente evaporado sob pressão reduzida. Os produtos foram obtidos com alto grau de pureza, não sendo necessárias etapas adicionais de purificação.



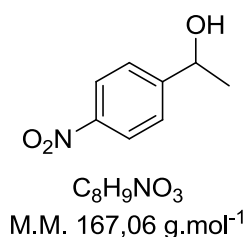
1-feniletanol (1)

Rendimento: 92%, líquido incolor

CG-EM (70 eV), *m/z* (intensidade relativa): 122 (M⁺, 34%); 107 (90%); 79 (100%); 77 (54%); 51 (21%); 43 (24%)RMN de ¹H (200 MHz, CDCl₃, TMS), δ (ppm): 1,42 (d, *J* = 6,5 Hz, 3H); 4,79 (q, *J* = 6,5 Hz, 1H); 7,20-7,32 (m, 5H)RMN de ¹³C (50 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 25,1; 70,3; 125,4; 127,4; 128,5; 145,9IV (cm⁻¹): 3352, 3085, 3029, 2973, 2926, 2879, 1949, 1807, 1603, 1494, 1449, 1366, 1305, 1203, 1101, 1074, 1029, 1010, 997, 896

1-(4-metoxifenil)etanol (2)

Rendimento: 82%, líquido incolor

CG-EM (70 eV), *m/z* (intensidade relativa): 152 (M⁺, 30%); 137 (100%); 109 (64%); 94 (35%); 77 (32%); 43 (21%).RMN de ¹H (200 MHz, CDCl₃, TMS), δ (ppm): 1,45 (d, *J* = 6,5 Hz, 3H); 3,79 (s, 3H); 4,82 (q, *J* = 6,5 Hz, 1H); 6,86 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H); 7,28 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H).RMN de ¹³C (50 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 25,0; 55,3; 69,9; 113,8; 126,7; 138,0; 158,9IV (cm⁻¹): 3377, 2968, 2929, 2835, 2542, 2362, 2056, 1889, 1768, 1611, 1509, 1458, 1367, 1300, 1244, 1176, 1033, 895

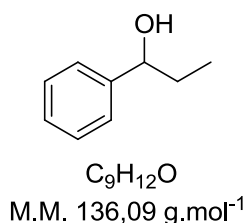
1-(4-nitrofenil)etanol (3)

Rendimento: 88%, líquido amarelo

CG-EM (70 eV), *m/z* (intensidade relativa): 166 (M⁺, 1 %); 152 (100%); 122 (25%); 107 (75%); 94 (41%); 77 (89%); 51 (30%); 43 (58%)RMN de ¹H (200 MHz, CDCl₃, TMS), δ (ppm): 1,50 (d, *J* = 6,5 Hz, 3H); 5,00 (q, *J* = 6,5 Hz, 1H); 7,52 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H); 8,15 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H)RMN de ¹³C (50 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 25,3; 22,2; 71,2; 123,8; 126,7; 147,4; 148,9; 170,0IV (cm⁻¹): 3376, 3108, 3078, 2973, 2930, 2451, 2361, 1932, 1803, 1680, 1606, 1516, 1451, 1343, 1286, 1198, 1108, 1013, 902, 855

5.1.2. Obtenção dos álcoois **4** e **5**

Os álcoois **4** e **5** estavam disponíveis no laboratório e estes foram submetidos a análise espectroscópica para confirmação da pureza.



1-fenilpropanol (**4**)

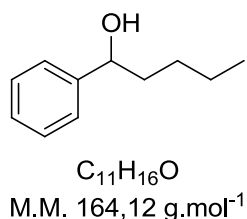
Líquido amarelado

CG-EM (70 eV), m/z (intensidade relativa): 136 (M^{++} , 17%); 107 (100%); 91 (5%); 79 (79%); 77 (35%); 51 (10%)

RMN de 1H (200 MHz, $CDCl_3$, TMS), δ (ppm): 0,88 (t, $J = 7,4$ Hz, 3H); 1,66-1,86 (m, 2H); 4,53 (t, $J = 6,6$ Hz, 1H); 7,26-7,36 (m, 5H)

RMN de ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$), δ (ppm): 10,1; 31,9; 76,0; 126,0; 127,4; 128,4; 144,6

IV (cm^{-1}): 3330, 3087, 3063, 3029, 2931, 2873, 1496, 1454, 1210, 1014, 735



1-fenilpentanol (**5**)

Líquido amarelado

CG-EM (70 eV), m/z (intensidade relativa): 164 (M^{++} , 5%); 120 (12%); 107 (100%); 104 (33%); 79 (61%); 77 (42%); 51 (10%)

RMN de 1H (200 MHz, $CDCl_3$, TMS), δ (ppm): 0,87 (t, $J = 6,8$ Hz, 3H); 1,12-1,38 (m, 4H); 1,61-1,80 (m, 2H); 4,61 (dd; $J = 7,3$; 6,1 Hz, 1H); 7,24-7,32 (m, 5H)

RMN de ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$), δ (ppm): 14,0; 22,6; 28,0; 38,8; 74,6; 125,9; 127,4; 128,4; 145,0

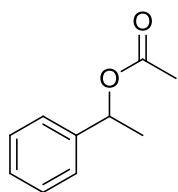
IV (cm^{-1}): 3346, 2934, 1877, 1494, 1463, 1194

5.1.3. Obtenção dos ésteres **1a-5a**

Os ésteres foram sintetizados a partir dos respectivos álcoois, utilizando anidrido acético e *N,N*-dimetilaminopiridina (DMAP).

Em um balão de 25 mL foi adicionado o álcool (0,244 g (**1**), 0,304 g (**2**), 0,334 g (**3**), 0,272 g (**4**), 0,328 g (**5**), 2 mmol), anidrido acético (0,38 mL, 4 mmol), DMAP (1 cristal) e DCM (10 mL). O meio reacional foi deixado sob agitação magnética e o progresso da reação foi acompanhado via CCD. Após o consumo do material de partida, o meio reacional foi filtrado em sílica, utilizando DCM como eluente, e o solvente foi

evaporado sob pressão reduzida. Os produtos foram obtidos com alta pureza, não sendo necessárias etapas adicionais de purificação.



$C_{10}H_{12}O_2$
M.M. 164,08 g.mol⁻¹

Acetato de 1-feniletila (**1a**)

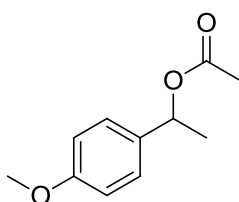
Rendimento: 75%, líquido translúcido

CG-EM (70 eV), m/z (intensidade relativa): 164 (M^{*+} , 23%); 122 (100%); 105 (67%); 104 (89%); 107 (36%); 51 (15%); 43 (55%)

RMN de 1H (200 MHz, $CDCl_3$, TMS), δ (ppm): 1,53 (d, $J = 6,6$ Hz, 3H); 2,06 (s, 3H); 5,88 (q, $J = 6,6$ Hz, 1H); 7,24-7,31 (m, 5H)

RMN de ^{13}C (50 MHz - $CDCl_3$), δ (ppm): 21,3; 22,2; 72,3; 126,1; 127,8; 128,5; 141,7; 170,3

IV (cm^{-1}): 3088, 3064, 3034, 2983, 2932, 1743, 1452, 1374, 1232, 1207, 1069, 1028, 946, 760, 696



$C_{11}H_{14}O_3$
M.M.: 194,09 g.mol⁻¹

Acetato de 1-(4-metoxifenil)etila (**2a**)

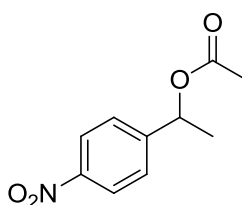
Rendimento: 86%, líquido translúcido

CG-EM (70 eV), m/z (intensidade relativa): 194 (M^{*+} , 27%); 134 (100%); 119 (40%); 105 (22%); 91 (33%); 77 (20%); 43 (34%)

RMN de 1H (200 MHz, $CDCl_3$, TMS), δ (ppm): 1,51 (d, $J = 6,5$ Hz, 3H); 2,03 (s, 3H); 3,77 (s, 3H); 5,84 (q, $J = 6,5$ Hz, 1H); 6,87 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H); 7,29 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H)

RMN de ^{13}C (50 MHz - $CDCl_3$), δ (ppm): 21,3; 21,9; 55,2; 72,0; 113,8; 127,6; 133,7; 159,3; 170,3

IV (cm^{-1}): 2981, 2933, 2838, 1733, 1612, 1513, 1368, 1242, 1062, 1035, 829



$C_{10}H_{11}NO_4$
M.M. 209,07 g.mol⁻¹

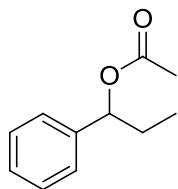
Acetato de 1-(4-nitrofenil)etila (**3a**)

Rendimento: 82%, sólido amarelo

CG-EM (70 eV), m/z (intensidade relativa): 209 (M^{*+} , 1%); 167 (56%); 150 (16%); 119 (23%); 103 (24%); 91 (29%); 77 (30%); 43 (100%)

RMN de 1H (200 MHz, $CDCl_3$, TMS), δ (ppm): 1,56 (d, $J = 6,7$ Hz, 3H); 2,12 (s, 3H); 5,93 (q, $J = 6,7$ Hz, 1H); 7,51 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H); 8,22 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H)

RMN de ^{13}C (50 MHz - CDCl_3), δ (ppm): 21,1; 22,2; 71,2; 123,8; 126,7; 147,4; 149,0; 170,0
 IV (cm^{-1}): 2982, 2966, 2925, 1734, 1602, 1517, 1346, 1242, 1068, 1029, 855



$\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{O}_2$
 M.M. 178,10 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$

Acetato de 1-fenilpropila (**4a**)

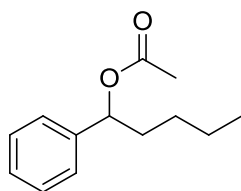
Rendimento: 70%, líquido amarelado

CG-EM (70 eV), m/z (intensidade relativa): 178 ($\text{M}^{+\bullet}$, 15%); 149 (25%); 136 (51%); 117 (50%); 107 (100%); 91 (37%); 79 (22%); 77 (20%); 43 (65%)

RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 0,88 (t, $J = 7,4$ Hz, 3H); 1,76-1,97 (m, 2H); 2,07 (s, 1H); 5,66 (t, $J = 6,9$ Hz, 1H); 7,24-7,36 (m, 5H)

RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 9,9; 21,2; 29,3; 76,4; 126,6; 127,8; 128,4; 140,5; 170,4

IV (cm^{-1}): 3031, 2958, 2934, 2862, 1739, 1457, 1373, 1239, 1020, 759, 697



$\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{O}_2$
 M.M. 206,13 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$

Acetato de 1-fenilpentila (**5a**)

Rendimento: 70%, líquido amarelado

CG-EM (70 eV), m/z (intensidade relativa): 206 ($\text{M}^{+\bullet}$, 10%); 164 (43%); 149 (30%); 117 (39%); 107 (100%); 104 (23%); 91 (30%); 79 (16%); 77 (13%); 43 (64%)

RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 0,87 (t; $J = 6,7$ Hz; 3H); 1,20-1,39 (m, 4H); 1,70-1,95 (m, 2H); 2,06 (s, 3H); 5,72 (dd; $J = 7,6; 6,5$ Hz, 1H); 7,24-7,35 (m, 5H)

RMN de ^{13}C (50 MHz - CDCl_3), δ (ppm): 13,9; 21,2; 22,4; 27,7; 36,0; 76,1; 126,5; 127,8; 128,4; 140,9; 170,3

IV (cm^{-1}): 3032, 2954, 1733, 1458, 1370, 1241, 1022

5.2. REAÇÕES DE RESOLUÇÃO CINÉTICA ENZIMÁTICA (RCE)

5.2.1. Acompanhamento da reação de resolução cinética enzimática

O acompanhamento da reação de RCE do álcool **1** foi realizado utilizando cromatografia gasosa com programação de temperatura de 110 °C até 120 °C com taxa

de aquecimento de $1\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$; t_{R} : (S)-**1a**: 3,5 min e (R)-**1a**: 3,8 min (R)-**1**: 4,3 min, (S)-**1**: 4,6 min.

O acompanhamento da reação de RCE do álcool **3** também foi realizado via cromatografia gasosa, utilizando a programação de temperatura de $160\text{ }^{\circ}\text{C}$ até $172\text{ }^{\circ}\text{C}$ com taxa de aquecimento de $1\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$; t_{R} : (S)-**3a**: 9,5 min e (R)-**3a**: 9,8 min, (S)-**3**: 12,7 min e (R)-**3**: 13,2 min.

Para o acompanhamento da reação de RCE dos álcoois **2** e **4** via cromatografia gasosa, foi necessária a derivatização dos álcoois aos propionatos (**2b** e **4b**) correspondentes. Para isso, após a retirada de alíquotas das reações de RCE, adicionou-se anidrido propiônico e DMAP, agitando a solução durante 5 minutos e depois neutralizando-a com solução de NaHCO_3 .

Após a derivatização, o acompanhamento da reação de RCE do álcool **2** foi realizado via cromatografia gasosa, utilizando a programação de temperatura de $110\text{ }^{\circ}\text{C}$ até $138\text{ }^{\circ}\text{C}$ com taxa de aquecimento de $1\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$; t_{R} : (R)-**2a**: 19,8 min e (S)-**2a**: 18,9 min, (R)-**2b**: 24,7 min e (S)-**2b**: 25,1 min.

O acompanhamento da reação de RCE do álcool **4** também pode ser realizado via cromatografia gasosa, utilizando a programação de temperatura de $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ até $110\text{ }^{\circ}\text{C}$ com taxa de aquecimento de $2\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$; t_{R} : (S)-**4a**: 18,5 min e (R)-**4a**: 19,3 min, (R)-**4b**: 30,1 min e (S)-**4b**: 30,5 min.

Para o acompanhamento da reação de RCE do álcool **5** foi utilizado cromatografia líquida com fase móvel hexano:isopropanol (99:1); t_{R} : (R)-**5a**: 6,3 min e (S)-**5a**: 6,9 min, (R)-**5**: 34,9 min e (S)-**5**: 37,4 min.

5.2.2. Avaliação do efeito do solvente na resolução cinética enzimática do 1-fenilpentanol

Em vials de 4 mL com tampa e rosca, foram adicionados o composto **5** (0,016 g, 0,1 mmol), acetato de vinila (0,034 mL, 0,4 mmol), a enzima CAL-B (20 mg) e variou-se o solvente em cada vial, utilizando-se tolueno, acetonitrila, MIBE, hexano e heptano, mantendo o meio reacional sob temperatura ($50\text{ }^{\circ}\text{C}$) e agitação constantes.

As reações foram acompanhadas via retirada de alíquotas periódicas, as quais foram analisadas via cromatografia líquida com fase estacionária quiral para determinação dos parâmetros de enantiosseletividade.

5.2.3. Avaliação do efeito do doador acila na resolução cinética enzimática do 1-fenilpentanol

Em vials de 4 mL com tampa e rosca, foram adicionados o composto **5** (0,016 g, 0,1 mmol), a enzima CAL-B (20 mg), hexano (2 mL) e variou-se o doador acila (0,4 mmol), utilizando-se anidrido acético (**6**), anidrido benzóico (**7**), anidrido propiônico (**8**), acetato de vinila (**9**) e acetato de isopropenila (**10**) e mantendo o meio reacional sob temperatura (50 °C) e agitação constantes.

As reações foram acompanhadas via retirada de alíquotas periódicas, as quais foram analisadas via cromatografia líquida com fase estacionária quiral para determinação dos parâmetros de enantiosseletividade.

5.2.4. Reação de resolução cinética enzimática dos álcoois **1-5** em batelada

Em vials de 4 mL com tampa e rosca, foram adicionados os álcoois (0,012 g (**1**), 0,015 g (**2**), 0,017 g (**3**), 0,014 g (**4**), 0,016 g (**5**), 0,1 mmol), acetato de vinila (0,034 mL, 0,4 mmol), a enzima CAL-B (20 mg) e hexano (2 mL), mantendo o meio reacional sob temperatura (50 °C) e agitação constantes.

As reações foram acompanhadas via retirada de alíquotas periódicas, as quais foram analisadas via cromatografia líquida (álcoois **2** e **5**) ou gasosa (álcoois **1**, **3** e **4**) com fase estacionária quiral para determinação dos parâmetros de enantiosseletividade.

5.2.5. Reações de resolução cinética enzimática em sistema de fluxo contínuo

O equipamento utilizado nas reações de RCE em fluxo contínuo está demonstrado na Figura 23 e é composto de um sistema de injeção (Figura 23 - B) e uma coluna cromatográfica (100 x 4,6 mm) (Figura 23 - C), esta em um bloco metálico mantido à temperatura constante.

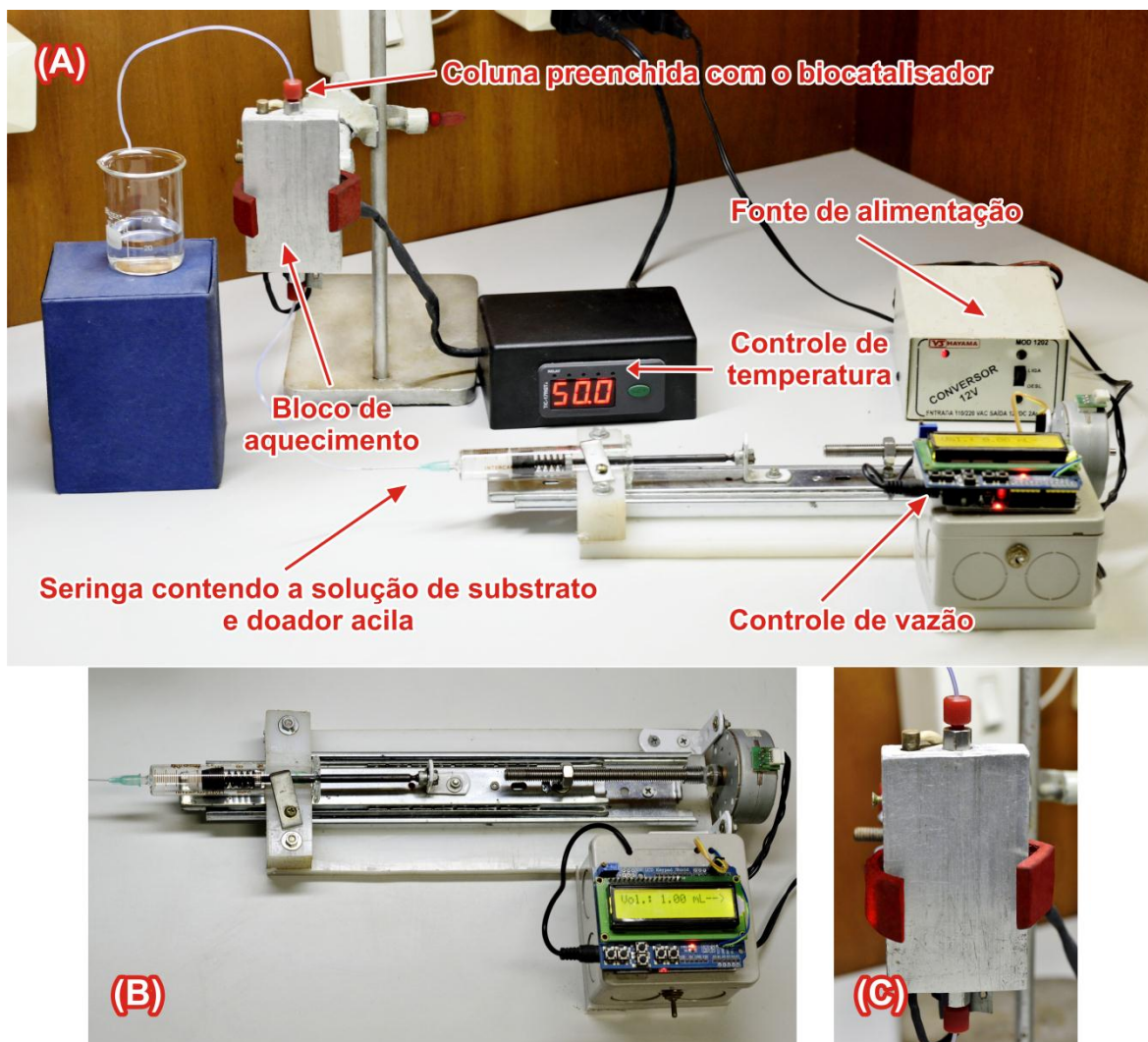


Figura 23. Sistema de fluxo contínuo utilizado no trabalho (A), sistema de injeção (B) e coluna cromatográfica preenchida com o biocatalisador (C)

A coluna cromatográfica foi preenchida com 200 mg da enzima suportada CAL-B e foi mantida à temperatura de 50 °C. A vazão da solução foi regulada no sistema de injeção, em mL min⁻¹, podendo variar entre 0,1 e 1 mL min⁻¹. Quando a reação não alcançou a conversão ideal mesmo na menor vazão, esta foi eluída novamente pela coluna cromatográfica utilizando a vazão de 0,1 mL min⁻¹ em cada eluição.

5.2.5.1. Estudo da concentração na resolução cinética enzimática do álcool 1

Foram preparadas 4 soluções com concentração de 0,1 mmol mL⁻¹, 0,2 mmol mL⁻¹, 0,5 mmol mL⁻¹, 1 mmol mL⁻¹ e 1,5 mmol mL⁻¹ e estas foram eluídas na vazão de 1 mL min⁻¹. A razão estequiométrica foi de 4 equivalentes de acetato de vinila em relação ao 1-feniletanol.

Para a otimização da vazão, foi coletado 0,5 mL em cada vazão, variando-se entre 0,1 mL min⁻¹ e 1 mL min⁻¹.

5.2.5.2. Reação de resolução cinética enzimática dos álcoois **1-5**

Foram preparadas soluções na concentração de 0,1 mmol mL⁻¹ e estas foram eluídas pela coluna, coletando 0,5 mL de solução em cada vazão, variando-se entre 0,1 mL min⁻¹ e 1 mL min⁻¹. A razão estequiométrica foi de 4 equivalentes de acetato de vinila em relação ao álcool utilizado.

5.2.5.2.1. Determinação dos valores de $[\alpha]_D$

Para a determinação da rotação óptica dos compostos foram preparadas soluções na concentração de 1 mg mL⁻¹, utilizando hexano como solvente e as medidas foram realizadas em células com 1 cm de caminho óptico a 24 °C (composto **1**) e 23 °C (composto **1a**).

5.3. DETERMINAÇÃO DOS PARÂMETROS DE ENANTIOSELETIVIDADE DAS REAÇÕES DE RESOLUÇÃO CINÉTICA ENZIMÁTICA

Os valores de conversão foram expressos em relação às áreas dos picos relativos aos compostos na análise cromatográfica.

A pureza enantiomérica foi expressa em valores de excesso enantiomérico (ee), através da equação 1, onde R é a concentração do enantiômero (R) e S é a concentração do enantiômero (S).¹⁰⁰

$$\%ee = \frac{R - S}{R + S} \times 100 \text{ (para } R > S)$$

Equação 1. Determinação da pureza enantiomérica

O valor da razão enantiomérica (E) foi determinado seguindo a equação 2, onde ee_p é o excesso enantiomérico do produto e ee_s é o excesso enantiomérico do substrato.¹⁰⁰

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

Equação 2. Determinação da razão enantiomérica

5.4. DETERMINAÇÃO DA PRODUTIVIDADE

O valor de produtividade (r) foi calculado com base nas equações 3A e 3B, onde $[P]$ é a concentração do produto ($\mu\text{mol mL}^{-1}$), f é a vazão (mL min^{-1}), n_p é o número de mols de produto, t é o tempo de reação e m_e é a massa de enzima utilizada.⁹⁸

$$(A) \quad r_f = \frac{[P] \times f}{m_e} \quad (B) \quad r_b = \frac{n_p}{t \times m_e}$$

Equação 3. Determinação da produtividade em reações de fluxo contínuo (A) e batelada (B)

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ¹ IUPAC, **Compendium of Chemical Terminology**. Goldbook. Disponível em: <<http://goldbook.iupac.org/I03289.html>> Acesso em: 30/12/2014.
- ² IUPAC, **Compendium of Chemical Terminology**. Goldbook. Disponível em: <<http://goldbook.iupac.org/C01285.html>> Acesso em: 30/12/2014.
- ³ IUPAC, **Compendium of Chemical Terminology**. Goldbook. Disponível em: <<http://goldbook.iupac.org/S05983.html>> Acesso em: 30/12/2014.
- ⁴ MARCH, J.; SMITH, M. B. **Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms and Structure**, 6 ed., John Wiley & Sons: New Jersey, 2007.
- ⁵ IUPAC, **Compendium of Chemical Terminology**. Goldbook. Disponível em: <<http://goldbook.iupac.org/C01058.html>> Acesso em: 11/02/2015.
- ⁶ CAREY, F.; SUNDBERG, R. **Advanced Organic Chemistry: Structure and Mechanisms**, 2 ed., Plenum Press: New York, 1984.
- ⁷ IUPAC, **Compendium of Chemical Terminology**. Goldbook. Disponível em: <<http://goldbook.iupac.org/D01679.html>> Acesso em: 11/02/2014.
- ⁸ SHELDON, R. A. **Chirotechnology: Industrial synthesis of optically active compounds**, Marcel Dekker: New York, 1993.
- ⁹ SOLOMONS, T. W. G.; FRYHLE, C. B. **Organic Chemistry**, 10 ed., John Wiley & Sons: New Jersey, 2011.
- ¹⁰ LIN, G. Q.; LI, Y. M.; CHAN, A. S. C. **Principles and Applications of Asymmetric Synthesis**, John Wiley & Sons: New Jersey, 2001.
- ¹¹ BARREIRO, E. J.; FERREIRA, V. F.; COSTA, P. R. R. Substâncias enantiomericamente puras (SEP): a questão dos fármacos quirais. **Química Nova**, v. 20, n. 5, p. 647-656, 1997.

-
- ¹² SEKHON, B. S. Exploiting the power of stereochemistry in drugs: an overview of racemic and enantiopure drugs. **Journal of Modern Medicinal Chemistry**, v. 1, n. 1, p. 10-36, 2013.
- ¹³ SCHORE, N. E.; VOLLHARDT, K. P. **Organic Chemistry: Structure and Function**, 4 ed., W. H. Freeman and Company: New York, 2003.
- ¹⁴ ARRÓNIZ, C.; ESCOLANO, C. Strategies for the synthesis of enantiopure compounds focused on organocatalysis. In: **Recent Advances in Pharmaceutical Sciences II**, p. 115-134, 2012.
- ¹⁵ WYATT, P.; WARREN, S. **Organic Synthesis: Strategy and Control**, John Wiley & Sons: New Jersey, 2007.
- ¹⁶ ZHANG, Q.; LI, J. F.; TIAN, G. H.; ZHANG, R. X.; SUN, J.; SUO, J.; FENG, X.; FANG, D.; JIANG, X. R.; SHEN, J. S. A practical and enantioselective synthesis of tapentadol. **Tetrahedron: Asymmetry**, v. 23, p. 577-582, 2012.
- ¹⁷ RAJA, S.; NAKAJIMA, M.; RUEPING, M. Experimental and computational study of the catalytic asymmetric 4 π -electrocyclization of *N*-heterocycles. **Angewandte Chemie**, v. 54, p. 2762-2765, 2015.
- ¹⁸ BLASER, H. U. The chiral pool as a source of enantioselective catalysts and auxiliaries. **Chemical Reviews**, v. 92, p. 935-952, 1992.
- ¹⁹ YADAV, J. S.; CHINNAM, V. V.; KRISHNA, B. B. M.; RAO, K. L. S.; DAS, D. Stereoselective synthesis of vittarilide-A. **Tetrahedron Letters**, v. 56, n. 13 p. 1661-1663, 2015.
- ²⁰ CAUTERUCCIO, S.; DOVA, D.; BENAGLIA, M.; GENONI, A.; ORLANDI, M.; LICANDRO, E. Synthesis, characterization, and organocatalytic activity of chiral tetrathiahelicene diphosphine oxides. **European Journal of Organic Chemistry**, v. 2014, n. 13, p. 2694-2702, 2014.
- ²¹ TATAR, A.; VALÍK, M.; NOVOTNÁ, J.; HAVLÍK, M.; DOLENSKY, B.; KRÁL, V.; URBANOVÁ, M. Preparation and enantioselectivity binding studies of a new chiral cobalt(II)porphyrin-Tröger's base conjugate. **Chirality**, v. 26, n. 8, p. 361-367, 2014.

²² BANOTH, L.; PUJALA, B.; CHAKRABORTI, A. K.; BANERJEE, U. C. Development and validation of HPLC method for the resolution of derivatives of 1-bromo-3-chloro-2-propanol: a novel chiral building block for the synthesis of pharmaceutically important compounds. **Journal of Analytical Chemistry**, v. 69, n. 12, p. 1206-1213, 2014.

²³ ANTAR, S. W.; LEVILAIN, G.; DUPRAY, V.; COQUEREL, G. Resolution of (±)-imeglimin-2,4-dichlorophenylacetate methanol solvate by preferential crystallization. **Organic Process Research & Development**, v. 14, n. 6, p. 1358-1363, 2010.

²⁴ POLENSKE, D.; LORENZ, H.; MORGENSTERN, A. S. Potential of different techniques of preferential crystallization for enantioseparation of racemic compound forming systems. **Chirality**, v. 21, n. 8, p. 728-737, 2009.

²⁵ IWAMA, S.; KUYAMA, K.; MORI, Y.; MANOJ, K.; GONNADE, R. G.; SUZUKI, K.; HUGHES, C. E.; WILLIAMS, P. A.; HARRIS, K. D.; VEESLER, S.; TAKAHASHI, H.; TSUE, H.; TAMURA, R. Highly efficient chiral resolution of DL-arginine by cocrystal formation followed by recrystallization under preferential-enrichment conditions. **Chemistry – A European Journal**, v. 20, n. 33, p. 10343-10350, 2014.

²⁶ REDDY, R. J.; LEE, P. H.; MAGAR, D. R.; CHEN, J. H.; CHEN, K. Kinetic resolution of activated nitroallylic acetates with aldehydes and ketones through a conjugate addition-elimination S_N2' process. **European Journal of Organic Chemistry**, v. 2012, n. 2, p. 353-365, 2014.

²⁷ MORE, G. V.; BADGUJAR, K. C.; BHANAGE, B. M. Kinetic resolution of secondary alcohols with *Burkholderia cepacia* lipase immobilized on a biodegradable ternary blend polymer matrix as a highly efficient and heterogeneous recyclable biocatalyst. **RSC Advances**, v. 5, p. 4592-4598, 2015.

²⁸ FALUS, P.; BOROS, Z.; KOVÁCS, P.; POPPE, L.; NAGY, J. Lipase-catalyzed kinetic resolution of 1-(2-hydroxycyclohexyl)indoles in batch and continuous-flow systems. **Journal of Flow Chemistry**, v. 4, n. 3, p. 125-134, 2014.

²⁹ IUPAC, **Compendium of Chemical Terminology**. Goldbook. Disponível em: <<http://goldbook.iupac.org/R05320.html>> Acesso em: 08/01/2015.

-
- ³⁰ CARVALHO, P. O.; CASS, Q. B.; CALAFATTI, S. A.; CONTESINI, F. J.; BIZACO, R. Alternatives for the separation of drug enantiomers: ibuprofen as a model compound. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 23, n. 3, p. 291-300, 2006.
- ³¹ IUPAC, **Compendium of Chemical Terminology**. Goldbook. Disponível em: <<http://goldbook.iupac.org/K03407.html>> Acesso em: 08/01/2015.
- ³² CABRAL, J. M. S.; BARROS, M. R. A.; PINHEIRO, H.; PRAZERES, D. M. Biotransformation in organic media by enzymes and whole cells. **Journal of Biotechnology**, v. 59, p. 133-143, 1997.
- ³³ NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger – Princípios de Bioquímica**, 4 ed., Sarvier: São Paulo, 2006.
- ³⁴ FABER, K. **Biotransformations in organic chemistry**, 6.ed, Springer: Berlin, 2011.
- ³⁵ BIOCHEMICAL NOMENCLATURE COMMITTEES. Disponível em: <<http://www.chem.qmul.ac.uk/iubmb/nomenclature/>> Acesso em: 11/11/2014.
- ³⁶ IUBMB Enzyme Nomenclature - EC 3.1.1.3. Disponível em: <<http://www.chem.qmul.ac.uk/iubmb/enzyme/EC3/1/1/3.html>> Acesso em: 08/01/2015.
- ³⁷ BORNSCHEUER, U. T. Microbial carboxyl esterases: classification, properties and application in biocatalysis. **FEMS Microbial Reviews**, v. 26, p. 73-81, 2002.
- ³⁸ POUDEROYEN, G.; EGGERT, T.; JAEGER, K. E.; DIJKSTRA, B. The crystal structure of *Bacillus subtilis* lipase: a minimal α/β hydrolase fold enzyme. **Journal of Molecular Biology**, v. 309, p. 215-226, 2001.
- ³⁹ SCHRAG, J. D.; LI, Y. G.; WU, S.; CYGLER, M. Ser-His-Glu triad forms the catalytic site of the lipase from *Geotrichum candidum*. **Nature**, v. 351, p. 761-764, 1991.
- ⁴⁰ SANDSTRÖM, A. G.; ENGSTRÖM, K.; NYHLÉN, J.; KASRAYAN, A.; BÄCKVALL, J. E. Directed evolution of *Candida Antarctica* lipase A using an episomally replicating yeast plasmid. **Protein Engineering, Design & Selection**, v. 22, n. 7, p. 413-420, 2009.

⁴¹ SILVA, T. B. **Resolução cinética enzimática de álcoois e amins quirais contendo boro e biorredução de cetonas contendo boro**. São Paulo, 2011. Tese de Doutorado em Química, Universidade de São Paulo.

⁴² PELLISSIER, H. Recent developments in dynamic kinetic resolution. **Tetrahedron**, v. 67, p. 3769-3802, 2011.

⁴³ FISCHER, E. Einfluxe der configuration auf die wirkung der ezyme. **Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft**, v. 27, n. 3, p. 2985-2993, 1894.

⁴⁴ VIEIRA, M. R. **Estudo da biorredução de compostos carbonílicos por linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* sp.** Blumenau, 2006. Dissertação de Mestrado em Química, Universidade Regional de Blumenau.

⁴⁵ KOSHLAND, D. E.; NÉMETHY, G.; FILMER, D. Comparison of experimental binding data and theoretical models in proteins containing subunits. **Biochemistry**, v. 5, n. 1, p. 365-385, 1966.

⁴⁶ OGSTON, A. G. Interpretation of experiments on metabolic processes, using isotopic tracer elements. **Nature**, v. 162, n. 4129, p. 963-963.

⁴⁷ PRELOG, V. Specification of the stereospecificity of some oxido-reductases by diamond lattice sections. **Pure Applied Chemistry**, v. 9, p. 119-130, 1964.

⁴⁸ KAZLAUSKAS, R. J.; WEISSFLOCH, A. N. E.; RAPPAPORT, A. T.; CUCCIA, L. A. A rule to predict which enantiomer of a secondary alcohol reacts faster in reactions catalyzed by cholesterol esterase, lipase from *Pseudomonas cepacia*, and lipase from *Candida rugosa*. **Journal of Organic Chemistry**, v. 56, p. 2656-2665, 1991.

⁴⁹ COSTA, V. E. U.; AMORIM, L. N. O emprego de lipases como agentes de resolução cinética de enantiômeros em síntese orgânica: aspectos gerais sobre a influência do solvente. **Química Nova**, v. 22, n. 6, p. 863-873, 1999.

⁵⁰ JAEGER, K. E.; EGGERT, T. Lipases for biotechnology. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 13, p. 390-397, 2002.

-
- ⁵¹ JAEGER, K. E.; REETZ, M. T. Microbial lipases form versatile tools for biotechnology. **Tibtech**, v. 16, p. 396-403, 1998.
- ⁵² HARA, P.; TURCU, M. C.; SUNDELL, R.; TOSA, M.; PAIZS, C.; IRIMIE, F. D.; KANERVA, L. T. Lipase-catalyzed asymmetric acylation in the chemoenzymatic synthesis of furan-based alcohols. **Tetrahedron: Asymmetry**, v. 24, p. 142-150, 2013.
- ⁵³ MONTEIRO, C. M.; LOURENÇO, N. M. T.; FERREIRA, F. C.; AFONSO, C. A. M. PEG₆₀₀-carboxylates as efficient reusable reaction media and acylating agents for the resolution of *sec*-alcohols. **ChemPlusChem**, v. 80, p. 42-46, 2015.
- ⁵⁴ XIA, B.; CHENG, G.; LIN, X.; WU, Q. Dynamic double kinetic resolution of amines and alcohols under the cocatalysis of Raney nickel/*Candida antarctica* lipase B: from concept to application. **European Journal of Organic Chemistry**, v. 2014, n. 14, p. 2917-2923, 2014.
- ⁵⁵ JOSÉ, C.; AUSTIC, G. B.; BONETTO, R. D.; BURTON, R. M.; BRIAND, L. E. Investigation of the stability of Novozym® 435 in the production of biodiesel. **Catalysis Today**, v. 213, p. 73-80, 2013.
- ⁵⁶ MEI, Y.; MILLER, L.; GAO, W.; GROSS, R. A. Imaging the distribution and secondary structure of immobilized enzymes using infrared microspectroscopy. **Biomacromolecules**, v. 4, p. 70-74, 2003.
- ⁵⁷ Ficha técnica da lipase CAL-B fornecida pela Novozymes®
- ⁵⁸ CHIMNI, S. S.; KAUR, K.; BALA, N. Highly enantioselective kinetic resolution of *trans*-2-(phenylthio)cyclohexanol derivatives by immobilized *Candida antarctica* B lipase. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 96, p. 67-74, 2013.
- ⁵⁹ PÄIVIÖ, M.; MAVRYNSKY, D.; LEINO, R.; KANERVA, L. T. Dynamic kinetic resolution of a wide range of secondary alcohols: cooperation of dicarbonylchlorido(pentabenzylcyclopentadienyl)ruthenium and CAL-B. **European Journal of Organic Chemistry**, p. 1452-1457, 2011.
- ⁶⁰ SOUZA, R. O. M. A.; MIRANDA, L. S. M. Reações sob fluxo contínuo: da química verde a um processo verde. **Revista Virtual de Química**, v. 6, p. 34-43, 2014.

⁶¹ SCHÖNSTEIN, L.; FORRÓ, E.; FÜLÖP, F. Continuous-flow enzymatic resolution strategy for the acylation of amino alcohols with a remote stereogenic centre: synthesis of calycotomine enantiomers. **Tetrahedron: Asymmetry**, v. 24, p. 202-206, 2013.

⁶² WILES, C.; WATTS, P. Continuous flow reactors: a perspective. **Green Chemistry**, v. 14, p. 38-52, 2012.

⁶³ FALUS, P.; BOROS, Z.; HORNYÁNSZKY, G.; NAGY, J.; DARVAS, F.; ÜRGE, L.; POPPE, L. Reductive amination of ketones: novel one-step transfer hydrogenations in batch and continuous-flow mode. **Tetrahedron Letters**, v. 53, n. 12, p. 1310-1312, 2011.

⁶⁴ ÖTVOS, S. B.; MÁNDITY, I. M.; FÜLÖP, F. Highly efficient 1,4-addition of aldehydes to nitroolefins: organocatalysis in continuous flow by solid-supported peptidic catalysis. **ChemSusChem**, v. 5, p. 266-269, 2012.

⁶⁵ FALUS, P.; BOROS, Z.; KOVÁCS, P.; POPPE, L.; NAGY, J. Lipase-catalyzed kinetic resolution of 1-(2-hydroxycyclohexyl)indoles in batch and continuous-flow systems. **Journal of Flow Chemistry**, v. 3, p. 125-134, 2014.

⁶⁶ SUTILI, F. K.; RUELA, H. S.; LEITE, S. G. F.; MIRANDA, L. S. M.; LEAL, I. C. R.; SOUZA, R. O. M. A. Lipase-catalyzed esterification of steric hindered fructose derivative by continuous flow and batch conditions. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 85-86, p. 37-42, 2013.

⁶⁷ COSTA, A. C. S. **Aplicação de lipases de metagenômica em reações de resolução cinética de álcoois secundários quirais**. Curitiba, 2014. Dissertação de Mestrado em Química, Universidade Federal do Paraná.

⁶⁸ VOGEL, A. I. **Practical organic chemistry**, 5 ed., Longman Scientific and Technical: New York, 1989.

⁶⁹ DIESKAU, A. P.; BEGOUIN, J. M.; PLIETKER, B. $\text{Bu}_4\text{N}[\text{Fe}(\text{CO})_3(\text{NO})]$ -catalyzed hydrosilylation of aldehydes and ketones. **European Journal of Organic Chemistry**, v. 2011, n. 27, p. 5291-5296, 2011.

⁷⁰ CAO, L.; DING, J.; GAO, M.; WANG, Z.; LI, J.; WU, A. Novel and direct transformation of methyl ketones or carbinols to primary amides by employing aqueous ammonia. **Organic Letters**, v. 11, n. 17, p. 3810-3813, 2009.

⁷¹ HANDY, S. T.; Grignard reactions in imidazolium ionic liquids. **Journal of Organic Chemistry**, v. 71, n. 12, p. 4659-4662, 2006.

⁷² NIXON, T. D.; WHITTLESEY, M. K.; WILLIAMS, J. M. J. Ruthenium-catalysed transfer hydrogenation reactions with dimethylamine borane. **Tetrahedron Letters**, v. 52, n. 49, p. 6652-6654, 2011.

⁷³ CHEM, F. E.; ZHANG, H.; YUAN, W.; ZHANG, W. W. A new convenient reduction of aralkyl ketones to alcohols using Raney nickel-ammonium formate. **Synthetic Communications**, v. 21, n. 1, p. 107-109, 1991.

⁷⁴ TANOUE, Y.; TERADA, A.; SETO, I.; UMEZU, Y.; TSUGE, O. One-pot ortho hydroxylations of 2-(1-hydroxyalkyl)naphthalenes and (1-hydroxyalkyl)benzenes. **Bulletin of the Chemical Society of Japan**, v. 61, n. 4, p. 1221-1224, 1988.

⁷⁵ RUNGE, M. B.; MWANGI, M. T.; MILLER, A. L.; PERRING, M.; BOWDEN, N. B. Cascade reactions using LiAlH_4 and Grignard reagents in the presence of water. **Angewandte Chemie**, v. 47, n. 5, p. 935-939, 2008.

⁷⁶ MAGENS, S.; ERTELT, M.; JATSCH, A.; PLIETKER, B. A nucleophilic Fe catalyst for transesterifications under neutral conditions. **Organic Letters**, v. 10, n. 1, p. 53-56, 2008.

⁷⁷ CHAKRABORTI, A. K.; CHANKESHWARA, S. V. Counterattack mode differential acetylative deprotection of phenylmethyl ethers: applications to solid phase organic reactions. **Journal of Organic Chemistry**, v. 74, n. 3, p. 1367-1370, 2009.

⁷⁸ SOKOL, W.; WARKENTIN, J. Synthesis and thermolysis rate constants of diastereomeric oxadiazoline sources of acetoxy(methoxy)carbine – reaction of acetoxy(methoxy)carbine with isocyanates. **Canadian Journal of Chemistry**, v. 84, n. 7, p. 927-933, 2006.

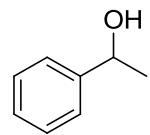
-
- ⁷⁹ BABA, H.; MORIYAMA, K.; TOGO, H. Benzylic-acetoxylation of alkylbenzenes with $\text{PhI}(\text{OAc})_2$ in the presence of catalytic amounts of TsNH_2 and I_2 . **Tetrahedron Letters**, v. 52, n. 33, p. 4303-4307, 2011.
- ⁸⁰ KUMAR, V.; SHARMA, A.; SHARMA, M.; SHARMA, U. K.; SINHA, A. K. DDQ catalyzed benzylic acetoxylation of arylkanes: a case of exquisitely controlled oxidation under sonochemical activation. **Tetrahedron**, v. 63, n. 39, p. 9718-9723, 2007.
- ⁸¹ TURNER, N. J. Controlling chirality. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 14, p. 401-406, 2003.
- ⁸² ATKINS, P. W.; PAULA, J. **Físico-química**, 9 ed., LTC: São Paulo, 2012.
- ⁸³ BORNSCHEUER, U.; KAZLAUSKAS, R. **Hydrolases in Organic Synthesis. Regio- and Stereoselective Biotransformations**, Wiley-VCH: Germany, 1999.
- ⁸⁴ LAANE, C.; BOEREN, S.; VOS, K.; VEEGER, C. Rules for optimization of biocatalysis in organic solvents. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 30, p. 81-87, 1987.
- ⁸⁵ RODRÍGUEZ, B. H.; CÓRDOVA, J.; BARZANA, E.; TORRES, E. F. Effects of organic solvents on activity and stability of lipases produced by thermotolerant fungi in solid-state fermentation. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 61, n. 3 e 4, p. 136-142, 2009.
- ⁸⁶ SHARMA, S.; KANWAR, S. S. Organic Solvent Tolerant Lipases and Applications. **The Scientific World Journal**, v. 2014, p. 1-15, 2014.
- ⁸⁷ CLAYDEN, J.; GREEVES, N.; WARREN, S.; WOTHERS, P. **Organic Chemistry**, 1 ed., Oxford University Press: New York, 2001.
- ⁸⁸ TEIXEIRA, R.; LOURENÇO, N. M. T. Enzymatic kinetic resolution of *sec*-alcohols using an ionic liquid anhydride as acylating agent. **Tetrahedron: Asymmetry**, v. 25, p. 944-948, 2014.
- ⁸⁹ FRYKMAN, H.; OHRNER, N.; NORIN, T.; HULT, K. S-ethyl thiooctanoate as acyl donor in lipase catalysed resolution of secondary alcohols. **Tetrahedron Letters**, v.34, n.8, p. 1367-1370, 1993.

-
- ⁹⁰ DEBBECHE, H.; TOFFANO, M.; FIAUD, J. C.; ZOUIOUECHE, L. A. Multi-substrate screening for lipase-catalyzed resolution of arylalkylethanols with succinic anhydride as acylating agent. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 66, 319-324, 2010.
- ⁹¹ WANG, B.; JIANG, L.; WANG, J.; MA, J.; LIU, M.; YU, H. A tandem and fully enzymatic procedure for the green resolution of chiral alcohols: acylation and deacylation in non-aqueous media. **Tetrahedron: Asymmetry**, v. 22, p. 980–985, 2011.
- ⁹² EMA, T.; URA, N.; YOSHII, M.; KORENAGA, T.; SAKAI, T. Empirical method for predicting enantioselectivity in catalytic reactions: demonstration with lipase and oxazaborolidine. **Tetrahedron**, v. 65, p. 9583–9591, 2009.
- ⁹³ RIVILLA, C. P.; CAFÉU, M. C.; CASATEJADA, J. A.; ARAUJO, A. R.; COLLADO, I. G. Asymmetric microbial reduction of ketones: absolute configuration of *trans*-4-ethyl-1-(1*S*-hydroxyethyl)cyclohexanol. **Tetrahedron: Asymmetry**, v. 20, p. 2666-2672, 2009.
- ⁹⁴ PIOVAN, L.; WU, L.; ZHANG, Z. Y.; ANDRADE, L. H. Hypervalent organochalcogenanes as inhibitors of protein tyrosine phosphatases. **Organic & Biomolecular Chemistry**, v. 9, p. 1347-1351, 2011.
- ⁹⁵ MATSUDA, T.; WATANABE, K.; HARADA, T.; NAKAMURA, K.; ARITA, Y.; MISUMI, Y.; ICHIKAWA, S.; IKARIYA, T. High-efficiency and minimum-waste continuous kinetic resolution of racemic alcohols by using lipase in supercritical carbon dioxide. **Chemical Communications**, n. 20, p. 2286-2287, 2004.
- ⁹⁶ LOZANO, P.; VERDUGO, E. G.; KARBASS, N.; MONTAGUE, K.; DIEGO, T.; BURGUETE, I.; LUIS, S. V. Supported ionic liquid-like phases (SILLPs) for enzymatic processes: continuous KR and DKR in SILLP-scCO₂ systems. **Green Chemistry**, v. 12, p. 1803-1810, 2010.
- ⁹⁷ REETZ, M. T.; WIESENHÖFER, W.; FRANCIÓ, G.; LEITNER, W. Continuous flow enzymatic kinetic resolution and enantiomer separation using ionic liquid/supercritical carbon dioxide media. **Advanced Synthesis & Catalysis**, v. 345, p. 1221-1228, 2003.
- ⁹⁸ CSAJÁGI, C.; SZATZKER, G.; TÖKE, E. R.; ÜRGE, L.; DARVAS, F.; POPPE, L. Enantiomer selective acylation of racemic alcohols by lipases in continuous-flow bioreactors. **Tetrahedron: Asymmetry**, v. 19, p. 237-246, 2008.

⁹⁹ AMAREGO, W. L. F.; CHAI, C. L. L.; **Purification of Laboratory Chemicals**, 5 ed., Elsevier Science: USA, 2006.

¹⁰⁰ CHEN, C. S.; FUJIMOTO, Y.; GIRDAUKAS, G.; SIH, C. J. Quantitative analysis of biochemical kinetic resolutions of enantiomers. **Journal of the American Chemical Society**, v. 104, n. 25, p. 7294-7299, 1982.

ANEXOS



$C_8H_{10}O$
M.M. 122,07 g.mol⁻¹

1-feniletanol (1)

CG-EM (70 eV), m/z (intensidade relativa): 122 (M^+ , 34%); 107 (90%); 79 (100%); 77(54%); 51 (21%); 43 (24%)

RMN de 1H (200 MHz, $CDCl_3$, TMS), δ (ppm): 1,42 (d, $J = 6,5$ Hz, 3H); 4,79 (q, $J = 6,5$ Hz, 1H); 7,20-7,32 (m, 5H)

RMN de ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$), δ (ppm): 25,1; 70,3; 125,4; 127,4; 128,5; 145,9

IV (cm^{-1}): 3352, 3085, 3029, 2973, 2926, 2879, 1949, 1807, 1603, 1494, 1449, 1366, 1305, 1203, 1101, 1074, 1029, 1010, 997, 896

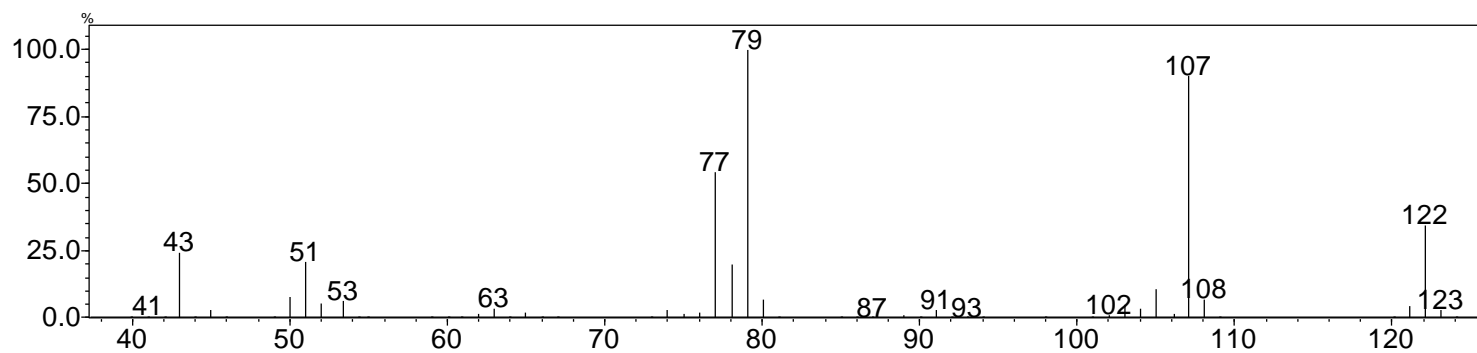


Figura 1. Espectro de massas do composto 1

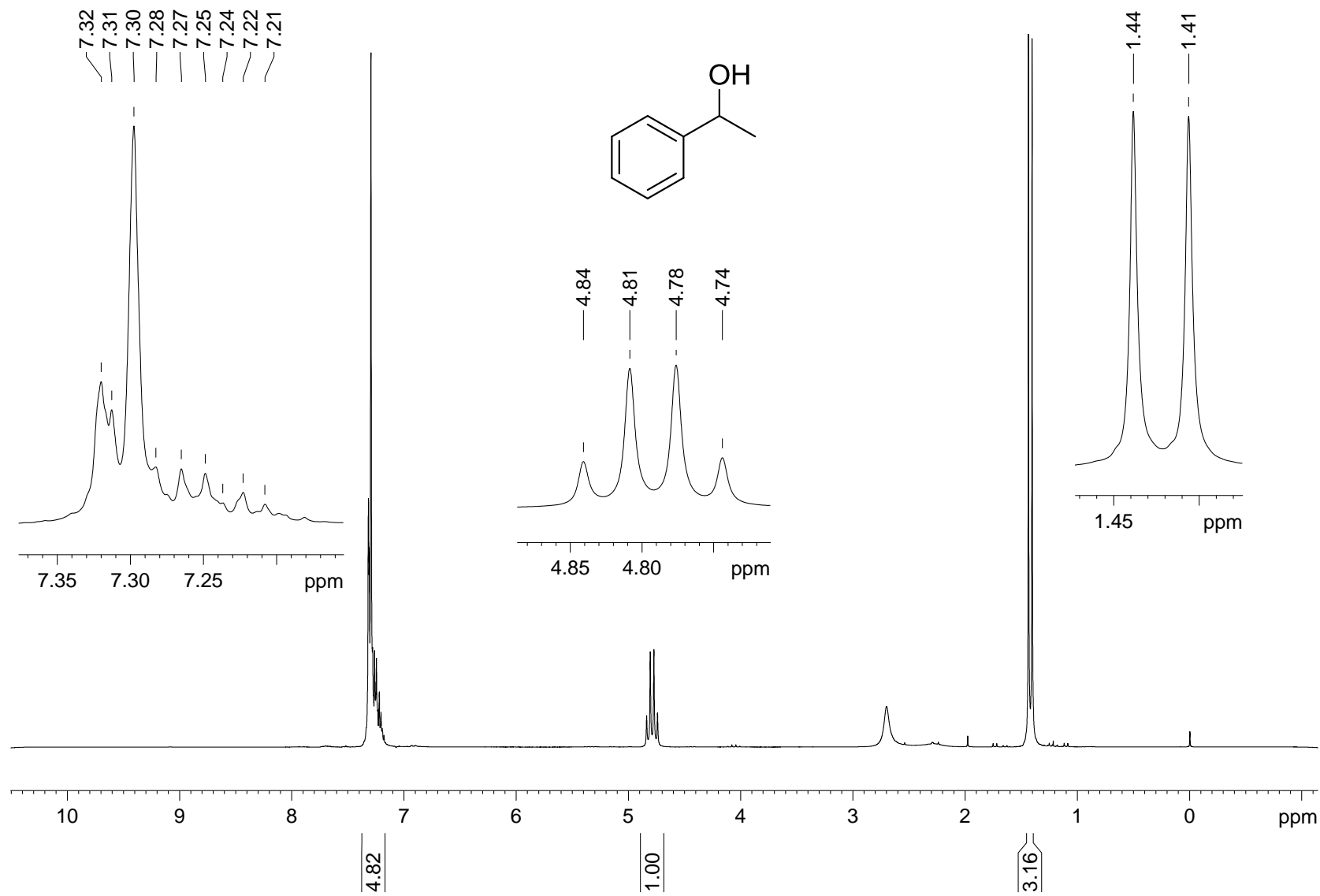


Figura 2. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3 , TMS) do composto 1

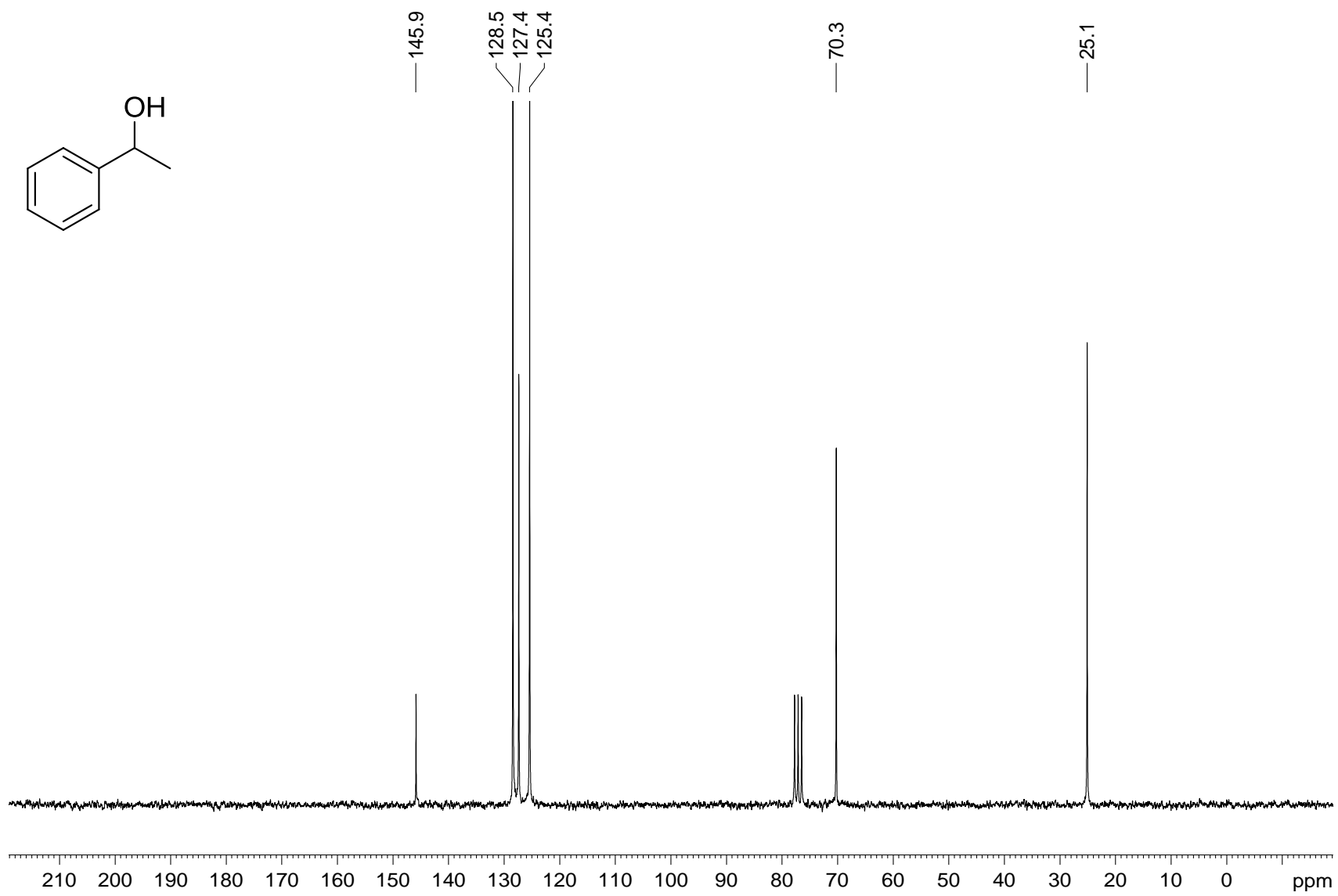


Figura 3. Espectro de RMN de ¹³C (50 MHz, CDCl₃, TMS) do composto 1

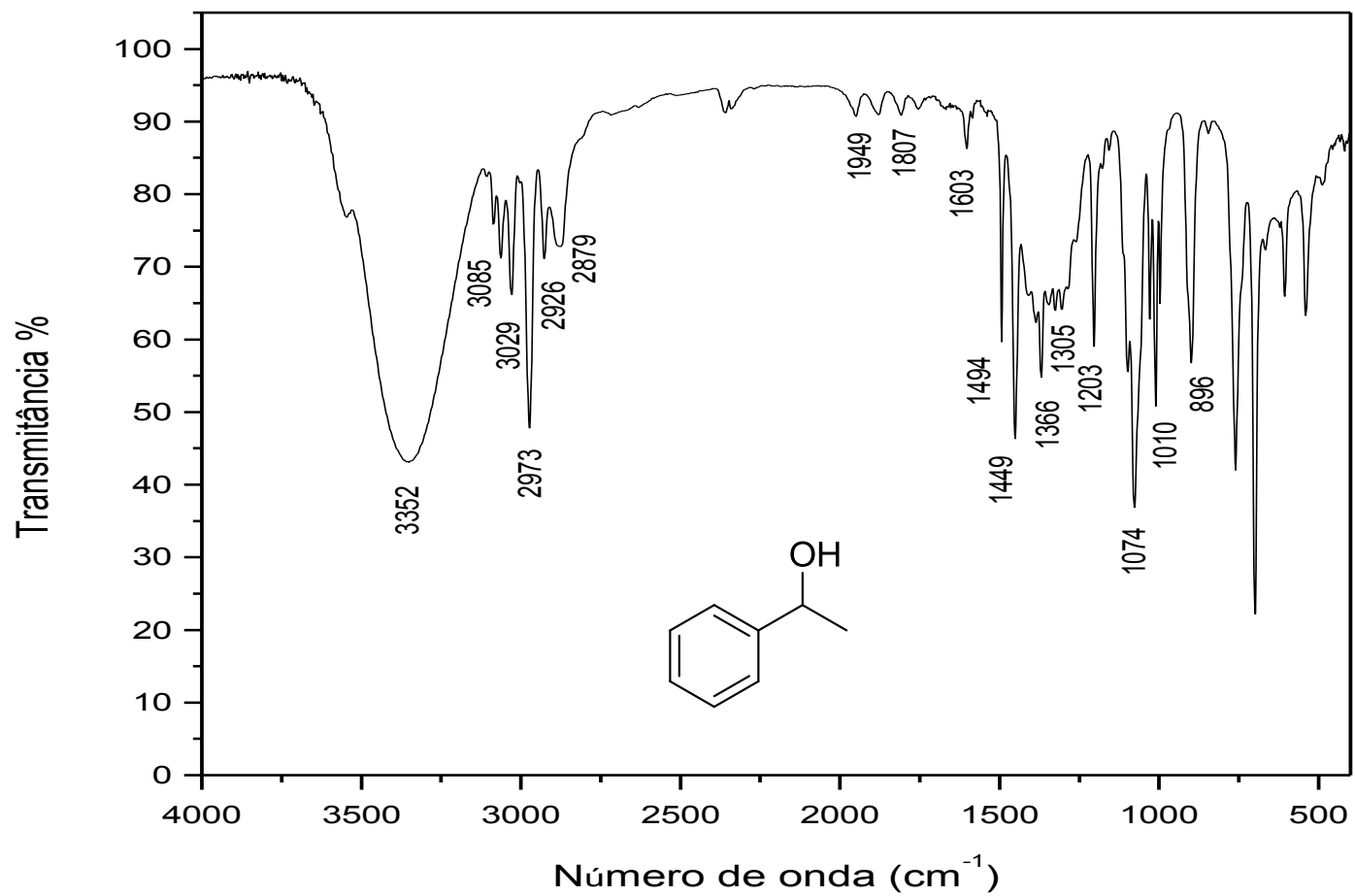
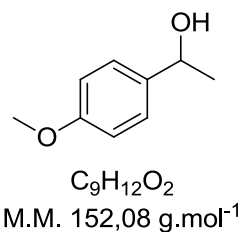


Figura 4. Espectro no IV do composto 1



1-(4-metoxifenil)etanol (**2**)

CG-EM (70 eV), m/z (intensidade relativa): 152 (M^+ , 30%); 137 (100%); 109 (64%); 94 (35%); 77(32%); 43 (21%).

RMN de 1H (200 MHz, $CDCl_3$, TMS), δ (ppm): 1,45 (d, $J = 6,5$ Hz, 3H); 3,79 (s, 3H); 4,82 (q, $J = 6,5$ Hz, 1H); 6,86 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H); 7,28 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H).

RMN de ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$), δ (ppm): 25,0; 55,3; 69,9; 113,8; 126,7; 138,0; 158,9

IV (cm^{-1}): 3377, 2968, 2929, 2835, 2542, 2362, 2056, 1889, 1768, 1611, 1509, 1458, 1367, 1300, 1244, 1176, 1033, 895

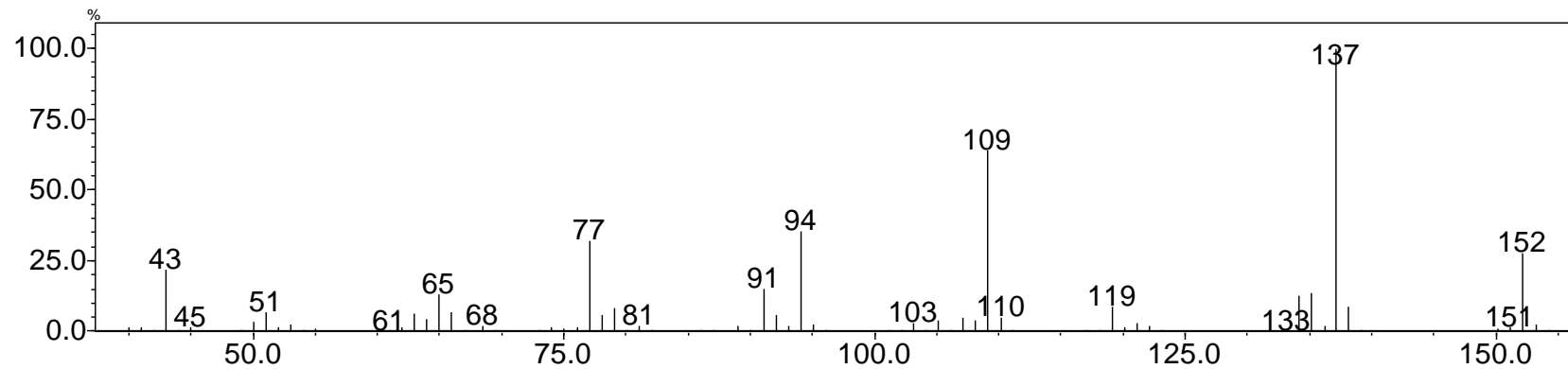


Figura 5. Espectro de massas do composto 2

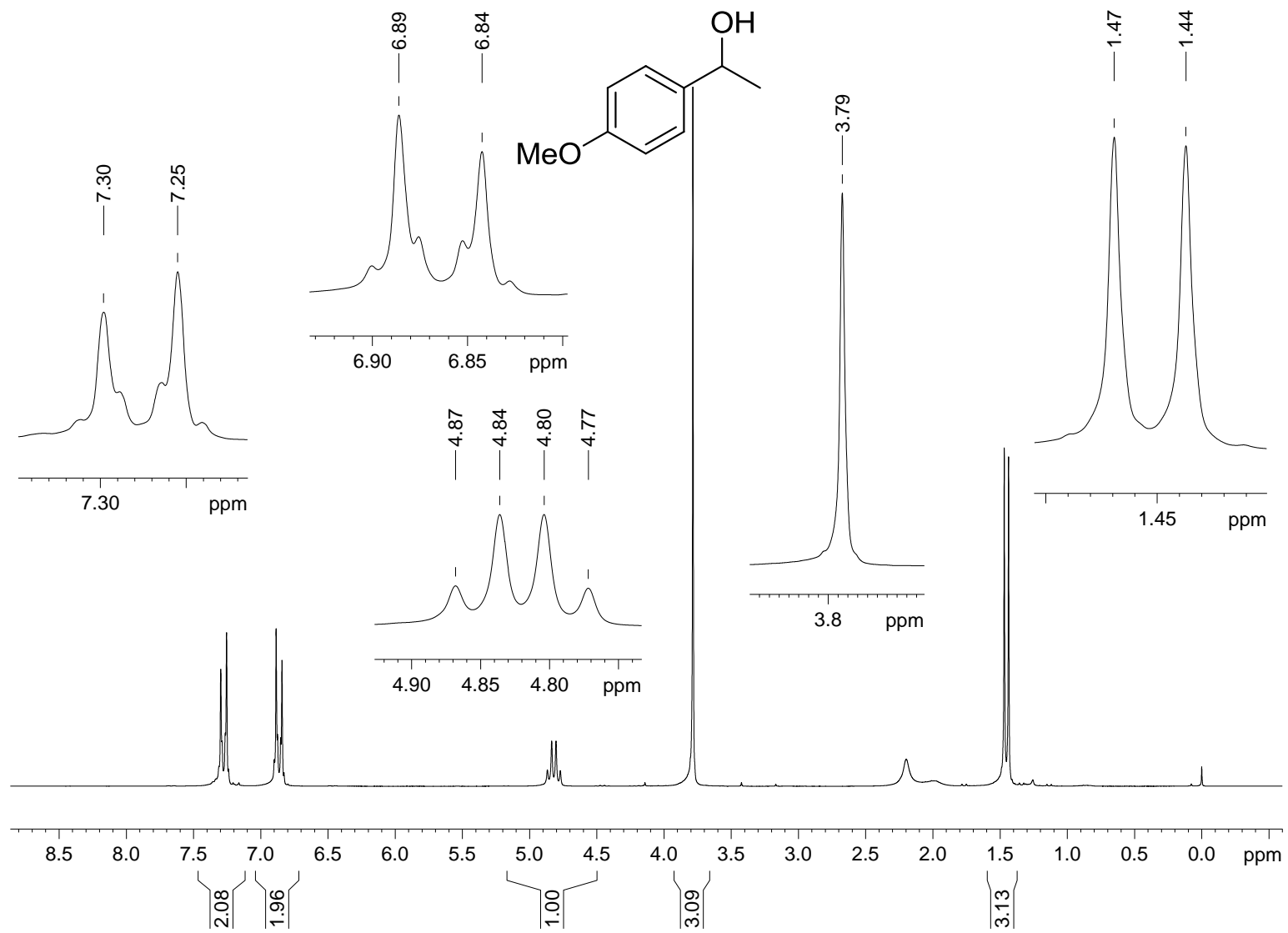


Figura 6. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3 , TMS) do composto **2**

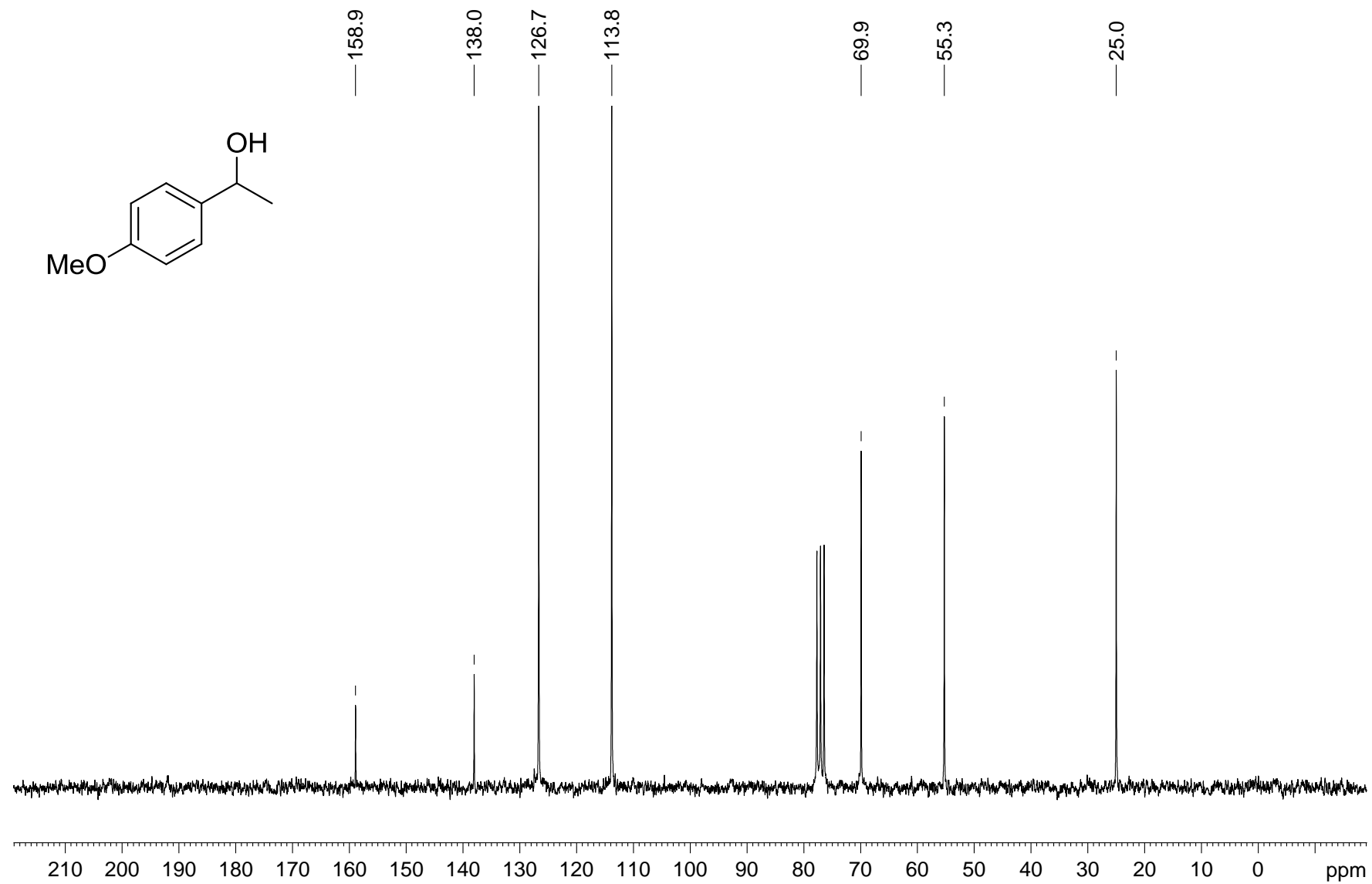


Figura 7. Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3 , TMS) do composto 2

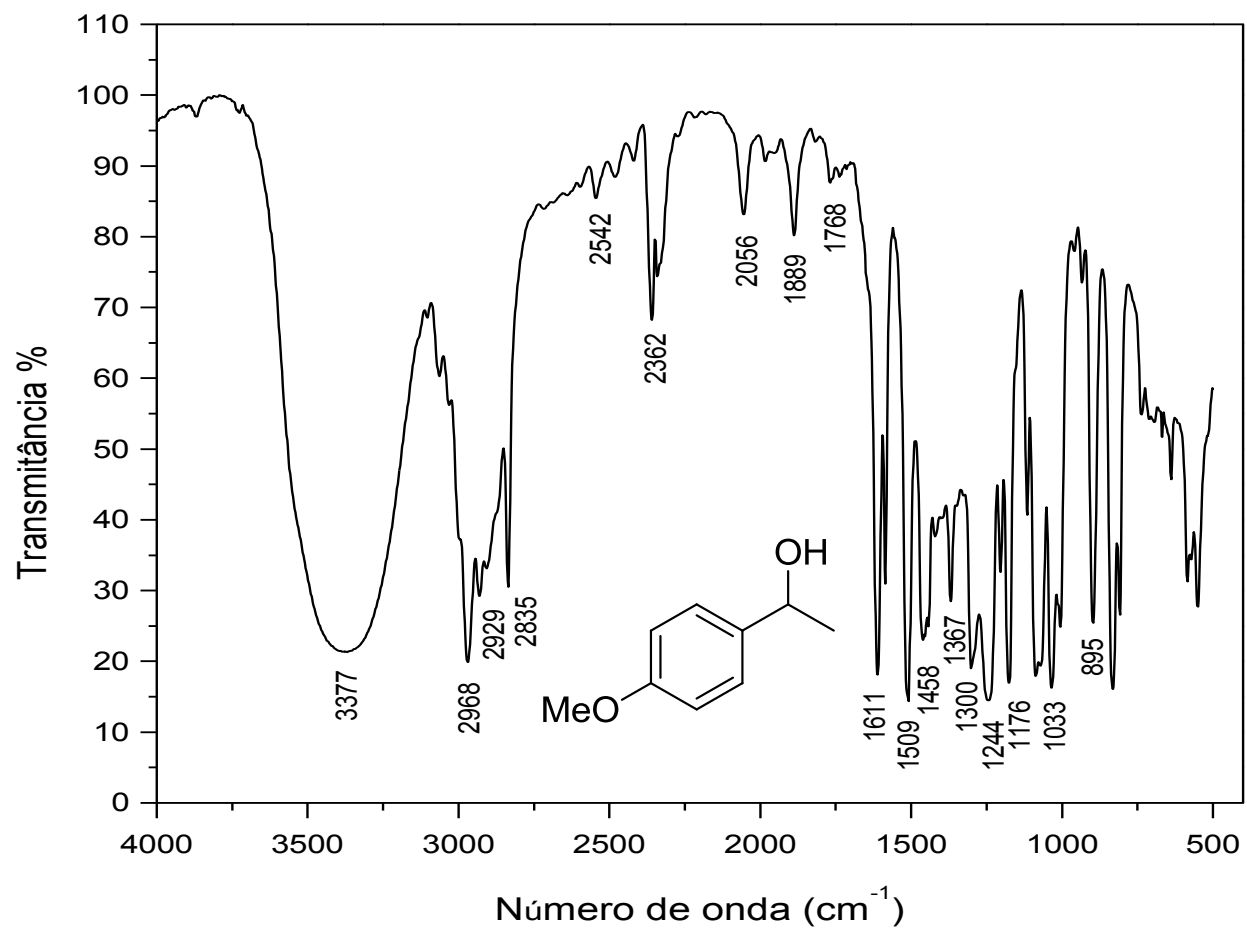
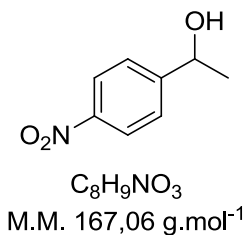


Figura 8. Espectro no IV do composto 2



1-(4-nitrofenil)etanol (**3**)

CG-EM (70 eV), m/z (intensidade relativa): 166 (M+, 1%); 152 (100%); 122 (25%); 107(75%); 94 (41%); 77 (89%); 51 (30%); 43 (58%)

RMN de ¹H (200 MHz, CDCl₃, TMS), δ (ppm): 1,50 (d, *J* = 6,5 Hz, 3H); 5,00 (q, *J* = 6,5 Hz, 1H); 7,52 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H); 8,15 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H)

RMN de ¹³C (50 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 25,3; 22,2; 71,2; 123,8; 126,7; 147,4; 148,9; 170,0

IV (cm⁻¹): 3376, 3108, 3078, 2973, 2930, 2451, 2361, 1932, 1803, 1680, 1606, 1516, 1451, 1343, 1286, 1198, 1108, 1013, 902, 855

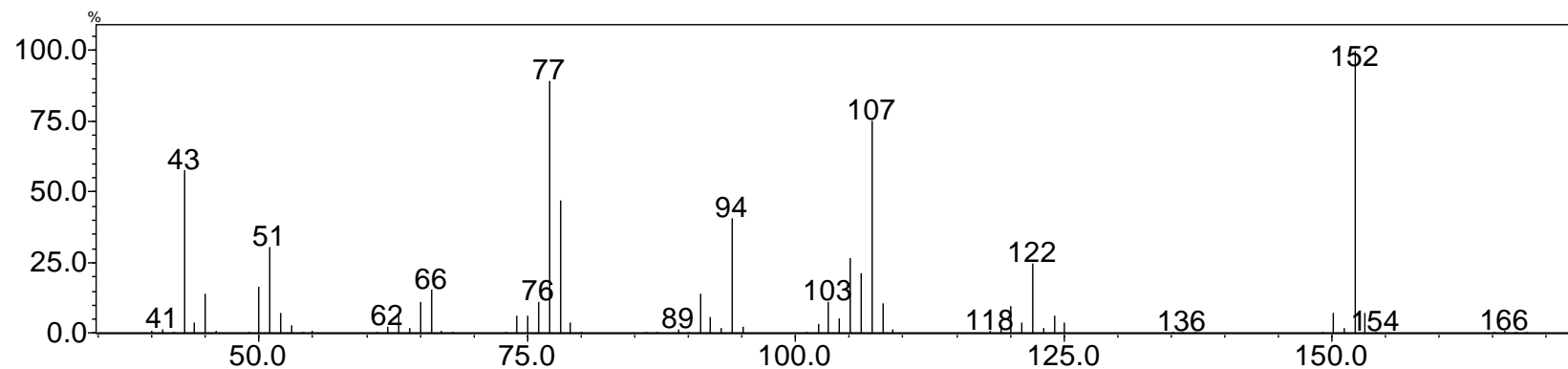


Figura 9. Espectro de massas do composto **3**

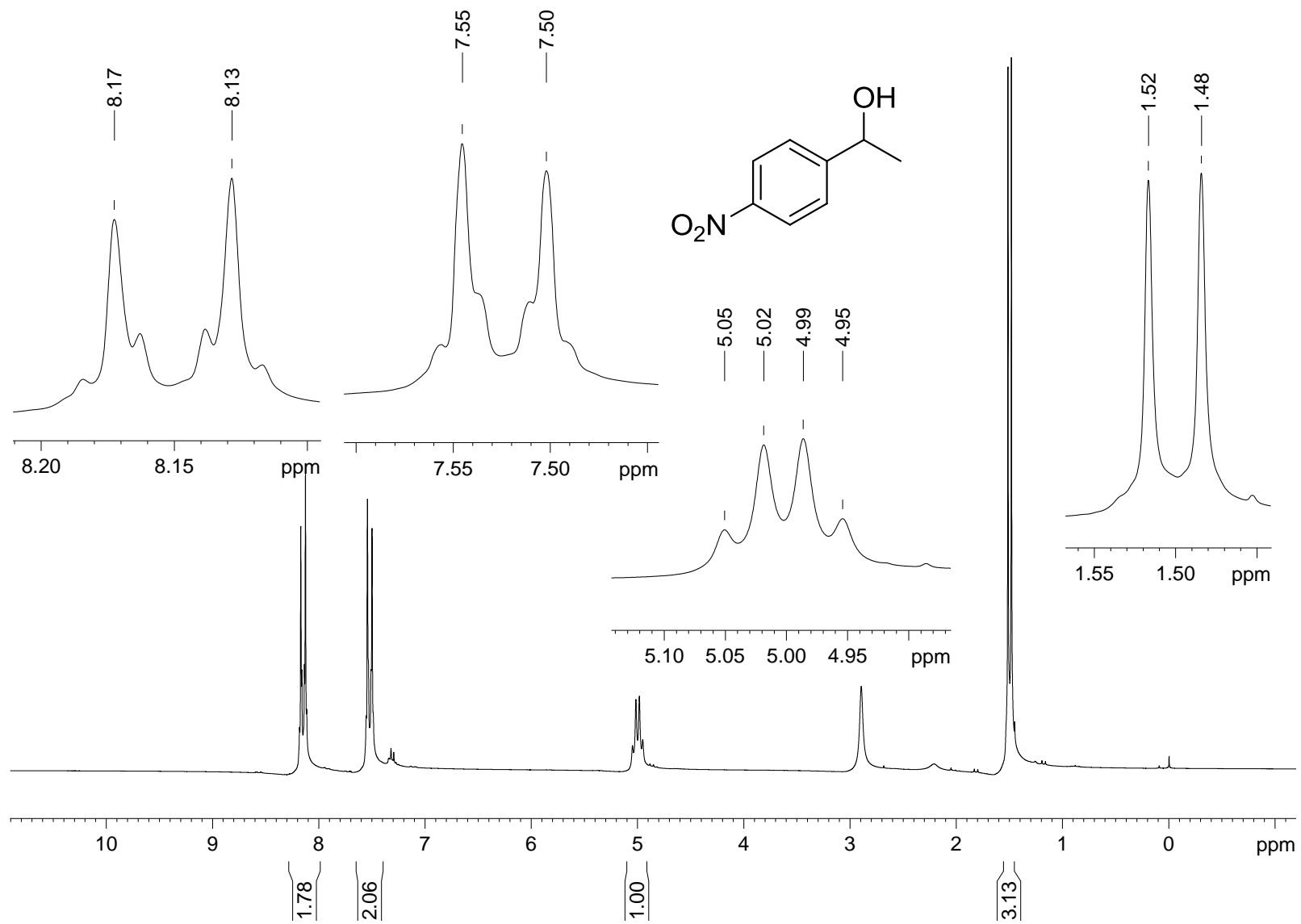


Figura 10. Espectro de RMN de ¹H (200 MHz, CDCl₃, TMS) do composto **3**

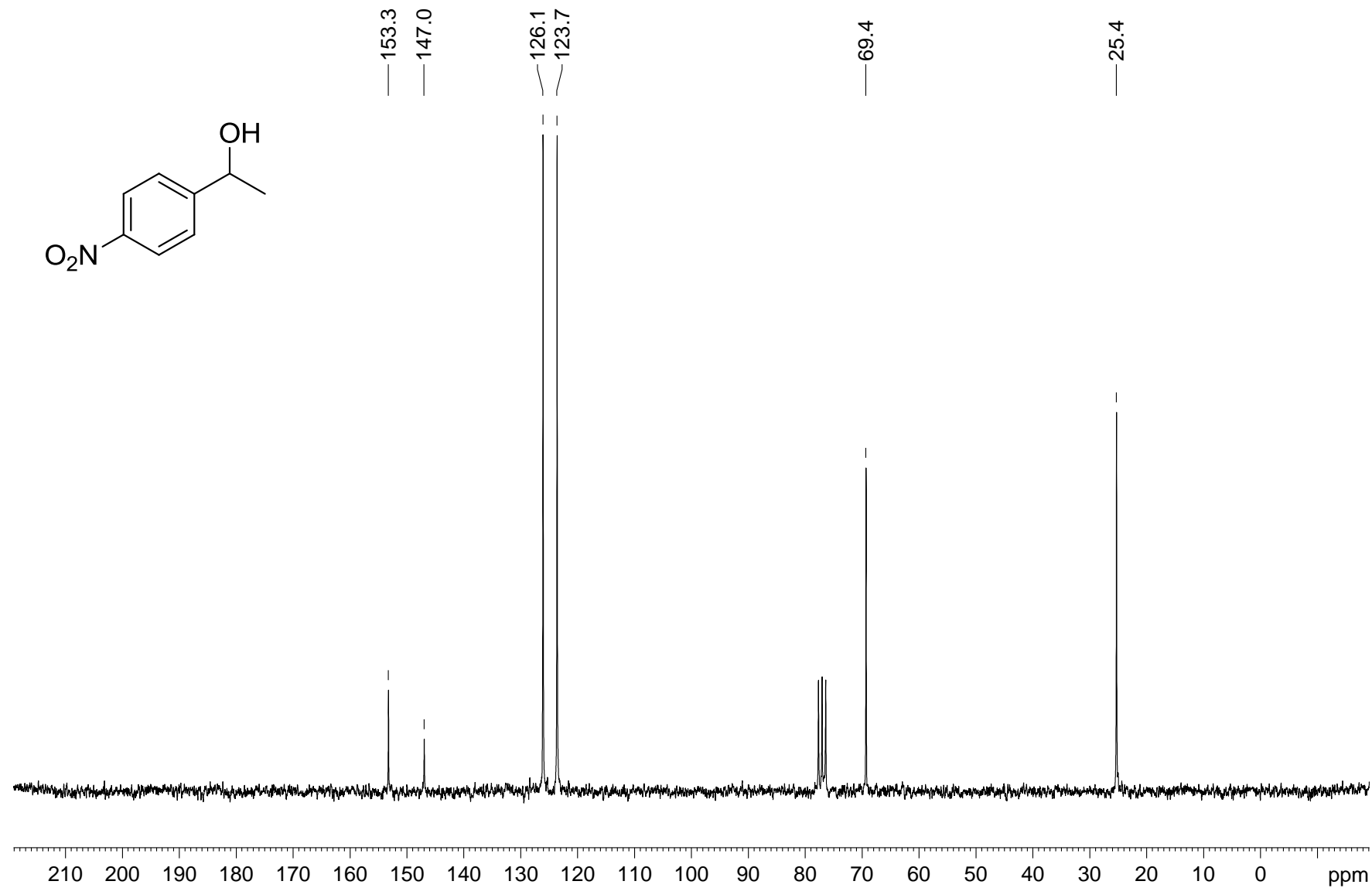


Figura 11. Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3 , TMS) do composto 3

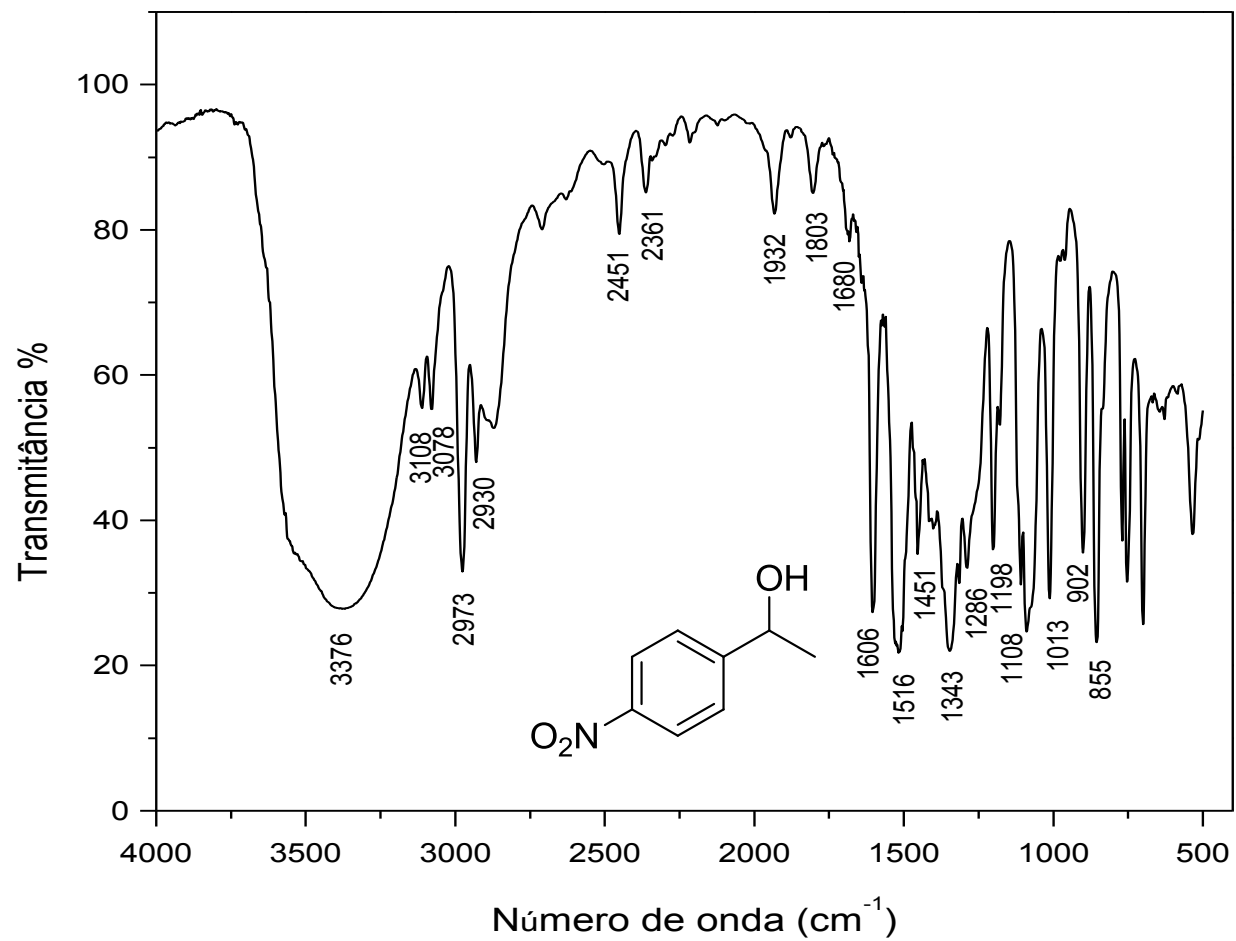
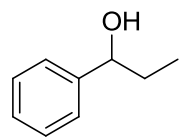


Figura 12. Espectro no IV do composto 3



$C_9H_{12}O$
M.M. 136,09 g.mol⁻¹

1-fenilpropanol (4)

CG-EM (70 eV), m/z (intensidade relativa): 136 (M^+ , 17%); 107 (100%); 91 (5%); 79 (79%); 77 (35%); 51 (10%)

RMN de 1H (200 MHz, $CDCl_3$, TMS), δ (ppm): 0,88 (t, $J = 7,4$ Hz, 3H); 1,66-1,86 (m, 2H); 4,53 (t, $J = 6,6$ Hz, 1H); 7,26-7,36 (m, 5H)

RMN de ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$), δ (ppm): 10,1; 31,9; 76,0; 126,0; 127,4; 128,4; 144,6

IV (cm^{-1}): 3330, 3087, 3063, 3029, 2931, 2873, 1496, 1454, 1210, 1014, 735

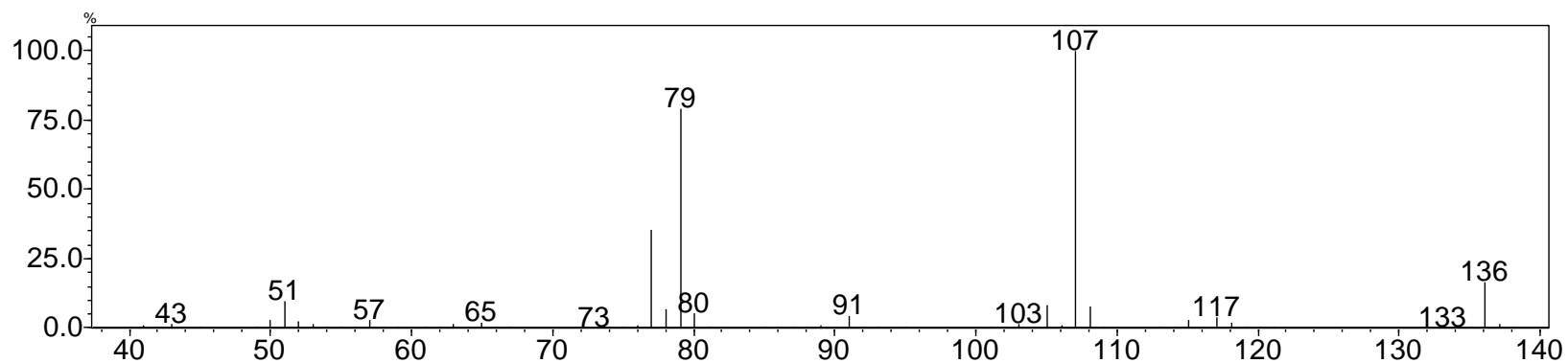


Figura 13. Espectro de massas do composto 4

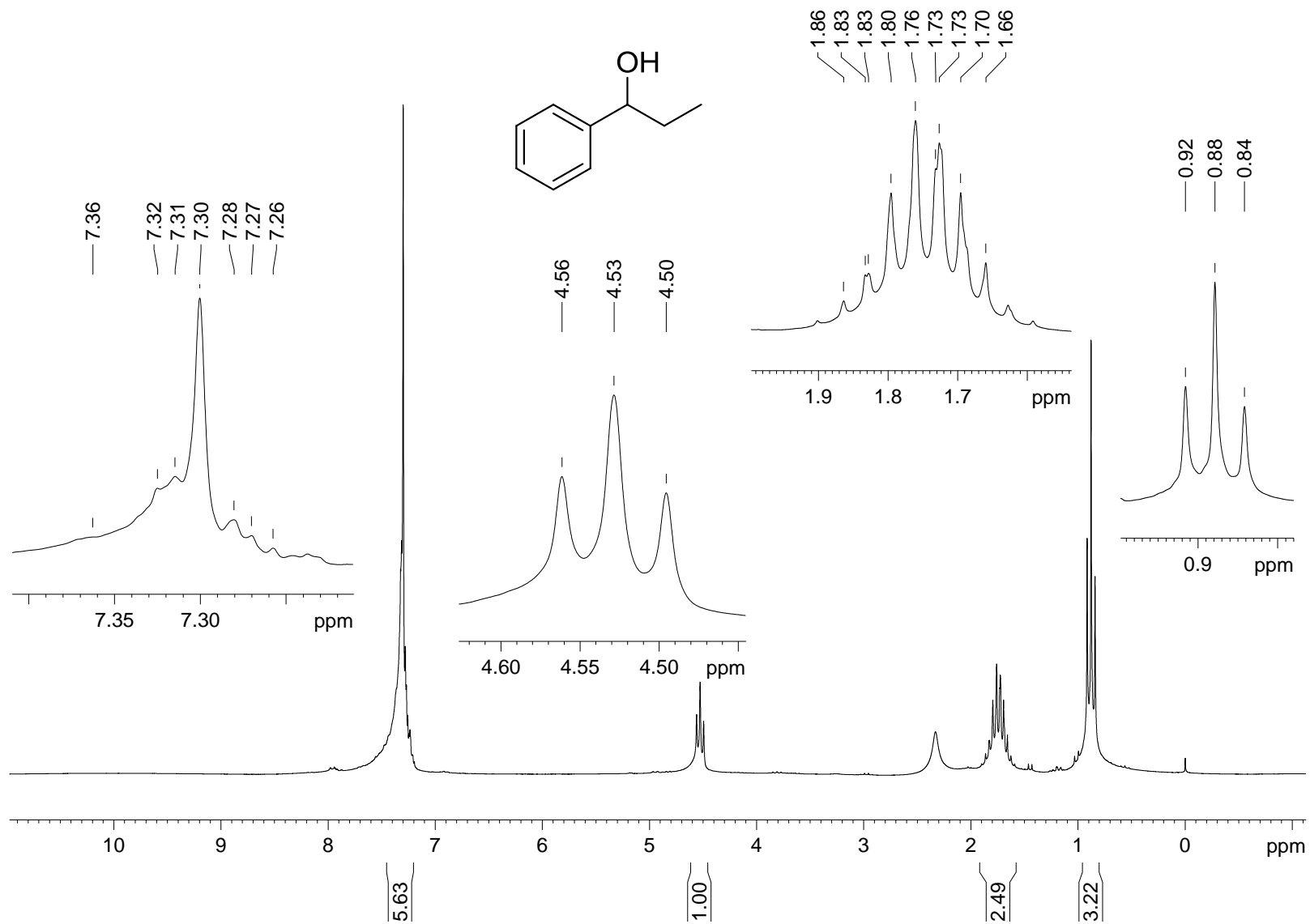


Figura 14. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3 , TMS) do composto 4

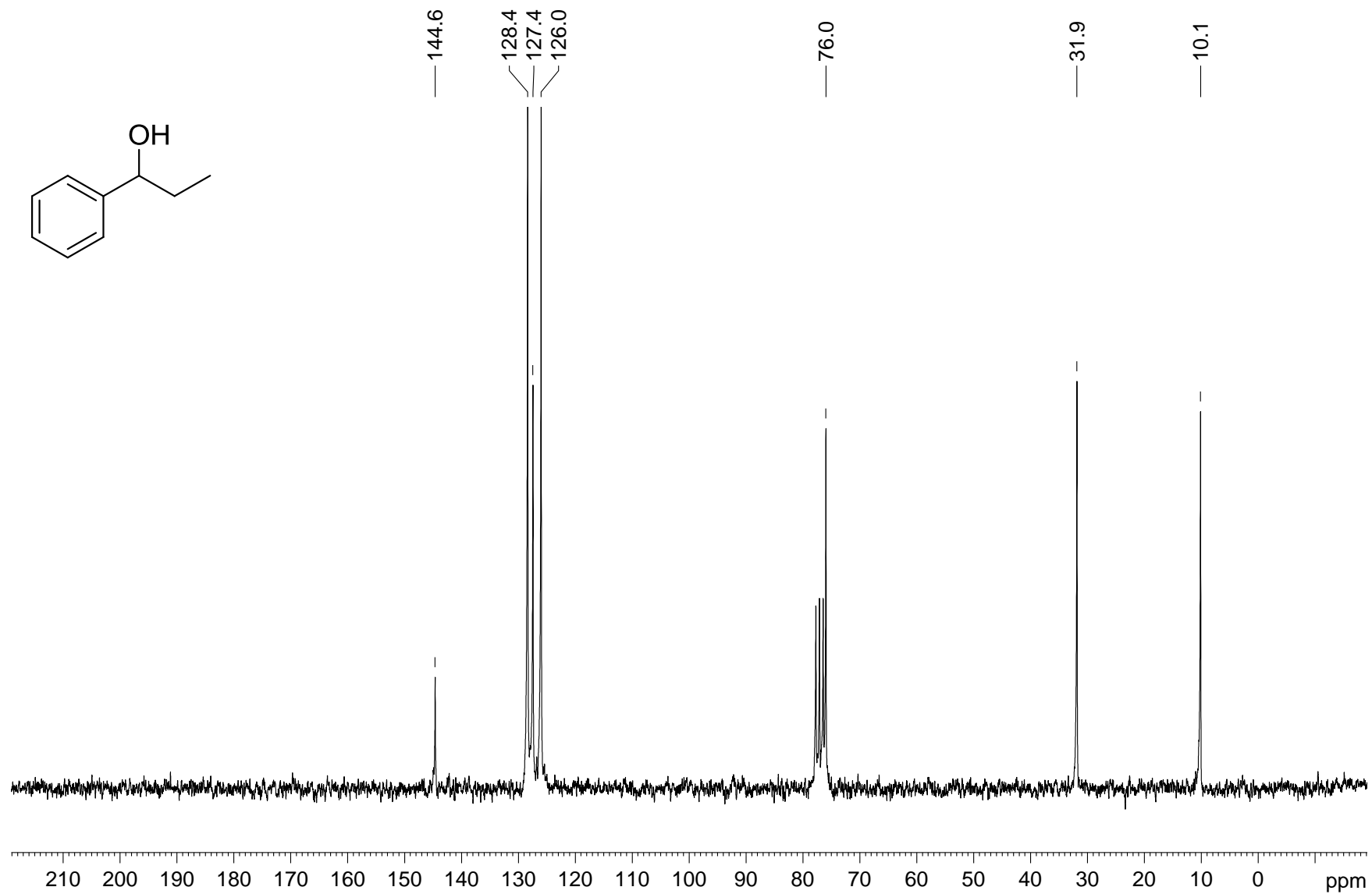


Figura 15. Espectro de RMN de ¹³C (50 MHz, CDCl₃, TMS) do composto 4

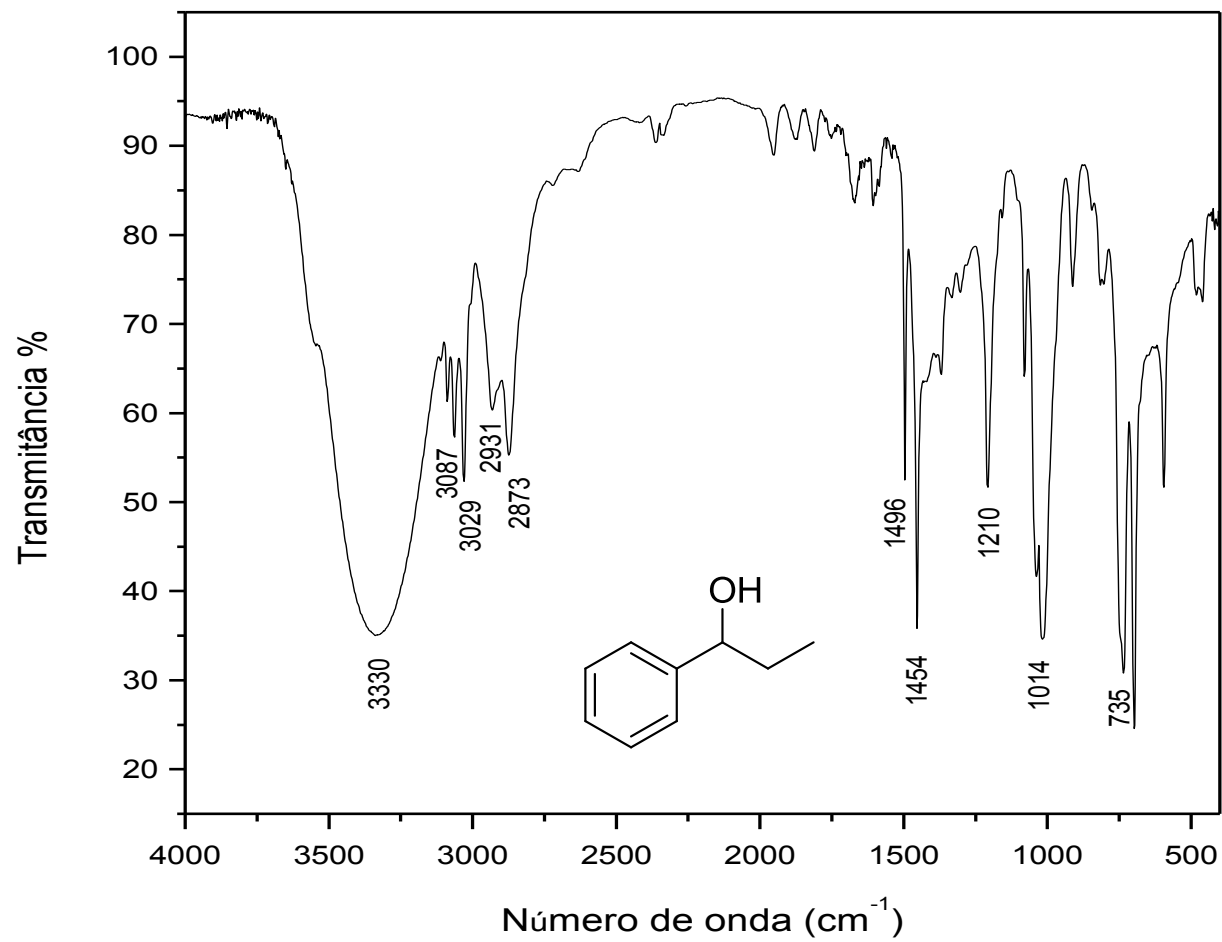
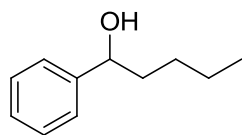


Figura 16. Espectro no IV do composto 4



$C_{11}H_{16}O$
M.M. 164,12 g.mol⁻¹

1-fenilpentanol (5)

CG-EM (70 eV), m/z (intensidade relativa): 164 (M^+ , 5%); 120 (12%); 107 (100%); 104 (33%); 79 (61%); 77 (42%); 51(10%)

RMN de 1H (200 MHz, $CDCl_3$, TMS), δ (ppm): 0,87 (t, $J = 6,8$ Hz, 3H); 1,12-1,38 (m, 4H); 1,61-1,80 (m, 2H); 4,61 (dd; $J = 7,3; 6,1$ Hz, 1H); 7,24-7,32 (m, 5H)

RMN de ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$), δ (ppm): 14,0; 22,6; 28,0; 38,8; 74,6; 125,9; 127,4; 128,4; 145,0

IV (cm^{-1}): 3346, 2934, 1877, 1494, 1463, 1194

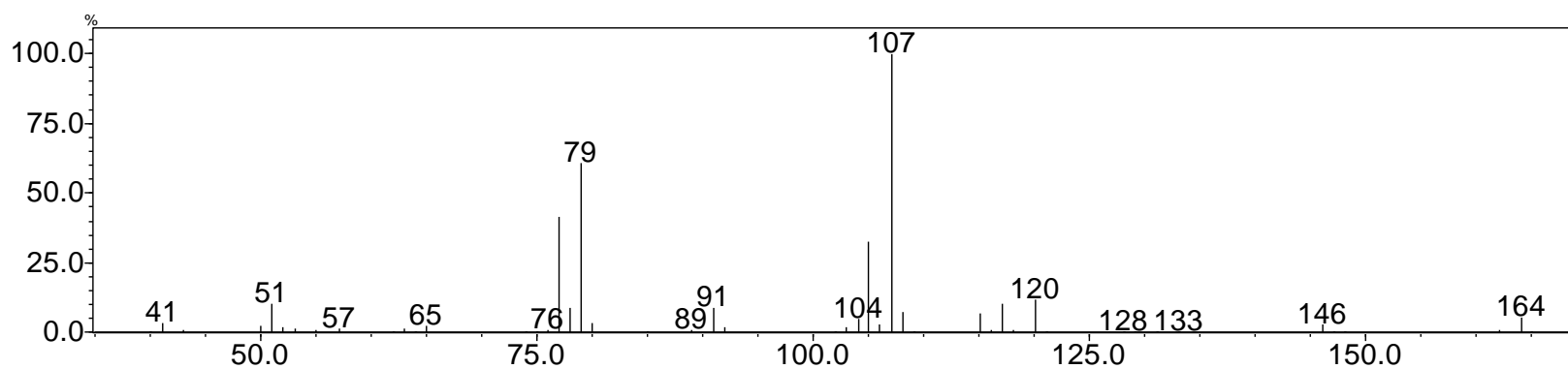


Figura 17. Espectro de massas do composto 5

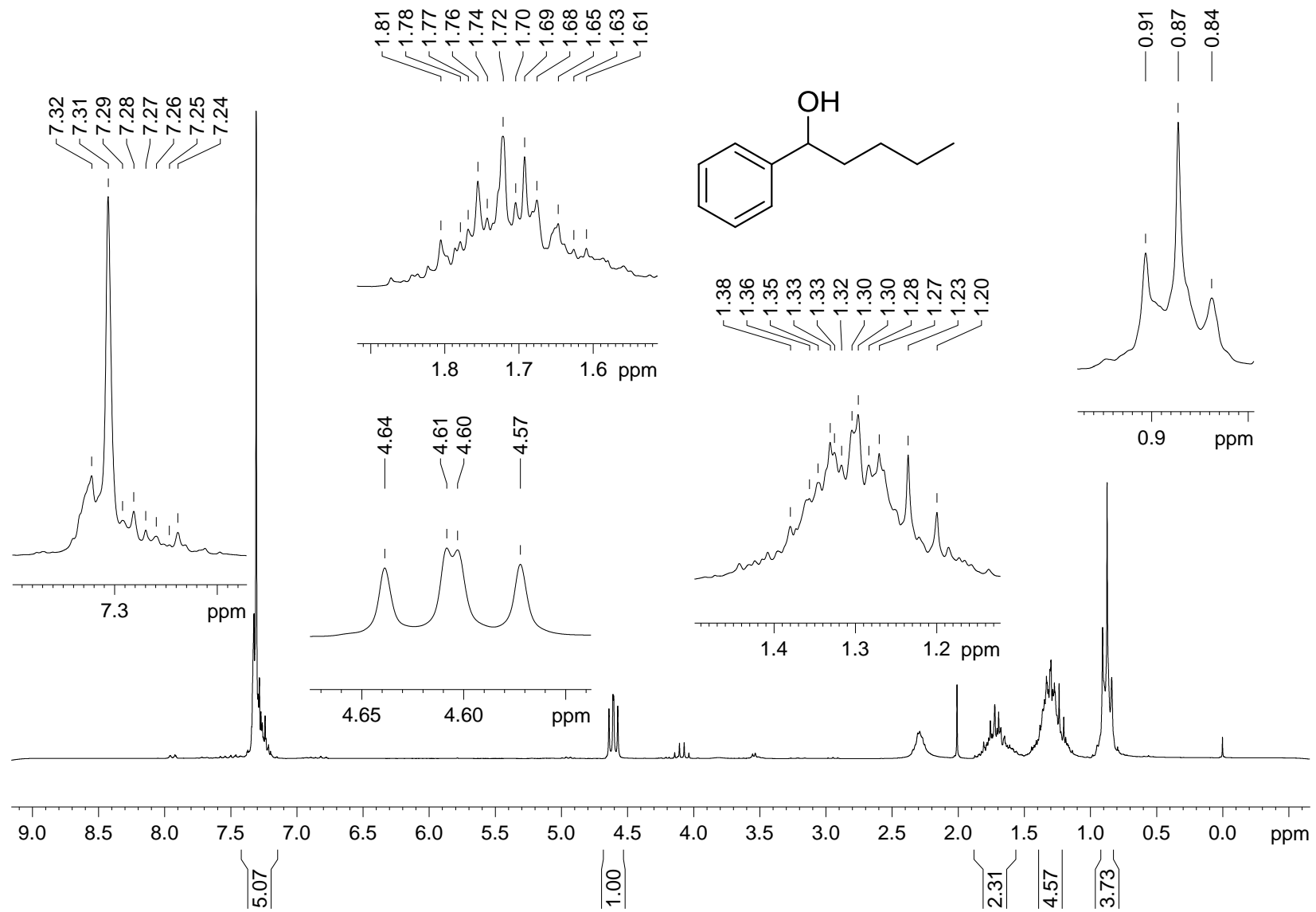


Figura 18. Espectro de RMN de ¹H (200 MHz, CDCl₃, TMS) do composto 5

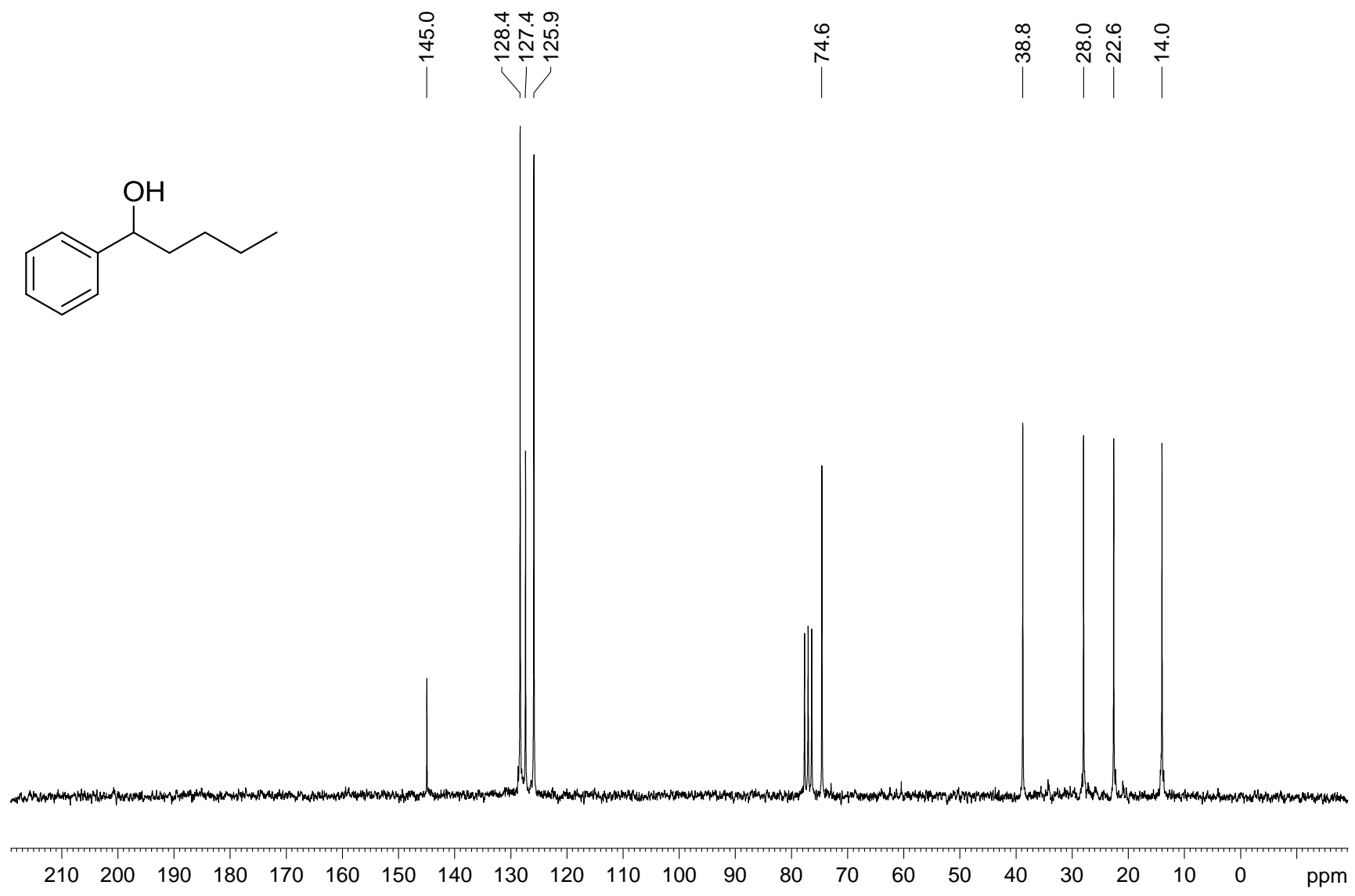


Figura 19. Espectro de RMN de ¹³C (50 MHz, CDCl₃, TMS) do composto 5

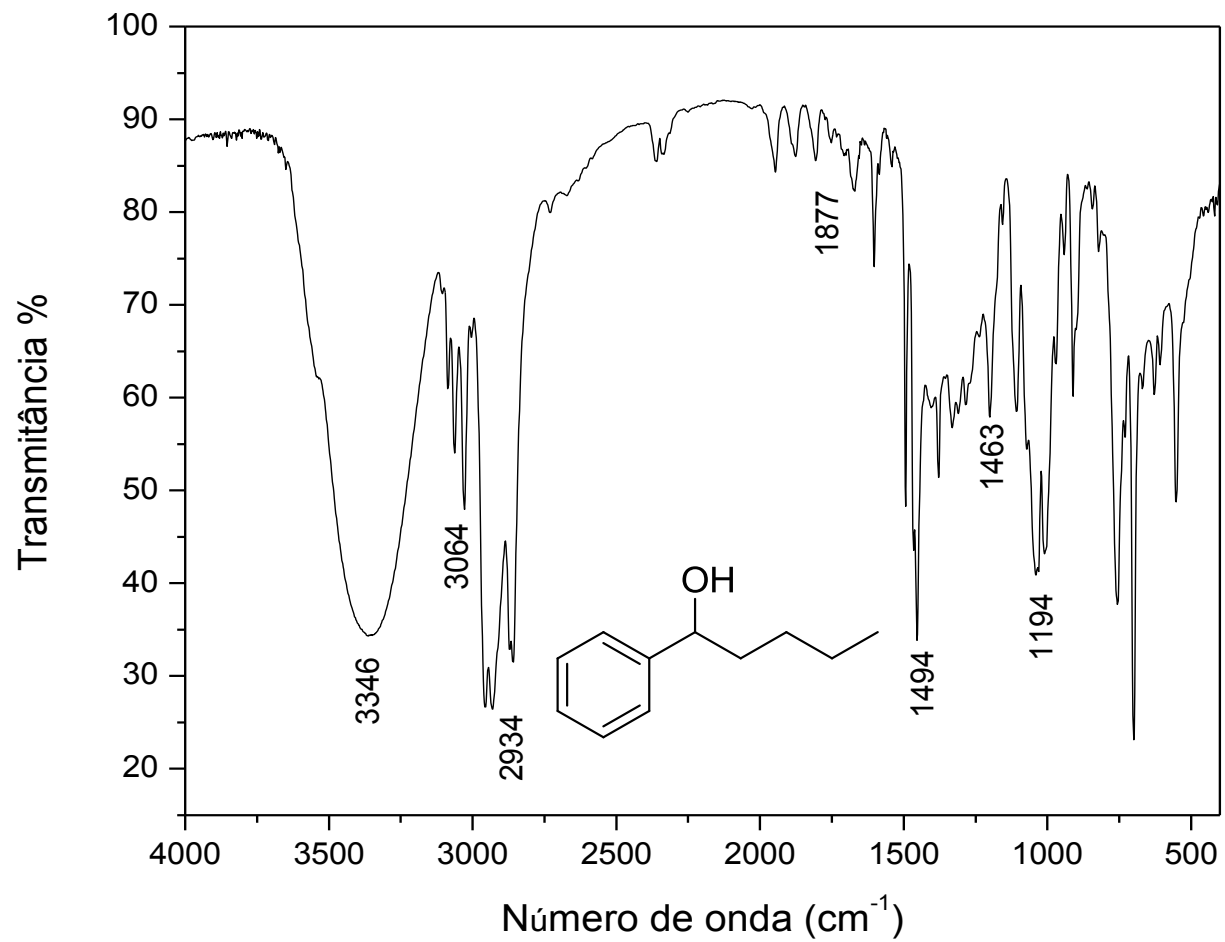
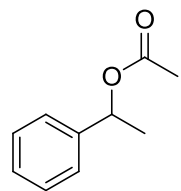


Figura 20. Espectro no IV do composto 5



$C_{10}H_{12}O_2$
M.M. 164,08 g.mol⁻¹

Acetato de 1-feniletila (**1a**)

CG-EM (70 eV), m/z (intensidade relativa): 164 (M^+ , 23%); 122 (100%); 105 (67%); 104 (89%); 107 (36%); 51 (15%); 43 (55%)

RMN de 1H (200 MHz, $CDCl_3$, TMS), δ (ppm): 1,53 (d, $J = 6,6$ Hz, 3H); 2,06 (s, 3H); 5,88 (q, $J = 6,6$ Hz, 1H); 7,24-7,31 (m, 5H)

RMN de ^{13}C (50 MHz - $CDCl_3$), δ (ppm): 21,3; 22,2; 72,3; 126,1; 127,8; 128,5; 141,7; 170,3

IV (cm^{-1}): 3088, 3064, 3034, 2983, 2932, 1743, 1452, 1374, 1232, 1207, 1069, 1028, 946, 760, 696

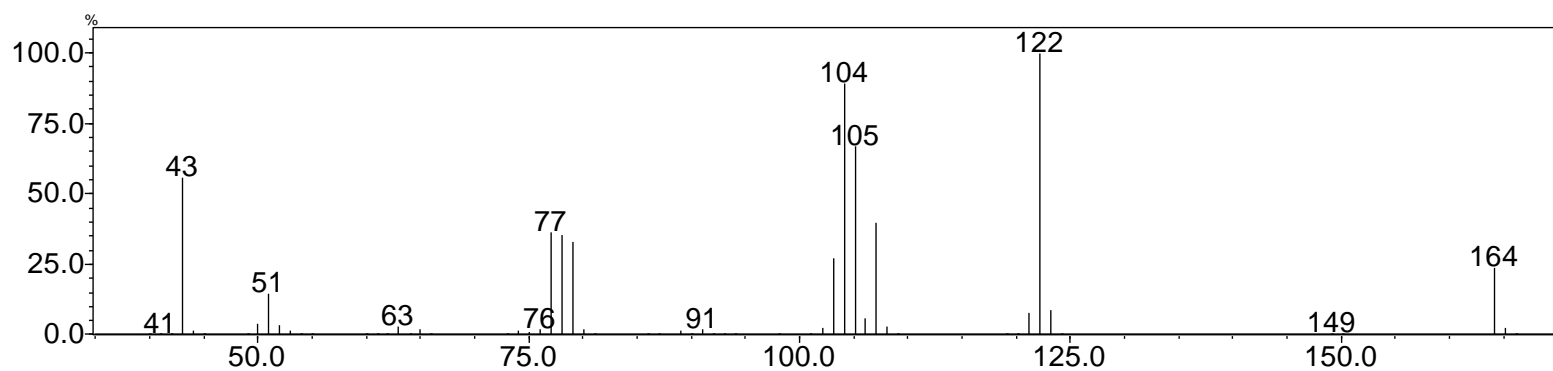


Figura 21. Espectro de massas do composto **1a**

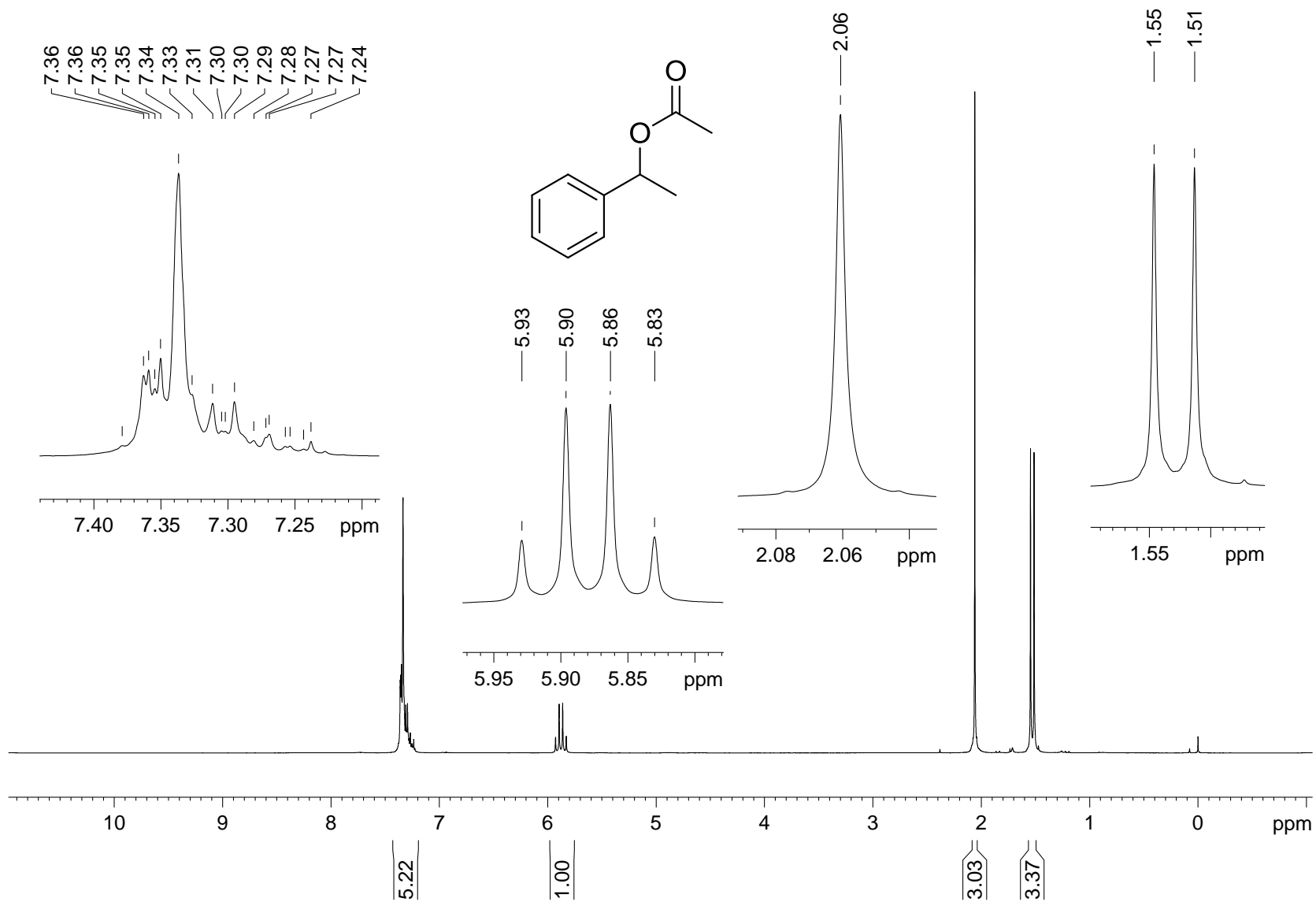


Figura 22. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3 , TMS) do composto **1a**

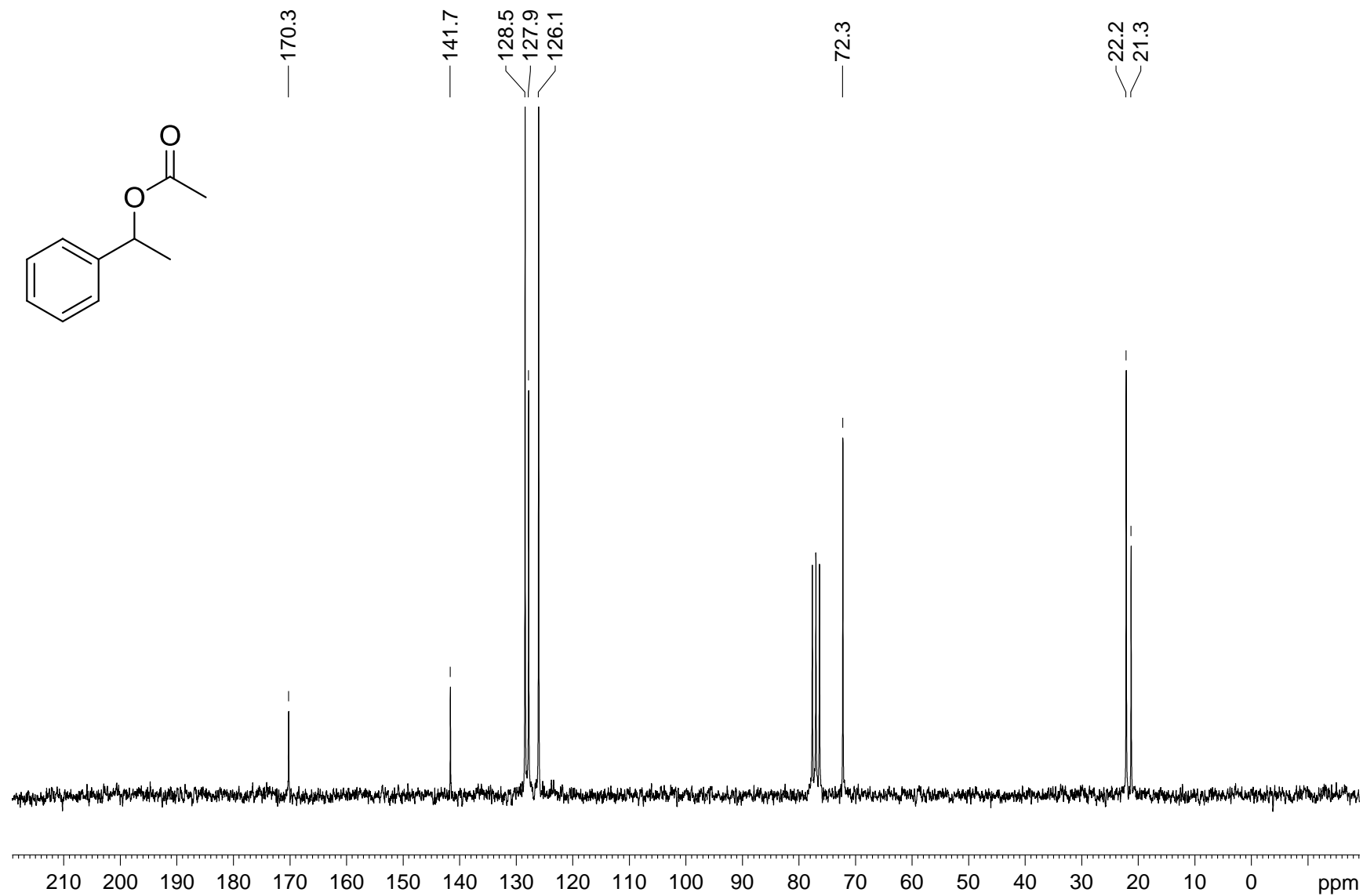


Figura 23. Espectro de RMN de ¹³C (50 MHz, CDCl₃, TMS) do composto 1a

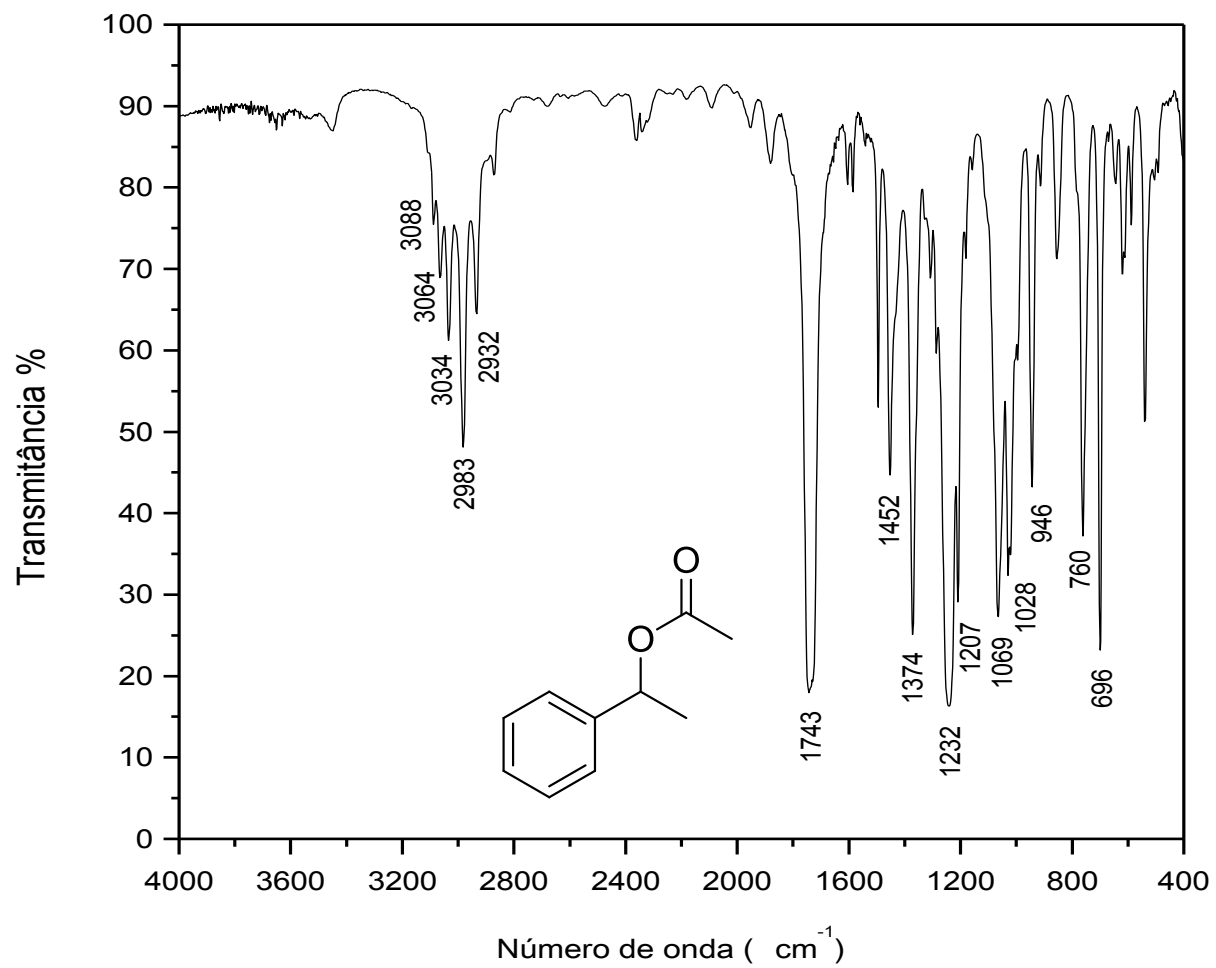
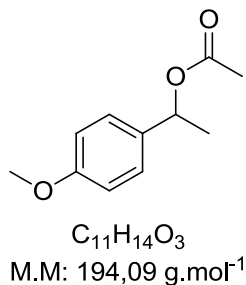


Figura 24. Espectro no IV do composto 1a



Acetato de 1-(4-metoxifenil)etila (**2a**)

CG-EM (70 eV), m/z (intensidade relativa): 194 (M^+ , 27%); 134 (100%); 119 (40%); 105 (22%); 91 (33%); 77 (20%); 43 (34%)

RMN de 1H (200 MHz, $CDCl_3$, TMS), δ (ppm): 1,51 (d, $J = 6,5$ Hz, 3H); 2,03 (s, 3H); 3,77 (s, 3H); 5,84 (q, $J = 6,5$ Hz, 1H); 6,87 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H); 7,29 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H).

RMN de ^{13}C (50 MHz - $CDCl_3$), δ (ppm): 21,3; 21,9; 55,2; 72,0; 113,8; 127,6; 133,7; 159,3; 170,3

IV (cm^{-1}): 2981, 2933, 2838, 1733, 1612, 1513, 1368, 1242, 1062, 1035, 829

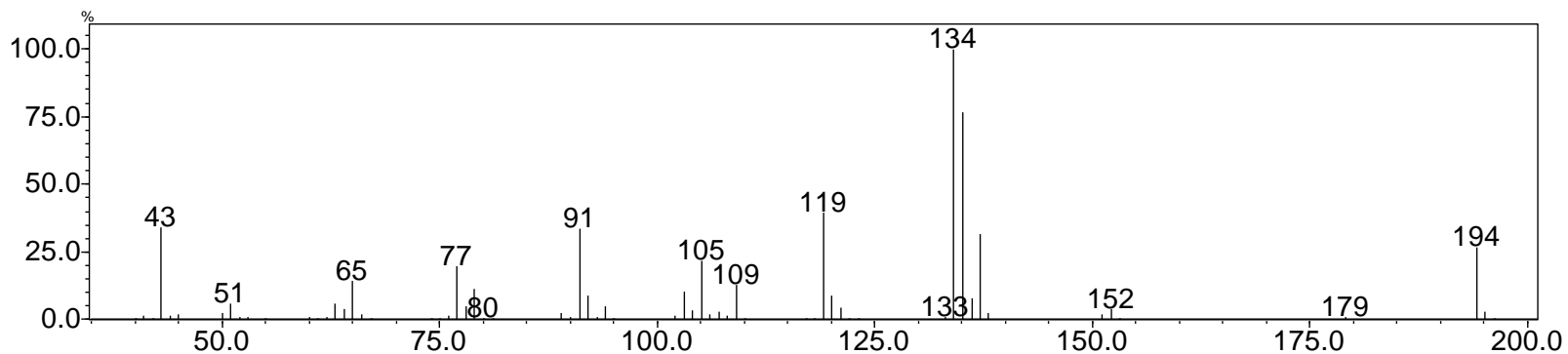


Figura 25. Espectro de massas do composto **2a**

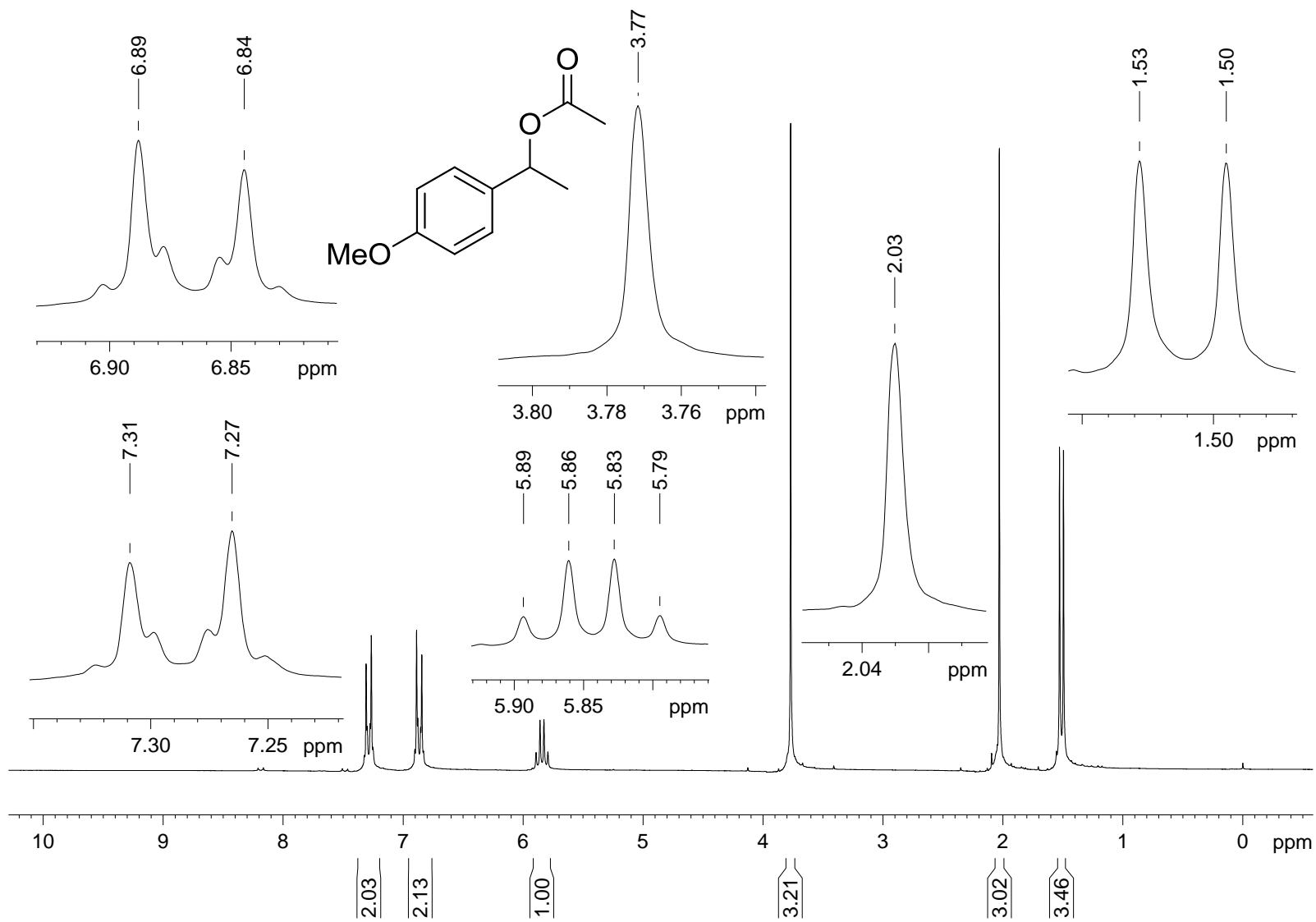


Figura 26. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3 , TMS) do composto **2a**

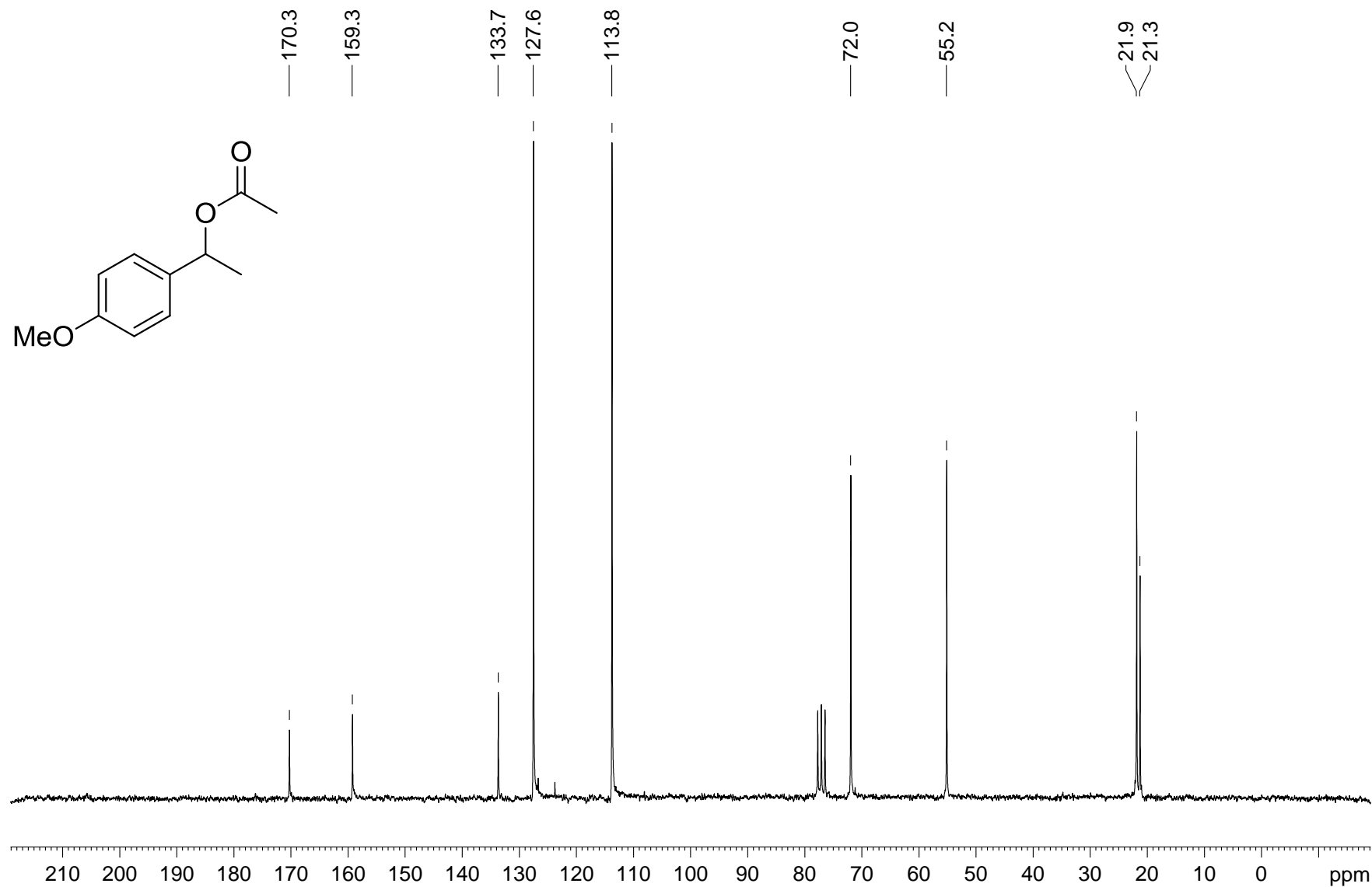


Figura 27. Espectro de RMN de ¹³C (50 MHz, CDCl₃, TMS) do composto **2a**

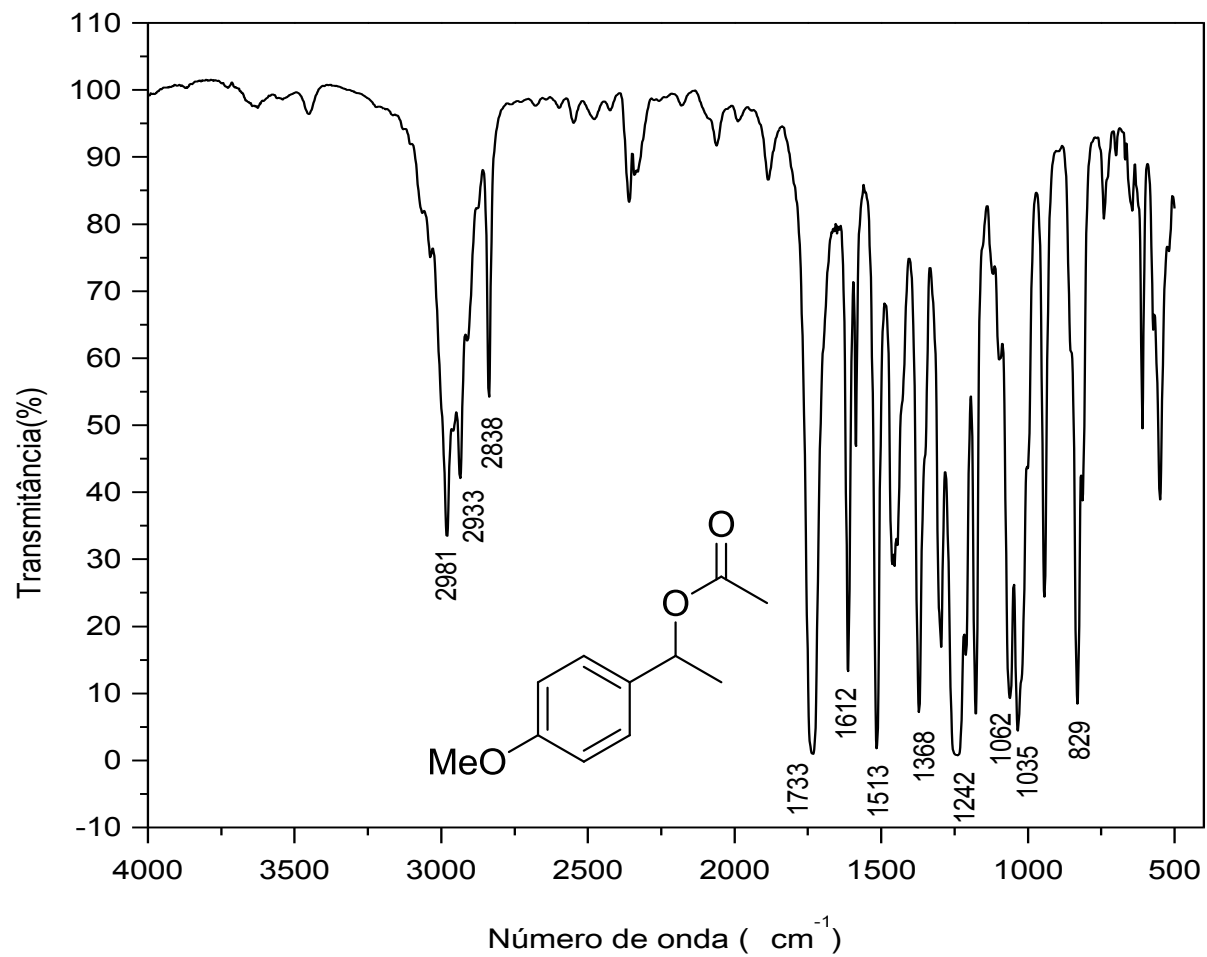
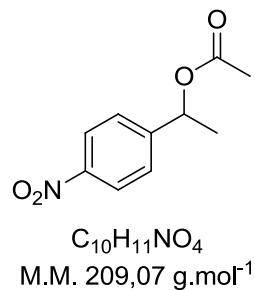


Figura 28. Espectro no IV do composto 2a



Acetato de 1-(4-nitrofenil)etila (**3a**)

CG-EM (70 eV), m/z (intensidade relativa): 209 (M^+ , 1%); 167 (56%); 150 (16%); 119 (23%); 103 (24%); 91 (29%); 77 (30%); 43 (100%)

RMN de 1H (200 MHz, $CDCl_3$, TMS), δ (ppm): 1,56 (d, $J = 6,7$ Hz, 3H); 2,12 (s, 3H); 5,93 (q, $J = 6,7$ Hz, 1H); 7,51 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H); 8,22 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H).

RMN de ^{13}C (50 MHz - $CDCl_3$), δ (ppm): 21,1; 22,2; 71,2; 123,8; 126,7; 147,4; 149,0; 170,0

IV (cm^{-1}): 2982, 2966, 2925, 1734, 1602, 1517, 1346, 1242, 1068, 1029, 855

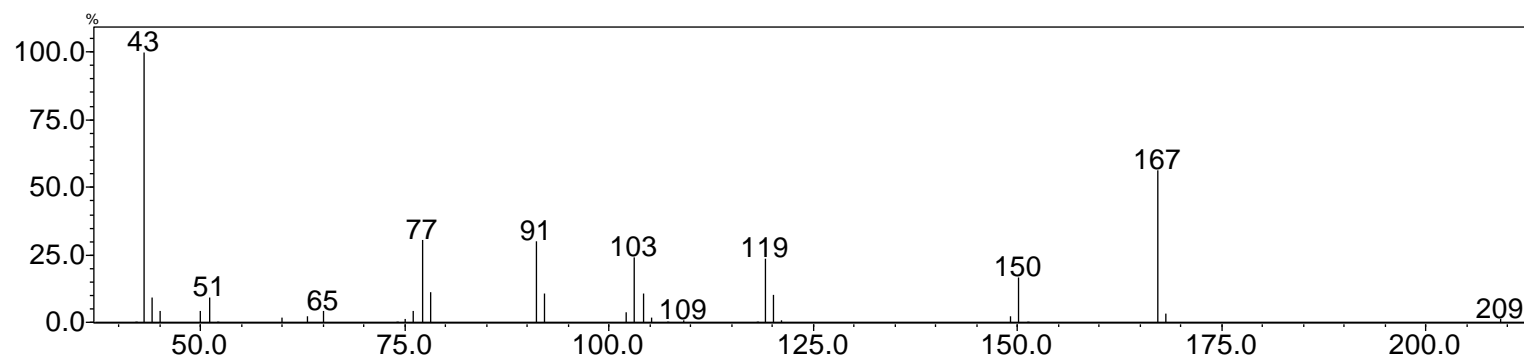


Figura 29. Espectro de massas do composto **3a**

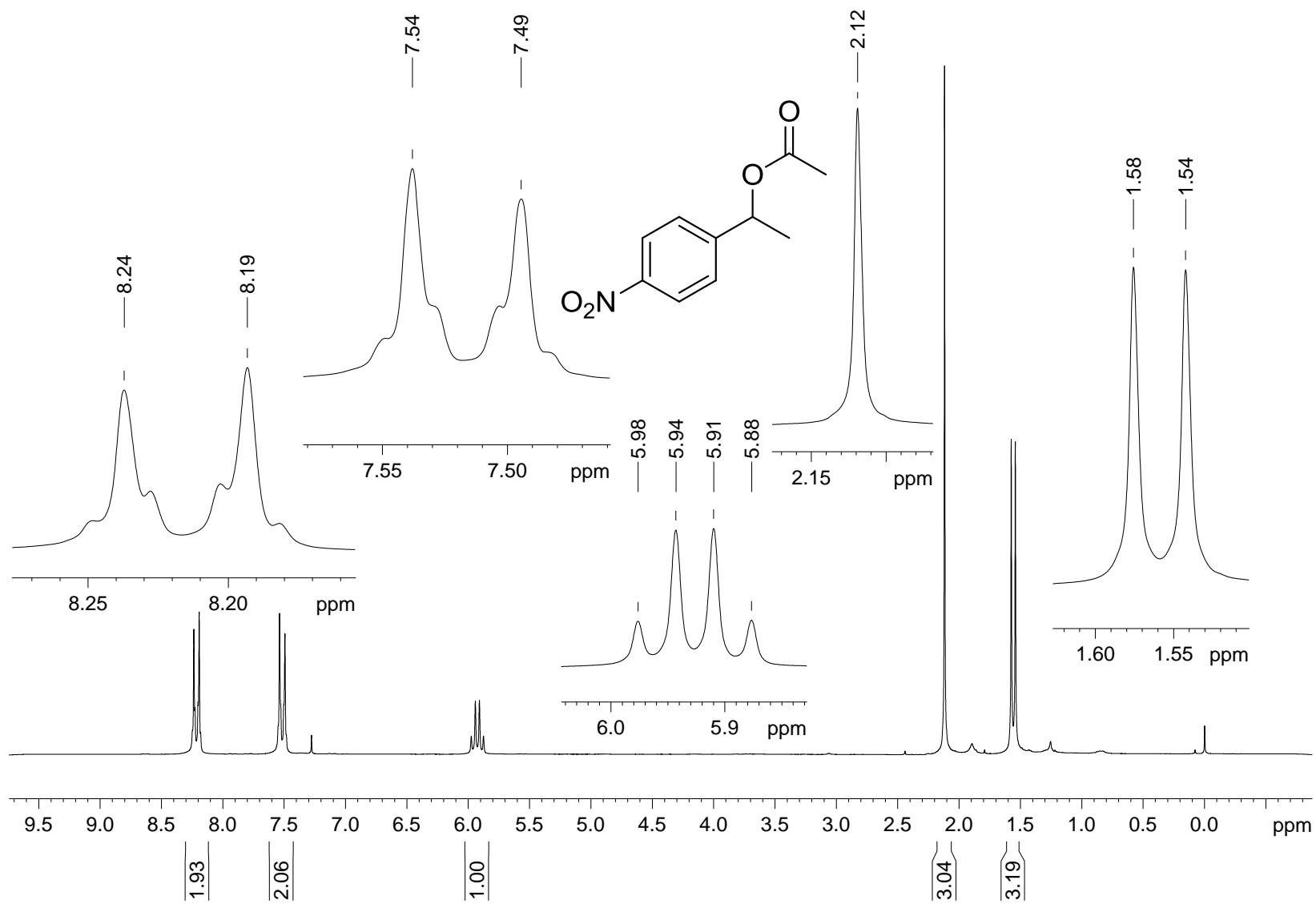


Figura 30. Espectro de RMN de ¹H (200 MHz, CDCl₃, TMS) do composto 3a

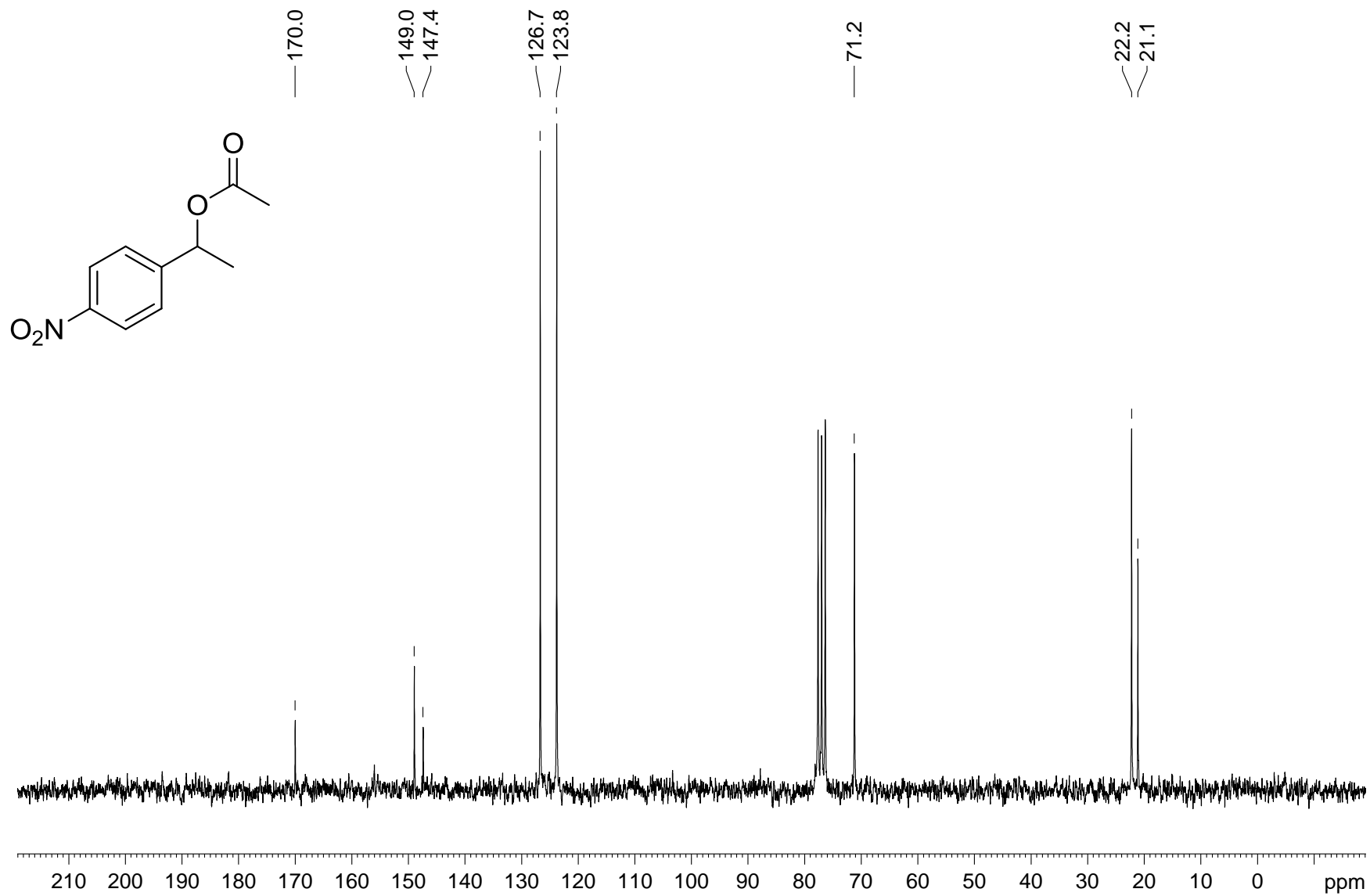


Figura 31. Espectro de RMN de ¹³C (50 MHz, CDCl₃, TMS) do composto 3a

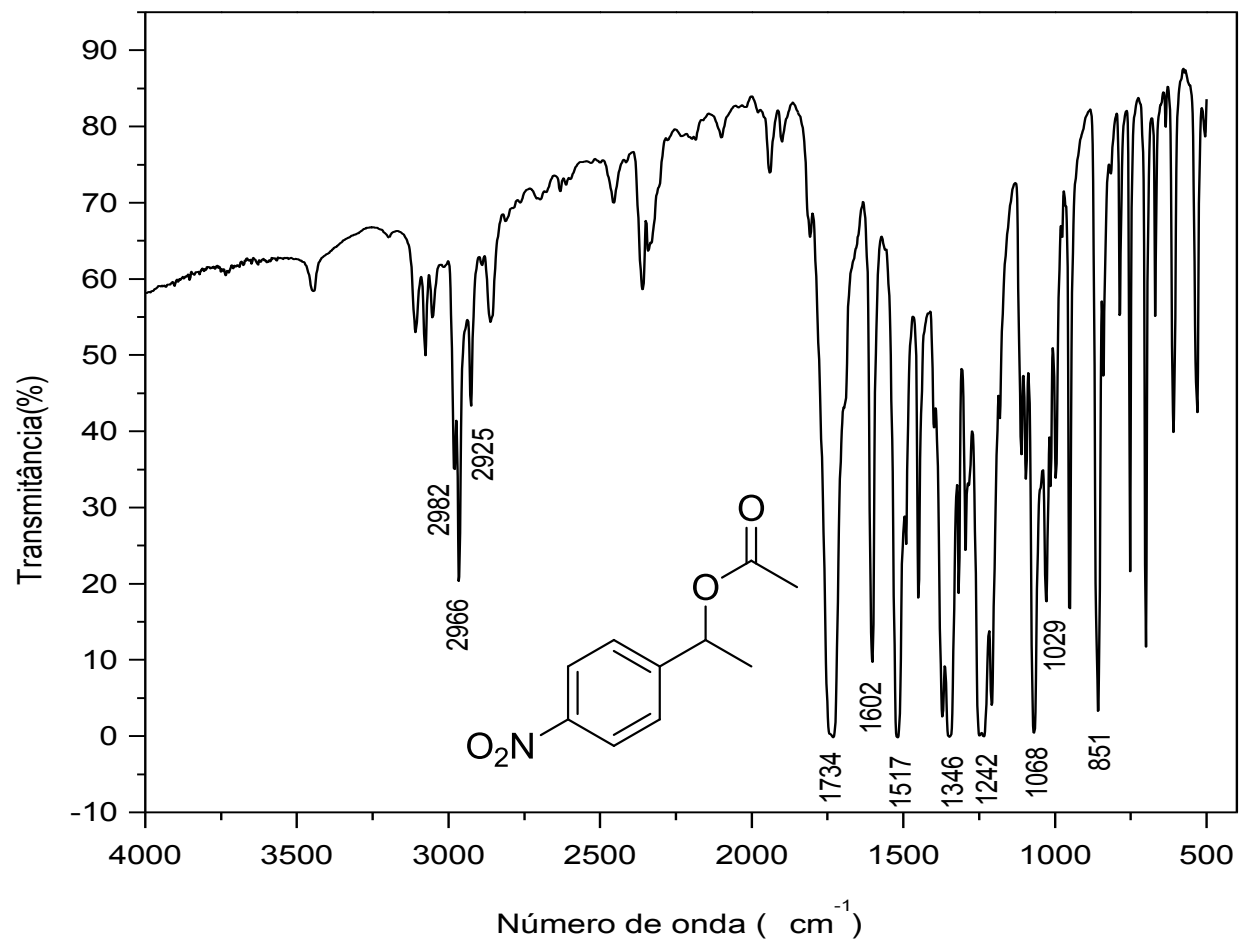
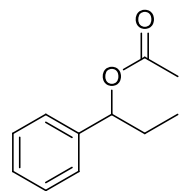


Figura 32. Espectro no IV do composto 3a



$C_{11}H_{14}O_2$
M.M. 178,10 g.mol⁻¹

Acetato de 1-fenilpropila (**4a**)

CG-EM (70 eV), m/z (intensidade relativa): 178 (15%); 149 (25%); 136 (51%); 117 (50%); 107 (100%); 91 (37%); 79 (22%); 77 (20%); 43 (65%)

RMN de 1H (200 MHz, $CDCl_3$), δ (ppm): 0,88 (t, $J = 7,4$ Hz, 3H); 1,76-1,97 (m, 2H); 2,07 (s, 1H); 5,66 (t, $J = 6,9$ Hz, 1H); 7,24-7,36 (m, 5H)

RMN de ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$), δ (ppm): 9,9; 21,2; 29,3; 76,4; 126,6; 127,8; 128,4; 140,5; 170,4

IV (cm^{-1}): 3031, 2958, 2934, 2862, 1739, 1457, 1373, 1239, 1020, 759, 697

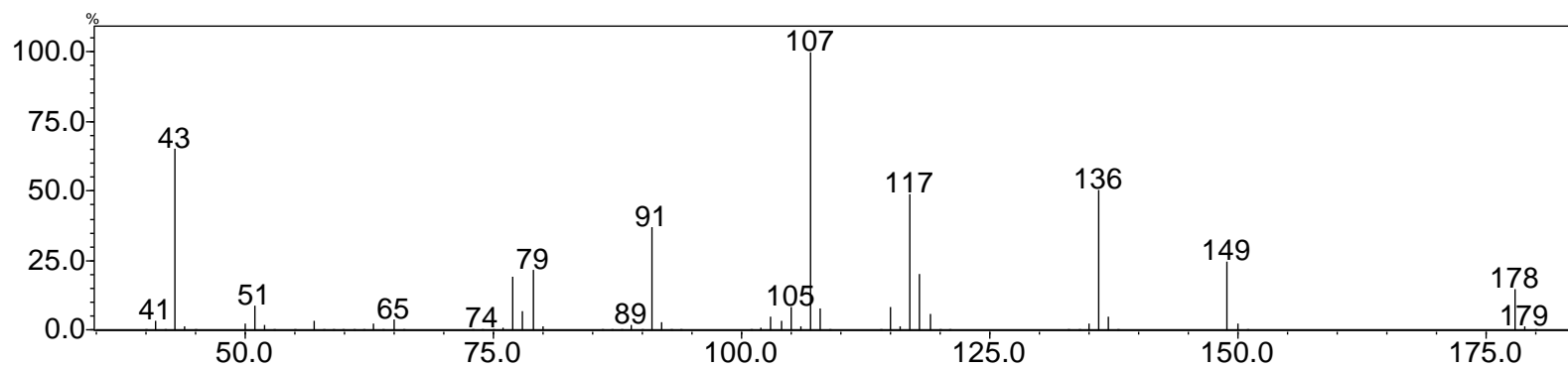


Figura 33. Espectro de massas do composto **4a**

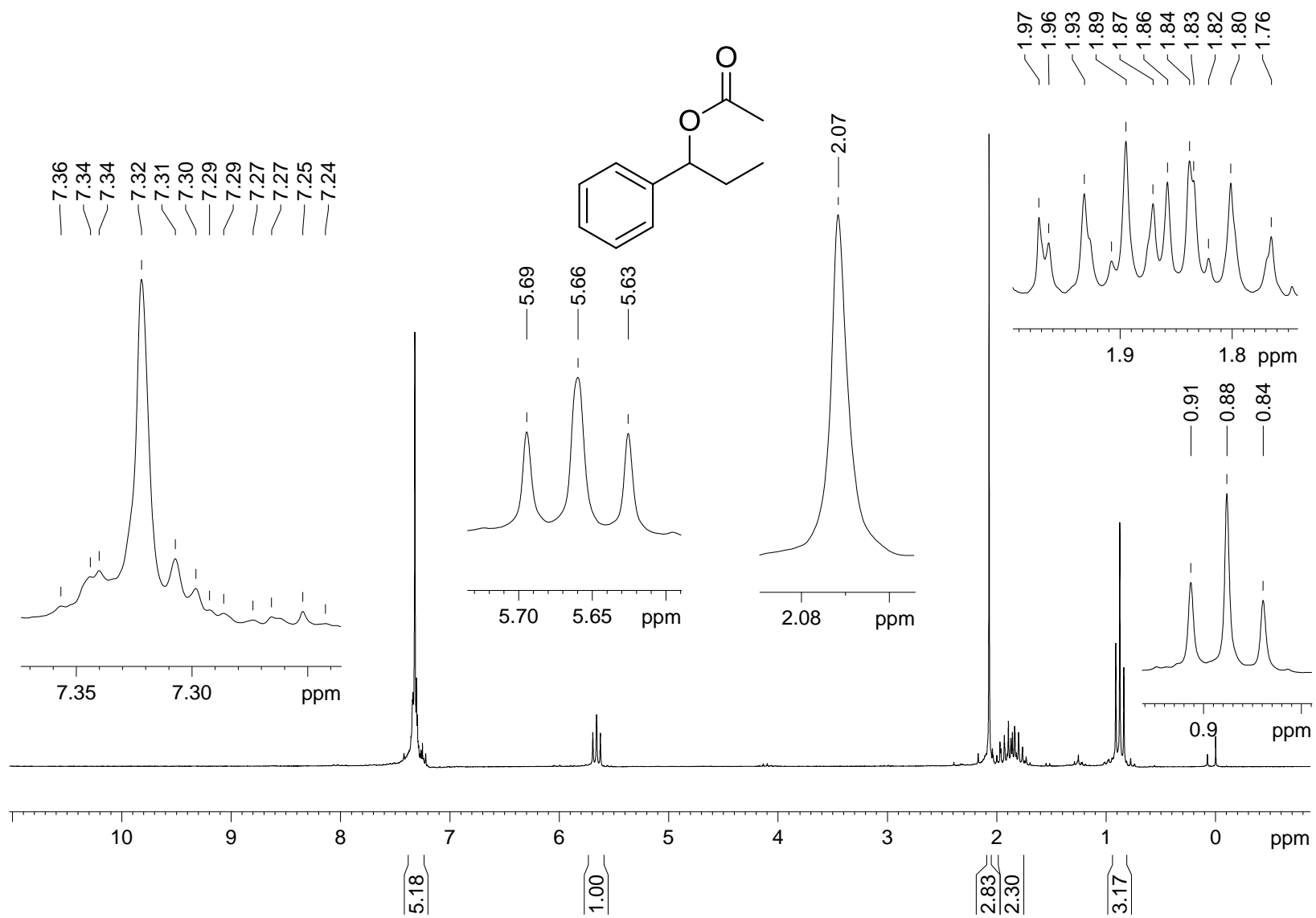


Figura 34. Espectro de RMN de ¹H (200 MHz, CDCl₃, TMS) do composto 4a

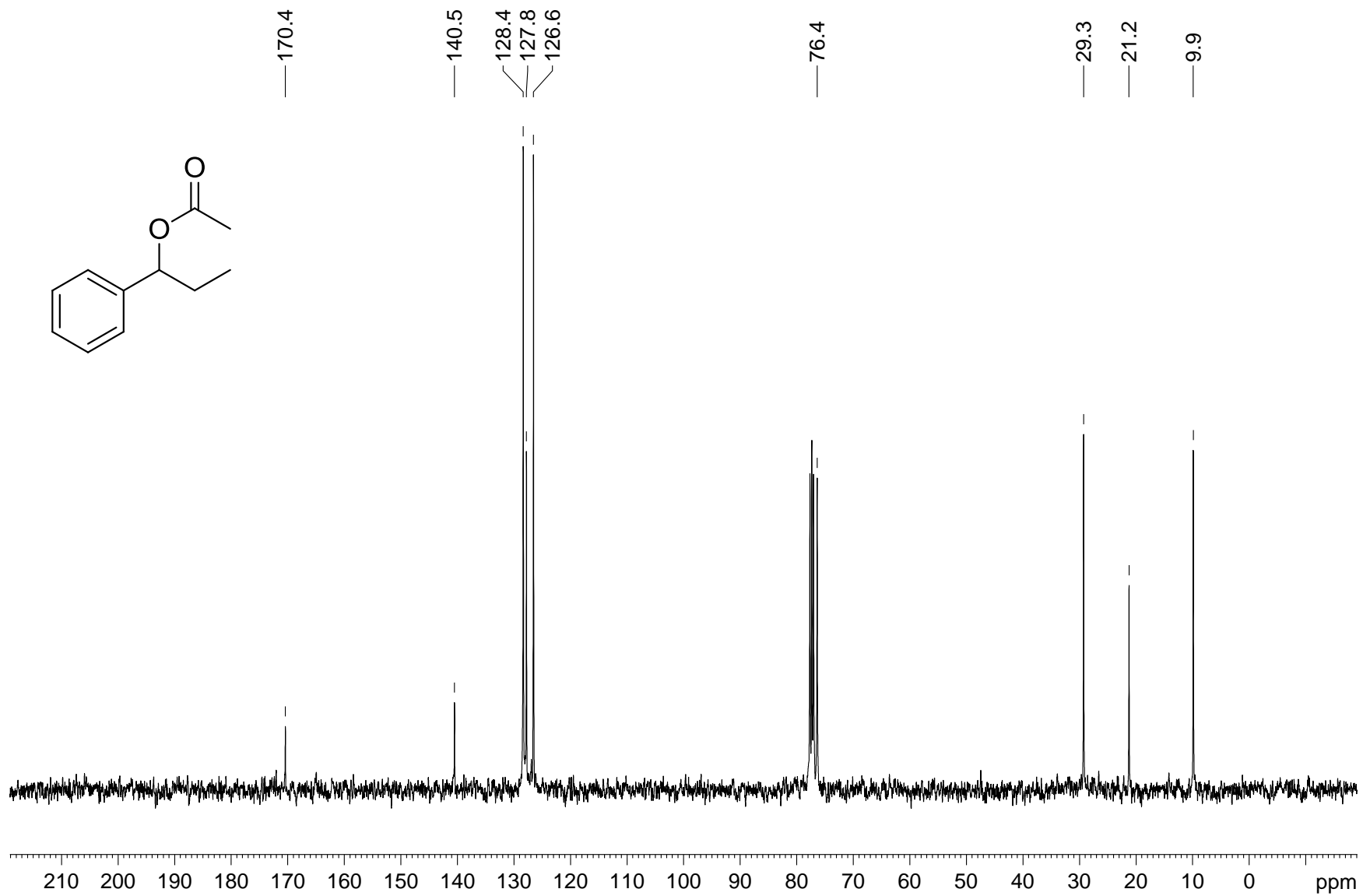


Figura 35. Espectro de RMN de ¹³C (50 MHz, CDCl₃, TMS) do composto 4a

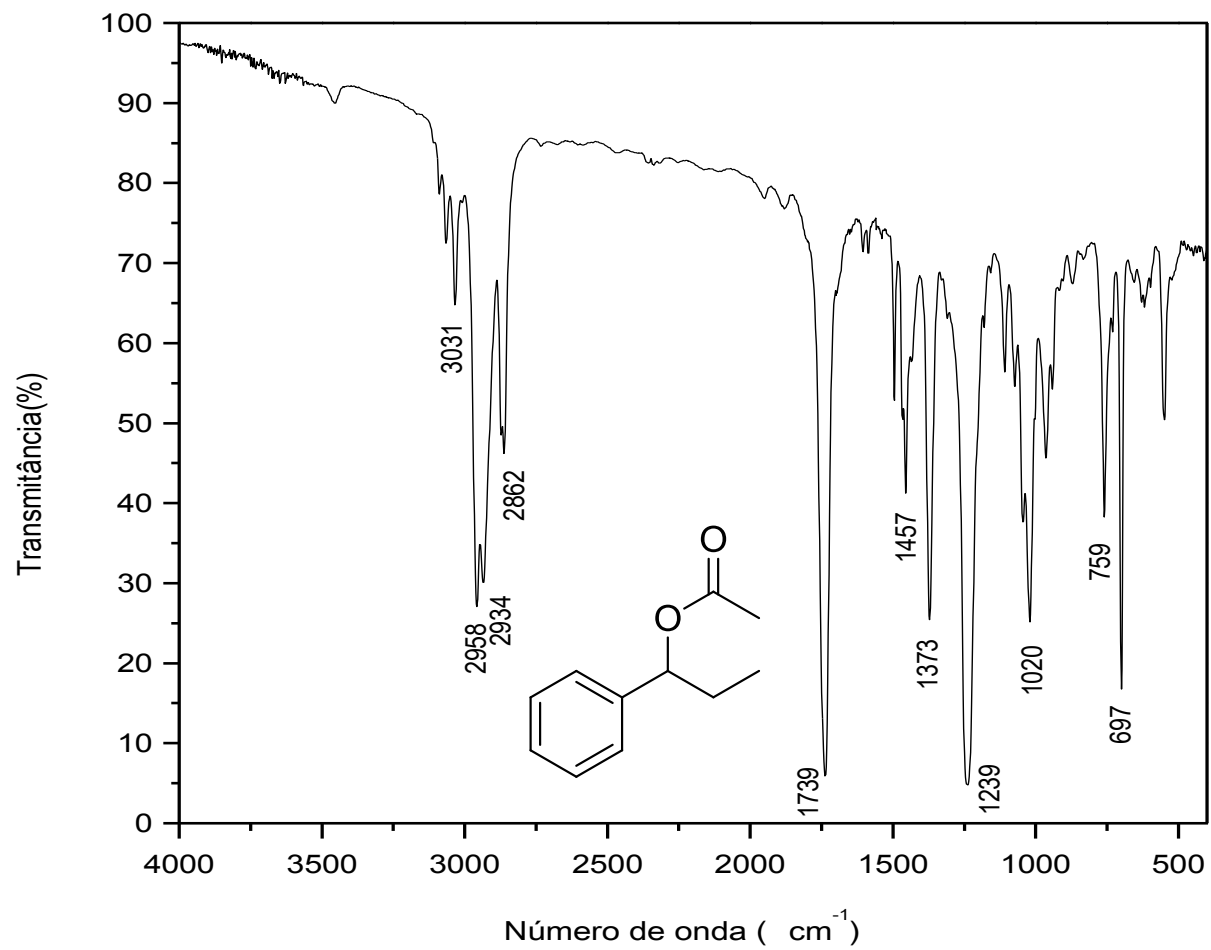
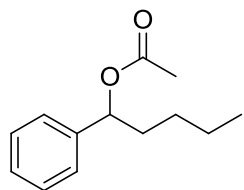


Figura 36. Espectro no IV do composto 4a



$C_{13}H_{18}O_2$
M.M. 206,13 g.mol⁻¹

Acetato de 1-fenilpentila (**5a**)

CG-EM (70 eV), m/z (intensidade relativa): 206 (M^+ , 10%); 164 (43%); 149 (30%); 117 (39%); 107 (100%); 104 (23%); 91 (30%); 79 (16%); 77 (13%); 43 (64%)

RMN de 1H (200 MHz, $CDCl_3$), δ (ppm): 0,87 (t; $J = 6,7$ Hz; 3H); 1,20-1,39 (m, 4H); 1,70-1,95 (m, 2H); 2,06 (s, 3H); 5,72 (dd; $J = 7,6; 6,5$ Hz, 1H); 7,24-7,35 (m, 5H)

RMN de ^{13}C (50 MHz - $CDCl_3$), δ (ppm): 13,9; 21,2; 22,4; 27,7; 36,0; 76,1; 126,5; 127,8; 128,4; 140,9; 170,3

IV (cm^{-1}): 3032, 2954, 1733, 1458, 1370, 1241, 1022

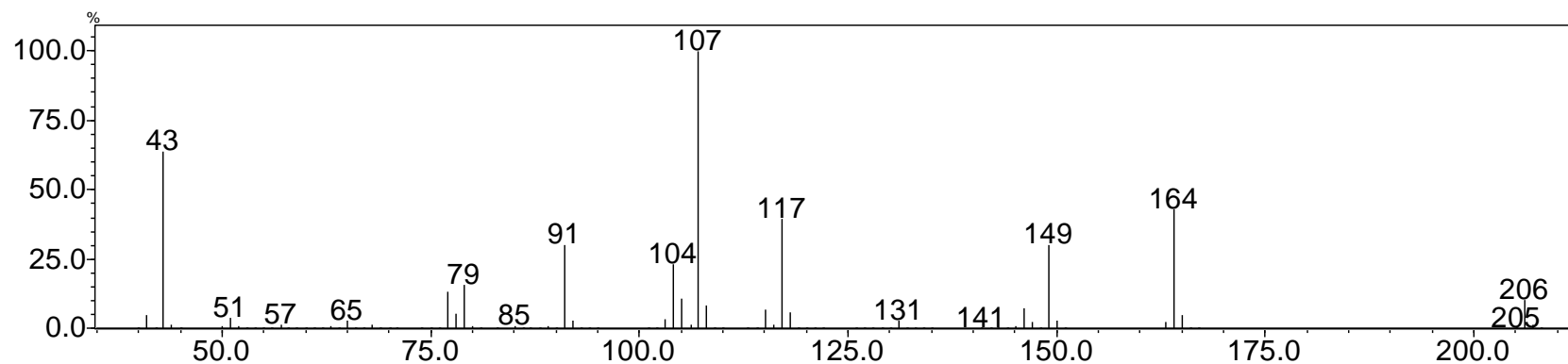


Figura 37. Espectro de RMN de 1H (200 MHz, $CDCl_3$, TMS) do composto **5a**

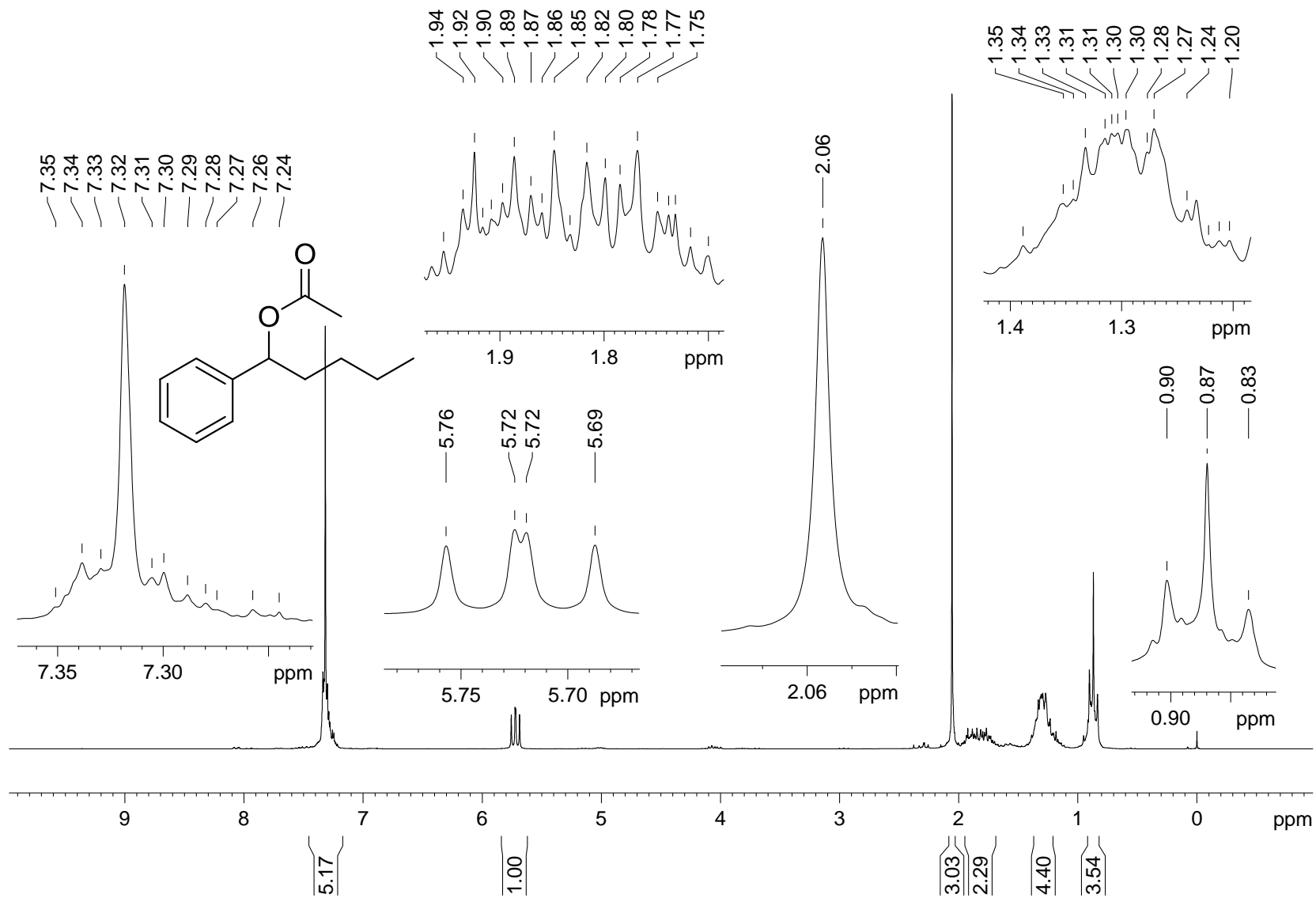


Figura 38. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3 , TMS) do composto **5a**

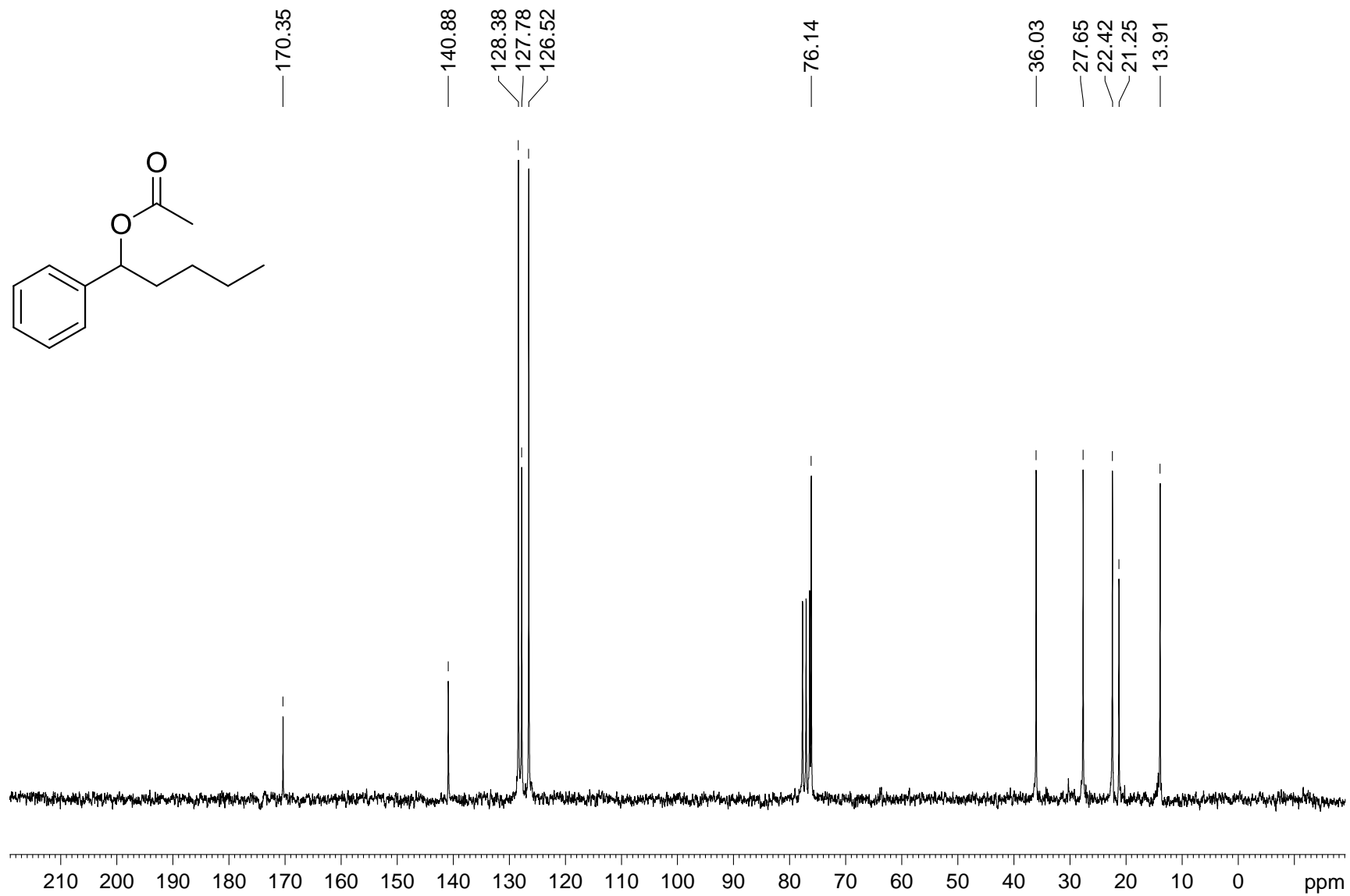


Figura 39. Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3 , TMS) do composto **5a**

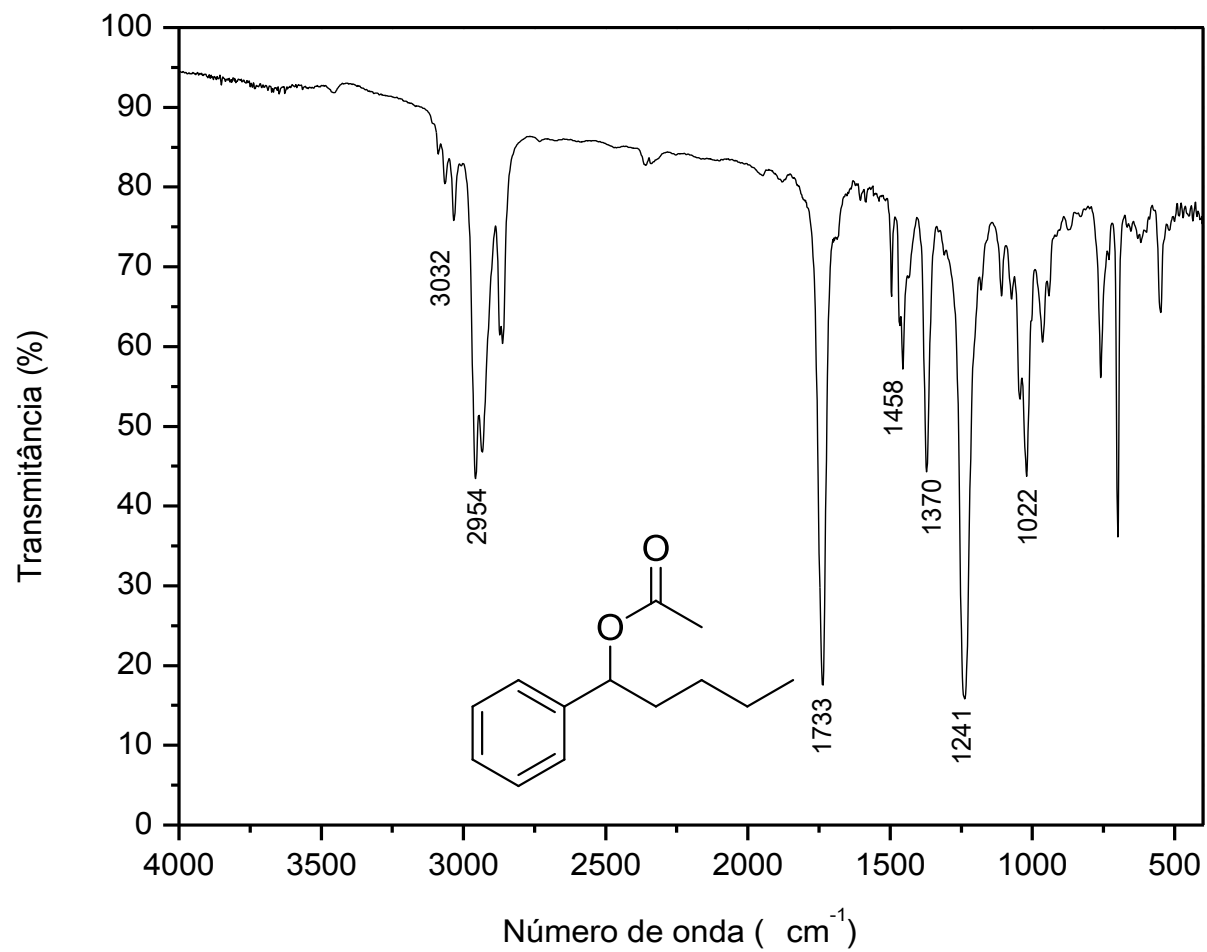


Figura 40. Espectro no IV do composto 5a