

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA FUNDAMENTAL

Emmanuel Dias da Silva

**SÍNTESE E RESOLUÇÃO CINÉTICA DE DIÓIS ALÍLICOS *trans* PROMOVIDA
POR LIPASES**

Recife
2016

Emmanuel Dias da Silva

**SÍNTESE E RESOLUÇÃO CINÉTICA DE DIÓIS ALÍLICOS *trans* PROMOVIDA
POR LIPASES**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Pernambuco como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Química na área de concentração Química Orgânica.

Orientador: Prof. Dr. Jefferson Luiz Principal.

Recife

2016

Catálogo na fonte
Bibliotecária Joana D'Arc Leão Salvador CRB 4-572

S586s Silva, Emmanuel Dias da.
Síntese e resolução cinética de dióis alílicos *trans* promovida por lipases / Emmanuel Dias da Silva. – 2016.
83 f.: fig., tab.

Orientador: Jefferson Luiz Princival.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCEN. Química, Recife, 2016.
Inclui referências e anexo.

1. Química orgânica. 2. Síntese orgânica. I. Princival, Jefferson Luiz (Orientador). II. Título.

547 CDD (22. ed.) UFPE-FQ 2016-18

EMMANUEL DIAS DA SILVA

*SÍNTESE E RESOLUÇÃO CINÉTICA
DE DIÓIS ALÍLICOS trans PROMOVIDA POR LIPASES*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação no Departamento de Química Fundamental da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Química.

Aprovado em: 12/02/2016.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Jefferson Luiz Princival (Orientador)
Departamento de Química Fundamental
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Ronaldo Nascimento de Oliveira
Departamento de Química
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Prof. Ricardo Oliveira da Silva
Departamento de Química Fundamental
Universidade Federal de Pernambuco

Dedico este trabalho à minha mãe,
Maria Madalena, e ao meu pai, José
Dias, este último *in memoriam*.

À minha querida e amável noiva,
Julyana Mayra, que tem se mostrado,
cada vez mais, edificante e amiga.

AGRADECIMENTOS

Ao professor Jefferson L. Principal pelo incentivo e perspicácia em encontrar soluções nos momentos mais oportunos.

Aos integrantes do Laboratório de Catálise Orgânica (LCO): Alana Bittencourt, Dyego Maia, Jeily Ferreira, Jeisyanne Souza, Tarciso Tomé, Stterferson Emanuel (integrante agregado) e Dartagnan Pires, este último, de ajuda indispensável para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao DQF e aos integrantes da Central Analítica (CA-DQF), sobretudo Eliete de Fátima V. Barros por inúmeras análises de RMN bem efetuadas sempre com muito bom humor.

Ao CNPq e CAPES pelo auxílio financeiro e às bolsas concedidas.

Ao INCT/INAMI e FACEPE pelo apoio financeiro aos projetos de pesquisa.

“This represents a great step forward for ‘green chemistry’, reducing potentially hazardous waste through smarter production. This research is an example of how important basic science has been applied for the benefit of man, society and the environment.”

Comitê do Prêmio Nobel, 2005

RESUMO

Compostos orgânicos contendo dióis alílicos com configuração *trans* são substâncias orgânicas muito úteis na área de síntese orgânica. Além disso, esses compostos podem ser encontrados na natureza, apresentando importantes atividades biológicas. Estes compostos também podem ser empregados como *building blocks* na preparação de moléculas bioativos de interesse. Dentre as várias metodologias existentes para preparar estes compostos, muitas empregam reagentes nocivos ao meio ambiente e/ou catalisadores metálicos, em rotas de síntese contendo numerosas etapas reacionais. Com isso, tivemos o interesse de desenvolver um método alternativo, visando à síntese destes compostos, em um processo mais limpo, de enantiosseletividade. A metodologia proposta consistiu no uso de lipases para obtenção dos compostos de forma seletiva. Com isso, após submeter os compostos em sua forma racêmica à resolução na presença de lipases, mono e diacetatos poderiam ser obtidos com alto grau de pureza óptica. A rota quimioenzimática proposta levou a preparação de uma biblioteca de (*E*)-dióis alílicos, com elevado excesso enantiomérico.

Palavras-chave: Dióis alílicos. Enzimas. Lipase.

ABSTRACT

Organic compounds containing *trans* allylic diols are useful substances in organic synthesis. Furthermore, these compounds can be found in nature showing a wide range of biological activity. In addition, these compounds can be employed as *building blocks* in the preparation of bioactive compounds as target substances. Among several methodologies to prepare these compounds, the majority employs toxic reagents and/or metallic catalysts, in multistep pathways. Thereby, our interest was to develop an alternative method aiming at the synthesis of these compounds, in a greener and enantioselective process. This proposal has consisted in employing lipases as a manner to achieve the related compounds selectively. Thus, after subjecting the racemic compounds to an enzymatic resolution, mono and bis acetates could be generated in high optical purity. The proposed chemo-enzymatic approach led to the preparation of an enantioenriched library of (*E*)-allylic diols.

Key words: Allylic diols. Enzymes. Lipase.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Catalisadores metálicos utilizados na metátese de olefinas.....	14
Figura 2: Enantiômeros da Carvona.....	17
Figura 3: Enantiômeros do Citalopram.	17
Figura 4: Exemplos de aminoácidos polares e apolares e grupamento R de um aminoácido.	19
Figura 5: Estrutura primária (a), secundária (b), terciária (c) e quaternária (d) de uma enzima.	19
Figura 6: Coordenada comparando uma reação catalisada por enzima.	21
Figura 7: (a) Enzima CAL-B; (b) sítio ativo; (c) tríade catalítica.....	24
Figura 8: Conformação cis e trans de dióis alílicos.	26
Figura 9: Exemplos de dióis alílicos com potencial atividade biológica.	27
Figura 10: Substratos candidatos à RCE.	30
Figura 11: Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do diol propargílico 16a	32
Figura 12: Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) do diol propargílico 16a	33
Figura 13: Espectro de RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3) do composto (E)-diol alílico 10a.....	35
Figura 14: Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) do (E)-diol alílico 10a	35
Figura 15: Diferença de polaridade entre 10A e 10a (1:1 hex/AcOEt)	37
Figura 16: (E)-dióis alílicos sintetizados via método one-pot.	38
Figura 17: Espectro de RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3) do (E)-diol alílico 10g	38
Figura 18: Espectro de RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) do (E)-diol alílico 10l	39
Figura 19: Cromatograma do diol 10a na rampa padrão.	41
Figura 20: Separação dos enantiômeros para cada tipo de rampa.....	41
Figura 21: Separação dos enantiômeros do (R/S)-10a e do (R/S)-12a na rampa B.	42
Figura 22: RCE em escala analítica do composto modelo 10a (rampa B).	43
Figura 23: (a) Cálculo da Seletividade e (b) Cálculo da conversão.	44
Figura 24: Dióis alílicos submetidos à RCE.	46
Figura 25: Cromatograma da RCE de 10d . a) (R/S)- 11d e (S)- 12d ; b) (R/S)12d; c) (R)-12d	46
Figura 26: Gráfico da evolução da RCE do composto (11).	47
Figura 27: Cromatograma da RCE do 10g : a) (R/S)12g b) (R/S)11g; c) aumento do 12g (48h) e d) (72h) – rampa B.	47
Figura 28: Cromatogramas do 1h e seus enantiômeros – rampa B.....	48
Figura 29: RCE em escala preparativa do composto modelo (E)-diol 10a – (Rampa B).	50
Figura 30: Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do 12a	50
Figura 31: Espectro de RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) do composto 11a	51
Figura 32: Cromatogramas da RCE em escala preparativa do diol 10b onde: a) diacetatos racêmico b) e c) diacetatos enantiopuros – rampa B.	51
Figura 33: Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do 11b	52
Figura 34: Cromatogramas da RCE preparativa do (E)-diol 10c (Rampa B).	52
Figura 35: Espectro de RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3) do composto 11c	53
Figura 36: Espectro de RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3) do composto *10c	54

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1: Oxidação alílica promovida por PCC	15
Esquema 2: Formação da ligação peptídica.	18
Esquema 3: Formação do Cipemastat via hidrolase.....	20
Esquema 4: E (enzima); S (substrato); P(prodoto); ES (enzima substrato); EP (enzima produto).	21
Esquema 5: Exemplo de uma RCE	23
Esquema 6: Esquema de uma RCE de um álcool secundário utilizando CAL-B (a) enzima livre (b) intermediário tetraédrico I (c) complexo acil-enzima (d) Intermediário tetraédrico II.	25
Esquema 7: Transesterificação irreversível (formação de composto volátil).	25
Esquema 8: A preferência por um dos enantiômeros segunda a regra de Kazlauskas.....	26
Esquema 9: Síntese e isolamento do Howinol A	27
Esquema 10: Dióis homo-alílicos trans utilizadas como bloco de construção.	28
Esquema 11: Esquema retrossintético visando o (E)-diol alílico 10a	30
Esquema 12 – Esquema geral para preparação dos (E)-diol alílicos 10a-n	31
Esquema 13: Formação e ataque nucleofílico do diânion de lítio (17).....	32
Esquema 14: Síntese do diol propargílico 16a	32
Esquema 15: Reação de redução com LiAlH_4	34
Esquema 16: Síntese do (E)-diol alílico 10a	34
Esquema 17: Formação do(E)-diol alílico 10a via método one-pot.	36
Esquema 18: Formação dos dióis propargílicos 16j e 16k	39
Esquema 19: Formação de 12a-n a partir de DMAP e anidrido acético.	40
Esquema 20: Mecanismo de acetilação empregando anidrido acético e DMAP.	40
Esquema 21: Representação da RCE de 10a	42
Esquema 22: RCE do (E)-diol 10c gerando um diol 10c e um monoacetato 11c enantiopuros.	53

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Classificação das enzimas e uso no setor industrial	20
Tabela 2: Otimização das condições para formação de 10a	36
Tabela 3: Otimização das condições para separação dos enantiômeros.....	41
Tabela 4: Otimização das condições aplicadas às RCEs	45
Tabela 5: Resultados das RCEs em escala analítica dos (E)-dióis alílicos 10a-i	49
Tabela 6: Resultados das RCEs em escala preparativa dos (E)-dióis alílicos 10a-e	54

LISTA DE ABREVIATURAS

$[\alpha]_D$	- Rotação específica
ALG	- Amano Lipase G
Asp	- Aspartato
c	- Conversão
CAL-B	- <i>Candida antarctica</i> lipase-B
<i>d</i>	- Dupleto
DCM	- Diclorometano
<i>dd</i>	- Duplo duplete
<i>ddt</i>	- Duplo duplo tripleto
DMAP	- Dimetil amino piridina
<i>E</i>	- Razão enantiomérica
<i>e.e.</i>	- Excesso enantiomérico
Gln	- Glutamina
His	- Histidina
Hz	- Hertz
<i>J</i>	- Constante de acoplamento
LAP	- Lipase Ae 07
<i>m</i>	- Multiplete
ppm	- Parte por milhão
<i>qt</i>	- Quadruplete
<i>quint.</i>	- Quintuplete
RCE	- Resolução cinética enzimática
RMN ^{13}C	- Ressonância magnética nuclear de carbono 13
RMN ^1H	- Ressonância magnética nuclear de hidrogênio 1
RNA	- Ácido ribonucleico
s	- Simpleto
Ser	- Serina
<i>sext.</i>	- Sextuplete
SPP	- Lipase A2 Ae 011
<i>t</i>	- Tripleto
THF	- Tetraidrofurano
Thr	- Teorina
<i>tt</i>	- Tripleto de tripleto
δ	- Deslocamento químico em ppm

SUMÁRIO

1.0 - Introdução.....	14
1.1 – Biocatálise, biotransformação ou catálise enzimática	15
1.1.1- Importância e aplicações	16
1.1.2 – Enzimas.....	18
1.1.3 - Resolução Cinética Enzimática (RCE).	23
1.2 – Dióis alílicos	26
1.3 - Objetivos	29
2.0 - Resultados e Discussão.....	30
2.1 – Síntese dos substratos.....	30
2.1.1 - Síntese do composto modelo: (E)-diol alílico 10a	31
2.1.2 – Otimização das condições experimentais para síntese dos (E)-diol alílicos 10(a-n)	36
2.1.3 – Síntese dos (E)-dióis alílicos 10(b-n) via método <i>one-pot</i>	37
2.2 – Resolução cinética enzimática.....	40
2.2.1 – Ajustes de parâmetros cromatográficos	40
2.2.2 – RCE teste com a enzima lipase CAL-B.....	42
2.2.3 – RCE em escala analítica dos (E)-dióis alílicos sintetizados.	46
2.2.4 – RCE em escala preparativa dos (E)-dióis alílicos sintetizados.	49
3.0 – CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	55
4.0 - Procedimento Experimental.....	56
5.0 - REFERÊNCIAS	65
6.0 - ANEXOS	69

1.0 - INTRODUÇÃO

Estereoisômeros de um mesmo composto, podem apresentar diferentes ações biológicas. Por isso, a busca por processos seletivos, e que levem a formação de apenas um dos isômeros de interesse vem sendo cada vez mais intensificada. Além disso, a busca por processos químicos de forma catalítica, onde o objetivo é minimizar a quantidade de rejeitos oriundos desses, é outro fator importante. Com isso, a área de síntese orgânica vem envidando cada vez mais esforços, na tentativa de preparar compostos, inéditos ou não, de forma assimétrica e com alto grau de pureza óptica.

No entanto, apesar de alguns catalisadores atuais mostrarem-se eficientes, seu alto custo e condições de reação tornam seu uso limitado frente a alguns processos, em particular, o industrial. Exemplos de catalisadores de alto valor econômico, são compostos de coordenação utilizados na reação de metátese de olefinas.^{1,2} Na Figura 1 estão representados os catalisadores de Grubbs II[®] (2 geração)³ e o catalisador (S)-Schrock-Hoveyda[®].

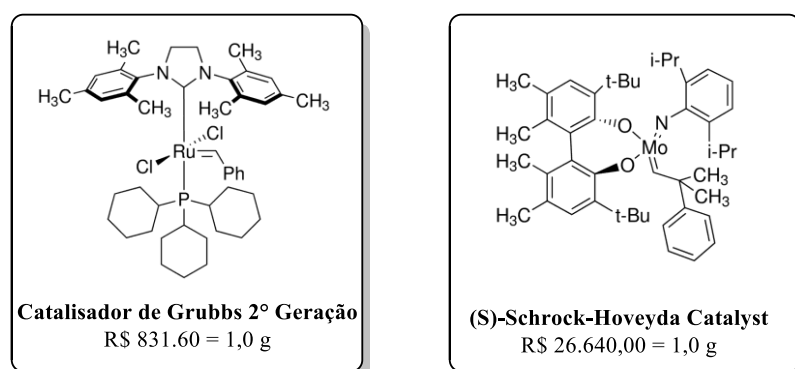


Figura 1: Catalisadores metálicos utilizados na metátese de olefinas.

Outra preocupação é a busca intensa por reagentes que sejam menos agressivos ao meio ambiente, um exemplo de reagente tóxico frequentemente empregados em processos químicos é o PCC⁴ (Esquema 6) e o mercúrio⁵. A utilização destes reagentes em reações de oxidação de álcoois e hidroxilação de olefinas, leva a formação de resíduos de forma equimolar. Por isso seu uso vem sendo cada vez menos frequente. Portanto, adequar-se às normas da “Química verde”⁶ não é apenas uma opção, mas uma necessidade. Por isso a

¹ Schwab, P.; Grubbs, R. H.; Ziller, J. W.; *J. of the American Chem. Society* (1996) 118 (1) p. 100–110.

² Disponível em: <<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/search?term>> acessado em: 11 de janeiro de 2016.

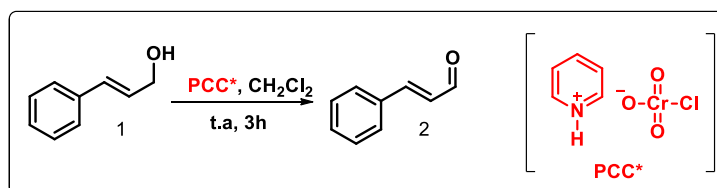
³ Grubbs, R. H. *Handbook of Metathesis*. Alemanha: Wiley-VCH, (2000) p. 65-66 ISBN 978-3-527-30616-9.

⁴ Corey, E.J.; Suggs, W.; *Tetrahedron Letters* (1975), 16, p. 2647-2650.

⁵ Nair, M. S. R.; Carey, S. T.; *Tetrahedron Letters* (2011), 21, p. 1980.

⁶ Lenardão, E. D; Freitas, R. V.; Silveira, C. C.; *Química Nova* (2003), 26, 1, p. 123-129.

busca por processos mais verdes, e que levem a transformação de forma seletiva, vem se tornando cada vez mais importante.



Esquema 1: Oxidação alílica promovida por PCC

A obtenção de compostos naturais e seus análogos, via síntese orgânica, e posteriores ensaios biológicos, revelam, muitas vezes, importantes candidatos a atividades biológicas. Sendo que a maioria dos compostos de origem natural possuem um ou mais estereocentros⁷. Com isso, a quantidade de carbonos assimétricos presentes nessas moléculas exige métodos assimétricos de síntese que, em geral, estão atrelados a rotas que usam catalisadores metálicos, ou formação de apenas um dos enantiômeros da substância.

Nos últimos anos, uma forma alternativa, e que vem sendo cada vez mais empregada em processos químicos com essa finalidade, é o uso da Biocatálise.

1.1 – Biocatálise, biotransformação ou catálise enzimática

Biocatálise, é a utilização de enzimas (isoladas ou não), microorganismos (marinhos e terrestres) ou células (animais e/ou vegetais) como catalisadores em processos químicos⁸. Em termos mais específicos, trata-se do emprego de um catalisador biológico, para converter um substrato orgânico a produto, por catálise⁹. Esses processos podem apresentar algumas vantagens¹⁰, como:

- Atuam em condições brandas;
- São biodegradáveis;
- Catalisadores mais eficientes, podendo ser empregadas em concentrações de porcentagem molar de 10⁻⁴ % enquanto são necessários de 1 a 10% para os catalisadores químicos.

⁷ Barta, N. S. & Stille, J. R.; *Grasping the concepts of stereochemistry* (1994), 71, 20-23

⁸ Johannes, T.; Zhao, H.; *Biocat.*, “*Encycl. of Chem. Process.*”, (2007) Taylor & Francis, p. 101.

⁹ Gonçalves, A. C.; Oliveira, A. J; *Biocat. e Biotransf. Fund. e Aplic* (2012) Vol 2, Ed. Schola, Cap. 1, p. 13.

¹⁰ Wolfenden, R.; Snider, M.J.; *Acc. Chem. Res.* (2001) 34, p. 938

No entanto, alguns fatores podem ser determinantes em reações biocatalisadas. Dentre alguns deles, que podem por exemplo acarretar na inativação do biocatalisador podemos citar: temperatura, solventes e pH. Estima-se que, das enzimas conhecidas, apenas 9,7 % foram estudadas.¹¹

1.1.1- Importância e aplicações

Por ser um método ambientalmente amigável e altamente seletivo, os processos enzimáticos, estão inseridos no âmbito da química verde e na tecnologia quiral¹².

Os catalisadores biológicos já são há muito tempo empregados para a produção de novos materiais. Desde a fermentação de bebidas alcóolicas¹³ a reações “One-pot” com várias enzimas isoladas empregadas, simultaneamente, na transformação de substratos diversos¹⁴. Isto só foi possível devido ao avanço na biologia molecular e da enzimologia, a partir das quais, compreendeu-se como as reações biológicas ocorrem e como empregá-las na preparação de materiais e compostos essenciais ao nosso dia-a-dia.

Os exemplos de aplicações da biocatálise são diversos, tais como: fabricação de fertilizantes e defensivos agrícolas, fármacos (química fina), na indústria de processamento de bebidas e alimentos, na indústria têxtil, de petróleo, papel e celulose, medicina (biossensores), etc.¹⁵ Estas aplicações fomentam a necessidade de crescimento e desenvolvimento da área, ratificando a sua importância para a fabricação de novos materiais e no melhoramento de processos.

Para a área de química orgânica, uma das principais aplicações da biocatálise está relacionada à síntese de fármacos, moléculas bioativas e/ou *building blocks* quirais, isto é, substâncias enantiomericamente puras. A produção de fármacos quirais é um mercado em franca expansão, pois o valor do “medicamento quiral”¹⁶ é bem superior quando comparado à um medicamento comum não quiral¹⁷. Este fato, se deve principalmente a dificuldade de

¹¹ (a) Kindel, S.; *Technology* (1981) 1, 62. (b) Wipf, R.; Bertazzi, R.; *Helv. Chim. Acta* (1983) 66, 485.

¹² Costa, P. R. R.; Ferreira, V. F.; Barreiro, E. J.; *Química Nova* (1997) 20 (6) p. 649-659.

¹³ Ghanem, A.; *Tetrahedron* (2007) 63, p. 1721.

¹⁴ Ricca, E.; Brucher, B.; Schrittwieser, H. J.; *Advanced Synthesis & Catalysis* (2011) 353, 13, p. 2239-2262

¹⁵ (a) Faber, K. *Biotransformations in Organic Chemistry* (2004) Berlin/Heidelberg: SpringerVerlag, 5ª ed. (b)

Busacca, C. A.; Fandrick, D. R.; Song, J. J.; Senanayake, C. H. *Adv. Synth. Catal.* (2011), 353, 1825. (c)

Yuryev, R.; Liese, A. *Chem. Cat. Chem.* (2010), 2, 103. (d) Ferreira, J. T. B.; *Quim. Nova* (1993) 16, 454.

¹⁶ Lehninger, Albert L.; *Princípios de bioquímica de Lehninger* (1917) Cap. 1, p. 39, 5 ed.

¹⁷ (a) Testa, B.; Trager, W. F.; *Chirality* (1990) 2, 129. (b) Federsel, Hans. Jürgen; *Chemtech* (1993) 12, 24.

obtenção destes compostos (quimicamente enriquecidos). As drogas quirais já ocupam cercada de 25% do mercado de fármacos e com tendência a evoluir ainda mais.¹⁸

Estudos mostram, que para um dos enantiômeros de uma mistura racêmica (enantiômeros *R* e *S*), diferentes ações biológicas podem ser observadas.¹⁸

Como pode-se observar na figura 2, o estereoisômero (*R*) da carvona (isolado da hortelã) tem cheiro característico de hortelã, enquanto que o enantiômero *S* (isolado do óleo de sementes de cominho) tem o cheiro característico das sementes, utilizadas na gastronomia (Figura 2)¹⁹.

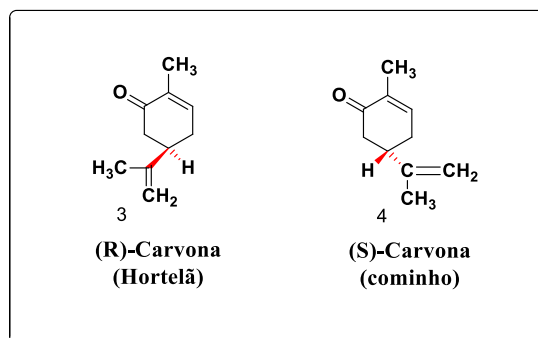


Figura 2: Enantiômeros da Carvona.

Outro exemplo de substância que apresenta atividades biológicas distintas, dependendo de qual enantiômero é empregado, é o medicamento citalopram (nome comercial Celexa®), um antidepressivo utilizado como inibidor seletivo na recaptação da serotonina, onde somente o enantiômero (*S*)-citalopram tem efeito terapêutico (Figura 3). O composto enantiopuro (*S*)-citalopram (oxalato de citalopram) é vendido comercialmente como Escitalopram® em dose de 10mg (comprimido), enquanto que a mistura racêmica, vendida comercialmente como Celexa®, é ministrada em dose de 30 mg..²⁰

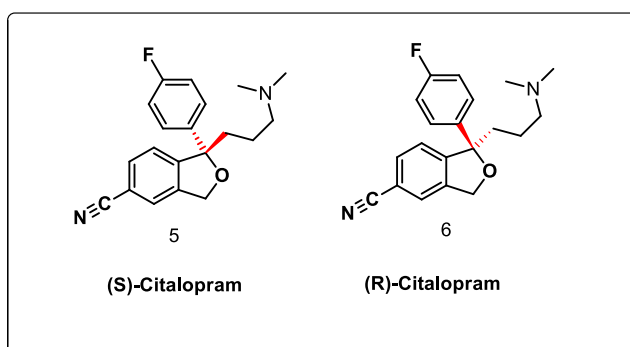


Figura 3: Enantiômeros do Citalopram.

¹⁸ Oliveira, A. P.; Faria, R. B. *Química Nova* (2010) 33, 1412

¹⁹ Lehninger, Albert L.; *Princípios de bioquímica de Lehninger* (1917) Cap. 1, pp.19 Cap.1, 5 ed.

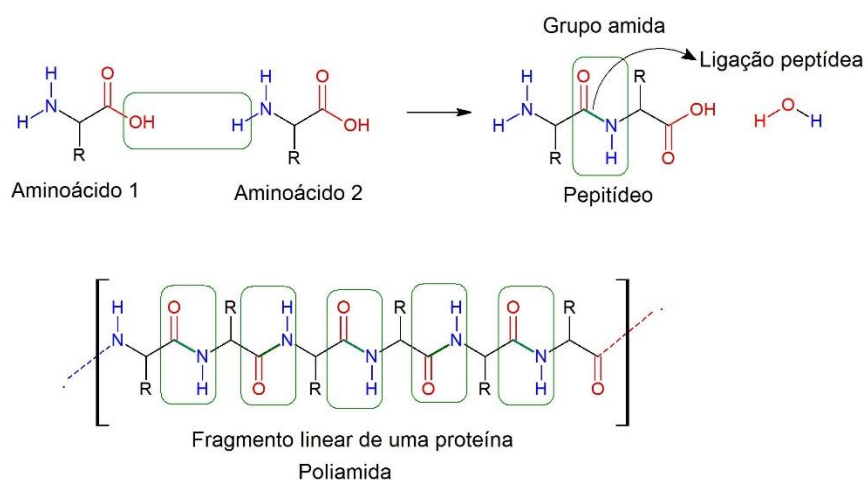
²⁰ Faber, K.; *Biotransformations in Organic Chemistry* (2011) Springer-Verlag, Berlin, 6th ed

Por apresentarem características distintas no organismo humano, alguns fármacos quirais passaram a exigir maior cautela quando ministrados. Não à toa, órgãos fiscalizadores, como o FDA (*Food and Drugs Administration*) nos E.U.A., começaram a exigir, quando possível, que fármacos deverão ser produzidos e comercializados em suas formas enantiopuras.

Desde 1992 a agência norte-americana de fiscalização de drogas e alimentos (FDA) exige uma avaliação rigorosa dos efeitos biológicos dos fármacos quirais lá produzidos e comercializados.²¹

1.1.2 – Enzimas

Enzimas, em geral, são de natureza proteica -existem também as enzimas constituídas de RNA, conhecidas por “ribozimas”-²² que têm por função catalisar reações químicas e/ou bioquímicas com alta régio-, estereo- e quimiosseletividade, as quais, sem a sua presença, dificilmente ocorreriam. Como as proteínas, as enzimas também são formadas por aminoácidos, ligados através de ligações peptídicas entre si (Esquema 2).



Esquema 2: Formação da ligação peptídica.

Parte das características das enzimas estão atreladas à sequência desses aminoácidos na cadeia principal. A natureza de cada aminoácido pode variar de acordo com o grupo de sua cadeia lateral, sendo classificados pelo seu grupamento R, que pode ser: grupos apolares,

²¹ US Food & Drug Administration (2004) *Pharmaceutical Current Good Manufacturing Practices (cGMPs) for the 21st Century – a Risk-Based Approach: Final Report*.

²² Prescher, J. A.; Bertozzi, C. R.; *Chemical Technologies for Probing Glycans* (2006) *Cell*, **126**, 851-854.

alifáticos; grupos aromáticos; grupos polares não carregados; grupos carregados positiva e negativamente (Figura 4).²³

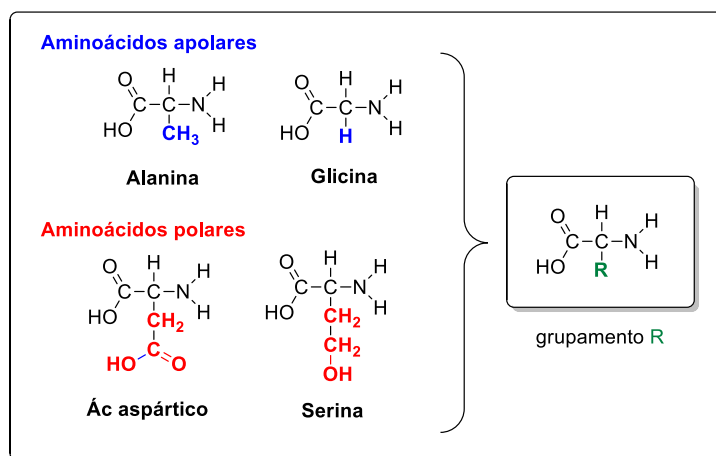


Figura 4: Exemplos de aminoácidos polares e apolares e grupamento R de um aminoácido.

A sequência dos aminoácidos da cadeia proteica é denominada de estrutura primária da enzima (Figura 5 (a)). A conformação tridimensional dessa sequência é denominada estrutura secundária (b), enquanto que a disposição espacial destas estruturas é denominada estrutura terciária (c). Quando há associação de proteínas, via dímeros ou oligômeros, formam-se estruturas denominadas quaternárias (d).

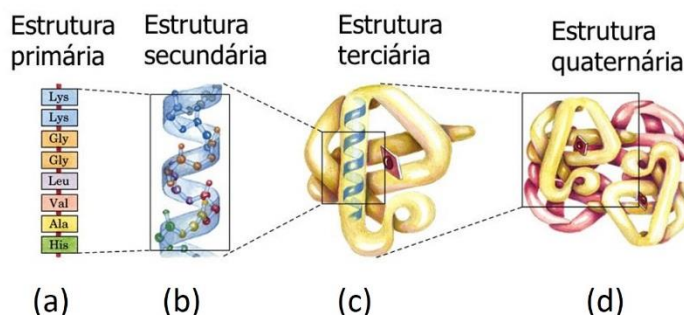


Figura 5: Estrutura primária (a), secundária (b), terciária (c) e quaternária (d) de uma enzima.

As enzimas são classificadas pelo tipo de reação que catalisam. Este critério foi adotado pela *União Internacional de Bioquímica e Biologia Molecular (IUBMB)*^{24,25} para

²³ Kreil, G.; *Annu. Rev. Biochem.*(1997) 66, 337-345

²⁴ Visto em <www.chem.qmul.ac.uk/iubmb/enzyme> acessado em 15 de dezembro de 2015

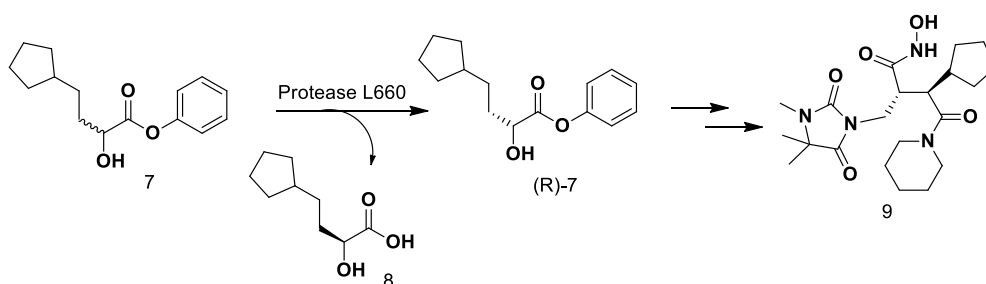
²⁵ *Intern. Union of Biochem. and Molec. Biology, Enzyme Nomenclature*. Academic Press, New York, 1992.

facilitar o agrupamento de enzimas de mesma função. A tabela 1 resume as classes de enzimas existentes, suas funções naturais e também seu uso no setor industrial.²⁶

Tabela 1: Classificação das enzimas e uso no setor industrial

Classe n°	Nome da classe	Reações que catalisam	Exemplos	Uso no setor industrial
1	Oxidoredutases	Oxidação-redução	Desidrogenases, oxidases, oxigenases, peroxidases	25%
2	Transferases	Transfere grupos como: acil, fosforil etc.	Aminoácido transaminases	5%
3	Hidrolases	Hidrólise e esterificação	Acilases, amidases, proteases, Lipases	60%
4	Liasas	Adição/eliminação sobre ligações C=C, C=N, C=O	Aldolases, oxinitrilases, hidroxinitrila liases	7%
5	Isomerases	Isomerização incluindo racemização	Sintetases, glicina ligase	2%
6	Ligases	Formação-clivagem de C-O, C-S, C-N, C-C.	Racemases, glicose, isomerase	1%

Dentre todas as classes de enzimas, as hidrolases são as mais utilizadas no setor industrial, como se pôde observar na Tabela 1. Isso se deve ao fato dessa classe não necessitar de cofatores e resistirem a diferentes condições reacionais (temperatura, solventes, pH). A empresa farmacêutica *F. Hoffmann-La Roche*® utiliza a Protease L660, uma hidrolase, para a produção do fármaco Cipemastat (**9**), utilizado no tratamento da artrite²⁷(Esquema 3).



Patente pertencente: F. Hoffmann-La Roche AG

Esquema 3: Formação do Cipemastat via hidrolase.

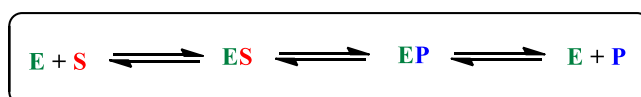
²⁶ Faber, K.; *Biotransformations in Organic Chemistry* (2011) Springer-Verlag, Berlin, 6th ed.

²⁷ Wiltshire, H. R.; Prior, K. J.; *Journal of Labelled Compounds and Radiopharma.* (2001) 44, 2, p. 149–164

1.1.3.1 - Teoria e mecanismos da catálise enzimática

De maneira mais sucinta, o mecanismo de ação enzimática mais aceito e utilizado hoje em dia, é o que trata a enzima como uma estrutura não rígida, com moderada flexibilidade, podendo possuir cofatores (íons metálicos ou moléculas orgânicas denominadas ‘coenzimas’) ou depender de sua própria estrutura proteica (apoenzimas)²⁸, o que permite conformações variadas, de acordo com o substrato. As interações dos resíduos de aminoácidos, presente no sítio ativo, com o substrato, através de ligações de hidrogênio, dispersão de London, Van der Waals etc., determinam como o substrato encaixará dentro do sítio ativo da enzima. Estas interações fazem com que uma das faces do substrato fique mais exposta que a outra, um fator determinante para a enantiosseletividade, no processo enzimático, dando preferência por um dos enantiômeros da mistura racêmica.²⁹

Um esquema de reação enzimática simples pode ser observado no Esquema 4.



Esquema 4: E (enzima); S (substrato); P (produto); ES (enzima substrato); EP (enzima produto).

Na reação, os intermediários ES e EP ocupam o nível mínimo na curva da progressão da energia de uma reação catalisada por enzima, como ilustrado no diagrama de coordenada da reação, Figura 6. Com isso, pode-se perceber que a energia de ativação é menor quando a reação é catalisada.³⁰

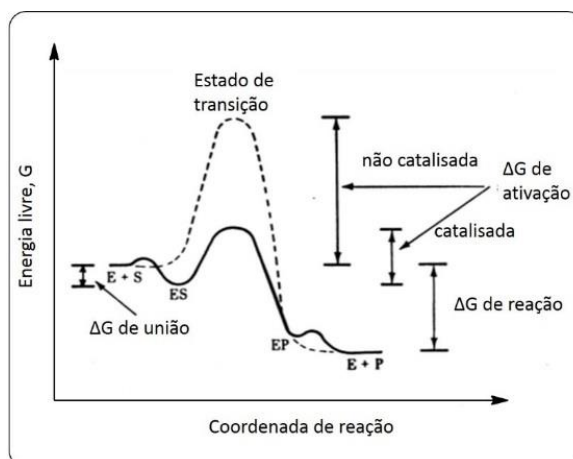


Figura 6: Coordenada comparando uma reação catalisada por enzima.

²⁸ Fatibello-filho, O.; Vieira, I. C.; *Química Nova* (2002), 25, 3, pp. 455-464.

²⁹ Milner, S. E.; Maguire, A. R.; *Arkivoc*, (2012), 321.

³⁰ Lehninger, A.; *Biochemistry*, Worth Publ Inc, New York, 1970, pág. 187

Os fatores cinéticos (Energia de ativação - E_a) e entrópicos (ΔS) são imprescindíveis a alta seletividade. A velocidade da reação é maior no sentido de formação do produto devido ao abaixamento da Energia de ativação promovida pela estabilização do estado de transição (complexo enzima substrato).³¹ Reações biocatalisadas podem ser aceleradas na ordem de $10^8 - 10^9$ do que as mesmas reações catalisadas quimicamente.

Cronologicamente, os modelos mais utilizados e aceitos de catálise enzimática foram:

Regra de três pontos, proposto por A. G. Ogston em 1948: o substrato precisa estar firmemente posicionado no espaço tridimensional necessitando de três pontos distintos no sítio ativo da enzima. Portanto, a conformação e a composição do sítio ativo determinam a especificidade e eficiência da catalise.³²

Modelo chave-fechadura, proposto por Hermann Emil Fischer em 1944: tratava a enzima como uma estrutura rígida e passível de encaixe para apenas um substrato, portanto, não explicava como uma enzima transformava substratos diferentes.³³

Modelo do encaixe induzido, proposto por Daniel E. Koshland Jr. em 1958: a aproximação do substrato ao sítio ativo induz uma mudança conformacional da enzima, alinhando, dessa forma, os orbitais dos substratos e dos grupos catalíticos corretamente (resíduos de aminoácidos), facilitando a reação.³⁴

Teoria da “dessolvatação”, proposta por Dewar em 1986: quando o substrato entra no sítio ativo da enzima, expulsa todas as moléculas de água presentes, sendo que num ambiente anidro as reações ocorrem mais facilmente, levando a um aumento da velocidade da reação.³⁵

Teoria da “solvatação-substituição”, proposta por Warshel e colaboradores 1989: baseia-se no fato de que a enzima não poderia expulsar todas as moléculas de água, pois esse processo seria energeticamente desfavorável. Desta forma, substratos hidrofóbicos substituem a água na porção hidrofóbica da enzima, favorecendo a formação do complexo enzima-substrato.³⁶

³¹(a)Ogston, A.G.; *Nature*, **1948**, 162, 963 (b)Pollard, D. J.; Woodley, J. M.; *Trends Biotech.*(**2007**) 25, 2, 73.

³² Cabral, J. M. S.; Aires-Barros, M. R.; Gama, M.; *Eng. Enzimática* (**2003**) Cap. 4, pp.121-140, Ed Lisboa

³³ Voet, D.; Voet, J. G.; Pratt, C. W.; *Fund. de Bioquímica* (**2000**) Cap 5, pp 45-46, Ed. Artmed, PortoAlegre

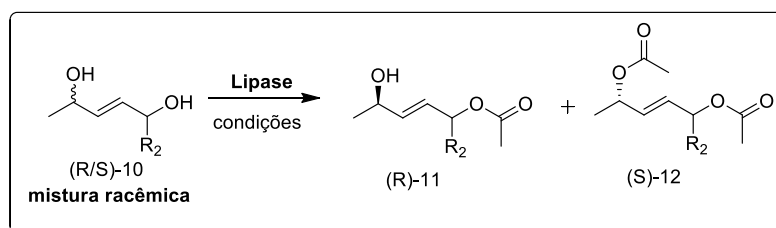
³⁴ (a) Koshland, D. E.; *Nature*, (**2004**), 432, p. 447-450 (b)Koshland, D. E.; Neet, K.E.; *Ann. Rev. Biochem.* (**1968**), 37,pp 359 -360.

³⁵ Faber, K.; *Biotransformations in Organic Chemistry* (**1995**) 2ª ed., Cap 4, pp 96 Springer-Verlag: Berlin

³⁶ Faber, K.; *Biotransformations in Organic Chemistry*(**1997**) 3ª ed., Cap 4, pp 97 Springer-Verlag: New York

1.1.3 - Resolução Cinética Enzimática (RCE).

A RCE consiste na diferenciação dos enantiômeros de uma mistura racêmica (substrato analisado), por cinética de reação, onde um dos isômeros é mais susceptível à transformação pelo biocatalisador. Deste modo, por exemplo, se o substrato-(*R*) de uma determinada substância for transformado preferencialmente pela enzima, a mistura racêmica fornece 50% do (*S*)-substrato e 50% de um derivado de (*R*) (a conversão máxima para a RCE de dois enantiômeros é de 50%), ver Esquema 5.



Esquema 5: Exemplo de uma RCE

Como mostrado anteriormente, seção 1.1.2, as Lipases, pertencentes a classe das Hidrolases, são as enzimas mais amplamente aplicadas em processos de RCE, tanto no âmbito acadêmico como industrial. Além de apresentar excelentes resultados, na forma de excesso enantiomérico (*e.e.*) e seletividade, elas não precisam de cofatores, além de serem bastante robustas (resistentes a variação de pH e temperatura). Por estes motivos elas serão alvo de aplicação, no presente trabalho.

1.1.4.1 - Lipases

São enzimas extracelulares, cuja responsabilidade no organismo é promover a hidrólise de acilglicerídeos.³⁷ Por este motivo, pertencem a classificação “triglicerol acilidrolases, EC 3.1.1.3”. São produzidas por fungos e bactérias, tais como: *Aspergillus mucor*; *Rhizopus penicillium*; *Geotrichum* sp.; *Tulopsis* sp.; *Candida* sp.; *Pseudomonas* sp.; *Achromobacter* sp. e *Staphylococcus* sp.³⁸

A lipase mais aplicada à síntese orgânica é a Candida Antarctica Lipase B (CAL-B) – proveniente de um fungo da espécie *Candida antarctica*. Isso se deve a sua resistência à

³⁷ Mantarosiel, L.; Coman, S.; Parvulescu, V. I.; *J. Mol. Catal. A: Chem.* (2008) 79 (2), pp.223-229.

³⁸ (a) Hasan, F.; Alishah, A.; Hameed, A.; *Enz. Mic. Technol.* (2006) 14, 39, pp. 235–251 (b) Gotor-Fernandez, V.; Brierar, R.; *J. Mol. Catal. B: Enzym.* (2006) 22, 40, pp. 111–120

solventes orgânicos³⁹ (*n*-hexano, THF, Tolueno etc.), à variações de pH e temperatura,⁴⁰ ao baixo custo e grande disponibilidade, e aos vários tipos de reações que podem catalisar (esterificação, transesterificação, hidrólise, adição de Micheal entre outras)⁴¹.

As lipases possuem uma tríade catalítica (resíduos de aminoácidos presentes no sítio ativo e responsáveis pelas biotransformações) constituída de *serina-histidina-aspartato*. Esta característica está presente em todas as hidrolases (Figura 7).

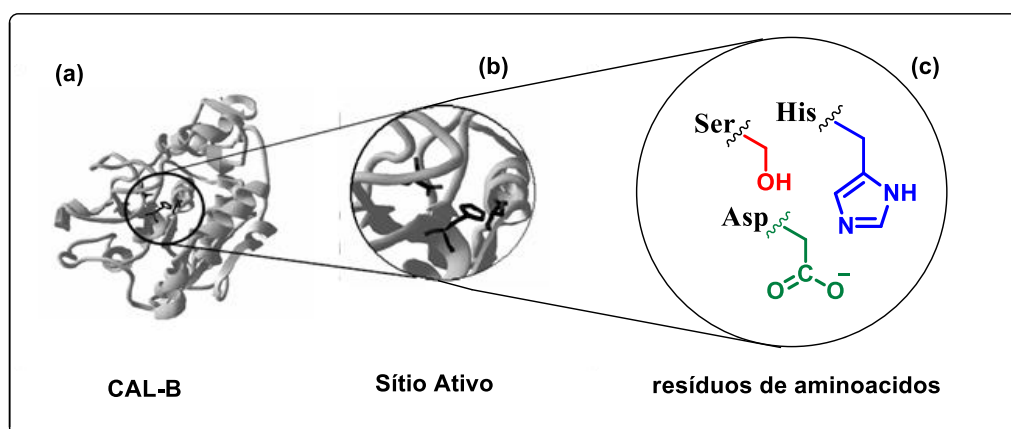


Figura 7: (a) Enzima CAL-B; (b) sítio ativo; (c) tríade catalítica

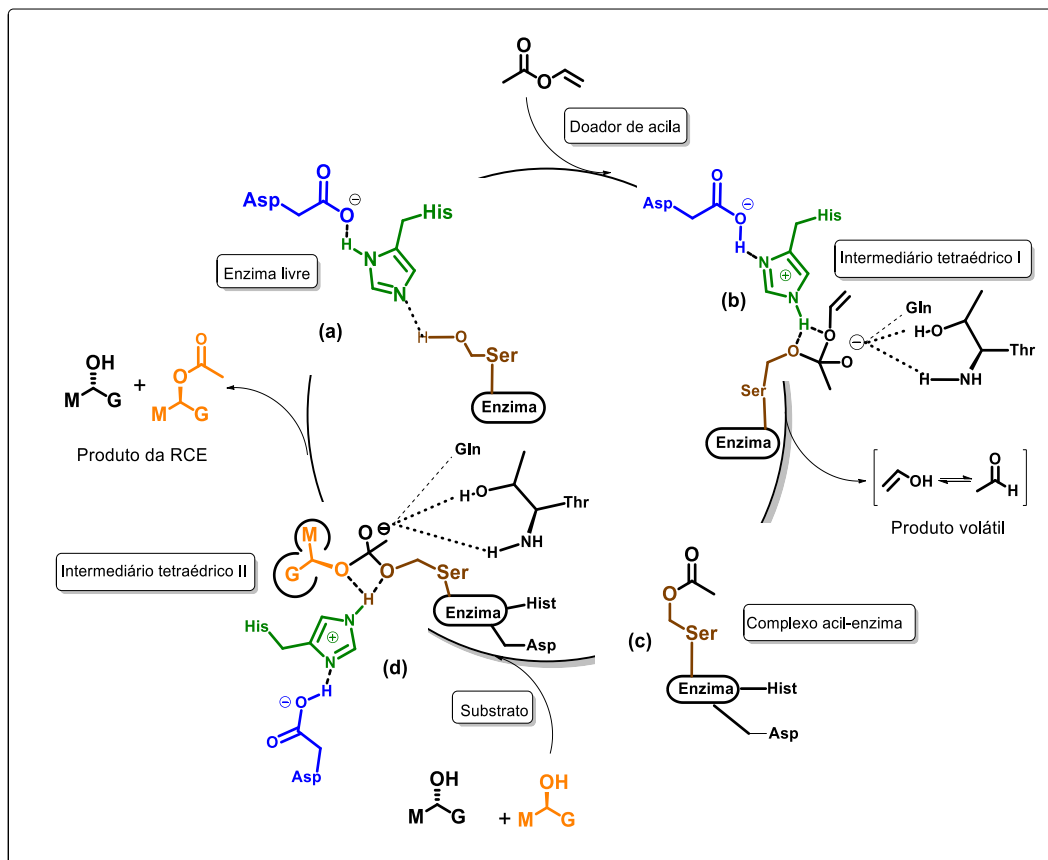
A classe das hidrolases possui um mecanismo comum de esterificação de álcoois. Baseado neste mecanismo, é que às RCE de álcoois secundários são efetuadas. Inicialmente ocorre o processo de “ativação da tríade catalítica” no sítio ativo da enzima, levando a formação do alcoolato na unidade serina catalítica, o qual, por sua vez, promove um ataque nucleofílico à carbonila do substrato doador de acila, levando a formação do intermediário acil-enzima. A etapa posterior consiste no ataque do nucleófilo apropriado (H_2O , álcool ou amina) à carbonila do complexo acil-enzima, fornecendo o produto acilado e regenerando a enzima, que retorna ao ciclo catalítico.

O esquema 6 mostra o ciclo catalítico para uma RCE de um álcool secundário catalisado por uma lipase, onde é evidenciado a estabilização do oxiânion nos intermediários tetraédricos por outros resíduos de aminoácidos (Glutamina e Treonina),

³⁹ Kirchner, G.; Scollar, M. P.; Klivanov, A. M.; *J. Am. Chem. Soc.* (1985) 107, pp. 7072

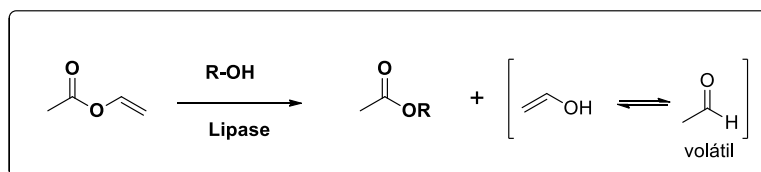
⁴⁰ Payen, A.; Persoz, J. F.; *Ann. Chim. Phys.* (1833) 53, pp. 73.

⁴¹ Amarante, G. W.; Coelho, F.; *Quim. Nova* (2009) 32, 2, p. 469-481



Esquema 6: Esquema de uma RCE de um álcool secundário utilizando CAL-B (a) enzima livre (b) intermediário tetraédrico I (c) complexo acil-enzima (d) Intermediário tetraédrico II.

Outro fator determinante neste tipo de reação, é a escolha do doador de acila. Na presença de um doador de acila apropriado, o processo de transesterificação é irreversível, como se pode observar no Esquema 7, por formar um produto de tautomerização volátil.⁴²

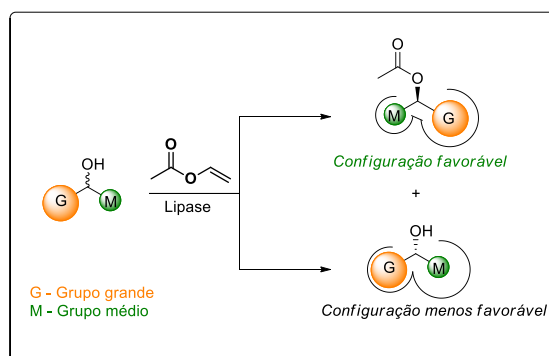


Esquema 7: Transesterificação irreversível (formação de composto volátil).

⁴² Gonçalves, R. A. C.; Oliveira, A. J; "Biocat. e Biotransf. Fund. e Aplic" (2012) vol. 2, Ed. Schola, Cap. 2, p. 69.

1.1.4.2 - Regra de Kazlauskas: previsão do enantiômero a ser transformado

A regra de Kazlauskas (criada inicialmente para hidrólise de ésteres, mas extrapolada para acilação de álcoois secundários) baseia-se no volume/tamanho de cada grupo ligado ao centro quiral⁴³. A configuração mais favorável será a que possuir um grupo grande ligado ao centro quiral pelo lado direito e um grupo médio pelo lado esquerdo (Esquema 8).



Esquema 8: A preferência por um dos enantiômeros segundo a regra de Kazlauskas

Para se aplicar a regra de Kazlauskas é necessário o conhecimento prévio do sítio ativo da lipase a ser utilizada. Embora, por essa regra, a maior parte das lipases possuem a mesma enantiopreferência frente a determinado substrato, o que garante excelentes previsões.⁴⁴ Portanto, por esta regra, pode-se especular quais substratos serão bons “candidatos” à RCE, e quais não serão.

1.2 – Dióis alílicos

Um substrato alílico, é um composto orgânico cuja função está posicionada ao carbono vicinal à uma ligação dupla carbono-carbono. No caso de dióis alílicos, ao menos um carbono carbinólico tem que ser vicinal à dupla ligação. Os dióis alílicos podem ser observados em duas conformações diferentes, *cis* e *trans*, (Figura 8).

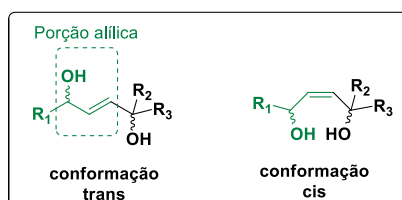


Figura 8: Conformação *cis* e *trans* de dióis alílicos.

⁴³ Jing, Q.; Kazlauskas, R. J. *Chirality*. (2008) 20, 724.

⁴⁴ Kazlauskas, R. J.; Weissfloch, A. N. E.; Rappaport, A. T.; Cuccia, L. A. *J. Org. Chem.* (1991) 56, p. 2656.

Muitos destes compostos são estáveis, e podem ser encontrados na natureza possuindo variadas atividades biológicas⁴⁵, tais como antibiótica⁴⁶ e inseticida⁴⁷, como os compostos B1 e B2 (Figura 9).

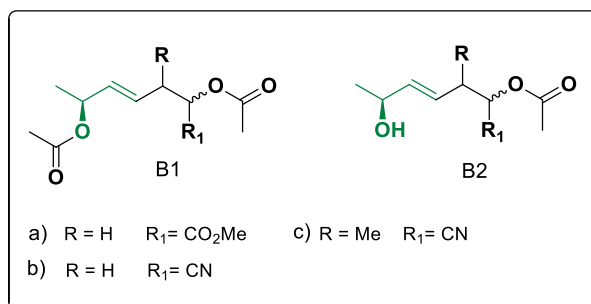
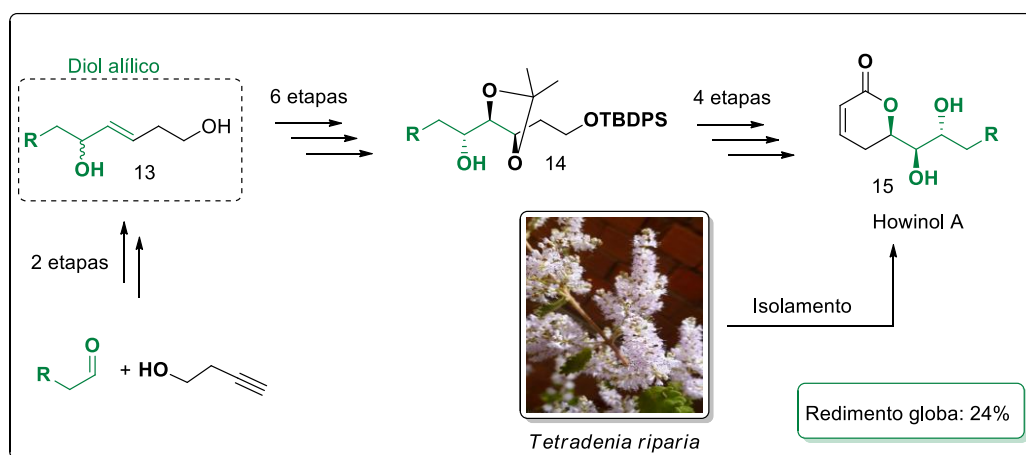


Figura 9: Exemplos de díois alílicos com potencial atividade biológica.

Outra característica, é que estes compostos se apresentam como potenciais blocos de construção, muito úteis na síntese de moléculas mais complexas.⁴⁸

Maki Tokuda e colaboradores realizaram a síntese do Howinol A (**15**) (Esquema 9), um composto com alta atividade fitotóxica e antibiótica⁴⁹, isolado por Luc Van Puyvelde e De Kimpe, a partir da *Tetradenia riparia* (vegetal da família *Lamiaceae*).⁵⁰ A Síntese deste composto, empregou o diol alílico **13** como intermediário chave da reação (Esquema 9).



Esquema 9: Síntese e isolamento do Howinol A

⁴⁵ Genet, J. P.; Balbanne, M.; Charbonnier, F.; *Tetrahedron Letters* (1982) 23, 48, pp 5027-5030.

⁴⁶ Connor D. T.; Strandmann, M. V.; *J. Med. Chem.* (1979) 22, 1144.

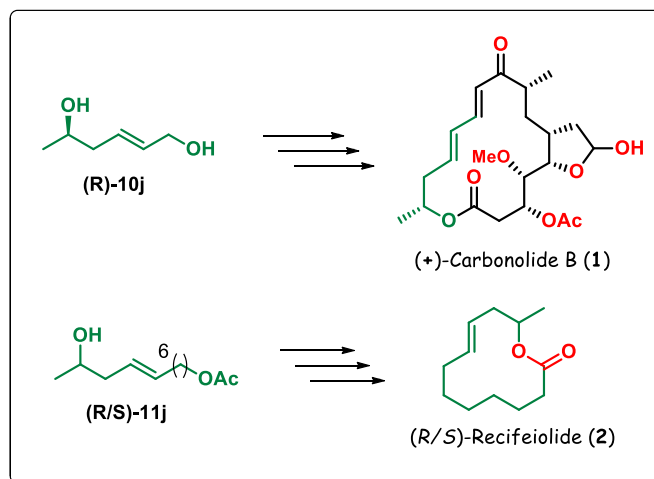
⁴⁷ James, N. F.; Elliot, M.; *Pyrethrum the natural Insecticides* (1973) Acad Press, New York.

⁴⁸ Macsári, I.; Szbó, K. S.; *Tetrahedron Letters* (1998) 39, pp 6345-6348.

⁴⁹ Tokuda, M.; Kurogome, Y.; Katoh, R.; Hattori, Y.; Makabe, H.; *Tetrahedron Letters* (2014) 55, 4189-4192

⁵⁰ Van Puyvelde, L.; De Kimpe, N.; *Phytochemistry* (1998), 49, 1157.

Outros exemplos, onde dióis alílicos foram empregados como intermediários chave na síntese de compostos de interesse, foram as sínteses dos compostos: (+) Carbonolide B (1), sintetizada por Gary E. Keck e colaboradores⁵¹ e isolada por Hochstein e colaboradores a partir do *Streptomyces halstedii*, com atividade antibiótica⁵²; e a (R)-Recifeolide (2), sintetizada por Guy Solladié e colaboradores, isolada a partir de *cephalosporium recifel*, que apresenta como característica, atividade antifúngica e surfactante⁵³ (Esquema 10).



Esquema 10: Dióis homo-alílicos *trans* utilizadas como bloco de construção.

As metodologias sintéticas empregadas na preparação dos compostos bioativos (1) e (2) utilizam catalisadores metálicos de alto custo e rotas extensas, além de empregar agentes tóxicos.

Sendo assim, após realizar um levantamento bibliográfico, foi constatado a inexistência de processos quimioenzimáticos para obtenção de dióis alílicos *trans* enriquecidos enantiomericamente. O que nos motivou em desenvolver uma metodologia alternativa para o preparo destes compostos de forma enantiosseletiva.

Neste sentido, como nosso grupo vêm estudando a RCE de compostos poli-funcionalizados, nos propusemos a desenvolver um método empregando a biocatálise para preparar esses compostos de forma enantiosseletiva.

⁵¹ Keck, G. E.; Palani, A.; McHardy, S. F.; *J. Org. Chem.* (1994) 59, 3113-3122.

⁵² Hochstein, F. A.; Murai, K.; *J. Am. Chem. Soc.* (1954) 76, 5080

⁵³ Solladié, G.; Kovenski, J.; Colobert, F.; *Tetrahedron Asymetry* (1993) 4, 10, p.2173-2178

1.3 - Objetivos

1.3.1 – Objetivo geral

- Desenvolver uma rota quimioenzimática para obtenção de dióis alílicos *trans* de forma enantiosseletiva.

1.3.2 – Objetivos específicos

- Estudar e estabelecer uma rota sintética para síntese de dióis alílicos *trans* racêmicos.
- Promover a RCE dos dióis alílicos *trans* sintetizados.
- Caracterizar os dióis alílicos *trans* racêmicos e enantiopuros produzidos.

2.0 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.1 – Síntese dos substratos

Baseando-se na regra empírica de Kazlauskas, onde a extensão da cadeia carbônica influencia, de forma determinante, na eficiência da RCE⁵⁴, a preparação de uma variedade de substratos, candidatos à RCE, foi elaborada (Figura 10).

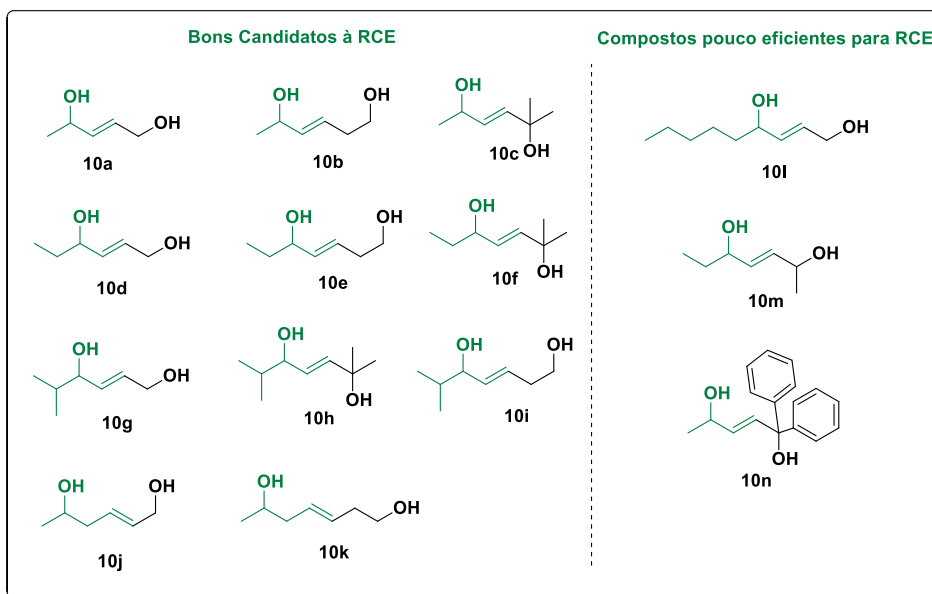
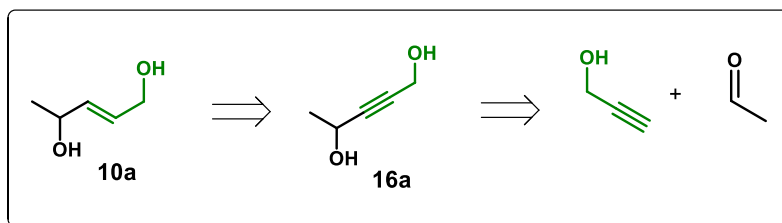


Figura 10: Substratos candidatos à RCE.

Sendo assim, com o objetivo de preparar uma biblioteca de (E)-dióis alílicos (**10a-n**), estudos visando à preparação desta classe de compostos foram realizados empregando **10a** como alvo sintético inicial. Esta escolha teve como base sua simplicidade estrutural, e sua preparação foi idealizada de acordo com o seguinte esquema retrosintético (Esquema 11).

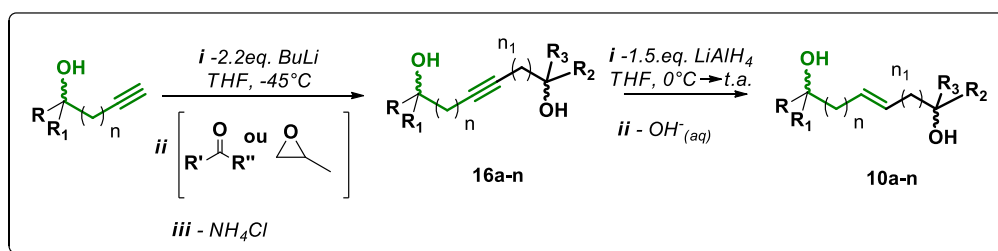


Esquema 11: Esquema retrosintético visando o (E)-diol alílico **10a**.

⁵⁴ Costa, C. E. U.; Amorim, H. H. L.; *Química Nova* (1999) 6, 22, p. 863-873

Como pôde ser observado no Esquema 11, os diois alílicos **10a-n** poderiam ser obtidos por redução direta de diois propargílicos **16a-n**. De acordo com a literatura, agentes redutores, como LiAlH_4 , podem ser empregados para esta finalidade.⁵⁵ Este reagente é capaz de realizar reação de redução de ligações triplas do tipo carbono-carbono em sistemas propargílicos. Adicionalmente, a utilização de condições redutivas empregando gás $\text{H}_{2(g)}$ na presença de catalisadores metálicos como Pd/C, Pt e Ni também é descrita na literatura.⁵⁶

Os diois propargílicos **16a-n**, poderiam ser sintetizados a partir da reação entre um di-sal de lítio, preparado a partir do álcool propargílico correspondente, e um eletrófilo apropriado. Assim, através de uma reação de adição 1,2- à carbonila de um aldeído, ou uma reação do tipo $\text{S}_{\text{N}}2$ na porção menos impedida de um epóxido, uma classe de diois propargílicos poderia ser preparada. Sendo assim, s (*E*)-diois alílicos **10a-n** poderiam ser sintetizado em duas etapas sintéticas (Esquema 12).



Esquema 12 – Esquema geral para preparação dos (*E*)-diol alílicos **10a-n**.

2.1.1 - Síntese do composto modelo: (*E*)-diol alílico **10a**

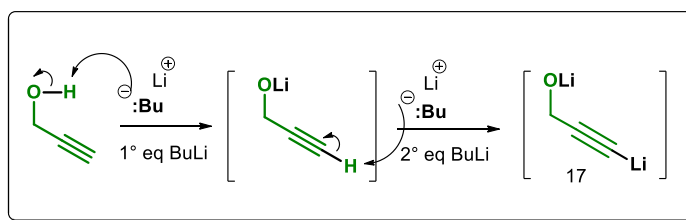
Sendo o composto **10a** o substrato modelo a ser empregado nas reações iniciais de screening enzimático, iniciou-se sua preparação utilizando o álcool propargílico como material de partida. A primeira etapa sintética consistiu em uma reação ácido-base do álcool propargílico com dois equivalentes de *n*-BuLi. Ao adicionar o primeiro equivalente de base, o hidrogênio do grupamento álcool é abstraído, gerando o alcóxido de lítio **1p(a)**. Isto ocorre devido ao baixo valor de pK_a deste hidrogênio ($\text{pK}_a \sim 16$) fazendo com que este hidrogênio seja preferencialmente abstraído em relação ao hidrogênio acetilênico (pK_a 25).⁵⁷ Em seguida,

⁵⁵ Cox, R. J.; Adrés-Goméz, A.; Godfrey, C. R. A.; *Org. Biomol. Chem.* (2003) 1, p.3173–3177

⁵⁶ Grigorjeva, L.; Jirgensons, A.; *Eur. J. Org. Chem.* (2011) 22, 11, p. 1136

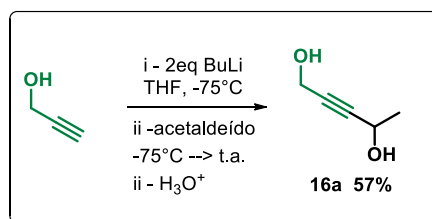
⁵⁷ Wetherill, R. B.; *J. Org. Chem.* (1975) 40, 15, p.2250-2252 (b) Brandsman, L.; *Preparative acetylenic chemistry* (1998) Elsevier, 2ª Ed., pág. 79.

adicionou-se o segundo equivalente de *n*-BuLi com o intuito de gerar *in situ* a espécie di-aniônica **17**, através da abstração do próton acetilênico (Esquema 13).



Esquema 13: Formação e ataque nucleofílico do diânion de lítio (**17**)

Com isso, após adição de acetaldeído ao di-ânion **17**, o composto **16a** foi obtido em rendimento de 57% (Esquema 14).



Esquema 14: Síntese do diol propargílico **16a**.

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 11) é possível observar os sinais característicos dos carbonos carbinólicos C_a e C_b em 58,2 e 50,8 ppm, os sinais referentes aos carbonos alquinílicos C_c e C_d em 87,6 e 82,2 ppm e a metila C_e em 24,1 ppm, do composto **16a**.

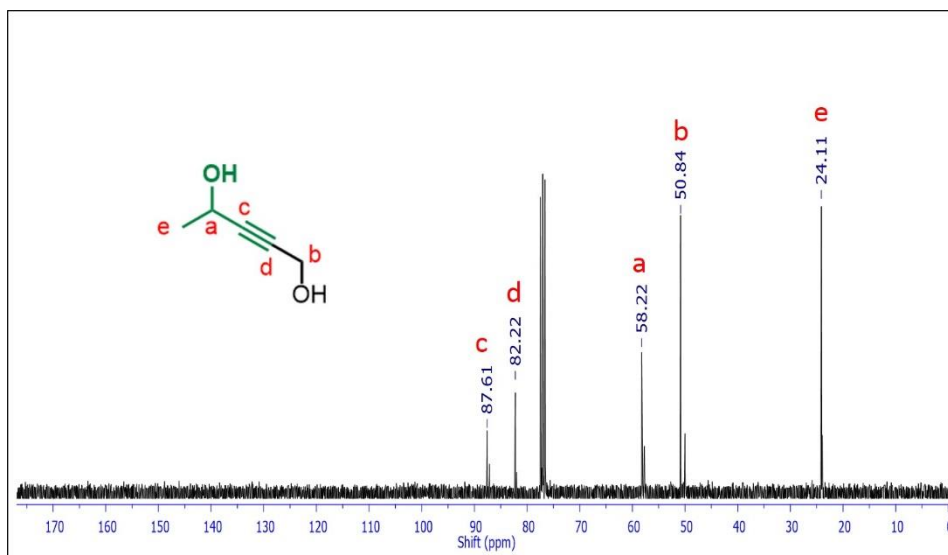


Figura 11: Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do diol propargílico **16a**.

No espectro de RMN de ^1H de **16a**, foi possível observar os sinais característicos de prótons carbinólicos, referente ao quadrupeto (1H) em 4,57 ppm de H_a ($^3J_{a-c}$ = 6,6 Hz) e o

simpleto (2H) em 4,30 ppm referente ao H_b. Por último, pode-se verificar o duplete (3H) em 1,45 ppm ($^3J_{c-a} = 6,6$ Hz) referente ao próton H_c (Figura 11).

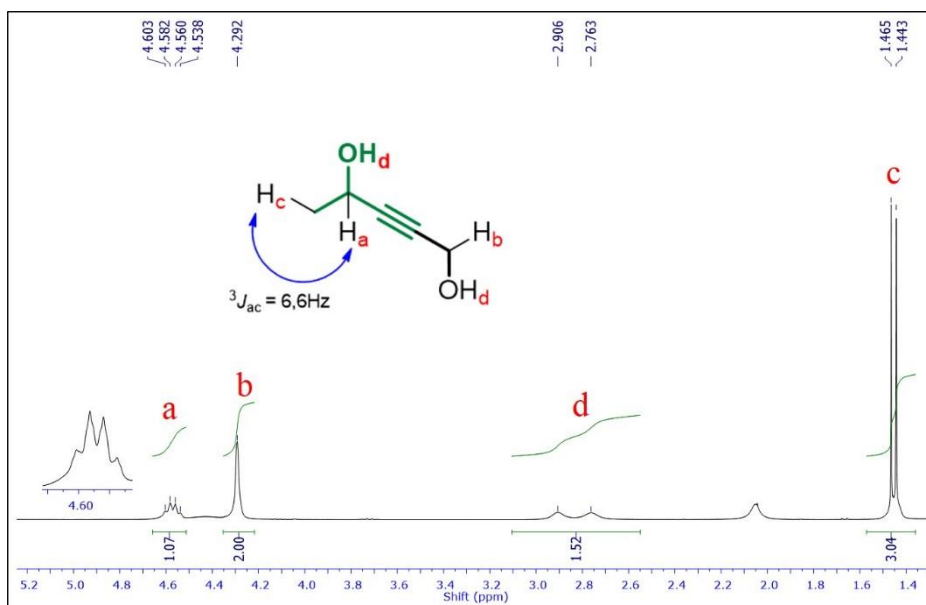
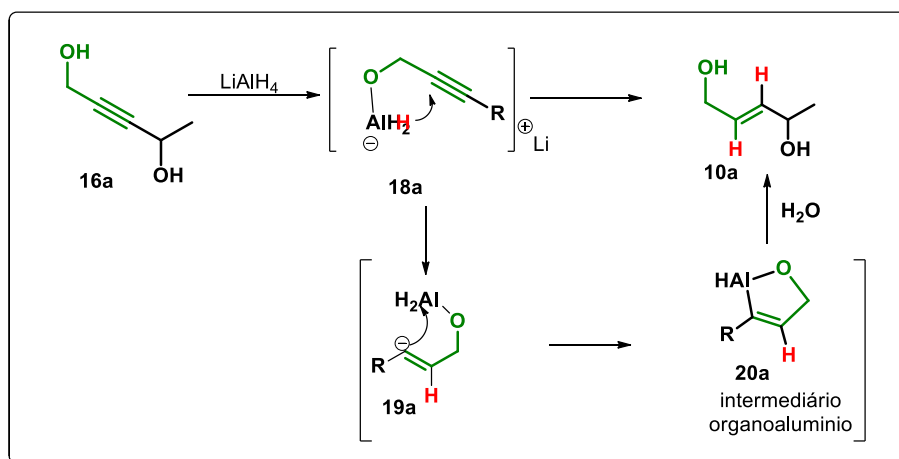


Figura 12: Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) do **diol propargílico 16a**.

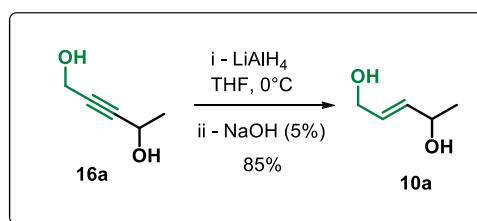
A partir do diol propargílico **16a**, o (*E*)-diól-alílico **10a** poderia ser obtido, pela redução da ligação tripla, levando ao composto olefínico correspondente. Para isso, LiAlH_4 foi empregado como agente redutor. A redução da ligação tripla à dupla, promovida por LiAlH_4 , ocorre devido a porção propargílica carbinólica, isto é, a hidroxila vizinha à tripla ligação.⁵⁸ A etapa determinante no mecanismo da reação é a formação de um intermediário organo-metálico cíclico⁵⁹, onde inicialmente forma-se a espécie alcóxi-alumínio **18a** a qual sofre uma transferência de hidreto intramolecular para o carbono propargílico, gerando o carbânion **19a**. Este, por sua vez, realiza um ataque nucleofílico sobre o alumínio levando a formação da espécie organo-alumínio cíclico **20a**. A finalização ocorre com a hidrólise do organo-metálico com retenção de configuração, fornecendo o (*E*)-diol alílico **10a** (Esquema 15).

⁵⁸ Grant, B.; Djerassi, C.; *J. Org. Chem.* (1974) 39, 968

⁵⁹ Borden, W. T.; *J. A. Chem. Soc.* (1970) 16, 92, p. 4898-4901

Esquema 15: Reação de redução com LiAlH_4

Após finalizar a reação com solução básica de $\text{NaOH}_{(\text{aq})}$ (5%) à 0°C , pôde-se obter o produto **10a**, um óleo incolor e levemente denso, em rendimento de 85%, após purificação em coluna de sílica (Esquema 16).

Esquema 16: Síntese do (E)-diol alílico **10a**.

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 13) foi possível observar os sinais característicos de carbonos carbinólicos C_c e C_d em 68,1 ppm e 62,8 ppm, os sinais referentes aos carbonos da dupla ligação (a ligação tripla gera um efeito anisotrópico, o que torna os carbonos mais blindados em relação aos carbonos que compõem a dupla ligação)⁶⁰ C_c e C_d em 135,5 ppm e 128,8 ppm, e a metila C_e em 23,2 ppm, confirmando sua estrutura carbônica.

⁶⁰ Silverstein, R. M.; Webster, F.; Kiemle, D.; *Identificação espectroscópica de compostos orgânicos* (2007) Cap 4, p 215, 7ªed, LTC ed.

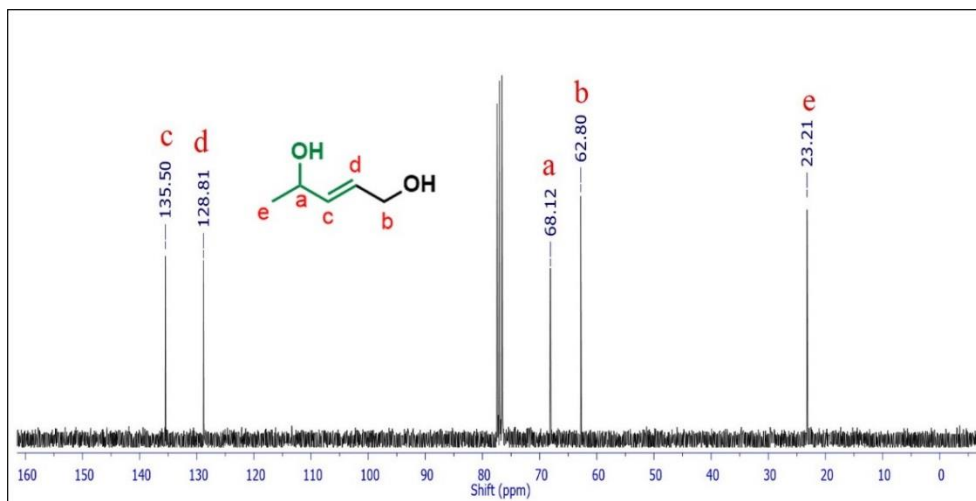


Figura 13: Espectro de RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3) do composto (E)-diol alílico 10a.

No espectro de RMN de ^1H (Figura 14) foi possível observar os sinais característicos de prótons carbinólicos, referente ao quintupeto (1H) em 4,33 ppm de H_b ($^3J_{a-c} = 6,4$ Hz), um duplete (2H) em 4,13 ppm de H_e ($^3J_{e-d} = 3,6$ Hz), um multipeto (2H) em 5,90-5,69 ppm referente aos prótons da dupla ligação H_c e H_d . Por último, pode-se verificar o duplete (3H) em 1,27 ppm ($J^3 = 6,4$ Hz) referente ao próton H_a .

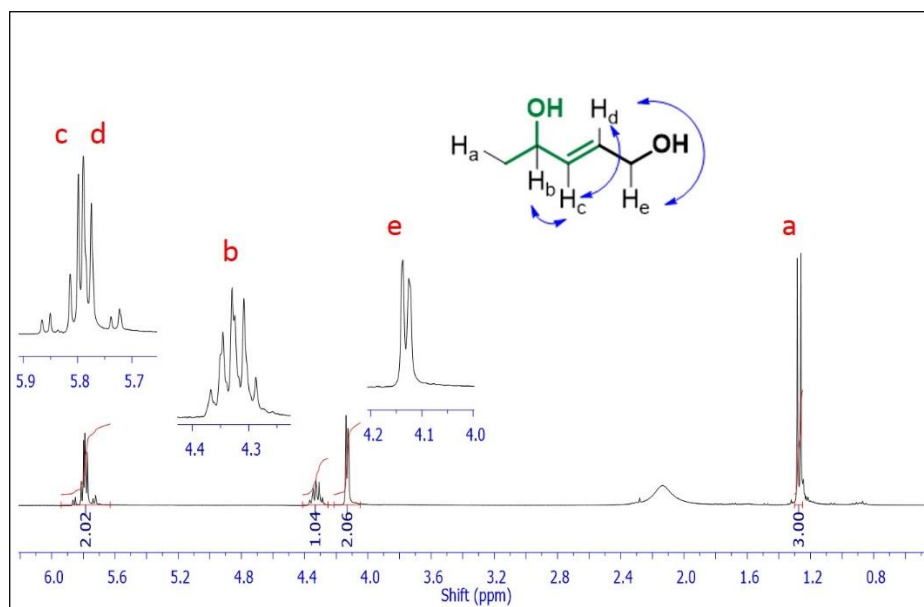
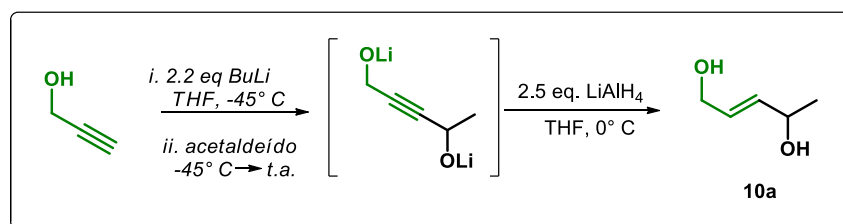


Figura 14: Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) do (E)-diol alílico 10a.

2.1.2 – Otimização das condições experimentais para síntese dos (*E*)-diol alílicos **10(a-n)**

Após preparar o composto **10a** em pequena escala, partiu-se para otimização das condições reacionais, visando sua síntese em maior quantidade. Tendo em vista que na literatura, a etapa 1, formação de **10a** é realizada à -78°C , e em concentração molar que varia de 0,5 M a 1,0 M⁶¹, testamos as reações à -45°C (banho criogênico). Para isso, e na tentativa de diminuir o número de etapas sintéticas, foi proposto um estudo metodológico de formação do (*E*)-diol alílico **10a** em um único balão reacional, sem isolar **16a** (Esquema 17).



Esquema 17: Formação do(*E*)-diol alílico **10a** via método *one-pot*.

A Tabela 2 exibe as condições testadas.

Tabela 2: Otimização das condições para formação de **10a**.

Condição n°	Concentração (mol/L)	Tempo de formação do di-ânion de Lítio (h)	Rendimento %*
1	0,1 M	0,5 h	32%
2	0,4 M	0,5 h	20%
3	0,8 M	0,5 h	1,8%
4	0,1 M	1,0 h	65%
5	0,4 M	1,0 h	38%
6	0,8 M	1,0 h	nd**
7	0,1 M	2,0 h	55%
8	0,4 M	2,0 h	27%
9	0,8 M	2,0 h	nd**

* Para 1 mmol do álcool propargílico (**1p**) ** traços de produto

As reações foram acompanhadas por CCD, tendo em vista que há uma diferença razoável no fator de retenção e na coloração da mancha na CCD ao ser revelada (revelador de

⁶¹ Skattebol, L.; Stenstrom, Y.; *Acta Chemica Scandinavica* (1995) 49, p. 543-545.

vanilina sulfúrica) entre o diol **10a** (rf = 0,2 – mancha amarela) e o diol **10A** (rf = 0,5 – mancha azulada), como mostrado na Figura 15.

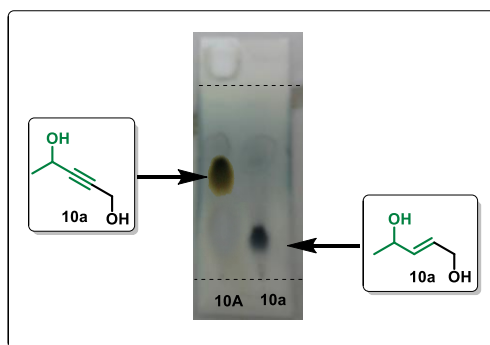


Figura 15: Diferença de polaridade entre **10A** e **10a** (1:1 hex/AcOEt)

Após realizar as reações em diferentes condições (Tabela 2), a condição reacional que se apresentou com o maior rendimento foi a entrada 4. Onde uma maior diluição (0,1 mol/ L) e um tempo moderado (1,0h), gerou o (*E*)-diol alílico **10a**, em rendimento global superior ao observado para as reações em duas etapas sintéticas separadamente (65%). Nas reações empregando soluções mais concentradas (0,4 e 0,8 M) foi observada a formação de dímeros (sólido branco) dentre outros subprodutos.⁶² Uma vez atingida as condições para formação do diol **10a**, partiu-se para a síntese dos demais (*E*)-dióis alílicos **10b-n** empregando as condições de reação *one-pot*.

2.1.3 – Síntese dos (*E*)-dióis alílicos **10(b-n)** via método *one-pot*.

A síntese *one-pot* dos dióis alílicos, se mostrou eficiente, levando a remoção de uma etapa de extração e purificação. Sendo assim, o método otimizado foi então expandido, sendo preparada uma biblioteca de compostos (Figura 16).

⁶² Freitas, L. B. O.; Ruela, F. A.; Pereira, G. R.; Alves, R. B.; Freitas, R. P.; Santos, L. J.; *Química Nova* (2011) 34, 10, p.1791-1804.

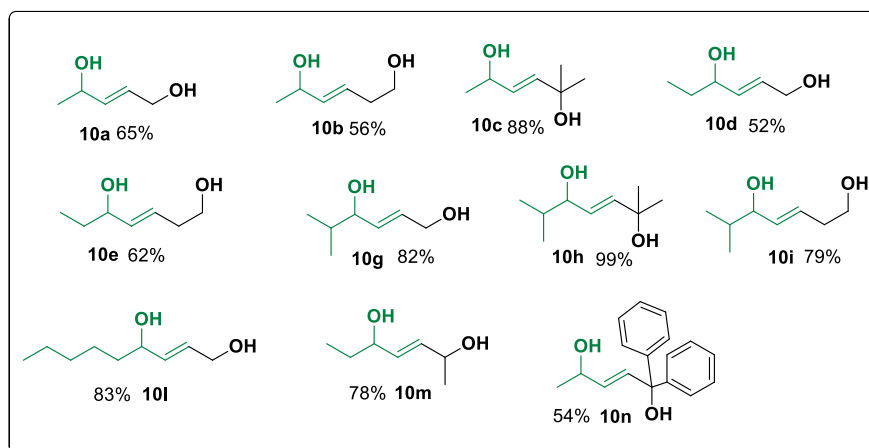


Figura 16: (E)-dióis alílicos sintetizados via método one-pot.

De maneira geral, nos espectros de RMN ^{13}C confirmou a presença dos carbonos carbinólicos variando na faixa espectral 50 e 78 ppm e os carbonos pertencentes à dupla, variando entre 125 e 150 ppm. Para os espectros de RMN ^1H , confirmou-se a presença de prótons carbinólicos, variando entre 3,5 até 4,5 ppm, e dos prótons pertencentes à dupla (mais desblindados) caindo na faixa entre 5,2 e 6,5 ppm.

Um exemplo é o espectro de RMN de ^{13}C (Figura 17) do (E)-diol alílico **10g**, onde foi possível observar os sinais característicos de carbonos carbinólicos C_b e C_e em 77,4 e 62,8 ppm, os sinais referentes aos carbonos da dupla ligação C_c e C_d em 132,6 e 130,7 ppm, as metilas C_g e C_f em 18,2 e 17,9 ppm, e o C_a (CH) em 33,7 ppm.

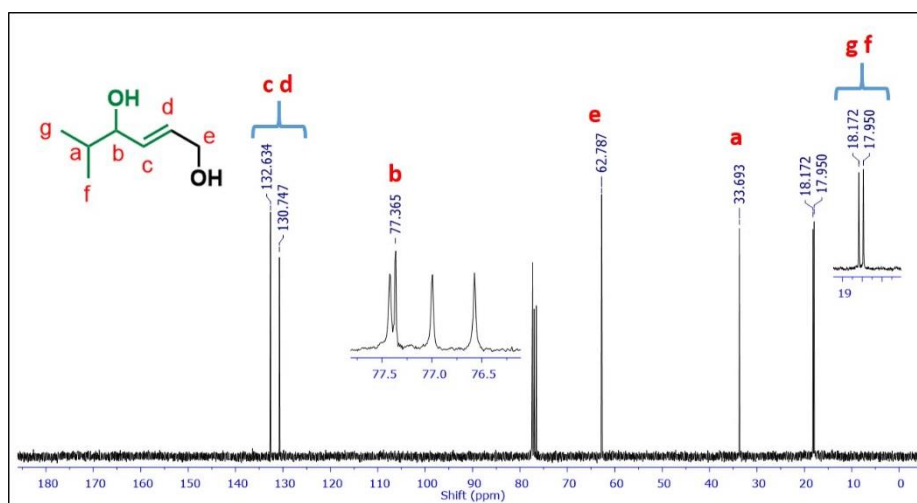


Figura 17: Espectro de RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3) do (E)-diol alílico **10g**.

Também se pode verificar os acoplamentos dos prótons pertencentes à dupla ligação no espectro de RMN ^1H (Figura 18) do composto (E)-diol alílico **10l**, onde foi possível observar um tripleto (3H) em 0,88 ppm ($^3J=6,0\text{Hz}$), um multipletto (6H) em 1,20-1,41 ppm, um multipletto (2H) em 1,43-1,64 ppm, um simpleto (2H) em 2,40, um multipletto (3H) em 4,1-4,20

ppm, um duplete de duplete (1H) em 5,71 ppm (dd, $^3J_{trans} = 15,3$ Hz, $^3J = 6,3$ Hz) e um duplete de triplete (1H) em 5,81 ppm (dt, $^3J_{trans} = 15,3$ Hz, $^3J = 6,0$ Hz).

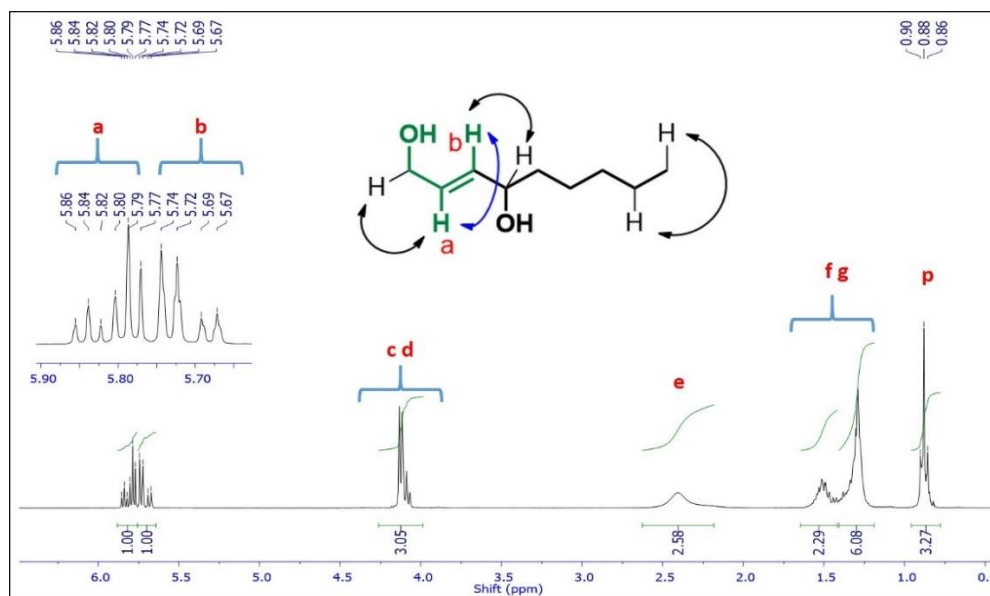
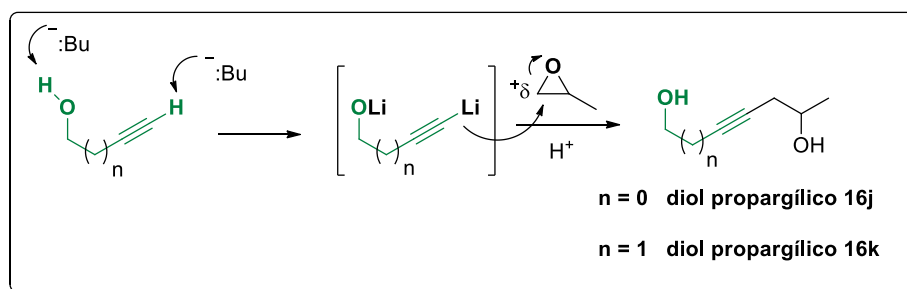


Figura 18: Espectro de RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) do (E)-diol alílico **10l**.

Para preparação dos dióis **10j** e **10k**, a espécie intermediária di-lítida, gerada à -45°C , foi submetida a uma reação de substituição nucleofílica do tipo $\text{S}_{\text{N}}2$ na porção menos impedida do óxido de propileno. Dessa forma, foi possível obter o diol propargílico **16j** e **16k** em rendimentos inferiores a 10%, após purificação por cromatografia em sílica gel (Esquema 18).



Esquema 18: Formação dos dióis propargílicos **16j** e **16k**.

O baixo rendimento pode ter ocorrido devido a base escolhida, o $n\text{-BuLi}$. Pois, de acordo com a teoria de Pearson⁶³ (ácido/base duro/mole), a base utilizada é considerada “dura”, e a abertura de epóxido deve ser efetuada com uma base mais macia, como efetuado Lipshutz e colaboradores⁶⁴ ou utilizar um ácido de Lewis, como o $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$, para abertura do epóxido⁶⁵.

⁶³ (a) Vasconcelos, M. L. A.; *Química Nova*. (2014) 37, 1, p.171-175 (b) J. A. C. S. (1963), 85, 22, 33-35.

⁶⁴ Lipshutz, B. H. Wilhelm, R. S.; Kozlowski, J. A.; Parker, D. J. *Org. Chem.* (1984) 49, 3928.

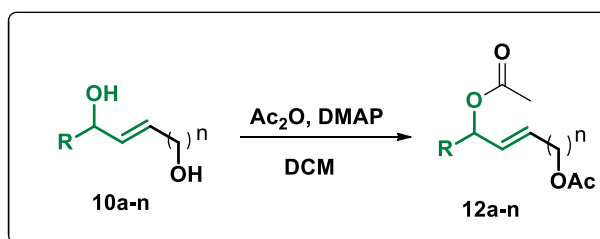
⁶⁵ Reddy, B. C.; Bangade, V. M.; Ramesh, P.; *Helvetica Chimica Acta* (2013) 96, p.266 -274

A etapa referente à preparação dos (E)-dióis alílicos **10j** e **10k** encontra-se em otimização, e a utilização de um ácido de Lewis ($\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$) se mostra um meio alternativo e interessante na tentativa de obter estes substratos em melhores rendimentos.

2.2 – Resolução cinética enzimática

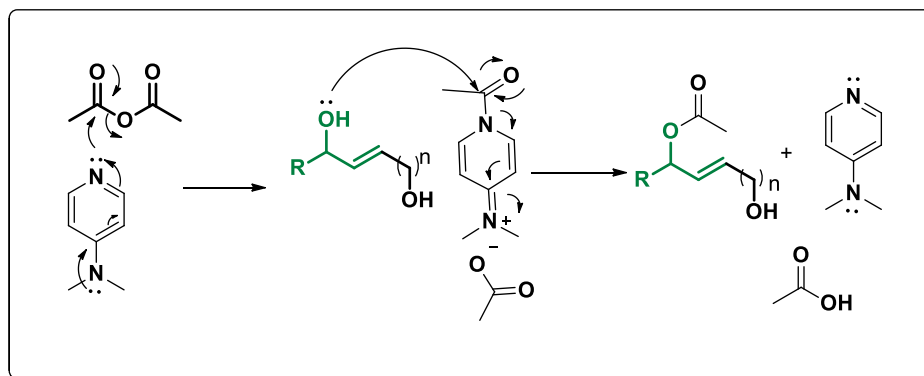
2.2.1 – Ajustes de parâmetros cromatográficos

De posse dos dióis racêmicos, devidamente sintetizados e caracterizados, iniciou-se a etapa de RCE. Para iniciar esses experimentos o diol **10a** foi convertido em seu respectivo diacetato **12a**, uma vez que a enzima poderia catalisar transformação das duas funções álcool contidas no substrato. Outro parâmetro importante é a separação dos enantiômeros em coluna quiral, no equipamento que irá acompanhar as RCE. A coluna utilizada como fase estacionária quiral tem a composição de 10% de β -ciclodextrina em cianopropil-fenil-metilpolisiloxano (dimensões 30 m x 0.25 mm x 0.25 μm). Os diacetatos racêmicos foram obtidos a partir da reação entre **1(a-n)** e anidrido acético na presença de $\text{DMAP}_{(\text{cat})}$, (Esquema 19).



Esquema 19: Formação de **12a-n** a partir de DMAP e anidrido acético.

O mecanismo de reação do catalisador está descrito no Esquema 20.⁶⁶



Esquema 20: Mecanismo de acetilação empregando anidrido acético e DMAP .

⁶⁶ Xu, S.; Held, I.; Kempf, B.; Mayr, H.; Steglich, W.; Zipse, H.; *Chem. Eur. J.* (2005), 11, p. 4751.

O estudo das melhores condições cromatográficas para analisar os padrões racêmicos foi realizado variando-se a seguinte rampa (padrão): de 100 a 180°C (2°C/min) e pressão de 50KPa, como exibido no cromatograma da Figura 19.

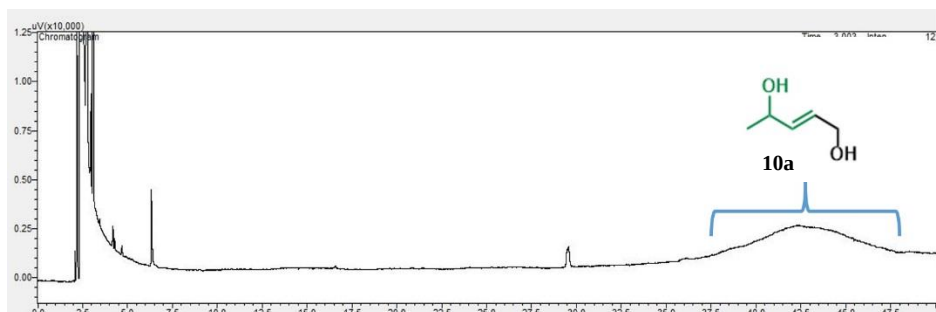


Figura 19: Cromatograma do diol **10a** na rampa padrão.

O pico do (*E*)-diol aílico **10a**, no tempo de retenção 42,5 min é bem alargado, devido à forte interação deste substrato com a fase estacionária (um açúcar quiral), logo, a separação dos enantiômeros do diol **10a**, nestas condições, não foi possível (Figura 19).

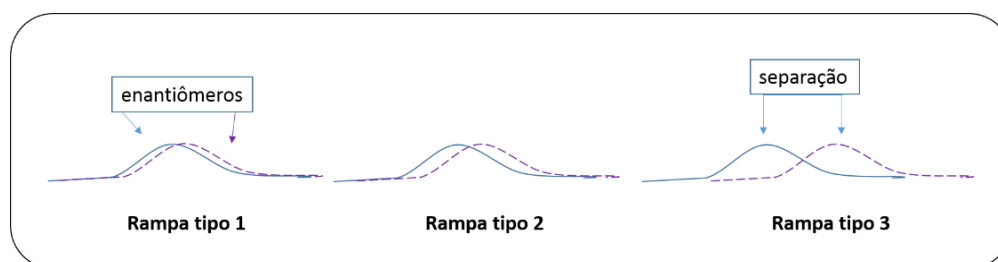


Figura 20: Separação dos enantiômeros para cada tipo de rampa.

Na tentativa de promover uma maior separação dos enantiômeros, como exibido na Figura 20, resolveu-se testar uma série de rampas, as quais, estão dispostas na Tabela 3, com o intuito de verificar a maior separação possível, entre os enantiômeros, em um tempo hábil de análise.

Tabela 3: Otimização das condições para separação dos enantiômeros.

Rampa	Pressão	Temperatura*	Tempo de retenção
Rampa A	30 KPa	110°C	33 min
Rampa B	60 KPa	110°C	42,8 min
Rampa C	70 KPa	95°C	40 min
Rampa D	50 KPa	95°C	55 min

*Rampas isotérmicas

A análise da Tabela 3 mostra que a melhor rampa encontrada, após várias tentativas, foi a **B**. A partir deste resultado, analisou-se os enantiômeros do diacetato (R/S)-**12a** e do (R/S)-**10a** (composto modelo), como podemos ver no cromatograma da Figura 21.

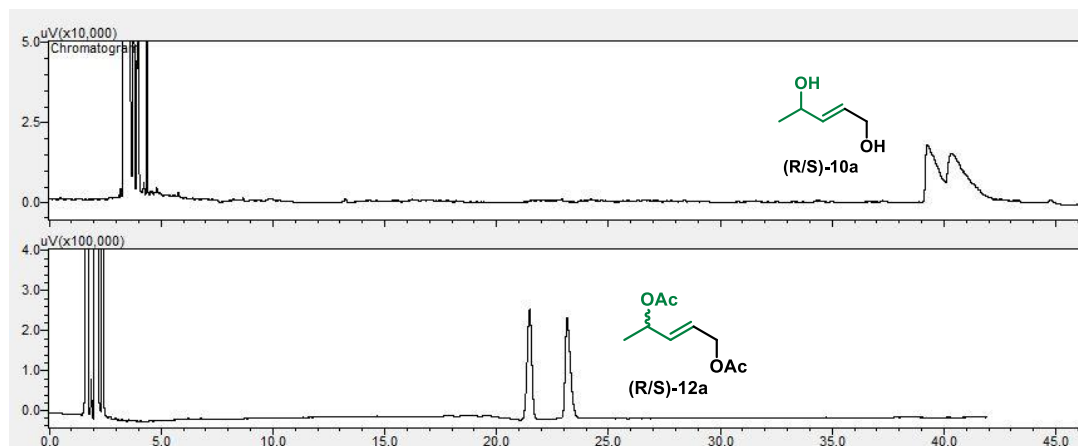
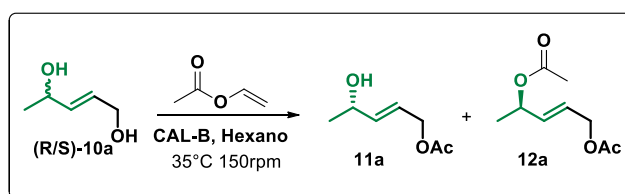


Figura 21: Separação dos enantiômeros do (R/S)-**10a** e do (R/S)-**12a** na rampa B.

Os enantiômeros do diacetato **12a**, interagem diferentemente com o recheio da coluna. Podemos observar no cromatograma acima que os picos referentes a estes enantiômeros são bem definidos e triangulares, possuindo tempos de retenção bem distintos um do outro, o que facilita a verificação do consumo de cada um e, por isso, pode-se determinar o excesso enantiomérico (*e.e*).

2.2.2 – RCE teste com a enzima lipase CAL-B.

As condições mais amplamente empregadas na literatura⁶⁷ para utilização da enzima CAL-B na RCE de álcoois são: um solvente apolar (*n*-hexano) à 35°C e 150 rpm e 10 eq de doador de acila (Acetato de vinila), (Esquema 21).



Esquema 21: Representação da RCE de **10a**

Para verificar se a CAL-B de fato transformaria o substrato escolhido, que julgamos ser um bom candidato à RCE, se deu início à RCE em escala analítica, isto é, utilização de 0,1 mmol do substrato.

⁶⁷ Costa, V. E. U.; Amorim, H. L. N.; *Quím. Nova* (1999) 22, 863.

Deve-se salientar que em escala analítica não há quantidade suficiente de produto para se realizar análises de RMN e desvio ótico, neste teste o interesse está no âmbito da transformação do substrato pela enzima.

Tomando como referência o padrão racêmico do diacetato **12a**, observou-se que a resolução enzimática se processou muito rapidamente, nos primeiros 30 min, com bom excesso enantiomérico, como pode-se observar nos cromatograma da Figura 22.

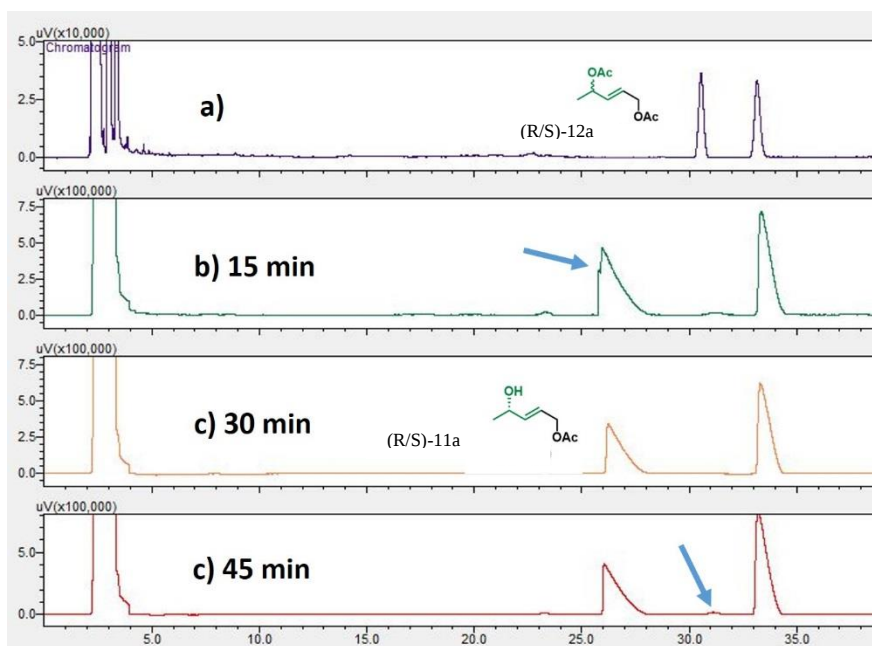


Figura 22: RCE em escala analítica do composto modelo **10a** (rampa B).

Como podemos observar na Figura 22, a RCE do composto modelo (**10a**) pôde ser finalizada em 30 min, pois, além deste tempo, pode ter início a formação da mistura racêmica, pela acetilação do outro enantiômero.

A bom andamento da RCE foi comprovado, após o cálculo do valor de conversão. A conversão indica o andamento da RCE e é comumente utilizada na literatura como um parâmetro importante na determinação do tempo ideal de uma resolução. Um valor ideal de conversão é de 50%.⁶⁸ O valor elevado de conversão indica que a enzima possui uma potencial enantiopreferência, em relação ao substrato analisado.

Outra característica importante foi a alta seletividade observada nas reações testadas. Este parâmetro, seletividade (E), permite quantificar a enantiopreferência de uma determinada enzima frente a qualquer substrato. São considerados bons valores de E (razão enantiomérica)

⁶⁸ Bommarius, A. S.; Riebel, B. R. *Biocatalysis* (2004) WILEY-VCH, Weinheim

quando a razão enantiomérica é igual ou superior a 20,⁶⁸ no entanto, um valor de E ideal é aquele que esteja acima de 50.⁶⁹ Os valores para conversão e seletividade são calculado segundo as equações abaixo (Figura 23).⁶⁸

(a)

$$E = \frac{\ln \left[\frac{1 - ee_s}{\frac{ee_p + ee_s}{ee_p}} \right]}{\ln \left[\frac{1 + ee_s}{\frac{ee_p + ee_s}{ee_p}} \right]}$$

(b)

$$C = \frac{ee_s}{ee_s + ee_p}$$

ee_s = excesso enantiomérico do substrato
ee_p = excesso enantiomérico do produto

Figura 23: (a) Cálculo da Seletividade e (b) Cálculo da conversão.

Para as resoluções testadas, valores de E acima de 200 foram obtidos para RCE do (E)-diol alílico **10a**, demonstrando assim a elevada enantiosseletividade da enzima frente a este substrato.

Com este resultado, buscou-se uma otimização do experimento, tendo em mente que as variáveis mais importantes para uma RCE são:

- Enzima;
- Solvente;
- Quantidade de doador de acila (Acetato de Vinila);
- Temperatura;
- Quantidade de Catalisador (enzima)

Os resultados da varredura de enzima, solvente, doador de acila, temperatura e quantidade de catalisador estão mostrados na Tabela 4. Estes resultados baseiam-se no melhor excesso enantiomérico do diacetatos (de melhor visualização no cromatograma) para 30 min e 150 rpm.

⁶⁹ Ghanem, A. *Tetrahedron*. (2007) 62, 1721.

Tabela 4: Otimização das condições aplicadas às RCEs

Entrada	Enzima	Temperatura	Solvente (1,2mL)	Acetato de vinila	Enzima (mg)	e.e Diacetato
1	CAL-B	25°C	Hex	10 eq	10 mg	98%
2	ALG	25°C	Hex	10 eq	10 mg	s.s*
3	LAP	25°C	Hex	10 eq	10 mg	69,3%*
4	SPP	25°C	Hex	10 eq	10 mg	86,4%
5	CAL-B	25°C	Hex	10 eq	10 mg	98,2%
6	CAL-B	30°C	Hex	10 eq	10 mg	96,7%
7	CAL-B	35°C	Hex	10 eq	10 mg	95,6%
9	CAL-B	40°C	Hex	10 eq	10 mg	96,6%
10	CAL-B	45°C	Hex	10 eq	10 mg	95,2%
11	CAL-B	25°C	100% Hex	10 eq	10 mg	98%
12	CAL-B	25°C	1:11 Hex:THF	10 eq	10 mg	97%
13	CAL-B	25°C	1:1 Hex:THF	10 eq	10 mg	96,7%
14	CAL-B	25°C	100% THF	10 eq	10 mg	nd
15	CAL-B	25°C	Hex	1 eq	10 mg	93,9%
16	CAL-B	25°C	Hex	2 eq	10 mg	95,3%
17	CAL-B	25°C	Hex	5 eq	10 mg	98,6%
18	CAL-B	25°C	Hex	10 eq	10 mg	98%
19	CAL-B	25°C	Hex	5 eq	2 mg	96%
20	CAL-B	25°C	Hex	5 eq	6 mg	97%

*s.s sem seletividade; nd nada ocorreu

ALG - Amano Lipase G

LAP - Lipase Ae 07

SPP - Lipase A2 Ae 011

Como podemos observar na Tabela 4, os melhores resultados estão representados nas entradas 1, 5, 11 e 17, onde a CAL-B se mostrou a melhor enzima, utilizando as condições descritas.

2.2.3 – RCE em escala analítica dos (E)-dióis alílicos sintetizados.

Uma vez encontrada a melhor condição para RCE do substrato modelo em escala analítica, iniciou-se as resoluções dos dióis descritos na Figura 24, em escala analítica.

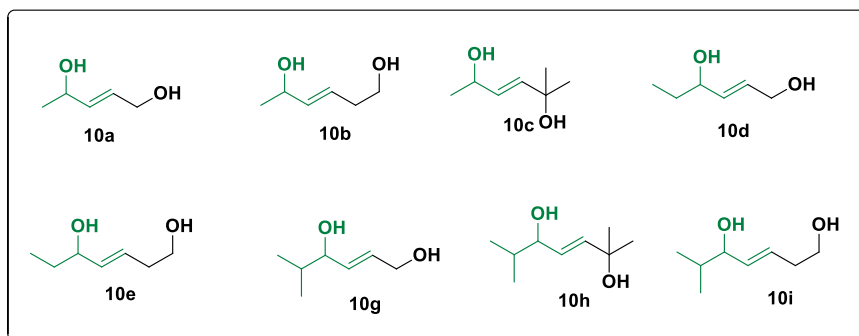


Figura 24: Dióis alílicos submetidos à RCE.

Os dióis **10a-e** foram submetidos à RCE e resolvidos à 25°C, enquanto que os demais (**10g**, **10h** e **10i**) não tiveram resultados satisfatórios nesta temperatura e, por isso, foram submetidos à RCE em uma temperatura maior (35°C).

O composto **10d** precisa de mais tempo para aumentar o seu excesso enantiomérico, como se pode verificar nos cromatogramas de sua RCE, Figura 25.

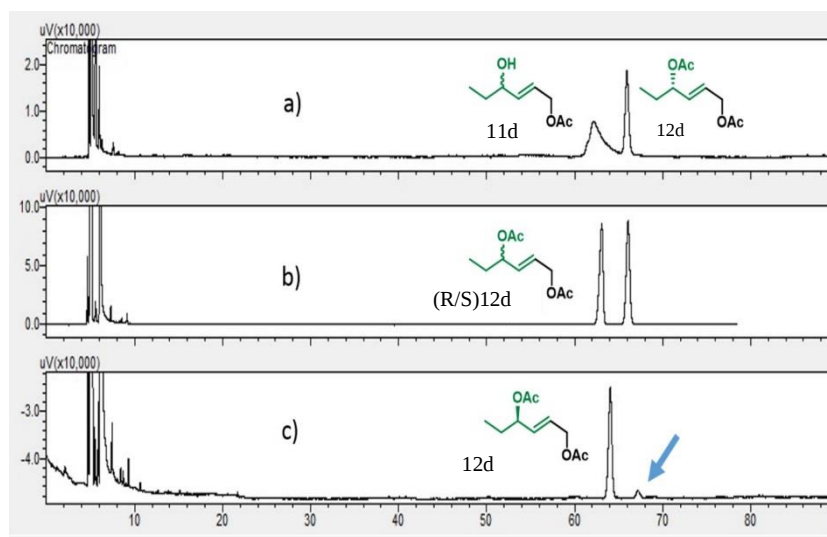


Figura 25: Cromatograma da RCE de **10d**. a) (R/S)-**11d** e (S)-**12d**; b) (R/S)**12d**; c) (R)-**12d**

Como podemos observar na Figura 25 (a), o tempo de retenção do monoacetato **11d** é muito semelhante (ou igual) ao de um dos diacetatos **12d** ($t_r = 65\text{min}$). Para contornar este problema, foi necessário uma derivatização*⁷⁰ (c) do monoacetato e posterior análise do mesmo. Desta forma, pôde-se medir o excesso enantiomérico para 3, 5, 7 e 12h, estes resultados foram plotados no gráfico da Figura 26.

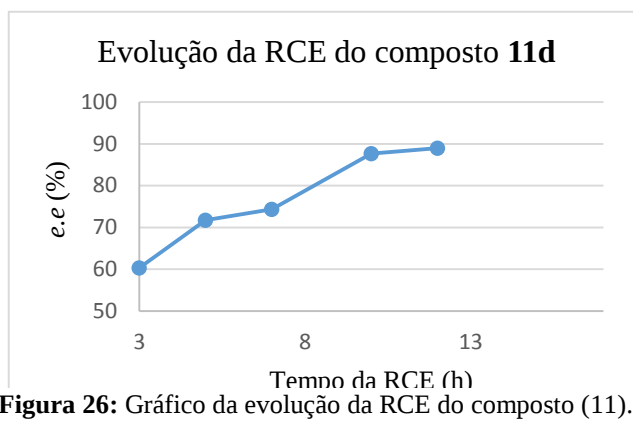


Figura 26: Gráfico da evolução da RCE do composto (11).

A partir do gráfico, pode-se observar, que a RCE é seletiva. E a medida que a reação se processa (conversão) o excesso enantiomérico vai aumentando.

Para os compostos com o grupamento isopropila (maior volume) **10g**, **10h** e **10i** foi necessária uma análise mais elaborada, pois, além do tempo de retenção do monoacetato ser próximo ao do diacetatos (Figura 27), a elevação da temperatura à 35°C promove a evaporação do solvente (*n*-hexano). Outro fator importante é que este tipo de substrato necessita de um maior tempo para sua RCE, como se pode verificar nos cromatogramas da Figura 27 para o composto **10g**.

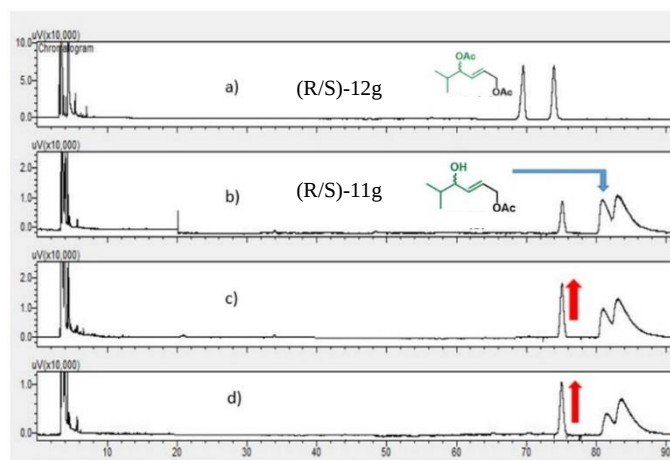


Figura 27: Cromatograma da RCE do **10g**: a) (R/S)12g b) (R/S)11g; c) aumento do **12g** (48h) e d) (72h) – rampa B.

*⁷⁰ Derivatização: técnica de CCD preparativa, a partir da qual, pode-se remover a mancha/substância desejada e promover a reação de acetilação.

A análise destes cromatogramas revela que a medida que a proporção de (*R*)-**12g** vai aumentando, **11g** ainda está sendo enriquecido, mesmo após 72h. Este último, tem altura equivalente ao monoacetato em Figura 27 (b), é maior em (c) e o dobro em (d). Deve-se salientar que não foi encontrado na literatura estes substratos enantiopuros.

Para o composto **10h** verificou-se, antes de realizar a derivatização, que um dos monoacetatos foi consumido depois de 72h, como observado na Figura 28.

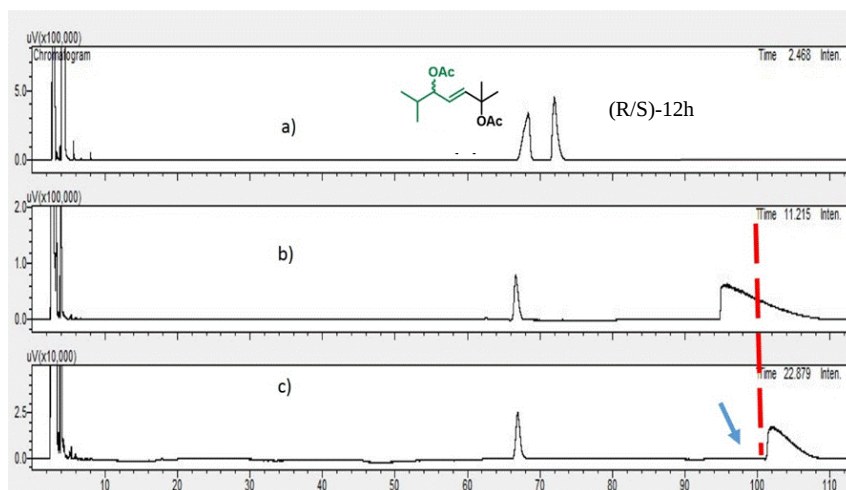


Figura 28: Cromatogramas do **1h** e seus enantiômeros – rampa B.

A análise dos cromatogramas da figura acima mostra que em 72h de RCE a conversão completa pode ter ocorrido. Uma futura derivatização dos produtos desta RCE mostrará o excesso enantiomérico e o valor da conversão para cada enantiômero.

O (*E*)-diol **10i** teve suas alíquotas removidas em 24, 48 e 72h de RCE. A posterior derivatização das mesmas possibilitará a análise do excesso enantiomérico e conversão.

A Tabela 5 resume os dados analíticos para cada diol estudado nesta seção.

Tabela 5: Resultados das RCEs em escala analítica dos (*E*)-dióis alílicos **10a-i**.

Entrada	Substrato	Produto	t(h)	c(%)	<i>e.e</i>	E
1	10a	11a 12a	0,5h	50%	>99% >99%	>200
2	10b	11b 12b	2,0h	50%	>99% >99%	>200
3	10c	11c 12c	2,0h	50%	>99% >99%	>200
4	10d	11d 12d	12h	46,9%	87,7% 99%	>200
5	10e	11e 12e	6,0h	50%	99% 99%	>200
6	10g	11f 12f	72h	-	- 91%	-
7	10h	11g 12g	72h	12,5%	13% 91%	>200
8	10i	11h 12h	-	-	-	-

t (h): tempo de reação;

c (%): conversão a partir de cromatografia quiral;

e.e. (%): excesso enantiomérico;

E: seletividade.

2.2.4 – RCE em escala preparativa dos (*E*)-dióis alílicos sintetizados.

De posse dos dados fornecidos na seção anterior, escala analítica, e dispostos na Tabela 5, deu-se início às RCEs em escala preparativa (1,0 mmol), para um posterior isolamento e caracterização dos produtos. Além de promover os cálculos para o excesso enantiomérico, conversão e rendimentos para cada enantiômero isolado. As mesmas condições reacionais das RCEs em escalas analíticas foram empregadas para as RCEs em escalas preparativas.

Iniciando com o composto modelo (*E*)-diol **10a**, foi possível isolar cada enantiômero e promover a derivatização do monoacetato para melhor verificação do excesso enantiomérico via GC-quiral, como se pode verificar no cromatograma da Figura 29.

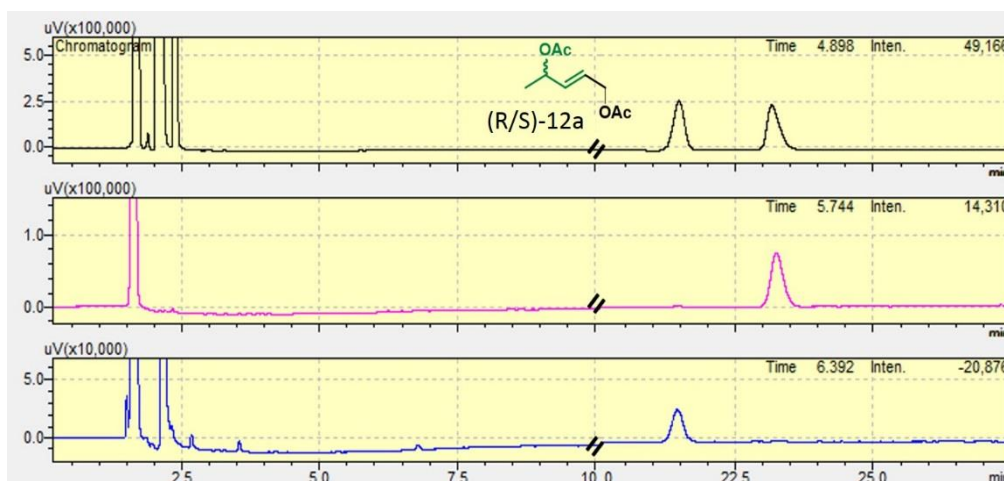


Figura 29: RCE em escala preparativa do composto modelo (**E**)-diol **10a** – (Rampa B).

O espectro de RMN de ^{13}C (Figura 30) revelou a formação do diacetato **12a** pela presença de carbonos das carbonilas C_g e C_f em 170,7 e 170,2 ppm, carbonos carbinólicos C_b e C_e em 69,9 e 64,0 ppm, carbonos pertencentes à dupla ligação C_c e C_d em 133,5 e 125,6 ppm, das metilas do grupo acetato C_h e C_i em 21,3 e 20,9 ppm e da metila C_a em 20 ppm.

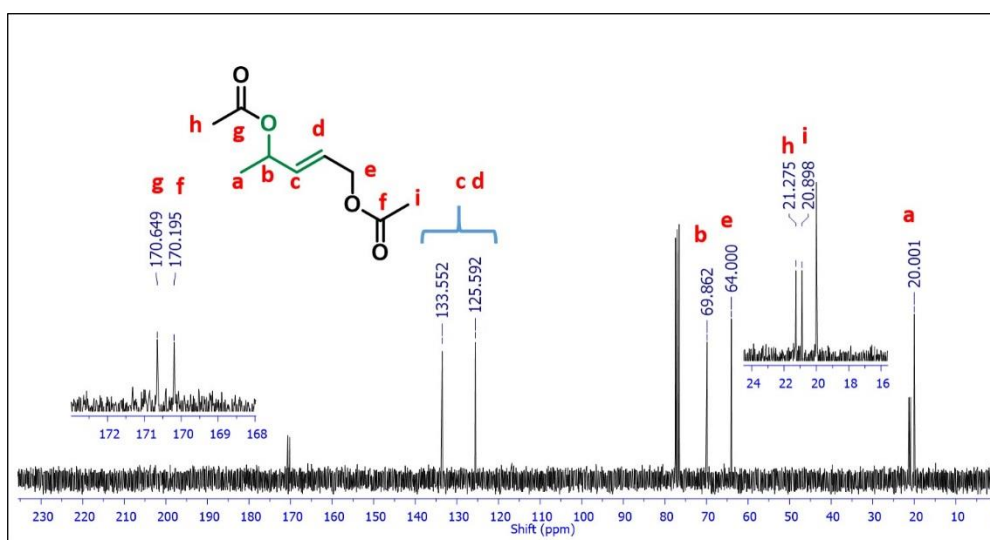


Figura 30: Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do **12a**.

O espectro de RMN de ^1H (Figura 31) revelou a formação do monoacetato **11a** pela presença do simpleto (3H) em 2,1 ppm referente aos prótons da metila do grupo acetato (H_f), um duplete de dupletos (3H) em 1,28 ppm ($^3J_{ab}=6,6\text{Hz}$, $^4J_{ac}=1,2\text{Hz}$) referente ao próton da metila (H_a), um quintuplete (1H) em 4,33 ppm ($^3J_{ba}=6,6\text{Hz}$) e um duplete (2H) em 4,55 ppm ($^3J_{ed}=5,4\text{Hz}$) referentes aos prótons carbinólicos (H_b e H_e) e um multiplete (2H) em 5,66-5,86 ppm referentes aos prótons pertencentes à dupla ligação.

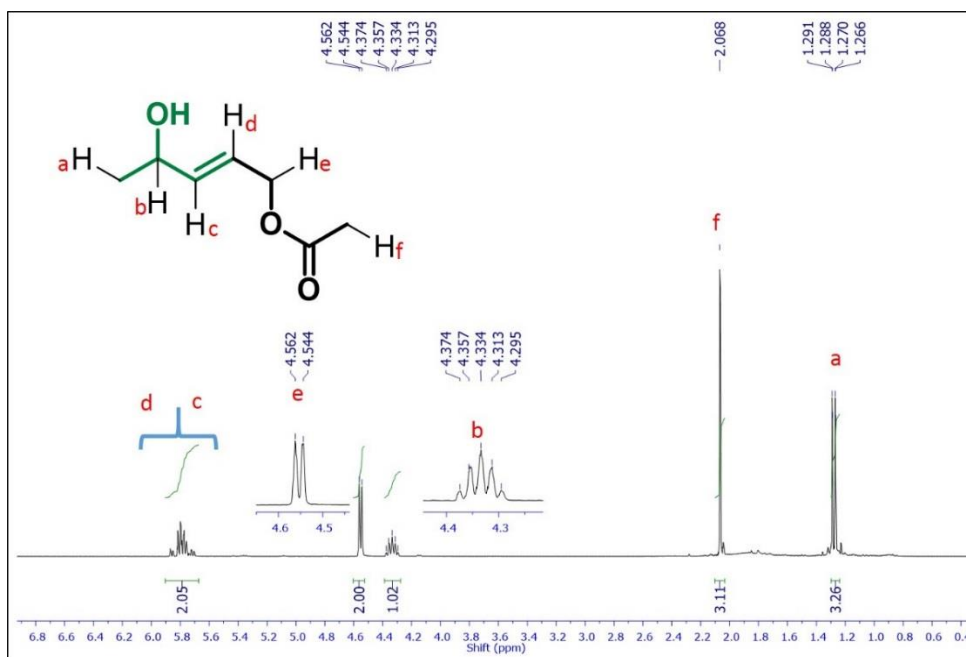


Figura 31: Espectro de RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) do composto **11a**.

Também foi possível separar os enantiômeros do (*E*)-diol **10b**, assim como promover a derivatização do monoacetato para melhor verificação do excesso enantiomérico via GC-quiral, como se pode verificar no cromatograma da Figura 32.



Figura 32: Cromatogramas da RCE em escala preparativa do diol **10b** onde: a) diacetatos racêmico b) e c) diacetatos enantiopuros – rampa B.

O espectro de RMN de ^{13}C (Figura 33) revelou a formação do monoacetato **11b** pela presença do carbono da carbonila C_g em 171,1 ppm, carbonos carbinólicos C_b e C_f em 68,5 e 63,6 ppm, carbonos pertencentes à dupla ligação C_c e C_d em 136,9 e 125,5 ppm, da metila do grupo acetato C_h em 23,3 ppm e da metila C_a em 20,9 ppm.

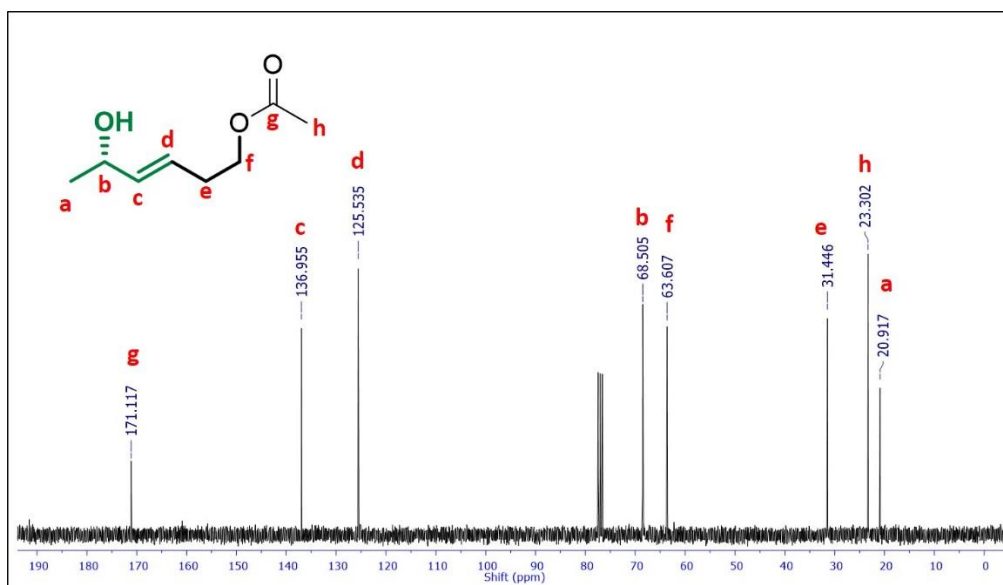


Figura 33: Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do **11b**.

A separação dos enantiômeros do (*E*)-diol **10c** está exibida nos cromatogramas da Figura 34, também foi realizada a derivatização do monoacetato para melhor verificação do excesso enantiomérico via GC-quiral.

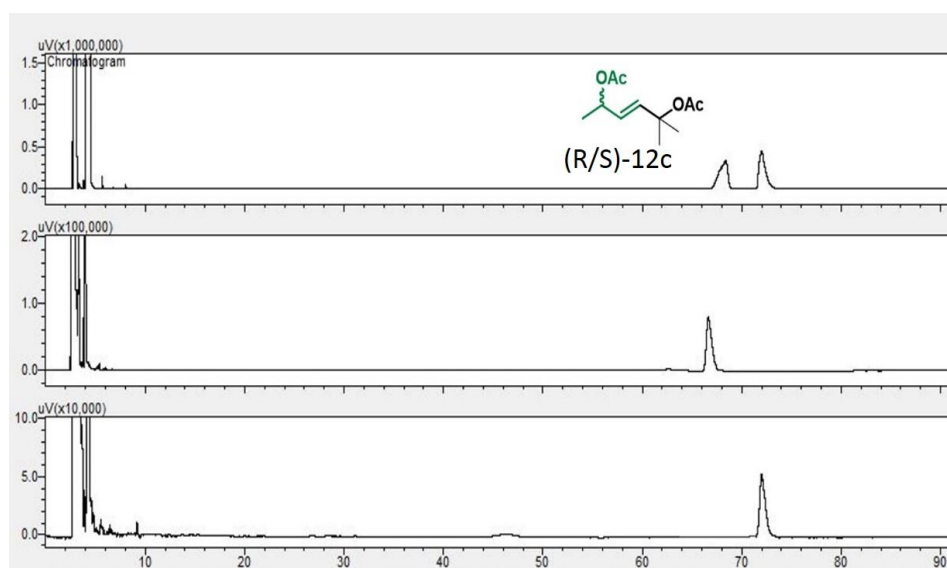
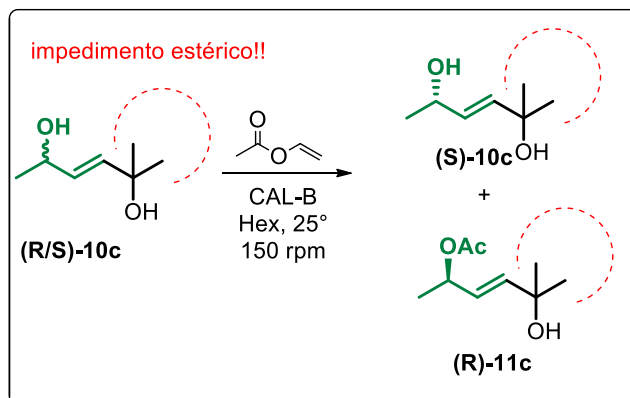


Figura 34: Cromatogramas da RCE preparativa do (*E*)-diol **10c** (Rampa B).

O espectro de RMN de ^{13}C revelou a formação do monoacetato **11c** (Figura 35) e do diol **10c** (Figura 36). Isso ocorreu, possivelmente, pelo grande impedimento estérico promovido pelas metilas carbinólicas, Esquema 22.



Esquema 22: RCE do (E)-diol **10c** gerando um diol **10c** e um monoacetato **11c** enantiopuros.

O espectro de RMN de ^{13}C (Figura 35) revelou a formação do monoacetato **11c** pela presença do carbono da carbonila C_g em 170,4 ppm, carbonos carbinólicos C_b e C_e em 70,5 e 70,4 ppm, carbonos pertencentes à dupla ligação C_c e C_d em 139,7 e 126,3 ppm, da metila do grupo acetato C_f em 21,4 ppm, da metila C_a em 20,3 ppm e das duas metilas carbinólicas C_h em 29,6 e 29,5 ppm.

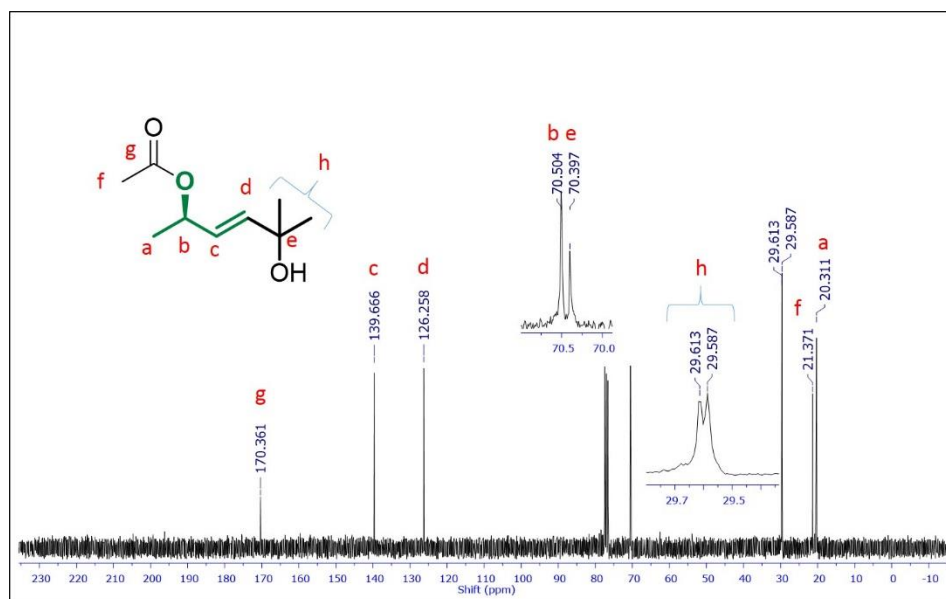


Figura 35: Espectro de RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3) do composto **11c**.

O espectro de RMN de ^{13}C (Figura 36) revelou a formação do diol **10c** pela presença dos carbonos carbinólicos C_b e C_e em 70,3 e 69,1 ppm, carbonos pertencentes à dupla ligação C_c e C_d em 137,6 e 130,7 ppm, da metila C_a em 23,2 ppm e das duas metilas carbinólicas C_h em 29,6 e 29,3 ppm.

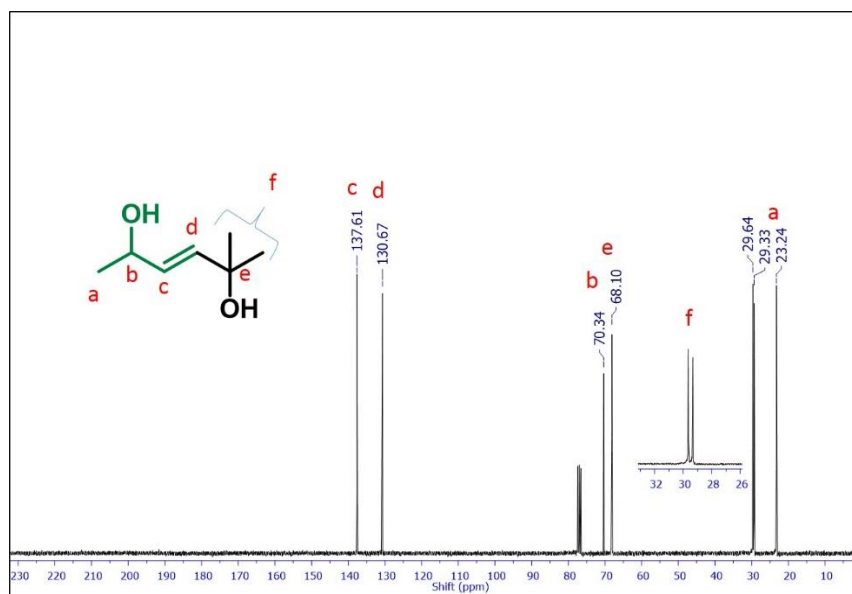


Figura 36: Espectro de RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3) do composto ***10c**.

Os resultados das RCEs realizadas em escalas preparativas estão dispostos na Tabela 6. Mesmo em escala preparativa obteve-se elevados valores de excesso enantiomérico e seletividade. As conversões foram calculadas a partir dos rendimentos isolados dos respectivos produtos, apresentando rendimentos que variaram de bons (34%) a excelentes (50%). Também foi realizada a análise de rotação óptica ($[\alpha]_D$).

Tabela 6: Resultados das RCEs em escala preparativa dos (E)-dióis alílicos **10a-e**.

Entrada	(E)-diol	Produto	t(h)	e.e.	C.A.	$[\alpha]_D$ (C_1 , CHCl_3)	E
1	10a	11a	0,5h	>99%	48%	-7,00	>200
		12a		>99%	47%	+22,00	
2	10b	11b	2,0h	>99%	39%	-3,00	>200
		12b		>99%	42%	+44,0	
3	10c	10c	2,0h	>99%	43%	+4,00	>200
		11c		>99%	47%	+55,0	
4	10d	11d	12h	87,7%	-	-	>200
		12d		99%	-	-	
5	10e	11e	6,0h	99%	34%	+3,00	>200
		12e		99%	38,7%	+38,00	

t (h): tempo de reação;

e.e. (%): excesso enantiomérico;

$[\alpha]_D$: desvio ótico

E: seletividade

C.A.: Concentração analítica a partir do rendimento isolado

3.0 – CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Os dióis alílicos *trans* **10a-e** racêmicos foram preparados de forma satisfatória, empregando uma rota de síntese contendo duas etapas reacionais, em rendimentos que foram de bons à excelentes (55-99%). Dos estudos relacionados à biocatálise, foi constatado que os compostos sintetizados se mostraram reativos frente a Lipase CAL-B. Desses estudos, mono e di-acetatos com elevada pureza óptica puderam ser preparados através da rota quimioenzimática proposta.

Ficam como perspectivas: melhorar o rendimento das reações do tipo S_N2, e utilizar os substratos quirais preparados, na síntese enantiosseletiva de substâncias de interesse biológico.

4.0 - PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

4.1 – Equipamentos e análises de dados

As análises de RMN – através da aquisição dos FIDs - de ^1H a 300 MHz e de RMN de ^{13}C a 75 MHz, foram realizadas em um espectrômetro da VARIAN® modelo Unity Plus-300 em clorofórmio-*d* (CDCl_3) (pertencente à Central analítica do DQF/UFPE). Os deslocamentos químicos estão expressos em ppm, em relação ao pico residual do CHCl_3 (7,2 ppm) para as análises de RMN ^1H , e em relação ao pico central do CDCl_3 (77 ppm) para as de ^{13}C .

Os FIDS, depois de aplicada a transformada de Fourier, dos espectros de RMN ^1H e RMN ^{13}C foram analisados pelo software ACD/NMR Processor Academic Edition versão 12.1® e Mestre Nova® versão 12.02.

Para o acompanhamento das RCE foi utilizado um cromatógrafo à gás GC-2010 Plus da SHIMADZU® (pertencente ao LCO – DQF/UFPE) equipado com coluna cuja fase estacionária quiral é Beta DexTM 120 (10% de β -ciclodextrina em cianopropil-fenil-metilpolisiloxano) de dimensões 30 m x 0.25 mm x 0.25 μm da SUPELCO®. A detecção das amostras foi realizada por ionização em chamas (FID). Condições de análise - Modo de injeção, split; razão de split: 35; Volume de injeção; 1.0 μL . Temperatura de injeção: 250 °C; Temperatura da coluna: 100 °C (60 min); Temperatura do detector: 250 °C. O software GCsolution versão 2.41® foi utilizado para o tratamento das análises obtidas.

O software ChemBioDraw® versão 12.0.2 foi utilizado para gerar as estruturas e os nomes dos compostos (de acordo com a IUPAC) descritos neste trabalho.

As RCE foram realizadas numa incubadora orbital da TECNAL® modelo TE-424. A temperatura variando entre 20°C e 50°C e a agitação entre 100 e 150 rpm (LCO/DQF/UFPE).

Os ângulos de desvio ótico foram medidos em um polarímetro digital de marca JASCO® P-2000 (DQF-UFPE) com fonte de luz de sódio em comprimento de onda 589 nm. Cinco ciclos foram utilizados em intervalos de 1 segundo para cada medida. As amostras foram analisadas como soluções em concentração de 1 w/v % (em CH_2Cl_2) em uma cubeta de 1 mL.

Um banho criogênico da marca HUBER® TC45-F (LCO/DQF/UFPE) foi utilizado para as reações à baixa temperatura (-45°C) em Etanol 98%.

As chapas para agitação e aquecimento utilizadas são da IKA® modelo C-MAG HS 7.

4.2 – Materiais, solventes e reagentes utilizados

As análises por cromatografia em camada delgada (CCD) foram realizadas utilizando-se placas de alumínio (20 cm x 20 cm) com uma camada de sílica gel de espessura 0,20 mm e granulometria 60 mesh da MACHEREY-NAGE®.

Reveladores utilizados em análise por CCD:

Câmara de iodo: Cristais de iodo molecular, suportados em sílica gel, em um recipiente de vidro fechado. A placa de CCD é imersa na câmara de iodo por volta de 1 min;

Vanilina sulfúrica: 10g de vanilina, 35 mL de H₂SO₄, 100 mL de metanol e 100 mL de H₂O destilada. A placa de CCD é imersa na solução e, depois de removido o excesso da solução, é aquecida com um soprador térmico (BOSH® GHG 630 professional).

CAL-B (NOVOZYM 435®, *lipase-B a partir de C. antarctica imobilizada*; 10,000 PLU/g) foi adquirida da NOVOZYM Inc.

Os solventes empregados foram de caráter comercial e foram tratados de acordo com métodos amplamente descritos na literatura⁷¹.

Para o THF: O tetrahidrofurano (THF) ficou em refluxo em NaOH para então ser destilado e seco num sistema de refluxo na presença de sódio metálico - utilizando-se benzofenona como indicador - sob atmosfera de N₂.⁷²

Para o Hexano: (utilizado nas RCE) refluxo em ácido sulfúrico concentrado durante vinte e quatro horas e posterior neutralização com hidróxido de sódio. A solução resultante do processo de neutralização foi destilada e armazenada em frasco com peneira molecular. Para fase móvel em colunas cromatográficas, este solvente foi apenas destilado com em uma coluna de *vigret*.

Para o DCM: Diclorometano foi purificado por destilação simples utilizando-se hidreto de cálcio como agente secante e armazenado em frasco com peneira molecular.

Para o Tolueno e Acetato de Etila: foi purificado por destilação simples e armazenado em frasco com peneira molecular.

⁷¹ Still, W. C.; Kahn, M.; Mitra., *Journal of Organic Chemistry*. **1978**, 43, 2923

⁷² Perrin, D. L.; Amadorego, W. L.; D. R. *Purification of Laboratory Chemicals*. Pergamon Press: Oxford, **2009**

Os reagentes purificados por destilação e/ ou filtração à vácuo foram obtidos a partir de uma bomba de auto-vácuo (Fisher Scientific ®) munida de um manômetro com faixa de vácuo utilizada entre 1.5-0.5 mmHg.

O BuLi foi previamente titulado antes de ser empregado nas reações. O sistema de titulação consiste em uma solução de BuLi (1 mL) em THFseco (5 mL/0,2M) utilizando-se 1-10-fenantrolina como indicador. O isopropanol (previamente destilado e seco) foi empregado na determinação da concentração molar do reagente organometálico (*n*-BuLi).

Os compostos sintetizados foram purificados pelos métodos convencionais de cromatografia em coluna⁷³, utilizando sílica-gel MACHEREY-NAGEL® ASTM (70-230 mesh) como fase estacionária e o sistema AcOEt/hexano em diferentes proporções, como fase móvel.

4.3 - Síntese racêmica dos dióis propargílicos e alílicos

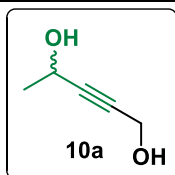
Os procedimentos descritos a seguir referem-se aos melhores resultados obtidos neste trabalho. A sequência escolhida para as síntese consistem em:

4.3.1 – Procedimento geral para síntese dos dióis propargílicos racêmicos

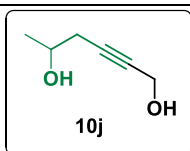
À um balão, previamente seco e sob atmosfera de N₂, com capacidade para 150 mL foram adicionados álcool propargílico (10 mmol) e THF anidro (90 mL). A solução 0,1M resultante foi resfriada à -45°C, e a ela foi adicionada *n*-BuLi (22 mmol, 11ml de uma solução 2.0 M em *n*-hexano), gota a gota durante um período de 1h. Após ser deixada sob agitação por um período de 1h à -45°C, o eletrófilo (aldeído/epóxido, 10 mmol) foi adicionado. Posteriormente, a mistura foi agitada por mais 1h à -45°C e 12h à temperatura ambiente. Após esse período, a mistura foi tratada com uma solução saturada de NH₄Cl (10 mL) e extraída com AcOEt (3 x 10 mL). As fases orgânicas combinadas foram lavadas com solução saturada de NaCl (2 x 10 mL), seca com MgSO₄, filtrada e o solvente evaporado à pressão reduzida. O resíduo bruto foi purificado em coluna de gel de sílica utilizando o sistema eluente *n*-Hexano/AcOEt (1:1).⁷⁴

⁷³ Still, W. C.; Kahn, M.; Mitra., *Journal of Organic Chemistry*. **1978**, 43, 2923

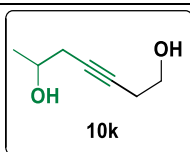
⁷⁴ Ferreira, J. G.; Princival, C. R.; Oliveira, D. M.; Nascimento, R. X.; Princival, J. L. *Organic & Biomolecular Chemistry* **2015**, 13, 6458.



(R,S)-pent-2-ino-2,4-diol. Óleo levemente amarelado; Rend 0,65g (65%); **RMN de ^1H** (300 MHz; CDCl_3 , ppm): δ 1.45 (3H, d, $^3J_{ca} = 6.6$ Hz), 4.30 (2H, s), 4.57 (1H, qt, $^3J_{ac} = 6,6$). **RMN de ^{13}C** (75 MHz; CDCl_3 , ppm): δ 24.1, 50.8, 58.2, 82.2, 87.6. **CAS:** 927-57-1



(R,S)-hex-2-ino-2,5-diol. Óleo amarelado; Rend 80mg (9,3%); **RMN de ^1H** (400 MHz; CDCl_3 , ppm): δ 1.20 (3H, d, $J^3 = 6.4$ Hz), 3.48 (2H, s), 4.30 (2H, d, $J^4 = 1.8$ Hz), 4.58 (1H, qt, $J^3 = 6.3$ Hz, $J^4 = 1.8$ Hz). **RMN de ^{13}C** (75 MHz; CDCl_3 , ppm): δ 22.3, 29.1, 50.8, 66.3, 80.8, 82,6. **CAS:** 343268-16-6



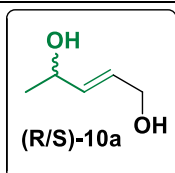
(R,S)-hep-3-ino-1,6-diol. Óleo incolor; Rend 70mg (10%); **RMN de ^{13}C** (75 MHz; DMSO, ppm): δ 27.7, 27.9, 34.1, 65.4, 70.5, 83.7, 84.2. **CAS:** 1782972-33-1

4.3.2 - Síntese dos dióis alílicos racêmicos a partir de propargílicos

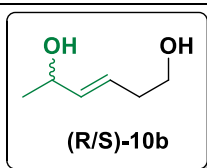
Em um balão com capacidade para 25 mL pesou-se 0,38g (10 mmol) de LiAlH_4 (com cuidado!) e o sistema foi deixado, rapidamente, sob fluxo de N_2 . Depois adicionou-se ao balão 10 mL de THF(seco) e o sistema foi colocado em banho de gelo. Em seguida, uma solução do diol propargílico 0,1M (5 mmol) em 5 mL de THF(seco) foi adicionada lentamente ao balão por intermédio de uma seringa. A mistura reacional foi agitada por cerca de 3 horas. A formação do produto foi acompanhada por CCD. Posteriormente, a reação foi tratada com solução de 5% de NaOH (lentamente, a reação é altamente exotérmica!). A mistura foi filtrada à vácuo em funil de Bucher® munido de papel filtro, e lavada com AcOEt (3 x 5 mL). A fase orgânica foi seca com Na_2SO_4 , filtrada e o solvente foi evaporado à pressão reduzida. O bruto reacional foi purificado em coluna de gel de sílica utilizando o sistema eluente *n*-hexano:AcOEt (1:1).

4.3.3 - Síntese dos dióis alílicos racêmicos via método direto “one-pot”

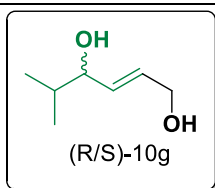
À um balão, previamente seco e sob atmosfera de N₂, com capacidade para 100 mL foram adicionados álcool propargílico (3 mmol) e THF anidro (30 mL). A solução 0,1M resultante foi resfriada à -45°C, e a ela foi adicionada *n*-BuLi (6,6 mmol, 3,3 ml de uma solução 2.0 M em *n*-hexano), gota a gota durante um período de 1h. Após ser deixada sob agitação por um período de 1h à -45°C, o eletrófilo (aldeído/epóxido, 3 mmol) foi adicionado.. Posteriormente, a mistura foi agitada por mais 1h à -45°C e 6h à temperatura ambiente. Em um balão com capacidade para 10 mL pesou-se 0,23g (6 mmol) de LiAlH₄ (com cuidado!) e o sistema foi, rapidamente, fechado com auxílio de um septo. Paulatinamente, o LiAlH₄ foi adicionado à solução do álcool propargílico, por intermédio de uma espátula. A mistura reacional foi agitada por cerca de 3 horas. A formação do produto foi acompanhada por CCD. Posteriormente, a reação foi tratada com solução de 5% de NaOH (lentamente, a reação é altamente exotérmica!). A mistura foi filtrada à vácuo em funil de Bucher® munido de papel filtro, e lavada com AcOEt (3 x 5 mL). A fase orgânica foi seca com Na₂SO₄, filtrada e o solvente foi evaporado à pressão reduzida. O bruto reacional foi purificado em coluna de gel de sílica utilizando o sistema eluente *n*-hexano:AcOEt (1:1).



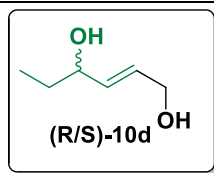
E-2-penteno-2,4-diol. Óleo levemente amarelado; Rend 0,65g (65%); **RMN de ¹H** (300 MHz; CDCl₃, ppm): 1.27 (3H, d, J = 6.4 Hz), 2.13 (4H, s), 4.13 (2H, d, J = 3.6 Hz), 4.27-4.38 (1H, m), 5.64-5.95 (2H, m). **RMN de ¹³C** (75 MHz; CDCl₃, ppm): δ 23.2, 62.8, 68.1, 128.8, 135.5. **CAS:** 25073-25-0



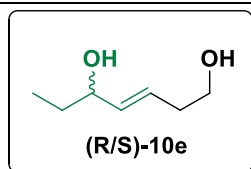
E-3-hexeno-2,5-diol. Óleo levemente amarelado; Rend 56%; **RMN de ¹H** (300 MHz; CDCl₃, ppm): 1.22 (3H, d, J = 6.5 Hz), 2.23 (2H, q, J = 5.5 Hz), 3.28 (2H, Bs), 3.51-3.69 (2H, m), 4.21 (1H, quint, J = 6.5 Hz), 5.57 (2H, m). **RMN de ¹³C** (75 MHz; CDCl₃, ppm): δ 23.0, 35.2, 61.4, 68.4, 127.0, 136.9. **CAS:** 189819-89-4



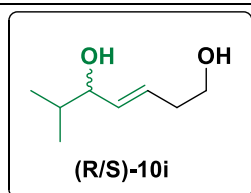
E-5-metil-2-hexeno-1,4-diol. Óleo incolor; Rend 82%; **RMN de ¹H** (300 MHz; CDCl₃, ppm): δ 0.88 (3H, d, J = 6.5 Hz), 0.92 (3H, d, J = 6.5 Hz), 1.71 (1H, oct, J = 6.5 Hz), 2.54 (2H, Bs), 3.85 (1H, t, J = 6.5 Hz), 4.13 (2H, d, J = 5 Hz), 5.70 (1H, dd, J = 15 Hz, J = 6.5 Hz), 5.81 (1H, dt, J = 15 Hz, J = 5 Hz). **RMN de ¹³C** (75 MHz; CDCl₃, ppm): δ 17.9, 18.1, 33.6, 62.8, 76.5, 130.7, 132.6. **CAS:** 148680-85-7



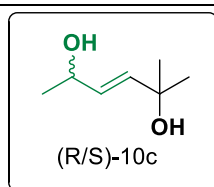
E-2-hexeno-2,4-diol. Óleo levemente amarelado; Rend 52%; **RMN de ^1H** (300 MHz; CDCl_3 , ppm): δ 0.93 (3H, t, $J = 7.5$ Hz), 1.48-1.65 (2 H, m), 1.72 (2H, Bs), 4.06 (1H, q, $J = 6$ Hz), 4.16 (2H, d, $J = 5$ Hz), 5.73 (1H, dd, $J = 15.5$ Hz, $J = 6$ Hz), 5.85 (1H, dd, $J = 15.5$ Hz, $J = 5$ Hz).. **RMN de ^{13}C** (75 MHz; CDCl_3 , ppm): δ 9.7, 29.9, 62.8, 73.6, 129.9, 134.1. **CAS:** 87071-02-1



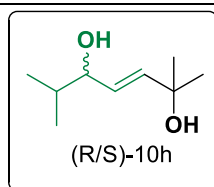
E-3-hepteno-2,4-diol. Óleo incolor; Rend 62%; **RMN de ^1H** (300 MHz; CDCl_3 , ppm): δ 0.90 (3H, t, $J = 7.5$ Hz), 1.54 (2H, dq, $J = 6.5$ Hz, $J = 7.5$ Hz), 1.99 (1H, Bs), 2.2 (1H, Bs), 2.29 (2H, qt, $J = 6.0$ Hz), 3.6 (2H, td, $J = 6.5$ Hz, $J = 2.0$ Hz), 3.98 (1H, qt, $J = 6.5$ Hz), 5.55 (1H, dd, $J = 15.5$ Hz, $J = 6.0$ Hz), 5.64 (1H, dd, $J = 15$ Hz, $J = 6.5$ Hz). **RMN de ^{13}C** (75 MHz; CDCl_3 , ppm): δ 9.7, 29.9, 35.4, 61.7, 74.2, 127.9, 135.8.



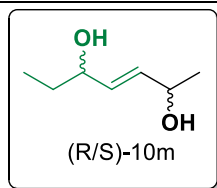
E-6-metil-3-penteno-1,5-diol. Óleo amarelador; Rend 79%; **RMN de ^1H** (300 MHz; CDCl_3 , ppm): δ 0.87 (3H, d, $J = 6.8$ Hz), 0.92 (3H, d, $J = 6.8$ Hz), 1.59-1.80 (1H, m), 1.92 (1H, Bs), 2.1 (1H, Bs), 2.3 (2H, qt, $J = 6.0$ Hz), 3.66 (2H, td, $J = 6.3$ Hz, $J = 1.5$ Hz), 3.80 (1H, t, $J = 6.0$ Hz), 5.55 (1H, dd, $J = 15.3$ Hz, $J = 6.0$ Hz), 5.64 (1H, dd, $J = 15.3$ Hz, $J = 6.0$ Hz). **RMN de ^{13}C** (75 MHz; CDCl_3 , ppm): δ 18.1, 18.2, 33.7, 35.6, 61.8, 77.8, 128.7, 134.2. **CAS:** 1307905-57-2



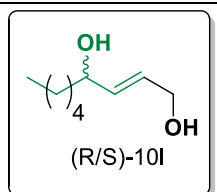
E-2-metil-3-hexeno-2,5-diol. Óleo incolor; Rend 78%; **RMN de ^1H** (300 MHz; CDCl_3 , ppm): δ 1.23 (3H, d, $J = 6.3$ Hz), 1.28 (6H, s), 3.0 (2H, Bs), 4.26 (1H, quint, $J = 6.3$ Hz), 5.65 (1H, dd, $J = 15.7$ Hz, $J = 6.0$ Hz), 2.3 (2H, qt, $J = 6.0$ Hz), 3.66 (2H, td, $J = 6.3$ Hz, $J = 1.5$ Hz), 3.80 (1H, t, $J = 6.0$ Hz), 5.75 (1H, d, $J = 15.7$ Hz). **RMN de ^{13}C** (75 MHz; CDCl_3 , ppm): δ 23.4, 29.3, 29.6, 68.1, 70.3, 130.7, 137.6. **CAS:** 433294-81-4



E-2,6-dimetil-hepteno-2,5-diol. Sólido branco; Rend 99%; **RMN de ^1H** (300 MHz; CDCl_3 , ppm): δ 0.87 (3H, d, $J = 6.8$ Hz), 0.91 (3H, d, $J = 6.8$ Hz), 1.3 (6H, s), 1.7 (1H, m), 1.8 (2H, s), 3.83 (1H, t, $J = 6.3$ Hz), 5.64 (1H, dd, $J = 15.7$ Hz, $J = 6.3$ Hz), 5.79 (1H, d, $J = 15.7$ Hz). **RMN de ^{13}C** (75 MHz; CDCl_3 , ppm): δ 17.9, 18.2, 29.7, 29.9, 33.8, 70.6, 77.5, 127.8, 139.7. **CAS:** 7433294-83-8



E-3-hepteno-2,5-diol. Óleo amarelo; Rend 59%; **RMN de ^1H** (300 MHz; CDCl_3 , ppm): δ 0.93 (3H, dt, $J = 7.4$ Hz, $J = 4,1$ Hz) 1.28 (3H, dd, $J = 6.4$ Hz, $J = 2.0$ Hz) 1.57 (2H, m) 1.92 (2H, s) 3.98-4.10 (1H, m), 4.27-4.38 (1H, m) 5.63-5.78 (2H, m)) **RMN de ^{13}C** (75 MHz; CDCl_3 , ppm): δ 9.6, 23.3, 30.0, 68.0, 73.2, 132.2, 135.0. **CAS:** 165746-83-8



E-2-nonano-1,4-diol. Sólido levemente amarelado; Rend 83%; **RMN de ^1H** (300 MHz; CDCl_3 , ppm): δ 0.78-0.94 (3H, m), 1.20-1.41 (6H, m), 1.43-1.64 (2H, m), 2.40 (2H, s), 4.1-4.20 (3H, m), 5.71 (1H, dd, $J = 15,3$ Hz, $J = 6,3$ Hz), 5.81 (1H, dt, $J = 15.3$ Hz, $J = 6.0$ Hz) **RMN de ^{13}C** (75 MHz; CDCl_3 , ppm): δ 14.0, 22.6, 25.1, 31.7, 37.1, 62.8, 72.3, 129.6, 134.5. **CAS:** 97401-39-3

4.4 – Resolução cinética enzimática dos dióis racêmicos

As resoluções cinéticas enzimáticas foram realizadas em uma incubadora refrigerada com agitação modelo TE-424 da Tecnal[®] operando à uma temperatura entre 25°C e 35 °C sob 150 rpm. O monitoramento das RCE foi realizado por GC equipado com coluna quiral (seção 2.1) empregando a enzima CAL-B Novozyme-435. Os resultados obtidos foram comparados com as amostras padrão dos (E)-dióis alílicos sintetizados (seção 2.1) e seus respectivos diacetatos **12a-n**, obtidos por derivatização dos dióis utilizando DMAP e anidrido acético. A CAL-B Novozyme-435 foi estocada em Freezer à -5 °C e, por isso, antes de ser utilizada nas RCE, era posta a temperatura ambiente, para evitar condensações indesejadas no meio reacional, do mesmo modo, e para o mesmo fim, o acetato de vinila também foi dessa forma tratado.

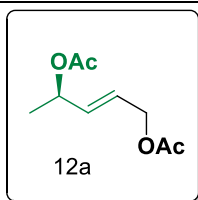
4.4.1 – RCE em escala analítica

Em um erlenmeyer com capacidade para 25 mL adicionou-se sequencialmente o (E)-diol alílico 1a-n (0,1 mmol), *n*-hexano (1mL) e acetato de vinila (5 mmol, 0,05 mL). À esta solução, CAL-B foi adicionada (10mg) e o bruto reacional foi deixado sob agitação em um Shaker à 150 rpm para ambos. A mistura reacional foi deixada sob agitação, à 25° C, para os exemplos **10a-e** e a 35 °C para os exemplos **10g-i** e a. O acompanhamento da resolução foi via CG quiral, utilizando-se os dióis racêmicos como padrões. Frações de 0,1 mL foram coletadas

a cada hora (na primeira hora de análise as amostras foram retiradas em: 5 min, 10 min, 15 min, 20 min, 30 min, 45 min e 60 min), em seguida eram diluídas em acetato de etila até completar o volume do frasco tipo *vial* de 2,5 mL. Depois de realizada uma análise de conversão, via CG, removia-se a CAL-B por filtração comum.

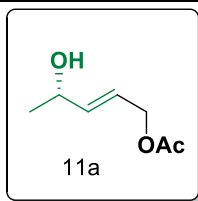
4.4.2 – RCE em escala preparativa

À um erlenmeyer com capacidade para 125 mL adicionaram-se o (E)-diol alílico (1 mmol), *n*-hexano, (10 mL) e 5 eq de acetato de vinila (5 mmol, 0,5 mL). A enzima CAL-B foi pesada (0,1 mg) e rapidamente adicionada ao erlenmeyer. O sistema reacional foi deixado sob agitação à 150 rpm em um Shaker, à uma temperatura de 25° para os exemplos **10a-e** e 35 °C para os exemplos **10g-i**. O acompanhamento das resoluções foi via CG quiral, utilizando-se os diacetatos como padrões. Depois de realizada uma análise de conversão, via CG, a CAL-B foi removida por filtração comum e a solução resultante foi concentrada por destilação à pressão reduzida. O resíduo orgânico foi submetido à coluna cromatográfica de sílica para se obter os respectivos enantiômeros separadamente, utilizando-se como eluente o sistema 4:1 Hexano/AcOEt.

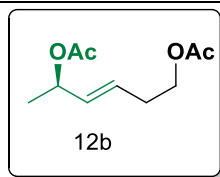


(R,E)-2-penteno-2,5-di-acetato. Óleo amarelo; conversão 48%

RMN de ^{13}C (75 MHz; CDCl_3 , ppm): δ . 20.0, 20.9, 21.3, 64.0, 69.9, 125.6, 133.5, 170.2, 170.6. **RMN de ^1H (300MHz, CDCl_3 , ppm):** δ 1.33 (3H, d, $J = 6.3$ Hz) 2.0 (3H, s), 2.1 (3H, s), 4.54 (2H, d, $J = 3.3$ Hz), 5.37 (1H, *quint.*, $J = 6.3$ Hz), 5.78 (1H, m).



(S,E)-4-hidroxi-2-penteno-1-mono-acetato. Óleo levemente amarelado; conversão 47% **RMN de ^1H** (300 MHz; CDCl_3 , ppm): δ 2.1 (3H, s), 1.28 (3H, dd, $J = 6.6$ Hz, $J = 1.2$ Hz), 4.3 (1H, *quint.*, $J = 6.6$ Hz) 4.55 (2H, d, $J = 5.4$ Hz) 5.6-5.8 (2H, m). **RMN de ^{13}C** (75 MHz; CDCl_3 , ppm): δ . 19.2, 20.2, 21.0, 63.9, 68.8, 124.0, 133.0, 170.0.



(R,E)-3-hexeno-1,5-di-acetato; Óleo levemente amarelado; Rend 99%;
RMN de ^{13}C (75 MHz; CDCl_3 , ppm): δ . 20.9, 23.3, 63.6, 68.5, 136.9, 125.5
RMN de ^1H (300 MHz; CDCl_3 , ppm): δ 0.87 (3H, t, $J = 7.4\text{Hz}$)
1.72-1.148 (2H, m), 2.36 (2H, q, $J = 6.8\text{Hz}$), 4.1 (2H, t, $J = 6.8\text{Hz}$), 5.12
(1H, q, $J = 6.7\text{Hz}$), 5.47 (1H, ddt, $J = 15.6\text{Hz}$, $J = 7.1\text{Hz}$, $J = 1.1\text{Hz}$), 5.5
(1H, dt, $J = 15.6\text{Hz}$, $J = 6.7\text{ Hz}$)

5.0 - REFERÊNCIAS

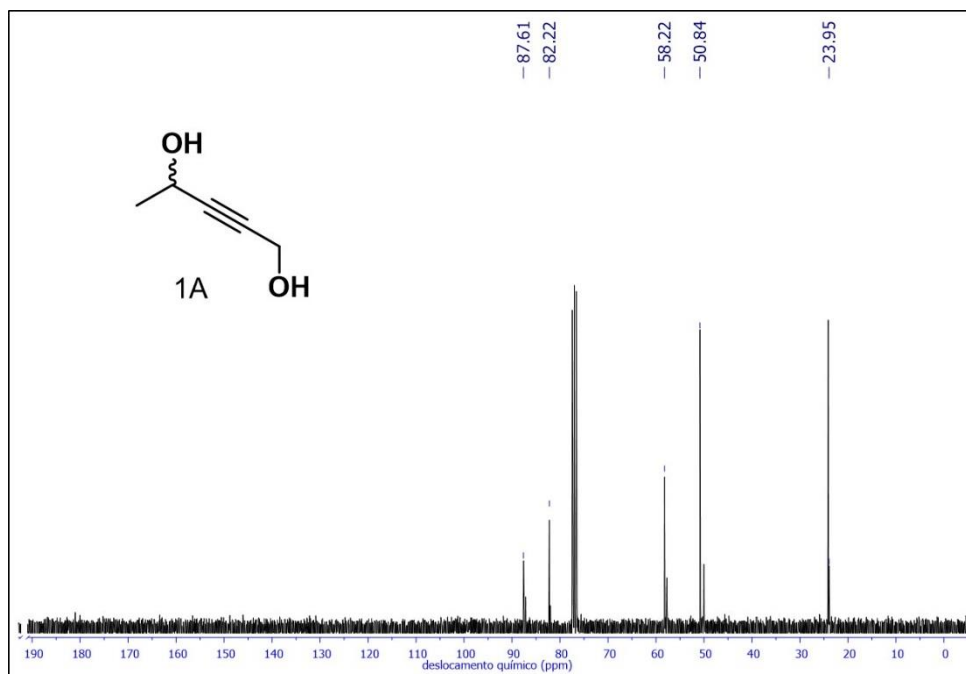
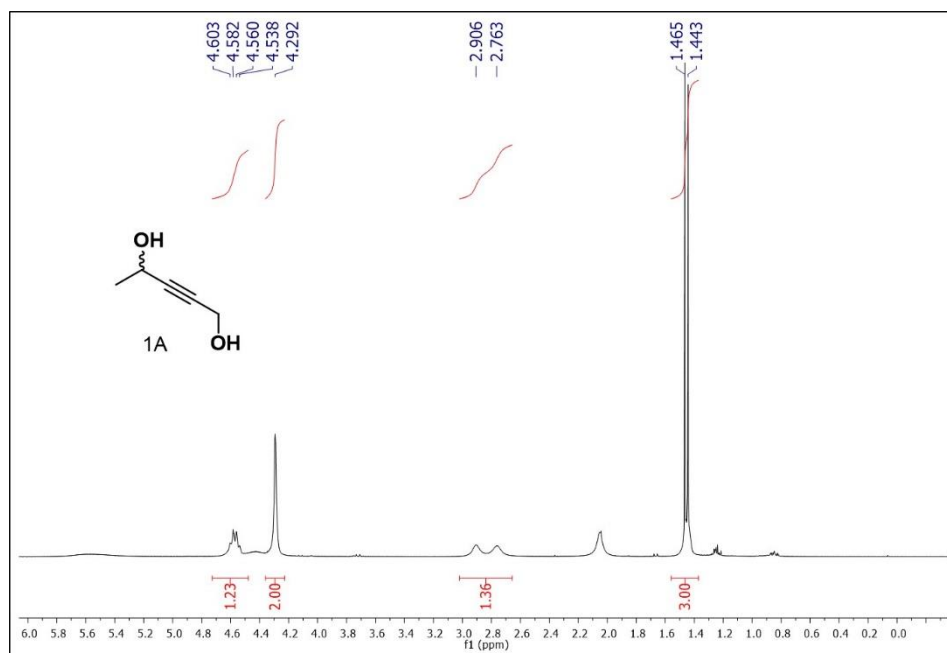
- 1 - SCHWAB, P.; GRUBBS, R. H.; ZILLER, J. W.; *J. of the American Chem.I Society* (1996) 118 (1) p. 100–110.
- 2 - Disponível em: <<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/search?term>> acessado em: 11 de janeiro de 2016.
- 3 - GRUBBS, R. H. *Handbook of Metathesis*. Alemanha: Wiley-VCH, (2000) p. 65-66 ISBN 978-3-527-30616-9.
- 4 - COREY, E.J.; SUGGS, W.; *Tetrahedron Letters* (1975), 16, p. 2647-2650.
- 5 - NAIR, M. S. R.; CAREY, S. T.; *Tetrahedron Letters* (2011), 21, p. 1980.
- 6 - LENARDÃO, E. D; FREITAS, R. V.; SILVEIRA, C. C.; *Química Nova* (2003), 26, 1, p. 123-129.
- 7 - BARTA, N. S. & STILLE, J. R.; *Grasping the concepts of stereochem.* (1994), 71, 20-23.
- 8 - JOHANNES, T.; ZHAO, H.; *Biocatalysis Encyclopedia of Chemistry Processes* (2007) Taylor & Francis, p. 101.
- 9 - GONÇALVES, A. C.; OLIVEIRA, A. J; *Biocat. e Biotransf. Fund. e Aplic* (2012) Vol 2, Ed. Schola, Cap. 1, p. 13.
- 10 - WOLFENDEN, R.; SNIDER, M.J.; *Acc. Chem. Res.* (2001) 34, p. 938
- 11 - (a) KINDEL, S.; *Technology* (1981) 1, 62. (b) WIPF, R.; BERTAZZI, R.; *Helv. Chim. Acta* (1983) 66, 485.
- 12 - COSTA, P. R. R; FERREIRA, V. F.; BARREIRO, E. J.; *Química Nova* (1997) 20 (6) p. 649-659.
- 13 - GHANEM, A.; *Tetrahedron* (2007) 63, p. 1721.
- 14 - RICCA, E.; BRUCHER, B.; SCHRITTWIESER, H. J.; *Advanced Synthesis & Catalysis* (2011) 353, 13, p. 2239-2262
- 15 - (a) FABER, K.; *Biotransformations in Organic Chemistry* (2004) Berlin/Heidelberg: SpringerVerlag, 5^a ed. (b) BUSACCA, C. A.; FANDRICK, D. R.; SONG, J. J.; SENANAYAKE, C. H.; *Adv. Synth. Catal.* (2011), 353, 1825. (c) YURYEV, R.; LIESE, A.; *Chem. Cat. Chem.* (2010), 2, 103. (d) FERREIRA, J. T. B.; *Quim. Nova* (1993) 16, 454.
- 16 - LEHNINGER, ALBERT L.; *Princípios de bioquímica de Lehninger* (1917) Cap. 1, p. 39, 5 ed.

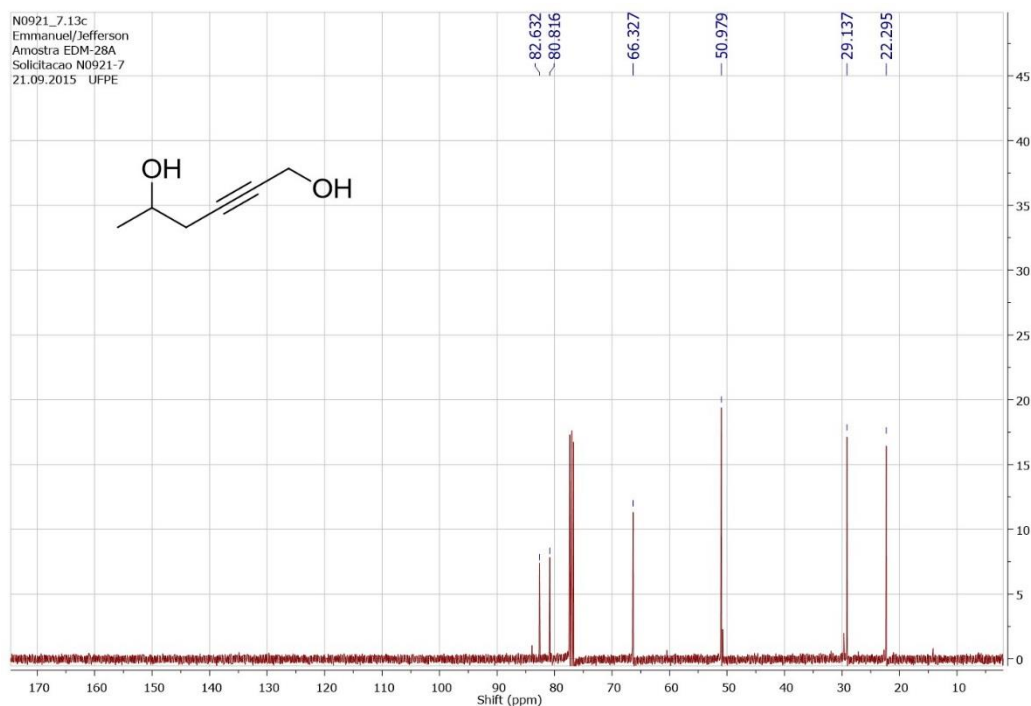
- 17 - (a) TESTA, B.; TRAGER, W. F.; *Chirality* (**1990**) 2, 129. (b) FEDERSEL, HANS. JÜRGEN; *Chemtech* (**1993**) 12, 24.
- 18 - OLIVEIRA, A. P.; FARIA, R. B.; *Química Nova* (**2010**) 33, 1412
- 19 - LEHNINGER, ALBERT L.; *Princípios de bioquí. de Lehninger* (**1917**) Cap. 1 p.19,5 ed.
- 20 - FABER, K.; *Biotransformations in Organic Chemistry* (**2011**) Springer-Verlag, Berlin, 6th
- 21 - *US Food & Drug Administration* (**2004**) *Pharmaceutical Current Good Manufacturing Practices (cGMPs) for the 21st Century – a Risk-Based Approach: Final Report*.
- 22 - PRESCHER, J. A.; BERTOZZI, C. R.; *Chemical Technologies for Probing Glycans* (**2006**) *Cell*, **126**, 851-854.
- 23 - KREIL, G.; *Annu. Rev. Biochem.*(**1997**) 66, 337-345
- 24 - Visto em <www.chem.qmul.ac.uk/iumbmb/enzyme> acessado em 15 de dezembro de **2015**
- 25 - *Intern. Union of Biochem. and Molec. Biology*, Enzyme Nomenclature. Academic Press, New York, **1992**.
- 26 - FABER, K.; *Biotransfor. in Organic Chemistry* (**2011**) Springer-Verlag, Berlin, 6th ed.
- 27 - WILTSHIRE, H. R.; PRIOR, K. J.; *Journal of Labelled Compounds and Radiopharma.* (**2001**) 44, 2, p. 149–164
- 28 - FATIBELLO-FILHO, O.; VIEIRA, I. C.; *Química Nova* (**2002**), 25, 3, pp. 455-464.
- 29 - MILNER, S. E.; MAGUIRE, A. R.; *Arkivoc*, (**2012**), 321.
- 30 - LEHNINGER, A.; *Biochemistry*, Worth Publ Inc, New York, **1970**, pág. 187
- 31 - (a) OGSTON, A.G.; *Nature*, **1948**, 162, 963 (b) POLLARD, D. J.; WOODLEY, J. M.; *Trends Biotech.*(**2007**) 25, 2, 73.
- 32 - CABRAL, J. M. S.; AIRES-BARROS, M. R.; GAMA, M.; *Eng. Enzimática* (**2003**) Cap. 4, pp.121-140, Ed Lisboa
- 33 - VOET, D.; VOET, J. G.; PRATT, C. W.; *Fund. de Bioquímica* (**2000**) Cap 5, pp 45-46, Ed. Artmed, PortoAlegre
- 34 – (a) KOSHLAND, D. E.; *Nature*, (**2004**), 432, p. 447-450 (b) KOSHLAND, D. E.; NEET, K.E.; *Ann. Rev. Biochem.* (**1968**), 37,pp 359 -360.
- 35 - FABER, K.; *Biotransformations in Organic Chemistry* (**1995**) 2ª ed., Cap 4, pp 96 Springer-Verlag: Berlin
- 36 - FABER, K.; *Biotransformations in Organic Chemistry*(**1997**) 3ª ed., Cap 4, pp 97 Sringer-Verlag: New York
- 37 - MANTAROSIEL, L.; COMAN, S.; PARVULESCU, V. I.; *J. Mol. Catal. A: Chem.* (**2008**) 79 (2), pp.223-229.

- 38 - (a) HASAN, F.; ALISHAH, A.; HAMEED, A.; *Enz. Mic. Technol.* (2006) 14, 39, pp. 235–251 (b) GOTOR-FERNANDEZ, V.; BRIEVAR, R.; *J. Mol. Catal. B: Enzym.* (2006) 22, 40, pp. 111–120
- 39 - KIRCHNER, G.; SCOLLAR, M. P.; KLIBANOV, A. M.; *J. Am. Chem. Soc.* (1985) 107, pp. 7072
- 40 - PAYEN, A.; PERSONOZ, J. F.; *Ann. Chim. Phys.* (1833) 53, pp. 73.
- 41 - AMARANTE, G. W.; COELHO, F.; *Quim. Nova* (2009) 32, 2, p. 469-481
- 42 - GONÇALVES, R. A. C.; OLIVEIRA, A. J.; “*Biocat. e Biotransf. Fund. e Aplic*” (2012) vol. 2, Ed. Schola, Cap. 2, p. 69.
- 43 - JING, Q.; KAZLAUSKAS, R. J. *Chirality*. (2008) 20, 724.
- 44 - KAZLAUSKAS, R. J.; WEISSFLOCH, A. N .E.; RAPPAPORT, A. T.; CUCCIA, L. A.; *J. Org. Chem.* (1991) 56, p. 2656.
- 45 - GENET, J. P.; BALBANNE, M.; CHARBONNIER, F.; *Tetrahedron Letters* (1982) 23, 48, pp 5027-5030.
- 46 - CONNOR D. T.; STRANDMANN, M. V.; *J. Med. Chem.* (1979) 22, 1144.
- 47 - JAMES, N. F.; ELLIOT, M.; *Pyrethrum the natural Insecticides* (1973) Acad Press, New York.
- 48 - MACSÁRI, I.; SZBÓ, K. S.; *Tetrahedron Letters* (1998) 39, pp 6345-6348.
- 49 - TOKUDA, M.; KUROGOME, Y.; KATO, R.; HATTORI, Y.; MAKABE, H.; *Tetrahedron Letters* (2014) 55, 4189-4192
- 50 - VAN PUYVELDE, L.; DE KIMPE, N.; *Phytochemistry* (1998), 49, 1157.
- 51 - KECK, G. E.; PALANI, A.; MCHARDY, S. F.; *J. Org. Chem.* (1994) 59, 3113-3122.
- 52 - HOCHSTEIN, F. A.; MURAI, K.; *J. Am. Chem. Soc.* (1954) 76, 5080
- 53 - SOLLADIÉ, G.; KOVENSKI, J.; COLOBERT, F.; *Tetrahedron Asymetry* (1993) 4, 10, p.2173-2178
- 54 - COSTA, C. E. U.; AMORIM, H. H. L.; *Química Nova* (1999) 6, 22, p. 863-873
- 55 - COX, R. J.; ADRÉS-GOMÉZ, A.; GODFREY, C. R. A.; *Org. Biomol. Chem.* (2003) 1, p.3173–3177
- 56 - GRIGORJEVA, L.; JIRGENSONS, A.; *Eur. J. Org. Chem.* (2011) 22, 11, p. 1136
- 57 - WETHERILL, R. B.; *J. Org. Chem.* (1975) 40, 15, p.2250-2252 (b) Brandsman, L.; *Preparative acetylenic chemistry* (1998) Elsevier, 2ª Ed., pág. 79.
- 58 - GRANT, B.; DJERASSI, C.; *J. Org. Chem.* (1974) 39, 968
- 59 - BORDEN, W. T.; *J. A. Chem. Soc.* (1970) 16, 92, p. 4898-4901

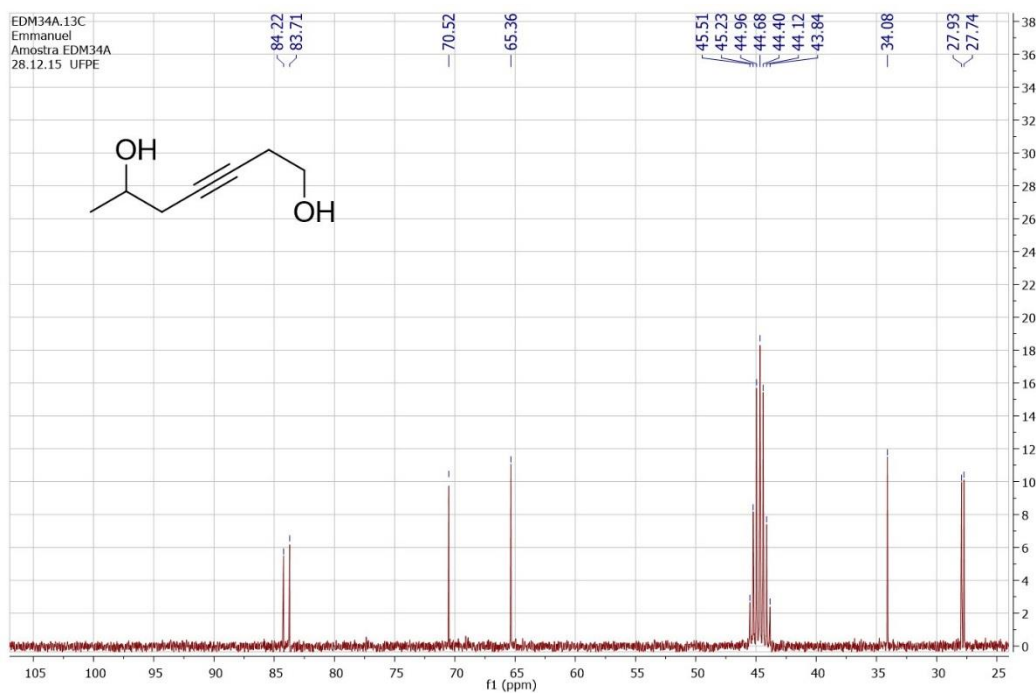
- 60 - SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F.; KIEMLE, D.; *Identificação espectroscópica de compostos orgânicos* (2007) Cap 4, p 215, 7ªed, LTC ed.
- 61 - SKATTEBOL, L.; STENSTROM, Y.; *Acta Chemica Scandinavica* (1995) 49, p. 543-545.
- 62 - FREITAS, L. B. O.; RUELA, F. A.; PEREIRA, G. R.; ALVES, R. B.; FREITAS, R. P.; SANTOS, L. J.; *Química Nova* (2011) 34, 10, p.1791-1804.
- 63 - (a) VASCONCELOS, M. L. A.; *Química Nova*. (2014) 37, 1, p.171-175 (b) J. A. C. S. (1963), 85, 22, 33-35.
- 64 - LIPSHUTZ. B. H. WILHELM, R. S.; KOZLOWSKI, J. A.; PARKER, D.; *J. Org. Chem.*(1984) 49, 3928.
- 65 - REDDY, B. C.; BANGADE, V. M.; RAMESH, P.; *Helvetica Chimica Acta* (2013) 96, p.266 -274
- 66 - XU, S.; HELD, I.; KEMPF, B.; MAYR, H.; STEGLICH, W.; ZIPSE, H.; *Chem. Eur. J.* (2005), 11, p. 4751
- 67 - COSTA, V. E. U.; AMORIM, H. L. N.; *Quím. Nova* (1999) 22, 863.
- 68 - BOMMARIUS, A. S.; RIEBEL, B. R.; *Biocatalysis* (2004) WILEY-VCH, Weinheim
- 69 - GHANEM, A.; *Tetrahedron*. (2007) 62, 1721.
- 71 - STILL, W. C.; KAHN, M.; *Journal of Organic Chemistry*. 1978, 43, 2923.
- 72 - PERRIN, D. L.; AMADOREGO, W. L.; D. R.; *Purification of Laboratory Chemicals*. Pergamon Press: Oxford, 2009.
- 73 - STILL, W. C.; KAHN, M.; *Journal of Organic Chemistry*. 1978, 43, 2923
- 74 - FERREIRA, J. G.; PRINCIVAL, C. R.; OLIVEIRA, D. M.; NASCIMENTO, R. X.; PRINCIVAL, J. L.; *Organic & Biomolecular Chemistry* 2015, 13, 6458.

6.0 - ANEXOS

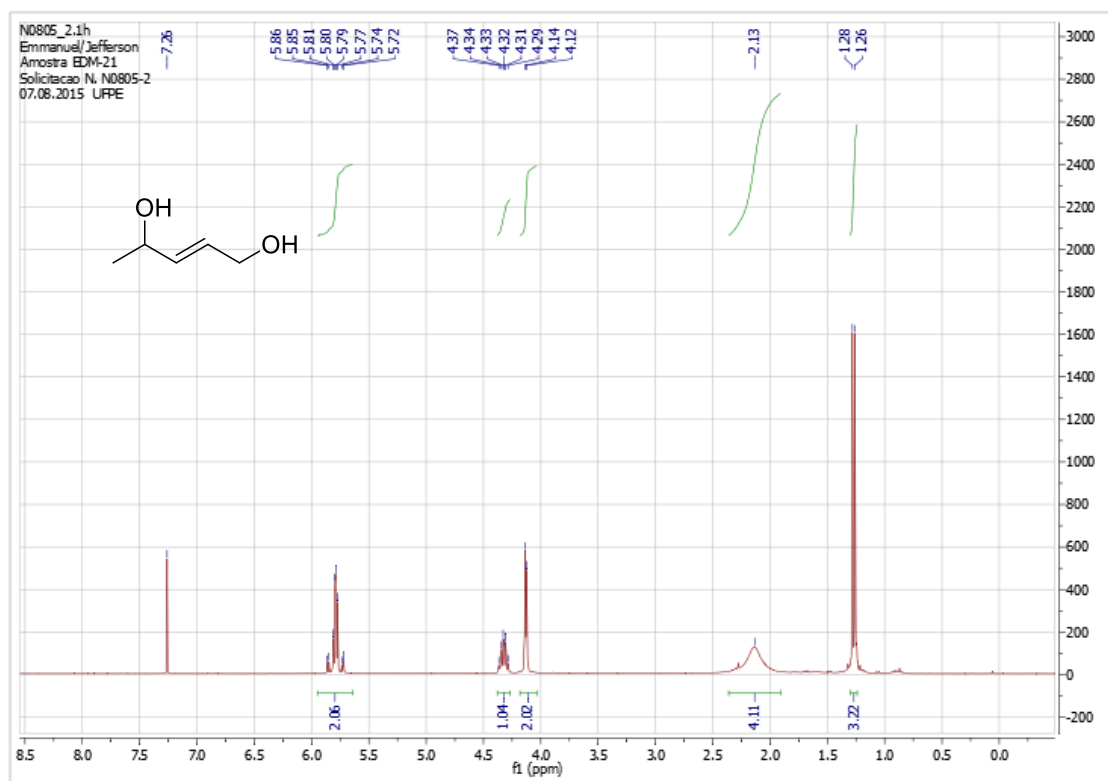
Anexo 1: Espectro de RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) do composto 16a.Anexo 2: Espectro de RMN ¹H (300MHz, CDCl₃) do composto 16a.



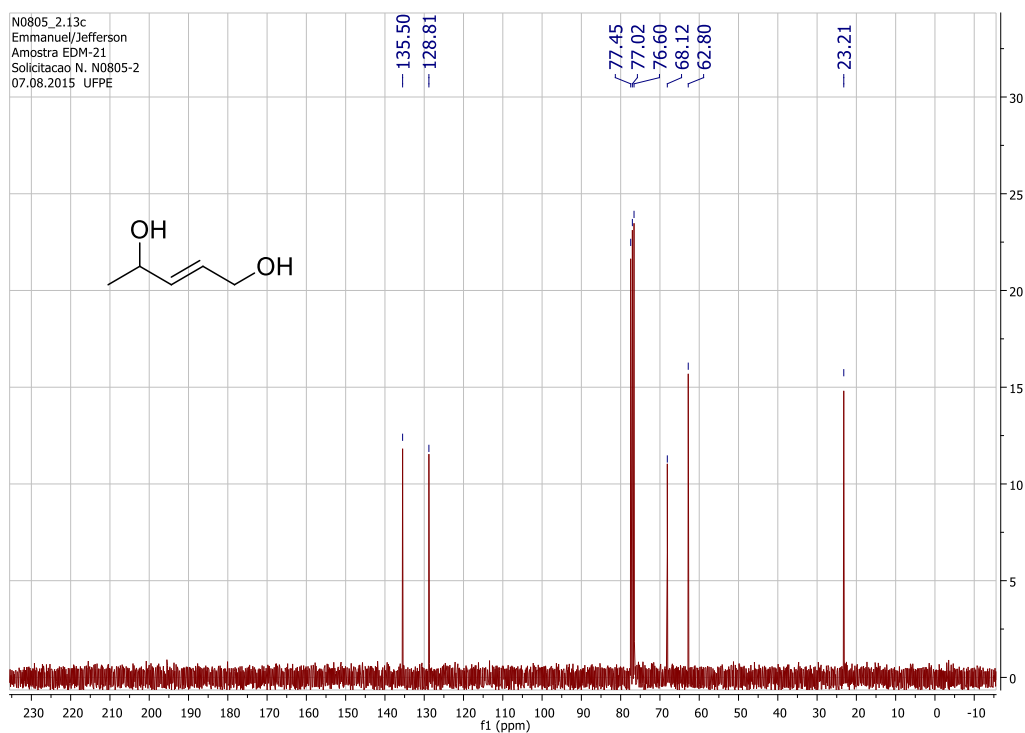
Anexo 3: Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto 16J.



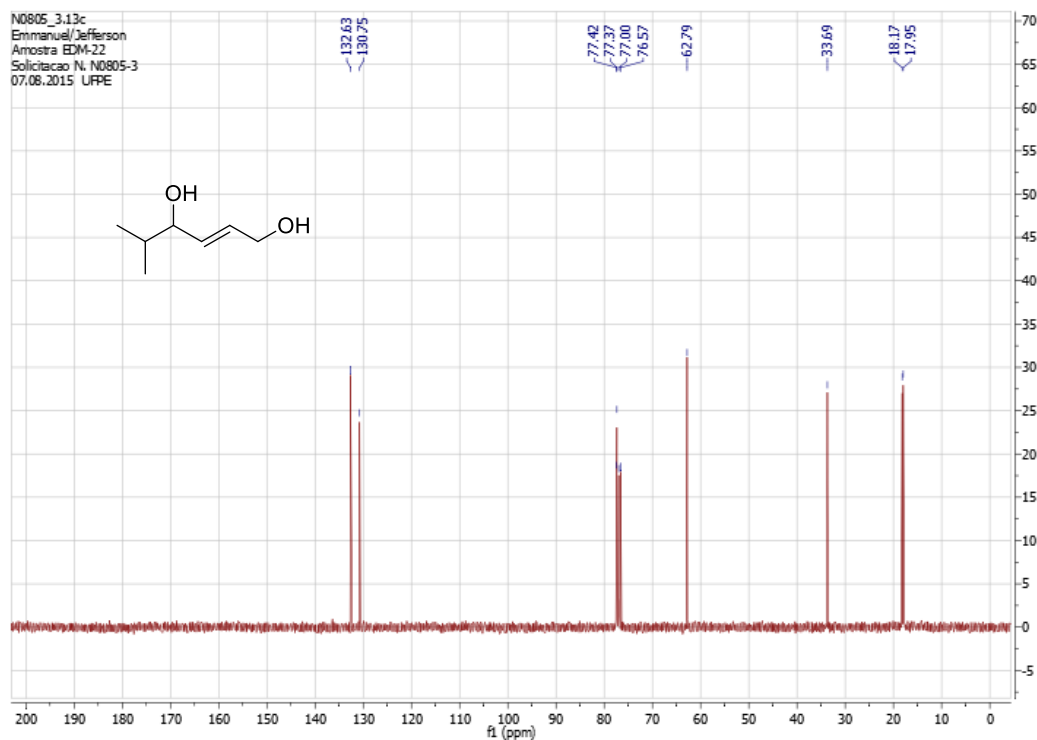
Anexo 4: Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO) do composto 16K.



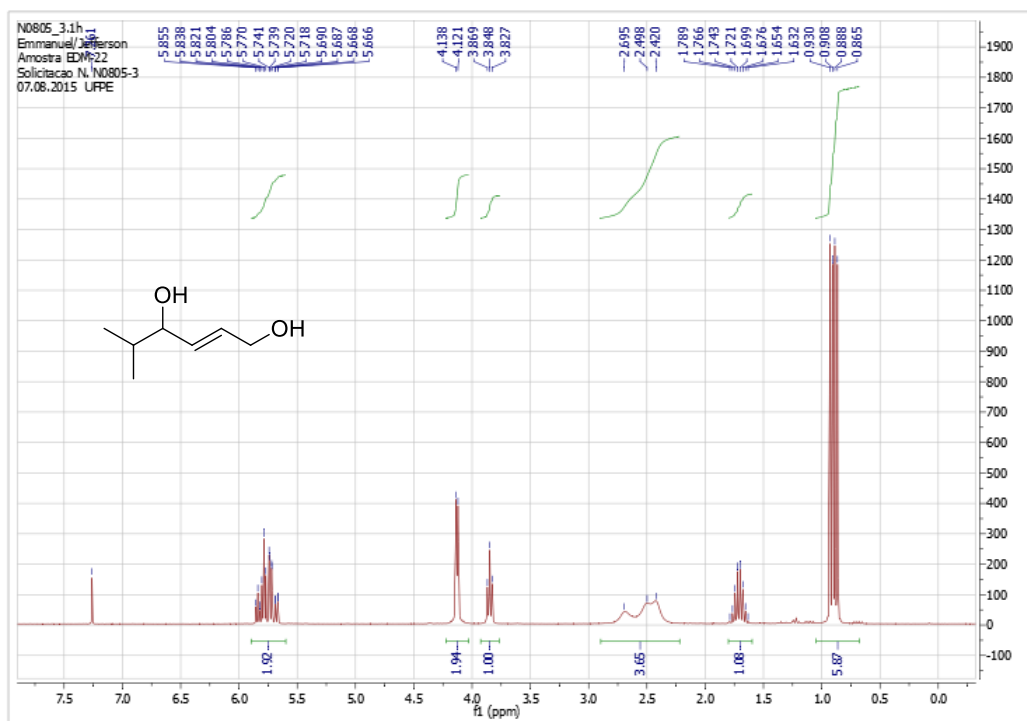
Anexo 5: Espectro de RMN ¹H (300MHz, CDCl₃) do composto 10a.



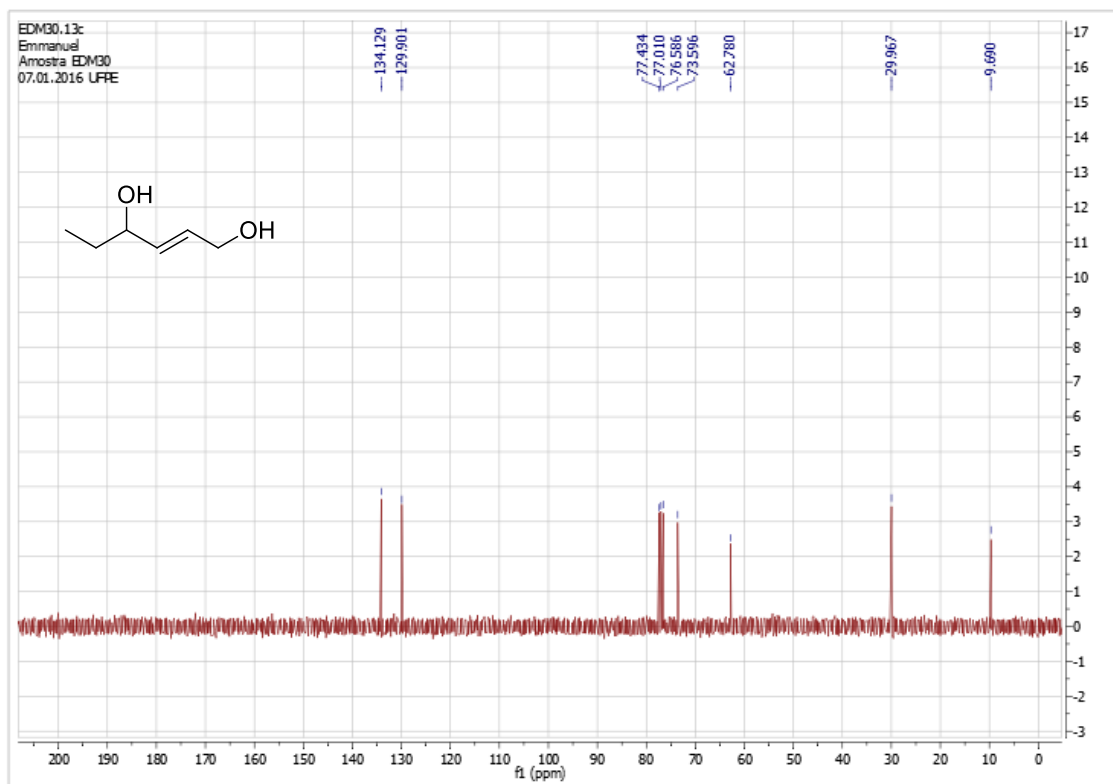
Anexo 6: Espectro de RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) do composto 10a



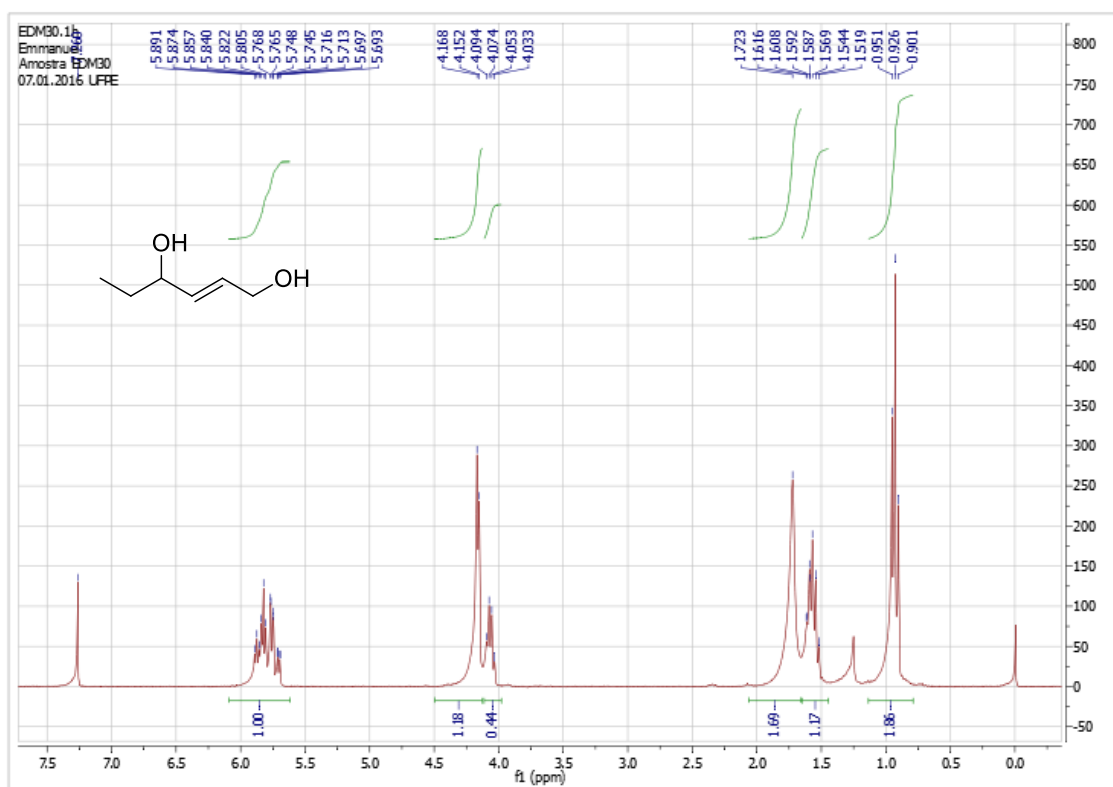
Anexo 7: Espectro de RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3) do composto 10g



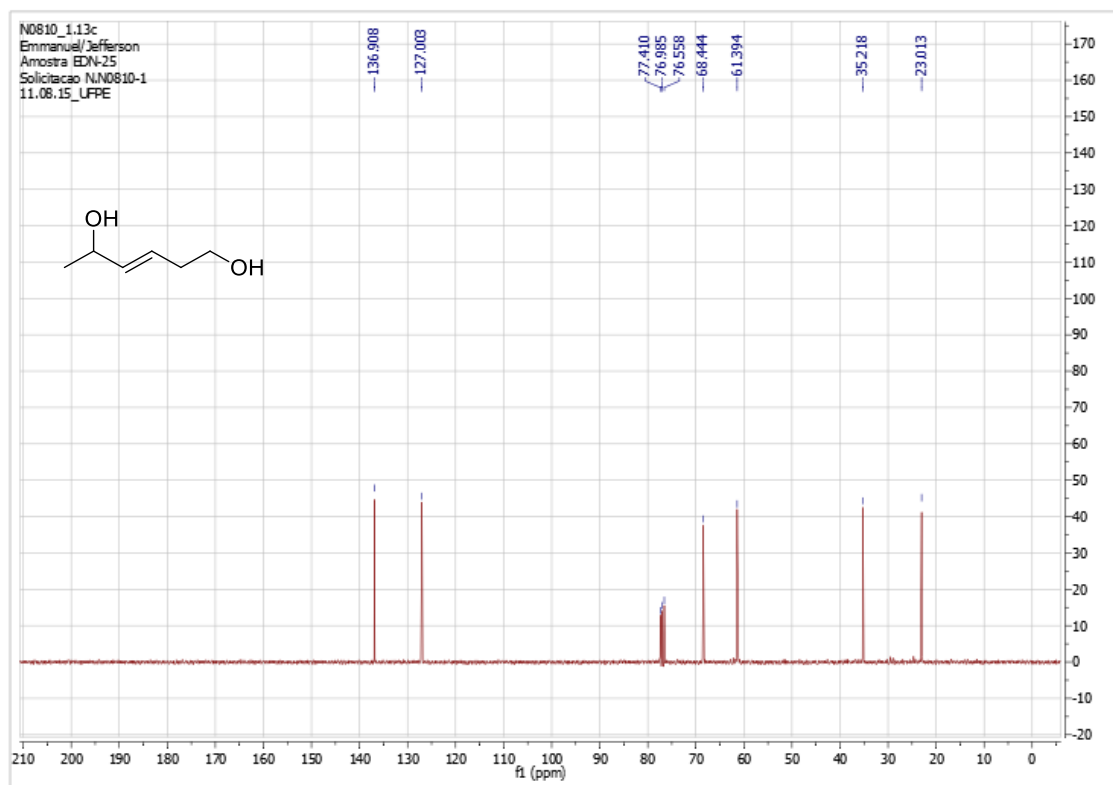
Anexo 8: Espectro de RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) do composto 10g.



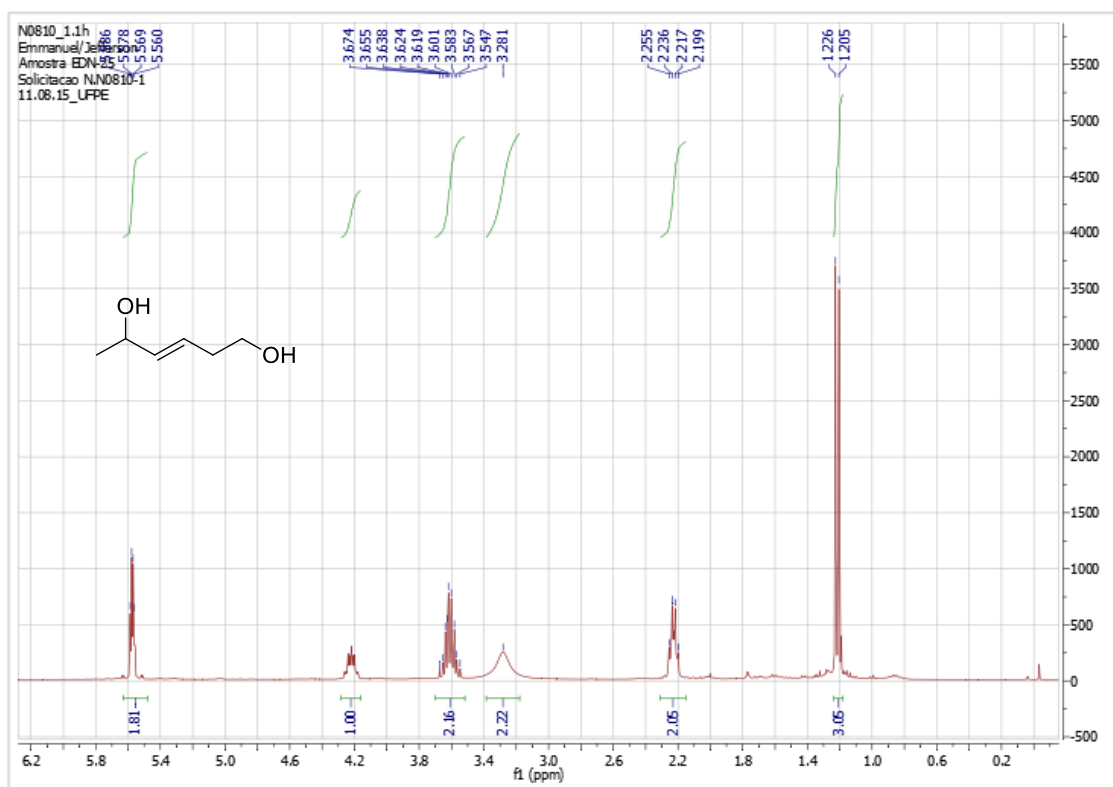
Anexo 9: Espectro de RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3) do composto 10d.



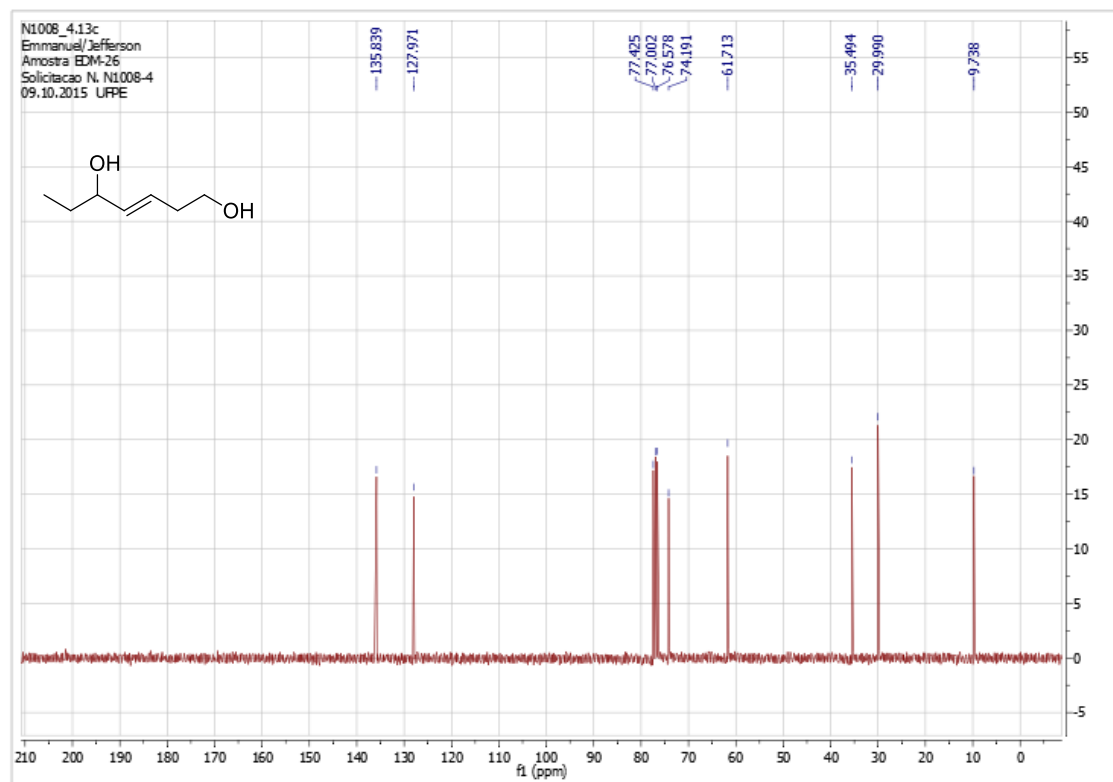
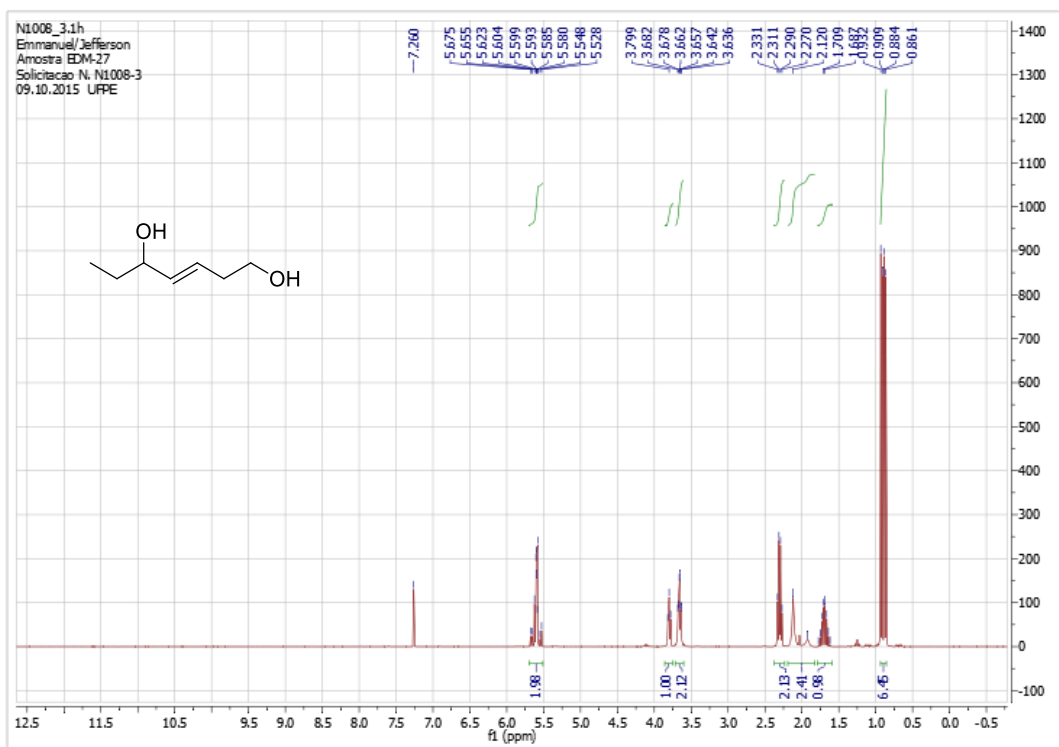
Anexo 10: Espectro de RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) do composto 10d.

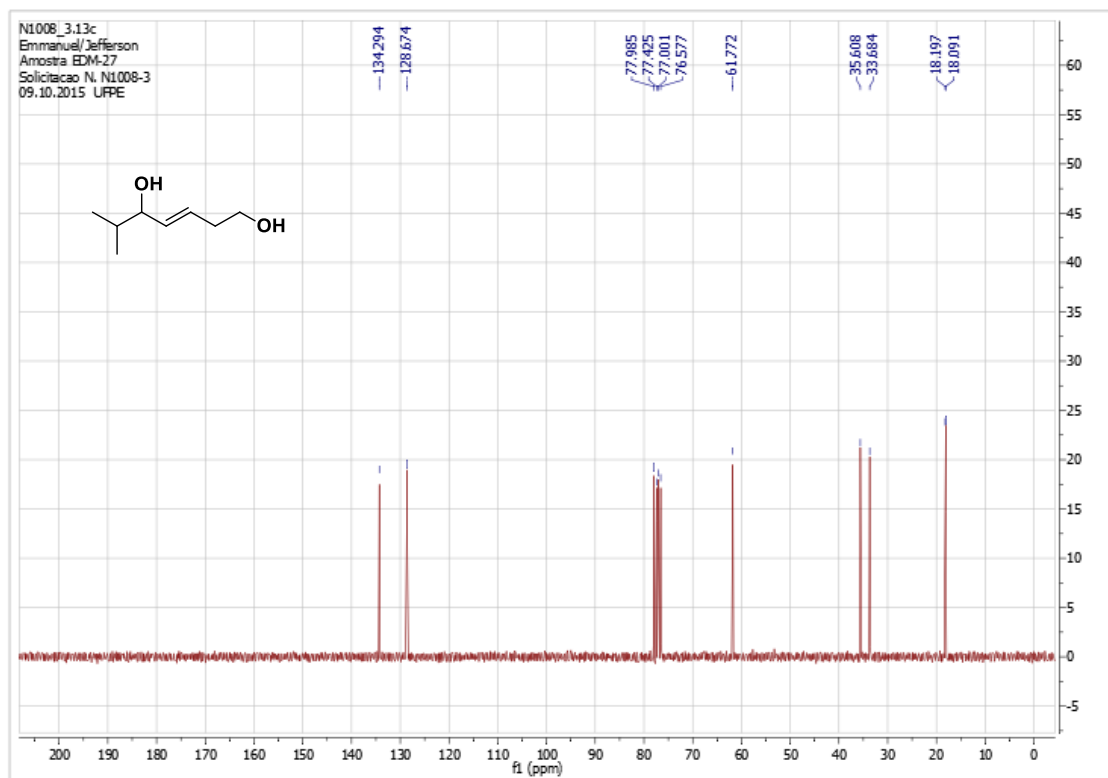


Anexo 11: Espectro de RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3) do composto 10b.

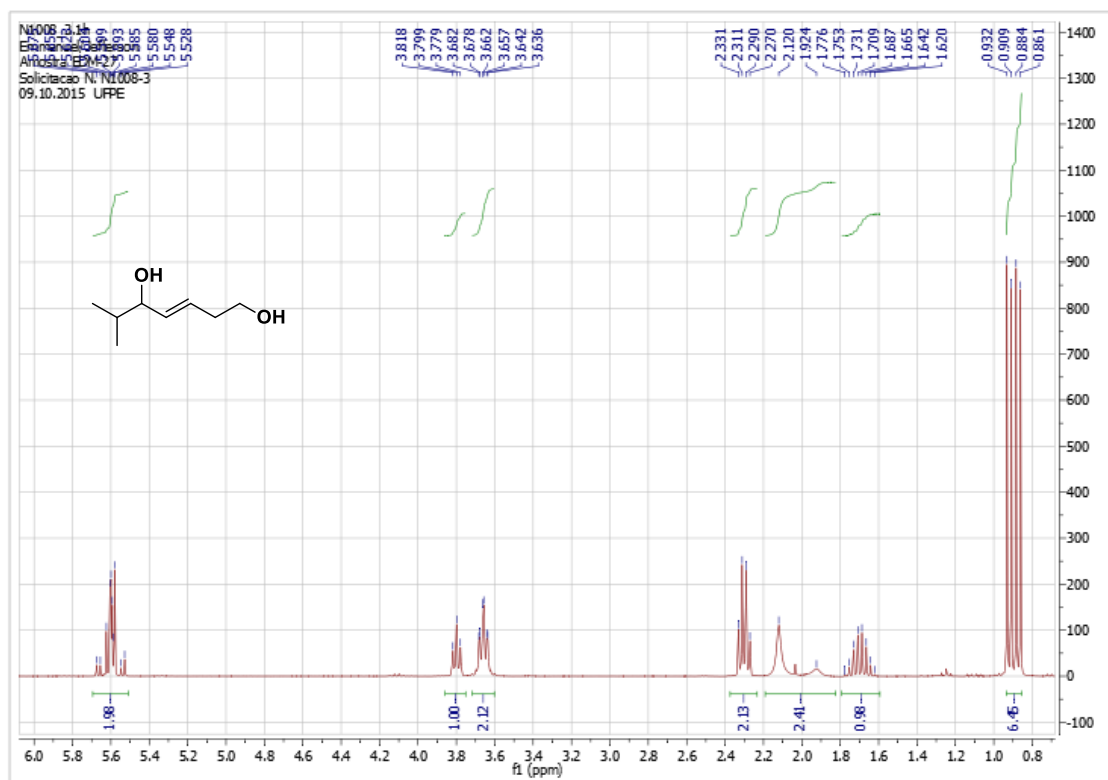


Anexo 12: Espectro de RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) do composto 10b.

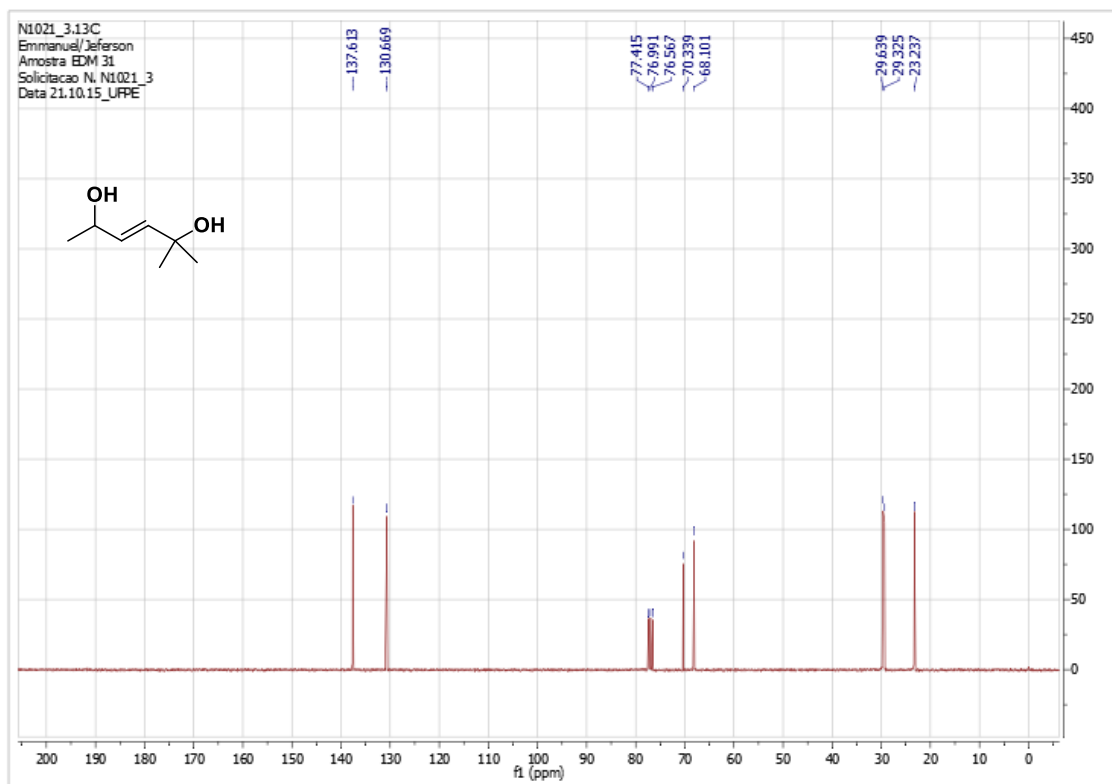
Anexo 13: Espectro de RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3) do composto 10e.Anexo 14: Espectro de RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) do composto 10e.



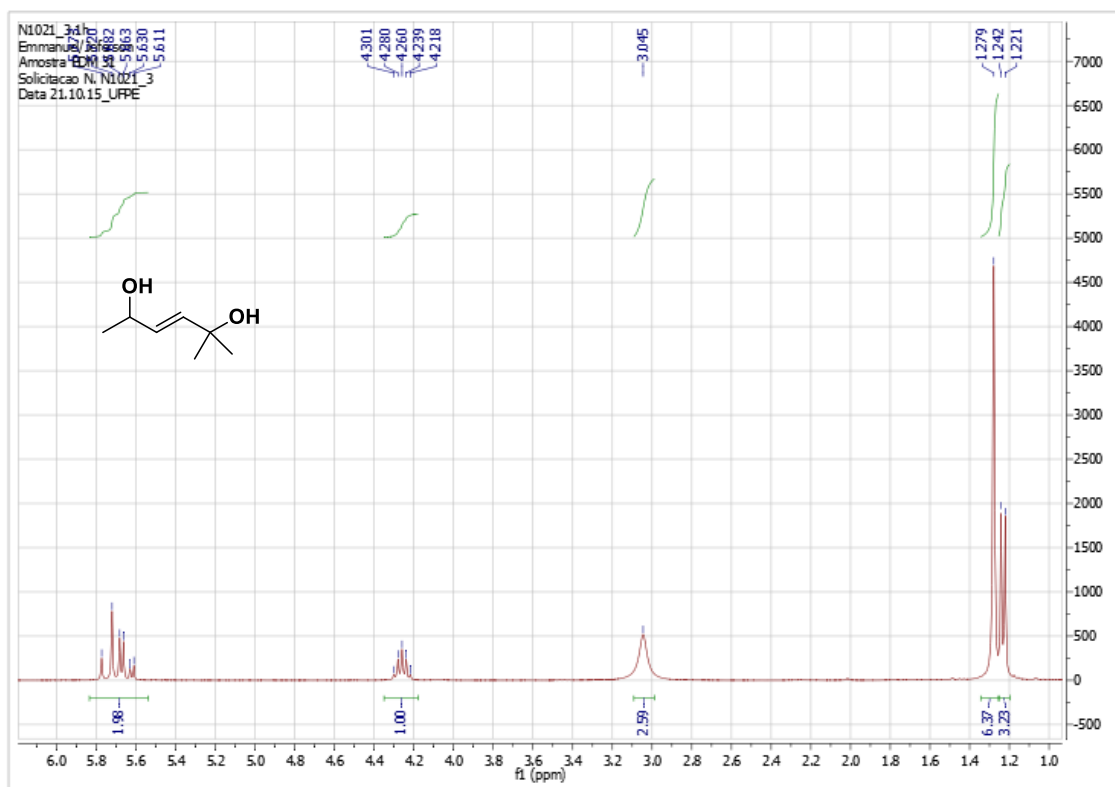
Anexo 15: Espectro de RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3) do composto 10i.



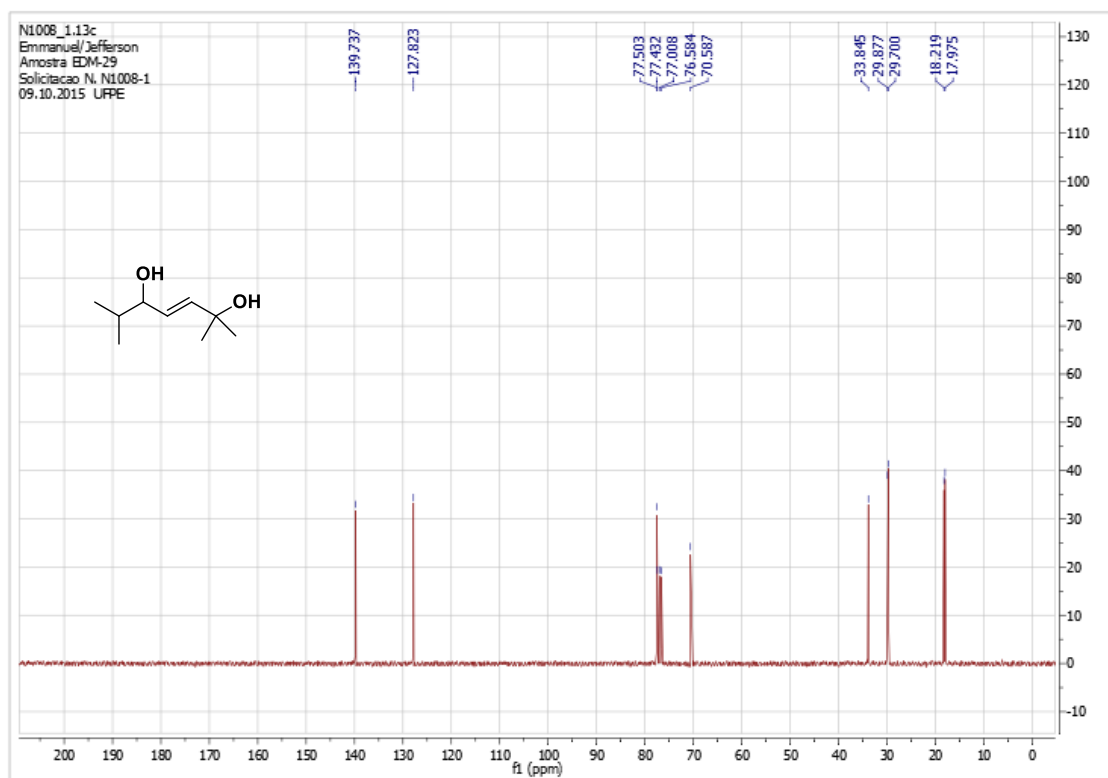
Anexo 16: Espectro de RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) do composto 10i.



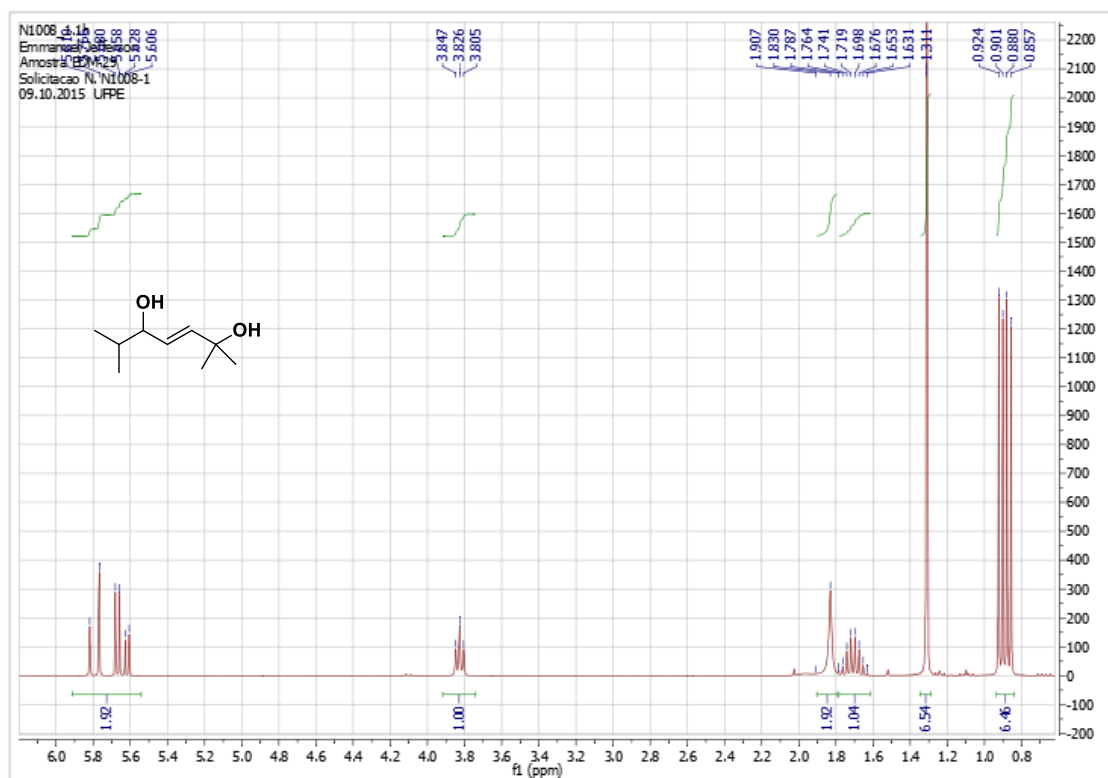
Anexo 17: Espectro de RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3) do composto 10c.



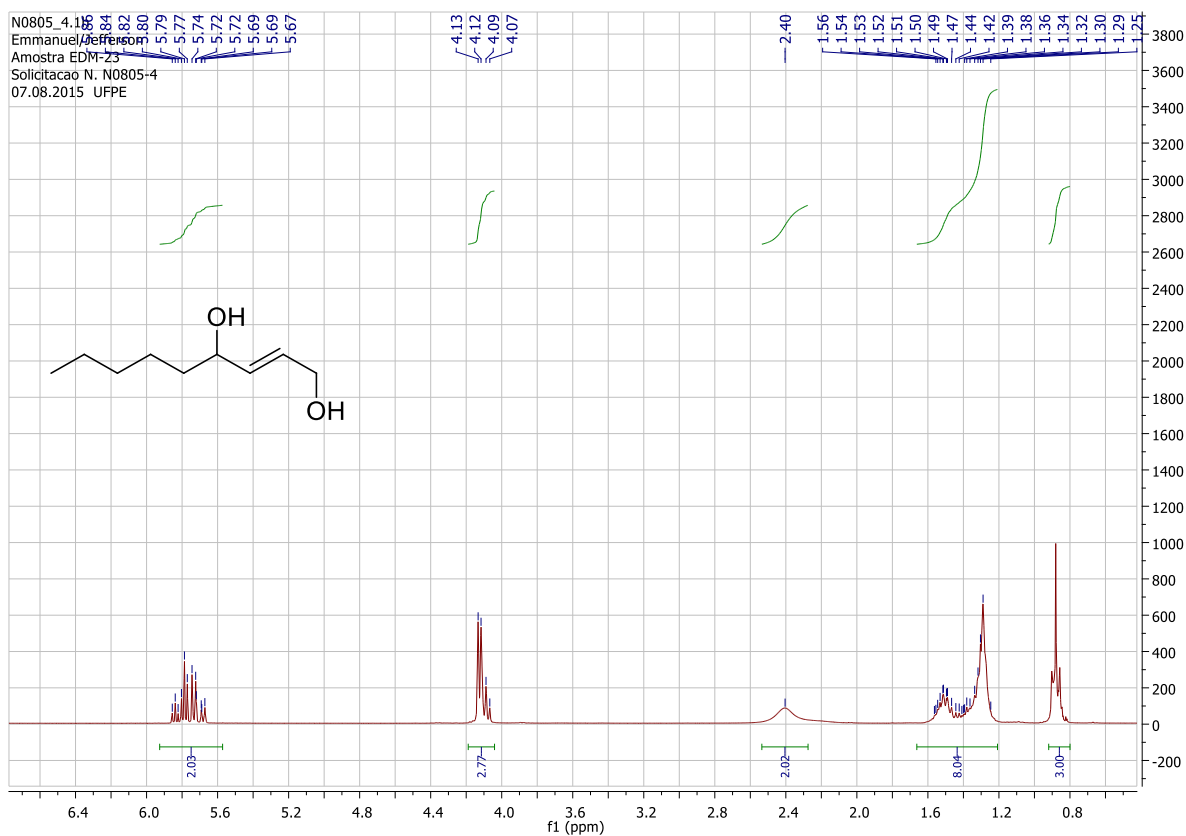
Anexo 18: Espectro de RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) do composto 10c.



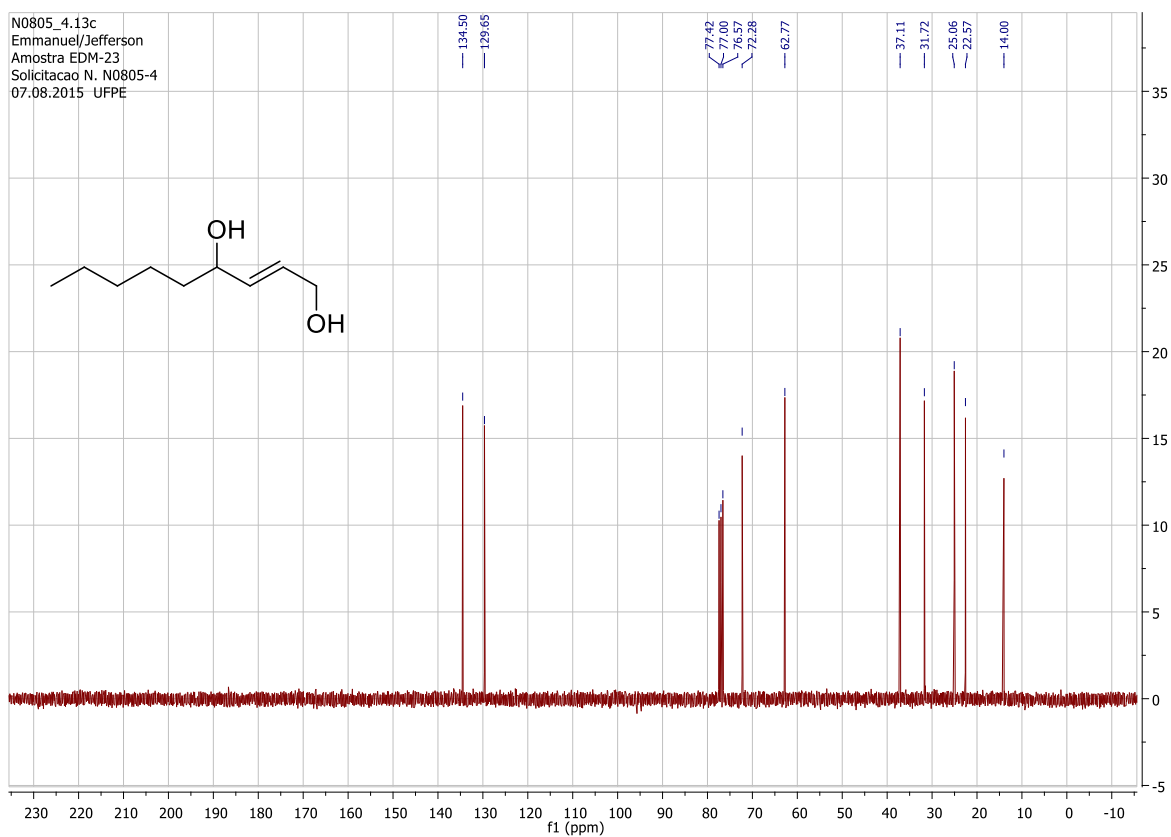
Anexo 19: Espectro de RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3) do composto 10h.



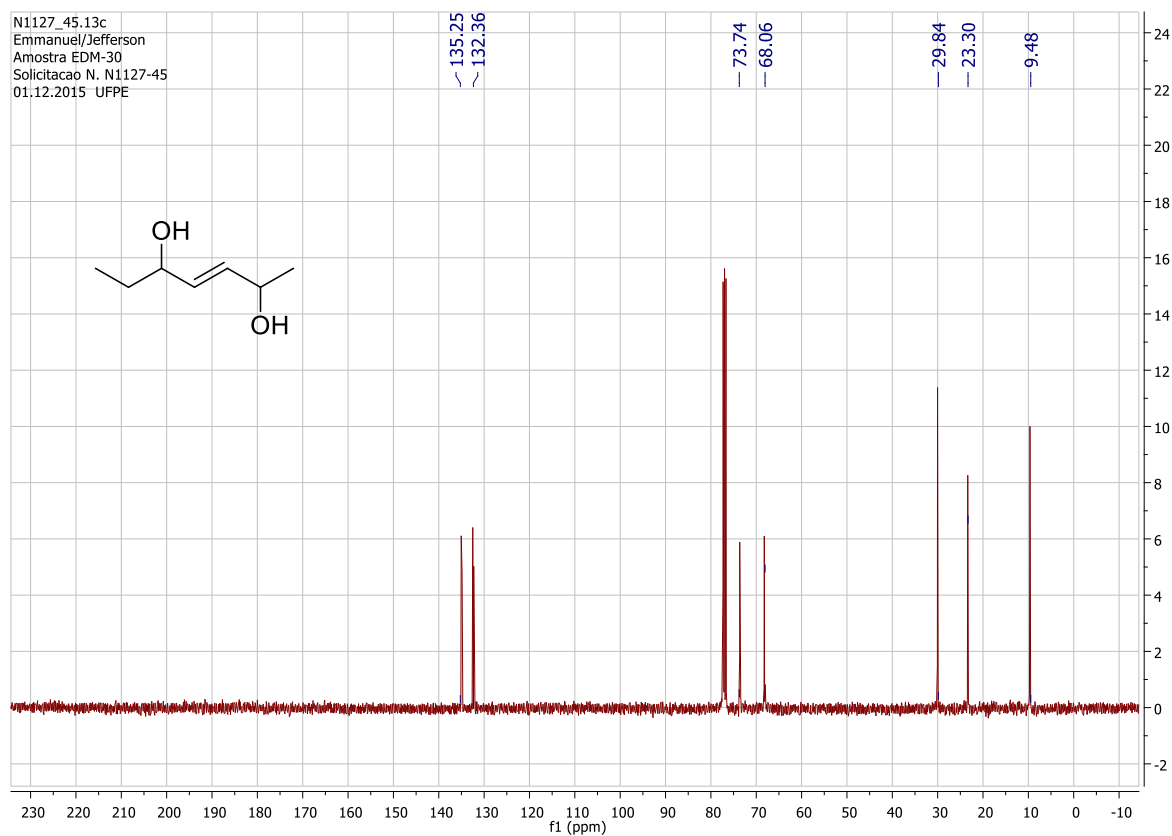
Anexo 20: Espectro de RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) do composto 10h.



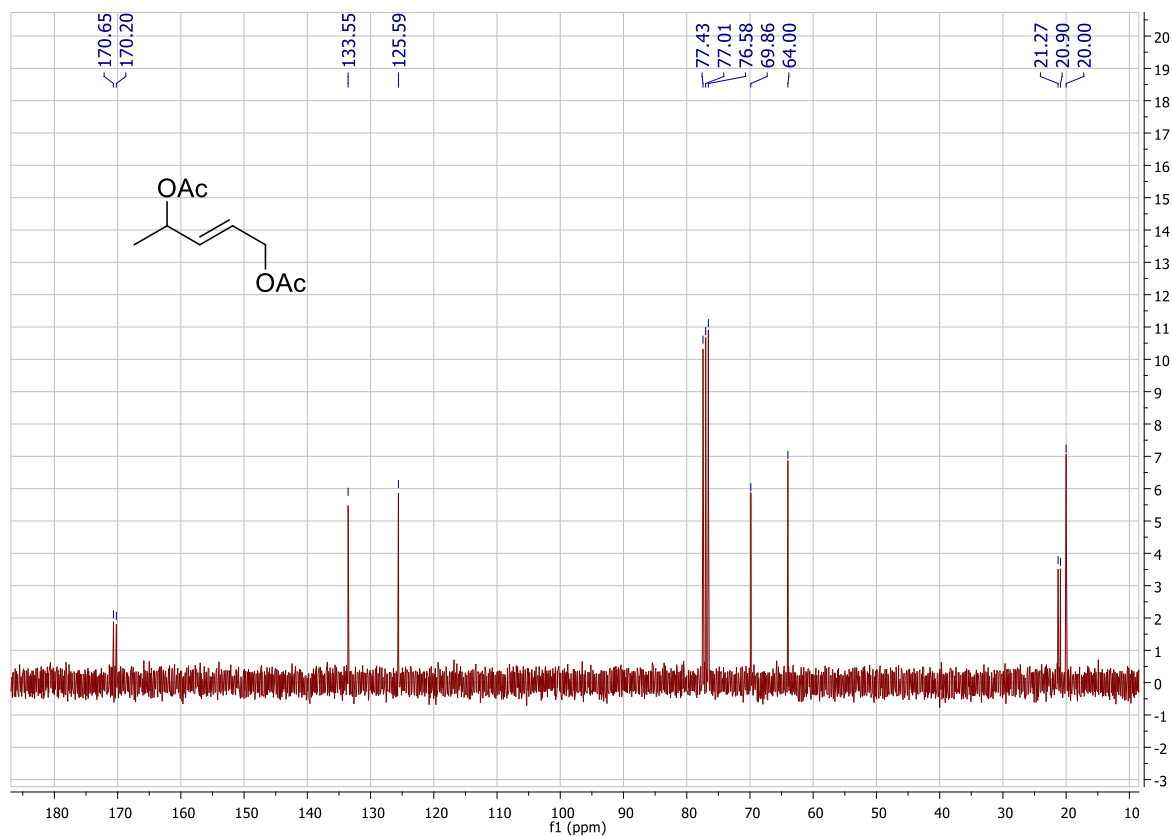
Anexo 21: Espectro de RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) do composto 10l.



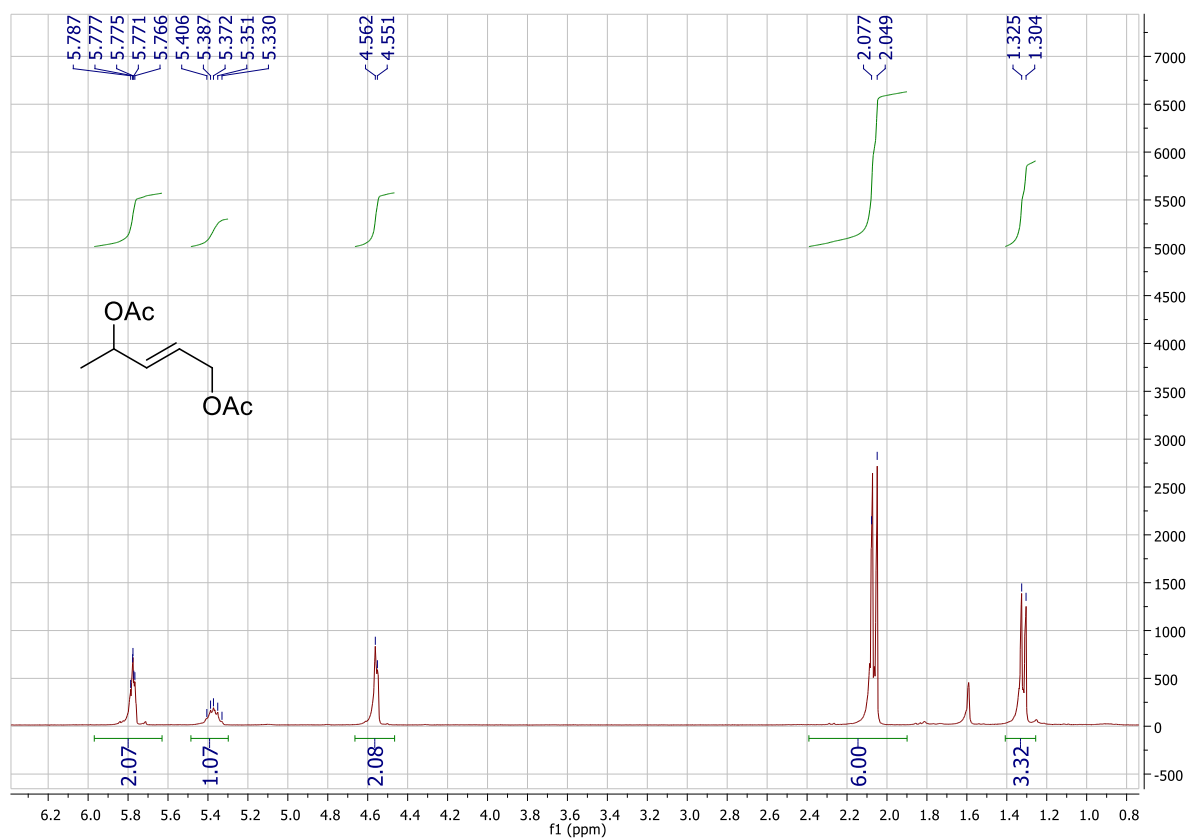
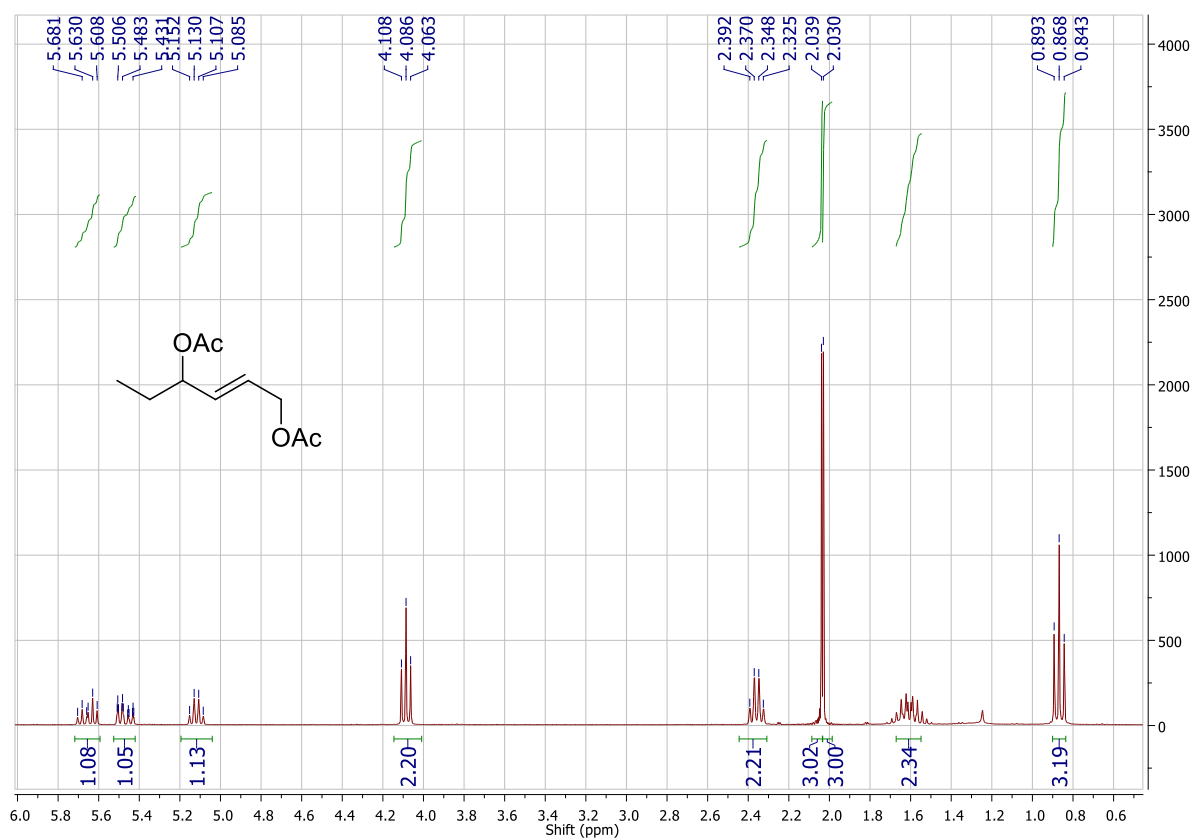
Anexo 22: Espectro de RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3) do composto 10l.

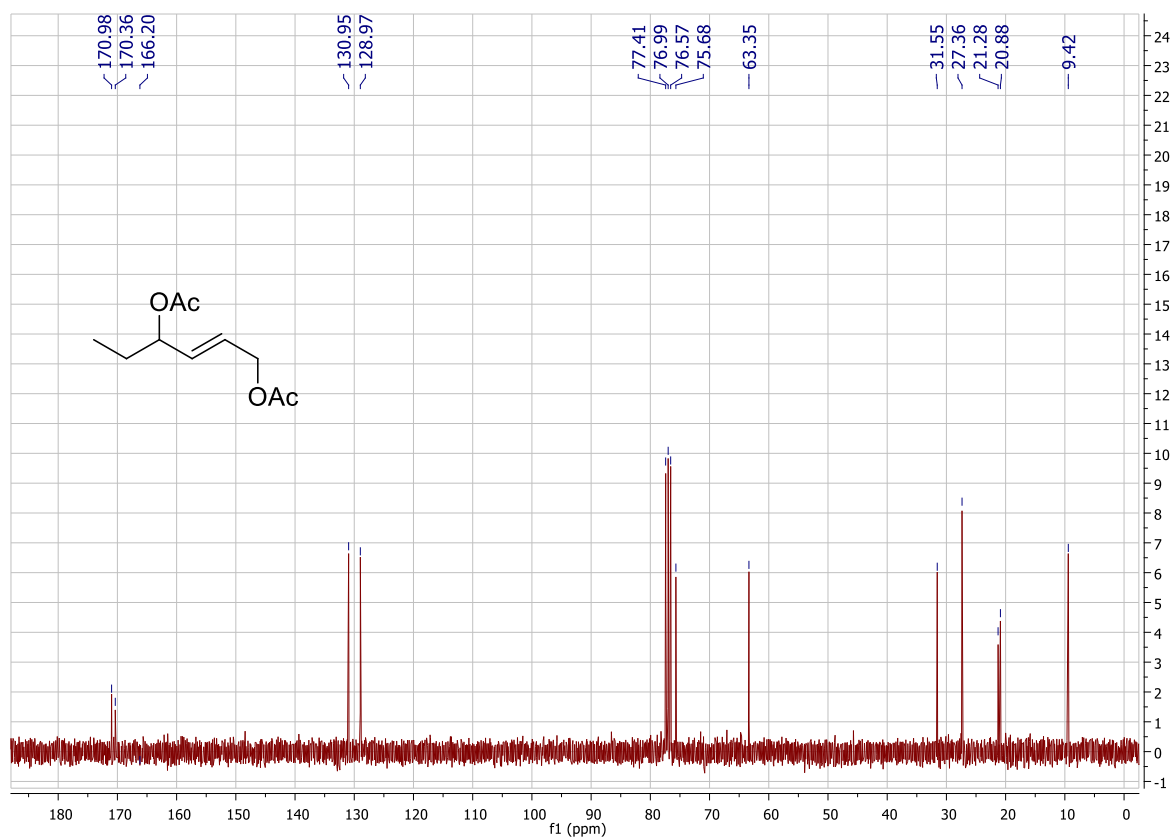


Anexo 23: Espectro de RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3) do composto 10m.



Anexo 24: Espectro de RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3) do composto 12a.

Anexo 25: Espectro de RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) do composto 12a.Anexo 26: Espectro de RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) do composto 12b.



Anexo 27: Espectro de RMN ^{13}C (300 MHz, CDCl_3) do composto 12b